



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201332574 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 08 月 16 日

(21)申請案號：101149115 (22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 12 月 21 日

(51)Int. Cl. : *A61K47/48 (2006.01)* *A61K31/336 (2006.01)*
C08G4/00 (2006.01) *C08L59/00 (2006.01)*

(30)優先權：2011/12/23 美國 61/580,016
2012/04/27 美國 61/639,654

(71)申請人：梅爾莎納醫療公司(美國) MERSANA THERAPEUTICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：亞庫利安 勞瑞 AKULLIAN, LAURA (US)；劉貴 LIU, GUI (US)；羅溫格 提摩西 LOWINGER, TIMOTHY (US)；梅吉利柯德 丹尼斯 MCGILLICUDDY, DENNIS (US)；史帝文森 契瑞 STEVENSON, CHERI (US)；凡杜茲爾 約翰 VAN DUZER, JOHN (US)；殷茂 YIN, MAO (CN)；尤可維斯基 亞利山卓 YURKOVETSKIY, ALEKSANDR (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：57 項 圖式數：1 共 69 頁

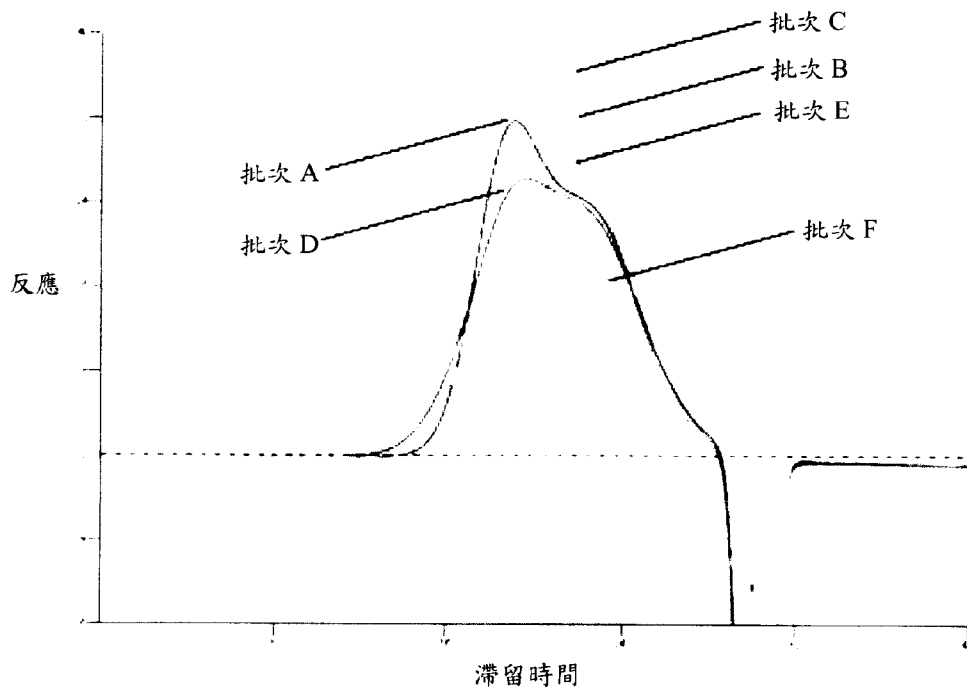
(54)名稱

煙曲黴素衍生物－P H F 共軛物之醫藥調配物

PHARMACEUTICAL FORMULATIONS FOR FUMAGILLIN DERIVATIVE-PHF CONJUGATES

(57)摘要

本文所闡述之本發明提供包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中該混合物中之聚合物分子包括共價鍵結之亞單位 L、K 及 M，其中該混合物中之該等聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，其中亞單位 M 佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 90.5 至約 96 莫耳%，其中亞單位 K 佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且其中亞單位 L 佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%。本發明亦提供包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中該混合物中之聚合物分子包括共價鍵結有戊二酸及化合物 D 之聚(1-羥基甲基伸乙基羥基甲基-縮甲醛)主鏈，其中該混合物中之該等聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之戊二酸佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之化合物 D 佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%。本發明亦提供含有本發明混合物之醫藥調配物。本發明亦提供製造本發明該等混合物之方法及使用本發明之該等混合物及醫藥調配物之方法。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201332574 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 08 月 16 日

(21)申請案號：101149115 (22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 12 月 21 日

(51)Int. Cl. : *A61K47/48 (2006.01)* *A61K31/336 (2006.01)*
C08G4/00 (2006.01) *C08L59/00 (2006.01)*

(30)優先權：2011/12/23 美國 61/580,016
2012/04/27 美國 61/639,654

(71)申請人：梅爾莎納醫療公司(美國) MERSANA THERAPEUTICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：亞庫利安 勞瑞 AKULLIAN, LAURA (US)；劉貴 LIU, GUI (US)；羅溫格 提摩西 LOWINGER, TIMOTHY (US)；梅吉利柯德 丹尼斯 MCGILLICUDDY, DENNIS (US)；史帝文森 契瑞 STEVENSON, CHERI (US)；凡杜茲爾 約翰 VAN DUZER, JOHN (US)；殷茂 YIN, MAO (CN)；尤可維斯基 亞利山卓 YURKOVETSKIY, ALEKSANDR (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：57 項 圖式數：1 共 69 頁

(54)名稱

煙曲黴素衍生物－P H F 共軛物之醫藥調配物

PHARMACEUTICAL FORMULATIONS FOR FUMAGILLIN DERIVATIVE-PHF CONJUGATES

(57)摘要

本文所闡述之本發明提供包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中該混合物中之聚合物分子包括共價鍵結之亞單位 L、K 及 M，其中該混合物中之該等聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，其中亞單位 M 佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 90.5 至約 96 莫耳%，其中亞單位 K 佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且其中亞單位 L 佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%。本發明亦提供包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中該混合物中之聚合物分子包括共價鍵結有戊二酸及化合物 D 之聚(1-羥基甲基伸乙基羥基甲基-縮甲醛)主鏈，其中該混合物中之該等聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之戊二酸佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之化合物 D 佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%。本發明亦提供含有本發明混合物之醫藥調配物。本發明亦提供製造本發明該等混合物之方法及使用本發明之該等混合物及醫藥調配物之方法。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101149115

A61K47/48 (2006.01)

A61K31/336 (2006.01)

※申請日：101.12.7

※IPC 分類：C08G 4/00 (2006.01)

C08L59/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

煙曲黴素衍生物-PHF共軛物之醫藥調配物

PHARMACEUTICAL FORMULATIONS FOR FUMAGILLIN
DERIVATIVE-PHF CONJUGATES

二、中文發明摘要：

本文所闡述之本發明提供包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中該混合物中之聚合物分子包括共價鍵結之亞單位L、K及M，其中該混合物中之該等聚合物分子之平均分子量係約50 kDa至約200 kDa，其中亞單位M佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約90.5至約96莫耳%，其中亞單位K佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約2.8至約7.3莫耳%，且其中亞單位L佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約1.2至約2.2莫耳%。本發明亦提供包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中該混合物中之聚合物分子包括共價鍵結有戊二酸及化合物D之聚(1-羥基甲基伸乙基羥基甲基-縮甲醛)主鏈，其中該混合物中之該等聚合物分子之平均分子量係約50 kDa至約200 kDa，其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之戊二酸佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約2.8至約7.3莫耳%，且其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之化合物D佔該混合物中之

該亞單位總量之莫耳百分比係約1.2至約2.2莫耳%。本發明亦提供含有本發明混合物之醫藥調配物。本發明亦提供製造本發明該等混合物之方法及使用本發明之該等混合物及醫藥調配物之方法。

三、英文發明摘要：

The invention described herein provides a mixture comprising polymer molecules or salts thereof, wherein a polymer molecule in the mixture comprises covalently bound subunits L, K, and M wherein the average molecular weight of the polymer molecules in the mixture is about 50 kDa to about 200 kDa, wherein the mole percentage of subunit M, relative to the total amount of subunits in the mixture, is about 90.5 to about 95 mol%, wherein the mole percentage of subunit K, relative to the total amount of subunits in the mixture, is about 2.8 to about 7.3 mol%, and wherein the mole percentage of subunit L, relative to the total amount of subunits in the mixture, is about 1.2 to about 2.2 mol%. The invention also provides a mixture comprising polymer molecules or salts thereof, wherein a polymer molecule in the mixture comprises a poly(1-hydroxymethylethylene hydroxymethyl-formal) backbone having covalently bound thereto glutaric acid and Compound D, wherein the average molecular weight of the polymer molecules in the mixture is about 50 kDa to about 200 kDa, wherein the mole percentage of glutaric acid covalently bound to the mixture of polymer molecules, relative to the total amount of subunits in the mixture, is about 2.8 to about 7.3 mol%, and wherein the mole percentage of Compound D covalently bound to the mixture of polymer molecules, relative to the total amount of subunits in the mixture, is about 1.2 to about 2.2 mol%. The invention also provides pharmaceutical formulations containing mixtures of the invention. The invention also provides methods of production of the mixtures of the invention and methods of use of the mixtures and pharmaceutical formulations of the invention.

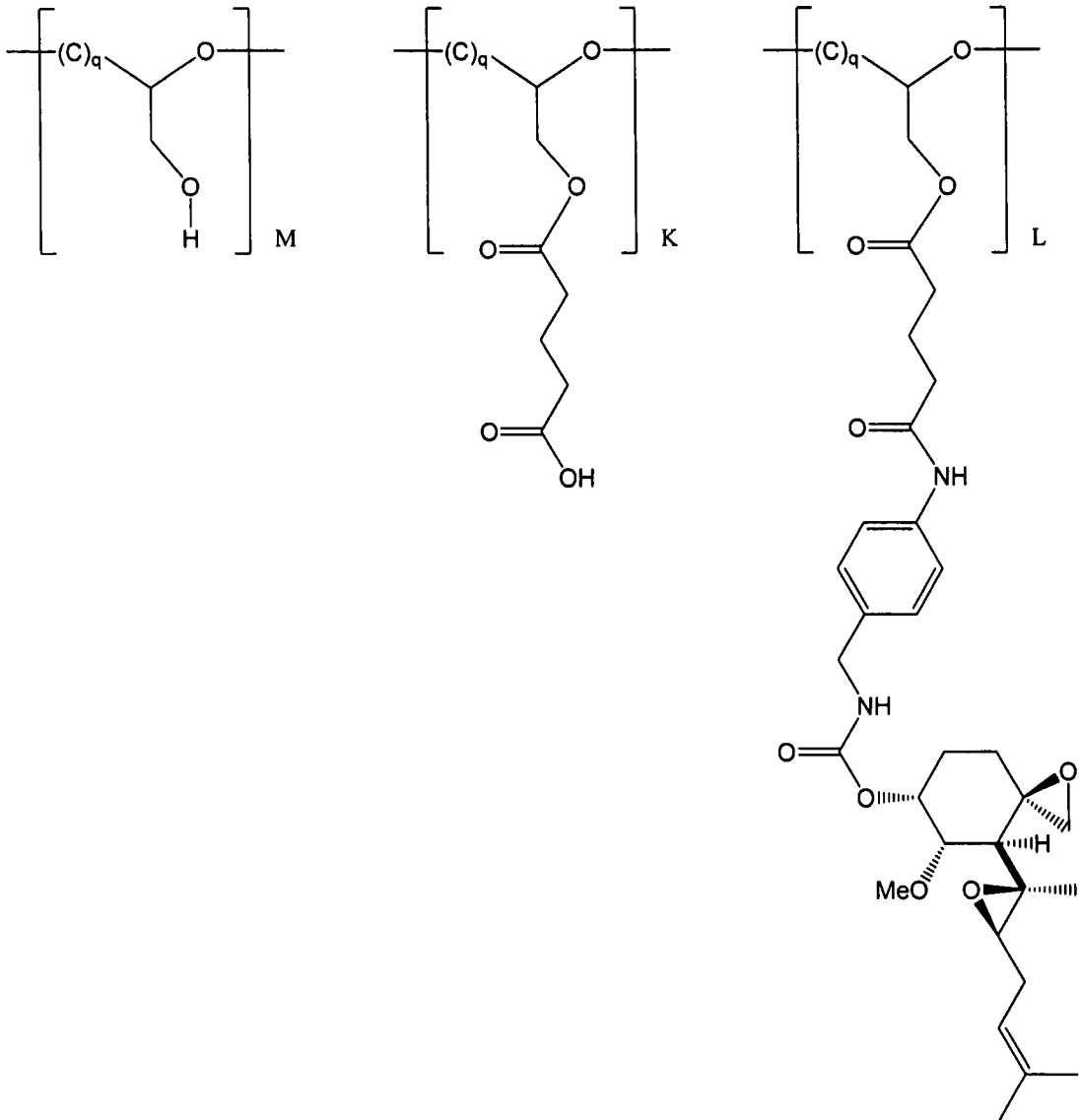
四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



六、發明說明：

在本申請案全文中參考多個公開案。該等文件之全部揭示內容之全文皆以引用方式併入本申請案中，以更完整地闡述本發明所涉及技術之狀態。

【先前技術】

煙曲黴素(fumagillin)係已知天然化合物，已將其用作抗微生物劑及抗原蟲劑。其物理化學性質及產生方法已為業內所熟知(美國專利第2,803,586號及*Proc. Nat. Acad. Sci. USA* (1962) 48:733-735)。亦已報導煙曲黴素及某些類型之煙曲黴素類似物呈現出抗血管生成活性。然而，該等抑制劑(例如TNP-470)之應用可因其快速代謝降解、不穩定血液濃度及劑量限制性中樞神經系統(CNS)副作用而受限。此外，該等分子具有使其不宜作為治療劑之物理及化學性質，例如低水溶解度、極小半衰期值及不可接受之神經毒性副作用。

藉由將煙曲黴素衍生物連接至聚(1-羥基甲基伸乙基羥基甲基-縮甲醛)(PHF)可克服或顯著減少該等問題同時維持其生物活性。PHF分子(例如Fleximer®, Mersana Therapeutics公司(Cambridge, MA))闡述於美國專利第5,811,510號、美國專利第5,863,990號、美國專利第5,958,398號及美國專利申請公開案第US/2009/0148396 A1號中。

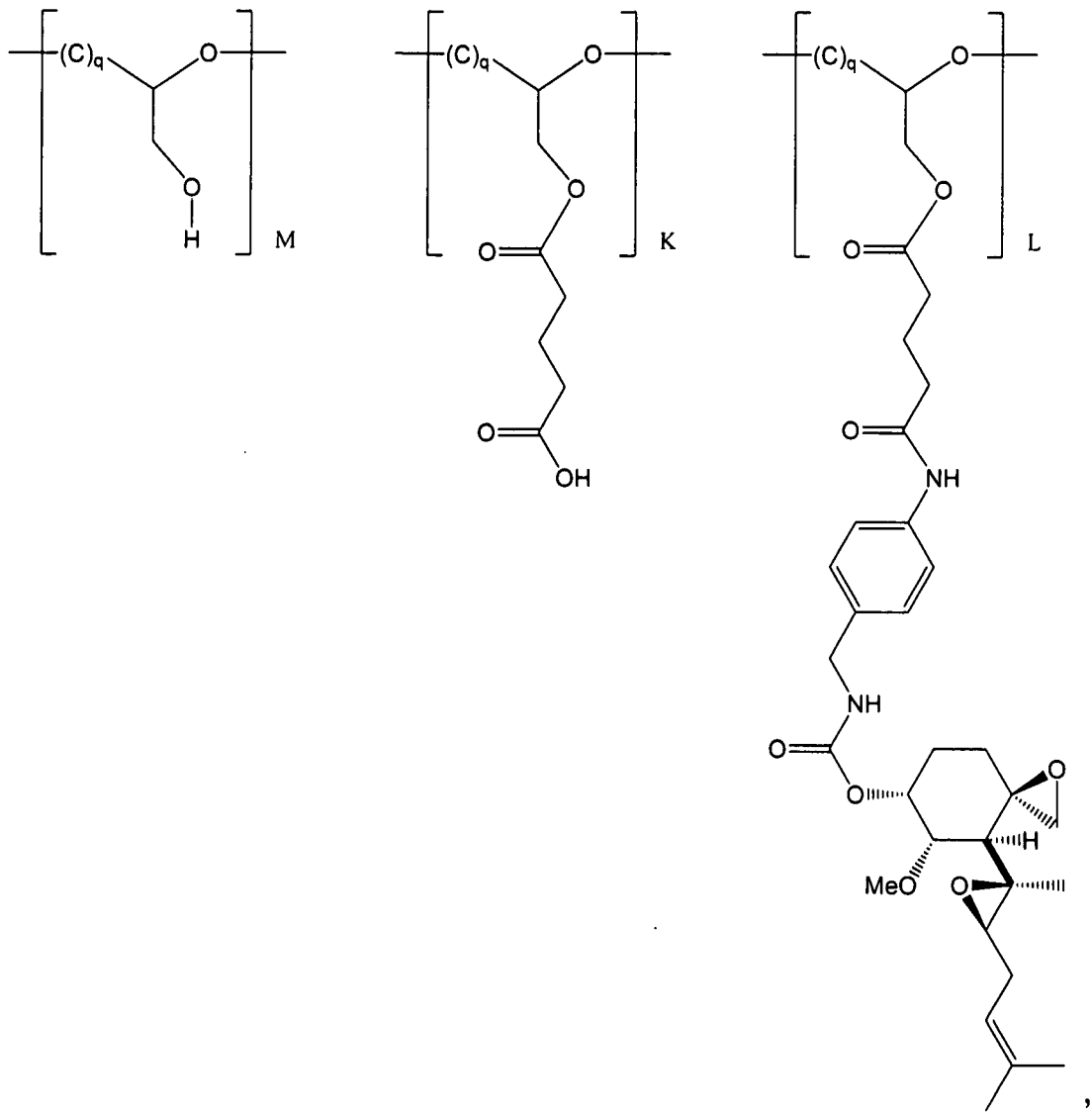
PHF含有已知在低pH下降解之縮醛(Papisov等人, *Biomacromolecules* (2005) 6: 2659-70)。此外，經由一或多

個不穩定鍵(例如往往在高pH下水解之酯及醯胺連接鍵)將煙曲黴素衍生物附接至PHF。因此，不同煙曲黴素衍生物-PHF共軛物具有可各自在鹼性pH及酸性pH下去穩定之組份。不同共軛物之該等特徵有所不同，但通常使得難以處理，尤其係處理某些煙曲黴素衍生物-PHF共軛物之水溶液。

本文揭示對於穩定調配物而言具有特定需求之煙曲黴素衍生物-PHF共軛物。此外，所揭示煙曲黴素衍生物-PHF共軛物關於其形成可注射凍乾粉末之能力具有特定問題及需求，該可注射凍乾粉末必須在注射用無菌水(USP)或輸注用氯化鈉注射液(USP)中復水。因此，亦需要可快速溶解以將醫院或臨床製藥中之製備時間最小化之煙曲黴素衍生物-PHF共軛物之特定調配物。

【發明內容】

本文所闡述之本發明提供包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中混合物中之聚合物分子包括如下式之共價鍵結之亞單位L、K及M：



其中 $q=0$ 或 1 ，

其中鍵結至 q 為 1 之亞單位之每一亞單位係 q 為 0 之亞單位，且鍵結至 q 為 0 之亞單位之每一亞單位係 q 為 1 之亞單位，以使得 q 為 0 之亞單位與 q 為 1 之亞單位在聚合物分子中交替，

其中混合物中之聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，

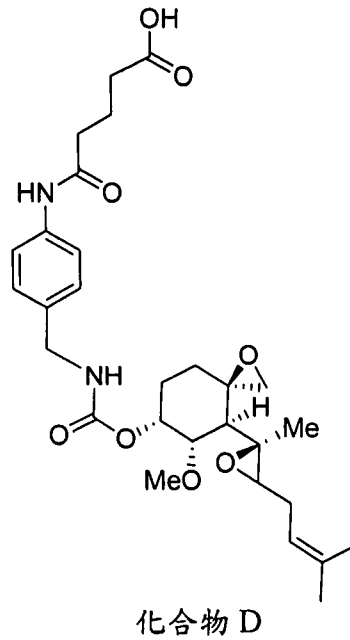
其中亞單位 M 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 90.5 至約 96 莫耳%，

其中亞單位 K 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係

約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且

其中亞單位 L 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%。

本發明亦提供包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中混合物中之聚合物分子包括經由羧基共價鍵結有戊二酸及下式之化合物 D 之聚(1-羥基甲基伸乙基羥基甲基-縮甲醛)主鏈：



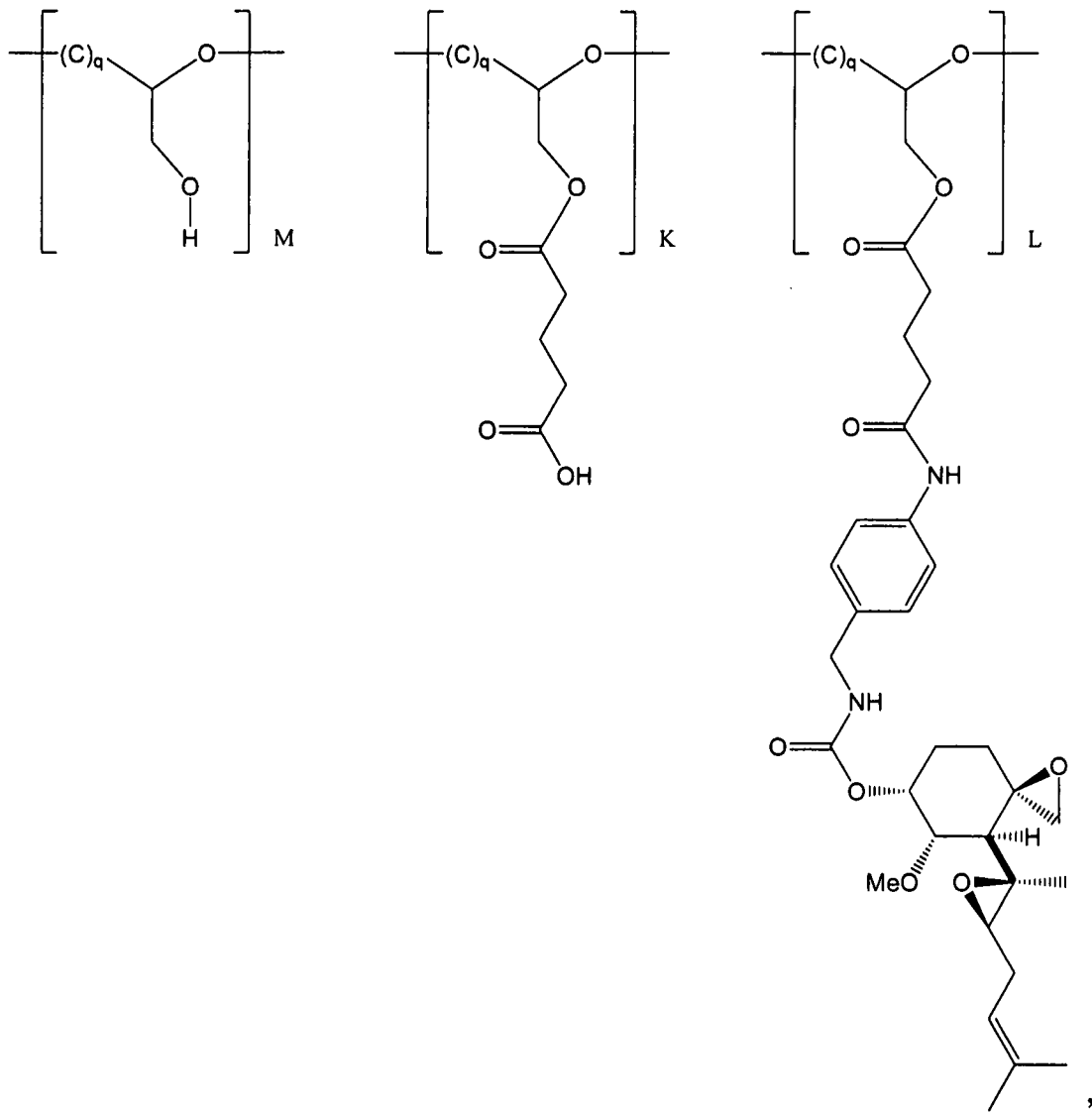
化合物 D

其中混合物中之聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，

其中共價鍵結至聚合物分子之混合物之戊二酸佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且

其中共價鍵結至聚合物分子之混合物之化合物 D 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%。

本發明亦提供用於產生包括聚合物分子之混合物之製程，其中混合物中之聚合物分子包括如下式之共價鍵結之亞單位 L、K 及 M：



其中 $q=0$ 或 1 ，

其中鍵結至 q 為 1 之亞單位之每一亞單位係 q 為 0 之亞單位，且鍵結至 q 為 0 之亞單位之每一亞單位係 q 為 1 之亞單位，以使得 q 為 0 之亞單位與 q 為 1 之亞單位在聚合物分子中交替，

其中混合物中之聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，

其中亞單位 M 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 90.5 至約 96 莫耳%，

其中亞單位 K 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係

約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且

其中亞單位 L 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%，該製程包括：

a) 獲得 PHF-GA 分子之混合物，其中該混合物具有佔 PHF-GA 分子之混合物中之亞單位總量至少 3 莫耳%之亞單位 K，

b) 使化合物 B 與 PHF-GA 分子之混合物反應，

由此產生包括聚合物分子之混合物。

本發明亦提供治療癌症之方法，該方法包括向有需要之個體投與癌症治療有效量之本發明任一實施例之混合物或本發明任一實施例之醫藥調配物。

本發明亦提供本發明之一或多個實施例之混合物或醫藥調配物在癌症治療中之用途。

本發明亦提供本發明之一或多個實施例之混合物或醫藥調配物在製造治療癌症之藥劑中之用途。

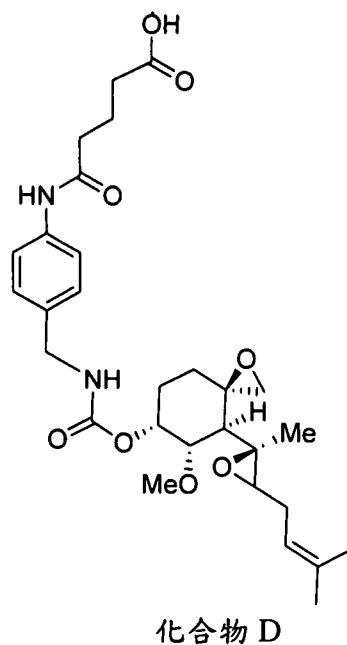
本發明亦提供治療血管生成性疾病之方法，該方法包括向有需要之個體投與血管生成性疾病治療有效量之本發明任一實施例之混合物或本發明任一實施例之醫藥調配物。

本發明亦提供本發明之一或多個實施例之混合物或醫藥調配物在血管生成性疾病治療中之用途。

本發明亦提供本發明之一或多個實施例之混合物或醫藥調配物在製造治療血管生成性疾病之藥劑中之用途。

本發明亦提供將下式之化合物 D 遞送至個體之方法，該方法包括向個體投與本發明之一或多個實施例之混合物或

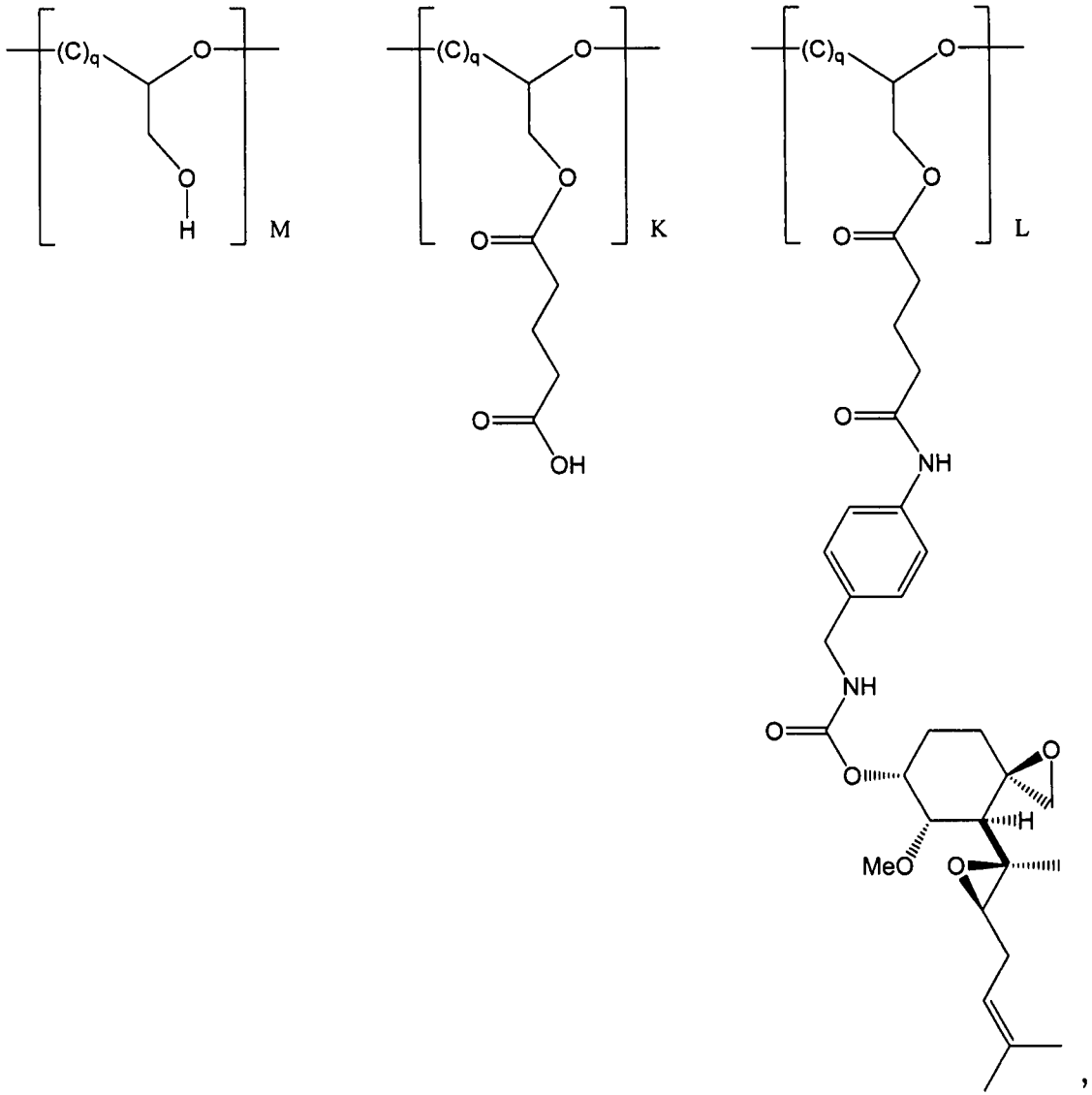
醫藥調配物。



【實施方式】

本文闡述煙曲黴素衍生物-PHF共軛物之新穎醫藥調配物。

本文所闡述之本發明提供包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中混合物中之聚合物分子包括如下式之共價鍵結之亞單位L、K及M：



其中 $q=0$ 或 1 ，

其中鍵結至 q 為 1 之亞單位之每一亞單位係 q 為 0 之亞單位，且鍵結至 q 為 0 之亞單位之每一亞單位係 q 為 1 之亞單位，以使得 q 為 0 之亞單位與 q 為 1 之亞單位在聚合物分子中交替，

其中混合物中之聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，

其中亞單位 M 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 90.5 至約 96 莫耳%，

其中亞單位K佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約2.8至約7.3莫耳%，且

其中亞單位L佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約1.2至約2.2莫耳%。

在一或多個實施例中，亞單位M佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約91.5至約96莫耳%。

在一或多個實施例中，亞單位M佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約93.5至約95莫耳%。

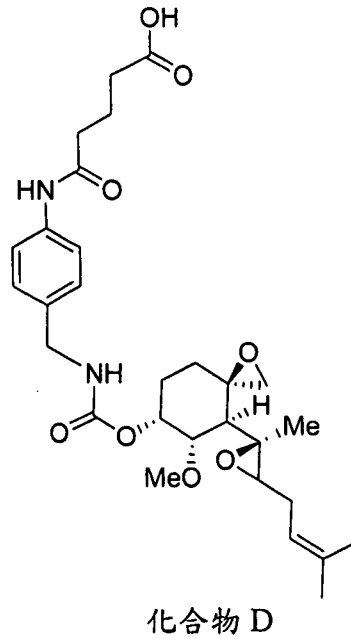
在一或多個實施例中，亞單位K佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約3.0至約6.0莫耳%。

在一或多個實施例中，亞單位K佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約2.8至約4.9莫耳%。

在一或多個實施例中，亞單位L佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約1.2%至約2.2%、約1.4%至約2.2%、約1.6%至約2.2%、約1.4%至約2.1%、約1.5%至約2.0%、約1.6%至約2.0%、或約1.7%至約1.9%，或約1.75%或約1.80%。

在一或多個實施例中，亞單位L佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約1.6至約2.2莫耳%。

本發明亦提供包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中混合物中之聚合物分子包括共價鍵結有戊二酸及下式之化合物D之聚(1-羥基甲基伸乙基羥基甲基-縮甲醛)主鏈：



其中混合物中之聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，

其中共價鍵結至聚合物分子之混合物之戊二酸佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且

其中共價鍵結至聚合物分子之混合物之化合物 D 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%。

在一或多個實施例中，共價鍵結至聚合物分子之混合物之戊二酸佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 3.0 至約 6.0 莫耳%。

在一或多個實施例中，共價鍵結至聚合物分子之混合物之戊二酸佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 4.9 莫耳%。

在一或多個實施例中，共價鍵結至聚合物分子之混合物之化合物 D 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2% 至約 2.2%、約 1.4% 至約 2.2%、約 1.6% 至約 2.2%、約 1.4% 至約 2.1%、約 1.5% 至約 2.0%、約 1.6% 至約 2.0% 或約

1.7%至約1.9%或約1.75%或約1.80%。

在一或多個實施例中，共價鍵結至聚合物分子之混合物之化合物D佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約1.6至約2.2莫耳%。

在一或多個實施例中，混合物中之聚合物分子之平均分子量係約70 kDa。

在一或多個實施例中，聚合物分子之混合物之峰值分子量小於100 kDa。

在一或多個實施例中，聚合物分子之混合物之分子量分佈具有單峰。

在一或多個實施例中，聚合物分子之混合物之峰值分子量小於70 kDa。

在一或多個實施例中，聚合物分子之混合物之峰值分子量係約40 kDa至約60 kDa。

在一或多個實施例中，聚合物分子之混合物之分子量分佈之 D_{10} 小於或等於50 kDa。

在一或多個實施例中，聚合物分子之混合物之分子量分佈之 D_{50} 小於或等於200 kDa。

在一或多個實施例中，聚合物分子之混合物之分子量分佈之 D_{90} 小於或等於300 kDa。

在一或多個實施例中，混合物進一步包括一或多種雜質，其中該一或多種雜質係以小於5重量%之量存在。

在一或多個實施例中，雜質係以約1重量%至約5重量%之量存在。

在一或多個實施例中，鹽係醫藥上可接受之鹽。

本發明亦提供包括本發明任一實施例之混合物之醫藥調配物。

在一或多個實施例中，醫藥調配物進一步包括一或多種緩衝劑。

在一或多個實施例中，一或多種緩衝劑係選自由以下組成之群：檸檬酸鈉、檸檬酸、抗壞血酸鹽、琥珀酸鹽、乳酸鹽、硼酸、硼砂、磷酸氫二鈉、乙酸、甲酸、甘胺酸、碳酸氫鹽、酒石酸、Tris-甘胺酸、Tris-NaCl、Tris-EDTA、Tris-硼酸鹽-EDTA、TAE緩衝劑、Tris緩衝生理食鹽水、HEPES、MOPS、PIPES、MES及PBS。

在一或多個實施例中，所選緩衝劑係檸檬酸鈉及檸檬酸。

在一或多個實施例中，將調配物緩衝至pH為約5至約6。

在一或多個實施例中，將調配物緩衝至約pH 5.5。

在一或多個實施例中，醫藥調配物進一步包括一或多種穩定劑。

在一或多個實施例中，一或多種穩定劑係選自由以下組成之群：甘露醇、山梨醇、麥芽糖、海藻糖、聚乙烯吡咯啉酮、蔗糖、乳糖、果糖、棉子糖、羥基丙基- β -環糊精、葡萄糖、木糖醇及乳糖醇。

在一或多個實施例中，穩定劑係甘露醇。

在一或多個實施例中，甘露醇係以約35重量%至約50重量%之量存在於醫藥調配物中。

在一或多個實施例中，甘露醇係以約42重量%之量存在於醫藥調配物中。

在一或多個實施例中，醫藥調配物進一步包括一或多種表面活性劑。

在一或多個實施例中，一或多種表面活性劑係選自由以下組成之群：聚山梨醇酯80、泊洛沙姆(Poloxamer) 407、聚山梨醇酯20、泊洛沙姆188、Solutol HS 15、Tween 80、月桂基硫酸鈉、醚硫酸鹽、硫酸化油、西曲溴銨(cetrimide) BP、苯紮氯銨(benzalkonium chloride)、卵磷脂、聚西托醇(cetromacrogel) 1000 BPC及式RCOOX之鹼金屬皂，其中R=C₁₀-C₂₀烷基，且X=鈉、鉀或銨。

在一或多個實施例中，調配物係穩定水溶液。

在一或多個實施例中，調配物係穩定凍乾調配物。

在一或多個實施例中，凍乾調配物含有約8.4重量%之檸檬酸鈉。

在一或多個實施例中，凍乾調配物含有約1.2重量%之檸檬酸。

在一或多個實施例中，凍乾調配物含有小於或等於約4重量%之水。

在一或多個實施例中，凍乾調配物適於在用復水劑復水後進行靜脈內投與。

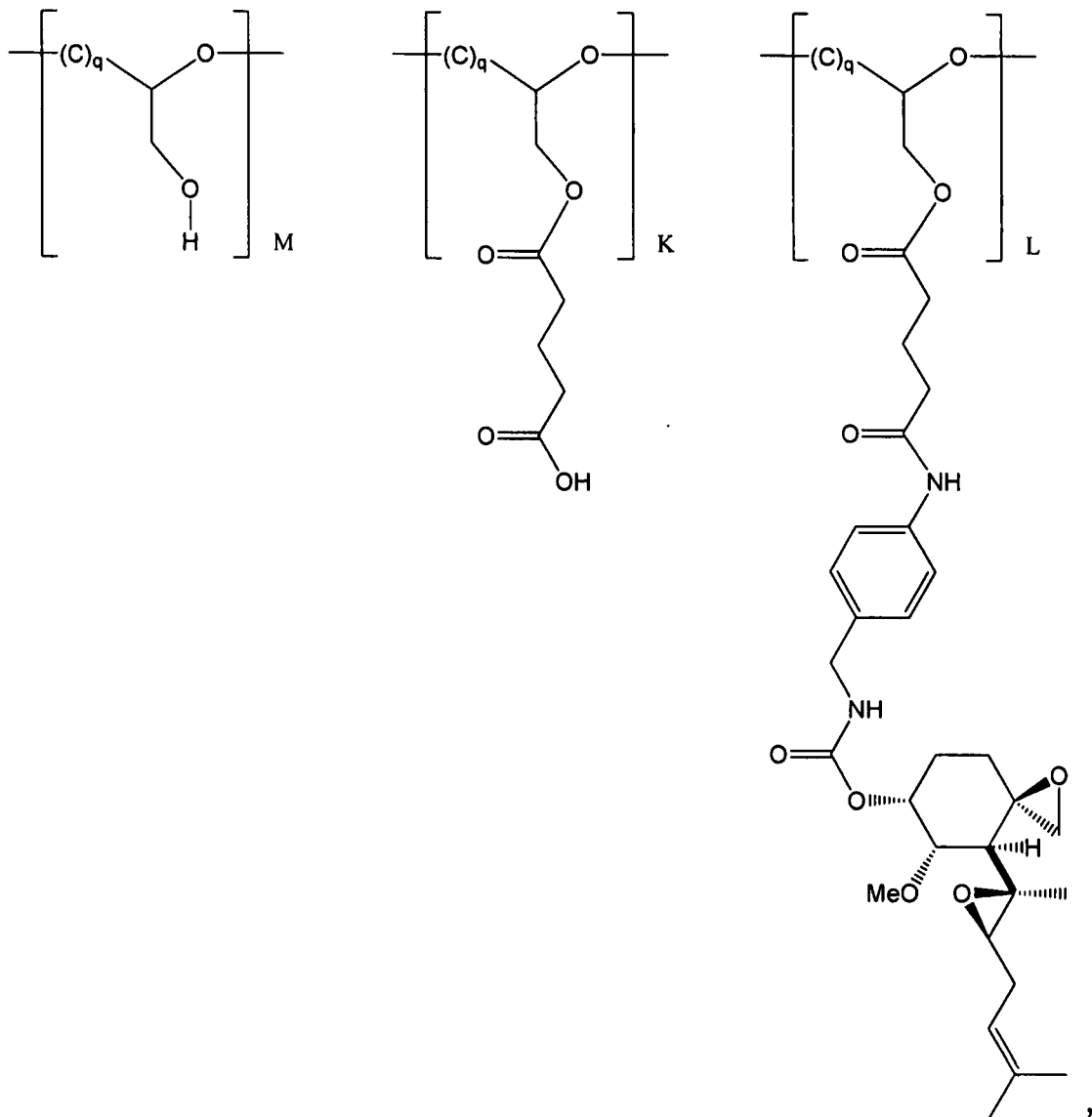
在一或多個實施例中，復水劑係0.9%氯化鈉注射液(USP)。

在一或多個實施例中，復水劑係注射用無菌水(USP)。

在一或多個實施例中，醫藥調配物進一步包括一或多種防腐劑。

在一或多個實施例中，一或多種防腐劑係選自由以下組成之群：苜醇、苯甲酸鈉、硝酸鈉、二氧化硫、山梨酸鈉及山梨酸鉀。

本發明亦提供用於產生包括聚合物分子之混合物之製程，其中混合物中之聚合物分子包括如下式之共價鍵結之亞單位L、K及M：



其中 $q=0$ 或 1 ，

其中鍵結至 q 為 1 之亞單位之每一亞單位係 q 為 0 之亞單位，且鍵結至 q 為 0 之亞單位之每一亞單位係 q 為 1 之亞單位，以使得 q 為 0 之亞單位與 q 為 1 之亞單位在聚合物分子中交替，

其中混合物中之聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，

其中亞單位 M 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 90.5 至約 96 莫耳%，

其中亞單位 K 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且

其中亞單位 L 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%，該製程包括，

a) 獲得 PHF-GA 分子之混合物，其中該混合物具有佔 PHF-GA 分子之混合物中之亞單位總量至少 3 莫耳% 之亞單位 K，

b) 使化合物 B 與 PHF-GA 分子之混合物反應，

由此產生包括聚合物分子之混合物。

在一或多個實施例中，亞單位 M 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 91.5 至約 96 莫耳%。

在一或多個實施例中，亞單位 M 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 93.5 至約 95 莫耳%。

在一或多個實施例中，亞單位 K 佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 3.0 至約 6.0 莫耳%。

在一或多個實施例中，亞單位 K 佔混合物中之亞單位總

量之莫耳百分比係約2.8至約4.9莫耳%。

在一或多個實施例中，亞單位L佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約1.2%至約2.2%、約1.4%至約2.2%、約1.6%至約2.2%、約1.4%至約2.1%、約1.5%至約2.0%、約1.6%至約2.0%、或約1.7%至約1.9%，或約1.75%或約1.80%。

在一或多個實施例中，亞單位L佔混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約1.6至約2.2莫耳%。

在一或多個實施例中，在步驟a)中PHF-GA分子之混合物具有佔PHF-GA分子之混合物中之亞單位總量約4莫耳%至約6莫耳%之亞單位K。

在一或多個實施例中，在步驟a)中PHF-GA中之亞單位K之莫耳%係約3%至約9.5%、約4%至約8%或約5%至約6.5%或約5.6%或約6.9%。在一或多個實施例中，製程進一步包括在步驟b)中將反應pH維持在約pH 4至約pH 6下。

在一或多個實施例中，將pH維持在約pH 5.5下。

在一或多個實施例中，製程進一步包括使用過濾器藉由透析過濾法純化產物。

在一或多個實施例中，過濾器具有10 kDa之標稱MWCO。

本發明亦提供治療癌症之方法，該方法包括向有需要之個體投與癌症治療有效量之本發明任一實施例之混合物或本發明任一實施例之醫藥調配物。

本發明亦提供本發明之一或多個實施例之混合物或醫藥

調配物在癌症治療中之用途。

本發明亦提供本發明之一或多個實施例之混合物或醫藥調配物在製造治療癌症之藥劑中之用途。

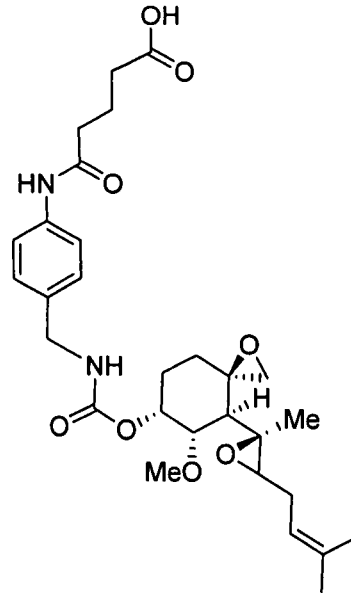
在一或多個實施例中，癌症係肛門癌、星細胞瘤、白血病、淋巴瘤、頭頸癌、肝癌、睪丸癌、子宮頸癌、肉瘤、血管瘤、食道癌、眼癌、喉癌、口腔癌、間皮瘤、皮膚癌、骨髓瘤、口癌、直腸癌、喉癌、膀胱癌、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前列腺癌、肺癌、結腸癌、胰腺癌、腎癌或胃癌。

本發明亦提供治療血管生成性疾病之方法，該方法包括向有需要之個體投與血管生成性疾病治療有效量之本發明任一實施例之混合物或本發明任一實施例之醫藥調配物。

本發明亦提供本發明之一或多個實施例之混合物或醫藥調配物在血管生成性疾病治療中之用途。

本發明亦提供本發明之一或多個實施例之混合物或醫藥調配物在製造治療血管生成性疾病之藥劑中之用途。

本發明亦提供將下式之化合物D遞送至個體之方法，該方法包括向個體投與本發明之一或多個實施例之混合物或醫藥調配物。



化合物 D

美國專利申請公開案第 US 2009-0148396 A1 號闡述生物相容性生物可降解煙曲黴素類似物共軛物且該公開案之全文皆以引用方式併入本文中。

對於前述實施例而言，本文所揭示之每一實施例皆預計適用於其他所揭示實施例中之每一者。因此，本文所闡述之各種要素之所有組合皆係在本發明之範疇中。

定義

如本文所使用且除非另有說明，否則下列術語中之每一者皆應具有下文所述之定義。

「個體」可係(但不限於)處於任何發育階段之人類以及非人類動物，包含(例如)哺乳動物、鳥類、爬蟲類、兩栖類、魚類、蟲類及單細胞動物。將細胞培養物及活組織樣品視為複數個動物。非人類動物較佳係哺乳動物(例如，齧齒類動物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、貓、靈長類動物或豬)。動物可係轉基因動物或選殖人。術語「個體」涵蓋動物。

術語「醫藥上可接受之鹽」包含(例如)水溶性及水不溶性鹽，且包含醫藥上可接受之陰離子鹽及醫藥上可接受之陽離子鹽。醫藥上可接受之陰離子鹽包含乙酸鹽、安索酸鹽(4,4-二胺基二苯乙烯-2,2-二磺酸鹽)、苯磺酸鹽、苯甲酸鹽、碳酸氫鹽、硫酸氫鹽、酒石酸氫鹽、硼酸鹽、溴化物、丁酸鹽、依地酸鈣(calcium edetate)、樟腦磺酸鹽、碳酸鹽、氯化物、檸檬酸鹽、克拉維酸鹽(clavulariate)、二鹽酸鹽、乙二胺四乙酸鹽、乙二磺酸鹽、依託酸鹽(estolate)、乙磺酸鹽、富馬酸鹽、葡庚糖酸鹽、葡萄糖酸鹽、麩胺酸鹽、戊二酸鹽、乙醇醯基對胺基苯基砷酸鹽(glycollylarsanilate)、六氟磷酸鹽、己基間苯二酚鹽(hexylresorcinate)、哈胺(hydrabamine)、氫溴酸鹽、鹽酸鹽、羥基萘酸鹽、碘化物、異硫代羧酸鹽、乳酸鹽、乳糖酸鹽、月桂酸鹽、蘋果酸鹽、馬來酸鹽、扁桃酸鹽、甲磺酸鹽、甲基溴化物、甲基硝酸鹽、甲基硫酸鹽、黏酸鹽、萘磺酸鹽、硝酸鹽、N-甲基葡萄糖胺銨鹽、3-羥基-2-萘甲酸鹽、油酸鹽、草酸鹽、棕櫚酸鹽、雙羥萘酸鹽(1,1-甲烯基-雙-2-羥基-3-萘甲酸鹽，恩貝酸鹽(einbonate))、泛酸鹽、磷酸鹽/二磷酸鹽、苦味酸鹽、聚半乳糖醛酸鹽、丙酸鹽、對甲苯磺酸鹽、水楊酸鹽、硬脂酸鹽、次乙酸鹽、琥珀酸鹽、硫酸鹽、磺基水楊酸鹽、蘇拉明鹽(suramate)、鞣酸鹽、酒石酸鹽、茶氣酸鹽、甲苯磺酸鹽、三乙基碘化物及戊酸鹽。醫藥上可接受之陽離子鹽包含銨、精胺酸、苯乙苄胺、苄星、甜菜鹼、膽鹼、地阿諾

(deanol)、二乙醇胺、二乙胺、2-(二乙基胺基)乙醇、吡咯乙醇(epolamine)、乙醇胺、乙二胺、1H-咪唑、組胺酸、哈胺、離胺酸、嗎啉乙醇、N-甲基葡萄糖胺、葡胺、六氫吡嗪、普魯卡因(procaine)、三乙醇胺(triethanolamine)、三乙胺、三乙醇胺(trolamine)及胺丁三醇鹽。其他醫藥陽離子鹽包含金屬鹽，該等金屬鹽包含(但不限於) Zn^{+2} 鹽、 Fe^{+2} 鹽、 Mg^{+2} 鹽、 Ca^{+2} 鹽、 Al^{+3} 鹽、 Li^{+} 鹽及 K^{+} 鹽。

如本文所使用，可使用彼等熟習此項技術者所熟知之各種方法或遞送系統中之任一者來「投與」藥劑。可經由以下方式進行投與，例如經口、非經腸、腹腔內、靜脈內、動脈內、經皮、舌下、肌內、經直腸、經口腔、鼻內、經脂質體、經由吸入、經陰道、眼內、經由局部遞送、皮下、脂肪內、關節內、鞘內、至大腦室、心室內、瘤內、至大腦薄壁組織或腦實質內。

如本文所使用，「投與」包含共投與，其係與另一治療劑同時、在其之前或之後投與；治療劑包含(但不限於)抗癌劑、抗血管生成劑或抗炎劑。如本文所使用，「PHF-GA」意指包括聚合物分子或其醫藥上可接受之鹽之混合物，其中混合物中之聚合物分子包括經由羧基共價鍵結有戊二酸之聚(1-羥基甲基伸乙基羥基甲基-縮甲醛)主鏈。

可使用下列採用眾多常規使用之醫藥載劑之遞送系統，但僅代表許多預期用於投與本發明之組合物之可能系統。

可注射藥物遞送系統包含溶液、懸浮液、凝膠、微球體、奈米球體/奈米粒子及聚合可注射劑，且可包括賦形

劑，例如溶解度改變劑(例如乙醇、丙二醇及蔗糖)及聚合物(例如PVP、聚己內酯及PLGA)。

其他可注射藥物遞送系統包含溶液、懸浮液及凝膠。經口遞送系統包含錠劑及膠囊。該等系統可含有賦形劑，例如黏合劑及膨脹劑(例如羥基丙基甲基纖維素、聚乙烯吡咯啉酮、共聚維酮、其他纖維素材料及澱粉)、稀釋劑(例如乳糖及其他糖、異麥芽糖醇、多元醇(例如甘露醇及山梨醇)、澱粉、磷酸二鈣及纖維素材料)、崩解劑(例如交聯聚維酮、澱粉聚合物及纖維素材料)及潤滑劑(例如硬脂酸酯、硬脂基富馬酸鈉、山嶺酸甘油酯及滑石粉)、染料及矯味劑。

可植入系統包含棒及盤，且可含有賦形劑，例如聚乙烯吡咯啉酮、PLGA及聚己內酯。

經口遞送系統包含錠劑及膠囊。該等系統可含有賦形劑，例如黏合劑及膨脹劑(例如羥基丙基甲基纖維素、聚乙烯吡咯啉酮、共聚維酮、其他纖維素材料及澱粉)、稀釋劑(例如乳糖及其他糖、異麥芽糖醇、多元醇(例如甘露醇及山梨醇)、澱粉、磷酸二鈣及纖維素材料)、崩解劑(例如交聯聚維酮、澱粉聚合物及纖維素材料)及潤滑劑(例如硬脂酸酯、硬脂基富馬酸鈉、山嶺酸甘油酯及滑石粉)、染料及矯味劑。

經黏膜遞送系統包含貼片、錠劑、栓劑、陰道栓劑、凝膠及乳霜，且可含有賦形劑，例如增溶劑及增強劑(例如丙二醇、膽汁鹽及胺基酸)、陰離子及離子型表面活性劑

(例如山梨醇酐酯、聚山梨醇酯及SDS)及其他媒劑(例如聚乙二醇、脂肪酸酯及衍生物；及親水性聚合物，例如羥基丙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素及透明質酸)。

表皮遞送系統包含(例如)水性及非水性凝膠、乳霜、複乳、微乳液、脂質體、軟膏、水性及非水性溶液、洗劑、氣溶膠、煙類基質及粉末，且可含有賦形劑，例如增溶劑、陰離子及離子型表面活性劑(例如山梨醇酐酯、聚山梨醇酯及SDS)、滲透促進劑(例如脂肪酸、脂肪酸酯、脂肪醇及胺基酸)及親水性聚合物(例如聚卡波非(polycarbophil)及聚乙烯吡咯啉酮)。在一實施例中，醫藥上可接受之載劑係脂質體或經皮增強劑。

用於可復水再組成遞送系統之溶液、懸浮液及粉末包含媒劑，例如懸浮劑(例如樹膠、黃原膠、纖維素及糖)、潤濕劑(例如山梨醇)、增溶劑(例如乙醇、水、PEG及丙二醇)、表面活性劑(例如月桂基硫酸鈉、Span、Tween及十六烷基吡啶)、防腐劑及抗氧化劑(例如對羥基苯甲酸、維生素E及C及抗壞血酸)、抗結塊劑、塗覆劑及螯合劑(例如EDTA)。

如本文所使用，「醫藥上可接受之載劑」係指適用於人類及/或動物而無過度不利副作用(例如毒性、刺激及過敏反應)並與合理益處/風險比率相當之載劑或賦形劑。其可係用於將本發明化合物遞送至個體之醫藥上可接受之溶劑、懸浮劑或媒劑。

如本文所使用，以毫克量測之藥劑之「量」或「劑量」

係指存在於藥品中之藥劑之毫克數，無論藥品呈何種形式。

如本文所使用，術語「治療有效量」或「有效量」係指當以本發明之方式使用組份時足以產生與合理益處/風險比率相當之期望治療反應而無過度不利副作用(例如毒性、刺激或過敏反應)之組份之量。特定有效量將隨諸如如下因素變化：所治療之具體病況、患者之身體狀況、所治療之哺乳動物類型、治療持續時間、並存療法(若有)之性質及所採用之特定調配物及化合物或其衍生物之結構。

如本文所使用，術語「血管生成性疾病」包含特徵在於異常或不期望(例如刺激性或抑制性)血管形成(血管生成)或由其引起之疾病、病症或病況。異常或不期望血管生成可直接引起具體疾病或使現有病理學病況加重。血管生成性疾病之實例包含癌症(例如癌瘤及肉瘤)，其中漸進式生長係取決於藉由該等腫瘤細胞進行之血管生成之連續誘導；兒科病症，例如血管纖維瘤及血友病關節；血管疾病，例如血管瘤及動脈粥樣硬化斑塊中之毛細血管增殖；與外科手術相關之病症，例如肥大性癍痕、肉芽創面及血管黏附；自身免疫疾病，例如類風濕性、免疫及退行性關節炎，其中關節中之新血管可破壞關節軟骨；及眼部硬皮病及眼部病症，例如糖尿病性視網膜病、早產兒視網膜病、角膜移植排斥、晶狀體後纖維組織增生、新生血管性青光眼、潮紅、黃斑變性引起的視網膜新血管形成、低氧症、與感染或外科手術干預相關之眼睛中之血管生成、眼

部腫瘤及沙眼，及眼睛之其他異常新血管形成病況，其中新血管形成可導致失明；及感染皮膚之病症，例如牛皮癬及膿性肉芽腫、肥胖，其中脂肪生成係與新血管形成相關，且經活化脂肪細胞產生多種可刺激脂肪量膨脹期間之新血管形成之促血管生成因子；及子宮內膜異位症，其中子宮內膜異位損傷係藉由新血管之生長來證實，且患有子宮內膜異位症之患者之子宮內膜顯示內皮細胞增殖增強。

術語血管生成性疾病亦包含特徵在於內皮細胞之過度或異常刺激之疾病，該等疾病包含(但不限於)腸黏連、克隆氏病(Crohn's disease)、動脈粥樣硬化、硬皮病及肥大性癍痕即癍痕瘤；以血管生成作為病理學結果之疾病，例如貓抓病(Rochela ninalia quintosa)及潰瘍(幽門螺桿菌(*Helicobacter pylori*))。此外，本發明之血管生成抑制劑化合物係用作節育劑(藉助其抑制血管生成依賴性排卵及胎盤建立之能力)且亦可用於藉由在手術之前投與個體來減少出血。

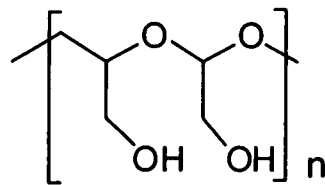
如本文所使用，當針對如下文方法中所闡述之已知分子量標準分析時，將本發明之聚合物混合物之分子量分佈定義為樣品之所有聚合物分子之表觀分子量。重量平均分子量(Mw)、數量平均分子量(Mn)、峰值分子量(Mp)、D₁₀、D₅₀及D₉₀係用於闡述樣品分子量分佈之所有值。

如本文所使用且如下文方法中所闡述，D₁₀、D₅₀及D₉₀分別定義為對應於藉由信號對滯留時間闡述之分子量分佈之10%、50%及90%之分子量。因此，對於給定共軛物混合

物批次而言，共軛物混合物總質量之10%將具有等於或小於 D_{10} 之分子量，總質量之50%將具有等於或小於 D_{50} 之分子量且總質量之90%將具有等於或小於 D_{90} 之分子量。

術語「PHF」係指聚(1-羥基甲基伸乙基羥基甲基-縮甲醛)。如美國專利第5,811,510號中所闡述，可藉由將葡聚糖徹底氧化然後實施還原來衍生PHF，該專利之尤其在第2行、第65列至第8行、第55列對聚縮醛之描述及在第10行、第45列至第11行、第14列對其合成之描述以引用方式併入本文中。

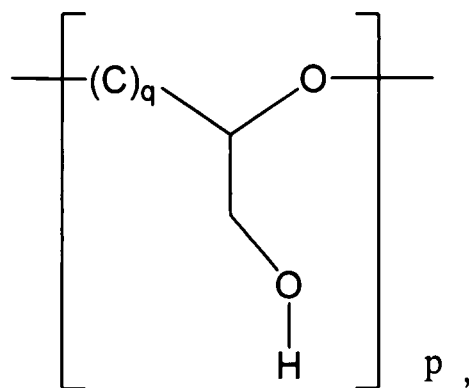
聚(1-羥基甲基伸乙基羥基甲基縮甲醛)聚合物包括式(I)之未經修飾之單體縮醛單元：



(I)

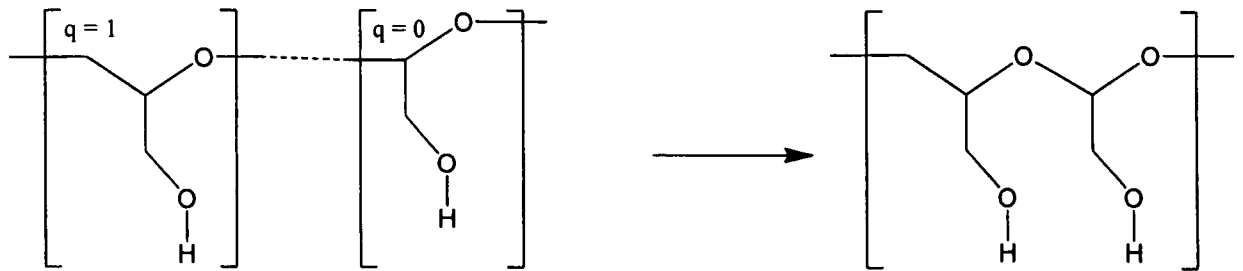
其中 n 係存在於混合物之聚合物分子中之式(I)之亞單位之數量。

亦可將PHF聚合物闡述為包括式II之亞單位：



(II)

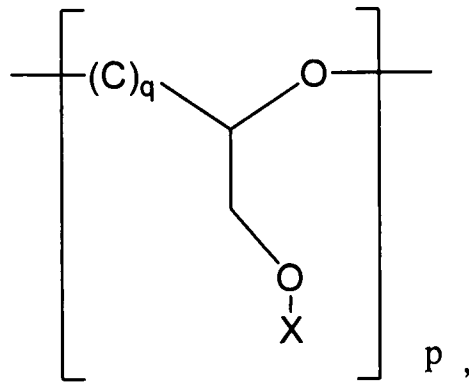
其中 p 係存在於混合物之聚合物分子中之式(II)之亞單位之莫耳分率，且其中 $q=0$ 或 1 ，且其中鍵結至 q 為 1 之亞單位之每一亞單位係 q 為 0 之亞單位，且鍵結至 q 為 0 之亞單位之每一亞單位係 q 為 1 之亞單位，以使得 q 為 0 之亞單位與 q 為 1 之亞單位在聚合物分子中交替，此得到聚合物如下文所顯示之式 I 之配置。



因此，在本發明之一或多個實施例中，混合物中之聚合物分子包括一系列連續鍵結之亞單位，其中每一連續鍵結之亞單位之 q 值係 0 、然後 1 、然後 0 、然後 1 、然後 0 等，從而產生甘油與甘醇醛之交替共聚物。

在一或多個實施例中，未經修飾之 PHF 之平均分子量係介於約 0.5 kDa 與約 250 kDa 之間。在較佳實施例中，分子量係介於約 1 kDa 與約 200 kDa 之間(例如約 5 kDa 與約 150 kDa 之間、約 10 kDa 與約 125 kDa 之間、約 20 kDa 與約 100 kDa 之間、約 49 kDa 與約 77 kDa 之間或約 56 kDa 或約 70 kDa)。

在一實施例中，經修飾之聚合物主鏈包括式(III)之亞單位：

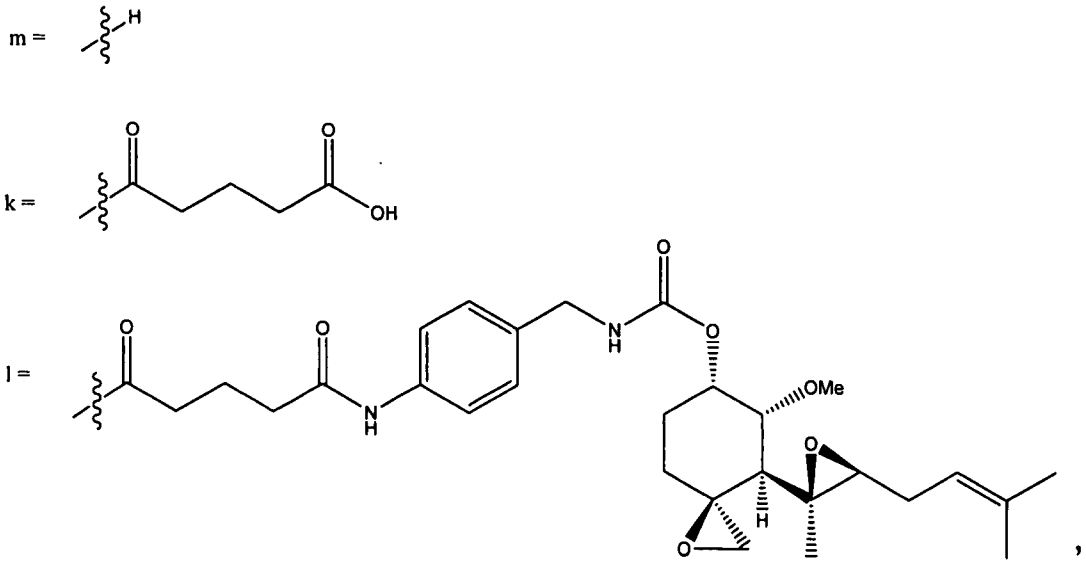


(III),

其中 X 指示聚合物主鏈之羥基之可選取代基，且其中在每一亞單位中，X 獨立地係未經取代 (X=H) 或獨立地選自由一或多個取代基組成之群，且其中 p 係存在於混合物之聚合物分子中之式 (III) 之亞單位之莫耳分率。

未經修飾 (X=H) 之亞單位之莫耳分率 p 係可促進生物相容性、溶解度且增加半衰期之莫耳分率。莫耳分率係基於聚合物分子之混合物中之亞單位之總數量。莫耳分率 p 可係提供生物相容性、溶解度、穩定性或具體半衰期所需之未經修飾之單體亞單位之最小分率，或可係稍大分率。最合意細胞毒性程度實質上係不存在的，即經修飾之聚合物對個體實質上係惰性的。然而，如彼等熟習此項技術者所理解，端視所治療疾病或症狀之嚴重程度、治療之功效、免疫反應之類型及程度及類似因素，可耐受一定程度之細胞毒性。

在本文之特定實施例中，在每一亞單位中 X 係獨立地選自結構 m、k 及 l：



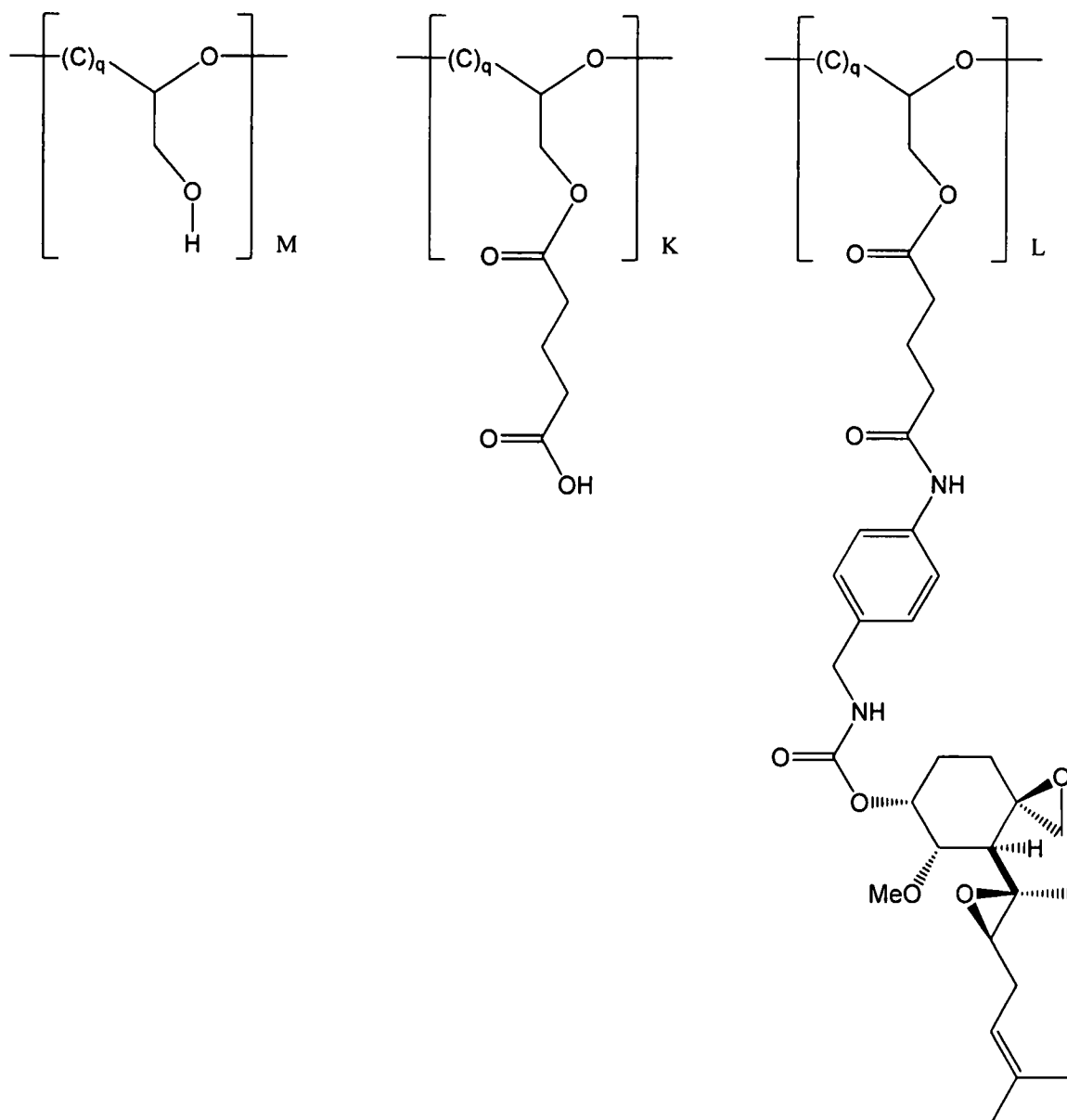
其中m之存在表示聚合物側鏈上未經取代之結合位點，且其中k之存在表示戊二酸結合至聚合物側鏈，且其中l之存在表示所顯示之化合物結合至聚合物側鏈。此實施例之聚合物可表示為由亞單位M、K及L組成，該三個亞單位M、K及L分別代表 $X=m$ 、 $X=k$ 及 $X=l$ 。在本發明中，當M、K及L中之每一者係以特定莫耳%比率存在於聚合物分子之混合物中時，其中 $q=0$ 或 1 且其中鍵結至 q 為 1 之亞單位之每一亞單位係 q 為 0 之亞單位，且鍵結至 q 為 0 之亞單位之每一亞單位係 q 為 1 之亞單位，以使得 q 為 0 之亞單位與 q 為 1 之亞單位在聚合物分子中交替，從而形成聚合物分子之連續主鏈之原子係與形成實例1中所顯示葡聚糖之連續主鏈之相應原子呈相同構形，此稱為組合物C。

在一或多個實施例中，混合物中之聚合物分子包括一系列連續鍵結之亞單位，其中每一連續鍵結之亞單位之 q 值係 0 、然後 1 、然後 0 、然後 1 、然後 0 等。

在一或多個實施例中，存在於聚合物分子主鏈中之對掌性中心保持存在於製備聚合物分子之相應葡聚糖原子中之

構形。

即，混合物之聚合物分子包括一系列連續鍵結之亞單位，其中對於每一亞單位而言，鍵結至亞單位主鏈中之氧原子之毗鄰亞單位係鍵結至毗鄰亞單位主鏈中之碳原子，且其中鍵結至亞單位主鏈中之碳原子之毗鄰亞單位係鍵結至毗鄰亞單位主鏈中之氧原子。

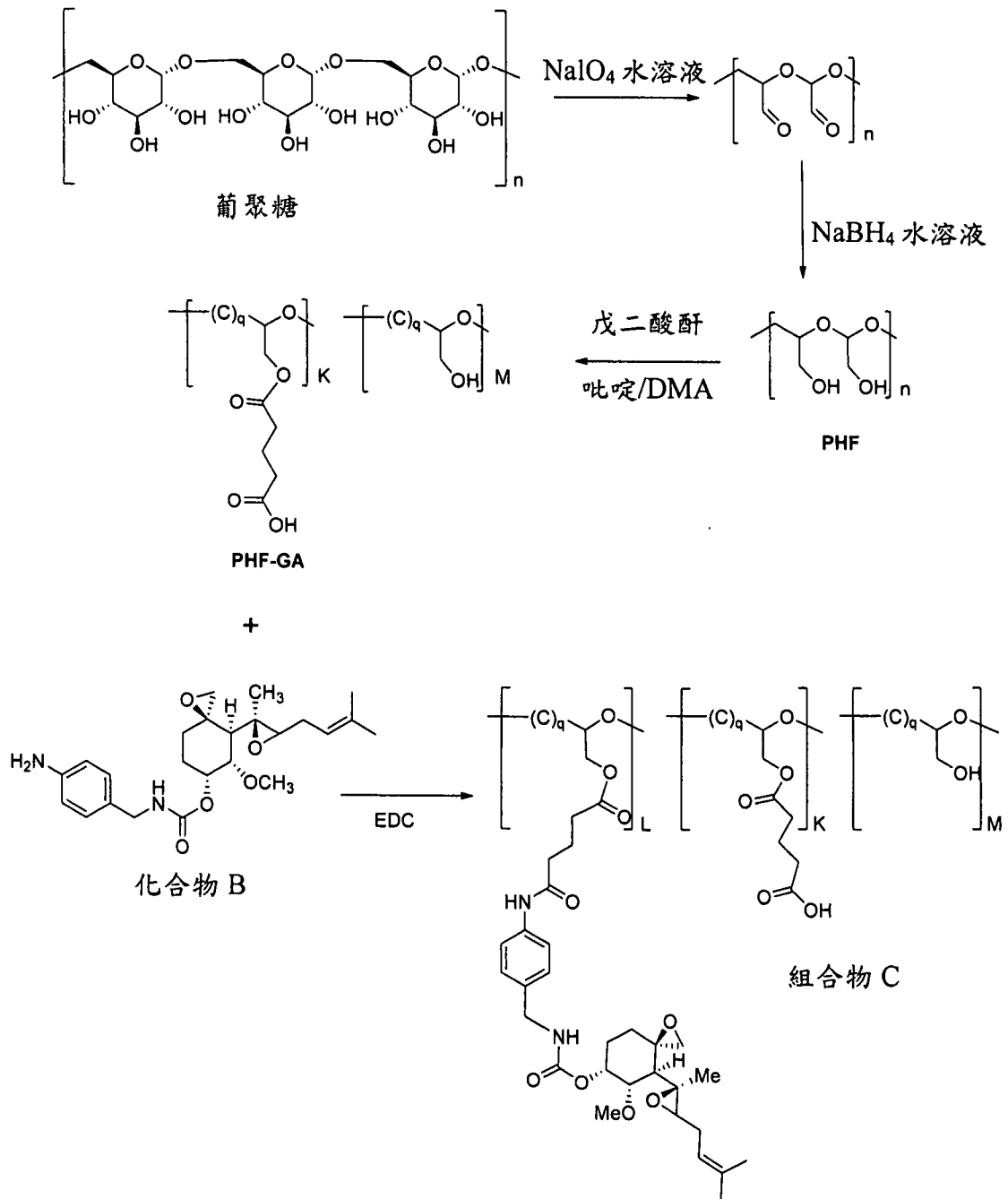


組合物 C

組合物 C 係聚合物分子之混合物，其中混合物中之聚合

物分子包括煙曲黴素衍生物之新穎聚合前藥、經由酯及醯胺鍵且藉由戊二酸連接體結合至PHF之化合物B。可在多步驟製程中合成組合物C，其中PHF係衍生自葡聚糖，戊二酸連接體係結合至PHF，且煙曲黴素衍生物係結合至戊二酸連接體。

組合物C之合成



將化合物B結合至PHF主鏈上之戊二酸連接體。此外，

未結合至化合物B之戊二酸結合殘基影響產物之物理性質。

葡聚糖具有多個對掌性中心，每一葡聚糖單體包含2個保持在PHF主鏈中之對掌性中心。因此，在本發明之一或多個實施例中，存在於聚合物分子主鏈中之對掌性中心保持存在於製備聚合物分子之相應葡聚糖原子中之構形。在該等實施例中，將保持葡聚糖C5之對掌性及葡聚糖C1之 α -組態。

葡聚糖亦具有藉由PHF主鏈保持且針對所顯示之PHF-GA及組合物C之每一亞單位之方向性。因此，在本發明之一或多個實施例中，混合物之聚合物分子包括一系列連續鍵結之亞單位，其中對於每一亞單位而言，鍵結至亞單位主鏈中之氧原子之毗鄰亞單位係鍵結至毗鄰亞單位主鏈中之碳原子，且其中鍵結至亞單位主鏈中之碳原子之毗鄰亞單位係鍵結至毗鄰亞單位主鏈中之氧原子。

葡聚糖中之單體在對應於C6之一端含有碳原子且在鍵結至C1之另一端含有氧原子。因此，在本發明之一或多個實施例中，PHF分子將具有在一個末端 $q=1$ 之單體(含有對應於C5及C6之主鏈碳原子)且將具有在另一末端 $q=0$ 之單體(含有對應於C1之主鏈碳原子)。

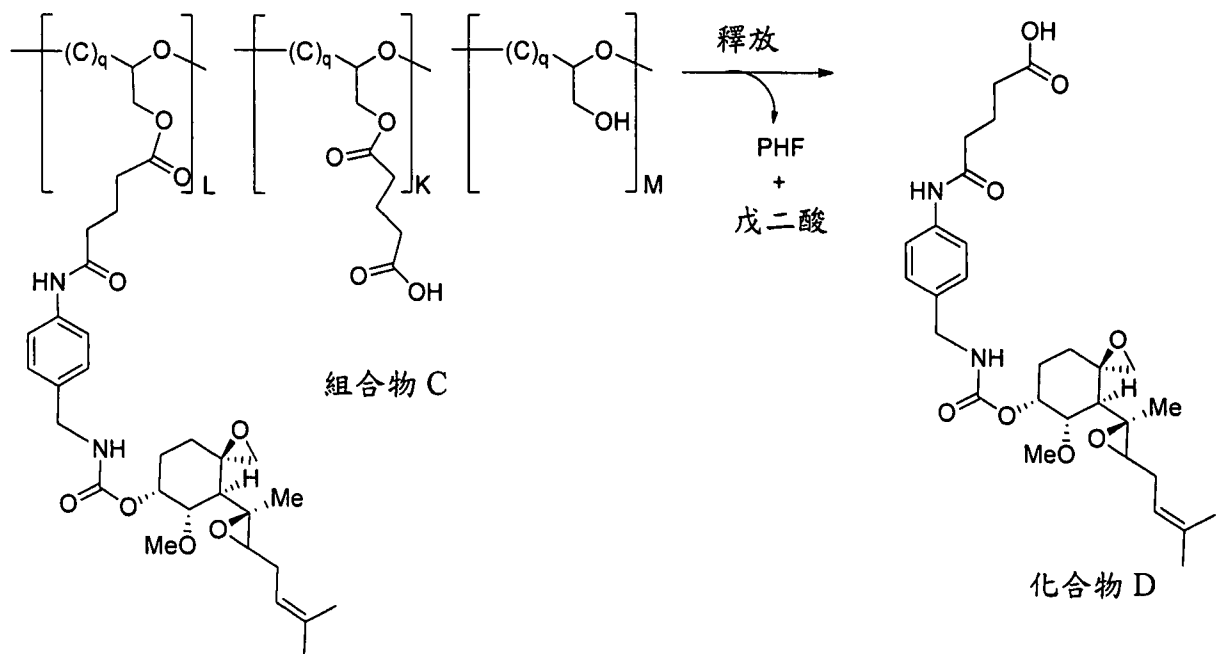
在一或多個實施例中，本發明之PHF-GA中之戊二酸之量係約7重量%至約16重量%之戊二酸、約8重量%至約14重量%之戊二酸、約9重量%至約13重量%之戊二酸或約10.1重量%之戊二酸或約12.2重量%之戊二酸。

在一或多個實施例中，PHF-GA中之亞單位K之莫耳%係約3%至約9.5%、約4%至約8%或約5%至約6.5%或約5.6%或約6.9%。

將化合物B結合至PHF-GA之反應之pH係用於獲得具有期望物理性質之產物之關鍵參數。因此，在本發明可接受之一或多個實施例中，使化合物B與PHF-GA在pH為約4.0至約6.0、約4.2至約5.8或約4.2至約5.5或約5.5下反應。

主要釋放產物化合物D係在活體內於生理pH下及/或藉由PHF與戊二酸之間之酯鍵之酶水解自組合物C聚合物主鏈緩慢釋放。化合物D亦係組合物C之生物學活性組份。藉由將化合物D結合至PHF來增強其活體內抗血管生成及抗腫瘤活性。此外，因化合物D自組合物C之聚合物主鏈緩慢釋放，故共軛物組合物C顯示優良藥物動力學。

化合物D自組合物C之釋放



組合物C中之化合物D之量在組合物C之效用方面起關鍵

作用。若化合物D之量小於指定範圍則需要過量組合物C以遞送足量化合物D(主要及生物活性釋放產物)以使得具有治療效應。例如，製備具有1重量%之化合物D之組合物C將需要投與100克組合物C以投與1克化合物D。為自具有10重量%之化合物D之組合物C之製劑投與相同之1 g化合物D，僅將需要10克組合物C。因此，較高化合物D載量值可遞送較大量化合物D且可預期在醫藥調配物中有利。然而，令人驚奇地發現，若載量大於指定範圍，則會對諸如水溶解度、黏度、粒徑、聚集及分子量等關鍵物理性質產生負面影響。

在一或多個實施例中，化合物D佔組合物C約9重量%至約14重量%、約10重量%至約14重量%、約10.5重量%至約14重量%、約11重量%至約14重量%、約11.25重量%至約13重量%或約11.5重量%至約12.5重量%或約11.8重量%或約11.9重量%。

在一或多個實施例中，亞單位L佔組合物C中之亞單位之莫耳%係約1.2%至約2.2%、約1.4%至約2.2%、約1.6%至約2.2%、約1.4%至約2.1%、約1.5%至約2.0%、約1.6%至約2.0%或約1.7%至約1.9%或約1.75%或約1.80%。

PHF主鏈含有往往在低pH下水解之縮醛。相反，煙黴醇係經由往往在高pH下水解之酯及醯胺連接鍵附接至PHF。因此，組合物C具有各自在低pH及高pH下去穩定之組份。此外，若以水溶液或凍乾粉末形式保持未經調配，則組合物C往往形成高分子量物質。因此，完成合成後要立即進

行組合物C調配。調配物組份可包含緩衝組份及穩定劑。

使用習用緩衝劑將組合物C水溶液緩衝至期望pH。適於與溶液一起使用之緩衝劑之非限制性實例包含以下中之一或多者：檸檬酸鈉、抗壞血酸鹽、琥珀酸鹽、乳酸鹽、檸檬酸、硼酸、硼砂、鹽酸、磷酸氫二鈉、乙酸、甲酸、甘胺酸、碳酸氫鹽、酒石酸、Tris-甘胺酸、Tris-NaCl、Tris-乙二胺四乙酸(「EDTA」)、Tris-硼酸鹽-EDTA、Tris-乙酸鹽-EDTA(「TAE」)緩衝劑及Tris緩衝生理食鹽水、4-(2-羥基乙基)-1-六氫吡嗪乙磺酸(「HEPES」)、3-(N-嗎啉基)丙磺酸(「MOPS」)、六氫吡嗪-1,4-雙(2-乙磺酸)(「PIPES」)、2-(N-嗎啉基)乙磺酸(「MES」)及磷酸鹽緩衝生理食鹽水(「PBS」)。

在一實施例中，用pH 5.5之檸檬酸鈉及檸檬酸緩衝溶液緩衝組合物C水溶液。在一實施例中，組合物C調配物含有約8.4重量%之檸檬酸鈉及1.2重量%之檸檬酸。

適於與調配物一起使用之穩定劑之非限制性實例包含甘露醇、山梨醇、聚乙烯吡咯啉酮、蔗糖、乳糖、葡萄糖、木糖醇、麥芽糖、果糖、棉子糖、半乳糖、海藻糖、羥基丙基- β -環糊精及乳糖醇。

在一些實施例中，組合物C水溶液可含有其他組份。

在一或多個實施例中，組合物C水溶液可含有常用於醫藥調配物中之可溶或不可溶添加劑。可與水溶液一起使用之添加劑之非限制性實例包含醫藥上可接受之賦形劑，例如表面活性劑、抗吸濕劑(anti-humiditnant)、抗氧化劑、增

黏劑、鹽類及防腐劑。

在一或多個實施例中，水溶液可含有表面活性劑或表面活性劑之混合物，該等表面活性劑或其混合物包括(但不限於)聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20、山梨醇酐酯、PEG硬脂酸酯、泊洛沙姆(Poloxamer)407、Solutol HS 15、泊洛沙姆188、Tween 80、月桂基硫酸鈉、醚硫酸鹽、硫酸化油、西曲溴銨BP、苯紮氯銨、卵磷脂、聚西托醇1000 BPC及式RCOOX之鹼金屬皂，其中R=C₁₀-C₂₀烷基且X = 鈉、鉀或銨。

在一或多個實施例中，水溶液可含有防腐劑或防腐劑之混合物，該等防腐劑或其混合物包含(但不限於)苯醇、苯甲酸鈉、硝酸鈉、二氧化硫、山梨酸鈉及山梨酸鉀。

在一或多個實施例中，組合物C水溶液無菌。過濾係可用於水溶液之滅菌方法之非限制性實例。在一些實施例中，藉由0.1微米及/或0.2微米過濾器之過濾對水溶液進行除菌。

通常將醫藥組合物凍乾以供運輸且在即將使用之前復水。然而，已觀察到組合物C在一些情形下不可逆地形成高分子量物質。本文之本發明提供具有消除或至少最小化高分子量物質之形成之精確亞單位比率之組合物C。此外，在一些實施例中，凍乾調配物含有允許復水再組成凍乾調配物之穩定劑。適於與凍乾調配物一起使用之穩定劑之非限制性實例包含甘露醇、山梨醇、聚乙烯吡咯啶酮、蔗糖、乳糖、葡萄糖、木糖醇、麥芽糖、果糖、棉子糖、

半乳糖、海藻糖、羥基丙基- β -環糊精及乳糖醇。

在一實施例中，凍乾調配物含有35-50重量%之甘露醇；在另一實施例中，凍乾調配物含有約42重量%之甘露醇。

在一些實施例中，凍乾調配物含有小於約4重量%之水。因此，在一些實施例中，凍乾調配物具有約pH 5.0至約6.0之pH。在其他實施例中，凍乾調配物具有約pH 5.5之pH。凍乾調配物之pH係藉由使用緩衝劑控制。適於與調配物一起使用之緩衝劑之非限制性實例包含以下中之一或多者：檸檬酸鈉、抗壞血酸鹽、琥珀酸鹽、乳酸鹽、檸檬酸、硼酸、硼砂、鹽酸、磷酸氫二鈉、乙酸、甲酸、甘胺酸、碳酸氫鹽、酒石酸、Tris-甘胺酸、Tris-NaCl、EDTA、TAE緩衝劑及Tris緩衝生理食鹽水、HEPES、MOPS、PIPES、MES及PBS。在一些實施例中，凍乾調配物含有約8.4重量%之檸檬酸鈉及1.2重量%之檸檬酸。可選擇緩衝劑以在凍乾之前之組合物C水溶液與凍乾調配物中提供pH穩定性。

凍乾調配物適於在復水後用於靜脈內投與。適用於復水之試劑包含(但不限於)注射用無菌水(USP)及0.9%氯化鈉注射液(USP)。

如本文所使用，關於所述數量之「約」涵蓋所述值之+2%至-2%之範圍。舉例而言，因此約100 mg/kg包含範圍98-102 mg/kg且因此亦包含98、99、100、101及102 mg/kg。因此，在實施例中，約100 mg/kg包含100 mg/kg。

應理解當提供參數範圍時，本發明亦提供此範圍內之所

有整數、其十分位及其百分位。例如，「0.2-5 mg/kg」揭示0.2 mg/kg、0.21 mg/kg、0.22 mg/kg、0.23 mg/kg等直至0.3 mg/kg、0.31 mg/kg、0.32 mg/kg、0.33 mg/kg等直至0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.6 mg/kg等直至5.0 mg/kg。

本文所闡述之各種要素之所有組合皆係在本發明之範疇中。

藉由參考後續實驗細節將更好地理解本發明，但彼等熟習此項技術者將易於瞭解，特定實驗細節僅用於說明本發明，如下文申請專利範圍中更全面所述。

方法

未鍵結戊二酸之量

組合物C中之未鍵結戊二酸之量係使用具有UV檢測之反相HPLC測定。將UV檢測器設定在203 nm處。藉由與戊二酸標準比較峰面積來量化樣品中之未鍵結戊二酸之含量。

PHF-GA中之戊二酸載量之測定

藉由戊二酸自聚合物主鏈之定量水解然後藉由反相HPLC (RP-HPLC)來確定加載(共價鍵結)至PHF-GA之戊二酸(GA)之量。量測203 nm處之UV吸光度且使用GA標準進行計算。根據下列函數校正水解樣品中之GA量以用於計算存在於PHF-GA中之未鍵結戊二酸之量：

GA載量=水解後所量測之GA重量-水解前所量測之GA重量。

根據下列函數計算PHF-GA中之GA重量%：

$$\text{GA重量}\% = 100 \times \frac{\text{鍵結GA之濃度}}{\text{PHF-GA之濃度}} ;$$

其中藉由溶解已知量之凍乾PHF-GA且調節體積以達成期望濃度來獲得PHF-GA之期望濃度；且

藉由以下函數測定GA莫耳%：

$$\text{GA Mol}\% = \frac{100 * (\text{GA重量}\% / \text{GA Mw})}{(2 * ((100 - \text{GA重量}\%) + (\text{GA重量}\% / \text{GA Mw}) * \text{H}_2\text{O Mw}) / \text{PHF Mw})}$$

其中PHF Mw係根據式I=134.13 g/mol、GA Mw=132.11 g/mol及H₂O Mw=18.02 g/mol得來之PHF單體之分子量。

GA莫耳%係等效於PHF-GA中之亞單位K莫耳%。

根據下文實例1之階段3量測共價鍵結至PHF-GA之戊二酸之量。PHF-GA中之亞單位K表示可用於結合下文實例5中之化合物B之位點，且因此影響所結合化合物B之量及未結合至組合物C中之化合物B之GA之量。

藉由(RP-HPLC)測定組合物C中之化合物D相關雜質

藉由注射組合物C之樣品及化合物D標準藉由RP-HPLC量測組合物C中之游離化合物D及其他雜質。藉由管柱中之分析物滯留分離分析物且藉由247 nm處之UV吸光度量測曲線下之總面積。藉由比較個別峰面積與已知化合物D標準之峰面積來量化樣品中游離化合物D及其他雜質之含量。檢測限值係<0.05%。

化合物D等效物之量測之UV分析

藉由使用設定於500 nm處之背景校正量測247 nm處之光

密度來測定組合物C中之化合物D載量。藉由使用消光係數及稀釋因數之計算來測定化合物D之總量，且藉由使用上文所闡述之方法校正組合物C中所觀察到之任何游離化合物D雜質來測定鍵結之化合物D之量。然後根據下式計算溶液中化合物D佔組合物C共軛物之總濃度之重量%：

$$\text{化合物D重量}\% = (\text{OD}_{247-500} \times \text{Mw} \times \text{DF}) / (\epsilon_{247} \times C_{\text{組合物C}}) \times 100$$

其中 $\text{OD}_{247-500} = \text{OD}_{247} - \text{OD}_{500}$ ，其係針對500 nm處之背景校正之247 nm處之吸光度；

ϵ_{247} 係 $\lambda = 247$ nm處之化合物D消光係數，其等於15000 [L/mol.cm]；

Mw係化合物D之分子量，其等於544.64 g/mol；

$C_{\text{組合物C}}$ 係組合物C濃度(mg/mL)；且

DF = 樣品稀釋因數。

使用折射率檢測器藉由粒徑排阻層析法且基於樣品中之組合物C共軛物峰面積與組合物C標準中之組合物C峰面積之比較來測定組合物C之濃度。

藉由以下函數測定化合物B重量%：

$$\text{化合物B重量}\% = \text{化合物D重量}\% \times \frac{\text{化合物B Mw}}{\text{化合物D Mw}} ; \text{且}$$

其中化合物B Mw=430.54 g/mol且化合物D Mw=544.64 g/mol。

藉由以下函數測定化合物D莫耳%：

$$\text{化合物D Mol\%} = \frac{100 * (\text{化合物B重量\%} / \text{化合物B Mw})}{(2 * ((100 - \text{化合物B重量\%}) + (\text{化合物B重量\%} / \text{化合物B Mw}) * \text{H}_2\text{O Mw}) / \text{PHF-GA Mw})}$$

其中 PHF-GA Mw 係藉由以下函數計算之 PHF-GA 之亞單位之平均分子量：

$$\text{PHF-GA Mw} = \frac{(2 * \text{GA Mol\%} * (\text{PHF Mw} + \text{戊二酸 Mw} - \text{H}_2\text{O Mw})) + ((100 - 2 * \text{GA Mol\%}) * \text{PHF Mw})}{100}$$

且其中 PHF Mw 係式 I 之 PHF 單體之分子量。

在一或多個實施例中，組合物 C 之亞單位中之亞單位 K 表示未結合至化合物 B 之 PHF-GA 之亞單位中之亞單位 K。根據下式，組合物 C 中之亞單位 K 莫耳% 直接取決於 PHF-GA 中之亞單位 K 莫耳% 及組合物 C 中之亞單位 L 莫耳%：

組合物 C 中之亞單位 K 莫耳% = PHF-GA 中之亞單位 K 莫耳% - 組合物 C 中之亞單位 L 莫耳%。

組合物 C 中之莫耳% 比率之測定

亞單位	描述	計算
L	化合物D載量	根據所量測之組合物C中之化合物D計算
K	結合的戊二酸	PHF-GA中之亞單位K-組合物C中之亞單位L，其中PHF-GA中之亞單位K係根據所量測之PHF-GA中之GA計算得來
M	未結合(含有游離羥基)	總亞單位(100)-PHF-GA中之亞單位K，其中PHF-GA中之亞單位K係根據所量測之PHF-GA中之GA計算得來

分子量分佈 (Mw, D₉₀, D₅₀, D₁₀)

藉由具有 RI 檢測之高效粒徑排阻層析法 (HPSEC) 量測組

合物C共軛物、PHF及PHF-GA之分子量分佈。使用50 mM pH=7.4磷酸鹽、0.9% NaCl作為洗脫液在GE Healthcare Superose 6管柱上實施分離。使用葡聚糖標準(American Polymer Standards公司)建立已知分子量對滯留時間之校準曲線。基於多糖標準曲線來計算分子量分佈(重量平均分子量(「Mw」), D₉₀、D₅₀、D₁₀)。

粒徑

使用具有Wyatt miniDawn Treos光散射檢測器及Optilab RI檢測器之HPSEC來量測組合物C共軛物之粒徑。

黏度

在D=60 mm之1°鈦錐作為感測器之HAAKE RotoVisco 1黏度計上量測組合物C共軛物之黏度。黏度係曲線之相對較平坦部分之平均值，其中黏度與剪切速率無關。

滲透壓

藉由蒸氣壓滲壓計(Vapor)量測組合物C水溶液之滲透壓。

實例1：PHF-GA之產生

階段1：葡聚糖之氧化

在過碘酸鈉(NaIO₄)水溶液中對葡聚糖實施徹底氧化以產生每一葡萄糖殘基位置3處之碳已斷開之聚合多醛。首先藉由真空過濾(用以移除沈澱之無機鹽)且然後使用標稱截留Mw(MWCO)為10 kDa之過濾器藉由透析過濾使經氧化之葡聚糖脫鹽。

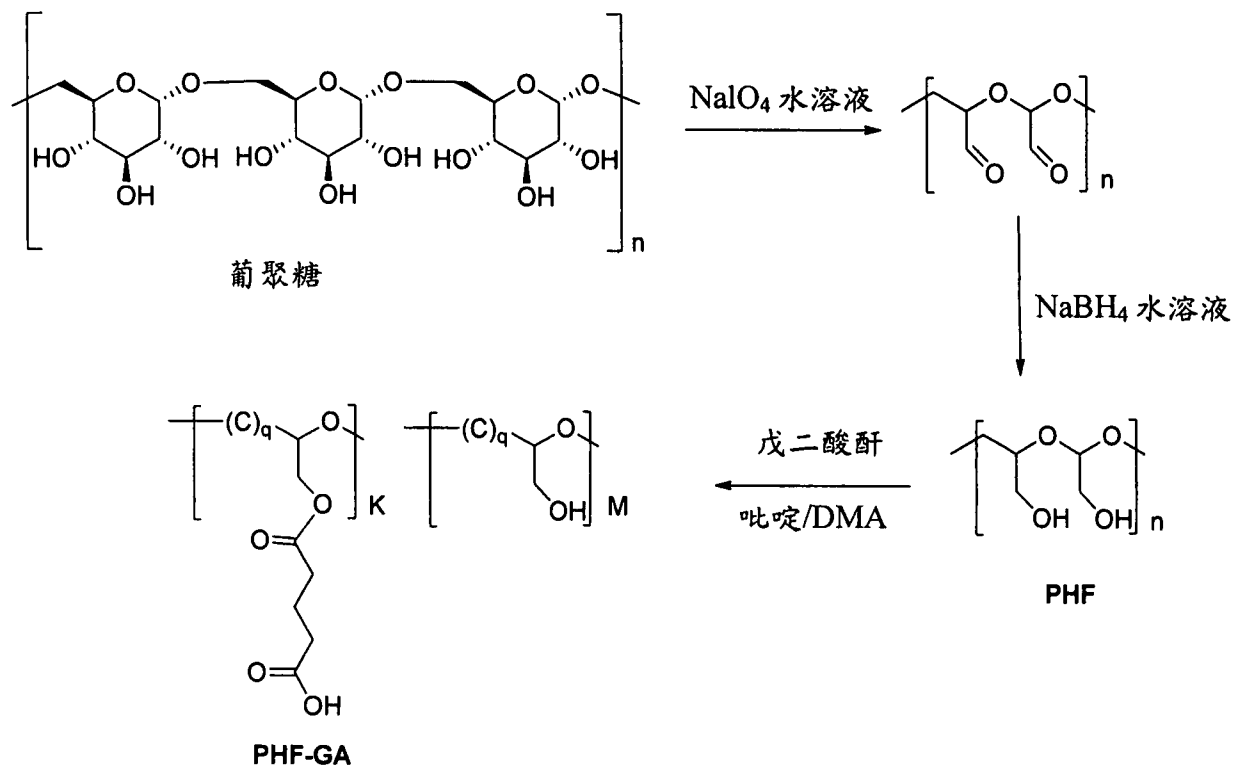
階段2：PHF之合成

然後使用硼氫化鈉(NaBH_4)水溶液徹底還原經純化之多醛以產生聚[羥基甲基伸乙基羥基甲基縮甲醛]，即甘醇醛與甘油之交替共聚物，縮寫為「PHF」。使用標稱MWCO為10 kDa之過濾器藉由透析過濾純化PHF。經由0.2微米過濾器過濾經純化之PHF，凍乾成固體且儲存在 2°C - 8°C 下。

階段3：PHF-GA之合成

在吡啶與二甲基乙醯胺(DMA)之混合物中使用戊二酸酐使PHF之游離羥基戊二酸化以產生PHF-GA。然後使用標稱MWCO為10 kDa之過濾器藉由透析過濾純化PHF-GA。藉由反應中所使用之PHF及戊二酸酐之量控制GA載量且如上所述來確定。

葡聚糖氧化、還原及戊二酸化步驟

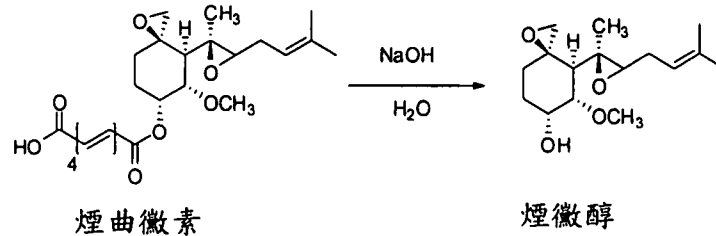


實例2：煙曲黴素至煙黴醇之水解

經由水解自煙曲黴素以單一步驟製備煙黴醇。用0.2 N

NaOH溶液在乙醚存在下(呈兩相混合物)水解煙曲黴素二環己基銨鹽。分離乙醚層，用10%檸檬酸洗滌，且然後在真空中蒸發以獲得紅棕色油狀煙黴醇。

煙黴醇之製備



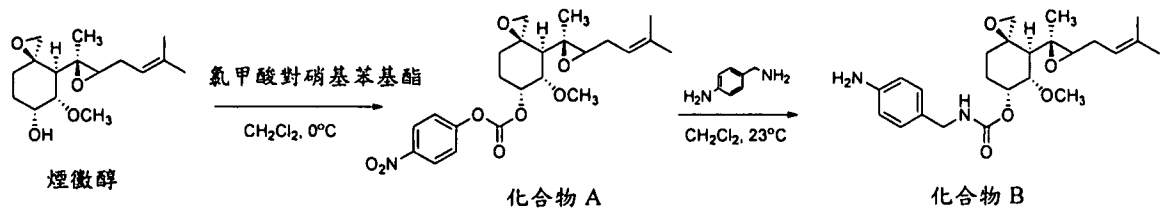
實例3：化合物A之製備

隨後使用存於二氯甲烷中之三乙胺及二甲基胺基吡啶將煙黴醇轉化成其氯甲酸對硝基苯基酯衍生物化合物A。使用管柱層析法移除雜質。

實例4：化合物B之製備

在二氯甲烷中使經純化之化合物A與對胺基苄胺反應以獲得化合物B。然後藉由管柱層析法純化化合物B。

化合物A及B之製備

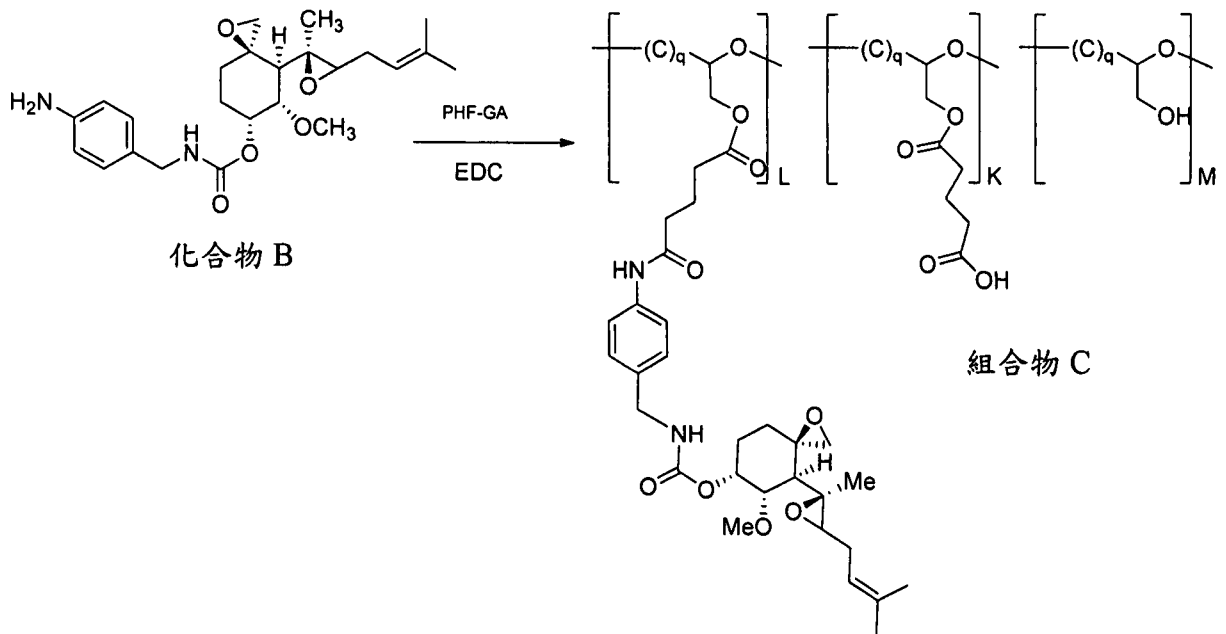


實例5：組合物C之製備

將存於DMF中之化合物B溶液添加至含有約10% DMA之PHF-GA水溶液中且將所得混合物冷卻至 $<10^{\circ}\text{C}$ 。在10至15分鐘時間內添加乙基二甲基胺基丙基碳化二亞胺(EDC)以活化PHF-GA之羧酸基團。在添加及整個反應過程期間，藉由酌情添加碳酸氫鈉或硫酸單鈉鹽將pH維持在約4.0與

約6.0之間。將混合物在室溫下攪拌2.5至20小時。此產生組合物C水溶液。經由0.2 μM膜過濾組合物C水溶液且然後使用標稱MWCO為10 kDa之過濾器藉由透析過濾純化。對經純化之組合物C重複實施透析過濾直至達成令人滿意之濃度。藉由凍乾所量測量之水溶液且稱重殘渣來計算濃度。藉由UV分析測定結合的化合物D之量。結合至聚合物之化合物D之目標量係約10.5重量%至約17重量%。

組合物C之製備



實例 6：組合物 C 之各種製劑之化合物 D 載量之選擇

如實例 5 中所闡述，將化合物 B 結合至 PHF-GA。如實例 1 之階段 3 中所闡述，製備具有不同 GA 結合程度之多批次之 PHF-GA，且如實例 5 中所闡述自每一批次來製備組合物 C。在實例 5 之合成中亦改變化合物 B 之量以產生具有不同化合物 D 載量之共軛物。

組合物C 批次	PHF-GA中 之GA重量%	PHF-GA中 之亞單位K 莫耳%	組合物C中 之化合物B 重量%	組合物C中 之亞單位L 莫耳%	組合物C中 之亞單位K 莫耳%
A	10.06	5.59	14.85	2.95	2.64
B	10.06	5.59	9.36	1.75	3.84
C	10.06	5.59	3.14	0.55	5.04
D	12.28	6.97	15.00	3.05	3.92
E	12.28	6.97	9.42	1.80	5.17
F	12.28	6.97	3.23	0.58	6.40
G	14.37	8.33	17.22	3.72	4.60

實例 7：組合物 C 批次之物理性質

如方法部分中所述來量測所選組合物 C 批次之物理性質。

具有不同化合物 D 載量之共軛物之溶液外觀

組合物C批次	化合物D載量 (亞單位L 莫耳%)	溶液外觀
D	3.05	極輕渾濁
E	1.80	澄清
F	0.58	澄清

較佳組合物 C 批次在溶液中不呈現渾濁。

具有不同化合物 B 載量之共軛物之黏度

組合物C批次	化合物D載量 (亞單位L 莫耳%)	50 mg/mL下之黏度(cP)
A	2.95	7.1
B	1.75	4.2
C	0.55	3.6

具有不同化合物 B 載量之共軛物之粒徑

組合物C批次	化合物D載量 (亞單位L莫耳%)	粒徑 (半徑, nm)
A	2.95	10-20 (大部分)
D	3.05	30-100 (小部分) <10 (小部分)
B	1.75	10-20 (小部分)
E	1.80	30-100 (少數粒子) <10 (大部分)
C	0.55	10-20 (小部分)
F	0.58	30-100 (少數粒子) <10 (大部分)

大部分較佳組合物C批次之粒徑係<10 nm。

具有不同化合物D載量之共軛物之分子量分佈

組合物C批次	化合物D載量 (亞單位L莫耳%)	游離戊二酸 (亞單位K莫耳%)	SEC跡線
A	2.95	2.64	2個峰 (高分子量)
D	3.05	3.92	2個峰 (高分子量)
B	1.75	3.84	單峰
E	1.80	5.17	單峰
C	0.55	5.04	單峰
F	0.58	6.40	單峰

藉由高效粒徑排阻層析法分析組合物C批次。較低化合物D載量產生單峰而在具有較高化合物D載量之樣品中觀察到2個峰。結果顯示於圖1中。批次B、C、E及F展示單峰之期望物理特徵。批次B及E具有相對較高化合物D載量之額外合意性質；該等性質係批次C及F之約3倍。

具有不同化合物D載量之共軛物之濃度

在約3 mg/ml及約60 mg/ml下量測溶液中之組合物C批次

之峰值分子量值。較佳組合物C批次展示與濃度無關之表觀分子量。

組合物C批次	約3 mg/ml下之Mp (kDa)	約60 mg/ml下之Mp (kDa)	變化%
A	50091	101822	+103
B	57480	55572	-3.3
C	65360	61135	-6.5
D	57819	91217	+58
E	58840	57706	-1.9
F	68130	64884	-4.8
G	55209	110627	+100

較佳化合物D載量：1.2-2.2莫耳%。

期望化合物D載量：1.6-2.0莫耳%。

實例8：水溶液中之組合物C之pH依賴性穩定性

PHF主鏈含有往往在低pH下水解之縮醛。相反，煙微醇係經由往往在高pH下水解之酯及醯胺連接鍵附接至PHF。因此，已發現組合物C在低pH與高pH下皆可去穩定。

基於所觀察到之表觀分子量(Mw)及分子量分佈(D₉₀、D₅₀、D₁₀)結果，聚合物主鏈在pH 5.5±0.2及6.5±0.2下最穩定。然而，在pH 6.5±0.2下，聚合物主鏈在第6天與第0天相比會釋放顯著量之化合物D (0.26%對0.01%)。因此，選擇約5.5之pH作為調配物之適當範圍。

在環境溫度下組合物C溶液在不同pH下之穩定性

目標pH	時間點 (天)	所量測之pH	外觀	SEC (kDa)	雜質(%)
4.5±0.2	0	4.44	澄清溶液	Mw : 159	未檢測到
				D ₉₀ : 400	
				D ₅₀ : 98	
	3	4.60	澄清溶液	Mw : 145	N/A
				D ₉₀ : 354	
				D ₅₀ : 91	
	6	4.54	澄清溶液	Mw : 128	化合物D : 0.04 RRT 0.87:0.01
				D ₉₀ : 302	
				D ₅₀ : 81	
5.5±0.2	0	5.48	澄清溶液	Mw : 160	化合物D : <0.01
				D ₉₀ : 400	
				D ₅₀ : 98	
	3	5.77	澄清溶液	Mw : 159	N/A
				D ₉₀ : 391	
				D ₅₀ : 97	
	6	5.85	澄清溶液	Mw : 156	化合物D : 0.03
				D ₉₀ : 390	
				D ₅₀ : 95	
6.5±0.2	0	6.67	澄清溶液	Mw : 159	化合物D : 0.01
				D ₉₀ : 400	
				D ₅₀ : 96	
	3	6.95	澄清溶液	Mw : 161	N/A
				D ₉₀ : 404	
				D ₅₀ : 99	
	6	7.29	澄清溶液	Mw : 158	化合物D : 0.26
				D ₉₀ : 390	
				D ₅₀ : 97	
				D ₁₀ : 33	

較佳 pH 範圍：5-6。

期望 pH：5.5

實例 9：組合物 C 之調配物

在下列實例中，選擇檸檬酸鹽緩衝劑改良組合物 C 穩定性，且選擇甘露醇穩定劑以克服形成組合物 C 之高分子量物質之已知問題。

用二水合檸檬酸鈉/一水合檸檬酸緩衝溶液、甘露醇及注射用水調配水性組合物 C 共軛物以產生下表中所闡述之穩定水溶液。將甘露醇用作穩定劑以防止形成組合物 C 之高分子量物質且促進凍乾組合物 C 之復水。

經甘露醇調配之水性共軛物之組成

組份	近似乾重%
化合物 D 等效物	5.8%
組合物 C 共軛物	48.7%
甘露醇	41.7%
檸檬酸鈉	8.4%
檸檬酸	1.2%

較佳甘露醇之量係 35-50 重量%。

期望甘露醇之量係約 42 重量%。

然後 0.1 微米或 0.2 微米過濾經調配之組合物 C 且包裝於無菌聚碳酸酯壇中並儲存在 2°C 至 8°C 或 -20°C 下。

在 2°C -8°C 及 -20°C 下量測組合物 C 之水性調配物之穩定性。

組合物C水性調配物在2°C -8°C下之穩定性

測試	T=0	T=1個月	T=2個月	T=3個月
外觀 (目測)	澄清溶液	澄清溶液	澄清溶液	澄清溶液
pH	5.5	5.4	5.5	5.5
分子量分析/分佈 (kDa)	Mw : 97 D ₉₀ : 203 D ₅₀ : 70 D ₁₀ : 30	Mw : 108 D ₉₀ : 236 D ₅₀ : 74 D ₁₀ : 30	Mw : 112 D ₉₀ : 248 D ₅₀ : 75 D ₁₀ : 29	Mw : 116 D ₉₀ : 265 D ₅₀ : 76 D ₁₀ : 28
雜質 (≥ 0.05%)	RRT 0.31:0.08%	RRT 0.31:0.08%	RRT 0.31:0.08%	RRT 0.31:0.07%

觀察到當儲存在2°C -8°C下時組合物C之表觀分子量隨時間增加。選擇凍乾產物作為此問題之解決方案。

實例10：組合物C調配物之凍乾

在下列實例中，選擇實例8之水溶液用於凍乾。使用約15 mL來自上文實例8之水溶液填充每一小瓶(30 mL)，且然後藉由後續凍乾循環凍乾以產生凍乾餅。凍乾循環完成後，用具有(純)氮之95%氣氛填塞小瓶。

將含有≤4重量%水之凍乾調配物儲存在2°C -8°C下長達10個月且量測物理性質以評價穩定性。

組合物C之凍乾調配物在2°C -8°C 下之穩定性

測試	T=0	T=1 個月	T=3 個月	T=4 個月	T=6 個月	T=10 個月
外觀	白色固體	白色固體	白色固體	白色固體	白色固體	白色固體
pH	5.5	5.4	5.5	5.4	5.4	未測試
滲透壓(mOsm/kg)	285	280	未測試	290	290	未測試
分子量Mw (kDa)	100	102	98	98	101	111
分子量分佈(kDa)	D ₁₀ =30 D ₅₀ =71 D ₉₀ =209	D ₁₀ =30 D ₅₀ =72 D ₉₀ =215	D ₁₀ =28 D ₅₀ =70 D ₉₀ =209	D ₁₀ =29 D ₅₀ =70 D ₉₀ =206	D ₁₀ =27 D ₅₀ =69 D ₉₀ =214	D ₁₀ =33 D ₅₀ =74 D ₉₀ =225
組合物C (mg/小瓶)	675	684	未測試	719	698	未測試
化合物D等效物 (mg/小瓶)	75	75	未測試	77	77	未測試
雜質 (≥0.05%)	無 ≥ 0.05%	無 ≥ 0.05%	無 ≥ 0.05%	無 ≥ 0.05%	無 ≥ 0.05%	無 ≥ 0.05%

凍乾組合物C顯示在長期儲存下穩定。因此，選擇含有≤4重量%水之凍乾組合物C作為含有組合物C之組合物。

實例11：凍乾組合物C調配物之復水

下列實例證實所選組合物C之調配物成功克服了所觀察到之凍乾組合物C之不可逆凝聚。選擇注射用無菌水(USP)及0.9%氯化鈉注射液(USP)作為復水劑以製備適於靜脈內投與之可注射調配物。

無菌水中之復水

在20 mL小瓶中用約15 mL注射用無菌水(USP)復水成含有約675 mg組合物C之凍乾調配物，從而產生滲透壓為285 mOsmol/kg之等滲溶液。

氯化鈉溶液中之復水

在30 mL小瓶中用約15 mL 0.9%氯化鈉注射液(USP)復水

成含有約222 mg組合物C之凍乾調配物，從而產生滲透壓為360 mOsmol/kg之等滲溶液。

【圖式簡單說明】

圖1. 具有不同化合物D載量之共軛物之高效粒徑排阻層析法(HPSEC)之跡線。藉由HPSEC分析具有不同化合物D載量之組合物C批次。較低化合物D載量產生單峰，而對於具有較高化合物B載量之樣品觀察到2個峰。

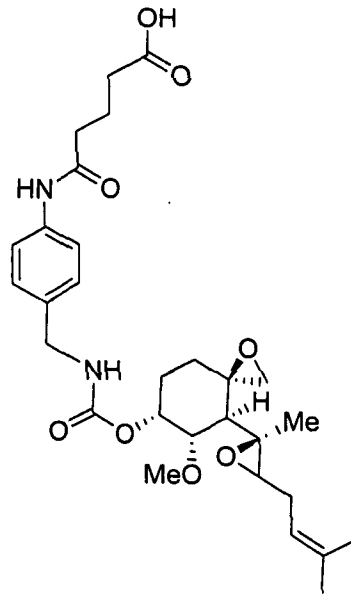
其中該混合物中之該等聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，

其中亞單位 M 佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 91.5 至約 96 莫耳%，

其中亞單位 K 佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且

其中亞單位 L 佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%。

2. 如請求項 1 之混合物，其中亞單位 M 佔該混合物中之該亞單位總量之該莫耳百分比係約 93.5 至約 95 莫耳%。
3. 如請求項 1 或請求項 2 之混合物，其中亞單位 K 佔該混合物中之該亞單位總量之該莫耳百分比係約 3.0 至約 6.0 莫耳%。
4. 如請求項 3 之混合物，其中亞單位 K 佔該混合物中之該亞單位總量之該莫耳百分比係約 2.8 至約 4.9 莫耳%。
5. 如請求項 1 至 4 中任一項之混合物，其中亞單位 L 佔該混合物中之該亞單位總量之該莫耳百分比係約 1.6 至約 2.2 莫耳%。
6. 一種包括聚合物分子或其鹽之混合物，其中該混合物中之聚合物分子包括經由羧基共價鍵結有戊二酸及下式之化合物 D 之聚(1-羥基甲基伸乙基羥基甲基-縮甲醛)主鏈：



化合物 D

其中該混合物中之該等聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，

其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之戊二酸佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且

其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之化合物 D 佔該混合物中之該亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%。

7. 如請求項 6 之混合物，其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之戊二酸佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 3.0 至約 6.0 莫耳%。
8. 如請求項 7 之混合物，其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之戊二酸佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 4.9 莫耳%。
9. 如請求項 6 至 8 中任一項之混合物，其中共價鍵結至該聚合物分子混合物之化合物 D 佔該混合物中之亞單位總量

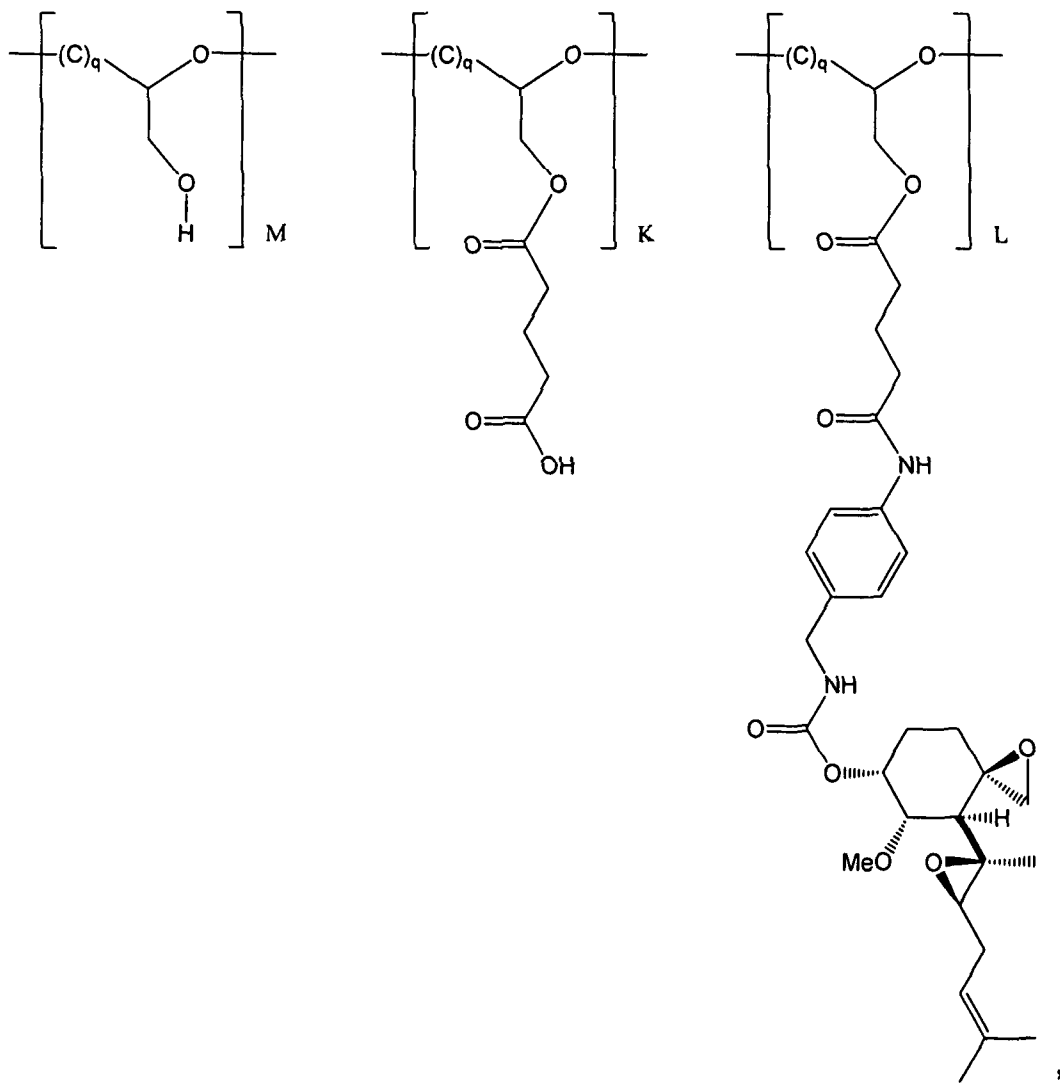
之莫耳百分比係約1.6至約2.2莫耳%。

10. 如請求項1至9中任一項之混合物，其中該混合物中之該等聚合物分子之該平均分子量係約70 kDa。
11. 如請求項1至10中任一項之混合物，其中峰值分子量係小於100 kDa。
12. 如請求項1至11中任一項之混合物，其中該聚合物分子混合物之分子量分佈具有單峰。
13. 如請求項1至12中任一項之混合物，其中該峰值分子量係小於70 kDa。
14. 如請求項13之混合物，其中該峰值分子量係約40 kDa至約60 kDa。
15. 如請求項1至14中任一項之混合物，其中該聚合物分子混合物之該分子量分佈之 D_{10} 係小於或等於50 kDa。
16. 如請求項1至15中任一項之混合物，其中該聚合物分子混合物之該分子量分佈之 D_{50} 係小於或等於200 kDa。
17. 如請求項1至16中任一項之混合物，其中該聚合物分子混合物之該分子量分佈之 D_{90} 係小於或等於300 kDa。
18. 如請求項1至17中任一項之混合物，其進一步包括一或多種雜質，其中該一或多種雜質係以小於5重量%之量存在。
19. 如請求項18之混合物，其中該等雜質係以約1重量%至約5重量%之量存在。
20. 如請求項1至19中任一項之混合物，其中該鹽係醫藥上可接受之鹽。

21. 一種醫藥調配物，其包括如請求項1至20中任一項之混合物。
22. 如請求項21之醫藥調配物，其進一步包括一或多種緩衝劑。
23. 如請求項22之醫藥調配物，其中該一或多種緩衝劑係選自由以下組成之群：檸檬酸鈉、檸檬酸、抗壞血酸鹽、琥珀酸鹽、乳酸鹽、硼酸、硼砂、磷酸氫二鈉、乙酸、甲酸、甘胺酸、碳酸氫鹽、酒石酸、Tris-甘胺酸、Tris-NaCl、Tris-EDTA、Tris-硼酸鹽-EDTA、TAE緩衝劑、Tris緩衝生理食鹽水、HEPES、MOPS、PIPES、MES及PBS。
24. 如請求項23之醫藥調配物，其中所選緩衝劑係檸檬酸鈉及檸檬酸。
25. 如請求項21至24中任一項之醫藥調配物，其中將該調配物緩衝至pH為約5至約6。
26. 如請求項25之醫藥調配物，其中將該調配物緩衝至約pH 5.5。
27. 如請求項21至26中任一項之醫藥調配物，其進一步包括一或多種穩定劑。
28. 如請求項27之醫藥調配物，其中該一或多種穩定劑係選自由以下組成之群：甘露醇、山梨醇、麥芽糖、海藻糖、聚乙烯吡咯啉酮、蔗糖、乳糖、羥基丙基- β -環糊精、葡萄糖、木糖醇及乳糖醇。
29. 如請求項28之醫藥調配物，其中該穩定劑係甘露醇。

30. 如請求項29之醫藥調配物，其中甘露醇係以約35重量%至約50重量%之量存在於該醫藥調配物中。
31. 如請求項30之醫藥調配物，其中甘露醇係以約42重量%之量存在於該醫藥調配物中。
32. 如請求項21至31中任一項之醫藥調配物，其進一步包括一或多種表面活性劑。
33. 如請求項32之醫藥調配物，其中該一或多種表面活性劑係選自由以下組成之群：聚山梨醇酯80、泊洛沙姆(Poloxamer) 407、聚山梨醇酯20、泊洛沙姆188、Solutol HS 15及Tween 80。
34. 如請求項21至33中任一項之醫藥調配物，其中該調配物係穩定水溶液。
35. 如請求項21至33中任一項之醫藥調配物，其中該調配物係穩定凍乾調配物。
36. 如請求項35之醫藥調配物，其中該凍乾調配物含有約8.4重量%之檸檬酸鈉。
37. 如請求項35或請求項36之醫藥調配物，其中該調配物含有約1.2重量%之檸檬酸。
38. 如請求項35至37中任一項之醫藥調配物，其中該調配物含有小於或等於約4重量%之水。
39. 如請求項35至38中任一項之醫藥調配物，其中該調配物適於在用復水劑復水後用於靜脈內投與。
40. 如請求項39之醫藥調配物，其中該復水劑係0.9%氯化鈉注射液(USP)。

41. 如請求項39之醫藥調配物，其中該復水劑係注射用無菌水(USP)。
42. 如請求項21至41中任一項之醫藥調配物，其進一步包括一或多種防腐劑。
43. 如請求項42之醫藥調配物，其中該一或多種防腐劑係選自由以下組成之群：苜醇、苯甲酸鈉、硝酸鈉、二氧化硫、山梨酸鈉及山梨酸鉀。
44. 一種製造包括聚合物分子之混合物之方法，其中該混合物中之聚合物分子包括如下式之共價鍵結之亞單位L、K及M：



其中 $q=0$ 或 1 ，

其中鍵結至 q 為 1 之亞單位之每一亞單位係 q 為 0 之亞單位，且鍵結至 q 為 0 之亞單位之每一亞單位係 q 為 1 之亞單位，以使得 q 為 0 之亞單位與 q 為 1 之亞單位在該聚合物分子中交替，

其中該混合物中之該等聚合物分子之平均分子量係約 50 kDa 至約 200 kDa，

其中亞單位 M 佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 91.5 至約 96 莫耳%，

其中亞單位 K 佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 2.8 至約 7.3 莫耳%，且

其中亞單位 L 佔該混合物中之亞單位總量之莫耳百分比係約 1.2 至約 2.2 莫耳%，該方法包括：

a) 獲得 PHF-GA 分子之混合物，其中該混合物具有佔該 PHF-GA 分子混合物中之亞單位總量至少 3 莫耳% 之亞單位 K，

b) 使化合物 B 與該 PHF-GA 分子混合物反應，

由此產生包括該等聚合物分子之混合物。

45. 如請求項 44 之方法，其中在步驟 a) 中該 PHF-GA 分子混合物具有佔該 PHF-GA 分子混合物中之亞單位總量約 4 莫耳% 至約 6 莫耳% 之亞單位 K。

46. 如請求項 44 或請求項 45 之方法，其進一步包括在步驟 b) 中將該反應之 pH 維持在約 pH 4 至約 pH 6 下。

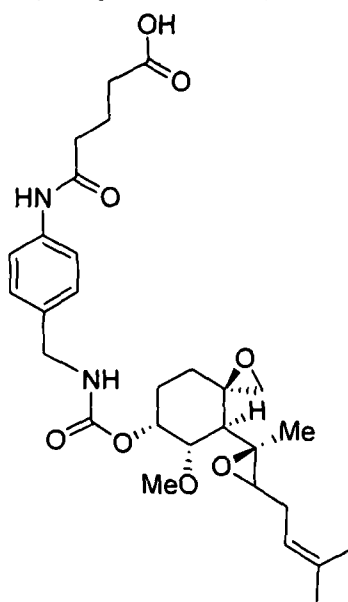
47. 如請求項 46 之方法，其中將該 pH 維持在約 pH 5.5 下。

48. 如請求項44至47中任一項之方法，其進一步包括使用過濾器藉由透析過濾來純化該產物。
49. 如請求項48之方法，其中該過濾器具有10 kDa之標稱MWCO。
50. 一種治療癌症之方法，其包括向有此需要之個體投與治療該癌症有效量之如請求項1至20中任一項之混合物或如請求項21至43中任一項之醫藥調配物。
51. 一種如請求項1至21中任一項之混合物或如請求項21至43中任一項之醫藥調配物之用途，其用於治療癌症。
52. 一種如請求項1至20中任一項之混合物或如請求項21至43中任一項之醫藥調配物之用途，其用於製造治療癌症之藥劑。
53. 如請求項50之方法或如請求項51或52之用途，其中該癌症係肛門癌、星細胞瘤、白血病、淋巴瘤、頭頸癌、肝癌、睪丸癌、子宮頸癌、肉瘤、血管瘤、食道癌、眼癌、喉癌、口腔癌、間皮瘤、皮膚癌、骨髓瘤、口癌、直腸癌、喉癌、膀胱癌、乳癌、子宮癌、卵巢癌、前列腺癌、肺癌、結腸癌、胰腺癌、腎癌或胃癌。
54. 一種治療血管生成性疾病之方法，其包括向有此需要之個體投與治療該血管生成性疾病有效量之如請求項1至20中任一項之混合物或如請求項21至43中任一項之醫藥調配物。
55. 一種如請求項1至20中任一項之混合物或如請求項21至43中任一項之醫藥調配物之用途，其用於治療血管生成

性疾病。

56. 一種如請求項1至20中任一項之混合物或如請求項21至43中任一項之醫藥調配物之用途，其用於製造治療血管生成性疾病之藥劑。

57. 一種向個體遞送如下式之化合物D之方法，



化合物D

其包括向該個體投與如請求項1至20中任一項之混合物或如請求項21至43中任一項之醫藥調配物。

八、圖式：

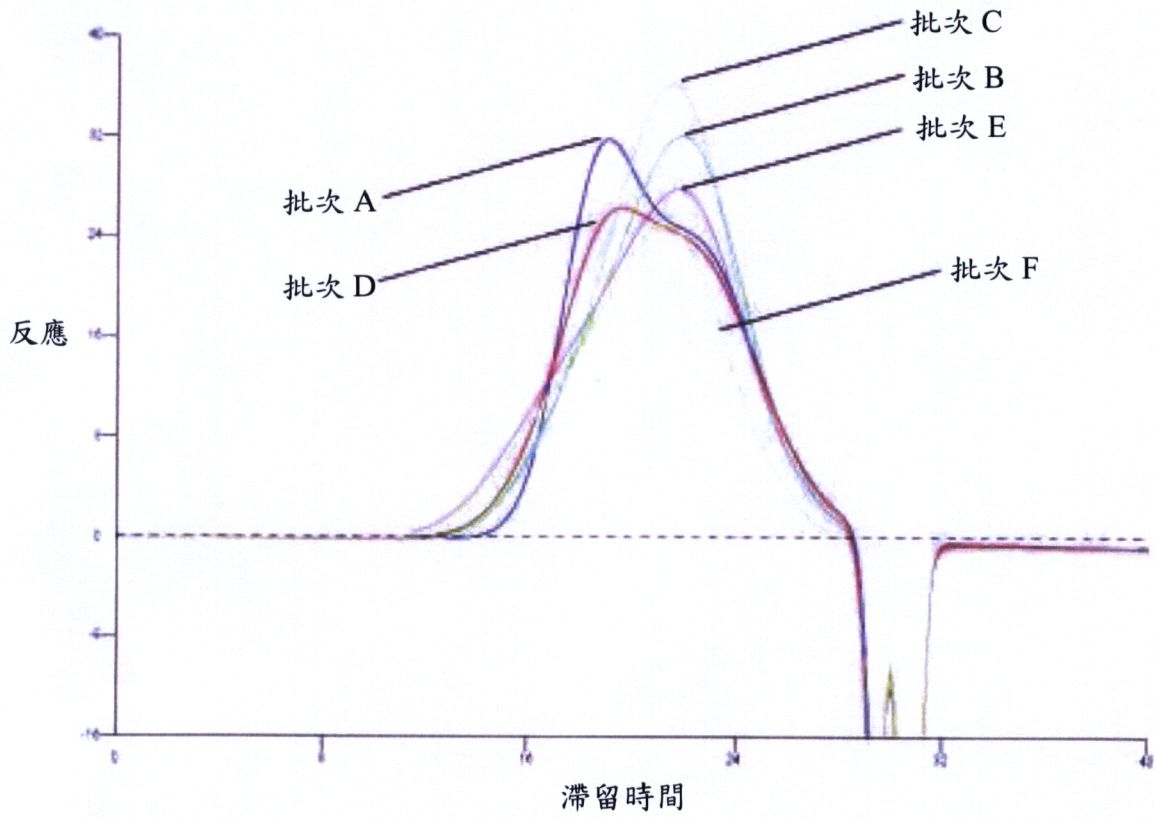


圖 1