



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2010년10월20일
(11) 등록번호 10-0988733
(24) 등록일자 2010년10월13일

(51) Int. Cl.

C08G 65/28 (2006.01) C08G 65/32 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2005-7009090

(22) 출원일자(국제출원일자) 2003년11월20일

심사청구일자 2008년07월31일

(85) 번역문제출일자 2005년05월19일

(65) 공개번호 10-2005-0083923

(43) 공개일자 2005년08월26일

(86) 국제출원번호 PCT/JP2003/014844

(87) 국제공개번호 WO 2004/046222

국제공개일자 2004년06월03일

(30) 우선권주장

JP-P-2002-00337113 2002년11월20일 일본(JP)

(56) 선행기술조사문현

JP08059818 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문현

(73) 특허권자

니치유 가부시키가이샤

일본국 도쿄도 시부야구 에비스 4쵸메 20반 3고

(72) 발명자

나카모토 겐이치로

일본 가나가와Ken 요코하마시 세야쿠 흥고

2-13-1-503

오하시 슌스케

일본 가나가와Ken 가와사키시 가와사키쿠 후지사키

2-3-9

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이병호, 장훈

전체 청구항 수 : 총 27 항

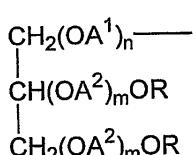
심사관 : 김장강

(54) 개질된 생체 관련 물질, 이의 제조방법 및 중간체

(57) 요약

분자 중에 1개 이상의 화학식 1의 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹이 결합하여 이루어진 개질된 생체 관련 물질.

화학식 1



상기 화학식 1에서,

R은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이고, R은 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

OA^1 및 OA^2 는 각각 탄소수 2 내지 4의 옥시알킬렌 그룹이고, OA^2 는 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

n 및 m은 각각 옥시알킬렌 그룹의 평균 부가 몰수이며, n은 0 내지 1000이고, m은 10 내지 1000이다.

대 표 도 - 도1



(A) (B) (C)

(72) 발명자

야마모토 유지

일본 도쿄도 시나가와쿠 에바라 6-8-4-102

사카노우에 겐지

일본 가나가와켄 가와사키시 가와사키쿠 후지사카
2-3-9

이토 치카

일본 가나가와켄 가와사키시 나카하라쿠 이치노쓰
보 291-8-503

야스코치 도루

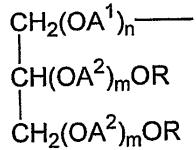
일본 가나가와켄 요코하마시 츠즈키쿠 치가사카히
가시 1-1-3-401

특허청구의 범위

청구항 1

분자 중에 1개 이상의 화학식 1의 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹이 결합하여 이루어진, 개질된 생체 관련 물질.

화학식 1



상기 화학식 1에서

R은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이고, R은 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

OA^1 및 OA^2 는 각각 탄소수 2 내지 4의 옥시알킬렌 그룹이고, OA^2 는 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

n 및 m은 각각 옥시알킬렌 그룹의 평균 부가 몰수이며, n은 0 내지 1000이고, m은 10 내지 1000이다.

청구항 2

제1항에 있어서, R이 메틸 그룹이고, OA^1 및 OA^2 가 각각 옥시에틸렌 그룹이며, n이 0 내지 50이고, m이 20 내지 800인, 개질된 생체 관련 물질.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, n이 0인, 개질된 생체 관련 물질.

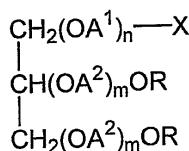
청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, n이 1 내지 50인, 개질된 생체 관련 물질.

청구항 5

화학식 2의 화합물임을 특징으로 하는, 개질된 생체 관련 물질의 중간체.

화학식 2



상기 화학식 2에서,

R은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이고, R은 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

OA^1 및 OA^2 는 각각 탄소수 2 내지 4의 옥시알킬렌 그룹이고, OA^2 는 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

n 및 m은 각각 옥시알킬렌 그룹의 평균 부가 몰수이며, n은 0 내지 1000이고, m은 10 내지 1000이며,

X는 개질 전의 생체 관련 물질과 화학 반응할 수 있는 관능 그룹이다.

청구항 6

제5항에 있어서, R이 메틸 그룹이고, OA^1 및 OA^2 가 각각 옥시에틸렌 그룹이며, n이 0 내지 50이고, m이 20 내지

800인, 개질된 생체 관련 물질의 중간체.

청구항 7

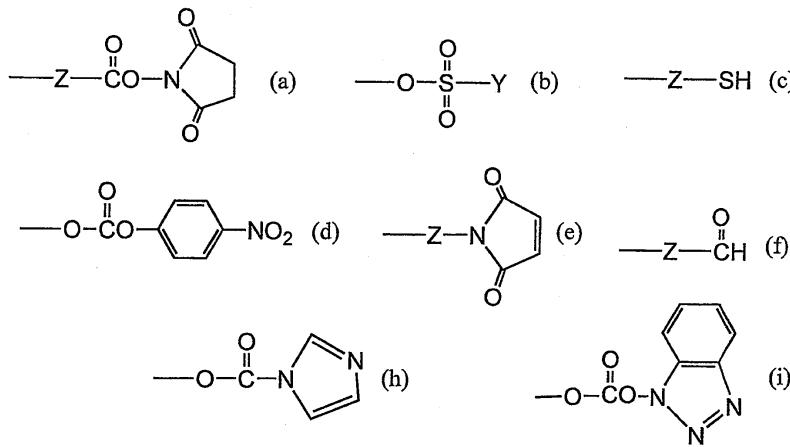
제5항에 있어서, n 이 0인, 개질된 생체 관련 물질의 중간체.

청구항 8

제5항 또는 제6항에 있어서, n 이 1 내지 50인, 개질된 생체 관련 물질의 중간체.

청구항 9

제5항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 있어서, X가 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (c), 화학식 (d), 화학식 (e), 화학식 (f), 화학식 (h) 및 화학식 (i)의 화합물로부터 선택된 그룹인, 개질된 생체 관련 물질의 중간체.



상기 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (c), 화학식 (d), 화학식 (e), 화학식 (f), 화학식 (h) 및 화학식 (i)에서,

Z는 알킬렌 그룹이거나, 에테르 결합, 에스테르 결합, 우레탄 결합, 아미드 결합, 카보네이트 결합 또는 2급 아미노 그룹을 함유하는 알킬렌 그룹이고,

Y는 탄소수 1 내지 10의 불소 원자를 함유할 수 있는 탄화수소 그룹이다.

청구항 10

제5항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 있어서, X가 화학식 (g), 화학식 (j) 및 화학식 (k)의 화합물 중에서 선택된 그룹인, 개질된 생체 관련 물질의 중간체.

-Z-NH₂ (g), -NH₂ (j), -Z-COOH (k)

상기 화학식 (g), 화학식 (j) 및 화학식 (k)에서,

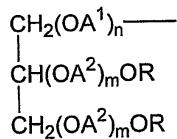
Z는 알킬렌 그룹이거나, 에테르 결합, 에스테르 결합, 우레탄 결합, 아미드 결합, 카보네이트 결합 또는 2급 아미노 그룹을 함유하는 알킬렌 그룹이다.

청구항 11

분자 중에 1개 이상의 화학식 1의 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹이 결합하여 이루어진 개질된 생체 관련 물질의 제조방법으로서,

생체 관련 물질에 제5항 내지 제7항 중의 어느 한 항에 따르는 중간체를 결합시키는 공정을 포함하는 것을 특징으로 하는, 개질된 생체 관련 물질의 제조방법.

화학식 1



상기 화학식 1에서

R은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이고, R은 하나의 문자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

OA^1 및 OA^2 는 각각 탄소수 2 내지 4의 옥시알킬렌 그룹이고, OA^2 는 하나의 문자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

n 및 m은 각각 옥시알킬렌 그룹의 평균 부가 몰수이며, n은 0 내지 1000이고, m은 10 내지 1000이다.

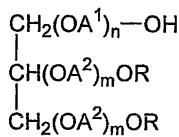
청구항 12

제11항에 따르는 방법에 따라 수득되는, 개질된 생체 관련 물질.

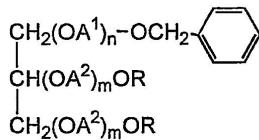
청구항 13

제5항에 따르는 중간체의 원료인, 화학식 p의 화합물임을 특징으로 하는 폴리알킬렌 글리콜 유도체로서, 젤 침투 크로마토그래피에서 용출 개시점으로부터 용출 종료점까지의 전체 피크에서의 다분산도(M_w/M_n)가 $M_w/M_n \leq 1.07$ 로 되는 관계를 만족시키고, 화학식 4의 화합물을 원료로 하고, $Hrd/M_p \times 1,000,000 \leq 3$ (여기서, M_p 는 화학식 p의 젤 침투 크로마토그래피에서 수득되는 피크 정점에 상당하는 분자량이며, Hrd 는 화학식 4의 화합물의 제2위치 및 제3위치의 폴리옥시알킬렌쇄 말단에서 알킬 그룹 R에 포함된 하이드록실 그룹 잔기의 비율이다)으로 되는 관계를 만족시키는, 폴리알킬렌 글리콜 유도체.

화학식 p



화학식 4



상기 화학식 p 및 4에서,

R은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이고, R은 하나의 문자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

OA^1 및 OA^2 는 각각 탄소수 2 내지 4의 옥시알킬렌 그룹이고, OA^2 는 하나의 문자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

n 및 m은 각각 옥시알킬렌 그룹의 평균 부가 몰수이며, n은 0 내지 1000이고, m은 10 내지 1000이다.

청구항 14

제13항에 있어서, R이 메틸 그룹이고, OA^1 및 OA^2 가 각각 옥시에틸렌 그룹이며, n이 0 내지 50이고, m이 50 내지 800인, 폴리알킬렌 글리콜 유도체.

청구항 15

제13항에 있어서, n이 0인, 폴리알킬렌 글리콜 유도체.

청구항 16

제13항 또는 제14항에 있어서, n이 1 내지 50인, 폴리알킬렌 글리콜 유도체.

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

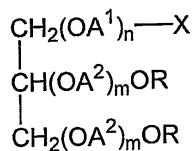
청구항 19

제15항에 있어서, $M2/(M1+M2) \times 100 \leq 10$ (여기서, M1은 화학식 p의 화합물과 메탄설포닐 클로라이드를 반응시켜 메실화물을 수득하고 중메탄을 용액으로 혼자기 공명 스펙트럼을 수득하는 경우, 글리세린 골격에 직접 결합된 제1위치의 하이드록실 그룹으로부터 유도된 메실 그룹 유래의 메틸 그룹 적분치이고, M2는 폴리알킬렌 글리콜 쇄의 하이드록실 그룹으로부터 유도된 메실 그룹 유래의 메틸 그룹 적분치이다)으로 되는 관계를 만족시키는, 폴리알킬렌 글리콜 유도체.

청구항 20

제13항 내지 제15항 중의 어느 한 항에 따르는 폴리알킬렌 글리콜 유도체를 원료로 사용하는, 화학식 2의 개질된 생체 관련 물질의 중간체의 제조방법.

화학식 2



상기 화학식 2에서,

R은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이고, R은 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

OA^1 및 OA^2 는 각각 탄소수 2 내지 4의 옥시알킬렌 그룹이고, OA^2 는 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

n 및 m은 각각 옥시알킬렌 그룹의 평균 부가 몰수이며, n은 0 내지 1000이고, m은 10 내지 1000이며,

X는 개질 전의 생체 관련 물질과 화학 반응할 수 있는 관능 그룹이다.

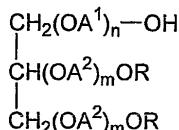
청구항 21

제20항의 방법에 따라 수득되는, 개질된 생체 관련 물질의 중간체.

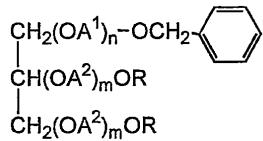
청구항 22

화학식 4의 화합물을 반응계 중의 함수량이 1% 이하인 조건에서 수소화 환원반응시키는 공정(A)을 포함하는, 화학식 p의 폴리알킬렌 글리콜 유도체의 제조방법.

화학식 p



화학식 4



상기 화학식 p 및 화학식 4에서,

R은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이고, R은 하나의 문자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

OA^1 및 OA^2 는 각각 탄소수 2 내지 4의 옥시알킬렌 그룹이고, OA^2 는 하나의 문자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

n 및 m은 각각 옥시알킬렌 그룹의 평균 부가 몰수이며, n은 0 내지 1000이고, m은 10 내지 1000이다.

청구항 23

제22항에 있어서, 수소화 환원 촉매로 팔라듐을 사용하고, 팔라듐의 양을 화학식 4의 화합물에 대해 1 내지 20 중량%로 가하며, 환원반응을 40°C 이하의 온도에서 수행하는, 화학식 p의 폴리알킬렌 글리콜 유도체의 제조방법.

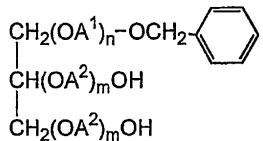
청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, 공정(A)의 전(前)공정으로서,

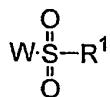
화학식 5의 화합물에 탈할로겐화제인 화학식 6의 화합물을 가하고 20 내지 60°C에서 반응시켜 화학식 7의 화합물을 수득하는 공정(B1){이 때, 각각의 투입 몰 비는 $V_c \geq 3V_a$ 및 $V_b > V_c$ (여기서, V_a 는 화학식 5의 화합물의 몰수이고, V_b 는 탈할로겐화제의 몰수이며, V_c 는 화학식 6의 화합물의 몰수이다)로 되는 관계를 만족시킨다} 및

화학식 7의 화합물에 화학식 8의 화합물을 가하고 20 내지 80°C에서 반응시켜 화학식 4의 화합물을 수득하는 공정(B2){이 때, 각각의 투입 몰 비는 $V_d > V_c$ (여기서, V_d 는 화학식 8의 화합물의 몰수이다)로 되는 관계를 만족시킨다}을 수행하는, 화학식 p의 폴리알킬렌 글리콜 유도체의 제조방법.

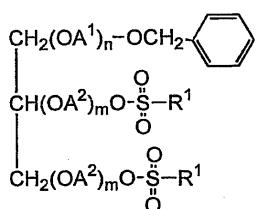
화학식 5



화학식 6



화학식 7



화학식 8

R-OM

상기 화학식 5, 화학식 6, 화학식 7 및 화학식 8에서,

OA^1 , OA^2 , n 및 m 은 제1항에서 정의한 바와 같고,

W 는 Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자이며,

R^1 은 탄소수 1 내지 10의 탄화수소 그룹이고,

R 은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이며,

M 은 칼륨 또는 나트륨이다.

청구항 25

제24항에 있어서, 공정(B2)의 후속 공정으로서, 반응액을 여과하거나, 반응액을 농도 10중량% 이상의 무기염 수용액으로 수세하는 공정(B3)을 포함하는, 화학식 p의 폴리알킬렌 글리콜 유도체의 제조방법.

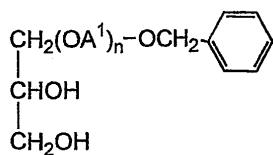
청구항 26

제25항에 있어서, 공정(B3) 이후에, 공정(B1) 내지 공정(B3)을 반복하는, 화학식 p의 폴리알킬렌 글리콜 유도체의 제조방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 공정(B1) 내지 공정(B3)의 전공정으로서, 화학식 9의 화합물에 대해 나트륨 또는 칼륨을 5 내지 50몰%의 양으로 가하고 10 내지 50°C에서 용해시키는 공정(C1)과 알킬렌 옥사이드를 50 내지 130°C에서 반응시키는 공정(C2)을 포함하는, 화학식 p의 폴리알킬렌 글리콜 유도체의 제조방법.

화학식 9



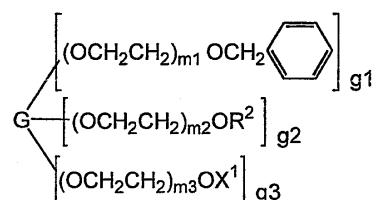
상기 화학식 9에서,

OA^1 은 제1항에서 정의한 바와 같다.

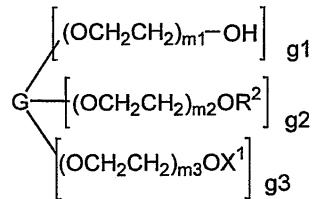
청구항 28

반응계 중의 합수량이 1% 이하인 조건에서, 화학식 10의 화합물에 팔라듐 1 내지 20중량%를 가하고, 화학식 10의 화합물을 반응 온도 40°C 이하에서 수소화 환원반응시키는 공정(AA)을 포함하는, 화학식 11의 폴리에틸렌 글리콜 유도체의 제조방법.

화학식 10



화학식 11



상기 화학식 10 및 화학식 11에서,

G는 2 내지 4개의 하이드록실 그룹을 갖는 화합물의 잔기이고,

R²는 탄소수 1 내지 4의 탄화수소 그룹이며,

X¹은 아미노 그룹, 카복실 그룹 또는 이들의 보호 그룹이고,

m₁, m₂ 및 m₃은 옥시에틸렌 그룹의 평균 부가 몰수이고, 0 ≤ m₁ ≤ 1000, 0 ≤ m₂ ≤ 1000, 0 ≤ m₃ ≤ 1000, 10 ≤ m₁ + m₂ + m₃ ≤ 1000로 되는 관계를 만족시키며,

g₁, g₂ 및 g₃은 각각 정수이고, 1 ≤ g₁ ≤ 3, 0 ≤ g₂, 0 ≤ g₃, 2 ≤ g₁ + g₂ + g₃ ≤ 4로 되는 관계를 만족시킨다.

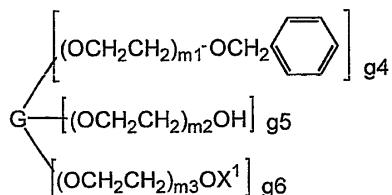
청구항 29

탈할로겐화제인 화학식 14의 화합물을 화학식 12의 화합물에 가하고 20 내지 60°C에서 반응시켜 화학식 13의 화합물을 수득하는 공정(BB1){이 때, 각각의 투입 몰 비는 V_j ≥ 1.5 × V_h × g₅ 및 V_i > V_j(여기서, V_h는 화학식 12의 화합물의 몰수이며, V_i는 탈할로겐화제의 몰수이며, V_j는 화학식 14의 화합물의 몰수이다)로 되는 관계를 만족시킨다},

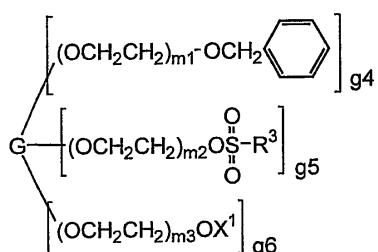
화학식 13의 화합물에 화학식 15의 화합물을 가하고 20 내지 80°C에서 반응시켜 화학식 16의 화합물을 수득하는 공정(BB2){이 때, 각각의 투입 몰 비는 V_k > V_j(여기서, V_k는 화학식 15의 화합물의 몰수이다)로 되는 관계를 만족시킨다} 및

반응액을 여과하거나 반응액을 농도 10중량% 이상의 무기염 수용액으로 수세하는 공정(BB3)을 포함하는, 화학식 16의 폴리에틸렌 글리콜 유도체의 제조방법.

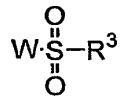
화학식 12



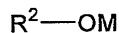
화학식 13



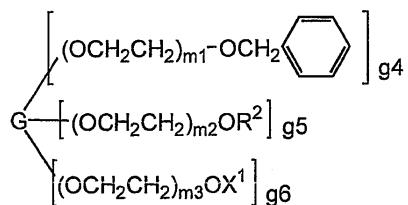
화학식 14



화학식 15



화학식 16



상기 화학식 12 내지 화학식 16에서,

G는 2 내지 4개의 하이드록실 그룹을 갖는 화합물의 잔기이고,

 R^2 는 탄소수 1 내지 4의 탄화수소 그룹이며, R^3 은 탄소수 1 내지 10의 탄화수소 그룹이고, X^1 은 아미노 그룹, 카복실 그룹 또는 이들의 보호 그룹이며,

W는 Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자이고,

M은 칼륨 또는 나트륨이며,

 m_1, m_2 및 m_3 은 옥시에틸렌 그룹의 평균 부가 몰수이고, $0 \leq m_1 \leq 1000, 0 \leq m_2 \leq 1000, 0 \leq m_3 \leq 1000, 10 \leq m_1 + m_2 + m_3 \leq 1000$ 로 되는 관계를 만족시키며,g4, g5 및 g6은 각각 정수이며, $0 \leq g_4 \leq 1, 0 \leq g_5 \leq 3, 0 \leq g_6 \leq 2, 0 \leq g_4 + g_5 + g_6 \leq 4$ 로 되는 관계를 만족시킨다.

명세서

기술 분야

[0001]

본 발명은 폴리알킬렌 글리콜 유도체와의 결합에 의해 개질된 생체 관련 물질, 이의 제조방법 및 중간체인 반응성 폴리알킬렌 글리콜 유도체에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

최근, 생리 활성을 갖는 단백질, 폴리펩타이드, 합성 화합물 및 천연 자원에서 추출된 화합물 등이 다수 발견되고 있으며 이를 의약품에 대한 응용이 활발하게 연구되고 있다. 그러나 이를 생리 활성 물질은 생체내 투여시 혈중 반감기가 짧으며 충분한 약리 효과를 얻는 것이 어렵다. 이는, 통상의 생체내로 투여된 생리 활성 물질이 신장에서의 사구체 여과 또는 간장이나 비장 등에서의 마크로파지의 수납에 의해 생체내에서 소실되기 때문이다. 따라서, 이를 생리 활성 물질을 리보솜이나 중합체 미셀 중에 봉입하거나 양친매성(amphiphatic) 고분자인 폴리에틸렌 글리콜을 화학 개질시켜 분자량을 증대시키는 것으로 생체내 거동을 개선시키려는 시도가 이루어지고 있다. 폴리에틸렌 글리콜은 이의 입체 반발 효과 때문에 다른 생체 성분과의 상호 작용이 낮으며 결과적으로 폴리에틸렌 글리콜로 개질한 단백질이나 효소 등의 폴리펩타이드는 생체내에 투여되는 경우, 신장에서

의 사구체 여과나 면역반응 등의 생체 반응이 회피되는 효과가 있으며 개질되지 않은 것보다 장기간의 혈중 반감기가 달성된다. 또한, 독성이나 항원성도 저하되고, 소수성이 높은 난수용성의 화합물의 용해성을 높이는 효과도 있다.

[0003] 종래에는, 생리 활성 물질을 폴리에틸렌 글리콜 개질하는 경우, 특히 저분자 약제나 웨타이드를 개질하는 경우, 폴리에틸렌 글리콜 개질에 사용할 수 있는 반응성 관능 그룹이 적다는 문제점이 있다. 또한, 충분한 폴리에틸렌 글리콜 개질의 효과를 얻기 위해 다수의 폴리에틸렌 글리콜 분자로 개질하는 경우, 웨타이드나 약제의 활성 점을 봉쇄하고, 그 자신이 가지는 기능, 약효를 충분하게 발현할 수 없게 되거나 충분한 물에 대한 용해성이 얻어지지 않게 된다는 문제점이 있다.

[0004] 이러한 문제점을 해결하기 위해 측쇄형의 폴리에틸렌 글리콜 유도체를 사용하여, 폴리에틸렌 글리콜의 개질수를 삭감하며, 이러한 문제점을 해결하고자 하는 시도가 이루어지고 있다. 일본 특허공보 제(소)61-42558호에는 폴리에틸렌 글리콜화 L-아스파라기나제가 제안되어 있다. 그러나, 반응성 폴리에틸렌 글리콜 유도체의 원료인 염화시아누르에는 3개의 반응성 부위가 있으며 여기에 2개의 폴리에틸렌 글리콜 쇄를 선택적으로 도입하는 것은 곤란하며, 순도가 높은 폴리에틸렌 글리콜화 L-아스파라기나제를 합성하는 것은 곤란하다.

[0005] 또한, 일본 공개특허공보 제(평)10-67800호에는 폴리에틸렌 글리콜화 인터페론 α 가 제안되어 있다. 그러나, 이 물질은 인터페론 α 와 폴리에틸렌 글리콜옥시 그룹과의 결합 부위도 포함시켜 우레탄 결합이나 아미드 결합이 3개 존재한다. 이를 결합은 보존중 또는 일칼리성 조건하에서 반응중에 가수분해를 받기 쉽기 때문에, 그 결과 폴리에틸렌 글리콜 부분이 단일쇄로 분해된다는 문제점이 있다. 이것은 중간 원료의 폴리에틸렌 글리콜 유도체가 2개의 모노메톡시 폴리에틸렌 글리콜과 리신의 α 위치 및 ϵ 위치의 아미노 그룹과 우레탄 결합으로 결합시킨 다음, 리신의 카복실 잔기를 석신산이미드에스테르로 변환시키는 방법으로 제조되기 때문이다. 또한, 이러한 폴리에틸렌 글리콜화 인터페론 α 를 제조하기 위해서는 2개의 모노메톡시 폴리에틸렌 글리콜 말단 하이드록실 그룹의 활성화, 리신과의 결합, 리신의 카복실 잔기의 활성화, 인터페론 α 와의 결합 등의 다단계의 공정수를 경유하기 때문에 불순물도 많아진다는 문제점도 있다.

[0006] 따라서, 안정성이 높은 결합으로 형성된 생체 관련 물질, 이의 제조방법 및 간편하면서 또한 고순도로 제조할 수 있으며 보다 안정성이 높은 측쇄형의 반응성 폴리알킬렌 글리콜 유도체가 요망되고 있다.

[0007] <발명의 개시>

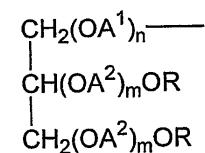
[0008] 본 발명의 제1 목적은 안정적인 결합에 의해 형성되며, 단일쇄로 분해되기 어려운 측쇄형 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹을 갖는 생체 관련 물질과 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 제2 목적은 글리세린 골격의 1위치의 1급 탄소에 생체 관련 물질과 결합할 수 있는 반응성 그룹을, 2위치와 3위치에 폴리알킬렌 글리콜 쇄를 가지며, 생체 관련 물질과의 결합 부위를 제외하는 모든 결합을 안정성이 높은 에테르 결합으로 형성시키는 폴리알킬렌 글리콜 유도체를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명자들은 상기 과제를 해결하기 위해 예의 검토한 결과, 신규한 측쇄형 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹을 갖는 생체 관련 물질, 이의 제조방법 및 이의 중간체로 되는 폴리알킬렌 글리콜 유도체를 밝혀내어, 본 발명을 완성하였다.

[0011] 즉, 본 발명은 분자 중에 1개 이상의 화학식 1의 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹이 결합하여 이루어진 개질된 생체 관련 물질에 관한 것이다.

화학식 1



[0012] 상기 화학식 1에서,

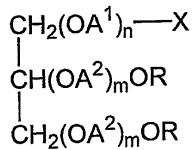
[0013] R은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이고, R은 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

- [0015] OA^1 및 OA^2 는 각각 탄소수 2 내지 4의 옥시알킬렌 그룹이고, OA^2 는 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,
- [0016] 삽제

- [0017] n 및 m 은 각각 옥시알킬렌 그룹의 평균 부가 몰수이며, n 은 0 내지 1000이고, m 은 10 내지 1000이다.

- [0018] 또한, 본 발명은 화학식 2의 화합물임을 특징으로 하는 개질된 생체 관련 물질의 중간체에 관한 것이다.

화학식 2



[0019]

- [0020] 상기 화학식 2에서,

- [0021] R , OA^1 , OA^2 , n 및 m 은 위에서 정의한 바와 같고,

- [0022] X 는 생체 관련 물질과 화학 반응할 수 있는 관능 그룹이다.

- [0023] 또한, 본 발명은 문자 중에 1개 이상의 화학식 1의 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹이 결합하여 이루어진 개질된 생체 관련 물질을 제조하는 방법에 관한 것이며, 생체 관련 물질에 상기의 중간체를 결합시키는 공정을 포함하는 것을 특징으로 한다.

- [0024] 또한, 본 발명은 화학식 2의 화합물의 원료가 되는 화학식 p의 화합물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

- [0025] 본 발명의 개질된 생체 관련 물질은 안정적인 결합에 의해 형성되며, 단일쇄로 분해되기 어렵다. 또한, 글리세린 골격의 1위치의 1급 탄소에 생체 관련 물질과 결합할 수 있는 반응성 그룹을, 2위치와 3위치에 폴리알킬렌 글리콜 쇄를 갖고, 생체 관련 물질과의 결합 부위를 제외한 모든 결합을 안정성이 높은 에테르 결합으로 형성시키는 폴리알킬렌 글리콜 유도체를 제공할 수 있다.

발명의 상세한 설명

- [0033] 본 발명의 개질된 생체 관련 물질은 1개 이상의 화학식 1의 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹에 생체 관련 물질을 결합시킨 것이다.

- [0034] 화학식 1의 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹에서 R 은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이고, 구체적인 탄화수소 그룹으로는 메틸 그룹, 에틸 그룹, 프로필 그룹, 이소프로필 그룹, 부틸 그룹, 3급 부틸 그룹, 펜틸 그룹, 이소펜틸 그룹, 헥실 그룹, 헵틸 그룹, 2-에틸헥실 그룹, 옥틸 그룹, 노닐 그룹, 헤실 그룹, 운데실 그룹, 도데실 그룹, 트리데실 그룹, 테트라데실 그룹, 펜타데실 그룹, 헥사데실 그룹, 헵타데실 그룹, 옥타데실 그룹, 올레일 그룹, 노나데실 그룹, 에이코실 그룹, 헨에이코실 그룹, 도코실 그룹, 트리코실 그룹, 테트라코실 그룹, 벤질 그룹, 크레질 그룹, 부틸페닐 그룹, 도데실페닐 그룹 등의 탄화수소 그룹이 있으며, 바람직하게는 탄소수 1 내지 10의 탄화수소 그룹, 보다 바람직하게는 메틸 그룹, 에틸 그룹이 있고, 보다 바람직하게는 메틸 그룹이 있다.

- [0035] OA^1 및 OA^2 는 탄소수 2 내지 4의 옥시알킬렌 그룹이다. 구체적으로는 옥시에틸렌 그룹, 옥시프로필렌 그룹, 옥시트리메틸렌 그룹, 옥시-1-에틸에틸렌 그룹, 옥시-1,2-디메틸에틸렌 그룹, 옥시테트라메틸렌 그룹 등이 있다. 옥시알킬렌 그룹은 동일하거나 상이할 수 있으며, 또는 비정규적으로 가하거나 블록상으로 가할 수 있다. 일반적으로 알킬렌 그룹의 탄소수가 적은 쪽이 보다 친수성이 높으며, 바람직하게는 옥시에틸렌 그룹, 옥시프로필렌 그룹이며, 보다 바람직하게는 옥시에틸렌 그룹이다. m 및 n 은 옥시알킬렌 그룹의 평균 부가 몰수이다. m 은 10 내지 1000, 바람직하게는 m 은 20 내지 800, 보다 바람직하게는 50 내지 800, 가장 바람직하게는 100 내지 800이다. n 은 0 내지 1000, 바람직하게는 0 내지 500, 보다 바람직하게는 0 내지 200, 가장 바람직하게는 0 내지 50이다.

이다. 적합한 실시 형태에서, n은 0이다. 다른 적합한 실시 형태에서, n은 1 내지 50이다. 후자인 경우, n이 1 내지 3인 것이 특히 바람직하다.

[0036] 생체 관련 물질에서의 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹의 개질수는 특별히 한정되지 않지만, 1 내지 100개소가 바람직하고, 보다 바람직하게는 1 내지 20개소이다.

[0037] 본 발명에서, 「생체 관련 물질」은 생체에 관련되는 물질을 의미한다. 생체에 관련되는 물질에는 다음의 물질이 포함된다.

[0038] (1) 인지질, 당지질, 당단백질 등의 동물 세포 구성 재료

[0039] 동물 세포 구성 재료란 세포막 등을 구성하는 성분이며, 특히 이의 종류를 한정하는 것이 아니지만, 예를 들면, 인지질, 당지질, 당단백질 등이 있다. 보다 구체적인 인지질로는, 예를 들면, 포스파티드산, 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 카디오리핀, 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨이 있다. 또한, 이들의 이성체도 포함된다. 이들 인지질은 난황 또는 대두 등의 천연물 유래의 것일 수 있으며 합성물일 수 있다. 지방산 조성으로는 특별히 한정되는 것이 아니지만, 바람직하게는 탄소수 12 내지 22의 지방산이 있다. 이들 지방산은 포화 지방산일 수 있으며 불포화 결합을 포함한 것일 수 있다. 보다 구체적인 당지질로는, 예를 들면, 세라미드, 세레브로시드, 스핀고신, 간글리오시드, 글리세로 당지질 등이 있다. 또한, 지방산, 모노글리세라이드, 디글리세라이드, 콜레스테롤, 담즙산도 여기에 포함된다.

[0040] (2) 혈액, 림프액, 골수액 등의 체액 구성 물질

[0041] 체액 구성 물질이란 세포内外에 존재하는 액체 성분이며, 특히 이의 종류를 한정하는 것이 아니지만, 혈액, 림프액, 골수액이 있다. 이들 체액의 보다 구체적인 구성 성분으로는, 예를 들면, 혜모글로빈, 알부민, 혈액 응고 인자 등이 있다.

[0042] (3) 비타민, 신경 전달물질, 단백질, 폴리펩타이드, 약제 등의 생리 활성 물질

[0043] 생리 활성 물질이란 몸의 작용을 조절하는 성분이며, 특별히 이의 종류를 한정하는 것이 아니지만, 비타민, 신경 전달물질, 단백질, 폴리펩타이드, 약제가 있다.

[0044] 보다 구체적인 비타민으로는, 예를 들면, 비타민 A, 비타민 B, 비타민 C, 비타민 D, 비타민 E, 비타민 K 등이 있다.

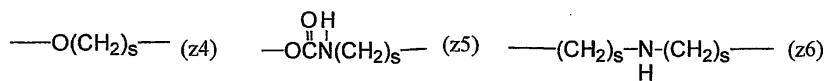
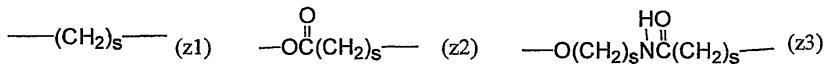
[0045] 보다 구체적인 신경 전달물질로는, 예를 들면, 아드레날린, 노르아드레날린, 도파민, 아세틸콜린, GABA, 글루탐산, 아스파라긴산 등이 있다.

[0046] 보다 구체적인 단백질, 폴리펩타이드로는, 예를 들면, 이하에 열거하는 것이 있다. 뇌하수체 호르몬, 갑상선 호르몬, 남성 호르몬, 여성 호르몬, 부신 피질 호르몬 등의 호르몬. 혜모글로빈, 혈액인자 등의 혈청 단백질. IgG, IgE, IgM, IgA, IgD 등의 면역 글로불린. 인터로이킨(IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11 및 IL-12 서브타입), 인터페론(- α , - β , - γ), 과립구 콜로니 자극인자(α 및 β 형), 마크로파지 콜로니 자극인자, 과립구 마크로파지 · 콜로니 자극인자, 혈소판 유래 증식인자, 포스포리파제 활성화 단백질, 인슐린, 글루카곤, 렉틴, 리신, 종양 괴사인자, 상피 세포 증식인자, 트랜스포밍 증식인자(- α , - β), 섬유아세포 증식인자, 간세포 증식인자, 혈관 내피 증식인자, 신경 성장인자, 뼈 증식인자, 인슐린 모양 증식인자, 혜파린 결합 증식인자, 종양 증식인자, 글리아 세포주 유래 신경 영양인자, 마크로파지 분획인자, 분획 유도인자, 백혈병 억제인자, 암필레그린, 소마토메딘, 에리스로포이에틴, 혜모포이에틴, 트롬보포이에틴, 칼시토닌 등의 사이토카인 및 이의 프래그먼트. 단백질 분해 효소, 옥사이드리덕타제, 트랜스페라제, 하이드로라제, 리아제, 이소메라제, 리가제, 아스파라기나제, 알기나제, 알기닌데아미나제, 아데노신데아미나제, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 엔도톡시나제, 카탈라제, 키모트립신, 리파제, 우리카제, 엘라스타제, 스트렙토카니나제, 우로카니제, 프로우로카니제, 아데노신디포스파타제, 티로시나제, 빌리루빈옥시타제, 글루코스옥시다제, 글루코다제, 갈락토시다제, 글루코세레부로시다제, 글루코울로니다제 등의 효소. 모노클로날 및 폴리클로날 항체 및 이들의 프래그먼트. 폴리-L-리신, 폴리-D-리신 등의 폴리아미노산. B형 간염 백신, 말라리아 백신, 멜라노미백신, HIV-1 백신 등의 백신 및 항원. 또한, 당단백질도 포함된다. 또한, 이들 생리 활성 물질과 동일한 생리 활성을 갖는 유사 구조물질도 이에 포함된다.

[0047] 또한, 이들 단백질, 폴리펩타이드는 이들의 천연원 또는 유전공학적 처리를 받은 세포로부터 단리되거나 각종 합성법을 경유하여 만들어진 것일 수 있다.

- [0048] 약제로는 특별히 한정되는 것이 아니지만, 보다 바람직하게는 항암제와 항진균제가 있다.
- [0049] 보다 구체적인 항암제로는 특별히 한정되는 것이 아니지만, 예를 들면, 파클리탁셀, 아드리아마이신, 독소루비신, 시스플라틴, 다우노마이신, 마이토마이신, 빙크리스틴, 에피루비신, 메토트렉세이트, 5-플루오로우라실, 아크라시노마이신, 이다마이신, 블레오마이신, 피라루비신, 페플로마이신, 판코마이신, 캄프토테신 등이 있다.
- [0050] 구체적인 항진균제로는 특별히 한정되는 것이 아니지만, 예를 들면, 암포테리신B, 나이스타틴, 플루시토신, 미코나졸, 플루코나졸, 이트라코나졸, 케토코나졸 및 웨타이드성 항진균제가 있다.
- [0051] 또한, 이들 생체 관련 물질에는, 예를 들면, 항산화작용, PAF 억제작용, 항염증작용, 항균작용 등을 갖는 플라보노이드, 테르페노이드, 카르테노이드, 사포닌, 스테로이드, 퀴논, 안트라퀴논, 크산톤, 쿠마린, 알칼로이드, 포르피린, 폴리페놀 등도 포함된다.
- [0052] 본 발명의 생체 관련 물질의 중간체는 화학식 2의 생체 관련 물질의 중간체이다.
- [0053] 화학식 2
- $$\begin{array}{c} \text{CH}_2(\text{OA}^1)_n-\text{X} \\ | \\ \text{CH}(\text{OA}^2)_m\text{OR} \\ | \\ \text{CH}_2(\text{OA}^2)_m\text{OR} \end{array}$$
- [0054]
- [0055] 상기 화학식 2에서,
- [0056] X는 생체 관련 물질과 화학 결합을 생성할 수 있는 관능 그룹 또는 불포화 결합이면 특별히 제한되지 않는다. 적합한 실시 형태에서, X는
- [0057] 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (c), 화학식 (d), 화학식 (e), 화학식 (f), 화학식 (g), 화학식 (h), 화학식 (i), 화학식 (j) 및 화학식 (k)로 이루어진 그룹이다.
-
- [0058]
- [0059] $-\text{Z}-\text{NH}_2$ (g), $-\text{NH}_2$ (j), $-\text{Z}-\text{COOH}$ (k)
- [0060] 생체 관련 물질의 아미노 그룹과 반응시키는 경우에는
- [0061] 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (d), 화학식 (f), 화학식 (h) 및 화학식 (k)로 이루어진 그룹이 바람직하고, 생체 관련 물질의 머캅토기와 반응시키는 경우에는 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (c), 화학식 (d), 화학식 (e), 화학식 (f), 화학식 (h), 화학식 (i) 및 화학식 (k)로 이루어진 그룹이 바람직하며 생체 관련 물질의 불포화 결합과 반응시키는 경우에는 화학식 (c)로 이루어진 그룹이 바람직하며 생체 관련 물질의 카복실 그룹과 반응시키는 경우에는 화학식 (c), 화학식 (g) 및 화학식 (j)로 이루어진 그룹이 바람직하다.
- [0062] 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (c), 화학식 (d), 화학식 (e), 화학식 (f), 화학식 (g), 화학식 (h), 화학식 (i), 화학식 (j) 및 화학식 (k)에서, Z는 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹과 반응성 관능 그룹 사이의 링커 (linker)이며, 공유결합이면 특별히 한정되지 않으며, 바람직하게는 알킬렌 그룹 및 에스테르 결합, 우레탄 결합, 아미드 결합, 에테르 결합, 카보네이트 결합, 2급 아미노 그룹을 함유하는 알킬렌 그룹 등이 있다. 알킬렌 그룹

으로서 바람직한 것은 메틸렌 그룹, 에틸렌 그룹, 트리메틸렌 그룹, 프로필렌 그룹, 이소프로필렌 그룹, 테트라메틸렌 그룹, 부틸렌 그룹, 이소부틸렌 그룹, 펜타메틸렌 그룹, 헥사메틸렌 그룹 등을 들 수 있으며 보다 바람직하게는 화학식 (z1)과 동일한 구조가 있다. 에스테르 결합을 함유하는 알킬렌 그룹으로서 보다 바람직한 것은 화학식 (z2)과 동일한 구조가 있다. 아미드 결합을 함유하는 알킬렌 그룹으로서 보다 바람직한 것은 화학식 (z3)과 동일한 구조가 있다. 에테르 결합을 함유하는 알킬렌 그룹으로서 보다 바람직한 것은 화학식 (z4)과 동일한 구조가 있다. 우레탄 결합을 함유하는 알킬렌 그룹으로서 보다 바람직한 것은 화학식 (z5)과 동일한 구조가 있다. 2급 아미노 그룹을 함유하는 알킬렌 그룹으로서 보다 바람직한 것은 화학식 z6과 동일한 구조가 있다.



[0063]

[0064] 상기 화학식 (z1) 내지 (z6)에서,

[0065] s는 1 내지 6의 정수, 바람직하게는 1 내지 3의 정수, 보다 바람직하게는 2 내지 3의 정수이다.

[0066] Y는 탄소수 1 내지 10의 불소 원자를 함유할 수 있는 탄화수소 그룹이며, 구체적으로는 메틸 그룹, 에틸 그룹, 프로필 그룹, 이소프로필 그룹, 부틸 그룹, 3급 부틸 그룹, 헥실 그룹, 노닐 그룹, 비닐기, 폐닐 그룹, 벤질 그룹, 4-메틸페닐 그룹, 트리플루오로메틸 그룹, 2,2,2-트리플루오로에틸 그룹, 4-(트리플루오로메톡시)페닐 그룹 등이 있으며, 바람직하게는 메틸 그룹, 비닐기, 4-메틸페닐 그룹, 2,2,2-트리플루오로에틸 그룹의 경우이다.

[0067] 화학식 2의 화합물에서, R, OA¹, OA², n 및 m은 위에서 정의한 바와 같다.

[0068] 또한, 화학식 (g), 화학식 (j) 및 화학식 (k)에서, Z, R, OA¹, OA², n 및 m는 위에서 정의한 바와 같다.

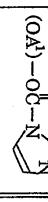
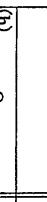
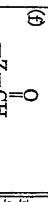
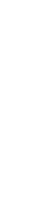
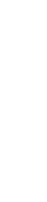
[0069] 상기한 생체 관련 물질의 잔기 T, 이러한 잔기 T와 화학 결합을 생성하는 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹 측의 관능 그룹 X의 관계를 표 1과 표 2에 기재한다. 또한, 생체 관련 물질과 X의 반응에 의해 생성되는 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹과 생체 관련 물질의 화학 결합의 종류를 표 1과 표 2에 기재한다.

표 1

X 그룹	생리 활성 물질의 반응 그룹		불포화 결합	HO-C=O-T 카복실 그룹
	NH ₂ -T	SH-T		
(a) 	아미노 그룹	미침토 그룹		
(b) 	(아미도) (2급 아미노 그룹)	(티오 에스테르)		
(c) 	(2급 아미노 그룹)	(OA^1) -S-T (설파이드)		
(d) 				
(e) 	(우리한) (티오카복사이드)	(OA^1)-OCN-T (티오카복사이드)		

* (b)와 (d)는 (OA¹)을 제거한 부분을 X 그룹으로 한다.

표 2

생체 활성 물질의 반응 그룹		X 그룹	NH ₂ -T	SH-T	= -T	불포화 결합	HO-C=O-T
아미노 그룹	마감토 그룹						
(b)	-Z-CH ₂						
(h)		1.  Schiff 양기 2.  아미노 그룹	-Z-C=N-T	-Z-C(OH)-NH-T	-Z-C-S-T		
(i)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			
(j)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			
(k)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			
(l)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			
(m)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			
(n)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			
(o)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			
(p)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			
(q)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			
(r)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			
(s)		(OA')-O-C(=O)-N	(OA')-O-C(OH)-N-T	(OA')-O-C(=O)-S-T			

* (h)와 (i)는 (OA')을 제거한 부분을 X 그룹으로 한다.

[0071]

[0072]

표 1과 표 2로부터 명백한 바와 같이 본 발명의 개질된 생체 관련 물질에서는 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹과 생체 관련 물질은, 예를 들면, 아미드 결합, 2급 아미노 그룹, 우레탄 결합, 티오에스테르 결합, 설플라이드 결합, 디설파이드 결합, 티오카보네이트 결합에 의해 결합되어 있다.

[0073]

본 발명의 개질된 생체 관련 물질은 다음과 같이 제조할 수 있다.

[0074]

(생체 관련 물질의 아미노 그룹과 본 발명의 중간체를 반응시키는 경우)

[0075]

생체 관련 물질의 아미노 그룹을 사용하여 개질하는 경우, 본 발명의 중간체화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (d), 화학식 (f), 화학식 (h), 화학식 (i), 화학식 (k)를 사용한다. 보다 바람직하게는 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (d), 화학식 (f), 화학식 (h), 화학식 (i) 및 화학식 (k)를 등물 이상의 사용 비율로써 반응시키면 양호하다. 반응 용매로는 반응에 관여하지 않는 용매이면 특별히 한정되지 않지만 단백질, 폴리펩타이드를 반응시키는 경우에는 인산 완충액, 봉산 완충액, 트리스산 완충액, 아세트산 완충액, 탄산 완충액 등의 완충액을 바람직한 용매로서 들 수 있다. 또한, 단백질, 폴리펩타이드의 활성을 잃지 않고 반응에 관여하지 않는 아세토니트릴, 디메틸설폐사이드, 디메틸포름아미드, 디메틸아세트아미드 등의 유기용매를 첨가할 수 있다. 항암제, 항진균제, 인지질을 반응시키는 경우에는 상기한 완충액 이외에도 툴루엔, 벤젠, 크실렌, 아세토니트릴, 아세트산에틸, 디에틸에테르, t-부틸-메틸에테르, 테트라하이드로푸란, 클로로포름, 염화메틸렌, 디메틸설폐사이드, 디메틸포름아미드, 디메틸아세트아미드, 물, 메탄올, 에탄올, n-프로판올, 2-프로판올, n-부탄올 등을 바람직한 용매로 들 수 있다. 또한, 용매를 사용하지 않을 수 있다. 본 발명의 중간체와 생체 관련 물질을 반응 용매에 가하는 순서는 어느 쪽이 먼저라도 양호하다. 반응 온도는 생체 관련 물질의 활성을 잃지 않는 온도이면 특별히 한정되지 않지만 단백질, 폴리펩타이드를 반응시키는 경우에는 바람직하게는 0 내지 40°C이며, 항암제, 항진균제, 인지질을 반응시키는 경우에는 바람직하게는 -20 내지 150°C이다. 반응 시간은 0.5 내지 72시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 1 내지 24시간이다. 반응할 때에는 N,N'-디사이클로헥실카보디이미드(DCC), 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 염산염(EDC) 등의 축합제를 사용할 수 있다. 본

반응을 실시하는 것으로 생체 관련 물질과 본 발명의 중간체 사이에 공유결합이 형성되지만 화학식 (a), 화학식 (k)를 사용하는 경우에는 아미드 결합, 화학식 (b)를 사용하는 경우에는 2급 아미노 그룹, 화학식 (d), 화학식 (h) 및 화학식 (i)를 사용하는 경우에는 우레탄 결합, 화학식 (f)를 사용하는 경우에는 시프염기 형성된다. 시프염기가 형성되는 경우에는 이것을 시아노수소화붕산나트륨 등의 환원제를 사용하여 환원처리를 실시하여, 2급 아미노 그룹을 형성시킬 수 있다. 반응후에는 투석, 염석, 한외여과, 이온교환 크로마토그래피, 전기영동, 추출, 재결정, 흡착 처리, 재침전, 컬럼 크로마토그래피, 초임계 추출 등의 정제수단으로 정제할 수 있다.

[0076] (생체 관련 물질의 머캡토기와 본 발명의 중간체를 반응시키는 경우)

[0077] 생체 관련 물질의 머캡토기를 사용하여 개질하는 경우, 본 발명의 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (c), 화학식 (d), 화학식 (e), 화학식 (f), 화학식 (h), 화학식 (i) 및 화학식 (k)의 중간체를 사용하고, 보다 바람직하게는 화학식 (e)를 사용한다. 반응 용매, 반응조건 등은 아미노 그룹을 사용하는 경우와 동일하다. 반응할 때에는 요오드나 AIBN과 같은 래디컬 발생제를 사용할 수 있다. 본 반응을 실시하는 것으로 생체 관련 물질과 본 발명의 중간체 사이에 공유결합이 형성되지만, 화학식 (a), 화학식 (k)를 사용하는 경우에는 티오에스테르 결합, 화학식 (d), 화학식 (h) 및 화학식 (i)를 사용하는 경우에는 티오카보네이트 결합, 화학식 (c)를 사용하는 경우에는 디설파이드 결합, 화학식 (b), 화학식 (e), 화학식 (f)를 사용하는 경우에는 설파이드 결합이 형성된다.

[0078] (생체 관련 물질의 불포화 결합과 본 발명의 중간체를 반응시키는 경우)

[0079] 생체 관련 물질의 불포화 결합을 사용하여 개질하는 경우, 본 발명의 중간체화학식 (c)를 사용한다. 반응 용매, 반응조건 등은 아미노 그룹을 사용하는 경우와 동일하다. 반응할 때에는 요오드나 AIBN과 같은 래디컬 발생제를 사용할 수 있다. 본 반응을 실시하는 것으로 생체 관련 물질과 본 발명의 중간체 사이에 설파이드 결합이 형성된다.

[0080] (생체 관련 물질의 카복실 그룹과 본 발명의 중간체를 반응시키는 경우)

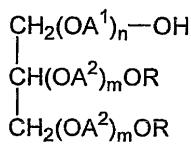
[0081] 생체 관련 물질의 카복실 그룹을 사용하여 개질하는 경우, 본 발명의 중간체화학식 (c), 화학식 (g), 화학식 (j)를 사용한다. 반응 용매, 반응조건 등은 아미노 그룹을 사용하는 경우와 동일하다. 반응할 때에는 적절하게 DCC, EDC 등의 축합제를 사용할 수 있다. 본 반응을 실시하는 것으로 생체 관련 물질과 본 발명의 중간체 사이에 공유결합이 형성되지만, 화학식 (c)를 사용하는 경우에는 티오에스테르 결합, 화학식 (g), 화학식 (j)를 사용하는 경우에는 아미드 결합이 형성된다.

[0082] 또한, 생체 관련 물질에 아미노 그룹, 머캡토기, 불포화 결합, 카복실 그룹이 없는 경우에도, 적절하게 생체 관련 물질에 반응성 그룹을 도입하며, 본 발명의 중간체를 사용하여 개질시킬 수 있다.

[0083] (중간체의 제조)

[0084] 본 발명의 중간체는, 예를 들면, 다음과 같이 하여 제조할 수 있다. 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄올의 1급 하이드록실 그룹 잔기에 알킬렌 옥사이드를 0 내지 1000몰 중합시켜 말단 하이드록실 그룹을 벤질 그룹 또는 t-Bu기로 보호한 다음, 산성 조건에서 환상 아세탈 구조를 탈보호시켜, 새롭게 생성되는 2개의 하이드록실 그룹에 알킬렌 옥사이드를 10 내지 1000몰 중합시켜 말단을 알킬에테르화시킨다. 이어서, 벤질 그룹나 t-Bu기 등의 보호 그룹을 탈보호시켜, 화학식 p의 화합물을 수득할 수 있다. n이 0인 경우, 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄올의 1급 하이드록실 그룹 잔기를 벤질 그룹나 t-Bu기로 보호한 다음, 산성 조건으로 환상 아세탈 구조를 탈보호하며, 새롭게 생성되는 2개의 하이드록실 그룹에 알킬렌 옥사이드 10 내지 1000몰을 중합시켜 말단을 알킬에테르화시킨다. 이어서, 벤질 그룹 또는 t-Bu기 등의 보호 그룹을 탈보호시켜, 화학식 p의 화합물을 수득할 수 있다.

화학식 p



[0085]

[0086] 또한, 화합물 p는 다음과 동일한 방법으로 제조할 수 있다. 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄올의 1급 하이드록실 그룹을 벤질 그룹 또는 t-Bu기로 보호한 다음, 산성 조건에서 환상 아세탈 구조를 탈보호시켜, 새롭게 생성되는 2개의 하이드록실 그룹에 알킬렌 옥사이드를 10 내지 1000몰 중합시켜 말단을 알킬에테르화한 다음, 벤질

그룹 또는 t-Bu기 등의 보호 그룹을 탈보호시켜, n이 0인 화합물 p를 수득한다. 새롭게 생성되는 하이드록실 그룹에 알킬렌 옥사이드를 0 내지 1000몰 중합시켜도 수득할 수 있다.

[0087] n이 1 내지 3인 경우, 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄올과 2-벤질옥시에탄올(n=1)이나 디에틸렌 글리콜벤질에테르(n=2), 트리에틸렌 글리콜벤질에테르(n=3)를 커플링한 다음, 산성 조건에서 환상 아세탈 구조를 탈보호시켜, 새롭게 생성되는 2개의 하이드록실 그룹에 알킬렌 옥사이드를 10 내지 1000몰 중합시켜 말단을 알킬에테르화시킨다. 이어서, 벤질 그룹 또는 t-Bu기 등의 보호 그룹을 탈보호시켜, 화학식 p의 화합물을 수득할 수 있다.

[0088] 이와 같이 알킬렌 옥사이드 부가 중합 반응을 사용하는 것으로 고수율이며 또한 컬럼 정제하지 않고 공업적으로 적합한 방법으로 고순도의 측쇄형 폴리알킬렌 글리콜 유도체를 제조할 수 있다.

[0089] 이와 같이 수득된 화합물 p의 하이드록실 그룹을 사용하여, 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (c), 화학식 (d), 화학식 (e), 화학식 (f), 화학식 (g), 화학식 (h), 화학식 (i), 화학식 (j) 및 화학식 (k)에 기재된 각종 반응성 그룹으로 변환시키는 것으로 본 발명의 중간체를 제조할 수 있다. 또한, 생성되는 반응성 그룹을 사용하여, 각종 생체 관련 물질을 반응, 개질시켜 본 발명의 개질된 생체 관련 물질을 제조할 수 있다.

[0090] 또한, 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (c), 화학식 (d), 화학식 (e), 화학식 (f), 화학식 (g), 화학식 (h), 화학식 (i), 화학식 (j) 및 화학식 (k)의 각 관능 그룹을 갖는 중간체는 생체 관련 물질과 반응시킬 수 있지만, 경우에 따라서는 이들 중간체를 다시 다른 화합물과 반응시켜 다른 중간체를 제조하여, 기타 중간체를 생체 관련 물질과 반응시킬 수 있다. 예를 들면, 화학식 (g), 화학식 (j) 및 화학식 (k)에 속하는 화학식 (g), 화학식 (j) 화학식 (k)의 관능 그룹을 갖는 중간체를 원료로 하여, 화학식 (a), 화학식 (e) 및 화학식 (f)의 중간체를 합성할 수 있다.

[0091] 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄올의 1급 하이드록실 그룹 잔기로의 알킬렌 옥사이드 부가 중합은 다음과 동일한 방법으로 제조할 수 있다. 톨루엔 또는 무용매 중에서 금속 나트륨이나 금속 칼륨, 수소화나트륨, 수소화칼륨, 나트륨메톡사이드, 칼륨-t-부톡사이드 등의 알칼리 조건하에 옥시알킬렌을 부가 중합시켜 수득할 수 있다. n=1 내지 3인 경우, 이러한 알킬렌 옥사이드 부가 중합공정은 실시하지 않을 수 있다. 계속해서 벤질에테르화는 다음과 동일한 방법으로 제조할 수 있다.

[0092] 1) 비양성자성 용매 또는 무용매 중에서 수산화나트륨, 수산화칼륨 등의 알칼리 촉매 존재하에 벤질클로라이드 또는 벤질브로마이드와, 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄올 또는 이의 알킬렌 옥사이드 부가물을 반응시켜 수득할 수 있다.

[0093] 2) 비양성자성 용매 또는 무용매 중에서 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄올 및 또는 이의 알킬렌 옥사이드 부가물의 하이드록실 그룹을 금속 나트륨, 금속 칼륨, 수소화나트륨, 수소화칼륨, 나트륨메톡사이드, 칼륨메톡사이드, 칼륨-t-부톡사이드 등을 사용하여 알콜레이트화시켜 염기성 조건하에 벤질클로라이드 또는 벤질브로마이드와 반응시켜 수득할 수 있다.

[0094] 3) 비양성자성 용매 또는 무용매 중에서 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄올 및 또는 이의 알킬렌 옥사이드 부가물의 하이드록실 그룹을 메탄설폰산클로라이드나 p-톨루엔설폰산클로라이드, 2,2,2-트리플루오로에탄설폰산클로라이드 등으로 활성화시켜 벤질알콜의 알콜레이트와 반응시켜 수득할 수 있다.

[0095] 4) 비양성자성 용매 또는 무용매 중에서 2-벤질옥시에탄올(n=1)이나 디에틸렌 글리콜벤질에테르(n=2), 트리에틸렌 글리콜벤질에테르(n=3)의 하이드록실 그룹을 메탄설폰산클로라이드나 p-톨루엔설폰산클로라이드, 2,2,2-트리플루오로에탄설폰산클로라이드 등으로 활성화시켜 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄올의 알콜레이트와 반응시켜 수득할 수 있다.

[0096] 벤질에테르화에 계속해서 환상 아세탈 구조의 탈보호는 아세트산, 인산, 황산, 염산 등의 산으로 pH 1 내지 4로 조정한 수용액 중에서 반응시켜 화학식 9의 화합물을 제조할 수 있다.

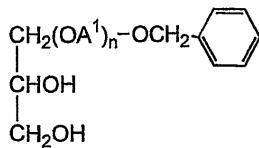
[0097] 환상 아세탈 구조의 탈보호에 의해 새롭게 생성되는 2개의 하이드록실 그룹을 갖는 화학식 9에서의 알킬렌 옥사이드 부가 중합은

[0098] 화학식 9의 화합물을 알콜레이트화하는 방법으로는 촉매로서 금속 나트륨 또는 칼륨 금속, 적절하게는 금속 나트륨을 5 내지 50몰%의 촉매량으로 가하고 10 내지 50°C에서 용해시키는 공정(C1)과

[0099] 알킬렌 옥사이드를 50 내지 130°C에서 부가 중합시키는 공정(C2)를 비제한적으로 포함하는 방법으로 제조할 수

있다.

화학식 9



[0100]

화학식 (c1)에서의 촉매량에 관해서는 5몰% 미만이면 알킬렌 옥사이드의 중합 반응속도가 느려지며, 열이력이 증가하여 말단 비닐에테르체 등의 불순물이 생기므로 5몰% 이상으로 하는 것이 고품질의 고분자량체를 제조하는데에 유리하다. 촉매가 50몰%를 초과하면 알콜레이트화 반응할 때에 반응액의 점성이 높아지거나 고화되며, 교반효율이 저하되어 알콜레이트화가 촉진되지 않는 경향이 있다. 또한, 고화되는 경우에는 조작을 하기 어려워지는 경향이 있으며 흡습의 원인으로 된다. 알콜레이트화물이 흡습되면 수분 유래의 폴리알킬렌 글리콜체가 생성되며, 의약품 용도로는 바람직하지 않은 불순물로서 혼입되어 버린다.

[0102]

용해할 때의 온도가 50°C보다 높으면 분해반응이 일어나며 벤질알콜이나 글리세린이 생성된다. 벤질알콜이 생성되는 경우, 목적물과 동일하게 알킬렌 옥사이드와 부가 중합이 일어나고, 목적물의 0.5배의 분자량을 갖는 저분자량 불순물이 생성된다. 벤질알콜 유래의 저분자량 불순물이 생성되는 경우에는 목적물과 동일하게 다음 공정의 하이드록실 그룹의 알킬에테르화 공정, 탈보호 공정을 경유하여 관능 그룹 도입되므로 생체 관련 물질과 반응할 수 있는 저분자량 불순물로 된다. 이러한 불순물은 생체 관련 물질과 반응하여, 제제의 물성을 변화시킬 가능성이 있다. 또한, 글리세린이 생성되는 경우에도 동일하게 알킬렌 옥사이드와의 부가 중합이 일어나고, 목적물의 1.5배의 분자량을 갖는 고분자량 불순물이 생성된다. 이러한 고분자량 불순물은 벤질 그룹이 없으며 말단 하이드록실 그룹이 알킬에테르화될 뿐이므로 관능 그룹을 갖는 것은 아니지만, 이러한 불순물을 함유한 채로 약제 등과의 결합을 실시하면 수득되는 약제는 불균일한 것으로 되며, 품질에 불균일이 생기는 경향이 있다. 또한, 고순도품이 요구되는 의약품 용도에는 바람직하지 않다.

[0103]

10°C보다 낮은 온도에서 용해하는 경우, 촉매량이 50몰%보다 많은 경우와 동일하게 알콜레이트화 반응할 때에 반응액의 점성이 높아지거나 고화되며, 조작하기 어려워지는 경향이 있으며 또한 흡습의 원인으로 된다.

[0104]

반응 용매에 관해서는 툴루엔, 벤젠, 크실렌, 아세토니트릴, 아세트산에틸, 테트라하이드로푸란, 클로로포름, 염화메틸렌, 디메틸설폐사이드, 디메틸포름아미드, 디메틸아세트아미드 등의 비양성자성 용매이면 특별히 한정되지 않으며, 툴루엔 또는 무용매가 바람직하다. 반응 시간에 관해서는 1 내지 24시간이 바람직하다. 1시간보다 짧으면 촉매가 완전히 용해되지 않을 염려가 있다. 24시간보다 길면 상기한 분해반응이 일어날 염려가 있다.

[0105]

공정(C2)에서의 반응 온도에 관해서는 50°C보다 낮으면 중합 반응의 속도가 느리고, 열이력이 증가하는 것으로 화학식 5의 화합물의 품질이 저하되는 경향이 있다. 또한, 130°C보다 높으면 중합중에 말단의 비닐에테르화 등의 부반응이 일어나며 목적물의 품질이 저하되는 경향이 있다. 중합중에서 분자량이 커짐에 따라 반응액의 점도가 올라가므로 적절하게 비양성자성 용제, 적절하게는 툴루엔을 가할 수 있다.

[0106]

알콜레이트화의 공정에서 또 다른 제조방법으로는, 촉매로서의 나트륨메톡사이드, 칼륨-t-부톡사이드 또는 칼륨 메톡사이드, 보다 적절하게는 나트륨메톡사이드를 5 내지 50몰%의 촉매량으로 가하고 60 내지 80°C에서 반응시키는 공정(C3)이 있다. 이 때, 교환반응이 보다 용이하게 발생하도록 감압 조작을 실시할 수 있다.

[0107]

촉매량에 관해서는 상기한 바와 같은 이유로 5 내지 50몰%의 양이 바람직하다. 반응 온도에 관해서는 60°C보다 낮으면 교환반응의 반응율이 저하되며, 메탄올 등의 알콜이 잔존하고, 알킬렌 옥사이드의 부가 중합을 경유하여, 목적물의 0.5배의 분자량을 갖는 불순물이 생성된다. 80°C보다 높으면 분해반응이 일어난다. 이러한 알콜레이트화 반응은 온도를 올릴 필요가 있으며 분해반응이 일어나기 쉬우므로 반응 시간은 1 내지 3시간으로 하는 것이 바람직하다. 1시간보다 짧으면 알콜레이트화 반응율이 낮아질 염려가 있다. 또한, 3시간보다 길면 분해반응이 일어날 염려가 있다. 반응 용매에서는 비양성자성 용매이면 특별히 한정되지 않으며, 바람직하게는 툴루엔 또는 무용매이다.

[0108]

계속해서 말단의 알킬에테르화는

[0109]

폴리알킬렌 글리콜 쇄 말단을 알콜레이트화시켜 할로겐화알킬과 반응시키는 방법(1)과

[0110] 폴리알킬렌 글리콜 쇄 말단 하이드록실 그룹을 메탄설휤산클로라이드나 p-톨루엔설휤산클로라이드, 2,2,2-트리플루오로에탄설휤산클로라이드 등으로 활성화시켜 알킬알콜의 알콜레이트와 반응시키는 방법(2) 중의 하나일 수 있다.

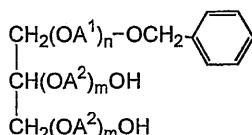
[0111] 적절하게는 (2)의 방법이며, 하기에 보다 상세하게 설명한다.

[0112] (2)의 제조방법은 공정(B1), 공정(B2) 및 공정(B3)로 이루어진다.

[0113] 공정(B1)은 화학식 5의 화합물에 탈할로겐화제인 화학식 6의 화합물을 가하고 20 내지 60°C에서 반응시켜 화학식 7의 화합물을 수득하는 공정{이 때, 각각의 투입 몰 비는 $V_c \geq 3V_a$ 및 $V_b > V_c$ (여기서, V_a 는 화학식 5의 화합물의 몰수이고, V_b 는 탈할로겐화제의 몰수이며, V_c 는 화학식 6의 화합물의 몰수이다)로 되는 관계를 만족시킨다}이다.

[0114] 여기서 $V_c < 3V_a$ 이면 반응율이 낮아지며 옥시알킬렌쇄 말단에 하이드록실 그룹이 잔존한다. 잔존 하이드록실 그룹은 후공정에서 관능 그룹이 도입되며, 목적물과 동일 분자량의 다관능성 불순물로 된다. 이러한 다관능 불순물이 존재하면 생체 관련 물질과 결합할 때에 가교제로서 작용, 개질된 생체 관련 물질의 순도가 저하되는 경향이 있다. 또한, $V_b \leq V_c$ 로 되면, 반응의 진행에 따라 부생되는 산을 효율적으로 트랩할 수 없으므로 반응율이 낮아지며, 옥시알킬렌쇄 말단에 하이드록실 그룹이 잔존된다. 또한, $V_c > 20V_a$, $V_b \geq 4V_c$ 인 경우에는 과잉 량 부분이 후공정으로 흔입되며 부반응의 원인으로 될 수 있다.

화학식 5



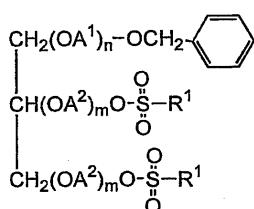
[0115]

화학식 6



[0116]

화학식 7



[0117]

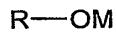
[0118] 사용되는 탈할로겐화제에는 트리에틸아민, 피리딘, 4-디메틸아미노페리딘 등의 유기 염기 또는 탄산나트륨, 수산화나트륨, 탄산수소나트륨, 아세트산나트륨, 탄산칼륨, 수산화칼륨 등의 무기 염기가 있으며, 바람직한 탈염 산제는 트리에틸아민, 피리딘, 4-디메틸아미노페리딘 등의 유기 염기이다.

[0119] 또한, 사용되는 화학식 6의 화합물에서는 W가 Cl, Br이 바람직하며, R^1 은 메틸 그룹, 페닐 그룹, p-메틸페닐 그룹의 경우가 바람직하고, 보다 적절하게는 W가 Cl이며 R^1 이 메틸 그룹인 메탄설휤닐 클로라이드가 가장 바람직하다.

[0120] 이 때에 사용되는 용제로는 비양성자성 용제이면 특별히 제한되지 않지만, 바람직하게는 톨루엔, 벤젠, 크실렌, 아세토니트릴, 아세트산에틸, 테트라하이드로푸란, 클로로포름, 염화메틸렌, 디메틸설휤사이드, 디메틸설휤아미드, 디메틸아세트아미드 등을 들 수 있으며 보다 바람직하게는 반응계 중의 수분을 공비 탈수 제거할 수 있는 톨루엔이다. 반응시의 사용 용제량에 관해서는 화학식 5의 화합물에 대하여 0.5배 중량 내지 10배 중량이 바람직하다. 화학식 5의 분자량이 큰 경우에는 반응액의 점도가 높아지며, 반응율이 저하되므로 용제로 희석하는 편이 바람직하다.

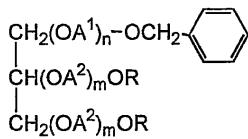
- [0121] 반응 온도에 관해서는 특별히 제한되지 않지만, 부반응을 억제하기 위해서는 60°C 이하가 바람직하며, 반응액의 점도 상승을 억제하는 의미에서 20°C 이상이 바람직하다. 반응 시간에 관해서는 1 내지 24시간이 바람직하다. 1시간보다 짧으면 반응율이 낮을 염려가 있다. 24시간보다 길면 부반응이 일어날 염려가 있다.
- [0122] 반응할 때에는 반응전에 공비 탈수 등의 원료 탈수조작을 실시할 수 있다. 또한, 2,6-디-3급-부틸-p-크레졸 등의 산화방지제를 가할 수 있다. 또한, 반응이 진행되며 화학식 7의 화합물이 생성되는 데 따라, 염이 생성되지만, 반응 종료후에 그대로 다음 공정으로 진행될 수 있으며 여과로써 염을 제거할 수 있고, 여과후에 추출, 재결정, 흡착 처리, 재침전, 컬럼 크로마토그래피, 초임계 추출 등의 정제수단으로 화학식 7의 화합물을 정제할 수 있다.
- [0123] 공정(B2)는 화학식 7의 화합물에 화학식 8의 화합물을 가하고 20 내지 80°C에서 반응시켜 화학식 4의 화합물을 수득하는 공정{이 때, 각각의 투입 몰 비는 $V_d > V_c$ (여기서, V_d 는 화학식 8의 화합물의 몰수이다)로 되는 관계, 보다 바람직하게는 $10V_c > V_d > V_c$ 로 되는 관계를 만족시킨다}이다.

화학식 8



- [0124] 상기 화학식 8에서,
- [0125] R은 위에서 정의한 바와 같고,
- [0126] M은 나트륨 또는 칼륨, 적절하게는 나트륨이다.
- [0127] 여기서, $V_d \leq V_c$ 이면 알킬에테르화 반응이 충분하게 진행되지 않으며 옥시알킬렌쇄 말단에 메실레이트기와 같은 반응성 그룹이 잔존하는 것으로 된다. 옥시알킬렌쇄 말단에 반응성 그룹이 잔존하는 경우, 상기와 동일하게 다관능 화합물로 되며, 생체 관련 물질과의 결합시에 중대한 부반응을 일으킨다. 또한, $V_d \geq 10V_c$ 인 경우, 과잉의 알콜레이트가 후공정에 혼입되며, 부반응 등을 일으키는 원인으로 될 수 있다.
- [0128] 본 반응에서 사용되는 용제로는 비양성자성 용제이면 특별히 제한되지 않지만, 바람직하게는 톨루엔이다. 반응 시의 사용 용제량에 관해서는 화학식 7의 화합물에 대하여 0.5배 내지 10배량이 바람직하다. 화학식 7의 분자량이 큰 경우에는 반응액의 점도가 높아지므로 용제로 희석하는 편이 바람직하다.
- [0129] 반응 온도에 관해서는 특별히 제한되지 않지만, 부반응을 억제하기 위해서는 80°C 이하가 바람직하며, 반응액의 점성 상승을 억제하는 의미에서 20°C 이상이 바람직하다. 반응 시간에 관해서는 1 내지 24시간이 바람직하다. 1시간보다 짧으면 반응율이 낮을 염려가 있다. 24시간보다 길면 부반응이 일어날 염려가 있다. 반응할 때에는 반응전에 공비 탈수 등의 원료 탈수조작을 실시할 수 있다.
- [0130] 공정(B3)은 반응액을 여과하거나, 반응액을 농도 10중량% 이상의 무기염 수용액으로 수세하는 공정이다.
- [0131] 여기서, 무기염에 관해서는 특별히 종류는 제한되지 않지만, 적절하게는 식염이다. 농도에 관해서는 10중량%보다 적으면 목적물이 수충으로 이행되어 현저하게 제품 수율을 떨어뜨린다. 이러한 수세조작은 복수회 반복할 수 있다. 이러한 공정(B3)은 과잉으로 첨가한 원료나 부생된 염 등을 제거하기 위해서이며, 이러한 공정을 생략하면 이후에 공정(B1) 내지 공정(B3)을 다시 실시하는 경우에는 부반응의 원인으로 될 염려가 있다. 다음 공정으로서 탈벤질공정을 실시하는 경우에는 이들 불순물이 촉매독으로 되며, 반응율에 영향을 미칠 염려가 있다.
- [0132] 또한, 옥시알킬렌쇄 말단의 알킬에테르화율을 높이므로 공정(B1) 내지 공정(B3)을 다시 반복하여 실시하는 것이 바람직하다. 옥시알킬렌쇄 말단의 알킬에테르화율이 낮으면 상기한 바와 같이 다관능의 불순물이 생성될 염려가 있다.
- [0133] 이와 같이 수득된 화학식 4의 화합물은 추출, 재결정, 흡착 처리, 재침전, 컬럼 크로마토그래피, 초임계 추출 등의 정제수단으로 정제할 수 있다.

화학식 4



[0135]

[0136] 계속해서 탈벤질화에 의한 화합물 p의 제조는 특별히 제한되지 않지만, 수소화 환원 촉매, 수소 공여체를 사용하며, 다음 공정(A)의 수소 첨가반응으로 제조할 수 있다.

[0137]

공정(A)는 화학식 4의 화합물을 반응계 중의 함수량이 1% 이하인 조건에서 수소화 환원반응시키는 공정이다. 반응계 중의 함수량이 1%보다 많으면 폴리옥시알킬렌쇄의 분해반응이 일어난다. 분해 생성되는 폴리알킬렌 글리콜은 하이드록실 그룹을 가지므로 다음 공정에서 관능 그룹화되어, 반응성의 저분자량 불순물로 된다. 이러한 반응성 저분자량 불순물은 상기한 바와 같이 생체 관련 물질과 반응하며, 제제의 물성을 변화시키는 경향이 있다.

[0138]

수소화 환원 촉매로는 팔라듐이 바람직하다. 담체에 관해서는 특별히 제한되지 않지만, 바람직하게는 알루미나, 카본이며, 보다 적절하게는 카본이다. 팔라듐량으로는 화학식 4의 화합물에 대하여 1 내지 20중량%가 바람직하다. 1중량%보다 적으면 탈보호 반응율이 낮아지며 다음 공정에서 관능 그룹화율이 낮아질 염려가 있다. 또한, 20중량%보다 많으면 폴리알킬렌 글리콜 쇄의 분해반응이 일어나며 상기한 반응성 저분자량체가 부생될 염려가 있다. 반응 용매에 관해서는 반응계 중의 함수량이 1%보다 적어지면 특별히 제한되지 않지만, 바람직하게는 메탄올, 에탄올, 2-프로판올 등을 들 수 있으며 보다 바람직하게는 메탄올이다. 수소 공여체에 관해서는 특별히 제한되지 않지만, 수소가스, 사이클로헥센, 2-프로판올 등이 있다. 반응 온도에 관해서는 40°C 이하가 바람직하며 40°C보다 높으면 폴리알킬렌 글리콜 쇄의 분해반응이 일어나며 반응성 저분자량체가 생성될 염려가 있다. 반응 시간에 관해서는 특별한 제한은 없으며 촉매량이 많으면 단시간에 반응이 종료되며 촉매량이 적으면 장시간 동안 요하지만, 1 내지 5시간이 바람직하다. 1시간보다 짧으면 반응율이 낮아질 염려가 있다. 5시간보다 길면 폴리알킬렌 글리콜 쇄의 분해반응이 일어날 염려가 있다.

[0139]

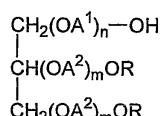
[0139] 수득된 화학식 p의 화합물은 추출, 재결정, 흡착 처리, 재침전, 컬럼 크로마토그래피, 초임계 추출 등의 정제수단으로 정제할 수 있다.

[0140]

[0140] 이와 같이 수득된 화합물은 화학식 p이며, 실질적으로 2급 하이드록실 그룹을 포함하지 않는 폴리알킬렌 글리콜 유도체이다.

[0141]

화학식 p



[0142]

[0143] 상기 화학식 p에서,

[0144]

[0144] R은 탄소수 1 내지 24의 탄화수소 그룹이고, R은 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

[0145]

[0145] OA^1 및 OA^2 는 각각 탄소수 2 내지 4의 옥시알킬렌 그룹이고, OA^2 는 하나의 분자 중에서 서로 동일하거나 상이하며,

[0146]

삭제

[0147]

n 및 m은 각각 옥시알킬렌 그룹의 평균 부가 몰수이며, n은 0 내지 1000이고, m은 10 내지 1000이다.

[0148]

화학식 p의 화합물은 실질적으로 2급 하이드록실 그룹을 함유하지 않으므로 다음의 관능 그룹 도입반응의 반응율이 높으며 고순도의 폴리알킬렌 글리콜 유도체를 수득할 수 있다. 2급 하이드록실 그룹이 있는 경우, 관능 그룹 도입의 반응율이 낮으며 개질된 생체 관련 물질의 중간체 순도가 낮아지며, 약제 등에 불순물이 혼입되어 문제로 될 가능성이 있다.

- [0149] 본 발명의 화학식 p의 화합물은 화학식 p의 폴리알킬렌 글리콜 유도체의 겔 침투 크로마토그래피에서 수득되는 피크 정점에 상당하는 분자량을 Mp로 하고, 2위치와 3위치의 폴리옥시알킬렌쇄 말단에서, 알킬 그룹 R에 함유되는 잔존 하이드록실 그룹의 비율을 Hrd로 하는 경우, $Hrd/Mp \times 1,000,000 \leq 3$ 으로 되는 관계를 만족시킨다. 보다 바람직하게는 $Hrd/Mp \times 1,000,000 \leq 2$ 로 되는 관계를 만족시킨다.
- [0150] Mp는 겔 침투 크로마토그래피에 사용되는 전개 용매 등에 기인하는 피크나 사용되는 컬럼이나 장치에 기인하는 베이스 라인의 요동에 의한 유사 피크를 제외한 피크 내에 굴절율 최대점의 중량 평균 분자량이다. 본 발명에서 겔 침투 크로마토그래피는 GPC 시스템으로는 SHODEX GPC SYSTEM-11을 사용하며, 다음의 조건에서 측정을 실시한다.
- [0151] 전개 용매: 테트라하이드로푸란
- [0152] 유속: 1ml/min
- [0153] 컬럼: SHODEX KF-801, KF-803, KF-804(I.D. 8mm × 30cm)
- [0154] 컬럼 온도: 40°C
- [0155] 검출기: RIX8
- [0156] 샘플량: 1mg/g, 100μl
- [0157] 알킬 그룹 R에 함유되는 잔존 하이드록실 그룹의 비율 Hrd는 탈보호하기 전의 전구체인 화학식 4의 화합물을 메실화하여 측정한다. 하기에 R이 메틸 그룹의 경우를 예시한다.
- [0158] 화학식 4의 화합물 Ve그램에 5Ve그램의 톨루엔을 가하여, 상압에서 환류 탈수를 실시한다. 40°C로 냉각한 다음, 화학식 4의 화합물 1몰에 대해 트리에틸아민 20몰을 가하여, 잘 교반한 다음, 메탄설포닐 클로라이드 6몰을 첨가한다. 이 때, 톨루엔 희석 또는 무희석으로 적가하여 가하는 것이 바람직하다. 그대로 40°C에서 반응을 3시간 동안 실시하여, 여과로써 메탄설포산의 트리에틸아민염을 제거하며 여액에 10Ve 내지 20Ve그램의 아세트산에틸을 가하여, 실온까지 냉각한 다음, 헥산을 결정이 석출될 때까지 서서히 가한다. 수득된 결정을 여과하여 취하고, 결정에 다시 10Ve 내지 20Ve그램의 아세트산에틸을 가하여, 가온 용해하여 실온까지 냉각한 다음, 헥산을 결정이 석출될 때까지 서서히 가한다. 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 수득된 건조물 20mg을 중클로로포름에 용해하여 ^1H 핵자기 공명 스펙트럼을 측정한다. TMS 기준 피크를 0ppm으로 할 때, 3.38ppm에서 검출되는 옥시알킬렌쇄 말단의 메틸 그룹 피크 적분치 Mme와, 3.08ppm에서 검출되는 옥시알킬렌쇄 말단에 잔존하는 하이드록실 그룹이 메실화될 때에 메실 그룹 피크의 적분치를 Mms로 할 때, Hrd는 하기의 관계로 나타낸다.
- $$\text{Hrd} = \text{Mms}/(\text{Mms} + \text{Mme})$$
- [0159] R이 메틸 그룹 이외의 기인 경우에는 적절하게 알킬 그룹이 검출되는 피크 위치를 동정하며 양성자수를 가미하여, 동일한 일반식으로부터 구할 수 있다.
- [0160] 이와 같이 구한 Hrd가 $Hrd/Mp \times 1,000,000 > 3$ 의 관계인 경우, 2위치와 3위치의 폴리옥시알킬렌쇄 말단에 하이드록실 그룹이 잔존하는 불순물이 다량으로 혼입되어 있는 것을 의미한다. 이러한 불순물이 있는 경우, 후공정에서 폴리옥시알킬렌쇄 말단의 하이드록실 그룹도 관능 그룹이 도입되며 다관능의 불순물이 생성되는 것으로 된다. 이러한 불순물은 상기한 바와 같이 생체 관련 물질과 결합할 때, 가교제로서 작용하며, 부반응을 일으킬 염려가 있다.
- [0161] 본 발명의 화학식 p의 화합물은 겔 침투 크로마토그래피 측정을 실시할 때, 용출 개시점으로부터 용출 종료점까지의 전체 피크에서 다분산도(M_w/M_n)가 $M_w/M_n \leq 1.07$ 로 되는 관계를 만족시킨다. 보다 바람직하게는 $M_w/M_n \leq 1.05$ 를 만족시키는 경우이다.
- [0162] $M_w/M_n > 1.07$ 인 경우, 상기한 고분자량 불순물이나 저분자량 불순물이 많은 것을 의미하며, 생체 관련 물질과 결합시킬 때, 부반응물이 많아지며 순도가 불충분해질 염려가 있다. 또한, 순도가 불충분해진 경우, 의약품으로서 부작용을 일으킬 염려가 있다.
- [0163] 본 발명의 화학식 p의 화합물은 메탄설포닐 클로라이드를 반응시켜 메실화물을 수득하고 중메탄을 용액으로 ^1H 핵자기 공명 스펙트럼을 수득하는 경우, 3.13ppm 부근에서 검출되는 $n=0$ 의 경우의 글리세롤 골격에 직접 결합된 1위치의 하이드록실 그룹으로부터 유도된 메실 그룹 유래의 메틸 그룹 적분치 M1과, 3.12ppm 부근에서 검출되는 폴리알킬렌 글리콜 쇄의 하이드록실 그룹으로부터 유도된 메실 그룹 유래의 메틸 그룹 적분치 M2가 $M2/(M1+M2)$

$\times 100 \leq 10$ 으로 되는 관계를 만족시킨다. 보다 바람직하게는 $M2/(M1+M2) \times 100 \leq 8$ 로 되는 관계를 만족시킨다.

[0165] 하기에 M1, M2의 산출방법을 예시한다.

[0166] 화학식 p의 화합물 Vf그램(g)에 4Vf그램(g)의 톨루엔을 가하여, 상압에서 환류 탈수를 실시한다. 40°C로 냉각한 다음, 화학식 p의 화합물 1몰에 대해 트리에틸아민 20몰을 가하여, 잘 교반한 다음, 메탄설포닐 클로라이드 6몰을 첨가한다. 이 때, 톨루엔 희석 또는 무희석으로 적가하여 가하는 것이 바람직하다. 그대로 40°C에서 반응을 3시간 동안 실시하여, 여과로써 메탄설폰산의 트리에틸아민염을 제거하며 여액에 10Vf 내지 20Vf그램(g)의 아세트산에틸을 가하여, 실온까지 냉각한 다음, 헥산을 결정이 석출될 때까지 서서히 가한다. 수득된 결정을 여과하여 취하고, 결정에 다시 10Vf 내지 20Vf그램(g)의 아세트산에틸을 가하여, 가온 용해하며 실온까지 냉각한 다음, 헥산을 결정이 석출될 때까지 서서히 가한다. 결정을 여과하여 취하고, 건조시켜, 수득된 건조물 20mg을 중메탄올에 용해하며 1H 핵자기 공명 스펙트럼을 측정한다. TMS 기준 피크를 0ppm으로 하고, 3.13ppm에서 검출되는 $n=0$ 의 경우의 글리세롤을 골격에 직접 결합된 1위치의 하이드록실 그룹으로부터 유도된 메실 그룹 유래의 메틸 그룹 적분치를 m_1 로 한다. 또한, 3.12ppm에서 검출되는 옥시알킬렌쇄 말단 또는 분해 생성되는 폴리알킬렌 글리콜 쇄로부터 유도된 메실 그룹 유래의 메틸 그룹 적분치를 $M2$ 로서 구할 수 있다.

[0167] 이와 같이 구한 $M1$ 과 $M2$ 로부터 유도되는 $M2/(M1+M2) \times 100 > 10$ 의 경우, 하기에 기재된 불순물이 다량으로 혼입되므로 개질된 생체 관련 물질의 순도가 저하되는 경향이 있다.

[0168] (A): 화학식 9의 화합물을 알콜레이트화할 때, 분해반응이 일어나며 생성되는 벤질알콜에 알킬렌 옥사이드가 부가 중합하여 후공정에서 벤질 그룹이 탈보호되어 생성되는 화합물 p의 0.5배 분자량의 하이드록실 그룹을 갖는 불순물

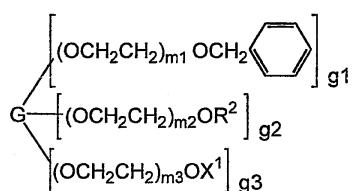
[0169] 화학식 (b): (5)의 화합물의 알킬에테르화할 때에 생성되는 2위치 또는 3위치에 하이드록실 그룹이 잔존되는 화합물 p과 동일 분자량의 불순물

[0170] 화학식 (c): (4)의 화합물의 탈벤질화의 때, 폴리옥시알킬렌쇄가 분해하여 생성되는 저분자량의 하이드록실 그룹을 갖는 불순물 등의 불순물에 유래하는 폴리옥시알킬렌쇄 말단에 하이드록실 그룹을 갖는 불순물의 양이 많은 것을 의미한다.

[0171] 본 발명의 탈벤질 반응은 다른 유도체에 넓게 적용할 수 있는 것이다.

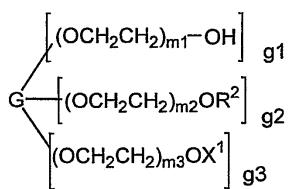
[0172] 보다 구체적으로는 반응계 중의 함수량이 1% 이하인 조건에서 화학식 10의 화합물을 수소화 환원반응시키는 공정(AA)을 갖는 것을 특징으로 하는, 화학식 11의 폴리에틸렌 글리콜 유도체의 제조방법이다.

화학식 10



[0173]

화학식 11



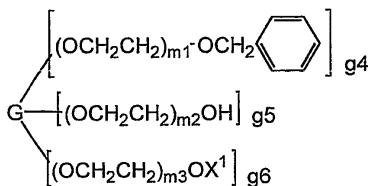
[0174]

[0175] 상기 화학식 10 및 화학식 11에서,

[0176] G는 2 내지 4개의 하이드록실 그룹을 갖는 화합물의 잔기이고,

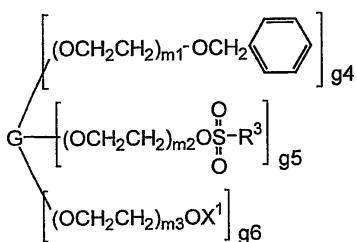
- [0177] R^2 는 탄소수 1 내지 4의 탄화수소 그룹이며,
- [0178] X^1 은 아미노 그룹, 카복실 그룹 또는 이들의 보호 그룹이고,
- [0179] m_1 , m_2 및 m_3 은 옥시에틸렌 그룹의 평균 부가 몰수이며, $0 \leq m_1 \leq 1000$, $0 \leq m_2 \leq 1000$, $0 \leq m_3 \leq 1000$, $10 \leq m_1 + m_2 + m_3 \leq 1000$ 로 되는 관계를 만족시키고,
- [0180] g_1 , g_2 및 g_3 은 각각 정수이며, $1 \leq g_1 \leq 3$, $0 \leq g_2$, $0 \leq g_3$, $2 \leq g_1 + g_2 + g_3 \leq 4$ 로 되는 관계를 만족시킨다.
- [0181] G에서 보다 구체적인 2 내지 4개의 하이드록실 그룹을 갖는 화합물잔기로는 에틸렌 글리콜, 글리세린, 펜타에리스리톨, 디글리세린 등을 들 수 있으며 보다 바람직하게는 에틸렌 글리콜, 글리세린의 경우이다.
- [0182] 보다 구체적인 R^2 로는 메틸 그룹, 에틸 그룹, 프로필 그룹, 이소프로필 그룹, t-부틸 그룹 등이 있으며, 바람직하게는 메틸 그룹의 경우이다.
- [0183] m_1 , m_2 , m_3 에 관해서는 $0 \leq m_1 \leq 1000$, $0 \leq m_2 \leq 1000$, $0 \leq m_3 \leq 1000$, $10 \leq m_1 + m_2 + m_3 \leq 1000$ 이면 특별히 제한되지 않지만, 보다 바람직하게는 $20 \leq m_1 + m_2 + m_3 \leq 1000$ 의 경우이며, 보다 바람직하게는 $40 \leq m_1 + m_2 + m_3 \leq 1000$ 의 경우이며, 가장 바람직하게는 $100 \leq m_1 + m_2 + m_3 \leq 1000$ 의 경우이다.
- [0184] 구체적인 X^1 으로는 아미노 그룹, Boc 아미노 그룹, Fmoc 아미노 그룹, 카복실 그룹 등을 들 수 있으며 보다 바람직하게는 Boc 아미노 그룹이다. Boc는 t-부톡시카보닐기이며, Fmoc는 9-플루오레닐메톡시카보닐기이다.
- [0185] 반응계 중의 수분, 촉매량, 반응 시간, 용매 등은 공정(A)과 같다. 수소화 환원반응은 수소화 환원 촉매를 사용하여 실시할 수 있다. 수소화 환원 촉매로는 팔라듐이 바람직하다.
- [0186] 본 발명의 알킬에테르화 반응은 다른 유도체에 넓게 적용할 수 있는 것이다.
- [0187] 보다 구체적으로는 탈할로겐화제인 화학식 14의 화합물을 화학식 12의 화합물에 가하고 20 내지 60°C에서 반응시켜 화학식 13의 화합물을 수득하는 공정(BB1){이 때, 각각의 투입 몰 비는 $V_j \geq 1.5 \times V_h \times g_5$ 및 $V_i > V_j$ (여기서, V_h 는 화학식 12의 화합물의 몰수이며, V_i 는 탈할로겐화제의 몰수이며, V_j 는 화학식 14의 화합물의 몰수이다)로 되는 관계를 만족시킨다},
- [0188] 화학식 13의 화합물에 화학식 15의 화합물을 가하고 20 내지 80°C에서 반응시켜 화학식 16의 화합물을 수득하는 공정(BB2){이 때, 각각의 투입 몰 비는 $V_k > V_j$ (여기서, V_k 는 화학식 15의 화합물의 몰수이다)로 되는 관계를 만족시킨다} 및
- [0189] 반응액을 여과하거나 반응액을 농도 10중량% 이상의 무기염 수용액으로 수세하는 공정(BB3)을 실시하는 화학식 16의 폴리에틸렌 글리콜 유도체의 제조방법이다.

화학식 12



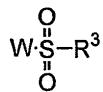
[0190]

화학식 13



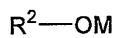
[0191]

화학식 14



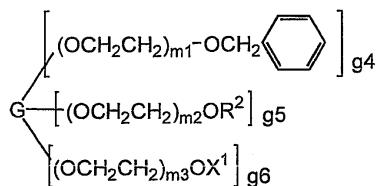
[0192]

화학식 15



[0193]

화학식 16



[0194]

[0195] 상기 화학식 12 내지 화학식 16에서,

[0196] G, R², m1, m2, m3, X¹은 위에서 정의한 바와 같고,

[0197] R³은 탄소수 1 내지 10의 탄화수소 그룹이며,

[0198] M은 칼륨 또는 나트륨이고,

[0199] W는 Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자이며,

[0200] g4, g5 및 g6은 각각 정수이고, 0 ≤ g4, 1 ≤ g5 ≤ 3, 0 ≤ g6, 2 ≤ g4 + g5 + g6 ≤ 4로 되는 관계를 만족시킨다.

[0201] 화학식 14의 화합물에서는 W가 Cl, Br이 바람직하며, R³은 메틸 그룹, 페닐 그룹, p-메틸페닐 그룹의 경우가 바람직하고, 보다 적절하게는 W가 Cl이며 R³이 메틸 그룹인 메탄설포닐 클로라이드가 가장 바람직하다.

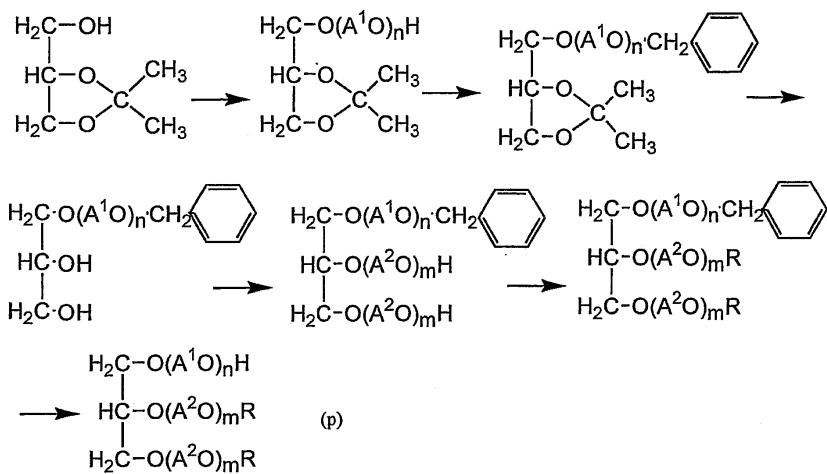
[0202] 무기염에 관해서는 특별히 종류는 제한되지 않지만, 적절하게는 식염이다.

[0203] 또한, 상기한 이유로 옥시에틸렌쇄 말단의 알킬에테르화율을 높이므로 공정(BB1) 내지 공정(BB3)을 다시 반복하여 실시하는 것이 바람직하다.

[0204] 반응계 중의 수분, 촉매량, 반응 시간, 용매 등은 공정(B1) 내지 공정(B3)과 같다.

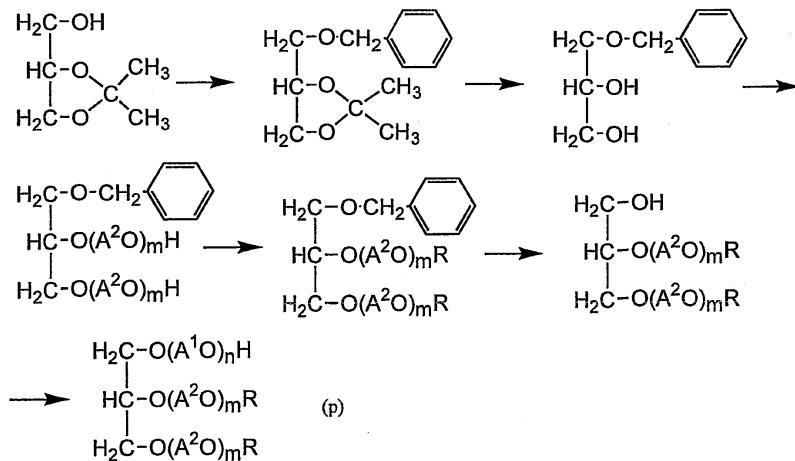
[0205] 화합물 p의 반응 경로를 하기에 기재한다.

반응식 1



[0206]

반응식 2

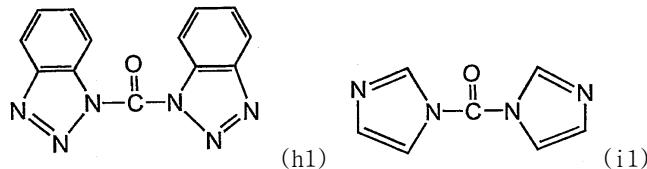
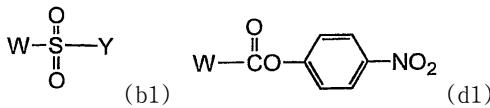


[0207]

[0208] 이어서, 탈벤질화 반응에 의해 생성되는 화합물 p의 하이드록실 그룹으로의 반응성 그룹의 도입에 관해서 설명 한다.

[0209] (화학식 (b), 화학식 (d), 화학식 (h), 화학식 (i)의 제조방법)

[0210] 화합물 p과 톨루엔, 벤젠, 크실렌, 아세토니트릴, 아세트산에틸, 디에틸에테르, t-부틸-메틸에테르, 테트라하이드로푸란, 클로로포름, 염화메틸렌, 디메틸설폐사이드, 디메틸포름아미드, 디메틸아세트아미드 등의 비양성자성 용매 또는 무용매 중에서 트리에틸아민, 피리딘, 4-디메틸아미노페리딘 등의 유기 염기 또는 탄산나트륨, 수산화나트륨, 탄산수소나트륨, 아세트산나트륨, 탄산칼륨, 수산화칼륨 등의 무기 염기와 화학식 (b)1, 화학식 (d)1, 화학식 (h)1, 화학식 (i)1의 화합물의 어느 하나와 반응시키는 것으로 각각 화학식 (b), 화학식 (d), 화학식 (h), 화학식 (i)를 도입할 수 있다. 또한, 상기 유기 염기, 무기 염기는 사용하지 않을 수 있다. 유기 염기, 무기 염기의 사용 비율은 특별히 한정되지 않으며, 화합물 p에 대하여 등몰 이상이 바람직하다. 또한, 유기 염기를 용매로서 사용할 수 있다. 화학식b1, 화학식 (d)1에서 W는 Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자이며, 바람직하게는 Cl이다. 화학식 (b)1, 화학식 (d)1, 화학식 (h)1, 화학식 (i)1의 화합물의 사용 비율은 특별히 한정되지 않으며, 화합물 p에 대하여 등몰 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 등몰 내지 50몰의 범위로 반응시키는 것이 바람직하다. 반응 온도로는 0 내지 300°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 150°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 24시간이다. 생성되는 화합물은 추출, 재결정, 흡착 처리, 재침전, 컬럼 크로마토그래피, 초임계 추출 등의 정제수단으로 정제할 수 있다.



[0213] 상기 화학식 (b)1, 화학식 (d)1, 화학식 (h)1, 화학식 (i)1의 화합물에서,

[0214] W는 Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자이다.

[0215] (화학식 (a), 화학식 (k)의 제조방법)

[0216] 화합물 p를 무수 석신산이나 무수 글루타르산 등의 디카복실산 무수물과 반응시켜 카복실체(k)를 수득한 다음, DCC, EDC 등의 축합제 존재하에 N-하이드록시석신산이미드와 축합반응시키는 것으로 화학식 (a)의 석신산이미드 체를 수득할 수 있다. 화합물 p과 디카복실산 무수물의 반응은 비양성자성 용매 또는 무용매 속에서 실시한다. 디카복실산 무수물의 사용 비율은 특별히 한정되지 않으며, 화합물 p에 대하여 등몰 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 등몰 내지 5몰이다. 반응 온도로는 0 내지 200가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 150°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 12시간이다. 반응에는 트리에틸아민, 피리딘, 디메틸아미노피리딘 등의 유기 염기나 탄산나트륨, 수산화나트륨, 탄산수소나트륨, 아세트산 나트륨, 탄산칼륨, 수산화칼륨 등의 무기 염기를 촉매로서 사용할 수 있다. 촉매의 사용 비율은 0.1 내지 50중량%가 바람직하고, 보다 바람직하게는 0.5 내지 20중량%이다. 이와 같이 생성되는 화학식 (k)의 카복실체는 상기한 정제수단으로 정제할 수 있으며 그대로 다음 축합반응에 사용할 수 있다.

[0217] 계속해서 축합반응도 동일하게 비양성자성 용매중 또는 무용매 중에서 실시한다. 축합제로는 특별히 한정되지 않으며, 바람직하게는 DCC이다. DCC의 사용 비율은 화합물 p에 대하여 등몰 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 등몰 내지 5몰이다. N-하이드록시석신산이미드의 사용 비율은 화합물 p에 대하여 등몰 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 등몰 내지 5몰이다. 반응 온도로는 0 내지 100°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 80°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 12시간이다. 생성되는 화합물은 상기한 정제수단으로 정제할 수 있다.

[0218] (화학식 (g)과 화학식 (j)의 제조방법)

[0219] 화합물 p를 물, 아세토니트릴 등의 용매중에서 수산화나트륨, 수산화칼륨 등의 무기 염기를 촉매로 하여, 아크릴로니트릴 등을 부가시켜 니트릴체를 얻은 후, 오토클레이브 속에서 니켈이나 팔라듐 촉매하에 니트릴기의 수소 첨가반응을 실시하는 것으로 화학식 (g)의 아민체를 수득할 수 있다. 니트릴체를 수득할 때의 무기 염기의 사용 비율은 특별히 한정되지 않으며, 화합물 p에 대하여 0.01 내지 50중량%가 바람직하다. 아크릴로니트릴 등의 사용 비율은 특별히 한정되지 않으며, 화합물 p의 중량에 대하여 0.5 내지 5배 중량이 바람직하고, 보다 바람직하게는 1 내지 4배 중량의 범위로 반응시키는 것이 보다 바람직하다. 또한, 아크릴로니트릴을 용매로 하여 사용할 수 있다. 반응 온도로는 -50 내지 100°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 -20 내지 60°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 24시간이다. 계속해서 니트릴체의 수소 첨가반응에서의 반응 용매는 반응에 관여하지 않는 용매이면 특별히 한정되지 않으며, 바람직하게는 톨루엔이다. 니켈 또는 팔라듐 촉매의 사용 비율은 특별히 한정되지 않으며, 니트릴체에 대하여 0.05 내지 30중량%이며, 바람직하게는 0.5 내지 20중량%이다. 반응 온도는 20 내지 200°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 50 내지 150°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 24시간이다. 수소압은 2 내지 10MPa가 바람직하고, 보다 바람직하게는 3 내지 8MPa이다. 또한, 이량화를 막기 위해서 반응 계 중에 암모니아를 가할 수 있다. 암모니아를 가하는 경우에 암모니아압은 특별히 한정되지 않으며, 0.1 내지 10MPa이며, 보다 바람직하게는 0.3 내지 2MPa이다. 생성되는 화합물은 상기한 정제수단으로 정제할 수 있다.

[0220] 아민체 화학식 (g)과 화학식 (j)는 화학식 (b)를 암모니아수와 반응시키는 것으로 수득할 수 있다. 반응은 암모니아수 중에서 실시하고, 암모니아의 농도는 특별히 한정되지 않으며, 바람직하게는 10 내지 40%의 범위이다. 암모니아수의 사용 비율은 화학식 (b)의 중량에 대하여 1 내지 300배인 것이 바람직하다. 반응 온도로는 0 내

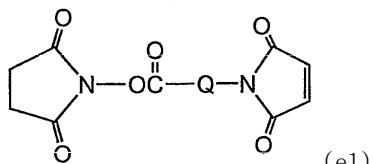
지 100°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 80°C이다. 반응 시간은 10분 내지 72시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 1 내지 36시간이다. 또한, 아민체(g), (j)는 오토클레이브 중에서 화학식 (b)를 암모니아와 반응시켜도 수득할 수 있다. 반응 용제에 관해서는 특별히 한정되지 않으며, 바람직하게는 메탄올, 에탄올이 있다. 암모니아량은 화학식 (b)에 대하여 10 내지 300중량%가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 200중량%이다. 반응 온도로는 50 내지 200°C가 바람직하며 80 내지 150°C가 보다 바람직하다. 반응 시간에 관해서는 10분 내지 24시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 12시간이다. 생성되는 화합물은 상기한 정제수단으로 정제할 수 있다.

[0221] (화학식 (e)의 제조방법)

또한, 수득된 화학식 (g)의 아민을 비양성자성 용매 또는 무용매 중에서 무수 말레산과 반응시켜 말레이아미드체를 수득한 후, 무수 아세트산 및 아세트산나트륨을 촉매로 하여 폐환반응시키는 것으로 화학식 (e)의 말레이아미드체를 수득할 수 있다. 말레이아미드화 반응에서 무수 말레산의 사용 비율은 특별히 한정되지 않으며, 화합물 p에 대하여 등몰 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 등몰 내지 5몰이다. 반응 온도로는 0 내지 200°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 120°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 12시간이다. 생성되는 말레이아미드체는 상기한 정제수단으로 정제할 수 있으며 그대로 다음 폐환반응에 사용할 수 있다.

[0223] 계속해서 폐환반응에서 반응 용매는 특별히 한정되지 않지만, 비양성자성 용매 또는 무수 아세트산이 바람직하다. 아세트산나트륨의 사용 비율은 특별히 한정되지 않으며, 말레이아미드체에 대하여 등몰 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 등몰 내지 50몰이다. 반응 온도로는 0 내지 200°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 150°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 12시간이다. 생성되는 화합물은 상기한 정제수단으로 정제할 수 있다.

[0224] 상기 말레이아미드체는 화학식 (e)1과, 상기한 화학식 (g)과 화학식 (j)의 아민을 반응시키는 것으로도 수득할 수 있다. 반응은 비양성자성 용매 또는 무용매 중에서 실시하며, 화학식 (e)1의 화합물을 화학식 (g)과 화학식 (j)의 아민에 대하여 등몰 이상 가하여 반응시킨다. 화학식 (e)1의 화합물의 사용 비율은 화학식 (g)과 화학식 (j)의 등몰 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 등몰 내지 5몰이다. 반응 온도로는 바람직하게는 0 내지 200°C, 보다 바람직하게는 20 내지 80°C이다. 반응 시간은 바람직하게는 10분 내지 48시간, 보다 바람직하게는 30분 내지 12시간이다. 반응할 때에는 차광할 수 있다. 생성되는 화합물은 상기한 정제수단으로 정제할 수 있다.



[0225] 상기 화학식 (e)1에서,

[0227] Q는 탄소수 1 내지 7의 탄화수소 그룹이다.

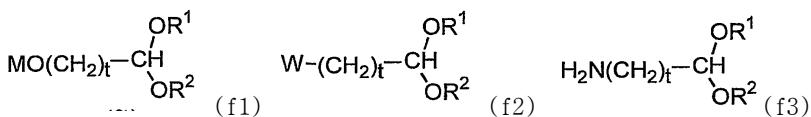
[0228] (화학식 (f)의 제조방법)

[0229] 화학식 (b)를 화학식 (f)1의 아세탈 화합물과 반응시켜 아세탈체를 수득한 다음, 산성 조건에서 가수분해를 실시하는 것으로 화학식 (f)의 알데히드체를 수득할 수 있다. 화학식 (b)의 화합물의 제조는 상기과 같다. 아세탈화 반응은 비양성자성 용매중 또는 무용매 중에서 화학식 (b)의 화합물과 등몰 이상, 바람직하게는 등몰 내지 50몰의 화학식 (f)1의 화합물을 반응시키는 것으로 수득할 수 있다. 화학식 (f)1은 상당하는 알콜로부터 금속나트륨, 금속 칼륨, 수소화나트륨, 수소화칼륨, 나트륨메톡사이드, 칼륨-t-부톡사이드 등을 사용하여 조제할 수 있다. 반응 온도로는 0 내지 300°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 150°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 24시간이다.

[0230] 화학식 (f)2를 사용하는 경우에는 화합물 p의 하이드록실 그룹을 상기한 방법으로 알콜레이트로 한 다음, 비양성자성 용매중 또는 무용매 중에서 화학식 (f)2를 등몰 이상, 바람직하게는 등몰 내지 100몰의 비율로 반응을 실시하는 것으로 아세탈체를 수득할 수 있다. 반응 온도로는 0 내지 300°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 150°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하며 특히 바람직하게는 30분 내지 24시간이다.

화학식 (f)3을 사용하는 경우에는 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (d), 화학식 (h), 화학식 (i) 또는 화학식 (k)와 화학식 (f)3을 반응시키는 것으로 아세탈체를 수득할 수 있다. 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (d), 화학식 (h), 화학식 (i) 또는 화학식 (k)의 제조에 관해서는 상기한 같다. 화학식 (f)3과의 반응에서는 용매는 특별히 제한되지 않지만, 바람직하게는 비양성자성 용매 중에서 실시한다. 화학식 (a), 화학식 (b), 화학식 (d), 화학식 (h), 화학식 (i) 또는 화학식 (k)에 대한 화학식 (f)3의 투입 비율은 등몰 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 등몰 내지 10몰이다. 반응 온도로는 -30 내지 200°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 0 내지 150°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 24시간이다. 화학식 (k)를 사용하는 경우에는 적절하게 DCC, EDC 등의 축합제를 사용할 수 있다. 어떤 아세탈화 반응도 차광하여 실시할 수 있다. 이와 같이 수득되는 아세탈체는 상기한 정제수단으로 정제할 수 있으며 정제를 실시하지 않고 그대로 다음 알데히드화 반응에 사용할 수 있다.

알데히드화는 아세탈체를 0.1 내지 50%의 수용액으로 하며 아세트산, 인산, 황산, 염산 등의 산으로 pH 1 내지 4로 조정한 수용액 중에서 가수분해시켜 제조할 수 있다. 반응 온도로는 -20 내지 100°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 0 내지 80°C이다. 반응 시간은 10분 내지 24시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 10시간이다. 반응은 차광하여 실시할 수 있다. 생성되는 화합물은 상기한 정제수단으로 정제할 수 있다.



상기 화학식 (f)1 내지 화학식 (f)3에서.

R^1, R^2 는 탄소수 1~3의 탄화수소 그룹이고, 각각 동일하거나 삼아 할 수 있으며 서로 화을 혼성할 수 있고,

M은 나트륨 또는 칼륨이며,

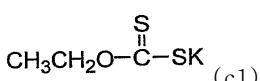
W는 Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자이며,

t 는 1 내지 5의 정수이다.

(화학식 (c)의 제조방법)

화학식 (c)의 머캅토체는 화학식 (b)와 티오우레이아 등의 티아화제와 반응시키는 것으로 수득할 수 있다. 화학식 (b)의 제조는 상기한 바와 같다. 티아화 반응은 물, 알콜, 아세토니트릴 등의 용매중 또는 무용매 중에서 실시한다. 티오우레이아의 사용 비율은 화학식 (b)에 대하여 등몰 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 등몰 내지 50몰의 범위이다. 반응 온도로는 0 내지 300°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 150°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 24시간이다. 반응시킨 다음, 생성되는 티아졸리움염을 알칼리 가수분해하여, 머캅토체를 수득할 수 있다. 생성되는 화합물은 상기한 정제수단으로 정제할 수 있다.

또한, 머캅토체는 화학식 (b)를 화학식 (c1)의 화합물과 반응시켜 1급 아민으로 분해시키는 것으로 수득할 수 있다. 화학식 (b)와 화학식 (c1)의 반응은 비양성자성 용매중 또는 무용매 중에서 실시한다. 화학식 (c1)의 사용 비율은 화합물 p에 대하여 등몰 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 등몰 내지 50몰의 범위이다. 반응 온도로는 0 내지 300°C가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20 내지 80°C이다. 반응 시간은 10분 내지 48시간이 바람직하고, 보다 바람직하게는 30분 내지 24시간이다. 계속해서 1급 아민에 의한 알칼리 분해는 비양성자성 용매 또는 무용매 중에서 실시한다. 사용하는 1급 아민으로는 특별히 한정되지 않으며, 바람직하게는 암모니아, 메틸아민, 에틸아민, 프로필아민, 부틸아민, 펜틸아민, 헥실아민, 사이클로헥실아민, 에탄올아민, 프로판올아민, 부탄올아민 등이 있다. 당연히 이들 1급 아민을 용매로서 사용할 수 있다. 생성되는 화합물은 상기한 정제수단으로 정제할 수 있다.



본 발명에 따르면 측쇄형의 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹에 의하여 개질된 생체 관련 물질을 수득할 수 있다. 이러한 생체 관련 물질은 폴리알킬렌 글리콜옥시 그룹과의 링커 부분을 제외하고, 모두 에테르 결합으로 형성되므로 단일쇄로 분해되지 않고 높은 안정성이 기대된다. 따라서, 측쇄형의 폴리알킬렌 글리콜을 생체 관련 물질

로 개질하는 것으로 생체내 거동이 개선된 생체 관련 물질을 제공할 수 있다. 본 발명의 생체 관련 물질의 중간체는 글리세린 글격의 1위치의 1급 탄소에 생체 관련 물질과 결합할 수 있는 반응성 그룹을 가지며 2위치와 3위치에 폴리알킬렌 글리콜 쇄를 갖는 신규 화합물이다.

[0244]

실시예

[0245] 이하, 실시예에 기초하여 본 발명을 보다 구체적으로 설명하였다. 또한, 예증의 화합물의 분석, 동정에는 ^1H -NMR 및 GPC를 사용하였다.

[0246]

< ^1H -NMR의 분석방법>

[0247] ^1H -NMR 분석에서는 니흔덴시데이터(주)제 JNM-ECP400을 사용하였다. NMR 측정치에서의 적분치는 이론치이다.

[0248]

(GPC의 분석방법):

[0249] GPC 분석에서는 GPC 시스템으로는 SHODEX GPC SYSTEM을 사용하여, 하기 조건에서 측정을 실시하였다.

[0250]

전개 용매: 테트라하이드로푸란 유속: 1ml/min 컬럼: SHODEX KF-801, KF-803, KF-804(I.D. 8mm \times 30cm) 컬럼 온도: 40°C 검출기: RIX8 샘플량: 1mg/g, 100 μl

[0251]

GPC 측정치에는 고분자량 불순물과 저분자량 불순물을 용출곡선의 변곡점으로부터 베이스 라인에 대하여 수직으로 절단하여 제거한 메인 피크에서의 해석치 및 용출 개시점으로부터 용출 종료점까지의 피크 전체에서의 해석치를 병기하였다.

[0252]

Mn은 수평균 분자량, M_w 는 중량 평균 분자량, M_p 는 피크 톱 분자량이다.

[0253]

함수량의 측정은 칼 피셔 수분계(메트롬·시바타제 「7S8/3-20형」)를 사용하며, 칼 피셔 시약은 「하이드라멜·콤파지트2」(시그마알드리치 제조)를 사용하였다.

[0254]

(실시예 1)

[0255] 화합물 p의 합성(R= 메틸 그룹, A^1O , A^2O = 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약

10000의 경우)

[0257]

(실시예 1-1)

[0258]

온도계, 질소 흡입관, 교반기를 부착한 1000ml 환저 플라스크로 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄을 132.2g(1.0mol), 나트륨메톡사이드 28% 메탄을 용액 231.4g(1.2mol), 톨루엔 500ml를 가하여, 질소를 흡입시키면서 톨루엔을 1시간 동안 감압 환류시켜 메탄을 증류 제거하였다. 이러한 용액을 80°C로 유지하면서, 벤질 클로라이드 126.6g(1.0mol)을 적가 깔때기를 사용하여, 2시간에 걸쳐 적가시킨 다음, 2시간 동안 반응시킨다. 반응액을 탈용매, 증류 정제(비점: 93 내지 95°C/266Pa)하여, 4-(벤질옥시메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란을 수득하였다.

^1H -NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm): 1.36, 1.42 (3H, 3H, s, C(CH₃)₂)

3.45-3.57(2H, m, CH₂O-C(CH₃)₂) 3.73-3.76(1H, m, CHO-C(CH₃)₂)

4.03-4.07, 4.28-4.32(2H, m, CH₂O-CH₂Ph) 4.57(2H, q, -CH₂Ph)

7.15-7.40(5H, m, -CH₂Ph) (P h 는 폐닐 그룹이다.)

[0259]

(실시예 1-2)

[0261]

1L 비이커에 1-1에서 정제한 4-(벤질옥시메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란 222g(1.0mol), 에탄을 250ml, 증류수 400ml를 계량하여 취하고 인산으로 pH를 2로 조정하였다. 질소를 흡입시키면서, 용액을 70°C로 가온하고, 1.5시간 동안 반응시킨 다음, 수산화나트륨으로 pH를 7.0으로 조정하여, 흡착제 「교와드 1000」(교와가가쿠고교가부시키가이샤 제조)로써 염을 흡착 처리하며 탈용제를 실시하여, 3-벤질옥시-1,2-프로판디올을 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.50-3.71(4H, m, CH₂OH, CH₂O-CH₂Ph)
3.86-3.91(1H, m, CHOH) 4.54(2H, m, -CH₂Ph) 7.27-7.38(5H, m, -CH₂Ph)

[0262]

(실시 예 1-3)

[0264]

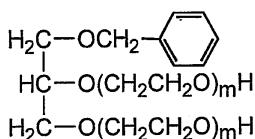
온도계, 질소 흡입관, 교반기를 부착한 300ml 환저 플라스크에 3-벤질옥시-1,2-프로판디올 27.3g(0.15mol), 탈수 틀루엔 127g, 금속 나트륨 0.9g(39mmol: 26mol%)를 가하여, 질소를 흡입시키면서 금속 나트륨이 용해될 때까지 실온에서 교반하였다. 이러한 용액을 5L 오토클레이브로 투입하고 시스템 내를 질소 치환한 다음, 100°C로 승온하고, 100 내지 150°C, 1MPa 이하의 압력으로 에틸렌 옥사이드 1473g(33.5mol)을 가한 다음, 다시 1시간 동안 반응을 계속하였다. 감압으로 미반응의 에틸렌 옥사이드 가스를 제거한 다음, 60°C로 냉각하여 85% 인산 수용액으로 pH를 7.5로 조정하여, 화합물 (p1)을 수득하였다.

[0265]

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.40-3.80(901H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mH,
CHO(CH₂CH₂O)_mH, CH₂O CH₂Ph), 4.54(2H, s, -CH₂Ph) 7.27-7.38(5H, m, -CH₂Ph)

[0266]

GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn) : 9978 중량 평균 분자량(Mw) : 10171 다분산도(Mw/Mn) : 1.019 피크 흡 분자량(Mp) : 10044(피크 전체) 수평균 분자량(Mn) : 9865 중량 평균 분자량(Mw) : 10114 다분산도(Mw/Mn) : 1.025 피크 흡 분자량(Mp) : 10044



[0267]

(p1) m=약 112

[0268]

(실시 예 1-4)

[0269]

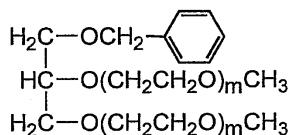
온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크(Dean-stark)관 및 냉각관을 부착한 500ml 환저 플라스크로 화합물 (p1)을 100g(10mmol), 틀루엔 320g을 투입하고 가열 환류시키고 수분을 공비 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 트리에틸아민 10.12g(100mmol), 메탄솔폰산클로라이드 6.87g(60mmol)을 가하여, 40°C에서 6시간 동안 반응시킨다. 반응액을 여과한 다음, 여액을 온도계, 질소 흡입관, 교반기 및 냉각관을 부착한 500ml 환저 플라스크로 옮기고, 나트륨메톡사이드 28% 메탄올 용액 19.3g(100mmol)을 가하여, 70°C에서 6시간 동안 반응시킨다. 계속해서 반응액으로 흡착제 「교와드 700」(교와가가쿠고교가부시키가이샤 제조)를 27g 가한 다음, 70°C에서 1시간 동안 교반하여, 과잉의 나트륨메톡사이드를 흡착 처리시킨다. 반응액을 여과한 다음, 여액을 1L 비이커로 투입하고 아세트산에틸 300g, 헥산 350g을 가하여 결정 석출을 실시하였다. 석출된 결정을 1L 비이커에 여과하여 취하고 아세트산에틸 400g을 가하여 40°C에서 가온 용해한 다음, 헥산 300g을 가하고 다시 결정 석출을 실시하여, 석출된 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 화합물 (p2)을 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.38(6H, s, -CH₃)
3.40-3.80(901H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃, CH₂O CH₂Ph)
4.54(2H, s, -CH₂Ph) 7.27-7.38(5H, m, -CH₂Ph)

[0270]

[0271]

GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn) : 10320 중량 평균 분자량(Mw) : 10551 다분산도(Mw/Mn) : 1.022 피크 흡 분자량(Mp) : 10390(피크 전체) 수평균 분자량(Mn) : 10128 중량 평균 분자량(Mw) : 10452 다분산도(Mw/Mn) : 1.032 피크 흡 분자량(Mp) : 10390



[0272]

(p2) m=약 112

[0273]

(실시 예 1-5)

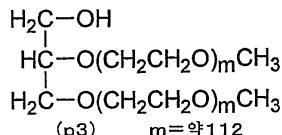
[0274] 온도계, 질소 흡입관, 교반기 및 냉각관을 부착한 500ml 환저 플라스크로 화합물 (p2)을 15g, 5% 팔라듐 카본 (50% 함수폼) 15g을 투입하고 질소 치환한 다음, 메탄을 300ml, 사이클로헥센 150ml를 가하여 승온하며, 52 내지 55°C에서 완만하게 환류시켜 5시간 동안 반응시킨다. 반응액을 실온까지 냉각한 다음, 팔라듐 카본을 여과하여 분리하고, 여액을 농축하였다. 농축액에 아세트산에틸 50ml, 헥산 50ml를 가하여 결정 석출시킨다. 수득된 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 화합물 (p3)을 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.38(6H, s, -CH₃)

3.40-3.80(901H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_m CH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃, CH₂OH)

[0275]

[0276] GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 10069 중량 평균 분자량(Mw): 10227 다분산도(Mw/Mn): 1.016 피크 톱 분자량(Mp): 10351(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 9860 중량 평균 분자량(Mw): 10294 다분산도(Mw/Mn): 1.044 피크 톱 분자량(Mp): 10351



[0277]

(실시 예 2)

[0279] 메실레이트체(그룹I화학식 (b), Y= CH₃)의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 10000의 경우)

[0280]

온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 200ml 환저 플라스크로 화합물 (p3)을 20g(2mmol), 톨루엔 75g을 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 트리에틸아민 1.012g(10mmol), 메탄설폰산클로라이드 0.687g(6mmol)을 가하여, 40°C에서 6시간, 다시 50°C에서 1시간 동안 반응시킨다. 반응액을 여과한 후, 여액을 흡착제 「교와드 1000」(교와가가쿠고교가부시키가이샤 제조)를 1.0g 가한 다음, 60°C에서 1시간 동안 교반하여, 부생성물의 메탄설폰산의 트리에틸아민염을 흡착 처리시킨다. 반응액을 여과한 다음, 여액을 500ml 비이커로 투입하고 아세트산에틸 100ml, 헥산 150ml를 가하여 결정 석출을 실시하였다. 석출된 결정을 300ml 비이커에 여과하여 취하고, 아세트산에틸 100ml를 가하여 40°C에서 가온 용해한 다음, 헥산 100ml를 가하고 다시 결정 석출을 실시하여 석출된 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 메실레이트체(p4)를 수득하였다.

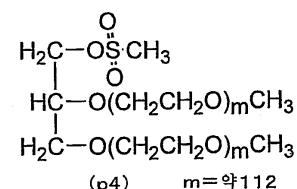
¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.08(3H, s, -SO₃CH₃) 3.38(6H, s, -CH₃) 3.40-3.80(899H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_m CH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃)

[0281]

4.27-4.44(2H, m, -CH₂O SO₃CH₃)

[0282]

GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 10054 중량 평균 분자량(Mw): 10214 다분산도(Mw/Mn): 1.016 피크 톱 분자량(Mp): 10442(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 9778 중량 평균 분자량(Mw): 10252 다분산도(Mw/Mn): 1.049 피크 톱 분자량(Mp): 10442



[0283]

(실시 예 3)

[0285] 아미노체(그룹II(j))의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 10000의 경우)

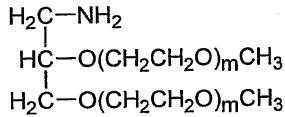
[0286]

온도계, 교반기 및 냉각관을 부착한 100ml 환저 플라스크로 메실레이트체(p4)를 1g(0.1mmol), 28% 암모니아수 50ml를 투입하고 50°C에서 36시간 동안 교반하였다. 액온을 65°C로 올리고 2시간 동안 질소를 흡입시키면서, 암모니아를 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 식염 10g을 가하여, 클로로포름 10ml로 추출을 3회

실시하였다. 수득된 클로로포름층을 황산나트륨으로 건조하여 여과한 다음, 클로로포름을 증류 제거하였다. 수득된 농축액에 헥산을 100ml 가하여 재침전을 실시하고, 석출된 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 아미노체(p5)를 수득하였다.

¹H-NMR (D₂O, 내부표준 H₂O=4.7ppm) δ (ppm) : 3.38(6H, s, -CH₃)
2.93-3.11(2H, m, -CH₂NH₂) 3.40-3.80(899H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃,
CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃)

[0287]



[0288] (P5) m=약 112

[0289] (실시예 4)

[0290] 알데하이드체(그룹I(f))의 합성(R=메틸 그룹, A¹O, A²O=옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 10000의 경우

[0291] (실시예 4-1)

[0292] 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 200ml 환저 플라스크로 메실레이트체(p4)를 10g(1mmol), 톨루엔 40ml를 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하고, 실온으로 냉각하였다. 한편, 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 100ml 환저 플라스크로, 3,3-디에톡시-1-프로판을 14.8g(0.1mol), 톨루엔 40ml를 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 금속 나트륨 0.36g(15.6mmol)을 가하여, 실온에서 용해할 때까지 2시간 동안 교반하였다.

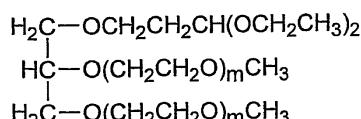
[0293] 금속 나트륨의 용해를 확인한 다음, 반응액을 탈수를 실시한 화합물(p4)가 투입된 환저 플라스크로 투입하여, 110℃에서 12시간 동안 반응시킨다. 반응액을 40℃까지 냉각한 다음, 이온교환수 0.36g(20mmol)을 가하여 30분 동안 교반한 다음, 20% 식염수 50ml를 가하고, 85% 인산을 사용하여 수층의 pH를 7.0으로 조정하였다. 상층의 톨루엔층을 취한 다음, 수조를 클로로포름으로 2회 추출하여, 톨루엔층과 클로로포름층을 합쳐서 황산나트륨으로 건조시켜 여과한 다음, 톨루엔과 클로로포름을 증류 제거하여, 농축을 실시하였다. 농축액에 아세트산에틸 50ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 50ml를 가하여 결정을 석출시킨다. 수득된 결정을 여과하여 취하고, 아세트산에틸 50ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 50ml를 가하여 다시 결정을 석출시킨다. 이러한 재침전 조작을 3회 반복한 다음, 수득된 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 아세틸체(p6)을 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 1.20(6H, t, -CH₂CH₂CH (OCH₂CH₃)₂)
1.88-1.92(2H, m, -CH₂CH₂CH (OCH₂CH₃)₂) 3.38(6H, s, -CH₃)
3.40-3.80(907H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃, -CH₂-O-CH₂CH₂CH
(OCH₂CH₃)₂) 4.64(1H, t, -CH₂CH₂CH (OCH₂CH₃)₂)

[0294]

[0295] GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 9898 중량 평균 분자량(Mw): 10

[0296] 076 다분산도(Mw/Mn): 1.018 피크 톱 분자량(Mp): 10215(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 9297 중량 평균 분자량(Mw): 9932 다분산도(Mw/Mn): 1.068 피크 톱 분자량(Mp): 10215



(p6) m=약 112

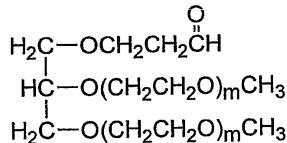
[0297] (실시예 4-2)

[0299] 수득되는 아세틸체(p6)의 4g을 200ml 비이커에 계량하여 취하고 이온교환수 80g을 가하고 결정을 용해한 다음, 85% 인산을 사용하여 pH를 1.5로 조정하여, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 다음에 식염 16g을 가하여 용해

시키고, 30% 수산화나트륨 수용액으로 pH를 7.0으로 조정하여, 클로로포름 추출을 실시하였다. 수득된 클로로포름층을 황산나트륨으로 건조시켜 여과한 다음, 클로로포름을 증류 제거하여, 농축을 실시하였다. 농축액에 툴루엔 30ml, 아세트산에틸 30ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 60ml를 가하여 결정을 석출시켜 여과하여 취하였다. 수득된 결정을 200ml 비이커에 계량하여 취하고 툴루엔 30ml, 아세트산에틸 30ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 60ml를 가하여 결정을 다시 석출시켜 여과하여 취하고 건조시켜, 알데히드체(p7)를 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 2.65(2H, m, CH₂COH) 3.38(6H, s, -CH₃) 3.40-3.80(903H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_m, CHO(CH₂CH₂O)_m, CH₂OCH₂CH₂COH)
9.78(1H, m, CH₂COH)

[0300]



[0301] (p7) m=약 112

[0302] (실시예 5)

100mM 인산 2수소나트륨 용액 50ml 중에서 시아노트리하이드로붕산나트륨 63mg(20mM)을 가하여 용해시킨다. 이러한 용액 1ml에 OVA(ALBUMIN, CHIKEN EGG 분자량 약 4만) 5.0mg(0.1μmol), 알데히드체(p7) 100mg을 가하여, 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응액을 이온교환수로 5배 회석하여, 이러한 회석액 20μl와 트리스 SDS 샘플 처리액 20μl를 혼합한 다음, 비등 수육 속에서 2분 30초 동안 가온하였다. 이러한 처리액을 도데실황산나트륨-폴리아크릴아미드 겔 전기영동(4-20%) 분석하였다. 염색은 CBB 염색으로 실시하였다. 결과를 도 1에 도시한다. 화학식 (a)은 OVA+알데히드체, 화학식 (b)은 OVA만, 화학식 (c)는 마커(Bio-rad Broad range SDS-PAGE standards)이며, 위로부터 분자량 201000, 130000, 94000, 48600, 36400, 29800, 20600, 6600의 벤드를 나타낸다.

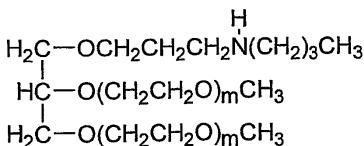
[0304] 이들의 결과, 화학식 (a)에서 원료 OVA의 벤드는 잔존하지 않으며 OVA1분자당 1 내지 15개소의 화합물 (p6)의 개질을 받은 경우에 상당하는 분자량의 벤드가 관찰된다.

[0305] (실시예 6)

[0306] 본 발명의 화합물의 안정성을 평가하기 위해 하기의 모델 화합물을 합성하여, 안정성의 비교를 실시하였다.

[0307] (실시예 6-1)

시아노트리하이드로붕산나트륨 63mg(20mM)을 메탄을 50ml에 용해시킨다. 이러한 용액 2ml 중에서 알데히드체(p7) 0.5g, n-부틸아민 50μl를 가하여 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 메탄을 증류 제거, 농축을 한 다음, 농축액에 클로로포름 20ml, 20% 식염수 20ml를 가하여 추출을 실시하며 이러한 추출조작을 3회 반복하였다. 수득된 클로로포름층을 황산나트륨으로 건조하여 여과한 다음, 농축하였다. 농축액에 아세트산에틸 20ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 30ml를 가하여 결정을 석출시켜 여과하여 취하였다. 수득된 결정을 100ml 비이커에 취하고 아세트산에틸 20ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 20ml를 가하여 결정을 다시 석출시켜 여과하여 취하고 건조시켜, 화합물 (p8)을 수득하였다.



[0309] (p8) m=약 112

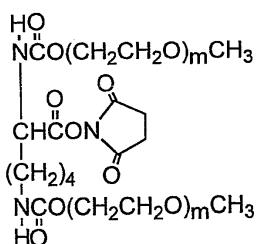
[0310] (실시예 6-2) 안정성 평가(가속 열화시험)

[0311] 합성한 화합물 (p8) 12mg을 계량하여 취하고, 100mM 인산 완충액(pH= 8.8) 1ml를 가하여, 75°C 수육중에서 12시

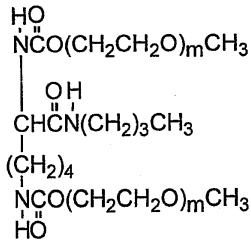
간 동안 교반하였다. 개시전과 교반 종료후, GPC 측정을 실시하였다. 결과를 도 2, 3에 도시한다. 도 2는 화합물 (p8)의 개시전 샘플의 GPC 측트, 도 3은 (p8)의 가온후 샘플의 GPC 측트이다.

[0312] (비교 실시예 1)

[0313] 쉐어워터 폴리머스 인코포레이티드(Shearwater Polymers, Inc.)에서 구입한 문자량 약 10700의 화합물 (p9)을 107mg 계량하여 취하고 n-부틸아민 $10\mu\ell$ 와 클로로포름 1ml를 가하여 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 클로로포름을 중류 제거, 농축하며, 농축액에 아세트산에틸 20ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 30ml를 가하여 결정을 석출시켜 여과하여 취하였다. 수득된 결정을 100ml 비이커에 취하고 아세트산에틸 20ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 20ml를 가하여 결정을 다시 석출시켜 여과하여 취하고 건조시켜, 화합물 (p10)을 수득하였다.



(p9) $m=약 118$



(p10) $m=약 118$

[0314] [0315] 합성한 화합물 (p10)을 사용하여, 실시예 6-2와 동일한 조작을 실시하여, GPC 측정을 하였다. 결과를 도 4, 5에 도시한다. 도 4는 화합물 (p10)의 개시전 샘플의 GPC 측트, 도 5는 (p10)의 가온후 샘플의 GPC 측트이다.

[0316] 도 2,3의 결과로부터 본 발명의 화합물은 가수분해는 일어나지 않으며 높은 안정성을 나타내는 것이 도시된다. 한편, 도 4, 5의 결과로부터 비교 실시예의 (p10)에서는 1/2 문자량체가 약 25% 생성되어 있으며 우레탄 결합이 분해되어 측쇄형 폴리에틸렌 글리콜이 단일쇄로 분해되어 있는 것이 도시된다.

[0317] (실시예 7)

[0318] 화합물 p의 합성(R= 메틸 그룹, A^1O , $A^2O= 옥시에틸렌 그룹$, $n=0$, 문자량 약 19000의 경우)

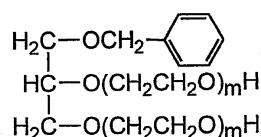
[0319] (실시예 7-1)

[0320] 실시예 1-3과 동일한 조작으로 에틸렌 옥사이드 2850g(64.8mol)을 투입하고 화합물 (p11)을 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 내부표준 TMS) δ (ppm): 3.40-3.80(1733H, 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, $-\text{CH}_2\text{Ph}$)

[0321] 7.27-7.38(5H, m, $-\text{CH}_2\text{Ph}$)

[0322] GPC 분석; (메인 피크) 수평균 문자량(M_n): 18521 중량 평균 문자량(M_w): 18758 다분산도(M_w/M_n): 1.013 피크 텁 문자량(M_p): 19108(피크 전체) 수평균 문자량(M_n): 18403 중량 평균 문자량(M_w): 18913 다분산도(M_w/M_n): 1.028 피크 텁 문자량(M_p): 19108



(p11) $m=약 216$

[0323] (실시예 7-2)

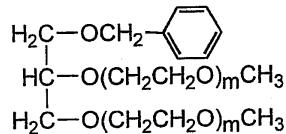
[0324] 실시예 1-4와 동일한 조작으로 (p11)을 100g(5mmol), 톨루엔 320g, 트리에틸아민 5.06g(50mmol), 메탄설휘산클로라이드 3.44g(30mmol), 나트륨메톡사이드 28% 메탄올 용액 9.65g(50mmol)을 사용하여, 화합물 (p12)을 수득

하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.38(6H, s, -CH₃)
3.40-3.80(1733H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃, CH₂OCH₂Ph)
4.54(2H, s, -CH₂Ph) 7.27-7.38(5H, m, -CH₂Ph)

[0326]

[0327] GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 18365 중량 평균 분자량(Mw): 18602 다분산도(Mw/Mn): 1.013 피크 흡 분자량(Mp): 18992(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 18290 중량 평균 분자량(Mw): 18861 다분산도(Mw/Mn): 1.031 피크 흡 분자량(Mp): 18992



(p12) m=약216

[0328]

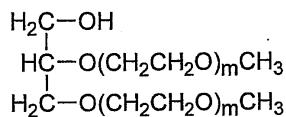
(실시예 7-3)

[0330] 실시예 1-5와 동일한 조작으로 화합물 (p13)을 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.38(6H, s, -CH₃)
3.40-3.80(1733H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃, CH₂OH)

[0331]

[0332] GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 18395 중량 평균 분자량(Mw): 18632 다분산도(Mw/Mn): 1.013 피크 흡 분자량(Mp): 18989(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 18146 중량 평균 분자량(Mw): 18750 다분산도(Mw/Mn): 1.033 피크 흡 분자량(Mp): 18989



(p13) m=약216

[0333]

(실시예 8)

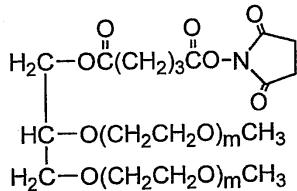
[0335] 카복실체(화학식 (k)) 및 석신산이미드에스테르체(화학식 (a))의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O= 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 19000의 경우

[0336]

온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 200ml 환저 플라스크로 화합물 (p13)을 20g(1.0mmol), 아세트산나트륨 50mg, 톨루엔 100ml를 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하였다. 반응액에 무수 글루타르산 137mg(1.2mmol)을 가하여, 105°C에서 12시간 동안 반응시킨다. 반응 종료후, 반응액을 40°C로 냉각하고, N-하이드록시석신산이미드 150mg(1.3mmol), 디사이클로헥실카보디이미드 289mg(1.4mmol)을 가하여, 그대로 6시간 동안 반응시킨다. 반응액을 여과하여 석출된 우레아를 제거하며, 여액에 아세트산에틸 50ml를 가한 다음, 헥산 150ml를 가하여 결정을 석출시킨다. 석출된 결정을 여과하여 쥐하고 결정을 아세트산에틸 100ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 100ml를 가하여 다시 결정화시킨다. 석출된 결정을 여과하여 쥐하고 건조시켜, 석신산이미드에스테르체(p14)를 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 2.07(2H, m, -OCOCH₂CH₂CH₂COON-) 2.50(2H, t, -OCOCH₂CH₂CH₂COON-) 2.84(4H, s, 석신이미드) 3.38(6H, s, -CH₃) 3.40-3.80(1731H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃) 4.10-4.30(2H, m, -CH₂OCOCH₂CH₂CH₂COON-)

[0337]



(p14) m=약216

[0338]

(실시 예 9)

[0340]

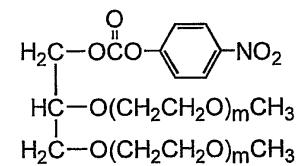
p-니트로페닐카보네이트체(그룹I(d))의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 19000의 경우

[0341]

온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 200ml 환저 플라스크로 화합물 (p13)을 20g(1.0mmol), 틀루엔 100ml를 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하였다. 반응액을 80°C로 강온(降溫)하여, 트리에틸아민, p-니트로페닐클로로포르메이트를 가하며, 80°C에서 5시간 동안 반응시킨다. 반응 종료 후, 반응액을 여과하여, 여액에 아세트산에틸 100ml를 가한 다음, 헥산 200ml를 가하여 결정을 석출시킨다. 석출된 결정을 여과하여 취하고 결정을 아세트산에틸 100ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 100ml를 가하여 다시 결정화시킨다. 이러한 결정 석출조작을 합계 5회 반복하였다. 여과하여 취한 결정을 건조시켜, p-니트로페닐카보네이트체(p15)를 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.38(6H, s, -CH₃) 3.40-3.80(1731H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃) 4.30-4.50(2H, m, -CH₂OCOOPhNO₂) 7.39(2H, d, -Ph NO₂) 8.28 (2H, d, -Ph NO₂)

[0342]



(p15) m=약216

[0343]

(실시 예 10)

[0345]

화합물 p의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=약 15, 분자량 약 19500의 경우)

[0346]

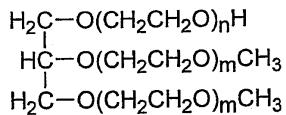
온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 500ml 환저 플라스크에 실시예 7-3에서 수득된 화합물 (p13)을 67g(3.5mmol), 틀루엔 400ml를 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하였다. 반응액을 40°C로 강온하고, 나트륨메톡사이드 28% 메탄을 용액 0.41g(2.1mmol)을 가하여, 70°C로 승온하며 질소 버블링을 실시하면서 틀루엔-메탄을 혼합액 약 200ml를 증류 제거하였다. 이러한 용액을 5L 오토클레이브로 투입하고 시스템 내를 질소 치환한 다음, 100°C로 승온하고, 100 내지 150°C, 1MPa 이하의 압력으로 에틸렌 옥사이드 9.2g(0.2mol)을 가한 다음, 다시 3시간 동안 반응을 계속하였다. 감압으로 미반응의 에틸렌 옥사이드 가스 및

톨루엔을 제거한 다음, 60°C로 냉각하고 85% 인산 수용액으로 pH를 7.5로 조정하여, 화합물 (p16)을 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.38(6H, s, -CH₃)

[0347] 3.40-3.80(1853H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_m CH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃ -CH₂O (CH₂CH₂O)_nH)

[0348] GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 19153 중량 평균 분자량(Mw): 19462 다분산도(Mw/Mn): 1.016 피크 흡 분자량(Mp): 19612(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 18473 중량 평균 분자량(Mw): 19087 다분산도(Mw/Mn): 1.033 피크 흡 분자량(Mp): 19612



(p16) m=약 216 n=약 15

[0349] (실시예 11)

[0351] 메실레이트체(그룹I화학식 (b), Y= CH₃)의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=약 15, 분자량 약 19500의 경우)

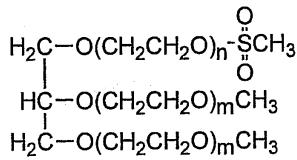
[0352] 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 200ml 환저 플라스크로 화합물 (p16)을 10g(0.5mmol), 톨루엔 75g을 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 트리에틸아민 0.253g(2.5mmol), 메탄설폰산클로라이드 0.172g(1.5mmol)을 가하여, 40°C에서 6시간 동안, 다시 50°C에서 1시간 동안 반응시킨다. 반응액을 여과한 다음, 여액에 흡착제 「교와드 1000」을 0.5g 가하여, 60°C에서 1시간 동안 교반하여 부생성물의 메탄설폰산의 트리에틸아민염을 흡착 처리시킨다. 반응액을 여과한 다음, 여액을 300ml 비이커에 투입하고 아세트산에틸 50ml, 헥산 70ml를 가하여 결정 석출을 실시하였다. 석출된 결정을 300ml 비이커에 여과하여 취하고 아세트산에틸 50ml를 가하여 40°C로 가온 용해한 다음, 헥산 50ml를 가하여 다시 결정 석출을 실시하며 석출된 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 메실레이트체(p17)를 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.08(3H, s, -SO₃CH₃) 3.38(6H, s,

-CH₃) 3.40-3.80(1851H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_m CH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃ -CH₂O

[0353] (CH₂CH₂O)_nSOOCH₃) 4.37-4.39(2H, m, -CH₂O(CH₂CH₂O)_{n-1}CH₂CH₂O SOOCH₃)

[0354] GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 19253 중량 평균 분자량(Mw): 19601 다분산도(Mw/Mn): 1.018 피크 흡 분자량(Mp): 19770(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 18400 중량 평균 분자량(Mw): 19140 다분산도(Mw/Mn): 1.040 피크 흡 분자량(Mp): 19770



(p17) m=약 216 n=약 15

[0355] (실시예 12)

[0357] 알데하이드체(그룹I(f))의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=약 15, 분자량 약 19500의 경우)

[0358] (실시예 12-1)

[0359] 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 200ml 환저 플라스크로 메실레이트체(p17)를 10g(0.5mmol), 톨루엔 40ml를 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하여, 실온으로 냉각하였다. 한편, 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 100ml 환저 플라스크로, 3,3-디에톡시-1-프로판을

7.4g(50mmol), 툴루엔 40ml를 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 금속 나트륨 0.17g(7.4mmol)을 가하여, 실온에서 용해할 때까지 2시간 동안 교반하였다. 금속 나트륨의 용해를 확인한 다음, 반응액을 탈수를 실시한 화합물(p17)이 투입된 환저 플라스크로 투입하여, 70°C에서 4시간 동안 반응시킨다. 반응액을 40°C까지 냉각한 다음, 이온교환수 0.18g(10mmol)을 가하여 30분 동안 교반한 다음, 20% 식염수 30ml를 가하고, 85% 인산을 사용하여 수중의 pH를 7.0으로 조정하였다. 상층의 툴루엔층을 취한 다음, 수조를 클로로포름으로 2회 추출하여, 툴루엔층과 클로로포름층을 합쳐서 황산나트륨으로 건조시켜 여과한 다음, 툴루엔과 클로로포름을 중류 제거하여, 농축을 실시하였다. 농축액에 아세트산에틸 50ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 50ml를 가하여 결정을 석출시킨다. 수득된 결정을 여과하여 취하고 아세트산에틸 50ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 50ml를 가하여 다시 결정을 석출시킨다. 이러한 재침전 조작을 3회 반복한 다음, 수득된 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 아세탈체(p18)을 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 1.20(6H, t, -CH₂CH₂CH (OCH₂CH₃)₂)

1.88-1.92(2H, m, -CH₂CH₂CH (OCH₂CH₃)₂) 3.38(6H, s, -CH₃)

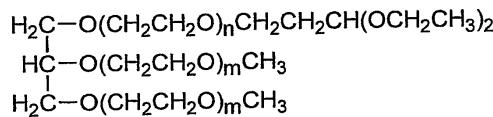
3.40-3.80(1857H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃ -CH₂O

(CH₂CH₂O)_nCH₂CH₂CH (OCH₂CH₃)₂) 4.64(1H, t, -CH₂CH₂CH (OCH₂CH₃)₂)

[0360]

[0361]

GPC 분석: (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 19318 중량 평균 분자량(Mw): 19699 다분산도(Mw/Mn): 1.020 피크 흡 분자량(Mp): 19770(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 18302 중량 평균 분자량(Mw): 19168 다분산도(Mw/Mn): 1.047 피크 흡 분자량(Mp): 19770



(p18) m=약 216 n=약 15

[0363]

(실시 예 12-2)

[0364]

수득되는 아세탈체(p18)의 2g을 100ml 비이커에 계량하여 취하고 이온교환수 40g을 가하여 결정을 용해한 다음, 85% 인산을 사용하여 pH를 1.5로 조정하며 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 다음에 식염 8g을 가하여 용해시키고, 30% 수산화나트륨 수용액으로 pH를 7.0으로 조정하여, 클로로포름 추출을 3회 실시하였다. 수득된 클로로포름층을 황산나트륨으로 건조시켜 여과한 다음, 클로로포름을 중류 제거하여, 농축을 실시하였다. 농축액에 툴루엔 30ml, 아세트산에틸 30ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 60ml를 가하여 결정을 석출시켜 여과하여 취하였다. 수득된 결정을 200ml 비이커에 계량하여 취하고 툴루엔 30ml, 아세트산에틸 30ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 60ml를 가하여 결정을 다시 석출시키고, 여과하여 취하고 건조시켜, 알데히드체(p19)를 수득하였다.

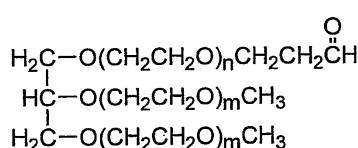
¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 2.66-2.69(2H, m, CH₂COH)

3.38(6H, s, -CH₃) 3.40-3.80(1855H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃

, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃ -CH₂O (CH₂CH₂O)_nCH₂CH₂COH)

9.79(1H, t, -CH₂CH₂COH)

[0365]



(p19) m=약 216 n=약 15

[0366]

(실시 예 13)

[0368]

메실레이트체(그룹I화학식 (b), Y= CH₃)의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약

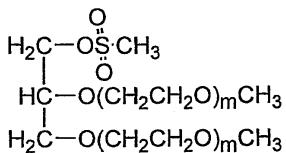
19000의 경우)

[0369] 화합물 (p13)을 원료로 하고, 실시예 2와 동일한 방법으로 메실레이트체(p20)를 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.08(3H, s, -SO₃CH₃)

3.38(6H, s, -CH₃) 3.40-3.80(1731H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃,

[0370] [0371] GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn) : 18435 중량 평균 분자량(Mw) : 18682 다분산도(Mw/Mn) : 1.013 피크 흡 분자량(Mp) : 18740(피크 전체) 수평균 분자량(Mn) : 18081 중량 평균 분자량(Mw) : 18721 다분산도(Mw/Mn) : 1.035 피크 흡 분자량(Mp) : 18740



(p20) m=약 216

[0373] (실시예 14)

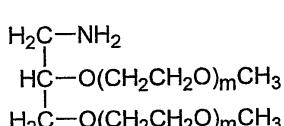
[0374] 아미노체(그룹II(j))의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 19000의 경우)

[0375] 화합물 (p20)을 원료로 하여, 실시예 3과 동일한 방법으로 아미노체(p21)를 합성하였다.

¹H-NMR (D₂O, 내부표준 H₂O=4.7ppm) δ (ppm) : 3.38(6H, s, -CH₃)

2.93-3.11(2H, m, -CH₂NH₂) 3.40-3.80(1731H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃,

[0376] CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃)



(P21) m=약 216

[0377]

[0378] (실시예 15)

[0379] 말레이미드체(그룹I(e))의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=0,

[0380] 분자량 약 19000의 경우

[0381] 온도계, 질소 흡입관, 교반기 및 냉각관을 부착한 100ml 환저 플라스크로 화합물 (p21)을 7.5g(0.35mmol), 아세트산에틸 35ml, 트리에틸아민 73μl를 투입하고 45°C로 가온 용해시킨다. 이러한 용액에 N-석산아미딜 3-말레이미드프로피오네이트 0.14g(0.525mmol)을 가하여, 45°C에서 4시간 동안 반응시킨다. 반응 종료후, 흡착제 "교와드(KYOWAAD) 700"을 0.5g, "교와드 1000" 0.5g을 가하여, 45°C에서 다시 1시간 동안 교반하였다. 반응액을 여과하여, 여액에 헥산 50ml를 가하여 결정을 석출시켜 여과하여 취하였다. 수득된 결정을 200ml 비이커에 계량하여 취하고 아세트산에틸 50ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥산 50ml를 가하여 결정을 다시 석출시켜 여과하여 취하고 건조시켜, 말레이미드체(p22)를 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 2.51(2H, t, NHCOCH₂CH₂)

3.38(6H, s, -CH₃) 3.40-3.80(1735H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃,

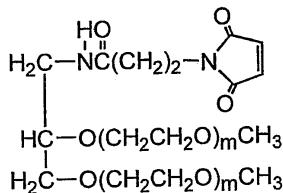
CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃ CH₂NHCOCH₂CH₂) 6.69(2H, s, CH=CH)

[0382]

6.86(1H, t, CH₂NHCOCH₂CH₂)

[0383] GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn) : 18425 중량 평균 분자량(Mw) : 18672 다분산도(Mw/Mn) : 1.013 피크 흡 분자량(Mp) : 18742(피크 전체) 수평균 분자량(Mn) : 17924 중량 평균 분자량(Mw) : 19086 다분산도(Mw/Mn) :

1.065 피크 텁 분자량(Mp): 18742



(p22) m=약 216

[0384]

(실시예 16)

[0386] 화합물 p의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 20000, 약 45000의 합성)

[0387] (실시예 16-1)

[0388] 온도계, 질소 흡입관, 교반기를 부착한 1000ml 환저 플라스크로 2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-메탄올 132.2g(1.0mol), 나트륨메톡사이드 28% 메탄올 용액을 202.5g(1.05mol), 톨루엔 500ml를 가하여, 질소를 흡입시키면서 톨루엔을 1시간 동안 감압 환류시켜 메탄올을 중류 제거하였다. 이러한 용액을 80°C로 유지하면서, 벤질클로라이드 126.6g(1.0mol)을 적가 깔때기를 사용하여, 2시간에 걸쳐 적가시킨 다음, 2시간 동안 반응시킨다. 반응시킨 다음, 온도를 60°C로 하여, 교와드 600을 10g을 가하여 1시간 동안 교반하였다. 반응액을 여과한 다음, 탈용매, 중류 정제(비점: 93-95°C/266Pa)하여, 4-(벤질옥시메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란을 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 1.36, 1.42 (3H, 3H, s, C(CH₃)₂).3.45-3.57(2H, m, CH₂O-C(CH₃)₂) 3.73-3.76(1H, m, CHO-C(CH₃)₂)4.03-4.07, 4.28-4.32(2H, m, CH₂O-CH₂Ph) 4.57(2H, q, -CH₂Ph)7.15-7.40(5H, m, -CH₂Ph) (P h 는 폐널 그룹이다)

[0389]

(실시예 16-2)

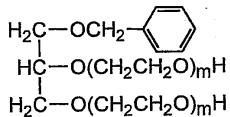
[0391] 4-(벤질옥시메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란 222g(1.0mol), 중류수 400g을 가하여, 인산으로 pH를 2로 조정하여, 질소를 흡입시키면서 용액을 70°C로 가온하고, 2시간 동안 반응시킨 다음, 수산화나트륨으로 pH를 7.0으로 조정하였다. 클로로포름 1L를 투입하여 추출한 다음, 클로로포름층을 황산마그네슘으로 건조, 농축을 한 다음, 농축액을 여과하여 염을 제거하며 3-벤질옥시-1,2-프로판디올을 수득하였다. 이의 NMR 데이터는 실시예 1-2와 동일하다.

[0392] (실시예 16-3)

[0393] 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 감압 라인을 부착한 300ml 환저 플라스크에 3-벤질옥시-1,2-프로판디올 27.3g(0.15mol), 탈수 톨루엔 200g, 금속 나트륨 0.77g(33.4mmol: 22.3 mol%)를 가하여, 질소를 흡입시키면서 온도를 35°C까지 올리고 금속 나트륨을 용해하였다. 이러한 용액을 사전에 충분하게 건조한 5L 오토클레이브로 투입하고 시스템 내를 질소 치환한 다음, 100°C로 승온하고, 100 내지 150°C, 1MPa 이하의 압력으로 에틸렌 옥사이드 3090g을 압입한 다음, 다시 1.5시간 동안 반응을 계속하였다. 감압으로 미반응의 에틸렌 옥사이드 가스, 톨루엔을 중류 제거한 다음, 70°C로 냉각하고, 반응기 내에서 2.0kg을 빼어내고 뽑은 반응액을 85% 인산 수용액으로 pH를 7.5로 조정하여, 화합물 (p23)을 수득하였다.

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.40-3.80(1773H, m, -CH₂O(CH₂CH₂O)_mH,CHO(CH₂CH₂O)_mH, CH₂OCH₂Ph 4.54(2H, s, -CH₂Ph) 7.27-7.38(5H, m, -CH₂Ph)

[0394]



(p 23) m=약 2 2 1

[0395]

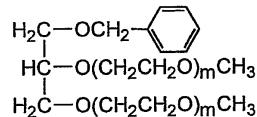
GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 18920 중량 평균 분자량(Mw): 19154 다분산도(Mw/Mn): 1.012 피크 흡 분자량(Mp): 19639(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 18777 중량 평균 분자량(Mw): 19086 다분산도(Mw/Mn): 1.017 피크 흡 분자량(Mp): 19639

[0397]

(실시예 16-4)

[0398]

온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 2L 환저 플라스크로 화합물 (p23)을 200g(10mmol), 툴루엔 1000g을 투입하고 가열 환류시켜 툴루엔 200g과 수분을 공비 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 트리에틸아민 10.12g(100mmol)을 가하고 40°C로 가온, 메탄설포닐 클로라이드 6.87g(60mmol)을 적가하여, 40°C에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응 종료후, 나트륨메톡사이드 28% 메탄올 용액 19.28g(100mmol)을 반응액에 가하여, 40°C에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응액을 40°C로 유지하면서 감압하여, 메탄올/툴루엔 혼합액을 약 200g 중류 제거한 다음, 여과로써 염을 제거하였다. 여액을 툴루엔 500g을 가하여, 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 2L 환저 플라스크로 옮기고 가열 환류시켜 툴루엔 200g과 수분을 공비 제거하였다. 실온에서 냉각한 다음, 트리에틸아민 10.12g(100mmol)을 가하여 40°C로 가온, 메탄설포닐 클로라이드 8.89g(60mmol)을 다시 적가하여, 40°C에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응 종료후, 나트륨메톡사이드 28% 메탄올 용액 19.28g(100mmol)을 반응액에 가하여, 40°C에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응액을 40°C로 유지하면서 감압하며 메탄올/툴루엔 혼합액을 약 200g 중류 제거한 다음, 여과로써 염을 제거하였다. 여액을 50°C로 가온하며 25% 식염수를 200g 가하여 교반한 다음, 정차 분층하여 하층의 수층을 제거하였다. 이러한 수세조작은 2회 반복하였다. 상층의 툴루엔층을 횡산마그네슘으로 건조한 다음, 여과하여 여액에 아세트산에틸 1L를 가하여, 헥산을 결정이 석출될 때까지 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 화합물 (p24)을 수득하였다.



(p 24) m= 2 2 1

[0399]

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm): 3.38(6H, s, -CH₃)

3.40-3.80(1773H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_m CH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃, CH₂OCH₂Ph)

4.54(2H, s, -CH₂Ph) 7.27-7.38(5H, m, -CH₂Ph)

[0400]

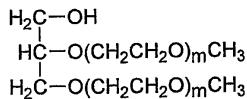
GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 19070 중량 평균 분자량(Mw): 19306 다분산도(Mw/Mn): 1.012 피크 흡 분자량(Mp): 19786(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 18911 중량 평균 분자량(Mw): 19256 다분산도(Mw/Mn): 1.018 피크 흡 분자량(Mp): 19786

[0402]

(실시예 16-5)

[0403]

가압 여과기에 5% 팔라듐 카본(50% 함수품, 엔·이·엠커트사제) 120g을 투입하고 질소 치환하면서 탈수 메탄올 500ml에서 4회 용제 치환을 실시하고, 팔라듐 카본의 탈수를 실시하였다. 온도계, 질소 흡입관, 교반기 및 냉각관을 부착한 2L 환저 플라스크로 화합물 (p24)을 100g과 용제 치환을 실시한 팔라듐 카본 전량을 투입하고 질소 치환한 다음, 탈수 메탄올 1200ml, 사이클로헥센 500ml를 가하여 30°C까지 승온하고, 그대로 3.5시간 동안 반응시킨다. 반응액을 여과하여, 여액의 함수량을 칼 피셔 수분계로써 측정한 바, 1259ppm이다. 여액을 농축하여, 아세트산에틸 1L를 가하여, 결정이 석출될 때까지 헥산을 가하였다. 수득된 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 화합물 (p25)을 수득하였다.



(p 25) m=2 2 1

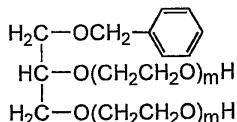
¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm): 3.38(6H, s, -CH₃)3.40-3.80(1773H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_m CH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃, CH₂OH

[0404]

GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 18971 중량 평균 분자량(Mw): 19204 다분산도(Mw/Mn): 1.012 피크 톱 분자량(Mp): 19687(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 18811 중량 평균 분자량(Mw): 19158 다분산도(Mw/Mn): 1.018 피크 톱 분자량(Mp): 19687

[0407] (실시예 16-6)

실시예 16-3에서 반응기 내에 잔존된 반응액 약 1kg에 틸수 툴루엔 2.0kg을 가하였다. 반응기 온도 95°C, 미세 감압으로 1.0kg의 툴루엔을 증류 제거한 다음, 반응기 내를 질소 치환하여, 120°C로 승온하며 100 내지 150°C, 1MPa 이하의 압력으로 에틸렌 옥사이드 1260g을 압입한 다음, 4시간 동안 반응을 계속하였다. 반응 종료후, 70°C로 냉각하고, 85% 인산 수용액으로 pH를 7.5로 조정하여, 화합물 (p26)을 수득하였다.



(p 26) m=약 5 0 5

[0409]

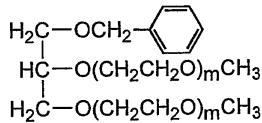
¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm): 3.40-3.80(4045H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mH,CHO(CH₂CH₂O)_mH, CH₂OCH₂Ph) 4.54(2H, s, -CH₂Ph)7.27-7.38(5H, m, -CH₂Ph)

[0410]

GPC 분석; (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 41830 중량 평균 분자량(Mw): 42621 다분산도(Mw/Mn): 1.019 피크 톱 분자량(Mp): 44594(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 40548 중량 평균 분자량(Mw): 42059 다분산도(Mw/Mn): 1.037 피크 톱 분자량(Mp): 44594

[0412] (실시예 16-7)

온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 2L 환저 플라스크로 화학식(p26)의 화합물 270g(6mmol), 툴루엔 1000g을 투입하고 가열 환류시켜 툴루엔 200g과 수분을 공비 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 트리에틸아민 6.65g(65.7mmol)을 가하여 40°C로 가온, 메탄설포닐 클로라이드 4.51g(39.4mmol)을 적가하여, 40°C에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응 종료후, 나트륨메톡사이드 28% 메탄올 용액 25.3g(131.4mmol)을 반응액에 가하여, 40°C에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응액을 40°C로 유지하면서 감압하여, 메탄올/툴루엔 혼합액을 약 200g 증류 제거한 다음, 여과로써 염을 제거하였다. 여액에 툴루엔 500g을 가하여, 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 2L 환저 플라스크로 옮기고 가열 환류시켜 툴루엔 200g과 수분을 공비 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 트리에틸아민 6.65g(65.7mmol)을 가하여 40°C로 가온, 메탄설포닐 클로라이드 4.51g(39.4mmol)을 다시 적가하여, 40°C에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응 종료후, 나트륨메톡사이드 28% 메탄올 용액 25.3g(131.4mmol)을 반응액에 가하여, 40°C에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응액을 40°C로 유지하면서 감압하여, 메탄올/툴루엔 혼합액을 약 200g 증류 제거한 다음, 여과로써 염을 제거하였다. 여액을 50°C로 가온하여, 25% 식염수를 200g 가하여 교반한 다음, 정치 분충하여 하충의 수충을 제거하였다. 이러한 수세조작은 2회 반복하였다. 상충의 툴루엔층을 황산마그네슘으로 건조한 다음, 여과하여 여액에 아세트산에틸 1L를 가하여, 헥산을 결정이 석출될 때까지 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 화합물 (p27)을 수득하였다.



(p 27) m= 약 505

[0414]

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.38(6H, s, -CH₃)
 3.40-3.80 (4045H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_m CH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃, CH₂OCH₂Ph)
 4.54(2H, s, -CH₂Ph) 7.27-7.38(5H, m, -CH₂Ph)

[0415]

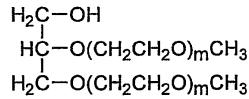
[0416] (메인 피크) 수평균 분자량(Mn) : 42206 중량 평균 분자량(Mw) : 43056 다분산도(Mw/Mn) : 1.020 피크 톱 분자량(Mp) : 45057

[0417] (피크 전체) 수평균 분자량(Mn) : 40990 중량 평균 분자량(Mw) : 42519 다분산도(Mw/Mn) : 1.037 피크 톱 분자량(Mp) : 45057

[0418]

(실시예 16-8)

[0419] 가압 여과기에 5% 팔라듐 카본(50% 합수품, 엔·이·엠커트사제) 200g을 투입하고 질소 치환하면서 탈수 메탄을 500ml로 4회 용제 치환을 실시하고 팔라듐 카본의 탈수를 실시하였다. 온도계, 질소 흡입관, 교반기 및 냉각관을 부착한 2L 환저 플라스크로 화합물(p27) 100g과 용제 치환을 실시한 팔라듐 카본 전량을 투입, 질소 치환한 다음, 탈수 메탄을 1200ml, 사이클로헥센 500ml를 가하여 30°C로 송온하고, 그대로 3.5시간 동안 반응시킨다. 반응액을 여과하여, 여액의 합수량을 칼 피서 수분계로써 측정한 바, 2215ppm이다. 여액을 농축하여, 아세트산에틸 1L를 가하여, 결정이 석출될 때까지 헥산을 가하였다. 수득된 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 화합물(p28)을 수득하였다.



(p 28) m= 505

[0420]

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 3.38(6H, s, -CH₃)

[0421]

3.40-3.80 (4045H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_m CH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃, CH₂OH)

[0422]

(메인 피크) 수평균 분자량(Mn) : 42121 중량 평균 분자량(Mw) : 42946 분산도(Mw/Mn) : 1.020 피크 톱 분자량(Mp) : 45057

[0423]

(피크 전체) 수평균 분자량(Mn) : 41021 중량 평균 분자량(Mw) : 42450 다분산도(Mw/Mn) : 1.035 피크 톱 분자량(Mp) : 45057

[0424]

(실시예 17)

[0425]

아미노체(그룹II(g))의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 45000의 경우)

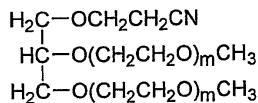
[0426]

(실시예 17-1)

[0427]

온도계, 질소 흡입관, 교반기 및 냉각관을 부착한 500ml 환저 플라스크로 화합물(p28)을 70g과 이온교환수 70g을 가하여, 40°C로 가온하여 용해하였다. 용해한 다음, 10°C 이하로 냉각하고, 50% 수산화칼륨 수용액 4.38g을 가하였다. 계속해서 5 내지 10°C를 유지하면서 아크릴로니트릴 210g을 2시간에 걸쳐 적가하였다. 적가 종료후, 다시 2시간 동안 반응시키고, 8.5% 인산 수용액 26.25g을 적가하여, 중화시킨다. 반응액에 이온교환수 140g을 가하여 분액 깔때기에 옮기고 아세트산에틸을 210ml 가하여 교반한 다음, 정지하여 상층의 아세트산에틸 층을 폐기하였다. 이러한 아세트산에틸 추출은 6회 반복하였다. 추출 종료후, 수층에 식염 65g을 가하여 용해하여, 클로로포름 280ml를 사용하여 추출하였다. 수득된 클로로포름층을 황산마그네슘으로 건조하여 여과한 다음, 농축하였다. 농축액에 아세트산에틸 700ml를 가하여 용해하며 헥산을 결정이 석출될 때까지 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 다시 아세트산에틸 700ml로 가온 용해하여, 실온으로 냉각한 다음, 결정이 석출될 때까지

헥산을 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 니트릴체(p29)를 수득하였다.



(p 2 9) m = 5 0 5

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 2.59-2.66(2H, m, -CH₂CH₂CN)

3.38(6H, s, -CH₃) 3.40-3.80 (4047H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_m CH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃,

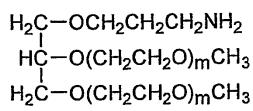
$$\underline{\text{CH}_2}\text{OCH}_2\underline{\text{CH}_2}\text{CN}$$

(메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 41849 중량 평균 분자량(Mw): 42666 다분산도(Mw/Mn): 1.020 피크 톱 분자량(M_n): 44594

(피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 40271 중량 평균 분자량(Mw): 41980 다분산도(Mw/Mn): 1.042 피크 톱 분자량(M_n): 44594

(실시예 17-2)

1L 오토클레이브에 화학식(p29)의 니트릴체 50g, 톨루엔 500g, 니켈(엔·이·엠커트사제 5136p) 4.5g을 가하여, 60°C까지 승온시켰다. 암모니아로 내압 0.7MPa가 될 때까지 가압한 다음, 수소를 내압 4.5MPa로 될 때까지 가압하여, 130°C에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응시킨 다음, 반응액을 70°C로 냉각하여, 암모니아 냄새가 없어질 때까지 질소 퍼지를 반복하였다. 반응액을 전량 빼어내고 여과하여, 여액을 실온까지 냉각한 다음, 헥산을 결정이 석출될 때까지 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 아민체(p30)를 수득하였다.



(p 30) m=505

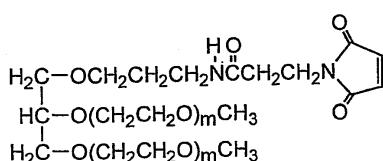
$$\text{3.33 (CH, } \text{---CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2\text{)} \quad \text{3.38 (CH, } \text{---CH}_2\text{)}$$

$$\text{a-12, a-20 (4047H)} \quad \text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{CH}_2 = \text{CHO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{CH}_2 = \text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$$

(실시예 18)

말레이미드체(그룹I(e))의 합성(R= 메틸 그룹, A^1O , A^2O = 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 45000의 경우)

온도계, 질소 흡입관, 교반기 및 냉각관을 부착한 300ml 환저 플라스크에 화학식(p30)의 화합물 45g(1mmol), 아세토니트릴 42ml, 톨루エン 84ml를 가하여, 40°C에서 가온 용해하였다. 실온으로 냉각한 다음, 차광하에 N-메틸 모르폴린 0.51g(5mmol), N-석신이미딜 3-말레이미도프로페오네이트 399mg(1.5mmol)을 가하여 3.5시간 동안 반응 시킨다. 반응액을 여과한 다음, 아세트산에틸 840ml를 가하여, 헥сан을 결정이 석출될 때까지 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 아세토니트릴 42ml, 아세트산에틸 840ml를 가하여 가온 용해한 다음, 헥сан을 결정이 석출될 때까지 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, (p31)의 화합물을 수득하였다.



(n 31) m=505

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm): 1.70-1.78(2H, m, -CH₂CH₂CH₂N)
 2.45-2.53(2H, m, -NHCOCH₂CH₂N) 3.38(6H, s, -CH₃)
 3.40-3.80 (4051H, m, -CH₂O(CH₂CH₂O)_mCH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃,
 CH₂OCH₂CH₂NHCOCH₂CH₂)
 6.44 (1H, m, NHCO) 6.71(2H, s, -CH=CH-)

[0440]

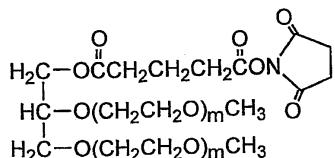
[0441] (메인 피크) 수평균 분자량(Mn): 41918 중량 평균 분자량(Mw): 42709 다분산도(Mw/Mn): 1.019 피크 톱 분자량(Mp): 44594

[0442] (피크 전체) 수평균 분자량(Mn): 40231 중량 평균 분자량(Mw): 42602 다분산도(Mw/Mn): 1.059 피크 톱 분자량(Mp): 44594

[0443] (실시예 19)

[0444] 석신산이미드체(그룹I(a))의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 20000의 경우)

[0445] 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 200ml 환저 플라스크에 화학식(p25)의 화합물 10g(0.5mmol), 아세트산나트륨 0.1g, 틀루엔 100ml를 가하여 환류 탈수하였다. 이러한 반응액에 무수 글루타르산 285mg(2.5mmol)을 가하여, 110°C에서 12시간 동안 반응시킨다. 반응액을 냉각한 다음, N-하이드록시석신산이미드 518mg(4.5mmol), DCC 934mg(4.55mmol)을 가하여 40°C에서 2시간 동안 반응시킨다. 반응액을 여과한 다음, 여액에 결정이 석출될 때까지 헥산을 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 아세트산에틸 100ml, 아세토니트릴 10ml에 다시 용해하여, 용해액에 결정이 석출될 때까지 헥산을 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 건조시켜, 석신산이미드체(p32)를 수득하였다.



[0446]

[0447] (p32) m = 221

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm): 2.07(2H, m, -OCOCH₂CH₂CH₂COON-)
 2.50(2H, t, -OCOCH₂CH₂CH₂COON-) 2.72(2H, t, -OCOCH₂CH₂CH₂COON-)
 2.84(4H, s, 석신이미드) 3.38(6H, s, -CH₃)

3.40-3.80(1771H, m, -CH₂O(CH₂CH₂O)_mCH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃)

[0448]

4.10-4.30(2H, m, -CH₂OCOCH₂CH₂CH₂COON-)

[0449] (실시예 20)

[0450] 온도계, 질소 흡입관, 교반기를 부착한 300ml 환저 플라스크에 3-벤질옥시-1,2-프로판디올 27.3g(0.15mol), 탈수 틀루엔 135g, 금속 나트륨 0.9g(39mmol: 26 mol%)을 가하며 질소를 흡입시키면서 80°C에서 금속 나트륨이 용해될 때까지 교반하였다. 용해한 다음, 다시 80°C에서 2시간 동안 교반하기를 계속하였다.

[0451]

이러한 반응액을 사전에 충분하게 건조한 5L 오토클레이브에 투입하고 실시예 16-3, 실시예 16-6, 실시예 16-7, 실시예 16-8과 동일한 조작을 실시하여, (p28)과 동일한 구조의 화합물 (p33)을 수득하였다.

[0452] (실시예 21)

[0453] 실시예 1-3의 3-벤질옥시-1,2-프로판디올의 나트륨화 용액, 실시예 16-3의 나트륨화 용액, 실시예 20의 오토클레이브에 투입하기 전의 나트륨화 용액을 채취하고 하기 조건에서 유도체화, 가스 크로마토그래피(GC) 측정을 하였다. 결과를 표3에 기재하였다.

[0454]

샘플 0.2g을 계량하여 취하고, 피리딘 1.0ml를 가하여 용해한 다음, 헥사메틸디실라잔 0.8ml를 가하였다. 이러한

한 용액에 클로로트리메틸실란 0.4ml를 가하여 30분 동안 교반하였다. 반응액을 실린지 필터(PTFE, 0.45 μ m)로 여과하여, 하기 조건에서 GC 측정을 실시하였다.

[0455] GC 시스템: HP6890 컬럼: HP-5(0.25 μ m \times 30m) 검출기: FID 주입구 온도: 320°C 주입: 스플리트리스 주입량: 0.2 μ l 캐리어 가스: 헬륨 유속: 23cm/sec 컬럼 온도: 80°C(0min) \rightarrow 15°C/min \rightarrow 320°C(24min) 검출기 온도: 320°C

표 3

[0456]

	벤질 알콜	글리세린
실시예 1-3	0%	0.4%
실시예 16-3	0%	0.3%
실시예 20	2.2%	1.3%

[0457] 표 3의 결과, 반응성의 저분자량 불순물의 원인으로 되는 벤질 알콜 및 비반응성의 고분자량 불순물의 원인으로 되는 글리세린은 실시예 1-3, 16-3과 같은 나트륨화 조건으로 생성되기 어려운 것이 판명되었다.

[0458] (실시예 22)

[0459] 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 200ml 환저 플라스크로, 실시예 1-4에서 수득된 화합물 (p2) 10g(1mmol), 툴루엔 50g을 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 트리에틸아민 2.02g(20mmol)을 가하여 40°C로 가온, 메탄설포닐 클로라이드 0.687g(6mmol)을 적가하여, 40°C에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응 종료후, 염산염을 여과로써 제거하고, 여액에 아세트산에틸 100ml를 가하여, 헥산을 결정이 석출될 때까지 가하였다. 수득된 결정을 여과하여 취하고 아세트산에틸 200ml로 가온 용해하여, 실온으로 냉각한 다음, 결정이 석출될 때까지 헥산을 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 건조하였다. 수득된 결정 20mg을 채취하고 중클로로포름에 용해하여, ¹H 핵자기 공명측정을 실시하여 (적산 128회), 스펙트럼을 수득하였다. 이 때, M_{me}= 6, M_{ms}= 0.073이다.

[0460] (실시예 23)

[0461] 실시예 7-2에서 수득된 화합물 (p12)을 10g(0.5mmol), 트리에틸아민 1.01g(10mmol), 메탄설포닐 클로라이드 0.344g(3mmol)을 사용하고 실시예 22와 동일한 조작을 실시하였다. 핵자기 공명측정(적산 256회)을 실시하여 스펙트럼을 수득하였다. 이 때, M_{me}= 6, M_{ms} = 0.102이다.

[0462] (실시예 24)

[0463] 실시예 16-4에서 알킬에테르화가 2회 종료된 화합물 (p24) 10g(0.5mmol), 트리에틸아민 1.01g(10mmol), 메탄설포닐 클로라이드 0.344g(3mmol)을 사용하여, 실시예 22와 동일한 조작을 실시하였다. 핵자기 공명측정(적산 256회)을 실시하여 스펙트럼을 수득하였다. 이 때, M_{me}= 6, M_{ms}= 0.019이다.

[0464] (실시예 25)

[0465] 실시예 16-7에서 알킬에테르화가 2회 종료한 화합물 (p27) 11.3g(0.25mmol)에 관해 트리에틸아민 0.506g(5mmol), 메탄설포닐 클로라이드 0.172g(1.5mmol)을 사용하여 실시예 22와 동일한 조작을 실시하였다. 핵자기 공명측정(적산 256회)을 실시하여 스펙트럼을 수득하였다. 이 때, M_{me}= 6, M_{ms}= 0.026이다.

[0466] (실시예 26)

[0467] 실시예 22 내지 실시예 25에서 수득된 M_{me}, M_{ms} 및 피크 톱 분자량(M_p)를 사용하여, Hrd 및 Hrd/M_p \times 1,000,000을 산출하였다. 피크 톱 분자량은 각각, (p3) (p13) (p25) (p28)의 데이터를 사용하였다. 결과를 표 4에 기재하였다. 그 결과, 본 발명의 화학식 p의 화합물의 알킬에테르화율은 높으며 알킬에테르화 반응을 반복하는 것에 관해서는 보다 반응율이 높으며 하이드록실 그룹의 잔존이 적은 것으로 나타났다.

표 4

[0468]

	Hrd	M _p	Hrd/M _p \times 1,000,000
실시예 22	0.0120	10,351	1.16
실시예 23	0.0167	18,989	0.88

실시예 24	0.0032	19,687	0.16
실시예 25	0.0043	45,057	0.10

[0469] (실시예 27)

온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 200ml 환저 플라스크에 실시예 1-5에서 수득된 화합물 (p3) 10g(1mmol), 톨루엔 50g을 투입하고 가열 환류시켜 수분을 공비 제거하였다. 실온으로 냉각한 다음, 트리에틸아민 2.02g(20mmol)을 가하여 40℃로 가온, 메탄설포닐 클로라이드 0.687g(6mmol)를 적가하여, 40℃에서 3시간 동안 반응시킨다. 반응 종료후, 염산염을 여과로써 제거하며, 여액에 아세트산에틸 100ml를 가하여, 헥산을 결정이 석출될 때까지 가하였다. 수득된 결정을 여과하여 취하고 아세트산에틸 200ml로 가온 용해하여, 실온으로 냉각한 다음, 결정이 석출될 때까지 헥산을 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 건조하였다. 수득된 결정 20mg을 채취하고 중메탄올에 용해하여, ^1H 핵자기 공명측정을 하여(적산 128회), 스펙트럼을 수득하였다. 이 때, 3.132ppm에 검출된 M1을 3으로 할 때, 3.117ppm에 검출된 M2는 0.295이다.

[0471] (실시예 28)

실시예 16-5에서 수득된 화합물 (p25)을 10g(0.5mmol), 트리에틸아민 1.01g(10mmol), 메탄설포닐 클로라이드 0.344g(3mmol)을 사용하여, 실시예 27과 동일한 조작을 실시하였다. 핵자기 공명측정(적산 256회)을 실시하여 스펙트럼을 수득하였다. 이 때, M1= 3, M2= 0.091이다.

[0473] (실시예 29)

실시예 16-8에서 수득된 화합물 (p28)을 11.3g(0.25mmol), 트리에틸아민 0.51g(5mmol), 메탄설포닐 클로라이드 0.172g(1.5mmol)을 사용하여, 실시예 27과 동일한 조작을 실시하였다. 핵자기 공명측정(적산 256회)을 실시하여 스펙트럼을 수득하였다. 이 때, M1= 3, M2= 0.112이다.

[0475] (실시예 30)

실시예 20에서 수득된 화합물 (p33) 11.3g(0.25mmol), 트리에틸아민 0.51g(5mmol), 메탄설포닐 클로라이드 0.172g(1.5mmol)을 사용하여, 실시예 27과 동일한 조작을 실시하였다. 핵자기 공명측정(적산 256회)을 실시하여 스펙트럼을 수득하였다. 이 때, M1= 3, M2= 0.212이다.

[0477] (실시예 31)

실시예 27 내지 실시예 30에서 수득된 M1, M2에서 $M2/(M1+M2) \times 100$ 을 산출하였다. 결과를 표 5에 기재하였다. 그 결과, 본 발명의 화합물은 높은 순도를 갖는 것으로 나타났다. 또한, 실시예 29와 30의 결과로부터 화학식 9의 화합물을 알콜레이트화할 때, 온도를 낮추고나서 실시하는 편이 보다 고순도로 되는 것이 판명됐다.

표 5

	M1	M2	M2 / (M1 + M2) × 100
실시예 27	3	0.295	8.95
실시예 28	3	0.091	2.94
실시예 29	3	0.112	3.60
실시예 30	3	0.212	6.60
실시예 32	3	0.162	5.12

[0480] (실시예 32)

온도계, 질소 흡입관, 교반기 및 냉각관을 부착한 2L 환저 플라스크로 (p27)의 화합물 100g과 5% 팔라듐 카본 (50% 함수품, 엔·이·엠커트사제) 200g을 함수품 그대로 투입하고, 실시예 16-8과 동일한 조작으로 탈벤질 반응을 실시하고, (p28)과 동일한 구조의 화합물 (p34)을 수득하였다. 이 때, 반응계 중의 함수량을 칼 피셔 수분계로써 측정한 바, 4.17%이다.

수득된 화합물 (p34) 11.3g(0.25mmol), 트리에틸아민 0.51g(5mmol), 메탄설포닐 클로라이드 0.172g(1.5mmol)을 사용하여, 실시예 27과 동일한 조작을 실시하였다. 핵자기 공명 측정(적산 256회)을 실시하여 스펙트럼을 수득하였다. 이 때, M1= 3, M2= 0.162이다.

[0483] 표5에 기재된 바와 같이 실시예 29와 실시예 32의 결과로부터 반응계 중의 함수량을 1% 이하로 하는 편이 보다 고순도의 화학식 p의 화합물을 수득할 수 있는 것으로 판명됐다.

[0484] (실시예 33) (펩타이드의 개질)

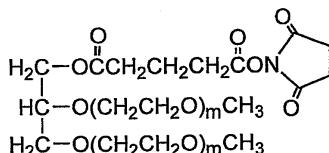
[0485] 휴마닌(Met-Ala-Pro-Arg-Gly-Phe-Ser-Cys-Leu-Leu-Leu-Thr-Ser-Glu-Ile-Asp-Leu-Pro-Val-Lys-Arg-Arg-Ala)(분자량 2687.2)의 펩타이드를 10mM 인산 베퍼(pH= 6.4)로써 0.5 μ M로 조정하였다. 이러한 용액 200 μ l 중에 화학식(p31)의 화합물 4mg을 가하여, 실온에서 4시간 동안 반응시킨다. 반응액 200 μ l를 SP-Sepharose FF(아마 삼사제) 컬럼에 차지하고, 20mM Tris-HCl 베퍼(pH= 8.2)로 평형화시킨다. 평형화후, 베퍼에 1N로 되도록 NaCl을 가한 용액을 컬럼에 통과시켜 UV에서 용출액을 모니터하면서, (p31)에 의해 개질된 펩타이드의 분획을 수득하였다. 이러한 분획 20 μ l와 트리스 SDS 샘플 처리액 20 μ l를 혼합한 다음, 비등 수육 속에서 2분 30초 동안 가온하여, 이러한 용액 20 μ l를 도데실황산나트륨-폴리아크릴아미드 겔 전기영동(4-20%) 분석하였다. 염색은 CBB 염색으로 실시하였다. 결과를 도 6에 도시한다.

[0486] 그 결과, 펩타이드의 머캅토기(시스테인)과 (p31)의 말레이미드가 반응하여, 개질되어 있는 것으로 나타났다.

[0487] (실시예 34)

[0488] 석신산이미드체(그룹I(a))의 합성(R= 메틸 그룹, A¹O, A²O= 옥시에틸렌 그룹, n=0, 분자량 약 45000의 경우)

[0489] 온도계, 질소 흡입관, 교반기, 딘-스타크관 및 냉각관을 부착한 200ml 환저 플라스크에 화학식(p28)의 화합물 11.3g(0.25mmol), 아세트산나트륨 0.1g, 톨루엔 100ml를 가하여 환류 탈수하였다. 이러한 반응액에 무수 글루 타르산 285mg(2.5mmol)을 가하여, 110℃에서 12시간 동안 반응시킨다. 반응액을 냉각한 다음, N-하이드록시석 신산이미드 518mg(4.5mmol), DCC 934mg(4.55mmol)을 가하여 40℃에서 2시간 동안 반응시킨다. 반응액을 여과한 다음, 여액에 결정이 석출될 때까지 헥산을 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 아세트산에틸 200ml, 아세토 니트릴 20ml에 다시 용해하여, 용해액에 결정이 석출될 때까지 헥산을 가하였다. 결정을 여과하여 취하고 건조 시켜, 석신산이미드체(p35)를 수득하였다.



(p 3 5) m= 5 0 5

[0490]

¹H-NMR (CDCl₃, 내부표준 TMS) δ (ppm) : 2.07(2H, m, -OCOCH₂CH₂CH₂COON-)

2.50(2H, t, -OCOCH₂CH₂CH₂COON-), 2.72(2H, t, -OCOCH₂CH₂CH₂COON-)

2.84(4H, s, 석신이미드), 3.38(6H, s, -CH₃), 3.40-3.80(4043H, m, -CH₂O (CH₂CH₂O)_mCH₃)

CH₃, CHO(CH₂CH₂O)_mCH₃)

[0491]

4.10-4.30(2H, m, -CH₂OCOCH₂CH₂CH₂COON-)

[0492]

(실시예 35) 인슐린의 개질

[0493]

실시예 19에서 수득된 (p32)의 석신산이미드체와, 실시예 34에서 수득된(p35)의 석신산이미드체를 사용하여, 인슐린(세롤로지칼스 코포레이션(SEROLOGICALS CORPORATIONPN) 제조, Recombinant Human Insulin, Mw 5800)의 개질을 실시하였다.

[0494]

0.1N 탄산나트륨 베퍼(pH= 9.0)를 사용하여, 인슐린의 10mg/ml 베퍼 용액을 조제하였다. 이러한 용액 100 μ l 중에 화학식(p32)의 화합물 6.8mg을 가하여, 4℃에서 20시간 동안 반응시킨다. 반응액 전량을 Q-Sepharose FF(아마 삼사제) 컬럼에 차지하고, 20mM Tris-HCl 베퍼(pH= 8.2)로 평형화시킨다. 평형화후, 베퍼에 1N로 되도록 NaCl을 가한 용액을 컬럼에 통과시켜 UV로써 용출액을 모니터하면서, (p32)에 의해 개질된 인슐린의 분획을 수득하였다. 이러한 분획 20 μ l와 트리스 SDS 샘플 처리액 20 μ l를 혼합한 다음, 비등 수육 속에서 2분 30초 동안 가온하여, 이러한 용액 20 μ l를 도데실황산나트륨-폴리아크릴아미드 겔 전기영동(4 내지 20%) 분석하였다. 염색은 CBB

은 CBB 염색으로 실시하였다.

[0495] 동일하게 (p35)에서도, 인슐린의 10mg/ml 베퍼 용액 $100\mu\text{l}$ 중에 화학식(p35)의 화합물 13.6mg을 가하여, 동일한 처리를 실시하였다.

[0496] 결과를 도 7에 도시한다. 그 결과, 인슐린이 화학식(p32), 화학식(p35)로 개질되어 있는 것으로 나타났다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 OVA 및 개질된 OVA의 폴리아크릴아미드의 겔 전기영동법에 의한 실험 결과가 나타난 사진이다.

[0027] 도 2는 화합물 p-8의 가속 열화 시험 전의 GPC 측정 결과를 도시한 것이다.

[0028] 도 3은 화합물 p-8의 가속 열화 시험 후의 GPC 측정 결과를 도시한 것이다.

[0029] 도 4는 화합물 p-10의 가속 열화 시험 전의 GPC 측정 결과를 도시한 것이다.

[0030] 도 5는 화합물 p-10의 가속 열화 시험 후의 GPC 측정 결과를 도시한 것이다.

[0031] 도 6은 휴마닌(Humanin)을 화합물 (p31)로 개질한 화합물의 전기영동 결과가 나타난 사진이다.

[0032] 도 7은 인슐린을 화합물 (p32), 화합물 (p35)로 개질된 화합물의 전기영동 결과가 나타난 사진이다.

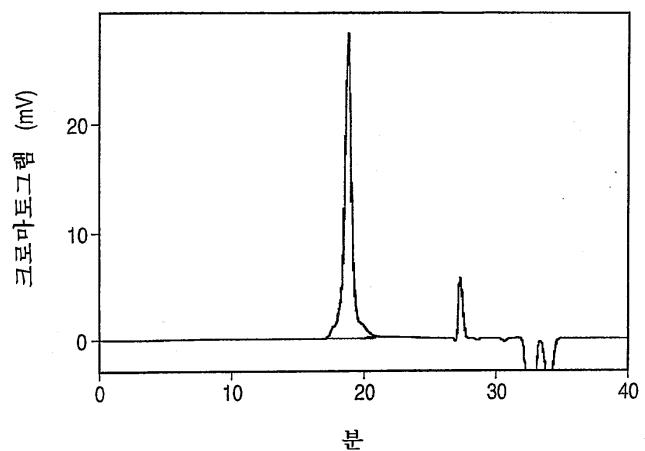
도면

도면1

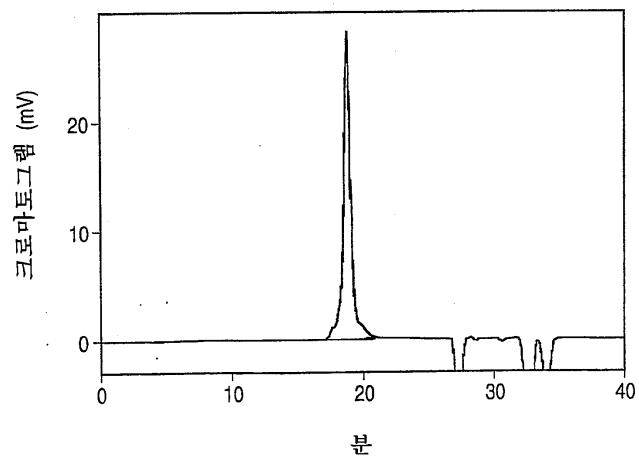


(A) (B) (C)

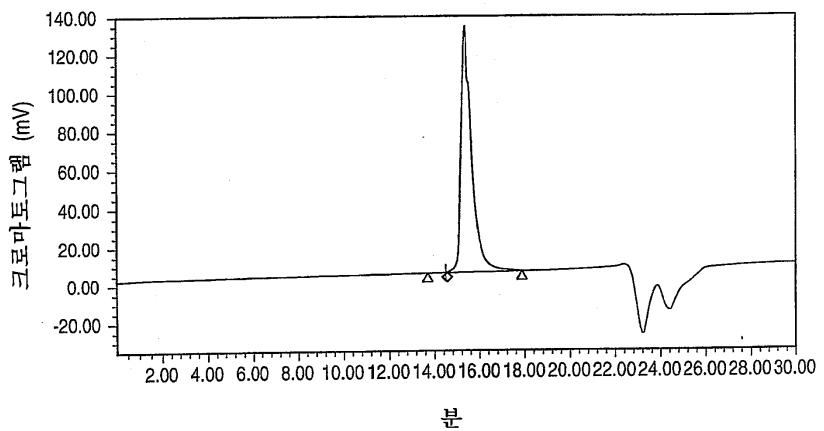
도면2



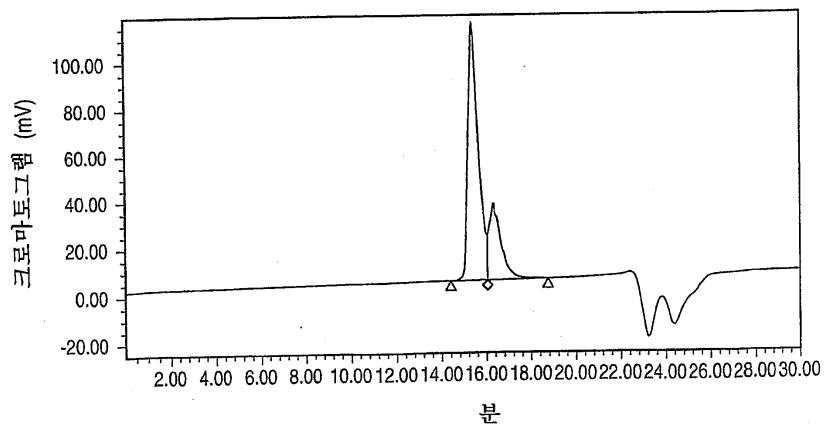
도면3



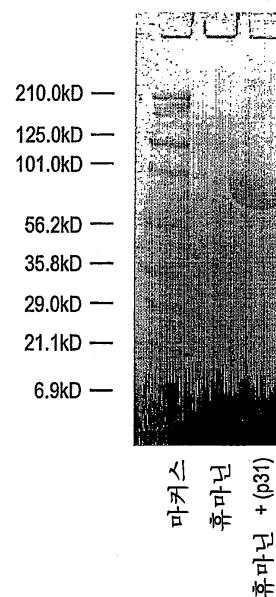
도면4



도면5



도면6



도면7

