

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO Conjugados PEG-lipido Poros

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL 51 A61 31/77(2006.1)
C08L 63/10(2006.01)

71. SOLICITANTE Keller, Brian, Charles

DOMICILIO 5058 Nortonville Way, Antioch, CA. [US]

74. APODERADO Diego Muñoz Marroquin

22. BOGOTÁ, D. C., Cra 5 No 66-17

PETITORIO

muñoz°abogados

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-181678- -00000-0000

Fecha: 2011-12-30 12:48:31

Trá. 11 PATENTE/II

Act. 411 PRESENTACION

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Eve: 379 FASENACIONALII

Folios: 135

Folios: 134

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

1. SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención☐ Patente de Modelo de Utilidad☐ Capítulo I☒ Capítulo I

2.

SOLICITANTE

Nombre: KELLER, Brian, Charles.

Dirección: 5058 Nortonville Way, Antioch, CA
94531 (US).

Teléfono: (+57-1) 7496888.

E-mail: info@munozab.com

Domicilio: [US]

Nombre: WU, Nian.

Dirección: 103 Sassafras Court, North
Brunswick, NJ 08902 (US).

Teléfono: (+57-1) 7496888.

E-mail: info@munozab.com

Domicilio: [US]

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT. ☐C.E. ☐ OTRO ☐

Número

3.

REPRESENTANTE
APODERADO

Nombre: DIEGO MUÑOZ MARROQUIN.

Dirección: Carrera 5 No 66 - 17

Teléfono: 7496888 Fax: 4818304

E-mail: info@munozab.com

Domicilio: Bogotá D.C. - Colombia

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT. ☐C.E. ☐ OTRO ☐Número 7688292T.P. 134000 C.S.J.

4.

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: KELLER, Brian, Charles .

Dirección: 5058 Nortonville Way, Antioch, CA
94531 (US).

Nacionalidad: Estadounidense.

Nombre: WU, Nian.

Dirección: 103 Sassafras Court, North
Brunswick, NJ 08902 (US).

Nacionalidad: No se menciona.

Domicilio: Estados Unidos de Norteamérica
(Ambos).

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT. ☐C.E. ☐ OTRO ☐

Número

5.

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2010/001590.Fecha: 01.06.2010.Publicación Internacional No. WO/2010/141069 A2.Fecha: 09.12.2010.TITULO (54): CONJUGADOS PEG-LIPIDO PUROS.

7. CLASIFICACION INTERNACIONAL (51): <u>A61K 31/77 (2006.1)</u> <u>C08L 63/10 (2006.01)</u>			
8. Prioridad SI x NO ☐	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	<u>Estados Unidos de Norteamérica</u>	<u>02.06.2009</u> <u>12.12.2009</u>	<u>US 61/217,627</u> <u>US 61/284,065</u>
9. Comprobante de pago No _____ Fecha _____			

10. ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredita la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☒ Resumen
- ☒ Descripción de la invención
- ☒ Una o más reivindicaciones
- ☒ Dibujos y/o planos necesarios
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros

11.

FIGURA CARACTERÍSTICA

12. Solicito la concesión de la patente

Nombre DIEGO MUÑOZ MARROQUIN.

Firma _____

C.C. No. 7.688.292 de Neiva.

T.P. No. 134.000 del C. S. De la J.

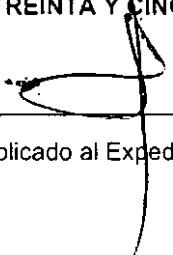
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 127244
		Bogotá D.C., Diciembre 29 de 2011 - 15:25:46

RECIBIDO DE : MOÑOZ ABOGADOS COMPAÑIA LIMITADA IURIS MARK LTDA					NI 830.090.578
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	408677076	29/12/2011	6.000.000.00

*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO	
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	135.000.00	135.000.00	
					\$135.000.00
=====					

SON: **CIENTO TREINTA Y CINCO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-181678-00000-0000

Fecha: 2011-12-30 12:48:31	Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII	Eve: 379 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION	Folios: 135
Act. 411 PRESENTACION	Folios: 134

8.51012
T. 11-181678-00000-0000

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-181678-00000-0000

Fecha: 2011-12-30 12:48:31 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 135

Act. 411 PRESENTACION Folios: 134

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

MIT : 800174088-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 97,470
FECHA : NOVIEMBRE 18 DE 2010

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
IND. MILITAR	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	46097226	12/11/2010	706,000.00
IND. MILITAR	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	46087230	12/11/2010	706,000.00
IND. MILITAR	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	46097322	12/11/2010	706,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	3 PROC. REGISTRO DE MARCAS Y LEHAS	706,000.00
	TOTAL :	\$ 706,000.00

SON: SETECIENTOS SEIS MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

MUÑOZ ABOGADOS & COMPAÑÍA LIMITADA
IURIS MARK LTDA.

Yo, el abajo firmante, IVANA BETINA LAURITSEN, domiciliada en Santiago del Estero 345, Piso 6, Buenos Aires, Argentina, apoderada de Nian Wu, domiciliado en 103 Sassafras Court North Brunswick, NJ 08902, USA y de Brian Charles Keller, domiciliado en 5058 Nortonville Way Antioch, CA 94531, USA

Nombro por el presente a los Drs. **ANDRES LEONARDO MONTEALEGRE, YIO DIEGO MUÑOZ MARROQUÍN YIO EDUARDO YEPES**, apoderados verdaderos, y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las respectivas oficinas y autoridades Colombianas y del mundo la obtención de registros sanitarios, patentes de invención, certificados de obtentor de variedades vegetales, modelos y dibujos industriales, y vigencias de patentes, registros de marcas de fábricas, marcas de servicios, nombres comerciales, nombres de dominio derecho de autor y sus renovaciones, cancelaciones de registros de licencias de uso, y otros a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones y reclamos; formular descripciones, enmiendas, oposiciones y apelaciones; desistir; abonar todos los impuestos y cuotas efectuar todos los otros pagos determinados por la Ley; recibir todos los documentos y valores dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar en fin todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición pasando los antecedentes a los Tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandante o demandados ante los Jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros desistir, percibir, apelar y todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno todo cuanto dichos apoderados hicieron en beneficio, dándoles así mismo facultad para sustituir el presente si lo juzgaren conveniente y en caso necesario revocar dichas substituciones.

Asimismo el compareciente manifiesta que al no cumplir el instrumento con las formas exigidas por las leyes vigentes en la República Argentina, su validez debe juzgarse con sujeción a las normas del estado donde ha de ejercerse, conforme voluntad del otorgante y lo dispuesto en el art. 2° de la Convención Interamericana sobre régimen legal de poderes para ser utilizado en el extranjero suscripta en Panamá 30/11/1975.-
Para ser utilizado en el país de Colombia.-

Dado y firmado el 14 de Septiembre de 2011 en la Ciudad de Buenos Aires, Argentina

Por: IVANA BETINA LAURITSEN
Identificación Documento Nacional de Identidad 23.377.878
Cargo: APODERADA
Representada(o): de Nian Wu y Brian Charles Keller



X *[Signature]*

Firmas certificadas en folio
de actuación F001520927.-

As. 15 / 09 / 2011.-

[Signature]

[Signature]

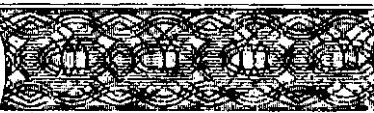
CECBA - LEY 404 GCBA

LEGALIZACION
110915 498278



10:38:37

15/09/2011



ITO BORRELLI
3ANA
Nº 4760

ANEXO

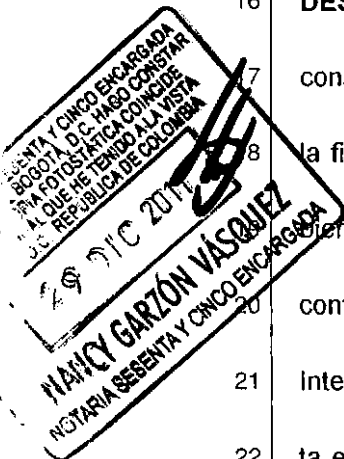
F 001520927

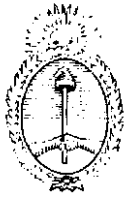
Buenos Aires, 15 de Septiembre de 2011. En mi carácter de escribano
Interinamente a cargo del Registro Notarial 1122 de la Ciudad de Buenos Aires.- -

CERTIFICO: Que la/s Firma. ----- que obra/n en el
documento que adjunto a esta foja, cuyo requerimiento de certificación se
formaliza simultáneamente por ACTA número 094.----- del LIBRO
número OCHO (8).-----, es/son puesta/s en mi presencia por la/s persona/s
cuyo/s nombre/s y documento/s de identidad se menciona/n a continuación así como
la justificación de su identidad. -----

Ivana Betina LAURITSEN, Documento Nacional de Identidad 23.377.878, quien declara
actuar como **APODERADA** de: **1) Nian WU** (domiciliado en 103 Sassafras Court, North
Brunswick, NJ 08902, EEUU); **2) Brian Charles KELLER** (domiciliado en 5058 Nortonville
Way, Antioch, CA 94531, EEUU).- La compareciente declara bajo juramento la plena vi-
gencia de las representaciones invocada.- **CONSTANCIAS NOTARIALES:** En mi calidad
de certificante hago constar: **I.- ACREDITACIÓN DE LA IDENTIDAD:** Que identifico a la
firmante por conocerla en los términos del inciso a) del artículo 1002 del Código Civil.- **II.-**

DESCRIPCIÓN DEL INSTRUMENTO: Que el instrumento en el que estampa su firma
consiste en Carta Poder, la cual consta de una foja.- El instrumento en el que se estampa
la firma no cumple con las formas exigidas por las leyes de la República Argentina, de-
biendo juzgarse su validez con sujeción a las normas del estado donde han de ejercerse,
conforme voluntad de la aquí firmante y lo dispuesto en el artículo 2° de la Convención
Interamericana sobre régimen legal de poderes para ser utilizados en el extranjero suscrip-
ta en Panamá el 30 de enero de 1975.- **III.- REPRESENTACIÓN DE LA APODERADA:**
Que la firmante acredita la representación invocada con **(1) Carta Poder** conferida por Nian
Wu que contiene facultades suficientes para este otorgamiento y que le fuera conferida en
Nueva Jersey, Estados Unidos de América, con fecha 22 de julio de 2011, certificada por





F 001520927

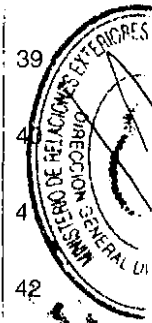
el Notario Público del Estado de Nueva Jersey, Estados Unidos de América, Thomas S
Nam, cuyo original me exhibe debidamente legalizado.- (2) Carta Poder conferida por
Brian Charles Keller que contiene facultades suficientes para este otorgamiento y que le
fuera conferida en el Condado de Contra Costa, Estado de California, Estados Unidos de
América, con fecha 22 de julio de 2011, certificada por el Notario Público del Estado de
California, Estados Unidos de América, Marvin Everhardt, cuyo original me exhibe debi-
damente legalizado.-

[Handwritten signature]
[Handwritten signature]

DOLORES DEVOTO BORRELLI
ESCRIBANA
MATRICULA Nº 4760



26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50





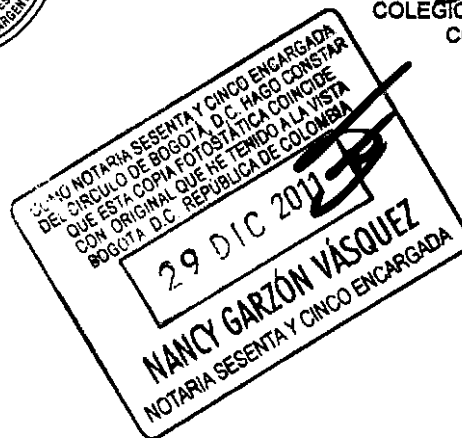
L 010367231

EL COLEGIO DE ESCRIBANOS de la Ciudad de Buenos Aires, Capital Federal de la República Argentina, en virtud de las facultades que le confiere la ley orgánica vigente, LEGALIZA la firma y sello del escribano DOLORES DEVOTO BORRELLI obrantes en el documento anexo, presentado en el día de la fecha bajo el N° 110915498278/4 La presente legalización no juzga sobre el contenido y forma del documento.

Buenos Aires, Jueves 15 de Septiembre de 2011



ESC. TOMAS PAMPLIEGA
COLEGIO DE ESCRIBANOS
CONSEJERO



APOSTILLE
(Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

- ## 10. Firma

JULIO MARTIN MUJICA
Unidad de Coordinación Legalizaciones
Ministerio de Relaciones Exteriores
Comercio Internacional y Culto

Tipo de Documento: CERTIFICACION DE FIRMA
Titular del Documento: IVANA BETINA LAURITSEN

LA PRESENTE FOLIAZACIÓN TIENE
COMO UNICO EFECTO AUTENTICAR
LA FIRMA Y CARÁCTER DEL OTORGANTE.
Y JUZGAR EL CONTENIDO DEL DOCUMENTO

[illegible]

ST. JOS CO
0177

COMO NOTARIA SESENTA Y CINCO ENCARGADA
DEL CIRCULO DE BOGOTA, D.C. HAGO CONSTAR
QUE ESTA COPIA FOTOSTATICA COINCIDE
CON ORIGINAL QUE SE TENDIO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

29 DIC 2011

NANCY GARZÓN VÁSQUEZ
NOTARIA SESENTA Y CINCO ENCARGADA

2011178181

F14636D3E147BBA895FC4ECEC37D5BA6

CONJUGADOS PEG-LÍPIDO PUROS

[001] CAMPO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención se relaciona con la síntesis de polietilenglicol (PEG)-lípidos conjugados. Más particularmente, la invención se relaciona con un método conveniente y económico de síntesis, y composiciones para preparar conjugados PEG-lípido con cadenas PEG sustancialmente mono dispersas.

10 RECLAMÓ DE PRIORIDAD

- [002] Esta solicitud reclama la prioridad de la solicitud de patente provisional de estados unidos No. 61/217, 627 titulada "CONJUGADOS PEG-LÍPIDO PUROS" y le presentada el 2 de junio del 2009, y a la solicitud de patente provisional estadounidense número 61/284. 065 "CONJUGADOS
- 15 PUROS PEG-LÍPIDO. Y presentada el 12 de diciembre del 2009.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- [003] Cuando se utiliza como un vehículo de liberación, los conjugados PEG-lípidos tienen la
- 20 capacidad de mejorar el perfil farmacológico y la solubilidad de fármacos lipofílicos. Estos también proveen otras ventajas potenciales como efectos colaterales mínimos asociados con los tratamientos terapéuticos.

- [004] La distribución estrecha de pesos moleculares de los polímeros libertadores de fármacos es
- 25 crucialmente importante para aplicaciones biomédicas, específicamente si es usado en inyecciones intravenosas. Por ejemplo, los glicéridos caprílico/cáprico PEG-8 son mezclas de

monoésteres, diésteres, y triésteres de glicerol y monoésteres y diésteres de polietilenglicoles con un peso molecular relativo medio entre 200 y 400. Debido parcialmente a las reacciones observadas en animales, la aplicación de PEG-8 CCG para muchos fármacos insolubles en agua fue restringida y fue publicado un límite de dosis de aproximadamente seis por ciento de PEG-8 CCG para formulaciones de fármacos orales humanos.

[005] Con las cadenas de PEG producidas a partir de polimerización de radicales libres, la distribución de los pesos moleculares no están controlados estrechamente para cadenas que tiene un peso molecular entre alrededor de 200 y 1200 daltons y más. Típicamente, mucho menos que se 50% de los polímeros para en un bache tiene exactamente el peso molecular objetivo. Una distribución más estrecha puede ser lograda con cromatografía de exclusión de tamaño, la cual puede resultar en que la mayoría de los polímeros PEG tengan un peso molecular objetivo. Sin embargo esto es extremadamente difícil de lograr a mono distribución de PEG's purificados.

15

[006] Las cadenas de PEG altamente puras, con hasta alrededor de doce subunidades están disponibles comercialmente. Sin embargo, estos PEG's son extremadamente caros y requieren pasos adicionales de síntesis para incorporarles formulaciones cosméticas y/o farmacéuticas.

20 BREVE DESCRIPCIÓN DEL INVENTO

[007] Se divulga la síntesis de conjugados de polietilenglicol-lípido. Tal síntesis incorpora pasos de adición de pequeños oligómeros de PEG a una columna vertebral de glicerol hasta alcanzar el tamaño deseado en la cadena. Los polímeros resultantes de la síntesis están altamente mono-dispersos. La presente invención proporciona muchas ventajas tales como síntesis simplificada,

25

alto rendimiento, y bajo costo de los materiales de arranque. El presente método de síntesis es deseable para preparar un amplio rango de conjugados.

[008] Por otro lado, la invención comprende conjugados PEG-lípido con una columna vertebral de glicerol, covalentemente unida a una o dos cadenas PEG a mono-dispersas y uno o dos lípidos. Estos conjugados son especialmente útiles para formulaciones farmacéuticas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

10 [009] La figura 1 describe un cromatograma LC-MS de 1,2-dioleoil-rac-3-monometóxidodecaetilen glicol (mPEG-12)-glicerol.

[010] La figura 2 describe un perfil PK mouse de soluciones de itraconazol IV.

La figura 3 describe un perfil PK mouse de soluciones de itraconazol oral.

15

LISTA DE ABREVIACIONES

[011] la presente invención aquí divulgada usa la siguiente nomenclatura química:

DAG-PEG: diacilglicerol-polietilenglicoles

20 DMAP: N, N-dimetil-amino piridina

mPEG: monometox polietilenglicol éter

PEG 12: polietilenglicoles 600

PEG 23: polietilenglicoles 1000

PEG 27: polietilenglicoles 1200

25 GDM-12: 1,2-dimiristoil-rac-glicerol-3-dodecaetilenglicol

- GDO-12: 1,2-dioleoil-rac-glicerol-3-dodecaetilenglicol
- GDC-12: 1,2-dicoloil-rac-glicerol-3-dodecaetilenglicol
- GDM-600: GDO-600: 1,3-dioleoil-glicerol-2-dodecaetilenglicol
- GDC-600: 1,3-dicoloil- glicerol-2-dodecaetilenglicol
- 5 GDS-12: 1,2-distearoil-rac-glicerol-3-dodecaetilenglicol
- GOB-12: 1,2-bis(dodecaetilenglicol)glicerol-3-oleate
- GMB-12: 1,2-bis(dodecaetilenglicol)glicerol-3-miristato
- DSB-12: 1,2-bis(dodecaetilenglicol)glicerol-3-estearato
- GOBH: 1,2-bis(hexaetilenglicol) glicerol-3-oleato
- 10 GMBH: 1,2-bis(hexaetilenglicol) glicerol-3-miristate
- GCBH: 1,2-bis(hexaetilenglicol) glicerol 3-colato
- GCLBH: 1,2-bis(hexaetilenglicol) glicerol 3-colesterol
- GPBH: 1,2-bis(hexaetilenglicol) glicerol -3-palmitato
- GDO-23: 1,2-dioleoil-rac-glicerol-3-polietilen (1000) glicol , n = 23
- 15 GDO-27: 1,2- dioleoil-rac-glicerol-3-polietilen (1200) glicol , n = 27
- GDM-23: 1,2-dimiristoil-rac-glicerol-3- polietilen (1000) glicol, n = 23
- GDM-27: 1,2-dimiristoil-rac-glicerol-3- polietilen (1200) glicol, n = 27
- GDS-23: 1,2-distearoil-rac-glicerol-3- polietilen (1000) glicol, n = 23
- TPGS-VE: d-alpha-tocoferil polietilenglicol-1000 succinato
- 20 GDO-X-PEG 12: 1,2-dioleoil-rac-glicerol-3-X-dodecaetilenglicol ("X" representa una unión/espaciador, i.e., tiol, el cual puede ser encontrada en la tabla 3)
- Ciclosporine: Ciclo[[[(E)-(2S,3R,4R)-3-hidroxi-4-metil-2-(metilamino)-6-octenoil] -L-2-aminobutiril-N-metilglicil-N-metil-L-leucil-L-valil-N-metil-L-leucil-L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-leucil-Nmetil-L-valil]
- 25 POPC: palmitoil-oleail fosfatidilcolina

DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL INVENTO

[012] Las modalidades de la presente invención están descritas aquí en el contexto de métodos de síntesis, intermediarios, y compuestos relacionados a la preparación de conjugados PEG-LÍPIDO con pesos moleculares definidos estrechamente. Aquellos técnicos con conocimientos medios en la materia pueden darse cuenta que la siguiente descripción detallada de la presente invención es ilustrativa solamente y no intenta de ninguna manera limitar. Otras modalidades de la presente invención pueden ser sugeridas por estos a aquellas personas con conocimientos medios en la materia, teniendo por ello el beneficio de la presente divulgación. Ahora se va a referenciar en detalle la implementación de la presente invención.

[013] Con fines de claridad, no todas las características de las rutinas de la implementación descrita aquí no son mostradas ni descritas. Podrá ser apreciado por supuesto que cualquiera de tales implementaciones actuales, numerosas decisiones de implementaciones específicas pueden ser realizadas a fin de lograr los objetivos específicos del investigador, tales como conformidad con las aplicaciones y restricciones relacionadas con los negocios, y que sus objetivos específicos variarán de una a otra implementación y de un desarrollador a otro. Además, podrá ser apreciado que un esfuerzo en tales desarrollos puede ser complejo y consumidor de tiempo, pero nunca sería una rutina industrial para aquellos técnicos con conocimientos medios en la materia con los beneficios de esta divulgación.

[014] Cuando se emplean conjugados PEG-LÍPIDO como vehículos dispensadores de fármacos, se hace enormemente necesario usar conjugados bien caracterizados y altamente puros. Por ejemplo, la patente estadounidense número 6. 610. 322, la cual es incorporada aquí como referencia, enseñar que variando la longitud del PEG y las cadenas acil afectan los parámetros

de empaquetado de los conjugados que a su vez determinan si las composiciones de conjugados PEG-Lípido forman o no liposomas. Adicionalmente para afectar sus la estructura física de las composiciones farmacéuticas, la elección del tamaño de los lípidos y el PEG puede tener efectos significativos en la farmacocinética y estabilidad cuando se formulen los compuestos farmacéuticos específicos con los conjugados PEG-lípido. Por lo tanto, lotes uniformes de conjugados con cadenas de PEG monodispersas de un tamaño específico es son a menudo altamente preferidas sobre lotes que tienen un rango de longitudes de PEG.

[015] La presente invención provee conjugados PEG-lípido de alta pureza con cadenas PEG monodispersas, y compuestos y métodos para la síntesis de estos conjugados PEG-Lípido partiendo de oligómeros PEG de peso molecular entre alrededor de 110 y alrededor de 300 daltons. La presente invención también prevé métodos para la preparación de conjugados PEG-Lípido incluyendo varios lípidos tales como ácidos grasos saturados e insaturados o ácidos biliares. Tales conjugados PEG Lípido pueden ser usados para la liberación de fármacos, especialmente para administración intravenosa de agentes pocos solubles en agua.

[016] Generalmente, la invención incluye composiciones y métodos para sintetizar conjugados PEG-Lípido comprendiendo una columna vertebral de glicerol con una o dos cadenas de PEG monodispersas y uno o dos grupos de lípidos PEGados a la columna vertebral. Los grupos espaciadores o de unión pueden ser incluidos entre la columna vertebral y las cadenas PEG y/o grupos de lípidos.

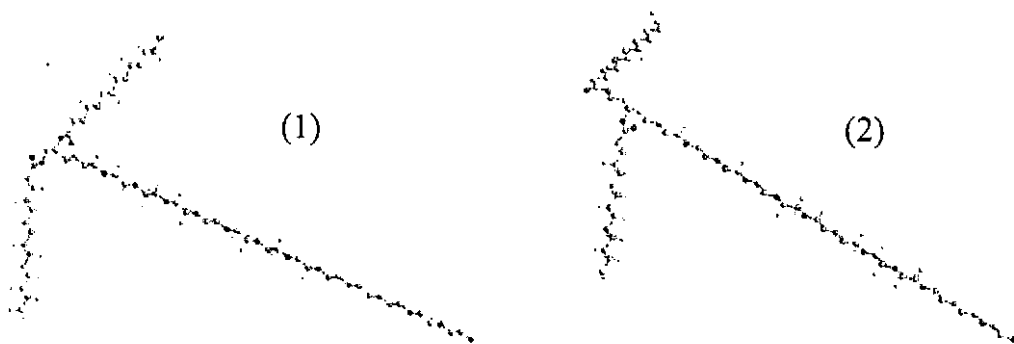
[017] Las variaciones de la invención incluye columnas vertebrales de glicerol con dos lípidos y una cadena PEG monodispersa (ambos isómeros), columna vertebral de glicerol con un lípido y dos cadenas PEG monodispersas (ambos isómeros), y columnas de glicerol con un lípido y una

cadena monodispersa de PEG (todos isómeros) donde la tercera posición en la columna vertebral pueden consistir en varios compuestos o fracciones.

[018] adicionalmente, la invención provee métodos para hacer isómeros 1,2 ó 1,3 glicerol, puros.

- 5 El comercialmente disponible lípido diéster 1,2 glicerol puede ser usado para formular muchos compuestos por medio de unir nuevas porciones a la posición disponible en la columna vertebral del glicerol. Sin embargo, ocurren transformaciones de posición durante almacenamiento de estos diésteres 1,2 glicerol resultando en la formación del isómero se más estables 1,3 glicerol, el cual puede estar presente en fracciones tan grandes como alrededor del 30%. La presente
- 10 invención es la única posibilidad para producir y mantener la pureza de los enantiómeros 1,2 ó 1,3 glicerol. Mientras los isómero 1,2 ó 1,3 puede algunas veces ser funcionalmente equivalente, la elección del isómero puede tener implicaciones en una gran variedad de procesos de liberación tales como transporte intracelular de moléculas lipofílicas así como su uso como vehículos en aplicaciones farmacéuticas. Por ejemplo, los isómeros pueden diferir en habilidad
- 15 para estabilizar un compuesto durante su disolución y almacenamiento.

La estructura química 1 ilustra la diferencia en la conformación estérica de dos de tales isómeros.



Estructura química 1: dibujos 3D de 1 (1) 1,2-dimiristoil-glicerol-3-dodecaetilenglicol y (2) 1,3

20 dimiristoil-glicerol-3-dodecaetilenglicol.

[019] Los conjugados que tienen cadenas PEG monodispersa hasta de 1200 altos son útiles para varias aplicaciones de liberación de fármacos. Los conjugados donde las cadenas PEG miden entre alrededor de 300 y 600 daltons son especialmente útiles para formular formas de dosificación líquida tales como soluciones para inyección intravenosa o para ingestión oral. Los

5 conjugados donde las cadenas PEG miden alrededor de entre 600 y 1200 daltons son especialmente útiles para formas de dosificación sólidas tales como cápsulas. Una combinación de estas es útil para hacer una forma de dosificación sólida para agentes pobremente solubles agua en los cuales una forma líquida de los conjugados arriba citados, generalmente con cadenas PEG entre alrededor de 300 a 600 Daltons, es usada como un solvente y la forma sólida

10 de los conjugados ya citados, típicamente con cadenas PEG entre alrededor de 600 a 1200 daltons, es usada como un solidificante.

[020] La presente invención incluye proveer métodos de síntesis convenientes y económicos para preparar conjugados PEG-lípido monodispersos y proveer varios grupos de unión lineales para

15 conjugar un lípido a un polímero. La presente invención provee varias ventajas tales como una síntesis simplificada, gran rendimiento del producto y bajo costo de los materiales de arranque puesto que los oligómeros PEG disponibles comercialmente son extremadamente caros, hacerlos significa un costo prohibitivo para producción a gran escala de conjugados PEG lípido similares. Además, el presente método de síntesis es preferible para preparar un amplio rango de

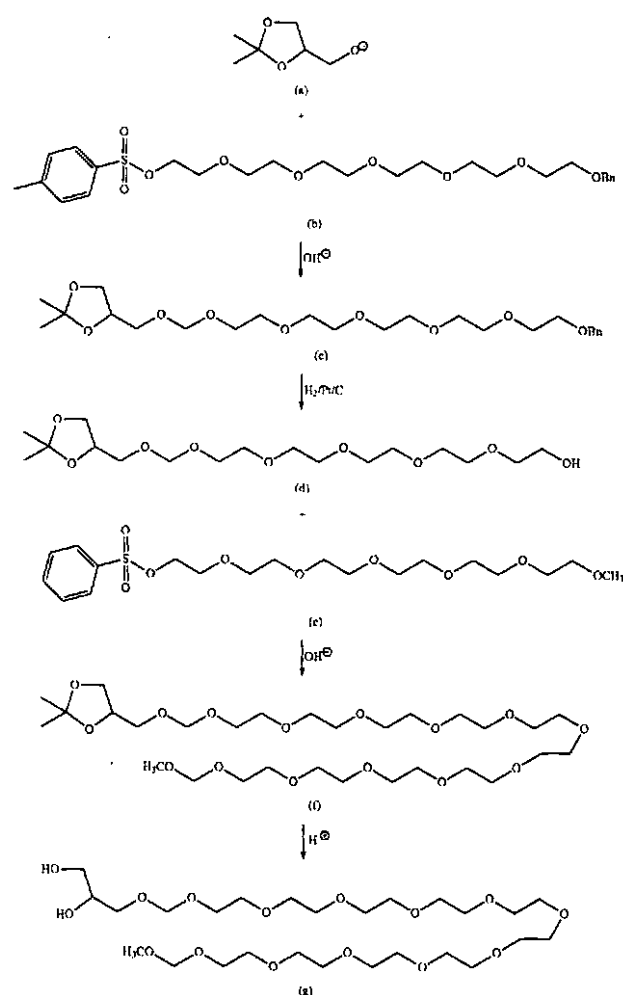
20 conjugados PEG-espaciador-lípido.

[021] La síntesis de cadenas PEG monodispersas incluye al comienzo, unir una cadena corta de PEG (con 1 a 6 subunidades) a una columna vertebral de glicerol protegida. La cadena PEG es llevada a una longitud específica por eterificación. Un ejemplo está mostrado en el Esquema de

25 Reacción 1.

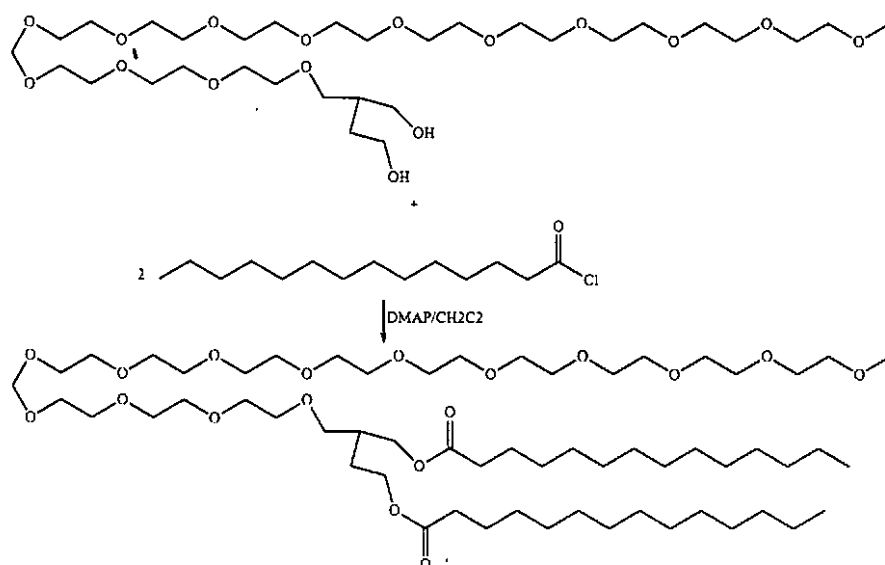
15

Esquema de reacción 1: síntesis de 3-monometoxidodecaetilenglicol (mPEG-12)-glicerol.



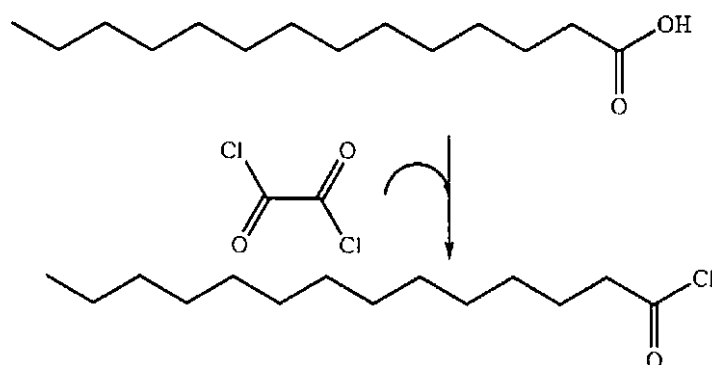
- [022] En el esquema de reacción uno un primer reactivo oligómero PEG (b) es preparado protegiendo (por ejemplo, por benceno) un primer término de un oligómero PEG y creando un
- 5 segundo término reactivo (por ejemplo, por un grupo tosil como se muestra). El primer oligómero reactivo es entonces combinado con un glicerol que tiene dos grupos -OH protegidos (a). El grupo protector en el glicerol es seleccionado para ser estable bajo condiciones que remueve el grupo protegido en el primer término del primer oligómero reactivo. En segundo término reactivo
- 10 del oligómero se une con él -OH libre del glicerol para formar un intermediario glicerol-oligómero

- (c). El grupo protector en la primera terminal de la porción del oligómero del intermediario es entonces removido para exponer un grupo -OH reactivo (d). Un segundo oligómero PEG reactivo (e) es adicionado al intermediario para formar una cadena PEG extendida unida a la columna vertebral del glicerol (f). En el esquema de reacción 1, el segundo oligómero PEG reactivó está
- 5 protegido en su terminal primera por un grupo metil terminal, porque se desea una cadena PEG de 12 subunidades. Si se desean cadenas más largas, el grupo protector en el segundo reactivo oligómero PEG es seleccionado de manera que pueda fácilmente ser removido para extensiones adicionales de la cadena PEG, por ejemplo usando (b) otra vez como el segundo oligómero. Una vez que se logró la longitud deseada de la cadena, los grupos protegidos de la columna vertebral
- 10 de glicerol son removidos para formar el producto (g). El producto (g) que tiene una cadena PEG monodispersa, puede entonces ser reaccionada adicionalmente para añadir los lípidos deseados en la columna vertebral de glicerol. Similarmente la síntesis puede empezar con una cadena PEG corta o preparar el hexaetilenglicol a partir de la eterificación de dos trietilenglicoles o entre un trietilenglicol y un monometoxi trietilenglicol. En esta ruta, se incluirán dos pasos más en la
- 15 síntesis.
- [023] En el esquema de reacción 1, la remoción de los grupos protectores bencil para exponer un grupo hidroxil libre puede ser lograda por cualquier reactante adecuado. Por ejemplo, el grupo bencil puede ser removido por hidrogenación en presencia de un catalizador de paladio antes que la cadena PEG sea extendida por repetición del proceso de eterificación.
- 20
- [024] Siguiendo la síntesis de una cadena PEG en una columna vertebral de glicerol como fue ejemplificada en el esquema de reacción 1, el grupo protector es removido del glicerol, el cual resulta en dos grupos hidroxil libres. El grupo hidroxil libre puede ser reaccionado con un ácido graso en la presencia de N, N-dimetilamino piridina (DMAP) en un solvente inerte como mostrado
- 25 abajo en el esquema de reacción 2.



Esquema de reacción 2: Síntesis de 1,2- dimiristoil-rac-3-PEG 12-glicerol

- 5 [025] El esquema de reacción 3 describe una manera de la preparación de un lípido activado para ser usado en el esquema de reacción 2. En este método, el grupo carboxil de los ácidos grasos es activado con un agente de activación adecuado. Por ejemplo el cloruro oxalil puede ser usado como se muestra.



Esquema de reacción 3, Formación del Miristoil cloruro

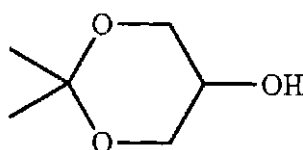
[026] Mientras a continuación se ilustra un método para sintetizar un conjugado PEG-lípido particular con una única cadena PEG monodispersa, la invención más ampliamente enseña métodos y materiales para hacer un rango amplio de conjugados PEG-lípido.

- 5 [027] El primer oligómero PEG reactivo comprende preferiblemente entre 3:07 unidades $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, y más preferiblemente tiene entre 4 y 7 unidades $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, sabiendo que el oligómero puede ser de cualquier longitud hasta 12 unidades. Oligómeros reactivos adicionales también preferiblemente comprenden entre 3:07 unidades $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, y más preferiblemente entre 4 y 7 unidades $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, siempre y cuando los oligómeros adicionales fueran de cualquier
- 10 longitud hasta un límite de 12 unidades.

- [028] Los conjugados PEG-lípido de la presente invención cada uno tiene uno o dos cadenas PEG monodispersas. Mientras no se nota de otra manera, más del 50 por ciento de las cadenas PEG en un conjugado particular tiene el mismo peso molecular. Más preferiblemente, más del 75
- 15 por ciento tiene el mismo peso molecular. Lo más preferiblemente es que más del 90 % tenga el mismo peso molecular. También mientras no se note de otra manera, preferiblemente las cadenas PEG están comprendidas de entre alrededor de 6 y 27 subunidades de polímero. Más preferiblemente las cadenas PEG están comprendidas entre alrededor de 7 y 27 su unidades de polímeros. Lo más preferiblemente es que las cadenas PEG estén comprendidas de entre
- 20 alrededor de 7 a 23 su unidades de polímeros.

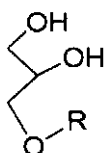
- [029] En el caso de la síntesis del 1,2-dimiristoil-rac-PEG 12-glicerol, el glicerol está protegido de manera que la cadena PEG está formada en la tercera posición. (Ver Esquema de Reacción uno, compuesto (a). Puede ser apreciado que empleando derivados de glicerol alternativos como
- 25 componente de arranque resultará en conjugados que tienen la cadena PEG en posición
- 20

diferente. Por ejemplo, protegiendo las posiciones uno y tres de glicerol resultará en una cadena PEG en la segunda posición (R). Un derivado de glicerol que puede ser usado para tal síntesis está mostrado en la Estructura Química 2.

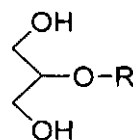


Estructura Química

[030] Si se desea un conjugado con dos cadenas PEG, pueden ser usados los derivados del glicerol como se muestra en la estructura química 3 o en la estructura química 4. En estas estructuras, R indicar un grupo protector que puede ser reemplazado más tarde, o un lípido acil que puede comprender la estructura final. Para estos conjugados, las cadenas PEG son crecidas en tándem y serán idénticas en longitud. Los conjugados teniendo dos cadenas PEG son particular en mente útiles en algunas circunstancias, de acuerdo a como los conjugados PEG están unidos.



Estructura química 3



Estructura química 4

[031] Podría ser deseable incorporar grupos enlazadores diferentes al oxil entre la columna vertebral del glicerol y la(s) cadena(s) PEG. Por ejemplo, una enlazador tiol se puede emplear para aplicaciones donde una unión lábil es útil. Otros enlazadores útiles están anotados en la tabla 3 y en otros lados de esta descripción. Para síntesis de conjugados que tengan enlazadores

- alternativos entre la columna vertebral y la cadena(s) PEG, el grupo enlazador es primero unido a una columna vertebral de glicerol protegida (por ejemplo la estructura química 3). Entonces el primer oligómero PEG reactivo es unido al extremo y libre del elemento de unión y el PEG es extendido tanto como se desee. Alternativamente, el primer oligómero PEG que activo puede ser unido al enlazador antes de unir el enlazador a la columna vertebral. En modalidades con enlazadores, los reactante es PEG preferidos tienen grupos funcionales hidroxil, amino, carboxil, isocianato, tiol, y carbonato. Los reactantes-PEG preferidos para ser usados en esta modalidad del método inventivo incluye PEG tosilato, PEG mesilato y succinil PEG.
- 10 [032] Podría ser también deseable incorporar el mismo grupo enlazador entre la columna vertebral de glicerol y el grupo lípido(s). Para obtener tales conjugados, el enlazador puede estar unido con el LÍPIDO antes de unirse a la columna vertebral, o el enlazador puede ser unido a la columna vertebral antes de unir el lípido.
- 15 [033] En los siguientes métodos describen el crecimiento de la cadena PEG en una columna vertebral que está protegida por un grupo de protección removible. Entonces, después de que el PEG estaba en su lugar, el grupo o grupos lípido son unidos a la columna vertebral. Sin embargo, es también posible usar uno o dos lípidos como un grupo o grupos protector en la columna vertebral antes de hacer crecer la cadena PEG. Este método alternativo es especialmente útiles con cadenas alquil que no tienen grupos reactivos que necesita ser protegido durante la unión y la extensión PEG. Es mucho menos útil cuando son deseados los conjugados ácidos esteroides, como los ácidos biliares tienden a tener muchos grupos laterales que crean salidas durante la extensión y la unión PEG.
- 20
- 25 [034] Mientras los método de síntesis descritos arriba son útiles para ser muchos compuestos

comprendidos en la invención, en algunos casos podría ser necesario o más conveniente emplear otros métodos. Por ejemplo, si es deseado un conjugado tiene un ácido biliar y dos cadenas PEG de 27 unidades, tal conjugado puede ser construido sintetizando las cadenas PEG monodispersas antes de unir todas a la columna vertebral de glicerol. Similarmente, es posible
5 hacer muchos de los compuestos de la invención incluyendo PEG más pequeños usando cadenas PEG sintetizadas antes de unir las a la columna vertebral del glicerol.

[035] La síntesis de otros compuestos de la invención pueden también requerir consideraciones especiales. Los conjugados que tienen enlazadores entre la columna vertebral y los grupos
10 acilos o PEG algunas veces también serán hechos construyendo las cadenas PEG monodispersas antes de unir las a la columna vertebral, dependiendo de consideraciones tales como la naturaleza de los ligandos en los enlazadores.

[036] Los conjugados de la invención incluye en aquellos con un único lípido y una única cadena
15 PEG monodispersa unida a una columna vertebral de glicerol, donde la tercera posición en la columna vertebral está ocupada por otra fracción elegida entre un grupo hidroxilo y un agente activo. Cabe señalar que, mientras transformación posicional ocurre, durante almacenamiento de 1,2 glycerol diesteres con grupos hidroxil los libres como se nota, la posibilidad de R arreglo será más pequeña para conjugados con un lípido simple y una cadena PEG monodispersa única
20 unida a una columna vertebral de glicerol con un grupo hidroxil libre sea la cadena PEG es más larga que alrededor de seis su unidades, puesto que se requiere gran cantidad de energía para mover una cadena PEG (a causa de que el estérico, el tamaño molecular y la polaridad difieren de la de un lípido). También, los isómeros 1,3 son generalmente más estables que los isómeros 1,2.

25 [037] Siguiendo los principios descritos arriba, pueden ser sintetizados una gran variedad de

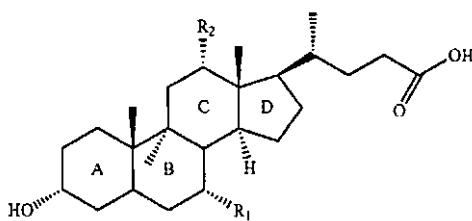
conjugados PEG-lípido teniendo una o más cadenas PEG monodispersas. Una gran variedad de modalidades específicas son descritas a continuación.

[038] Los lípidos apropiados para síntesis de los conjugados PEG lípido incluye ácidos biliares (ácidos esteroidales) así como cadenas de alquilo. Por lo tanto, la presente invención incluye una variedad de conjugados PEG-lípido preparados por el presente método de síntesis en fase líquida. Los conjugados acilos esteroidales-PEG pueden ser incorporados en liposomas como una fracción objetivo para liberación de fármacos fase lipídica en células específicas o en sistemas de liberación de fármacos auto-emulsificantes (SEDDS).

10

[039] Los ácidos biliares (acilos esteroides) constituyen una familia muy abundante de moléculas, compuestos de una estructura de esteroide con 4 anillos, una cadena lateral de cinco u ocho carbonos terminando en un ácido carboxílico, y la presencia y orientación de diferentes números grupos hidroxil. Los 4 anillos están etiquetados de izquierda a derecha A, B, C y D, con el con el anillo D más pequeño en un carbono que los otros tres. Un ácido biliar ejemplar es mostrado en la Estructura Química 5. Todos los ácidos biliares tienen cadenas laterales. Cuando subtienden un grupo carboxil que puede estar unido a una amida con taurina o glicina, los grupos hidroxilo nucleares pueden ser este criticados con glucouronidos o sulfato los cuales son esenciales para la formación de sales de bilis soluble en agua a partir de bilis disueltas en alcohol.

20



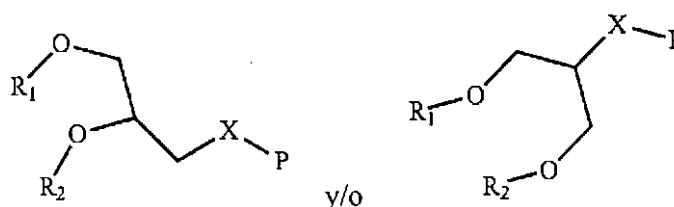
R1 y R2 pueden ser hidroxil o protón

Estructura Química 5

[040] En forma normal solamente unas pocas modificaciones en la estructura han sido estudiadas con respecto a las propiedades físico químicas de las sales de bilis. Una publicación de patente (WO 02083147) divulga conjugados de ácidos grasos sal biliar en la cual un ácido biliar o sal biliar es conjugada en la posición 24 (carboxil) con un aminoácido apropiado, y la ligadura C=C insaturada es conjugada con uno o dos radicales de ácido graso con 14 a 22 átomos de carbono. Estos conjugados pretenden ser usados como una composición farmacéutica para la reducción de colesterol en sangre, por el tratamiento de hígado graso, hiperglicemia y diabetes. Otra solicitud de patente la US 20032120) divulga el pro fármaco Aciclovir-ácido biliar en el cual un grupo en las ante puede ser usado entre la sido biliar y compuestos.

10

[041] En una modalidad general, la presente invención provee conjugados PEG-lípido acordes con la Fórmula General I. La diferencia entre las dos variantes mostradas en la fórmula uno es la posición relativa de las cadenas del polímero y el lípido a lo largo de la columna vertebral del glicerol.



Fórmula I

15

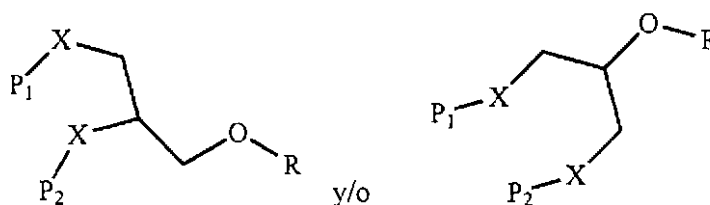
[042] Existen muchas modalidades alternativas de la Fórmula I. En una variación de la fórmula uno, R1 y R2 pueden ser el mismo o diferente y estar seleccionado del grupo formado por los grupos alquil saturados o insaturados listados en la tabla 1 o en la tabla 2; X es -O-C(O)-, -O-, -S-, -NH-C(O)-o una enlazador seleccionado de la tabla 3; y P es una cadena PEG.

20

[043] En otra variación de la fórmula I, R1 o R2 es un grupo alquil y el otro es H. En estas

modalidades de la fórmula uno, al menos R uno u R dos es un grupo alquil saturado o insaturados que tiene entre 6:22 átomos de carbono y más preferiblemente entre 12 y 18 átomos de carbono. El término "alquil" abarca ácidos grasos saturados o insaturados.

- 5 [044] La presente invención también prevé conjugados PEG-lípido acordes con la fórmula General II:



Formula II

10

[045] Una vez más, existen varias modalidades alternativas de la fórmula II. En una variación de la fórmula II, R es un grupo alquil listado en la tabla 1 o tabla 2; X es -O-C(O)-, -O-, -S-, -NH-C(O)-o un enlazador seleccionado de la tabla 3; y P1 y P2 son la misma cadena PEG. Al proveer dos cadenas PEG enlazadas, los conjugados de acuerdo con la fórmula II pueden proveer de

- 15 ventajas sobre los conjugados que tienen una única cadena PEG.

[046] Tabla 1: Lípidos saturados a ser usados en la invención

Nombre común	Nombre IUPAC	Estructura química	Abr.	Punto de fusión (°C)
<u>Butirico</u>	Ácido Butanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	C4:0	-8

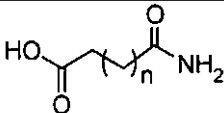
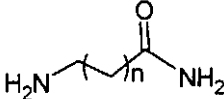
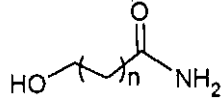
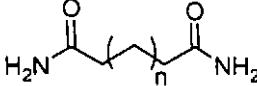
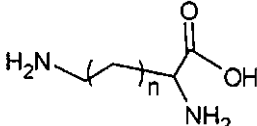
<u>Caproico</u>	Ácido Hexanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	C6:0	-3
<u>Caprílico</u>	Ácido Octanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	C8:0	16-17
<u>Capríco</u>	Ácido Decanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	C10:0	31
<u>Laurico</u>	Ácido Dodecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	C12:0	44-46
<u>Mirístico</u>	Ácido Tetradecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	C14:0	58.8
<u>Palmitico</u>	Ácido Hexadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	C16:0	63-64
<u>Estearico</u>	Ácido Octadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	C18:0	69.9
<u>Arachídico</u>	Ácido Eicosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	C20:0	75.5
<u>Behénico</u>	Ácido Docosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	C22:0	74-78

[047] Tabla 2: Lípidos insaturados para ser usados en la presente invención

Nombre	Estructura química	Δ^x Ubicación de la Doble ligadura	# carbón/ Dobles ligaduras
Ácido <u>Miristoleico</u>	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis</i> - Δ^9	14:1
Ácido <u>Palmitoleico</u>	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis</i> - Δ^9	16:1
Ácido <u>Oleico</u>	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis</i> - Δ^9	18:1

Ácido <u>Linoleico</u>	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ H	<i>cis,cis</i> - Δ^9,Δ^{12}	18:2
Ácido <u>α-Linolenico</u>	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis,cis,cis</i> - $\Delta^9,\Delta^{12},\Delta^{15}$	18:3
Ácido <u>Arachidonico</u>	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ ^{NIST}	<i>cis,cis,cis,cis</i> - $\Delta^5,\Delta^8,\Delta^{11},\Delta^{14}$	20:4
Ácido <u>Erúxico</u>	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$	<i>cis</i> - Δ^{13}	22:1

[048] Tabla 3: Enlazadores adicionales para usarse en la invención

No	Simbolo	Enlazador
1	N ₁	 n = 1 a 18, ácido carbamoil-carboxílico
2	N ₂	 n = 1 a 18: n-amino-alkil-amida
3	N ₃	 n = 1 a 18: n-hidroxil-alkil-amida
7	N ₇	 n = 1 a 18, alkil diamida
8	N ₈	 n = 1 a 18, ácido diamino carboxílico

9	N ₉	$\text{HO}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$ n = 2 a 18: n-amino alcohol
10	N ₁₀	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$ n = 2 a 18: diamino
11	N ₁₁	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$ n = 1 a 18: ácido n-amino-alquil-carbámico
12	N ₁₂	$\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{S}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ n = 1 a 12: n-amino(methyl-tio) _n -propanamida
13	S ₁	$\text{HS}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})-\text{OH}$ n = 1 a 18: ácido n-mercaptocarboxílico
14	S ₂	$\text{HS}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})-\text{OH}$ n = 1 a 18: ácido n-mercapto-alfa-aminocarboxílico
15	S ₃	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{SH}$ n = 1 a 18: ácido n-mercapto-alquil-carbámico
16	S ₄	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}(\text{R})-\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{SH}$ R = H o grupo alquilo, n = 0 a 18
17	S ₅	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}(\text{R})-\text{S}-\text{CH}(\text{OH})_2-(\text{CH}_2)_n-\text{SH}$ R = H o grupo Alquilo n = 0 a 12: ácido n-mercaptopropiltio)carboxílico
18	S ₆	$\text{HS}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$ n = 1 a 18: Amino-tiol

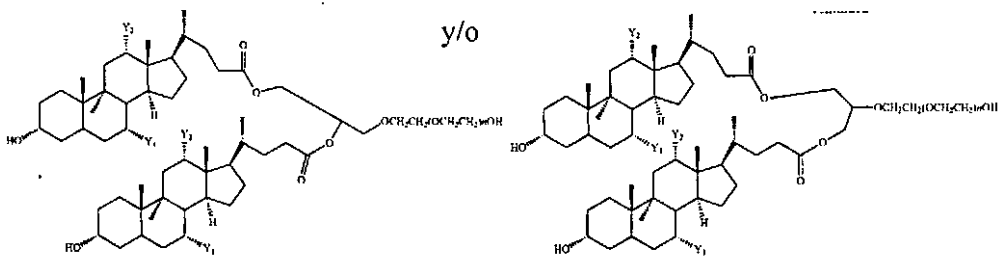
19	S ₇	<chem>HS(CH2)nOH</chem> n = 1 a 18: n-mercapto-alcohol
20	S ₈	<chem>HS(CH2)nSH</chem> n = 1 a 18: ditiol
21	S ₉	<chem>HOOCCH2(CH2S)nNH2</chem> n = 1 a 18: n-amino-(metil-tio)_n-propanoico
22	Ac ₁	<chem>HO(CH2)nCOOH</chem> n = 1 a 18: ácido n-hidroxi-carboxílico
23	Ac ₂	<chem>H2N(CH2)nCOOH</chem> n = 1 a 18: ácido n-amino-carboxílico
24	Ac ₃	<chem>HOOCCH2(CH2)nCOOH</chem> n = 1 a 18: ácido di-carboxílico, n=1: succinil
25	Ac ₄	<chem>HO(CH2)nOH</chem> n = 1 a 18: diols
26	Ac ₅	<chem>HOOCN(CH2)nOH</chem> n = 1 a 18: ácido n-hidroxi-alquil-carbámico
27	Ac ₆	<chem>HOOCCH2(CH2S)nOH</chem> n = 1 a 18: ácido n-hidroxil-(metil-tio)_n-propanoico

[049] Los conjugados PEG-lípido de la presente invención también incluyen compuestos donde la porción del lípido comprende uno o dos ácidos biliares. Estos conjugados tienen la misma estructura que la mostrada en la fórmula I y formula II, excepto que los grupos alquilo están
5 reemplazados por los ácidos biliares. Por conjugados de ácidos biliares, variaciones y

modalidades preferidas son los mismos que los descritos para los conjugados PEG-alquilo. Debido a que los ácidos biliares son similarmente lipofílicos a los grupos alquilo, los conjugados de ácidos biliares también comparte similares propiedades físicas y son generalmente adecuados para algunos de los mismos usos que los conjugados PEG-alquilo.

5

[050] La estructura química seis muestra dos variantes de la presente invención teniendo una cadena PEG única y dos ácidos biliares unidos a la columna vertebral del glicerol.



10

Estructura Química 6

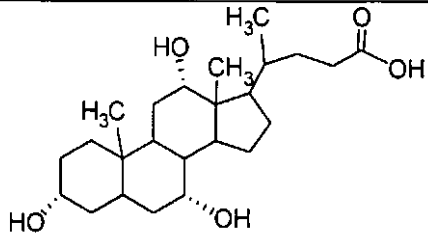
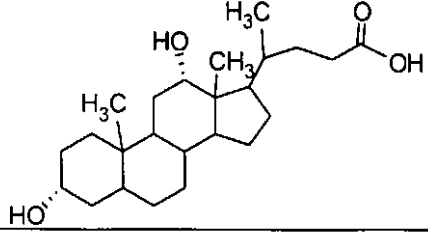
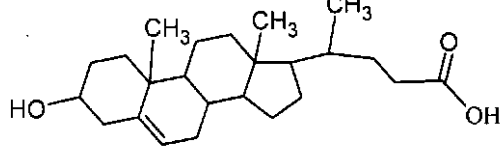
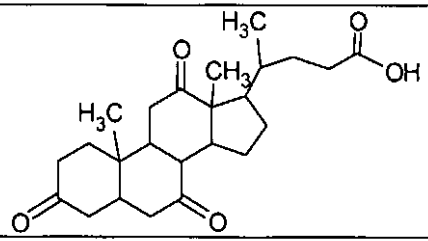
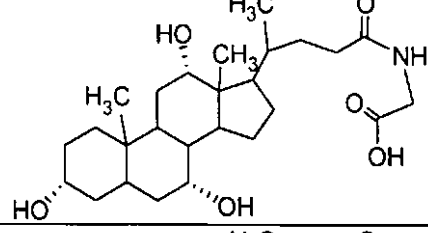
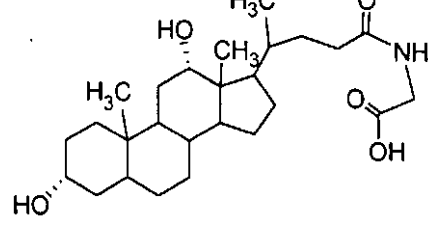
[051] En la estructura química 6, Y1 y Y2 pueden ser iguales o diferentes y son OH o H o CH3, o estar seleccionado de acuerdo con los ácidos biliares mostrados en la tabla 4. Similarmente, los ácidos biliares con cadenas laterales diferentes (como se muestra la tabla 4) pueden ser conjugados a la columna vertebral del glicerol. La tabla 4 lista los ácidos biliares y sus derivados que son útiles para llevar a cabo la presente invención.

15

[052] Tabla 4: Ácidos biliares (ácido de esteroides) y sus análogos para uso en la presente invención

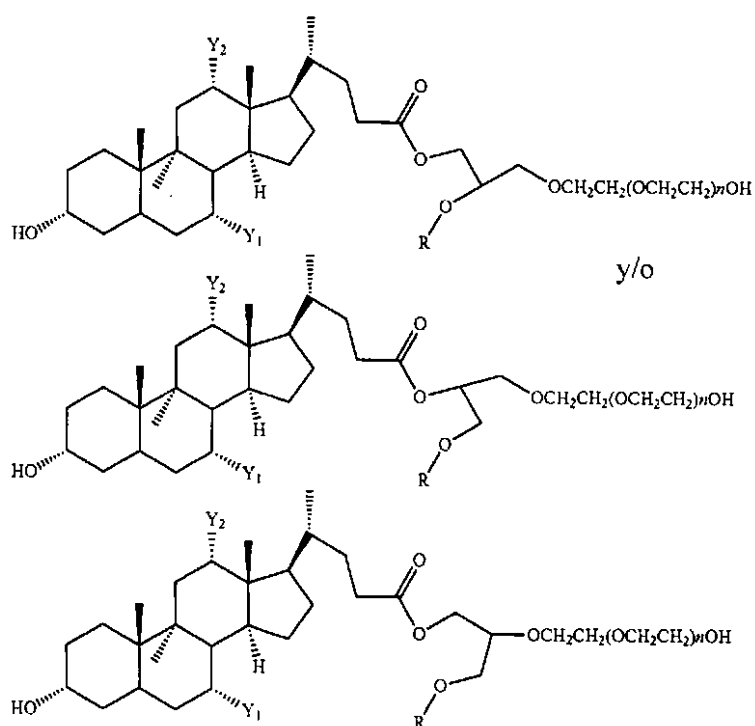
20

Nombre	Estructura Química	Otro nombre
--------	--------------------	-------------

Ácido Cólico		Ácido 3 α ,7 α ,12 α - trihidroxi-5 β - colanoico
Ácido Desoxicólico		Ácido 3 α ,12 α - Dihidroxi-5 β - colanico
Ácido 5-Colénico -3 β -ol		Ácido 3 β - Hidroxi-5-colén- 24-oico
Ácido Dehidrocólico		Ácido 3,7,12- Triojo-5 β - colanico
Ácido Glicocolico		N-(3 α ,7 α ,12 α - Trihidroxi-24- oxocolan-24-il)- glicina
Ácido Glicodeoxicólico		N-(3 α ,12 α - Dihidroxi-24- oxocolan-24- il)glicina

Ácido Quenodeoxicólico		Ácido 3 α ,7 α -dihidroxi-5 β -colánico
Ácido Glicoqueno-deoxicólico		N-(3 α ,7 α -Dihidroxi-24-oxocolan-24-il)glicina
Ácido Ursodeoxicólico		Ursodiol
Ácido Litocólico		Ácido 3 α -Hidroxi-5 β -colan-24-oico
Ácido Hiodeoxicólico		Ácido 3 α ,6 α -Dihidroxi-5 β -colan-24-oico
Ácido 5 β -Colánico - 3,7-dion		Ácido 3,7-Diketo-5 β -colan-24-oico

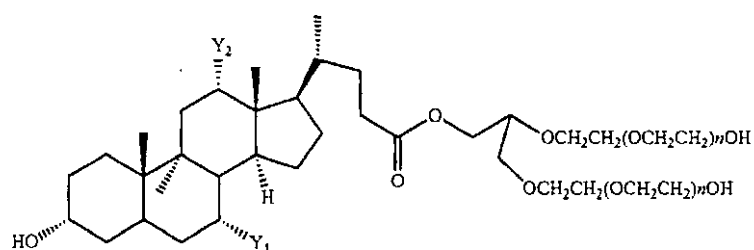
[053] Todavía otra variación de la invención incluye compuestos de acuerdo a la fórmula uno donde tanto R1 como R2 es una solo biliar y el otro es un grupo alquilo. Un ejemplo de esta variación de conjugado polimero lipido es mostrado en la estructura química 7.



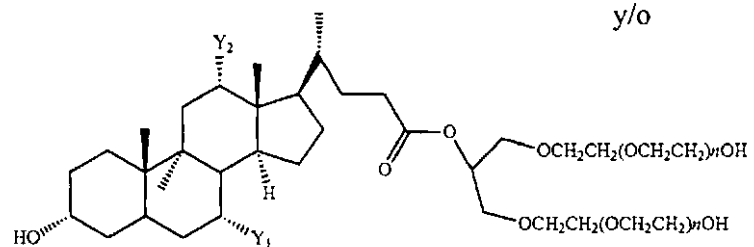
Estructura Química 7

[054] En la estructura química 3, Y1 y Y2 son iguales o diferentes y son OH o H o CH3 o seleccionado de acuerdo con el ácido biliar mostrado en la tabla 4. También, la cadena lateral del ácido biliar puede variar de acuerdo con la estructura mostrada en la tabla 4. R es un grupo alquilo saturado o insaturado seleccionado a partir de la tabla 1 y la tabla 2.

[055] Otra modalidad referida para el compuesto de la fórmula general II es un conjugado PEG-ácido biliar acth corte a la Estructura Química 8.



y/o

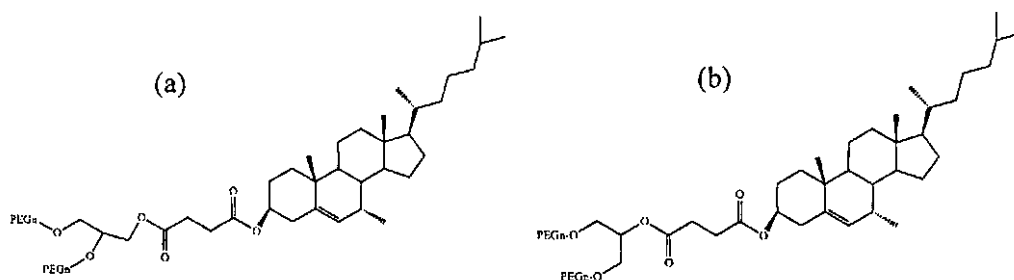


Estructura Química 8

[056] En la estructura química 8, Y1 y Y2 son OH o H o CH3 o seleccionada acordes con los ácidos biliares mostrados en la tabla 4. También, la cadena lateral del asido biliar puede ser variada acorde a la estructura mostrada en la tabla 4.

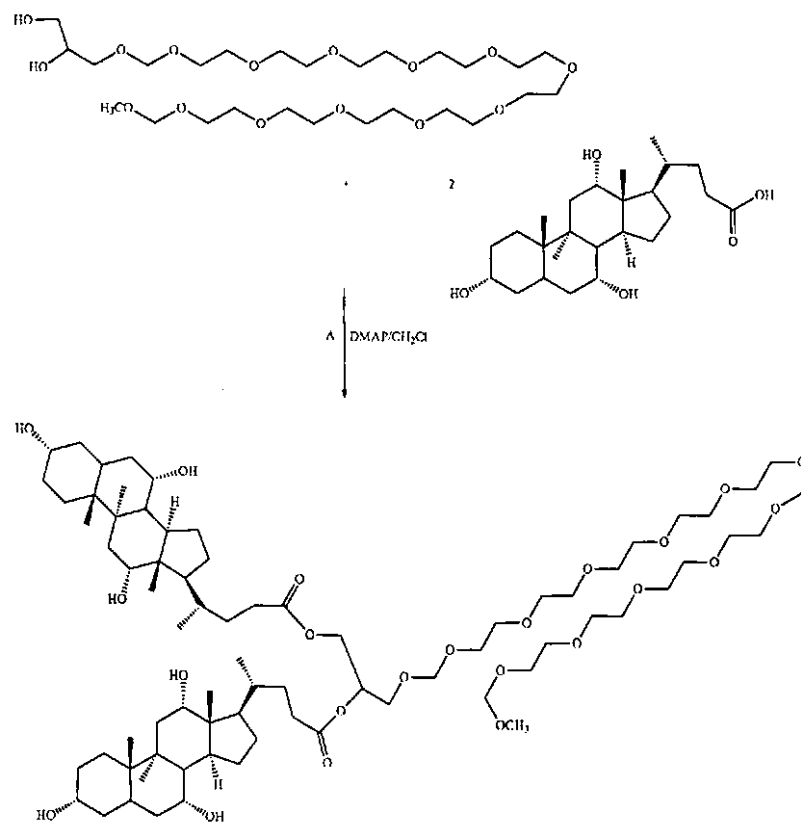
[057] Otra modalidad adicional preferida para el compuestos de la fórmula general II es un conjugado PEG-colesterol acorde a cualquiera de las estructuras mostradas en la Estructura

10 Química 9



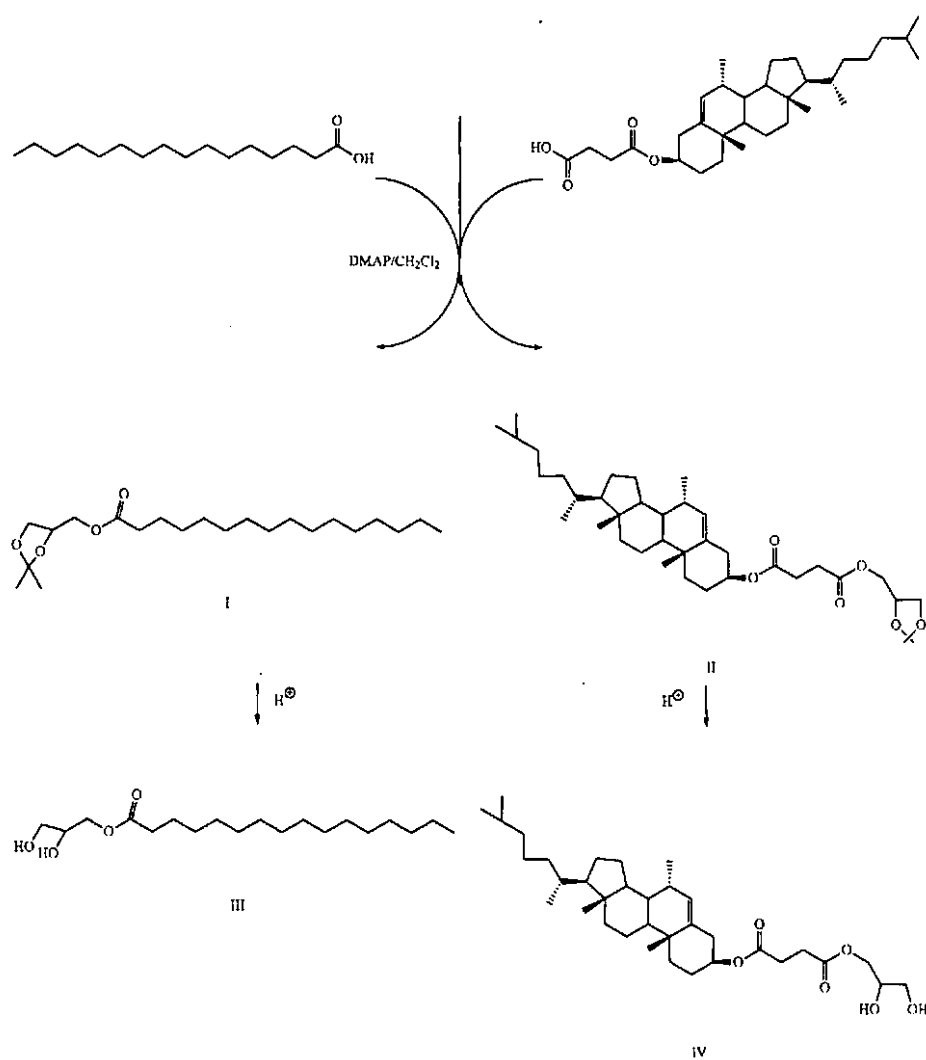
Estructura Química 9

[058] otra modalidad de la presente invención está representada en el esquema de reacción 4. En este método, cualquier ácido biliar adecuado, tal como un ácido cólico es reaccionado con 3-mPEG-12-glicerol en la presencia de N,N-dimetilamino piridina (DMAP) en diclorometano para producir el producto final de 1,2-dicoloil-rac-3-mPEG-glicerol. Será apreciado que pueden ser usadas las cadenas PEG monodispersas de muchas longitudes discretas.



Esquema de reacción 4: síntesis de 2-dicoloil-rac-3-mPEG 12-glicerol

10 [059] Otra modalidad de la presente invención, representada en el esquema de reacción cinco, comprende reacción del DL-1,2-y su propilideneglicerol con ácidos grasos para dar I o con colesterol para dar II, respectivamente. La remoción de los grupos y su propi los por cualquier método deseado proveer productos intermedios III y IV respectivamente.

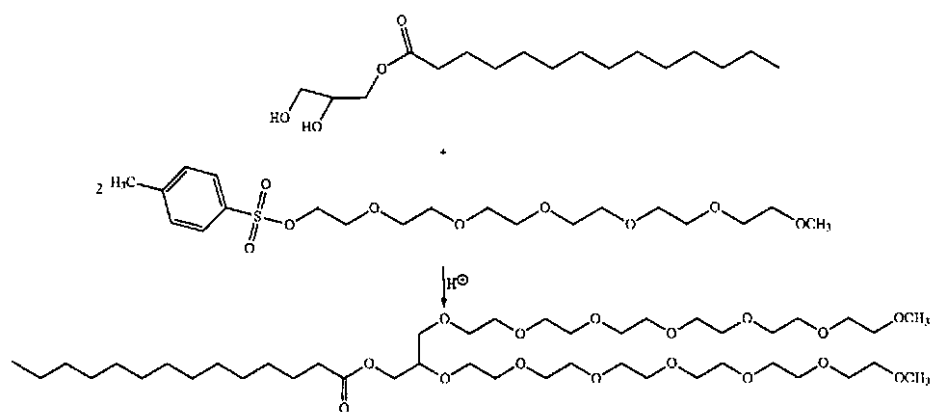


Esquema de reacción 5: síntesis de intermediarios de conjugados PEG-lípido

- [060] El método descrito puede ser usado para preparar una gran variedad de conjugados PEG
- 5 lípido novedosos. Por ejemplo, los métodos pueden ser usados para preparar 3-PEG-1,2-alquilglicerol en forma pura conteniendo cualquier cadena de ácido graso. Los ácidos grasos preferidos tienen una longitud de cadena de carbonos de entre alrededor de C6 a C22, preferiblemente entre alrededor de 10 y alrededor de C18.

[061] Los métodos descritos pueden ser usados para preparar una gran variedad de conjugados nuevos PEG-lípido. Por ejemplo, los métodos pueden ser usados para preparar ácido 3-PEG-1,2-diesteroil-glicerol en forma pura conteniendo cualquier cadena de ácido biliar.

- 5 [062] Los métodos descritos pueden ser usados para preparar una gran variedad de conjugados PEG-lípido con ramas. Por ejemplo, los métodos pueden ser usados para preparar 3-alkyl-1,2-bisPEG-glicerol en forma pura conteniendo cualquier cadena de ácido graso. Los ácidos grasos preferidos se encuentran dentro del rango de longitud de cadena de carbonos de alrededor de C6 a C22, preferiblemente entre alrededor de C10 y alrededor de C18 (Esquema de
- 10 Reacción 6)

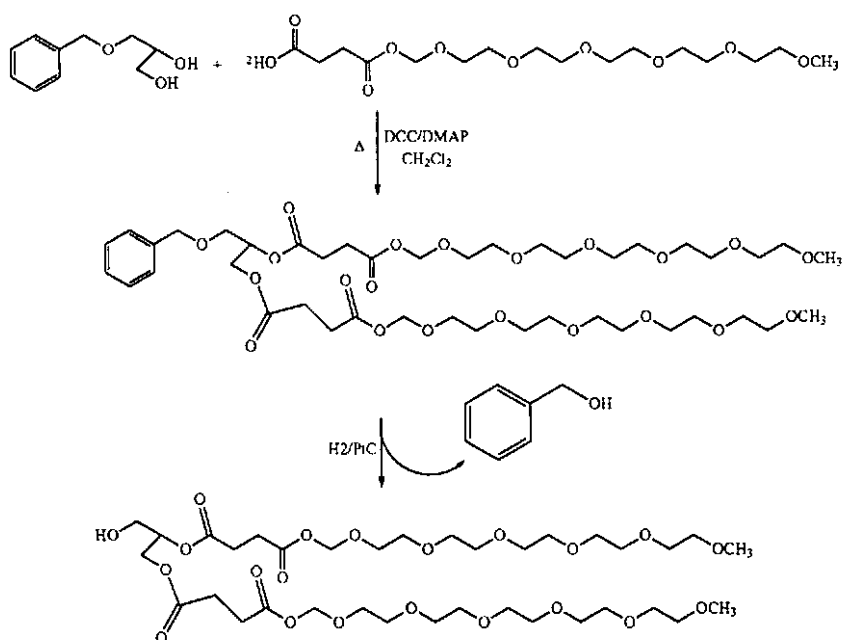


Esquema de reacción 6: síntesis de 3-miristoil-1,2-bis(metoxihexaetilen glicol) glicerol

- 15 [063] El esquema de reacción seis resulta en un compuesto que tiene una columna vertebral de glicerol, un grupo lípido, y dos cadenas PEG monodispersas. Sin embargo, es fácilmente notado que extendiendo la cadena PEG como se ejemplificada en el esquema de reacción uno puede ser hecho con otros oligómeros tales como trietilenglicol o entre trietilenglicol y monotrietilenglicol como se describe en la sección precedente.

[064] Los métodos descritos pueden ser usados para preparar una gran variedad de conjugados PEG-lípidos ramificados. Por ejemplo, los métodos pueden ser usados para preparar ácido 3-esteroid-1,2-bisPEG-glicerol en forma pura conteniendo ácidos esteroides-glicerol en forma pura conteniendo cualquier cadena de ácido biliar Esquema de Reacción 7

5



Esquema de Reacción 7: síntesis de 3-cholesterol-1,2-bis(metoxihexaetilenesuccinil glicol)-3-cholesterol

[065] Un uso preferido de los PEG-lípido inventivos es en la preparación de liposomas y otras formulaciones que contienen lípidos. Acorde con la presente invención, una composición farmacéutica puede incluir uno o más vectores genéticos, moléculas anti sentido, en proteínas, péptidos, lípidos reactivos o fármacos. Por ejemplo, el agente activo puede incluir uno o más fármacos (tales como una o más drogas anticáncer o otros agentes anti-cáncer). Típicamente los agentes activos hidrofílicos serán adicionados directamente a la formulación y los agentes activos hidrofóbicos serán disueltos por PEG-lípido antes de mezclarlos con los otros ingredientes.

[066] Agentes activos adecuados que pueden ser presentados en las formulaciones inventivas se incluyen uno o más vectores genéticos, moléculas acth y sentido, proteínas, péptidos, lípidos y/o activos o fármacos, tales y como han sido descritas arriba. Los PEG lípido inventivos pueden ser usados para administrar a agentes activos que son seguros en la presencia de oligómeros PEG

5 para uso intravenoso.

[067] Los agentes activos preferidos que son compatibles con la presente invención incluyen agentes que actúan en los nervios periféricos, receptores adrenérgicos, receptores colinérgicos, músculos esqueléticos, sistema cardiovascular, músculos lisos, sistema circulatorio sanguíneo, sitios sinápticos, sitios de unión neuroefector, sistemas endocrinos y hormonal, sistema inmunológico, el sistema reproductivo, el sistema esquelético, el sistema alimentario y excretor, el sistema vista amino, y el sistema nervioso central. Los agentes adecuados pueden ser seleccionados a partir de, por ejemplo, proteínas, enzimas, hormonas, nucleótidos, poli nucleótidos, núcleo proteínas, polisacáridos, glico proteínas, glico proteínas, lipoproteínas, Paul y péptidos, esteroides, terpenoides, retinoides, antagonistas receptor H2 anti úlcera, fármacos anti úlcera, agentes hipocalcémicos, humectantes, cosméticos, etc. Los agentes activos pueden ser analgésicos, anestésicos, agentes antiarrítmicos, antibióticos, agentes anti alérgicos, agentes anti colinérgicos, agentes anti cáncer (por ejemplo, mitoxantrón, taxanos, paquitaxel, Campotecin y derivados campotecin (por ejemplo SN-38), gemcitabina, antaciclina, oligonucleótidos anti sentido, anticuerpos, citotoxinas, inmunotoxinas, etcétera.), agentes anti hipertensivos (por ejemplo dihidropiridinas, antidepresivos, agentes antidiabéticos, agentes anti epilépticos, corticoesteroides antiinflamatorios, agentes para tratar las enfermedades Alzheimers o Parkinson's agentes anti úlcera, agentes anti protozoarios, ansiolíticos, tiroideos, anti tiroideos, antivirales, anoréticos, bifosfonatos, agentes inotrópicos cardíacos agentes cardiovasculares, corticoesteroides, diuréticos, agentes dopaminérgicos, agentes gastrointestinales, hemostáticos,

agentes hipercolesterol, agentes anti hipertensivos, agentes inmunosupresivos, agentes anti gota, ante malaria, agentes anti migraña, agentes antimuscarínicos, agentes antiinflamatorios, tales como agentes para tratar reumatología, artritis, psoriasis, enfermedad del estómago inflamado, enfermedad de Crohn, o agentes para tratar enfermedades de desmielización

5 incluyendo esclerosis múltiple, agentes oftálmicos; vacunas (por ejemplo contra lípidos de la influenza, neumonía, hepatitis a, hepatitis B, hepatitis C, subunidades B de la toxina del cólera, tifoidea, plasmodium falciparum, difteria, tétanos, virus del herpes simple, tuberculosis, VIH, bordetela pertusis, measles, mumps, rubéola, toxoides bacteriales, virus vaccinea, adenovirus, virus SARS, virus canarios, bacillus Guérin calmette, vacuna neumonía klebsiela, etc.),

10 antagonista de receptores histamina, hipnóticos, agentes protectores de los riñones, agentes reguladores de lípidos, relajantes musculares, neurolépticos, agentes neurotrópicos, agonistas y antagonistas opioides, parasimpaticomiméticos, inhibidores de proteasas, prostaglandinas, sedantes, hormonas sexuales (por ejemplo andrógenos, estrógenos, etcétera), estimulantes, sinpatomiméticos, vasodilatadores y xantinas y análogos sintéticos de estas especies. Los

15 agentes terapéuticos pueden ser nefrotóxicos, tales como Ciclosporinas y anfotericina B, o cambio tóxicos, tales como anfotericina B y paclitaxel, en top sido, citoquinas, Ribosimas, interferones, olivo nucleótidos, siRNAs, RNAis y derivados funcionales de los siguientes.

[068] Los agentes quimioterapéuticos son bastante adecuados para usarse en este método

20 inventivo. Las formulaciones PEG-lípido inventivas que contienen agentes quimioterapéuticos pueden ser inyectados directamente en el tejido del tumor para la liberación del agente quimioterapéutico directamente en las células del cáncer. En algunos casos, después de la extirpación de un tumor, las formulaciones de liposomas pueden ser implantadas directamente en la cavidad resultante o puede ser aplicada a los tejidos remanentes como un recubrimiento.

[69] Los PEG-lípido en la presente invención pueden ser usados para preparar varias formas de dosificación incluyendo tabletas, cápsulas, píldoras, gránulos, supositorios, soluciones, suspensiones y emulsiones, pastas, ungüentos, geles, cremas, lociones, gotas para los ojos, polvos y espráis en adición a excipientes solubles o insolubles en agua.

5

[070] Los conjugados PEG-lípido inventivos pueden ser usados para la liberación de agentes activos en células blanco en vivo. Por ejemplo, la composición puede ser liberada oralmente, por inyección (por ejemplo intravenosa, subcutánea, parenteral, intraperitoneal, por inyección directa en los tumores o sitios que necesitan el tratamiento), por inhalación, por liberación de la mucosa, localmente, y/o rectalmente o por tantos métodos como son conocidos o desarrollados. Las formulaciones conteniendo PEGilato cardiolipina puede también ser administrada tópicamente, por ejemplo como una crema, un ungüento de la piel, suavizante de piel seca, humectante, etc.

10

[071] Para uso en vivo, la invención provee el uso de una composición como aquí se describe con teniendo uno o más agentes activos para preparar un medicamento para el tratamiento de una enfermedad. En otras palabras, la invención provee un método de uso de una composición tal y como se describe aquí, conteniendo uno o más agentes activos, para tratar una enfermedad. Típicamente, la enfermedad está presente en un paciente animal o humano. En una modalidad referida, la enfermedad es cáncer, en cuyas circunstancias, la composición inventiva comprende uno o más agentes anti cáncer como agentes activos. Es seguido por ejemplo, en concordancia con la INVENCION, la composición como se describe aquí puede ser empleada sola o junto con otros medicamentos (por ejemplo quimioterapia o radioterapia) para tratar cánceres tales como aquellos de la cabeza, cuello, cerebro, sangre, pecho, pulmones, páncreas, hueso, bazo, vejiga, próstata, testículos, colon, riñón, ovarios y piel. Las composiciones de la presente invención, que comprenden uno o más agentes anti cáncer, son especialmente preferidos para tratar leucemias,

15

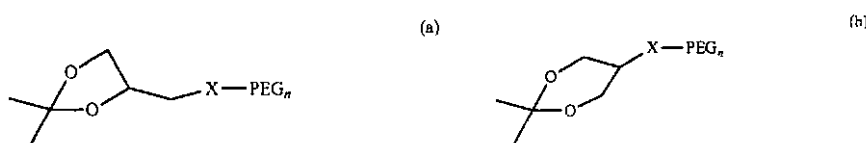
20

25

H2

tal como leucemia aguda (por ejemplo, leucemia linfocítica aguda o leucemia mielocítica aguda). El sarcoma de Kaposi también puede ser tratado usando las composiciones y métodos de la presente invención.

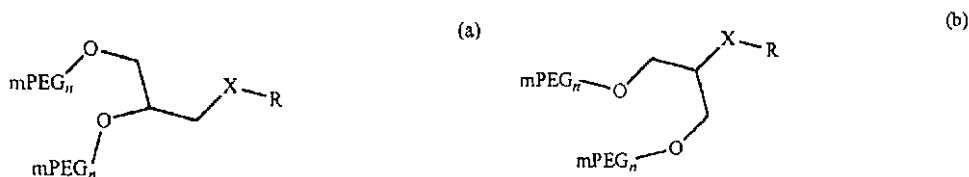
5 [072] Las siguientes estructuras adicionales ilustra la presente invención.



Estructura Química 10

10 [073] En la química estructura X es un enlazador que incluye oxi, tiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinil, haloide y aquellos listados en la tabla 3. n es el número de unidades repetidas. Estas estructuras representan intermediarios en crecimiento de una cadena PEG monodispersa única en una columna vertebral de glicerol, entonces n está generalmente entre alrededor de 6 y 21. La cadena PEG es extendida a través de una eterificación secuencial empezando con una cadena

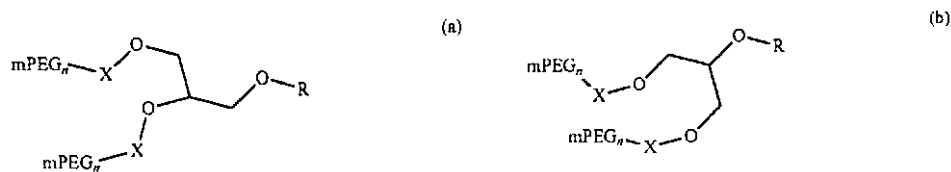
15 pequeña tal como un trietilenglicol o de trietilenglicol directamente unidos al glicerol vía un enlazador. El grupo terminal en la cadena PEG puede ser, pero no está limitado a, un grupo metilo.



20

Estructura Química 11

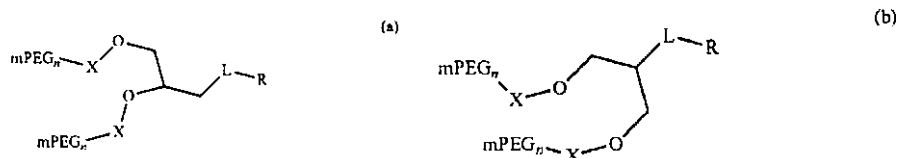
[074] En la estructura química 11, X es enlazador incluyendo oxi, tiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinil, haloide y aquellos listados en la tabla 3. "n" es el número de unidades repetidas. Estas estructuras representan el paso final en el crecimiento de dos cadenas PEG monodispersas en una columna vertebral de glicerol. La R es un grupo alquil tal como un ácido graso saturado (Tabla 1) o insaturado (Tabla 2) o un grupo colil o análogo (tabla 4). Los grupos terminales aparte del metilo pueden estar incluidos en las cadenas PEG.



Estructura Química 12

10

[075] en la estructura química dos en equis es el enlazador que incluye oxi, tiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinil, haloide y aquellos listados en la tabla 3. "n" es el número de unidades repetidas. Estas estructuras representan el paso final en el crecimiento de dos cadenas PEG monodispersas en una columna vertebral de glicerol. Similarmente la cadena PEG es extendida a través de una eterificación secuencial empezando con cadena pequeña tal como un triethylene glicol o un tetra etilenglicol directamente unido al glicerol vía un enlazador. La R es un grupo alquil tal como un ácido graso saturado (Tabla 1) o insaturado (Tabla 2) o un grupo colil o análogo (tabla 4). Los grupos terminales aparte del metilo pueden estar incluidos en las cadenas PEG.



Estructura Química 13

20

[076] En la estructura química 13 X y L es el mismo o diferente enlazador incluyendo oxi, tiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinil, haloide y aquellos listados en la tabla 3. "n" es el número de unidades repetidas. Estas estructuras representan el paso final en el crecimiento de dos cadenas PEG monodispersas en una columna vertebral de glicerol., Entonces "n" esta generalmente
5 ubicada entre alrededor de 5 y 12. La R es un grupo alquil tal como un ácido graso saturado (Tabla 1) o insaturado (Tabla 2) o un grupo colil o análogo (tabla 4). Los grupos terminales aparte del metilo pueden estar incluidos en las cadenas PEG.

[077] las modalidades de la presente invención están descritas aquí en el contexto de la
10 preparación de composiciones farmacéuticas incluyendo conjugados PEG-lípido purificado para incrementar la solubilidad y el mejoramiento de la liberación de agentes activos. Las composiciones aproximativas preferibles para la formulación de productos farmacéuticos están descritos aquí en forma General, sin embargo fármacos típicamente diferentes tendrán formulaciones óptimas diferentes.

15

[078] Para las soluciones IV, la concentración preferible del fármaco es de 0.1% a 30%. Más preferiblemente es de 1 a 10%. Y más preferiblemente entre 1 y 5%. La relación preferible entre el PEG-lípido y el fármaco (PEG-lípido/fármaco) es 1 a 20. Más preferiblemente 1 a 10. Y la más preferible 1 a 5.

20

[079] Para soluciones orales, la concentración preferible de fármacos se localiza entre 1 y 40%. Más preferiblemente entre 2.5 y 30%. La concentración más preferible se ubica entre 5 y 30%. La relación preferible entre el PEG-lípido y el fármaco (PEG-lípido/fármaco) es entre 0.5 y 20. Más preferiblemente 1 a 5. Y la más preferible 1 a 3.

25

[080] Para preparaciones oftálmicas, la concentración preferible de fármacos se localiza entre 0.01 y 5%. Más preferiblemente entre 0.05 y 2%. La concentración más preferible se ubica entre 0.1 y 2%. La relación preferible entre el PEG-lípido y el fármaco (PEG-lípido/fármaco) es entre 1 y 20. Más preferiblemente 3 a 15. Y la más preferible 5 a 10.

5

[081] Para soluciones tópicas, la concentración preferible de fármacos se localiza entre 0.05 y 5%. Más preferiblemente entre 0.1 y 5%. La concentración más preferible se ubica entre 0.1 y 2%. La relación preferible entre el PEG-lípido y el fármaco (PEG-lípido/fármaco) es entre 1 y 20. Más preferiblemente 3 a 15. Y la más preferible 5 a 10.

10

[82] Para cápsulas orales, el contenido del fármaco en la cápsula es preferiblemente 10 a 250 miligramos. Más preferiblemente entre 25 y 200 miligramos. Y el contenido más preferible es 25 a 100 miligramos. La relación preferible entre el PEG-lípido y el fármaco (PEG-lípido/fármaco) es entre 1 y 10. Más preferiblemente 1 a 5. Y la más preferible 2 a 5.

15

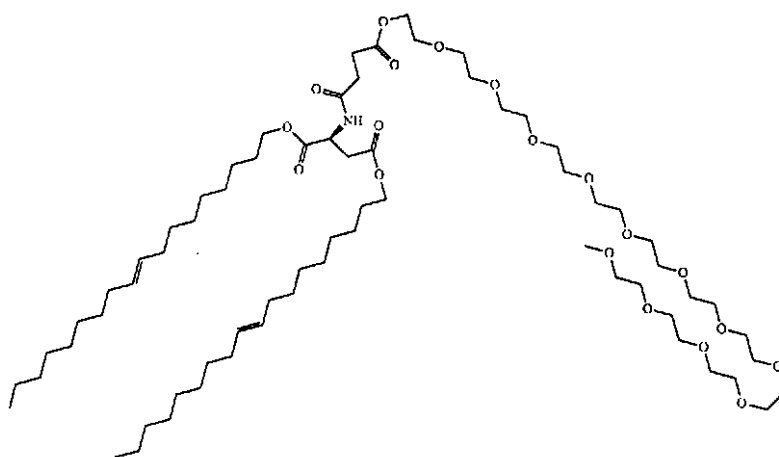
[083] Para preparaciones tópicas, la concentración preferible de fármacos se localiza entre 0.05 y 5%. Más preferiblemente entre 0.1 y 5%. La concentración más preferible se ubica entre 0.1 y 2%. La relación preferible entre el PEG-lípido y el fármaco (PEG-lípido/fármaco) es entre 1 y 50. Más preferiblemente 3 a 20. Y la más preferible 5 a 10.

20

[84] Mientras que la anterior discusión fue dirigida a conjugados polímero-lípido que tienen una columna vertebral de glicerol e incluyen cadenas PEG, la invención incluye además columnas vertebrales y polímeros alternativos. Los 3-amino-1, 2-propanediol, 3-bromo-1, 2-propanediol, 3-cloro-1, 2-propanediol, 3-fluoro-1, 2-propanediol, ácido DL-glicérico, ácido aspártico, ácido glutámico y 1,2,4-butanetriol pueden ser usados como columnas vertebrales alternativas para

25

5 sintetizar conjugados PEG-lípido similares. La estructura química 14 ilustra un conjugado de la invención empleando ácido aspártico como una columna vertebral. Para preparar este conjugado, el material de arranque será el alcohol oleoil en lugar del ácido oleico puesto que ya hay dos grupos carboxílicos en el aminoácido. Un enlazador succinato ha sido utilizado para unir el PEG a la columna vertebral. En tal modalidad alternativa, la cadena PEG (o cadena de polímero alternativo) siempre es mono dispersos.



Estructura química 14: aspartato 1,4-dioleoil-2-(m PEG-12-succinil amino)

10

- [085] Los oligómeros propilenglicol y glicol metileno pueden ser usados como alternativa a los oligómeros etilenglicoles. También, es posible crear co-polímeros o co-polímeros en bloque para estos bloques de construcción básicos.
- 15 [086] El método de síntesis descrito puede ser modificado en cualquier manera adecuada. Por ejemplo, los PEG-reactantes para uso en el método inventivo puede ser cualquier derivado PEG, el cual es capaz de reaccionar con un grupo hidroxil o amino de glicerol central o grupo 3-amino-1,2-propanediol o semejante o el grupo funcional de cualquier enlazador.

[087] El solvente para la reacción de conjugación PEG-lípido en el método inventivo incluye cualquier solvente preferiblemente un solvente aprotico polar tal como el N,N-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfoxido (DMSO), piridina, tetrahidrofurano (THF), diclorometano, cloroformo, 1,2-dicloroetano, dioxano y lo semejante.

5

- [088] En un aspecto, la invención es un método de preparación de una cadena PEG de una longitud definida, el método comprende a) seleccionar un derivativo del glicerol con un grupo protector del glicerol que sea estable bajo un primer juego de condiciones y convertible a grupos hidroxil libre bajo un segundo juego de condiciones; b) a seleccionar un oligómero PEG inicial con
- 10 entre uno y doce su unidades, donde el oligómero inicial PEG tiene un grupo de protección de oligómero en su primera terminal y en dicho grupo protector de oligómero convierte a un grupo hidroxilo bajo el primer juego de condiciones, y donde el oligómero PEG tiene un grupo reactivo en su segunda terminal, dicho grupo reactivo forma a una ligadura con un compuesto que tiene un grupo hidroxil libre; c) reaccionar el derivativo glicerol con el oligómero PEG inicial para formar
- 15 un conjugado glicerol-PEG; d) remover el grupo protector del oligómero exponiendo el conjugado al primer juego de condiciones; e) repetir los pasos f), g) y h) entre cero y seis veces adicionales, donde los pasos son como los descritos abajo; f) seleccionar un oligómero PEG que tenga entre dos y once subunidades, donde el oligómero PEG extendedor tiene un grupo reactivo en su segunda terminal, dicho grupo reactivo formar una ligadura con un compuesto que tiene un grupo
- 20 hidroxil libre; g) reaccionar el conjugado glicerol PEG con el extendedor oligómero PEG para formar un conjugado glicerol PEG extendido; h) remover el grupo protector del oligómero exponiendo el conjugado al primer juego de condiciones; i) terminar la cadena PEG sea por el paso j) o pasos k) y l), donde los pasos son como se escribe a continuación; j) adicionar un grupo terminal al grupo hidroxil libre del conjugado glicerol PEG extendido; o k) seleccionar un
- 25 oligómero PEG terminal con dos a once subunidades, donde el oligómero terminal PEG tiene un

grupo reactivo en su segunda terminal, dicho grupo reactivo forma una ligadura con un compuesto que tiene un grupo hidroxil libre; y l) hacer reaccionar el conjugado glicerol- PEG o el conjugado glicerol PEG extendido con el oligómero PEG terminal; y m) exponer el conjugado glicerol- PEG terminado al segundo set de condiciones. El grupo terminal puede ser un grupo metilo. El primer set condiciones puede ser una reducción catalítica. El segundo set de condiciones puede ser exposición al ácido a. El derivativo glicerol puede ser un compuesto representado por la fórmula mostrada como Estructura Química 2. El derivativo del glicerol puede ser un compuesto representado por la fórmula mostrada como Estructura Química 3. El derivativo del glicerol puede ser un compuesto representado por la fórmula mostrada en la estructura química 4. El grupo protector del glicerol puede ser un grupo alquilo. El método puede además comprender el paso de: n) remover el grupo protector glicerol; y o) ligar un grupo lípido a la espina dorsal del glicerol

[089] En otro aspecto, la invención es una composición química que incluye un conjugado PEG lípido, el conjugado PEG lípido comprende: una columna vertebral de glicerol; un grupo lípido unido covalentemente a la espina dorsal de glicerol; y una cadena PEG unida covalentemente a la espina dorsal del glicerol, donde la cadena PEG tiene un PM entre aproximadamente 200 y 1200 daltons, y donde más es de alrededor de 75 por ciento de las cadenas PEG de las moléculas conjugadas en la composición tienen el mismo PM. Más del 90 por ciento de las cadenas PEG de las cadenas conjugadas en la composición pueden tener el mismo PM. La cadena PEG puede tener un PM más grande que alrededor de 600 daltons. El lípido puede ser un grupo alquilo. El grupo alquilo puede ser seleccionado a partir de los grupos alquilos de la tabla 1 y 2. La composición puede comprender además un segundo lípido unido con enlace covalente a la columna vertebral del glicerol. El segundo lípido puede ser un grupo alquilo. El segundo grupo alquilo puede seleccionarse a partir de los grupos alquilos en la tabla 1 y tabla 2.

44

El lípido puede ser un ácido biliar. El ácido biliar puede ser seleccionado a partir de los ácidos biliares en la tabla 4. El ácido biliar puede ser colesterol. La composición puede comprender además un grupo enlazador entre la columna vertebral glicerol y la cadena PEG. El enlazador puede ser seleccionado a partir del grupo consistente de -S-, -O-, -N-, -OCOO-, y los enlazadores de la tabla 3. La composición puede además comprender una segunda cadena PEG unida por enlace covalente con una columna vertebral glicerol. El enlace entre la columna vertebral del glicerol y la segunda cadena PEG es seleccionada a partir del grupo consistente de -O-C(O)-, -O-, -S-, y -NH-C(O)-. El enlace entre la columna vertebral del glicerol y la segunda cadena PEG puede ser seleccionada a partir de la tabla tres.

10

[090] En otro aspecto, la invención incluye las composiciones acordes al párrafo inmediato anterior, donde la columna vertebral de glicerol es reemplazada por una columna vertebral seleccionada a partir del grupo consistente de 3-amino-1, 2-propanediol, 3-bromo-1, 2-propanediol, 3-cloro-1, 2-propanediol, 3-fluoro-1, 2-propanediol, ácido DL-glicérico, ácido aspártico, ácido glutámico, and 1, 2, 4-butanetriol.

15

[091] En otro aspecto, la invención incluye las composiciones acordes al párrafo 089, donde las cadenas PEG son reemplazadas por polímero seleccionados a partir del grupo consistente de polimetilenglicol, polipropilenglicol, y copolímeros comprendidos de al menos dos de los monómeros seleccionados a partir del grupo consistente de metilenglicol, propilenglicol y etilenglicoles.

20

[092] En otro aspecto, la invención incluye los siguientes compuestos: el compuesto representado por la fórmula mostrada en el esquema de reacción a); el compuesto representado por la fórmula mostrada como estructura química 2; el compuesto representado por la fórmula mostrada como

25

Sc

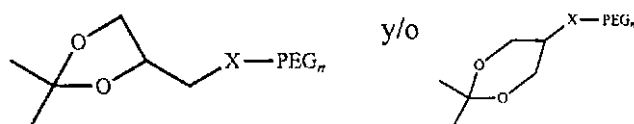
estructura química 3; el compuestos representado por la fórmula mostrada como estructura química 4; las moléculas 1,2- isopropilidene-glicerol-3-etilenglicol, 1,2- isopropilidene-glicerol-3-dietilen glicol, 1,2- isopropiliden-glicerol-3-trietilen glicol, 1,2- isopropilidene-glicerol-3-tetraetilen glicol, 1,2-isopropilidene-glicerol-3-pentaetilen glicol and 1,2- isopropiliden-glicerol-3-hexaetilen glicol, 1,2- isopropiliden-glicerol-3-heptaetilen glicol and 1,2-isopropiliden-glicerol-3-octaetilen glicol; y las moléculas 1,3-diacilglicerol-2-etilen glicol, 1,3-diacilglicerol-2-dietilen glicol, 1,3-diacilglicerol-2-trietilen glicol, 1,3-diacilglicerol-2-tetraetilen glicol, 1,3-diacilglicerol-2-pentaetilen glicol, 1,3-diacilglicerol-2-hexaetilen glicol, 1,3-diacilglicerol-2-heptaetilen glicol and 1,3-diacilglicerol-2-octaetilen glicol.

10

[093] En otro aspecto, la invención incluye un método para incrementar la biodisponibilidad y/o solubilidad del agente activo, dicho método comprendiendo: formular el agente activo con uno o más de los conjugados PEG-lípido de la presente invención y administrar dicha formulación basada en un conjugado PEG-lípido a una animal o humanos.

15

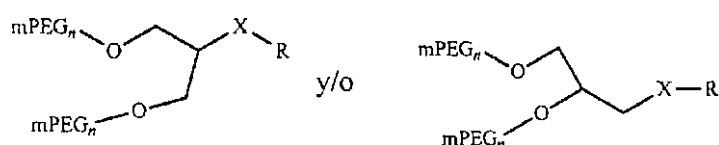
[094] En otro aspecto, la invención incluye un compuesto químico con la siguiente fórmula:



Donde n es entré alrededor de 7 y 12; y donde X es un grupo enlazador, X puede tener un PM entre alrededor de 16 y 200. Tx puede ser seleccionado a partir del grupo consistente de oxi, tior, amino, -COO-, -OCOO-, succinil, haloide y aquellos listados en la tabla 3. La terminal de la cadena PEG puede tener un PM entre alrededor de 15 y 210. La terminal de la cadena PEG puede ser un grupo metilo. La terminal de la cadena PEG puede ser un grupo protector. La terminal de la cadena PEG puede ser un grupo hidroxilo.

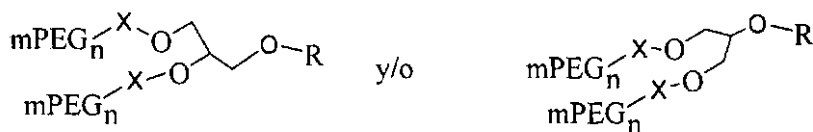
86

[095] En otro aspecto, la invención incluye un compuesto químico con la siguiente fórmula:



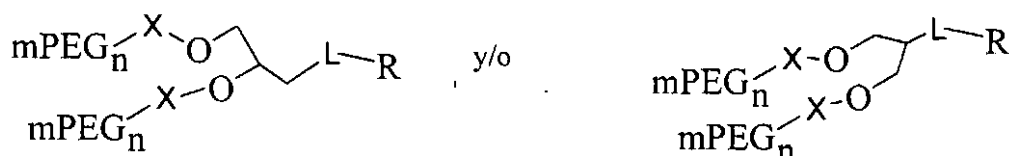
Donde n es entre alrededor de 3 y 23; R es un lípido; y donde X es un grupo enlazador. X puede tener un PM entre alrededor de 14 y 620. X puede ser seleccionado partir del grupo consistente de oxi, tiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinil, haloide y aquellos listados en la tabla 3. Más preferiblemente, la n puede estar entre alrededor de siete y 12. La terminal de la cadena PEG puede tener un PM entre alrededor de quince y 210. La terminal de la cadena PEG puede ser un grupo metilo. R puede ser un grupo alquilo seleccionado a partir de la tabla uno o la tabla dos. R puede ser un ácido biliar. R puede ser un ácido biliar es seleccionado a partir de la tabla 4. R puede ser colesterol.

[096] En otro aspecto, la invención incluye un compuesto químico que tiene la siguiente fórmula:



Donde N es un entero entre alrededor de 3 y 23; R es un lípido; y donde X es el mismo o diferente grupo enlazador. X puede tener un PM entre alrededor de 14 y 620. X puede ser seleccionado partir del grupo consistente de oxi, tiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinil, haloide y enlazadores mostrados en la tabla 3. La n puede estar entre alrededor de 4 y 23. n es preferentemente entre alrededor de 7 y 23. La terminal de la cadena PEG puede tener un PM entre alrededor de quince y 210. La terminal de la cadena PEG puede ser un grupo metilo. R puede ser un grupo alquilo seleccionado en la tabla 3 o tabla 4. R puede ser una solo biliar. R puede ser seleccionado a partir de la tabla 4. R puede ser un colesterol.

[097] En otro aspecto, la invención incluye un compuesto químico con la fórmula:



Donde n está entre alrededor de 3 y 23; R es un lípido; L es un grupo enlazador; y donde X es el mismo o diferente grupo enlazador. X puede tener un PM entre alrededor de 14 y 620. X equis puede ser seleccionado a partir del grupo consistente de oxi, tiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinil, haloide y enlazadores mostrados en la tabla 3. n puede estar entre alrededor de 4 y 23. n puede estar entre alrededor de 7 y 23. La terminal de las cadenas PEG pueden tener un peso molecular entre alrededor de 15 y 210. La terminal de las cadenas PEG puede ser un grupo metilo. R puede ser un grupo alquilo seleccionado a partir de la tabla 1 o tabla 2. R puede ser un ácido biliar. R puede ser seleccionado a partir de la tabla 4 y R puede ser colesterol. Tx puede ser seleccionado del grupo consistente de oxi, tiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinil, haloide y enlazadores mostrados en la tabla 3.

15 EJEMPLOS

[098] Los siguientes ejemplos permiten una ilustración adicional de la invención y no son contruidos para limitar el alcance del invento.

20 [099] Ejemplo 1. Síntesis de 3-oleoil-1,2-bis (metoxyhexaetilenglicol) glicerol.

[100] Parte 1A: 3-Bencil-1,2-bis (metoxyhexaetilenglicol) glicerol.

[101] Se agregó entonces, a una matraz de tres cuellos, $\pm$ -3-benciloxi-1,2 propanediol (.2 g 6

mmol), NaOH (0.96 g, 40 mmol) y THF seco (150 mL) Se adicionó entonces gota a gota, una solución seca (50 mL) de monometoxihexaetilen glicol tosilato 5.4 g 12mmol) a temperatura ambiente. La mezcla fue puesta a reflujo por xxiv horas y enfriada a temperatura ambiente. Se adicionó metanol a la mezcla de la reacción para apagar el exceso de sosa. El solvente fue
5 vapuleado y el producto cuido fue extraído con 5% peso/volumen de ácido clorhídrico y CH₂Cl₂. El solvente fue vapuleado y purificado adicionalmente por permeación en cromatografía de gel para cosechar 85% de líquido incoloro.

[102] Parte 1B: 3-hidroxi-1,2-bis (metoxihexaetilen glicol) glicerol

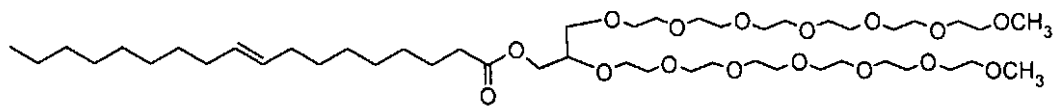
10

[103] Se agregó a una solución de cinco gramos de 3-bencil-1,2-bis (metoxi hexa ethilen glicol) glicerol en 20 ml de n-hexano, cinco gotas de ácido acético y 0.6 gramos de negro de paladio. La mezcla fue pulgada con hidrógeno puro a 30 °C por aproximadamente 60 minutos para remover el grupo protector bencil en el 3'-hidroxi. Después el hidrógeno fue remplazado por nitrógeno, la
15 solución fue enfriada a una temperatura de 4 a 6°C y el catalizador fue removido por filtración. El solvente fue evaporado para cosechar 98% del producto final.

[104] Parte 1C: 3-oleoil-1,2-bis (metoxihexaetilenglicol) glicerol

20 [105] Se agitaron a 25 grados centígrados por doce horas en nitrógeno 6.5 gramos del producto obtenido en 1B (diez mmoles), 3.1 gramo de ácido oleico (11 mmoles), 9.6 gramos de N,N'-diciclohexil carbodíimida (50mmol) y una cantidad catalítica de DMAP (0.6 g, 5 mmoles) en cloruro de metilo anhidro (CH₂Cl₂), después de lo cual las sales N,N'-dicicloexilurea fueron precipitadas y removidas por filtración. Los filtrados fueron evaporados bajo presión reducida
25 para cosechar 89 por ciento del producto final mostrado por la estructura química 15.

5/14

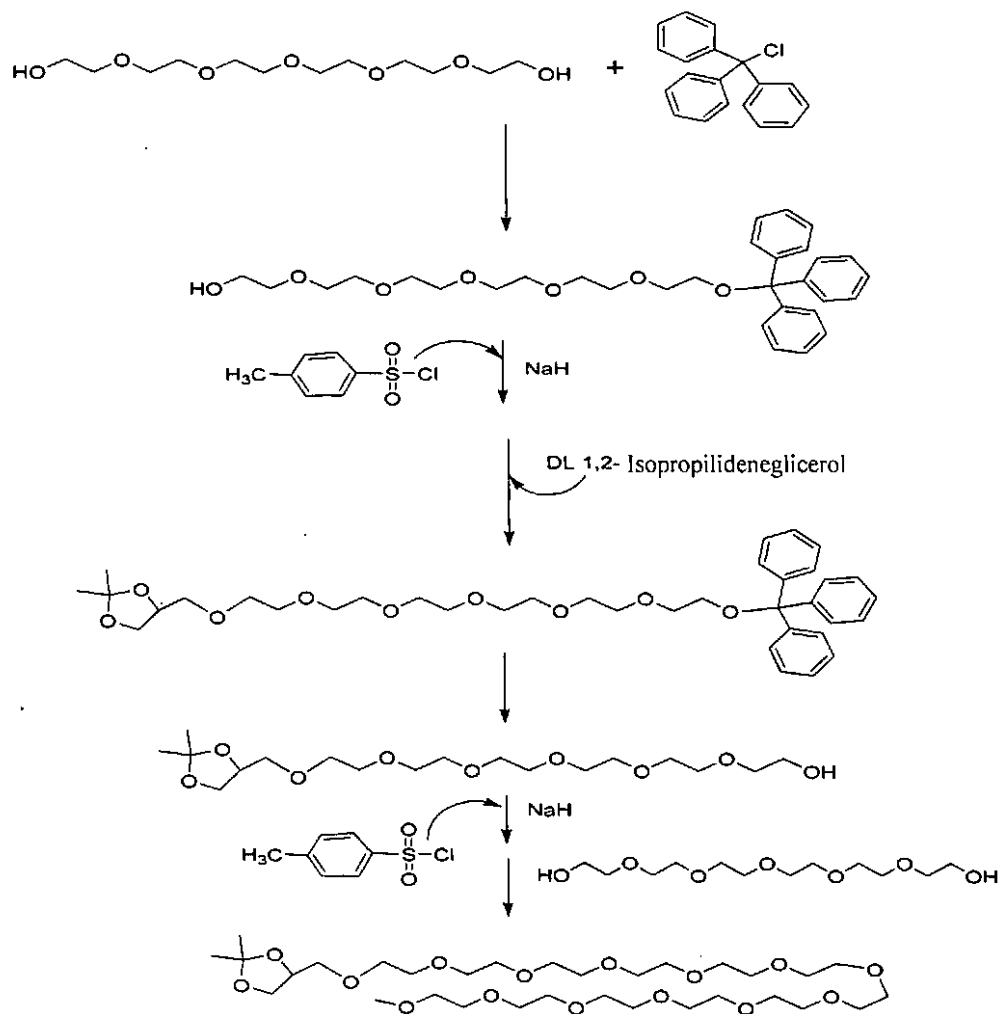


Estructura Química 15 3-óleoil-1,2-bis (metoxihexaetilen glicol) glicerol C

[106] Ejemplo 2. Síntesis de 1,2-dioleoil-rac-mono metoxidodecaetilen glicol (mPEG-12)-glicerol

5

[107] Los pasos generales para esta síntesis están mostrados en el Esquema de Reacción 8



Esquema de Reacción 8: síntesis de 1,2-isopropiliden-glicerol-3-monometoxi dodecaetilen ester

[108] Un mol de hexaetilenglicol fue mezclado con 0.15 mol de piridina y calentado a una temperatura de 45 a 50 °C y se adicionaron 0.1 mol de tritil cloruro. La reacción fue llevada a cabo durante toda la noche (aproximadamente diez y seis horas) bajo constante agitación y entonces enfriada hasta temperatura ambiente y extraída con tolueno. El extracto fue lavado con
5 agua, entonces extraído con hexano y secado sobre sulfato de magnesio. El solvente fue removido a vacío y se obtuvo un ligero amarillo aceitoso tri-hexaetilen glicol (rendimiento de 70 a 85 %).

[109] 0.1 mol de Tr-hexaetilen glicol y 0.101 mol de p-toluensulfonil cloruro fueron mezclados en
10 100 ml de cloruro de metileno. La mezcla homogénea fue enfriada a 0 °C en un baño de acetona is adicionaron 45 gramos de hidróxido de potasio en pequeñas porciones bajo agitación vigorosa mientras se mantiene la temperatura de reacción por debajo de 5 °C. La reacción fue completada bajo agitación constante por tres horas a 0 °C. El producto crudo fue diluido con 100 mililitros de cloruro de metileno, entonces se adicionó 120 mL de agua helada. La tap orgánicas recolectada,
15 y la fase acuosa fue extraída con cloruro de metileno (2 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron grabadas con agua (100 mL) y secado sobre sulfato de magnesio. El solvente fue removido a vacío para recuperar un aceite claro con un rendimiento de entre 87 a 99%.

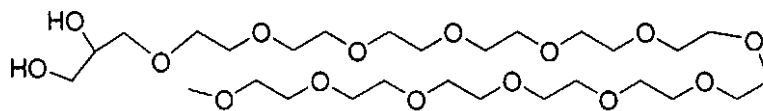
[110] Se depositaron en un frasco de tres cuellos, 1,2-isopropilideno-rac-glicerol (0.1 mol) y NaH
20 (0.4 mol) y THF seco (200 mL). Se adicionó una solución seca de THF (125 mL) de Tr-hexaetilenglicol tosilato (0.1 mol) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla fue puesta reflujo por 24 horas, y enfriada a temperatura ambiente. Se adicionó metanol helado a la mezcla la reacción para calmar el exceso de NaH. El solvente fue evaporado y el producto crudo fue extraído con 5% (p/v) de ácido clorhídrico y cloruro de metilo. El producto crudo no fue purificado
25 adicionalmente sino que se llevó directamente a la siguiente etapa de síntesis.

Sc

[111] El producto resultante del proceso descrito arriba fue transferido a un frasco de vidrio resistente a alta presión junto con 200 ml de cloruro de etileno seco y 10 % de paladio en Carbón (1.5). La hidrogenolisis fue llevada a cabo purgando hidrógeno puro a 30 °C a presión atmosférica por aproximadamente 60 minutos para remover el grupo protector en el
5 hexaetilenglicol. Después el hidrógeno fue remplazado por nitrógeno, la solución fue enfriada hasta 6 °C y el catalizador fue removido por filtración. El solvente fue vapuleado para recuperar el 95 a 98 % del producto final.

[112] Se mezclaron en un frasco de tres bocas, 3-hexaetilenglicol-1,2-isopropilideno-rac-glicerol (0.1 mol) y NaH (0.4 mol) y THF seco (500 ml). Se adicionó una solución seca de THF (200 ml)
10 de mono bencil hexaetilenglicol tosilato (0.11 mmol) a la mezcla gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla fue puesta a reflujo por 24 horas, y entonces enfriada a temperatura ambiente. Se le adicionó metanol helado a la mezcla de la reacción para calmar el exceso de NaH. El solvente fue evaporado y adicionalmente purificado por cromatografía de permeación
15 de gel para recuperar con un rendimiento de 82 % de 3-monometoxi dodecaetilenglicol-1,2-isopropilidenglicerol.

[113] El grupo protector isopropilideno fue removido por medio de agitación de diez gramos de 3-monometoxidodecaetilenglicol-1,2-isopropiliden glicerol durante tres horas en una solución acuosa
20 de metanol (180 mL de MeOH : 20 mL, 1 M HCl). La mezcla fue neutralizada con carbonato hidróxido de sodio y extraído en cloroformo (3 x 150 mL) y secado sobre sulfato de sodio. Después de filtración y evaporación del solvente se logró un rendimiento del producto de 75 a 80 % de 3-monotóxidodecaetilenglicol-1,2-di hidroxil glicerol (Estructura Química 16)

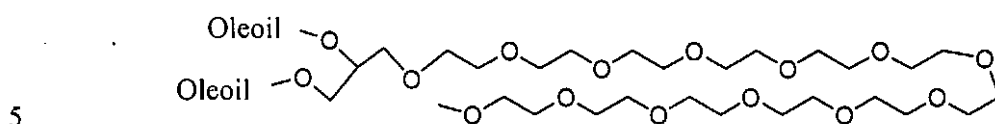


Estructura Química 16: 3-monotóxidodecaetilenglicol-1,2-dihidroxil-glicerol

[114] En la reacción de extensión de la cadena PEG indicada arriba, el reactivo PEG de arranque
 5 comprende preferiblemente de 1 a 6 unidades $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, y más preferiblemente de 3 a 6
 unidades $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, y más preferiblemente de 4 a 6 unidades $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$. La reacción entre
 glicerol y el reactivo-PEG puede ocurrir en la presencia o la ausencia de un grupo de enlace.
 Preferentemente los reactivos-PEG comprenden grupos funcionales hidroxil, amino, carboxyl, y
 isocianato, tiol y carbonato. Especialmente, los reactivos PEG preferidos para ser usado en esta
 10 modalidad del método de la invención su incluyen PEG-tosilato, PEG-mesilato y PEG-succinil.
 Siguiendo la reacción entre glicerol y el reactivo-PEG, se remueven los grupos de protección.

[115] Se mantuvieron en agitación 0.1 mol de 3-monometoxi dodecaetilen glicol-1,2-di hidroxil
 glicerol en atmósfera de nitrógeno en 250 mL de cloroformo. Se disolvieron 0.21 mol de cloruro
 15 de oleoil con 250 mL de cloroformo y fue adicionado al esta mezcla heterogénea de di hidroxil
 acetona siguiendo por adicionar 15 mL de piridina anhidra. La reacción se lleva a cabo por 30
 minutos bajo agitación constante a temperatura ambiente. La mezcla se hace homogénea y la
 reacción fue completada cuando no se detecte cloruro de oleoil en la mezcla. El solvente crudo
 fue removido a vacío. El residuo fue diluido con cloruro de metileno y se adicionó igual volumen
 20 de solución salmuera. La capa orgánica se colecta da y la fase acuosa fue de repetidamente
 extraída con cloruro de metileno y la capa orgánicas fue combinada y lavada otra vez con agua
 (50 mL) y secada sobre sulfato de sodio, y evaporada adicionalmente para recuperar un producto
 aceitoso(70 a 80%) (Estructura Química 17). Su cromatografía líquida y espectrometría de masa
 (LC-MS) se muestra en la figura 1: a) la muestra fue inyectada en una columna 4.6 x 50 mm

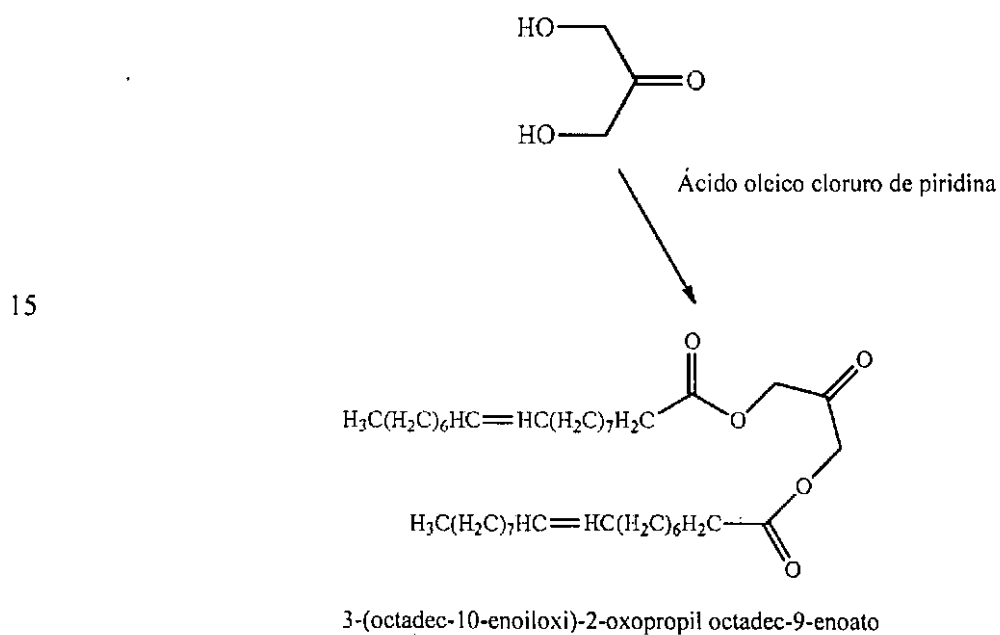
Inertsil C8 y el ruido bajo una mezcla de tetrahidrofurano y agua (4/6, V/V) monitoreando con un espectrómetro de masa y b) el espectro MS del pico eluido a 1.45 minutos donde $[M-1]^+$ es el ión del compuesto familiar.

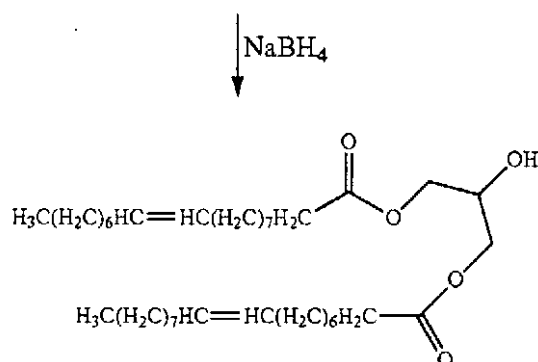


Estructura química de 17: Síntesis de 1,2-dioleil-rac-monometoxi dodecaetilen glicol (mPEG-12) glicerol

10 [116] Ejemplo 3. Síntesis de Síntesis de 1,3-dioleil-rac-monometoxi dodecaetilen glicol (mPEG-12) glicerol.

[117] Los pasos generales para esta síntesis está mostrado en el siguientes esquema (Esquema de Reacción 9)





2-hidroxi-3-(octadec-10-enoiloxi)propil octadec-9-enoato

Esquema de Reacción 9: síntesis de 1,3-dioleoil-2-glicerol ester

5

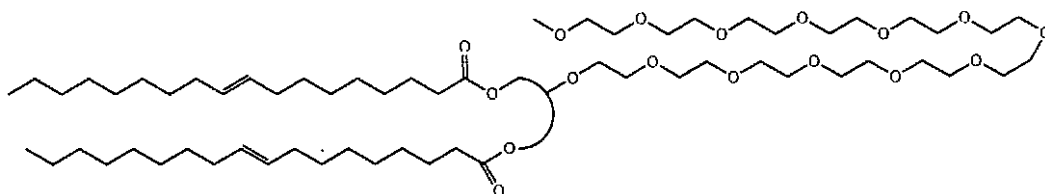
[118] Se mantuvo en constante agitación 0.33 mol de dihidroxiacetona en atmósfera de nitrógeno en 150 mL de cloroformo. Se disolvió 0.06 mol de cloruro de oleoil con 150 mL de cloroformo y adicionado al esta mezcla heterogénea de y dihidroxiacetona y se añadió enseguida 10 mL de piridina anhidra. La reacción se sigue por 30 minutos bajo constante agitación a temperatura ambiente. La mezcla se hace homogénea y la reacción se completa cuando no se detecta cloruro de oleoil en la mezcla. El solvente crudo es removido a vacío. El residuo se lava con agua y se extrae con acetato de etilo. La fase acuosa es repetidamente extraída con acetato de etilo y la capas orgánicas fueron combinada y lavada una vez más con agua, secada sobre sulfato de sodio y evaporada. El producto aceitoso resultante fue R cristalizado del metanol para dar 3-
 10 (octadec-10-enoil oxi)-2- oxopropil octadec-9-enoato (% de rendimiento 75-80) con una
 15 temperatura de fusión de entre 43 y 44 grados centígrados.

[119] El 1,3-dioleato (0.02 mol) fue disuelto con 150 mL de tetra hidro furano (THF) y 10 mL de agua. La solución heterogénea fue enfriada hasta 5 °C en un baño de hielo. Se añadió en
 20 pequeña porción una solución de do borohidruro de sodio (0.026 mol en THF). Después de 30 minutos el exceso de borohidruro fue destruido por la adición aproximada de 1 mL de ácido

acético glacial, la solución fue entonces diluida con cloroformo, y lavada con agua y secada sobre sulfato de magnesio. Un aceite se obtuvo con cristalización parcial en cristales como agujas de 2-hidroxi-3-(octadec-10-enilo) propil octadec-9-enoato (rendimientos de entre 80 y 90%) con temperatura de fusión de 20-22 grados centígrados.

5

[120] A partir del producto intermediario descrito arriba, se preparó 1,3-dioleoil-rac-glicerol-rac-2-monometoxi dodecaetilenglicol (mPEG-12)-glicerol (Estructura Química 18) después de la reacción y elaboró como esta descrito en el ejemplo 1 y 2.

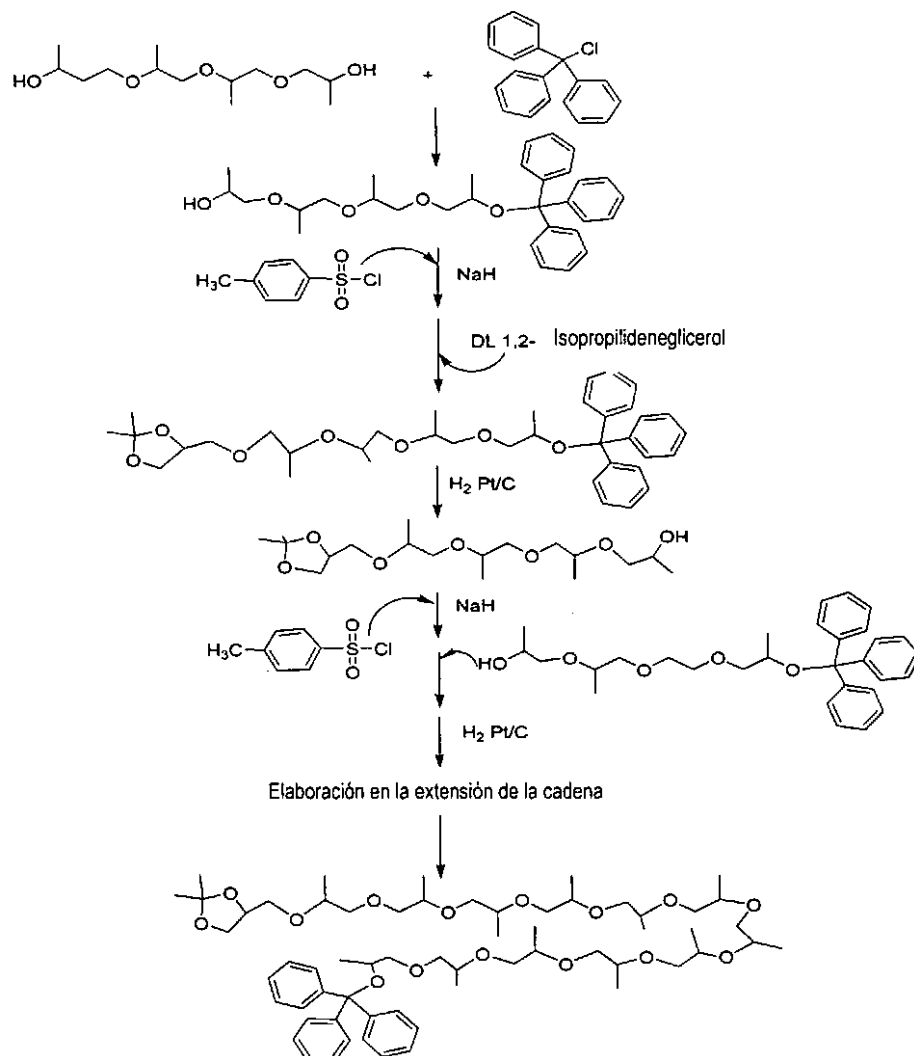


10

Estructura Química 18 1,3-dioleoil-rac-2-monometoxi dodecaetilen glicol (mPEG-12)-glicerol

[121] Ejemplo 4: 1,2-di miristoil-rac-3-dodecapropilenglicol (PPG-12)-glicerol

15 [122] los pasos generales para esta síntesis está mostrado en el siguiente esquema (Esquema de Reacción 10):



Esquema de Reacción 10: Síntesis de 1,2-isopropiliden-glicerol-3-tritil-dedecapropilenglicol

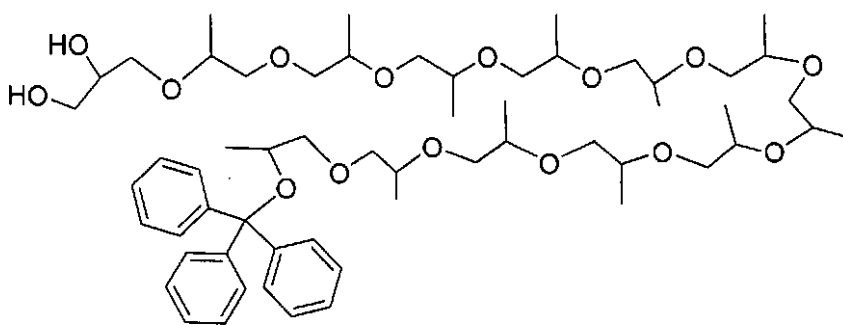
[123] Se mezclaron 1.5 moles de tetra propilenglicol mezclado con 0.23 mol de piridina y
 5 calentado a 45- 50 °C y se adicionaron 0.15 mol de tritil cloruro. La reacción se llevó a cabo toda
 la noche (aproximadamente 16 horas) bajo agitación constante, entonces enfriada hasta
 temperatura ambiente y extraída con tolueno. El extracto fue lavado con agua, entonces extraída
 con hexano y secado sobre sulfato de magnesio. El solvente fue removido en vacío. Se obtuvo
 un aceitoso y ligero Tr-tetrapropilenglicol amarillo (rendimiento 75 a 85%).

- [124] Se mezclaron 0.1 mol de Tr-tetrapropilenglicol y 0.101 mol de p-tolueno de cloruro de sulfonilo en 100mL de cloruro de metileno. La mezcla homogénea fue enfriada a 0 °C en un baño de acetona helada seca y se le adicionó 45 g de hidróxido de potasio en pequeñas cantidades con agitación vigorosa manteniéndose la temperatura de reacción por debajo de 5 °C.
- 5 La reacción fue completada bajo agitación constante por 4 horas a 0 °C. El producto crudo fue diluido con 100 mL de cloruro de metileno, añadiéndose entonces 120 mL de agua helada. La capa orgánica se colectada, y la fase acuosa fue extraída con cloruro de metileno (2 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron grabadas con agua (100 mL) y secado sobre sulfato de magnesio. El solvente fue removido a vacío para recuperar un aceite claro (con un rendimiento
- 10 de 75 a 85%).
- [125] Se cargó en un frasco de tres bocas, 1,2-isopropiliden-rac-glicerol (0.1 mol) y NaH (0.4mol) y THF seco (200 mL). Se adicionó por goteo una solución seca de THF (125 mL) de Tr-tetra propilenglicol tosilato (0.1 mol) a la mezcla a temperatura ambiente. La mezcla fue puesta a
- 15 reflujo durante xxiv horas y entonces enfriada a temperatura ambiente. Se adicionó metanol helado a la mezcla la reacción para calmar el exceso de NaH. El solvente fue evaporado y el producto crudo fue extraído con 5% de ácido clorhídrico (p/v) y CH₂Cl₂. El producto crudo no tuvo ninguna purificación adicional sino que se llevó directamente al siguiente paso de síntesis.
- 20 [126] El producto crudo del paso anterior fue transferido a un frasco de vidrio resistente a alta presión agregándole 200 mL de cloruro de metileno seco y 10% de paladio en carbón (1.5 g). La hidrogenolisis fue llevada a cabo purgando con hidrógeno puro a 30 °C por aproximadamente 60 minutos para remover el grupo protegido en el hexaetilenglicol. Después de que el hidrógeno fue
- 25 remplazado por nitrógeno, la solución fue enfriada hasta 4 a 6 °C y el catalizador fue removido por filtración. El solvente fue evaporado para recuperar 95 a 98 por ciento del producto final.

[127] Se vació en un frasco de tres bocas, 3-tetrapropilenglicol-1,2 isopropiliden-rac-glicerol (0.1 mol) y NaH (0.4 mol) y THF seco (500 mL). Se adicionó una solución seca de THF (200 mL) de Tr-tetrapropilenglicol tosilato (0.11 mmol) a la mezcla gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla fue puesta a reflujo por 24 horas, y enfriada hasta temperatura ambiente. Se adicionó metanol helado a la mezcla la reacción para calmar el exceso de NaH. El solvente fue evaporado y el producto crudo fue extraído con 5% de ácido clorhídrico (p/v) y cloruro de metilo.

[128] La etapa de eterificación ser repetida una vez más. El solvente fue evaporado y una purificación adicional por cromatografía de permeación de gel para recuperar aproximadamente el 80% del 3-tritil- Dodecapropilenglicol-1,2-isopropilidenglicerol.

[129] El grupo protector isopropilideno fue removido por agitado de diez gramos de 3-Dodecapropilenglicol-1,2-isopropiliden glicol por 3 horas en una solución de metanol acidificado (180 mL MeOH : 20 mL 1M de ácido clorhídrico). La mezcla fue neutralizada con carbonato ácido de sodio y extraída con cloroformo (3 x 150 mL) y secada sobre sulfato de sodio. La filtración evaporación del solvente rindió una cantidad de producto (75-80%) de 3-tritil-Dodecapropilenglicol-1,2-di hidroxil-glicerol (Estructura Química 19)



Estructura Química 19: 3-tritil-Dodecapropilenglicol-1,2-di hidroxil-glicerol

[130] En la reacción de extensión de cadena PEG vista arriba, el reactivo PEG de arranque comprende preferiblemente seis unidades de $\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{O}$, y más preferiblemente 3 a 6 unidades $\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{O}$, y todavía más preferentemente 4 a 6 unidades de $\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{O}$. La reacción entre el glicerol y el PEG-reactivo puede ocurrir en la presencia o la ausencia de un grupo enlazador. En esta modalidad, el PEG-reactivo tiene un grupo funcional elegido de entre hidroxil, amino, carboxil, isocianato, tiol y carbonato. Los PEG reactivos especialmente preferidos para su uso en esta modalidad del método inventivo incluye PEG-tosilato, PEG-mesilato y PEG-succinil. Siguiendo la reacción entre glicerol y el PEG-reactivo, los grupos protectores fueron removidos.

10

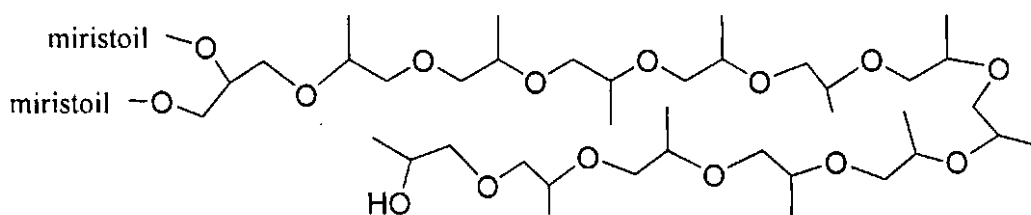
[131] Se agitó constantemente en una atmósfera de nitrógeno 0.1mol de 3-tritil Dodecapropilenglicol-1,2-di hidroxil-glicerol en 250 mL de cloroformo. Se disolvió 0.21 mol de cloruro mirístico en 250 mL de cloroformo y adicionado a esta mezcla homogénea de di hidroxil acetona y seguido por la adición de quince ml de piridina anhidra. La reacción sigue por 30 minutos bajo constante agitación a temperatura ambiente. La mezcla se volvió homogénea y la reacción fue completada cuando no se detectaba cloruro de oleoil en la mezcla. El solvente crudo fue removido a vacío y transferido al siguiente paso sin purificación adicional.

[132] El producto crudo de arriba fue transferido a un frasco de vidrio resistente a alta presión junto con 200 mL de cloruro de metileno seco y 10% de paladio en carbón (1.5g). La hidrogenolisis fue llevada a cabo purgando hidrógeno puro a 30 °C atmósfera abierta por aproximadamente 60 minutos para remover el grupo protector en el hexaetilenglicol. Después el hidrógeno fue remplazado por nitrógeno, la solución fue enfriada hasta iv a 6 °C y el catalizador fue removido por filtración. El solvente fue evaporado para cosechar 95 a 98 % del producto final.

25

CA

[133] El residuo de la etapa llevada a cabo arriba fue diluido con cloruro de metileno y se adicionó igual volumen de solución salmuera. La capa orgánica se colecta da y la fase acuosa fue extraída repetidamente con cloruro de metileno y la capa orgánicas fue combinada y lavada una vez más con agua (50 mL) y secada sobre sulfato de sodio, y evaporación es adicionales para cosechar un producto aceitoso (70-85%) (Estructura Química 20).

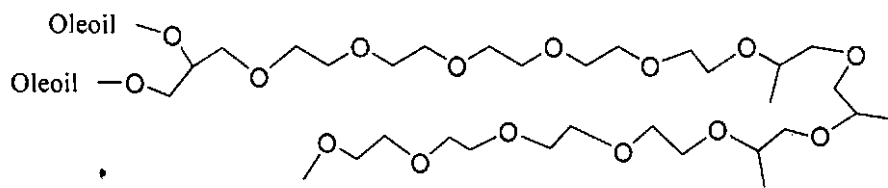


Estructura química 20: 1,2-dimiristoil-rac-Dodecapropilenglicol (mPPG-12)-glicerol

10

[134] Por ejemplo, la reacción de extensión de la cadena de polímero en los reactantes de inicio, pueden ser metilenglicol o etilenglicol o propilenglicol o una mezcla de los tres a partir de 1 a 6 unidades repetidas, y más preferiblemente tiene 3 a 6 unidades repetidas, y lo más preferible tiene iv a seis unidades repetidas. Es seguido la reacción entre glicerol y el reactivo puede ocurrir en la presencia o la ausencia de un grupo de enlace. En esta modalidad, el reactivo de polimerización preferido tiene grupos funcionales de hidroxilo, amino, carboxilo, tiol, isocianato y carbonato. Específicamente el reactivo preferido para usarse en esta modalidad del método inventivo incluye tosilato, mesilato, y succinil. Siguiendo la reacción entre glicerol y los reactantes de polimerización, se removieron los grupos de protección. Uno de tales ejemplos es como el mostrado en la estructura química 21.

20



Estructura química 21: 1,2-dioleoil-rac-3-monometoxil tetra etilenglicol-tri propilenglicol-tetra etilenglicol glicerol éter

5 [135] Ejemplo cinco: Composiciones de dosis sólidas

- [136] Se adiciona un conjugado PEG lipido líquido a un vaso de acero inoxidable equipado con propelas tipo hojas de licuadora. La sustancia fármaco se adiciona con mezclado constante. El mezclado continúa hasta que el fármaco está disperso visualmente en el lipido a una temperatura de entre 55 a 65 grados centígrados. En un contenedor separado, el conjugado PEG lipido con temperatura de fusión por arriba de aproximadamente 30 °C es fundido con calentamiento o disuelto en etanol y adicionado al recipiente con mezclado. El mezclado continúa hasta que se logra una solución completamente homogénea. Si es necesario, se remueve el etanol por vacío. La solución es rellenada dentro de las cápsulas o configuración de empaque prediseñado (moldes) cuando la solución está tibia. Los montes o cápsulas rellenos son puestos bajo refrigeración (dos a ocho grados centígrados) hasta que la mezcla parecida a una crema es solidificada cuando se enfría. Una muestra la formulación está descrita en la tabla cinco
- 10
- 15

[137] Tabla 5

Ingrediente	%
Fármaco	15
Conjugado PEG-lípido Líquido	40
Conjugado PEG-lípido Sólido	45
Etanol	< 1

[138] El conjugado líquido puede ser a GDM-12, GDO-12, GDC-12, GDM-600, GDO-600, GDC-600, GOB-12, GMB-12, GOBH, GMBH, GCBH, GCBH o GPBH . El conjugado lípido sólido puede ser GDS-12, DSB-12, GDO-23, GDO-27, GDM-23, GDM-27 y GDS-23. El fármaco puede ser modafinil or nifedapina o esomeprazole or rapamycina u otro agente activo.

5

[139] Ejemplo 6: Composiciones de dosis sólida.

[140] Se adicionó Un conjugado PEG lípido líquido (teniendo un punto de fusión por debajo de alrededor de 15 °C) a un vaso de acero inoxidable equipado conpro pelas tipo hojas de
 10 licuadora. El fármaco fue adicionado con mezclado constante. El mezclado continuo hasta que el fármaco estuvo visualmente disperso en el lípido a una temperatura entre 55 y 65 °C. En un contenedor separado, se disolvió TPGS-VE en etanol y adicionado al vaso con mezclado. El mezclado continuo hasta que se logró una completa dispersión logrando una solución homogénea. El etanol fue removido por vacío. La solución se rellena en las cápsulas o
 15 configuración del paquete diseñado (moldes) cuando la solución estuvo tibia. Las cápsulas como el tested rellenos fueron metidos la refrigeración (a una temperatura de entre 2 y 8° C). La mezcla con semejanza a crema fue solidificada cuando se enfrió. Una formulación demuestra que esta descrita en la tabla 6.

20

[141] Tabla 6

Ingrediente	%
Fármaco (active)	15
Conjugado Liquido PEG-lípido	40
TPGS-VE	45
Etanol	< 1

[142] El conjugado líquido puede ser GDM-12, GDO-12, GDC-12, GDM-600, GDO-600, GDC-600, GOB-12, GMB-12, GOBH, GMBH, GCBH, GCBH o GPBH. El fármaco puede ser modafinil o nifedapino o esomeprazol o rapamicina u otro agente activo.

5 [143] Ejemplo 7: Composiciones de soluciones orales

[144] El PEG-lípido fue agregado a un vaso equipado con una propela mezcladora. El fármaco fue adicionado con mezclado constante. El mezclado continuo hasta que el fármaco estaba dispersó visualmente en el lípido. Los excipientes pre disueltos fueron adicionados lentamente al
10 vaso con mezclado adecuado. El mezclado continuó hasta que se logró una solución completamente homogénea. Una formulación muestra esta descrito en la tabla siete

[145] Tabla 7

Ingrediente	mg/mL
Fármaco (activo)	30.0
PEG-Lípido	100
Ácido Láctico	50
Hidróxido de Sodio	Ver abajo
Ácido clorhídrico	Ver abajo
Benzoato de sodio	2.0
Aroma Artificial	5.0
Agua Purificada	qs 1 mL

15 [146] El lípido puede ser GDM-12, GDO-12, GDC-12, GDM-600, GDO-600, GDC-600, GOB-12, GMB-12, GOBH, GMBH, GCBH, GCBH o GPBH o cualquier combinación de estos. El hidróxido de sodio es usado para preparar una solución 10% p/p en agua purificada. El pH deseado está

en un rango de entre 4.0 y 7.0. El NaOH es usado para ajustar el pH si es necesario. El fármaco puede ser modafinilo o nifedapino o esomeprazol o rapamicina u otro agente activo.

[147] Ejemplo 8: Composiciones de ciclosporina oftálmicas

5

[148] Se adicionó PEG-lípido a un vaso y quitado con una tropel a mezclador. La ciclosporina se adicionó con mezclado constante. El mezclado continuo hasta que el fármaco estuvo visualmente disperso en el lípido. Se adicionaron lentamente excipientes pre-disueltos y agua purificada estéril con un mezclado adecuado. El mezclado continuo hasta que la solución fue

10 completamente homogénea. Una formulación de muestra está descrita en la tabla 8.

[149] Tabla 8

Ingrediente	mg/100 mL
Ciclosporina	50 mg
PEG-Lípido	500
Hidróxido de Sodio	Ver debajo
Ácido clorhídrico	Ver debajo
Cloruro de Sodio	900
Agua purificada estéril	qs 100 mL

[150] El lípido puede ser GDM-12, GDO-12, GDC-12, GDM-600, GDO-600, GDC-600, GOB-12, GMB-12, GOBH, GMBH, GCBH, GCBH o GPBH o una mezcla de estos. El hidróxido de sodio es

15 usado para preparar una solución 10% p/p en agua purificada. El ph objetivo este un rango de 6.0 a 7.4. El NaOH es usado para ajustar el pH si esto es necesario.

[151] Ejemplo 9: Composiciones de Soluciones Inyectables

[152] La solución inyectable fue preparada como en el ejemplo 7, excepto que el pH objetivo está ubicado en un rango de entre 6.0 y 8.0. Una formulación muestra está descrita en la tabla 9.

[153] Tabla 9

Ingrediente	mg/mL
Fármaco (Activo)	10.0
PEG-Lípido	100
Hidróxido de sodio	Ver debajo
Ácido láctico	20
Agua purificada	qs 1 mL

5

[154] El lípido puede ser GDM-12, GDO-12, GDC-12, GDM-600, GDO-600, GDC-600, GOB-12, GMB-12, GOBH, GMBH, GCBH, GCBH o GPBH o cualquier combinación de éstos. El hidróxido de sodio es usado para preparar una solución de 10% w/w en agua purificada. El pH objetivo está en un rango de entre 6.5 to 7.4. El NaOH is usado para ajustar el pH si esto es necesario. El fármaco puede ser triazoles incluyendo posaconazol, voriconazol e itraconazol o rapamicina o ciclosporinas o tacrolimus o nifedipina o paclitaxel o docetaxel o gefitinib o propofol o rifampin o diazepam o nelfinavir u otro agente activo.

10

[155] Ejemplo 10: perfil fármaco simétrico y biodisponibilidad de formulaciones de itraconazol.

15

[156] Se utilizaron grupos de tres ratones machos (B6D2F1) para el estudio. La farmacocinética (PK) fue desarrollada en muestras de plasma de ratones tratados con heparina obtenidas a las 0 horas, a las 0.08 horas, a las 0.25 horas, a las 0.5 horas, 1 hora después, 2 horas después, 4 horas después, 8 horas después, 16 horas después, y 24 horas después de que el bolo de la inyección iv o alimentación oral a las 0 horas, 0.5 horas, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 8 horas, 16 horas y 24 horas para itraconazol. Las muestras fueron analizadas usando un método HPLC-

20

70

MS/MS. Para determinar el nivel de cada fármaco, el fármaco fue primero aislado del plasma con el pretratamiento muestra. El acetonitrilo se usó para remover las proteínas en la muestra. Un método isocrático HPLC-MS/MS fue entonces usado para separar el fármaco de cualquier interferencia potencial. Los niveles de fármacos fueron medidos por detección MS con un modo de monitoreo de reacción múltiple (MRM). Los datos PK fueron analizados usando el modelo de análisis compartimental del programa WinNonlin (ver 5.2, Pharsight).

[157] La figura 2 muestra los perfiles PK en los ratones cuando se aplicó formulaciones de itraconazol con 1) GDO-12 (relación 1:10 fármaco a lípido) en 10 mM de buffer de fosfato de sodio (pH 7.4) y 2) 10% de Cremophor-5% MeOH en 10 mM de buffer de fosfato de sodio (pH 7.4). El fármaco fue administrado intravenosamente y la dosificación fue de 20 mg/kg. El AUC fue de 5441 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ y 986 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ para las formulaciones DAG-PEG (1) y el producto comercial (2), respectivamente.

[158] La figura 3 muestra los perfiles PK en los ratones cuando se suministró formulaciones de itraconazol con 1) GDO-12 (1 : 10 relación fármaco a lípido) en buffer de fosfato de sodio 10 mM (pH 7.4) y 2) 10% de Cremophor-5% MeOH en 10 mM de buffer de fosfatos de sodio (pH 7.4). El fármaco fue administrado oralmente y el Valor de la dosis fue de 20 mg/kg. La biodisponibilidad relativa (basada en la AUC_{0-24 hr}) fue 63% y 45% para las formulaciones de PEG-DAG 1) y 2), respectivamente.

[159] Ejemplo 11: composición de Crema Tópica

[160] Se colocó PEG-lípido en un vaso de acero inoxidable equipado con paletas tipo hojas de licuadora. El fármaco fue adicionado con mezclado constante. El mezclado se continuó hasta que

la droga estuvo dispersa visualmente en el lípido a una temperatura de entre 60 y 65° C. Se adicionaron un ácido orgánico, colesterol y glicerina con mezclado. Se adicionó metanol y etioxi diglicol con mezclado. Finalmente se adicionaron con mezclado carbopol ETD 2020, agua purificada y trietilamina. Se adicionó etanol y etioxidiglicol con mezclado. Finalmente fue
 5 adicionado carbopol ETD 2020, agua purificada y trietilamina con mezclado. El mezclado continuó hasta que se logró la completa homogeneidad de la crema. Una formulación está descrita en la tabla 10.

[161] Table 10

Ingrediente	%
Fármaco (Active)	1.0
PEG Lípido	5.0
Carbopol ETD 2020	0.5
Etioxidiglicol	1.0
Etanol	5.0
Glicerina	1.0
Colesterol	0.4
Trietilamina	0.20
ácido Orgánico	10
Hidróxido de Sodio	Ver debajo
Agua Purificada	qs 100

10

[162] El lípido puede ser GDM-12, GDO-12, GDC-12, GDM-600, GDO-600, GDC-600, GOB-12, GMB-12, GOBH, GMBH, GCBH, GCBH o GPBH o GDS-12 o cualquier combinación de estas. El ácido orgánico puede ser ácido láctico o pirúvico o glicólico. El hidróxido de sodio es utilizado para ajustar el pH si fuera necesario. El pH objetivo está ubicado entre 3.5 y 7.0. El fármaco
 15 puede ser itraconazol, posaconazol, voriconazol o equaconazol, Terbinafin, Amorolfín, Naftifin,

Butenafin, ácido Benzoico, Ciclopirox, Tolnaftato, ácido Undecilenico, Flucytosina , Griseofulvin , Haloprogin, bicarbonato de Sodio o acetónida de Fluocinolona.

[163] Ejemplo 12: Composición de solución tópica

5

[164] La solución tópica fue preparada común el ejemplo 11, una formulación muestra está descrita en la tabla 11.

[165] Tabla 11

Ingrediente	%
Fármaco (Active)	1.0
PEG Lípido	5.0
α -Tocoferol	0.5
Ácido orgánico	10.0
Etanol	5.0
Benzoato de sodio	0.2
Hidróxido de sodio	See Below
Agua purificada	qs 100

- 10 [166] El lípido puede ser GDM-12, GDO-12, GDC-12, GDM-600, GDO-600, GDC-600, GOB-12, GMB-12, GOBH, GMBH, GCBH, GCBH o GPBH o GDS-12 o cualquier combinación de estas. El ácido orgánico puede ser ácido láctico o pirúvico o glicólico. El hidróxido de sodio es utilizado para ajustar el pH si fuera necesario. El pH objetivo está ubicado entre 3.5 y 7.0. El fármaco puede ser itraconazol, posaconazol, voriconazol o equaconazol, Terbinafin, Amorolfina, Naftifina, Butenafin, ácido Benzoico, Ciclopirox, Tolnaftato, ácido Undecilenico, Flucytosina, Griseofulvin, Haloprogin, bicarbonato de Sodio o acetónida de Fluocinolona.
- 15

[167] Ejemplo 13 Composiciones de Acitrómizina oftálmicos.

[168] El PEG-lípido fue adicionado a un recipiente equipado con una propela mezcladora. La Acitromizina fue adicionada con constante el mezclado. El mezclado continuo hasta que el fármaco se vio dispersado en el lípido. Se adicionó lentamente los excipientes predisolubles y agua purificada estéril con mezclado adecuado. El mezclado continuo Aza la completa

5 homogeneización de la solución. Una muestra esta formulación está descrita en la tabla 12

[169] Tabla 12

Ingrediente	mg/mL
Azitromicina	15 mg
PEG-Lípido	150
Hidróxido de sodio	Ver debajo
Ácido Clorhídrico	Ver debajo
Cloruro de sodio	9
Agua purificada estéril	qs 1 mL

[170] El lípido puede ser GDM-12, GDO-12, GDC-12, GDM-600, GDO-600, GDC-600, GOB-12, GMB-12, GOBH, GMBH, GCBH, GCBH o GPBH o cualquier combinación de éstos. El hidróxido de sodio es usado para preparar una solución 10% p/p En agua purificada. El pH objetivo está en un rango de entre 7.0 to 7.8. El NaOH es usado para ajustar el pH si es necesario.

10

[171] La concentración preferible de azitromicina se ubica entre 0.5 y 3%, más preferiblemente entre 0.5 y 2%, lo más preferiblemente entre 1 a y 2%. La relación preferible a del PEG-lípido con respecto al fármaco (PEG-lípido/ciclosporina) está entre 1 y 20, más preferiblemente entre 3 y 15 y la más preferiblemente entre 5 y 10.

15

REIVINDICACIONES

1. Una composición química incluyendo un conjugado PEG-lípido, el conjugado PEG-lípido comprende:
 - 5 una columna vertebral de glicerol;
un grupo lípido unido por enlace covalente a la columna vertebral de glicerol;
una cadena PEG unida por enlace covalente a la columna vertebral del glicerol, donde la cadena PEG tiene un peso molecular entre alrededor de 200 y 1200 daltons, donde más de alrededor de 75 % de las cadenas PEG de las moléculas del conjugado en la composición tienen el mismo
 - 10 peso molecular
2. En la composición de la reivindicación 1, donde más del 90 % de las cadenas PEG de las moléculas conjugadas en la composición tienen el mismo peso molecular.
3. La composición de la reivindicación 2, donde la cadena PEG tiene un peso molecular mayor a alrededor de 600 daltons.
- 15 4. La composición de la reivindicación 1, donde el lípido es un grupo alquilo.
5. La composición de la reivindicación 4, donde el grupo alquilo es seleccionado de entre los grupos alquilos contenidos en la Tabla 1 y en la Tabla 2.
6. La composición de la reivindicación 1, que comprende además un segundo lípido unido de manera covalente a la columna vertebral del glicerol.
- 20 7. La composición de la reivindicación 6, donde el segundo lípido es un grupo alquilo.
8. La composición de la reivindicación 7, donde el grupo alquilo es seleccionado de entre los grupos alquilos contenidos en la Tabla 1 y en la Tabla 2.
9. La composición de la reivindicación 6, donde el lípido es un ácido biliar.
10. La composición de la reivindicación 7, donde el ácido biliar es seleccionado del conjunto de
- 25 ácidos biliares contenidos en la tabla 4.

11. La composición de la reivindicación 6, donde lípido es colesterol.
12. La composición de la reivindicación 1, comprendiendo además un grupo enlazador entre la columna vertebral de glicerol y la cadena PEG.
13. La composición en la reivindicación 12, donde el enlazador es seleccionado de entre el grupo
- 5 consistente de:
-S-, -O-, -N-, -OCOO-, y los enlazadores contenidos en la tabla 3.
14. La composición de la reivindicación 1, comprendiendo además una segunda cadena PEG unida en forma covalente a la columna vertebral del glicerol.
15. La composición de la reivindicación 1, donde el enlace entre la columna vertebral de glicerol y
- 10 la cadena del PEG es seleccionado a partir del grupo consistente de -O-C(O)-, -O-, -S-, and -NH-C(O)-.
16. La composición de la reivindicación 1, donde el enlace entre la columna vertebral de glicerol y la cadena PEG es seleccionada del contenido de la tabla 3.
17. Un liposomas que comprende:
- 15 un conjugado PEG lípido donde el conjugado incluye una columna vertebral de glicerol, un grupo lípido unido de manera covalente a la columna vertebral de glicerol y una cadena PEG unida de manera covalente a la columna vertebral de glicerol, donde la cadena PEG tiene un peso molecular de entre alrededor de 200 y 1200 daltons, y donde más del 75 % de las cadenas PEG de las moléculas conjugadas en la en la composición tienen el mismo peso molecular; y
- 20 un agente activo
18. El liposomas de la reivindicación 17, donde el agente activo de ciclosporina.
19. El liposomas de la reivindicación 17, donde el agente activo de propofol.
20. El liposomas de la reivindicación 17, donde el agente activo de docetaxel.

RESUMEN

Se divulga la síntesis del conjugado de polyethyleneglycol (PEG)-lípid. Tal síntesis comprende los pasos de agregar oligómeros de PEG pequeños a la columna vertebral de glicerol hasta que
5 se alcance la longitud deseada de la cadena. Los polímeros resultantes de esta síntesis están altamente mono dispersos. La presente invención provee varias ventajas tales como una síntesis simplificada, alto rendimiento de producto y bajo costo de los materiales de arranque. Es seguido el presente método de síntesis es adecuado para preparar un amplio rango de conjugados.

En otro aspecto, la invención comprende conjugados PEG lípido teniendo una columna vertebral
10 glicerol unida de manera covalente a una o más cadenas PEG monodispersas y uno o más lípidos. Estos conjugados son especialmente útiles para formulaciones farmacéuticas.

15

20

25

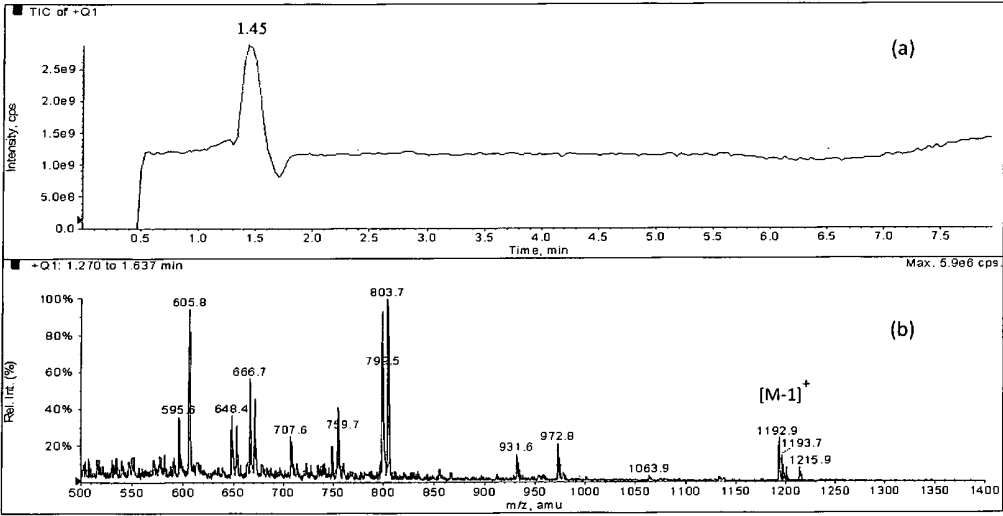


FIG. 1

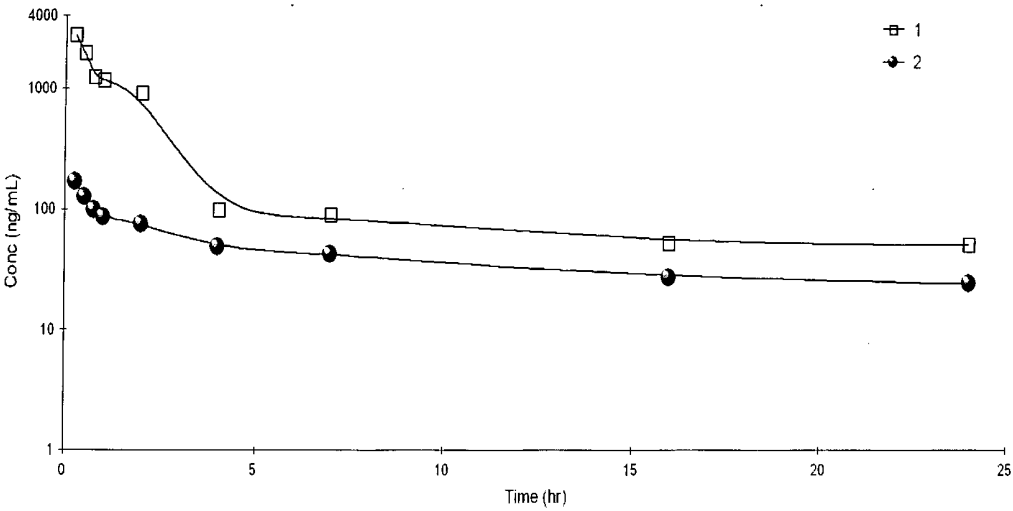


FIG. 2

79

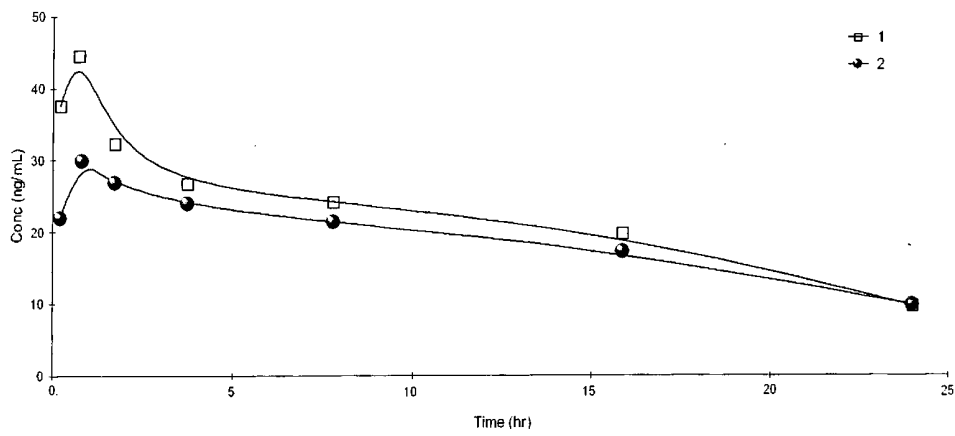


FIG. 3

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
9 December 2010 (09.12.2010)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2010/141069 A2

(51) International Patent Classification:
A61K 31/77 (2006.01) C08L 63/10 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2010/001590

(22) International Filing Date:
1 June 2010 (01.06.2010)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/217,627 2 June 2009 (02.06.2009) US
61/284,065 12 December 2009 (12.12.2009) US

(72) Inventors; and

(71) Applicants : WU, Nian [US/US]; 103 Sassafras Court,
North Brunswick, NJ 08902 (US). KELLER, Brian,
Charles [US/US]; 5058 Nortonville Way, Antioch, CA
94531 (US).

(74) Agent: PEDERSON, Lee; 712 East Main Street, Sleepy
Eye, MN 56085 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— without international search report and to be republished
upon receipt of that report (Rule 48.2(g))

(54) Title: PURE PEG-LIPID CONJUGATES

(57) Abstract: Syntheses of polyethyleneglycol (PEG)-lipid conjugates are disclosed. Such syntheses involve stepwise addition of small PEG oligomers to a glycerol backbone until the desired chain size is attained. Polymers resulting from the syntheses are highly monodisperse. The present invention provides several advantages such as simplified synthesis, high product yield and low cost for starting materials. The present synthesis method is suitable for preparing a wide range of conjugates. In another aspect, the invention comprises PEG lipid conjugates having a glycerol backbone covalently attached to one or two monodisperse PEG chains and one or two lipids. These conjugates are especially useful for pharmaceutical formulations.



WO 2010/141069 A2

SPECIFICATION

TITLE OF INVENTION

PURE PEG-LIPID CONJUGATES

FIELD OF THE INVENTION

[001] The present invention relates to syntheses of polyethyleneglycol (PEG)-lipid conjugates. More particularly, the invention relates to convenient and economic synthetic methods and compositions for preparing PEG-lipid conjugates with substantially monodisperse PEG chains.

CLAIM OF PRIORITY

[002] This application claims priority to United States provisional patent application no. 61/217,627 entitled "PURE PEG-LIPID CONJUGATES" and filed on June 2, 2009; and to United States provisional patent application no. 61/284,065 entitled "PURE PEG-LIPID CONJUGATES" and filed on December 12, 2009.

BACKGROUND OF THE INVENTION

[003] When used as a delivery vehicle, PEG-lipid conjugates have the capacity to improve the pharmacology profile and solubility of lipophilic drugs. They also provide other potential advantages such as minimizing side effects and toxicities associated with therapeutic treatments.

82

[004] Narrow molecular weight distribution of drug delivery polymers is crucially important for biomedical applications, especially if used for intravenous injections. For instance, PEG-8 Caprylic/Capric Glycerides are mixtures of monoesters, diesters, and triesters of glycerol and monoesters and diesters of polyethylene glycols with a mean relative molecular weight between 200 and 400. Partially due to allergic reactions observed in animals, the application of PEG-8 CCG for many water-insoluble drugs was restricted and a dose limit of approximately 6% of PEG-8 CCG was posted for human oral drug formulations.

[005] With PEG chains produced from free radical polymerization, molecular weight distributions are not narrowly controlled for chains having molecular weights between about 200 and 1,200 daltons and above. Typically, far less than 50% of the polymers in a batch have exactly the targeted molecular weight. Narrower-distribution may be achieved with size exclusion chromatography, which can result in up to more of the PEG polymers having a targeted molecular weight. However it is extremely difficult to achieve a mono-distribution of purified PEGs.

[006] Highly pure PEG chains with up to about 12 subunits are commercially available. However, these PEG's are extremely expensive and require additional synthetic steps to incorporate them into pharmaceutical and/or cosmetic formulations.

BRIEF SUMMARY OF THE INVENTION

[007] Syntheses of polyethyleneglycol (PEG)-lipid conjugates are disclosed. Such syntheses involve stepwise addition of small PEG oligomers to a glycerol backbone until the desired chain size is attained. Polymers resulting from the syntheses are highly monodisperse. The present invention provides several advantages such as simplified synthesis, high product yield and low cost for starting materials. The present synthesis method is suitable for preparing a wide range of conjugates.

[008] In another aspect, the invention comprises PEG lipid conjugates having a glycerol backbone covalently attached to one or two monodisperse PEG chains and one or two lipids. These conjugates are especially useful for pharmaceutical formulations.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[009] FIG. 1 depicts a LC-MS chromatogram of 1,2-dioleoyl-*rac*-3-monomethoxydodecaethylene glycol (mPEG-12)-glycerol

[010] FIG. 2 depicts a mouse PK profile of itraconazole IV solutions.

FIG. 3 depicts a mouse PK profile of itraconazole oral solutions.

ABBREVIATION LIST

[011] The present invention is herein disclosed using the following chemical nomenclature:

DAG-PEGs: diacylglycerol- polyethyleneglycols

DMAP: N, N-dimethylamino pyridine

mPEG: monomethox polyethylene glycol ether

PEG 12: polyethyleneglycols 600

PEG 23: polyethyleneglycols 1000

PEG 27: polyethyleneglycols 1200

GDM-12: 1,2-dimyristoyl-*rac*-glycerol-3-dodecaethylene glycol

GDO-12: 1,2-dioleoyl-*rac*-glycerol-3-dodecaethylene glycol

GDC-12: 1,2-dicholoyl-*rac*-glycerol-3-dodecaethylene glycol

GDM-600: GDO-600: 1,3-dioleoyl-glycerol-2-dodecaethylene glycol

GDC-600: 1,3-dicholoyl- glycerol-2-dodecaethylene glycol

GDS-12: 1,2-distearoyl-*rac*-glycerol-3-dodecaethylene glycol

GOB-12: 1,2-bis(dodecaethylene glycol)glycerol-3-oleate

GMB-12: 1,2-bis(dodecaethylene glycol)glycerol-3-myristate

DSB-12: 1,2-bis(dodecaethylene glycol)glycerol-3-stearate

GOBH 1,2-bis(hexaethyle glycol) glycerol-3-oleate

GMBH 1,2-bis(hexaethyle glycol) glycerol-3-myristate

GCBH: 1,2-bis(hexaethyle glycol) glycerol 3-cholate

GCLBH: 1,2-bis(hexaethyle glycol) glycerol 3- cholesterol
GPBH: 1,2-bis(hexaethyle glycol) glycerol -3-palmitate
GDO-23: 1,2-dioleoyl-*rac*-glycerol-3-polyethylene (1000) glycol , n = 23
GDO-27: 1,2-dioleoyl-*rac*-glycerol-3-polyethylene (1200) glycol , n = 27
GDM-23: 1,2-dimyristoyl-*rac*-glycerol-3- polyethylene (1000) glycol, n = 23
GDM-27: 1,2-dimyristoyl-*rac*-glycerol-3- polyethylene (1200) glycol, n = 27
GDS-23: 1,2-distearoyl-*rac*-glycerol-3- polyethylene (1000) glycol, n = 23
TPGS-VE: d-alpha-tocopheryl polyethylene glycol-1000 succinate
GDO-X-PEG 12: 1,2-dioleoyl-*rac*-glycerol-3-X-dodecaethylene glycol ("X" presents a linker/spacer, i.e., thiol, which can be found in the Table 3)
Cyclosporine: Cyclo[[*(E)*-(2*S*,3*R*,4*R*)-3-hydroxy-4-methyl-2-(methylamino)-6-octenoyl] -L-2-aminobutyryl-N-methylglycyl-N-methyl-L-leucyl-L-valyl-N-methyl-L-leucyl-L-alanyl-D-alanyl-N-methyl-L-leucyl-N-methyl-L-leucyl-N-methyl-L-valyl]
POPC: palmitoyl-oleayl phosphatidylcholine

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[012] Embodiments of the present invention are described herein in the context of synthesis methods, intermediates, and compounds related to making PEG-lipid conjugates with narrowly defined molecular weights. Those of ordinary skill in the art will realize that the following detailed description of the present invention is illustrative only and is not intended to be in any way limiting. Other embodiments of the present invention will readily suggest themselves to such skilled persons having the benefit of this disclosure. Reference will now be made in detail to implementations of the present invention.

[013] In the interest of clarity, not all of the routine features of the implementations described herein are shown and described. It will, of course, be appreciated that in the development of any such actual implementation, numerous implementation-specific decisions must be made in order

to achieve the developer's specific goals, such as compliance with application- and business-related constraints, and that these specific goals will vary from one implementation to another and from one developer to another. Moreover, it will be appreciated that such a development effort might be complex and time-consuming, but would nevertheless be a routine undertaking of engineering for those of ordinary skill in the art having the benefit of this disclosure.

[014] When employing PEG-lipid conjugates as drug delivery vehicles, it is becoming increasingly important to use well-characterized and highly pure conjugates. For example, US Patent No. 6,610,322, which is incorporated herein by reference, teaches that varying the length of PEG and acyl chains affects the packing parameters of the conjugates which in turn determine whether compositions of PEG-lipid conjugates form liposomes or not. In addition to affecting the physical structure of drug formulations, the choice of lipids and PEG sizes may have significant effects on pharmacokinetics and stability when formulating specific drug compounds with PEG-lipid conjugates. Therefore, uniform batches of conjugates having monodisperse PEG chains of a specific size are often highly preferable over batches having a range of PEG lengths.

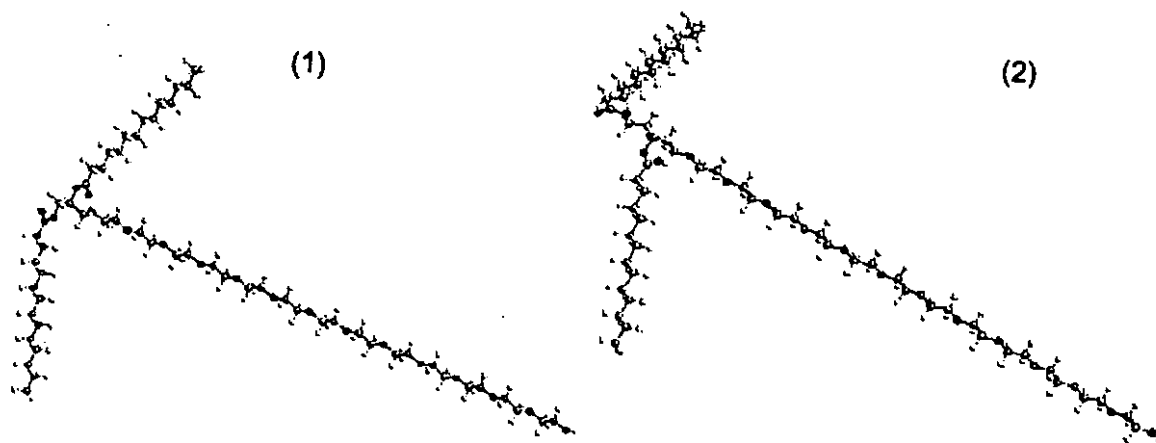
[015] The present invention provides high purity PEG-lipid conjugates having monodisperse PEG chains, and compounds and methods for the synthesis of these PEG-lipid conjugates starting with PEG oligomers of molecular weight ranging from about 110 to 300 daltons. The present invention also provides methods for the preparation of PEG-lipid conjugates including various lipids such as saturated or unsaturated fatty acids or bile acids. Such PEG-lipid conjugates can be used for drug delivery, especially for intravenous administration of poorly water soluble agents.

[016] Generally, the invention includes compositions and methods for synthesizing PEG-lipid conjugates comprising a glycerol backbone with either one or two monodisperse PEG chains and

either one or two lipids groups bonded to the backbone. Spacer or linker groups may be included between the backbone and the PEG chains and/or lipid groups.

[017] Variations of the invention include glycerol backbones with two lipids and one monodisperse PEG chain (both isomers), glycerol backbones with one lipid and two monodisperse PEG chain (both isomers), and glycerol backbones with one lipid and one monodisperse PEG chain (all isomers) where the third position on the backbone may be a variety of compounds or moieties.

[018] In addition, the invention provides methods to make pure 1,2 or 1,3 glycerol isomers. Commercially available 1,2 glycerol lipid diesters may be used to formulate many compounds by linking new moieties to the available position on the glycerol backbone. However, positional transformation occurs during the storage of these 1,2 glycerol diesters resulting in the formation of more stable 1, 3 glycerol isomers, which may be present in fractions as great as about 30%. The present invention is the sole possibility to produce and keep the enantiomer purity of 1,2 or 1,3 glycerol isomers. While the 1,2 or 1,3 isomers may sometimes be functionally equivalent, the choice of isomer may have implications in a variety of delivery process such as intracellular transport of lipophilic molecules as well as their use as vehicles in pharmaceutical applications. For example, isomers may differ in the ability to stabilize a compound during solubilizing and storage. Chemical Structure 1 illustrates the difference in steric conformation of two such isomers.



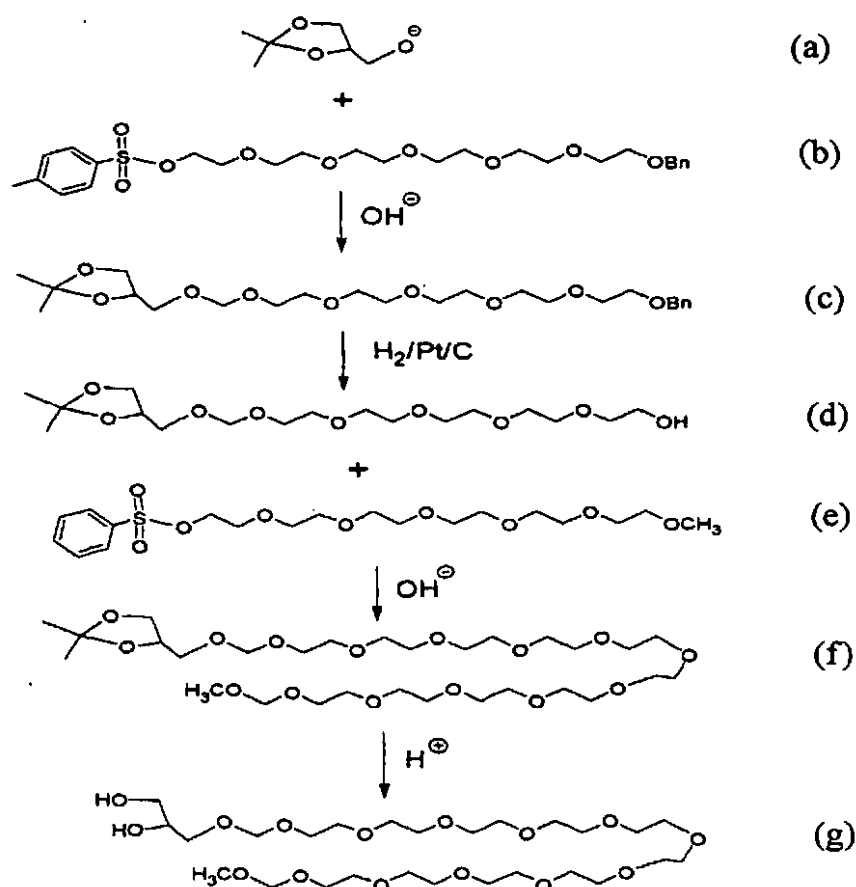
Chemical Structure 1: 3D drawing of (1) 1,2-dimyristoyl- glycerol-3-dodecaethylene glycol and (2) 1,3-dimyristoyl- glycerol-3-dodecaethylene glycol

[019] Conjugates having monodisperse PEG chains up to 1200 Daltons are useful for various drug delivery applications. Conjugates where PEG chains between about 300 and 600 daltons are especially useful for formulating liquid dosage forms such as for intravenous injection or oral solution. Conjugates where PEG chains between about 600 and 1,200 Daltons are especially useful for solid dosage forms such as capsules. A combination the above is useful for making a solid dosage form for poorly water soluble agents in which a liquid form of the above conjugates, typically with PEG chains between about 300 to 600 daltons, is used as a solvent and the solid form of the above conjugates, typically with PEG chains between about 600 to 1,200 Daltons, is used as a solidifier.

[020] The present invention includes providing convenient and economical synthesis methods for preparing monodisperse PEG-lipid conjugates and provides various linear linkage groups for conjugating a lipid to a polymer. The present invention provides several advantages such as simplified synthesis, high product yield and low cost for starting materials since commercially available PEG oligomers are extremely expensive making their cost prohibitive for large scale production of similar PEG-lipid conjugates. In addition, the present synthesis method is preferable for preparing a wide range of PEG-spacer-lipid conjugates.

[021] Synthesis of monodisperse PEG chains involves initially linking a short chain of PEG (having between 1 and 6 subunits) to a protected glycerol backbone. The PEG chain is lengthened by repeated etherification. An example is shown in Reaction Scheme 1.

88



Reaction Scheme 1: Synthesis of 3-monomethoxyDodecaethylene glycol (mPEG-12)-glycerol

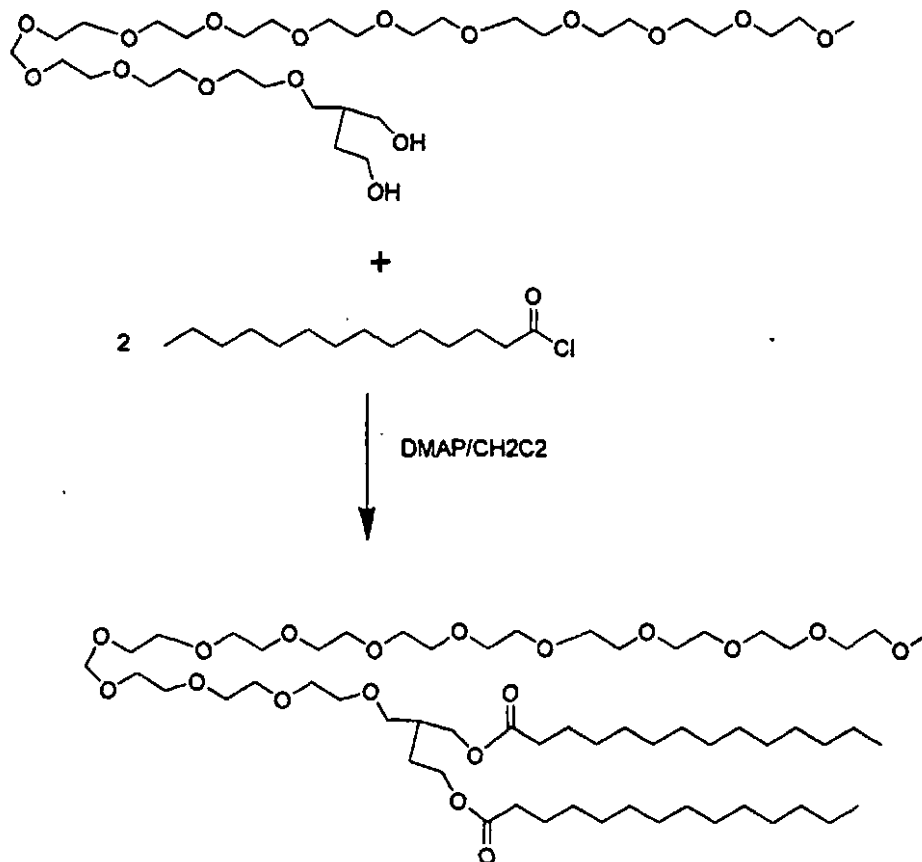
[022] In Reaction Scheme 1 a first reactive PEG oligomer (b) is prepared by protecting (for example, by benzene) a first terminus of a PEG oligomer and creating a reactive second terminus (for example, by a tosyl group as shown). The first reactive oligomer is then combined with a glycerol that has two protected -OH groups (a). The protective group on the glycerol is selected to be stable under conditions that remove the protected group on the first terminus of the first reactive oligomer. The reactive second terminus of the oligomer bonds with the free -OH of the glycerol to form a glycerol-oligomer intermediate (c). The protecting group on the first terminus of the oligomer portion of the intermediate is then removed to expose a reactive -OH group (d). A second reactive PEG oligomer (e) is added to the intermediate to form an extended PEG chain attached to the glycerol backbone (f). In Reaction Scheme 1, the second reactive PEG oligomer is protected on its first terminus by a terminal methyl group, because a 12 subunit PEG chain is desired. If longer chains are desired, the protective group on the second reactive PEG oligomer is selected to that is can easily be removed for further extension of the PEG chain,

89

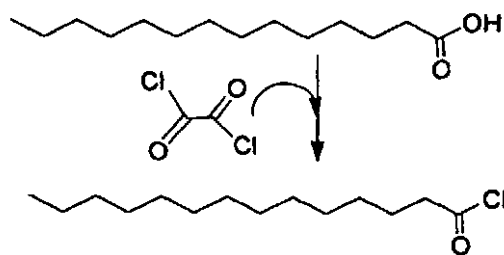
for example by using (b) again as the second oligomer. Once the desired chain length is achieved, the protected groups of the glycerol backbone are removed to form the product (g). Product (g), having a monodisperse PEG chain, can then be further reacted to add desired lipids to the glycerol backbone. Similarly the synthesis can start with a short PEG chain or prepare the hexaethylene glycol from the etherification of two triethylene glycol or between a triethylene glycol and a monomethoxy triethylene glycol. In this route, two more steps will be involved in the synthesis.

[023] In Reaction Scheme 1, removal of protective benzyl groups to expose a free hydroxyl group can be achieved by any suitable reagents. For example, the benzyl group can be removed by hydrogenation in presence of palladium catalyst before the PEG chain is extended by repeating the etherification process.

[024] Following the synthesis of a PEG chain on a glycerol backbone as exemplified in Reaction Scheme 1, the protecting group is removed from glycerol, which results in 2 free hydroxyl groups. The free hydroxyl groups may be reacted with a fatty acid in the presence of N, N-dimethylamino pyridine (DMAP) in an inert solvent as shown below in Reaction Scheme 2.



[0255] Reaction Scheme 3 depicts an approach to the preparation of an activated lipid to be used in Reaction Scheme 2. In this method, the carboxyl group of fatty acids is activated with a suitable activating agent. For example oxalyl chloride can be used as shown.

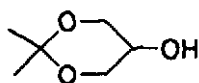


[026] While the foregoing illustrates one method to synthesize a particular PEG-lipid conjugate having a single monodisperse PEG chain, the invention more broadly teaches methods and materials to make a wide range of PEG-lipid conjugates.

[027] The first reactive PEG oligomer preferably comprises between 3 to 7 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ units, and more preferably has 4 to 7 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ units, though the oligomer may be of any length up to 12 units. Additional reactive oligomers also preferably comprise between 3 to 7 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ units, and more preferably has 4 to 7 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ units, though the additional oligomers may be of any length up to 12 units.

[028] The PEG-lipid conjugates of the present invention each have one or two monodisperse PEG chains. Unless otherwise noted, more than 50% of the PEG chains in a particular conjugate have the same molecular weight. More preferably, more than 75% have the same molecular weight. Most preferably, more than 90% have the same molecular weight. Also unless otherwise noted, preferably the PEG chains are comprised of between about 6 and 27 polymer subunits. More preferably the PEG chains are comprised of between about 7 and 27 polymer subunits. Most preferably the PEG chains are comprised of between about 7 and 23 polymer subunits.

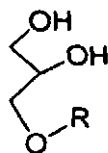
[029] In the case of synthesizing 1,2- dimyristoyl-*rac*-3-PEG 12-glycerol, the glycerol is protected so that the PEG chain is formed on the 3 position. (see Reaction Scheme 1, compound (a)) It will be appreciated that employing alternate glycerol derivatives as starting components will result in conjugates having PEG chains in different positions. For example, protecting the 1 and 3 positions of the glycerol will result in a PEG chain at the 2 position (R). A glycerol derivative that may be used for such synthesis is shown in Chemical Structure 2.



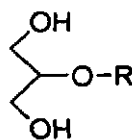
Chemical Structure 2

[030] If a conjugate with two PEG chains is desired, glycerol derivatives as shown in Chemical Structure 3 or Chemical Structure 4 may be used. In these structures, R indicates either a protective group that may be replaced later, or an acyl lipid that may comprise the final structure.

For these conjugates, the PEG chains are grown in tandem and will be identical in length. Conjugates having two PEG chains are particularly useful in some circumstances, as they function as branched PEG conjugates.



Chemical Structure 3



Chemical Structure 4

[031] It may be desirable to incorporate linker groups other than oxyl between the glycerol backbone and the PEG chain(s). For example, a thiol linker may be employed for applications where a labile bond is useful. Other useful linkers are noted in Table 3 and elsewhere in this specification. For syntheses of conjugates having alternative linkers between the backbone and the PEG chain(s), the linker group is first attached to a protected glycerol backbone (e.g., Chemical Structure 3). Then the first reactive PEG oligomer is attached to the free end of the linker and the PEG is extended as desired. Alternatively, the first reactive PEG oligomer may be attached to the linker before bonding the linker to the backbone. In embodiments with linkers, preferred PEG-reagents have hydroxyl, amino, carboxyl, isocyanate, thiol, carbonate functional groups. Especially preferred PEG-reagents for use in this embodiment of the inventive method include PEG-tosylate, PEG-mesylate and succinyl-PEG.

[032] It may be also be desirable to incorporate the same linker groups between the glycerol backbone and the lipid group(s). To obtain such conjugates, either the linker may be bonded with the lipid before attachment to the backbone, or the linker may be bonded to the backbone before attaching the lipid to the linker.

[033] The foregoing approaches describe growing the PEG chain(s) on a backbone that is protected by a removable protecting group. Then, after the PEG is in place, the lipid group or groups are attached to the backbone. However, it is also possible to use one or two lipids as a protecting group or groups on the backbone before growing the PEG chain. This alternative approach is especially useful with alkyl chains that don't have reactive groups that need to be protected during PEG attachment and extension. It is much less useful when steroid acids

conjugates are desired, as the bile acids tend to have many side groups that create issues during PEG attachment and extension.

[034] While the synthetic methods described above are useful for making many compounds comprising the invention, in some cases it may be necessary or more convenient to employ other methods. For example, if a conjugate having a bile acid and two 27 subunit PEG chains is desired, such a conjugate may be constructed by synthesizing the monodisperse PEG chains before attaching them to the glycerol backbone. Similarly, it is possible to make many of the compounds of the invention including smaller PEGs by using PEG chains synthesized before attachment to the glycerol backbone.

[035] Synthesis of other compounds of the invention may also require special considerations. Conjugates having linkers between the backbone and acyl groups or PEG sometimes will also preferably be made by building the monodisperse PEG chains before attaching them to the backbone, depending on considerations such as the nature of the bonds in the linkers.

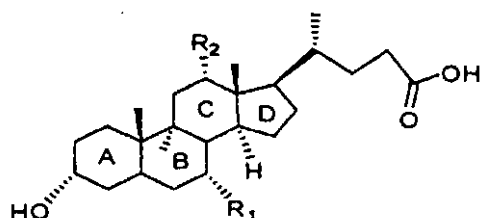
[036] Conjugates of the invention include those with a single lipid and a single monodisperse PEG chain attached to a glycerol backbone, where the third position on the backbone is occupied by another moiety ranging from a hydroxyl group to an active agent. It is worth noting that, while positional transformation occurs during the storage of 1,2 glycerol diesters having free hydroxyl groups as noted above, the chance of rearrangements will be much smaller for conjugates with a single lipid and a single monodisperse PEG chain attached to a glycerol backbone with a free hydroxyl group if the PEG chain is longer than about six subunits, since large energy is required to move a PEG chain (because the steric, molecular size and polarity are different than a lipid). Also, 1,3 isomers are generally more stable than 1,2 isomers.

[037] Following the principles described above, a wide variety of PEG-lipid conjugates having one or two monodisperse PEG chains can be synthesized. A number of further specific embodiments are described hereinafter.

[038] Suitable lipids for synthesis of PEG-lipid conjugates include bile acids (steroid acids) as well as alkyl chains. Therefore, the present invention includes a variety of PEG-lipid conjugates prepared by the present liquid phase synthesis method. The steroid acid-PEG conjugates can be

incorporated into liposomes as a targeting moiety for lipid-based drug delivery to specific cells or as self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS).

[039] Bile acids (steroid acids) constitute a large family of molecules, composed of a steroid structure with four rings, a five or eight carbon side-chain terminating in a carboxylic acid, and the presence and orientation of different numbers of hydroxyl groups. The four rings are labeled from left to right A, B, C, and D, with the D-ring being smaller by one carbon than the other three. An exemplary bile acid is shown in Chemical Structure 5. All bile acids have side chains. When substituting a carboxyl group that can be amide-linked with taurine or glycine, the nuclear hydroxyl groups can be esterified with glucuronide or sulfate which are essential for the formation of water soluble bile salts from bile alcohols.

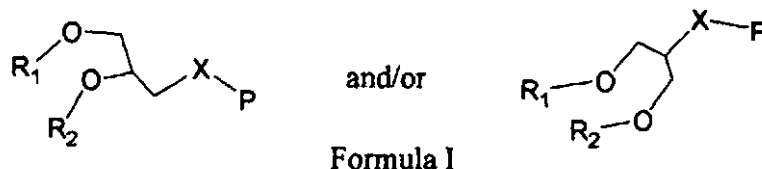


R₁ and R₂ may be hydroxyl or proton

Chemical Structure 5

[040] Currently only a few modifications in structure have been studied with respect to the physical-chemical properties of bile salts. One patent publication (WO 02083147) discloses bile salt fatty acid conjugate in which a bile acid or bile salt is conjugated in position 24 (carboxyl) with a suitable amino acid, and the unsaturated C=C bond is conjugated with one or two fatty acid radicals having 14-22 carbon atoms. That conjugate is intended to be used as a pharmaceutical composition for the reduction of cholesterol in blood, for the treatment of fatty liver, hyperglycemia and diabetes. Another patent (US 2003212051) discloses acyclovir-bile acid prodrugs in which a linker group may be used between the bile acid and the compound.

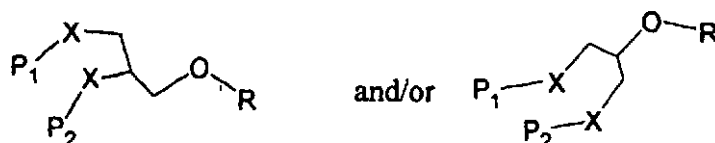
[041] In one general embodiment, the present invention provides PEG-lipid conjugates according to general Formula I. The difference between the two variants shown in Formula I is the relative position of the polymer and lipid chains along the glycerol backbone.



[042] There are several alternative embodiments of Formula I. In one variation of Formula I, R1 and R2 may be the same or different and are selected from the saturated and/or unsaturated alkyl groups listed in Table 1 or Table 2; X is -O-C(O)-, -O-, -S-, -NH-C(O)- or a linker selected from Table 3; and P is a PEG chain.

[043] In another variation of Formula I, one of R1 and R2 is an alkyl group and the other is H. In these embodiments of Formula I, at least one of R1 or R2 is a saturated or unsaturated alkyl group having between 6 and 22 carbon atoms. In a preferred embodiment, R1 and R2 are the same and include between 6 and 22 carbon atoms and more preferably between 12 and 18 carbon atoms. The terms "alkyl" encompasses saturated or unsaturated fatty acids.

[044] The present invention also provides PEG-lipid conjugates according to general formula II.



[045] Again, there are several alternative embodiments of Formula II. In one variation of Formula II, R is an alkyl group listed in Tables 1 or Table 2; X is -O-C(O)-, -O-, -S-, -NH-C(O)- or a linker selected from Table 3; and P1 and P2 are the same PEG chains. By providing two branched PEG chains, conjugates according to Formula II may provide advantages over conjugates having a single longer PEG chain.

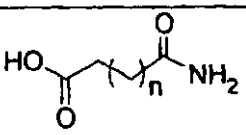
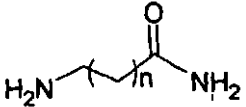
[046] Table 1: Saturated lipids for use in the invention:

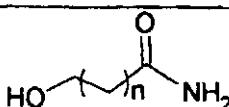
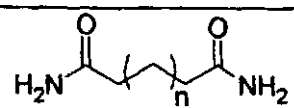
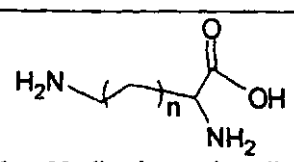
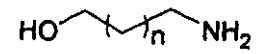
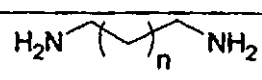
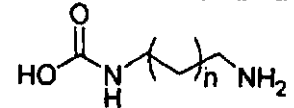
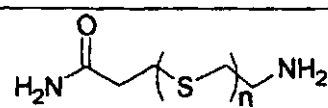
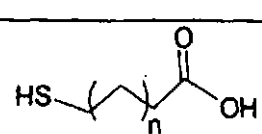
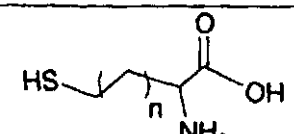
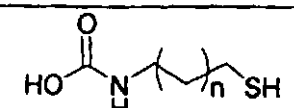
Common name	IUPAC name	Chemical structure	Abbr.	Melting point (°C)
Butyric	Butanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	C4:0	-8
Caproic	Hexanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	C6:0	-3
Caprylic	Octanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	C8:0	16-17
Capric	Decanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	C10:0	31
Lauric	Dodecanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	C12:0	44-46
Myristic	Tetradecanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	C14:0	58.8
Palmitic	Hexadecanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	C16:0	63-64
Stearic	Octadecanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	C18:0	69.9
Arachidic	Eicosanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	C20:0	75.5
Behenic	Docosanoic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	C22:0	74-78

[047] Table 2: Unsaturated lipids for use in the invention:

Name	Chemical structure	Δ^x Location of double bond	# carbon/ double bonds
Myristoleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis</i> - Δ^9	14:1
Palmitoleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis</i> - Δ^9	16:1
Oleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis</i> - Δ^9	18:1
Linoleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis,cis</i> - Δ^9,Δ^{12}	18:2
α -Linolenic acid	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis,cis,cis</i> - $\Delta^9,\Delta^{12},\Delta^{15}$	18:3
Arachidonic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}^{\text{NIST}}$	<i>cis,cis,cis,cis</i> - $\Delta^5,\Delta^8,\Delta^{11},\Delta^{14}$	20:4
Erucic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$	<i>cis</i> - Δ^{13}	22:1

[048] Table 3: Additional Linkers for use in the invention

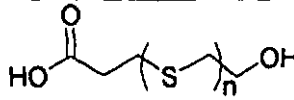
No	Symbol	Linker
1	N_1	 $n = 1$ to 18, carbamoyl-carboxylic acid
2	N_2	 $n = 1$ to 18: n-amino-alkyl-amide

3	N ₃	 n = 1 to 18: n-hydroxyl-alkyl-amide
7	N ₇	 n = 1 to 18, alkyl diamide
8	N ₈	 n = 1 to 18, diamino-carboxylic acid
9	N ₉	 n = 2 to 18: n-aminoalcohol
10	N ₁₀	 n = 2 to 18: diamine
11	N ₁₁	 n = 1 to 18: n-amino-alkyl-carbamic acid
12	N ₁₂	 n = 1 to 12: n-amino(methyl-thio)_n-propanamide
13	S ₁	 n = 1 to 18: n-mercaptocarboxylic acid
14	S ₂	 n = 1 to 18: n-mercapto-alpha-aminocarboxylic acid
15	S ₃	 n = 1 to 18: n-mercapto-alkyl-carbamic acid

ad

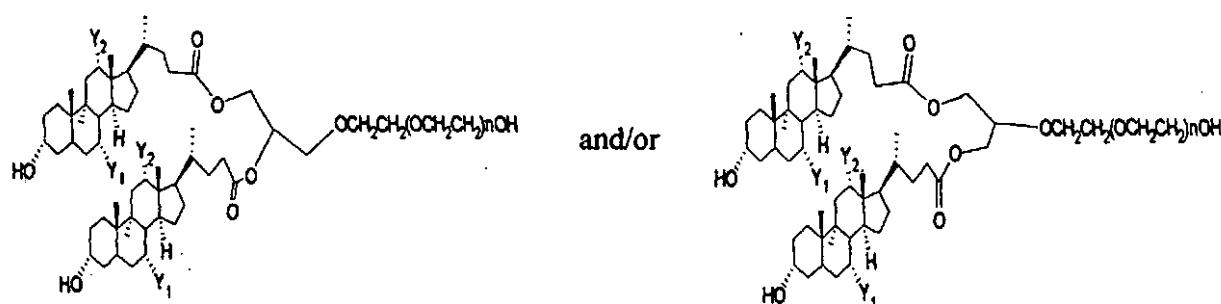
16	S ₄	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}(\text{R})-\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{SH}$ R = H or Alkyl group, n = 0 to 18
17	S ₅	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}(\text{R})-\text{S}-\text{CH}(\text{OH})-(\text{CH}_2)_n-\text{SH}$ R = H or Alkyl group n = 0 to 12: n-mercaptopropyl(thio)carboxylic acid
18	S ₆	$\text{HS}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$ n = 1 to 18: Amino-thiol
19	S ₇	$\text{HS}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ n = 1 to 18: n-mercapto-alcohol
20	S ₈	$\text{HS}-(\text{CH}_2)_n-\text{SH}$ n = 1 to 18: dithiol
21	S ₉	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$ n = 1 to 18: n-amino-(methyl-thio)_n-propanoic acid
22	Ac ₁	$\text{HO}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ n = 1 to 18: n-hydroxy-carboxylic acid
23	Ac ₂	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ n = 1 to 18: n-amino-carboxylic acid
24	Ac ₃	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ n = 1 to 18: di-carboxylic acid, n=1: succinyl
25	Ac ₄	$\text{HO}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ n = 1 to 18; diols
26	Ac ₅	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ n = 1 to 18: n-hydroxy-alkyl-carbamic acid

600

27	Ac ₆	 $\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ $n = 1 \text{ to } 18$: n-hydroxyl-(methyl-thio)_n-propanoic acid
----	-----------------	---

[049] PEG-lipid conjugates of the present invention also include compounds where the lipid portion comprises one or two bile acids. These conjugates have the same structures as shown in Formula I and Formula II, except that the alkyl groups are replaced by bile acids. For bile acid conjugates, variations and preferred embodiments are the same as described for the PEG-alkyl conjugates. Because bile acids are similarly lipophilic to alkyl groups, bile acid conjugates also share similar physical properties and are generally suitable for some of the same uses as PEG-alkyl conjugates.

[050] Chemical Structure 6 shows two variants of the present invention having a single PEG chain and two bile acids attached to a glycerol backbone.

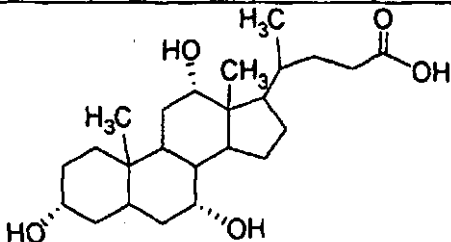
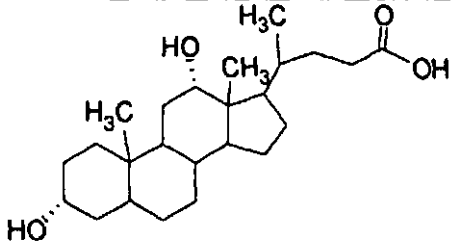
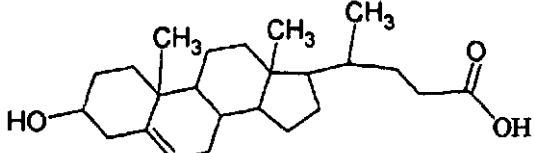
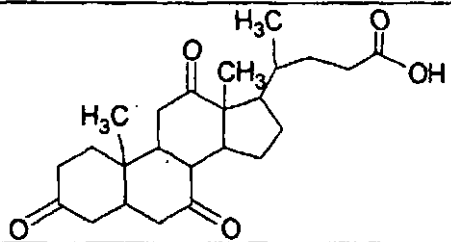
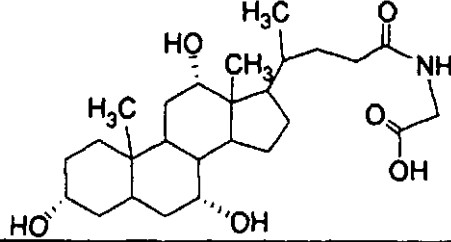
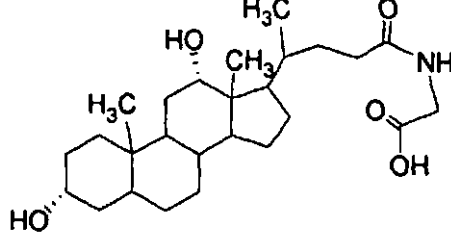


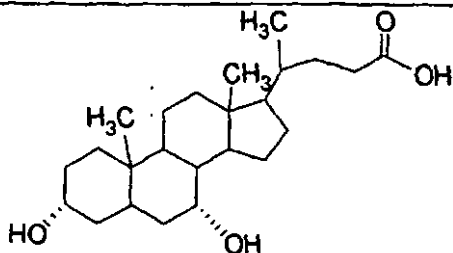
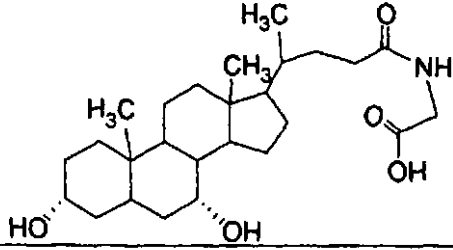
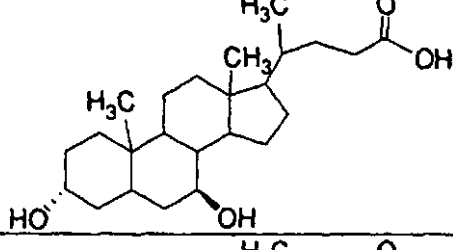
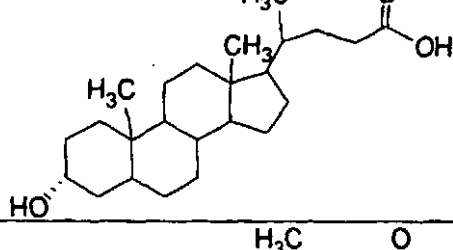
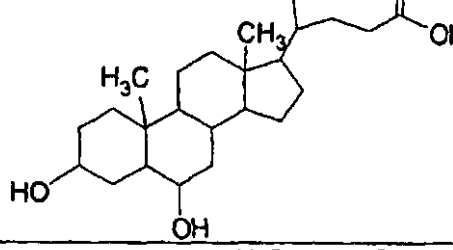
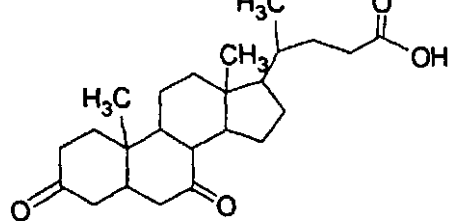
Chemical Structure 6

[051] In Chemical Structure 6, Y1 and Y2 may be the same or different and are OH or H or CH₃, or are selected to accord with the bile acids shown in Table 4. Similarly, bile acids with differing side chains (as shown in Table 4) may be conjugated to the glycerol backbone. Table 4 lists bile acid and its derivatives that are useful in practicing the present invention.

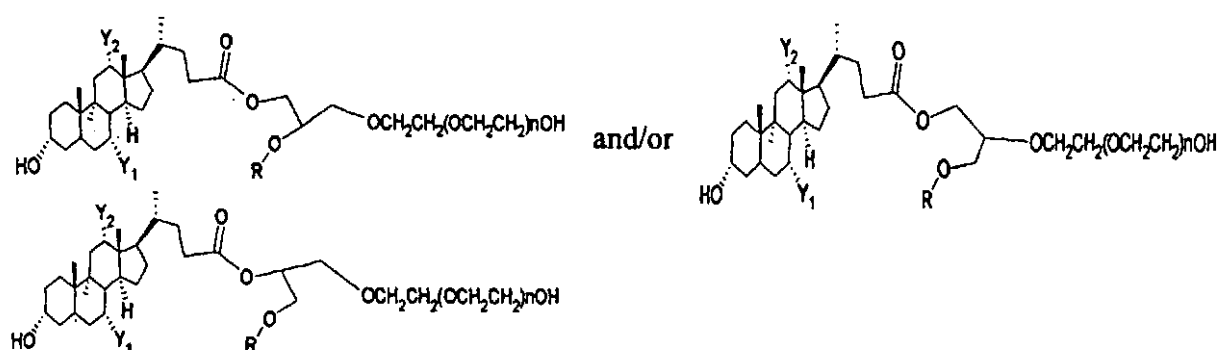
101

[052] Table 4: Bile acid (steroid acid) and its analogues for use in the Invention

Name	Chemical Structure	Other Name
Cholic acid		3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholanoic acid
Desoxycholic acid		3 α , 12 α -Dihydroxy-5 β -cholanic acid
5-Cholenic acid-3 β -ol		3 β -Hydroxy-5-cholen-24-oic acid
Dehydrocholic acid		3,7,12-Trioxo-5 β -cholanic acid
Glycocholic acid		<i>N</i> -(3 α , 7 α , 12 α -Trihydroxy-24-oxocholan-24-yl)-glycine
Glycodeoxycholic acid		<i>N</i> -(3 α , 12 α -Dihydroxy-24-oxocholan-24-yl)glycine

Chenodeoxycholic acid		3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-ic acid
Glycochenodeoxycholic acid		N-(3 α ,7 α -Dihydroxy-24-oxocholan-24-yl)glycine
Ursodeoxycholic acid		Ursodiol
Lithocholic acid		3 α -Hydroxy-5 β -cholan-24-ic acid
Hyodeoxycholic acid		3 α ,6 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-ic acid
5 β -Cholan-24-ic acid-3,7-dione		3,7-Diketo-5 β -cholan-24-ic acid

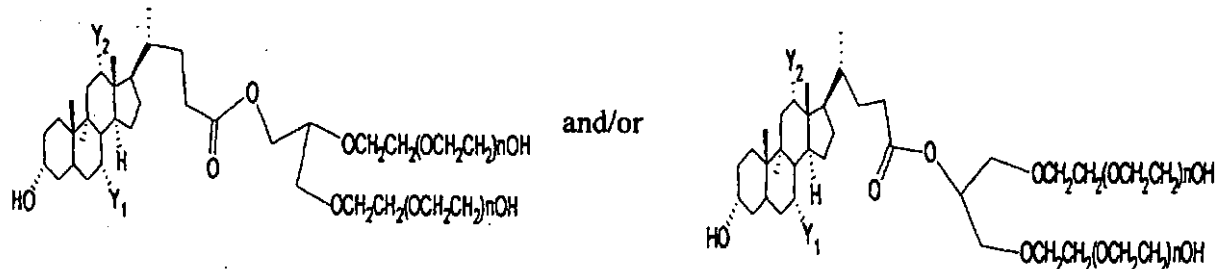
[053] Yet another variation of the invention includes compounds accord to Formula I where either R1 or R2 is a bile acid and the other is an alkyl group. An example of this variation of lipid polymer conjugate is shown in Chemical Structure 7.



Chemical Structure 7

[054] In Chemical Structure 3, Y1 and Y2 are the same or different and are OH or H or CH3 or selected in accord with the bile acids shown in Table 4. Also, the side chain of the bile acid may be varied according to the structures shown in Table 4. R is saturated and/or unsaturated alkyl group selected from Tables 1 and Table 2.

[055] Another preferred embodiment for the compound of general Formula II is a PEG-bile acid conjugate according to Chemical Structure 8.

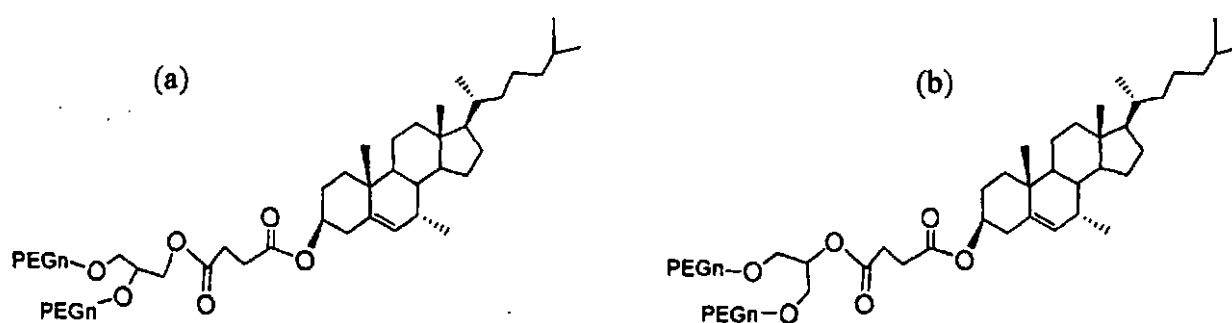


Chemical Structure 8

10h

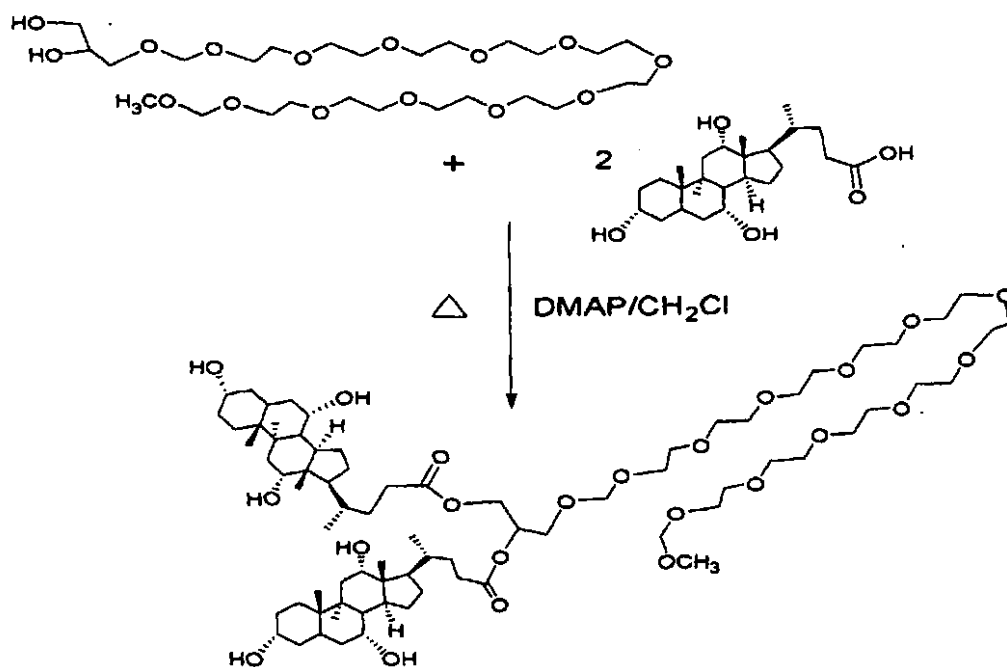
[056] In Chemical Structure 8, Y1 and Y2 are OH or H or CH3 or selected according to the bile acids shown in Table 4. Also, the side chain of the bile acid may be varied according to the structures shown in Table 4.

[057] Another further preferred embodiment for the compound of general Formula II is a PEG-cholesterol conjugate according to either of the structures shown in Chemical Structure 9.



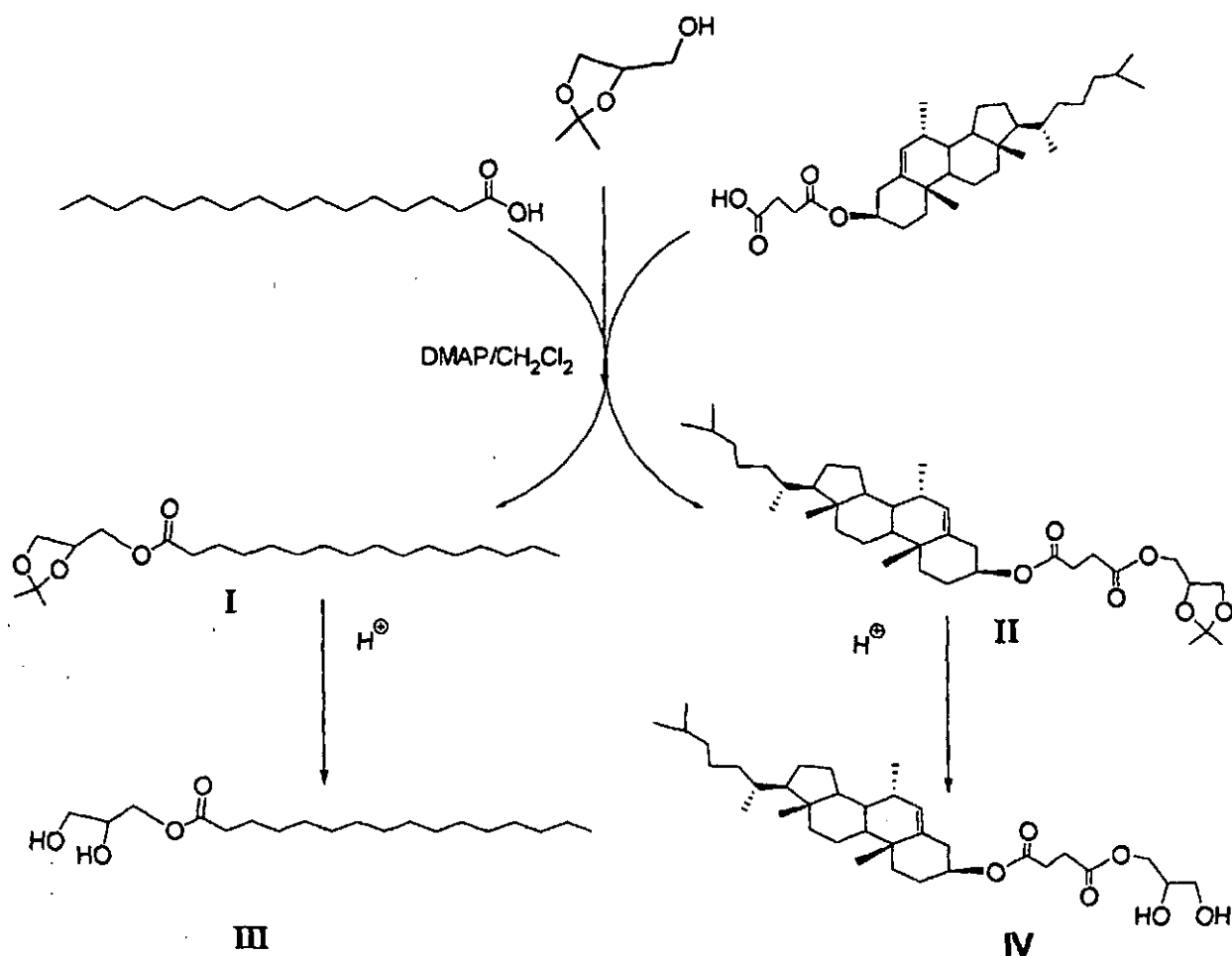
Chemical Structure 9

[058] Another embodiment of the present invention is represented in Reaction Scheme 4. In this method, any suitable bile acid, such as cholic acid is reacted with 3-mPEG-12-glycerol in the presence of N, N-dimethylamino pyridine (DMAP) in dichloromethane to produce the final product of 1,2-dicholoyl-*rac*-3-mPEG 12-glycerol. It will be appreciated that monodisperse PEG chains of many discrete lengths may be used.



Reaction Scheme 4: Synthesis of 1,2-dicholoyl-*rac*-3-mPEG 12-glycerol

[059] Another embodiment of the present invention, represented in Reaction Scheme 5, involves reaction of DL-1,2-isopropylideneglycerol intermediate with fatty acid to give I or with cholesterol to give II, respectively. Removal of isopropyl groups by any desired methods provides intermediate products III and IV respectively.



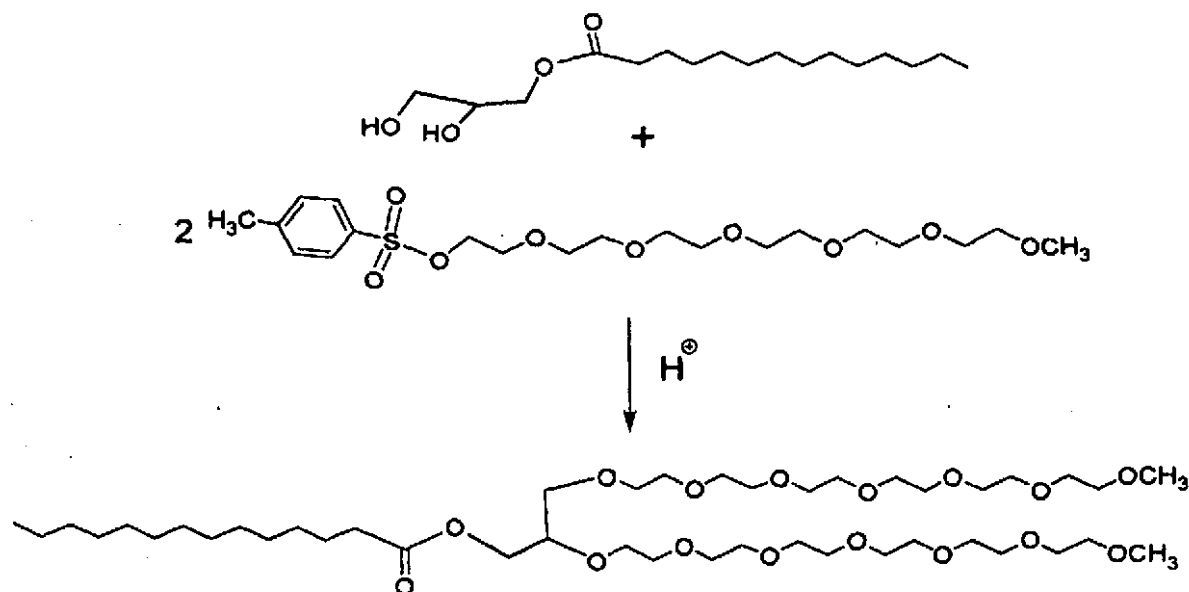
Reaction Scheme 5: Synthesis of PEG-lipid conjugate intermediates

[060] The described methods can be used to prepare a variety of novel PEG-lipid conjugates. For example, the methods can be used to prepare 3-PEG-1,2-alkylglycerol in pure form containing any fatty acid chain. Preferred fatty acids range from carbon chain lengths of about C6 to C22, preferably between about 10 and about C18.

[061] The described methods can be used to prepare a variety of novel PEG-lipid conjugates. For example, the methods can be used to prepare 3-PEG-1,2-steroid acid-glycerol in pure form containing any bile acid chain.

[062] The described methods can be used to prepare a variety of novel branched PEG-lipid conjugates. For example, the methods can be used to prepare 3-alkyl-1,2-bisPEG-glycerol in

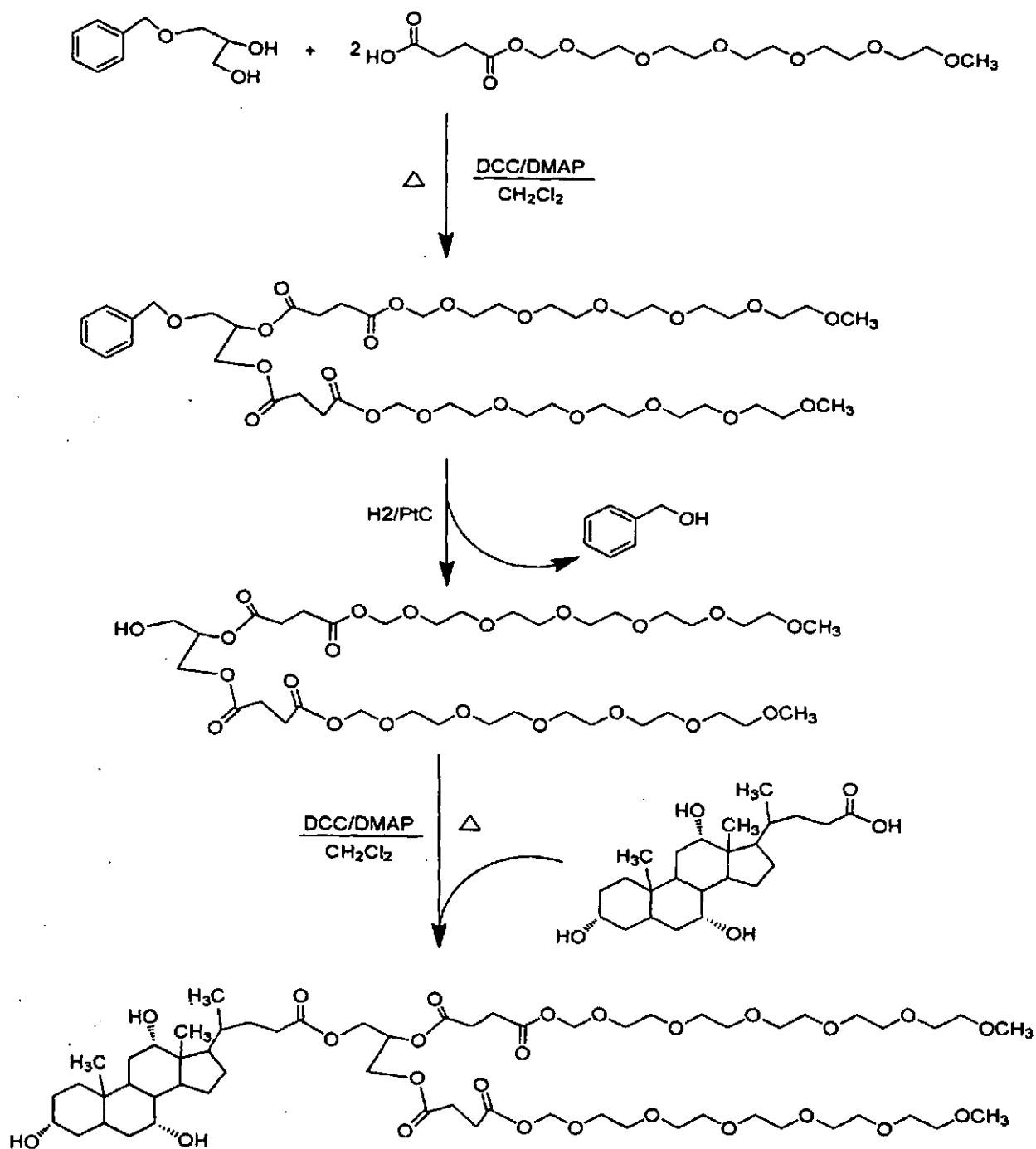
pure form containing any fatty acid chain. Preferred fatty acids range from carbon chain lengths of about C6 to C22, preferably between about C10 and about C18 (Reaction Scheme 6).



Reaction Scheme 6: Synthesis of 3-myristoyl -1,2-bis(methoxyhexaethylene glycol)glycerol

[063] Reaction Scheme 6 results in a compound having a glycerol backbone, an lipid group, and two monodisperse PEG chains. However, it is worth noting that extending the PEG chain as exemplified in Reaction Scheme 1 can be done with other oligomers such as triethylene glycols or between triethylene glycol and monotriethylene glycol as described in the preceding section.

[064] The described methods can be used to prepare a variety of novel branched PEG-lipid conjugates. For example, the methods can be used to prepare 3-steroid acid -1,2-bisPEG-glycerol in pure form containing steroid acid-glycerol in pure form containing any bile acid chain (Reaction Scheme 7).



Reaction Scheme 7: Synthesis of 3-choloyl-1,2-bis(methoxyhexaethylenesuccinyl glycol)-3-cholate

[065] One preferred use for the inventive PEG-lipid is in the preparation of liposomes and other lipid-containing formulations. In accordance with the present invention, a pharmaceutical composition can include one or more genetic vectors, antisense molecules, proteins, peptides, bioactive lipids or drugs. For example, the active agent can include one or more drugs (such as one or more anticancer drugs or other anticancer agents). Typically hydrophilic active agents will be added directly to the formulation and hydrophobic active agents will be dissolved by PEG-lipid before mixing with the other ingredients.

[066] Suitable active agents that can be present in the inventive formulation include one or more genetic vectors, antisense molecules, proteins, peptides, bioactive lipids or drugs, such as are described above. The inventive PEG-lipid can be used to administer active agents that are safer in presence of PEG oligomer for intravenous use.

[067] Preferred active agents which are compatible with the present invention include agents which act on the peripheral nerves, adrenergic receptors, cholinergic receptors, the skeletal muscles, the cardiovascular system, smooth muscles, the blood circulatory system, synaptic sites, neuroeffector junctional sites, endocrine and hormone systems, the immunological system, the reproductive system, the skeletal system, the alimentary and excretory systems, the histamine system and the central nervous system. Suitable agents can be selected from, for example, proteins, enzymes, hormones, nucleotides, polynucleotides, nucleoproteins, polysaccharides, glycoproteins, lipoproteins, polypeptides, steroids, terpenoids, retinoids, anti-ulcer H2 receptor antagonists, antiulcer drugs, hypocalcemic agents, moisturizers, cosmetics, etc. Active agents can be analgesics, anesthetics, anti-arrhythmic agents, antibiotics, antiallergic agents, antifungal agents, anticancer agents (e.g., mitoxantrone, taxanes, paclitaxel, camptothecin, and camptothecin derivatives (e.g., SN-38), gemcitabine, anthacyclines, antisense oligonucleotides, antibodies, cytotoxins, immunotoxins, etc.), antihypertensive agents (e.g., dihydropyridines, antidepressants, cox-2 inhibitors), anticoagulants, antidepressants, antidiabetic agents, anti-epilepsy agents, anti-inflammatory corticosteroids, agents for treating Alzheimers or Parkinson's disease, antiulcer agents, anti-protozoal agents, anxiolytics, thyroids, anti-thyroids, antivirals, anoretics, bisphosphonates, cardiac inotropic agents, cardiovascular agents, corticosteroids, diuretics, dopaminergic agents, gastrointestinal agents, hemostatics, hypercholesterol agents, antihypertensive agents, immunosuppressive agents, anti-gout agents, anti-malarials, anti-

migraine agents, antimuscarinic agents, anti-inflammatory agents, such as agents for treating rheumatology, arthritis, psoriasis, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, or agents for treating demyelinating diseases including multiple sclerosis, ophthalmic agents; vaccines (e.g., against influenza virus, pneumonia, hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, cholera toxin B-subunit, typhoid, plasmodium falciparum, diphtheria, tetanus, herpes simplex virus, tuberculosis, HIV, bordetella pertussis, measles, mumps, rubella, bacterial toxoids, vaccinia virus, adenovirus, SARS virus, canary virus, bacillus calmette Guerin, klebsiella pneumonia vaccine, etc.), histamine receptor antagonists, hypnotics, kidney protective agents, lipid regulating agents, muscle relaxants, neuroleptics, neurotropic agents, opioid agonists and antagonists, parasympathomimetics, protease inhibitors, prostaglandins, sedatives, sex hormones (e.g., androgens, estrogens, etc.), stimulants, sympathomimetics, vasodilators and xanthins and synthetic analogs of these species. The therapeutic agents can be nephrotoxic, such as cyclosporins and amphotericin B, or cardiotoxic, such as amphotericin B and paclitaxel. etoposide, cytokines, ribozymes, interferons, oligonucleotides, siRNAs, RNAs and functional derivatives of the foregoing.

[068] Chemotherapeutic agents are well suited for use in the inventive method. The inventive PEG-lipid formulations containing chemotherapeutic agents can be injected directly into the tumor tissue for delivery of the chemotherapeutic agent directly to cancer cells. In some cases, particularly after resection of a tumor, the liposome formulation can be implanted directly into the resulting cavity or can be applied to the remaining tissue as a coating.

[069] The PEG-lipid in present invention can be used for preparing various dosage forms including tablets, capsules, pills, granules, suppositories, solutions, suspensions and emulsions, pastes, ointments, gels, creams, lotions, eye drop, powders and sprays in addition to suitable water-soluble or water-insoluble excipients.

[070] The inventive PEG-lipid conjugates can be used to deliver the active agent to targeted cells in vivo. For example, the composition can be delivered orally, by injection (e.g., intravenously, subcutaneously, intramuscularly, parenterally, intraperitoneally, by direct injection into tumors or sites in need of treatment, etc.), by inhalation, by mucosal delivery, locally, and/or rectally or by such methods as are known or developed. Formulations containing PEGylated cardiolipin can also be administered topically, e.g., as a cream, skin ointment, dry skin softener, moisturizer, etc.

[071] For in vivo use, the invention provides the use of a composition as herein described containing one or more active agents for preparing a medicament for the treatment of a disease. In other words, the invention provides a method of using a composition as herein described, containing one or more active agents, for treating a disease. Typically, the disease is present in a human or animal patient. In a preferred embodiment, the disease is cancer, in which instance, the inventive composition comprises one or more anticancer agents as active agents. For example, in accordance with the invention, the compositions as described herein can be employed alone or adjunctively with other treatments (e.g., chemotherapy or radiotherapy) to treat cancers such as those of the head, neck, brain, blood, breast, lung, pancreas, bone, spleen, bladder, prostate, testes, colon, kidney, ovary and skin. The compositions of the present invention, comprising one or more anticancer agents, are especially preferred for treating leukemias, such as acute leukemia (e.g., acute lymphocytic leukemia or acute myelocytic leukemia). Kaposi's sarcoma also can be treated using the compositions and methods of the present invention.

[072] The following structures further illustrating the present invention.



Chemical Structure 10

[073] In Chemical Structure 10 "X" is a linker including oxy, thiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinyl, haloid and those listed in Table 3. "n" is the number of repeating units. These structures represent intermediates in growing a single monodisperse PEG chain on a glycerol backbone, so n is generally between about 6 and 21. The PEG chain is extended through a sequential etherification starting with smaller chain such as triethylene glycol or tetraethylene glycol directly attached to the glycerol via a linker. The terminal group on the PEG chain may be, but is not limited to, a methyl group.



Chemical Structure 11

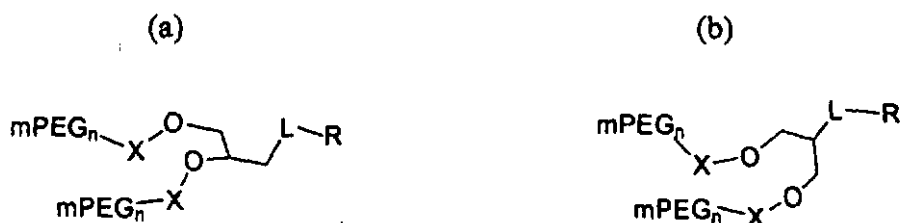
[074] In Chemical Structure 11 "X" is the linker including oxy, thiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinyl, haloid and those shown in Table 3. "n" is the number of repeating units. These structures represent the final step in growing two monodisperse PEG chains on a glycerol backbone. The "R" is an alkyl group such as saturated (Table 1) or unsaturated fatty acid (Table 2) or cholyl group or analog (Table 4). Terminal groups besides methyl may be included on the PEG chains.



Chemical Structure 12

[075] In Chemical Structure 12 "X" is the linker including oxy, thiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinyl, haloid and alike and those shown in Table 3. "n" is the number of repeating units. These structures represent the final step in growing two monodisperse PEG chains on a glycerol backbone. Similarly the PEG chain is extended through a sequential etherification starting with smaller chain such as triethylene glycol or tetraethylene glycol directly attached to the glycerol via a linker. The "R" is an alkyl group such as saturated (Table 1) or unsaturated fatty acid

(Table 2) or cholyl group or analog (Table 4). Terminal groups besides methyl may be included on the PEG chains.



Chemical Structure 13

[076] In Chemical Structure 13 "X" and "L" are the same or different linkers including oxy, thiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinyl, haloid and those shown in Table 3. "n" is the number of repeating units. These structures represent the final step in growing two monodisperse PEG chains on a glycerol backbone, so n is generally between about 5 and 12. The "R" is an alkyl group such as saturated (Table 1) or unsaturated fatty acid (Table 2) or cholyl group and its analog (Table 4). Terminal groups besides methyl may be included on the PEG chains.

[077] Embodiments of the present invention are described herein in the context of preparation of pharmaceutical compositions including purified PEG-lipid conjugates for increasing the solubility and enhancing the delivery of active agents. The approximate preferable compositions for formulated drug products are generally described herein, though different drugs typically have differing optimal formulations.

[078] For IV solutions, the preferable concentration of drug is 0.1% to 30%. More preferable is 1 to 10%. Most preferable is 1 to 5%. The preferable ratio of PEG-lipid to the drug (PEG-Lipid/drug) is 1 to 20. More preferable is 1 to 10. Most preferable is 1 to 5.

[079] For oral solutions, the preferable concentration of drug is 1% to 40%. More preferable is 2.5 to 30%. Most preferable is 5 to 30%. The preferable ratio of PEG-lipid to the drug (PEG-Lipid/drug) is 0.5 to 20. More preferable is 1 to 5. Most preferable is 1 to 3.

[080] For ophthalmic preparations, the preferable concentration of drug is 0.01 to 5%. More preferable is 0.05 to 2%. Most preferable is 0.1 to 2%. The preferable ratio of PEG-lipid to the drug (PEG-Lipid/drug) is 1 to 20. More preferable is 3 to 15. Most preferable is 5 to 10.

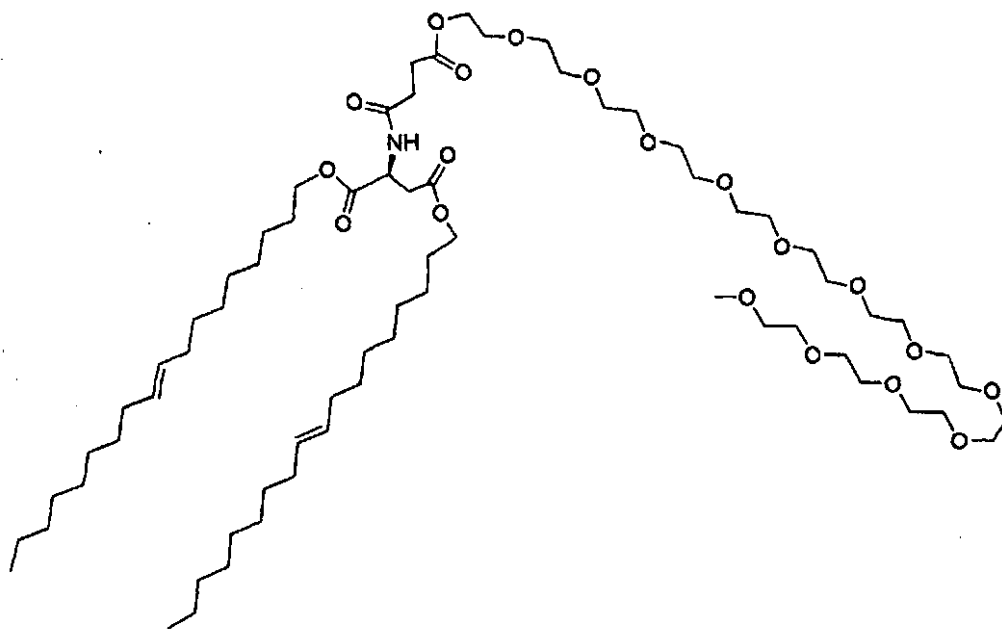
[081] For topical solutions, the preferable concentration of drug is 0.05 to 5%. More preferable is 0.1 to 5%. Most preferable is 0.1 to 2%. The preferable ratio of PEG-lipid to the drug (PEG-Lipid/drug) is 1 to 20. More preferable is 3 to 15. Most preferable is 5 to 10.

[082] For oral capsules, the preferable capsule content of drug is 10 mg to 250 mg. More preferable is 25 mg to 200 mg. Most preferable is 25 mg to 100 mg. The preferable ratio of PEG-lipid to the drug (PEG-Lipid/drug) is 1 to 10. More preferable is 1 to 5. Most preferable is 2 to 5.

[083] For topical preparations, the preferable concentration of drug is 0.05 to 5%. More preferable is 0.1 to 5%. Most preferable is 0.5 to 2%. The preferable ratio of PEG-lipid to the drug (PEG-Lipid/drug) is 1 to 50. More preferable is 3 to 20. Most preferable is 5 to 10.

[084] While the foregoing discussion has focused on polymer-lipid conjugates having a glycerol backbone and including a PEG chains, the invention further includes alternate backbones and

polymers. 3-amino-1, 2-propanediol, 3-bromo-1, 2-propanediol, 3-chloro-1, 2-propanediol, 3-fluoro-1, 2-propanediol, DL-glyceric acid, aspartic acid, glutamic acid and 1,2,4-butanetriol may be used as alternative backbones to synthesize similar PEG-lipid conjugates. Chemical Structure 14 illustrates a conjugate of the invention employing aspartic acid as a backbone. To prepare this conjugate, the starting material will be oleoyl alcohol instead of oleic acid since there are two carboxyl groups in the amino acid already. A succinate linker has been used to attach the PEG to the backbone. In such alternative embodiments, the PEG chain (or alternative polymer chain) is always monodisperse.



Chemical Structure 14: 1, 4-dioleoyl- 2-(mPEG-12-succinylamino)-aspartate

[085] Propylene glycol and methylene glycol oligomers may be used as alternatives to ethylene glycol oligomers. Also, it is possible to create copolymers or block copolymers of these basic building blocks.

[086] The synthetic methods described herein can be modified in any suitable manner. For example, the PEG-reagents for use in the inventive method can be any PEG derivative, which is capable of reacting with hydroxyl or amino group of central glycerol or 3-amino-1, 2-propanediol group or like or functional group of any linker.

[087] The solvent for PEG-lipid conjugation reaction in the inventive method includes any solvent preferably a polar aprotic solvent such as N,N-dimethylformamide (DMF), dimethylsulfoxide (DMSO), pyridine, tetrahydrofuran (THF), dichloromethane, chloroform, 1,2-dichloroethane, dioxane and the like.

[088] In one aspect, the invention is a method of making a PEG chain of a defined length, the method comprising (a) selecting a glycerol derivative with a glycerol protecting group that is stable under a first set of conditions and convertible to free hydroxyl groups under a second set of conditions; (b) selecting a initial PEG oligomer having between 1 and 12 subunits, where the initial PEG oligomer has an oligomer protecting group on its first terminus and the said oligomer protecting group converts to a hydroxyl group under the first set of conditions, and where the initial PEG oligomer has a reactive group on its second terminus, said reactive group forming a bond with a compound having a free hydroxyl group; (c) reacting the glycerol derivative with the initial PEG oligomer to form a glycerol-PEG conjugate; (d) removing the oligomer protective group by exposing the conjugate to the first set of conditions; (e) repeating steps (f), (g) and (h) between 0 and 6 additional times, where steps are as described below; (f) selecting an extending

PEG oligomer having between 2 and 11 subunits, where the extending PEG oligomer has an oligomer protecting group on its first terminus and the said oligomer protecting group converts to a hydroxyl group under the first set of conditions, and where the extending PEG oligomer has a reactive group on its second terminus, said reactive group forming a bond with a compound having a free hydroxyl group; (g) reacting the glycerol-PEG conjugate with the extending PEG oligomer to form an extended glycerol-PEG conjugate; (h) removing the oligomer protective group by exposing the conjugate to the first set of conditions; (i) terminating the PEG chain by either step (j) or steps (k) and (l), where the steps are as described below; (j) adding a terminal group to the free hydroxyl group of the extended glycerol-PEG conjugate; or (k) selecting a terminal PEG oligomer having between 2 and 11 subunits, where the terminal PEG oligomer has terminal group on its first terminus, and where the terminal PEG oligomer has a reactive group on its second terminus, said reactive group forming a bond with a compound having a free hydroxyl group; and (l) reacting the glycerol-PEG conjugate or extended glycerol-PEG conjugate with the terminal PEG oligomer; and (m) exposing the terminated glycerol-PEG conjugate to the second set of conditions. The terminal group may be a methyl group. The first set of conditions may be catalytic reduction. The second set of conditions may be exposure to acid. The glycerol derivative may be a compound represented by the formula shown at Reaction Scheme 1(a). The glycerol derivative may be a compound represented by the formula shown as Chemical Structure 2. The glycerol derivative may be a compound represented by the formula shown as Chemical Structure 3. The glycerol derivative may be a compound represented by the formula shown as Chemical Structure 4. The glycerol protecting group may be an alkyl group. The method may further comprising the steps of: (n) removing the glycerol protecting group; and (o) bonding a lipid group to the glycerol backbone.

[089] In another aspect, the invention is a chemical composition including a PEG-lipid conjugate, the PEG-lipid conjugate comprising: a glycerol backbone; a lipid group covalently attached to the glycerol backbone; and a PEG chain covalently attached to the glycerol backbone, where the PEG chain has a MW between about 200 and 1200 Daltons, and where greater than about 75 percent of the PEG chains of the conjugate molecules in the composition have the same MW. Greater than about 90 percent of the PEG chains of the conjugate molecules in the composition may have the same MW. The PEG chain may have a MW greater than about 600 Daltons. The lipid may be an alkyl group. The alkyl group may be selected from the alkyl groups in Table 1 and Table 2. The composition may further comprise a second lipid covalently attached to the glycerol backbone. The second lipid may be an alkyl group. The second alkyl group may be selected from the alkyl groups in Table 1 and Table 2. The lipid may be a bile acid. The bile acid may be selected from the bile acids in Table 4. The bile acid may be cholesterol. The composition may further comprise a linker group between the glycerol backbone and the PEG chain. The linker may be selected from the group consisting of -S-, -O-, -N-, -OCOO-, and the linkers in Table 3. The composition may further comprise a second PEG chain covalently attached to the glycerol backbone. The linkage between the glycerol backbone and the second PEG chain may be selected from a group consisting of -O-C(O)-, -O-, -S-, and -NH-C(O)-. The linkage between the glycerol backbone and the second PEG chain may be selected from Table 3.

[090] In another aspect, the invention include the compositions according to paragraph 089, where the glycerol backbone is replaced by a backbone selected from the group consisting of 3-

amino-1, 2-propanediol, 3-bromo-1, 2-propanediol, 3-chloro-1, 2-propanediol, 3-fluoro-1, 2-propanediol, DL-glyceric acid, aspartic acid, glutamic acid, and 1,2,4-butanetriol.

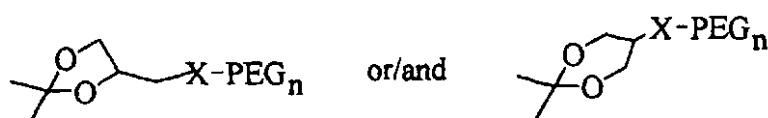
[091] In another aspect, the invention includes the compositions according to claim paragraph 089, where the PEG chains are replaced by polymers selected from the group consisting of polymethylene glycol, polypropylene glycol, and copolymers comprised of at least two of the monomers selected from the group consisting of methylene glycol, propylene glycol and ethylene glycol.

[092] In another aspect, the invention includes the following compounds: the compound represented by the formula shown at Reaction Scheme 1(a); the compound represented by the formula shown as Chemical Structure 2; the compound represented by the formula shown as Chemical Structure 3; the compound represented by the formula shown as Chemical Structure 4; the molecules of 1,2- isopropylidene-glycerol-3-ethylene glycol, 1,2- isopropylidene-glycerol-3-diethylene glycol, 1,2- isopropylidene-glycerol-3-triethylene glycol, 1,2- isopropylidene-glycerol-3-tetraethylene glycol, 1,2-isopropylidene-glycerol-3-pentaethylene glycol and 1,2-isopropylidene-glycerol-3-hexaethylene glycol, 1,2- isopropylidene-glycerol-3-heptaethylene glycol and 1,2-isopropylidene-glycerol-3-octaethylene glycol; and the molecules of 1,3-diacylglycerol-2-ethylene glycol, 1,3-diacylglycerol-2-diethylene glycol, 1,3-diacylglycerol-2-triethylene glycol, 1,3-diacylglycerol-2-tetraethylene glycol, 1,3-diacylglycerol-2-pentaethylene glycol, 1,3-diacylglycerol-2-hexaethylene glycol, 1,3-diacylglycerol-2-heptaethylene glycol and 1,3-diacylglycerol-2-octaethylene glycol.

120

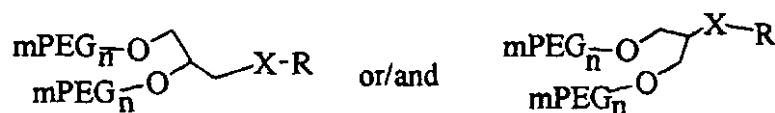
[093] In another aspect, the invention includes a method for increasing the bioavailability and/or solubility of an active agent, said method comprising: formulating the active agent with one or more of the a PEG-lipid conjugates of the present invention and administering said PEG-lipid conjugate based formulation to an animal or human.

[094] In another aspect, the invention includes a chemical compound having the formula:



where n is between about 7 and 12; and where X is a linker group. X may have a MW between about 16 and 200. X may be selected from the group consisting of oxy, thiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinyl, haloid and linkers shown in Table 3. The terminus of the PEG chain may have a MW between about 15 and 210. The terminus of the PEG chain may be a methyl group. The terminus of the PEG chain may be a protecting group. The terminus of the PEG chain may be a hydroxyl group.

[095] In another aspect, the invention includes a chemical compound having the formula:



where n is between about 3 and 23; R is a lipid; and where X is a linker group. X may have a MW between about 14 and 620. X may be selected from the group consisting of oxy, thiol,

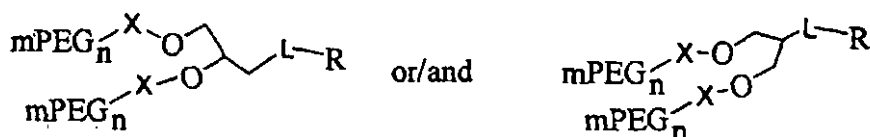
amino, -COO-, -OCOO-, succinyl, haloid and linkers shown in Table 3. n may be between about 4 and 12. More preferably, n may be between about 7 and 12. The terminus of the PEG chain may have a MW between about 15 and 210. The terminus of the PEG chain may be a methyl group. R may be an alkyl group selected from Table 1 or Table 2. R may be a bile acid. R may be a bile acid selected from Table 4. R may be cholesterol.

[096] In another aspect, the invention includes a chemical compound having the formula:



where n is between about 3 and 23; R is a lipid; R is a lipid; and where X are the same or different linker groups. X may have a MW between about 14 and 620. X may be selected from the group consisting of oxy, thiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinyl, haloid and linkers shown in Table 3. n may be between about 4 and 23. n is preferably between about 7 and 23. The terminus of the PEG chain may have a MW between about 15 and 210. The terminus of the PEG chain may be a methyl group. R may be an alkyl group selected from Table 3 or Table 4. R may be a bile acid. R may be selected from Table 4. R may be cholesterol.

[097] In another aspect, the invention includes a chemical compound having the formula



where n is between about 3 and 23; R is a lipid; L is a linker group; and where X are the same or different linker groups. X may have a MW between about 14 and 620. X may be selected from the group consisting of oxy, thiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinyl, haloid and linkers shown in Table 3. n may be between about 4 and 23. n may be between about 7 and 23. The termini of the PEG chains may have a MW between about 15 and 210. The termini of the PEG chains may be methyl groups. R may be an alkyl group selected from Table 1 or Table 2. R may be a bile acid. R may be selected from Table 4. R may be cholesterol. X may be selected from the group consisting of oxy, thiol, amino, -COO-, -OCOO-, succinyl, haloid and linkers shown in Table 3.

EXAMPLES

[098] The following examples are further illustrating the invention and should not be constructed as in any way limiting its scope.

[099] Example 1. Synthesis of 3-Oleoyl-1,2-bis(methoxyhexathylene glycol)glycerol

[100] Part 1A: 3-Benzyl-1,2-bis(methoxyhexathylene glycol)glycerol

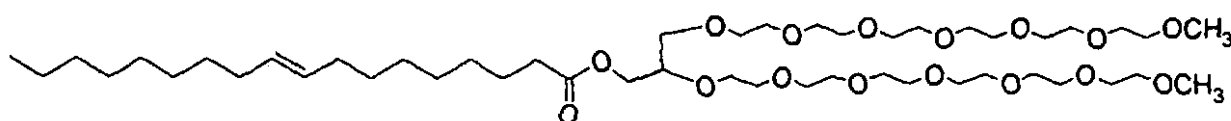
[101] To a three-necked flask, ($\pm$)-3-Benzyl-1,2-propanediol (1.2 g, 6 mmol), NaH (0.96 g, 40 mmol) and dry THF (150 mL) were added. A dry THF solution (50 mL) of monomethoxyhexaethylene glycol tosylate (5.4 g, 12 mmol) was then added to the mixture dropwise at room temperature. The mixture was refluxed for 24 hours and cooled to room temperature. Ice-cold methanol was added to the reaction mixture to quench excessive NaH. The solvent was evaporated and the crude product was extracted with 5% HCl (w/v) and CH_2Cl_2 . The solvent was evaporated and further purified by gel permeation chromatography to yield 85% of colorless liquid.

[102] Part 1B: 3-hydroxyl-1,2-bis(methoxyhexaethylene glycol)glycerol

[103] To a solution of 5 grams of 3-Benzyl-1,2-bis(methoxyhexaethylene glycol)glycerol in 20 mL of n-Hexane, 5 drops of acetic acid and 0.6 g of palladium black were added. The mixture was purged with pure hydrogen at 30 °C in atmosphere for approximately 60 minutes to remove the benzyl protection group on the 3'-hydroxy. After the hydrogen was replaced by nitrogen, the solution was cooled to 4 to 6 °C and the catalyst was removed by filtration. Solvent was evaporated to yield 98% of the final product.

[104] Part 1C: 3-Oleoyl-1,2-bis(methoxyhexaethylene glycol)glycerol

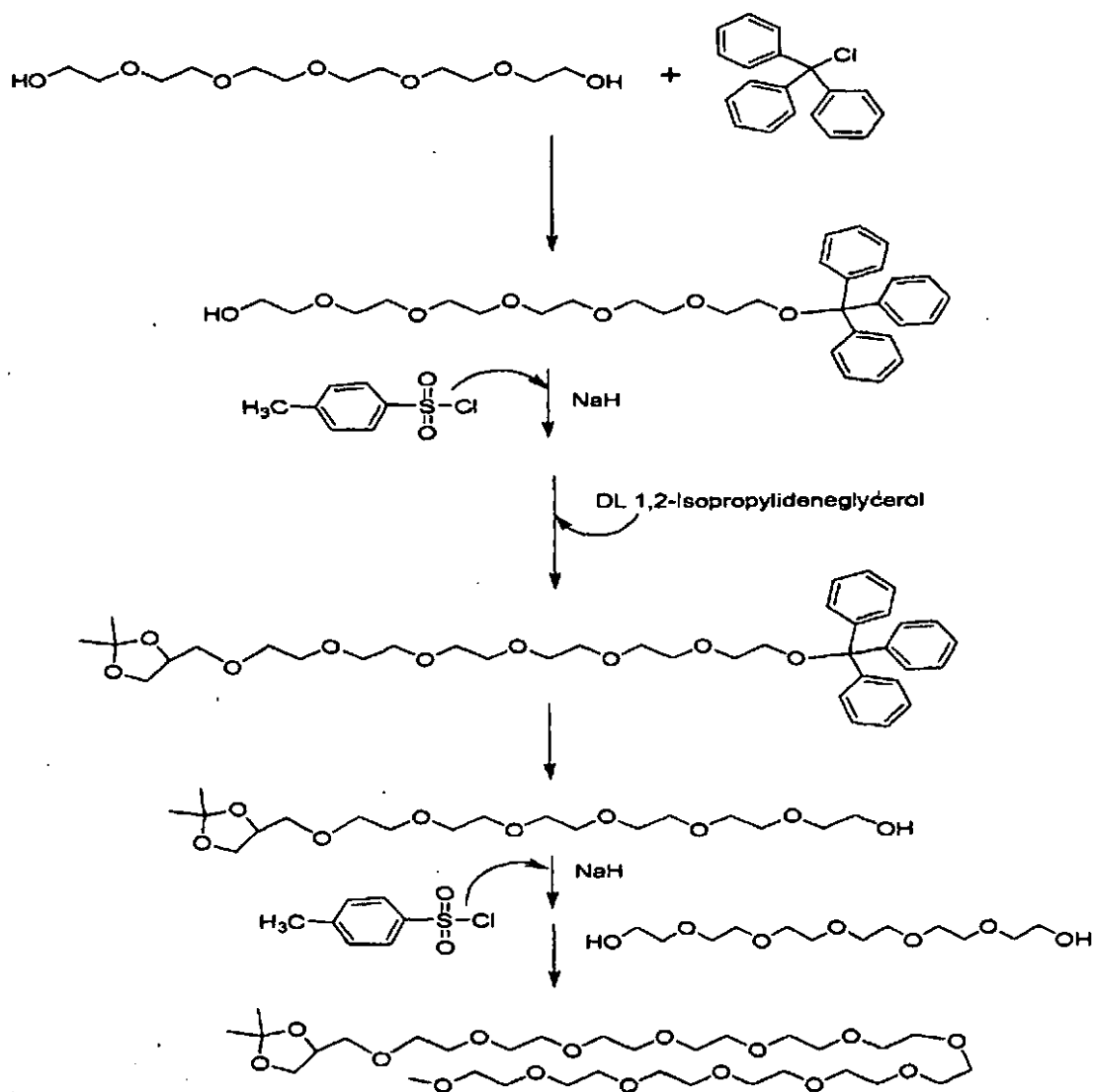
[105] 6.5 g of the product from 1B (10 mmoles), 3.1 g of oleic acid (11 mmoles), 9.6 g of N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide (50 mmol) and a catalytic amount of DMAP (0.6 g, 5 mmoles) in anhydrous CH₂Cl₂ (400 mL) was stirred at 25 °C for 12 h under nitrogen, after which the N, N'-dicyclohexylurea salts were precipitated and removed by filtration. The filtrates were evaporated under reduced pressure to yield 89% of the final product shown by Chemical Structure 15.



Chemical Structure 15: 3-Oleoyl-1,2-bis(methoxyhexaethylene glycol)glycerol

[106] Example 2. Synthesis of 1,2-dioleoyl-rac-3-monomethoxydodecaethylene glycol (mPEG-12)-glycerol

[107] The general steps for this synthesis are showed in Reaction Scheme 8.



Reaction Scheme 8: Synthesis of 1,2- isopropylidene-glycerol-3-monomethoxydodecaethylene ester

[108] 1 moles of hexaethylene glycol was mixed with 0.15 moles of pyridine and heated to 45-50°C and 0.1 moles of trityl chloride was added. The reaction was carried over night (approximately 16 hours) under constant stirring and then cooled down to room temperature and extracted with toluene. The extract was washed with water, then extracted with hexane and dried over MgSO₄. The solvent was removed under vacuum, a light yellow oily Tr-hexaethylene glycol was obtained (yield 70 to 85%).

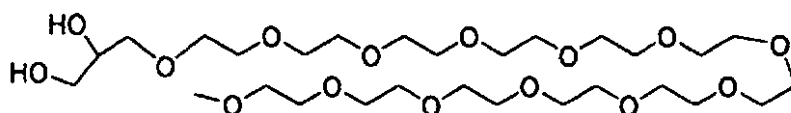
[109] 0.1 moles of Tr-hexaethylene glycol and 0.101 moles of *p*-toluenesulfonyl chloride were mixed in 100 mL of methylene chloride. The homogeneous mixture was cooled to 0°C in a dry-ice-acetone bath and 45 g of KOH was added in small portions under vigorous stirring while maintaining the reaction temperature below 5 °C. The reaction was completed under constant stirring for 3 hours at 0°C. The crude product was diluted with 100 mL of methylene chloride, then 120 mL of ice-cold water was added. The organic layer was collected, and the aqueous phase was extracted with methylene chloride (2 x 50 mL). The combined organic layers were washed with water (100 mL) and dried over MgSO₄. The solvent was removed under vacuum to yield (87 to 99%) clear oil.

[110] To a three-necked flask, 1,2- isopropylidene-rac-glycerol (0.1 mol) and NaH (0.4 mol) and dry THF (200 mL) were charged. A dry THF solution (125 mL) of Tr-hexaethylene glycol tosylate (0.1 mol) was added to the mixture dropwise at room temperature. The mixture was refluxed for 24 hours, and cooled to room temperature. Ice-cold methanol was added to the reaction mixture to quench excessive NaH. The solvent was evaporated and the crude product was extracted with 5% HCl (w/v) and CH₂Cl₂. The crude product was not purified further but taken directly to the next stage of synthesis.

[111] The above crude product was transferred to a high pressure resistant glass flask and 200 mL of dry methylene chloride and 10% palladium on carbon (1.5 g). Hydrogenolysis was carried out by purging pure hydrogen at 30 °C in atmosphere for approximately 60 minutes to remove the protective group on the hexaethylene glycol. After the hydrogen was replaced by nitrogen, the solution was cooled to 4 to 6 °C and the catalyst was removed by filtration. Solvent was evaporated to yield 95 to 98 % of the final product.

[112] In a three-necked flask, 3-hexaethylene-glycol-1,2- isopropylidene-rac-glycerol (0.1 mol) and NaH (0.4 mol) and dry THF (500 mL) were mixed. A dry THF solution (200 mL) of monobenzylhexaethylene glycol tosylate (0.11 mmol) was added to the mixture dropwise at room temperature. The mixture was refluxed for 24 hours, and then cooled to room temperature. Ice-cold methanol was added to the reaction mixture to quench excessive NaH. The solvent was evaporated and the crude product was extracted with 5% HCl (w/v) and CH₂Cl₂. The solvent was evaporated and further purified by gel permeation chromatography to yield 82% of 3-monomethoxydodecaethylene glycol-1,2-isopropylideneglycerol.

[113] The isopropylidene protecting group was removed by stirring 10 g of 3-monomethoxydodecaethylene glycol-1,2-Isopropylideneglycerol for 3 hours in acidic methanol solution (180 mL MeOH : 20 mL, 1 M HCl). The mixture was neutralized with sodium hydrogen carbonate and extracted in chloroform (3 x 150 mL) and dried over sodium sulfate. Filtration and evaporation of the solvent yields the product (75-80%) of 3-monomethoxydodecaethylene glycol-1,2-dihydroxyl-glycerol (Chemical Structure 16).

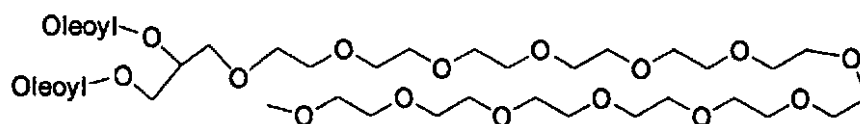


Chemical Structure 16: 3-monomethoxydodecaethylene glycol-1,2-dihydroxyl-glycerol

[114] In the above PEG chain extension reaction, the starting PEG reagent preferably comprises 1 to 6 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ unit, and more preferably has 3 to 6 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ unit, and more preferably has 4 to 6 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ units. The reaction between glycerol and the PEG-reagent can occur in the presence or the absence of a linker group. Preferred PEG-reagents have hydroxyl, amino, carboxyl, isocyanate, thiol, carbonate functional groups. Especially preferred PEG-reagents for use in this embodiment of the inventive method include PEG-tosylate, PEG-mesylate and succinyl-PEG. Following the reaction between the glycerol and the PEG-reagent, the protecting groups are removed.

[115] 0.1 moles of 3-monomethoxydodecaethylene glycol-1,2-dihydroxyl-glycerol was constantly stirred under nitrogen in 250 mL of chloroform. 0.21 mole of oleoyl chloride was dissolved with 250 mL of chloroform and added to this heterogeneous mixture of dihydroxyacetone and followed by adding 15 mL of anhydrous pyridine. The reaction proceeded for 30 minutes under constantly stirring at room temperature. The mixture turned homogeneous and the reaction was completed when no detectable oleoyl chloride was in the mixture. The bulk solvent was removed under vacuum. The residue was diluted with methylene chloride and equal volume of brine solution was added. The organic layer was collected and the aqueous phase was repeatedly extracted with methylene chloride and the organic layers were combined and washed

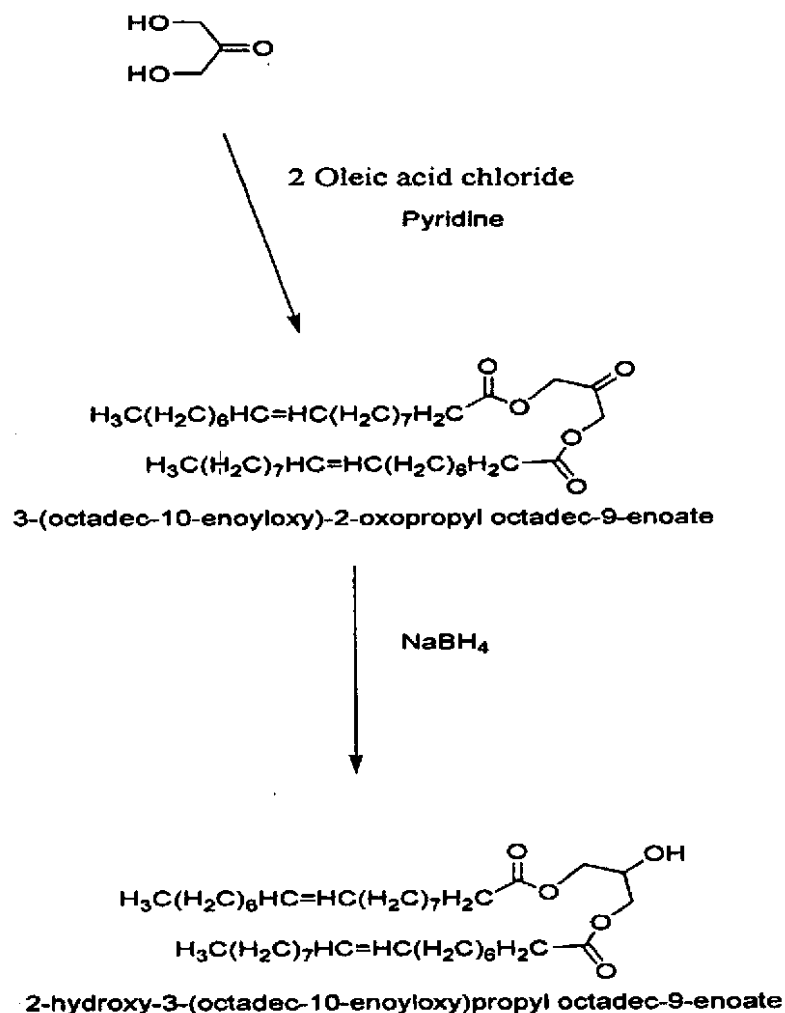
again with water (50 mL) and dried over sodium sulfate, and further evaporated to yield a (70-80%) oily product (Chemical Structure 17). Its liquid chromatograph-mass spectrometry (LC-MS) chromatogram is shown in Figure 1: (a) the sample was injected onto a 4.6 x 50 mm Inertsil C8 column and eluted under a mixture of Tetrahydrofuran and H₂O (4/6, v/v) monitoring with a mass spectrometry and (b) the MS spectrum of the peak eluted at 1.45 minutes where [M-1]⁺ is the ion of the parent compound.



Chemical Structure 17: 1,2-dioleoyl-rac-3-monomethoxydodecaethylene glycol (mPEG-12) glycerol

[116] Example 3. Synthesis of 1,3-dioleoyl-rac-2-monomethoxyDodecaethylene glycol (mPEG-12)-glycerol

[117] The general steps for this synthesis is showed in the following scheme (Reaction Scheme 9):



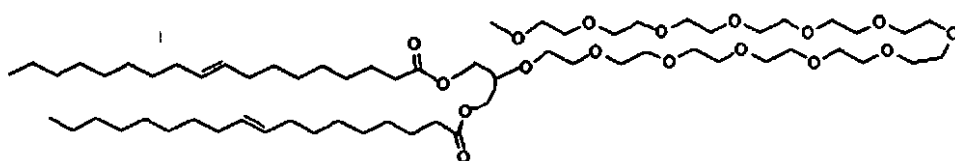
Reaction Scheme 9: Synthesis of 1,3-dioleoyl-2-glycerol ester

[118] 0.033 moles of dihydroxyacetone was constantly stirred under nitrogen in 150 mL of chloroform. 0.06 mole of oleoyl chloride was dissolved with 150 mL of chloroform and added to this heterogeneous mixture of dihydroxyacetone and followed by adding 10 mL of anhydrous pyridine. The reaction proceeded for 30 minutes under constant stirring at room temperature. The mixture turned homogeneous and the reaction was completed when no detectable oleoyl chloride was in the mixture. The bulk solvent was removed under vacuum. The residue was wash with water then extracted with ethyl acetate. The aqueous phase was repeatedly extracted with ethyl acetate and the organic layers were combined and washed again with water, dried over sodium sulfate and evaporated. The resulting oily product was recrystallized from methanol to

give 3-(octadec-10-enyloxy)-2-oxopropyl octadec-9-enoate (% of yields 75-80) with a melting temperature of 43-44 °.

[119] The 1,3-dioleate (0.02 moles) was dissolved with 150 mL of tetrahydrofuran (THF) and 10 mL of water. The heterogeneous solution was chilled to 5 °C in an ice-bath. A solution of sodium borohydride (0.026 mol in THF) was added in small portions. After 30 minutes excess borohydride was destroyed by adding approximately 1 mL of glacial acetic acid, the solution was then diluted with chloroform, and washed with water and dried over magnesium sulfate. An oil was obtained which partially crystallized to needle-like crystals of 2-hydroxy-3-(octadec-10-enoyloxy)propyl octadec-9-enoate (yields 80 to 90%) with a melting temperature of 20-22 °C.

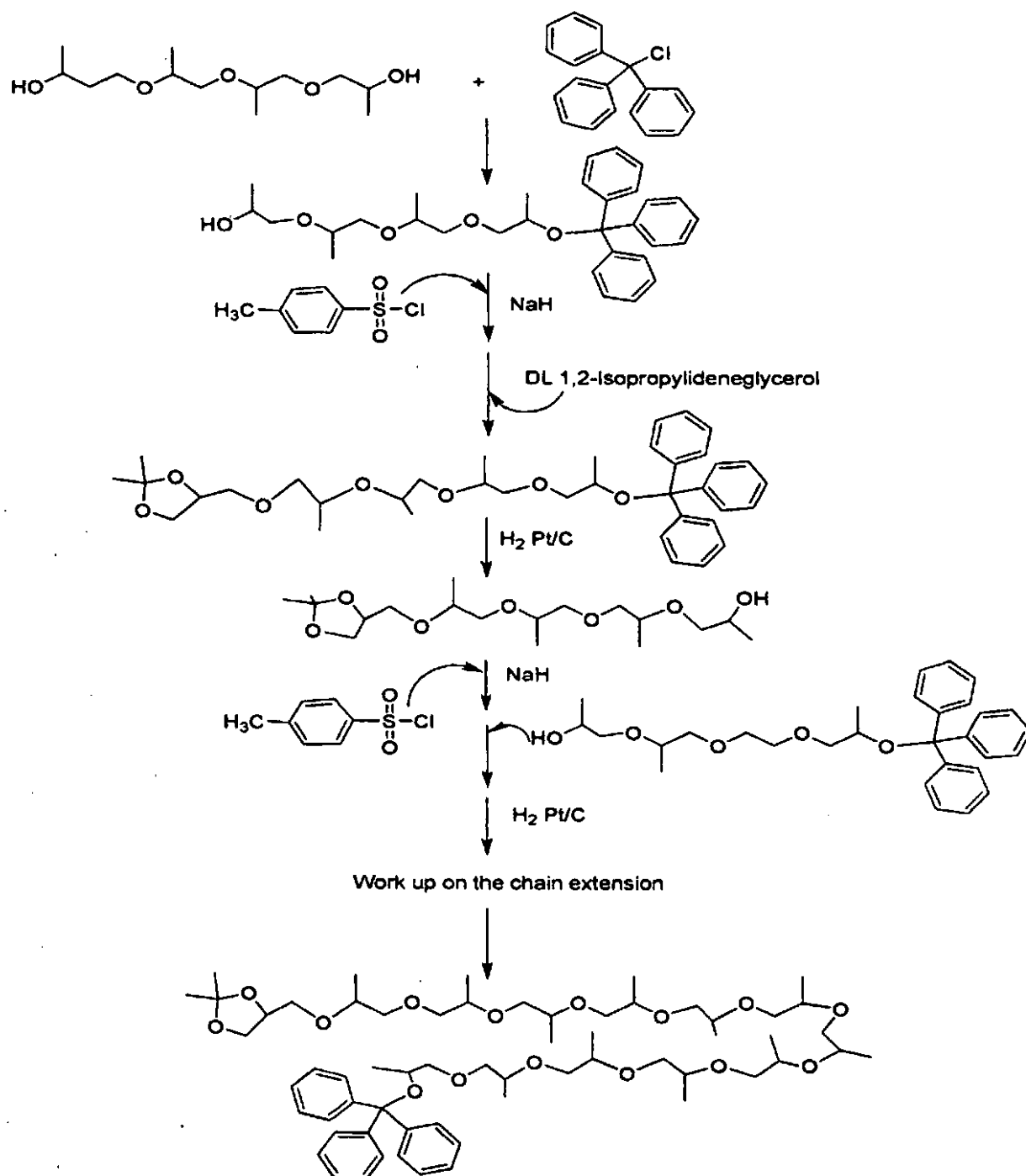
[120] From the above intermediate product, 1,3-dioleoyl-rac-glyecrol-rac-2-monomethoxy-dodecaethylene glycol (mPEG-12)-glycerol (Chemical Structure 18) was prepared after the reaction and work-up as described in the Examples 1 and 2.



Chemical Structure 18:
1,3-dioleoyl-rac-2-monomethoxyDodecaethylene glycol (mPEG-12)-glycerol

[121] Example 4: 1,2-dimyristoyl-rac-3-dodecapropylene glycol (PPG-12)-glycerol

[122] The general steps for this synthesis is showed in the following scheme (Reaction Scheme 10):



Reaction Scheme 10: Synthesis of 1,2-isopropylidene-glycerol-3-trityl-dodecapropylene glycol

[123] 1.5 moles of tetrapropylene glycol was mixed with 0.23 moles of pyridine and heated to 45-50°C and 0.15 moles of trityl chloride was added. The reaction was carried over night

(approximately 16 hours) under constant stirring, then cooled down to room temperature and extracted with toluene. The extract was washed with water, then extracted with hexane and dried over MgSO_4 . The solvent was removed under vacuum. A light yellow oily Tr-tetrapropylene glycol was obtained (yield 75 to 85%).

[124] 0.1 moles of Tr-tetrapropylene glycol and 0.101 moles of *p*-toluenesulfonyl chloride were mixed in 100 mL of methylene chloride. The homogeneous mixture was cooled to 0°C in a dry-ice-acetone bath and 45 g of KOH was added in small portions under vigorous stirring while maintaining the reaction temperature below 5 °C. The reaction was completed under constant stirring for 4 hours at 0°C. The crude product was diluted with 100 mL of methylene chloride, then 120 mL of ice-cold water was added. The organic layer was collected, and the aqueous phase was extracted with methylene chloride (2 x 50 mL). The combined organic layers were washed with water (100 mL) and dried over MgSO_4 . The solvent was removed under vacuum to yield (85 to 95%) clear oil.

[125] To a three-necked flask, 1,2- isopropylidene-rac-glycerol (0.1 mol) and NaH (0.4 mol) and dry THF (200 mL) were charged. A dry THF solution (125 mL) of Tr-tetrapropylene glycol tosylate (0.1 mol) was added to the mixture dropwise at room temperature. The mixture was refluxed for 24 hours and then cooled to room temperature. Ice-cold methanol was added to the reaction mixture to quench excessive NaH. The solvent was evaporated and the crude product was extracted with 5% HCl (w/v) and CH_2Cl_2 . The crude product was not purified further but taken directly to the next stage of synthesis.

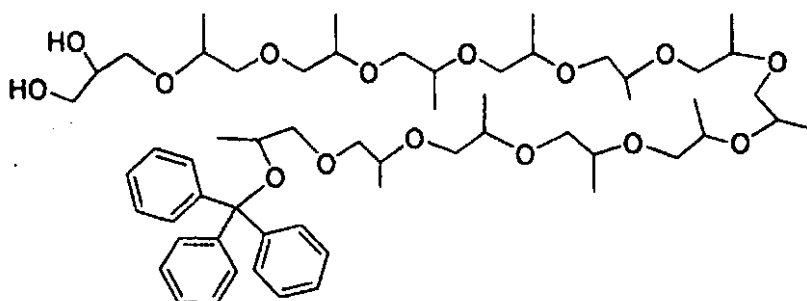
[126] The above crude product was transferred to a high pressure resistant glass flask and 200 mL of dry methylene chloride and 10% palladium on carbon (1.5 g). Hydrogenolysis was carried out by purging pure hydrogen at 30 °C in atmosphere for approximately 60 minutes to remove the protective group on the hexaethylene glycol. After the hydrogen was replaced by nitrogen, the solution was cooled to 4 to 6 °C and the catalyst was removed by filtration. Solvent was evaporated to yield 95 to 98 % of the final product.

[127] To a three-necked flask, 3-tetrapropylene-glycol-1,2- isopropylidene-rac-glycerol (0.1 mol) and NaH (0.4 mol) and dry THF (500 mL) were added. A dry THF solution (200 mL) of Tr-tetrapropylene glycol tosylate (0.11 mmol) was added to the mixture dropwise at room

temperature. The mixture was refluxed for 24 hours, and cooled to room temperature. Ice-cold methanol was added to the reaction mixture to quench excessive NaH. The solvent was evaporated and the crude product was extracted with 5% HCl (w/v) and CH_2Cl_2 .

[128] The above etherification steps were repeated one more time. The solvent was evaporated and further purified by gel permeation chromatography to yield approximately 80% of 3-trityl-dodecapropylene glycol-1,2-isopropylideneglycerol.

[129] The isopropylidene protecting group was removed by stirring 10 g of 3-dodecapropylene glycol-1,2-isopropylideneglycerol for 3 hours in acidic methanol solution (180 mL MeOH : 20 mL, 1 M HCl). The mixture was neutralized with sodium hydrogen carbonate and extracted in to chloroform (3 x 150 mL) and dried over sodium sulfate. Filtration and evaporation of the solvent yielded the product (75-80%) of 3-trityl-dodecapropylene glycol-1,2-dihydroxyl-glycerol (Chemical Structure 19).



Chemical Structure 19:
3-trityl-dodecapropylene glycol-1,2-dihydroxyl-glycerol

[130] In the above PEG chain extension reaction, the starting PEG reagents preferably comprise 1 to 6 $\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{O}$ units, and more preferably 3 to 6 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ units, and more preferably has 4 to 6 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ units. The reaction between glycerol and the PEG-reagent can occur in the presence or the absence of a linker group. In this embodiment, preferred PEG-reagents have hydroxyl, amino, carboxyl, isocyanate, thiol, carbonate functional groups. Especially preferred PEG-reagents for use in this embodiment of the inventive method include PEG-tosylate, PEG-mesylate and succinyl-PEG. Following the reaction between the glycerol and the PEG-reagent, the protecting groups are removed.

REIVINDICACIONES (ORIGINALES)

1. Una composición química incluyendo un conjugado PEG-lípido, el conjugado PEG-lípido comprende:
una columna vertebral de glicerol;
un grupo lípido unido por enlace covalente a la columna vertebral de glicerol;
una cadena PEG unida por enlace covalente a la columna vertebral del glicerol, donde la cadena PEG tiene un peso molecular entre alrededor de 200 y 1200 daltons, donde más de alrededor de 75 % de las cadenas PEG de las moléculas del conjugado en la composición tienen el mismo peso molecular
2. En la composición de la reivindicación 1, donde más del 90 % de las cadenas PEG de las moléculas conjugadas en la composición tienen el mismo peso molecular.
3. La composición de la reivindicación 2, donde la cadena PEG tiene un peso molecular mayor a alrededor de 600 daltons.
4. La composición de la reivindicación 1, donde el lípido es un grupo alquilo.
5. La composición de la reivindicación 4, donde el grupo alquilo es seleccionado de entre los grupos alquilos contenidos en la Tabla 1 y en la Tabla 2.
6. La composición de la reivindicación 1, que comprende además un segundo lípido unido de manera covalente a la columna vertebral del glicerol.
7. La composición de la reivindicación 6, donde el segundo lípido es un grupo alquilo.
8. La composición de la reivindicación 7, donde el grupo alquilo es seleccionado de entre los grupos alquilos contenidos en la Tabla 1 y en la Tabla 2.
9. La composición de la reivindicación 6, donde el lípido es un ácido biliar.
10. La composición de la reivindicación 7, donde el ácido biliar es seleccionado del conjunto de ácidos biliares contenidos en la tabla 4.
11. La composición de la reivindicación 6, donde lípido es colesterol.
12. La composición de la reivindicación 1, comprendiendo además un grupo enlazador entre la columna vertebral de glicerol y la cadena PEG.
13. La composición en la reivindicación 12, donde el enlazador es seleccionado de entre el grupo consistente de: -S-, -O-, -N-, -OCOO-, y los enlazadores contenidos en la tabla 3.
14. La composición de la reivindicación 1, comprendiendo además una segunda cadena PEG unida en forma covalente a la columna vertebral del glicerol.
15. La composición de la reivindicación 1, donde el enlace entre la columna vertebral de glicerol y la cadena del PEG es seleccionado a partir del grupo consistente de -O-C(O)-, -O-, -S-, and -NH-C(O)-.
16. La composición de la reivindicación 1, donde el enlace entre la columna vertebral de glicerol y la cadena PEG es seleccionada del contenido de la tabla 3.



No. 11-181678-00000-0000

Fecha: 2011-12-30 12:48:31 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 379 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 135
Act. 411 PRESENTACION Folios: 134

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐