

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第3区分

【発行日】平成26年1月16日(2014.1.16)

【公表番号】特表2008-538589(P2008-538589A)

【公表日】平成20年10月30日(2008.10.30)

【年通号数】公開・登録公報2008-043

【出願番号】特願2008-507201(P2008-507201)

【国際特許分類】

C 0 8 G 63/08 (2006.01)

A 6 1 K 9/08 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

C 0 7 C 69/675 (2006.01)

C 0 7 D 319/06 (2006.01)

【F I】

C 0 8 G 63/08

A 6 1 K 9/08

A 6 1 K 47/34

C 0 7 C 69/675

C 0 7 D 319/06 C S P

【誤訳訂正書】

【提出日】平成25年11月19日(2013.11.19)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 4 7

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 4 7】

テトラサイクリン放出研究

200mgポリマーおよび20mgテトラサイクリン塩酸塩(TH)を1.7mL THFおよび1mLメタノールに溶解し、十分に混合した。この混液を、真空中で、35℃にて72時間乾燥した。ここから、30mgのテトラサイクリン封入ポリマー試料を、10mLリン酸緩衝液0.1M pH=7.4と37℃でインキュベートした。放出媒体を、新鮮な緩衝溶液と毎日交換し、分析前に4℃で保存した。放出した薬物の量は、ポンプ(Waters 600Eコントローラー)、オートインジェクター(Waters 717 plusオートサンプラー)、UV検出器(Waters 2487)、およびインテグレーター(Millennium software, Waters)を備えたHPLCシステムを使用することによって決定した。使用したカラムは、5μm粒子サイズ、250mm長および4mm内径を有するNucleosil 100-5 C18(Macherey-Nagel(登録商標) GmbH & Co., Duren, Germany)であった。移動相は、0.03M EDTA、0.011M KNO₃およびpH3を与えるための酢酸を含む、ミリQ水およびアセトニトリル(81.5/18.5 v/v)の混液であった。0.7mL/分の流速を使用した。この溶液は、使用前にヘリウムを用いて脱気した。リン酸緩衝液0.1M pH=7.4中で5~50μg/mLの範囲の濃度のTHの標準溶液を校正のために調製した。THの典型的な保持時間は、353nmにおいてモニターされる15.7分であった。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 6 2

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 6 2】

TH封入PmHLA (10% w/w) は、THF / メタノール中でのポリマーおよび薬物の溶解、続いて真空下での乾燥により、簡単に調製した。その低い粘度および注射用薬物送達系としての潜在的な用途のために、 $M_n=4500\text{g/mol}$ の分子量を有するPmHLAを選択した。同じ分子量のテトラサイクリン封入PLAを対照として調製した。GPC分析は、薬物封入ポリマーの最初の安定性を確認するために、テトラサイクリンの取り込み後に実施した。分子量は37 において一定のままであり、THの酸性性質によっておそらく誘導されるポリマーの分解は観察できなかった。PmHLAとPLAの両方からのテトラサイクリンの放出プロファイルは図8に示す。THの放出は、PLAからよりもPmHLAからで高く、そして最初の6日間において、その後の数日間よりも両方のポリマーの場合においてはるかに高かった。興味深いことに、放出されたTHの総量は、標準的なPLAから (23%) よりもPmHLA (最初に封入したTHの45%) からでより高かったが、ポリマーは、同じ分解速度を有した (図6A)。本発明者らは、このことが、37 における強固なPLAと比較してPmHLAのゴム状粘稠性状態を理由とする、PmHLAバルクマトリックスから、外部相におよび水性分解媒体までの、THの容易な拡散によるものと考ええる。比較し得る放出研究はまた、テトラサイクリン遊離塩基 (TB) を用いて実施した。放出されたTBの量は、再度、PLAからよりもPmHLAからで高かった。両方のポリマーについて、放出されたTBの量は、THの場合においてよりもはるかに低かった。テトラサイクリン遊離塩基 (TB) は、対応する塩酸塩 (TH) よりもはるかに水溶性が低く、従って、内部ポリマーマトリックスから外部相への水を伴う拡散がより遅い。ポリマー中の最初に封入したTHの総量は、放出後に完全に回収されなかった。実際に、THが、より活性が低いエピマー4-エピテトラサイクリンに部分的に分解されたことを示すことができた。放出媒体のすべてのHPLC分析において、この副産物のシグナルが、活性THに加えて見いだされた。THは酸性条件において急速に分解し、約50%のエピマー型に導かれることが以前に報告された (Schwach-Abdellaoui et al., 2001)。それゆえに、ここでもまた、ポリマー分解が起こる一方、THが、酸性環境を有するポリマーマトリックス内部で分解されるという可能性がある。4-エピテトラサイクリンと比較して、医学的に活性であるTHの放出比率は、標準的なPLAよりもPmHLAについて系統的に高かった。

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 6 3

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 6 3】

結論として、そのより高い速度および活性THのより多い総量を伴うPmHLAからのTH薬物放出は、PLAよりも好ましい。興味深いことに、PmHLAからのTH放出プロファイルは、25%THを封入され、14日間以内に約30%の活性THを放出する市販のActisite繊維について報告されたものよりも45%良好である (Schwach-Abdellaoui et al., 2001)。

【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 6 7

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 6 7】

実施例4

疎水性薬物キャリアとしての新規な両親媒性メトキシポリ(エチレングリコール)-ポリ(ヘキシル置換ラクチド)ブロックコポリマー

本実施例は、バルクで、100 において、触媒としての2-エチルヘキサン酸スズ(II) ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$)、および開始剤としてのメトキシポリ(エチレングリコール) (MPEG) の存在下で、モノおよびジヘキシル-置換ラクチド (mHLAおよびdiHLA) の開環重合 (ROP) によって合成された、新規な両親媒性メトキシポリ(エチレングリコール)-ポリ(ヘキシル置換ラクチド)ブロックコポリマーを提示する。 ^1H NMRおよびGPCによって示されるように、予測

可能な分子量および狭い多分散性のMPEG-PmHLAおよびMPEG-PdiHLAコポリマーが得られた。DSC実験は、MPEG-PHLAブロックコポリマーが、PHLAドメインから分離したMPEGドメインを含むバルク微小構造を提示することを示した。ミセルがこれらのブロックコポリマーから首尾よく調製され、サイズは30～80nmの範囲であった。予想されたように、同じ組成および分子量のコポリマーについては、臨界ミセル濃度（CMC）は、ポリエステルブロック上のヘキシル基の数の増加に伴って減少することが見い出され（MPEG-PLA>MPEG-PmHLA>MPEG-PdiHLA）、希釈条件における薬物キャリアとしてこれらのミセルを想定することを可能にした。PLA鎖上のより多い数のヘキシル基によるミセルコアの疎水性の増加は、より大量の色素がミセル中に取り込まれるナイルレッド吸収実験によって証明された。これらのミセル状態の新規な両親媒性コポリマーは、これがグリセオフルビンモデル薬物を用いて示されたので、最適化された疎水性薬物封入のために大きな関心が持たれる。

【誤訳訂正5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0168

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0168】

それらの安全性特性および生物分解性特性に起因して、両親媒性PEG-PLAまたはPEG-PLGAブロックコポリマーは、薬物キャリアとして、過去数十年間にわたって広範に（Kataoka et al., 2001; Yasugi et al., 1999; Riley et al., 2001; Lin et al., 2003）、特に最近では抗癌薬物の送達のために（Yoo and Park, 2001; Zhang et al., 2005）研究されてきた。このようなジ-ブロックコポリマーは、水性媒体中で自己集合し、疎水性ポリラクチドセグメントによって形成されるコア、および親水性PEG鎖からなる周囲の殻を有する球状ミセル（～50nm）を形成することができる。後者の殻は、水系中での表面を安定化し、および生物学的成分との相互作用の減少に起因して、血液区画中での長い半減期を保証する（Gref et al., 1995）。多くの潜在的な疎水性薬物は、これらのミセルのコアに容易に包括可能であるが、薬物封入はしばしば低く、医学的適用のために効率的であるためには改善される必要がある。本発明者らは、最近、薬物放出、分解性、および注射可能性に関する標準的なPLAに対する代替としての新規なポリ（ヘキシル置換ラクチド）PHLAの潜在能力を記載した（Trimaille et al., 2004; 上記の実施例もまた参照されたい）。PEGを伴うこれらの疎水性アルキル置換PLAの使用は、それらのミセルサイズ、薬物封入、および分解性に起因して、薬物送達のために興味深いものであり得る。ここで、本発明者らは、これらの新規な両親媒性ブロックコポリマーの合成および特徴付け、ならびに疎水性薬物（グリセオフルビン）のカプセル化能力に関するミセルの調製および特性を説明する。結果は、同じ分子量および組成の、標準的なPLA-PEGジ-ブロックコポリマーとともに、議論および比較する。

【誤訳訂正6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0185

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0185】

（表10）異なるコポリマーから調製したブランクおよびGF-封入ミセルの平均サイズ（準弾性光散乱測定によって決定、3連）

コポリマー	平均サイズ (nm) (PI ^a)			
	0 mg/g ^b	10 mg/g ^b	30 mg/g ^b	40 mg/g ^b
MPEG2-PLA3	63.9±1.2 (0.50)	70.0±0.5 (0.53)	79.2±0.1 (0.50)	19.3±0.1 (0.10)
MPEG2-PmHLA3	77.4±0.6 (0.60)	50.5±0.1 (0.47)	30.4±0.7 (0.30)	43.5±1.1 (0.31)
MPEG-PdiHLA3	29.1±0.2 (0.26)	52.7±0.4 (0.51)	32.5±0.6 (0.33)	39.4±0.4 (0.37)

^a 準弾性光散乱測定によって提供された多分散性 (μ_2 / μ_1^2)

^b GFの導入量、ミセル調製のためのコポリマーのグラムあたりのミリグラム

【誤訳訂正 7】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 8 8

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 8 8】

標準的なPLAと比較して、ヘキシル置換PLAのミセルコアの強化された疎水の性質は、最適化された疎水性薬物封入のためにとりわけ関心を集め得る。この目的のために、これらの新規なミセル中のグリセオフルビン (GF) の取り込みを調べた。GF封入ミセルを調製するための手順は、GFが水相への添加の前にアセトン中でコポリマーとともに溶解されたことを除いて、ブランクのものと同一であった。アセトンの除去後、包括されていないGFは水に不溶性であり、遠心分離によって容易に除去された。どのような量のGFが使用されても、平均サイズは常に30～80nmの範囲内に含まれた。異なるミセルに包括されたGFの量は、アセトニトリル中でのコポリマーの可溶化によるミセルの破壊後、HPLCによって評価した。図11に示されるように、封入したGFのレベルは、導入されたGFの量がどれだけであっても、より疎水性のコアを有するミセル中でより高かった。PLAベースのミセルと、PmHLAおよびPdiHLAベースのミセルの間で有意な違いが観察された。後者の2つについては、包括されたGFのレベルは比較的類似していた。

【誤訳訂正 8】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 8 9

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 8 9】

本実施例は、開始剤としてメトキシ-末端PEGを使用し、触媒としてSn(Oct)₂の存在下でのモノヘキシル置換ラクチドのROPによる、新規な両親媒性MPEG-PHLAジ-ブロックコポリマーの合成および特徴付けを提供する。予想分子量および狭い分布が達成された。コポリマーの物理的特性はDSCによって決定し、これは、両方のホモポリマーから生じるアモルファスドメインおよび結晶性ドメインの存在を示した。ミセル (～40-90nm) は、これらの新規なコポリマーから首尾よく調製された。ナイルレッドを用いるUV-可視光実験は、ポリエステル鎖上のヘキシル基の密度を増加させるときに、ミセルコアの強化された疎水性を示し、最大吸収波長のシフトの観察、およびより多量のナイルレッドの取り込みを伴った。CMCは、標準的なPLAベースのものについて得られた値 (10mg/mL) よりも、モノおよびジヘキシル置換ポリラクチドベースのミセルについて、非常に低かった (8～8.5mg/L)。このことは、極度の希釈条件における薬物キャリアとしてのこれらのミセルの使用を想定することを可能にする。内部ミセルコアのこの強化された疎水性は、グリセオフルビンモデル薬物について示されたように、高い疎水性薬物封入に導いた。最後に、コポリマー組成および分子量は、その物質について必要とされる最終的な特性に依存して、ROPの柔軟性のおかげで容易に調整可能であることが指摘される。