

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号
特許第4272537号
(P4272537)

(45) 発行日 平成21年6月3日 (2009.6.3)

(24) 登録日 平成21年3月6日 (2009.3.6)

(51) Int.Cl. F I

C O 8 G 65/28 (2006.01)
C O 8 G 65/329 (2006.01)
A 6 1 K 47/48 (2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
A 6 1 K 31/20 (2006.01)

C O 8 G 65/28
C O 8 G 65/329
A 6 1 K 47/48
A 6 1 P 35/00
A 6 1 K 31/20

請求項の数 16 (全 21 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-574704 (P2003-574704)	(73) 特許権者	504336320 北京鍵▲凱▼科技有限公司 中華人民共和国北京市海淀区上地信息路2 号国▲際▼科技▲創▼▲業▼▲園▼C▲棟 ▼四▲層▼
(86) (22) 出願日	平成15年3月12日 (2003.3.12)		
(65) 公表番号	特表2005-520006 (P2005-520006A)		
(43) 公表日	平成17年7月7日 (2005.7.7)	(74) 代理人	110000040 特許業務法人池内・佐藤アンドパートナーズ
(86) 国際出願番号	PCT/CN2003/000179		
(87) 国際公開番号	W02003/076490	(72) 発明者	▲稽▼ 世山 中華人民共和国北京市清▲華▼大学▲華▼ ▲業▼大厦1209▲房▼間
(87) 国際公開日	平成15年9月18日 (2003.9.18)		
審査請求日	平成17年4月1日 (2005.4.1)	(72) 発明者	朱 ▲德▼▲權▼ 中華人民共和国北京市清▲華▼大学▲華▼ ▲業▼大厦2611▲房▼間
(31) 優先権主張番号	PCT/CN02/00147		
(32) 優先日	平成14年3月13日 (2002.3.13)		
(33) 優先権主張国	中国 (CN)		

最終頁に続く

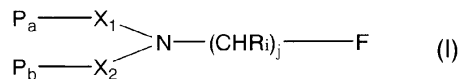
(54) 【発明の名称】 Y型分鎖親水性ポリマー誘導体、それらの調製方法、前記誘導体および薬剤分子の結合生成物、ならびに前記結合生成物を含む医薬組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式Iで示されるY型分鎖親水性ポリマー誘導体：

【化1】



上記式中：

P_aおよびP_bが、下記式Vで示される分子量が300～60000ダルトンである同一若しくは異なるPEGであり、

jが、1から12までの整数であり、

R_iが、H、置換若しくは置換されていないC₁₋₁₂のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基、及びヘテロアルキル基からなる群から選択され、

X₁およびX₂が、独立して、結合基であり、X₁が、(CH₂)_nであり、X₂が、(CH₂)_n、(CH₂)₂O C Oおよび(CH₂)_n C Oからなる群から選択され、nが、1から10の整数であり、

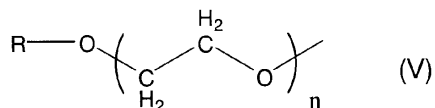
Fが、治療薬または基質のアミノ基、ヒドロキシル基またはチオール基と反応して、共有結合を形成することができるヒドロキシル基、カルボキシル基、エステル基、カルボン酸塩化物基、ヒドラジン基、マレイミド基、ピリジンジスルフィド基、下記式(VI)で

10

20

表される基、下記式(VII)で表される基および下記式(VIII)で表される基からなる群から選択される1つの官能基である。

【化2】

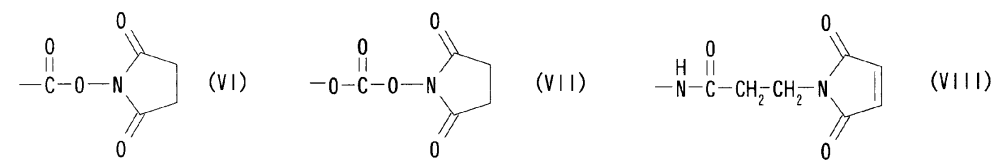


上記式中：

Rは、 C_{1-12} のアルキル基であり、
nは、重合度を示す整数である。

10

【化3】

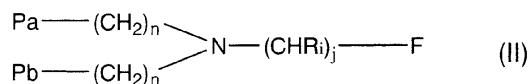


【請求項2】

20

式IIで示されるY型分鎖ポリエチレングリコール誘導体：

【化4】



上記式中：

P_a および P_b が、下記式Vで示される分子量が300～60000ダルトンである同一若しくは異なるPEGであり、

30

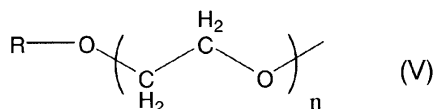
nおよびjが、独立して、1から12までの整数であり、

R_i が、H、置換若しくは置換されていない C_{1-12} のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基およびヘテロアルキル基からなる群から選択され、

Fが、治療薬または基質のアミノ基、ヒドロキシル基またはチオール基と反応して、共有結合を形成することができるヒドロキシル基、カルボキシル基、エステル基、カルボン酸塩化物基、ヒドラジン基、マレイミド基、ピリジンジスルフィド基、下記式(VI)で表される基、下記式(VII)で表される基および下記式(VIII)で表される基からなる群から選択される1つの官能基である。

【化5】

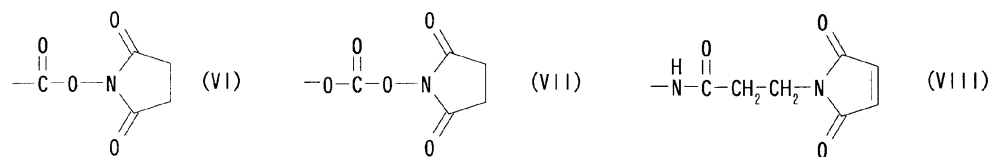
40



上記式中：

Rが、 C_{1-12} のアルキル基であり、
nが、重合度を示す整数である。

【化 6】

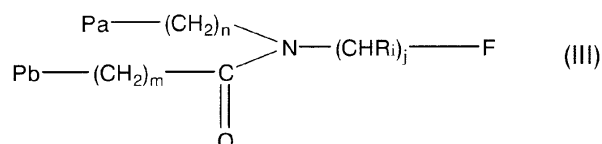


【請求項 3】

式 III で示される Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体：

【化 7】

10



上記式中：

P_a および P_b が、下記式 V で示される分子量が 3 0 0 ~ 6 0 0 0 0 ダルトンである同一若しくは異なる P E G であり、

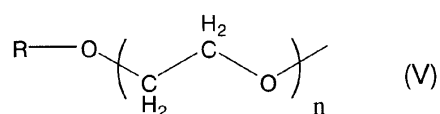
n 、 m および j が、独立して、1 から 1 2 までの整数であり、

20

R_i が、H、置換若しくは置換されていない C_{1-12} のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基およびヘテロアルキル基からなる群から選択され、

F が、治療薬または基質のアミノ基、ヒドロキシル基またはチオール基と反応して、共有結合を形成することができるヒドロキシル基、カルボキシル基、エステル基、カルボン酸塩化物基、ヒドラジン基、マレイミド基、ピリジンジスルフィド基、下記式 (V I) で表される基、下記式 (V I I) で表される基および下記式 (V I I I) で表される基からなる群から選択される 1 つの官能基である。

【化 8】



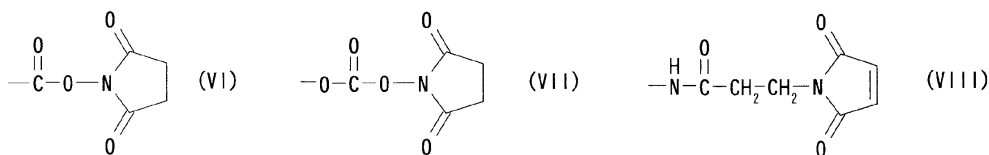
30

上記式中：

R が、 C_{1-12} のアルキル基であり、

n が、重合度を示す整数である。

【化 9】

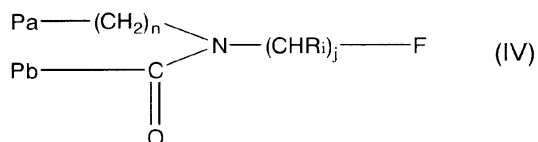


40

【請求項 4】

式 IV で示される Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体：

【化 1 0】



上記式中：

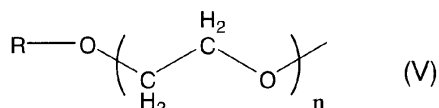
P_a および P_b が、下記式Vで示される分子量が300～60000ダルトンである同一若しくは異なるPEGであり、

n および j が、独立して、1から12までの整数であり、

R_i が、H、置換若しくは置換されていない C_{1-12} のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基およびヘテロアルキル基からなる群から選択され、

Fが、治療薬または基質のアミノ基、ヒドロキシル基またはチオール基と反応して、共有結合を形成することができるヒドロキシル基、カルボキシル基、エステル基、カルボン酸塩化物基、ヒドラジン基、マレイミド基、ピリジンジスルフィド基、下記式(VI)で表される基、下記式(VII)で表される基および下記式(VIII)で表される基からなる群から選択される1つの官能基である。

【化 1 1】

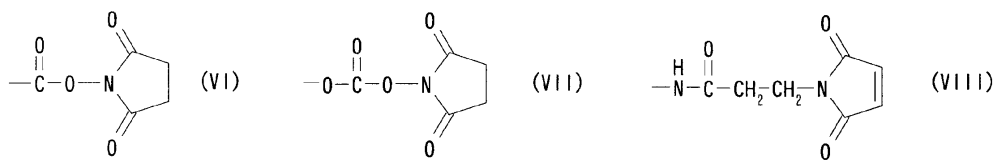


上記式中：

Rが、 C_{1-12} のアルキル基であり、

n が、重合度を示す整数である。

【化 1 2】



【請求項 5】

Rが、メチル基、エチル基およびイソプロピル基からなる群から選択される請求項4に記載の誘導体。

【請求項 6】

請求項2に記載のPEG誘導体を調製する方法であって、

エチレンオキシドの重合を、0℃、触媒存在下で、N,N-ジ-2-ヒドロキシルエチル-2-ベンジルオキシエチルアミンにより開始し；

ついで、末端のヒドロキシル基をアルキル化し、そして、前記ベンジル基を触媒水素化を介して除去し；

さらに、新たなヒドロキシル基を誘導体化して、末端基Fを形成することを含む方法。

【請求項 7】

請求項3または4に記載のPEG誘導体を調製する方法であって、

1つのメトキシルポリエチレングリコールをアルカリ性条件下でアミノ酸と反応させて、得られた生成物を $\text{mPEG-O-(CH}_2)_n\text{-CONH}_2$ または mPEG-O-CONH_2 とさらに反応させ、さらに、誘導体化させて末端基Fを形成する方法。

10

20

30

40

50

れている。臨床的には、PEGおよびその誘導体は、市販製剤の製造のための担体として広く使用されている。PEGを薬剤分子に結合させる試みは、この10年で著しい進化を遂げ、多くの公式認可薬剤に適用されている。例えば、PEGと α -インターフェロンとの結合生成物であるPEG-intron(R)は、より長い循環半減期と、よりよい治療効果とを示す。PEGとパクリタキセルとの結合生成物は、毒性を低減し、生物活性を増加する。PEGの代謝過程は周知であり、PEGは、安全な薬剤調整剤として受け入れられている。

【0005】

PEGと薬剤とを結合する場合、PEG化(PEGylation)と呼ばれるあるプロセスがよく用いられる。すなわち、PEGの1または2以上の末端基を活性化し、薬剤の少なくとも1つの官能基と反応し、それと安定した結合を形成できる適正な官能基を形成する。

10

【0006】

多くのPEG誘導体が報告されている。直鎖PEGプロピオン酸、ブタン酸およびそれらのNHSEステルが、報告されている(例えば、特許文献1)。最近では、U型分鎖PEGが報告されている(例えば、特許文献2)。これらのPEG誘導体において、2つの直鎖PEGは、2つの同一の官能基、例えば、2つのアミノ基または2つのカルボキシル基を介して1つの分子または構造と結合する。前記特許文献2の1つの実施例では、前記分鎖PEGは、直鎖PEGと、2つのアミノ基を有するアミノ酸であるリジンとから誘導される。

【特許文献1】米国特許第5672662号明細書

【特許文献2】米国特許第564357号明細書

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明の目的は、新たなY型分鎖親水性ポリマー誘導体を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0008】

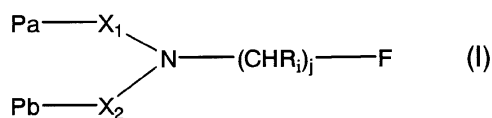
(本発明の概要)

本発明は、式Iで示される新たなY型分鎖親水性ポリマー誘導体を提供する。

【0009】

【化6】

30



【0010】

上記式中：

P_a および P_b が、同一若しくは異なる親水性ポリマーであり、

j が、1から12までの整数であり、

R_i が、H、置換若しくは置換されていない C_{1-12} のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基、及びヘテロアルキル基からなる群から選択され、

40

X_1 および X_2 が、独立して結合基であり、 X_1 が、 $(\text{CH}_2)_n$ であり、および X_2 が、 $(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{OCO}$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{NHCO}$ および $(\text{CH}_2)_n\text{CO}$ からなる群から選択され、 n は、1から10の整数であり、

Fが、治療薬または基質のアミノ基、ヒドロキシル基またはチオール基と反応して、共有結合を形成することができるヒドロキシル基、カルボキシル基、エステル基、カルボン酸塩化物、ヒドラジン、マレイミドおよびピリジンジスルフィドからなる群から選択される1つの官能基である。

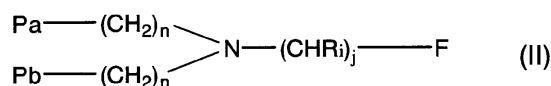
【0011】

本発明のその他の態様として、式IIで示されるY型分鎖ポリ(エチレングリコール)誘導体を提供する。

50

【 0 0 1 2 】

【 化 7 】



【 0 0 1 3 】

上記式中：

P_a および P_b が、同一または異なるポリエチレングリコールであり、

n および j が、独立して1から12までの整数であり、

10

R_i が、H、置換若しくは置換されていない C_{1-12} のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基およびヘテロアルキル基からなる群から選択され、

F が、治療薬または基質のアミノ基、ヒドロキシル基またはチオール基と反応して、共有結合を形成することができるヒドロキシル基、カルボキシル基、エステル基、カルボン酸塩化物、ヒドラジン、マレイミドおよびピリジンジスルフィドからなる群から選択される1つの官能基である。

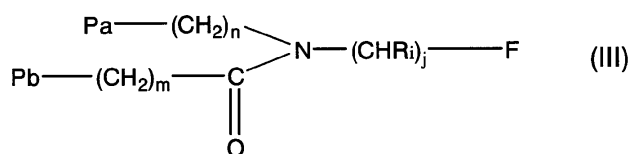
【 0 0 1 4 】

本発明のさらに他の態様として、式IIIで示されるY型分鎖ポリ(エチレングリコール)誘導体を提供する。

【 0 0 1 5 】

20

【 化 8 】



【 0 0 1 6 】

上記式中：

P_a および P_b が、同一または異なるポリエチレングリコールであり、

n 、 m および j が、独立して1から12までの整数であり、

30

R_i が、H、置換若しくは置換されていない C_{1-12} のアルキル基、置換アリール基、アラルキル基およびヘテロアルキル基からなる群から選択され、

F が、治療薬または基質のアミノ基、ヒドロキシル基またはチオール基と反応して、共有結合を形成することができるヒドロキシル基、カルボキシル基、エステル基、カルボン酸塩化物、ヒドラジン、マレイミドおよびピリジンジスルフィドからなる群から選択される1つの官能基である。

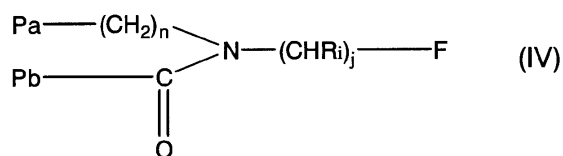
【 0 0 1 7 】

本発明のさらに他の態様として、式IVで示されるY型分鎖ポリ(エチレングリコール)誘導体を提供する。

【 0 0 1 8 】

40

【 化 9 】



【 0 0 1 9 】

上記式中：

P_a および P_b が、同一または異なるポリエチレングリコールであり、

50

n および j が、独立して 1 から 12 までの整数であり、

R_i が、H、 C_{1-12} の置換若しくは置換されていないアルキル基、置換アリール基、アラルキル基およびヘテロアルキル基からなる群から選択され、

F が、治療薬または基質のアミノ基、ヒドロキシル基またはチオール基と反応して、共有結合を形成することができるヒドロキシル基、カルボキシル基、エステル基、カルボン酸塩化物、ヒドラジン、マレイミドおよびピリジンジスルフィドからなる群から選択される 1 つの官能基である。

【0020】

本発明のさらにその他の態様として、前記式 II の PEG 誘導体を調製する方法であって、エチレンオキシドの重合を、0、触媒存在下で、N, N - ジ - 2 - ヒドロキシルエチル - 2 - ベンジルオキシエチルアミンにより開始し、ついで、末端のヒドロキシル基をアルキル化し、前記ベンジル基を触媒水素化により除去し、そして、新たなヒドロキシル基を誘導体化して、末端基 F を形成することを含む方法を提供する。

10

【0021】

本発明のさらにその他の態様として、前記式 (II) および (III) の PEG 誘導体を調製する方法であって、ポリエチレングリコールモノメチルエステル - メシラートを、アルカリ性条件下 でアミノ酸と反応させて、得られた生成物を別のポリエチレングリコールモノメチルエーテル誘導体とさらに反応させて、さらに誘導体化させて末端基 F を形成することを含む方法を提供する。

20

【0022】

本発明のさらにその他の態様として、前記官能基 F を介した前記ポリマー誘導体と薬剤分子との結合生成物を提供する。

【0023】

本発明のさらにその他の態様として、前記結合生成物を含む医薬組成物を提供する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0024】

(図面の詳細な説明)

図 1 は、Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体 (1) の合成を示す。

【0025】

図 2 は、Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体 (2) および (7) の合成を示す。

30

【0026】

図 3 は、Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体 (5) の合成を示す。

【0027】

図 4 は、Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体 (6) の合成を示す。

【0028】

図 5 は、Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体 (1) の結合生成物のおよび薬剤 (エステル結合を介した) の合成を示す。

【0029】

図 6 は、Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体と薬剤との (その他の結合を介した) 結合生成物の合成を示す。

40

【0030】

図 7 は、Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体とタンパク質との結合生成物の合成を示す。

【0031】

(発明の詳細な説明)

本発明において、前記親水性ポリマーは、例えば、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリアクリルモルホリンまたはそれらの共重合体であり、特に、ポリエチレングリコールおよびそれらの共重合体である。

【0032】

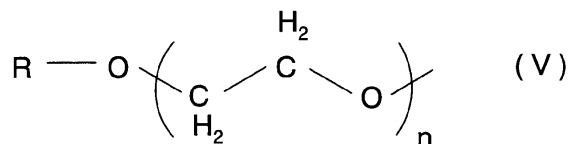
本発明の式 (II) から式 (IV) の PEG 誘導体において、 P_a および P_b は、同一でも異

50

なっているとしてもよく、下記式(V)で示されるPEGであってもよい。

【0033】

【化10】



【0034】

上記式中：

Rが、H、 C_{1-12} のアルキル基、シクロアルキル基またはアラルキル基であり、nが、重合度を示す整数であり、PEGの分子量が300から60000となる整数であることが好ましい。

【0035】

式(V)において、Rが、H、メチル基、エチル基、イソプロピル基、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロヘキシル基またはベンジル基であることが好ましい。

【0036】

本発明のY型分鎖親水性ポリマー誘導体は、2つの直鎖PEG鎖を小分子のアミノ基に結合させることにより調製することが好ましい。

【0037】

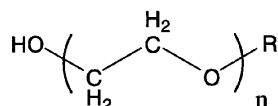
ここでは、一例として、PEGを用いて本発明のY型分鎖親水性ポリマー誘導体の調製を説明する。

【0038】

PEGの一般的な構造は、下記式のように示される。

【0039】

【化11】



【0040】

上記式中、RはH、 C_{1-12} アルキル基、シクロアルキル基またはアラルキル基であり、nは重合度を示す整数である。

【0041】

低アルキル基としては、Rが、1～6の炭素原子を有する低アルキル基であってもよく、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、iso-プロピル基、n-ブチル基、iso-ブチル基、n-ペンチル基、またはn-ヘキシル基であってもよい。シクロアルキル基としては、Rが、3～7の炭素原子を含むシクロアルキル基、例えば、シクロプロピル基、シクロブチル基、およびシクロヘキシル基であることが好ましい。これらの中でも、シクロヘキシル基がより好ましい。典型的な化合物は、メトキシ-ポリエチレングリコール(mPEG)である。その他のポリエチレングリコールの類似体および誘導体、例えば、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコールおよびポリアクリルモルホリンなどを、本発明において使用してもよい。

【0042】

PEGについては、通常、分子量で評価される。前記結合生成物を形成するPEGの分子量が、300～60000ダルトンの範囲、nでいうと約6～約1300であることが好ましい。より好ましくは、nが28、112および450であり、分子量がそれぞれ1325、5000および20000である。通常、自己の繰り返し単位nよりもそれらの分子量により定義されるが、出発原料PEGは、潜在的に非均一であるため、PEGは、

10

20

30

40

50

nで表される自己の繰り返し単位で特定されるかわりに、PEGは、一般的に重量平均分子量で特定される。異なる分子量を有する出発材料PEG化合物は、当該技術分野の従来公知の方法を用いて容易に合成でき、または市販のものを使用できる。

【0043】

本発明のY型PEG誘導体は、当該分野の通常の方法により合成し、調製できる。本明細書において権利主張をしている異なる化合物は、当該分野の技術文献および特許文献を参照して、一致する方法により合成および調製する。

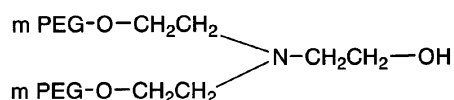
【0044】

P_a および P_b がmPEGであって、 X_1 および X_2 が単一の分鎖アルキル基であって、Fがヒドロキシル基である場合、とりうる式は以下のとおりである。

10

【0045】

【化12】



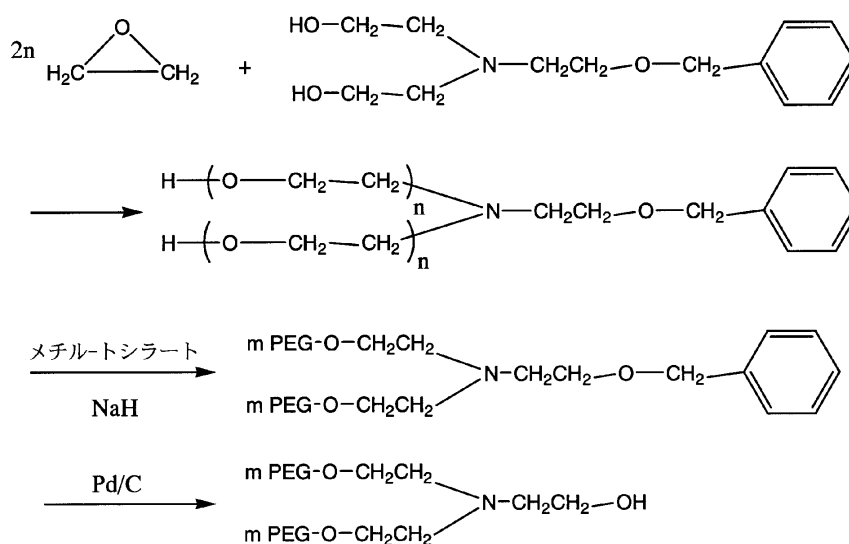
【0046】

適当な重合開始剤を調製して、エチレンオキシドまたはエチレングリコールとの重合を促進することにより得られる。その標準的な調製方法を以下に示す。

【0047】

20

【化13】



30

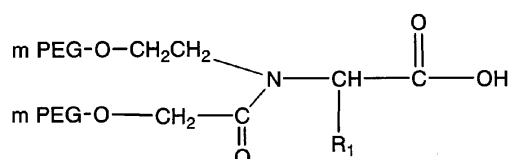
【0048】

P_a および P_b がメトキシポリエチレングリコール(mPEG)であり、 X_1 および X_2 が相違する場合、とりうる式は以下のとおりである。

【0049】

40

【化14】



【0050】

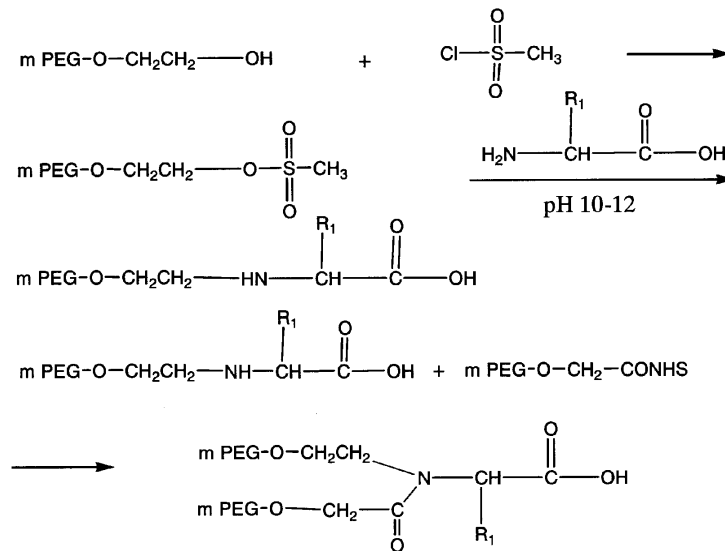
この化合物は、アミノ基を含む化合物と、PEGとを段階的に反応させることにより得られる。アミノ基を含む選択化合物は、アミノ酸、アミノケトンまたはアミノ基を有する

50

その他の分子であってもよい。標準的な調製経路を以下に示す。しかしながら、当該分野で、この誘導体を調製するためのより適当若しくは経済的な方法がまだ存在する。

【 0 0 5 1 】

【化 1 5】



10

20

【 0 0 5 2 】

本発明の親水性ポリマー誘導体を使用する場合、官能基Fが重要な役割を示す。異なる末端基を有する誘導体は、異なる用途を有する。これらの官能基の導入は、これらの誘導体の構造および適当な分野を確定する。所望の用途に関して、末端官能基を改変させるためには、以下の方法が使用できる。

【 0 0 5 3 】

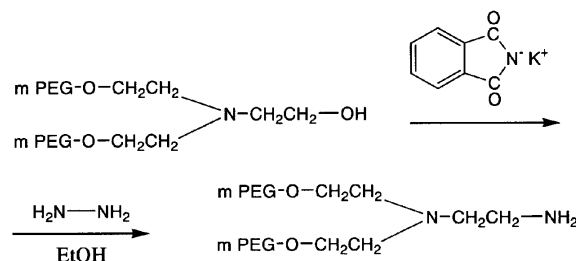
1. アミノ化

ヒドロキシル基よりもアミノ基のほうが、反応性が優れるため、結合生成物を得るためには、アミノ化したPEG誘導体は、カルボキシル基を有する分子と反応において重要である。

30

【 0 0 5 4 】

【化 1 6】



40

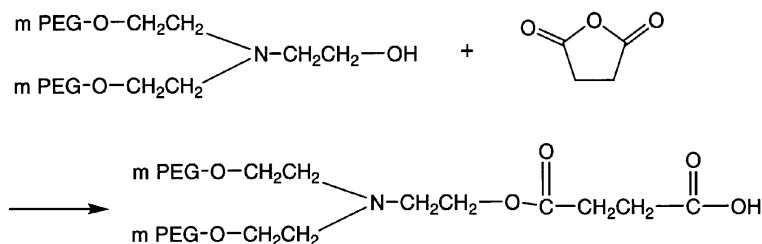
【 0 0 5 5 】

2. カルボキシル化

カルボキシル化は、PEGの反応性の向上を助け、アミノ基またはヒドロキシル基を有する分子との結合を行うことができる。

【 0 0 5 6 】

【化 17】



【0057】

10

アミノ酸を出発物質として使用する場合、得られた Y 型 PEG の末端基はカルボキシル基を有するものである。特に、アミノ酸またはポリマーを含む複数のカルボキシル基を使用する場合、末端基は、数個のカルボキシル基を有するものである。この種の構造は、小さな天然薬剤分子の負荷を増加させ、さらに、徐々に分解することにより遅効性効果を発揮させることに有用である。

【0058】

3. その他の改変方法

その他の改変、例えば、酸塩化物、ヒドラジン、マレイミド、ピリジンジスルフィドなどを適当に適応させることにより、対応する誘導体を得ることができる。この分野において、対応する調製方法を得るのは容易である。

20

【0059】

天然薬剤の多くの組成物は、体内において、単糖類、多糖類、ヌクレオシド、ポリヌクレオシド、ホスホリルなどと結合して、活性薬理学的構造を形成する活性官能基、例えば、アミノ基、カルボキシル基、およびヒドロキシル基を有する。

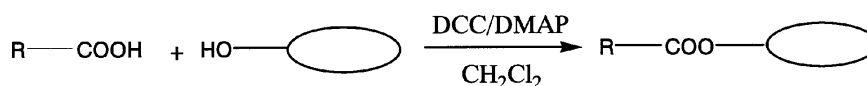
【0060】

同様に、改変した末端官能基を有する PEG 誘導体は、薬剤分子と結合することにより、同様にして生物有機分子に代えて、短い生理学的半減期および低治療効果の欠点を克服することができる、以下のモデルは、一般的なエステル合成反応である。

【0061】

【化 18】

30



【0062】

エステル基は、体内で生分解により除去され、有効成分を放出することができる。アミド基は、体内で比較的安定である。

【0063】

本発明の Y 型親水性ポリマー誘導体は、適当な官能基を介して薬剤分子と結合生成物を形成することができる。前記官能基は、遊離アミノ酸、タンパク質、ポリペプチドおよびその他の天然薬剤のヒドロキシル基およびチオール基と前記ポリマー誘導体とを結合させることができる。高分子量を有するタンパク質およびペプチドに対して、1つの分子が、1つ以上の PEG 誘導体と結合して、体内において薬剤分子の生理学的効果を向上することができる。低分子量を有する天然薬剤の有効成分としては、1つの PEG 誘導体が適当な官能基を介して 1 以上の薬剤分子と結合し、適当な薬剤濃度および徐放効果を確実にすることができる。

40

【0064】

前記した適用例は、前記 PEG 誘導体の医学的用途のための可能な規範モデルを提示したものである。実際に適用するための適当な誘導体の選択は、いくつかの必要な工程、例

50

えば、動物薬理学、毒性および臨床試験により確認しなければならない。

【0065】

本発明の結合生成物に含まれる薬剤分子が、天然植物から単離された有効成分、例えば、パクリタキセル、カンプトテシン、シノプファギン、グリシレチン酸およびスコポレチンであることが好ましい。前記薬剤が、腫瘍の治療に使用される天然医薬の成分、例えば、パクリタキセル、カンプトテシンおよびそれらの誘導体であることが好ましい。また、前記薬剤は、インターフェロン、例えば、 α -および β -インターフェロンであることが好ましい。

【0066】

本発明の結合生成物は、純化合物または適当な医薬組成物の形態、適当な経路を介して若しくは同様の用途の薬剤を含んだ状態で投与することができる。すなわち、前記結合生成物は、経口、鼻腔、非経口、局所的、経皮的、直腸または注入経路により、固体、半固体、凍結乾燥粉末または液体、例えば、錠剤、坐薬、ピル、ソフトおよびハードゼラチンカプセル剤、粉剤、溶剤、懸濁剤およびエアロゾル剤等の投与形態で投与できる。正確な投与量および簡便な投与に適した単位投与形態が好ましい。前記組成物は、従来の薬学的担体または賦形剤および、前記有効成分として本発明の結合生成物を含む。さらに、その他の薬剤、担体および賦形剤を含んでもよい。

10

【0067】

所望の投与方法に依存するが、一般的には、薬学的に許容させる組成物は、本発明の結合生成物を約1～約99重量%と、適当な薬学的賦形剤を99重量%～1重量%含んでもよい。これらは、結合生成物を5重量%～75重量%含み、残りは、適当な薬学的賦形剤であることが好ましい。

20

【0068】

好ましい投与方法は、治療する疾患の重篤度に基づき調整することができるため、一般的な一日量計画により注入することである。本発明の結合生成物またはそれらの薬学上許容させる塩は、注入用の投与の形態、例えば、液体の薬学的担体、例えば、水、食塩水、グルコース水溶液、グリセロール、エタノール等中に前記活性成分を0.5%～50%溶解することにより、懸濁液を形成することにより調製できる。

【0069】

例えば、液剤や懸濁液といった液体の形態で投与される前記組成物は、本発明の結合生成物（約0.5%～20%）および任意の薬学的賦形剤を担体に溶解または分散させることで調製できる。前記担体の例としては、水、食塩水、グルコース水溶液、グリセロール、エタノール等である。

30

【0070】

必要に応じて、本発明の医薬組成物は、さらに、少量のアジュバント、例えば、湿剤、乳化剤、pH緩衝液、抗酸化剤などを含んでもよい。例えば、クエン酸、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレアート、ブチル化ヒドロキシトルエンなどを加えることができる。

【0071】

このような投薬形態の実際の調製方法は、当該技術分野の技術者に公知又は自明であって、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990)を参照できる。ともかく、本発明の技術によれば、使用される組成物は、対応する疾患を治療するための有効量の本発明の結合生成物を含んでいる。

40

【0072】

（実施例）

本発明のポリマー誘導体および結合生成物、ならびにそれらの調製方法を、以下の実施例によりさらに説明する。これらの実施例は、いかなる場合であっても本発明の範囲を制限するものではない。本発明の範囲は、請求の範囲にのみ制限される。

【実施例1】

50

【 0 0 7 3 】

Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体 (1) の合成

前記合成を、図 1 に示す。0 で、200 mg の N , N - ジ - 2 - ヒドロキシエチル - 2 - ベンジルオキシエチルアミンと 50 mg の乾燥 NaH とを入れた丈夫なフラスコに、10 ml の乾燥エチレンオキシドを加えた。その反応混合物を、前記温度をゆっくり上昇させながら撹拌した。28 時間後、粘性液を水で急冷し、ポリマーをジクロロメタンで抽出した。その有機相を、無水硫酸ナトリウムで乾燥させて、減圧下で前記溶媒を除去した。収率：8.2 g (81%)、Mp：56 ~ 58 。

【 0 0 7 4 】

5 g の (PEG)₂-N-CH₂CH₂O-Bz (分子量 10000、前記工程で得られたもの) を、50 ml のトルエンに溶解した。0.1 g の水素化ナトリウムと 0.5 g のベンゼンスルホン酸メチルエステルとを、前記溶液に加えた。前記反応混合物を、80 で 24 時間加熱した。ついで、前記溶液を 2 ml のイソプロピルアルコールで急冷した。前記溶媒を減圧下で除去し、その残渣に 200 ml のイソプロピルアルコールを加えた。その沈殿物を、ろ過により回収し、真空中で乾燥させた。収率：4.6 g (92%)、Mp：57 ~ 59 。

【 0 0 7 5 】

3 g の (MeO-PEG)₂-N-CH₂CH₂O-Bz (分子量 10000、前記工程で得られたもの) を、30 ml の無水 1,4 - ジオクサンに溶解した。ついで、0.1 g の Pd / C を触媒として前記溶液混合物に加え、H₂ ガス (40 psi) を前記反応容器に導入した。前記溶液を、室温で一晩、力強く撹拌した。前記触媒をろ過により除去し、新たなジクロロメタンで洗浄した。前記溶媒をロータリーエバポレーションにより除去し、その残渣をエチルエーテルに加えた。その沈殿物をろ過により回収し、真空中で乾燥させた。収率：2.4 g (80%)。NMR(DMSO)：3.5 (br m, H in PEG), 3.24 (s, 6H), 2.63 (t, 6H)。

【実施例 2】

【 0 0 7 6 】

Y 型分鎖ポリエチレングリコールスクシニミジルカルボン酸 (2) の合成

図 2 に、前記合成を示す。分子量 10000 の Y 型分鎖 PEG 誘導体 ((MeO-PEG)₂-N-CH₂CH₂OH、実施例 1 より得られたもの) 1 g と、ジ - スクシイミジルカルボン酸 0.1 g とを、20 ml のアセトニトリルに溶解した。0.1 ml のピリジンを前記溶液に加えた。この反応混合物を窒素ガス保護下で、1 晩撹拌した。前記溶媒を、ロータリーエバポレーションで除去し、その残渣を減圧下で乾燥させた。その固体残渣を、10 ml の乾燥ジクロロメタンに加えた。溶解しなかった固体は濾過した。その有機相を、酢酸ナトリウム緩衝液 (0.1 M、pH 5.5) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ロータリーエバポレーションで濃縮し、エチルエーテル中に沈殿させた。その生成物を真空中で乾燥させた。収率：0.9 g (90%)。NMR (DMSO)：3.5 (br m, H in PEG), 3.24 (s, 6H), 4.45(t, 2H), 2.82 (s, 4H)。

【実施例 3】

【 0 0 7 7 】

mPEG - グリシン (3) の合成

分子量 5000 の mPEG 5 g を 50 ml トルエンに溶解し、窒素ガス保護下で、2 時間、共沸蒸留し、蒸留して抽出した溶液 10 ml を得て、ついで、室温に冷却した。3 ml の乾燥ジクロロメタンと 0.08 ml の乾燥トリエチルアミンとをその反応物に加えた。前記混合物を、氷水浴で冷却し、0.12 ml の乾燥メタンスルホニルクロライドを滴下した。その混合物を、窒素ガス保護下、室温で、一晩撹拌した。その反応物を、2 ml の無水エタノールを加えることにより急冷した。前記溶媒の一部を、ロータリーエバポレーションにより除去し、その沈殿物をろ過により回収し、ついで、150 ml のエチルエーテルを加えた。沈殿物をろ過により回収し、真空中で乾燥させた。収率：4.8 g (96%)。NMR(DMSO)：3.5 (br m, H in PEG), 3.24 (s, 3H), 4.32 (t, 2H)。

【 0 0 7 8 】

2 g の塩酸グリシンを、20 ml の脱イオン水に溶解した。1 g の NaOH を、前記グリシン溶液に加え、pH を 10.5 に調整した。ついで、分子量 5000 の mPEG メシラートエステル（前記工程で得られたもの）2 g を、前記溶液に加えた。その溶液を、37、72 時間インキュベートし、ついで、塩酸溶液で pH を約 7 に中和した。ジクロロメタンでポリマーを抽出した。有機相を、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下で除去した。収率：1.7 g (85%)、Mp：55 ~ 57。NMR (DMSO)：3.5 (br m, H in PEG), 3.24 (s, 3H), 2.95 (t, 2H), 3.11 (s, 2H)。

【実施例 4】

【0079】

mPEG - アラニン (4) の合成

分子量 5000 の mPEG 5 g を、50 ml のトルエンに溶解し、窒素ガス保護下で、2 時間、共沸蒸留し、蒸留して抽出した溶液 10 ml を得て、ついで、室温に冷却した。3 ml の乾燥ジクロロメタンと 0.08 ml の乾燥トリエチルアミンとをその反応物に加えた。その混合物を、氷水浴で冷却し、0.12 ml の乾燥メタンスルホンクロライドを滴下した。その混合物を室温、窒素ガス保護下で一晩撹拌した。その反応物を、2 ml の無水エタノールを加えることにより急冷した。前記溶媒をロータリーエバポレーションにより除去し、その沈殿物をろ過により回収し、ついで、150 ml のエチルエーテルを加えた。その沈殿物をろ過により回収し、真空中で乾燥させた。収率：4.5 g (90%)。NMR (DMSO)：3.5 (br m, H in PEG), 3.24 (s, 3H), 4.32 (t, 2H)。

【0080】

2 g の塩酸アラニンを、20 ml の脱イオン水に溶解した。1 g の NaOH をそのアラニン溶液に加え、pH を 10.5 に調整した。ついで、分子量 5000 の mPEG メシラート 2 g をその溶液に加えた。前記溶液を、37 で 72 時間インキュベートし、ついで、塩酸溶液で、pH を約 7 に中和した。そのポリマーをジクロロメタンで抽出した。その有機相を、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で溶媒を除去した。収率：1.9 g (94%)、Mp：55 ~ 57。NMR (DMSO)：3.5 (br m, H in PEG), 3.24 (s, 3H), 2.94 (m, 1H), 1.24 (d, 3H)。

【実施例 5】

【0081】

アミノ基反応性 Y 型分鎖 PEG 誘導体 (5) の合成

図 3 に、前記合成を示す。分子量 5000 の mPEG - グリシン (3) または mPEG - アラニン (4) (実施例 3 または 4 で得られたもの) 1 g を、20 ml のジクロロメタンに溶解した。1 g の mPEG カルボキシエチル NHS エステル (mPEG-O-CH₂-CO-NHS、分子量 5000) および 0.1 ml のトリエチルアミンを前記溶液に加えた。その溶液を一晩撹拌した。前記溶媒を減圧下で除去し、その残渣をエチルエーテルに加えた。その沈殿物をろ過により回収し、減圧下で乾燥させた。その生成物 (Y 型分鎖 PEG 酸) を、さらに、イオン交換クロマトグラフィーにより精製した。収率：0.98 g (50%)。

【0082】

0.5 g の Y 型分鎖 mPEG 酸を 10 ml のジクロロメタンに溶解した。7 mg の N - ヒドロキシルスクシイミド (NHS) と 13 mg のジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) とを前記溶液に加えた。前記溶液を室温で 6 時間撹拌した。前記溶媒を減圧下で除去した。その残渣を 20 ml のイソプロピルアルコール (IPA) に加えた。その生成物をろ過により回収し、減圧下で乾燥させた。収率：0.48 g (96%)。NMR (DMSO)：3.5 (br m, H in PEG), 3.24, (s, 6H), 2.81 (s, 4H), 4.15 (s, 2H), 4.07 (t, 2H), 4.48 (t, 2H)。

【実施例 6】

【0083】

アミノ基反応性 Y 型分鎖 PEG 誘導体 (6) の合成

図 4 に、その合成を示す。分子量 5000 の mPEG - グリシン (3) または mPEG - アラニン (4) (実施例 3 または 4 で得られたもの) 1 g を、20 ml のジクロロメタ

10

20

30

40

50

ンに溶解した。分子量 5000 ダルトンの m P E G N H S カルボン酸 (mPEGO-CO-NHS) 1 g とトリエチルアミン 0.1 ml とを前記溶液に加えた。その溶液を 1 晩撹拌した。前記溶媒を減圧下で除去し、その残渣をエチルエーテルに加えた。その沈殿物をろ過により回収し、減圧下で乾燥させた。その生成物 (Y 型分鎖 P E G 酸) をさらにイオン交換クロマトグラフィーにより精製した。収率: 0.98 g (50%)。

【0084】

0.5 g の Y 型分鎖 m P E G 酸を、10 ml のジクロロメタンに溶解した。7 mg の N - ヒドロキシルスクシイミド (NHS) と 13 mg のジクロヘキシルカルボジイミドとをその溶液に加えた。その溶液を室温で 6 時間撹拌した。前記溶媒を減圧下で除去した。その残渣を 20 ml のイソプロピルアルコールに加えた。その沈殿物をろ過により回収し、減圧下で乾燥させた。収率: 0.48 g (96%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, H in PEG), 3.24 (s, 6H), 2.81 (s, 4H), 4.15 (s, 2H), 4.07 (t, 2H)。

10

【実施例 7】

【0085】

チオール基反応性 Y 型分鎖 P E G 誘導体 (7) の合成

図 2 に、その合成を示す。分子量 10000 の Y 型分鎖 P E G (MeO-PEG)₂-NCH₂CH₂OH (実施例 2 で得られたもの) 1 g を、トルエンに溶解し、窒素ガス保護下で 2 時間、共沸蒸留し、ついで室温に冷却した。3 ml の乾燥ジクロロメタンと 0.08 ml の乾燥トリエチルアミンとをその溶液に加えた。その混合物を氷水浴で冷却し、乾燥メタンスルホンクロライドを滴下した。その混合物を室温、乾燥窒素ガス下で一晩撹拌した。その反応物に、3 ml の無水エタノールを添加することにより急冷した。前記溶媒をロータリーエバポレーションにより除去し、その沈殿物をろ過により除去し、ついで、150 ml のエチルエーテルを加えた。その沈殿物をろ過により回収し、真空中で乾燥させた。収率: 0.8 g (80%)。

20

【0086】

分子量 10000 の Y 型分鎖 P E G メシラート (MeO-PEG)₂-N-CH₂CH₂OMs 1 g を、5% 塩化アンモニウムを含むアンモニウム水溶液 30 ml に溶解した。その溶液を 72 時間、室温で撹拌した。その溶液をジクロロエタンで 3 回抽出した。その有機相を合わせたものを無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。前記溶媒を減圧下で除去した。その残渣を 50 ml のイソプロピルアルコールに加えた。その沈殿物を回収し、減圧下で乾燥させた。収率: 0.7 g (70%)。

30

【0087】

0.5 g の Y 型分鎖 P E G アミン ((MeO-PEG)₂-N-CH₂CH₂NH₂) を、アセトニトリルに溶解した。20 mg の NHS - 3 - マレイミドプロピオン酸をその溶液に加えた。その溶液を室温で、一晩撹拌した。前記溶媒を減圧下で除去した。その残渣を 30 ml のイソプロピルアルコールに加えた。その沈殿物を回収し、減圧下で乾燥させた。収率: 0.42 g (84%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, H in PEG), 3.24 (s, 6H), 3.05 (t, 2H), 2.56 (t, 2H), 6.71 (s, 2H in マレイミド)。

【実施例 8】

【0088】

Y 型分鎖 P E G - N H S 誘導体と - インターフェロンとの結合生成物 (8)

図 7 に、その合成を示す。75 mg の Y 型分鎖ポリエチレングリコールスクシイミジルエステル (実施例 2、5 または 6 から得られたもの) を、インターフェロン濃度 5 mg / ml の緩衝化した - インターフェロン溶液 (pH 7.4) 5 ml に溶解した。反応溶液中の P E G と - インターフェロンとの割合は、3:1 であった。その溶液を 4 で 1 時間、ついで室温で 5 時間静かに混ぜ合わせた。その溶液を最終インターフェロン濃度 0.5 mg / ml となるように希釈し、ゲルカラムの H P L C で精製した。- インターフェロンの一置換 Y 型分鎖 P E G 結合生成物を回収した。S D S - P A G E は、前記生成物に、遊離 - インターフェロンを含まないことを示した。

40

【0089】

50

S D S - P A G E 分析：反応混合物と精製した P E G - I F N とを、ドデシル（ラウリル）硫酸ナトリウム / ポリアクリルアミド（8 ~ 16 %）ゲル電気泳動にかけ、クーマシーブルー色素（Coomassie blue dye）を用いてタンパク質を着色した。前記 P E G 2 - I F N 結合生成物の一部の P E G を、チトリソール（Titrisol）ヨウ素溶液（EM Science, Gibbstown, New Jersey）を用いて別に着色した。前記 S D S - P A G E ゲルを、蒸留水ですすぎ、5 % 塩化バリウム溶液に浸した。10 分後、前記ゲルを蒸留水で洗浄し、0 . 1 N チトリソール（Titrisol）ヨウ素溶液にさらに 10 分間浸した。チトリソールを蒸留水で洗浄した。Y - P E G - I F N 試料を含む P E G を着色した（オレンジブラウンのバンド）S D S - P A G E ゲルは、加熱封入したカパック / スコッチパック（Kapak/Scotch pak）バッグの中に蒸留水を入れて保存した。

10

【実施例 9】

【0090】

Y 型分鎖 P E G - N H S と - インターフェロンとの結合生成物

Y 型分鎖ポリエチレングリコールスクシニミジルエステル（実施例 5 または 6）を、インターフェロン濃度 1 m g / m l の緩衝化した - インターフェロン溶液（p H 7 . 4）5 m l に溶解した。反応液において、P E G と - インターフェロンとの割合は、3 : 1 であった。その溶液を、7 時間静かに混ぜ合わせた。その溶液を、ゲルカラムの H P L C により精製した。- インターフェロンの一置換 Y 型分鎖 P E G 結合生成物を回収した。S D S - P A G E と C E は、生成物に遊離 インターフェロンが含まないことを示した。

20

【実施例 10】

【0091】

Y 型分鎖 P E G 誘導体とバクリタキセルとの結合生成物（10）

図 5 に、その合成を示す。1 g の Y 型分鎖 P E G カルボン酸（実施例 5 または 6 から得られたもの）を、10 m l のジクロロメタンに溶解した。90 m g のバクリタキセル、8 m g のジメチルアミノピリジンおよび 25 m g のジシクロヘキシルカルボジイミドをその溶液に加えた。その溶液を室温で 6 時間攪拌した。前記溶媒を減圧下で除去した。その残渣を、20 m l のイソプロピルアルコールに加えた。その沈殿物をろ過により回収し、エーテルで洗浄し、減圧下で乾燥させた。収率：0 . 8 g（80 %）、M p：55 ~ 57

。

【実施例 11】

30

【0092】

Y 型分鎖 P E G 誘導体とカンプトテシンとの結合生成物（11）

図 6 に、その合成を示す。1 g の Y 型分鎖 P E G カルボン酸（実施例 5 または 6）を、10 m l のジクロロメタンに溶解した。120 m g のグリシン - カンプトテシン、50 m g のジメチルアミノピリジンおよび 95 m g のジシクロヘキシルカルボジイミドをその溶液に加えた。その溶液を室温で 6 時間攪拌した。前記溶媒を減圧下で除去した。その残渣を、20 m l の 1 , 4 - ジオクサンに溶解した。その沈殿物をろ過により除去した。その溶液を濃縮し、その残渣を 20 m l のエチルエーテルに加えた。その沈殿物をろ過により回収し、エチルエーテルで洗浄して、減圧下で乾燥させた。収率：0 . 8 g（80 %）、M p：56 ~ 58

40

【実施例 12】

【0093】

Y 型分鎖 P E G 誘導体とシノブファギンとの結合生成物（12）

図 5 に、その合成を示す。1 g の Y 型分鎖 P E G カルボン酸（実施例 5 または 6）を 10 m l のジクロロメタンに溶解した。60 m g のシノブファギン、12 m g の 1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール、16 m g のジメチルアミノピリジンおよび 40 m g のジシクロヘキシルカルボジイミドを、前記溶液に加えた。その溶液を室温で 6 時間攪拌した。前記溶媒を減圧下で除去した。その残渣を 20 m l のイソプロピルアルコールに加えた。その沈殿物をろ過により回収し、エーテルで洗浄し、減圧下で乾燥させた。収率：0 . 75 g（75 %）、M p：57 ~ 59

50

【実施例 13】

【0094】

Y型分鎖PEG誘導体とスコボレチンとの結合生成物(13)

図5に、その合成を示す。1gのY型分鎖PEGカルボン酸(実施例5または6)を、20mlのジクロロメタンに溶解した。30mgのシノブファギン、20mgの1-ヒドロキシベンゾトリアゾール、20mgのジメチルアミノピリジンおよび38mgのジクロロヘキシル-カルボジイミドを前記溶液に加えた。その溶液を窒素ガス保護下、室温で12時間撹拌した。前記溶媒を減圧下で濃縮した。その残渣に20mlの1,4-ジオキサンを加えた。その沈殿物をろ過により回収し、エーテルで洗浄し、空気排出装置で乾燥させた。前記溶媒を減圧下で除去した。残った残渣に、100mlのイソプロピルアルコールを加えた。その沈殿物をろ過により回収し、エーテルで洗浄し、空気排出装置で乾燥させた。その沈殿物を合わせて、減圧下で乾燥させた。収率：0.92g(92%)、Mp：56-58。

10

【実施例 14】

【0095】

Y型分鎖PEG誘導体とグリシレチン酸との結合生成物(14)

図6に、その合成を示す。1gのY型分鎖PEGカルボン酸(実施例5または6)を、10mlのジクロロメタンに溶解した。0.2mlの塩化チオニルを、その溶液に加えた。その溶液を2時間撹拌した。前記溶媒および低沸点を有する不純物を減圧下で除去した。70mgのグリシレチン酸を含むジクロロメタン溶液10mlを加え、混合して溶解させた。ついで、60mgの4-ジメチルアミノピリジンを加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、12時間室温で撹拌した。前記溶媒を減圧下で濃縮した。その残渣を20mlのイソプロピルアルコールに加えた。その沈殿物をろ過により回収し、エチルエーテルで洗浄し、空気排出装置で乾燥させ、さらに減圧下で乾燥させた。収率：0.6g(60%)。Mp：58-60。

20

【実施例 15】

【0096】

この実施例では、典型的な非経口組成物の調製プロセスについて説明する。この生成物は、本発明の結合生成物を含む。

【0097】

30

成分

実施例8で調製した結合生成物	2mg
0.9%食塩水	100ml

実施例8で調製した結合生成物を、0.9%食塩水に溶解し、100mlの静脈注射用溶液を得た。これを0.2μm膜で濾過し、無菌包装した。注射用粉末は、凍結乾燥により得た。

【図面の簡単な説明】

【0098】

【図1】図1は、Y型分鎖ポリエチレングリコール誘導体(1)の合成を示すスキームである。

40

【図2】図2は、Y型分鎖ポリエチレングリコール誘導体(2)および(7)の合成を示すスキームである。

【図3】図3は、Y型分鎖ポリエチレングリコール誘導体(5)の合成を示すスキームである。

【図4】図4は、Y型分鎖ポリエチレングリコール誘導体(6)の合成を示すスキームである。

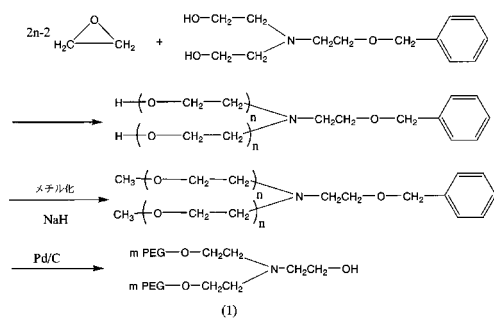
【図5】図5は、Y型分鎖ポリエチレングリコール誘導体(1)の結合生成物のおよび薬剤(エステル結合を介した)の合成を示すスキームである。

【図6】図6は、Y型分鎖ポリエチレングリコール誘導体と薬剤との(その他の結合を介した)結合生成物の合成を示すスキームである。

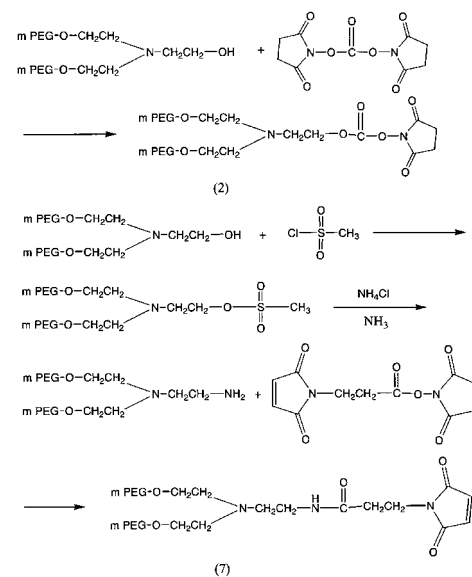
50

【図 7】図 7 は、Y 型分鎖ポリエチレングリコール誘導体とタンパク質との結合生成物の合成を示すスキームである。

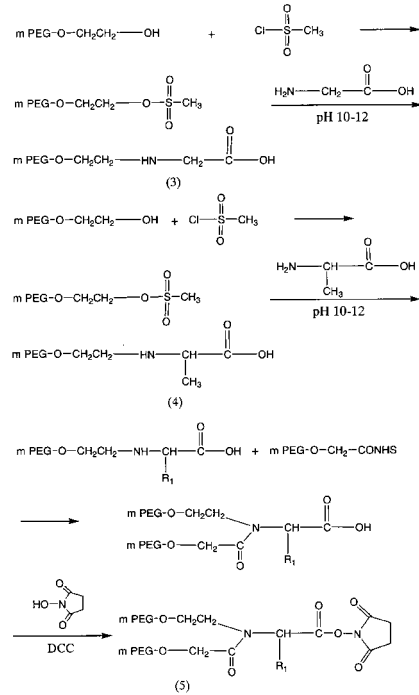
【図 1】



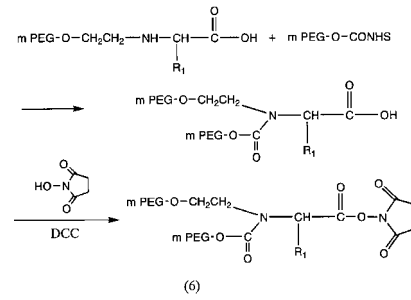
【図 2】



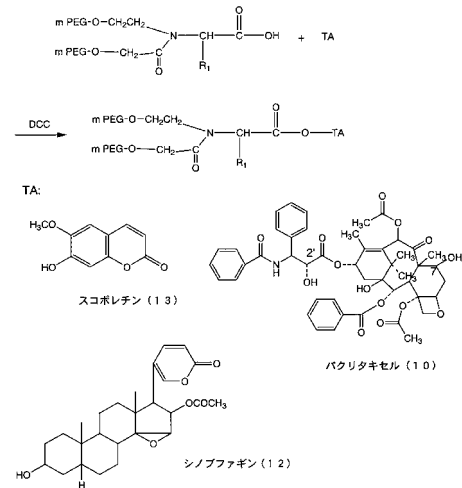
【図 3】



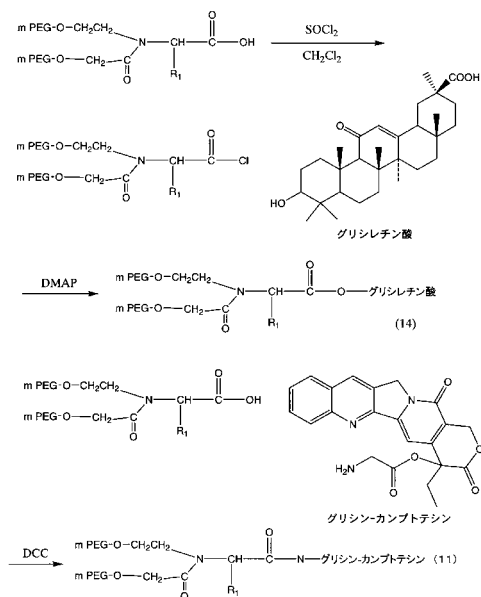
【図 4】



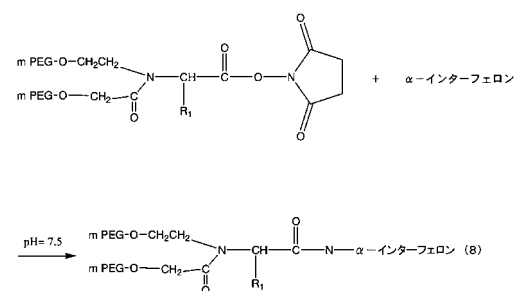
【図 5】



【図 6】



【図 7】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 31/337 (2006.01)		A 6 1 K 31/337	
A 6 1 K 31/37 (2006.01)		A 6 1 K 31/37	
A 6 1 K 31/4745 (2006.01)		A 6 1 K 31/4745	
A 6 1 K 31/56 (2006.01)		A 6 1 K 31/56	
A 6 1 K 38/21 (2006.01)		A 6 1 K 37/66	Z

審査官 松岡 弘子

- (56)参考文献 特表2001-519784(JP,A)
 国際公開第01/048052(WO,A1)
 特表2001-511461(JP,A)
 特開2000-191700(JP,A)
 特開平03-095200(JP,A)
 特表2002-505574(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C08G 65/28
 A61K 31/20
 A61K 31/337
 A61K 31/37
 A61K 31/4745
 A61K 31/56
 A61K 38/21
 A61K 47/48
 A61P 35/00
 C08G 65/329
 CA(STN)
 REGISTRY(STN)