

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 00805696. X

[51] Int. Cl.

A61K 38/12 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 9 月 5 日

[11] 授权公告号 CN 100335122C

[22] 申请日 2000.3.2 [21] 申请号 00805696. X

[30] 优先权

[32] 1999. 3. 3 [33] US [31] 60/122,623

[86] 国际申请 PCT/US2000/005546 2000. 3. 2

[87] 国际公布 WO2000/051564 英 2000. 9. 8

[85] 进入国家阶段日期 2001. 9. 28

[73] 专利权人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳

[72] 发明人 N·米尔顿 K·P·默德

J·L·萨巴特斯克

S·A·思维塔纳

[56] 参考文献

JP6172205A 1994. 6. 21

JP5271097A 1993. 10. 19

US5629289A 1997. 5. 13

审查员 张志聪

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 程金山

权利要求书 22 页 说明书 27 页

[54] 发明名称

含有成胶束表面活性剂的棘白菌素药物制剂

[57] 摘要

本发明公开了一种药物制剂，它包含存在于无毒含水溶剂中的棘白菌素化合物或棘白菌素/糖类复合物和药学上可接受的成胶束表面活性剂，这使得棘白菌素化合物的增溶作用得到最优化且保持了冷冻干燥溶液的能力。溶液和冻干制剂都具有增加的稳定性。可以向制剂中任选地加入增量剂、张度剂、缓冲剂和/或稳定剂来进一步增强制剂的稳定性。

1. 一种稳定的可注射的胃肠外药物制剂，它在溶液中包含：

(i) 棘白菌素化合物或其药学上可接受的盐；

(ii) 药学上可接受的成胶束表面活性剂；

(iii) 无毒含水溶剂；和

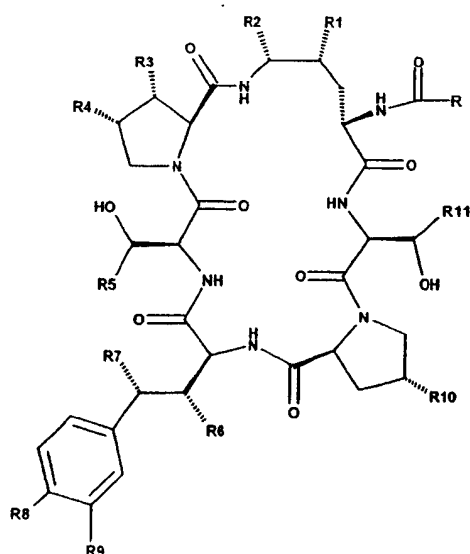
(iv) 稳定剂；

其中所述表面活性剂在所述制剂中以棘白菌素化合物与成胶束表面活性剂的重量比为 1:1.75 至 1:25 的量存在，且所述棘白菌素化合物存在的量为从 1mg/ml 至 50mg/ml；

其中所述稳定剂是糖类；

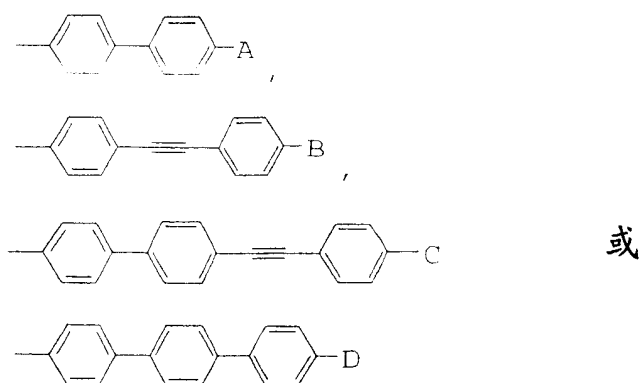
其中所述成胶束表面活性剂选自聚山梨醇酯、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯硬脂酸酯、脱水山梨糖醇三油酸酯、胆汁盐、卵磷脂及其组合；

其中所述棘白菌素化合物由下列结构表示：



其中：

R 是具下列通式结构的基团：



其中 A、B、C 和 D 独立地为氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_2-C_{12} 炔基、 C_1-C_{12} 烷氧基、 C_1-C_{12} 烷硫基、卤素、或 $-O-(CH_2)_m-[O-(CH_2)_n]_p-O-(C_1-C_{12}$ 烷基) 或 $-O-(CH_2)_q-X-E$;

m 是 2、3 或 4;

n 是 2、3 或 4; p 是 0 或 1; q 是 2、3 或 4;

X 是吡咯烷子基、哌啶子基或哌嗪子基;

E 是氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_3-C_{12} 环烷基、苄基或 C_3-C_{12} 环烷基甲基;

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_6 、 R_7 和 R_{10} 独立地为羟基或氢;

R_4 是氢、甲基或 $-CH_2C(O)NH_2$;

R_5 和 R_{11} 独立地为甲基或氢;

R_8 是 $-OH$ 、 $-OPO_3H_2$ 、 $-OPO_3HCH_3$ 、 $-OPO_2HCH_3$ 或 $-OSO_3H$;

R_9 是 $-H$ 、 $-OH$ 或 $-OSO_3H$;

及其药学上可接受的盐;

其中所述制剂为溶液剂。

2. 权利要求 1 的制剂, 其中:

R_4 、 R_5 和 R_{11} 各自为甲基;

R_2 和 R_7 独立地为氢或羟基; R_1 、 R_3 、 R_6 和 R_{10} 各自为羟基; 而

R_8 为 $-OH$ 、 $-OPO_3HCH_3$ 或 $-OPO_2HCH_3$ 。

3. 权利要求 2 的制剂, 其中:

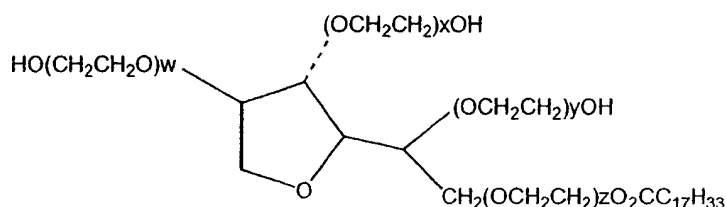
R_2 和 R_7 各自为羟基;

R_8 为羟基；而



4. 权利要求 1 的制剂，其中所述棘白菌素化合物以从 1 至 30mg/ml 的量存在。

5. 权利要求 1 的制剂，其中所述表面活性剂由下列结构式表示：



其中 $x+y+z+w$ 等于 5 至 20 间的整数。

6. 权利要求 1 的制剂，其中所述表面活性剂以大于 1%重量/体积的量存在。

7. 权利要求 1 的制剂，其中所述棘白菌素与表面活性剂的重量比为 1:2 至 1:3。

8. 权利要求 1 的制剂，其中所述溶剂选自下列成员：水、乙醇、丙二醇、聚乙二醇及其混合物。

9. 权利要求 1 的制剂，其中所述稳定剂是蔗糖、果糖、海藻糖、乳糖或其混合物。

10. 权利要求 9 的制剂，其中所述稳定剂以从 0.5%至 10%重量/

体积的量存在。

11. 权利要求 9 的制剂，其中所述稳定剂以从 1%至 6%重量/体积的量存在。

12. 权利要求 1 的制剂，其中所述稳定剂进一步包含组氨酸、赖氨酸、甘氨酸或其混合物。

13. 权利要求 1 的制剂，它进一步包含缓冲剂。

14. 权利要求 13 的制剂，其中所述缓冲剂选自下列成员：乙酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、乳酸盐、琥珀酸盐和磷酸盐以及氨基酸。

15. 权利要求 1 的制剂，它进一步包含张度剂。

16. 权利要求 15 的制剂，其中所述张度剂选自下列成员：甘油、乳糖、甘露糖醇、葡萄糖、氯化钠、硫酸钠和山梨糖醇。

17. 权利要求 15 的制剂，其中所述张度剂以从 1 至 100mg/ml 的量存在。

18. 权利要求 15 的制剂，其中所述张度剂以从 9 至 50mg/ml 的量存在。

19. 一种稳定的冻干制剂，它包含：

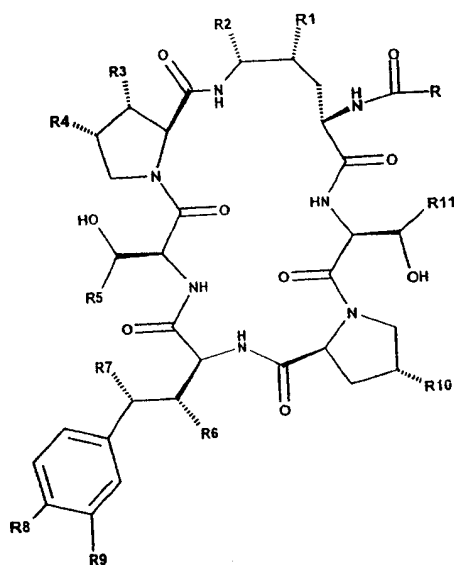
- (i) 棘白菌素化合物或其药学上可接受的盐；
- (ii) 药学上可接受的成胶束表面活性剂；
- (iii) 增量剂；和
- (iv) 稳定剂，

其中所述稳定剂为糖类；

其中所述成胶束表面活性剂在所述冻干制剂中以大于5%重量的量存在；并且所述成胶束表面活性剂选自聚山梨醇酯、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯硬脂酸酯、脱水山梨糖醇三油酸酯、胆汁盐、卵磷脂及其组合；

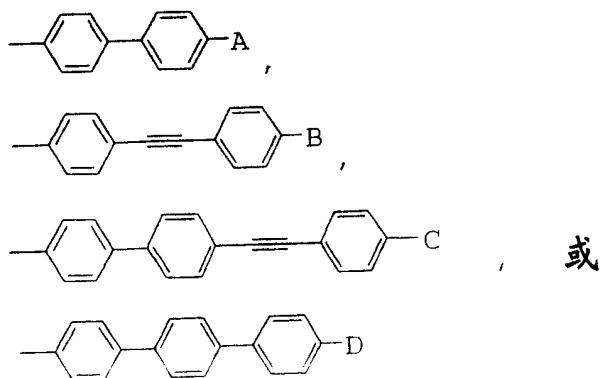
其中所述增量剂选自下列成员：甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、乳糖及其混合物，以及葡聚糖、羟乙基淀粉、菲可和明胶；

其中所述棘白菌素化合物由下列结构表示：



其中：

R 是具有下列通式结构的基团：



其中 A、B、C 和 D 独立地为氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_2-C_{12} 炔基、 C_1-C_{12} 烷氧基、 C_1-C_{12} 烷硫基、卤素、或 $-O-(CH_2)_m-[O-(CH_2)_n]_p-O-(C_1-C_{12}$ 烷基) 或 $-O-(CH_2)_q-X-E$ ；

m 是 2、3 或 4;

n 是 2、3 或 4; p 是 0 或 1; q 是 2、3 或 4;

X 是吡咯烷子基、哌啶子基或哌嗪子基;

E 是氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_3-C_{12} 环烷基、苄基或 C_3-C_{12} 环烷基甲基;

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_6 、 R_7 和 R_{10} 独立地为羟基或氢;

R_4 是氢、甲基或 $-CH_2C(O)NH_2$;

R_5 和 R_{11} 独立地为甲基或氢;

R_8 是 $-OH$ 、 $-OPO_3H_2$ 、 $-OPO_3HCH_3$ 、 $-OPO_2HCH_3$ 或 $-OSO_3H$;

R_9 是 $-H$ 、 $-OH$ 或 $-OSO_3H$;

及其药学上可接受的盐。

20. 权利要求 19 的制剂, 其中所述增量剂选自下列成员: 甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、乳糖及其混合物。

21. 权利要求 19 的制剂, 其中:

R_4 、 R_5 和 R_{11} 各自为甲基;

R_2 和 R_7 独立地为氢或羟基; R_1 、 R_3 、 R_6 和 R_{10} 各自为羟基; 而

R_8 为 $-OH$ 、 $-OPO_3HCH_3$ 或 $-OPO_2HCH_3$ 。

22. 权利要求 21 的制剂, 其中:

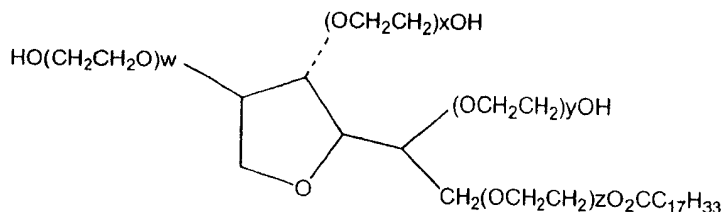
R_2 和 R_7 各自为羟基;

R_8 为羟基; 而



23. 权利要求 19 的制剂, 其中所述成胶束表面活性剂选自下列成员: 聚山梨醇酯、聚氧乙烯硬脂酸酯、脱水山梨糖醇三油酸酯及其组合。

24. 权利要求 19 的制剂，其中所述表面活性剂由下列结构式表示：



其中 $x+y+z+w$ 等于 5 至 20 间的整数。

25. 权利要求 19 的制剂，其中所述表面活性剂在所述制剂中以棘白菌素与表面活性剂的重量比为 1:1.75 至 1:25 的量存在。

26. 权利要求 25 的制剂，其中所述棘白菌素与表面活性剂的重量比为 1:2 至 1:3。

27. 一种可注射的胃肠外制剂，它包含权利要求 19 的冻干制剂和在溶液中的含水溶剂。

28. 权利要求 27 的制剂，其中所述稳定剂为果糖、海藻糖或其混合物。

29. 权利要求 28 的制剂，其中所述稳定剂为果糖。

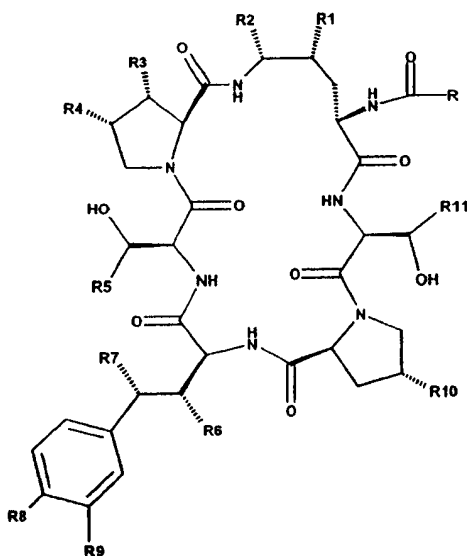
30. 权利要求 27 的制剂，其中所述表面活性剂在所述制剂中以棘白菌素与表面活性剂的重量比为 1:1.75 至 1:25 的量存在。

31. 权利要求 27 的制剂，它进一步包含缓冲剂。

32. 权利要求 31 的制剂，其中所述缓冲剂选自下列成员：乙酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐和氨基酸。

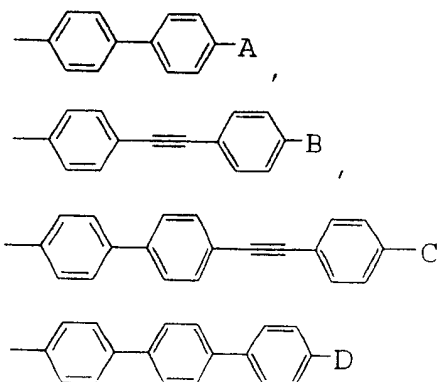
33. 一种制备稳定的可注射的胃肠外制剂的方法，它包括将棘白菌素化合物或含有所述棘白菌素化合物的棘白菌素/糖类复合物与药学上可接受的成胶束表面活性剂以及稳定剂在含水溶剂中混合的步骤，其中所述成胶束表面活性剂在所述制剂中以棘白菌素化合物与表面活性剂的重量比为 1:1.75 至 1:25 的量存在，所述成胶束表面活性剂选自聚山梨醇酯、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯硬脂酸酯、脱水山梨糖醇三油酸酯、胆汁盐、卵磷脂及其组合；且所述棘白菌素化合物在溶液中以从 1mg/ml 至 50mg/ml 的量存在；其中所述稳定剂为糖类；

其中所述棘白菌素化合物由下列结构表示：



其中：

R 是具有下列通式结构的基团：



或

其中 A、B、C 和 D 独立地为氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_2-C_{12} 炔基、 C_1-C_{12} 烷氧基、 C_1-C_{12} 烷硫基、卤素、或 $-O-(CH_2)_m-[O-(CH_2)_n]_p-O-(C_1-C_{12}$ 烷基) 或 $-O-(CH_2)_q-X-E$;

m 是 2、3 或 4;

n 是 2、3 或 4; p 是 0 或 1; q 是 2、3 或 4;

X 是吡咯烷子基、哌啶子基或哌嗪子基;

E 是氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_3-C_{12} 环烷基、苄基或 C_3-C_{12} 环烷基甲基;

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_6 、 R_7 和 R_{10} 独立地为羟基或氢;

R_4 是氢、甲基或 $-CH_2C(O)NH_2$;

R_5 和 R_{11} 独立地为甲基或氢;

R_8 是 $-OH$ 、 $-OPO_3H_2$ 、 $-OPO_3HCH_3$ 、 $-OPO_2HCH_3$ 或 $-OSO_3H$;

R_9 是 $-H$ 、 $-OH$ 或 $-OSO_3H$;

及其药学上可接受的盐。

34. 权利要求 33 的方法, 其中所述棘白菌素化合物在溶液中以从 1mg/ml 至约 30mg/ml 的量存在。

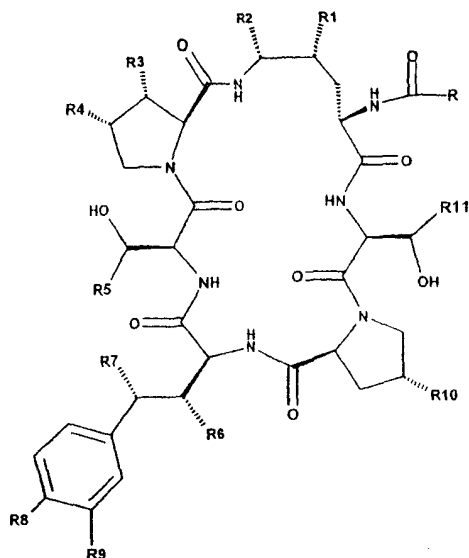
35. 一种制备稳定的冻干制剂的方法, 它包括以下顺序的几个步骤:

(i) 将棘白菌素化合物或含有所述棘白菌素化合物的棘白菌素/糖类复合物在药学上可接受的成胶束表面活性剂, 稳定剂和增量剂的存在下溶解到含水溶剂中形成溶液, 其中所述表面活性剂以大于 1% 重量/溶液体积的量存在, 并且其中所述成胶束表面活性剂选自聚山梨醇酯、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯硬脂酸酯、脱水山梨糖醇三油酸酯、胆汁盐、卵磷脂及其组合;

其中所述增量剂选自下列成员: 甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、乳糖及其混合物, 以及葡聚糖、羟乙基淀粉、菲可和明胶;

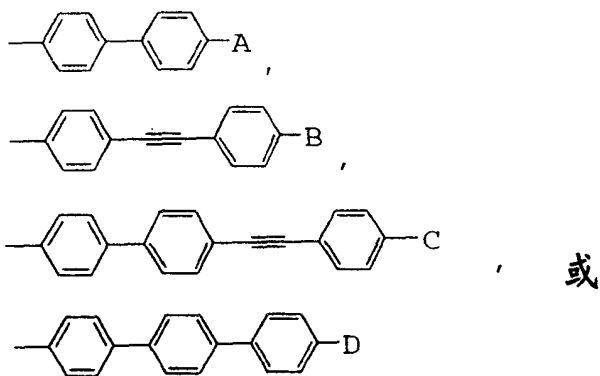
其中所述稳定剂为糖类, 并且

其中所述棘白菌素化合物由下列结构表示:



其中：

R 是具有下列通式结构的基团：



其中 A、B、C 和 D 独立地为氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_2-C_{12} 炔基、 C_1-C_{12} 烷氧基、 C_1-C_{12} 烷硫基、卤素、或 $-O-(CH_2)_m-[O-(CH_2)_n]_p-O-(C_1-C_{12}$ 烷基) 或 $-O-(CH_2)_q-X-E$;

m 是 2、3 或 4;

n 是 2、3 或 4; p 是 0 或 1; q 是 2、3 或 4;

X 是吡咯烷子基、哌啶子基或哌嗪子基;

E 是氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_3-C_{12} 环烷基、苄基或 C_3-C_{12} 环烷基甲基;

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_6 、 R_7 和 R_{10} 独立地为羟基或氢;

R_4 是氢、甲基或 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$;

R_5 和 R_{11} 独立地为甲基或氢;

R_8 是 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OP}(\text{O})_3\text{H}_2$ 、 $-\text{OP}(\text{O})_3\text{HCH}_3$ 、 $-\text{OP}(\text{O})_2\text{HCH}_3$ 或 $-\text{OSO}_3\text{H}$;

R_9 是 $-\text{H}$ 、 $-\text{OH}$ 或 $-\text{OSO}_3\text{H}$;

及其药学上可接受的盐;

(ii) 无菌过滤所述溶液; 和

(iii) 冷冻干燥所述溶液。

36. 权利要求 35 的方法, 它进一步包括在步骤 (ii) 之前加入一种或多种缓冲剂、张度剂或其组合的步骤。

37. 权利要求 35 的方法, 其中所述成胶束表面活性剂选自下列成员: 聚山梨醇酯、聚氧乙烯硬脂酸酯及其组合。

38. 一种制备稳定的冻干制剂的方法, 它包括以下步骤:

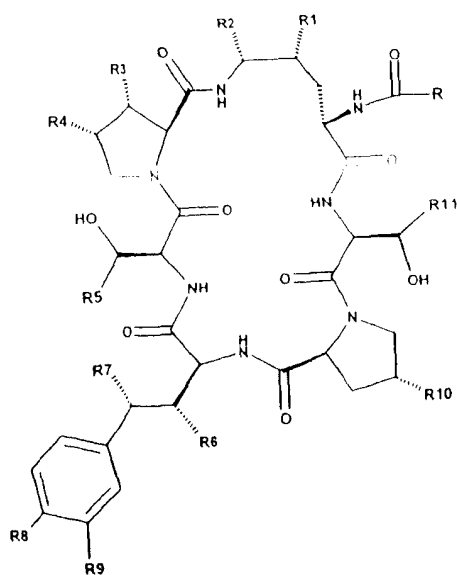
(i) 将无毒含水溶剂缓冲至 pH4.0 到 5.5 之间, 以形成缓冲的溶液;

(ii) 向所述缓冲的溶液中加入药学上可接受的成胶束表面活性剂, 其中所述成胶束表面活性剂选自聚山梨醇酯、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯硬脂酸酯、脱水山梨糖醇三油酸酯、胆汁盐、卵磷脂及其组合;

(iii) 将从步骤 (ii) 得到的溶液冷却至温度在 5 至 15℃ 之间形成冷却的溶液;

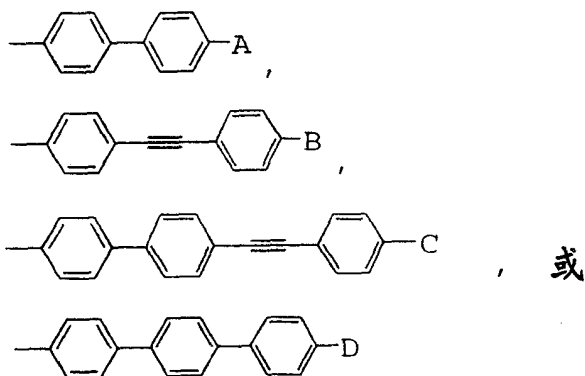
(iv) 向所述冷却的溶液中加入包含棘白菌素化合物或棘白菌素/糖类复合物和第二种无毒含水溶剂的淤浆, 溶解包含所述棘白菌素化合物的淤浆以形成溶液;

其中所述棘白菌素化合物由下列结构表示:



其中：

R 是具有下列通式结构的基团：



其中 A、B、C 和 D 独立地为氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_2-C_{12} 炔基、 C_1-C_{12} 烷氧基、 C_1-C_{12} 烷硫基、卤素、或 $-O-(CH_2)_m-[O-(CH_2)_n]_p-O-(C_1-C_{12}$ 烷基) 或 $-O-(CH_2)_q-X-E$ ；

m 是 2、3 或 4；

n 是 2、3 或 4； p 是 0 或 1； q 是 2、3 或 4；

X 是吡咯烷基、哌啶子基或哌嗪子基；

E 是氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_3-C_{12} 环烷基、苄基或 C_3-C_{12} 环烷基甲基；

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_6 、 R_7 和 R_{10} 独立地为羟基或氢；

R_4 是氢、甲基或 $-CH_2C(O)NH_2$ ；

R_5 和 R_{11} 独立地为甲基或氢；

R_8 是 $-OH$ 、 $-OPO_3H_2$ 、 $-OPO_3HCH_3$ 、 $-OPO_2HCH_3$ 或 $-OSO_3H$ ；

R_9 是 $-H$ 、 $-OH$ 或 $-OSO_3H$;

及其药学上可接受的盐;

并且进一步加入稳定剂和增量剂,

其中所述稳定剂为糖类, 所述的增量剂为甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、乳糖或其混合物;

(v) 无菌过滤从步骤 (iv) 得到的所述溶液; 和

(vi) 冷冻干燥从步骤 (v) 得到的所述溶液。

39. 权利要求 38 的方法, 其中步骤 (iii) 中所述的温度为 7°C 至 10°C 。

40. 权利要求 38 的方法, 它进一步包括在步骤 (v) 之前加入一种或多种张度剂的步骤。

41. 一种稳定的可注射的胃肠外制剂, 它包括含水溶剂和利用权利要求 38 的方法制备的稳定的冻干制剂, 为溶液形式。

42. 一种稳定的胃肠外药品, 该药品是通过以下步骤制备的:

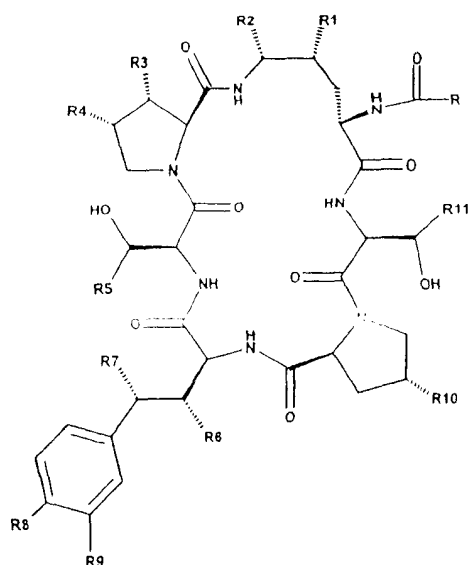
(i) 将棘白菌素化合物或含有所述棘白菌素化合物的棘白菌素/糖类复合物在药学上可接受的成胶束表面活性剂的存在下溶解到含水溶剂中形成溶液, 其中所述表面活性剂以大于 1% 重量/溶液体积的量存在; 并且其中所述溶液还包含增量剂和稳定剂;

其中所述增量剂选自下列成员: 甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、乳糖及其混合物, 以及葡聚糖、羟乙基淀粉、菲可和明胶;

其中所述稳定剂为糖类, 并且

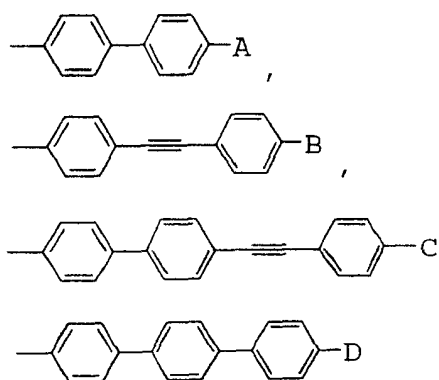
其中所述成胶束表面活性剂选自聚山梨醇酯、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯硬脂酸酯、脱水山梨糖醇三油酸酯、胆汁盐、卵磷脂及其组合;

其中所述棘白菌素化合物由下列结构表示:



其中：

R 是具有下列通式结构的基团：



或

其中 A、B、C 和 D 独立地为氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_2-C_{12} 炔基、 C_1-C_{12} 烷氧基、 C_1-C_{12} 烷硫基、卤素、或 $-O-(CH_2)_m-[O-(CH_2)_n]_p-O-(C_1-C_{12}$ 烷基) 或 $-O-(CH_2)_q-X-E$ ；

m 是 2、3 或 4；

n 是 2、3 或 4； p 是 0 或 1； q 是 2、3 或 4；

X 是吡咯烷基、哌啶基或哌嗪基；

E 是氢、 C_1-C_{12} 烷基、 C_3-C_{12} 环烷基、苄基或 C_3-C_{12} 环烷基甲基；

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_6 、 R_7 和 R_{10} 独立地为羟基或氢；

R_4 是氢、甲基或 $-CH_2C(O)NH_2$ ；

R_5 和 R_{11} 独立地为甲基或氢；

R_8 是 $-OH$ 、 $-OPO_3H_2$ 、 $-OPO_3HCH_3$ 、 $-OPO_2HCH_3$ 或 $-OSO_3H$ ；

R₉是-H、-OH或-OSO₃H;

及其药学上可接受的盐;

(ii) 无菌过滤所述溶液; 和

(iii) 冷冻干燥在管形瓶中的从步骤(ii)得到的所述溶液。

43. 权利要求 42 的药品, 其中所述药品的制备进一步包括在步骤(iii)之后向所述管形瓶中加入无毒含水溶剂。

44. 权利要求 43 的药品, 其中棘白菌素化合物与表面活性剂的重量比为 1:1.75 至 1:25。

45. 权利要求 1 的制剂, 其中所述成胶束表面活性剂为聚山梨醇酯、聚氧乙烯硬脂酸酯或其组合。

46. 权利要求 19 的制剂, 其中所述成胶束表面活性剂为聚山梨醇酯、聚氧乙烯硬脂酸酯或其组合。

47. 权利要求 35 的方法, 其中所述成胶束表面活性剂为聚山梨醇酯、聚氧乙烯硬脂酸酯或其组合。

48. 权利要求 1、3、5 或 45 的制剂, 其中所述稳定剂为果糖、海藻糖或其混合物。

49. 权利要求 48 的制剂, 其中所述稳定剂为果糖。

50. 权利要求 19、22、24 或 46 的制剂, 其中所述稳定剂为果糖、海藻糖或其混合物。

51. 权利要求 50 的制剂, 其中所述稳定剂为果糖。

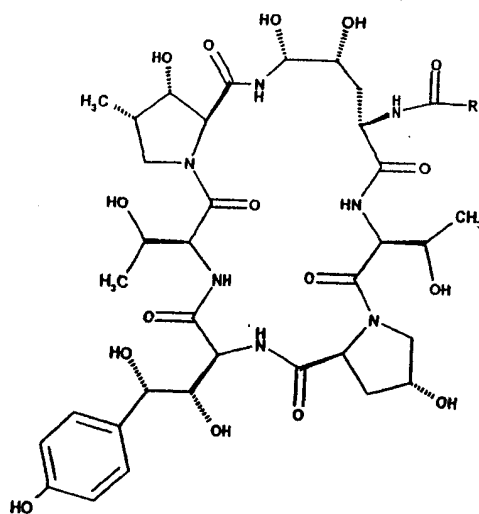
52. 权利要求 1、3 或 9 的制剂，其中所述成胶束表面活性剂的 HLB 值为 10-18。

53. 一种冻干制剂，它包含：

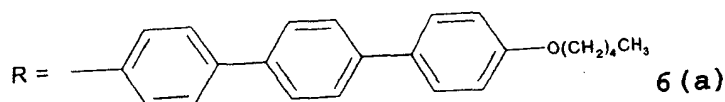
- (i) 棘白菌素化合物或其药学上可接受的盐；
- (ii) 药学上可接受的成胶束表面活性剂；
- (iii) 增量剂；和
- (iv) 稳定剂；

其中所述成胶束表面活性剂在所述冻干制剂中以大于 5%重量的量存在，所述成胶束表面活性剂为聚山梨醇酯、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯硬脂酸酯或其组合；

其中所述棘白菌素化合物由下列结构表示：



其中：

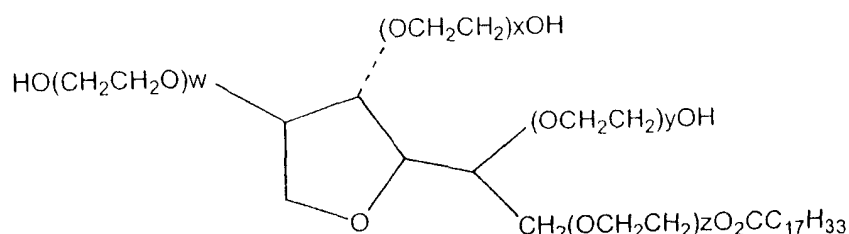


或其药学上可接受的盐；

其中所述增量剂为甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、乳糖或其混合物；

其中所述稳定剂为蔗糖、果糖、海藻糖或其混合物。

54. 权利要求 53 的制剂，其中所述表面活性剂由下列结构式表示：



其中 $x+y+z+w$ 等于 5 至 20 间的整数。

55. 权利要求 53 的制剂，其中所述表面活性剂在所述制剂中以棘白菌素与表面活性剂的重量比为 1:1.75 至 1:25 的量存在。

56. 权利要求 55 的制剂，其中所述棘白菌素与表面活性剂的重量比为 1:2 至 1:3。

57. 一种可注射的胃肠外制剂，它包含权利要求 53 的冻干制剂和含水溶剂。

58. 权利要求 57 的制剂，其中所述稳定剂为果糖、海藻糖或其混合物。

59. 权利要求 57 的制剂，其中所述表面活性剂在所述制剂中以棘白菌素与表面活性剂的重量比为 1:1.75 至 1:25 的量存在。

60. 权利要求 57 的制剂，它进一步包含缓冲剂。

61. 权利要求 60 的制剂，其中所述缓冲剂选自下列成员：乙酸

盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐和氨基酸。

62. 一种制备冻干制剂的方法，它包括以下顺序的几个步骤：

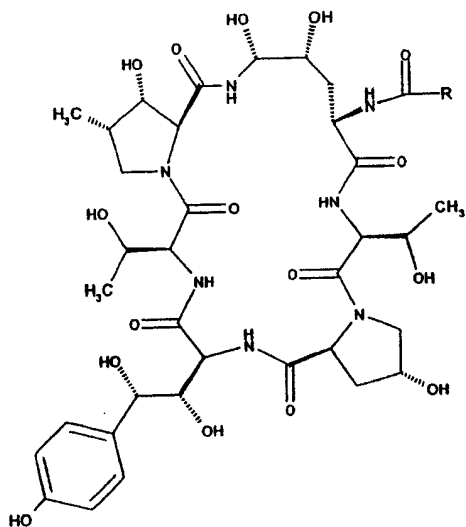
(i) 将棘白菌素化合物或含有所述棘白菌素化合物的棘白菌素/糖类复合物在药学上可接受的成胶束表面活性剂的存在下溶解到含水溶剂中形成溶液，其中所述表面活性剂以大于 1%重量/溶液体积的量存在；

(ii) 无菌过滤所述溶液；和

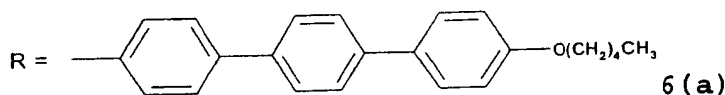
(iii) 冷冻干燥所述溶液；

其中所述成胶束表面活性剂在所述冻干制剂中以大于 5%重量的量存在，所述成胶束表面活性剂为聚山梨醇酯、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯硬脂酸酯或其组合；

其中所述棘白菌素化合物由下列结构表示：



其中：



或其药学上可接受的盐；

进一步包括在步骤 (ii) 之前加入一种或多种增量剂或一种或多

种稳定剂的步骤；

其中所述增量剂为甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、乳糖或其混合物；
其中所述稳定剂为蔗糖、果糖、海藻糖或其混合物。

63. 权利要求 62 的方法，它进一步包括在步骤 (ii) 之前加入一种或多种缓冲剂、张度剂或其组合的步骤。

64. 权利要求 62 的方法，其中所述成胶束表面活性剂为聚山梨醇酯。

65. 一种制备冻干制剂的方法，它包括以下步骤：

(i) 将无毒含水溶剂缓冲至 pH4.0 到 5.5 之间，以形成缓冲的溶液；

(ii) 向所述缓冲的溶液中加入药学上可接受的成胶束表面活性剂；

(iii) 将从步骤 (ii) 得到的溶液冷却至温度在 5 至 15℃ 之间形成冷却的溶液；

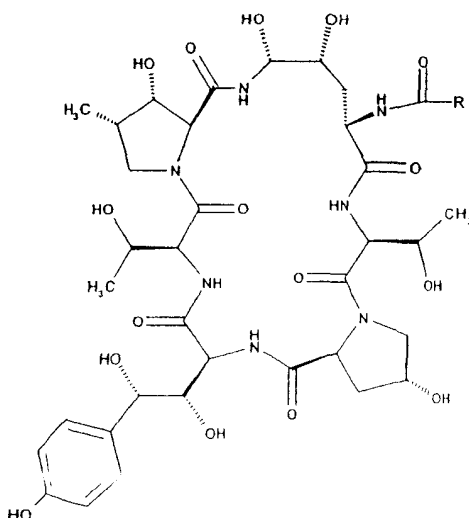
(iv) 向所述冷却的溶液中加入包含棘白菌素化合物或含有所述棘白菌素化合物的棘白菌素/糖类复合物和第二种无毒含水溶剂的淤浆；

(v) 无菌过滤从步骤 (iv) 得到的所述溶液；和

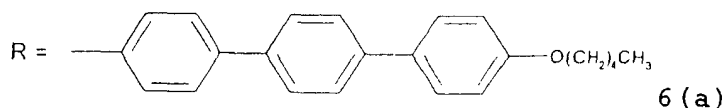
(vi) 冷冻干燥从步骤 (v) 得到的所述溶液；

其中所述成胶束表面活性剂在所述冻干制剂中以大于 5% 重量的量存在，所述成胶束表面活性剂为聚山梨醇酯、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯硬脂酸酯或其组合；

其中所述棘白菌素化合物由下列结构表示：



其中:



或其药学上可接受的盐;

进一步包括在步骤(ii)之前加入一种或多种增量剂或一种或多种稳定剂的步骤;

其中所述增量剂为甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、乳糖或其混合物;

其中所述稳定剂为蔗糖、果糖、海藻糖或其混合物。

66. 权利要求 65 的方法, 其中步骤(iii)中所述的温度为 7℃ 至 10℃。

67. 权利要求 65 的方法, 它进一步包括在步骤(v)之前加入一种或多种张度剂的步骤。

68. 一种可注射的胃肠外制剂, 它包括含水溶剂和利用权利要求 65 的方法制备的冻干制剂。

69. 权利要求 53 的制剂，其中所述稳定剂以从 0.5%至 10%重量/体积的量存在。

70. 权利要求 69 的制剂，其中所述稳定剂以从 1%至 6%重量/体积的量存在。

71. 权利要求 53 的制剂，它进一步包含缓冲剂。

72. 权利要求 71 的制剂，其中所述缓冲剂选自下列成员：乙酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、乳酸盐、琥珀酸盐和磷酸盐以及氨基酸。

73. 权利要求 53 的制剂，其中所述增量剂是甘露糖醇。

74. 权利要求 53 的制剂，它进一步包含缓冲剂，并且其中所述稳定剂是果糖，所述增量剂是甘露糖醇，所述成胶束表面活性剂是聚山梨醇酯。

75. 权利要求 74 的制剂，其中所述缓冲剂是柠檬酸盐、乙酸盐或酒石酸盐。

76. 权利要求 53 的制剂，其中所述成胶束表面活性剂是聚山梨醇酯 80、聚山梨醇酯 20 或聚山梨醇酯 40。

77. 权利要求 53 的制剂，其中所述稳定剂是果糖。

78. 权利要求 73 的制剂，其中所述稳定剂是果糖。

79. 权利要求 76 的制剂，其中所述稳定剂是果糖。

80. 权利要求 53 的制剂，其中所述增量剂是甘露糖醇，所述成胶束表面活性剂是聚山梨醇酯。

81. 权利要求 53 的制剂，其中所述稳定剂是果糖，所述增量剂是甘露糖醇，所述成胶束表面活性剂是聚山梨醇酯。

82. 权利要求 53 的制剂，其中所述棘白菌素化合物在冻干前存在的浓度是从 1mg/ml 至 30mg/ml。

83. 权利要求 82 的制剂，其中所述棘白菌素化合物在冻干前存在的浓度是从 8mg/ml 至 12mg/ml。

84. 权利要求 81 的制剂，其中所述棘白菌素化合物在冻干前存在的浓度是从 1mg/ml 至 30mg/ml。

85. 权利要求 84 的制剂，其中所述棘白菌素化合物在冻干前存在的浓度是从 8mg/ml 至 12mg/ml。

含有成胶束表面活性剂的棘白菌素药物制剂

发明领域

本发明涉及含有棘白菌素化合物的药物制剂,特别是掺入成胶束表面活性剂来增强稳定性和水溶性。

发明背景

药物的胃肠外(ip)制剂可以通过肌肉注射(im)、静脉注射(iv)或皮下注射方法对病人给药。为特定药物开发的制剂要取决于多种因素。例如,本领域中众所周知制剂应当是水溶性的和稳定的。如果冷冻干燥的话,制剂应当能形成良好形态的饼状物并可以轻易地重构(通常在不到1分钟内)。最后,制剂应当具有可接受的外观和用普遍承认的安全赋形剂制备。

设计制剂时,稳定性是一个重要的考虑因素,尤其是对于胃肠外应用。出于现实的原因,制剂必须有可能储存至少2年。因此,常常希望将制剂冷冻干燥以得到更好的保存期并在室温下储存。

棘白菌素化合物的不稳定性和较差的水溶性(<0.1mg/ml)使得它们特别难以制剂。迄今所检验的大多数制剂的保存期都小于1年。通常需要两年或更长时间的保存期。所以,含有棘白菌素化合物的制剂可能需要冷冻干燥以达到所需的稳定性。

棘白菌素化合物较差的水溶性对配制含有棘白菌素活性物质的胃肠外制剂提出了更大的挑战。配制这类化合物的一个方法是通过加入能增强药物溶解性的表面活性剂。但是,本领域中众所周知,使用高于某个浓度的表面活性剂常常会限制制剂冷冻干燥的能力。一般冻干制剂的表面活性剂浓度小于5重量%。根据对含有表面活性剂的冻干药物制剂的市场调查,表面活性剂在冻干产品中的浓度通常小于5重量%。参见: Carpenter等,《药物研究》14(8), 969-975, 1977至1997, 医师案头参考资料(Physicians' Desk

Reference), 第 50 版, Medical Economics 公司, NJ(1996)。人们普遍相信, 具有更高浓度表面活性剂的制剂不可能形成具有所需特性的冻干产品。具体地说, 表面活性剂的存在导致冻干的饼状物“崩解”, 使得在管形瓶的底部出现残余物而不再是良好形态的饼状物。该残余物通常是不太稳定的, 难以重构并且不可再生。

由于棘白菌素化合物较差的水溶性, 通常需要 2-4%(重量/体积)的表面活性剂才能使棘白菌素化合物在溶液达到可接受的浓度。如上所讨论的那样, 这种浓度的表面活性剂会阻碍冷冻干燥。因此, 需要能改善棘白菌素化合物在水中的溶解性而又允许冷冻干燥以获得最佳稳定性的制剂。

发明概述

申请人已发现了一组表面活性剂, 它们能在较高的浓度下增溶棘白菌素化合物并出人意料地保持了冷冻干燥该制剂的能力。在本发明的一个实施方案中, 提供了一种胃肠外药物制剂, 它包含(i)棘白菌素(echinocandin)化合物(或其药学上可接受的盐)、(ii)药学上可接受的成胶束表面活性剂(例如聚山梨醇酯、卵磷脂、胆汁盐、聚氧乙烯蓖麻油及其混合物)、和(iii)无毒的含水溶剂。该药物溶液制剂可以任选地含有一种或多种稳定剂、张度剂(tonicity agent)和/或缓冲剂。棘白菌素与表面活性剂的重量比为约 1:1.75 至约 1:25(更优选比例为约 1:2 至约 1:3), 且该棘白菌素化合物以大于或等于 1mg/ml 的量存在。表面活性剂通常以大于 1%重量/体积的量存在。

在本发明的一个实施方案中, 提供了一种冻干药物制剂, 它包含(i)棘白菌素化合物(或其药学上可接受的盐)、(ii)药学上可接受的成胶束表面活性剂(例如聚山梨醇酯、卵磷脂、胆汁盐、聚氧乙烯蓖麻油及其混合物)、和(iii)增量剂(bulking agent)。成胶束表面活性剂在该冻干产品中以大于 5%重量的量存在, 且棘白菌素与表面活性剂的比例为约 1:1.75 至约 1:25(优选比例为约 1:2 至约 1:3)。该药物冻干制剂可以任选地含有一种或多种稳定剂和/或

缓冲剂。还提供了用该冻干制剂制备的胃肠外药物制剂。

在本发明的又一个实施方案中，提供了制备胃肠外制剂的方法，该方法包括将棘白菌素化合物（或棘白菌素/糖类复合物）与药学上可接受的成胶束表面活性剂在含水溶剂中混合。

在本发明的另一个实施方案中，提供了制备冻干制剂的方法，它包括以下顺序的几个步骤：(i)将棘白菌素化合物（或棘白菌素/糖类复合物）在药学上可接受的成胶束表面活性剂的存在下溶解到含水溶剂中，其中表面活性剂以大于 1%重量/体积的量存在；(ii)无菌过滤该溶液；和(iii)冷冻干燥该溶液。通常，在冷冻干燥该溶液前加入增量剂。任选地，可以在步骤(iii)之前加入一种或多种缓冲剂、稳定剂、张度剂、或其组合。

还提供了另一种制备冻干制剂的方法，它包括(i)将无毒含水溶剂缓冲至 pH4.0 到 5.0 之间，以形成缓冲溶液；(ii)向该缓冲的溶液中加入药学上可接受的成胶束表面活性剂；(iii)将步骤(ii)得到的溶液冷却至温度在 5 至 15℃ 之间（优选在 7℃ 到 10℃ 之间），以形成冷却的溶液；(iv)向该冷却溶液中加入一种淤浆，包含棘白菌素化合物或棘白菌素/糖类复合物和第二种无毒含水溶剂；(v)无菌过滤从步骤(iv)得到的所述溶液；和(vi)冷冻干燥从步骤(v)得到的所述溶液。在步骤(v)之前可以任选地加入一种或多种增量剂、稳定剂和/或张度剂。

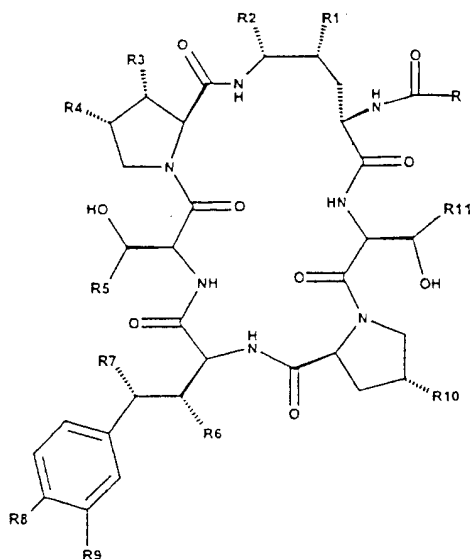
在本发明的另一个实施方案中，提供了一种胃肠外药品，该药品是通过以下步骤制备的：(i)将棘白菌素化合物（或棘白菌素/糖类复合物）在药学上可接受的成胶束表面活性剂的存在下溶解到含水溶剂中形成溶液，其中表面活性剂以大于 1%重量/体积的量存在；(ii)无菌过滤该溶液；和(iii)冷冻干燥在管形瓶中的该溶液，其中棘白菌素与表面活性剂的重量比为约 1:1.75 至约 1:25。当准备使用时，向该管形瓶中加入无毒含水溶剂。

在本发明的又一个实施方案中，提供了治疗需要这种治疗的哺乳动物的抗真菌感染的方法，它包括对该哺乳动物给药上述胃肠外制

剂或通过将药学上可接受的含水溶剂加入到上述某一种冻干制剂中而制得的胃肠外制剂。

除非另有说明，否则本文中描述的量 and 百分数均为重量单位。

术语“棘白菌素”指的是具有下列通式结构的化合物：



其中：R 是烷基、链烯基、炔基、芳基、杂芳基、或其组合；R₁、R₂、R₃、R₆、R₇ 和 R₁₀ 独立地为羟基或氢；R₄ 是氢、甲基或 -CH₂C(O)NH₂；R₅ 和 R₁₁ 独立地为甲基或氢；R₈ 是 -OH、-OPO₃H₂、-OPO₃HCH₃、-OPO₂HCH₃、或 -OSO₃H；R₉ 是 -H、-OH 或 -OSO₃H。

除非另有说明，否则术语“烷基”指的是含有 1 至 30 个碳原子的通式为 C_nH_{2n+1} 的烃基。烷基可以是直链、支链、环状或多环的。烷基可以是取代或未取代的。类似地，烷氧基或链烷酸酯的烷基部分具有与上面相同的定义。

术语“链烯基”指的是含有至少一个碳-碳双键的无环烃。烯烃基可以是直链、支链、环状或多环的。烯烃基可以是取代或未取代的。

术语“炔基”指的是含有至少一个碳-碳三键的无环烃。炔基可以是直链或支链的。炔基可以是取代或未取代的。

术语“芳基”指的是具有单环（例如苯基）或稠环系统（例如萘、蒽、菲等）的芳香基。芳基可以是取代或未取代的。取代芳基包括

一个芳族部分的链（例如：联苯、三联苯、苯基萘亚甲基等）。

术语“杂芳基”指的是在芳环系统中含有至少一个杂原子的芳香基（例如：吡咯、吡啶、咪唑、噻吩、呋喃、苯并呋喃、咪唑、噻啶、嘌呤、苯并咪唑、喹啉等）。该芳香基可以由单环或稠环系统组成。杂芳基可以是取代或未取代的。

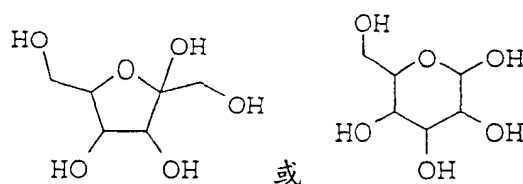
在有机化学领域内，特别是在有机生物化学领域内，普遍认为化合物的重要的取代是容许或者甚至是有用的。在本发明中，例如，允许取代基的术语烷基是典型的烷基，诸如甲基、乙基、异丙基、异丁基、叔丁基、己基、异辛基、十二烷基、十八烷基等。术语基团明确地构想并允许在本领域中常见的烷基上取代，诸如羟基、卤素、烷氧基、羧基、酮基、酯、carbamato等，也包括未取代的烷基。但是，本领域技术人员普遍理解，所选择的取代基不对化合物的药理学特性产生不利影响或者不利地干扰药物的使用。对于上面所定义的任何基团来说都合适的取代基包括烷基、链烯基、炔基、芳基、卤素、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、烷巯基、芳巯基、一和二烷基氨基、季铵盐、氨基烷氧基、羟基烷基氨基、氨基烷巯基、氨基甲酰基、羧基、羧基、乙醇酰基、甘氨酸基、胍基、脒基、及其组合。

“棘白菌素/糖类复合物”指的是当棘白菌素在糖类的存在下从溶剂中重结晶时在棘白菌素化合物和糖类间形成的结晶复合物

(Complex)。对棘白菌素/糖类复合物的更详细的描述可以见 Larew 等于 1999 年 3 月 3 日提交的题为“棘白菌素/糖类复合物”。

“糖类”指的是由式 $C_n(H_2O)_n$ 代表的多元醇的醛或酮衍生物（例如葡萄糖， $C_6(H_2O)_6$ ；蔗糖， $C_{12}(H_2O)_{11}$ ）。糖类包括具有相对小分子的化合物，诸如简单糖（例如单糖、二糖等），以及大分子（聚合）物质，诸如淀粉、糖原和纤维素多糖。糖是具有普遍组成 $(CH_2O)_n$ 的糖类(saccharides)及其简单衍生物。尽管简单的单体糖(葡萄糖)描述为多羟基醛或酮，例如 $HOCH_2-(CHOH)_4-CHO$ 为己醛糖(例如葡萄糖)或者 $HOCH_2-(CHOH)_3-CO-CH_2OH$ 为 2-酮糖(例如果糖)，但结构通常

写成 5(呋喃糖)或 6(吡喃糖)元环的环醚，例如：



术语“成胶束表面活性剂”指的是能自发并可逆地形成水溶性聚集体的两亲物质。关于胶束形成和成胶束表面活性剂的清单的更详细的描述参见 Attwood 等的《表面活性剂系统，它们的化学、药学和生物学》，Chapman & Hall(1983)。氧化丙烯和氧化乙烯的嵌段共聚物在本发明的制剂中不能很好地工作；因此，这些嵌段共聚物不被考虑在成胶束表面活性剂的含义内。

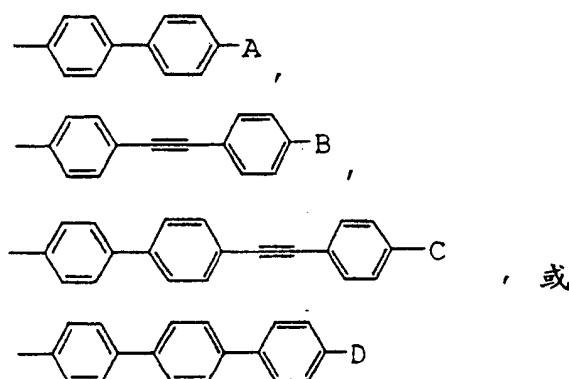
术语“药学上可接受的”当在本文中用作形容词时，意思是对接受者基本上无毒和基本上无害的。

详细描述

用于本发明的环肽可以通过培养不同的微生物来制备。属于棘白菌素环肽族的合适的天然产物原料包括棘白菌素 B、棘白菌素 C、棘白菌素 D、刺孢曲菌素 A_γ、牟伦多菌素、孢子真菌素 (Sporiofungin) A、肺炎菌素 (Pneumocandin) A₀、WF11899A 和肺炎菌素 B₀。一般说来，环肽可以描绘为在氨基酸之一上带有酰化氨基的环六肽核。天然产环肽上的氨基一般用脂肪酸基酰化形成离开核的侧链。天然产酰基的实例包括亚油酰基 (linoleoyl) (棘白菌素 B、C 和 D)、棕榈酰 (刺孢曲菌素 A_γ 和 WF11899A)、硬脂酰、12-甲基肉豆蔻酰 (牟伦多菌素)、10,12-二甲基肉豆蔻酰 (孢子真菌素 A 和肺炎菌素 A₀) 等等。

半合成衍生物可以通过将脂肪酸侧链从环肽核上除去而生成游离氨基 (即：没有侧酰基 C(O)R) 来制备。该游离胺然后用合适的酰基重新酰化。例如，棘白菌素 B 核用某些非天然产的侧链部分重新酰化而得到了许多抗真菌剂。参见，即：美国专利 4,293,489。

本领域技术人员将领会到 N-酰基侧链包括本领域中已知的各种各样的侧链部分。合适的侧链部分包括取代和未取代的烷基、链烯基、炔基、芳基、杂芳基及其结合物。优选该侧链含有直链的刚性区段和柔性的烷基区段，以最大化抗真菌效价。优选的酰基侧链的典型实例包括具有下列结构的 R 基：



其中 A、B、C 和 D 独立地为氢、 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 炔基、 C_1 - C_{12} 烷氧基、 C_1 - C_{12} 烷硫基、卤素、或 $-O-(CH_2)_m-[O-(CH_2)_n]_p-O-(C_1-C_{12} \text{ 烷基})$ 或 $-O-(CH_2)_q-X-E$ ；m 是 2、3 或 4；n 是 2、3 或 4；p 是 0 或 1；q 是 2、3 或 4；X 是吡咯烷子基 (pyrrolidino)、哌啶子基或哌嗪子基 (piperazino)；而 E 是氢、 C_1 - C_{12} 烷基、 C_3 - C_{12} 环烷基、苄基或 C_3 - C_{12} 环烷基甲基。

如上所述，此处描述的环境可以通过如本领域中所述将已知微生物发酵来制备。随后的脱酰作用一般使用脱酰酶通过本领域中所述的已知材料和方法酶促进行。

例如，美国专利 4,293,482 描述了其中 R_4 、 R_5 和 R_{11} 为甲基、 R_9 为氢、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_6 、 R_7 、 R_8 和 R_{10} 各自为羟基的式 I 环肽的脱酰和制备。美国专利 4,299,763 描述了其中 R_4 、 R_5 和 R_{11} 为甲基、 R_2 为羟基、 R_7 和 R_9 为氢、 R_1 、 R_3 、 R_6 、 R_8 和 R_{10} 各自为羟基的式 I 环肽的脱酰和制备。美国专利 3,978,210 描述了刺孢曲菌素的制备。美国专利 4,304,716 描述了其中 R_5 为 $-CH_2C(O)NH_2$ 、 R_{11} 为甲基、 R_4 和 R_9 为氢、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_6 、 R_7 、 R_8 和 R_{10} 各自为羟基且带有取代基 R 的酰基为肉豆蔻酰的式 I 环肽的脱酰和制备。

其中 R_2 和 R_7 各自为氢的环肽可以通过让相应的化合物（其中 R_2

和 R_7 各自为羟基；鸟氨酸 α -氨基可以是游离氨基或酰化的）在 -5°C 到 70°C 之间的温度下在合适的溶剂中经受强酸和还原剂来制备。合适的强酸包括三氯乙酸、三氟乙酸或三氟化硼醚合物。优选的强酸是三氟乙酸。合适的还原剂包括氰基硼氢化钠或三乙基硅烷。优选的还原剂是三乙基硅烷。合适的溶剂包括二氯甲烷、氯仿或乙酸，优选二氯甲烷。强酸的存在量为约2至60mol/mol反应物，而还原剂的存在量为约2至60mol/mol反应物。酸还原过程选择性地除去缩醛胺(R_2)和苄基(R_7)的羟基。

鸟氨酸单元上的 α -氨基的酰化可以用本领域技术人员熟知的各种方式来完成。例如，氨基可以通过与适当取代的酰卤反应而酰化，优选在酸清除剂诸如叔胺（例如三乙胺）的存在下进行。该反应一般在约 -20°C 至 25°C 之间的温度下进行。合适的反应溶剂包括极性质子惰性溶剂，诸如二噁烷或二甲基甲酰胺。溶剂选择不是决定性的，只要所用的溶剂对进行中的反应是惰性的且反应物能充分溶解以完成所需反应即可。

氨基还可以通过偶联剂的存在下与适当取代的羧酸反应来酰化。合适的偶联剂包括二环己基碳化二亚胺(DCC)、N,N'-羰基二咪唑、双(2-氧代-3-咪唑烷基)次膦酰氯(BOP-Cl)、N-乙氧羰基-2-乙氧基-1,2-二氢喹啉(EEDQ)、苯并三唑-1-基氧-三吡咯烷六氟磷酸磷(PyBOP)以及类似物质。

另外，氨基还可以用羧酸的活性酯来酰化，诸如对酰基苯基、2,4,5-三氯苯基、羟基苯并三唑水合物(HOBT $\cdot$ H $_2$ O)、五氟苯酚和N-羟基琥珀酰亚胺羧酸酯。优选的酰化基是2,4,5-三氯苯基和HOBT羧酸酯。该反应一般在约 0°C 至 30°C 的温度下在质子惰性溶剂中进行1-65小时。当该反应在约 15°C 至 30°C 的温度下进行通常约24至48小时后完成。合适的溶剂包括四氢呋喃和二甲基甲酰胺或其混合物。氨基通常以相对活性酯等摩尔比例存在或者有稍微过量的氨基。

R-COOH前体酸通过水解式R-CN的腈或式R-COO(C_1 - C_4 烷基)的酯

来制备。腈和酯中间体可以使用本领域中的已知方法制备。例如，其中 R 为烷氧基芳基部分的腈和酯中间体可以使用方法 A 或方法 B 制备。

方法 A 将 1 当量的烷基溴、烷基碘或对甲苯磺酸酯加入到存在于 200-300ml 乙腈 (CH_3CN) 中的含有 1 当量碱诸如叔丁醇钾或碳酸钾 (K_2CO_3) 和 1 当量羟基芳基化合物的混合物中。该反应混合物回流 6 小时，然后真空浓缩得到残余物，将其溶于 Et_2O /2N NaOH 混合物。将所产生的各层分离，有机层用硫酸镁 (MgSO_4) 干燥，过滤并干燥得到烷氧基芳基产物。

方法 B 将二乙基偶氮二羧酸酯 (1 当量) 滴加到存在于 200-300ml THF 中的含有羟基芳基化合物 (1 当量)、烷基醇 (1 当量) 和三苯基膦 (1 当量) 的混合物中。17 小时后，真空除去溶剂得到残余物，将其溶于 Et_2O 。所得混合物用 2N NaOH 溶液洗涤、用 MgSO_4 干燥、过滤并浓缩得到产物，然后将其从 Et_2O /戊烷混合物中结晶，或者如果该产物含有叔胺的话，形成盐酸盐并从甲醇 (MeOH)/ EtOAc 混合物中结晶。其中 R 为炔基芳基的腈和酯中间体可以使用方法 C 制备。

方法 C 将含有 Et_2O (2 当量)、二氯化钨 (0.05 当量)、三苯基膦 (0.1 当量)、碘化亚铜 (0.025 当量) 和炔烃 (1 当量) 的混合物在氮气 (N_2) 下加入到 1 当量的存在于 CH_3CN 中的芳基溴化物，碘化物或三氟甲磺酸酯中 (600ml/0.1 mol 芳基反应物)。将所得混合物回流 17 小时，然后真空除去溶剂得到残余物，其在 300ml Et_2O 中混合成浆状后过滤。滤液用 1N HCl 溶液洗涤、用 MgSO_4 干燥、过滤并干燥后得到产物。其中 R 为三联苯部分的酯中间体可以使用方法 D 制备。

方法 D

1. 形成硼酸 (boronic acid) 反应物

将丁基锂 (1.2 当量) 加入到 1 当量的存在于 THF 中的冷 (-78°C) 芳基卤中。15 分钟后，加入三异丙基硼酸酯 (2 当量)。10 分钟后，将该反应混合物加热至室温并通过加入水 (H_2O) 使反应终止，接着加入 1N HCl。将所产生的各层分离，有机层真空浓缩得到固体，其

通过过滤收集并用己烷洗涤。

2. 形成三联苯基酯

将四(三苯基膦)钯(0.03 当量)加入到存在于 N_2 -净化甲苯中的含有芳基二羟基甲硼烷(1 当量)、 K_2CO_3 (1.5 当量)和 4-碘代苯甲酸甲酯(1 当量)(或碘代苯甲酸的三氯苯基酯)的混合物中。将该反应混合物回流 7 小时,然后倾析除去 K_2CO_3 并真空干燥得到残余物。该残余物在 CH_3CN 中研磨并过滤得到产物。上述芳基腈和酯可以使用方法 E 或方法 F 通过水解转化为相应的羧酸。

方法 E 将芳基腈溶于乙醇(EtOH)和过量的 50% NaOH 溶液并回流 2 小时。将水加入该反应混合物中直到固体沉淀出来。该固体通过过滤收集,加入到二噁烷/6N HCl 混合物中,并将所得混合物回流 17 小时。当该反应基本上完成后,羧酸产物通过加入 H_2O 而结晶,然后通过过滤收集并真空干燥。

方法 F 将过量的 2N NaOH 加入存在于 MeOH 中的芳基酯中,所得溶液回流 5 小时,然后通过加入过量 HCl 酸化。将水加入该反应混合物中直到固体(羧酸)沉淀。该羧酸通过过滤收集并真空干燥。该羧酸可以使用下面的方法 G 转化为相应的 2,4,5-三氯苯基酯。该活性酯然后用于酰化氨基核。

方法 G 将存在于 CH_2Cl_2 中的含有芳基羧酸(1 当量)、2,4,5-三氯苯酚(1 当量)和 DCC(1 当量)的混合物搅拌 17 小时,然后过滤。滤液浓缩得到残余物,将其溶于 Et_2O 、过滤、然后加入戊烷直到结晶开始。该结晶通过过滤收集并真空干燥。另外,羧酸可以通过使用的方法 H 转化为相应的羟基苯并三唑酯而活化。

方法 H 芳基羧酸(1 当量)和稍微过量的 N-甲磺酸酯取代的羟基苯并三唑(1.2 当量)在 N_2 下在稍微过量的碱诸如三乙胺(Et_3N)(1.3 当量)的存在下在 DMF 中发生反应。当反应完全时,混合物用甲苯稀释并用 H_2O 洗涤。有机部分用 H_2O 稀释,然后使用用于转移物质的叔丁基甲基醚(MTBE)过滤。所得固体用 MTBE 洗涤,然后真空干燥。

棘白菌素化合物可以是分离并使用其本身,或者可以是其药学上

可接受的盐或水合物的形式，或者作为棘白菌素/糖类复合物。术语“药学上可接受的盐”是指从无机和有机酸衍生的无毒酸加成盐。合适的盐衍生物包括卤化物、硫氰酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、重亚硫酸盐、芳基磺酸盐、烷基硫酸盐、膦酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、链烷酸盐、环烷基链烷酸盐、芳基链烷酸盐、己二酸盐、藻酸盐、门冬氨酸盐、苯甲酸盐、延胡索酸盐、葡糖庚酸盐、甘油磷酸盐、乳酸盐、马来酸盐、烟酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、果胶酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、二葡萄糖酸盐、三氟乙酸盐，等等。

“棘白菌素/糖类复合物”指的是当棘白菌素在糖类的存在下从溶剂中重结晶时在棘白菌素化合物和糖类（或糖）间形成的结晶复合物。对棘白菌素/糖类复合物的更详细的描述可以见 Larew 等于 1999 年 3 月 3 日提交的题为“棘白菌素/糖类复合物”，且其引入在此作为参考。复合物使用标准结晶操作诸如一般是为了通过重结晶来纯化化合物而进行的那些操作来形成。将棘白菌素物质和糖类在抬高的温度（大约 45-60℃，优选小于 55℃）下溶于溶剂。该溶液然后缓慢地冷却直到结晶开始。可以加入晶种（诸如以前结晶的复合物或不溶性糖）来引发结晶。合适的溶剂包括对于进行中的足以使反应物溶解的反应来说是惰性的任何一种溶剂或溶剂混合物，这些溶剂提供了一个完成所需的糖类和棘白菌素化合物间的复合作用的介质，诸如质子溶剂或酮溶剂包括甲醇、乙醇、苄醇，以及苄醇与诸如下列溶剂的混合物：甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、2-丁醇、叔丁醇、2-戊醇、2-甲基-1-丙醇、MEK、丙酮、乙酸乙酯、甲苯、乙腈、氟苯、二氯甲烷、硝基甲烷、或环酮诸如环戊酮和环己酮。优选的溶剂包括甲醇、乙醇、苄醇、以及苄醇与甲乙酮、乙酸乙酯和乙腈的混合物。

合适的糖类包括阿东糖醇、阿拉伯糖、阿拉伯糖醇、抗坏血酸、壳多糖、D-纤维素二糖(D-ellubiose)、2-脱氧-D-核糖、半乳糖醇、

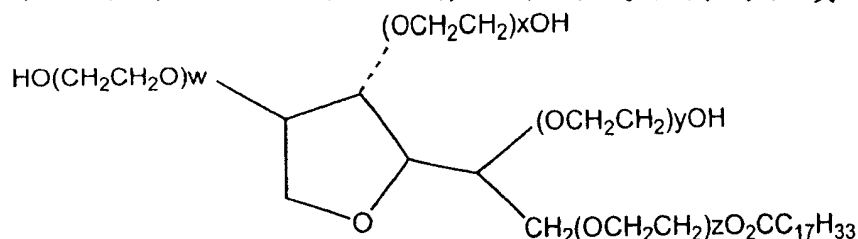
(S)-(+)-赤藓酮糖、果糖、岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、肌醇、乳糖、乳果糖、来苏糖、麦芽糖醇、麦芽糖、麦芽三糖、甘露糖醇、甘露糖、松三糖、蜜二糖、微晶纤维素、异麦芽酮糖(palatinose)、季戊四醇、棉子糖、鼠李糖、核糖、山梨糖醇、山梨糖、淀粉、蔗糖、海藻糖、木糖醇、木糖及其水合物。合适的糖类还包括上列化合物的D和L旋光对映体以及 α 和 β 端基异构体。优选的糖类是简单糖(例如单糖和二糖)。

棘白菌素化合物可以在冷冻干燥之前以大于或等于1mg/ml的浓度存在于本发明的制剂中。通常，棘白菌素化合物的存在量范围是从约1mg/ml至约50mg/ml，优选浓度范围是从约1mg/ml至约40mg/ml，更优选从约1mg/ml至约30mg/ml，首选从约8mg/ml至约12mg/ml。

本发明制剂含有成胶束表面活性剂，它是具有能增加非水溶性药物在水中的溶解性的疏水和亲水单元或基团的药学上可接受的两亲赋形剂。HLB值为10-18对于增溶棘白菌素化合物通常是最有利的。表面活性剂以棘白菌素对表面活性剂的重量比为约1:1.75至约1:25的量存在于制剂中，更优选比例为约1:2至约1:3。加入到制剂中的表面活性剂的上限可以由其在药物应用中的毒性来限制；因此，上限可以根据所选用的特定表面活性剂而变化。合适的表面活性剂包括聚山梨醇酯(例如：聚山梨醇酯80，聚山梨醇酯40，聚山梨醇酯20)、聚氧乙烯蓖麻油衍生物(例如：可从BASF购得的Cremophors™(聚氧乙烯(polyoxyl)35蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、和聚氧乙烯60氢化蓖麻油))、聚氧乙烯硬脂酸酯(例如可从BASF购得的Solutol™ HS 15(macrogol-660-羟基硬脂酸酯))、脱水山梨糖醇三油酸酯、胆汁盐(例如胆酸、脱氧胆酸及其盐(例如脱氧胆酸钠或牛磺脱氧胆酸钠))、卵磷脂，等等。优选的表面活性剂包括聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯20、和具有降低的组胺作用的聚氧乙烯羟基硬脂酸酯(例如Solutol™ HS 15)。不能很好地起增溶作用的表面活性剂包括某些泊洛沙姆类

(poloxamers) 物质, 它们是氧化丙烯和氧化乙烯的嵌段共聚物。

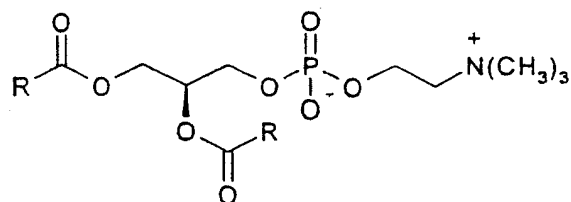
“聚山梨醇酯”指的是具有以下通式结构的物质:



其中 $x+y+w+z$ 等于 5 至 20 间的整数。

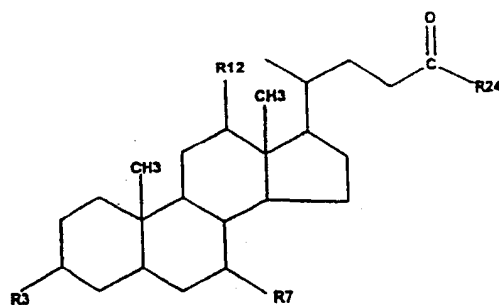
当 $x+y+w+z=20$ 时上述结构代表商品吐温 (Tween)TM 20、40 和 80 (可从 ICI Americas 股份有限公司, Wilmington, DL 购得)。

“卵磷脂”是指具有以下通式结构的物质:



R 一般是硬脂酸、棕榈酸或油酸的残基。

“胆汁盐”是指具有以下通式结构的物质:



其中 R_3 、 R_7 和 R_{12} 为 $-OH$ 、 $-H$ 或 $-SO_3^-$ 基团, R_{24} 是 $-OH$ 或 $-CO_2^-$ 、 $-C(O)NH(CH_2)_nSO_3^-$ 或 $-C(O)NH(CH_2)_nCO_2^-$ 的碱金属盐, 而 n 等于 1 至 4 间的整数。

典型溶液制剂包括棘白菌素化合物和成胶束表面活性剂。申请人已观察到, 掺入成胶束表面活性剂不仅最优化了棘白菌素化合物的增溶作用, 而且增强了溶液的稳定性。制剂可以任选地包括一种或多种缓冲剂、稳定剂和/或张度剂。如果制剂为溶液形式, 则还存在

溶剂。溶剂通常在被认为能对哺乳动物安全地胃肠外给药 (GRAS) 的溶剂的基础上加以选择。一般, 安全溶剂是无毒的含水溶剂, 诸如水和其他可溶于水或可与水混溶的无毒溶剂。合适的溶剂包括水、乙醇、丙二醇、聚乙二醇 (例如 PEG400, PEG300) 等等及其混合物。优选的溶剂是水。

典型的冻干制剂包括棘白菌素化合物、药学上可接受的成胶束表面活性剂、增量剂和/或稳定剂。该制剂可以任选地包括一种或多种缓冲剂。申请人已观察到: 加入成胶束表面活性剂不仅最优化了冻干制剂在无毒含水溶剂中的重建, 而且为冻干物质提供了增强的稳定性。

溶液和冻干制剂都可任选地含有稳定剂。稳定剂通常以约 0.5% 至约 40% (wgt./vol.) 的浓度存在, 优选浓度范围是从约 0.5 至 10%, 更优选浓度范围是从约 1% 至约 6%。术语“稳定剂”是指能增强制剂中活性成分的化学和物理稳定性的药学上可接受的赋形剂。合适的稳定剂包括多元醇 (例如聚乙二醇和聚丙二醇以及糖类诸如蔗糖、海藻糖、果糖、乳糖和甘露糖醇)、氨基酸和表面活性剂诸如聚山梨醇酯和胆汁盐。优选的用于冻干制剂的稳定剂包括甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、果糖、乳糖及其组合。在溶液中, 首选的稳定剂是胆汁盐、聚乙二醇和丙二醇。

溶液和冻干制剂还可任选地含有缓冲剂。缓冲剂以从约 0.03% 至约 5.0% (wgt./vol.) 范围内的浓度存在, 更优选浓度范围是从约 0.1% 至约 1.0%。术语“缓冲剂”是指能将溶液的 pH 保持在缓冲系统特异的具体范围之内的药学上可接受的赋形剂。合适的 pH 范围是 pH3.0-7.0。优选 pH 范围是 4.0-5.5, 更优选 4.0-5.0。合适的缓冲剂包括乙酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐、酒石酸盐、乳酸盐、琥珀酸盐、氨基酸等。优选的用于溶液制剂的缓冲剂包括乙酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、磷酸盐及其组合。对于冻干制剂来说, 优选的缓冲剂是酒石酸。

溶液制剂可以任选地含有一种或多种张度剂。张度剂一般以从约 1 至约 100mg/ml 范围内的浓度存在, 更优选浓度范围是从约 9 至约

50mg/ml。术语“张度剂”是指使溶液与血液相容的药学上可接受的赋形剂。在注射用制剂中需要张度剂。合适的张度剂包括甘油、乳糖、甘露糖醇、葡萄糖、氯化钠、硫酸钠、山梨糖醇等。优选的张度剂包括甘露糖醇、山梨糖醇、乳糖、氯化钠及其组合。

当冻干时，制剂可以任选地含有增量剂。增量剂在制剂中以从约2%至约10%(wgt./vol.)范围内的浓度存在，更优选浓度范围从约3%至约6%。术语“增量剂”是指将大体积物质(bulk)加入制剂中使得随冷冻干燥得到良好形态的饼状物的药学上可接受的赋形剂。合适的增量剂包括甘露糖醇、甘氨酸、乳糖、蔗糖、海藻糖、葡聚糖、羟乙基淀粉、菲可(ficoll)和明胶。优选的增量剂包括甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、乳糖及其组合。

制剂可以使用常规溶解和混合方法加以制备。例如，将大块药物物质(例如棘白菌素化合物或棘白菌素/糖类复合物)在药学上可接受的成胶束表面活性剂和可选的一种或多种增量剂、缓冲剂、稳定剂和/或张度剂的存在下溶于无毒含水溶剂。所得溶液然后无菌过滤并优选冻干得到所需制剂。在冷冻干燥之前，表面活性剂一般以每体积溶液大于1%重量的量存在。

另一方面，药物溶液可以通过形成缓冲至约3.0至7.0(优选4.0至5.5，更优选约4.0至5.0)的缓冲水溶液来制备。所用的缓冲剂可以是先前所描述的任何一种缓冲剂。然后将成胶束表面活性剂加入到该缓冲溶液中并将溶液冷却至约5℃至15℃(优选约7℃至10℃)。将棘白菌素化合物或棘白菌素/糖类复合物在无毒含水溶剂(可以与缓冲溶液中所用的溶剂相同或不同)中的淤浆加入到该含有表面活性剂的冷却溶液中。在冷冻干燥之前可以向溶液中加入一种或多种增量剂、稳定剂和/或张度剂。所得溶液然后用另外的溶剂稀释、过滤并冻干得到所需制剂。

合适的冷冻干燥方法记载于Nail等人的《药物剂型中的冷冻干燥原理与实践》第2版，Marcel Dekker公司，NY，第163-233页(1993)。制剂优选在管形瓶中冷冻干燥，然后它可储存直至使用。

向管形瓶中加入无毒含水溶剂使冻干物质溶解形成可用于胃肠外治疗的溶液。本领域技术人员将领会：含水溶剂包括这类应用中常用的其他普通溶液（例如盐水溶液、葡萄糖溶液等）。

通常，冻干制剂含有增量剂，而非冻干制剂含有一种或多种张度剂。在应用中，制剂一般要稀释或重构（如果是冻干的话），并且如果需要，在给药前进一步稀释。对于冻干产物的重构指示的实例是将 10ml 注射用水(WFI)加入管形瓶中并轻微振动使溶解。一般重构时间小于 1 分钟。然后所得溶液在给药前进一步稀释于静脉滴注溶液诸如在水中的葡萄糖 5%(D5W)。

活性成分一般配制成药物剂型，以使药物的剂量容易控制并为病人提供雅致而又容易处理的产品。制剂可以包含从 0.1%至 60 重量%的活性成分，更通常为约 10%至约 30 重量%。

本文中所用的术语“单剂”或“单位剂量”指的是含有计算出可产生所需治疗作用的预定量活性成分的物理分散单元。当单剂胃肠外给药时，一般将其制成装在安瓿（或管形瓶）中的定量单位形式。

给药剂量可以根据病人的生理特点、病人症状的严重程度以及用于给药的方式等加以变化。对于给药病人的具体剂量通常通过主治医师的判断来确定。

合适的载体、稀释剂和赋形剂是本领域中众所周知的，包括诸如糖类、蜡、水溶性和/或膨胀性聚合物、亲水或疏水物质、明胶、油、溶剂、水等物质。所用的特定载体、稀释剂或赋形剂将取决于活性成分的应用方式和目的。制剂还可包括润湿剂、润滑剂、乳化剂、悬浮剂、防腐剂、甜味剂、增香剂、矫味剂及其结合物。

药物组合物可以使用各种方法给药。合适的方法包括注射。所用的特定治疗方法将取决于所针对的感染类型。

棘白菌素和半合成棘白菌素化合物已表明能显示出抗真菌和抗寄生物活性，诸如抑制各种感染性真菌的生长，包括念珠菌（即：白色念珠菌、近平滑念珠菌、克鲁斯氏念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌或葡萄牙念珠菌）；球拟酵母（即：光滑球拟酵母）；曲霉（即：

烟曲霉); 组织胞浆菌(即: 荚膜组织胞浆菌); 隐球菌(即: 新型隐球菌); 芽生菌(即: 皮炎芽生菌); 镰刀菌; 毛癣菌, *Pseudallescheria boydii*, 粗球孢菌, 申克氏孢子丝菌, 等等。

这种类型的化合物还可抑制主要引起免疫抑制个体发生机会感染的某些生物体的生长, 诸如抑制 AIDS 和其他无免疫应答病人体内卡氏肺囊虫(肺囊虫性肺炎(PCP)的病因生物)的生长。棘白菌素型化合物可抑制的其他原生动植物包括疟原虫、利什曼原虫、锥虫、隐孢子虫、等孢子球虫、无孢子球虫(*Cyclospora* spp.)、毛滴虫、微孢子虫, 等等。

所以, 本发明的制剂可以用于对抗全身性真菌感染或皮肤真菌感染。因此, 本发明的方法和制剂可以用于制备用于此处描述的治疗应用的药物。例如, 真菌活性(优选白色念珠菌或烟曲霉活性)或寄生物活性可以通过使由本发明制备的药物制剂分别与真菌或寄生物接触而得以抑制。术语“接触”包括本发明化合物与寄生物或真菌结合或会合、或者表面碰触或相互接触。该术语不表明对过程的任何进一步限制, 诸如利用抑制的机理。方法规定为包括通过化合物和它们的固有抗寄生物和抗真菌性能的作用来抑制寄生物和真菌的活性。

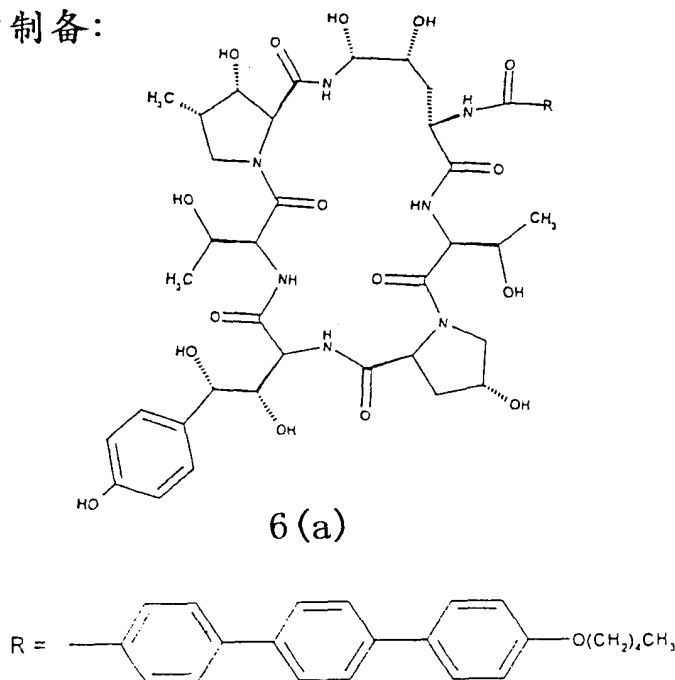
还提供了治疗真菌感染的方法, 该方法包括对需要这种治疗的宿主给药有效量的本发明的药物制剂。优选的方法包括治疗白色念珠菌或烟曲霉感染。术语“有效量”是指能够抑制真菌活性的活性化合物的量。给药剂量将根据诸如象感染的性质和严重度、宿主的年龄和一般健康状况以及宿主对抗真菌剂的耐受性等因素进行变化。特定给药方案同样也可按照这些因素加以改变。药物可以每日单剂或一日多剂给药。给药可以持续约 2-3 天至约 2-3 周或更长时间。一般每日剂量(以单剂或多剂给药)含有从约 0.01mg/kg 至 100mg/kg(体重)剂量水平的活性化合物。优选的每日剂量通常为约 0.1mg/kg 至 60mg/kg, 更优选为约 2.5mg/kg 至 40mg/kg。

提供以下实施例是为了阐述而不是限制本发明。本文中提到的所

有参考文献都结合在此作为参考。

实施例

用于举例说明本发明制剂的棘白菌素化合物按照下列制备中所述加以制备。具体而言，以下顺序描述了具有下列结构的抗真菌化合物 6(a) 的制备：



本领域技术人员将理解，以下只是说明性的实施例，可用作抗真菌剂的其他半合成棘白菌素化合物可以使用类似方法或早先在说明书中提及的参考文献中描述的方法来合成。除非另有说明，否则在以下的制备中所用的材料从 Aldrich 化学公司 (Milwaukee, Wisconsin) 购得。

化合物的制备

制备 4-溴-4'-戊氧基联苯 1(a)

将无水 K_2CO_3 (416g, 3mol) 加入 4-溴-4'-羟基联苯 (300g, 1.2mol)、1-碘代戊烷 (234ml, 1.79mol) 和 2-丁酮 (600ml) 的混合物中。该反应混合物回流 44 小时，直到 TLC (85:15 己烷/EtOAc) 显示溴代醇已完全消耗。将该混合物冷却至约 30℃，用 CH_2Cl_2 (600ml) 稀释，然后过滤。滤液用 H_2O 洗涤两次，用饱和 NaCl 水溶液洗涤两次，用无水 Na_2SO_4 干燥，过滤，然后减压干燥得到固体。该固体通

过过滤分离，用总量为 2L 的冰冷的庚烷反复洗涤以除去所有碘代戊烷的痕迹，然后在高真空下干燥过夜。收率：340g (88%) 白色粉末。

另一种方法制备 4-溴-4'-戊氧基联苯 1(a)：

将 4-溴-4'-羟基联苯 (12.5g, 50.2mmol) 加入 NaOH (2.28g, 97% 纯度, 55.2mmol) 的去离子水溶液 (150ml) 中，接着加入 1-碘代戊烷 (11.9g, 60.2mmol) 和溴化四丁铵 (0.82g, 2.51mmol)。该混合物在 90℃ 下搅拌 3.75 小时，直到固体溶解。然后，随着反应继续进行，所需产物开始沉淀出来。将该混合物缓慢冷却，然后过滤得到固体，其用去离子水洗涤，直到滤液的 pH 呈中性，然后在 30℃ 下在真空烘箱中干燥 16 小时。

收率：15.41g (96%) 的 5a. R_f 0.5 (97:3 己烷/EtOAc)。 $^1\text{H NMR}$: δ 0.93 (t, 3H, $J=6.9\text{Hz}$); 1.41 (m, 4H); 1.79 (m, 2H); 3.97 (t, 2H, $J=6.6\text{Hz}$); 6.98 (m, 2H); 7.23 (m, 6H). $^{13}\text{C NMR}$: δ 14.03; 22.43; 28.22; 28.98; 68.12; 114.91; 120.71; 127.93; 128.27; 131.77; 132.24; 139.82; 159.03. MS(FAB $^+$): m/z 320. IR(CHCl_3): 2960, 2936, 2874, 1608, 1518, 1485, 1475 cm^{-1} . 对 $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{BrO}$ 的分析: 计算值: C, 63.96; H, 6.00; Br, 25.0; 实测值: C, 64.10; H, 5.97; Br, 25.28.

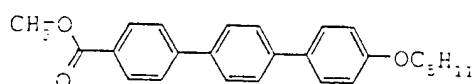
制备 4-硼酸 (boronic acid) -4'-戊氧基联苯 2(a)：

在 N_2 下，向化合物 1(a) (100g, 0.31mol) 在叔丁基甲基醚 (MTBE) (1L) 中的冷 (-20°C) 混合物中缓慢滴加正丁基锂 (150ml 2.5M 己烷溶液, 0.37mol)，同时保持内部温度在 -19°C 至 -18°C 之间。所得混合物在 -17°C 和 -16°C 之间搅拌 3.5 小时，产生淡黄绿色溶液。将该溶液冷却至 -78°C 并用 100ml 无水 THF 稀释，产生白色沉淀。然后，在氮气下在 1.5 小时内滴加三异丙基硼酸酯 (145ml, 0.62mol) 在 MTBE (200ml) 中的冷 (-78°C) 溶液，同时保持反应温度在 -78°C 和 -74°C 之间。所得反应混合物在 -78°C 下搅拌 1.5 小时，然后使在 1 小时内升至 -50°C ，此时除去冷却浴，将该混合物搅拌过夜 (16-21 小时)，产生白色沉淀。该混合物用 2M HCl (1000ml) 用力振摇 5 分

钟，然后将所产生的各层分离，有机层减压干燥得到残余物。该残余物用 MTBE (100ml) 稀释，接着用庚烷 (800ml) 稀释得到白色粉末，其通过吸滤分离并用庚烷 (300ml) 洗涤 3 次。

收率：88g (98%). R_f 0.45 (95:5 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). $^1\text{H NMR}$: δ 0.92 (m, 3H); 1.41 (m, 4H); 1.80 (m, 2H); 4.00 (m, 2H); 6.99 (m, 2H); 7.45-7.63 (m, 3H); 7.67 (m, 2H); 8.24 (d, 1H, $J=8.3\text{Hz}$). $^{13}\text{C NMR}$: 14.01; 22.26; 28.03; 28.77; 39.61; 39.89; 40.17; 40.45; 67.82; 114.77; 125.32; 127.83; 132.93; 134.84; 141.88; 158.71. MS(FD^+): m/z 284. IR(CHCl_3): 2959, 2952, 2874, 1606, 1526, 1500 cm^{-1} .

制备化合物 3(a):



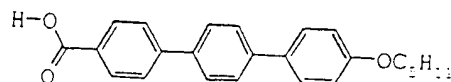
3 (a)

甲苯 (174ml) 和丙醇溶液 (20ml) 通过对溶液施加 20-30 秒真空后用 N_2 清洗而脱气 3 次。2M Na_2CO_3 溶液也进行脱气。将甲苯/丙醇溶液 (97ml) 加入 4-碘代苯甲酸甲酯 (14.12g, 53.9mmol) 和化合物 2(a) (15.0g, 52.8mmol) 的混合物中，接着加入经过脱气的 2M Na_2CO_3 水溶液 (29ml, 58.0mmol)。所得混合物在正压 N_2 下脱气 2 次，每次 20-30 秒，接着加入醋酸钯 (II) (0.24g, 1.1mmol) 和三苯基膦 (0.84g, 3.2mmol)，然后再脱气两次。之后该反应混合物在 N_2 下回流 5 小时，产生淡黄色混合物。将该混合物冷却至 23℃ 使形成沉淀，其通过过滤收集，顺序用甲苯 (123ml)、2:1 MTBE/EtOAc (143ml)、去离子水 (123ml) 和 2:1 MTBE/EtOAc (42ml) 洗涤，然后在 35℃ 下在真空烘箱中干燥 16 小时。收率：18.7g (94%)。 R_f 0.48 (苯)。

$^1\text{H NMR}$: δ 0.93 (t, 3H, $J=6.80\text{Hz}$); 1.42 (m, 4H); 1.81 (m, 2H); 3.95 (s, 3H); 4.00 (t, 2H, $J=6.48\text{Hz}$); 6.97 (d, 2H, $J=8.52\text{Hz}$); 7.55 (d, 2H, $J=8.52\text{Hz}$); 7.66 (m, 6H); 8.10 (d, 2H, $J=8.20\text{Hz}$). MS(FD^+): m/z 374. IR(KBr):

2938, 1723 cm^{-1} . 对 $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_3$ 的分析: 计算值: C, 80.18; H, 7.00; 实测值: C, 79.91; H, 6.94.

制备化合物 4(a):



4 (a)

化合物 3(a) (80g, 0.21mol)、5M KOH (160ml) 和溴化十六烷基三甲铵 (4.8g, 0.013mol) 在二甲苯 (800ml) 中的混合物回流 3 小时, 然后冷却至 10°C 并过滤得到白色固体。该固体用 H_2O 洗涤 3 次 (每次 500ml) 以除去催化剂和大多数碱。所得物质用 DME (500ml) 处理。加入 6M HCl (100ml) 将该溶液的 pH 调节至 pH。所得混合物回流 30 分钟, 同时定期检查 pH 以确保其维持酸性, 然后冷却并过滤。所得固体依次用 MTBE (400ml) 和水 (4x400ml) 洗涤, 直到洗涤物用石蕊检验为中性。收率: 76g (98% 收率)。

$^1\text{H NMR}$ δ 0.89 (t, 3H, $J=6.82\text{Hz}$), 1.38 (m, 4H), 1.73 (m, 2H), 3.96 (t, 2H, $J=6.3\text{Hz}$), 6.95 (d, 2H, $J=8.56\text{Hz}$), 7.57 (d, 2H, $J=8.54\text{Hz}$), 7.64-7.74 (m, 6H), 8.00 (d, 2H, $J=8.21\text{Hz}$), 8.09 (s, 1H). MS(FD^+) m/z 360. IR(KBr): 2958, 2937, 2872, 1688 cm^{-1} . 对 $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_3$ 的分析: 计算值: C, 79.97; H, 6.71; 实测值: C, 80.50; H, 6.77.

制备化合物 4(a) 的 HOBT 酯:

A. 形成 HOBT 甲磺酸酯

向羟基苯并三唑水合物 (200g, 1.48mol) 在无水 CH_2Cl_2 (1.5L) 中的冷 (0°C) 混合物中缓慢加入无水 Et_3N (268ml, 1.92mol), 同时保持温度在 $0-10^{\circ}\text{C}$, 接着加入甲磺酰氯 (126ml, 1.63mol), 同时保持温度在 $0-5^{\circ}\text{C}$ 。所得混合物在 0°C 下搅拌 3 小时, 并依次用冷水 (2 x 1.2L) 和盐水 (1.2L) 洗涤。将合并后的有机萃取液减压浓缩得到固体。该固体从 CH_2Cl_2 (100ml) 和庚烷 (1L) 中重结晶。结晶通过吸滤收集并用总量为 1L 的庚烷反复洗涤, 然后在高真空 (0.5 mmHg) 下干燥过夜。

收率: 245g (78%)。R_f 0.55 (1:1 己烷/CH₂Cl₂)。

¹H NMR: δ 3.58 (s, 3H), 7.46 (t, 1H, J= 7.60Hz), 7.60 (d, 1H, J= 8.28 Hz), 7.65 (d, 1H, J= 8.56Hz), 7.68 (d, 1H, J= 8.20 Hz), 8.05 (d, 1H, J=8.41Hz)。

B. 形成 HOBt 酯 (化合物 5(a))

化合物 4(a) (50g, 0.14mol) 和上述 A 部分中所述的物质 (36g, 0.17mol) 在 DMF (650ml) 中的混合物在 N₂ 下滴加 Et₃N (25ml, 0.18mol) 进行处理。所得混合物在室温下搅拌 4 小时, 直到根据 TLC (95:5 CH₂Cl₂/MeOH) 测定所有的酸都已消耗完。当所有的酸都消耗完时, 一部分反应混合物 (~3 管滴) 当用 3ml 1:1 的 CH₂Cl₂/THF 稀释时产生澄清的均匀溶液。该反应混合物然后用甲苯 (500ml) 稀释, 用水 (500ml) 洗涤。有机层 (含有固体产物) 用水 (500ml) 稀释并使用转移用的 MTBE 过滤。该固体用 MTBE (2 x 400ml) 冲洗并真空干燥得到白绿色片状粉末物质。注意: 该物质可以溶于 THF 并过滤除去任何残余的金属污物。收率: 61g (92%)。R_f 0.68 (1:1 CH₂Cl₂/己烷)。¹H

NMR: δ 0.93 (t, 3H, J=7.0Hz), 1.42 (m, 4H), 1.81 (m, 2H), 4.00 (t, 2H, J=6.53Hz), 6.99 (d, 2H, J=8.6Hz), 7.42-7.59 (m, 5H), 7.71 (dd, 4H, J=13.91Hz, 8.40Hz), 7.86 (d, 2H, J=8.30Hz), 8.11 (d, 1H, J= 8.31Hz), 8.35 (d, 2H, J=8.33Hz)。¹³C NMR: δ 14.03, 22.44, 28.18, 28.94, 40.10, 40.37, 68.11, 108.45, 110.11, 114.95, 118.71, 120.48, 123.04, 124.94, 124.99, 127.00, 127.23, 127.51, 127.73, 128.06, 128.82, 128.86, 131.35, 132.30, 137.15, 141.43, 143.54, 147.85, 159.15, 162.73。MS(FD⁺): m/z 477。IR(CHCl₃): 2960, 2936, 2874, 1783, 1606 cm⁻¹。对 C₃₀H₂₇N₃O₃ 的分析: 计算值: C, 75.45; H, 5.70; N, 8.80; 实测值: C, 75.69; H, 5.58; N, 8.92。

制备抗真菌化合物 6(a):

在整个过程中使用去离子水。化合物 5(a) (11g, 23mmol) 和化合物 6(a) 的核 (其中 R 为氢-HPLC 检验纯度为 92%, 19.25g, 22.2mmol) 在无水 DMF (275ml) 中的混合物在 N₂ 下搅拌 4 小时 (直到 HPLC 显示

环肽原料已完全消耗)。该混合物通过硅藻土床过滤,滤液在 35℃ 下减压浓缩得到可以搅动的糊状物。将该糊状物倒入 MTBE(500ml)使细粉末沉淀,其通过真空过滤收集并干燥得到 27g 粗物质。该物质用乳钵和研棒碾碎成粉末,用甲苯(200ml)使其成浆状 5 分钟,吸滤(缓慢过滤),用 MTBE(100ml)冲洗,然后真空干燥得到黄色固体。收率: 23g(HPLC 显示纯度为 95%,保留时间=7.79 分钟)。

另一方面,可以使用过量的环状核(1.1 当量)进行转化。当根据 HPLC 显示反应基本上完全时,将粗物质(10g 粉末)分批加入到用力搅拌着的 9:1 丙酮/水混合物(60ml)中。将硅藻土(2.5g,预先用 9:1 丙酮/水混合物洗涤)加入到所得悬浮液中。搅拌 2 分钟后,该混合物通过硅藻土床(预先用 9:1 丙酮/水洗涤)过滤,饼状物用 9:1 丙酮/水(10ml)冲洗两次。将滤液倒入装有去离子水(200ml)的烧杯中,同时使该混合物轻微旋转导致沉淀形成。该沉淀通过吸滤收集,用 H₂O(4 x 25ml)冲洗,然后在室温下真空干燥。收率: 6.81g(HPLC 显示纯度为 97%)。

该产物使用制备 HPLC 色谱法进一步纯化。R_f 0.29

(80:20 CHCl₃/MeOH). MS(FAB⁺):C₅₈H₇₄N₇O₇ 的 m/z, 计算值:1140.5141;实测值:

1140.5103. IR(KBr): 3365, 2934, 1632, 1518 cm⁻¹.

药物制剂

下列实施例阐述了本发明的制剂及它们的制备方法。这些实施例不打算以任何方式限制本发明的范围并且不应作这样的解释。

下列制剂用方法 A、方法 B 或方法 C 加以制备。化合物 6(a)的用量通过计算出实验所需的理论效价并用该值除以化合物“原态(as-is)” HPLC 效价来确定。

方法 A 将 50ml 0.1M 柠檬酸盐缓冲储备溶液的 pH 调节至 pH4 后,加入 2.5g 聚山梨醇酯 80,将所得混合物混合直至溶解,接着加入 1g 制备的 6(a)化合物(效价)。将所得混合物混合直至溶解,接着加入 3g 甘露糖醇(增量剂)和 2g 海藻糖(稳定剂)。所得混合物再次混合直至溶解。所得溶液在容量瓶中用水稀释至 100ml。将

该溶液的 3ml 样品转移到管形瓶中，然后在冷冻干燥机中冻干。

方法 B 使用 1N 氢氧化钠溶液将 0.3005g 醋酸的 50ml 水溶液的 pH 调节至 pH4.0。一边混合一边加入 2.5g 聚山梨醇酯 80 和 5.0g 甘露糖醇（增量剂），将所得混合物混合直至溶解，接着加入 1g 化合物 6(a)（效价）。所得混合物再次混合直至溶解。所得溶液在容量瓶中用水稀释至 100ml，过滤，然后填充到管形瓶中。这些管形瓶可以在冷冻干燥机中冻干或者在 5℃ 下储存。

方法 C 使用 10% 氢氧化钠溶液将 0.113g 酒石酸（tartaric）的 50ml 水溶液的 pH 调节至 pH4.3。一边混合一边加入 2.5g 聚山梨醇酯 80 并混合直至溶解。将该溶液的温度降低到 5-15℃，接着加入在水中形成淤浆的 1g 化合物 6(a)（效价）。所得混合物再次进行混合直至溶解，接着加入 1.0g 果糖（稳定剂）和 5.0g 甘露糖醇（增量剂）。所得混合物再次混合直至溶解。所得溶液在容量瓶中用水稀释至 100ml，过滤，然后填充到管形瓶中。这些管形瓶可以在冷冻干燥机中冻干或者在 5℃ 下储存。

下列制剂实施例 1-27 基本上按照上述方法 A 和 B 进行制备。符号“-”表示指定的成分从制剂中删除。在表 1 和随后的各表中，所有重量均为克(g)；浓度([])为 mg/ml；CA 代表柠檬酸；Y 代表是；N 代表否；Man 代表甘露糖醇；Tre 代表海藻糖；Col. 代表崩坏的饼状物（collapse cake）；C 代表柠檬酸盐；BA 代表增量剂；B 代表缓冲剂；PEG 是聚乙二醇；PPG 是聚丙二醇；SA 代表稳定剂；Ace 是醋酸盐；Poly 80 是聚山梨醇酯 80；Com 是化合物；Suc 是蔗糖；His 是组氨酸；Sur 是表面活性剂；Lac 是乳糖；Fru 是果糖；TA 是酒石酸；AA 是乙酸。

表 1

Ex No	Comp 6(a)	Poly 80	BA	B	SA	Col.
1	1	2.5	Man(3)	CA(0.960)	Tre(2)	Y
2	1	2.5	Man(3)	CA(0.960)	Suc(2)	Y
3	1	2.5	-	CA(0.960)	Suc(5)	部分
4	1	2.5	-	CA(0.960)	Tre(5)	部分
5	1	2.5	-	-	Tre(5)	部分
6	1	2.5	-	-	Suc(5)	部分
7	1	2.5	-	-	Lac(5)	部分
8	1	2.5	Man(5)	-	-	N
9	1	2.5	Man(5)	-	Suc(1)	N
10	1	2.5	Man(5)	-	Lac(1)	N
11	1	2.5	Man(5)	CA(0.096)	Lac(1)	N
12	1	2.5	Man(5)	TA(0.113)	Lac(1)	N
13	1	2.5	Man(5)	TA(0.113)	Fru(1)	N
14	1	2.5	Man(5)	-	PEG 8000(1)	N
15	1	2.5	Man(5)	-	PEG 6000(2)	N
16	1	2.5	Man(5)	-	His(0.5) Suc(0.5)	N
17	1	2.5	Man(5)	CA(0.960)	Suc(0.5)	N
18	1	2.5	Man(5)	CA(0.960)	Suc(1)	N
19	1	2.5	Man(5)	AA(0.3)	-	N
20	0.1	2.5	Man(5)	AA(0.3)	-	N
21	0.1	2.5	Man(5)	AA(0.6)	-	N
22	0.1	2.5	Man(5)	AA(0.06)	-	N
23	0.1	2.5	Man(5)	CA(1.92)	-	N
24	0.1	2.5	Man(5)	CA(0.19)	-	N
25	0.1	2.5	Man(5)	CA(0.960)	-	N
26	0.5	1.25	Man(5)	-	Lac(1)	N
27	0.8	2.0	Man(5)	-	Lac(1)	N

通过目测法测定

溶解性研究

溶解性研究在室温下通过将 5ml 测试溶液(存在于水中的表面活性剂, 任选地含有增量剂、缓冲剂或稳定剂)和 50mg 化合物 6(a) 加入到玻璃试管中进行。将试管振荡过夜并检验过量的固体。取出含有过量固体的试管用于分析。向不含过量固体的试管中再加入 50mg 化合物 6(a), 所得混合物再次进行振荡。重复该过程, 直到在试管中观测到过量固体。所有样品静置 1 小时, 除去上清液, 过滤并进行反向 HPLC 分析, 以测定每 ml 溶液中化合物 6(a) 的效价。

表 2

Sur (s)	[Sur]	Comp6 (a) 效价
无	-	<0.1
Poly 80	5	1
Poly 80	10	4.4
Poly 80	15	7.2
Poly 80	25	13.2
Poly 20/ Poly 80	5	-
Poly 20/ Poly 80	5	4.8
Poly 20/ Poly 80	10	8.0
乙氧基化蓖麻油 (cremophor™ EL)	25	11.0
Poly 20/ pluronic™ F68	5	-
Poly 20/ pluronic™ F68	10	1.13
Poly 80/ 牛磺脱氧胆酸钠	20	-
Poly 80/ 牛磺脱氧胆酸钠	20	43.12

溶液和冻干制剂的稳定性通过利用反向 HPLC 在于 40℃ 下储存的起始、2 周和 4 周时监测制剂样品的相关物质增加百分数来进行评估。

表 3

6 (a) 效价 (mg/ml)	Sur	B	Ton. 剂	共-溶剂 (wgt%/vol)	百分数相关物质		
					0 wks	2 wks	4 wks
1	Poly 80(25)	Cit(1.9)	Man(50)	-	3.42	8.91	18.04
1	Poly 80(25)	Cit(9.6)	Man(50)	-	3.36	9.25	17.29
1	Poly 80(25)	Cit(19.2)	Man(50)	-	3.47	9.70	18.02
1	Poly 80(25)	Ace(0.6)	Man(50)	-	3.15	11.37	19.44
1	Poly 80(25)	Ace(3)	Man(50)	-	3.33	12.20	18.29
1	Poly 80(25)	Ace(6)	Man(50)	-	3.27	11.07	19.59
10	Poly 80(25)	Ace(3)	-	-	2.51	9.46	14.39
10	Poly 80(20) Poly 20(5)	Ace(6)	-	-	2.65	11.06	15.44
10	Poly 80(15) Poly 20(10)	Ace(6)	-	-	2.70	10.55	15.34
10	Poly 80(5) Poly 20(20)	Ace(6)	-	-	2.67	9.77	15.57
10	Poly 80(25)	Ace(6)	-	20% PEG400	2.83	9.69	14.35
10	Poly 80(25)	Ace(6)	-	40% PEG400	2.57	10.38	13.36
10	Poly 80(25)	Ace(6)	-	20% PPG	2.71	10.58	13.40
10	Poly 80(25)	Ace(6)	-	40% PPG	2.72	9.84	12.65
10	Poly 80(25)	-	-	-	3.62	18.71	27.91
10	Poly 80(25)	-	Man(50)	-	3.68	16.65	23.68
10	Poly 80(25)	-	-	40% PEG 400	3.73	15.26	23.99
10	Poly 80(25)	-	-	1% PEG 3350	3.68	21.56	-

表 4

6(a) 效价	Sur	B	SA	EA	* 相关物质		
					0 wks	2 wks	4 wks
1	Poly 80(25)	Cit(1.9)	-	Man(50)	3.22	10.24	12.16
1	Poly 80(25)	Cit(9.6)	-	Man(50)	3.36	11.74	18.63
1	Poly 80(25)	Cit(19.2)	-	Man(50)	3.37	17.29	22.61
10	Poly 80(25)	Cit(9.6)	Suc(50)	-	3.60	5.4	6.01
10	Poly 80(25)	Cit(9.6)	Tre(50)	-	3.73	4.83	6.19
10	Poly 80(25)	-	-	Man(50)	3.98	4.85	5.45
10	Poly 80(25)	Cit(9.6)	Suc(5)	Man(50)	3.70	5.60	6.01
10	Poly 80(25)	Cit(9.6)	Suc(10)	Man(50)	3.77	5.41	5.88
10	Poly 80(25)	Tar(1.13)	Fru(10)	Man(50)	2.49	-	2.42
10	Poly 80(25)	-	Suc(10)	Man(50)	4.26	4.82	4.49
10	Poly 80(25)	-	Lac(10)	Man(50)	4.56	4.51	4.85
10	Poly 80(25)	-	Lac(10)	Man(50)	4.06	5.47	5.17
5	Poly 80(12.5)	-	Lac(10)	Man(50)	6.42	6.98	6.85
8	Poly 80 (20)	-	Lac(10)	Man(50)	5.99	6.16	5.74
10	Poly 80(25)	-	PEG8000(10)	Man(50)	3.97	4.23	6.73
10	Poly 80(25)	-	PEG6000(10)	Man(50)	4.13	4.47	6.11