

發明專利說明書 200418906

(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： 92(302)5

※ 申請日期： 92/10/30

※IPC 分類： C08481/00 A61K31/4745

壹、發明名稱：(中文/日文)

喜樹鹼類之高分子衍生物

カンプトテシン類の高分子誘導體

貳、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

日本化藥公司

NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA

代表人：(中文/英文)

島田 紘一郎

KOICHIRO SHIMADA

住居所或營業所地址：(中文/英文)

日本國東京都千代田區富士見一丁目 11 番 2 號

11-2 FUJIMI 1-CHOME CHIYODA-KU, TOKYO JAPAN

國 籍：(中文/英文)

日本 JAPAN

參、發明人：(共 2 人)

姓 名：(中文/英文)

1.北川 正行

MASAYUKI KITAGAWA

2.岡本 一也

KAZUYA OKAMOTO

住居所地址：(中文/英文)

1.日本國埼玉縣北葛飾郡庄和町大字新宿新田225-104

225-104, OAZA SHINSHUKUSHINDEN, SHOWA-MACHI,
KITAKATSUSHIKA-GUN, SAITAMA-KEN, JAPAN

2.日本國東京都足立區千住1-29-1-707

1-29-1-707, SENJU, ADACHI-KU, TOKYO JAPAN

國 籍：(中文/英文)

1.-2.均日本 JAPAN

肆、聲明事項：

本案係符合專利法第二十條第一項 第一款但書或 第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

本案申請前已向下列國家(地區)申請專利：

1. 日本；2002年10月31日；特願2002-316942

2.

3.

4.

5.

主張國際優先權(專利法第二十四條)：

【格式請依：受理國家(地區)；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 日本；2002年10月31日；特願2002-316942

2.

3.

4.

5.

主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

1.

2.

主張專利法第二十六條微生物：

國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種喜樹鹼類之高分子衍生物、及其製造方法及用途。

【先前技術】

喜樹鹼(Camptothecin)係於原產於中國之喜樹等植物中含之抗腫瘤性生物鹼，但因其於水中極難溶解，臨床上使用可能之水溶性衍生物之研究被進行。又，往苯環上引入羥基、烷氧基、胺基等取代基，增強效果為已知。(非特許文獻1)

例如，於特許文獻1及特許文獻2中提及，鍵合聚乙二醇作為前藥之喜樹鹼高分子衍生物。該些之特許亦報告，聚乙二醇類部分之分子量最適化之同時，鍵合聚乙二醇類部分與喜樹鹼之中間體之重要性。中間體則希望上述衍生物於生物體內滯留期間穩定存在，僅在目標位被迅速切斷。該些之文獻，因僅醇之酯鍵合體於目標位加水分解速度緩慢，得不到充分之藥物濃度，於是發明於目標位加水分解易之中間體。

又，作為喜樹鹼水溶性衍生物，CPT-11(7-乙基-10-吡啶基吡啶基羰基氧喜樹鹼為已知(非特許文獻1)。

再者，於特許文獻3，於喜樹鹼類鍵合聚谷胺酸之高分子衍生物被記載。

反之，於特許文獻4及非特許文獻2於聚乙二醇和聚天冬胺酸之嵌段共聚物中結合藥劑之分子聚合體形成膠束，增

加水溶性，表示能使增加相當於1分子聚合物之藥劑含量，於特許文獻5表示與聚乙二醇類和聚谷胺酸類之嵌段共聚物之側鏈羧酸中結合抗癌性物質之高分子抗癌劑，於特許文獻6表示與聚乙二醇類和聚酸性胺基酸之嵌段共聚物之側鏈羧酸中結合疏水性物質之高分子藥物攜帶體。然而，於特許文獻4、特許文獻5及特許文獻6，關於喜樹鹼類之鍵合體未被記載。

文獻一覽：

特許文獻1：特表平10-513187號公報

特許文獻2：特表2000-517304號公報

特許文獻3：國際公開第01/70275號冊子

特許文獻4：特許第2694923號公報

特許文獻5：特開平5-955號公報

特許文獻6：特許第3268913號公報

非特許文獻1：宮阪貞等，抗癌劑Irinotecan，現代化學，1999年10月，東京化學同人，58～66頁。

非特許文獻2：T. Nakanishi 等，Development of the polymer micelle carrier system for doxorubicin, Journal of Controlled Release, 2001年，74卷，Elsevier, 295～302頁。

於特許文獻1或特許文獻2記載之聚乙二醇結合之前藥，結構上1分子聚乙二醇只相對於結合1～2個藥劑，其結果，為投藥有效量之藥劑，有必要投藥大量之聚合物。

又，對水溶性衍生物喜樹鹼之CPT-11，有顯著之副作用，因其係非易於使用之藥劑，新型之喜樹鹼衍生物被尋

求。

於特許文獻4、特許文獻5及非特許文獻2具體記載之亞德裏亞黴素鍵合體，嵌段共聚物與亞德裏亞黴素殘基以化學穩定之鍵合形式之醯胺鍵結合，實際上，像於非特許文獻2所記載，鍵合之亞德裏亞黴素無抗腫瘤活性。

【發明內容】

本發明者們欲解決上述樣之課題銳意努力之結果，發現於苯酚性喜樹鹼類，聚乙二醇類與於側鏈具羧基之聚合物共聚體之羧基，由使苯酯鍵合得喜樹鹼類高分子衍生物，於是得到本發明。

即，本發明係關於

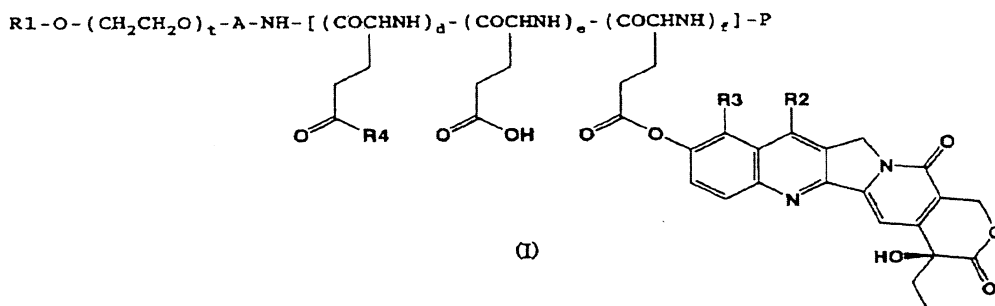
(1)一種喜樹鹼類高分子衍生物，其特徵在於聚乙二醇類與於側鏈具羧基聚合物之共聚體之羧基，與苯酚性喜樹鹼類之苯酚性羥基，係鍵結為酯鍵結構者；

(2)如上述(1)記載之喜樹鹼類高分子衍生物，其中聚乙二醇類與於側鏈具羧基聚合物之共聚體，係聚乙二醇類與於側鏈具羧基之聚合物之嵌段共聚物；

(3)如上述(1)或(2)記載之喜樹鹼類高分子衍生物，其中於側鏈具羧基聚合物，係聚酸性胺基酸；

(4)上述(3)記載之喜樹鹼類高分子衍生物，其中聚酸性胺基酸係聚谷胺酸或聚天冬胺酸；

(5)一種喜樹鹼類高分子衍生物，其以一般式(1)表示；



[式中，R1表示氫原子或具取代基亦佳(C1~C6)之烷基，t表示5~11500之整數，A表示鍵合基，d+e+f表示3~200之整數，R2表示氫原子、具取代基亦佳(C1~C6)之烷基或具取代基亦佳之甲矽烷基，R3表示氫原子或具取代基亦佳(C1~C6)之烷基，R4表示相同、相異均佳、具取代基亦佳(C1~C20)之烷氧基、具取代基亦佳(C1~C20)之烷胺基、具取代基亦佳(C1~C20)之二烷胺基或具取代基亦佳(C1~C20)之烷胺羰基(C1~C20)烷胺基，p表示氫原子、(C1~C6)之醯基或(C1~C6)之烷氧羰基。]

(6)如上述(5)記載之喜樹鹼類高分子衍生物，其中R1係具取代基亦佳(C1~C4)之烷基，t係100~300之整數，A係(C2~C6)之伸烷基，d+e+f係6~60之整數，相對於d+e+f之d之比例為0~60%、e之比例為0~60%、f之比例為1~100%，R2係氫原子或具取代基亦佳(C1~C4)之烷基，R3係氫原子或無取代(C1~C4)之烷基，R4係相同、相異均佳、具取代基亦佳(C1~C8)之烷氧基、具取代基亦佳(C1~C8)之烷胺基、具取代基亦佳(C1~C8)之二烷胺基或具取代基亦佳(C1~C8)之烷胺羰基(C1~C8)烷胺基，p係(C2~C4)之醯基；

(7)如上述(6)記載之喜樹鹼類高分子衍生物，其中R1係甲基，A係伸丙基，R2係氫原子，R3係二甲胺甲基，R4係異丙胺羰基異丙胺基，p係乙醯基；

(8)如上述(6)記載之喜樹鹼類高分子衍生物，其中R1係甲基，A係伸丙基，R2係乙基，R3係氫原子，R4係異丙胺羰基異丙胺基，p係乙醯基；

(9)本發明之喜樹鹼類高分子衍生物，係由聚乙二醇類部分及聚胺基谷胺酸或聚天冬胺酸之嵌段共聚物與苯酚性喜樹鹼類，於有機溶劑中，使用凝聚劑使之反應而得。

(10)如上述(1)~(8)中任一項記載之喜樹鹼類高分子衍生物之製造方法，其特徵在於使用凝聚劑使聚乙二醇類與於側鏈具羧基聚合物之共聚體之羧基、與苯酚性喜樹鹼類之苯酚性羥基酯鍵鍵結；

(11)含上述(1)~(9)之任一項記載之喜樹鹼類高分子衍生物之抗癌劑。

【實施方式】

本發明之喜樹鹼類高分子衍生物，其特徵在於苯酚性喜樹鹼類之苯酚性羥基，與聚乙二醇類部分及與具側鏈羧基聚合物之羧基，鍵合為苯酯結構。

於本發明，苯酚性喜樹鹼類係指具苯酚性羥基之喜樹鹼衍生物，且並非被特別限定於此類者。上述苯酚性羥基，從喜樹鹼骨架中之芳香環部位，特別於其第9位、10位、11位及12位選擇任意1~4個位置鍵合可能。作為上述苯酚性喜樹鹼類，具體可舉例為7-乙基-10-羥基喜樹鹼、Topotecan

(9-二甲氨基甲基-10-羥基喜樹鹼；Glaxo. Smisclin公司製)等。

再者，於本發明聚乙二醇類部分與於側鏈具羧基聚合物之共聚物，含接枝型聚合物、嵌段型聚合物等。

作為接枝型聚合物，舉例為於特開平11-279083號公報記載之聚乙二醇與丙烯酸類之縮合物，提供與丙烯酸類或馬來酸酐等共聚反應，必要時對應於加水分解附加反應等而得之聚合物等。又，作為嵌段型聚合物，於末端具官能團之聚乙二醇類與於末端具官能團之聚羧酸類結合之聚合物，及於特許文獻5記載之，於末端具胺基之聚乙二醇類開始聚合，依據胺基酸活性物之聚合反應得之聚合物被舉例。

於本發明之聚乙二醇類，其亦含有兩端或一端被修飾之聚乙二醇、兩端之修飾基團相同或相異均佳。作為末端修飾基，舉例為具取代基亦佳(C1~C6)之烷基。作為具取代基亦佳(C1~C6)之烷基，為佳之舉例為具取代基亦佳(C1~C4)之烷基，具體舉例為甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、苯基、二甲氧乙基、二乙氧乙基等。

聚乙二醇類部分之分子量，通常係300~500000程度，為佳者係500~100000程度，更佳者係1000~50000程度。

於聚乙二醇類與於側鏈具羧基聚合物之共聚物，1分子相當之羧基數，為佳者係3~200個，較佳者係6~60個。羧基數依鹼中和滴定求得。其時，於羧基鍵合有喜樹鹼類等取代基時，若於加水分解後測定佳。

又，於本發明聚乙二醇類與於側鏈具羧基聚合物之共聚物之分子量，通常係500～500000程度，為佳者係600～100000程度，更佳者係800～80000程度。

再者，於本專利中之分子量，係由GPC法測得之重量平均分子量。

於本發明中，於聚乙二醇類與於側鏈具羧基聚合物之共聚物中鍵合喜樹鹼類之結合量，表示量若為藥效並非被特別限定，但通常係聚合物總羧基數之1～100%，為佳者係10～90%。

再者，於本發明之喜樹鹼類高分子衍生物中，亦含有作為前藥表示效果之衍生物。

於本發明作為聚乙二醇類與於側鏈具羧基聚合物之共聚物為佳者被舉例為嵌段共聚體，更佳者為聚酸性胺基酸與聚乙二醇類之嵌段共聚物。作為於側鏈具羧基之聚合物，舉例為聚丙稀酸、聚甲基丙稀酸、聚蘋果酸、聚天冬胺酸、聚谷胺酸等，為佳者係聚天冬胺酸、聚谷胺酸等。

於本發明作為於側鏈具羧基聚合物與聚乙二醇類之嵌段共聚體，舉例為烷氧基聚乙二醇聚甲基丙稀酸、烷氧基聚乙二醇聚谷胺酸、烷氧基聚乙二醇聚天冬胺酸等。作為為佳之嵌段共聚體，舉例為(C1～C4)之烷氧基聚乙二醇聚天冬胺酸或(C1～C4)之烷氧基聚乙二醇聚谷胺酸等。

再者於本發明聚乙二醇類與聚酸性胺基酸之嵌段共聚體，作為酯鍵結合苯酚性喜樹鹼類之喜樹鹼類高分子衍生物，舉例為上述一般式(1)之化合物[式中，R1表示氫原子或

具取代基亦佳(C1~C6)之烷基，t表示5~11500之整數，A表示鍵合基，d+e+f表示3~200之整數，R2表示氫原子、具取代基亦佳(C1~C6)之烷基或具取代基亦佳之甲矽烷基，R3表示氫原子或具取代基亦佳(C1~C6)之烷基，R4表示相同、相異均佳、具取代基亦佳(C1~C20)之烷氧基、具取代基亦佳(C1~C20)之烷胺基、具取代基亦佳(C1~C20)之二烷胺基或具取代基亦佳(C1~C20)之烷胺羰基(C1~C20)烷胺基，p表示氫原子、(C1~C6)之醯基或(C1~C6)之烷氧羰基。]

於一般式(1)之R1作為具取代基亦佳(C1~C6)之烷基，舉例為具取代基亦佳之直鏈或支鏈之(C1~C6)烷基，具取代基亦佳之直鏈或支鏈之(C1~C4)烷基為佳，具體舉例為甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、叔丁基、苯基、2,2-二甲氧乙基、2,2-二乙氧乙基等，特佳者係甲基。

於一般式(1)之A表示之鍵合基，係聚乙二醇類與聚酸性胺基酸之鍵合部分，以無阻害生理活性為限並非被特別限定，但(C2~C6)亞烷基為佳，具體之例如乙基、1,3-亞丙基、丁基等，特佳者係1,3-亞丙基。

於一般式(1)之R2作為具取代基亦佳(C1~C6)烷基之烷基，直鏈或支鏈之(C1~C6)烷基被舉例，直鏈或支鏈之(C1~C4)烷基為佳，具體舉例為甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、叔丁基等。又，作為取代基，胺基、(C1~C3)烷胺基、二(C1~C3)烷胺基等被舉例。

於一般式(1)之R2作為具取代基亦佳之甲矽烷基，例如，

(1,1-二甲乙基)二甲基甲矽烷基等被舉例。

作為一般式(1)之R2之具體例，舉例為氫原子、甲基、乙基、二甲胺基甲基、2-[(1-甲乙基)胺基]乙基、2-(三甲基甲矽烷基)乙基、(4-甲基-1-吡啶)甲基、[(2,3-二脫氧- α -D-赤己-2-醯基吡喃基)羥基]甲基等。作為R2為佳者係氫原子或乙基。

於一般式(1)之R3作為具取代基亦佳(C1~C6)烷基之烷基，舉例為同上述R2(C1~C6)烷基相同之基團。又，作為取代基，舉例為與具上述R2之取代基亦佳(C1~C6)之烷基相同之取代基。

作為一般式(1)之R3，具體舉例為氫原子、甲基、乙基、二甲胺基甲基、2-[(1-甲乙基)胺基]乙基等。作為R3為佳者係氫原子或二甲胺基甲基。

於一般式(1)之R4作為具取代基亦佳(C1~C20)之烷氧基，為佳者舉例為具取代基亦佳(C1~C8)之烷氧基，具體舉例為甲氧基、乙氧基、丙氧基、異丙氧基、苯氧基、乙氧苯基等。

於一般式(1)之R4作為具取代基亦佳(C1~C20)之烷胺基，為佳者舉例為具取代基亦佳(C1~C8)之烷胺基，具體舉例為甲胺基、乙胺基、丙胺基、異丙胺基、苯胺基、乙醯胺基等。又，保護羧基之胺基酸亦佳。

於一般式(1)之R4作為具取代基亦佳之二(C1~C20)烷胺基，為佳者舉例為具取代基亦佳之二(C1~C8)烷胺基，具體舉例為N,N-二甲胺基、N,N-二乙胺基、N,N-二丙胺基、

N,N-二異丙胺基、N,N-二苯胺基、N-甲基-N-苯胺基等。

於一般式(1)之R4具取代基亦佳之(C1~C20)烷胺基羰基(C1~C20)烷胺基，係N(R5)CONHR6 [R5及R6係相同或相異亦佳(C1~C20)之烷基]，為佳者舉例為具取代基亦佳之(C1~C8)烷胺基羰基(C1~C8)烷胺基，具體舉例為甲胺基羰基甲胺基、乙胺基羰基乙胺基、異丙胺基羰基異丙胺基、環己胺基羰基環己胺基等。

於一般式(1)之p作為(C1~C6)醯基，並非被特別限定，但舉例為甲醯基、乙醯基、丙醯基、新戊醯基等，為佳者係乙醯基。

於一般式(1)之p作為(C1~C6)烷氧羰基，並非被特別限定，但舉例為甲氧羰基、乙氧羰基、叔丁氧羰基等。

一般式(1)中之d、e及f分別為整數，作為 $d+e+f$ ，係3~200之整數，為佳者係6~60之整數，更佳者係6~40之整數。又，d相對於 $d+e+f$ 之比例為佳者係0~60%，較佳者係5~50%，更佳者係15~40%，e之比例為佳者係0~60%，較佳者係0~40%，f之比例係1~100%，為佳者係10~90%，較佳者係30~70%。於上述一般式(1)之化合物中喜樹鹼類與其以外之基團鍵合之聚谷胺酸與游離聚谷胺酸，嵌段聚合型亦佳、無規聚合型亦佳。 $d+e+f$ 係上述聚合物1分子中羧基之總數，由原料之加入量及上述中和滴定求得。聚合物中喜樹鹼類之結合谷胺酸基數f，例如可由紫外線光譜強度求得。R4之結合谷胺酸基數d，若喜樹鹼類高分子衍生物形成膠束之情況，在破壞膠束之條件下，測定核磁共振

氫譜，由得到之峰強度比可求得。

一般式(1)之 t ，通常係5~11500程度之整數，為佳者係8~2300程度之整數，更佳者係16~1200程度之整數，特佳者係100~300程度之整數。上述 t ，例如可由聚乙二醇類部分及具羧基側鏈聚合物之分子量，根據上述羧基總數，去除於側鏈具羧基部分聚合物之分子量求得。

上述聚乙二醇類與喜樹鹼類結合之聚谷胺酸之嵌段共聚體，於水中聚乙二醇類為外殼形成膠束亦佳。

本發明之喜樹鹼類高分子衍生物之製造，例如依特許文獻5記載之方法被調製之聚乙二醇類—聚谷胺酸嵌段共聚體，與具可能起副反應之某種活性基時，具保護其活性基之苯酚性羥基之喜樹鹼類，於兩者溶解之溶劑中，為佳者係於有機溶劑中，更佳者係於N,N-二甲基甲醯基胺(DMF)、1,3-二甲基-2-咪唑啉二酮(DMI)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)等水溶性極性溶劑中，通常於0~180°C，為佳者係5~50°C之溫度，例如使用二環己基碳化二亞胺(DCC)、二異丙基碳化二亞胺(DIPC)、1-乙基-3-(3-二甲基胺丙基)碳化二亞胺鹽酸鹽(WSC)、1-乙氧羰基-2-乙氧基-1,2-二羥基喹啉酮(EEDQ)、二碳酸二叔丁基((BOC)₂O)等凝聚劑由附加反應實施可能。於上述縮合反應時，使用N,N-二甲基胺基吡啶(DMAP)等反應輔助劑亦佳。反應後，於必要時進行脫保護、進行通常之分離等目的之操作，可得到本發明之喜樹鹼類高分子衍生物。

儘管如此，本發明之喜樹鹼類高分子衍生物之製造方法

並非受上述方法限定。

又，依據反應條件之調整，可調整高分子衍生物中單體組成。例如若依據凝聚劑之變更，具體之作爲凝聚劑使用EEDQ或(BOC)₂O等酯活性化法，或使用氯氧化磷等氯化醯基形成法，於上述一般式(1)之化合物中喜樹鹼以外之基團結合聚谷胺酸之數、即d亦可能爲0。再加上，R4係烷胺基羰基烷胺基之喜樹鹼類高分子衍生物，使用上述碳化二亞胺類作爲凝聚劑依據反應亦可得到。

又，於一般式(1)之化合物中作爲引入R4之方法，用上述樣之方法活性化共聚體之羧基後，於鹼性條件下使欲添加量之醇、胺等反應之方法，使醇及胺類活化後使於聚合物反應方法等亦被舉例。又，於精製後之聚合物，以同樣之反應能使聚合物中未反應之羧基再活化，該處聚合具苯酚性羥基之喜樹鹼亦佳、或若使其他之醇、胺等反復反應，因能合成R4之各種取代基之雜化物，最後聚合具苯酚性羥基之喜樹鹼類亦佳。

本發明之喜樹鹼類高分子衍生物，可作爲抗癌劑使用。本發明之喜樹鹼類高分子衍生物，主要作爲前藥，於體內釋放出喜樹鹼類，其被推定爲表示抗腫瘤活性之物。本發明之喜樹鹼類高分子衍生物，依據注射劑、片劑、散劑等通常使用劑型製劑被使用。製劑時，可使用藥學裏通常被使用之載體、例如結合劑、光澤劑、防裂劑、溶劑、成型劑、可溶化劑、分散劑、穩定劑、懸濁劑、防腐劑、止痛劑、色素、香料等。注射劑之情況，通常使用溶劑。作爲

溶劑，如生理食鹽水、5%之葡萄糖或甘露糖醇液、水溶性有機溶劑、例如甘油、乙醇、二甲亞砷、N-甲基吡咯烷酮、聚乙二醇、ZZZ等及其混合液及水與該水溶性有機溶劑之混合液等被舉例。

本發明之喜樹鹼類高分子衍生物之投藥量，當然依患者之性別、年齡、生理狀態、病態等變更，但非口服藥通常成人平均一天、作為活性成分投藥 $0.01\sim 500\text{ mg/m}^2$ (體表面積)、為佳者係 $0.1\sim 250\text{ mg/m}^2$ 。注射投藥於靜脈、動脈、患部(腫瘤部)等實施。

【實施例】

以下，依據實施例更具體地說明本發明，但本發明並非受此限定者。

實施例1 化合物1之合成(分子量約12000之甲氧基聚乙二醇與聚合數約28之聚谷胺酸之嵌段共聚體，與7-乙基-10-羥基喜樹鹼之聚合體：一般式(1)之 $R_1=\text{Me}$ (甲基)、 $A=1,3$ 亞丙基、 $d+e+f=28$ (約)、 $t=273$ (約)、 $R_2=\text{Et}$ (乙基)、 $R_3=\text{H}$ 、 $P=\text{Ac}$ (乙醯基))

於下述參考例1記載之甲氧基聚乙二醇-聚谷胺酸嵌段共聚體(210 mg)，及按於特公昭62-47193號公報記載之方法製造之7-乙基-10-羥基喜樹鹼(80 mg)於DMF(14 ml)中溶解，加入DMAP(13.5 mg)、DIPC(0.116 ml)，於室溫攪拌20小時。反應液中加入乙醇(40 ml)及二異丙醚(160 ml)，於室溫攪拌30分鐘後，濾取沈澱物，用乙醇/二異丙醚(1/4(v/v)、150 ml)洗淨。得到之沈澱物於乙腈/水(1/3(v/v)、40ml)中溶

解後，於離子交換樹脂(DOWEX 50(H⁺)、5 ml)中洗脫、用乙腈/水(1/3(v/v)、40 ml)溶出。從得到之溶出分中減壓蒸除乙腈後，由冷凍乾燥得化合物1 (270 mg)。於化合物1之聚谷胺酸部分，喜樹鹼類與異丙胺基羰基異丙胺基鍵合。本化合物之喜樹鹼類含量，基於DMF溶液中330 nm之吸光度定量，係25.4%(w/w)。又，異丙胺基羰基異丙胺基之含量，於含重水氧化鈉之重水-重乙腈混合液中測定喜樹鹼類高分子衍生物核磁共振氫譜，由其峰強度比和上述喜樹鹼類含量算出係3.0%(w/w)。該結果，相對於d+e+f，d之比率係15.5%，f之比率係48.4%。關於上述得之化合物1依高速液相色譜(HPLC)分析，游離喜樹鹼類之含量係0.3%以下。

實施例2 化合物2之合成(分子量約12000之單甲氧基聚乙二醇與聚合數約7之聚谷胺酸嵌段共聚體，與7-乙基-10-羥基喜樹鹼之聚合體：一般式(1)之R1=Me(甲基)、A=1,3亞丙基、d+e+f=7(約)、t=273(約)、R2=Et(乙基)、R3=H、P=Ac(乙醯基))

於下述參考例2記載之甲氧基聚乙二醇-聚谷胺酸(797 mg)，及按於特公昭62-47193號公報記載之方法製造之7-乙基-10-羥基喜樹鹼(80 mg)於DMF (14 ml)中溶解，加入DMAP (16.6 mg)、DIPC (0.142 ml)，於室溫攪拌20小時。反應液中加入乙醇(40 ml)及二異丙醚(160 ml)，於室溫攪拌30分鐘後，濾取沈澱物，用乙醇/二異丙醚(1/4(v/v)、150 ml)洗淨。得到之沈澱物於乙腈/水(1/3(v/v)、40 ml)中溶解後，於離子交換樹脂(DOWEX 50 (H⁺)、5 ml)洗脫、用乙腈/水

(1/3(v/v)、40 ml)溶出。從得到之溶出分中減壓蒸除乙腈後，由冷凍乾燥得化合物2 (818 mg)。本化合物之喜樹鹼類含量，基於DMF溶液中330 nm之吸光度定量，係9.6%(w/w)。又，依據與實施例1同樣操作，求得異丙胺基羰基異丙胺基之含量，係1.5%(w/w)。該結果，相對於d+e+f，d之比率係20.3%，f之比率係47.2%。關於上述得之化合物2依高速液相色譜分析，游離喜樹鹼類含量係0.2%以下。

實施例3 (於加水分解酶非存在狀態下藥劑之釋放)

實施例1及2之喜樹鹼類高分子衍生物，分別溶於PBS(磷酸緩衝生理食鹽水；pH7.1)中，於37°C保溫。由該高分子衍生物釋放之7-乙基-10-羥基喜樹鹼，以高速液相色譜分離·測定。與本處理之標準曲線比較，計算7-乙基-10-羥基喜樹鹼之量。其值與由高分子前藥之藥劑含量求得之全藥劑量之比表示於圖1。圖1表示不依存於加水分解酶，藥物從本發明之喜樹鹼類高分子衍生物緩釋之情況。

實施例4 (於老鼠血漿存在狀態藥劑之釋放)

實施例1及2之喜樹鹼類高分子衍生物，分別於5%葡萄糖水溶液中溶解後，以5%葡萄糖水溶液之4倍量(v/v)加入老鼠(公)血漿，於37°C保溫。其後，定時每次取出0.1 ml，加入甲醇/乙腈(1/1(v/v)、0.4 ml)進行去除蛋白質處理，由該高分子衍生物釋放之7-乙基-10-羥基喜樹鹼，以高速液相色譜分離·測定。與本處理之標準曲線比較，計算7-乙基-10-羥基喜樹鹼之量。其值與由高分子前藥之藥劑含量求

得之全藥劑量之比表示於圖2。圖2表示藥物於血漿中從本發明之喜樹鹼類高分子衍生物緩釋之情況。

實施例5 (抗腫瘤作用)

劃出約2 mm見方於老鼠皮下繼代培養之老鼠大腸癌 Colon 26腫瘤，用套管針移植於老鼠皮下。於腫瘤移植後第7天，本發明之喜樹鹼類高分子衍生物及作為對照藥之CPT-11，分別溶解於5%葡萄糖水溶液中，於靜脈單回投藥。投藥後，用卡鉗每隔2~3天測量腫瘤之長徑(Lmm)及短徑(Vmm)，依據 $(L \times W^2)/2$ 計算腫瘤體積，從投藥開始日之體積求得相對腫瘤體積(表1)。又，作為毒性指標，亦調查體重之變動(表2)。其結果，本發明之喜樹鹼類高分子衍生物，毒性(體重減少)低、與CPT-11比較抗腫瘤效果被增強。再者，藥劑含量多之喜樹鹼類高分子衍生物(化合物1)，與藥劑含量少之喜樹鹼類高分子衍生物(化合物2)相比，較少投藥量能得到高之抗腫瘤效果。

表 1

投藥後日數

投藥量	0	2	5	7	9	12	14
無處置組	1.0	2.5	8.1	12.8	14.5	15.5	14.3
化合物1 45.0 mg/kg	1.0	0.9	0.4	0.3	0.5	0.9	2.6
22.5 mg/kg	1.0	0.8	0.6	1.0	1.8	7.2	8.5
化合物2 180.0 mg/kg	1.0	0.8	0.9	1.5	3.8	9.8	13.8
90.0 mg/kg	1.0	1.0	1.4	3.5	8.8	16.5	17.7
CPT-11 26.1 mg/kg	1.0	1.8	8.4	10.3	12.8	33.2	34.1

表 2

投藥量	投藥後日數						
	0	2	5	7	9	12	14
無處置組	1.0	1.01	1.02	0.97	0.89	0.80	0.81
化合物1 45.0 mg/kg	1.0	0.94	0.91	0.97	1.01	1.03	1.04
22.5 mg/kg	1.0	0.98	1.02	1.01	1.06	1.03	0.96
化合物2 180.0 mg/kg	1.0	0.91	0.99	0.99	1.04	0.94	0.94
90.0 mg/kg	1.0	0.96	1.00	1.01	1.01	0.90	0.83
CPT-11 26.1 mg/kg	1.0	1.00	1.01	0.90	0.79	0.88	0.87

參考例 1 (分子量約 12000 之單甲氧基聚乙二醇與聚合數約 28 之聚谷胺酸嵌段共聚體 N-乙醯化物之合成)

一端甲氧基一端 3-胺丙基之聚乙二醇 (SUNBRIGHT MEPA-12T、日本油脂公司製、平均分子量 12000、1.0 g) 溶解於 DMSO (20 ml) 後，加入 γ -苄基-L 谷胺酸-N-羧酸酐 (0.77 g) 於 35°C 攪拌 20 小時。於反應液中加入乙醇 (80 ml) 及二異丙醚 (320 ml)，於室溫攪拌 90 分鐘後，濾取沈澱物，用乙醇/二異丙醚 (1/4(v/v)、100 ml) 洗淨。得到之沈澱物溶解於 DMF (20 ml) 中，加入醋酸酐 (0.4 ml) 於室溫攪拌 15 小時。於反應液中加入乙醇 (80 ml) 及二異丙醚 (320 ml)，於室溫攪拌 90 分鐘後，濾取沈澱物，用乙醇/二異丙醚 (1/4(v/v)、100 ml) 洗淨，得 1.56 g 聚合物。得到之聚合物於 DMF (47 ml) 中溶解後，加入 5% 鈹-碳 (780 mg)，於 35°C 進行 3 小時加氫分解。於反應液加入甲醇 (90 ml) 及 C 鹽 (8 g) 攪拌 2 小時後，濾掉 5% 鈹-碳。減壓下蒸去甲醇後，加入乙醇 (90 ml) 及二異丙醚 (360 ml)，於室溫攪拌 90 分鐘。濾取沈澱物，以乙醇/二異丙醚 (1/4(v/v)、100 ml) 洗淨後，溶解於 10% 食鹽水 (100 ml) 中。於 1 N 氫氧化鈉水溶液調整溶解液之 pH 為 10 後，用分配

吸收樹脂柱色譜、繼而用離子交換柱色譜精製、減壓濃縮溶出之溶液後，由冷凍乾燥、得目的化合物(1.18 g)。根據用0.02 N氫氧化鈉之滴定值本化合物1分子中谷胺酸之聚合數約係28。

參考例2 (分子量約12000之單甲氧基聚乙二醇與聚合數約7之聚谷胺酸嵌段共聚體N-乙醯化物之合成)

一端甲氧基一端3-胺丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T、日本油脂公司製、平均分子量12000、2.0 g)溶解於DMSO (40 ml)後，加入 γ -苜基-L-谷胺酸-N-羧酸酐(0.40 g)於35°C攪拌20小時。於反應液中加入乙醇(160 ml)及二異丙醚(640 ml)，於室溫攪拌90分鐘後，濾取沈澱物，用乙醇/二異丙醚(1/4(v/v)、150 ml)洗淨，得到之沈澱物溶解於DMF (40 ml)中，加入醋酸酐(0.8 ml)於室溫攪拌15小時。於反應液中加入乙醇(160 ml)及二異丙醚(640 ml)，於室溫攪拌90分鐘後，濾取沈澱物，用乙醇/二異丙醚(1/4(v/v)、150 ml)洗淨，得2.12 g聚合物。得到之聚合物於DMF (64 ml)中溶解後，加入5%鈀-碳(1.06 g)，於35°C進行3小時加氫分解。於反應液加入甲醇(130 ml)及C鹽(14 g)攪拌2小時後，濾掉5%鈀-碳。減壓下蒸去甲醇後，加入乙醇(130 ml)及二異丙醚(520 ml)，於室溫攪拌90分鐘。濾取沈澱物，以乙醇/二異丙醚(1/4(v/v)、160 ml)洗淨後，溶解於10%食鹽水(160 ml)中。於1 N氫氧化鈉水溶液調整溶解液之pH為10後，用分配吸收樹脂柱色譜、繼而用離子交換柱色譜精製、減壓濃縮溶出之溶液後，由冷凍乾燥、得目的

化合物(1.56 g)。根據用0.02 N氫氧化鈉之滴定值本化合物1分子中谷胺酸之聚合數約係7。

【圖式簡單說明】

圖1為表示於實施例3加水分解酶非存在狀態下藥劑釋放量對全藥劑量比之曲線圖。橫軸表示時間、縱軸表示釋放量。

圖2為表示於實施例4老鼠血漿存在狀態下藥劑釋放量對全藥劑量比之曲線圖。橫軸表示時間、縱軸表示釋放量。

【產業上利用之可能性】

本發明之喜樹鹼類高分子衍生物，其依化學上分解易之苯酯鍵合使喜樹鹼類結合，於生物體內具緩釋性，於治療效果優良。再者，能期待形成膠束之高分子衍生物選擇性地於患部顯示藥效、副作用少。又，不依存於酶生理活性物質之釋放為可能，被期待從治療效果之觀點對患者個體差異不易產生影響。

伍、中文發明摘要：

本發明係提供一種喜樹鹼類水溶性衍生物，其治療效果高、適用於癌化學療法。

本發明之喜樹鹼類水溶性高分子衍生物，其係聚乙二醇類與聚羧酸類聚合物之羧酸基、與苯酚性喜樹鹼類之苯酚性羥基、依據酯鍵合者，其緩釋性亦優良。

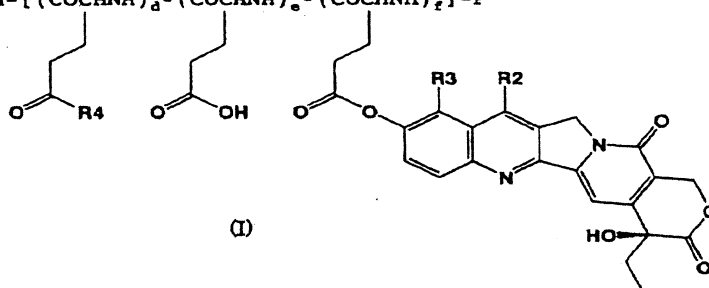
陸、日文發明摘要：

治療効果が高く、癌化学療法に適したカンプトテシン類の水溶性誘導体を提供すること。

ポリエチレングリコール類とポリカルボン酸との重合体のカルボン酸基と、フェノール性カンプトテシン類のフェノール性水酸基とを、エステル結合することにより、徐放性にも優れたカンプトテシン類の水溶性高分子誘導体。

拾、申請專利範圍：

1. 一種喜樹鹼類高分子衍生物，其特徵在於聚乙二醇類與於側鏈具羧基聚合物之共聚體之羧基，與苯酚性喜樹鹼類之苯酚性羥基，係鍵結為酯鍵結構者。
2. 如申請專利範圍第1項之喜樹鹼類高分子衍生物，其中聚乙二醇類與於側鏈具羧基聚合物之共聚體，係聚乙二醇類與於側鏈具羧基之聚合物之嵌段共聚物。
3. 如申請專利範圍第1第2項之喜樹鹼類高分子衍生物，其中於側鏈具羧基聚合物，係聚酸性胺基酸。
4. 如申請專利範圍第3項之喜樹鹼類高分子衍生物，其中聚酸性胺基酸係聚谷胺酸或聚天冬胺酸。
5. 一種喜樹鹼類高分子衍生物，其以一般式(1)表示：



[式中，R1表示氫原子或具取代基亦佳(C1~C6)之烷基，t表示5~11500之整數，A表示鍵合基，d+e+f表示3~200之整數，R2表示氫原子、具取代基亦佳(C1~C6)之烷基或具取代基亦佳之甲矽烷基，R3表示氫原子或具取代基亦佳(C1~C6)之烷基，R4表示相同、相異均佳、具取代基亦佳(C1~C20)之烷氧基、具取代基亦佳(C1~C20)之烷胺基、具取代基亦佳(C1~C20)之二烷胺基或

具取代基亦佳(C1~C20)之烷胺羰基(C1~C20)烷胺基，p表示氫原子、(C1~C6)之醯基或(C1~C6)之烷氧羰基。]

6. 如申請專利範圍第5項之喜樹鹼類高分子衍生物，其中R1係具取代基亦佳(C1~C4)之烷基，t係100~300之整數，A係(C2~C6)之伸烷基，d+e+f係6~60之整數，相對於d+e+f，d之比例為0~60%、e之比例為0~60%、f之比例為1~100%，R2係氫原子或具取代基亦佳(C1~C4)之烷基，R3係氫原子或無取代(C1~C4)之烷基，R4係相同、相異均佳、具取代基亦佳(C1~C8)之烷氧基、具取代基亦佳(C1~C8)之烷胺基、具取代基亦佳(C1~C8)之二烷胺基或具取代基亦佳(C1~C8)之烷酰胺羰基(C1~C8)烷胺基，p係(C2~C4)之醯基。
7. 如申請專利範圍第6項之喜樹鹼類高分子衍生物，其中R1係甲基，A係伸丙基，R2係氫原子，R3係二甲胺甲基，R4係異丙胺羰基異丙胺基，p係乙醯基。
8. 如申請專利範圍第6項之喜樹鹼類高分子衍生物，其中R1係甲基，A係伸丙基，R2係乙基，R3係氫原子，R4係異丙胺羰基異丙胺基，p係乙醯基。
9. 一種喜樹鹼類高分子衍生物，其特徵係由聚乙二醇類部分及聚胺基谷胺酸或聚天冬胺酸之嵌段共聚物與苯酚性喜樹鹼類，於有機溶劑中，使用凝聚劑使之反應而得。
10. 一種喜樹鹼類高分子衍生物之製造方法，其係製造如申請專利範圍第1項~第8項中任一項之喜樹鹼類高分子

衍生物者，其特徵在於使用凝聚劑使聚乙二醇類與於側鏈具羧基聚合物之共聚體之羧基、與苯酚性喜樹鹼類之苯酚性羥基酯鍵鍵結。

11. 一種抗癌劑，其特徵在於包含如申請專利範圍第1項～第9項中任一項之喜樹鹼類高分子衍生物。

拾壹、圖式：

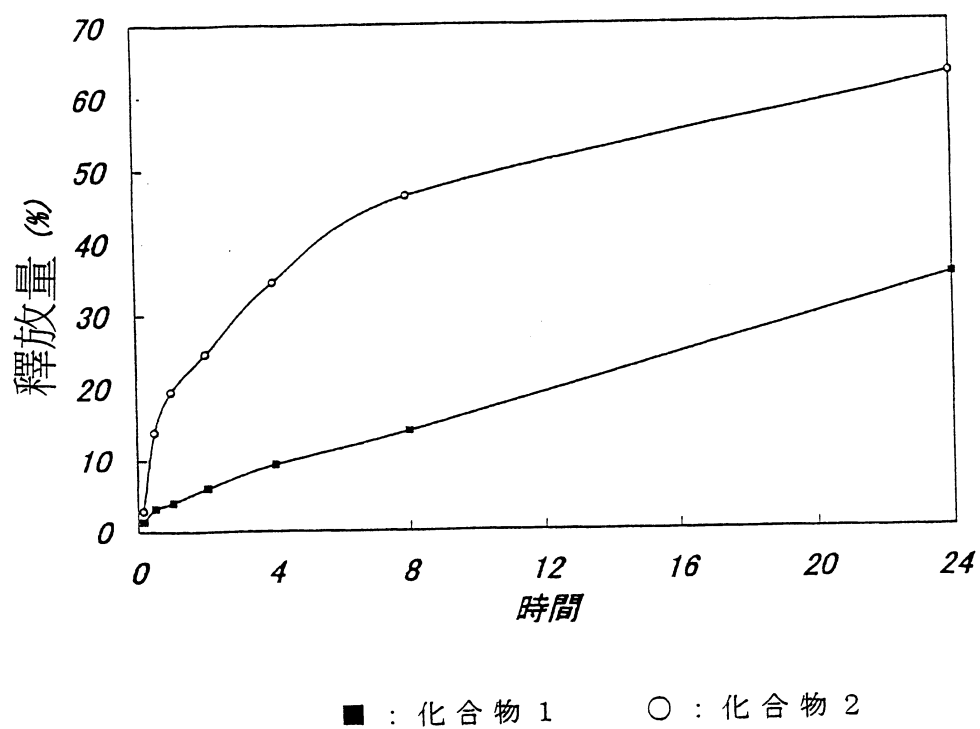


圖1

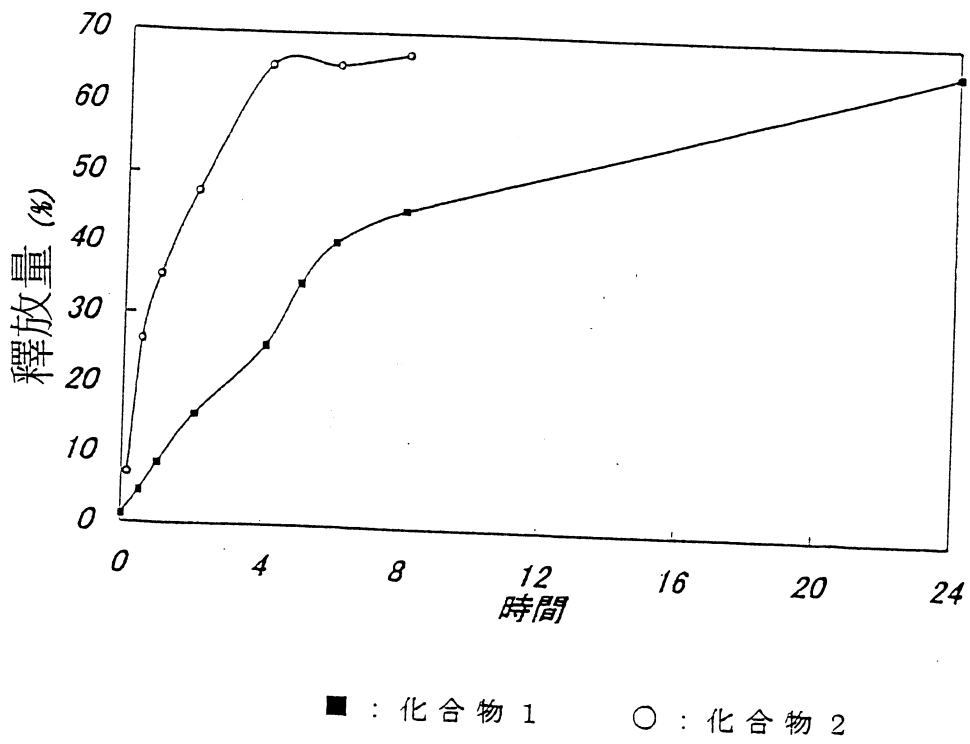


圖2

柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

