

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00804613.1

A61K 31/407
A61K 31/436 A61K 31/7042
A61K 9/127 A61K 47/24
C07D498/18 C07H 7/06
A61P 9/10 A61P 27/02
A61P 29/00 A61P 31/12
A61P 37/00
[11]公开号 CN 1342075A

[43]公开日 2002 年 3 月 27 日

[22]申请日 2000.3.10 [21]申请号 00804613.1
[30]优先权
[32]1999.3.11 [33]JP [31]65469/99
[32]1999.5.31 [33]JP [31]151866/99
[86]国际申请 PCT/JP00/01446 2000.3.10
[87]国际公布 WO00/53177 日 2000.9.14
[85]进入国家阶段日期 2001.9.4
[71]申请人 藤泽药品工业株式会社
地址 日本大阪府大阪市
[72]发明人 藤崎二郎 绀野肇
笠井昭宏 大友和三

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 关立新 杨九昌

权利要求书 2 页 说明书 19 页 附图页数 1 页

[54]发明名称 脂质体制剂

[57]摘要

本发明提供一种含 2-哌啶酸衍生物的脂质体制剂,该制剂具有能处理诸如脑梗塞等紧急情况的优异的快速作用。一种脂质体制剂,其特征是含有包封在脂质体内的本说明书所述 2-哌啶酸衍生物或其可药用盐作为活性组分,其中卵磷脂主要是作为形成脂质体的类脂,该脂质体制剂不含胆固醇作为稳定剂。

ISSN 1008-4274

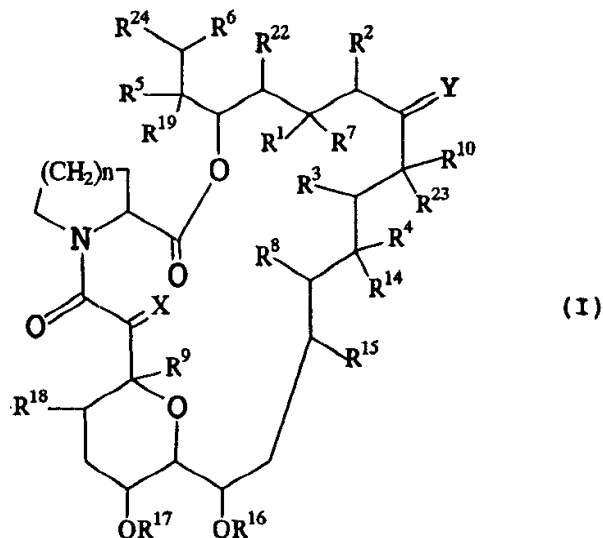
权 利 要 求 书

1. 一种含 2-哌啶酸衍生物的脂质体制剂, 其中含有包封在脂质体内的 2-哌啶酸衍生物或其可药用盐。

2. 权利要求 1 中定义的脂质体制剂, 其中卵磷脂主要作为形成脂质体的类脂使用。

3. 权利要求 2 中定义的脂质体制剂, 其中脂质体基本上不含胆固醇。

4. 权利要求 1 中定义的脂质体制剂, 其中 2-哌啶酸衍生物是以下通式 (1) 的大环内酯化合物或其可药用的盐:



其中相邻的各对 R^1 和 R^2 、 R^3 和 R^4 、以及 R^5 和 R^6 独立地是:

(a) 两个相邻的氢原子; 或

(b) 可以在它们所连接的碳原子之间形成另一个键; 和

R^2 也可以是烷基;

R^7 是氢原子, 羟基, 被保护的羟基, 或烷氧基, 或与 R^1 一起构成一个氧代基;

R^8 和 R^9 独立地是氢原子或羟基;

R^{10} 是氢原子, 烷基, 被一个或多个羟基取代的烷基, 链烯基, 被一个或多个羟基取代的链烯基, 或被氧代基取代的烷基;

X 是氧代基, 氢原子和羟基同时连接到一个碳原子上的状态, 两个氢原子连接到一个碳原子上的状态, 或是式 $-\text{CH}_2\text{O}-$ 表示的一个基

团；

Y 是氧代基，氢原子和羟基连接到一个碳原子上的状态，两个氢原子连接到一个碳原子上的状态，或是式 $=N-NR^{11}R^{12}$ 或 $N-OR^{13}$ 代表的基团；

5 R^{11} 和 R^{12} 各自独立地代表氢原子、烷基、芳基或甲苯磺酰基；

R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{22} 和 R^{23} 独立地代表氢原子或烷基；

R^{24} 是任选被取代的杂环基，环上可以含一个或多个杂原子；以及 n 代表整数 1 或 2；

10 条件是，除以上定义外，Y、 R^{10} 和 R^{23} 与它们所连接的碳原子一起，可以代表一个含氮、硫和/或氧原子的饱和或不饱和的 5 或 6 元杂环，该杂环可以被一个或多个以下基团取代：烷基、羟基、烷氧基、苄基、式 $-CH_2Se(C_6H_5)$ 及被一个或多个羟基取代的烷基。

5. 权利要求 4 中定义的脂质体制剂，其中大环内酯化合物 (1)
15 是 17-烯丙基-1,14-二羟基-12-[2-(4-羟基-3-甲氧基环己基)-1-甲基乙烯基]-23,25-二甲氧基-13,19,21,27-四甲基-11,28-二氧杂-4-氮杂三环[22,3,1,0^{4,9}]二十八碳-18-烯-2,3,10,16-四酮或其氢化物。

6. 一种固体制剂，其中权利要求 1 至 5 中任一项定义的脂质体制剂是分散在可药用的糖类中。
20

7. 一种固体制剂，在可药用糖类中含有脂质体制剂，其中该脂质体制剂由含有卵磷脂作为主要组分且不含胆固醇的脂质体组成，在脂质体中包封着一种 2-嘧啶酸衍生物或其可药用盐。

8. 权利要求 7 中定义的脂质体制剂，其中该固体的 2-嘧啶酸衍生物或其可药用盐、卵磷脂及可药用的糖类之间的质量比为 1:1-500:10-1000。
25

9. 权利要求 7 或 8 中定义的固体制剂，其中的糖类是乳糖或麦芽糖。

10. 权利要求 6 中定义的脂质体制剂，该制剂是冷冻干燥产品。

30 11. 权利要求 1 中定义的脂质体制剂，该制剂被分散在注射用蒸馏水中。

说明书

脂质体制剂

发明领域

- 5 本发明涉及一种药用脂质体制剂，其中含有近来因其优异的免疫抑制活性而受到特别重视的一种 2-嘧啶酸衍生物，特别是一种大环内酯化合物，例如称作他克莫司（FK 506）的三环化合物或其可药用盐，作为活性组分。更具体地说，本发明涉及一种脂质体制剂，其中含有稳定地包封在脂质体内的上述活性组分，因此能在诸如生理盐水、注射用葡萄糖溶液、水或体液等各种介质中保持稳定溶解，从而可用于各种给药方法，包括注射法，例如静脉内注射、肌肉注射和用于关节内的局部注射等，局部给药法，例如施用于皮肤、滴注眼内、经鼻给药和吸入给药，以及口服给药法和直肠给药法。特别是，本发明涉及一种脂质体制剂，其特征是不含胆固醇，并且利用快速浓注施药，对例如脑缺血等疾病有快速作用。

背景技术

- 作为含他克莫司的脂质体制剂，已知有通过向作为形成脂质体主要组分的磷脂中掺入例如胆固醇等稳定剂而制得的脂质体（WO 93/08802）。利用这种结构，可以由微溶于水的他克莫司制成液体制剂。即使将这种制剂与体液接触，活性成分也不发生晶化，因此该制剂具有优异的生物利用度而且稳定。于是，这种制剂可以采用注射剂、滴眼剂、经鼻给药、吸入剂、透皮吸收剂、局部注射剂等代表的任何剂型。另外，也有可能增强他克莫司向特别希望他克莫司迁移的部位集中移动，并抑制向未必希望他克莫司迁移的部位移动。已知其结果是得到诸如提高药效、减小副作用和药效持久等优异的效果。

- 这种脂质体制剂对于治疗脑局部缺血疾病，例如脑梗塞，具有优异的作用。但是，因为脂质体膜过于稳定，脂质体制剂不能象用于治疗脑梗塞的抗凝剂、纤溶剂和脑血管扩张剂那样显示出足够快的作用。因此，需要研制一种具有能处理例如脑梗塞之类紧急情况优异的快速作用的药物。

本发明的一个目的是改善上述问题，从而提供具有优异快速作用的含 2-嘧啶酸衍生物的脂质体制剂。

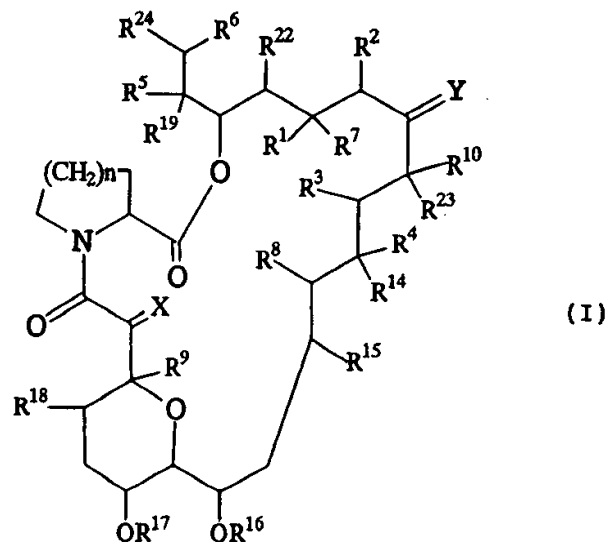
发明内容

本发明涉及一种脂质体制剂，其中含有包封在脂质体内的以下列通式 (I) 的大环内酯化合物或其可药用盐为代表的一种 2-哌啶酸衍生物作为活性组分。

- 5 本发明中的 2-哌啶酸衍生物意味着它们具有能与 FKBP 型亲免蛋白亲合并抑制肽基辅氨酸异构酶和/或旋转异构酶活性的共有活性，并且具有属于 2-哌啶酸衍生物的共同的化学结构。

2-哌啶酸衍生物的具体实例包括大环内酯化合物，例如以下通式 (I) 的三环化合物或其可药用的盐：

10



其中相邻的各对 R^1 和 R^2 、 R^3 和 R^4 、以及 R^5 和 R^6 独立地是：

(a) 两个相邻的氢原子；或

(b) 可以在它们所连接的碳原子之间形成另一个键；和

- 15 R^2 也可以是烷基；

R^7 是氢原子，羟基，被保护的羟基，或烷氧基，或与 R^1 一起构成一个氧代基；

R^8 和 R^9 独立地是氢原子或羟基；

- 20 R^{10} 是氢原子，烷基，被一个或多个羟基取代的烷基，链烯基，被一个或多个羟基取代的链烯基，或被氧代基取代的烷基；

X 是氧代基，氢原子和羟基同时连接到一个碳原子上的状态，两个氢原子连接到一个碳原子上的状态，或是式 $-\text{CH}_2\text{O}-$ 表示的一个基

团；

Y 是氧代基，氢原子和羟基连接到一个碳原子上的状态，两个氢原子连接到一个碳原子上的状态，或是式 $=N-NR^{11}R^{12}$ 或 $N-OR^{13}$ 代表的基团；

- 5 R^{11} 和 R^{12} 各自独立地代表氢原子、烷基、芳基或甲苯磺酰基；
 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{22} 和 R^{23} 独立地代表氢原子或烷基；

R^{24} 是任选被取代的杂环基，环上可以含一个或多个杂原子；以及 n 代表整数 1 或 2。

- 10 除了上述定义之外，Y、 R^{10} 和 R^{23} ，与它们所连接的碳原子一起，可以代表一个含氮、硫和/或氧原子的饱和或不饱和的 5-元或 6-元杂环，该杂环可以被一个或多个以下基团取代：烷基，羟基，烷氧基，苄基，式 $-CH_2Se(C_6H_5)$ 基团，和被一个或多个羟基取代的烷基。

- 15 以上通式 (I) 中使用的定义及其具体的和优选的实例将详细解释和陈述。

除非另外说明，术语“低级”是指有 1-6 个碳原子的基团。

“烷基”和“烷氧基”的烷基部分的优选实例包括直链或支链的脂族烃基，例如低级烷基，如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、戊基、新戊基和己基。

- 20 “链烯基”的优选实例包括有一个双键的直链或支链烃基，例如低级链烯基，如乙烯基、丙烯基（如烯丙基）、丁烯基、甲基丙烯基、戊烯基和己烯基。

“芳基”的优选实例包括苯基、甲苯基、二甲苯基、枯烯基、茱基和萘基。

- 25 在“被保护的羟基”和后来提到的“被保护的氨基”中的优选的保护基团包括 1-(低级烷硫基)(低级)烷基，例如低级烷硫基甲基（如甲硫基甲基、乙硫基甲基、丙硫基甲基、异丙硫基甲基、丁硫基甲基、异丁硫基甲基、己硫基甲基等），更优选 C_1-C_4 烷硫基甲基，最优选甲硫基甲基；

- 30 三取代的甲硅烷基，例如三(低级)烷基甲硅烷基（如三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、三丁基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、三叔丁基甲硅烷基等）或低级烷基二芳基甲硅烷基（例如甲基二苯基

甲硅烷基、乙基二苯基甲硅烷基、丙基二苯基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基等），更优选三（ C_1-C_4 ）烷基甲硅烷基和 C_1-C_4 烷基二苯基甲硅烷基，最优选叔丁基二甲基甲硅烷基和叔丁基二苯基甲硅烷基；和

- 5 酰基，例如由羧酸、磺酸或氨基甲酸衍生形成的脂族酰基、芳族酰基或被芳基取代的酯族酰基。

脂族酰基的实例包括任选有一个或多个合适取代基（例如羧基）的低级烷酰基，例如甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、异丁酰基、戊酰基、异戊酰基、新戊酰基、己酰基、羧基乙酰基、羧基丙酰基、羧基丁酰基、羧基己酰基等；

- 10 任选具有一个或多个合适取代基（如低级烷基）的环（低级）烷氧基（低级）烷酰基，例如环丙氧基乙酰基、环丁氧基丙酰基、环庚氧基丁酰基、苄氧基乙酰基、苄氧基丙酰基、苄氧基丁酰基、苄氧基戊酰基、苄氧基己酰基等；

- 15 樟脑磺酰基；或

有一个或多个合适取代基（如羧基或被保护的羧基）的低级烷基氨基甲酰基，例如，羧基（低级）烷基氨基甲酰基（如，羧甲基氨基甲酰基，羧乙基氨基甲酰基，羧丙基氨基甲酰基，羧丁基氨基甲酰基，羧戊基氨基甲酰基，羧己基氨基甲酰基等），三（低级）烷基甲硅烷基（低级）烷氧羰基（低级）烷基氨基甲酰基（例如，三甲基甲硅烷基甲氧羰基乙基氨基甲酰基，三甲基甲硅烷基乙氧羰基丙基氨基甲酰基，三乙基甲硅烷基乙氧羰基丙基氨基甲酰基，叔丁基二甲基甲硅烷基乙氧羰基丙基氨基甲酰基，三甲基甲硅烷基丙氧羰基丁基氨基甲酰基等）等。

- 20 芳族酰基的实例包括任选有一个或多个合适取代基（如硝基）的芳酰基，例如苯甲酰基、甲苯酰基、二甲苯酰基、萘甲酰基、硝基苯甲酰基、二硝基苯甲酰基、硝基萘甲酰基等；和

任选有一个或多个合适取代基（如卤素）的芳烃磺酰基，例如苯磺酰基、甲苯磺酰基、二甲苯磺酰基、萘磺酰基、氟苯磺酰基、氯苯磺酰基、溴苯磺酰基、磺苯磺酰基等。

- 30 被芳基取代的脂族酰基的实例包括任选有一个或多个合适取代基（如低级烷氧基或三卤（低级）烷基）的芳基（低级）烷酰基，例如苯基乙酰基、苯基丙酰基、苯基丁酰基、乙-三氟甲基-2-甲氧基-

2-苯基乙酰基、2-乙基-2-三氟甲基-2-苯基乙酰基、2-三氟甲基-2-丙氧基-2-苯基乙酰基等。

上述酰基中更优选的酰基是任选带有羧基的 C_1-C_4 烷酰基，在环烷基部分有两个 (C_1-C_4) 烷基的环 (C_5-C_6) 烷氧基 (C_1-C_4) 烷酰基，樟脑磺酰基，羧基- (C_1-C_4) 烷基氨基甲酰基，三 (C_1-C_4) 烷基甲硅烷基 (C_1-C_4) 烷氧羰基 (C_1-C_4) 烷基氨基甲酰基，任选具有一个或两个硝基的苯甲酰基，带有卤素的苯磺酰基，或者带有 C_1-C_4 烷氧基和三卤 (C_1-C_4) 烷基的苯基 (C_1-C_4) 烷酰基。在这些基团中，最优选的是乙酰基、羧基丙酰基、苄氧基乙酰基、樟脑磺酰基、苯甲酰基、硝基苯甲酰基、二硝基苯甲酰基、碘苯磺酰基和 2-三氟甲基-2-甲氧基-2-苯基乙酰基。

“含有氮、硫和/或氧原子的饱和或不饱和的 5 或 6 元杂环”包括吡咯基和四氢呋喃基。

R^{24} 是可以含一个或多个杂原子的任选取代的杂环，优选的 R^{24} 可以是环 (C_{5-7}) 烷基，以下是其实例：

(a) 3,4-二氧代环己基；

(b) 3- R^{20} -4- R^{21} 环己基；

其中 R^{20} 是羟基、烷氧基、氧代基或 $-OCH_2OCH_2CH_2OCH_3$ 基团， R^{21} 是羟基、 $-OCN$ 、烷氧基、可以被合适取代基取代的杂芳氧基、1-或 2-四唑基、 $-OCH_2OCH_2CH_2OCH_3$ 基团、被保护的羟基、氯、溴、碘、氨基草酰氧基、叠氨基、对甲苯氧基硫羰基氧基或 $R^{25}R^{26}CHCOO^-$ （其中 R^{25} 是任选保护的羟基或被保护的氨基， R^{26} 是氢或甲基），或者 R^{20} 和 R^{21} 彼此结合成环氧环中的一个氧原子；或者

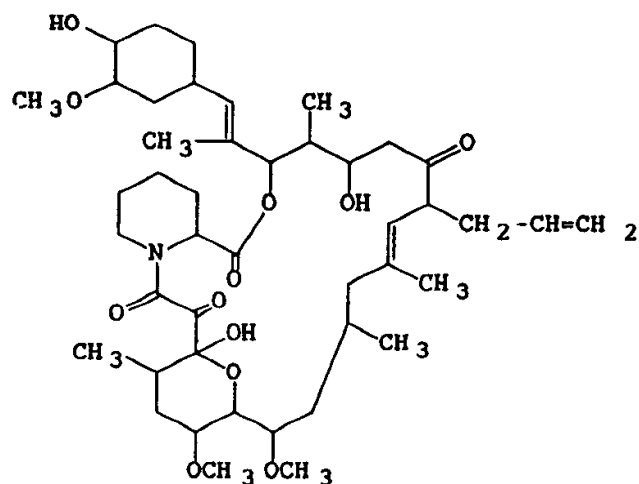
(c) 被以下基团取代的环戊基：甲氧基甲基，任选保护的羟甲基，酰氧基甲基（其中酰基部分任选地含有可季铵化的二甲基氨基，或可酯化的羧基），可以被保护的一个或多个氨基和/或羟基，或氨基草酰氧甲基。

一个优选的实例是 2-甲酰环戊基。

“可以被合适取代基取代的杂芳氧基”的“可以被合适取代基取代的杂芳基”部分可以是对于 EP-A-532,088 式 I 化合物的 R^1 所列举的那些，优选 1-羟基乙基吡啶-5-基，该专利的内容在本申请中引用作为参考。

用于本发明的三环化合物(1)及其可药用盐已知具有优异的免疫抑制活性、抗微生物活性和其它药理活性,因此可用于治疗或预防由于器官或组织移植造成的排斥反应,移植物抗宿主疾病,自身免疫疾病及传染病,其制备方法也是从所周知的[EP-A-0184162、EP-A-0323042、EP-A-423714、EP-A-427680、EP-A-465426、EP-A-480623、EP-A-532088、EP-A-532089、EP-A-569337、EP-A-626385、WO 89/05303、WO 93/05058、WO 96/31514、WO 91/13889、WO 91/19495、WO 93/04680、WO 93/5059 等],上述专利的内容在这里引用作为参考。

特别是,称为他克莫司、FR 900520(子囊霉素)、FR 900523和FR 900525的化合物是由链霉菌属如筑波链霉菌 No. 9993[保存在国立生物科学研究所和工业科学与技术人类技术署(原工业科学与技术发酵研究所), 1-3, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki, 日本, 收藏日期 1984 年 10 月 5 日, 保藏号 FERM BP-927]或吸水链霉菌屋久岛亚属 No. 7238[保存在国立生物科学研究所和工业科学与技术人类技术署(原工业科学与技术发酵研究所), 1-3, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki, 日本, 保藏日期 1985 年 1 月 12 日, 保藏号 FERM BP-928][EP-A-0184162]。以下化学式的藤霉素是有代表性的化合物。



化学名称: 17-烯丙基-1, 14-二羟基-12-[2-(4-羟基-3-甲氧基环己基)-1-甲基乙烯基]-23, 25-二甲氧基-13, 19, 21, 27-四甲基-11, 28-

二氧杂-4-氮杂三环[22.3.1.0^{4,9}]二十八碳-18-烯-2,3,10,16-四酮。

这种三环化合物(I)的优选实例是这样的化合物,其中各相邻的一对基团R³和R⁴,以及/或R⁵和R⁶,彼此独立地在它们所连接的碳原子之间形成另一个键;

R⁸和R²³各自独立地是一个氢原子;

R⁹是羟基;

R¹⁰是甲基、乙基、丙基或烯丙基;

X是氧代基,氢原子和羟基连接到一个碳原子上的状态,两个氢原子连接到一个碳原子上的状态,或是氧代基;

Y是氧代基;

R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R¹⁷、R¹⁸、R¹⁹和R²²各为甲基;

R²⁴是一个3-R²⁰-4-R²¹环己基,其中R²⁰是羟基、烷氧基、氧代基或-OCH₂OCH₂CH₂OCH₃基团,R²¹是羟基、-OCN、烷氧基、可以被合适取代基取代的杂芳氧基、1-或2-四唑基、-OCH₂OCH₂CH₂OCH₃基团、被保护的羟基、氯、溴、碘、氨基草酰氧基、叠氮在、对甲苯氧基硫羰基氧基或R²⁵R²⁶CHCOO⁻,其中R²⁵是任选被保护的羟基或被保护的氨基,R²⁶是氢或甲基,或者

R²⁰和R²¹一起构成环氧环中的一个氧原子;

n是1或2的整数。

除了他克莫司之外,最优选的三环化合物(I)是子囊霉素衍生物,例如EP-A-427680实施例66a公开的卤化的子囊霉素(ASM 981)(如33-表-氯-33-脱氧子囊霉素)、EP-A-532088公开的32-O-(1-羟乙基吡啶-5-基)子囊霉素(L-732,531)、WO 93/04680公开的32-(1H-四唑基-1-基)子囊霉素(ABT 281)等。

作为大环内酯化合物的其它优选实施例,可以举出雷帕霉素[The Merck Index(第12版),No.8288]及其衍生物。衍生物的优选实例是O-取代的衍生物,其中在WO 95/16691第1页示出的式A位置40上的羟基被-OR_i代替,其中R_i是羟烷基、羟烷氧基烷基、酰氨基烷基或氨基烷基;例如,40-O-(2-羟基)乙基雷帕霉素、40-O-(3-羟基)丙基雷帕霉素、40-O-[2-(2-羟基)乙氧基]乙基雷帕霉素和40-O-(2-乙酰氨基乙基)雷帕霉素。

这些 O-取代的衍生物可以通过雷帕霉素（或二氢或脱氧-雷帕霉素）与连接在离去基团上的有机基团（例如 RX，其中 R 是想要作为 O-取代基的有机基团，如烷基、烯丙基或苄基部分，X 是离去基团，如 $\text{CCl}_3\text{C}(\text{NH})\text{O}$ 或 CF_3SO_3 ）在合适的反应条件下反应来制备。

5 反应条件可以是酸性或中性条件，例如在 X 是 $\text{CCl}_3\text{C}(\text{NH})\text{O}$ 时在酸例如三氟甲磺酸、樟脑磺酸、对甲苯磺酸或其各自的吡啶盐或取代吡啶盐存在下，或者在 X 是 CF_3SO_3 时在碱例如吡啶、取代吡啶、二异丙基乙胺或五甲基哌啶存在下。

10 最优选的是 40-O-(2-羟基)乙基雷帕霉素，公开于 WO 94/09010，该专利的内容在这里引用作为参考。

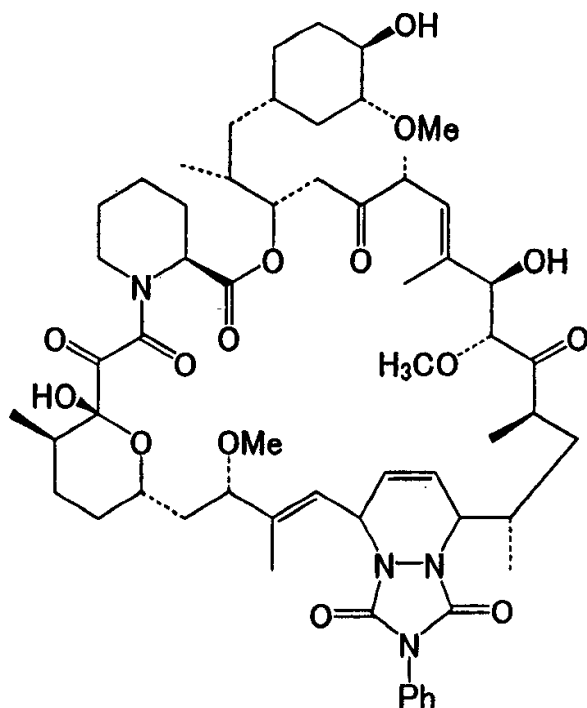
三环化合物 (I) 和雷帕霉素及其衍生物具有相似的基本结构，即，三环大环内酯结构，而至少有一种相似的生物学性质（例如免疫抑制活性）。

15 三环化合物 (I)、雷帕霉素及其衍生物的可药用盐可以是常规的无毒和可药用盐，例如与无机碱或有机碱形成的盐，特别是，碱金属盐如钠盐和钾盐、碱土金属盐如钙盐和镁盐、铵盐和胺盐如三乙胺盐和 N-苄基-N-甲基胺盐。

20 关于在本发明中使用的 2-哌啶酸衍生物和大环内酯化合物，应该清楚，可能存在构象异构体和一对或多对立体异构体，例如由于不对称碳原子造成的旋光异构体和由于双键产生的几何异构体，这些构象异构体和同分异构体也包括在本发明的范围内。另外，2-哌啶酸衍生物和大环内酯化合物可以是溶剂化物的形式，它包括在本发明的范围内。溶剂化物优选包括例如水合物和乙醇化物。

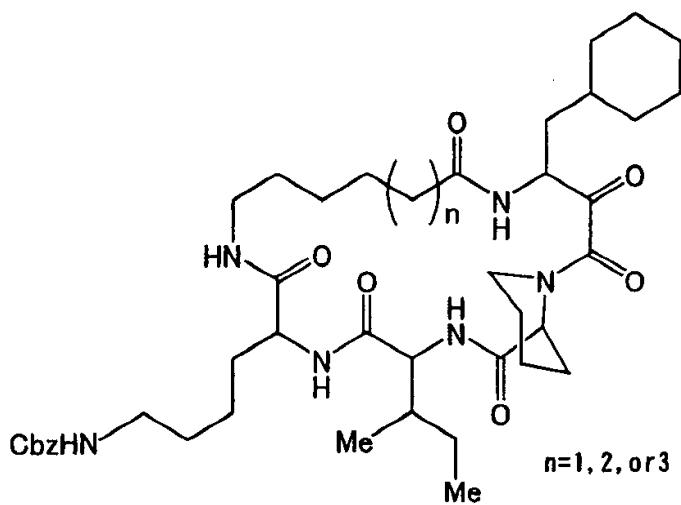
25 此外，可以作为本发明对象的 2-哌啶酸衍生物的实例还包括以下化合物：

(1) 通过 4-苄基-1,2,4-三唑啉-3,5-二酮与雷帕霉素反应合成的以下 Way-124466 化合物 (Ocain 等，生物化学与生物物理研究通讯 (Biochemical and Biophysical Research Communications)，192 (3)，1993)；



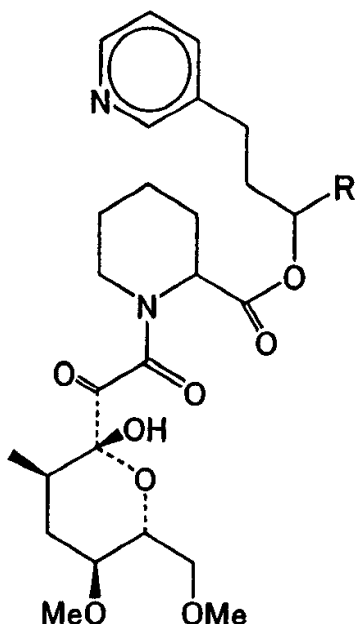
(2) 称作 RAP-Pa 的 2-嘧啶酸衍生物化合物 (Charkraborty 等, 化学与生物学 (Chemistry and Biology), 1995 年 3 月, 2:157-161);

5 (3) 以下的 2-嘧啶酸衍生物化合物 (Ikeda 等, 美国化学会志
(J. Am. Chem. Soc.) 1994, 116, 4143-4144);



(4) Wang 等, 生物有机和医学化学快报 (Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters), 4 (9), 1161-1166, 1994, 特别是作为化合物 2a-2d 公开的 2-嘧啶酸衍生物化合物;

(5) 以下的 2-哌啶酸衍生物 (Birkenshaw 等, 生物有机和医学化学快报 (Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters), 4 (21), 2501-2506, 1994);



5

(6) Holt 等, 美国化学会志 (J. Am. Chem. Soc.), 1993, 115, 9925-9938, 特别是作为化合物 4-14 公开的 2-哌啶酸衍生物化合物;

(7) 在 Caffer 等, 生物有机和医学化学快报 (Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters), 4 (21), 2507-2510, 1994 中公开的 2-哌啶酸衍生物化合物;

(8) Teague 等在 Bioorganic and medicinal Chemistry Letters, 3 (10), 1947-1950, 1993 中公开的 2-哌啶酸衍生物;

(9) Yamashita 等, Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 4 (2), 325-328, 1994, 特别是作为化合物 11、12 和 19 公开的 2-哌啶酸衍生物化合物;

(10) Holt 等, Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 4 (2), 315-320, 1994, 特别是作为化合物 3-21 和 23-24 公开的 2-哌啶酸衍生物化合物;

(11) Holt 等, Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 3 (10), 1977-1980, 1993, 特别是作为化合物 3-15 公开的 2-哌啶酸衍生物;

(12) Hauske 等, 医药化学杂志 (J. Med. Chem.), 1992, 35, 4284-4296, 特别是作为化合物 6、9-10、21-24、26、28、31-32 和 52-55 公开的 2-哌啶酸衍生物化合物;

(13) Teague 等在 Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 4(13), 1581-1584, 1994 中公开的 2-哌啶酸衍生物; 和

(14) Stocks 等, Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 4(12), 1457-1460, 1994, 特别是作为化合物 2、15-17 公开的 2-哌啶酸衍生物化合物。

本发明的脂质体制备主要是含有包封在脂质体内的上述 2-哌啶酸衍生物, 其它条件例如脂质体的结构、成分、制备方法及尺寸大小, 以及可以用来和脂质体组合使用的化合物的类型, 均无专门的限制, 除非这些条件对药物的快速作用有不利影响以及这些条件保护这些 2-哌啶酸稳定地包封在脂质体内。于是, 脂质体的结构可以是大的单室囊泡 (LUV)、多室囊泡 (MLV) 或小的单室囊泡 (SUV)。因此, 对于 LUV 粒径大小可以是 200-1000 nm, 对于 MLV 为 400-3500 nm, 对于 SUV 为 20-50 nm。优选在网状内皮系统 (RES) 中累积较少的 SUV。

作为构成脂质体结构的脂质体, 使用磷脂和硝基脂。通常, 优选的是磷脂。其实例包括天然磷脂, 例如蛋黄卵磷脂 (磷脂酰胆碱)、大豆卵磷脂、溶血卵磷脂、鞘磷脂、磷脂酸、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺、二磷脂酰甘油、心磷脂、缩醛磷脂等, 或者可以用常规方法从所述磷脂得到的氢化产物; 以及合成磷脂, 例如磷酸双十六烷基酯、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺、二棕榈酰磷脂酰丝氨酸、桐油酰磷脂酰胆碱、桐油酰磷脂酰乙醇胺、桐油酰磷脂酰丝氨酸等, 其更优选的实例包括卵磷脂, 最优选的是蛋黄卵磷脂。

包括这些磷脂在内的类脂可以单独使用。或者它们中的两种或多种可以组合使用。在这种情形, 类脂中磷脂酰基内的电负性基团和与其结合的异位基团 (乙醇胺、胆碱等) 内的电正性基团是电学上平衡的, 因此整个分子呈电中性。例如, 卵磷脂、鞘磷脂、磷脂酰乙醇胺、二硬脂酰磷脂酰胆碱等常常单独使用。相反, 若类脂内与磷脂酰基团 (电负性基团) 结合的异位基团 (如丝氨酸、甘油、肌醇等) 是电中性的, 则类脂作为整体是电负性的, 例如, 磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘

油、磷脂酰肌醇等，或者像磷脂酸或磷酸双十六烷基酯等电负性的类脂，可以在本发明中作为类脂独立地使用，但最好是与例如上述的中性类酯结合使用。在它们之中，磷脂酸和磷酸双十六烷基酯在脂质体形成中不作为主要磷脂，而是已知作为脂质体形成添加剂起作用。

- 5 考虑到本发明脂质体制剂的稳定性和操作性能，优选使用添加剂，例如赋形剂和/或稳定剂。

优选在本发明中使用的稳定剂包括例如硬脂胺、 α -生育酚、神经节苷脂、酸性糖脂硫苷脂；一类酸性糖脂和有硫酸基团的糖脂。

- 10 在本发明中优选使用的赋形剂包括例如可药用的固体糖类，例如单糖（如，葡萄糖、半乳糖、山梨糖醇、木糖醇、甘露糖醇）、二糖（如，蔗糖、乳糖、麦芽糖、海藻糖），其中更优选使用乳糖和麦芽糖，最优选使用的是麦芽糖。

- 15 在使用胆固醇制备脂质体的情形，很难得到与本发明中要求的同样水平的快速作用，而且胆固醇一般很可能对脑梗塞有不利影响。因此，本发明中不使用胆固醇。

还可以使用 α -生育酚，预期会有抗氧化剂的功能。

- 20 只要能制得具有所要求的快速溶解性能的脂质体制剂，2-嘧啶酸衍生物与形成脂质体结构的类脂的重量比无特别限制，但一般是在1:1至1:500的范围内，更优选为1:5至1:100，最优选为1:10至1:40。

考虑到本发明脂质体制剂的稳定性和操作性能，优选使用赋形剂。赋形剂的数量没有特别的限制，但2-嘧啶酸衍生物与稳定剂之比是在1:10至1:1000的范围内，更优选为1:20至1:500，最优选为1:100至1:400。

- 25 为了稳定脂质体，加入的稳定剂的数量没有特别的限制，但稳定剂与形成脂质体的类脂的重量比优选为0.01-5%，更优选为0.05-2%，最优选为0.1-1%。

- 30 考虑到贮存稳定性，本发明的脂质体制剂优选以不含溶剂的干产品的形式（例如冷冻干燥产品）提供，更优选是固体制品的形式，其特别是包含2-嘧啶酸衍生物或其可药用盐的脂质体制剂分散在作为赋形剂的可药用的糖类中。在使用时，脂质体制剂于重新分散到溶剂（例如注射用蒸馏水）中后进行例如静脉内注射。在使用本发明制剂

治疗例如脑梗塞等脑缺血疾病的情形，最优选静脉内快速浓注给药或者快速输注给药。在重新分散完成之后，2-嘧啶酸衍生物浓度优选调节成 0.01-100 mg/mL，更优选为 0.05-50 mg/mL，最优选为 0.1-10 mg/mL。

5 另一方面，利用本发明的脂质体制剂施用的 2-嘧啶酸衍生物的剂量要根据该衍生物的种类、患者年龄和要治疗的疾病的状况作适当调节。在 2-嘧啶酸衍生物是三环化合物 (I) 的情形，脂质体制剂优选以约 0.01-1000 mg 的日剂量施用，优选为 0.1-500 mg，更优选为 0.5-100 mg。

10 对于脂质体的颗粒大小没有特别限制，只要该尺寸是在药学上可接受的并能发挥快速作用的范围内。脂质体的大小优选为 1-200 nm，更优选为 10-100 nm，最优选为 20-80 nm。

如有必要，在将重新分散于注射用蒸馏水中的脂质体制剂装入注射针筒时可以使用过滤器。在这种情形，可以使用常规的滤器，其优选的实例是孔径为 0.2 μm 、0.22 μm 、0.45 μm 、0.8 μm 或 5 μm 的消毒、无热原质而且蛋白质结合性低的滤器 (Millipore SLGV025LS, SLHVM25LS, SLAA025LS, SLSV025LS 等)。

本发明的脂质体制剂可以采用与以下实施例相同的步骤制备。

实施例

20 本发明的实施例是用于示例说明，但本发明不受以下实施例的限制，在不偏离此前和以后所述的本发明涵义的情况下可以作出修改，这些修改也包括在本发明的技术范围内。

下面将详细说明本发明化合物的制备实施例。

(1) 制备实施例 1 (乙醇注射法)：将纯化过的蛋黄卵磷脂 (20 g) 和他克莫司 (1 g) 溶于乙醇 (200 ml) 中，得到的溶液在用均化器搅拌下注射并分散到通过将乳糖 (200 g) 溶于注射用水 (1800 mL) 另外得到的溶液之中。将该分散体经过 0.2 μm 的聚碳酸酯滤器过滤之后，用减压蒸发法除掉过滤后分散体中的乙醇，向分散体中加入注射用水使总体积为 2000 mL。将得到的分散体经过 0.2 μm 聚碳酸酯滤器过滤，每 10 mL 分散体装入一小瓶，然后冷冻干燥。形成的冷冻干燥的脂质体制剂重新分散在 9 mL 注射用水中，得到含 0.5 mg/mL 他克莫司、平均颗粒直径为 61.5 nm (用动态光散射法测定，NICOMP

Co. 公司制造的 C370 型) 的脂质体分散体。

(2) 制备实施例 2 (挤出法): 将通过在乙醇 (100 mL) 中溶解纯化的蛋黄卵磷脂 (5 g) 和他克莫司 (0.25 g) 得到的溶液真空干燥, 形成薄膜。将该薄膜用涡流混合器粗略地分散在 10% 麦芽糖水溶液 (500 mL) 中。该分散体依次经由 400 nm、200 nm、100 nm 和 50 nm 聚碳酸酯滤器过滤。每 10 mL 滤液装入小瓶中, 然后冷冻干燥。将形成的冷冻干燥的脂质体制剂重新分散在 9 mL 注射用水中, 得到含 0.5 mg/mL 他克莫司、平均粒径 110 nm (用动态光散射法测定, NICOMP Co. 制造的 C370 型) 的脂质体分散体。

(3) 制备实施例 3 (高压乳状液法): 将通过在乙醇 (10 mL) 中溶解纯化的蛋黄卵磷脂 (20 g) 和他克莫司 (1 g) 得到的溶液真空干燥形成薄膜。将该薄膜用电磁搅拌器粗略地分散在 10% 麦芽糖水溶液 (2000 mL) 中。用 Nanomizer Co. 制造的高压乳化机处理该分散体。所形成的脂质体乳液每 10 mL 装入一只小瓶, 然后冷冻干燥。形成的冷冻干燥脂质体制剂重新分散到 9 mL 注射用水中, 得到含 0.5 mg/mL 他克莫司、平均粒径 80 nm (动态光散射法测定, NICOMP Co. 制造的 C370 型) 的脂质体分散体。

(4) 制备实施例 4

按照与制备实施例 1 相同的方式, 由以下配方得到冷冻干燥的脂质体, 用适量的注射用水制成脂质体分散体。

他克莫司	3 mg
纯化的蛋黄卵磷脂	100 mg
一水合乳糖	1000 mg
构成	1103 mg

(5) 制备实施例 5

按照与制备实施例 3 相同的方式, 由以下配方得到冷冻干燥的脂质体制剂, 并用适量的注射用水制得脂质体制剂 1) 和 2)

1) 他克莫司	3 mg
纯化的蛋黄卵磷脂	100 mg
α -生育酚	0.3 mg
麦芽糖	1000 mg
构成	1103.3 mg

	2) 他克莫司	5 mg
	纯化的蛋黄卵磷脂	100 mg
	α -生育酚	0.3 mg
	麦芽糖	1000 mg
5	构成	1105.3 mg

下面说明实验结果。

将正常的鼠用三氟溴氯乙烷麻醉。将一根导管 (PE 50) 插入股静脉用于给药。将鼠关在固定的笼内。苏醒后于大约 30 秒内施用在制备实施例 3 中得到的药物。在用三氟溴氯乙烷麻醉下由鼠的腹部主
10 动脉收集血样并冰冷之, 然后收集全血 (需要量约 1 毫升)。在收集血时, 每 1 mL 全血加入 20 μ L (约 1000 u/mL) 的肝素。将血液冷冻贮存直至测定浓度。至于脑组织, 在切头后取出大脑, 洗去粘着在大脑周围的血并用滤纸擦净, 然后称量大脑的湿重。将大脑置于离心管中, 测定之前冷冻保存。在提交样品之日将大脑皮层用 9 倍于大脑湿
15 重的蒸馏水均化。样品中的药物浓度用未经审查的专利公告 (Kokai) No. 1-92659 中所述的酶免疫测定法测定。由结果显然可见, 在短时间内大脑或血液中就达到了足够的浓度, 发挥了充分快速的作用。图 1 示出了试验结果: A, 大脑中的含他克莫司脂质体制剂的浓度; B, 血液中的上述浓度。

20 附图简述

图 1 表示了 A: 脑中的含他克莫司脂质体制剂的浓度, 和 B: 血中的浓度。

实施本发明的最佳模式

本发明涉及脂质体制剂, 其中含有包封在脂质体内的用以下通式
25 (I) 的大环内酯化合物或其可药用盐代表的 2-哌啶酸衍生物作为活性组分。

一种含有上述式 (I) 的 17-烯丙基-1, 14-二羟基-12-[2-(4-羟基-3-甲氧基环己基)-1-甲基乙烯基]-23, 25-二甲氧基-
30 13, 19, 21, 27-四甲基-11, 28-二氧杂-4-氮杂三环 [22.3.1.0^{4,9}] 二十八碳-18-烯-2, 3, 10, 16-四酮或其可药用盐作为活性组分的脂质体制剂是特别优选的。在优选的结构中, 卵磷脂主要作为形成脂质体的类脂使用, 而且制剂中不含胆固醇作为稳定剂。

特别优选的是固体制剂的形式，其中脂质体制剂分散在可药用的糖类中，脂质体制剂由含卵磷脂作为主要组分的脂质体构成，且不含胆固醇，一种 2-嘧啶酸衍生物或其可药用盐被包封在脂质体中。

工业适用性

- 5 根据本发明，因为脂质体与含胆固醇的常规脂质体制剂相比容易崩解，所以可以预期通过快速浓注给药会产生更优异的快速作用。另外，本发明的制剂不含表面活性剂，所以有可能获得优异的效果而对循环器官不产生任何影响。

因此，本发明的脂质体制剂特别适用于治疗和预防希望药效迅速起作用的疾病，例如，脑缺血疾病（如，头伤、脑内出血（例如，蛛网膜下出血、大脑内出血）、脑梗塞、脑血栓形成、脑栓塞、心搏停止、中风、瞬时缺血发作（TIA）高血压脑病）。

10 以作为活性组分的 2-嘧啶酸衍生物，特别是三环化合物（I）的药理作用为基础，本发明的脂质体制剂适用于治疗和预防以下疾病和症状：

器官或组织（例如心、肾、肝、骨髓、皮肤、角膜、肺、胰腺、小肠、肢体、肌肉、神经、椎间盘、气管、成肌细胞、软骨等）移植产生的排斥反应；

骨髓移植后的移植物抗宿主反应；

- 20 自身免疫病，例如类风湿性关节炎，系统性红斑狼疮，桥本甲状腺肿，多发性硬皮症，重症肌无力，I 型糖尿病等；

由致病微生物（例如烟曲霉、尖孢镰刀菌、星形毛癣菌等）引起的感染；

- 25 发炎性或增殖过多性皮肤病或免疫调制病的皮肤症状（例如，牛皮癣、特应性皮炎、接触性皮炎、湿疹样皮炎、皮脂溢性皮炎、扁平苔癣、天疱疮、大疱性类天疱疮、大疱性表皮松解症、荨麻疹、血管性水肿、脉管炎、红斑、表皮嗜曙红细胞增多、红斑性狼疮、痤疮和斑形脱发）；

- 30 眼的自身免疫病（例如，角膜结膜炎，春季结膜炎、与贝切特病有关的眼色素层炎、角膜炎、疱疹性角膜炎、圆锥形角膜炎、角膜上皮营养不良、角膜白斑、眼天疱疮、Mooren 氏溃疡、巩膜炎、格雷夫斯眼病、Vogt-Koyanagi-Harada 综合症、干性角膜结膜炎（干性眼）、

小水疱、虹膜睫状体炎、肉样瘤病、内分泌眼病等)；

可逆梗阻性气道疾病[哮喘(如支气管哮喘、过敏性哮喘、内源性哮喘、外源性哮喘和粉尘哮喘)，特别是慢性或顽固性哮喘(例如晚期哮喘和气道反应过强)、支气管炎等]；

- 5 粘膜或血管炎症(例如，胃溃疡、缺血性或血栓形成性血管伤害、缺血性肠病、肠炎、坏死性小肠结肠炎、与热灼伤有关的肠损伤、白三烯 B₄-调制的疾病等)；

肠炎/变态反应(例如，乳糜泻、直肠炎、嗜曙红细胞胃肠炎、肥大细胞增多症、节段性回肠炎和溃疡性结肠炎)；

- 10 与食物有关的在远离肠胃道处显示症状的过敏性疾病(例如，偏头痛，鼻炎和湿疹)；

肾病(例如间质性肾炎、肺出血肾炎综合症、溶血性尿毒综合症、糖尿病性肾病)和肾病综合症(例如血管球性肾炎)；

- 15 神经疾病(例如，多发性肌炎、格-巴二氏综合症、美尼尔症、多神经炎、单神经炎、脑梗塞、早老性痴呆、帕金森病、肌萎缩性侧索硬化(ALS)和神经根病；

内分泌病(例如甲状腺机能亢进和巴塞多夫病)；

- 20 血液病(例如，纯红细胞再生障碍、再生障碍性贫血、发育不全性贫血、自发性血小板减少性紫癜、自身免疫性溶血性贫血、粒性白细胞缺乏症、恶性贫血、巨成红细胞性贫血和红细胞发生不能)；

骨病(例如骨质疏松)；

呼吸道疾病(例如类肉瘤病、肺纤维化和自发性间质性肺炎)；

皮肤病(例如皮炎、寻常白癜风、寻常鳞癣、光敏病和皮肤 T 细胞淋巴瘤)；

- 25 循环系统疾病(例如，动脉硬化、动脉粥样硬化、主动脉炎综合症、结节性多动脉炎和非炎性心肌病)；

胶原病(例如，硬皮病、韦格纳肉芽肿病和肖格伦综合症)；

肥胖症；

嗜曙红细胞性筋膜炎；

- 30 牙周病(例如，牙床、牙周组织、牙槽骨或牙骨质的损伤)；
男性图案形脱发、老年性脱发；
遗传性肌肉营养不良；

脓皮病和西泽里综合症；

与染色体异常有关的疾病（例如唐氏综合症）；

肾上腺机能不全；

- 5 活性氧调制的疾病[例如器官损伤（如与保存、移植或缺血性疾病（如血栓形成、心肌梗死）有关的器官（如心、肝、肾、消化道等）局部缺血性性循环障碍）]；

肠道疾病（例如，内毒素休克、假膜结肠炎和药物或辐射引起的结肠炎）；

肾病（例如缺血性急性肾机能不全，慢性肾衰竭）；

- 10 肺病（例如由肺部氧或药物（如泼尼松、博来霉素等）引起的中毒，肺癌和肺气肿）；

眼病（例如，白内障、血色素沉着病（眼球铁质沉着）、视网膜炎、色点病、老年斑、玻璃体结疤、角膜碱灼伤）；

- 15 皮炎（例如，多形性红斑、线性免疫球蛋白 A 大泡性皮炎、水泥皮肤炎）；

以及其它疾病（例如，牙龈炎、牙周炎、败血症、胰腺炎和由于环境污染（例如空气污染）、年龄、致癌物、癌转移和低气压病引起的疾病）；

由组胺释放或白三烯 C_4 释放引起的疾病；

- 20 血管成形术之后的冠状动脉再狭窄和防止手术后粘附；

自身免疫病和炎症（例如，原发性粘膜水肿、自身免疫萎缩性胃炎、绝经过早、男性不育症、青少年糖尿病、寻常天疱疮、类天疱疮、交感性眼炎、镜片引起的眼色素层炎、自发性白细胞减少、活动性慢性肝炎、自发性肝硬化、盘形红斑性狼疮、自身免疫性睾丸炎、关节炎（例如变形性关节炎）或多软骨炎）；

- 25 病毒（HIV）感染，艾滋病；

过敏性结膜炎；和

由于外伤、灼伤或手术引起的增生性瘢痕和瘢痕瘤。

- 30 此外，诸如三环化合物（I）等大环内酯化合物具有肝再生活性和/或刺激肝细胞肥大和增生的活性。因此，本发明的药用脂质体制剂可用于增强肝病的治疗和/或预防效果[例如，致免疫性疾病（如，慢性自身免疫肝病，例如自身免疫肝病、原发性胆汁性肝硬化或硬化

性胆管炎)、部分肝切除、急性肝坏死(例如由毒素、肝炎病毒、休克或缺氧引起的坏死)、乙型肝炎、非甲非乙型肝炎、肝硬变和肝衰竭(如暴发性肝炎、迟发性肝炎和“慢性转急性”肝衰竭(处于慢性肝病状态的急性肝衰竭))]。

- 5 再者, 本发明的脂质体组合物还可用于提高预防和/或治疗各种疾病的效果, 这是由于所述的三环大环内酯的有用的药理活性, 例如增强化学治疗作用的活性、巨细胞病毒感染活性、消炎活性、对于肽基-辅氨酸异构酶或旋转异构酶的抑制活性、抗疟活性、抗肿瘤活性等。

说明书附图

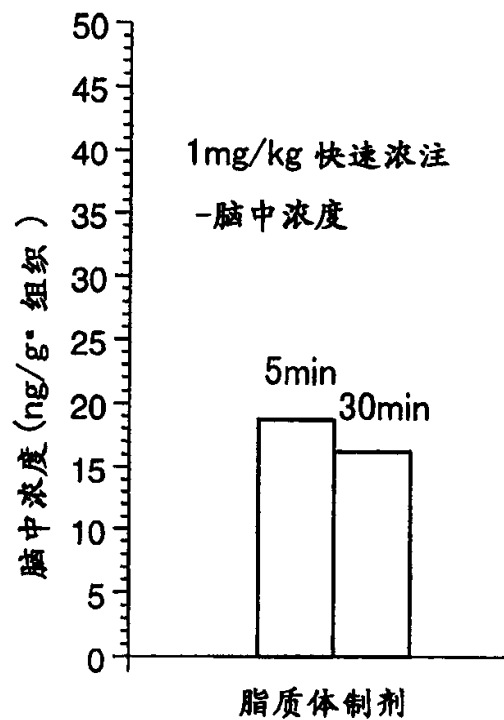


图 1A

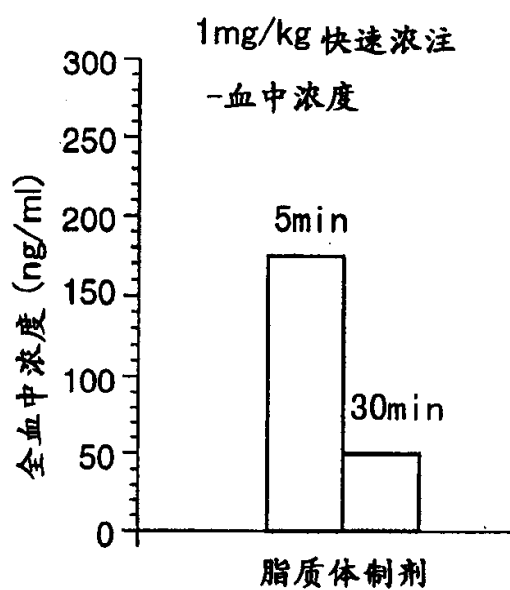


图 1B