



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 340 374**

51 Int. Cl.:
A61K 47/48 (2006.01)
C07K 5/06 (2006.01)
C07K 5/072 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03711787 .6**
96 Fecha de presentación : **05.03.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1489125**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.12.2004**

54 Título: **Compuesto de oligopéptido policarboxílico polimérico hidrofílico y medicinas, composición médica que comprende el compuesto mencionado y el uso del compuesto mencionado en medicinas.**

30 Prioridad: **05.03.2002 CN 02 1 06691**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.06.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.06.2010

73 Titular/es: **Beijing Jiankai Technology Co., Ltd.
Building C-4F, Shangdi Xinxilu nº 2
Pioneering Park, Haidian District
100085 Beijing, CN**

72 Inventor/es: **Ji, Shishan y
Zhu, Dequan**

74 Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 340 374 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuesto de oligopéptido policarboxílico polimérico hidrofílico y medicinas, composición médica que comprende el compuesto mencionado y el uso del compuesto mencionado en medicinas.

Campos de la invención

La presente invención se refiere a un nuevo conjugado de oligopéptido policarboxílico hidrofílico y molécula de fármaco, comprendiendo una composición farmacéutica el conjugado y el uso farmacéutico del conjugado.

Antecedentes de la invención

Entre los ingredientes activos de medicina natural, proteínas, polipéptidos, esferoides terpenoides, alcaloides, flavonoides, antraquinonas, y fenoles fenilpropanoides, todos muestran diferentes propiedades eficaces en el término de actividad biológica, y por lo tanto han sido ampliamente utilizados en medicina. Su glucósido, nucleósido y derivados de polipéptido también han mostrado aplicaciones considerables. Como componentes naturales activos, tienen las ventajas de una tasa de biodegradación rápida, pequeña o sin residuo, toxicidad baja, y pocos o ningún efecto secundario. No obstante, todavía presentan algunas desventajas, tales como la baja biodisponibilidad, vida media fisiológica corta, solubilidad pobre, inmunogenicidad.

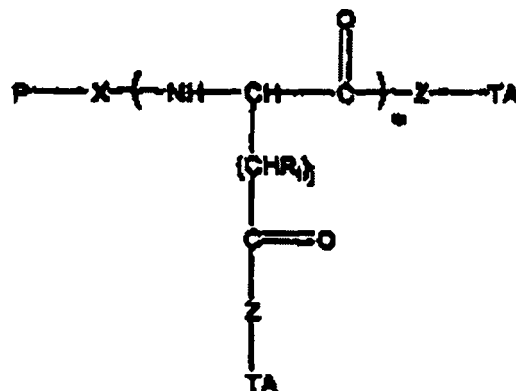
Para resolver los problemas, derivados de PEG han sido utilizados ampliamente para conjugar con proteínas, péptidos u otros agentes terapéuticos con el fin de prolongar su vida media fisiológica y para reducir su inmunogenicidad y toxicidad. Clínicamente, PEG y sus derivados han sido ampliamente utilizados como portadores para la fabricación de preparados de fármacos comerciales. Y el intento de conjugación de PEG a molécula de fármaco tiene un progreso impresionante en los últimos 10 años y ha sido aplicado para muchos medicamentos aprobados oficialmente. Por ejemplo, PEG-intron®, un conjugado de PEG y α -interferón, muestra una vida media de circulación más larga y mejor efecto terapéutico en comparación con la forma nativa de α -interferón. Se ha demostrado que el conjugado de PEG y paclitaxel reduce correspondientemente la toxicidad y prolonga la bioactividad. Los procesos del metabolismo de estos conjugados son bien conocidos, mostrando que PEG es un modificador seguro de fármaco.

Al conjugar PEG a fármacos, se usa frecuentemente un proceso llamado PEGilación, en el que uno o dos de los grupos terminales de PEG son activados químicamente para tener un grupo funcional apropiado que es reactivo a por lo menos un grupo funcional del fármaco para formar un enlace estable. Este enlace estable puede ser eliminado por degradación bajo condiciones apropiadas *in vivo* y de ese modo se libera la sustancia activa.

Se informa que PEG puede ser utilizado para conjugar a muchos fármacos. Los profármacos de derivados de PEG conjugados con paclitaxel han sido descritos en las patentes US Nr. 5824701 y 5840900 y la patente CN1283643. En estas patentes, cada uno de los dos grupos terminales de PEG es conjugado con una molécula del paclitaxel. Para aumentar la carga de la molécula del fármaco, la patente US n°. 6153655 expone una estructura de PEG terminalmente ramificada, en la que dos grupos funcionales son formados por medio de enlace de amino en los dos terminales de PEG, no obstante, la introducción de pequeñas moléculas no biológicas ramificadas también hace la propiedad del fármaco indefinida. La patente US Nr. 5977163 y 6262107 y la patente china CN1164533 revelan un profármaco de paclitaxel con ácido poliglutámico como portador, en el que paclitaxel se une de forma aleatoria a los grupos carboxilo activos de ácido glutámico a lo largo del esqueleto del ácido poliglutámico. La amplia polidispersidad e incertitud de la toxicidad del ácido poliglutámico limitan la aplicación de estas invenciones. WO01/57067 describe ligandos peptídicos que son capaces de enlace específico en la alta afinidad del receptor-1 de factor del crecimiento vascular endotelial (VEGF) y receptores similares de estructura. Ejemplo 8 de esta solicitud de patente internacional describe la síntesis de un conjugado de poliglutamato, un polipéptido con una alta afinidad a VEGF receptor-1, y paclitaxel.

Resumen de la invención

Por lo tanto, el objetivo de la presente invención es proporcionar un conjugado del polímero policarboxílico oligopéptido hidrofílico y molécula de fármaco representada por la fórmula siguiente



donde:

P es un polímero hidrosoluble seleccionado del grupo que consiste en polietileno glicol, polipropileno glicol, alcohol polivinilo, poliacrilmorfolina y copolímeros de los mismos;

m es un número entero de 2 a 12;

j es un número entero de 1 a 6;

R_i es un grupo seleccionado del grupo que consiste en H, C₁₋₁₂ alquilo, arilo sustituido, aralquilo, heteroalquileo y alquilo sustituido;

X es un grupo de conexión seleccionado de (CH₂)_i, (CH₂)_iOCO, (CH₂)_iNHCO y (CH₂)_iCo, donde i es un número entero de 0-10;

Z es un grupo de la conexión seleccionado de O y NH; y

TA es cualquiera seleccionado del grupo que consiste en cinobufagina, ácido glicirretínico, escopoletina, paclitaxel, camptotecina, hidroxilcamptotecina y etoposida.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el conjugado de arriba como sustancia activa.

Según todavía otro aspecto de la invención, se proporciona un conjugado para el uso en tratamiento terapéutico.

El conjugado de la presente invención puede mejorar la absorción de fármacos, prolongar la duración terapéutica, aumentar el efecto terapéutico, reducir la dosificación y evitar toxicidad y otros efectos secundarios.

Breve descripción de los dibujos

Lo siguiente es una descripción más detallada de la presente invención refiriéndose a los siguientes dibujos, en los que:

Fig. 1 muestra la síntesis de derivados de oligopéptido de ácido glutámico de PEG;

Fig. 2 muestra la síntesis de conjugados de unión de éster de derivados de oligopéptido de ácido glutámico de PEG y fármacos; y

Fig. 3 muestra la síntesis de otra especie de conjugados de derivados de oligopéptido de ácido glutámico de PEG y fármacos.

Descripción detallada de la invención

El polímero hidrofílico usado en el conjugado de la presente invención es polietileno glicol, polipropileno, alcohol polivinílico, poliacrilmorfolina o copolímero de los mismos, entre éstos, polietileno glicol y su copolímero son preferibles. El oligopéptido ácido de aminoácido, especialmente oligopéptido de ácido glutámico se conjuga con el polímero progenitor para modificar el hidróxilo final libre de polímero hidrofílico de este tipo. Esta conjugación proporciona conectar sitios entre el polímero y la molécula del fármaco. De esta manera, amino e hidróxilo libres de proteínas, péptidos u otros de los ingredientes activos de medicina natural pueden ser vinculados al polímero. Especialmente para la sustancia activa de molécula pequeña de medicina natural, una o más moléculas del fármaco pueden ser vinculadas al oligopéptido del polímero multicarboxilo hidrofílico para asegurar de esta manera una concentración del fármaco apropiado y liberación sostenida.

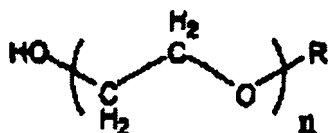
En el conjugado, según la presente invención, grupos policarboxílicos de oligopéptido de ácido glutámico proporcionan muchos sitios de conjugación, y de esta manera, el conjugado tiene una carga del fármaco más alta que el portador PEG lineal usual. La diferencia entre oligopéptido de ácido glutámico y ácido poliglutámico es que el oligopéptido de ácido glutámico tiene un número definido de grupos carboxílicos activos por cadena de oligopéptidos. Por lo tanto, al conjugarlo con una molécula de fármaco tal como paclitaxel, será fácil de confirmar y repetir la cantidad de la carga del fármaco. Al mismo tiempo, debido a la no hidrofiliidad de los fármacos tal como el paclitaxel, el conjugado de molécula de fármaco de oligopéptido de ácido hidrofílico de polímero glutámico formará una estructura molecular de la micela/microesfera que consiste en varias moléculas que se agregan en solución acuosa. Esta estructura mantendrá las propiedades favorables del polímero hidrofílico, tales como hidrofiliidad, flexibilidad, y fagocitosis anti-macrófaga. Mientras tanto, la estructura proporciona la liberación sostenida de la molécula del fármaco y del tiempo de retención prolongada *in vivo* para el fármaco, especialmente medicina natural.

ES 2 340 374 T3

Una de las ventajas de la presente invención es que, además de las características del polímero hidrofílico tales como PEG o sus derivados, por ejemplo, solubilidad, no inmunogenicidad y la no toxicidad, los grupos del oligopéptido proporcionan muchos sitios de carga para las moléculas del fármaco, para asegurar la concentración eficaz de la sangre y la liberación gradual del fármaco.

Ahora vamos a tomar los derivados de PEG como un ejemplo para explicar la conexión entre el polímero hidrofílico y oligopéptidos multicarboxílicos.

La estructura de los derivados de PEG incluye la parte de la cadena polimérica ramificada y la parte del grupo terminal funcional, que son descritos respectivamente de la siguiente manera. Glicoles de polietileno (PEG) son representados por la siguiente fórmula general que veremos a continuación:



donde:

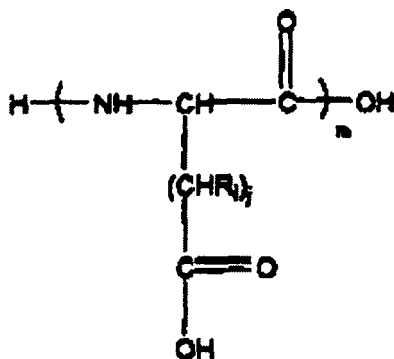
R es H o C₁₋₁₂ alquilo; y

n es un número entero, representando el grado de polimerización.

Como un alquilo inferior, R puede ser cualquier grupo alquilo inferior que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, Isobutilo, n-pentilo y n-hexilo. Como un cicloalquilo, R es preferiblemente un cicloalquilo conteniendo de 3 a 7 átomos de carbono, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, y ciclohexilo. Entre estos, el ciclohexilo es preferible. El compuesto típico es (mPEG) de metoxi polietileno glicol. Otros análogos y derivados de polietilenglicol, tales como polipropileno glicol, alcoholes de polivinilo, y poliacrilmorfolinas y similares, pueden también ser usados en la presente invención.

Con respecto a los PEG, éstos son normalmente medidos por peso molecular. Es preferible el peso molecular de PEG que forma las caídas conjugadas en el rango de 300 a 60000 Daltons, que significa que n es aproximadamente 6~1300. Es más preferible que n sea 28, 112 y 450, respectivamente que corresponde a peso molecular 1325, 5000, y 20000. Debido a la no homogeneidad potencial de los PEG de inicio que son normalmente definidos según su peso molecular, mejor que la unidad de auto repetición n, los PEG están normalmente caracterizados por un promedio de peso del peso molecular, en cambio esos PEG se caracterizan por sus unidades auto repetitivas representadas por n. Los compuestos del PEG de inicio con pesos moleculares diferentes son fácilmente sintetizados usando los métodos conocidos de la técnica o son comercialmente disponibles.

Los oligopéptidos policarboxílicos son representados por la siguiente fórmula general:



donde:

m es un número entero de 2~12, representando el grado de polimerización;

j es un número entero de 1~6; y

R_i es un grupo seleccionado del grupo que consiste en H, C₁₋₁₂ alquilo, arilo sustituido, aralquilo, heteroalquileno y alquilo sustituido.

ES 2 340 374 T3

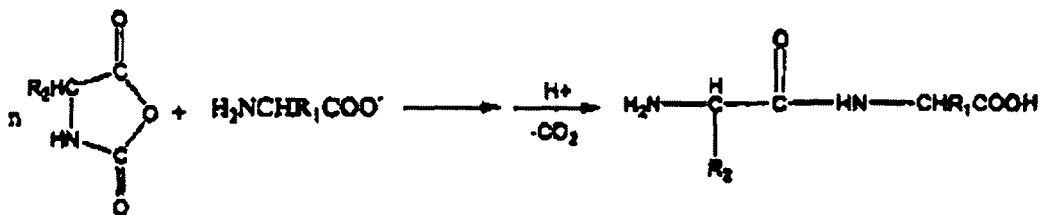
Como un alquilo inferior, R_i puede ser cualquier grupo alquilo inferior que tiene 1-12 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, Isobutilo, n-pentilo y n-hexilo, y posible cicloalquilo. Como un aralquilo, R_i es preferiblemente bencilo o feniletíl. El arilo sustituido preferido es bencilo.

5 La síntesis del oligopéptido puede ser realizada según el método de la síntesis general. Con aminoácidos de protección, el polímero de aminoácido puede ser producido con alto rendimiento bajo el efecto deshidratado. Por supuesto, porque el oligopéptido de la presente invención es un homo polipéptido, no hay ningún problema de la secuencia estructural aquí. Por lo tanto, métodos más fáciles pueden ser usados aquí, tales como método de anhídridos de ácido mezclados, método de éster activo y método de n-carboxi-a-amino ácido (NCA) etc.

10

Tomando como ejemplo el método anhídridos de n-carboxi-a-aminoácido, la síntesis se muestra a continuación:

15



20

25 La reacción tiene las ventajas de velocidad de reacción rápida y ciclo de síntesis corta. Cuando la reacción es completa, los péptidos obtenidos con grupo amino libre pueden ser usados directamente en la siguiente fase de síntesis de oligopéptidos sin separación. La cadena lateral necesita generalmente menos protección. La protección de cadena lateral es normalmente necesaria para la cadena lateral de NCA. Para el componente de amino, sólo las cadenas laterales de lisina y cisteína necesitan ser protegidas.

30

Los compuestos de multicarboxilo y oligopéptido son fácilmente sintetizados usando métodos conocidos en la técnica o son comercialmente disponibles.

35

La fracción del ácido oligopéptido hidrofílico glutámico de polímero de la presente invención se sintetiza a partir de polímero hidrofílico y ácido oligopéptido glutámico por los métodos conocidos en la técnica.

40

En la aplicación práctica, los grupos terminales del polímero hidrofílico necesitan ser activados para asegurar que es capaz de reaccionar con amino o grupos carboxilo del oligopéptido para formar el conjugado. Respecto al uso destinado, los grupos terminales funcionales pueden ser modificados con los métodos siguientes:

45

- Aminación. El amino que es de reactividad superior toma la posición de hidróxilo después de que el polímero hidrofílico es arrimado. Es especialmente importante cuando el polímero reacciona con una molécula que comprende el grupo de ácido carboxílico para producir un conjugado.
- Carboxilación. Carboxilar el polímero hidrofílico mejora su reactividad y lo hace capaz de conjugar las moléculas que contienen amino o grupos de carboxilo.
- Otros métodos, tales como, modificaciones por cloruro de acilo, hidracina, maleimida, disulfuro de piridina etc. también pueden ser todos adoptados apropiadamente.

50

Todos los métodos mencionados, arriba llevarán a la formación de enlaces químicos entre los grupos funcionales de polímero hidrofílico y oligopéptido. Así es posible hacer un buen uso de las ventajas de los dos compuestos.

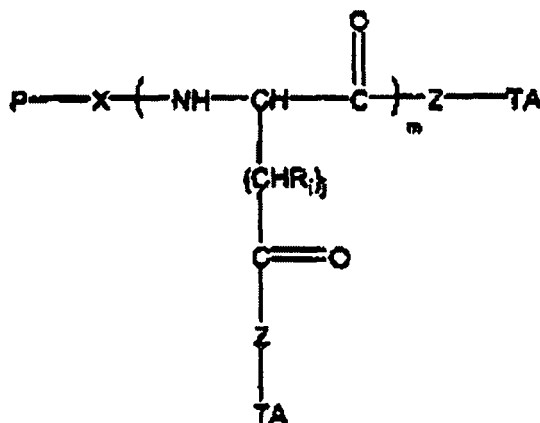
55

Todos los fármacos usados actualmente, especialmente en medicina natural, comprenden grupos funcionales tales como amino, grupos carboxilo de hidróxilo. *In vivo*, estos grupos funcionales pueden conjugar con monosacárido, polisacárido, nucleósido, polinucleósido, y fosforil, etc. para formar una estructura farmacológicamente activa *in vivo*.

60

En consecuencia, el polímero-multioligopéptido hidrofílico se puede conjugar en las moléculas del fármaco de la misma manera para reemplazar moléculas biorgánicas y superar sus defectos de vida media fisiológica corta y duración terapéutica corta. El oligopéptido de polímero-multicarboxi hidrofílico de la presente invención tiene la fórmula siguiente:

65



donde:

P es un polímero hidrosoluble seleccionado del grupo que consiste en polietileno glicol, polipropileno glicol, alcohol polivinilo, poliacrilmorfolina y sus copolímeros, polietileno y siendo preferido su copolímero; m es un número entero de 2 a 12;

j es un número entero de 1 a 6;

R_i es un grupo seleccionado del grupo que consiste en H, C₁₋₁₂ alquilo, arilo sustituido, aralquilo, heteroalquileo y alquilo sustituido;

X es un grupo de la conexión seleccionado de (CH₂)_i, (CH₂)_iOCO, (CH₂)_iNHCO y (CH₂)_iCo, donde i es un número entero de 0-10, preferiblemente de 1 -10;

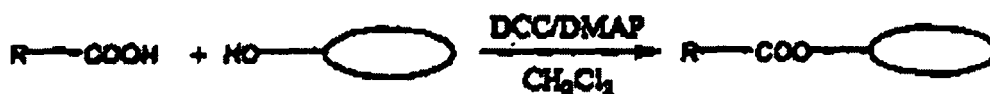
Z es un grupo de conexión seleccionado de O y NH; y

TA es cualquiera seleccionado del grupo que consiste en cinobufagina, ácido glicirretínico, escopoletina, paclitaxel, camptotecina, hidroxilcamptotecina y etoposida.

Si el polímero hidrofílico comprende grupos de hidróxilo libre, los grupos de hidróxilo pueden ser bloqueados por C₁₋₁₂ alcoxilo, cicloalkoxilo o aroxilo, preferiblemente por metoxilo, etoxilo, iso-propoxi, ciclopropilo, ciclo butoxil, ciclohexoxil o benzoxilo.

Adicionalmente, la molécula objetivo, tal como anticuerpo etc., puede ser vinculada al polímero hidrofílico con el fin de entregar el conjugado de la presente invención.

El polímero hidrofílico puede ser conjugado a molécula de fármaco a través de la reacción de esterificación. Este proceso puede ser simplemente representado de la siguiente manera:



El grupo éster puede ser eliminado de biodegradación *in vivo* para liberar la sustancia activa.

El conjugado de la presente invención puede ser administrado en forma de compuestos puros o composiciones aceptables farmacéuticamente a través de cualquier vía de administración aceptable o estando incluido en el reactivo que tiene el uso similar. Así, el conjugado puede ser administrado por vía oral, nasal, parenteral, tópica, transdérmica o rectal en la dosificación en polvo sólido, semisólido, liofilizado o líquido, tales como comprimidos, supositorios, píldoras, cápsulas de gelatina blanda y dura, polvos, soluciones, suspensiones y aerosoles. Las formas de dosificación unitaria adecuadas para una dosificación precisa y administración fácil son preferibles. La composición incluye soporte farmacéutico convencional o excipiente y el conjugado como sustancia activa (una o más). La composición también puede incluir otros agentes médicos, portador y adyuvante.

Generalmente, dependiendo de la vía de administración deseada, la composición aceptable farmacéuticamente incluye aproximadamente 1-99% de peso del conjugado de la presente invención, y 99-1% de peso del excipiente farmacéuticamente adecuado. Preferiblemente, la composición incluye 5-75% de peso del conjugado y lo demás es excipiente farmacéuticamente adecuado.

ES 2 340 374 T3

La composición que puede ser administrada en forma de líquido, tal como solución y suspensión, puede ser preparada siendo disuelta o dispersando el conjugado de la presente invención (aproximadamente 0.5-20%) y el adyuvante farmacéutico opcional en el portador. Ejemplos del portador para la formación de solución o suspensión incluyen agua, solución salina, glucosa acuosa, glicerol, etanol.

Si es necesario, la composición de la presente invención puede incluir algún otro aditivo, tales como agente humectante, emulsionante, tampón pH y antioxidante etc., por ejemplo ácido cítrico, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina, butilhidroxitolueno.

Los métodos de la preparación práctica de las formas de este tipo de dosificación son conocidas u obvias para el técnico en la técnica, por ejemplo haciendo referencia a Ramington's Pharmaceutical Science, 18th edition, (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania). En cualquier caso, según las técnicas de la presente invención, la composición usada incluye una cantidad eficaz del conjugado según la presente invención para tratar enfermedades correspondientes.

Ejemplos

El conjugado de la presente invención y su método de preparación serán adicionalmente descritos haciendo referencia a los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

Preparación oligopéptido metoxipolietileno de ácido glicol glutámico (1)

La fig. 1 muestra el método de síntesis en el que se disolvieron 10 g de metoxipolietileno glicol (peso molecular es 5000) y 2 g de N, N'-disuccinimidil carbonato en 100 ml de acetonitrilo y 0,5 ml de piridina seca también fue añadida. La mezcla de reacción fue agitada durante toda la noche a temperatura ambiente bajo la protección de nitrógeno. Los excesos de solventes fueron eliminados por evaporación giratoria y el residuo fue secado al vacío. El sólido obtenido fue añadido en 20 ml de diclorometano seco y la mezcla fue filtrada para eliminar lo no disuelto. La capa orgánica fue lavada una vez con solución tamponada de acetato sódico (0,1 M, pH 5.5), secada con sulfato de sodio anhidro y fue concentrada. El producto fue transferido con éter, filtrado y secado al vacío. Rendimiento: 9,0 g (90%). RMN (DMSO): 3,5 (br m, HS de PEG), 3,24(3H, s), 4,45(2H, t), 2,82(4H, s).

0,6 g de dipéptido de ácido glutámico (Glu-Glu) fue disuelto en 50 ml solución de tampón de fosfato (0,1 M, pH 7.4), y 4 g de carbonato metoxipolietileno succinimidil glicol (peso molecular 5000, preparado en el paso anterior) también fue agregado. La solución fue agitada durante 6 horas a temperatura ambiente y extraída 3 veces con diclorometano. La fase orgánica combinada se secó con sulfato de sodio anhidro. El solvente fue eliminado por evaporación giratoria bajo presión reducida. El residuo fue añadido en 100 ml alcohol isopropílico y filtrado. El producto se secó al vacío y purificó por cromatografía de intercambio iónico. Rendimiento: 3,6 g (90%). RMN (DMSO): 3,5 (br m, HS en PEG), 3,24(3H, s), 4,41 (2H, t), 2,32 (4H, t).

Ejemplo 2

Preparación de oligopéptido polietileno de ácido glicol-diglutámico (2)

La Fig. 1 muestra el método de la síntesis en la que fueron disueltos 30 g de polietileno glicol (peso molecular 35,000) y 2 g de N, carbonato N'-disuccinimidil en 200 ml de acetonitrilo y también fue añadida 0,5 ml piridina seca. La mezcla de reacción fue agitada durante toda la noche a temperatura ambiente bajo la protección de gas nitrógeno. El exceso de solvente fue eliminado por evaporación giratoria y el residuo fue secado al vacío. El sólido obtenido fue añadido a 50 ml de diclorometano seco y la mezcla fue filtrada para eliminar lo no disuelto. El estrato orgánico fue lavado una vez con tampón de acetato sódico (0,1 M, pH 5.5), secado con sulfato de sodio anhidro y fue concentrado. El producto fue transferido por éter, filtrado, y secado al vacío. Rendimiento: 27,2 g (90%). RMN (DMSO): 3,5 (br m, HS de PEG), 4,45 (4H, t), 2,82 (8H, s).

0,1 g de dipéptido del ácido glutámico (Glu-Glu) fue disuelto en 20 ml de dimetilformamida y 10 g de glicol de polietileno disuccinimidil carbonato preparado más arriba (peso molecular 35000) fueron añadidos a la solución. La mezcla reactiva fue agitada durante 6 horas a temperatura ambiente. Precipitado sólido fue filtrado. La solución del residuo fue precipitada con 100 ml alcohol isopropílico, filtrada, y secada al vacío. El producto fue purificado con cromatografía de intercambio iónico. Rendimiento: 4,2 g (40%). RMN (DMSO): 3,5 (br m, HS de PEG), 4,41 (4H, t), 2,37(4H, s), 2,32 (4H, t).

Ejemplo 3

Preparación de conjugado de oligopéptido metoxipolietileno de ácido glicol glutámico y paclitaxel (3)

La Fig. 2 muestra el método de síntesis en el cual 1,25 g de dipéptido metoxipolietileno de ácido glicol diglutámico preparado en el ejemplo 1, 0,7 g de paclitaxel y 0,1 g de 4 piridina de dimetilamino (DMAP) fueron disueltos en 15 ml de diclorometano seco, y 0,2 g de (DCC) de dicitclohexilcarbodiimida también fue añadido. La mezcla reactiva

ES 2 340 374 T3

fue agitada durante toda la noche a temperatura ambiente bajo la protección de gas nitrógeno. El exceso de solvente fue eliminado por evaporación giratoria y el residuo fue disuelto en 8 ml de 1,4-dioxano. La mezcla fue filtrada para eliminar el precipitado y la solución fue concentrada. 30 ml de alcohol isopropílico fueron añadidos al residuo, filtrado, y secado al vacío. Rendimiento: 1,6 g (80%). M.p.: 59-62°C.

5

Ejemplo 4

La preparación del conjugado oligopéptido polietileno de ácido glicol- glutámico y paclitaxel (4)

10 4,0 g dipéptido polietileno de ácido glicol diglutámico preparado en el Ejemplo 2, 0,4 g de paclitaxel y 0.08 g de 4-dimetilamino de piridina (DMAP) fueron disueltos en 20 ml de diclorometano seco. Después fueron añadidos también 0,15 g de dicitclohexilcarbodiimida (DCC). La mezcla reactiva fue agitada durante toda la noche a temperatura ambiente bajo la protección de gas nitrógeno y el exceso de solvente fue eliminado por evaporación giratoria. El residuo fue disuelto en 10 ml de 1,4-dioxano, filtrado para eliminar precipitado y el líquido madre fue concentrado.
15 El residuo fue añadido a 50 ml de alcohol isopropílico y filtrado. El producto fue secado al vacío. Rendimiento: 3,7 g (85%). M.p.: 61-64°C.

Ejemplo 5

20 *Preparación del conjugado péptido metoxipolietileno de ácido glicol- glutámico y camptotecina (5)*

La Fig. 3 muestra la síntesis de esto. 0.7 g de camptotecina y 0.5 g de N-tert- butioxilcarboxilglicina (BOC-gly) fueron disueltos en 10 ml de diclorometano seco. 0.62 g de (DCC) de dicitclohexilcarbodiimida y 0.36 g de 4-dimetilamino piridina (DMAP) también fueron añadidos. La mezcla reactiva fue agitada durante toda la noche a temperatura ambiente. El sólido formado durante la reacción fue filtrado fuera y el líquido madre fue concentrado bajo presión reducida. La mezcla fue añadida a 50 ml éter y filtrada fuera. El precipitado fue recogido y secado al vacío.

25

0,5 g de camptotecina N-tert-butioxilcarboxilglicina éster (obtenida en fase del formador) fue disuelta en 10 ml cloroformo. Luego, fueron añadidos 10 ml de ácido trifluoroacético. La mezcla reactiva fue agitada durante 5 horas a temperatura ambiente y concentradas bajo presión reducida y luego fueron añadidos 50 ml de éter dietílico. El precipitado fue recogido por filtración y secado al vacío.

30

2,5 g de dipéptido metoxilpolietileno glicol de ácido glutámico preparado en el Ejemplo 1, 0,6 g de camptotecina sustituida (preparado en el paso anterior) y 0,2 g de 4-dimexilamino piridina (DMAP) fueron disueltos en 30 ml de diclorometano seco. 0,4 g de dicitclohexilcarbodiimida (DCC) fue añadido después. La mezcla reactiva fue agitada durante toda la noche a temperatura ambiente bajo la protección de gas nitrógeno. El exceso de solvente fue eliminado por evaporación giratoria, y el residuo fue disuelto en 15 ml de 1,4-dioxano. La precipitación fue filtrada y el líquido madre fue concentrado. El residuo fue añadido a 50 ml alcohol isopropílico y filtrado. El sólido obtenido fue secado al vacío. El producto puede ser purificado por cromatografía de intercambio iónico. Rendimiento: 2,5 g (80%). M.p.: 60-63°C.

35

40

Ejemplo 6

Preparación del conjugado de oligopéptido metoxilpolietileno de ácido glicol-glutámico y cinobufagina (6)

45

La Fig. 2 muestra la síntesis en la que 1 g de dipéptido metoxilpolietileno de ácido glicol glutámico, preparado en el ejemplo 1, fue disuelto en 10 ml de diclorometano. 60 mg de cinobufagina, 32 mg de piridina de 4-dimetilamino (DMAP) y 40 mg de (DCC) de dicitclohexilcarbodiimida fueron añadidos luego. La mezcla reactiva fue agitada durante toda la noche a temperatura ambiente bajo la protección de gas nitrógeno. El exceso de solvente fue eliminado por evaporación giratoria. El residuo fue disuelto en 20 ml de 1,4-dioxano, filtrado y el líquido madre fue concentrado. El residuo fue añadido a 100 ml alcohol isopropílico y filtrado. El producto del sólido obtenido fue secado al vacío. Rendimiento: 0,8 g (60%). M.p: 58 °<80°C.

50

Ejemplo 7

55

Preparación del conjugado de oligopéptido metoxilpolietileno de ácido glicol-glutámico y ácido glicirretínico

La Fig. 3 muestra la síntesis de esto. 1 g de dipéptido metoxilpolietileno de ácido glicol glutámico preparado en el Ejemplo 1 fue disuelto en 10 ml de diclorometano. 0,2 ml cloruro de tionil fueron añadidos gota a gota. La mezcla reactiva fue agitada durante 2 horas. Solvente e impurezas con punto de ebullición bajo fueron eliminadas por destilación bajo presión reducida. Una solución de 70 mg de ácido glicirretínico fue añadida en 10 ml diclorometano y disuelta por agitación. 60 mg de piridina de 4-dimetilamino (DMAP) fueron añadidos luego. La solución de la reacción fue agitada durante 12 horas a temperatura ambiente bajo la protección de gas nitrógeno. El solvente fue concentrado al vacío. El residuo fue añadido en 20 ml de alcohol isopropílico y filtrado. El precipitado fue recogido, lavado con éter dietílico, secado por succión, y después secado al vacío. El producto puede ser purificado por cromatografía de intercambio iónico. Rendimiento: 0,8 g (60%). M.p: 60 °<62°C.

65

ES 2 340 374 T3

Ejemplo 8

Preparación del conjugado de oligopéptido metoxilpolietileno de ácido glicol-glutámico y escopoletina (8)

5 La Fig. 2 muestra la síntesis en la que 5 g de dipéptido metoxilpolietileno de ácido glicol glutámico preparado en el ejemplo 1 fueron disueltos en 50 ml de diclorometano. 0,70 g de escopoletina, 0,1 g de 4-dimetilamino piridina (DMAP), y 0,82 g de dicitlohexilcarbodiimida (DCC) fueron añadidos luego. La mezcla reactiva fue agitada durante 12 horas a temperatura ambiente bajo la protección de gas nitrógeno. El solvente fue concentrado al vacío. El residuo fue añadido a 20 ml de 1,4-dioxano, y filtrado. El precipitado fue recogido, lavado con éter y secado por succión. El líquido madre fue evaporado a presión reducida. 100 ml alcohol isopropílico fueron añadidos al residuo. El precipitado fue recogido, lavado con éter dietílico y secado al vacío. Los precipitados fueron combinados y secados al vacío. Rendimiento: 4 g (80%). M.p: 58 ° < 61°C.

Ejemplo 9

15 Este ejemplo es para explicar el proceso de preparación de una composición típica parenteral. La composición comprende el conjugado de la presente invención.

20 **Componente**

Conjugado preparado en el ejemplo 3	2g
0,9% salino	a 100ml

25

El conjugado preparado en el Ejemplo 3 fue disuelto en 0,9% solución salina para obtener 100 ml de solución para inyección intravenosa, que fue filtrada a través de 0,2 µm de membrana y esterilizada.

30

Documentos citados en la descripción

35 *Esta lista de referencias citadas por el solicitante fue recopilada exclusivamente para la información del lector y no forma parte del documento de la patente europea. La misma ha sido confeccionada con la mayor diligencia; la OEP sin embargo no asume responsabilidad alguna por eventuales errores u omisiones.*

Patentes citadas en la descripción

40

• US 5824701 A [0005]

• US 5840900 A [0005]

45

• CN 1283643 [0005]

• US 6153655 A [0005]

• US 5977163 A [0005]

50

• US 6262107 A [0005]

• CN 1164533 [0005]

55

• WO 0157067 A [0005]

Bibliografía distinta de patentes citada en la descripción

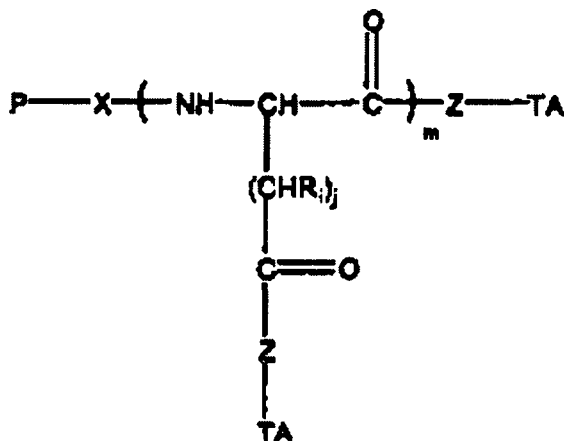
60

• Ramington's Pharmaceutical Sciences Mack Publishing Company 1990. [0036]

65

REIVINDICACIONES

1. Un conjugado de oligopéptido policarboxílico polimérico hidrofílico y molécula de fármaco de la siguiente fórmula:



donde:

P es un polímero hidrosoluble en agua seleccionado del grupo que consiste en polietileno glicol, polipropileno glicol, alcohol de polivinilo, poliacrilmorfolina y copolímeros de los mismos;

m es un número entero de 2-12;

j es un número entero de 1-6;

R_i es un grupo seleccionado del grupo que consiste en H, C₁₋₁₂ alquilo, arilo sustituido, aralquilo, heteroalquileo y alquilo sustituido;

X es un grupo de la conexión seleccionado de (CH₂)_i, (CH₂)_i OCO, (CH₂)_i NHCO y (CH₂)_iCO, donde i es un número entero de 0-10;

Z es un grupo de conexión seleccionado de O y NH; y

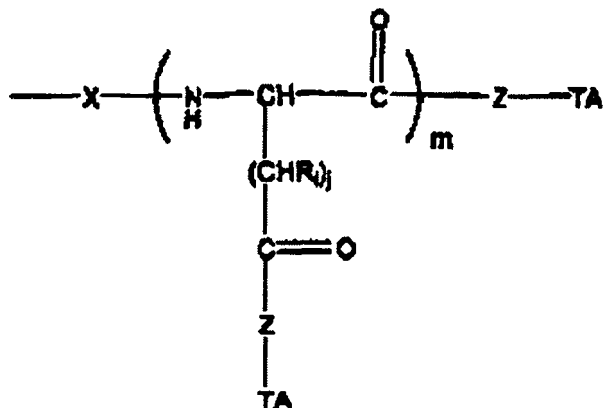
TA es uno cualquiera seleccionado del grupo que consiste en cinobufagina, ácido glicirretínico, paclitaxel, campotecina, hidroxilcampotecina y etoposida.

2. Conjugado según la reivindicación 1 donde el polímero hidrosoluble es polietileno glicol.

3. Conjugado según la reivindicación 2 donde el peso molecular de polietileno glicol es 300-60,000.

4. Conjugado según la reivindicación 1 donde el polímero hidrosoluble es seleccionado del grupo que consiste en polietileno glicol, polipropileno glicol, alcohol polivinilo y copolímero del mismo el hidróxilo libre en polímero hidrosoluble es sustituido por C₁₋₁₂ alcoxilo, cicloalcoxilo o aroxilo.

5. Conjugado según la reivindicación 1 donde el hidróxilo libre en el polímero hidrosoluble es sustituido por un grupo representado por la fórmula siguiente:

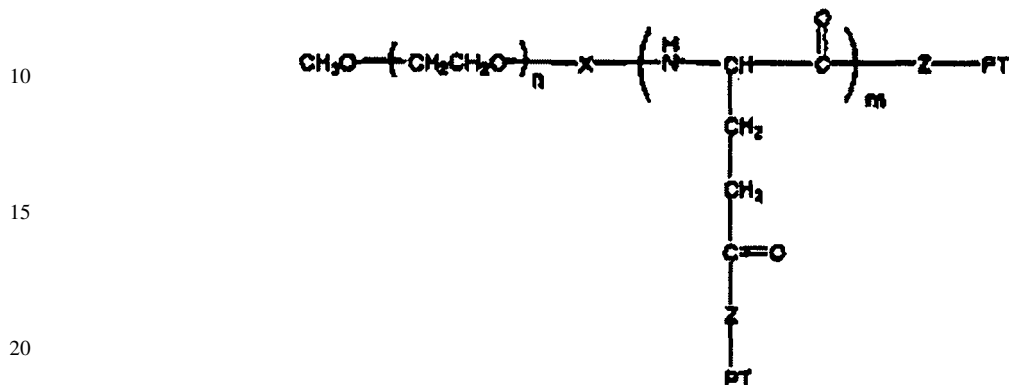


Donde: x, m, j, R_i, Z y TA son iguales tal y como se define en la reivindicación 1.

ES 2 340 374 T3

6. Conjugado según la reivindicación 1 donde un anticuerpo es enlazado al polímero hidrofílico para llevar a cabo la entrega prevista del conjugado.

7. Conjugado de oligopéptido de ácido metoxilpolietileno glicol-glutámico y molécula de fármaco que tiene la fórmula siguiente:



donde:

25

n es un número entero de 10-1200;

m es un número entero de 2-12;

30

X es un grupo de enlace seleccionado del grupo que consiste en $(\text{CH}_2)_i$, $(\text{CH}_2)_i \text{OCO}$, $(\text{CH}_2)_i \text{NHCO}$ y $(\text{CH}_2)_i \text{Co}$, y donde i es un número entero de 0-10;

Z es un grupo de enlace seleccionado de O y NH; y

35

PT es un fármaco seleccionado del grupo que consiste en paclitaxel, camptotecina, cinobufagin, ácido glicirretínico y escopoletina.

40

8. Composición que comprende un conjugado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y portador farmacéuticamente aceptable o excipiente.

9. Composición según la reivindicación 8 que comprende además otra sustancia terapéuticamente activa.

45

10. Composición según la reivindicación 8, donde se formula en la forma de pastilla, supositorio, píldora, cápsulas de gelatina blanda y dura, polvo, solución, suspensión, o aerosol.

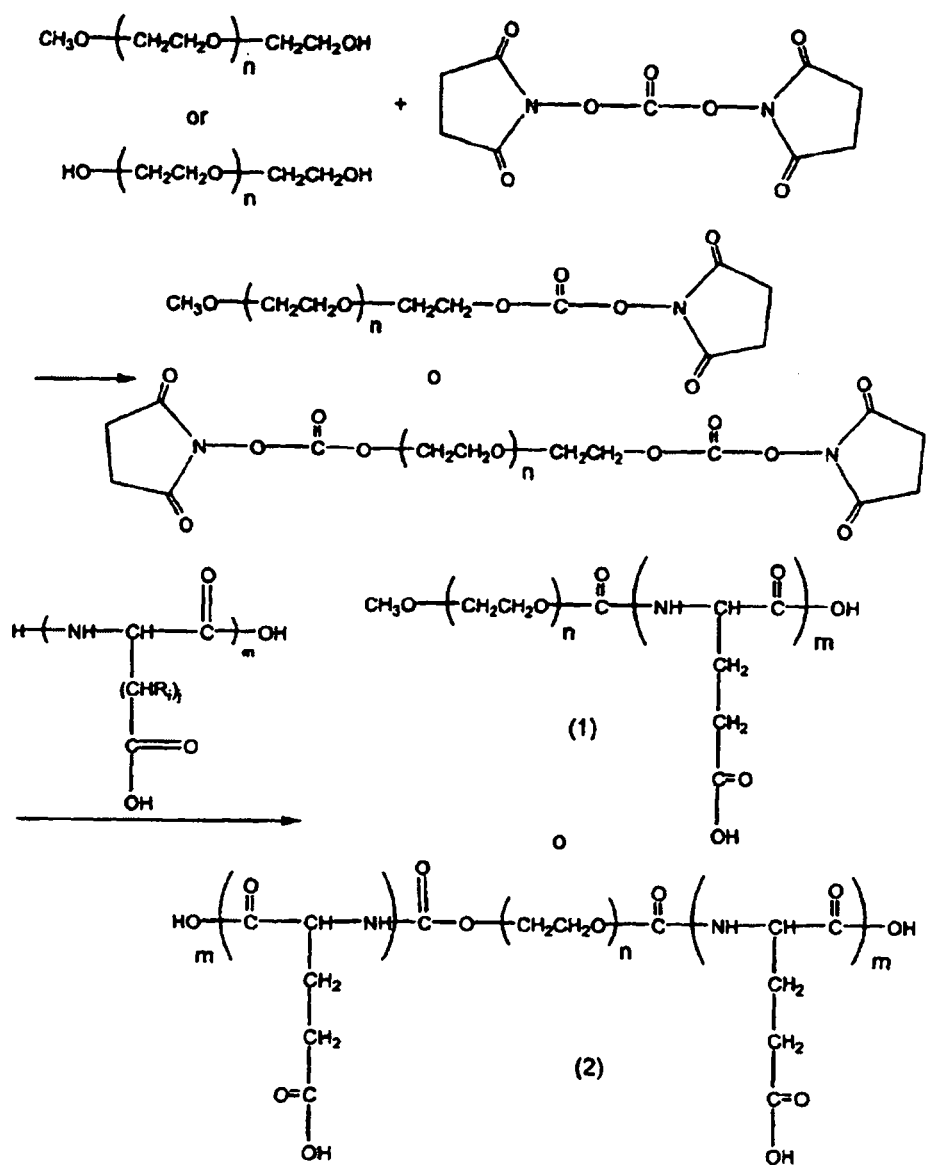
50

11. Conjugado según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para el uso en tratamiento terapéutico.

55

60

65



oligopéptido metoxilpolietileno de ácido glicol-glutámico

Fig. 1

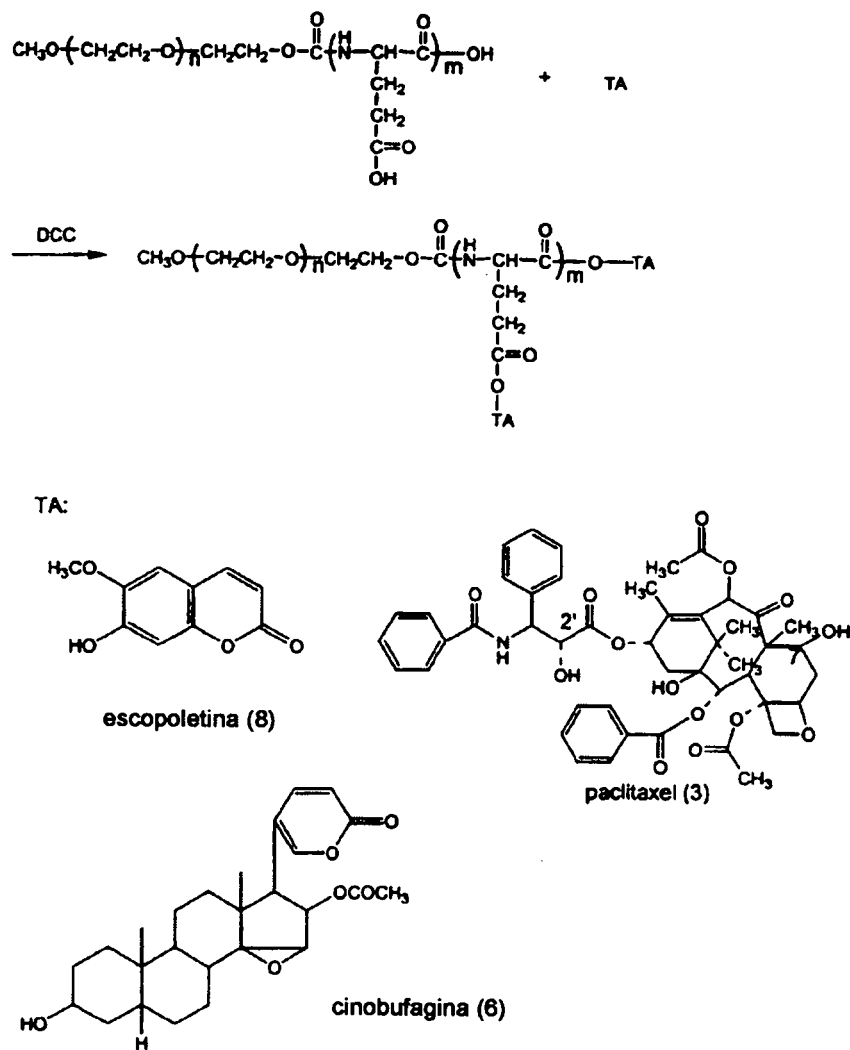


Fig 2

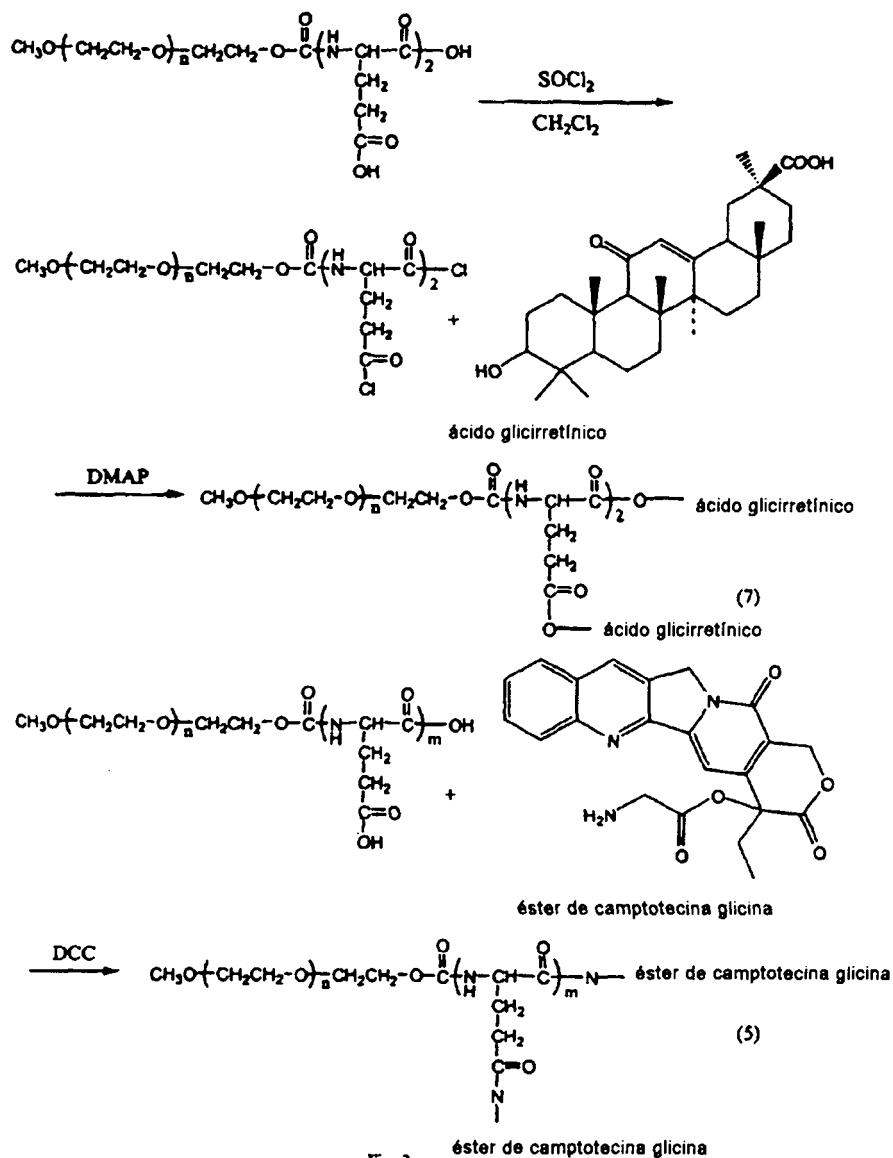


Fig. 3