

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4267326号  
(P4267326)

(45) 発行日 平成21年5月27日 (2009. 5. 27)

(24) 登録日 平成21年2月27日 (2009. 2. 27)

(51) Int. Cl.

F I

C O 8 G 65/329 (2006. 01)

C O 8 G 65/329

A 6 1 K 31/77 (2006. 01)

A 6 1 K 31/77

A 6 1 K 47/48 (2006. 01)

A 6 1 K 47/48

A 6 1 P 43/00 (2006. 01)

A 6 1 P 43/00 1 2 3

請求項の数 24 (全 26 頁)

(21) 出願番号 特願2002-574989 (P2002-574989)  
 (86) (22) 出願日 平成14年3月21日 (2002. 3. 21)  
 (65) 公表番号 特表2004-532301 (P2004-532301A)  
 (43) 公表日 平成16年10月21日 (2004. 10. 21)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2002/008664  
 (87) 国際公開番号 W02002/076476  
 (87) 国際公開日 平成14年10月3日 (2002. 10. 3)  
 審査請求日 平成17年3月17日 (2005. 3. 17)  
 (31) 優先権主張番号 60/278, 298  
 (32) 優先日 平成13年3月23日 (2001. 3. 23)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 596124151  
 エンゾン ファーマシューティカルズ、イ  
 ンコーポレーテッド  
 アメリカ合衆国 08807 ニュージャ  
 ーキー州、ブリッジウォーター、ルート  
 202/206 685  
 (74) 代理人 100091096  
 弁理士 平木 祐輔  
 (74) 代理人 100096183  
 弁理士 石井 貞次  
 (74) 代理人 100118773  
 弁理士 藤田 節

最終頁に続く

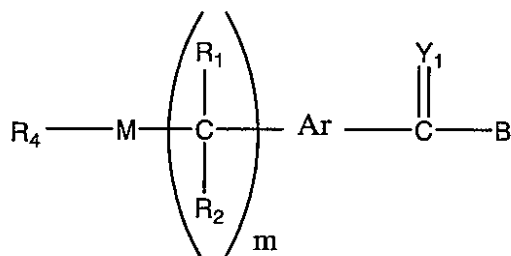
(54) 【発明の名称】 置換芳香族酸を用いる抗癌剤プロドラッグ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I):

【化 1】



{ 式中、

BはOH、脱離基、アミン基含有成分の残基およびヒドロキシル基含有成分の残基からなる群から選択され；

Y<sub>1</sub>はO、SおよびNR<sub>5</sub>からなる群から選択され；MはNR<sub>3</sub>、O、およびSからなる群から選択され；

Arは式 (I) に含まれる場合に多置換の芳香族もしくはヘテロ芳香族炭化水素基または多置換複素環基を形成する部分であり；

(m) は1～20であり；

$R_{1-3}$  および  $R_5$  は独立に、水素、 $C_{1-6}$  アルキル、 $C_{3-12}$  分枝鎖アルキル、 $C_{3-8}$  シクロアルキル、 $C_{1-6}$  置換アルキル、 $C_{3-8}$  置換シクロアルキル、アリール、置換アリール、アラルキル、 $C_{1-6}$  ヘテロアルキル、置換  $C_{1-6}$  ヘテロアルキル、 $C_{1-6}$  アルコキシ、フェノキシおよび  $C_{1-6}$  ヘテロアルコキシからなる群から選択され;かつ

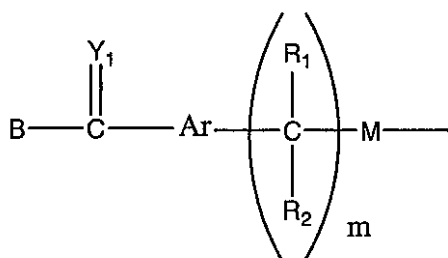
$R_4$  は ポリアルキレンオキシドを含んでなる }

で表わされる化合物。

【請求項 2】

$R_4$  が水素、 $CO_2H$ 、 $C_{1-6}$  アルキル基、および

【化 2】



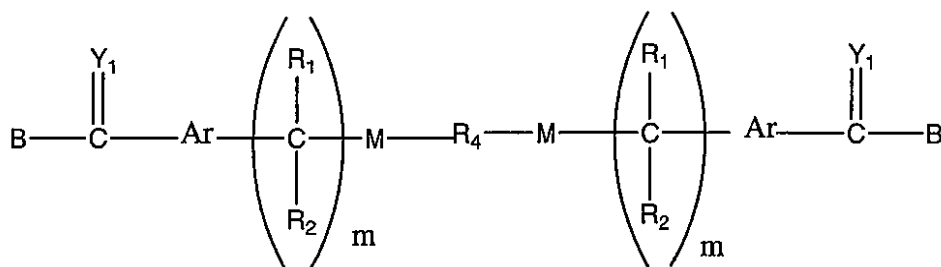
10

からなる群から選択されるキャッピング基Aをさらに含んでなる、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

式:

【化 3】



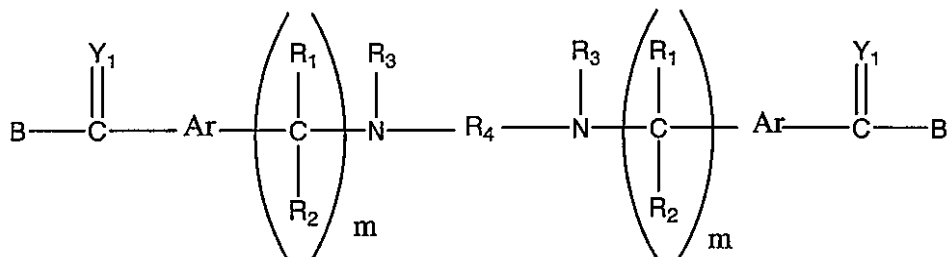
20

で表される、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

式:

【化 4】



30

で表される、請求項 3 に記載の化合物。

【請求項 5】

$R_1$ 、 $R_2$  および  $R_3$  が独立に、水素、メチルおよびエチルからなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】

$R_1$ 、 $R_2$  および  $R_3$  がそれぞれ水素である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

$Y_1$  が 0 である、請求項 1 に記載の化合物。

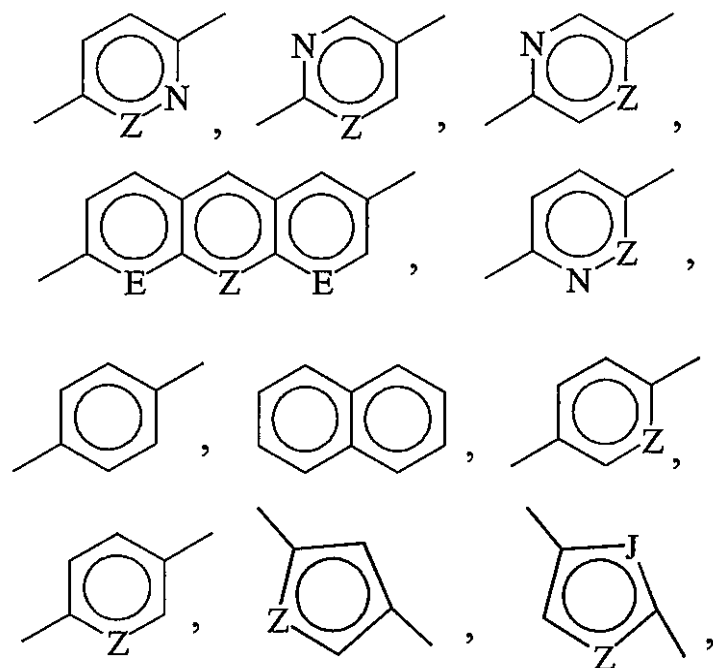
40

50

## 【請求項 8】

Arが、式：

## 【化 5】

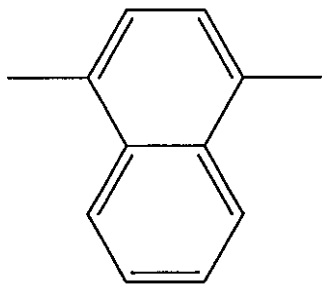


10

20

および

## 【化 6】



30

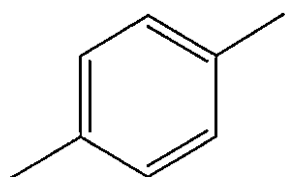
(式中、

JはO、S、またはN-R<sub>6</sub>であり；EおよびZは独立にC-R<sub>7</sub>もしくはN-R<sub>8</sub>であり；かつR<sub>6-8</sub>はR<sub>1</sub>の定義と同じ群から選択される）  
 からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 9】

Arが式：

## 【化 7】



40

で表される、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 10】

Bがアミン基含有成分の残基、またはヒドロキシル基含有成分の残基である、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 11】

BがN-ヒドロキシベンゾトリアゾリル、ハロゲン、N-ヒドロキシフタルイミジル、p-ニ

50

トロフェノキシ、イミダゾリル、N-ヒドロキシスクシンイミジル、チアゾリジニルチオンおよび酸活性化基からなる群から選択される脱離基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項12】

Bがパクリタキセル、パクリタキセル誘導体、アントラサイクリン類、ダウノルピシン、ドキソルピシン、p-ヒドロキシアニリンマスタード、Ara-C、シトシンアラビノシドおよびゲムシタピンからなる群のものの残基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項13】

Bが酵素、タンパク質またはペプチドの残基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項14】

$R_4$ の数平均分子量が2,000~100,000ダルトンである、請求項1に記載の化合物。

10

【請求項15】

$R_4$ が、

-C(=Y<sub>2</sub>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-A、  
 -C(=Y<sub>2</sub>)-Y<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-A、  
 -C(=Y<sub>2</sub>)-NR<sub>10</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-A、  
 -(CR<sub>11</sub>R<sub>12</sub>)<sub>e</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-A、および  
 -NR<sub>10</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-A

(式中、

Y<sub>2</sub>およびY<sub>3</sub>は独立に、O、SまたはNR<sub>10</sub>であり；

xは重合度であり；

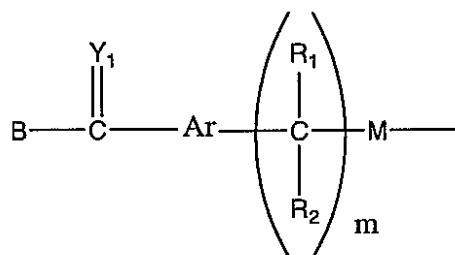
20

R<sub>10</sub>、R<sub>11</sub>およびR<sub>12</sub>は独立に、H、C<sub>1-6</sub>アルキル、C<sub>3-12</sub>分枝鎖アルキル、C<sub>3-8</sub>シクロアルキル、C<sub>1-6</sub>置換アルキル、C<sub>3-8</sub>置換シクロアルキル、アリール、置換アリール、アラルキル、C<sub>1-6</sub>ヘテロアルキル、置換C<sub>1-6</sub>ヘテロアルキル、C<sub>1-6</sub>アルコキシ、フェノキシおよびC<sub>1-6</sub>ヘテロアルコキシからなる群から選択され；

eおよびnは独立に、0、1、または2であり；かつ

Aは水素、CO<sub>2</sub>H、C<sub>1-6</sub>アルキル基、および

【化8】



30

からなる群から選択されるキャッピング基である)

からなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

【請求項16】

$R_4$ が、

-C(=Y<sub>2</sub>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-C(=Y<sub>2</sub>)-、  
 -C(=Y<sub>2</sub>)-Y<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Y<sub>3</sub>-C(=Y<sub>2</sub>)-、  
 -C(=Y<sub>2</sub>)-NR<sub>10</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NR<sub>10</sub>-C(=Y<sub>2</sub>)-、  
 -(CR<sub>11</sub>R<sub>12</sub>)<sub>e</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(CR<sub>11</sub>R<sub>12</sub>)<sub>e</sub>-、および  
 -NR<sub>10</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NR<sub>10</sub>-

40

(式中、

Y<sub>2</sub>およびY<sub>3</sub>は独立に、O、SまたはNR<sub>10</sub>であり；

xは重合度であり；

R<sub>10</sub>、R<sub>11</sub>およびR<sub>12</sub>は独立に、H、C<sub>1-6</sub>アルキル、C<sub>3-12</sub>分枝鎖アルキル、C<sub>3-8</sub>シクロアルキル、C<sub>1-6</sub>置換アルキル、C<sub>3-8</sub>置換シクロアルキル、アリール、置換アリール、アラルキル、C<sub>1-6</sub>ヘテロアルキル、置換C<sub>1-6</sub>ヘテロアルキル、C<sub>1-6</sub>アルコキシ、フェノキシおよ

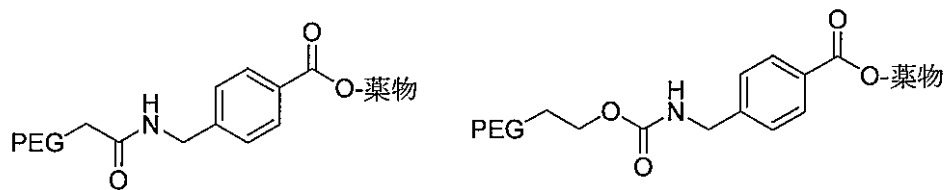
50

び $C_{1-6}$ ヘテロアルコキシからなる群から選択され;かつ  
 $e$ および $n$ は独立に、0、1、または2である)  
 からなる群から選択される、請求項3に記載の化合物。

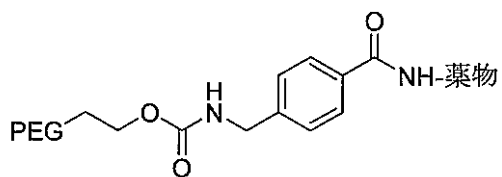
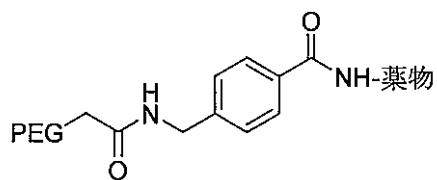
【請求項17】

式

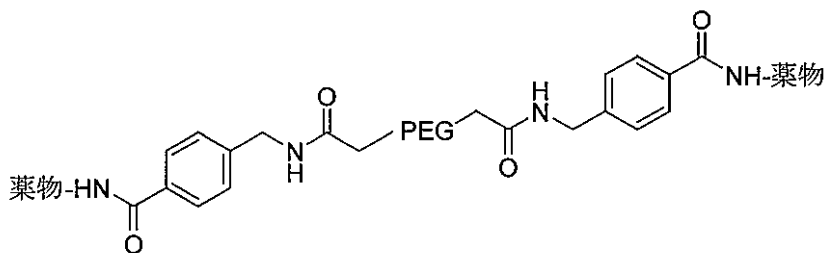
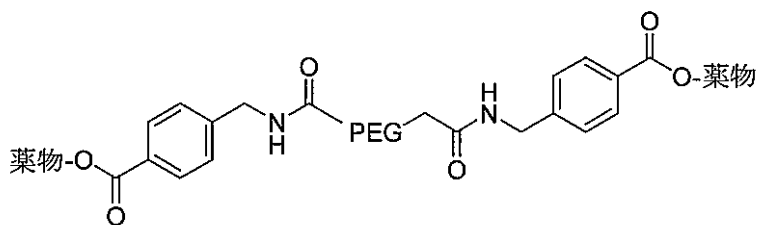
【化9】



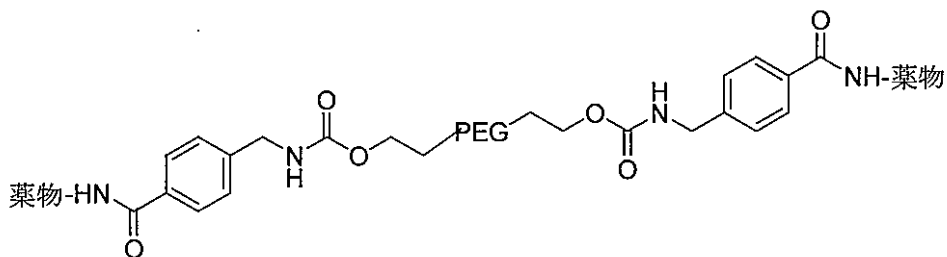
10



20



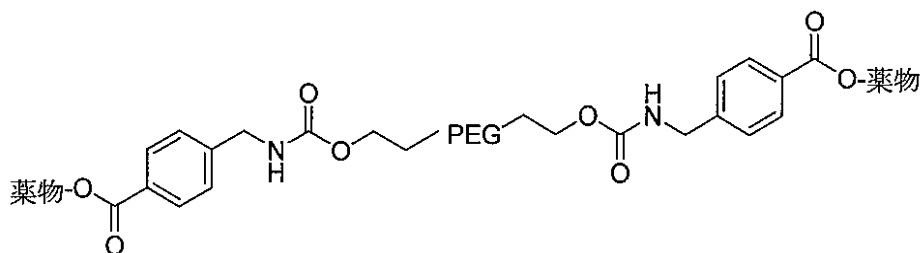
30



40

および

## 【化 10】



で表される群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

10

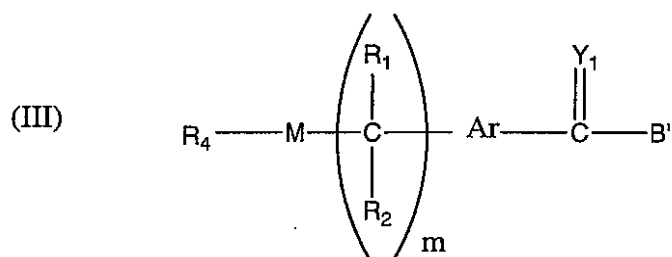
## 【請求項 18】

(m) が 1 である、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 19】

高分子複合体の製造方法であって、式：

## 【化 11】



20

{ 式中、

B' は OH および脱離基からなる群から選択され；

Y<sub>1</sub> は O、S および NR<sub>5</sub> からなる群から選択され；

M は NR<sub>3</sub>、O および S からなる群から選択され；

Ar は請求項 1 に記載の式 (I) に含まれる場合に多置換の芳香族もしくはヘテロ芳香族炭化水素基または多置換複素環基を形成する部分であり；

(m) は 1 ~ 20 であり；

30

R<sub>1-3</sub> および R<sub>5</sub> は独立に、水素、C<sub>1-6</sub> アルキル、C<sub>3-12</sub> 分枝鎖アルキル、C<sub>3-8</sub> シクロアルキル、C<sub>1-6</sub> 置換アルキル、C<sub>3-8</sub> 置換シクロアルキル、アリール、置換アリール、アラルキル、C<sub>1-6</sub> ヘテロアルキル、置換 C<sub>1-6</sub> ヘテロアルキル、C<sub>1-6</sub> アルコキシ、フェノキシおよび C<sub>1-6</sub> ヘテロアルコキシからなる群から選択され；かつ

R<sub>4</sub> は ポリアルキレンオキシドを含んでなる }

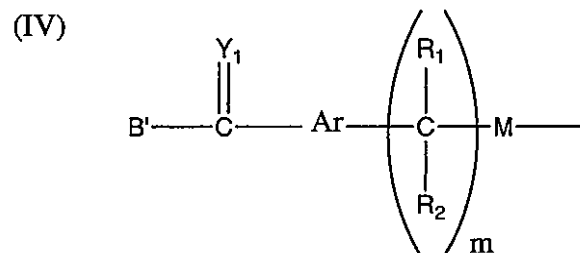
で表される化合物と、反応性のアミノ基またはヒドロキシル基を含む生物学的に活性な化合物とを、高分子複合体を生成させるのに十分な条件下で反応させることを含んでなる、上記方法。

## 【請求項 20】

R<sub>4</sub> が式：

40

## 【化 12】



で表されるキャッピング基をさらに含んでなる、請求項 19 に記載の方法。

50

## 【請求項 2 1】

治療が必要な哺乳類のための医薬の製造における、請求項 1 に記載の化合物(式中、Bはアミン基含有もしくはヒドロキシル基含有成分の残基である)の使用。

## 【請求項 2 2】

R<sub>4</sub>の数平均分子量が5,000~45,000ダルトンである、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 2 3】

R<sub>4</sub>の数平均分子量が20,000~42,000ダルトンである、請求項 1 に記載の化合物。

## 【請求項 2 4】

R<sub>4</sub>がポリエチレングリコールを含んでなる、請求項 1 に記載の化合物。

## 【発明の詳細な説明】

10

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明はプロドラッグに関する。特に、本発明は芳香族部分と、酵素、タンパク質、およびその他の有用な薬物または医薬品等の生物学上活性な物質を含む可逆的結合を有する、高分子系プロドラッグに関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

長年にわたり、生物学上活性な物質を哺乳類に投与するいくつかの方法が提案されてきた。多くの生物学上活性な物質、例えば、薬剤、薬物、医薬品等ということが出来る化合物が水溶性塩として入手可能であり、比較的容易に医薬製剤に配合することができる。所望の生物学上活性な物質が水系の液体に不溶性である場合、またはin vivoで急速に分解される場合には問題が起こる。例えば、アルカロイドは特に難溶である場合が多い。

20

## 【0003】

生物学上活性な物質を可溶化する1つの方法はそれらを可溶性プロドラッグの一部として含めることである。プロドラッグは投与した際にin vivoにおいて最終的に生物学上活性な物質(以下、例えば薬物もしくは親化合物と称する。)を遊離する生物学上活性な化合物の化学誘導体を含む。プロドラッグを形成させるために親化合物と1以上の改変成分とを結合させることにより、当業者は、in vivoにおける親化合物の薬物作用の発現および/または持続時間を改変することができる。さらに、当業者であれば、体内での薬物の輸送、分配または溶解性を改変しうるプロドラッグを調剤することができる。さらに、プロドラッグ製剤は毒性を減弱することも多く、あるいはまた医薬製剤を投与する場合に遭遇する問題を克服もする。プロドラッグの典型例としては、有機リン酸塩またはアルコールもしくはチオアルコールのエステル、およびその他の当業者に既知の誘導体をベースとするものが含まれる。Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th Ed., A. Osol, Ed. (1980)を参照。なお、その開示は参照により本明細書に組み入れる。

30

## 【0004】

プロドラッグは、親化合物の生物学上不活性または実質的に不活性な形態である場合が多い。活性薬物の放出速度、すなわちプロドラッグの加水分解速度はいくつかの要因によって影響を受けるが、特に、親薬物と改変剤とをつなぐ結合タイプにより影響を受ける。親化合物の十分な量の加水分解が起こる前に腎臓または細網内皮系などにより排出されるプロドラッグを製造することがないように留意しなければならない。プロドラッグ系の一部として高分子を取り込ませることによって、薬物の循環半減期を増大させることができる。

40

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0005】

このように、さらなる新規高分子プロドラッグ技術への必要性がなお存在している。本発明ではこの必要性に取り組むものである。

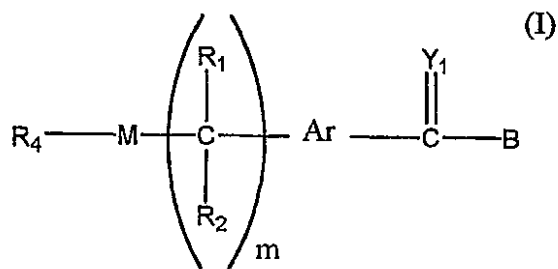
## 【課題を解決するための手段】

## 【0006】

50

本発明のいくつかの態様では、式(I):

【化1】



10

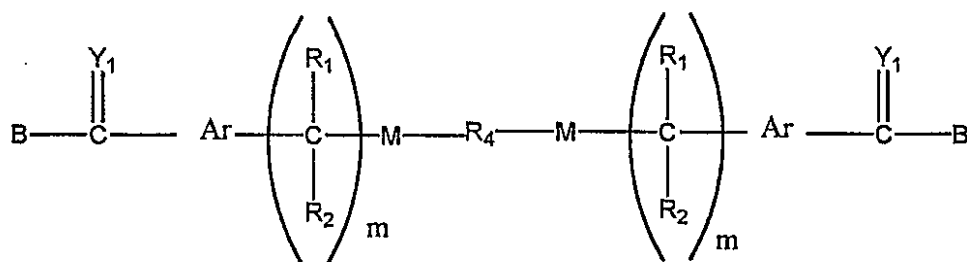
【0007】

および

式(II):

【化2】

(II)



20

【0008】

{式中、

BはOH、脱離基、アミン基含有成分の残基またはヒドロキシ基含有成分の残基であり；

Y<sub>1</sub>はO、SまたはNR<sub>5</sub>であり；

MはNR<sub>3</sub>、O、またはSであり；

Arは式(I)に含まれる場合に多置換の芳香族もしくはヘテロ芳香族炭化水素基または多置換複素環基を形成する部分であり；

30

(m)は0または正の整数であり、好ましくは約1から約20であり、より好ましくは(m)は0または1であり；

R<sub>1-3</sub>およびR<sub>5</sub>は独立に、水素、C<sub>1-6</sub>アルキル、C<sub>3-12</sub>分枝鎖アルキル、C<sub>3-8</sub>シクロアルキル、C<sub>1-6</sub>置換アルキル、C<sub>3-8</sub>置換シクロアルキル、アリール、置換アリール、アラルキル、C<sub>1-6</sub>ヘテロアルキル、置換C<sub>1-6</sub>ヘテロアルキル、C<sub>1-6</sub>アルコキシ、フェノキシおよびC<sub>1-6</sub>ヘテロアルコキシからなる群から選択され；かつ

R<sub>4</sub>は高分子残基である}

で表される高分子結合プロドラッグを提供する。

【0009】

本発明のいくつかの好ましい態様では、高分子輸送形態の芳香族部分は置換安息香酸に由来する。その他の好ましい態様では、R<sub>4</sub>は分子量が少なくとも約20,000であるポリ(エチレングリコール)残基であり、(m)が0または1であり、Y<sub>1</sub>がOである。R<sub>1-3</sub>は好ましくはそれぞれ水素、メチルまたはエチルである。より好ましい態様では、R<sub>1-3</sub>はそれぞれ水素である。

40

【0010】

本明細書において記載する化合物および複合体の製造方法および使用方法も提供される。

【発明の効果】

【0011】

本発明の高分子輸送系の利点の一つは、それらが置換芳香族部分を含むということであ

50



る。したがって、当業者は、プロドラッグの加水分解速度に影響を及ぼすように環上に置換基を含ませることができる。この技術は、加水分解速度を調節するため、高分子残基とこれに結合した生物学上有効な薬剤との間にアミノ酸などの各種スペーサーを使用して達成されるのと同様の効果をあげるための別の方法である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0012】

本発明の説明をよりよく理解するため、以下の定義を提供する。

【0013】

本発明の目的における「残基」とは、生物学上活性な化合物がプロドラッグ担体部分と結合する置換反応を受けた後にも残存する生物学上活性な化合物の部分を意味するものとする。

10

【0014】

本発明の目的における「アルキル」とは、直鎖、分枝鎖、置換（例えば、ハロ-、アルコキシ-、およびニトロ-） $C_{1-12}$ アルキル、 $C_{3-8}$ シクロアルキルまたは置換シクロアルキルなどを包含するものとする。低級アルキルとは $C_{1-12}$ を意味するものとする。

【0015】

本発明の目的における「置換」とは、官能基または化合物に含まれる1個以上の原子に1個以上の異なる原子を付加するまたはそれと置き換えることを包含するものとする。

【0016】

本発明の目的において、「置換アルキル」とは、カルボキシアリル、アミノアルキル、ジアルキルアミノ、ヒドロキシアリルおよびメルカプトアルキルを包含し；「置換シクロアルキル」とは、4-クロロシクロヘキシルなどの基を包含し；「アリール」とは、ナフチルなどの基を包含し；「置換アリール」とは、3-ブロモフェニルなどの基を包含し；「アラルキル」とは、トルイルなどの基を包含し；「ヘテロアルキル」とは、エチルチオフェンなどの基を包含し；「置換ヘテロアルキル」とは、3-メトキシ-チオフェンなどの基を包含し；「アルコキシ」とは、メトキシなどの基を包含し；および「フェノキシ」とは、3-ニトロフェノキシなどの基を包含する。ハロ-はフルオロ、クロロ、ヨードおよびブロモを包含するものとする。

20

【0017】

本発明の目的における「十分な量」とは、当業者によって理解される治療効果を達成する量を意味するものである。

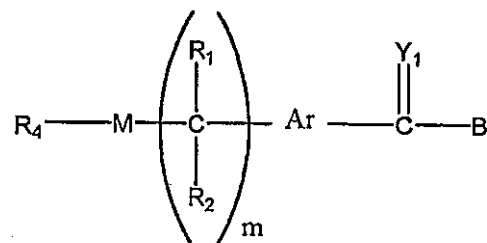
30

【0018】

既に指摘したように、本発明は以下に示す式(I)および(II)で表される高分子プロドラッグ輸送形態を含む：

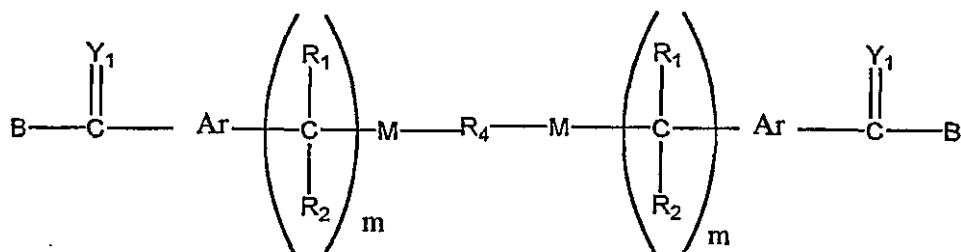
【化3】

(I)



40

(II)



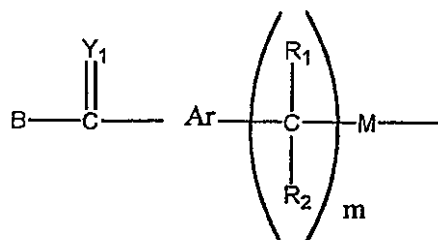
50

## 【 0 0 1 9 】

当業者には理解されるように、(I)の高分子残基部分である $R_4$ は、基B（例えば、薬物残基や脱離基）に対する結合点として機能する部分とは離れて位置するキャッピング基を含んでいるのが好ましい。このキャッピング基（ここではAとする）は水素、 $CO_2H$ 、 $C_{1-6}$ アルキル基、および

## 【 化 4 】

(I')



10

## 【 0 0 2 0 】

からなる群から選択することができる。

## 【 0 0 2 1 】

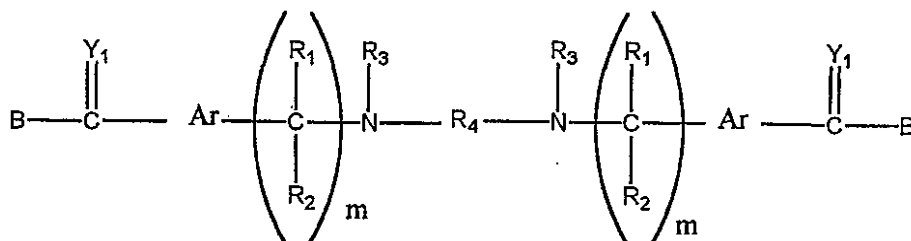
好ましいキャッピング基(I')は、当然、式(II)で表される組成物の形成を可能にする。

## 【 0 0 2 2 】

特に好ましい輸送形態のひとつは以下の式：

## 【 化 5 】

(II')



30

## 【 0 0 2 3 】

で表される。

## 【 0 0 2 4 】

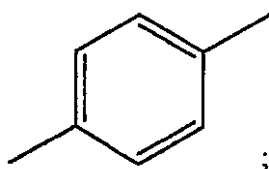
## Ar部分の説明

式(I)および(II)に関して、(Ar)は、式(I)に含まれる場合に多置換の芳香族もしくはヘテロ芳香族炭化水素基または多置換複素環基を形成する部分であると考えられる。重要な特徴はAr部分が本質的に芳香性であることである。一般に、芳香族であるには、環状分子面の上下にある「雲」内で電子が共有される必要がある。さらに、電子数はヒュッケル則( $4n+2$ )に従うものでなければならない。当業者ならば、無数のものがこの部分の芳香族必要条件を満たし、それゆえ本発明における使用に好適であることが分かるであろう。

40

1つの特に好ましい基は：

## 【 化 6 】



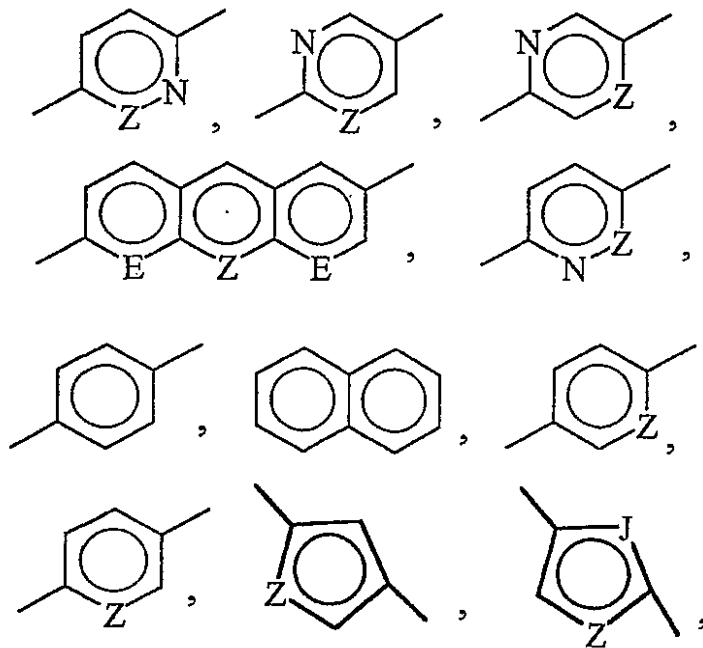
## 【 0 0 2 5 】

であり；

50

その他の好ましい芳香族基としては、

【化 7】



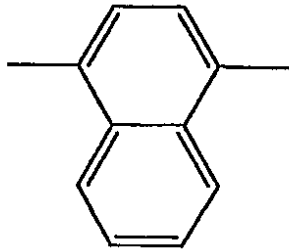
10

20

【 0 0 2 6 】

および

【化 8】



30

【 0 0 2 7 】

(式中、

JはO、S、またはN-R<sub>6</sub>であり、EおよびZは独立にC-R<sub>7</sub>もしくはN-R<sub>8</sub>であり、かつR<sub>6-8</sub>はR<sub>1</sub>の定義と同じ基から独立して選択されるが、好ましくは水素もしくは低級アルキルである)

が含まれる。

【 0 0 2 8 】

5および6員環の異性体もまた包含され、同様にアントラシン、ナフタレンのようなベンゾおよびジベンゾ系ならびにそれらの関連同族体もまた包含される。

40

【 0 0 2 9 】

さらに、所望により、芳香族または複素環式構造が当技術分野で一般的に理解されているようにハロゲンおよび/または側鎖で置換されていてもよい。本発明のAr部分に好適な全ての構造は、芳香族基上の置換基を同一平面内に存在させることが可能である。また、オルトもしくはメタ置換芳香族も使用することができる。

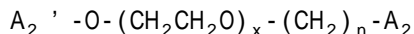
【 0 0 3 0 】

実質的に非抗原性である高分子

上記のように、R<sub>4</sub>は好ましくは実質的に非抗原性である高分子残基である。本発明の好ましい態様では、R<sub>4</sub>はビス系を形成しうる上述のキャッピング基Aをさらに含む。このような高分子の好適な例としてはポリエチレングリコールなどのポリアルキレンオキシドが

50

含まれる。PEGおよびその誘導体の一般式は、



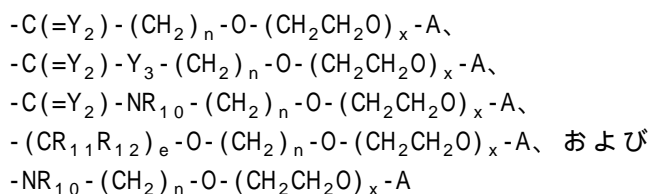
(式中、

(x)は重合度(例えば、約10~約2,300)または高分子鎖中における繰り返し単位の数であり、該高分子の分子量に依存し;(n)はゼロまたは正の整数であり;(A<sub>2</sub>)は本明細書で定義されるキャッピング基(すなわち、アミノ、カルボキシ、カルボキシアルキル、ハロ、C<sub>1-6</sub>アルキルまたはその他の活性基)であり、(A<sub>2</sub>')は(A<sub>2</sub>)とおなじかもしくは異なる(A<sub>2</sub>)基である)で表される。また、ポリプロピレングリコール、本願出願人による米国特許第5,643,575号で記載されたものなどの分枝PEG誘導体、Shearwater Polymers, Inc. カタログ "Polyethylene Glycol Derivatives 1997-1998"で記載されたものなどの「星型PEG」および分岐したPEGも有用である。なお、上記の各々の開示は参照により本明細書に組み入れる。水溶性高分子は、Mを介して結合するように、官能化しうることが理解されるであろう。例として、本発明の組成物のPEG部分は、限定されるものではないが以下のものであることができる。

10

#### 【0031】

例として、本発明の組成物のPEG残基部分は、限定されるものではないが、次の:



20

(式中、

Y<sub>2</sub>およびY<sub>3</sub>は独立に、O、SまたはNR<sub>10</sub>であり;

xは重合度であり;

R<sub>10</sub>、R<sub>11</sub>およびR<sub>12</sub>は独立に、H、C<sub>1-6</sub>アルキル、C<sub>3-12</sub>分枝鎖アルキル、C<sub>3-8</sub>シクロアルキル、C<sub>1-6</sub>置換アルキル、C<sub>3-8</sub>置換シクロアルキル、アリール、置換アリール、アラルキル、C<sub>1-6</sub>ヘテロアルキル、置換C<sub>1-6</sub>ヘテロアルキル、C<sub>1-6</sub>アルコキシ、フェノキシおよびC<sub>1-6</sub>ヘテロアルコキシからなる群から選択され;

eおよびnは独立に、0、1、または2であり;かつ

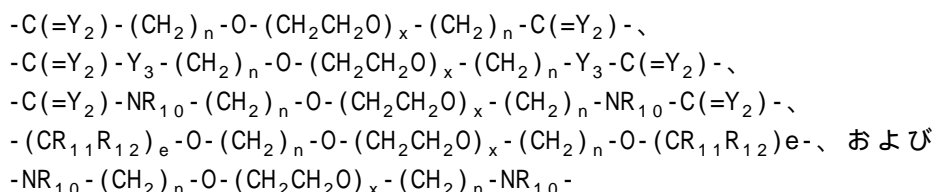
Aはキャッピング基である)

30

からなる群から選択することができる。

#### 【0032】

本発明の多くの態様では、ジ-置換高分子複合体が望まれる場合にはビス-活性化ポリエチレングリコールが好ましい。PEG誘導体は従って下記の式;



(式中、全ての置換基および変数は上記のとおりである)

40

に対応する。

#### 【0033】

また、一置換高分子が望まれる場合にはポリエチレングリコール(PEG)、モノメチル基を末端にもつポリエチレングリコール(mPEG)などのモノ活性化され、C<sub>1-4</sub>アルキル基を末端にもつポリアルキレンオキシド(PAO)が好ましい。

#### 【0034】

所望の加水分解可能な結合を提供するためには、モノまたはジPEGアミンおよびモノまたはジPEGジオールのほか、PEG酸またはPEG二酸などの一または二酸活性化高分子も使用できる。好適なPAO酸はまずmPEG-OHをエチルエステルに変換し、その後、鹸化することにより合成できる。Gehrhart, H., ら、Polymer Bulletin 18: 487 (1987)およびVeronese

50

, F. M., ら, J. Controlled Release 10; 145 (1989)も参照されたい。また、PAO酸はmPEG-OHをt-ブチルエステルに変換し、その後、酸開裂することにより合成できる。例えば、本願出願人による米国特許第5,605,976号を参照されたい。なお、上記の各々の開示は参照により本明細書に組み入れる。

#### 【0035】

PAOおよびPEGは数平均分子量の点で実質的に異なりうるが、本発明の目的のための高分子は通常約2,000～約100,000の範囲で通常選択される。約5,000～約45,000の分子量が好ましく、20,000～約42,000の分子量が特に好ましい。プロドラッグに含有させるのに選択される高分子の数平均分子量は、リンカーの加水分解前に、プロドラッグの十分な循環を提供するのに十分なものでなければならない。上記の分子量範囲内で小分子の化学治療薬および有機成分が送達されるような多くの実施形態において、少なくとも約20,000の範囲の分子量を有する高分子が好ましい。

10

#### 【0036】

本明細書において包含される高分子物質は、好ましくは室温で水溶性である。限定されるものではないが、かかる高分子としては、ポリエチレングリコール(PEG)またはポリプロピレングリコールなどのポリアルキレンオキシドホモポリマー、ポリオキシエチレン化ポリオール、およびそのコポリマー、ならびにブロックコポリマーの水溶性が維持される場合にはそのブロックコポリマーが挙げられる。

#### 【0037】

PEGなどのPAOについて本明細書において記載したのと同じタイプの活性化が行われるなら、デキストラン、ポリビニルアルコール、炭水化物系高分子、ヒドロキシプロピルメタクリルアミド(HPMA)、およびそのコポリマーなどのような有効に非抗原性な物質をPAO系高分子の代わりとして使用できる。当業者ならば、上記のリストは例示にすぎず、本明細書において記載する性質を有する全ての高分子材料が包含されることが分かるであろう。本発明の目的では、「有効に非抗原性」および「実質的に非抗原性」とは、当技術分野において、実質的に毒性がなく、かつ哺乳類において感知できる免疫応答を誘導しないと認識される全ての高分子物質を包含するものと理解される。

20

#### 【0038】

ポリプロピレングリコール酸など上記のもの以外のポリアルキレンオキシド誘導体、ならびにその他の二官能性結合基もまた包含されることは上記の説明から明らかであろう。

30

#### 【0039】

##### プロドラッグ候補

##### 1. ヒドロキシル基含有化合物の残基

##### a. カンプトテシンおよび関連トポイソメラーゼI阻害剤

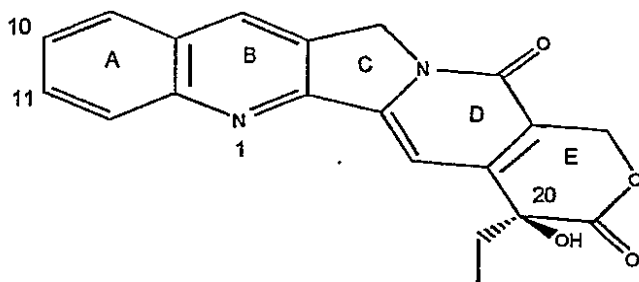
カンプトテシンは中国で自生するカンプトテカ・アクミナタ(*Camptotheca accuminata*)の樹木およびインドで自生するクサミズキ(*Nothapodytes foetida*)の樹木で産生される水に不溶性の細胞傷害性アルカロイドである。カンプトテシンおよび関連化合物ならびに類似体は有望な抗癌または抗腫瘍剤であることも知られており、さらにこれらの活性が*in vitro*および*in vivo*において発揮されることも分かっている。また、カンプトテシンおよび関連化合物は本発明のプロドラッグへの変換候補でもある。

40

#### 【0040】

カンプトテシンおよび特定関連類似体は共通した構造:

## 【化 9】



## 【 0 0 4 1 】

を有している。

## 【 0 0 4 2 】

この主要構造から、いくつかの公知な類似体が製造されてきた。例えば、A環はOHで10および11位のいずれかまたはその両方を置換しうる。また、A環は直鎖または分枝鎖 $C_{1-30}$ アルキルまたは $C_{1-17}$ アルコキシ(所望により、ヘテロ原子、すなわち、OまたはSで環と結合していてもよい)で9位も置換しうる。B環は直鎖もしくは分枝鎖 $C_{1-30}$ アルキルもしくは置換アルキル、 $C_{5-8}$ シクロアルキル、 $C_{1-30}$ アルコキシ、フェニルアルキルなど、アルキルカルバメート、アルキルカルバジド、フェニルヒドラジン誘導体、アミノ、アミノアルキル、アラルキルなどで7位を置換しうる。C、DおよびE環でもその他の置換が可能である。例えば、米国特許第5,004,758号; 第4,943,579号; 第Re 32,518号を参照されたい。その内容は参照により本明細書に組み入れる。かかる誘導体は過度な試験を行わなくとも、公知の合成方法を用いて作製できる。本発明における使用に好ましいカンプトテシン誘導体としては、本明細書において記載する活性化型高分子輸送系と直接反応しうるまたは後にPEGなどの高分子と結合する結合部分中間体、例えば、イミノ二酢酸などと反応しうる20-OHまたは別のOH基を含むものが挙げられる。本明細書において記載したカンプトテシン類似体は例示を目的とするものであって、これに限定されない。

## 【 0 0 4 3 】

## b. タキサン系化合物およびパクリタキセル誘導体

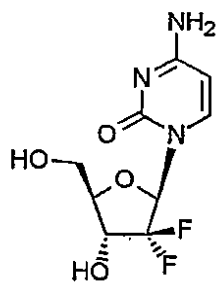
本発明のプロドラッグ組成物に含められる化合物種の1つがタキサン系化合物である。本発明の目的では、「タキサン」とは、タキサン系テルペンに入る全ての化合物を包含するものである。よって、タキソール(パクリタキセル)、3'-置換 tert-ブトキシ-カルボニル-アミン誘導体(タキソテール)など、ならびに標準有機技術を用いて容易に合成されるまたはSt. Louis, MissouriのSigma Chemicalなどの民間供給会社から入手可能であるその他の類似体は本発明の範囲である。これらの誘導体は有効な抗癌剤であることが分かっている。多くの研究により、これらの薬剤が数種類の悪性腫瘍に対する活性を有することが示されている。現在まで、それらの使用には、特に、それらの供給が不足しており、水溶性が乏しく、さらに過敏症を引き起こす傾向があることから厳しい制限があった。本願出願人による米国特許第5,622,986号および第5,547,981号で開示された7-アリール-カルバメートおよび7-カルバザートをはじめとするその他のタキサン系化合物もまた本発明のプロドラッグに含めうることは理解すべきである。なお、上記米国特許の内容は参照により本明細書に組み入れる。パクリタキセルは好ましいタキサンである。

## 【 0 0 4 4 】

## c. さらに生物活性成分

上記分子のほか多くの化合物を用いて本発明のプロドラッグ製剤が製造できる。例えば、ビス-PEG複合体などの生物学上活性な化合物が、  
ゲムシタピン:

【化 1 0】



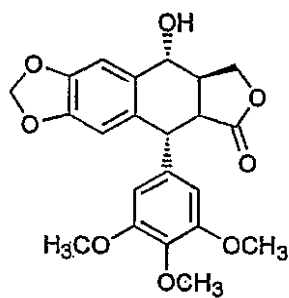
【 0 0 4 5】

10

または

ポドフィロトキシン:

【化 1 1】



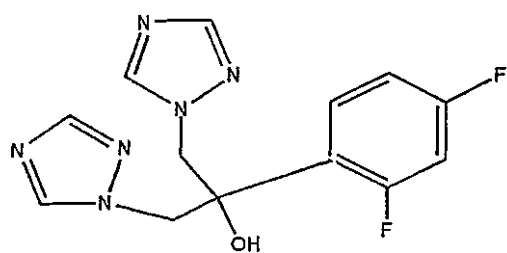
20

【 0 0 4 6】

または

フルコナゾールなどのトリアゾール系抗真菌薬:

【化 1 2】



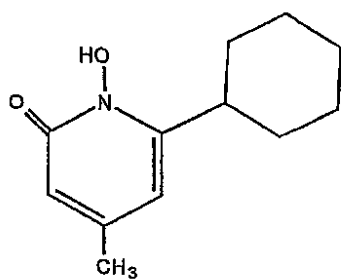
30

【 0 0 4 7】

または

シクロピロックス:

【化 1 3】



40

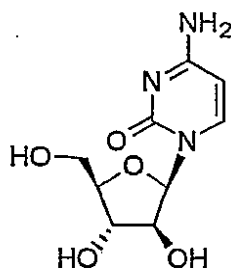
【 0 0 4 8】

または

Ara-C:

50

## 【化 1 4】



## 【 0 0 4 9 】

などの化合物から誘導された。

## 【 0 0 5 0 】

本発明の高分子系プロドラッグは特にかかる水不溶性化合物を送達するのに十分に好適なものであるが、プロドラッグ形態用を選択される親化合物が実質的に水不溶性である必要はない。その他の有用な親化合物としては、例えば、生物学上活性な特定の低分子量タンパク質、酵素およびペプチドグリカンをはじめとするペプチド、ならびにその他の抗腫瘍剤；フォルスコリンなどの心血管作動薬；コンプレタスタチン、ビンブラスチン、ドキソルピシン、メイタンシンなどの抗新生物薬；バンコマイシン、エリスロマイシンなどの抗感染症薬；ナイスタチン、アムホテリシンB、トリアゾール、パピュロキャンディン、ニューモキャンディン、エキノキャンディン、ポリオキシシン、ニッコーマイシン、ブラジミシン、ペナノミシンなどの抗真菌薬 ("Antibiotics That Inhibit Fungal Cell Wall Development" Annu. Rev. Microbiol. 1994, 48: 471-97(その内容は参照により本明細書に組み入れる)を参照されたい)；抗不安薬、胃腸薬、中枢神経系活性化剤、鎮痛剤、排卵誘発剤または避妊薬、抗炎症薬、ステロイド系薬剤、抗尿酸血症薬、心血管作動剤、血管拡張薬、血管収縮薬などが挙げられる。

## 【 0 0 5 1 】

上記のものは本発明のプロドラッグに好適である生物学上活性な成分の例示である。特記していないが、好適なエステル形成基、すなわち、ヒドロキシル基を有する生物学上活性な物質もまた本発明の範囲とされるものと理解すべきである。また、本発明のプロドラッグ複合体が、1当量の薬物および高分子だけでなく *in vivo* において生物活性に影響を及ぼさない成分をも含有する少量の化合物も含有してよいことも理解すべきである。例えば、いくつかの例では、二酸と1個の結合ポイントを有する薬物分子とを反応させても、その反応条件では高分子当たり2当量の薬物を有するプロドラッグが定量的な量で生成されないということが分かっている。カルボジイミドを使用する場合にはアシル尿素などの反応副生成物が生じる場合がある。

## 【 0 0 5 2 】

## 2. アミン基含有化合物の残基

本発明のいくつかの態様では、Bはアミン基含有化合物の残基である。限定されるものではないが、かかる好適な化合物としては、有機化合物、酵素、タンパク質、ポリペプチドなどの残基が挙げられる。有機化合物としては、限定されるものではないが、ダウノルピシン、ドキソルピシンをはじめとするアントラサイクリン系化合物；p-アミノアニリンマスタード、メルファラン、Ara-C(シトシンアラビノシド)、および関連代謝拮抗性化合物、例えば、ゲムシタピン、などの成分が挙げられる。あるいは、Bはアミン基含有心血管作動剤、抗新生物薬、抗感染症薬、ナイスタチンおよびアムホテリシンBなどの抗真菌薬、抗不安薬、胃腸薬、中枢神経系活性化剤、鎮痛薬、排卵誘発剤、避妊薬、抗炎症薬、ステロイド系薬剤、抗尿酸血症薬、血管拡張薬、血管収縮薬などの残基でありうる。

## 【 0 0 5 3 】

本発明の好ましい態様では、アミノ基含有化合物は、動物、例えば、ヒトをはじめとする哺乳類のかかる治療が望まれる症状の治療における医薬上のまたは診断上の使用に好適な、生物学上活性な化合物である。上記のものは例示を意図するものであり、改変しうる

10

20

30

40

50



化合物を限定するものではない。当業者ならば、その他のかかる化合物も過度な試験を行うことなく同様に改変しうることが分かるであろう。特に示していないが、好適なアミノ基を有する生物学上活性な物質もまた本発明の範囲とされるものと理解すべきである。

【0054】

本発明において含有させるのに好適なアミノ基含有分子のタイプについての唯一の条件は、担体部分と反応しかつそれと結合しうる利用可能な少なくとも1つの(第1または第2)アミノ基含有位置が存在することと、プロドラッグ系が親化合物を放出して、親化合物を再生した後に生物活性の実質的な喪失がないことである。

【0055】

本発明のプロドラッグ組成物への含有に好適な親化合物は、それ自体が結合型組成物からの加水分解による放出後は活性ではないが、さらなる化学工程/反応を受けた後に活性となりうる物質/化合物であってよいことに注目されたい。例えば、プロドラッグ輸送系によって血流に送達される抗癌剤は、癌または腫瘍細胞に浸透するまで不活性な状態にあり、そこで癌または腫瘍細胞化学、例えば、その細胞に特異的な酵素反応により活性化されると考えられる。

【0056】

3. 脱離基

Bが脱離基である態様では、好適な脱離基としては、限定されるものではないが、N-ヒドロキシベンゾトリアゾリル、ハロゲン、N-ヒドロキシフタルイミジル、p-ニトロフェノキシ、イミダゾリル、N-ヒドロキシスクシンイミジル；チアゾリジニルチオンなどの基を挙げることができ、あるいは当業者には理解されるその他の好適な脱離基が挙げられる。本発明において使用し本明細書に記載する合成反応は過度の試験を行わなくとも当業者ならば分かるであろう。

【0057】

例えば、p-アミノ安息香酸のアニリン部分の選択的アシル化は、例えば、チアゾリジンチオン活性化高分子、スクシンイミジルカーボネート活性化高分子、カルボン酸活性化高分子、ブロックアミノ酸活性化誘導体を用いて行うことができる。化合物(I)に対応するアシル化中間体をクロロ蟻酸4-ニトロフェニル、ジスクシンイミジルカーボネート(DSC)、カルボニルジイミダゾール、チアゾリジンチオンなどの試薬と反応させて所望の活性化誘導体を得ることができる。適切に実施されれば「活性化」型PEG-芳香族スペーサーまたはブロックアミノ酸-芳香族スペーサーはアミンまたはヒドロキシル基含有化合物との複合体化が可能である。

【0058】

本発明のプロドラッグ組成物への含有に好適な親化合物は、それ自体が結合型組成物からの加水分解による放出後は活性ではないが、さらなる化学工程/反応を受けた後に活性となりうる物質/化合物であってよいことに注目されたい。例えば、プロドラッグ輸送系によって血流に送達される抗癌剤は、癌または腫瘍細胞に浸透するまで不活性な状態にあり、そこで癌または腫瘍細胞化学、例えば、その細胞に特異的な酵素反応により活性化されると考えられる。

【0059】

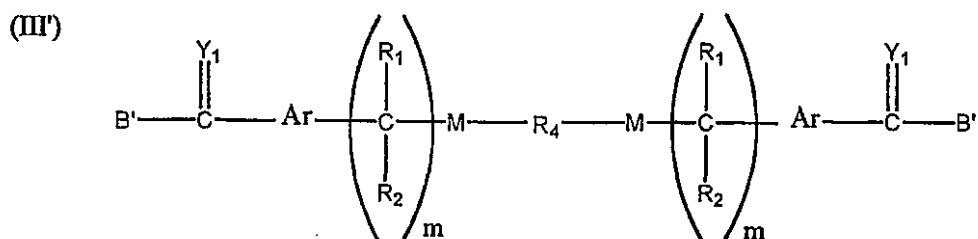
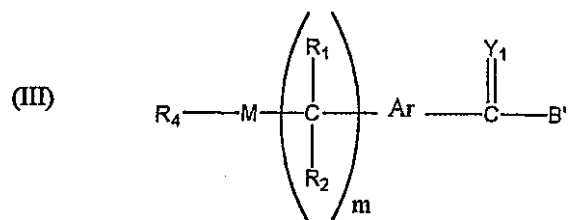
複合体化後、アミノ基含有またはヒドロキシル基含有化合物の残存している部分を非複合体化化合物の残基と称するものとする。

【0060】

高分子プロドラッグ輸送系の合成

典型的な高分子プロドラッグの合成を実施例で記載するが、一般に、プロドラッグ輸送系を製造する1つの好ましい方法では、最初にモノまたはビス高分子残基をアミノアルキル安息香酸または芳香族酸に結合させて高分子-芳香族酸を形成させる。次いで、この中間体を、反応性脱離基を用いて官能化することにより、高分子複合体を提供するのに十分な条件下で、アミノもしくはヒドロキシル基を含む生物学上活性な化合物または標的との複合体化が容易となる。以下の式IIIおよび式III'を参照されたい：

## 【化 1 5】



10

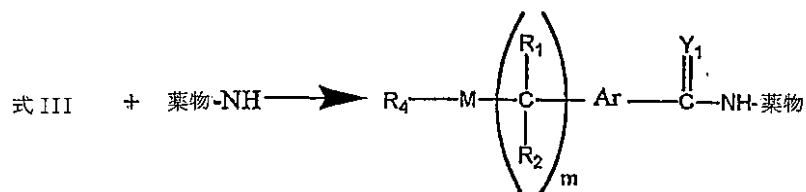
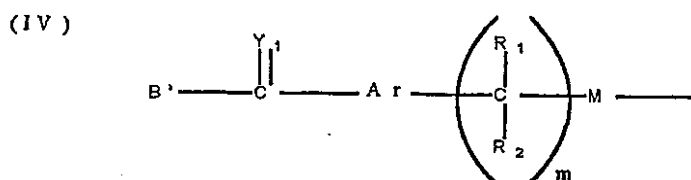
## 【0061】

(式中、B' は脱離基であり、その他全ての置換基および変数は上記の定義の通りである。)

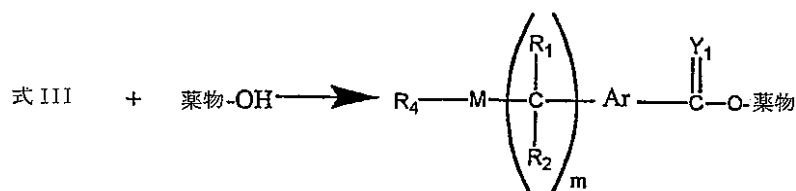
) 式III'において、R<sub>4</sub>は以下の高分子キャッピング基IV:

## 【化 1 6】

20



30



## 【0062】

を有する形で示されていることに留意されたい。

40

## 【0063】

あるいは、最初に置換安息香酸誘導体をアミノもしくはヒドロキシル基を含む生物活性標的と反応させることもできる。その後、この中間体を、DIPCのようなカップリング剤存在下で適切な活性化高分子残基(PEG二酸等)と反応させ、最終生成物を形成させる。

## 【0064】

二官能性スペーサーを含有する芳香族-薬物成分と高分子部分との結合は、好ましくはカップリング剤の存在下で行われる。限定されるものではないが、好適なカップリング剤としては、例えば、Sigma-Aldrich Chemicalなどの民間供給会社から入手可能である、または公知の方法により合成される1,3-ジイソプロピルカルボジイミド(DIPC)、好適なジアルキルカルボジイミド、ハロゲン化2-ハロ-1-アルキル-ピリジニウム、(Mukaiyama試薬)

50

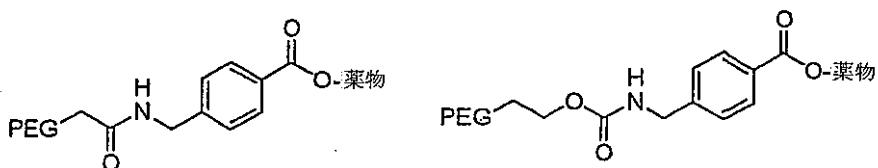
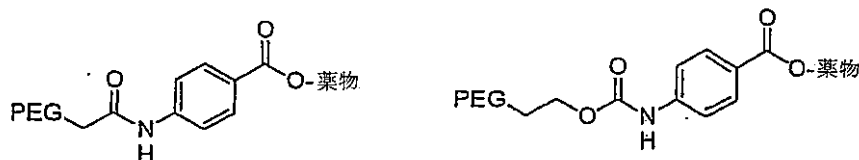
、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド(EDC)、プロパンホスホン酸環状無水物(PPACA)およびジクロロリン酸フェニルなどが挙げられる。

【0065】

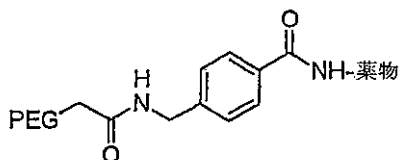
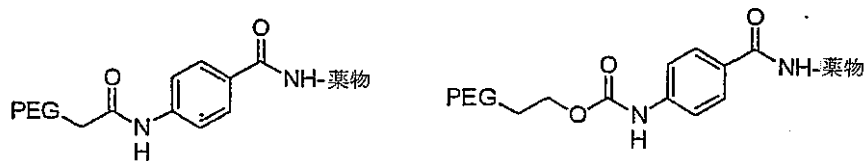
好ましくは、置換基を塩化メチレン、クロロホルム、DMFまたはその混合物などの不活性溶媒中で反応させる。また、この反応は、好ましくは生成した全ての酸を中和するためにジメチルアミノピリジン(DMAP)、ジイソプロピルエチルアミン、ピリジン、トリエチルアミンなどの塩基の存在下、0～約22(室温)の温度で行われる。選択された合成方法にかかわらず、本明細書において記載する合成方法によって得られる好ましい化合物としては、

【化17】

10



20

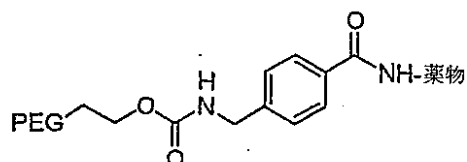


30

【0066】

および

【化18】



【0067】

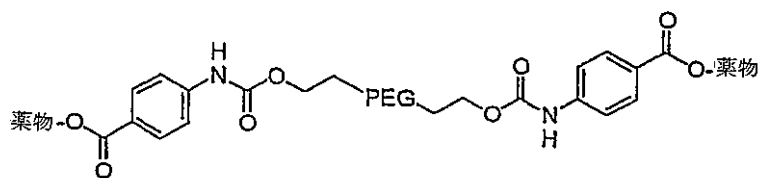
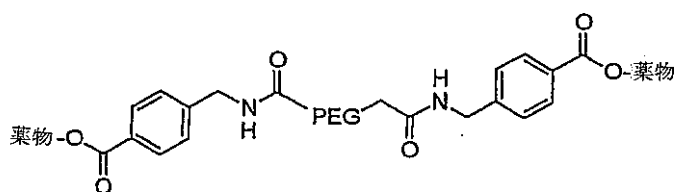
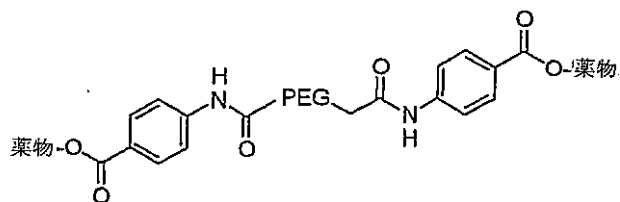
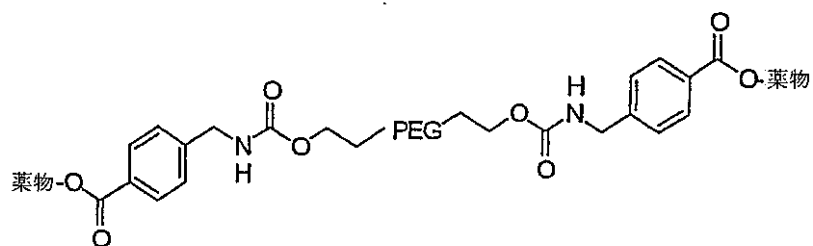
が挙げられる。

【0068】

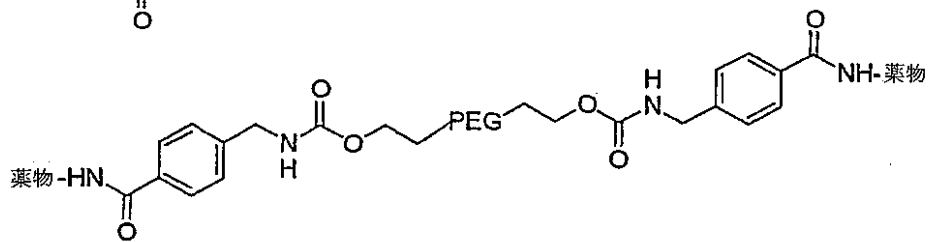
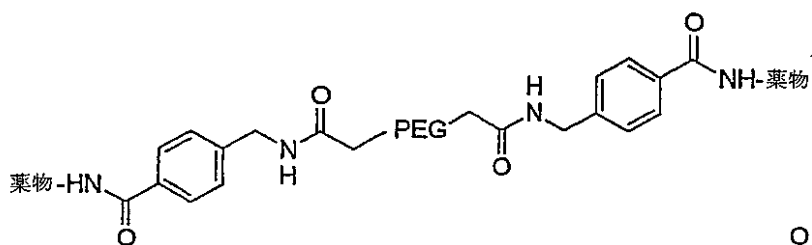
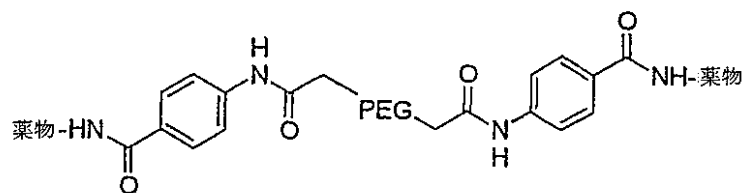
本発明の化合物のジ-置換の例としては、

40

【化 19】



【 0 0 6 9 】



【 0 0 7 0 】

および

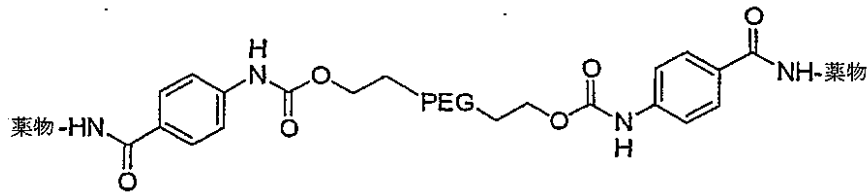
10

20

30

40

【化 20】



【0071】

が挙げられる。

【0072】

上記の式より、「薬物-O-」および「薬物-NH-」がヒドロキシルもしくはアミノ基を含有する成分の残基を表すことが理解されるであろう。

【0073】

in vivo診断学

本発明のさらなる態様は、所望により、診断または造影目的に選択される診断タグを上記の輸送エンハンサーに付けて作製してもよい本発明の複合体を提供する。そのため、好適なタグは、好適な成分、例えば、アミノ酸残基を、当技術分野の標準放射性同位元素、放射線不透過性標識、磁気共鳴標識、またはその他、磁気共鳴映像法に好適な非放射性同位元素標識、蛍光標識、外科処置中の腫瘍組織のイメージングを可能にする可視色を呈する標識および/または紫外線、赤外線または電気化学的刺激下で蛍光発光可能な標識などに結合させることにより作製される。所望により、診断タグを複合体化治療成分に組み込みおよび/または結合させて、動物またはヒト患者内での治療用生物活性物質の分布のモニタリングを可能にすることができる。

【0074】

本発明のなおさらなる態様では、本発明のタグ付き複合体が当技術分野で公知な方法により、例えば、放射性同位元素標識をはじめとする好適な標識を用いて容易に作製される。一例として、これらにはin vivoにおいて腫瘍細胞に選択的に取り込まれる放射免疫シンチグラフ用薬剤を製造するための<sup>131</sup>ヨウ素、<sup>125</sup>ヨウ素、<sup>99m</sup>テクネチウムおよび/または<sup>111</sup>インジウムが挙げられる。例えば、一例として、参照により本明細書に組み入れる米国特許第5,328,679号；同第5,888,474号；同第5,997,844号；および同第5,997,845号により示されたものをはじめとする、ペプチドをTc-99mに結合させる当技術分野で公知な方法が多数ある。

【0075】

一般には、患者の腫瘍組織の解剖学的位置決定では、腫瘍を有することが予測される患者または動物に複合体タグを投与する。標識化免疫グロブリンを腫瘍部位に位置付けるのに十分な時間が経過した後、標識により発生するシグナルを、例えば、X線ラジオグラフィ、コンピュータ体軸横断X線断層撮影、MRIにより、発光性タグの機器検出により、ガンマカメラなどのフォトスキャン装置、または選択されたタグの性質に好適なその他の方法もしくは装置により視覚的に検出する。次いで、検出されたシグナルを画像または腫瘍部位の解剖学的および/もしくは生理学的判定に変換する。この画像によりin vivoにおける腫瘍の位置付けが可能になり、好適な治療計画の立案ができる。タグ付き成分自体が治療薬である実施形態では、検出されたシグナルによって治療中の解剖学的位置決定が明らかであり、診断的および治療的インターベンションを追跡するための基準が提供される。

【0076】

治療方法

本発明のもう1つの態様により、哺乳類における種々の病状に向けた治療方法が提供される。これらの方法は、かかる病状の治療に必要な哺乳類に、有効量の、本明細書において記載するようなドキシソルピシンプロドラッグなどの本発明の組成物を投与することを含む。該プロドラッグ組成物は特に、親化合物を用いて治療される疾患と類似の疾患を治療するのに有用であり、例えば、酵素置換療法、新生物性疾患、全身腫瘍組織量の減少、新

10

20

30

40

50

生物転移の予防、および哺乳類における腫瘍/新生物増殖の再発を予防するのに有用である。投与するプロドラッグ量はその中に含まれる親分子の量に応じたものとなる。一般に、治療方法に使用するプロドラッグ量は哺乳類において所望の治療効果を効果的に達成する量である。必然的に、種々のプロドラッグ化合物の投与量は親化合物、in vivo加水分解速度、高分子の分子量などによっても多少変わる。一般には、ナイトロジェンマスタード誘導体のプロドラッグ高分子誘導体は1日当たり約5～約500mg/m<sup>2</sup>の範囲の量で投与される。上記の範囲設定は例示であり、臨床経験および治療適用に基づき、選択されたプロドラッグの最適投与量が当業者により決定されるであろう。実際の投与量については必要以上の試験を行うことなく、当業者には明らかであろう。

#### 【0077】

10

哺乳類へ投与するために本発明の組成物（プロドラッグを含む）を1種以上の好適な医薬組成物に含めることができる。医薬組成物は当技術分野で十分に公知な方法に従って製造される液剤、懸濁剤、錠剤、カプセル剤などの形態であってよい。また、当業者が要すれば、かかる組成物の投与は経口および/または非経口経路によるものであってよいと考えられる。組成物の溶液および/または懸濁液は、例えば、当技術分野で公知な方法、例えば、静脈内、筋肉内、皮下注射などによる組成物の注入または浸潤用の担体ビヒクルとして使用しうる。また、かかる投与は体内スペースもしくは体腔への注入、ならびに吸入および/または経鼻経路によるものであってもよい。しかしながら、本発明の好ましい態様では、プロドラッグはその必要のある哺乳類に非経口投与される。

#### 【実施例】

20

#### 【0078】

次の実施例は本発明をさらに理解するためのものであり、本発明の有効な範囲を何ら制限するものではない。実施例で列挙される下線を施した数字は図面で示されるものと対応している。

#### 【0079】

##### 概説

反応は全て乾燥室素またはアルゴン雰囲気下で行った。市販の試薬はさらなる精製を行わずに使用した。全てのPEG化合物は使用前に真空下または共沸蒸留（トルエン）により乾燥させた。<sup>13</sup>C NMRスペクトルは特に断りのない限り、溶媒としてジウテリオクロホルムを用いてJNM GSX-270装置では67.80MHzで、またはVarian Mercury VM-300装置では75.46MHzで測定した。化学シフト( )はテトラメチルシラン(TMS)から低磁場へ向かう百万分の一(ppm)単位で表される。in vivo薬物処理前の注入用に全てのPEG複合体化合物を滅菌生理食塩水(0.9%)に溶解し(～15mg/mL)、それらをara-C等価物として投与した(投与したara-Cの絶対量)。

30

#### 【0080】

##### 略語

DCM(ジクロロメタン)、DIEA(N,N'-ジイソプロピルエチルアミン)、DMAP(4-(ジメチルアミノ)ピリジン)、EDC(1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド)、HOBT(1-ヒドロキシベンゾトリアゾール)、IPA(2-プロパノール)。

#### 【0081】

40

##### 実施例1 PEG芳香族アミド(3aおよび3b)

無水ピリジン(50mL)中の2(5.0g, 0.125mmol)、1aまたは1b(0.496mmol)の混合物を、45で一晩、アルゴン雰囲気下で攪拌した。この混合物を室温にさまし、真空濃縮し、次いでIPA(500mL)より再結晶化して1aより3aを、また1bより3bを得た。

#### 【0082】

PEG4-アミノメチル安息香酸(3a)：収率96%。<sup>13</sup>C NMR 41.46, 66.91-70.71(PEG), 126.57, 128.71, 129.22, 142.95, 166.75, 169.35。

#### 【0083】

PEG4-アミノ安息香酸(3b)：収率83%。<sup>13</sup>C NMR 69.91-70.89(PEG), 118.36, 126.67, 130.22, 140.64, 167.21, 167.94。

50

## 【 0 0 8 4 】

## 実施例2 PEG芳香族アミドチアゾリジニルチオンイミド(5aおよび5b)

無水DCM(80mL)中、3aまたは3b(0.099mmol)、2-メルカプトチアゾリン(4, 71mg, 0.60mmol)、EDC・HCl(78mg, 0.40mmol)、およびDMAP(97mg, 0.79mmol)の混合物を室温で一晩攪拌した。この混合物を真空濃縮し、次いでIPAより残渣を再結晶化して3aより5aを、また3bより5bを得た。安息香酸の活性化および約1:1の比率での2-メルカプトチアゾリンの存在がNMRで確認された。これらの中間体はそのまま使用した。

## 【 0 0 8 5 】

実施例3 PEG芳香族スパーサー ara-C (6aおよび6b)

無水ピリジン(30mL)中、活性化イミド5aまたは5b(0.074mmol)、ara-C(108mg, 0.44mmol)、およびDMAP(72mg, 0.59mmol)の混合物を45℃で一晩攪拌した。この混合物を真空濃縮し、次いでIPAより残渣を再結晶化して5aより6aを、また5bより6bを得た。この化合物中に存在するAra-Cの量(UVアッセイにより測定)を重量%で求めた。

## 【 0 0 8 6 】

PEG ara-C4 アミノメチルベンゼンアミド (6a): 収率94%、Ara-C存在率1.18%;  $^{13}\text{C}$  NMR 42.42, 59.59, 61.70, 62.22, 64.11, 67.51, 68.64, 69.30-73.16(PEG), 74.30, 75.86, 77.57, 77.69, 82.21, 86.58, 88.48, 96.16, 128.02, 128.11, 129.13, 130.35, 1455.85, 147.55, 148.23, 170.73。

## 【 0 0 8 7 】

PEG ara-C4 アミノベンゼンアミド (6b): 収率90%、Ara-C存在率1.03%;  $^{13}\text{C}$  NMR 5.21, 70.90-70.94(PEG), 76.30, 78.86, 86.58, 88.48, 96.16, 118.15, 128.07, 128.24, 130.35, 145.85, 147.55, 148.23, 170.80。

## 【 0 0 8 8 】

実施例4 PEGパクリタキセル4-アミノメチルベンゼンアミド (7a)

EDC・HCl(38mg, 0.2mmol)を、無水DCM(20mL)中の3a(1g, 0.025mmol)、パクリタキセル(85mg, 0.1mmol)、およびDMAP(37mg, 0.3mmol)の溶液に加え、この混合物を0℃～室温で一晩攪拌した。この混合物を真空濃縮し、次いでIPAより残渣を再結晶化して0.86g(86%)の生成物を得た。UVアッセイにより測定した、この化合物中に存在するパクリタキセルの量は、4.06%(w/w)であった。 $^{13}\text{C}$  NMR 3.01, 14.19, 20.18, 21.48, 22.07, 26.17, 29.03, 35.10, 41.66, 42.55, 45.08, 52.54, 57.75, 69.97-71.87(PEG), 74.56, 75.77, 79.89, 84.66, 126.61, 127.75, 128.03, 128.43, 129.50, 132.59, 133.24, 133.72, 135.65, 141.89, 144.58, 164.67, 166.08, 166.58, 167.62, 169.75, 170.23, 202.13。

## 【 0 0 8 9 】

実施例5 化合物6aおよび6bのin vitroおよびin vivoデータ

この実施例では、in vivoおよびin vitroデータを示し、非改変Ara-Cと比較している。

## 【 0 0 9 0 】

## in vivo

胸腺欠損ヌードマウスにドナーマウスから採取したLX-1(固形ヒト肺腫瘍)の4～5mm<sup>3</sup>組織片を皮下移植した。腫瘍トリカール部位を週2回観察し、触診できるものを週1回測定した。各マウスの腫瘍体積を測径器で2つの寸法を測定し、式: 腫瘍体積 = (長さ × 幅<sup>2</sup>)/2により算出した。腫瘍が平均体積90mm<sup>3</sup>に達したときに、マウスを非改変Ara-CおよびPEG-Ara-C(化合物6aおよび6b)からなるそれらの試験群に分けた。腫瘍サイズ分布が均等になるようマウスを分類し、4～6マウス/群に群分けし、永久識別のため耳にパンチ穴を開けた。薬物を毎分約0.5mLの速度で尾部静脈から静脈投与した、q3d × 4(1、4、7および10日目)。化合物は、20mg/kgの等モルベース(活性成分の絶対量)で、またそれら各々のMTDに近い値(Ara-C、100mg/kg/投与量(毒性); 6aおよび6b、40mg/kg/投与量(容量))で与えた。マウス重量および腫瘍サイズは試験開始時と、第4週まで週2回測定した。薬物の有効性は処置したマウスと処置していない対照マウス(ビヒクルなし)との腫瘍増殖の比較により判定した。比較基準として5種類の終点値を用いた: (a)28日目における平均腫瘍体積; (b)各腫瘍体積の試験開始時からの平均変化(率); (c)対照群の腫瘍体積中央値が1000mm<sup>3</sup>に達

10

20

30

40

50

したときの、治療群の腫瘍体積中央値を対照群の腫瘍体積中央値で割った商より計算した腫瘍成長阻害率 $\%((T/C-1) \times 100)$ 。

【0091】

結果

【表1】

化合物	$t_{1/2}$ (h) <sup>a</sup> ラット血漿	IC <sub>50</sub> (nM) <sup>a</sup> P388/0	%腫瘍成長 阻害率 <sup>b</sup>
Ara-C	—	10	26.2 (100mg/kg)
化合物 6a	65	122	---
化合物 6b	75	1190	12.3 (20mg/kg)

10

【0092】

<sup>a</sup>全ての試験は2連、37℃で行い、 $t_{1/2}$ はPEG誘導体の消失により測定した。測定値の標準偏差 =  $\pm 10\%$ 。

<sup>b</sup>平均ベースライン腫瘍体積は1000mm<sup>3</sup>であった。

【0093】

in vitroバイオアッセイ

P388/0(マウスリンパ系腫瘍, Southern Research Institute)細胞系を使用して一連の *in vitro*バイオアッセイを行い、非改変Ara-Cおよび化合物10のIC<sub>50</sub>を調べた。P388/0細胞をRPMI 1640培地(Whittaker Bioproducts, Walkersville, Maryland)+10%FBS(Hyclone Inc., Logan UT)で培養した。バイオアッセイは抗生物質およびファンギゾンを含むそれら各々の培地で行った。

【0094】

Ara-CをDMSOに溶解し、培地で好適な濃度に希釈した。個々のPEG-Ara-C化合物を水に溶解し、培地で好適な濃度に希釈した。

【0095】

アッセイを96ウェルマイクロタイター細胞培養プレートで2連で行った。化合物の2倍連続希釈をマイクロタイタープレートで行った。0.1%トリプシン/ベルセンを加えて37℃でインキュベートすることにより細胞を分離した。10%FBSを含む各細胞系に好適な培地を加えてトリプシンを不活性化した。マイクロタイタープレートの各ウェルに10,000個の細胞を加えた。3日後、代謝性標識色素Alamar Blueを製造業者のプロトコールに従って添加し、細胞増殖を測定した。試験化合物および参照化合物のIC<sub>50</sub>値は上記に表で示している。

【0096】

本発明の好ましい実施形態であると現在考えられるものを記載してきたが、当業者ならば本発明の精神を逸脱しない限り、変形および改変をなしうることが分かるであろう。本発明の真の範囲にあるかかると変形および改変の全てを請求することを意図するものである。

【図面の簡単な説明】

【0097】

【図1】図1は、実施例1～3で記載する本発明の化合物を製造する方法の概略図である。

【図2】図2は、実施例4で記載する本発明の化合物を製造する方法の概略図である。

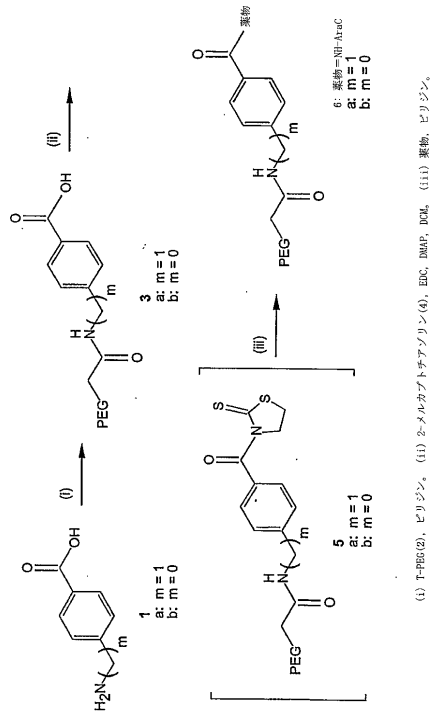
20

30

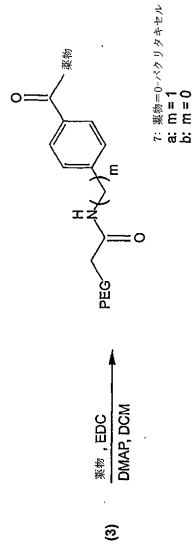
40



【図 1】



【図 2】



---

フロントページの続き

(72)発明者 グリーンワルド, リチャード, ビー.

アメリカ合衆国 08873 ニュージャージー州, サマーセット, ヒッコリー ロード 113

(72)発明者 チョー, ユン, エイチ.

アメリカ合衆国 08812 ニュージャージー州, グリーン ブック, グリーンブライアー ロード 9

審査官 渡辺 陽子

(56)参考文献 国際公開第99/030727(WO, A1)

国際公開第01/017501(WO, A1)

特開昭61-143325(JP, A)

Myongsoo Lee, Nam-Keun Oh, Liquid-crystalline rod-coil polymers based on poly(ethylene oxide)s and the influence of the complexation of LiCF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub> on the liquid-crystalline assembly, Journal of Materials Chemistry, 英国, Royal Society of Chemistry; Cambridge, 1996年 7月, vol.6, no.7, p.1079-1086

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C08G 65/00- 67/04

A61K 31/77

A61K 47/48

A61P 43/00