

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07F 9/10
A61K 31/685

[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 96102193.4

[45] 授权公告日 2001 年 4 月 11 日

[11] 授权公告号 CN 1064365C

[22] 申请日 1996.3.6 [24] 颁证日 2000.12.22
[21] 申请号 96102193.4
[30] 优先权
[32] 1995.3.7 [33] CN [31] 654/1995
[73] 专利权人 弗·哈夫曼-拉罗切有限公司
地址 瑞士巴塞尔
[72] 发明人 F·皮特罗夫 H·斯蒂芬
[56] 参考文献
US4158707 1979. 6. 19 A61K31/33
US4271196 1981. 6. 2 A61K31/685
US4649155 1987. 3. 10 A61K31/355
US4882164 1989. 11. 21 A61K37/20
US5376646 1994. 12. 27 A61K31/685
审查员 张轶东

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所
代理人 任宗华

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 混合胶束

[57] 摘要

供难溶于水或不溶于水的活性物质在水溶液中增溶
并提高活性物质储存稳定性 的混合胶束,是由带支链饱
和脂肪酸残基或带十五烷酰残基的磷脂与胆烷酸盐 或
二己酰卵磷脂所组成。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

权 利 要 求 书

1. 由下列成分构成的混合胶束:

- a) 具有支链饱和脂肪酸残基的磷脂, 及
- b) 胆烷酸盐。

2. 根据权利要求 1 的混合胶束, 其中支链脂肪酸残基的直链部分碳链含 14 至 20 个碳原子。

3. 根据权利要求 1 的混合胶束, 其中支链脂肪酸残基的直链部分碳链的碳原子数为奇数。

4. 根据权利要求 1-3 的混合胶束, 其中支链脂肪酸残基是甲基或乙基单取代的脂肪酸残基。

5. 根据权利要求 1 的混合胶束的相转变温度低于 20℃。

6. 根据权利要求 1 的混合胶束, 其中磷脂是

1, 2-二(10-甲基十九烷酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸,

1, 2-二(10-甲基硬脂酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸,

1, 2-二(8-甲基十七烷酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸,

1, 2-二(8-甲基十六烷酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸,

或

1, 2-二(10-乙基硬脂酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸,

或它们的对映体或相应的磷酸乙醇胺。

7. 根据权利要求 1 的混合胶束, 它含有胆烷酸盐。

8. 根据权利要求 1 的混合胶束, 它含有药用活性物质或化妆品。

9. 含有根据权利要求 1 的混合胶束的水液组合物及其冷冻干

燥物。

10. 制备根据权利要求 1-9 的混合胶束的方法, 该方法包括: 混合各个组分或将胶束前体及必要时添加的活性物质溶于有机溶剂中, 如二氯甲烷、乙醇和/或甲醇, 方便地用旋转蒸发器除去溶剂, 将残留物溶解于水中或溶解于药用辅助剂的水溶液, 如缓冲液或等渗试剂中; 或将游离胆烷酸悬浮在水中, 必要时外加药用辅助剂和/或水溶性活性物质, 将磷脂和必要时添加的药用活性物质或化妆品分散在悬浮液中, 并用碱中和产物。

11. 根据权利要求 1-7 的混合胶束用于非肠道给药配方中难溶于水或不溶于水的药用活性物质在水溶液中的增溶, 以提高上述活性物质与水溶性活性物质在非肠道给药配方中的兼容性或提高药用活性物质或化妆品对皮肤的渗透性的应用。

说明书

混合胶束

本发明涉及新型的混合胶束及含这种混合胶束的组合物。

由胆烷酸盐、天然磷脂(如蛋类卵磷脂或大豆卵磷脂)形成的混合胶束以及含这种混合胶束的组合物是已知的(如 Patent Publication DE-A-2730570)。这种胶束体系可用于使难溶于水或不溶于水的活性物质在水溶液中增溶。如用于药用活性物质在非肠道给药配方中的增溶,以提高上述活性物质与水溶性活性物在非肠道给药配方中的兼容性(见 EP-A-0280887);或提高药用活性物质或化妆品对皮肤的渗透性(见 EP-A-0439042)。天然磷脂中含有不饱和脂肪酸的存在可导致过氧化物的形成,即使添加抗氧化剂及螯合剂,这种过氧化物也会影响配料中对氧化敏感的活性物质的稳定性。相应于天然的但含有饱和脂肪酸残基的磷脂避免了形成过氧化物的缺点。但是,混合胶束只在临界温度(相转变温度)以上存在,具有饱和长链脂肪酸残基的磷脂的相转变温度显著地高于大豆卵磷脂或蛋类卵磷脂(如完全氢化的大豆卵磷脂为约 50°C 而非氢化的大豆卵磷脂约为 -18°C)。这一情况妨碍了如预氢化大豆卵磷脂在制造储存温度为室温或低于室温的混合胶束方面的应用。

带短链羧酸(<C8)的卵磷脂具有低的相转变温度。因此,原则上混合胶束可在室温下制备。但是这些卵磷脂具有高毒性或高溶血

性,所以不能用于非肠道给药;然而,已提出了由二己酰卵磷脂与蛋类卵磷脂或大豆卵磷脂形成的混合胶束这类申请(见 EP—A—0011745)。

二月桂基磷脂胆碱(DLPC)的相转变温度为约 0°C,其本身没有溶血性。但它缺少蛋卵磷脂和大豆卵磷脂典型的抗溶血作用,而抗溶血作用对其在胆烷酸盐混合胶束中的应用又是很重要的,因此 DLPC 胆烷酸盐混合胶束同样不能用于非肠道给药。

人们已经惊奇地发现,用含带支链的饱和脂肪酸残基的磷脂可在常(室)温或在低于室温下形成混合胶束。

本发明因此涉及混合胶束,由下列成分形成:

- a)带支链饱和脂肪酸残基的磷脂及
- b)胆烷酸盐或二己酰卵磷脂。

本发明也涉及到这类混合胶束在使那些难溶于水或不溶于水的活性物质在水溶液中增溶方面的应用。例如,用于药用活性物质的非肠道给药配方中以提高水溶性活性物质与非水溶性物质在非肠道给药配方中的兼容性,或提高药用活性物质或化妆品对皮肤的渗透性以及用于蛋白质如与膜相连的受体 (membrane - bound receptors) 稳定性的诊断中。

优选的磷脂含带支链的、直链上有 14—20 个碳原子的饱和脂肪酸残基,其相转变温度低于 20°C 优选低于 10°C。支链可以是单个的或多个的,对于单个支链的饱和脂肪酸残基来说,如为甲基或乙基单取代的脂肪酸残基是优选的。在链的中部(如在 8、10 或 12 位碳原子上)有取代基的或支链的脂肪酸残基是优选的。此外,含直链上有奇数碳原子的脂肪酸残基的磷脂是优选的。根据本发明的带支链饱和

脂肪酸残基的实例是 10-甲基十九烷酰基、10-甲基硬脂酰基、8-甲基十七烷酰基、8-甲基十六烷酰基及 10-乙基硬脂酰基。可用于本发明的磷脂的实例是：

1,2-二(10-甲基十九烷酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸，

1,2-二(10-甲基硬脂酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸，

1,2-二(8-甲基十七烷酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸，

1,2-二(8-甲基十六烷酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸，

1,2-二(10-乙基硬脂酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸，

以及它们的对映体。根据本发明磷脂的其它实例是具有支链饱和脂肪酸残基的磷脂酰乙醇胺，如：

1,2-二(10-甲基十九烷酰)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺，

1,2-二(10-甲基硬脂酰)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺，

1,2-二(8-甲基十七烷酰)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺，

1,2-二(8-甲基十六烷酰)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺，及

1,2-二(10-乙基硬脂酰)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺。

1,2-二(10-甲基十九烷酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸是特别重要的，在冷冻条件下也可形成含此种胆碱磷酸的混合胶束。

根据本发明的混合胶束可由下列成分，即胆烷酸盐或二己酰卵磷脂与含支链饱和脂肪酸残基或十五烷酰残基的磷脂，按照已知的方法(Patent Publications DE-A-2730570 和 WO90/08534 中公开的)在水溶液中制备。例如，通过混合各个组分或将胶束前体及活性物质(必要时添加)溶解在有机溶剂(如二氯甲烷、乙醇和/或甲醇)中后，方便地用旋转蒸发器除去溶剂，接着将残渣溶解在水中或溶解在药用辅助剂(如缓冲液或等渗试剂)的水溶液中；或将游离胆烷酸悬

浮在水中并必要时外加药用辅助剂和/或水溶性活性物质,将磷脂和必要时的药用活性物质或化妆品分散在该悬浮液中并用碱(如碱金属氢氧化物)中和产物。

含有胆烷酸盐的混合胶束是优选的。

根据本发明混合胶束所考虑的胆烷酸盐的实例为碱金属盐如胆酸、甘氨酸、牛磺胆酸、脱氧胆酸、甘氨酸或牛磺脱氧胆酸、鹅脱氧胆酸以及甘氨酸或牛磺鹅脱氧胆酸的钠盐。甘氨酸钠是优选的。磷脂:胆烷酸盐的摩尔比约为0.1:1至2:1,优选0.8:1至1.5:1。但是,胆烷酸盐的浓度总应高于具体的胆烷酸盐的临界胶束形成浓度(CMC)

由1,2-二(10-甲基十九烷酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸及甘胆酸钠形成的混合胶束是特别优选的。

根据需要,根据本发明的混合胶束可含用于非肠道给药、局部给药或口服给药的药用活性物质,特别是不溶于水或难溶于水的活性物质,或含化妆品以及各种辅助剂:如缓冲液(磷酸盐、柠檬酸盐或三羟甲基氨基甲烷缓冲液)、或等渗试剂(如氯化钠、甘露糖醇、山梨醇或葡萄糖),或防腐剂(如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯、苯甲醇或苯酚)。能存在于本发明混合胶束中的药用活性物质的实例有视黄素类化合物(如所有反式、13-顺式和9-顺式视黄酸及包括它们的芳香化合物的衍生物(如阿维A酯),维生素K、维生素D及它们的衍生物,含过氧化物的活性的物质(如青蒿素、arteferene及苯甲酰过氧化物);水溶性的低分子及高分子活性物质如嘧啶类似物(5-氟尿嘧啶);肝素及蛋白质。这类蛋白质的实例有干扰素(IFN)(如IFN- α , IFN- β , IFN- γ);混杂干扰素;介白细胞素(IL)(如IL-1(ETAf, LAF)、IL-2(TCGF)、IL-3(multi-CSF, MCGF)、IL-4(BSF-1, BCGF-2)、IL

—5 (TRF、BCGF—11)、IL—7 (淋巴细胞生成素 1); 淋巴细胞毒素 (TNF— β); 巨噬细胞抑制因子 (MIF); 胸腺生成素 (TPO); 转化生长因子— α (TGF— α); 转化生长因子— β (TGF— β); 肿瘤坏死因子 (TNF— α 、Cachectin DIF); uromodulin (Tamm—Horsfall 蛋白质); 神经白细胞素; CD4); 粒性细胞菌落刺激因子 (G—CSF), 粒性细胞巨噬细胞菌落刺激因子 (GM—CSF、CSF—2), 巨噬细胞菌落刺激因子 (CSF—1, M—CSF); 抗体或抗体—药物结合, 杂化蛋白质 (如 IL—2 白喉毒素及制备抗艾滋病毒、抗疟疾、抗肝炎、抗疱疹、抗流行性感冒、抗脊髓灰质炎以及抗其它传染疾病疫苗的蛋白质)。

能存在于本发明混合胶束中的化妆品实例为维生素 E、泛酰醇及保湿剂 (如乳酸、吡咯烷酮羧酸及它们的盐)。

根据本发明的混合胶束可存在于水溶液中或可存在于有机—水溶液中或以这类溶液的冷冻干燥物存在。混合胶束在水溶液中的浓度可高达约 200mg 磷脂/ml。该混合胶束溶液可含药用活性物质或化妆品的优选量至多约 20mg/ml。

具有支链脂肪酸残基的磷脂是众所周知的。它们存在于如母乳中及皮肤脂质中。它们的制备方法正如下文或类似文献中所述的, 用相应的带支链饱和脂肪酸与甘油进行部分酯化而得到二酸酯, 然后对二酸酯进行磷酸化再与适当的胆碱盐 (如甲苯磺酸胆碱) 发生反应。

用下列实施例对本发明作更详细的说明。

实施例 1

1,2—二(10—甲基十九烷酰)—sn—甘油基—3—胆碱磷酸的制备:

a) 向 90.2g 10-甲基十九烷酸(70%)和 21.0g(R)-苄氧基-1,2-丙二醇在 2 升二氯甲烷中的溶液中加入 59.8g 二环己基碳化二亚胺及 35.4g 4-二甲氨基吡啶。然后,在室温下搅拌该混合物 24 小时。过滤析出的脲,用正己烷漂洗三次,每次 200ml 正己烷,合并滤液并于 35℃及水喷射泵真空条件下浓缩。粗产品用 500ml 正己烷处理,边搅拌边温热至 40℃,其后在搅拌下冷却至 0—5℃。将析出的脲用 250ml 正己烷漂洗,滤液在 35℃及水喷射泵真空度下蒸发。将残留物溶解在 210ml 正己烷中并用约 23 升正己烷/乙酸乙酯(95:5),以 2.5 千克硅胶(10.5 升正己烷中)进行色层分离。合并含产物的馏分、浓缩,并溶解在 100ml 甲苯中,用 4 千克硅胶色层分离提纯,首先用约 35 升甲苯、然后用约 15 升正己烷/乙酸乙酯(95:5)洗提。合并按色层分离相同的馏分并在 40℃及水喷射泵真空条件下在旋转蒸发器中浓缩。

b) 由(a)所得的 56.5g 二酯溶解在 2 升乙酸乙酯中,在室温下用 5.6g 5%钼/碳进行处理、过夜。反应混合物在 300g 硫酸钠上过滤,用 1.5 升乙酸乙酯漂洗。合并的乙酸乙酯相于 40℃在水喷射泵真空条件下浓缩,得到淡黄色油状物。

c) 在氩气氛下,于室温、边搅拌边将由 b) 所得的 20g 油状物溶解在 280ml 氯仿中。接着,在室温下边搅拌边加入 4ml(43.6mmol)磷酸氯,2 分钟后加入 5.2ml(43.6mmol)喹啉。反应混合物在 30℃搅拌 2 小时,然后冷却到室温,接着先用 17.8g 喹啉甲苯磷酸盐、再用 16.8ml 吡啶处理。在室温下搅拌反应混合物过夜(16—18 小时)。然后在搅拌下于 5 分钟内向反应混合物滴加 44ml 去离子水,接着用 11.5g 碳酸氢钠处理反应混合物并搅拌 30 分钟。用 250ml 氯仿和 100ml 甲

醇处理反应混合物并猛烈摇动,分离出有机相,连续地用 260ml 去离子水/甲醇(8:5),290ml 1N 盐酸/甲醇(16:13),320ml 去离子水/甲醇(1:1)及 320ml 去离子水/甲醇(1:1)洗涤。水相逐次用 100ml 氯仿回洗。合并的氯仿相在硫酸钠上干燥,并在 40℃水喷射泵真空条件下浓缩。油状残留物吸收在 300ml 甲醇中,在 30—35℃搅拌 10 分钟,然后冷却至 0℃并在该温度下搅拌 1 小时。在冰浴中放置 20 分钟后,分离出沉积的油状物。将澄清的滤液冷却至 -5℃并在此温度下放置 10 分钟,再分离出沉积的油状物。上层清液于 40℃在水喷射泵真空条件下浓缩。残留物溶解于 100ml 二乙基醚中并在搅拌下用 150ml 丙酮处理,在 35℃除去醚,油相用 130ml 二乙基醚溶解并用 120ml 丙酮处理。在 35℃除去醚后,残留物用 50ml 丙酮处理,冷却至 18℃滗去丙酮。由此得到的油状 1,2-二(10-甲基十九烷酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷脂,于室温在 1mbar 真空条件下干燥。

实施例 2

混合胶束溶液的制备:

由含 20ml 0.1M 1,2-二(10-甲基十九烷酰)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸的二氯甲烷溶液与 20ml 0.1M 甘胆酸钠的甲醇溶液的原料液,经蒸发溶剂,用 2ml 软化水溶解留下的残留物(象一薄层)而制得混合胶束溶液。

实施例 3

包括下列组分的混合胶束溶液(常规的及根据本发明的)的制备:

	/01	/02	/03	/04	/05
9-顺式-视黄酸	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5 mg
乙醇 94% (w/w)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0 mg
甘氨酸	88.5	88.5	88.5	88.5	88.5 mg
异卵磷脂*	163	163			mg
大豆卵磷脂			152	152	152 mg
用 NaOH 调整	pH 6.0	pH 6.0	pH 6.0	pH 6.0	pH 6.0
苯甲醇	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0 mg
dl-α-维生素E	--	10.0	--	10.0	10.0 μg
抗坏血酸	--	50.0	--	--	50.0 μg
水	ad	1.0	1.0	1.0	1.0 ml

* 1, 2-二-(10-甲基十九烷硫)-sn-甘油基-3-胆碱磷酸

为了制备该溶液,乙醇和水是经脱气的,所有操作都在红光和氮气氛下进行。将水溶性赋形剂溶于水中并调整 PH 至 6.0,将 9-顺式-视黄酸和维生素 E 溶于乙醇中。向卵磷脂乙醇溶液添加水溶性物质溶液,并搅拌至形成清沏的溶液(18 小时)。然后添加 9-顺式-视黄酸乙醇溶液,并调整其体积。由此得到的混合胶束溶液装入带聚四氟乙烯塞子的烧瓶中并在 120℃ 灭菌 20 分钟。上列溶液在不同温度下储存三个月后,由表 1 可见,该溶液中 9-顺式-视黄酸的化学稳定性是明显的。结果表明,与常规溶液相对比本发明溶液中的 9-顺式-视黄酸没有发生氧化降解。根据本发明溶液中的 9-顺式-视黄酸经灭菌后的损失不是由于氧化降解造成的,而是由于异构化产生了异物体所致。

此外,可以表明,根据本发明的混合胶束(如实施例 3 所述的配方/02)在其溶血性活性及抗溶血性活性方面可比得上常规混合胶束(如实施例 3 中配方/05)。

表 1 混合胶束中9-顺式-视黄酸的化学稳定性

贮存时间 (月)		抗氧化剂处理	根据本发明的混合胶束			常规混合胶束		
			9-顺式-视黄酸 %	异构体 %	总计 %	9-顺式-视黄酸 %	异构体 %	总计 %
起始	未处理	--	99.4	3.33	102.73	87.6	0.48	88.08
	未处理	ster.	25.0	75.4	100.4	74.6	1.44	76.04
	toc. + asc.	--	99.2	3.6	102.8	94.0	0.50	94.5
	toc. + asc.	ster.	52.0	49.0	101	87.0	1.20	88.2
	toc.	--				95.0	0.06	95.06
	toc.	ster.				76.0	2.06	78.06
3 -20°C	未处理	--	95.4	3.4	98.8	84.0	0.70	84.7
	未处理	ster.						
	toc. + asc.	--	94.0	3.6	97.6	93.6	0.05	93.65
	toc. + asc.	ster.						
	toc.	--				86.6	0.60	87.2
	toc.	ster.						
3 5°C	未处理	--	95.0	4.2	99.2	68.6	0.90	69.5
	未处理	ster.	24.8	75.5	100.3	66.0	1.90	67.9
	toc. + asc.	--	94.4	4.2	98.6	91.6	0.06	91.66
	toc. + asc.	ster.	49.0	50.8	99.8	73.8	1.20	75
	toc.	--				82.0	0.50	82.5
	toc.	ster.				70.2	1.80	72

toc: 维生素 E
asc: 抗坏血酸
ster: 灭菌

3	25°C	未处理 未处理 toc. + asc. toc. + asc. toc. toc.	--	87.0	12.3	99.3	34.4	2.10	36.5
			ster.	24.4	75.3	99.7	55.8	1.90	57.7
				77.6	20.6	98.2	63.0	0.80	63.8
			ster.	46.8	52.6	99.4	47.9	1.20	49
			--				58.8	2.10	60.9
			ster.				67.2	2.10	69.3
3	40°C	未处理 未处理 toc. + asc. toc. + asc. toc. toc.	ster.	64.4	30.7	95.1	43.4	2.40	45.8
				22.4	75.3	97.7	58.6	2.10	60.7
			--	34.4	64.0	98.4	11.2	2.20	13.4
			ster.	30.0	68.1	98.1	16.2	2.60	18.8
			--				66.6	1.60	68.2
			ster.				73.8	2.00	75.8