

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5515224号  
(P5515224)

(45) 発行日 平成26年6月11日(2014.6.11)

(24) 登録日 平成26年4月11日(2014.4.11)

(51) Int.Cl. F I  
C O 8 G 65/329 (2006.01) C O 8 G 65/329  
A 6 1 K 47/48 (2006.01) A 6 1 K 47/48

請求項の数 5 (全 43 頁)

(21) 出願番号	特願2008-46852 (P2008-46852)	(73) 特許権者	000004341
(22) 出願日	平成20年2月27日 (2008.2.27)		日油株式会社
(65) 公開番号	特開2008-248232 (P2008-248232A)		東京都渋谷区恵比寿四丁目20番3号
(43) 公開日	平成20年10月16日 (2008.10.16)	(74) 代理人	100080791
審査請求日	平成23年2月24日 (2011.2.24)		弁理士 高島 一
(31) 優先権主張番号	特願2007-50782 (P2007-50782)	(72) 発明者	坂上 研二
(32) 優先日	平成19年2月28日 (2007.2.28)		神奈川県川崎市川崎区千鳥町3-3 日油株式会社内
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(72) 発明者	吉岡 宏樹
			神奈川県川崎市川崎区千鳥町3-3 日油株式会社内
		(72) 発明者	城崎 智洋
			神奈川県川崎市川崎区千鳥町3-3 日油株式会社内

最終頁に続く

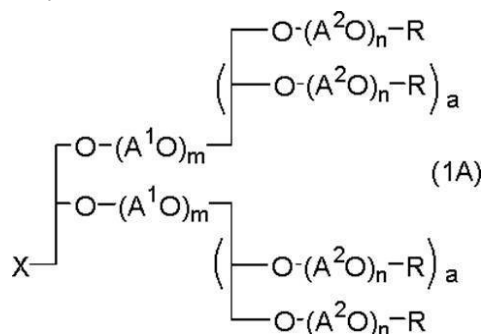
(54) 【発明の名称】 多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(1A)で示されるポリオキシアルキレン誘導体。

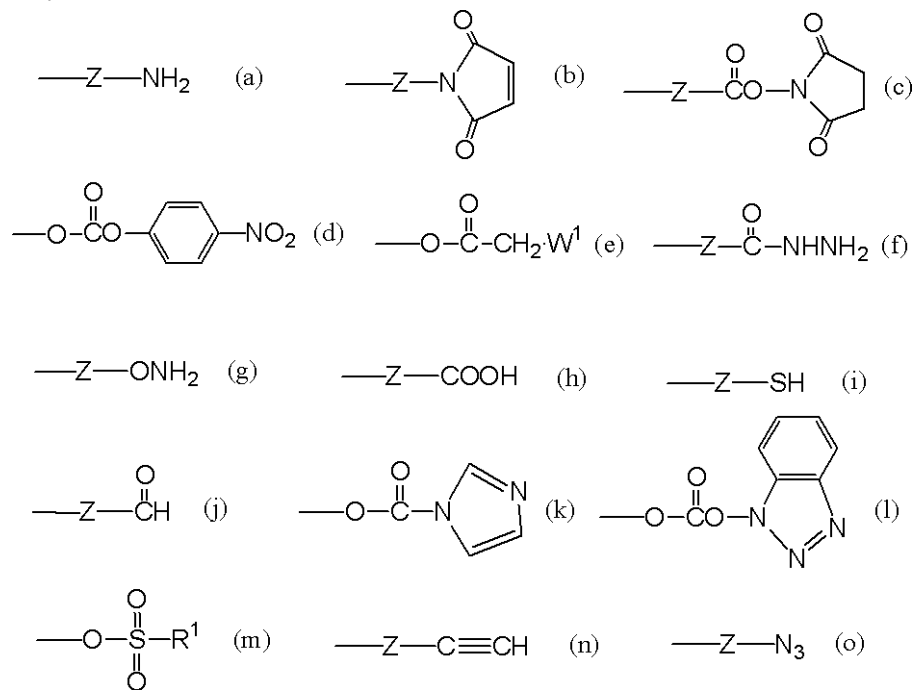
【化1】



(式中、 $\text{A}^1\text{O}$ および $\text{A}^2\text{O}$ は、独立して、炭素数2~4のオキシアルキレン基を示し、 $m$ は20~500、 $n$ は15~700を示し、 $\text{R}$ は、水素原子または炭素数1~20個の炭化水素基を示し、 $\text{X}$ は群(I)から選ばれる1種の基を示し、 $a$ は1、3または5を示す。)

群(I)：

## 【化 2】



10

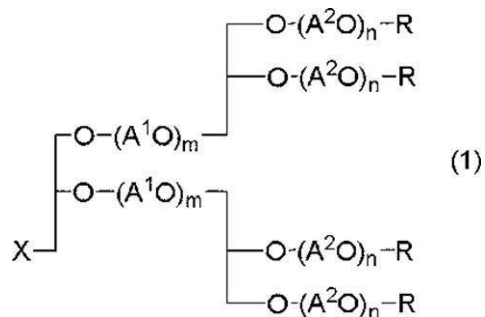
20

(群 (I) 中、 $\text{R}^1$  は炭素数 1 ~ 10 のフッ素原子を含んでも良い炭化水素基を示し、 $\text{W}^1$  はハロゲンを示し、Z はポリアルキレングリコールオキシ基と反応性官能基との間のリンカーを示す。)

## 【請求項 2】

式 (1) で示されるポリオキシアルキレン誘導体。

## 【化 3】

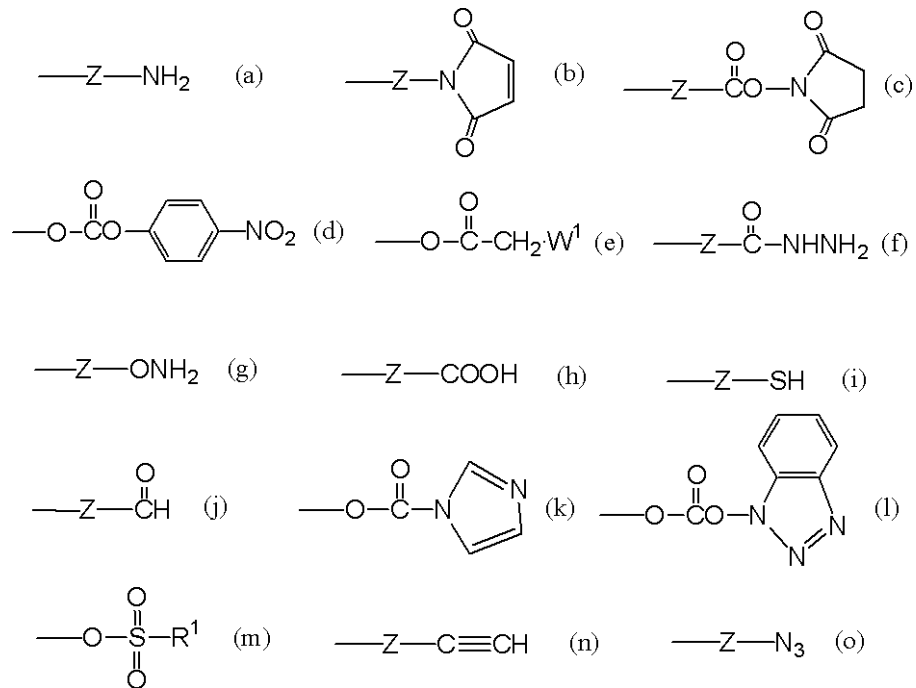


30

(式中、 $\text{A}^1\text{O}$  および  $\text{A}^2\text{O}$  は、独立して、炭素数 2 ~ 4 のオキシアルキレン基を示し、 $m$  は 20 ~ 500、 $n$  は 15 ~ 700 を示し、 $\text{R}$  は、水素原子または炭素数 1 ~ 20 個の炭化水素基を示し、 $\text{X}$  は群 (I) から選ばれる 1 種の基を示す。)

群 (I) :

## 【化 4】



10

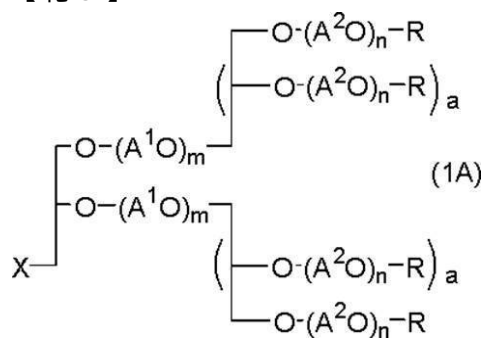
20

(群 (I) 中、 $R^1$  は炭素数 1 ~ 10 のフッ素原子を含んでも良い炭化水素基を示し、 $W^1$  はハロゲンを示し、Z はポリアルキレングリコールオキシ基と反応性官能基との間のリンカーを示す。)

## 【請求項 3】

式 (1A) で示されるポリオキシアルキレン誘導体との反応により修飾された生理活性物質。

## 【化 5】



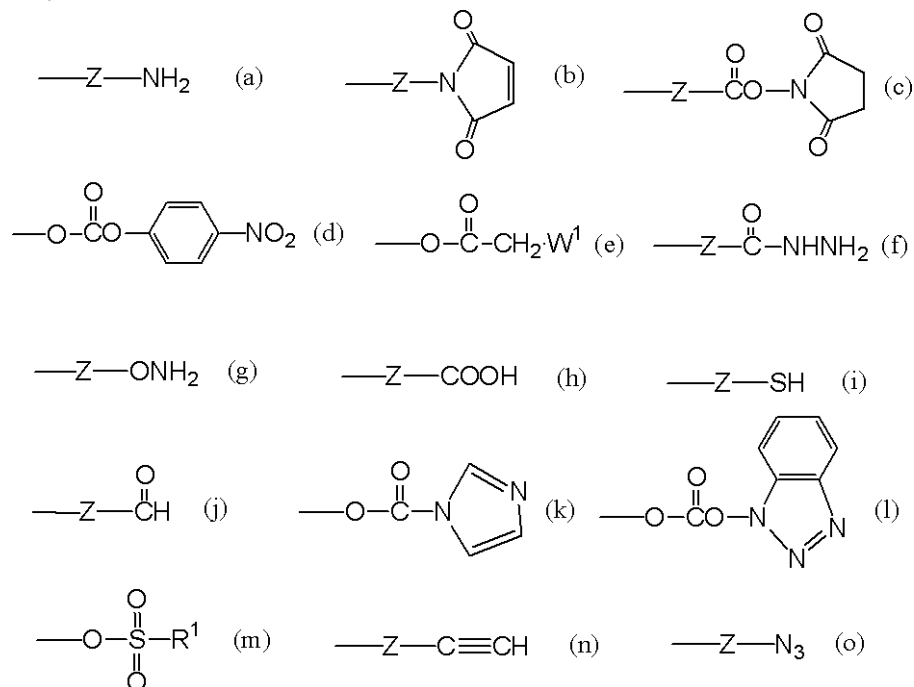
30

(式中、 $A^1O$  および  $A^2O$  は、独立して、炭素数 2 ~ 4 のオキシアルキレン基を示し、 $m$  は 20 ~ 500、 $n$  は 15 ~ 700 を示し、 $R$  は、水素原子または炭素数 1 ~ 20 個の炭化水素基を示し、 $X$  は群 (I) から選ばれる 1 種の基を示し、 $a$  は 1、3 または 5 を示す。)

40

群 (I) :

## 【化 6】



10

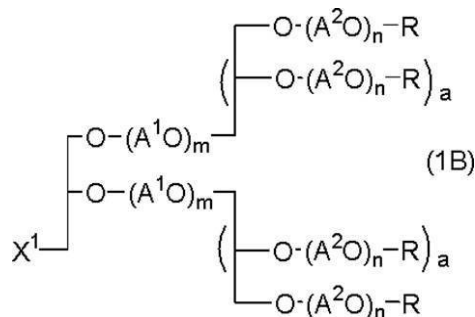
20

(群 (I) 中、 $R^1$  は炭素数 1 ~ 10 のフッ素原子を含んでも良い炭化水素基を示し、 $W^1$  はハロゲンを示し、Z はポリアルキレングリコールオキシ基と反応性官能基との間のリンカーを示す。)

## 【請求項 4】

式 (1B) で示されるポリオキシアルキレン誘導体。

## 【化 7】



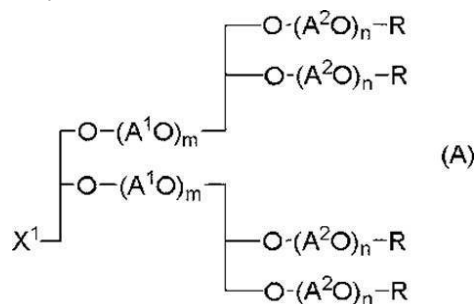
30

(式中、 $A^1O$  および  $A^2O$  は、独立して、炭素数 2 ~ 4 のオキシアルキレン基を示し、 $m$  は 20 ~ 500、 $n$  は 15 ~ 700 を示し、 $R$  は、水素原子または炭素数 1 ~ 20 個の炭化水素基を示し、 $X^1$  は、保護されていてもよい水酸基を示し、 $a$  は 1、3 または 5 を示す。)

## 【請求項 5】

式 (A) で示されるポリオキシアルキレン誘導体。

## 【化 8】



40

50

(式中、 $A^1O$ および $A^2O$ は、独立して、炭素数2～4のオキシアルキレン基を示し、 $m$ は20～500、 $n$ は15～700を示し、 $R$ は、水素原子または炭素数1～20個の炭化水素基を示し、 $X^1$ は、保護されていてもよい水酸基を示す。)

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生体関連物質を修飾する用途に使用される多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体、および該多分岐鎖反応性ポリオキシアルキレン誘導体の製造用中間体に関する。さらに、このポリオキシアルキレン誘導体が結合した修飾された生体関連物質に関する。

10

【背景技術】

【0002】

遺伝子工学の発展により、近年、ホルモンやサイトカインなどの細胞間情報伝達物質、抗体、酵素などの生体関連物質を用いた医薬品の開発・研究が盛んに行われている。これらの生体関連物質は、通常生体内へ投与されると腎臓における糸球体濾過や肝臓や脾臓などにおけるマクロファージの取り込みにより生体内から消失するため、血中半減期が短く、十分な薬理効果を得ることが難しい。この問題を解決するため、生体関連物質をリポソームやポリマーミセル中へ封入したり、糖鎖やポリエチレングリコールなどの両親媒性高分子やアルブミンなどによる化学修飾により、分子量の増大や水和層の形成により生体内挙動を改善する試みがなされている。また、ポリオキシアルキレンでの修飾により、毒性や抗原性の低下や難水溶性薬剤の溶解性向上などの効果も得られる。

20

【0003】

近年、生体関連物質をポリオキシアルキレン修飾する場合、活性点をつぶさないように、またより少ない数のポリオキシアルキレンでより大きな水和層を得るために、ポリオキシアルキレン誘導体分子量の高分子化が進んでいる。しかし、高分子量のポリオキシアルキレンを製造する場合、純度の低下や粘度の向上など製法上の問題が生じ、生体関連物質の修飾剤に適するものが効率的に得られていない。

【0004】

一方、これらの高分子化をより効果的に行うために分岐型構造のポリオキシアルキレンを用いる開発が進んでいる。特許文献1には塩化シアヌルを主骨格とした2本鎖構造のポリオキシアルキレンを用いたアスパラギナーゼに関する記載がなされており、特許文献2にはリジン主骨格とした2本鎖構造のポリオキシアルキレンを用いたインターフェロン- $\gamma$ に関する記載がなされている。また、特許文献3には1,2-グリセロールを基本骨格とした2本鎖構造のポリオキシアルキレンを用いた生体関連物質に関して記載されている。

30

これらの構造はすべて2本鎖構造が基本骨格となっており、より大きな水和層を得るためにさらに多分岐構造のポリオキシアルキレンが医薬用途の開発の観点から要求されている。

【0005】

特許文献4および5にはシクロヘキサン環、またはグルコース、ソルビトールなどの単糖類やクエン酸などのポリカルボン酸を基本骨格とした3～5分岐鎖構造を有するポリオキシアルキレン誘導体が記載されており、特許文献6および7にはトリグリセリンを基本骨格とした4本鎖構造を有するポリオキシアルキレン誘導体が記載されている。

40

特許文献4および5に記載されているポリオキシアルキレン誘導体は、環状ポリオールなどの基本骨格に対し過剰量の一本鎖ポリオキシアルキレン誘導体を反応させて導入する方法であるため、基本骨格と反応しなかった過剰の一本鎖ポリオキシアルキレン誘導体が残存しており、これを除去しなければならない。また、目的のポリオキシアルキレン鎖の数が多本数になれば目的の本数が導入されていない不純物が副生するため、これらの不純物を低減することは非常に困難であり、工業的生産はさらに困難である。

【0006】

50

特許文献 6 および 7 に記載されているポリオキシアルキレン誘導体については、トリグリセリンモノアリルエーテルに対してエチレンオキシドを付加することにより得られるものであるが、付加反応の際の触媒としてアルカリを用いた場合にはアリルエーテルがプロペニルエーテルに転移し、さらに中和工程などで酸を用いた場合に、局所的に酸性になりプロペニルエーテルが水酸基へと変換するため、目的物の純度は低いものになってしまう。また、特許文献 6 および 7 にはアリルエーテル基とメルカプト基を有するカルボン酸やメルカプト基を有する有機アミンとの反応によりスルフィド結合を形成してカルボキシル基またはアミノ基を導入しており、得られる化合物はスルフィド結合を含むものに限定される。

【 0 0 0 7 】

10

このように、生体関連物質を修飾する用途に効果的に用いることができ、且つ工業的に製造容易な多本数のポリオキシアルキレン鎖を有する誘導体は得られておらず、かかる多分岐鎖ポリアルキレン誘導体の出現が待望されている。

【特許文献 1】特公昭 6 1 - 4 2 5 5 8 号公報

【特許文献 2】特開平 1 0 - 6 7 8 0 0 号公報

【特許文献 3】特開 2 0 0 4 - 1 9 7 0 7 7 号公報

【特許文献 4】W O 0 1 / 0 4 8 0 5 2

【特許文献 5】W O 0 2 / 0 6 0 9 7 8

【特許文献 6】特開 2 0 0 0 - 1 5 4 2 号公報

【特許文献 7】特開 2 0 0 0 - 4 4 6 7 4 号公報

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 8 】

本発明の目的は、新規多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体、およびその製造中間体の提供である。詳細には、当該多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体で修飾された生体関連物質が高い活性率を保持出来、かつ該修飾体の製造が容易な高分子量の多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体、その中間体および該多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体が結合した生体関連物質を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 9 】

30

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、新規な多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体を創製し、本発明を完成した。

すなわち、本発明は、式 ( 1 A ) に示すように、グリセリンの 1 位に反応性基、2 位および 3 位にオキシアルキレン鎖を有し、オキシアルキレン鎖の先で多価アルコール骨格によってさらに多分岐構造を有する多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体およびその製造用中間体に関するものである。さらにこのポリアルキレングリコール誘導体で修飾された生体関連物質に関するものである。

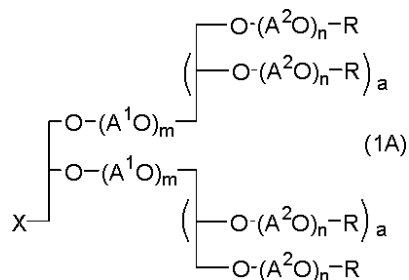
【 0 0 1 0 】

即ち、本発明は以下に示すとおりである。

[ 1 ] 式 ( 1 A ) で示されるポリオキシアルキレン誘導体。

40

【化 1】



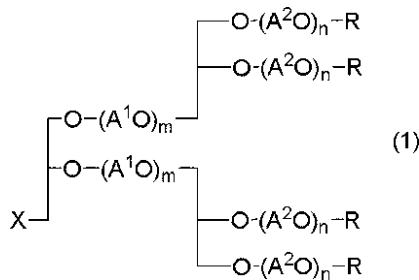
( 式中、 $\text{A}^1\text{O}$  および  $\text{A}^2\text{O}$  は、独立して、炭素数 2 ~ 4 のオキシアルキレン基を示し

50

、 $m$ は20～500、 $n$ は15～700を示し、 $R$ は、水素原子または炭素数1～20個の炭化水素基を示し、 $X$ は生体関連物質と反応可能な官能基を示し、 $a$ は1、3または5を示す。）

〔2〕式(1)で示されるポリオキシアルキレン誘導体。

【化2】



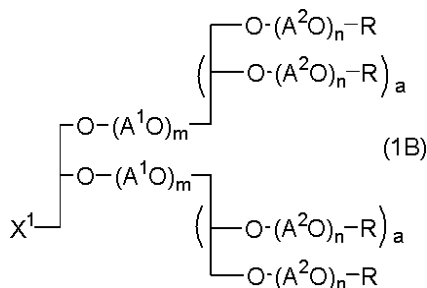
10

(式中、 $\text{A}^1\text{O}$ および $\text{A}^2\text{O}$ は、独立して、炭素数2～4のオキシアルキレン基を示し、 $m$ は20～500、 $n$ は15～700を示し、 $R$ は、水素原子または炭素数1～20個の炭化水素基を示し、 $X$ は生体関連物質と反応可能な官能基を示す。)

〔3〕式(1A)で示されるポリオキシアルキレン誘導体との反応により修飾された生体関連物質。

〔4〕式(1B)で示されるポリオキシアルキレン誘導体。

【化3】



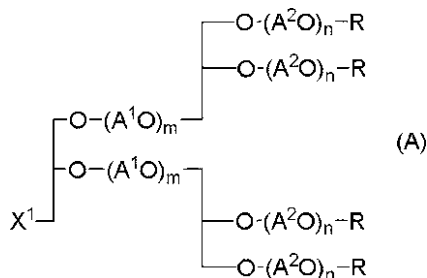
20

(式中、 $\text{A}^1\text{O}$ および $\text{A}^2\text{O}$ は、独立して、炭素数2～4のオキシアルキレン基を示し、 $m$ は20～500、 $n$ は15～700を示し、 $R$ は、水素原子または炭素数1～20個の炭化水素基を示し、 $\text{X}^1$ は、保護されていてもよい水酸基を示し、 $a$ は1、3または5を示す。)

30

〔5〕式(A)で示されるポリオキシアルキレン誘導体。

【化4】



40

(式中、 $\text{A}^1\text{O}$ および $\text{A}^2\text{O}$ は、独立して、炭素数2～4のオキシアルキレン基を示し、 $m$ は20～500、 $n$ は15～700を示し、 $R$ は、水素原子または炭素数1～20個の炭化水素基を示し、 $\text{X}^1$ は、保護されていてもよい水酸基を示す。)

【発明の効果】

【0011】

本発明による新規な多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体(1A)は、多分岐構造を有することで生体関連物質の活性点を残したままで大きな水和層を得ることができ、これに結合させた生体関連物質の活性を低下させることがない。さらに、多分岐構造のポリオキ

50

シアルキレン誘導体の分岐を増やすことにより、粘度を低減させることもできる。なお、粘度を低減させた際の利点としては、例えば、生体関連物質の修飾に使用した際の取り扱いが容易となることが挙げられ、より具体的には、注射に要する圧力を低減し得ることや、注射時の痛みを減弱し得ること等が挙げられる。また、自体公知の製造工程を段階的に施すことによって製法上での問題が生じず、純度良く製造し得ることも、利点として挙げられる。

#### 【0012】

また、生体関連物質と化学結合を生成し得る官能基と多分岐構造の間に特定の分子量の2本鎖構造を有するため、生体関連物質と多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体(1A)との反応性を改良することができる。

10

本発明により、このような特徴を有する新規な多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体、その中間体を提供することができる。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【0013】

本明細書において、式(1A)で示されるポリオキシアルキレン誘導体のaは1、3または5であり、好ましくは1、3である。特に、製造過程において生じる不純物をより低減できるという観点から、aが1であるもの、すなわち、式(1)に示されるポリオキシアルキレン誘導体が好ましい。

#### 【0014】

本明細書において、 $A^1O$ 、 $A^2O$ は、それぞれ独立に炭素数2~4のオキシアルキレン基を示す。具体的には、オキシエチレン基、オキシプロピレン基、オキシトリメチレン基、オキシ-1-エチルエチレン基、オキシ-1、2-ジメチルエチレン基、オキシテトラメチレン基などの炭素数2~4、好ましくは炭素数2~3のものなどが挙げられる。オキシアルキレン基は、 $A^1O$ 、 $A^2O$ において同一であっても異なってもよく、またはランダム状に付加していてもブロック状に付加していてもよい。一般に、アルキレン基の炭素数の少ない方がより親水性が高く、好ましくはオキシエチレン基、オキシプロピレン基であり、より好ましくはオキシエチレン基である。

20

#### 【0015】

本明細書において、mおよびnはオキシアルキレン基の平均付加モル数である。mは20~500、好ましくは40~300、より好ましくは50~230、更に好ましくは80~150であり、nは15~700、好ましくは50~700、より好ましくは80~500、更に好ましくは100~350である。

30

#### 【0016】

2本鎖構造の部分( $A^1O$ 鎖)の分子量は、2,000~40,000であり、好ましくは5,000~25,000であり、更に好ましくは8,000~15,000である。

a=1、3、5の場合、多本鎖構造の部分( $A^2O$ 鎖)の分子量は、3,000~80,000であり、好ましくは10,000~75,000であり、更に好ましくは20,000~65,000である。

#### 【0017】

40

多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体(1A)の分子量は、「生体関連物質と反応可能な官能基」の種類によって異なるが、通常5,000~120,000であり、好ましくは20,000~100,000であり、更に好ましくは30,000~80,000である。

#### 【0018】

ポリオキシアルキレン誘導体(1B)の分子量は、通常5,000~120,000、好ましくは20,000~100,000であり、更に好ましくは30,000~80,000である。

また、2本鎖部分( $A^1O$ 鎖)と多本鎖部分( $A^2O$ 鎖)の分子量の比率は、2本鎖部分( $A^1O$ 鎖)の分子量を1とすると、a=1、3、5の場合、多本鎖部分( $A^2O$ 鎖)

50



の分子量は 1 ~ 40 であり、好ましくは 1 . 5 ~ 10 であり、さらに好ましくは 2 ~ 5 である。

【0019】

式(1)の多岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体においてXで示される「生体関連物質と反応可能な官能基」は、生体関連物質と反応可能な官能基であり、化学結合を生成し得る基であれば特に制限はない。なお、ポリオキシアルキレン鎖と当該官能基との間の結合部分にスルフィド結合を含まないことが好ましい。けだし結合部分にスルフィド結合を含むと結合の安定性が悪くなる傾向があるからである。

ところで、該官能基はリンカーを介して生体関連物質と結合していてもよく、従ってXで示される「生体関連物質と反応可能な官能基」はリンカー部分をも含む概念である。

10

【0020】

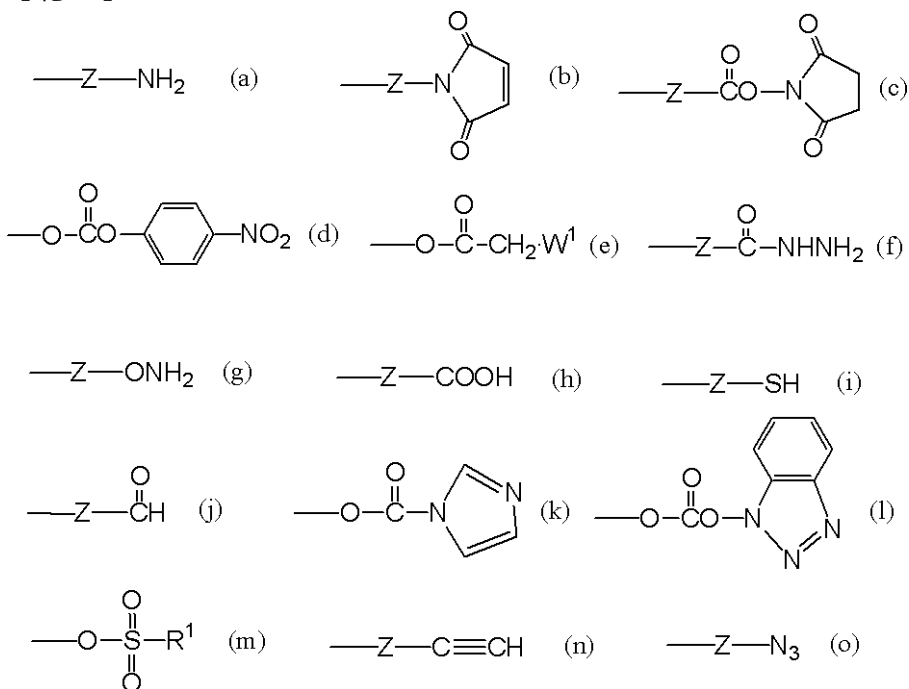
好適な実施形態においては、Xは、群(I)で示される基である。

【0021】

群(I)：

【0022】

【化5】



20

30

【0023】

(式中、R<sup>1</sup>は炭素数1~10のフッ素原子を含んでも良い炭化水素基を示し、W<sup>1</sup>はハロゲンを示し、Zはポリアルキレングリコールオキシ基と反応性官能基との間のリンカーを示す)

【0024】

生体関連物質のアミノ基と反応させる場合は、「生体関連物質と反応可能な官能基」としては、(c)、(d)、(h)、(j)、(k)、(l)で示される基が好ましく、生体関連物質のメルカプト基と反応させる場合は、(b)、(c)、(d)、(e)、(h)、(i)、(j)、(k)、(l)、(n)で示される基が好ましく、生体関連物質の不飽和結合と反応させる場合は、(i)、(o)で示される基が好ましく、生体関連物質のカルボキシル基と反応させる場合は(a)、(g)、(i)で示される基が好ましく、生体関連物質のアルデヒド基と反応させる場合は(a)、(f)、(g)、(i)で示される基が好ましく、生体関連物質のアジド結合と反応させる場合は、(n)で示される基が好ましい。(m)で示される基は、反応中間体として用いられる。

40

【0025】

群(I)におけるZは、ポリアルキレングリコールオキシ基と反応性官能基との間のリンカーであり、スルフィド結合を含まず、両者と共有結合を形成しうる基であれば特に制

50

限は無いが、好ましくはアルキレン基、フェニレン基、及びエステル結合、ウレタン結合、アミド結合、エーテル結合、カーボネート結合、2級アミノ基を含んだアルキレン基等の炭素数1～8、好ましくは1～6のものが挙げられる。アルキレン基として好ましいものは、メチレン基、エチレン基、トリメチレン基、プロピレン基、イソプロピレン基、テトラメチレン基、ブチレン基、イソブチレン基、ペンタメチレン基、ヘキサメチレン基等が挙げられ、更に好ましくは下記(z1)のような構造が挙げられる。エステル結合を含んだアルキレン基として更に好ましいものは、下記(z2)のような構造が挙げられる。アミド結合を含んだアルキレン基として更に好ましいものは、下記(z3)のような構造が挙げられる。エーテル結合を含んだアルキレン基として更に好ましいものは、下記(z4)のような構造が挙げられる。ウレタン結合を含んだアルキレン基として更に好ましいものは、下記(z5)のような構造が挙げられる。2級アミノ基を含んだアルキレン基として更に好ましいものは、下記(z6)のような構造が挙げられる。各式において、sは1～6の整数であるが、好ましくは1～3の整数であり、更に好ましくは2～3の整数である。

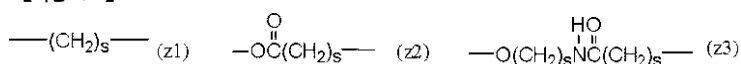
10

【0026】

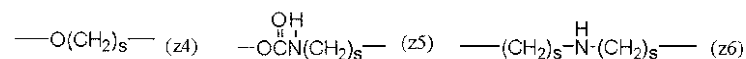
群(II):

【0027】

【化6】



20



S=1 or 2 or 3

【0028】

(式中、sは1～6の整数であり、好ましくは1、2、または3である。)

【0029】

R<sup>1</sup>は炭素数1～10のフッ素原子を含んでも良い炭化水素基であり、具体的にはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、第三ブチル基、ヘキシル基、ノニル基、ビニル基、フェニル基、ベンジル基、4-メチルフェニル基、トリフルオロメチル基、2,2,2-トリフルオロエチル基、4-(トリフルオロメトキシ)フェニル基等が挙げられるが、好ましくはメチル基、ビニル基、4-メチルフェニル基、2,2,2-トリフルオロエチル基である。

30

【0030】

W<sup>1</sup>はCl、Br等のハロゲンを示しており、好ましくはBr、Iであり、より好ましくはヨウ素である。

【0031】

本明細書において、Rは、水素原子、もしくは炭素数1～20の炭化水素基であり、具体的な炭化水素基としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、第三ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ヘキシル基、ヘプチル基等のアルキル基(式中、炭素数1～7)、ベンジル基、クレジル基、ブチルフェニル基、トリチル基等のアラルキル基等が挙げられるが、好ましくは炭素数1～7の炭化水素基、より好ましくはメチル基、エチル基、第三ブチル基等の炭素数1～4のアルキル基、ベンジル基であり、更に好ましくはメチル基である。

40

【0032】

本発明で言う「生体関連物質」とは、生体に関連する物質を意味し、例えば生体を構成する物質、生体に対して生理活性を有する物質(生理活性物質)が挙げられる。式(1)の多分岐鎖ポリオキシアルキレングリコール誘導体により修飾されることのできる生体関連物質としては、例えば以下を含むものである。

【0033】

(1) リン脂質、糖脂質、糖タンパク等の動物細胞構成材料

50

動物細胞構成材料とは、細胞膜等を構成する成分であり、特にその種類を限定されるものではないが、例えばリン脂質、糖脂質、糖タンパク質等が挙げられる。より具体的なリン脂質としては、例えばフォスファチジジン酸、フォスファチジルコリン、フォスファチジルエタノールアミン、カルジオリピン、フォスファチジルセリン、フォスファチジルイノシトールが挙げられる。また、これらのリゾ体も含まれる。これらリン脂質は卵黄あるいは大豆等の天然物由来のものでも良いし、合成物でも良い。脂肪酸組成としては、特に限定されるものではないが、好ましくは炭素数12～22の脂肪酸が挙げられる。これらの脂肪酸は飽和脂肪酸でも良いし、不飽和結合を含んだものでも良い。より具体的な糖脂質としては、例えばセラミド、セレブロシド、スフィンゴシン、ガングリオシド、グリセロ糖脂質等が挙げられる。また、脂肪酸、モノグリセライド、ジグリセライド、コレステロール、胆汁酸もこれに含まれる。

10

#### 【0034】

##### (2) 血液、リンパ液、骨髄液等の体液構成物質

体液構成物質とは、細胞内外に存在する液体成分であり、特にその種類を限定されるものではないが、血液、リンパ液、骨髄液が挙げられる。これら体液のより具体的な構成成分としては、例えばヘモグロビン、アルブミン、血液凝固因子等が挙げられる。

#### 【0035】

##### (3) ビタミン、神経伝達物質、タンパク質、ポリペプチド、薬剤等の生理活性物質

生理活性物質とは、体の働きを調節する成分であり、特にその種類を限定されるものではないが、ビタミン、神経伝達物質、タンパク質、ポリペプチド、薬剤が挙げられる。

20

#### 【0036】

より具体的なビタミンとしては、例えばビタミンA、ビタミンB、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンK等が挙げられる。

#### 【0037】

より具体的な神経伝達物質としては、例えばアドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン、アセチルコリン、GABA、グルタミン酸、アスパラギン酸等が挙げられる。

#### 【0038】

より具体的なタンパク質、ポリペプチドとしては、例えば以下に挙げられるものが例示される。脳下垂体ホルモン、甲状腺ホルモン、男性ホルモン、女性ホルモン、副腎皮質ホルモン等のホルモン。ヘモグロビン、血液因子等の血清タンパク質。IgG、IgE、IgM、IgA、IgD等の免疫グロブリン。インターロイキン(IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11およびIL-12サブタイプ)、インターフェロン(α、β、γ)、顆粒球コロニー刺激因子(αおよびβ型)、マクロファージコロニー刺激因子、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、血小板由来増殖因子、ホスホリパーゼ活性化タンパク質、インシュリン、グルカゴン、レクチン、リシン、腫瘍壊死因子、上皮細胞増殖因子、トランスフォーミング増殖因子(α、β)、繊維芽細胞増殖因子、肝細胞増殖因子、血管内皮増殖因子、神経成長因子、骨増殖因子、インシュリン様増殖因子、ヘパリン結合増殖因子、腫瘍増殖因子、グリア細胞株由来神経栄養因子、マクロファージ分化因子、分化誘導因子、白血病阻害因子、アンフィレグリン、ソマトメジン、エリスロポエチン、ヘモポエチン、トロポポエチン、カルシトニン等のサイトカインおよびそのフラグメント。タンパク質分解酵素、オキシドリダクターゼ、トランスフェラーゼ、ヒドロラーゼ、リアーゼ、イソメラーゼ、リガーゼ、アスパラギナーゼ、アルギナーゼ、アルギニンデアミナーゼ、アデノシンデアミナーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ、エンドトキシナーゼ、カタラーゼ、キモトリプシン、リパーゼ、ウリカーゼ、エラスターゼ、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、プロウロキナーゼ、アデノシンジホスファターゼ、チロシナーゼ、ビリルビンオキシターゼ、グルコースオキシダーゼ、グルコダーゼ、ガラクトシダーゼ、グルコセレブロシダーゼ、グルコウロニダーゼ等の酵素。モノクロナール及びポリクロナール抗体およびそれらのフラグメント。ポリ-L-リジン、ポリ-D-リジン等のポリアミノ酸。B型肝炎ワクチン、マラリアワクチン、メラノーマワクチン、HIV-1ワクチン等のワクチンおよび

30

40

50

抗原。また、糖タンパクも含まれる。また、これらの生理活性物質と同様の生理活性を有する類似構造物質もこれに含まれる。

【 0 0 3 9 】

また、これらのタンパク質、ポリペプチドは、それらの天然源または遺伝子工学的処理を受けた細胞から単離されるか、あるいは種々の合成法を経て作り出されたものでも良い。

【 0 0 4 0 】

薬剤、即ち生理活性物質としては、特に限定されるものではないが、より好ましくは抗癌剤と抗真菌剤が挙げられる。

【 0 0 4 1 】

より具体的な抗癌剤としては、特に限定されるものではないが、例えばパクリタキセル、アドリマイシン、ドキソルピシン、シスプラチン、ダウノマイシン、マイトマイシン、ビンクリスチン、エピルピシン、メトトレキセート、5 - フルオロウラシル、アクラシノマイシン、イダマイシン、ブレオマイシン、ピラルピシン、ペプロマイシン、パンコマイシン、カンプトテシン等が挙げられる。

【 0 0 4 2 】

より具体的な抗真菌剤としては、特に限定されるものではないが、例えばアムホテリシンB、ナイスタチン、フルシトシン、ミコナゾール、フルコナゾール、イトラコナゾール、ケトコナゾールおよびペプチド性抗真菌剤が挙げられる。

【 0 0 4 3 】

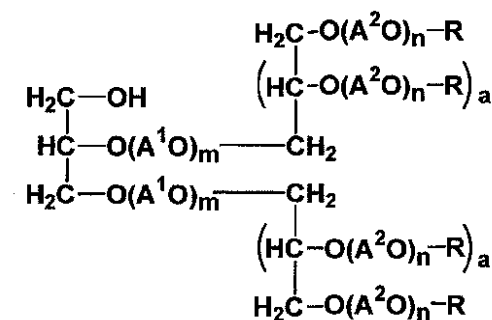
また、これら生理活性物質には、例えば抗酸化作用、PAF阻害作用、抗炎症作用、抗菌作用等を有する、フラボノイド、テルペノイド、カルテノイド、サポニン、ステロイド、キノン、アントラキノン、キサントン、クマリン、アルカロイド、ポルフィリン、ポリフェノール等も含まれる。

【 0 0 4 4 】

多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体 ( 1 A ) は、ポリオキシアルキレン誘導体である下記化合物 ( p 1 a ) を生体関連物質と反応可能な官能基を有した化合物に変換させることによって製造することができる。

【 0 0 4 5 】

【 化 7 】



( p 1 a )

【 0 0 4 6 】

また、化合物 ( p 1 a ) は、例えば次のような工程図に示すルートにより製造することができる。

【 0 0 4 7 】

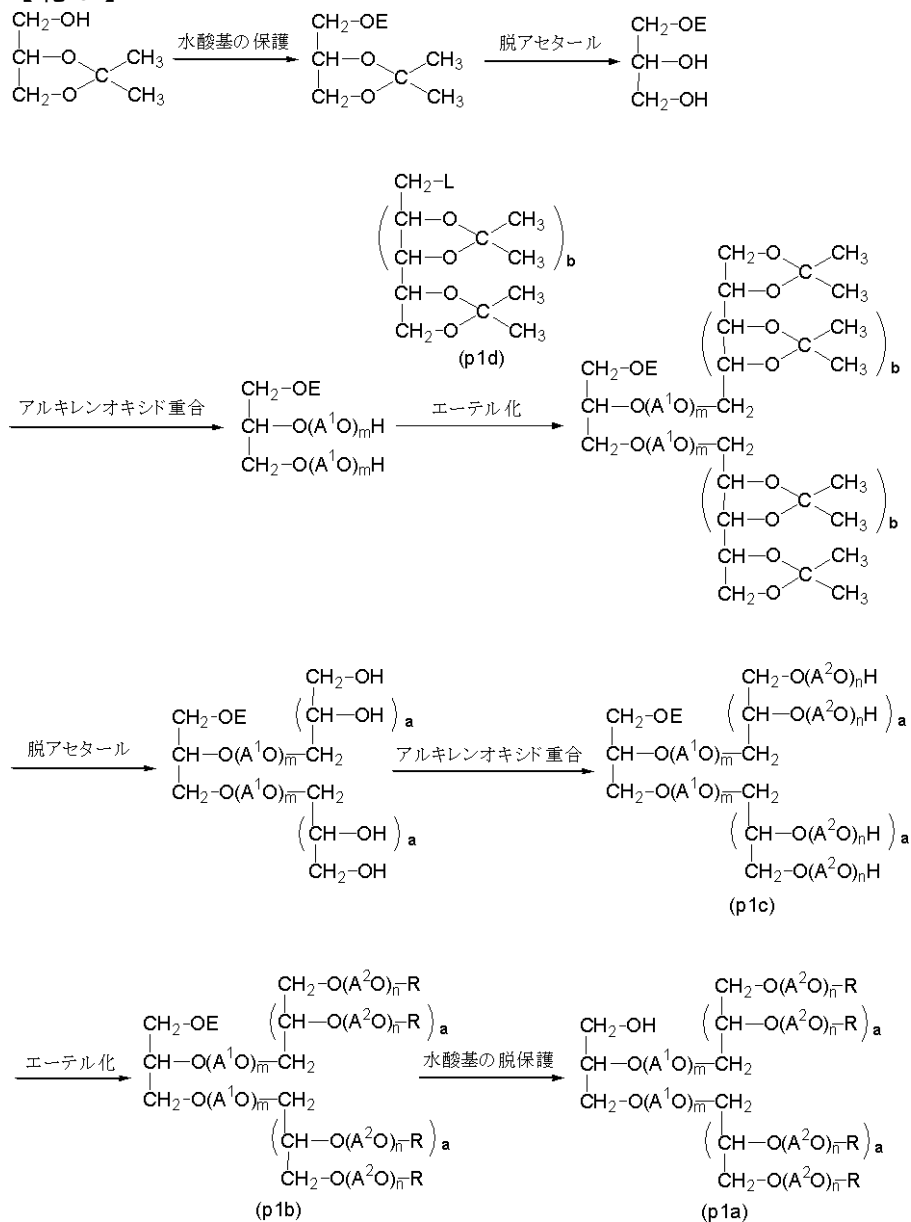
10

20

30

40

## 【化 8】



10

20

30

## 【0048】

(式中、E は、水酸基の保護基を示し、L は、脱離基を示し、その他の記号は前記と同義である。)

## 【0049】

ここで、水酸基の保護基としては、ベンジル基、t-ブチル基、トリチル基等が挙げられる。また、脱離基としては、ナトリウムオキシド基、カリウムオキシド基、Cl、Br等のハロゲン基、メシル基、トレシル基等が挙げられる。

40

## 【0050】

上記工程図において、式(p1a)、(p1b)、(p1c)を包含する中間体が、ポリオキシアルキレン誘導体(1B)に相当する。

## 【0051】

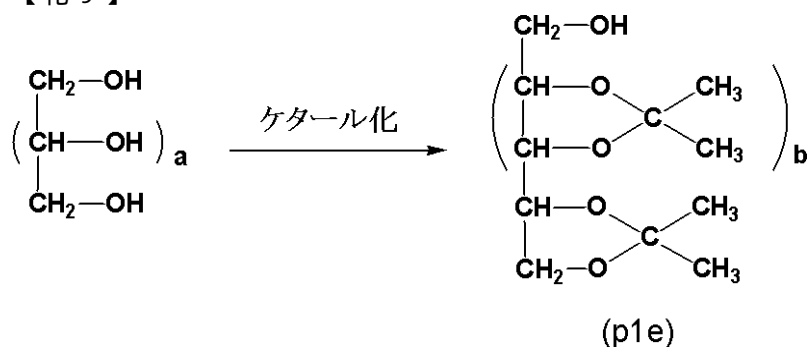
化合物(p1a)製造の好適な具体例を以下に説明する。

2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールの水酸基を保護基(例えば、ベンジル基やt-ブチル基)で保護した後、酸性条件下で環状アセタール構造を切断して2個の水酸基を出現させる。この2個の水酸基に対し、アルキレンオキシドを、通常40~1000モル重合させる。

## 【0052】

50

## 【化 9】



10

## 【0053】

b = 0、1、2 の多価アルコール誘導体 (p1e) を得るには、それぞれ a = 1、3、5 の多価アルコールを原料に使用し、例えば、PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS (THEODORA W. GREENE et al.) 等に記載があるような一般的な水酸基の保護法を用いてケタール化を行うことができる。なお、かかるケタール化は、隣接または非隣接の水酸基について行われるものを含んでいても良い。また、(p1e) としては、これらの方法により製造される異性体のうちのいずれを用いてもよい。

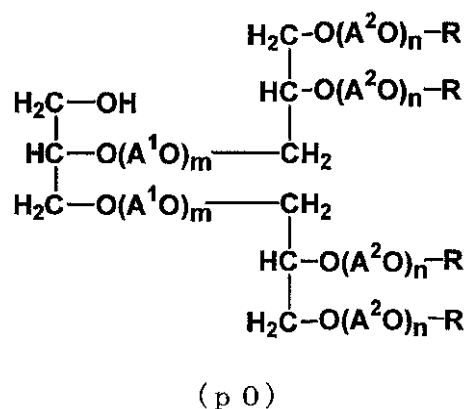
## 【0054】

得られた多価アルコール誘導体 (p1e) に脱離基 L を持たせた (p1d) をポリオキシアルキレン末端に結合させた後、環状アセタール構造を切断して a = 1、すなわち b = 0 の場合は 4 個の水酸基を出現させ、a = 3、すなわち b = 1 の場合は 8 個、a = 5、すなわち b = 2 の場合は 12 個の水酸基を出現させる。当該切断は、通常酸性条件下で行われる。この複数個の水酸基に対し、アルキレンオキシドを、通常 50 ~ 2000 モル重合させた後、末端をアルキルエーテル化する。次いで、保護基 E を切断して新たな水酸基を出現させる (上記化合物 (p1a))。

20

## 【0055】

## 【化 10】



30

40

## 【0056】

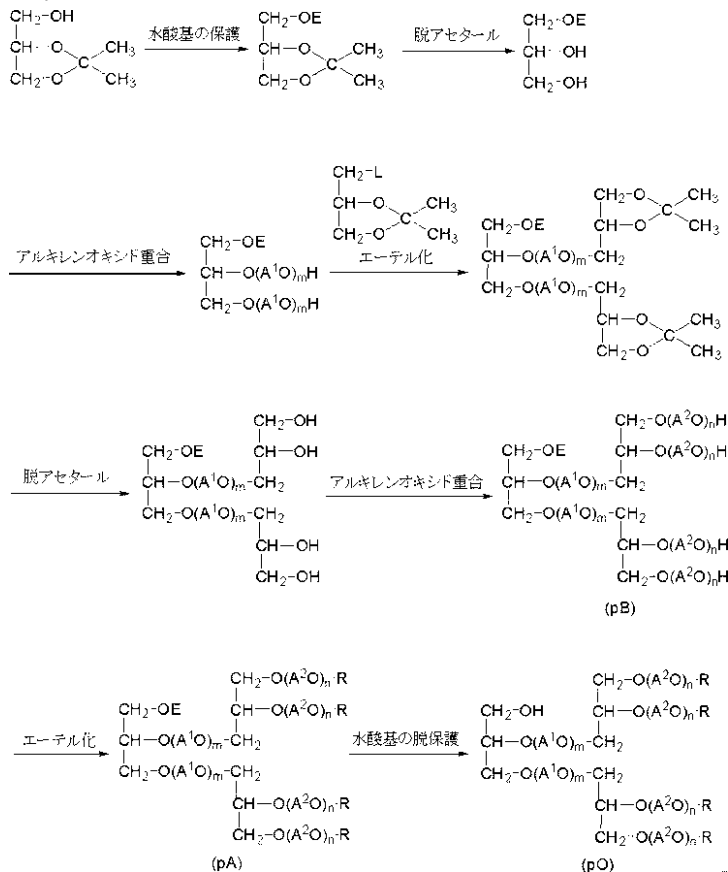
以降、a = 1、3、5、すなわち b = 0、1、2 のどの場合においても、同様の製法に行うことができるため、a = 1、すなわち b = 0 ついて説明する。

## 【0057】

a = 1、すなわち b = 0 の化合物 (p0) は、例えば次のような工程図に示すルートにより製造することができる。

## 【0058】

## 【化 1 1】



10

20

## 【0059】

(式中、E は、水酸基の保護基を示し、L は、脱離基を示し、その他の記号は前記と同義である。)

## 【0060】

ここで、水酸基の保護基 E としては、ベンジル基、t-ブチル基、トリチル基等が挙げられる。また、脱離基 L としては、ナトリウムオキシド基、カリウムオキシド基、Cl、Br 等のハロゲン基、メシル基、トレシル基等が挙げられる。

30

## 【0061】

上記工程図において、式 (p0)、(pA)、(pB) を包含する中間体が、ポリオキシアルキレン誘導体 (A) に相当する。

## 【0062】

化合物 (p0) 製造の好適な具体例を以下に説明する。

2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-メタノールの水酸基を保護基 (例えば、ベンジル基やt-ブチル基) で保護した後、酸性条件下で環状アセタール構造を切断して2個の水酸基を出現させる。この2個の水酸基に対し、アルキレンオキシドを、通常40~1000モル重合させ、さらに末端に2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-メタノールを結合させた後、環状アセタール構造を切断して4個の水酸基を出現させる。当該切断は、通常酸性条件下で行われる。この4個の水酸基に対し、アルキレンオキシドを、通常50~2000モル重合させた後、末端をアルキルエーテル化する。次いで、ベンジル基やt-ブチル基などの保護基を切断して新たな水酸基を出現させる (下記化合物 (p0))。

40

## 【0063】

R が水素原子の化合物の場合、末端アルキルエーテル化の際、原料である2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-メタノールの水酸基を保護した保護基とは異なる保護基でエーテル化した後、2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-メタノールの水酸基を保護した保護基を切断して新たな水酸基を出現させる。この水酸基を、後記の方法

50

などによって官能基に変換した後、ポリオキシアルキレン鎖の末端水酸基の保護基を切断することにより得ることができる。

【 0 0 6 4 】

この様に、アルキレンオキシド付加重合反応を用いることで、高収率で、かつカラム精製することなく、工業的に適した方法で、高純度のポリアルキレングリコール誘導体を製造することができる。

【 0 0 6 5 】

2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールの水酸基を、保護基、例えばベンジルエーテル化する方法としては、以下の方法が挙げられる。

1) 非プロトン性溶媒もしくは無溶媒中、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリ触媒存在下、ベンジルクロリドまたはベンジルブロマイドと、2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールを反応させて得ることができる。

【 0 0 6 6 】

2) 非プロトン性溶媒もしくは無溶媒中、2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールの水酸基を金属ナトリウム、金属カリウム、水素化ナトリウム、水素化カリウム、ナトリウムメトキシド、カリウムメトキシド、カリウム - t - ブトキシド等を用いてアルコラート化させ、塩基性条件下、ベンジルクロリドまたはベンジルブロマイドと反応させて得ることができる。

【 0 0 6 7 】

3) 非プロトン性溶媒もしくは無溶媒中、2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールの水酸基をメタンスルホン酸クロリドや p - トルエンスルホン酸クロリド、2, 2, 2 - トリフルオロエタンスルホン酸クロリド等で活性化させ、ベンジルアルコールのアルコラートと反応させて得ることができる。

【 0 0 6 8 】

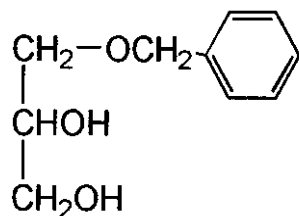
ベンジルエーテル化に続く環状アセタール構造の脱保護は、酢酸、リン酸、硫酸、塩酸等の酸にて pH1 ~ 4 に調整した水溶液中で反応させ、式 ( 7 ) の化合物を製造することができる。

【 0 0 6 9 】

環状アセタール構造の脱保護により新たに生成した 2 個の水酸基を有する下記式 ( 7 ) へのアルキレンオキシド付加重合は、特に制限されないが、以下の工程 ( D 1 )、工程 ( D 2 ) を経ることで製造することができる。

【 0 0 7 0 】

【 化 1 2 】



... (7)

【 0 0 7 1 】

工程 ( D 1 ) : 式 ( 7 ) の化合物をアルコラート化する方法としては、触媒として金属ナトリウム又は金属カリウムを用い、好適には金属ナトリウムを用い、触媒量を 5 ~ 50 モル%、10 ~ 50 で溶解させる。

【 0 0 7 2 】

工程 ( D 2 ) : 50 ~ 130 の反応温度でアルキレンオキシド付加重合する。

工程 ( D 1 ) における触媒量については、5 モル% 未満だとアルキレンオキシドの重合反応速度が遅くなり、熱履歴が増して末端ビニルエーテル体等の不純物が生じるため、5 モル% 以上とすることが高品質の高分子量体を製造する上で有利である。触媒が 50 モル% を超えると、アルコラート化反応の際に反応液の粘性が高まり、あるいは固化してしま

10

20

30

40

50



い、攪拌効率が低下し、アルコラート化が促進されない傾向がある。また固化した場合はハンドリングがしにくくなる傾向があり、吸湿の原因となる。アルコラート化物が吸湿してしまうと、水分由来のポリアルキレングリコール体が生成し、医薬品用途としては望ましくない不純物として混入してしまう。

【 0 0 7 3 】

溶解時の温度が 5 0 より高いと、分解反応がおき、ベンジルアルコールやグリセリンが生成する。ベンジルアルコールが生成した場合、目的物と同様にアルキレンオキシドとの付加重合が起き、目的物の 0.5 倍の分子量を有する低分子量不純物が生成する。ベンジルアルコール由来の低分子量不純物が生成した場合は、目的物と同様に次工程の水酸基のアルキルエーテル化工程、脱保護工程を経て官能基導入されるので、生体関連物質と反応可能な低分子量不純物となる。このような不純物は生体関連物質と反応し、製剤の物性を変化させる可能性がある。また、グリセリンが生成した場合も同様に、アルキレンオキシドとの付加重合が起き、目的物の 1.5 倍の分子量を有する高分子量不純物が生成する。この高分子量不純物は、ベンジル基がなく、末端水酸基がアルキルエーテル化されるのみであるため、官能基を有することはないが、このような不純物を含んだまま薬剤等との結合を行うと、得られる薬剤は不均一なものとなり、品質にバラツキが生ずる傾向がある。また高純度品が求められる医薬品用途には望ましくない。

10

【 0 0 7 4 】

1 0 より低い温度で溶解する場合、触媒量が 5 0 モル % より多い場合と同様、アルコラート化反応の際に反応液の粘性が高まり、あるいは固化してしまい、ハンドリングしにくくなる傾向があり、また吸湿の原因となる。

20

【 0 0 7 5 】

反応溶媒については、トルエン、ベンゼン、キシレン、アセトニトリル、酢酸エチル、テトラヒドロフラン、クロロホルム、塩化メチレン、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド等の非プロトン性溶媒であれば特に制限はないが、トルエンあるいは無溶媒が好ましい。反応時間については、1 ~ 2 4 時間が好ましい。1 時間より短いと触媒が完全に溶解しない恐れがある。2 4 時間より長いと、前述の分解反応が起きる恐れがある。

【 0 0 7 6 】

工程 ( D 2 ) における反応温度については、5 0 より低いと、重合反応の速度が遅く、熱履歴が増すことで、式 ( 6 ) の化合物の品質が低下する傾向がある。また、1 3 0 より高いと、重合中に末端のビニルエーテル化等の副反応が起き、目的物の品質が低下する傾向がある。重合中、分子量が大きくなるにつれ、反応液の粘度が上がるため、適宜非プロトン性溶剤、好適にはトルエンを加えても良い。

30

アルコラート化の工程における、もう一つの製造方法としては、下記工程 ( D 3 ) が挙げられる。

【 0 0 7 7 】

工程 ( D 3 ) : 触媒としてナトリウムメトキシド、カリウム - t - ブトキシド又はカリウムメトキシドを、更に好適にはナトリウムメトキシドを 5 ~ 5 0 モル % の量で添加し、6 0 ~ 8 0 で反応させる。このとき、より交換反応がおきやすいように、減圧操作を行っても良い。

40

【 0 0 7 8 】

触媒量については前述の通りの理由で 5 ~ 5 0 モル % の量が好ましい。反応温度については、6 0 より低いと、交換反応の反応率が低下し、メタノール等のアルコールが残存し、アルキレンオキシドの付加重合を経て、目的物の 1 / 2 倍の分子量を有する不純物が生成する。8 0 より高いと分解反応が起きる。このアルコラート化反応は温度を上げる必要があり、分解反応がおきやすいため、反応時間は 1 ~ 3 時間とするのが望ましい。1 時間より短いとアルコラート化反応率が低くなる恐れがある。また 3 時間より長いと、分解反応が起きる恐れがある。反応溶媒においては、非プロトン性溶媒であれば特に制限はないが、好ましくはトルエン、あるいは無溶媒である。

50

## 【 0 0 7 9 】

続く末端の 2 , 2 -ジメチル - 1 , 3 - ジオキソラン - 4 - メタノール化 ( I P G 化 ) は、下記の方法 ( 1 ) および ( 2 ) のいずれで行ってもよい。

( 1 ) ポリアルキレングリコール鎖末端をアルコラート化させ、メシル化した 2 , 2 -ジメチル - 1 , 3 - ジオキソラン - 4 - メタノール ( メタンスルホン酸 2 , 2 -ジメチル - 1 , 3 - ジオキソラン - 4 - メチル ) と反応させる方法。

( 2 ) ポリアルキレングリコール鎖末端水酸基をメタンスルホン酸クロリドや p - トルエンスルホン酸クロリド、 2 , 2 , 2 - トリフルオロエタンスルホン酸クロリド等で活性化させ、 2 , 2 -ジメチル - 1 , 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールのアルコラートと反応させる方法。

10

## 【 0 0 8 0 】

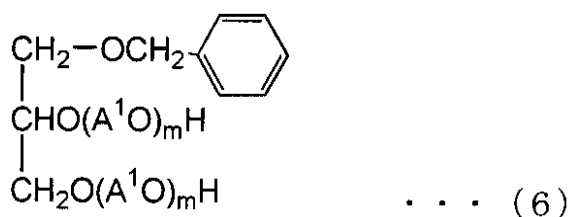
好適には ( 2 ) の方法であり、以下に、より詳細に説明する。

( 2 ) の製造方法は下記工程 ( C 1 ) 、工程 ( C 2 ) 、工程 ( C 3 ) よりなる。

工程 ( C 1 ) : 式 ( 6 ) で示される化合物に対し、脱ハロゲン剤、式 ( 6 a ) で示される化合物を加え、 2 0 ~ 6 0 において反応させ、式 ( 5 ) の化合物を得る工程。

## 【 0 0 8 1 】

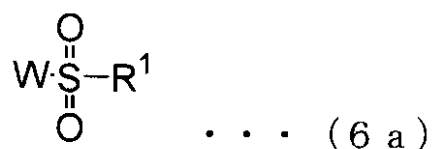
## 【 化 1 3 】



20

## 【 0 0 8 2 】

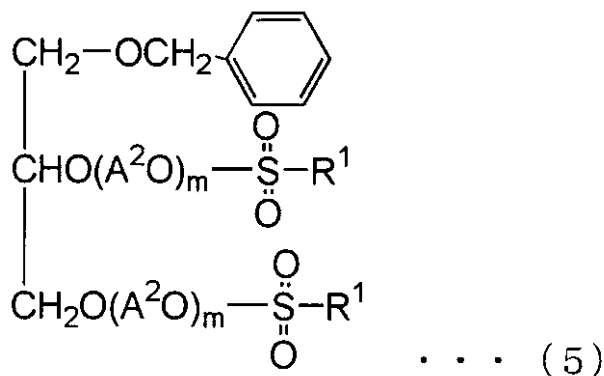
## 【 化 1 4 】



30

## 【 0 0 8 3 】

## 【 化 1 5 】



40

## 【 0 0 8 4 】

使用する脱ハロゲン剤としては、トリエチルアミン、ピリジン、4 - ジメチルアミノピリジン等の有機塩基、もしくは炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、炭酸カリウム、水酸化カリウム等の無機塩基が挙げられるが、好ましい脱塩酸剤はトリエチルアミン、ピリジン、4 - ジメチルアミノピリジン等の有機塩基である。また、この反応で使用する脱ハロゲン剤の量としては、式 ( 6 ) の水酸基1個に対

50

して1から8倍当量が好ましく、1から4倍当量がより好ましい。

【0085】

また、使用する式(6a)の化合物においては、Wは水酸基と反応性の基であり、Cl、Br等のハロゲンが好ましく、又R<sup>1</sup>は炭素数1～10のフッ素原子を含んでも良い炭化水素基であり、メチル基、フェニル基、p-メチルフェニル基が好ましいが、更に好適にはWがClでR<sup>1</sup>がメチル基であるメタンスルホニルクロリドが最も好ましい。また、この反応で使用する化合物(6a)の量としては、式(6)の水酸基1個に対して1から6倍当量が好ましく、1から3倍当量がより好ましい。

【0086】

このときに使用する溶剤としては、非プロトン性溶剤であれば特に制限されないが、好ましくはトルエン、ベンゼン、キシレン、アセトニトリル、酢酸エチル、テトラヒドロフラン、クロロホルム、塩化メチレン、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド等が挙げられ、更に好ましくは、反応系中の水分を共沸脱水除去できるトルエンである。反応時の使用溶剤量については、式(6)の化合物に対して0.5倍重量から10倍重量が好ましい。式(6)の分子量が大きい場合は反応液の粘度が高くなり、反応率が低下するために溶剤で希釈したほうが好ましい。

【0087】

反応温度については、特に制限されないが、副反応を抑制するためには60以下が好ましく、また反応液の粘度上昇を抑制する意味で20以上が好ましい。反応時間については1～24時間が好ましい。1時間より短いと、反応率が低い恐れがある。24時間より長くと、副反応が起こる恐れがある。

【0088】

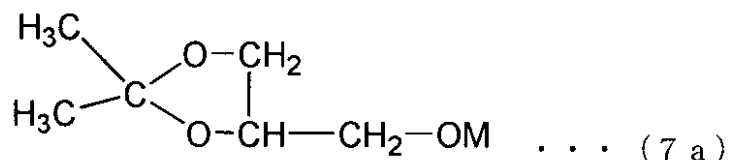
反応に際しては、反応前に共沸脱水等の原料脱水操作を行っても良い。また、2,6-ジ-tert-ブチル-p-クレゾール等の酸化防止剤を加えても良い。また、反応が進行し、式(5)の化合物が生成するのに伴い、塩が生成するが、反応終了後にそのまま次の工程に進んでも良いし、ろ過にて塩を除いても良いし、ろ過後に抽出、再結晶、吸着処理、再沈殿、カラムクロマトグラフィー、超臨界抽出等の精製手段にて式(5)の化合物を精製してもよい。

【0089】

工程(C2)：式(5)の化合物に、式(7a)で示される化合物を加え、20～80において反応させて式(4)の化合物を得る工程。

【0090】

【化16】



【0091】

式(7a)において、Mはナトリウム、カリウム等のアルカリ金属であり、好適にはナトリウムである。

【0092】

この反応で使用する化合物(7a)の量としては、式(5)の化合物(6a)由来の官能基1個に対して2から8倍当量が好ましく、2から5倍当量がより好ましい。

【0093】

この反応で使用する溶剤としては、前述の非プロトン性溶剤であれば特に制限されないが、好ましくはトルエンである。反応時の使用溶剤量については式(5)の化合物に対して0.5倍から10倍量が好ましい。式(5)の分子量が大きい場合は反応液の粘度が高くなるために溶剤で希釈したほうが好ましい。

【0094】

10

20

30

40

50

反応温度については、特に制限されないが、副反応を抑制するためには80以下が好ましく、また反応液の粘性上昇を抑制する意味で20以上が好ましい。反応時間については1～24時間が好ましい。1時間より短いと反応率が低い恐れがある。24時間より長いと、副反応が起こる恐れがある。反応に際しては、反応前に共沸脱水等の原料脱水操作を行っても良い。

【0095】

工程(C3)：反応液をろ過、又は反応液を10重量%以上の濃度の無機塩水溶液で水洗する工程。

ここで、無機塩については、特に種類は制限されないが、好適には食塩である。濃度については、10重量%より少ないと、目的物が水層へ移行し、歩留まりを落とす。この水洗操作は複数回繰り返しても良い。この工程(C3)は、過剰に添加した原料や副生した塩等除去するためであり、この工程を省略すると、次に工程(C1)～工程(C3)を再度行う場合は、副反応の原因となる恐れがある。

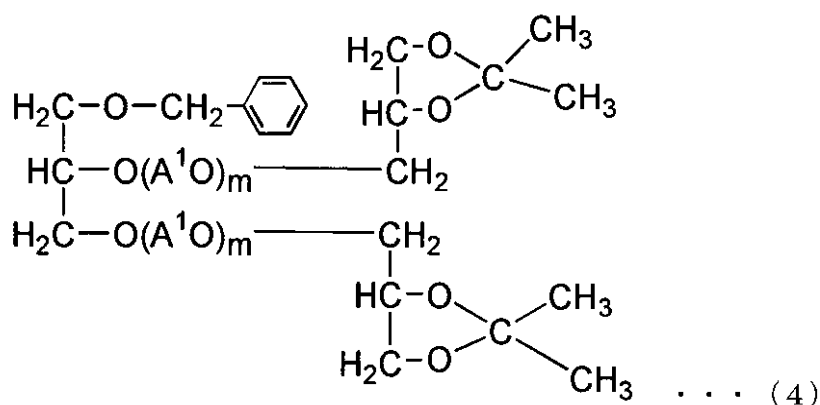
【0096】

また、オキシアルキレン鎖末端のIPG化率を高めるため、工程(C1)～工程(C3)を再度繰り返して行うことが好ましい。オキシアルキレン鎖末端のIPG化率が低いと、前述のように多官能の不純物が生成する恐れがある。

このようにして得られた式(4)の化合物は、抽出、再結晶、吸着処理、再沈殿、カラムクロマトグラフィー、超臨界抽出等の精製手段にて精製してもよい。

【0097】

【化17】

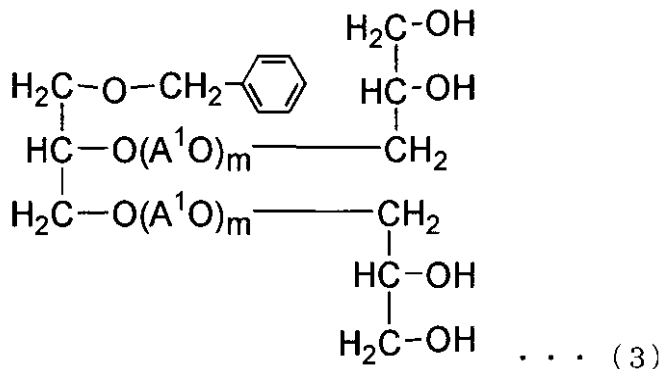


【0098】

式(4)の化合物の環状アセタール構造の脱保護を、酢酸、リン酸、硫酸、塩酸等の酸にてpH1～4に調整した水溶液とすることによって、式(3)の化合物を製造することができる。

【0099】

【化18】



## 【0100】

環状アセタール構造の脱保護により新たに生成した4個の水酸基を有する式(3)へのアルキレンオキシド付加重合による式(2)の化合物の製造は、特に制限されないが、以下の工程(B1)、工程(B2)を経ることで製造することができる。

## 【0101】

工程(B1): 式(3)の化合物をアルコラート化する方法としては、無溶媒もしくはトルエンなどの溶剤に溶解し、還流脱水を行った後、触媒としてナトリウムメトキシド、カリウム-t-ブトキシド又はカリウムメトキシドを用い、好適にはナトリウムメトキシドを用い、触媒量を生成した水酸基に対し2~25モル%、60~100 で加え、その後、60~100 、0.05~0MPaの真空で0.2~4時間かけて含有するメタノールを除去して交換反応を行う。さらに60~130 、0.05~0MPaの真空で含有するトルエンを除去する。

10

## 【0102】

工程(B2): 50~130 の反応温度でアルキレンオキシド付加重合する。

工程(B1)における触媒量については、2モル%未満だとアルキレンオキシドの重合反応速度が遅くなり、熱履歴が増して末端ビニルエーテル体等の不純物が生じるため、2モル%以上とすることが高品質の高分子量体を製造する上で有利である。触媒が25モル%を超えると、アルコラート化反応の際に反応液の粘性が高まり、あるいは固化してしまい、攪拌効率が低下し、アルコラート化が促進されない傾向がある。また固化した場合はハンドリングがしにくくなる傾向があり、吸湿の原因となる。アルコラート化物が吸湿してしまうと、水分由来のポリアルキレングリコール体が生成し、医薬品用途としては望ましくない不純物として混入してしまう。

20

## 【0103】

交換反応時の温度が60 より低いと、交換反応の反応率が低下し、メタノール等のアルコールが残存し、アルキレンオキシドの付加重合を経て、目的物とは異なる不純物が生成する。80 より高いと分解反応が起きる。このアルコラート化反応は温度を上げる必要があり、分解反応がおきやすいため、交換反応時間は0.2~4時間とするのが望ましい。0.2時間より短いとアルコラート化反応率が低くなる恐れがある。また4時間より長いと、分解反応が起きる恐れがある。

## 【0104】

トルエン除去の際、130 より高いと分解反応がおき、骨格構造からのポリオキシアルキレン鎖の脱離が起こり、分子量が半分のもので生成する。60 より低いと固化する恐れもあり、ハンドリングに問題がある。

30

## 【0105】

反応溶媒については、トルエン、ベンゼン、キシレン、アセトニトリル、酢酸エチル、テトラヒドロフラン、クロロホルム、塩化メチレン、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド等の非プロトン性溶媒であれば特に制限はないが、トルエンあるいは無溶媒が好ましい。反応時間については、1~24時間が好ましい。1時間より短いと触媒が完全に溶解しない恐れがある。24時間より長いと、前述の分解反応が起きる恐れがある。

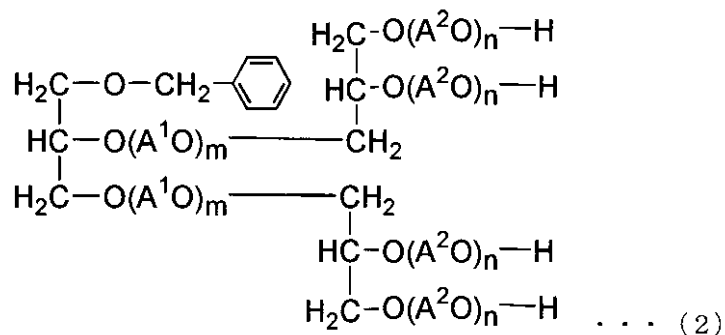
40

## 【0106】

工程(B2)における反応温度については、50 より低いと、重合反応の速度が遅く、熱履歴が増すことで、式(2)の化合物の品質が低下する傾向がある。また、130 より高いと、重合中に末端のビニルエーテル化等の副反応が起き、目的物の品質が低下する傾向がある。重合中、分子量が大きくなるにつれ、反応液の粘度が上がるため、適宜非プロトン性溶剤、好適にはトルエンを加えても良い。

## 【0107】

## 【化 1 9】



10

## 【 0 1 0 8】

続く末端のアルキルエーテル化は、下記の方法（１）および（２）のいずれで行ってもよい。

（１）ポリアルキレングリコール鎖末端をアルコラート化させ、ハロゲン化アルキルと反応させる方法。

（２）ポリアルキレングリコール鎖末端水酸基をメタンスルホン酸クロリドや p - トルエンスルホン酸クロリド、2, 2, 2 - トリフルオロエタンスルホン酸クロリド等で活性化させ、アルキルアルコールのアルコラートと反応させる方法。

## 【 0 1 0 9】

20

好適には（２）の方法であり、以下に、より詳細に説明する。

（２）の製造方法は下記工程（Ａ１）、工程（Ａ２）、工程（Ａ３）よりなる。

工程（Ａ１）：式（２）で示される化合物に対し、脱ハロゲン剤、式（６ a）で示される化合物を加え、20 ~ 60 において反応させる工程。

## 【 0 1 1 0】

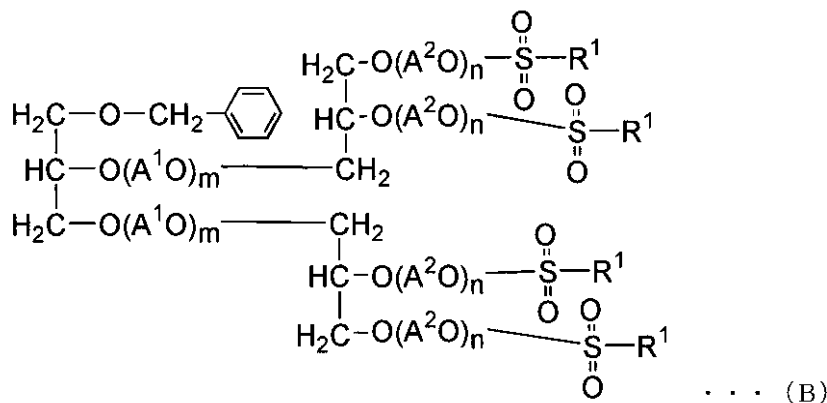
## 【化 2 0】



30

## 【 0 1 1 1】

## 【化 2 1】



40

## 【 0 1 1 2】

使用する脱ハロゲン剤としては、トリエチルアミン、ピリジン、4 - ジメチルアミノピリジン等の有機塩基、もしくは炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、炭酸カリウム、水酸化カリウム等の無機塩基が挙げられるが、好ましい脱塩酸剤はトリエチルアミン、ピリジン、4 - ジメチルアミノピリジン等の有機塩基で

50

ある。また、この反応で使用する脱ハロゲン剤の量としては、式(2)の水酸基1個に対して1から8倍当量が好ましく、1から4倍当量がより好ましい。

【0113】

また、使用する式(6a)の化合物においては、WがC1、Brが好ましく、又R<sup>1</sup>はメチル基、フェニル基、p-メチルフェニル基の場合が好ましいが、更に好適にはWがC1でR<sup>1</sup>がメチル基であるメタンスルホニルクロリドが最も好ましい。また、この反応で使用する化合物(6a)の量としては、式(2)の水酸基1個に対して1から6倍当量が好ましく、1から3倍当量がより好ましい。

【0114】

このときに使用する溶剤としては、非プロトン性溶剤であれば特に制限されないが、好ましくはトルエン、ベンゼン、キシレン、アセトニトリル、酢酸エチル、テトラヒドロフラン、クロロホルム、塩化メチレン、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド等が挙げられ、更に好ましくは、反応系中の水分を共沸脱水除去できるトルエンである。反応時の使用溶剤量については、式(2)の化合物に対して0.5倍重量から10倍重量が好ましい。式(2)の分子量が大きい場合は反応液の粘度が高くなり、反応率が低下するために溶剤で希釈したほうが好ましい。

【0115】

反応温度については、特に制限されないが、副反応を抑制するためには60以下が好ましく、また反応液の粘度上昇を抑制する意味で20以上が好ましい。反応時間については1~24時間が好ましい。1時間より短いと、反応率が低い恐れがある。24時間より長くと、副反応が起こる恐れがある。

【0116】

反応に際しては、反応前に共沸脱水等の原料脱水操作を行っても良い。また、2,6-ジ-tert-ブチル-p-クレゾール等の酸化防止剤を加えても良い。また、反応が進行し、式(B)の化合物が生成するのに伴い、塩が生成するが、反応終了後にそのまま次の工程に進んでも良いし、ろ過にて塩を除いても良いし、ろ過後に抽出、再結晶、吸着処理、再沈殿、カラムクロマトグラフィー、超臨界抽出等の精製手段にて式(B)の化合物を精製してもよい。

【0117】

工程(A2): 式(B)の化合物に、式(1a)で示される化合物を加え、20~80において反応させて式(0)の化合物を得る工程。

【0118】

【化22】



【0119】

式(1a)において、Rは前述の通りであり、Mはナトリウム、カリウム等のアルカリ金属であり、好適にはナトリウムである。

【0120】

この反応で使用する化合物(1a)の量としては、式(B)の化合物(6a)由来の官能基1個に対して2から8倍当量が好ましく、2から5倍当量がより好ましい。

【0121】

この反応で使用する溶剤としては、前述の非プロトン性溶剤であれば特に制限されないが、好ましくはトルエンである。反応時の使用溶剤量については式(B)の化合物に対して0.5倍から10倍量が好ましい。式(B)の分子量が大きい場合は反応液の粘度が高くなるために溶剤で希釈したほうが好ましい。

【0122】

反応温度については、特に制限されないが、副反応の抑制するためには80以下が好ましく、また反応液の粘性上昇を抑制する意味で20以上が好ましい。反応時間につい

10

20

30

40

50

ては 1 ~ 2 4 時間が好ましい。1 時間より短いと反応率が低い恐れがある。2 4 時間より長いと、副反応が起こる恐れがある。反応に際しては、反応前に共沸脱水等の原料脱水操作を行っても良い。

【 0 1 2 3 】

工程 ( A 3 ) : 反応液をろ過、又は反応液を 1 0 重量 % 以上の濃度の無機塩水溶液で水洗する工程。

ここで、無機塩については、特に種類は制限されないが、好適には食塩である。濃度については、1 0 重量 % より少ないと、目的物が水層へ移行し、著しく歩留まりを落とす。この水洗操作は複数回繰り返しても良い。この工程 ( A 3 ) は、過剰に添加した原料や副生した塩等除去するためであり、この工程を省略すると、次に工程 ( A 1 ) ~ 工程 ( A 3 ) を再度行う場合は、副反応の原因となる恐れがある。次工程として脱ベンジル工程を行う場合は、これらの不純物が触媒毒となり、反応率に影響を及ぼす恐れがある。

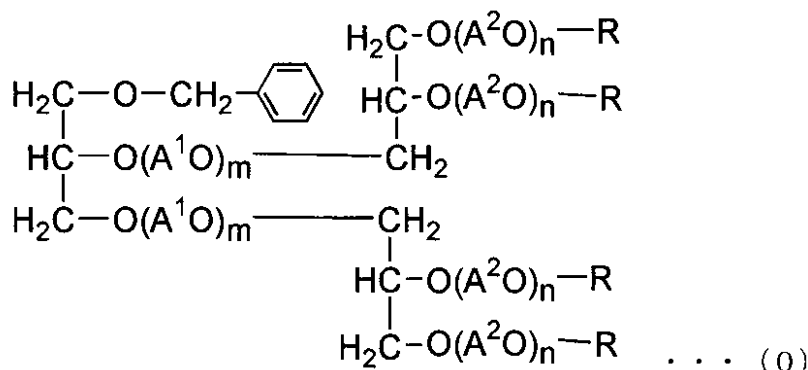
また、オキシアルキレン鎖末端のアルキルエーテル化率を高めるため、工程 ( A 1 ) ~ 工程 ( A 3 ) を再度繰り返して行うことが好ましい。オキシアルキレン鎖末端のアルキルエーテル化率が低いと、前述のように多官能の不純物が生成する恐れがある。

【 0 1 2 4 】

このようにして得られた式 ( 0 ) の化合物は、抽出、再結晶、吸着処理、再沈殿、カラムクロマトグラフィー、超臨界抽出等の精製手段にて精製してもよい。

【 0 1 2 5 】

【 化 2 3 】



【 0 1 2 6 】

続く脱ベンジル化による化合物 ( p 0 ) の製造は、特に制限されないが、水素化還元触媒、水素供与体を用い、次の工程 ( Z ) の水添反応にて製造することができる。

工程 ( Z ) : 式 ( 0 ) の化合物を水素化還元反応させる工程。

【 0 1 2 7 】

水素化還元触媒としては、金属触媒などが望ましく、好ましくはニッケル、パラジウム、特に好ましくはパラジウムである。担体については特に制限されないが、好ましくはアルミナ、カーボンであり、更に好適にはカーボンである。パラジウム量としては、式 ( 0 ) の化合物に対して 1 ~ 2 0 重量 % が好ましい。1 重量 % より少ないと、脱保護反応率が低くなり、次工程での官能基化率が低くなる恐れがある。また、2 0 重量 % より多いと、ポリアルキレングリコール鎖の分解反応が起き、前述の反応性低分子量体が副生する恐れがある。反応溶媒については、特に制限されないが、好ましくはメタノール、エタノール、2 - プロパノール等が挙げられ、更に好ましくはメタノールである。水素供与体については、特に制限されないが、水素ガス、シクロヘキセン、2 - プロパノール、ギ酸アンモニウム等が挙げられる。反応温度については、6 0 以下が好ましく、6 0 より高いとポリアルキレングリコール鎖の分解反応が起こり、反応性低分子量体が生成する恐れがある。反応時間については、特に制限はなく、触媒量が多いと短時間で反応が終了し、触媒量が少ないと長時間要するが、1 ~ 5 時間が好ましい。1 時間より短いと反応率が低い恐れがある。5 時間より長いと、ポリアルキレングリコール鎖の分解反応が起こる恐れがある。



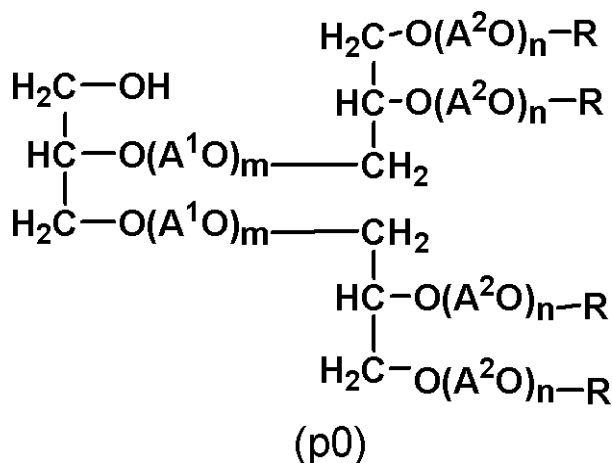
得られた式 ( p 0 ) の化合物は、抽出、再結晶、吸着処理、再沈殿、カラムクロマトグラフィー、超臨界抽出等の精製手段にて精製してもよい。

【 0 1 2 8 】

このようにして得られた化合物は、下記式 ( p 0 ) で表される、実質的に 2 級水酸基を含まない、ポリアルキレングリコール誘導体である。

【 0 1 2 9 】

【 化 2 4 】



10

【 0 1 3 0 】

( 式中、 $\text{A}^1\text{O}$ 、 $\text{A}^2\text{O}$  は炭素数 2 ~ 4 のオキシアルキレン基である。m は 2 0 ~ 5 0 0、n は 1 5 ~ 7 0 0、R は水素原子もしくは 1 ~ 2 0 個の炭素を含む基である。 )

【 0 1 3 1 】

式 ( p 0 ) の化合物は、実質的に 2 級水酸基を含まないので、次の官能基導入反応の反応率が高く、高純度のポリアルキレングリコール誘導体を得ることができる。2 級水酸基がある場合、官能基導入の反応率が低く、修飾された生体関連物質の中間体純度が低くなり、薬剤等に不純物が混入し、問題となる可能性がある。

【 0 1 3 2 】

特に製法は限定されるものではないが、化合物 ( p 0 ) の水酸基は次のような方法によってさまざまな官能基に変換することができる。例えば、Laboratory Synthesis of Polyethylene Glycol Derivatives ( J . MILTON HARRIS et al . )、POLY(ETHYLENE GLYCOL) CHEMISTRY ( J . MILTON HARRIS )、特開平 7 - 3 1 6 2 8 5 号公報、特表 2 0 0 7 - 5 0 8 4 2 7 号公報に記載があるような製法にて製造を行うことができる。また、多分岐ポリオキシアルキレン誘導体 ( 1 B ) の場合においても、同様の方法で官能基を導入することができる。

以下に各々の官能基を導入する製法の 1 例を示す。

【 0 1 3 3 】

( 1 ) ハロゲン化アルキルカルボン酸誘導体、無水コハク酸、無水グルタル酸などによるカルボキシル基の導入、およびその活性エステル化

40

ハロゲン化アルキルカルボン酸については、例えば水酸基を有する分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体をトルエンに溶解し、1 1 0 で脱水した後に 4 0 で水酸化カリウムを加え、6 - ブロモヘキサン酸エチルを滴下して反応させる。反応液に水を加えて加水分解した後、塩酸を用いて反応液を酸性とし、トルエン層を除いた後、クロロホルムで抽出し濃縮し、酢酸エチルで晶析して得ることができる。

【 0 1 3 4 】

また、水酸基を有する分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体をトルエンに溶解し、1 1 0 で脱水した後に酢酸ナトリウム、無水コハク酸または無水グルタル酸を加えて反応させる。冷却後、反応液をろ過し、ヘキサンで結晶化し、さらに酢酸エチルとヘキサンを用いて晶析を行ってポリオキシアルキレンコハク酸またはグルタル酸エステル誘導体を得るこ

50

とができる。

【0135】

これらのカルボキシル誘導体をトルエンに溶解し、40℃でN-ヒドロキシコハク酸イミド、ジシクロヘキシルカルボジイミドを加えて活性化し、その後、酢酸エチルとヘキサンで晶析して活性エステル化誘導体を得ることができる。

【0136】

(2) 塩化メタンスルホン酸によるメシル化

メシル化誘導体は、水酸基を有する分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体をトルエンに溶解し、110℃で脱水した後に40℃でトリエチルアミンとメタンスルホン酸を加えて反応し、エタノールを加えて反応を終了させた後、ろ過した反応液を酢酸エチルとヘキサンで晶析してメシル化誘導体を得ることができる。

10

【0137】

(3) チオ尿素、ジチオ炭酸エステルなどを用いたメルカプト基への変換

(2)で得られるメシル化誘導体を2-プロパノールに溶解し、チオ尿素を加え、40℃で反応した後、水酸化ナトリウム水溶液を加えて80℃で加水分解し、塩酸を用いて反応液を酸性とした後、クロロホルムで抽出し、濃縮後、エタノールとヘキサンで晶析してメルカプト化誘導体を得ることができる。

【0138】

(4) p-ニトロフェニルクロロカーボネート、ジサクシンイミジルカーボネート、カルボジイミダゾールなどによる活性炭酸エステル基の導入

20

p-ニトロフェニル炭酸エステル化誘導体は、水酸基を有する分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体をトルエンに溶解し、110℃で脱水した後に60℃でトリエチルアミンとp-ニトロフェニルクロロホルメートを加えて反応し、ろ過した反応液を酢酸エチルとヘキサンで晶析して活性炭酸エステル化誘導体を得ることができる。

【0139】

(5) シアノ化、水素化やメシル化、アミノ化によるアミノ基への変換

シアノ化誘導体は水酸基を有する分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体をイオン交換水に溶解し、氷冷下で水酸化カリウム水溶液を加え、アクリロニトリルを滴下して反応させる。中和後、クロロホルムで抽出し、濃縮後、酢酸エチルとヘキサンで晶析してシアノ化誘導体を得ることができる。

30

【0140】

シアノ化誘導体、トルエン、ニッケルなどの水素化触媒を高圧反応装置に加えて溶解し、130℃で4MPaまで水素を加えて反応させる。ろ過した反応液をヘキサンで結晶化してアミノ化誘導体を得ることができる。

【0141】

また、(2)で得られるメシル化誘導体をアンモニア水に溶解して60℃で反応させる。窒素バブリングによりアンモニアを除去した後、トルエンで抽出し、濃縮後、トルエンとヘキサンで結晶化してアミノ化誘導体を得ることができる。

【0142】

(6) マレアミド化、閉環反応によるマレイミド化、マレイミド化試薬(マレイミドプロピオン酸N-ヒドロキシコハク酸エステル、マレイミドカプロン酸N-ヒドロキシコハク酸エステルなど)によるマレイミド基の導入

40

(5)で得られるアミノ化誘導体をトルエンに溶解し、無水マレイン酸を反応させた後、酢酸エチルとヘキサンで晶析してマレアミド化誘導体を得ることができる。これをアセトニトリルに溶解し、酢酸ナトリウムと無水酢酸を加えて80℃で反応させる。その後、濃縮し、酢酸エチルとヘキサンで晶析してマレイミド化誘導体を得ることができる。

【0143】

また、(5)で得られるアミノ化誘導体をトルエンに溶解し、マレイミドプロピオン酸N-ヒドロキシコハク酸エステルを加えて反応させる。反応液をろ過し、酢酸エチルとヘキサンで晶析してマレイミド化誘導体を得ることができる。

50

## 【 0 1 4 4 】

( 7 ) アルキルアセタール化、加水分解によるアルデヒド基の導入

( 2 ) で得られるメシル化誘導体をトルエンに溶解し、3, 3 - ジエトキシプロパノールにナトリウムを溶解した溶液を加え、40 で反応させる。反応液をろ過後、酢酸エチルとヘキサンで晶析してプロピルアセタール化誘導体を得ることができる。これをイオン交換水に溶解し、リン酸を用いて酸性下において加水分解を行い、クロロホルムで抽出後、濃縮して反応液をろ過し、酢酸エチルとヘキサンで晶析してアルデヒド化誘導体を得ることができる。

## 【 0 1 4 5 】

( 8 ) アセチレン化試薬 ( プロパルギルアミンなど ) によるアセチレン基の導入

10

( 4 ) で得られる活性炭酸エステル化誘導体をトルエンに溶解し、プロパルギルアミンを40 で反応させた後、酢酸エチルとヘキサンで晶析してアセチレン化誘導体を得ることができる。

## 【 0 1 4 6 】

( 9 ) アジド化試薬 ( アジ化ナトリウムなど ) によるアジド基の導入

( 2 ) で得られるメシル化誘導体をトルエンに溶解し、アジ化ナトリウムを60 で反応させた後、反応液をろ過し、酢酸エチルとヘキサンで晶析してアジド化誘導体を得ることができる。

## 【 0 1 4 7 】

上記のような方法を用いて、式 ( p 0 ) の水酸基を生体関連物質と結合しうる反応性官能基に変換することができる。

20

## 【 0 1 4 8 】

本発明により、多分岐構造を有するポリオキシアルキレン基によって修飾された生体関連物質を得ることができる。この生体関連物質は、結合したポリオキシアルキレン基が多分岐構造を有することで活性点をつぶさずに大きな水和層を得ることができ、活性を維持することができる。

また、生体関連物質と化学結合を生成し得る官能基と多分岐構造の間に特定の分子量の2本鎖構造を有するため、生体関連物質とポリオキシアルキレン誘導体との反応性が高くなることで、生体関連物質のポリオキシアルキレン修飾物を効率よく得ることができる。

## 【 実施例 】

30

## 【 0 1 4 9 】

以下、実施例に基づいて本発明をさらに具体的に説明する。なお、例中の化合物の分析、同定には<sup>1</sup>H-NMRおよび水酸基価 ( OHV ) を用いた。

< <sup>1</sup>H-NMR の分析方法 > <sup>1</sup>H-NMR 分析では、日本電子データム ( 株 ) 製JNM-ECP400を用いた。NMR測定値における積分値は理論値である。

## 【 0 1 5 0 】

< OHV の分析方法 > : OHV 分析では、無水フタル酸法 ( J I S K 1 5 5 7 準拠 ) を用いて測定を行った。

## 【 0 1 5 1 】

水分量の測定は、カールフィッシャー水分計 ( メトローム・シバタ製「7S8 / 3 - 20型」 ) を用い、カールフィッシャー試薬は、「ハイドラメール・コンボジット2」 ( シグマアルドリッチ製 ) を用いた。

40

## 【 0 1 5 2 】

( 実施例 1 )

多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体 ( 1 ) の合成 ( R = メチル基、A<sup>1</sup>O、A<sup>2</sup>O = オキシエチレン基、n = 114、m = 170、分子量約40,000の場合 )

## 【 0 1 5 3 】

( 実施例 1 - 1 )

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機を付した2L四つ口フラスコへSolketal [ ALLDRICH製 ] を蒸留して得られた2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メ

50

タノール ( I P G ) 1050.0 g ( 7.94 mol )、脱水トルエン 1050.0 g、  
を加え、攪拌、窒素吹き込みをしながら、ナトリウム 36.5 g ( 1.59 mol ) を分割  
して加えながら溶解し、I P G ナトリウム化物 ( I P G - Na ) / トルエン溶液を得た。  
I P G 3.78 mmol / g、ナトリウム 0.76 mmol / g

【 0 1 5 4 】

( 実施例 1 - 2 )

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機を付した 1000 ml 丸底フラスコへ 2, 2 - ジメチ  
ル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノール 132.2 g ( 1.0 mol )、ナトリウムメ  
トキシド 28% メタノール溶液 231.4 g ( 1.2 mol )、トルエン 500 ml を加え  
、窒素を吹き込みながらトルエンを 1 時間減圧還流させ、メタノールを留去した。この溶  
液を 80 に保ちながら、ベンジルクロリド 126.6 g ( 1.0 mol ) を滴下漏斗を用  
いて、2 時間かけて滴下させ、更に 2 時間反応させた。反応液を脱溶媒、蒸留精製 ( b.p. 9  
3-95 / 266 Pa ) し、4 - ( ベンジルオキシメチル ) 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオ  
キソランを得た。

$^1\text{H}$  - NMR (  $\text{CDCl}_3$  , 内部標準 TMS ) ( ppm ) : 1.36, 1.42 ( 3H, 3H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$  )、3.45  
- 3.57 ( 2H, m,  $\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_2$  )、3.73-3.76 ( 1H, m,  $\text{CHO}-\text{C}(\text{CH}_3)_2$  )、4.03-4.07, 4.28-4.32 ( 2H  
, m,  $\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{Ph}$  )、4.57 ( 2H, q,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )、7.15-7.40 ( 5H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )、( Ph はフェニ  
ル基を示す )

【 0 1 5 5 】

( 実施例 1 - 3 )

1 L ビーカーに、1 - 2 で精製した 4 - ( ベンジルオキシメチル ) 2, 2 - ジメチル  
- 1, 3 - ジオキソラン 222 g ( 1.0 mol )、エタノール 250 ml、蒸留水 400  
ml を計りとり、リン酸で pH を 2 に調整した。窒素を吹き込みながら、溶液を 70 に  
加温し、1.5 時間反応後、水酸化ナトリウムで pH を 7.0 に調整し、吸着剤「キョーワ  
ード 1000」( 協和化学工業株式会社製 ) にて塩を吸着処理し、脱溶剤を行い、3 - ベ  
ンジルオキシ - 1, 2 - プロパンジオールを得た。

$^1\text{H}$  - NMR (  $\text{CDCl}_3$  , 内部標準 TMS ) ( ppm ) : 3.50-3.71 ( 4H, m,  $\text{CH}_2\text{OH}$  ,  $\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{Ph}$  )  
、3.86-3.91 ( 1H, m,  $\text{CHOH}$  )、4.54 ( 2H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )、7.27-7.38 ( 5H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )

【 0 1 5 6 】

( 実施例 1 - 4 )

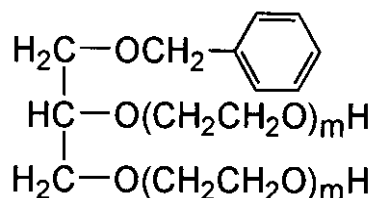
温度計、窒素吹き込み管、攪拌機を付した 300 ml 丸底フラスコへ 3 - ベンジルオキ  
シ - 1, 2 - プロパンジオール 27.3 g ( 0.15 mol )、脱水トルエン 127 g、金属ナト  
リウム 0.9 g ( 39 mmol : 26 mol % ) を加え、窒素を吹き込みながら金属ナトリウムが溶解す  
るまで室温で攪拌した。この溶液を 5 L オートクレーブへ仕込み、系内を窒素置換後、1  
00 に昇温し、100 ~ 150、1 MPa 以下の圧力でエチレンオキシド 1473 g  
( 33.5 mol ) を加えた後、更に 1 時間反応を続けた。減圧にて未反応のエチレンオキシドガ  
スを除去後、60 に冷却して 85% リン酸水溶液にて pH を 7.5 に調整し、下記化合  
物 ( p 1 ) を得た。

$^1\text{H}$  - NMR (  $\text{CDCl}_3$  , 内部標準 TMS ) ( ppm ) : 3.40-3.80 ( 901H, m,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{H}$ ,  
 $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{H}$ ,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{Ph}$  )、4.54 ( 2H, s,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )、7.27-7.38 ( 5H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )

分子量 ( OHV ) : 9,870 ( m = 約 112 )

【 0 1 5 7 】

## 【化 2 5】



(p 1)

m=約112

## 【0158】

10

(実施例 1 - 5)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、Dean-Stark管および冷却管を付した5L四つ口フラスコに、1-4で調製した化合物(p 1)を870g、トルエン3.0kg、2,6-ジ-tert-ブチル-p-クレゾール0.65gを加え、攪拌、窒素吹き込みをしながら60℃に加熱して溶解した。110℃に昇温し、トルエンと共沸させながら約250gの留分を抜き取り、脱水を行った。40℃まで冷却し、トリエチルアミン28.8gを加えた後、塩化メタンスルホン26.5gを30分かけて滴下しながら加え、40℃で3時間反応した。

## 【0159】

これに1-1で調製したIPG-Na/トルエン溶液685gを加え、40℃で3時間反応した。これに25重量%食塩水1.0kgを加え、50℃で15分攪拌、15分静置して下層を除去した。この水洗工程を5回行った。水洗後の上層を50℃、微減圧下で250gの留分を抜き取り、脱水を行った。さらに硫酸マグネシウムを加え、30分攪拌して脱水した。溶液をろ過して濾液を回収し、これにn-ヘキサン5.0kgを加えて結晶化し、結晶を濾取した後、n-ヘキサン5.0kgで結晶を洗浄した。結晶を濾取して真空下で乾燥して下記化合物(p 2)880gを得た。

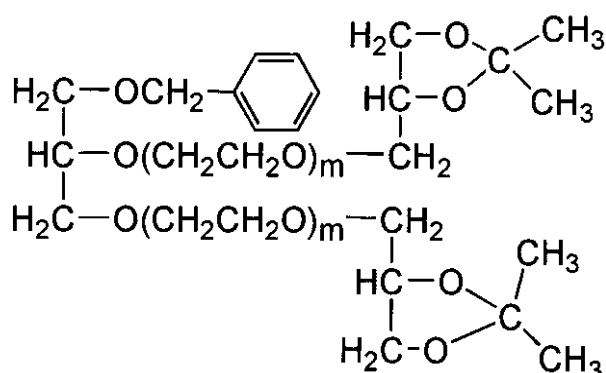
20

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準TMS) (ppm): 3.40-3.80(905H, m,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{Ph}$ )、4.54(2H, s,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ )、7.27-7.38(5H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ )、1.37(12H, d,  $(-\text{O}-)_2\text{C}(-\text{CH}_3)_2$ )、4.05(4H, m,  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-$ )

## 【0160】

30

## 【化 2 6】



(p 2)

m=約112

40

## 【0161】

(実施例 1 - 6)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、底栓を付した20Lフラスコに1-5で得られた化合物(p 2)750gをイオン交換水13.5kgを加え、窒素吹き込みをしながら溶解した。遮光しながら85%リン酸を滴下しながらpH1.80になるように加え、室温で3時間反応した。これに10N水酸化ナトリウム水溶液を加えて中和し、食塩2.7kgを

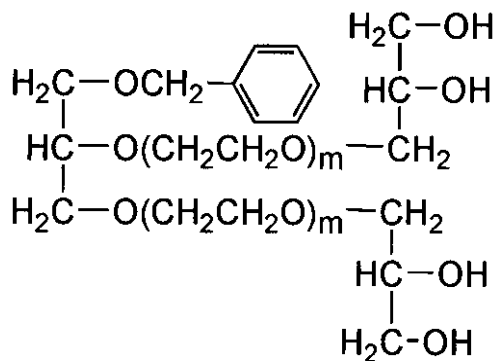
50

加え、さらに10N水酸化ナトリウム水溶液でpHを6.0~7.0に調整した。クロロホルム2.25Lで抽出し、下層抜き取り後、再度クロロホルム1.5Lを加えて抽出した。下層を合わせて濃縮し、濃縮残渣をトルエン2.5kgで溶解後、不溶物を濾別した濾液にn-ヘキサン1.9kgを加えて結晶化し、結晶を濾取した後、n-ヘキサン1.9kgで結晶を洗浄した。結晶を濾取して真空下で乾燥して下記化合物(p3)720gを得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準TMS) (ppm): 3.40-3.80(909H, m,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{Ph}$ ),  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-$ , 4.54(2H, s,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7.27-7.38(5H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ )

【0162】

【化27】



(p3)  $m \approx 112$

【0163】

(実施例1-7)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、Dean-Stark管および冷却管を付した5L四つ口フラスコに1-6で得られた化合物(p3)713g、トルエン2850gを加え、110で還流脱水した。60まで冷却後、ナトリウムメトキシド28%メタノール溶液5.38gを滴下して加え、その後、75、減圧下でメタノールを除去した。この反応液を温度計、窒素吹き込み管、攪拌機を付した5L耐圧容器に加え、さらに95、減圧下でトルエンを除去した。系内を窒素置換後、100に昇温し、100~150、1MPa以下の圧力でエチレンオキシド695gを滴下しながら加えた後、更に2時間反応を続けた。得られた反応物672gを抜き取った後、更に1MPa以下の圧力でエチレンオキシド639gを滴下しながら加えた後、更に2時間反応を続けた。この反応物にトルエン1230gを加えて溶解し、95、減圧下でトルエン520gを抜き取り脱水した後、1MPa以下の圧力でエチレンオキシド297gを滴下しながら加えた後、更に2時間反応を続けた。60に冷却して85%リン酸水溶液にてpHを7.5に調整し、下記化合物(p4)760gを得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準TMS) (ppm): 3.40-3.80(3,631H, m,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{Ph}$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ ), 4.54(2H, s,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7.27-7.38(5H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ )

分子量(OHV): 39,790 ( $n \approx 170$ )

【0164】

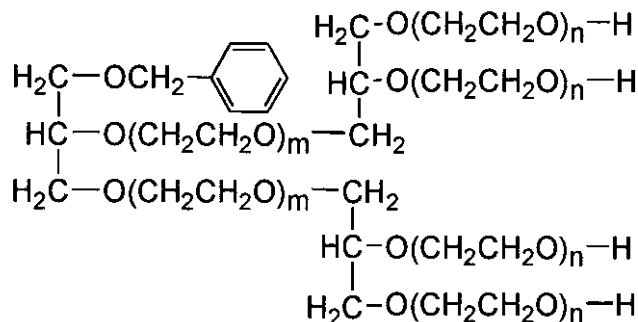
10

20

30

40

## 【化 2 8】



10

(p 4) m=約 112、n=約 170

## 【0165】

(実施例 1 - 8)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、Dean-Stark 管および冷却管を付した 500 mL 四つ口フラスコに、1 - 7 で調製した化合物 (p 4) 150 g、トルエン 640 g、2,6-ジ-tert-ブチル-p-クレゾール 0.11 g を加え、攪拌、窒素吹き込みをしながら 60 に加温して溶解した。110 に昇温し、トルエンと共沸させながら約 40 g の留分を抜き取り、脱水を行った。40 まで冷却し、トリエチルアミン 2.54 g を加えた後、塩化メタンスルホン 2.33 g を 10 分かけて滴下しながら加え、40 で 3 時間反応した。

20

## 【0166】

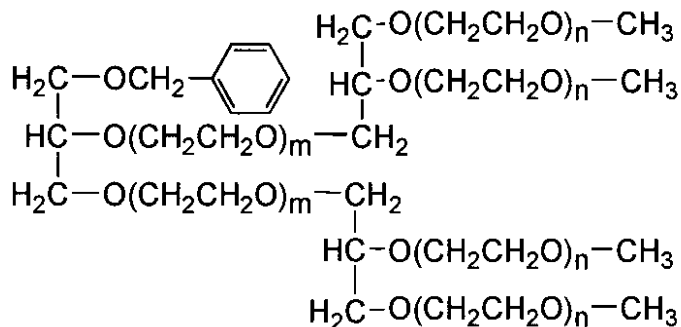
これにナトリウムメトキシド 28% メタノール溶液 9.07 g を加え、40 で 3 時間反応した。これに 25 重量% 食塩水 1.5 kg を加え、50 で 15 分攪拌、15 分静置して下層を除去した。この水洗工程を 2 回行った。水洗後の上層を 50、微減圧下で 200 g の留分を抜き取り、脱水を行った。さらに硫酸マグネシウムを加え、30 分攪拌して脱水した。溶液をろ過して濾液を回収し、これに n-ヘキサン 600 g を加えて結晶化し、結晶を濾取した後、n-ヘキサン 600 g で結晶を洗浄した。結晶を濾取して真空中で乾燥して下記化合物 (p 5) 130 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準 TMS) (ppm): 3.40-3.80 (3,631H, m,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ ,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{Ph}$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ ), 4.54 (2H, s,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7.27-7.38 (5H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.38 (12H, s,  $-\text{CH}_3$ )

30

## 【0167】

## 【化 2 9】



40

(p 5) m=約 112、n=約 170

## 【0168】

(実施例 1 - 9)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、及び冷却管を付した 500 mL 丸底フラスコへ 1 - 8 で調製した化合物 (p 5) 120 g、5% パラジウムカーボン (50% 含水品) 60 g を仕込み、窒素置換後、メタノール 1.2 L、シクロヘキセン 200 mL を加えて昇温し、

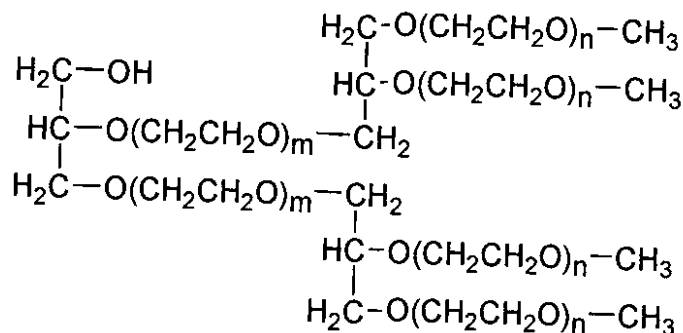
50

52～55 で緩やかに還流させ、3時間反応させた。反応液を室温まで冷却後、パラジウムカーボンを濾別し、濾液を濃縮した。濃縮液にトルエン1.2L、n-ヘキサン1.2Lを加えて晶析し、得られた結晶を濾取、乾燥して下記化合物(p6)107gを得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準TMS) (ppm): 3.40-3.80(3,631H, m,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ ), 3.38(12H, s,  $-\text{CH}_3$ )

【0169】

【化30】



(p6)  $m \approx 112$ ,  $n \approx 170$

【0170】

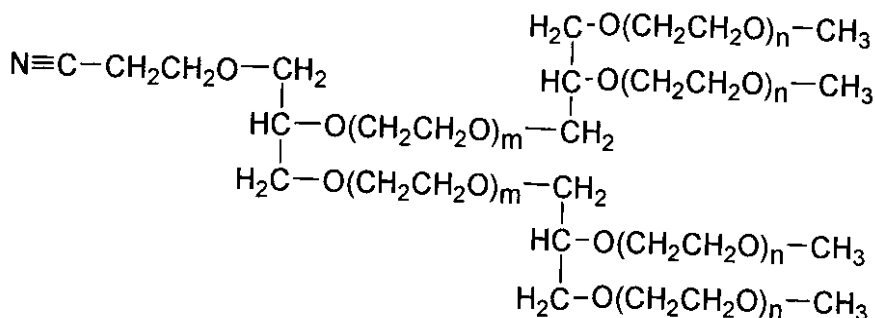
(実施例1-10)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、及び冷却管を付した500mL丸底フラスコへ1-9で調製した化合物(p6)50g、50%水酸化カリウム水溶液3.1g、イオン交換水50gを仕込み、窒素置換後、溶解し、10℃まで冷却後、アクリロニトリル50gを加え、4時間反応した。反応液をリン酸で中和後、酢酸エチル100gを加え不純物を抽出除去し、クロロホルム300gで目的物を抽出回収した。クロロホルム層に硫酸マグネシウムを加えて脱水、濾別した後、濾液を濃縮した。濃縮液に酢酸エチル500mL、n-ヘキサン500mLを加えて晶析し、得られた結晶を濾取、乾燥して下記化合物(p7)40gを得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準TMS) (ppm): 3.40-3.80(3,633H, m,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ ), 3.38(12H, s,  $-\text{CH}_3$ ), 2.62(2H, t,  $-\text{CH}_2\text{CN}$ )

【0171】

【化31】



(p7)  $m \approx 112$ ,  $n \approx 170$

【0172】

(実施例1-11)



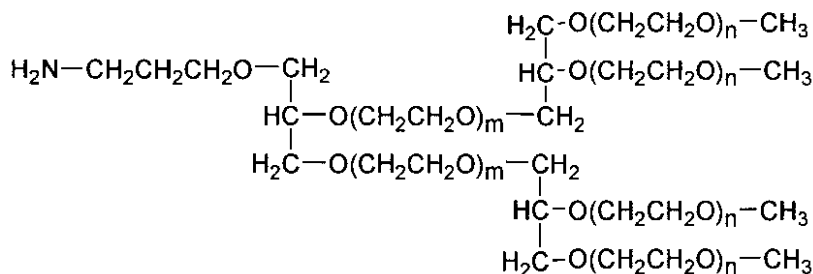
温度計、窒素吹き込み管、攪拌機を付した 1 L 耐圧容器へ 1 - 10 で調製した化合物 (p 7) 30 g、Ni 触媒 2.7 g、トルエン 545 g を仕込み、窒素置換後、60 で溶解し、アンモニアガスを 0.5 MPa、水素ガスを 3.5 MPa 加え、130 まで昇温して、3 時間反応した。冷却後、窒素バブリングにて脱ガスし、反応液をろ過後、濾液を濃縮した。濃縮液にトルエン 300 mL、n - ヘキサン 450 mL を加えて晶析し、得られた結晶を濾取、乾燥して下記化合物 (p 8) 25 g を得た。

$^1\text{H}$  - NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 内部標準 DSS) (ppm): 3.40-3.80 (3,633H, m,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ ), 3.38 (12H, s,  $-\text{CH}_3$ ), 2.80 (2H, t,  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 1.80 (2H, m,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ )

【0173】

【化32】

10



20

(p 8)  $m \approx 112$ ,  $n \approx 170$

【0174】

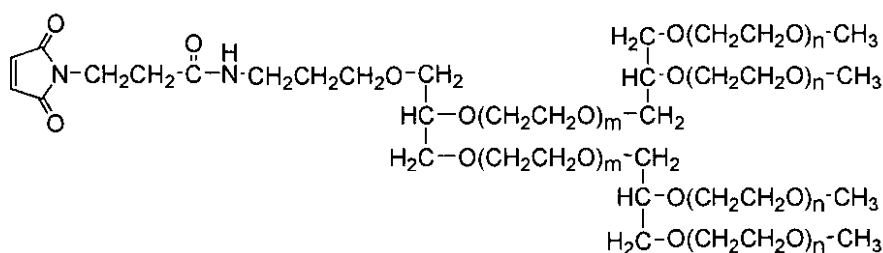
(実施例 1 - 12)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、及び冷却管を付した 500 mL 丸底フラスコへ 1 - 11 で調製した化合物 (p 8) 15 g、トルエン 78 g、アセトニトリル 12 g を仕込み、窒素置換後、40 で溶解し、25 に冷却した後、N - メチルモルホリン 0.19 g、マレイミドプロピオン酸 N - ヒドロキシコハク酸エステル 0.15 g を加え、5 時間反応した。反応液をろ過した後、濾液に酢酸エチル 150 g、n - ヘキサン 200 g を加えて晶析した。さらに得られた結晶にアセトニトリル 9 g、酢酸エチル 270 g、n - ヘキサン 200 g を加えて晶析し、得られた結晶を濾取、乾燥して下記化合物 (p 9) 14 g を得た。

$^1\text{H}$  - NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準 TMS) (ppm): 3.40-3.80 (3,633H, m,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ ,  $-\text{CH}_2\text{NHCO}$ ), 3.38 (12H, s,  $-\text{CH}_3$ ), 2.48 (2H, t,  $-\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2-$ ), 1.75 (2H, m,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$ ), 6.70 (2H, s,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ )

【0175】

【化33】



40

(p 9)  $m \approx 112$ ,  $n \approx 170$

【0176】

(実施例 1 - 13)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、及び冷却管を付した 500 mL 丸底フラスコへ 1 -

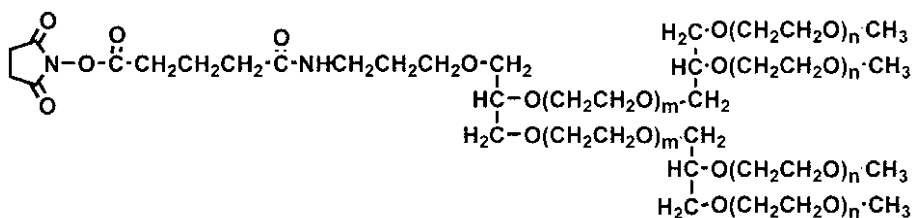
50

11で調製した化合物(p8)15g、トルエン65g、2,6-ジ-tert-ブチル-p-クレゾール0.0015g、酢酸ナトリウム0.15gを仕込み、窒素置換後、55で溶解し、無水グルタル酸0.33gを加え、5時間反応した。反応液にさらにN-ヒドロキシコハク酸イミド0.7gを加え、40に冷却後、N',N-ジシクロヘキシルカルボジイミド1.2gを加えて4時間反応した。反応液をろ過した後、濾液にn-ヘキサン105gを加えて晶析した。さらに得られた結晶にアセトニトリル12g、酢酸エチル110g、n-ヘキサン80gを加えて晶析し、得られた結晶を濾取、乾燥して下記化合物(p10)13gを得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準TMS) (ppm): 3.40-3.80(3,633H, m,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2-$ ,  $\text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ ,  $-\text{CH}_2\text{NHCO}$ ), 3.38(12H, s,  $-\text{CH}_3$ ), 2.7(2H, t,  $-\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}-$ ), 2.3(2H, t,  $-\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}-$ ), 2.1(2H, multi,  $-\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}-$ ), 1.75(2H, m,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$ ), 2.85(4H, s,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ )

【0177】

【化34】



(p10)  $m \approx 112$ ,  $n \approx 170$

【0178】

(実施例1-14) インシュリンの修飾

実施例1-13で得られた(p10)のコハク酸イミド体を用い、インシュリン(SERIOLOGICALS CORPORATION製、組換えヒトインシュリン、Mw 5800)の修飾を行った。

【0179】

0.1N炭酸ナトリウムバッファー(pH=9.0)を用い、インシュリンの10mg/mlバッファー溶液を調製した。この溶液100μl中に式(p10)の化合物6.9mgを加え、4で20時間反応させた。反応液全量を、Q-Sepharose FF(アマシャム社製)カラムにチャージし、20mM Tris-HClバッファー(pH=8.2)で平衡化した。平衡化後、バッファーに1Nとなる様NaClを加えた溶液をカラムに通し、UVにて溶出液をモニターしながら、(p10)により修飾されたインシュリンの分画を得た。この分画20μlとトリスSDSサンプル処理液20μlを混合後、沸騰水浴中で2分30秒加温し、この溶液20μlを、ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(4-20%)分析し、インシュリンが式(p11)に修飾されていることが示された。染色はCBB染色で行った。

【0180】

(実施例2)

多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体(1A)の合成( $R = \text{メチル基}$ ,  $A^1\text{O}$ ,  $A^2\text{O} = \text{オキシエチレン基}$ ,  $n = 114$ ,  $m = 85$ ,  $a = 3$ , 分子量約40,000の場合)

【0181】

(実施例2-1)

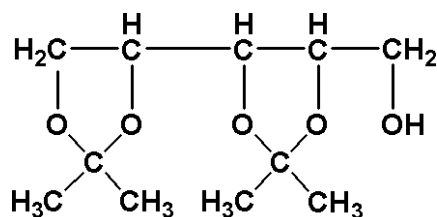
温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、底栓を付した2Lフラスコにキシリトール[和光純薬製]100g(0.66mol)、2,2-ジメトキシプロパン191.7g、p-トルエンスルホン酸一水和物3.74mgを加え、窒素吹き込みをしながら65に加温し、キシリトールが溶解するまで反応した。これを80に加温し、微減圧下で2,2-ジメトキシプロパン約54gの留分を抜き取り、さらに蒸留により下記化合物1,2,3,4

- ジイソプロピリデンキシリトール (以下 D I X Y と称する。p 1 1 ) 7 9 . 4 g を得た。

$^1\text{H}$  - N M R (  $\text{CDCl}_3$  , 内部標準 TMS ) ( ppm ) : 1.38, 1.44 (6H, 6H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$  )、3.58-3.67 (1H, m,  $\text{CHO}-\text{C}(\text{CH}_3)_2$  )、3.78-3.91 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_2$  )、3.96-4.03 (1H, m,  $\text{CHO}-\text{C}(\text{CH}_3)_2$  )、4.03-4.09 (2H, m,  $-\text{CH}_2\text{OH}$  )、4.18-4.24 (1H, m,  $\text{CHO}-\text{C}(\text{CH}_3)_2$  )

【 0 1 8 2 】

【 化 3 5 】



(p11)

10

【 0 1 8 3 】

(実施例 2 - 2)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機を付した 2 L 四つ口フラスコへ 2 - 1 で調製した化合物 D I X Y を 8 2 0 . 0 g ( 3 . 5 3 m o l )、脱水トルエン 8 2 0 . 0 g、を加え、攪拌、窒素吹き込みをしながら、ナトリウム 1 6 . 2 g ( 0 . 7 1 m o l ) を分割して加えながら溶解し、D I X Y ナトリウム化物 ( D I X Y - N a ) / トルエン溶液を得た。D I X Y 2 . 1 5 m m o l / g、ナトリウム 0 . 4 3 m m o l / g

20

【 0 1 8 4 】

(実施例 2 - 3)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、Dean - Stark 管および冷却管を付した 5 L 四つ口フラスコに、1 - 4 で調製した化合物 ( p 1 ) 8 7 0 g、トルエン 3 . 0 k g、2 , 6 - ジ - t e r t - ブチル - p - クレゾール 0 . 6 5 g を加え、攪拌、窒素吹き込みをしながら 6 0 に加温して溶解した。1 1 0 に昇温し、トルエンと共沸させながら約 2 5 0 g の留分を抜き取り、脱水を行った。4 0 まで冷却し、トリエチルアミン 2 8 . 8 g を加えた後、塩化メタンスルホン 2 6 . 5 g を 3 0 分かけて滴下しながら加え、4 0

30

で 3 時間反応した。

【 0 1 8 5 】

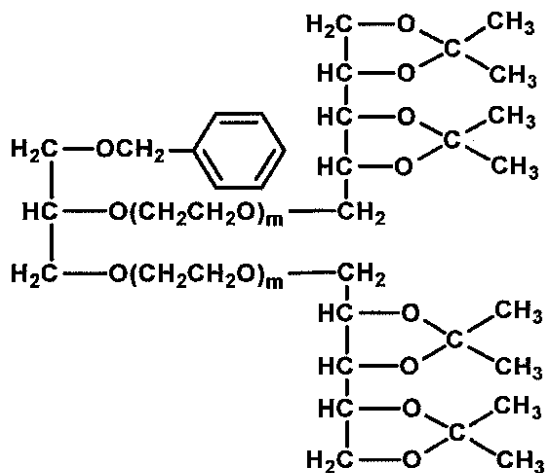
これに 2 - 2 で調製した D I X Y - N a / トルエン溶液 1 2 1 0 g を加え、4 0 で 3 時間反応した。これに 2 5 重量 % 食塩水 1 . 0 k g を加え、5 0 で 1 5 分攪拌、1 5 分静置して下層を除去した。この水洗工程を 5 回行った。水洗後の上層を 5 0、微減圧下で 2 5 0 g の留分を抜き取り、脱水を行った。さらに硫酸マグネシウムを加え、3 0 分攪拌して脱水した。溶液をろ過して濾液を回収し、これに n - ヘキサン 5 . 0 k g を加えて結晶化し、結晶を濾取した後、n - ヘキサン 5 . 0 k g で結晶を洗浄した。結晶を濾取して真空下で乾燥して下記化合物 ( p 1 2 ) 9 0 0 g を得た。

$^1\text{H}$  - N M R (  $\text{CDCl}_3$  , 内部標準 TMS ) ( ppm ) : 4.54 (2H, s,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )、7.27-7.38 (5H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )、1.37 (24H, d,  $(-\text{O}-)_2\text{C}(-\text{CH}_3)_2$  )

40

【 0 1 8 6 】

## 【化 3 6】



(p 1 2)

m=約112

10

## 【 0 1 8 7】

(実施例 2 - 4)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、底栓を付した20Lフラスコに2-3で得られた化合物(p12)750gをイオン交換水13.5kgを加え、窒素吹き込みをしながら溶解した。遮光しながら85%リン酸を滴下しながらpH1.80になるように加え、室温で3時間反応した。これに10N水酸化ナトリウム水溶液を加えて中和し、食塩2.7kgを加え、さらに10N水酸化ナトリウム水溶液でpHを6.0~7.0に調整した。クロロホルム2.25Lで抽出し、下層抜き取り後、再度クロロホルム1.5Lを加えて抽出した。下層を合わせて濃縮し、濃縮残渣をトルエン2.5kgで溶解後、不溶物を濾別した濾液にn-ヘキサン1.9kgを加えて結晶化し、結晶を濾取した後、n-ヘキサン1.9kgで結晶を洗浄した。結晶を濾取して真空中で乾燥して下記化合物(p13)708gを得た。

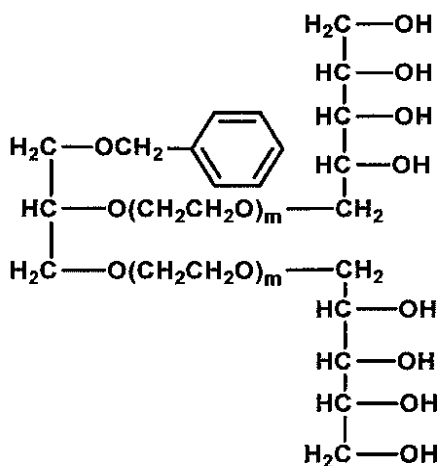
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準TMS) (ppm): 4.54(2H, s,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ )、7.27-7.38(5H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ )

20

30

## 【 0 1 8 8】

## 【化 3 7】



(p 1 3)

m=約112

40

## 【 0 1 8 9】

(実施例 2 - 5)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、Dean-Stark管および冷却管を付した5L

50

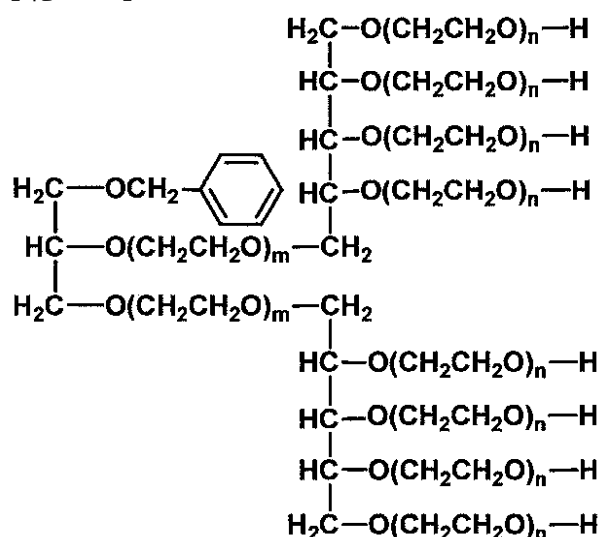
四つ口フラスコに 2 - 4 で得られた化合物 ( p 1 3 ) 7 0 0 g、トルエン 2 8 5 0 g を加え、1 1 0 °C で還流脱水した。6 0 分まで冷却後、ナトリウムメトキシド 2 8 % メタノール溶液 5 . 3 0 g を滴下して加え、その後、7 5 °C、減圧下でメタノールを除去した。この反応液を温度計、窒素吹き込み管、攪拌機を付した 5 L 耐圧容器に加え、さらに 9 5 °C、減圧下でトルエンを除去した。系内を窒素置換後、1 0 0 °C に昇温し、1 0 0 ~ 1 5 0 °C、1 M P a 以下の圧力でエチレンオキシド 7 0 5 g を滴下しながら加えた後、更に 2 時間反応を続けた。得られた反応物 6 8 0 g を抜き取った後、更に 1 M P a 以下の圧力でエチレンオキシド 6 5 0 g を滴下しながら加え、その後、更に 2 時間反応を続けた。6 0 分冷却して 8 5 % リン酸水溶液にて pH を 7 . 5 に調整し、下記化合物 ( p 1 4 ) 7 7 0 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$  (  $\text{CDCl}_3$  , 内部標準 TMS ) ( ppm ) : 4.54 ( 2H, s,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )、7.27-7.38 ( 5H, m,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )

分子量 (  $\text{OHV}$  ) : 40,494 (  $n = \text{約 } 87$  )

【 0 1 9 0 】

【 化 3 8 】



( p 1 4 )

$m = \text{約 } 112$ 、 $n = \text{約 } 87$

【 0 1 9 1 】

( 実施例 2 - 6 )

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、Dean-Stark管および冷却管を付した 5 0 0 mL 四つ口フラスコに、2 - 5 で調製した化合物 ( p 1 4 ) 1 5 0 g、トルエン 6 4 0 g、2,6-ジ-tert-ブチル-p-クレゾール 0 . 1 1 g を加え、攪拌、窒素吹き込みをしながら 6 0 °C に加温して溶解した。1 1 0 °C に昇温し、トルエンと共沸させながら約 4 0 g の留分を抜き取り、脱水を行った。4 0 分まで冷却し、トリエチルアミン 5 . 0 8 g を加えた後、塩化メタンスルホン 4 . 6 6 g を 1 0 分かけて滴下しながら加え、4 0 分で 3 時間反応した。

【 0 1 9 2 】

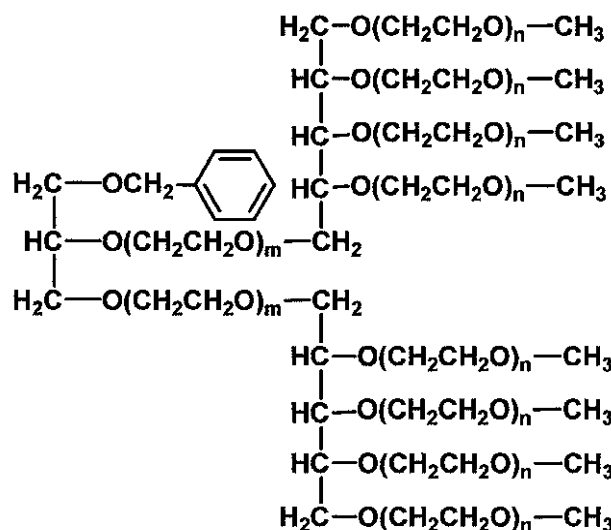
これにナトリウムメトキシド 2 8 % メタノール溶液 1 8 . 1 4 g を加え、4 0 °C で 3 時間反応した。これに 2 5 重量 % 食塩水 1 . 5 k g を加え、5 0 °C で 1 5 分攪拌、1 5 分静置して下層を除去した。この水洗工程を 2 回行った。水洗後の上層を 5 0 °C、微減圧下で 2 0 0 g の留分を抜き取り、脱水を行った。さらに硫酸マグネシウムを加え、3 0 分攪拌して脱水した。溶液をろ過して濾液を回収し、これに n - ヘキサン 6 0 0 g を加えて結晶化し、結晶を濾取した後、n - ヘキサン 6 0 0 g で結晶を洗浄した。結晶を濾取して真空下で乾燥して下記化合物 ( p 1 5 ) 1 2 0 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$  (  $\text{CDCl}_3$  , 内部標準 TMS ) ( ppm ) : 4.54 ( 2H, s,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$  )、7.27-7.38 ( 5H, m

,  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.38(24H, s,  $-\text{CH}_3$ )

【 0 1 9 3 】

【 化 3 9 】



10

(p 1 5)

$m = \text{約 } 112$ ,  $n = \text{約 } 87$

【 0 1 9 4 】

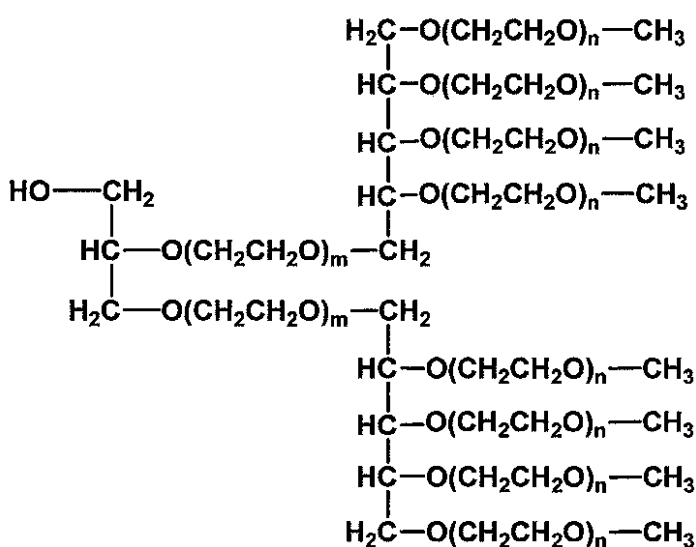
(実施例 2 - 7)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、及び冷却管を付した 500 mL 丸底フラスコへ 2 - 6 で調製した化合物 (p 1 5) 120 g、5%パラジウムカーボン(50%含水晶)60 g を仕込み、窒素置換後、メタノール 1.2 L、シクロヘキセン 200 mL を加えて昇温し、52 ~ 55 で緩やかに還流させ、3 時間反応させた。反応液を室温まで冷却後、パラジウムカーボンを濾別し、濾液を濃縮した。濃縮液にトルエン 1.2 L、n - ヘキサン 1.2 L を加えて晶析し、得られた結晶を濾取、乾燥して下記化合物 (p 1 6) 112 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準 TMS) (ppm): 3.38(24H, s,  $-\text{CH}_3$ )

【 0 1 9 5 】

【 化 4 0 】



40

(p 1 6)

$m = \text{約 } 112$ ,  $n = \text{約 } 87$

【 0 1 9 6 】

(実施例 2 - 8)

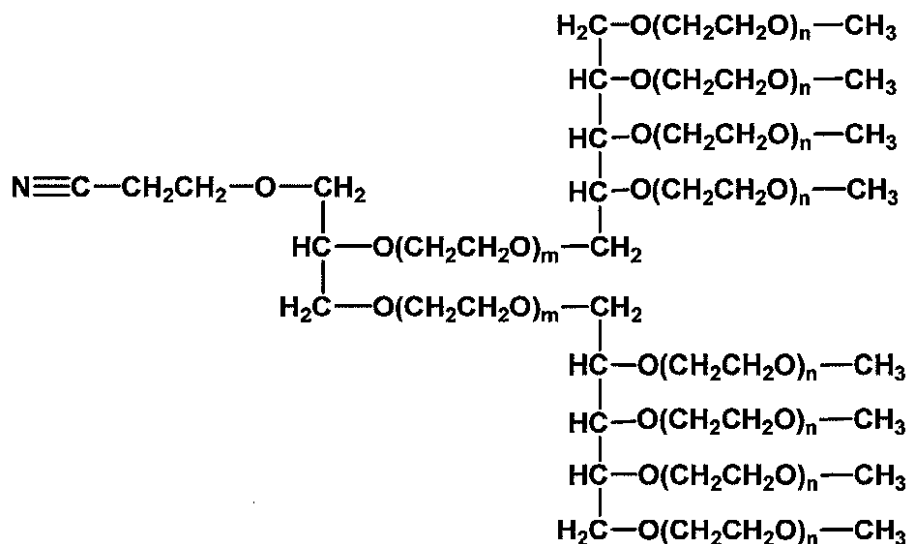
50

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、及び冷却管を付した 500 mL 丸底フラスコへ 2 - 7 で調製した化合物 (p 16) 50 g、50 % 水酸化カリウム水溶液 3.1 g、イオン交換水 50 g を仕込み、窒素置換後、溶解し、10 まで冷却後、アクリロニトリル 50 g を加え、4 時間反応した。反応液をリン酸で中和後、酢酸エチル 100 g を加え不純物を抽出除去し、クロロホルム 300 g で目的物を抽出回収した。クロロホルム層に硫酸マグネシウムを加えて脱水、濾別した後、濾液を濃縮した。濃縮液に酢酸エチル 500 mL、n - ヘキサン 500 mL を加えて晶析し、得られた結晶を濾取、乾燥して下記化合物 (p 17) 45 g を得た。

$^1\text{H}$  - NMR (CDCl<sub>3</sub>, 内部標準TMS) (ppm): 3.38(24H, s,  $-\text{CH}_3$ )、2.62(2H, t,  $-\text{CH}_2\text{CN}$ )

【0197】

【化41】



(p 17)

m=約112、n=約87

【0198】

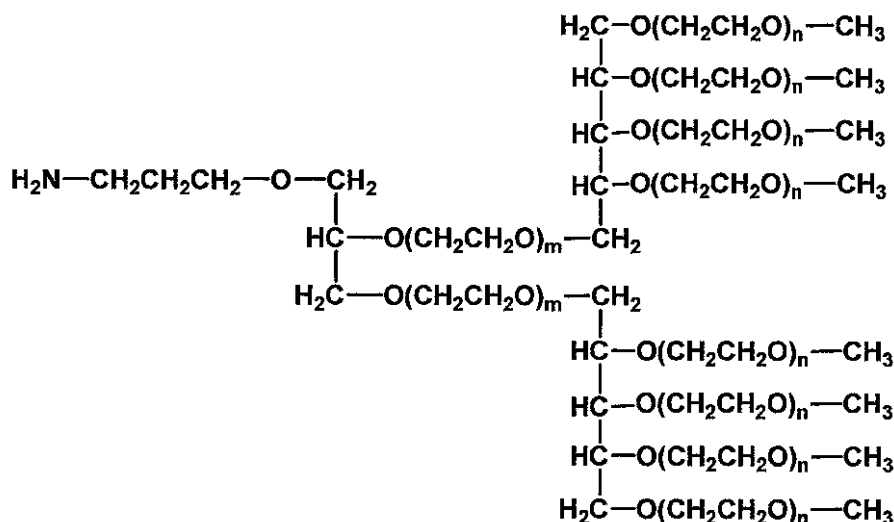
(実施例2-9)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機を付した 1 L 耐圧容器へ 2 - 8 で調製した化合物 (p 17) 30 g、Ni 触媒 2.7 g、トルエン 545 g を仕込み、窒素置換後、60 で溶解し、アンモニアガスを 0.5 MPa、水素ガスを 3.5 MPa 加え、130 まで昇温して、3 時間反応した。冷却後、窒素バブリングにて脱ガスし、反応液をろ過後、濾液を濃縮した。濃縮液にトルエン 300 mL、n - ヘキサン 450 mL を加えて晶析し、得られた結晶を濾取、乾燥して下記化合物 (p 18) 24 g を得た。

$^1\text{H}$  - NMR (D<sub>2</sub>O, 内部標準DSS) (ppm): 3.38(24H, s,  $-\text{CH}_3$ )、2.80(2H, t,  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ )、1.80(2H, m,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ )

【0199】

## 【化 4 2】



10

(p 1 8) m=約 1 1 2、n=約 8 7

## 【 0 2 0 0】

(実施例 2 - 1 0)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、及び冷却管を付した 5 0 0 m L 丸底フラスコへ 2 - 9 で調製した化合物 (p 1 8) 1 5 g、トルエン 7 8 g、アセトニトリル 1 2 g を仕込み、窒素置換後、4 0 で溶解し、2 5 に冷却した後、N - メチルモルホリン 0 . 1 9 g、マレイミドプロピオン酸 N - ヒドロキシコハク酸エステル 0 . 1 5 g を加え、5 時間反応した。反応液をろ過した後、濾液に酢酸エチル 1 5 0 g、n - ヘキサン 2 0 0 g を加えて晶析した。さらに得られた結晶にアセトニトリル 9 g、酢酸エチル 2 7 0 g、n - ヘキサン 2 0 0 g を加えて晶析し、得られた結晶を濾取、乾燥して下記化合物 (p 1 9) 1 3 g を得た。

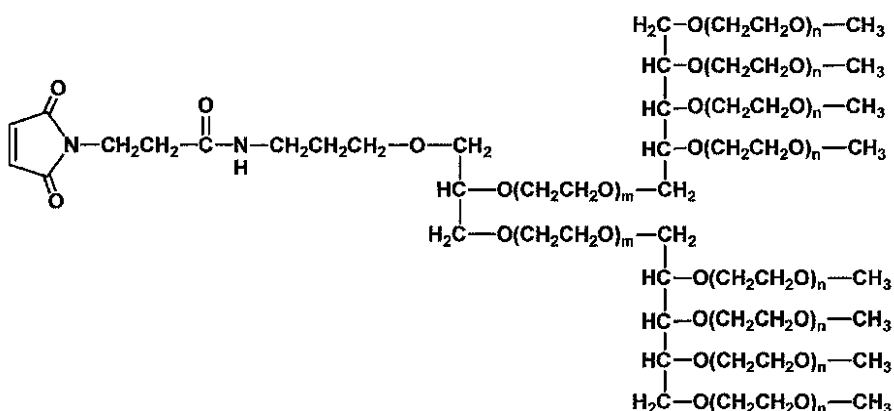
20

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 内部標準 TMS) (ppm): 3.38(24H, s,  $-\text{CH}_3$ )、2.48(2H, t,  $-\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2-$ )、1.75(2H, m,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$ )、6.70(2H, s,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ )

## 【 0 2 0 1】

30

## 【化 4 3】



40

(p 1 9) m=約 1 1 2、n=約 8 7

## 【 0 2 0 2】

(実施例 2 - 1 1)

温度計、窒素吹き込み管、攪拌機、及び冷却管を付した 5 0 0 m L 丸底フラスコへ 2 - 9 で調製した化合物 (p 1 8) 1 5 g、トルエン 6 5 g、2, 6 - ジ - t e r t - ブチル - p - クレゾール 0 . 0 0 1 5 g、酢酸ナトリウム 0 . 1 5 g を仕込み、窒素置換後、5

50

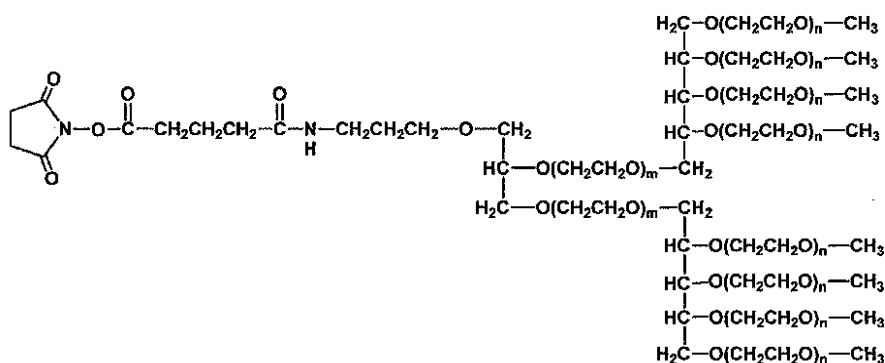


5 で溶解し、無水グルタル酸 0.33 g を加え、5 時間反応した。反応液にさらに N - ヒドロキシコハク酸イミド 0.7 g を加え、40 に冷却後、N', N - ジシクロヘキシルカルボジイミド 1.2 g を加えて 4 時間反応した。反応液をろ過した後、濾液に n - ヘキサン 105 g を加えて晶析した。さらに得られた結晶にアセトニトリル 12 g、酢酸エチル 110 g、n - ヘキサン 80 g を加えて晶析し、得られた結晶を濾取、乾燥して下記化合物 (p 20) 13 g を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 内部標準TMS) (ppm): 3.38(24H, s, -CH<sub>3</sub>)、2.7(2H, t, -NHCOC(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-)、2.3(2H, t, -NHCOC(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-)、2.1(2H, multi, -NHCOC(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-)、1.75(2H, m, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCO-)、2.85(4H, s, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-)

【 0 2 0 3 】

【化 4 4】



( p 2 0 )

$$m = \text{約} 112, \quad n = \text{約} 87$$

【 0 2 0 4 】

(実施例 2 - 1 2) インシュリンの修飾

実施例 2 - 11 で得られた ( p 2 0 ) のコハク酸イミド体を用い、インシュリン ( S E R O L O G I C A L S   C O R P O R A T I O N P N 製、組換えヒトインシュリン、Mw 5 8 0 0 ) の修飾を行った。

【 0 2 0 5 】

0.1 N炭酸ナトリウムバッファー (pH = 9.0) を用い、インシュリンの10 mg / ml バッファー溶液を調製した。この溶液100  $\mu$ l 中に式 (p20) の化合物6.9 mg を加え、4 で20時間反応させた。反応液全量を、Q-Sepharose FF (アマシャム社製) カラムにチャージし、20 mM Tris-HCl バッファー (pH = 8.2) で平衡化した。平衡化後、バッファーに1 Nとなる様NaClを加えた溶液をカラムに通し、UVにて溶出液をモニターしながら、(p20) により修飾されたインシュリンの分画を得た。この分画20  $\mu$ l とトリスSDSサンプル処理液20  $\mu$ l を混合後、沸騰水浴中で2分30秒加温し、この溶液20  $\mu$ l を、ドデシル硫酸ナトリウム - ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (4 - 20 %) 分析し、インシュリンが式 (p20) に修飾されていることが示された。染色はCBB染色で行った。

【 0 2 0 6 】

( 粘度の測定 )

実施例 1 - 9 で得られた化合物 ( p 6 )、実施例 2 - 7 で得られた化合物 ( p 1 6 ) を用い、粘度測定を行った。比較化合物として S U N B R I G H T M E H - 4 0 T、特開 2 0 0 4 - 1 9 7 0 7 7 号公報の実施例 1 6 に準じて合成した分子量 4 0 0 0 0 の 2 分岐型 P E G を用いた。

【 0 2 0 7 】

粘度の測定は、具体的には、下記のように行った。

ジメチルスルホキシドを用い、各試料の10%溶液を調製した。この溶液1mLを低温恒温水槽40℃にて加温されたE型粘度計RE-105(TOKI社製)のサンプルカップにチャージし、カップを粘度計に設置した後、粘度測定を行った。結果を下記表1に示

す。

【 0 2 0 8 】

【表 1】

	分岐数	粘度 (m P a ・ s)
化合物 (p 6)	4	2 3 . 9
化合物 (p 1 6)	8	1 8 . 8
SUNBRIGHT MEH-40T	1	5 7 . 1
2分岐型PEG	2	5 0 . 3

10

【 0 2 0 9 】

表 1 より明らかなように、本発明で得られた化合物は分岐を増やすことで粘度を低減できるため、製法上での問題が生じないばかりか、生体関連物質の修飾に使用した際の操作性の向上が期待できる。

【産業上の利用可能性】

【 0 2 1 0 】

本発明の多分岐鎖ポリオキシアルキレン誘導体 ( 1 A ) は、多分岐構造を有することで生体関連物質の活性点を残したままで大きな水和層を得ることができるので、該誘導体にて修飾された生体関連物質はその活性を低下させることが殆どなく、十分な薬理効果を得ることができる。さらに、当該ポリオキシアルキレン誘導体は分岐を増やすことで粘度を低減させることができ、製法上での問題が生じないため、純度良く製造することができる。さらに、粘度が低減することによって生体関連物質の修飾に使用した際の取り扱いが容易となる。

20

したがって、該誘導体は生体関連物質を活性物質とする医薬品に有意に利用できる。

---

フロントページの続き

審査官 井津 健太郎

- (56)参考文献 特開2004-197077(JP,A)  
特表2005-514505(JP,A)  
特開平09-302087(JP,A)  
特開2000-044674(JP,A)  
特開2000-001542(JP,A)  
特開平07-216095(JP,A)  
特表2007-503514(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
C08G 65/00-65/48