

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6480467号
(P6480467)

(45) 発行日 平成31年3月13日 (2019. 3. 13)

(24) 登録日 平成31年2月15日 (2019. 2. 15)

(51) Int. Cl.

F I

C O 8 G	69/02	(2006. 01)	C O 8 G	69/02
A 6 1 P	35/00	(2006. 01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	9/10	(2006. 01)	A 6 1 P	9/10
A 6 1 P	3/06	(2006. 01)	A 6 1 P	3/06
A 6 1 P	9/12	(2006. 01)	A 6 1 P	9/12

請求項の数 17 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-561865 (P2016-561865)
(86) (22) 出願日	平成26年9月1日 (2014. 9. 1)
(65) 公表番号	特表2017-516883 (P2017-516883A)
(43) 公表日	平成29年6月22日 (2017. 6. 22)
(86) 国際出願番号	PCT/JP2014/004480
(87) 国際公開番号	W02015/155810
(87) 国際公開日	平成27年10月15日 (2015. 10. 15)
審査請求日	平成29年8月31日 (2017. 8. 31)
(31) 優先権主張番号	61/976, 354
(32) 優先日	平成26年4月7日 (2014. 4. 7)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	000003964 日東電工株式会社 大阪府茨木市下穂積 1 丁目 1 番 2 号
(74) 代理人	100189924 弁理士 小田切 美紗
(74) 代理人	100102842 弁理士 葛和 清司
(72) 発明者	イン, ウェンビン アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 2 9、サンディエゴ、パーク ヴィレッ ジ ロード 7 4 7 8
(72) 発明者	ツァン, コク イン アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 6 0 2、アーヴァイン、ポリーナ 1

最終頁に続く

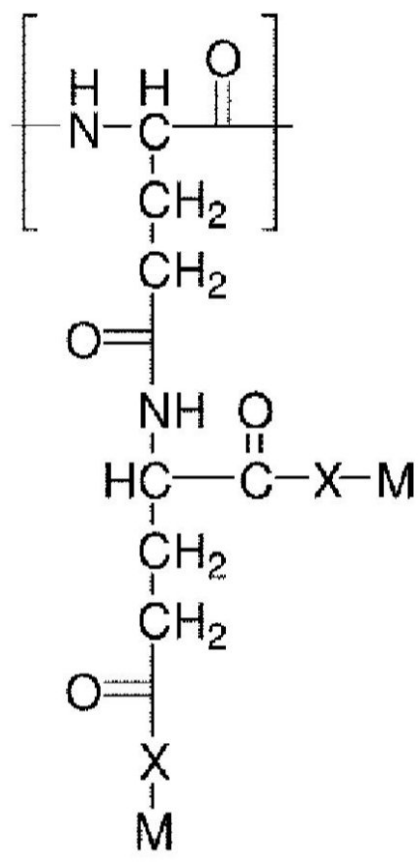
(54) 【発明の名称】 疎水性薬物送達のための新規なポリマーベースのヒドロトロープ

(57) 【特許請求の範囲】

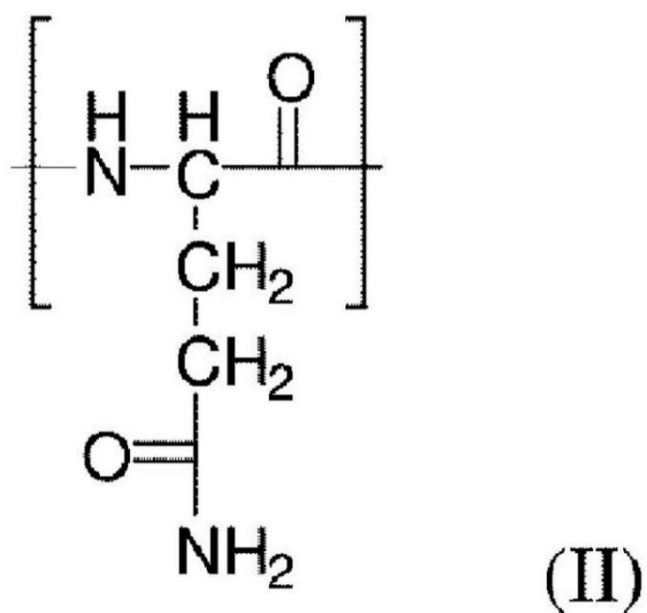
【請求項 1】

ポリマーの骨格がアニオン性ポリマーであり、疎水性部分が該ポリマー骨格に共有的に付着していることを特徴とする、ポリマー抱合体であって、
式 (I)、および任意に、式 (I I)

【化 1】



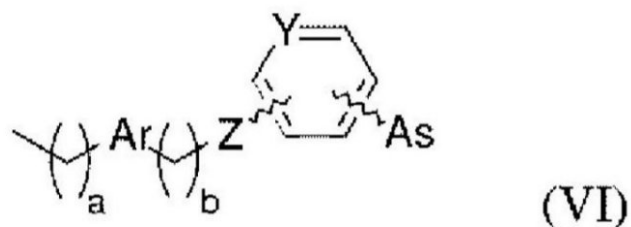
【化 2】



式中、

Mは、独立して、疎水性部分およびカチオンからなる群から選択され、ここで疎水性部分は、Mの総量の20～50モル%を占め、式(VI)

【化 3】



10

式中、

a および b は、独立して、0 ~ 4 の整数であり、

Ar は、独立して、アリールまたはヘテロアリールであり、

Z は、独立して、O、S、SO、SO₂、NR、CR₂ からなる群から選択され、

Y は、CH または N であり、

As は、独立して、ハライド、OR、NR₂、COOR、CONR₂ および CN からなる群から選択される 1 つ ~ 3 つの置換基であり、

カチオンは、独立して、水素、アンモニウムまたはアルカリ金属から選択され、

X は、O、S および NR からなる群から選択され、

R は、H、C₁ - 4 アルキル、C₂ - 4 アルケニル、C₂ - 4 アルキニル、アリールおよびヘテロアリールからなる群から選択される

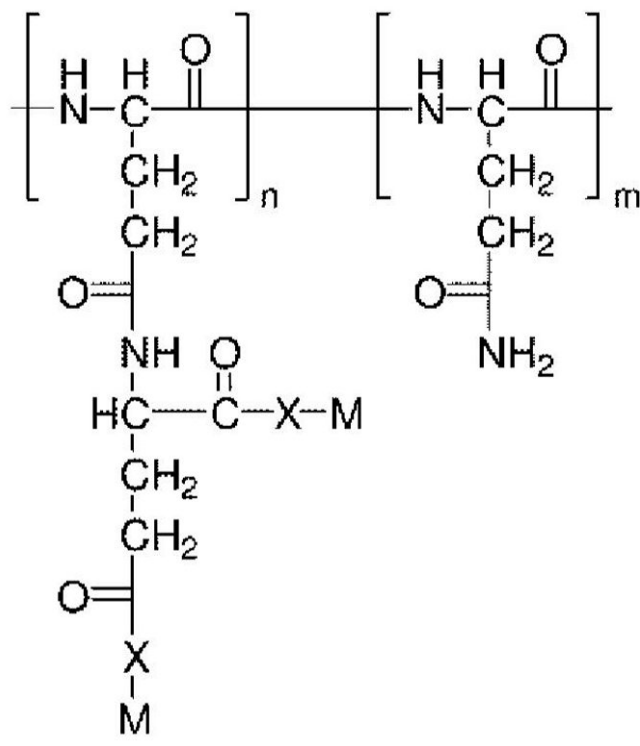
20

で表されるモノマー単位で構成される、前記ポリマー抱合体。

【請求項 2】

ポリマー抱合体が、式 (III)

【化 4】



30

40

式中、

m および n は、両方とも整数であり、ここで m は、0 であるか、または m : n の比率が 1 : 9 から 5 : 5 までであるように定義される、

50

で表されることを特徴とする、請求項 1 に記載のポリマー抱合体。

【請求項 3】

A s が、C O N R₂ の 1 つの置換基である、請求項 1 または 2 に記載のポリマー抱合体。

【請求項 4】

R が、エチルまたはメチルから選択される、請求項 3 に記載のポリマー抱合体。

【請求項 5】

a および b が、両方とも 1 である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のポリマー抱合体。

【請求項 6】

A r が、アリールである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のポリマー抱合体。

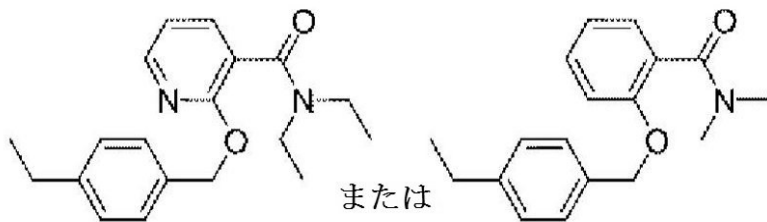
【請求項 7】

Z が、O である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のポリマー抱合体。

【請求項 8】

疎水性部分が、独立して、

【化 5】



から選択される、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のポリマー抱合体。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載のポリマー抱合体によって形成される、ポリマーミセル。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載のポリマー抱合体で構成される担体、および該担体と作動可能に連結している疎水性化合物を含む、組成物。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載のポリマー抱合体を含む担体、および該担体と作動可能に連結している疎水性薬物を含む、治療組成物。

【請求項 12】

疎水性薬物が、抗がん性薬物である、請求項 11 に記載の治療組成物。

【請求項 13】

薬物が、パクリタキセル、ドセタキセル、タネスピマイシン、グリセオフルピン、ニフェジピン、プロゲステロンおよびプロブコールからなる群から選択される、請求項 11 に記載の治療組成物。

【請求項 14】

薬物が、パクリタキセル、ドセタキセルおよびタネスピマイシンからなる群から選択される、請求項 11 ~ 13 のいずれか一項に記載の治療組成物。

【請求項 15】

ポリマー抱合体が、ポリマーミセルを形成し、および、疎水性治療剤が、該ポリマーミセル内に封入される、請求項 11 ~ 14 のいずれか一項に記載の治療組成物。

【請求項 16】

がん、感染症、高血圧、狭心症、婦人科疾患および高脂血症からなる群から選択される疾患または状態の処置のための、請求項 11 ~ 15 のいずれか一項に記載の治療組成物。

【請求項 17】

疾患または状態が、がんである、請求項 1 6 に記載の治療組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本明細書において開示されるのは、有機化学、薬化学、生化学、分子生物学および医薬の分野に関連した組成物および方法である。特に、本明細書において開示される態様は、薬物封入 (drug-encapsulated) ポリマーヒドロトロップを調製するためのポリマー抱合体 (polymer conjugate)、薬物を細胞内へ送達するための組成物および方法、ならびに、がんなどの疾患および障害の処置および緩和のための組成物の使用に関する。

【背景技術】

10

【0002】

ポリマーミセルは、大部分の抗がん性薬物などの、種々の難溶性薬物を可溶化するための、また標的部位への薬物の送達のための、広く用いられている薬物送達システム (DDS) の 1 つである。通常、水溶性のポリエチレングリコール (PEG) および水不溶性のポリマーで構成されるブロックコポリマーがポリマーミセルを形成するのに利用され、親水性外部シェルおよび疎水性内部コアを提供する。難溶性薬物は、コポリマーの疎水性部分との疎水性相互作用によって後者の内に封入され、親水性外部シェル内にとどまる。PEG - ベースのブロックコポリマーミセルについては、PEG - ブロック - ポリ (アルファ, ベータ - アスパラギン酸) および PEG - ブロック - ポリ (L - リジン) などの PEG - ベースのコポリマーのポリ (アミノ酸) 複合体が、DDS のための優れた機能性材料として報告されている。

20

【0003】

近年、ヒドロトロピック化合物 (hydrotropic compounds) が疎水性薬物の溶解性を改善するための有用化合物として注目を集めている。ジエチルニコチンアミドが、パクリタキセルの溶解性を用量依存的に改善する最良のものとして、60 以上の市販のヒドロトロップに対するスクリーニングから同定されたことが、以前に報告された (Kinam et al., Pharmaceutical Research, Vol. 20, 2003, 1022-1030)。この報告の後、同著者は、ジエチルニコチンアミド (DENA) およびジメチルベンズアミド (DMBA) 部分を担持する PEG - ベースのブロックコポリマーがパクリタキセルを封入することができたことをさらに報告した (Kinam et al., Journal of Controlled Release, Vol. 152, 2011, 13-20)。さらに、DENA が、パクリタキセル用の優れたヒドロトロップ剤であったこと、および、ポリ (乳酸 - グリコール酸共重合体) (PLGA) マトリックス中のパクリタキセルの放出プロファイルを改善したということが報告されている (Baek et al., J. Biomater. Sci. Polymer Edn, Vol. 15, No. 4, pp. 527-542 (2004))。

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【非特許文献 1】Kinam et al., Pharmaceutical Research, Vol. 20, 2003, 1022-1030

【非特許文献 2】Kinam et al., Journal of Controlled Release, Vol. 152, 2011, 13-20

40

【非特許文献 3】Baek et al., J. Biomater. Sci. Polymer Edn, Vol. 15, No. 4, pp. 527-542 (2004)

【発明の概要】

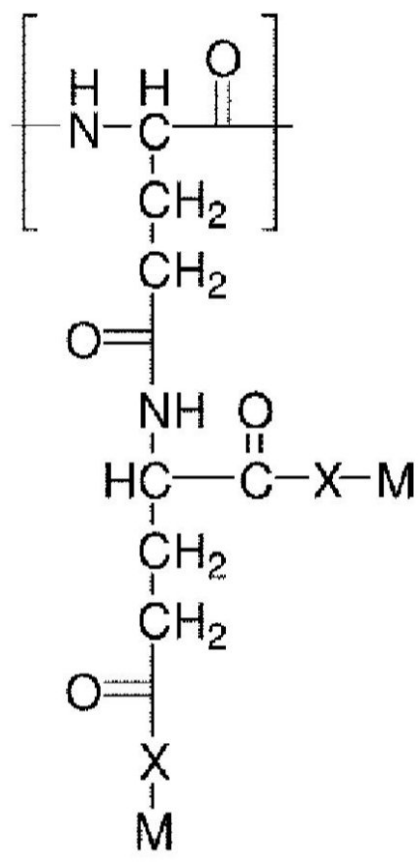
【0005】

本明細書に記載される発明の一側面は、ポリマーの骨格がアニオン性ポリマーであり、疎水性部分が該ポリマーの骨格に共有的に付着していることを特徴とするポリマー抱合体に向けられている。

【0006】

いくつかの態様は、式 (I)、および任意に、式 (II) :

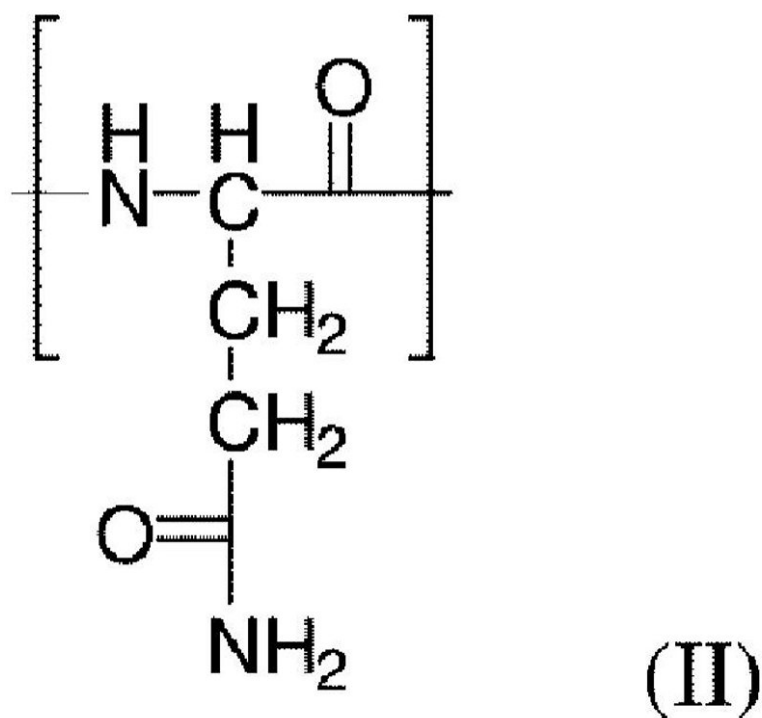
【化 1】



10

20

【化 2】



30

40

式中、Mは、独立して、疎水性部分およびカチオンからなる群から選択され、ここで疎水性部分は、Mの総量の20～50モル%を占め、およびカチオンは、独立して、水素、アンモニウムまたはアルカリ金属から選択され、Xは、O、SおよびNRからなる群から選

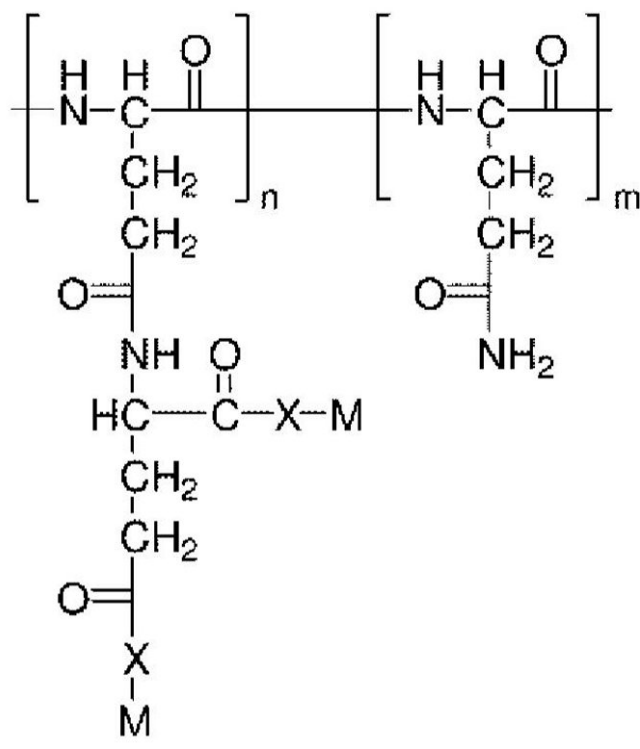
50

択され、Rは、H、C₁ - 4 アルキル、C₂ - 4 アルケニル、C₂ - 4 アルキニル、アリアルおよびヘテロアリアルからなる群から選択される、で表されるモノマー単位で構成される、本明細書に記載されるポリマー抱合体に関する。

【0007】

いくつかの態様は、式(III)

【化3】

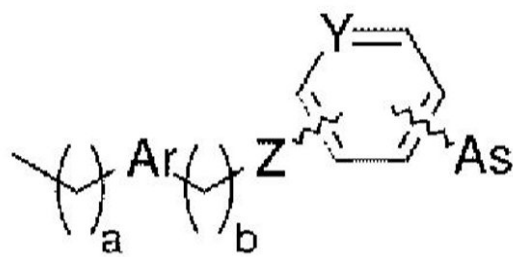


(III)

式中、mおよびnは、両方とも整数であり、ここでmは、0であるか、またはm:nの比率が1:9から5:5までであるように定義される、で表される、本明細書に記載されるポリマー抱合体に関する。

いくつかの態様は、疎水性部分が、式(VI)

【化4】



(VI)

式中、

aおよびbは、独立して、0~4の整数であり、

Arは、独立して、アリアルまたはヘテロアリアルであり、

Zは、独立して、O、S、SO、SO₂、NR、CR₂からなる群から選択され、

Yは、CHまたはNであり、

Asは、独立して、ハライド、OR、NR₂、COOR、CONR₂およびCNからなる群から選択される1つ~3つの置換基であり、および

Rは、独立して、本明細書に記載されるとおりの群から選択される、で表される、本明細書に記載されるポリマー抱合体に関する。

【 0 0 0 8 】

いくつかの態様は、 A_s が、 $CONR_2$ の 1 つの置換基である、本明細書に記載されるポリマー抱合体に関する。

いくつかの態様は、 R が、エチルまたはメチルから選択される、本明細書に記載されるポリマー抱合体に関する。

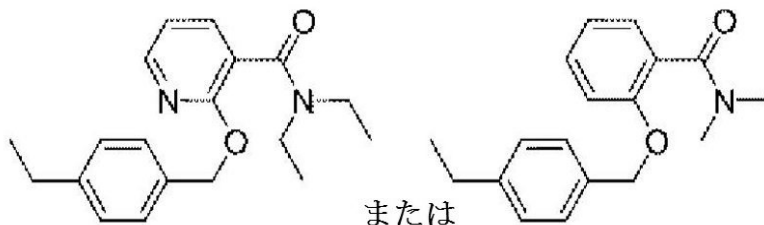
いくつかの態様は、 a および b が両方とも 1 である、本明細書に記載されるポリマー抱合体に関する。

いくつかの態様は、 A_r がアリールである、本明細書に記載されるポリマー抱合体に関する。

いくつかの態様は、 Z が O である、本明細書に記載されるポリマー抱合体に関する。

いくつかの態様は、疎水性部分が、独立して、

【化 5】



から選択される、本明細書に記載されるポリマー抱合体に関する。

【 0 0 0 9 】

本発明の別の側面は、本明細書に記載されるポリマー抱合体に由来するポリマーミセルに向けられている。

本発明の別の側面は、本明細書に記載されるポリマー抱合体担体 (polymer conjugate carrier) および該担体と作動可能に (operatively) 連結している疎水性化合物を含む組成物に向けられている。

本発明の別の側面は、本明細書に記載されるポリマー抱合体担体および該担体と作動可能に連結している疎水性薬物を含む治療組成物に向けられている。

いくつかの態様は、疎水性薬物が、抗がん性薬物である、本明細書に記載される治療組成物に関する。

いくつかの態様は、薬物が、パクリタキセル、ドセタキセル、タネスピマイシン、グリセオフルピン、ニフェジピン、プロゲステロンおよびプロブコールからなる群から選択される、本明細書に記載される治療組成物に関する。

いくつかの態様は、薬物が、パクリタキセル、ドセタキセルおよびタネスピマイシンからなる群から選択される、本明細書に記載される治療組成物に関する。

【 0 0 1 0 】

いくつかの態様は、ポリマー抱合体が、ポリマーミセルを形成し、および、疎水性の治療剤が、該ポリマーミセル内に封入される、本明細書に記載される治療組成物に関する。

本発明の別の態様は、疾患または状態の処置のための本明細書に記載される治療組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与することによる、疾患または状態を処置する方法に向けられている。

いくつかの態様は、疾患または状態が、がん、感染症、高血圧、狭心症、婦人科疾患および高脂血症からなる群から選択される、本明細書に記載される方法に関する。

いくつかの態様は、疾患または状態ががんである、本明細書に記載される方法に関する。

これらおよび他の態様を、以下でさらに詳しく記載する。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 1 】

【図 1】図 1 は、肺がん (上) および膵臓がん (下) についての腫瘍増殖曲線を、それぞ

10

20

30

40

50

れ図示する。PTX - PGG A - ヒドロトローブIII (Nitto X) は、用量依存的に腫瘍増殖を抑制することができることが実証された。

【図2】図2は、肺がんモデルにおいてPTX - PGG A - ヒドロトローブIIIと、パクリタキセルの従来の剤形（アブラキサン（登録商標））とを比較し、有効性（上）および投薬後21日目の腫瘍重量（下）である。

【図3】図3は、NCI - H460異種移植片を担持する動物におけるPTX - PGG A - ヒドロトローブIII対アブラキサン（R）の腫瘍PKプロファイルを示す。

【0012】

【図4】図4は、NCI - H460異種移植片を担持する動物におけるPTX - PGG A - ヒドロトローブIIIのPK / PD相関を描写し、ここでアセチル化チューブリンがPDバイオマーカーとして用いられた（上）。Ki67の発現もまた、第2のバイオマーカーとして、PDデータを検証するのに用いられ、腫瘍組織におけるKi67のIHC染色（右下）およびその対応する定量化されたデータのプロット（左下）である。

【図5】図5は、PTX - PGG A - ヒドロトローブIIIの毒性評価の結果を列挙する。

【図6】図6は、本明細書に記載される発明の薬物封入ポリマーミセルの形成の模式図を描写する。

【発明を実施するための形態】

【0013】

詳細な説明

他に定義されない限り、本明細書で用いる全ての技術用語および科学用語は、当業者が通常理解しているものと同じ意味を有する。本明細書中で参照する全ての特許、出願、公開された出願および他の出版物は、その全体を援用する。本明細書中の用語について複数の定義がある場合には、他に記載がない限り、本節のものが優先する。

【0014】

ポリマー抱合体

本発明の側面は、骨格がアニオン性ポリマーであり、疎水性部分が該ポリマー骨格に共有的に付着している、ポリマー抱合体を提供する。本発明のポリマー抱合体は、アニオン性で親水性の側鎖、例えばポリ - (L - ガンマ - グルタミルグルタミン) (PGGA、例えば、WO2007/067417、WO2010/014117およびSang Van et al., Int J Nanomedicine. 2010; 5: 825-837を参照、これらはその全体を参照により本明細書に組み込む)、を備えたポリマー骨格、ならびに疎水性部分、例えばジエチルニコチンアミド (DENA) およびジメチルベンズアミド (DMBA) を含み得る。後者は、側鎖の一部として、骨格に共有的に付着している。水性溶媒中での、疎水性化合物と骨格に結合されている疎水性部分との間の強い相互作用に基づいて、前者を、一般的な迅速混合法 (quick mixing method) を用いて、水溶性のポリマーミセルを産生するポリマー抱合体に容易に封入することができる。ポリマー抱合体の骨格がアニオン性である、すなわち負に荷電しているため、本発明のポリマー抱合体から調製されたポリマーミセルは、同様に主として負に荷電している血漿タンパク質または細胞膜と会合しない。これは、それらの移動性を向上させるだけでなく、腫瘍部位への送達のための血漿循環時間をも延長する。その上、疎水性薬物と本明細書に記載されるポリマーミセルとの間の相互作用が伝統的なPEG - コポリマーベースのポリマーミセルにおけるそれよりも少ないことは、前者がより低い臨界ミセル濃度 (CMC) を有することに反映されているとおりである。これは、本明細書に記載される発明の薬物封入ポリマーミセルが、その搭載薬物を比較的容易に放出し、腫瘍部位での治療有効性を向上させることを暗示する。

【0015】

上で述べたとおり、これまでのところ、PEG - ベースのコポリマーが、ポリマーミセル抱合体に従来用いられてきた。PEG - ベースのコポリマーの1つの問題は、PEGの非生分解性の性質である。したがって、本明細書に記載される発明のいくつかの好ましい態様において、ポリマー抱合体は、生分解性である。本明細書に記載される発明のポリマ

10

20

30

40

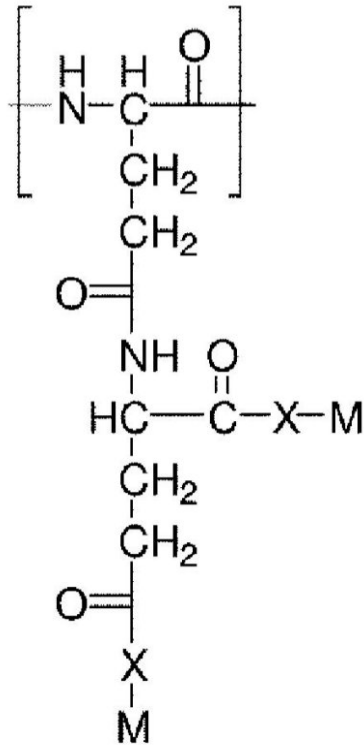
50

ー抱合体を作るために用いられる生分解性ポリマーは、疎水性化合物とポリマー抱合体との間の相互作用に悪影響を及ぼさない限り、限定されない。生分解性ポリマーの例は、限定されずに、ポリ - (L - ガンマ - グルタミルグルタミン) (P G G A)、ポリ - L - グルタミン酸 (P G A)、ポリ - (ガンマ - L - アスパルチルグルタミン) (P G A A)、ポリ (乳酸 - グリコール酸共重合体) (P L G A) およびそれらの混合物を含む。

【 0 0 1 6 】

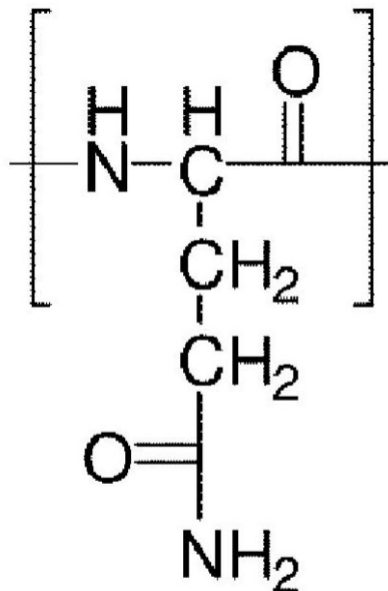
本明細書に記載される発明のいくつかの態様は、以下の、式 (I)、および任意に、式 (I I) :

【 化 6 】



(I)

【 化 7 】



(II)

式中、

Mは、独立して、疎水性部分およびカチオンからなる群から選択され、ここで疎水性部分は、Mの総量の20～50モル%を占め、およびカチオンは、独立して、水素、アンモニウムまたはアルカリ金属から選択され、

Xは、O、SおよびNRからなる群から選択され、

Rは、H、C₁₋₄アルキル、C₂₋₄アルケニル、C₂₋₄アルキニル、アリールおよびヘテロアリールからなる群から選択される

で表されるモノマー単位で構成されるポリマー抱合体を提供する。

【0017】

本明細書で用いる場合、「アリール」は完全に非局在化したパイ電子系を有する炭素環式（全て炭素）の単環式または多環式芳香環系を指す。アリール基の例は、限定されずに、ベンゼン、ナフタレンおよびアズレンを含む。本明細書で用いる場合、「ヘテロアリール」は、1個または2個以上のヘテロ原子、すなわち、限定されずに、窒素、酸素および硫黄を含む炭素以外の元素を含む、単環式または多環式芳香環系（完全に非局在化したパイ電子系を有する環系）を指す。

【0018】

本明細書で用いる場合、「アルキル」は、直鎖状または分枝状炭化水素鎖の完全に飽和した（二重結合または三重結合を含まない）炭化水素基を指す。「C₁₋₄アルキル」は、1～4個の炭素原子がアルキル鎖にあること、すなわち、アルキル鎖がメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチルおよびtert-ブチルからなる群から選択されることを示す。典型的なアルキル基は、限定されずに、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、第三級ブチルなどを含む。本明細書で用いる場合、「アルケニル」は、直鎖状または分枝状の炭化水素鎖に1個または2個以上の二重結合を担持するアルキル基を指す。本明細書で用いる場合、「アルキニル」は直鎖状または分枝状の炭化水素鎖に1個または2個以上の三重結合を含むアルキル基を指す。

【0019】

本明細書で用いる場合、「疎水性部分」は、ポリマー側鎖に付着しており、かつ、別の疎水性部分または疎水性薬物と相互作用する部分を指す。当該技術分野において知られたあらゆる疎水性部分を、それがポリマー抱合体の特性に悪影響を及ぼさない限り、本発明に用いることができる。一態様において、疎水性部分は、DEN AおよびDMBAからなる群から選択される。

【0020】

本明細書で用いる場合、「カチオン」は、アニオン基、例えば、ポリマー骨格の側鎖上のカルボキシル基、の対イオンを指す。カチオンの例は、限定されずに、水素、アンモニウム、アルカリ金属およびアルカリ土類金属を含み得る。一態様において、カチオンは、ナトリウムである。

【0021】

ポリマー骨格の分子量は、変化し得る。いくつかの態様において、ポリマー骨格の分子量は、約15 kDaから約80 kDaまでの範囲内にあり得る。

【0022】

本明細書に記載される発明のいくつかの態様において、以下の式：

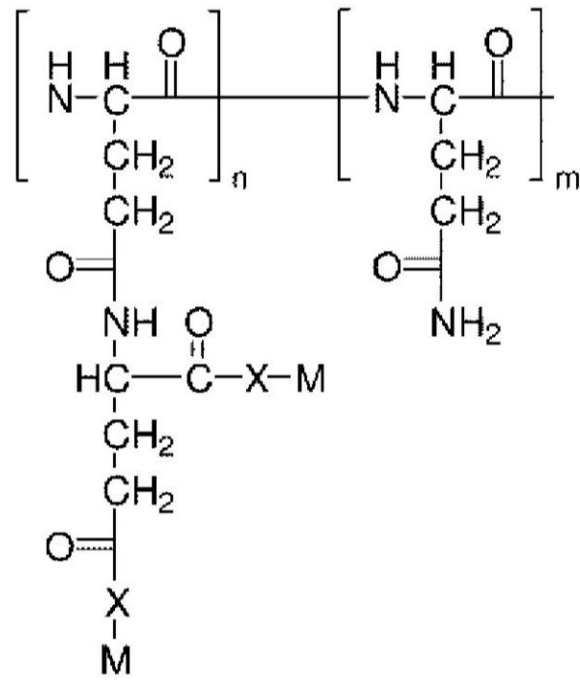
10

20

30

40

【化 8】



10

20

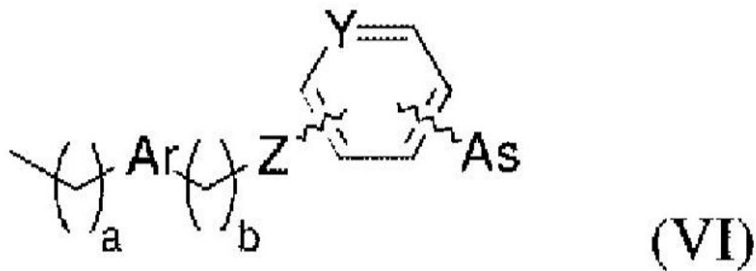
式中、

mおよびnは、両方とも整数であり、ここでmは、0であるか、またはm：nの比率が1：9から5：5までであるように定義される、で表されるポリマーを提供する。

【0023】

いくつかの態様において、疎水性部分は、式(VI)

【化 9】



30

式中、

aおよびbは、独立して、0～4の整数、好ましくは両方とも1であり、

Arは、独立して、アリールまたはヘテロアリール、好ましくはアリールであり、

Zは、独立して、O、S、SO、SO₂、NR、CR₂からなる群から選択され、好ましくはOであり、

40

Yは、CHまたはNであり、

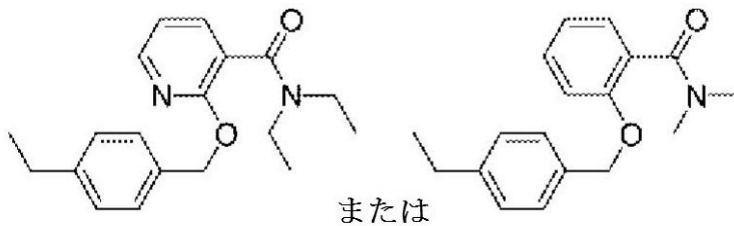
Asは、独立して、ハライド、OR、NR₂、COOR、CONR₂およびCNからなる群から選択される1つ～3つの置換基、好ましくはCONR₂であり、および

Rは、独立して、上で定義されたとおりの群から選択され、好ましくはエチルまたはメチルである、で表される。

【0024】

いくつかの好ましい態様において、疎水性部分は、独立して、

【化 10】



から選択される。

10

【0025】

上記のポリマー抱合体は、凝集し、ポリマーミセルを形成することができる。ゆえに、本発明の側面は、本明細書に記載されるポリマー抱合体によって形成されるポリマーミセルを包含する。

【0026】

本明細書に記載されるポリマー抱合体は、疎水性部分とポリマー骨格カルボン酸残基との脱水縮合などの従来の手順によって製造することができる。本発明のポリマー抱合体の調製の非限定例は、以下に記載される

【0027】

本明細書に記載されるポリマー抱合体は、化合物、とくに疎水性化合物（例えば疎水性薬物など）を、体内で輸送するための担体として用いられ得る。本明細書に記載されるポリマー抱合体は、封入された化合物を体内の腫瘍部位へ輸送するために用いられ得るナノ粒子担体（nanoparticulate carrier）としてのポリマーミセルを形成するために、用いられ得る。

20

【0028】

組成物

本明細書に記載される発明の別の側面は、上記のポリマー抱合体担体および該ポリマー抱合体の疎水性部分と作動可能に連結して疎水性コアを形成する疎水性化合物を含む組成物を提供する。いくつかの態様において、疎水性化合物は、治療薬物、標識化合物（labeling compound）などであり得る。一態様において、組成物は、上記のポリマー抱合体担体および該担体と作動可能に連結している疎水性薬物を含む治療組成物である。

30

【0029】

本明細書で用いる場合、用語「担体」は、ポリマー担体またはミセル担体を含む、様々なタイプの物質を指すのに用いることができる。担体は、1または2以上の化合物、例えば治療薬物および/またはターゲティング剤と作動可能に連結していてもよい。この文脈において、「作動可能に連結している」は、担体と1または2以上の剤との間の電子的相互作用を指す。かかる相互作用は、限定されずに、共有結合、極性共有結合、イオン結合、静電結合、配位共有結合、芳香族結合、水素結合、双極子またはファンデルワールス相互作用を含む化学結合の形をとってもよい。当業者は、かかる相互作用の相対的強度が大きく異なり得ることを理解している。

40

【0030】

用語「治療的」は、疾患または状態の任意の望ましくない徴候または症状の、あらゆる程度の緩和、予防または抑制を指す。かかる望ましくない徴候は、対象の全体的な幸福または外観を悪化させるものを含み得る。この用語は、必ずしも疾患または状態の完全治癒または廃絶を示すわけではない。「治療薬物」は、治療有効量で哺乳動物に投与した場合に、該哺乳動物に治療的な利益を提供する化合物である。いくつかの態様において、治療薬物は、疎水性薬物であり得る。当業者は、用語「治療薬物」が、規制上の承認を受けた薬物に限定されないことを理解する。「治療薬物」は、少なくとも1つの担体および/または他の剤と作動可能に連結していてもよい。

【0031】

50

いくつかの好ましい態様において、本明細書に記載される発明のポリマーヒドロトロープは、改変された P G G A - ベースのポリマーミセルを含有する。P G G A は、ポリマー薬物抱合体を作ることおよびポリマーミセル製剤を作ることの両方において、高度に水可溶性であり、生体適合性であり、生分解性であり、非免疫原性であり、非溶血性でありおよび汎用的であることが証明されているので、該 P G G A - ベースのポリマーミセルは、次の有利な点を有する：i) 高い薬物搭載容量；ii) 非天然の非生分解性の P E G または他の高い毒性の可溶化添加剤の使用の排除；iii) 向上した腫瘍への集積 (tumor accumulation)；iv) 全身毒性の減少；および v) 治療有効性の向上。

【0032】

担体は、ポリマーミセル内に封入される疎水性化合物以外のいくつかの化合物と結合し得る。該ポリマーミセル内に封入される疎水性化合物以外の化合物の例は、限定されずに、標識、ターゲティング剤および追加の治療薬物を含む。追加の治療薬物は、疎水性であってもなくてもよい。ターゲティング剤などの非限定例は、例えば、Xu et al., Adv Drug Deliv Rev. 2013; 65(1):121-38、Yu et al., Mol Membr Biol. 2010; 27(7):286-98 および Kamaly et al., Chem Soc Rev. 2012; 41(7):2971-3010 中に見出すことができる。

【0033】

本明細書に記載される本側面の態様において、治療薬物は、疎水性である限り限定されない。治療薬物の例は、限定されずに、タキサン、大環状ポリケチドおよびレソルシニルイソオキサゾールアミドのファミリーを含み得る。いくつかの態様において、治療薬物は、限定されずに、パクリタキセル、ドセタキセル、タネスピマイシン、グリセオフルビン、ニフェジピン、プロゲステロン、プロブコール、クロフィブラート、補酵素 Q 10、グリベンクラミド、フェロジピン、フェノフィブラート、イトラコナゾール、アントラセンおよびジヒドロアントラセンを含み得る。いくつかの態様において、治療薬物は、抗がん性薬物であり得る。抗がん性薬物の例は、限定されずに、パクリタキセル、ドセタキセルおよびタネスピマイシンを含み得る。別の態様において、治療薬物は、抗生物質、ホルモンなどであり得る。

【0034】

いくつかの態様において、本発明の組成物は、疾患の処置における使用のための組成物、または換言すると、医薬組成物であり、ここで該組成物は、本明細書に記載されるポリマー抱合体および本明細書に記載される疎水性薬物を含む。いくつかの好ましい態様において、疾患は、限定されずに、がん、感染症、高血圧、狭心症、婦人科疾患、内分泌疾患および高脂血症を含む。

【0035】

本明細書に記載の医薬組成物は、ヒト患者にそれ自体で、または、医薬組成物中、併用療法のように他の有効成分と、または好適な医薬担体または 1 または 2 以上の添加剤と混合して投与することができる。本出願の化合物の製剤化および投与のための技法は、"Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition, 1990 に見出すことができる。

【0036】

好適な投与経路は、例えば、経口投与、直腸投与、経粘膜投与、局所投与または腸投与、筋肉内注射、皮下注射、静脈内注射、骨髄内注射、ならびに、髄腔内注射、直接脳室内注射、腹腔内注射、鼻腔内注射、または眼内注射を含む非経口送達を包含する。組成物はまた、デポ注射、浸透圧ポンプ、ピル、経皮パッチ (エレクトロトランスポートパッチを含む) などを含む、持続性または制御放出剤形で、所定の速度での、長期間および / または持続的な、パルス状の投与のために投与することができる。

【0037】

医薬組成物は、活性化合物を医薬製剤に加工するのを容易にする添加剤および助剤を含む、1 または 2 以上の生理学的に許容し得る医薬担体を用いて、任意の従来の手法で製剤することができる。適した製剤は、選択する投与経路によって異なる。任意の周知の技法、医薬担体および添加剤を、当該技術分野において、例えば、上記 Remington's Pharmace

10

20

30

40

50

utical Sciencesにおいて適切のように、かつ理解されているように用いることができる。

【 0 0 3 8 】

投与に適した医薬組成物は、有効成分がその意図される目的を達成するために有効な量で含まれる組成物を含む。用量として要求される本明細書に開示する化合物の治療有効量は、投与経路、処置する動物種（ヒトを含む）、および対象とする特定の動物の身体的特徴に依存する。用量は所望の効果を達成するように調整することができるが、重量、食事、併用薬物などの要因、および医学分野の当業者が認識する他の要因に依存する。より具体的には、治療有効量は、疾患のいずれかの症状を予防、緩和もしくは改善するか、処置する対象の生存を延長するのに有効な化合物の量を意味する。治療有効量の決定は、特に本明細書に提供される詳細な開示を考慮すれば、十分に当業者の能力の範囲内である。

10

【 0 0 3 9 】

当業者に直ちに明らかなように、投与すべき有用な *in vivo* の投薬量および投与の特定の方法は、年齢、重量および処置する哺乳動物種、用いる特定の化合物、およびこれらの化合物を用いる特定の用途によって異なる。有効投薬量レベル、すなわち所望の結果を達成するのに必要な投薬量レベルの決定は、当業者が通常の薬理学的方法を用いて行なうことができる。典型的には、製剤のヒト臨床適用は低い投薬量レベルで開始し、所望の効果が達成されるまで投薬量レベルを増大させる。あるいは、確立した薬理学的方法を用いた許容し得る *in vitro* 実験を、本方法によって特定された組成物の有用な用量および投与経路を確立するのに用いることができる。

20

【 0 0 4 0 】

医薬組成物のための正確な製剤、投与経路および投薬量は、個々の医師が患者の状態を考慮して選択することができる。（例えば、その全体を本明細書に援用する、"The Pharmacological Basis of Therapeutics"におけるFingl et al. 1975、特に第1章、第1頁を参照）。典型的には、患者に投与される組成物の用量範囲は、約0.5～約1000 mg / 患者体重 kg であってもよい。投薬量は、患者の必要に応じて、1日または2日間以上の間に与えられる、単回のものであっても、一連の2回または3回のものであってもよい。化合物のヒトの投薬量が少なくともいくつかの状態に対して確立されている場合、投薬量はほぼ同じであるか、または、確立されたヒトの投薬量の約0.1%～約500%、より好ましくは25%～約250%である投薬量である。ヒトの投薬量が確立されていない場合、例えば、新規に見出された医薬組成物などの場合、好適なヒトの投薬量は、ED₅₀もしくはID₅₀値、または、動物における毒性試験および有効性試験によって認定された、*in vitro* または *in vivo* 試験に由来する他の適切な値から推定することができる。

30

【 0 0 4 1 】

正確な投薬量は薬物ごとに決定するが、ほとんどの場合、投薬量に関するある程度の一般化を行なうことができる。成人ヒト患者のための1日の投薬レジメンは、例えば、約0.1 mg～2000 mg、好ましくは約1 mg～約500 mg、例えば5～200 mgの各々の有効成分の経口用量であってもよい。他の態様において、約0.01 mg～約1000 mg、好ましくは約0.1 mg～約60 mg、例えば約1～約40 mgの各々の有効成分の静脈内、皮下、筋肉内用量を用いる。薬学的に許容し得る塩の投与の場合、投薬量は遊離塩基として計算することができる。いくつかの態様において、組成物は1日あたり1～4回投与される。あるいは、組成物は、静脈内持続点滴によって、好ましくは約1000 mg / 日までの各々の有効成分の用量で投与することができる。当業者によって理解されるように、特定の状況において、特に悪性の疾患または感染症を効果的かつアグレッシブに治療するために、本明細書に開示する化合物を、上記の好ましい投薬量範囲を超える量、さらにはそれをはるかに超える量で投与しなければならないことがある。いくつかの態様において、化合物は、持続治療の期間中、例えば1週間もしくはそれ以上、または数ヶ月もしくは数年にわたって投与される。

40

【 0 0 4 2 】

方法

50

本明細書に記載される発明は、本発明の治療組成物を、意図する目的を達成するのに有効な量で、それを必要とする対象に投与することによる、疾患または状態を処置する方法を包含する。処置され得る疾患は、治療薬物が疎水性であり、該薬物が疾患の状態を改善し得るならば、限定されない。疾患の例は、限定されずに、がん、感染症、高血圧、狭心症、婦人科疾患、内分泌疾患および高脂血症を含み得る。一態様において、疾患は、がんである。

【0043】

本発明の本側面は、上記の治療組成物を投与する態様を含む。したがって、治療組成物の態様において上記された全ての例、例えば投与経路、剤形、量、対象などについての例は、本明細書に記載される疾患を処置する方法にもまた適用される。

10

【実施例】

【0044】

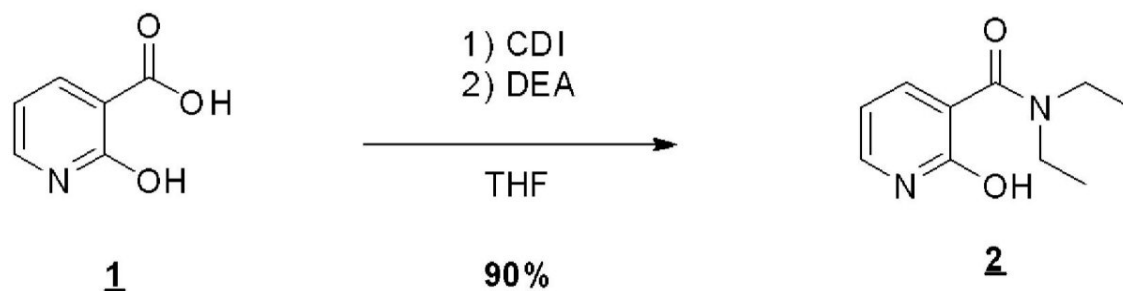
以下の例は、本明細書に記載の態様をさらに説明する目的で提供するものであり、発明の範囲を制限するものではない。

【0045】

ポリマーヒドロトロップの合成

例1：pGG-DENAポリマーヒドロトロップ

【化11】



20

N,N-ジエチル-2-ヒドロキシニコチンアミド (**2**)

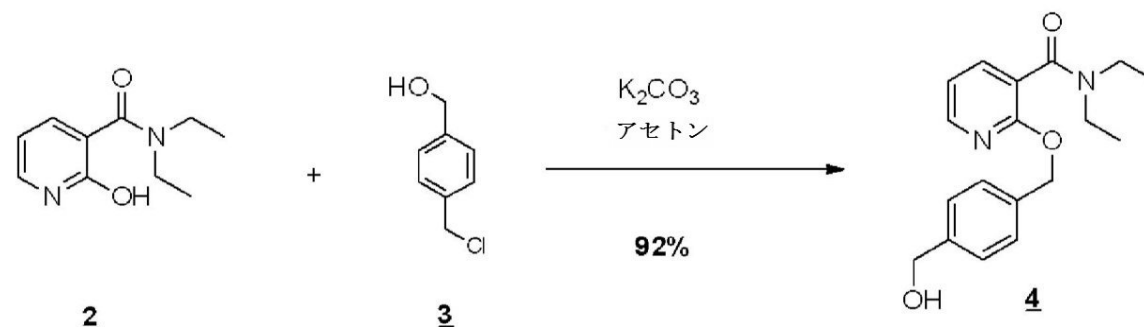
2-ヒドロキシニコチン酸 (**1**, 20 g, 143.8 mmol) を、1,1'-カルボニルジイミダゾール (CDI, 25.6 g, 158.2 mmol) と 900 mL の無水 THF 中で、70 °C で反応させた。24 時間後に、400 mL の THF を粗溶液に加え、次に 30 mL のジエチルアミン (DEA, 299.0 mmol) を滴加した。反応混合物を、さらに 18 時間、70 °C で加熱した。50 mL の THF 中での再結晶の繰り返しによって、N,N-ジエチル-2-ヒドロキシニコチンアミド (**2**) の白色結晶を得た (25.2 g、収率 90%)。

30

【0046】

LC-MS $m/z = 195.2 [M+H]^+$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1.00 (t, 3H, $J=6.96$ Hz), 1.08 (t, 3H, $J=6.96$ Hz), 3.12 (q, 2H, $J=6.96$ Hz), 3.35 (q, 2H, $J=6.96$ Hz), 6.21 (t, 1H, $J=6.60$ Hz), 7.42 (m, 2H), 7.65 (s, 1H)。

【化12】



40

【0047】

50

N, N - ジエチル - 2 - ((4 - (ヒドロキシメチル) ベンジル) オキシ) ニコチンアミド (4)

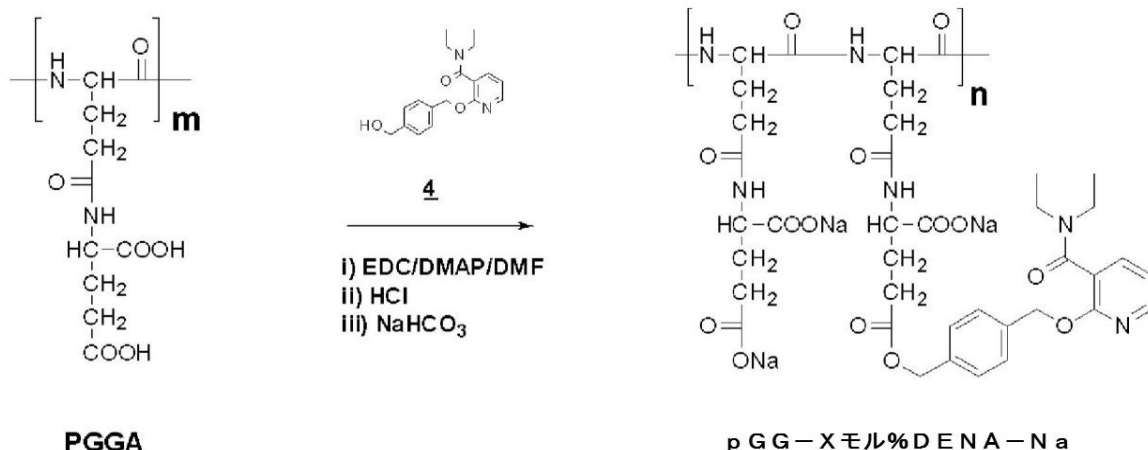
K₂CO₃ (7 . 1 2 g、5 1 . 5 m m o l) を含む 1 5 0 m L の無水アセトン中の N , N - ジエチル - 2 - ヒドロキシニコチンアミド (2) (5 g、2 5 . 7 m m o l) の溶液に、(4 - (クロロメチル) フェニル) メタノール (3) を 6 0 で滴加し、反応混合物を窒素下で 2 0 時間撹拌した。次に、粗反応混合物を濾過し、生成物を、シリカゲル上で 1 : 1 / T H F : H e x を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製した。E t O A c / H e x からの再結晶によりさらに精製を行い、結晶質の白色固体として 7 . 3 1 g の N , N - ジエチル - 2 - ((4 - (ヒドロキシメチル) ベンジル) オキシ) ニコチンアミド (4) を提供した (収率 9 0 . 3 %) 。

10

【 0 0 4 8 】

LC-MS m/z = 315.4 [M+H]⁺, ¹HNMR (400 Hz, CDCl₃) delta 1.09 (m, 3H), 1.21 (m, 3H), 2.29 (bs, 1H), 3.23 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 4.64 (d, 2H, J=5.48 Hz), 5.10 (bs, 2H), 6.17 (t, 1H, J=6.96 Hz), 7.28 (m, 6H)。

【 化 1 3 】



20

【 0 0 4 9 】

pGG - 4 0 モル % D E N A - N a

30

2 5 0 m L の丸底フラスコ中の 1 0 0 m L の無水 D M F 溶液に、5 . 0 g の P G G A を加え、混合物を室温で 1 0 分間、全ての固体物質が溶解して透明な溶液となるまで撹拌した。次に、5 . 5 7 g の 1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド (E D C) および 1 . 1 8 g の N , N - 4 - ジメチルアミノピリジン (D M A P) を、連続して加えた。室温で 1 5 分間撹拌した後、4 . 8 7 g の 4 を一度に加え、得られた溶液を周囲温度で 2 8 時間撹拌した。次に、反応混合物を、磁気撹拌により撹拌されている 6 0 0 m L の 0 . 2 N H C l 溶液中にゆっくりと注いだ。1 0 分間撹拌した後、白色の粗生成物を、遠心分離により単離した。粗生成物を、0 . 2 N H C l および M i l l i Q で連続して洗浄した後、5 0 0 m L の 0 . 3 N N a H C O₃ 溶液中に、透明な溶液が得られるまで撹拌して溶解させた。溶液を、まず濾過し、次に濾液を T F F システム (3 k D a、m P E S カラム) によって、浸透液の導電率が 0 . 0 5 m S / c m より低くなるまで精製した。濃縮液を、最終的に凍結乾燥し、1 0 . 5 g の pGG - X モル % D E N A - N a 抱合体を提供した (収率 9 4 %) 。

40

【 0 0 5 0 】

GPC-MALS: 83.2 kDa, PDI: 1.558, UV loading: 38%, Z_{ave}: 24 nm。

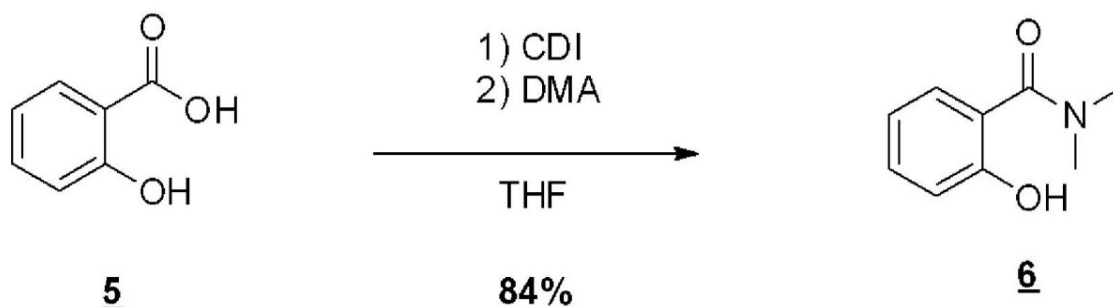
他の pGG - D E N A - N a 抱合体もまた、異なる量の 4 で同じプロトコルを用いて調製された。

【 0 0 5 1 】

例 2 : pGG - D M B A ポリマーヒドロトロープ

50

【化 1 4】



10

【0052】

2 - ヒドロキシ - N , N - ジメチルベンズアミド (6)

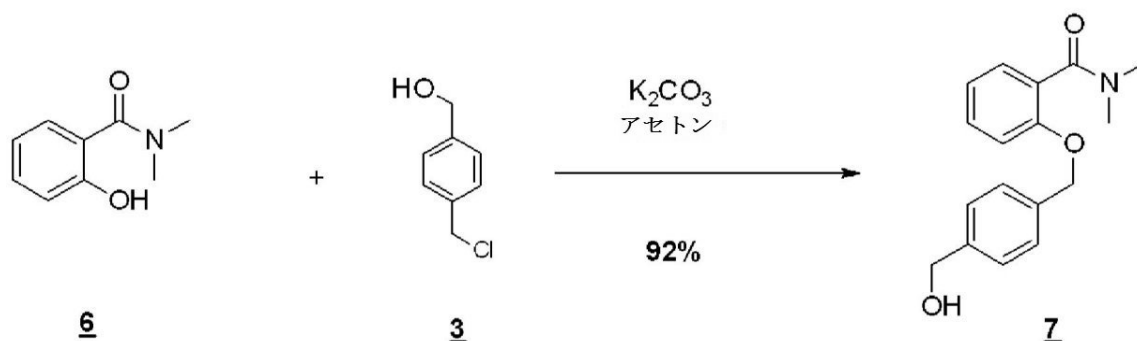
2 - ヒドロキシ安息香酸 (7 . 2 0 g 、 1 4 4 . 8 m m o l) を、 1 , 1 ' - カルボニルジイミダゾール (C D I 、 2 3 g 、 1 5 9 . 3 m m o l) と 9 0 0 m L の 無水 T H F 中で、 7 0 で反応させた。 2 0 時間後に、 1 4 5 m L のジメチルアミン (D M A 、 T H F 中の 2 . 0 M 溶液、 2 9 0 m m o l) を滴加した。反応混合物を、さらに 2 0 時間、 7 0 で加熱した。室温まで冷却して、減圧下で溶媒を除去した後、残渣を E t O A c (1 0 0 0 m L) で希釈し、 0 . 2 N H C l (2 × 8 0 0 m L) およびブライン (5 0 0 m L) で洗浄した。有機層を、最終的に無水 N a 2 S O 4 で乾燥し、濾過し、濃縮して粗固体を得た。E t O A c / ヘキサンを用いた再結晶によって、 2 - ヒドロキシ - N , N - ジメチルベンズアミド (6) の白色結晶を得た (2 0 g 、 収率 8 4 %) 。

20

【0053】

LC-MS $m/z = 166.2 [M+H]^+$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.13 (s, 6H), 6.82 (t, 1H, $J=5.56$ Hz), 6.98 (d, 1H, $J=5.56$ Hz), 7.29 (m, 2H) 。

【化 1 5】



30

【0054】

2 - ((4 - (ヒドロキシメチル) ベンジル) オキシ) - N , N - ジメチルベンズアミド (7)

K_2CO_3 (8 . 3 7 g 、 6 0 . 5 m m o l) を含む 1 0 0 m L の無水アセトン中の 2 - ヒドロキシ - N , N - ジメチルベンズアミド (6) (5 g 、 3 0 . 3 m m o l) の溶液に、 (4 - (クロロメチル) フェニル) メタノール (3) (7 . 1 1 g 、 4 5 . 4 m m o l) を 6 0 で滴加し、反応混合物を 6 5 、窒素下で 2 0 時間攪拌した。次に、粗反応混合物を濾過し、生成物を、 1 : 1 / E t O A c : H e x を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーによりシリカゲル上で精製して、結晶質の白色固体として 8 . 5 g の 2 - ((4 - (ヒドロキシメチル) ベンジル) オキシ) - N , N - ジメチルベンズアミド (7) を提供した (収率 9 2 %) 。

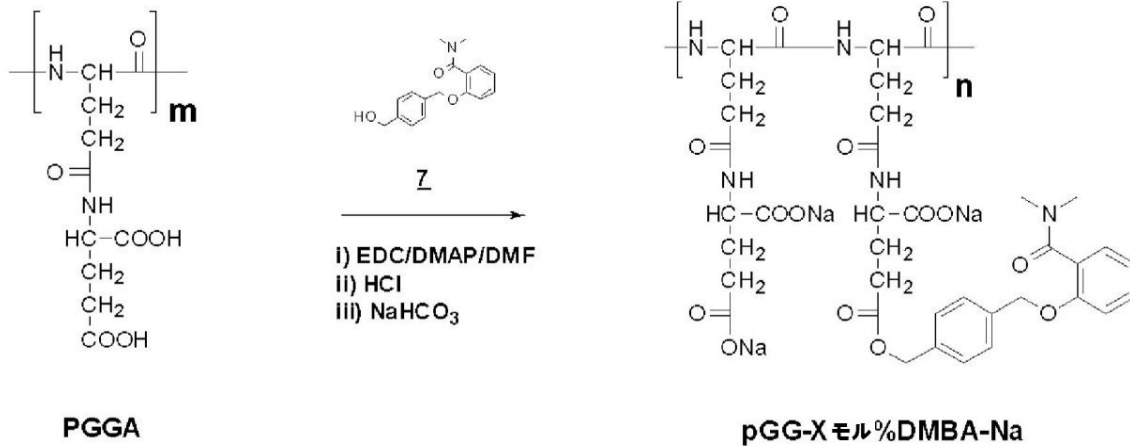
40

【0055】

LC-MS $m/z = 286.3 [M+H]^+$, $^1\text{H NMR}$ (400 Hz, CDCl_3) δ 2.37 (bs, 1H), 2.83 (s, 3H), 3.078 (s, 3H), 4.64 (s, 2H), 5.08 (s, 2H), 6.93 (m, 2H), 7.30 (m, 6H) 。

50

【化 16】



10

【0056】

pGG - 30 mol% DMBA - Na

250 mL の丸底フラスコ中の 100 mL の無水 DMF 溶液に、5.0 g の PGGA を加え、混合物を室温で 10 分間、全ての固体物質が溶解して透明な溶液となるまで撹拌した。次に、4.83 g の 1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド (EDC) および 0.71 g の N, N - 4 - ジメチルアミノピリジン (DMAP) を、連続して加えた。室温で 15 分間撹拌した後、3.32 g の 7 を一度に加え、得られた溶液を周囲温度で 28 時間撹拌した。次に、反応混合物を、磁気撹拌により撹拌されている 600 mL の 0.2 N HCl 溶液中にゆっくりと注いだ。10 分間撹拌した後、白色の粗生成物を、遠心分離により単離した。粗生成物を、0.2 N HCl および Milli Q で連続して洗浄した後、500 mL の 0.3 N NaHCO₃ 溶液中に、透明な溶液が得られるまで撹拌して溶解させた。溶液を、まず濾過し、濾液を TFF システム (3 kDa、mPES カラム) によって、浸透液の導電率が 0.05 mS/cm より低くなるまで精製した。濃縮液を、最終的に凍結乾燥し、9.1 g の表題化合物を提供した (収率 97%)。

20

【0057】

GPC-MALS: 69.7 kDa, PDI: 1.417, UV loading: 29%, Z_{ave}: 20 nm。

他の pGG - DMBA - Na 抱合体もまた、異なる量の 7 で同じプロトコルを用いて調製された。

30

【0058】

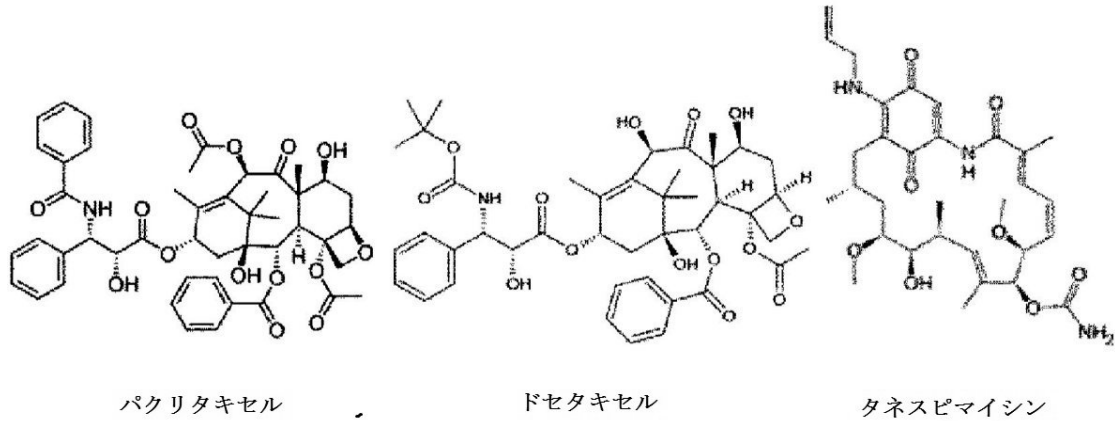
薬物封入 pGG - ヒドロトロープ PM の作製

例 3 : 薬物封入 pGG - ヒドロトロープポリマーミセルの調製

全ての薬物封入 pGG - ヒドロトロープ PM を、工業規格の迅速混合法に従って調製した。簡潔には、所定の質量比の、薬物のエタノール溶液と PBS 緩衝液中の pGG - ヒドロトロープの溶液とを、1 つの蠕動ポンプによって T - 継手 (T-joint) で急速に混合し、次に、混合物を、別のポンプにより導かれた緩衝液で迅速に希釈する。次に、透析濾過システムを用いてエタノールを除去し、ならびに、粗製剤を濃縮する。最終的なすぐに見える (Ready-To-Use) (RTU) 投与形態は、0.2 μm 膜濾過媒体による濾過の後で入手できる。pGG - ヒドロトロープによって封入され得る疎水性薬物の例は、パクリタキセル、ドセタキセルおよびタネスピマイシンを含む。

40

【化 17】



10

【0059】

【表 1】

表 1 ポリマーヒドロトロープの特性

PGGA- ヒドロトロープ	薬 物	封入含量 (wt%)	サイズ (nm)	PDI
III	パクリタキセル	31wt%	137	0.05
IV	パクリタキセル	30wt%	114	0.05
I	パクリタキセル	28 wt%	14	0.12
II	パクリタキセル	27wt%	13	0.16
I	ドセタキセル	7 wt%	13	0.34
II	ドセタキセル	21wt%	11	0.18
II	タネスピマイシン	11.0 wt%	138	0.08

20

凡例：I = pGG-30モル%DMBA；II = pGG-40モル%DMBA；
III = pGG-30モル%DENA；IV = pGG-40モル%DENA。

30

【0060】

上記本発明のポリマーヒドロトロープは、疎水性薬物と相互作用可能であり、安定なポリマーミセルを形成することが実証された。これらのポリマーヒドロトロープから、pGG-30モル%DMBAポリマーミセル内に封入されたパクリタキセル（PTX-pGG-A-ヒドロトロープIII、Nitto Xとも呼ぶ）を、続く研究に用いた。PTX-pGG-A-ヒドロトロープIIIの物理的特性を、以下の表に示す。

40

【表 2】

表 2 Nitto Xの特性

サイズ	サイズ分布	pH	表面電荷
$Z_{ave} < 140 \text{ nm}$	0.05	7.4 ± 0.5	-40mV

【0061】

In vivo有効性アッセイ

例 4：Mia-Paca-2 膵臓がん異種移植モデル腫瘍異種移植片の構築

50

M i a - P a c a - 2 細胞株は A T C C から購入し、10% のウシ胎児血清、100 U / m l のペニシリンおよび 100 μ g / m l のストレプトマイシンを補充した R P M I - 1640 中で維持した。細胞は、トリプシン - E D T A で軽くトリプシン処理された後の組織培養物から、対数増殖期に採取した。生存細胞の数をカウントし、トリパンブルーの存在下で、血球計数器で測定した（生存細胞のみをカウントした）。各マウスに、 2×10^6 個の M i a - P a c a - 2 細胞の接種物 0.1 m L を、25 G 針とシリンジを用いて、右脇腹に皮下接種した（マウス当たり 1 接種物）。腫瘍体積を週に 2 回モニタリングした。体重測定も行った。腫瘍体積は、次の式を用いて算出した：腫瘍体積 = (長さ \times (幅)²) / 2。

【0062】

10

例 5：用量反応効果

例 4 において確立された腫瘍が一旦約 200 ~ 220 m m³（平均腫瘍体積 209 m m³）に達したら、処置群の平均腫瘍体積が、ビヒクル対照群の平均腫瘍体積の 10% 以内であるように、かつ、腫瘍体積の C V % が 25% 未満となるように、マウスをビヒクル対照および種々の処置群に割り当てた。同じ日に、新たに調製した試験物質（例えば、P T X 封入 P G G A - ヒドロトロープ I I I P M、NitroX）およびビヒクル対照群を、40、60 および 80 m g（P T X 当量）/ k g の投薬量で 10 m L / k g の投与体積（dosing volume）で、尾静脈を介して注射した。腫瘍体積を週に 2 回モニタリングした。体重測定も行った。次に、腫瘍体積を、上記の式を用いて算出した。一旦個別の腫瘍体積が 3,000 m m³ に達するか、または腫瘍が潰瘍化したら、動物を I A C U C 規則に基づいてサクリファイスするものとした。

20

【0063】

結果を図 1 に示す。図から理解されたとおり、腫瘍増殖は、多様な用量で完全に抑制され、そのうちの最も低い用量は、40 m g / k g であった。結果は、P T X 封入 P G G A - ヒドロトロープ I I I P M が、優れた抗がん効力を有することを実証した。完全な抑制ゆえに、用量反応性は明らかではなかった。

【0064】

例 6：従来の薬物と比較した薬物封入 P G G A - ヒドロトロープポリマーミセルの効果

N C I - H 460 細胞株（A T C C から購入）に由来する肺がん異種移植片を担持するマウスを、例 4 と同じ手法で準備した。例 5 と同じ手法で、マウスをビヒクル対照および種々の処置群に割り当てた。アッセイについては、同様の手法であるがわずかに改変して、同じ投薬量の P T X - P G G A - ヒドロトロープ I I I に対する比較としてアブラキサン（登録商標）（アルブミン結合パクリタキセル）を 80 m g / k g の投薬量で投与するようにして、試験を行った。

30

【0065】

結果を図 2 に示す。図から理解されたとおり、P T X - P G G A - ヒドロトロープ I I I の腫瘍抑制効果は、同じ投薬量の、F D A により承認を受けた薬物であるアブラキサン（登録商標）よりも、優れている。

【0066】

例 7：腫瘍 P K / P D 試験

40

肺がん異種移植片を担持するマウスを、例 6 と同じ手法で準備した。簡潔には、細胞は、トリプシン - E D T A で軽くトリプシン処理された後の組織培養物から、対数増殖期に採取した。生存細胞の数をカウントし、トリパンブルーの存在下で、血球計数器で測定した（生存細胞のみをカウントした）。各マウスに、 2×10^6 個の N C I - H 460 細胞の接種物 0.1 m L を、25 G 針とシリンジを用いて、右脇腹に皮下接種した（マウス当たり 1 接種物）。腫瘍体積を週に 2 回モニタリングした。体重測定も行った。腫瘍体積は、次の式を用いて算出した：腫瘍体積 = (長さ \times (幅)²) / 2。

【0067】

一旦腫瘍のサイズが 500 ~ 600 m m³ に達したら、動物に、P T X - P G G A - ヒドロトロープ I I I を、100 m g / k g（I V、q d \times 1）で投与した。血漿、腫瘍お

50

よび肝臓を、示した時点で採取した。腫瘍を2つの部分に分け、一方を、薬物動態(PK)解析としてパクリタキセル濃度を測定するためとし、他方を、アセチル化チューブリンおよびKi67を含むPD(薬物力学)バイオマーカーを測定するためとした。肝臓の1つの切片を、肝臓の右葉から、PK解析のために切断した。PK解析のために、PTXをLS/MS/MSによって定量化した。PD解析のために、ELISA法を用いてアセチル化チューブリンを評価した。簡潔には、製造者の説明書に従って、組織溶解緩衝液(Cat: FNN0071, Life Technology)を用いて腫瘍の検体を分解し、続いて、求めるタンパク質を定量化した。アセチル化チューブリンの発現は、ELISA法(Cat: 7204, Cell Signaling)を用いて検査した。Ki67のPDバイオマーカーについては、検体の調製は、上記と同じとした。Ki67の発現は、ELISA法(#CSB-E16294)を用いて測定した。

10

【0068】

結果を図3および4に示す。腫瘍PKプロファイルについては、PTX-PGGA-ヒドロトリブIIは、腫瘍においてアブラキサン(登録商標)と比較してCmaxおよびAUC(0~168h)の3倍の上昇を実証し、より望ましい腫瘍への集積がPTX-PGGA-ヒドロトリブIIによって達成されたことを示した。しかしながら、血漿PKプロファイルおよび肝臓PKプロファイルについては、PTX-PGGA-ヒドロトリブIIとアブラキサン(登録商標)との間に実質的な違いは観察されなかった。PDについては、アセチル化チューブリンのレベルは最初増加したが、24時間以内に戻った。これは、対応するPKデータと極めてよく合致していた。加えて、Ki67の発現もまた、第2のバイオマーカーとして、PDデータを検証するために、モニタリングされた。Ki67のレベルは、4時間以内に40%よりも下まで低下し、残りの実験の間40%前後にとどまった。これはまた、完全にPKデータと一致していた。

20

【0069】

例8：毒性評価

雌雄両方の7~8週齢のナイーブBalb/Cマウスを、Charles Riverから購入した。動物は、コントロールされた環境で飼育および維持し、全ての手順は、Nitto NDTおよびUCSD IACUCの規則に従って行った。5日間の順応の後、動物に、PTX-PGGA-ヒドロトリブIIを、20、30および40mpk(IV、qdx5)で投与した。ケージサイドでの臨床観察は1日2回モニタリングし、体重は毎日測定した。投薬48時間後、血液検体を採取し、全血球計数(CBC)、白血球百分率(differential count)、ならびに血小板および網状赤血球数を含む血液学的パラメーターの解析に供した。データは、Prism Graphpadを用いて処理した。

30

【0070】

結果を図5に示す。PTX-PGGA-ヒドロトリブIIは、同じ用量レベルにおける毒性の観点で、アブラキサン(登録商標)よりもわずかに良い忍容性を示していた。毒性における性差は観察されなかった。

【0071】

これらの例に記載された結果は、以下のことを示す：

(i) 本明細書に記載される組成物は、NCI-H460肺がん異種移植片において同じ用量レベルで、統計学的に有意に、アブラキサン(登録商標)よりも効き目がある。投薬量は、体重減少および生存の観点で、動物に良好に忍容される。NCI-H460に加えて、本明細書に記載される組成物はまた、脾臓がんおよび乳がんを含む種々の腫瘍モデルにおいても際立って強力であることが見出された。

40

(ii) 改善された有効性は、おそらく、そのより優れた血漿薬物動態プロファイルおよび腫瘍薬物動態プロファイルに起因する。本明細書に記載される組成物は、アブラキサン(登録商標)よりも循環安定性を向上させるだけでなく、アブラキサン(登録商標)と比較してパクリタキセルを、3倍上昇したCmaxおよびAUC(0~168h)にて、優先的に送達する。その一方で、これらの結果はまた、チューブリン重合の変化およびその結果生じる腫瘍細胞増殖阻害(tumor cell proliferation inhibition)の薬物力学的

50

解析に由来する結果に沿うものでもある。腫瘍のPKとPDとの間に、強い相関関係が観察される。

(i i i) 本明細書に記載される組成物はまた、血液毒性がアブラキサン（登録商標）よりもわずかに良いことが示された。

【 0 0 7 2 】

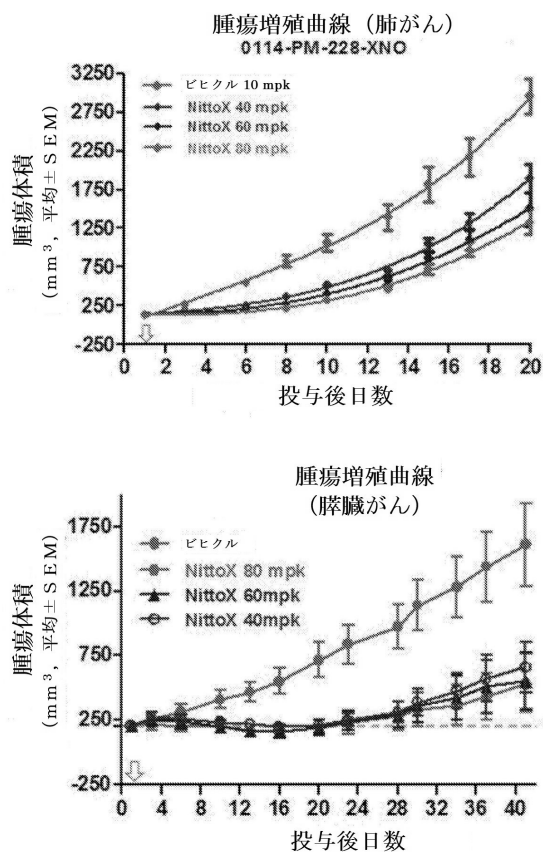
(i v) まとめると、これらの前臨床データは、本明細書に記載される組成物が、アブラキサン（登録商標）よりも優れた、より強力なタキサン - ベースのナノ医薬になる可能性を有することを、疑いなく提示している。

【 0 0 7 3 】

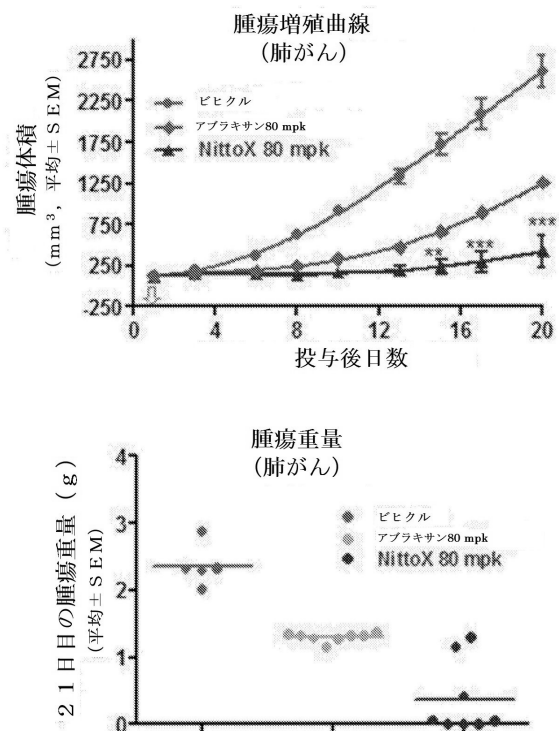
多数の様々な改変が、本発明の精神から逸脱せずになされ得ることを当業者は理解する。したがって、本発明の形態は例示にすぎず、本発明の範囲を制限する意図がないことを明確に理解すべきである。

10

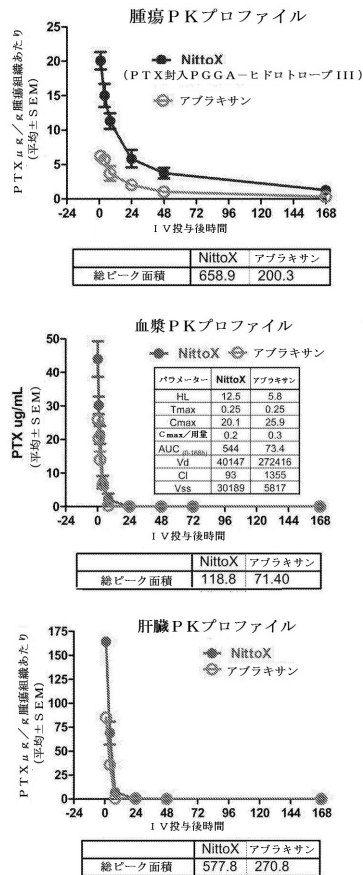
【 図 1 】



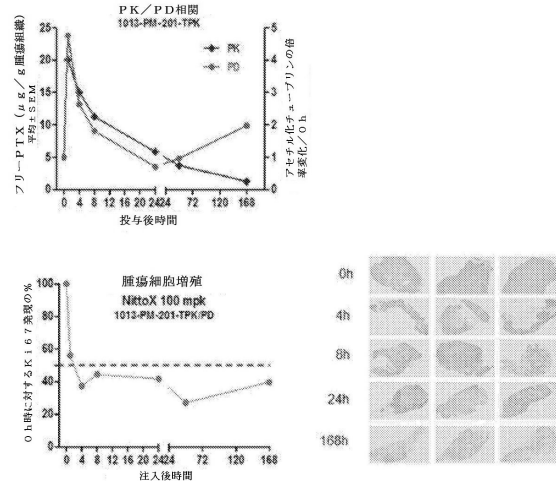
【 図 2 】



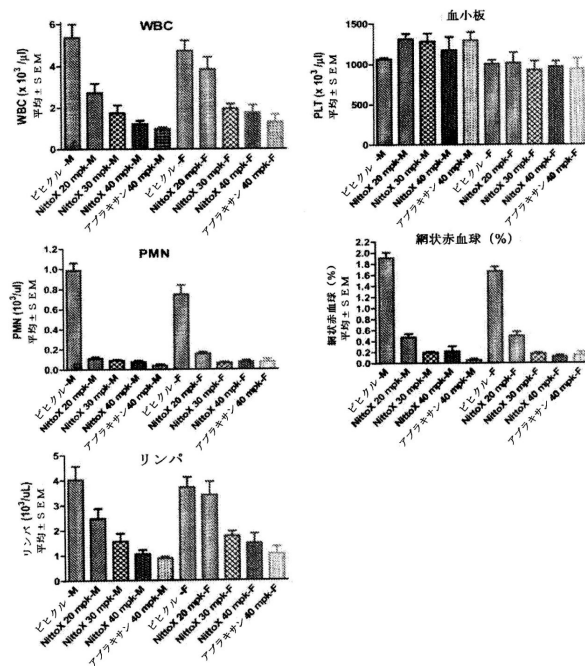
【図 3】



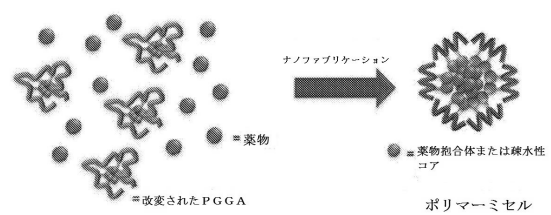
【図 4】



【図 5】



【図 6】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 31/00 (2006.01)		A 6 1 P 31/00
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 P 43/00
A 6 1 K 31/337 (2006.01)		A 6 1 K 31/337
A 6 1 K 31/343 (2006.01)		A 6 1 K 31/343
A 6 1 K 31/4422 (2006.01)		A 6 1 K 31/4422
A 6 1 K 31/57 (2006.01)		A 6 1 K 31/57
A 6 1 K 9/107 (2006.01)		A 6 1 K 9/107
A 6 1 K 47/34 (2017.01)		A 6 1 K 47/34
C 0 8 L 77/04 (2006.01)		C 0 8 L 77/04
C 0 8 K 5/00 (2006.01)		C 0 8 K 5/00

特許法第30条第2項適用 平成26年3月5日掲載、American Association for Cancer Research Annual Meeting 2014のウェブサイト内、講演要旨集Abstract Number 4578「A novel polymer-anticancer drug micelle formulation showing enhanced efficacy over Abraxane」(アドレス:<http://www.abstractsonline.com/Plan/ViewAbstract.aspx?mID=3404&sKey=73d87d68-0fc1-4f72-881a-bc414a124713&cKey=780dbcb3-2469-4106-85d8-a24ba1194381&mKey=6ffe1446-a164-476a-92e7-c26446874d93>)

- (72)発明者 バイ, ハオ
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92130、サンディエゴ、クエーカー ヒル レーン 5208
- (72)発明者 イン, ハイチン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92708、サンマルコス、センティネル レーン 2440
- (72)発明者 リュー, ジーファ
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92708、サンマルコス、マイラ ラーゴ ウェイ 933
- (72)発明者 ワン, リー
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92127、サンディエゴ、イーグル キャニオン プレイス 17308

審査官 久保 道弘

- (56)参考文献 特表2009-518511(JP, A)
国際公開第2013/154707(WO, A1)
特表2011-529492(JP, A)
特表2006-503124(JP, A)
特表2007-501321(JP, A)
Jl Young Kim et ali., Hydrotropic polymer micelles as versatile vehicles for delivery of poorly water-soluble drugs, Journal of Controlled Release, 2011年

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 8 G 6 9 / 0 0 - 6 9 / 5 0
C 0 8 K 5 / 0 0 - 5 / 5 9

A 6 1 K	6 / 0 0 - 5 1 / 1 2
A 6 1 P	1 / 0 0 - 4 3 / 0 0