

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6646578号
(P6646578)

(45) 発行日 令和2年2月14日(2020.2.14)

(24) 登録日 令和2年1月15日(2020.1.15)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 47/60	(2017.01)
A 6 1 K 31/575	(2006.01)
A 6 1 K 31/592	(2006.01)
A 6 1 K 31/593	(2006.01)
A 6 1 K 31/07	(2006.01)

A 6 1 K 47/60
A 6 1 K 31/575
A 6 1 K 31/592
A 6 1 K 31/593
A 6 1 K 31/07

請求項の数 8 (全 53 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-536706 (P2016-536706)
(86) (22) 出願日	平成26年12月5日 (2014.12.5)
(65) 公表番号	特表2016-539165 (P2016-539165A)
(43) 公表日	平成28年12月15日 (2016.12.15)
(86) 國際出願番号	PCT/US2014/068798
(87) 國際公開番号	W02015/085173
(87) 國際公開日	平成27年6月11日 (2015.6.11)
審査請求日	平成29年11月6日 (2017.11.6)
(31) 優先権主張番号	14/561,219
(32) 優先日	平成26年12月5日 (2014.12.5)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)
(31) 優先権主張番号	61/912,228
(32) 優先日	平成25年12月5日 (2013.12.5)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)

(73) 特許権者	511290662 ウー, ニエン WU, N i a n アメリカ合衆国 ニュージャージー州 08 902, ノースプランズヴィック, サッサ プラスコート 103
(74) 代理人	110000659 特許業務法人広江アソシエイツ特許事務所
(72) 発明者	ウー, ニエン アメリカ合衆国 ニュージャージー州 0 8902, ノース ブランズヴィック, サ ッサフラス コート, 103
審査官	山村 祥子

最終頁に続く

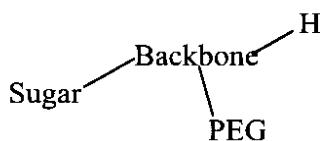
(54) 【発明の名称】薬物転送技術のための高分子-炭水化物共役体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の式で表される分子構造を含む、治療薬の生体適合性の改善及び疎水性又は親油性剤の水中での溶解度を増加させるための化合物担体：

【化 1】



10

式中、

「H」はステロイド酸及び脂肪酸がなく、且つコレステロール、単独の水酸基を有するステロール類、スタノール、ビタミンD、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、ビタミンA、レチノイド、カロテノイド、トコフェロール、及びトコトリエノールからなる群から選択される親油性担体であり；

「Sugar」は单糖、二糖、及び三糖並びにこれらの類似体又は誘導体からなる群から選択される炭水化物であり；

「PEG」はポリエチレングリコールの重合体であり；

20

「Back bone」は、3又は4つの結合可能な位置を有し、薬物残基ではない分子であり、前記「Back bone」は、3つの結合位置を有するグリセロール若しくはグリセロール様類似体、ジアミン、トリアミン、テトラアミン、ジアミノアルコール、アミノアルコール、アミノジオール、アミノトリオール、アミノ酸、トリオール、テトラオール、三酸、四酸、ハロゲン含有ジオール、ハロゲン含有アミン、カルボキシル基含有ジオール、及びポリアミンの少なくとも1つを含む。

【請求項2】

前記「Back bone」は、第1の担体、第2の担体及び第3の担体の共役のための少なくとも3つの利用可能な結合位置又は部位を含み、前記利用可能な結合位置又は部位はそれぞれ、消耗可能なアミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基を含み： 10

前記第1の担体は、前記親油性担体及び消耗可能なアミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基を含み；

前記第2の担体は、前記ポリエチレングリコールの重合体及び消耗可能なアミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基を含み；並びに、

前記第3の担体は、前記炭水化物及び消耗可能なアミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基を含む、請求項1記載の化合物担体。 20

【請求項3】

前記「Back bone」は、第1の担体、第2の担体及び第3の担体の共役のための3つの利用可能な結合位置又は部位を含み、前記利用可能な結合位置又は部位はそれぞれ、消耗可能なアミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基を含み： 20

前記第1の担体は、結合された前記親油性担体を有し；

前記第2の担体は、結合された前記ポリエチレングリコールの重合体を有し；

前記ポリエチレングリコールの重合体は末端基(R)を含み；及び

前記第3の担体は、結合された前記炭水化物を有する、請求項1記載の化合物担体。 20

【請求項4】

前記「Back bone」は、a)～d)の一つである、請求項1記載の化合物担体；

a) グリセロール又はグリセロール様類似体、ポリアミン、ジアミン、トリアミン、テトラアミン、アミノジオール、アミノトリオール、アミノアルコール、3つの利用可能な結合位置又は部位を有するアミノ酸、トリオール、テトラオール、エリトリトール、三酸、四酢酸、及び酒石酸からなる群から選択される； 30

b) エタンジアミン、プロパンジアミン、ブタンジアミン、ペンタンジアミン、ヘキサンジアミン、ジエチレントリアミン、ジエチレントリアミン、ビス(3-アミノプロピル)アミン、ビス(3-アミノプロピル)-1,3-プロパンジアミン、N,N'-ビス(3-アミノプロピル)-1,3-プロパンジアミン、トリエチレンテトラアミン、1,2-ビス(3-アミノプロピルアミノ)エタン、スペルミン、トリス(2-アミノエチル)アミン、スペルミジン、ノルスペルミジン、ビス(ヘキサメチレン)トリアミン、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ジアミノベンジジン、トリアザシクロノナン、テトラアザシクロドデカン、スレイトイール、メソ-エリスリトイール、ジチオスレイトイール、トリメチルシクロヘキサン-1,3,5-トリカルボン酸、1,3,5-シクロヘキサントリカルボン酸、トリメチルビス(ヘキサ-メチレン)トリアミン、アルギニン、3又は4つの利用可能な結合位置又は部位を有するオキシリルジアミノプロパン酸、トリオール、三酸、グルコヘプトン酸、及び酒石酸の群から選択される； 40

c) 3-アミノ-1,2-プロパンジオール、3-ブロモ-1,2-ブロパンジオール、3-クロロ-1,2-ブロパンジオール、3-フルオロ-1,2-ブロパンジオール、DL-グリセリン酸、ジアミノプロパン酸、酒石酸、グルコヘプトン酸、1,2,4-ブタントリオール、2,2-ビス(ヒドロキシメチル)-酪酸、1,3-ジアミノ-2-ブロパノール、2-(3-アミノプロピルアミノ)エタノール、及び3-((3-アミノブロピル)アミノ)ブロパノールからなる群から選択される；並びに

d) アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン、リジン、オルニチン、セリン、及びトレオニンからなる群から選択される。 50

【請求項 5】

前記 PEG は、5 ~ 45 サブユニットを有する単一のPEG鎖又は2以上の副鎖を有する分枝PEGを含み、前記副鎖はそれぞれ5 ~ 45 サブユニットを有し；及び

前記末端基(R)はメトキシ、ヒドロキシリ又はビオチンを含む、請求項 3 記載の化合物担体。

【請求項 6】

前記親油性担体は、コレステロール、スティグマステロール、エルゴステロール、ホパノイド、フィトステロール、シトステロール、カンペステロール、ブラシカステロール、アベナステロール、アドステロール、スタノール、レチノール、レチノイド、レチナール、レチノイン酸、トレチノイン、カロテノイド、-カロテン、トコフェロール、トコトリエノール、コレカルシフェロール、及びエルゴカルシフェロールからなる群から選択される、請求項1記載の化合物担体。

【請求項 7】

前記单糖、二糖、及び三糖の類似体又は誘導体は、アスコルビン酸、セロビオース、ガラクトース、ガラクツロン酸、ゲンチオビオース、ゲンチオビウロース、グルクロン酸、グリチルリチン、イソマルト、イソマルトース、イソマルトトリオース、ケトース、コーデビオース、ラクチトール、ラクチュロース、乳糖、ラクトビオン酸、ラミナリビオース、マルチトール、マルトース、マルトトリオース、マルトトリイトール、マルトトリウロース、マルツロース、メリビオース、メリビウロース、メレジトース、マンノビオース、ニゲロース、ニゲロトリオース、パラチノース、ラフィノース、ルチノース、ルチヌロース、ソフォロース、スクロース、スクラロース、トレハロース、ツラノース、及びキシロビオースのうちの少なくとも1つを含む、請求項1の化合物担体。

【請求項 8】

コレステリプロパンジアミンイソマルトリオース - m P E G、N - ラクトビオニル
- N - コレステロール - m P E G - リシネート、コレステリプロパンジアミンラクトビ
オネート - m P E G、 - トコフェロールチリエチレンテトラアミン - ビスモノメトキシリ
ル - P E G - エーテル - ラクトビオネート、コレステリトリエチレンテトラアミンラクト
ビオネート d i m P E G、コレステリプロパンジアミンラミナリビオース - m P E G、コレ
ステリプロパンジアミングルコネート - m P E G、コレステリプロパンジアミンアスコ
ルベート - m P E G、トコフェリルプロパンジアミンラクトビオネート - m P E G、トコ
フェリルプロパンジアミンイソマルトリオース - m P E G、レチノイルプロパンジアミ
ンラクトビオネート - m P E G、レチノイルジエチレントリアミンイソマルトリオース
- m P E G、コレカルシフェロールジエチレントリアミンイソマルトリオース - m P E
G、コレステリルジエチレントリアミンモノメトキシ P E G - エーテル - ラクトビオネー
ト、コレステリルプロパンジアミンモノメトキシ P E G - ラクトビオネート、コレステリ
ルプロパンジアミンモノメトキシ - P E G - エーテル - グルコネート、ラクトビオノイル
コレステリルモノメトキシ P E G - エーテル - リジネート、コレステリル - ジエチレント
リアミンモノメトキシポリエチレン - グリコール - エーテル - グルクロネート、トコフェ
リルジエチレントリアミンモノメトキシリポリエチレン - グリコール - エーテル - ラクト
ビオネート、トコフェリルエチレンジアミンモノメトキシリポリエチレン - グリコール -
エーテル - アスコルベート、アスコルビルトコフェリルエチレンジアミンモノメトキシポ
リエチレン - グリコール - エーテル - アミノサリチレート、コレカルシフェロールアスコ
ルビルジエチレントリアミン - モノメトキシ P E G - エーテル - ラクトビオネート、コレ
カルシフェロールジエチレントリアミン - モノメトキシ P E G - エーテル - ラクトビオネ
ト、コレステリル - ジエチレントリアミントリプトファニルポリエチレン - グリコール
- エーテル - ラクトビオネート、コレステロール - m P E G - プロパンジアミノラクトビ
オネート、コレステロール - m P E G - プロパンジアミノ - アスコルベート、コレステロ
ール - アスパラテート - m P E G - ラクトビオネート、コレステリルオレオイルジエチレ
ントリアミン - m P E G - ラクトビオネート、コレステリル - レチノイル - ジエチレント
リアミン - m P E G - ラクトビオネート、コレステロールトリエチレンテトラアミンビス

モノメトキシPEG - エーテル - ラクトビオネート、ラクトビオノイルトコフェロールモノメトキシPEG - エーテル - リジネート、コレステロール - トリエチレンテトラアミンビスモノメトキシPEG - エーテル - ラクトビオネート、コレステロールアスコルビルジエチレン - トリアミンモノメトキシPEG - エーテルラクトビオネート、N - ビス - モノメトキシ - PEG - エーテル - セリノール - N - コlesteroール - N' - ラクトビオノイル - プロパンジアミン、N , N - 1 , 3 - ビスラクトビオノイルジアミノ - 2 - プロパンノール - コlesteroールモノメトキシ - PEG - エーテル - プロパンジアミン、及びコレカルシフェロールジエチレントリアミン - イソマルトオリース - mPEG からなる群から選択される、請求項1記載の化合物担体。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本願は、Nian Wuにより2013年12月5日に米国特許商標庁へ提出された仮出願番号61/912,228(名称;薬物転送技術のための高分子 - 炭水化物共役体)及びNian Wuにより2014年12月5日に米国特許商標庁へ提出された非仮出願番号14/561,219(名称;薬物転送技術のための高分子 - 炭水化物共役体)に基づく優先権を主張する。

【0002】

本発明は、高分子 - 炭水化物共役体に関し、詳細には、特に合成されたポリエチレングリコール(PEG) - 炭水化物と親油性担体としてのステロール類又は「脂溶性ビタミン」(「リポ - ビタミン」)と呼ばれる成分(但し、共役体中の主要な親油性成分としてステロイド酸及び脂肪酸を除く)との共役体を開示し、静脈投与される薬物に用いる場合には、実質的に単分散のPEG鎖が好ましい。更に詳細には、本発明は、疎水性の箇所又は高分子 - 炭水化物共役体における親油特性を増加させるためのステロール類、ステロイドアルコール類、又は脂溶性ビタミン成分を含む、新規な高分子 - 炭水化物共役体、並びに薬物送達、化粧品及び他に目的におけるその使用に関する。

20

【背景技術】

【0003】

安全で生体適合可能な薬物送達システムの設計において、潜在的な組織標的部位又は細胞膜浸透時の相互作用を可能にするために、高い溶解性、担体の保持力、及び適切な表面特性を含むいくつかの重要な要素を考慮しなければならない。

30

【0004】

生命システムでの多くの特異的な相互作用における糖の重要性はよく認識されている。蛋白質又はリポソームのような大分子量キャリアは、特異的な薬物送達のために糖により修飾することができる(非特許文献1及び2)。脂質 - 炭水化物粒子は、ラットの坐骨神経へ注入された局所麻酔薬の長期化を達成するために、脳への薬物送達に用いられている(非特許文献3)。炭水化物 - 脂質はヒト身体において自然と生じる物質で構成されることから、生体適合性及び放出制御期間の点で、いくつかの他のポリマー系よりも潜在的な有利性を示している(非特許文献4及び5)。以下に示す生体外(インピトロ)及び生体内(インピボ)での結果により、糖 - 脂質が優れた生体適合性を有することが示されている(非特許文献6)。

40

【0005】

ステロールは、8種類の脂質類のカテゴリーのうちの1つの脂質として分類される(非特許文献)。脂質の分類スキームは化学的に、脂質を構成する疎水性及び親水性の要素の区別により基づいている。真核生物において生理学的に必須の役割を担うステロール及び関連化合物は、ステロイドのサブグループである。これらは植物、動物及び真菌において自然に生じ、動物ステロールの最も普遍的なタイプはコレステロールである。コレステロールは、動物細胞膜の構造及び機能、並びに細胞膜の流動性に影響を与え、且つ発達シグナルにおける二次メッセンジャーとして役立つ動物中の細胞膜の部位の形成に極めて重要である(非特許文献8)。区別及び明確化のために、一般式1に示されるような本発明に

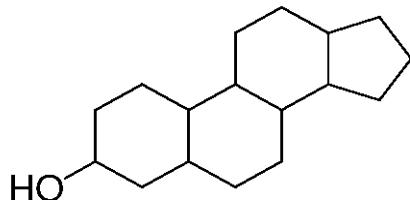
50

おいて用いられるステロール類及びステロイドアルコール類は、水溶性ではなく、また、コール酸又は他の胆汁酸のようなステロイド酸とは異なる。

【0006】

一般式I：本発明におけるステロールの基本構造

【化1】



10

【0007】

本発明は、コレステロール、スティグマステロール、エルゴステロール、ホパノイド類、植物ステロール、シトステロール、カンペステロール、プラシカステロール、アベナステロール、アドステロール、及びスタノール類（飽和ステロイドアルコール又は水添ステロール）を含むが、これらに限られないステロール、ステロール様又は「脂溶性ビタミン」からなる3つの群のうちの1つを含む。ステロール類は薬物送達のために高い互換性を有する媒体として生物学的に重要であり、例えば、コレステロールは天然の細胞膜中の総脂質の約10～50%含まれ、ステロール類又は脂溶性ビタミンを含む共役体は、細胞を標的とする送達のための薬物の浸透を増加させることができる。

20

【0008】

人体は恒常性を維持する生来の性向があり、ビタミン、ミネラル、必須アミノ酸、及びヒトの心臓血管系疾患の予防に重要な役割を果たす多価不飽和脂肪酸を含む必須脂肪酸を得るために、食事中に存在する物質、時には外部から摂取することにより作られる。ビタミンEは全てのトコフェロール類及びトコトリエノール類の総称であり、-トコフェロールは天然の、そして生物学的に最も活性な形態である。ビタミンEの抗酸化機能は、組織の酸化の予防に重要である。これらの分子は人体に必須である一方、理想的な糖・脂質共役体を設計するための、より安全な成分として利用される。

30

【0009】

本発明は、ステロール又は脂溶性ビタミンからなる3つの担体基の1つを含む。他の担体基は、糖分子又はアスコルビン酸、チアミン、若しくはビオチン等の水溶性ビタミンである。第3の担体はポリエチレングリコール等の水溶性高分子である。該3つの担体基は、少なくとも3か所の利用できる結合位置又は部位を有する中心骨格に共有的に結合される。1以上の反応又はN-アルキル化及びO-アルキル化を含むアルキル化、エーテル化、エステル化、並びにアミド化の組み合わせを介して共役を実現することができる。

【0010】

有機分子の溶解度はしばしば、「似ているものは同様に溶解する」のフレーズにより要約される。この意味は、多くの極性基を有する分子は、極性溶媒により溶解し、極性基がないか、あるいは少ない分子（非極性分子）は、非極性溶媒により溶解する（非特許文献9）。

40

【0011】

ビタミンは水溶性又は脂溶性（脂質可溶性及び非極性化合物）であり、これはその分子構造に依存する。水溶性ビタミンは多くの極性基を有し、そのため、水等の極性溶媒に溶解する。対照的に、脂溶性ビタミンは主に非極性を有し、そのため、脂肪（非極性）等の非極性溶媒に溶解する。溶解性は、その過程における自由エネルギー（AG）の変化に依存する複雑な現象である。自発的な過程、即ち、ビタミンを溶媒に溶解させた場合、自由エネルギーの変化は負（即ち、 $AG < 0$ ）であろう（非特許文献10）。

【0012】

50

ステロイド酸類とは異なり、ステロール状の化学構造は僅かな水溶性であり、ヘキサン等の非極性溶媒に溶解する。二重結合を含むステロール類がスタノール類よりも僅かに極性であるのは、以下の2つの理由による：結合電子がより分極し、従って、瞬時に双極子モーメントに寄与し、また、ビニル結合は僅かに極性の傾向を示し、永久双極子モーメントに寄与する。対称的なトランス二置換二重結合では、双極子モーメントの和はゼロである。類似のシス二重結合では、2つの双極子のベクトルの和は二重結合に対して垂直方向に配向している。この結果、分子の双極子は非ゼロ分子双極子である。永久双極子は沸点の上昇及び融点の低下という結果を招く。脂溶性ビタミンは疎水性分子間の非極性相互作用を増加させる共役二重結合の一般構造を有する。

【先行技術文献】

10

【非特許文献】

【0013】

【非特許文献1】Adv Drug Delivery Rev., 14 (1994): 1-24

【非特許文献2】Adv Drug Delivery Rev., 13 (1994): 311-323

【非特許文献3】Pharm. Res. 17 (2000): 1243-1249

【非特許文献4】J. Biomed. Mat. Res. 59 (2002) 450-459

【非特許文献5】Biomaterials, 14 (1993) 470-478

【非特許文献6】J. Biomed. Mat. Res. 59 (2002) 450-459

【非特許文献7】J. Lipid Res. 46 (5): 839-61

【非特許文献8】Molecular biology of the cell. 4th Edition, New York: Garland Science. p. 1874

20

【非特許文献9】“Maintaining the Body's Chemistry: Dialysis in the Kidneys,” <http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Dialysis/Kidneys.html>, Department of Chemistry, Washington University, St. Louis, MO, accessed on December 3, 2013

【非特許文献10】“Vitamin Solubility”, <http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/CourseTutorials/Tutorials/Vitamins/molecularbasis.htm>, Washington University, St. Louis, MO, accessed on December 3, 2013

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

30

【0014】

【課題を解決するための手段】

【0015】

本発明は、図1に示すような骨格及び3又は4つの付加官能基を有する化合物：1又は2つの脂肪親和性ビタミン類若しくはステロール類又はそれらの類似体、1又は2つ親水性高分子、水溶性ビタミンにより置換されていてもよい1又は2つの炭水化物を含む。特異的官能基は、医薬品、化粧品、栄養剤等の特定の応用のために選択することができる。前記骨格及び前記官能基間の連結体（リンカー；Linker）もまた、性能の最適化のために選択することができる。カップリング反応は、アルキル化、エステル化、エーテル化及びアミド化のうちの1つ若しくは組み合わせ又は一連の化学反応過程である。

40

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】本発明の共役体の見取り図を示すものである。

【図2】(a)市販製品及び(b)2%PEG-炭水化物-ステロール共役体からなるドセタキセル溶液であるドセタキセル製剤の薬物動態プロファイルである。

【発明を実施するための形態】

【0017】

本発明の実施態様は、薬物送達のための各種の高分子-炭化水素共役体の文脈においてここに記述される。この技術分野の当業者は、以下の本発明の詳細な説明は、単なる説明的なものに過ぎず、如何なる制限を意図するものではないと認識するだろう。本発明の他

50

の実施態様は、この開示から利益を受ける当業者にとって自明である。本発明の詳細な実施形態は、あくまでも参考として使用される。

【0018】

明瞭にするために、本明細書には全ての実施形態の定的な特徴が記載されているわけではない。そのような実際の実施形態の開発において、多数の実施態様 - 具体的な詳細が、開発者の特定の目標を達成し、これらの具体的な目標は異なることによるためになされなければならないことが理解されるであろう。このような実施形態は複雑かもしないが、それはまだエンジニアリングの日常作業になる。

【0019】

米国特許公開 2012/202,979 及び 2012/202,890 は、参考として組み込まれ、当該公報は、特定の高分子 - 炭水化物 - 脂質 (PCL) 共役体を用いた貧水溶性剤の水性製剤を教示する。これらの特許では、高分子 - 炭水化物 - 脂質共役体をどのように製造するか、及び単に共役体を水性溶液に添加することによるその応用について記述した。PCL は、リポソーム又はマイクロエマルションを形成することなく、疎水性薬剤を可溶化するのに有用であることが示されている。10

【0020】

米国特許公開 2012/202,979 及び 2012/202,890 で開示された先の発明と異なり、本発明では、高分子 - 炭水化物共役体中にステロイド酸又は脂肪酸を除く親油性部分を含み、同時に、これらの共役体は、骨格及び 3 又は 4 つの付加官能基 : 1 又は 2 つの脂肪親和性ビタミン類若しくはステロール類、1 又は 2 つ親水性高分子、水溶性ビタミンにより置換されていてもよい 1 又は 2 つの炭水化物 : を有する基本構造を維持している。一つの化合物中でこれらの官能基の全てを組み合わせることにより、多くの活性成分の製剤の改良を実現することができる。これらの化合物のファミリーの一般構造を図 1 又は 3 次元の化学構造 1 に示す。式中、「B」は骨格 (backbone) であり、「P」は高分子 (polymer) であり、「H」は親油性ビタミン若しくはステロール又はそれらの類似体であり、「S」は炭水化物である。この新規な共役体は、水系溶液中で貧水溶性剤の溶解性増強剤として機能し、その結果、これらの活性成分の真の水溶液又は非常に安定な乳化懸濁液を形成する。場合によっては、炭水化物は、アルドン酸、糖酸としても分類されるアスコルビン酸等の水溶性ビタミンにより置換されていてもよい。20

【0021】

別の態様において、本発明は、骨格及び 3 又は付加官能基であって、4 つの担体を伴う : 1 又は 2 つの脂肪親和性ビタミン類若しくはステロール類、1 又は 2 つ親水性高分子、水溶性ビタミンにより置換されていてもよい 1 又は 2 つの炭水化物 : を有する化合物を含む。一つの化合物中でこれらの 3 つの官能基のうちの 1 つを全て重複させることにより、多くの貧水溶性又は貧浸透性の活性成分の製剤の更なる増強を実現することができる。これらの化合物のファミリーの一般構造も図 1 に示す。式中、「B」は骨格 (backbone) であり、「P」は高分子 (polymer) であり、「H」は親油性ビタミン若しくはステロール又はそれらの類似体であり、「S」は炭水化物であり、「D」は 3 つの担体又は水溶性ビタミンの重複である。30

【0022】

米国特許公開 2012/202,979 及び 2012/202,890 で開示された、我々の先の発明との他の相違として、本発明は、脂肪酸により誘導される潜在的な溶血活性を有意に減少させるために、ステロール又はステロール様化合物を含む [Mimura, T. "Fatty acids and sterols of the tunicate, Salpa thompsoni, from the Antarctic Ocean: chemical composition and hemolytic activity". Chemical & pharmaceutical bulletin, 34 (1986) 4562]。ステロールと脂肪酸との組み合わせもまた、脂肪酸単独の溶血作用を減少させることから、必要な場合、第 4 の担体基として、脂肪酸を含んでもよい。ステロールと異なり、水溶性ステロイド酸 (胆汁酸など) も溶血性貧血を誘発する可能性がある [Ilani, A. "The pH dependence of the hemolytic potency of bile salts". Biochimica et biophysica acta, 1027 (1990) 199]。この特殊な理由のため、本発明では、4050

第1の親油性担体として、ステロイド酸又は脂肪酸は選択されないだろう。2つの親油性担体がある場合、そのうちの1つはコレステロール、非溶血性ステロール、又は「脂溶性」ビタミンとすることができます。

【0023】

本発明の一つの面は、本発明は、ポリエチレングリコールソルビット、ポリオキシエチレン化ヒマシ油（Cremophor）及びグリセロール中のカプリル酸／カプリン酸のモノ／ジグリセリド（Capmul（登録商標））、ポリグリコール化グリセリド（Labrafac（登録商標））、PEG-6グリセリルモノオレアート又はPEG-6グリセリルリノレート（Labrafil（登録商標））、PEG-8グリセリルカブリレート／カブレート（Labrasol（登録商標））を含む商業的に利用可能なPEG-10脂質と比較して、潜在的な溶血活性を有意に減少させるため、ステロール又はステロール類化合物を含む親油性成分において脂肪酸及びステロイド酸非含有である。これらの脂肪酸系脂質・高分子は、水溶性剤の貧水溶性を向上させる一方、より高い脂質・薬物比により溶血性が誘導される。[G.D. Noudeh, P. Khazaeli and P. Rahmani. "Study of the Effects of Polyethylene Glycol Sorbitan Esters Surfactants Group on Biological Membranes." International Journal of Pharmacology, 4 (2008) 27-33; A.O. Norooza, D.W. Osborneb, D.S.L. Chow "Cremophor-free intravenous microemulsions for paclitaxel: I: Formulation, cytotoxicity and hemolysis." International Journal of Pharmaceutics. 349 (2008) 108-116].

【0024】

米国特許公開2012/202,979及び2012/202,890で開示された、我々の先の発明と更に異なり、本発明は、共役体構造中の剛性成分であり、共役体の脂肪酸尾部が有する同じ移動の自由度を有しないステロール又はトコフェロール担体を含む。担体と隣接する、即ち、高分子は、例えばステロール分子と隣接する高分子鎖の長さ全体に渡って、部分的のその移動の自由度が制限されてもよい。しかしながら、ステロール又はトコフェロール成分は、二層の均一な疎水形態中に空間を形成する一定の効果を有することから、隣接する領域の下の高分子鎖の部分では、移動の自由度が増加する。この環状構造部分から離れた担体基のための空間障害は無視される。

【0025】

米国特許公開2012/202,979及び2012/202,890で開示された、我々の先の発明と異なり、本発明は、ステロール又はより親油性の「脂溶性」ビタミン担体を含む。表1に示すように（Log P及びLog Dは、Marvin Sketchのコンピュータプログラム（ChemAxon Kft, Budapest, Hungary）に基づいて計算した。）、同じ中心骨格、高分子、炭水化物、並びに中心骨格と親油性基との間の連結基に基づいて、油／水相分配（Log P）又は分配係数（Log D）は、先の発明で用いたステロイド酸又は脂肪酸と本発明で利用されるステロール又は「脂溶性」ビタミンとの間で大きく異なる。正の値はより脂溶性であり、負の値はより水溶性である。従って、水溶性及び親油性は単に、炭化水素担体基の固有の性質に基づき、これはPEG-炭水化物-ステロール共役体とPEG-炭水化物-ステロイド酸共役体との間又はステロールとステロイド酸との間の大きな相違を示す。ステロイド酸とステロールとの更なる化学的な相違は、ステロールが1つのヒドロキシ基を有するのみであり、ステロイド酸はカルボキシル基及び複数のヒドロキシ基を含み、より水溶性及び溶血性である。脂肪酸とステロールとのLog P値の相違は小さいが、化学構造及び溶血感受性において両者は異なる分子である。

【0026】

10

20

30

40

【表1】

表1；同一の構造デザインに基づく異なるタイプの担体基での溶解性の比較

PEG-炭水化物の基本構造		
	担体基 (R)	Log P
1	コレステロール	7.11
	PEG ₁₁ -炭水化物-コレステロール (R)	0.29
2	コール酸	2.48
	PEG ₁₁ -炭水化物-コール酸	-4.98
3	オレイン酸	6.78
	PEG ₁₁ -炭水化物-オレイン酸 (R)	-1.06
4	α -トコフェロール	8.94
5	PEG ₁₁ -炭水化物-トコフェロール (R)	2.12
6	コレカルシフェロール	7.13
	PEG ₁₁ -炭水化物-コレカルシフェロール (R)	0.54
7	レチノイン酸	5.01
	PEG ₁₁ -炭水化物-レチノイン酸 (R)	-2.83

【0027】

表1に示すように、ステロールの油／水相分配 (Log P) 係数は、同じ共役体構造のステロイド酸と著しく異なり、また、Log Pは、ポリエチレングリコール鎖をより長くすることにより変化させることができる。しかしながら、ステロイド酸系の共役体の Log P 値と合わせるために、ステロール系共役体において、大きなPEG鎖が必要である。例えば、約107サブユニットのPEG鎖を有するPEG-炭水化物-コレステロールのLog Pは-4.79と計算されるのに対し、その約10倍短い、僅か11サブユニットのPEG鎖を有するPEG-炭水化物-コール酸では、-4.98のLog Pが得られる。この結果は、ステロールとステロイド酸との化学的及び物理的性質の著しい相違を示している。

【0028】

本発明の1つの面において、ステロール等の環状親油性基を高分子-炭水化物共役体中に組み入れることにより、疎水性相互作用を有意に増加させることができる。ステロール-高分子共役体中への親油性分子の封入が改善されたこれらの疎水性のため、水溶性は増強される既に記述された脂肪酸-炭水化物-高分子共役体と異なり、本発明では親油性溶質とより強い疎水性相互作用を有するステロール様環状構造担体が存在する。ステロイド酸では、その水酸基からの大きな干渉作用の結果、同様の疎水性相互作用を実現することはできない。一般式1に示したように、コレステロール等のステロールは、中心骨格と結合した後、如何なる遊離の水酸基も有しない。

【0029】

本発明の1つの面は、親油性担体と疎水性溶質との間の疎水性相互作用のために、遊離の水酸基による潜在的な妨害を減少させるべく、共役体のために利用可能な一つの水酸基を有するステロール又はステロール様分子を含む。

【0030】

水状-水系の環境下で、高分子-炭水化物の内部は主として非極性であり、炭化水素の溶解性を決定する場合の原理は、「似たもの同士はよく溶ける。」ということである。大

10

20

30

40

50

多数の貧水溶性化合物は、少なくとも 1 つのフェニル基等の環状構造を含み；従って、共役体の疎水性ステロール又はトコフェロール頭部と親油性溶質とはお互いに凝集し、「似たもの同士はよく溶ける。」高分子 - 炭水化物の外側は、主として極性の水分子と相互作用をすることができる極性基であることから、親油性溶質が組み込まれた高分子 - 炭水化物は水可溶性である。

【 0 0 3 1 】

新規な高分子 - 炭水化物共役体において、極性基が結合された 2 つの部位及び非極性基を伴う他の部位を有する中心骨格は、優れた溶解性増強剤である。これらは安定な溶液、エマルション、又は水と親油性剤との混合物の形成を助けるだろう。これらの高分子共役体は、液体 - 液体界面でのエネルギーを吸収することにより、疎水性分子と水との間の界面張力を減少させる。10

【 0 0 3 2 】

本発明の 1 つの面において、ステロール若しくはトコフェロール又は二重結合を有するそれらの類似体は、高分子 - 炭水化物共役体の好ましい成分である。2 つの分子が集合すると、電荷の変化により、分子の一端が僅かに陰性となり、他方が僅かに陽性となるような状況を形成することができる。これは、2 つの分子間の引力を更に増加させるだろう。化学的性質を考慮すれば、環状構造と鎖状化合物とは大きく異なる。二重結合を伴う環状構造は、液体又は溶液相中で分子をまとめる分子間力の増加を伴う「分子ハンドル」として考えることができる。環状化合物と鎖状化合物との間の分子間力の相違は、特定の分子の分極性に基づいている。20

【 0 0 3 3 】

疎水性相互作用は、液体の水の分子間ににおけるより高度の動的水素結合の、疎水性溶質による破壊から生成するエントロピー効果として定義される。[T.P. Silverstein, "The Real Reason Why Oil and Water Don't Mix". Journal of Chemical Education. 75(1998) 116-346]。水性媒体中に疎水性溶質が混合された場合、水分子は疎水性溶質と反応しないことから、疎水性溶質の空間を形成するために、水分子間の水素結合が破壊される。このような疎水性効果は、水と非極性溶媒との間の非極性分子の分配係数を測定することにより定量化することができる。分配係数は、エンタルピー (H) 及びエントロピー (S) 成分を含む移動の自由エネルギーに変換することができる。このような疎水性効果は、非極性溶質の溶媒和殻における水分子の移動性の減少のために、室温でのエントロピー駆動であることが分かっている。新たな水素結合が部分的に、完全に、又は全体的に形成され、疎水性溶質の加入により破壊された水素結合を埋め合わせることから、系のエンタルピー (H) の変化はゼロでも負でも正でもよい。しかしながら、エントロピー (S) の変化が非常に大きいことから、疎水性分子と水との混合の自発性を決定する上で、エンタルピーの変化は些末なことである。ギブス自由エネルギー式、 $G = H - T \cdot S$ によれば、小さい未知の H と大きな負の S により、G は正に引っ繰り返るだろう。正の G は、疎水性分子と水分子との混合は自発的ではなく、相分離又は凝集を生じることを示す。30

【 0 0 3 4 】

本発明の別の面では、高分子 - 炭水化物 - ステロール共役体の親水性 - 親油性相互作用が十分に平衡を保っている[Griffin WC. "Calculation of HLB Values of Non-Ionic Surfactants," Journal of the Society of Cosmetic Chemists. 5 (1954) 259]。例えば、自発的に半透明マイクロエマルションを形成するための、共役体中の多くを占める高分子部分によって、親水性 - 親油性のバランス値は 1.2 以上を維持している。分散相の濃度を著しく超える何倍も高い界面活性剤又は脂質高分子と共に界面活性剤及び / 若しくは共溶媒との混合により形成されたマイクロエマルション、又は特殊な装置が必要な機械的に調製された半透明マイクロエマルションと異なり、本発明の高分子 - 炭水化物 - ステロール / 脂肪親和性ビタミン共役体は、一般に共溶媒なしで、単一の高分子 - 炭水化物 - ステロール、高分子 - 炭水化物 - トコフェロール、又は高分子 - 炭水化物 - レチノール及び必要な外部高エネルギーにより、自発的に透明溶液又はナノエマルションを形成することができ40

る[Mason TG, Wilking JN, Meleson K, Chang CB, Graves SM. "Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties", Journal of Physics: Condensed Matter, 18 (2006) R635-R666]。

【 0 0 3 5 】

界面活性剤又は他の脂質ポリマーにより引き起こされる多くの望ましくない副作用及び相対的に高濃度の界面活性剤の存在は、多くの応用に対して不利であるか、あるいはかかる応用を妨げることになるが、本発明の1つの態様では、最小量の高分子 - 炭水化物共役体により、安定した水溶液又はエマルションを形成することができることから、これは既存の界面活性剤又は他の脂質ポリマーよりも優れていることを示す。更に、マイクロエマルション又は機械的に形成されたナノエマルションの安定性は、希釀、加熱又はpH変更によりしばしば容易に損なわれる。

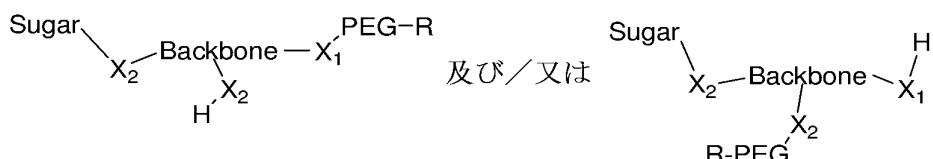
10

【 0 0 3 6 】

本発明を実施する際、種々の親水性高分子を用いることが可能であるが、効果についての長い歴史及び一般的に安全と認識されている(GRAS)信頼のため、ポリエチレンゴリコール(PEG)が好ましい。PEGを組み入れた、新規な高分子 - 炭水化物 - ステロール共役体の一般式1は以下の通りである。

【 0 0 3 7 】

【 化 2 】



20

一般構造1

【 0 0 3 8 】

一般式1において「backbone」(骨格)は、第1担体、第2担体、及び第3担体の共役のための少なくとも3つの利用可能な結合位置又は部位を含む化合物から選択することができ、利用可能な結合位置又は部位はそれぞれ、消費できるアミノ基、ヒドロキシ基、又はカルボキシル基を含む。前記「backbone」は、グリセロール又はグリセロール様類似体、ポリアミン、ジアミン、トリアミン、テトラアミン、アミノジオール、アミノトリオール、アミノアルコール、及び3つの利用可能な結合位置又は部位を有するアミノ酸、トリオール、テオラオール、エリスリトール、三酸、四酸、四酢酸、グルコヘプトン酸、及び酒石酸からなる群から選択することができ、エチレンジアミン(1,2-ジアミノエタン、1,3-ジアミノプロパン(プロパン-1,3-ジアミン)、4-アミノ-3-ヒドロキシ酪酸、N-(2-ヒドロキシエチル)エチレンジアミン、4-アミノ-2-ヒドロキシ酪酸、2-ヒドロキシ-4-アミノ酪酸、1-ホモセリン、1-トレオニン、N-アミノエチル-グリシン、プロトレシン(ブタン-1,4-ジアミン)、カダベリン(ベンタノン-1,5-ジアミン)、ヘキサメチレンジアミン(ヘキサン-1,6-ジアミン)、1,2-ジアミノプロパン、ジフェニルエチレンジアミン、ジアミノシクロヘキサン、ジエチレントラアミン、ビス(3-アミノプロピル)アミン、トリエチレンテトラアミン、トリス(2-アミノエチル)アミン、スペルミン、スペルミジン、ノルスペルミジン、ビス(3-アミノプロピル)-1,3-プロパンジアミン、1,2-ビス(3-アミノプロピルアミノ)エタン、N,N'-ビス(3-アミノプロピル)-1,3-プロパンジアミン、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ジアミノベンジジン、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド、メソ-エリスリトール、トリアザシクロノナン、テトラアザシクロドデカン、スレイトール、ジチオスレイトール、トリメチルシクロヘキサン-1,3,5-トリカルボン酸、トリメチルビス

40

50

(ヘキサメチレン)トリアミン、ビス(ヘキサメチレン)トリアミン、アルギニン、オキシリルジアミノプロパン酸、3-アミノ-1,2-プロパンジオール、3-ブロモ-1,2-プロパンジオール、3-クロロ-1,2-プロパンジオール、3-フルオロ-1,2-プロパンジオール、DL-グリセリン酸、ジアミノプロパン酸、グルコヘプトン酸、及び1,2,4-ブタントリオール、2,2-ビス(ヒドロキシメチル)-酪酸、1,3-ジアミノ-2-プロパノール及び2-(3-アミノプロピルアミノ)エタノール、及び3-(3-アミノプロピル)アミノ)プロパノール；アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン、リジン、オルニチン、セリン及びトレオニン、ベンジルトリオール又はアミノヒドロキシ安息香酸又はベンゼントリオール、ジヒドロキシ安息香酸、ジアミノ安息香酸、ジアミノフェノール、ジアミノ安息香酸、アミノヒドロキシ安息香酸、アミノサリチル酸、ヒドロキシアントラニル酸、ヒドロキシイソフタル酸、アミノイソフタル酸、4-(ヒドロキシメチル)シクロヘキサン-1,3-ジオール、デオキシフコノジリマイシン、デオキシノジリマイシン、プロスタグラジン、ヒドロキシメチルピペリジノール、ジヒドロキシ(ヒドロキシメチル)アミノシクロヘキサン、ジアミノフェノール、ベンゼンテトラカルボン酸、ベンゼントリカルボン酸、アミノベンゼンジオール、ジヒドロキシ安息香酸、アミノヒドロキシ安息香酸、トリヒドロキシアニリン、ベンゼントリオール、ジメトキシベンゼンジアミン、トリヒドロキシフェノール、(ジアミノフェノキシ)ベンゼンジアミン、並びにアミノブロモフェノールを含むが、これらに限られない。「炭水化物」には、单糖、二糖、オリゴ糖、アミノ糖、又は糖酸が含まれる。「H」には親油性化合物又はそのジエステルであり、ステロール若しくはステロール様類似体、又は脂溶性ビタミンが含まれるが、これらに限定されない。「X₁」、「X₂」及び「X₃」は、同一の又は異なる、担体基と中心骨格との間の炭素-窒素結合、エステル、エーテル又はアミドの連結体である。各連結体は、单なる酸素、窒素、又は担体基と中心骨格との間にエステル、エーテル若しくはアミドを形成するための他の单一原子でもよい。選択的に、各連結体は、表1及び表2から選択される連結体の单一連結体又は繰り返し連結体でもよい。いくつかの場合、連結体は、共役体の合成に用いる骨格又は機能性基の一部あるいはこれと共に共同して拡張されてもよい。

【0039】

共役体の典型的なカップリング反応は、N-アルキル化若しくはO-アルキル化を含むアルキル化、エーテル化、エステル化、及びアミド化の化学プロセスの連続又は1以上の組み合わせを含む。一般構造は、それらが機能的に同等とすることができますように、構造体の全てのラセマー(racemate)及び構造異性体を含むことを意味する。PEG鎖は、5~45のサブユニットからなるものが好ましく、及び実質的に単分散のものが好ましい。「R」はPEG鎖上の末端基であり、種々の化学基から選択することができる。末端基として通常、ヒドロキシ基又はメトキシ基が選択される。「R」は分子量が約650以下のものが好ましい。新たな残基と中心骨格上の利用可能な位置とを直接結合させることにより多くの化合物を組み立てるのに、商業的に利用可能なPEG-脂質モノエステルを用いてもよい。

【0040】

本発明の1つの態様では、薬物、ペプチド又は生物分子は中心骨格として選択されないだろう。生物活性剤を修飾したプロドラッグと異なり、本発明の主な応用の一つは、薬物送達であり、従って、それ自体が送達媒体である共役体は、化学的に安定であり、好ましくは生体に対して毒性が低いか無毒性である。

【0041】

PEG鎖の末端基は、各種の化学残基の中から選択することができる。該残基は、分子量が650以下のものが好ましい。該残基には、-NH₂、-COOH、-OCH₂CH₃、-OCH₂CH₂OH、-COCH=CH₂、-OCH₂CH₂NH₂、-OSO₂CH₃、-OCH₂C₆H₅、-OCH₂COCH₂CH₂COONC₄H₄O₂、-CH₂CH₂=CH₂、C₁₀H₁₆N₂O₃S、及び-OCH₂CH₂COONH₄が含まれる。前記末端基は、治療剤又は標的化剤の脂質媒体集合物の表面への連結を促進する官能基でもよい。

このような連結のために、アミノ酸、アミノアルキルエステル、ビオチン、マレイミド、ジグリシジルエーテル、マレイミドプロピオ酸エステル、メチルカルバメート、トシリヒドラゾン塩、アジド、プロパルギル-アミン、プロパルギルアルコール、スクシンイミジル(NHS)エステル(例えば、プロパルギルNHSエステル、NHS-ビオチン、スルホ-NHS-LC-ビオチン、又はNHSカーボネート)、ヒドラジド、スクシンイミジルエステル、スクシンイミジルタートレート(succinimidyl tartrate)、スクシンイミジルスクシネート、及びトルエンスルホン酸塩が有用である。連結された治療剤及び標的化剤は、Fabフラグメント及び細胞表面結合剤等を含んでもよい。更に、末端基は、葉酸、トランスフェリン、及びモノクローナル抗体、細胞受容体のリガンド又は特異的な結合部位を提供するためにリポソーム表面に結合させることができる特異的ペプチド配列等の分子のような機能性細胞標的リガンドを含んでもよい。末端基は、中性でもよく、あるいは、デカノールアミン、オクタデシロールアミン、オクタノールアミン、ブタノールアミン、ドデカノールアミン、ヘキサノールアミン、テトラデカノールアミン、ヘキサデカノールアミン、オレイルアミン、デカノールトリメチルアンモニウム、オクタデシロールトリメチルアンモニウム、オクタノールトリメチルアンモニウム、ブタノールトリメチルアンモニウム、ドデカノールトリメチルアンモニウム、ヘキサノールトリメチルアンモニウム、トトラデカノールトリメチルアンモニウム、ヘキサデカノールトリメチルアンモニウム、若しくはオレイルトリメチルアンモニウム等の陰性若しくは陽性の荷電を有する頭部基を含んでもよい。他の有用なR基には、脂肪酸、アルコキシ残基等のアルキル基、アミノ酸、並びに单糖、二糖、三糖及び1、2、3、4又はそれ以上の单糖単位をそれぞれ含むオリゴ糖を含む糖類が含まれる。更に、抗体フラグメント等の標的残基及びビタミンもR基として用いることができる。R基の分子量は好ましくは約650以下であり、多数の応用の観点から、標的部位におけるタンパク質との結合及び相互作用を増加させるために、容易に分極する基が好ましい。しかしながら、良好なイオン平衡性のR基は、局所投与ゲル並びに口腔及び喉を標的とする経口溶液等の特定の投与モードに用いるのに有利である。

【0042】

本発明は、配合に基づくPEG-炭水化物-脂質基の最適化及び改善のために選択する連結化学基を含む。脂質部位、PEG、又は炭水化物と骨格との間の適切な連結体の選択は、以下に記述する幾つかの理由のために重要である。

【0043】

薬物又は外因性の物質は、正常な人体において必要ではない。理想的には、そのような薬物は完全に活性部位に到達し、疾病を治療し、治療効果を達成後に人体から離れなければならない。しかしながら、薬物の開発者はしばしば、開発中の薬物の70~90%で水溶性又は浸透性の問題を有し(Thayer, AM. Chemical & Engineering News. 88 (2010) 13-18)、そのため、薬物が活性部位に到達して治療効果を奏すことができないか、あるいは非常に遅く、また、体内に長時間留まることにより副作用を起こすという苦境に直面する。本発明の目的の1つは、薬物が治療の目的を達成することを助けるために、独特的連結体を伴う高分子-炭水化物-脂質を開発することである。

【0044】

外因性物質は、続く代謝過程により生体から排除される。最も普遍的なこの過程には、チトクロムP450酵素を含まれる。該酵素は全ての生物体において発見されたタンパク質スーパーファミリーである。ヒトでは、他の哺乳類と同様に、この酵素系は主に肝臓で発見されるが、他の全ての器官及び組織にも存在している。これらの酵素は以下の反応を触媒する：芳香環の水酸化；脂肪族化合物の水酸化；N-、O-及びS-脱アルキル化；N-水酸化；N-酸化；スルホキシド化及び脱アミノ化。本発明の特に重要な点は、新たな脂質から形成された小胞及び新たな脂質それ自体が受けと予見される分解過程である。メトキシ基及びメチルアミノ基は脱メチル化を受けると予測される。アミンはN-酸化又は脱アミノ化を受けると予測される。硫黄結合はS-酸化を受けると予測される。エステル及びアミドは加水分解を受けると予測される。器官又は組織が異なれば、これらの種

10

20

30

40

50

々の反応を行う能力が異なることから、本発明の更なる目的は、最適化された分解性能を有する連結体を提供することである。

【0045】

同様に、体内における微小環境の相違は、異なる分解プロセスに有利である。例えば、酸性の胃液はチオール結合の分解に有利である。従って、本発明の別の目的は、種々の生理学的微小環境に適用する薬物送達配合を設計するため及び治療剤の生物適合性を改善するための新規な分子を提供することである。

【0046】

3つの連結された成分、即ち PEG、炭水化物及び脂肪親和性成分のうち、炭水化物及び捨てロール又は脂溶性ビタミンはヒトにより消化できるのに対し、PEGは消化できない。3つの成分間の連結の破壊により、全てのクリアランスを増加させることができる。従って、本発明は、脂質担体及び薬物送達のための脂質のクリアランス速度を最適化するための種々の生分解性連結体の使用を目的とする。10

【0047】

高分子と結合した場合、分子の如何なる固有の性質は不活性の状態となるだろう。従って、本発明の目的は、特に、共役体中の一部のみでは相対的に毒性を有する場合に、中心骨格と担体基との間の結合を安定化させるための、低い生分解性の連結体を提供することである。

【0048】

本発明の1つの面は、N-アルキル化若しくはO-アルキル化を含むアルキル化、エーテル化、エステル化、及びアミド化の化学プロセスの連続又は1以上の組み合わせによる共役体のカップリング反応を含む。実際的及び経済的理由から、低コストでいつでも可能な単一の反応からそれらの共役体を得ることが好ましい。20

【0049】

脂質の保持力は、薬物の配合及び体液中での希釈又は循環における薬物の凝集を防ぐ点で重要であろう。本発明は、高分子-炭水化物共役体中により疎水性の担体基を含めることにより、保持力を増強する手段を提供する。更に、共役体の保持力の増強に伴い、典型的には純粋な溶液製剤を形成する投与製剤中で、相対的に低濃度の高分子共役体の無菌ろ過が可能であることから、非経口製剤のための防腐剤の使用を排除することができる。

【0050】

本発明の共役体中の糖残基は、高分子鎖又は親油性担体よりも大きい表面極性を有する。例えば、これらのPEG-炭水化物共役体は、ナノ懸濁液又はナノ粒子の適用のために、薬物、特に、いくつかの両親媒性薬物又はその他の化合物のより優れた分散性を与える。このことは、媒体の親油性二重層中に区画するための薬物又はその他の化合物のより優れた平衡を与える。30

【0051】

経口投与製剤のために、「Capmul」(登録商標)、「Centrophase」(登録商標)、「Cremophor」(登録商標)、「Labrafac」(登録商標)、「Labrafil」(登録商標)、「Labrasol」(登録商標)、及び「Myverol」(登録商標)等の既存のPEG-脂質を用いる場合、製造プロセス及びコストのために追加の問題をもたらすかもしれない矯味剤を用いてもよい。PEG-炭水化物共役体は通常、他のタイプのPEG-脂質共役体よりも苦味があり、必要により矯味剤により除去することができる。40

【0052】

本発明のPEG-炭水化物共役体は、注射可能な凍結タンパク質及びペプチドの安定化に一般に用いられる糖フリーの注射製剤に調製することができる。注射可能に調製されたPEG-炭水化物共役体は、高温又は高湿度の条件でさえ非常に安定である。医薬製剤における糖の使用の削減又は除去は、糖尿病患者において特に有益である。

【0053】

本発明の共役体中の高分子鎖は、単分散PEGが好ましい。このような単分散PEG鎖50

を合成するための材料及び方法は、米国特許出願 12 / 802, 197 で開示されており、当該開示は、その全体が参照として組み込まれる。好ましくは、特定の共役体中の 30 % 以上の PEG 鎖が同じ分子量を有する。より好ましくは、50 % 以上が同じ分子量を有する。最も好ましくは、80 % 以上が同じ分子量を有する。

【0054】

一般に、本発明には、1つの PEG 鎖を伴う中心骨格、1つの炭水化物基、及び前記骨格と結合した1つの親油性基を含む PEG - 炭水化物 - ステロール／（あるいは親油性ビタミン）共役体を合成する方法並びに組成物が含まれる。前記共役は、N - アルキル化若しくはO - アルキル化を含むアルキル化、エーテル化、エステル化、及びアミド化の化学プロセスで進行する。選択された連結体は、前記骨格と前記 PEG 鎖又は炭水化物との間にエステル、エーテル又はアミド結合を形成するために用いることができる。前記骨格はグリセロール、3つの利用可能な結合位置を有するグリセロール連結体、ジアミン、トリアミン、テトラアミン若しくはポリアミン、ジアミノアルコール、又は3つの利用可能な結合位置を有するアミノ酸を有し、前記親油性担体基は、コレステロール、1つのヒドロキシル基を含むコレステロール類似体、トコフェロール、トコトリエノール、コレカルシフェロール、又はレチノール、レチナール及びレチノイン酸を含む。

【0055】

本発明の変種には、少なくとも3つの利用可能な結合位置を有する中心骨格として、種々の化合物が含まれる。ジアミン、アミノアルコール、又はアミノ酸等の、2つの利用可能な結合位置を有する分子について、3つの結合位置を有するように化学的方法を通じて拡張してもよい。

【0056】

高分子 - 炭水化物 - 脂質共役体の合成の間、同時に位置異性体が得られてもよく、そのような異性体は機能的に等価であろう。しかしながら、異性体の選択は、医薬への適用のための媒体として使用するのと同様に、親油性分子の細胞内輸送のような送達プロセスの多様性と密接な関係を有していてもよい。例えば、異性体は溶解及び貯蔵の間の化合物の安定化能が異なってもよい。

【0057】

高分子 - 炭水化物共役体を調製するために、種々の中心骨格を使用することができるが、ステロール、トコフェロール又はコレカルシフェロールは、の可能性はとても大きい程度の上で「似ているものは同様に溶解する」という役目を果たす能力が大きく増加しているであろうことから、本発明の実施においては、線状又は環状の骨格を組み入れることが非常に有効であることを示している。一般構造 1 中、「backbone」は、グリセロール若しくはグリセロール様類似体、ポリアミン（ジ、トリ、テトラ、若しくはペンタアミン）、3つの利用可能な結合部位を有するアミノ酸、トリオール、並びにグルココヘプトン酸及び酒石酸等のトリ酸から選択することができる。親油性成分は、これらに限定されないが、コレステロール、スティグマステロール、エルゴステロール、ホパノイド、フィトステロール、シトステロール、カンペステロール、ブラシカステロール、アベナステロール、アドステロール、及びスタノール（飽和ステロイドアルコール又は水素化ステロール）、レチノイド、レチナール、レチノイン酸、トレチノイン、カロテノイド、-カロテン、-トコフェロール、トコトリエノール、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、アスタキサンチン、アウロキサンチン（auroxanthin）、カブサンチン、カブソルビン、クリサンテマキサンチン（chrysanthemaxanthin）、クリプトキサンチン、フコキサンチン、ルテイン、ネオキサンチン、ルビキサンチン、ビオラキサンチン、ゼアキサンチン（zeaxanthin）を含む群から選択することができる。炭水化物は单糖、二糖、オリゴ糖、アミノ糖又は糖酸を含む糖である。X₁、X₂ 及び X₃ は、同一の又は異なる、担体基と中心骨格との間の炭素 - 窒素、エステル、エーテル又はアミドの連結体である。各連結体は単なる酸素又は他の单一原子でもよい。選択的に、各連結体は、アミノ酸又は線状の炭素鎖を有する分子の单一連結体又は繰り返し連結体でもよい。いくつかの場合、連結体は、共役体の合成に用いる骨格又は機能

10

20

30

40

50

性基の一部あるいはこれと共に共同して拡張されてもよい。図には示していないが、本発明は、骨格の中心位置に炭水化物が存在する化合物も含む。しかしながら、化学合成のルート化のために、骨格の中心に代えて末端に炭水化物を有するものが実際的である。本願に示す一般構造は、それらが機能的に同等とすることができるように、構造体の全てのラセマー (r a c e m e r) 及び構造異性体を含むことを意味する。PEG鎖は、5～45のサブユニットからなるものが好ましく、及び実質的に単分散のものが好ましい。「R」はPEG鎖上の末端基であり、種々の化学基から選択することができる。「R」は分子量が約650以下のものが好ましい。

【0058】

好適なアミノ酸リンカーは、プロリン、グリシン、アラニン、リジン、システイン、バリン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、ヒスチジン、トリプトファン、チロシン、セレノシステイン、及びアルギニンであり、更に好適なのは、プロリン、グリシン、アラニン、リジン、システイン、バリン、イソロイシン、ロイシン、メチオニンであり、最も好適なのはプロリン、グリシン及びアラニンである。

【0059】

本発明の面における一般構造1中、Xは、担体と中心骨格との間でN-アルキル化、O-アルキル化、エステル、又はアミド結合を形成するための連結体に加えて、1以上の炭素原子を含んでいてもよい。適切であればいつでも、ペプチドを形成するような多数の連結体を避けるために、容易且つ低コストの結合方法を選択しなければならず、該連結体は好ましくは、骨格が容易に担体基と結合するための志向されていることが好ましい。

【0060】

本発明は 種々の薬物残基を欠いた中心骨格を用いてもよい。骨格は、アルキル化、エステル化、エーテル化又はアミド化を通じた炭水化物、脂質又はPEG付着物のために、少なくとも3つの利用可能な又は2つの拡張可能な部位を有することが好ましい。骨格として用いられる適切な分子としては、これらに限られないが、エタンジアミン、プロパンジアミン、ブタンジアミン、ペンタンジアミン、エチレンジアミン、1,3-ジアミノプロパン（プロパン-1,3-ジアミン）、ブトレシン（ブタン-1,4-ジアミン）、カダベリン（ペンタン-1,5-ジアミン）、ヘキサメチレンジアミン（ヘキサン-1,6-ジアミン）、エチレンジアミン、1,3-ジアミノプロパン、1,2-ジアミノプロパン、1,4-ジアミノブタン、ジフェニルエチレンジアミン、ジアミノシクロヘキサン、3-アミノ-1,2-プロパンジオール、3-プロモ-1,2-プロパンジオール、3-クロロ-1,2-プロパンジオール、3-フルオロ-1,2-プロパンジオール、DL-グリセリン酸、ジアミノプロパン酸、酒石酸、グルコヘプトン酸、及び1,2,4-ブタントリオール、2,2-ビス（ヒドロキシメチル）-酪酸、1,3-ジアミノ-2-プロパノール及び2-(3-アミノプロピルアミノ)エタノール、3-((3-アミノプロピル)アミノ)プロパノール、ジエチレントリアミン、スペルミジン、トリエチレンテトラミン、スペルミン、ノルスペルミジン、ビス(3-アミノプロピル)-1,3-プロパンジアミン及びビス(ヘキサメチレン)トリアミン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン、オルニチン、セリン及びトレオニン、ベンジルトリオール又はアミノヒドロキシ安息香酸又はフェノール様類似体、カルボキシル基又はアミノ基を有するフェニルジオール、及びヒドロキシ基又はカルボキシル基を有するジアミン、ジアミノ安息香酸、アミノヒドロキシ安息香酸、アミノサリチル酸、ヒドロキシアントラニル酸、ヒドロキシイソフタル酸、アミノイソフタル酸からなる群が含まれる。適切な中心骨格は、例えば、4-(ヒドロキシメチル)シクロ pentan-1,3-ジオール、デオキシノフコノジリマイシン、デオキシノジリマイシン、プロスタグラジン、ヒドロキシメチルビペリジノール、ジヒドロキシ(ヒドロキシメチル)アミノシクロ pentan-1,3-ジオール、アミノベンゼンジオール、ジヒドロキシ安息香酸、アミノヒドロキシ安息香酸、トリヒドロキシアニリン、ベンゼントリオール、ジメトキシベンゼンジアミン、トリヒドロキシフェノール、(ジアミノフェノキシ)ベンゼンジアミン、又はアミノプロモフェノールから選択することができる。

10

20

30

40

50

【0061】

本発明において、高分子 - 炭水化物共役体のための適切な炭水化物は、表 2 に示すような単糖、二糖又はオリゴ糖を含む。該共役体を得るために、表 2 に示す炭水化物に加え、これらに限られないが、糖アルコール、糖酸（カルボキシル基を有する糖）、アスコルビン酸、ステビオールグリコシド（レバウディオシド A）、スクラロース、ラクチトール、マルチトール、イソマルト、マルトトリオール、マルトテトライトール、モグロシド、グリチルリチン、イヌリン、グルコヘプトン酸及びオスラジンを含む類似体又は誘導体もまた適切である。

【0062】

【表 2】

10

表 2 ; 本発明で用いられる炭水化物

単糖類	三炭糖	ケトトリオース（ジヒドロキシアセトン、アルドトリオース（グリセルアルデヒド）
	四炭糖	ケトテトロース（エリトルロース）、アルドテトロース（エリトロース、トレオース）
	五炭糖	ケトペントース（リプロース、キシリロース）、アルドペントース（リボース、アラビノース、キシロース、リキソース）、デオキシカルボハイドレート（デオキシリボース）
	六炭糖	ケトヘキソース（ブシコース、フルクトース、ソルボース、タガトース）、アルドヘキソース（アロース、アルトロース、グルコース、マンノース、グロース、イドース、ガラクトース、タロース、デオキシカルボハイドレート（フコース、フクロース、ラムノース）
	その他	ヘプトース（セドヘプツロース）、オクトース、ノノース（ノイラミン酸）
複合	二糖類	スクロース、ラクトース、マルトース、トレハロース、ツラノース、セロビオース
	三糖類	ラフィノース、メレジトース、マルトトリオース
	四糖類	アカルボース、スタキオース
	他のオリゴ糖	フラクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、マンナンオリゴ糖
	多糖類	ポリグリシトール、アセチルグルコサミン、キチン

20

30

40

【0063】

本発明の高分子 - 炭水化物共役体は、幅広い用途に使用することができる。薬物及び化粧剤の製剤及び送達については既に記述した通りである。それに加えて、本発明の高分子 - 炭水化物共役体は、水溶性の脂質が有利な他の環境、例えば、工業及び食品加工に用いることができる。

【0064】

P E G鎖上の末端基は、広く種々の化学基から選択することができる。該化学基として、分子量が 650 以下のものが好ましい。該化学基は、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_2OH$ 、 $-COCH=CH_2$ 、 $-OCH_2CH_2NH_2$ 、 $-OSO_2CH_3$ 、 $-OCH_2C_6H_5$ 、 $-OCH_2COCH_2CH_2COONC_4H_4O_2$ 、 $-CH_2CH_2=CH_2$ 、 $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ 及び $-OCH_2H_5$ を含む。前記末端基は、治療剤又はターゲティング剤とマイクロ小胞凝集体の表面との連結を促進する官能基でもよい。このような連結のために、アミノ酸、アミノアルキルエステル、ビオチン、マレイミド、ジグリシジルエーテル、マレイミドプロピオネート、メチルカルバメート、トシリヒドラゾン塩、アジド、プロパルギルアミン、プロパルギルアルコール、コハク

50

酸イミド(N H S)エステル(例えば、プロパルギル N H S エステル、N H S - ビオチン、スルホ - N H S - L C - ビオチン、又は N H S カーボネート)、ヒドラジド、スクシンイミドエステル、スクシンイミジル酒石酸、スクシンイミジルスクシネット、及びトルエンスルホン酸塩が有用である。連結された治療剤又はターゲティング剤は、F a b 断片、細胞表面結合剤等を含んでもよい。更に、前記末端基は、葉酸、トランスフェリン、及びモノクローナル抗体等の分子のような機能性細胞標的リガンドを含んでもよく、特異的な結合部位を提供するために、細胞受容体又は特異的ペプチド配列のためのリガンドを、リポソーム表面に付着させることができる。前記末端基は、デカノールアミン、オクタデシルアミン、オクタノールアミン、ブタノールアミン、ドデカノールアミン、ヘキサノールアミン、テトラデカノールアミン、ヘキサデカノールアミン、オレイルアミン、デカノルトリメチルアンモニウム、オクタデシルトリメチルアンモニウム、オクタノルトリメチルアンモニウム、ブタノルトリメチルアンモニウム、ドデカノルトリメチルアンモニウム、ヘキサノルトリメチルアンモニウム、ドデカノルトリメチルアンモニウム、ヘキサデカノルトリメチルアンモニウム、テトラデカノルトリメチルアンモニウム、ヘキサデカノルトリメチルアンモニウム、及びオレイルトリメチルアンモニウム等の、中性の又は正若しくは負に荷電した頭部基でもよい。他に有用な R 基には、アルコキシ残基等のアルキル基、アミノ酸、並びに单糖、アスコルビン酸、グルコン酸、グルカル酸、グルクロン酸、ガラクトロン酸、二糖、三糖、並びに 1、2、3 及び 4 並びにそれ以上の单糖単位をそれぞれ含むオリゴ糖を含む糖類が含まれる。更に、抗体フラグメント及びビタミン等の標的残基もまた、R 基として用いられる。通常、R 基は水に対する溶解度が高い。
10
標的部位におけるタンパク質との結合及び相互作用を増加させるために、R 基の分子量は好ましくは約 650 以下であり、多数の応用のために、R 基は容易に極性を与えるものが好ましい。しかしながら、良好なイオンバランスの R 基は、口腔及び咽頭を標的とする局所ゲル又は経口溶液等の特定の適用の方法のために用いるのに有利である。
20

【 0065 】

本発明の別の態様には、以下の一般構造有する 3 つの担体と P E G - 炭水化物との共役体が含まれる。

【 0066 】

【 化 3 】

一般構造 2

30

式	構造
一般構造 2	
一般構造 3	
一般構造 4	
一般構造 5	
一般構造 6	
一般構造 7	

40

50

【0067】

式中、「back bone」は、これらに限定されないが、ジエチレントリアミン、ビス(3-アミノプロピル)アミン、ビス(3-アミノプロピル)-1,3-プロパンジアミン、N,N'-ビス(3-アミノプロピル)-1,3-プロパンジアミン、トリエチレンテトラアミン、1,2-ビス(3-アミノプロピルアミノ)エタン、スペルミン、トリス(2-アミノエチル)アミン、スペルミジン、ノルスペルミジン、ビス(ヘキサメチレン)トリアミン、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ジアミノベンジジン、トリアザシクロノナン、テトラアザシクロドデカン、スレイトール、メソ-エリスリトール、ジチオスレイトール、トリメチルシクロヘキサン-1,3,5-トリカルボン酸、1,3,5-シクロヘキサントリカルボン酸、トリメチルビス(ヘキサ-メチレン)トリアミン、アルギニン、3又は4つの利用可能な結合位置又は部位を有するオキシリルジアミノプロパン酸、トリオール、三酸、グルコヘプトン酸、及び酒石酸の群から選択される、グリセロール若しくはグリセロール様類似体、線状アミン(ジ、トリ、テトラアミン)、又は3つの利用可能な結合部位を有するアミノ酸である；式中、「H」(H₁及びH₂は同じ又は異なる親油性基でもよい。)は、これらに限定されないが、コレステロール、スティグマステロール、エルゴステロール、ホパノイド、フィトステロール、シトステロール、カンペステロール、プラシカステロール、アベナステロール、アドステロール、及びスタノール(飽和ステロイドアルコール又は水素化ステロール)、レチノイド、レチナール、レチノイン酸、トレチノイン、カロテノイド、-カロテン、トコフェロール、トコトリエノール、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、アスタキサンチン、アウロキサンチン(auroxanthin)、カブサンチン、カブソルビン、クリサンテマキサンチン(chrysanthemaxanthin)、クリプトキサンチン、フコキサンチン、ルテイン、ネオキサンチン、ルビキサンチン、ビオラキサンチン、ゼアキサンチン(zeaxanthin)を含む親油性成分若しくはそのジエステルの群から選択される、ステロール、脂溶性ビタミン、又は類似体である；「Sugar」は単糖、アスコルビン酸、グルコン酸、グルカル酸、グルクロン酸、ガラクトロン酸、二糖、及びオリゴ糖を含む炭水化物である；式中、3つの置換可能な基が、エーテル化、エステル化若しくはアミド化、又は類似の置換反応を通じて共有的に「Back bone」と結合している。上記の一般構造は、それらが機能的に同等とすることができますように、構造体の全てのラセマー(racemer)及び構造異性体を含むことを意味する。式中、PEG鎖(PEG₁、PEG₂及びPEG₃は同じ又は異なる高分子でもよい。)は、約5～45のサブユニットからなるものとすることができます。更に、約4～25のサブユニットからなるPEG鎖が好ましい。式中、「R」(又はR_i)はPEG鎖上の末端基であり、種々の化学基から選択することができる。「R」は分子量が約650以下のものが好ましい。PEG-炭水化物-ステロール共役体は、例えば、水溶液中の水溶性の向上の観点から、リポソームよりも応用の上で有益である。一般構造中で担体基は存在していないが、カップリング反応に先立って、担体基又は中心骨格の改変が必要であってもよく、これらの化学的改変は必要に応じて、担体基と中心骨格との間のアルキル化、エーテル化、エステル化、又はアミド化の化学プロセスとすることができます。理想的には、選択された担体又は中心骨格は、改変なしで直接カップリング反応に用いてもよい。式中、「X」(X₁、X₂、及びX₃は、同一の又は異なる連結体でもよい。)は、表2若しくは表3、又はオキシ、アミノ酸、アミノ、スクシニルアミノ、アセトアミド、アミノペンタンアミド、アミノアセチル、チオプロパノイル、N-(メルカプトメチル)プロピオンアミド、メルカプトプロピルチオプロパノイル、(1,2-ジヒドロキシ-3-メルカプト-プロピルチオ)プロパノイル、スクシニル、アセチル、オキソペントノイル、カルバモイル、アミノアルキル、グルタルアミド、アミノエタンチオール、メルカプトプロパノール、(ヒドロキシプロピルチオ)プロパノイル、3-((2-プロピオンアミドエチル)ジスルファニル)プロパノイル、(((アセトアミドエチル)ジスルファニル)プロパノイルオキシ)グルタルアミド、アミノエタンチオエート、及び2-ヒドロキシ酢酸プロパン酸無水物からなる群が選択される1以上の連結体である。

10

20

30

40

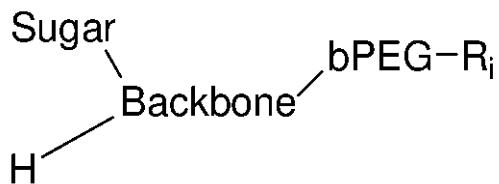
50

【0068】

別の態様において本発明は、以下の一般構造8で表される化合物からなる分子を含む。

【0069】

【化4】



10

一般構造8

【0070】

式中、「Backbone」(骨格)は、グリセロール若しくはグリセロール様類似体、線状アミン(ジ、トリ、若しくはテトラアミン)、又は3つの利用可能な結合部位を有するアミノ酸から選択され、これらに限定されないが、グリセロール又はグリセロール様類似体、ポリアミン、トリアミン、テトラアミン、アミノジオール、アミノトリオール、アミノアルコール、及び3つの利用可能な結合位置又は部位を有するアミノ酸、トリオール、テオラオール、エリスリトール、三酸、四酸、四酢酸、グルコヘプトン酸、及び酒石酸を含む分子群から選択され、また、これらに限定されないが、プロパンジアミン、ブタンジアミン、ペントジアミン、ヘキサジアミン、ジエチレントリアミン、エチレンジアミン、1,2-ジアミノエタン、1,3-ジアミノプロパン(プロパン-1,3-ジアミン)、4-アミノ-3-ヒドロキシ酪酸、N-(2-ヒドロキシエチル)エチレンジアミン、4-アミノ-2-ヒドロキシ酪酸、2-ヒドロキシ-4-アミノ酪酸、1--ホモセリン、1-トレオニン、N--アミノエチルグリシン、プロレス(ブタン-1,4-ジアミン)、カダベリン(ペントан-1,5-ジアミン)、ヘキサメチレンジアミン(ヘキサン-1,6-ジアミン)、エチレンジアミン、1,3-ジアミノプロパン、1,2-ジアミノプロパン、1,4-ジアミノブタン、ジフェニルエチレンジアミン、ジアミノシクロヘキサン、ジエチレントリアミン、ビス(3-アミノプロピル)アミン、トリエチレンテトラアミン、トリス(2-アミノエチル)アミン、スペルミン、スペルミジン、ノルスペルミジン、ビス(3-アミノプロピル)-1,3-プロパンジアミン、1,2-ビス(3-アミノプロピルアミノ)エタン、N,N'-ビス(3-アミノプロピル)-1,3-プロパンジアミン、3-アミノ-1,2-プロパンジオール、アミノアルコール、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ジアミノベンジジン、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド、メソ-エリスリトール、トリアザシクロノナン、テトラアザシクロドデカン、スレイトイール、ジチオスレイトイール、トリメチルシクロヘキサン-1,3,5-トリカルボン酸、トリメチルビス(ヘキサメチレン)トリアミン、ビス(ヘキサメチレン)トリアミン、アルギニン、オキシリルジアミノプロパン酸、3-ブロモ-1,2-プロパンジオール、3-クロロ-1,2-プロパンジオール、3-フルオロ-1,2-ブロパンジオール、DL-グリセリン酸、ジアミノプロパン酸、グルコヘプトン酸、及び1,2,4-ブタントリオール、2,2-ビス(ヒドロキシメチル)酪酸、1,3-ジアミノ-2-プロパノール及び2-(3-アミノプロピルアミノ)エタノール、及び3-(3-アミノプロピル)アミノ)プロパノール；アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン、リジン、オルニチン、セリン及びトレオニン、ベンジルトリオール又はアミノヒドロキシ安息香酸又はベンゼントリオール、ジヒドロキシ安息香酸、ジアミノ安息香酸、ジアミノフェノール、ジアミノ安息香酸、アミノヒドロキシ安息香酸、アミノサリチル酸、ヒドロキシアントラニル酸、ヒドロキシイソフタル酸、アミノイソフタル酸、4-(ヒドロキシメチル)シクロペンタン-1,3-ジオール、デ

20

30

40

50

オキシフコノジリマイシン、デオキシノジリマイシン、プロスタグラニン、ヒドロキシメチルピペリジノール、ジヒドロキシ(ヒドロキシメチル)アミノシクロペンタン、ジアミノフェノール、ベンゼンテトラカルボン酸、ベンゼントリカルボン酸、アミノベンゼンジオール、ジヒドロキシ安息香酸、アミノヒドロキシ安息香酸、トリヒドロキシアニリン、ベンゼントリオール、ジメトキシベンゼンジアミン、トリヒドロキシフェノール、(ジアミノフェノキシ)ベンゼンジアミン、並びにアミノプロモフェノールを含む群から選択される。式中、「H」は、親油性化合物又はそのジエステルからなる群から選択され、該親油性化合物又はそのジエステルには、これらに限られないが、コレステロール、ステイグマステロール、エルゴステロール、ホパノイド、フィトステロール、シトステロール、カンペステロール、プラシカステロール、アベナステロール、アドステロール、及びスタノール(飽和ステロイドアルコール又は水素化ステロール)、レチノイド、レチノイン酸、トレチノイン、カロテノイド、-カロチン、-トコフェロール、トコトリエノール、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、アスタキサンチン、アウロキサンチン、カブサンチン、カブソルビン、クリサンテマキサンチン、クリプトキサンチン、フコキサンチン、ルtein、ネオキサンチン、ルビキサンチン、ビオラキサンチン、ゼアキサンチンが含まれる。「Sugar」は炭水化物であり、单糖、二糖、オリゴ糖、アミノ糖や糖酸が含まれ、該糖酸には、これらに限定されないが、アスコルビン酸、グルコン酸、グルカル酸、グルクロン酸、ガラクトロン酸が含まれる。式中、3つの置換可能な基が、エーテル化、エステル化若しくはアミド化、又は類似の置換反応を通じて共有的に「Bacckbone」と結合している。上記の一般構造は、それらが機能的に同等とすることができるよう、構造体の全てのラセマー(racemer)及び構造異性体を含むことを意味する。式中、「bPEG」は2以上のPEG鎖を有する分岐PEGであり、各PEG鎖は、約5~45のサブユニットからなるものとができる。例えば、分岐PEGは、2つのメトキシPEGが中心核と結合した、「Y字型PEG」と呼ばれるものを含む。2分岐PEGはより一般的であるが、3分岐及び4分岐PEGもまた、商業的に入手可能である。式中、「R_i」は、各PEG鎖の末端基であり、同一でも異なるものでもよく、広く種々の化学残基から選択することができる。「R_i」は約650以下の分子量を有するものが好ましい。このPEG-炭水化物は、例えば、水溶液中における貧水溶性薬剤の溶解性促進の観点から、リポソームよりも応用面で有益である。

【0071】

30

別の態様において本発明は、以下の一般構造で表される、4つの担体基を有するPEG-炭水化物共役体を含む。

【0072】

【化5】

一般構造 9～14

式	構造
一般構造 9	
一般構造 10	
一般構造 11	
一般構造 12	
一般構造 13	
一般構造 14	

10

20

【0073】

式中、「H」(H₁及びH₂)は同じ又は異なる親油性担体とすることができる。)は、ステロール若しくは「脂溶性」、又は親油性化合物若しくはそのエステルからなる群から選択されるそれらの類似体であり、前記親油性化合物若しくはそのエステルは、コレステロール、スティグマステロール、エルゴステロール、ホパノイド、フィトステロール、シトステロール、カンペステロール、プラシカステロール、アベナステロール、アドステロール、及びスタノール(飽和ステロイドアルコール又は水素化ステロール)、レチノイド、レチナール、レチノイン酸、トレチノイン、カロチノイド、-カロチン、トコフェロール、トコトリエノール、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、アスタキサンチン、アウロキサンチン、カプサンチン、カプソルビン、クリサンテマキサンチン、クリプトキサンチン、フコキサンチン、ルtein、ルビキサンチン、ビオラキサンチン、ゼアキサンチンを含むが、これらに限定されない；H₁及びH₂がステロール又は脂溶性ビタミン以外である場合、2つのうちの1つ(4番目の担体)は、脂肪酸、飽和若しくは不飽和lipid or、多価不飽和脂肪酸、又はファルネソール、ソラネソール及びドデカブレノール等の天然多価不飽和アルコールを含む多価不飽和脂肪アルコールから選択することができるが、しかしながら、脂肪酸は第1の親油性担体としてのステロールの存在下、第2の親油性担体としてのみ選択され、その潜在的な溶血特性のために、第1の親油性担体として利用されることが避けてもよい；式中、「Backbone」はジアミン、トリアミン、テトラアミン、ポリアミン又は4つの利用可能な結合部位を有する化合物から選択される；式中、第4の担体はジエステルから選択され、該ジエステルは、ステロール-アシルグリセロール又はジステロールグリセロールを含むが、これらに限定されない；「Sugar」は炭水化物であり、単糖類、アスコルビン酸、グルコン酸、グルカル酸、グルクロン酸、ガラクトロン酸、二糖類、オリゴ糖類、アミノ糖、及び糖酸が含まれる；式中、3つの置換可能な基が、エーテル化、エステル化若しくはアミド化、又は類似の置換反応を通じて共有的に「Backbone」と結合している。上記の一般構造は、それらが機能的に同等とできるように、構造体の全てのラセマー(racemate)及び構造異性体を含むことを意味する。式中、PEG鎖(PEG₁、PEG₂及びPEG₃)鎖の長さは同じでも異なってもよい。)は、5～45のサブユニットからなるものと/orすることができる。式中、「R」(R₁及びR₂)は同じでも異なってもよい。)はPEG鎖上の末端基であり、種々の化学基から選択することができる。「R」は分子量が約65

30

40

50

0以下のものが好ましい。PEG-炭水化物共役体は、例えば、水溶液中の水溶性の向上の観点から、リポソームよりも応用の上で有益である。

【0074】

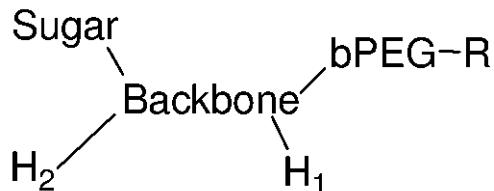
3つの担体を有する共役体と同様に、新規な共役体の合成は、各PEG-炭水化物共役体中で、ただ一つの連結体となるように制御されてよい。しかしながら、場合によっては、以下の一般式の单一分子中で、同じ連結体の多コピー又は異なる連結基の組み合わせが有用であり、式中、 X_1 及び X_2 は、1以上の連結基又はオキシ、アミノ、スクシニルアミノ、アセトアミド、アミノペントタンアミド、アミノアセチル、チオプロパンオイル、アクリロイル、N-(メルカプトメチル)プロピオンアミド、メルカプトプロピルチオプロパノイル、(1,2-ジヒドロキシ-3-メルカプト-プロピルチオ)プロパノイル、スクシニル、アセチル、オキソペントノイル、カルバモイル、アミノアルキル、グルタルアミド、アミノエタンチオール、メルカプトプロパノール、(ヒドロキシプロピルチオ)プロパノイル、3-((2-プロピオンアミドエチル)ジスルファニル)プロパノイル、((アセトアミドエチル)ジスルファニル)プロパノイルオキシ)グルタルアミド、アミノエタンチオエート、及び2-ヒドロキシ酢酸プロパン酸無水物の群である、同じ又は異なる連結基である。「R」(R_1 及び R_2 は同じでも異なってもよい。)は、分子量が約650以下のものが好ましい。 H_1 及び H_2 は同じでもよく、異なってもよい。第2の「H」は、飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸及び多価不飽和脂肪酸、並びにファルネソール、ソラネソール及びドデカブレノール等の天然多価不飽和アルコールを含む多価不飽和脂肪アルコールからなる群から選択することができる。しかしながら、最初の又は主要な親油性担体として脂肪酸は選択できないかもしれない。「Sugar」は、好ましくは、表2より、アルドース、ケトース、ピラノース、フラノース、トリオース、テトロース、ペントース、ヘキソース、スクロース、ラクトース、マルトース、トレハロース、ツラノース、セロビオース、ラフィノース、メレチトース、マルトリオース、アカルボース、スタキオース、及び糖酸からなる群から選択することができる。PEG鎖は6~45のサブユニットからなるものとすることができる。より好ましくは、PEG鎖は8~25のサブユニットからなるものとすることができる。更に好ましくは、PEG鎖は12~25のサブユニットからなるものとすることができる。

【0075】

別の態様において本発明は、以下の一般構造15で表される化合物を含む分子を含む。

【0076】

【化6】



一般構造15

【0077】

式中、「 H_1 」及び「 H_2 」は、同一の又は異なる、親油性化合物の群から選択され、該親油性化合物は、これらに限定されないが、コレステロール、スティグマステロール、エルゴステロール、ホパノイド、フィトステロール、シトステロール、カンペステロール、プラシカステロール、アベナステロール、アドステロール、及びスタノール(飽和ステロイドアルコール又は水素化ステロール)、レチナール、レチノイド、レチノイン酸、トレチノイン、カロテノイド、-カロテン、トコフェロール、トコトリエノール、コレカ

10

20

30

40

50

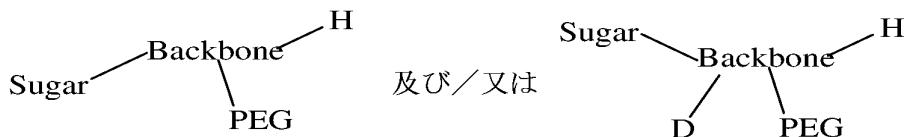
ルシフェロール、エルゴカルシフェロール、アスタキサンチン、アウロキサンチン (auroxanthin)、カブサンチン、カブソルビン、クリサンテマキサンチン (chrysanthemaxanthin)、クリプトキサンチン、フコキサンチン、ルtein、ネオキサンチン、ルビキサンチン、ビオラキサンチン、ゼアキサンチン (zeaxanthin) を含む。「H₁」及び「H₂」が異なる場合、第4の担体基は脂肪酸、多価不飽和若しくは環状化合物又はそれらのジエステルから選ばれる炭化水素でもよく、脂肪酸、多不飽和若しくは環状化合物又はそれらのジエステルは、これらに限られないが、飽和脂肪酸及び不飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸、又はファルネソール、ソラネソール及びドデカブレノール (dodecaprenol) 等の天然の多価不飽和アルコール類を含む多価不飽和脂肪族アルコールを含む。また、式中、「Backbone」は、ポリアミン又は4個の利用可能な結合部位を有する化合物から選択される。「sugar」は単糖、二糖、オリゴ糖、アミノ糖、又は糖酸を含み、糖酸は、これらに限られないが、アスコルビン酸、グルコン酸、グルクロン酸、及びガラクトロン酸を含む。式中、4個の置換基は、エーテル化、エステル化若しくはアミド化又は類似の置換反応を通じて、前記「Backbone」と共有的に結合されている。上記一般構造は、機能的に等価である全ての光学異性体又は構造異性体を含む。式中、「PEG」は、2以上のPEG鎖を有する分岐PEGであり、各PEG鎖は約5~45のサブユニットからなるものでもよい。式中、「R」は末端基であり、種々の化学基から選択することができる。「R」は分子量が約650以下のものが好ましい。PEG-炭水化物共役体は、例えば、水溶液中の水溶性の向上の観点から、リポソームよりも応用の上で有益である。10 20

【0078】

本発明の一態様では、担体及び中心骨格との間のアルキル化、エーテル化、エステル化又はアミド化カップリング反応は、一般構造16でまとめたように、共役体中の特定の中心骨格及び担体基に依存する連結基上を用いてまたはなしで達成することができる

【0079】

【化7】



一般構造 16

【0080】

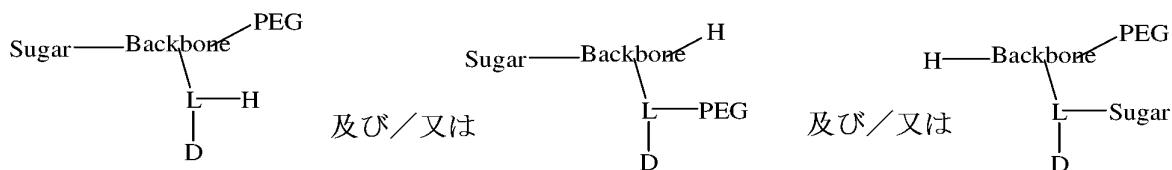
式中、「H」はステロイド酸又は脂肪酸がない親油性担体である。「H」はコレステロール、1つのヒドロキシル基を含むステロール、トコフェロール、コレカルシフェロール又はレチノールを含む群から選択することができる。「Sugar」は糖類（サッカライド）を含む炭水化物である；「PEG」はポリエチレングリコールの重合体であり、「D」は第2級ステロール、脂溶性ビタミン炭水化物、PEG、炭水化物、又は脂肪酸である。「Backbone」は、グリセロール、3つの利用可能な結合位置を有するグリセロール連結体、ジアミン、トリアミン、テトラアミン、ジアミノアルコール、アミノアルコール、アミノジオール、アミノトリオール、3つの利用可能な結合位置を有するアミノ酸、及び少なくとも3つの利用可能な結合部位又は結合位置を有するポリアミンを含み、薬物残基がない分子である。40

【0081】

本発明の更なる面では、炭水化物-高分子の第3及び第4の担体は、一般構造17に示すように、連結された共役を通じて形成されてもよい。

【0082】

【化8】



一般構造 17

【0083】

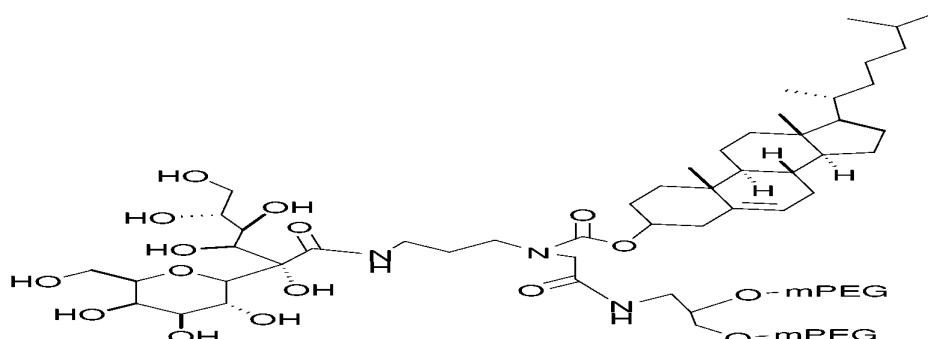
10

式中、Dは第2級ステロール、脂肪親和性ビタミン炭水化物、PEG、炭水化物、又は脂肪酸であり；Lは、これらに限られないが、グリセロール若しくは3つの利用可能な結合部位を有するグリセロール類似体、ジアミン、トリアミン、テトラアミン、又は3つの利用可能な結合部位を有するジアミノアルコール、アミノアルコール、アミノジオール、アミノトリオール若しくはアミノ酸からなる群から選択される連結基である。化学構造1に示すN-ビス-モノメトキシ-PEG-エーテル-セリノール-N-コレステロール-N'-ラクトビオニル-プロパンジアミンでは、連結体が3-アミノ-1,2-プロパンジオール(セリノール)であり、「D」が第2級mPEGである。

【0084】

【化9】

20



30

化学構造 1

【0085】

本発明の別の面は、物質の送達方法を含み、該方法は、化合物の配合に基づくPEG-炭水化物共役体の調製を含み、ここで、該配合は、アミノ、スクシニルアミノ、アセトアミド、アミノペンタンアミド、アミノアセチル、アクリロイル、チオプロパノイル、N-(メルカプトメチル)プロピオンアミド、メルカプトプロピルチオプロパノイル、(1,2-ジヒドロキシ-3-メルカプトプロピルチオ)-プロパノイル、スクシニル、アセチル、オキソペントノイル、カルバモイル、アミノアルキル、グルタルアミド、アミノエタンチオール、メルカプトプロパノール、(ヒドロキシプロピルチオ)プロパノイル、3-((2-プロピオンアミドエチル)ジスルファニル)プロパノイル、(((アセトアミドエチル)ジスルファニル)プロパノイルオキシ)グルタルアミド、アミノエタンチオエート、及び2-ヒドロキシ酢酸プロパン酸無水物からなる群から選択されるアミノ酸連結体及び可能な二次連結体を含み；及び放出剤を提供し、ここで該放出剤は、連結体の分解を引き起こす。前記放出剤は酸、光、低酸素又は触媒でもよい。

40

【0086】

1つの面として、本発明は、アミノ酸連結(アルキル化又はアミド化処理)を介した中心骨格と3つの担体基のいずれかとの連結方法である。担体基中のヒドロキシ基は、ジス

50

クシイミジルカーボネート (DSC)、メシレート、トシレート又は強塩基との反応 (エステル化又はエーテル化) により活性化されてもよい。

【0087】

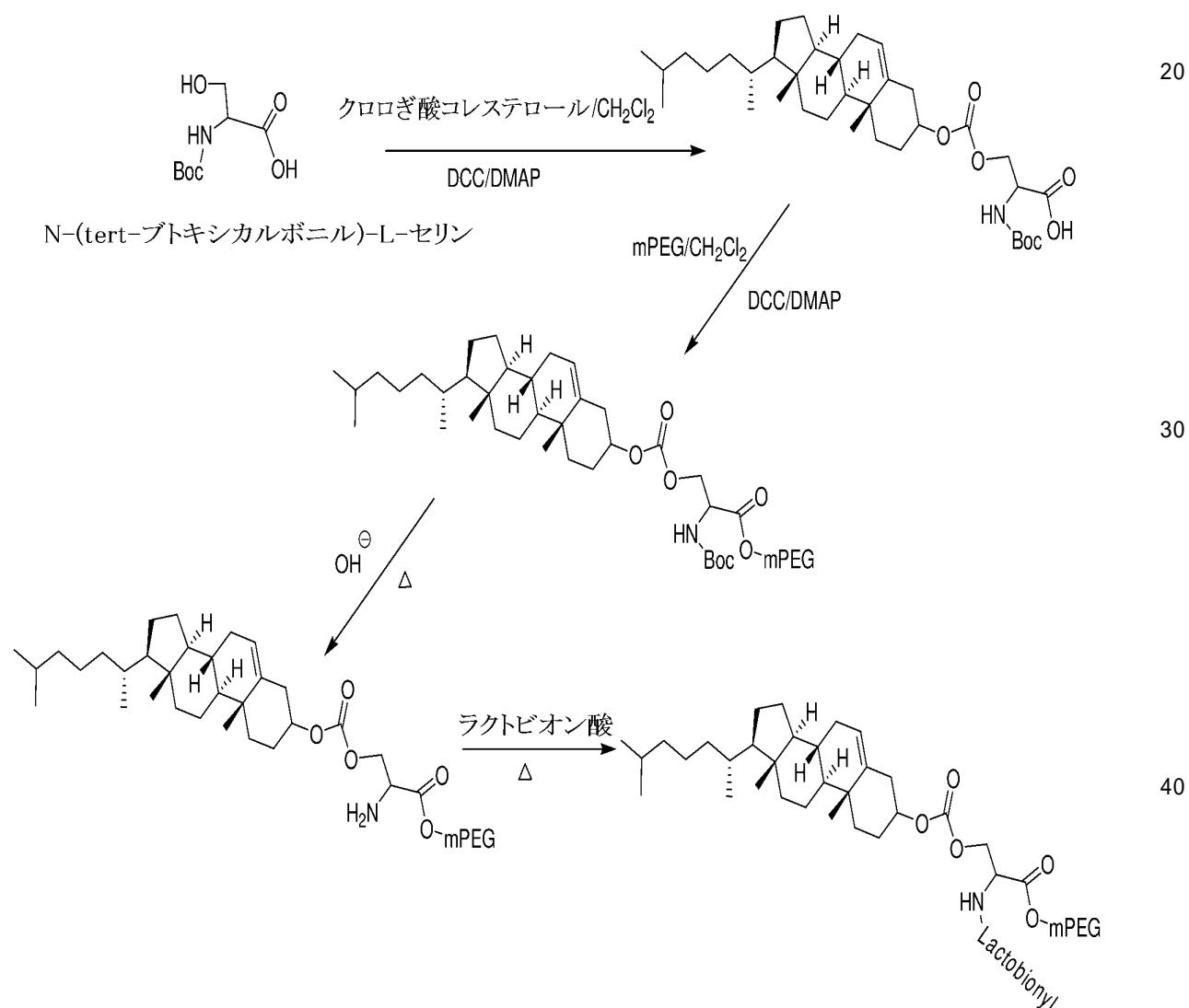
アミノ酸からのPEG-炭水化物共役体の合成例を以下の反応スキーム1に示す。この反応スキームは、中心骨格がセリンである反応スキーム2に示すような3つの利用可能な結合位置を有する多数の炭水化物群及びアミノ酸を有する担体基に適用できる。

【0088】

クロロギ酸コレステロールは、水酸基を有するアミノ酸 (AA) と直接反応させてエステル結合を有する共役体を生成するために、商業的に利用可能である。ステロール-AA中のアミノ酸のカルボキシル基は、mPEGの末端水酸基と反応することができ、次いで、第1級アミン上の保護基を除去し、活性化された炭水化物と反応させることにより、PEG-炭水化物-ステロール共役体を形成し、ここで、該ステロールはコレステロールでもよい。この反応スキームは、多数の親油性化合物又はPEG鎖を伴う担体基に適切である。本願に示す一般構造は、それらが機能的に同等とすることができますように、構造体の全てのラセマー (racemate) 及び構造異性体を含むことを意味する。

【0089】

【化10】

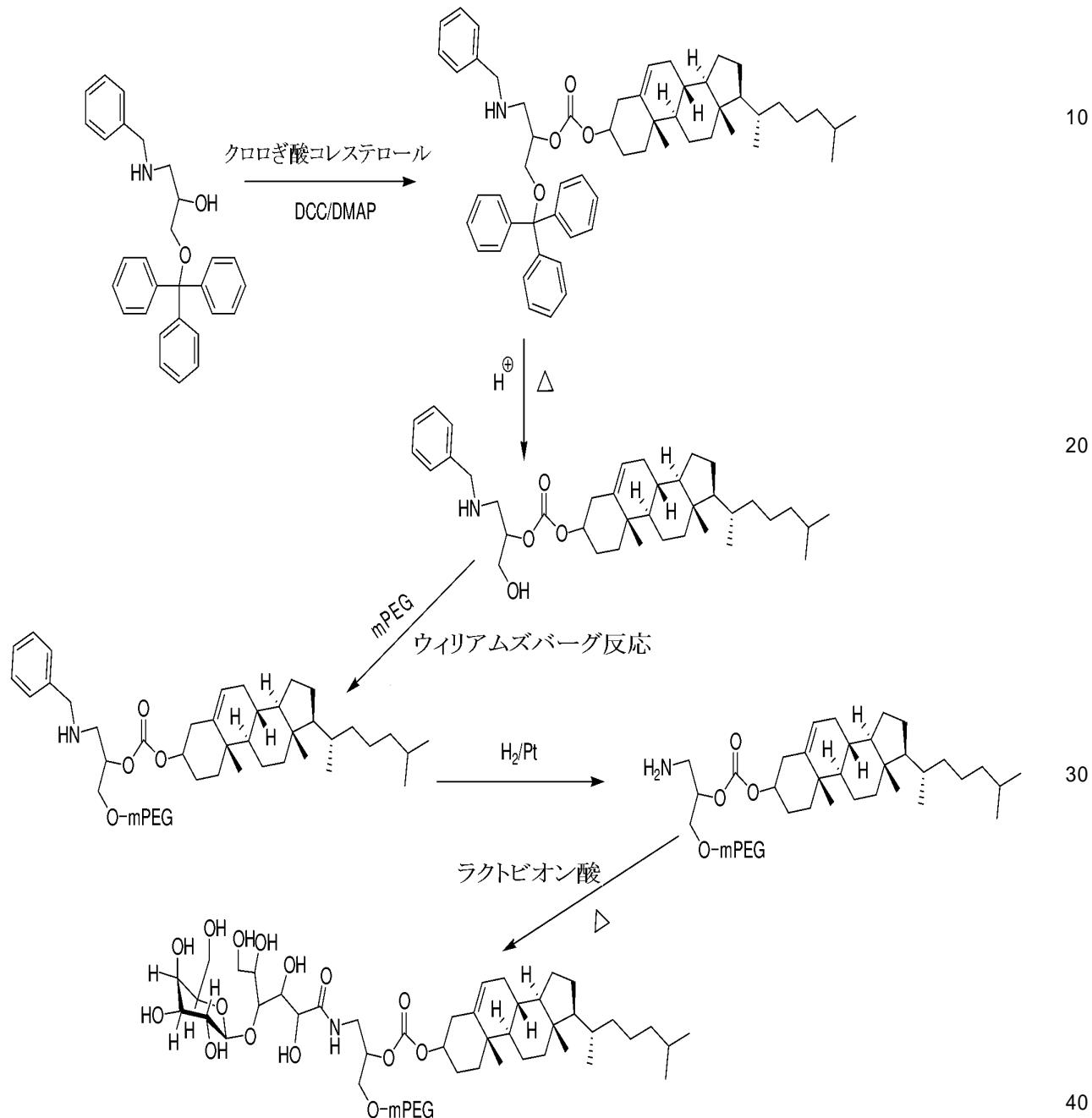


【0090】

グリセロール又はグリセロール類似体の中心骨格からのPEG-炭水化物-ステロール共役体の合成例を以下の反応スキーム2に示す。該反応スキームは、種々の親油性化合物又はPEG鎖と担体基に適している。

【0091】

【化11】

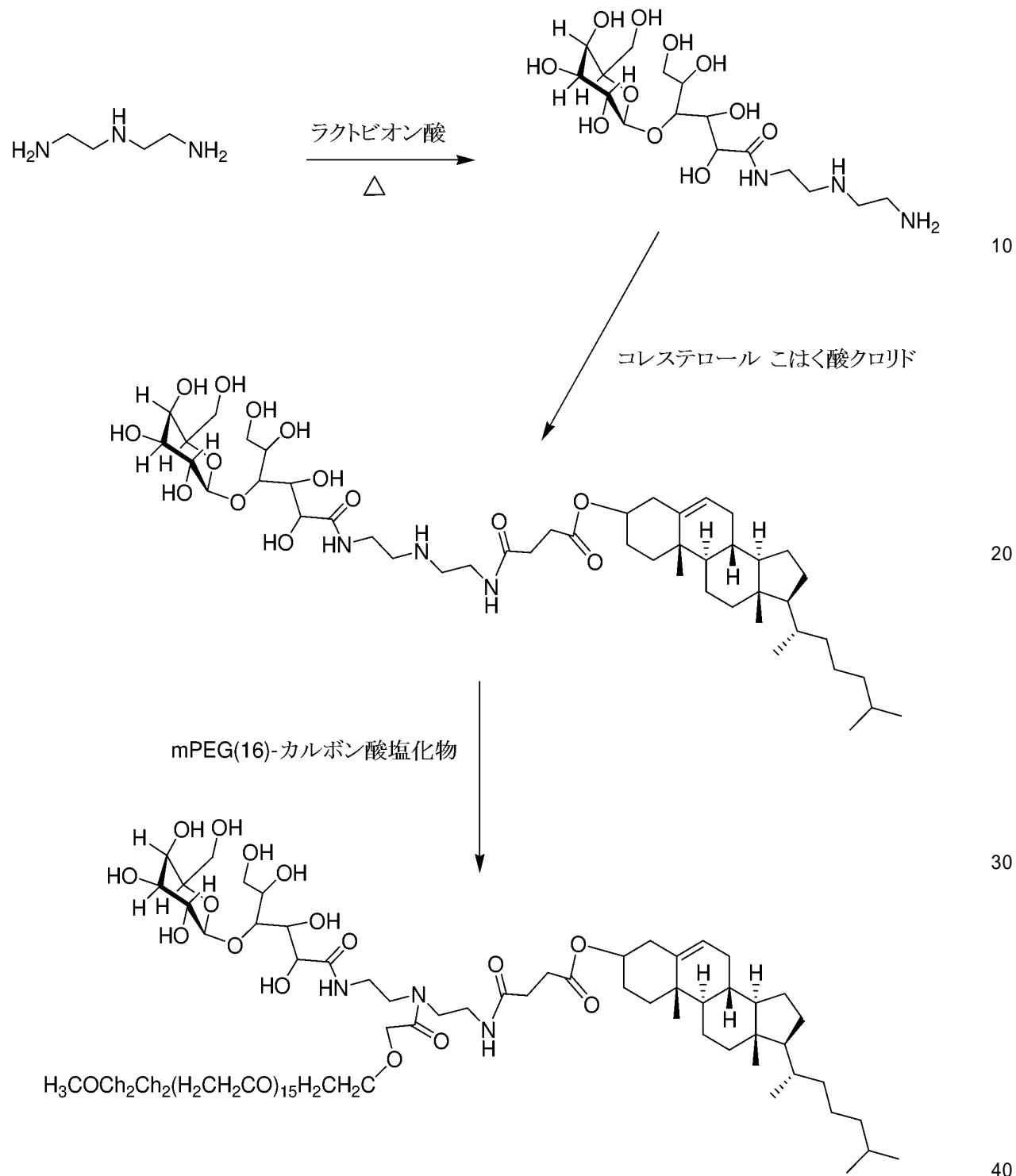


【0092】

直鎖上多価アミン中心骨格からPEG-糖-ステロール共役体の合成例を、以下の反応スキーム3に示す。

【0093】

【化12】



【0094】

類似する他の商業的に入手可能な糖誘導体は、高分子 - 糖送達媒体の合成又は自己調製に適宜使用してもよい (Jian Guo and Xin-Shan Ye, "Protecting Groups in Carbohydrate Chemistry: Influence on Stereoselectivity of Glycosylations." Molecules. 15 (2010) 7235-7265)。共役体のための糖担体として、カスタムメイドの三糖類のアリル誘導体 (市販品も利用できる。) を使用することは、糖類又は全ての種類の親油性化合物

、PEG鎖又は骨格と共に糖担体として適切である。

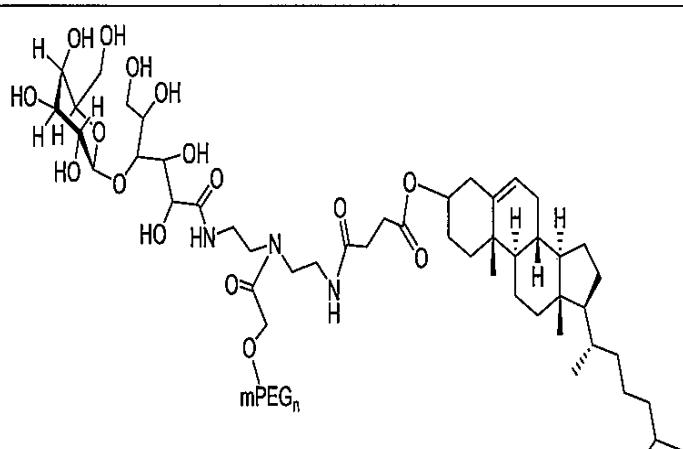
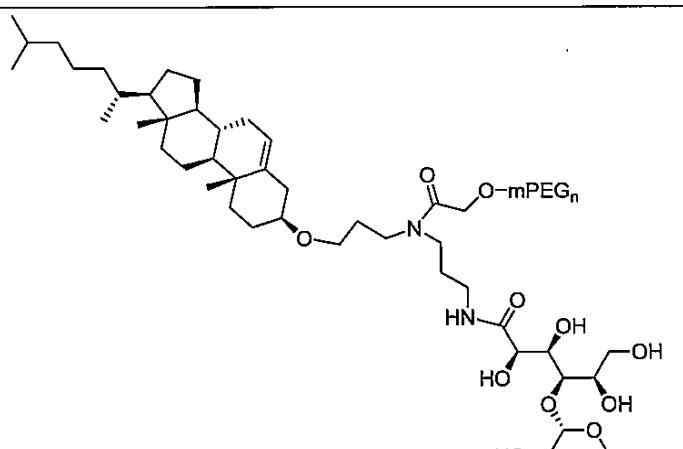
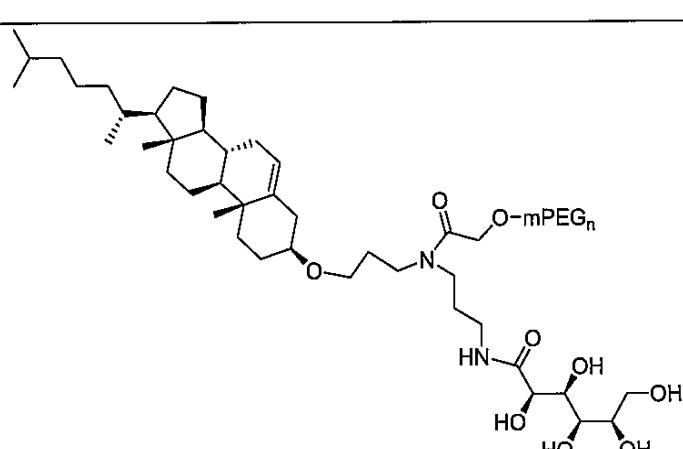
【0095】

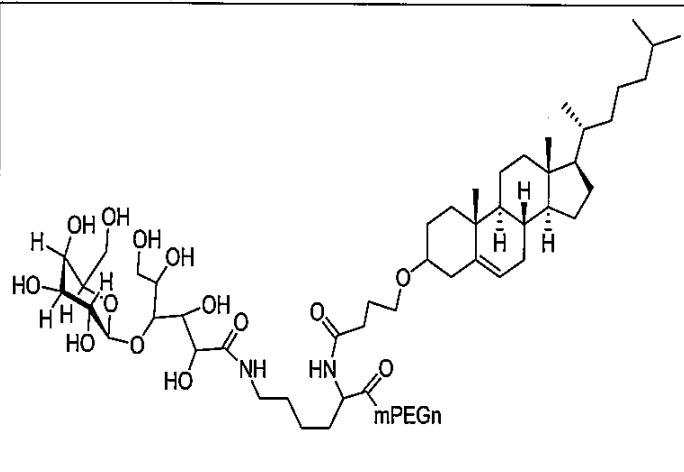
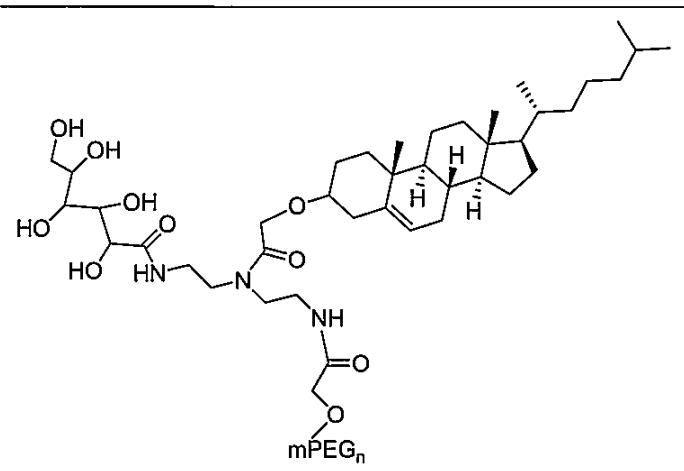
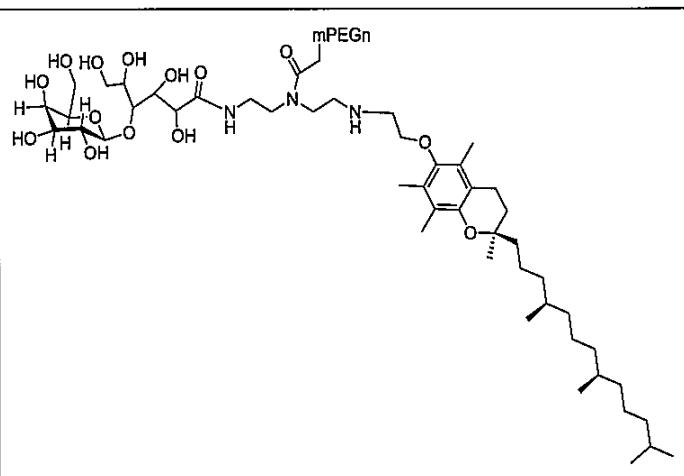
別の局面において、本発明には、共役のために利用可能な3つの部位を有する3つの担体基及び中心骨格並びに担体基の1つと中心骨格との間の1以上の連結基(単数又は複数)を含むPEG-炭水化物共役体が含まれる。このようなPEG-炭水化物共役体は、一般構造1~15により表され、式中、Xは、アミノ、スクシニルアミノ、アセトアミド、アミノペンタンアミド、アミノアセチル、アクリロイル、チオプロパノイル、N-(メルカブトメチル)プロピオンアミド、メルカブトプロピルチオ)-プロパノイル、(1,2-ジヒドロキシ-3-メルカブト-プロピル-チオ)プロパノイル、スクシニル、アセチル、オキソペントノイル、カルバモイル、アミノアルキル、グルタルアミド、アミノエタンチオール、メルカブトプロパノール、(ヒドロキシプロピルチオ)プロパノイル、3-((2-プロピオンアミドエチル)ジスルファニル)プロパノイル、(((アセトアミドエチル)ジスルファニル)プロパノイルオキシ)グルタルアミド、アミノ-エタンチオエート、及び2-ヒドロキシ酢酸プロパン酸無水物からなる群から選択される連結基を含んでいてもよい。表3は、PEG-炭水化物-ステロール共役体のあるサンプルを示し、化学名が変化する場合には、示されている構造が支配することを意味する。
10

【0096】

【表3】

表3; PEG-炭水化物-ステロール共役体のサンプル

名称	化学構造
CDL-mPEG: コレステリルジエチレン-トリ アミンモノメキシル-PEG ラクト ビオネート; $n = 6-45$ アルキル化、エステル化、エー テル化及びアミド化を介した共 役	
CPL-mPEG: コレステリルプロパンジアミン -モノメキシル-PEG ラクトビオ ネート; $n = 6-45$ アルキル化、エステル化、エー テル化及びアミド化を介した共 役	
CPG-mPEG: コレステリルプロパンジアミン -モノメキシル-PEG グルコネー ト $n = 6-45$ アルキル化、エーテル化及びア ミド化を介した共役	

<p>CLL-mPEG: α-N-ラクトビオノイル-α-N-コレステリル-モノメトキシル PEG エーテルリシネート; n = 6-45 エーテル化及びアミド化を介した共役</p>		10
<p>CDG-mPEG: コレステリルジエチレントリアミン-モノメトキシル ポリエチレンジグリコールエーテルグルクロネート; n = 6-45 アルキル化、エーテル化及びアミド化を介した共役</p>		20
<p>TDL-mPEG: α-トコフェリルジエチレントリアミン-モノメトキシル ポリエチレンジグリコールエーテルラクトビオネート; n = 6-45 アルキル化、エーテル化及びアミド化を介した共役</p>		30

<p>CDL-TrpPEG: コレステリルジエチレントリア ミン・トリプトファニル ポリ エチレンギリコールエーテルラ クトビオネート； $n = 6\text{--}45$ アルキル化、エステル化、エー テル化及びアミド化を介した共 役</p>		10
<p>CPDL-mPEG: コレステロール-mPEG-プロパ ンジアミノ-ラクトビオネート， $n = 6\text{--}45$ アルキル化、エステル化及びア ミド化を介した共役</p>		20
<p>CPDA-mPEG: コレステロール-mPEG-プロパ ンジアミノ-アスコルベート， $n = 6\text{--}45$ アルキル化、エステル化、エー テル化及びアミド化を介した共 役</p>		30
<p>CASPL-mPEG: N-コレステロールアスパルテ ト-mPEG ラクトビオネート， $n = 6\text{--}45$ アルキル化、エステル化、エー テル化及びアミド化を介した共 役</p>		40

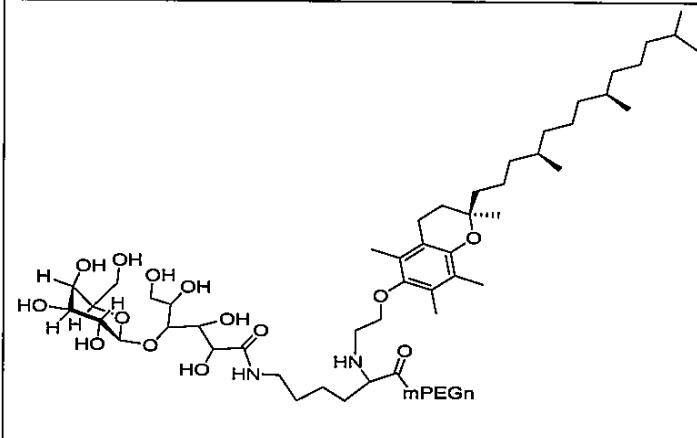
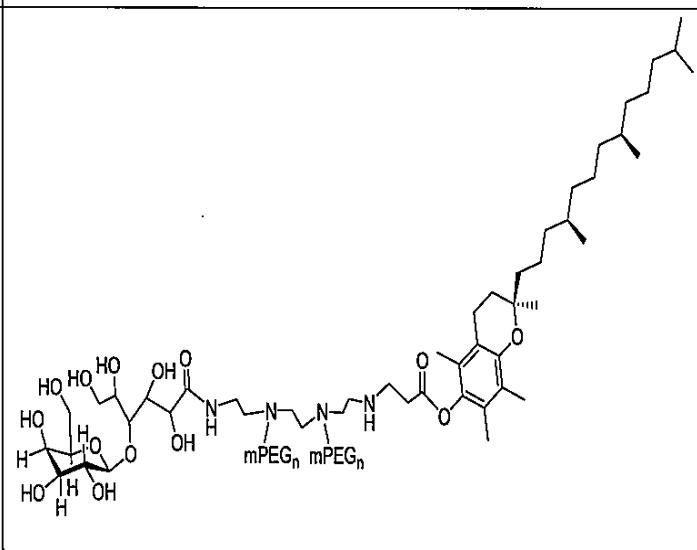
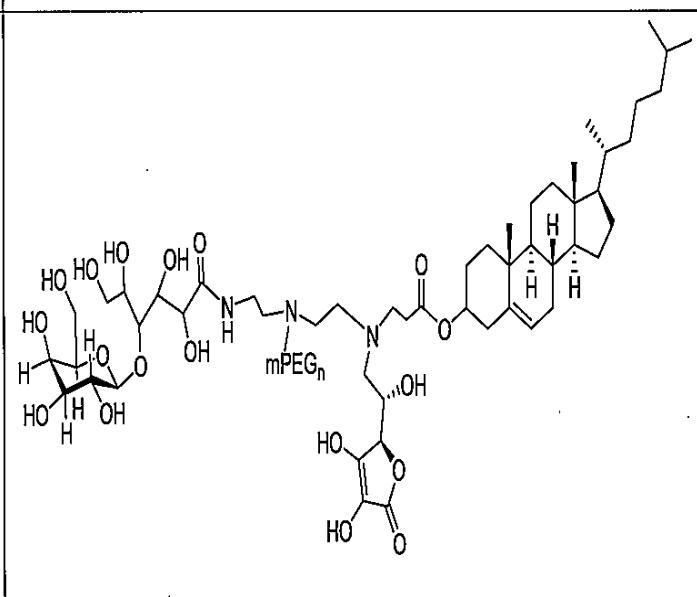
<p>CODL-mPEG: コレステリルオレオイルジエチレントリアミン-mPEG ラクトビオネート, $n = 6\text{-}45$ アルキル化、エステル化、エーテル化及びアミド化を介した共役</p>	
<p>CODL-mPEG: コレステリルレチノイルジエチレントリアミン-mPEG ラクトビオネート, $n = 6\text{-}45$ アルキル化、エステル化、エーテル化及びアミド化を介した共役</p>	
<p>CTL-bisPEG: コレステロールトリエチレンテトラアミン-ビスマモノメトキシル PEG エーテルラクトビオネート, $n = 6\text{-}45$ アルキル化、エステル化、エーテル化及びアミド化を介した共役</p>	

10

20

30

40

<p>LTL-mPEG: α-N-ラクトビオノイル-α-N-a トコフェロール-モノメトキシルPEG エーテルリシネート; $n = 6-45$, アルキル化、エステル化、エーテル化及びアミド化を介した共役</p>		10
<p>TTL-bisPEG: α-トコフェロールトリエチレンテトラアミン-ビスモノメトキシル-PEG エーテルラクトビオネート, $n = 6-45$ アルキル化、エステル化、エーテル化及びアミド化を介した共役</p>		20
<p>CADTL-mPEG: コレステロールアスコルビルジエチレントリアミン-モノメトキシルPEG エーテルラクトビオネート, $n = 6-45$. アルキル化、エステル化、エーテル化及びアミド化を介した共役</p>		30 40

<p>BLDPCP-mPEG:</p> <p><i>N,N-1,3-ビスラクトビオノイルジアミノ-2-プロパノール-コレステロール-モノメトキシ-PEG-エーテル-プロパンジアミン.</i></p> <p><i>n = 6-45.</i></p> <p>アルキル化、エステル化、エーテル化及びアミド化を介した共役</p>		10
<p>コレカルシフェロール-ジエチレン-トリアミンイソマルトオリース-mPEG:</p> <p><i>n= 6-45.</i></p> <p>アルキル化、エステル化、エーテル化及びアミド化を介した共役</p>		20

【0097】

表2において、担体と中心骨格との間のカップリング反応の種類は、共役に先立つ担体又は中心骨格の化学修飾と同様に、N - アルキル化又はO - アルキル化を含むアルキル化、エステル化、エーテル化、及びアミド化である。例えば、モノメトキシルポリエチレングリコールを塩化アクリロイルで修飾し、次いで中心骨格と反応させてもよく、従って、2種の反応を含んでいてもよい；エステル化及びN - アルキル化を以下に示す（反応スキーム4）：

【0098】

【化13】



反応スキーム4 (R = 中心骨格)

【0099】

本発明の実施態様は、溶解性の向上及び活性成分の送達の増強のための高分子 - 炭水化物共役体又は高分子 - 炭水化物 - 脂質共役体を含む医薬組成物の調製との関連で、ここに記述される。通常、薬物が異なれば、最適な配合が異なるが、医薬製剤の調製のための好みの組成物はおおよそ、ここに一般的に記述されている。

50

【0100】

I V 溶液のために、薬物の好適な濃度は 0 . 1 % ~ 3 0 % である。より好ましくは 0 . 5 ~ 1 0 % である。最も好ましくは 0 . 5 ~ 5 % である。5% に 0.5 です。注射用の最終薬物溶液中の P E G - 糖共役体 (P C) と薬物との好適な比 (P C / 薬物) は 1 ~ 3 0 w / v (質量 / 体積) である。より好ましくは 1 (薬物) ~ 2 5 (P C) である。最も好ましくは 1 ~ 1 0 である。

【0101】

薬剤を静脈内投与するために、狭分散性 P E G 鎖を有する P E G - 炭水化物共役体が好ましい。単分散 P E G 鎖は、個々のオリゴマーからの全オリゴマー純度が 8 0 % である 1 以上の単一の P E G オリゴマーを含有してもよい。例えば、単分散 P E G 鎖は、4 0 % の P E G - 1 2 及び 4 0 % の P E G - 1 5 を含んでもよい。単量体 P E G 鎖は、少数のオリゴマーを含むことが好ましい。オリゴマーの数は好ましくは 1 ~ 2 0 、より好ましくは 1 ~ 1 0 、最も好ましくは 1 ~ 5 である。

10

【0102】

経口溶液について、好ましい薬物濃度は 1 ~ 4 0 % であり、より好ましくは 2 . 5 ~ 3 0 % であり、最も好ましくは 5 ~ 3 0 % である。好ましい P E G - 炭水化物共役体と薬物との比 (P C / 薬物) は 0 . 5 ~ 2 5 (重量 / 重量) であり、好ましくは 1 (薬物) ~ 2 0 (P C) であり、最も好ましくは 1 ~ 1 0 である。

【0103】

眼科用製剤について、好ましい薬物濃度は 0 . 0 1 ~ 5 % であり、より好ましくは 0 . 0 5 ~ 2 % であり、最も好ましくは 0 . 1 ~ 2 % である。好ましい P E G - 炭水化物共役体と薬物との比 (P C / 薬物) は 1 ~ 3 0 (重量 / 重量) であり、好ましくは 3 (薬物) ~ 2 0 (P C) である。

20

【0104】

局所用溶液について、好ましい薬物濃度は 0 . 0 5 ~ 5 % であり、より好ましくは 0 . 1 ~ 5 % であり、最も好ましくは 0 . 1 ~ 2 % である。好ましい P E G - 炭水化物共役体と薬物との比 (P C / 薬物) は 1 ~ 3 0 (重量 / 重量) であり、好ましくは 3 (薬物) ~ 1 5 (P C) であり、最も好ましくは 3 ~ 1 0 である。

【0105】

経口カプセルについて、カプセル中の好ましい薬物量は 2 m g ~ 5 0 0 m g であり、より好ましくは 2 m g ~ 2 0 0 m g であり、最も好ましくは 2 m g ~ 1 0 0 m g である。好ましい P E G - 炭水化物共役体と薬物との比 (P C / 薬物) は 1 ~ 5 0 (重量 / 重量) であり、好ましくは 1 (薬物) ~ 1 5 (P C) であり、最も好ましくは 1 ~ 5 である。

30

【0106】

局所投与製剤について、好ましい薬物濃度は 0 . 0 5 ~ 5 % であり、より好ましくは 0 . 5 ~ 2 % であり、最も好ましくは 1 ~ 2 % である。好ましい P E G - 炭水化物共役体と薬物との比 (P C / 薬物) は 1 ~ 3 0 (重量 / 重量) であり、好ましくは 1 (薬物) ~ 2 0 (P C) であり、最も好ましくは 3 ~ 1 0 である。

【実施例】

【0107】

化学薬品及び試薬：N , N ' - ジシクロヘキシル尿素、N , N ' - ジシクロヘキシルカルボジイミド (D C C) 、アスコルビン酸、ラクトビオン酸、コレカルシフェロール、コレステリルクロロホルメート、コレステロール、グルクロン酸、ポリエチレングリコール (P E G) 、レチノイン酸、-トコフェロール、及び他の化学薬品は、シグマ - アルドリッヂ社 (セントルイス、ミズーリ州、アメリカ) 又はアルファ エイサー社 (A l f a A e s a r) (ワードビル、マサチューセッツ州、アメリカ) から入手した。活性化 P E G 又はビオチン化 P E G は、クオンタ バイオデザイン社 (Qu a n t a B i o d e s i g n) (パウエル、オハイオ、アメリカ) 又はサーモフィッシュ - サイエンティフィック社 (Ther m o F i s h e r S c i e n t i f i c) (ロックフォード、イスラエル) から入手した。

40

50

【0108】

実施例1：t e r t - プチルカルバメート（B o c）で保護されたアミノ基の調製

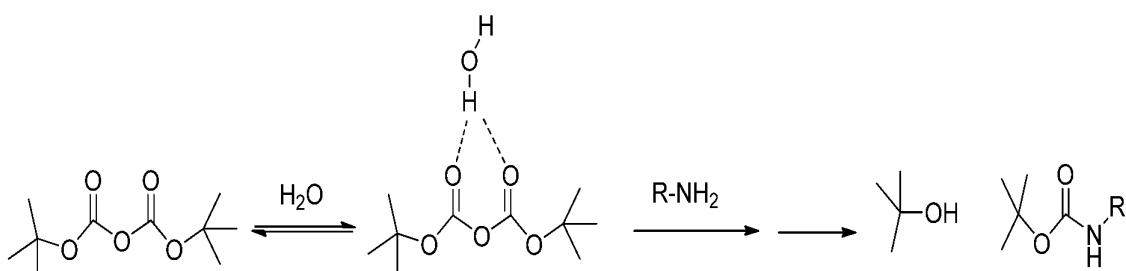
【0109】

触媒不存在且つ室温下での収率及び有効性が高い合成方法は既に報告されており（Chankeshwara, SV and Chakraborti, AK. Org. Lett., (2006); 8, 3259）、これを僅かに改変して用いた。アミノ安息香酸エステルを含有する出発化合物のメタノール溶液に、ジ-t - プチルジカーボネート（モル比1:1）で加えた。得られた混合物を室温で一晩攪拌した。反応終了後、溶媒を真空中で除去し、残渣を酢酸エチルに溶解し、飽和塩化アンモニウム水溶液で一旦洗浄し、次いで硫酸ナトリウムで乾燥させ、所望の生成物（>90%）を得るために濃縮した。この反応の例を反応スキーム5に示す。式中、Rは中心骨格の主構造である。この方法によれば、副生成物（例えば、イソシアネート、尿素、N , N - ディ-t - B o c）なしで、化学選択的にN - t - B O Cが得られる。
10

【0110】

反応スキーム5

【化14】



反応スキーム5

【0111】

実施例2：B o cで保護されたアミノ基の脱保護

【0112】

t - プチルカルバメート又はt - プチルエステルの脱保護に効果的な試薬には、リン酸及びトリフルオロ酢酸が含まれる。該試薬は非常に便利で高い収率が得られる（Li, B. B erliner, M. etc, J. Org. Chem., 2006; 71, 9045）。B o c - カーバメートのC H₂ C l₂溶液（10%粗生成物）に、等量のトリフルオロ酢酸を加えた。得られた溶液を室温で一晩攪拌した後、溶媒を留去し、残渣をC H₂ C l₂に再溶解し、次いで飽和N a H C O₃で洗浄し、M g S O₄で乾燥させた。溶媒を留去した後、そのまま精製することなく次の工程に用いた。
30

【0113】

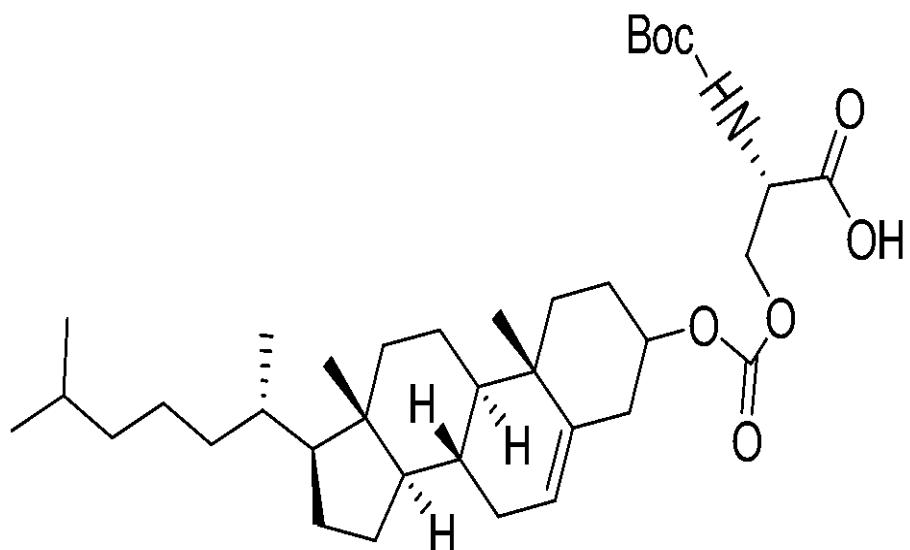
実施例3：N - B o c - コレステリルセリネートの調製

【0114】

窒素雰囲気下で定期的に攪拌しながら、N - B o c - セリン（0.03mol）をクロロホルム100mLに溶解させた。コレステリルクロロホルムート（0.03mol）をクロロホルム100mLに溶解させ、これをN - t e r t - プチルオキシカルボニルセリンの不均一系混合物に添加し、続いて無水ピリジン10mLを加えた。室温で30分間一定の攪拌を続けて反応させると、混合物は均一系となり、混合物中のコレステリルクロロホルムートが検出できなくなった段階で反応は完了した。溶媒の大部分を真空中で除去し、粗生成物は更に精製することなく次の工程で用いた。反応生成物（収率70~80%）を化学構造2に示す。
40

【0115】

【化15】



化学構造 2

20

【0116】

実施例4：N - B o c - コレステリルモノメトキシルドデカエチレンギコールエーテルセリネートの調製

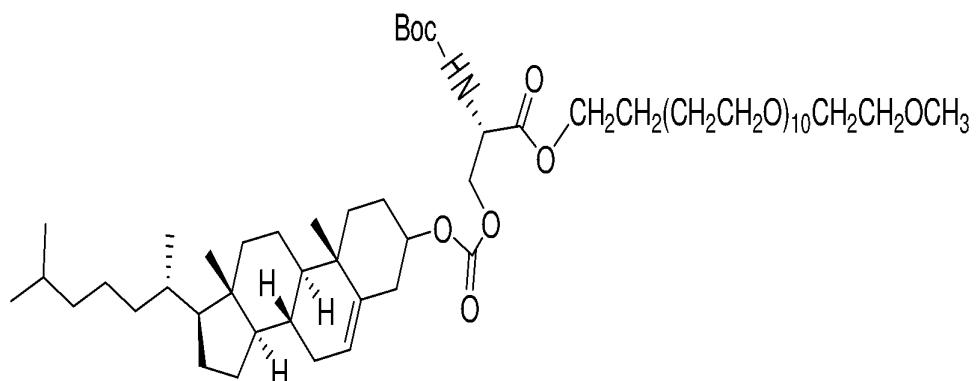
【0117】

モノメトキシルドデカエチレンギコールエーテル (0.01 mol) を 50 ml の無水 $\text{C H}_2\text{C l}_2$ に溶解させ、0.01 mol のジシクロヘキシリカルボジイミド及びコレステリルセリネートを加えた。得られた混合物を 0 $^\circ\text{C}$ で 2 時間攪拌し、室温まで温め、更に攪拌を 48 時間継続した。反応終了後、珪藻土 (セライト; C e l i t e) を通して、白色の沈殿物をろ過した。残渣を少量の $\text{C H}_2\text{C l}_2$ ですすぎ、次いで飽和塩化アンモニウムで 2 回洗浄し、 M g S O_4 で乾燥させた。溶媒を蒸発させ、以下に示す化学構造 3 の淡黄色油状物を得た。粗生成物の純度 (> 70 %) は、 $^1\text{H-NMR}$ 、UPLC-MS、及び ESI-MS により決定した。

30

【0118】

【化16】



化学構造 3

50

【0119】

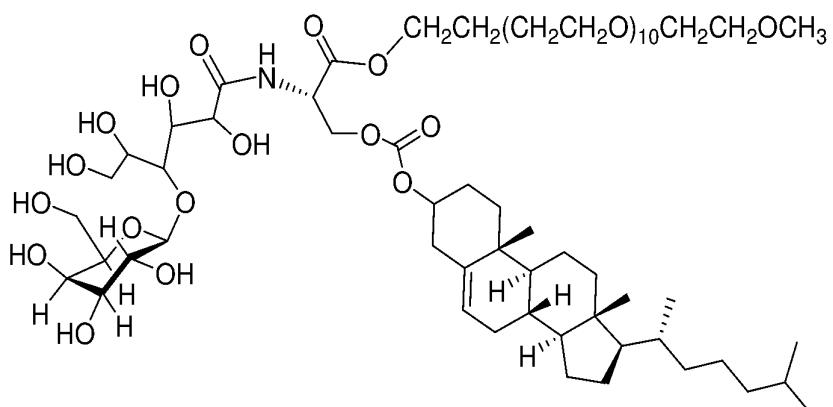
実施例5：コレステリルセリニルモノメトキシルドデカエチレングリコールラクトビオネートの調製

【0120】

アミノ基上の保護基であるt - ブチルカルボニル基は、実施例2に記載した方法に基づいて除去した。実施例4で得られたN - Boc - コレスチリルモノメトキシルドデカエチレングリコールエーテル(0.01mol)をN - メチル - 2 - ピロリジノン50mlに溶解させ、ラクトビオノラクトン(0.01mol)を加えた。得られた混合物を50～60で攪拌し、反応終了後、室温まで冷却した。沈殿物の単離収率を最大にするために、反応混合物にイソプロパノール(IPA)及びメチルtert - ブチルエーテル(MTBE)を滴下した。粗生成物を50/50(v/v)のIPA/MTBEでよく洗浄し、真空下、30～40で乾燥させた。最終生成物(化学構造4)の純度(>90%)は、¹H - NMR及びUPLC - MSにより決定した。

【0121】

【化17】



化学構造4

20

30

【0122】

実施例6：ラクトビオニルジエチレントリアミンの調製

【0123】

乾燥(モレキュラーシーブ)N - メチル - 2 - ピロリジノン50mlにジエチレントリアミン(0.01mol)を溶解し、ラクトビオノラクトン(0.005mol)を加えた。得られた混合物を50～60で6時間攪拌し、反応終了後、室温まで冷却した。沈殿物の単離収率を最大にするために、反応混合物にイソプロパノール(IPA)及びメチルtert - ブチルエーテル(MTBE)を滴下した。沈殿物を50/50(v/v)のIPA/MTBEでよく洗浄し、真空下、30～40で乾燥させ、粗生成物を更に精製することなく次の工程で使用した。

40

【0124】

実施例7：ラクトビオニルコレステリルジエチレントリアミン-mPEGの調製

【0125】

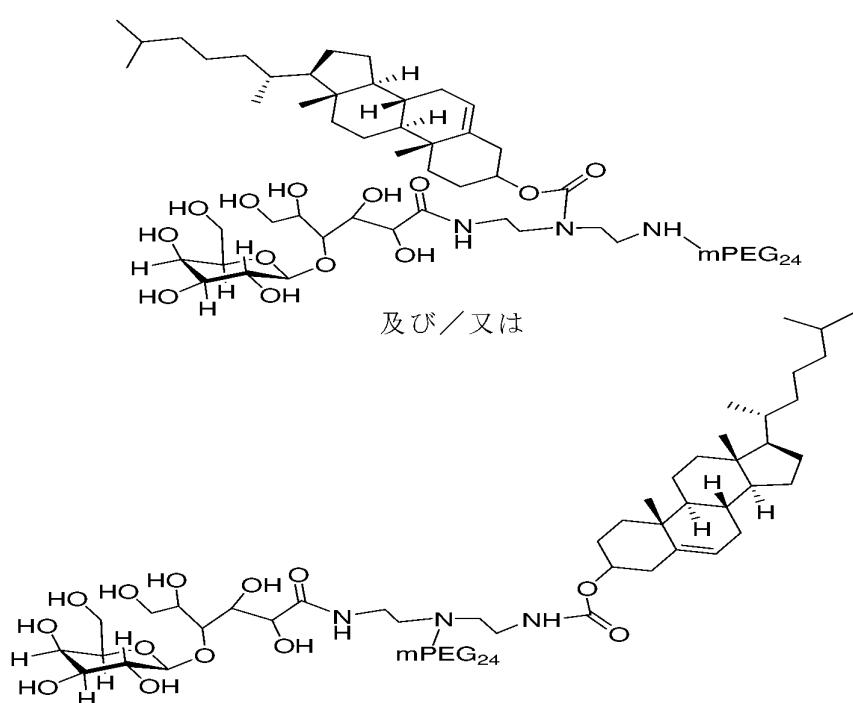
実施例6で得られたラクトビオニルジエチレントリアミン(0.01mol)を出発物質として、これを20～30でジメチルホルムアミド(DMF)20mlに溶解した。僅かに過剰な活性オレイン酸N - ヒドロキシスクシンイミドエステル(0.011mol)を20mlのテトラヒドロフラン溶液に溶解し、次いでラクトビオニルジエチレントリアミンと混合し、更に塩基としてトリエチルアミン(TEA、3%v/v)を加えて室温で2時間攪拌した。収率を確認するために定期的に分析を行い、精製することなく次の工程に移行した。活性化mPEG₂₄-NHS(0.01mol)をDMFに溶解し、次い

50

で上記反応物と混合し、室温で一晩攪拌した。反応終了後、溶媒を真空中で除去し、次いで粗生成物にアセトン 50 ml を加えてろ過し、アセトン 30 ml で 3 回洗浄した。湿生成物 (60 ~ 70 %) を更に精製することなく次の工程で使用した。沈殿物の単離収率を最大にするために、反応溶液にイソプロパノール (IPA) 及びメチルtert-ブチルエーテル (MTBE) を滴下した。粗生成物を 50 / 50 (v/v) の IPA / MTBE でよく洗浄し、真空中、30 ~ 40 °C で乾燥させた。最終生成物 (化学構造 5) の純度 (> 95 %) は、¹H-NMR 及び UPLC-MS により決定した。

【0126】

【化18】



化学構造 5

and/or

【0127】

実施例 8：ラクトビオニルトリエチレンテトラアミンの調製

【0128】

乾燥 (モレキュラーシーブ) N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) 50 ml にトリエチレンテトラアミン (0.01 mol) を溶解し、ラクトビオン酸 (0.01 mol) を加えた。得られた混合物を 50 ~ 60 °C で 6 時間攪拌し、反応終了後、室温まで冷却した。沈殿物の単離収率を最大にするために、反応混合物にイソプロパノール (IPA) 及びメチルtert-ブチルエーテル (MTBE) を滴下した。沈殿物を 50 / 50 (v/v) の IPA / MTBE でよく洗浄し、真空中、30 ~ 40 °C で乾燥させ、粗生成物を更に精製することなく次の工程で使用した。

【0129】

実施例 9：ラクトビオニルコレステリルトリエチレンテトラアミンの調製

【0130】

0.01 mol の実施例 8 で得られたラクトビオニルトリエチレンテトラアミン (0.01 mol)

40

50

0.12 mmol) を無水N-メチル-2-ピロリジノン50mlに溶解し、コレステリルクロロホルムート(0.01mol)を加えた。得られた混合物を45~50℃で一晩攪拌し、室温に冷却した。沈殿物の単離収率を最大にするために、反応溶液にイソプロパノール(IPA)及びメチルtert-ブチルエーテル(MTBE)を滴下した。粗生成物を50/50(v/v)のIPA/MTBEでよく洗浄し、真空下、30~40℃で乾燥させた。反応生成物の純度(>80%)は、¹H-NMR及びUPLC-MSにより決定した。

【0131】

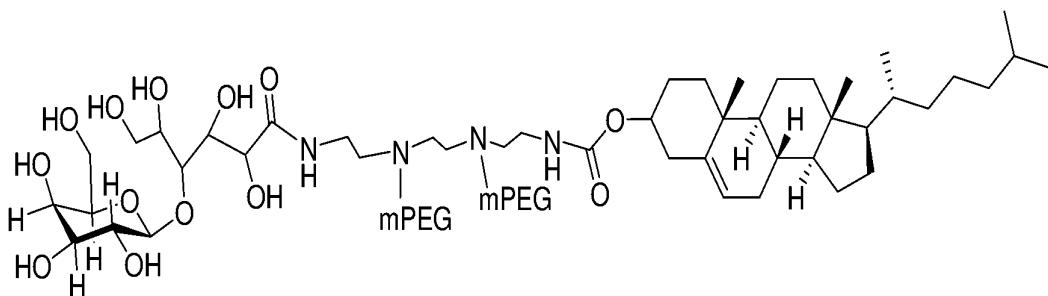
実施例10：ラクトビオニルレチノイルトリエチレンテトラアミン-mPEGの調製

【0132】

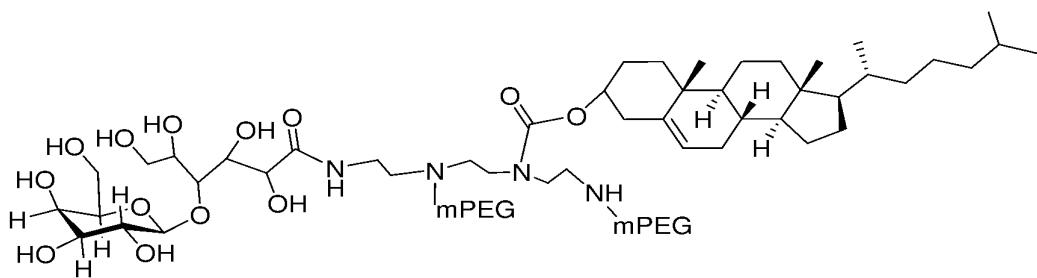
実施例9で得られたラクトビオニルコレステリルトリエチレンテトラアミン(0.01mol)を出発物質として、これを20~30℃でジメチルホルムアミド(DMF)20mlに溶解し、僅かに過剰な活性化mPEG₂₄-NHS(0.021mol DMF 10ml溶液)を加え、室温で一晩攪拌した。反応終了時に300mlのアセトンを加え、溶媒を真空下で除去した。次いで粗生成物をアセトンで洗浄し、ろ過した。湿生成物(60~65%)を更にワックスで凍結乾燥し、化学構造6に示すようなワックス状生成物を得た。

【0133】

【化19】



及び／又は



化学構造6

【0134】

実施例11：コレステリルエチレングリコールエーテルの調製

【0135】

機械的攪拌機及び加熱マントルを備えた丸底フラスコで、コレステリルトシレート(0.1mol)のテトラヒドロフラン溶液(100ml)及びエチレングリコール(1mol)を混合した。反応混合物を窒素保護下、12時間還流下で攪拌し、溶媒を真空下で除去し、残渣を塩化メチレン200mlに再溶解し、水(200ml)で3回洗浄した。塩化メチレン中の粗生成物を真空中で乾燥させ、固体を得た(>90%)。

【0136】

実施例 12 : コレステリルエチレングリコール酢酸の調製

【0137】

実施例 11 で得られたコレステリルエチレングリコールエーテル (0.02 mol) のテトラヒドロフラン溶液 (100 ml) を、メカニカルスターラー及び加熱マントルを備えた丸底フラスコに入れた。溶液に窒素 (50 ~ 100 psi) を注入した。裸の金属ナトリウム (0.05 g) を室温下でゆっくり添加した。添加終了後、6 時間攪拌を継続しながら反応混合物を徐々に 60 まで加熱し、クロロ酢酸ナトリウム (0.03 mol) 及びヨウ化ナトリウム (0.005 mol) を反応フラスコに加え、反応混合物を 55 ~ 60 で一晩攪拌し続けた。水酸化ナトリウム溶液 (100 ml 5% w/v) で反応を終了させ、減圧下でテトラヒドロフランを除去することにより濃縮し、ジクロロメタン (50 ml) で抽出した。水層をの塩酸 (36%) で pH 3 ~ 4 まで酸性化した。水槽をジクロロメタン (25 ml) で 2 回抽出した。有機層を合わせ、硫酸ナトリウムで 1 時間乾燥させた。塩をろ紙により除去し、溶媒を真空中で除去して油状物を得た (45 ~ 73%)。 10

【0138】

実施例 13 : ラクトビオニルジアミンプロパンの調製

【0139】

乾燥 (モレキュラーシープ) N - メチル - 2 - ピロリジノン 50 ml に 1, 3 - ジアミンプロパン (0.01 mol) を溶解し、ラクトビオノラクトン (0.005 mol) を加えた。得られた混合物を 50 ~ 60 で 6 時間攪拌し、反応終了後、室温まで冷却した。沈殿物の単離収率を最大にするために、反応混合物にイソプロパノール (IPA) 及びメチル tert - ブチルエーテル (MTBE) を滴下した。沈殿物を 50 / 50 (v/v) の IPA / MTBE でよく洗浄し、真空下、30 ~ 40 で乾燥させ、粗生成物を更に精製することなく次の工程で使用した。 20

【0140】

実施例 14 : ラクトビオニルジアミンプロパニル - mPEG の調製

【0141】

実施例 14 で得られたラクトビオニルジアミンプロパン (0.01 mol) を出発物質として、これを 20 ~ 30 でジメチルホルムアミド (DMF) 20 ml に溶解した。活性化 mPEG₂₄-NHS (0.01 mol) を DMF に溶解し、次いで上記反応物と混合し、室温で一晩攪拌した。反応終了後、溶媒を真空中で除去し、次いで粗生成物にアセトン 50 ml を加えてろ過し、アセトン 30 ml で 3 回洗浄した。湿生成物 (60 ~ 70%) を更に精製することなく次の工程で使用した。 30

【0142】

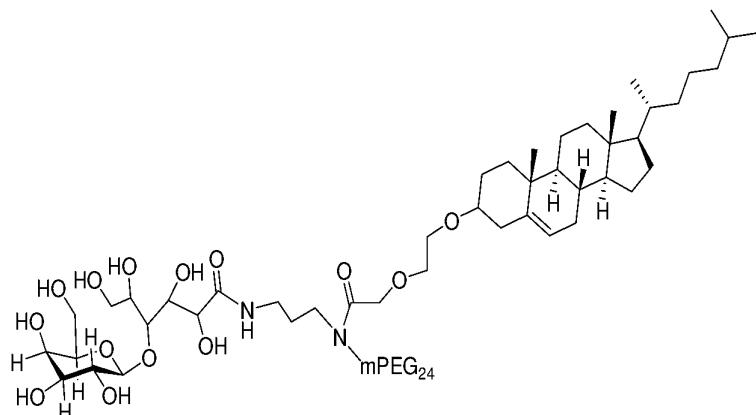
実施例 15 : ラクトビオニルコレステリルジアミンプロピル - mPEG の調製

【0143】

0.01 mol の実施例 14 で得られたラクトビオニルジアミンプロパニル - mPEG (0.01 mmol) を無水 N - メチル - 2 - ピロリジノン 50 ml に溶解した。これを、実施例 13 で得られたコレステリルエチレングリコール酢酸 (0.01 mol) のテトラヒドロフラン溶液 (50 ml) 及び僅かに過剰な活性 N - ヒドロキシスクシンイミドエステル (0.011 mol) のテトラヒドロフラン溶液 (50 ml) と混合し、更に塩基としてトリエチルアミン (TEA、3% v/v) を加えて室温で 2 時間攪拌した。収率を確認するために定期的に分析を行った。得られた混合物を 45 ~ 50 で一晩攪拌し、室温に冷却した。沈殿物の単離収率を最大にするために、反応溶液にイソプロパノール (IPA) 及びメチル tert - ブチルエーテル (MTBE) を滴下した。粗生成物を 50 / 50 (v/v) の IPA / MTBE でよく洗浄し、真空下、30 ~ 40 で乾燥させた。最終生成物 (化学構造 7) の純度 (> 93%) は、¹H-NMR 及び UPLC-MS により決定した。 40

【0144】

【化 2 0】



化学構造 7

【0145】

実施例 16 : N - t e r t - ブチルオキシカルボニル (B o c) - リジン - コレステロールの調製

20

【0146】

N - t e r t - ブチルオキシカルボニル (B o c) - リジンの塩化メチレン溶液 (1 5 0 m l) を、メカニカルスターーラーを備えた丸底フラスコに入れた。トリエチルアミン (0 . 4 m o l) をフラスコに加え、反応混合物を一定の攪拌下、氷浴中で 0 ~ 1 0 °C に冷却した。コレステリルクロライド (0 . 1 8 m o l) の塩化メチレン溶液 (1 0 0 m l) を滴下した。コレステリルクロライドの添加が完了した後、反応混合物について一定の攪拌を 2 時間継続した。N - t e r t - ブチルオキシカルボニル (B o c) - N - コレステロール - リジンの粗生成物 (収率 ; ~ 6 0 %) を得るために溶液を濃縮し、この溶液を直接、次の工程で使用した。

【0147】

30

実施例 17 : N - B o c - リジン - コレステロール - m P E G の調製

【0148】

等量のモノメトキシ P E G を、N - B o c - N - コレステロール - リジン (実施例 2 1 から) の T H F / D C M (1 / 1 , v / v) 溶液 (2 0 0 m l) と混合し、等量の D C C を触媒として加え、室温で 1 晚、一定の攪拌下で反応を開始した。反応の完了は T L C 又は H P L C によってモニターした。反応終了後、固体をろ別し、溶液を減圧下で濃縮した。5 0 % 以上の収率を得るために、粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出液 ; ヘキサン / 酢酸エチル) によって精製し、この溶液を直接、次の工程で使用した。

【0149】

40

実施例 18 : N - リジン - N - コレステロール - m P E G の調製

【0150】

トリフルオロ酢酸 (1 0 当量) を、N - B o c - リジン - コレステロール - m P E G 中間体 (実施例 2 2 から) の D C M 溶液に添加し、2 時間攪拌した。混合物について、知注意深く重炭酸ナトリウム溶液を加えて反応を停止させ、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、塩を除去した後で濃縮することにより、定量的に中間体である N - リジン - コレステロール - m P E G を得て、これを直接、次の工程で使用した。

【0151】

実施例 19 : N - ラクトビオニル - N - コレステロール - m P E G - リジネートの調製

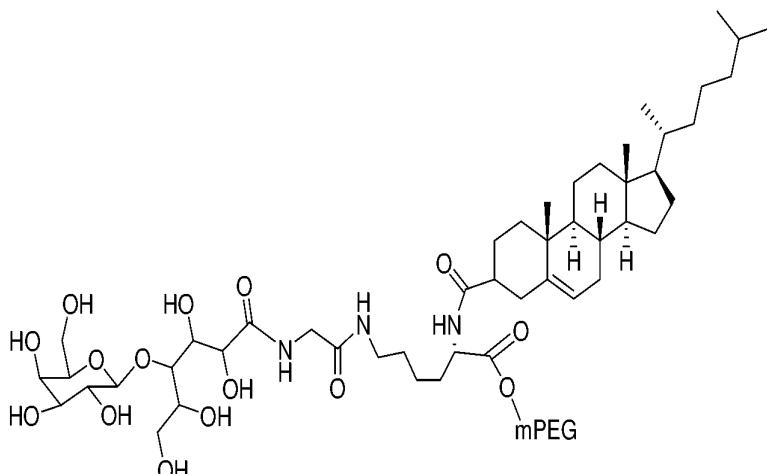
50

【0152】

トルエン中で水を除去することにより、ラクトビオニ酸をエステル中間体に変換し、等モル量のN - リジン - N - コリステロール - mPEGと室温下、メタノール中で混合して反応させることにより、N - ラクトビオニル - N - コリステロール - mPEG - リジネート（一般構造8）を得た。反応混合物をシリカゲル層上に積載して空気乾燥させた。フリットろ過漏斗中でカラム体積が約1Lのシリカゲルカラムを調製した。予備乾燥させた反応混合物をカラムの頂部に載置し、該カラムをアセトン/ヘキサン混合溶液、アセトン/イソプロパノール（1/5）混合溶液200mL、及び100%アセトン溶液500mLで溶出させた。化合物を含む溶離液を真空下で濃縮することにより、N - tert - プチルオキシカルボニル（Boc）- N - コリステロールリジンを得た（収率；~80%）。 10

【0153】

【化21】



10

20

化学構造8

30

【0154】

実施例1～24と同様の合成方法は、他のPEG - 炭水化物 - 脂質共役体の合成に利用することができる。更に、選択された分子は、前記第3又は第4の利用可能な結合位置又は部位を与えるために、化学的に伸長され及び修飾されていてもよく、適切な分子は、これらに限られないが、エチレンジアミン、ジアミノプロパン、エタノールアミン、アミノプロパノール、アミノブタノール、アミノペントノール、及びアミノヘキサノールからなるアミノアルコール及びジアミンを含むことを示している。表3は、これらのPEG - 炭水化物共役体のいくつかを表8に示す。

【0155】

本発明の別の面において、高分子鎖は、ポリメチレングリコール若しくはポリプロピレングリコール、又はメチレングリコール、エチレングリコール及びプロピレングリコールの繰り返し単位の混合物等の他の高分子に置き換えられてもよい。本発明の高分子 - 脂質共役体を形成するのに有用な親水性高分子には、ポリエチレングリコール（PEG）及びポリアルケンオキシドポリマー、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリビニルピロリドン、ポリ（アリルアミン）、ポリ（1 - グリセロールメタクリレート）、ポリ（2 - エチル - 2 - オキサゾリン）、ポリ（2 - ヒドロキシエチルメタクリレート / メタクリル酸）/ ポリ（2 - ヒドロキシエチルメタクリレート）、ポリ（2 - ビニルピリジン）、ポリ（アクリルアミド / アクリル酸）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（ブタジエン / マレイン酸）、ポリ（エチルアクリレート / アクリル酸）、ポリ（エチレンオキシド - b - プロピレンオキシド）、ポリ（エチレン / アクリル酸）、ポリ（メタクリル酸）、ポリ（マレイ 40

50

50

ン酸)、ポリ(N - イソプロピルアクリルアミド)、ポリ(N - ビニルピロリドン / 酢酸ビニル)、ポリ(スチレンスルホン酸)、ポリ(スチレンスルホン酸 / マレイン酸)、ポリ(酢酸ビニル)、ポリ(ビニルホスホン酸)、ポリ(ビニルアミン)、ポリアクリルアミド、ポリアクリル酸、ポリアニリン、ポリエチレンイミン、フルラン、ポリメタクリルアミドが含まれる。上記で列挙されたものに基づく共重合体及びブロック共重合体もまた、用いることができる。フリーの高分子は室温で水溶性且つ非毒性であると共に、哺乳動物において明らかな免疫反応を誘発しない。狭い分子量分布を有する親水性高分子が好ましい。PEGは既に製薬業において受け入れられていることから、親水性高分子として好ましい。

【0156】

10

実施例20：注射製剤

【0157】

機器と接触する全ての製品は、洗浄及び消毒することができる。混合プロペラを備える容器に、予め溶解させたPEG-炭水化物共役体(最終容積の約1/4)を加えた。固形状薬物を少量の希釈用酸又は塩基に予め溶解させ(液状薬物の場合、この工程は除かれる。)、次いで容器に加えて一定の攪拌を行った。溶液の外観が均質になるまで攪拌を継続した。予め溶解させた医薬添加物を容器に加えて十分に攪拌した。十分に均質な溶液となるまで攪拌を継続した。窒素重層の維持を補助するための、予備混合のためのステンレス鋼カバー並びに少なくとも2つのジャケットが付属し、加圧可能であると共に、攪拌及び窒素重層を可能にするステンレス鋼タンクが必要である。製品中の溶存酸素量を減少させるために、攪拌及び窒素重層された容器中の混合物を1時間保持した。容器インペラの攪拌速度は45~50RPMであり、混合容器に圧力を供給する圧縮空気の圧力は10~13psigである。製品の発泡を防止するために、必要に応じて攪拌速度を調整することができる。pH測定のために、無菌操作により、5mlのサンプルを採取した。必要であれば、製品のpHを6.0~8.0に調節するために、10%水酸化ナトリウム又は6N塩酸を用いた。窒素雰囲気下で製品を滅菌濾過し、次いで、洗浄及び滅菌された5mlタイプIガラスバイアル中に充填し、更に、滅菌された13mm医薬グレードゴム栓で各バイアルを封止し、次いで、消毒された13mm医薬グレートフリップオファルミシートを圧着した。必要であれば、最終オートクレーブ工程を行うことができる。配合サンプルを表4に記述する。

20

【0158】

30

【表4】

成分	mg/mL
薬物物質(活性)	10.0
PEG-炭水化物共役体	30
塩化ナトリウム	9
水酸化ナトリウム(NaOH)	pH調整のため
塩酸(HCl)	pH調整のため
注射用蒸留水	qs 1.0 mL

40

【0159】

PEG-炭水化物共役体は、約10~45サブユニットからなるPEG鎖を有する本発明で記述されるPEG-炭水化物共役体のいずれかでよい。水酸化ナトリウムは、精製水により10%w/w溶液に調製して用いられる。目的とするpHは4.0~7.5の範囲である。必要であれば、pHを調節するためにNaOHが用いられる。薬物は、モダフィニル、ニフェジピン、エソメプラゾール、ラパマイシン、殺菌剤、抗ガン剤若しくは麻酔

50

薬、又は他の活性薬剤を使用することができる。

【0160】

実施例21：注射用ドセタキセル溶液の調製

【0161】

静脈送達に適したドセタキセル溶液は、以下の方法により調製される。攪拌容器を含む容器に、CDL-mPEG₁₇（表8参照）の4%（w/v）生理食塩水溶液を加え、また、1.5%（w/v）のドセタキセルをエタノール（全体積の1%、v/v）に前溶解させ、これを容器に加えて室温で継続的に攪拌した。溶液が視覚的に均一になるまで攪拌を継続した。十分な攪拌と共に、同体積の生理食塩水を容器に加えた。更に30分間又は均一な溶液になるまで攪拌を続けた。配合例を表5に示す。

10

【0162】

【表5】

成分	mg/mL
ドセタキセル	0.75
エタノール	10.0
CDL-mPEG ₁₇	20.0
塩化ナトリウム	9.0
水酸化ナトリウム	下記参照
塩酸	下記参照
精製水	qs 1 mL

20

【0163】

PEG-炭水化物共役体は、約10~45のサブユニットからなるPEG鎖を有する本発明で記述されている如何なるPEG-炭水化物共役体でもよい。精製水中の10%w/w溶液を調製するために、水酸化ナトリウムが用いられる。目標pHは4.0から7.5の範囲である。必要であれば、pHを調節するために希NaOH又は希HClを用いることができる。

30

【0164】

実施例22：ドセタキセル製剤の薬物動態プロフィール

【0165】

本研究では、4週齢で25~32gの雄マウス（B6D2F1）3匹のグループを用いた。薬物動態（PK）は、ドセタキセル製剤の静脈大量瞬時投与後、5、15及び45分並びに1、2、3、6、12及び24時間に典型的に得られたヘパリン添加マウス血漿サンプルにより実行された。該サンプルはHPLC-MS法により分析された。薬物レベルを決定するために、最初にサンプルの前処理により血漿から薬物を分離した。サンプル中のタンパク質を除去するために、アセトニトリルが用いられた。次いで、全ての潜在的な妨害物質から薬物を分離するために、均一濃度HPLC-MS法が用いられた。薬物レベルは複数反応モニタリング（MRM）モードによるMS検出によって測定した。PKデータは、WinNonlinプログラム（ver.6.3, Pharsight）を用いた非コンパートメントモデル分析により解析した。

40

【0166】

図2は、マウスにおけるドセタキセル製剤、即ち、(a)生理食塩水中で2.5%ポリソルベート80及び1.5%エタノールからなる市販製品中にドセタキセルを0.74mg/mLの濃度で含む製剤、(b)生理食塩水中で2%CDL-mPEG₁₇及び1%エタノールからなる配合中にドセタキセルを0.74mg/mLの濃度で含む製剤の薬物動態プロフィールを示す。薬剤は静脈注射により投与され、投与濃度は10mg/kgであ

50

った。非コンパートメントモデル計算から、市販のドセタキセル溶液(a)の薬物時間曲線(AUC)は1707.5ng·min/mLであり、半減期は9.8時間であり、一方、ドセタキセルのCDL-mPEG₁₇溶液(b)では、AUCが1739.4ng·min/mLであり、半減期は14.3時間であった。

【0167】

PEG-脂質は、約10~45のサブユニットからなるPEG鎖を有する本発明で記述されている如何なるPEG-炭水化物共役体でもよい。精製水中の10%w/w溶液を調製するために、水酸化ナトリウムが用いられる。目標pHは4.0から7.5の範囲である。必要であれば、pHを調節するために希NaOH又は希HClを用いることができる。

10

【0168】

実施例23：PEG-糖共役体の溶解性

【0169】

PEG-糖共役体の水溶性は、LogP計算によって推定することができる。全体的な親水性-親油性バランスは、担体グループのそれに依存する。共役体のサンプルを表6に示す。糖担体として三糖類を伴う場合は溶解度が増加するが、生産コストもより高くなり、単糖類の担体を伴う場合は共役体の溶解度がより低くなる。従って、二糖類は、水溶性向上剤としてのバランスがよく、スケールアップ製造及び経済的な考慮において最も適している。

【0170】

【表6】

表 6

単糖単位	共役体	LogP
3	コレステリプロパン-ジアミンイソマルトトリオース-mPEG ₁₁	-0.69
2	コレステリプロパン-ジアミンラクトビオネート-mPEG ₁₁	0.44
2	コレステリトリエチレン-テトラアミン-ラクトビオネート-ジ-mPEG ₁₁	-1.94
2	コレステリプロパン-ジアミンラミナリビオース-mPEG ₁₁	1.82
2	オレオイルプロパンジアミンラクトビオネート-mPEG ₁₁	-0.03
1	コレステリプロパン-ジアミングルコネート-mPEG ₁₁	2.27
1	コレステリプロパンジアミンアスコルベート-mPEG ₁₁	2.86
2	トコフェリルプロパンジアミンラクトビオネート-mPEG ₁₁	3.39
3	トコフェリルプロパンジアミンイソマルトトリオース-mPEG ₁₁	2.57
2	レチノイルプロパンジアミンラクトビオネート-mPEG ₁₁	-1.80
3	レチノイルジエチレン-トリアミンイソマルトトリオース-mPEG ₁₁	-3.71
3	コレカルシフェロール-ジエチレン-トリアミンイソマルトトリオース-mPEG ₁₁	-0.73

20

30

【0171】

反応スキーム1~3及び実施例1~19に示すように、単糖類及び二糖類には、これらに限定されないが、スクロース、ラクツロース、ガラクトース、ラクトース、マルトース、トレハロース、セロビオース、コージビオース、ニゲロース、イソマルトース、トレハロース、ソホロース、ラミナリビオース、ゲンチオビオース、ツラノース、マルツロース、パラチノース、ゲンチオビウロース、マンノビオース、メリビオース、ルチノース、ルチヌロース、及びキシロビオースが含まれる。三糖類には、これらに限定されないが、イソマルトオリオース、ニゲロトリオース、マルトリオース、メレジトース、マルトトリウロース、ラフィノース、及びケストースが含まれ、これらの単糖類、二糖類及び三糖類

40

50

は、高分子 - 糖共役体を製造するのに全て適している。実施例 23 に示すように、単糖類は水溶性の増強作用が弱く、生産コストがかなり高いことから、ラクトビオニ酸等の二糖類及び三糖類は化学開発戦略及び医薬製剤において臨床的に安定であり、適切な物理的 / 化学的性質が得られる合理的な合成経路の発展に最も適切である。

【0172】

実施例 24 ; プロポフォールの溶解性試験

【0173】

異なる PEG - 脂質生理食塩水系溶液の調製のために、プロポフォール 1% (v/v) を用いた。溶解性試験の参照として、プロポフォールを可溶化するのに必要な脂質の最小濃度を表 7 に挙げる。トコフェリルプロパンジアミンラクトビオネート - mPEG₁₁ はプロポフォールを溶解させるためのモル濃度が最も低いことを示す一方、コレステリルプロパンジアミングルコネート - mPEG₁₁ ではより高い脂質濃度が必要であり、また、ステアリルプロパンジアミンラクトビオネート - mPEG₁₁ では、脂質濃度とは関係なくエマルジョンが形成される。

【0174】

【表 7】

表 7

共役体	濃度 (% w/v)
コレステリルプロパンジアミングルコネート-mPEG ₁₁	5.3
コレステリルプロパンジアミンアスコルベート-mPEG ₁₁	4.6
コレステリルプロパンジアミンラクトビオネート-mPEG ₁₁	3.2
トコフェリルプロパンジアミンラクトビオネート-mPEG ₁₁	3.3
レチノイルプロパンジアミンラクトビオネート-mPEG ₁₁	2.9
コレカルシフェロール-ジエチレン-トリアミンイソマルトオリース-mPEG ₁₁	2.2
コレステリルプロパンジアミンイソマルトオリース-mPEG ₁₁	2.0
コレステリルトリエチレンテトラアミン-ラクトビオネート-ビスマPEG ₁₁	1.6
ステアリルプロパンジアミンラクトビオネート-mPEG ₁₁	3-10 (乳剤)

10

20

30

【0175】

本発明の別の態様は、水不溶性物質、即ち、水に対する溶解度が低く、一般に、標的とする活性部位への効果的な送達のために薬学的に許容される担体を含む配合が必要な医薬化合物を可溶化するための方法を含む。このような送達は、静脈内、経口、局所、皮下、舌下、又は任意の他の薬物送達を含めることができる。本発明はまた、このような送達のための組成物をも含む。この方法及び組成物の両者は、本発明の PEG - 炭水化物共役体を用いた水不溶性物質の送達並びに上述の方法及び材料に関する。

【0176】

40

実施例 25 ; ポリコナゾールの溶解性試験

【0177】

異なる PEG - 脂質生理食塩水系溶液の調製のために、ポリコナゾール 1% (v/v) を用いた。溶解性試験の参照として、ポリコナゾールを可溶化するのに必要な脂質の最小濃度を表 8 に挙げる。ポリコナゾールを溶解させるための薬物濃度に対する高分子の比が最も低いのは、N, N, N - コステロール - ラクトビオニル - mPEG (12) - プロパンジアミンである一方、N, N, N - オレオイル - ラクトビオニル - mPEG (12) - プロパンジアミンは、同じポリコナゾール濃度のサンプル溶液を調製するのにより高い濃度が必要であった。これは主に、コステロールの疎水性相互作用が、オレイン酸の場合よりも相対的に強いことによる。本実施例は更に、脂肪酸との共役体は、より負の L o

50

g P 値を有するにもかかわらず、疎水性化合物を溶解させるための親油性担体として、ステロール（環構造を有する）と脂肪酸（鎖状化合物）との間に有意な差異があり、従って、H L B 値の僅かな差が、親油性化合物の可溶化に大きな影響を与えることができる事を示した。

【 0 1 7 8 】

【表 8】

表 8

ポリマー	LogP	HLB ¹	可溶化ボリコナゾール (min.ポリマー薬物比)
N,N,N-コレステロール-ラクトビオノイル-mPEG(19)プロパン-ジアミン	-0.81	14.9	15
N,N,N-コレステロール-ラクトビオノイル-mPEG(12) プロパン-ジアミン	-0.44	15.0	10
N,N,N-オレイル-ラクトビオノイル-mPEG(12) プロパン-ジアミン	-1.94	16.0	20

¹ 親水性 - 親油性バランス

【 0 1 7 9 】

本発明の別の態様は、水不溶性物質、即ち、水に対する溶解度が低く、一般に、標的とする活性部位への効果的な送達のために薬学的に許容される担体を含む配合が必要な医薬化合物を可溶化するための方法を含む。このような送達は、静脈内、経口、局所、皮下、舌下、又は任意の他の薬物送達を含めることができる。本発明はまた、このような送達のための組成物をも含む。この方法及び組成物の両者は、本発明の P E G - 炭水化物共役体を用いた水不溶性物質の送達並びに上述の方法及び材料に関する。

【 0 1 8 0 】

リン脂質等の天然に存在する脂質と異なり、本発明の共役体は、臨界ミセル濃度 (C M C) を有しない。界面活性剤の濃度が C M C 以上であり、及び系の温度が臨界ミセル温度以上である場合のみミセルが形成される。本発明の高分子 - 炭水化物 - ステロール共役体は、任意の濃度で自発的に凝集状態を形成してもよい。

【 0 1 8 1 】

本発明は、薬物又は分子の送達のための、安全且つ生体適合性の担体として使用することができる、少なくとも 1 つの炭水化物残基を含む新規な高分子 - 炭水化物共役体を開示する。溶液又はマイクロ懸濁液を形成するために、治療、診断又は化粧剤は、これらの高分子 - 炭水化物共役体中に溶解又はカプセル化されてもよい。

【 0 1 8 2 】

一般に、本発明は、高分子 (P E G) 鎮を有するグリセロール骨格、多アミン若しくはアミノ酸、糖（炭水化物）、及び前記骨格と結合されたステロール若しくは脂溶性ビタミン又はそれらの類似体を含む高分子 - 炭水化物共役体の製造方法及び組成物を含む。骨格と P E G 鎮、炭水化物又は親油性基との間に、アミノ酸を含むスペーサー又は連結基が含まれてもよい。更に、 P E G 鎮の末端は、荷電又は極性基であってもよい。

【 0 1 8 3 】

本発明の化合物は、ゲムシタビン又は白金系薬物等の活性成分を含む医薬製剤に効果的であり、これにより、薬物治療に関連する副作用及び毒性を低減することができる。

【 0 1 8 4 】

本発明において、 P E G - 炭水化物共役体の浸透特性が強化されることにより、種々の薬物のインピボでの標的化送達、毒性の低減、及び経口生物学的利用能を向上させることができる。

【 0 1 8 5 】

10

20

30

40

50

溶解した活性成分と本発明の共役体とを含む溶液において、プロポフォール、シスプラチン、ドセタキセル、ボリコナゾール、及びアルファキサロンを含むが、これらに限定されない多くの活性薬物を組み入れることができる。

【0186】

本発明の特徴又は実施態様は、本願の出願時において、できる限り広く化学化合物又は式により表される化合物の製造方法に属すると信じられている。

【0187】

他の本発明の特徴又は実施態様は、本願の出願時において、前記治療剤が麻酔剤又は中枢神経系(CNS)薬剤であり、PEG-炭水化物と薬物との重量比は約1と約20との間である、できる限り広く化学化合物又は化合物の製造方法が属することを示している。 10

【0188】

更に他の本発明の特徴又は実施態様は、本願の出願時において、できる限り広く化合物の送達方法、高分子-炭水化物共役体の調製を含む方法が属することを示しており、ここで、化学化合物は、アミノアルコール、ジアミン、エチレンジアミン、ジアミノプロパン、エタノールアミン、アミノプロパノール、アミノブタノール、アミノペンタノール、及びアミノ-1-ヘキサノールからなる群から選択される2つの接触可能な結合位置又は部位を有する骨格から合成されてもよく、前記中心骨格は、一般構造17に示すような類似のカップリング方法ための、前記第3又は第4の利用可能な結合位置又は部位を与えるために、化学的に延長され、修飾されてもよい。

【0189】

更に本発明の特徴又は実施態様は、本願の出願時において、前記治療剤は抗真菌剤、免疫抑制剤、抗腫瘍剤、又は麻酔剤であり、PEG-炭水化物と薬物との重量比は約1と約30との間である、できる限り広く化学化合物又は化合物の製造方法が属することを示している。 20

【0190】

実施態様の異なる要素又は面は、本発明が先の特許公開公報であるUS2012/202979及びUS2012/202890と物理的及び化学的に異ならしめるためのものである；本発明では、水溶性ステロイド酸が排除された単独のヒドロキシ基を含むステロールが組み入れられる。表1、15及び16に示すように、このような親油性を増大させる構造は、先行発明において挙げられておらず、利用されていない。例えば、PEG-炭水化物-コレステロール共役体及びPEG-炭水化物-リポ-ビタミン共役体は、初めて公開された。 30

【0191】

本発明のいくつかの好ましい実施形態の例を説明してきたが、当業者であれば、本発明の概念から離れることなく、他の及び更なる変更及び改変が可能であることを認識するであろう。そして、このような変更及び改変の全ては、本発明の範囲に属するものと理解されるべきである。

【図1】

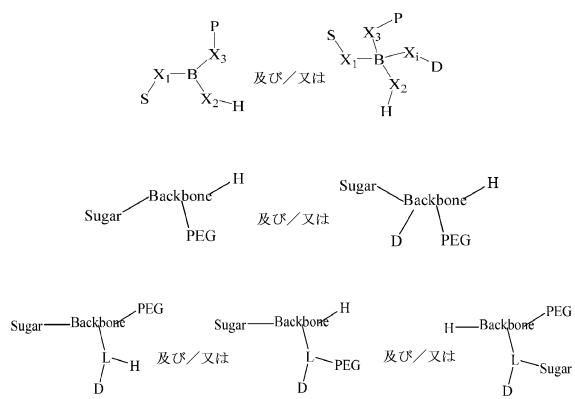


Figure 1

【図2】

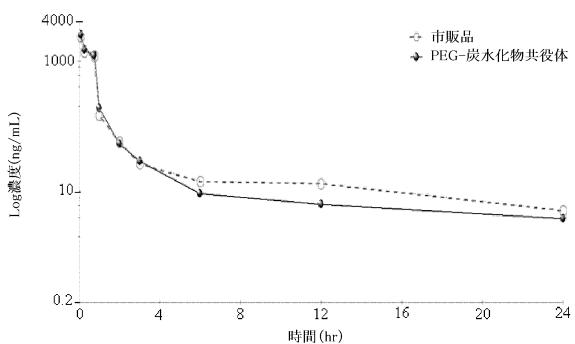


Figure 2

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 K 31/355 (2006.01) A 6 1 K 31/355
A 6 1 K 9/08 (2006.01) A 6 1 K 9/08

(56)参考文献 国際公開第2012 / 109112 (WO , A1)
特表2012 - 528857 (JP , A)
国際公開第2012 / 122144 (WO , A1)

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

A 6 1 K 47 / 00
A 6 1 K 9 / 00
A 6 1 K 31 / 00
Caplus / REGISTRY / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)
JSTPlus / JMEDPlus / JST7580 (JDreamIII)