



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201726131 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：106100175

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 01 月 04 日

(51)Int. Cl. : A61K31/436 (2006.01)

A61K47/48 (2006.01)

A61P37/06 (2006.01)

(30)優先權：2016/01/08 日本

特願 2016-002678

(71)申請人：日本化藥股份有限公司 (日本) NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA (JP)
日本

(72)發明人：米木菜緒 YONEKI, NAO (JP)；関口聡裕 SEKIGUCHI, AKIHIRO (JP)；水沼佳奈 MIZUNUMA, KANA (JP)；小林祐喜 KOBAYASHI, YUKI (JP)；今野純平 KONNO, JUNPEI (JP)；雜賀寛 SAIGA, KAN (JP)；山本啓一朗 YAMAMOTO, KEIICHIROU (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：14 項 圖式數：9 共 60 頁

(54)名稱

巨環內酯系免疫抑制劑之高分子衍生物

(57)摘要

本發明之課題在於獲得一種製劑，其與他克莫司相比有效性與安全性提高，血中濃度維持固定而無個體差異，藉此不需要根據血中動態(血中谷濃度)而控制投予量。本發明係關於一種他克莫司之高分子衍生物，其係於聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基上鍵結有聚乙二醇鏈段及他克莫司之醇性羥基者。



201726131

申請日: 106/01/04

【發明摘要】

IPC分類: **A61K 31/436** (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

【中文發明名稱】

巨環內酯系免疫抑制劑之高分子衍生物

【中文】

本發明之課題在於獲得一種製劑，其與他克莫司相比有效性與安全性提高，血中濃度維持固定而無個體差異，藉此不需要根據血中動態(血中谷濃度)而控制投予量。

本發明係關於一種他克莫司之高分子衍生物，其係於聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基上鍵結有聚乙二醇鏈段及他克莫司之醇性羥基者。

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

巨環內酯系免疫抑制劑之高分子衍生物

【技術領域】

本發明係關於一種巨環內酯系化合物之高分子衍生物、其製造方法及其用途。

【先前技術】

本發明中所使用之巨環內酯系化合物具有如下之共通之活性：具有對FKBP型免疫親和蛋白之親和性，且抑制肽基脯胺醯異構酶及/或旋轉異構酶活性。作為巨環內酯系化合物之例，有包括雷帕黴素、他克莫司(FK506)、子囊黴素等在內之三環化合物。

例如專利文獻1等中記載有，巨環內酯系化合物或作為醫藥而容許之其鹽具有優異之免疫抑制作用、抗菌活性、及其他藥理活性，因此對於針對器官或組織之移植之排斥反應、移植物抗宿主反應、自體免疫疾病、及感染症等之治療及預防有用。

他克莫司廣泛地用於器官移植後之排斥反應之抑制、骨髓移植後之移植物抗宿主病、難治性活動期潰瘍性大腸炎等之治療。然而，他克莫司難溶於水(2.4~3.6 μM ，室溫)，經口投予時之生體可用率較低。又，由於他克莫司之治療範圍狹小，體內動態之個體間、個體內變化較大，故而係難以控制血中濃度之藥物。作為他克莫司之體內動態變化因素，已知有於水中之較低之溶解度、消化道黏膜中之P-糖蛋白質或藥物代謝酶CYP3A之表現量及基因型之個體差異等(非專利文獻1、2)。

他克莫司之主要副作用之一為腎毒性及胰臟毒性。腎毒性之原因在

於，因腎小動脈之血管收縮作用，引起血流量及絲球體過濾量降低，進而導致對腎小管細胞之營養補給停滯。胰臟毒性係主要因基於抑制胰 β 細胞之胰島素mRNA轉錄而抑制自胰臟 β 細胞產生胰島素之情況所引起之糖耐量減低發病。該等毒性依賴於他克莫司之血漿中濃度而呈現。

作為他克莫司之中樞神經系統之副作用，對於人類報告有可逆性後腦白質腦病綜合征、高血壓腦病等(包括上市後監測未達0.1~0.5%)。又，對大鼠靜脈內投予他克莫司，會誘發輕度之呼吸急促、自發活動降低、俯臥位、刻板舉動等。(非專利文獻3)

藉由聚合物與藥劑結合，藥劑之水溶性提高，活體內之藥物動態得到改善，作為其結果已知獲得藥效增強、副作用減輕、藥效之持續性等實用上優異之效果。聚合物與藥劑之結合方式有聚合物與藥劑進行共價鍵結之情形及聚合物與藥劑進行物理吸附之情形。與聚合物進行共價鍵結之藥劑於體內係藉由水解反應等而自聚合物釋出。另一方面，物理吸附於聚合物上之藥劑不依賴水解反應之類的化學反應，於體內自聚合物緩慢地釋出。任一方式中，自聚合物釋出藥劑均與酶無關，但認為聚合物與藥劑之結合方式不同會使藥劑之釋出機制產生不同。

專利文獻2及專利文獻3中記載有由包含聚乙二醇類及聚天冬胺酸之共聚物與藥劑所獲得之高分子衍生物。關於專利文獻2及專利文獻3中所記載之該高分子衍生物，其共聚物與藥劑係物理吸附。該高分子衍生物之緩釋性係因藥劑自共聚物藥劑緩慢地解離而產生，選擇性地對患部顯示出藥效，並且副作用較少。

專利文獻4中揭示有獲得使他克莫司物理吸附於包含經烷基取代之聚乳酸(alkyl substituted polylactide, MPEG-hexPLA)之聚合物上之化合物

的方法。然而，對於血中濃度或他克莫司特異性地轉移至患部之情況並無記載。

非專利文獻4中報告有使他克莫司化學鍵結於PEG聚合物上而合成之PEG化他克莫司。然而，PEG化他克莫司對佐劑關節炎小鼠及狼瘡性腎炎小鼠等炎症性疾病模型動物未獲得他克莫司以上之效果。

非專利文獻5中報告有使他克莫司物理吸附於聚(乙二醇)酯-聚己內酯(Poly (ethylene glycol) esters-Poly caprolactone, PEG-PCL)聚合物上而合成之微膠束。明確PEG-PCL他克莫司微膠束對於DSS誘導潰瘍性大腸炎小鼠，與他克莫司相比，體重降低之抑制、大腸縮短化之抑制及大腸出血或隱窩細胞消失等炎症之改善效果更好。然而，為了使PEG-PCL他克莫司微膠束顯示出炎症改善效果，而1天1次連續投予12天，因此認為該化合物無法長期維持血中濃度。

非專利文獻6及7中報告有使他克莫司物理吸附於包含聚己內酯-聚環氧乙烷嵌段共聚物(Poly caprolactone-b-poly(ethylene oxide), PCL-b-PEO)之聚合物上而合成之微膠束。記載有PCL-b-PEO他克莫司微膠束與他克莫司相比，被細胞攝取更緩慢。又，PCL-b-PEO他克莫司微膠束藉由每隔6天以5 mg/kg尾靜脈內投予3次，而顯示出改善坐骨神經損傷模型大鼠之自發活動性。然而，自PCL-b-PEO他克莫司微膠束游離出之他克莫司會大量地聚集於腦中，因此認為PCL-b-PEO他克莫司微膠束相較於作為免疫抑制劑之功能，更特化了作為神經保護劑之功能。

非專利文獻8中報告有使他克莫司物理吸附於包含聚乳酸-聚乙醇酸共聚物(poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA)或pH值敏感性Eudragit P-4135F之聚合物上而合成之奈米粒子。該奈米粒子對膠原蛋白誘導關節炎

及DSS誘導大腸炎小鼠顯示出高於他克莫司之炎症改善效果。然而，為了使該奈米粒子顯示出炎症改善效果，而以1天1次連續投予12天，因此認為該化合物無法長期維持血中濃度。進而，對於作為腎損傷之指標之BUN(blood urea nitrogen，血尿氮)、血清肌酸酐、肌酸酐廓清率之改善作用亦不充分。

迄今為止，顯示出對患部之較高之聚集性，與他克莫司相比有效性與安全性顯著提高，血中濃度維持固定而無個體差異，藉此不需要根據血中動態(血中谷濃度)而控制投予量之藥劑尚不存在，業界正謀求如此之藥劑之開發。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

[專利文獻1]國際公開93/005059號

[專利文獻2]國際公開2003/000771號

[專利文獻3]國際公開2004/082718號

[專利文獻4]國際公開2013/157664號

[非專利文獻]

[非專利文獻1]Transplantation 1999、67、p.333-335

[非專利文獻2]Pharm. Res. 1998、15、p.1609-1613

[非專利文獻3]藤澤藥品工業股份有限公司(現Astellas製藥股份有限公司)他克莫司膠囊(0.5 mg、1 mg、5 mg)他克莫司注射液(5 mg)相關資料第53頁2001年6月部會審議、批准申請資料概要

[非專利文獻4]Arch. Pharm. Res. 2011、34、1301-1310

[非專利文獻5]J. Biomed. Nanotechnol. 2013、9、p.147-157

[非專利文獻6]Drug. Deliv. 2000、7、p.139-145

[非專利文獻7]Biochim. Biophys. Acta. 1999、1421、p.32-38

[非專利文獻8]Int. J. Pharm. 2006、316、p.138-143

【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

本發明之目的在於提供一種藉由使藥劑聚集於炎症部位而以低投予量具有更高之效果，又，藉由維持於目標血中濃度而實現較長之投予間隔及減輕毒性之新型免疫抑制劑或抗炎症劑。

[解決問題之技術手段]

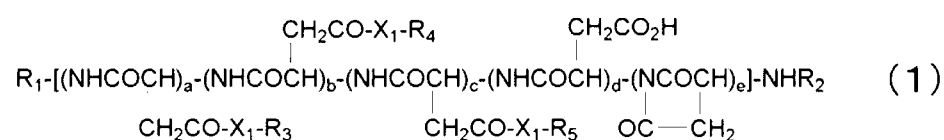
本發明者發現，於聚胺基酸衍生物之側鏈之羧基上鍵結有乙二醇鏈段及他克莫司之醇性羥基的他克莫司之高分子衍生物可解決本發明之課題。

本發明係關於以下之[1]至[14]。

[1]一種他克莫司之高分子衍生物，其係於聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基上鍵結有聚乙二醇鏈段及他克莫司之醇性羥基者。

[2]如上述[1]所記載之他克莫司之高分子衍生物，其以下述通式(1)表示，

[化1]

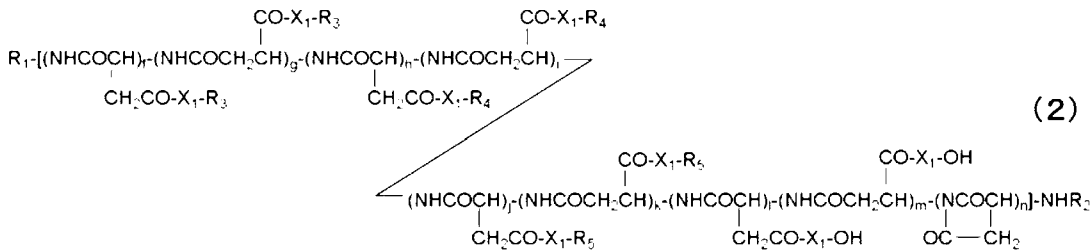


[式中，R₁為選自由氫原子、碳數(C1～C8)之烷基及聚乙二醇鏈段所組成之群中之基，R₂為選自由氫原子、碳數(C1～C8)之醯基及碳數(C1～

C8)之烷氧羰基所組成之群中之基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基， R_4 為聚乙二醇鏈段， R_5 為 $-N(R_6)CONH(R_7)$ (R_6 、 R_7 可相同亦可不同，為碳數(C3~C6)之環狀烷基或可經三級胺基取代之碳數(C1~C5)之烷基)， X_1 為鍵或鍵結基， a 及 b 分別為1~299之整數， c 、 d 及 e 分別為0或298以下之整數，且 $a+b+c+d+e$ 為2~300之整數，聚天冬胺酸衍生物之各重複單元之排列順序任意]。

[3]如上述[1]所記載之他克莫司之高分子衍生物，其以下述通式(2)表示，

[化2]



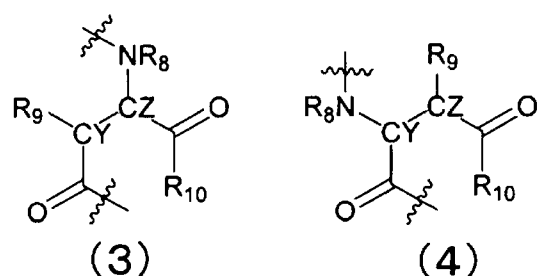
[式中， R_1 為選自由氫原子、碳數(C1~C8)之烷基及聚乙二醇鏈段所組成之群中之基， R_2 為選自由氫原子、碳數(C1~C8)之醯基及碳數(C1~C8)之烷氧羰基所組成之群中之基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基， R_4 為聚乙二醇鏈段， R_5 為-N(R_6)CONH(R_7)(R_6 、 R_7 可相同亦可不同，為碳數(C3~C6)之環狀烷基或可經三級胺基取代之碳數(C1~C5)之烷基)， X_1 為鍵或鍵結基，f、g、h及i分別為0或299以下之整數，f+g及h+i分別為1~299之整數，j、k、l、m及n分別為0或298以下之整數，且f+g+h+i+j+k+l+m+n為2~300之整數，聚天冬胺酸衍生物之各重複單元之排列順序任意]。

[4]如上述[2]或[3]所記載之他克莫司之高分子衍生物，其中 X_1 為鍵。

[5]如上述[2]或[3]所記載之他克莫司之高分子衍生物，其中 X_1 為天冬胺酸衍生物。

[6]如上述[2]或[3]所記載之他克莫司之高分子衍生物，其中 X_1 為下述通式(3)或通式(4)，

[化3]

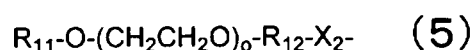


[式中， R_8 、 R_9 分別獨立為氫原子或碳數(C1～C8)之烷基， R_{10} 為選自由胺基、可具有取代基之碳數(C1～C20)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基胺基、可具有取代基之碳數(C7～C20)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之芳烷基胺基、可具有取代基之碳數(C5～C20)之芳香族胺基及羧基經保護之胺基酸鍵結殘基所組成之群中之1種以上之基，且CY-CZ為CH-CH或C=C(雙鍵)]。

[7]如上述[6]所記載之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_8 、 R_9 均為氫原子，及CY-CZ為CH-CH。

[8]如上述[2]至[7]中任一項所記載之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_4 之聚乙二醇鏈段為下述通式(5)，

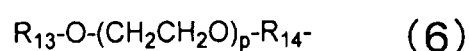
[化4]



[式中， R_{11} 為氫原子或可具有取代基之碳數(C1～C6)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基， R_{12} 為碳數(C2～C6)之伸烷基， X_2 為能夠與上述聚天冬胺酸衍生物之側鏈之羧基鍵結之官能基，及 o 為5～11500之整數]。

[9]如上述[2]至[8]中任一項所記載之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_1 為碳數(C1～C6)之烷基或下述通式(6)所表示之聚乙二醇鏈段，

[化5]



[式中， R_{13} 為氫原子或可具有取代基之碳數(C1～C6)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基， R_{14} 為碳數(C2～C6)之伸烷基，及 p 為5～11500之整數]。

[10]如上述[8]或[9]所記載之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_2 為碳數(C1～C6)之醯基， o 為10～3000之整數，及 $(a+b+c+d+e)$ 或 $(f+g+h+i+j+k+l+m+n)$ 為4～250之整數。

[11]如上述[8]或[9]所記載之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_2 為碳數(C1～C3)之醯基， o 為20～1500之整數，及 $(a+b+c+d+e)$ 或 $(f+g+h+i+j+k+l+m+n)$ 為8～200之整數。

[12]如上述[2]至[11]中任一項所記載之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_1 為甲基，及 R_2 為乙醯基。

[13]一種如上述[1]至[12]中任一項所記載之他克莫司之高分子衍生

物之製造方法，其特徵在於：於有機溶劑中，使用脫水縮合劑，使他克莫司之醇性羥基及聚乙二醇鏈段與聚天冬胺酸衍生物之側鏈之羧基進行酯鍵結、醯胺鍵結及/或硫酯鍵結。

[14]一種巨環內酯系免疫抑制劑，其係以如上述[1]至[12]中任一項所記載之他克莫司之高分子衍生物作為有效成分。

[發明之效果]

本發明之他克莫司之高分子衍生物之特徵在於：於聚天冬胺酸衍生物之側鏈之羧基上，直接或經由鍵結基而鍵結有聚乙二醇鏈段及他克莫司之醇性羥基。該高分子衍生物於活體內穩定，可不依賴酶而緩釋他克莫司，顯示出優異之血中滯留性，因此於低投予量下治療效果優異。又，能夠不依賴酶而釋出生理活性物質及維持血中濃度，藉此變得無需根據血中動態(血中谷濃度)而控制投予量，從而期待安全性顯著提高。

【圖式簡單說明】

圖1係表示於試驗例1中實施例1及比較例1之釋出之他克莫司量相對於他克莫司總量之比率。

圖2係表示於試驗例1中實施例1、2、5、6及8之釋出之他克莫司量相對於他克莫司總量之比率。

圖3係表示於試驗例1中實施例3、4、7及9之釋出之他克莫司量相對於他克莫司總量之比率。

圖4係表示於試驗例2中實施例1、2、8、比較例1及他克莫司之大鼠血中濃度推移。

圖5係表示於試驗例3中實施例3、7及9之大鼠血中濃度推移。

圖6係表示於試驗例4中比較例1之對大鼠膠原蛋白關節炎之抗炎症效

果。

圖7係表示於試驗例4中實施例1之對大鼠膠原蛋白關節炎之抗炎症效果。

圖8係表示於試驗例4中實施例2及8之對大鼠膠原蛋白關節炎之抗炎症效果。

圖9係表示於試驗例4中實施例3、7及9之對大鼠膠原蛋白關節炎之抗炎症效果。

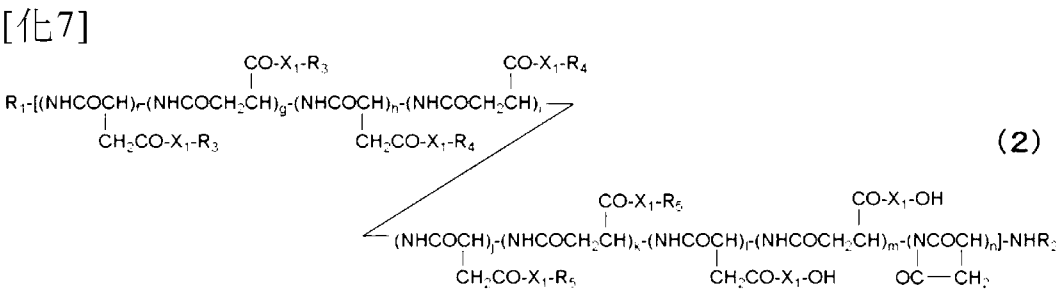
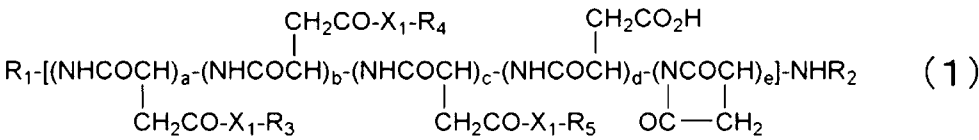
【實施方式】

本發明之他克莫司之高分子衍生物之特徵在於：於聚天冬胺酸衍生物之側鏈之羧基上，直接或經由鍵結基而鍵結有聚乙二醇鏈段及他克莫司之醇性羥基。以下，進行詳細說明。

本發明之他克莫司之高分子衍生物係以複數個單元之聚天冬胺酸衍生物作為聚合物主鏈結構之高分子化合物。即，係如下之高分子化衍生物，其以具有複數個側鏈羧基之聚天冬胺酸衍生物作為高分子載體之主鏈結構，該側鏈羧基利用聚乙二醇鏈段及巨環內酯系免疫抑制劑而於化學上被官能化。

於本發明之他克莫司之高分子衍生物中所使用之具有側鏈羧基之聚天冬胺酸衍生物可為 α -醯胺鍵結型聚合物，亦可為與側鏈羧基之醯胺鍵結型聚合物，亦可為 β -醯胺鍵結型聚合物，亦可為其混合物，較佳為 α -醯胺鍵結型聚合物、 α -醯胺鍵結型聚合物及 β -醯胺鍵結型聚合物之混合物。本發明之他克莫司之高分子衍生物具有下述通式(1)或通式(2)所表示之結構。

[化6]



上述通式(1)及(2)中，R₁為選自由氫原子、碳數(C1～C8)之烷基及聚乙二醇鏈段所組成之群中之基，R₂為選自由氫原子、碳數(C1～C8)之鹼基及碳數(C1～C8)之烷氧羰基所組成之群中之基，R₃為他克莫司之醇性羥基之殘基，R₄為聚乙二醇鏈段，R₅為-N(R₆)CONH(R₇)(R₆、R₇可相同亦可不同，為碳數(C3～C6)之環狀烷基或可經三級胺基取代之碳數(C1～C5)之烷基)，X₁為鍵或鍵結基。

上述通式(1)中，a、b、c、d、及e均為平均值。a及b分別為1～299之整數。且c、d及e分別為0或298以下之整數，a+b+c+d+e為2～300之整數。

上述通式(2)中，f、g、h、i、j、k、l、m及n均為平均值。f、g、h及i分別為0或299以下之整數。且f+g及h+i分別為1～299之整數，且j、k、l、m及n分別為0或298以下之整數，f+g+h+i+j+k+l+m+n為2～300之整數。

再者，各重複單元之排列順序並無特別限定，可隨機配置，不限於通式(1)及通式(2)所記載者。

關於上述聚天冬胺酸衍生物之末端基，N末端基(通式(1)及通式(2)之 R_2)及C末端基(通式(1)及通式(2)之 R_1)均無特別限定，可為無保護之游離胺基及游離羧酸以及該等之鹽，亦可為N末端基及C末端基之適當之修飾體。

作為該聚天冬胺酸衍生物之N末端基之修飾體，可列舉：醯胺型修飾體、烷氧基羰基醯胺型修飾體(胺基甲酸酯型修飾體)、烷基胺基羰基醯胺型修飾體(脲型修飾體)等。作為通式(1)及通式(2)中之N末端基的 R_2 之修飾體為醯胺型修飾體、烷氧基羰基醯胺型修飾體(胺基甲酸酯型修飾體)。

另一方面，作為該聚天冬胺酸衍生物之C末端基之修飾體，可列舉：酯型修飾體、醯胺型修飾體、硫酸酯型修飾體。作為通式(1)及通式(2)中之C末端基的 R_1 之修飾體為醯胺型修飾體。

該聚天冬胺酸衍生物之N末端基及C末端基之修飾基可為任意之修飾基。較佳可列舉：經由N末端基及C末端基所鍵結之適當之鍵結基而鍵結之可具有取代基之碳數($C1 \sim C6$)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基、可具有取代基之碳數($C6 \sim C18$)之芳香族基、可具有取代基之碳數($C7 \sim C20$)之芳烷基等之末端修飾基。或者，亦可為可賦予水溶性之聚乙二醇鏈段，可列舉經由N末端基及C末端基所鍵結之適當之鍵結基而鍵結之末端修飾基。

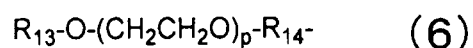
即，N末端基較佳為適當之醯胺型修飾體或烷氧基羰基醯胺型修飾體(胺基甲酸酯型修飾體)，較佳為經由羰基或羰基氧基而鍵結之上述可具有取代基之碳數($C1 \sim C8$)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基、可具有取代基之碳數($C6 \sim C18$)之芳香族基、可具有取代基之碳數($C7 \sim C20$)之芳烷基。

另一方面，作為C末端基，較佳為適當之醯胺型取代基或酯型取代基，較佳為經由醯胺基或酯基而鍵結之上述可具有取代基之碳數(C1～C8)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基、可具有取代基之碳數(C6～C18)之芳香族基、可具有取代基之碳數(C7～C20)之芳烷基或聚乙二醇鏈段。

作為上述C末端基之通式(1)及(2)之 R_1 之聚乙二醇鏈段係具有伸乙基氧基： (CH_2CH_2O) 單元之重複結構的鏈段。其係包含較佳為伸乙基氧基單元之重複數之平均值(聚合度)為5～11500個單元，更佳為聚合度為10～3000個單元，尤佳為聚合度為20～1500個單元之聚乙二醇鏈的鏈段結構。即，該聚乙二醇鏈段以相當於聚乙二醇之平均分子量計為200道耳頓～500千道耳頓。較佳為分子量為500道耳頓～150千道耳頓，進而較佳為分子量為1000道耳頓～70千道耳頓。尤佳為分子量為1000道耳頓～50千道耳頓。

作為 R_1 之聚乙二醇鏈段之結構例，可列舉下述通式(6)所表示之結構。即，較佳為伸乙基氧基單元之氧原子與碳數(C1～C8)之伸烷基進行醚鍵結而成之結構。

[化8]



通式(6)之 p 為平均值，為5～11500左右之整數，較佳為10～3000左右，尤佳為20～1500左右。

R_1 之聚乙二醇鏈段之末端基(R_{13})並無特別限定，可列舉氫原子、可具有取代基之碳數(C1～C6)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基、可具有取

代基之碳數(C2~C6)之炔基、可具有取代基之碳數(C7~C20)芳烷基等。作為該烷基、炔基、芳烷基上之取代基，可列舉：羥基、胺基、甲醯基、羧基等。

於 R_1 之聚乙二醇鏈段之末端基中，作為可具有取代基之直鏈狀烷基，例如可列舉：甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基等。作為可具有取代基之支鏈狀烷基，例如可列舉：異丙基、異丁基、第三丁基、異戊基、2-甲基丁基、新戊基、1-乙基丙基、4-甲基戊基、3-甲基戊基、2-甲基戊基、1-甲基戊基、3,3-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基等。作為可具有取代基之環狀烷基，例如可列舉：環丙基、環丁基、環戊基、環己基等。

於 R_1 之聚乙二醇鏈段之末端基中，作為直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基可具有之取代基，可列舉：硫醇基、羥基、鹵素原子、硝基、氰基、烷基硫基、碳環或雜環芳基、芳硫基、烷基亞磺醯基、芳基亞磺醯基、烷基磺醯基、胺磺醯基、烷氧基、芳氧基、醯氧基、烷氧基羰氧基、胺甲醯氧基、經取代或未經取代之胺基、醯胺基、烷氧基羰基胺基、脲基、磺醯胺基、胺磺醯胺基、甲醯基、醯基、羧基、烷氧羰基、胺甲醯基或矽烷基等。

於 R_1 之聚乙二醇鏈段之末端基中，作為可具有取代基之碳數(C2~C6)炔基，例如可列舉：2-丙炔基、3-丁炔基、4-庚炔基、5-己炔基等。

於 R_1 之聚乙二醇鏈段之末端基中，可具有取代基之碳數(C7~C20)芳烷基係任意一處之氫原子被取代為芳基之直鏈或支鏈之烷基。例如可列舉：苄基、2-苯基乙基、4-苯基丁基、3-苯基丁基、5-苯基戊基、6-苯基

己基、8-苯基辛基等。較佳為苜基、4-苯基丁基、8-苯基辛基。

R_1 之聚乙二醇鏈段中之與聚天冬胺酸主鏈鍵結之側之末端基(R_{14})只要為對該聚天冬胺酸衍生物之適當之鍵結基，則無特別限定。較佳為可具有取代基之碳數(C1~C8)之伸烷基。例如可列舉：亞甲基、伸乙基、三亞甲基、伸丁基、六亞甲基、八亞甲基等。作為通式(6)之 R_{14} ，較佳為三亞甲基。

上述通式(1)及通式(2)之 R_2 為選自由氫原子、碳數(C1~C8)之醯基及碳數(C1~C8)之烷氧羰基所組成之群中之取代基。

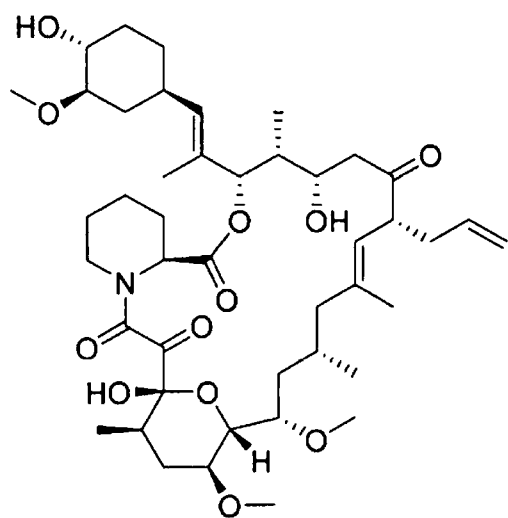
作為上述碳數(C1~C8)之醯基，係直鏈狀、支鏈狀或環狀之碳數(C1~C8)之醯基。例如可列舉：甲醯基、乙醯基、丙醯基、丁醯基、環丙甲醯基、環戊甲醯基等。

作為上述碳數(C1~C8)之烷氧羰基，係直鏈狀、支鏈狀或環狀之碳數(C1~C8)之烷氧羰基。例如可列舉：甲氧羰基、乙氧羰基、丙氧羰基、異丙氧羰基、正丁氧基羰基、第三丁氧羰基、戊氧羰基、己氧羰基、環丙氧羰基、環戊氧羰基、環己氧羰基等。

於本發明中，作為上述通式(1)及通式(2)之 R_3 的他克莫司之醇性羥基之殘基係指於聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基上直接或經由鍵結基而酯鍵結有他克莫司之醇性羥基之他克莫司。

他克莫司係以下述式(I)表示。他克莫司之醇性羥基有複數個，只要為醇性羥基則取代位置並無限定。

[化9]



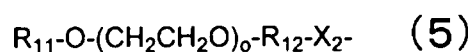
(I)

於聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基上直接或經由鍵結基而鍵結之聚乙二醇鏈段係與上述通式(1)及通式(2)之 R_1 之聚乙二醇鏈段同樣地具有伸乙基氧基單元之重複結構，其聚合度及平均分子量亦與 R_1 之聚乙二醇鏈段相同。上述通式(1)及通式(2)之 R_4 為於聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基上直接或經由鍵結基而鍵結之聚乙二醇鏈段。

於聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基上直接或經由鍵結基而鍵結之聚乙二醇鏈段相對於每一分子之聚天冬胺酸衍生物而鍵結有1~200個單元。即，該他克莫司之高分子衍生物具有複數個單元之聚乙二醇鏈段。較佳為具有1~150個單元之聚乙二醇鏈段，進而較佳為具有1~100個單元。

作為上述通式(1)及通式(2)中之 R_4 ，例如可列舉下述通式(5)所表示之結構。

[化10]



通式(5)中， R_{11} 為選自由氫原子或可具有取代基之碳數(C1~C6)之

直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基、可具有取代基之碳數(C2~C6)之炔基、可具有取代基之碳數(C7~C20)之芳烷基所組成之群中之基。 R_{12} 為碳數(C2~C6)之伸烷基。 X_2 為能夠分別與上述聚天冬胺酸衍生物之側鏈之羧基進行鍵結之官能基。 σ 為平均值，為5~11500之整數，較佳為10~3000，尤佳為20~1500。

R_{11} 並無特別限定，可列舉：氫原子、可具有取代基之碳數(C1~C6)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基、可具有取代基之碳數(C2~C6)之炔基、可具有取代基之碳數(C7~C20)之芳烷基等。作為該烷基、炔基、芳烷基中之取代基，可列舉：羥基、胺基、甲醯基、羧基等。

於 R_{11} 中，作為可具有取代基之直鏈狀烷基，例如可列舉：甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基等。作為可具有取代基之支鏈狀烷基，例如可列舉：異丙基、異丁基、第三丁基、異戊基、2-甲基丁基、新戊基、1-乙基丙基、4-甲基戊基、3-甲基戊基、2-甲基戊基、1-甲基戊基、3,3-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、2-乙基丁基等。作為可具有取代基之環狀烷基，例如可列舉：環丙基、環丁基、環戊基、環己基等。

於 R_4 之聚乙二醇鏈段之一側之末端基中，作為直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基可具有之取代基，可列舉：硫醇基、羥基、鹵素原子、硝基、氰基、烷硫基、碳環或雜環芳基、芳硫基、烷基亞磺醯基、芳基亞磺醯基、烷基磺醯基、胺磺醯基、烷氧基、芳氧基、醯氧基、烷氧基羰氧基、胺甲醯氧基、經取代或未經取代之胺基、醯胺基、烷氧基羰基胺基、脲基、磺醯胺基、胺磺醯胺基、甲醯基、醯基、羧基、烷氧羰基、胺甲醯基或矽烷基等。

於 R_4 之聚乙二醇鏈段之一側之末端基中，作為可具有取代基之碳數(C2~C6)炔基，例如可列舉：2-丙炔基、3-丁炔基、4-庚炔基、5-己炔基等。

於 R_4 之聚乙二醇鏈段之一側之末端基中，可具有取代基之碳數(C7~C20)之芳烷基係任意一處之氫原子被取代為芳基之直鏈或支鏈之烷基。例如可列舉：苄氧基、2-苯基乙基、4-苯基丁基、3-苯基丁基、5-苯基戊基、6-苯基己基、8-苯基辛基等。較佳為苄基、4-苯基丁基、8-苯基辛基。

於本發明中， R_{11} 較佳為氫原子或可具有取代基之碳數(C1~C6)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基。

R_4 之與聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基鏈結之一側之末端基(R_{12})只要為能夠分別與上述聚天冬胺酸衍生物之側鏈之羧基進行鏈結之官能基，則無特別限定。於本發明中為碳數(C2~C6)之伸烷基，例如可列舉：伸乙基、三亞甲基、伸丁基等，尤佳為三亞甲基。

通式(5)之 X_2 只要為能夠與上述聚天冬胺酸衍生物之側鏈之羧基進行鏈結之官能基，則無特別限定，於本發明中較佳為-NH-、-O-或-S-。

通式(1)及通式(2)之 R_5 可採用-N(R_6)CONH(R_7)。此處， R_6 、 R_7 可相同亦可不同，為可經碳數(C3~C6)之環狀烷基或三級胺基取代之碳數(C1~C5)之烷基。

作為碳數(C3~C6)之環狀烷基，例如可列舉環己基等。

作為可經三級胺基取代之碳數(C1~C5)之烷基，例如可列舉：乙基、異丙基、3-二甲胺基丙基等。

可經三級胺基取代之碳數(C1~C5)之烷基之三級胺基為二甲胺基、

二乙胺基等。

於本發明中，上述他克莫司之醇性羥基之殘基、聚乙二醇鏈段及通式(1)及通式(2)之 R_5 分別經由通式(1)及通式(2)之 X_1 而與聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基進行鍵結。上述通式(1)及通式(2)中之 X_1 可為將上述 R_3 、 R_4 及 R_5 與聚天冬胺酸主鏈之側鏈羧基進行鍵結之鍵結基，或者亦可僅為鍵，於 X_1 為鍵結基之情形時，只要兩末端具有能夠分別與 R_3 、 R_4 及 R_5 之鍵結性官能基、及該聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基進行鍵結之官能基，則無特別限定。

於 X_1 為鍵結基之情形時，作為 R_3 、 R_4 及 R_5 側之末端鍵結性官能基，較佳為羧基、羥基羧基、胺基羧基。由於 R_3 、 R_4 及 R_5 於分子中具有胺基、羥基及/或硫醇基，故而該等鍵結性官能基係與該胺基、羥基及/或硫醇基進行醯胺鍵結、酯鍵結、硫酯鍵結、胺基甲酸酯鍵結、碳酸酯鍵結及脲鍵結。

作為 X_1 之另一上述側鏈羧基側之末端鍵結性官能基，較佳為胺基、羥基或硫醇基。該等鍵結性官能基可與側鏈羧基進行醯胺鍵結、酯鍵結、硫酯鍵結。

即， X_1 較佳為一側之末端基為羧基、羥基羧基或胺基羧基且另一側之末端基為胺基、羥基或硫醇基的可具有取代基之碳數(C1～C8)之伸烷基或伸烯基。

作為 X_1 為鍵基之情形時之具體例，可列舉下表所記載者，但只要為不會對本發明之高分子衍生物之合成或性能產生影響者，則不限於該等。任一 X_1 均與側鏈羧基進行醯胺鍵結、酯鍵結或硫酯鍵結。

[表1]

與R ₃ 、R ₄ 及/或R ₅ 之鍵結	X ₁ (R ₃ 、R ₄ 或R ₅ 側→側鏈羧基側)
醯胺鍵結、酯鍵結或硫酯鍵結	-CO-(CH ₂) _y -NH- -CO-(CH ₂) _y -O- -CO-(CH ₂) _y -S-
脲鍵結或胺基甲酸酯鍵結	-CONH-(CH ₂) _y -NH- -CONH-(CH ₂) _y -O- -CONH-(CH ₂) _y -S-
碳酸酯鍵結或胺基甲酸酯鍵結	-COO-(CH ₂) _y -NH- -COO-(CH ₂) _y -O- -COO-(CH ₂) _y -S-
註1)表中y均表示1~8之整數。	
註2)以下，X ₁ 之表述為R ₃ 、R ₄ 或R ₅ 側→側鏈羧基側。	

對於上述X₁之伸烷基，其氫原子可被適當之取代基修飾。作為該取代基，可列舉：羥基、胺基、鹵素原子、碳數(C1~C8)之烷基、碳數(C1~C8)之烷基羰基烷氧基、碳數(C1~C8)之烷基羰基醯胺基、碳數(C1~C8)之烷基羰基烷基醯胺基、碳數(C1~C8)之烷基芳香基、碳數(C1~C8)之烷氧基、碳數(C1~C8)之烷基胺基、碳數(C1~C8)之醯胺基、碳數(C1~C8)之烷氧基羰基胺基等。

作為X₁，較佳為-CO-(CH₂)_y-NH-、-CO-(CH₂)_y-O-。尤佳為具有能夠與R₃、R₄或R₅進行醯胺鍵結、酯鍵結或硫酯鍵結之羧基，並且具有能夠與該側鏈羧基進行醯胺鍵結之胺基的-CO-(CH₂)_y-NH-。

作為X₁中之y，較佳為1至6，進而較佳為1、2、3或5。作為最佳之X₁，為-CO-(CH₂)_y-NH-(y=1、2、3或5)。

於作為X₁而列舉之可具有取代基之-CO-(CH₂)_y-NH-中，y為1之情形時與胺基酸骨架含義相同。因此，亦可使用胺基酸衍生物作為X₁。

於X₁為胺基酸衍生物之情形時，胺基酸之N末端之胺基與上述側鏈羧基進行醯胺鍵結，C末端之羧基與該R₃、R₄或R₅之胺基、羥基或硫醇基進

行醯胺鍵結、酯鍵結或硫酯鍵結。

用作 X_1 之胺基酸為天然胺基酸或非天然胺基酸均可，L體、D體均可無特別限定地使用。例如可使用甘胺酸、 β -丙胺酸、丙胺酸、白胺酸、苯丙胺酸等鹼系胺基酸、天冬胺酸、麩胺酸等酸性胺基酸、離胺酸、精胺酸、組胺酸等鹼性胺基酸等。

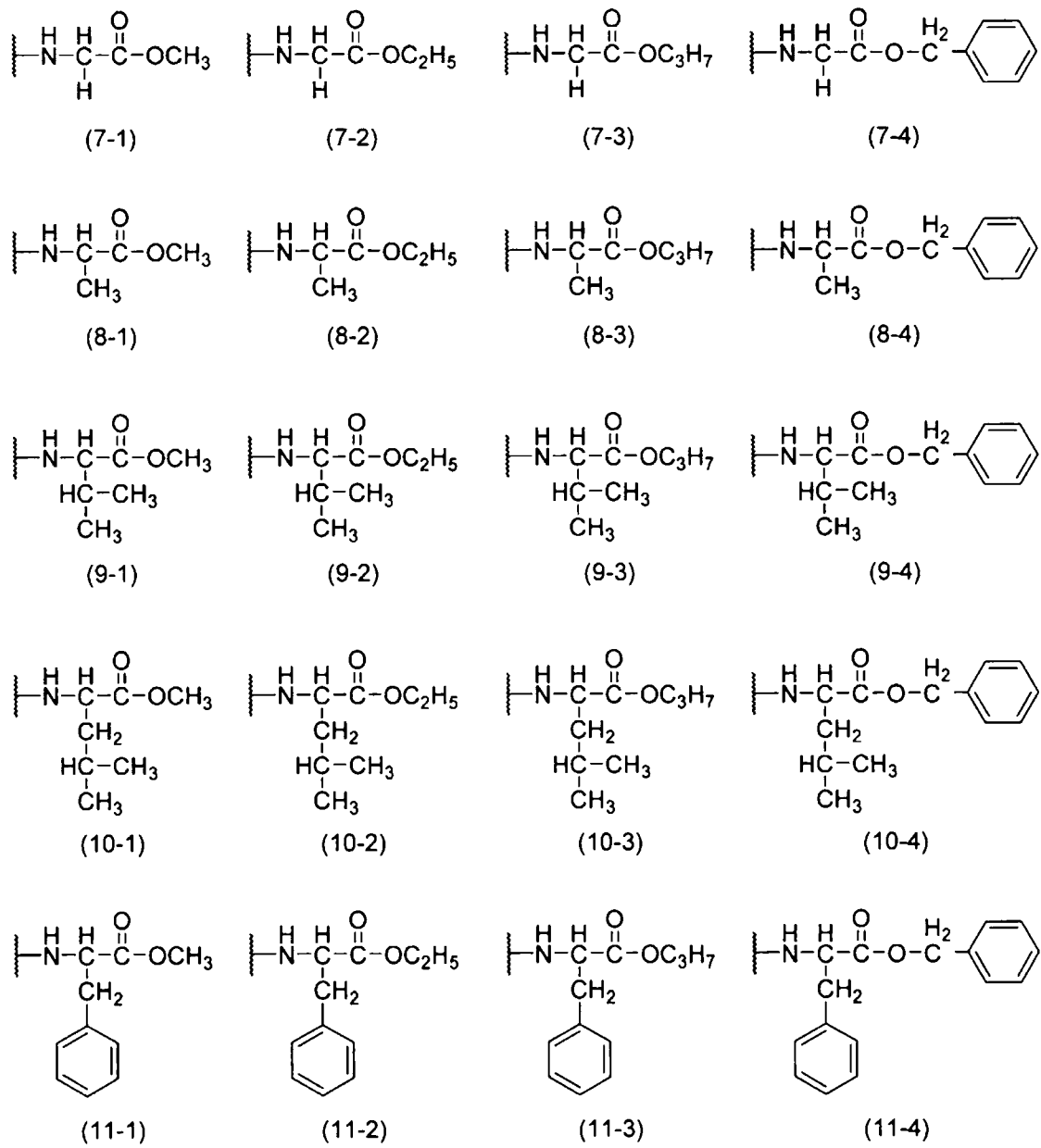
作為 X_1 之胺基酸衍生物較佳為天冬胺酸衍生物。作為該天冬胺酸衍生物，係 α -羧基與上述 R_3 、 R_4 或 R_5 進行鍵結且 β -羧基為醯胺體之天冬胺酸衍生物。或者亦可為 β -羧基與上述 R_3 、 R_4 或 R_5 進行鍵結且 α -羧基為醯胺體之天冬胺酸衍生物。於不參與該 R_3 、 R_4 或 R_5 之鍵結之另一側之羧基為醯胺體之情形時，可列舉：可具有取代基之碳數(C1~20)之烷基醯胺、可具有取代基之碳數(C5~C20)之芳香族胺、可具有取代基之碳數(C7~C20)之芳烷基醯胺或羧基經保護之胺基酸鍵結殘基等。

作為該天冬胺酸衍生物之可具有取代基之碳數(C1~20)之烷基醯胺，例如可列舉：甲醯胺、乙醯胺、異丙醯胺、第三丁醯胺、環己甲醯胺、十二烷醯胺、十八烷醯胺等。

作為該天冬胺酸衍生物之可具有取代基之碳數(C5~C20)之芳香族醯胺，例如可列舉：苯甲醯胺、4-甲氧基苯甲醯胺、4-二甲基胺基苯甲醯胺、4-羥基苯甲醯胺等。作為該天冬胺酸衍生物之可具有取代基之碳數(C7~C20)之芳烷基醯胺，例如可列舉：苄醯胺、2-苯基乙醯胺、4-苯基丁醯胺、8-苯基辛醯胺等。作為該天冬胺酸衍生物之羧基經保護之胺基酸鍵結殘基，例如可列舉：下述式(7-1)~(7-4)所表示之甘胺醯基-甲酯基、甘胺醯基-乙酯基、甘胺醯基-丙酯基、甘胺醯基-苄酯基、下述式(8-1)~(8-4)所表示之丙胺醯基-甲酯基、丙胺醯基-乙酯基、丙胺醯基-丙酯基、

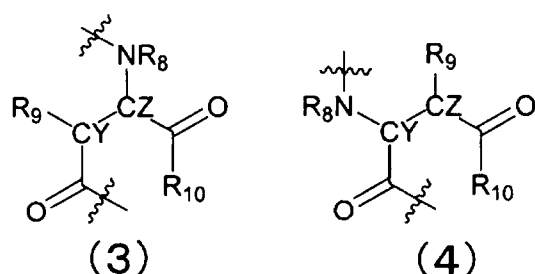
丙胺醯基-苄酯基、下述式(9-1)~(9-4)所表示之纈胺醯基-甲酯基、纈胺醯基-乙酯基、纈胺醯基-丙酯基、纈胺醯基-苄酯基、下述式(10-1)~(10-4)所表示之亮胺醯基-甲酯基、亮胺醯基-乙酯基、亮胺醯基-丙酯基、亮胺醯基-苄酯基、下述式(11-1)~(11-4)所表示之苯丙胺醯基-甲酯基、苯丙胺醯基-乙酯基、苯丙胺醯基-丙酯基、苯丙胺醯基-苄酯基等。

[化11]



上述 X_1 亦可採用下述通式(3)或通式(4)所表示之天冬胺酸衍生物或順丁烯二酸衍生物。

[化12]



此處，通式(3)及通式(4)中， R_8 、 R_9 分別獨立為氫原子或碳數(C1～C8)之烷基。 R_{10} 為選自由胺基、可具有取代基之碳數(C1～C20)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基胺基、可具有取代基之碳數(C7～C20)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之芳烷基胺基、可具有取代基之碳數(C5～C20)之芳香族胺基、及羧基經保護之胺基酸鍵結殘基所組成之群中之1種以上之基。 $CX-CY$ 為 $CH-CH$ 或 Z 組態之 $C=C$ (雙鍵)。

R_8 、 R_9 中之碳數(C1～C8)之烷基為直鏈狀、支鏈狀或環狀之碳數(C1～C8)之烷基。

作為直鏈狀烷基，例如可列舉：甲基、乙基、正丙基、正丁基、正己基等。

作為支鏈狀烷基，例如可列舉：異丙基、第三丁基、1-甲基丙基、2-甲基丙基、2,2-二甲基丙基等。

作為環狀烷基，例如可列舉：環丙基、環丁基、環戊基、環己基等。

於 R_{10} 中，作為可具有取代基之碳數(C1～C20)之直鏈狀、支鏈狀或

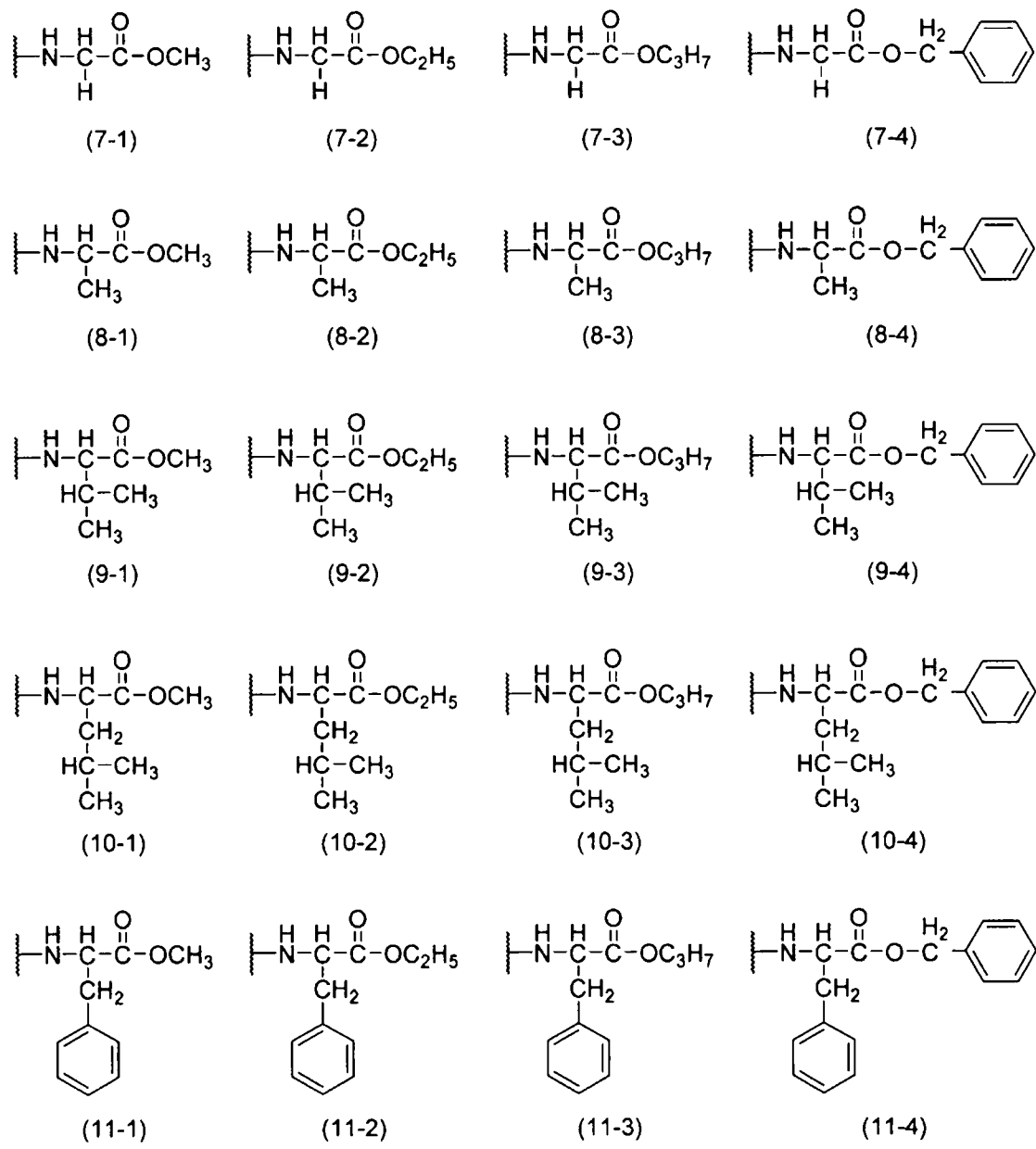
環狀之烷基胺基，例如可列舉：甲胺基、乙胺基、異丙胺基、第三丁胺基、環己甲胺基、正辛胺基、十二烷胺基、十八烷胺基。

作為可具有取代基之碳數(C7～C20)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之芳烷基胺基，例如可列舉：苄胺基、2-苯基乙胺基、4-苯基丁胺基、8-苯基辛胺基等。

作為可具有取代基之碳數(C5～C20)之芳香族胺基，例如可列舉：苯胺基、4-甲基苯胺基、4-二甲胺基苯胺基、4-羥基苯胺基等。

又，上述 R_{10} 亦可為羧基經保護之胺基酸鍵結殘基。作為羧基經保護之胺基酸鍵結殘基，例如可列舉：下述式(7-1)～(7-4)所表示之甘胺醯基-甲酯基、甘胺醯基-乙酯基、甘胺醯基-丙酯基、甘胺醯基-苄酯基、下述式(8-1)～(8-4)所表示之丙胺醯基-甲酯基、丙胺醯基-乙酯基、丙胺醯基-丙酯基、丙胺醯基-苄酯基、下述式(9-1)～(9-4)所表示之纈胺醯基-甲酯基、纈胺醯基-乙酯基、纈胺醯基-丙酯基、纈胺醯基-苄酯基、下述式(10-1)～(10-4)所表示之亮胺醯基-甲酯基、亮胺醯基-乙酯基、亮胺醯基-丙酯基、亮胺醯基-苄酯基，下述式(11-1)～(11-4)所表示之苯丙胺醯基-甲酯基、苯丙胺醯基-乙酯基、苯丙胺醯基-丙酯基、苯丙胺醯基-苄酯基等。

[化13]



通式(1)所表示之他克莫司之高分子衍生物中之 α -天冬胺酸總數之平均值係以 $a + b + c + d + e$ 表示，為2~300個左右，較佳為4~250個左右，尤佳為8~200個。

他克莫司所鍵結之天冬胺酸數(a)相對於 α -天冬胺酸總數($a + b + c + d + e$)之比率為1~99%，較佳為1~80%，更佳為1~60%。由於需要與鍵結有聚乙二醇鏈段之天冬胺酸單元併存，故而考慮到其平衡性，較佳為1~50%，更佳為1~30%，尤佳為5~30%。

又，作為 α -天冬胺酸數(a)，為1~200個，較佳為2~150個左右，尤佳為2~100個左右，或者2~40個左右。

聚乙二醇鏈段所鍵結之天冬胺酸數(b)相對於 α -天冬胺酸總數(a + b + c + d + e)之比率為1~99%，較佳為1~80%，進而較佳為1~60%。由於需要與上述鍵結有他克莫司之天冬胺酸單元併存，故而考慮到其平衡性，較佳為1~40%，尤佳為2~40%。

又，作為 α -天冬胺酸數(b)，為1~200個，較佳為1~150個左右，尤佳為1~100個左右，或者2~40個左右。

通式(2)所表示之他克莫司之高分子衍生物中之天冬胺酸總數之平均值係以f + g + h + i + j + k + l + m + n表示，為2~300個左右，較佳為4~250個左右，尤佳為8~200個。

他克莫司所鍵結之天冬胺酸數(f + g)相對於天冬胺酸總數(f + g + h + i + j + k + l + m + n)之比率為1~99%，較佳為1~80%，進而較佳為1~60%。由於需要與鍵結有聚乙二醇鏈段之天冬胺酸單元併存，故而考慮到其平衡性，較佳為1~50%，進而較佳為1~30%，尤佳為5~30%。

又，鍵結有他克莫司之天冬胺酸數(f + g)為1~200個，較佳為2~150個左右，尤佳為2~100個左右，或者2~40個左右。

鍵結有聚乙二醇鏈段之天冬胺酸數(h + i)相對於天冬胺酸總數(f + g + h + i + j + k + l + m + n)之比率為1~99%，較佳為1~80%，進而較佳為1~60%。由於需要與上述鍵結有他克莫司之天冬胺酸單元併存，故而考慮到其平衡性，較佳為1~40%，尤佳為2~40%。

又，鍵結有他克莫司之天冬胺酸數(h + i)為1~200個，較佳為1~150個左右，尤佳為1~100個左右，或者2~40個左右。

α -天冬胺酸($f + h + j + l$)相對於天冬胺酸總數($f + g + h + i + j + k + l + m + n$)之比率為1~80%，較佳為1~50%。該比率例如可藉由選擇聚天冬胺酸之保護基之脫保護條件等而適當改變。

本發明之他克莫司之高分子衍生物之分子量係採用將上述構成部分之各構成分子量合計而獲得之計算值作為該「他克莫司之高分子衍生物之分子量」。即，係將(1)聚天冬胺酸主鏈之分子量，(2)將聚乙二醇鏈段之分子量乘以其鍵結數所獲得之聚乙二醇鏈段之總分子量，(3)將他克莫司之鍵殘基分子量乘以其鍵結數所獲得之他克莫司之總分子量，(4)將與任意之聚乙二醇鏈段鍵結之 X_1 殘基之分子量乘以其鍵結數所獲得之 X_1 殘基之總分子量，及(5)將與任意之他克莫司鍵結之 X_1 殘基分子量乘以其鍵結數所獲得之 X_1 殘基之總分子量合計而獲得之計算值作為該分子量。

該聚天冬胺酸衍生物之分子量係要求以千道耳頓單位之精度進行分子量規定者。因此，上述各構成部分之分析方法只要為於該聚天冬胺酸衍生物以千道耳頓單位之分子量測定中精度充分之分析方法，則無特別限定，可適當選擇各種分析方法。以下，列舉各構成部分中之較佳之分析方法。

上述(1)聚天冬胺酸主鏈分子量係將該主鏈之聚合單體單元之分子量乘以其聚合數所獲得之計算值。該聚合數可使用由 $^1\text{H-NMR}$ 之積分值所算出之聚合數、藉由胺基酸分析所算出之聚合數、藉由中和滴定所算出之聚合數。

上述(2)聚乙二醇鏈段之總分子量係將聚乙二醇鏈段之分子量乘以其鍵結數所獲得之計算值。聚乙二醇鏈段之分子量係採用所使用之聚乙二醇鏈段結構化合物之根據藉由以聚乙二醇標準品為基準之GPC法所測得之峰

頂分子量所求出之平均分子量。

關於聚乙二醇鏈段之鏈結數，可列舉藉由對使聚乙二醇鏈段斷裂而自他克莫司之高分子衍生物中游離之聚乙二醇鏈段進行定量分析而求出之方法。或者，亦可為根據在對該聚天冬胺酸主鏈導入聚乙二醇鏈段之反應中聚乙二醇鏈段之消耗率而算出之方法。

上述(3)他克莫司之總分子量係將他克莫司之鏈殘基分子量乘以其鏈結數所獲得之計算值。關於該他克莫司之鏈結數，可列舉藉由將該他克莫司之高分子衍生物水解，視需要將游離之他克莫司或其分解產物進行衍生化，並利用高性能液相層析儀(HPLC)進行定量分析而求出之方法。或者，亦可為根據於對該聚天冬胺酸主鏈導入他克莫司之反應中他克莫司之消耗率而算出之方法。

上述(4)之與任意之聚乙二醇鏈段鏈結之 X_1 殘基之總分子量係將 X_1 殘基之分子量乘以其鏈結數所獲得之計算值。亦可為根據於對該聚天冬胺酸主鏈導入該 X_1 之反應中 X_1 之消耗率而算出之方法。

上述(5)之與任意之他克莫司鏈結之 X_1 殘基之總分子量係將 X_1 殘基之分子量乘以其鏈結數所獲得之計算值。亦可為根據於對該聚天冬胺酸主鏈導入 X_1 之反應中 X_1 之消耗率而算出之方法。

本發明之他克莫司之高分子衍生物之特徵在於：該高分子衍生物中之聚乙二醇鏈段之質量含有率為30質量%以上且95質量%以下。該聚乙二醇鏈段之質量含有率可根據上述(2)之聚乙二醇鏈段之總分子量相對於上述該他克莫司之高分子衍生物之分子量之含有比率而算出。即，聚乙二醇鏈段之質量含有率係根據以下之式而算出。

(計算式)

PEG之質量含有率(%) = PEG總分子量/TAC之高分子衍生物分子量
 $\times 100$

註)PEG：聚乙二醇鏈段

註)TAC：他克莫司

上述聚乙二醇鏈段之質量含有率之更佳範圍為30質量%以上且95質量%以下，尤佳為40質量%以上且95質量%以下。

本發明之他克莫司之高分子衍生物較佳為該高分子衍生物中之他克莫司之質量含有率為質量2%以上且質量50%以下。

該聚胺基酸衍生物中之巨環內酯系免疫抑制劑之質量含有率可根據上述(3)他克莫司之總分子量相對於上述該聚天冬胺酸衍生物之分子量的含有比率而算出。即，他克莫司之質量含有率係根據以下之式而算出。

(計算式)

TAC之質量含有率(%) = TAC之總分子量/TAC之高分子衍生物分子量
 $\times 100$

註)TAC：他克莫司

上述他克莫司之質量含有率之更佳範圍為2質量%以上且50質量%以下。他克莫司含量尤佳為2質量%以上且40質量%以下。

本發明之他克莫司之高分子衍生物係藉由將聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基與他克莫司之醇性羥基及聚乙二醇鏈段於有機溶劑中，使用脫水縮合劑以酯鍵結、醯胺鍵結及/或硫酯基進行鍵結而獲得，本製造方法亦包含於本發明中。即，將聚乙二醇結構部分-聚天冬胺酸之嵌段共聚物與視需要將進行反應之基以外之官能基加以保護之他克莫司於溶解有兩者之有機溶劑中，較佳為於N,N-二甲基甲醯胺(DMF)、1,3-二甲基-2-咪唑啉酮

(DMI)、N-甲基吡咯啉酮(NMP)等非質子性極性溶劑中，於0~180℃下，較佳為5~50℃下，使用二環己碳二亞胺(DCC)、二異丙基碳二亞胺(DIPCI)、1-乙基-3-(3-二甲胺丙基)碳二亞胺鹽酸鹽(EDCI)、1-乙氧羰基-2-乙氧基-1,2-二羥基喹啉酮(EEDQ)等脫水縮合劑進行反應之製造方法。又，於縮合反應時，亦可使用N,N-二甲胺基吡啶(DMAP)等反應助劑。於縮合反應後，視需要進行脫保護，藉由通常之分離精製等操作而製造他克莫司之高分子衍生物。

又， R_5 為 $-N(R_6)CONH(R_7)$ 基之他克莫司之高分子衍生物亦可使用上述碳二醯亞胺類作為縮合劑。

作為導入聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基與他克莫司及聚乙二醇鏈段之方法，有將聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基藉由上述方法進行活化後使欲添加之量之對應之他克莫司之醇性羥基及聚乙二醇鏈段於鹼性條件下進行反應之方法，使對應之他克莫司及聚乙二醇鏈段進行活化後與聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基進行反應之方法等。

作為對聚胺基酸衍生物之側鏈羧基導入他克莫司及聚乙二醇鏈段之順序，可先導入他克莫司，繼而導入聚乙二醇鏈段，亦可先導入聚乙二醇鏈段，繼而導入他克莫司，亦可同時導入。又，亦可於合成導入有他克莫司或聚乙二醇鏈段之高分子衍生物並加以精製後，藉由相同之反應使聚胺基酸衍生物中未反應羧基進行再活化，而於此處導入他克莫司或聚乙二醇鏈段。但是，本發明之他克莫司之高分子衍生物之製造法並不限定於上述方法。

本發明之他克莫司之高分子衍生物具有投予至活體內之後緩慢地游離出他克莫司之性質，可用作以該他克莫司作為有效成分之醫藥。

本發明之他克莫司之高分子衍生物之作為醫藥品之用途只要為利用該他克莫司而發揮治療效果之疾病，則無特別限定。例如，適用於治療自體免疫疾病、炎症性疾病、過敏性疾病、抑制器官移植及骨髓移植中之排斥反應等的醫藥。尤佳為自體免疫疾病或炎症性疾病之治療用醫藥。作為自體免疫疾病，可列舉風濕性關節炎、全身性紅斑狼瘡、潰瘍性大腸炎等，作為炎症性疾病，可列舉間質性肺炎等。

包含本發明之他克莫司之高分子衍生物的醫藥亦可具有通常容許用作醫藥品之其他添加劑。作為該添加劑，可列舉：賦形劑、增量劑、填充劑、結合劑、濕潤劑、崩解劑、潤滑劑、界面活性劑、分散劑、緩衝劑、保存劑、溶解助劑、防腐劑、矯味矯臭劑、舒緩劑、穩定劑及等張劑等。

包含本發明之他克莫司之高分子衍生物的醫藥亦可製備為治療用之醫藥品製劑。作為該製劑，可採用經口、注射、直腸內投予、門靜脈內投予、混合至器官之灌注液、對患部器官之局部投予等任一投予方法，較佳為非經口投予，更佳為藉由注射之靜脈內投予、動脈內投予或對患部器官之局部投予，通常使用例如水、生理食鹽水、5%葡萄糖或甘露糖醇液、水溶性有機溶劑(例如甘油、乙醇、二甲基亞砷、N-甲基吡咯啉酮、聚乙二醇、克列莫佛(cremophol)等及該等之混合液)及水與該水溶性有機溶劑之混合液等。

本發明之他克莫司之高分子衍生物之投予量當然可根據患者之性別、年齡、生理狀態、疾病狀態等而改變，非經口時通常成人每天投予活性成分 $0.01 \sim 500 \text{ mg/m}^2$ ，較佳為 $0.1 \sim 250 \text{ mg/m}^2$ 。藉由注射之投予係於靜脈、動脈、患部(炎症部)等處進行。

本發明之他克莫司之高分子衍生物聚集於患部，以低投予量具有高

於他克莫司單劑之效果。又，能夠不依賴酶而釋出生理活性物質，且能夠維持血中濃度，因此不需要根據血中動態(血中谷濃度)而控制投予量，較長之投予間隔及安全性顯著提高。因此，本發明之他克莫司之高分子衍生物係對治療及預防器官或組織移植之排斥反應、移植物抗宿主反應、自體免疫疾病及感染症等有用之免疫抑制劑或抗炎症劑。

[實施例]

以下，藉由實施例進一步說明本發明。但本發明並非限定於該等實施例者。又，本發明之化合物視需要於製劑化後使用。

合成例1

聚乙二醇- $\alpha\beta$ -聚天冬胺酸嵌段共聚物(聚乙二醇分子量12000，聚天冬胺酸聚合數95)之合成(化合物1)

將單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，10.0 g)溶解於二甲基亞砜(DMSO，130 mL)後，加入 γ -苄基-L-天冬胺酸-N-羧基內酸酐(BLA-NCA，13.8 g，200當量)，於32.0℃下攪拌一夜。將反應液用1小時滴加至乙醇(755 mL)及二異丙醚(3101 L)之混合溶劑中，於室溫下進行攪拌1小時。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物(41.8 g)。

將所獲得之固形物(40.0 g)溶解於N,N-二甲基甲醯胺(DMF，800 mL)中，加入乙酸酐(1.26 mL)並於32.5℃下進行攪拌。將反應液滴加至乙醇(800 mL)及二異丙醚(7200 mL)之混合溶劑中，於室溫下進行攪拌。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物(32.2 g)。將所獲得之固形物(30 g)懸浮於乙腈(MeCN，1200 mL)後，加入0.2當量濃度之氫氧化鈉水溶液(1200 mL)及純化水(180 mL)，於23℃下進行水解。向反應液中加入2當

量濃度之鹽酸進行中和後，藉由減壓濃縮而去除乙腈後，使用乙酸乙酯(1800 mL)清洗濃縮液3次。對水層進行減壓濃縮後，使用1當量濃度之氫氧化鈉水溶液將溶解液之pH值調整至10.7，添加食鹽(60.8 g)後，使用分配吸附樹脂管柱層析法及離子交換樹脂管柱層析法進行精製、脫鹽，將溶出之溶液進行減壓濃縮後，進行冷凍乾燥而獲得化合物1(15.1 g)。基於使用0.1當量濃度之氫氧化鉀水溶液之滴定值的本化合物1分子中之天冬胺酸之聚合數為94.9。

合成例2

聚乙二醇- $\alpha\beta$ -聚天冬胺酸嵌段共聚物(聚乙二醇分子量12000，聚天冬胺酸聚合數43)之合成(化合物2)

根據合成例1中所記載之方法，藉由對單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇使用52.2當量之BLA-NCA，而獲得標題化合物2。基於使用0.1當量濃度之氫氧化鉀水溶液之滴定值的本化合物1分子中之天冬胺酸之聚合數為43.2。

合成例3

聚乙二醇- $\alpha\beta$ -聚天冬胺酸嵌段共聚物(聚乙二醇分子量12000，聚天冬胺酸聚合數73)之合成(化合物3)

將單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，10.0 g)溶解於DMSO(190 mL)後，加入BLA-NCA(8.89 g，129當量)，於32℃下攪拌一夜。將反應液用1小時滴加至乙醇(400 mL)及二異丙醚(1600 mL)之混合溶劑中，於室溫下進行攪拌1小時。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物(26.5 g)。

將所獲得之固形物(23.0 g)溶解於乙腈(460 mL)中，加入乙酸酐(724 mL)於35℃下攪拌3小時後冷卻至23℃。向反應液中滴加0.2當量濃度之氫氧化鈉(539 mL)，於23℃下進行水解。向反應液中加入2當量濃度之鹽酸進行中和後，藉由減壓濃縮而去除乙腈後，使用乙酸乙酯(720 mL)清洗濃縮液3次。對水層進行減壓濃縮後，使用1當量濃度之氫氧化鈉水溶液將溶解液之pH值調整至10.6，添加食鹽(57.5 g)後，使用分配吸附樹脂管柱層析法，繼而使用離子交換樹脂管柱層析法進行精製，將溶出之溶液進行減壓濃縮後，進行冷凍乾燥而獲得化合物3(13.0 g)。基於使用0.1當量濃度之氫氧化鉀水溶液之滴定值的本化合物1分子中之天冬胺酸之聚合數為72.8。

合成例4

$\alpha\beta$ -聚天冬胺酸聚合物(聚天冬胺酸聚合數78)之合成(化合物4)

將正丁胺(東京化成製造，18.3 mg)溶解於DMSO(30 mL)中，加入BLA-NCA(5.61 g，90當量)，於23℃下攪拌一夜。將反應液滴加至乙醇(120 mL)及二異丙醚(480 mL)之混合溶劑中，於室溫下進行攪拌。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物。向所獲得之固形物全量中加入1,3-二甲基-2-咪唑啉酮(DMI，35 mL)，於78℃下溶解後，於70℃下加入乙酸酐2.5 mL。攪拌3小時後，將反應液滴加至乙酸乙酯(175 mL)及二異丙醚(700 mL)之混合溶液中，於室溫下攪拌一夜。濾取沈積物後，進行真空乾燥而獲得固形物(3.74 g)。

將所獲得之固形物(3.74 g)溶解於乙腈(30 mL)中，添加0.2當量濃度之氫氧化鈉水溶液(138 mL)，於室溫下進行水解。反應後，藉由減壓濃縮而去除乙腈後，使用乙酸乙酯(420 mL)清洗濃縮液3次。對水層進行減壓

濃縮後，使用離子交換樹脂管柱層析法進行精製，進行冷凍乾燥，而獲得化合物4(2.29 g)。基於NMR之本化合物1分子中之天冬胺酸之聚合數為78。

合成例5

$\alpha\beta$ -聚天冬胺酸聚合物(聚天冬胺酸聚合數112)之合成(化合物5)

將正丁胺(東京化成製造，15.8 mg)溶解於DMSO(30 mL)後，加入BLA-NCA(7.26 g，135當量)，於23℃下攪拌一夜。將反應液滴加至乙醇(120 mL)及二異丙醚(480 mL)之混合溶劑中，於室溫下進行攪拌。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物(5.37 g)。向所獲得之固形物(5.37 g)中加入DMI(35 mL)，於80℃下溶解後，於68℃下加入乙酸酐2.5 mL。攪拌3小時後，將反應液滴加至乙酸乙酯(200 mL)及二異丙醚(800 mL)之混合溶液中，於室溫下攪拌一夜。濾取沈積物後，進行真空乾燥而獲得固形物(5.16 g)。

將所獲得之固形物(5.16 g)溶解於乙腈(22 mL)中，添加0.2當量濃度之氫氧化鈉水溶液(167 mL)，於室溫下進行水解。反應後，藉由減壓濃縮而去除乙腈後，使用乙酸乙酯(510 mL)清洗濃縮液3次。對水層進行減壓濃縮後，使用離子交換樹脂管柱層析法進行精製，進行冷凍乾燥而獲得化合物5(3.00 g)。基於NMR之本化合物1分子中之天冬胺酸之聚合數為112。

合成例6

聚乙二醇- α -聚天冬胺酸嵌段共聚物(聚乙二醇分子量12000，聚天冬胺酸聚合數87)之合成(化合物6)

將單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT

MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，6.0 g)溶解於DMSO(114 mL)後，加入BLA-NCA(15.0 g，120當量)，於30℃下攪拌一夜。將反應液滴加至乙醇(228 mL)及二異丙醚(912 mL)之混合溶劑中，於室溫下進行攪拌。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物(23.8 g)。將所獲得之固形物全量溶解於DMF(200 mL)，加入乙酸酐(0.75 mL)於30℃下攪拌3小時。將反應液滴加至乙酸乙酯(200 mL)及二異丙醚(1800 mL)之混合溶劑中，於室溫下進行攪拌。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物(15.8 g)。

將所獲得之固形物(8.72 g)溶解於1-甲基-2-吡咯啉酮(NMP，140 mL)後，加入10%鈀-碳(0.87 g)，於35℃下水解一夜。向反應液中加入活性碳並攪拌1小時後，過濾分離10%鈀-碳。將濾液滴加至乙酸乙酯(200 mL)及二異丙醚(1000 mL)之混合溶劑中，於室溫下攪拌一夜。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物(4.18 g)。將固形物全量溶解於純化水(418 mL)中，添加食鹽(20.9 g)將其溶解，使用2當量濃度之氫氧化鈉水溶液將溶解液之pH值調整至11.0後，使用分配吸附樹脂管柱層析法，繼而使用離子交換樹脂管柱層析法進行精製，將溶出之溶液進行減壓濃縮後，藉由進行冷凍乾燥而獲得化合物6(760 mg)。基於NMR之本化合物1分子中之天冬胺酸之聚合數為87。

合成例7

聚乙二醇- α -聚天冬胺酸嵌段共聚物(聚乙二醇分子量12000，聚天冬胺酸聚合數40)之合成(化合物7)

根據合成例6中所記載之方法，藉由對單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇使用51.3當量之BLA-NCA，而獲得標題化合物7。此

時，使用DMF代替NMP。基於使用0.1當量濃度之氫氧化鉀水溶液之滴定值的本化合物1分子中之天冬胺酸之聚合數為40.2。

合成例8

聚乙二醇- α -聚天冬胺酸嵌段共聚物(聚乙二醇分子量12000，聚天冬胺酸聚合數90)之合成(化合物8)

將單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，10.0 g)溶解於DMSO(200 mL)後，加入BLA-NCA(28.7 g，140當量)，於32.5℃下攪拌一夜。將反應液滴加至乙醇(400 mL)及二異丙醚(1600 mL)之混合溶劑中，於室溫下進行攪拌。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物(28.6 g)。將所獲得之固形物(18.1 g)溶解於NMP(181 mL)中，加入乙酸酐(0.57 mL)於30℃下攪拌一夜。將反應液滴加至二異丙醚(2000 mL)之混合溶劑中，於室溫下進行攪拌。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物。

將所獲得之固形物(15.3 g)溶解於NMP(155 mL)後，加入10%鈹-碳(3.46 g)，於35℃下水解一夜。向反應液中加入活性碳並攪拌30分鐘後，過濾分離10%鈹-碳。將濾液滴加至二異丙醚(3700 mL)之混合溶劑中，於室溫下進行攪拌。濾取沈澱物後，進行真空乾燥而獲得固形物(5.64 g)。將所獲得之固形物(4.53 g)溶解於純化水(453 mL)中，使用氫氧化鈉水溶液將溶解液之pH值調整至11.0後，使用陰離子交換樹脂管柱層析法，繼而使用陽離子交換樹脂管柱層析法進行精製，將溶出之溶液進行減壓濃縮後，藉由進行冷凍乾燥而獲得化合物8(3.43 g)。基於使用0.1當量濃度之氫氧化鉀水溶液之滴定值的本化合物1分子中之天冬胺酸之聚合數為

90.0。

實施例1

於通式(2)中具有通式(6)之結構作為 R_1 ， R_2 為乙醯基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基，具有通式(5)之結構作為 R_4 ， R_5 為異丙基胺基羰基異丙胺基， R_{11} 及 R_{13} 為甲基， R_{12} 及 R_{14} 為三亞甲基， X_1 為鍵， X_2 為-NH-基， o 及 p 之平均值為272， $f+g+h+i+j+k+l+m+n$ 之平均值為43.2， $f+g$ 之平均值為7.0， $h+i$ 之平均值為5.2之高分子衍生物(化合物9)

化合物2(245 mg)、他克莫司(250 mg)、單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，862 mg)溶解於NMP(6.2 mL)中，於25℃下加入N,N-二甲氨基吡啶(DMAP，37.9mg)、N,N'-二異丙基碳二亞胺(DIPCI，192 μ L)攪拌一夜。將反應液滴加至二異丙醚(186 mL)中，並進行攪拌。濾取沈澱物，將藉由真空乾燥所獲得之固形物溶解於乙腈(7 mL)後，加入純化水(7 mL)及離子交換樹脂(7 mL)，進行攪拌後，過濾分離離子交換樹脂。對濾液進行減壓濃縮後，藉由冷凍乾燥而獲得化合物9(1.12 g)。計算出化合物9之他克莫司含量為6.84%。

實施例2

於通式(2)中具有通式(6)之結構作為 R_1 ， R_2 為乙醯基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基，具有通式(5)之結構作為 R_4 ， R_5 為異丙基胺基羰基異丙胺基， R_{11} 及 R_{13} 為甲基， R_{12} 及 R_{14} 為三亞甲基， X_1 為鍵， X_2 為-NH-基， o 及 p 之平均值為272， $f+g+h+i+j+k+l+m+n$ 之平均值為72.8， $f+g$ 之平均值為14.1， $h+i$ 之平均值為5.0之高分子衍生物(化合物10)

將化合物3(130 mg)、他克莫司(240 mg)、單末端為甲氧基及單末端

為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，382 mg)溶解於NMP(4.6 mL)中，於25℃下加入DMAP(28.3 mg)、DIPCI(143 μ L)並攪拌一夜。將反應液滴加至二異丙醚(139 mL)中，進行攪拌。濾取沈澱物，將藉由真空乾燥所獲得之固形物溶解於乙腈(5 mL)後，加入純化水(5 mL)及離子交換樹脂(5 mL)，進行攪拌後，過濾分離離子交換樹脂。對濾液進行減壓濃縮後，藉由進行冷凍乾燥而獲得化合物10(528 mg)。計算出化合物10之他克莫司含量為12.3%。

實施例3

於通式(2)中具有通式(6)之結構作為 R_1 ， R_2 為乙醯基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基，具有通式(5)之結構作為 R_4 ， R_5 為異丙基胺基羰基異丙胺基， R_{11} 及 R_{13} 為甲基， R_{12} 及 R_{14} 為三亞甲基， X_1 為鍵， X_2 為-NH-基， o 及 p 之平均值為272， $f+g+h+i+j+k+l+m+n$ 之平均值為94.9， $f+g$ 之平均值為7.4， $h+i$ 之平均值為12.8之高分子衍生物(化合物11)

將化合物1(5.30 g)、他克莫司(12 g)、單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，34.7 g)溶解於NMP(430 mL)中，於25℃下加入DMAP(1.31 g)、DIPCI(6.59 mL)並攪拌兩夜。將反應液滴加至二異丙醚(13 L)中，進行攪拌。濾取沈澱物，藉由真空乾燥而獲得固形物(41.5 g)。將所獲得之固形物(41.0 g)溶解於DMF(575 mL)中，加入離子交換樹脂(130 mL)並攪拌1小時後，過濾分離離子交換樹脂。將濾液滴加至二異丙醚(18.5 L)中，進行攪拌。濾取沈澱物，藉由真空乾燥而獲得固形物(39.5 g)。將所獲得之固形物(37.0 g)溶解於乙腈(370 mL)後，加入純化水(370 mL)，進行減壓濃縮後，藉由冷凍乾燥而獲得化合物11(37.2 g)。計

算出化合物11之他克莫司含量為3.22%。

實施例4

於通式(2)中具有通式(6)之結構作為 R_1 ， R_2 為乙醯基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基，具有通式(5)之結構作為 R_4 ， R_5 為異丙基胺基羰基異丙胺基， R_{11} 及 R_{13} 為甲基， R_{12} 及 R_{14} 為三亞甲基， X_1 為鍵， X_2 為-NH-基， o 及 p 之平均值為272， $f+g+h+i+j+k+l+m+n$ 之平均值為72.8， $f+g$ 之平均值為5.5， $h+i$ 之平均值為9.1之高分子衍生物(化合物12)

將化合物3(4.50 g)、他克莫司(4.13 g)、單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，24.1 g)溶解於NMP(229 mL)中，於25℃下加入DMAP(979 mg)、DIPCI(4.97 mL)並攪拌兩夜。將反應液滴加至二異丙醚(6.0L)中，進行攪拌。濾取沈澱物，將藉由真空乾燥所獲得之固形物(28.8 g)滴加至DMF(404 mL)中，加入離子交換樹脂(95.1 mL)並攪拌1小時後，過濾分離離子交換樹脂。將濾液滴加至二異丙醚(13.0 L)中，進行攪拌。濾取沈澱物，將藉由真空乾燥所獲得之固形物溶解於乙腈(294 mL)後，加入純化水(294 mL)，進行減壓濃縮後，藉由冷凍乾燥而獲得化合物12(27.3 g)。計算出化合物12之他克莫司含量為3.24%。

實施例5

於通式(2)中 R_1 為正丁基， R_2 為乙醯基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基，具有通式(5)之結構作為 R_4 ， R_5 為異丙基胺基羰基異丙胺基， R_{11} 為甲基， R_{12} 為三亞甲基， X_1 為鍵， X_2 為-NH-基， o 及 p 之平均值為272， $f+g+h+i+j+k+l+m+n$ 之平均值為78， $f+g$ 之平均值為7.4， $h+i$ 之平均值為10.1之高分子衍生物(化合物13)

將化合物4(83.2 mg)、他克莫司(150 mg)溶解於NMP(7.5 mL)中，於25℃下加入DMAP(44.1 mg)、DIPCI(223 μL)並攪拌1小時後，添加單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，1.12 g)升溫至35℃並攪拌一夜。將反應液滴加至二異丙醚(225 mL)中，攪拌一夜。濾取沈澱物，將藉由真空乾燥所獲得之固形物溶解於乙腈(40 mL)中，加入純化水(40 mL)，加入離子交換樹脂(20 mL)，於冰冷卻下進行攪拌後，過濾分離離子交換樹脂。對濾液進行減壓濃縮後，藉由冷凍乾燥而獲得化合物13(1.16 g)。計算出化合物13之他克莫司含量為4.40%。

實施例6

於通式(2)中 R_1 為正丁基， R_2 為乙醯基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基，具有通式(5)之結構作為 R_4 ， R_5 為異丙基胺基羰基異丙胺基， R_{11} 為甲基， R_{12} 為三亞甲基， X_1 為鍵， X_2 為-NH-基， o 及 p 之平均值為272， $f+g+h+i+j+k+l+m+n$ 之平均值為112， $f+g$ 之平均值為10.4， $h+i$ 之平均值為14.6之高分子衍生物(化合物14)

將化合物5(85.8 mg)、他克莫司(150 mg)溶解於NMP(7.5 mL)中，於25℃下加入DMAP(45.6 mg)、DIPCI(230 μL)並攪拌1小時後，添加單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，1.12 g)升溫至35℃並攪拌一夜。將反應液滴加至二異丙醚(225 mL)中，攪拌一夜。濾取沈澱物，將藉由真空乾燥所獲得之固形物溶解於乙腈(40 mL)中，加入純化水(40 mL)，加入離子交換樹脂(20 mL)，於冰冷卻下進行攪拌後，過濾分離離子交換樹脂。對濾液進行減壓濃縮後，藉由冷凍乾燥而獲得化合物

14(1.18 g)。計算出化合物14之他克莫司含量為4.41%。

實施例7

於通式(1)中具有通式(6)之結構作為 R_1 ， R_2 為乙醯基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基，具有通式(5)之結構作為 R_4 ， R_5 為異丙基胺基羰基異丙胺基， R_{11} 及 R_{13} 為甲基， R_{12} 及 R_{14} 為三亞甲基， X_1 為鍵， X_2 為-NH-基， o 及 p 之平均值為272， $a+b+c+d+e$ 之平均值為40.2， a 之平均值為5.9， b 之平均值為5.0之高分子衍生物(化合物15)

將化合物7(3.30 g)、他克莫司(4.81 g)、單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，11.9 g)溶解於NMP(160 mL)中，於35℃下加入DMAP(500 mg)、DIPCI(2.47 mL)並攪拌兩夜。將反應液滴加至二異丙醚(4.8 L)中，進行攪拌。濾取沈澱物，藉由真空乾燥而獲得固形物(15.1 g)。將所獲得之固形物(15.0 g)溶解於DMF(210 mL)中，加入離子交換樹脂(50 mL)並攪拌1小時後，過濾分離離子交換樹脂。將濾液滴加至二異丙醚(6.8 L)中，進行攪拌。濾取沈澱物，藉由真空乾燥而獲得固形物(14.2 g)。將所獲得之固形物(13.7 g)溶解於乙腈(275 mL)後，加入純化水(275 mL)，進行減壓濃縮後，藉由冷凍乾燥而獲得化合物15(12.4 g)。計算出化合物16之他克莫司含量為5.74%。

實施例8

於通式(1)中具有通式(6)之結構作為 R_1 ， R_2 為乙醯基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基，具有通式(5)之結構作為 R_4 ， R_5 為異丙基胺基羰基異丙胺基， R_{11} 及 R_{13} 為甲基， R_{12} 及 R_{14} 為三亞甲基， X_1 為鍵， X_2 為-NH-基， o 及 p 之平均值為272， $a+b+c+d+e$ 之平均值為87， a 之平均值為19.4，

b之平均值為5.0之高分子衍生物(化合物16)

將化合物6(157 mg)、他克莫司(375 mg)、單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，425 mg)溶解於NMP(5.5 mL)中，於35°C下加入DMAP(38.0 mg)、DIPCI(191 μ L)並攪拌兩夜。將反應液滴加至二異丙醚(165 mL)中，進行攪拌。濾取沈澱物，將藉由真空乾燥所獲得之固形物溶解於乙腈(13 mL)中，加入純化水(13 mL)，加入離子交換樹脂(6.5 mL)，於冰冷卻下進行攪拌後，過濾分離離子交換樹脂。對濾液進行減壓濃縮後，藉由冷凍乾燥而獲得化合物16(630 mg)。計算出化合物16之他克莫司含量為14.9%。

實施例9

於通式(1)中具有通式(6)之結構作為 R_1 ， R_2 為乙醯基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基，具有通式(5)之結構作為 R_4 ， R_5 為異丙基胺基羰基異丙胺基， R_{11} 及 R_{13} 為甲基， R_{12} 及 R_{14} 為三亞甲基， R_{13} 為甲基， R_{14} 為三亞甲基， X_1 為鍵， X_2 為-NH-基，o及p之平均值為272， $a+b+c+d+e$ 之平均值為90.0，a之平均值為21.6，b之平均值為5.3之高分子衍生物(化合物17)

將化合物8(3.0 g)、他克莫司(7.27 g)、單末端為甲氧基及單末端為3-胺基丙基之聚乙二醇(SUNBRIGHT MEPA-12T，日油公司製造，平均分子量12千道耳頓，8.50 g)溶解於NMP(80.3 mL)中，於35°C下加入DMAP(733 mg)、DIPCI(3.72 mL)並攪拌兩夜。將反應液滴加至二異丙醚(3150 mL)中，進行攪拌。濾取沈澱物，將藉由真空乾燥所獲得之固形物(14.0 g)溶解於DMF(196 mL)中，加入離子交換樹脂(46 mL)並攪拌後，

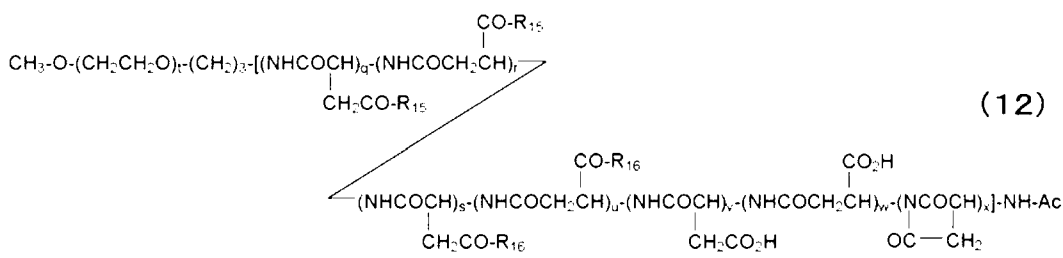
過濾分離離子交換樹脂。將濾液滴加至二異丙醚(6.3 L)中，進行攪拌。濾取沈澱物，藉由真空乾燥而獲得化合物17(12.9 g)。計算出化合物17之他克莫司含量為16.6%。

比較例1

他克莫司鍵結聚乙二醇- $\alpha\beta$ -聚天冬胺酸嵌段共聚物(化合物18)

將化合物2(350 mg)、他克莫司(366 mg)溶解於DMF(6.0 mL)中，於15℃下加入DMAP(10.9 mg)、DIPCI(315 μ L)並攪拌一夜。將反應液滴加至二異丙醚(180 mL)中，進行攪拌。濾取沈澱物，將藉由真空乾燥所獲得之固形物溶解於乙腈(17 mL)後，加入純化水(17 mL)及離子交換樹脂(7 mL)，於冰冷卻下攪拌3小時後，過濾分離離子交換樹脂。對濾液進行減壓濃縮後，藉由冷凍乾燥而獲得下述式(12)所表示之化合物18(499 mg)。計算出化合物18之他克莫司含量為33.2%。

[化14]



式中，t之平均值為272，q+r+s+u+v+w+x之平均值為42.8，q+r之平均值為10.0，R₁₅為他克莫司之醇性羥基之殘基，R₁₆為異丙基胺基羰基異丙胺基。

本發明之化合物之他克莫司含量係根據於以下之HPLC條件下所測得之反應溶液中之他克莫司之消耗率而算出。

HPLC之分析條件

管柱：Shim-pack XR-ODSIII，2.0 ϕ × 200 mm

管柱溫度：40℃

溶析液 A液：0.1%磷酸水溶液、B液：乙腈

A液/B液 = 80/20

流速：0.5 mL/min

檢測器(檢測波長)：UV(254 nm)

或者，藉由將該他克莫司之高分子衍生物進行酸水解，將作為游離之他克莫司之分解物的2-哌啶甲酸進行衍生化，並於以下之HPLC條件下進行定量分析而算出。

HPLC之分析條件

管柱：Shim-pack XR-ODSIII，2.0 ϕ × 200 mm

管柱溫度：40℃

溶析液 A液：0.1%磷酸水溶液、B液：乙腈

A液/B液 = 自80/20至10/90之梯度淘析

流速：0.5 mL/min

檢測器(檢測波長)：螢光(激發波長：450 nm，螢光波長：590 nm)

試驗例1

磷酸緩衝生理食鹽水中之藥劑釋出性試驗

將實施例1～9、比較例1之化合物以成為1.0 mg/mL之方式溶解至磷酸緩衝生理食鹽水(pH值7.4)中，於37℃下恆溫放置。使用HPLC經時地測定所釋出之他克莫司量，求出所釋出之他克莫司量相對於所使用之化合物中之他克莫司總量的比率。將實施例1及比較例1之結果示於圖1，將實施

例1、2、5、6及8之結果示於圖2，將實施例3、4、7及9之結果示於圖3。

該結果顯示，實施例1至6之化合物與比較例1之化合物相比，於不存在酶之條件下，藥劑之釋出較快。進而，實施例7至9之化合物與實施例1至6之化合物相比，於不存在酶之條件下，藥劑之釋出較慢。

試驗例2

大鼠血中濃度推移(1)

對8週齡雌性SD大鼠(日本Charles River股份有限公司)以每群2隻單次尾靜脈內投予他克莫司或實施例1、2、8及比較例1之化合物5 mg/kg。於投予後5分鐘、1、6、24及72小時於異氟烷麻醉下自頸靜脈後時性地採血各0.3 mL，測定採集血液中之他克莫司濃度。將實施例1、2、8、比較例1及他克莫司之結果示於圖4。又，將各化合物之血中濃度參數示於表2。其中，實施例1、2、8及比較例1之結果為自微膠束釋出之他克莫司之濃度及參數。

[表2]

群	劑量 (mg/kg)	T1/2 (hr)	Tmax (hr)	Cmax (ng/mL)	C72h (ng/mL)	AUCinf. (hr・ng/mL)	MRTinf. (hr)
實施例1	5	14.6	0.0833	231	3.34	2430	19.0
實施例2	5	16.1	0.0833	407	5.27	3040	20.8
實施例8	5	16.0	0.0833	133	1.96	1060	20.7
比較例1	5	9.57	0.0833	280	0.361	1050	11.6
他克莫司	5	7.51	0.0833	2430	0.273	5400	4.12

該結果為，實施例1、2、8及比較例1與他克莫司相比，顯示出血中濃度半衰期及MRTinf.之延長，表明藉由對他克莫司進行高分子衍生化，使使血中之滯留性提高。

又，與比較例1相比，實施例1、2及8顯示出更長之血中濃度半衰期及MRTinf.。

試驗例3

大鼠血中濃度推移(2)

對8週齡雌性SD大鼠(日本Charles River股份有限公司)以每群2隻單次尾靜脈內投予實施例3、7及9之化合物15 mg/kg。於投予後5分鐘、1、6、24及72小時於異氟烷麻醉下自頸靜脈後時性地採血各0.2 mL，測定採集血液中之他克莫司濃度。將實施例3、7及9之結果示於圖5。又，將各化合物之血中濃度參數示於表3。其中，實施例3、7及9之結果為自微膠束釋出之他克莫司之濃度及參數。

[表3]

群	劑量 (mg/kg)	T1/2 (hr)	Tmax (hr)	Cmax (ng/mL)	C72h (ng/mL)	AUCinf. (hr・ng/mL)	MRTinf. (hr)
實施例3	15	16.5	0.0833	1340	23.5	12500	20.3
實施例7	15	15.4	0.0833	1100	4.29	3490	12.8
實施例9	15	19.5	0.0833	211	6.00	2410	25.7

該結果為，實施例3、7及9均顯示出較長之血中濃度半衰期及MRTinf。

試驗例4

對大鼠膠原蛋白關節炎之抗炎症效果(1)

將源自牛關節軟骨之II型膠原蛋白(免疫級：膠原蛋白技術研修會有限公司)0.3 mg皮內投予至9週齡雌性DA大鼠(日本SLC股份有限公司)之背部，藉此誘發膠原蛋白關節炎。於II型膠原蛋白致敏日及致敏後第7日、14日、21日，將比較例1、實施例1、2及8之化合物之生理食鹽水(5 mg/kg)以每群5隻進行尾靜脈內投予。設定未投予群作為對照。關節炎之判定係藉由目測評分而進行。將比較例1之化合物之結果示於圖6，將實施例1之化合物之結果示於圖7，將實施例2及8之化合物之結果示於圖8。

又，將膠原蛋白致敏後第28日或第29日之平均關節炎評分示於表4。

自牛關節軟骨來源之II型膠原蛋白致敏後起，對大鼠之右後肢及左後肢之炎症之進度進行檢測。於右後肢或者左後肢之足趾見到泛紅時，判斷膠原蛋白關節炎發病。關節炎之程度係以如下之0～5之6個等級進行評估。0：無變化，1：右後肢或者左後肢之足趾有一處以上泛紅，2：右後肢或者左後肢之足趾有一處以上泛紅且輕度浮腫，3：右後肢或者左後肢之整足浮腫，4：右後肢或者左後肢之整足嚴重浮腫，5：右後肢或者左後肢之踝關節之活動與正常情況相比受到限制(關節變形)。右後肢及左後肢中，採用關節炎評分較高者作為該個體之關節炎評分。

試驗例5

對大鼠膠原蛋白誘導性關節炎之抗炎症效果(2)

藉由與試驗例4相同之方法，對DA大鼠誘發膠原蛋白關節炎。於II型膠原蛋白致敏日及致敏後第14日，將實施例3、7及9之化合物之生理食鹽水(15 mg/kg)以每群5隻進行尾靜脈內投予。設定未投予群作為對照。關節炎之判定係藉由目測評分而進行。將結果示於圖9。又，將膠原蛋白致敏後第28日之平均關節炎評分示於表4。

[表4]

群	5 mg/kg、q7d×4關節炎評分 (第28日)	15 mg/kg、q14d×2關節炎評分 (第28日)
比較例1	2.6*	nt
實施例1	0.0	nt
實施例2	0.0	nt
實施例3	nt	0.0
實施例7	nt	1.8
實施例8	0.8	nt
實施例9	nt	0.6

* ：第29日評分 nt：未試驗

根據試驗例4及5之結果，未投予群可見關節炎之發病。另一方面，與未投予群相比，本發明之化合物抑制關節炎之發病。進而，實施例1、2及8中藉由對側鏈導入聚乙二醇，而與比較例1相比，對關節炎可見更強之抑制效果。

【發明申請專利範圍】

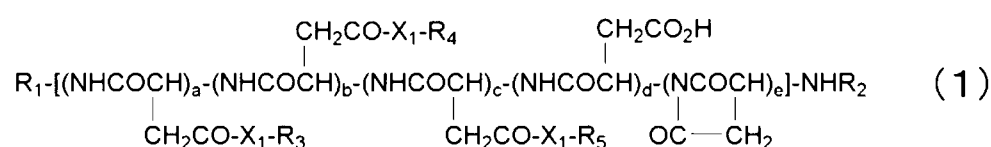
【第1項】

一種他克莫司之高分子衍生物，其係於聚天冬胺酸衍生物之側鏈羧基上鍵結有聚乙二醇鏈段及他克莫司之醇性羥基者。

【第2項】

如請求項1之他克莫司之高分子衍生物，其以下述通式(1)表示，

[化1]

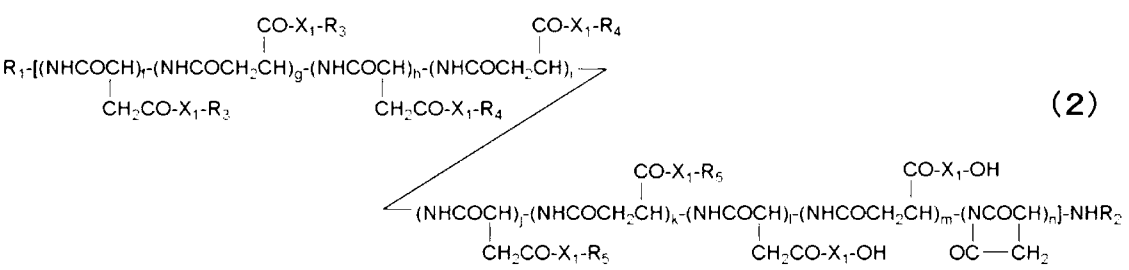


[式中， R_1 為選自由氫原子、碳數(C1～C8)之烷基及聚乙二醇鏈段所組成之群中之基， R_2 為選自由氫原子、碳數(C1～C8)之鹼基及碳數(C1～C8)之烷氧羰基所組成之群中之基， R_3 為他克莫司之醇性羥基之殘基， R_4 為聚乙二醇鏈段， R_5 為 $-\text{N}(\text{R}_6)\text{CONH}(\text{R}_7)$ (R_6 、 R_7 可相同亦可不同，為碳數(C3～C6)之環狀烷基或可經三級胺基取代之碳數(C1～C5)之烷基)， X_1 為鍵或鍵結基， a 及 b 分別為1～299之整數， c 、 d 及 e 分別為0或298以下之整數，且 $a+b+c+d+e$ 為2～300之整數，聚天冬胺酸衍生物之各重複單元之排列順序任意]。

【第3項】

如請求項1之他克莫司之高分子衍生物，其以下述通式(2)表示，

[化2]



[式中，R₁為選自由氫原子、碳數(C1～C8)之烷基及聚乙二醇鏈段所組成之群中之基，R₂為選自由氫原子、碳數(C1～C8)之醯基及碳數(C1～C8)之烷氧羰基所組成之群中之基，R₃為他克莫司之醇性羥基之殘基，R₄為聚乙二醇鏈段，R₅為-N(R₆)CONH(R₇)(R₆、R₇可相同亦可不同，為碳數(C3～C6)之環狀烷基或可經三級胺基取代之碳數(C1～C5)之烷基)，X₁為鍵或鍵結基，f、g、h及i分別為0或299以下之整數，f+g及h+i分別為1～299以下之整數，j、k、l、m及n分別為0或298以下之整數，且f+g+h+i+j+k+l+m+n為2～300之整數，聚天冬胺酸衍生物之各重複單元之排列順序任意]。

【第4項】

如請求項2或3之他克莫司之高分子衍生物，其中X₁為鍵。

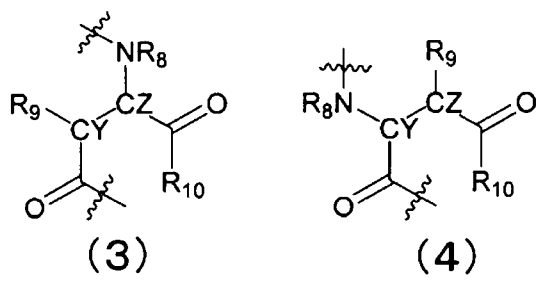
【第5項】

如請求項2或3之他克莫司之高分子衍生物，其中X₁為天冬胺酸衍生物。

【第6項】

如請求項2或3之他克莫司之高分子衍生物，其中X₁為下述通式(3)或通式(4)，

[化3]



[式中， R_8 、 R_9 分別獨立為氫原子或碳數(C1～C8)之烷基， R_{10} 為選自由胺基、可具有取代基之碳數(C1～C20)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基胺基、可具有取代基之碳數(C7～C20)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之芳烷基胺基、可具有取代基之碳數(C5～C20)之芳香族胺基及羧基經保護之胺基酸鍵結殘基所組成之群中之1種以上之基，且CY-CZ為CH-CH或C=C(雙鍵)]。

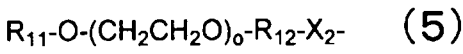
【第7項】

如請求項6之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_8 、 R_9 均為氫原子，及CY-CZ為CH-CH。

【第8項】

如請求項2或3之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_4 之聚乙二醇鏈段為下述通式(5)，

[化4]

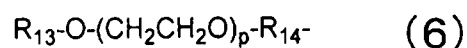


[式中， R_{11} 為氫原子或可具有取代基之碳數(C1～C6)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基， R_{12} 為碳數(C2～C6)之伸烷基， X_2 為能夠與上述聚天冬胺酸衍生物之側鏈之羧基進行鍵結之官能基，及o為5～11500之整數]。

【第9項】

如請求項2或3之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_1 為碳數(C1～C6)之烷基或下述通式(6)所表示之聚乙二醇鏈段，

[化5]



[式中， R_{13} 為氫原子或可具有取代基之碳數(C1～C6)之直鏈狀、支鏈狀或環狀之烷基， R_{14} 為碳數(C2～C6)之伸烷基，及 p 為5～11500之整數]。

【第10項】

如請求項2或3之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_2 為碳數(C1～C6)之醯基， o 為10～3000之整數，及 $(a+b+c+d+e)$ 或 $(f+g+h+i+j+k+l+m+n)$ 為4～250之整數。

【第11項】

如請求項10之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_2 為碳數(C1～C3)之醯基， o 為20～1500之整數，及 $(a+b+c+d+e)$ 或 $(f+g+h+i+j+k+l+m+n)$ 為8～200之整數。

【第12項】

如請求項2或3之他克莫司之高分子衍生物，其中 R_1 為甲基，及 R_2 為乙醯基。

【第13項】

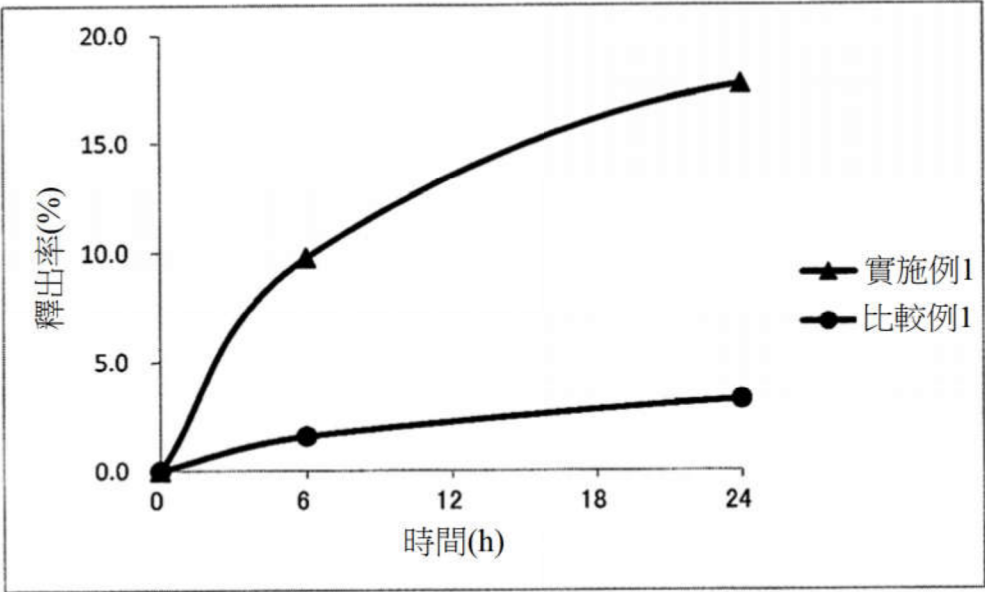
一種如請求項1至12中任一項之他克莫司之高分子衍生物之製造方

法，其係於有機溶劑中，使用脫水縮合劑，使他克莫司之醇性羥基及聚乙二醇鏈段與聚天冬胺酸衍生物之側鏈之羧基進行酯鍵結、醯胺鍵結及/或硫酯鍵結。

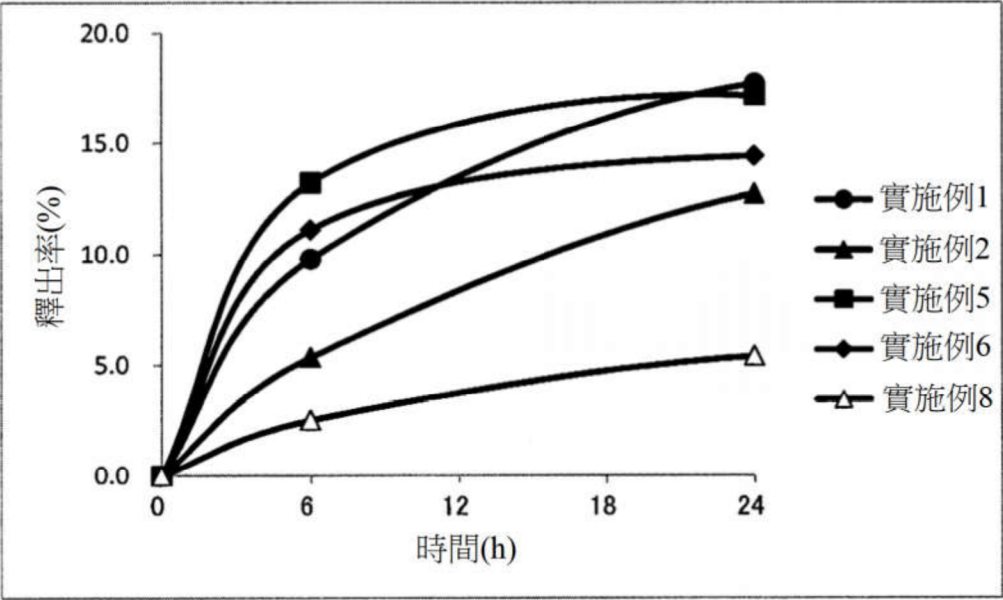
【第14項】

一種巨環內酯系免疫抑制劑，其係以如請求項1至12中任一項之他克莫司之高分子衍生物作為有效成分。

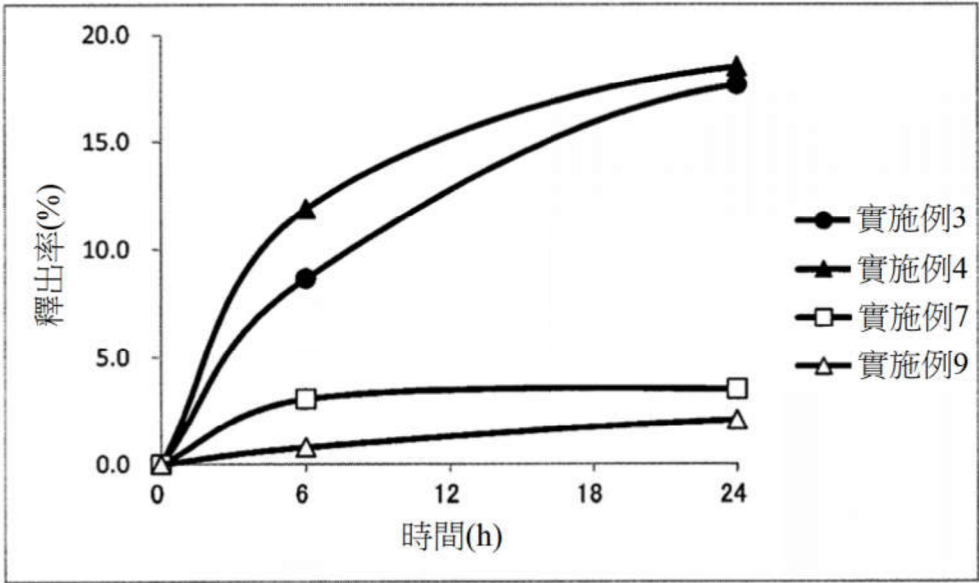
【發明圖式】



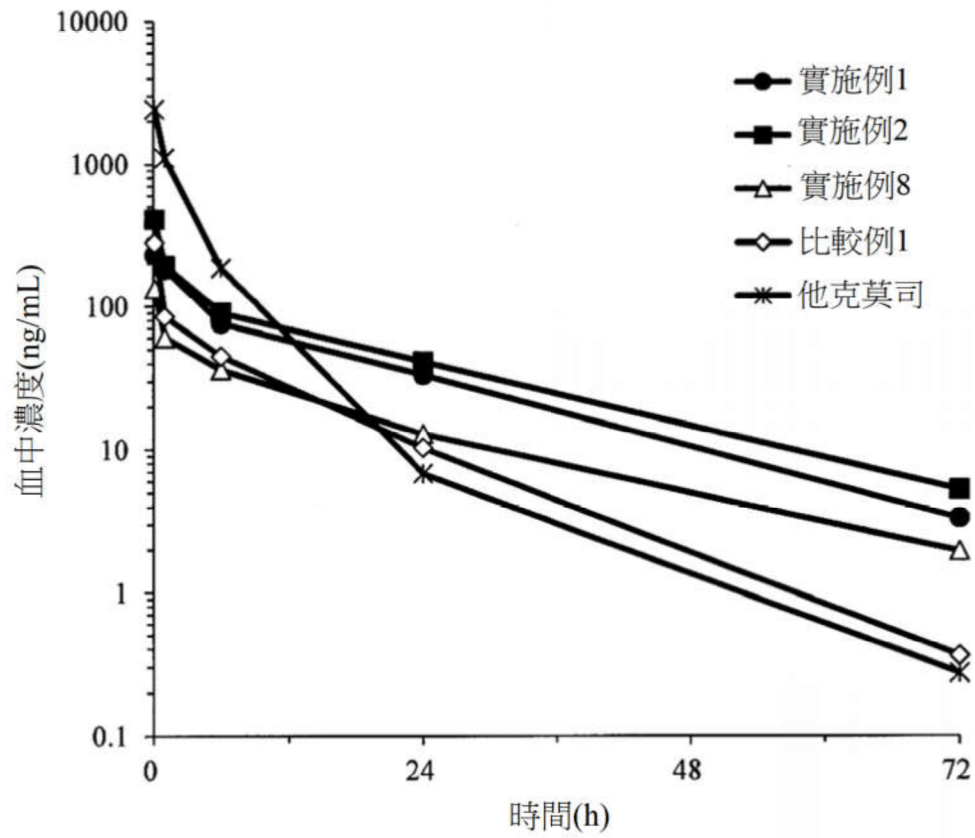
【圖1】



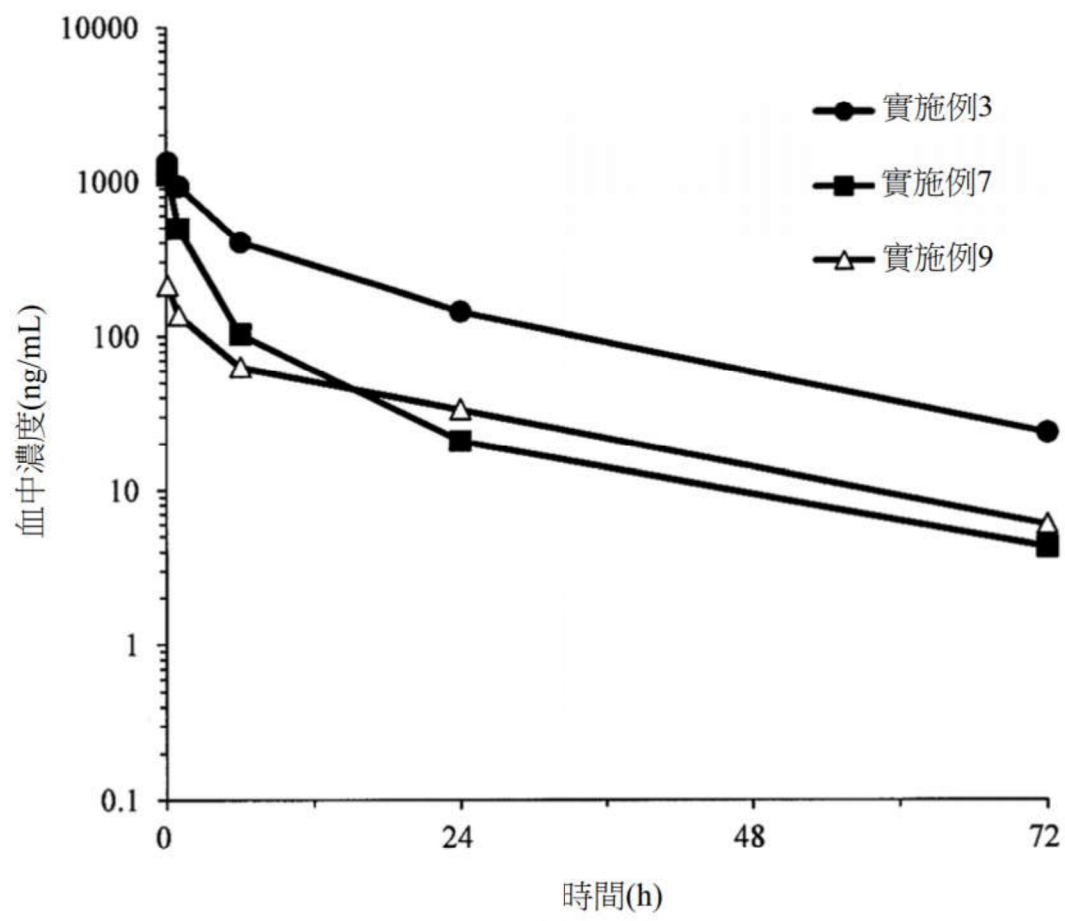
【圖2】



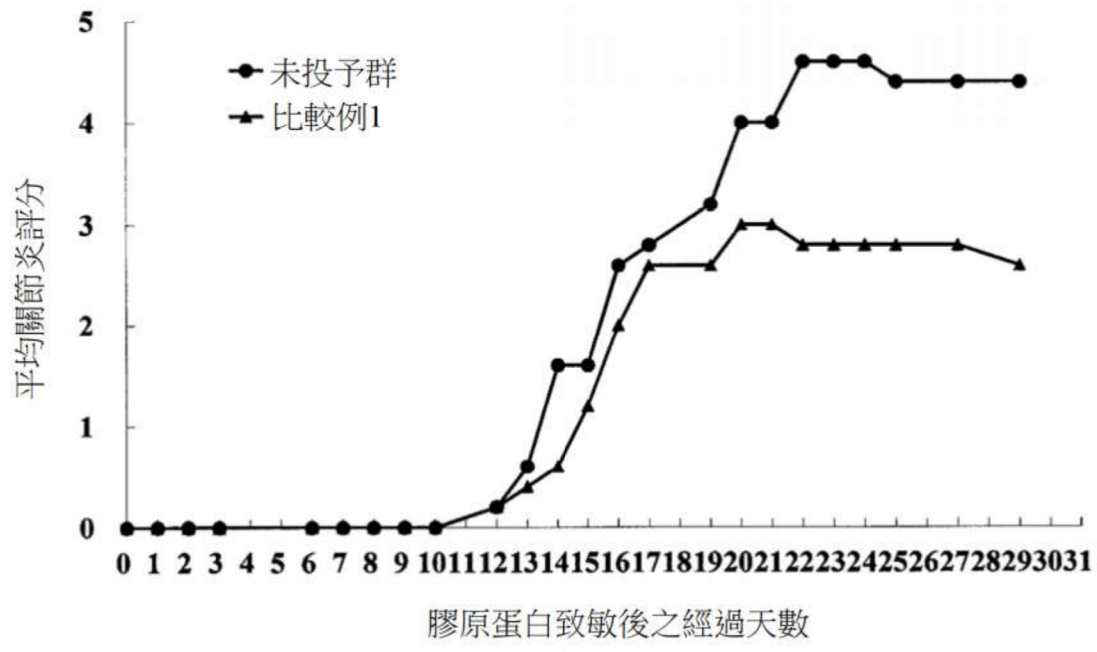
【圖3】



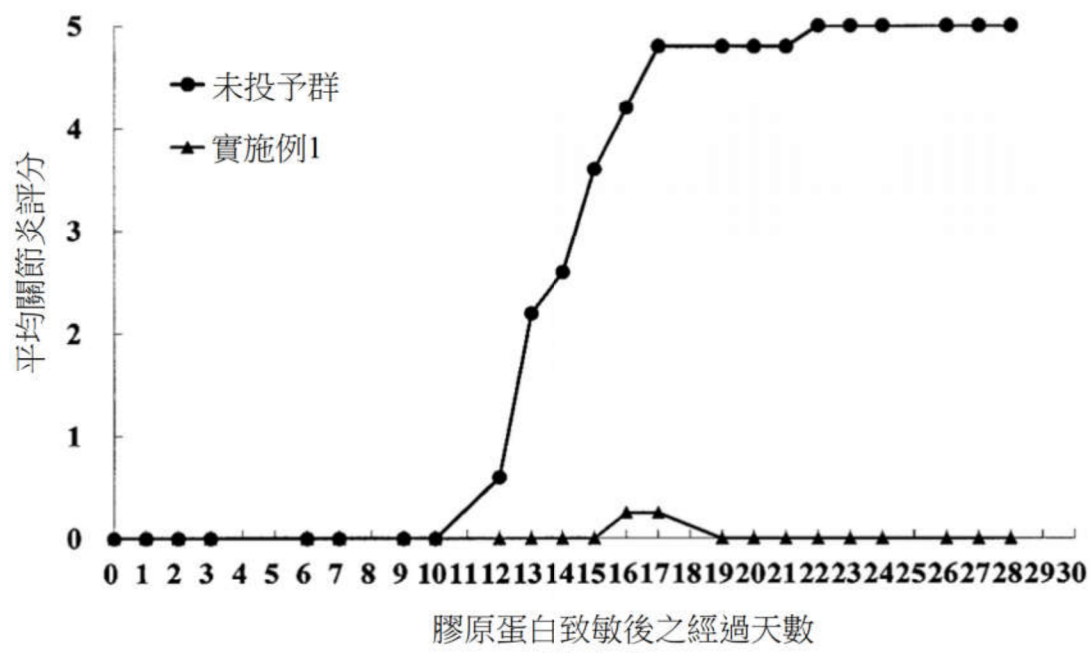
【圖4】



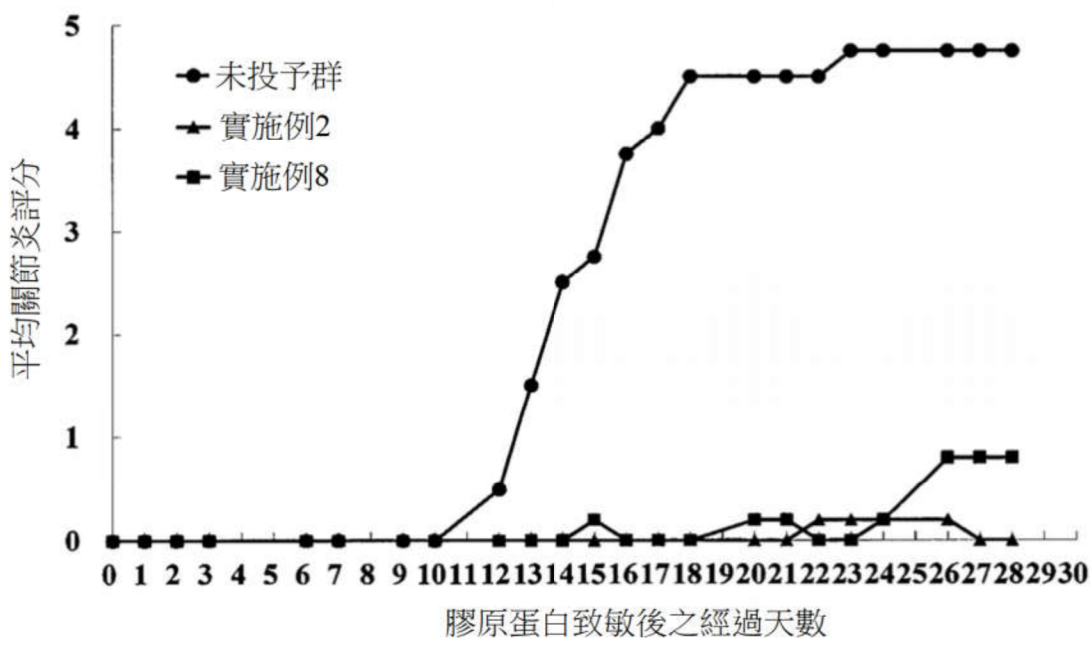
【圖5】



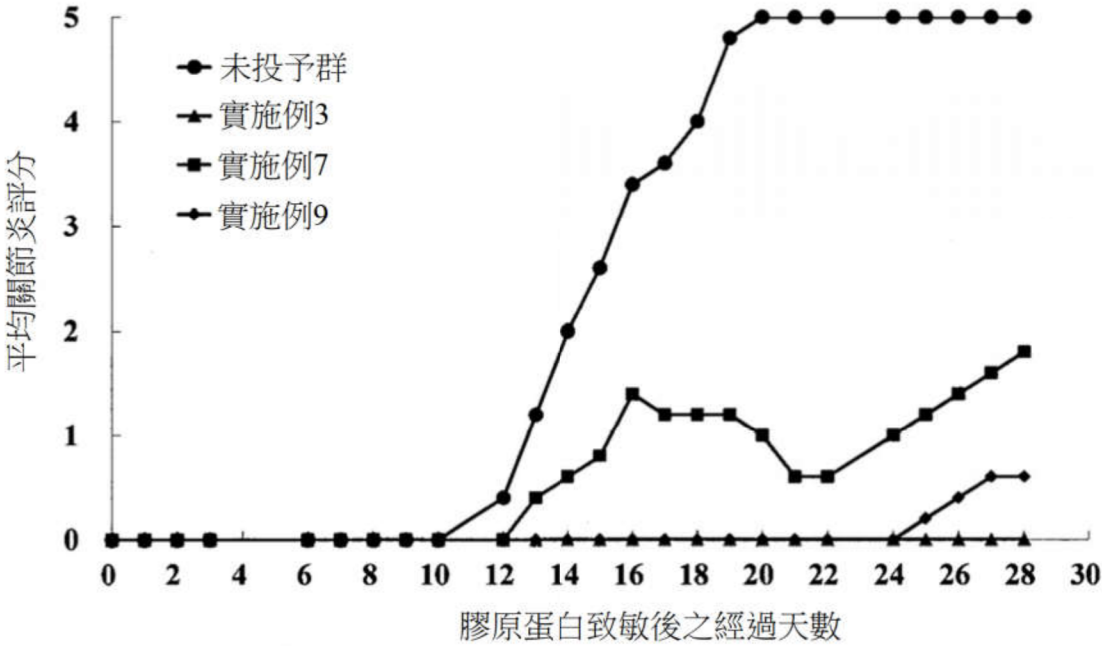
【圖6】



【圖7】



【圖8】



【圖9】