



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101678123 B

(45) 授权公告日 2014. 07. 16

(21) 申请号 200880015368. 8

A61K 49/12 (2006. 01)

(22) 申请日 2008. 05. 08

A61P 35/00 (2006. 01)

(30) 优先权数据

60/916, 903 2007. 05. 09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2009. 11. 09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2008/063114 2008. 05. 08

(87) PCT国际申请的公布数据

W02008/141107 EN 2008. 11. 20

(73) 专利权人 日东电工株式会社

地址 日本大阪

(72) 发明人 桑·范 宋育承 王兴和 侯征

冯中灵 赵刚 俞磊

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204

代理人 王达佐 韩克飞

(51) Int. Cl.

A61K 47/48 (2006. 01)

A61K 49/00 (2006. 01)

A61K 49/18 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 4892733 A, 1990. 01. 09,

CN 1217662 A, 1999. 05. 26,

US 2002077279 A, 2002. 06. 20,

CN 101730549 A, 2010. 06. 09,

US 2004121954 A1, 2004. 06. 24,

EP 1514560 A, 2005. 03. 16,

WO 2005079861 A, 2005. 09. 01,

CN 101321806 A, 2008. 12. 10,

WO 2006041613 A, 2006. 04. 20,

NAKANISHI T ET AL.. Development of
the polymer micelle carrier system for
doxorubicin. <Journal of controlled
release>. 2001, 第 74 卷 (第 1-3 期), 295-302.

CHUN LI ET AL.. Complete regression
of well-established tumors using a
novel water-soluble poly(L-Glutamic
acid)-Paclitaxel conjugate. <CANCER
RESEARCH>. 1998, 第 58 卷 2404-2409.

审查员 田晓明

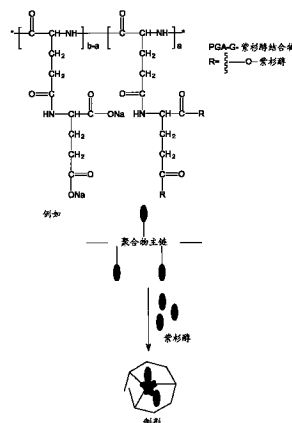
权利要求书2页 说明书34页 附图3页

(54) 发明名称

包含疏水性化合物和聚氨基酸结合物的组合
物

(57) 摘要

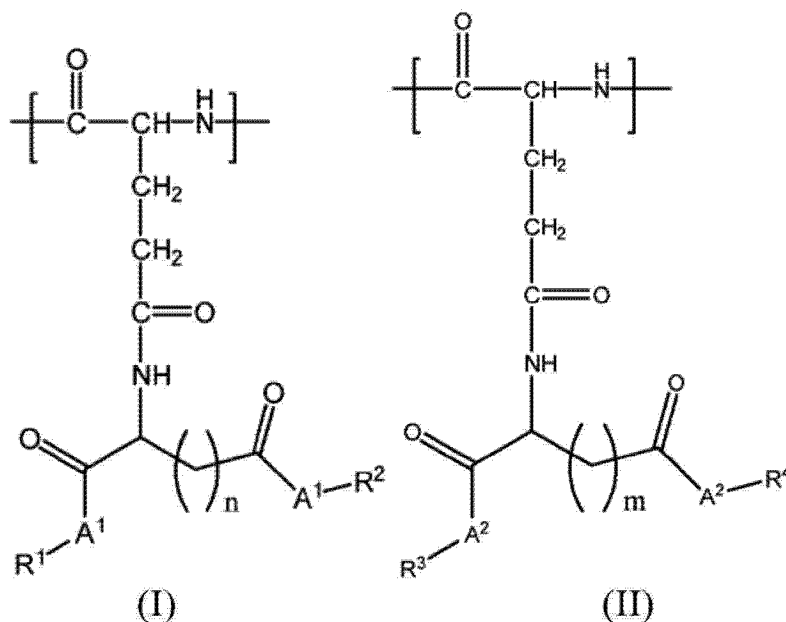
本文描述了包含疏水性化合物和聚合物结合
物的多种组合物。该组合物能够包含聚合物结合
物、第一疏水性药物和第二疏水性药物。本文所述
组合物的聚合物结合物能够与诸如显像剂、靶向
剂、稳定剂和 / 或药物的多种试剂结合。此外, 本
文所述的聚合物结合物能够形成纳米颗粒, 所述
纳米颗粒通过将试剂以分子水平分散而在水性体
系中有效地增溶该试剂, 从而增加该试剂的功能
性和 / 或生物利用度。本文所述的组合物可用于
多种药物、生物分子和显像剂的输送应用, 包括将
试剂输送至身体的特定部位。



1. 组合物,其包含第一疏水性药物、第二疏水性药物和聚合物结合物,其中:

所述聚合物结合物由聚合物基质组成,所述聚合物基质将至少一部分的所述第一疏水性药物非共价地封装在所述聚合物基质中;

所述聚合物结合物为由通式 (I) 重复单元和通式 (II) 重复单元组成的共聚物:



其中 n 和 m 为 2;

每一 A¹ 和 A² 独立地为氧;

R¹ 和 R² 中的一个为所述第二疏水性药物;

R¹ 和 R² 中的另一个选自氢和碱金属;

R³ 和 R⁴ 各自独立地选自氢和碱金属;

所述第一疏水性药物和所述第二疏水性药物为紫杉醇;

基于所述第一疏水性药物与所述第一疏水性药物和所述聚合物结合物的总重量的质量比,所述第一疏水性药物以 1wt% 至 50wt% 的量存在;

基于所述第二疏水性药物与所述第一疏水性药物和所述聚合物结合物的总重量的质量比,所述第二疏水性药物以 20wt% 至 40wt% 的量存在于所述聚合物结合物中;

通式 (I) 重复单元和通式 (II) 重复单元的数目各自为 100 至 2,000。

2. 如权利要求 1 所述的组合物,其中紫杉醇在与所述紫杉醇的 C2'- 碳连接的氧原子处与所述通式 (I) 重复单元结合。

3. 如权利要求 1 所述的组合物,其中紫杉醇在与所述紫杉醇的 C7- 碳连接的氧原子处与所述通式 (I) 重复单元结合。

4. 如权利要求 1 所述的组合物,其中基于所述第一疏水性药物与所述第一疏水性药物和所述聚合物结合物的总重量的质量比,所述第一疏水性药物以 20wt% 至 40wt% 的量存在。

5. 如权利要求 1 所述的组合物,其中所述碱金属为钠。

6. 制备权利要求 1 至 5 中任一权利要求所述的组合物的方法,其包括以下步骤:

将所述聚合物结合物至少部分溶解于溶剂中;以及

将所述第一疏水性药物与至少部分溶解的所述聚合物结合物混合,以形成混合物。

7. 如权利要求 6 所述的方法,其还包括将所述混合物干燥以形成干燥形式的所述组合物。

8. 如权利要求 6 所述的方法,其中所述混合包括将所述第一疏水性药物的溶液与至少部分溶解的所述聚合物结合物混合,以形成所述混合物。

9. 权利要求 1 所述的组合物在制备用于治疗或改善疾病或疾病状态的药物中的用途,其中所述疾病或疾病状态选自肺肿瘤、乳腺肿瘤、结肠肿瘤、卵巢肿瘤、前列腺肿瘤和黑素瘤肿瘤。

10. 如权利要求 9 所述的用途,其中所述疾病或疾病状态选自肺癌、乳腺癌、结肠癌、卵巢癌、前列腺癌和黑素瘤。

11. 如权利要求 9 所述的用途,其中所述组合物为静脉内给药的形式。

包含疏水性化合物和聚氨基酸结合物的组合物

[0001] 本申请要求于 2007 年 5 月 9 日提交的题为“包含疏水性化合物和聚氨基酸结合物的组合物”的第 60/916,903 号美国临时申请的优先权,起全部内容并入本文作为参考。

[0002] 发明背景

发明领域

[0003] 本文总体上公开了包含疏水性化合物和聚氨基酸结合物的组合物。本文公开的组合物可应用于多种药物、生物分子和显像剂的递送。还公开了将本文描述的组合物用于个体的治疗、诊断和 / 或显像的方法。

[0004] 相关领域描述

[0005] 已经使用多种体系来输送药物、生物分子和显像剂。例如,这样的体系包括胶囊、脂质体、微粒、纳米颗粒和聚合物。

[0006] 已经表征和研究了多种基于聚酯的生物可降解体系。聚乳酸 (PLA)、聚羟基乙酸及其共聚物聚乳酸共羟基乙酸 (PLGA) 是用于药物输送应用的设计和性能的一些较充分表征的生物材料。参见 Uhrich, K. E., Cannizzaro, S. M., Langer, R. S. and Shakeshelf, K. M. “Polymeric Systems for Controlled Drug Release (用于药物控释的聚合物体系)。” Chem. Rev. 1999, 99, 3181-3198 和 Panyam J, Labhasetwar V. “Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue (向细胞和组织输送药物和基因的生物可降解纳米颗粒)。” Adv. 药物 Deliv. Rev. 2003, 55, 329-47。另外,已经广泛使用甲基丙烯酸 2- 羟丙酯 (HPMA) 生产应用于药物输送的聚合物。也已经研究了基于聚原酸酯的生物可降解体系。参见 Heller, J.; Barr, J.; Ng, S. Y.; Abdellauoi, K. S. and Gurny, R. “Poly(ortho esters): synthesis, characterization, properties and uses (聚(原酸酯):合成、表征、性能及应用)。” Adv. Drug Del. Rev. 2002, 54, 1015-1039。也已经研究了聚酐体系。这样的聚酐体系通常是生物相容的并且可以在体内降解成相对无毒的化合物,该化合物作为代谢物从身体消除。参见 Kumar, N.; Langer, R. S. and Domb, A. J. “Polyanhydrides: an overview (聚酐综述)。” Adv. 药物 Del. Rev. 2002, 54, 889-91。[0007] 基于氨基酸的聚合物也已经被视为新生物材料的潜在来源。已经研究了具有良好生物相容性的聚氨基酸以输送低分子量化合物。已经确认了数量较少的聚谷氨酸和共聚物作为药物输送的候选物质。参见 Bourke, S. L. and Kohn, J. “Polymers derived from the amino acid L-tyrosine: polycarbonates, polyarylates and copolymers with poly(ethyleneglycol) (源自氨基酸 L- 酪氨酸的聚合物:聚碳酸酯,多芳基化合物以及与聚(乙二醇)的共聚物)。” Adv. 药物 Del. Rev., 2003, 55, 447-466。

[0008] 所给予的疏水性抗癌药、治疗蛋白和多肽的生物利用度通常很低。这样的低生物利用度可能是由于疏水性药物和水溶液的双相溶液的不相容性和 / 或这些分子通过酶降解从血液循环的快速消除。增加所给予蛋白及其它小分子药剂的效能的一项技术需要将所给予药剂与诸如聚乙二醇 (“PEG”) 分子的聚合物结合,这能够在体内提供防止酶降解的保护。这样的“PEG 化 (PEGylation)”通常改善循环时间并因此改善所给予药剂的生物利用

度。

[0009] 然而,PEG 在某些方面有缺点。例如,因为 PEG 是线形聚合物,与支化聚合物相比,由 PEG 提供的空间保护有限。PEG 的另一缺点是它通常容易在其两端衍生化。这会限制能够与 PEG 结合的其它功能性分子(例如有助于向特定组织输送蛋白或药物的那些)的数目。

[0010] 聚谷氨酸(PGA)是使疏水性抗癌药增溶的聚合物的另一选择。已经报道了多种与 PGA 结合的抗癌药。参见 Chun Li. "Poly(L-glutamic acid)-anticancer drug conjugates(聚(L-谷氨酸)-抗癌药结合物)." Adv. 药物 Del. Rev., 2002, 54, 695-713。然而,目前 FDA 没有批准任何一种。

[0011] 从太平洋紫杉树的树皮中提取的紫杉醇(Paclitaxel)是 FDA 批准用于治疗卵巢癌和乳腺癌的药物。Wani et al. "Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *taxus brevifolia*(植物抗肿瘤剂. VI. 来自红豆杉的新抗白血病和抗肿瘤剂紫杉醇的分离和结构)." J Am Chem Soc. 1971, 93, 2325-7)。然而,与其它抗癌药相似,由于其疏水性和在水溶液中的难溶性,紫杉醇的生物利用度也低。使紫杉醇增溶的一种方式是将它配制在 Cremophor-EL 和无水乙醇(1 : 1, v/v)的混合物中。Sparreboom et al. "Cremophor EL-mediated Alteration of Paclitaxel Distribution in Human Blood; Clinical Pharmacokinetic Implications(人类血液中 Cremophor EL 介导的紫杉醇分布的改变:临床药物动力学推断)." Cancer Research 1999, 59, 1454-1457)。这种制剂目前可以以 **Taxol**[®] 商购(Bristol-Myers Squibb)。使紫杉醇增溶的另一方法是通过使用高速剪切均质化进行乳化。Constantinides et al. "Formulation Development and Antitumor Activity of a Filter-Sterilizable Emulsion of Paclitaxel(紫杉醇的可通过过滤器消毒的乳剂的配方开发和抗肿瘤活性)." Pharmaceutical Research 2000, 17, 175-182。最近,已经在一些临床试验中提出聚合物-紫杉醇结合物, Ruth Duncan, "The Dawning era of polymer therapeutics(聚合物疗法的黎明时分)." Nature Reviews Drug Discovery 2003, 2, 347-360。更近地,已经将紫杉醇与人白蛋白配制成纳米颗粒并已在临床研究中使用。Damascelli et al., "Intraarterial chemotherapy with polyoxyethylated castor oil free paclitaxel, incorporated in albumin nanoparticles (ABI-007): Phase II study of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck and anal canal: preliminary evidence of clinical activity(用并入到白蛋白纳米颗粒 (ABI-007) 中的不含聚氧乙烯化蓖麻油的紫杉醇进行的动脉内化疗:头颈和肛管鳞状细胞癌患者的 II 期研究:临床活性的初步证据)." Cancer, 2001, 92, 2592-602, 和 Ibrahim et al. "Phase I and pharmacokinetic study of ABI-007, a Cremophor-free, protein-stabilized, nanoparticle formulation of paclitaxel(不含 Cremophor、蛋白稳定的紫杉醇纳米颗粒制剂 ABI-007 的 I 期及药物动力学研究)." Clin. Cancer Res. 2002, 8, 1038-44)。这种制剂目前可以以 **Abraxane**[®] 商购(American Pharmaceutical Partners, Inc.)。

[0012] 核磁共振成像(MRI)是疾病的诊断和进程确定中的重要工具,因为它是非侵入和非辐射的。参见 Bulte et al. "Magnetic resonance microscopy and histology of the

CNS (CNS 的核磁共振显微术和组织学)。”Trends in Biotechnology, 2002, 20, S24-S28)。尽管能够获得组织的图像,但是具有造影剂的 MRI 显著改善其分辨率。然而,适用于 MRI 造影剂的顺磁金属离子通常有毒。降低毒性的方法之一是用诸如二亚乙基三胺五乙酸分子 (DTPA) 的多齿分子与这些金属离子螯合。FDA 在 1988 年批准 Gd-DTPA 用于临床用途,并且目前可以以 **Magnevist®** 商购。FDA 批准了其它的 Gd 螯合物并可以商购,而很多其它的在开发之中。参见 Caravan et al. “Gadolinium(III)Chelates asMRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications(作为 MRI 造影剂的钆 (III) 螯合物:结构,动力学和应用)。”Chem. Rev. 1999, 99, 2293-2352。

[0013] 然而,由于缺乏特异性,Gd-DTPA 对于靶向肿瘤组织并不理想。在经由 IV 注射给予 Gd-DTPA 时,其自发并且快速地扩散到组织的血管外空间。因此,通常需要大量的造影剂以产生合理的对比度图像。此外,它经由肾脏过滤很快消除。为了避免扩散和过滤,已经开发出大分子 MRI 造影剂。参见 Caravan et al. “Gadolinium(III)Chelates asMRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications(作为 MRI 造影剂的钆 (III) 螯合物:结构,动力学和应用)。”Chem. Rev. 1999, 99, 2293-2352。这些大分子 MRI 造影剂包括蛋白-MRI 螯合物、多糖-MRI 螯合物和聚合物-MRI 螯合物。参见 Lauffer et al. “Preparation and WaterRelaxation Properties of Proteins Labeled with Paramagnetic MetalChelates(用顺磁金属螯合物标记的蛋白的制备和水弛豫性能)。”Magn. Reson. Imaging 1985, 3, 11-16; Sirlin et al. “Gadolinium-DTPA-Dextran: A Macromolecular MR Blood Pool Contrast agent(钆-DTPA-右旋糖苷:大分子 MR 血池造影剂)。”Acad Radiol. 2004, 11, 1361-1369; Lu et al. “Poly(L-glutamic acid)Gd(III)-DOTA Conjugate with a DegradableSpacer for Magnetic Resonance Imaging(用于核磁共振成像的具有可降解间隔区的聚(L-谷氨酸)Gd(III)-DOTA 结合物)。”Bioconjugate Chem. 2003, 14, 715-719 以及 Wen et al. “Synthesis and Characterization ofPoly(L-glutamic acid)Gadolinium Chelate: A New Biodegradable MRI Contrast agent(聚(L-谷氨酸)钆螯合物的合成与表征:新的生物可降解的 MRI 造影剂)。”Bioconjugate Chem. 2004, 15, 1408-1415)。

[0014] 最近,已经开发了组织特异性 MRI 造影剂。参见 Weinmann et al. “Tissue-specific MR contrast agents(组织特异性 MR 造影剂)。”Eur. J. Radiol. 2003, 46, 33-44。然而,尚未在临床应用中报道肿瘤特异性 MRI 造影剂。已经报道纳米尺寸的颗粒经由增强的渗透和滞留 (EPR) 效应而靶向肿瘤组织。参见 Brannon-Peppas et al. “Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy(癌症治疗的纳米颗粒和靶向体系)。”ADDR 2004, 56, 1649-1659。

[0015] 发明概述

[0016] 相对疏水的显像剂和药物(如某些疏水性抗癌药、治疗性蛋白和多肽)通常生物利用度低。认为该问题至少部分是由于这些显像剂和药物在水体系中的溶解度低。某些酶可降解的药物的生物利用度也低,因为它们在循环系统中降解较快而导致从身体快速清除。

[0017] 本发明人已经发现包含聚合物结合物、第一疏水性药物和第二疏水性药物的新颖组合物。本文所述组合物的聚合物结合物能够与诸如显像剂、靶向剂、稳定剂和/或药物等

许多试剂结合。在某些实施方案中,聚合物和所得结合物优先在某些组织(如肿瘤组织)和/或某些受体中积聚,从而用于向身体的特定部分(如肿瘤)输送药物(如抗癌药)和/或显像剂。在某些实施方案中,本文所述聚合物和所得结合物能够形成纳米颗粒,所述纳米颗粒通过将药物以分子水平进行分散而在水性体系中有效增溶该药物,从而增加药物的功能性和/或生物利用度。

[0018] 在某些实施方案中,所述聚合物结合物能够包含非共价地容纳第一疏水性药物的聚合物基质,将第一疏水性药物有效地封装或部分封装于该聚合物基质中。在一实施方案中,能够将能包含第二疏水性药物的基团与该聚合物连接或结合。该第一和第二疏水性药物的结构可以不同,或者,该第一和第二疏水性药物的结构可以相同。

[0019] 本文描述的实施方案涉及能够包含第一疏水性药物、第二疏水性药物和聚合物结合物的组合物,其中聚合物结合物包含聚合物基质,所述聚合物基质将至少一部分的第一疏水性药物非共价地封装或部分封装于其内;该聚合物结合物包含如下文所述的通式(I)重复单元;其中 n 能够为 1 或 2;每一 A^1 能够独立地为氧或 NR^5 ,其中 R^5 能够为氢或 C_{1-4} 烷基;并且 R^1 和 R^2 中的至少一个能够是包含第二疏水性药物的基团。

[0020] 在某些实施方案中,如果 R^1 和 R^2 中仅有一个为包含第二疏水性药物的基团,则 R^1 和 R^2 中的另一个能够选自氢、 C_{1-10} 烷基、 C_{6-20} 芳基、铵基、碱金属、多齿配体、具有被保护的氧原子的多齿配体前体、包含靶向剂的基团、包含光学显像剂的基团、包含磁共振显像剂的基团和包含稳定剂的基团。

[0021] 本文描述的另一实施方案涉及本文所述组合物的制备方法,其包括以下步骤:使聚合物结合物至少部分溶解于溶剂中,以及将第一疏水性药物与至少部分溶解的聚合物结合物混合以形成混合物。

[0022] 本文描述的另一实施方案涉及治疗或改善疾病或疾病状态的方法,其能够包括向有需要的哺乳动物给予有效量的本文所述的聚合物结合物。

[0023] 本文描述的一实施方案涉及诊断疾病或疾病状态的方法,其能够包括向有需要的哺乳动物给予有效量的本文所述的聚合物结合物。

[0024] 本文描述的另一实施方案涉及使部分组织成像的方法,其能够包括使部分组织与有效量的本文所述的聚合物结合物接触。

[0025] 这些及其它实施方案更详细地描述于下文中。

[0026] 附图的简要说明

[0027] 图 1 示出使用聚(γ -谷氨酰基谷氨酰胺)-紫杉醇结合物封装紫杉醇的配制方案。

[0028] 图 2 示出本文所述的包含紫杉醇的组合物与紫杉醇的常规制剂之间紫杉醇血浆浓度的比较。

[0029] 图 3 示出本文所述的包含紫杉醇的组合物与紫杉醇的常规制剂之间紫杉醇肿瘤浓度的比较。

[0030] 图 4 示出与阳性对照和阴性对照相比,用本文所述的包含紫杉醇的组合物治疗时小鼠体重的变化。

[0031] 图 5 示出与阳性对照和阴性对照相比,用本文所述的包含紫杉醇的组合物治疗时小鼠的抗肿瘤效果。

[0032] 优选实施方案的详细说明

[0033] 除非另外定义,本文使用的所有科技术语具有与本领域普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。除非另有说明,本文提及的所有专利、申请、公布的申请及其它出版物都将其全部内容引入作为参考。在本文中的术语有多种定义的情况下,除非另有说明,以本部分中的定义为主。

[0034] 术语“酯”在本文中以其通常的含义使用,并因此包含具有通式 $-(R)_n-COOR'$ 的化学部分,其中 R 和 R' 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基(通过环碳键合)或杂脂环基(通过环碳键合),并且其中 n 为 0 或 1。

[0035] 术语“酰胺”在本文中以其通常的含义使用,并因此包含具有通式 $-(R)_n-C(O)NHR'$ 或 $-(R)_n-NHC(O)R'$ 的化学部分,其中 R 和 R' 独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基(通过环碳键合)或杂脂环基(通过环碳键合),并且其中 n 为 0 或 1。酰胺可以被包含在连接于如本文所述的药物分子的氨基酸或肽分子中,从而形成前药。

[0036] 本文公开的化合物上的任何胺、羟基或羧基侧链都能够酯化或酰胺化。用来实现这一目标的操作和具体基团是本领域技术人员已知的,并且能够轻易地在诸如 Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis* (有机合成中的保护基团), 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, NY, 1999 的参考文献来源中找到,在此将其整体引入作为参考。

[0037] 本文所用的“烷基”是指包含完全饱和(无双键或三键)的烃基团的直链或支链烃链。烷基可以含有 1 至 20 个碳原子(每当出现在本文中时,诸如“1 至 20”的数字范围是指给定范围内的每一整数;例如,“1 至 20 个碳原子”意为烷基可以由 1 个碳原子、2 个碳原子、3 个碳原子等等直至并包括 20 个碳原子组成,尽管本定义也包括没有指定数字范围的术语“烷基”的情况)。烷基也可以是具有 1 至 10 个碳原子的中等大小的烷基。烷基也可以是具有 1 至 5 个碳原子的低级烷基。可以将化合物的烷基指定为“C₁-C₄ 烷基”或类似的指定。仅以实例的方式,“C₁-C₄ 烷基”表明在烷基链中有一至四个碳原子,即,烷基链选自甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基。典型的烷基包括但绝不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基等。

[0038] 烷基可以被取代或不被取代。被取代时,取代基是一个或多个各自独立地选自如下的基团:烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂脂环基、芳烷基、杂芳烷基、(杂脂环基)烷基、羟基、被保护的羟基、烷氧基、芳氧基、酰基、酯、巯基、烷硫基、芳硫基、氰基、卤素、羰基、硫代羰基、O-氨基甲酰基、N-氨基甲酰基、O-硫代氨基甲酰基、N-硫代氨基甲酰基、C-酰胺基、N-酰胺基、S-磺酰氨基、N-磺酰氨基、C-羧基、被保护的 C-羧基、O-羧基、异氰酸基、硫氰基(thiocyanato)、异硫氰基(isothiocyanato)、硝基、甲硅烷基、亚氧硫基、亚硫酰基、磺酰基、卤代烷基(例如单、二和三卤代烷基)、卤代烷氧基(例如单、二和三卤代烷氧基)、三卤代甲烷磺酰基、三卤代甲烷磺酰氨基或包括单取代和双取代的氨基在内的氨基、及上述基团的被保护的衍生物。每当取代基被描述为“被任选地取代”时,该取代基可以被上述取代基之一取代。

[0039] 本文所用的“芳基”是指具有完全离域的 π 电子体系的碳环(全碳)单环或多环芳香环体系。芳基的实例包括但不限于苯、萘和蒽。本发明的芳基可以被取代或不被取代。被取代时,氢原子被取代基置换,所述取代基是独立地选自如下的一个或多个基团:烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂脂环基、芳烷基、杂芳烷基、(杂脂环

基) 烷基、羟基、被保护的羟基、烷氧基、芳氧基、酰基、酯、巯基、氰基、卤素、硫代羰基、O- 氨基甲酰基、N- 氨基甲酰基、O- 硫代氨基甲酰基、N- 硫代氨基甲酰基、C- 酰胺基、N- 酰胺基、S- 磺酰氨基、N- 磺酰氨基、C- 羧基、被保护的 C- 羧基、O- 羧基、异氰酸基、硫氰基、异硫氰基、硝基、甲硅烷基、亚氧硫基、亚硫酰基、磺酰基、卤代烷基 (例如单、二和三卤代烷基)、卤代烷氧基 (例如单、二和三卤代烷氧基)、三卤代甲烷磺酰基、三卤代甲烷磺酰氨基和包括单取代和双取代的氨基在内的氨基, 及上述基团的被保护的衍生物, 除非另外指明取代基。

[0040] “顺磁金属螯合物”是指配体与顺磁金属离子结合的配合物。实例包括, 但不限于, 1,4,7,10- 四氮杂环十二烷-1,4,7,10- 四乙酸 (DOTA)-Gd(III)、DOTA- 钆 -88、DOTA- 镱 -111、二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA)-Gd(III)、DTPA- 钆 -88、DTPA- 镱 -111。

[0041] “多齿配体”是本身能够经由两个或多个连接点通过例如配位共价键与金属离子结合的配体。多齿配体的实例包括, 但不限于二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA)、四氮杂环十二烷-1,4,7,10- 四乙酸 (DOTA)、(1,2- 亚乙基二氨基) 四乙酸盐 (EDTA)、乙二胺、2,2'- 二吡啶 (bipy)、1,10- 菲咯啉 (phen)、1,2- 双(联苯膦基) 乙烷 (DPPE)、2,4- 戊烷二酮 (acac) 和草酸盐 (ox)。

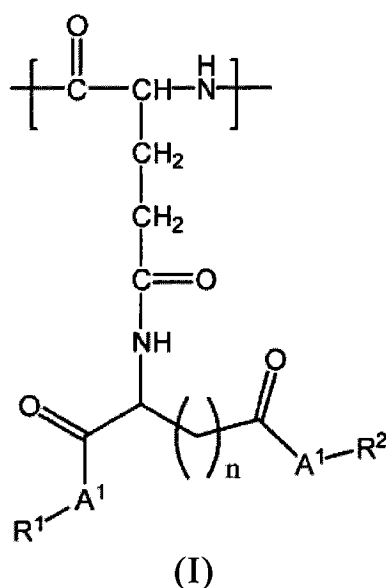
[0042] “具有被保护的氧原子的多齿配体前体”是用合适的保护基团保护的、包含氧原子的多齿配体, 所述氧原子如羧基的单键结合的氧原子。合适的保护基团包括但不限于低级烷基、苄基和甲硅烷基。

[0043] “稳定剂”是通过使载体- 药物结合物更耐水解酶且免疫原性更低而在体内增加其生物利用度和 / 或延长其半衰期的取代基。示例性的稳定剂是聚乙二醇 (PEG)。

[0044] 应当理解, 在具有一个或多个手性中心的本文所述的任何化合物中, 如果未明确指明绝对立体化学, 则每一中心可以独立地为 R- 构型或 S- 构型或其混合物。因此, 本文提供的化合物可以为光学纯或者为立体异构混合物。另外, 应当理解, 在本文所述的任何化合物中, 当其具有一个或多个产生能够被定义为 E 或 Z 的几何异构体的双键时, 每一双键可以独立地为 E 或 Z 或其混合物。同样, 还旨在包括所有的互变形式。

[0045] 一实施方案提供了能够包含第一疏水性药物、第二疏水性药物和聚合物结合物的组合物, 其中该聚合物结合物包含聚合物基质, 所述聚合物基质将至少一部分第一疏水性药物非共价地包封于其内; 该聚合物结合物能够包含通式 (I) 重复单元:

[0046]



[0047] 其中 n 能够为 1 或 2；每一 A^1 能够独立地为氧或 NR^5 ，其中 R^5 能够为氢或 C_{1-4} 烷基；并且 R^1 和 R^2 中至少一个能够为能包含第二疏水性药物的基团。在某些实施方案中， n 能够等于 1。在其它实施方案中， n 能够等于 2。

[0048] 在某些实施方案中，如果 R^1 和 R^2 中仅有一个为包含第二疏水性药物的基团，则 R^1 和 R^2 中的另一个能够选自氢、 C_{1-10} 烷基、 C_{6-20} 芳基、铵基、碱金属、多齿配体、具有被保护的氧原子的多齿配体前体、包含靶向剂的基团、包含光学显像剂的基团、包含磁共振显像剂的基团和包含稳定剂的基团。所述靶向剂、光学显像剂、磁共振显像剂和稳定剂在本文中一般称为“试剂”。

[0049] 在某些实施方案中，第一疏水性药物的化学结构不同于第二疏水性药物。在其它实施方案中，第一疏水性药物的化学结构与第二疏水性药物相同。

[0050] 本文所述组合物能够包含第一疏水性药物和第二疏水性药物。第二疏水性药物能够与聚合物共价地连接或结合，而第一疏水性药物能够被非共价地封装或部分封装于所述聚合物基质中。在一实施方案中，第一疏水性药物和第二疏水性药物自所述组合物的释放速率能够随组合物的降解而变化。第一疏水性药物以第一速率自组合物释放，该相对速率至少部分是由于其被非共价地封装于所述聚合物基质中的方式。第二疏水性药物以第二速率自组合物释放，至少部分因为其与聚合物结合物共价键合。因此，第一疏水性药物和第二疏水性药物与聚合物具有不同的物理相互作用。随着聚合物的降解，第一疏水性药物和第二疏水性药物以不同的方式从聚合物中释放。在一实施方案中，第一释放速率大于第二释放速率。

[0051] 能够包含第一疏水性药物、第二疏水性药物和聚合物结合物的组合物可以各种形式存在。例如，组合物可以以颗粒、薄片、杆、纤维、薄膜、泡沫、悬浮液（在液体或气体中）、凝胶、固体和 / 或液体形式存在。这些各种形式的大小和形状没有限制。在一实施方案中，组合物能够以颗粒的形式存在。组合物的颗粒可以为任何大小或形状。在一实施方案中，颗粒的直径能够大至约 1000 微米。在一实施方案中，颗粒的直径能够为约 0.1 微米至约 500 微米。在一实施方案中，颗粒的直径能够为约 1 微米至约 100 微米。在一实施方案中，组合物以纳米颗粒的形式存在。在一实施方案中，纳米颗粒的直径能够为约 0.1 纳米至约 500

纳米。在一实施方案中,纳米颗粒的直径能够为约 1 纳米至约 250 纳米。在一实施方案中,纳米颗粒的直径能够为约 10 纳米至约 100 纳米。

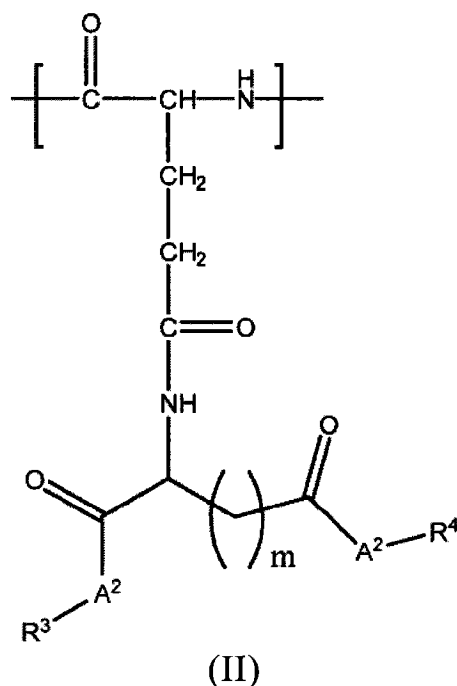
[0052] 可以调节粒径以控制在诸如体内的特定环境中组合物的药物释放速率。组合物的相对较大的颗粒可能比较小的颗粒具有更长的寿命。然而,由于相对较大颗粒的表面积较大,因此较大颗粒释放药物的速率可能大于具有相似形状的较小颗粒。在特定环境中,组合物的降解速率和组合物的寿命可以用来提供对第一疏水性药物和第二疏水性药物的释放量的控制。根据本公开内容的指导,本领域技术人员能够调节粒径以控制组合物的降解速率,从而进一步控制第一疏水性药物和第二疏水性药物的释放速率。

[0053] 在一实施方案中,颗粒的大小能够在将组合物置于个体上或给予个体时提供较长的组合物循环时间。相对较大的颗粒或者直径为例如约 100nm、200nm、500nm 或更大的纳米颗粒以一定速率降解,该速率使得组合物在被置于个体上或给予个体后在血流中具有相对长的半衰期。较长的组合物循环时间加上第一疏水性药物和第二疏水性药物的变化的释放速率能够改善药物在诸如肿瘤组织等靶组织中的蓄积。

[0054] 图 1 是包含第一疏水性药物、第二疏水性药物和聚合物结合物的组合物的实施方案的非限制性代表例。图 1 示出配制方案,其中聚合物结合物(包含第二疏水性药物)包含聚(γ -L-谷氨酰基谷氨酰胺)-紫杉醇结合物并且第一疏水性药物包含紫杉醇。如图 1 所示,第二疏水性药物(在本实施例中为紫杉醇)沿着所述聚合物在多个分支处与聚(γ -L-谷氨酰基谷氨酰胺)共价连接。在下文详细描述的方法中,可以将这种聚合物结合物溶解或部分溶解并与第一疏水性药物(在本实施例中也为紫杉醇)混合。所得组合物或制剂如图 1 所示,其中该聚合物结合物包含了在该聚合物的多个分支处与其共价键合的紫杉醇,并且还将游离的紫杉醇封装或部分封装在聚合物基质中。

[0055] 在某些实施方案中,所述聚合物结合物(包含通式(I)重复单元)还能够包含通式(II)重复单元:

[0056]



[0057] 其中 m 能够为 1 或 2;每一 A^2 能够独立地为氧或 NR^6 ,其中 R^6 能够为氢或 C_{1-4} 烷基;

并且 R^3 和 R^4 能够各自独立地选自氢、铵和碱金属。在某些实施方案中, m 能够等于 1。在其它实施方案中, m 能够等于 2。

[0058] 存在于所述组合物中的第一疏水性药物的量能够在宽范围内变化。在一实施方案中, 基于第一疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量 (将第一疏水性药物的重量计入聚合物结合物中) 的质量比, 第一疏水性药物能够以约 1% 至约 50% (重量 / 重量) 的量存在。在一实施方案中, 基于第一疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 第一疏水性药物能够以约 1% 至约 40% (重量 / 重量) 的量存在。在一实施方案中, 基于第一疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 第一疏水性药物能够以约 1% 至约 30% (重量 / 重量) 的量存在。在一实施方案中, 基于第一疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 第一疏水性药物能够以约 1% 至约 20% (重量 / 重量) 的量存在。在一实施方案中, 基于第一疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 第一疏水性药物能够以约 1% 至约 10% (重量 / 重量) 的量存在。在一实施方案中, 基于第一疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 第一疏水性药物能够以约 5% 至约 40% (重量 / 重量) 的量存在。在一实施方案中, 基于第一疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 第一疏水性药物能够以约 10% 至约 30% (重量 / 重量) 的量存在。在一实施方案中, 基于第一疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 第一疏水性药物能够以约 20% 至约 40% (重量 / 重量) 的量存在。在一实施方案中, 基于第一疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 第一疏水性药物能够以约 30% 至约 50% (重量 / 重量) 的量存在。

[0059] 存在于所述组合物中的第二疏水性药物的量能够在宽范围内变化。在一实施方案中, 基于第二疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量 (将第二疏水性药物的重量计入聚合物结合物中) 的质量比, 聚合物结合物能够包含约 1% 至约 50% (重量 / 重量) 的量的第二疏水性药物。在一实施方案中, 基于第二疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 聚合物结合物能够包含约 1% 至约 40% (重量 / 重量) 的量的第二疏水性药物。在一实施方案中, 基于第二疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 聚合物结合物能够包含约 1% 至约 30% (重量 / 重量) 的量的第二疏水性药物。在一实施方案中, 基于第二疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 聚合物结合物能够包含约 1% 至约 20% (重量 / 重量) 的量的第二疏水性药物。在一实施方案中, 基于第二疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 聚合物结合物能够包含约 1% 至约 10% (重量 / 重量) 的量的第二疏水性药物。在一实施方案中, 基于第二疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 聚合物结合物能够包含约 5% 至约 40% (重量 / 重量) 的量的第二疏水性药物。在一实施方案中, 基于第二疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 聚合物结合物能够包含约 10% 至约 30% (重量 / 重量) 的量的第二疏水性药物。在一实施方案中, 基于第二疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 聚合物结合物能够包含约 20% 至约 40% (重量 / 重量) 的量的第二疏水性药物。在一实施方案中, 基于第二疏水性药物与第一疏水性药物和聚合物结合物的总重量的质量比, 聚合物结合物能够包含约 30% 至约 50% (重量 / 重量) 的量的第二疏水性药物。

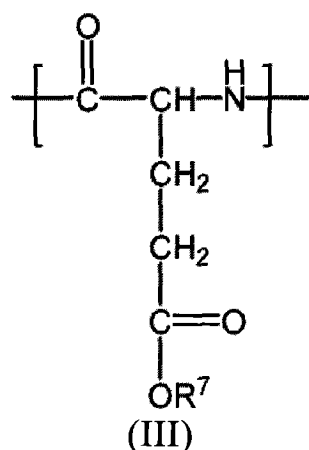
[0060] 存在于所述聚合物中的诸如靶向剂、光学显像剂、磁共振显像剂和稳定剂的试剂的量能够在宽范围内变化。此外,存在于该聚合物中的配体或配体前体的量能够在宽范围内变化。在一实施方案中,基于试剂、配体和 / 或配体前体与聚合物结合物的质量比(试剂、配体和 / 或配体前体的重量同第二疏水性药物的重量一起计入聚合物结合物中),所述聚合物结合物能够包含约 0.1% 至约 50% (重量 / 重量) 的量的试剂、配体和 / 或配体前体。在一实施方案中,基于试剂、配体和 / 或配体前体与聚合物结合物的质量比,聚合物结合物能够包含约 1% 至约 40% (重量 / 重量) 的量的试剂、配体和 / 或配体前体。在一实施方案中,基于试剂、配体和 / 或配体前体与聚合物结合物的质量比,聚合物结合物能够包含约 1% 至约 30% (重量 / 重量) 的量的试剂、配体和 / 或配体前体。在一实施方案中,基于试剂、配体和 / 或配体前体与聚合物结合物的质量比,聚合物结合物能够包含约 1% 至约 20% (重量 / 重量) 的量的试剂、配体和 / 或配体前体。在一实施方案中,基于试剂、配体和 / 或配体前体与聚合物结合物的质量比,聚合物结合物能够包含约 1% 至约 10% (重量 / 重量) 的量的试剂、配体和 / 或配体前体。在一实施方案中,基于试剂、配体和 / 或配体前体与聚合物结合物的质量比,聚合物结合物能够包含约 5% 至约 40% (重量 / 重量) 的量的试剂、配体和 / 或配体前体。在一实施方案中,基于试剂、配体和 / 或配体前体与聚合物结合物的质量比,聚合物结合物能够包含约 10% 至约 30% (重量 / 重量) 的量的试剂、配体和 / 或配体前体。在一实施方案中,基于试剂、配体和 / 或配体前体与聚合物结合物的质量比,聚合物结合物能够包含约 20% 至约 40% (重量 / 重量) 的量的试剂、配体和 / 或配体前体。在一实施方案中,基于试剂、配体和 / 或配体前体与聚合物结合物的质量比,聚合物结合物能够包含约 30% 至约 50% (重量 / 重量) 的量的试剂、配体和 / 或配体前体。

[0061] 聚合物结合物能够含有一个或多个手性碳原子。手性碳原子(可以用星号*标出)能够具有右侧(右手)或左侧(左手)构型,并且重复单元因此可以是外消旋的、对映异构的或对映异构富集的。除非另有说明,本文中其它位置所用的符号“n”和“*” (代表手性碳)与上述含义相同。

[0062] 包含通式 (I) 重复单元和通式 (II) 重复单元的聚合物能够为包含两个或多个不同的通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的共聚物。此外,包含通式 (I) 重复单元的聚合物(包括但不限于含有通式 (II) 重复单元的聚合物)可以是包含不为通式 (I) 和 / 或不为通式 (II) 的其它重复单元的共聚物。聚合物中通式 (I) 重复单元和通式 (II) 重复单元的数目均能够在宽范围内变化,可以各自独立地为约 50 至约 5,000,如约 100 至约 2,000。

[0063] 在具有通式 (I) 重复单元和任选地具有通式 (II) 重复单元的聚合物结合物中可以包括多种其它重复单元。在某些实施方案中,聚合物结合物还包含通式 (III) 重复单元:

[0064]



[0065] 其中 R^7 能够为氢、铵或碱金属。所述聚合物中通式 (III) 重复单元的数目也能够 在宽范围内变化。例如,通式 (III) 重复单元的数目能够为约 50 至约 5,000, 如约 100 至约 2,000。

[0066] 一个或多个的包含第一疏水性药物的基团、包含第二疏水性药物的基团、包含靶 向剂的基团、包含光学显像剂的基团、包含磁共振显像剂的基团、包含多齿配体的基团、包 含多齿配体前体的基团或包含稳定剂的基团可以许多不同的方式与聚合物结合。在某些实 施方案中,前述化合物能够直接与聚合物连接,例如与通式 (I) 重复单元连接。在一实施方 案中,一个或多个的包含第一疏水性药物的基团、包含第二疏水性药物的基团、包含靶向剂 的基团、包含光学显像剂的基团、包含磁共振显像剂的基团、包含多齿配体的基团、包含多 齿配体前体的基团或包含稳定剂的基团能够通过试剂或药物的氧、硫、氮和 / 或碳原子直 接与所述聚合物连接。

[0067] 在其它实施方案中,一个或多个的包含第一疏水性药物的基团、包含第二疏水性 药物的基团、包含靶向剂的基团、包含光学显像剂的基团、包含磁共振显像剂的基团、包含 多齿配体的基团、包含多齿配体前体的基团或包含稳定剂的基团还能够包含连接基团。在 一实施方案中,包含第一疏水性药物的基团还能够包含连接基团。在一实施方案中,包含第 二疏水性药物的基团还能够包含连接基团。在一实施方案中,包含靶向剂的基团、包含光学 显像剂的基团、包含磁共振显像剂的基团、包含多齿配体的基团、包含多齿配体前体的基团 和 / 或包含稳定剂的基团能够包含连接基团。连接基团是将例如试剂 (或包含所述试剂的 化合物) 连接于所述聚合物的基团。在一实施方案中,一种或多种前述化合物能够通过连 接基团连接于所述聚合物,例如连接于通式 (I) 重复单元。所述连接基团可以较小。例如, 所述连接基团可以包含胺、酰胺、醚、酯、羟基、羰基或硫醚基团。或者,所述连接基团可以较 大。例如,连接基团可以包含烷基、醚基、芳基、芳基 (C_{1-6} 烷基) 基团 (例如苯基 $-(CH_2)_{1-4}-$)、 杂芳基或杂芳基 (C_{1-6} 烷基) 基团。在一实施方案中,连接基团能够为 $-NH(CH_2)_{1-4}-NH-$ 。在 另一实施方案中,连接基团能够为 $-(CH_2)_{1-4}-$ 芳基 $-NH-$ 。所述连接基团能够在任何合适 的位置连接于一个或多个的包含第一疏水性药物的基团、包含第二疏水性药物的基团、包含 靶向剂的基团、包含光学显像剂的基团、包含磁共振显像剂的基团、包含多齿配体的基团、 包含多齿配体前体的基团或包含稳定剂的基团。例如,所述连接基团能够通过取代氢而连 接于前述化合物之一的碳上。能够使用本领域技术人员公知的方法将所述连接基团引入化 合物中。

[0068] 可以将许多不同类型的药物用作第一疏水性药物。在一实施方案中,所述第

一疏水性药物能够包括抗癌药。在一实施方案中,抗癌药能够选自紫杉烷类、喜树碱类(camptotheca)和蒽环类。在一实施方案中,紫杉烷类能够选自紫杉醇和多西紫杉醇。在一实施方案中,紫杉烷类能够为紫杉醇。在一实施方案中,喜树碱类能够为喜树碱。在一实施方案中,蒽环类能够为阿霉素。在另一实施方案中,第一药物能够为亲水性而不是疏水性的。例如,亲水性药物能够被封装或部分封装在聚合物基质内。合适的亲水性药物的某些实例包括但不限于铂类药物,如顺铂、卡铂和奥沙利铂。

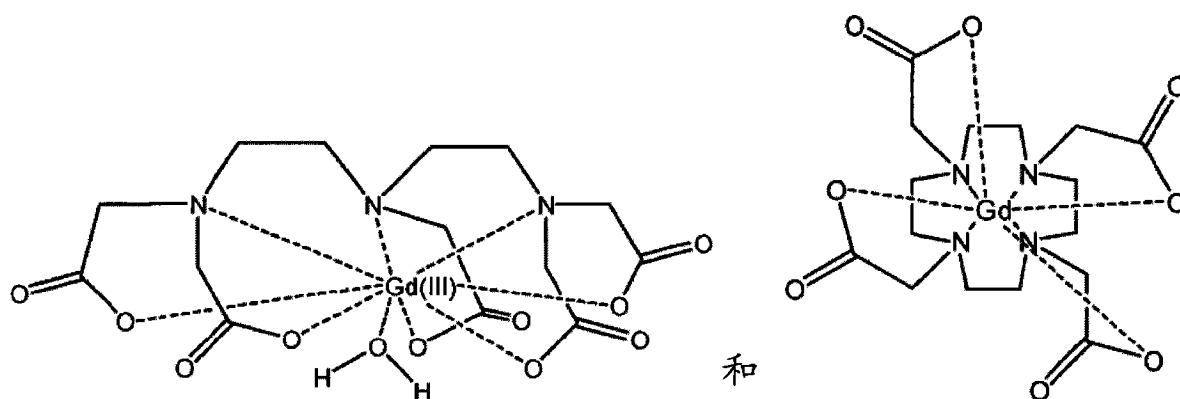
[0069] 类似地,可以将许多不同类型的药物用作第二疏水性药物。在一实施方案中,第二疏水性药物能够包括抗癌药。在一实施方案中,抗癌药能够选自紫杉烷类、喜树碱类和蒽环类。在一实施方案中,紫杉烷类能够选自紫杉醇和多西紫杉醇。在一实施方案中,紫杉烷能够为紫杉醇。在一实施方案中,其中所述第二疏水性药物包含紫杉醇,该紫杉醇能够在与紫杉醇的 C2'- 碳连接的氧原子处与通式 (I) 重复单元连接或结合。在另一实施方案中,该紫杉醇能够在与紫杉醇的 C7- 碳连接的氧原子处与通式 (I) 重复单元连接或结合。在一实施方案中,喜树碱类能够为喜树碱。在一实施方案中,蒽环类能够为阿霉素。在另一实施方案中,第二药物能够为亲水性而不是疏水性的。例如,亲水性药物能够与本文所述的聚合物结合。合适的亲水性药物的某些实例包括铂类药物,如本文所述的那些铂类药物。

[0070] 所述试剂可以包含任何类型的活性化合物。在一实施方案中,所述试剂可以为光学显像剂。在一实施方案中,光学显像剂能够为选自吖啶染料、香豆素染料、若丹明染料、咕吨染料、花青染料和芘染料的一种或多种。例如,具体的光学显像剂可以包括可商购的或易于通过本领域技术人员公知的方法制备的德克萨斯红、Alexa Fluor®染料、BODIPY®染料、荧光素、Oregon Green®染料和 Rhodamine Green™ 染料。

[0071] 在一实施方案中,所述试剂可以为靶向剂。在一实施方案中,靶向剂能够为选自精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD) 肽、纤连蛋白、叶酸、半乳糖、载脂蛋白、胰岛素、转铁蛋白、成纤维细胞生长因子 (FGF)、表皮生长因子 (EGF) 和抗体中的一种或多种。在一实施方案中,所述靶向剂能够与选自以下的受体相互作用: α_v , β_3 - 整合蛋白、叶酸、脱唾液酸糖蛋白、低密度脂蛋白 (LDL)、胰岛素受体、转铁蛋白受体、成纤维细胞生长因子 (FGF) 受体、表皮生长因子 (EGF) 受体和抗体受体。在一实施方案中,所述精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD) 肽能够为环状 (fKRGD)。

[0072] 在一实施方案中,所述试剂能够为磁共振显像剂。在一实施方案中,磁共振显像剂能够包含顺磁金属化合物。例如,磁共振显像剂可以包含 Gd(III) 化合物。在一实施方案中, Gd(III) 化合物能够选自:

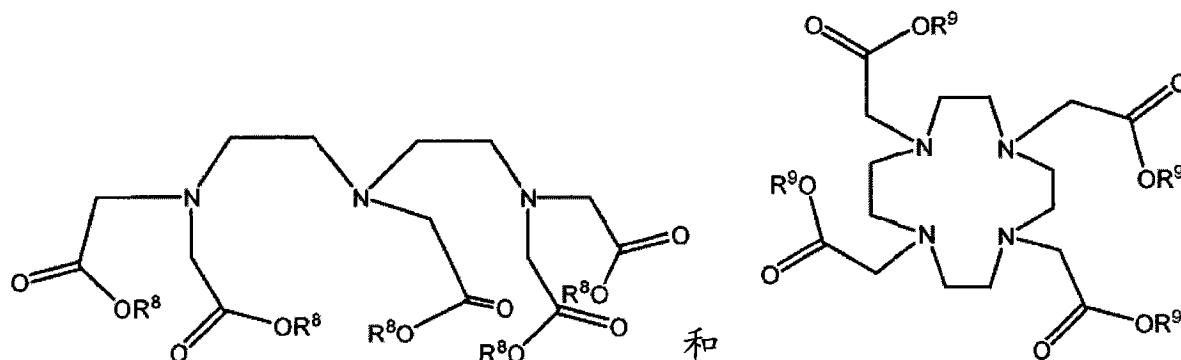
[0073]



[0074] 在一实施方案中,所述试剂能够包含稳定剂。在优选实施方案中,稳定剂能够为聚乙二醇。

[0075] 在一实施方案中,所述聚合物结合物能够包含多齿配体。在一实施方案中,多齿配体能够与顺磁金属反应以形成磁共振显像剂。多齿配体可以包含若干个羧酸和/或羧酸盐基团。在一实施方案中,多齿配体能够选自:

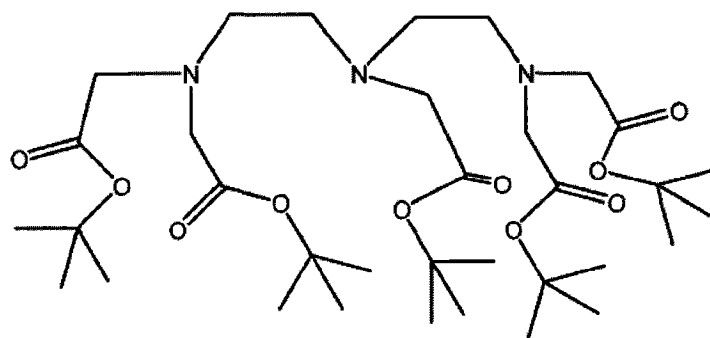
[0076]



[0077] 其中每一 R⁸ 和每一 R⁹ 能够独立地选自氢、铵和碱金属。

[0078] 在一实施方案中,所述聚合物结合物能够包含多齿配体前体。在这样的实施方案中,多齿配体的氧原子可以由合适的保护基团保护。合适的保护基团包括但不限于低级烷基、苄基和甲硅烷基。具有保护基团的多齿配体前体的一实例如下:

[0079]



[0080] 在某些实施方案中,本文所述的聚合物包含碱金属。在一实施方案中,碱金属可以为钠或钾。在一实施方案中,碱金属能够为钠。

[0081] 基于重复单元的总数,所述聚合物结合物中通式 (I) 重复单元的百分比可以在宽范围内变化。在某些实施方案中,所述聚合物可以包含约 100 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于聚合物中的重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 99 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于聚合物中的重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 50 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于聚合物中的重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 30 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于聚合物中的重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 20 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于聚合物中的重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 10 摩尔%的通式 (I) 重复单元。

[0082] 除了包含通式 (I) 重复单元以外,所述聚合物还可以包含通式 (II) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1

摩尔%至约 99 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 50 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 30 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 20 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 10 摩尔%的通式 (I) 重复单元。

[0083] 除了通式 (I) 和通式 (II) 重复单元以外,所述聚合物结合物还可以包含多种其它重复单元。例如,在一实施方案中,所述聚合物结合物可以包含通式 (III) 重复单元。基于在包含通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的聚合物结合物中的重复单元的总数,通式 (I) 重复单元的百分数可以在宽范围内变化。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 99 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 50 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 30 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 20 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 10 摩尔%的通式 (I) 重复单元。

[0084] 在实施方案中,基于在包含通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的聚合物结合物中的重复单元的总数,通式 (I) 重复单元的百分比可以在宽范围内变化。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 99 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 50 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 30 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 20 摩尔%的通式 (I) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 10 摩尔%的通式 (I) 重复单元。

[0085] 基于在包含通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的聚合物结合物中的重复单元的总数,所述聚合物结合物中通式 (II) 重复单元的百分比也可以在宽范围内变化。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 99 摩尔%的通式 (II) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 50 摩尔%的通式 (II) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 30 摩尔%的通式 (II) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1 摩尔%至约 20 摩尔%的通式 (II) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (II) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物可以包含约 1

摩尔%至约 10 摩尔%的通式 (II) 重复单元。

[0086] 基于在包含通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的聚合物结合物中的重复单元的总数,通式 (III) 重复单元的百分比可以在宽范围内变化。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 99 摩尔%的通式 (III) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 50 摩尔%的通式 (III) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 30 摩尔%的通式 (III) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 20 摩尔%的通式 (III) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 10 摩尔%的通式 (III) 重复单元。

[0087] 类似地,在实施方案中,基于在包含通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的聚合物结合物中的重复单元的总数,通式 (II) 重复单元的百分比可以在宽范围内变化。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 99 摩尔%的通式 (II) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 50 摩尔%的通式 (II) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 30 摩尔%的通式 (II) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 20 摩尔%的通式 (II) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 10 摩尔%的通式 (II) 重复单元。

[0088] 在实施方案中,基于在包含通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的聚合物结合物中的重复单元的总数,通式 (III) 重复单元的百分比可以在宽范围内变化。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 99 摩尔%的通式 (III) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 50 摩尔%的通式 (III) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 30 摩尔%的通式 (III) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 20 摩尔%的通式 (III) 重复单元。在一实施方案中,基于通式 (I)、通式 (II) 和通式 (III) 重复单元的总摩尔数,所述聚合物结合物可以包含约 1 摩尔%至约 10 摩尔%的通式 (III) 重复单元。

[0089] 在实施方案中, n 和 m 中的至少一个能够为 1。在某些实施方案中,至少一个 n 能够为 1。在某些实施方案中,至少一个 n 能够为 2。在另一实施方案中, n 和 m 中的至少一个能够为 2。在某些实施方案中,至少一个 m 能够为 1。在某些实施方案中,至少一个 m 能够为 2。

[0090] 已经发现,可以选择所述试剂的量、第一和第二药物的量以及通式 (I)、通式 (II) 和 / 或通式 (III) 重复单元的百分含量以有利地控制所得聚合物结合物的溶解性。例如,在

某些实施方案中,能够选择所述试剂和 / 或药物的量以及诸如通式 (I)、通式 (II) 和 / 或通式 (III) 的多种重复单元的百分含量使得所述聚合物结合物在特定的 pH 下和 / 或所关注的 pH 范围内可溶 (或不可溶)。在某些实施方案中,还能够选择聚合物的分子量以控制溶解性。例如,可以通过合适选择所述试剂的量,通式 (I)、通式 (II) 和 / 或通式 (III) 重复单元的百分含量以及分子量来实现对溶解性的控制。获知本文所提供的教导的本领域技术人员能够运用常规实验来确定使聚合物结合物具有所期望的溶解性特征的合适的试剂量和各种重复单元的百分含量。取决于应用,这种对溶解性的控制可以是有利的。例如,本文提供的聚合物结合物的实施方案可以用来对用其它方式难溶的抗癌药提供改善的向选定组织的输送,优选减少不期望的副作用,和 / 或可以降低个体必须接受抗癌药的给药频率。

[0091] 还可以选择所述试剂和 / 或药物的量以及通式 (I)、通式 (II) 和 / 或通式 (III) 重复单元的百分含量,以使聚合物结合物的溶解度大于基本上包含相同量的相同试剂和 / 或药物的对照聚谷氨酸结合物的溶解度。在一实施方案中,聚合物结合物的溶解度能够大于对照聚谷氨酸结合物的溶解度。通过形成在约 22°C 下在 0.9 重量%的 NaCl 水溶液中含至少 5mg/mL 的聚合物结合物的聚合物结合物溶液,并测定光学透明度来测量溶解度。光学透明度可以用比浊法测定,例如通过目测或通过本领域技术人员已知的合适的仪器方法来测定。将所得溶解度与类似形成的聚谷氨酸结合物溶液进行比较,显示出改善的溶解度,这由在较宽的 pH 值范围内更大的光学透明度来证实。因此,当在约 22°C 下在 0.9 重量%的 NaCl 水溶液中含至少 5mg/mL 聚合物结合物的受测试的聚合物结合物溶液在较宽的 pH 值范围内所具有的光学透明度大于对照测试聚谷氨酸结合物溶液的光学透明度时,聚合物结合物的溶解度大于基本上包含相同量的试剂和 / 或药物的对照聚谷氨酸结合物的溶解度。本领域技术人员会理解,“对照”聚谷氨酸结合物是这样的对照物质,其中结合物的聚合物部分的分子量同与其相比较的目标聚合物结合物 (包含通式 (I) 重复单元、通式 (II) 重复单元和 / 或通式 (III) 重复单元) 的聚合物部分的分子量大约相等。

[0092] 在一实施方案中,能够选择所述试剂的量、第一和第二药物的量以及通式 (I)、通式 (II) 和 / 或通式 (III) 重复单元的百分含量,以使得聚合物结合物的溶解度大于基本上包含相同量的试剂和 / 或药物的对照聚谷氨酸结合物的溶解度。包含通式 (I) 重复单元的聚合物结合物的溶解度大于对照聚谷氨酸结合物的溶解度的 pH 值范围可以窄或宽。如上文指出的那样,通过形成在约 22°C 下在 0.9 重量%的 NaCl 水溶液中含至少 5mg/mL 聚合物结合物的聚合物结合物溶液,并测定光学透明度来测量溶解度。在一实施方案中,所述聚合物结合物在至少约三个 pH 单位的 pH 范围内可溶。在一实施方案中,所述聚合物结合物在至少约 8 个 pH 单位的 pH 范围内可溶。在一实施方案中,所述聚合物结合物在至少约 9 个 pH 单位的 pH 范围内可溶。在一实施方案中,所述聚合物结合物可溶的 pH 范围包括在约 2 至约 5 范围内的至少一 pH 值,例如 pH = 2、pH = 3、pH = 4 和 / 或 pH = 5。优选地,所述聚合物结合物可溶的 pH 范围比对照聚谷氨酸结合物可溶的 pH 范围更宽。例如,在一实施方案中,所述聚合物结合物可溶的 pH 范围比对照聚谷氨酸结合物可溶的 pH 范围宽至少约一个 pH 单位,优选宽至少约两个 pH 单位。

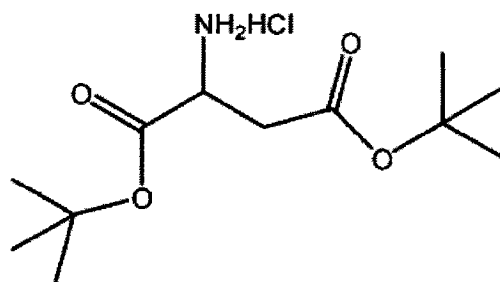
[0093] 置于溶液中以测量溶解度的聚合物结合物的量也能够较大地变化。在一实施方案中,在受测试的聚合物结合物溶液包含至少约 5mg/mL 聚合物结合物时测定溶解度。在一实施方案中,在受测试的聚合物结合物溶液包含至少约 10mg/mL 聚合物结合物时测定溶解

度。在一实施方案中,在受测试的聚合物结合物溶液包含至少约 25mg/mL 聚合物结合物时测定溶解度。在一实施方案中,在受测试的聚合物结合物溶液包含至少约 100mg/mL 聚合物结合物时测定溶解度。在一实施方案中,在受测试的聚合物结合物溶液包含至少约 150mg/mL 聚合物结合物时测定溶解度。本领域技术人员会理解,在与受测试的聚合物结合物大约相同的浓度下测试对照聚谷氨酸结合物。

[0094] 在一实施方案中,能够用聚谷氨酸和诸如天冬氨酸和 / 或谷氨酸的氨基酸开始,制备包含通式 (I) 重复单元的聚合物。或者,在另一实施方案中,可以通过先将起始的聚谷氨酸材料转化成它的盐形式来制备聚合物。能够通过使聚谷氨酸与诸如碳酸氢钠等合适的碱反应来获得聚谷氨酸的盐形式。能够将氨基酸部分与聚谷氨酸的侧链羧酸基团连接。聚谷氨酸的重均分子量没有限制,但优选为约 10,000 道尔顿至约 500,000 道尔顿,且更优选为约 25,000 道尔顿至约 300,000 道尔顿。这样的反应可以用于制备聚-(γ -L-天冬氨酰基-谷氨酰胺)或聚-(γ -L-谷氨酰基-谷氨酰胺)。

[0095] 在一实施方案中,在将氨基酸与聚谷氨酸连接之前,能够通过保护基团保护氨基酸。适合于这种反应的受保护的氨基酸部分的一个实例为如下所示的 L-天冬氨酸二叔丁酯盐酸盐:

[0096]



[0097] L-天冬氨酸二叔丁酯盐酸盐

[0098] 聚谷氨酸与氨基酸的反应可以在任何合适的溶剂的存在下发生。在一实施方案中,溶剂能够是非质子溶剂。在优选实施方案中,溶剂能够是 N, N'-二甲基甲酰胺。在另一实施方案中,溶剂可以选自 N, N'-二甲基甲酰胺 (DMF)、二甲亚砜 (DMSO)、N-甲基-2-吡啶酮 (NMP) 和 N, N'-二甲基乙酰胺 (DMAc)。

[0099] 可以使用偶联剂来辅助反应以形成包含通式 (I) 重复单元的聚合物。可以使用任何合适的偶联剂。在一实施方案中,所述偶联剂能够选自 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺 (EDC)、1,3-二环己基碳二亚胺 (DCC)、1,1'-羰基-二咪唑 (CDI)、N,N'-琥珀酰亚氨基碳酸酯 (DSC)、N-[(二甲氨基)-1H-1,2,3-三唑并-[4,5-b]吡啶-1-基]-亚甲基-N-甲基甲铵六氟磷酸盐 N-氧化物 (HATU)、2-[(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基铵六氟磷酸盐 (HBTU)、2-[(6-氯-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基铵六氟磷酸盐 (HCTU)、苯并三唑-1-基-氧基-三-吡咯烷基-磷六氟磷酸盐(PyBOP®)、溴-三-吡咯烷基-磷六氟磷酸盐(PyBroP®)、2-[(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基铵四氟硼酸盐 (TBTU) 和苯并三唑-1-基-氧基-三-(二甲氨基)磷六氟磷酸盐 (BOP)。在一实施方案中,偶联剂为 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺 (EDC)。

[0100] 在另一实施方案中,反应还可以包括在催化剂的存在下使溶解或部分溶解的聚合物结合物反应。可以使用促进该反应的任何催化剂。在一实施方案中,催化剂可以包含

4-二甲氨基吡啶 (DMAP)。

[0101] 反应完成后,如果氨基酸的氧原子被保护,能够使用已知方法,如使用合适的酸(例如三氟乙酸)除去保护基团。若需要,得自于聚谷氨酸与氨基酸的反应的聚合物的盐形式能够通过用诸如碳酸氢钠溶液等合适的碱溶液处理该聚合物的酸形式来形成。

[0102] 可以通过本领域技术人员已知的方法回收和/或纯化所述聚合物。例如,可以通过合适的方法除去溶剂。除去溶剂的一个非限制性实例包括旋转蒸发。此外,可以将反应混合物过滤至酸性水溶液中以诱发沉淀。然后将所得沉淀过滤并用水洗涤。

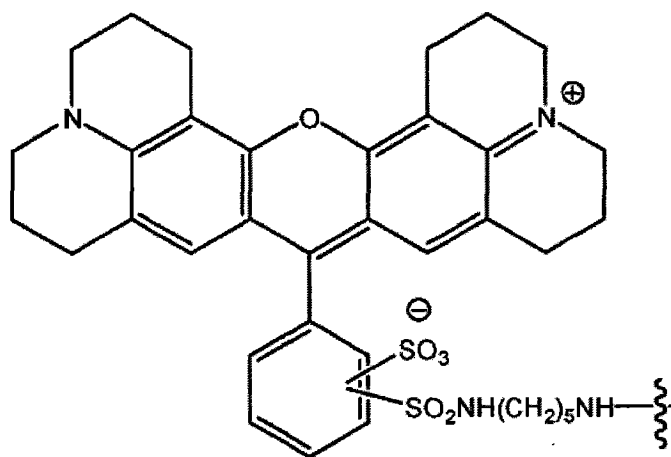
[0103] 在某些实施方案中,包含通式 (I) 重复单元的聚合物还能够包含如上文所述的通式 (II) 重复单元。在其它实施方案中,包含通式 (I) 重复单元的聚合物还能够包含通式 (III) 重复单元。在其它实施方案中,包含通式 (I) 重复单元的聚合物还能够包含通式 (II) 重复单元和通式 (III) 重复单元。

[0104] 可以以多种方式将包含试剂、多齿配体和/或具有受保护的氧原子的多齿配体前体的基团与聚合物酸或其盐形式进行结合,例如通过使包含试剂、多齿配体和/或具有受保护的氧原子的多齿配体前体的基团与各种聚合物共价键合来实施。使前述基团与得自聚谷氨酸和/或盐的聚合物结合的方法之一是通过使用加热(例如来自使用微波法的加热)。或者,结合可以在室温下进行。可使用本领域技术人员公知的和/或本文所述的合适的溶剂、偶联剂、催化剂和/或缓冲液以形成聚合物结合物。如同聚谷氨酸一样,从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物的盐或酸形式均能用作形成聚合物结合物的起始原料。

[0105] 能够与从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物连接或结合的合适的试剂包括但不限于药物、光学试剂、靶向剂、磁共振显像剂(如顺磁金属化合物)、稳定剂、多齿配体和具有受保护的氧原子的多齿配体前体。

[0106] 在一实施方案中,从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物能够与光学显像剂,诸如本文所述的那些光学显像剂连接或结合。在一实施方案中,光学试剂能够是德克萨斯红-NH₂。

[0107]



[0108] 德克萨斯红-NH-

[0109] 在一特定实施方案中,能够形成能够包含至少一个通式 (I) 重复单元的聚合物的反应物与 DCC、德克萨斯红-NH₂ 染料、吡啶和 4-二甲氨基吡啶反应。使用微波方法加热混合物。在一实施方案中,能够将反应加热到高至约 100°C 至 150°C 的温度。在另一实施方案

中,加热物料的时间为 5 分钟至 40 分钟。若需要,能够将反应混合物冷却至室温。能够使用本领域技术人员已知的合适方法分离和 / 或纯化所述聚合物结合物。例如,能够将反应混合物过滤至酸性水溶液中。然后能够将所形成的任何沉淀过滤并用水洗涤。任选地,能够用任何合适方法纯化沉淀。例如,能够将沉淀转移至丙酮中并溶解,并能将所得溶液再次过滤至碳酸氢钠溶液中。若需要,能够将所得反应溶液在水中用纤维素膜渗析,并能够将聚合物冻干并分离。

[0110] 在一实施方案中,能够将从聚谷氨酸和 / 或盐与氨基酸中获得的聚合物与药物(例如抗癌药)连接或结合。在一实施方案中,抗癌药能够为紫杉烷类、诸如喜树碱的喜树碱类和 / 或诸如阿霉素的蒽环类。在一实施方案中,抗癌药能够为诸如紫杉醇或多西紫杉醇的紫杉烷类。在某些实施方案中,与聚合物连接或结合的抗癌药能够为阿霉素。在其它实施方案中,与聚合物连接或结合的抗癌药能够为紫杉醇。在一实施方案中,紫杉醇可以在 C2'-氧原子处与聚合物连接。在另一实施方案中,紫杉醇可以在 C7-氧原子处与聚合物连接。在另一实施方案中,聚合物链包含仅通过 C2'-氧原子与聚合物偶联的紫杉醇。在另一实施方案中,聚合物链包含仅通过 C7-氧原子与聚合物偶联的紫杉醇。在另一实施方案中,聚合物包含 C2'-结合的紫杉醇基团和 C7-结合的紫杉醇基团。

[0111] 能够使用上文关于德克萨斯红所述的方法,将抗癌药与从聚谷氨酸和 / 或盐与氨基酸中获得的聚合物连接或结合。

[0112] 在一实施方案中,任选地在偶联剂(例如,EDC 和 / 或 DCC)和催化剂(例如 DMAP)的存在下,能够使紫杉醇与从聚谷氨酸和 / 或盐与氨基酸中获得的聚合物在溶剂(例如非质子溶剂,如 DMF)中反应。可使用其它试剂,如吡啶或羟基苯并三唑。在一实施方案中,反应可进行 0.5 天至 2 天的时间。能够使用本领域技术人员已知的合适方法分离和 / 或纯化所述聚合物结合物。例如,能够将反应混合物倾入酸性溶液中以形成沉淀。然后能够将形成的任何沉淀过滤并用水洗涤。任选地,能够用任何合适的方法纯化沉淀。例如,能够将沉淀转移至丙酮中并溶解,并能将所得溶液再次过滤至碳酸氢钠溶液中。若需要,能够将所得反应溶液在水中用纤维素膜渗析,并能够将聚合物冻干并分离。所得聚合物中紫杉醇的含量可通过 UV 光谱法测定。

[0113] 或者,能够使包含所述试剂的化合物与诸如谷氨酸和 / 或天冬氨酸的氨基酸反应,其中使包含所述试剂的化合物与该氨基酸偶联(如共价键合)。然后能够使氨基酸-试剂化合物与聚谷氨酸或其盐反应以形成所述聚合物结合物。在一实施方案中,能够使紫杉醇与谷氨酸反应以形成化合物,在该化合物中紫杉醇与谷氨酸的侧链羧酸基团共价键合。然后能够使谷氨酸-紫杉醇化合物与聚谷氨酸或其盐反应以形成所述聚合物结合物。在一实施方案中,使紫杉醇与天冬氨酸反应以形成化合物,在该化合物中紫杉醇与天冬氨酸的侧链羧酸基团共价键合。然后能够使天冬氨酸-紫杉醇化合物与聚谷氨酸或其盐反应以形成聚合物结合物。若需要,能够用已知的分离方法(如 HPLC)将通过 C2'-氧与氨基酸连接的紫杉醇与通过 C7-氧与氨基酸连接的紫杉醇分离。

[0114] 形成所述聚合物结合物之后,还可以测量未与聚合物共价键合的任何游离试剂的量。例如,可以用薄层色谱(TLC)证实基本上不存在游离的紫杉醇留在与紫杉醇连接或结合的聚合物的组合物中。

[0115] 在一实施方案中,能够使从聚谷氨酸和 / 或盐与氨基酸中获得的聚合物与多齿配

体连接或结合。合适的多齿配体包括但不限于二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA)、四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA)、(1,2-亚乙基二次氨基)四乙酸酯 (EDTA)、乙二胺、2,2'-联吡啶 (bipy)、1,10-菲咯啉 (phen)、1,2-双(二苯基膦基)乙烷 (DPPE)、2,4-戊烷二酮 (acac) 和乙二酸酯 (ox)。可以使用本领域技术人员公知的和/或本文所述的合适的溶剂、偶联剂、催化剂和/或缓冲液以形成聚合物结合物。在另一实施方案中,能够使得从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物与具有受保护的氧原子的多齿配体前体连接或结合。如同聚谷氨酸一样,从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物的盐或酸形式均能用作形成聚合物结合物的起始原料。

[0116] 在一实施方案中,多齿配体能够为 DTPA。在另一实施方案中,多齿配体能够为 DOTA。在一实施方案中,优选在偶联剂(如 DCC)和催化剂(如 DMAP)的存在下,诸如 DTPA 的多齿配体(具有或不具有受保护的氧原子)能够与从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物在溶剂(例如非质子溶剂如 DMF)中反应。若存在保护基团,能够使用合适的方法除去。例如,能够使用诸如三氟乙酸的酸处理聚合物结合物,所述聚合物结合物包含具有受保护的氧原子的多齿配体前体,如具有受叔丁基保护的氧原子的 DTPA。除去保护基团之后,能够通过旋转蒸发除去酸。在一实施方案中,能够用合适的碱处理 DTPA 以除去羧酸 -OH 基团上的氢原子。在某些实施方案中,碱能够为碳酸氢钠。

[0117] 在一实施方案中,从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物能够与靶向剂连接或结合。示例性的靶向剂包括但不限于精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD) 肽、纤连蛋白、叶酸、半乳糖、载脂蛋白、胰岛素、转铁蛋白、成纤维细胞生长因子 (FGF)、表皮生长因子 (EGF) 和抗体。能够选择靶向剂,以使它们与特定的受体相互作用。例如,能够选择靶向剂,使其与以下的一种或多种受体相互作用: α_v , β_3 -整联蛋白、叶酸、脱唾液酸糖蛋白、低密度脂蛋白 (LDL)、胰岛素受体、转铁蛋白受体、成纤维细胞生长因子 (FGF) 受体、表皮生长因子 (EGF) 受体和抗体受体。在一实施方案中,精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD) 肽能够为环状的 (fKRGD)。

[0118] 能够将从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物的盐或酸形式均用作用于与靶向剂形成聚合物结合物的起始原料。在一实施方案中,优选在偶联剂(如 DCC)和催化剂(如 DMAP)的存在下,使靶向剂与从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物在溶剂(例如非质子溶剂如 DMF)中反应。聚合物结合物形成后,还可以测量未与聚合物共价键合的任何游离试剂的量。例如,可以使用薄层色谱 (TLC) 证实基本上不存在任何游离的靶向剂。能够使用本领域技术人员已知的合适方法分离和/或纯化聚合物结合物(例如冻干)。

[0119] 在一实施方案中,能够使从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物与磁共振显像剂连接或结合。在一实施方案中,磁共振显像剂能够包含 Gd(III) 化合物。形成磁共振显像剂的方法之一是通过使顺磁金属与包含多齿配体的聚合物结合物反应。合适的顺磁金属包括但不限于 Gd(III)、钆-111 和钷-88。例如,能够在缓冲溶液中用 Gd(III) 处理包含 DTPA 的聚合物结合物数小时的时间。能够使用本领域技术人员已知的合适方法分离和/或纯化聚合物结合物。例如,能够将所得反应溶液在水中用纤维素膜渗析,并能够将聚合物冻干并分离。顺磁金属的量可以通过电感耦合等离子体-发射光谱法 (ICP-OES) 测量来量化。

[0120] 在一实施方案中,能够使从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物与稳定剂

连接或结合。在某些实施方案中,稳定剂能够为聚乙二醇。在一种方法中,优选在偶联剂(例如 DCC)和催化剂(例如 DMAP)的存在下,使稳定剂与从聚谷氨酸和/或盐与氨基酸中获得的聚合物在溶剂(例如非质子溶剂如 DMF)中反应。能够通过诸如 TLC 等任何合适方法测量反应进程。能够使用诸如渗析等本领域技术人员已知的方法纯化所得聚合物结合物。

[0121] 可以使用所述聚合物结合物将显像剂、靶向剂、磁共振显像剂和/或药物输送至选定的组织。例如,可以使用包含德克萨斯红染料的聚合物结合物将显像剂输送至选定的组织。在一实施方案中,能够使用包含至少一个通式(I)重复单元的聚合物结合物来治疗或改善疾病或疾病状态,如癌症。在一实施方案中,能够使用本文所述的聚合物结合物诊断疾病或疾病状态(例如癌症)。在另一实施方案中,能够使用本文所述的聚合物结合物使组织的一部分成像。在某些实施方案中,所述疾病或疾病状态能够为癌症,如肺癌、乳腺癌,结肠癌、卵巢癌、前列腺癌和黑素瘤。在一实施方案中,疾病或疾病状态能够为选自以下的肿瘤:肺肿瘤、乳腺肿瘤,结肠肿瘤、卵巢肿瘤、前列腺肿瘤和黑素瘤肿瘤。在某些实施方案中,被成像的组织能够为来自肺肿瘤、乳腺肿瘤,结肠肿瘤、卵巢肿瘤、前列腺肿瘤和/或黑素瘤肿瘤的组织。

[0122] 多种包含试剂的化合物能够与包含通式(I)重复单元的聚合物结合物连接或结合。在某些实施方案中,所述试剂能够不同。例如,包含靶向剂的化合物能够与包含通式(I)重复单元的聚合物连接或结合。然后所得聚合物能够与包含显像剂的化合物反应以形成包括靶向剂和显像剂的包含通式(I)重复单元的聚合物结合物。若需要,还能够使具有靶向剂和显像剂的聚合物结合物与包含稳定剂的化合物反应,从而使稳定剂与聚合物结合。

[0123] 在一实施方案中,上文所述的聚合物可以在水溶液中形成纳米颗粒。在一实施方案中,可以使包含聚合物和药物的结合物以类似的方式形成纳米颗粒。在一实施方案中,可以使用这样的纳米颗粒以将药物输送至选定的组织。

[0124] 可以多种方式制备包含疏水性化合物和含通式(I)重复单元的聚合物的组合物。在一实施方案中,制备所述组合物的方法能够包括使溶解或部分溶解的具有已连接的第二疏水性化合物的聚合物结合物与诸如第一疏水性药物的第一疏水性化合物反应,形成混合物的步骤。

[0125] 一实施方案提供了制备所述组合物的方法,其能够包括以下步骤:使所述聚合物结合物部分溶解于溶剂中,并将第一疏水性药物与至少部分溶解的聚合物结合物混合以形成混合物。在一实施方案中,该方法还能够包括干燥该混合物以形成干燥形式的组合物的步骤。在一实施方案中,所述混合步骤包括将第一疏水性药物的溶液与至少部分溶解的聚合物结合物混合以形成所述混合物的步骤。

[0126] 可以将所述聚合物结合物溶解或部分溶解在多种溶剂中以准备将其与第一疏水性药物混合。在一实施方案中,溶剂能够包含亲水性溶剂,如极性溶剂。合适的极性溶剂包括质子溶剂,如水、甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、丁醇、甲酸和乙酸。其它合适的极性溶剂包括非质子溶剂,如丙酮、乙腈、二甲基甲酰胺、二甲基亚砜、四氢呋喃和 1,4-二噁烷。在一实施方案中,溶剂能够是水性溶剂,例如水。

[0127] 还可以通过使用常规机械技术促进所述聚合物结合物溶解或部分溶解在溶剂中。例如,可以使在溶剂中振荡或搅拌聚合物结合物以促使溶解或部分溶解。在一实施方案中,将聚合物和溶剂进行声处理。声处理是施加诸如超声波能量的声能以搅动样品中的颗粒的

操作。可以使用例如超声波浴或超声波探针进行声处理。可以通过改变机械振荡或搅拌的强度和持续时间或声处理条件来控制聚合物的溶解程度。振荡、搅拌或声处理可以进行任意长的持续时间。例如，对混合物进行声处理的时间可以为数秒至数小时。在一实施方案中，将所述聚合物结合物在溶剂中进行声处理的时间为约 1 分钟至约 10 分钟。在一实施方案中，将所述聚合物结合物在溶剂中进行声处理的时间为约 5 分钟。

[0128] 在一实施方案中，能够将第一疏水性药物添加至聚合物结合物溶液中。在与聚合物结合物混合之前，可以将或不将第一疏水性药物溶解或部分溶解在多种溶剂中。如果将疏水性药物溶解或部分溶解在溶剂中，所述溶剂可以包括亲水性溶剂，如极性溶剂。合适的极性溶剂包括质子溶剂，如水、甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、丁醇、甲酸、乙酸和丙酮。其它合适的极性溶剂包括非质子溶剂，如丙酮、乙腈、二甲基甲酰胺、二甲基亚砷、四氢呋喃和 1,4-二噁烷。在一实施方案中，将第一疏水性药物溶解或部分溶解在醇中。在一实施方案中，能够将第一疏水性药物溶解或部分溶解在乙醇中。

[0129] 在通过例如使用移液管将第一疏水性药物添加至聚合物结合物溶液之后，可以再进行另外的混合。例如，可以振荡或搅拌聚合物结合物与第一疏水性药物的溶液。在一实施方案中，能够对聚合物结合物和第一疏水性药物的溶液进行声处理。振荡、搅拌或声处理可以进行任意长的持续时间。例如，对混合物进行声处理的时间可以为数秒至数小时。在一实施方案中，能够将聚合物结合物与第一疏水性药物的溶液进行约 1 分钟至约 10 分钟的声处理。在一实施方案中，能够将聚合物结合物与第一疏水性药物的溶液进行约 5 分钟的声处理。

[0130] 在一实施方案中，能够在将聚合物结合物和第一疏水性药物中的任一个溶于溶剂中之前将二者混合在一起。在一实施方案中，可以将溶剂或溶剂的混合物添加至聚合物结合物与第一疏水性药物的混合物中。在将溶剂或溶剂的混合物添加至聚合物结合物和第一疏水性药物中之后，聚合物结合物和第一疏水性药物中的任一个或两者可能溶解或部分溶解。在一实施方案中，所述聚合物结合物封装或部分封装所述第一疏水性药物。所述溶剂或溶剂的混合物可以包含水、甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、丁醇、甲酸、乙酸、丙酮、乙腈、二甲基甲酰胺、二甲基亚砷、四氢呋喃和 1,4-二噁烷中的一种或多种。在一实施方案中，溶剂的混合物包含醇和水。在一实施方案中，溶剂的混合物包含乙醇和水。

[0131] 经充分混合后，形成包含第一疏水性药物、第二疏水性药物和本文所述的聚合物结合物的组合物。然后可以任选地将该组合物分离和 / 或纯化。能够使用本领域技术人员已知的合适方法分离和 / 或纯化所述聚合物结合物以及封装（或部分封装）的第一疏水性药物。然后通过本领域技术人员已知的任何合适方法将该组合物干燥。例如，在一实施方案中，将组合物冷冻干燥。将组合物冷冻干燥的条件可以变化。在一实施方案中，在约 -30℃ 至约 -10℃ 的温度下将混合物冷冻干燥。在一实施方案中，将混合物在约 -20℃ 的温度下冷冻干燥。一旦已将所述组合物任选地分离并干燥，就可以将其在合适条件下储存。例如，可以将组合物储存在适合于如上所述的冷冻干燥的条件下。

[0132] 在某些实施方案中，提供了本文公开的化合物（例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和 / 或聚合物结合物包含的任何试剂）的前药、代谢物、立体异构体、水合物、溶剂合物、多晶形物和药物可接受的盐。

[0133] “前药”是指在体内转化成母体药物的试剂。前药通常是有用的，因为在某些情形

下它们比母体药物更容易给药。例如,它们可以通过口服给药而可生物利用的,而母体药物不可以。前药还可以比母体药物在药物组合物中具有改善的溶解度。前药的非限制性实例可以是这样的化合物,其作为酯(“前药”)给药以促进跨过细胞膜的转运,在所述细胞膜处水溶性对移动性是不利的;但是所述酯一旦进入细胞内就被代谢水解为活性实体(active entity)羧酸,在细胞内水溶性是有利的。前药的另一实例可以是与酸基团键合的短肽(聚氨基酸),其中该肽被代谢后显示出活性部分。在例如 Design of Prodrugs(前药设计), (ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985) 中描述了选择和制备合适的前药衍生物的常规方法,在此将其整体内容引入本文作为参考。

[0134] 术语“前药酯”是指通过加入若干种在生理条件下被水解的形成酯的基团中的任一种而形成的本文公开的化合物的衍生物。前药酯基团的实例包括新戊酰氧基甲基、乙酰氧基甲基、2-苯并[c]呋喃酮基、2,3-二氢化茛基和甲氧基甲基,以及本领域已知的其它这样的基团,包括(5-R-2-氧代-1,3-二氧杂环戊烯-4-基)甲基。在例如 T. Higuchi and V. Stella 的“Pro-drugs as Novel Delivery Systems(作为新的输送系统的前药)”, Vol. 14, A. C. S. Symposium Series, American Chemical Society(1975) 和“Bioreversible Carriers in Drug Design: Theory and Application(药物设计中的生物可逆载体:理论和应用)”, edited by E. B. Roche, Pergamon Press: New York, 14-21(1987) (提供可用作含羧基化合物的前药的酯的实例) 中能够找到前药酯基团的其它实例。每一上述参考文献均以参考的方式整体并入本文。

[0135] 术语“药物可接受的盐”是指对其所给药的有机体不引起显著的刺激并且不会消除化合物的生物活性和性质的化合物的盐。在某些实施方案中,所述盐是化合物的酸加成盐。药用盐能够通过使化合物与诸如氢卤酸(如盐酸或氢溴酸)、硫酸、硝酸、磷酸等的无机酸反应而获得。药用盐也能够通过使化合物与诸如脂肪族或芳香族的羧酸或磺酸等有机酸反应而获得,所述有机酸例如乙酸、琥珀酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、烟酸、甲烷磺酸、乙烷磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸或萘磺酸。药用盐也能够通过使化合物与碱反应形成盐来获得,所述盐如铵盐,诸如钠盐或钾盐的碱金属盐,诸如钙盐或镁盐的碱土金属盐,诸如二环己基胺、N-甲基-D-葡萄糖胺、三(羟甲基)甲胺、C₁-C₇烷基胺、环己胺、三乙醇胺、乙二胺的有机碱的盐,以及与诸如精氨酸、赖氨酸等氨基酸形成的盐。

[0136] 如果药物制剂的制造涉及药物赋形剂和盐形式的活性成分的均匀混合,则可以期望使用非碱性的药物赋形剂,即酸性或中性的赋形剂。

[0137] 在各种实施方案中,本文公开的化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)均能够单独使用、与本文公开的其它化合物联合使用或与在本文所述的治疗领域中有活性的一种或多种试剂联合使用。

[0138] 另一方面,本公开涉及药物组合物,其包含一种或多种生理可接受的表面活性剂、载体、稀释剂、赋形剂、光滑剂、助悬剂、成膜物质和包衣助剂(coating assistant)或其组合;和本文公开的化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)。用于治疗作用的可接受的载体或稀释剂在医药领域是公知的,并描述于例如 Remington's Pharmaceutical Sciences(雷明顿制药学), 18th Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA(1990) 中,将其以参考的方式整体并入本文。在药物组合物中可以提供防腐剤、稳定剂、染料、甜味剂、香料、矫味剂等。例如,可加入苯甲酸钠、抗坏血酸和对羟基苯甲

酸的酯作为防腐剂。此外,可以使用抗氧化剂和助悬剂。在各种实施方案中,醇、酯、硫酸化的脂肪醇等可用作表面活性剂;蔗糖、葡萄糖、乳糖、淀粉、结晶纤维素、甘露醇、轻质无水硅酸盐、铝酸镁、硅铝酸镁(magnesium metasilicate aluminate)、合成硅酸铝、碳酸钙、酸式碳酸钠、磷酸氢钙、羧甲基纤维素钙等可用作赋形剂;硬脂酸镁、滑石、硬化油等可用作光滑剂;椰子油、橄榄油、芝麻油、花生油、大豆油可用作助悬剂或润滑剂;作为诸如纤维素或糖等碳水化合物的衍生物的醋酸邻苯二甲酸纤维素或作为聚乙烯衍生物的甲基乙酸酯-甲基丙烯酸酯共聚物可用作助悬剂;以及诸如邻苯二甲酸酯等增塑剂可用作助悬剂。

[0139] 术语“药物组合物”是指本文公开的化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)与诸如稀释剂或载体等其它化学组分的混合物。药物组合物促进化合物对有机体的给药。该领域中存在多种给予化合物的技术,包括但不限于口服、注射、气溶胶、肠道外和局部给药。药物组合物也能够通过使化合物与无机酸或有机酸反应而获得,该无机酸或有机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、甲磺酸、乙磺酸、对苯甲磺酸、水杨酸等。

[0140] 术语“载体”是指促进化合物进入细胞或组织的化学物质。例如二甲基亚砜(DMSO)是常用载体,因为它促进许多有机化合物被吸收进入有机体的细胞或组织。

[0141] 术语“稀释剂”是指溶解所关注的化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)并且使所述化合物的生物活性形式稳定的稀释在水中的化合物。本领域中使用溶解在缓冲溶液中的盐作为稀释剂。一种常用的缓冲溶液是磷酸盐缓冲盐水,因为它模拟人类血液中的盐条件。由于缓冲盐能够在低浓度下控制溶液的pH,因此被缓冲的稀释剂很少改变化合物的生物活性。术语“生理可接受”是指不消除化合物的生物活性和性质的载体或稀释剂。

[0142] 能够将本文所述的药物组合物本身给予人类患者,或者在联合治疗中将它们以与其它活性成分混合的药物组合物形式给予人类患者,或者将它们以与合适的载体或赋形剂混合的药物组合物形式给予人类患者。本申请的化合物的配制和给药技术可以在Remington's Pharmaceutical Sciences(雷明顿制药学),18th Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA(1990)中找到。

[0143] 合适的给药途径可以包括例如口服、直肠、经粘膜、局部、或肠内给药;肠胃外输送,包括肌内、皮下、静脉内、髓内注射,以及鞘内、直接心室内、腹膜内、鼻内或眼内注射。化合物(如聚合物结合物和/或其所包含的试剂)也能够以缓释或控释剂型给药,包括储库注射(depot injection)、渗透泵、丸剂、透皮(包括电迁移)贴剂等,用于以预定速率进行延时的和/或定时的、脉冲的给药。

[0144] 本发明的药物组合物可以其自身公知的方式制造,例如,通过常规的混合、溶解、造粒、制糖衣丸、研磨、乳化、包囊、包埋或压片方法。

[0145] 因此根据本发明使用的药物组合物可以以常规方式使用一种或多种生理可接受的载体进行配制,所述生理可接受的载体包含促进将活性化合物加工成可药用的制剂的赋形剂和助剂。合适的配制依赖于所选的给药途径。可以使用任何合适的并且为本领域所理解的公知技术、载体和赋形剂,如在以上的Remington's Pharmaceutical Sciences(雷明顿制药学)中描述的。

[0146] 能够将注射剂制备成常规形式,可作为液体溶液或混悬液、适于注射前溶解或悬

浮于液体中固体形式、或乳剂。合适的赋形剂例如是水、生理盐水、右旋糖、甘露醇、乳糖、卵磷脂、白蛋白、谷氨酸钠、盐酸半胱氨酸等。此外,若需要,可注射的药物组合物可以含有少量的无毒辅助物质,如润湿剂、pH 缓冲剂等。生理相容的缓冲液包括但不限于 Hanks 溶液、Ringer 溶液或生理盐水缓冲液。若需要,可使用吸收增强剂(例如脂质体)。

[0147] 对于经粘膜给药,可以在制剂中使用适合于待渗透的屏障的渗透剂。

[0148] 用于通过诸如推注或连续输注进行肠胃外给药的药物制剂包括可水溶形式的活性化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)的水溶液。此外,可以将活性化合物的混悬液制备成合适的油性注射混悬液。合适的亲脂性溶剂或介质包括脂肪油,如芝麻油;或其它有机油,如大豆油、葡萄柚油或杏仁油;或合成的脂肪酸酯,如油酸乙酯、或甘油三酯;或脂质体。水性注射混悬液可以含有增加该混悬液粘度的物质,如羧甲基纤维素钠、山梨醇或右旋糖酐。任选地,混悬液还可以含有合适的稳定剂或增加化合物的溶解度以允许制备高度浓缩的溶液的试剂。注射用制剂可以以含有所加入的防腐剂的单位剂型存在,例如在安瓿中或在多剂量容器中。组合物可以采取诸如在油性或水性介质中的混悬液、溶液或乳液的形式,并可含有诸如助悬剂、稳定剂和/或分散剂的配方剂(formulatory agent)。或者,活性成分可以是粉末形式,用于在使用前与诸如无菌无热原的水等合适的介质一起构建。

[0149] 对于口服给药,能够很容易通过将活性化合物与本领域公知的药物可接受载体组合而配制化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)。这样的载体能够使本发明的化合物被配制成片剂、丸剂、糖锭剂、胶囊、液体剂、凝胶、糖浆、悬浮液等,用于待治疗患者的口服摄取。能够通过将活性化合物与固体赋形剂组合、任选地研磨所得混合物并在加入合适的助剂(若需要)之后处理颗粒混合物,以获得片剂或糖衣锭核来获得用于口服应用的药物制剂。特别地,合适的赋形剂是填充剂,如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇;纤维素制剂,如玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉、土豆淀粉、明胶、黄蓍树胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。若需要,可加入崩解剂,如交联的聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或海藻酸或其盐,如海藻酸钠。提供具有合适包衣的糖衣锭核。为此,可使用浓缩的糖溶液,其可任选地含有阿拉伯树胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡波普凝胶、聚乙二醇,和/或二氧化钛、漆溶液,以及合适的有机溶剂或溶剂混合物。可以向片剂或糖衣锭包衣中加入染料或颜料以识别或表征活性化合物剂量的不同组合。为此,可使用浓缩的糖溶液,其可任选地含有阿拉伯树胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡波普凝胶、聚乙二醇,和/或二氧化钛、漆溶液,以及合适的有机溶剂或溶剂混合物。可以向片剂或糖衣锭包衣中加入染料或颜料以识别或表征活性化合物剂量的不同组合。

[0150] 能够口服使用的药物制剂包括由明胶制成的推入配合式胶囊,以及由明胶和诸如甘油和山梨醇的增塑剂制成的柔软密封的胶囊。推入配合式胶囊能够含有与诸如乳糖的填充剂、诸如淀粉的粘合剂和/或诸如滑石或硬脂酸镁的润滑剂以及任选的稳定剂混合的活性成分(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)。在软胶囊中,可将活性化合物溶解或混悬在诸如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇的合适液体中。此外,可以加入稳定剂。所有用于口服给药的制剂的剂量应当是适于这种给药方式的剂量。

[0151] 对于口腔给药,组合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)可以采取以常规方式配制的片剂或锭剂形式。

[0152] 对于吸入给药,使用合适的推进剂将本发明所使用的化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)以来自加压包或喷雾器的气溶胶喷雾表现的形式方便地输送,所述合适的推进剂例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它合适的气体。在加压的气溶胶的情况下,可以通过提供阀门来确定剂量单元以输送计量量。在吸入器或吹药器中使用的例如明胶的胶囊或药筒可以配制成含有化合物和诸如乳糖或淀粉的合适的粉末基质(base)的粉末混合物。

[0153] 本文还公开了医药领域中公知的用于包括眼内、鼻内和耳内输送的各种药物组合物。用于这些用途的合适的渗透剂是本领域公知的。用于眼内输送的药物组合物包括可水溶形式的活性化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)的水性眼用溶液,如滴眼液、或结冷胶形式(Shedden et al., Clin. Ther., 23(3): 440-50(2001))或水凝胶形式(Mayer et al., Ophthalmologica, 210(2): 101-3(1996))的该活性化合物的水性眼用溶液;眼用软膏;眼用混悬液,如悬浮于液体载体介质中的微粒、含药的小的聚合颗粒(Joshi, A., J. Ocul. Pharmacol, 10(1): 29-45(1994))、脂溶制剂(Aim et al., Prog. Clin. Biol. Res., 312: 447-58(1989))和微球(Mordenti, Toxicol. Sci., 52(1): 101-6(1999));以及眼部插入剂。在此将所有上述参考文献都整体引入本文作为参考。这些合适的药物制剂最通常并优选将其配制成无菌、等渗和缓冲的,以使之稳定舒适。用于鼻内输送的药物组合物还可以包括滴剂和喷雾剂,其通常制备为在许多方面模拟鼻分泌物以确保维持正常的纤毛作用。如 Remington's Pharmaceutical Sciences(雷明顿制药学), 18th Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA(1990) 中公开的,在此将其整体引入作为参考,以及本领域技术人员公知的,合适的制剂最通常并优选等渗的、稍微缓冲的以维持 pH 为 5.5 至 6.5,并且最通常并优选包括抗微生物防腐剂和合适的药物稳定剂。用于耳内输送的药物制剂包括在耳中局部应用的混悬液和软膏。用于这样的耳制剂的常用溶剂包括甘油和水。

[0154] 也可以将化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)配制在诸如栓剂或保留灌肠剂的直肠组合物中,例如含有诸如可可油或其它甘油酯的常规栓剂基质。

[0155] 除前述制剂以外,也可以将化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)配制成储库制剂。这样的长效制剂可以通过植入(如皮下或肌内)或通过肌内注射给药。因此,例如,化合物可以与合适的聚合材料或疏水材料配制(例如配制为在可接受的油中的乳剂),或与离子交换树脂配制,或配制为微溶的衍生物,如微溶的盐。

[0156] 对于疏水化合物,合适的药物载体可以是共溶剂体系,其包含苄醇、非极性表面活性剂、可与水混溶的有机聚合物和水相。所用的常见共溶剂体系是 VPD 共溶剂系统,其为 3% w/v 苄醇、8% w/v 非极性表面活性剂 Polysorbate 80™ 和 65% w/v 聚乙二醇 300 的溶液,并用无水乙醇补足体积。自然,可以显著改变共溶剂体系的比例而不破坏其溶解性和毒性特征。此外,可以改变共溶剂组分的特性:例如,可以用其它的低毒性非极性表面活性剂代替 POLYSORBATE 80™;可以改变聚乙二醇的片段大小;可以用其它生物相容的聚合物取

代聚乙二醇,如聚乙稀吡咯烷酮;并且可以用其它糖或多糖取代右旋糖。

[0157] 或者,可以使用用于疏水性药物化合物的其它输送系统。脂质体和乳剂是众所周知的用于疏水性药物的输送介质或载体的实例。可以使用某些有机溶剂,如二甲基亚砜,尽管通常要以较大的毒性为代价。或者,可以用缓释系统输送化合物,如含有治疗剂的固体疏水性聚合物的半透性基质。本领域技术人员已经建立并熟知各种缓释材料。根据其化学性质,缓释胶囊可以释放药物数小时或数周,多达超过 100 天。根据治疗剂的化学性质和生物稳定性,可以使用用于蛋白稳定作用的其它策略。

[0158] 旨在细胞内给药的试剂可以用本领域普通技术人员已知的技术进行给药。例如,可以将这样的试剂封装入脂质体内。在脂质体形成时存在于水溶液中的所有分子被并入水性内部。脂质体的内容物都被保护不受外部微环境的影响,而且因为脂质体与细胞膜融合,脂质体的内容物被有效地输送至细胞质内。可以用组织特异性抗体包被脂质体。该脂质体被靶向所期望的器官并被其选择性吸收。或者,小的疏水性有机分子可以直接细胞内给药。

[0159] 可以将其它治疗剂或诊断剂并入药物组合物中。或者或此外,可以将药物组合物与含有其它治疗剂或诊断剂的其它组合物联合。

[0160] 可以通过任何合适的方法将本文所述的组合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)给予患者。给药方法的非限制性实例包括:(a) 通过口服途径给药,包括以胶囊、片剂、颗粒、喷雾剂、糖浆或其它这样的形式给药;(b) 通过如直肠、阴道、尿道内、眼内、鼻内或耳内的非口服途径给药,包括以水性混悬液或油性制剂或其它形式或以滴剂、喷雾剂、栓剂、软膏、油膏等形式给药;(c) 通过皮下、腹膜内、静脉内、肌内、皮内、眶内、囊内、脊柱内、鞘内等注射形式给药,包括输液泵输送;(d) 局部给药,如通过直接注射在肾脏或心脏区域,例如通过储库式植入;以及(e) 局部给药;本领域技术人员认为合适的使活性化化合物与活组织接触的方法。

[0161] 适于给药的组合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性药物和/或聚合物结合物所包含的试剂)包括这样的组合物,其中含有能有效实现其预期目的的量的活性成分。作为剂量所需要的本文公开的化合物的治疗有效量取决于给药途径、所治疗的包括人在内的动物类型和所考虑的具体动物的身体特征。能够调整剂量以实现所期望的效果,但是会取决于诸如体重、饮食、同时使用的药物等因素,以及医药领域技术人员会认可的其它因素。更具体地,治疗有效量是指有效地预防、缓解或改善疾病症状或延长所治疗对象的存活时间的化合物的量。治疗有效量的确定完全在本领域技术人员的能力范围之内,尤其是根据本文提供的详细公开内容。

[0162] 对本领域技术人员而言显而易见的,待给予的体内有用剂量和具体给药模式会根据年龄、体重和所治疗的哺乳动物种类、使用的具体化合物以及使用这些化合物的具体用途而变化。有效剂量水平,即实现所期望的结果必需的剂量水平的确定能够由本领域技术人员使用常规的药理学方法完成。通常,产品的人体临床应用以较低的剂量水平开始,增加剂量水平直至达到所期望的效果。或者,能够使用可接受的体外研究,使用确立的药理学方法来确定通过本发明的方法鉴定的组合物的有用剂量和给药途径。

[0163] 在非人类的动物研究中,潜在产品的应用通常以较高的剂量水平开始,降低剂量直至不再达到所期望的效果或不良副作用消失。根据所期望的效果和治疗的适应症,剂量可以宽泛地变化。通常,剂量可以为约 10 微克/kg 至 100mg/kg 体重,优选为约 100 微克/

kg 至 10mg/kg 体重。或者,可以如本领域技术人员理解的那样,根据患者的表面积计算剂量。

[0164] 本文所述组合物的确切的制剂、给药途径和剂量能够由个体医师根据患者情况进行选择。(参见例如, Fingl et al.1975, “The Pharmacological Basis of Therapeutics(治疗学的药理学基础)”中,其整体内容在此引入作为参考,具体参考 Ch. 1, p. 1)。通常,向患者给予的组合物的剂量范围能够是约 0.5 至 1000mg/kg 患者体重。根据患者的需要,剂量可以是单一剂量或者是一天或更多天的过程中给予的一系列的二次剂量或多次剂量。在对于至少某些疾病状态的化合物的人体剂量已被确立的情况下,本发明将使用那些相同的剂量,或使用已确立的人体剂量的约 0.1% 至 500%、更优选约 25% 至 250% 的剂量。当人体剂量未被确立时,如本文所述的新发现的药物组合物的情况,合适的人体剂量能够由 ED_{50} 值或 ID_{50} 值推测,或由得自于体外或体内研究的其它合适的值来推测,如由动物的毒性研究和有效性研究所取得的值来推测。

[0165] 应当指出,主治医师会知道如何以及何时由于毒性或器官功能障碍而终止、中断或调整给药。相反地,主治医师还会知道如果临床反应不充分(排除毒性)而将治疗调整至更高的水平。在所关注的病症的处理中,给药剂量的量值将随着待治疗的疾病状态的严重性以及给药途径而变化。疾病状态的严重性可以部分地通过例如常规的预后评价方法而评价。此外,剂量和可能的剂量频率也会根据个体患者的年龄、体重和响应而变化。在兽医学中可使用与上文所讨论的程序相类似的程序。

[0166] 虽然确切的剂量将基于各个药物(drug-by-drug basis)来确定,但在大多数情况下,能够对剂量进行某些概括。用于成人患者的日剂量方案可以是,例如,每种活性成分的 0.1mg 至 2000mg、优选 1mg 至 500mg、例如 5mg 至 200mg 的口服剂量。在其它实施方案中,使用每种活性成分的 0.01mg 至 100mg、优选 0.1mg 至 60mg、例如 1mg 至 40mg 的静脉内剂量、皮下剂量或肌肉内剂量。在给予药物可接受的盐的情况下,剂量可按照游离碱而计算。在某些实施方案中,组合物每天给药 1 至 4 次。或者,本发明的组合物可优选地以每种活性成分高达 1000mg 每天的剂量,通过持续静脉内输注给药。本领域技术人员应理解,在某些情形下可能有必要以超过、或者甚至远远超过上述优选的剂量范围的量来给予本文公开的化合物,以便有效地且强烈地(aggressively)治疗特别严重的疾病或感染。在某些实施方案中,给予化合物一段持续治疗期,例如一周或更多,或者数月或若数年。

[0167] 可个别地调整剂量和间隔以提供足以维持调节作用的活性部分的血浆水平,或提供最低有效浓度(MEC)。MEC 对于每种化合物是不同的,但能够由体外数据估计。达到 MEC 所必需的剂量将取决于个体特征和给药途径。然而,HPLC 测定或生物测定能够用于确定血浆浓度。

[0168] 还能够使用 MEC 值确定给药间隔。应当使用以下方案给予组合物:该方案在 10% -90% 的时间,优选在 30% -90% 的时间且最优选地在 50% -90% 的时间内将血浆水平保持在 MEC 以上。

[0169] 在局部给药或选择性摄入的情况下,药物的有效局部浓度可能与血浆浓度无关。

[0170] 给予的组合物的量可取决于被治疗的个体、个体的体重、痛苦的严重性、给药方式和处方医师的判断。

[0171] 能够使用已知方法评价本文公开的化合物(例如组合物、聚合物结合物、疏水性

药物和 / 或聚合物结合物所包含的试剂) 的效能和毒性。例如, 特定化合物的毒理学或共享某些化学部分的化合物子集的毒理学, 可以通过确定对诸如哺乳动物细胞系, 优选人细胞系等细胞系的体外毒性而确立。这种研究的结果通常对在诸如哺乳动物或更特别地为人的动物中的毒性是有预言性的。或者, 可使用已知方法确定特定化合物在诸如小鼠、大鼠、家兔或猴的动物模型中的毒性。可使用诸如体外法、动物模型或人体临床试验等数种公认的方法来确定特定化合物的效能。对于几乎每类疾病状态均存在公认的体外模型, 所述疾病状态包括但不限于癌症、心血管疾病和各种免疫功能障碍。类似地, 可使用可接受的动物模型来确立化合物治疗这种疾病状态的效能。当选择模型以确定效能时, 技术人员能够根据现有技术的教导来选择合适的模型、剂量和给药途径以及方案。当然, 还能够使用人体临床试验以确定化合物在人中的效能。

[0172] 如果需要, 本文所述的组合物能以包(pack) 或分配器装置(dispenser device) 的方式给药, 该包或分配器装置可以含有一个或多个含活性成分的单位剂型。所述包可例如包含金属箔或塑料箔, 如泡罩包装。所述包或分配器装置可附有给药说明书。所述包或分散器还可附有以由管理医药品的制造、使用或销售的政府部门指定的形式的与该容器相关的注意事项, 该注意事项反映了由该部门批准的用于人类给药或兽医给药的药物的形式。这样的注意事项, 例如, 可以是由美国食品与药品管理局对方药批准的标签或者是批准的产品说明书。配制在相容的药物载体中的本文所述的组合物还可被制备、放置在合适的容器中并贴标签以用于治疗所指定的疾病状态。

[0173] 包含通式(I) 重复单元的聚合物和共聚物可以具有多种不同的用途。一实施方案提供了治疗或改善疾病或疾病状态的方法, 其包括向有需要的哺乳动物给予有效量的一种或多种本文所述的聚合物结合物或本文所述的药物组合物。另一实施方案提供了有效量的一种或多种本文所述的聚合物结合物或本文所述的药物组合物在治疗或改善疾病或疾病状态中的用途。在一实施方案中, 疾病或疾病状态选自肺肿瘤、乳腺肿瘤、结肠肿瘤、卵巢肿瘤、前列腺肿瘤和黑素瘤肿瘤。在一实施方案中, 疾病或疾病状态选自肺癌、乳腺癌、结肠癌、卵巢癌、前列腺癌和黑素瘤。

[0174] 一实施方案提供了诊断疾病或疾病状态的方法, 其包括向有需要的哺乳动物给予有效量的一种或多种本文所述的聚合物结合物或本文所述的药物组合物。另一实施方案提供了有效量的一种或多种本文所述的聚合物结合物或本文所述的药物组合物在诊断疾病或疾病状态中的用途。在一实施方案中, 疾病或疾病状态选自肺肿瘤、乳腺肿瘤、结肠肿瘤、卵巢肿瘤、前列腺肿瘤和黑素瘤肿瘤。在一实施方案中, 疾病或疾病状态选自肺癌、乳腺癌、结肠癌、卵巢癌、前列腺癌和黑素瘤。

[0175] 一实施方案提供了使组织的一部分成像的方法, 其包括使组织的一部分与有效量的一种或多种本文所述的聚合物结合物或本文所述的药物组合物接触。另一实施方案提供了有效量的一种或多种本文所述的聚合物结合物或本文所述的药物组合物在使组织的一部分成像中的用途。在某些实施方案中, 被成像的组织能够是来自肺肿瘤、乳腺肿瘤, 结肠肿瘤、卵巢肿瘤、前列腺肿瘤和黑素瘤肿瘤的组织。

实施例

[0176] 提供以下实施例以用于进一步描述本文所述的实施方案, 而不是限制本发明的范

围。

[0177] 材料：

[0178] 具有不同分子量的聚 L- 谷氨酸钠盐（基于多角度光散射 (MALS)，平均分子量为 41,400 (PGA (97k))、17,600 (PGA (44k))、16,000 (PGA (32k)) 和 10,900 (PGA (21k)) 道尔顿)；N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC)、羟基苯并三唑 (HOBt)、吡啶、4-二甲氨基吡啶 (DMAP)、N,N'-二甲基甲酰胺 (DMF)、醋酸钕、氯仿、喜树碱和碳酸氢钠均购自 Sigma-Aldrich 化学公司。用 2N 盐酸溶液将聚 L- 谷氨酸盐转化成聚 L- 谷氨酸。三氟乙酸 (TFA) 购自 Bioscience。L- 谷氨酸二叔丁酯盐酸盐 (H-Glu(OtBu)-OtBu-HCl)、N- α -CBZ-L- 谷氨酸 α -苄酯 (Z-Glu-OBzI) 购自 Novabiochem (La Jolla, CA)。紫杉醇购自 PolyMed (Houston, Texas)。³H- 紫杉醇购自 Moravsek Biochemicals, Inc。用于细胞毒性 MTT 测试（细胞存活能力）的磺酰罗丹明 B 染料购自 Molecular Imaging Products Company (Michigan)。化学制品 p-NH₂-Bn-DPTA-五（叔丁酯）购自 Macrocyclics (Dallas, Texas)。

[0179] ¹H NMR 由 Joel (400MHz) 获得，粒径通过 ZetalPals (Brookhaven Instruments Corporation) 测定。微波化学在 Biotage 中进行。聚合物的分子量通过与多角度光散射 (MALS) (Wyatt Corporation) 检测器组合的排阻色谱法 (SEC) 测定。聚合物-紫杉醇结合物中紫杉醇的含量通过 UV/Vis 分光光度法 (Lambda Bio 40, PerkinElmer)、基于用甲醇中已知浓度的紫杉醇产生的标准曲线 ($\lambda = 228\text{nm}$) 来推定。

[0180] 聚-(γ -L-谷氨酰基-谷氨酰胺) 按照 2006 年 12 月 1 日提交的第 2007-0128118 号美国专利申请中描述的方法由聚谷氨酸钠盐制备，在此将该专利申请的整体内容引入作为参考，并特定地用于描述其中所述的聚合物（例如聚-(γ -L-谷氨酰基-谷氨酰胺)、聚-(γ -L-天冬氨酰基-谷氨酰胺)、聚-(γ -L-谷氨酰基-谷氨酰胺)-聚-L-谷氨酸和聚-(γ -L-天冬氨酰基-谷氨酰胺)-聚-L-谷氨酸)的合成。聚(β -天冬氨酰基-谷氨酰胺)-紫杉醇结合物 (PGA-21-A-紫杉醇-20) 和聚(γ -L-谷氨酰基-谷氨酰胺)-紫杉醇结合物 (PGA-21-G-紫杉醇-20 和 PGA-32-G-紫杉醇-20) 按照 2006 年 12 月 1 日提交的第 2007-0128118 号美国专利申请中描述的方法制备。根据以前的文献实施聚-L-谷氨酸盐-紫杉醇结合物 (PGA-PTX) 的合成。参见 Li et al. "Complete Regression of Well-established tumors using a novel water-soluble poly(L-glutamic acid)-paclitaxel conjugate (使用新的水溶性聚(L-谷氨酸)-紫杉醇结合物使充分确立的肿瘤完全衰退)." Cancer Research 1998, 58, 2404-2409, 其内容在此整体引入作为参考。

[0181] 使用下述体系和条件确定聚合物的平均分子量（下文中称为具有 MALS 检测器的 Heleos 体系）。

[0182] SEC-MALS 分析条件：

[0183] ■ HPLC 体系：Agilent 1200

[0184] ■ 柱：Shodex SB 806M HQ

[0185] (普鲁兰多糖的排阻限是 20,000,000, 粒径：

[0186] 13 微米, 尺寸 (mm) ID × 长度为 8.0 × 300)

[0187] ■ 流动相：1 × DPBS 或 1% LiBr 于 PBS 中 (pH 7.0)

- [0188] ■流速：1ml/min
- [0189] ■ MALS 检测器：来自 Wyatt 的 DAWN HELEOS
- [0190] ■ DRI 检测器：来自 Wyatt 的 Optilab rEX
- [0191] ■在线粘度计：来自 Wyatt 的 ViscoStar
- [0192] ■软件：来自 Wyatt 的 ASTRA 5.1.9
- [0193] ■样品浓度：1mg/ml 至 2mg/ml
- [0194] ■注射体积：100 μ l

[0195] 测量中使用的聚合物 dn/dc 值为 0.185。

[0196] 在运行实际样品前,使用 BSA 作为对照。

[0197] 实施例 1

[0198] 使用 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的第一紫杉醇制剂：

[0199] 将由起始聚合物聚-(γ -谷氨酰基)-聚-L-谷氨酰胺-19,800 制备的并且具有 20%重量比含量的紫杉醇的 PGA-21-G- 紫杉醇 -20(110mg) 溶于蒸馏水(3mL)中。将样品声处理 5 分钟。然后使用移液管将紫杉醇(22mg)的乙醇(0.4mL)溶液添加至该样品中。然后再将溶液混合物声处理 5 分钟。将所得混合物冷冻干燥并在进行进一步实验前储存于 -20℃下。

[0200] 实施例 2

[0201] 使用 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的第二紫杉醇制剂：

[0202] 将 PGA-21-G- 紫杉醇 -20(110mg) 溶于蒸馏水(3mL)中。将样品声处理 5 分钟。然后使用移液管将紫杉醇(11mg)的乙醇(0.4mL)溶液添加至该样品中。然后再将溶液混合物声处理 5 分钟。将所得混合物冷冻干燥并在进一步实验前储存于 -20℃下。

[0203] 实施例 3

[0204] 使用 PGA-32-G- 紫杉醇 -20 的紫杉醇制剂：

[0205] 将由起始聚合物聚-(γ -谷氨酰基)-聚-L-谷氨酰胺-37,400 制备的并且具有 20%重量比含量的紫杉醇的 PGA-32-G- 紫杉醇 -20(110mg) 溶于蒸馏水(3mL)中。将样品声处理 5 分钟。然后使用移液管将紫杉醇(22mg)的乙醇(0.4mL)溶液添加至该样品中。再将溶液混合物声处理 5 分钟。将所得混合物冷冻干燥并在进一步实验前储存于 -20℃下。

[0206] 实施例 4

[0207] 使用乙醇：Cremophor®的第一对照紫杉醇制剂：

[0208] 通过将紫杉醇以 30mg/mL 的浓度溶于乙醇与 Cremophor 的 1 : 1 的溶液中制备非聚合的对照样品,所述 Cremophor 为聚氧乙烯醚蓖麻油(蓖麻油酸、聚乙二醇酯、甘油聚乙二醇酯和聚乙二醇的混合物)。在将该溶液用于测试前,临注射前立即用生理盐水将其稀释至 6mg/mL 的浓度。

[0209] 实施例 5

[0210] 用于药物动力学和药效学的使用 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的第三紫杉醇制剂：

[0211] 将 PGA-21-G- 紫杉醇 -20(110mg) 溶于蒸馏水(3mL)中。将样品声处理 5 分钟。然后,用移液管将紫杉醇(22mg)的乙醇(0.5mL)溶液和 H- 紫杉醇 220 μ l(1mCi/mL)(用于检测目的)添加至该样品中。用蒸馏水将溶液的最终体积调节至 4mL。再将溶液混合物声处理 5 分钟。将溶液分入 5 个小的单独的小瓶中(0.8mL/小瓶)。将小瓶中的样品冷冻干

干燥并在进一步实验前储存于低温下 (-20°C)。

[0212] 实施例 6

[0213] 用于 PKPD 的使用乙醇: Cremophor® 的第二对照紫杉醇制剂:

[0214] 通过将紫杉醇 (22mg) 以 30mg/mL 的浓度溶于乙醇与 Cremophor 的 1 : 1 的溶液中制备对照样品, 并使用移液管将 ³H- 紫杉醇 220ul (1mCi/mL) (氟用于检测目的) 添加至该样品中。在将该溶液用于测试前, 临注射前立即用生理盐水将其稀释至 6mg/mL 的浓度。

[0215] 实施例 7

[0216] 细胞培养物及制备:

[0217] B16F0 细胞购自 ATCC (CRL-6322, ATCC 美国典型微生物菌种保藏中心, Rockville, MD) 并在含有 10% 胎牛血清和 100 单位/mL 青霉素的 Dulbecco 改良的 Eagle 培养基 (DMEM) 中生长。细胞在 37°C、含 5% CO₂ 的环境中生长。移除培养基并弃去。用 Dulbecco 磷酸缓冲液 (DPBS) 淋洗细胞然后将胰蛋白酶 - 乙二胺四乙酸 (EDTA) 溶液 (0.5ml) 添加至该细胞中。通过在倒置显微镜下观察细胞来确定细胞的分散。然后添加完全生长培养基 (6.0 至 8.0ml), 并通过轻轻地吸移以吸出细胞。将合适的等分的细胞悬液转移至新的培养板上。进一步实验前, 使细胞于 37°C 下在 5% 的 CO₂ 中生长 24 小时。

[0218] 实施例 8

[0219] 体外细胞毒性 MTT 研究

[0220] 用生理盐水 (0.9% NaCl 的无菌水溶液) 将实施例 1-4 中制备的制剂重组, 使紫杉醇的浓度为 6mg/mL。在若干不同的药物浓度下, 评价本文描述的这些含有紫杉醇的制剂对 B 16F0 黑素瘤细胞的增殖的作用。按照 Monks et al. JNCI 1991, 83, 757-766 所报道的那样进行细胞毒性 MTT 测定, 在此将其整体内容引入作为参考。

[0221] 实施例 9

[0222] 用于药物动力学的动物和肿瘤模型

[0223] 裸鼠 (6-7 周龄, 体重 25-30 克, 雌性) 购自 Charles River Lab (Willington, MA)。B16F0 细胞系购自 ATCC (CRL-6322, ATCC 美国典型微生物菌种保藏中心, Rockville, MD)。在补充有 10% 胎牛血清、2 μM 谷氨酰胺、1mM 非必需氨基酸、1mM 丙酮酸钠、100U/ml 青霉素和 100ug/ml 链霉素的 DMEM 中培养 B16F0 细胞。对从组织培养中收获的 B16F0 细胞进行计数并重悬浮至 5×10⁶ 个/mL 的浓度。使用 TB 注射器将 0.4mL 的含有细胞的溶液 (总计 2×10⁶ 个细胞) 经皮下注射给予每只小鼠。对每只动物接种四个肿瘤。肿瘤的位置为右肩、左肩、右臀、左臀。

[0224] 实施例 9a

[0225] 用生理盐水 (0.9% NaCl 的无菌水溶液) 将实施例 5 中制备的制剂重组至紫杉醇浓度为 6mg/mL。一旦来自实施例 9 的小鼠的全部群体的平均肿瘤体积已经达到 200-300mm³ (直径 6-8mm), 则每一带有肿瘤的动物接受 20mg/kg 的实施例 5 中所述的使用 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的紫杉醇制剂的单次 IV 推注, 或接受 20mg/kg 的实施例 6 中所述的使用乙醇和 Cremophor 的紫杉醇制剂的单次 IV 推注。对于每一药物, 在多个时间点将有 4 只小鼠的组麻醉。麻醉时间为 (小时): 0.5、2、4 和 24。

[0226] 经由心脏穿刺或眼球后穿刺将 0.5ml 量的血液收集在肝素化的管中。然后在从麻醉中苏醒之前将小鼠处死。将每一小鼠的血液样品在 11,000rpm 下离心。采集来自该血液

样品的上清血浆 (0.2mL 至 0.3mL) 并转移至新的小瓶中。将每一样品的 0.1mL 血浆样品分别转移至新的 10mL 小瓶中,并向该小瓶中添加液体闪烁溶液 (5mL)。使用液体闪烁 LS6500 计数系统 (Beckman) 分析紫杉醇的含量,并由每一样品的标准曲线计算该含量。结果如图 2 所示。

[0227] 与对照样品相比,使用 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的紫杉醇制剂的紫杉醇浓度在更长时间内保持高许多的水平。这些结果表明,与使用乙醇和 Cremophor 的紫杉醇制剂相比,使用 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的新紫杉醇制剂在血液循环中有更长期的效果。

[0228] 实施例 9b

[0229] 用生理盐水 (0.9% NaCl 的无菌水溶液) 将实施例 5 中制备的制剂重组至紫杉醇浓度为 6mg/mL。一旦来自实施例 9 的小鼠的全部群体的平均肿瘤体积已经达到 $200-300\text{mm}^3$ (直径 6-8mm), 则每一带有肿瘤的动物接受 20mg/kg 的实施例 5 中所述的使用 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的紫杉醇制剂的单次 IV 推注,或接受 20mg/kg 的实施例 6 中所述的使用乙醇和 Cremophor 的紫杉醇制剂的单次 IV 推注。对于每一药物,在多个时间点将具有 4 只小鼠的组麻醉。麻醉时间为 (小时): 0.5、2、4 和 24。

[0230] 独立地收集来自两臀和两肩的肿瘤。然后,在从麻醉中苏醒之前将小鼠处死。将大约 80-180mg 的每一肿瘤放入闪烁小瓶中,并用 Soluene (组织增溶剂) (1mL) 消化肿瘤。然后,将 0.1mL 被消化的组织转移到 10-mL 小瓶中,向小瓶中加入液体闪烁混合液 (5mL)。使用液体闪烁 LS6500 计数系统 (Beckman) 分析紫杉醇的含量,并由每一样品的标准曲线计算该含量。结果如图 3 所示。

[0231] 与对照样品相比,使用 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的制剂的紫杉醇在肿瘤中的积聚在更长时间内保持高许多的水平。这些结果表明,与使用乙醇和 Cremophor 的紫杉醇制剂相比,使用 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的新紫杉醇制剂在血液循环中有更长期的效果。这些结果表明,与使用乙醇和 Cremophor 的紫杉醇制剂相比,使用 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的紫杉醇制剂具有改善的在肿瘤中的积聚。

[0232] 实施例 10

[0233] 用于体内效能研究的动物和肿瘤模型

[0234] 裸鼠 (6 至 8 周龄,体重 21g 至 25g,雄性) 购自 Charles River Lab (Willington, MA)。使 B16-F0-EGFP 稳定细胞在补充有 10% 牛血清、100U/ml 青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素的 DMEM 中进行细胞培养生长。接种前使细胞分裂 48 小时,使得在收集时它们在对数生长期。使用胰蛋白酶-EDTA 从组织培养中收集细胞,并通过在台盼蓝的存在下在血细胞计数器中进行计数以测定存活细胞的数目。在没有血清的 DMEM 培养基中将细胞悬浮至 5×10^6 个每 mL 的浓度。通过注射 0.1mL 的肿瘤细胞混悬液而使用 1cc 胰岛素注射器以 5×10^6 个细胞每 mL 的浓度在每一肩和每一臀上接种肿瘤细胞混悬液 (每一小鼠 4 处)。

[0235] 在接种肿瘤的当天,将小鼠按顺序置于 6 组中的一组并将 3 只小鼠饲养在笼子中,总共 12 只笼子。在接种肿瘤时,在麻醉下对每一小鼠进行耳穿刺,使得其在整个实验中能够被独特地识别。将每一只笼子用药物、对其含有的动物给予的药物剂量及其含有的动物的数目来标记。

[0236] 实施例 10a

[0237] 测量根据实施例 1 制备的聚合物在最大耐受剂量 (MTD) 下的重量减轻毒性。MTD

在此被定义为在两周内产生最大 15% 体重减轻的剂量。用生理盐水 (0.9% NaCl 的无菌水溶液) 将实施例 1 中制备的制剂重组, 直至基于 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的浓度为 50mg/mL。本实施例的阳性对照是抗癌药 PGA-21-G- 紫杉醇 -20。生理盐水也用作无抗肿瘤药物的阴性对照。

[0238] 根据每一动物的体重来确定注射进动物体内的药物的实际量。当小鼠的全部群体的平均肿瘤大小达到约 15mm³ 至约 50mm³ (肿瘤大小由公式 $(w^2 \times l)/2$ 估算, 其中“l”是肿瘤的最长直径且“w”是以毫米为单位测量的垂直于最长直径的直径) 时, 对小鼠进行药物的第一次给药。小鼠在连续两天中经尾部静脉内注射且无麻醉地接受药物的 2 次给药。在注射当天新鲜制备储备溶液。将药物储备溶液吸入 1-cc 注射器中并静脉注射。将小鼠称重, 精确至 0.1g。以 175mg/kg 剂量对裸 nu/nu 小鼠注射高剂量的单独的 PGA-21-G-20 聚合物或以 225mg/kg 剂量对裸 nu/nu 小鼠注射高剂量的 PGA-21-G-20 聚合物与紫杉醇的制剂。随时间 (天) 独立地观察并记录每一药物治疗后的体重变化 (%)。结果如图 4 所示。

[0239] 与单独的 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 相比, 与 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 组合的紫杉醇的制剂在高得多的剂量下显示出相对等的体重减轻。这些结果表明本发明的使用 PGA-21-G-20 的制剂对小鼠的毒性比对照样品更低。

[0240] 实施例 10b

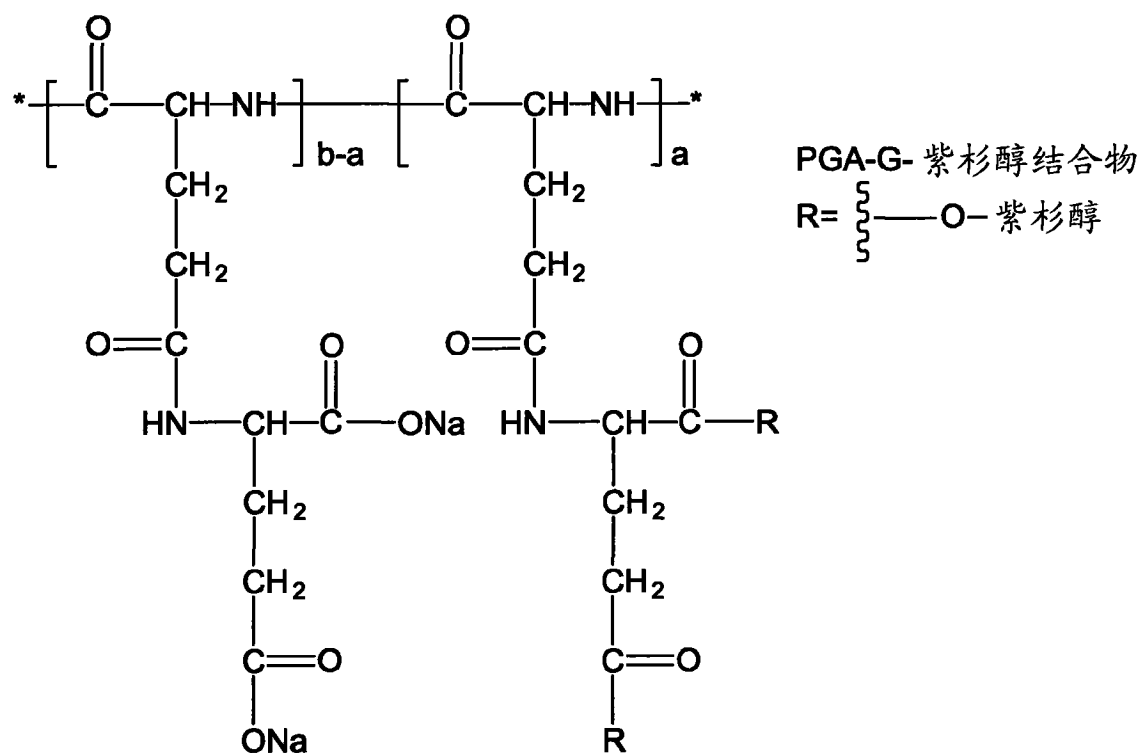
[0241] 体内效能研究

[0242] 测定了与 PGA-21-G-20 聚合物组合的紫杉醇制剂和单独的 PGA-21-G-20 聚合物在最大耐受剂量 (MTD) 下对实施例 10 中所述的裸 nu/nu 小鼠中的 B16F0-EGF 黑素瘤肿瘤随时间的抗肿瘤效果。将生理盐水用作阴性对照。用生理盐水 (0.9% NaCl 的无菌水溶液) 将实施例 1 中制备的制剂重组, 直至基于 PGA-21-G- 紫杉醇 -20 的浓度为 50mg/mL。本实施例的阳性对照是抗癌药 PGA-21-G- 紫杉醇 -20。将生理盐水用作不含抗肿瘤药物的阴性对照。

[0243] 根据每一动物的体重确定注射进动物体内的药物的实际量。当研究中的小鼠的全部群体的平均肿瘤大小达到 15mm³ 至 50mm³ 时, 对小鼠进行药物的第一次给药。小鼠在连续两天中经尾部静脉内注射且无麻醉地接受药物的 2 次给药。在注射当天新鲜制备储备溶液。将药物储备溶液吸入 1-cc 注射器中并静脉内注射。测定肿瘤大小, 精确至 0.1mm。以 175mg/kg 剂量对裸 nu/nu 小鼠注射高剂量的 PGA-21-G-20 聚合物或以 225mg/kg 剂量对裸 nu/nu 小鼠注射高剂量的 PGA-21-G-20 与紫杉醇的制剂。随时间 (天) 独立地观察并记录每一药物治疗后的肿瘤的体积变化 (%)。结果如图 5 所示。

[0244] 与 PGA-21-G-20 组合的紫杉醇的制剂明显抑制了肿瘤生长。这些结果表明本文所述的第一疏水性药物、第二疏水性药物和聚合物结合物的组合物是有效的抗癌剂。

[0245] 本领域技术人员会理解, 能够进行多种不同的修改而不偏离本发明的精神。因此, 应当清楚地理解, 本发明的形式仅是示例性的而非旨在限制本发明的范围。



例如

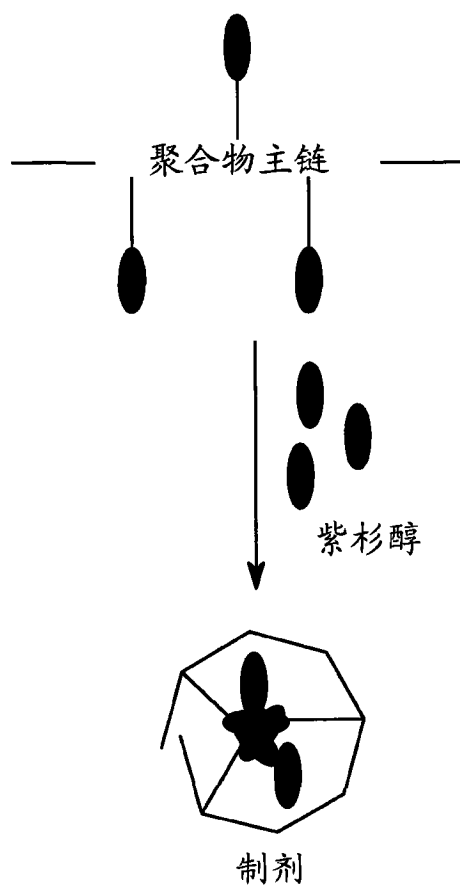


图 1

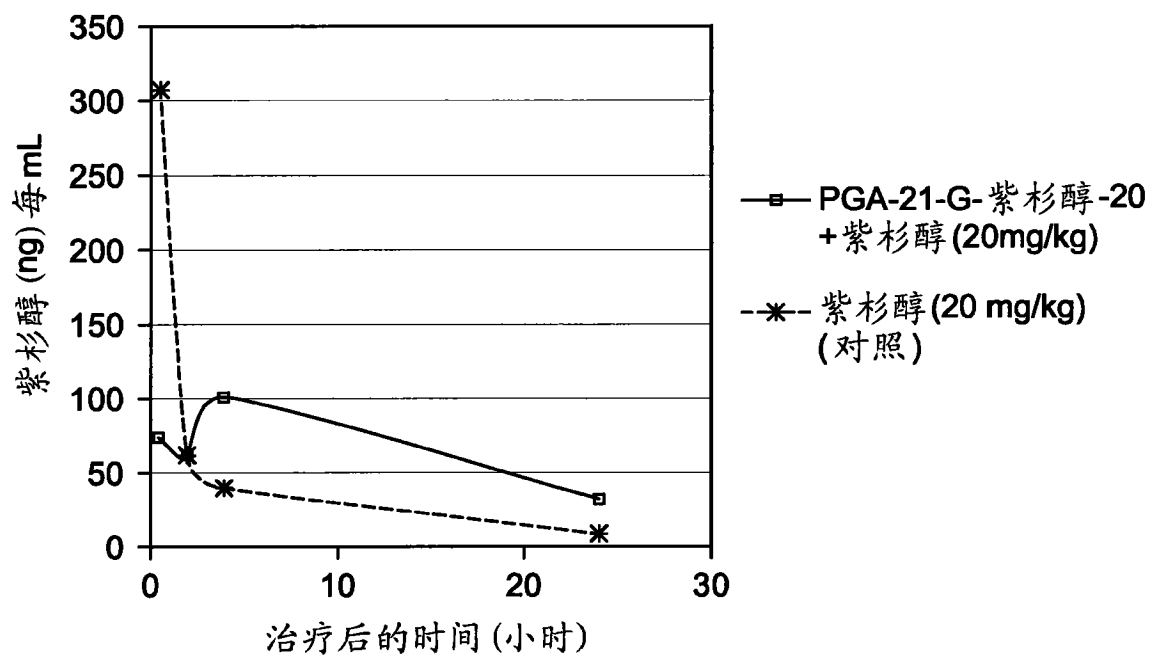


图 2

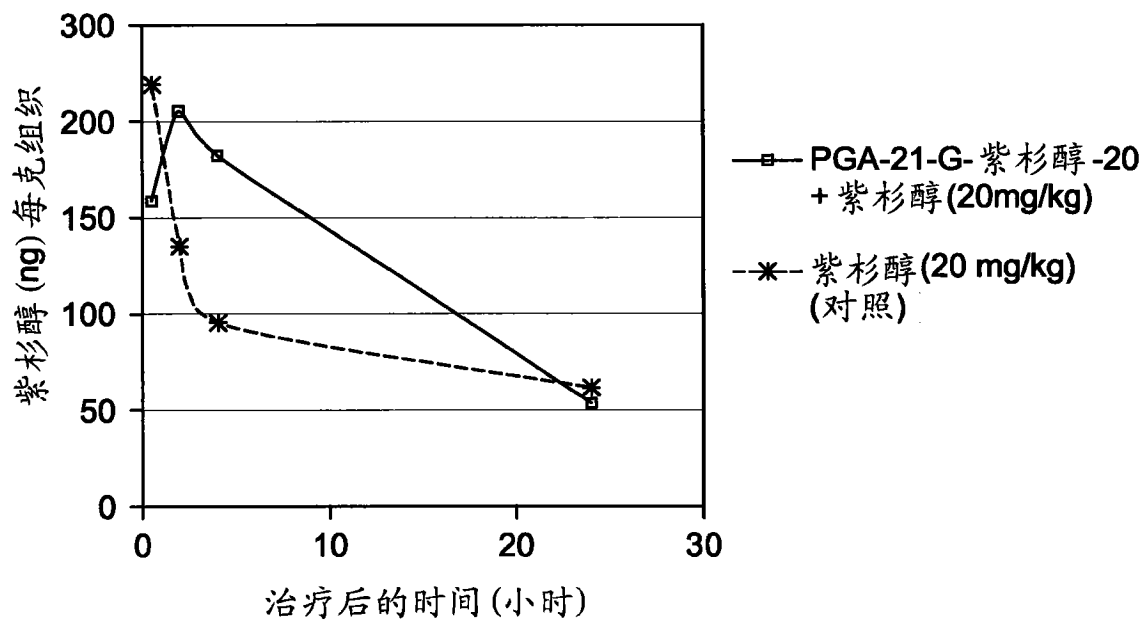


图 3

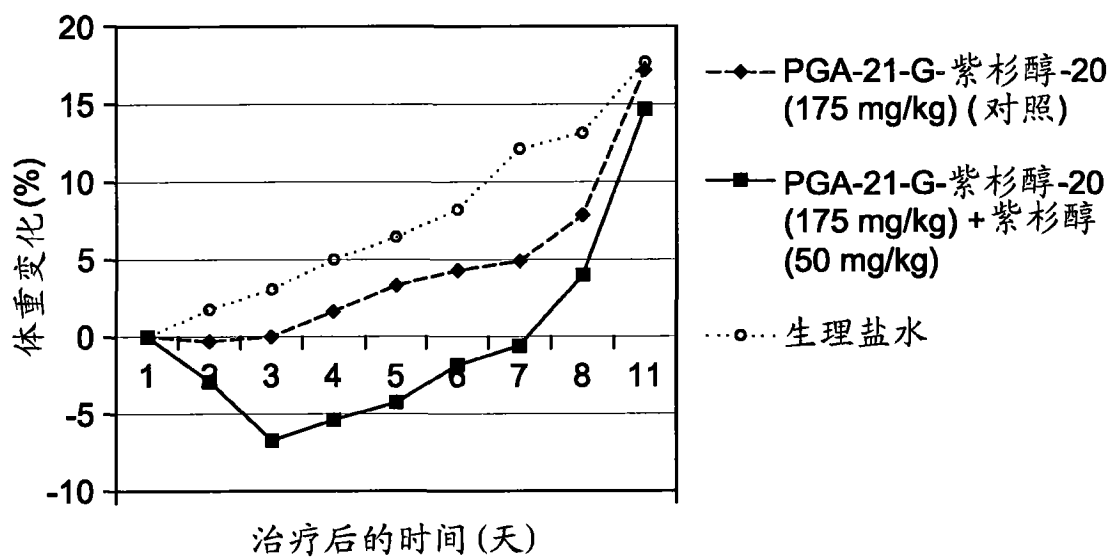


图 4

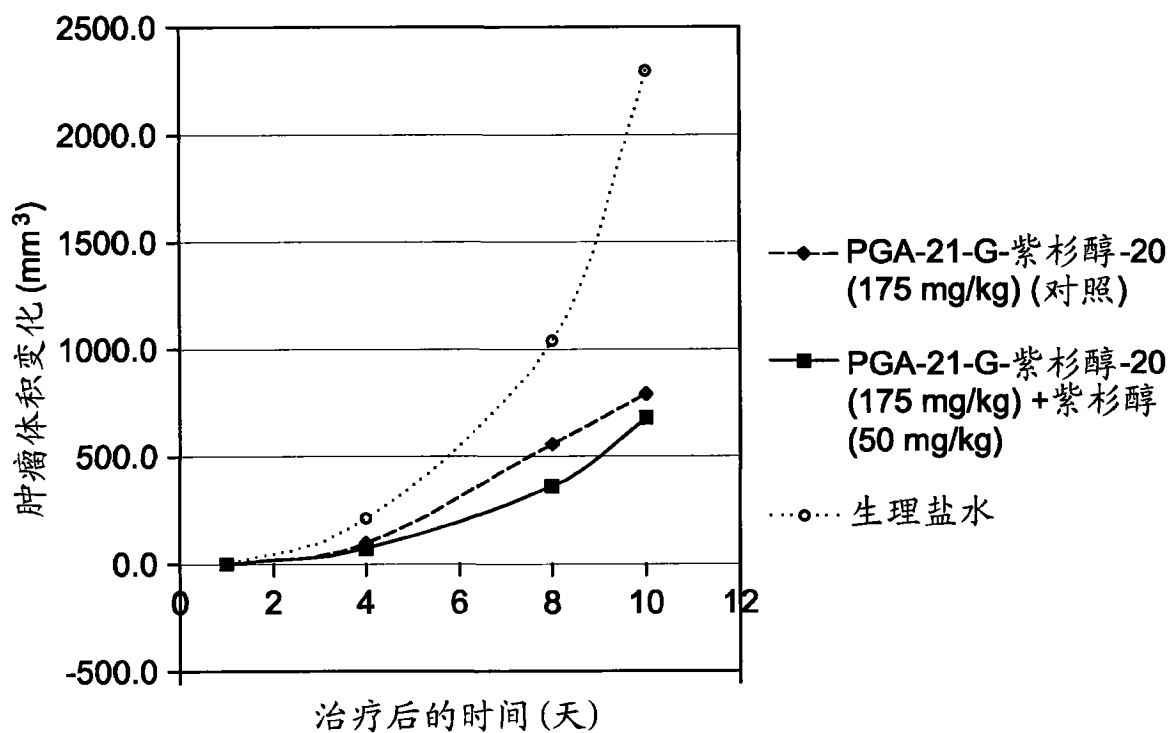


图 5