

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-512462
(P2006-512462A)

(43) 公表日 平成18年4月13日(2006.4.13)

(51) Int. Cl.		F I	テーマコード (参考)
C08G 81/00	(2006.01)	C08G 81/00	4C076
A61K 47/42	(2006.01)	A61K 47/42	4J031
A61K 47/48	(2006.01)	A61K 47/48	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 44 頁)

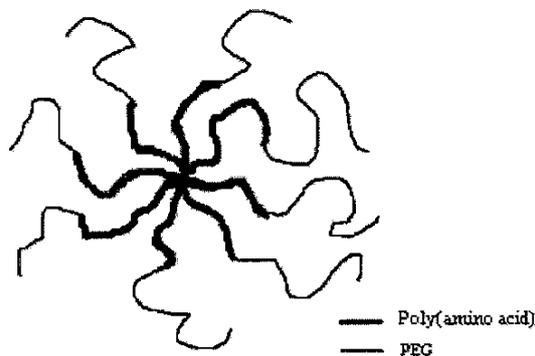
(21) 出願番号	特願2004-565733 (P2004-565733)	(71) 出願人	503197027 ネクター セラピューティクス アラバマ 、コーポレーション アメリカ合衆国、アラバマ 35806- 2902, ハンツビル, ディスカバリー ドライブ 490
(86) (22) 出願日	平成15年12月24日 (2003.12.24)	(74) 代理人	100099759 弁理士 青木 篤
(85) 翻訳文提出日	平成17年8月29日 (2005.8.29)	(74) 代理人	100077517 弁理士 石田 敬
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/041332	(74) 代理人	100087871 弁理士 福本 積
(87) 国際公開番号	W02004/060977	(74) 代理人	100087413 弁理士 古賀 哲次
(87) 国際公開日	平成16年7月22日 (2004.7.22)		
(31) 優先権主張番号	60/437, 372		
(32) 優先日	平成14年12月30日 (2002.12.30)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 薬物送達媒体としてのマルチアーム (multi-arm) ポリペプチド-ポリ (エチレングリコール) ブロックコポリマー

(57) 【要約】

本発明は、多様な生理活性剤の送達における使用のためのマルチアームブロックコポリマーを供する。本発明のコポリマーは、複数の(3以上)のコポリマーアームを延ばす中心コアを含む。各コポリマーアームは、内側ポリペプチドセグメント及び外側親水性ポリマーセグメントを有する。従って、当該コポリマーな全体的な構造は、中心コア及び内側ポリペプチドセグメントを含む内側コア領域を含んで成り、一方、外側コア領域は本質的に親水性である。本発明のマルチアームコポリマーは、当該内側コア領域中に封入することができる生理活性剤の送達のために特に有用である。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

薬物送達媒体として有用な単分子マルチアームブロックコポリマーであって：

コポリマーアームへの共有結合的な付着のために利用できる少なくとも 3 つの付着部位を供する中心コア分子；及び、

上記の中心コア分子の上記の少なくとも 3 つの付着部位のそれぞれに共有結合的に付着するコポリマーアームであって、各コポリマーアームが上記中心コア分子の上記付着部位と共有結合的に付着する内側ポリペプチドセグメント、及び上記ポリペプチドセグメントと共有結合的に付着する外側親水性ポリマーセグメントを含んで成るコポリマーアーム、を含んで成る単分子マルチアームブロックコポリマー。

10

【請求項 2】

上記中心コア分子が、アミン基を有する少なくとも 3 つの末端を有するポリアミン残基である、請求項 1 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 3】

上記中心コア分子が、ヒドロキシル基を有する少なくとも 3 つの末端を有するポリオール残基を含んで成る、請求項 1 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 4】

上記ポリオールがグリセロール、ソルビトール、ペンタエリスリトール、及びグリセロールオリゴマーから成る群から選択される、請求項 3 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

20

【請求項 5】

上記ポリオールがヘキサグリセロールである、請求項 3 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 6】

上記ポリオールがヒドロキシプロピル - シクロデキストリンである、請求項 3 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 7】

上記中心コア分子が、更に、上記ポリオールの残基の各末端に付着した親水性オリゴマー鎖を含んで成る、請求項 3 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 8】

上記親水性オリゴマー鎖が、約 100 Da から約 5,000 Da の分子量を有するエチレングリコールオリゴマー鎖である、請求項 7 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

30

【請求項 9】

各親水性オリゴマー鎖が、上記ポリペプチドセグメントとアミド結合を介して共有結合的に付着する、請求項 7 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 10】

上記ポリペプチドセグメントが、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、セリン、スレオニン、アスパラギン、グルタミン、チロシン、システイン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、及びこれらの組み合わせから成る群から選択されるアミノ酸残基を含んで成る、請求項 1 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

40

【請求項 11】

上記ポリペプチドが、帯電性アミノ酸残基を含んで成る、請求項 1 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 12】

上記帯電性アミノ酸が、アルギニン、リジン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、及びこれらの組み合わせから成る群から選択される、請求項 11 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 13】

50

上記ポリペプチドセグメントが、官能基を有する、少なくとも1つのアミノ酸残基を含んで成る、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項14】

上記官能基が、ヒドロキシル、活性エステル、活性カルボネート、アセタール、アルデヒド、アルデヒド水和物、スルホン酸アルキル若しくはアリール、ハライド、ジスルフィド、アルケニル、アクリレート、メタクリレート、アクリルアミド、活性スルホン、アミン、ヒドラジン、チオール、カルボン酸、イソシアネート、イソチオシアネート、マレイミド、ビニルスルホン、ジチオピリジン、ビニルピリジン、ヨードアセトアミド、エポキシド、グリオキサール、ジオン、メシレート、トシレート、又はトレシレートから成る群から選択される、請求項13に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

10

【請求項15】

上記外側親水性ポリマーセグメントが、ポリ(エチレングリコール)を含んで成る、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項16】

各ポリペプチドセグメントが約100Daから約20,000Daの分子量を有する、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項17】

各ポリペプチドセグメントが、約500Daから約10,000Daの分子量を有する、請求項16に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項18】

上記外側親水性ポリマーセグメントが、約100Daから約20,000Daの分子量を有する、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

20

【請求項19】

上記外側親水性ポリマーセグメントが、約500Daから約10,000Daの分子量を有する、請求項18に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項20】

上記単分子マルチアームブロックコポリマーが、約10,000Daから約200,000Daの総分子量を有する、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項21】

上記単分子マルチアームブロックコポリマーが、約20,000Daから約80,000Daの総分子量を有する、請求項20に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

30

【請求項22】

上記中心コア分子が、コポリマーアームへの共有結合的な付着のために利用可能な少なくとも4つの付着部位を有する、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項23】

上記中心コア分子が、コポリマーアームへの共有結合的な付着のために利用可能な少なくとも8つの付着部位を有する、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

40

【請求項24】

上記中心コア分子が、コポリマーアームへの共有結合的な付着のために利用可能な3から約25の付着部位を有する、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項25】

少なくとも1つの標的化部分が、少なくとも1つの親水性ポリマーセグメントに共有結合的に付着している、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項26】

上記標的化部分が、タンパク質、抗体、抗体断片、ペプチド、炭水化物、脂質、オリゴ

50

ヌクレオチド、DNA、RNA、又は2,000ダルトン以下の分子量を有する小分子から成る群から選択される、請求項25に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項27】

上記標的化部分が、モノ-葉酸、又は抗-EGFR Fabである、請求項25に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項28】

少なくとも1つのキャッピング基又は官能基が、少なくとも1つの親水性ポリマーセグメントに共有結合的に付着する、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項29】

上記キャッピング基又は官能基が、アルコキシ、ヒドロキシル、活性エステル、活性カルボネート、アセタール、アルデヒド、アルデヒド水和物、スルホン酸アルキル若しくはアリール、ハライド、ジスルフィド、アルケニル、アクリレート、メタクリレート、アクリルアミド、活性スルホン、アミン、ヒドラジン、チオール、カルボン酸、イソシアネート、イソチオシアネート、マレイミド、ビニルスルホン、ジチオピリジン、ビニルピリジン、ヨードアセトアミド、エポキシド、グリオキサール、ジオン、メシレート、トシレート、及びトレシレートから成る群から選択される、請求項28に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

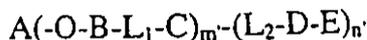
10

【請求項30】

以下の構造式：

20

【化1】



であって、上記式中：

Aがポリオール残基を含んで成る中心コア分子であり、

Oが酸素であり、

Bが親水性オリゴマーであり、

Cがポリペプチドセグメントであり、

Dが親水性ポリマーセグメントであり、

Eがキャッピング基又は官能基であり、

L_1 及び L_2 が結合であり、

(m')が3から約25であり、

(n')が2から約25であり、且つ(n') \leq (m')である、構造式を有する、請求項1に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

30

【請求項31】

上記Eがアルコキシである、請求項30に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

40

【請求項32】

上記Eがヒドロキシである、請求項30に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項33】

上記Eが、アルコキシ、ヒドロキシル、活性エステル、活性カルボネート、アセタール、アルデヒド、アルデヒド水和物、スルホン酸アルキル若しくはアリール、ハライド、ジスルフィド、アルケニル、アクリレート、メタクリレート、アクリルアミド、活性スルホン、アミン、ヒドラジン、チオール、カルボン酸、イソシアネート、イソチオシアネート、マレイミド、ビニルスルホン、ジチオピリジン、ビニルピリジン、ヨードアセトアミド、エポキシド、グリオキサール、ジオン、メシレート、トシレート、及びトレシレートから

50

成る群から選択される、請求項 30 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 34】

上記 A が、グリセロール、ソルビトール、ペンタエリスリトール、及びヒドロキシプロピル - シクロデキストリン、及びグリセロールオリゴマーから成る群から選択されるポリオール残基である、請求項 30 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 35】

上記 D が、ポリ(エチレングリコール)を含んで成る、請求項 30 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 36】

上記 C が、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、セリン、スレオニン、アスパラギン、グルタミン、チロシン、システイン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、及びこれらの組み合わせから成る群から選択されるアミノ酸残基を含んで成る、請求項 30 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

10

【請求項 37】

少なくとも 1 つの C のアミノ酸残基が官能基を有する、請求項 30 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

【請求項 38】

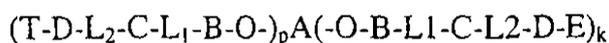
上記 B がエチレングリコールオリゴマーである、請求項 30 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

20

【請求項 39】

以下の構造式であって：

【化 2】



上記式中：

A がポリオール残基を含んで成る中心コア分子であり、

30

O が酸素であり、

B が親水性オリゴマーであり、

C がポリペプチドセグメントであり、

D が親水性ポリマーセグメントであり、

E がキャッピング基又は官能基であり、

T が標的化部分であり、

L₁ 及び L₂ が結合であり、

(p) が少なくとも 1 であり、

(k) が少なくとも 1 であり、且つ (p) 及び (k) の合計が 3 から約 25 である、構造式を有する、請求項 1 に記載の単分子マルチアームブロックコポリマー。

40

【請求項 40】

医薬組成物であって：

コポリマーアームへの共有結合的な付着に利用可能な少なくとも 3 つ付着部位を供する中心コア分子、及び上記中心コア分子の上記少なくとも 3 つの付着部位のそれぞれと共有結合的に付着するコポリマーアームであって、各コポリマーアームが上記中心コア分子の上記付着部位に共有結合的に付着する内側ポリペプチドセグメント、及び上記ポリペプチドセグメントに共有結合的に付着する外側親水性ポリマーセグメントを含んで成るコポリマーアームを含んで成る単分子マルチアームブロックコポリマー、ここで当該中心コア分子及び当該ポリペプチドセグメントが内側コア領域を規定し、そして当該ポリペプチドセグメントが疎水性外側領域を規定する；並びに、

50

上記単分子マルチアームコポリマーの内側領域中に封入された生理活性剤、
を含んで成る、医薬組成物。

【請求項 4 1】

上記ポリペプチドセグメントが 1 又は複数の帯電性アミノ酸残基を含んで成り、そして、
上記内側領域中に封入された生理活性剤が、1 又は複数の帯電性アミノ酸残基と反対の
電荷を有する、請求項 4 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 2】

上記生理活性剤が、上記ポリペプチドセグメントのアミノ酸残基に共有結合的に付着す
る、請求項 4 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 3】

上記内側コア領域と上記生理活性剤が共に疎水性である、請求項 4 0 に記載の医薬組成
物。

【請求項 4 4】

更に、医薬的に受容可能な担体を含んで成る、請求項 4 0 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、マルチアームコポリマー、並びに、これらのコポリマー、例えば、薬物送達
媒体の製造方法及び使用方法に関する。

【背景技術】

【0002】

有効な薬物送達媒体の開発は製造業者に挑戦を与え続けている。多くの生理活性剤は、
強力な生体内活性を示す一方、欠点、例えば、生体内分解、急速な身体からの除去、低い
水溶性、及び全身毒性により妨害される。これらの欠点を克服するために、いくつかのア
プローチが示唆されてきた。このようなアプローチは、例えば、界面活性剤を伴う生理活
性剤を共投与すること、リポソーム製剤中の生理活性剤を供すること、抗体の利用により
特異的な組織に対するターゲティングを供すること、及びミセル中に生理活性剤を処方す
ることを含む。各アプローチは、しかしながら、特異的な活性剤に遭遇する問題を完全
には対処せず、及び/又は追加的な投与を生じる。

【0003】

医薬的なグレードの界面活性剤、例えば、T w e e n 8 0、又はC r e m o p h o r (
登録商標) は、疎水性薬物の低い水溶性を補償するために製剤中で広く使用される。これ
らの界面活性剤は、水性媒体中でミセル構造を形成することにより、疎水性薬物を可溶化
する。不幸なことに、これらの界面活性剤は、患者に投与した場合に、重篤なアレルギー
反応及び過敏症に関連してきた(Kris et al. (1986) Cancer Treatment REP 70: 5)。追
加的には、ミセルを形成する成分濃度が、臨界ミセル濃度(CMC)以下に下がるために
、ミセル薬物担体は患者への投与においてしばしば分解する。当該ミセルが分解すると、
薬物の急速且つ制御されない放出が存在し、従って、実施不可能な薬物送達に対するア
プローチをしばしば与える。

【0004】

リポソーム製剤は、リポソームを形成するリン脂質から生成される。患者への投与にお
いて、当該リポソームは細網内皮系(RES)のマクロファージにより受け取られる
。リポソームが、ポリ(エチレングリコール)(PEG)でそれらをコーティングす
ることにより「ステルス」特徴を有するように改変された場合であっても、肝臓及び脾臓
においてしばしば高レベルで発見される。PEG-コーティング「ステルス」リポソーム
でさえ、しかしながら、望ましくない副作用を有する。特に、これらのPEG-コーティ
ングリポソームは、無差別的に血管から組織へと移動することが知られ、これは「血管外
遊走」として知られる。結果として、所望の治療的効果を達成するためには、リポソーム
カプセル薬物のより高い用量を投与しなければならない。

【0005】

10

20

30

40

50

例えば、薬物、例えば、抗癌剤を送達するための抗体を使用する標的送達アプローチは、疾患、例えば、癌の局在化した治療のために利用されてきた。不幸なことに、腫瘍細胞上で標的とされるレセプターは、しばしば健康な細胞にも存在する。このように、抗体-標的アプローチは、しばしば生理活性剤の送達に最適な方法を供するために不可欠な特異性又は選択性を欠く。

【0006】

薬物の送達のために、更に他のアプローチが示唆されてきた。例えば、水-可溶性ポリマー、例えば、ポリ(エチレングリコール)は、ポリマー-薬物抱合体を形成するために薬物に共有結合的に付着する。このような抱合体は、未抱合性又は未変性薬物と比較して、しばしば、改善された水溶性、増強された生体内安定性、及び改善された治療指数を有する。不幸なことに、単官能のPEG、例えば、モノメトキシ-PEGは、ポリマー鎖当たり1つの薬物だけを輸送することしかできず、従って、生理活性剤の送達においてしばしば求められる高い薬物-輸送能を欠いている。

10

【0007】

従って、当業界において、治療的に有効な方法における親水性及び疎水性薬物の両方の送達のために改良された方法が必要である。即ち、水溶性薬物の送達に有用なだけでなく、疎水性及び帯電性生理活性剤の送達における使用に適用できるように十分順応性のある薬物送達の組成物及び方法が必要である。本発明は、当業界のこれら及び他の必要性を解決することを探求する。

【発明の開示】

20

【0008】

発明の概要

本発明は、共有結合的付着に利用可能な少なくとも3つの付着部位、及び中心コア分子のそれぞれの付着部位と共有結合的に付着するコポリマーアームを供する中心コア分子を含んで成る単分子マルチアームブロックコポリマーを供する。各コポリマーアームは、中心コア分子と共有結合的に付着する内側のポリペプチドセグメント、及びポリペプチドセグメントと共有結合的に付着する外側の親水性ポリマーセグメントを含んで成る。当該コア分子及び当該ポリペプチドセグメントは一緒に内側コア領域を規定し、そして親水性ポリマーセグメントは親水性外側領域を規定する。生理活性剤は、コポリマー構造中に、好ましくは、ブロックコポリマーの内側コア領域中に封入されることができる。生理活性剤及びブロックコポリマーの構造及び特性に依存して、当該封入は多様な結合又は誘引力によりもたらすことができる。

30

【0009】

中心コア分子は、好ましくはポリアミンである。典型的なポリアミンは、小さな分子量の親水性オリゴマー、例えば、PEGオリゴマーであって、各オリゴマーが末端アミノ基を有するものとの結合により付着されるポリオールコア残基を含んで成る。

【0010】

上記ポリペプチドセグメントは、好ましくは、疎水性アミノ酸残基、電荷を帯びているアミノ酸残基又は薬物分子との共有結合的付着に適当な懸垂官能基を有するアミノ酸残基を含んで成る。典型的なアミノ酸残基は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、セリン、スレオニン、アスパラギン、グルタミン、チロシン、システイン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、及びこれらの組み合わせの残基を含む。

40

【0011】

上記親水性ポリマーセグメントは、好ましくは、キャッピング基、例えば、アルコキシ、あるいは官能基、例えば、ヒドロキシル、活性エステル、活性カルボネート、アセター、アルデヒド、アルデヒド水和物、スルホン酸アルキル若しくはアリール、ハライド、ジスルフィド、アルケニル、アクリレート、メタクリレート塩、アクリルアミド、活性スルホン、アミン、ヒドラジン、チオール、カルボン酸、イソシアネート、イソチオシアネート、マレイミド、ビニルスルホン、ジチオピリジン、ビニルピリジン、ヨードアセトア

50

ミド、エポキシド、グリオキサール、ジオン、メシレート、トシレート、又はトレシレートで任意的に終結されているポリ(エチレングリコール)(「PEG」)である。上記官能基は、所望する場合、薬物分子を共有結合的に付着させるために使用することができる。ある特定の態様において、上記PEGポリマーセグメントは、物理的に封入された薬物の標的放出のために、身体中の特異的部位にコポリマーを配向することができる標的化部分を有する。標的化部分の例は、タンパク質、抗体、抗体断片、ペプチド、炭水化物、脂質、オリゴヌクレオチド、DNA、RNA、又は2000ダルトン以下の分子量を有する小分子を含む。

【0012】

疎水性ポリペプチドセグメントが利用される場合、上記ブロックコポリマーは、中心コア及びポリペプチドセグメントが疎水性コア領域として規定する、単分子ミセル構造を形成する。当該疎水性コア領域中の1又は複数の疎水性生理活性剤の封入により、疎水性薬物は可溶化する。当該方法において、疎水性・制限溶解性を有する、前もって投与することができない薬物の投与のための手段を供することができる。従って、疎水性薬物の改良された送達は、その疎水性コア領域中に封入された薬物を有する本発明のマルチアームブロックコポリマーを含む医薬組成物を投与することにより達成することができる。

10

【0013】

本発明は、更に、とりわけ、このようなコポリマーを含んで成る医薬組成物、当該コポリマーの製造方法、及びブロックコポリマー、例えば、薬物送達媒体の使用方法を包含する。

20

本発明を一般的な語句で説明してきたがこれらより図面を参照しながら説明する。

【0014】

発明の簡単な説明

本発明はこの度より完全に説明されるだろう。本発明は、しかしながら、多くの異なる形態において実施することができ、そして本明細書における態様に制限すべきではなく；これらの態様は、徹底的に及び完全になるように、そして、当業者に本発明の範囲を完全に伝えるように供される。

【0015】

I. 定義

本明細書及び請求の範囲において使用される、単一形態は、文中において明らかに他に指示しない限り、複数の指示物を含む。従って、例えば、「薬物」は、単一の薬物、並びに、2又はそれ以上の同一又は異なる薬物を含み、「単分子マルチアームブロックコポリマー」は、単一の単分子マルチアームブロックコポリマー、並びに2又はそれ以上の同一又は異なる単分子マルチアームブロックコポリマーを含み、「賦形剤」は、単一の賦形剤、並びに2又はそれ以上の同一又は異なる賦形剤を含む。

30

【0016】

「官能基」、「活性部分」、「活性化基」、「反応部位」、「化学的反応基」及び「化学的官能部分」は、当業界及び本明細書において、分子の別々に限定できる部分又は単位を意味するために使用される。上記の語は、化学業界においていくらか同義であり、そしていくつかの機能又は活性を示し、そして他の分子と反応する分子の一部を本明細書において表すために使用される。官能基との結合において使用される「活性」の語は、強力な触媒、又は反応するために高い非実用的な反応条件を必要とする基(即ち、「非反応性」又は「不活性」基)とは対照的に、他の分子上の求電子基又は求核基と容易に反応するこれらの官能基を含むことを意図する。典型的な活性エステルは、N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、又は1-ベンゾトリアゾールエステルを含む。典型的には、活性エステルは、ほんの数分で水性媒体中においてアミンと反応し、一方あるエステル、例えば、メチル若しくはエチルエステルは、求核基と反応するために強力な触媒を必要とする。本明細書で使用される「官能基」の語は、保護された官能基を含む。

40

【0017】

「保護された官能基」の語は、一定の反応条件下における化学反応性官能基の反応を防

50

ぐ保護基又は部分の存在を意味する。当該保護基は、保護されている化学反応基のタイプ及び利用される反応条件に依存して変化するであろう。例えば、化学的反応基がアミン又はヒドラジンである場合、保護基は、tert-ブチルオキシカルボニル(t-Boc)及び9-フルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)の基から選択することができる。上記化学的反応基がチオールである場合、保護基はオルトピリジルジスルフィドであってよい。化学的反応基がカルボン酸、例えば、ブタン酸若しくはプロピオン酸、又はヒドロキシル基である場合、保護基はベンジル又はアルキル基、例えば、メチル、エチル、若しくはtert-ブチルであってよい。当業界において知られる他の保護基もまた、本発明において使用することができる。例えば、Greene, T. W., et al., PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS, 3rd ed., John Wiley & Sons, New York, NY (1999) を参照のこと。

10

【0018】

「結合」及び「リンカー」の語は、原子、原子群、又は、通常化学反応の結果として形成される結合を意味するように本明細書において使用される。本発明の典型的なリンカーは隣接する部分、例えば、2つのポリマーセグメントを1つ又は複数の共有結合を介して連結する。加水分解的に安定な結合は、水中で実質的に安定であり、有効なpH、例えば、生理的pHの水と長期間、おそらくは無期限に有意に反応しない結合である。加水分解的に不安定又は分解性の結合は、水又は、例えば、血液、血漿、又は他の生理的な液体を含む水溶液中で分解性である結合である。酵素的に不安定又は分解性の結合は1又は複数の酵素により分解され得る結合を包含する。

20

【0019】

「アルキル」の語は、長さにおいて、約1から12の炭素原子、好ましくは約1から約6の原子に及ぶ炭化水素鎖を意味し、そして、直鎖及び分岐鎖を含む。当該炭化水素鎖は飽和であっても不飽和であってもよい。

【0020】

「シクロアルキル」は、架橋、融合、又はスピロ環式化合物を含む、飽和又は不飽和サイクリック炭化水素鎖を意味し、好ましくは3から約12の炭素原子、より好ましくは3から約8の原子を含んで成る。

【0021】

「置換されたアルキル」又は「置換されたシクロアルキル」の語は、1又は複数の非干渉置換基、例えば、制限されることなく、C₃₋₈シクロアルキル、例えば、シクロプロピル、シクロブチル等；アセチレン；シアノ；アルコキシ、例えば、メトキシ、エトキシ等；低級アルカノイルオキシ、例えば、アセトキシ；ヒドロキシ；カルボキシル；アミノ；低級アルキルアミノ、例えば、メチルアミノ；ケトン；ハロ；例えば、クロロ又はブロモ；フェニル；置換されたフェニル等で置換されたアルキル又はシクロアルキル基を意味する。

30

【0022】

「アルコキシ」は、-O-R基を意味し、式中、Rはアルキル又は置換されたアルキルであり、好ましくはC₁₋₆アルキル（例えば、メトキシ又はエトキシ）である。

【0023】

「アリール」は、それぞれ5又は6のコア炭素原子である、1又は複数の芳香環を意味する。複数のアリール環は、ナフチルとして、融合していてもよく、ビスフェニルとして融合していなくてもよい。また、アリール環は1又は複数の環式炭化水素、又は複素環と融合し、あるいは融合していなくてもよい。

40

【0024】

「置換されたアリール」は、置換基として1又は複数の非干渉基を有するアリールである。フェニル環の置換基として、当該置換基は如何なる配向性（即ち、オルト、メタ又はパラ）であってよい。

【0025】

「ヘテロアリール」は1から4のヘテロ原子、好ましくは、硫黄、酸素、窒素、又はこ

50

これらの組み合わせを含むアリール基であり、上記において、ヘテロアリール基は、炭素又は窒素原子において、 C_{1-6} アルキル、 $-CF_3$ 、フェニル、ベンジル、又はチエニルで任意的に置換されており、あるいは、ヘテロアリール基中の炭素原子が、酸素とともにカルボニル基を形成し、あるいは、上記ヘテロアリール基は、フェニル環と任意的に融合している。また、ヘテロアリール環は、1又は複数の環式炭化水素、複素環式アリール、又はヘテロアリール環と融合していてもよい。ヘテロアリールは、制限することなく、1つのヘテロ原子を有する5-員ヘテロアリール(例えば、チオフェン、ピロール、フラン); 1, 2又は1, 3位において2つのヘテロ原子を有する5-員ヘテロアリール(例えば、オキサゾール、ピラゾール、イミダゾール、チアゾール、プリン); 3つのヘテロ原子を有する5-員ヘテロアリール(例えば、トリアゾール、チアジアゾール); 3つのヘテロ原子を有する5-員ヘテロアリール; 1つのヘテロ原子を伴う6-員ヘテロアリール(例えば、ピリジン、キノリン、イソキノリン、フェナントリン、5, 6-シクロヘプテノピリジン); 2つのヘテロ原子を伴う6-員ヘテロアリール(例えば、ピリダジン、シノリン、フタラジン、ピラジン、ピリミジン、キナゾリン); 3つのヘテロ原子を伴う6-員ヘテロアリール(例えば、1, 3, 5-トリアジン); 及び4つのヘテロ原子を伴う6-員ヘテロアリールを含む。

10

【0026】

「置換されたヘテロアリール」は、置換基として1又は複数の非干渉基を有するヘテロアリールである。

【0027】

「複素環」又は「複素環式」は、不飽和又は芳香族の特徴を伴う、又は、伴わない、少なくとも1つの環原子が炭素ではない、5-12原子、好ましくは5-7原子の1又は複数の環を意味する。好ましいヘテロ原子は、硫黄、酸素、及び窒素を含む。複数の環は、キノリン又はベンゾフランとして融合してもよい。

20

【0028】

「ヘテロ原子」は、炭化水素類似化合物中の如何なる非炭素原子をも意味する。例は、酸素、硫黄、窒素、リン、ヒ素、ケイ素、セレン、テルル、スズ、及びホウ素を含む。

【0029】

「置換された複素環」は非干渉置換基から形成される1又は複数の側鎖を有する複素環である。

30

【0030】

「非干渉置換基」は安定な化合物を産出する基である。適当な非干渉置換基又はラジカルは、制限することなく、ハロ、 C_{1-10} アルキル、 C_{2-10} アルケニル、 C_{2-10} アルキニル、 C_{1-10} アルコキシ、 C_{7-12} アラルキル、 C_{7-12} アルカリール、 C_{3-10} シクロアルキル、 C_{3-10} シクロアルケニル、フェニル、置換されたフェニル、トルオイル、キシレニル、ピフェニル、 C_{2-12} アルコキシアルキル、 C_{7-12} アルコキシアリール、 C_{7-12} アリールオキシアルキル、 C_{6-12} オキシアリール、 C_{1-6} アルキルスルフィニル、 C_{1-10} アルキルスルホニル、 $-(CH_2)_m-O-(C_{1-10}アルキル)$ [式中(m)は1から8である]、アリール、置換されたアリール、置換されたアルコキシ、フルオロアルキル、複素環式ラジカル、置換された複素環式ラジカル、ニトロアルキル、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $NRC(O)-$ (C_{1-10} アルキル)、 $-C(O)-(C_{1-10}アルキル)$ 、 C_{2-10} チオアルキル、 $-C(O)O-(C_{1-10}アルキル)$ 、 $-OH$ 、 $-SO_2$ 、 $=S$ 、 $-COOH$ 、 $-NR$ 、カルボニル、 $-C(O)-(C_{1-10}アルキル)-CF_3$ 、 $-C(O)-CF_3$ 、 $-C(O)NR_2$ 、 $-(C_{1-10}アルキル)-S-(C_{6-12}アリール)$ 、 $-C(O)-(C_{6-12}アリール)$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_m-O-(C_{1-10}アルキル)$ [式中、核(m)は1から8までから独立に選択される]、 $-C(O)NR$ 、 $-C(S)NR$ 、 $-SO_2NR$ 、 $-NRC(O)NR$ 、 $-NRC(S)NR$ 、これらの塩等を含む。本明細書に使用されるRは、H、置換されていないアルキル、置換されたアルキル、置換されていないアリール、置換されたアリール、アラルキル及びアルカリールからなる基から独立に選択される。

40

【0031】

50

「薬物」、「生理活性分子」、「生理活性部分」、「生理活性剤」、「生理活性剤」等は本明細書において相互的に使用され、そして制限されることなく、ウイルス、細菌類、真菌類、植物、動物、及びヒトを含む生物学的生物のいずれかの物理的又は生物化学的特性に影響し得る如何なる物質をも意味する。特に本明細書において使用される生理活性分子は、ヒト若しくは他の動物における疾患の診断、治癒、緩和、治療、又は予防のために意図される如何なる物質、又は、ヒト若しくは動物の身体的又は精神的な健康を増強する他のものを含む。生理活性分子の例は、制限されることなく、ペプチド、タンパク質、酵素、小分子薬物（例えば、非ペプチド性薬物）、色素、脂質、ヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、核酸、細胞、ウイルス、リポソーム、微粒子、及びミセルを含む。本発明の使用に適切な生理活性剤のクラスは、制限することなく、抗生物質、殺真菌剤、抗ウイルス剤、抗炎症剤、抗腫瘍剤、心血管剤、抗不安剤、ホルモン、成長因子、ステロイド剤等を含む。

10

【0032】

「ポリオレフィニックアルコール」は、ポリマーの主鎖に付着する複数の懸垂ヒドロキシル基を有するオレフィンポリマー主鎖、例えば、ポリエチレンを含んで成るポリマーを意味する。典型的なポリオレフィニックアルコールは、ポリビニルアルコールである。

【0033】

本明細書において使用される、「非ペプチド性」は、実質的に、ペプチド結合を介して結合するアミノ酸を含まない構造を意味する。従って、例えば、非ペプチド性がポリマー主鎖に関して使用される場合、当該ポリマー主鎖は実質的にペプチド結合を介して結合するアミノ酸を含まない。当該ポリマー主鎖は、しかしながら、主鎖の長さに沿って配置される少量のペプチド、例えば、約50モノマー単位当たり約1以下のペプチド結合を含む。

20

【0034】

「ポリペプチド」又は「ポリ(アミノ酸)」は、アルファ炭素の主鎖に沿ったアミド結合を通じて連結するアミノ酸残基の連続を含んで成る如何なる分子も意味する。ペプチドの側鎖の修飾は、グリコシル化、ヒドロキシル化等と共に存在してもよい。追加的には、脂質及び小薬物分子を含む他の非ペプチド分子は、ポリペプチドと付着してもよい。当該ポリペプチドは、アミノ酸残基のいずれかの組み合わせ又は配列を含んで成ってよい。

【0035】

「アミノ酸」は、塩基性のアミン基及び酸性のカルボキシル基の両方を含む有機酸を意味する。当該語は、必須アミノ酸及び非必須アミノ酸、並びに天然アミノ酸及び合成又は修飾アミノ酸の両方を包含する。最も一般的なアミノ酸はそれらの完全な名称、又は3文字若しくは1文字の省略形のいずれかにより本明細書において挙げられる：グリシン(Gly, G); アラニン(Ala, A); バリン(Val, V); ロイシン(Leu, L); イソロイシン(Ile, I); メチオニン(Met, M); プロリン(Pro, P); フェニルアラニン(Phe, F); トリプトファン(Trp, W); セリン(Ser, S); スレオニン(Thr, T); アスパラギン(Asn, N); グルタミン(Gln, Q); チロシン(Tyr, Y); システイン(Cys, C); リジン(Lys, K); アルギニン(Arg, R); ヒスチジン(His, H); アスパラギン酸(Asp, D); 及びグルタミン酸(Glu, E)。アミノ酸の言及は完全立体配置に関連せず、当該説明はL又はD形態のいずれかにおけるアミノ酸を含む。

30

40

【0036】

「残基」は、1又は複数の分子との反応後に残存する分子の一部を意味する。例えば、ポリペプチド鎖中のアミノ酸残基は、隣接するアミノ酸残基とのペプチド結合形成後に残存するアミノ酸の一部である。

【0037】

「疎水性」は、水中よりもオクタノール中で優れた溶解度を有する分子を意味し、典型的には、オクタノール中で非常に優れた溶解度を有する。逆に、「親水性」は、オクタノール中よりも水中で優れた溶解度を有する分子を意味する。

50

【0038】

「オリゴマー」は、2から20のモノマー単位、好ましくは2から10のモノマー単位を含んで成る短いモノマー鎖を意味する。

【0039】

「単分子」は、慣習的なミセル中における他の非共有結合又は誘引력에依存するよりも、単一の分子構造中で一緒に共有結合する全体の分子を意味する。

【0040】

「患者」の語は、薬物の投与により予防又は治療することができる状態に苦しんでいる、あるいはその傾向にある生物を意味し、ヒト及び動物の両方を含む。

【0041】

「任意的」又は「任意的な」は、次に説明される状況が起こっても起こらなくてもよく、従って、その説明は当該状況が起こる例、及び起こらない例を含む。

【0042】

単分子マルチアームブロックコポリマー

本発明は、共有結合的に付着されるポリペプチドセグメントを有する中心コア分子により規定される内側コア領域、及び、各ポリペプチドポリマーセグメントと共有結合的に付着する親水性ポリマーセグメントにより規定される外側親水性領域を有するマルチアームブロックコポリマーを供する。従って、マルチアーム構造の各アームは内側（即ち、中心コア分子のより近く又は基部）ポリペプチドモノマーセグメント、及び外側（即ち、中心コア分子のより遠く又は末端）親水性ポリマーセグメントを含んで成るブロックコポリマーである。

【0043】

本発明の単分子マルチアームブロックコポリマーは、特に、内側コア領域中における生理活性分子の被包又は封入に相当である。本明細書において使用される「被包」及び「封入」は、共有結合的付着、電荷相互作用、金属-酸複合体、ファンデルワールス力、又は他の誘引若しくは結合力のいずれかによるコポリマーの当該内側領域中における薬物分子の物理的制限を意味することを意図する。

【0044】

上記単分子マルチアームブロックコポリマーは、典型的に、約5,000Daから約12,000Da、好ましくは、約10,000Daから約100,000Da、そしてより好ましくは約20,000Daから約80,000Daの総数平均分子量を有する。本発明のブロックコポリマーの一般構造式の説明は、図1において示される。

【0045】

上記外側親水性ポリマーセグメントは、好ましくは、ポリ（エチレングリコール）であるが、他の親水性ポリマーセグメントもまた使用することができる。ある態様において、コポリマー構造を身体の特異部位に配向することができる標的部位は、封入された薬物の標的放出のために1又は複数の親水性ポリマーセグメントに付着する。

【0046】

単分子マルチアーム構造の内側コア領域の一部としてのポリペプチドポリマーセグメントの使用は、マルチアーム構造の薬物送達特性の設計及び調整において、相当な順応性を供する。薬物と単分子マルチアーム構造のコア領域の相互作用は薬物装填及び薬物放出特性の優れた効果をもたらすことができる。本発明において、ポリペプチドポリマーセグメントの構造に依存して、単分子マルチアーム構造の内側コア領域は、疎水性であり、帯電しており、薬物分子に共有結合的に付着しており、又はこれらのいずれかの組み合わせであってよい。

【0047】

疎水性コア領域

ポリペプチドは、疎水性の広範な範囲を示すことができる。疎水性ポリペプチドが利用される場合、上記マルチアームブロックコポリマーは水溶液中の単分子ミセルとして作用すると考えられ、当該ミセル構造は親水性外側領域により結合される中心疎水性コア領域を

10

20

30

40

50

含んで成る。結果として、当該態様において、本発明のマルチアームブロックコポリマーは、当該マルチアームブロックコポリマー構造の疎水性コア領域中に被包又は物理的に封入することにより、疎水性生理活性剤の水性溶解度を増大することができる。ポリペプチドの厳密な構造、及び結果的なその疎水性は、特定の薬物分子に対する親和性を最大にするために必要的に調整することができる。

【0048】

慣習的な直鎖状のミセル構造と比較して、本発明のマルチアームブロックポリマーの単分子の性質は、濃度に対する低い感応性をもたらし、本発明のブロックコポリマーは、望まない速い速度で封入した薬物を放出することが少ないようである。本発明のブロックコポリマーは個々の分子の凝集体というより、共有結合分子ユニットである。結果として、ミセル形成物質の不十分な濃度による生体内における当該構造の意図されない分解は今回説明されるマルチアームブロックコポリマーにより回避される。当該マルチアームブロックコポリマーの意図的な分解は、しかしながら、ポリマーセグメント中に1又は複数の加水分解的に不安定な結合を含むことにより、生体内で発生させることができる。分子の凝集に関する自発性の濃度依存性分解とは対照的に、1又は複数の加水分解的に不安定な結合を有する本発明のマルチアームブロックコポリマーは、加水分解速度に基づく予測可能な行動における時間にわたって有利に分解する。更に、活性剤の化学修飾が溶解度の増大を得るのに必要とされないために、封入した薬物の有効性を減少させるコポリマーの可能性は著しく減少される。

【0049】

特定の理論により結びつけられることを望むわけではないが、疎水性のレベル及び疎水性ポリペプチドの大きさが当該マルチアームブロックポリマーの薬物装填及び薬物放出特性に影響すると考えられる。一般的に、より大きな疎水性ポリペプチドセグメント及び比較的強い疎水性を有するアミノ酸により形成された疎水性ポリペプチドセグメントは、溶液中でより高い薬物装填及びより遅い薬物放出特性をもたらすであろうと考えられる。逆に、より小さな疎水性ポリペプチドセグメント及び比較的弱い疎水性を有するアミノ酸により形成された疎水性ポリペプチドセグメントは、減少した薬物装填及びより速い薬物放出をもたらすであろう。慣習的な実験を使用して、通常の当業者は適当なポリペプチドセグメント組成物及び与えられた薬物サイズを決定することができる。例えば、一連の薬物含有マルチアームブロックコポリマーは、本明細書において議論するように、それぞれが異なるサイズのポリペプチドセグメントを有するように調製することができる。患者に対する投与において最も優れた有効性を有するマルチアームブロックコポリマーは適当なサイズのポリペプチドセグメントを有する。適当なポリペプチドセグメント含有量（即ち、ポリペプチドセグメント中に存在するアミノ酸残基）を決定するために、同様のアプローチを使用することができる。ここで、しかしながら、上記ポリペプチドセグメント中に異なるアミノ酸残基を有する一連の薬物含有マルチアームブロックコポリマーを試験する。

【0050】

帯電性コア領域

他の態様において、水性媒体中で電荷を有している親水性生理活性剤は、逆の電荷を有するポリペプチドセグメントを選択することにより、本発明の単分子マルチアームブロックコポリマーの内側コア領域中に封入させることができる。当該逆の電荷は、マルチアーム構造のコア領域と薬物との間の誘引力をもたらす。例えば、正電荷を伴う内側コア領域が、負電荷の活性剤を封入するために必要とされる場合、ポリペプチドセグメントは、好ましくは生理的pHで、又はその付近において（即ち、約7.4のpH）、正に帯電したアミノ酸残基から形成することができる。リジン（約10.0のpKを有する）及びアルギニン（約12.0のpKを有する）は生理的なpHで、又はその付近で正に帯電する。また他のアミノ酸も、環境のpHに依存して正に帯電することができる。例えば、ヒスチジンのイミダゾール環は、正に帯電することができる。

【0051】

負電荷を伴う内側コア領域が、正電荷を有する活性剤のために所望される場合、ポリペ

プチドセグメントは、好ましくは、生理的 pH で、又はその付近で（即ち、約 7.4 の pH）、負に帯電しているアミノ酸残基から形成することができる。グルタミン酸及びアスパラギン酸（共に、約 4.4 の pK を有する）は生理的 pH で、又はその付近で負に帯電する。環境の pH に依存して、他のアミノ酸、例えば、システインもまた、負電荷を供するために使用することができる。

【0052】

生理活性分子を封入するための電荷誘引の使用は、特に、DNA、RNA、又はオリゴヌクレオチドの封入に有利である。当該封入された薬物は、持続的に、且つ長期にわたり、帯電性内側コア領域から放出される。本発明のブロックコポリマーの帯電性コアの態様の説明は、図2において示す。アミノ酸残基が負に帯電しているポリペプチドセグメントの部分は、負（「-」）で示す。

10

【0053】

薬物に対する共有結合的付着に適当なコア領域

更なる他の態様において、上記生理活性剤がポリペプチド鎖中に存在する懸垂官能基と共有結合的に付着することにより、当該生理活性剤は本発明のマルチアームブロックコポリマーの内側コア領域と共有結合的に付着することができる。例えば、いくつかの異なるアミノ酸、例えば、アスパラギン酸及びグルタミン酸から形成されたポリペプチドは、その側鎖上に懸垂カルボン酸基を含む。これらの酸基は、例えば、アミン基を有する生理活性剤と容易に反応することができ、これにより、生理活性剤はアミド結合を介してポリペプチド鎖と結合する。追加的には、アミン含有リジン残基を含んで成るポリペプチドセグメントは、カルボン酸基を有する生理活性剤反応することができ、これによりアミド結合を形成する。本発明のブロックコポリマーに対する薬物分子の共有結合的付着は図3において示される。

20

【0054】

所望するならば、ポリペプチドと生理活性剤との結合は、分解可能な結合、例えば、エステル結合、炭酸結合、イミン結合、ヒドラゾン結合、アセタール結合、又はオルトエステル結合であってよい。当該方法において、ブロックコポリマーは、溶液中の分解できる結合の加水分解において、薬物分子を放出するプロドラッグとして基本的に作用することができる。

【0055】

上記態様のいずれかにおいて、直鎖状のブロックコポリマーと比較して、本発明のマルチアームブロックコポリマーは、内側コア領域中に薬物を収容することにより、薬物分子を酵素分解からより保護することができる。また、標的化部分を組み込んだ態様において、当該標的化部分は、直鎖状ブロックコポリマーと比較して、より有効に使用することができる。当該ケースにおいて、少数のコポリマーアームのみに付着した標的化部分は、マルチアーム構造のコア領域中に封入されたいくつかの薬物分子を効率的に送達することができ、これにより、共有結合的に付着した1つ又は2つの薬物部分のみを有する標的直鎖状ポリマーと比較して送達される薬物の「ペイロード」が増大する。

30

【0056】

上記マルチアームブロックコポリマーのアームの数は、疎水性又は帯電性コア領域を有するコポリマーの態様の薬物装填及び薬物放出特性における影響を有すると考えられる。一般的に少ないコポリマーのアームの存在は、低下した薬物装填及びより速い薬物放出をもたらす。極めて多数のアームを有するコポリマーの使用もまた、密度の実質的な増加、及びコポリマー構造のコア領域中の格子空間の減少により、薬物装填を低下させ得る。多数のアームを伴うコポリマーは、しかしながら、濃度に依存する薬物放出特性を有さないようである。前述を考慮して、ブロックコポリマーのアームの数の最適な範囲は、特定の疎水性薬物のために、望ましい薬物装填及び薬物放出特性の両方が得られるように決定することができる。通常の出発者は、慣習的な実験を通して与えたいずれかの状況において適当なアームの数を決定することができる。例えば、通常の出発者は、異なるアームの数の薬物含有マルチアームブロックコポリマーを作成し、患者への注射において各コポ

40

50

リマーの有効性をモニターし、引き続いて、最良の有効性を有するコポリマー中のアームの数に関係している適当なアームの数を確認することができる。最も優れた態様において、しかしながら、アームの数は3から約25の範囲であり、従って、3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24又は25であってよい。しかしながら、本明細書において説明するマルチアームブロックコポリマーのアームの数は、少なくとも5であることが好ましく、より好ましくは少なくとも約8、そして最も好ましく少なくとも約10である。

【0057】

上記ポリペプチド及び親水性ポリマーセグメントは、好ましくは天然において「過剰分岐型」又は樹状型、例えば、米国特許第5,830,986号において説明されるような樹状体ではなく、上記において分岐型化合物は、多数の連続層において中心コアに付着される。代わりに、図1において示すように、両方のポリマーセグメントは、好ましくは、天然において実質的に直鎖状である。しかしながら、いずれかのポリマーセグメント中のいくつかの分岐は存在してもよい。例えば、リジンリンカーに付着する2つのポリマー主鎖を含んで成る分岐型ポリ(エチレングリコール)ポリマーは、水溶性ポリマーとして使用することができる。

【0058】

追加的な実験におけるマルチアームブロックコポリマーの特定の例は、各コポリマーアームに同じブロックコポリマー構造を利用するが、同じマルチアーム構造中において異なるコポリマー構造を利用することも可能である。換言すれば、本発明は、1又は複数のポリペプチド/親水性ポリマーの組み合わせが同じコア分子に付着する態様を含む。

【0059】

A. 中心コア

中心コア分子は、所望するコポリマーアームの数と同数のいくつかのポリマー付着部位を供する分子に由来する。「付着部位」は、共有結合を形成するために、他の分子、例えば、アミノ酸と反応できる官能基を意味する。好ましくは、中心コア分子は、アミン基を有する少なくとも3つの末端を有するポリアミン残基である。「ポリアミン」は、コア分子にコポリマーアームを付着させるための付着部位として利用できる複数の末端アミン基を含む分岐型分子を意味する。コアのアミン基は、アミド結合を形成するためにアミノ酸のカルボン酸基と容易に反応するので、ポリアミンコアの使用は好ましい。しかしながら、コポリマーアームとの付着のために利用できる他の官能基を有するコア分子もまた使用することができる。

【0060】

ポリアミンコアを利用する態様において、アミン基の数は、マルチアーム構造中のコポリマーアームの数を表すであろう。好ましくは、当該ポリアミンは3から約25のアミン基を含んで成る。多様な態様において、当該ポリアミンは少なくとも約5のアミン基、少なくとも約8のアミン基、又は少なくとも約10のアミン基を含んで成る。

【0061】

コア分子は、典型的には、約250Daから約15,000Da、好ましくは約500Daから約10,000Da、及びより好ましくは約1,000Daから約5,000Daの平均分子量の総数を有する。従って、コア分子の典型的な総数平均分子量は以下を含む：約250Da；約300Da；約350Da；約400Da；約450Da；約500Da；約550Da；約600Da；約650Da；約700Da；約750Da；約800Da；約850Da；約900Da；約950Da；約1,000Da；約1,500Da；約2,000Da；約2,500Da；約3,000Da；約3,500Da；約4,000Da；約4,500Da；約5,000Da；約5,500Da；約6,000Da；約6,500Da；約7,000Da；約7,500Da；約8,000Da；約8,500Da；約9,000Da；約9,500Da；約10,000Da；約10,500Da；約11,000Da；約11,500Da；約12,000Da；約12,500Da；約13,000Da；約13,500Da；約14,000Da；約

14,500 Da ; 及び、約 15,000 Da。追加的な実験において例証された態様において、ポリアミンコア分子の分子量は、約 2,000 Da である。

【0062】

好ましい態様において、当該ポリアミンコア分子は、アミン基を有する小分子量の親水性オリゴマーのポリオールコアへの共有結合的付着により形成される。当該態様において、中心コア分子は、ポリマーの付着のために利用できる少なくとも3つのヒドロキシル基を有するポリオールの残基を含んで成る。「ポリオール」は、複数の利用可能なヒドロキシル基を含んで成る分子である。所望するコポリマーアームの数に依存して、当該ポリオールは、典型的には、約3から約25のヒドロキシル基、好ましくは少なくとも5、より好ましくは少なくとも約8、そして最も好ましくは少なくとも約10のヒドロキシル基を含んで成るであろう。当該ポリオールは、本発明と分けることなく、他の保護した、又は保護していない官能基も同様に含んでよい。ヒドロキシル基間のスペースはポリオール間で変化するであろうが、各ヒドロキシル基間において、典型的には、約1から約20の原子、例えば、炭素原子、好ましくは1から約5の原子が存在する。好ましいポリオールは、グリセロール、還元糖類、例えば、ソルビトール、ペンタエリスリトール、及びグリセロールオリゴマー、例えば、ヘキサグリセロールを含む。例えば、シクロデキストリン、例えば、ヒドロキシプロピル - シクロデキストリンは、21の利用可能なヒドロキシル基を有し、21 - アームブロックコポリマーを形成することができる。選択された特定のポリオールは、マルチアームコポリマー構造中のコポリマーアームの所望する数に依存するであろう。上記においてポリオール中のヒドロキシル基の数は、コポリマーアームの数の総数に相当するであろう。

10

20

【0063】

小分子量の親水性オリゴマーがコア分子に共有結合的に付着する場合、各親水性オリゴマーは、マルチアーム構造の内側コア領域の疎水性レベルに有意に影響することを避けるために十分に小さな分子量を有するはずである。一般的には、約88 Da から約1,000 Da、好ましくは約100 Da から約1,000 Da、より好ましくは約100 Da から約500 Da の分子量を有するエチレングリコールオリゴマー鎖が使用される。ある態様において、当該エチレングリコールオリゴマーは、約200 から約300 Da の平均分子量を有する。

【0064】

上記オリゴマーセグメントは、ポリオールの利用可能なヒドロキシル基との反応に適切な官能基を有するオリゴマーを使用することにより、ポリオールコアに容易に付着させることができる。例えば、ある末端においてメシレート基を、及び他の末端においてアミン基を有する二機能性のエチレングリコールオリゴマーは、エチレングリコールオリゴマーとポリオール間のエステル結合を形成するために、ポリオールと反応させることができる。エチレングリコールオリゴマーのアミン基は、それから、コポリマーのマルチアームのポリペプチドセグメントを形成するためにアミノ酸との反応に利用することができるであろう。あるいは、当該エチレングリコールオリゴマーは、例えば、米国特許第6,046,305号で説明されるように、ポリオールコアにおいて直接重合させることができ、続いて、アミン基を形成するために当該PEGオリゴマーの末端基を誘導する。

30

40

【0065】

好ましいポリアミン中心コア分子の一般構造は以下に示される。

【化 1】



化学式 I

式中：

10

A' は、ポリオール、例えば、グリセロール、ソルビトール、ペンタエリスリトール、グリセロールオリゴマー、又はポリオール含有シクロデキストリン、例えば、ヒドロキシプロピル - シクロデキストリンの残基であり；

PEG₀ は、約 100 Da から約 1,000 Da の分子量を有する PEG オリゴマーであり；そして、

(n) は 3 から約 25 であり、そして、中心コア分子に付着する (-O-PEG₀-NH₂) 部分の数を表すために使用される。

【0066】

化学式 I に従うポリアミン構造は、NOF Corporation (Tokyo, Japan) から入手できる商業的に入手可能なマルチアームエチレングリコールから調製され、又は上述のように、商業的に入手可能な試薬を使用して容易に調製することができる。

20

【0067】

また、中心コアとしての使用に適当なものは、例えば、エチレングリコール成分を欠くが、上述のような分岐型ポリアミンである。

【0068】

B. ポリペプチドセグメント

当該ポリペプチドは一般的に、無毒及び生体適合性であるべきであり、生物組織に関連する提案された使用（例えば、患者に対する投与）に由来する利点は、臨床家、例えば、医師により評価されるように、如何なる有害な効果に勝ることを意味する。好ましい態様において、当該ポリペプチドセグメントは、アミノ酸、例えば、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、セリン、スレオニン、アスパラギン、グルタミン、チロシン、システイン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、又はこれらの組み合わせの残基を含んで成る。ポリペプチドセグメントの疎水的性質を増強する特に好ましいアミノ酸は、バリン、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、トリプトファン、チロシン、メチオニン、及びシステインから成る群から選択される。帯電した内側コア領域が所望される場合、当該ポリペプチドは、好ましくは、帯電性又は帯電可能なアミノ酸、例えば、アルギニン、リジン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、又はこれらの組み合わせの残基を含んで成る。

30

【0069】

当該ブロックコポリマーのポリペプチドセグメントは、典型的には、約 100 Da から約 20,000 Da、好ましくは約 500 Da から約 10,000 Da の平均分子量を有する。例えば、約 100 Da、約 200 Da、約 300 Da、約 500 Da、約 800 Da、約 1,000 Da、約 2,000 Da、約 3,000 Da、約 4,000 Da、及び約 5,000 Da の分子量を有するポリペプチドセグメントが、本発明において有用である。

40

【0070】

ポリアミンコアが利用される場合、当該ポリペプチドセグメントは典型的に、アミド結合により、中心コア分子に付着する。また、当該ポリペプチドは好ましくは、アミド結合により、親水性ポリマーセグメントに付着する。好ましい態様において、当該ポリペプチ

50

ドセグメントは以下の構造を有する：

【化 2】



化学式 II

式中：

R は水素、アルキル（例えば、C₁₋₆アルキル）（ここでアルキル鎖の 1 又は複数の炭素原子はヘテロ原子（例えば、O、S 又は N）で任意的に置換されていてよい）、又は置換されたアルキルであり；そして、

(m) は約 3 から約 100 であり、好ましくは約 3 から約 50 であり、そしてより好ましくは約 3 から約 30 である。

【0071】

R アルキル鎖のための好ましい置換基は、アリール、置換されたアリール、ヘテロアリール、置換されたヘテロアリール、及び官能基、例えば、チオール、アミン、カルボン酸、カルボン酸エステル等を含む。上述のように、ポリペプチド主鎖に沿って配置された懸垂官能基は、生理活性剤をポリペプチドセグメントに共有結合的に付着するために使用することができる。典型的な官能基は、ヒドロキシ、活性エステル（例えば、N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル又は 1-ベンゾトリアゾールエステル）、活性カルボネート（例えば、N-ヒドロキシスクシンイミジルカルボネート及び 1-ベンゾトリアゾリルカルボネート）、アセタール、アルデヒド、アルデヒド水和物、アルケニル、アクリレート、メタクリレート、アクリルアミド、活性スルホン、アミン、ヒドラジン、チオール、カルボン酸、イソシアネート、イソチオシアネート、マレイミド、ビニルスルホン、ジチオピリジン、ビニルピリジン、ヨードアセトアミド、エポキシド、グリオキサール、ジオン、メシレート、トシレート、及びトレシレートを含む。

【0072】

当該ポリペプチドセグメントは、典型的には、酵素的に分解可能であろう。分解可能なポリペプチドの使用は、時間をかけてマルチ-アームブロックコポリマーを生体内で分解することを許容し、このため当該コポリマーの腎臓排除が増大する。追加的には、当該ポリペプチドの分解は、これらのポリマーの追加的な特色、即ち封入した薬物の放出速度を制御する能力を供する。

【0073】

C. 親水性ポリマー

当該親水性ポリマーセグメントは、如何なる親水性ポリマーも含んで成ってよく、そして、本発明はこの点に関して制限されない。ポリペプチドを伴う場合、当該親水性ポリマーは、一般的に無毒性且つ生体適合性であるべきである。好ましくは、当該親水性ポリマーセグメントとして、ポリ（エチレングリコール）（「PEG」）が使用される。当該 PEG の語は、直鎖状、分岐鎖状、又はマルチ-アーム形態のいずれかにおけるポリエチレングリコールを含み、アルコキシ PEG、二機能性 PEG、フォーク型 PEG、分岐型 PEG、懸垂 PEG、又は分解可能な結合を伴う PEG を含み、以下により完全に説明される。

【0074】

その最も単純な形態において、PEG は以下の化学式を有する：

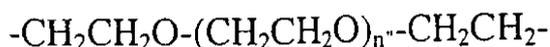
10

20

30

40

【化3】



化学式 III

式中：（「n」）は約2から約4,000であり、典型的には約10から約4,000であり、そしてより典型的には約20から約500である。

10

【0075】

PEGポリマー主鎖の平均分子量は変化してもよく、約100Daから約20,000Da、好ましくは約500Daから約10,000Daの平均分子量を有するPEGが、親水性ポリマーセグメントとして特に有用である。例えば、約100Da、約200Da、約300Da、約500Da、約800Da、約1,000Da、約2,000Da、約3,000Da、約4,000Da、約5,000Da、約6,000Da、約7,000Da、約8,000Da、約9,000Da、約10,000Da、約11,000Da、約12,000Da、約13,000Da、約14,000Da、約15,000Da、約16,000Da、約17,000Da、約18,000Da、約19,000Da、及び約20,000Daの分子量を有するPEGポリマーセグメントが、本発明において有用である。

20

【0076】

本発明において有用なある形態において、遊離又は非結合性PEGは各末端において、ヒドロキシル基で終結する直鎖状ポリマーである：

【化4】



化学式 IV

30

式中、（「n」）の定義は、化学式IIIに関して供された通りである。

【0077】

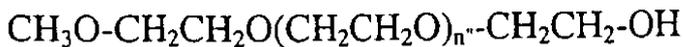
上記ポリマーである、アルファ -、オメガ - ジヒドロキシルポリ（エチレングリコール）は、HO-PEG-OHとして、短縮形態において表すことができ、式中、-PEG-の記号は、上述の化学式IIIの構造を表す。

【0078】

本発明に有用な他のタイプのPEGは、メトキシ-PEG-OH、又は短縮してmPEGであり、上記において、ある末端は比較的内側のメトキシ基であり、一方他の末端は、化学修飾の対象であるヒドロキシル基である。mPEGの構造は、以下のように与えられる。

40

【化5】



化学式 V

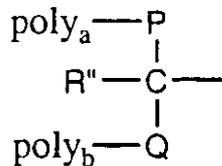
式中、(n) の定義は、化学式 III に関して供された通りである。

10

【0079】

マルチアーム型又は分岐型 PEG 分子（例えば、米国特許第 5,932,462 号において説明されるようなものであり、その全体は本明細書における引用として組み入れられている）もまた、PEG ポリマーとして使用することができる。例えば、親水性 PEG セグメントは、以下の構造を有してよい：

【化6】



20

化学式 VI

式中：

poly_a 及び poly_b は、PEG 主鎖、例えば、メトキシポリ（エチレングリコール）であり；

R'' は非反応性部分、例えば、H、メチル、又は PEG 主鎖であり；そして、

30

P 及び Q は非反応性結合である。好ましい態様において、当該分岐型 PEG ポリマーは、メトキシポリ（エチレングリコール）二置換性リジンである。

【0080】

上記 PEG ポリマーは、あるいは、フォーク型 PEG を含んで成ってよい。フォーク型 PEG の例は、PEG-YCHZ₂ により表され、式中、Y は連結基であり、そして Z は限定された長さの原子鎖により CH に連結する活性型末端基である。本明細書中に引例として組み入れられている国際出願第 PCT/US99/05333 は、本発明において使用することが可能な多様なフォーク型 PEG 構造を開示する。分岐している炭素原子に Z 官能基を連結している原子鎖はテザリング基（tethering group）として役立ち、そして例えば、アルキル鎖、エーテル結合、エステル結合、アミド結合、又はこれらの組み合わせを含んで成ってよい。

40

【0081】

上記 PEG ポリマーは、PEG 鎖の末端というよりは PEG 主鎖に沿って、共有結合的に付着する反応基、例えば、カルボキシルを有する懸垂 PEG 分子を含んで成ってよい。当該懸垂反応基は、PEG 主鎖に直接、又は結合部分、例えば、アルキレン基を介して付着させることができる。

【0082】

上述の PEG の形態に追加して、当該ポリマーはまた、上述したポリマーのいずれかを含むポリマー主鎖中の 1 又は複数の弱い又は分解可能な結合により調製することができる。例えば、PEG は加水分解の対象であるポリマー主鎖中のエステル結合で調製すること

50

ができる。以下に示すように、当該加水分解は、当該ポリマーをより低分子量の断片への切断をもたらす：

【化 7】



【0083】

ポリマー主鎖中の分解可能な結合として有用な、他の加水分解的に分解可能な結合は、炭酸結合；例えば、アミン及びアルデヒドの反応からもたらされるイミン結合（例えば、Ouchi et al. (1997) Polymer Preprints 38 (1) : 582-3 を参照のこと。これは引用として本明細書に組み入れられている）；例えば、アルコールとリン酸基の反応により形成されるリン酸エステル結合；典型的には、ヒドラジン及びアルデヒドの反応により形成されるヒドラゾン結合；典型的には、アルデヒド及びアルコールの反応により形成されるアセタール結合；例えば、ギ酸塩及びアルコールの反応により形成されるオルトエステル結合；及び、例えば、ポリマーの末端におけるホスホラミダイト基とオリゴヌクレオチドの 5' ヒドロキシ基の反応により形成されるオリゴヌクレオチド結合を含む。

10

【0084】

ポリ（エチレングリコール）又は PEG は PEG の上記形態全てを表し又は含むことが当業者に理解される。

20

【0085】

また、多くの他のポリマーも本発明に相当である。2 から約 300 末端を伴う非ペプチド性且つ水溶性のポリマー主鎖は、本発明において特に有用である。適当なポリマーの例は、制限されることなく、他のポリ（アルキレングリコール）、エチレングリコール及びプロピレングリコールのコポリマー、ポリ（オレフィンアルコール）、ポリ（ビニルピロリドン）、ポリ（ヒドロキシアルキルメタクリルアミド）、ポリ（ヒドロキシアルキルメタクリレート）、ポリ（サッカライド）、ポリ（ヒドロキシ酸）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン、ポリ（N-アクリロイルモルホリン）、他本明細書中にその全体が引用として組み入れられている、米国特許第 5,629,384 号に記載のもの、及びコポリマー、ターポリマー、並びにこれらの組み合わせを含む。これらのポリマーは直鎖状であってよく、又は上述の形態のいずれか（例えば、分岐型、フォーク型等）であってよい。

30

【0086】

通常の出業者は、先に挙げた親水性ポリマー主鎖が全く完全でなく、単に例示であり、上述の質を有する全てのポリマー物質が意図されることを認識するであろう。

【0087】

標的化部分又は薬物分子は、任意的に、親水性ポリマーセグメントに共有結合的に付着することができる。本明細書において使用される、「標的化部分」は、特にレセプター、リガンド、組織、又は先のいずれかの成分に結合、あるいは親和性を示すことができる如何なる化学部分も含む。コポリマー構造に対する標的化部分の添加は、物理的に封入した薬物の標的放出のために、当該コポリマーを身体中の特異的部位に誘導することができる。例えば、ある部分はヒドロキシアパタイトの表面（即ち、リン酸カルシウム）例えば、骨に対して親和性を示すことが知られている。典型的なヒドロキシアパタイト-標的化部分は、テトラシクリン、カルセイン、ビスホスホネート、例えば、4-アミノ-1-ヒドロキシブタン-1,1-ジホスホン酸、ジテトラブチルアンモニウム塩（AHBDP）又はその誘導体、ポリアスパラギン酸、ポリグルタミン酸、及びアミノホスホ糖を含む。追加的な標的化部分は、タンパク質、抗体、抗体断片、ペプチド、炭水化物、脂質、オリゴヌクレオチド、DNA、RNA、又は 2,000 Da 以下の分子量を有する小分子を含む

40

50

。好ましい態様において、標的化部分は、モノ - 葉酸、又は抗 - E G F r F a b である。葉酸は、本明細書で説明するように、マルチアームコポリマー送達媒体への付着を介する抗癌剤の標的とされる送達に特に好ましい。標的剤としての葉酸は、葉酸レセプターを過剰発現させる腫瘍を標的とするために有用である。当該カテゴリーに分類される典型的な腫瘍は、卵巣癌腫、並びに固形腫瘍、例えば、頭部及び頸部腫瘍、肺癌及び結腸直腸癌を含む。従って、本発明のマルチアームブロックコポリマーは、葉酸に付着する場合、上述の癌のいずれかの予防又は治療において有用な抗癌剤の送達に特に好ましい。

【 0 0 8 8 】

P E G ポリマーセグメントは、更に、P E G 分子に、例えば、ポリペプチドに対する付着点から遠い P E G セグメント末端において共有結合的に付着する 1 又は複数のキャッピング基 (capping group) 又は官能基を含んでよい。当該キャッピング基は、典型的には、比較的不活性な基、例えば、アルコキシ基 (例えば、メトキシ又はエトキシ)、又はベンジルオキシである。ある態様において、1 又は複数の P E G ポリマーセグメントは、分子が P E G ポリマーと付着できるように、標的化部分又は薬物分子と反応することができる官能基を有する。典型的な官能基は、ヒドロキシル、活性エステル (例えば、N - ヒドロキシスクシンイミジルエステル又は 1 - ベンゾトリアゾールエステル)、活性カルボネート (例えば、N - ヒドロキシスクシンイミジルカルボネート及び 1 - ベンゾトリアゾリルカルボネート)、アセタール (本明細書において使用される、「アセタール」はケタールも同様に包含する)、アルデヒド、アルデヒド水和物、アルケニル、アクリレート、メタクリレート、アクリルアミド、活性スルホン、アミン、ヒドラジン、チオール、カルボン酸、イソシアネート、イソチオシアネート、マレイミド、ビニルスルホン、ジチオピリジン、ビニルピリジン、ヨードアセトアミド、エポキシド、グリオキサール、ジオン、メシレート、トシレート、及びトレシレートを含む。

【 0 0 8 9 】

本発明のポリマー主鎖のための末端官能基の特定の例は、: N - スクシンイミジルカルボネート (例えば、米国特許第 5,281,698 号、及び 5,468,478 号を参照のこと) ; アミン (例えば、Buckmann et al. (1981) Makromol. Chem. 182: 1379, 及び Zalipsky et al. (1983) Eur. Polym. J. 19: 1177 を参照のこと) ; ヒドラジン (例えば、Andresz et al. (1978) Makromol. Chem. 179: 301 を参照のこと) ; スクシンイミジルプロピオネート及びスクシンイミジルブタノエート (例えば、Olson et al. in Poly (ethylene glycol) Chemistry & Biological Applications, pp 170-181, Harris & Zalipsky Eds., ACS, Washington, DC, 1997, 及び 米国特許第 5,672,662 号を参照のこと) ; スクシンイミジルスクシネート (例えば、Abuchowski et al. (1984) Cancer Biochem. Biophys. 7: 175, 及び Joppich et al. (1979) Makromol. Chem. 180: 1381 を参照のこと) ; スクシンイミジルエステル (例えば、米国特許第 4,670,417 号を参照のこと) ; ベンゾトリアゾールカルボネート (例えば、米国特許第 5,650,234 号を参照のこと) ; グリシジルエーテル (例えば、Pitha et al. (1979) Eur. J. Biochem. 94: 11, 及び Elling et al. (1991) Biotech. Appl. Biochem. 13: 354 を参照のこと) ; オキシカルボニルイミダゾール (例えば、Beauchamp et al. (1983) Anal. Biochem. 131: 25, 及び Tondelli et al. (1985) J. Controlled Release 1: 251 を参照のこと) ; p - ニトロフェニルカルボネート (例えば、Veronese et al. (1985) Appl. Biochem. Biotech. 11: 141, 及び Sartore et al. (1991) Appl. Biochem. Biotech. 27: 45 を参照のこと) ; アルデヒド (例えば、Harris et al. (1984) J. Polym. Sci. Chem. Ed. 22: 341, 及び 米国特許第 5,824,784 号及び 5,252,714 号を参照のこと) ; マレイミド (例えば、Goodson et al. (1990) Bio/Technology 8: 343, Romani et al. (1984) Chemistry of Peptides and Proteins 2: 29, 及び Kogan (1992) Synthetic Comm. 22: 2417 を参照のこと) ; オルトピリジル - ジスルフィド (例えば、Woghiren et al. (1993) Bioconj. Chem. 4: 314) ; アクリロール (acrylol) (例えば、Sawhney et al. (1993) Macromolecules 26: 581 を参照のこと) ; 及びビニルスルホン (例えば、米国特許第 5,900,461 号を参照のこと) を含む。

10

20

30

40

50

【0090】

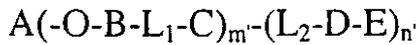
D. 典型的な単分子マルチアームブロックコポリマー構造

本発明のブロックコポリマーのより特異的な構造の態様を説明する。以下に示される特異的な構造は、典型的な構造として提示されるだけであり、本発明の範囲を制限することを意図するものではない。

【0091】

ある態様において、本発明のブロックコポリマーは当該構造を有する：

【化8】



化学式 VII

10

式中：

Aは、ポリオール、例えば、グリセロール、ソルビトール、ペンタエリスリトール、グリセロールオリゴマー、又はポリオール-含有シクロデキストリン、例えば、ヒドロキシプロピル-シクロデキストリンの残基を含んで成る中心コア分子であり；

Oは酸素であり；

Bは親水性オリゴマー、例えば、PEGオリゴマーであり；

Cはポリペプチドセグメントであり；

Dは親水性ポリマーセグメント、例えば、PEGポリマーであり；

Eはキャッピング基（例えば、アルコキシ）又は官能基（例えば、ヒドロキシ、活性エステル等）であり；

L₁及びL₂は結合、例えば、アミド結合であり；

(m')は3から約25であり、中心コア分子に付着する(-O-B-L₁-C)部分の数を表すために使用され；

(n')は2から約25であり、(m')個の(-O-B-L₁-C)部分に付着する(L₂-D-E)部分の数を表すために使用され、各(-O-B-L₁-C)部分は単一の(L₂-D-E)部分を有し；そして、

(n') ≤ (m')である。

【0092】

標的化部分を含んで成る好ましい態様は、以下の構造を有する：

【化9】



化学式 VIII

40

式中：

各A, O, B, C, D, E, L₁及びL₂は、独立に、化学式VIIに関して上述した通りであり、

Tは標的化部分であり；

(p)は少なくとも1又はそれ以上の正の整数であり、中心コア分子に付着する(T-D-L₂-C-L₁-B-O-)部分の数を表し；

(k)は少なくとも1又はそれ以上の正の整数であり、中心コア分子に付着する(-O

50

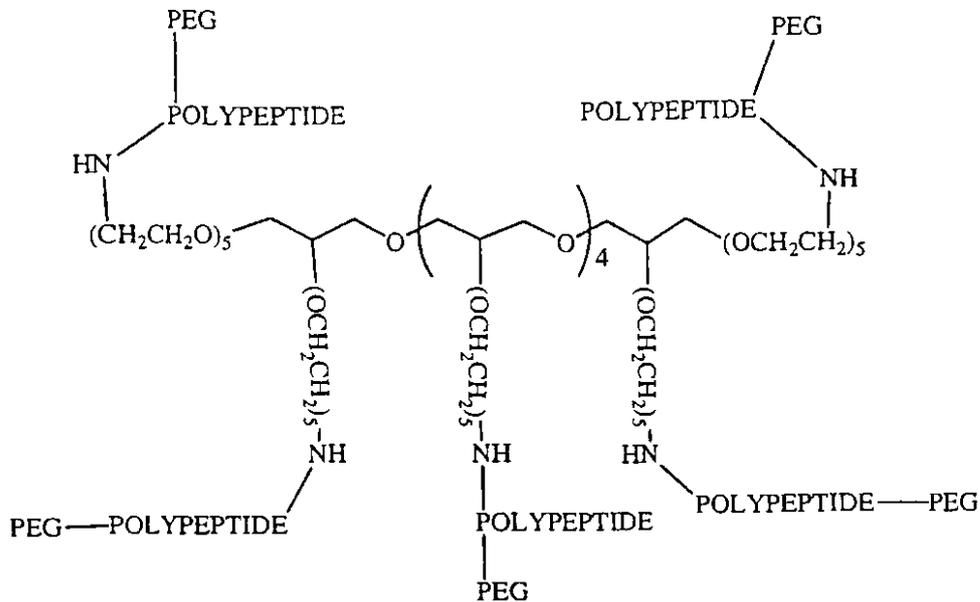
- B - L - C - L₂ - D - E) 部分を表し ; そして、

(k) 及び (p) の合計は 3 から約 25 である。ある態様において、(p) は 1 から約 5 であり、好ましくは 1 から約 3 であり、そして、(k) 及び (p) の合計は約 6 から約 21 であり、好ましくは約 8 から約 15 である。

【 0 0 9 3 】

以下の化学式 IX は、本発明に関連して作成された、典型的な単分子 8 - アームポリペプチド - PEG ブロックコポリマーである。

【 化 1 0 】



化学式 IX

式中：

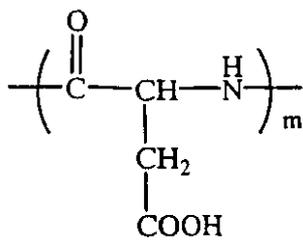
各 POLYPEPTIDE は、ポリペプチドセグメント、好ましくはアスパラギン酸、グルタミン酸、又はリジンから形成されるポリペプチドであり ; そして、

各 PEG はポリ(エチレングリコール)であり、好ましくは上述のような末端キャッピング又は官能基を含む。

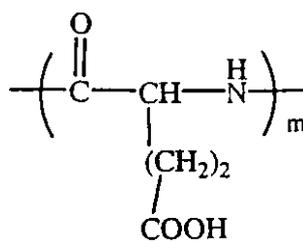
【 0 0 9 4 】

化学式 IX 中の POLYPEPTIDE の特に好ましい構造は以下に示される：

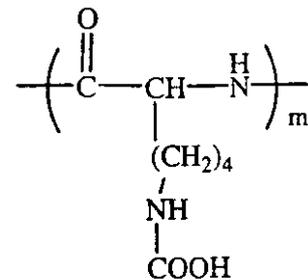
【化 1 1】



ポリ (アスパラギン酸)



ポリ (グルタミン酸)



ポリ (リジン)

10

式中 (m) は化学式 II に関して前記で定義された通りである。

【 0 0 9 5】

E . 生理活性剤

本発明の単分子マルチアームブロックコポリマー中に輸送される生理活性分子又は薬物は、当該ブロックコポリマー構造中に物理的に封入されることができる如何なる生理活性剤でもよい。封入又は被包された当該薬物はそれ自体又は医薬的に受容可能な塩の形態において利用することができる。使用される場合、当該薬物化合物の塩は、薬理的且つ医薬的に受容可能であるが、非医薬的に受容可能な塩は遊離活性化合物を調製するために慣習的に使用することができ、本発明の範囲から除外されるものではない。薬理的且つ医薬的に受容可能な塩は、文献中に詳しく説明される標準的な方法を使用して当該薬物と有機又は無機酸との反応により調製することができる。有用な塩の例は、制限されることなく、以下の酸から調製される：塩化水素、臭化水素、硫酸、硝酸、リン酸、マレイン酸、酢酸、サリチル酸、p - トルエンスルホン酸、酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸、ギ酸、マロン酸、コハク酸、ナフタレン - 2 - スルホン酸、及びベンゼンスルホン酸等。また、医薬的に受容可能な塩はアルカリ金属又はアルカリ土類塩、例えば、カルボン酸基のナトリウム、カリウム、又はカルシウム塩として調製することができる。

20

30

【 0 0 9 6】

疎水性コア領域を含んで成る態様において、マルチアームブロックコポリマー中に封入することができる疎水性薬物分子の例は、制限されることなく、アビエチン酸、アセグラトン、アセナフテン、アセノクマロール、アセトヘキサミド、アセトメロクトール、アセトキシロン、アセチルジギトキシン、アセチレンジプロミド、アセチレンジクリド、アセチルサリチル酸、アラントラクトン、アルドリン、アレキシトールナトリウム、アレスリン、アリルエストレノール、アリルスルフィド、アルプラゾラム、ビス (アセチルサリチル酸) アルミニウム、アンブセタミド、アミノクロセノキサジン (aminochlothenoxazin)、アミノグルテチミド、塩化アミル、アンドロステンジオール、アネトールトリソン (anethole triithone)、アニラジン、アントラリン、アンチマイシン A、アプラスモマイシン、アルセノ酢酸、アシアチコシド (asiaticoside)、アステルニゾール、アウロドックス、アウロチオグリカニド、8 - アザグアニン、アゾベンゼン、バイカレイン、Balsam Peru、Balsam Tolu、バルバン、バキストロピン、ベンダザック、ベンダゾール、ベンドロフルメチアジド、ベノミル、ベンザチン、ベンゼストロール、ベンゾデパ、ベンゾキシキノン、ベンズフェタミン、ベンズチアジド、ベンジルベンゾエート、ベンジルシンナメート、ピプロカトール、ピフェノックス、ピナパクリル、ピオメスメリン、ピサボロール、ピサコジル、ビス (クロロフェノキシ) メタン、ビスマスヨードサブガレート、ビスマスサブガレート、タンニン酸ビスマス、ビスフェノール A、ピチオノール、ボルニル、プロモイソバレレート、塩化ボルニル、ボルニルイソバレレート、サリチ

40

50

ル酸ボルニル、プロジファクム、プロメタリン、プロキシキノリン、プフェキサマック、
 ブタミレート、ブテサル、ブチオベート、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒド
 ロキシトルエン、ヨードステアリン酸カルシウム、カルシウムサッカレート、ステアリン
 酸カルシウム、カボベン酸、カプタン、カルバマゼピン、カルボクロラル、カルボフェノ
 チン、カルボコン、カロテン、カルバクロール、セファエリン、セファリン、チョールム
 ーグラ酸、ケノジオール、キチン、クロルダン、クロルフェナック、クロルフェネトール
 、クロロサロニル、クロロトリアニセン、クロルプロチキセン、クロルキナルドール、ク
 ロモナル (chromonar)、シロスタゾール、シンコニジン、シトラル、クリノフィブレ
 ート、クロファジミンク、クロフィブレート、クロフルカルバン、クロニトレート、クロピ
 ドール、クロリンジオン、クオキサゾラム、コロキソン、コルチコステロン、コウルナク
 ロー (cournachlor)、コウマホス、コウミトエートクレシルアセテート、クリミジン、
 クルホメート、クプロバム、シアメマジン、シ克蘭デレート、シラルバメートシマリ
 ン、シクロスポリンA、シペルメトリル、ダプソン、デフォスファミド、デルタメトリン
 、デオキシコルチコステロン アセテート、デソキシメタソン、デキストロモラミド、
 ジアセタゾト (diacetazoto)、ジアリホル、ジアチモスルホン、デカプトン、ジクロフ
 ルアニ、ジクロロフェン、ジクロロフェナミド、ジコホール、ジクリル、ジクマロール、
 ジエネストロール、ジエチルスチルベストロール、ジフェナミゾール、ジヒドロコディ
 ン エノール アセテート、ジヒドロエルゴタミン、ジヒドロモルフィン、ジヒドロタチ
 ステロール、ジメストロール、ジメチステロン、ジオキサチオン、ジフェナン、N - (1、
 2 - ジフェニルエチル) ニコチナミド、3、4 - ジ - [1 - メチル 6 - ニトロ - 3 - イン
 ドリル] - 1 H - ピロール - 2、5 - ジオン (M N I P D)、ジピロセチル、ジスルファ
 ミド、ジチアノン、ドキセニトイン、ドラゾキソロン、ジュラパチテ (d u r a p a t i
 t e)、エジフェンホス、エモジン、エンフェナム酸、エルボン、エルゴコルニニン、エ
 リスリチル テトラニトレート、エリトロマイシン ステアレート、エストリオール、エサ
 ベリン、エチステロン、エチルビスコーンアセテート (ethyl biscournacetate)、エチル
 ヒドロクブレイン、エチルマンタン カルボキサミド、エウゲノール、エウプロシン、エ
 キサルアミド、フェバルバメート、フェナルアミド、フェンベンダゾール、フェニペント
 ール、フェニトロチオン、フェノフィブレート、フェンクイゾン (fenquizone)、フェ
 ンチオン、フェンブラゾン、フリルピン、フィリキシン酸、フロクタフェニン、フルア
 ニソン、フルメキン、フルオコルチンブチル、フルオキシメステロン、フルロチル、フル
 タゾ
 ラム、フマギリン、5 - フルフチリル - 5 - イソプロピルバルピツール酸、フサフトムギ
 ン (fusaftmgine)、グラフェニン、グルカゴン、グルテチミド、グリブチアゾール、グ
 リセオフルピン、グアヤコールカルボネート、グアヤコールフホスフェート、ハルシノ
 ニド、ヘマトボルフィリン、ヘキサクロロフェン、ヘキセストロール、ヘキセチジン、ヘ
 キセオバルピタル、ヒドロクロロチアジド、ヒドロコドン、イブプロキサム、イデベ
 ノン、
 インドメタシン、イノシトールニアシネート、イオベンザム酸、イオセタム酸、イ
 オジバ
 ミド、イオメグラム酸、イポデート、イソメセプテン、イソノキシン、2 - イソバ
 レリ
 リンダン - 1、3 - ジオン、ジョサマイシン、11 - ケトプロゲステロン、ラウロカ
 プラ
 ム、3 - O - ラウロイルピリドキソル ジアセテート、リドカイン、リンダン、リノレン
 酸、
 リオチロニン、ルセンソマイシン、マンコゼブ、マンデアル酸、イソアミルエステル、
 マ
 ジンドール、メベンダゾール、メブヒドロリン、メビクイン (mebiquine)、メラルソ
 プ
 ロール、メルファラン、メナジオン、メンチルバレレート、メフェノキサロン、メ
 フェ
 テルミン、メフェニトイン、メプリルカイン、メスタノロン、メストラノール、メ
 スル
 フェン、メテルゴリン、メタルラタル (metallatal)、メタンドリオール、メタク
 ア
 ロン、メチルコラントレン、メチルフェニデート、17 - メチルテストステロン、メ
 チ
 プラノ
 ール、ミナプリン、ミヨラル、ナフタロホス、ハグトピジル、ナフタレン、2 - ナ
 フ
 チル
 ラクテート、2 - (2 - ナフチルオキシ) エタノール、ナフチルサリシレート、ナ
 プ
 ロキ
 セン、ネアルバルピタル、ネマデクチン、ニコロサミド、ニコクロネート、ニコ
 モ
 ルフ
 イン、ニフロキン、ヒフロキサジド、ニトラクリン、ニトロメルゾール、ノガラ
 マ
 イ
 シン、
 ノル
 ダ
 ゼ
 バ
 ム、ノルエタンドロロン、ノルゲストリエノン、オクタベリン、オレアンドリ

10

20

30

40

50

ン、オレイン酸、オキサゼパム、オキサゾラム、オキセラジン、オキシタザイン (oxwtha zaine)、オキシコドン、オキシメステロン、オキシフェニスタンアセテート、パクリタキセル、パラヘルクアミド、パラチオン、ペモリン、ペンタエリスリトール テトラニトレート、ペンチルフェノール、ペルフェナジン、フェンカルバミド、フェニラミン、2 - フェニル - 6 - クロロフェノール、フェントネチルバルピツール酸、フェニトイン、フォサロン、0 - フタリルスルファチアゾール、フィロキノン、ピカデックス、ピファミン、ピケトブフェン、ピプロゾリン、ピロザジル、ピバロイルオキシメチル ブチレート、プラフィブリド、プラウノール、ポラプレジック、ポリチアジド、プロベネシド、プロゲステロン、プロメゲストン、プロパニジド、プロパルギト、プロファミン、プロクアゾン、プロチオナミド、ピリメタミン、ピリミサート、ピルビニウム パモエート、ケルセチン、キンボロン、キザロホ - エチル、ラホキサニド、レスシンアミン、ロシベリン、ロンネル、サレン、スカーレットレッド、シッカニン、シマジン、シメトリド、シムバスタチン、ソブゾキサソ、ソラン、スピロノラクトン、スクアレニ、スタノロン、スクラルフェート、スルファベンズ、スルファグアノール、スルファサラジン、スルホキシド、スルピリド、スキシブゾン、タルブタル、テルグイド、テストステロン、テトラプロモクレソール、テランドリン、チアセタゾン、チオコルチシン、チオクト酸、チオキノックス、チオリダジン、チラム、チミル N - イソアミルカルバメート、チオキシダゾール、チオキシロン、トコフェロール、トルシクレート、トルナフテート、トリクロサン、トリフルサル、トリパラノール、ウルソル酸、バリノマイシン、ベラパミル、ピンブラスチン、ビタミン A、ビタミン D、ビタミン E、キセンブシン、キシラジン、ザルトプロフェン、及びゼアラレノンを含む。

10

20

【0097】

帯電した内側コア領域を有するマルチアームブロックコポリマーの態様中に封入することができる帯電性生理活性剤の例は、シスプラチン、リドカイン及びその類似体、トルテロジン、ミトキサントロン、及びイマチニブ (Gleevec) を含む。

【0098】

薬物分子に対する共有結合的な付着に利用できるポリペプチドセグメント又は PEG セグメントのいずれか中に官能基を有する本発明のブロックコポリマーの態様において、ブロックコポリマーの官能基と反応することができる利用可能な官能基を有する如何なる薬物分子も使用できる。このような薬物分子は、パクリタキセル及びその類似体、5 - フルオロウラシル、エトポシド、カンプトテシン及びその類似体、ビノレルビン並びにドキシルピシンを含む。

30

【0099】

III . マルチアームブロックコポリマーを含んで成る医薬組成物

他の観点において、本発明は、ヒトの医学的な使用のための、上述のマルチアームブロックコポリマー、並びに、少なくとも1つのマルチアームブロックコポリマー中に、好ましくはコア分子及びポリペプチドセグメントにより規定される内側コア領域中に封入される生理活性剤医薬製剤及び組成物を供する。前述で示した通り、疎水性製剤の疎水性コアを有するブロックコポリマー構造への取り込みは、疎水性薬物に溶解能を供し、そして患者に対する投与後の循環している薬物の滞留時間を増強することができる。

40

【0100】

上記医薬製剤は、1又は複数の医薬的に受容可能な担体、及び如何なる他の治療成分、安定剤等を含んでよい。当該担体は、当該製剤の他の成分と適合するという意味において、医薬的に受容可能でなければならず、そして、そのレシピエントに対して過度に有害であってはならない。また、本発明の組成物はポリマー賦形剤/添加剤又は担体、例えば、ポリビニルピロリドン、誘導化セルロース、例えば、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、及びヒドロキシプロピルメチルセルロース、F i c o l l (単糖類)、ヒドロキシエチルスターチ (H E S)、デキストレート (例えば、シクロデキストリン、例えば、2 - ヒドロキシプロピル - シクロデキストリン及びスルホブチルエーテル - シクロデキストリン)、ポリエチレングリコール、及びペクチンを含んでよ

50

い。当該組成物は、更に、希釈剤、バッファー、結合剤、崩壊剤、増粘剤、潤滑剤、防腐剤（抗酸化剤を含む）、芳香剤、食味遮蔽剤、無機塩（例えば、塩化ナトリウム）、抗微生物剤（例えば、塩化ベンザルコニウム）、甘味料、帯電防止剤、界面活性剤（例えば、ポリソルベート、例えば、「Tween 20」及び「Tween 80」並びにプルロニクス（pluronics）、例えば、F 6 8 及び F 8 8、B A S F から入手可能）、ソルビタンエステル、脂質（例えば、リン脂質、例えば、レシチン及び他のフォスファチジルコリン、フォスファチジルエタノールアミン、脂肪酸、脂肪酸エステル、ステロイド[例えば、コレステロール]）、及びキレート剤（例えば、E D T A、亜鉛及び他のこれらの適当なカチオン）を含んでよい。本発明に従う組成物における使用に適当な他の医薬賦形剤及び/又は添加剤は、"Remington: The Science & Practice of Pharmacy," 19th ed., Williams & Williams, (1995), the "Physician's Desk Reference," 52nd ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), 及び "Handbook of Pharmaceutical Excipients," 3rd Ed., Ed. A. H. Kibbe, Pharmaceutical Press, 2000 中に挙げられる。 10

【0101】

本発明のブロックコポリマーは、経口的、頬側の、直腸的、局所的、経鼻的、眼的、又は非経口的（腹腔内注射、静脈注射、皮下注射、及び筋肉内注射を含む）投与に適当なものを含む組成物において処方することができる。また、当該ブロックコポリマーは、吸引に適当な製剤としても使用することができる。当該組成物は、単位投与量形態において簡便に提供することができ、そして、薬学界において周知の方法のいずれかにより調製することができる。全ての方法は、中に封入された薬物を伴うブロックコポリマーを担体に会 20
合させる工程を含む。一般的に当該組成物は、溶液又は懸濁液を形成するようにブロックコポリマー/薬物製剤を液体担体と会合させることにより、あるいは、ブロックコポリマー/薬物製剤を、固体、任意的な粒状生成物を形成するために適当な製剤成分と会合させ、そして任意的に、生成物を形状化又は加圧化輸送形態に形状化又は加圧することにより調製される。本発明の固形製剤は、粒状である場合、典型的には、約1ナノメートルから約500ミクロンの範囲の大きさを伴う粒子を含んで成るであろう。一般的に、静脈内投与を意図する固形製剤のために、粒子は、典型的には、直径において約1nmから約10ミクロンの範囲であろう。一般的に吸引を意図する粒子は、約0.1ミクロンから10ミクロン、好ましくは約1ミクロンから5ミクロンの直径を有するであろう。

【0102】

上記製剤中の生理活性剤又は薬物の量は、利用される特異的な薬物、その分子量、及び他の因子、例えば、投与形態、標的患者群、及び他の考慮に依存して変化するであろうし、一般的に、当業者により容易に決定されるであろう。コポリマー製剤中の生理活性剤の量は、治療的有効量の薬物を必要とする患者に対して、当該薬物に関する少なくとも1つの治療的効果を達成するように送達するのに必要な量であろう。実施において、これは、特定の薬物、その活性、治療される状態の重症度、患者の個体群、当該製剤の安定性等に依存して変化するであろう。組成物は一般的に、いずれかの場所に、約1重量%から約30重量%の薬物、典型的には約2重量%から約20重量%の薬物、そして更に典型的には約3重量%から約15重量%の薬物を含み、そして、また当該組成物中に含まれる賦形剤/添加剤の相対量に依存するであろう。より特別には、当該組成物は、典型的には、以下 40
の封入薬物の割合の少なくとも1つを有するであろう：0.5重量%、1重量%、2重量%、3重量%、4重量%、5重量%、6重量%、7重量%、8重量%、9重量%、10重量%、12重量%、14重量%、16重量%、18重量%、20重量%、又はそれ以上。

【0103】

IV. ブロックコポリマーの製造方法

本発明のマルチアームブロックコポリマーは、前もって形成したポリペプチドセグメントをコア分子に共有結合的に付着させること、続いて、前もって形成した親水性ポリマーセグメントを当該ポリペプチドセグメントの末端に付着させることにより調製することができる。2つのポリマーセグメント間、及び当該ポリペプチドセグメントとコア分子間の結合は、利用される官能基に依存するであろう。典型的には、当該結合は、アミド結合で 50

ある。しかしながら、他の結合のタイプ、例えば、カルバメート、エステル、カルボネート、及びアセタールもまた、本発明と離れることなく使用できる。

【0104】

あるいは、1又は複数のポリペプチド又は親水性ポリマーセグメントは、例えば、開環重合技術を使用して、ポリマーのモノマー単位を直接重合することにより調製することができる。例えば、ポリペプチドをポリアミンコア分子に付着させるために、アミノ酸のN-カルボキシアンヒドリドを形成させることができ、そして、適当な溶媒中における開環重合により、ポリアミンコア上で直接的に重合させることができる。適当な溶媒は、ジメチルホルムアミド(DMF)、テトラヒドロフラン(THF)、ジオキサソラン等を含む。アミノ酸のN-カルボキシアンヒドリドを形成する典型的な方法は、実施例1-3において説明される。ポリペプチドをポリアミンコアに付着させるための開環重合技術は、実施例4-5において説明される。-カルボン酸基を保護したアミノ酸を含むアミノ酸試薬は、Sigma-Aldrich Corporation (St. Louis, MO)から商業的に入手できる。

10

【0105】

2番目の工程において、最初の反応の生成物は、塩基、例えば、ナフタレニドカリウム、水素化ナトリウム、ナトリウム若しくはカリウムアルコキシド、又は他の共塩基の存在下において、ポリ(エチレングリコール)セグメントをポリペプチドセグメントに付着させるためにエチレンオキシドのモノマーユニットと反応させる。2番目の工程のために、溶媒、例えば、テトラヒドロフラン、ジオキサソラン、又はトルエンを使用してもよい。

【0106】

また、上記方法の組み合わせは、本発明のブロックコポリマーを形成するために使用することができる。例えば、開環重合は、実施例6において説明するように、ポリペプチドセグメント、次に前もって形成したPEGポリマーの共有結合的付着を形成するために使用することができる。典型的には、当該アミノ酸残基がポリペプチドセグメントのアルファ炭素鎖に沿って懸垂官能基を有する場合、当該官能基は保護形態において維持され、一方当該ポリペプチドは中心コア分子と付着し、そして一方当該親水性ポリマーはポリペプチド鎖の末端に付着する。その後、いかなる懸垂官能基も脱保護することができ、そして、ポリペプチドを生理活性剤とカップリングさせるために使用できる(実施例7-8を参照のこと)。実施例7において示されるように、ベンジル保護基は、当該ポリペプチド鎖に沿って遊離カルボン酸基を供するためにアスパラギン酸残基から除去することができる。当該カルボン酸基は、それから、実施例8において説明されるように、ポリペプチドセグメントと生理活性剤間の共有結合を形成するために、生理活性剤、例えば、5-フルオロウラシルと反応させることができる。

20

30

【0107】

V. マルチアームブロックコポリマーへの薬物の装填方法

生理活性剤又は薬物を本発明のブロックコポリマーのコア領域中に封入させるために、いくつかの方法が存在する。上述の通り明らかに、当該薬物はポリペプチド又はPEG鎖に対する薬物の共有結合的付着により封入されることができる。

【0108】

薬物装填のための他の誘引又は結合力、例えば、疎水性又は電荷の相違に依拠する態様のために、薬物を封入するためのいくつかの方法が存在する。電荷を有している薬物又は金属、例えば、白金を含んでいる薬物の装填のために、当該コポリマー及び薬物を、薬物とコポリマーのポリペプチドセグメント間の電荷誘引又は金属-酸複合体形成を促進させるように、水溶液中で単に混合することができる。

40

【0109】

疎水性薬物を装填するために3つの一般的な方法が存在する。最初の方法において、薬物及びコポリマーを有機溶媒中で共溶解させ、それから、固形生成物を形成するために乾燥させる。当該固形生成物を水溶液中に再溶解させ、そして使用する前に不溶性粒子を除去するためにろ過する。二番目の方法において、薬物をコポリマーの水溶液中に懸濁させ、そして薬物分子とコポリマー構造の疎水性コアをよく接触させるために、数時間超音波

50

処理にかける。それから不溶性粒子を除去するために当該溶液をろ過する。三番目の方法において、当該薬物及びコポリマーを固体形態において混合し、そして溶解物を形成するように約60 まで過熱する。薬物とコポリマーをよく混合させるために、当該溶解物を数時間攪拌する。室温まで冷却した後、当該製剤を即時の使用、更に加工又は保管のために準備する。

【0110】

VI. マルチアームブロックコポリマーの使用法

上に示したように、本発明のマルチアームブロックコポリマーは、疎水性薬物分子を水溶液中に可溶化するために、又は、帯電性薬物分子若しくはポリペプチド又はPEG鎖に共有結合的に付着できる如何なる薬物分子を封入し、そして保護するために使用することができる。結果として、本発明のコポリマー構造は、コポリマー構造中に、特にコポリマーの内側コア領域中に多様な薬物を封入することにより、そして治療的有効量のその中に封入された生理活性剤を伴うマルチアームブロックコポリマーを哺乳類に投与することにより、薬物送達媒体として使用することができる。

10

【0111】

本発明のブロックコポリマーは、コポリマー構造中に封入できる薬物分子に応答性の如何なる状態のための薬物送達媒体として使用することができる。従って、本発明のブロックコポリマーは、ヒトを含む哺乳類における、封入された薬物に応答性の如何なる状態の治療に有用な医薬製剤として使用することができる。治療に好ましい状態は癌である。治療の方法は、哺乳類に対して、治療的有効量のマルチアームブロックコポリマーとその中に封入された薬物を含む組成物又は薬物を投与することを含んで成る。如何なる特異的な製剤の治療的有効投与量も、薬物間、患者間でいくらか変化するであろうし、因子、例えば、患者の状態、ブロックコポリマーの装填能力、及び送達経路に依存するであろう。一般的な提案によると、約0.5から約20mg/kg体重、好ましくは約1.0から約5.0mg/kg体重の薬用量が治療的有効性を有するであろう。他の医薬活性剤と共に投与される場合、より少ないブロックコポリマー/薬物組成物が治療的に有効となり得る。

20

【0112】

上記ブロックコポリマー/薬物組成物は、日当たり1回又は数回投与することができる。治療期間は、日当たり1回で2から3週間の期間とすることができ、そして、数ヶ月間又は数年間継続することすらできる。1日の用量は、個々の薬用量単位又はより少量の薬用量単位の形態における単用量により、あるいは一定の間隔において細分した薬用量の複投与により投与することができる。送達の可能な経路は、頰側的、皮下的、経皮的、筋肉内的、静脈内的、経口的、及び吸入によるものを含む。

30

【0113】

VII. 実験

本発明を説明するために以下の実施例を与えるが、本発明を制限するものとして考えるべきではない。実施例1-3は、ベンジル保護カルボン酸基を有するアミノ酸のN-カルボキシ無水物の形成方法を説明する。実施例4-5は、ポリペプチド鎖をポリアミドコア分子に付着させるための開環重合技術を説明する。実施例6は、中心ポリアミンコア分子に付着したブロックコポリマーアームを形成するために、PEGポリマーセグメントを各ポリペプチド鎖に付着させる方法を説明する。実施例7は、ブロックコポリマーアームのポリペプチドセグメントに沿って位置する懸垂カルボン酸基の脱保護のための技術を説明する。実施例8は、生理活性剤をブロックコポリマーアームのポリペプチドセグメントの当該懸垂カルボン酸基に抱合する方法を説明する。実施例9は、金属含有製剤、シスプラチンとポリ(アスパラギン酸)セグメントのカルボン酸基の複合体を形成する方法を説明する。実施例10は、実施例8において形成された抱合体からの活性剤の放出速度を説明する。

40

【0114】

他に意図されない限り、全てのPEG試薬は、Shearwater Corporation of Huntsville, Alabama から入手可能である。全てのNMRデータは、Bruker により製造された30

50

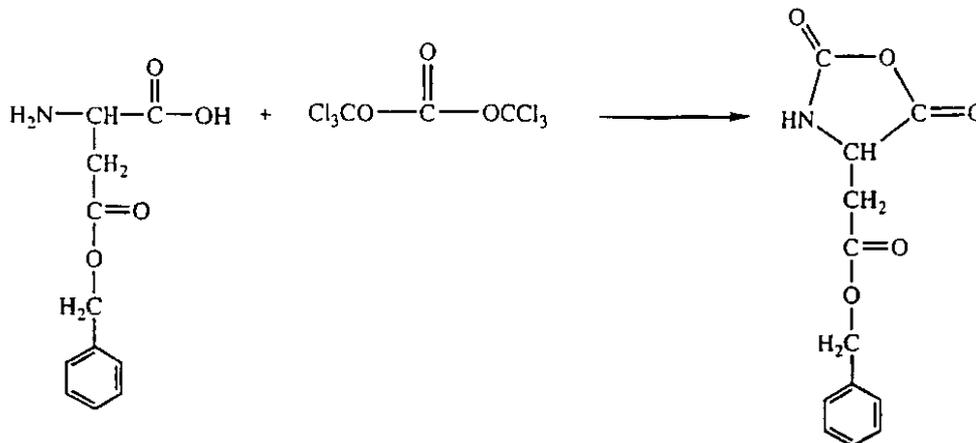
0 MHz NMR スペクトロメーターにより産出した。

【実施例 1】

【0115】

L - アスパラギン酸 - ベンジルエステルの N - カルボキシ無水物 (N C A) の合成

【化 1 2】



20

L - アスパラギン酸 - ベンジルエステル (Sigma-Aldrich) を 2 2 5 m l のテトラヒドロフラン (T H F) 中で懸濁した。当該懸濁液に、2 5 m l の T H F 中に溶解させた約 1 3 g のビス (トリクロロメチル) カルボネートを加え、そして当該混合物を溶液が得られるまで 5 0 で攪拌した。当該溶媒を真空下で除去した。固形残渣が溶解するまで、T H F をゆっくりと 6 5 で固形残渣に加え、ヘキサンを加え、そして当該溶液を - 1 5 までゆっくりと冷却した。生じた粉末をろ過し、当該生成物を 2 回再結晶化させ、そして室温、真空中で乾燥させた。¹ H N M R (D M S O - d ₆) : 2 . 9 8 (d x d , - C H C H ₂ C O O -) , 4 . 6 9 (t , - C H C H ₂ C O O -) , 5 . 1 3 (s , C H ₂ - C ₆ H ₅ -) , 7 . 3 5 (m , 芳香族の H) 。

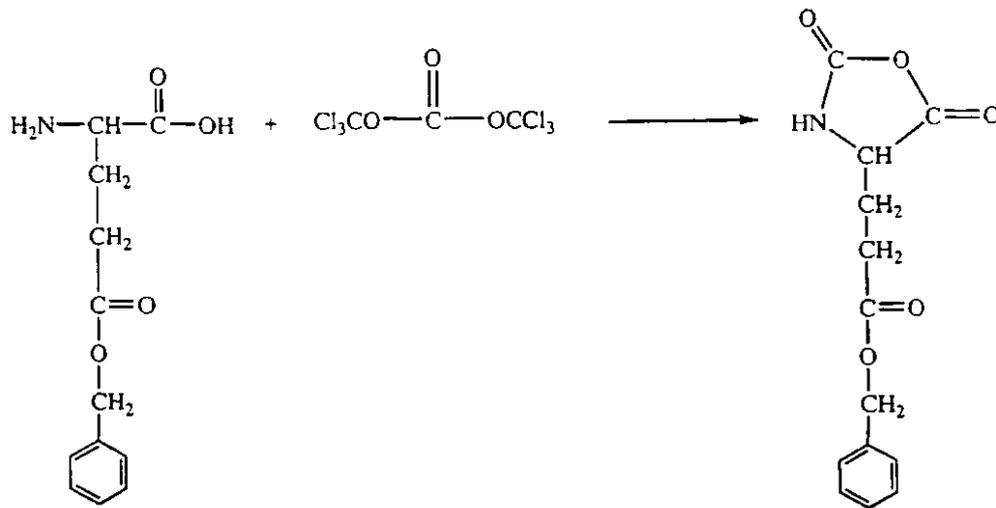
30

【実施例 2】

【0116】

L - グルタミン酸 - ベンジルエステルの N - カルボキシ無水物 (N C A) の合成

【化 1 3】



10

2.5 グラムの L-グルタミン酸 - ベンジルエステル (Sigma-Aldrich) を 250 ml の THF 中で懸濁した。当該懸濁液に、25 ml の THF 中に溶解させた約 12.3 g のビス(トリクロロメチル)カルボネートを加えた。当該混合物を透明な溶液が得られるまで 50 で攪拌し、そして当該溶媒を真空下で除去した。固形残渣を THF / ヘキサンの混合物から 2 回再結晶化させ、そして当該生成物を室温、真空下で乾燥させた。¹H NMR (DMSO-d₆): 1.94 (m, -CHCH₂CH₂COO-), 2.07 (m, -CHCH₂CH₂COO-), 4.45 (t, -CHCH₂CH₂COO-), 5.1 (s, CH₂-C₆H₅-), 7.35 (m, 芳香族の H)。

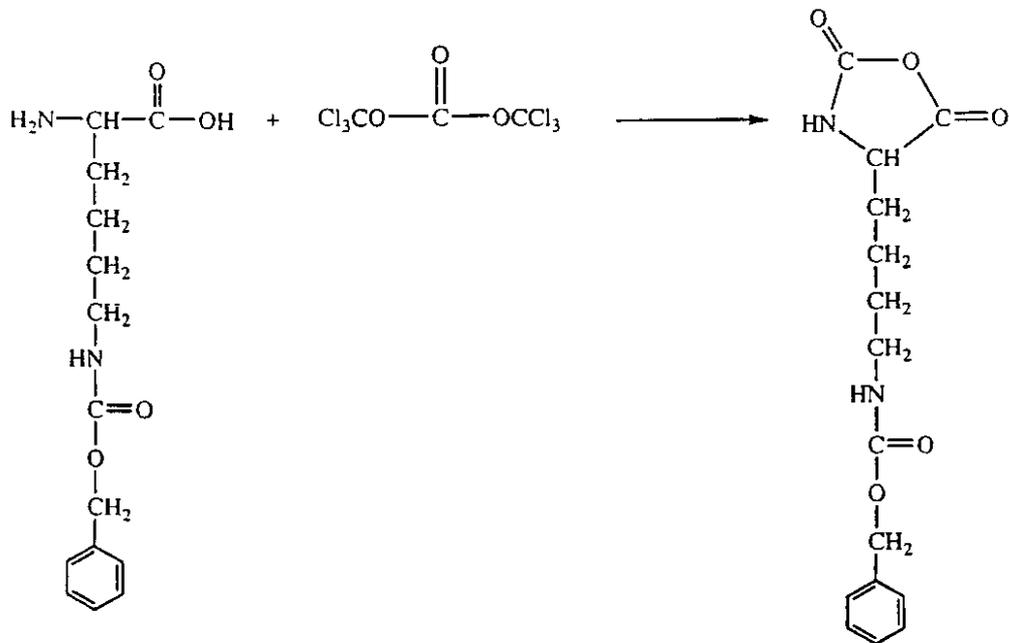
【実施例 3】

【0117】

N - - C b z - リジンの N - カルボキシ無水物の合成

30

【化 1 4】



10

20

30

N - - ベンジルオキシカルボニル - リジン (「N - - C b z - リジン」、50 g、Sigma-Aldrich) を 500 ml の T F H に懸濁した。当該懸濁液に 50 ml の T H F に溶解させた 21.2 g のビス(トリクロロメチル)カルボネートを加えた。当該反応混合物を攪拌しながら 50 まで加熱した。反応混合物が透明になった後(約 15 から 45 分後)、当該溶液を更に 1 時間 50 で攪拌した。溶液を室温まで冷却し、ろ過し、そして当該ろ液を 1,500 ml のヘキサンに加えた。当該ヘキサン溶液を -20 で 2 - 3 時間冷却し、そして生じた沈殿物をろ過により収集し、そして更に T H F / ヘキサンから再結晶により精製した。当該生成物を真空下で乾燥させた。¹H NMR (DMSO - d₆):

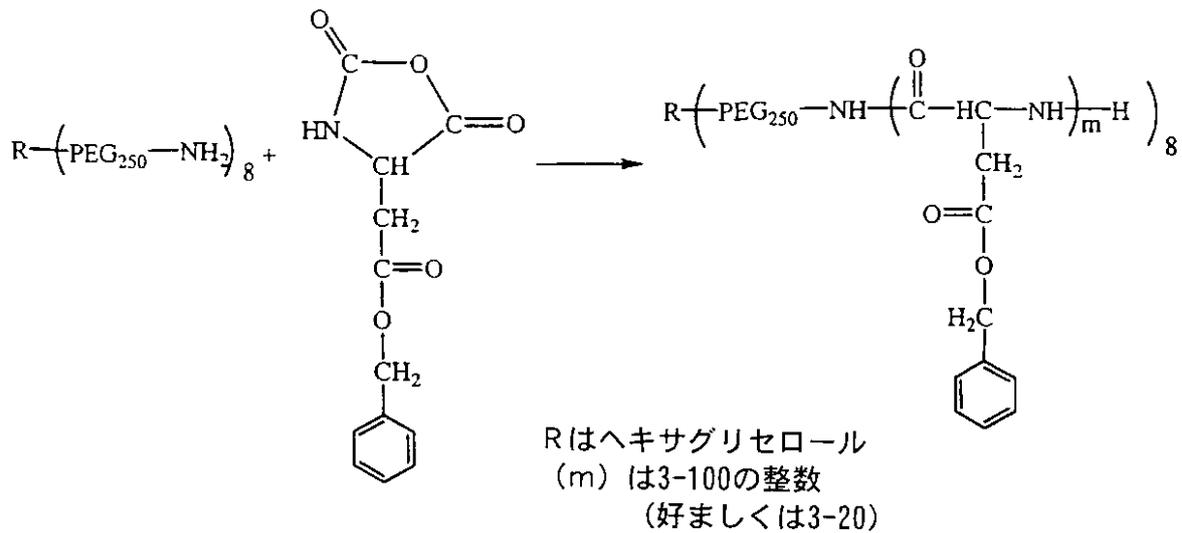
1.33 (m, -CHCH₂CH₂CH₂CH₂COO-), 1.68 (m, CHCH₂CH₂CH₂CH₂COO-), 4.42 (t, -CHCH₂CH₂-), 5.0 (s, CH₂-C₆H₅-), 7.31 (m, 芳香族の H)。

【実施例 4】

【0118】

8 - アームポリ(ベンジルアスパラギン酸)の合成

【化 1 5】



10

20

8 - アーム PEG 250 - アミン (0.5 g、総 MW 2,000、NOF Corporation, Tokyo, Japan) を真空下で 60 °C において 2 時間乾燥させ、それから 10 ml の無水ジメチルホルムアミド (「DMF」) 中に溶解させた。当該溶液に 10 ml の DMF 中のベンジルアスパラギン酸の N - カルボキシ無水物 (10 g) を加えた。当該混合物を 40 °C で一昼夜 N₂ 下において攪拌した。当該混合物をろ過し、そしてそのろ液を 200 ml のエーテルに加えた。当該沈殿物をろ過により収集し、そして真空下で乾燥させた。¹H NMR (DMSO - d₆) : 3.5 (m, PEG), 2.7 (d x d, -CHCH₂COO-), 4.60 (t, -CHCH₂COO-), 5.10 (s, CH₂-C₆H₅-), 7.3 (m, 芳香族の H)。

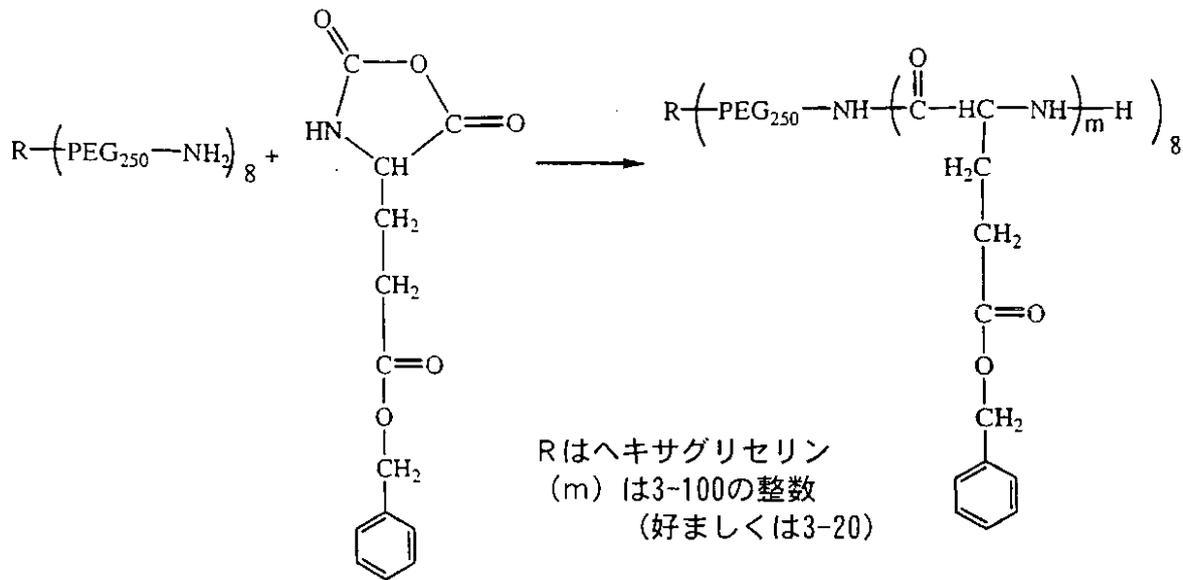
【実施例 5】

30

【0119】

8 - アームポリ (ベンジルグルタミン酸) の合成

【化 1 6】



10

20

8 - アーム PEG₂₅₀ - アミン (0.2 g、総 MW 2,000、NOF Corporation, Tokyo, Japan) を、真空下で全ての溶媒を蒸留することにより 200 ml の CHCl₃ で共沸的に乾燥させた。それから当該固形残渣を 10 ml の無水 DMF 中に溶解させた。当該溶液に 20 ml の DMF 中のベンジルアスパラギン酸の N - カルボキシ無水物 (5.56 g) を加えた。当該混合物を 40 で一昼夜 N₂ 下において攪拌した。当該生成物を 200 ml のエーテルで沈殿させた。当該沈殿物をろ過により収集し、DMF / エーテルで再沈殿させ、そして真空下で乾燥させた。¹H NMR (DMSO - d₆) : 3.5 (m, PEG), 2.0 (m, -CHCH₂CH₂COO-), 4.45 (t, -CHCH₂CH₂COO-), 5.1 (s, CH₂ - C₆H₅-), 7.35 (m, 芳香族の H)。

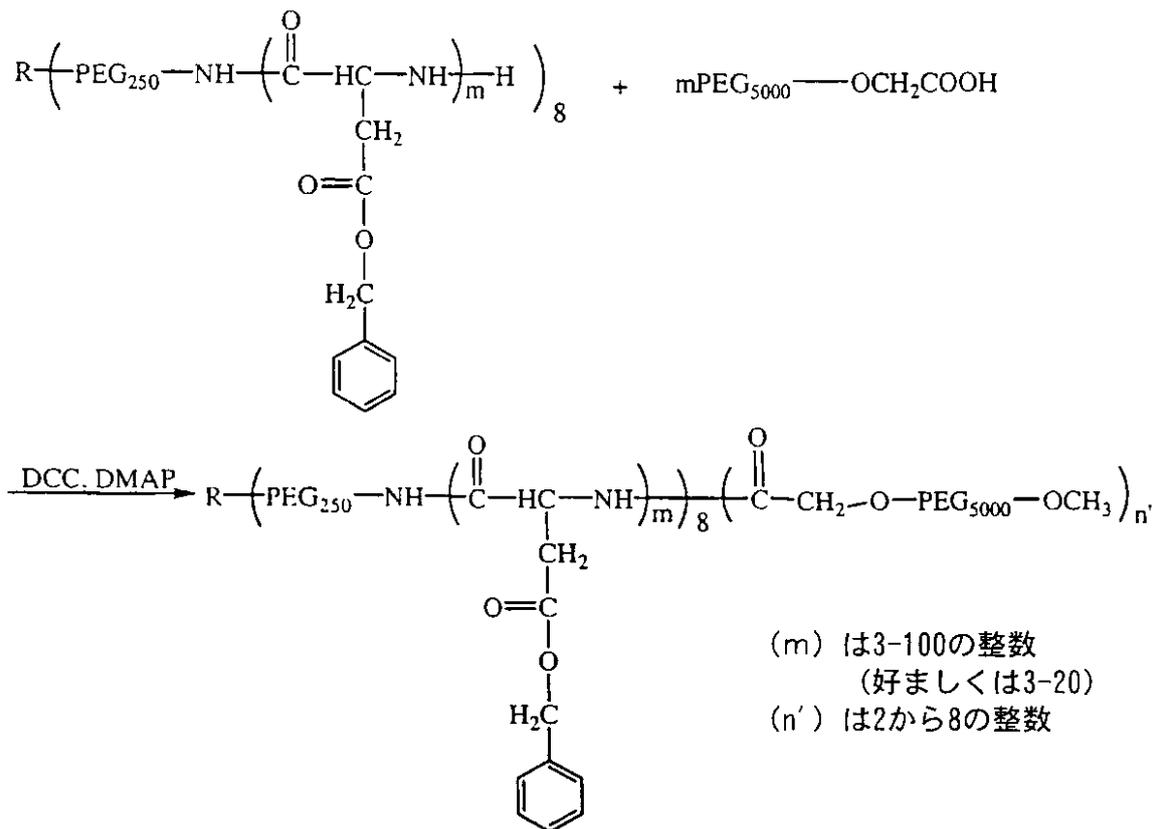
30

【実施例 6】

【0120】

8 - アームポリ (ベンジルアスパラギン酸) - PEG₅₀₀₀ の合成

【化 1 7】



8 - アームポリ(ベンジルアスパラギン酸) (3 g、実施例4に由来)、mPEG₅₀₀₀-CM (3 g、MW 5,000 Da)、ジシクロヘキシルカルボジイミド(「DCC」、1.3 g)、N,N-ジメチルアミノピリジン(「DMAP」、0.3 g)、及び1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(「HOBT」、0.3 g)を、30 mlの無水クロロホルム中に溶解させた。当該溶液に新鮮な蒸留したトリエチルアミン(「TEA」、1 ml)を加え、そして当該反応物を一昼夜攪拌した。当該溶媒を真空下で除去した。当該残渣に60 mlのイソプロピルアルコール(「IPA」)を勢いよく攪拌しながら加えた。当該固形物をろ過により収集し、そしてエーテルで2回洗浄した。当該生成物を真空下で乾燥させた。¹H NMR (DMSO-d₆): 3.5 (m, PEG), 2.7 (d x d, -CHCH₂COO-), 4.60 (t, -CHCH₂COO-), 5.10 (s, CH₂-C₆H₅-), 7.3 (m, 芳香族のH)。

【実施例7】

【0121】

8 - アームポリ(アスパラギン酸) - PEG₅₀₀₀の調製

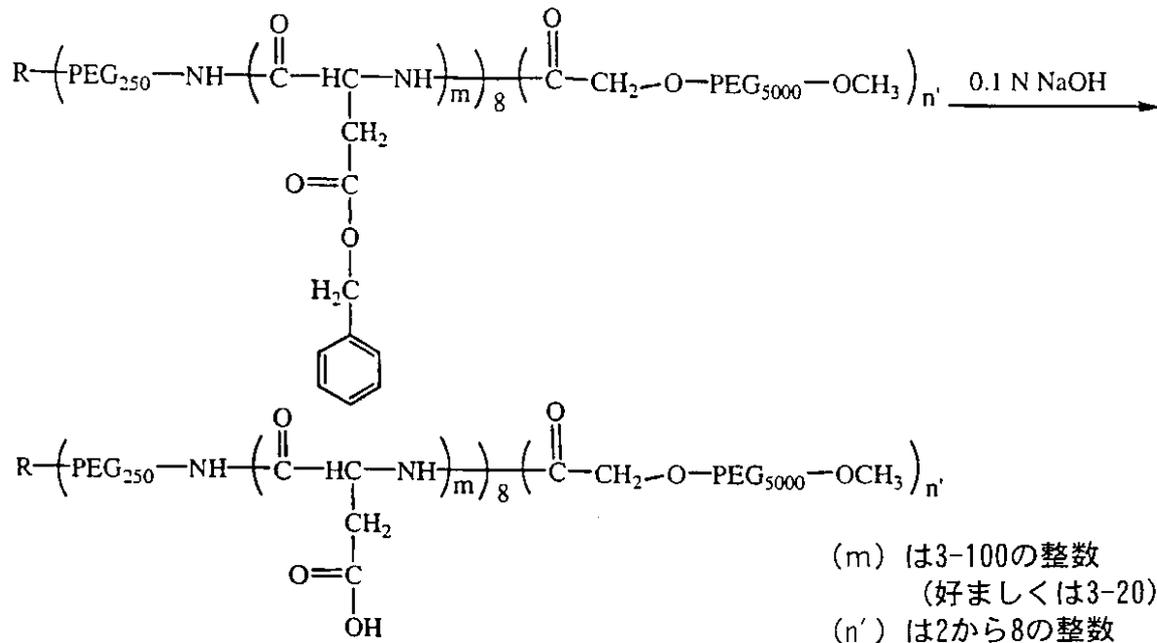
10

20

30

40

【化 1 8】



10

20

8 - アームポリ(ベンジルアスパラギン酸) - PEG₅₀₀₀ (4.5 g、MW 5,000 Da、実施例 6 に由来) を 0.1 N の水酸化ナトリウム溶液中に溶解させ、そして当該溶液を室温で 1 時間攪拌した。pH を 2 - 3 に調整した後、塩を除去するために当該溶液を水に一昼夜透析し、未反応 PEG を除去するために MWCO 50,000 膜で限外ろ過し、水で 1 回洗浄し、それから凍結乾燥させた。¹H NMR (D₂O - d₂) : 3.5 (m, PEG), 2.6 (b, -CHCH₂COO-), 4.36 (b, -CHCH₂COO-)。

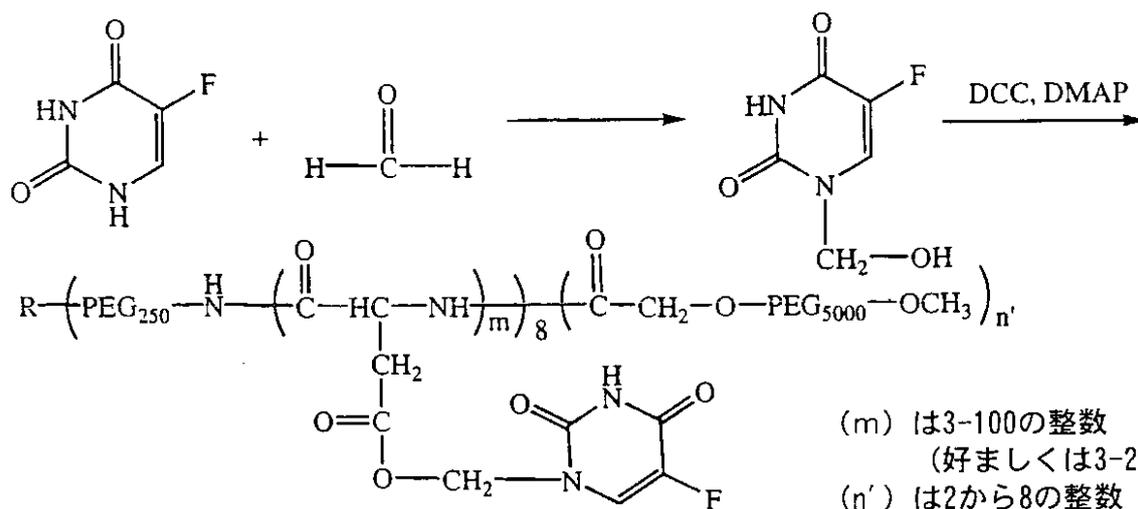
30

【実施例 8】

【0122】

5 - フルオロウラシル (5FU) の 8 - アームポリ(アスパラギン酸) - PEG₅₀₀₀ への抱合

【化19】



10

20

5 - フルオロウラシル (「5 - FU」、1.51 g、Aldrich) を 10 ml のホルマリン (~40%ホルムアルデヒド) に溶解させ、60 で1時間攪拌した。当該溶媒を真空下で1週間除去した。当該残渣に 10 ml の蒸留した DMF を加え、そして当該溶液を使用するまで -15 で保管した。

【0123】

8 - アームポリ (アスパラギン酸) - PEG₅₀₀₀ (0.44 g、実施例7に由来) を 50 で一昼夜真空乾燥させ、そして 20 ml の蒸留したクロロホルムを加えた。ジシクロヘキシルカルボジイミド 1.98 g、4 - ジメチルアミノピリジン 0.276 g、及び 1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール 0.153 g を、丸底フラスコ中、室温で一昼夜真空乾燥させ、そして 10 ml の蒸留した DMF を加えた。両溶液を使用するまで -15 に保管した。5FU 溶液 (3 ml、3.46 mmol) を 8 - アームポリ (アスパラギン酸) - PEG₅₀₀₀ 溶液に加え、次にカルボジイミド溶液を添加し、そして当該混合物を -15 で5日間攪拌した。当該試料をイソプロパノール中で沈殿させた。ろ過後、当該試料をベンゼン中でフリーズドライした。¹H NMR (DMSO-d₆): 3.5 (m, PEG), 2.6 (b, -CHCH₂COO-), 4.4 (b, -CHCH₂COO-), 6.67 (s, -NCH₂O-), 8.12 (s, フルオロウラシル中のCH)。

30

【実施例9】

【0124】

シス - ジアミノジクロロ白金の 8 アーム - ポリ (アスパラギン酸) - PEG₅₀₀₀ への組み込み

40

シス - ジアミノジクロロ白金 (0.012 g、Aldrich) を 20 ml の水に溶解させた。8 - アームポリ (アスパラギン酸) - PEG₅₀₀₀ (0.056 g、実施例7に由来) を 20 ml の水に溶解させた。当該溶液を、アスパラギン酸基の最終濃度が 10 mM となるように希釈した。アスパラギン酸に対する白金の異なる濃度比の3つの製剤を形成するように当該シス - ジアミノジクロロ白金溶液を加えた。当該3つの調製製剤は、1:1 (図4において「1:1」とされる)、1:1.5 (図4において「1:1.5」とされる)、及び 1:2 (図4において「1:2」とされる) のアスパラギン酸に対する白金比を有する。時間に対する 249 nm での UV 吸収の変化は、各製剤についてプロットし、図4において示す。図4において示されるように、249 nm における吸光度は、室温でのインキュベーションタイムで増加し、シス - ジアミノジクロロ白金が、8 - アームポリ (ア

50

スパラギン酸) - PEG₅₀₀₀中のポリ(アスパラギン酸)セグメントと複合体を形成したことを示している。

【実施例10】

【0125】

5 - フルオロウラシル(5FU)と8 - アームポリ(アスパラギン酸) - PEG₅₀₀₀の抱合体の加水分解実験

5 - フルオロウラシル(「5 - FU」)と8 - アームポリ(アスパラギン酸) - PEG₅₀₀₀の抱合体(実施例8に由来)をリン酸バッファー溶液(0.1M、pH7.4)中に溶解させた。当該溶液を室温及び37℃で保管した。時間間隔において、当該溶液をHPLC(ウルトラハイドロゲル250、水)で分析した。50%の5 - FUが放出された時間($t_{1/2}$)は室温において58時間であり、そして37℃において13時間であった。 10

【0126】

本発明の多くの改変及び他の態様は、本発明が先の説明及び関連する表における提示された利点を有することに付随していることを当業者に思いつかせるだろう。従って、本発明は、開示された詳細な説明の態様に制限するべきでなく、改変及び他の態様は追加クレームの範囲内に含まれることが意図されるべきである。本明細書において特定の語が利用されるが、それらは一般的且つ説明的な意味としてのみ使用され、制限することを目的とするものではない。

【図面の簡単な説明】

【0127】

【図1】図1は、本発明の単分子マルチアームブロックコポリマーの一般構造を示す； 20

【0128】

【図2】図2は、帯電性の内側コア領域を有する単分子マルチアームブロックコポリマーの態様の構造を示す；

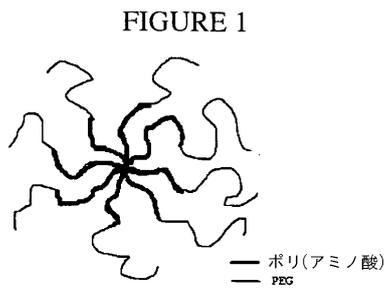
【0129】

【図3】図3は、当該コポリマーのポリペプチドセグメントに共有結合的に付着する生理活性剤を有する単分子マルチアームブロックコポリマーの態様の構造を示す；そして、

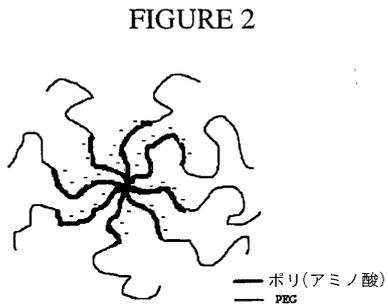
【0130】

【図4】図4は、本発明の8 - アーム単分子ブロックコポリマー含有溶液中のいくつかの濃度のシス - ジアミノジクロロ白金の時間に対する吸光度変化を示す。 30

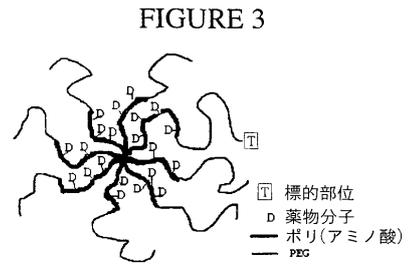
【 図 1 】



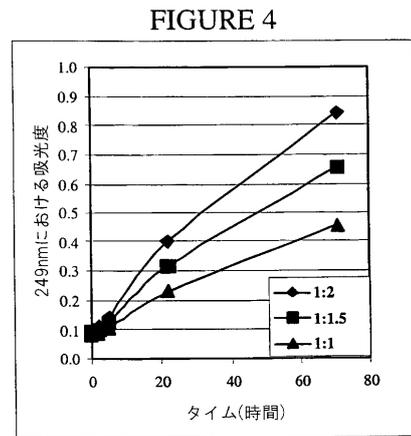
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Internationa application No PCT/US 03/41332
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C08G81/02 C08G83/00 C08L71/02 A61K9/51 A61K47/48		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C08G C08L A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) WPI Data, EPO-Internal, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2002/041898 A1 (RAMASWAMI VARADARAJAN ET AL) 11 April 2002 (2002-04-11) paragraphs '0060!-'0064!', '0066!', '0073!', '0094!; claims 1,6-19; figures; example 21	1-41
P, X	WO 03/055935 A (UNIV TEXAS) 10 July 2003 (2003-07-10) claim 14; examples 4,5	1-41
A	US 5 618 528 A (JONES STEPHEN P ET AL) 8 April 1997 (1997-04-08) the whole document --- -/--	1
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
E earlier document but published on or after the international filing date		*X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 3 May 2004		Date of mailing of the international search report 11/05/2004
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Wirth, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern Application No
PCT/US 03/41332

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>VERONESE F M: "Peptide and protein PEGylation - a review of problems and solutions" BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, vol. 22, no. 5, 1 March 2001 (2001-03-01), pages 405-417, XP004227886 ISSN: 0142-9612 page 408</p> <p>-----</p>	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/JP 03/41332

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2002041898 A1	11-04-2002	US 6391687 B1	21-05-2002
		WO 03009881 A2	06-02-2003
		US 2004009229 A1	15-01-2004
		AU 2458501 A	16-07-2001
		CA 2395132 A1	12-07-2001
		EP 1246608 A1	09-10-2002
		JP 2003520210 T	02-07-2003
		WO 0149268 A1	12-07-2001
		US 2003059465 A1	27-03-2003
WO 03055935 A	10-07-2003	US 2003232968 A1	18-12-2003
		WO 03055935 A1	10-07-2003
US 5618528 A	08-04-1997	AU 1817095 A	11-09-1995
		CA 2183766 A1	31-08-1995
		CN 1146726 A	02-04-1997
		EP 0748226 A1	18-12-1996
		WO 9522991 A2	31-08-1995
		JP 9509443 T	22-09-1997
		US 5853713 A	29-12-1998

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100138210

弁理士 池田 達則

(74)代理人 100082898

弁理士 西山 雅也

(72)発明者 チャオ, シュアン エス.

アメリカ合衆国, アラバマ 35803, ハンツビル, サウスハースト アベニュー 2805

(72)発明者 レン, チョンキュ

アメリカ合衆国, アラバマ 35758, マディソン, アンティーク ローズ ドライブ 140

(72)発明者 惠本 和法

アメリカ合衆国, アラバマ 35802, ハンツビル, ホーガン ドライブ 8454

Fターム(参考) 4C076 AA95 EE41A EE59A FF31

4J031 AA04 AA53 AB06 AC07 AD01 AF03