

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610150050.3

[51] Int. Cl.

*C08G 65/329 (2006.01)*

*A61K 47/48 (2006.01)*

*A61K 9/107 (2006.01)*

*A61K 9/127 (2006.01)*

*A61K 9/14 (2006.01)*

[43] 公开日 2007 年 6 月 27 日

[11] 公开号 CN 1986600A

[22] 申请日 2006.10.25

[21] 申请号 200610150050.3

[30] 优先权

[32] 2006.7.7 [33] CN [31] 200610090690.X

[71] 申请人 张文芳

地址 100089 北京市海淀区长智路 5 号长运  
财智会馆 801 室

[72] 发明人 张文芳 仇 峰

权利要求书 2 页 说明书 6 页

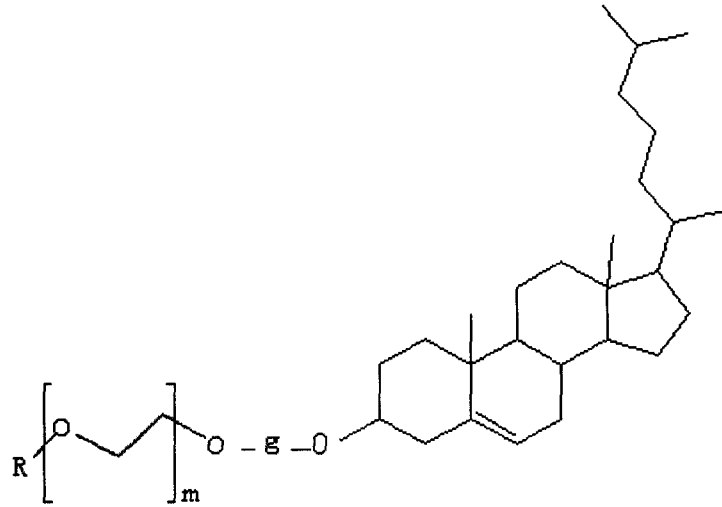
[54] 发明名称

PEG 修饰的胆固醇共聚物及其应用

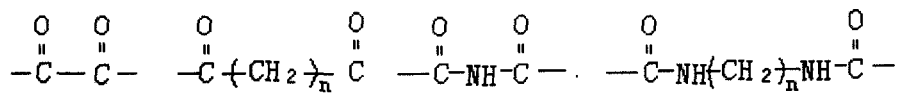
[57] 摘要

本发明公开了一类 PEG 接枝修饰的胆固醇共聚物(PGC)以及作为药用辅料方面的应用。该辅料可以在制备水溶液分散体纳米乳剂, 纳米脂质体以及固体分散体胶束、固体脂质纳米粒或纳米粒等; 还可以作为长循环纳米、温度或 pH 敏感性纳米载体成分之一。

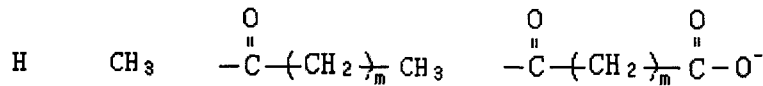
1、一类 PEG 接枝修饰的胆固醇共聚物，其特征在于这类共聚物包含 PEG 和胆固醇（Cho），组成结构为 R-PEG-g-Cho（简称 PGC），其结构式如下：



E: 为以下结构中的一种



R: 为以下结构中的一种



其中 PEG 为聚乙二醇共聚物，其分子量为 400-10000；n 为整数，范围为：2-22；m 为整数，范围为：0-6。

2、根据权利要求 1 中的 PEG 接枝修饰的共聚物（PGC），其特征在于可以作为表面活性剂用来制备水溶液分散体比如：纳米乳剂，纳米脂质体；也可以作为载体成分之一用来制备能分散于水的胶束、固体脂质纳米粒、自乳化载药体系或纳米粒；还可以作为长循环纳米、温度或 PH 敏感性纳米载体成分之一。

3、根据权利要求 1 中的 PEG 接枝修饰的共聚物（PGC）的制备方法，其特征在于：30-50g 胆固醇和 10-30g 脂肪酸酐及 0.4-0.8g 4-二甲氨基吡啶（DMAP）溶于 500-1000 ml 乙酸乙酯中，加入 40-70ml 三乙胺回流 10-16 小时后，加入 50-150ml 乙酸乙酯和 50-150ml 甲醇，混合物用 100-300ml 2N 盐酸抽提，然后再加入 50-100ml 乙酸乙酯，有机层用 100-150ml 0.2N 盐酸/甲醇（2/1）洗两次。移去有机层，加入 200-400ml 甲醇，悬浮液搅拌 10-15 分

钟后，加入 200-400ml 水，即得到粗产物沉淀，在 200-400ml 异丙基醚中重结晶得到产物胆固醇脂肪二酸酯；将 5-15g 胆固醇脂肪二酸酯和 100-200g PEG 溶于 100-200ml 乙腈中，冰浴，逐滴加入 4-8g 二环己基碳二亚胺（dcc）乙腈溶液，搅拌 3-4 小时后，过滤，加入 0.25 N 200-400ml 盐酸后，用 100-200ml 乙酸乙酯/甲醇 2：1 溶液洗两次，有机层蒸干，硅胶柱层析，洗脱剂乙酸乙酯/甲醇 2：1，得脂肪酸（氨基脂肪酸）PEG 胆固醇二酯。

4、根据权利要求 3 中得到的脂肪酸（氨基脂肪酸）PEG 胆固醇二酯，其特征在于：可以进一步在 PEG 的另外一端用醚键接上甲基，也可以用酯键连接接上小分子的脂肪酸或其钠盐。

5、根据权利要求 4 中在 PEG 的另外一端用醚键接上甲基，其合成方法是：取 0.5mmol/L 的按照权利要求 3 中得到的脂肪酸（氨基脂肪酸）PEG 胆固醇二酯，溶于 5-10 ml 水中，加入 0.4-1mmol 的硫酸二甲酯，冰浴下搅拌，缓慢滴加 1mol/L 氢氧化钠溶液 2ml，反应 12h，TLC 跟踪反应进程，反应结束后滴加硫酸调节 pH2.0，抽滤，获得固体用硅胶柱层析重结晶，即得本发明的 2-甲基 PEG 胆固醇脂肪酸（氨基脂肪酸）酯。

6、根据权利要求 4 中在 PEG 的另外一端用酯键连接上甲基、乙基等小分子脂肪酸或其钠盐，其合成方法是：取 1mmol/L 的脂肪酸（氨基脂肪酸）PEG 胆固醇二酯溶于 5ml-10ml 乙腈中，加入 400-600mg DCC，再缓慢滴加 0.0012mol 冰醋酸，然后滴加 2-4ml 盐酸，加热回流 6-10 小时，TLC 跟踪反应进程。待反应结束后，加入 20ml-40ml 水，用等倍量的乙酸乙酯萃取，共 2 次，分离乙酸乙酯层，饱和食盐水洗涤 2 次，用无水硫酸钠干燥，蒸干，反复重结晶即得本发明的 2-脂肪酸酯化的 PEG 胆固醇脂肪酸（氨基脂肪酸）酯。

7、根据权利要求 4 中的 PEG 接枝修饰的共聚物（PGC）的应用，其特征在于能够与疏水药物组合成纳米乳剂，纳米脂质体以及能分散于水的胶束、固体脂质纳米粒、自乳化载药体系或纳米粒，其中药物占总固体物的 0.001-30%，粒径分布在 10~1000nm。

8、根据权利要求 4 中的 PEG 接枝修饰的共聚物（PGC）与药物制成的制剂，其特征在于可以口服、注射、经皮或粘膜给药。

## PEG 修饰的胆固醇共聚物及其应用

### 技术领域

本发明属于医药技术领域，具体涉及一类 PEG 接枝修饰的胆固醇共聚物以及作为辅料方面的应用。该辅料可以在制备水溶液分散体纳米乳剂，纳米脂质体以及固体能分散体胶束、固体脂质纳米粒或纳米粒等；还可以作为长循环纳米、温度或 PH 敏感性纳米载体成分之一。

### 背景技术

聚乙二醇 PEG 为环氧乙烷和水缩聚而成的混合物，其分子量范围为 400-10000。

聚乙二醇（PEG）是最常用的一种修饰剂，其毒性小、无抗原性、具有良好的两亲性，且生物相容性已获 FDA 认可。常用来修饰磷脂酰胆碱以及脂肪酸作为制备乳剂或脂质体的敷料；也用 PEG 修饰的蛋白类（亦称蛋白的 PEG 化）包括 PEG 与蛋白质与多肽类药物的物理结合物和化学修饰物，改善此类药物 PEG 化后的改变包括：增加溶解度；降低免疫原性和消除速度，增加蛋白药物的治疗指数，扩大临床应用等。

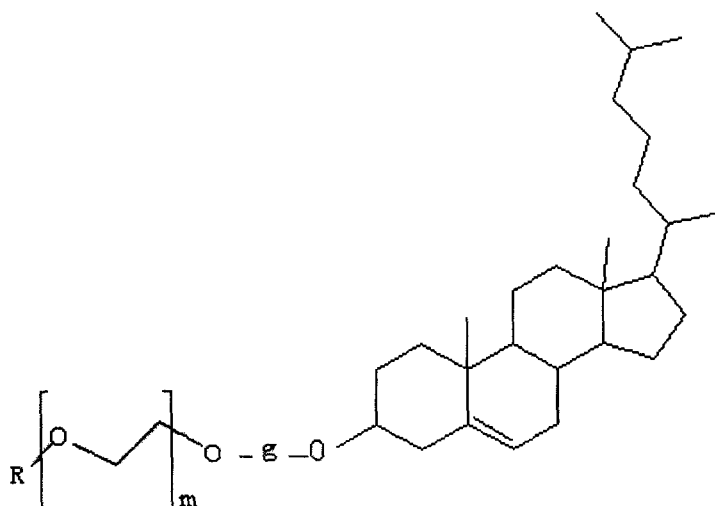
胆固醇又称胆甾醇，是一种环戊烷多氢菲的衍生物，由留体部分和一条长的侧链组成。在纳米制剂中常作为稳定剂使用。

本发明是将聚乙二醇（PEG）和胆固醇通过小分子的脂肪酸连接，具有优良的表面活性作用，其载药能力大大提高。

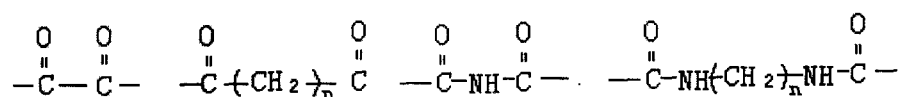
### 发明内容

本发明是将 PEG（Pol）接枝于胆固醇（Cho）合成共聚物（PGC），可以作为表面活性剂用来制备水溶液分散体比如：纳米乳剂，纳米脂质体；也可以作为载体成分之一用来制备能分散于水的胶束、固体脂质纳米粒或纳米粒；还可以作为长循环纳米、温度或 PH 敏感性纳米载体成分之一。

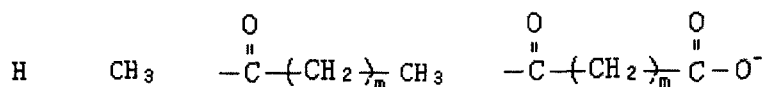
其结构为 Pol-g-Cho，结构式如下：



$\epsilon$ : 为以下结构中的一种



R: 为以下结构中的一种



其中 PEG 分子量范围为 400-40000, R、 $\epsilon$  分别为图例结构式中的一种;

n 为整数, 范围为: 2-22, m 为整数, 范围为: 0-6。

本发明 PEG 接枝修饰的共聚物的制备方法, 其特征在于:

30-50g 胆固醇和 10-30g 脂肪酸酐及 0.4-0.8g 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 溶于 500-1000 ml 乙酸乙酯中, 加入 40-70ml 三乙胺回流 10-16 小时后, 加入 50-150ml 乙酸乙酯和 50-150ml 甲醇, 混合物用 100-300ml 2N 盐酸抽提, 然后再加入 50-100ml 乙酸乙酯, 有机层用 100-150ml 0.2N 盐酸/甲醇 (2/1) 洗两次。移去有机层, 加入 200-400ml 甲醇, 悬浮液搅拌 10-15 分钟后, 加入 200-400ml 水, 即得到粗产物沉淀, 在 200-400ml 异丙基醚中重结晶得到产物胆固醇脂肪二酸酯

将 5-15g 胆固醇脂肪二酸酯和 100-200g PEG 溶于 100-200ml 乙腈中, 冰浴, 逐滴加入 4-8g 二环己基碳二亚胺 (dcc) 乙腈溶液, 搅拌 3-4 小时后, 过滤, 加入 0.25 N 200-400ml 盐酸后, 用 100-200ml 乙酸乙酯/甲醇 2:1 溶液洗两次, 有机层蒸干, 硅胶柱层析。洗脱剂乙酸乙酯/甲醇 2:1, 得脂肪酸 (氨基脂肪酸) PEG 胆固醇二酯。

将得到的脂肪酸 (氨基脂肪酸) PEG 胆固醇二酯, 可以进一步在 PEG 的另外一端用醚键接上甲基, 也可以用酯键连接接上小分子的脂肪酸或其钠盐。

在 PEG 的另外一端用醚键接上甲基，其合成方法是：取 0.5mmol/L 的按照权利要求 3 中得到的脂肪酸（氨基脂肪酸）PEG 胆固醇二酯，溶于 5—10 ml 水中，加入 0.4-1mmol 的硫酸二甲酯，冰浴下搅拌，缓慢滴加 1mol/L 氢氧化钠溶液 2ml，反应 12h，TLC 跟踪反应进程，反应结束后滴加硫酸调节 pH2.0，抽滤，获得固体用硅胶柱层析重结晶，即得本发明的 2-甲基 PEG 胆固醇脂肪酸（氨基脂肪酸）酯。

在 PEG 的另外一端用酯键连接上甲基、乙基等小分子脂肪酸或其钠盐，其合成方法是：取 1mmol/L 的脂肪酸（氨基脂肪酸）PEG 胆固醇二酯溶于 5ml—10ml 乙腈中，加入 400—600mgDCC，再缓慢滴加 0.0012mol 冰醋酸，然后滴加 2—4ml 盐酸，加热回流 6—10 小时，TLC 跟踪反应进程。待反应结束后，加入 20ml—40ml 水，用等倍量的乙酸乙酯萃取，共 2 次，分离乙酸乙酯层，饱和食盐水洗涤 2 次，用无水硫酸钠干燥，蒸干，反复重结晶即得本发明的 2-脂肪酸酯化的 PEG 胆固醇脂肪酸（氨基脂肪酸）酯。

本发明 PEG 接枝修饰的共聚物的应用，其特征在于能够与疏水药物组合成纳米乳剂，纳米脂质体以及能分散于水的胶束或纳米粒，其中药物占总固体物的 0.001—30%，粒径分布在 10~1000nm。

可以使用本发明 PEG 接枝修饰的共聚物的药物包括但不限于以下疏水药物：抗菌药，抗病毒药，抗真菌药，抗炎物质，冠脉扩张药，脑血管扩张剂，血管收缩剂，拟精神药物，抗肿瘤药物，兴奋剂，抗组胺药物、抗高血压药物，血管收缩药，抗偏头痛药物、抗血栓药、抗心律失常药，维生素，止泄药，镇痛药，神经肌肉药，作用于中枢神经系统的试剂以及溶解性很差的蛋白、多肽、肽等生物药。比如：紫杉醇、多稀紫杉醇、布洛芬、阿霉素系列、替尼泊苷、依托泊苷、道诺霉素、丝裂霉素、甲氨蝶呤、丝裂霉素 C、茚甲新、环孢菌素、前列地尔、丙泊酚、尼莫地平、异长春花碱、羟基喜树碱、阿糖胞苷、雷替曲塞、克拉霉素、伏立康唑、伊曲康唑、两性霉素 B、卡泊、顺铂、奥沙利铂、奈达铂等。

本发明 PEG 接枝修饰的共聚物与药物制成的制剂，其给药途径可以口服、注射、经皮或粘膜给药，现将制备方法介绍如下：

一、本发明 PEG 接枝修饰的共聚物（PGC），其与疏水药物组合制备成纳米乳剂的方法如下：

1、本发明的注射用亚纳米乳剂，其制备方法如下：

a) 将药物溶于适量溶剂中，加入脂肪酸甘油酯、甘油三酯、脂肪酸、PGC 和磷脂，加热熔融制成油相，除去挥发性溶剂，甘油适量溶于适量水（PH10-11）中，于 50~90℃ 高速搅拌制成水相，油水两相混合于 50~90℃ 高速搅拌制成初乳剂，调节 PH 值 4.5~8.0。

b) 取上述（a）中初乳剂，注射用水定容至处方量，转移至高压乳匀机中，反复乳化。至乳滴平均粒径≤0.5 微米。

c) 取上述（b）的乳剂过滤后，充氮气灌装，灭菌既得。

2、本发明 PEG 接枝修饰的共聚物 (PGC) 制成的纳米乳制剂, 其制备方法如下:

a) 将药物用适量溶剂溶解, 加入 PGC, 加热熔融, 再加入处方量的水 (PH10-11), 充分搅拌, 加入适量助表面活性剂 (乙醇或丙二醇) 得澄明或半澄明溶液, 调节 PH 值 4.0~9.0。

b) 取上述 (a) 的微乳制剂除菌过滤后, 充氮气灌装, 灭菌既得。

口服乳剂中还可以含芳香剂和防腐剂, 其中芳香剂包括橘子香精、香蕉香精、草莓香精、奶油香精中的一种或几种, 防腐剂包括尼泊金酯类、苯甲酸类中的一种或几种。

二、本发明 PEG 接枝修饰的共聚物 (PGC), 其与疏水药物组合制备成胶束的制备方法如下:

a) 将疏水药物和 PEG 接枝修饰的共聚物、适量稳定剂如: 聚乳酸与聚乙二醇的嵌段共聚物或聚氧乙烯-聚氨基酸共聚物用适量溶剂溶解, 减压蒸去溶剂, 加入处方量的水溶液, 搅拌均匀, 高速搅拌至乳滴平均粒径 $\leq 0.5$  微米。

b) 取上述的乳剂过滤后, 充氮气灌装, 灭菌既得。

三、本发明 PEG 接枝修饰的共聚物 (PGC), 其与疏水药物组合制备成脂质体的方法如下:

a) 将药物和 PEG 接枝修饰的共聚物加入适量处方量的卵磷脂用适量溶剂溶解, 减压蒸去溶剂, 加入处方量的磷酸缓冲盐溶液, 充分搅拌, 形成多室脂质体。

b) 取上述 (a) 中的多室脂质体, 转移至高压乳匀机中, 反复乳化。至乳滴平均粒径 $\leq 0.5$  微米。

c) 取上述 (b) 的乳剂过滤后, 充氮气灌装, 灭菌既得。

四、本发明 PEG 接枝修饰的共聚物 (PGC), 其与疏水药物组合制备成纳米粒的方法如下:

a) 将处方量的单硬脂酸甘油酯、脂肪酸、卵磷脂、PEG 胆固醇酯及药物加热熔融, 加入处方量的注射用水 (PH10-11) 和甘露醇搅拌制成初乳, 调节 PH 值 4.5~8.0, 再用高压均质机对初乳体系进行循环高压均质乳化至粒度符合规定。

b) 上述乳剂过滤后, 加入适量冻干保护剂低分子右旋糖苷, 冷冻干燥充氮气压盖既得。

## 具体实施例

### 实施例一 (亚纳米乳剂型)

组方 1: 紫杉醇 0.01%~3.0%、共溶剂 0.01%~5.0%、磷脂 0.5%~6.0%、PGC 0.1%~5.0%、

甘油三酯 5%~30%、甘油 1.0%~6.0%、油酸 1.0%~6.0%，注射用水添至 100ml。

称取紫杉醇 100-500mg 溶于适量共溶剂（无水乙醇）1 中，溶入 15g 甘油三酯和 0.1-5g 油酸中，于 50℃~80℃ 高速搅拌使混合均匀，制成油相；蒸发除去乙醇；称取蛋黄卵磷脂 1.0g、PGC1.0 g、甘油 3g，加入处方量的水于 50℃~80℃ 高速搅拌使充分分散，制成水相。油水两相混合，于 50℃~80℃ 高速搅拌制成初乳剂。取初乳剂，注射用水定容至处方量，调节 PH 值为 5.0~7.0，转移至高压乳匀机中，反复乳化至乳滴平均粒径 $\leq$ 0.5 微米，除菌过滤，充氮气灌装，灭菌既得。

### 实施例二（纳米微乳剂型）

组方 1：阿霉素 0.01%~2.0%、阿霉素共溶剂 0.01%~5.0%、PGC0.1%~5.0%、助表面活性剂（无水乙醇、丙二醇）适量，注射用水添至 100ml。

称取阿霉素 100-500mg 溶于阿霉素共溶剂（无水乙醇）中，加入 PGC2.0g、丙二醇 1.0g 及适量水于 20℃-80℃ 搅拌使混合均匀，不断搅拌，加适量无水乙醇滴定至呈半透明溶液，调节 PH 值为 5.0~7.0，除菌过滤充氮气灌装，灭菌既得。

### 实施例三（胶束）

组方 1：尼莫地平 0.01%~2.0%、尼莫地平共溶剂 0.01%~5.0%、PGC0.1%~5.0%、聚氧乙烯-聚氨基酸共聚物适量，注射用水添至 100ml。

尼莫地平、PGC 和聚氧乙烯-聚氨基酸共聚物用适量溶剂溶解，减压蒸去溶剂，加入处方量的水溶液，搅拌均匀，高速搅拌至乳滴平均粒径 $\leq$ 0.5 微米，乳剂过滤后，充氮气灌装，灭菌既得。

### 实施例四（脂质体）

组方 1：异长春花碱 0.01%~2.0%、PGC0.1%~5.0%、卵磷脂 2.0%~6.0%，甘露醇 5.0%~15.0% 注射用水添至 100ml。

称取异长春花碱 50-100mg、PGC2.0g、卵磷脂 4.0 g 溶于溶于适量有机溶剂中，减压蒸去溶剂，加入处方量的溶有甘露醇的磷酸缓冲盐溶液，充分搅拌，形成多室脂质体，转移至高压乳匀机中，反复乳化至乳滴平均粒径 $\leq$ 0.5 微米，乳剂过滤后，充氮气灌装，灭菌既得。

### 实施例五（固体脂质纳米粒）

组方 1：羟基喜树碱 0.01%~2.0%、PGC0.1%~5.0%、单硬脂酸甘油酯 1.0%~6.0%、脂肪酸 1.0%~6.0%、卵磷脂 2.0%~6.0%、甘露醇 2.0%~6.0%，注射用水添至 30ml。

a) 将处方量的单硬脂酸甘油酯 2.0g、脂肪酸 1.0g、卵磷脂 1.0g、PGC2.0g 及羟基喜树碱 100mg 加热熔融，加入处方量的注射用水（PH10-11）和甘露醇 5.0g 搅拌制成初乳，



调节 PH 值 4.5~8.0, 再用高压均质机对初乳体系进行循环高压均质乳化至粒度符合规定。

b) 上述乳剂加入适量冻干保护剂低分子右旋糖苷, 过滤后, 冷冻干燥, 充氮气压盖既得。

### 实施例六 (口服自乳化载药系统)

组方 1: 醋酸甲地孕酮 0.1%~10.0%、PGC2.0%~10.0%、癸酸 20.0%~40.0%、Fluronic F68 5.0%~20.0%、聚氧乙烯蓖麻油 10.0%~20.0%。

将处方量的醋酸甲地孕酮、PGC、癸酸、Fluronic F68、聚氧乙烯蓖麻油反复研磨混合均匀, 加热熔融既得口服自乳化载药体系统。

将该系统按照常规方法可以稀释成口服乳液, 也可压制成软胶囊或罐装成液体硬胶囊。

### 实施例七 (血管刺激性试验)

试验药物: 按照实施例 (一、二、四、五) 提供方法制备, 羟基喜树碱注射液, 从市场购得, 试验时用 0.9%氯化钠注射液配制成 5%溶液。

试验动物: 健康家兔, 体重 2.3~2.4kg。

试验方法: 取健康家兔 10 只, 雌雄各半。按体重及性别分为 0.9%氯化钠注射液对照组、羟基喜树碱注射液组和实施例 (一、二、四、五) 组, 每组 2 只, 于家兔左耳耳缘按临床给药浓度静脉滴注 10ml/kg, 滴注速度 1ml/分, 每日 1 次, 连续 7 日。对照组同法静脉滴注 0.9%氯化钠注射液。除每次给药时及给药后观察给药局部表现外, 于末次静脉滴注后剪下药侧耳廓, 常规固定后, 在距静脉滴注入针近心端 1cm 处, 每隔 1cm 切取 0.5cm 宽标本, 共取 3 块标本。切片染色, 进行镜下病理观察, 结果见下表:

血管刺激性试验

项目	兔耳廓血管扩张	红肿	有无炎细胞浸润
0.9%氯化钠注射液对照组	-	-	-
羟基喜树碱注射液	++	++	+
实施例一	-	-	-
实施例二	-	-	-
实施例三	-	-	-
实施例四	-	-	-

备注: “++” 严重、“+” 少许、“-” 无

以上试验结果表明, 本发明制备的制剂具有刺激性小的优点。