

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4365221号
(P4365221)

(45) 発行日 平成21年11月18日 (2009.11.18)

(24) 登録日 平成21年8月28日 (2009.8.28)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K	47/48	(2006.01)	A 6 1 K	47/48
A 6 1 K	9/02	(2006.01)	A 6 1 K	9/02
A 6 1 K	9/08	(2006.01)	A 6 1 K	9/08
A 6 1 K	9/10	(2006.01)	A 6 1 K	9/10
A 6 1 K	9/12	(2006.01)	A 6 1 K	9/12

請求項の数 17 (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-573050 (P2003-573050)
 (86) (22) 出願日 平成15年3月5日 (2003.3.5)
 (65) 公表番号 特表2005-519122 (P2005-519122A)
 (43) 公表日 平成17年6月30日 (2005.6.30)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2003/000164
 (87) 国際公開番号 W02003/074586
 (87) 国際公開日 平成15年9月12日 (2003.9.12)
 審査請求日 平成17年4月1日 (2005.4.1)
 (31) 優先権主張番号 02106691.4
 (32) 優先日 平成14年3月5日 (2002.3.5)
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

(73) 特許権者 504336320
 北京鍵▲凱▼科技有限公司
 中華人民共和国北京市海淀区上地信息路2
 号国▲際▼科技▲創▼▲業▼▲園▼C▲棟
 ▼四▲層▼
 (74) 代理人 110000040
 特許業務法人池内・佐藤アンドパートナーズ
 (72) 発明者 ▲稽▼ 世山
 中華人民共和国北京市清▲華▼大学▲華▼
 ▲業▼大厦1209▲房▼間
 (72) 発明者 朱 ▲德▼▲權▼
 中華人民共和国北京市清▲華▼大学▲華▼
 ▲業▼大厦2611▲房▼間

最終頁に続く

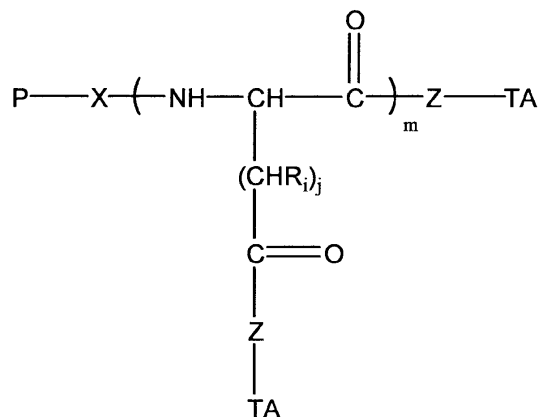
(54) 【発明の名称】 親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドと薬剤分子との結合生成物、医薬組成物およびその薬学上の使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

結合生成物であって、親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドと薬剤分子との結合生成物であり、下記式で表される結合生成物。

【化1】



上記式中：

P は、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポ

リアクリルモルホリンおよびこれらの共重合体からなる群から選択される親水性ポリマーであり、

m は、2 ~ 12 の整数であり、

j は、1 ~ 6 の整数であり、

R_i は、H、 C_{1-12} のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基、ヘテロアルキル基および置換アルキル基からなる群から選択される基であり、

X は、 CO 、 OCO 、 NHCO 、 $(\text{CH}_2)_i$ 、 $(\text{CH}_2)_i\text{OCO}$ 、 $(\text{CH}_2)_i\text{NHCO}$ 又は $(\text{CH}_2)_i\text{CO}$ であって、i が、1 ~ 10 の整数である架橋基であり、

Z は、O および NH から選択される架橋基であり、

TA は、薬剤分子である。

10

【請求項 2】

請求項 1 に記載の結合生成物であって、前記親水性ポリマーが、ポリエチレングリコールである結合生成物。

【請求項 3】

請求項 1 又は 2 に記載の結合生成物であって、前記ポリエチレングリコールの分子量が、300 ~ 60,000 である結合生成物。

【請求項 4】

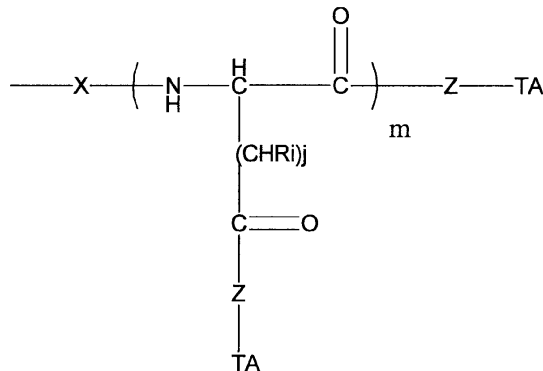
請求項 1 から 3 のいずれかに記載の結合生成物であって、前記親水性ポリマーの遊離ヒドロキシル基が、 C_{1-12} のアルコキシル基、シクロアルコキシル基又はアロキシル基により置換されうる結合生成物。

20

【請求項 5】

請求項 1 から 3 のいずれかに記載の結合生成物であって、前記親水性ポリマーの遊離ヒドロキシル基が、下記式のものにより置換されうる結合生成物。

【化 2】



30

上記式中：

x、m、j、 R_i 、Z および TA は、請求項 1 における定義と同じである。

【請求項 6】

請求項 1 から 5 のいずれかに記載の結合生成物であって、前記親水性ポリマーが標的分子を保持し、前記結合生成物の標的を定めたデリバリーがなされ得る結合生成物。

40

【請求項 7】

請求項 6 に記載の結合生成物であって、前記標的分子が、抗体である結合生成物。

【請求項 8】

請求項 1 から 7 のいずれかに記載の結合生成物であって、前記薬剤部分 TA が、アミノ酸、タンパク質、酵素、ヌクレオシド、糖類、有機酸、グルコシド、フラボノイド、キノン、テルペノイド、フェニルプロパノイドフェノール、ステロイドおよびこれらのグルコシドならびにアルカロイドからなる群から選択されるいずれか 1 つである結合生成物。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の結合生成物であって、前記薬剤部分 TA が、天然医薬の有効成分であ

50

る結合生成物。

【請求項 10】

請求項 9 に記載の結合生成物であって、前記天然有効成分が、シノブファギン、グリシレチン酸又はスコボレチンである結合生成物。

【請求項 11】

請求項 8 に記載の結合生成物であって、前記薬剤部分 T A が、抗腫瘍剤である結合生成物。

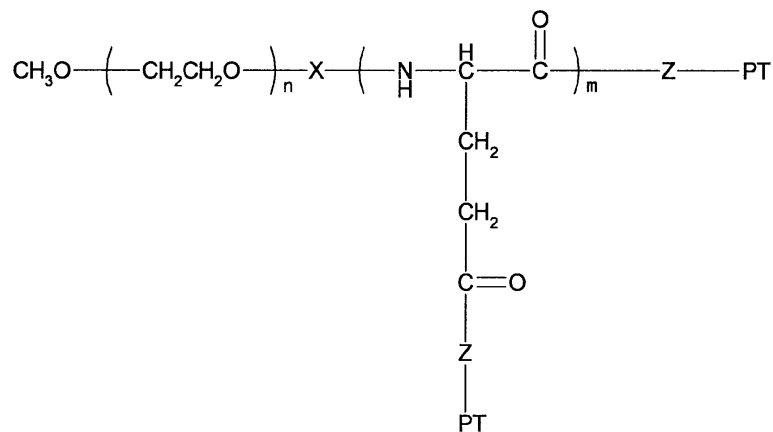
【請求項 12】

請求項 11 に記載の結合生成物であって、前記抗腫瘍剤が、パクリタキセル、カンプトテシン、ヒドロキシカンプトテシン、エトポシドおよびこれらの誘導体からなる群から選択される抗腫瘍剤である結合生成物。

【請求項 13】

結合生成物であって、メトキシポリエチレングリコール - グルタミン酸オリゴペプチドと薬剤分子との結合生成物であり、下記式で表される結合生成物。

【化 3】



上記式中：

n は、10 ~ 1200 の整数であり、

m は、2 ~ 12 の整数であり、

X は、CO、OCO、NHCO、(CH₂)_i、(CH₂)_iOCO、(CH₂)_iNHCO 又は (CH₂)_iCO であって、i が、1 ~ 10 の整数である架橋基であり、

Z は、O および NH から選択される架橋基であり、

PT は、パクリタキセル、カンプトテシン、シノブファギン、グリシレチン酸、スコボレチンおよびこれらの誘導体からなる群から選択される薬剤である。

【請求項 14】

組成物であって、請求項 1 から 13 のいずれかに記載の結合生成物、および、薬学的に許容されるキャリア又は賦形剤を含む組成物。

【請求項 15】

請求項 14 に記載の組成物であって、さらに、他の治療上の有効成分を含む組成物。

【請求項 16】

請求項 14 に記載の組成物であって、タブレット、坐剤、ピル、ソフトおよびハードゼラチンカプセル剤、粉剤、液剤、懸濁剤、又は、エアロゾル剤の形態に形成されうる組成物。

【請求項 17】

製薬における、請求項 1 から 13 のいずれかに記載の結合生成物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチド(hydrophilic polymer-multicarboxyl oligopeptide)と薬剤分子との新規結合生成物、前記結合生成物を含む医薬組成物、および、前記結合生成物の薬学上の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

天然医薬の有効成分の中で、タンパク質、ポリペプチド、テルペノイド、ステロイド、アルカロイド、フラボノイド、アントラキノン、および、フェニルプロパノイドフェノールは、すべて、生物活性に関して、様々な効果特性を有する。それゆえ、これらは、医薬において広く使用されている。これらのグルコシド、ヌクレオシドおよびポリペプチド誘導体もまた、かなりの量の使用例が示されている。天然有効成分として、これらは、生分解速度が速く、残留物が有るか無しかの程度であり、毒性が低く、そして、副作用が有るか無しかの程度であるという利点がある。しかしながら、これらは、依然として、例えば、バイオアベイラビリティが低く、生理学的半減期が短く、水溶性に乏しく、免疫原性を有する等の不便な点がある。

10

【0003】

この問題を解決するために、PEGの誘導体が、タンパク質、ペプチド又は他の治療剤との結合に広く使用され、これらの生理学的半減期の延長や、これらの免疫原性および毒性の低減が試みられている。臨床的には、PEGおよびその誘導体は、市販薬剤の製造のためのキャリア(carrier)として広く使用されている。PEGを薬剤分子に結合させる試みは、この10年で著しい進歩を遂げ、多くの公式認可薬剤に適用されている。例えば、PEGとインターフェロンとの結合生成物(conjugate)であるPEG-intronR(商品名)は、インターフェロンの天然型と比較して、循環半減期がより長くなり、より良い治療効果が認められた。PEGとパクリタキセルとの結合生成物も、同様に、毒性を低減し、生物活性を延長することが示されている。これらの結合生成物の代謝プロセスは周知であり、PEGが安全な薬剤修飾物質(drug modifier)であることが示されている。

20

【0004】

PGEを薬剤に結合する場合、PEG化(PEGylation)と呼ばれるプロセスがよく用いられる。この方法では、PEGの1つ又は2つの末端基が化学的に活性化され、薬剤の少なくとも1つの官能基と反応し安定な結合を形成する適切な官能基を有することとなる。この安定な結合は、インビボの適切な条件下で分解により解消され、これにより有効成分が放出される。

30

【0005】

PEGは様々な薬剤に結合できることが報告されている。パクリタキセルと結合したPEG誘導体のプロドラッグは、US特許No.5824701および5840900ならびに中国特許No.CN1283643に開示されている(特許文献1~3)。これらの特許では、PEGの2つの末端基のそれぞれが、パクリタキセル分子と結合している。薬剤分子の積載量を増やすため、US特許No.6153655は、末端が分枝したPEGの構造であって、PEGの2つの末端でアミノ架橋により2つの官能基が形成される構造を教示する(特許文献4)。しかしながら、非生物学的に分枝した低分子の取り込みは、同時に、薬剤特性を不明瞭なものとする。US特許No.5977163および6262107ならびに中国特許No.CN1164533は、ポリグルタミン酸をキャリアとしたパクリタキセルのプロドラッグであって、ポリグルタミン酸の骨格に沿ってグルタミン酸の活性カルボキシル基にパクリタキセルがランダムに結合したプロドラッグを開示する(特許文献5~7)。ポリグルタミン酸の広範な多分散性および特性の不確実性が、これらの発明の適用を制限している。

40

【特許文献1】米国特許第5824701号明細書

【特許文献2】米国特許第5840900号明細書

【特許文献3】中国特許第1283643号明細書

【特許文献4】米国特許第6153655号明細書

【特許文献5】米国特許第5977163号明細書

【特許文献6】米国特許第6262107号明細書

50

【特許文献 7】中国特許第1164533号明細書

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

したがって、本発明は、親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチド(hydrophilic polymer-multicarboxyl oligopeptide)と薬剤分子との結合生成物を提供することを目的とする。

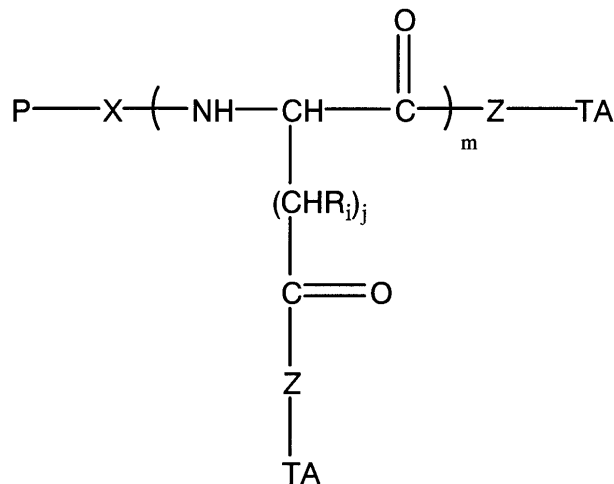
【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は、下記式で表される親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドと薬剤分子との結合生成物の提供する。

【0008】

【化 4】



【0009】

上記式中：

P は、水溶性ポリマーであり、

m は、2 ～ 12 の整数であり、

j は、1 ～ 6 の整数であり、

R_i は、H、C₁₋₁₂ のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基、ヘテロアルキル基および置換アルキル基からなる群から選択される基であり、

X は、架橋基であり、

Z は、O および NH から選択される架橋基であり、

TA は、薬剤分子である。

【0010】

本発明は、その他の態様として、上記結合生成物を有効成分として含む医薬組成物の提供する。

【0011】

本発明は、さらにその他の態様として、医薬組成物の製造における上記結合生成物の使用を提供する。

【発明の効果】

【0012】

本発明の結合生成物は、薬剤の吸収を向上し、治療持続時間を延長し、治療効果を増強し、投薬量を減少し、毒性その他の副作用を回避することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0013】

以下に図を参照してより詳細に本発明の説明をする。

【 0 0 1 4 】

本発明の結合生成物に用いられる親水性ポリマーは、例えば、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリアクリルモルホリン、又は、これらの共重合体である。これらの中でも、ポリエチレングリコールおよびその共重合体が好ましい。アミノ酸の酸性オリゴペプチド、とりわけ、グルタミン酸のオリゴペプチドは、例えば、親水性ポリマー等の遊離端ヒドロキシル基を修飾することにより、前記親ポリマーに結合される。この結合が、前記ポリマーと薬剤分子との結合部位 (linking sites) を提供する。このようにして、天然医薬有効成分であるタンパク質、ペプチド又はその他の遊離アミノ基およびヒドロキシル基を前記ポリマーに結合できる。とりわけ、低分子天然医薬の有効成分の場合、適切な薬剤濃度と持続放出を確保するため、このような方法により一つ以上の薬剤分子を親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドに結合できる。

10

【 0 0 1 5 】

本発明の結合生成物において、グルタミン酸オリゴペプチドのマルチカルボキシル基は多くの結合部位を提供する。それにより、前記結合生成物は、通常の直鎖PEGキャリアよりも高い薬剤積載量 (drug load) を示す。グルタミン酸オリゴペプチドとポリグルタミン酸との違いは、グルタミン酸オリゴペプチドは、オリゴペプチド鎖あたり一定数の活性カルボキシル基を有することである。それゆえ、例えば、パクリタキセル等の薬剤分子と結合させる場合、薬剤積載量を確認し、繰り返すことができる。同時に、例えば、パクリタキセル等の薬剤は非親水性であるため、親水性ポリマー-グルタミン酸オリゴペプチド-薬剤分子の結合生成物は、水溶液中で多くの凝集分子からなる分子ミセル/ミクロスフェア構造を形成できる。この構造により、前記親水性ポリマーの好ましい特性、例えば、親水性、柔軟性および抗マクロファージ食作用性等を維持できる。その一方で、前記構造は、薬剤分子の徐放性、および、薬剤分子とりわけ天然医薬のインビボにおける貯留時間の延長を付与する。

20

【 0 0 1 6 】

本発明の利点の一つは、PEG又はその誘導体のような親水性ポリマーの特性である、例えば、水溶性、非免疫原性および無毒性等に加え、オリゴペプチドの基が薬剤分子の結合部位を数多く提供する結果、有効血中濃度や段階的な薬剤の放出が確保できることである。

30

【 0 0 1 7 】

次に、親水性ポリマーとマルチカルボキシルオリゴペプチドとの間の結合を、PEG誘導体を例にあげて説明する。

【 0 0 1 8 】

PEG誘導体の構造は、重合体の分枝鎖の部分および末端の官能基の部分を含む。これらは、それぞれ、下記のとおり表すことができる。

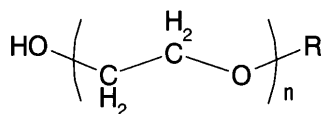
【 0 0 1 9 】

ポリエチレングリコール (PEGs) は、下記一般式で表される。

【 0 0 2 0 】

【 化 5 】

40



【 0 0 2 1 】

上記式中：

Rは、H又はC₁₋₁₂のアルキル基であり、

nは、重合度を表す整数である。

【 0 0 2 2 】

50

低級アルキル基として、Rは、任意の炭素原子数が1～6の低級アルキル基であってよく、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、n-ペンチル基およびn-ヘキシル基等があげられる。シクロアルキル基としては、Rは、好ましくは、炭素原子数が3～7のシクロアルキル基であって、例えば、シクロプロピル基、シクロブチル基およびシクロヘキシル基があげられる。これらの中でも、シクロヘキシル基がより好ましい。代表的な化合物は、メトキシポリエチレングリコール(mPEG)である。他のポリエチレングリコールの類似化合物および誘導体、例えば、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコールおよびポリアクリルモルホリン等も、同様に、本発明に使用できる。

【0023】

10

PEGsに関しては、通常、分子量で測定される。前記結合生成物を形成するPEGの分子量としては、300～60000ダルトンの範囲、nでいうと約6～約1300の範囲であることが好ましい。より好ましくは、nは、28、112および450であり、それぞれ、分子量1325、5000および20000に相当する。出発材料のPEGsは、通常、自己繰返し単位nよりはむしろその分子量で定義されるが、潜在的に不均一であるため、PEGsは、nで表される自己繰返し単位で特徴付けされるかわりに、一般的に、重量平均分子量により特徴付けされる。異なる分子量の出発材料PEG化合物は、当該技術分野の従来公知の方法を用いて容易に合成でき、又は、市販のものを使用できる。

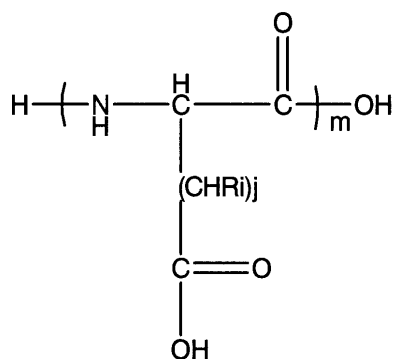
【0024】

前記マルチカルボキシルオリゴペプチドは、下記一般式により表される。

20

【0025】

【化6】



30

【0026】

上記式中：

mは、重合度を表す2～12の整数であり、

jは、1～6の整数であり、

R_iは、H、C₁₋₁₂のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基、ヘテロアルキル基および置換アルキル基からなる群から選択される基である。

【0027】

40

低級アルキル基として、R_iは、任意の炭素原子数が1～12の低級アルキル基であってよく、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、n-ペンチル基およびn-ヘキシル基、ならびに、有り得るシクロアルキル基等があげられる。アラルキル基としては、R_iは、好ましくは、ベンジル基またはフェニルエチル基である。好ましい置換アリール基は、ベンジル基である。

【0028】

オリゴペプチドの合成は、一般的な方法により行うことができる。保護アミノ酸を用いて、アミノ酸ポリマーはデヒドラント(dehydrant)の影響下で高収率で製造できる。当然ながら、本発明のオリゴペプチドはホモポリペプチドであるため、構造的な配列の問題はない。それゆえ、より簡便な方法が使用できる。例えば、混合酸無水物法(mixed acid an

50

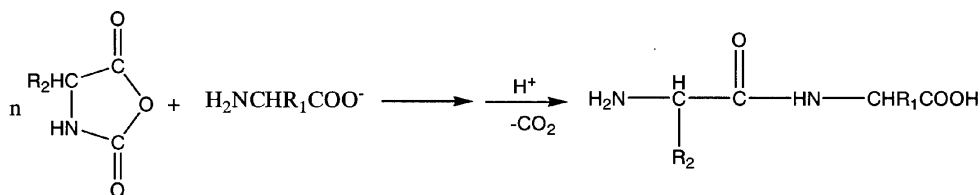
hydrides method)、活性エステル法(active ester method)、および、N-カルボキシ- -アミノ酸無水物(NCA)法(N-carboxy-a-amino acid anhydrides method)等があげられる。

【 0 0 2 9 】

N-カルボキシ- -アミノ酸無水物法を例として、前記合成を下記に示す。

【 0 0 3 0 】

【 化 7 】



10

【 0 0 3 1 】

前記反応は、速い反応速度と短い合成サイクルという利点がある。前記反応が完了すると、遊離アミノ基を有する得られたペプチドは、分離することなくそのまま次のオリゴペプチド合成工程に用いることができる。側鎖は、一般的に、保護の必要はより少ない。NCAの側鎖は、通常、側鎖の保護が必要である。アミノ基成分としては、リジンおよびシステインの側鎖のみが保護する必要がある。

【 0 0 3 2 】

マルチカルボキシルオリゴペプチド化合物は、当該技術分野の従来公知の方法を用いて容易に合成でき、又は、市販のものを使用できる。

20

【 0 0 3 3 】

本発明の前記親水性ポリマー-グルタミン酸オリゴペプチド部分は、当該技術分野の従来公知の方法を用いて、親水性ポリマーとグルタミン酸とから合成される。

【 0 0 3 4 】

実際に適用する場合、親水性ポリマーの末端基は活性化され、オリゴペプチドのアミノ基又はカルボキシル基と反応して結合生成物を形成できるようにされる必要がある。意図する使用に関して、末端官能基は、以下の方法により修飾することができる。

a: アミノ化

30

親水性ポリマーがアミノ化されると、ヒドロキシル基が、反応性により優れるアミノ基になる。前記ポリマーがカルボキシル酸基を含む分子と反応して結合生成物を産出する場合に特に重要である。

b: カルボキシル化

親水性ポリマーのカルボキシル化は、その反応性を向上し、アミノ基又はカルボキシル基を含む分子に結合することを可能とする。

c: 塩化アシル、ヒドラジン、マレイミド、二硫化ピリジン等による修飾といった他の方法も、すべて同様に、適宜採用できる。

【 0 0 3 5 】

上記リストの方法はすべて親水性ポリマーおよびオリゴペプチドの官能基間に化学結合を形成することとなる。それゆえ、前記2つの化合物の利点を活用できる。

40

【 0 0 3 6 】

現在使用される全ての薬剤、特に、天然医薬は、例えば、アミノ基、カルボキシル基およびヒドロキシル基等の官能基を含む。インビボでは、これらの官能基は、単糖類、多糖類、ヌクレオシド、ポリヌクレオシドおよびホスホリル等と結合でき、インビボで薬学的に活性のある構造を形成する。

【 0 0 3 7 】

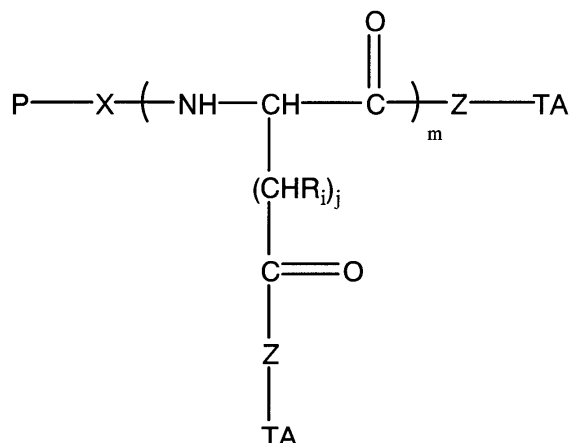
したがって、水溶性ポリマー-マルチオリゴペプチドは、同じように、薬剤分子に結合でき、生物有機分子に取って代わり、生理学的半減期の短さや治療持続時間の短さという欠点を克服する。本発明の親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドは、下記

50

式で表される。

【 0 0 3 8 】

【 化 8 】



10

【 0 0 3 9 】

上記式中：

P は、水溶性ポリマーであり、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリアクリルモルホリン又はこれらの共重合体であってもよく、好ましくは、ポリエチレングリコールおよびその共重合体であり、

20

m は、2 ~ 12 の整数であり、

j は、1 ~ 6 の整数であり、

R_i は、H、C₁₋₁₂ のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基、ヘテロアルキル基および置換アルキル基からなる群から選択される基であり、

X は、架橋基であり、好ましくは、CO、OCO、NHCO、(CH₂)_i、(CH₂)_iOCO、(CH₂)_iNHCO および (CH₂)_iCO であって、i は、1 ~ 10 の整数であり、

Z は、O および NH から選択される架橋基であり、

TA は、薬剤分子である。

30

【 0 0 4 0 】

前記親水性ポリマーが遊離ヒドロキシル基を含む場合、前記ヒドロキシル基は、C₁₋₁₂ のアルコキシル基、シクロアルコキシル基又はアロキシル(aroxy)基でブロックすることができる。好ましくは、メトキシル基、エトキシル基、イソプロポキシル基、シクロプロポキシル基、シクロブトキシル基、シクロヘキソキシル基又はベンゾキシル基である。

【 0 0 4 1 】

加えて、例えば、抗体等の標的分子を前記親水性ポリマーに結合でき、本発明の結合生成物を標的を定めてデリバリーすることができる。

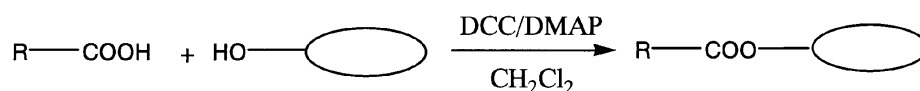
【 0 0 4 2 】

親水性ポリマーは、エステル化反応により薬剤分子に結合できる。このプロセスは、簡単に、下記式により表すことができる。

40

【 0 0 4 3 】

【 化 9 】



【 0 0 4 4 】

エステル基は、インビボで生物分解により解消され、有効成分が放出される。

【 0 0 4 5 】

50

本発明において、結合生成物の薬剤部分は、任意の適当な薬剤分子でよく、例えば、アミノ酸、タンパク質、酵素、ヌクレオシド、糖類、有機酸、グリコシド、フラボノイド、キノン、テルペノイド、フェニルプロパノイドフェノール、ステロイドおよびこれらのグリコシド、アルカロイド等があげられる。

【0046】

好ましくは、本発明の結合生成物に含まれる薬剤分子は、天然植物から分離される有効成分であって、例えば、シノブファギン、グリシレチン酸およびスコボレチンである。より好ましくは、前記薬剤分子は、腫瘍治療に用いられる天然医薬成分であって、例えば、パクリタキセル、カンプトテシン、ヒドロキシカンプトテシン、エトポシドおよびこれらの誘導体である。

10

【0047】

本発明の結合生成物は、精製化合物又は薬学的に許容される組成物の形態で、任意の許容される投与経路により又は同じよう使用される試薬に含ませて、投与され得る。このようにして、前記結合生成物は、経口、経鼻、非経口、局所、経皮又は直腸経路により、固形、半固形、フリーズドライパウダー又は液体の投薬形態、例えば、タブレット、坐剤、ピル、ソフトおよびハードゼラチンカプセル剤、粉剤、液剤、懸濁剤およびエアロゾル剤等の投薬形態で、投与できる。正確な投薬量および簡便な投与に適した単位投薬形態(unit dosage forms)が好ましい。前記組成物は、従来の薬学的キャリア又は賦形剤、および、(1つ以上の)有効成分として前記結合生成物を含む。前記組成物は、さらに、他の薬剤、キャリアおよびアジュバントを含んでもよい。

20

【0048】

一般的に、所望の投与方法に依存するが、薬学的に許容される組成物は、約1~99%の本発明の結合生成物、および、99~1%の薬学的に適した賦形剤を含む。組成物に含まれる結合生成物は、好ましくは、5~75%であり、残りは、薬学的に適した賦形剤である。

【0049】

例えば、液剤や懸濁剤といった液体の形態で投与される前記組成物は、本発明の結合生成物(約0.5~20%)および任意の薬学的アジュバントをキャリアに溶解又は分散させることで調製できる。液剤又は懸濁剤を形成するためのキャリアには、例えば、水、食塩水、グルコース水、グリセロール、エタノール等が含まれる。

30

【0050】

必要に応じて、本発明の組成物は、さらに、例えば、湿潤剤、乳化剤、pHバッファーおよび抗酸化剤等を含んでもよい。具体例としては、クエン酸、ソルビタンモノラウレート(sorbitan monolaurate)、トリエタノールアミンオレアート(oleate)、ブチル化ヒドロキシトルエン等があげられる。

【0051】

このような投薬形態の実際の調製方法は、当該技術分野の技術者に公知又は自明であって、例えば、Ramington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990)を参照できる。ともかく、本発明の技術によれば、使用される組成物は、本発明に係る結合生成物を有効量含み、対応する疾病を治療できる。

40

【0052】

(実施例)

本発明の結合生成物およびその調製方法について下記実施例を参照してさらに説明する。但し、これらの実施例はいかなる場合であっても本発明の範囲を制限するものではない。本発明の範囲は、請求の範囲にのみ制限される。

【実施例1】

【0053】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドの調製(1)

図1は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドの合成方法を

50

示す。10 gのメトキシポリエチレングリコール (methoxypolyethylene glycol、分子量:5000) と2 gのN,N'-ジスクシンイミジルカーボネート(N, N'-disuccinimidyl carbonate) とを100 mlのアセトニトリルに溶解し、さらに、0.5 mlの乾燥ピリジンを加えた。反応混合物を窒素保護下、室温、オーバーナイトで攪拌した。過剰の溶媒を回転蒸発により除去し、その残留物を真空下で乾燥した。得られた固形物に20 mlの乾燥ジクロロメタンを加えた後、その混合物を濾過して未溶解物を除去した。その有機層を酢酸ナトリウムバッファ溶液(0.1 M, pH 5.5)で一度洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。その生成物をエーテルに移し、濾過し、真空下で乾燥した。収率: 9.0 g (90%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, Hs of PEG), 3.24(3H, s), 4.45(2H, t), 2.82(4H, s)。

【 0 0 5 4 】

10

0.6 gのグルタミン酸ジペプチド(Glu-Glu)を50 mlのリン酸バッファ溶液(0.1 M, pH 7.4)に溶解し、そこへ、4 gのメトキシポリエチレングリコールスクシンイミジルカーボネート(methoxypolyethylene glycol succinimidyl carbonate、分子量:5000、前工程で調製されたもの)を加えた。その溶液を室温で6時間攪拌し、ジクロロメタンで3回抽出した。その混合した有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒は、減圧下の回転蒸発により除去した。その残留物を100 mlのイソプロピルアルコールに加えた後、濾過した。その生成物を真空下で乾燥し、イオン交換クロマトグラフィーで精製した。収率: 3.6 g (90%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, Hs in PEG), 3.24(3H, s), 4.41 (2H, t), 2.32 (4H, t)。

【 実施例 2 】

20

【 0 0 5 5 】

ポリエチレングリコール-ジグルタミン酸オリゴペプチドの調製 (2)

図 1 は、ポリエチレングリコール-ジグルタミン酸オリゴペプチドの合成方法を示す。30 gのポリエチレングリコール(分子量: 35,000)と2 gのN,N'-ジスクシンイミジルカーボネートとを200 mlのアセトニトリルに溶解し、さらに、0.5 mlの乾燥ピリジンを加えた。反応混合物を窒素ガス保護下、室温、オーバーナイトで攪拌した。過剰の溶媒を回転蒸発により除去し、その残留物を真空下で乾燥した。得られた固形物に50 mlの乾燥ジクロロメタンを加えた後、その混合物を濾過して未溶解物を除去した。その有機層を酢酸ナトリウムバッファ溶液(0.1 M, pH 5.5)で一度洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。その生成物をエーテルに移し、濾過し、真空下で乾燥した。収率: 27.2 g (90%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, Hs of PEG,), 4.45 (4H, t), 2.82 (8H, s)。

30

【 0 0 5 6 】

0.1 gのグルタミン酸のジペプチド(Glu-Glu)を20 mlのジメチルホルムアミドに溶解し、この溶液に、上述のように調製された10 gのポリエチレングリコールスクシンイミジルカーボネート(polyethylene glycol succinimidyl carbonate、分子量:35,000)を加えた。反応混合物を室温で6時間攪拌した。固形沈殿物は濾過して除去した。その残留溶液を100 mlのイソプロピルアルコールで沈殿させ、濾過し、真空下で乾燥した。その生成物を、イオン交換クロマトグラフィーで精製した。収率: 4.2 g (40%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, Hs of PEG), 4.41(4H, t), 2.37(4H, s), 2.32 (4H, t)。

【 実施例 3 】

40

【 0 0 5 7 】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとパクリタキセルとの結合生成物の調製 (3)

図 2 は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとパクリタキセル(paclitaxel)との結合生成物(conjugate)の合成方法を示す。実施例 1 で調製された1.25 gのメトキシポリエチレングリコールジグルタミン酸ジペプチド、0.7 gのパクリタキセルおよび0.1 gの4-ジメチルアミノピリジン(4-dimethylamino pyridine:DMAP)を15 mlの乾燥ジクロロメタンに溶解し、そこへ、0.2 gのジシクロヘキシルカルボジイミド(dicyclohexylcarbodiimide:DCC)を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温、オーバーナイトで攪拌した。過剰な溶媒は回転蒸発により除去し、その残留物を8 mlの1,4-ジオ

50

キサンに溶解した。この混合物を濾過し沈殿物を除去し、その溶液を濃縮した。30 mlのイソプロピルアルコールをその残留物に加え、濾過し、真空下で乾燥した。収率：1.6 g (80%)。M.p.: 59 ~ 62 。

【実施例 4】

【0058】

ポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとパクリタキセルとの結合生成物の調製 (4)

実施例 2 で調製された 4.0 g のポリエチレングリコールジグルタミン酸ジペプチド、0.4 g のパクリタキセルおよび 0.08 g の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) を 20 ml の乾燥ジクロロメタンに溶解した。その後、そこへ、0.15 g のジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温、オーバーナイトで攪拌し、過剰な溶媒は回転蒸発により除去した。その残留物を 10 ml の 1,4-ジオキサンに溶解し、濾過して沈殿物を除去し、その母液を濃縮した。その残留物を 50 ml のイソプロピルアルコールに加え、濾過した。その生成物を真空下で乾燥した。収率：3.7 g (85%)。M.p.: 61 ~ 64 。

【実施例 5】

【0059】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸ペプチドとカンプトテシンとの結合生成物の調製 (5)

図 3 は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸ペプチドとカンプトテシン (camptothecin) との結合生成物の合成を示す。0.7 g のカンプトテシンと 0.5 g の N-tert-ブチオキシルカルボキシルグリシン (N-tert-butyloxycarboxylglycine: BOC-gly) とを 10 ml の乾燥ジクロロメタンに溶解した。さらに、0.62 g のジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) と 0.36 g の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) を加えた。その反応混合物を室温、オーバーナイトで攪拌した。反応中に形成された固形物を濾過して除去し、母液を減圧下で濃縮した。その混合物を 50 ml のエーテルに加え濾過した。その沈殿物を回収し、真空下で乾燥した。

【0060】

0.5 g のカンプトテシン N-tert-ブチオキシルカルボキシルグリシンエステル (前工程で得たもの) を 10 ml のクロロホルムに溶解した。次に、10 ml のトリフルオロ酢酸を加えた。その反応混合物を室温で 5 時間攪拌し、減圧下で濃縮し、その後、50 ml のジエチルエーテルを加えた。その沈殿物を濾過により回収し、真空下で乾燥した。

【0061】

実施例 1 で調製した 2.5 g のメトキシポリエチレングリコールグルタミン酸ジペプチドと、0.6 g の置換カンプトテシン (前工程で得たもの)、および、0.2 g の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) を、30 ml の乾燥ジクロロメタンに溶解した。そこへ、0.4 g のジシクロカルボジイミド (DCC) を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温、オーバーナイトで攪拌した。過剰な溶媒を回転蒸発により除去し、その残留物を 15 ml の 1,4-ジオキサンに溶解した。沈殿物を濾過して除いた後、その母液を濃縮した。その残留物を 50 ml のイソプロピルアルコールに加え、濾過した。得られた固形物を真空下で乾燥した。生成物は、イオン交換クロマトグラフィーで精製できる。収率：2.5 g (80%)。M.p.: 60 ~ 63 。

【実施例 6】

【0062】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとシノブファギンとの結合生成物の調製 (6)

図 2 は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとシノブファギン (cinobufagin) との結合生成物の合成を示す。実施例 1 で調製した 1.0 g のメトキシポリエチレングリコールグルタミン酸ジペプチドを 10 ml のジクロロメタンに溶解した。そこへ、60 mg のシノブファギン、32 mg の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) および 40 mg のジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室

温、オーバーナイトで攪拌した。過剰な溶媒を回転蒸発により除去した。その残留物を20 mlの1,4-ジオキサンに溶解して濾過し、その母液を濃縮した。その残留物を100 mlのイソプロピルアルコールに加えて濾過した。得られた固形生成物を真空下で乾燥した。収率：0.8 g (60%)。M.p.: 58 ~ 80 。

【実施例 7】

【0063】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとグリシレチン酸との結合生成物の調製 (7)

図 3 は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとグリシレチン酸(glycyrrhetic acid)との結合生成物の合成を示す。実施例 1 で調製した1.0 gのメトキシポリエチレングリコールグルタミン酸ジペプチドを10 mlのジクロロメタンに溶解した。そこへ、0.2 mlの塩化チオニルを滴下して加えた。反応混合液を2時間攪拌した。溶媒および低沸点の不純物を、減圧下の蒸留により除去した。10 mlのジクロロメタンに溶解した70 mgのグリシレチン酸溶液を攪拌しながら加えた。その後、60 mgの4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温で12時間攪拌した。その溶媒を真空下で濃縮した。その残留物を20 mlのイソプロピルアルコールに加えて濾過した。その沈殿物を回収し、ジエチルエーテルで洗浄し、吸気乾燥し、さらに、真空下で乾燥した。その生成物は、イオン交換クロマトグラフィーで精製できる。収率：0.8 g (60%)。M.p.: 60 ~ 62 。

【実施例 8】

【0064】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとスコポレチンとの結合生成物の調製 (8)

図 2 は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとスコポレチン(scopoletin)との結合生成物の合成を示す。実施例 1 で調製した5 gのメトキシポリエチレングリコールグルタミン酸ジペプチドを50 mlのジクロロメタンに溶解した。その後、0.70 gのスコポレチン、0.1 gの4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)および0.82 gのジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温で12時間攪拌した。その溶媒を真空下で濃縮した。その残留物を20 mlの1,4-ジオキサンに加え、濾過した。その沈殿物を回収し、エーテルで洗浄し、吸気乾燥した。その母液を減圧下で蒸発させた。100 mlのイソプロピルアルコールをその残留物に加えた。沈殿物を回収し、ジエチルエーテルで洗浄し、真空下で乾燥した。その沈殿物を集結し、真空下で乾燥した。収率：4 g (80%)。M.p.: 58 ~ 61 。

【実施例 9】

【0065】

この実施例では、典型的な非経口組成物の調製プロセスについて説明する。この組成物は、本発明の結合生成物を含む。

成分：実施例 3 で調製した結合生成物 . . . 2 g

0.9%食塩水 . . . 100 ml まで

実施例 3 で調製された結合生成物を0.9%の食塩水に溶解し、100 mlの静脈注射用溶液を得た。これを、0.2 μm膜で濾過し、無菌包装した。

【図面の簡単な説明】

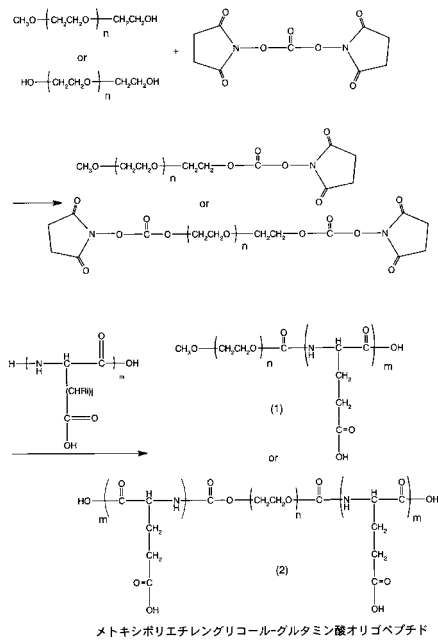
【0066】

【図 1】図 1 は、PEG-グルタミン酸オリゴペプチド誘導体の合成を示す。

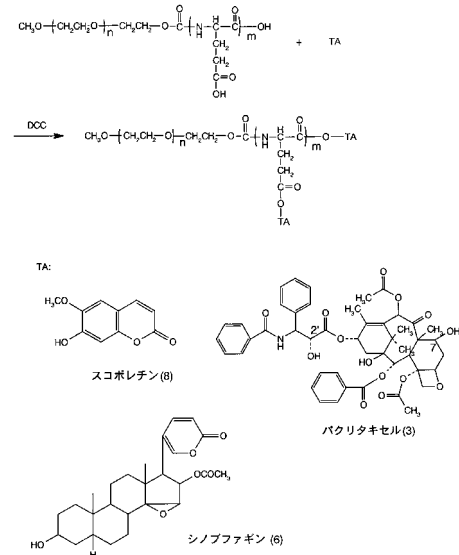
【図 2】図 2 は、PEG-グルタミン酸オリゴペプチド誘導体と薬剤とのエステル結合による結合生成物の合成を示す。

【図 3】図 3 は、その他のPEG-グルタミン酸オリゴペプチド誘導体と薬剤との結合生成物の合成を示す。

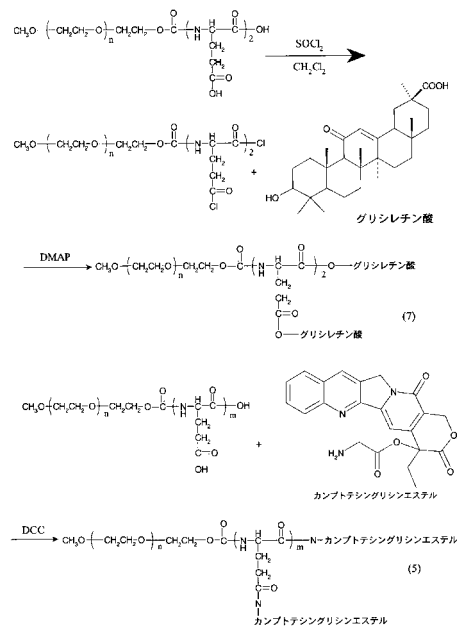
【図 1】



【図 2】



【図 3】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I	
A 6 1 K	9/14	(2006.01)	A 6 1 K	9/14
A 6 1 K	9/20	(2006.01)	A 6 1 K	9/20
A 6 1 K	9/48	(2006.01)	A 6 1 K	9/48
C 0 8 G	81/00	(2006.01)	C 0 8 G	81/00

審査官 原田 隆興

- (56)参考文献 特表 2 0 0 0 - 5 0 2 1 0 9 (J P , A)
特開平 0 5 - 1 1 2 5 9 6 (J P , A)
特表平 0 4 - 5 0 5 0 2 0 (J P , A)
特開平 0 4 - 3 5 2 7 5 5 (J P , A)
国際公開第 0 0 / 0 5 0 0 5 9 (W O , A 1)
特開平 1 1 - 1 5 2 2 3 4 (J P , A)

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A61K9/00-9/72

A61K47/00-47/48