



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1761485 B

(45) 授权公告日 2010.04.28

(21) 申请号 200480007329.5

(22) 申请日 2004.03.18

(30) 优先权数据

077607/2003 2003.03.20 JP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2005.09.19

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2004/003647 2004.03.18

(87) PCT申请的公布数据

W02004/082718 JA 2004.09.30

(73) 专利权人 日本化药株式会社

地址 日本东京

专利权人 那野伽利阿株式会社

(72) 发明人 清水和久 村田俊隆 佐川勝彦

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100

代理人 陶家蓉

(51) Int. Cl.

A61K 47/42 (2006.01)

A61K 31/337 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

JP 6-206815 A, 1994.07.26, 权利要求.

JP 6-206832 A, 1994.07.26, 权利要求.

CN 1307866 A, 2001.08.15, 权利要求.

JP 8-310970 A, 1996.11.26, 权利要求.

审查员 刘梅

权利要求书 1 页 说明书 10 页

(54) 发明名称

含略微水溶性抗癌剂和新型嵌段共聚物的胶束制剂

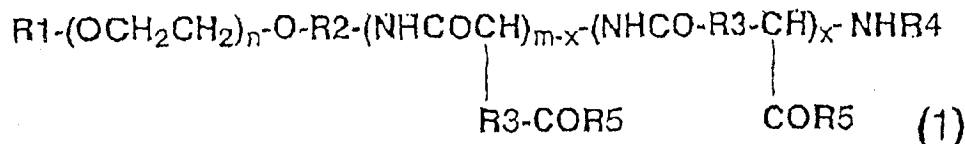
(57) 摘要

一种新型的胶束制剂,其中,增加了略微水溶性的抗癌剂的溶解性,静脉注射后能够维持高血浓度。本制剂具有高的药物活性和/或降低的副作用。由以下通式(1)所表示的嵌段共聚物

$$R1-(OCH_2CH_2)_n-O-R2-(NHCOCH)_m-x-(NHCO-R3-CH)_x-NHR4$$


(其中 R1 是氢原子或 C₁₋₅烷基;R2 是 C₁₋₅亚烷基;R3 是亚甲基或亚乙基;R4 是氢原子或 C₁₋₄酰基;R5 是羟基、任选取代的芳基 C₂₋₈烷氧基、取代的 C₁₋₄烷基氨基或具有氨基酸或肽衍生物残基的氨基;n 是 5-1000 的整数,m 是 2-300 的整数,x 是 1-300 的整数;前提是 R5 中羟基的比例为 0-99% 且 x 不大于 m) 和略微水溶性的抗癌剂形成的胶束制剂。

1. 一种由以下通式 (1) 所表示的嵌段共聚物



含略微水溶性抗癌剂和新型嵌段共聚物的胶束制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及从新型嵌段共聚物和略微水溶性抗癌剂形成的胶束制剂,含有相同作为活性成分的抗癌剂,以及嵌段共聚物。

[0002] 发明背景

[0003] 许多重要的药物,尤其是抗癌剂是略微水溶性的疏水混合物。为了达到使用这些药物理想的治疗效果,通常需要溶解这些药物后给予患者。这样,略微水溶性的抗癌剂的增溶成为制备口服或非胃肠使用制剂的重要技术,尤其是生产用于制备静脉给药的制剂。

[0004] 增溶略微水溶性的抗癌剂的一种方法是加入表面活性剂。举例来说,使用聚乙烯蓖麻油衍生物(Cremophor)增溶紫杉醇。增溶略微水溶性的抗癌剂的其它方法包括使用形成胶束的嵌段共聚物作为抗癌剂的载体,如日本专利申请公开号(KOKAI)6-107565、6-206815和11-335267等所述,包括使用聚环氧乙烷-聚(β -苄基天冬氨酸-共-天冬氨酸)嵌段共聚物的含紫杉醇胶束的形成,如日本专利申请公开号(KOKAI)2001-226294所述。

[0005] 然而,使用表面活性剂的增溶方法显示有害的副作用如起因于表面活性剂的过敏反应;和因为制剂的低稳定性,当溶液储存或长时间保存时发生药剂沉淀的问题。

[0006] 此外,尚未获得一种静脉施用的药物制剂,该制剂使用嵌段共聚物作为略微水溶性抗癌剂如紫杉烷抗癌剂的载体,相对于单独注射药剂维持药剂较高的浓度,导致药剂的药理作用增加和副作用减少。

[0007] 因此,需要一种能增加略微水溶性抗癌剂在水中的溶解性的药物制剂,该制剂维持升高的药剂浓度,使得药剂的药理作用增加和副作用减少。

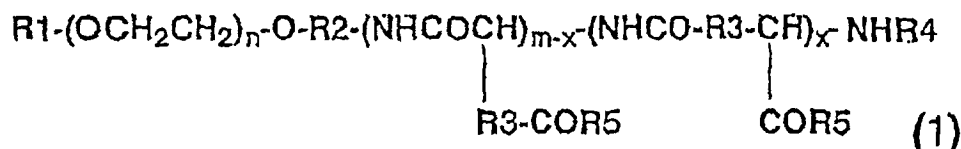
发明内容

[0008] 为解决上述问题深入研究的结果是,本发明发现一种含有新型嵌段共聚物和略微水溶性抗癌剂的胶束制剂,从而完成本发明。

[0009] 这样,本发明涉及:

[0010] 1) 一种由以下通式 (1) 所表示的嵌段共聚物

[0011]



[0012] (其中 R1 是氢原子或 C₁₋₅ 烷基 ;R2 是 C₁₋₅ 亚烷基 ;R3 是亚甲基或亚乙基 ;R4 是氢原子或 C₁₋₄ 酰基 ;R5 是羟基、任选取代的芳基 C₂₋₈ 烷氧基、取代的 C₁₋₄ 烷基氨基或具有氨基酸或肽衍生物残基的氨基 ;n 是 5-1000 的整数,m 是 2-300 的整数,x 是 1-300 的整数 ;前提是 R5 中羟基的比例为 0-99% 且 x 不大于 m) 和略微水溶性的抗癌剂形成的胶束制剂 ;

[0013] 2) 如 1) 所述的胶束制剂, 其中在通式 (1) 的 R5 中羟基的比例为 0-90% ;

[0014] 3) 如 1) 所述的胶束制剂, 通式 (1) 中, R1 是甲基, R2 是环丙烷基, R3 是亚甲基,

R4 是乙酰基,R5 是未取代的苯基 C₃₋₆ 烷氧基 ;n 是 20-500 的整数,m 是 10-100 的整数,x 是 1-100 的整数 ;前提是 x 不大于 m ;

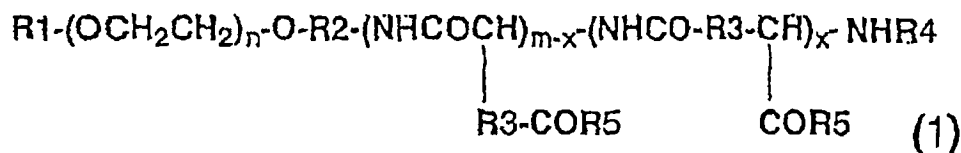
[0015] 4) 如 1) 至 3) 中任一项所述的胶束制剂,其中略微水溶性的抗癌剂是紫杉烷抗癌剂;

[0016] 5) 如 4) 所述的胶束制剂, 其中紫杉烷抗癌剂是紫杉醇。

[0017] 6) 一种含如 1) 至 5) 中任一项所述的胶束制剂作为活性成分的抗癌剂。

[0018] 7) 一种以下通式 (1) 所表示的嵌段共聚物

[0019]



[0020] (其中,R1 是氢原子或 C₁₋₅ 烷基 ;R₂C₁₋₅ 是亚烷基 ;R₃ 是亚甲基或亚乙基 ;R₄ 是氢原子或 C₁₋₄ 酰基 ;R₅ 是羟基、任选取代的芳基 C₂₋₈ 烷氧基、取代的 C₁₋₄ 烷基氨基或具有氨基酸或肽衍生物残基的氨基 ;n 是 5-1000 的整数,m 是 2-300 的整数,x 是 1-300 的整数 ;前提是 R₅ 中羟基的比例为 0-99% 且 x 不大于 m) ;和

[0021] 8) 如 7) 所述的嵌段共聚物, 其中, 通式 (1) 中, R1 是甲基, R2 是环丙烷基, R3 是亚甲基, R4 是乙酰基, R5 是未取代的苯基 C_{3-6} 烷氧基; n 是 20-500 的整数, m 是 10-100 的整数, x 是 1-100 的整数; 前提是 x 不大于 m。

[0022] 最佳实施例

[0023] 本发明胶束制剂是上文通式(1)表示的嵌段共聚物(其中,R1 是氢原子或C₁₋₅烷基;R2 是亚烷基;R3 是亚甲基或亚乙基;R4 是氢原子或C₁₋₄酰基;R5 是羟基、任选取代的芳基C₂₋₈烷氧基、取代的C₁₋₄烷基氨基或具有氨基酸或肽衍生物残基的氨基;n 是5-1000的整数,m 是2-300的整数,x 是1-300的整数;前提是R5中羟基的比例为0-99%且x不大于m)和略微水溶性的抗癌剂形成的。

[0024] 用于本发明胶束制剂的嵌段共聚物中, R1 是氢原子或 C₁₋₅ 烷基, 优选 C₁₋₅ 烷基。C₁₋₅ 烷基的具体例子包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、对丁基、叔丁基、正戊基等; 更加优选甲基。

[0025] R2 中 C₁₋₅ 亚烷基的具体例子包括亚甲基、亚乙基、环丙烷基、四亚甲基环丁基等；优选亚乙基和四亚甲基。

[0026] R3 是亚甲基或亚乙基, 优选亚甲基。

[0027] R4 是氢原子或 C₁₋₄ 酰基, 优选 C₁₋₄ 酰基包括甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基等; 特别优选乙酰基。

[0028] 在本发明胶束制剂所用的嵌段共聚物中, R5 是羟基、任选取代的芳基 C₂₋₈ 烷氧基、取代的 C₁₋₄ 烷基氨基或含有氨基酸或肽衍生物残基的氨基, 在一个分子中 R5 可以相同或不同。R5 中羟基的比例为 0% -99%, 优选 0% -90%, 更优选 15% -85%, 最优选 35% -80%。

[0029] 芳基 C₂₋₈ 烷氧基可以是结合芳烃基如苯基或萘基的直链或支链 C₂₋₈ 烷氧基, 包括例如苯乙氧基、苯丙氧基、苯丁氧基、苯戊氧基、苯己氧基、苯庚氧基、苯辛氧基、亚萘乙氧基、萘丙氧基、萘丁氧基或萘戊氧基

[0030] 在任选取代的芳基 C₁₋₈ 烷氧基中, 取代基可以是低级烷氧基如甲氧基、乙氧基、异

丙氧基、正丁氧基或叔丁氧基、卤原子如氟、氯、或溴、硝基、氰基等。在任选取代的芳基 C_{2-8} 烷氧基中,取代基的数目可以从一到取代物的最大数目,在所有可能位置中所有取代的芳基 C_{2-8} 烷氧基都包含于本发明;然而,优选未取代的芳基 C_{2-8} 烷氧基。

[0031] 任选取代的芳基 C_{2-8} 烷氧基,优选未取代的苯基 C_{3-6} 烷氧基,可包括未取代的苯丙氧基、未取代的苯丁氧基或未取代的苯戊氧基或未取代的苯己氧基,优选未取代的苯丁氧基。

[0032] 在本发明胶束制剂所用通式 (1) 代表的嵌段共聚物的 R5 中,取代的 C_{1-4} 烷基氨基可以是例如任选取代的芳基 C_{1-4} 烷基氨基等。芳基 C_{1-4} 烷基氨基可以是结合芳烃基如苯基或萘基的直链或支链 C_{1-4} 烷基氨基,包括例如苄氨基、苯乙氨基、苯丙氨基、苯丁氨基、萘甲氨基、萘乙氨基或萘丁氨基。

[0033] 在任选的取代的芳基 C_{1-4} 烷基氨基中,取代基可是低级烷氧基如甲氧基、乙氧基、异丙氧基、正丁氧基或叔丁氧基、卤原子如氟、氯、或溴原子、硝基、氰基等。取代的芳基 C_{1-4} 烷基氨基中取代基的数目可以从一到取代的最大数目,在所有可能位置中所有取代的芳基 C_{1-4} 烷基氨基都包含于本发明;然而,优选未取代的芳基 C_{1-4} 烷基氨基。

[0034] 任选取代的芳基 C_{1-4} 烷基氨基的特别优选的例子是未取代的苄氨基、未取代的苯乙氨基等。

[0035] 通式 (1) 中 R5 可是具有氨基酸或肽衍生物残基的氨基。在通过酰胺键连接的两个或多个氨基酸的 α 或 β 氨基酸或肽衍生物中,这种氨基是伯氨基。氨基酸或肽的衍生物可以是例如主链羧酸酯化、侧链羧酸酯化,或侧链羟基酯化的衍生物。具体的例子包括二苄基天冬氨酸酯、 β -丙氨酰-丝氨酸苄基醚苄基 (β -丙氨酰-O-苄基-L-丝氨酸苄基酯),和类似物。

[0036] 在用于本发明胶束制剂通式 (1) 所代表的嵌段共聚物中, n 是 5-1000 的整数,优选 20-500,更优选 80-400; m 是 2-300 的整数,优选 10-100,更优选 15-60; x 是 1-300 的整数,优选 1-100,更优选 1-60;前提是 x 不大于 m 。

[0037] 一种制备通式 (1) 所代表的嵌段共聚物的方法,不具体限于,但可包括如:用酸或碱部分水解 R5 是任选取代的芳基 (C_{2-8}) 烷氧基或取代的 (C_{1-4}) 烷基氨基的化合物。如日本专利申请公开号 (OKKAI) 11-335267 和 2001-226294 所述。

[0038] 在通式 (1) 所代表的嵌段共聚物中, R5 是除羟基外的基团,所述化合物也可以通过 R5 都是羟基的通式 (1) 化合物与任选取代的芳基 C_{2-8} 醇、取代的 C_{1-4} 烷基胺或氨基酸或肽的衍生物的脱水缩合反应得到。任选取代的芳基 C_{2-8} 醇是对应于上述任选取代的芳基 C_{2-8} 烷氧基的醇。取代的 C_{1-4} 烷基胺是对应于上述取代的 C_{1-4} 烷基氨基的胺。

[0039] 可以使用任选取代的芳基 C_{2-8} 醇、取代的 C_{1-4} 烷基胺和氨基酸或肽的衍生物,市售化合物,或也可以使用有机合成熟知方法制备的化合物或应用和组合熟知有机反应制备的化合物。

[0040] 一种制备 R5 都是羟基的化合物的方法,不具体限制,但可使用如日本专利公开号 (KOKAI) 6-206815 所述的方法。

[0041] 在上述脱水缩合反应中所使用的脱水缩合剂可以是如基于碳二亚胺的脱水缩合剂,包括 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺 (EDC)、1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺盐酸盐 (EDC · HCl)、二环己基碳二亚胺 (DCC)、或二异丙基碳二亚胺 (DIPCI)。

[0042] 优选所用的脱水缩合剂的量是任选取代的 C_{2-8} 醇、或取代的 C_{1-4} 烷基胺的 0.1-20 倍摩尔,更优选 1-5 倍摩尔。这里,可以同时存在羟基琥珀酸亚胺 (HOSu)、1-羟基苯并三唑 (HOBt)、N-羟基-5-降冰片烯-2,3-二羧酸亚胺 (HOBn)、4-二甲氨基吡啶 (DMAP)、二异丙基乙胺等,上述物质的量是任选取代的 C_{2-8} 醇、或取代的 C_{1-4} 烷基胺的 0.01-20 倍摩尔,优选 0.1-10 倍摩尔。

[0043] 所用的任选取代的 C_{2-8} 醇、或取代的 C_{1-4} 烷基胺的量不具体限制,但优选是通式 (1) 中 R5 都是羟基的化合物的羧基的 0.1-5 当量到 1 当量。

[0044] 优选脱水缩合反应在溶剂中进行;可以使用,但不具体限于各种溶剂如 N,N-二甲酰胺 (DMF)、二甲亚砜 (DMSO)、二噁烷、四氢呋喃、水或它们的混合物。所用的溶剂量,不具体限制,但根据原料共聚物的重量通常是 1-500 倍。

[0045] 优选脱水缩合反应在 -10°C - 60°C 下进行,可进行 2-48 小时。

[0046] 用于本发明胶束制剂通式 (1) 所代表的嵌段共聚物具有羧基,通过部分或全部离子解离产生的盐也包含于本发明。盐可以是碱金属盐、碱土金属盐、铵盐、或有机铵盐,例如具体包括钠盐、钾盐、钙盐、铵盐、或三乙铵盐。

[0047] 本发明胶束制剂略微水溶性的抗癌剂指在环境条件下,如室温或常压下,本身而言,基本上不溶于等量水中的抗癌剂;或在等量水和氯仿的溶剂系统中,优先分散入氯仿相的抗癌剂。这些抗癌剂可包括蒽环类抗生素抗癌剂如阿霉素、紫杉烷类抗癌剂如紫杉醇或多西紫杉醇、长春花生物碱类抗癌剂如长春新碱、甲氨蝶呤和它们的衍生物;特别优选包括紫杉醇的紫杉烷类抗癌剂。

[0048] 本发明胶束制剂中的嵌段共聚物与略微水溶性的抗癌剂的重量比率为 1000 : 1 到 1 : 1,优选 100 : 1 到 1.5 : 1,更优选 20 : 1 到 2 : 1。然而,当胶束制剂水溶性时,可含有尽可能多的药剂。

[0049] 本发明胶束制剂通过如下方法制备。

[0050] 方法 a ;通过搅拌加入药剂

[0051] 任选溶解于水混溶有机溶剂中的略微水溶性的抗癌剂,与嵌段共聚物水分散体搅拌并混合。在这方面,搅拌和混合期间可进行加热。

[0052] 方法 b ;溶剂挥发

[0053] 水混溶有机溶剂中略微水溶性的抗癌剂,与嵌段共聚物水分散体混合,搅拌挥发有机溶剂。

[0054] 方法 c ;透析

[0055] 略微水溶性的抗癌剂与嵌段共聚物溶解于水混溶有机溶剂中,所得溶液用透析膜在缓冲液和 / 或水中透析。

[0056] 方法 d ;其它方法

[0057] 略微水溶性的抗癌剂与嵌段共聚物溶解于水混溶有机溶剂中。所得溶液与水混合,搅拌形成水包油 (O/W) 乳剂,接触挥发有机溶剂。

[0058] 例如,日本专利申请公开号 6-107565 具体描述了方法 c 中制备胶束的方法。

[0059] 例如,日本专利申请公开号 11-335267 和 2001-226294 中描述的方法 b 和 d 涉及有机溶剂挥发。

[0060] 更具体地描述方法 b 和 d,水混溶的有机溶剂是指与二甲酰胺 (DMF)、二甲亚砜

(DMSO)、乙腈等具有相反概念的有机溶剂,基本上可自由地与水混合,如在日本专利公开号 11-335267 中用于形成聚合物胶束。有机溶剂不具体限制,但可以是氯仿、二氯甲烷、甲苯、正己烷、或它们的混合物。

[0061] 水混溶的有机溶剂与水介质即水(包括纯化水或离子交换水)或含有糖、稳定剂、氯化钠、缓冲剂等的等渗或缓冲水性溶液混合。这里,可少量包含水混溶的有机溶剂或其它无机盐(如硫酸钠),在这样的范围内即对 O/W 乳剂的形成没有不利影响。

[0062] 水混溶的有机溶剂和水介质的混合一般是以调节体积比率 1 : 100 的方式混合,优选 1 : 20。所用的混合方式是通常用于制备各种乳剂的方式,如机械搅拌器、振荡仪、超声辐射仪等。在这种情况下,操作温度不限制,但考虑到试剂的温度稳定性、溶剂的沸点等,优选设定的范围约为 -5℃ -40℃。

[0063] 随后,在开口系统中继续上述混合操作,或搅拌减压条件下,蒸发(或挥发)除去有机乳剂。

[0064] 胶束制剂水溶液可进行过滤处理除去直接的不溶性物质或沉淀物,或超声避免胶束制剂可能的缔合或聚集。所用的滤膜不限制,但优选膜孔大小为 0.1-1 μm 的膜。

[0065] 本发明胶束制剂在水介质中稳定,与不使用添加剂的情况相比,提供了略微水溶性的抗癌剂在水中较高的浓度。此外,为了增加这种含药胶束制剂的浓度,通过减压或超声、冻干等操作富集浓度。

[0066] 在胶束制剂中,以药剂和嵌段共聚物的总重量计,药剂的浓度为 0.1-50 重量%,优选 1-40 重量%,更优选 5-35 重量%;因此,药剂的量可约为 1mL 胶束制剂水溶液中 0.01mg 或更多,优选约为 1mg 或更多,更优选约 2mg 或更多。

[0067] 本发明胶束制剂可以是壳-核型胶束的形式,在水介质中,聚乙二醇的结构部分在外部,包含略微水溶性的抗癌剂在胶束内部的疏水部分。在壳-核型胶束的情况下,可使用市售光散射粒度测定仪(例如,Otsuka Electronics,Co.,Ltd.,DLS-7000DH 型)测定粒度;平均粒度为 10-200nm,优选 20-100nm。

[0068] 本发明也包括使用上述含抗癌剂胶束制剂的抗癌剂作为活性成分。当胶束制剂作为药物制剂给药时,根据患者的年龄、体重和病理状况、治疗目的等决定剂量;然而,治疗有效量约为 50-500mg/ 体重 / 天。给予的药物制剂不具体限制,只要是溶解于药学上可接受的溶剂中的胶束制剂,可含有药学上可接受的添加剂。本发明胶束制剂也包括那些冻干制剂。

[0069] 此外,本发明包括在上述胶束制剂中使用的嵌段共聚物。

实施例

[0070] 通过具体制备实施例进一步描述本发明。但是,本发明不受这些实施例的限制。

[0071] 在这些实施例中,乙醇缩写为 EtOH;二异丙醚为 IPE;4-二甲氨基吡啶为 DMAP;N-羟基琥珀酸亚胺为 HOSu;和高效液相层析为 HPLC。

[0072] 实施例 1:制备嵌段共聚物 6

[0073] 如日本专利公开号 (KOKAI)6-206815 所述制备的 3.56gPEG(平均分子量:12000)-pAsp(平均聚合度:35)-Ac(通式 (1) 化合物,其中 R1 是甲基,R2 是环丙烷基,R3 是亚甲基,R4 是乙酰基,R5 是羟基;n 约为 272,m 约为 35,且 x 约为 26;后文中缩写为

PEG-pAsp-Ac) 加入到 70mLDMF 中, 35℃ 溶解, 加入 DMAP (745mg), 4- 苯基 -1- 丁醇 (1. 17mL), 和 DIPCI (1. 19mg), 接着反应 26 小时。过滤前, 反应液逐滴加入 700mLIPe : EtOH (4 : 1) 中, 回收沉淀物, 然后减压下干燥, 得到 3. 19g 粗结晶。该粗结晶溶解于 50% 乙腈水溶液中, 然后通过 40mL 的阳离子交换树脂 DOWEX50w8 (Dow Chemical Company 生产), 接着用含 50% 水的乙腈洗脱。洗脱液真空浓缩后冻干, 得到 3. 85g 嵌段共聚物 6。

[0074] 嵌段共聚物 6 (25. 2mg) 溶解于 2mL 乙腈中, 加入 2mL 0. 5N 氢氧化钠水溶液, 然后室温下搅拌 20 分钟。用 0. 5mL 醋酸中和后, 调节液体体积到 5mL, 然后用 HPLC 定量游离的 4- 苯基 -1- 丁醇。分析结果是 : 与聚天冬氨酸酯键结合的 4- 苯基 -1- 丁醇为 44%。

[0075] 实施例 2 : 制备嵌段共聚物 7

[0076] 通过与实施例 1 相似的操作, 用 3. 59g PEG-pAsp-Ac 和实施例 1 的 0. 3 倍量的 4- 苯基 -1- 丁醇 (0. 36mL) 得到 3. 56g 嵌段共聚物 7。

[0077] 和实施例 1 相似的水解操作后, 分析结果是 : 与聚天冬氨酸酯键合的 4- 苯基 -1- 丁醇为 22%。

[0078] 实施例 3 : 制备嵌段共聚物 8

[0079] 使用如日本专利公开号 (KOKAI) 6-206815 所述制备的 3. 02g PEG (平均分子量 : 5000) -pAsp (平均聚合度 : 30) -Ac (通式 (1) 化合物, 其中 R1 是甲基, R2 是环丙烷基, R3 是亚甲基, R4 是乙酰基, R5 是羟基 ; n 约为 110, m 约为 30, 且 x 约为 22 ; 后文中缩写为 PEG*-pAsp*-Ac) 与 4- 苯基 -1- 丁醇 (1. 45mL) 通过与实施例 1 所述的相似操作进行缩合反应, 得到 3. 05g 嵌段共聚物 8。

[0080] 与实施例 1 相似的水解操作后, 分析结果是 : 与聚天冬氨酸酯键合的 4- 苯基 -1- 丁醇为 50%。

[0081] 实施例 4 : 制备嵌段共聚物 9

[0082] 通过与实施例 1 相似的操作, 用 3. 04g PEG*-pAsp*-Ac 和实施例 3 的 0. 3 倍量的 4- 苯基 -1- 丁醇 (0. 44mL) 得到 2. 74g 嵌段共聚物 9。

[0083] 与实施例 1 相似的水解操作后, 分析结果是 : 与聚天冬氨酸酯键结合的 4- 苯基 -1- 丁醇为 25%。

[0084] 实施例 5 : 制备嵌段共聚物 10

[0085] 通过与实施例 1 相似的操作, 用 200mg PEG-pAsp-Ac 和 6- 苯基 -1- 己醇 (80. 1 μ L) 代替实施例使用 1 的 4- 苯基 -1- 丁醇得到 233mg 嵌段共聚物 10。

[0086] 与实施例 1 相似的水解操作后, 分析结果是 : 与聚天冬氨酸酯键合的 6- 苯基 -1- 己醇为 48%。

[0087] 实施例 6 : 制备嵌段共聚物 13

[0088] 200mg PEG-pAsp-Ac 溶解于 4mL DMF 中, 加入 49. 8mg HOSu、23. 6 μ L 苄胺和 74. 6 μ L DIPCI, 然后在 35℃ 反应 4 小时。在反应液中加入 100 μ L 蒸馏水后, 搅拌 15 分钟, 逐滴加入 60mL IPe : EtOH (9 : 1) 后, 过滤和收集沉淀, 然后减压干燥, 得到 189mg 嵌段共聚物 13。

[0089] 定量留在反应液中的苄胺 ; 基于此的计算结果是 : 与聚天冬氨酸酰胺键合的苄胺为 48%。

[0090] 实施例 7 : 制备嵌段共聚物 15

[0091] 通过与实施例 6 相似的操作, 用二苄 L- 天冬氨酸甲苯磺酸盐 (715mg) 和二异丙基

乙胺 (257 μ L) 代替实施例 6 所用的苄胺, 以及 3.09g PEG-pAsp-Ac 得到 3.35g 嵌段共聚物 15。

[0092] 在与实施例 1 相似的条件下水解, 定量分析游离的苄醇; 与聚天冬氨酸酰胺键合的二苄基-L-天冬氨酸为 23%。

[0093] 实施例 8: 制备嵌段共聚物 16

[0094] 通过与实施例 6 相似的操作, 用以常规二肽合成方法制备的 β -丙氨酰基-O-苄基-L-丝氨酸苄酯盐酸盐 (321mg) 和二异丙基乙胺 (142 μ L) 代替实施例 6 所用的苄胺, 以及 PEG-pAsp-Ac (1.51g) 得到 1.49g 嵌段共聚物 16。

[0095] 与实施例 7 相似操作后, 分析结果是: 与聚天冬氨酸酰胺键合的 β -丙氨酰基-O-苄基-L-丝氨酸苄酯为 26%。

[0096] 实施例 9: 制备紫杉醇胶束制剂 10

[0097] 称量 300mg 实施例 1 的嵌段共聚物 6 (与 4-苄基-1-丁醇缩合的嵌段共聚物) 于螺旋管瓶中, 加入 30mL 的 40mg/mL 麦芽糖水溶液, 搅拌形成分散体, 然后搅拌冷却至 4℃。再加入 3mL 紫杉醇 (30mg/mL) 的二氯甲烷溶液后, 无需密封在冰箱中气密地搅拌 16 小时, 然后超声 (130W, 1 秒脉冲, 10 分钟)。加入浓度为 20mg/mL 的聚乙二醇 4000 溶解, 然后无菌条件下过滤, 得到胶束制剂 10。

[0098] 紫杉醇的浓度为 2.8mg/mL。动态光散射光度计 (Otsuka Electronics, Co., Ltd., DLS-7000DH 型) 测定的平均粒度为 86.6nm。

[0099] 相似地, 使用实施例中描述的嵌段共聚物制备紫杉醇胶束制剂。所得结果见表 1。

[0100] 表 1: 胶束制剂

[0101]

胶束制剂	嵌段共聚物	药物浓度 (mg/mL)	粒度 (nm)
10	6	2.8	86.6
11	7	3.1	97.8
12	8	2.8	53.3
13	9	3.0	85.3
18	15	2.0	85.1
19	15	4.5	20.1
20	16	2.0	28.8

[0102] 对比实施例

[0103] 根据日本专利公开号 (KOKAI) 6-107565, 具有一端为甲氧基、另一端为氨基的 10g 聚乙二醇衍生物和市售 β -苄基-L-天冬氨酸-N-羧酸酐溶解于 80mL DMF/DMSO (50% / 50%) 混合溶剂中, 用铝箔避光于 40℃ 反应 24 小时。随后, 反应液逐滴加入到 660mL 正己烷 / 乙酸乙酯 (50% / 50%) 的混合溶剂中重沉淀聚合物。进行三次重沉淀操作, 然后减压

干燥 24 小时,得到约 19g 聚环氧乙烷(平均分子量:12000)-聚 β-苄基天冬氨酸(平均聚合度:50)嵌段共聚物。

[0104] 10g 所得的嵌段共聚物溶解于 100mL 乙腈中,加入 22.72mL 0.5N 氢氧化钠水溶液,室温下水解反应 10 分钟。加入 3.79mL 6N 盐酸终止反应,然后将反应液转移入透析膜(Spectra/Por7,MWC0 3500)对 3.3L 离子交换水进行透析 9 小时或更长(更换三次或更多次离子交换水)。透析结束后,用滤纸 No.5B(Kiriyama Glass Works Co.,4μm)进行过滤,然后冻干,得到约 9g 聚环氧乙烷-聚(β-苄基天冬氨酸酯-共-天冬氨酸)嵌段共聚物,其中约 50%水解。

[0105] 称量 300mg 所得的嵌段共聚物于螺线管瓶中,加入 30mL 的 40mg/mL 麦芽糖水溶液,搅拌形成分散体,然后再搅拌冷却至 4℃。加入 3mL 紫杉醇(20mg/mL)的二氯甲烷溶液后,无需密封在冰箱中气密地搅拌 16 小时,然后超声(130W,1 秒脉冲,10 分钟)。

[0106] 取部分样品,用动态光散射光度计(Otsuka Electronics, Co., Ltd., ModelDLS-7000DH 型)测定粒度。平均粒度为 107nm。

[0107] 随后,加入浓度为 20mg/mL 的聚乙二醇 4000 溶解后,无菌条件下过滤,然后冻干得到对比实施例的胶束制剂。

[0108] 试验实施例 1:对 Colon26 的体内抗肿瘤效果

[0109] 在雌性 CDF1 小鼠的背部皮下接种鼠结肠癌 Colon 26 细胞,当肿瘤的体积达到约为 100mm³时,连续 5 天小鼠尾静脉注射本发明胶束制剂 10、对比实施例的胶束组合物、或紫杉醇,检查抗晚期癌的效果。各药剂直接使用或使用前用生理盐水稀释后使用。各药剂的浓度以紫杉醇的浓度表示。药剂治疗 11 天后,基于试验组的平均肿瘤体积与未处理组的平均肿瘤体积的百分比(T/C%)来评价药剂的抗肿瘤效果。所得结果见表 2。

[0110] 表 2:对小鼠结肠癌 Colon26 的抗肿瘤效果

[0111]

给予的药剂	剂量(mg/kg)	T/C%
胶束制剂 10	30	13.4
对比实施例的胶束制剂	30	42.2
紫杉醇	30	37.5
紫杉醇	30	40.0

[0112] 如表 2 所示,治疗 11 天后,30mg/kg 单独紫杉醇治疗组与未治疗组相比,显示肿瘤皱缩率为 37.5%或 40%;对比实施例的苄酯型胶束制剂的肿瘤皱缩率为 42.2%,显示几乎与单独紫杉醇相同的效果;然而,本发明胶束制剂 10 显示的肿瘤皱缩率低至 13.4%,显示非常高的抗肿瘤效果。

[0113] 试验实施例 2:大鼠血浆中紫杉醇浓度的转变

[0114] 用正常生理盐水稀释实施例 9 的胶束制剂,形成具有紫杉醇浓度为 2.5mg/mL 的水溶液。单独紫杉醇溶解于乙醇中,加入与乙醇相同量的 Cremophor(Sigma),紫杉醇浓度调节至 25mg/mL,给药前立即用正常生理盐水稀释至 2.5mg/mL。胶束制剂 10 或单独紫杉醇以等于紫杉醇 5mg/kg 的量尾静脉注射给予雄性 SD 大鼠,然后定时颈动脉取血样。离心所得血

浆用适量的水稀释,用叔丁基甲醚萃取三次。回收醚层,干燥,然后溶于 50 μ L 乙腈中,接着用 HPLC 定量紫杉醇。所得的结果见表 3。

[0115] 表 3:

[0116] 大鼠血浆中紫杉醇浓度 (μ g/mL)

[0117]

取血时间(min)	胶束制剂 10	紫杉醇
10	66.01	1.05
30	53.68	0.51
60	38.27	0.26
120	30.02	0.10
360	7.07	0.035
AUC(0-360)(min· μ g/mL)	10236	70.42

[0118] 如表 3 所示,给予本发明胶束制剂,能够维持比单独紫杉醇更高的紫杉醇血浆浓度。单独紫杉醇:本发明胶束制剂的血浓-时间曲线下面积 (AUC) 约为 1 : 150。

[0119] 试验实施例 3:小鼠伸长反射(外周神经损伤)毒性试验

[0120] 连续 5 天尾静脉注射给予雌性 CDF1 小鼠胶束制剂 10 或单独紫杉醇,观察它们后肢的伸反应,提示由于紫杉醇的外周神经损伤。各药剂如试验实施例 1 所描述,直接使用或使用前生理盐水稀释后使用。使用剂量以紫杉醇的量来表示。所得结果见表 4。

[0121] 表 4:小鼠伸长反射(外周神经毒性)毒性试验

[0122]

给予的药剂	剂量(mg/kg)	显示伸长反射消失的小鼠
胶束制剂 10	30	0/3
紫杉醇	30	3/3

[0123] 如表 4 所示,单独紫杉醇引起 30mg/mL 治疗组的所有小鼠伸长反射的消失。相反,胶束制剂 10 在 30mg/mL 治疗组中没有产生伸长反射消失。本发明胶束制剂与单独紫杉醇相比,降低了紫杉醇的副作用即外周神经毒性。

[0124] 本发明的优点

[0125] 本发明胶束制剂能使必需量的药剂、尤其是紫杉醇不结合大分子,包封于胶束中,与单独紫杉醇相比,给药时,能够维持升高的紫杉醇血浓度。结果是,与单独紫杉醇相比,制剂可具有升高的药物活性,也可以降低单独紫杉醇观察到的毒性,提供一种有用的药物制剂。此外,也提供了含胶束制剂的抗癌剂作为活性成分。

[0126] 而且,也提供了适合形成具有上述效果的胶束制剂的嵌段共聚物。使用嵌段共聚物能增加略微水溶性的抗癌剂在水中的溶解性。

[0127] 此外,本发明胶束制剂的水溶液在室温下放置时,至少几小时内没有胶束缔合或

药剂从胶束制剂中释放。根据本发明,保证含略微水溶性抗癌剂的胶束制剂在水介质中保持稳定。