

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A61K 9/127 A61K 47/48
A61K 31/28 A61P 35/00

[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 98807276.9

[45] 授权公告日 2002 年 12 月 18 日

[11] 授权公告号 CN 1096263C

[22] 申请日 1998.1.28 [21] 申请号 98807276.9
[30] 优先权
[32] 1997.2.5 [33] US [31] 60/037,377
[86] 国际申请 PCT/US98/00035 1998.1.28
[87] 国际公布 WO98/33481 英 1998.8.6
[85] 进入国家阶段日期 1999.8.5
[73] 专利权人 法玛西雅厄普约翰美国公司
地址 美国密执安
[72] 发明人 M·彻里安
[56] 参考文献
EP0356332A2 1989.8.22 C07C53/128
审查员 张 伟

[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 陈文平

权利要求书 2 页 说明书 9 页

[54] 发明名称 高不溶性铂配合物的脂质复合物和脂
质体

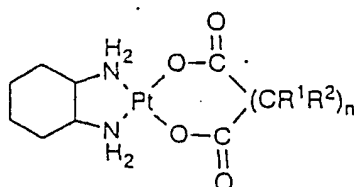
[57] 摘要

本发明公开了一种含有磷脂与水不溶性二羧酸
铂的脂质复合物或脂质体的药物组合物,还公开了所
述组合物的制备方法。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种制备水不溶性二氨基环己烷铂二羧酸酯的水溶性药学上可接受的脂质复合物或脂质体的方法，包括使二氨基环己烷铂硝酸盐同时与磷脂和二羧酸反应。

2. 根据权利要求1的方法，其中，所述的二氨基环己烷-铂二羧酸酯为下式的结构：



其中， R^1 和 R^2 相同或不同，代表氢、 C_1-C_{10} 烷基、 C_6-C_{10} 芳基、 C_7-C_{18} 烷芳基、 C_7-C_{10} 芳烷基，或者， R^1 和 R^2 可形成取代或未取代的、饱和或不饱和的4、5或6元环；或者， R^1 或 R^2 可与相邻碳原子上的 R^1 或 R^2 结合形成取代或未取代的、饱和或不饱和的4、5或6元环； n 为0-10。

3. 根据权利要求1的方法，其中，所述的二氨基环己烷-二羧酸铂选自二氨基环己烷-草酸铂、二氨基环己烷-丙二酸铂、二氨基环己烷-琥珀酸铂、二氨基环己烷-戊二酸铂、二氨基环己烷-己二酸铂、二氨基环己烷-庚二酸铂、二氨基环己烷-马来酸铂、二氨基环己烷-富马酸铂、二氨基环己烷-邻苯二甲酸铂和二氨基环己烷-酒石酸铂。

4. 根据权利要求1的方法，其中，所述的二羧酸选自琥珀酸、戊二酸、己二酸、庚二酸、马来酸、富马酸、壬二酸、辛二酸、癸二酸、酒石酸和邻苯二甲酸。

5. 根据权利要求3的方法，其中，所述的二氨基环己烷-二羧酸铂为二氨基环己烷-丙二酸铂。

6. 根据权利要求1的方法, 其中, 所述磷脂选自二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱、二肉豆蔻酰磷脂酰甘油、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰甘油、或其混合物。

7. 根据权利要求6的方法, 其中, 所述的磷脂为二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱与二肉豆蔻酰磷脂酰甘油的混合物。

8. 根据权利要求7的方法, 其中, 所述的二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱与二肉豆蔻酰磷脂酰甘油的重量比为约 7:3。

9. 根据权利要求1的方法, 其中, 当用药学上可接受的水性稀剂进行配制时, 所述磷脂与所述水不溶性二羧酸铂配合物的所述复合物形成胶态分散体。

10. 根据权利要求1的方法, 其中, 将所述磷脂与水不溶性二羧酸铂配合物的所述复合物进行冷冻干燥。

11. 根据权利要求10的方法, 其中, 向复合物中加入一种药学上可接受的赋形剂。

12. 根据权利要求11的方法, 其中, 所述的赋形剂为甘露糖醇。

13. 根据权利要求10的方法, 其中, 将胆固醇或其半琥珀酸酯衍生物加至所述复合物中。

14. 根据权利要求10的方法, 其中, 当用药学上可接受的水性稀释剂进行配制时, 所述的脂质复合物形成胶态分散体。

高不溶性铂配合物的脂质复合物和脂质体

本发明涉及一种高不溶性铂配合物的脂质复合物和脂质体，更具体地说，本发明涉及一种二羧酸铂的磷脂复合物，采用或不采用冷冻干燥技术可将其配制在药学上可接受的载体中，并将其给药于患有癌症和其它疾病的患者。

某此铂配合物已显示出对癌症具有优异的活性。但是，由于这些配合物不能溶解于药学上可接受的载体，其临床应用受到了极大的限制。例如，业已表明，二氨基环己烷(DACH)与铂化合物的配合物对几种类型的癌症均具有活性。然而，DACH-铂配合物几乎不溶于含水载体中和多数有机溶剂中。DACH-铂不溶于有机溶剂妨碍其通过已知方法在脂质体中的包囊或在脂质复合物中的应用。

因而，人们仍希望能制备出高不溶性物质如 DACH-铂配合物的增溶的并且药学上稳定的形式。

发明概述

本发明的目的是提供一种水不溶性铂配合物的可溶性、药学上可接受的剂型。

本发明的另一个目的是提供二氨基环己烷-铂配合物的磷脂复合物或脂质体。

本发明的另一个目的是提供一种冷冻干燥的二氨基环己烷-铂-磷脂复合物或脂质体冷冻干燥的药学上可接受的剂型。

以下，将详细描述本发明二氨基环己烷-丙二酸铂的脂质复合物或脂质体的制备方法和二氨基环己烷-丙二酸铂的脂质复合物的冷冻干燥物的制备方法，本领域的技术人员易于理解，本文所述方法也适用于制备其它被认为是水不溶性且不能通过注射或输注方式给

药的铂配合物的脂质复合物或脂质体和冷冻干燥物。

按照本发明的一个具体实施方案，提供了能与药学上可接受的水性稀释剂如水进行配制以用于注射的二氨基环己烷-二羧酸铂的磷脂复合物或脂质体。

DACH-二羧酸铂的可溶性磷脂复合物可通过下述方法就地制备：使 DACH 与四氯铂酸钾和碘化钾反应形成 DACH-碘化铂，再使 DACH-碘化铂与硝酸银反应得到 DACH-硝酸铂。然后，使 DACH-硝酸铂同时与磷脂氯仿/乙醇溶液和羧酸反应，形成 DACH-二羧酸铂的脂质复合物产品。业已发现，铂配合物的羧酸化可极大地降低其水溶解性。根据本发明，通过延缓羧酸化反应直至形成脂质复合物或脂质体时，则可以保持铂化合物的溶解性，从而使配合物的溶液可用于形成脂质复合物或脂质体。

本发明的 DACH-二羧酸铂也可以制成脂质体。脂质体广泛描述在现有技术的文献中，其结构也是公知的。本发明中，脂质体这样制备：形成活性成分的膜，本发明中活性成分为 DACH-硝酸铂和磷脂，加入羧酸，然后将磷脂的溶剂如氯仿/乙醇蒸发，得到所述膜，加入注射用水，最后对形成的脂质体进行均化处理。

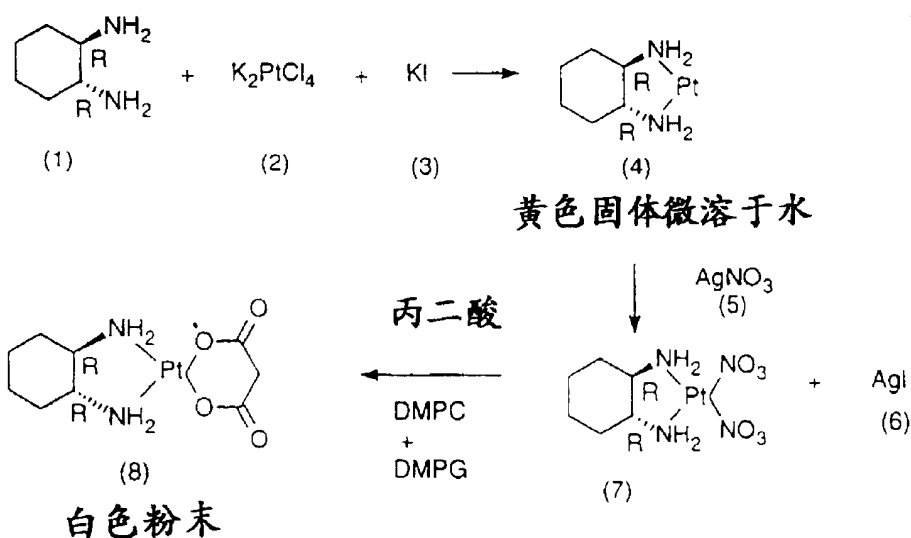
发明详述

术语“脂质复合物”是在制备药用化合物中常规采用的术语。脂质复合物的特征是，在脂质与药用化合物间为非共价键，在示差扫描量热法中可观察到相变。

本文中，术语“药学上可接受的水性稀释剂”是指注射用水、盐水和其它公知的水性载体。

术语“冷冻干燥赋形剂”是指在冷冻干燥前加入溶液中以增强诸如干燥块的颜色、组织、强度和体积等特性的物质。冷冻干燥赋形剂的实例在下面描述。

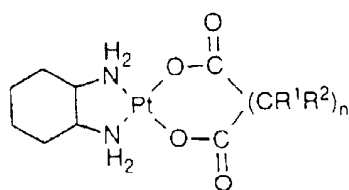
按照本发明的一种实施方案，根据下述反应路线制备二氨基环己烷铂配合物的脂质复合物：



如上面第一步所述，二氨基环己烷(1)、四氯铂酸钾(2)和碘化钾(3)以化学计量量在水中进行反应，得到二氨基环己烷-碘化铂(4)，这种产物仅微溶解于水中。向二氨基环己烷-碘化铂(4)中加入硝酸银溶液(5)，形成二氨基环己烷-硝酸铂(6)。二氨基环己烷-硝酸铂(6)可溶于水，但因其会造成肾中毒，因而不能用作抗肿瘤药。向二氨基环己烷-硝酸铂(6)中加入适宜的磷脂(7)，并同时加入过量的二羧酸(8)如丙二酸(用于说明)，所述磷脂优选为二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱与二肉豆蔻酰磷脂酰甘油的混合物的氯仿/乙醇溶液。在通过氮气吹扫除去氯仿/乙醇后，形成二氨基环己烷-二羧酸铂，其同时与磷脂(7)配合。然后，对二氨基环己烷-二羧酸铂产物(9)进行离心处理，再悬浮于注射用水中。上述过程涉及制备DACH配合物，本领域的技术人员易于理解，可采用其它配位体或螯合剂以制备其它配合物。

用于制备二氨基环己烷-二羧酸铂的羧酸包括：草酸、丙二酸、琥珀酸、戊二酸、己二酸、庚二酸、马来酸、富马酸、壬二酸、辛二酸、癸二酸、酒石酸、邻苯二甲酸等。这些酸可被取代或未被取代。本发明中，优选采用丙二酸。

用于本发明的二氨基环己烷-二羧酸铂具有下述结构式：



其中, R^1 和 R^2 相同或不同, 代表氢、 C_1 - C_{10} 烷基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_7 - C_{18} 烷芳基、 C_7 - C_{18} 芳烷基, 或者, R^1 和 R^2 可形成取代或未取代的、饱和或不饱和的 4、5 或 6 元环; 或者, R^1 或 R^2 可与相邻碳原子上的 R^1 或 R^2 结合形成取代或未取代的、饱和或不饱和的 4、5 或 6 元环; n 为 0-10。

二氨基环己烷-二羧酸铂通常为二氨基环己烷-草酸铂、二氨基环己烷-丙二酸铂、二氨基环己烷-琥珀酸铂、二氨基环己烷-戊二酸铂、二氨基环己烷-己二酸铂、二氨基环己烷-庚二酸铂、二氨基环己烷-马来酸铂、二氨基环己烷-富马酸铂、二氨基环己烷-邻苯二甲酸铂和二氨基环己烷-酒石酸铂等。优选的二氨基环己烷-二羧酸铂为二氨基环己烷-丙二酸铂或丙二酸部分被诸如烷基如丁基取代的二氨基环己烷-丙二酸铂。

用于制备磷脂溶液的有机溶剂必须与磷酸相容, 不能使磷脂或 DACH-硝酸铂配合物去稳定。此外, 脂质应能充分溶解于溶剂中, 从而能使足够的脂质形成复合物, 并尽可能减少以后必须除去的溶剂用量。最优选易于从脂质复合物的分散体中除去的挥发性或低熔点溶剂。最典型的用于制备这种溶液的溶剂是氯仿、乙醇或二氯甲烷或其混合物。氯仿和乙醇的混合物在本发明中可得到良好的结果。

磷脂天然具有两亲性, 即, 磷脂分子具有疏水端基如长链烃基和亲水头。在水性介质如水或盐水中, 尾端相互间排列, 远离水分子, 而亲水头则朝向水相。正是磷脂的这一性质使其特别适用于配制像本发明的高不溶性药物。

应对用于本发明的磷脂进行选择以使其相转变温度约等于或低于体温或约 37°C 。有用的磷脂的代表性实例包括: 合成磷脂二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱 (DMPC)、二肉豆蔻酰磷脂酰甘油 (DMPG)、二棕榈酰磷脂酰胆碱 (DPPC)、二棕榈酰磷脂酰甘油 (DPPG)、二硬脂酰磷脂酰

胆碱(DSPC)、二硬脂酰磷脂酰甘油(DSPG), 或其混合物。其它磷脂的实例在下述文献中有述: CRC 脂质双层手册, Marsh, M. A., CRC 出版社 (1990)。当采用 DMPC 和 DMPG 时, DMPC 与 DMPG 的比例为约 7:3, 它们模拟了细胞膜。

将脂质溶液加至 DACH-硝酸铂溶液中, 从而使 DACM-硝酸铂与脂质的重量比为约 1:80 至 1:5, 优选约 1:80 至 1:10, 更优选约 1:45 至 1:25。

在某些应用时, 发现向脂质复合物中加入胆固醇或其半琥珀酸酯衍生物是有利的。据信, 胆固醇可使双层包裹得更加紧密, 从而减缓了药物的释放。这一措施对皮下制剂是特别有用的, 在此情形下, 如果药物输送得太快, 则可能导致严重坏死。胆固醇被加至磷脂溶液中。胆固醇的用量可为约 0.5 至 15 份/100 份磷脂。

本领域公知的各种技术均可用于从脂质-DACH-二羧酸铂复合物中除去溶剂。例如, 可通过用惰性气体如氮气进行吹扫以方便地除去如前讨论的氯仿/乙醇混合物。

DACH-二羧酸铂的磷酸复合物可悬浮于药学上可接受的载体如注射用水中, 或者, 该配合物也可采用药学上可接受的冷冻干燥赋形剂将其冷冻干燥。甘露糖醇为常规采用的赋形剂, 但也可采用其它不与药物或脂质复合物反应的其它赋形剂。也可以用于本发明的普通赋形剂的实例为磷酸钾或钠、柠檬酸、酒石酸、明胶和碳水化合物如乳糖、葡萄糖、葡聚糖、羟乙基淀粉等。赋形剂可单独使用或组合使用以得到易于在复配时分散于水中的具有优良质量的块状物。

赋形剂通常以水溶液形式加至分散体中。另外, 希望使用浓溶液以减少在冷冻干燥时须除去的水量。赋形剂的用量可以本领域公知的方式进行调节, 以得到不会裂开或收缩的块状物, 并且, 这种块状物为多孔材料, 易于溶解, 并具有优良的外观。已发现甘露糖醇是有用的。甘露糖醇以浓度为约 5 至 150g/ml 的溶液加至分散体中。以 1 份磷脂-DACH-二羧酸铂复合物计, 甘露糖醇的用量为约 1

至 100 重量份。

在除去溶剂及加入赋形剂后，将分散体用均质器进行均化处理（可采用 Tekmar 转子/定子均质器，T25 型，或者采用 microfluidics 浸入喷射式均质器，M110Y 型）。一般而言，分散体的颗粒尺寸越小，则在冷冻干燥循环中制剂干燥得越快。分散体的粒径分布范围为约 10-500nm，平均为约 250nm 时，可获得满意的冷冻干燥结果。最佳的粒径可根据给药的方式改变。

用于本发明的常规冷冻干燥过程在下面提供。该过程可按本领域技术人员公知的方法根据设置和设施进行改变。

均质后的制剂可倒入标称容积 5-50ml 的小瓶中。将这种小瓶放置在约 5℃ 的冷冻干燥室中。通常，应选择小瓶的容积以使每一支小瓶包含单一剂量的磷脂-DACH-二羧酸铂。在 1 小时内，将干燥室的温度降低至 -30℃，此后，将温度保持在 -30℃ 下约 4 小时。然后，将冷冻干燥室的压力减少至 200-250 微米，并在冷冻过程中保持该压力。在冷冻室压力降低后，将温度在 15 小时内升高至 25℃，将产品在 25℃ 下保持 5 小时。再在 20 分钟内将温度升至 40℃，并在该温度下放置 2 小时。冷冻干燥后产品的最终含水量小于约 5%，优选约 1-2%。

对于静脉内给药或皮下给药而言，复合物可采用水性载体如水、盐水或另一种电解质进行复配。冷冻干燥的产品加入水后得到一种脂质复合物在赋形剂水溶液中的胶态分散体。复合物或脂质均不溶于水。胶态分散体由至少两种不同相组成。第一相为分散相或内相。第二相为连续相或外相。在胶态下的体系包含一种或多种至少尺寸为 10-100 埃至几个微米的物质。参见下述文献：Remington 药物科学 - 分散系统 (Disperse Systems, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18 版, 19 章, 272-4 页, Mack Publishing Company, Easton, PA 18042)。在本发明的胶态分散体中，分散相或内相包含磷脂-DACH-二羧酸铂复合物，其粒径为约 10-1000nm。在选择水性载体时，推荐使用比重约等于脂质复合物

(估计为 1.08g/cc)的那些, 以减少分散体分离的可能性。

脂质复合物的冷冻干燥物可用水、盐水或其它用于静脉内给药的药学上可接受水性稀释剂复配。在复配后, 得到适于进行注射的分散体。冷冻干燥物也可以含水分散体或以糊剂口服给药。

对于口服给药而言, 冷冻干燥物可复配形成口服分散体或配制成糊剂。或者, 冷冻干燥物可填充入软明胶胶囊中用于口服给药。

磷脂-DACH-二羧酸铂复合物以治疗有效量给药。复合物的剂量在文献中已有描述。优选采用可编程连续输液移动式泵, 将药物以连续输液形式在 3-21 天内给药。可以预期, 药物将会与粒细胞集落刺激因子(GCSF)一起给药。

虽然磷脂-DACH-二羧酸铂复合物可被冷冻干燥, 磷脂-DACH-二羧酸铂复合物是药学上具有活性的, 其通常可不经冷冻干燥而配制成用于口服给药、静脉内给药或皮下给药的剂型。制剂助剂如抗菌剂和抗氧化剂可用于增强复合物的稳定性。

磷脂复合物二氨基环己烷二羧酸盐的脂质体可这样制备: 将二氨基环己烷硝酸铂的溶液加至适宜的磷脂中, 加入二羧酸, 蒸发出用于磷脂的溶剂, 形成一种脂质体膜, 加入注射用水, 将形成的脂质体进行均质化。

以下, 参考下述非限定性实施例对本发明进行更详细的描述。

实施例 1

将 20.0g 的 K_2PtCl_4 (四氯铂酸钾)、54.2g 的 KI(碘化钾)和 5.0g 的 DACH(二氨基环己烷)溶解于 600mL 水中, 使反应进行 1 小时。从水中沉淀出产物 DACH- PtI_2 。

将 10.8g 的 $AgNO_3$ (硝酸银)溶解于 170mL 水中。在搅拌下向其中加入 17.9g 的 DACH- PtI_2 。反应过夜, 得到 DACH- $PtNO_3$ 。

向 3.1ml DACH- $PtNO_3$ 溶液(浓度为 65mg/ml)中, 加入 0.1M 的氢氧化钠, 直至 pH 值为 5.5 至 5.7。

将 4200mg 的二肉豆蔻酰磷酰胆碱(DMPS)溶解于 8.5ml 无水乙醇

中。向其中加入 1800mg 溶解于 5ml 氯仿中的二肉豆蔻酰磷酰甘油 (DMPG)。

制备 13%W/V 的丙二酸溶液。用氢氧化钠调节 pH 值为 5.5 至 5.7。

将脂质溶液加热至 40-50℃，容器保持覆盖。向该溶液中加入 DACH-PtNO₃ 溶液。将内容物搅拌 20 分钟。然后，除去容器的盖子，使溶剂蒸发。向其中加入 25ml 的 0.9%氯化钠溶液。残存的溶剂通过用氮气吹扫而除去。将脂质复合物的悬浮液补足为 50ml。采用 Tekmar 均化机使粒径减小。

实施例 2

重复实施例 1 的过程，只是采用的二羧酸为丁基丙二酸。

表 1 说明了 DACH-丙二酸铂和 DACH-丁基丙二酸铂的磷脂复合物的抗肿瘤活性与顺铂和安慰剂的比较。

基于以上对本发明的详细描述及优选的实施方案，不背离如权利要求书所定义的本发明范围的各种改变和改进均是显而易见的。

表 1
DACH-铂化合物对耐铂 P388 细胞系的抗肿瘤活性

制剂	剂量 (mg/kg)	平均死亡 天数	%存活时 间增加	肿瘤负担变化 的 Log ₁₀ 值	%T/C
DACH-丙二酸铂	60.0	23.5	+80	-2.1	180.7
	40.0	21.0	+61	0	161.5
	27.0	20.0	+53	+0.8	153.8
DACH-丁基丙二酸铂	60.0	21.5	+65	-0.4	165.3
	40.0	21.0	+61	0	161.5
	27.0	20.5	+57	+0.4	157.7
顺铂	8.0	16.0	+23	+1.5	123.1
	5.3	15.0	+15	+1.5	115.4
	3.5	13.6	+3	+1.7	103.8
对照(安慰剂) 初始肿瘤负担 = 1.0×10^6	-	13.0	-		