



(12) **PATENT**

(19) **NO**

(11) **331781**

(13) **B1**

NORGE

(51) **Int Cl.**

C08G 65/329 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

A61K 47/34 (2006.01)

Patentstyret

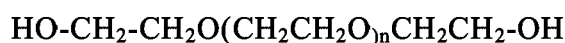
(21)	Søknadsnr	20021555	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	1999.10.08 PCT/US1999/23536
(22)	Inng.dag	2002.04.02	(85)	Videreføringsdag	2002.04.02
(24)	Løpedag	1999.10.08	(30)	Prioritet	1999.10.08, WO, PCT/US99/23536
(41)	Alm.tilgj	2002.06.04			
(45)	Meddelt	2012.03.26			
(73)	Innehaver	Nektar Therapeutics, 201 Industrial Road, US-CA94070 SAN CARLOS, USA			
(72)	Oppfinner	Milton J Harris, 3119 Highland Plaza, Huntsville, AL 35081, USA Michael David Bentley, 4017 Nolen Avenue, Huntsville, AL 35081, USA Antoni Kozlowski, 2209 Fairfax Street, US-AL35811 HUNTSVILLE, USA			
(74)	Fullmektig	Onsagers AS, Postboks 6963 St Olavs Plass, 0130 OSLO, Norge			
(54)	Benevnelse	Fremgangsmåter for fremstilling av heterobifunksjonelle polymere derivater, og for påkobling av disse polymere derivatene på et legemiddel eller makromolekyl			
(56)	Anførte publikasjoner	WO 99/34833 A1			
(57)	Sammendrag				

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en fremgangsmåte til å fremstille, med høy renhet og høyt utbytte, heterobifunksjonelle derivater av poly(etylenglykol) eller beslektede polymerer. Et kromatografisk rensetrinn er ikke nødvendig i metoden. I henhold til fremgangsmåten i oppfinnelsen, blir det tilveiebrakt et mellompolymer som har formelen W-Poly-OH som bærer en fjembar gruppe W i en ende. Mellompolymeren W- Poly-OH blir først forandret ved å modifisere OH- gruppen til en første funksjonell gruppe X, etterfulgt av fjerning av W for å danne en andre hydroksylgruppe. Den siste hydroksylgruppen kan deretter videre bli konvertert til en andre funksjonell gruppe Y, for således å tilveiebringe det ønskede heterobifunksjonelle derivatet.

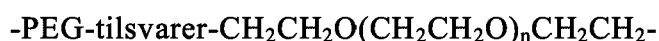
Tittel: Fremgangsmåter for fremstilling av heterobifunksjonelle polymere derivater, og for påkobling av disse polymere derivatene på et legemiddel eller makromolekyl.

- 5 Oppfinnelsen angår fremgangsmåter for fremstilling av heterobifunksjonelle polymere derivater og fremgangsmåte for påkobling av disse polymere derivatene på et legemiddel eller makromolekyl.

- 10 Kovalent tilfesting av det hydrofile polymere poly(etylenglykol), forkortet (PEG), også kjent som poly(etylenoksid), forkortet (PEO), til molekyler og overflater har viktige anvendelser i bioteknologi og medisin. I sin vanligste form er PEG en lineær polymer som har hydroksylgrupper i hver ende:



Denne formelen kan representeres i korthet som HO-PEG-OH hvor det er forstått at -PEG- representerer den polymere ryggraden uten de terminale grupper:

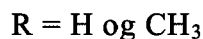


- 15 PEG er vanligvis brukt som metoksy-PEG-OH, eller mPEG i korthet, i hvilken en ende er den relativt inerte metoksygruppen, mens den andre enden er en hydroksylgruppe som lett er utsatt for kjemisk modifikasjon.



- 20 Det er forstått av de med kunnskap på området at betegnelsen poly(etylenglykol) eller PEG representerer eller inkluderer alle de ovennevnte former og enda andre.

Kopolymerene til etylenoksid og propylenoksid er nært beslektet til PEG i sin kjemi og kan substitueres for PEG i mange av dets anvendelser.



- 25 PEG er en nyttig polymer som har egenskapen at den er vannoppløselig så vel som oppløselig i mange organiske oppløsningsmidler. PEG er også ikke-toksisk og ikke-immunogent. Når PEG blir kjemisk tilfestet en vannoppløselig forbindelse, er det resulterende konjugatet generelt vannoppløselig så vel som oppløselig i mange organiske oppløsningsmidler. Når molekylet til hvilket PEG er festet er biologisk
- 30 aktivt, så som et legemiddel, blir denne aktiviteten vanligvis opprettholdt etter tilfesting av PEG og konjugatet kan vise forandret farmakokinetikk. For eksempel, Bentley *et al.* i Polymer Preprints, 38(1), 584 (1997) viste at vannoppløselig antemisinin blir vannoppløselig og utvikler økt antimalariaaktivitet når den kobles til PEG. Davis *et al.* i U.S. patent nr. 4,179,337 har vist at proteiner koblet til PEG

har økt blodsirkuleringslevetid på grunn av redusert utrensing gjennom nyrene og redusert immunogenisitet. Mangelen på toksisitet av PEG og dens hurtige utrensing fra kroppen er fordelaktig for farmasøytiske anvendelser.

- 5 Idet anvendelser av PEG-kjemien er blitt mer sofistikert, har det blitt et økt behov for heterobifunksjonelle PEG, det vil si PEG som har ulike terminale grupper:



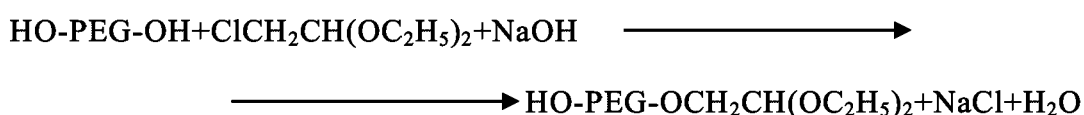
hvor X og Y er forskjellige grupper. PEG som har ryggradestergrupper og terminale grupper X og Y:



- 10 kan betraktes å være heterobifunksjonelle selv om X og Y er like, ettersom hver PEG-enhet i ryggraden er substituert usymmetrisk.

- 15 Slike heterobifunksjonelle PEG som bærer egnede funksjonelle grupper kan brukes til å koble PEG til overflater eller andre polymerer, så som polysakkarider eller proteiner, med den andre enden festet, for eksempel, til et legemiddel, et liposom, et annet protein eller en biosensor. Hvis en ende er bundet til en polymer og den andre enden er bundet til en egnet funksjonell gruppe, kan tverrbinding for å danne en nyttig hydrogel skje.

- 20 Ved å utnytte eksisterende fremgangsmåter, er imidlertid heterobifunksjonelle PEG ofte vanskelige eller umulige å fremstille med høy renhet. For eksempel kan man utføre nedenstående reaksjon ved å bruke molare ekvivalenter av hver reagens med det målet å fremstille det heterobifunksjonelle PEG acetalproduktet vist:



- 25 I praksis er imidlertid noe av det disubstituerte PEG dietylacetat, $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{CH}_2\text{O-PEG-OCH}_2\text{CH(OC}_2\text{H}_5)_2$ også uunngåelig dannet og noe ureagert PEG vil også forbli. Langtekkelig kromatografi vil være nødvendig for å atskille denne blandingen.

- 30 Den kromatografiske tilnærmingen er blitt brukt av Zalipsky (Bioconjugate Chemistry, 4: 296-299, 1993) for å rense det følgende heterobifunksjonelle PEG-derivatet:



fra en reaksjonsproduktblanding som også inneholder ureagert PEG og det disubstituerte karboksylsyrederivatet.

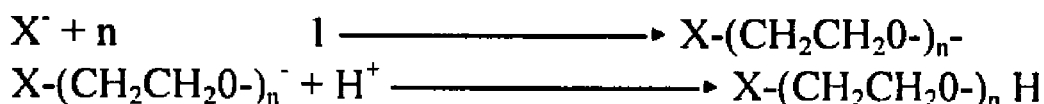
I visse anvendelser er det essensielt at minimalt HO-PEG-OH er til stede i monoalkyl PEG brukt til å fremstille monofunksjonelle aktiverte PEG, ettersom nærværet av HO-PEG-OH ville føre til dobbelt aktiverte PEG-derivater som ville resultere i tverrbundne produkter eller ha andre uønskede virkninger. Faktisk er

5 HO-PEG-OH en vanlig kontaminant i monoalkyl PEG. Den kromatografiske tilnærmingen er blitt beskrevet i U.S. patent nr. 4,298,410 til å separere CH₃O-PEG-OH fra HO-PEG-OH ved å danne trityl (Ph₃C-derivatene), separere derivatene kromatografisk og fjerne tritylgruppen fra CH₃O-PEG-OCPh₃. En nylig patentsøknad, Suzawa *et al.* (WO96/35451) beskrev benzyl PEG (C₆H₅-CH₂-OPEG-

10 OH) som et mellomprodukt ved fremstilling av heterobifunksjonelt PEG som bærer en gruppe i den ene enden som har affinitet for en målcelle og som har et toksin i den andre enden. Benzyl PEG ble imidlertid fremstilt ved benzylering av PEG etterfulgt av omstendelig utstrakt gradientkromatografi for å separere benzyl PEG fra dibenzyl PEG og ureagert PEG. Fremgangsmåten ble gjort i liten skala med et

15 utbytte på bare 7,8%. Fremgangsmåten har således liten verdi for nyttig kommersiell produksjon.

En annen strategi, polymeriseringstilnærmingen, for fremstilling av heterobifunksjonell PEG omfatter anionisk polymerisering av etylenoksid på et anion, X, som til slutt blir endegruppen av polymeren:



20

Denne fremgangsmåten er blitt brukt av Yokoyama *et al.* (Bioconjugate Chemistry, 3: 275-276, 1992) for å fremstille en PEG med en hydroksylgruppe i den ene enden og en aminogruppe i den andre. Cammas *et al.* (Bioconjugate Chemistry, 6: 226-230, 1995) har brukt denne metoden til å fremstille PEG med en aminogruppe i en

25 ende og en hydroksyl- eller metoksygruppe i den andre. Den er også blitt brukt av Nagasaki *et al.* (Bioconjugate Chemistry, 6: 231-233, 1995) for å fremstille en PEG som har en formylgruppe i en den ene enden og en hydroksylgruppe i den andre. Disse metodene er generelt nyttige bare hvis X er en egnet og ønsket gruppe som polymerisering kan initieres på; ofte er ikke dette tilfellet. I tillegg krever vellykket

30 anvendelse av denne metoden streng eksklusjon av vann for å forhindre dannelsen av HO-PEG-OH, og dette problemet blir mer alvorlig når molekylvekten øker. Det er også nødvendig å kontrollere nøyaktig graden av polymerisering for å oppnå den ønskede molekylvekten til PEG-derivatet. Denne metoden er begrenset ved degradering av mange typer av legemiddelmolekyler under de harde

polymerisasjonsbetingelsene hvis etylenoksid polymerisasjon blir utført direkte på legemiddelmolekylet. Metoden er også begrenset ved mangel på selektivitet hvis mer enn én funksjonell gruppe er til stede på hvilke polymerisasjon kan skje. Kjent teknikk er også beskrevet i WO 99/34833 A1.

- 5 Det ville være ønskelig å tilveiebringe ytterligere fremgangsmåter til å fremstille heterobifunksjonelle PEG som hovedsakelig eliminerer minst noen av problemene og ulempene til de tidligere metodene.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en fremgangsmåte til å fremstille et heterobifunksjonelt polymert derivat, som er kjennetegnet ved at den omfatter:

- 10 (i) å tilveiebringe en polymer med formel W-O-Poly-OH, hvor W er en gruppe som er fjernbar ved katalytisk hydrogenolyse eller ved syrekatalysert hydrolyse, og Poly representerer en polymerenhet som er valgt fra gruppen som består av poly(alkylenoksider), poly(oksyetylerter polyoler), poly(olefine alkoholer) og poly(akroylmorfolin),
- 15 (ii) modifisere -OH-resten for å produsere en første funksjonell gruppe, der nevnte første funksjonelle gruppe er valgt fra gruppen som består av:
- mesylat, tosylat, tresylat,
- O-(CH₂)_n-CO₂R₃ hvori n = 1-6 og R₃ er en alkylgruppe,
- NHR₄ hvori R₄ er H, alkyl eller en aminobeskyttende gruppe,
- 20 -O-(CH₂)_n-CH(ZR₅)₂ hvori n er tall fra 1-6, Z er O eller S, og R₅ er H eller en alkylgruppe,
- O-(CH₂)_n-CHO der n=1-6, og
- (iii) konvertere nevnte W til en andre funksjonell gruppe, der nevnte andre funksjonelle gruppe er forskjellig fra nevnte første funksjonelle gruppe.
- 25 Oppfinnelsen vedrører også en fremgangsmåte til å fremstille et heterobifunksjonelt polymert derivat, som er kjennetegnet ved at det omfatter:
- (i) å tilveiebringe en polymer med formelen Ar-C(R₁)(R₂)O-Poly-OH, hvor Ar er valgt fra gruppen som består av fenyl, substituert fenyl, bifenyl, substituert bifenyl, polysykliske aryler, substituerte polysykliske aryler og heterosykliske
- 30 aryler,
- hvor R₁ og R₂ er H, alkyl eller Ar, hvor Ar er som definert ovenfor, og

hvor Poly er en polymer rest valgt fra gruppen som består av poly(alkylenoksider), poly(oksyetylerter polyoler), poly(olefine alkoholer) og poly(akryloylmorfolin);

5 (ii) kjemisk modifisere -OH-gruppen for å produsere en første funksjonell gruppe $-O-(CH_2)_n-CH(ZR_5)_2$ hvori n er tall fra 1-6, Z er O eller S, og R_5 er H eller en alkylgruppe,

(iii) fjerne $Ar-C(R_1)(R_2)O$ -gruppen for å produsere en ny hydroksylgruppe;

10 (iv) konvertere den nye hydroksylgruppen til en andre funksjonell gruppe, hvor nevnte andre funksjonelle gruppe er forskjellig fra den nevnte første funksjonelle gruppen.

Oppfinnelsen gjelder også en fremgangsmåte ifølge oppfinnelsen, som er kjennetegnet ved at den er til anvendelse ved inhibering av reaktiviteten til HO-PEG-OH i en blanding der:

Poly er polyetylenglykol (PEG),

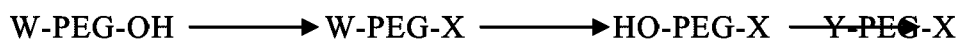
15 $Ar-C(R_1)(R_2)O$ - er $C_5H_6-CH_2-O$ -,

trinn (ii) omfatter kjemisk modifisering av -OH-gruppen ved alkylering for å produsere en -OR-gruppe, der R er alkyl, og

trinn (iii) omfatter katalytisk hydrogenering.

20 I tillegg gjelder oppfinnelsen en fremgangsmåte for påkobling av et polymert derivat på et legemiddel eller makromolekyl, som er kjennetegnet ved at den omfatter fremstillingen av et polymert derivat ved å benytte fremgangsmåtene ifølge oppfinnelsen, og det ytterligere trinnet med å koble på det polymere derivatet på nevnte legemiddel eller makromolekyl.

25 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer i en utførelsesform en fremgangsmåte til å fremstille heterobifunksjonelle polymere derivater via et PEG mellomprodukt som bærer en fjernbar gruppe i en ende. PEG-derivater av klassen W-PEG-OH, hvor W er en gruppe som kan fjernes ved milde kjemiske metoder, blir tilveiebrakt og blir først forandret ved å modifisere OH-gruppen til en ønsket gruppe, X, etterfulgt av fjerning av W for å danne en andre hydroksylgruppe. Den siste hydroksylgruppen
30 kan deretter videre forandres til en andre funksjonell gruppe, Y, og således tilveiebringe den ønskede heterobifunksjonelle PEG:

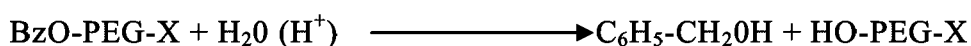


En foretrukket fjernbar gruppe er benzyloksygruppen ($C_6H_5CH_2-O$ -), skjønt andre arylmetylgrupper inkludert, men ikke begrenset til, 4-metylbenzyl, 3-metylbenzyl,

4-klorbenzyl, 4-metoksybenzyl, difenylmetyl, trifenylmetyl eller 1-naftylmetyl kan anvendes. Diarylmetyl- og triarylmetylgrupper vil også være tilstrekkelige.

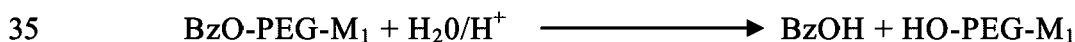
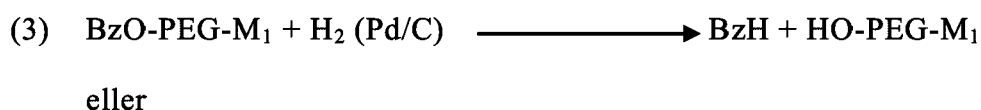
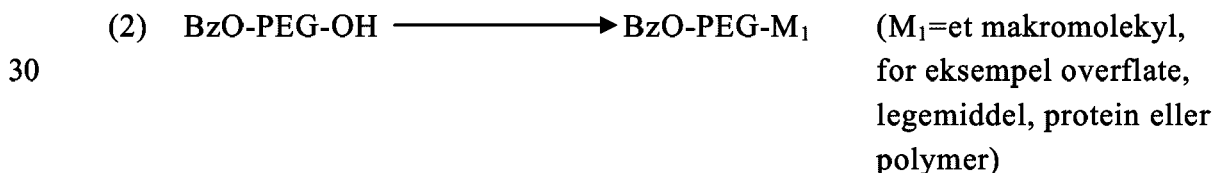
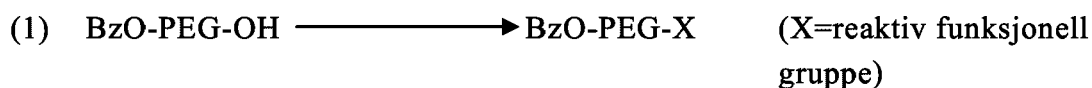
Benzyloksy-PEG-OH (BzO-PEG-OH) kan for eksempel fremstilles med høy renhet ved polymerisering av etylenoksid på benzyloksidionet, BzO^- . Ved å utføre

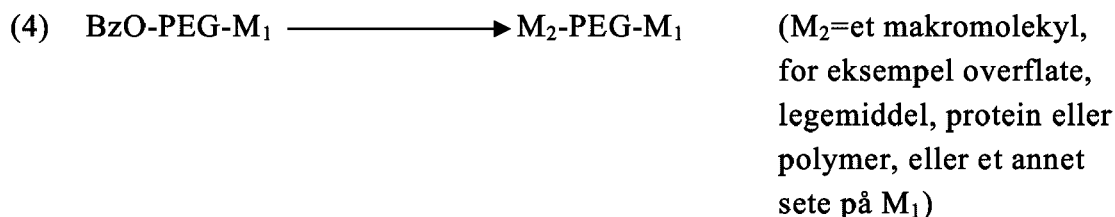
5 reaksjonen under nøye kontrollerte, vannfrie betingelser, kan det heterobifunksjonelle derivatproduktet fremstilles med en minimal mengde av HO-PEG-OH. En fordel ved benzyl- og andre arylmetylgrupper er at de kan fjernes fra PEG under relativt milde betingelser ved katalytisk hydrogenolyse eller ved syrekatalysert hydrolyse.



I reaksjonene ovenfor, er *cat* en katalysator, så som palladium eller trekull.

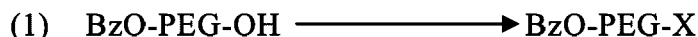
I en utforming av oppfinnelsen blir fremgangsmåten brukt til å konjugere PEG eller beslektede polymerer til makromolekyler så som proteiner, lipider, polysakkarider
15 eller andre polymerer eller overflater. Først blir hydroksylgruppen til mellompolymeren BzO-PEG-OH konvertert til en første reaktiv funksjonell gruppe. Denne reaktive funksjonelle gruppen tillater tilfesting av BzO-PEG- til et makromolekyl. Benzylgruppen blir deretter fjernet ved hydrogenolyse eller hydrolyse, uten kjemisk å påvirke makromolekylet og gjør således tilgjengelig en ny
20 terminal hydroksylgruppe på PEG-derivatet. Denne nye hydroksylgruppen kan brukes direkte til å tilfeste den enden av PEG-derivatet til det samme eller et annet makromolekyl. Alternativt kan hydroksylgruppen ytterligere konverteres til en annen andre relativ funksjonell gruppe, som deretter blir brukt til å koble PEG-derivatet til et makromolekyl. Hvis den andre reaktive funksjonelle gruppen blir
25 koblet til en annen polymer, kan et tverrbundet polymer, nyttig som et hydrogel, dannes. Reaksjonsskjemaet kan illustreres i generelle former som følger:





5

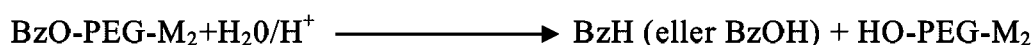
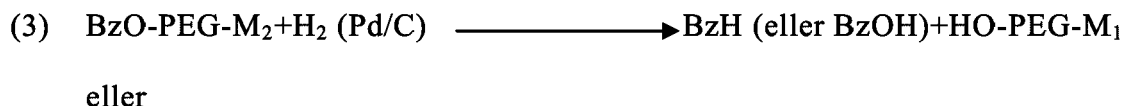
Hvis ønsket, kan rekkefølgen i reaksjonssekvensen manipuleres for å unngå destruksjon av en kjemisk gruppe sensitiv til hydrogenering eller hydrolyse:



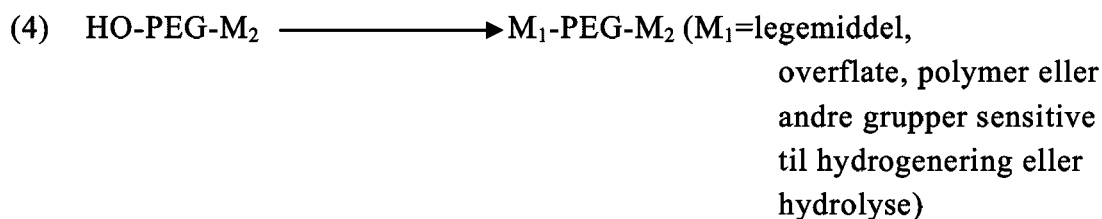
10



15

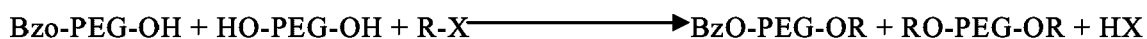


20



25

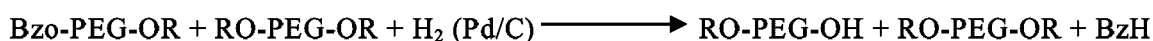
I en annen utforming av oppfinnelsen er det beskrevet en fremgangsmåte til å inhibere reaktiviteten av HO-PEG-OH i en blanding av W-O-PEG-OH og HO-PEG-OH. I denne tilnærmingen produserer alkylering av W-O-PEG-OH som inneholder HO-PEG-OH en blanding av W-O-PEG-OR og RO-PEG-OR, hvor R er en alkylgruppe.



hvor X er en avspaltningssgruppe så som mesylat eller tosylat.

30

Katalytisk hydrogenering konverterer BxO-PEG-OR til RO-PEG-OH.

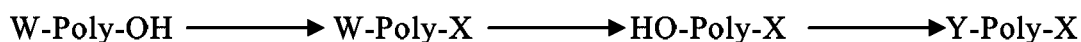


Således blir det fremstilt en blanding av RO-PEG-OH og RO-PEG-OR.

Ulik HO-PEG-OH, er RO-PEG-OR inert og ikke-reaktiv. Således blir blandingen en ekvivalent til et rent produkt av RO-PEG-OH i de fleste kjemiske reaksjoner.

Ovennevnte og andre sider, fordeler og trekk ved oppfinnelsen og måten på hvilke de samme blir utført, vil være klarere ved vurdering av den følgende detaljerte beskrivelse av oppfinnelsen.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en fremgangsmåte til å fremstille, med høy renhet og høyt utbytte, heterobifunksjonelle derivater av poly(etylenglykol) eller beslektede polymerer. Et kromatografisk rensetrinn er ikke nødvendig i fremgangsmåten. I henhold til oppfinnelsens fremgangsmåte, blir det tilveiebrakt en mellomproduktpolymer som har formelen W-Poly-OH som bærer en fjernbar gruppe W i en ende. Mellomproduktpolymeren W-Poly-OH blir først forandret ved å modifisere OH-gruppen til en første funksjonell gruppe X, etterfulgt av fjerning av W for å danne en andre hydroksylgruppe. Den siste hydroksylgruppen kan deretter videre konverteres til en andre funksjonell gruppe Y, og således tilveiebringe det ønskede heterobifunksjonelle derivatet:



I diskusjonen nedenfor vil Poly ofte bli referert til av makelighet som PEG eller som poly(etylenglykol). Det skal imidlertid forstås at andre beslektede polymerer også er egnet for anvendelse i utførelsen av oppfinnelsen og at anvendelse av betegnelsen PEG eller poly(etylenglykol) er ment å være inkluderende og ikke ekskluderende i dette henseende.

Poly(etylenglykol) eller PEG er nyttig i biologiske anvendelser fordi den har egenskaper som er meget ønskelige og er generelt anbefalt for biologiske eller bioteknologiske anvendelser. PEG er typisk klar, fargeløs, uten lukt, oppløselig i vann, varmestabil, inert for mange kjemiske midler, kan hverken hydrolyseres eller brytes ned og er ikke-toksisk. Poly(etylenglykol) er egnet for å være biokompatibel, hvilket betyr at PEG er i stand til sameksistens med levende vev eller organismer uten å forårsake skade. Mer spesifikt er PEG ikke immunogent, hvilket betyr at PEG ikke har en tendens til å produsere en immunrespons i kroppen. Når den er festet til en rest som har en eller annen gunstig funksjon i kroppen, har PEG en tendens til å maskere resten og kan redusere eller eliminere enhver immunrespons slik at organismen kan tolerere nærvær av resten. Følgelig skulle det heterobifunksjonelle derivatet i henhold til oppfinnelsen være hovedsakelig ikke-toksisk og skulle ikke tendere hovedsakelig til å fremstille en immunrespons eller forårsake blodkoagulasjon eller andre uønskede virkninger.

PEG som har formelen $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, hvor n er fra 8 til ca 4000, er et nyttig polymer i utøvelsen av oppfinnelsen. Andre difunksjonelle, vannoppløselige, ikke-peptidpolymerer enn PEG er også egnet i henhold til

foreliggende oppfinnelse. Disse andre polymerene inkluderer poly(vinylalkohol) ("PVA"); andre poly(alkylenoksider) så som poly(propylenglykol) ("PPG") og lignende; og poly(oksyetylerter polyoler) så som poly(oksyetylert glyserol), poly(oksyetylert sorbitol) og poly(oksyetylert glukose) og lignende. Polymerene
 5 kan være homopolymerer eller tilfeldige eller blokk kopolymerer og terpolymerer basert på monomerene av de ovenstående polymerer, rettkjedet eller forgrenet.

Spesifikke eksempler på egnede ytterligere polymerer inkluderer poly(oksazolin), difunksjonell poly(akryloylmorfolin) ("PACM"), og poly(vinylpyrrolidon) ("PVP"). PVP og poly(oksazolin) er velkjente polymerer på området og deres fremstilling er
 10 lett tilgjengelig for en person med kunnskap på området. PACM og dens syntese og anvendelse er beskrevet i U.S. patent nr. 5,629,384 og 5,631,322, hvis innhold er inkorporert heri ved referanse i sin helhet.

Betegnelsene "gruppe", "funksjonell gruppe", "rest", "aktiv rest" og "reaktivt sete", er alle i noen grad synonyme på det kjemiske området og blir brukt på området og
 15 heri for å betegne distinkte, definerbare deler eller enheter av et molekyl og til enheter som utfører en funksjon eller aktivitet og er reaktive med andre molekyler eller deler av molekyler.

Betegnelsen "kobling" blir brukt for å betegne grupper som normalt er dannet som et resultat av en kjemisk reaksjon og typisk er kovalente bindinger.

20 Det skal forstås at med "legemiddel" er det ment ethvert stoff ment for diagnose, terapi, lindring, behandling eller forhindring av sykdom hos mennesker og andre dyr, eller ved annen måte å forhøye fysisk eller mental velvære.

Betegnelsen "makromolekyl" blir brukt for å bety store molekyler inkludert, men ikke begrenset til, lipid, polysakkarid, proteiner, nukleotidsekvenser, legemidler,
 25 polymerer, etc. Det er ofte ønskelig å konjugere de ovenfor beskrevne polymerer til slike makromolekyler.

I henhold til oppfinnelsen, kan den fjernbare gruppen W fjernes fra polymeren W-Poly-X ved milde kjemiske reaksjoner. Slike kjemiske reaksjoner kan utføres under betingelser hvor andre rester av polymeren W-Poly-X, spesielt den første
 30 funksjonelle gruppen X, ikke er uønsket modifisert. Fortrinnsvis har W en formel som $\text{Ar-C(R}_1\text{)(R}_2\text{)-O-}$ hvor Ar representerer en rest valgt fra gruppen som består av fenyl, substituert fenyl, bifenyl, substituert bifenyl, polysykliske aryler, substituerte polysykliske aryler og heterosykliske aryler, hvor R_1 og R_2 er H, alkyl eller Ar som er definert ovenfor. Således inkluderer eksemplariske eksempler på den fjernbare
 35 gruppen W, men er ikke begrenset til, benzyloksygruppen ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{-O-}$) og andre arylmetyloksygrupper inkludert, men ikke begrenset til, 4-metylbenzyloksy, 3-metylbenzyloksy, 4-klorbenzyloksy, 4-metoksybenzyloksy, difenylmetyloksy, trifenylmetyloksy og 1-naftylmetyloksy. Arylmetyloksygruppene kan fjernes fra

polymeren under relativt milde betingelser ved katalytisk hydrogenolyse eller syrekatalysert hydrolyse.

I henhold til oppfinnelsen blir mellompolymeren til W-Poly-OH fortrinnsvis syntetisert, for eksempel ved polymerisering av monomere til de egnede polymerene på akrylmetyloksidionet. For eksempel kan benzyloksy-PEG-OH (BzO-PEG-OH) fremstilles med høy renhet og høyt utbytte ved polymerisering av etylenoksid på benzyloksidionet BxO-. Fortrinnsvis blir polymerisasjonsreaksjonen utført under vannfrie betingelser. I henhold til denne siden av oppfinnelsen, blir produksjonen av HO-PEG-OH minimalisert. Utstrakt gradientkromatografrensing er ikke nødvendig, og utbyttet av BzO-PEG-OH er høyt. Dette er i kontrast til fremgangsmåten kjent i teknikkens stand med benzylering av PEG etterfulgt av arbeidsom utstrakt gradientkromatografi, som alltid fører til høye omkostninger og lavt utbytte og gjør at fremgangsmåten er av liten verdi for kommersiell produksjon.

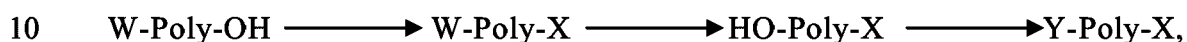
I henhold til oppfinnelsen har det avsluttende produktet heterobifunksjonell derivat av poly(etylenglykol) eller beslektede polymerer en formel som Y-Poly-X. Den første funksjonelle gruppen X og den andre funksjonelle gruppen Y er reaktive rester som er i stand til å reagere med andre molekyler til hvilke PEG-derivatene er ønskelig å bli konjugert, for eksempel makromolekyler inkludert, men ikke begrenset, proteiner, lipider, polysakkarider og andre polymerer. Eksempler på den første funksjonelle gruppen X inkluderer, men er ikke begrenset til, mesylat; tosylat; tresylat; $-O-(CH_2)_n-CO_2H$ hvor $n = 1-6$; $-O-(CH_2)_n-CO_2R_3$ hvor $n = 1-6$ og R_3 er en alkylgruppe; $-NHR_4$ hvor R_4 er H eller alkyl eller en aminobeskyttende gruppe så som t-Boc og Fmoc; $-O-(CH_2)_n-CH(ZR_5)_2$ hvor n er fra 1-6, Z er O eller S, R_5 er H eller en alkylgruppe; $Ar-CH=CH-CH=CH-CO_2-$ hvor Ar representerer en rest valgt fra gruppen som består av fenyl, substituert fenyl, bifenyl, substituert bifenyl, polysykliske aryler, substituerte polysykliske aryler og heterosykliske aryler; $-O-(CH_2)_n-CHO$; og $-O_2CCH_2CH_2CO_2R_6$ hvor R_6 er H eller NHS som representerer N-succinimidyl.

Eksempler på den andre funksjonelle gruppen Y inkluderer, men er ikke begrenset til, hydroksylgruppe; mesylat; tosylat; tresylat; $-O-(CH_2)_n-CO_2H$ hvor $n = 1-6$; $-O-(CH_2)_n-CO_2R_3$ hvor $n = 1-6$ og R_3 er en alkylgruppe; $-NHR_4$ hvor R_4 er H eller alkyl eller en aminobeskyttende gruppe så som t-Boc eller Fmoc; $-O-(CH_2)_n-CH(ZR_5)_2$ hvor n er et tall fra 1 til 6, Z er O eller S, R_5 er H eller en alkylgruppe; $Ar-CH=CH-CH=CH-CO_2-$ hvor Ar representerer en rest valgt fra gruppen som består av fenyl, substituert fenyl, bifenyl, substituert bifenyl, polysykliske aryler, substituerte polysykliske aryler og heterosykliske aryler; $-O-(CH_2)_n-CHO$; $-O_2CCH_2CH_2CO_2R_6$ hvor R_6 er H eller NHS som representerer N-succinimidyl; og $CH_2=CH-CO_2-$. I et poly(etylenglykol)derivat med formelen Y-Poly-X, er den første funksjonelle gruppen X og den andre funksjonelle gruppen Y fortrinnsvis forskjellige fra hverandre, for således sikre at polymeren er heterobifunksjonell.

Fortrinnsvis når X er $\text{Ar-CH=CH-CH=CH-CO}_2\text{-}$ hvor Ar er som definert ovenfor, Y er $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{-CHO}$ eller $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{-CH}(\text{ZR}_5)_2$ hvor n er et tall fra 1 til 6, Z er O eller S og R_5 er H eller en alkylgruppe. Når X $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{-CH}(\text{ZR}_5)_2$ hvor n er et tall fra 1 til 6, er Z O eller S og R_5 er H eller en alkylgruppe, er Y fortrinnsvis -

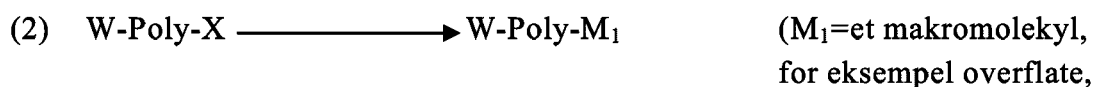
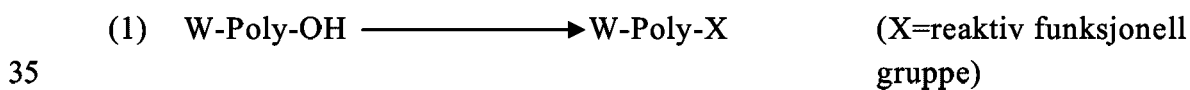
- 5 $\text{O}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}_6$ hvor R_6 er H eller NHS. Når X er $-\text{O-CH}_2\text{-CO}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CONHS}$, er den andre funksjonelle gruppen Y fortrinnsvis $\text{CH}_2=\text{CH-CO}_2\text{-}$.

Skjønt reaksjonsskjemaet til fremgangsmåten i henhold til foreliggende oppfinnelse er vist ovenfor i likningene:

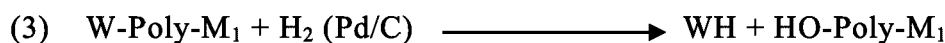


skal det forstås at det kan være mer enn ett kjemisk reaksjonstrinn mellom ethvert av de to produktene i reaksjonene. For eksempel kan flere sekvensielle reaksjonstrinn finne sted for å konvertere den terminale hydroksylgruppen til W-Poly-OH til den første funksjonelle gruppen X. Likeledes kan flere reaksjonstrinn bli utført for å modifisere den nye hydroksylgruppen HO-Poly-X for å fremstille den andre funksjonelle gruppen Y.

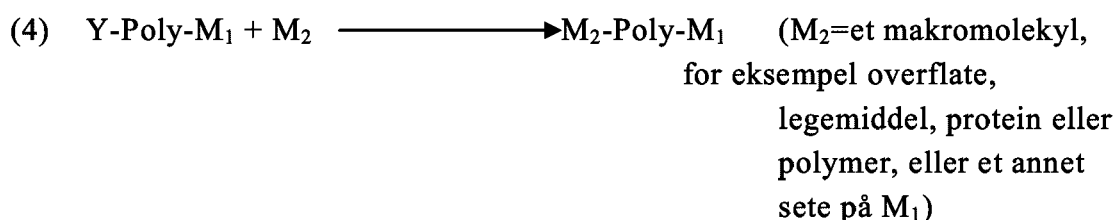
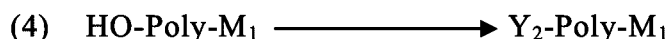
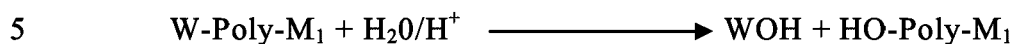
- 20 Videre kan i en utforming av oppfinnelsen, før trinnet hvor den fjernbare gruppen W blir fjernet, polymeren W-Poly-X kobles til et makromolekyl eller overflate gjennom en kobling dannet mellom den første reaktive funksjonelle gruppen X og en egnet rest på overflaten av makromolekylet, således konjugere W-Poly-delen av polymeren til makromolekylet: W-Poly- M_1 hvor M_1 er et makromolekyl så som protein, peptid, lipid, legemiddel, polysakkarid eller andre polymerer, eller overflaten av et stoff, for eksempel mikroorganisme. Den fjernbare gruppen W i konjugatet W-Poly- M_1 blir deretter fjernet ved milde kjemiske reaksjoner så som
- 25 for eksempel katalytisk hydrogenolyse eller ved syrekatalysert hydrolyse. Den resulterende -OH kan omsettes direkte til for eksempel et annet makromolekyl M_2 så som protein, peptid, lipid, legemiddel, polysakkarid eller andre polymerer, eller overflaten av et stoff, for eksempel mikroorganisme, for å danne $\text{M}_2\text{-Poly-M}_1$. Hvis konjugering til et annet makromolekyl ikke er ønsket, kan -OH-gruppen eventuelt
- 30 konverteres til en inert ikke-reaktiv gruppe, for eksempel kapslet ved alkylering. Alternativt kan den resulterende -OH-gruppen konverteres til en reaktiv funksjonell gruppe Y som beskrevet ovenfor: Y-Poly- M_1 . Den funksjonelle gruppen Y kan deretter omsettes med M_2 for å danne $\text{M}_2\text{-Poly-M}_1$.



legemiddel, protein eller
polymer)



eller



10

Hydrogeler kan fremstilles i denne fremgangsm\aa ten gjennom tverrbinding av et flertall forskjellige makromolekyler med det PEG-relaterte polymer Poly. Det skal imidlertid forstås at de to funksjonelle gruppene X og Y ogs\aa kobles til samme makromolekyl, hvori konjugeringen av PEG-relaterte polymerer p\aa makromolekylet kan danne et polymert skall p\aa makromolekylet.

15

I en annen utforming av oppfinnelsen kan det heterobifunksjonelle derivatet av PEG eller relatert polymer Y-Poly-X fremstilt som beskrevet ovenfor bli omsatt med makromolekyler eller andre stoffer gjennom de funksjonelle gruppene X og Y og de reaktive restene p\aa makromolekylene eller andre stoffer. For eksempel kan X og Y selekteres slik at to forskjellige typer av makromolekyler eller andre stoffer kan kobles til henholdsvis X og Y. Det er ogs\aa mulig \aa selektere X og Y slik at de reagerer med samme typer makromolekyler.

20

I henhold til en annen side av oppfinnelsen blir heterobifunksjonelle derivater av poly(etylenglykol) eller beslektede polymerer tilveiebrakt. Slike polymerer er representert av formelen Y-Poly-X, hvor Poly representerer poly(etylenglykol) eller beslektede polymerer som definert ovenfor. X og Y er reaktive funksjonelle grupper valgt fra gruppen som best\aa r av mesylat, tosylat, tresylat, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$ hvor $n = 1-6$,

25

30 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}_2\text{R}_3$ hvor $n = 1-6$ og R_3 er en alkylgruppe,

$-\text{NHR}_4$ hvor R_4 er H eller alkyl eller en aminobeskyttende gruppe s\aa som t-Boc og Fmoc, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}(\text{ZR}_5)_2$ hvor n er tall fra 1 til 6, og Z er O eller S, R_5 er H eller en alkylgruppe, $\text{Ar}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}_2-$ hvor Ar representerer en rest valgt fra gruppen som best\aa r av fenyl, substituert fenyl, bifenyl, substituert bifenyl, polysykliske aryler, substituerte polysykliske aryler og heterosykliske aryler, $-\text{O}-$

35

$(\text{CH}_2)_n\text{-CHO}$, og $-\text{O}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}_6$ hvor R_6 er H eller NHS, n er 1-6. Fortrinnsvis er X forskjellig fra Y.

- I noen utforminger, når X er $\text{Ar-CH=CH-CH=CH-CO}_2\text{-}$ hvor Ar er som definert ovenfor, er Y $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{-CHO}$ eller $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{-CH}(\text{ZR}_5)_2$ hvor n er tall fra 1 til 6, Z er O eller S og R_5 er H eller en alkylgruppe; når X er $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{-CH}(\text{ZR}_5)_2$ hvor n er et tall fra 1 til 6, Z er O eller S og R_5 er H eller en alkylgruppe, er Y fortrinnsvis $-\text{O}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}_6$ hvor R_6 er H eller NHS; når X er $-\text{O-CH}_2\text{CO}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CONHS}$, er den andre funksjonelle gruppen Y fortrinnsvis $\text{CH}_2=\text{CH-CO}_2\text{-}$.
- I enda en annen side ved oppfinnelsen er det tilveiebrakt en fremgangsmåte til å fremstille et heterobifunksjonelt derivat av poly(etylenglykol) eller beslektede polymerer som har formelen $\text{X-Poly}_a\text{-O-CHR}_5(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{-Poly}_b\text{-X}$, hvor Poly_a og Poly_b representerer den samme typen av polymerer representert ved Poly som beskrevet ovenfor, n er 0-6 og R_5 er H eller alkyl, X er en reaktiv funksjonell gruppe. Hovedsakelig rene former av de heterobifunksjonelle derivatene kan fremstilles med høy renhet og høyt utbytte uten å måtte falle tilbake på et kromatografirensingstrinn.
- I fremgangsmåten er det tilveiebrakt et første polymer som har formelen $\text{Ar-C(R}_1\text{)(R}_2\text{)O-Poly}_b\text{-U}$ og en andre polymer med formelen $\text{Ar-C(R}_1\text{)(R}_2\text{)O-Poly}_a\text{-CHR}_5(\text{CH}_2)_n\text{CO-V}$ hvor R_1 og R_2 er H, alkyl eller Ar hvor Ar er som definert ovenfor og er valgt fra gruppen som består av fenyl, substituert fenyl, bifenyl, substituert bifenyl, polysykliske aryl, substituerte polysykliske aryl og heterosykliske aryl, og hvor U og V er rester valgt slik at den første polymeren kan reagere med den andre polymeren for å danne en polymer med formel $\text{Ar-C(R}_1\text{)(R}_2\text{)O-Poly}_a\text{-O-CHR}_5(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{-Poly}_b\text{-OC(R}_1\text{)(R}_2\text{)-Ar}$. Som beskrevet ovenfor, kan den første polymeren og den andre polymeren fremstilles ved å danne separat Poly_b og Poly_a direkte på et arylmetyloksidion $\text{Ar-C(R}_1\text{)(R}_2\text{)O}^+$ for å fremstille $\text{Ar-C(R}_1\text{)(R}_2\text{)O-Poly}_a\text{-OH}$ eller $\text{Ar-C(R}_1\text{)(R}_2\text{)O-Poly}_b\text{-OH}$, og eventuelt i det påfølgende modifisere den terminale hydroksylgruppen til henholdsvis restene U og V, slik at de to polymerene kan kobles for eksempel i en ester kobling. Den koblede polymeren kan deretter modifiseres ved å fjerne $\text{Ar-C(R}_1\text{)(R}_2\text{)O}$ -restene ved katalytisk hydrogenolyse eller ved syrekatalysert hydrolyse. De resulterende $-\text{OH}$ -gruppene kan eventuelt konverteres til andre reaktive funksjonelle grupper. Eksempler på den reaktive funksjonelle gruppen X inkluderer, men er ikke begrenset til, $-\text{OH}$; $\text{CH}_2=\text{CR}_5\text{CO}_2\text{-}$ hvor R_5 er H eller alkyl; $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{-CH}(\text{ZR})_2$ hvor R er H eller alkyl, Z er O eller S og n er 1-6; $\text{NHS-O}_2\text{CO-}$ hvor NHS representerer N-succinimidyl. I en foretrukket utforming er U $-\text{OH}$ og V er en halogengruppe så som $-\text{Cl}$.

I enda en annen side av oppfinnelsen er det tilveiebrakt en fremgangsmåte til å fremstille et bifunksjonelt derivat av poly(etylenglykol) eller relaterte polymerer som har formelen $R_8O\text{-Poly}_a\text{-O-CHR}_5(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{-Poly}_b\text{-Y}$, hvor Poly_a , Poly_b , n og R_5 er som definert ovenfor, og R_8 er H eller en alkylgruppe. Y er en reaktiv funksjonell gruppe. Fremgangsmåten er fri for ethvert kromatografisk trinn. I fremgangsmåten blir en første polymer $\text{Ar-C(R}_1\text{)(R}_2\text{)O-Poly}_b\text{-U}$ tilveiebrakt som beskrevet ovenfor. Et andre polymer $R_8O\text{-Poly}_a\text{-CHR}_5(\text{CH}_2)_n\text{CO-V}$ blir også tilveiebrakt hvor R_8 er H eller alkyl, eller Ar hvor Ar er som definert ovenfor. Restene U og V kan omsettes med hverandre for å danne for eksempel en esterbinding, slik at den første polymeren kan kobles til den andre polymeren for å danne polymeren $R_8O\text{-Poly}_a\text{-O-CHR}_5(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{-Poly}_b\text{-OC(R}_1\text{)(R}_2\text{)-Ar}$. $\text{Ar-C(R}_1\text{)(R}_2\text{)O}$ -resten kan deretter konverteres til en ønskelig funksjonell gruppe. Fortrinnsvis er U -OH og V er en halogengruppe så som -Cl. Y kan være en funksjonell gruppe så som -OH; $\text{CH}_2=\text{CR}_5\text{CO}_2\text{-}$ hvor R_5 er H eller en alkyl; og -O- $(\text{CH}_2)_n\text{-CH(ZR)}_2$ hvor R er H eller alkyl, Z er O eller S og n er 1-6; og -O- $(\text{CH}_2)_n\text{-CO}_2\text{H}$ hvor n er 1-6.

I henhold til enda en annen side av oppfinnelsen er det tilveiebrakt en fremgangsmåte til å fremstille en polymer $R_9O\text{-Poly-OH}$ uten å kontaminere polymeren med reaktiviteten HO-Poly-OH . Poly er som definert ovenfor og R_9 er en alkyl- eller arylgruppe. Som beskrevet i kjent teknikk, krever fjerning av HO-Poly-OH så som HO-PEG-OH fra et preparat med PEG-derivater normalt utstrakt og arbeidsomme rensetrinn, for eksempel ved å bruke kromatografi. Fremgangsmåten i henhold til foreliggende oppfinnelse unngår dette kravet. I fremgangsmåten blir $\text{Ar-CR}_1\text{R}_2\text{O-Poly-OH}$ først syntetisert ved å danne polymeren Poly på arylmetoloksidionet $\text{Ar-CR}_1\text{R}_2\text{O}^-$. $\text{Ar-CR}_1\text{R}_2\text{O-Poly-OH}$ blir deretter alkylert for å konvertere polymeren til $\text{Ar-CR}_1\text{R}_2\text{-O-PEG-OR}_9$. Enhver urenhet med HO-Poly-OH blir konvertert til $R_9O\text{-PEG-OR}_9$ ved alkylering. Neste trinn blir å konvertere $\text{Ar-CR}_1\text{R}_2\text{-O}$ -resten til -OH ved syrekatalysert hydrolyse eller hydrogenolyse og å danne en ny blanding av $R_9O\text{-PEG-OH}$ og $R_9O\text{-PEG-OR}_9$. Ettersom $R_9O\text{-PEG-OR}_9$ er inert i de fleste kjemiske reaksjoner, er blandingen kjemisk ekvivalent til ren $R_9O\text{-PEG-OH}$. Eventuelt kan $R_9O\text{-PEG-OH}$ videre konverteres til $R_9O\text{-PEG-CHO}$.

De følgende eksempler er gitt for å illustrere oppfinnelsen, men skal ikke vurderes som en begrensning av oppfinnelsen.

- Eksempel 1. Syntese av $\text{HO-PEG-NH}_3^+ \text{Cl}^-$
- Eksempel 2. Syntese av $\text{HO-PEG-OCH}_2\text{CO}_2\text{H}$
- Eksempel 3. Syntese av $\text{Cl}^-\text{H}_3\text{N}^+\text{-PEG-O-CH}_2\text{CO}_2\text{H}$
- Eksempel 4. Syntese av $\text{Cl}^-\text{H}_3\text{N}^+\text{-PEG-O-CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$

- Eksempel 5. Syntese av $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH=CH-CH=CH-CO}_2\text{PEG-OCH}_2\text{CH(OC}_2\text{H}_5)_2$
- Eksempel 6. Syntese av $\text{NHS-O}_2\text{CO-PEG-OCH}_2\text{CO}_2\text{-PEG-O-CO}_2\text{NHS}$ (NHS = N-succinimidyl)
- Eksempel 7. Syntese av $\text{CH}_2=\text{CH-CO}_2\text{-PEG-OCH}_2\text{CO}_2\text{-PEG-O}_2\text{C-CH=CH}_2$
- 5 Eksempel 8. Syntese av $\text{CH}_3\text{O-PEG-O-CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{-PEG-OH}$
- Eksempel 9. Syntese av $\text{NHS-O}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{COO-PEG-OCH}_2\text{CH}_2\text{CH(OC}_2\text{H}_5)_2$
- Eksempel 10. Syntese av $\text{CH}_2=\text{CHCO}_2\text{-PEG-OCH}_2\text{CO}_2\text{-PEG-OCH(CH}_3\text{)CH}_2\text{CO}_2\text{NHS}$
- 10 Eksempel 11. Anvendelse av alkylering for å fremstille $\text{CH}_3\text{O-PEG-OH}$ som ikke har noe HO-PEG-OH fra en blanding av BzO-PEG-OH og HO-PEG-OH

EKSEMPEL 1**FREMSTILLING AV HO-PEG-NH₃⁺ CL⁻**

REAKSJONER:



- 5 a) Fremstilling av BzO-PEG-OMs:

BsO-PEG-OH (molekylvekt 3400, 34 g, 10 mmol) i 150 ml toluen ble azeotropisk destillert i 2 timer under nitrogen og oppløsningen ble avkjølt til romtemperatur. Til oppløsningen ble det tilsatt 40 ml tørr metylenklorid og 2,1 ml tørr trietylamin (15 mmol). Oppløsningen ble avkjølt i et isbad og 1,2 ml tørr mesylklorid (15 mmol) ble tilsatt dråpevis. Oppløsningen ble omrørt ved romtemperatur under nitrogen natten over og reaksjonen ble stoppet ved å tilsette 2 ml absolutt etanol. Blandingen ble inndampet under vakuum for å fjerne oppløsningsmidler, primært de andre enn toluen, filtrert, konsentrert igjen under vakuum og deretter utfelt i 100 ml etyleter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket i vakuum. Utbytte 34 g (100%). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 3,5 (br m, PEG), 4,31 (t, OCH₂CH₂OMs), 4,49 (s, C₆H₅-CH₂-OPEG-), 7,33 (s + kompleks mult., C₆H₅-CH₂-OPEG-).

- b) Fremstilling av BzO-PEG-NH₂:

BzO-PEG-OMs (25 g, 7,35 mmol) ble oppløst i 500 ml vandig ammoniakkoppløsning som inneholdt 5 g ammoniumklorid og oppløsningen ble omrørt ved romtemperatur i 72 timer. Oppløsningen ble deretter ekstrahert tre ganger med metylenklorid. Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat, filtrert, kondensert under vakuum og produktet utfelt med 100 ml etyleter. Produktet ble innsamlet ved filtrering og tørket i vakuum. Utbytte 23 g (92%). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 3,5 (br m, PEG), 2,9 (t, -CH₂NH₂), 4,49 (s, C₆H₅-CH₂-OPEG-), 7,33 (s + kompleks mult., C₆H₅-CH₂-OPEG-).

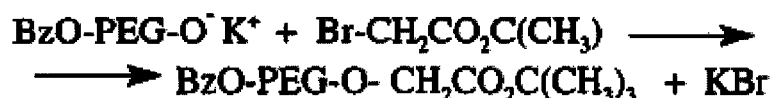
c) Fremstilling av HO-PEG-NH₃⁺Cl⁻:

- En løsning av BzO-PEG-NH₂ (46 g, 14 mmol) i 200 ml konsentrert HCl (12 M) ble omrørt ved romtemperatur i 44 timer. Den ble deretter fortynnet til 1200 ml med vann og NaCl ble tilsatt for å gi en 15% oppløsning. Den vandige oppløsningen ble ekstrahert tre gange med metylenklorid og de kombinerte ekstraktene ble tørket over natriumsulfat. Metylenkloridet ble konsentrert under vakuum og produktet presipitert ved tilsetning av eter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum ved romtemperatur. Utbytte: 42 g (95%). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 2,96 (t, CH₂-N), 3,5 (br m, PEG), 4,6 (br, OH), 7,9 (br, NH₃⁺).

10

EKSEMPEL 2FREMSTILLING AV HO-PEG-OCH₂CO₂H

REAKSJONER:

a) Fremstilling av BzO-PEG-OCH₂CO₂C(CH₃)₃:

- 15 BzO-PEG-OH (molekylvekt 3400, 40 g, 11,7 mmol) ble azeotropisk tørket med 250 ml toluen under N₂. Etter 2 timer ble oppløsningen avkjølt til romtemperatur. Kalium tert-butoksid (2,8 g, 23,5 mmol) oppløst i 90 ml tert-butanol og 90 ml toluen ble tilsatt til en ovennevnte PEG-oppløsningen. Blandingen ble omrørt i 2 timer ved romtemperatur. Tert-butyl bromacetat (4 ml, 26,3 mmol) ble tilsatt og
- 20 oppløsningen ble omrørt under N₂ ved romtemperatur natten over. Oppløsningen ble filtrert, kondensert under vakuum og utfelt i 300 ml eter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum. ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 1,5 (s, t-Bu), 3,51 (m, PEG), 3,98 (s, -OCH₂CO₂-), 4,49 (s, C₆H₅CH₂O-), 7,33 (s + komp. mult., C₆H₅CH₂O-).

b) Fremstilling av HO-PEG-OCH₂CO₂H:

BzO-PEG-OCH₂OC₂C(CH₃)₃ (10 g) ble oppløst i 100 ml hydrosaltsyre (37%) og oppløsningen ble omrørt ved romtemperatur i 48 timer. Løsningen ble fortynnet med 1 l destillert vann og pH justert til 2 med 1 N natriumhydroksidoppløsning.

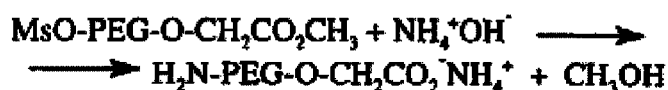
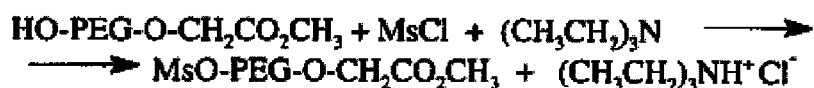
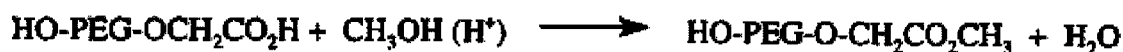
- 5 Oppløsningen ble deretter ekstrahert tre ganger med metylenklorid. Den organiske fasen ble tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert for å fjerne salt, kondensert under vakuum og utfelt i eter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum. Utbytte 8,5 g (85%). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 3,51 (br m, PEG), 4,01 (s, -PEGOCH₂COOH).

10

EKSEMPEL 3

FREMSTILLING AV Cl⁻H₃N⁺-PEG-O-CH₂CO₂H

REAKSJONER:



a) Fremstilling av HO-PEG₃₄₀₀-OCH₂CO₂CH₃:

- 15 HO-PEG-OCH₂CO₂H (15 g) fremstilt som i eksempel 2 ble oppløst i 75 ml metanol og 3 ml konsentrert H₂SO₄ ble tilsatt den resulterende oppløsningen. Oppløsningen ble omrørt ved romtemperatur i 1,5 timer og 180 ml 5% vandig NaHCO₃ ble forsiktig tilsatt. Natriumklorid (25 g) ble deretter tilsatt og pH i den resulterende oppløsningen ble justert til 7,0 med 5% Na₂HPO₄. Oppløsningen ble ekstrahert med
- 20 metylenklorid og de kombinerte organiske fasene ble tørket over Na₂SO₄. Metylenkloridoppløsningen ble deretter inndampet til 20 ml og produktet utfelt med 300 ml kald etyleter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum ved romtemperatur for å oppnå 13,5 g av et produkt som ble vist å være 100% rent ved GPC.

b) Fremstilling av $\text{MsO-PEG-OCH}_2\text{OC}_2\text{CH}_3$:

HO-PEG₃₄₀₀-OCH₂CO₂CH₃ (13,5 g) ble oppløst i 400 ml CHCl₃ og ca 200 ml oppløsningsmiddel ble destillert. Restoppløsningen ble avkjølt til romtemperatur og trietylamin (0,72 ml) ble tilsatt, etterfulgt av 0,38 ml MsCl. Reaksjonsblandingen ble omrørt natten over under N₂ ved romtemperatur, 2 ml etanol ble tilsatt og den resulterende blandingen ble omrørt i 15 minutter. Etter inndamping av oppløsningsmiddelet under vakuum (55°C bad), ble 300 ml kald etyleter tilsatt og det resulterende utfallet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum ved romtemperatur. Utbyttet var 14 g og ¹H nmr-spektrum anga 100% mesylering.

10 c) Fremstilling av $\text{H}_2\text{N-PEG-OCH}_2\text{-CO}_2^-\text{NH}_4^+$:

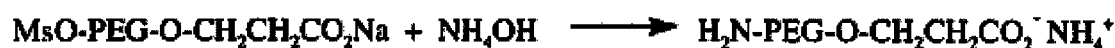
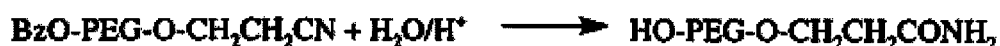
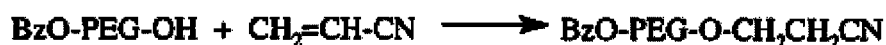
MsO-OCH₂CO₂CH₃ (13 g) ble oppløst i 70 ml H₂O og pH ble justert til 12. Etter omrøring i 1,5 timer mens pH-verdien ble opprettholdt på 12, ble 250 ml av NH₄OH-oppløsning som inneholdt 5% NH₄Cl tilsatt. Reaksjonsblandingen ble deretter omrørt i ca 40 timer, NaCl ble tilsatt for å bringe konsentrasjonen til ca 8%. Den resulterende oppløsningen ble ekstrahert med CH₂Cl₂ og tørket over Na₂SO₄. CH₂Cl₂-fasen ble inndampet til ca 20 ml og utfelt med ca 300 ml kald etyleter. Det utfelte produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum ved romtemperatur. Utbyttet var 12,5 g. Renheten var 97% ved ¹H nmr og 95% ved GPC.

20 d) Fremstilling av $\text{Cl}^-\text{H}_3\text{N}^+\text{-PEG}_{3400}\text{-O-CH}_2\text{CO}_2\text{H}$:

H₂N-PEG-CO₂⁻NH₄⁺ (12 g) ble oppløst på H₂O (50 ml) som inneholdt 15% NaCl. pH ble justert til 3,0 med 1 N HCl og den resulterende oppløsningen ble ekstrahert med CH₂Cl₂. CH₂Cl₂-ekstraktet ble tørket over Na₂SO₄, inndampet til ca 20 ml og produktet utfelt med ca 300 ml etyleter og tørket under vakuum ved romtemperatur. Renheten var 95% ved ¹H nmr.

EKSEMPEL 4**FREMSTILLING AV $\text{Cl}^-\text{H}_3\text{N}^+\text{-PEG-O-CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$**

REAKSJONER:



- 5 a) Fremstilling av $\text{HO-PEG}_{3400}\text{-O-CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$:

BzO-PEG-OH (100 g) ble oppløst i 100 ml H_2O , 5 ml 40% vandig KOH ble tilsatt til den resulterende oppløsningen og blandingen ble omrørt i 1 time. Oppløsningen ble deretter avkjølt til 0°C og 50 ml akrylonitril ble tilsatt under argon. Etter omrøring i 3 timer, ble 1 l 20% NaCl i H_2O tilsatt og pH justert til 7,0 med 10% NaH_2PO_4 . Oppløsningen ble deretter ekstrahert med CH_2Cl_2 og ekstraktet tørket over Na_2SO_4 . Etter inndamping av oppløsningsmiddelet under vakuum, ble resten oppløst i 500 konsentrert HCl og omrørt ved romtemperatur i 60 timer. Oppløsningen ble deretter tilsatt til en oppløsning av 240 g NaOH i 1,2 l H_2O , NaCl ble tilsatt for å gi en 8% oppløsning og pH justert til 7,0. Oppløsningen ble ekstrahert med CH_2Cl_2 og ekstraktet ble tørket over Na_2SO_4 og inndampet til tørrhet under vakuum. Resten ble omrørt i 20 timer i 1,5 l 8% KOH, deretter ble det tilsatt 180 ml konsentrert HCL og NaCl (8%). pH ble justert til 3,0 og produktet ekstrahert med metylenklorid. Ekstraktet ble tørket over Na_2SO_4 , inndampet og produktet ble utfelt med etyleter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum for å oppnå 90 g som inneholdt 91% av $\text{HO-PEG-O-CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ved GPC.

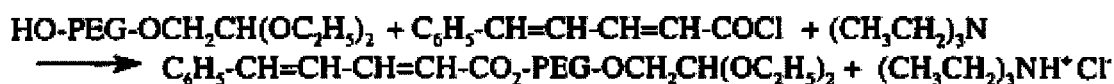
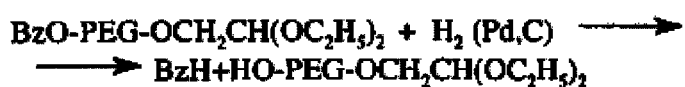
- b) Fremstilling av $\text{Cl}^-\text{H}_3\text{N}^+\text{-PEG-O-CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$:

HO-PEG-O-CH₂CH₂CO₂H ble konvertert til Cl⁻H₃N⁺-PEG-O-CH₂CH₂CO₂H ved samme fremgangsmåte som den beskrevet for konversjon av HO-PEG-OCH₂CO₂H til Cl⁻H₃N⁺-PEG₃₄₀₀-O-CH₂CO₂H i eksempel 3.

EKSEMPEL 5

5 FREMSTILLING AV C₆H₅-CH=CH-CH=CH-CO₂PEG-OCH₂CH(OC₂H₅)₂

REAKSJONER:



a) Fremstilling av BzO-PEG-O-CH₂CH(OC₂H₅)₂:

- 10 I en trehalset, 500 ml rundbunnet flaske ble det plassert 300 ml dioksan og 14 g BzO-PEG-OH (molekylvekt 3400, 0,0040 mol). Den resulterende oppløsningen ble deretter azeotropisk tørket ved destillasjon under N₂ av 130 ml oppløsningsmiddel. Etter avkjøling av oppløsningen ble fint pulverisert NaOH (0,8 g, 0,02 mol) og ClCH₂CH(OC₂H₅)₂ (3 ml, 0,02 mol) tilsatt under N₂ og den resulterende
- 15 suspensjonen ble hurtig omrørt under tilbakeløp over en 24 timers periode. 30 ml dioksan ble deretter fjernet ved destillasjon og den hurtig omrørte oppløsningen ble kastet i tilbakeløp under N₂ i ytterligere 24 timer. Suspensjonen ble deretter avkjølt og filtrert ved tilsetning av Celite^R. Filtratet ble inndampet under vakuum og 200 ml etyleter ble tilsatt restoljen. Det resulterende presipitatet ble oppsamlet ved
- 20 filtrering og tørket under vakuum ved romtemperatur for å oppnå et gyllenbrunt pulver (13,6 g). Pulveret ble oppløst i CH₂Cl₂ (35 ml) og gjenutfelt ved tilsetning av 500 ml kald etyleter. Bunnfallet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum ved romtemperatur for å oppnå 13,0 g BzO-PEG-O-CH₂CH(OC₂H₅)₂ som et hvitt pulver (renhet 94-98% ved ¹H nmr). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 1,11 (t, OCH₂CH₃), 3,5 1 (br m, O-CH₂CH₂-O), 4,48 (s, C₆H₅-CH₂O⁻); 4,55 (t, -CH(OC₂H₅)₂), 7,32 (s, C₆H₅-).
- 25

b) Fremstilling av HO-PEG-O-CH₂CH(OC₂H₅)₂:

BzO-PEG-O-CH₂CH(OC₂H₅)₂ (13 g) ble oppløst i 150 ml 95% etanol og 6,5 g 10% Pd på trekull ble tilsatt under N₂. Suspensjonen ble ristet i 70 timer under H₂ (40

psi) og suspensjonen ble filtrert. Restkatalysatoren ble vasket med 2 x 25 ml kokende kloroform og vaskene kombinert med etanolfiltratet og inndampet under vakuum for å oppnå en klar, fargeløs olje. Til oljen ble det tilsatt 400 ml kald etyleter og det resulterende presipitatet ble oppsamlet ved filtrering for å oppnå, 5 etter vakuumbørking ved romtemperatur, 11,3 g HO-PEG-O-CH₂CH(OC₂H₅)₂ som et hvitt pulver (92% rent ved ¹H nmr). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 1,10 (t, OCH₂CH₃), 3,51 (br m, O-CH₂CH₂-O), 4,55 (m, HO + -CH(OC₂H₅)₂).

c) Fremstilling av C₆H₅-CH=CH-CH=CH-CO₂PEG-OCH₂CH(OC₂H₅)₂:

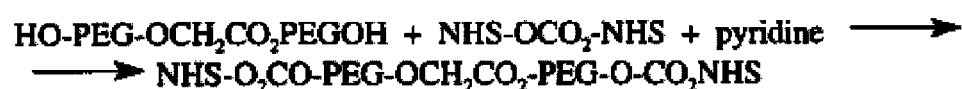
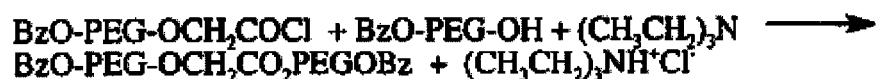
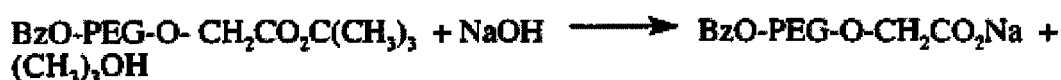
En oppløsning av cinnamylideneddiksyre (1,7 g, 0,01 mol) og tionylklorid (3 ml, 10 0,04 mol) i 50 ml heksan ble underkastet tilbakeløp under N₂ i 4 timer, deretter filtrert for å fjerne en liten mengde av mørkt fast stoff og filtratet ble inndampet under vakuum. Resten ble tørket under vakuum natten over ved romtemperatur for å oppnå 1,5 g cinnamylidenacetylklorid som et gult fast stoff, smeltepunkt 51-52°C.

En oppløsning av HO-PEG-O-CH₂CH(OC₂H₅)₂ (3,4 g, 1,0 mmol) i toluen (50 ml) 15 ble azeotropisk destillert under nitrogen i 2 timer for å fjerne spor av vann, deretter avkjølt til romtemperatur. Trietylamin ble destillert fra KOH under nitrogen og 0,28 ml (2 mmol) av det ferske destillatet ble injisert under nitrogen inni oppløsningen av HO-PEG-O-CH₂CH(OC₂H₅)₂ i toluen. Til den resulterende oppløsningen ble det tilsatt cinnamylidenacetylklorid (C₆H₅CH=CH-CH=CHCOCl) dråpevis under 20 nitrogen ved romtemperatur under hurtig omrøring. Omrøringen ble tillatt å fortsette i 3 dager under samme betingelser og det hvite presipitatet ble fjernet ved filtrering. Filtratet ble inndampet til 20 ml under vakuum og 300 ml kald eter ble tilsatt. Det blekgule presipitatet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum for å oppnå 3,4 g av et blekgult pulver. Pulveret ble oppløst i metylenklorid og ekstrahert 25 en gang med 50 ml vandig mettet natriumklorid og en gang med vann. Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat, inndampet til 25 ml, og 300 ml kald eter ble tilsatt ved virvling. Det resulterende bunnfallet ble innsamlet ved filtrering og tørket under vakuum ved romtemperatur for å oppnå 3,05 g (86%) av C₆H₅-CH=CH-CH=CH-CO₂PEG-OCH₂CH(OC₂H₅)₂ som et blekgult pulver. ¹H nmr 30 (DMSO-d₆): δ 1,11 (t, OCH₃CH₂O-), 3,51 ppm (m, PEG-O-CH₂CH₂-O + CH₃CH₂O-); 4,20 ppm (t, -CH₂O₂C-), 4,52 ppm (t, -CH(OC₂H₅)₂), 6,11 (d, =CH), 7,57-7,12 (komp. mult., C₆H₅- + =CH). Renhet ved nmr: 89-96%.

EKSEMPEL 6

FREMSTILLING AV NHS-O₂CO-PEG-OCH₂CO₂-PEG-O-CO₂NHS (NHS = N-succinimidyl) 35

REAKSJONER:



a) Fremstilling av BzO-PEG-OCH₂CO₂H:

- 5 BzO-PEG-OCH₂CO₂C(CH₃)₃ (20 g) ble oppløst i destillert vann og pH justert til 12,0 med 1 N NaOH-oppløsning. Oppløsningen ble holdt ved pH 12,0 i 2 timer ved kontinuerlig tilsetning av NaOH-oppløsning og oppløsningen ble omrørt natten over. Oppløsningens pH ble justert til 2,5 ved tilsetning av 1 N HCl-oppløsningen og oppløsningen ble ekstrahert tre ganger med metylenklorid. De kombinerte organiske metylenkloridfasene ble tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert og
- 10 filtratet ble kondensert under vakuum før utfelling av produktet med etyleter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum ved romtemperatur. Utbytte 18 g(90%). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 3,5 (br m, PEG), 4,01 (s, -PEGOCH₂COOH), 4,49 (s, C₆H₅-CH₂-OPEG-), 7,33 (s + com, C₆H₅-CH₂-OPEG-).

b) Fremstilling av BzO-PEG-OCH₂CO₂-PEG-OBz:

- 15 I en 100 ml rundbunnet flaske ble BzO-PEG-OCH₂CO₂H (molekylvekt 3400, 3,4 g, 1 mmol) i toluen tørket ved azeotropisk destillasjon. En oppløsning av tionylklorid (2 M, 4 ml, 8 mmol) i metylenklorid ble injisert og blandingen ble omrørt under N₂ natten over. Oppløsningsmiddelet ble kondensert ved rotasjonsinndamping og sirupen ble tørket i vakuum i ca 4 timer over P₂O₅-pulver. Til resten ble det tilsatt 5
- 20 ml vannfritt metylenklorid og azeotropisk tørket BzO-PEG-OH (molekylvekt 3400, 2,55 g, 0,75 mmol) i toluen (20 ml). Etter at BzO-PEG-OCH₂COCl ble oppløst, ble ferskt destillert trietylamin (0,6 ml) tilsatt og blandingen ble omrørt natten over. Trietylaminsaltet ble fjernet ved filtrering og produktet oppsamlet ved utfelling med etyleter. Det ble videre rensset ved oppløsning i vann og ekstrahert med
- 25 metylenklorid. Gelgjennomtrengningskromatografi av produktet viste at 100% av BzO-PEG-OH hadde blitt konvertert til esteren. Blandingen ble deretter

kromatografert på en ionebyttekolonne (DEAE sefarose hurtig flow, Pharmacia) for å fjerne BzO-PEG-OCH₂CO₂H og rent BzO-PEG-OCH₂CO₂-PEG-OBz ble oppnådd. Utbytte: 4,1 g (80%). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 3,5 (br m, PEG), 4,14 (s, -PEGOCH₂COOPEG-), 4,18 (t, -PEGO-CH₂COOCH₂CH₂OPEG-), 4,48 (s, Ar-CH₂O), 7,32 (s, C₆H₅-).

c) Fremstilling av HO-PEG-OCH₂CO₂-PEG-OH:

En oppløsning av BzO-PEG-OCH₂CO₂-PEG-OBz (molekylvekt 6800, 2 g, 0,59 mmol) i 1,4-dioksan (20 ml) ble hydrogenolysert med H₂ (2 atm.) og 1 g Pd/C (10%) natten over. Katalysatoren ble fjernet ved filtrering og produktet utfelt i etyleter etter at mesteparten av oppløsningsmiddelet ble fjernet på en rotasjonsinndamper. Ren HO-PEG-OCH₂CO₂-PEG-OH ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum ved romtemperatur for å gi: 1,5 g (75%) av HO-PEG-OCH₂CO₂-PEG-OH. ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 3,5 (br m, PEG), 4,14 (s, -PEGOCH₂COOPEG-), 4,18 (t, -PEGO-CH₂COOCH₂CH₂OPEG-).

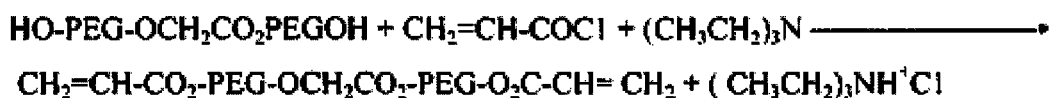
d) Fremstilling av NHS-O₂CO-PEG-OCH₂CO₂-PEG-O-CO₂NHS:

HO-PEG-OCH₂CO₂-PEG-OH (2 g, 0,29 mmol) ble azeotropisk destillert med 100 ml acetonitril og deretter langsomt avkjølt til romtemperatur. Til den resulterende oppløsningen ble det tilsatt disuccinimidylkarbonat (621 mg, 1,17 mmol) og pyridin (0,3 ml) og oppløsningen ble omrørt ved romtemperatur natten over. Oppløsningsmiddelet ble deretter fjernet under vakuum og 35 ml tørt metylenklorid ble tilsatt residuet. Det uoppløselige faste stoffet ble fjernet ved filtrering og filtratet ble vasket med pH 4,5 natriumkloridmettet acetatbuffer. Den organiske fasen ble tørket over vannfritt natriumsulfat og oppløsningsmiddelet fjernet under vakuum. Etyleter ble tilsatt og bunnfallet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum. Utbytte: 1,8 g (90%). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 3,5 (br m, PEG), 4,14 (s, -PEGOCH₂COOPEG-), 4,18 (t, -PEGOCH₂COOCH₂CH₂OPEG-), 4,45 (t, -PEGOCH₂CH₂OCONHS), 2,81 (s, NHS).

EKSEMPEL 7

FREMSTILLING AV CH₂=CH-CO₂-PEG-OCH₂CO₂-PEG-O₂C-CH=CH₂

REAKSJONER:



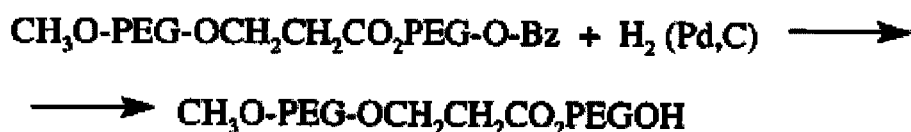
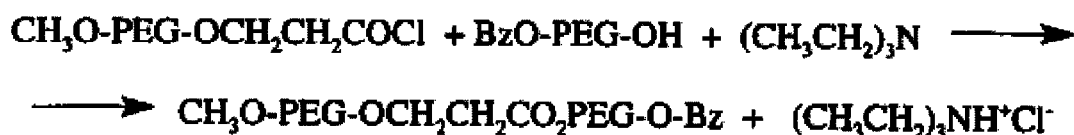
Fremstilling av CH₂=CH-CO₂-PEG-OCH₂CO₂-PEG-O₂C-CH=CH₂:

REAKSJONER:

- HO-PEG-OCH₂CO₂-PEG-OH (molekylvekt 6800, 1,5 g, 0,44 mmol endegruppe) ble azeotropisk tørket med 100 ml toluen i 2 timer. Oppløsningen ble avkjølt til
- 5 romtemperatur under N₂ og 24 ml metylenklorid og trietylamin (TEA, 0,56 mmol) ble tilsatt. Oppløsningen ble avkjølt i et isbad og akryloylklorid (1,5 mmol) i CH₂Cl₂ ble tilsatt dråpevis til oppløsningen. Etter tilsetning av akryloylklorid, ble isbadet fjernet og oppløsningen ble omrørt ved romtemperatur natten over. 1 ml
- 10 etanol ble tilsatt for å oppta overskudd av akryloylklorid og metylenkloridet ble deretter kondensert under vakuum. Saltet ble fjernet ved filtrering og den gjenværende oppløsningen utfelt i 100 ml eter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket i vakuum. Produktet ble oppløst i 50 ml kloroform og natriumkarbonat (1,3 g) ble tilsatt. Blandingen ble omrørt kraftig ved
- 15 romtemperatur natten over. Saltet ble fjernet ved filtrering og oppløsningsmiddelet ble fjernet under vakuum. Resten ble oppløst i 5 ml metylenklorid og oppløsningen satt til 100 ml etyleter. Det resulterende bunnfallet ble oppsamlet ved filtrering og vasket med 20 ml 2-propanol og deretter med 40 ml eter. Produktet ble til slutt tørket i vakuum. Utbytte: 1,35 g (90%). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 3,5 (br m, PEG), 4,14 (t, -PEGOCH₂COOPEG-), 4,18 (t, -PEGOCH₂COOCH₂CH₂OPEG-), 4,21 (t, CH₂=CH-COO-CH₂CH₂-O-PEG-, 4H), 5,85-6,45 (m, CH₂=CHCOOPEG-).
- 20

EKSEMPEL 8**FREMSTILLING AV CH₃O-PEG-O-CH₂CH₂CO₂-PEG-OH**

REAKSJONER:



- 25 a) Fremstilling av CH₃O-PEG-OCH₂CH₂CO₂-PEG-OBz:

I en 100 ml rundbunnet flaske ble en oppløsning av $\text{CH}_3\text{O}-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ (molekylvekt 2000, 2 g, 1 mmol) oppløst i toluen og azeotropisk tørket i 2 timer. Etter langsom avkjøling til romtemperatur, ble oppløsningen satt til tionylklorid (3 ml, 6 mmol) i metylenklorid og deretter omrørt under N_2 natten over.

- 5 Oppløsningsmiddelet ble deretter fjernet ved rotasjonsinndamping og den resterende sirupen ble tørket i vakuum i ca 4 timer over P_2O_5 -pulver. Det faste stoffet ble tilsatt 5 ml vannfritt metylenklorid og en oppløsning (20 ml) av azeotropisk tørket $\text{BzO}-\text{PEG}-\text{OH}$ (molekylvekt 3400, 2,04 g, 0,60 mmol) i toluen. Til den resulterende oppløsningen ble det satt 0,6 ml ferskt destillert trietylamin og oppløsningen ble
- 10 omrørt natten over. Trietylaminsaltet ble fjernet ved filtrering og råproduktet ble utfelt med etyleter og oppsamlet ved filtrering. Blandingen ble deretter renset ved ionebytte-kromatografi (DEAE sefaroze hurtigstrømmende kolonne, Pharmacia). Rent $\text{CH}_3\text{O}-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2-\text{PEG}-\text{OBz}$ ble oppnådd. Utbytte: 2,6 g (80%). ^1H nmr ($\text{DMSO}-d_6$): δ 3,5 (br mult., PEG), 3,24 (s, $\text{CH}_3\text{OPEG}-$), 4,48 (s, -
- 15 $\text{PEGOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 7,33 (s + komp. mult., $-\text{PEGOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 2,55 (t, - $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{PEG}-$), 4,13 (t, $-\text{PEG}-\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{PEG}$).

b) Fremstilling av $\text{CH}_3\text{O}-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2-\text{PEG}-\text{OH}$:

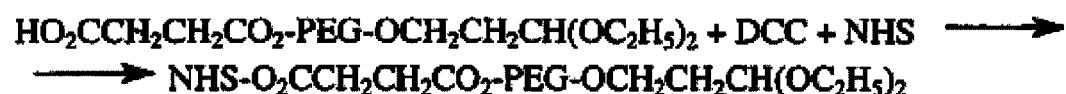
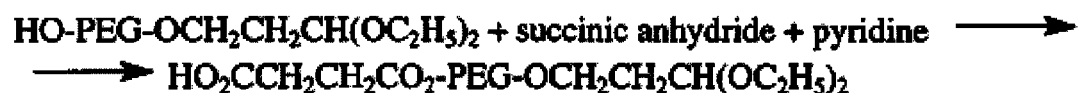
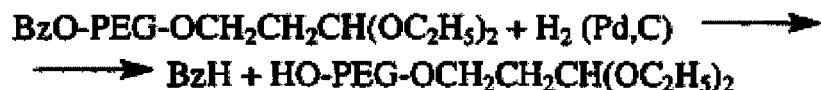
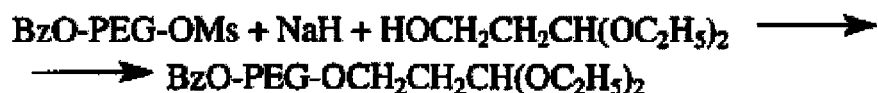
- En oppløsning av 2 g $\text{CH}_3\text{O}-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2-\text{PEG}-\text{OBz}$ i 1,4-dioksan ble hydrogenolysert med H_2 (2 atm) på 1 g Pd/C (10%) natten over. Katalysatoren ble
- 20 fjernet ved filtrering, oppløsningsmiddelet ble kondensert under vakuum og oppløsning ble satt til etyleter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under vakuum ved romtemperatur for å gi 1,5 g (75%) av $\text{CH}_3\text{O}-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2-\text{PEG}-\text{OH}$. ^1H nmr ($\text{DMSO}-d_6$): δ 3,5 (br. mult., PEG), 3,24 (s, $\text{CH}_3\text{OPEG}-$), 2,55 (t, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{PEG}-$), 4,13 (t, $-\text{PEG}-\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{PEG}$).

25

Eksempel 9

FREMSTILLING AV $\text{NHS}-\text{O}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{COO}-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$

REAKSJONER:



a) Fremstilling av BzO-PEG-OMs:

- 5 BzO-PEG-OH (molekylvekt = 3400, 25 g, 7,35 mmol) i 150 ml toluen ble azeotropisk destillert i 1 time under nitrogen og oppløsningen ble avkjølt til romtemperatur. Til oppløsningen ble det satt 20 ml tørr metylenklorid, 1,14 ml tørr trietylamin (8,16 mmol) og 0,61 ml tørr mesylklorid (7,86 mmol) dråpevis. Oppløsningen ble omrørt ved romtemperatur under nitrogen natten over og reaksjonen ble stoppet ved å tilsette 5 ml absolutt etanol. Blandingen ble konsentrert
- 10 under vakuum, filtrert, konsentrert igjen under vakuum og utfelt i etyleter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket i vakuum. Utbytte 23 g (100%). ¹H nmr (DMSO-d₆): δ 3,5 (br m, PEG), 4,31 (t, OCH₂CH₂OMs), 4,49 (s, C₆H₅-CH₂-O-PEG-), 7,33 (s + komp m., C₆H₅-CH₂-OPEG-).

b) Fremstilling av BzO-PEG-OCH₂CH₂CH(OC₂H₅)₂:

- 15 En løsning av 3,3-dietoksypropanol (9,806 g, 66,2 mmol) ble azeotropisk destillert i 90 ml toluen i 1 time under nitrogen. Etter avkjøling til romtemperatur ble oppløsningen tilsatt en dispersjon av natriumhydrid (60% i mineralolje, 2,75 g, 68,7 mmol) i 50 ml vannfri toluen. Oppløsningen ble blandet i 2 timer under mild oppvarming ved 35°C og deretter filtrert. Filtratet ble tilsatt en azeotropisk destillert
- 20 oppløsning av BzOPEG-OMs (23 g, 6,76 mmol) i 150 ml toluen. Blandingen ble omrørt i 20 timer ved 125°C under en nitrogenatmosfære. Blandingen ble konsentrert under vakuum og resten ble oppløst i 80 ml metylenklorid. Oppløsningen ble filtrert og produktet ble utfelt med 1 l kald isopropylalkohol. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket i vakuum. Pulveret ble oppløst i
- 25 100 ml deionisert vann og ekstrahert tre ganger med 200 ml metylenklorid.

Blandingen ble konsentrert under vakuum, filtrert og utfelt i etyleter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket i vakuum. Utbytte 19 g (100%). ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 1,10 (t, $-\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,73 (q, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-\text{CH}$), 3,5 (br m, PEG), 4,49 (s, $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PEG}-$), 4,56 (m, $-\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$), 7,33 (s + komp m., $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PEG}-$).

c) Fremstilling av $\text{HO}-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$:

Bzo- $\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$ (10 g, 2,94 mmol) ble oppløst i 100 ml 96% etanol og 5,0 g 10% Pd på trekull ble tilsatt under nitrogen. Suspensjonen ble ristet i 48 timer under H_2 (40 psi) og suspensjonen ble filtrert. Restkatalysatoren ble vasket med metylenklorid. Produktet i det kombinerte filtratet av metylenklorid og etanol ble konsentrert under vakuum og filtrert. Den viskøse oppløsningen ble utfelt i kald etyleter, og produktet gjenvunnet ved filtrering og tørket i vakuum. Utbytte 15 g. ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 1,10 (t, $-\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,72 (q, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-\text{CH}$), 3,5 (br m, PEG), 4,55 (m, $-\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$).

d) Fremstilling av $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$:

$\text{HO}-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$ (3 g, 0,88 mmol) og BHT (5 mg) ble oppløst i 20 ml vannfri toluen og azeotropisk destillert ved 120°C i 1 time under nitrogen. Etter avkjøling av oppløsningen til 75°C , ble pyridin (0,36 ml) og ravsyreanhydrid (0,353 g) tilsatt og omrørt ved 75°C i 24 timer. Oppløsningen ble konsentrert under vakuum, filtrert og utfelt i kald etyleter. Bunnfallet ble gjenvunnet ved filtrering og tørket i vakuum. Pulveret ble rekonstituert i 50 ml deionisert vann og 1 M natriumhydroksid ble tilsatt dråpevis for å opprettholde en konstant pH på 7,2 i 1 time. 1 N HCl ble hurtig tilsatt dråpevis for å oppnå en pH på 3,0 og øyeblikkelig ekstrahert 3 ganger i 100 ml metylenklorid. Produktet i den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat, konsentrert under vakuum, utfelt i kald etyleter, gjenvunnet ved filtrering og tørket i vakuum. Utbytte 2,0 g (88%). ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 1,10 (t, $-\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,72 (q, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-\text{CH}$), 3,5 (br m, PEG), 4,12 (t, $-\text{CO}_2\text{CH}_2-$), 4,55 (t, $-\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$).

e) Fremstilling av $\text{NHS}-\text{O}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$:

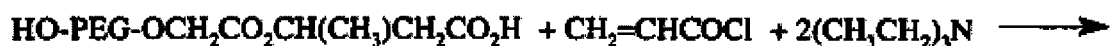
$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2-\text{PEG}-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ (2,0 g, 0,56 mmol) ble oppløst i 20 ml vannfri metylenklorid under en nitrogenatmosfære. N-hydroksysuccinimid (105 mg, 0,91 mmol) ble først tilsatt oppløsningen og deretter ble disykloheksylkarbodiimid (174 mg, 0,84 mmol) tilsatt. Oppløsningen ble omrørt natten over ved romtemperatur under nitrogenatmosfære. Produktet ble konsentrert under vakuum, filtrert, utfelt i kald etyleter, gjenvunnet ved filtrering og tørket i vakuum. Utbytte 1,5 g (99%). ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 1,10 (t, $-\text{CH}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$),

1,72 (q, -OCH₂CH₂-CH), 2,80 (s, NHS), 3,5 (br m, PEG), 4,12 (t, -CO₂CH₂-), 4,55 (t, -CH(OCH₂CH₃)₂).

EKSEMPEL 10

5 **FREMSTILLING AV CH₂=CHCO₂-PEG-OCH₂CO₂-PEG-OCH(CH₃)CH₂CO₂NHS**

REAKSJONER:



10 a) Fremstilling av BzO-PEG-OCH₂CO₂-CH(CH₃)CH₂CO₂H:

BzO-PEG-OCH₂CO₂H (molekylvekt = 3400, 15 g, 4,4 mmol) ble azeotropisk tørket med 60 ml toluen under N₂. Etter 2 timer ble oppløsningen langsomt avkjølt til romtemperatur. Til denne oppløsningen ble det tilsatt tionylklorid (18 ml, 36 mmol). Den resulterende oppløsningen ble omrørt natten over, oppløsningsmiddelet kondensert ved rotasjonsinndamping og sirupen tørket i vakuum i ca 4 timer over P₂O₅-pulver. 3-hydroksysmørsyre (1,45 g, 13,5 mmol) ble azeotropisk tørket med 70 ml 1,4-dioksan og deretter satt til den tørkede BzO-PEG-OCH₂COCl. Etter at PEG acylklorid hadde blitt oppløst, ble 4,5 ml tørr trietylamin injisert inn i systemet og oppløsningen ble omrørt natten over. Saltet ble fjernet ved filtrering og filtratet ble kondensert på en rotasjonsinndamper ved 55°C og tørket i vakuum. Råproduktet

- ble deretter oppløst i 100 ml destillert vann og pH til oppløsningen ble justert til 3,0. Den vandige fasen ble ekstrahert tre ganger med en total på 80 ml metylenklorid. Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat, filtrert, kondensert på en rotasjonsinndamper og utfelt i 100 ml etyleter. Produktet ble
- 5 oppsamlet ved filtrering og tørket i vakuum ved romtemperatur. Utbytte 14 g (93%). ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 3,5 (br m, PEG), 2,58 (d, -PEGCOOCH(CH₃)CH₂COOH), 5,14 (h, -PEG-COOCH(CH₃)CH₂COOH), 1,21 (d, -PEGCOOCH(CH₃)CH₂COOH), 4,055 (s, PEGOCH₂COO), 4,49 (s, C₆H₅-CH₂-OPEG-), 7,33 (s + komp. mult., C₆H₅-CH₂-OPEG-).
- 10 b) Fremstilling av HO-PEG-OCH₂CO₂-CH(CH₃)CH₂CO₂H:
- En oppløsning av BzO-PEG-OCH₂CO₂-OCH(CH₃)CH₂CO₂H (8 g) i benzen (50 ml) ble hydrogenolysert med H₂ (2 atm) på 4 g Pd/C (10%) ved romtemperatur i 48 timer. Katalysatoren ble fjernet ved filtrering, oppløsningsmiddelet ble kondensert, og oppløsningen ble utfelt i etyleter. Produktet ble oppsamlet ved filtrering og
- 15 tørket i vakuum ved romtemperatur. Utbytte: 6,6 g (83%). ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 3,5 (br m, PEG), 2,51 (d, -PEGCO₂CH(CH₃)CH₂CO₂H), 5,16 (h, -PEG-CO₂CH(CH₃)CH₂CO₂H), 1,22 (ds, -PEGCO₂CH(CH₃)CH₂CO₂H), 4,06 (s, PEGOCH₂CO₂CH(CH₃)-).
- c) Fremstilling av CH₂=CHCO₂-PEG-OCH₂CO₂-CH(CH₃)CH₂CO₂H:
- 20 HO-PEG-OCH₂CO₂CH(CH₃)CH₂CO₂H (3 g, 0,88 mmol) ble azeotropisk destillert med 40 ml toluen under N₂ inntil ca 15 ml av oppløsningen var igjen. Oppløsningen ble deretter avkjølt i romtemperatur under N₂ og 25 ml metylenklorid og trietylamin (1,5 mmol) ble tilsatt. Oppløsningen ble avkjølt i et isbad og akryloylchlorid (2 mmol) ble tilsatt dråpevis. Etter tilsetning av akryloylchlorid, ble isbadet fjernet og
- 25 oppløsningen omrørt ved romtemperatur natten over. Metylenklorid ble deretter delvis fjernet under vakuum, saltet ble fjernet ved filtrering og filtratet tilsatt 100 ml eter. Det utfelte produktet ble innsamlet ved filtrering og tørket i vakuum. Produktet ble deretter oppløst i natriumacetatbuffer (0,1 M, pH 5,5), omrørt i 30 minutter og ekstrahert tre ganger med metylenklorid. Den organiske fasen ble tørket over
- 30 natriumsulfat, filtrert, kondensert og utfelt i 100 ml etyleter. Bunnfallet ble oppsamlet ved filtrering og tørket i vakuum ved romtemperatur. Utbytte 2,4 g (80%). ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 3,5 (br m, PEG), 2,51 (d, CH₂CO₂H), 5,16 (h, -CH(CH₃)), 1,22 (d, -CH(CH₃)-), 4,06 (s, -PEGOCH₂CO₂PEG-), 4,21 (t, -CO₂CH₂CH₂O-), 5,85-6,45 (m, CH₂=CH-).
- 35 d) Fremstilling av CH₂=CHCO₂-PEG-OCH₂CO₂-CH(CH₃)CH₂CO₂NHS:
- CH₂=CHCO₂-PEG-OCH₂CO₂-CH(CH₃)CH₂CO₂H (1,4 g, ca 0,4 mmol) og N-hydroksysuccinimid (51 mg, 0,43 mmol) ble oppløst i 30 ml tørr metylenklorid. Til denne oppløsningen ble det satt disykloheksylkarbodiimid (95 mg, 0,45 mmol) i 5

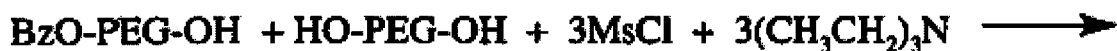
- ml tørr metylenklorid. Oppløsningen ble omrørt under nitrogen natten over og oppløsningsmiddelet fjernet ved rotasjonsinnndamping. Den resulterende sirupen ble oppløst i 10 ml tørr toluen og det uoppløselige faste stoffet ble fjernet ved filtrering. Filtratet ble tilsatt 100 ml tørr etyleter og bunnfallsproduktet ble oppsamlet ved
- 5 filtrering og tørket i vakuum ved romtemperatur. Utbytte 0,94 g (94%). ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 3,5 (br m, PEG), 3,0-3,2 (m, -PEGCOO-CH(CH₃)CH₂COONHS), 5,26 (h, PEGCOOCH(CH₃)CH₂COONHS), 1,3 (d, -PEGCOOCH(CH₃)CH₂COONHS), 4,10 (s, -PEGOCH₂COO (CM)), 2,81 (s, NHS), 4,21 (t, CH₂=CH-COO-CH₂CH₂-O-PEG-, 4H), 5,85-6,45 (m, CH₂=CHCOOPEG-).

10

EKSEMPEL 11

FREMGANGSMÅTE TIL Å FREMSTILLE CH₃O-PEG-OH SOM IKKE INNEHOLDER NOE HO-PEG-OH FRA EN BLANDING AV BzO-PEG-OH OG HO-PEG-OH

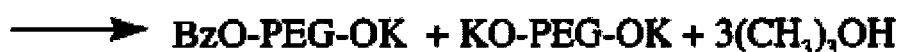
REAKSJONER:



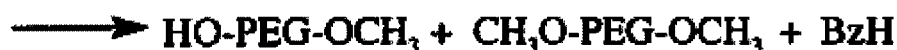
15



Alternativ syntese av BzO-PEG-OCH₃ + CH₃O-PEG-OCH₃:



Produkt fra hver av rutene er hydrogenolyserte:



a) Fremstilling av BzO-PEG-OMs:

BzO-PEG-OH (molekylvekt = 5000, 50 g, 10 mmol) som inneholder 6 vekt% av HO-PEG-OH ble oppløst i toluen og oppløsningen ble azeotropisk tørket i 2 timer under nitrogen og avkjølt til romtemperatur. Til denne oppløsningen ble det satt 50 ml vannfritt metylenklorid og 2,1 ml av vannfritt trietylamin (15 mmol). Den resulterende oppløsningen ble avkjølt i et isbad og 1,2 ml mesylklorid (15 mmol) ble tilsatt dråpevis. Oppløsningen ble deretter omrørt ved romtemperatur natten over og reaksjonen ble stoppet ved tilsetning av 2 ml absolutt etanol. Blandingen ble deretter konsentrert under redusert trykk for å fjerne 100 ml oppløsningsmiddel, filtrert og tilsatt 800 ml kald eter. Det utfelte produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under redusert trykk. Utbytte: 48,3 g (96,6%). ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 3,5 (br m, PEG), 4,31 (t, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OMs}$), 4,49 (s, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-OPEG-}$), 7,33 (s + kompleks mult., $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-OPEG}$).

b) Fremstilling av BzO-PEG-OCH₃:

BzO-PEG-OMs som inneholder 6 vekt% av MsO-PEG-OMs (molekylvekt = 5078, 45 g, 8,86 mmol) i 250 ml toluen ble azeotropisk tørket i 2 timer. Til den resulterende oppløsningen ble det satt en 25 vekt% oppløsning av natriummetoksid (11,5 g, 53,2 mmol, 6 ganger overskudd) i metanol og den resulterende oppløsningen ble oppvarmet til 120-122°C i 20 timer under nitrogen. Den resulterende oppløsningen ble deretter avkjølt til romtemperatur, 2 ml vann ble tilsatt og blandingen ble omrørt i 15 minutter. Blandingen ble deretter konsentrert under redusert trykk for å fjerne 100 ml oppløsningsmiddel, filtrert og filtratet tilsatt 700 ml kald eter. Det utfelte produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under redusert trykk. Utbytte: 42,8 g. ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 3,24 (s, PEG), 3,51 (br. mult., PEG), 4,49 (s, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-OPEG-}$), 7,33 (s + komp. mult., $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-OPEG-}$).

c) Fremstilling av BzO-PEG-OCH₃ fra BzO-PEG-OH:

BzO-PEG-OH som inneholder 6 vekt% av HO-PEG-OH (molekylvekt = 10000, 50 g, 5,0 mol) i 250 ml toluen ble azeotropisk destillert i 2 timer under nitrogen og oppløsningen ble avkjølt til romtemperatur. Kalium tert-butoksid (1,0 M oppløsning i tert-butanol, 25 ml, 25 mmol) ble tilsatt og blandingen ble omrørt i 15 minutter. Metyliodid (7,1 g, 50 mmol) ble deretter tilsatt og blandingen ble omrørt i 20 timer ved romtemperatur under nitrogen i mørke. Oppløsningsmidlene ble fjernet under redusert trykk og residuet ble oppløst i 100 ml metylenklorid og tilsatt 800 ml kald eter. Det utfelte produktet ble oppsamlet ved filtrering og tørket under redusert trykk. Utbytte: 46,8 g. ^1H nmr (DMSO- d_6): δ 3,24 (s, $\text{CH}_3\text{O-PEG}$), 3,51 (br. mult., PEG), 4,49 (s, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-OPEG-}$), 7,33 (s + komp. mult., $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-OPEG-}$).

d) Fremstilling av CH₃OPEG-OH som ikke inneholder noe HO-PEG-OH:

BzO-PEG-OCH₃ som inneholder 6 vekt% av CH₃O-PEG-OCH₃ (40 g, molekylvekt = 10000, 12 mmol) ble oppløst i 400 ml etanol og 4 g av Pd på aktivert karbon (10% Pd) ble tilsatt. Blandingen ble hydrogenert (800 psi) ved romtemperatur. Blandingen ble deretter filtrert og oppløsningsmiddelet fjernet under vakuum.

- 5 Utbytte: 37,1 g. ¹H nmr (DMSO-d₆): δ (s, CH₃O-PEG), 3,51 (br. mult., PEG), 4,58 (t, OH).

- 10 Oppfinnelsen er blitt beskrevet i spesielt eksemplifiserte utforminger. Den foregående beskrivelsen er imidlertid ikke ment å begrense oppfinnelsen til de eksemplifiserte utformingene, og en person med kunnskap på området bør vite at variasjoner kan foretas innenfor området og ideen til oppfinnelsen som beskrevet i foregående spesifikasjon. Tvert i mot inkluderer oppfinnelsen alle alternativer, modifikasjoner og ekvivalenter som kan inkluderes innenfor den virkelige ideen og området til oppfinnelsen som definert av de vedlagte krav.

PATENTKRAV

1. Fremgangsmåte til å fremstille et heterobifunksjonelt polymert derivat, karakterisert ved at den omfatter:

5 (i) å tilveiebringe en polymer med formel W-O-Poly-OH, hvor W er en gruppe som er fjernbar ved katalytisk hydrogenolyse eller ved syrekatalysert hydrolyse, og Poly representerer en polymerrest som er valgt fra gruppen som består av poly(alkylenoksider), poly(oksyetylerete polyoler), poly(olefine alkoholer) og poly(akroylmorfolin),

10 (ii) modifisere -OH-resten for å produsere en første funksjonell gruppe, der nevnte første funksjonelle gruppe er valgt fra gruppen som består av:

mesylat, tosylat, tresylat,

-O-(CH₂)_n-CO₂R₃ hvori n = 1-6 og R₃ er en alkylgruppe,

-NHR₄ hvori R₄ er H, alkyl eller en aminobeskyttende gruppe,

15 -O-(CH₂)_n-CH(ZR₅)₂ hvori n er tall fra 1-6, Z er O eller S, og R₅ er H eller en alkylgruppe,

-O-(CH₂)_n-CHO der n=1-6, og

(iii) konvertere nevnte W til en andre funksjonell gruppe, der nevnte andre funksjonelle gruppe er forskjellig fra nevnte første funksjonelle gruppe.

20 2. Fremgangsmåte som angitt i krav 1, karakterisert ved at W har en formel Ar-C(R₁)(R₂)-, hvor Ar representerer en rest valgt fra gruppen som består av fenyl, substituert fenyl, bifenyl, substituert bifenyl, polysykliske aryler, substituerte polysykliske aryler og heterosykliske aryler, hvor R₁ og R₂ er H, alkyl, eller Ar, som er definert ovenfor.

25 3. Fremgangsmåte som angitt i krav 1, karakterisert ved at den andre funksjonelle gruppen er -OH.

4. Fremgangsmåte til å fremstille et heterobifunksjonelt polymert derivat, karakterisert ved at det omfatter:

30 (i) å tilveiebringe en polymer med formelen Ar-C(R₁)(R₂)O-Poly-OH, hvor Ar er valgt fra gruppen som består av fenyl, substituert fenyl, bifenyl, substituert bifenyl, polysykliske aryler, substituerte polysykliske aryler og heterosykliske aryler,

hvor R₁ og R₂ er H, alkyl eller Ar, hvor Ar er som definert ovenfor, og

hvor Poly er en polymer rest valgt fra gruppen som består av poly(alkylenoksider), poly(oksyetylerter polyoler), poly(olefine alkoholer) og poly(akryloylmorfolin);

5 (ii) kjemisk modifisere -OH-gruppen for å produsere en første funksjonell gruppe $-O-(CH_2)_n-CH(ZR_5)_2$ hvori n er tall fra 1-6, Z er O eller S, og R_5 er H eller en alkylgruppe,

(iii) fjerne $Ar-C(R_1)(R_2)O$ -gruppen for å produsere en ny hydroksylgruppe;

10 (iv) konvertere den nye hydroksylgruppen til en andre funksjonell gruppe, hvor nevnte andre funksjonelle gruppe er forskjellig fra den nevnte første funksjonelle gruppen.

5. Fremgangsmåte som angitt i krav 1 eller 4, karakterisert ved at Poly er poly(etylenglykol) representert ved $-CH_2CH_2O-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-$, hvor n' er fra ca. 8 til ca. 4000.

15 6. Fremgangsmåte som angitt i krav 1 eller 4, karakterisert ved at Poly er en kopolymer av etylenoksid og propylenoksid.

7. Fremgangsmåte som angitt i krav 4, karakterisert ved at nevnte første funksjonelle gruppe er -metoksy.

20 8. Fremgangsmåte som angitt i krav 1 eller 4, karakterisert ved at den andre funksjonelle gruppen er valgt fra gruppen som består av

mesylat, tosylat, tresylat,

$-O-(CH_2)_n-CO_2H$ hvori $n = 1-6$,

$-O-(CH_2)_n-CO_2R_3$ hvori $n = 1-6$ og R_3 er en alkylgruppe,

25 $-NHR_4$ hvori R_4 er H, alkyl eller en aminobeskyttende gruppe,

$-O-(CH_2)_n-CH(ZR_5)_2$ hvori n er tall fra 1-6, Z er O eller S, og R_5 er H eller en alkylgruppe, og

$-O-(CH_2)_n-CHO$ der $n=1-6$.

9. Fremgangsmåte ifølge krav 4,

30 karakterisert ved at nevnte andre funksjonelle gruppe er $-O-(CH_2)_n-CH(ZR_5)_2$ hvori n er tall fra 1-6, Z er O eller S, og R_5 er H eller en alkylgruppe.

10. Fremgangsmåte ifølge krav 4,
karakterisert ved at den andre funksjonelle gruppen er $-O-(CH_2)_n-CHO$
der $n=1-6$.
- 5 11. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
karakterisert ved at den første funksjonelle gruppen er $-O-(CH_2)_n-$
 $CH(ZR_5)_2$ hvori n er tall fra 1-6, Z er O eller S, og R_5 er H eller en alkylgruppe.
12. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 4,
karakterisert ved at polymeren i trinn (i) har formelen $C_5H_6-CH_2-O-Poly-$
OH.
- 10 13. Fremgangsmåte ifølge krav 4,
karakterisert ved at nevnte fjerningstrinn (iii) omfatter katalytisk
hydrogenolyse eller syrekatalysert hydrolyse.
14. Fremgangsmåte ifølge krav 4,
karakterisert ved at den er til anvendelse ved inhibering av reaktiviteten
15 til HO-PEG-OH i en blanding der:
- Poly er polyetylenglykol (PEG),
- Ar-C(R₁)(R₂)O- er $C_5H_6-CH_2-O-$,
- trinn (ii) omfatter kjemisk modifisering av -OH-gruppen ved alkylering for å
produsere en -OR-gruppe, der R er alkyl, og
- 20 trinn (iii) omfatter katalytisk hydrogenering.
15. Fremgangsmåte ifølge krav 4,
karakterisert ved at alkylgruppen er metyl.
16. Fremgangsmåte for påkobling av et polymert derivat på et legemiddel eller
makromolekyl,
- 25 karakterisert ved at den omfatter fremstillingen av et polymert derivat ved
å benytte fremgangsmåtene ifølge krav 1, 4 eller 14, og det ytterligere trinnet med å
koble på det polymere derivatet på nevnte legemiddel eller makromolekyl.