

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

A61K 9/14

A61K 9/20 A61K 9/48

A61K 9/50 A61K 38/00

A61K 47/32 A01N 25/00

A01N 37/18 A01N 43/04

## [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00803535.0

[43] 公开日 2002 年 3 月 6 日

[11] 公开号 CN 1338924A

[22] 申请日 2000.1.7 [21] 申请号 00803535.0

[30] 优先权

[32] 1999.1.8 [33] US [31] 60/115,273

[86] 国际申请 PCT/US00/00476 2000.1.7

[87] 国际公布 WO00/40203 英 2000.7.13

[85] 进入国家阶段日期 2001.8.7

[71] 申请人 艾米斯菲尔技术有限公司

地址 美国纽约州

共同申请人 弗吉尼亚州立大学

[72] 发明人 S · J · 米尔斯滕

E · N · 巴兰特赛维奇 王乃方 廖俊

J · E · 斯玛特 R · D · 坎缇瑟罗

R · M · 奥滕布利特

[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 黄淑辉

权利要求书 17 页 说明书 46 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 聚合物输送剂和输送剂化合物

[57] 摘要

提供了聚合物输送剂、输送剂化合物和用于输送活性剂的包括它们的组合物。也提供了给药和制备的方法。

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

## 权利要求书

---

1. 聚合物输送剂，它包括通过连接基团共轭到改性氨基酸或它的衍生物上的聚合物，该连接基团选自由-NHC(O)NH-，-C(O)NH-，-NHC(O)-，-OOC-，-COO-，-NHC(O)O-，-OC(O)NH-，-CH<sub>2</sub>NH-，-NHCH<sub>2</sub>-，-CH<sub>2</sub>NHC(O)O-，-OC(O)NHCH<sub>2</sub>-，-CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>O-，-OCH<sub>2</sub>C(O)NHCH<sub>2</sub>-，-NHC(O)CH<sub>2</sub>O-，-OCH<sub>2</sub>C(O)NH-，-NH-，-O-和碳碳键组成的种类中，条件是聚合物输送剂不是多肽或多氨基酸。

2. 权利要求书 1 的聚合物输送剂，其中的改性氨基酸为酰化或磺化氨基酸、酰化或磺化氨基酸的酮或醛、它们的盐、或上述中任何一种的多氨基酸或多肽。

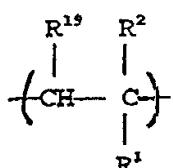
3. 权利要求书 1 的聚合物输送剂，其中的聚合物选自聚乙烯、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯、聚(氧化乙烯)、聚丙烯、聚丙二醇、聚乙二醇(PEG)、PEG-马来酸酐共聚物和它们的衍生物和组合物。

4. 权利要求书 1 的聚合物输送剂，其中的聚合物具有从大约 100 到大约 200,000 道尔顿的分子量。

5. 权利要求书 4 的聚合物输送剂，其中的分子量是从 200 到大约 10,000 道尔顿。

6. 权利要求书 5 的聚合物输送剂，其中的分子量是从大约 200 到大约 600 道尔顿。

7. 权利要求书 1 的聚合物输送剂，其中的聚合物输送剂包括具有下面结构式的单元：



或它的盐，其中

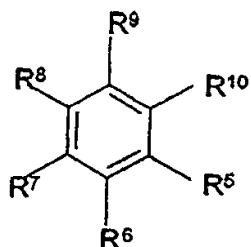
其中 R<sup>1</sup> 为改性氨基酸，它是通过连接基团键合在聚合物上，该连接基团

选自由-NHC(0)NH-, -C(0)NH-, -NHC(0)-, -OOC-, -COO-, -NHC(0)O-, -OC(0)NH-, -CH<sub>2</sub>NH-, -NHCH<sub>2</sub>-,-CH<sub>2</sub>NHC(0)O-, -OC(0)NHCH<sub>2</sub>-,-CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>O-, -OCH<sub>2</sub>C(0)NHCH<sub>2</sub>-,-NHC(0)CH<sub>2</sub>O-, -OCH<sub>2</sub>C(0)NH-, -NH-, -O-和碳碳键组成的种类中;

R<sup>2</sup>为H或-CH<sub>3</sub>; 并且

R<sup>19</sup>为H或-COOH.

8. 权利要求书 7 的聚合物输送剂, 其中 R<sup>1</sup>为-R<sup>3</sup>-R<sup>4</sup>, 其中 R<sup>3</sup>为-NHC(0)NH-, -C(0)NH-, -NHC(0)-, -OOC-, -COO-, -NHC(0)O-, -OC(0)NH-, -CH<sub>2</sub>NH-, -NHCH<sub>2</sub>-,-CH<sub>2</sub>NHC(0)O-, -OC(0)NHCH<sub>2</sub>-,-CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>O-, -OCH<sub>2</sub>C(0)NHCH<sub>2</sub>-,-NHC(0)CH<sub>2</sub>O-, -OCH<sub>2</sub>C(0)NH-, -NH-, -O-和碳碳键; 并且 R<sup>4</sup>具有下面的结构式:



其中

R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>和R<sup>9</sup>是彼此无关地键接到R<sup>3</sup>或H、Cl、Br、F、-OH、-CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>或-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>的键;

R<sup>10</sup>为键接到R<sup>3</sup>或-COOH或-C(0)NH-R<sup>11</sup>-R<sup>12</sup>的键;

R<sup>11</sup>为取代或未取代的、具有从大约1到大约11链长的线型或支化烷撑或-R<sup>13</sup>-R<sup>14</sup>-。

R<sup>12</sup>为键接到R<sup>3</sup>的链或为-COOH、-NH<sub>2</sub>、-OH、-C(0)-R<sup>15</sup>、-COO-R<sup>15</sup>、-NHR<sup>15</sup>、-OR<sup>15</sup>、Cl或Br;

R<sup>13</sup>为取代或未取代的苯撑;

R<sup>14</sup>为取代或未取代的、具有从大约1到大约5链长的线型或支化烷撑;

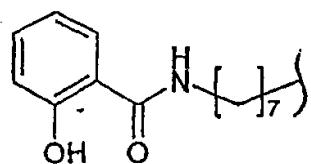
R<sup>15</sup>为键接到R<sup>3</sup>的键; 并且

m为从大约1到大约4。

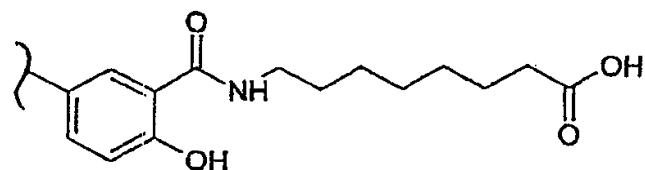
9. 权利要求书 8 的聚合物输送剂, 其中 R<sup>4</sup>为选自由下面结构式组成的种

01-06-07

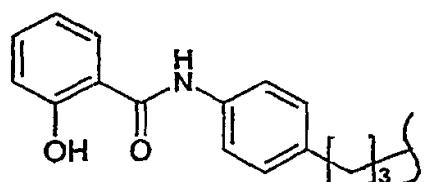
类中：



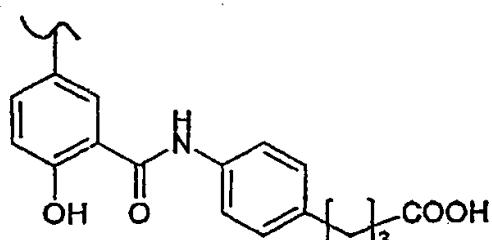
I



(I-COOH)

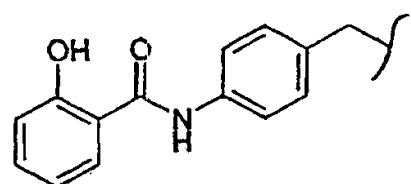
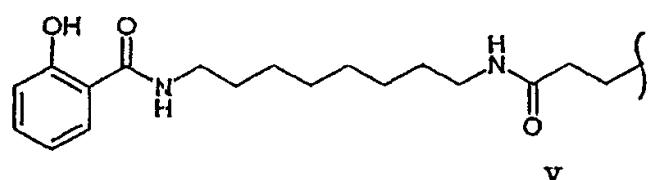
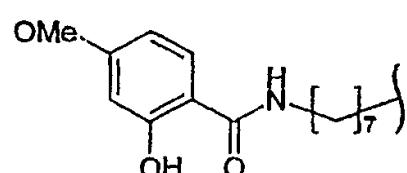
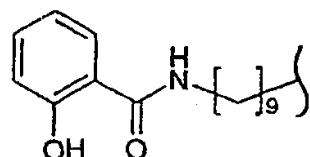


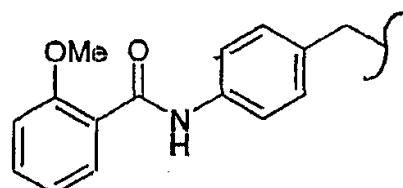
II



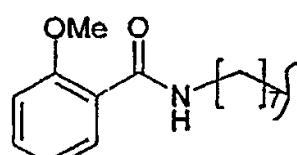
(II-COOH)

01-08-07

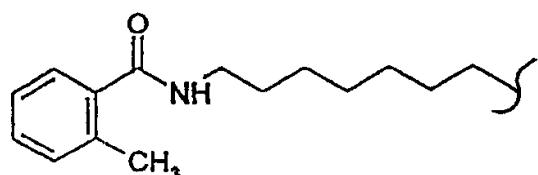




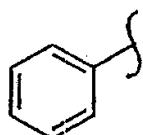
VII



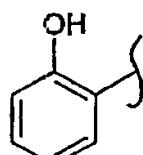
VIII



IX



X



XI

和它们的盐。

10. 权利要求 1 的聚合物输送剂，其中的聚合物输送剂包括具有下面结构式的单元：



或它的盐，其中

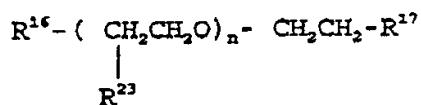
$R^{16}$  为改进氨基酸，它是通过连接基团键合到聚合物上，该连接基团选自由  $-NHC(O)NH-$ ,  $-C(O)NH-$ ,  $-NHC(O)-$ ,  $-OOC-$ ,  $-COO-$ ,  $-NHC(O)O-$ ,  $-OC(O)NH-$ ,  $-CH_2NH-$ ,  $-NHCH_2-$ ,  $-CH_2NHC(O)O-$ ,  $-OC(O)NHCH_2-$ ,  $-CH_2NHCOCH_2O-$ ,  $-OCH_2C(O)NHCH_2-$ ,  $-NHC(O)CH_2O-$ ,  $-OCH_2C(O)NH-$ ,  $-NH-$ ,  $-O-$  和碳碳键组成的种类中；

$R^{17}$  为  $-OH$ 、 $-OCH_3$  或  $-R^{18}$ ;

$R^{18}$  与上面  $R^{15}$  定义相同；并且

$R^{24}$  为具有  $- (CH_2CH_2O) -$ 、 $- (CH(CH_3)CH_2O) -$  或它们的结合。

11. 权利要求 10 的聚合物输送剂，其中的聚合物输送剂包括具有下面结构式的单元：

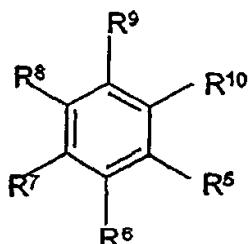


或它的盐，其中

$R^{23}$  为  $H$  或  $-CH_3$ ；并且

$n$  为从大约 3 到大约 200。

12. 权利要求 11 的聚合物输送剂，其中  $R^{16}$  和  $R^{18}$  彼此无关地为  $-R^3-R^4$ ，其中  $R^3$  为  $-NHC(O)NH-$ ,  $-C(O)NH-$ ,  $-NHC(O)-$ ,  $-OOC-$ ,  $-COO-$ ,  $-NHC(O)O-$ ,  $-OC(O)NH-$ ,  $-CH_2NH-$ ,  $-NHCH_2-$ ,  $-CH_2NHC(O)O-$ ,  $-OC(O)NHCH_2-$ ,  $-CH_2NHCOCH_2O-$ ,  $-OCH_2C(O)NHCH_2-$ ,  $-NHC(O)CH_2O-$ ,  $-OCH_2C(O)NH-$ ,  $-NH-$ ,  $-O-$  和碳碳键；并且  $R^4$  具有下面的结构式：



其中

$R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 和 $R^9$ 彼此无关地键接到 $R^3$ 或H、Cl、Br、F、-OH、-CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>或-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>的键；

$R^{10}$ 为键接到 $R^3$ 或-COOH或-C(O)NH-R<sup>11</sup>-R<sup>12</sup>的键；

$R^{11}$ 为取代或未取代的、具有从大约1到大约11链长的线型或支化烷撑或-R<sup>13</sup>-R<sup>14</sup>-。

$R^{12}$ 为键接到 $R^3$ 的键或为-COOH、-NH<sub>2</sub>、-OH、-C(O)-R<sup>15</sup>、-COO-R<sup>15</sup>、-NHR<sup>15</sup>、OR<sup>15</sup>、Cl或Br；

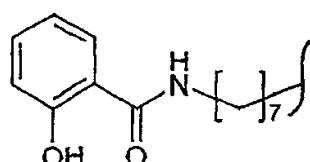
$R^{13}$ 为取代或未取代的苯撑；

$R^{14}$ 为取代或未取代的、具有从大约1到大约5链长的线型或支化烷撑；

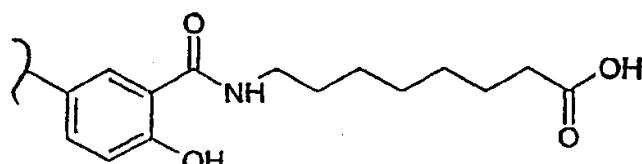
$R^{15}$ 为键接到 $R^3$ 的键；并且

$m$ 为从大约1到大约4。

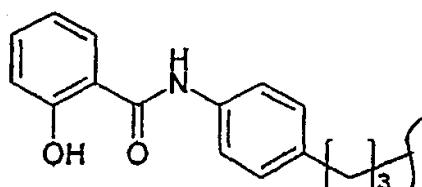
13. 权利要求12的聚合物输送剂，其中 $R^4$ 为选自由下面结构式组成的种类中：



I

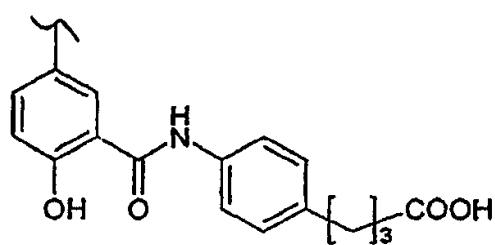


(I-COOH)

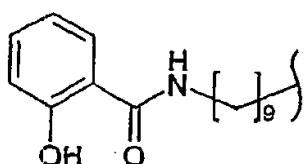


II

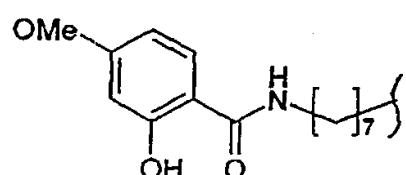
01-06-07



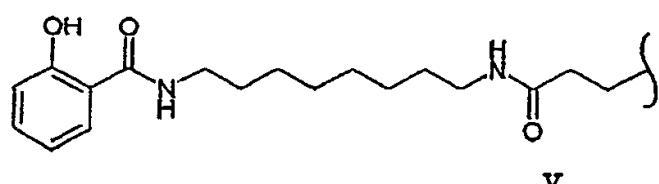
(II-COOH)



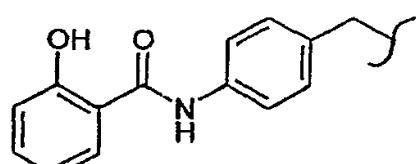
III



IV

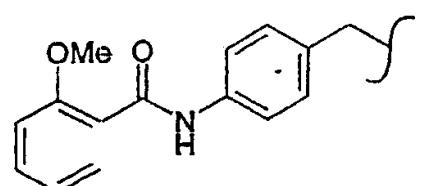


V

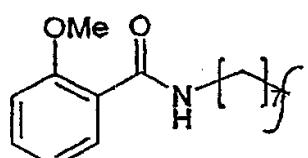


VI

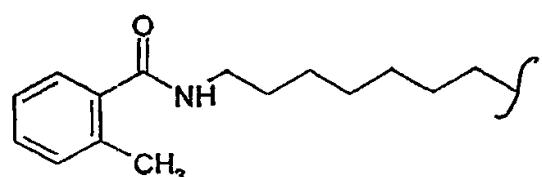
01-08-07



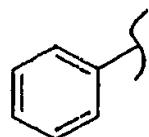
VII



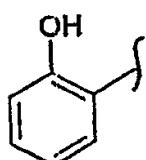
VIII



IX



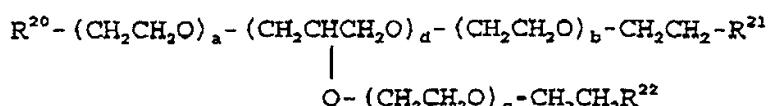
X



XI

和它们的盐。

14. 权利要求 1 的聚合物输送剂，其中的聚合物输送剂包括下面的单元：

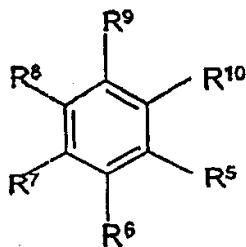


或它的盐，其中

$R^{20}$ 、 $R^{21}$ 和 $R^{22}$ 彼此无关地为H或改性氨基，氨基是通过连接基团键合在聚合物上，该连接基团选自由-NHC(0)NH-，-C(0)NH-，-NHC(0)-，-OOC-，-COO-，-NHC(0)O-，-OC(0)NH-，-CH<sub>2</sub>NH-，-NHCH<sub>2</sub>-，-CH<sub>2</sub>NHC(0)O-，-OC(0)NHCH<sub>2</sub>-，-CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>O-，-OCH<sub>2</sub>C(0)NHCH<sub>2</sub>-，-NHC(0)CH<sub>2</sub>O-，-OCH<sub>2</sub>C(0)NH-，-NH-，-O-和碳碳键组成的种类中；

a、b和c彼此无关地为从大约1到大约50的整数；并且  
d处于从大约2到大约10。

15. 权利要求14的聚合物输送剂，其中 $R^{20}$ 、 $R^{21}$ 和 $R^{22}$ 彼此无关地为- $R^3-R^4$ ，其中 $R^3$ 为-NHC(0)NH-，-C(0)NH-，-NHC(0)-，-OOC-，-COO-，-NHC(0)O-，-OC(0)NH-，-CH<sub>2</sub>NH-，-NHCH<sub>2</sub>-，-CH<sub>2</sub>NHC(0)O-，-OC(0)NHCH<sub>2</sub>-，-CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>O-，-OCH<sub>2</sub>C(0)NHCH<sub>2</sub>-，-NHC(0)CH<sub>2</sub>O-，-OCH<sub>2</sub>C(0)NH-，-NH-，-O-和碳碳键；并且 $R^4$ 具有下面的结构式：



其中

$R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 和 $R^9$ 彼此无关地键接到 $R^3$ 或H、Cl、Br、F、-OH、-CH<sub>3</sub>、-OCH<sub>3</sub>或-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>的键；

$R^{10}$ 为键接到 $R^3$ 或-COOH或-C(O)NH-R<sup>11</sup>-R<sup>12</sup>的键；

$R^{11}$ 为取代或未取代的、具有从大约1到大约11链长的线型或支化烷撑或-R<sup>13</sup>-R<sup>14</sup>-。

$R^{12}$ 为键接到 $R^3$ 的键或为-COOH、-NH<sub>2</sub>、-OH、-C(O)-R<sup>15</sup>、-COO-R<sup>15</sup>、-NHR<sup>15</sup>、-OR<sup>15</sup>、Cl或Br；

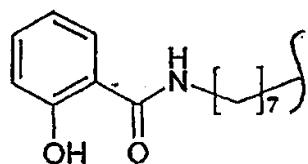
$R^{13}$ 为取代或未取代的苯撑；

$R^{14}$ 为取代或未取代的、具有从大约1到大约5链长的线型或支化烷撑；

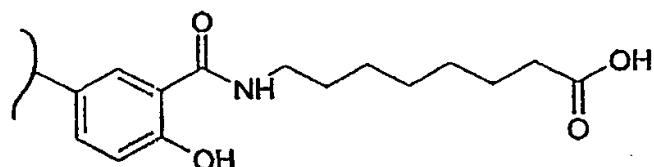
$R^{15}$ 为键接到 $R^3$ 的键；并且

$m$ 为从大约1到大约4。

16. 权利要求15的聚合物输送剂，其中 $R^4$ 为选自由下面结构式组成的种类中：

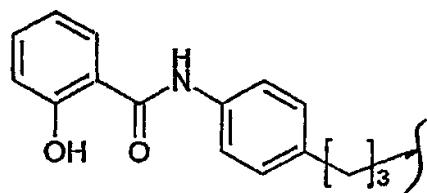


I

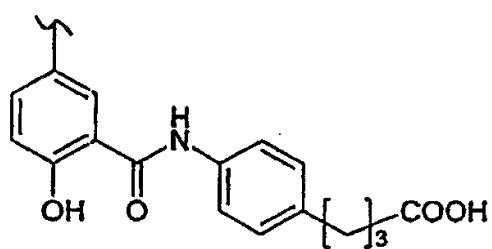


(I-COOH)

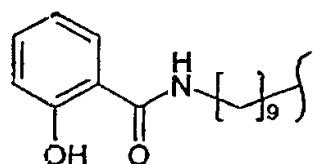
01-06-07



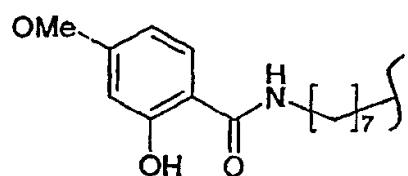
II



(II-COOH)

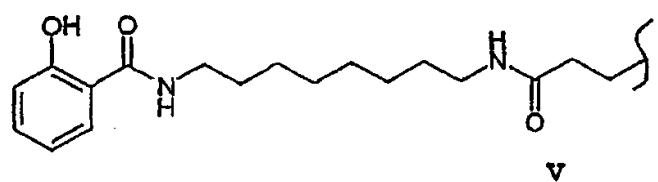


III

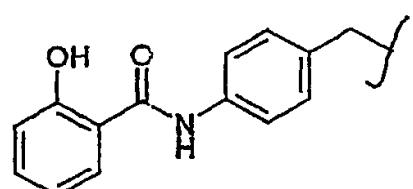


IV

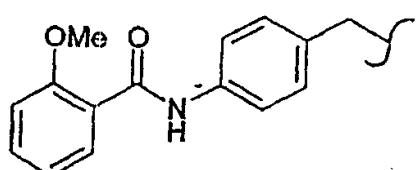
01-06-07



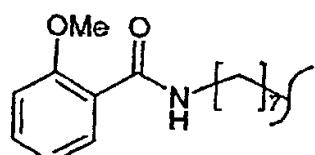
V



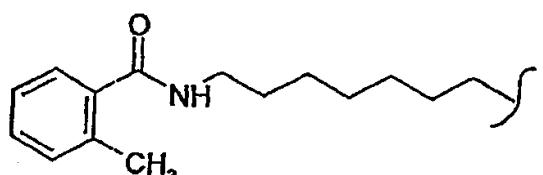
VI



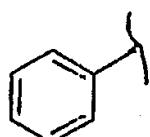
VII



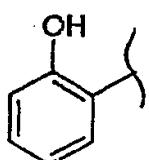
VIII



IX



X



XI

和它们的盐。

17. 组合物，包括
  - (a) 活性剂；和
  - (b) 权利要求 1 的聚合物输送剂。
18. 组合物，包括
  - (a) 活性剂；和
  - (b) 权利要求 7 的聚合物输送剂。
19. 组合物，包括
  - (a) 活性剂；和
  - (b) 权利要求 10 的聚合物输送剂。
20. 组合物，包括
  - (a) 活性剂；和
  - (b) 权利要求 14 的聚合物输送剂。
21. 权利要求 17 的组合物，其中的活性剂是选自由生物活性剂、化学活性剂和它们的组合的种类中。

22. 权利要求 21 的组合物，其中的生物活性剂包括至少一种蛋白质、多肽、肽、激素、多糖化物，粘多糖、碳水化物或类脂物

23. 权利要求 22 的组合物，其中的生物活性剂选自下面的种类中，该种类包括人体生长激素、重组人体生长激素、牛生长激素、猪生长激素、生长激素输送激素、干扰素， $\alpha$ -干扰素、 $\beta$ -干扰素和 $\gamma$ -干扰素、白介素-1、白介素-2、胰岛素、猪胰岛素、牛胰岛素、人体胰岛素、人体重组胰岛素、类胰岛素生长因子(IGF)、IGF -1、肝素、未分级的肝素、类肝素，皮肤素，软骨素，低分子量的肝素、很低分子量的肝素、超低分子量的肝素、降钙素、鲑鱼降钙素、鳗鱼降钙素、人体降钙素、促红细胞生成素、前房自然因子、抗原、单克隆抗体、生长抑素、蛋白酶抑制剂、促肾上腺皮质激素、促性腺激素输送激素、催产素、促黄体激素输送激素、促卵泡激素、葡萄糖脑苷脂酶、血小板生成素、粒细胞集落刺激因子、前列腺素、环孢菌素、后叶加压素、色甘酸钠、色甘酸单钠、色甘酸二钠、万古霉素、甲状腺素、甲状腺素的片段、去铁敏、抗生素，抗真菌剂、维生素；这些化合物的类似物、片段、模拟物或聚乙二醇-改进行衍生物；和它们的任意组合。

24. 权利要求 23 的组合物，其中的活性剂包括肝素、未分级的肝素、低分子量的肝素、极低分子量的肝素、超低分子量的肝素、降钙素、甲状腺素、促红细胞生成素、人体生长激素、重组人体生长激素、或它们的组合。

25. 一种剂量单位形式，包括：

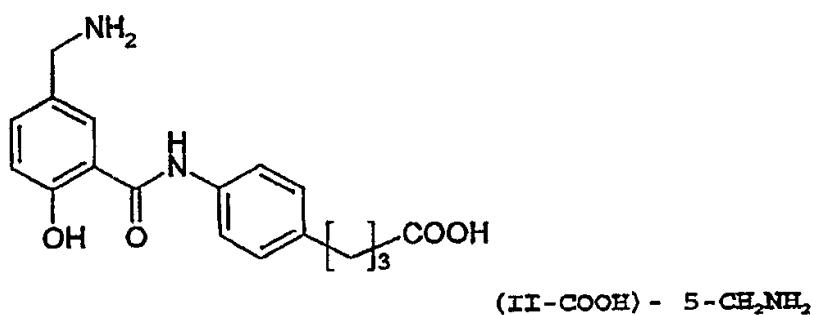
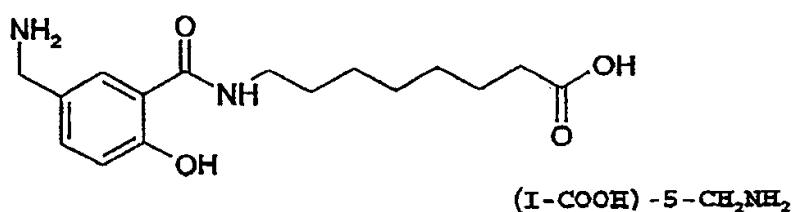
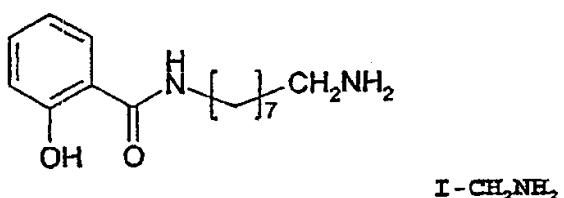
- (A) 权利要求 17 的组合物；和
- (B) (a) 赋形剂，  
 (b) 稀释剂，  
 (c) 崩解剂、  
 (d) 润滑剂，  
 (e) 增塑剂  
 (f) 色料  
 (g) 配料载体，或

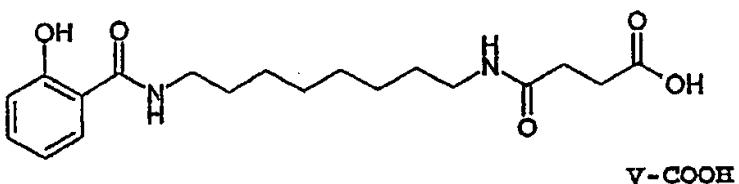
(h) 它们的任意组合。

26. 权利要求 25 的剂量单位形式，它包括片、胶囊、粉末或液体。
27. 将生物活性剂给药到需要该试剂的动物上的方法，包括通过选自由口腔、结肠内、十二指肠内组成的种类中的途径，将权利要求 17 的组合物给药到所述的动物上。
28. 制备组合物的方法，所述的方法包括：
 

混合：

  - (A) 活性剂；
  - (B) 权利要求 1 的聚合物输送剂；和
  - (C) 任选的配料载体。
29. 选自包括下面结构的种类中的化合物：





和它们的盐。

### 30. 组合物, 包括:

- (a) 活性剂，和  
(b) 权利要求 29 的化合物。

### 31. 一种剂量单位形式，包括：

- (A) 权利要求 30 的组合物；和
  - (B) (a) 赋形剂，  
(b) 稀释剂，  
(c) 崩解剂、  
(d) 润滑剂，  
(e) 增塑剂  
(f) 色料  
(g) 配料载体，或  
(h) 它们的任意组合。

32. 权利要求 31 的剂量单位形式，它包括片、胶囊、粉末或液体。

33. 将生物活性剂给药到需要该试剂的动物上的方法，包括通过选自由口腔、结肠内、十二指肠内组成的种类中的途径，将权利要求 30 的组合物给药到所述的动物上。

34. 制备组合物的方法，所述的方法包括：

## 混合：

- (A) 活性剂;
  - (B) 权利要求 29 的化合物; 和
  - (C) 任选的配料载体。

## 说 明 书

---

### 聚合物输送剂和输送剂化合物

#### 本发明的领域

本发明涉及到输送活性剂，并且特别地生物或化学活性剂的组合物。该组合物包括促进向目标输送活性剂的聚合物输送剂或输送剂化合物。这些聚合物输送剂和输送剂化合物也适合与对动物给药的活性试剂形成非共价的混合物。也公开了这些组合物的制备和给药方法。

#### 本发明的背景

输送活性剂的常规方法通常受到生物、化学和物理障碍或阻挡层的严重影响。典型地，这些阻挡层由进行输送所通过的环境、输送的目标环境或目标本身施加。对这些阻挡层，生物或化学活性剂特别易受损害。

在向动物输送药物和治疗试剂时，阻挡层由身体所施加。物理阻挡层例如皮肤和不同的器官膜对于某些活性试剂是相对不可渗透的，但是在到达目标以前必须是可逆的，如同循环系统一样。化学障碍包括，但不限定于肠胃（GI）系统和降解酶的 pH 变化。

如果没有生物、化学和物理障碍，许多生物或化学活性剂的口腔输送将是向动物给药的选择途径。在对于口腔给药非特别适合的多种活性剂当中，是生物或化学活性肽，例如降钙素和胰岛素；多糖化物，并且特别地粘多糖化物，包括但不限于肝素；类肝素；抗生素；和其他有机物质。这些试剂可变得无效或在 GI 系统中通过酸水解、酶等等被破坏，或简单地不被吸收。

许多输送剂是相当疏水的，而许多活性剂是亲水的。在设计商业上可接受的在体内显示生物活性的剂量配方中，输送剂和活性剂的不同水溶性会成为问题。因此，改变输送剂的溶解性的能力能够使人们调节输送剂以满足负载的需要，以优化它的生物获得性。

在肠胃道范围内的 pH 典型地处于从大约 1 到大约 8 之间，而许多输送剂只在 2-2.5pH 单位范围内保持溶解。在口腔输送过程中，由于局部

的酸度，在胃中大量的这种输送剂会析出。接着，在肠胃道更延伸的部位，沉淀的输送剂不能作为活性试剂输送到目标。提高输送剂的 pH 溶解性的区域使得在更低的输送剂浓度下达到更有效的输送。

输送剂一般趋向于自聚集成胶束状结构。自缠结或与活性剂缠结之间的竞争典型地造成至少一部分输送剂不能用于有效输送活性剂。因此，活性剂给药的相应部分不能有效地输送到目标。抑制输送剂的自聚集可以增加用于输送活性剂的输送剂的可获得性。

最近，用于口腔给药的活性剂的多种输送剂已被开发出。这些输送剂包括蛋白质状物、改性植物蛋白质、酰化或磺化氨基酸、酰化或磺化氨基酸酮和酰化或磺化氨基酸醛。见美国专利号 5,401,516; 5,443,841; 5,451,410; 5,541,155; 5,629,020; 5,643,957; 5,693,338; 5,709,861; 5,714,167; 5,766,633; 5,773,647; 5,792,451; 5,820,881; 5,863,944; 5,866,536; 和 RE 35,862。这些输送剂在肠胃道内促进系统吸收活性剂。输送剂和活性剂之间的相互作用，以及输送剂和细胞膜之间的相互作用对于吸收可能是很重要的。见美国专利号 5,714,167。

需要其溶解度可按特定需求被改进的输送剂，因此改变了可用于输送活性剂的可溶性的输送剂的浓度。

因此，需要另外和改进的输送剂。

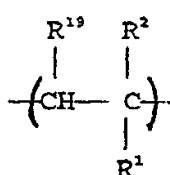
### 本发明的总结

本发明提供了聚合物输送剂，它们可用于输送活性剂。聚合物输送剂包括一种聚合物，它通过选自由-NHC(0)NH-，-C(0)NH-，-NHC(0)-，-OOC-，-COO-，-NHC(0)O-，-OC(0)NH-，-CH<sub>2</sub>NH-，-NHCH<sub>2</sub>-，-CH<sub>2</sub>NHC(0)O-，-OC(0)NHCH<sub>2</sub>-，-CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>O-，-OCH<sub>2</sub>C(0)NHCH<sub>2</sub>-，-NHC(0)CH<sub>2</sub>O-，-OCH<sub>2</sub>C(0)NH-，-NH-，-O-和碳碳键组成的种类中的连接基团共轭到改性氨基酸或它的衍生物上，保证该聚合物输送剂不是多肽或多氨基酸。改性氨基酸可以是酰化或磺化氨基酸、酰化或磺化氨基酸的酮或醛，它们的盐，或上述的任何一种的多氨基酸或多肽。

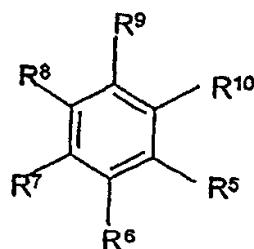
聚合物可以是任意的聚合物，包括但不限于可安全用于哺乳动物中的交替共聚物、嵌段共聚物和无规共聚物。优选的聚合物包括但不限定

于聚乙烯；聚丙烯酸酯；聚甲基丙烯酸酯；聚（氧化乙烯）；聚丙烯；聚丙二醇；聚乙二醇(PEG)和它们的衍生物，例如 PEG-马来酸酐共聚物；和它们的衍生物和组合物。聚合物的分子量典型地处于从大约 100 到大约 200,000 道尔顿。聚合物的分子量优选地处于从大约 200 到大约 10,000 道尔顿。在一个具体实施方案中，聚合物的分子量处于从大约 200 到大约 600 道尔顿，并且更优选地处于从大约 300 到大约 550 道尔顿。

根据一个具体实施方案，聚合物输送剂包含具有下面结构式的单元：



或它的盐，其中  $R^1$  为改性氨基酸，它是通过连接基团键合在聚合物上，该连接基团选自由  $-NHC(O)NH-$ ,  $-C(O)NH-$ ,  $-NHC(O)-$ ,  $-OOC-$ ,  $-COO-$ ,  $-NHC(O)O-$ ,  $-OC(O)NH-$ ,  $-CH_2NH-$ ,  $-NHCH_2-$ ,  $-CH_2NHC(O)O-$ ,  $-OC(O)NHCH_2-$ ,  $-CH_2NHCOCH_2O-$ ,  $-OCH_2C(O)NHCH_2-$ ,  $-NHC(O)CH_2O-$ ,  $-OCH_2C(O)NH-$ ,  $-NH-$ ,  $-O-$  和碳碳键组成的种类中； $R^2$  为 H 或  $-CH_3$ ；并且  $R^{19}$  为 H 或  $-COOH$ 。优选地， $R^1$  为  $-R^3-R^4$ ，其中  $R^3$  为  $-NHC(O)NH-$ ,  $-C(O)NH-$ ,  $-NHC(O)-$ ,  $-OOC-$ ,  $-COO-$ ,  $-NHC(O)O-$ ,  $-OC(O)NH-$ ,  $-CH_2NH-$ ,  $-NHCH_2-$ ,  $-CH_2NHC(O)O-$ ,  $-OC(O)NHCH_2-$ ,  $-CH_2NHCOCH_2O-$ ,  $-OCH_2C(O)NHCH_2-$ ,  $-NHC(O)CH_2O-$ ,  $-OCH_2C(O)NH-$ ,  $-NH-$ ,  $-O-$  和碳碳键；并且  $R^4$  具有下面的结构式：



其中

$R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$  和  $R^9$  是彼此无关地键接到  $R^3$  或 H、Cl、Br、F、 $-OH$ 、 $-CH_3$ 、 $OCH_3$  或  $-(CH_2)_nCH_3$  的键；

$R^{10}$  为键接到  $R^3$  或  $-COOH$  或  $-C(O)NH-R^{11}-R^{12}$  的键;

$R^{11}$  为取代或未取代的、具有从大约 1 到大约 11 链长的线型或支化烷撑或  $-R^{13}-R^{14}-$ 。

$R^{12}$  为键接到  $R^3$  的键或为  $-COOH$ 、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $C(O)-R^{15}$ 、 $-COO-R^{15}$ 、 $-NHR^{15}$ 、 $OR^{15}$ 、 $Cl$  或  $Br$ ;

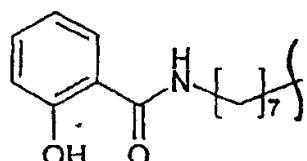
$R^{13}$  为取代或未取代的苯撑;

$R^{14}$  为取代或未取代的、具有从大约 1 到大约 5 链长的线型或支化烷撑;

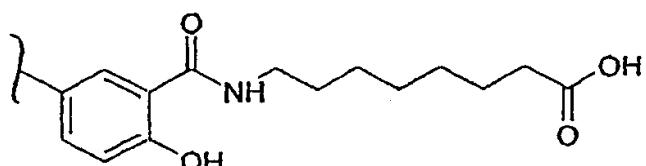
$R^{15}$  为键接到  $R^3$  的键; 并且

$m$  为从大约 1 到大约 4。

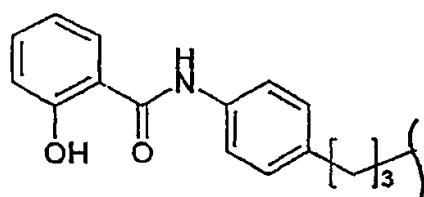
优选地,  $R^4$  为选自由下面结构式组成的种类中:



I

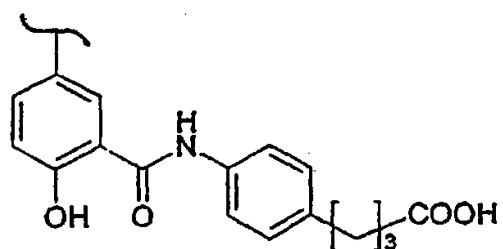


(I-COOH)

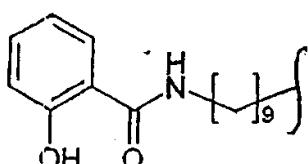


III

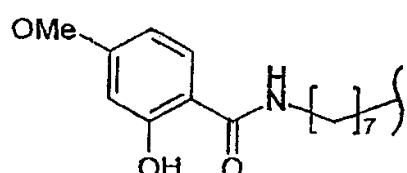
01-08-07



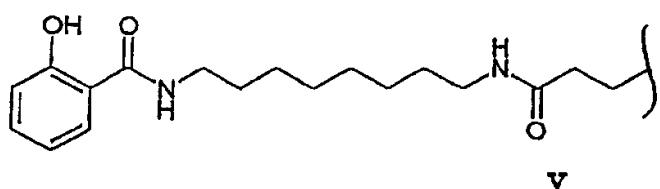
(II-COOH)



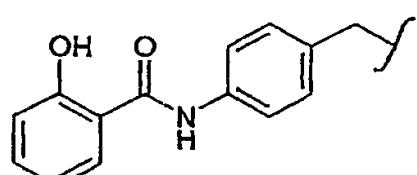
III



IV

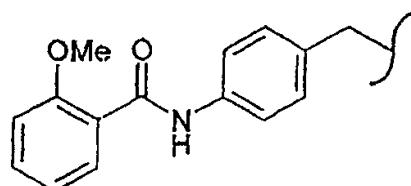


V

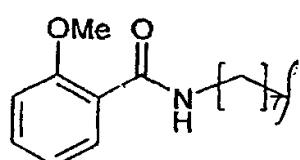


VI

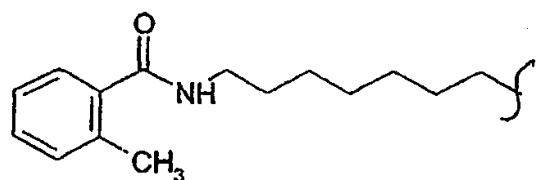
01-08-07



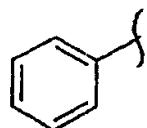
VII



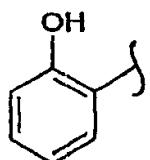
VIII



IX



X



XI

和它们的盐。

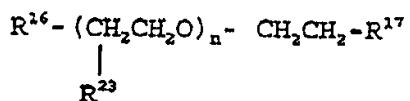
优选地， $R^9$  为  $-OCH_3$  或  $-OH$ 。根据优选的具体实施方案， $R^{10}$  为  $-NH-$  $R^{11}-R^{12}$  并且  $R^{11}$  为  $-(CH_2)_7-$ 、 $-(CH_2)_9-$ 、 $-(C_6H_5)-$ 、 $(H_2)_3-$ 、 $-(C_6H_5)-CH_2-$  或  $-(CH_2)_8-NH-C(O)-CH_2-$ 。

另外一个具体实施方案为具有下式单元的聚合物输送剂：



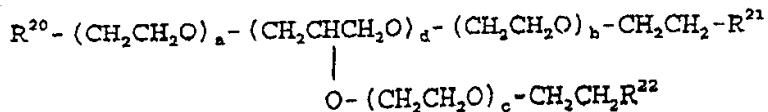
或它的盐，其中  $R^{16}$  与上面  $R^1$  定义相同； $R^{17}$  为  $-OH$ 、 $-OCH_3$  或  $-R^{18}$ ； $R^{18}$  与上面  $R^1$  定义相同；并且  $R^{24}$  为具有  $-(CH_2CH_2O)-$ 、 $-(CH(CH_3)CH_2O)-$  或它们的结合的单元的聚合物。 $R^{24}$  典型地含有从大约 3 到大约 200 个聚合单元。 $R^{24}$  可以是无规共聚物或嵌段共聚物。 $R^{18}$  可与  $R^{16}$  相同或不同。

聚合物输送剂的优选的具体实施方案具有下式单元：



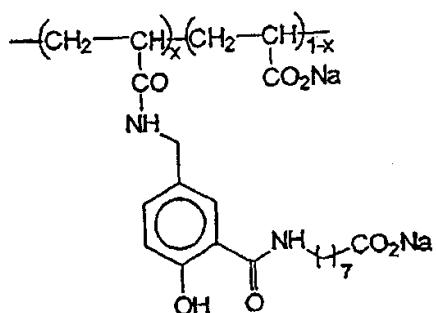
或它的盐，其中  $R^{16}$ 、 $R^{17}$  和  $R^{18}$  定义如上； $R^{23}$  为  $H$  或  $-CH_3$ ；并且  $n$  为从大约 3 到大约 200。优选地， $R^{16}$  和  $R^{18}$  为  $-OOC-R_4$ 。根据优选的具体实施方案， $R^{17}$  为  $-OCH_3$ 。根据另外一个具体实施方案， $R^{16}$  为  $-NHC(O)-R^4$  或  $NHC(O)O-R^4$  并且  $n$  处于从大约 4 到大约 15。

还有另一个具体实施方案为具有下式单元的聚合物输送剂：



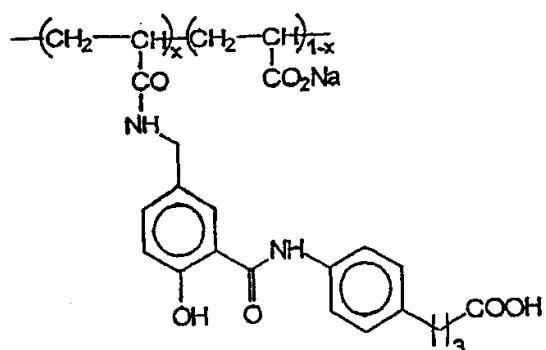
或它的盐，其中 R<sup>20</sup>、R<sup>21</sup> 和 R<sup>22</sup> 彼此无关地为 H 或与上面 R1 定义相同；a、b 和 c 彼此无关地为从大约 1 到大约 50 的整数；并且 d 处于从大约 2 到大约 10。优选地，R<sup>20</sup>、R<sup>21</sup> 和 R<sup>22</sup> 彼此无关地为 -COO-R<sup>4</sup>。优选地，d 为大约 6。

聚合物输送剂和聚合物输送剂单元的实施例包括但不限于：



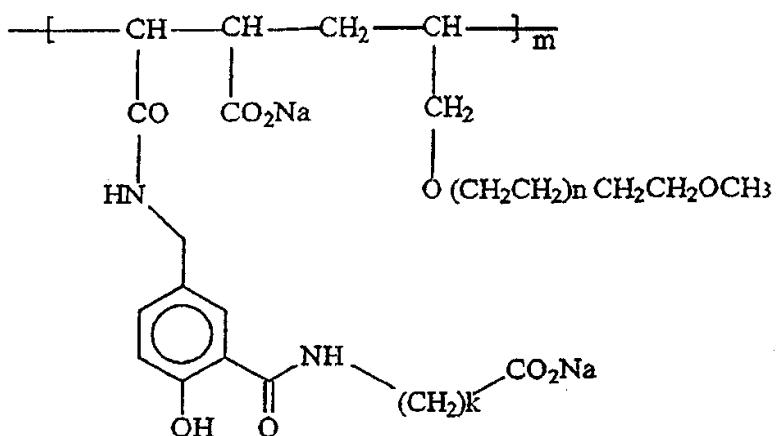
共轭物 1

其中 x 为 0.02 到 0.5，优选地为 0.05（共轭物 1 为无规聚合物）；



共轭物 2

其中 x 为 0.02 到 0.5，优选地为 0.06（共轭物 2 为无规聚合物）；

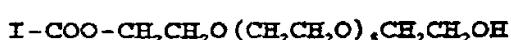


其中  $k = 1 - 11$ , 优选 7 或 9

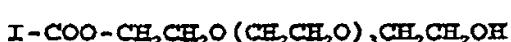
$n = 10$  到  $50$ , 优选 33, 并且

$m = 5$  到  $15$ , 优选 9.

共轭物 3 为上面的结构式, 其中  $k = 7$ ,  $n = 33$  和  $m = 8$ ;



共轭物 4



共轭物 5



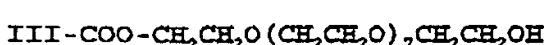
共轭物 6



共轭物 7



共轭物 8

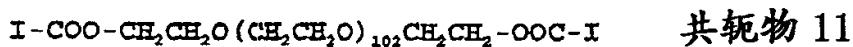


共轭物 9

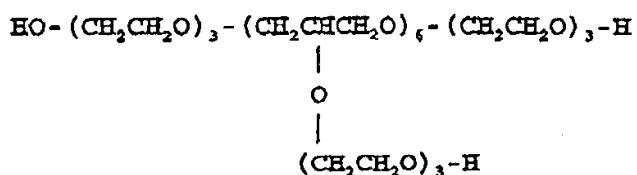


共轭物 10

01·08·07

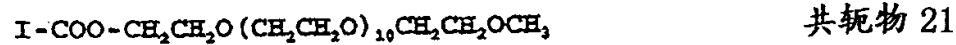
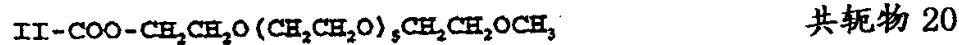
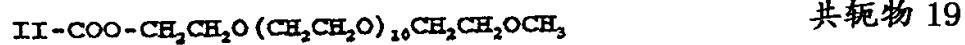
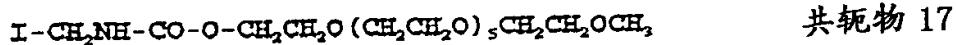
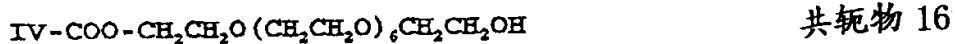
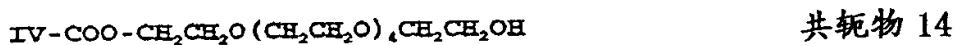
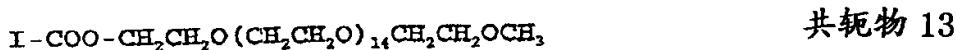


PEG 支化 (8 个臂):



改性氨基酸 I-COO 为在 8 个“臂”中的 4 位上通过酯键在 -OH 基上连接。

共轭物 12



01·06·07

I - CH<sub>2</sub>NH-CO-CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>10</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, 共轭物 23

VI - COO-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, 共轭物 24

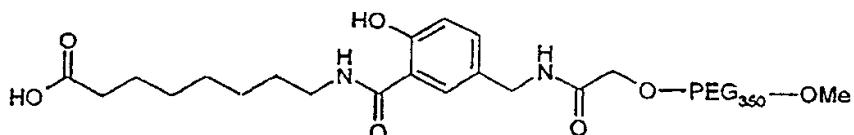
VI - COO-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>10</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, 共轭物 25

VII - COO-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>10</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, 共轭物 26

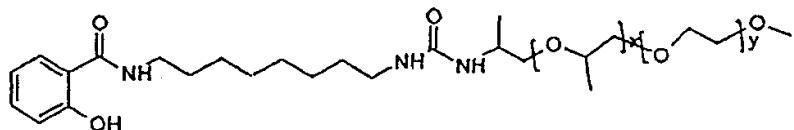
VIII - COO-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH 共轭物 27

III - COO-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH 共轭物 28

III - COO-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH 共轭物 29



(I-COOH) - 5 - CH<sub>2</sub>NH-CO-CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, 共轭物 30

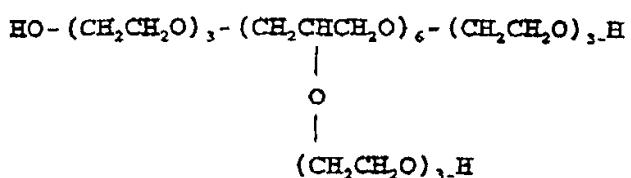


$x=2$   
 $y=19$

共轭物 31

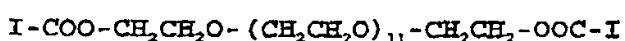
01·08·07

PEG 支化 (8个臂):



改性氨基酸 I-COO 为在 8 个“臂” 中的 4 位上通过酯键在 -OH 基上连接。

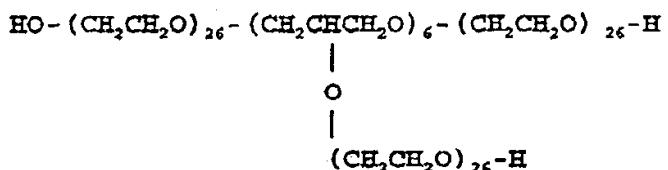
共轭物 32



共轭物 33



PEG 支化 (8个臂):



改性氨基酸 I-COO 为在 8 个“臂” 中的 4 位上通过酯键在 -OH 基上连接。

共轭物 35

改性氨基酸 I-COO 为在 8 个“臂” 中的 5 位上通过酯键在 -OH 基上连接。

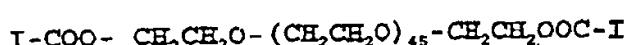
共轭物 36

改性氨基酸 I-COO 为在 8 个“臂” 中的 7 位上通过酯键在 -OH 基上连接。

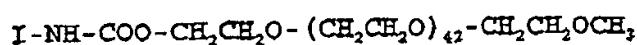
共轭物 37

改性氨基酸 I-COO 为在 8 个“臂” 中的 8 位上通过酯键在 -OH 基上连接。

共轭物 38



共轭物 39



共轭物 40

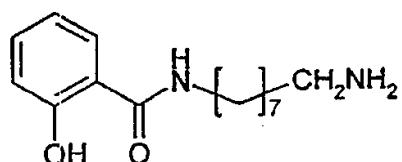
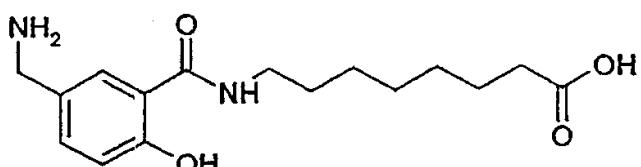
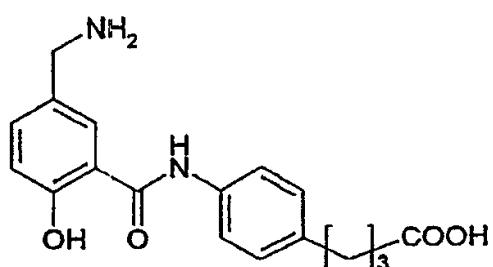
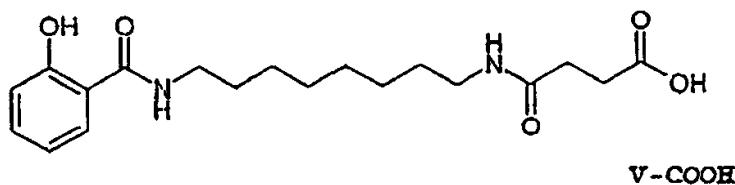
I-COO-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OOC-I	共轭物 41
XI-COO-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	共轭物 42
X-COO-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>10</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	共轭物 43
X-COO-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>11</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	共轭物 44
X-COO-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>20</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-CO-X	共轭物 45
X-COO-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>20</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	共轭物 46
X-COO-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>11</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-CO-X	共轭物 47
IX-COO-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>5</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	共轭物 48

在上面聚合物输送剂中规定的聚合物单元的数目为单元的平均数。在聚合物中的单元数典型地可以变化到不超过大约 10%。

另外的具体实施方案提供了组合物，该组合物包括 (A) 至少一种活性剂；和 (B) 至少一种上述的聚合物输送剂。活性剂优选地为生物或化学活性剂。也提供了组合物制备和给药的方法。这些组合物用于输送活性剂到选择的生物体系，并且相对于没有输送剂的活性剂的给药，增加或提高了活性剂的生物获得性。

本发明也包括制备聚合物输送剂的方法，它是通过上述连接基团中的一种使改性氨基酸共轭到聚合物。

本发明进一步包括具有下面结构式的输送剂化合物：

I-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>(I-COOH)-5-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>(II-COOH)-5-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>

V-COOH

和它们的盐，包括但不限定于钠盐。这些输送剂化合物用于促进活性剂的输送。另外一个具体实施方案为包括上述输送剂化合物中的一种和活性剂的组合物。

#### 本发明的详细说明

通过或经过不同的生物、化学物理和物理阻挡层，这些组合物可以用来输送不同的活性剂，并且特别适合输送经受环境降解的活性剂。本发

明的组合物特别适合向任何动物输送或给药生物或化学活性剂，包括但不限于定于鸟类，例如鸡；哺乳动物，例如啮齿动物、牛、猪、狗、猫、灵长目动物，并且特别地人；和昆虫。

本发明的其它优点包括易于制备、廉价原料的应用。本发明的组合物和方法在价格上是有效、易于制备和适于为商业生产的工业化放大。

本公开的组合物特别地在口的、鼻内的、舌下的、十二指肠内的、皮下的、颊的、结肠内的、直肠内的、阴道的、粘膜的、肺的、透皮的、皮内的、胃肠外的、静脉内的、肌肉内的、和眼睛的系统以及通过血脑屏障输送活性剂。相对于单独活性剂给药，活性剂和聚合物输送剂共轭物的共同给药造成了活性剂的增加的生物可得性。

在该申请书中采用的词“盐”包括但不限于有机和无机盐，例如碱金属盐，例如钠、钾和锂；碱土金属盐，例如镁、钙或钡；铵盐；碱式氨基酸，例如赖氨酸或精氨酸；和有机胺，例如二甲基胺或吡啶。优选地，盐为钠盐。

### 活性剂

适合用于本发明的活性剂包括生物活性剂和化学活性剂，包括但不限于杀虫剂、药物试剂和治疗试剂。

例如适合用于本发明的生物活性剂包括但不限于蛋白质、多肽、肽、激素、多糖，并且特别地粘多糖和它们的混合物；碳水化物、类脂物、其它有机化合物；并且特别地是，它们自己不能通过（或只通过给药剂量的一部分）肠胃的粘膜和/或在肠胃道中易受酸和酶的化学和/或酶断裂的化合物；或它们的任意组合。

进一步的实施例包括但不限于如下，包括有机、天然或它们的复合原料：生长激素、包括人体生长激素(hGH)、重组人体生长激素(rhGH)、牛生长激素和猪生长激素；生长激素输送激素；干扰素，包括 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ ；白介素-1；白介素-2；胰岛素，包括猪、牛、人体和人重组的，优选地具有抗衡离子包括钠、锌、钙和铵盐；胰岛素样生长因子包括IGF-1；肝素，包括未分级的肝素，类肝素，皮肤素，软骨素，低分子量的肝素、极低分子量肝素和超低分子量肝素；降钙素，包括鲑鱼、鳗鱼和人的；

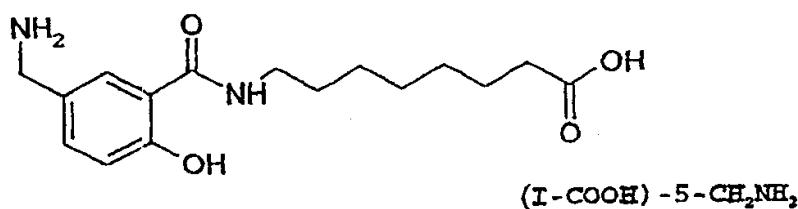
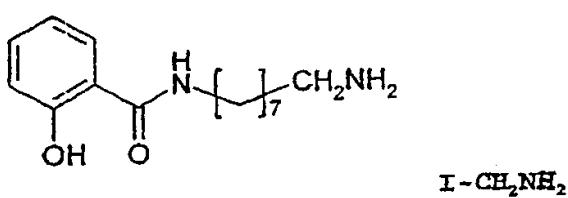
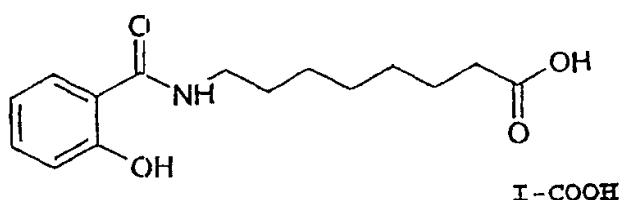
促红细胞生成素；前房自然因子 (atrial natriuretic factor)、抗原、单克隆抗体；生长抑素；蛋白酶抑制剂；促肾上腺皮质激素；促性腺激素输送激素；催产素；促黄体激素输送激素；促卵泡激素；葡萄糖脑苷脂酶；血小板生成素；粒细胞集落刺激因子；前列腺素；环孢菌素；后叶加压素；色甘酸钠；(色甘酸的钠或二钠盐)；万古霉素；去铁敏 (DFO)；甲状旁腺素 (PTH)，包括它的片段；抗生素，包括抗真菌剂；维生素；这些化合物的类似物、片段、模拟物或聚乙二醇 (PEG) - 改进行生物；或它们的任意组合。

### 改性氨基酸

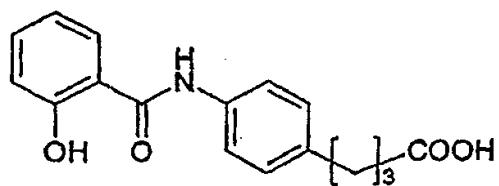
改性氨基酸可以是 N-酰化或磺化氨基酸、酰化或磺化氨基酸的酮或醛、它们的盐、和包括上面任何一个的多氨基酸或多肽。

N-酰化或磺化氨基酸、多氨基酸和肽包括但不限于已被 N-酰化或磺化的氨基酸，和至少一个氨基已被改性的多氨基酸和肽，改性通过采用酰化或磺化试剂与存在的自由氨基的至少一个反应，酰化或磺化至少一个自由的氨基。

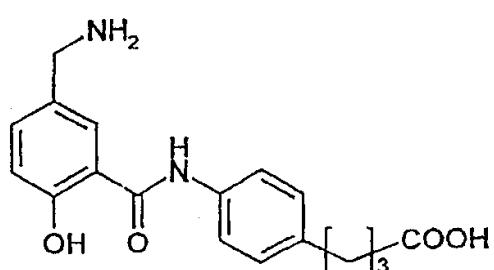
优选地，改性氨基酸包括下面结构中的一个：



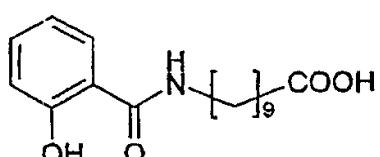
01.08.07



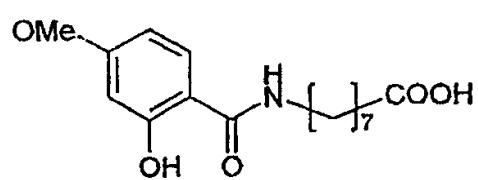
II-COOH



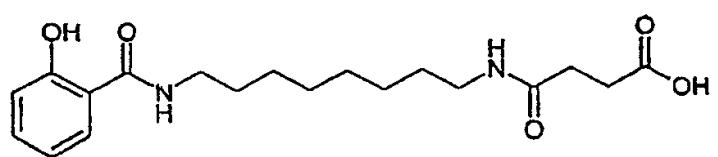
(II-COOH) - 5-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>



III-COOH

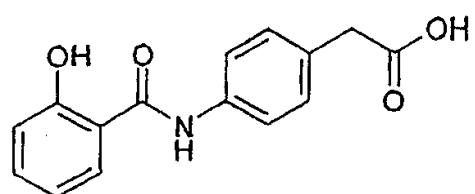


IV-COOH

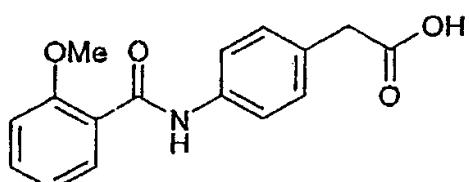


V-COOH

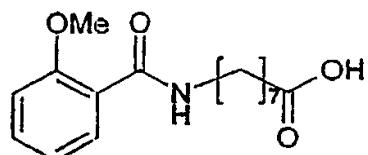
01-08-07



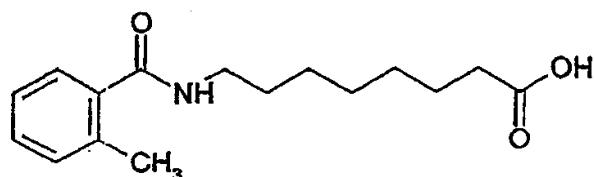
VI-COOH



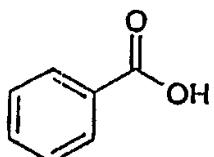
VII-COOH



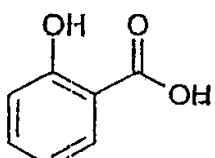
VIII-COOH



IX-COOH



X-COOH



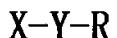
XI-COOH

和它们的盐，包括但不限于钠盐。

改性氨基酸可以是盐的形式。盐包括但不限于有机和无机盐，例如碱金属盐，例如钠、钾和锂；碱土金属盐，例如镁、钙或钡；铵盐；碱式氨基酸，例如赖氨酸或精氨酸；和有机胺，例如二甲基胺或吡啶。优选地，盐为钠盐。

氨基酸可以是具有至少一个自由氨基的任意的羧酸，并且包括天然存在和合成的氨基酸。多氨基酸是肽（它为由肽键连接的两个或多个氨基酸）或是由可以键接的其它基团形成的键，例如酯、酐或酰键连接的二或多个氨基酸。肽在长度上可以改变，从具有两个氨基酸的二肽到具有数百个氨基酸的多肽。一个或多个氨基酸或肽单元可被酰化或磺化。

N-酰化或磺化氨基酸典型地是通过改性氨基酸或它的酯制备的。许多这些化合物是采用具有下式的试剂通过酰化或磺化制备的：



其中：

R为适当的基团，以得到在最终产品表示的改性物，

Y 为 C=O 或 SO<sub>2</sub>, 并且

X 为离去基团。

典型的离去基团包括但不限于卤素，例如氯、溴和碘。另外，相应的酐为改性剂。

基于本公开说明书，通过在本领域的技术范围内的方法，N-酰化或磺化氨基酸可以容易地从氨基酸制备。例如，N-酰化或磺化氨基酸可以从氨基丁酸、氨基己酸和氨基辛酸衍生来。另外，上面的 N-酰化或磺化氨基酸可以用适当的改性试剂反应单个的氨基酸来制备，改性试剂与存在于氨基酸中的自由氨基基团反应形成酰胺。保护基团可用来避免不需要的副反应，这对本领域的技术人员来说是熟知的。

氨基酸可以溶解在金属氢氧化物，例如氢氧化钠或钾的碱水溶液中，并在大约 5°C 和大约 70°C 之间，优选地在大约 10°C 和大约 40°C 之间的温度下，加热大约 1 小时到大约 4 小时，优选地大约 2.5 小时时间。在氨基酸中的每当量的 NH<sub>2</sub> 基团所采用的碱的量一般处于每当量 NH<sub>2</sub> 的大约 1.25 和大约 3mmol 之间，优选地在大约 1.5 和大约 2.25mmol 之间。溶液的 pH 一般处于大约 8 和大约 13 之间，优选地处于大约 10 和大约 12 之间。

之后，在搅拌下，将适当的氨基改性试剂加入到氨基酸溶液中。混合物的温度保持在一般处于大约 5°C 和大约 70°C 之间，优选地处于大约 10°C 和大约 40°C 之间的温度，保温时间处于大约 1 到大约 4 小时之间。与氨基酸量有关的所用的氨基改性剂的量是基于在氨基酸中的总的自由 NH<sub>2</sub> 的摩尔数。一般，在氨基酸中总的 NH<sub>2</sub> 基团的每摩尔当量，氨基改性剂以处于大约 0.5 和大约 2.5mol 当量之间，优选地处于大约 0.75 和大约 1.25 当量之间的量被采用。

通过用适当的酸例如浓盐酸调节混合物的 pH，直到 pH 达到大约 2 和大约 3 之间，使反应停止。在室温下放置时，混合物分离形成透明的上层和白色或灰白色沉淀。将上层倒掉，通过过滤或倾析从底层收集 N-酰化或磺化氨基酸。然后将粗的 N-酰化或磺化氨基酸溶解在 pH 在大约 9 和大约 13，优选地在大约 11 和大约 13 之间的水中。通过过滤器将不溶解

物除去，滤液在真空下干燥。N-酰化或磺化氨基酸的收率一般在大约 30 和大约 60%之间，并且通常为大约 45%。

如果需要，氨基酸酯，例如氨基酸的苄酯、甲酯或乙酯化合物可以用来制备本发明的 N-酰化或磺化氨基酸。在处于大约 5°C 和大约 70°C 之间，优选地大约 25°C 的温度下，溶解在适当有机溶剂，例如二甲基甲酰胺、吡啶或四氢呋喃中的氨基酸酯与适当的氨基改性剂反应大约 7 到大约 24 小时之间的时间。相对于氨基酸酯，所用氨基改性剂的量与上面介绍的对氨基酸反应的情况是一样的。反应可以在有或没有碱存在下进行，例如三乙胺或二异丙基乙胺。

之后，在副压下将反应溶剂除去，在温度处于大约 50°C 和大约 80°C 之间，优选地在大约 70°C 下，进行足够的时间以将酯基水解掉并形成具有自由羧基的 N-酰化或磺化氨基酸，即通过用适当的碱溶液，例如 1N 的氢氧化钠，通过水解 N-酰化或磺化氨基酸酯，将酯官能团除去。然后，将水解混合物冷却到室温并用例如 25% 的盐酸水溶液酸化至 pH 处于大约 2 和大约 2.5 之间。N-酰化或磺化氨基酸从溶液中沉淀出并通过常规的方法回收，例如过滤或倾析。在有机溶剂中，采用过渡金属催化剂，通过氢化可以将苄酯除去。

通过重结晶或在固体柱载体上的分级，可以将 N-酰化或磺化氨基酸提纯。适当的重结晶溶剂体系包括乙腈、甲醇和四氢呋喃。在适当的固体柱载体上可以进行分级，例如氧化铝，采用甲醇/正丙醇混合物作为流动相；采用三氟乙酸/乙腈混合物作为流动相的反相柱载体；和采用水作为流动相的离子交换色谱法。当采用阴离子交换色谱法时，优选地接着采用 0–500mM 氯化钠梯度液 (gradient)。

### 聚合物

本发明的聚合物可以是天然或合成的并且包括两种或多种单体。单体可以相同或不同，并且聚合物可以是线型或非线型的。聚合物包括但不限于限于支链或环状聚合物。聚合物可以是包括两种或多种不同单体的共聚物，或包括一种单体重复单元的均聚物。而且，聚合物可以是无规或交替的、定向的、双官能团的、多官能团的、交联的、规则晶格的、间

歇晶格的或无定型的。

聚合物可以是任意的聚合物，包括但不限于安全用于哺乳动物的交替共聚物、嵌段共聚物和无规共聚物。优选的聚合物包括但不限于聚乙烯；聚丙烯酸酯；聚甲基丙烯酸酯；聚(氧化乙烯)；聚丙烯；聚丙二醇；聚乙二醇(PEG)和它们的衍生物，例如PEG-马来酸酐共聚物；和它们的衍生物和组合物。聚合物的分子量典型地处于从大约100到大约200,000道尔顿。聚合物的分子量优选地处于从大约200到大约10,000道尔顿。在一个具体实施方案中，聚合物的分子量处于从大约200到大约600道尔顿，并且更优选地处于从大约300到大约550道尔顿。

聚合物可以为一种或多种盐的形式。盐包括但不限于有机和无机盐，例如碱金属盐，例如钠、钾和锂；碱土金属盐，例如镁、钙或钡；铵盐；碱式氨基酸，例如赖氨酸或精氨酸；和有机胺，例如二甲基胺或吡啶。优选地，盐为钠盐。

### 聚合物输送剂(共轭物)

通过上述连接基团的一种，一个或多个改性氨基酸可以共轭到(共价连接)聚合物的一个或多个单体单元上。

许多聚合物输送剂具有高于大约200mg/mL的溶解度，并且具有比单独的相应的改性氨基酸更高的溶解性。但是，如同大多数poloxamers，PEG共轭物的溶解性在较高温度下降低，并且可以用浊点或较低临界溶液温度(LCST)来表征。LCST取决于在共轭物中亲水/疏水单元的比例并且可以容易地改变。

一般，本发明的聚合物输送剂可制备如下。对于乙烯基类聚合物输送剂，例如PAA和PAA/MA聚合物，聚合物和改性氨基酸可以分别溶解在适当的溶剂中，例如二甲基甲酰胺(DMF)，以分别得到溶液A和B。在碱例如三乙胺存在下，将溶液B温热到大约60-79°C。然后，将溶液B加入到溶液A中，并使混合物在室温下搅拌24小时。随着稀酸或碱的加入，聚合物输送剂沉淀出并通过离心收集。然后将聚合物输送剂水解、用水渗析并冷冻干燥。

得到的聚合物输送剂可以通过筛析色谱法(SEC)分析来测定聚合物的

大致分子量，共轭物的氮含量可以用来估算在聚合物输送剂中键接到聚合物上的改性氨基酸的含量。优选地，键接在聚合物输送剂中的改性氨基酸处于大约 5 到 15% w/w 之间，并且更优选地，键接在聚合物输送剂中的改性氨基酸单元处于大约 10 到 15% w/w 之间。

对于具有酯键的 PEG 输送剂，在对甲苯磺酸催化剂存在下，在 150-160 °C 下，在甲苯中含氨基的输送剂与 PEG 或 PEG 甲基醚反应 3-4 小时。采用迪安 - 斯达克分水器将反应产生的水除去。反相 HPLC 被用来检测反应。用饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液冲洗反应混合物，以除去未反应的初始原料和催化剂。在蒸除甲苯后得到聚合物输送剂。其结构进一步由氮分析和  $^1\text{H}$  NMR 确证。

在吡啶中，通过含氨基的改性氨基酸与适当活化的聚乙二醇在 70-80 °C 下反应 4-5 小时，并在室温下反应大约 24 小时，可以制备具有酰胺、氨基或氨基甲酸酯键的 PEG 输送剂。然后在减压下通过蒸馏将吡啶除去。然后，将剩余物溶解在有机溶剂中，例如二氯甲烷，分别用稀  $\text{HCl}$  水溶液、 $\text{NaCl}$  水溶液和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液冲洗溶液以除去杂质。反相 HPLC 被用来同时检测反应和后处理过程。在蒸除有机溶剂后，得到聚合物输送剂。其结构进一步由氮分析和  $^1\text{H}$  NMR 确证。

为了制备具有脲键的 PEG 输送剂，采用了两步反应过程。首先，基于端氨基疏水化合物和 4-硝基苯基氯代甲酸酯的反应，制备了氨基甲酸酯衍生物。该反应非常快并且可以在室温下在吡啶溶液中进行。中间体氨基甲酸酯衍生物含有好的离去基团，当亲核试剂进攻时，它可以被消除。当该中间体与端氨基 PEG 反应时，4-硝基苯酚和具有脲键的 PEG 加成物都被形成了。

### 输送剂体系

本发明的组合物可以包括一种或多种活性剂。在一个具体实施方案中，在给药前，可以通过简单混合一种或多种输送剂与活性剂，可以直接将的本发明的聚合物输送剂或输送剂化合物（一起为“输送剂”）用作输送剂。在给药前，通过混合输送剂水溶液与活性成分的水溶液，可以制备给药混合物。另外，输送剂和活性剂也可以在生产过程中混合。这些溶

液可以任选地含有添加剂，例如磷酸盐缓冲盐、柠檬酸、醋酸、明胶和阿拉伯胶。

稳定化添加剂可以结合到输送剂溶液中。对于一些活性剂，这些添加剂的存在促进活性剂在溶液中的溶解和分散。可以在大约 0.1 和 5% (w/v) 范围内，优选地大约 0.5% (w/w) 的浓度下采用稳定化添加剂。适当的，但非限定性的稳定化添加剂的实例包括阿拉伯胶、明胶、甲基纤维素、聚乙二醇、羧酸和它们的盐和多赖氨酸。优选的稳定化添加剂为阿拉伯胶、明胶和甲基纤维素。

活性剂的用量为有效完成特定活性剂的目标的用量。在组合物中，该用量典型地为药物上或生物上的有效量。但是，当组合物是以剂量单位形式使用时，例如固体，例如胶囊、片或粉末、或液体时，该用量可以小于药物上或生物上的有效量，因为该剂量单位形式可含有多种输送剂或活性剂组合物，或可含有分开的药物上或生物上的有效量。然后，总的有效量可以累积单元形式被给药，该单元含有生物或药物活性剂的药物上或生物上的或化学上的活性总量。

所采用的活性剂的总量可以被本领域的技术人员确定。但是，由于本公开的输送剂提供了有效的输送，与前面的剂量单位形式或输送体系中采用的量相比，可以将更低量的生物或化学活性剂给药给目标，而仍达到同样的血液含量和治疗效果。

在本组合物中的输送剂的量是输送有效量，并且对于任何特定的输送剂或活性剂，可以采用本领域的技术人员已知的方法进行测定。通过输送途径的选择，对于输送活性剂，可以是该有效的量。

剂量单位形式也可以包括赋形剂、稀释剂、崩解剂、润滑剂、增塑剂、色料和剂量载体中任一种，包括但不限于 1,2-丙二醇、乙醇、橄榄油或它们任意的组合。

本组合物或剂量单位形式的给药优选地为口内、结肠内或十二指肠内。特别地，本发明的组合物被用于口腔给药活性剂，特别是通常不能口腔输送的那些。

本发明的输送剂组合物也可以包括一种或多种酶抑制剂。这些酶抑制

剂包括但不限于例如放线酰胺素或表放线酰胺素和它们的衍生物的化合物。其它酶抑制剂包括但不限于抑肽酶(Trasylol)和Bowman-Birk抑制剂。

本发明的组合物适用于将生物或化学活性剂给药给动物。对于输送生物或化学活性剂，该体系特别有利，否则，在活性剂到达它的目标区(即输送剂组合物的活性剂被输送的区域)之前，并且是在将它们给药的动物体内，由于遇到的条件使它们被破坏或变得不太有效。

### 优选的具体实施方案的介绍

下面的实施例说明了本发明而没有限制。除了特别指出，所有份以重量给出。聚合物单元的数目和在实施例中规定的聚合物的分子量为单元的平均数和平均分子量。在聚合物中的单元数目和分子量典型地变化不超过大约10%。

#### 实施例 1a: 制备 8-N(2-羟基-5-氨基甲基苯甲酰)氨基辛酸((I-COOH)-5-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)，盐酸盐

8-N(2-甲氧基苯甲酰)氨基辛酸(7.5克，25.6mmol, 1当量)与甲醛(30.7ml, 410mmol, 16当量)和盐酸(62.6ml, 37%, 644mmol, 25当量)混合。将混合物搅拌并在室温下通入HCl气体鼓泡3小时。通过除去甲醛和盐酸，得到粗的8-N(2-甲氧基-5-氯代甲基苯甲酰)氨基辛酸(化合物1)。通过在乙腈中重结晶，得到纯的化合物1(4.5克，51.4%)。

纯的8-N(2-甲氧基-5-氯代甲基苯甲酰)氨基辛酸(4.5克，13.2mmol, 1当量)和六甲撑四胺(1.85g, 12.1mmol, 1当量)在氯仿中回流1小时。将氯仿蒸掉。剩余物在甲醇(30ml)和HCl(10ml, 37%)的混合溶液中回流2小时。通过除去混合溶剂，得到8-N(2-甲氧基-5-氨基甲基苯甲酰)氨基辛酸(化合物2)(3.6g, 76.6%)。将化合物2(3.5g, 9.75mmol, 1当量)溶解在二氯甲烷(50ml)中。在0℃下，将三溴化硼(1.84ml, 19.5mmol, 2当量)加入反应混合物中并搅拌2小时。将产品过滤并用二氯甲烷(20ml×2)冲洗剩余物。以白色固体得到8-N(2-羟基-5-氨基甲基苯甲酰)氨基辛酸的盐酸盐(1.8g, 47.37%)。性能列如下：

H NMR(300Mhz, DMSO-d6)δ: 1.29(6H, br s). 1.5(4H, m). 2.18(2H, t,

J 7.3Hz). 3.30 (2H, q, J 6.17Hz). 3.94 (2H, q, J 6.56Hz). 6.97 (1H, d, J 8.7Hz). 7.49 (1H, d, J 6.3Hz). 8.0 (1H, s). 8.12 (3H, br s). 12.0 (1H, s). 12.5 (1H, s). 对于  $C_{16}H_{25}N_2O_4Cl$  分析: 计算值: C: 55.73; H: 7.26; N: 8.12; Cl: 10.30. 实测值: C: 55.59; H: 7.38; N: 8.01; Cl: 10.18.

实施例 1b: 合成 N-(5-氨基甲基水杨酰基)-4-(4-氨基苯基)丁酸 ((II-COOH)-5-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)

将水杨酸 (50g) 悬浮在 120 克福尔马林溶液 (37%) 中。在 0℃ 下，在机械搅拌下，将 HCl 气体鼓泡通过混合物。5 分钟后，加入作为催化剂的 ZnCl<sub>2</sub> (10g)。在 0-15℃ 下，HCl 气体缓慢鼓泡通过混合物 2 小时 (“h” 或 “hr”)，然后在室温下搅拌另外 3 小时。将混合物冷冻一个晚上。通过过滤收集沉淀物并在空气中干燥。在苯中将粗产品 (75g, 熔点 115-130℃) 重结晶，得到纯的产品 5-氯代甲基水杨酸 (28.5g, 42%)，熔点 144-147℃。

搅拌下，向乙酸酐 (1.4g) 和冰乙酸 (1.7g) 的溶液中加入 5-氯代甲基水杨酸 (1.9g) 和一滴浓硫酸 (采用移液管)。将反应混合物缓慢加入到 65-70℃ 并保持 1 小时。在冷却到室温后，将反应混合物逐步加入到 50 毫升冰水中。2 小时后，通过过滤收集形成的沉淀物并在真空中干燥。从苯中重结晶得到产品邻-乙酰基-5-氯代甲基水杨酸 (1.7g, 75%)，熔点 119-121℃。

将邻-乙酰基-5-氯代甲基水杨酸 (2.9g, 12.7mmol) 和亚硫酰氯 (15g, 126mmol) 加入到 30ml 苯中。搅拌下使混合物回流 2 小时。用过量的亚硫酰氯蒸发苯，得到糖浆状剩余物，向其中加入 30ml 苯并再次将溶剂蒸发。在真空中干燥剩余物一个晚上以从产品邻-乙酰基-5-氯代甲基水杨酰氯中除去残余的 SOCl<sub>2</sub>。

将 4-(4-氨基苯基) 丁酸 (5g) 溶解在 40ml 甲醇中。在搅拌下使溶液在 80-90℃ 下回流 4 小时，同时将 HCl 气体鼓泡通过溶液。在将反应混合物冷却到室温后，加入乙醚 (100ml)。将分为两层的混合物冷冻一个晚上。通过过滤收集晶体产品并完全干燥。将滤液蒸发干，将剩余物在甲醇/苯

中重结晶。得到的产物 4-(4-氨基苯基)丁酸甲酯的盐酸盐的总量为 5.6 克 (87.5%)，熔点 143–145°C，

将 4-(4-氨基苯基)丁酸甲酯的盐酸盐 (2.6g, 11.3mmol) 和三乙胺 (2.3g, 22.6mmol) 加入到 20ml 二氯甲烷 (溶液 A) 中。将邻-乙酰基-5-氯代甲基水杨酰氯 (2.8g, 11.3mmol) 溶解在 20ml 二氯甲烷 (溶液 B) 中。在搅拌下，将溶液 A 滴加到 0°C 的溶液 B 中。在加完后，在室温下再搅拌混合物 2 小时。然后，反应混合物用 0.1N 的 HCl 水溶液洗两次 (50ml × 2)，并用饱和 NaCl 水溶液洗两次 (50ml × 2)。将有机层分离并在无水硫酸钠下干燥。在减压下将溶剂蒸发，得到糖浆状产品 [N-(0-乙酰基-5-氯代甲基水杨酰基)-4-(4-氨基苯基)丁酸甲酯，不进一步提纯，将它用于下一步。

将上面得到的糖浆状产品溶解在 20ml 氯仿中 (溶液 C)。将六甲撑四胺 (1.58g, 11.3mmol) 溶解在 20 毫升温热 (大约 30°C) 的氯仿 (溶液 D) 中。将溶液 D 加入到溶液 C 中，在 60–80°C 下，使反应混合物搅拌回流 2 小时。然后，在室温下使反应混合物放置一个晚上。挥发掉溶剂，得到前面产物与六甲撑四胺的复合物的糖浆物，它在真空下干燥数小时后成为固体。

将上面得到的固体复合物溶解在 5ml 甲醇中。向该溶液中加入 5 毫升浓盐酸。在 40–50°C 下，将反应混合物搅拌 4 小时。然后将反应混合物冷冻一个晚上。将沉淀物 ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) 过滤掉。向滤液中加入 50 毫升甲醇。在减压下将溶剂挥发掉得到糖浆状产品 [N-(0-乙酰基-5-氨基甲基水杨酰基)-4-(4-氨基苯基)丁酸甲酯的盐酸盐，不进一步提纯，将它用于下一步脱保护步。

将上面得到的糖浆状产品溶解在 5 毫升甲醇中。向该溶液中加入 15 毫升 2N 的 NaOH 溶液。在室温下将乳状溶液搅拌 4 小时，通过加入 NaOH 溶液，将 pH 控制在 10 到 12。将透明的溶液酸化到 pH5 以沉淀出产品，然后通过过滤收集产品，用水和乙醇冲洗并在空气中干燥。通过  $^1\text{H}$  NMR 检测，得到具有大约 80% 纯度的粗产品 (3.0g)。粗产品在 30 毫升 95% 的醇中回流 10 分钟，然后过滤。将不溶解物质溶解在 pH10 到 11 的 20 毫

升水中。然后将溶液酸化到 pH5。通过过滤收集沉淀的产品并彻底干燥，得到 2.4g[N-(5-氨基甲基水杨酰基)]-4-(4-氨基苯基)丁酸 ((II-COOH)-5-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) (对于最后五步为 58%)。熔点高于 240°C。<sup>1</sup>H NMR (300MHz, DMSO-d6) δ ppm: 1.75(2H, t), 2.2(2H, t), 2.25(2H, t), 3.95(2H, s), 7.05(1H, s), 7.15(1H, s), 7.5(1H, d), 7.65(1H, d), 8.18(1H, s), 8.35(1H, br, s)。

### 实施例 2: 合成 I-COOH 到 XI-COOH

化合物 I-COOH 可如下制备：

在 3 升三口圆底烧瓶上装上高架的机械搅拌和温度计，并将烧瓶在冰浴中冷却。将在 2M 氢氧化钠 (1.4L) 水溶液中的 8-氨基辛酸 (100.0g, 0.65mol) 溶液加入到圆底烧瓶中。将溶液的温度保持在大约 5°C 并在 7 小时内分批加入 O-乙酰基水杨酰氯 (198.6g, 0.76mol, 1.2 当量)。在 5 °C 下搅拌混合物 12 小时，得到黄色的均相溶液。用 1M 的盐酸酸化溶液到 pH6.8，并用乙酸乙酯 (2 × 600mL) 萃取。将水层的 pH 再调节到 6.3 并进一步用乙酸乙酯萃取 (2 × 600mL)。合并有机层、以无水硫酸钠干燥、过滤并在减压下蒸发。残留物再次溶解在少量 2M 氢氧化钠水溶液中，并且溶液的 pH 在 9.5 和 10 之间。搅拌下，用 1M 盐酸将混合物酸化到 pH 大约 6.2，并形成了固体。将固体过滤、用水冲洗 (3 × 300mL)，并在 55% 的甲醇/水 (v/v) 中重结晶，得到灰白色固体化合物 I-COOH. (99.7g, 57%)。熔点 116–117°C。<sup>1</sup>H NMR (300MHz, DMSO-d6) δ: 12.70 (1H, br s), 11.95 (1H, br s), 8.81 (1H, t), 7.82 (1H, m), 7.38 (1H, m), 5.84 (2H, m), 2.36 (2H, q), 2.18 (2H, t), 1.50 (4H, br m), 1.28 (6H, m)。对于 C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub> 计算分析：C, 64.50; H, 7.58; N, 5.02; 实测值：C, 64.26; H, 7.81; N, 4.93。

采用从 Tyger 科学公司 (Monmouth Junction, NJ) 的 10-氨基-辛酸，以相同的方法，也可制备化合物 III-COOH。

采用适当的起始原料，通过与制备化合物 I-COOH 同样的方法也可以制备化合物 VIII-COOH 和 IX-COOH。

化合物 II-COOH 可以如下制备。 将乙酰基水杨酰氯 (47.00g, 0.24mol, 1

当量)分批加入到 4-(4-氨基苯基)丁酸 (50.00g, 0.28mol, 1.2 当量) 在氢氧化钠水溶液 (2M, 300mL) 中的混合物中。在 25℃ 下搅拌反应 2 小时, 采用盐酸水溶液 (1M) 将得到的溶液酸化到 pH 2.1。将得到的沉淀过滤并用盐酸水溶液 (1M, 3 × 300mL) 和水冲洗, 得到浅粉红色固体化合物 II-COOH (31.89g, 52%)。<sup>1</sup>H NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 7.74 (1H, dd), 7.38 (2H, d), 7.21 (3H, m), 6.67 (1H, m), 6.57 (1H, m), 2.48 (2H, t), 2.07 (2H, t), 1.17 (2H, m)。对于 C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub> 计算分析: C, 68.20; H, 5.73; N, 4.70; 实测值: C, 68.22; H, 5.61; N, 4.66。

采用适当的起始原料, 通过该方法也可以制备化合物 VI-COOH 和 VII-COOH。

化合物 IV-COOH 可以如下制备。用氯代三甲基硅烷 (102.34g, 0.942mol) 处理 8-氨基辛酸 (75.0g, 0.471mol) 在二氯甲烷 (500mL) 中的淤浆, 并加热回流 2 小时。将反应混合物冷却到 0℃, 然后用三乙胺 (142.98g, 1.413mol) 处理, 接着滴加 4-甲氧基-2-乙酰苯甲酰氯 (107.71g, 0.471mol)。将反应混合物在 0℃ 下搅拌 0.5 小时, 然后在 25℃ 下搅拌 2 天。在真空下除去二氯甲烷。将 NaOH 溶液 (2N) 加入到剩余物中。在用浓盐酸将混合物酸化到 pH=1 前, 使混合物搅拌 2 小时。通过过滤回收得到的固体并在二氯甲烷/己烷 (1/1) 中重结晶数次。通过 <sup>1</sup>H NMR 证明其结构。35% 收率的纯品。8-N-(4-甲氧基水杨酰)氨基辛酸 (59.58g, 0.193mol)。

化合物 V-COOH 可以如下制备。

将 1,8-二氨基辛烷 (1.44g, 10mmol) 溶解在 50 毫升四氢呋喃 (THF) 中。在室温下, 向搅拌的该溶液滴加在 20 毫升 THF 中的琥珀酸酐 (1.0g, 10mmol)。立即形成沉淀。加完后, 再将反应混合物搅拌 30 分钟。通过过滤收集沉淀物, 用四氢呋喃充分清洗并在空气中干燥。将它溶解在 10 毫升 pH 10 的水中。然后用 1N 的 HCl 水溶液将 pH 调节到 1。将沉淀物过滤掉。滤液经冻结干燥得到固体粉末, 然后用乙醇对它萃取。蒸发掉乙醇得到 8-氨基辛基琥珀单酰胺的盐酸盐 2.2g (78%), 不进一步提纯, 将它用于下面的反应。将 8-氨基辛基琥珀单酰胺的盐酸盐 (2.2g, 7.8mmol)

溶解在 25 毫升 1N 的 NaOH 水溶液中。在室温下，在 2 小时内分三份向该搅拌的溶液中加入邻-乙酰基水杨酰氯 (1.55g, 7.8mmol)。将混合物再搅拌 2 小时。将反应混合物的 pH 调节到 7。将形成的沉淀物过滤掉。然后将滤液的 pH 调节到 2。在室温下将溶液保存 2 小时。通过过滤收集沉淀物并在空气中干燥。通过在乙醇/水中重结晶，将它提纯，得到 1.5g (55%) 的 8-水杨酰基氨基辛基琥珀单酰胺化合物 V-COOH，熔点 123–125°C。通过反相 HPLC ( $t_R=4.3\text{min}$ )、元素分析和  $^1\text{H NMR}$  确证它的结构。对于  $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$  元素分析，计算：C, 62.63；H, 7.69；N, 7.69；实测值：C, 62.84；H, 7.60；N, 7.60。 $^1\text{H NMR}$  (300MHz, DMSO-d6, ppm): 12.7(br, 1H), 12.0(br, 1H), 8.8(t, 1H), 7.8(q, 1H), 7.35(h, 1H), 6.8(q, 2H), 3.2(m, 2H), 2.95(m, 2H), 2.35(t, 2H), 2.2(t, 2H), 1.5(m, 2H) 和 1.2(m, 10H)。

化合物 X-COOH 和 XI-COOH 可以在商业上从 Aldrich (Milwaukee, WI) 得到。

### 实施例 3：制备共轭物 1

在 0°C 下，在 40 分钟内将丙烯酰氯 (45ml) 滴加到 N-羟基琥珀酰亚胺 (57.6g) 在 77 毫升的三乙胺和 750 毫升氯仿中的溶液中。在室温下再搅拌反应混合物 40 分钟，然后用 300 毫升冰水和 300 毫升饱和 NaCl 溶液清洗。在 50 毫克 4-丁基邻苯二酚的存在下，有机层用无水硫酸钠干燥。过滤后，使滤液挥发到 100 毫升，在强烈搅拌下，向其中加入 350ml 的正己烷/乙酸乙酯 (6:1)，沉淀出产物。将混合物冷藏一个晚上，并将沉淀物过滤并在真空下干燥。用乙酸乙酯/己烷 (1:1) 重结晶，得到 55 克纯的产品 N-丙烯酰氧基琥珀酰亚胺，熔点：69–70°C。从母液中分离出另外 12 克产品。总的收率为 91%。

将 15 克 (0.89mol) 产物 N-丙烯酰氧基琥珀酰亚胺和 81 毫克 AIBN (2, 2'-偶氮二异丁腈) (0.49mmol) 溶解在 100 毫升苯中。将氮气鼓泡通过溶液 10 分钟并将烧瓶封闭。将反应混合物放置在 60°C 的油浴中 24 小时。将聚合物沉淀物过滤、用苯清洗并在真空中干燥。聚 (N-丙烯酰氧基琥珀酰亚胺) 的收率为 15 克 (定量)。

将 3.75 克 (22mmol) 产物聚 (N-丙烯酰基琥珀酰亚胺) 溶解在 55 毫升的 DMF 中 (溶液 E)。在 60–70°C 下, 将在实施例 1 制备的 0.8 克 (2.6mmol) N-(5-氨基甲基水杨酰基)-8-氨基辛酸溶解在 55 毫升的 DMF 和 0.52 克三乙胺中 (溶液 F)。将温热的溶液 F 逐步加入到溶液 E 中, 并在室温下搅拌混合物 24 小时。采用稀的 0.1NHC1 将聚 (N-丙烯酰基琥珀酰亚胺) 和 N-(5-氨基甲基水杨酰基)-8-氨基辛酸的聚合物共轭物 (“未水解的聚合物共轭物”) 沉淀出并通过离心收集。然后, 未水解的聚合物共轭物在室温下的 40 毫升 4% NaHCO<sub>3</sub> 溶液中水解 48 小时, 并且采用 Spectra/Por 渗析膜 ( $M_w$  截断 1000) (Spectrum 公司, Laguna Hills, CA) 用水渗析 48 小时。将溶液冷冻干燥并干燥, 得到 2.23 克 (85%) 的共轭物 1 (I-COOH)-5-CH<sub>2</sub>NH-PAA。用 SEC 分析没有发现低分子量化合物。 $M_w=225, 300, Mn=131, 300, Mw/Mn=1.72$ 。在共轭物中的氮含量为 1.39%, 这对应了在共轭物中的 14.7% 的输送剂。

#### 实施例 4: 制备共轭物 2

除了实施例 2 的 N-(5-氨基甲基水杨酰基)-4-(4-氨基苯基)丁酸被用来代替在实施例 1 的产物, 并且在共轭反应后聚合物用 2% 的 NaHCO<sub>3</sub> 溶液 (而不是 0.1NHC1) 沉淀, 采用在实施例 3 叙述的方法制备 (II-COOH)-5-CH<sub>2</sub>NH-PAA 共轭物。收率为 80%。SEC 分析:  $M_w=210, 900, Mn=118, 600, Mw/Mn=1.79$ 。共轭物的氮含量为 0.95% 或在共轭物中的 12% 的输送剂。

#### 实施例 5: 制备共轭物 3

采用从 Shearwater 聚合物公司 (Huntsville, Alabama) 的 M-PEG 烯丙基醚和马来酸酐的交替共聚物。该共聚物具有大约 1500D 在共聚物单元中的 PEG 链的平均分子量和 14,000D 的总分子量。将 2.45g 共聚物溶解在 30 毫升的 DMF 中。将 464 毫克从实施例 1 得到的产品 (I-COOH-5-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) 溶解在 70 毫升 DMF 中, 在其中已加入了 2 毫升的 Et<sub>3</sub>N, 将两种溶液混合并在室温下搅拌 24 小时。通过 HPLC 分析来检测该反应。然后, 在真空下将溶液浓缩。将固体溶解在 100 毫升水中并将溶液的 pH 调节到 10.5–11.0。该溶液用水渗析 ( $M_w$  截断 = 3,000) 总共 72 小时。得到 2.05 克 (70%) 的 (I-COOH)-5-CH<sub>2</sub>NH-PEG/马来酸酐。最终产品采用反相 HPLC、

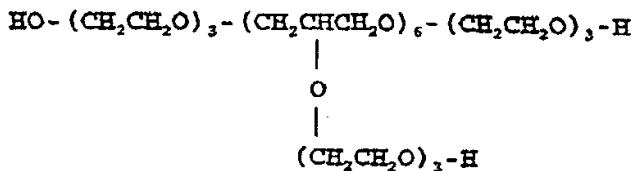
SEC 和 NMR 分析。基于 HPLC 数据，它含有不超过 1.5% 的实施例 1 产品。SEC 数据：M<sub>w</sub> 20,100 M<sub>n</sub> 11,200 M<sub>w</sub>/M<sub>n</sub> 1.79。共轭物的氮含量为 1.07% 或 10.5% 的键合到聚合物上的输送剂。

#### 实施例 6：通过酯化反应制备聚乙二醇[PEG]-输送剂共轭物

采用从 Shearwater 聚合物公司 (Huntsville, AL) 得到的线形单或二羟基封端的 PEG M<sub>w</sub>=200–4,500 和分子量为 1,770 和 10,000 的支化多官能团的 PEG，制备了具有不同分子量和官能度的一些 PEG–输送剂共轭物。用于酯化反应的 PEG 和输送剂的结构的实施例表示如下：

PEG 线形：HO–(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>m</sub>–R      m=4–100, R=H, OCH<sub>3</sub>

PEG 支化(8 个臂)：



实施例 6a：在配有冷凝管和迪安–斯达充分水器的 0.5 升圆底烧瓶中进行反应。将 30 克 PEG M<sub>w</sub>=300 (Carbowax 300) 和 5 克 I-COOH 溶解在 175 毫升甲苯中。加入 0.6 克催化剂对甲苯磺酸一水合物。使溶液回流 30–40 分钟。然后，加入第二份 I-COOH (5g)。反应通过反相 HPLC 检测，并且当在色谱图上发现只有 3–5% 的未反应 I-COOH 时，停止反应。这一般需要 3–4 小时，并且在这种场合需要大约 3 小时。将溶液冷却到室温并倒入 750 毫升微碱性的水中 (pH=7.5–8.0, 用 NaHCO<sub>3</sub> 饱和溶液调节)，并将它放置在另外的漏斗中 3–4 小时。形成三层：上面的甲苯层，中间的水层和含有目标共轭物的底层。将底层分离并在真空下浓缩。得到 13.2 克 (63%) 的油状产品。NMR 证明了共轭物的结构：–COOCH<sub>2</sub>– δ = 4.13 ppm (三重峰)，并且没有 COOH 基团。氮含量为 2.54% (计算值 2.53%)。共轭物计算的分子量为约 600。共轭物的结构示意如下：

I-COO-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH                          共轭物 4

采用适当的起始原料，用相同的方法制备了下面的共轭物。在括弧中

给出了 PEG 的分子量。采用适当的起始原料，用该方法制备了共轭物 14(300), 15(300), 16(400), 24(350), 25(550), 26(350), 27(400), 28(300), 29(400), 32(2,000), 33(600), 35(10,000), 36(10,000), 37(10,000), 38(10,000), 39(2,000) (在单独的漏斗中沉淀出产物), 41(300) (在单独的漏斗中沉淀出产物), 42(300), 43(550), 44(600), 45(1,000), 46(1,000), 47(600)。

实施例 6b. 采用在 6 a 中的同样过程制备了基于 Carbowax200 和输送剂 I-COOH 的共轭物。共轭物的收率为 67%。氮含量为 3.01%。计算的分子量为 470D。结构示意如下：



实施例 6c. 采用与 6 a 中同样的设备进行该反应。将 5.6 克聚(乙二醇)甲醚  $M_w=350$  (Aldrich) 和 3.6 克 I-COOH 溶解在 80 毫升甲苯中。加入 0.3 克催化剂对甲苯磺酸一水合物。使溶液回流 3 小时。然后，将溶液冷却到室温并转移到另外的漏斗中。加入 53 毫升水和 7 毫升饱和  $\text{NaHCO}_3$  溶液的混合物。分离上层甲苯，用水洗并在真空下浓缩。最终产品为粘稠状的油，收率为 92%，氮含量为 2.25%。计算的分子量为 620D。结构示意如下：



采用适当的起始原料，用相同的方法制备了下面的共轭物。在括弧中给出了 PEG 甲醚的分子量，共轭物 13(750), 21(550), 40(1,900) 和 48(350)。

实施例 6d. 采用在 6 a 中的同样过程制备了基于 Carbowax400 和输送剂 I-COOH 的共轭物。共轭物的收率为 63%。氮含量为 2.4%。计算的分子量为 700D。结构示意如下：

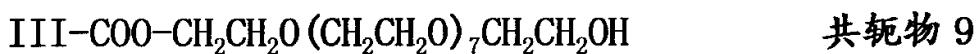


实施例 6e. 采用在 6 a 中的同样过程制备了基于 Carbowax300 (PEG  $M_w=300$ ) 和输送剂 II-COOH 的共轭物。共轭物的收率为 65%。氮含量为 2.06%。计算的分子量为 600D。结构示意如下：

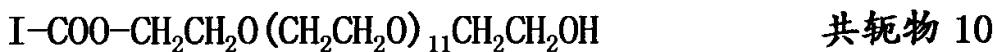


除了分别用  $M_w=550$  和  $M_w=350$  的 PEG 甲醚代替 PEG  $M_w=300$ , 采用相同的方法制备共轭物 19 和 20。

实施例 6f. 采用在 6 a 中的同样过程制备了基于 Carbowax400 和输送剂 III-COOH 的共轭物。共轭物的收率为 61%。氮含量为 1.98%。计算的分子量为 700。结构示意如下:



实施例 6g. 采用在 6 a 中的同样过程制备了基于 Carbowax600 和输送剂 I-COOH 的共轭物。共轭物的收率为 71%。氮含量为 1.05%。计算的分子量为 900。结构示意如下:



实施例 6h. 将 15.0 克 (0.0065 当量) 的 PEG  $M_w=4600$  ("Carbowax4600NF")、1.65 克 (0.0058 当量) I-COOH 和 0.45 克对甲苯磺酸一水合物溶解在 120 毫升的甲苯中。将反应混合物回流 13 小时。通过 HPLC 检测反应，并且当保留了可忽略量的未反应 I-COOH 时，停止反应。在真空下浓缩溶液。回收 15.3 克 (92%) 的固体蜡状产品。通过 NMR、HPLC 和元素分析 (N-0.43%) 证明了共轭物。计算的分子量为 5,100。共轭物具有下面结构:



实施例 6i. 6.3 克支化的 8 个臂的 PEG2000 (实际上  $M_w=1770$ )，4.0 克 I-COOH 和 0.2 克对甲苯磺酸一水合物在 30 毫升的甲苯中回流 2.5 小时。在蒸发掉甲苯后得到 9.9 克粘稠的油状产品。基于 HPLC 数据，发现共轭物只含有可忽略量的未反应的初始 I-COOH。NMR 谱图表明存在酯基 ( $\delta = 4.2 \text{ ppm}$ ) 并且证明在共轭物中没有羧基。收率为 85%。氮含量为 0.62%。计算的分子量为 2800。通过在 8 个“臂”中的 4 位上的酯键，化合物 I-COOH 被连接到 PEG-OH 基上。该共轭物被命名为“共轭物 12”。

#### 实施例 7: 化合物 I-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> 和它的盐酸盐的制备

将邻 - 乙酰基水杨酸 (36g, 0.2mol) 和 N- 羟基琥珀酰亚胺 (23g, 0.2mol) 溶解在 200 毫升的 DMF 中。在 0°C 下，将在 50 毫升氯仿中的 1, 3 - 二环己烷基碳化二亚胺 (40.5g, 0.2mol) 滴加到搅拌的溶液中。在室温下，再搅拌混合物 20 小时。将沉淀物过滤掉。在减压下挥发滤液得

到糖浆状剩余物。将它再溶解在 200 毫升的氯仿中。将溶液保持在冷冻器中 2 小时。将沉淀物再次过滤掉。分别用 4% 的碳酸氢钠 ( $200\text{ml} \times 3$ )、10% 的 NaCl ( $200\text{ml} \times 2$ )、0.1 的 HCl ( $200\text{ml} \times 2$ ) 和 10% 的 NaCl ( $200\text{ml} \times 2$ ) 水溶液冲洗滤液。将它在无水硫酸钠下干燥。蒸发掉氯仿，得到糖浆状产品 (50g, 90%)，在真空下干燥一个晚上后，它成为固体。

在 2 到 3 小时（每秒一滴）内，将在 150 毫升二氯甲烷中的上面得到的活化酯 (25g, 90mmol) 滴加到 1,8-二氨基辛烷 (26g, 180mmol) 在 500 毫升二氯甲烷的溶液中。再将混合物搅拌 15 小时。通过过滤收集沉淀物，用二氯甲烷冲洗并在空气中干燥。搅拌下，用 300 毫升 0.1NHC<sub>l</sub> 水溶液萃取 30 分钟。将不溶性物质过滤掉。用 40% 的氢氧化钠将滤液调节到 pH8 到 9。在该点出现沉淀。将它保存在室温下 3 小时。通过过滤收集沉淀物。它在空气中完全干燥，得到 10 克 (42%)，熔点 155 – 156°C。在乙醇或水中重结晶可以进一步提纯该化合物。反相 HPLC:  $t_R=2.85$  分钟。<sup>1</sup>H NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  (ppm): 1.25 (8H, m), 1.45 (4H, m), 2.1 (2H, t), 3.2 (2H, m), 6.45 (1H, h), 6.6 (1H, q), 7.1 (1H, h), 7.7 (1H, q), 6.5 (3H, br), 10.8 (1H, br)。对于 C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub> (+0.25H<sub>2</sub>O) 的元素分析：计算值：C, 67.04; H, 9.12; N, 10.43; 实测值：C, 67.13; H, 9.37; N, 10.64。水含量通过 KF 测定 (0.25%)。

将从上面化合物 I-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> (0.3g, 1.1mmol) 来的产品溶解在 10 毫升温热 (大约 50°C) 的无水乙醇中。将无水的 HCl 气体鼓泡通过该溶液 10 分钟。然后将干的空气通过该溶液 10 分钟。挥发掉溶剂后得到固体残余物，将它在乙醇/乙醚中重结晶，得到化合物 I-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> 的盐酸盐 (0.31g, 91%)，熔点 119 – 121°C。反相 HPLC:  $t_R=2.9$  分钟。<sup>1</sup>H NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  (ppm): 1.2 (8H, m), 1.5 (4H, m), 2.7 (2H, m), 3.2 (2H, m), 6.85 (2H, m), 7.35 (1H, h), 7.8 (1H, q), 7.9 (3H, br), 8.9 (1H, t), 12.7 (1H, br)。对于 C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>Cl 的元素分析：计算值：C, 59.90; H, 8.32; N, 9.32; 实测值：C, 60.02; H, 8.21; N, 9.28。

#### 实施例 8: 制备共轭物 17

将单甲氧基聚乙二醇 350 (2g, 5.7mmol) 溶解在含有 4 毫升吡啶的 20

毫升的二氯甲烷中。在 0°C 下，向该溶液加入 1.2 克 (5.8mmol) 的 4-硝基苯基氯代甲酸酯和 85 毫克 4-二甲基氨基吡啶作为催化剂。在 0°C 下搅拌反应化合物 2 小时并在室温下再搅拌 2 小时。反应采用反相 HPLC 检测。蒸发掉二氯甲烷，得到糖浆状产品，将它直接用于下一步反应而不需进一步提纯。

在上面实施例 7 制备的 1-N-水杨酰基 - 1,8- 二氨基辛烷 (1.5g, 5.7mmol) 溶解在 70-80°C 的 25 毫升吡啶中。将该溶液与在前面反应得到的对硝基苯基单甲氧基聚乙二醇 350 碳酸酯混和。在室温下搅拌反应混合物 50 小时。在减压下蒸发掉吡啶，得到糖浆状粗产品。将它溶解在 200 毫升的二氯甲烷中。溶液用 0.1N 的 HCl (200ml × 3)、10% 的 NaCl (200ml × 2)、4% 的碳酸氢钠 (200ml × 3) 和 10% 的 NaCl (200ml × 2) 水溶液冲洗。将它在无水硫酸钠下干燥。反相 HPLC 被用来检测反应和后处理过程。蒸发掉二氯甲烷，得到产品 1.9g (53%)。采用反相 HPLC ( $t_R=5.43$  分钟)、N 分析 (计算值为 4.32%，测定值为 4.04%) 和 NMR 证明其结构。在 7.2ppm 处观察到一个酰胺质子的新的三重峰；当氨基转化为氨基甲酸酯时，与初始原料的自由氨基连接的甲撑质子化学位移从 2.6ppm 移至 3.0ppm。计算的分子量为 640。

采用在实施例 1 制备的产物和 PEG  $M_w=2,000$ ，用该方法还制备了共轭物 34。

#### 实施例 9：共轭物 18 的制备

将单甲氧基聚乙二醇 350 (3.5g, 10mmol) 溶解在含有 1.8 克 (18mmol) 三乙胺的 20 毫升氯仿中。在搅拌下向该溶液中加入 2.0 克甲苯磺酰氯 (10.5mmol)。在室温下将反应混合物搅拌一个晚上。将沉淀过滤掉。用 100 毫升氯仿将滤液稀释。然后用 0.1N 的 HCl (100ml × 3)、10% 的 NaCl (100ml × 2)、4% 的碳酸氢钠 (100ml × 3) 和 10% 的 NaCl (100ml × 2) 水溶液冲洗该溶液。用无水硫酸钠干燥氯仿层。挥发掉氯仿得到甲苯磺酸化单甲氧基聚乙二醇 350，它被用于下面的反应。

将 1-N-水杨酰基-1, 8-二氨基辛烷 (2.64g, 10mmol)、D32 溶解在 30 毫升 70-80°C 的吡啶中。搅拌下，在 40 分钟内，向该溶液滴加在 20 毫升

吡啶中的前面反应得到的甲苯磺酸化单甲氧基聚乙二醇 350。在 70℃下搅拌反应 5 小时并在室温下搅拌一个晚上。将沉淀过滤掉。在减压下蒸发滤液，得到糖浆状粗产品，将它溶解在 150 毫升的二氯甲烷中。用 0.1N 的 HCl ( $150\text{ml} \times 3$ ) 和 10% 的 NaCl ( $150\text{ml} \times 2$ ) 水溶液冲洗该溶液。收集二氯甲烷溶液并用无水硫酸钠干燥。蒸发掉二氯甲烷后，得到油状物质。然后，将它溶解在 200 毫升水中。在用乙醚分 5 次 ( $200\text{ml} \times 5$ ) 萃取后，得到的乳状溶液变清。然后，透明水溶液用 200 毫升二氯甲烷萃取。收集二氯甲烷层并用无水硫酸钠干燥。反应和后处理过程都采用反相 HPLC 监测。挥发掉二氯甲烷得到产品 0.8g (29%)。采用反相 HPLC ( $t_{\text{R}}=3.73$  分钟)、N 分析 (计算值为 3.65%，实测值为 3.39%) 和 NMR 确证了其结构。在 8.5ppm 处观察到胺盐的两个质子峰。在 7.1ppm 和 7.5ppm 处发现了对甲苯磺酸的四个芳香质子。当氨基转化为对甲苯磺酸盐形式时，与初始原料的自由氨基连接的甲撑基团的两个甲撑质子从 2.6ppm 位移至 3.6ppm。计算的分子量为 768。

#### 实施例 10：共轭物 22 的制备

将在 50 毫升二氯甲烷中的 2-(单甲氧基聚乙二醇 350) 乙酸 ( $M_w=350$ ) (12.0g, 29.4mmol) 加入到 4.0 克 (35mmol) 的 N-羟基琥珀酰亚胺在 8 毫升 DMF 和 20 毫升二氯甲烷的溶液中。向该溶液加入在 30 毫升二氯甲烷中的 7.4 克 (36mmol) DCC。在室温下搅拌反应混合物 24 小时。将沉淀过滤掉。滤液保留在冷冻器中 2 小时。再次将沉淀过滤掉。滤液用 100 毫升二氯甲烷中稀释。该溶液用 0.1N 的 HCl ( $200\text{ml} \times 3$ )、10% 的 NaCl ( $200\text{ml} \times 2$ )、4% 的碳酸氢钠 ( $200\text{ml} \times 3$ ) 和 10% 的 NaCl ( $200\text{ml} \times 2$ ) 水溶液冲洗并用无水硫酸钠干燥。挥发掉二氯甲烷，得到 PEG 乙酸活性酯中间体 8.8 克 (58%)，将它直接用于下一步反应而不进一步提纯。

将 1-N-水杨酰基 - 1,8-二氨基辛烷 (3.6g, 13.6mmol) 溶解在 70 - 80 ℃的 45 毫升吡啶中。向该溶液加入上面制备的 6.9 克 (13.6mmol) PEG 乙酸活性酯。在 40℃的氮气气氛下搅拌反应混合物 4 小时。然后，将它保存在室温下一个晚上。反相 HPLC 被用来检测反应。蒸发掉吡啶，得到糖浆状产品。将它溶解在 200 毫升的二氯甲烷中。该溶液用 0.1N 的 HCl

( $200\text{ml} \times 3$ )、10%的NaCl( $200\text{ml} \times 2$ )、4%的碳酸氢钠( $200\text{ml} \times 3$ )和10%的NaCl( $200\text{ml} \times 2$ )的水溶液冲洗。收集二氯甲烷溶液并用无水硫酸钠干燥。挥发掉二氯甲烷，得到糖浆状产品(6.6g, 74%)，它进一步被提纯如下。将糖浆状产品溶解在200毫升的蒸馏水中。将溶液冷冻(5-10℃)一个晚上。然后将沉淀物仔细过滤直到得到透明的滤液。溶液用100毫升二氯甲烷萃取两次。二氯甲烷溶液用无水硫酸钠干燥。蒸发掉二氯甲烷，得到产品6.3克。通过将氮气鼓泡通过产品，从糖浆状产品中除去少量的二氯甲烷。采用反相HPLC( $t_R=4.6$ 分钟)、N分析(计算值为4.28%，测量值为4.18%)和NMR确证其化学结构。在7.65ppm处观察到一个酰胺质子的新的三重峰。当氨基转化为酰胺时，与初始原料的自由氨基连接的甲撑质子化学位移从2.6ppm移至3.1ppm。计算的分子量为654。

除了2-(单甲氧基聚乙二醇550)乙酸( $M_w=550$ )被用来代替 $M_w=350$ 的原料，采用这种方法也制备了共轭物23。

除了起始原料为2-(单甲氧基聚乙二醇350)乙酸和从实施例1来的产品( $\text{I-COOH}-5-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ) (代替1-N-水杨酰基-1,8-二氨基辛烷)，采用这种方法也制备了共轭物30。

#### 实施例11：制备共轭物31

将5.0克(18.9mmol)在实施例7制备的1-N-水杨酰基-1,8-二氨基辛烷(化合物 $\text{I}-\text{CH}_2\text{NH}_2$ )溶解在100毫升90-100℃的吡啶中，然后冷却到室温。通过吸管将得到的N-水杨酰基-1,8-二氨基辛烷的悬浮物加入到溶解在100毫升吡啶中的5.73克(28.4mmol)4-硝基苯基氯代甲酸酯中，并搅拌15分钟。通过蒸发除去溶剂，留下带有沉淀的红色油。将油溶解在100毫升的二氯甲烷中并将沉淀过滤掉。用0.1N的HCl(100ml，三次)、5%的碳酸氢钠(75ml，三次)冲洗二氯甲烷溶液。用硫酸钠干燥并蒸发，得到4.3克53%收率的N-(4-氧羰基-硝基苯)-N-水杨酰基-1,8-二氨基辛烷的桔褐色固体。

然后，上面的得到的产物与由Huntsman(Houston, TX)生产的甲氧基聚(氧化乙烯/氧化丙稀)-2-丙胺HTJ-506(这之后表示为甲氧基 $\text{PEG}_{1000}-\text{NH}_2$ )反应。将1.95克(4.54mmol)上面的产物溶解在20毫升乙腈中并将

沉淀（大约 220 毫克）过滤掉。溶液加入到溶解在 20 毫升乙腈中的 4.90 克 (4.55mmol) 甲氧基 PEG<sub>1000</sub>-NH<sub>2</sub> 中。反应采用 HPLC 检测并在室温下 3.5 小时后结束。通过蒸发除去溶剂，并发现 6.4 克黄桔色油。将油溶解在 40 毫升二氯甲烷中。该溶液用 50 毫升 0.1N 的 HCl 冲洗两次（以除去未反应的甲氧基 PEG<sub>1000</sub>-NH<sub>2</sub>）、10% 的 NaCl 溶液冲洗一次，并继续用 50 毫升的多份 5% 的碳酸氢钠溶液冲洗，直到 4- 硝基苯被除去（用反相 HPLC 检测）。用硫酸钠干燥并蒸发，得到 3.5 克黄桔色固体。然后将固体溶解在 50 毫升蒸馏水中并用 30 毫升乙醚冲洗。收集水层并用二氯甲烷从水中萃取最终产物，用硫酸钠干燥并蒸发，得到共轭物 31 收率为 57% 的 3.1 克黄桔色蜡状物。它已被命名为 N-PEG-N'-(N-水杨酰基)- 庚胺脲。采用反相 HPLC ( $t_R=4.6$  分钟)、元素分析 (计算值 N 为 3.02%，测量值为 3.09%) 和 NMR 确证其纯度和结构。在  $\delta = 5.57\text{ppm}$  和  $5.79\text{ppm}$  处观察到为取代脲的特征的两个同样强度的新多重峰，并且在  $2.6\text{ppm}$  处与起始原料的氨基连接的甲撑质子峰消失。计算的  $M_w$  为大约 1400。

#### 实施例 12：重组人体增长激素 (rhGH) 口腔/结肠内输送

制备输送剂化合物以及在水、磷酸盐缓冲液 (PB) 或 5% 含水乙醇中的 rhGH 的口腔管饲法 (PO) 和/或结肠内 (IC) 配料溶液。典型地，通过在水中混和并搅拌来制备共轭物的溶液。通过混和共轭物溶液和 rhGH 备料溶液 (典型地 15mg rhGH/ml) 并稀释到适当的体积 (通常 3.0ml) 来制备最终配料溶液。化合物和 rhGH 配料量列于下面表 1 中。

体重在 200 - 250 克之间的雄性 Sprague-Dawley 大鼠被断食 24 小时并在下药前 15 分钟前给药氯胺酮 (44mg/kg) 和氯丙嗪 (1.5mg/kg)。五只大鼠的下药组被给药同一种配料溶液。对于口腔管饲法 (PO)，11 厘米 Rusch8 弗伦奇导管被配上带有移液管尖端的 1ml 注射器。通过将溶液推过导管，接着擦干导管，使注射器充满配料溶液。将导管放置在食道下，留出 1 厘米的管通过大鼠的门齿。通过下压注射器的活塞注入溶液。对于结肠内 (IC) 给药，7.5 厘米 Rusch 导管 (弗伦奇 8 或 6) 被配上带有 Eppendorf 移液管尖端的注射器。通过将溶液推过导管，使注射器充满 0.5 毫升的配料溶液。将导管擦干。将 K-Y 凝胶用于末端，避免与管的口接

触，通过肛门将管插入结肠，直到看不到管。通过下压注射器的活塞，注射溶液，并将管移走。

从尾部动脉系列地收集血液样品，典型地，对于口给药在时间=0、15、30、45、60 和 90 分钟，并且对于 IC 给药，在 0、10、20、30、60 和 90 分钟。通过 rhGH 免疫测定法测试仪器（从 Cambridge, MA 的 Genzyme 联合公司来的仪器#K1F4015）将血浆 rhGH 浓度定量。前面的研究显示大约 0 的基线值。

PO 给药的结果见下面表 1，其中 rhGH 与 (a) 单独输送剂 I, (b) 共轭物 1, 和 (c) 共轭物 3 一起给药。实验是在输送剂浓度对共轭物浓度为 1/10 情况下进行。因此，在 200 毫克/公斤共轭物的配料，投料的输送剂的实际量为 20 毫克/公斤。对于与聚合物复合的输送剂的浓度，有明显的系统输送。

表 1 . rhGM 口腔给药

	大鼠	类别	基线	15分钟	30分钟	45分钟	60分钟	90分钟
1	7625 -1	(a)	0	84.73	13.19	0	10.565	0
2	-2	(a)	0	79.98	22.69	0	5.49	0
3	-3	(a)	0	48.72	1.82	0	7.905	0
4	-4	(a)	0	45.34	46.52	35.53	34.885	2.715
5	-5	(a)	0	0	58.44	0	3.922	0
6	7626 -1	(a)	0	64.2	18.99	4.29	10.13	0
7	-2	(a)	0	43.14	23.44	18.35	15.93	1.47
8	-3	(b)	0	6.16	0	0	4.92	0
9	-4	(b)	0	30.71	0	0	10.025	0
10	-5	(b)	0	26.15	0	0	9.985	0
11	7627 -1	(b)	0	5.35	0	0	4.28	0
12	-2	(b)	0	14.99	0	0	3.39	0
13	-3	(b)	0	13.74	0	0	6.075	0
14	-4	(b)	0	16.05	0	0	21.495	0
15	-5	(c)	0	14.42	0.1	0	11.26	0
16	7628 -1	(c)	0	7.87	0	0	15.19	0
17	-2	(c)	0	14.31	0	0	17.545	0
18	-3	(c)	0	0	3.57	0	4.745	0
19	-4	(c)	0	28.76	83.12	0	2.78	0
20	-5	(c)	0	5.08	0	0	0.235	0

对于 IC 给药，剂量体积为 1 毫升/公斤。rhGH 剂量为 1 毫克/公斤。  
 对于 IC 用药，对每个时间范围的五个试样进行统计，并且对于每个组的最大浓度(Cmax)介绍在下面表 2 中。

表 2 大鼠结肠内输送 rhGH

共轭物	配料溶液介质	共轭物剂量 (毫克/公斤)	rhGH剂量(毫 克/公斤)	平均峰血浆 [rhGH] (ng/ml) ± SD
1	PB	25	1	16 ± 9
1	PB	25	1	1 ± 2
3	PB	25	1	14 ± 34
4	PB	25	1	6 ± 16
4	5%含水的乙醇	25	1	182 ± 18
4	5%含水的乙醇	61	1	172 ± 29
6	5%含水的乙醇	25	1	168 ± 54
7	5%含水的乙醇	25	1	205 ± 95
8	5%含水的乙醇	25	1	101 ± 32
10	水	120	1	30 ± 23
10	PB	25	1	0.5 ± 1.0
12	5%含水的乙醇	25	1	0
13	5%含水的乙醇	25	1	63 ± 43
14	5%含水的乙醇	25	1	75 ± 35
17	5%含水的乙醇	25	1	136 ± 37
18	5%含水的乙醇	25	1	140 ± 51
22	5%含水的乙醇	25	1	164 ± 53
24	PB	25	1	0
25	PB	25	1	0

实施例 13—甲状腺激素输送剂(PTH 1-34)口腔/结肠内输送

输送剂化合物和在水和不同水性溶液中的人体甲状腺激素残余物 1 - 34 (PTH) 的口腔管饲法 (PO) 和/或结肠 (IC) 配料溶液如下表 3 所示 (PEG300 和 PEG350 是从 Aldrich (Milwaukee, WI) 得到的, Kollidon 17PF 为从 Aldrich 得到的聚乙烯基吡咯啉酮, PG 为丙二醇)。典型地, 在适当的介质和搅拌下制备共轭物的溶液。通过混合共轭物溶液与 PTH 备料溶液 (典型地 5mg PTH/ml) 并稀释到适当的体积 (通常为 3.0ml), 来制备

最终配料溶液。最终化合物、PTH 和体积剂量量和采用的配料介质列如下表 3 中。

体重在 200 - 250 克之间的雄性 Sprague-Dawley 大鼠被断食 24 小时并在用药前 15 分钟前给药氯胺酮 (44mg/kg) 和氯丙嗪 (1.5mg/kg)。五只大鼠的用药组被给药一种配料溶液。对于口腔管饲法 (PO), 11 厘米 Rusch 弗伦奇导管被配以带有移液管尖端的 1ml 注射器。通过将溶液推过导管，接着将导管擦干，使注射器充满配料溶液。将导管放置在食管下，留出 1 厘米的管通过大鼠的门齿。通过下压注射器的活塞注入溶液。对于结肠内 (IC) 给药, 7.5 厘米 Rusch 导管 (弗伦奇 8 或 6) 被配以带有 Eppendorf 移液管尖端的注射器。通过将溶液推过导管，使注射器充满配料溶液。将导管擦干。将 K-Y 凝胶用于末端，避免与管的口接触，通过肛门将管插入直肠，直到看不到管。通过下压注射器的活塞，注射溶液，并将管移走。

从尾部动脉系列地收集血液样品，对于口给药，典型地，在时间=0、15、30、45、60 和 90 分钟，并且对于 IC 给药，在 0、10、20、30、60 和 90 分钟。通过 PTH 放射免疫测定法测试仪器（从 Peninsula 实验室公司，San Carlos, CA 来的仪器#RIK 6101）将血浆 PTH 浓度定量。前面的研究显示大约 0 的基线值。对于每个时间点，对每个组中的五只大鼠的结果进行平均。曲线 (AUC) 下的最大值和面积值被介绍在表 3 中。

表 3. 大鼠口腔/结肠内输送 PTH

共 轭 物	给 药 方 法	配 料 介 质 (在 水 中)	体 积 剂 量 (ml/kg)	共 轭 物 剂 量 (mg/kg)	PTH 剂 量 ( $\mu$ g/kg)	平均 峰 血 浆 [PTH] (pg/m l) $\pm$ SE	AUC
4	PO	10%EtOH	1	100	200	86 $\pm$ 86	1285
4	PO	10%PEG300	1	100	200	39 $\pm$ 27	1694
4	PO	15% Kollidon 17PF	1	100	200	44 $\pm$ 44	780
4	PO	10% PEG300	1	150	200	122 $\pm$ 60	3520
4	PO	5%EtOH	1	150	200	36 $\pm$ 32	1184
4	PO	15% Kollidon 17PF	1	150	200	126 $\pm$ 123	3684
4	PO	10% PEG300	1	300	200	418 $\pm$ 290	9315
4	PO	5%EtOH	1	300	200	94 $\pm$ 27	2627
4	PO	15% Kollidon 17PF	1	300	200	298 $\pm$ 265	6276
4	PO	10% PEG300	1	300	200	87 $\pm$ 24	4165
4	PO	30% PEG300	1	300	200	106 $\pm$ 43	4572
14	IC	5%EtOH	0.5	100	25	501 $\pm$ 34	16335
22	PO	5% 柠檬酸 (pH=3.85)	1	100	200	855 $\pm$ 511	27609
22	PO	水 (pH=7.75)	1	100	200	34 $\pm$ 13	1286
22	PO	5%NaHCO <sub>3</sub> (pH=10.13)	1	100	200	225 $\pm$ 171	10614
14	PO	5%EtOH	1	250	200	320 $\pm$ 114	10933
16	PO	5%EtOH	1	250	200	265 $\pm$ 47	9965
32	PO	水	1	100	200	246 $\pm$ 119	4426
22	PO	15% PEG350	1	100	200	3508 $\pm$ 267	249861
22	PO	15%PG	1	100	200	2755 $\pm$ 537	242849
22	PO	15%Kollidon17PF	1	100	200	3173 $\pm$ 250	243838
22	PO	水	1	100	200	3577 $\pm$ 113	280258
22	PO	5%柠檬酸 (pH=2.78)	1	100	200	946 $\pm$ 701	27117
22	PO	5%NaHCO <sub>3</sub> (pH=10.04)	1	100	200	899 $\pm$ 730	20245
22	PO	水 (pH=7.82)	1	100	200	1678 $\pm$ 763	43639
22	PO	水	1	100	200	118 $\pm$ 112	5696
22	PO	15% PEG350	1	100	200	113 $\pm$ 55	5201
22	PO	15%PG	1	100	200	273 $\pm$ 235	8193
22	PO	15%Kollidon17PF	1	100	200	126 $\pm$ 117	4993
24	PO	5%EtOH	1	100	200	48 $\pm$ 32	2290
25	PO	5%EtOH	1	100	200	287 $\pm$ 134	10486
30	PO	5%EtOH	1	100	200	0	0
49	PO	5%EtOH	1	100	200	73 $\pm$ 73	2785
49	PO	5%EtOH	1	100	200	1467 $\pm$ 77	106705

PTH 也通过 PO 和 IC 途径以胶囊给药。采用由 Torpac 公司 (Fairfield, NJ, USA) 生产的具有 25 微升容积的微硬凝胶胶囊 (尺寸 9)。对于 IC 给药，采用 25 微克 PTH/胶囊和 15 微克 PTH/胶囊共轭物 22。对于 PO 给药，采用 100 微克 PTH/胶囊和 20 微克 PTH/胶囊共轭物 22。以上述的比例，PTH 粉末与油状共轭物在小瓶中混合。得到透明的溶液。通过注射器将溶液加入到胶囊中并称重到适当重量。

通过下面的变化，如上胶囊给药。对于 PO 配料，在大鼠/田鼠胶囊投放器（从 Torpac 公司，Fairfield, NJ 得到）离投料端 10 厘米处作记号。将胶囊放置在投放器中，将投放器插入口中并进入食管，直到 10 厘米记号达到门齿。推拉活塞。投剂量后任选地接着给药大约 1.0 毫升水（如在溶液的 PO 剂量）。对于 IC 剂量，在大鼠/仓鼠药丸投放器的离投料端 7.5 厘米处记号。将胶囊放入投放器中。将少量 KJ 凝胶放置在投放器的底端，并将投放器插入肛门直到 7.5 厘米记号处。推拉活塞。

上面得到的结果见下面表 4 中。

表 4 . 大鼠口腔/结肠内输送 PTH

共轭物	给药方法	剂量介质 (水中)	剂量	共轭物剂量 (mg/kg)	PTH 剂量 ( $\mu$ g/kg)	平均峰血浆 [PTH] (pg/ml) $\pm$ SE	AUC
22	PO	胶囊	1 个胶囊	20	100	2275 $\pm$ 916	242288
22	IC	胶囊	1 个胶囊	15	25	3438 $\pm$ 559	80928

### 实施例 3 肝素输送

#### 结肠内输送

制备含有共轭物和在含 25% 含水丙二醇溶液中的肝素钠 USP 的结肠内 (IC) 配料溶液。典型地，将油状共轭物和粉末状肝素（大约 166 - 182IU/mg）溶解在 25% v/v 含水丙二醇溶液中，旋转并放置在声处理器中（大约 37°C）。采用 NaOH 水溶液 (2N) 将 pH 调节到大约 7 (6.5 到 8.5)。配料溶液被声处理以得到透明溶液。将最终体积调节到 3.0 毫升，最终共轭物剂量、肝素剂量和体积剂量量列入下面表 5 中。

体重在 275 - 350 克之间的雄性 Sprague-Dawley 大鼠被断食 24 小时并在用药前立即在肌肉内用氯胺酮盐酸盐 (88mg/kg) 麻醉。五只大鼠的用药组被给药同一种配料溶液。对于结肠内 (IC) 给药, 7.5 厘米 8 弗伦奇 Rusch 导管被配以带有移液管尖端的 1 毫升注射器。通过肛门将导管插入结肠, 直到看不到管。将配料溶液缓慢挤入结肠中。

在给药氯胺酮 (88mg/kg) 后, 接着通过心脏穿刺, 收集柠檬酸化血液样品, 典型地在时间=0.25, 0.5, 1.0 和 1.5 小时。根据 Henry, J.B. 的方法, 实验室方法的临床诊断和处理, Philadelphia, PA, W.B. Saunders (1979), 通过采用活化的部分促凝血酶原激酶时间 (APTT) 来测定肝素的活性。前面的研究显示了大约 20 秒的基线值。对于每个时间点, 对每组中五只大鼠的结果取平均。最大值介绍在下面表 5 中。

表 5. 结肠内输送肝素

共轭物	给药方法	体积剂量 (ml/kg)	共轭物剂量 (mg/kg)	肝素剂量 (mg/kg)	平均峰 APTT(秒) ± SD
4	IC	1	50	25	163 ± 149

上面介绍的专利、申请书、测试方法和公开发表物以它们的全部被作为参考结合在这里。

根据上面的详细介绍, 本发明的许多变化将呈现在本领域的技术人员面前。所有这些明显的变化是在所附带权利要求书的全部希望的范围内。