

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2012-255156

(P2012-255156A)

(43) 公開日 平成24年12月27日(2012.12.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 8 G 65/329 (2006.01)	C O 8 G 65/329	4 C O 7 6
A 6 1 K 47/48 (2006.01)	A 6 1 K 47/48	4 C O 8 4
A 6 1 K 38/21 (2006.01)	A 6 1 K 37/66 G	4 C O 8 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 H O O 6
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	4 H O 4 5
審査請求 有 請求項の数 7 O L (全 130 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2012-151745 (P2012-151745)	(71) 出願人	504274170
(22) 出願日	平成24年7月5日 (2012.7.5)		バイオゲン アイデック エムエー インク.
(62) 分割の表示	特願2009-110274 (P2009-110274) の分割		Biogen Idec MA Inc.
原出願日	平成15年1月17日 (2003.1.17)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O 2142 ケンブリッジ ケンブリッジ センター 14
(31) 優先権主張番号	60/349, 917		14 Cambridge Center
(32) 優先日	平成14年1月18日 (2002.1.18)		, Cambridge, MA 02142 (US)
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100127878
			弁理士 遠藤 淳二

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生物学的に活性化化合物の結合のための部分を有するポリアルキレングリコール

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 ポリアルキレングリコールポリマーなどの親水性ポリマーを、生物活性分子及び表面へ共有結合させた新規なポリアルキレングリコール化合物及びそれらを用いる方法を提供する。

【解決手段】 ポリアルキレングリコールポリマー末端と特定の結合体を含む化合物を単独で、又は、抗ウィルス剤と組み合わせて用いて、多発性硬化症または易感染性ウイルス感染症の治療用の薬物としての使用及び慢性C型肝炎などのウィルス感染を治療する。

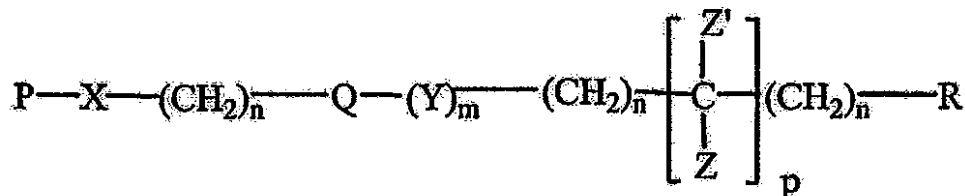
【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

化学式Iに従った構造を有する活性化されたポリアルキレングリコールポリマーであって、
(化学式I)

Formula I



10

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、
XおよびYはそれぞれ、O、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、

QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキル、環状ヘテロアルキル、融合2環式アルキル、架橋2環式アルキル、融合2環式ヘテロアルキル、または架橋2環式ヘテロアルキル、置換または非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換または非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテル、およびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

20

各R'、Z、およびZ'はそれぞれ、水素、直鎖または分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルまたはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀飽和または不飽和アルキルまたはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

30

40

Rはアルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタアクリラート、アクリルアミド、ハロゲン、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される、化学式Iの化合物と生物学的に活性な化合物またはその前駆体の間に結合を形成するのに好適な化学基であって、

mは0または1であって、

各nはそれぞれ、0または1乃至5の整数であって、

pは1、2、または3である、

50

化学式に従った構造を有する活性化されたポリアルキレングリコールポリマー。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の活性化されたポリアルキレングリコールポリマーであって、当該ポリアルキレングリコールポリマーにおいて、Pは、化学式IIであって、
(化学式II)

Formula II:



10

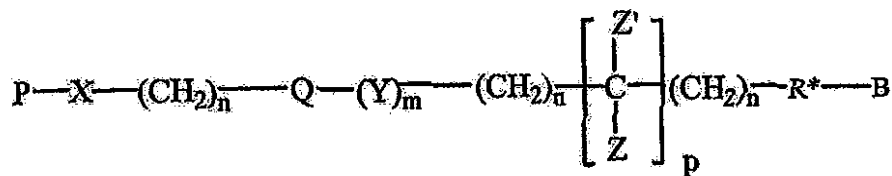
当該化学式において、Eは水素または直鎖もしくは分岐鎖 C_1 乃至 C_{20} アルキル基であって、 a は4乃至10,000の整数である、化学式の構造を有するポリエチレングリコールである、活性化されたポリアルキレングリコールポリマー。

【請求項 3】

化学式XIVに従った構造を有する化合物を含む組成物であって、
(化学式XIV)

20

Formula XIV:



当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、
XおよびYはO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、

30

Qは C_3 乃至 C_8 飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} 飽和または不飽和アルキルまたはヘテロアルカリル基であって、前記置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

40

各R'、Z、およびZ'はそれぞれ水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキルもしくはヘテロアルキル基、 C_3 乃至 C_8 飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} 飽和または不飽和アルキルまたはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、ス

50

ルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

R*は架橋基であって、

Bは生物学的に活性な化合物またはその前駆体であって、

mは0または1であって、

各nはそれぞれ、0、または1乃至5の整数であって、

pは1、2、または3である、

化学式に従った構造を有する、組成物。

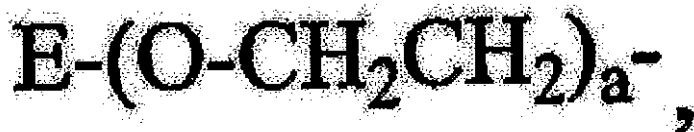
【請求項4】

請求項3に記載の組成物であって、当該組成物において、R*はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される化学基と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される、組成物。

【請求項5】

請求項3に記載の組成物であって、当該組成物において、Pは化学式IIであって、(化学式II)

Formula II:

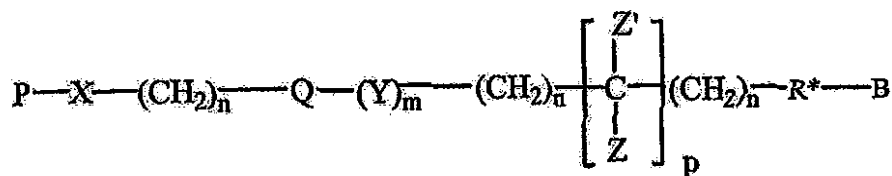


当該化学式においてEは水素、直鎖もしくは分岐鎖C₁乃至C₂₀アルキル基または検出可能なラベルであって、aは4乃至10000の整数である、化学式の構造を有するポリエチレングリコールである、組成物。

【請求項6】

多発性硬化症または易感染性ウイルス感染症の治療用の薬物の製造における化学式XIVの化合物の使用であって、前記化学式XIVが(化学式XIV)

Formula XIV:



で表され、

前記化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、

XおよびYはそれぞれ、O、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、

QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキル、環状ヘテロアルキル、融合2環式アルキル、架橋2環式アルキル、融合2環式ヘテロアルキル、または架橋2環式ヘテロアルキル、置換または非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換または非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテル、およびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

各R'、Z、およびZ'はそれぞれ、水素、直鎖または分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルまたはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀飽和または不飽和アルキルまたはヘテロアルカリル基であって、前記置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

R*は架橋部分であって、

Bは生物学的に活性な組成物またはその前駆体であって、

mは0または1であって、

各nはそれぞれ、0または1乃至5の整数であって、

pは1、2、または3である、

化学式XIVの化合物の使用。

【請求項7】

請求項6に記載の使用であって、前記Bはインターフェロンβである、使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規なポリアルキレングリコール化合物、前記ポリマ及びタンパク質の結合体、並びにこれらの使用に関する。

【背景技術】

【0002】

酸化ポリアルキレンとしても知られるポリアルキレングリコールポリマなどの親水性ポリマを、生物活性分子及び表面へ共有結合させることに、バイオテクノロジー及び医学における関心が持たれている。

【0003】

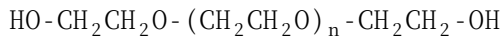
具体的には、多くの研究で、分子の可溶性及び安定性を高め、血中半減期を延ばすための、ポリ（酸化エチレン）（PEO）としても公知のポリ（エチレングリコール）（PEG）結合体の使用に焦点が当てられている。

【0004】

その大半の共通の形では、PEGは線形のポリマであり、両端に水酸基：

【0005】

(化1)



【0006】

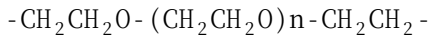
を持つ。

【0007】

上記のポリマ、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とも表すことができ、この場合の記号-PEG-は以下の構造単位：

【0008】

(化2)



【0009】

を表し、但し式中、n は典型的には約4から約10,000までの範囲である。PEG は通常、メトキシ-PEG-OH又はmPEGとして用いられ、但しこの場合一方の末端は相対的に不活性のメトキシ基であり、他方の末端は簡単な化学修飾が可能な水酸基である。加えて、PEGに化学的性質が近い様々な酸化アルキレン(例えば酸化エチレン及び酸化プロピレンなど)のランダムもしくはブロック・コポリマを、その用途の多くでPEGに替えることができる。

【0010】

PEGを目的の分子に結合させるには、少なくとも一方の末端に反応性の官能基を有するPEG誘導体を調製することで、PEGを活性化する場合がある場合がしばしばある。この官能基は、PEGに結合させることになる分子上で利用可能な反応基の種類に基づいて選択される。

【0011】

PEGは、水及び多くの有機溶媒に可溶性の性質を持つポリマであり、毒性が無く、また免疫原性もない。PEGの用途の1つは、当該ポリマを不溶性分子に共有結合させることで、その結果できるPEG-分子「結合体」を可溶性にすることである。例えば、非水溶性の薬物であるパクリタキセルをPEGに結合させると水溶性になることが示されている。Greenwald, et al., J. Org. Chem., 60:331-336 (1995)。

【0012】

生理条件下において、より複雑な分子(プロドラッグ)を分解させることにより薬物を放出させるというプロドラッグ法は、薬物送達の強力な構成要素である。プロドラッグは、例えば、生理条件下で分解可能な結合を介してPEGを薬物に結合させることにより、形成することができる。PEGプロドラッグのin vivoでの寿命はPEGと当該薬物との間の結合を形成している官能基の種類に左右される。一般的には、PEGカルボン酸又は活性化PEGカルボン酸を薬物の上のアルコール基と反応させることにより形成されたエステル結合は、生理条件下で加水分解して薬物を放出することとなるが、他方、薬物の上のアミン基から形成されるアミド及びカルバミン酸結合は安定であり、遊離薬物を放出する加水分解を起こさない。PEGエステルからの、薬物の加水分解による送達は、末端のPEG酸素と、付着させたカルボン酸もしくはカルボン酸誘導体のカルボニル基との間のスペーサ中の結合メチレン基の数を制御することにより、ある程度までは適宜制御することができることが示されている。例えばHarris 氏らは、米国特許第5,672,662号で、対応するエステル誘導体で加水分解反応性が低い方が好ましいような化合物の、カルボキシメチルPEGの代わりとしてのPEGブタン酸及びPEGプロパン酸並びにこれらの活性化した誘導体を解説している。概略的にはPCT公報WO 01/46291を参照されたい。

【0013】

内科療法用のタンパク質性物質の有用性を制限している因子の1つは、これらを非経口投与した場合、これらが身体から短時間で消失してしまうことである。この消失は、プロテアーゼによる分解の結果起きたり、又は、腎臓での濾過など、タンパク質排泄のための通常の経路を用いたクリアランスによって起きたりする。これらの物質の経口投与はさらに問題があるが、それはなぜなら、胃でのタンパク質分解に加え、胃の高い酸性が、これ

10

20

30

40

50

らの物質がそれらに意図された標的組織に達する前にこれらを破壊してしまうからである。これらのタンパク質投与経路に伴う問題は製薬業で公知であり、これらを解決しようと多種の戦略が用いられてきた。タンパク質安定化に取り組む多くの研究が公開されてきた。デキストラン、ポリビニルピロリドン、糖ペプチド、ポリエチレングリコール、及びポリアミノ酸の使用を含め、タンパク質をポリマ物質に結合させる多種の方法が公知である。その結果得られる結合されたポリペプチドは、非経口投与に向けて、それらの生物活性及び水溶性を維持していることが報告されている。

【0014】

特に興味深いのは、ヒト患者を治療する際のインターフェロンの使用に伴う毒性を軽減しながらも、このタンパク質の生物活性が増したことである。インターフェロンは、ウィルス感染や他の抗原性刺激に応答して大半の有核細胞が産生及び分泌する天然発生型小型タンパク質及び糖タンパク質の一ファミリーである。インターフェロンは細胞をウィルス感染に対して耐性にし、細胞に対して幅広い作用を示す。これらは細胞表面上の特定の細胞膜受容体に結合することにより、それらの細胞活性を働かせる。細胞膜に結合したインターフェロンは、複雑な一連の細胞内事象を惹起する。in vitro研究では、これらには、特定の酵素の誘導；細胞増殖の抑制、マクロファージの貪食活性の亢進などの免疫調節活性；標的細胞に対するリンパ球の特異的細胞傷害性の増強；及びウィルス感染細胞におけるウィルス複製の阻害、が含まれることが実証されている。

【0015】

インターフェロンは多種の臨床学的疾患状態の治療でテストされてきた。ヒトインターフェロンベータの使用が、多発性硬化症の治療において確立されている。2つの型の組換えインターフェロン・ベータ：インターフェロンベータ-1a（マサチューセッツ州ケンブリッジ、バイオジェン社AVONEX^(R)）、及びスイス、ジュネーブ、セロノ REBIF^(R)）及びインターフェロン・ベータ-1b（カリフォルニア州リッチモンド、ベルレックス社、BETASERON^(R)）が最近、ヨーロッパ及び米国において、この疾患の治療用に認可を受けている。インターフェロン・ベータ-1aは、天然ヒト遺伝子配列を用いて哺乳動物細胞で作製され、糖付加されているが、他方、インターフェロン・ベータ-1bはアミノ酸17位に遺伝子操作によるシステインからセリンへの置換を含有する改変ヒト遺伝子配列を用いてE. coli細菌で作製され、糖付加はされていない。

【0016】

アルファ及びベータ・インターフェロンの両方を含む非免疫性インターフェロンは、急性及び慢性感染細胞の両方でヒト免疫不全ウィルス（HIV）を抑制することが知られている。Poli and Fauci, 1992, AIDS Research and Human Retroviruses 8(2):191-197を参照されたい。それらの抗ウィルス活性のために、インターフェロン、特にアルファインターフェロンは、C型肝炎ウィルス（HCV）関連疾患の治療において治療薬として大きな注目を集めてきた。Hoofnagle et al., in: Viral Hepatitis 1981 International Symposium, 1982, Philadelphia, Franklin Institute Press; Hoofnagle et al., 1986, New Eng. J. Med. 315:1575-1578; Thomson, 25 1987, Lancet 1:539-541 Kiyosawa et al., 1983, in: Zuckerman, ed., Viral Hepatitis and Liver Disease, Allen K. Liss, New York pp. 895-897; Hoofnagle et al., 1985, Sem. Liv. Dis., 1985, 9:259-263を参照されたい。インターフェロン-ポリマ結合体は、例えば米国特許第4,766,106号、米国特許第4,917,888号、ヨーロッパ特許出願第0 236 987号、ヨーロッパ特許出願第0 510 356号、及び国際出願公報WO 95/13090に解説されている。

【0017】

慢性C型肝炎は潜行性で、ゆっくり進行する疾患であり、生活の質に大きな影響を与える。血液ドナー・プールの品質の向上や、近年の献血に対するHCV検査の実施にもかかわらず、輸血を受ける人の急性感染症の発生率は5乃至10%であると試算されている。Alter et al., in: Zuckerman, ed., Viral Hepatitis and Liver Disease, Allen K. Liss, New York,

10

20

30

40

50

1988, pp. 537542を参照されたい。このように、米国で毎年輸血を受けるほぼ300万人のうちで、約15万人に急性C型肝炎が発症するであろう。C型肝炎に罹患する患者の多くは潜在性又は軽度の疾患を有することになるが、ほぼ50%が、変動性血清トランスアミナーゼの異常や、肝臓生検での炎症性病変を特徴とする慢性疾患状態に進行するであろう。このグループの最高約20%には、肝硬変が発症することになると推定されている。Koretz et al.,

1985, Gastroenterology 88:1251-1254を参照されたい。

【0018】

インターフェロンは、正常及び異常細胞の両方で、DNA複製、並びにRNA及びタンパク質合成を含む多種の細胞機能に影響を与えることが知られている。このように、インターフェロンの細胞傷害作用は腫瘍細胞又はウィルス感染細胞だけでなく、正常な健康細胞でも発現する。その結果、望ましくない副作用がインターフェロン治療中、特に高用量が必要な場合に、起きることがある。インターフェロンの投与が骨髄抑制を起こして、赤血球数及び白血球数や血小板レベルの減少につながることもある。インターフェロンは通常、風邪に似た症状（例えば発熱、疲労感、頭痛及び寒気）、胃腸管の異常（例えば食欲不振、吐き気及び下痢）、めまい及び咳を起こす。しばしば、非PEG化インターフェロン治療に対するHCV患者の持続的応答は低く、治療が、限定はしないが網膜症、甲状腺炎、急性膵炎、及び鬱を含む重篤な副作用を誘発することがある。

【0019】

インターフェロン治療に伴う望ましくない副作用のために、往々にしてインターフェロン治療養生法の治療上の有用性に制約がある。このように、このような治療法の治療上の利点を維持又は向上させながらも、望ましくない副作用を軽減又は消失させる必要がある。

【0020】

発明の概要

本願発明は新規ポリアルキレングリコール化合物、これら化合物の結合体、およびその使用に関連する。

【0021】

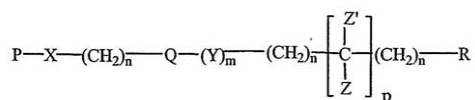
ある局面では、本願発明は化学式Iに従った構造を有する活性化されたポリアルキレングリコールポリマーに関連し、

【0022】

(化学式I)

【化3】

Formula I



【0023】

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、

XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって

、
QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルまたは環状ヘテロアルキル（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラールキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテル、およびアルキルチオからなるグ

ループから選択される、化学基であって、

R'、Z、およびZ'はそれぞれ独立に、水素、直鎖または分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルまたはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基または、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

10

Rは化学式Iの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、

mは0または1であって、

各nは独立に0または1乃至5の整数であって、

pは1、2、または3である、

化学式に従った構造を有する活性化されたポリアルキレングリコールポリマーに関連する。

20

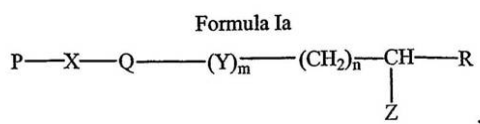
【0024】

別の局面では、本願発明は、化学式Iaであって、

【0025】

(化学式Ia)

【化4】



【0026】

30

当該化学式においてPはポリアルキレングリコールポリマーであって、mは0または1であって、nは0または1乃至5の整数であって、XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、

QはC₃乃至C₈の飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であってある。

化学式に従った構造を有するポリアルキレングリコールポリマーに関連する。置換基が存在する場合には、前記置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテル、またはアルキルチオであってよい。ヘテロシクリルおよびカルボシクリル基には、融合2環式および架橋2環式環構造が含まれる。

40

【0027】

R'およびZは独立に、水素、直鎖または分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルまたはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和または不飽和環状アルキルまたは環状ヘテロアルキル、置換または非置換アリール、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記

50

アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカ
リル基である、化学基である。当該置換基は、ハロゲン、ヒドロキシ、カルボニル、カ
ルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオア
セタート、チオホルマート、アルコキシ、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート
、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スル
ファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリ
ル、アラキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、シリル、エーテル、またはアルキ
ルチオであってよい。

【0028】

キラル炭素を含む化合物は、R立体配置、S立体配置であってよく、またはラセミであっ
てもよい。

10

【0029】

Rは化学式Iの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成
するのに好適な化学基である。

【0030】

ある実施態様では、Rはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセ
タール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート
、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もし
くは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイ
ミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、ス
ルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メ
シル、トシル、またはグリオキサール基である。

20

【0031】

ある実施態様では、Pは化学式IIの構造を有するポリエチレングリコールであって、

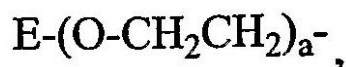
【0032】

(化学式II)

【化5】

Formula II:

30



【0033】

当該化学式において、Eは水素または直鎖もしくは分岐鎖 C_1 乃至 C_{20} アルキル基であって、
aは4乃至10,000の整数である。たとえば、Eはメチル基であってよい。

【0034】

他の実施態様では、Eは、たとえば放射性同位体、蛍光基、リン光基、化学発光基、ま
たは量子ドットなどの検出可能なラベルであってよい。

【0035】

40

さらに他の実施態様では、Eは化学式Iの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその
前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である。たとえば、Eはカルボン酸、エ
ステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキ
シ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換
もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒ
ドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナ
ート、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、ヒドロキシ
スクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル
、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、またはグリオキサール基で
あってよい。

50

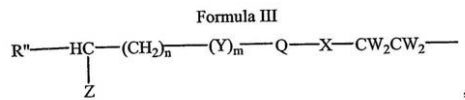
【0036】

さらに別の実施態様では、Eは化学式IIIまたは化学式IVにしたがった構造を有し、

【0037】

(化学式III)

【化6】

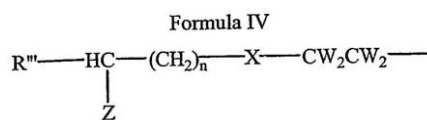


10

【0038】

(化学式IV)

【化7】



【0039】

当該化学式において、Q、X、Y、Z、mおよびnはそれぞれ独立に上述の通り定義され、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルである。

20

【0040】

R'は化学式IIIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であり、およびR'は化学式IVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である。たとえば、R'およびR'はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、またはグリオキサール基であってよい。R'およびR'はRと同一であるかまたは異なっていてよい。

30

【0041】

ある実施態様では、Qは置換または非置換アルカリルである。

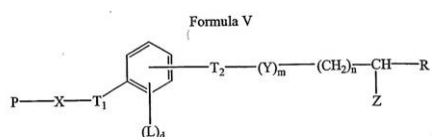
【0042】

別の局面では、本願発明は化学式Vにしたがった構造を有する、活性化されたPGCに関連し、

【0043】

(化学式V)

【化8】



【0044】

当該化学式において、P、X、Y、R'、Z、R、m、およびnは定義の通りであって、T₁およびT₂は独立に存在しないかまたは直鎖もしくは分岐鎖、飽和もしくは非飽和C₁乃至C₂₀のアルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈の飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは

40

50

環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である、化学基である。当該置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、シリル、エーテル、またはアルキルチオであってよい。

【0045】

Lは存在しないか（たとえばdがゼロ）、または芳香環上に1乃至4つ（たとえばnが1乃至4の整数）の T_1 および T_2 置換基に加えてL置換基があつてよく、各Lはそれぞれ直鎖もしくは分岐鎖、飽和もしくは非飽和 C_1 乃至 C_{20} のアルキルもしくはヘテロアルキル基、 C_3 乃至 C_8 の飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。当該置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、シリル、エーテル、およびアルキルチオから選択される。

【0046】

Rは化学式Vの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である。たとえば、Rはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールから選択される。

【0047】

活性化された化学式Vのポリアルキレングリコールポリマーのある実施態様では、Pは化学式IIの構造を有するポリエチレングリコールであつて、

【0048】

(化学式II)

【化9】

Formula II:



【0049】

当該化学式においてEは水素または直鎖もしくは分岐鎖 C_1 乃至 C_{20} アルキル基であつて、aは4乃至10000の整数である。たとえば、Eはメチルであつてよい。他の実施態様では、Eは、放射性同位体、蛍光基、リン光基、化学発光基または量子ドットなどの検出可能なラベルである。

【0050】

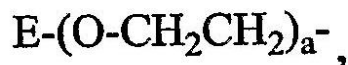
別の局面では、Pは化学式IIの構造を有するポリエチレングリコールであって、

【0051】

(化学式II)

【化10】

Formula II:



【0052】

10

当該化学式において、Eは化学式IIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、aは4乃至10000の整数である。たとえば、Eはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサル基から選択される。

20

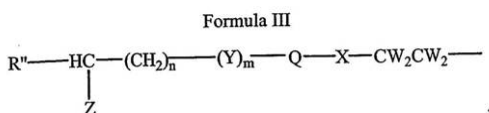
【0053】

別の局面では、Eは化学式IIIまたは化学式IVにしたがった構造を有し

【0054】

(化学式III)

【化11】

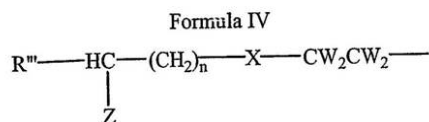


【0055】

30

(化学式IV)

【化12】



【0056】

当該化学式においてQはC₃乃至C₈の飽和もしくは不飽和環状アルキルまたは環状ヘテロアルキル（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、シリル、エーテル、またはアルキルチオであってよい。

40

【0057】

X、Y、Z、m、およびnは定義されたとおりであって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルであって、R' 'は化学式IIIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆

50

体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、R' ' 'は化学式IVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である。

【0058】

ある実施態様では、R' ' およびR' ' 'はRと同一または異なっていてよく、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールから選択される。化学式Vの化合物のある実施態様では、XおよびYが存在する場合には酸素である。

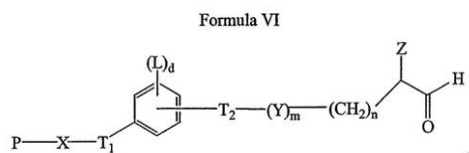
【0059】

別の局面では、本願発明は化学式VIにしたがった構造を有する活性化されたPGCに関連し、

【0060】

(化学式VI)

【化13】



【0061】

当該化学式において、Pはポリエチレングリコールポリマーであって、mは0または1であって、nは0または1乃至5の整数であって、XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、T₁およびT₂は独立に存在しないかまたは直鎖もしくは分岐鎖、飽和もしくは非飽和、C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基である。

【0062】

R' およびZはそれぞれ独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和もしくは非飽和、C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基である。

【0063】

dは0または1乃至4の整数であって、Lはそれぞれ独立にもしくは非飽和、C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈の飽和もしくは非飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である、化学基である。当該置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、シリル、エーテル、またはアルキルチオ基から選択される。

【0064】

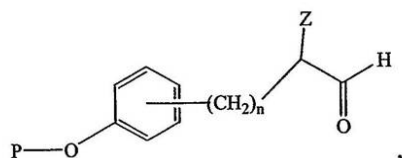
ある実施態様では、化学式VIにしたがった活性化されたPGCは化学式VIIまたは化学式VIII

【0065】

(化学式VII)

【化 1 4】

Formula VII:

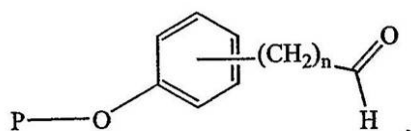


【 0 0 6 6 】

(化学式VIII)

【化 1 5】

Formula VIII:



【 0 0 6 7 】

にしたがった構造を有する。

【 0 0 6 8 】

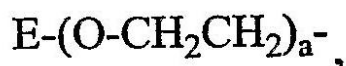
活性化された化学式VIIおよびVIIIのポリアルキレングリコール化合物のある実施態様では、Pは化学式IIの構造を有するポリエチレングリコールであって、

【 0 0 6 9 】

(化学式II)

【化 1 6】

Formula II:



【 0 0 7 0 】

当該化学式においてEは水素、直鎖もしくは分岐鎖 C_1 乃至 C_{20} アルキル基であって、aは4乃至10,000の整数である、化学式の構造を有するポリエチレングリコールである。たとえば、Eはメチルであってよい。他の実施態様では、Eは、たとえば放射性同位体、蛍光基、リン光基、化学発光基、または量子ドットなどの検出可能なラベルであってよい。

【 0 0 7 1 】

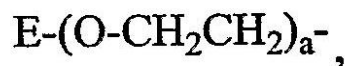
別の実施態様では、Pは化学式IIの構造をするポリアルキレングリコールポリマーであって、

【 0 0 7 2 】

(化学式II)

【化 1 7】

Formula II:



【 0 0 7 3 】

当該化学式において、Eは化学式VIIまたはVIIIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、aは4乃至10000の整数である。たとえば、Eはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタ

10

20

30

40

50

ール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールから選択される。

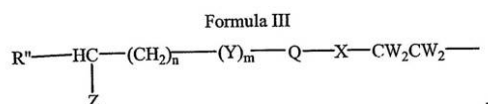
【0074】

別の局面では、Eは化学式IIIまたは化学式IVにしたがった構造を有し、

【0075】

(化学式III)

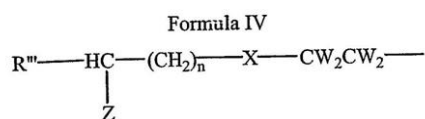
【化18】



【0076】

(化学式IV)

【化19】



【0077】

当該化学式において、QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループであってよい。複素環式および炭素環式基には、融合2環式および架橋2環式環構造が含まれる。

【0078】

X、Y、Z、m、およびnは定義の通りであって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルであって、R'は化学式IIIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、R'は化学式IVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である。

【0079】

ある実施態様では、R'およびR'はRと同一または異なっていてよく、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールから選択される。

【0080】

10

20

30

40

50

活性化された化学式VIIIのポリアルキレングリコール化合物のある実施態様では、当該環状置換基はメタ配置に位置している。別の実施態様では、前記環状置換基はパラ配置に位置している。

【0081】

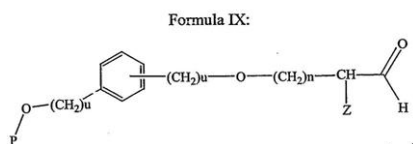
別の実施態様では、当該環置換基はパラ配置に位置している。別の実施態様では、化学式VIにしたがった活性化したポリアルキレングリコール化合物は化学式IXに従った構造を有し、

【0082】

(化学式IX)

【化20】

10



【0083】

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、nおよびuはそれぞれ独立に0または1乃至5の整数であって、Zは水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和もしくは非飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基である。

【0084】

20

化学式IXの化合物のある実施態様では、当該環置換基はメタ配置に位置している。化学式IXの化合物のある別の実施態様では、当該環置換基はパラ配置に位置している。

【0085】

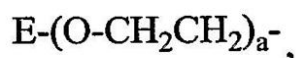
化学式IXの化合物の別の実施態様では、Pは化学式IIの構造を有するポリエチレングリコールであって、

【0086】

(化学式II)

【化21】

Formula II:



30

【0087】

当該化学式において、Eは直鎖もしくは分岐鎖C₁乃至C₂₀アルキル基、検出可能なラベル、または化学式IXの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、aは4乃至10000の整数である。

【0088】

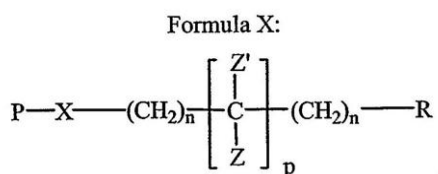
別の局面では、本願発明は化学式Xにしたがった構造を有する活性化されたポリアルキレングリコールポリマーに関連し、

40

【0089】

(化学式X)

【化22】



【0090】

50

当該化学式においてPはポリエチレングリコールポリマーであって、

XはO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、

R'は水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

10

ZおよびZ'は独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、このときZまたはZ'の少なくとも1つは水素ではなく、

20

Rは化学式Xの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、

各nは独立に0または1乃至5の整数であって、

pは1、2、または3である、

ポリアルキレングリコールポリマーである、化学式に従った構造を有する活性化されたポリアルキレングリコールポリマーに関係する。

30

【0091】

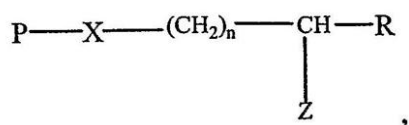
別の局面では、本願発明は化学式Xa

【0092】

(化学式Xa)

【化23】

Formula Xa:



40

【0093】

にしたがった構造を有する活性化されたポリアルキレングリコール化合物 (PGC) に関連する。

【0094】

これらの化合物の場合、PはたとえばPEGまたはmPEGなどのポリアルキレングリコールポリマーである。

【0095】

50

XはO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、R'は、存在する場合には、水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される。

10

【0096】

Zは、水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される。

20

【0097】

Rは化学式Xの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、

nは0または1乃至5の整数であって、XとZ含有炭素の間に0乃至5個のメチレンが存在する。

【0098】

ある実施態様では、Rはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。

30

【0099】

別の実施態様では、Pは化学式IIの構造を有するポリエチレングリコールであって、

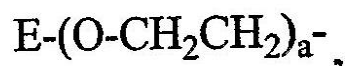
【0100】

(化学式II)

【化24】

40

Formula II:



【0101】

当該化学式においてEは直鎖もしくは分岐鎖C₁乃至C₂₀アルキル基、検出可能なラベルであ

50

って、aは4乃至10000の整数である。さらなる実施態様では、Eはメチルであってもよい。

【0102】

さらに別の実施態様では、Pは化学式IIの構造を有するポリエチレングリコールであって、当該構造においてEは化学式Xの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、aは4乃至10000の整数である、構造を有するポリエチレングリコールである。

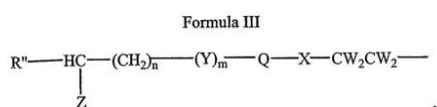
【0103】

さらなる実施態様では、Eはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、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、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。代替的には、Eは化学式IIIにしたがった構造であって、

【0104】

(化学式III)

【化25】



【0105】

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、

XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、

QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラールキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択され、

R'および各Zは独立に上述の定義の通りであって、

mは0または1であって、

各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルであって、

各nは独立に0または1乃至5の整数であって、

R''は化学式IIIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である、化学式にしたがった構造を有してよい。複素環式および炭素環式基には融合2環式および架橋2環式環構造が含まれる。

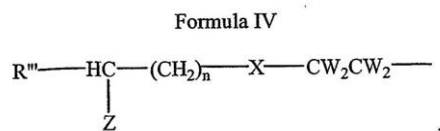
【0106】

よりさらなる実施態様では、Eは化学式IVにしたがった構造であって、

【0107】

(化学式IV)

【化 2 6】



【0108】

当該化学式において、各X、Zおよびnは独立に定義されたとおりであって、

各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルであって、

R' ' 'は化学式IVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である、化学式に従った構造を有する。

10

【0109】

さらなる実施態様では、R' ' 'はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。

20

【0110】

さらなる実施態様では、R' ' 'はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。

【0111】

30

別の実施態様では、Eは検出可能なラベルである。さらに、Eは放射性同位体、蛍光基、リン光基、化学発光基および量子ドットからなるグループから選択されてよい。

【0112】

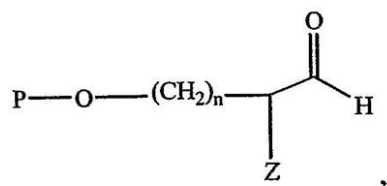
さらなる別の実施態様では、本願発明による活性化されたPGCは化学式XIにしたがった構造であって、

【0113】

(化学式XI)

【化 2 7】

Formula XI:



40

【0114】

当該化学式においてPはポリアルキレングリコールポリマーであって、

nおよびZは定義の通りである、

化学式に従った構造を有する。

50

【0115】

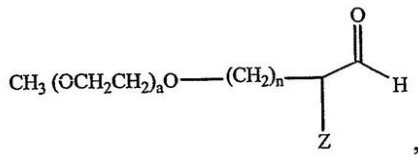
別の実施態様では、活性化されたポリアルキレングリコールは化学式XIIにしたがった構造であって、

【0116】

(化学式XII)

【化28】

Formula XII:



10

【0117】

当該化学式において、n、a、およびZが上述の通り定義された、化学式にしたがった構造を有する。

【0118】

ある実施態様では、Zはメチルであってもよい。一部の実施態様ではnは1である。

【0119】

別の局面では、本願発明は化学式XIIIであって、

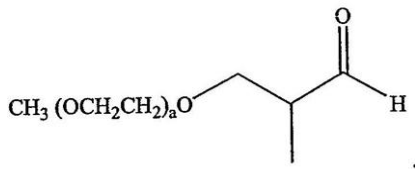
20

【0120】

(化学式XIII)

【化29】

Formula XIII:



30

【0121】

当該化学式においてaは4乃至10000の整数である、化学式にしたがった構造を有する活性化されたポリアルキレングリコール化合物に関係する。

【0122】

本願発明は、本願発明の活性化されたポリアルキレングリコール化合物および生物学的に活性な化合物またはその前駆体の組成物に関連する。各種の実施態様では、生物学的に活性な化合物またはその前駆体は、ペプチド、ペプチド類似体、タンパク質、酵素、小分子、色素、脂質、ヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド類似体、糖質、オリゴ糖、細胞、ウイルス、リポソーム、微粒子、表面、およびミセルからなるグループから選択される。

40

【0123】

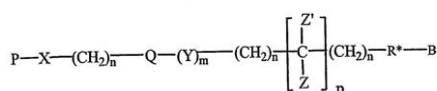
別の局面では、本願発明は化学式XIVであって、

【0124】

(化学式XIV)

【化30】

Formula XIV:



50

【0125】

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、
XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって

、
QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

各R'、Z、およびZ'は独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

R*は連結基であって、

Bは生物学的に活性な化合物またはその前駆体であって、

mは0または1であって、

各nは独立に0または1乃至5の整数であって、

pは1、2、または3である、

化学式に従った構造を有する組成物を提供する。

【0126】

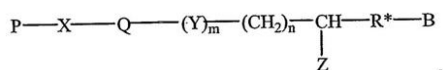
別の局面では、本願発明は化学式XIVaであって、

【0127】

(化学式XIVa)

【化31】

Formula XIVa:



【0128】

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、

XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって

、
QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはは

ヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシ、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシ、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

各R'、およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシ、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシ、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成された連結基であって、

BはRとの共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体であって、

mは0または1であって、

各nは独立に0または1乃至5の整数である、

化学式に従った構造を有する組成物に関係する。

【0129】

ある実施態様では、R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成された連結基である。たとえば、Rはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、ジチオピリジン、ピニルピリジン、ヨードアセトアミド、エポキシド、ヒドロキスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。

【0130】

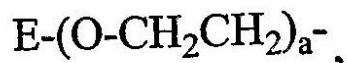
別の実施態様では、Pは化学式IIであって、

【0131】

(化学式II)

【化32】

Formula II:



【0132】

当該化学式において、Eは水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキ

ル基、または検出可能なラベルであって、aは4乃至10,000の整数である、化学式の構造を有するポリエチレングリコールである。この実施態様では、Eはメチルであってよい。

【0133】

さらなる実施態様では、Pは化学式IIであって、

【0134】

(化学式II)

【化33】

Formula II:

10



【0135】

当該化学式においてEは化学式XIVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、aは4乃至10000の整数である、化学式の構造を有するポリエチレングリコールである。ここで、よりさらなる実施態様では、Eは別の生物学的に活性なBへの結合を形成してよい。代替的には、EはBではない生物学的に活性な化合物との結合を形成してもよい。Eはまた、前記の生物学的に活性な化合物Bともう1つの結合を形成してもよい。

20

【0136】

各種の実施例において、Eはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択されてもよい。別の

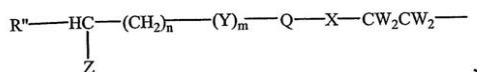
30

【0137】

(化学式III)

【化34】

Formula III



【0138】

当該化学式において各Q、X、Y、Z、m、およびnは独立に定義されたとおりであり、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルであり、R' 'は化学式IIIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である、化学式にしたがった構造を有してよい。

40

【0139】

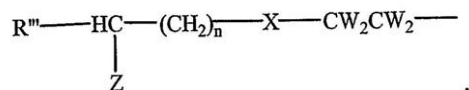
さらなる実施態様では、Eは化学式IVであって、

【0140】

(化学式IV)

【化 3 5】

Formula IV



【0 1 4 1】

当該化学式において、各X、Z、およびnは独立に定義されたとおりであり、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルであり、

R' ' 'は化学式IVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である、
化学式にしたがった構造を有する。

10

【0 1 4 2】

各種の実施態様において、R' ' 'はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、
ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。

20

【0 1 4 3】

同様に、他の実施態様では、R' ' 'はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、
ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。

30

【0 1 4 4】

さらに他の実施態様では、Eは検出可能なラベルである。たとえば、Eは放射性同位体、蛍光基、リン光基、化学発光基、または量子ドットからなるグループから選択されてよい。

【0 1 4 5】

各種の実施態様では、Qは置換または非置換アルカリルである。

【0 1 4 6】

別の局面では、本願発明は化学式XVであって、

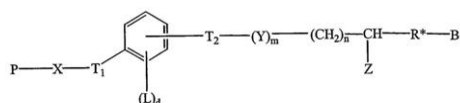
【0 1 4 7】

(化学式XV)

40

【化 3 6】

Formula XV



【0 1 4 8】

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、mは0または1であって、dは0または1乃至4の整数であって、nは0または1乃至5の整数である、
化学式に従った構造を有する組成物に関係する。

【0 1 4 9】

50

XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、T₁およびT₂は独立に、存在しないか、または水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

10

【0150】

各R'およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

20

【0151】

各Lは独立に、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

30

40

【0152】

R*は、Rと生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される連結基であって、Bは、Rとの共役後の生物学的に活性な化合物、またはその前駆体である。

【0153】

たとえば、Rはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、

50

アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される化学基であってよい。

【0154】

別の実施態様では、Pは、化学式IIであって、

【0155】

(化学式II)

【化37】

Formula II:



10

【0156】

当該化学式において、Eが水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキル基または検出可能なラベルであって、aが4乃至10000の整数である、化学式の構造を有するポリエチレングリコールである。この実施例ではEはメチルであってよい。

【0157】

さらに別の実施態様では、Pは、化学式IIであって、

【0158】

(化学式II)

【化38】

Formula II:



20

【0159】

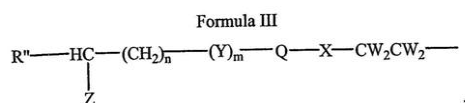
当該化学式においてEが化学式XVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、aが4乃至10000の整数である、化学式の構造を有するポリエチレングリコールである。ここで、Eはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、ジチオピリジン、ビニルピリジン、ヨードアセトアミド、エポキシド、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択されてよい。さらに、Eは、化学式IIIであって、

30

【0160】

(化学式III)

【化39】



40

【0161】

当該化学式において、QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテ

50

ロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

10

各X、Y、Z、m、およびnは独立に定義されたとおりであって、

各Wは独立に水素または C_1 乃至 C_7 アルキルであって、

R' 'は化学式IIIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である、
化学式にしたがった構造を有してよい。

【0162】

別の実施態様では、Eは化学式IVであって、

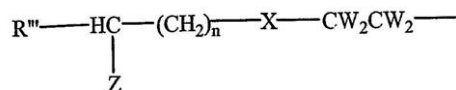
【0163】

(化学式IV)

20

【化40】

Formula IV



【0164】

当該化学式においてX、Z、およびnは定義の通りであって、

各Wは独立に水素または C_1 乃至 C_7 アルキルであって、

R' ' 'は化学式IVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である、
化学式にしたがった構造を有してよい。

30

【0165】

さらに別の実施態様では、R' 'はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。

40

【0166】

同様に、他の実施態様では、R' ' 'はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択されてもよい。

50

【0167】

他の実施態様では、Eは検出可能なラベルである。たとえば、Eは放射性同位体、蛍光基、リン光基、化学発光基、および量子ドットからなるグループから選択されてもよい。

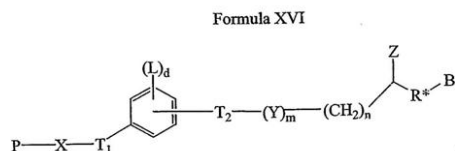
【0168】

別の局面では、本願発明は、化学式XVIであって

【0169】

(化学式XVI)

【化41】



10

【0170】

当該化学式においてmは0または1、nは0または1乃至5の整数であって、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、T1およびT2は独立に、存在しないか、または直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基であって、各R'およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基である、
化学式に従った構造を有する組成物に関する。

20

【0171】

dは0または1乃至4の整数であって、各Lは独立に直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。当該置換基はハロゲン、ヒドロキシ、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシ、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される。

30

【0172】

R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BはRとの共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0173】

たとえば、Rはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。

40

【0174】

ある実施態様では、R*はメチレン基であって、Bはアミノ基を有する生物学的に活性な分子であって、当該メチレン基がB上のアミノ基との結合を形成する。

50

【0175】

ある実施態様では、前記アミンはペプチドのアミノ末端、ペプチドのアミノ酸側鎖のアミン、またはグリコシル化したペプチドのグリコシル化置換基のアミンである。たとえば、前記ペプチドは、たとえばインターフェロン β -1aなどのインターフェロン β などのインターフェロンであってよい。

【0176】

一部の実施態様では、化学式XVIに従った化合物は、化学式XVIIであって、

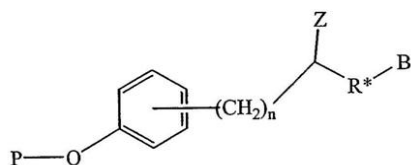
【0177】

(化学式XVII)

【化42】

10

Formula XVII:



【0178】

当該化学式においてPはポリアルキレングリコールポリマーであって、Zは水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキルもしくはヘテロアルキル基であって、nは0または1乃至5の整数である、
化学式に従った構造を有する。

20

【0179】

R^* はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BはRとの共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0180】

たとえば、Rはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、ジチオビリジン、ビニルビリジン、ヨードアセトアミド、エポキシド、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択されてもよい。

30

【0181】

ある実施態様では、化学式XVIIの R^* はメチレン基であって、Bはアミノ基を有する生物学的に活性な分子であって、当該メチレン基がB上のアミノ基との結合を形成する。

【0182】

ある実施態様では、前記アミンはペプチドのアミノ末端、ペプチドのアミノ酸側鎖のアミン、またはグリコシル化したペプチドのグリコシル化置換基のアミンである。たとえば、前記ペプチドは、たとえばインターフェロン β -1aなどのインターフェロン β などのインターフェロンであってよい。

40

【0183】

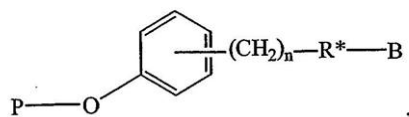
他の実施態様では、化学式XVIに従った化合物は、化学式XVIIIであって、

【0184】

(化学式XVIII)

【化 4 3】

Formula XVIII:



【0185】

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、R*は架橋基であって、Bは生物学的に活性な分子であって、nは1または2である、
化学式に従った構造を有する。ある実施態様では、式XVIIIのR*はメチレン基であって、Bはアミノ基を有する生物学的に活性な分子であり、ここでのメチレン基はBのアミノ基との結合を形成する。

10

【0186】

ある実施態様では、前記アミンはペプチドのアミノ末端、ペプチドのアミノ酸側鎖のアミン、またはグリコシル化したペプチドのグリコシル置換基のアミンである。たとえば、前記ペプチドは、たとえばインターフェロンβ-1aなどのインターフェロンβなどのインターフェロンであってよい。

【0187】

化学式XVIに従った化合物のある実施態様では、Pは化学式IIであって、

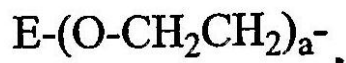
20

【0188】

(化学式II)

【化 4 4】

Formula II:



【0189】

当該化学式においてEは水素、直鎖もしくは分岐鎖C1乃至C20アルキル（たとえばメチル）基、検出可能なラベル、または化学式XVIの化合物と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに適切な化学基であって、aは4乃至10,000の整数である。Eは検出可能なラベルであって、当該ラベルはたとえば放射性同位体、蛍光基、リン光基、化学発光基、または量子ドットなどの検出可能なラベルであってよい。

30

【0190】

別の実施態様であって、当該実施態様においてEが化学式XVIの化合物と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに適切な化学基である実施態様では、Eはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサール基から選択される。

40

【0191】

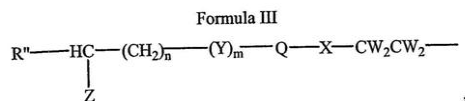
別の実施態様では、Eは化学式IIIまたは化学式IVであって、

【0192】

(化学式III)

50

【化 4 5】

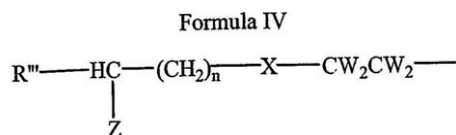


【 0 1 9 3 】

(化学式IV)

【化 4 6】

10



【 0 1 9 4 】

当該化学式において、QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオから選択されてよい、化学式にしたがった構造を有する。

20

【 0 1 9 5 】

X、Y、Z、m、およびnは定義されたとおりであって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルであって、R'は化学式IIIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、R'は化学式IVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である。

30

【 0 1 9 6 】

ある実施態様では、R'およびR'はRと同一であるかまたは異なっていてよく、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサール基から選択される。

40

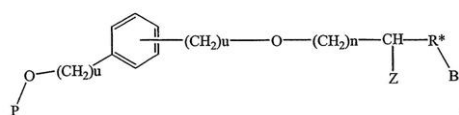
【 0 1 9 7 】

化学式XVIに従った化合物の他の実施態様では、当該化合物は化学式XIXであって、

【 0 1 9 8 】

(化学式XIX)

Formula XIX:

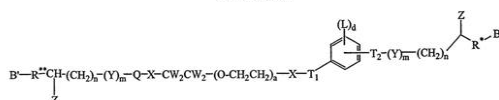


10

20

【化 4 8】

Formula XX:



30

40

50

ル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオから選択される。

【0208】

QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。当該置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルまたはアルキルチオであってよい。各Wはそれぞれ水素またはC₁乃至C₇アルキルである。

10

【0209】

R*およびR**は独立に、それぞれRおよびR'と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB'はRおよびR'との共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0210】

一部の実施態様では、BおよびB'は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB'は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、同一の生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、R*およびR**は同一である。別の実施態様では、R*およびR**は異なる。

20

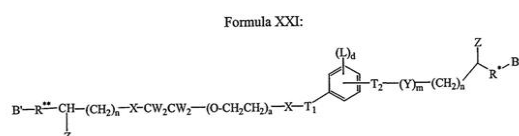
【0211】

別の局面では、本願発明は化学式XXIであって、

【0212】

(化学式XXI)

【化49】



30

【0213】

当該化学式において、mは0または1であって、dは0または1乃至4の整数であって、aは4乃至10,000の整数であって、nは0または1乃至5の整数である、化学式に従った組成物に関する。

【0214】

XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、T₁およびT₂は独立に、存在しないか、または直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基であって、各R'およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基である。

40

【0215】

存在する場合、各Lは独立に直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。当該置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオ

50

エステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオから選択され、各Wは独立に、水素またはC₁乃至C₇アルキルである。

【0216】

R*およびR**は独立に、それぞれRおよびR' 'と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB'はRおよびR' 'との共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

10

【0217】

一部の実施態様では、BおよびB'は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB'は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、同一の生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、R*およびR**は同一である。別の実施態様では、R*およびR**は異なる。

【0218】

別の局面では、本願発明は化学式XXIIであって、

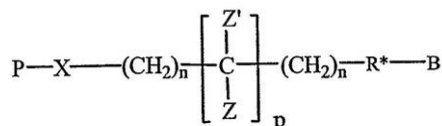
【0219】

(化学式XXII)

20

【化50】

Formula XXII:



【0220】

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、

XはO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、

30

R'は水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

40

各ZおよびZ'は独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀飽和または不飽和アルキルまたはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフ

50

ヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、ZおよびZ'の少なくとも1つは水素ではなく、

R*は架橋基であって、

Bは生物学的に活性な分子であって、

各nは0または1乃至5の整数であって、

pは1、2、または3である、

化学式に従った構造を有する組成物に関係する。

10

【0221】

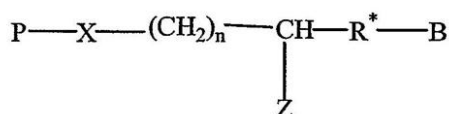
さらなる局面では、本願発明は化学式XXIIaであって、

【0222】

(化学式XXIIa)

【化51】

Formula XXIIa:



20

【0223】

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、

XはO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、nは0または1乃至5の整数である、

化学式にしたがった構造を有する組成物に関係する。

【0224】

R'は水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

30

Zは直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

40

50

R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BはRとの共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0225】

ある実施態様では、R*はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される化学基と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される。

10

【0226】

さらなる実施態様では、Pは化学式IIであって、

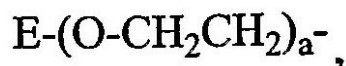
【0227】

(化学式II)

【化52】

Formula II:

20



【0228】

当該化学式においてEは水素、直鎖または分岐鎖C₁乃至C₂₀アルキル基、または検出可能なラベルであって、aは4乃至10,000の整数である、化学式を有するポリエチレングリコールである。

【0229】

別の実施態様では、Pは、化学式IIであって、

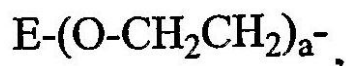
【0230】

(化学式II)

【化53】

30

Formula II:



【0231】

当該化学式においてEは化学式IIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、aは4乃至10000の整数である、化学式に従った構造を有するポリエチレングリコールである。この実施態様では、EはB以外の生物学的に活性な化合物またはその前駆体に結合してもよい。他の実施態様では、Eは生物学的に活性な化合物であるBとさらなる結合を形成してもよい。

40

【0232】

さまざまな実施態様では、Eはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミ

50

ド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択されてもよい。

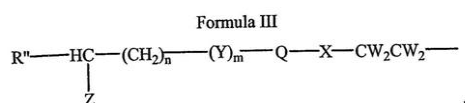
【0233】

他の実施態様では、Eは、化学式IIIであって、

【0234】

(化学式III)

【化54】



10

【0235】

当該化学式においてPはポリアルキレングリコールポリマーであって、

各XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、

QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラリル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

20

R' および各Zは独立に上述の定義の通りであって、

mは0または1であって、

30

各nは独立に0または1乃至5の整数であって、

R' 'は化学式IIIの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基であって、

各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルである、化学式に従った構造を有する。

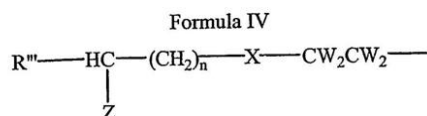
【0236】

さらなる実施態様では、Eは、化学式IVであって、

【0237】

(化学式IV)

【化55】



40

【0238】

当該化学式において、各X、Zおよびnは独立に定義の通りであって、

各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルであって、

R' ' 'は化学式IVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である、

50

化学式にしたがった構造を有する。

【0239】

R' ' 'は化学式IVの化合物と、生物学的に活性な化合物またはその前駆体との間に結合を形成するのに好適な化学基である。

【0240】

さらなる実施態様では、R' ' 'はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。

10

【0241】

さらに他の実施態様では、R' ' 'はカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボナート、アルケニル、アクリラート、メタクリラート、アクリルアミド、置換もしくは非置換チオール、ハロゲン、置換もしくは非置換アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアナート、イソチオシアナート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、およびグリオキサールからなるグループから選択される。

20

【0242】

さらなる実施態様では、Eは検出可能なラベルである。たとえば、Eは放射性同位体、蛍光基、リン光基、化学発光基、および量子ドットからなるグループから選択されてよい。

【0243】

別の実施態様では、R*はメチレンであって、Bはアミンを介して結合した生物学的に活性な分子である。たとえば、前記アミンはペプチドのアミノ末端である。さらなる実施態様では、前記ペプチドはインターフェロンβ-1aなどのインターフェロンである。

30

【0244】

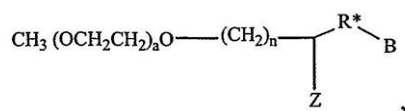
別の実施態様では、本願発明は、化学式XXIIIであって、

【0245】

(化学式XXIII)

【化56】

Formula XXIII:



40

【0246】

当該化学式において、n、a、B、およびZは上述の定義の通りである。あるさらなる実施態様では、Zはメチルであって、nは1である。

【0247】

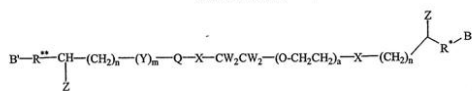
さらなる局面では、本願発明は、化学式XXIVであって、

【0248】

(化学式XXIV)

【化 5 7】

Formula XXIV:



【0 2 4 9】

当該化学式において、mは0または1であって、aは4乃至10,000の整数であって、各nは0または1乃至5の整数である、

化学式に従った組成物に関係する。各XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、各R'およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基であって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルである。

10

【0 2 5 0】

QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

20

【0 2 5 1】

R*およびR**は独立に、それぞれRおよびR'と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB'はRおよびR'との共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0 2 5 2】

一部の実施態様では、BおよびB'は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB'は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、同一の生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、R*およびR**は同一である。別の実施態様では、R*およびR**は異なる。

30

【0 2 5 3】

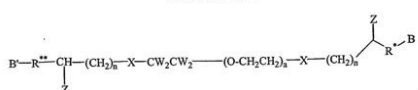
さらなる局面では、本願発明は、化学式XXVであって、

【0 2 5 4】

(化学式XXV)

【化 5 8】

Formula XXV:



40

【0 2 5 5】

当該化学式において、

XはO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、aは4乃至10000の整数であって、各nは独立に0または1乃至5の整数である、化学式にしたがった組成物に関係する。

【0 2 5 6】

各およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基であって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルである。

50

【0257】

R*およびR**は独立に、それぞれRおよびR' 'と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB'はRおよびR' 'との共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0258】

一部の実施態様では、BおよびB'は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB'は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、同一の生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、R*およびR**は同一である。別の実施態様では、R*およびR**は異なる。

【0259】

本願発明はまた、本願発明の組成物とともに薬学的に許容な担体を含む薬学的組成物に関係する。さまざまな実施態様では、前記薬学的組成物は、さらなる生物学的に活性な物質も含む。たとえば、前記の生物学的に活性な物質は、ペプチド、ペプチド類似体、タンパク質、酵素、小分子、色素、脂質、ヌクレオシド、オリゴヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド類似体、糖質、オリゴ糖、細胞、ウイルス、リボソーム、微粒子、表面、およびミセルからなるグループから選択されてもよい。別の実施態様では、前記の生物学的に活性な物質は抗ウイルス物質である。

【0260】

別の局面では、本願発明は、化学式Iの化合物と生物学的に活性な化合物またはその前駆体(B)との反応によって生じる生成物を含む組成物に関する。

【0261】

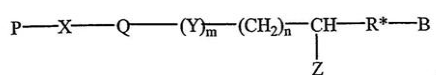
ある実施態様では、前記組成物は、化学式XIVであって、

【0262】

(化学式XIV)

【化59】

Formula XIV:



【0263】

当該化学式において、すべての変数が上述の定義の通りであって、R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体上の反応基との反応によって形成される架橋基であって、Bは生物学的に活性な化合物またはその前駆体である、化学式に従った構造を有する。

【0264】

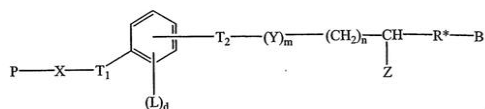
別の局面では、本願発明は、化学式Vの化合物と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって生じる生成物を含む組成物に関する。ある実施態様では、前記組成物は、化学式XVであって、

【0265】

(化学式XV)

【化60】

Formula XV:



【0266】

当該化学式においてすべての変数が上述の定義の通りであって、R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、Bは生物学的に活性な化合物またはその前駆体である、化学式に従った構造を有する。

10

20

30

40

50

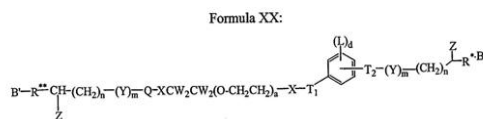
【0267】

さらに別の実施態様では、前記組成物は、化学式XXまたはXXIであって、

【0268】

(化学式XX)

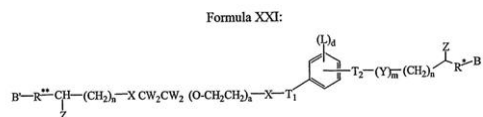
【化61】



【0269】

(化学式XXI)

【化62】



【0270】

当該化学式において、すべての変数が上述の定義の通りであって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルであって、R*はRと生物学的に活性な化合物Bまたはその前駆体上の反応基との反応によって形成される架橋基であって、R**はR' またはR' 'と生物学的に活性な化合物B' またはその前駆体上の反応基との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB' は独立に生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。いくつかの実施態様では、B及びB' は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB' は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、BおよびB' は同一の生物学的に活性な化合物である。さらなる実施態様では、R*およびR**は同一である。他の実施態様では、R*およびR**は異なる。

【0271】

別の局面では、本願発明は化学式VIの化合物と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応による生成物を含む組成物に関連する。

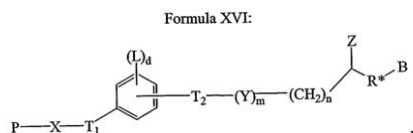
【0272】

別の実施態様では、前記組成物は、化学式XVIであって、

【0273】

(化学式XVI)

【化63】



【0274】

当該化合物において、すべての変数が上述の定義の通りであって、R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体上の反応基との反応によって形成される架橋基であって、Bは生物学的に活性な化合物またはその前駆体である、化学式に従った構造を有する。

【0275】

別の局面では、本願発明は化学式VIIの化合物と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応による生成物を含む組成物に関連する。

【0276】

別の局面では、前記組成物は、化学式XVIIであって、

【0277】

(化学式XVII)

10

20

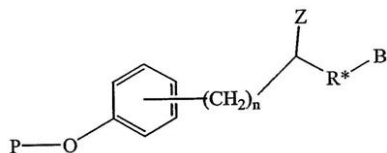
30

40

50

【化 6 4】

Formula XVII:



【 0 2 7 8】

当該化合物において、すべての変数が上述の定義の通りであって、R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体上の反応基との反応によって形成される架橋基であって、Bは生物学的に活性な化合物またはその前駆体である、
化学式に従った構造を有する。

10

【 0 2 7 9】

別の局面では、本願発明は、化学式VIIIの化合物と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応による生成物を含む組成物に関する。

【 0 2 8 0】

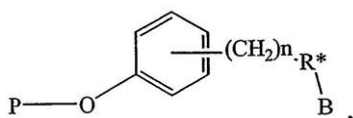
ある実施態様では、前記組成物は、化学式XVIIIであって、

【 0 2 8 1】

(化学式XVIII)

【化 6 5】

Formula XVIII:



20

【 0 2 8 2】

当該化合物において、すべての変数が上述の定義の通りであって、R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体上の反応基との反応によって形成される架橋基であって、Bは生物学的に活性な化合物またはその前駆体である、
化学式に従った構造を有する。

30

【 0 2 8 3】

別の局面では、本願発明は、化学式IXの化合物と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応による生成物を含む組成物に関する。

【 0 2 8 4】

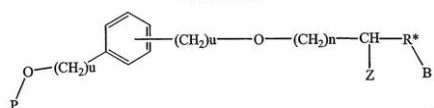
ある実施態様では、前記組成物は、化学式XIXであって、

【 0 2 8 5】

(化学式XIX)

【化 6 6】

Formula XIX:



40

【 0 2 8 6】

当該化学式において、すべての変数が上述の定義の通りであって、R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体上の反応基との反応によって形成される架橋基であって、Bは生物学的に活性な化合物またはその前駆体である、
化学式に従った構造を有する。

【 0 2 8 7】

別の局面では、本願発明は、化学式Xの化合物と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応による生成物を含む組成物に関する。

50

【0288】

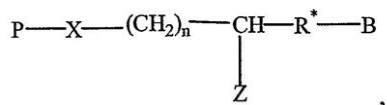
ある実施態様では、前記組成物は、化学式XXIIであって、

【0289】

(化学式XXII)

【化67】

Formula XXII:



10

【0290】

当該化学式において、すべての変数が上述の定義の通りであって、R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体上の反応基との反応によって形成される架橋基であって、Bは生物学的に活性な化合物またはその前駆体である、化学式に従った構造を有する。

【0291】

別の実施態様では、前記組成物は、化学式XXIVであって、

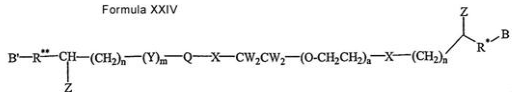
【0292】

(化学式XXIV)

【化68】

20

Formula XXIV



【0293】

当該化学式において、すべての変数が上述の定義の通りであって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルである、化学式に従った構造を有する。R*はRと生物学的に活性な化合物Bまたはその前駆体上の反応基との反応によって形成される架橋基であって、R**はR' 'と生物学的に活性な化合物B' 'またはその前駆体上の反応基との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB' 'は独立に生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。一部の実施態様では、BおよびB' 'は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB' 'は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、BおよびB' 'は同一の生物学的に活性な化合物である。さらなる実施態様では、R*およびR**は同一である。他の実施態様では、R*およびR**は異なる。

30

【0294】

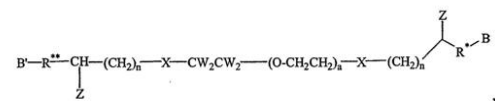
他の実施態様では、前記組成物は、化学式XXVであって、

【0295】

(化学式XXV)

【化69】

Formula XXV:



40

【0296】

当該化学式において、すべての変数が上述の定義の通りであって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルである、化学式に従った構造を有する。

【0297】

R*およびR**は独立に、それぞれRおよびR' 'と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB' 'はRおよびR' 'との共役後

50

の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0298】

一部の実施態様では、BおよびB'は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB'は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、BおよびB'は同一の生物学的に活性な化合物である。さらなる実施態様では、R*およびR**は同一である。他の実施態様では、R*およびR**は異なる。

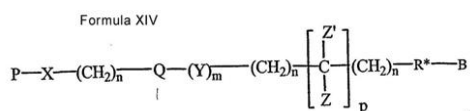
【0299】

別の局面では、本願発明は感受性のウイルス感染症を罹患する患者の治療方法であって、前記患者に、化学式XIVであって

【0300】

(化学式XIV)

【化70】



【0301】

当該化学式において、Pがポリアルキレングリコールポリマーであって、

XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって

、

QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなる

グループから選択される、化学基であって、
各R'、ZおよびZ'は独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

R*は架橋基であって、

Bは生物学的に活性な化合物もしくはその前駆体であって

mは0もしくは1であって、

各nは0もしくは1乃至5の整数であって、

pは1、2、もしくは3である、

化学式に従った構造を有する組成物を有効な量投与するステップを含む、方法に係する。

10

20

30

40

50

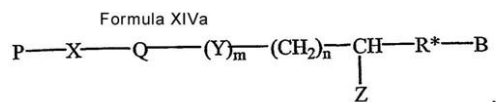
【0302】

さらなる局面では、本願発明は感受性のウイルス感染症を罹患する患者の治療方法であって、前記患者に、化学式XIVaであって

【0303】

(化学式XIVa)

【化71】



10

【0304】

当該化学式においてPはポリアルキレングリコールポリマーであって、mは0または1であって、nは0または1乃至5の整数である、

化学式に従った構造を有する組成物を有効な量投与するステップによって治療する方法に關係する。

【0305】

XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

20

【0306】

各R'およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

30

R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BはRとの共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

40

【0307】

他の実施態様では、Bはインターフェロンなどの生物学的に活性なペプチドである。たとえば、このインターフェロンはインターフェロンβ-1aであってよい。

【0308】

さらなる実施態様では、前記組成物には、小分子抗ウイルス物質、核酸抗ウイルス物質、およびペプチド抗ウイルス物質からなるグループから選択される生物学的に活性な物質

50

も含まれる。たとえば、前記抗ウイルス物質は、リバビリン、レボビリン、3TC、FTC、MB 686、ジドブジン、アシクロビル、ガンシクロビル、ピラミド、VX-497、VX-950、および ISIS-14803からなるグループから選択されてよい。

【0309】

さまざまな実施態様では、治療を必要とする前記ウイルス感染症は慢性C型肝炎である。

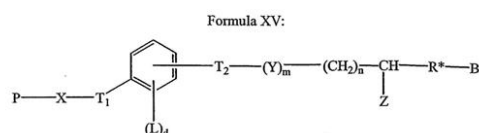
【0310】

さらなる局面では、本願発明は感受性のウイルス感染症を罹患する患者の治療方法であって、前記患者に、化学式XVであって

【0311】

(化学式XV)

【化72】



【0312】

当該化学式において、Pはポリアルキレングリコールポリマーであって、mは0または1であって、dは0または1乃至4の整数であって、nは0または1乃至5の整数であって、XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'である、化学式に従った構造を有する組成物を有効量投与するステップによる方法に関係する。

【0313】

T₁およびT₂は独立に存在しないか、または直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

【0314】

各R'およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

【0315】

各Lは独立に直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置

換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカ
 リルであって、前記アルカルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルも
 しくはヘテロアルカルのアルキル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル
 、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チ
 オアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナ
 ート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、
 スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシ
 クリル、アラキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナ
 ート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であ
 って、

10

R^* は R と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基
 であって、 B は R との共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0316】

さまざまな実施態様では、 B はインターフェロンなどの生物学的に活性なペプチドであ
 る。たとえば、このインターフェロンはインターフェロン β -1aであってよい。

【0317】

別の実施態様では、前記組成物はさらに、小分子抗ウイルス物質、核酸抗ウイルス物質
 、およびペプチド抗ウイルス物質からなるグループから選択される生物学的に活性な物質
 が含まれる。他の実施態様では、リバビリン、レボビリン、3TC、FTC、MB686、ジドブジ
 ン、アシクロビル、ガンシクロビル、ビラミド、VX-497、VX-950、およびISIS-14803から
 なるグループから選択されてよい。さらに、前記ウイルス性感染症は慢性C型肝炎であ
 ってよい。

20

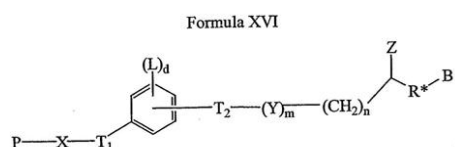
【0318】

さらなる局面では、本願発明は、感受性のウイルス感染症を罹患する患者の治療方法で
 あって、前記患者に、化学式XVIであって

【0319】

(化学式XVI)

【化73】



30

【0320】

当該化学式において、 P はポリアルキレングリコールポリマーであって、 m は0または1であ
 って、 d は0または1乃至4の整数であって、 n は0または1乃至5の整数であって、 X および Y は
 独立に O 、 S 、 CO 、 CO_2 、 COS 、 SO 、 SO_2 、 $CONR'$ 、 SO_2NR' 、または NR' であって、 T_1 および T_2
 は独立に存在しないか、または直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキ
 ルもしくはヘテロアルキル基であって、各 R' および Z は独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖
 、飽和または不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキルもしくはヘテロアルキル基である、
 化学式に従った構造を有する組成物を有効量投与するステップによる方法に関係する。

40

【0321】

各 L は独立に直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキルもしくはヘテロ
 アルキル基、 C_3 乃至 C_8 飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置
 換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカ
 リルであって、前記アルカルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルも
 しくはヘテロアルカルのアルキル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル
 、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チ
 オアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナ
 ート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、
 スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシ
 クリル、アラキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナ
 ート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であ
 って、

50

ート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

【0322】

R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BはRとの共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0323】

10

さまざまな実施態様では、Bはインターフェロンなどの生物学的に活性なペプチドである。たとえば、このインターフェロンはインターフェロンβ-1aであってよい。

【0324】

さらなる実施態様では、前記組成物はさらに小分子抗ウイルス物質、核酸抗ウイルス物質、およびペプチド抗ウイルス物質からなるグループから選択される生物学的に活性な物質が含まれる。他の実施態様では、リバビリン、レボビリン、3TC、FTC、MB686、ジドブジン、アシクロビル、ガンシクロビル、ビラミド、VX-497、VX-950、およびISIS-14803からなるグループから選択されてよい。

【0325】

別の実施態様では、前記ウイルス性感染症は慢性C型肝炎である。

20

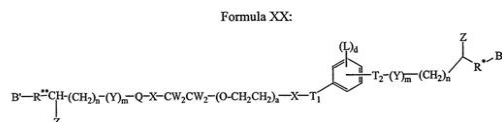
【0326】

さらなる局面では、本願発明は、感受性のウイルス感染症を罹患する患者の治療方法であって、前記患者に、化学式XXであって

【0327】

(化学式XX)

【化74】



30

【0328】

当該化学式において、mは0または1であって、dは0または1乃至4の整数であって、aは4乃至10,000の整数であって、nは0または1乃至5の整数である、化学式に従った構造を有する組成物を有効量投与するステップによる方法に関係する。

【0329】

各XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、T₁およびT₂は独立に存在しないか、または直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基であって、各R'およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基であって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルである。

40

【0330】

各Lは独立に直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシ

50

クリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

【0331】

QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

10

【0332】

R*およびR**は独立に、それぞれRおよびR' 'と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB'はRおよびR' 'との共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

20

【0333】

一部の実施態様では、BおよびB'は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB'は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、同一の生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、R*およびR**は同一である。別の実施態様では、R*およびR**は異なる。

【0334】

各種の実施態様では、Bはインターフェロンなどの生物学的に活性なペプチドである。たとえば、このインターフェロンはインターフェロンβ-1aであってよい。

【0335】

他の実施態様では、前記組成物はさらに、小分子抗ウイルス物質、核酸抗ウイルス物質、およびペプチド抗ウイルス物質からなるグループから選択される生物学的に活性な物質が含まれる。たとえば、前記抗ウイルス性物質は、リバビリン、レボビリン、3TC、FTC、MB686、ジドブジン、アシクロビル、ガンシクロビル、ピラミド、VX-497、VX-950、およびISIS-14803からなるグループから選択されてよい。

30

【0336】

さらに、前記ウイルス性感染症は慢性C型肝炎である。

【0337】

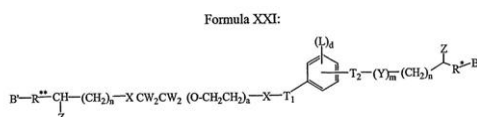
さらなる局面では、本願発明は、感受性のウイルス感染症を罹患する患者の治療方法であって、前記患者に、化学式XXIであって

40

【0338】

(化学式XXI)

【化75】



【0339】

当該化学式において、mは0または1であって、dは0または1乃至4の整数であって、aは4乃至10,000の整数であって、nは0または1乃至5の整数であって、各XおよびYは独立にO、S、

50

CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、T₁およびT₂は独立に存在しないか、または直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基であって、各R'およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基であって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルである、

化学式に従った構造を有する組成物を有効量投与するステップによる方法に関連する。

【0340】

各Lは、独立に直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

10

20

【0341】

R*およびR**は独立に、それぞれRおよびR'と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB'はRおよびR'との共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0342】

一部の実施態様では、BおよびB'は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB'は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、同一の生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、R*およびR**は同一である。別の実施態様では、R*およびR**は異なる。

30

【0343】

さまざまな実施態様では、Bはインターフェロンなどの生物学的に活性なペプチドである。たとえば、Bはインターフェロンβ-1aであってよい。

【0344】

別の実施態様では、前記組成物はさらに、小分子抗ウイルス物質、核酸抗ウイルス物質、およびペプチド抗ウイルス物質からなるグループから選択される生物学的に活性な物質が含まれる。他の実施態様では、リバビリン、レボビリン、3TC、FTC、MB686、ジドブジン、アシクロビル、ガンシクロビル、ビラミド、VX-497、VX-950、およびISIS-14803からなるグループから選択されてよい。

【0345】

さらなる実施態様では、前記ウイルス性感染症は慢性C型肝炎である。

40

【0346】

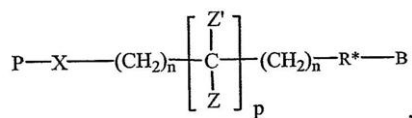
別の局面では、本願発明は感受性のウイルス感染症を罹患する患者の治療方法であって、前記患者に、化学式XXIIであって

【0347】

(化学式XXII)

【化 7 6】

Formula XXII:



【 0 3 4 8 】

当該化学式において、Pがポリアルキレングリコールポリマーであって、

XおよびYは独立にO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって

10

、
R'は水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基であって、

20

各ZおよびZ'は独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択され、ZまたはZ'の少なくとも1つが水素ではない、化学基であって、

30

R*は架橋基であって、

Bは生物学的に活性な化合物であって

mは0もしくは1であって、

各nは0もしくは1乃至5の整数であって、

pは1、2、もしくは3である、

化学式に従った構造を有する組成物を有効な量投与するステップを含む、方法に係する。

40

【 0 3 4 9 】

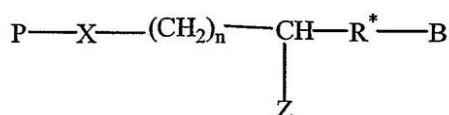
さらに別の局面では、本願発明は感受性のウイルス感染症を罹患する患者の治療方法であって、前記患者に、化学式XXIIaであって

【 0 3 5 0 】

(化学式XXIIa)

【化 7 7】

Formula XXIIa:



【0351】

当該化学式において、Pがポリアルキレングリコールポリマーであって、mは0または1であって、nは0または1乃至5の整数であって、XはO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、R'は水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である、

化学式に従った構造を有する組成物を有効量投与するステップを含む、方法に係する。

【0352】

Zは直鎖もしくは分岐鎖、飽和もしくは不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

【0353】

R*はRと生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BはRとの共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0354】

さまざまな実施態様では、Bはインターフェロンなどの生物学的に活性なペプチドである。たとえば、このインターフェロンはインターフェロンβ-1aであってよい。

【0355】

別の実施態様では、前記組成物はさらに、小分子抗ウイルス物質、核酸抗ウイルス物質、およびペプチド抗ウイルス物質からなるグループから選択される生物学的に活性な物質が含まれる。他の実施態様では、リバビリン、レボビリン、3TC、FTC、MB686、ジドブジン、アシクロビル、ガンシクロビル、ビラミド、VX-497、VX-950、およびISIS-14803からなるグループから選択されてよい。

【0356】

さらなる実施態様では、前記ウイルス性感染症は慢性C型肝炎である。

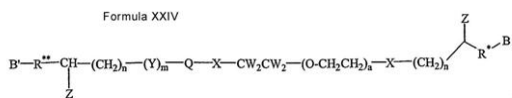
【0357】

さらに別の局面では、本願発明は感受性のウイルス感染症を罹患する患者の治療方法であって、前記患者に、化学式XXIVであって

【0358】

(化学式XXIV)

【化78】



【0359】

10

当該化学式において、mは0または1であって、aは4乃至10,000であって、各nは独立に0または1乃至5の整数であって、X及びYはO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、各R'およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基であって、各Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルである、

化学式に従った構造を有する組成物を有効量投与するステップによる方法に係る。

【0360】

20

QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル（融合2環式および架橋2環式環構造を含む）、置換もしくは非置換アリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、当該置換基がハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシラート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセタート、チオホルマート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホナート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルファート、スルホナート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族基、ヘテロ芳香族基、イミノ、スルファモイル、スルホナート、シリル、エーテルおよびアルキルチオからなるグループから選択される、化学基である。

【0361】

30

R*およびR**は独立に、それぞれRおよびR'と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB'はRおよびR'との共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0362】

一部の実施態様では、BおよびB'は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB'は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、同一の生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、R*およびR**は同一である。別の実施態様では、R*およびR**は異なる。

【0363】

40

さまざまな実施態様では、Bはインターフェロンなどの生物学的に活性なペプチドである。たとえば、このインターフェロンはインターフェロンβ-1aであってよい。

【0364】

前記組成物はさらに、小分子抗ウイルス物質、核酸抗ウイルス物質、およびペプチド抗ウイルス物質からなるグループから選択される生物学的に活性な物質が含まれる。他の実施態様では、リバビリン、レボビリン、3TC、FTC、MB686、ジドブジン、アシクロビル、ガンシクロビル、ピラミド、VX-497、VX-950、およびISIS-14803からなるグループから選択されてよい。

【0365】

さらに他の実施態様では、前記ウイルス性感染症は慢性C型肝炎である。

【0366】

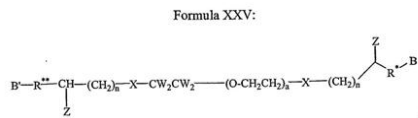
50

さらに別の局面では、本願発明は感受性のウイルス感染症を罹患する患者の治療方法であって、前記患者に、化学式XXVであって

【0367】

(化学式XXV)

【化79】



【0368】

10

当該化学式において、Wは独立に水素またはC₁乃至C₇アルキルであって、aは4乃至10,000の整数であって、各nは独立に0または1乃至5の整数であって、XはO、S、CO、CO₂、COS、S O、SO₂、CONR'、SO₂NR'、またはNR'であって、各およびZは独立に水素、直鎖もしくは分岐鎖、飽和または不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基である、化学式に従った構造を有する組成物を有効量投与するステップによる方法に係る。

【0369】

R*およびR**は独立に、それぞれRおよびR'と生物学的に活性な化合物またはその前駆体との反応によって形成される架橋基であって、BおよびB'はRおよびR'との共役後の生物学的に活性な化合物またはその前駆体である。

【0370】

20

一部の実施態様では、BおよびB'は同種の生物学的に活性な化合物である。他の実施態様では、BおよびB'は異なる生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、同一の生物学的に活性な化合物である。さらに他の実施態様では、R*およびR**は同一である。別の実施態様では、R*およびR**は異なる。

【0371】

さまざまな実施態様では、Bはインターフェロンなどの生物学的に活性なペプチドである。たとえば、このインターフェロンはインターフェロンβ-1aであってよい。

【0372】

前記組成物はさらに、小分子抗ウイルス物質、核酸抗ウイルス物質、およびペプチド抗ウイルス物質からなるグループから選択される生物学的に活性な物質が含まれる。他の実施態様では、リバビリン、レボビリン、3TC、FTC、MB686、ジドブジン、アシクロビル、ガンシクロビル、ビラミド、VX-497、VX-950、およびISIS-14803からなるグループから選択されてよい。

30

【0373】

さらに他の実施態様では、前記ウイルス性感染症は慢性C型肝炎である。

【0374】

本願発明はまた、C型肝炎感染症の疑いのある患者を治療する方法であって、本願発明のいずれかの組成物と抗ウイルス物質の組み合わせを前記患者に投与するステップによる方法にも関連する。さまざまな実施態様では、前記組成物及び前記抗ウイルス性物質は同時に、連続に、または交互に投与する。

40

【0375】

ある実施態様では、前記抗ウイルス物質はリバビリンである。

【0376】

特に他に定義されない限り、本願明細書に用いられた技術用語及び科学用語はすべて、本願発明が属する当業者によって通常に理解されるものと同一の意味を有する。ここに記載のものと同一または等価の方法および物質を本願発明の実施及びテストに用いてよいが、好適な方法及び物質を後述する。本願明細書に記載のすべての公報、特許出願、特許、およびその他の参考文献は、その全体を引用によりここに援用する。争いのある場合には、定義を含めた本願明細書が優先されるだろう。さらに、物質、方法、及び実施例は具体例であって、それらは本願発明を制限することを意図しない。

50

【0377】

本願発明のその他の特徴及び利点は以下の詳細な説明及び特許請求の範囲によって明らかになるだろう。

【0378】

発明の詳細な説明

本発明は、多種の疾患及び異常の治療において有用な化合物及び方法に関する。以下に詳述するように、このような疾患及び異常には、限定はしないが、肝炎感染などのウィルス感染症や、多発性硬化症などの自己免疫疾患を含め、インターフェロン療法による治療に感受性のあるものが特に含まれる。

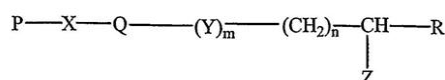
【0379】

本発明の化合物は、式 I

【0380】

【化80】

Formula I:



【0381】

(但し式中、Pはポリアルキレングリコール・ポリマなどの水溶性ポリマである)に基づく新規な活性化ポリアルキレングリコール化合物を包含するものである。このようなポリマの非限定的なリストには、例えばポリプロピレングリコール、ポリオキシエチレン化ポリオール、これらのコポリマ及びこれらのブロック・コポリマなどの他の酸化ポリアルキレンホモポリマが含まれる。適した水溶性及び非ペプチド性ポリマ骨格の他の例には、ポリ(オキシエチル化ポリオール)、ポリ(オレフィンアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、ポリ(ヒドロキシプロピルメタクリルアミド)、ポリ(α-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)並びにこれらのコポリマ、ターポリマ及び混合物、がある。ある実施態様では、本ポリマ骨格は、平均分子量が約200 Da乃至約400,000 Daのポリ(エチレングリコール)又はモノメトキシポリエチレングリコール(mPEG)である。他の関連するポリマも、本発明の実施での使用に適しており、用語PEG又はポリ(エチレングリコールの使用は、この点で包含的であり、排他的でないことを意図していることを理解されたい。用語PEGは、アルコキシ PEG、二官能性PEG、多アームPEG、フォークドPEG、分枝状PEG、側基PEG、又は、その間に分解可能な結合を持つPEGを含め、そのあらゆる形のポリ(エチレングリコール)を包含する。

【0382】

式 I に表される化合物のクラスでは、YとZ含有炭素との間にゼロ乃至5個のメチレン基があり(例えばnがゼロであるか、又は、1乃至5の整数である)、そしてmがゼロ又は1であり、例えばYが存在するか、又は存在しないなど、である。

【0383】

X 及びY は個別に、O、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂、NR'、又はNR'である。いくつかの実施態様では、X 及びYは酸素である。

【0384】

Qは、C₃乃至C₈の飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル(縮合した二環式及び架橋された二環式環構造を含む)、置換もしくは非置換アリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリル(原語 *alkaryl*)であって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。該置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホン

アミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、スルファモイル、スルホネート、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

【0385】

Z置換基は水素、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和の C_1 乃至 C_{20} のアルキル又はヘテロアルキル基、 C_3 乃至 C_8 の飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリル（原語 *alkaryl*）であって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。該置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、スルファモイル、スルホネート、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

10

【0386】

X 又はYが NR' である場合、 R' は、水素、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和の C_1 乃至 C_{20} のアルキル又はヘテロアルキル基、 C_3 乃至 C_8 の飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、よい。該置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、スルファモイル、スルホネート、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

20

30

【0387】

Rは反応性の官能基であり、即ち、式 I の化合物と、生物活性化合物又はその前駆体との間で連結又は結合を形成するように反応できる活性化部分である。このように、Rは、式 I で表される活性化ポリアルキレングリコール化合物（PGC）の「活性化基」を表す。Rは、例えば、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換のアミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、又はグリオキサールであってよい。ある具体的な実施態様では、Rはアルデヒド水和物である。

40

【0388】

文献中のRの具体的な例には、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、第5,468,478号を参照されたい）、アミン（例えばBuckmann et al. *Makromol. Chem.* 182:1379 (1981), Zaplisky et al. *Eur. Polym. J.* 19:1177 (1983)を参照されたい）、ヒドラジド（例えばAndresz et al. *Makromol. Chem.* 179:301 (1978)を参照されたい）、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（Olson et al. i

50

n Poly (ethylene glycol) Chemistry & Biological

Applications, pp 170-181, Harris & Zaplinsky Eds., ACS, Washington, DC,
1997を参照されたい；さらに米国特許第5,672,662号も参照されたい）、スクシンイミ
ジルスクシネート（例えばAbuchowski et al. Cancer Biochem. Biophys.

7:175 (1984) and Joppich et al. Macromol.

Chem. 180:1381(1979)を参照されたい、スクシンイミジルエステル（例えば米国特許第4,
670,417号を参照されたい）、ベンゾトリアゾールカルボネート（例えば米国特許第5
5,650,234号を参照されたい）、グリシジルエーテル（例えばPitha et al. Eur. J.
Biochem. 94:11(1979), Elling et al., Biotech. Appl.

Biochem. 13:354 (1991)を参照されたい、オキシカルボニルイミダゾール（例えばBeauch
amp,

et al., Anal. Biochem. 131:25 (1983). Tondelli et al. J. Controlled Release 1:25
1

(1985)を参照されたい）、p-ニトロフェニルカルボネート（例えばVeronese, et al., Ap
pl.

Biochem. Biotech., 11:141 (1985); 及びSartore et al., Appl. Biochem. Biotech..
27:45 10 (1991)を参照されたい）、アルデヒド（例えばHarris et al. J.

Polym. Sci.. Chem. Ed. 22:341 (1984), 米国特許第 5,824,784, 米国特許第 5,252,714
を参照されたい）、マレイミド（例えばGoodson et al. Bio/Technology 8:343 (1990),
Romani et al. in

Chemistry of Peptides and Proteins 2:29 (1984); 及びKogan,

Synthetic Comm. 22:2417 (1992)を参照されたい）、オルトピリジル-ジスルフィド（例
えばWoghiren, et al. Bioconj. Chem. 4:314 (1993)を参照されたい）、アクリロイル（
例えば Sawhney 15 et al., Macromolecules, 26:581 (1993)を参照されたい）、ビニル
スルホン（例えば米国特許第 5,900,461号を参照されたい）、がある。加えて、本発明の
ポリマの2つの分子をアミノ酸リジンに連結して、二置換リジンを形成することができ、
次にこの二置換リジンをN-ヒドロキシスクシンイミドでさらに活性化して、活性N-スクシ
ンイミジル部分を形成することもできる（例えば米国特許第5,932,462号を参照されたい
）。

【0389】

用語「官能基」、「活性部分」、「活性基」、「活性化基」、「活性化部分」、「反応
性部位」、「化学的反応性基」及び「化学的反応性部分」は当業及びここでは、ある分子
の顕著な、定義可能な部分又は単位を言う場合に用いられている。これらの用語は、化学
の分野では幾分同義であり、ここでは、特徴的な化学的活性を有すると共に、典型的には
他の分子と反応性の分子部分を指すために用いられている。用語「活性」は、官能基に関
して用いられる場合、反応を起こさせるために強触媒や、高度に实际的でない反応条件を
必要とするような基とは対照的に、他の分子の求電性もしくは求核性の基と容易に反応す
る官能基を包含することを意図している。例えば、当業で理解されているように、用語「
活性エステル」には、アミンなどの求核基と容易に反応するエステルが含まれるであろう
。典型的には、活性エステルはアミンと水性溶媒中でもものの数分で反応するであろうが、
メチル又はエチルエステルなどの特定のエステルは、求核基と反応するためには強触媒を
必要とする。

【0390】

上に定義した本発明の化合物においては、官能基Rは、生物活性分子と反応した後に連
結部分R*となって、該活性化ポリアルキレングリコール化合物（PGC）と該生物活性化合
物との間の連結又は結合を形成する。このように、BはPGCへの結合後は生物活性化合物
であり、そしてR*は、活性化PGC上のRが、生物活性化合物B上の一つ以上の反応性官能基と
反応した結果、PGCと生物活性化合物との間に単一の共有結合が生じることにより形成さ
れる部分である。ある好適な実施態様では、R*は、活性化PGC上のRが、生物活性化合物上
の単一の反応性官能基と反応した結果、該活性化ポリアルキレングリコール化合物（PGC

）と該生物活性化合物との間に共有結合が生じることにより形成される部分である。

【0391】

生物活性化合物又はその前駆体（B）は、好ましくは、PGCの存在によって悪影響を受けないとよい。加えて、Bは、活性化PGCと反応して連結を形成できる官能基を天然で有するか、又は、修飾してこのような反応基を含有させる。

【0392】

ここで用いる場合のBの前駆体は、例えば対象への投与など、生理条件と接触したときに、活性もしくはより活性な形に変化するような、それぞれ不活性又は活性の低い形のBである。このような変化は、限定はしないが、保護された形から、保護されていない形のBへの変化を含め、コンホメーション上もしくは構造上の変化であってよい。ここで用いる場合の、このような変化には、本発明の結合型のPGCの遊離が含まれない。

10

【0393】

当業で理解されるように、用語「保護された」とは、特定の反応条件下で化学的反応性の官能基の反応を防ぐ保護基又は部分の存在を言う。保護基は、保護しようとする化学的反応基の種類に応じて様々であろう。例えば、化学的反応基がアミン又はヒドラジドである場合、保護基を、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)から成る群より選択することができる。化学的反応基がチオールである場合、保護基をオルトピリジルジスルフィドにすることができる。化学的反応基がブタン酸又はプロピオン酸などのカルボン酸あるいは水酸基である場合、保護基を、メチル又はエチルなどのベンジル又はアルキル基にすることができる。当業で公知の他の保護基も、

20

【0394】

用語「連結部分」、「連結」又は「リンカ」は、ここでは、化学反応の結果形成される、典型的には共有結合である部分又は結合を言うために用いられている。このように、上記の式中R*-Bで表される連結は、PGC上の活性化部分Rと、生物活性化合物、即ちB'、との間の反応により形成される。R*はB'との反応時にRから形成される連結部分であり、そしてBは、B'上の官能基のRとの反応によりPGCに結合したときの生物活性化合物である。

【0395】

ここで用いる用語「生物活性化合物」とは、対象に投与されたときに1つ以上の生物学的応答又は作用を示すと共に、本発明の少なくとも1つの活性化PGCと反応可能かつ結合可能な反応部分を含有する反応基を含有するような化合物を言う。ここで用いる場合の用語「生物活性分子」、「生物活性部分」又は「生物活性作用物質」とは、限定はしないが、ウィルス、細菌、真菌、植物、動物、及びヒトを含め、あらゆる対象の物理的又は生化学的特性に影響し得るあらゆる物質を意味する。具体的には、ここで用いる場合、生物活性分子には、ヒト又は他の動物の疾患の診断、治癒、軽減、治療、又は予防や、あるいは、ヒト又は動物の身体又は精神の健全を高めることを意図したあらゆる物質が含まれる。

30

【0396】

生物活性分子の例には、限定はしないが、ペプチド、ペプチド類似体、タンパク質、酵素、低分子、染料、脂質、ヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチドの類似体、糖類、オリゴ糖、細胞、ウィルス、リボソーム、マイクロ粒子、表面及びミセル、が含まれる。

40

【0397】

本発明での使用に適した生物活性作用物質のクラスには、限定はしないが、ケモカイン、リンホカイン、抗体、可溶性の受容体、抗腫瘍薬、抗不安剤、ホルモン、成長因子、抗生物質、抗真菌薬、静真菌薬、抗ウィルス薬、ステロイド系薬剤、抗菌剤、殺菌剤、解熱剤、抗糖尿病薬、気管支拡張剤、下痢止め剤、冠状動脈拡張剤、グリコシド、鎮痙薬、抗高血圧薬、抗うつ剤、抗不安剤、他の精神治療薬、コルチコステロイド、鎮痛薬、避妊薬、非ステロイド系抗炎症剤、血糖値降下剤、コレステロール降下剤、抗痙攣薬、他の抗てんかん薬、免疫調節薬、抗コリン作動薬、交感神経抑制薬、交感神経興奮薬、血管拡張薬、抗凝固剤、抗不整脈薬、多種の薬理活性を有するプロスタグランジン、抗利尿薬、睡眠

50

補助剤、抗ヒスタミン剤、抗新形成薬、腫瘍細胞崩壊剤、抗アンドロゲン、抗マラリア剤、抗ライ病薬、及び多種の他の薬剤、が含まれる。それぞれを引用をもってここに援用することとするGoodman and Gilman's The Basis of Therapeutics (Ninth Edition, Pergamon Press, Inc., USA, 1996) 及びメルク・インデックス(Thirteenth Edition, Merck & Co., Inc., USA, 2001)を参照されたい。

【0398】

生物活性化合物には、その現在の形で生物学的応答を示す化合物、又は、その現在の形からその構造の化学的転化の結果として生物学的応答を示す化合物、が含まれる。例えば、生物活性化合物には、開裂したときに生物学的応答を示す化合物になるような、保護基を含有する化合物が含まれるであろう。このような開裂は、例えば、内因性酵素との当該化合物の *in vivo*での反応の結果であっても、又は、本発明の活性化PGCとのその反応を含め、化合物の投与前反応の結果であってもよい。更なる例として、生物活性化合物には、*in vivo*又は*ex vivo*で立体的変形を起こして、生物学的応答又は作用を示す化合物を形成するような化合物も含まれるであろう。

10

【0399】

生物活性化合物は、典型的に、活性化PGCの共有結合が実現可能な複数の反応部位を含有する。例えば、アミン基はアシル化を起こすことができ、スルフヒドリル基は付加反応及びアルキル化を起こすことができ、カルボニル及びカルボキシル基はアシル化を起こすことができ、そしてアルデヒド及び水酸基はアミン化及び還元的アミン化を起こすことができる。これらの反応のうちの一つ以上を、本発明のポリアルキレングリコール修飾生物活性化合物の調製に用いることができる。加えて、生物活性化合物を修飾して、このような反応及びその結果の活性化PGCへの結合が容易に起きるように、反応性部分を当該化合物上に形成することもできる。

20

【0400】

当業者であれば、活性化PGCの生物活性化合物への結合を容易に起こさせるために利用できる多くの反応機序を認識しているであろう。例えば活性化部分Rがヒドラジド基である場合、それを、生物活性化合物上のスルフヒドリル、糖、及びカルボニル部分に（これらの部分が酸化を起こしてアルデヒドを生じた後に）共有結合させることができる。ヒドラジドである活性化部分 (R)の、生物活性化合物 (B')上のアルデヒドとの反応の結果、ヒドラゾン結合 (R*-B)が生じる。Rがマレイミド基である場合、それをスルフヒドリル基と反応させて、安定なチオエーテル結合を形成させることができる。スルフヒドリルが当該の生物活性化合物上に存在しない場合、これらを、ジスルフィド還元か、又は、2-イミノチオラン又はSATAによるチオール化を通じて、生じさせてもよい。Rがイミドエステルの場合、それはB'上の第一級アミンと反応してイミドアミド結合を形成するであろう。イミドエステル結合は通常、pH 8.5乃至9.0の間で行われる。活性化PGCを生物活性タンパク質に接続する場合、イミドエステルは当該タンパク質の全体的電荷に影響しないため、他のR基よりも有利である。それらは、それらが置換する第一級アミンと同様に、生理的pHで正の電荷を持つ。イミドエステル反応は0℃と室温との間（例えば4℃）か、又は、無水条件下の高温で行われる。RがNHS-エステルである場合、その主たる標的は第一級アミンである。ペプチド及びタンパク質のN末端にあるものなど、到達可能なα-アミン基がNHS-エステルと反応して共有アミド結合を形成する。

30

40

【0401】

いくつかの実施態様では、R*-Bは加水分解安定な結合である。加水分解安定な結合とは、当該の結合が、水中で実質的に安定であり、有用なpHで水と反応せず、例えば当該結合が生理条件下で長期にわたって、おそらくは無限に安定であることを意味する。他の実施態様では、R*-Bは加水分解不安定な又は分解可能な結合である。加水分解不安定な結合とは、当該の結合が、水中や、血液等を含む水溶液中で分解可能であることを意味する。酵素不安定又は分解可能な結合は、さらに、当該の結合が、1種以上の酵素により分解可能であることも意味する。

【0402】

50

当業で理解されているように、ポリアルキレン及び関連するポリマには、ポリマ骨格か、あるいは、ポリマ骨格と、PGC分子の末端官能基の1つ以上の間のリンカ基に、分解可能な結合が含まれていることがある。例えば、PGCカルボン酸もしくは活性化PGCカルボン酸などが生物活性化合物のアルコール基と反応するなどの反応で形成されるエステル結合は、一般に、生理条件下で加水分解してこの物質を遊離させる。他の加水分解可能な結合には、炭酸結合；アミンとアルデヒドとの反応で生じるイミン結合（例えばOuchi et al., Polymer Preprints, 38(1):582-3 (1997)を参照されたい）；アルコールをリン酸基と反応させると形成されるリン酸エステル結合；アルデヒド及びアルコールの反応生成物であるアセタール結合；ギ酸及びアルコールの反応生成物であるオルトエステル結合；PGC末端などのアミン基と、ペプチドのカルボキシル基との間で形成されるペプチド結合；及びポリマ末端などのホスホールアミジト基とオリゴヌクレオチドの5'側ヒドロキシル基との間で形成されるオリゴヌクレオチド結合、がある。

10

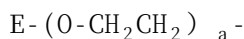
【0403】

ポリアルキレングリコール Pは、式 I I：

【0404】

(化81)

式 I I：



【0405】

の構造を有するポリエチレングリコールであってよく、但し式中、aは4乃至10,000までの整数であり、Eは水素又は直鎖もしくは分枝鎖のC₁乃至C₂₀アルキル基、検出可能な標識、又は、式 I の化合物と、生物活性化合物又はその前駆体との間で結合を形成させるのに適した部分、である。

20

【0406】

このように、Eが式 I の化合物と、生物活性化合物又はその前駆体との間で結合を形成させるのに適した部分である場合、Eはカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換のアミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、又はグリオキサールであってよい。E及びR間の反応が起きないようにEはRと適合性でなければならないことを理解されたい。

30

【0407】

「検出可能な標識」とは、検出可能なあらゆる標識を意味する。非限定的な例には、放射性同位体、蛍光成分、リン光性成分、化学発光成分、及び量子ドット、がある。他の検出可能な標識には、ビオチン、システイン、ヒスチジン、ヘマグルチニン、myc又はflagタグ、がある。

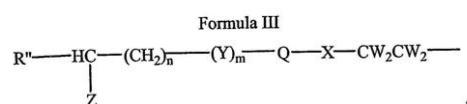
40

【0408】

いくつかの実施態様では、Eは、式III又は式IVに従った構造を有する。

【0409】

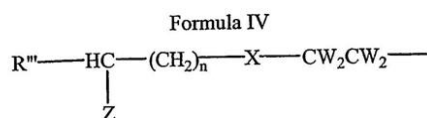
(化82)



50

【0410】

【化83】



【0411】

各Q、X、Y、Z、m、及びn は上に定義した通りであり、そして各Wは、個別に、水素又はC₁乃至C₇アルキルである。

【0412】

10

このクラスの化合物において、R''は、式IIIの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間の結合を形成するために適した部分であり、そしてR'''は、式IVの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間の結合を形成するために適した部分である。

【0413】

R''及びR'''は、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換の

アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、又はグリオキサールであってよい。R''及びR'''は、Rとの反応が起きないように適合性でなければならないことを理解されたい。

20

【0414】

ここで用いられるR''及びR'''は、生物活性化合物又はその前駆体に結合すると、上に定義したような連結部分を形成する。このように、R''は、PGCと生物活性化合物との間に共有結合が形成されるように、活性化PGC上のR''及びR'''が生物活性化合物上の反応性官能基と反応した結果形成される連結部分である。R''及びR'''又はR'''は同じ部分でも、又は異なる部分でもよく、またそれぞれに結合する生物活性化合物は同じでも、又は異なっているともよい。

30

【0415】

ここで用いられる「アルキル」という用語は、直鎖アルキル基、枝分かれ鎖アルキル基、シクロアルキル（脂環式）基、アルキル置換シクロアルキル基、及びシクロアルキル置換アルキル基を含む、飽和脂肪族の基のラジカルを言う。好適な実施態様では、直鎖又は枝分かれ鎖アルキルは、その主鎖に30個以下の炭素原子（例えば直鎖の場合はC₁－C₃₀、枝分かれ鎖の場合はC₃－C₃₀）、より好ましくは20個以下の炭素原子、を有しているとよい。同様に、好適なシクロアルキルは、その環構造内に3から10個の炭素原子、より好ましくはその環構造に5、6又は7個の炭素を有するものである。

【0416】

40

さらに、「アルキル」（又は「低級アルキル」）という用語は、「置換されていないアルキル」及び「置換されたアルキル」の両者を包含するものとして意図されているが、この後者は、炭化水素の主鎖の一つ又はそれ以上の炭素に付いた水素を置換した置換基を有するアルキル部分を言う。このような置換基には、例えば、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル（例えばカルボキシル、アルコキシカルボニル、ホルミル、又はアシル）、チオカルボニル（例えばチオエステル、チオアセテート、又はチオホルメート）、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィナート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、アルキルチオ、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、又は、芳香族もしくはヘテロ芳香族の部分を含めることができる。当業者であれば、炭化水素の

50

鎖上で置換される部分は、適当な場合にそれ自体、置換されてもよいことは理解されよう。例えば、置換アルキルの置換基には、置換された及び置換されていない形のアミノ、アジド、イミノ、アミド、ホスホリル（ホスホネート及びホスフィネートを含む）、スルホニル（スルフェート、スルホンアミド、スルファモイル及びスルホネートを含む）、及びシリルや、エーテル、アルキルチオ、カルボニル（ケトン、アルデヒド、カルボキシレート、及びエステルを含む）、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等を含めてもよい。シクロアルキルは、さらに、アルキル、アルケニル、アルコキシ、アルキルチオ、アミノアルキル、カルボニル置換アルキル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等で置換されていてもよい。

【0417】

用語「アラルキル」とは、ここで用いられる場合、アリール基（例えば芳香族又はヘテロ芳香族の基）で置換されたアルキル基を言う。アラルキル基の例には、限定はしないが、ベンジル、そしてより一般的には $(CH_2)_nPh$ がある（但しこの場合のPhはフェニル又は置換フェニルであり、そしてnは1、2又は3である）。

【0418】

「アルケニル」及び「アルキニル」という用語は、長さが同様であり、上に説明したアルキルに置換があってもよいが、それぞれ少なくとも1つの二重又は三重結合を含むような不飽和脂肪族の基を言う。

【0419】

炭素数を他に特に明示していない場合、ここで用いられる「低級アルキル」は、上に定義した通りの、しかし1個から10個の炭素、より好ましくは1個から6個の炭素原子をその主鎖構造に有するようなアルキル基を意味する。同様に、「低級アルケニル」及び「低級アルキニル」も同様な鎖の長さを有する。好適なアルキル基は低級アルキルである。好適な実施態様では、ここでアルキルとして指定された置換基は低級アルキルである。

【0420】

ここで用いられる「アリール」という用語には、5-、6-及び7-員環の単一環芳香族の基が含まれ、この基にはゼロから4個のヘテロ原子が含まれていてもよく、例えばベンゼン、ピロール、フラン、チオフェン、イミダゾール、オキサゾール、チアゾール、トリアゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリダジン及びピリミジン等である。環構造内にヘテロ原子を有するようなアリール基はさらに「アリールヘテロ環」又は「ヘテロ芳香族」と言及される場合もある。芳香族の環は、一つ又はそれ以上の環位で、例えばハロゲン、アジド、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、スルホンアミド、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族又はヘテロ芳香族の部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等、上述したような置換基で置換されていてもよい。「アリール」という用語には、さらに、二つ又はそれ以上の炭素が二つの隣り合った環に共通である（これらの環が「縮合している」）ような二つ又はそれ以上の環を有すると共に、環のうちの少なくとも一つが芳香族であり、例えばその他の環はシクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリール、及び／又は、ヘテロシクリルであってよい。

【0421】

オルト、メタ及びパラという用語はそれぞれ1,2-、1,3-、及び1,4-二置換ベンゼンに用いられている。例えば1,2-ジメチルベンゼン及びオルト-ジメチルベンゼンという名称は同義である。

【0422】

「ヘテロシクリル」又は「ヘテロ環式の基」という用語は、環構造が1個から4個のヘテロ原子を含むような、3員環から10員環構造、より好ましくは3員環から7員環を言う。ヘテロ環はまた多環式であってもよい。ヘテロシクリル基には、例えば、チオフェン、チアントレン、フラン、ピラン、イソベンゾフラン、クロメン、キサテン、フェノキサチン、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、イソチアゾール、イソキサゾール、ピリ

ジン、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、インドリジン、イソインドール、インドール、インダゾール、プリン、キノリジン、イソキノリン、キノリン、フタラジン、ナフチリジン、キノキサリン、キナゾリン、チノリン、プテリジン、カルバゾール、カルボリン、フェナントリジン、アクリジン、ピリミジン、フェナントロリン、フェナジン、フェナルサジン、フェノチアジン、フラザン、フェノキサジン、ピロリジン、オキサラン、チオラン、オキサゾール、ピペリジン、ピペラジン、モルホリン、ラクトン、アゼチジノン及びピロリジノンなどのラクタム、スルタム、スルトン等が含まれる。ヘテロ環式の環は、一つ又はそれ以上の位置で、上述したような置換基、例えばハロゲン、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、ケトン、アルデヒド、エステル、一個のヘテロシクリル、一個の芳香族又はヘテロ芳香族の部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等で置換されている。 10

【0423】

ここで用いられる「炭素環」という用語は、環の各原子が炭素であるような芳香族又は非芳香族の環を言う。

【0424】

ヘテロ環及び炭素環には、縮合した二環式及び架橋した二環式環構造が含まれる。

【0425】

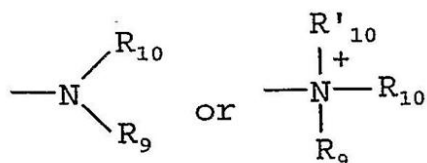
ここで用いられる場合の「ニトロ」という用語は $-NO_2$ を意味し、「ハロゲン」という用語は $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 又は $-I$ を指し、「スルフヒドリル」という用語は $-SH$ を意味し、「ヒドロキシル」という用語は $-OH$ を意味し、そして「スルホニル」という用語は $-SO_2-$ を意味する。 20

【0426】

「アミン」及び「アミノ」という用語は、当業で認識されており、置換されていない及び置換されたアミンの両方を言い、例えば、一般式：

【0427】

【化84】



30

【0428】

(但し式中、 R_9 、 R_{10} 及び R'_{10} はそれぞれ個別に一個の水素、一個のアルキル、一個のアルケニル、 $-(CH_2)_m-R_8$ を表すか、又は R_9 及び R_{10} は、これらが結合したN原子と一緒に捉えたと、環構造内に4個から8個の原子を有するヘテロ環を完成するものであり、 R_8 は一個のアリール、一個のシクロアルキル、一個のシクロアルケニル、一個のヘテロ環、又は一個の多環を表し、そしてmはゼロか、又は1から8までの間の一整数である)で表すことができる部分である。 40

【0429】

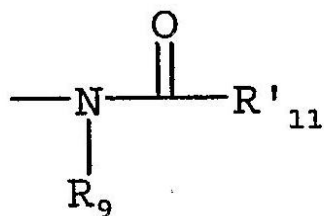
ここで用いられる「アルキルアミン」という用語は、置換された又は置換されていない一個のアルキルをそれに結合させて有する、上に定義した通りのアミン基を意味し、即ち R_9 及び R_{10} の少なくとも一方はアルキル基である。

【0430】

用語「アシルアミノ」は当業で公知であり、一般式：

【0431】

【化 8 5】



【0 4 3 2】

(但し式中、 R_9 は上に定義した通りであり、そして R'_{11} は一個の水素、一個のアルキル、一個のアルケニル、又は、 $\text{---(CH}_2\text{)}_m\text{---R}_8$ (但し式中、 m 及び R_8 は上に定義した通りである) を表す) で表すことのできる部分を言う。

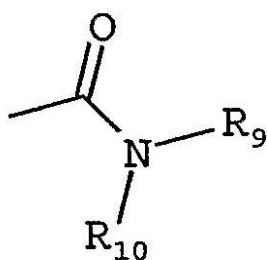
10

【0 4 3 3】

「アミド」という用語はアミノ置換カルボニルとして当業で認識されており、一般式：

【0 4 3 4】

【化 8 6】



20

【0 4 3 5】

(但し式中、 R_9 、 R_{10} は上に定義した通りである) によって表すことのできる部分を含む。アミドの好適な実施態様には不安定な可能性のあるイミドは含まれないであろう。

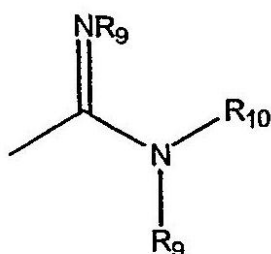
【0 4 3 6】

用語「アミジン」は当業では一般式：

【0 4 3 7】

30

【化 8 7】



40

【0 4 3 8】

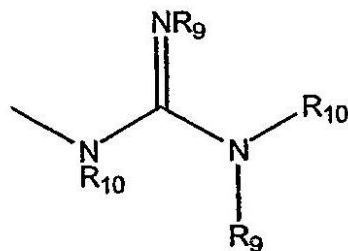
により表すことができる基 (但し式中、 R_9 、 R_{10} は上に定義した通りである) として当業で公知である。

【0 4 3 9】

用語「グアニジン」は当業では一般式：

【0 4 4 0】

【化 8 8】



【0 4 4 1】

10

により表すことができる基（但し式中、 R_9 、 R_{10} は上に定義した通りである）として当業で公知である。

【0 4 4 2】

「アルキルチオ」という用語は、それに硫黄ラジカルを結合させて有した、上に定義した通りのアルキル基を言う。好適な実施態様では、「アルキルチオ」部分は、 $-S-$ アルキル、 $-S-$ アルケニル、 $-S-$ アルキニル、及び $-S-(CH_2)_m-R_8$ （但し式中、 m 及び R_8 は上に定義されている）のうちの一つで表される。代表的なアルキルチオ基には、メチルチオ、エチルチオ等が含まれる。

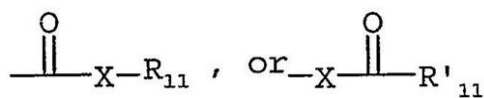
【0 4 4 3】

20

「カルボニル」という用語は当業において認識されており、一般式：

【0 4 4 4】

【化 8 9】



【0 4 4 5】

30

（但し式中、 X は一個の結合であるか、又は一個の酸素もしくは一個の硫黄を表し、そして R_{11} は一個の水素、一個のアルキル、一個のアルケニル、 $-(CH_2)_m-R_8$ 、又は薬学的に容認可能な塩を表し、 R'_{11} は一個の水素、一個のアルキル、一個のアルケニル又は $-(CH_2)_m-R_8$ （但しこの式中、 m 及び R_8 は上に定義したとおりである）を表す）で表すことのできる部分を含むものである。 X が一個の酸素であり、そして R_{11} 又は R'_{11} が水素でない場合、この式は一個の「エステル」を表すことになる。 X が一個の酸素であり、 R_{11} が上に定義した通りである場合、この部分はここではカルボキシル基と言及されており、特に R_{11} が一個の水素である場合、この式は「カルボン酸」を表すものである。 X が一個の酸素であり、そして R'_{11} が水素である場合、この式は「ギ酸」を表すことになる。一般的には、上の式の酸素原子が硫黄に置換された場合、この式は「チオールカルボニル」基を表すことになる。 X が一個の硫黄であり、 R_{11} 又は R'_{11} が水素でない場合、この式は「チオエステル」を表すものである。 X が一個の硫黄であり、 R_{11} が水素であれば、この式は「チオカルボン酸」を表すことになる。 X が一個の硫黄であり、 R'_{11} が水素であれば、この式は「チオホルマート」を表すことになる。他方、 X が一個の結合であり、そして R_{11} が水素でない場合、上の式は一個の「ケトン」基を表すものである。 X が一個の結合であり、そして R_{11} が水素である場合、上の式は「アルデヒド」基を表す。

40

【0 4 4 6】

ここで用いられる「アルコキシル」又は「アルコキシ」という用語は、一個の酸素ラジカルを結合させて有する、上に定義した通りのアルキル基を言う。代表的なアルコキシル基には、メトキシ、エトキシ、プロピルオキシ、 t -ブトキシ等がある。「エーテル」は一個の酸素によって共有結合した二つの炭化水素である。従って、アルキルをエーテルにするようなアルキルの置換基は、例えば、 $-O-$ アルキル、 $-O-$ アルケニル、 $-O-$ ア

50

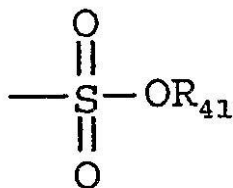
ルキニル、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_8$ （但し式中、 m 及び R_8 は上に説明した通りである）のうちの1つで表すことができるものなど、アルコキシルであるか、又はアルコキシルに似ている。

【0447】

「スルホネート」という用語は当業で認識されており、一般式：

【0448】

【化90】



10

【0449】

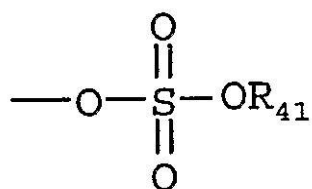
（但し式中、 R_{41} は一個の電子対、水素、アルキル、シクロアルキル、又はアリールである）で表すことができる部分を含む。

【0450】

「スルフェート」という用語は当業で認識されており、一般式：

【0451】

【化91】



20

【0452】

（但し式中、 R_{41} は上に定義したとおりである）によって表すことができる部分を含む。

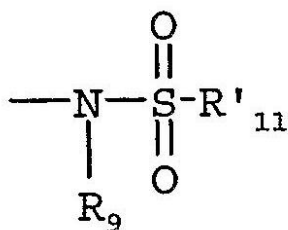
30

【0453】

「スルホンアミド」という用語は当業で認識されており、一般式：

【0454】

【化92】



40

【0455】

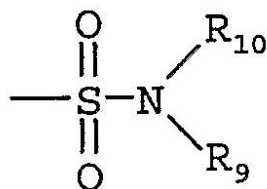
（但し式中、 R_9 及び R'_{11} は上に定義した通りである）で表すことのできる部分を含む。

【0456】

「スルファモイル」という用語は当業で認識されており、一般式：

【0457】

【化 9 3】



【0 4 5 8】

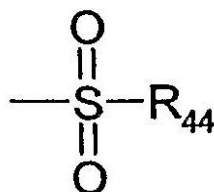
(但し式中、 R_9 及び R_{10} は上に定義した通りである) で表すことのできる部分を含む 10

【0 4 5 9】

ここで用いられる「スルホニル」という用語は、一般式：

【0 4 6 0】

【化 9 4】



20

【0 4 6 1】

(但し式中、 R_{44} は水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、又はヘテロアリールからなる群より選択される) で表すことのできる部分を言う。

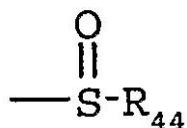
【0 4 6 2】

ここで用いられている「スルホキシド」という用語は、一般式：

【0 4 6 3】

【化 9 5】

30



【0 4 6 4】

(但し式中、 R_{44} は水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール又はアリールから成る群より選択される) で表すことができる部分を言う。

【0 4 6 5】

40

「置換」又は「で置換された」には、このような置換が、置換された原子及び置換基にとって可能な原子価に従ったものであり、その置換の結果、例えば、転位、環化、除去等といった変換を自発的には行わない化合物など、安定した化合物ができるという、暗黙の前提が含まれるものと理解されよう。

【0 4 6 6】

ここで用いられる「置換された」という用語は、有機化合物のあらゆる許容できる置換基を含むものとして考察されている。広い意味では、この許容可能な置換基には、有機化合物の非環式及び環式、枝分かれ式及び非枝分かれ式、炭素環式及びヘテロ環式、芳香族及び非芳香族の置換基が含まれる。置換基の例には、例えば、上に説明したものがある。許容可能な置換基は、適した有機化合物にとっては、一つ又はそれ以上であってもよく、 50

同じ又は異なるものであってもよい。本発明の目的のためには、窒素などのヘテロ原子は水素置換基、及び／又は、そのヘテロ原子の原子価を満たす、ここに説明した有機化合物のいかなる許容可能な置換基を有していてもよい。本発明は、いかなる態様でも、有機化合物の許容可能な置換基によって限定されとは意図されていない。

【0467】

当業の有機化学者が用いる省略のより包括的なリストは、ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリの各巻の第一版に見られるが、このリストは典型的には、スタンダード・リスト・オブ・アプリケーションズという標題の表で表されている。前記リストに含まれた略語、及び当業の有機化学者が用いるすべての略語を、言及によってここに援用することとする。

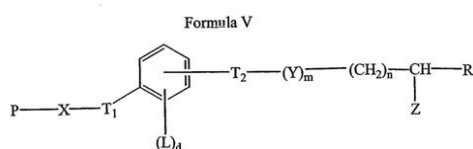
10

【0468】

いくつかの実施態様では、本発明の化合物は式V：

【0469】

【化96】



【0470】

20

に基づく構造を有し、但し式中、X、Y、m、n、Z、及び R' は上に定義した通りであり、そして Rは、式Vの化合物と生物活性化合物又は前駆体との間で結合を形成するために適した、上に定義した通りの活性化部分である。具体的な実施態様では、Rはアルデヒド水和物である。

【0471】

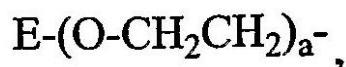
Pは上に定義した通りであり、式II

【0472】

【化97】

Formula II:

30



【0473】

で表すことができ（但し式中、Eは上に定義した通りである）、そしていくつかの実施態様では、式III又はIVで表すことができる。

【0474】

T₁及びT₂は、個別に、存在しないか、又は直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和のC₁乃至C₂₀アルキル又はヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。前記置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラリル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオでよい。

40

【0475】

d がゼロの場合、芳香族の環上に付加的な置換基（L）はない。 dが1乃至4までの整数

50

である場合、置換基 (L) は直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和 C_1 乃至 C_{20} のアルキル又はヘテロアルキル基、 C_3 乃至 C_8 の飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリールもしくはヘテロアリール基 または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホンニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

10

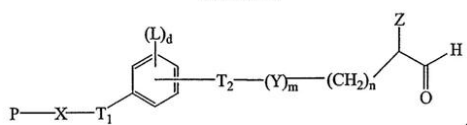
【0476】

Rがアルデヒドである場合、当該化合物は、式VI：

【0477】

【化98】

Formula VI



20

【0478】

で表されるものの範疇に入り、この場合他の全ての可変項は上に定義した通りである。

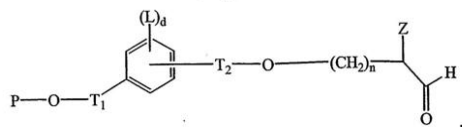
【0479】

例えば、X及びYが酸素であり、Rがアルデヒドである場合、本発明の化合物は化合物J

【0480】

【化99】

Compound J



30

【0481】

で表され、但しこの場合 T_1 及び T_2 置換基は、オルト、メタ、又はパラ配置であってよい。

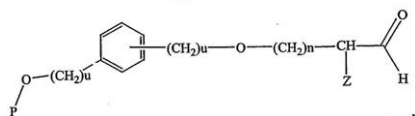
【0482】

T_1 及び T_2 置換基が直鎖アルキル基であり、dがゼロである場合、当該化合物は式IX:

【0483】

【化100】

Formula IX:



40

【0484】

で表され、但し式中、各uは個別にゼロ又は1乃至5までの整数であり、そして他のすべての可変項は上に定義した通りである。具体的な実施態様では、Zは水素又はメチルである。

【0485】

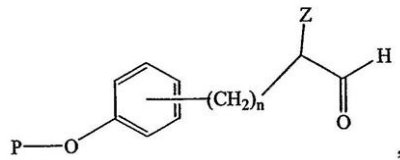
式IXの範疇に入る化合物の具体的なクラスは式VII及びVIII：

【0486】

50

【化 1 0 1】

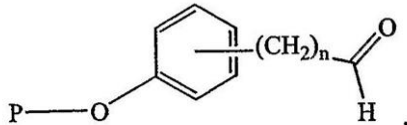
Formula VII:



【 0 4 8 7】

【化 1 0 2】

Formula VIII:



【 0 4 8 8】

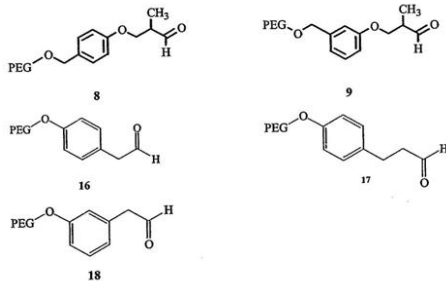
で表すことができる。

【 0 4 8 9】

いくつかの代表的な活性化ポリアルキレングリコール化合物には以下がある（但し当該ポリアルキレングリコールポリマはPEG又はmPEGである）。

【 0 4 9 0】

【化 1 0 3】



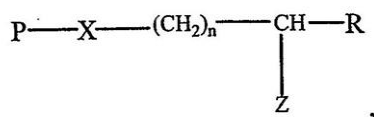
【 0 4 9 1】

いくつかの実施態様では、本発明の化合物は式X：

【 0 4 9 2】

【化 1 0 4】

Formula X:



【 0 4 9 3】

で表され、但し式中、上述の通り、nはゼロ又は1乃至5までの整数であり、そしてXはO、S、CO、COZ、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、又はNR'である。

【 0 4 9 4】

XがNR'である場合、R' は水素、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和 C₁乃至C₂₀アルキル又はヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリールもしくはヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、この場合の置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカ

10

20

30

40

50

ルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオから成る群より選択される。Z は直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和C₁乃至C₂₀アルキル又はヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリールもしくはヘテロアリール基または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。存在する場合の前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

10

【0495】

上に定義したように、Rは、式Xの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間の結合を形成するために適した活性化部分である。いくつかの実施態様では、Rはアルデヒド水和物である。

20

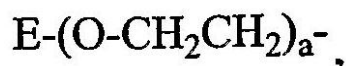
【0496】

P は上に定義した通りのポリアルキレングリコールポリマであり、式II：

【0497】

【化105】

Formula II:



30

【0498】

で表すことができ（但し式中、E及びaは上に解説した通りである）、そしていくつかの実施態様では、式III又はIVで表すことができる。いくつかの実施態様では、Eはメチルであり、従ってP はmPEGである。

【0499】

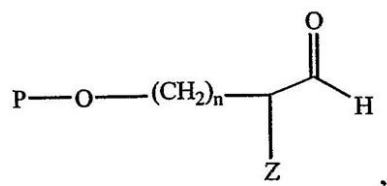
Rがアルデヒドで、Xが酸素である場合、当該化合物は、式XI：

【0500】

【化106】

Formula XI:

40



【0501】

に基づく構造の範疇に入り、但し式中、P、Z 及びn は式Xに関して定義した通りである。

【0502】

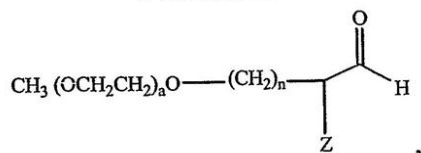
P がmPEGである場合、当該化合物は式XII：

50

【0503】

【化107】

Formula XII:



【0504】

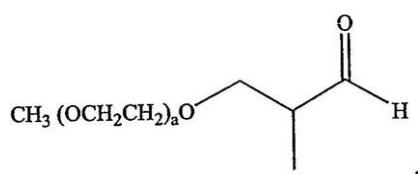
10

によって記述され、そしてnが1で、Zがメチルである場合、当該化合物は式XIII:

【0505】

【化108】

Formula XIII:



20

【0506】

で表され、但し式中、aは4乃至10,000までの整数である。

【0507】

本発明に基づく化合物を作製するための合成経路の例は下記の実施例に記載されている。

【0508】

さらに本発明は、本発明の活性化ポリアルキレングリコール化合物（PGC）及び1種以上の生物活性化合物から成る組成物も包含する。上述したように、生物活性化合物とは、対象に投与されたときに生物学的応答又は作用を示す化合物である。本発明の化合物に加えて、結合していない生物活性化合物を対象に投与してもよい。さらに、生物活性化合物は、少なくとも1つの本発明の活性化PGCと反応して結合することのできる反応基を含有していてもよい。

30

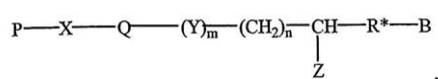
【0509】

さらに本発明は、新規なPGCの生物活性化合物との結合体も包含する。ある実施態様では、前記結合体は、式Iの化合物と生物活性化合物（B）とから形成され、式XIV:

【0510】

【化109】

Formula XIV:



40

【0511】

によって記述される。上述したように、mはゼロ又は1で、その結果Yが存在するか又は存在せず、nはゼロであるか、又は、1乃至5までの整数であり、そしてX及びYは個別に O、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、又はNR'である。

【0512】

QはC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル（縮合式の二環式及び架橋した二環式構造を含む）、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。存在する場合の

50

置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシ、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

【0513】

各R' 及びZ は個別に水素、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和C₁乃至C₂₀アルキル 又はヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、この場合、前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシ、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、及びアルキルチオから成る群より選択され；

R*は、上述したように、Rの、生物活性化合物B上の対応する反応基との反応から形成される連結部分である。例えば、R*は、例えばカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換のアミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、又はグリオキサール官能基部分の、生物活性化合物又はその前駆体との反応から形成される。

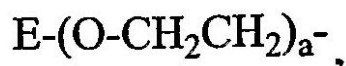
【0514】

P は上述した通りのポリアルキレングリコールポリマであり、式II：

【0515】

【化110】

Formula II:



【0516】

で表すことができ、但し式中、E は水素、直鎖もしくは分枝鎖 C₁乃至C₂₀アルキル基（例えばメチル）、検出可能な標識、又は、式XIVの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間の結合を形成するために適した部分である。上述したように、aは4乃至10,000までの整数である。

【0517】

Eが検出可能な標識である場合、標識は、例えば、放射性同位体、蛍光成分、リン光成分、化学発光成分、又は量子ドットであってよい。Eが 式XIVの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間の結合を形成するために適した部分である場合、Eは、当該生物活性化合物(B)の別の分子への結合を形成でき、こうして当該活性化ポリアルキレングリコール化合物が、同じ種類の生物活性化合物の分子の両端に結合することで、当該分子の二量体を生じることができる。

【0518】

いくつかの実施態様では、Eは、B以外の生物活性化合物に対する結合を形成して、生物活性化合物又はその前駆体のヘテロ二量体を生じる。

【0519】

他の実施態様では、E及びRの両方が、生物活性化合物又はその前駆体の同じ分子の異なる官能基を介して結合しているように、Eは、当該生物活性化合物Bに対して付加的な結合を形成する。

【0520】

Eが生物活性分子又はその前駆体への結合を形成できる場合、Eは、Rと同じでも又は異なるものでもよく、そしてカルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換のアミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、及びグリオキサール部分から選択される。

10

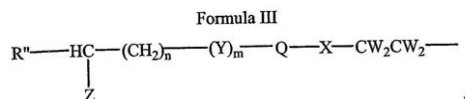
【0521】

Eが生物活性分子又はその前駆体への結合を形成できる場合、Eは、式III又は式IV：

【0522】

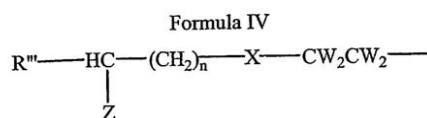
20

【化111】



【0523】

【化111】



30

【0524】

に基づく構造を有することができ、但し式中、各 Q、X、Y、Z、m、及び n は、個別に上に定義したとおりであり、各 W は、個別に、水素又はC₁乃至C₇ アルキルであり、R'' は、式IIIの化合物と、生物活性化合物又はその前駆体との間で結合を形成するために適した部分であり、そしてR''' は、式IVの化合物と、生物活性化合物又はその前駆体との間で結合を形成するために適した部分である。

【0525】

40

R'' 及びR''' は、個別に、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換のアミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、及びグリオキサール部分から選択される。

【0526】

式XIVのQ が置換もしくは非置換のアルカリールである場合、当該結合体は、式Vの活

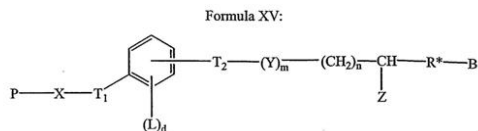
50

性化ポリアルキレングリコール

及び生物活性分子 (B) から形成され、式XV：

【0527】

【化113】



【0528】

に基づいて記述され、但し式中、 T_1 及び T_2 は個別に、存在しないか、あるいは、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキル又はヘテロアルキル基、 C_3 乃至 C_8 飽和もしくは不飽和環状アルキルもしくは環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。存在する場合の前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。いくつかの実施態様では、 T_1 及び T_2 は、存在する場合、直鎖もしくは分枝鎖飽和もしくは不飽和

又は C_1 乃至 C_{20} アルキル又はヘテロアルキル基である。

【0529】

d はゼロ（例えば芳香族の環上にL置換基がないなど）又は1乃至4までの整数である。各Lは、存在する場合、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキル又はヘテロアルキル基、 C_3 乃至 C_8 飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

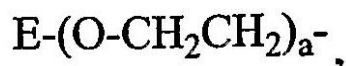
【0530】

ポリアルキレングリコールポリマであるPを含め、すべての他の可変項は上述した通りであり、式II：

【0531】

【化114】

Formula II:



【0532】

で表すことができ、式中、E は水素、直鎖もしくは分枝鎖 C_1 乃至 C_{20} アルキル基（例えばメチル）、検出可能な標識；又は、式XVの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間

で結合を形成するために適した部分、である。上述したように、aは4乃至10,000までの整数である。

【0533】

Eが検出可能な標識である場合、該標識は、例えば、放射性同位体、蛍光成分、リン光成分、化学発光成分、又は量子ドットであってよい。

【0534】

Eが、式XVの化合物と生物活性化合物Bとの間で結合を形成するために適した部分である場合、Eは、当該生物活性化合物(B)の別の分子への結合を形成でき、こうして当該活性化ポリアルキレングリコール化合物が、同じ種類の生物活性化合物の一分子の両端に結合することで、当該分子の二量体を生じることができる。

10

【0535】

いくつかの実施態様では、Eは、B以外の生物活性化合物に対する結合を形成して、生物活性化合物又はその前駆体のヘテロ二量体を生じる。

【0536】

他の実施態様では、E及びRの両方が、生物活性化合物又はその前駆体の同じ分子の異なる官能基を介して結合しているように、Eは、当該生物活性化合物Bに対して付加的な結合を形成する。

【0537】

Eが生物活性分子又はその前駆体への結合を形成できる場合、Eは、Rと同じでも又は異なるものでもよく、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換のアミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、

20

イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、及びグリオキサール部分から選択される。

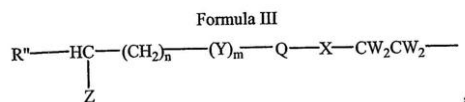
【0538】

Eが生物活性化合物又はその前駆体と結合を形成できる場合、いくつかの実施態様では、Eは、式III又は式IV：

30

【0539】

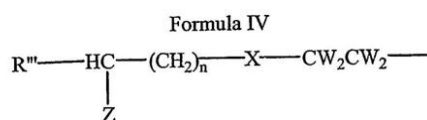
【化115】



【0540】

40

【化116】



【0541】

であってよく、式中、各Q、X、Y、Z、m、及びnは、個別に、上に定義したとおりであり、各Wは、個別に、水素又はC₁乃至C₇アルキルであり、R''は、式IIIの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間で結合を形成するために適した部分であり、そしてR'''は、式IVの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間で結合を形成するために適した部分

50

【 0 5 4 2 】

10

【 0 5 4 3 】

【 0 5 4 4 】

【化 1 1 7】



【 0 5 4 5 】

【化 1 1 8】



【 0 5 4 6 】

40

【 0 5 4 7 】

【 0 5 4 8 】

50

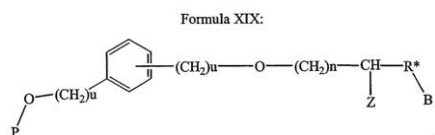
タなど、インターフェロンである。いくつかの実施態様では、この種類の結合は還元的アルキル化反応によって形成される。

【0549】

式XVの T_1 及び T_2 置換基が直鎖アルキル基で、X及びYが酸素、そしてdがゼロである場合、当該結合体は式XIX:

【0550】

【化119】



10

【0551】

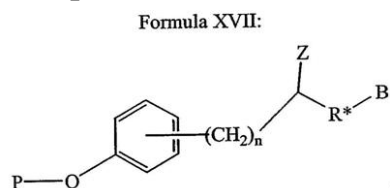
で表され、式中、各uは個別にゼロ又は1乃至5までの整数であり、そして他の可変項はすべて上に定義した通りである。具体的な実施態様では、Zは水素又はメチルである。

【0552】

式XVの範疇に入る具体的なクラスの化合物は、それぞれ式VII 及びVIIIの、生物活性化合物又はその前駆体との反応から形成される式XVII 及び XVIII:

【0553】

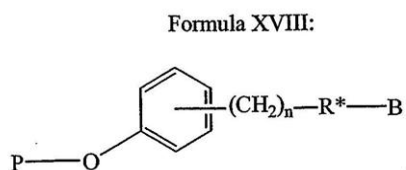
【化120】



20

【0554】

【化121】



30

【0555】

により表すことができ、但し式中、nはゼロ又は1乃至5までの整数であり、Pは上に解説された通りのポリアルキレングリコールポリマであり、Zは水素、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキル又はヘテロアルキル基であり、 R^* は上に解説した通りの連結部分であり、Bは生物活性分子である。これらの化合物は上に解説したように、Eの種類に応じて二重官能性でも、又は一重官能性でもよい。

【0556】

いくつかの実施態様では、 R^* はメチレン基であり、そしてBはアミノ基を含有する生物活性分子であり、但し前記メチレン基はB上のアミノ基と結合を形成する。例えば前記アミンは、ペプチドのアミノ末端、ペプチドのアミノ酸側鎖のアミン、又は、糖付加ペプチドの糖付加置換基のアミンであってよい。いくつかの実施態様では、当該ペプチドは、例えばインターフェロン-ベータ-1aなどのインターフェロン-ベータなど、インターフェロンである。いくつかの実施態様では、この種類の結合は還元的アルキル化反応によって形成される。

40

【0557】

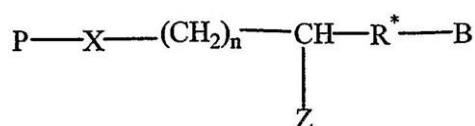
本発明の結合体は、さらに、式Xに基づく化合物と、生物活性化合物又はその前駆体との反応により形成させて、式XXII:

【0558】

50

【化 1 2 2】

Formula XXII:



【0 5 5 9】

に基づく結合体を形成させることができ、但し式中、Bは上に解説された通りの生物活性分子であり、nはゼロ又は1乃至5までの整数である。

【0 5 6 0】

XはO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR、又はNR'であり、XがNR'である場合、R'は水素、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和C₁乃至C₂₀アルキルもしくはヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。存在する場合の前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル又はアルキルチオであってよい。

【0 5 6 1】

Zは直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和C₁乃至C₂₀アルキル又はヘテロアルキル基、C₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

【0 5 6 2】

R*は、上に解説したように、Rと、生物活性化合物B上の対応する官能基との反応から形成される連結部分である。例えば、R*は、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換のアミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、又はグリオキサール官能基などの部分と、生物活性化合物又はその前駆体との反応から形成される。

【0 5 6 3】

いくつかの実施態様では、Zはメチルであり、nは1である。

【0 5 6 4】

Pは上に定義した通りのポリアルキレングリコールポリマであり、式II：

10

20

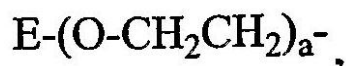
30

40

50

【 0 5 6 5 】

【 化 1 2 3 】

Formula II:

【 0 5 6 6 】

で表すことができ、但し式中、E は水素、直鎖もしくは分枝鎖 C_1 乃至 C_{20} アルキル基（例えばメチル）、検出可能な標識、又は、式XXIIの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間で結合を形成するために適した部分である。上述のように、aは4乃至10,000までの整数である。

10

【 0 5 6 7 】

Eが検出可能な標識である場合、前記標識は、例えば、放射性同位体、蛍光成分、リン光成分、化学発光成分、又は量子ドットであってよい。

【 0 5 6 8 】

Eが生物活性分子又はその前駆体に対して結合を形成できる場合、二重官能性分子が生じる。Eは、当該生物活性化合物の別の分子への結合を形成でき、こうして当該活性化ポリアルキレングリコール化合物が、同じ種類の生物活性化合物（B）の分子の両端に結合することで、当該分子の二量体を生じることができる。

20

【 0 5 6 9 】

いくつかの実施態様では、Eは、B以外の生物活性化合物に対する結合を形成して、生物活性化合物又はその前駆体のヘテロ二量体を生じる。

【 0 5 7 0 】

他の実施態様では、E及びRの両方が、生物活性化合物又はその前駆体の同じ分子の異なる官能基を介して結合しているように、Eは、当該生物活性化合物Bに対して付加的な結合を形成する。

【 0 5 7 1 】

Eが生物活性分子又はその前駆体に対して結合を形成できる場合、E は、Rと同じでも、又は異なってもよく、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換の

30

アミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリアル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、及びグリオキサル部分から選択される。

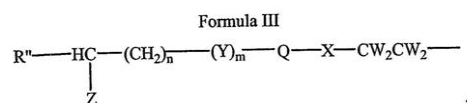
【 0 5 7 2 】

いくつかの実施態様では、Eは式III又は式IV：

40

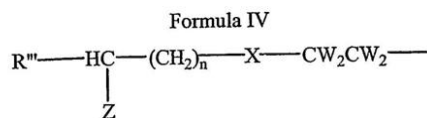
【 0 5 7 3 】

【 化 1 2 4 】



【 0 5 7 4 】

【化 1 2 5】



【0 5 7 5】

に基づく構造を有することができ、但し式中、各Q、X、Y、Z、m、及びnは、個別に、上に定義した通りであり、各Wは、個別に、水素又はC₁乃至C₇アルキルであり、R'' は、式IIIの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間で結合を形成するために適した部分であり、そしてR''' は、式IVの化合物と生物活性化合物又はその前駆体との間で結合を形成するために適した部分である。

10

【0 5 7 6】

R'' 及びR''' は、個別に、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換のアミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、及びグリオキサール部分から選択され、Rと同じでも、又は異なってもよい。

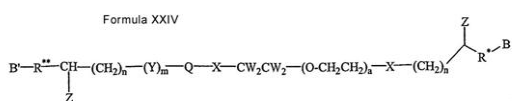
20

【0 5 7 7】

生物活性化合物又はその前駆体に両端で結合した場合、これらの二重官能性分子は、式XXIV 又は式 XXV:

【0 5 7 8】

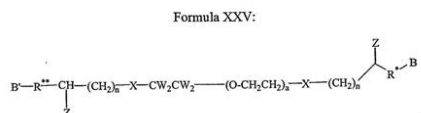
【化 1 2 6】



30

【0 5 7 9】

【化 1 2 7】



【0 5 8 0】

で表すことができ、但し式中、各X 及びY は、個別に、O、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、又はNR'であり、そして各R' 及びZは、個別に、水素、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和C₁乃至C₂₀アルキル又はヘテロアルキル基である。

40

【0 5 8 1】

Q はC₃乃至C₈飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル（縮合した二環式及び架橋した二環式環構造を含む）、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。存在する場合の前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分

50

、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

【0582】

各Wは、個別に、水素又はC₁乃至C₇アルキルであり、mはゼロ又は1であり、a は4乃至10,000までの整数であり、そして各n は、個別に、0又は1乃至5までの整数である。

【0583】

R*及びR**は、個別に、上に定義した通りの連結部分であり、B及びB'は、個別に、生物活性分子であり、同じでも、又は異なってもよい。

【0584】

Eは(R''又はR'''を介して)当該生物活性化合物(B)の別の分子への結合を形成でき、こうして当該活性化ポリアルキレングリコール化合物が、同じ種類の生物活性化合物の一分子の両端に結合することで、当該分子の二量体を生じることができる。

【0585】

いくつかの実施態様では、Eは(R''又はR'''を介して)B以外の生物活性化合物に対する結合を形成して、生物活性化合物又はその前駆体のヘテロ二量体を生じる。

【0586】

他の実施態様では、E及びRの両方が、生物活性化合物又はその前駆体の同じ分子の異なる官能基を介して結合しているように、Eは、当該生物活性化合物Bに対して付加的な結合を(R''又はR'''を介して)形成する。

【0587】

R''及びR'''はRと同じでも、又は異なってもよく、カルボン酸、エステル、アルデヒド、アルデヒド水和物、アセタール、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボネート、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、置換もしくは非置換のチオール、ハロゲン、置換もしくは非置換のアミン、保護されたアミン、ヒドラジド、保護されたヒドラジド、スクシンイミジル、イソシアネート、イソチオシアネート、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、ヒドロキシスクシンイミジル、アゾール、マレイミド、スルホン、アリル、ビニルスルホン、トレシル、スルホ-N-スクシンイミジル、ジオン、メシル、トシル、及びグリオキサール部分から選択される。

【0588】

いくつかの実施態様では、R*又はR**はメチレン基であり、そしてB又はB'はアミノ基を含有する生物活性分子であり、この場合の前記メチレン基は、B上のアミノ基との結合を形成する。例えば、前記アミンは、ペプチドのアミノ末端、ペプチドのアミノ酸側鎖のアミン、又は、糖付加ペプチドの糖付加置換基のアミンであってよい。いくつかの実施態様では、当該ペプチドは、例えばインターフェロン-ベータ-1aなどのインターフェロン-ベータなど、インターフェロンである。いくつかの実施態様では、この種類の結合は還元的アルキル化反応によって形成される。

【0589】

本発明の結合体は、生物活性化合物を、実施例で解説されるポリアルキレングリコール化合物に結合させることにより、調製することができる。いくつかの実施態様では、前記結合は、還元的アルキル化反応を通じて達成される。

【0590】

対象の生物活性化合物には、ヒト又は他の動物の疾患の診断、治癒、軽減、治療、又は予防や、あるいは、ヒト又は動物の身体又は精神の健康を増進することを意図したあらゆる物質が含まれる。生物活性分子の例には、限定はしないが、ペプチド、ペプチド類似体、タンパク質、酵素、低分子、染料、脂質、ヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチドの類似体、糖類、オリゴ糖、細胞、ウィルス、リボソーム、マイクロ粒子、表面及びミセル、がある。このクラスの化合物には、これらの種類の分子の前駆体も含まれる。本発明で使用するのに適した生物活性物質のクラスには、限定はしないが、サイトカイン、ケモカイン、リンホカイン、可溶性受容体、抗体、抗生物質、殺真菌剤、抗ウィ

10

20

30

40

50

ルス剤、抗炎症剤、抗腫瘍剤、心臓血管薬、抗不安剤、ホルモン、成長因子、ステロイド系薬剤等、がある。

【0591】

該生物活性化合物は、インターフェロン-ベータ（例えばインターフェロン-ベータ-1a）又はインターフェロン-アルファを含むインターフェロンなど、ペプチドであってもよい。

【0592】

本発明のPGCでポリマーを修飾すると抗原性応答が低下するため、治療薬として用いるのに、外来のペプチドを完全自己由来としなくともよい。例えば、ポリマ結合体を調製するために用いられるインターフェロンなどのペプチドを、ヒト、反芻動物又はウシインターフェロンなどの哺乳動物抽出物から調製してもよく、あるいは、合成もしくは組換えにより作製することもできる。

【0593】

例えば、ある局面では、本発明は、インターフェロンアルファ又はベータによる治療に感受性ある状態を治療するための化合物及び方法に関する。ポリアルキレングリコールを結合させたインターフェロンベータ（以下「PGC IFN-ベータ」、「PGC IFN- β 」、例えば PEG

IFN-ベータ」、「PEG IFN- β 」「PEG化 IFN-ベータ」、又は「PEG化

IFN- β 」)の投与は、優れた治療上の利益を提供しながらも、従来より実施されてきたインターフェロンアルファ又はベータ治療計画に通常伴う望ましくない副作用を実質的に低減又は完全に消失させるものである。

【0594】

本PGC IFN-ベータは、ポリアルキレンポリマをIFN-ベータ分子の末端アミノ基に付着させることにより、調製することができる。一個の活性化ポリアルキレングリコール分子をIFNベータのN末端に還元的アルキル化反応を通じて結合させることができる。

【0595】

本PGC IFN-ベータ結合体は、例えば、注射用の液体又は凍結乾燥粉末として調合することができる。IFNベータをPGCに結合する目的は、その血漿中半減期を有意に延長させることで当該タンパク質の送達を高め、ひいてはIFNベータの遷延性活性をもたらすことである。

【0596】

ここで用いられる用語「インターフェロン」又は「IFN」とは、ウィルスの複製や細胞増殖を阻害し、免疫応答を調節する、相同性の高い種特異的タンパク質ファミリーを意味する。ヒトインターフェロンは2つのクラスに分類される； α -及び β -インターフェロンを含むタイプ1と、 γ -インターフェロンのみを代表とするタイプIIである。各グループの組換え型が開発されており、市販のものが入手可能である。各グループのサブタイプは、抗原性／構造上の特徴に基づく。

【0597】

用語「ベータインターフェロン」、「ベータ-インターフェロン」、「ベータIFN」、「ベータ-IFN」、「 β インターフェロン」、「 β -インターフェロン」、「 β IFN」、「 β -IFN」、「インターフェロンベータ」、「インターフェロン- β 」、「インターフェロン β 」、「インターフェロン- β 」、「IFN ベータ」、「IFN-ベータ」、「IFN β 」、「IFN- β 」及び「ヒト線維芽細胞インターフェロン」は、ここでは、当該ペプチドをコードするDNAを単離及び配列決定することにより同定された通りの顕著なアミノ酸配列を有するインターフェロンベータ群のメンバーを言うために交換可能に用いられている。

【0598】

加えて、用語「ベータインターフェロン1a」、「ベータインターフェロン-1a」、「ベータ-インターフェロン1a」、「ベータ-インターフェロン-1a」、「ベータ IFN 1a」、「ベータ IFN-1a」、「ベータ-IFN 1a」、「ベータ-IFN-1a」、「 β インターフェ

10

20

30

40

50

ロン1a」、「 β インターフェロン-1a」、「 β -インターフェロン1a」、「 β -インターフェロン-1a」、「 β IFN 1a」、「 β IFN-1a」、「 β -IFN 1a」、「 β -IFN-1a」、「インターフェロン ベータ 1a」、「インターフェロン ベータ-1a」、「インターフェロン-ベータ 1a」、「インターフェロン-ベータ-1a」、「インターフェロン β 1a」、「インターフェロン β -1a」、「インターフェロン- β 1a」、「インターフェロン- β -1a」、「IFN ベータ1a」、「IFN ベータ-1a」、「IFN-ベータ1a」、「IFN- ベータ-1a」、「IFN β 1a」、「IFN β -1a」、「IFN- β 1a」、「IFN- β -1a」は、天然型（野生型）アミノ酸配列を有する組換え又は合成により作製されたインターフェロンベータを言うために、ここで交換可能に用いられている。

【0599】

10

インターフェロン製造に応用される組換えDNA技術の到来により、複数のヒトインターフェロンを成功裏に合成できるようになったため、多種のインターフェロンの大規模な発酵、産生、単離、及び精製を均質に行えるようになった。組換えにより作製されるインターフェロンは、そのin vitro及びin vivoでの抗ウィルス活性及び免疫調節活性のいくつか又は大半を維持している。さらに、組換え技術には、組換え由来のポリペプチドに糖部分を付加するための糖付加部位も含まれるだろうと、理解されている。

【0600】

ヒト線維芽細胞インターフェロンの少なくとも一部をコードする配列を含有する組換えDNAプラスミドの構築や、ヒト線維芽細胞インターフェロンの免疫活性又は生物活性を有するポリペプチドの発現も、考察されている。様々なサブタイプ配列の組合せを含有するハイブリッド・ベータ-インターフェロン遺伝子の構築は、当業者に公知の技術により、達成することができる。

20

【0601】

本発明の実施において用いてよい典型的な適した組換えベータ-インターフェロンには、限定はしないが、マサチューセッツ州ケンブリッジ、バイオジェン社から入手できるAVONEX^(R)などのインターフェロン ベータ-1aや、カリフォルニア州リッチモンド、ベルレックス社から入手できるBETASERON^(R)などのインターフェロン-ベータ-1bがある。

【0602】

IFN誘導性遺伝子産物がウィルス感染に対する防御効果をもたらす機序は数多くある。このような阻害ウィルス効果は、ウィルス生命周期の様々な段階で起きる米国特許第 6,030,785号を参照されたい。例えば、IFNは、ウィルスにより引き起こされるウィルス粒子の脱被、貫通及び／又は融合を阻害することができる。

30

【0603】

本発明に従って治療可能な状態は、概略的には、インターフェロンによる治療に感受性あるものである。例えば、感受性ある状態には、インターフェロン-ベータ・ベースの治療法に対して正又は好ましい（これらの用語が医業で公知であるように）応答があるようなものが包含される。本発明の目的のために、ここで解説するインターフェロンベータ治療法で治療可能な状態には、インターフェロンベータによる治療で何らかの有効性が見られるが、IFN β 治療による負の副作用が利益にまさるような状態が含まれる。本発明の方法に従った治療の結果、従来のインターフェロンベータ治療に比較して、副作用が実質的に低減又は消失する。その上、IFN- β 治療法に対して従来不応性と考えられてきた状態や、又は、管理可能な投薬量のIFN- β で治療するのは実際的でないような状態も、本発明の方法に従って治療することができる。

40

【0604】

本発明のPGC IFN- β 化合物は、単独で用いることも、又は、特定の状態の治療にとって有用な1種以上の薬剤と併用することもできる。慢性C型肝炎の治療について、組換えインターフェロンベータ-1aのパイロット研究が少なくとも1つ、行われている。概略的には、引用をもってここに援用されたHabersetzer et al., Liver 30:437-441 (2000)を参照されたい。例えば、当該化合物を、ウィルス感染の治療用の公知の抗ウィルス剤と組み合わせ投与することができる。引用をもって援用されたKakumu et al., Gastroenterol

50

ogy 105:507-12

(1993) 及び Pepinsky, et al., J.

Pharmacology and Experimental Therapeutics, 297:1059-1066 (2001)を参照されたい。

【0605】

ここで用いる用語「抗ウィルス剤」には、例えば、低分子、ペプチド、糖、タンパク質、ウィルス由来分子、プロテアーゼ阻害剤、ヌクレオチド類似体及び／又はヌクレオシド類似体、が含まれよう。ここで用いられる場合の「低分子」とは、約2500amu（原子質量）未満、好ましくは約1000amu未満の有機分子を言う。適した抗ウィルス性化合物の例には、限定はしないが、リバビリン、レボビリン、MB6866、ジドブジン3TC、FTC、アシクロビル、ガンシクロビル、ビラミド、VX-497、VX950、及び
ISIS-14803、がある。

10

【0606】

インターフェロンで治療可能な状態の例には、限定はしないが、細胞増殖異常、特に多発性硬化症、癌（例えばヘアリーセル白血病、カポジ肉腫、慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、基底細胞癌及び悪性黒色腫、卵巣癌、皮膚T細胞リンパ腫）、及びウィルス感染、がある。限定はしないが、インターフェロンによる治療を、インターフェロン感受性ウィルスの複製を阻害すると有利であろう状態を治療するために用いてよい。例えば、ヒト免疫不全ウィルス（HIV）/AIDSの治療においてインターフェロンを単独で用いることも、又は、AZTと併用することもでき、あるいはHCVの治療においてリバビリンと併用することもできる。本発明に従って治療してもよいウィルス感染症には、限定はしないが、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、他の非A／非B型肝炎、疱疹ウィルス、エプスタイン・バー・ウィルス（EBV）、サイトメガロウィルス（CMV）、単純疱疹、ヒト疱疹ウィルスタイプ6（HHV-6）、乳頭腫、ポックスウィルス、ピコルナウィルス、アデノウィルス、ライノウィルス、ヒトTリンパ球好性ウィルスタイプ1及び2（HTLV-1/-2）、ヒトロタウィルス、狂犬病、HIVを含むレトロウィルス、脳炎及び呼吸器ウィルス感染症、がある。本発明の方法は、さらに、多種の免疫応答を調節するためにも用いることができる。

20

【0607】

HCV遺伝子型と、インターフェロン療法への応答との間の相関関係が観察されている。

米国特許第 6,030,785号：Enomoto et al.,

N. Engl. J. Med.334:77-81 (1996)；Enomoto et al., J. Clin. Invest. 96:224-30

(1995)を観察されたい。HCV-1b感染患者の応答率は40%未満である。米国特許第 6,030,785号を参照されたい。同様な低い応答率はHCV-1a感染患者でも観察されている。上書；Hofnagel et al., Intervirology 37:87-100

(1994)を参照されたい。しかしながら、HCV-2感染患者の応答率はほぼ80%である。米国特許第 6,030,785号；Fried et al., Semin. Liver Dis. 15:82-91

(1995)を参照されたい。実際、HCV遺伝子型1bのNS5Aタンパク質の独立した領域のアミノ酸配列が、インターフェロンに対する感受性と相関していることが判明している。引用をもってここに援用する米国特許第 6,030,785号を参照されたい。さらにEnomoto et al. 1996；

Enomoto et al. 1995も参照されたい。この領域は、インターフェロン感受性決定領域（ISDR）と同定されている。上書を参照されたい。

30

40

【0608】

PGC IFN-ベータ結合体は、上述の状態のいずれかを治療するために薬理的に有効量、投与され、当該ポリマ結合体のIFN ベータ 活性に基づく。用語「薬理的に有効量」とは、研究者又は臨床医が検査中の組織、系、動物又はヒトの生物学的もしくは医学的応答を惹起するであろう、薬物又は薬学的作用物質の量を意味する。それは、副作用のレベルを低いままに維持しつつ、正の臨床上の応答に有意な影響を与えるのに十分な量である。PGC IFN-ベータを必要とする対象に、これを投与してもよい量は、一回又は分割された用量で投与される、0.01-100 µg/kgの範囲、又はより好ましくは 0.01-10 µg/kgの範囲である。

50

【0609】

記載した投薬量の投与は一日置きでもよいが、好ましくは1週間当たり一回、又は1週間置きに1回である。用量は、注射により少なくとも24週間の期間にわたって投与される。

【0610】

用量の投与は、経口でも、局所でも、静脈内でも、皮下でも、筋肉内でも、又は他のいずれの許容可能な全身的方法でもよい。担当医の判断に基づき、投与する薬物量や、用いる治療計画は、もちろん、治療しようとする患者の年齢、性別及び医療歴、好中球数（例えば好中球減少症の重篤度など）、特定の疾患状態の重篤度や、局部的毒性及び全身的副作用をエビデンスとしたときの、治療に対する患者のトレランスに依存するであろう。

10

【0611】

実際には、本発明の結合体を、哺乳動物などの対象の望ましくない医学的状态又は疾患を阻害又は予防するために充分であろう量、投与し、このような目的に最も適した形で用いる。本組成物は内用に適していることが好ましく、本発明の薬理学的に活性な化合物を有効量、単独で、又は、他の有効な作用物質と組み合わせて、1種以上の薬学的に許容可能な担体と一緒に、含有する。本化合物は、あるとしても大変低い毒性を有するという点で、特に有用である。

【0612】

ここで解説された結合体は、医薬組成物の有効成分を成すことができ、また典型的には、経口用錠剤、カプセル、エリキシル、シロップ等の目的の投与形態に関して適宜選択された適した医薬用希釈剤、医薬品添加物又は担体（ここでは集合的に「担体」材料と言及することとする）との混合物として、投与される。本組成物は、典型的には、有効量の活性化合物又はその薬学的に許容可能な塩を含むであろうが、さらに、薬学科学で慣例的に用いられているように、いずれかの担体材料を含有してもよい。目的の投与形態に応じて、本組成物は、例えば注射剤、錠剤、座薬、丸剤、持効性カプセル、粉末、液体、懸濁液等の固形、半固形又は液体剤形であってよく、好ましくは単位投薬量であるとよい。

20

【0613】

薬理学的に有効量の結合体、例えばPGC IFN-ベータを、薬学的に許容可能な担体、アジュバント、希釈剤、保存剤及び／又は可溶化剤と一緒に含む従来の医薬組成物を、本発明の実施に用いてよい。インターフェロンの医薬組成物には、一定範囲のpH及びイオン強度を有する多種の緩衝剤（例えばアルギニン、Tris-HCl、酢酸塩、リン酸塩）、担体（例えばヒト血清アルブミン）、可溶化剤（例えばtween、ポリソルベート）、及び保存剤（例えばベンジルアルコール）の希釈剤が含まれる。例えば米国特許第4,496,537号を参照されたい。

30

【0614】

ここで解説した活性化合物の投与は、治療用薬剤に認められた投与形態のいずれを通じても行うことができる。これらの方法には、例えば経口、鼻孔、非経口、経皮、皮下、又は局所投与形態など、全身又は局所投与が包含される。

【0615】

例えば、錠剤又はカプセル（例えばゼラチン・カプセル）の形の経口投与の場合、活性薬物成分を、例えばエタノール、グリセロール、水等、経口用の非毒性の薬学的に許容可能な不活性の担体と組み合わせることができる。さらに、希望又は必要に応じ、適した結合剤、潤滑剤、崩壊剤、及び着色剤も前記混合物に導入することができる。適した結合剤には、でんぷん、珪酸アルミニウムマグネシウム、でんぷんペースト、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム及び／又はポリビニルピロリドン、糖、とうもろこし甘味料、アカシアゴム、トラガカントゴム又はアルギン酸ナトリウムなどの天然及び合成ゴム、ポリエチレングリコール、ろう等がある。これらの剤形で用いられる潤滑剤には、オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、シリカ、タルク、ステアリン酸、そのマグネシウムもしくはカルシウム塩、及び／又は、ポリエチレングリコー

40

50

ル等、がある。崩壊剤には、限定はしないが、でんぷん、メチルセルロース、寒天、ベントナイト、キサンタンゴムでんぷん、寒天、アルギン酸又はそのナトリウム塩、あるいは発泡性混合物等、がある。希釈剤には、例えばラクトース、デキストロース、スクロース、マンニトール、ソルビトール、セルロース及び／又はグリシン、がある。

【0616】

さらに本発明の結合体は、例えば持効性及び持続放出性の錠剤もしくはカプセル、丸剤、粉末、顆粒、エリキシル、チンキ剤、懸濁液、シロップ、及び乳濁液などの経口用剤形として投与することもできる。

【0617】

液体、特に注射可能な組成物は、例えば、溶解、分散等により調製することができる。10
活性化合物を、例えば水、生理食塩水、水性デキストロース、グリセロール、エタノール等の薬学的に純粋な溶媒に溶解又は混合して、注射可能な溶液又は懸濁液を形成させることができる。加えて、注射前に液体に溶解させるのに適した固体形を調合することもできる。注射可能な組成物は、好ましくは、水性の等張の溶液又は懸濁液であるとよい。本組成物を滅菌してもよく、及び／又は、例えば保存剤、安定化剤、湿潤剤又は乳濁剤、溶解促進剤、浸透圧を調節するための塩類、及び／又は緩衝剤などのアジュバントを含めてもよい。加えて、これらには他の治療上貴重な物質を含めてもよい。

【0618】

本発明の結合体は、静脈内（例えば大量もしくは輸注など）、腹腔内、皮下又は筋肉内型で、すべて、製薬業の当業者に公知の形態を用いて、投与することができる。注射剤は、20
液体の溶液又は懸濁液として、従来の形に調製することができる。

【0619】

非経口による注射投与は、一般に、皮下、筋肉内又は静脈内注射及び輸注に用いられる。例えば、皮下注射を用いて0.01-100 µg/kg、又はより好ましくは0.01-10 µg/kg のPEG化IFN-ベータを1週間かけて投与する場合、それぞれ0.005-50 µg/kg、又はより好ましくは0.005-5 µg/kgの2回の注射を、0時間目及び72時間目に投与してよい。加えて、非経口投与用のアプローチの1つは、引用をもってここに援用することとする米国特許第3,710,795号に従い、一定レベルの投薬を確実に維持するような徐放性もしくは持続放出性の系の移植を利用するものである。

【0620】

さらに、本発明の好適な結合体は、適した鼻孔内賦形剤の局所使用を通じた鼻孔内形で、又は、当業者に公知の経皮皮膚パッチの形を用いた経皮経路を通じて、投与することができる。経皮送達系の形で投与するためには、投薬は、もちろんのことだが、投薬計画全般を通じて間欠的ではなく継続的となるであろう。他の好適な局所用製剤には、クリーム、軟膏、ローション、エーロゾル、スプレー及びゲル、があり、この場合の投与量は、非経口投与で典型的に投与される用量の10乃至100倍であろう。

【0621】

固形組成物の場合、医薬品添加物には、薬学的等級のマンニトール、ラクトース、でんぷん、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、タルク、セルロース、グルコース、スクロース、炭酸マグネシウムが含まれ、同様なものを用いてよい。上に定義した40
活性化合物を、担体としてプロピレングリコールなどのポリアルキレングリコールなどを用いた座薬として調合してもよい。いくつかの実施態様では、座薬を、脂肪乳濁液又は懸濁液から有利に調製する。

【0622】

さらに本発明の結合体を、小型の単層ベシクル、大型の単層ベシクル及び多層ベシクルなど、リポソーム送達系の形で投与することができる。リポソームはコレステロール、ステアリールアミン、又はホスファチジルコリンを含有する多種のホスホリピドから形成することができる。いくつかの実施態様では、米国特許第5,262,564号が解説するように、リピド成分の膜を薬物の水溶液で水和化して、薬物を封入したリピド層を形成する。

【0623】

10

20

30

40

50

さらに本発明の結合体を、当該化合物分子を結合させた個々の担体としての免疫グロブリン融合体を使用することにより、送達してもよい。また本発明の化合物を、標的設定可能な薬物担体として可溶性ポリマに結合させてもよい。このようなポリマには、ポリビニルピロリドン、ピランコポリマ、ポリヒドロキシプロピル-メタクリルアミド-フェノール、ポリヒドロキシエチルアスパンアミドフェノール、又はパルミトイル残基で置換されたポリエチレンオキシドポリリジンを含めることができる。さらに結合体を、例えば受容体タンパク質及びアルブミンなどのタンパク質に結合させることもできる。さらに、本発明の化合物を、薬物の制御放出を達成する上で有用なクラスが生分解性ポリマ、例えばポリ乳酸、ポリイブシロンカプロラクトン、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルトエステル、ポリアセタール、ポリジヒドロピラン、ポリシアノアクリレート及びヒドロゲルの架橋もしくは両親媒性ブロックコポリマなど、に結合させてもよい。

10

【0624】

必要に応じ、投与しようとする医薬組成物に、さらに、例えば湿潤剤又は乳化剤、pH緩衝剤や、酢酸ナトリウム、オレイン酸トリエタノールアミン等の他の物質など、非毒性の補助物質を少量、含めてもよい。

【0625】

本結合体を用いた投薬計画は、患者の種類、種、年齢、体重、性別及び医学的状态；治療しようとする状態の重篤度、投与経路、患者の腎機能及び肝機能；並びに、用いる特定の化合物又はその塩、を含め、多種の因子に従って選択される。本発明の化合物の活性及び副作用に対する患者の感受性も考慮される。通常の技術を有する医師又は獣医であれば、当該状態を予防、対処又は進行を停止させるために必要な薬物の有効量を容易に決定及び処方することができる。

20

【0626】

指示された効果のために用いられる場合の本発明の経口投薬量は、経口で約0.01-100 µg/kg/日、又はより好ましくは経口で0.01-10 µg/kg/日であろう。本組成物は、好ましくは、0.5-5000 µg、又はより好ましくは0.5-500 µgの活性成分を含有する切り込み入りの錠剤の形で提供されるとよい。

【0627】

いずれの投与経路の場合でも、分割されたもしくは一回の用量を用いてよい。例えば、本発明の化合物を毎日又は毎週、一回分の用量、投与してもよく、あるいは、総投薬量を2回、3回又は4回の分割された用量で投与してもよい。

30

【0628】

上記の医薬組成物のいずれも、0.1-99%、1-70%、又は好ましくは1-50%の本発明の活性化合物を活性成分として含んでよい。

【0629】

上述したように、疾患の経過や、薬物治療に対するその応答を臨床検査及び検査所見で追跡してもよい。本発明の治療の効果は、以前に記述された、例えば慢性肝炎などの状態の兆候又は症状が軽減される程度、そして、インターフェロンの通常の副作用（即ち、発熱、頭痛、寒気、筋肉痛、疲労感等の風邪様の症状や、鬱、感覚異常、集中力の欠如などの中樞神経系関連症状）が消失又は実質的に低減された程度、によって判断される。

40

【0630】

いくつかの実施態様では、本発明のポリアルキル化化合物（例えばPEG化インターフェロン）は、特定の状態の治療にとって有用な1種以上の薬学的作用物質と一緒に投与される。例えば、ポリアルキル化タンパク質を、公知の抗ウィルス剤又はウィルス感染治療用の作用薬と組み合わせて投与することができる。このような抗ウィルス化合物には、例えば、リバビリン、レボビリン、MB6866、及びジドブジン3TC、FTC、アシクロビル、ガンシクロビル、ピラミド、VX-497、VX-950、及びISIS-14803、がある。

【0631】

本結合体及び抗ウィルス剤は同時に投与（例えばこれら薬剤を患者と一緒に投与する）；順に投与；（例えばこれら薬剤を患者に前後して投与する）；又は交互に投与（例えば

50

、薬剤 A の次に薬剤 B、次に薬剤 A、など、これら薬剤を反復して連続的に投与する) することができる。

【0632】

本発明の実施にあたっては、好適な PGC IFN-ベータ (例えば PEG IFN-ベータ) を、C 型肝炎ウィルス感染患者に投与してもよい。PEG IFN-ベータ-1 a の使用が好ましい。

【0633】

治療対象の患者は、生検で記載された慢性進行性肝炎の抗 HCV 抗体陽性患者から、選抜される。

【0634】

薬物治療に応答した対象における HCV 複製の経過を追跡するために、血清試料中の HCV RNA を、例えば HCV ゲノムの NS3 及び NS4 非構造遺伝子領域から得られる二組のプライマを用いたネスティッドポリメラーゼ連鎖反応検定により、測定してもよい。Farci et al., 1991, New Eng. J. Med. 325:98-104. Ulrich et al., 1990. J. Clin. Invest., 86:1609-1614 を参照されたい。 10

【0635】

抗ウィルス活性を、HCV-RNA 力価の変化で測定してもよい。処置前基線測定値と、処置終了時の力価を比較することにより、HCV RNA データを解析してよい。4 週目までに HCV RNA が減少していれば、化合物の抗ウィルス活性の証拠となる。Kleter et al., 1993, Antimicrob. Agents Chemother. 37(3):595-97; Orito et al., 1995, J. Medical Virology, 46:109-115 を参照されたい。少なくとも二桁の変化 (>2 log) が、抗ウィルス活性の証拠と解釈される。 20

【0636】

慢性 C 型肝炎感染患者は、以下の兆候又は症状のうちの一つ以上を示すであろう：(a) 血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の上昇、(b) 抗 HCV 抗体検査陽性；(c) HCV RNA の陽性検査で実証される HCV の存在、(d) 慢性肝疾患の臨床上的徴候、(e) 肝細胞の損傷。このような基準は、C 型肝炎を診断するために用いてよいだけでなく、薬物治療に対する患者の応答を評価するためにも、用いることができる。

【0637】

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) の上昇は、管理されていない C 型肝炎で起きることが知られており、治療に対する完全な応答は、一般に、これらの血清酵素、特に ALT の正規化だと定義されている。Davis et al., 1989, New Eng. J. Med. 321:1501-1506 を参照されたい。ALT は、肝細胞が破壊されたときに放出される酵素であり、HCV 感染の症状である。インターフェロンは酵素 2',5' オリゴアデニル酸シンターゼ (2'5'OAS) の合成を引き起こすが、これがひいてはウィルス mRNA の分解につながる。Houghlum, 1983, Clinical Pharmacology 2:20-28 を参照されたい。2'5'OAS の血清レベルの上昇は、ALT レベルの低下と一致する。 30

【0638】

肝生検試料の組織検査を、評価の第二基準として用いてもよい。例えば、その組織学的活性指数 (門脈炎症、断片又は架橋壊死、小葉損傷及び線維症) が疾患の活動の採点方法となる Knodell et al., 1981, Hepatology 1:431-435 を参照されたい。 40

【0639】

安全性及びトレランス又は治療を、白血球及び好中球数の臨床評価及び測定により、決定してもよい。これを、例えば白血球、好中球、血小板、及び赤血球数など、血液学的パラメータの周期的観察を通じて評価してもよい。

【0640】

多種の他の長期又は持続放出製剤を、当業で公知の常法を用いて調製することができる。

【0641】

本発明の多くの改良及び変更を、当業者であれば明白であるように、その精神及び範囲から逸脱することなく実施することができる。ここで解説された具体的な実施態様は、単に例として提供されたものであり、本発明は、付属の請求項や、このような請求項に対する均等物の全範囲に限って、限定を受けるものである。ここで引用された全特許及び公開文献を、引用をもって援用することとする。

【0642】

実施例

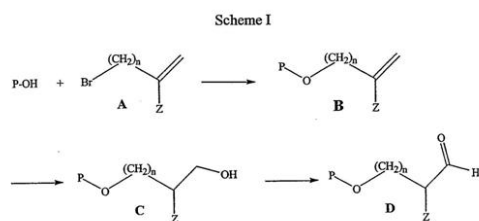
実施例1： 活性化ポリアルキレングリコールの合成

A) アルコールのアルキル化

活性化ポリアルキレングリコールは、遊離末端水酸官能基を有するポリアルキレングリコールをアルキル化することにより、合成される。一般的反応をスキーム I：

【0643】

【化128】



【0644】

に概観する。

【0645】

該ポリアルキレングリコール(P-OH)を、ハロゲン化アルキル(A)と反応させてエーテル(B)を形成する。次に化合物Bを水酸化してアルコール(C)を形成し、このアルコール(C)を酸化させてアルデヒド(D)にする。これらの化合物において、n は、ゼロ乃至5までの整数であり、そしてZは直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和 C₁乃至C₂₀アルキル又はヘテロアルキル基であってよい。さらにZは、C₃乃至C₇飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であってもよい。置換化合物の場合、前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル又はアルキルチオであってよい。典型的には、P-OH は、分子量が5,000 乃至40,000 ダルトン(Da)のポリエチレングリコール (PEG) 又はモノメトキシポリエチレングリコール(mPEG)である。

【0646】

例えば、mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒドの合成をスキーム I I に概観する。

【0647】

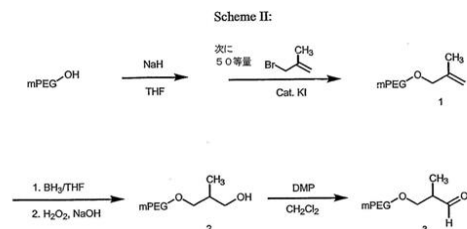
10

20

30

40

【化 1 2 9】



【 0 6 4 8 】

分子量20,000DaのmPEG-OH (mPEG-OH 20 kDa ; 2.0 g, 0.1 mmol、スンビオ社)をNaH (12 mg, 0.5 mmol) のTHF (35 mL) 溶液で処理した。次に、50等量の3-ブロモ-2-メチルプロペン (3.34 g, 5 mmol) 及び触媒量のKI をこの混合液に加えた。その結果得られた混合液を還流するまで16時間、加熱した。水 (1 mL) をその後加え、溶媒を真空下で取り除いた。その残渣に CH_2Cl_2

10

(25 mL) を加え、有機層を分離し、無水 Na_2SO_4 上で乾燥させ、体積をほぼ2 mLまで減少させた。この CH_2Cl_2 溶液をエーテル (150 mL) に滴下で加えた。その結果得られた白色の沈殿物を採集すると、1.9 g の化合物1が得られた。 ^1H NMR

(CDCl_3 , 400 MHz) は、 δ 4.98

(s, 1H) , 4.91 (s, 1H) , 1.74 (s, 3H) を示した。

20

【 0 6 4 9 】

0°Cの化合物1 (1.9 g, 0.1 mmol) のTHF

(20 mL) 及び CH_2Cl_2

(2 mL) 溶液に BH_3 のTHF (1.0 M, 3.5 mL) 溶液を加えた。この混合液を水槽で1時間、攪拌した。この混合液にNaOH をゆっくりと加え (2.0 M, 2.5 mL) 、次に 30% H_2O_2 (0.8 mL) を加えた。この反応液を室温まで温め、16時間、攪拌した。上記の実験手法に従って (CH_2Cl_2 、エーテルから沈殿させたもの) 、1.8

g の 2 を白色の固体として生成させた。 ^1H NMR (CDCl_3 、400 MHz) は δ 1.80 (m, 1H) , 0.84 (d, 3H) を示した。

【 0 6 5 0 】

30

化合物2 (250 mg) を CH_2Cl_2 (2.5 mL) に溶解させ、Dess-Martinペリオジネート (DMP; 15 mg) を、攪拌しながら室温で30分間かけて加えた。この混合液に飽和 NaHCO_3 及び $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

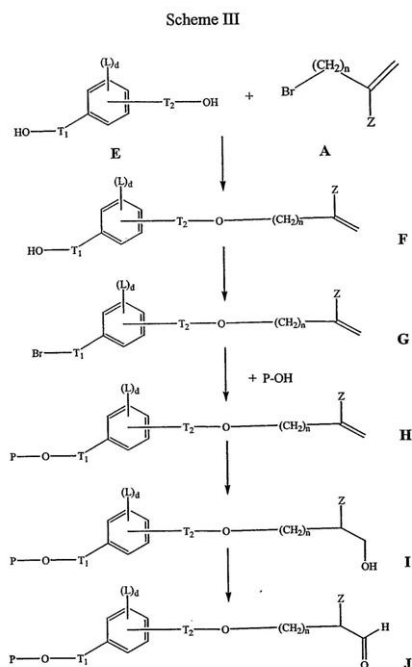
(2 mL) を加えた後、当該混合液を室温で1時間、攪拌した。上記の実験手法に従って3 (mPEG-O-2メチルプロピオンアルデヒド、120 mg) を白色の固体として生成させた。 ^1H NMR (CDCl_3 、400 MHz) は δ 9.75 (s, 1H) , 2.69 (m, 1H) , 1.16 (d, 3H) を示した。

【 0 6 5 1 】

同様な手法は、スキーム I I I :

【 0 6 5 2 】

【化 1 3 0】



10

【 0 6 5 3】

20

に示すように、芳香族アルコールについても従われる。

【 0 6 5 4】

概略的には、芳香族アルコール (E) をハロゲン化アルキル (A) と反応させてモノエーテル (F) を形成する。次に、化合物Fの残りのアルコール基を化合物Gのハリド (例えばブロミド) に転化させて、この化合物Gをポリアルキレングリコール

(P-OH) と反応させてエーテル (H) を生成させる。次にこの化合物を、第一アルコール (I) へのヒドロ硼素化、続く酸化を通じてアルデヒド (J) に転化させる。これらの化合物において、nはゼロ乃至5までの整数であり、dはゼロ又は1乃至4までの整数であり、そしてZは直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキル又はヘテロアルキル基であってよい。さらにZは、 C_3 乃至 C_7 飽和もしくは不飽和

30

環状アルキル又は環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であってもよい。置換化合物の場合、前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラールキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

40

【 0 6 5 5】

加えて、 T_1 及び T_2 は、個別に、存在しないか、又は直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキル又はヘテロアルキル基であり、相互に対してオルト、メタ、又はパラであってよい。各L (存在する場合) は、個別に、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和 C_1 乃至 C_{20} アルキル又はヘテロアルキル基、 C_3 乃至 C_7 飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルが C_1 乃至 C_{20} の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基である。前記置換基は、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホ

50

スホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

【0656】

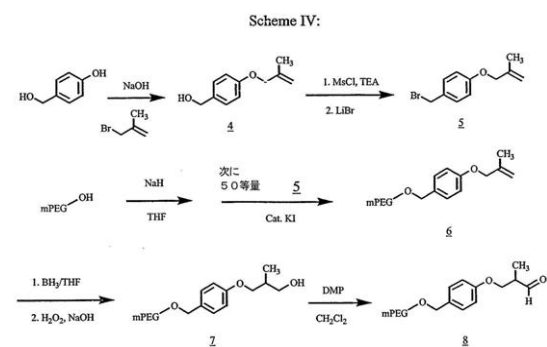
通常、P-OH は、分子量5,000乃至40,000Daのポリエチレングリコール (PEG) 又はモノメトキシポリエチレングリコール (mPEG) である。

【0657】

例えば、mPEG-0-p-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド (8) の合成をスキーム I V :

【0658】

【化131】



【0659】

に示す。

【0660】

4-ヒドロキシベンジルアルコール (2.4 g, 20 mmol) のTHF (50 mL) 及び 水 (2.5 mL) 溶液に、まず水酸化ナトリウム (1.5 g, 37.5 mmol) 及び、次に3-ブromo-2-メチルプロペン (4.1

g, 30 mmol) を加えた。この反応混合液を還流するまで16時間、加熱した。この混合液に10% クエン酸 (2.5 mL) を加え、溶媒を真空下で取り除いた。残渣を酢酸エチル (3 x 15 mL) で抽出し、配合された有機層を飽和NaCl (10 mL) で洗浄し、乾燥させ、濃縮して化合物4 (3.3 g, 93 %) を生成させた。¹HNMR (CDCl₃, 400 MHz) は δ 7.29 (m, 2H), 6.92 (m, 2H), 5.14 (s, 1H), 5.01 (s, 1H), 4.56 (s, 2H), 4.46 (s, 2H), 1.85 (s, 3H) を示した。

【0661】

塩化メシル (MsCl; 2.5 g, 15.7 mmol) 及びトリエチルアミン (TEA; 2.8 mL, 20 mmol) を化合物4 (2.0 g, 11.2 mmol) の0℃のCH₂Cl₂ (25 mL) 溶液に加え、この反応液を冷蔵庫内に16時間、置いた。通常の実験で淡い黄色の油分 (2.5 g, 87%) が生成した。¹HNMR (CDCl₃,

400 MHz) は δ 7.31 (m, 2H), 6.94 (m, 2H), 5.16 (s, 1H), 5.01 (s, 1H), 5.03 (s, 2H), 4.59 (s, 2H), 4.44 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 1.85 (s, 3H) を示した。この油分 (2.4 g, 9.4 mmol) をTHF (20 mL) に溶解させ、LiBr

(2.0 g, 23.0mmol) を加えた。この反応混合液を還流するまで1時間加熱した後、室温まで冷ました。水 (2.5 mL) をこの混合液に加え、溶媒を真空下で取り除いた。残渣を酢酸エチル (3 x

15 mL) で抽出し、配合された有機層を飽和NaCl (10

mL) で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮して所望の臭化物5 (2.3 g, 96%) を淡い黄色の油分として生成させた。¹HNMR (CDCl₃,

400 MHz) は δ 7.29 (m, 2H), 6.88 (m, 2H), 5.11 (s, 1H), 4.98 (s, 1H), 4.5

10

20

30

40

50

3 (s, 2H), 4.44 (s, 2H), 1.83 (s, 3H) を示した。

【0662】

mPEG-OH 20 kDa (2.0 g, 0.1 mmol, スンビオ社) を NaH (12 mg, 0.5 mmol) の THF (35 mL) 溶液で処理し、化合物5 (0.55 g, 22.8 mmol) を触媒量の KI と一緒にこの混合液に加えた。その結果得られた混合液を還流するまで 16 時間、加熱した。水 (1.0 mL) をこの混合液に加え、溶媒を真空下で取り除いた。残渣に CH_2Cl_2 (25 mL) を加え、有機層を分離し、無水 Na_2SO_4 で乾燥させ、体積をほぼ 2 mL まで減少させた。エーテル溶液 (150 mL) に滴下で加えて得られた白色の沈殿物を採集して、6 (1.5 g) を白色の粉末として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) は δ 7.21 (d, 2H), 6.90 (d, 2H), 5.01 (s, 1H), 4.99 (s, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.43 (s, 2H), 1.84 (s, 3H) を示した。

【0663】

0°C まで冷やした化合物6 (1.0 g, 0.05 mmol) の THF (10 mL) 及び CH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に、 BH_3/THF (1.0 M, 3.5 mL) を加え、その反応液を 1 時間、攪拌した。2.0 M の NaOH 溶液 2.5 mL をゆっくり加えた後、30% H_2O_2 (0.8 mL) を加えた。その反応混合液を室温まで戻し、16 時間、攪拌した。上記の実験手法 (CH_2Cl_2 、エーテルから沈殿させたもの) に従って 7 (350 mg) を白色の固体として生成させた。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) は δ 7.21 (d, 2H), 6.84 (d, 2H), 4.54 (s, 2H), 2.90 (m, 2H), 1.96 (d, 3H) を示した。

【0664】

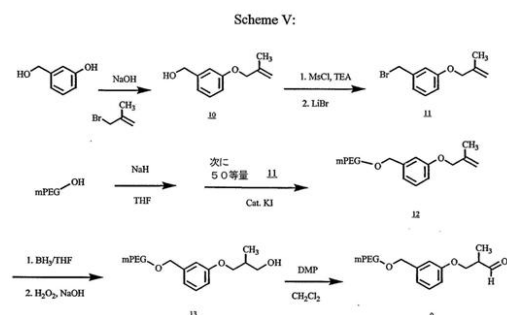
化合物7 (150 mg, 0.0075 mmol) を CH_2Cl_2 (1.5 mL) に溶解させ、反応混合液を室温で 1.5 時間攪拌しながら、DMP (15 mg) を加えた。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) は δ 9.76 (s, 1H), 7.21 (d, 2H), 6.78 (d, 2H), 4.44 (s, 2H), 4.14 (m, 2H), 2.85 (m, 1H), 1.21 (d, 3H) を示した。この混合液に飽和 NaHCO_3 (0.5 mL) 及び $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0.5 mL) を加え、攪拌を室温で 1 時間、継続した。上記の実験手法に従い (CH_2Cl_2 溶液、エーテルから沈殿させたもの)、8 (92 mg) を白色の固体として生成させた。

【0665】

同様に、mPEG-O-m-メチルフェニル-O-2-メチルプロピオンアルデヒド (9) をスキーム V :

【0666】

【化132】



【0667】

に概観するように合成した。

【0668】

3-ヒドロキシベンジルアルコール (2.4 g, 20 mmol) の THF (50 mL) 及び水 (2.5 mL) 溶液に、まず、水酸化ナトリウム (1.5 g, 37.5 mmol) を加え、次に 3-ブromo-2-メチルプロペン (4.1 g, 30 mmol) を加えた。この反応混合液を還流するまで 16 時間、加熱した。この混合液に 10% クエン酸 (2.5 mL) を加え、溶媒を真空下で取り除いた。残渣を酢酸エチル (3 x 15

mL) で抽出し、配合した有機層を飽和NaCl (10 mL) で洗浄し、乾燥させ、濃縮して化合物10 (3.2 g, 90 %) を生成させた。¹HNMR (CDCl₃, 400 MHz) は δ 7.26 (m, 1H), 6.94 (m, 2H), 6.86 (m, 1H), 5.11 (s, 1H), 5.01 (s, 1H), 4.61 (s, 1H), 4.44 (s, 2H), 1.82 (s, 3H) を示した。

【0669】

MsCl (2.5 g, 15.7 mmol) 及びTEA (2.8 mL, 20 mmol) を化合物10 (2.0 g, 11.2 mmol) の 0 °C のCH₂Cl₂ (25 mL) 溶液に0°Cで加え、この反応液を冷蔵庫内に16時間、置いた。通常の作業で、淡い黄色の油分 (2.5 g, 87%) が生成された。¹HNMR (CDCl₃, 400 MHz) は δ 7.31 (m, 1H), 7.05 (m, 2H), 6.91 (m, 1H), 5.16 (s, 1H), 5.04 (s, 1H), 4.59 (s, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.71 (s, 3H), 1.84 (s, 3H) を示した。この油分 (2.4 g, 9.4 mmol) をTHF (20 mL) に溶解させ、LiBr (2.0 g, 23.0 mmol) を加えた。この反応混合液を還流するまで1時間、加熱した後、室温まで冷ました。この混合液に水 (2.5 mL) を加え、溶媒を真空下で取り除いた。残渣を酢酸エチル (3 x 15 mL) で抽出し、配合した有機層を飽和NaCl (10 mL) で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮して所望の臭化物11 (2.2 g, 92 %) を淡い黄色の油分として生成させた。¹HNMR (CDCl₃, 400 MHz) は δ 7.29 (m, 1H), 6.98 (m, 2H), 6.85 (m, 1H), 5.14 (s, 2H), 4.98 (s, 2H), 4.50 (s, 2H), 4.44 (s, 2H), 1.82 (d, 3H) を示した。

【0670】

mPEG-OH 20 kDa (2.0 g, 0.1 mmol, スンビオ社) をNaH (12 mg, 0.5 mmol) のTHF (35 mL) 溶液で処理し、化合物 11 (0.55 g, 22.8 mmol) を 触媒量のKIと一緒にこの混合液に加えた。その結果得られた混合液を還流するまで16時間、加熱した。水 (1.0 mL) をこの混合液に加え、溶媒を真空下で取り除いた。その残渣にCH₂Cl₂ (25 mL) を加え、有機層を分離し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、体積をほぼ2 mLまで減少させた。エーテル溶液 (150 mL) に滴下で加えて生じた白色の沈殿物を採集して12 (1.8 g) を白色の粉末として生成させた。¹HNMR (CDCl₃, 400 MHz) は δ 7.19 (m, 1H), 6.88 (m, 2H), 6.75 (m, 1H), 4.44 (s, 2H), 4.10 (m, 2H), 1.82 (d, 3H) を示した。

【0671】

0°Cまで冷却した化合物12 (1.0 g, 0.05 mmol) のTHF (7.5 mL) 及び CH₂Cl₂ (2.5 mL) 溶液に、BH₃/THF (1.0 M, 3.5 mL) を加え、この反応液を1時間、攪拌した。2.0 M の NaOH 溶液 (3 mL) をゆっくり加えた後、30% H₂O₂ (0.85 mL) を加えた。この反応混合液を室温まで戻し、16時間、攪拌した。上記の実験手法に従って (CH₂Cl₂, エーテルから沈殿させたもの) 13 (450 mg) を白色の固体として生成させた。

¹HNMR (CDCl₃, 400 MHz) は δ 7.15 (m, 1H), 6.84 (m, 2H), 6.69 (m, 1H), 4.50 (s, 2H), 2.90 (m, 2H), 1.95 (d, 3H) を示した。

【0672】

化合物13 (200 mg, 0.01 mmol) をCH₂Cl₂ (1.5 mL) に溶解させ、その反応混合液を室温で1時間、攪拌しながらDMP (20 mg) を加えた。¹HNMR (CDCl₃, 400 MHz) は δ 9.74 (s, 1H), 7.17 (m, 1H), 6.86 (m, 2H), 6.74 (m, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.15 (m, 2H), 2.78 (m, 1H), 1.22 (d, 3H) を示した。この混合液に飽和NaHCO₃ (0.5 mL) 及びNa₂S₂O₃ (0.5 mL) を加え、攪拌を室温で1時間、続けた。上記の実験手法に従って (CH₂Cl₂ 溶液、エーテルから沈殿させたもの)、9 (142 mg) を白色の固体として生成させた。

【0673】

10

20

30

40

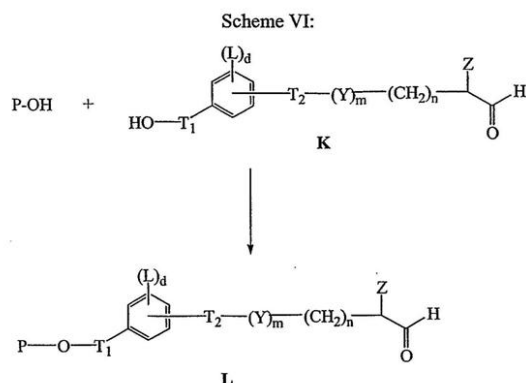
50

B) 芳香族アルコールとの反応を通じた作製

遊離末端水酸官能基を有するポリアルキレングリコールと芳香族アルコールとの間のミツノブ反応により、活性化ポリアルキレングリコールが合成される。この反応スキームをスキーム V I に概観する。

【0674】

【化133】



10

【0675】

ポリアルキレングリコール (P-OH) をアルコール (K) に反応させてエーテル (L) を形成する。これらの化合物において、m はゼロ又は1であり、dはゼロ又は1乃至4までの整数であり、そしてnはゼロ又は1乃至5までの整数である。Y はO、S、CO、CO₂、COS、SO、SO₂、CONR'、SO₂NR'、及びNR'である。T₁及びT₂は、個別に、存在しないか、又は直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和 C₁乃至C₂₀アルキル又はヘテロアルキル基である。

20

【0676】

R' 及びZ は、個別に、水素、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和C₁乃至C₂₀アルキル又はヘテロアルキル基である。

【0677】

各 L (存在する場合) は、個別に、直鎖もしくは分枝鎖、飽和もしくは不飽和C₁乃至C₂₀アルキル又はヘテロアルキル基、C₃乃至C₇飽和もしくは不飽和環状アルキル又は環状ヘテロアルキル、置換もしくは非置換のアリール又はヘテロアリール基、または置換もしくは非置換アルカリルであって、前記アルカリルのアルキルがC₁乃至C₂₀の置換もしくは非置換アルキルもしくはヘテロアルカリル基であって、そして当該置換基はハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル、カルボキシレート、エステル、ホルミル、アシル、チオカルボニル、チオエステル、チオアセテート、チオホルメート、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、芳香族部分、ヘテロ芳香族部分、イミノ、シリル、エーテル、又はアルキルチオであってよい。

30

【0678】

P はポリアルキレングリコールポリマである。通常、P-OH は、分子量5,000乃至40,000 Daのポリエチレングリコール (PEG) 又はモノメトキシポリエチレングリコール (mPEG) である。

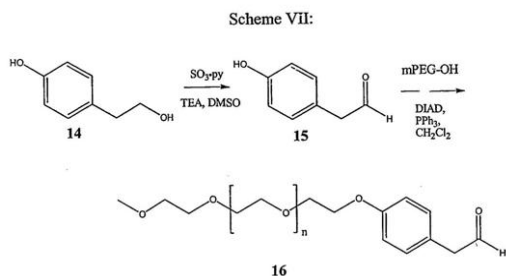
40

【0679】

例えばmPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒド (16) の合成をスキーム V I I :

【0680】

【化 1 3 4】



【 0 6 8 1】

10

に概観する。

【 0 6 8 2】

4-ヒドロキシフェニルアセトアルデヒド (15) をHeterocycles, 2000, 53, 777-784に解説された通りに合成した。4-ヒドロキシフェニルアルコール (化合物14, 1.0 g, 7.3 mmol, アルドリッチ) をジメチルスルホキシド (8 mL, アルドリッチ) に溶解させた。攪拌しながらTEA (2.2 mL, 16 mmol, アルドリッチ) をゆっくり加えた。ピリジン-三酸化硫黄 ($\text{SO}_3\text{-PY}$) 錯体 (2.5 g, 16 mmol, アルドリッチ) をジメチルスルホキシド (9 mL, アルドリッチ) 中に完全に溶解させ、この溶液を前記アルコールによくかきまぜながら滴下で加えた。1時間、室温で攪拌した後、この反応液を CH_2Cl_2 で希釈し、その後氷温の水で洗浄した。有機層を Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、乾燥するまで濃縮した。ヘキサン-酢酸エチル (5:1, その後 2:1) を溶出剤として用いたシリカゲル・クロマトグラフィで精製すると、488 mg (49%) の4-ヒドロキシフェニルアセトアルデヒド (15) が生成された。

20

【 0 6 8 3】

mPEG-OH 20 kDa (101 mg, 0.005 mmol) 及び4-ヒドロキシフェニルアセトアルデヒド (15) (39 mg, 0.29 mmol) をトルエンと一緒に4回共沸させた後、無水 CH_2Cl_2 (2 mL, アルドリッチ) 中に取り込んだ。この溶液にトリフェニルホスフィン (PPh_3 ; 66 mg, 0.25 mmol, アルドリッチ) を加えた後、ジイソプロピルアゾジカルボキシレート (DIAD ; 49 μL , 0.25 mmol, アルドリッチ) を攪拌しながら加えた。室温で3日間攪拌した後、この反応混合液を、よく攪拌した後のジエチルエーテルに滴下で加えた。その結果得られた沈殿物を濾過で単離し、ジエチルエーテルで3回、洗浄した。粗物質を CH_2Cl_2 で採取し、水で洗浄した。有機層を Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、乾燥するまで濃縮した。その物質を最少の CH_2Cl_2 で採取した後、攪拌済みのジエチルエーテルに滴下で加えることで沈殿させた。この物質を濾過で採集し、ジエチルエーテルで3回洗浄し、乾燥させて63 mg (62%) のmPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒド (16) を生成させた。

30

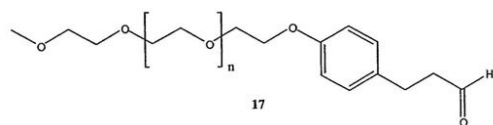
【 0 6 8 4】

mPEG-O-p-フェニルプロピオンアルデヒド (17) の合成を同様な方法で調製した。

【 0 6 8 5】

40

【化 1 3 5】



【 0 6 8 6】

4-ヒドロキシフェニルプロピオンアルデヒドを4-ヒドロキシフェニルアセトアルデヒド (Heterocycles, 2000, 53, 777-784) の合成と同様な合成法で調製した。3-(4-ヒドロキシフェニル)-1-プロパノール (1.0 g, 6.6 mmol, アルドリッチ) をジメチルスルホキシド (8 mL, アルドリッチ) に溶解させた。TEA (2.0 mL, 14 mmol, アルドリッチ) を攪

50

拌しながらゆっくり加えた。ピリジン-三酸化硫黄

($\text{SO}_3 \cdot \text{py}$) 錯体 (2.3 g, 15 mmol, アルドリッチ) をジメチルスルホキシド (9 mL, アルドリッチ) に完全に溶解させ、この溶液を滴下で前記アルコールによく攪拌しながら加えた。1 時間、室温で攪拌した後、この反応液を CH_2Cl_2 で希釈し、氷温の水で洗浄した。有機層を Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、乾燥するまで濃縮した。ヘキサン-酢酸エチルを溶出剤 (5:1, 次に 2:1) として用いたシリカゲル・クロマトグラフィによる精製で 745 mg (75%) の 4-ヒドロキシフェニルプロピオンアルデヒドが得られた。

【0687】

mPEG-OH 20 kDa (100 mg, 0.005

mmol) 及び 4-ヒドロキシフェニルプロピオンアルデヒド (40

mg, 0.27 mmol) をトルエンと一緒に 4 回、共沸させた後、無水 CH_2Cl_2

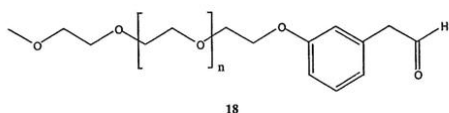
(2 mL, アルドリッチ) で採取した。この溶液にトリフェニルホスフィン (66 mg, 0.25 mmol, アルドリッチ) を加えた後、ジイソプロピルアゾジカルボキシレート (49 μL , 0.25 mmol, アルドリッチ) を攪拌しながら加えた。室温で 3 日間攪拌した後、この反応混合液を滴下で、よく攪拌済みのジエチルエーテルに加えた。その結果得られた沈殿物を濾過で単離し、ジエチルエーテルで 3 回、洗浄した。その粗物質を CH_2Cl_2 で採取し、水で洗浄した。その有機層を Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、乾燥するまで濃縮した。その物質を最少の CH_2Cl_2 で採取し、次に攪拌済みのジエチルエーテルに滴下で加えることで沈殿させた。この物質を濾過で採集し、ジエチルエーテルで 3 回、洗浄し、乾燥させて 60 mg (60%) の mPEG-O-p-フェニルプロピオンアルデヒド (17) を生成させた。

【0688】

mPEG-O-m-フェニルアセトアルデヒド (18) もこの方法で調製された。

【0689】

【化136】



【0690】

3-ヒドロキシフェニルアセトアルデヒドを 4-ヒドロキシフェニルアセトアルデヒド (Heterocycles, 2000, 53,

777-784) の合成法と同様な合成法で調製した。3-ヒドロキシフェネチルアルコール (1.0 g, 7.5 mmol, アルドリッチ) をジメチルスルホキシド (8 mL, アルドリッチ) に溶解させた。TEA (2.0 mL, 14 mmol, アルドリッチ) を攪拌しながらゆっくり加えた。ピリジン-三酸化硫黄

($\text{SO}_3 \cdot \text{py}$) 錯体 (2.4 g, 15 mmol, アルドリッチ) をジメチルスルホキシド (8 mL, アルドリッチ) に完全に溶解させ、この溶液を滴下で前記アルコールによく攪拌しながら加えた。室温で 1 時間、攪拌した後、反応に氷温の水を加えて反応を停止させ、次に CH_2Cl_2 で抽出した。その有機層を Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、乾燥するまで濃縮した。ヘキサン-酢酸エチルを溶出剤 (3:1, 次に 1:1) として用いたシリカゲル・クロマトグラフィで精製すると、225 mg (22%) の 3-ヒドロキシフェニルアセトアルデヒドが生成された。

【0691】

mPEG-OH 20 kDa (307 mg, 0.015

mmol) 及び 3-ヒドロキシフェニルアセトアルデヒド (117

mg, 0.86 mmol) をトルエンと一緒に 4 回、共沸させた後、無水 CH_2Cl_2

(5 mL, アルドリッチ) で採取した。この溶液にトリフェニルホスフィン (200 mg, 0.76 mmol, アルドリッチ) を加えた後、ジイソプロピルアゾジカルボキシレート (147 μL , 0.75 mmol, アルドリッチ) を攪拌しながら加えた。室温で 3 日間、攪拌した後、この反応混合液を滴下で、よく攪拌済みのジエチルエーテルに加えた。その結果得られた沈殿物を濾過で単離し、ジエチルエーテルで 3 回、洗浄し、乾燥させて 284 mg (93%) の

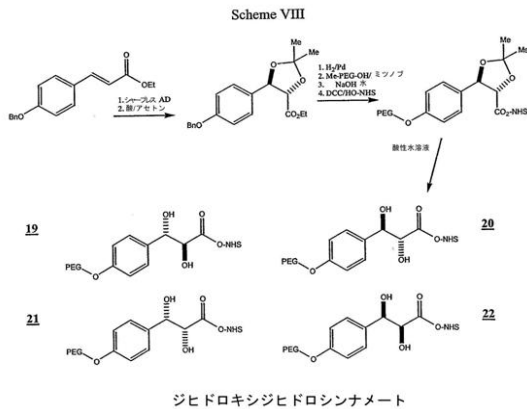
mPEG-O-m-フェニルアセトアルデヒド (18) を生成させた。

【0692】

キラルPEG-シンナメート-N-ヒドロキシスクシニメート (NHS) 化合物は、例えばスキーム V I I I 及び I X :

【0693】

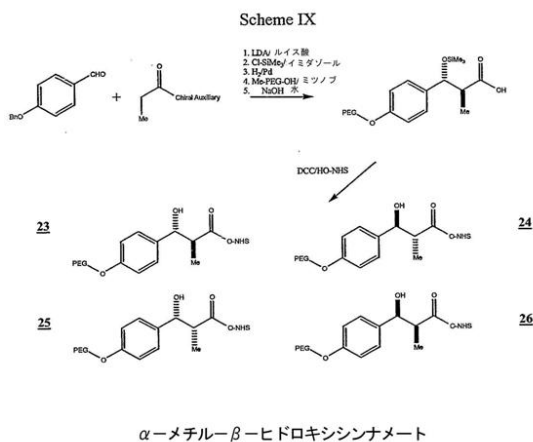
【化137】



10

【0694】

【化138】



20

【0695】

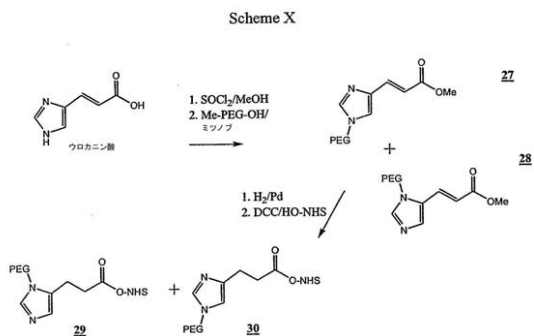
に示すように作製される。

【0696】

PEG-ジヒドロウロカネート-NHS 化合物もミツノブ反応を通じてスキーム X :

【0697】

【化139】



40

【0698】

に示されるように作製される。

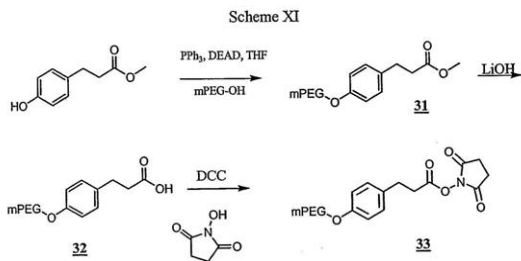
【0699】

50

PEG-ジヒドロシナメート-NHS化合物も芳香族アルコールから、スキーム X I :

【0700】

【化140】



10

【0701】

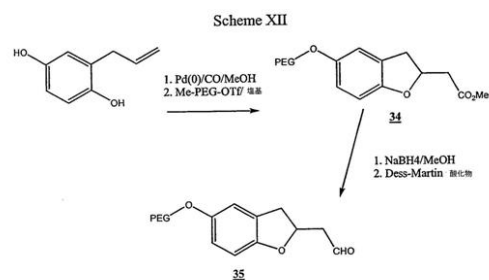
に示すように作製される。

【0702】

PEG-ベンゾフラン及びPEG-インドールはスキーム X I I 及び X I I I :

【0703】

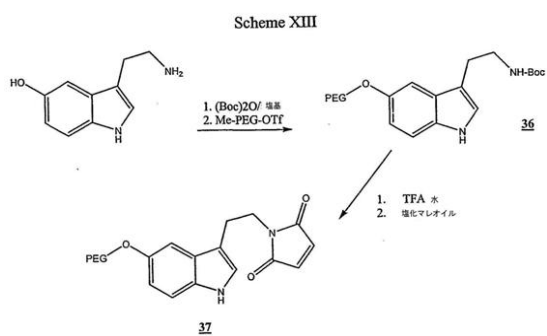
【化141】



20

【0704】

【化142】



30

【0705】

に示されるように作製される。

【0706】

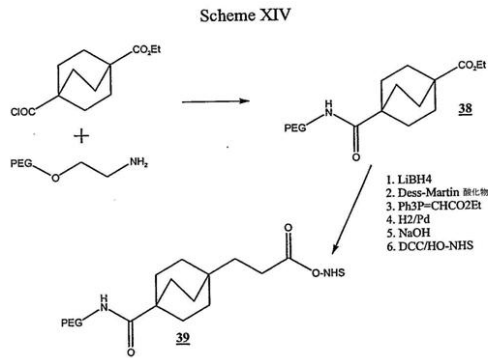
C) PEG-アミンの反応を通じた作製

40

PEGアミンをハロゲン化アルキルと反応させてPEG-アミドを作製する。PEG-アミド-ビスクロオクタン-NHS結合体の作製の一例をスキーム X I V に示す。

【0707】

【化 1 4 3】



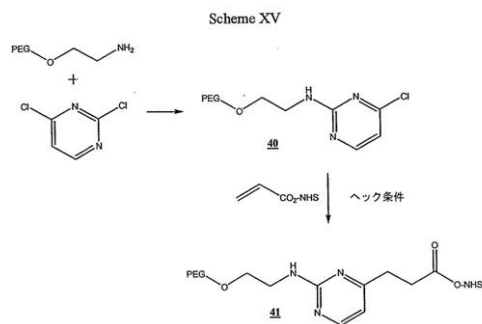
10

【0 7 0 8】

PEG-第一級アミンをハロゲン化アリールと結合させてPEG-第二級アミン結合体を形成し、次にこの結合体をヘック条件 (sp^3 混成 β 水素のない有機ハロゲン化物又はトリフレートとアルケンの、立体特異的なパラジウム触媒結合) 下でNHS-アルケンと反応させて、所望のPEG-結合体を形成する。ピリミジン含有結合体の合成をスキームXVに示す。

【0 7 0 9】

【化 1 4 4】



20

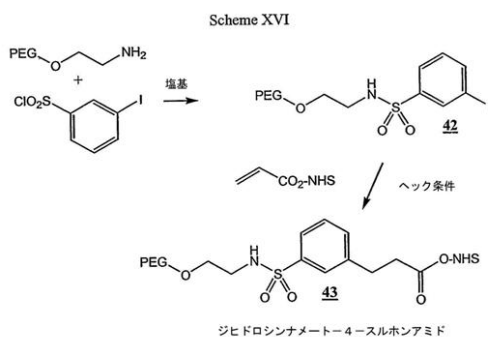
【0 7 1 0】

PEG-スルホンアミド結合体も、スキームXVI：に示されるように、この方法で合成される。

30

【0 7 1 1】

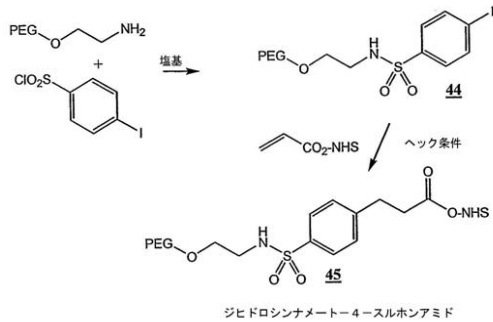
【化 1 4 5】



40

【0 7 1 2】

【化 1 4 6】



10

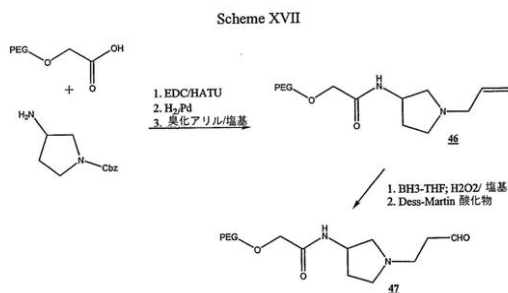
【0 7 1 3】

D) ヘテロ環との反応を通じて作製される化合物

PEG化合物をヘテロ環の環上又は非環上窒素と反応させて、反応性PEG種を形成する。代表的な反応を、アミノピロリジンの場合のスキームX V I I 及び多種のピペラジンの場合のX V I I Iで示す。

【0 7 1 4】

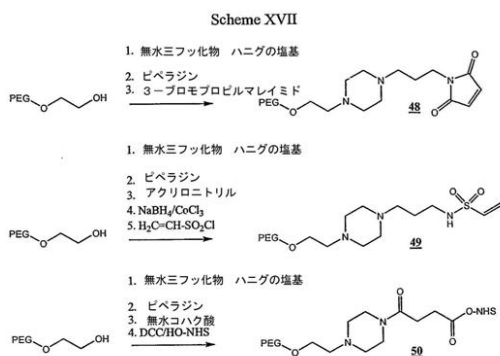
【化 1 4 7】



20

【0 7 1 5】

【化 1 4 8】



30

【0 7 1 6】

実施例 2： ペプチド結合体の調製

本発明に基づくペプチド結合体は、タンパク質を活性化PGC分子と反応させることにより、調製することができる。例えば、インターフェロン (IFN) を、還元剤 (例えばシアノ水素化硼素ナトリウム) の存在下で還元的アルキル化反応を通じてPEG-アルデヒドと反応させると、アミン結合を通じて結合したPEG-タンパク質結合体を生じさせることができる。例えばヨーロッパ特許0154316 B1を参照されたい。

【0 7 1 7】

ヒト IFN- β -1aを本発明の以下の活性化ポリアルキレングリコールでPEG化した：20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド、20 kDa mPEG-0-p-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド、20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド、20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド、20 kDa

50

mPEG-0-p-フェニルプロピオンアルデヒド、及び20 kDa mPEG-0-m-フェニルアセトアルデヒド。PEG化したタンパク質をそれぞれの反応混合液から均質になるまで精製し、一連の特徴付け検査を行って修飾されたタンパク質の種類、純度、及び力価を確認した。

【0718】

20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド、20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド、及び20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒドで修飾されたヒトIFN- β -1aの調製及び特徴付けの詳細な解説は以下の通りである。

【0719】

A) 20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒドで修飾された IFN- β -1aの調製及び特徴付け

ヒトIFN- β -1aをそのN末端で、20 kDa mPEG-0-2メチルプロピオンアルデヒドでPEG化した。PEGをIFN- β -1aの骨格に導入するために用いられた還元的アルキル化の化学反応の生成物の結果、分解に対して大変安定なアミン結合が形成された。このPEG化IFN- β -1aに、SDS-PAGEによる分析、サイズ排除クロマトグラフィ (SEC)、ペプチド・マッピング、及びin vitro抗ウィルス検定での活性評価を含め、広汎な特徴付けを行った。SDS-PAGE及びSECで測定したときの生成物の純度は90%を越えた。PEG化試料中に凝集体の証拠はなかった。生成物中の未修飾IFN- β -1aの残余レベルは、定量限界未満だったが、生成物の約1%だったようである。抗ウィルス活性検定でのPEG化IFN- β -1aの特異的活性は、非修飾IFN- β -1に比較してほぼ2分の1に減少していた (20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1の場合、 $EC_{50}=32\text{pg/mL}$ に対し、非修飾IFN- β -1aの場合、 $EC_{50}=14\text{pg/mL}$)。このPEG化IFN- β -1aのバルクを、広汎な特徴付けが済んでいるAVONEX^(R) (マサチューセッツ州ケンブリッジ、バイオジェン社) に用いられた処方と同様に、14mg/mLのヒト血清アルブミン (HSA) を含有するリン酸緩衝生理食塩水 (PBS)、pH7.3、中に30 $\mu\text{g/mL}$ で調合した。当該物質を、-70℃で保存された凍結した液体として提供した。

【0720】

20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aの性質を表1に要約する。

【0721】

【表1】

表1.
20kDamPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aの性質

PEG化効率	>90%
IFN- β -1a/PEG比	1:1
純度	>90%
付着部位	N末端
抗ウィルス活性 EC_{50}	32pg/mL

【0722】

1. 20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aの調製
10 mLの調合されていない AVONEX^(R) (IFN- β -1a バルク中間物、ヒトでの使用について全ての検査を通過したバルク薬物の臨床用バッチ、100mMのリン酸ナトリウム中250 $\mu\text{g/mL}$ 、pH 7.2、200 mM NaCl) を12 mL の 165 mM MES pH 5.0 及び50 μl の5 N HClで希釈した。この試料を300 μL のSP-セファロースFFカラム (ファルマシア社) に入れた。このカラムを3 $\times$ 300 μL の5 mM リン酸ナトリウム pH 5.5, 75 mM NaClで洗浄し、当該タンパク質を5 mM リン酸ナトリウム pH 5.5, 600 mM NaClで溶出させた。溶出画分をそれらの吸光度について280 nm で分析し、IFN- β -1aの試料中の濃度を、1.51の吸光係数を用いて1 mg/mLの溶液で推定した。ピークの画分をプールして3.66 mg/mLのIFN- β -1a 濃縮液を得、次にこれを水で1.2 mg/mLまで希釈した。

【0723】

希釈されたSP-セファロース溶出液プールから取った0.8 mL のIFN- β -1aに 0.5 M リン

酸ナトリウム pH 6.0 を50 mMまで加え、シアノ水素化硼素ナトリウム（アルドリッチ）を5 mMまで加え、そして20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒドを5 mg/mLまで加えた。この試料を室温で16時間、暗室でインキュベートした。PEG化したIFN- β -1aをこの反応混合液から0.5

mLのSP-セファロースFFカラムで以下の通りに精製した：0.6 mL の反応混合液を2.4 mL 20 mM MES pH 5.0で希釈し、SP セファロース・カラムに入れた。このカラムをリン酸ナトリウムpH 5.5, 75

mM NaCl で洗浄した後、PEG化IFN- β -1aをこのカラムから25 mM MES pH 6.4, 400 mM NaClで溶出させた。PEG化したIFN- β -1aをさらにスーパーコース6 HR 10/30 FPLCサイジング・カラムで5 mM リン酸ナトリウム pH 5.5, 150 mM NaClを移動相として精製した。このサイジング・カラム（25

mL）を20 mL/h で移動させ、0.5 mL の画分を採集した。溶出画分をタンパク質含有量について280 nmでの吸光度で分析し、プールし、このプールのタンパク質濃度を判定した。PEG部分は280nmでの吸光度に寄与しないため、PEG化したIFN- β -1a 濃度は、IFN等量で報告されている。プールのうちの数試料を分析用に取り出し、残りを30 μ g/mL に、HSA含有調合緩衝液で希釈し、0.2mL/バイアルにアликォートし、-70°Cで保存した。

【0724】

2. 精製された20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aのUVスペクトル

20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aのUV スペクトル（240-340

nm）を、予め調合されたHSAバルク試料を用いて得た。このPEG化試料は278-279nmで最大の吸光度を示し、249-250nmで最小の吸光度を示し、非修飾IFN- β -1aバルク中間体で観察されたものと一致した。このPEG化生成物のタンパク質濃度を前記スペクトルから、 $\epsilon_{280}^{0.1\%}=1.51$ の吸光係数を用いて推定した。このPEG化バルクのタンパク質濃度は0.23 mg/mLだった。320nmでの吸光がないことで証左されるように、試料に濁りはなかった。

【0725】

3. 20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aのSDS-PAGEによる特徴付け

4 μ gの 非修飾及び20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aにSDS-PAGEを還元条件下で10-20%勾配ゲルで行った。ゲルをクーマシー・ブリリアント・ブルー R250で染色し、図1（レーンA、分子量マーカ（上から下に；それぞれ100 kDa、68 kDa、45 kDa、27 kDa、及び18 kDa）；レーンB、非修飾IFN- β -1a；レーンC、20 kDa mPEG-0-2メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1a。20 kDa

mPEG-0-2 メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aをSDS-PAGE分析したところ、見かけの質量が55kDaの一本の大きなバンドが現れ、単一のPEGによる修飾と矛盾しなかった。他のPEG群の存在に負うそれより高い質量の形成は検出されなかった。精製されたPEG化した生成物のうちで、非修飾IFN- β -1aが検出された；しかしながら、その量は定量限界未満だった。非修飾IFN- β -1aの調製物中のレベルは、総タンパク質の僅かに約1%であると推定される。

【0726】

4. 20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aのサイズ排除クロマトグラフィによる特徴付け

非修飾及び20 kDa mPEG-0-2メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aに、SECを分析用スーパーコース6 HR10/30 FPLC サイジング・カラムで、PBS pH 7.2 を移動相として用いて行った。このカラムを20 mL/hで移動させ、溶出物を280nmでの吸光度について、図2に示すように観察した。パネルA：分子量標準（670 kDa, チログロブリン；158 kDa, ガンマグロブリン；44 kDa, オブアルブミン；17 kDa, ミオグロビン；1.3 kDa, ビタミンB12），パネル B：20 kDa mPEG-0-2メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a；パネル C：非修飾IFN- β -1a。20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1aは

一本の明確なピークとして溶出し、見かけの分子量はほぼ200 kDaで、PEGの大きな流体力学的体積と一致した。凝集体の証拠は観察されなかった。調製物中に非修飾 IFN- β -1a が検出されたが、定量限界未満だった。ピークのサイズに基づくと、この非修飾 IFN- β -1a は、生成物の1%以下を占め、SDS-PAGEを用いて観察されたものと一致した。

【0727】

5. ペプチド・マッピングによる20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a の分析

PEG化反応の特異性をペプチド・マッピングで評価した。非修飾及び20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a を、アクロモバクター (Achromobacter) 由来のエンドプロテイナーゼLys-C (ワコー・バイオプロダクツ社) で消化し、その結果得られた切断産物を逆相HPLCでVydac C₄ カラムにより、0.1% TFAに溶かした0乃至70%アセトニトリルまでの30分勾配を用いて分画した。このカラム溶出物を、214nmでの吸光度について観察した。

【0728】

IFN- β -1aのエンドプロテイナーゼLys-C消化物由来の推定ペプチドはすべて、以前にN末端配列決定及び質量分析法で同定されており (Pepinsky et al., (2001) J Pharmacology and Experimental Therapeutics 297:1059)、これらのうちで、IFN- β -1aのN末端を含んだペプチドのみが、ペプチド・マップからのその消失で証左されるように、20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒドによる修飾で変化した。従って当該マッピング・データは、PEG部分がこのペプチドに特異的に付着することを示している。さらに、N末端で修飾された場合のみに、このペプチドの特異的消失が起きると考えられることから、前記データは、PEG修飾がこのタンパク質のN末端を標的とすることも示している。

【0729】

B) 20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a の調製及び特徴付け

ヒト IFN- β -1a をN末端で20 kDa mPEG-0-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒドによりPEG化した。PEGをIFN- β -1aの骨格に導入するために用いられた還元的アルキル化化学反応の生成物の結果、分解に対して大変安定なアミン結合が形成される。このPEG化したIFN- β -1aに、SDS-PAGEによる分析、SEC、ペプチド・マッピング、及びin vitro抗ウィルス検定での活性評価を含め、広汎な特徴付けを行った。SDS-PAGE及びSECで測定したときの生成物の純度は95%を越えた。PEG化したIFN- β -1a試料中に凝集体の証拠はなかった。生成物中の非修飾 IFN- β -1aの残余レベルは、定量限界未満だったが、生成物の約1%だったようである。抗ウィルス活性検定でのPEG化 IFN- β -1aの特異的活性は、非修飾 IFN- β -1aに比較してほぼ2分の1に減少していた (20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1aの場合、EC₅₀=31pg/mLに対し、非修飾 IFN- β -1aの場合、EC₅₀=14pg/mL)。このPEG化 IFN- β -1aのバルクを、広汎な特徴付けが済んでいるAVONEX^(R)に用いられた処方と同様に、15mg/mLのHSAを含有するPBS、pH7.2、中に30 μ g/mLに調合した。当該物質を、-70℃で保存された凍結した液体として提供した。

【0730】

20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a の性質を表2に要約する：

【0731】

【表 2】

表2. 20kDa mPEG-O-m-メチルフェニル-O-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1aの性質

PEG化効率	>80%
IFN-β-1a/PEG比	1:1
純度	>95%
付着部位	N末端
抗ウイルス活性EC50	31pg/mL

【0732】

1. 20 kDa mPEG-O-m-メチルフェニル-O-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1aの調製 10

80 mL の調合されていないAVONEX^(R) (IFN-β-1aバルク中間体、ヒトでの使用に関するすべての検査を通過したバルク薬物の臨床用バッチ、100 mMリン酸ナトリウムpH 7.2, 20 mM NaClで254 μg/mL) を96 mL の165 mM MES pH 5.0, 及び400 μL の5 N HClで希釈した。試料を1.2

mL, SP-セファロース FF カラム (ファルマシア社) に入れた。このカラムを6.5 mL の5 mM リン酸ナトリウム pH 5.5, 75 mM NaClで洗浄し、当該タンパク質を5 mM リン酸ナトリウム pH 5.5, 600 mM NaClで溶出させた。溶出画分をそれらの280nmでの吸光度について分析し、IFN-β-1aの試料中での濃度を1mg/mLの溶液について1.51の吸光係数を用いて推定した。ピーク画分をプールしてIFN-β-1aの濃度を4.4 mg/mLにした。SP-セファロース 20

溶出液プールから取った4.4 mg/mL IFN-β-1aの2.36 mL に、0.5 M リン酸ナトリウム pH 6.0 を50 mMまで加え、シアノ水素化硼素ナトリウム (アルドリッチ) を5 mMまで加え、20 kDa mPEG-O-m-メチルフェニル-O-2-メチルプロピオンアルデヒドを10 mg/mLまで加えた。この試料を室温で21時間、暗室にてインキュベートした。PEG化したIFN-β-1aをこの反応混合液から8.0

mL SP-セファロースFF カラムで以下の通りに精製した：9.44

mLの反応混合液を37.7 mLの20 mM MES pH

5.0で希釈し、SP-セファロース・カラムに入れた。このカラムをリン酸ナトリウムpH 5.5, 75 mM NaClで洗浄した後、PEG化したIFN-β-1aをこのカラムから25

mM MES pH 6.4, 400 mM NaClで溶出させた。そのPEG化したIFN-β-1aをさらにスーパーロース6 30

HR 10/30 FPLCサイジング・カラムで5 mM リン酸ナトリウム pH 5.5, 150 mM NaCl を移動相として用いて精製した。このサイジング・カラム (25 mL) を24 mL/h で移動させ、0.25 mLの画分を採集した。この溶出画分をタンパク質含有量についてSDS-PAGEで分析し、プールし、このプールのタンパク質濃度を判定した。PEG化したIFN-β-1a濃度は、PEGの280nmでの吸光度への寄与度を1mg/mLのPEG化IFN-β-1a溶液について2の吸光係数を用いて調節した後で、IFN等量で、報告されている。プールの試料を分析用に取り出し、残りを30 μg/mLまでHSA含有調合緩衝液で希釈し、0.25 mL/バイアルにアリクオートし、-70℃で保存した。

【0733】

2. 精製された20 kDa mPEG-O-m-メチルフェニル-O-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1aのUVスペクトル 40

20 kDa mPEG-O-m-メチルフェニル-O-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN-β-1aのUVスペクトル (240-340nm) を予め調合されたHSAバルク試料を用いて得た。このPEG化した試料は、278-279 nmで吸光度の最大を示し、そして249-250nmで吸光度の最小を示し、非修飾 IFN-β-1aバルク中間体について観察されたものと一致した。PEG化した生成物のタンパク質濃度を、このスペクトルから、 $\epsilon_{280}^{0.1\%} = 2.0$ の吸光係数を用いて推定した。PEG化バルクのタンパク質濃度は0.42 mg/mLだった。320nmでの吸光がないことに証左されるように、試料中に濁りはなかった。

【0734】

3. 20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1aのSDS-PAGEによる特徴付け

2.1 μgの20

kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1aに、SDS-PAGEを還元条件下で、4-20%勾配ゲルを用いて行った。このゲルをクーマシー・ブリリアント・ブルーR250で染色した。20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1aのSDS-PAGE分析では、見かけの質量が55kDaの一本の大きなバンドが現れ、単一のPEGによる修飾と矛盾しなかった。精製されたPEG化生成物のうちに、非修飾IFN-β-1aが検出されたが、その量は定量限界未満だった。調製物中の非修飾IFN-β-1aのレベルは総タンパク質の僅かに約1%であると推定される。

10

【0735】

4. 20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1aのサイズ排除クロマトグラフィによる特徴付け

20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1aにSECを分析用スーパーロース6 HR10/30 FPLCサイジング・カラムでPBS pH 7.0を移動相として用いて行った。このカラムを24 mL/hで移動させ、溶出物を280nmでの吸光度について観察した。PEG化したIFN-β-1aは、一本の鮮明なピークとして溶出し、凝集体の証拠はなかった(図3)。

【0736】

5. 20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1aのペプチド・マッピングによる分析

20

PEG化反応の特異性をペプチド・マッピングにより評価した。13.3 μgの非修飾及び20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル 0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1aを、アクロモバクター由来の20% (w/w)のエンドプロテイナーゼLys-C (ワコー・バイオプロダクツ社)の、5 mM DTT, 1 mM EDTA, pH 7.6、を含有するPBS溶液で、室温で30時間(最終体積=100 μL)かけて消化した。その後4 μLの1 M DTT及び100 μLの8 M 尿素を加え、試料を1時間、室温でインキュベートした。このペプチドを逆相HPLCで、Vydac C¹⁸カラム(214TP51)により、0-63%アセトニトリルの0.1% TFA溶液という70分勾配、次に63-80%アセトニトリルの0.1% TFA溶液という10分勾配で分離した。カラム溶出物を214nmでの吸光度について観察した。

30

【0737】

IFN-β-1aのエンドプロテイナーゼLys-C消化物から取った推定ペプチドはすべて、以前にN末端配列決定及び質量分析法で同定されており(Pepinsky et al., (2001) J Pharmacology and Experimental Therapeutics 297:1059)、これらのうちで、IFN-β-1aのN末端を含んだペプチドのみが、マップからのその消失で証左されるように、20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒドによる修飾で変化した。従って当該マッピング・データは、当該PEG部分がこのペプチドに特異的に付着することを示している。さらに、N末端で修飾された場合のみに、このペプチドの特異的消失が起きると考えられることから、前記データはさらにPEG修飾はこのタンパク質のN末端を標的とすることも示している。

40

【0738】

C) 20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN-β-1aの調製及び特徴付け

ヒトIFN-β-1aをN末端で20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒドによりPEG化した。PEGをIFN-β-1aの骨格に導入するために用いられた還元的アルキル化化学反応の生成物の結果、分解に対して大変安定なアミン結合が形成される。このPEG化したIFN-β-1aに、SDS-PAGEによる分析、SEC、ペプチド・マッピング、及びin vitro抗ウィルス検定での活性評価を含め、広汎な特徴付けを行った。SDS-PAGE及びSECで測定したときの生成物の純度は95%を越えた。PEG化したこのIFN-β-1a試料中に凝集体の証拠はなかった。生成物中の非修飾IFN-β-1aの残余レベルは、定量限界未満だったが、生成物の約1%だったようで

50

ある。安定性検査では、20 kDa mPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1aの凝集又は分解は、37℃で最長7日間インキュベートした後のTris緩衝液 pH 7.4では明らかにならなかった。抗ウイルス活性検定でのPEG化IFN- β -1aの特異的活性は、非修飾IFN- β -1と比較してほぼ2分の1に減少していた（20 kDa mPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1の場合、 EC_{50} =31pg/mLに対し、非修飾IFN- β -1aの場合、 EC_{50} = 14pg/mL）。このPEG化IFN- β -1aのバルクを、広汎な特徴付けが済んでいるAVONEX^(R)に用いられた処方と同様に、14mg/mLのHSAを含有するPBS、pH7.3、中に30 μ g/mLで調合した。当該物質を、-70℃で保存された凍結した液体として提供した。

【0739】

20 kDa mPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1aの性質を表3に要約する。

10

【0740】

【表3】

表3.
20kDamPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1aの性質

PEG化効率	>80%
IFN- β -1a/PEG比	1:1
純度	>95%
付着部位	N末端
抗ウイルス活性 EC_{50}	31 pg/mL

【0741】

1. 20 kDa mPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1aの調製

20 mL の調合されていないAVONEX^(R)（IFN- β -1aバルク中間体、ヒトでの使用に関するすべての検査を通過したバルク薬物の臨床用バッチ、100 mMリン酸ナトリウムpH 7.2, 200 mM NaCl中250 μ g/mL）を24 mL の165 mM MES pH 5.0, 100 μ L の 5 N HCl, 及び24 mL の水で希釈した。この試料を600 μ L SP-セファロース FF カラム（ファルマシア社）に入れた。このカラムを2×900 μ Lの 5 mM リン酸ナトリウム pH 5.5, 75 mM NaClで洗浄し、当該タンパク質を5 mM リン酸ナトリウム pH 5.5, 600 mM NaClで溶出させた。溶出画分を280nmでのそれらの吸光度について分析し、試料中のIFN- β -1aの濃度を、1mg/mL溶液について1.51の吸光係数を用いて推定した。ピーク画分をプールしてIFN- β -1aの濃度を 2.3

mg/mLとした。SP-セファロース溶出プールから取った1.2

mL のIFN- β -1aに、0.5 M リン酸ナトリウム pH 6.0 を50mMまで加え、シアノ水素化硼素ナトリウム（アルドリッチ）を5 mMまで加え、そして20 kDa mPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒドを10 mg/mLまで加えた。この試料を室温で18時間、暗室でインキュベートした。PEG化IFN- β -1aを、この反応混合液から0.75 mL SP-セファロースFFカラムで、以下の通りに精製した：1.5 mL の反応混合液を7.5 mL の20 mM MES pH 5.0、7.5 mL 水、及び5 μ L 5N N HClで希釈して、SPセファロース・カラムに入れた。このカラムをリン酸ナトリウム pH 5.5, 75

mM NaClで洗浄した後、PEG化 IFN- β -1aをこのカラムから20 MM MES pH 6.0, 600 mM NaClで溶出させた。このPEG化 IFN- β -1aを、さらに、スーパーコース6 HR 10/30 FPLC サイジング・カラムで、5 mM リン酸ナトリウム pH 5.5, 150 mM NaClを移動相として用いて精製した。このサイジング・カラム（25 mL）を20 mL/hで移動させ、0.5 mL 画分を採集した。該溶出画分を、タンパク質含有量について280nmでの吸光度で分析し、プールし、このプールのタンパク質濃度を判定した。PEG化したIFN- β -1aの濃度は、IFN等量で、280 nmでの吸光度への当該PEGの寄与度（20 kDa mPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒドは、1 mg/mL の溶液で0.5の280nmでの吸光係数を有する）を1mg/mLのPEG化IFN- β -1a溶液について2の吸光係数を用いて調節した後で、報告されている。プールの試料を分析用に取り出し、残りを30 μ g/mLまでHSA含有調合緩衝液で希釈し、0.25 mL/バイアルにアリクオートし、-70℃で保存した。

【0742】

2. 精製された20 kDa mPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1aのUVスペクトル

50

20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾

IFN- β -1aのUVスペクトル(240-340nm)を予め調合されたHSAバルク試料を用いて得た。このPEG化した試料は、278-279 nm で吸光度の最大を示し、そして249-250nmで吸光度の最小を示したことから、非修飾 IFN- β -1aバルク中間体について観察されたものと一致した。PEG化した生成物のタンパク質濃度を、このスペクトルから、 $\epsilon_{280}^{0.1\%} = 2.0$ の吸光係数を用いて推定した。PEG化バルクのタンパク質濃度は0.10 mg/mLだった。320nmでの吸光がないことに証左されるように、試料中に濁りはなかった。

【0743】

3. 20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1aのSDS-PAGEによる特徴付け

2.5 μ gの非修飾及び20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1aに、SDS-PAGEを還元条件下で、10-20%勾配ゲルを用いて行った。このゲルをクーマシー・ブリリアント・ブルーR250で染色し、図4に示す。

(レーン A: 20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾

IFN- β -1a; レーンB: 非修飾 IFN- β -1a; レーンC: 分子量マーカ(上から下までそれぞれ; 100 kDa, 68 kDa, 45 kDa, 27 kDa, 及び18kDa) 20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1aのSDS-PAGE分析では、見かけの質量が55kDaの一本の大きなバンドが現れ、単一のPEGによる修飾と矛盾しなかった。付加的なPEG群の存在の結果生じるようなより高い質量の形成物は検出されなかった。精製されたPEG化生成物のうちに、非修飾 IFN- β -1aが検出されたが、その量は定量限界未満だった。調製物中の非修飾 IFN- β -1aのレベルは総タンパク質の僅かに約1%であると推定される。

【0744】

4. 20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1a のサイズ排除クロマトグラフィによる特徴付け

20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1aにSECを分析用スーパーコース6

HR10/30 FPLCサイジング・カラムで PBS pH 7.2を移動相として用いて行った。このカラムを20 mL/h で移動させ、溶出物を280nmでの吸光度について、図5に示すように観察した。パネル A: 分子量標準(670 kDa, チログロブリン; 158 kDa, ガンマグロブリン; 44 kDa, オブアルブミン; 17 kDa, ミオグロビン; 1.3 kDa, ビタミン B12); パネル B: 20 kDa

mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1a。PEG化したIFN- β -1aは、一本の鮮明なピークとして溶出し、見かけの分子量はほぼ200kDaで、PEGの流体力学的な体積の大きさと一致した。凝集体の証拠は観察されなかった。調製物中に非修飾IFN- β -1aが検出されたが、定量限界未満だった。ピークの大きさに基づくと、当該の非修飾 IFN- β -1aは生成物の1%以下であり、SDS-PAGEを用いて観察されたものと一致した。

【0745】

5. 20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1a のペプチド・マッピングによる分析

PEG化反応の特異性をペプチド・マッピングにより評価した。非修飾及び20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1aを、アクロモバクター由来のエンドプロテイナーゼ Lys-C (ワコー・バイオプロダクツ社)で消化し、その切断生成物を逆相HPLCで、Vydac C₄カラムにより、0-70% アセトニトリルの0.1 % TFA溶液という30 分勾配を用いて分画した。カラム溶出物を214nmでの吸光度について観察した。

【0746】

IFN- β -1aのエンドプロテイナーゼLys-C消化物から取った推定ペプチドはすべて、以前にN末端配列決定及び質量分析法で同定されており(Pepinsky et al., (2001) J Pharmacology and Experimental Therapeutics 297:1059)、これらのうちで、IFN- β -1aのN末端を含んだペプチドのみが、マップからのその消失で証左されるように、20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒドによる修飾で変化した。従って当該マッピング・データは

10

20

30

40

50

、PEG部分がこのペプチドに特異的に付着することを示している。さらに、N末端で修飾された場合のみに、このペプチドの特異的消失が起きると考えられることから、前記データはPEG修飾はこのタンパク質のN末端を標的とすることも示している。

【0747】

6. 20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN-β-1aの安定性

20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾

IFN-β-1aの安定性を検査するために、試料を0.1 μg/mL に100 mM Tris-HCl 緩衝液、pH 7.4で希釈した後、37℃で最長7日間、インキュベートした。20 μLの試料(2 μg)を0日目、2日目、5日目、及び7日目に取り出し、SDS-PAGEにより、還元条件下で、図6に示すように分析した：レーン A: 分子量マーカ(上から下の順に；それぞれ100 kDa, 68 kDa, 45

kDa, 27 kDa, 18 kDa, 及び15 kDa)；レーン B, C, D, 及びE: それぞれ0日目、2日目、5日目、及び7日目に取り出されたmPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN-β-1a。PEG化IFN-β-1aの凝集又は分解の証拠は、7日目の後の37℃でも観察されなかった。

【0748】

実施例3. PEG化ヒトIFN-β-1aのin vitro 抗ウィルス検定における特異的活性

PEG化IFN-β-1a試料の特異的抗ウィルス活性を、脳心筋炎(EMC)ウィルスに暴露してあるヒト肺癌細胞(A549細胞)で、代謝性染料2,3-ビス[2-メトキシ-4-ニトロ-5-スルホフェニル]-2H-テトラゾリウム5-カルボキシアニリド(MTT; M-5655, ミズーリ州セントルイス、シグマ社)を、ウィルスへの暴露後に残る代謝活性細胞の測定手段として用いて検査した。簡単に説明すると、A549細胞を、ウィルス暴露に先立って、非修飾もしくはPEG化IFN-β-1a(66.7 pg/mL で開始し、0.8 pg/mLまで1.5分の1に連続希釈)で24時間、予備処理した。その後、この細胞を2日間、EMCウィルスに、IFNの非存在下で細胞が完全に致死するような希釈度で暴露した。次にプレートをMTTで展開させた。MTTのストック溶液を5 mg/mLのPBS溶液になるように調製し、無菌濾過し、50 μLのこの溶液を細胞培地に希釈した(1ウェル当たり100 μL)。室温で30乃至60分間インキュベートした後、MTT/培地溶液を廃棄し、細胞を100 μLのPBSで洗浄し、最後に、代謝性染料を100 μL、1.2 N HClのイソプロパノール溶液で可溶化した。生存細胞(染料の存在で判定したときの)を450 nmでの吸光で定量した。吸光度をIFN-β-1aの濃度に対する表にしてデータを解析し、IFN-β-1aの活性を、細胞の50%が死滅した濃度、即ち50%細胞変性効果(EC₅₀)か、又は50%最大OD₄₅₀、として定義した。この検定を非修飾 IFN-β-1aについては8回、そして多種のPEG化IFN-β-1a 試料については3乃至4回、行った。各検定について、各タンパク質濃度に関して複式のデータ点を得た。細胞生存率、対、非修飾もしくはPEG化IFN-β-1aの濃度を表した表を図7A及び7Bに示す。図7Aにおいて、記号は以下の通りである：非修飾 IFN-β-1a(○)、20 kDa

mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN-β-1a

(□)、20 kDa mPEG-0-p-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN-β-1a(△)、及び20

kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1a(◇)。

図7Bにおいて、記号は以下の通りである：非修飾IFN-β-1a(○)、20 kDa

mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN-β-1a(□)、20 kDa mPEG-0-p-フェニルプロピオンアルデヒド修飾IFN-β-1a(△)、及び20 kDa

mPEG-0-m-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN-β-1a(◇)。

【0749】

20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド、20

kDa mPEG-0-p-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド、20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド、20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド、20 kDa

mPEG-0-p-フェニルプロピオンアルデヒド、及び20 kDa mPEG-0-m-フェニルアセトアルデヒドで修飾されたIFN-β-1aの EC₅₀値(最大ウィルス防御の半分の濃度)を表4に示す。

すべてのPEG化IFN- β -1aは、基本的に、上述した20 kDa mPEG-0-2メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1a、20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a、及び20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1aに関して解説された通りに修飾され、そして均質になるように精製された。

【0750】

【表4】

Table 4. 非修飾及びPEG化IFN- β -1aの特異的抗ウイルス活性

タンパク質	平均 EC ₅₀ (pg/mL)
非修飾IFN- β -1a	14 (範囲 12-16)
20kDa mPEG-O-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1a	32 (範囲 26-37)
20kDa mPEG-O-p-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1a	41 (範囲 36-47)
20kDa mPEG-O-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1a	31 (範囲 27-35)
20kDa mPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1a	31 (範囲 25-39)
20kDa mPEG-O-p-フェニルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1a	31 (範囲 27-34)
20kDa mPEG-O-m-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1a	27 (範囲 25-29)

10

【0751】

実施例4. ラットに静脈内投与された非修飾及びPEG化IFN- β -1aの薬物動態

カニューレ挿管したメスのルイス・ラットに、80 μ g/kg の非修飾IFN- β -1a又は24 μ g/kg の以下のPEG化IFN- β -1a；20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a、20 kDa

mPEG-0-p-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1a、20 kDa

mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1a、20 kDa mPEG-0-p-フェニルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a、20 kDa mPEG-0-m-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1a、及び20 kDa

mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aを静脈内注射した。非修飾及びPEG化タンパク質の両方を担体としての14-15 mg/mL HSAの存在下で調査した。非修飾タンパク質の場合、血液（0.2 mL）を様々な時点；即ち、投与直前、及び投与後0.083、0.25、0.5、1.25、3、及び5時間後の時点で、カニューレから採取した。PEG化タンパク質の場合、血液（0.2 mL）をカニューレから投与直前、及び投与後0.083、0.25、0.5、1.25、3、24、48、及び72時間の時点で採取した。全血を血清分離試験管（ベクトン・ディッキンソン社、No. 365956）に採取し、室温で60分間、インキュベートして、凝固させた。凝固した血液を10分間、4℃で遠心分離して血清を取り除き、検定時まで70℃で保存した。

20

30

【0752】

その後血清試料を解凍し、抗ウイルス検定で検査した。この血清試料を、血清含有培地（10%（v/v）ウシ胎児血清、それぞれ100Uのペニシリン及びストレプトマイシン、及び2MMのL-グルタミン、を含有するダルベッコの改良イーグル培地）に1：50に希釈し抗ウイルス検定で検査した。試料をヒト肺癌細胞（A549, #CCL-185, メリーランド州ロックビルATCC）を容れた96ウェル組織培養プレートの指定されたウェルに滴定した。標準の希釈液（ラットに投与された同じ型のIFN- β -1aの66.7, 44.4, 29.6, 19.8, 13.2, 8.8, 5.9, 3.9, 2.6, 1.7, 1.2, 及び0.8 pg/mL）及び三種類の血清試料の希釈液を各プレートで検定した。A549細胞を、希釈済みの血清試料で24時間かけて予備処理した後に脳心筋炎（EMC）ウイルスに暴露した。ウイルスと一緒に2日間、インキュベートした後、生存細胞をMTT溶液（5mg/mLのリン酸緩衝液溶液にして）で1時間、染色した後、リン酸緩衝液で洗浄し、1.2 N HCl のイソプロパノール溶液で可溶化した。次にこのウェルを450nmで読み取った。非修飾もしくはPEG化IFN- β -1aの標準曲線を各プレートについて作製し、各検査試料中の非修飾もしくはPEG化IFN- β -1aの量を判定するために用いた。次に薬物動態パラメータをWinNonLin バージョン3.0もしくは3.3 ソフトウェアによる非区画分析を用いて計算した。

40

【0753】

図8Aは、非修飾 IFN- β -1a（上側のパネル）と、20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒドで修飾されたIFN- β -1a（下側のパネル）の濃度対時間表を示し、図8Bは、

50

20 kDa mPEG-O-p-メチルフェニル-O-2-メチルプロピオンアルデヒドで修飾されたIFN- β -1a（上側のパネル）及び 20 kDa mPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒドで修飾されたIFN- β -1a（下側のパネル）の濃度対時間表を示す。データ点は3匹のラットの測定値の平均である。

【0754】

表5は、非修飾 IFN- β -1a及びこれらの形のPEG化IFN- β -1aの薬物動態パラメータ C_{max} （観察された最大濃度）、 $t_{1/2}$ （消失半減期）、AUC（曲線下面積）、Vss（定常状態での分布容積）、クリアランス速度、及びMRT（平均滞留時間）を示す。図8A及び8B並びに表5に示されたデータは、同じ研究で得られた。

【0755】

図9Aは、非修飾 IFN- β -1a（上側のパネル）と、20 kDa mPEG-O-p-フェニルプロピオンアルデヒドで修飾されたIFN- β -1a（下側のパネル）の濃度対時間表を示す。データ点は2匹のラットの測定値の平均である。図9Bは、20 kDa mPEG-O-m-フェニルアセトアルデヒドで修飾されたIFN- β -1a（上側のパネル）と、20 kDa mPEG-O-m-メチルフェニル-O-2-メチルプロピオンアルデヒドで修飾されたIFN- β -1a（下側のパネル）の濃度対時間表を示す。データ点は3匹のラットの測定値の平均である。

【0756】

表6は、非修飾 IFN- β -1a及びこれらの形のPEG化IFN- β -1aの薬物動態パラメータを示す。図9A及び9B並びに表6に示されたデータは、図8A及び8B並びに表5で示されたデータとは独立に、同じ研究で得られた。

【0757】

図8A、8B、9A、及び9B並びに表5及び6に示されたデータから明白なように、IFN- β -1aを本発明のPEG分子でPEG化すると、IFN- β -1aの薬物動態上の性質が向上する。すべての場合で、PEG化タンパク質は、非修飾 IFN- β -1aよりも遅く排出され、クリアランス速度は、非修飾タンパク質の160-170 mL/h/kgに比べて、3.9-8.3 mL/h/kg となった。クリアランス速度の低下の結果、平均滞留時間（MRT）は、非修飾タンパク質の場合のほぼ1時間から、PEG化タンパク質の4.8乃至7.6時間まで増加した。同様に、消失半減期（ $t_{1/2}$ ）は非修飾タンパク質の場合のほぼ1時間からPEG化タンパク質の5.2乃至13時間まで増加した。曲線下の面積（AUC）値も、IFN- β -1aのPEG化で有意に増加した。PEG化タンパク質は非修飾タンパク質よりも3.3分の1の少ないレベルで投薬されたという事実にも係わらず、非修飾 IFN- β -1aの場合、AUCはほぼ $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ だったが、PEG化タンパク質の場合、AUC値はほぼ3乃至 $6 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ の範囲だった。観察された最大濃度（ C_{max} ）については、数値は概ね、非修飾IFN- β -1aの方が、PEG化タンパク質よりも高く、投与された修飾タンパク質の用量の低さを反映した。定常状態での容積分布（Vss）については、全てのPEG化タンパク質のこの数値は、非修飾IFN- β -1aよりも小さく、中心血液区画を脱出するそれらの能力の限界を示していた。

【0758】

【表5】

Table 5:

ラットに静脈内投与した後の非修飾 IFN- β -1a、
20 kDa mPEG-O-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a、
20 kDa mPEG-O-p-メチルフェニル-O-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a、
及び20 kDa mPEG-O-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1aの薬物動態パラメータ^a

パラメータ	単位	非修飾 IFN- β -1a	20 kDa mPEG-O-2- メチルプロピオン アルデヒド 修飾IFN- β -1a	20 kDa mPEG-O-p- メチルフェニル -O-2-メチルプロピオン アルデヒド修飾 IFN- β -1a	20 kDa mPEG-O-p- フェニル アセトアルデヒド 修飾IFN- β -1a
C_{max}	pg/mL	1,400,000	720,000	710,000	590,000
$t_{1/2}$	h	0.98	13	11	6.8
AUC	pg·h/mL	510,000	4,800,000	4,500,000	2,900,000
Vss	mL/kg	160	39	40	53
クリアランス	mL/h/kg	160	5.0	5.3	8.3
MRT	h	0.98	7.6	7.4	6.4

【0759】

^a 示された非修飾及びPEG化IFN- β -1aの薬物動態データは、同じ研究で得られた。

【0760】

【表6】

Table 6:

ラットに静脈内投与した後の非修飾IFN- β -1a、20 kDa mPEG-O-p-フェニルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1a、20 kDa mPEG-O-m-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1a、及び20 kDa mPEG-O-m-メルフェニル-O-2-メルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aの薬物動態パラメータ^a

パラメータ	単位	非修飾 IFN- β -1a	20 kDa mPEG-O-p- フェニルプロピオン アルデヒド 修飾IFN- β -1a	20 kDa mPEG-O-m- フェニル アセトアルデヒド 修飾IFN- β -1a	20 kDa mPEG-O-m- メルフェニル O-2- メルプロピオン アルデヒド修飾IFN- β -1a
C _{max}	pg/mL	670,000	930,000	550,000	700,000
t _{1/2}	h	0.92	5.2	7.7	7.1
AUC	pg•h/mL	470,000	4,700,000	3,800,000	6,200,000
V _{ss}	mL/kg	140	25	46	21
クリアランス	mL/h/kg	170	5.1	6.4	3.9
MRT	h	0.81	4.8	7.2	5.5

【0761】

^a 示された非修飾及びPEG化IFN- β -1aの薬物動態データは、同じ研究で得られた。

【0762】

実施例5： 非ヒト霊長類における非修飾及びPEG化ヒトIFN- β -1aの比較薬物動態及び薬理

単回及び反復的用量比較研究を非修飾及びPEG化IFN- β -1aで行って、非ヒト霊長類におけるそれらの相対的安定性及び活性を判定する。これらの研究では、PEG化IFN- β -1a結合体の薬物動態及び薬理を、非修飾IFN- β -1aのそれと比較し、妥当な推論をヒトに拡張することができる。

【0763】

動物及び方法

研究1（反復的用量）

これは、非修飾及びPEG化IFN- β -1aの比較薬物動態及び薬理を評価するための並行群反復的用量研究である。健康な霊長類（例えばアカゲザル）をこの研究に用いる。投薬前に、すべての動物について、検査物質投与から前の14日以内の2回、研究室担当獣医による疾病の兆候に関する評価を受ける。評価の1回は、初回の検査品目投与から前の24時間以内でなければならない。健康な動物のみに検査品目を投与する。評価には、全身の身体検査や、基線臨床病理及び、IFN- β -1aに対する基線抗体レベルを調べるための投薬前血液採取が含まれる。検査品目投与前の24時間以内にすべての動物の体重を計り、体温を記録する。12匹の対象を参加させ、3匹ずつの群に指定して、 1×10^6 U/kg の非修飾、もしくは、PEG化された、しかし他の点では同一のIFN- β -1aを投与する。投与は皮下（SC）又は静脈内（IV）経路を介する。6匹のオスの動物には、検査品目をIV経路で（1回の処理当たり3匹）投与し、別の6匹のオスの動物には検査品目をSC経路（1回の処理当たり3匹）で投与する。すべての動物は、IFN- β 処理を初めて受けるものでなくてはならない。各動物には、2回投薬し、これらの投薬は4週間の間隔を置く。用量体積は1.0 mL/kgである。各注射後0、0.083、0.25、0.5、1、1.5、2、4、6、8、12、24、48、72、及び96時間目に薬物動態検査用に血液採取する。IFN誘導性生物学的応答マーカである血清ネオプテリンの測定のための血液試料は、研究薬物の投与後0、24、48、72、96、168、336、及び504時間目に採取される。本研究期間中の評価には、投薬後30分及び1時間で行われる、毒性の兆候を調べる臨床観察が含まれる。毎日のケージを介した観察を行って、全体的な外観、毒性の兆候、不調、及び行動変化を記録する。体重及び体温を一定の間隔で、投薬後21日間にわたって記録する。

【0764】

研究2（単回用量）

これは、非修飾及びPEG化IFN- β -1aの比較的薬物動態及び薬理を評価するための並行群単回用量研究である。健康な霊長類（例えばアカゲザル）をこの研究に用いる。投薬前に、すべての動物について、検査物質投与から前の14日以内の2回、研究室担当獣医による疾病の兆候に関する評価を受ける。評価の1回は、初回の検査品目投与から前の24時間以内でなければならない。健康な動物のみに検査品目を投与する。評価には、全身の身

10

20

30

40

50

体検査や、基線臨床病理及び、IFN- β -1aに対する基線抗体レベルを調べるための投薬前血液採取が含まれる。検査品目投与前の24時間以内にすべての動物の体重を計り、体温を記録する。12匹の対象を参加させ、4匹の動物（1群当たり2匹がオスで2匹がメス）から成る5つの群の1つに指定して、 1×10^6 U/kg の非修飾もしくはPEG化IFN- β -1aを筋肉内（IM）、あるいは、 2×10^5 U/kg、 1×10^6 U/kg、又は 5×10^6 U/kgのPEG化IFN- β -1aを静脈内（IV）投与する。すべての動物は、IFN- β 処理を初めて受けるものでなくてはならない。用量体積は1.0 mL/kgである。研究薬物投与後、薬物動態検査用に0、0.5、1、2、4、6、8、12、24、36、48、及び96時間目、そして7、14、21、及び28日目に血液採取する。IFN誘導性生物学的応答マーカーである2'-5'-オリゴアデニル酸シンターゼ（2'-5'-OAS）の測定のための血液試料は、研究薬物の投与後0、12、24、48、72、96時間目、そして7、14、21、及び28日目に採取される。本研究期間中の評価には、投薬後30分及び1時間で行われる、毒性の兆候を調べる臨床観察が含まれる。毎日のケージを介した観察を行って、全体的な外観、毒性の兆候、不調、及び行動変化を記録する。体重及び体温を一定の間隔で、投薬後28日間にわたって記録する。

【0765】

検定方法

血清中のIFN- β -1aのレベルを、細胞変性効果（CPE）バイオアッセイを用いて定量する。このCPE検定では、IFN媒介性抗ウイルス活性のレベルが測定される。試料中の抗ウイルス活性のレベルは、血液採取された時点で試料に含まれた活性IFNの分子数を反映する。このアプローチは、IFN- β の薬物動態を評価するための標準的方法である。このCPE検定は、脳心筋炎（EMC）ウィルスを原因とする細胞毒性からヒト肺癌細胞（メリーランド州ロックビル、ATCC、A549、#CCL-185）を防御するIFN- β の能力を検出するものである。細胞を血清試料と一緒に15乃至20時間予備インキュベートして、抗ウイルス応答を担うIFN誘導性タンパク質の誘導及び合成を起こさせる。次にEMCウィルスを添加し、さらに30時間インキュベートしてから、細胞毒性の評価を、クリスタル・バイオレット染料を用いて行う。内部IFN- β 標準やPEG化IFN- β -1a-内部標準を、試料と一緒に各検定プレート上で同時に検査する。この標準を天然ヒト線維芽細胞IFN基準標準（インターフェロン、ヒト線維芽細胞に関するWHO第二国際標準、Gb-23-902-53）に対して校正する。各検定プレートには、さらに、いずれのIFN- β もEMCも含有しない細胞成長コントロール・ウェルと、細胞とEMCを含有するがIFN- β を含有しないウィルス・コントロール・ウェルとが含まれる。標準及び試料を含有するコントロール・プレートも、試料が細胞成長に及ぼす何らかの効果を判定するために調製する。これらのプレートは、ウィルスを添加せずに染色される。試料及び標準は、二枚の重複検定プレート上で複式で検査され、試料毎に4つのデータ点を生じさせる。4つの重複点の幾何学的平均濃度を記録する。この検定における検出限界は10 U/mLである。ネオプテリンの血清濃度を臨床薬理単位で、市販の検定法を用いて判定する。2'-5'-OASの血清濃度は、契約研究機関で、バリデート済みの市販の検定法を用いて判定される。

【0766】

薬物動態及び統計法

RstripTMソフトウェア（ユタ州ソルトレーク・シティ、MicroMath社）を用いてデータを薬物動態モデルに合わせる。幾何学的平均濃度を対時間で各群について表にする。検定結果は希釈度で表現されるため、幾何学的平均は、数学的手段よりも適していると考えられる。血清IFNレベルを基線値に合わせて調節し、検出不能な血清濃度は、検出下限値の半分である5U/mLに設定する。IV輸注データの場合、2つの区画IV輸注モデルを各対象毎に検出可能な血清濃度に合わせ、SCデータは2つの区画注射モデルに合わせる。

【0767】

以下の薬物動態パラメータを計算する：

（i）観察されるピーク濃度、 $C_{\max}$ （U/mL）；

（ii）0時間目から48時間目までの曲線下の面積、台数公式を用いたAUC（U × h/mL）；

10

20

30

40

50

(i i i) 消失半減期 (h) ;

及び、IV輸注データ (IVを用いた場合) から :

(i v) 分布半減期 (h) ;

(v) クリアランス (mL/h/kg)

(v i) 見かけの分布容積、Vd (mL/kg)

【 0 7 6 8 】

WinNonlin (ノース・カロライナ州エイベックス、サイエンティフィック・コンサルティング社、バージョン1.0) ソフトウェアを用いて、IV及びSC注射後の消失半減期を計算する。ネオプテリン及び2'-5'-OASについては、時間に対する相加平均を各群について出す。基線からの最大変化である $E_{\max}$ を計算する。 $C_{\max}$ 、AUC、及び $E_{\max}$ を、投薬群を比較するための一方向分散分析に提供する。 $C_{\max}$ 及びAUCを、分析に先立って対数変換する。幾何学的中間を記録する。

10

【 0 7 6 9 】

実施例 6 : PEG化ヒトIFN- β -1aの抗血管形成効果 ; in vitroでのPEG化IFN- β -1aの内皮細胞増殖阻害能

ヒト静脈内皮細胞 (セル・システムズ社、Cat. # 2V0-P75) 及びヒト皮膚微小血管内皮細胞 (セル・システムズ社、Cat. # 2M1-C25) を、CS-C 培地キット (セル・システムズ社、Cat. # 4Z0-500) と一緒に培地に維持する。実験から 2 4 時間前に、細胞をトリプシン処理し、検定培地、90% M199 及び10% ウシ胎児血清 (FBS) に再懸濁させ、所望の細胞密度に調節する。次に細胞をゼラチンで被覆した24もしくは96ウェル・プレートに、それぞれ12,500細胞/ウェル又は 2,000 細胞/ウェルで塗る。一晩のインキュベーション後、検定培地を、20ng/mLのヒト組換え塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF) (ベクトン・ディッキンソン社、Cat. # 40060) 及び多様な濃度の非修飾もしくは本発明のPEG化IFN- β -1aを含有する新鮮な培地と取り替えるか、又は、陽性コントロール (抗bFGF抗体と同様、エンドスタチンを陽性コントロールとして用いることができる) を添加する。最終体積を24ウェル・プレートでは 0.5 mL に、又は96ウェル・プレートでは0.2 mL に調節する。7 2 時間後、細胞を、コールター計数用にトリプシン処理するか、CyQuant蛍光値読み取り用に凍結させるか、又は、 $[^3\text{H}]$ -チミジンで標識する。このin vitro 検定では、本発明のPEG化ヒトIFN- β -1a分子を、in vivoでの抗血管形成効果の指標であろう内皮細胞増殖に対する効果について検査する。O'Reilly, et al., Cell 88: 2 77-285 (1997) を参照されたい。

20

30

【 0 7 7 0 】

実施例 7 : PEG化ヒトIFN- β -1a及びPEG化げっ歯類IFN- β の抗血管形成及び新血管形成効果を検査するためのin vivoモデル

無胸腺ヌードホモ接合型 (nu/nu) マウスで、非修飾IFN- β -1a及び20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1aを、SK-MEL-1ヒト悪性黒色腫腫瘍の周辺に進入する放射状血管の形成阻害能について検査した。SK-MEL-1細胞を培養で80% コンフルエントになるまで成長させた後、 2×10^6 個の細胞を、3週齢の無胸腺ヌードホモ接合型 (nu/nu) NCRマウス (ニューヨーク州ジャーマンタウン、タコニック社) の中腋窩線の脇腹に皮下接種した (0日目に0.1mL容量)。2 4 時間後 (1日目) に、それぞれ3匹のマウスの群に以下の皮下用量の賦形剤コントロール、非修飾IFN- β -1a、又は20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aを投与した。:

40

【 0 7 7 1 】

A 群 : 0.1 mL の45.6 mg/mL ヒト血清アルブミン (賦形剤コントロール) を、1日目のみに1回

B 群 : 1 MU (5 μ g) の非修飾IFN- β -1aを含有する0.1 mL の45.6 mg/mL ヒト血清アルブミン を1日目から9日目まで毎日

C 群 : 1 MU単位 (10 μ g) の20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aを含有する0.1 mL の45.6 mg/mL ヒト血清アルブミンを1日目のみに1回

D 群 : 0.1 mL の45.6 mg/mL ヒト血清アルブミン (賦形剤コントロール) を1日目か

50

ら 9 日目まで毎日。

【0772】

マウスを 10 日目にと殺 (Avertin を 0.5 mL 腹腔内) し、腫瘍接種部位を、血管新生について、処理群に関して盲検観察者が測定することで、評価した。血管を、固定倍率で、解剖顕微鏡を用いて計数した。腫瘍周辺に進入しつつある放射状血管をそれぞれ一本の血管として採点した。各群は 3 匹のマウスから成った。

【0773】

図 10 に示すように、1 MU の 20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a (C 群) の一回の投与は、1 MU の非修飾 IFN- β -1a を毎日投与する場合 (B 群) と新生血管の数を減少させる上で同程度に効果的だった。しかしながら、20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a の効果は、賦形剤を単独で毎日投与しても何らかの阻害効果があることを考慮すれば、より顕著である (A 群の賦形剤を一回投与した場合を、D 群の賦形剤を毎日投与した場合と比較されたい)。

【0774】

本発明の PEG 化分子の抗血管形成及び抗血管新生効果を検査するために使用できる多種の他のモデルも開発されている。これらのモデルのいくつかが米国特許第 5,733,876 号 (1998 年 3 月 31 日「血管形成を阻害する方法」) 及び第 5,135,919 号 (1992 年 8 月 4 日:「血管形成を阻害するための方法及び医薬組成物」) に解説されている。他の検定には、Taylor 及び Folkman の無シエル漿尿膜 (CAM) 検定; Nature 297:307 (1982) 及び Crum et al.,

Science 230:1375 (1985); Folkman

et al.; J. Exp. Med. 133: 275 (1971) のマウス背側気嚢法抗血管形成モデル、及び、スプラッグ・ドーリー系 (チャールズ・リバー、日本) の成体オスラットで、500ng の bFGF (ウシ、R&D リサーチ・システムズ社) を、酢酸エチレンビニルコポリマのペレットに含浸させて各角膜に移植することにより、角膜の血管形成を誘導した Gimbrone, Jr. et al., J. Natl. Cancer Inst. 52:413 (1974) のラット角膜微小ポケット検定、がある。加えて、Lindner and

Borden; Int. J. Cancer 71:456 (1997) が解説したように、MCF-7 乳癌もしくは NIH-OVCAR-3 卵巣癌細胞を移植後の NIH-Swiss もしくは無胸腺ヌード (nu/nu) マウスで血管形成を誘導するモデルが存在する。(限定はしないが) SK-MEL-1 ヒト悪性黒色腫細胞を含む多くの腫瘍細胞系を用いて、上で解説したように血管形成を誘導してもよい。多種の用量を、多種の投与頻度で、そして多種の期間にわたって、非修飾及び本発明の PEG 化 IFN- β -1a タンパク質の両方について検査することができる。

【0775】

動物モデルで抗血管形成効果について PEG 化マウス及びラット IFN- β を検査する他の方法には、(限定はしないが)、1972 年 9 月の最初の癌化学療法報告書第 3 部第 3 刊第 2 号及び 1984 年 2 月の増刊 In Vivo 癌モデル、1976-1982, NIH 公報 No. 84-2635 に解説された新規な潜在的抗癌剤をスクリーニングするためのプロトコルが含まれる。タイプ I インターフェロンの種特異性のために、げっ歯類モデルで PEG 化 IFN- β の抗血管形成活性を評価するための PEG 化げっ歯類 IFN- β 製剤 (例えばマウス及びラット) を作製する。このようなスクリーニング法は、PEG 化マウス IFN- β が皮下移植されたルイス肺癌に及ぼす抗血管形成効果を検査するためのプロトコルにより、例示される:

【0776】

腫瘍株の起源

この腫瘍株は、1951 年に C57BL/6 マウスの肺癌として自然発生したものである。

【0777】

検査手法の概要

腫瘍断片を B6D2F1 マウスの腋窩領域に皮下移植する。検査物質 (即ち本発明の PEG 化 インターフェロン) を、腫瘍移植後複数の日に、多様な用量で皮下 (SC) もしくは腹腔内 (IP) 投与する。測定されるパラメータは中央生存時間である。結果はコントロール生存時

10

20

30

40

50

間のパーセンテージで表される。

【0778】

動物

増殖：C57BL/6 マウス。

検査：B6D2F1 マウス。

体重：マウスは3gの体重範囲内であり、オスの場合の最小体重は18

g、そしてメスの場合は17 gである。

性別：1つの実験のすべての検査動物及びコントロール動物で性別を同じにする。

出自：可能であれば、1つの実験の動物すべての出自を同じにする。

【0779】

実験の大きさ

1つの検査群当たり10匹の動物。

腫瘍の移動

増殖：

断片：SCドナー腫瘍の2-4mm断片を調製する。

時間：13-15日

部位：鼠径部の穿孔により、腋窩領域に断片をSC移植する。

【0780】

検査：

断片：SCドナー腫瘍の2-4mm断片を調製する。

時間：13-15日目

部位：鼠径部の穿孔により、腋窩領域に断片をSC移植する。

検査スケジュール

0日目：腫瘍を移植する。細菌培養を行う。奇数実験毎に陽性コントロール化合物を検査する。材料を調製する。毎日死亡を記録する。

1日目：培養物をチェックする。汚染していれば実験を廃棄する。動物を無作為化する。指示通りに処理する（1日目及び翌日以降）。

2日目：培養物を再チェックする。汚染していれば実験を廃棄する。

5日目：2日目と、最初の検査物質毒性評価日の体重を計る

14日目：コントロール早期死亡日。

48日目：コントロール・ノー・テイク（原語：no-take）日。

60日目：実験を終了し、評価する。肺の腫瘍を調べる。

【0781】

品質管理

奇数実験毎に陽性コントロール化合物（NSC 26271；シトキサン（Cytosan）を100m/kg/一回の注射の用量）をスケジュールし、その養生法を1日目のみの腹腔内とする。陽性コントロール用の検査／コントロール下限は140%である。許容可能な非処理コントロール中央生存期間は19乃至35.6日である。

【0782】

評価

測定されるパラメータは中央生存時間である。1日目及び5日目の平均動物体重を計算し、全検査群の検査／コントロール比を計算する。準備日及び最終評価日の平均動物体重を計算する。検査／コントロール比は、5日目の生存率が65%を越える全検査群について計算される。検査／コントロール比値が86%未満であることは、毒性を示す。過剰な体重変化の違い（検査マイナスコントロール）を毒性評価に用いてもよい。

【0783】

活性の基準

最初の検査／コントロール比が140%以上であることが、中程度の活性を実証するために必要であると考えられる。150%以上の検査／コントロール比値を再現可能であることが、有意な活性と考えられる。

10

20

30

40

50

【0784】

実施例8： PEG化 ヒトIFN- β -1a及びPEG化げっ歯類IFN- β の抗増殖及び抗腫瘍効果を検査するためのin vivoモデル

非修飾及び本発明のPEG化ヒトIFN- β -1aの抗増殖及び抗腫瘍効果を検査するために多様なin vivoモデルが利用できる。 Bailon et al., Bioconjugate Chemistry 12:195 (2001) が解説したモデルでは、無胸腺ヌードマウス（ハーラン社）に、 2×10^6 個のヒト腎A498、ヒト腎ACHN、又はヒト腎G402細胞を後方脇腹に皮下移植し、3-6週間、腫瘍を成長させる。次に非修飾もしくはPEG化ヒトIFN- β -1aを多様な用量、多様な投薬頻度、そして多様な期間、投与し、腫瘍体積を測定し、処理間で比較する。Lindner and Borden, J. Interferon Cytokine Res 17: 681 (1997) が解説した別のモデルでは、無胸腺ヌード (nu/nu) の、卵巣摘出されたメスBALB/c マウスに 2×10^6 個のMCF-7（エストラジオールを添加）、MDA-MB-231、MDA-MB-468、又はBT-20 ヒト乳癌細胞、NIH-OVCAR-3ヒト卵巢癌細胞、HT-29ヒト結腸癌細胞、又はSK-MEL-1もしくはFEMXヒト悪性黒色腫細胞を、腋窩に最も近い乳腺の上の真皮に移植し、腫瘍の大きさが、時間の関数として評価された。次に非修飾もしくはPEG化ヒトIFN- β -1aを多様な用量、多様な投薬頻度、そして多様な期間、投与し、腫瘍体積を測定し、処理間で比較する。PEG化ヒトIFN- β -1aの抗増殖及び抗腫瘍効果を検査するための他のモデルには、（限定はしないが）Qin et al., Molecular Therapy 4: 356 (2001) により解説された限局性及び転移性肺癌モデル、及び Tada et al., J Clinical Investigation 108: 83 (2001) により解説されたヒト結腸直腸癌の肝臓転移のヌードマウス異種移植モデル、がある。

【0785】

PEG化マウス及びラットIFN- β の抗増殖及び抗腫瘍効果を動物モデルで検査する他の方法には、（限定はしないが）Odaka et al., Cancer Res 61: 6201 (2001) により解説された悪性中皮腫のマウスモデル、Qin et al., Molecular Therapy 4: 356 (2001) により解説された限局性及び転移性肺癌モデル、及び Tada et al., J Clinical Investigation 108: 83 (2001) により解説された結腸直腸癌の肝臓転移の同系マウスモデル、がある。

【0786】

実施例9： PEG化マウスIFN- β 及びPEG化ヒトIFN- β -1aの抗ウィルス効果を検査するためのin vivo モデル

非修飾及びPEG化マウスIFN- β の、ヒトB型肝炎ウィルス（HBV）レベルに対する効果を、HBVトランスジェニックSCIDマウスで検査するin vivoマウスモデルを利用することができる。Larkin et al., Nature Medicine 5:907 (1999)。このモデルでは、ヒトHBVゲノムの頭から尾までの二量体を持つトランスジェニック SCIDマウスが、検出可能なレベルのHBV複製型及び前ゲノムRNAを肝臓内に、そしてHBVウィルスを血清中に有する。このトランスジェニックマウスの肝細胞は、HBsAg、HBcAg、及びHbxAgタンパク質についても陽性であり、ウィルスの複製を示す。非修飾及びPEG化マウスIFN- β をこのモデルで比較するプロトコルの一例を下に挙げる：

【0787】

同等なウィルス力価を持つ30匹のマウス（5匹から成る5つの群と、予備の5匹）を2つの個別の時点（少なくとも1週間の間隔を置く）で力価測定して、基線力価を確立し、またそれらの力価がマウスIFN- β を投与する前は一定であることを確認する。5匹のマウスから成る群に、表7に示すように、以下の試料を1週間当たり3回、皮下により投薬する（月曜日、水曜日、及び金曜日）。

【0788】

【表 7】

表7

群	投薬試料
1	賦形剤コントロール (1 mg/mL マウス血清アルブミン、MSA)
2	30 U 非修飾マウスIFN- β の1 mg/mL MSA溶液
3	300 U 非修飾マウスIFN- β の1 mg/mL MSA溶液
4	3000 U 非修飾マウスIFN- β の1 mg/mL MSA溶液
5	30 U PEG化マウスIFN- β の1 mg/mL MSA溶液
6	300 U PEG化マウスIFN- β の1 mg/mL MSA溶液
7	3000 U PEG化マウスIFN- β の1 mg/mL MSA溶液

【0789】

投薬中、ウィルス力価を毎週判定し、投薬後の6ヶ月間は毎週乃至2週間に1回、判定する。時間に対するウィルス力価の表を、賦形剤及びIFN- β で処理された動物をクリアランス及びウィルス力価の再確立について比較するために作製する。次に、適した用量の非修飾及びPEG化マウスIFN- β を、1つの群当たり10乃至20匹のマウスの合計30乃至60匹のマウス（コントロールに10乃至20匹、非修飾マウスIFN- β に10乃至20匹、及びPEG化マウスIFN- β に10乃至20匹）に用いる二番目の研究を行う。ウィルス力価を上述のように評価し、と殺時に、血清をウィルス力価やHbsAgについてSDS-PAGE及びウェスタン・ブロット法で分析する。肝臓も取り出し、凍結又は必要に応じて固定し、HbsAg、HbcAg、及びHbxAgの存在について染色する。当業者に公知の他の適した組織学的、組織化学的、又は生化学的検査を、血清及び組織試料に対して行ってもよい。

【0790】

さらに、キメラヒト肝を持つマウスでヒトC型肝炎ウィルス（HCV）のレベルに対する非修飾及びPEG化ヒトIFN- β -1aの効果を検査するためにも、in vivoマウスモデルを利用することができる。Mercer et al., Nature Medicine 7:927 (2001)。このモデルでは、正常なヒト肝細胞を、プラスミノーゲン・アクチベータ導入遺伝子（Alb-uPA）を持つSCIDマウスに移植し、このマウスに、異なる遺伝子型のHCVに感染したヒトを由来とする血清を接種する。移植ヒト肝細胞は該ウィルスに感染し、該ウィルスが複製する。当該血清中のHCV RNA レベルを、PCRで定量したり、該肝細胞中の陽性及び陰性（複製型）RNAのレベルを定量することができる。トランスジェニックHBV SCID マウスで、非修飾及びPEG化マウスIFN- β について上述したものと同様な（しかし限定はしないが）適した研究プロトコルを行って、このモデルにおける非修飾及びPEG化ヒトIFN- β -1aの効験を評価する、即ち、処理が、HCV力価、肝臓組織構造、血清ALTレベル、及びHCV複製型の移植ヒト間組織中の存在に及ぼす影響を判定する。当業者に公知の他の適した組織学的、組織化学的、又は生化学的検査を、血清及び組織試料に対して行ってもよい。

【図面の簡単な説明】

【0791】

本発明は、表を参照した以下の解説から更に明らかとなるであろう。

【図1】図1は、非修飾IFN- β -1a及び20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1aの純度を示す還元的SDS-PAGEゲルを示す。レーンA：分子量マーカ（上から順に；それぞれ100 kDa、68 kDa、45 kDa、27 kDa、及び18 kDa）；レーン B: 4 μ g の非修飾IFN- β -1a；レーン C: 4 μ g の20 kDamPEG-0-2メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a

【図2A】図2は、非修飾IFN- β -1a及び20 kDamPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1aのサイズ排除クロマトグラフィの軌跡を示す。： パネル A: 分子量標準；パネルB: 20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a；パネル C、非修飾IFN- β -1a

【図2B】図2は、非修飾IFN- β -1a及び20 kDamPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1aのサイズ排除クロマトグラフィの軌跡を示す。： パネル A: 分子量標準；パネルB: 20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a；パネル C、非修飾IFN- β -1a

【図2C】図2は、非修飾IFN- β -1a及び20 kDamPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修

飾 IFN- β -1aのサイズ排除クロマトグラフィの軌跡を示す。：パネル A：分子量標準；パネルB：20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a；パネル C、非修飾IFN- β -1a

【図 3】図 3 は、20 kDamPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1 aのサイズ排除クロマトグラフィの軌跡である。

【図 4】図 4 は、非修飾IFN- β -1a及び20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β 1aの純度を示す還元的SDS-PAGEゲルである。：レーン A：2.5 μ gの20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1a；レーン B：2.5 μ gの非修飾IFN- β -1a；レーン C：分子量マーカ（上から順に；それぞれ100 kDa、68 kDa、45 kDa、27 kDa、及び18kDa）

10

【図 5】図 5 は、20 kDamPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1aのサイズ排除クロマトグラフィの軌跡を示す。；パネル A：分子量標準；パネル B：20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1a

【図 6】図 6 は、20 kDamPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1aの安定性を示す還元的SDS-PAGEゲルである。：レーンA：分子量マーカ（上から順に；それぞれ100 kDa、68kDa、45 kDa、27 kDa、18 kDa、及び15 kDa）；レーンB、C、D及び E：それぞれ0、2、5、及び7日目に検定用に取り出された2 μ gの20 kDa mPEG-0p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1a

【図 7 A】図 7 A－B は、多種のPEG化ヒトIFN- β -1a試料の抗ウィルス活性をタンパク質濃度の関数として示す：図 7 A；非修飾IFN- β -1a（○）、20 kDamPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a（□）、20 kDa mPEG-0-p-メチルフェニル-0-2メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a（△）、及び20kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a（◇）。図 7 B；非修飾IFN- β -1a（○）、20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1a（□）、20 kDamPEG-0-p-フェニルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a（△）、及び20 kDa mPEG-0-m-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1a（◇）。

20

【図 7 B】図 7 A－B は、多種のPEG化ヒトIFN- β -1a試料の抗ウィルス活性をタンパク質濃度の関数として示す：図 7 A；非修飾IFN- β -1a（○）、20 kDamPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a（□）、20 kDa mPEG-0-p-メチルフェニル-0-2メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a（△）、及び20kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a（◇）。図 7 B；非修飾IFN- β -1a（○）、20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド修飾 IFN- β -1a（□）、20 kDamPEG-0-p-フェニルプロピオンアルデヒド修飾 IFN- β -1a（△）、及び20 kDa mPEG-0-m-フェニルアセトアルデヒド修飾IFN- β -1a（◇）。

30

【図 8 A】図 8 A－8 B は、非修飾及び多種のPEG化ヒト化IFN- β -1a試料の薬物動態を示すグラフである。：図 8 A：非修飾IFN- β -1a（上側パネル）及び20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒドで修飾されたIFN- β -1a（下側パネル）；図 8 B：20 kDa mPEG-0-p-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド（上側パネル）及び20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド（下側パネル）で修飾されたIFN- β -1a。

【図 8 B】図 8 A－8 B は、非修飾及び多種のPEG化ヒト化IFN- β -1a試料の薬物動態を示すグラフである。：図 8 A：非修飾IFN- β -1a（上側パネル）及び20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒドで修飾されたIFN- β -1a（下側パネル）；図 8 B：20 kDa mPEG-0-p-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド（上側パネル）及び20 kDa mPEG-0-p-フェニルアセトアルデヒド（下側パネル）で修飾されたIFN- β -1a。

40

【図 9 A】図 9 A－B は、非修飾及び多種のPEG化ヒトIFN- β -1a試料の薬物動態を示すグラフである：図 9 A：非修飾IFN- β -1a（上側パネル）及び20kDa mPEG-0-p-フェニルプロピオンアルデヒド（下側パネル）で修飾されたIFN- β -1a；図 9 B：20 kDa mPEG-0-m-フェニルアセトアルデヒド（上側パネル）及び20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド（下側パネル）で修飾されたIFN- β -1a。

【図 9 B】図 9 A－B は、非修飾及び多種のPEG化ヒトIFN- β -1a試料の薬物動態を示す

50

グラフである：図 9 A：非修飾IFN- β -1a（上側パネル）及び20kDa mPEG-0-p-フェニルプロピオンアルデヒド（下側パネル）で修飾されたIFN- β -1a；図 9 B：20 kDa mPEG-0-m-フェニルアセトアルデヒド（上側パネル）及び20 kDa mPEG-0-m-メチルフェニル-0-2-メチルプロピオンアルデヒド（下側パネル）で修飾されたIFN- β -1a。

【図 10】図 10 は、20kDa mPEG-0-2メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aの単回投与を、非修飾IFN- β -1aの毎日の投与と、SK-MEL-1 ヒト悪性黒色腫細胞を持つnu/nuマウスの放射状新生血管の数の減少の上で比較した棒グラフである：1 日目に1 回のみ賦形剤・コントロールで処理（棒 A）；1 MU（5 μ g）の非修飾IFN- β -1aで1 日目から9 日目まで毎日処理（棒 B）；1 日目に1 回のみ1 MU（10 μ g）の20 kDa mPEG-0-2-メチルプロピオンアルデヒド修飾IFN- β -1aで処理（棒 C）；及び、1 日目から9 日目まで毎日賦形剤・コントロールで処理（棒 D）。

10

【図 1】

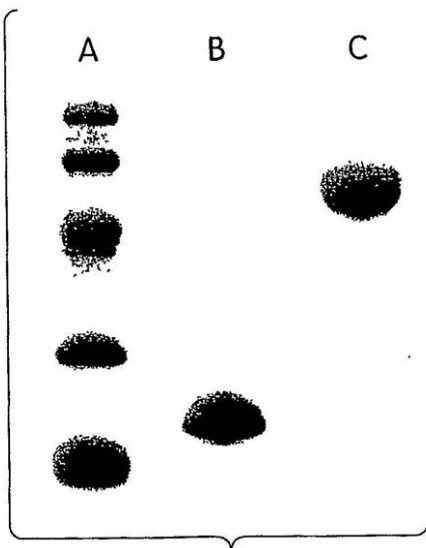


Fig. 1

【 図 2 A 】

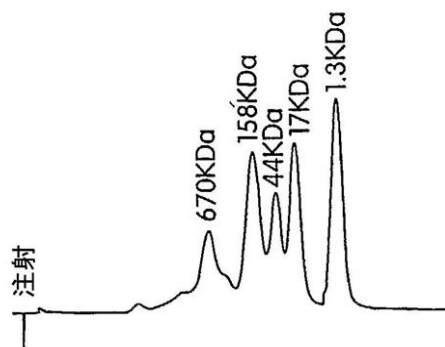


Fig. 2A

【 図 2 B 】

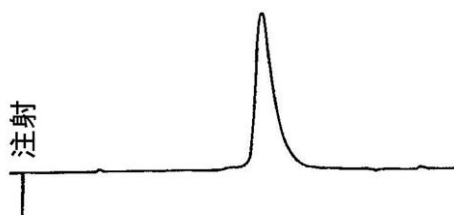


Fig. 2B

【 図 2 C 】

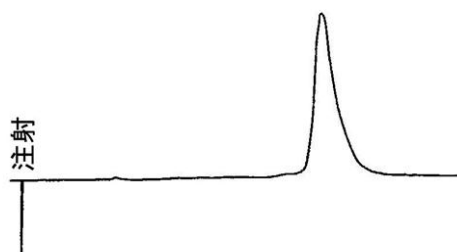


Fig. 2C

【 図 3 】

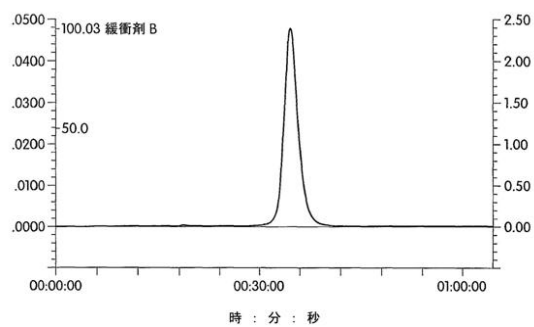


Fig. 3

【 図 4 】

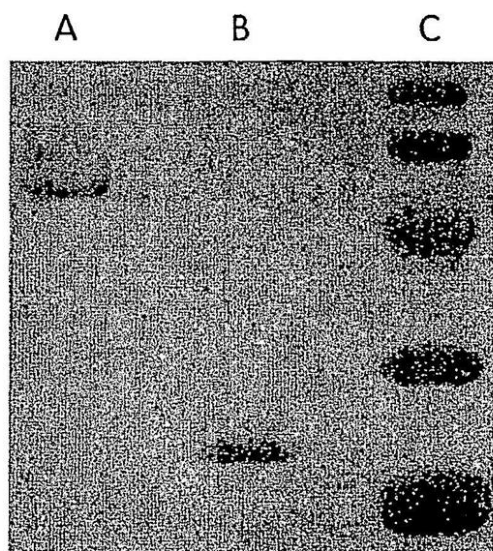


Fig. 4

【 図 5 】

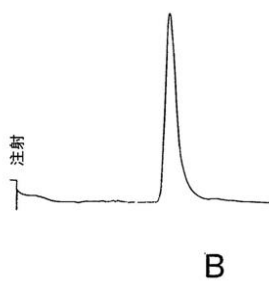
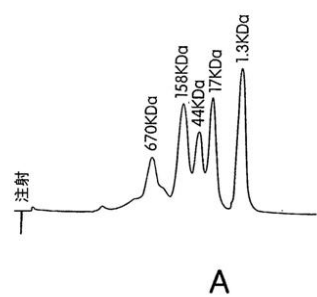


Fig. 5

【図 6】

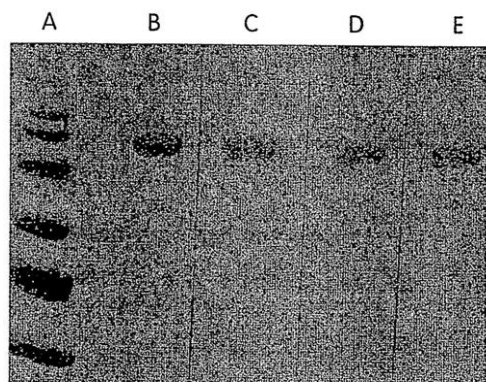


Fig. 6

【図 7 A】

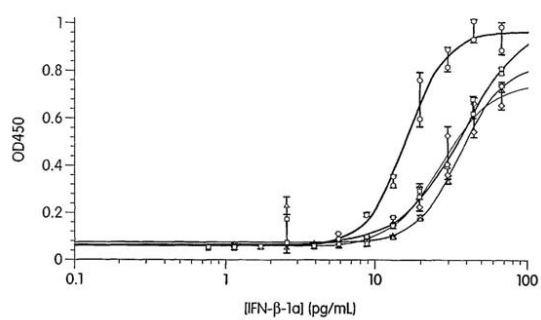


Fig. 7A

【図 7 B】

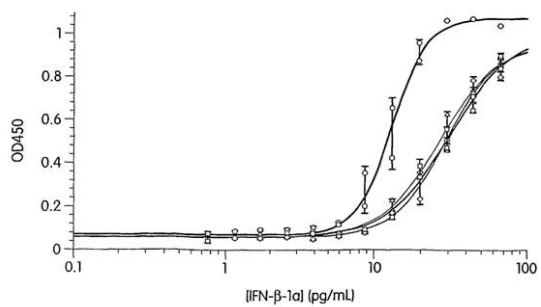


Fig. 7B

【図 8 A】

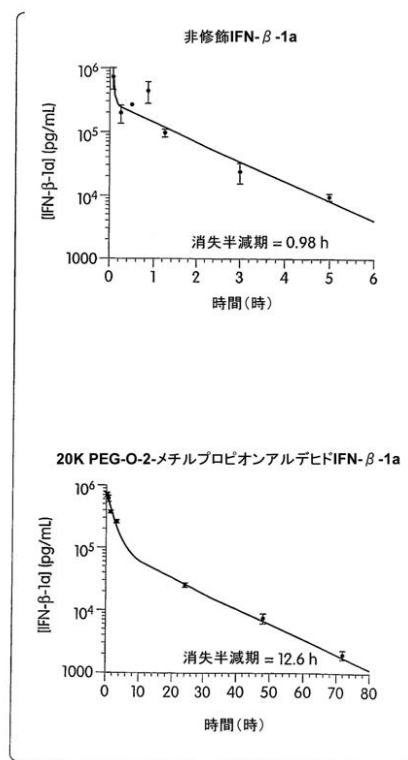


Fig. 8A

【図 8 B】

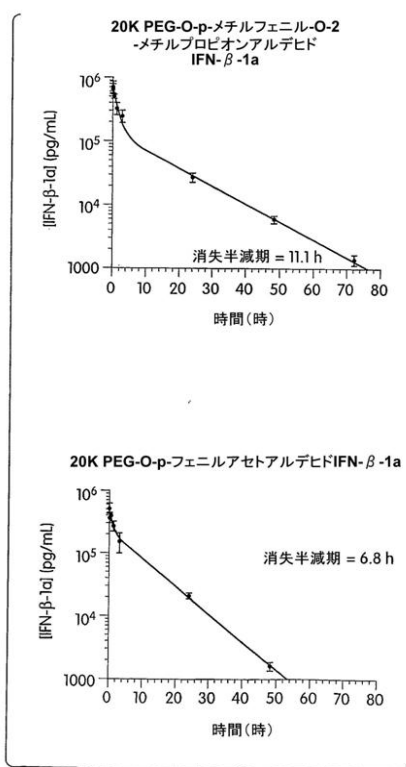


Fig. 8B

【図 9 A】

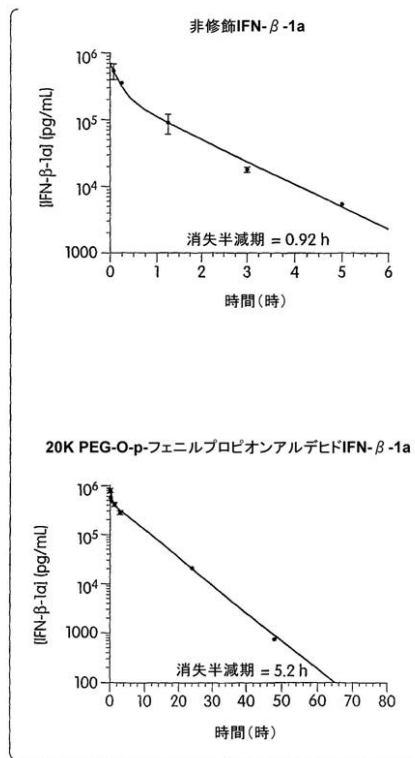


Fig. 9A

【図 9 B】

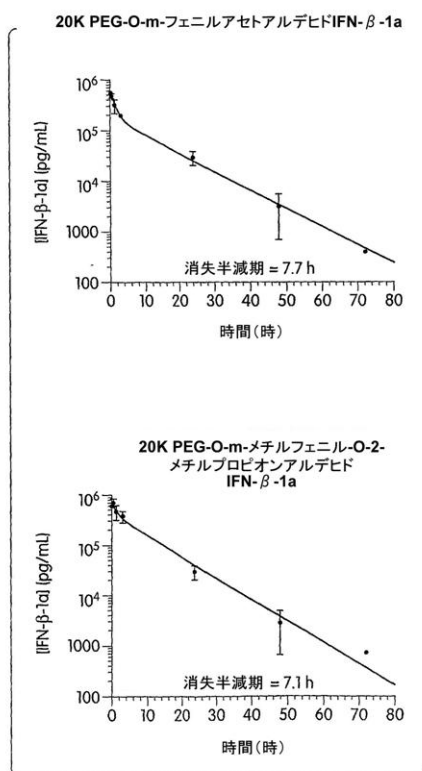


Fig. 9B

【図 10】

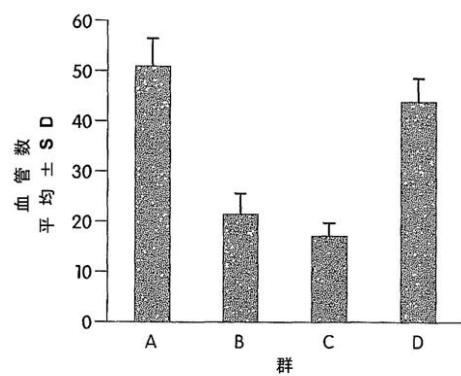


Fig. 10

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 51/00	(2006.01)	A 6 1 K 49/02	4 J 0 0 5
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 31/12	(2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 31/14	(2006.01)	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 31/16	(2006.01)	A 6 1 P 31/16	
A 6 1 P 31/18	(2006.01)	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 31/20	(2006.01)	A 6 1 P 31/20	
A 6 1 P 31/22	(2006.01)	A 6 1 P 31/22	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 35/02	
C 0 7 C 47/198	(2006.01)	C 0 7 C 47/198	C S P
C 0 7 C 47/277	(2006.01)	C 0 7 C 47/277	
C 0 7 K 14/565	(2006.01)	C 0 7 K 14/565	

- (72)発明者 リン, コーチャン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 2 1 レキシントン リンカーン ストリート 2
5 3
- (72)発明者 ベピンスキー, アール. , ブレーク
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 7 4 アーリントン ファルマス ロード 3 0
- (72)発明者 チェン, リン, リン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 8 2 ウェルズリー ウェストン ロード 2 4 2
- (72)発明者 ヘス, ドナ, エム.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 2 ウォルサム ポーター ロード 6 4
- (72)発明者 リン, エドワード, ワイ.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 4 4 サマービル アpartment 2 ブロード
ウェイ 9 9 8
- (72)発明者 ペッター, ラッセル, シー.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 7 7 5 ストー ハドソン ロード 3 4 3
- (72)発明者 バイカー, ダレン, ピー.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 0 4 3 ヒンガム セントラル ストリート 2 4 0

F ターム (参考) 4C076 CC01 CC27 CC35 EE23 EE59 FF63
4C084 AA01 AA02 AA17 DA23 NA03 ZA02 ZB26 ZB27 ZB33
4C085 HH03 HH11 HH20 KB74 KB87
4H006 AA01 AA03 AB22 AB29 AB84
4H045 AA10 AA20 AA30 BA57 CA40 DA17 EA22 EA27 FA52 FA81
4J005 BD03 BD05 BD06