

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年3月8日 (08.03.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/16211 A1

(51) 国際特許分類: C08G 65/333, C07C 237/22,
C07K 5/06, 5/08, 5/10, C08B 37/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/05702

(22) 国際出願日: 2000年8月24日 (24.08.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願平11/245731 1999年8月31日 (31.08.1999) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術
振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY
CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本
町4丁目1番8号 Saitama (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 土田英俊
(TSUCHIDA, Eishun) [JP/JP]; 〒177-0053 東京都練馬

区関町南2-10-10 Tokyo (JP). 武岡真司 (TAKEOKA,
Shinji) [JP/JP]; 〒158-0094 東京都世田谷区玉川
3-40-16-404 Tokyo (JP). 宗慶太郎 (SOU, Keitaro)
[JP/JP]; 〒169-0051 東京都新宿区西早稲田2-11-10
Tokyo (JP). 大川春樹 (OHKAWA, Haruki) [JP/JP]; 〒
178-0065 東京都練馬区西大泉2-1-30 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 鈴江武彦, 外 (SUZUYE, Takehiko et al.); 〒
100-0013 東京都千代田区霞が関3丁目7番2号 鈴榮内
外国特許法律事務所内 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

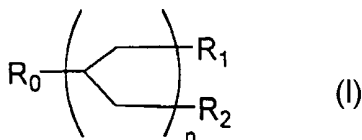
2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。



WO 01/16211 A1

(54) Title: AMPHIPATHIC COMPOUND HAVING DENDRITIC STRUCTURE

(54) 発明の名称: 樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物



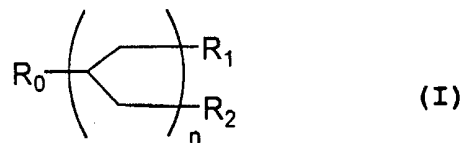
(57) Abstract: An amphipathic compound having a dendritic
structure represented by structural formula (I). In the formula
(I), R₀ is a hydrophilic group; R₁'s and R₂'s each independently
is a hydrophobic group; and n is an integer of 1 to 4. This am-
phipathic compound can take advantage of the intermolecular
interaction to stably fix a water-soluble polymer on the surface
and can hold the same while retaining its intact function.

[続葉有]



(57) 要約:

下記総括式 (I) :



表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物。式 (I) において、 R_0 は、親水性基、各 R_1 および各 R_2 は、それぞれ独立に、疎水性基、 n は 1 ないし 4 の整数である。この両親媒性化合物は、分子間相互作用を利用して、水溶性高分子を安定に表面に固定でき、かつその機能を損なうことなく担持できる。

明 細 書

樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物

技術分野

本発明は、樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物に関する。

本発明の樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物は、水溶性ポリマー、オリゴマー、多糖類、水溶性蛋白質等を最小限の修飾によりリン脂質小胞体や細胞表面や疎水性表面に安定に固定するために有用である。また、本発明の樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物は、細胞や蛋白質に対して特異的な認識能を有する小胞体やマイクロソフェア、分離用充填剤、各種センサー、細胞培養基板等の表面改質材として、さらには、医薬品、食品、化粧品、染料等の乳化剤、安定剤、分散剤、可溶化剤、混和剤、湿潤剤、浸透剤、粘度調整剤としても利用できる。

背景技術

ポリオキシエチレン等の水溶性高分子鎖で修飾された表面は生体適合性が高く、人工臓器（人工血管等）、人工細胞、人工血液等の素材として利用できる。また機能性分子を導入することにより特徴ある機能を付加させることができる。これらの水溶性高分子鎖の表面への導入は、通常、共有結合で行われており、分子間相互作用を利用して安定に固定する方法論は現在のところ確立されていないといっている。

周知の通り、リン脂質二分子膜小胞体は、凝集や融合の頻発、あるいは血中滞留時間が短い等の問題を持っており、小胞体構成脂質に電荷脂質やコレステロールを混合し、さらに

はポリオキシエチレンや糖質で小胞体の表面を修飾することによりその解決が図られてきた。ポリオキシエチレンをジアシルホスファチジルエタノールアミンやコレステロールに結合させた脂質が小胞体の安定化剤として広く使用されているが、このような水溶性高分子を結合させたジアシル型脂質はリン脂質二分子膜小胞体から脱離することが報告されている (J. R. Silvius and M. J. Zuckermann, *Biochemistry*, 32, 3153, 1993)。

特定の分子あるいは細胞表面を認識できる機能蛋白質（あるいはその部分）を小胞体の表面に担持させることにより、これを薬物運搬体や人工細胞として利用する研究が活発になっている。また、このような機能蛋白質を細胞から精製する方法は通常困難で微量しか得られないことから、最近では水溶性の機能認識部位のみを遺伝子組換え菌体に分泌させて、大量に得る方法（リコンビナント方式）が採用されている。この水溶性蛋白質をリン脂質小胞体二分子膜表面に担持させるためには、疎水性基の導入が必要であり、例えば脂質（ジアシルホスファチジルエタノールアミン）を適当な方法で蛋白質のアミノ基やカルボキシル基あるいはチオール基に結合させる方法がよく用いられている。しかし、この場合のリン脂質は二本足であるため安定に膜表面に導入するためには親-疎水のバランスから複数の結合が必要であり、非選択的な結合では、結合アルキル鎖による活性部位の立体障害や活性部位への結合により機能が阻害される場合が多い。また、親-疎水部の境界が明確でなく、小胞体表面に均一に配向させて

導入することは極めて困難である。

樹枝状球体（デンドリマー）は分岐末端に多数の官能基を有しており、世代数に応じて機能性分子を複数結合させることができる（総説として、J. I. R. Moors and F. Vogtle, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 33, 2431, 1994 等）。アミノ酸から構成されるデンドリマーは通常のペプチド合成法に従って容易に得られ、かつ生分解性、生体適合性に優れている。リシンから構成されるデンドリマーは R. G. Denkewalter らにより初めて報告された（米国特許 4, 289, 872 号）（1981年9月15日発行）。以来、固相ペプチド合成による合成法が確立され（J. P. Tam et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 85, 5409, 1988）、分岐末端アミノ基に生理活性ペプチドや糖質を結合させた誘導体が報告されている。疎水性デンドロンのコア部にポリオキシエチレンを結合させた両親媒性化合物は既に報告されており、新しい機能材料としての利用が検討されている（I. Gitsov et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 31, 1200, 1992, T. M. Chapman et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 11195, 1994）。また、最近、分岐末端に複数の疎水性基を結合させた両親媒性デンドリマー（A. P. H. J. Schenning et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 8199, 1998）や蛋白質を結合させたデンドリマー（P. Singh, *Bioconjugate Chem.*, 9, 54, 1998）等が報告されている。

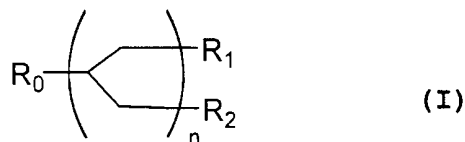
本発明は、分子間相互作用を利用して、水溶性高分子を安

定に表面に固定でき、かつその機能を損なうことなく担持できる新規な両親媒性化合物を提供することを目的とする。

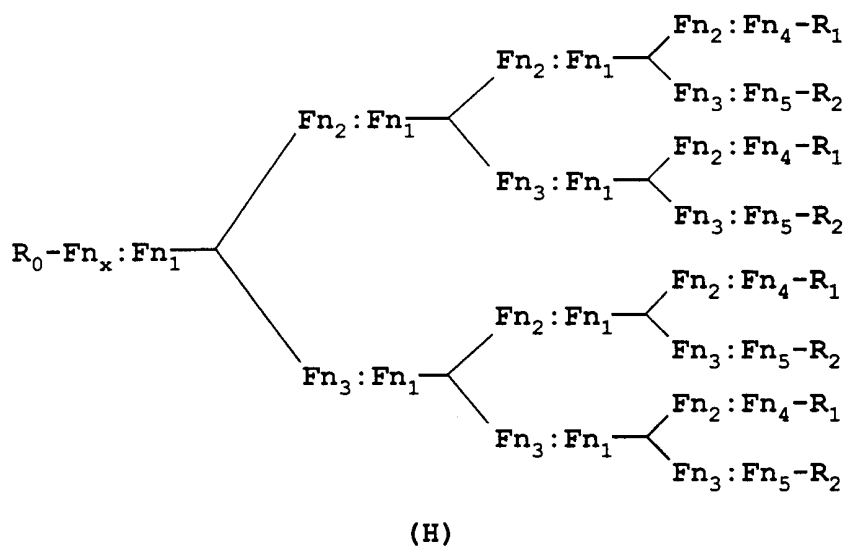
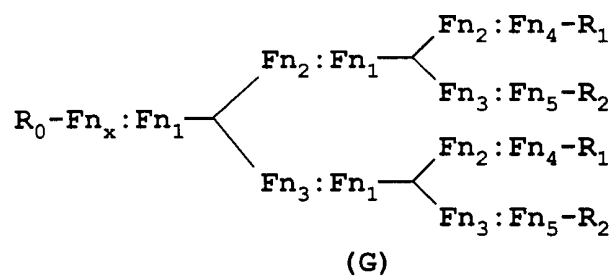
発明の開示

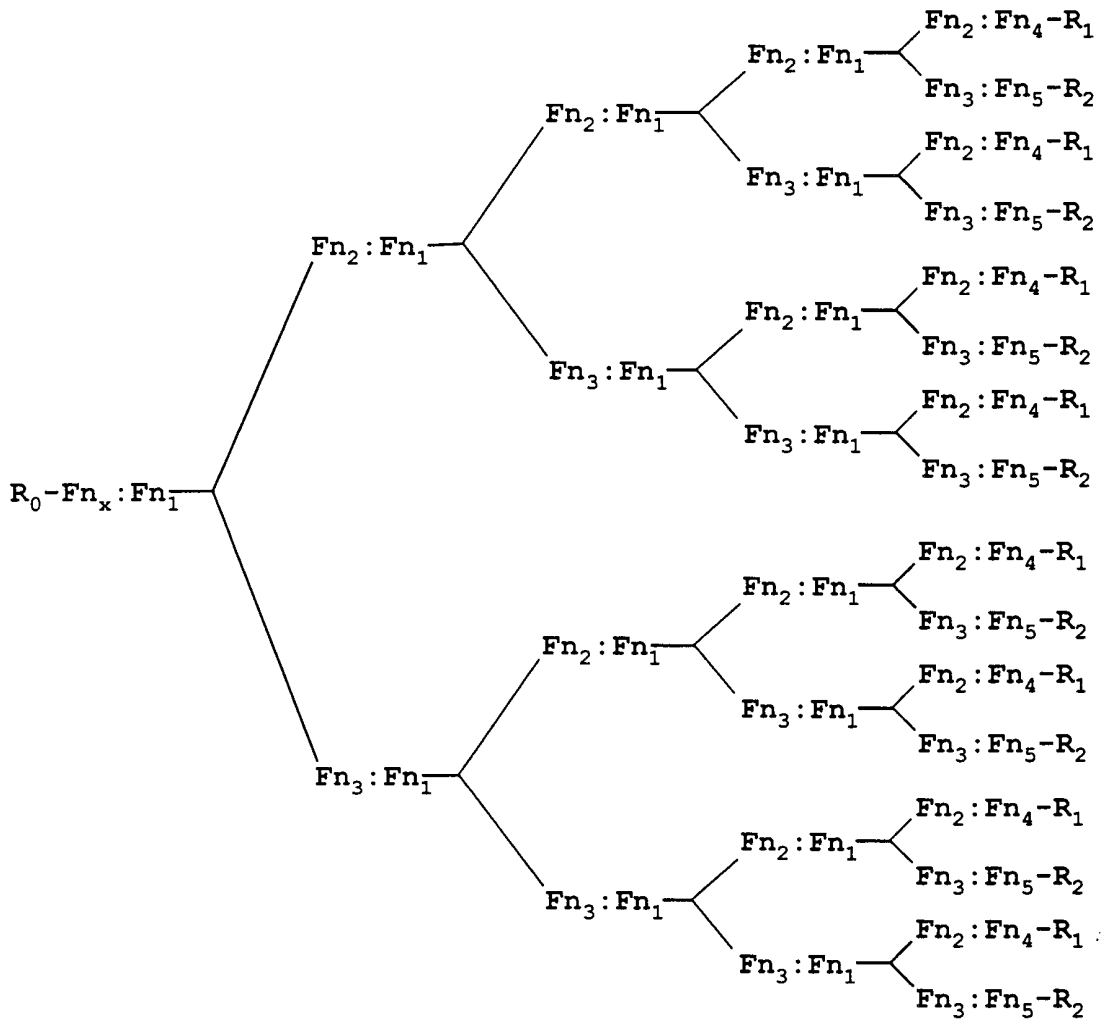
本発明者らは上記実状に鑑み鋭意研究を行った結果、最近のデンドリマーに関する報告にヒントを得て、デンドリマーの構成単位である樹枝状構造体（デンドロン）の分岐側末端に多数の疎水性基を導入させて、コア部にある唯一の置換基に親水性基を結合させた両親媒性化合物を設計し、合成に成功した。この場合、デンドロンの分岐世代により親疎水バランスを任意に制御できる。さらに親水性基の末端に一点の結合にて蛋白質を導入することにも成功し、本発明に到達したものである。

すなわち、本発明は、下記総括式（I）：



（ここで、 R_0 は、親水性基、各 R_1 および各 R_2 は、それぞれ独立に、疎水性基、 n は1ないし4の整数）で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物を提供する。この総括式（I）で表される両親媒性化合物は、下記式（G）で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物、下記式（H）で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物および下記式（J）で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物からなる群の中から選ばれる。



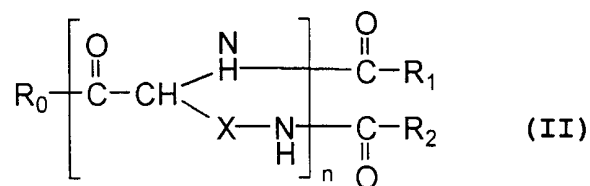


(J)

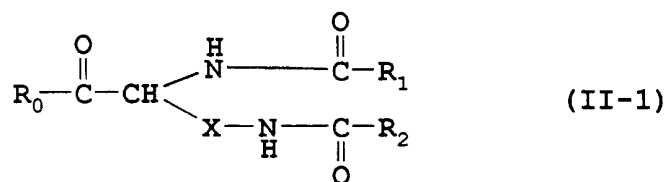
上記式 (G)、(H)、(J) において、 $F n_x$ 、 $F n_1$ 、 $F n_2$ 、 $F n_3$ 、 $F n_4$ および $F n_5$ は、それぞれ、官能性反応基であって相隣る官能性反応基と結合しているものを示す。 R_0 並びに各 R_1 および各 R_2 は、上記の通りである。

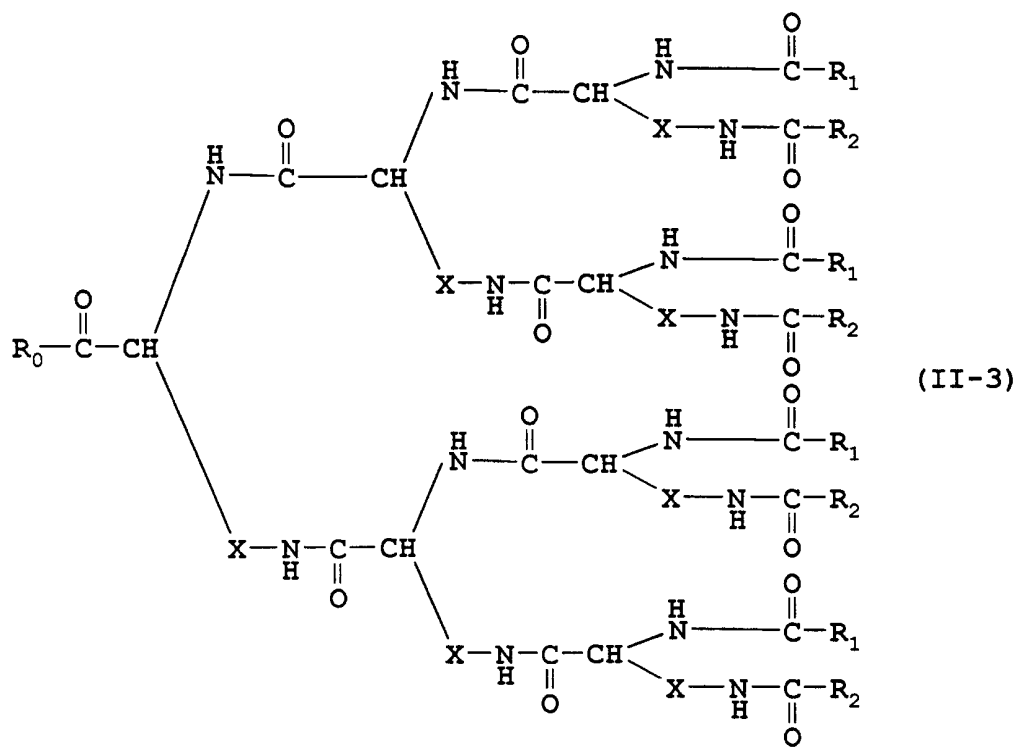
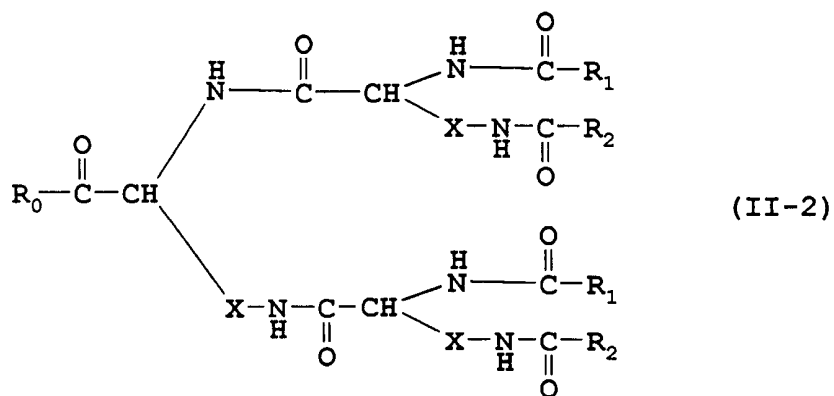
本発明の好ましい態様によれば、下記総括式 (II)

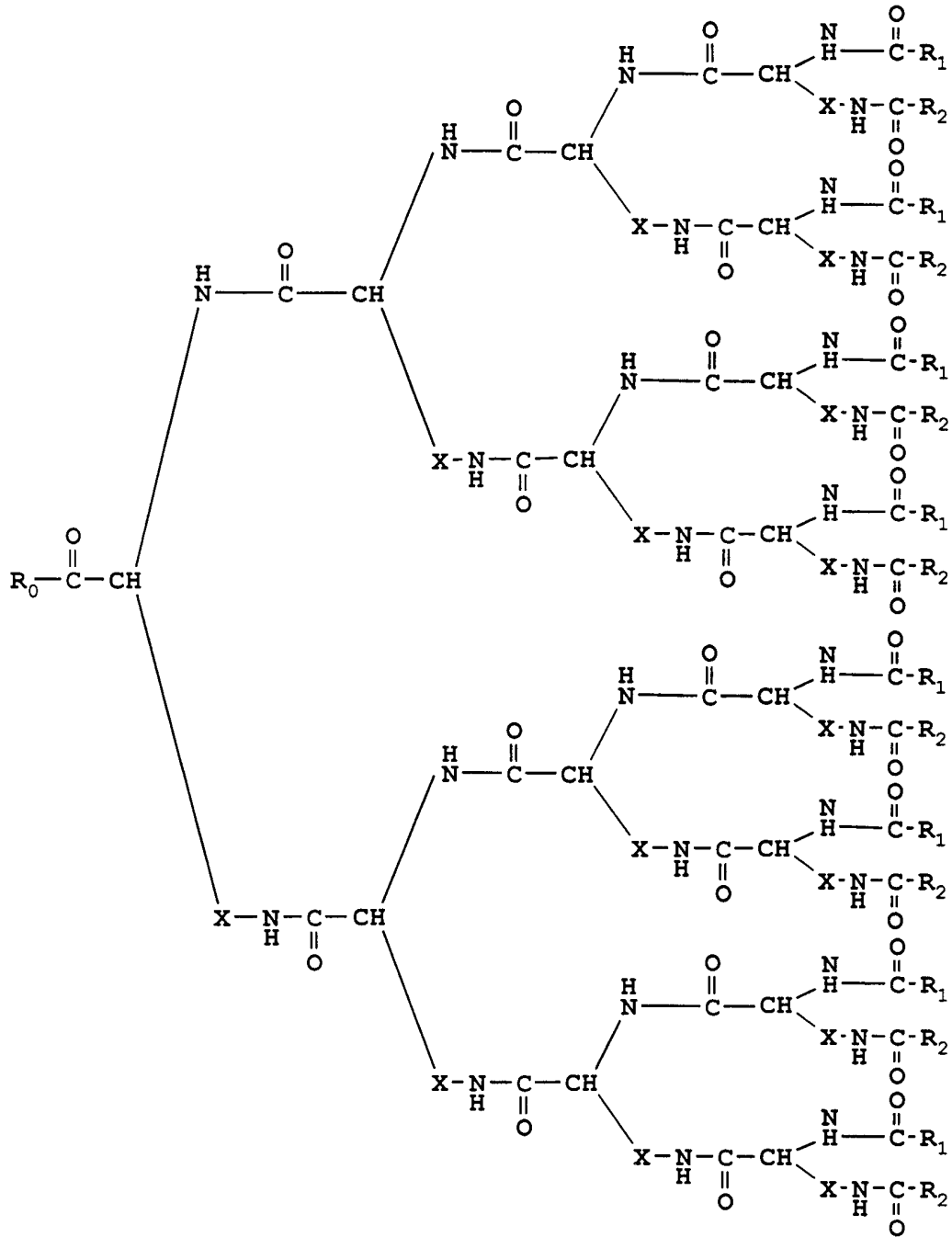
7



(ここで、 R_0 は、親水性基、 X は、 $-(\text{CH}_2)_4-$ 、または $-(\text{CH}_2)_p-\text{CO}-$ (ここで、 p は、1または2)、各 R_1 および各 R_2 は、それぞれ独立に、疎水性基、 n は1ないし4の整数)で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物が提供される。この総括式(II)で表される両親媒性化合物は、下記式(II-1)で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物、下記式(II-2)で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物、下記式(II-3)で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物および下記式(II-4)で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物からなる群の中から選ばれる。

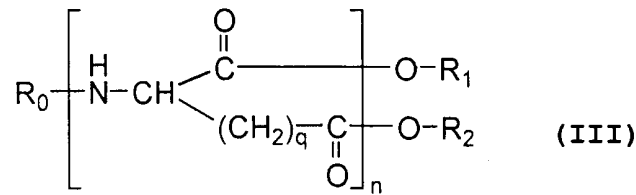




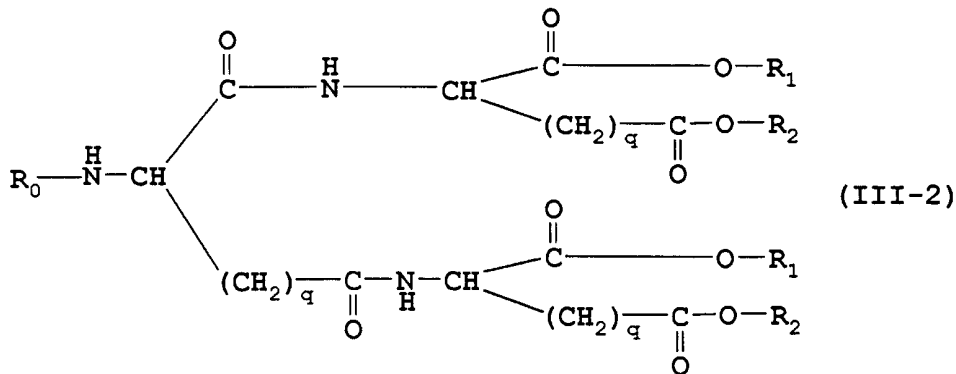
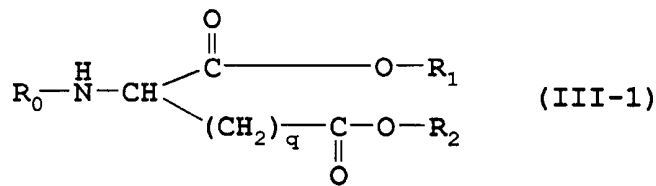


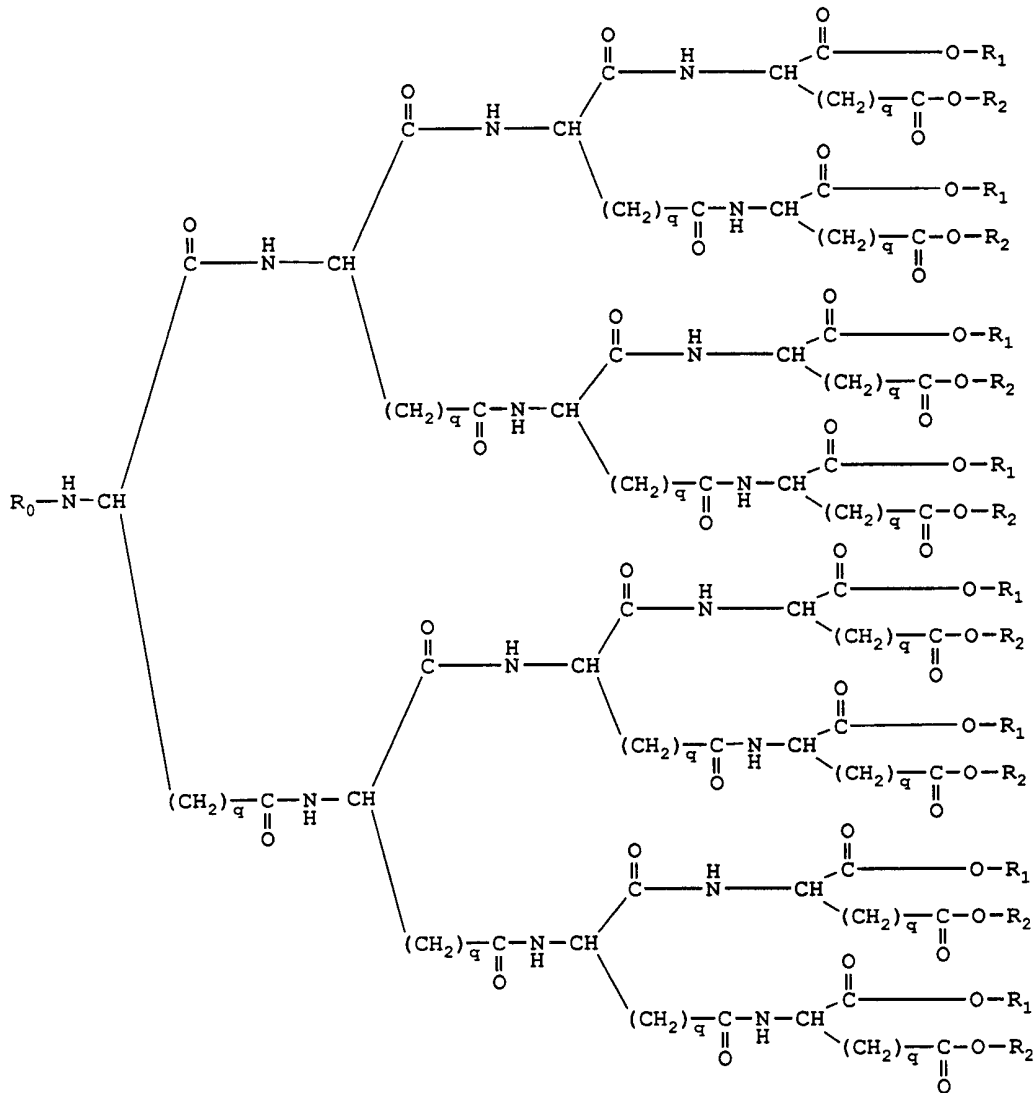
(II-4)

また、本発明の第2の好ましい態様によれば、下記総括式
(III) :



(ここで、R₀は、親水性基、各R₁および各R₂は、それぞれ独立に、疎水性基、nは1ないし4の整数、qは、1または2]で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物が提供される。この総括式(III)で表される両親媒性化合物は、下記式(III-1)で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物、下記式(III-2)で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物、下記式(III-3)で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物および下記式(III-4)で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物からなる群の中から選ばれる。





(III-4)

本発明において、n は、2 以上であることが好ましい。

また、本発明において、各 R₁ および各 R₂ は、アルキル基、特に 1 ~ 30 個の炭素原子を有するアルキル基であることが好ましい。

また、本発明において、R₀ は、ポリもしくはオリゴオキシエチレン誘導体、ポリもしくはオリゴサッカライド誘導体、またはポリもしくはオリゴペプチドであることが好ましい。

さらに、本発明において、 R_0 は、式： $R - (OCH_2CH_2)_mCH_2NH -$ または式： $R - (OCH_2CH_2)_mOCH_2C(O)NHCH_2CH_2NH -$ （ここで、 R は、 $H -$ 、 $CH_3 -$ 、 $CH_3C(O) -$ 、 $HOOCCH_2 -$ 、 $H_2NCH_2CH_2NH C(O)CH_2 -$ 、またはポリもしくはオリゴペプチドであり、 m は、 $1 \sim 3000$ である）で示すことができる。発明を実施するための最良の形態

本発明の分岐構造を持つ両親媒性化合物は、分岐末端にアミノ基、カルボキシル基、水酸基等の反応性官能基を、かつコア部にアミノ基、カルボキシル基、水酸基、チオール基等の反応性官能基を有するデンドロンを疎水性基（ R_1 および R_2 ）の供給源および親水性基（ R_0 ）の供給源と反応させて得られるものであり、分岐世代数 $1 \sim 5$ 程度までのものが適している。生体適合材料として用いる場合には、デンドロン部は、アミノ酸が好ましいが、これに限定されるものでない。アミノ酸としては、コア部に1つの反応性官能性基を有し、かつ2つの分岐末端にそれぞれ反応性官能基を有する三官能性アミノ酸が特に好ましく、その例を挙げると、リシン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸、セリン、トレオニン、チロシン等である。その中でも、コア部に第1の反応性官能基を、かつ2つの分岐末端に同じ第2の官能基を有する三官能性アミノ酸（1つの末端カルボキシル基と2つの末端アミノ基を有するリシン、グルタミン、アスパラギン等、あるいは1つの末端アミノ基と2つの末端カルボキシル基を有するアスパラギン酸、グルタミン酸等）が

より好ましく、特にリシンが好ましい。

本発明に用いられる疎水性基 (R_1 および R_2) は、デンドロンの分岐末端に共有結合にて導入されるものであればよく、各疎水性基は、同じであっても、異なってもよい。そのような疎水性基としては、脂肪族炭化水素類 (好ましくは、アルキル基)、ステロール類、イソプレノイド類、合成オリゴマーあるいはポリマー (スチレン、疎水性ペプチド等) を使用できる。親疎水バランスの厳密な調整には、脂肪族炭化水素基が適している。特に、炭素数が 1 ~ 30 の直鎖あるいは分岐鎖の疎水性基、特に炭化水素基 (とりわけ、アルキル基) が好ましく、その供給源としては、アミノ基、カルボキシル基または水酸基を有するものが用いられる。疎水性基に不飽和結合がある場合は、その数は、1 ~ 4 個であることが望ましい。

カルボキシル基を有する疎水性基の供給源には、脂肪酸が含まれ、その例を挙げると、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸、イソ吉草酸、カブロン酸、エナント酸、カプリル酸、ウンデカン酸、ラウリル酸、トリデカン酸、ミリスチン酸、ペンタデカン酸、パルミチン酸、マーガリン酸、ステアリン酸、ノナデカン酸、アラキン酸、ベヘン酸、パルミトレイン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸等であり、それぞれ分岐鎖体も含まれる。また、それらの酸無水物、または酸クロライドも含まれる。

アミノ基を有する疎水性基の供給源には、直鎖第一アミンとして、ドデシルアミン、トリデシルアミン、テトラデシル

アミン、ペンタデシルアミン、ヘキサデシルアミン、ヘプタデシルアミン、オクタデシルアミン、ドコシルアミン、オレイルアミン等が挙げられ、それらの分岐鎖体も含まれる。さらに分岐状のイソプレノイド等のアミンも使用できる。また、アミノ基を有する供給源には、N-メチル-ドデシルアミン、N-メチル-テトラデシルアミン、N-メチル-ヘキサデシルアミン、N-エチル-ドデシルアミン、N-エチル-テトラデシルアミン、N-エチル-ヘキサデシルアミン、N-プロピル-ドデシルアミン、N-プロピル-テトラデシルアミン、N-プロピル-ヘキサデシルアミン、ジオレイルアミン等の第二アミンも含まれ、それらの分岐鎖体も用いられる。

水酸基を有する疎水性基の供給源には、直鎖第一飽和アルコールとしてラウリルアルコール、セチルアルコール、ステアリルアルコール、ベヘニルアルコール等が挙げられ、その他、1, 1-ドデセノール、1-オレイアルコール、リノニルアルコール等の直鎖第一飽和アルコール、分岐第一飽和アルコール、分岐第一不飽和アルコール、第二飽和アルコールあるいは第二不飽和アルコールが挙げられる。また、これらアルコール類をグリセリンの1, 3-位あるいは1, 2-位に結合したジアルキルグリセロール、第一飽和アルコールおよび第一不飽和アルコールで構成されたジアルキルグリセロールが挙げられる。

疎水性基の供給源としてのステロール類の例を挙げると、コレステロール、コレスタノール、シトステロールおよびエルゴステロール等である。

本発明に用いられる親水性基 (R_0) に制限はなく、デンドロンのコア部に共有結合により導入できるものであればよい。生体適合材料として用いる場合は、ポリオキシエチレン誘導体、糖質 (オリゴ糖、多糖)、オリゴもしくはポリペプチド、またそれらを共有結合させたものが好ましいが、これらに限定されるものでない。

ポリオキシエチレン誘導体の例としては、分子量 (重量平均分子量、以下同じ) が 400 ~ 500, 000 程度の片末端、あるいは両末端にアミノ基、カルボキシル基、水酸基等の置換基を持つポリオキシエチレン、エチレングリコールの共重合体、またそれらの末端置換基を活性化した誘導体も含まれる。

糖質は還元性末端基を有するもので、分岐または直鎖の糖重合度が 2 ~ 400 のオリゴ糖や多糖であればよく、天然糖および合成糖のいずれでもよい。例えば、グルコース、フルクトース、キシロース、ガラクトース、マンノース、グルコサミン等の一種又は二種以上が α 結合または β 結合した糖で、例えば、マルトオリゴ糖、ラミナリオリゴ糖、セロオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、ゲンチオオリゴ糖、ニゲロオリゴ糖、ラクトオリゴ糖、メリオリゴ糖、イヌロオリゴ糖、多糖類ではでんぷん、プルラン、セルロース、ムコ多糖類 (ヒアルロン酸、コンドロイチン、コンドロイチン硫酸、デルマンタン硫酸、ケタラン硫酸、ヘパリン等) キチン、キトサン、その他多糖類の分解物、細胞、細菌由来の複合糖質等、モノデンドロンのコア部に共有結合にて導入できるものであればよい。

ポリもしくはオリゴペプチドの例として、インターロイキン等各種サイトカイン、細胞伝達因子、フィブリノーゲン、コラーゲン、ケラチン、プロテオグルカン等細胞外マトリックス剤としてのポリペプチドあるいはその構造の一部としてのオリゴ体、あるいはオキシトシン、ブラジキニン、チロトロピン放出因子、エンケファリン等の機能性ポリペプチドが挙げられる。オリゴペプチドは、通常、2個～10個のペプチド結合を有する。ポリペプチドは、通常、11個以上のペプチド結合を有する。なお、ポリもしくはオリゴペプチドは、例えば、(ポリ)オキシエチレン誘導体を介して結合させることもできる。その場合、スペーサーとなる(ポリ)オキシエチレン誘導体は、分子量100～100,000程度のポリオキシエチレンが好ましいが、これに限定されるものでなく、上記ポリオキシエチレン誘導体のように両末端に官能性基を有するものであればよい。

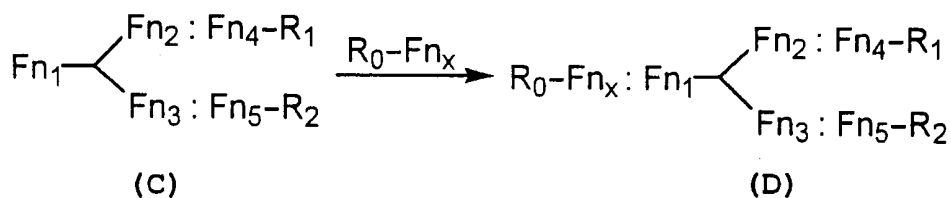
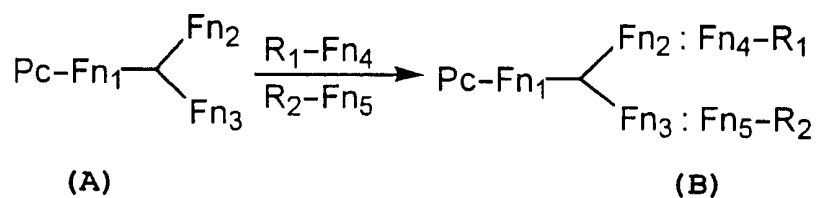
本発明において、好ましい親水性基 (R_0) は、 $R - (OCH_2CH_2)_mCH_2NH -$ または $R - (OCH_2CH_2)_mOCH_2C(O)NHCH_2CH_2NH -$ で示すことができ、ここで、 R は、 $H -$ 、 $CH_3 -$ 、 $CH_3C(O) -$ 、 $HOOCCH_2 -$ 、 $H_2NCH_2CH_2NHC(O)CH_2 -$ 、またはポリもしくはオリゴペプチドであり、 m は、1～3000である。ポリもしくはオリゴペプチドの例は上に挙げたとおりである。

なお、上記スペーサを介して結合させる機能性分子としては、ポリもしくはオリゴペプチドの他、そのフラグメント、

抗体、抗原、ペプチド、基質、酵素、糖質等が含まれる。

次に、総括式 (I) ~ (III) において $n = 1$ である場合に相当する本発明の分岐構造を持つ両親媒性化合物を合成するための代表的な方法を以下の合成ルート 1 に示す。

合成ルート 1 ($n=1$ の場合)



この合成ルート 1 は、コア部に反応性官能基 Fn_1 (カルボキシル基等) を有し、2つの分岐末端にそれぞれ反応性官能基 Fn_2 および Fn_3 (アミノ基、水酸基等) を有する三官能性 dendron から出発する合成ルートである。

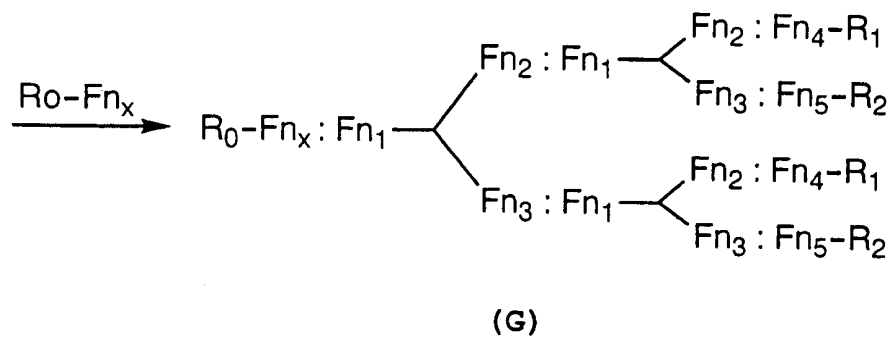
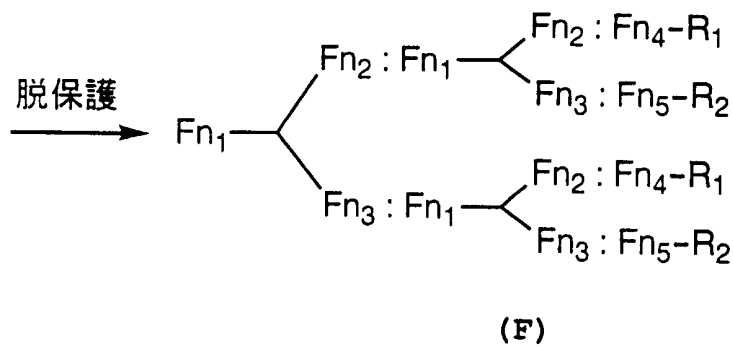
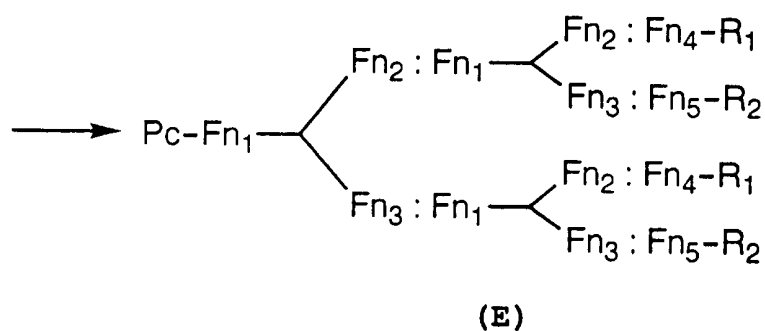
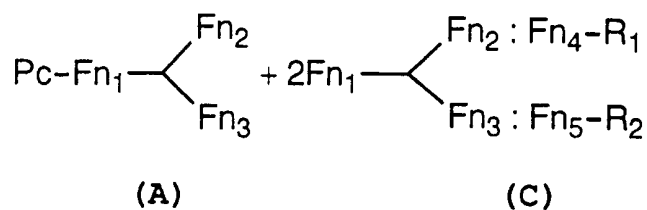
まず、dendron のコア部の官能基 Fn_1 を、必要に応じて、常法により保護基 Pc で保護して、化合物 (A) を得る。この保護は、官能基 Fn_1 がカルボキシル基である場合には、例えばベンジルアルコールを用いて行うことができる。次に、

この化合物 (A) を末端に反応性官能基 F_{n_4} を有する疎水性基の供給源 $R_1-F_{n_4}$ (例えば脂肪酸) および末端に反応性官能基 F_{n_5} を有する疎水性基の供給源 $R_2-F_{n_5}$ (例えば、脂肪酸) と反応させる。いうまでもなく、官能基 F_{n_2} と官能基 F_{n_4} 、および官能基 F_{n_3} と官能基 F_{n_5} とは、相互に反応してアミド結合、エステル結合等の共有結合を生成するものである。こうして、化合物 (B) が得られる。しかる後、この化合物 (B) を常法により脱保護して化合物 (C) に変換した後、末端に反応性官能基 F_{n_x} を有する親水性基の供給源 $R_0-F_{n_x}$ と反応させることにより、 $n=1$ である化合物 (D) が得られる。親水性基の供給源が両末端に反応性官能基を有する場合には、化合物 (D) を蛋白質等の機能性高分子とさらに反応させることができる。

なお、別法として、出発デンドロンの両分岐末端の官能基を必要に応じて保護しておき、コア部の官能基に親水性基を導入した後、得られた化合物の両分岐末端の脱保護を必要に応じて行い、上記と同様に疎水性基の供給源と反応させることによっても化合物 (D) を合成することができる。

次に、総括式 (I) ~ (III) において $n=2$ である場合に相当する本発明の分岐構造を持つ両親媒性化合物を合成するための代表的な方法を以下の合成ルート 2 に示す。

合成ルート 2 (n=2 の場合)



この場合は、合成ルート 1 に示す化合物 (A) を 2 倍モル量の化合物 (C) と反応させて化合物 (E) を合成し、これ脱保護して化合物 (F) に変換した後、親水性基の供給源である R_0-F_n と反応させることにより、 $n = 2$ である化合物 (G) が得られる。

なお、別法として、出発デンドロンの両分岐末端の官能基を必要に応じて保護しておき、コア部の官能基に親水性基 R_0 を導入した後、得られた化合物の両分岐末端の脱保護を行い、上記と同様に 2 倍モル量の化合物 (C) と反応させることによっても化合物 (G) を合成することができる。

また、総括式 (I) ~ (III) において $n = 3$ である場合に相当する両親媒性化合物は、上記化合物 (A) を 2 倍モル量の化合物 (F) と反応させ、得られた化合物 (化合物 (pre-H) という) に対し、上記と同様の脱保護と親水性基の導入を行うことによって合成することができる。得られる化合物は、前記式 (H)、式 (II-3)、式 (III-3) で示され得る。

さらに、総括式 (I) ~ (III) において $n = 4$ である場合に相当する両親媒性化合物は、上記化合物 (A) を 2 倍モル量の前記化合物 (pre-H) と反応させ、得られた化合物に対し、上記と同様の脱保護と親水性基の導入を行うことによって合成することができる。得られる化合物は、前記式 (J)、式 (II-4)、式 (III-4) で示され得る。

かくして、出発デンドロンとしてリシン、グルタミン、アスパラギン等を用いた場合には、総括式 (II) に相当する

両親媒性化合物が得られ、出発デンドロンとしてアスパラギン酸、グルタミン酸等を用いた場合には、総括式 (III) に相当する両親媒性化合物が得られる。

以下に実施例を挙げて本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらにより限定されるものではない。なお、以下の実施例における化合物 (誘導体) 1 ~ 22 の構造は、最後にまとめて示してある。

実施例 1

本実施例では、リシンをスペーサーとして親水部にポリオキシエチレン (PEG)、疎水部に 2 本のアルキル基を有する化合物 ($n = 1$) を合成した。

(A) まず、リシンのカルボキシル基に保護基を以下のようにして導入した。すなわち、L-リシン (5.1 g、35.2 mmol)、p-トルエンスルホン酸 (14.7 g、77.3 mmol) およびベンジルアルコール (14.0 g、124.1 mmol) を溶媒ベンゼン (30 mL) に溶解し、生成水を除去しながら、100 °C で 6 時間還流させた。溶媒を減圧除去した後、残分に対し、ジエチルエーテルにて再沈澱精製を 3 回行った。この精製した生成物をメタノール/ジエチルエーテルの混合溶媒から 4 °C で再結晶し、濾過し、乾燥してカルボキシル基をベンジルエステルで保護したリシン誘導体 1 を白色固体として得た (18.0 g、収率 88%)。

<リシン誘導体 1 の分析結果>

薄層クロマトグラフィー (シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール (4/1) (容量/容量) : R_f : 0.2 (モ

ノスポット)。

赤外吸収スペクトル (cm^{-1}): 3034; 2952 [$\nu_{\text{N-H}}$ (NH_3^+)] ; 1749 [$\nu_{\text{C=O}}$ (エステル)] ; 1600 [$\delta_{\text{N-H}}$ (NH_3^+)]。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (DMSO-d₆, 500MHz, δ (ppm)): 1.28, 1.40 (m, 2H, lys β -CH₂) ; 1.51 (m, 2H, lys γ -CH₂) ; 1.80 (m, 2H, lys δ -CH₂) ; 2.29 (s, 6H, -CH₃) ; 2.70 (m, 2H, lys ϵ -CH₂) ; 4.09 (s, 1H, lys α -CH₂) ; 5.25 (s, 2H, -CH₂-) ; 7.12, 7.48 (8H, p-Tos-aroma.) ; 7.35-7.42 (5H, aroma.) ; 7.67, 8.38 (s, 6H, -NH₃⁺)。

(B) リシン誘導体 1 のアミノ基に疎水性基としてアルキル基を以下のようにして導入した。すなわち、パルミチン酸 (3.2 g、12.4 mmol) と N, N' -ジシクロヘキシルカルボジイミド (2.6 g、12.4 mmol) を溶媒クロロホルムに溶解し、25℃で30分間攪拌した後、リシン誘導体 1 (3.0 g、5.12 mmol) とトリエチルアミン (1.2 g、11.4 mmol) を添加した。この反応混合物を4℃で12時間攪拌し、グラスフィルター (G4) で濾過した後、溶媒を減圧除去した。残分をクロロホルム (100 mL) に再溶解し、炭酸ナトリウム飽和水溶液で3回、水で3回洗浄した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、溶媒を減圧除去した。メタノール (200 mL) から4℃で再結晶させ、濾過し、乾燥して各アミノ基にそれぞれアルキル基をアミド結合させたリシン誘導体 2 を白色固体

として得た (2.9 g、収率79%)。

<リシン誘導体2の分析結果>

薄層クロマトグラフィー (シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール (4/1) (容量/容量) : Rf : 0.53 (モノスポット))。

赤外吸収スペクトル (cm^{-1}) : 3311 ($\nu_{\text{N-H}}$ (アミド)) ; 1748 ($\nu_{\text{C=O}}$ (エステル)) ; 1640 ($\nu_{\text{C=O}}$ (アミド)) ; 1553 ($\delta_{\text{N-H}}$ (アミド))。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , 500 MHz, δ (ppm)) : 0.85 (t, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 1.23 (s, 50H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, lys γ - CH_2) ; 1.46 (m, 2H, lys δ - CH_2) ; 1.58 (m, 4H, $-\text{N}-\text{CO}-\text{C}-\text{CH}_2-$) ; 1.66, 1.82 (m, 2H, lys β - CH_2) ; 2.12, 2.20 (t, 4H, $-\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-$) ; 3.16 (m, 2H, lys ε - CH_2) ; 4.58 (m, 1H, lys α - CH_2) ; 5.13 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$) ; 5.65 (br, 1H, $-\text{NH}-\text{CO}-$) ; 6.16 (d, 1H, $-\text{NH}-\text{CO}-$) ; 7.29-7.37 (5H, aroma.)。

(C) リシン誘導体2 (1.52 g、2.13 mmol) をクロロホルム/メタノール混合溶媒 (10/7 (容量/容量)) に溶解させ、1規定の水酸化ナトリウム水溶液 (3.4 mL) を添加した。この反応混合物を25°Cで4時間攪拌した後、1規定塩酸水溶液を添加し (pH 3.0まで)、溶媒を減圧除去した。残分を水およびメタノールで洗浄し、乾燥してジパルミトイルリシン誘導体3を白色固体として得た (1.3 g、収率98%)。

<ジパルミトイルリシン誘導体 3 の分析結果>

薄層クロマトグラフィー（シリカゲルプレート、クロロホルム／メタノール（4／1）（容量／容量）：R f：0.45（モノスポット））。

I R (cm⁻¹): 3305 (ν_{N-H} (アミド)); 1721 (ν_{C=O} (カルボニル)); 1638 (ν_{C=O} (アミド)); 1553 (δ_{N-H} (アミド))。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz, δ (ppm)): 0.84 (t, 6H, -CH₃); 1.24 (s, 50H, -CH₂-CH₂-, lys γ-CH₂); 1.36 (m, 2H, lys δ-CH₂); 1.47 (m, 4H, -N-CO-C-CH₂-); 1.55, 1.67 (m, 2H, lys β-CH₂); 2.02, 2.09 (t, 4H, -N-CO-CH₂-); 2.99 (m, 2H, lys ε-CH₂); 4.14 (m, 1H, lys α-CH₂); 7.55 (br, 1H, -NH-CO-); 7.78 (d, 1H, -NH-CO-); 12.23 (br, 1H, -COOH)。

MS (FAB): C₃₈H₇₄N₂O₄についての計算値: 623.0; 実測値: 623.5 (M⁺H)⁺。

C₃₈H₇₄N₂O₄についての元素分析:

計算値: C 73.26; H 11.97; N 4.50;

実測値: C 72.39; H 12.43; N 4.74。

(D) パルミチン酸の代わりにミリスチン酸、ステアリン酸を用いた以外は上記 (B) および (C) と同様の操作により、それぞれ白色固体のジアルキルリシン誘導体 (ジミリスチルリシン誘導体 4 およびジステアロイルリシン誘導体 5) を得た。

<ジミリストイルリシン誘導体 4 の分析結果>

薄層クロマトグラフィー (シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール (4/1) (容量/容量): Rf : 0.40 (モノスポット))。

IR (cm^{-1}): 3305 ($\nu_{\text{N-H}}$ (アミド));
1721 ($\nu_{\text{C=O}}$ (カルボニル)); 1638 ($\nu_{\text{C=O}}$ (アミド));
1553 ($\delta_{\text{N-H}}$ (アミド))。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO、500 MHz、 δ (ppm)):
0.84 (t, 6H, $-\text{CH}_3$); 1.24 (s, 42H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$,
lys γ - CH_2); 1.36 (m, 2H, lys δ - CH_2); 1.47 (m,
4H, $-\text{N}-\text{CO}-\text{C}-\text{CH}_2-$); 1.55, 1.67 (m, 2H, lys β -
 CH_2); 2.02; 2.09 (t, 4H, $-\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-$); 2.99 (m,
2H, lys ϵ - CH_2); 4.14 (m, 1H, lys α - CH_2);
7.55 (br, 1H, $-\text{NH}-\text{CO}-$); 7.78 (d, 1H, $-\text{NH}-\text{CO}-$);
12.23 (br, 1H, $-\text{COOH}$)。

<ジステアロイルリシン誘導体 5 の分析結果>

薄層クロマトグラフィー (シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール (4/1) (容量/容量): Rf : 0.53 (モノスポット))。

IR (cm^{-1}): 3305 ($\nu_{\text{N-H}}$ (アミド)); 1721
($\nu_{\text{C=O}}$ (カルボニル)); 1638 ($\nu_{\text{C=O}}$ (アミド)); 1553
($\delta_{\text{N-H}}$ (アミド))。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 、500 MHz、 δ (ppm)):
0.87 (t, 6H, $-\text{CH}_3$); 1.24 (s, 56H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$);
1.36 (m, 2H, lys γ - CH_2); 1.48 (m, 2H, lys δ -

CH₂) ; 1.59 (m, 4H, -N-CO-C-CH₂-) ; 1.74, 1.86 (m, 2H, lys β-CH₂) ; 2.15, 2.23 (t, 4H, -N-CO-CH₂-) ; 3.17, 3.29 (m, 2H, lys ε-CH₂) ; 4.40 (m, 1H, lys α-CH₂) ; 5.88 (br, 1H, -NH-CO-) ; 6.75 (d, 1H, -NH-CO-) ; 12.23 (br, 1H, -COOH)。

(E) ジパルミトイルリシン誘導体 3 とポリオキシエチレンとを以下のようにして結合させた。すなわち、ジパルミトイルリシン誘導体 3 (125 mg、0.2 mmol) と DCC (41 mg、0.2 mmol) をクロロホルムに溶解し、4 °C で 1 時間攪拌した後、分子量 5,000 のモノメトキシアミノポリオキシエチレン (500 mg、0.1 mmol) とジメチルアミノピリジン (24 mg、0.2 mmol) を溶解したクロロホルム溶液中に滴下した。この反応混合物を 25 °C で 6 時間攪拌した後、グラスフィルター (G4) で濾過し、濾液をジエチルエーテルに滴下した。沈澱物を濾過回収し、乾燥した後、シリカゲルカラム (溶媒 : クロロホルム / メタノール = 6 / 1 (容量 / 容量)) で本発明の両親媒性化合物 6 を単離した (500 mg、収率 88%)。

< 誘導体 6 の分析結果 >

薄層クロマトグラフィー [シリカゲルプレート、クロロホルム / メタノール (4 / 1) (容量 / 容量)] : R_f : 0.73 (モノスポット)。

I R (cm⁻¹) : 3294 (ν_{N-H} (アミド)) ; 1634 (ν_{C=O} (アミド)) ; 1553 (δ_{N-H} (アミド))。

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz, δ (ppm)) :

28

0.88 (t, 6H, -CH₃) ; 1.25 (s, 50H, -CH₂-CH₂-, lys γ-CH₂) ; 1.32 (m, 2H, lys δ-CH₂) ; 1.63-1.80 (8H, -CH₂-C-N-, -N-CO-C-CH₂-, lys β-CH₂) ; 2.27, 2.38 (t, 4H, -N-CO-CH₂-) ; 3.29 (m, 2H, lys ε-CH₂) ; 3.38 (3H, -O-CH₃) ; 3.43 (2H, -CH₂-NH-) ; 3.66 (PEG) ; 4.39 (m, 1H, lys α-CH₂),

¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz, δ (ppm)) :
14.12; 22.68; 25.74; 28.75; 29.34; 29.53;
29.65; 31.92; 36.35; 38.13; 59.02; 70.44;
71.95。

C₂₆₈H₅₃₅N₃O₁₁₈についての元素分析 :

計算値 : C 56.59; H 9.48; N 0.739; O 33.19;

実測値 : C 56.88; H 9.87; N 1.07; O 32.18。

(F) 上記 (E) と同様の操作により、ポリオキシエチレンの分子量と疎水基が異なる組合せで次の化合物を得た。分析結果の詳細は省略するが、¹H-NMRスペクトルによりアルキル鎖数の指標となるアルキル鎖末端メチルプロトンA (0.88 ppm, 3H×アルキル鎖本数) とポリオキシエチレン末端メチルプロトンB (3.38 ppm, 3H) の面積比を以下に示す。

ポリオキシエチレン (分子量5,000) とジミリスチルリシン誘導体4 (A/B=2.0)、ポリオキシエチレン (分子量5,000) とジステアロイルリシン誘導体5 (A/B=2.0)、ポリオキシエチレン (分子量12,000) とジステアロイルリシン誘導体5 (A/B=2.0)、

ポリオキシエチレン（分子量 20,000）とジステアロイルリシン誘導体 5（A/B = 1.9）。

実施例 2

本実施例では、4本のアルキル基を有する化合物（n = 2）を以下のようにして合成した。

(A) ジパルミトイルリシン誘導体 3（600 mg、0.96 mmol）と DCC（200 mg、0.96 mmol）をクロロホルムに溶解し、4℃で1時間攪拌した後、リシン誘導体 1（278 mg、0.48 mmol）とジメチルアミノピリジン（120 mg、0.96 mmol）を溶解したクロロホルム溶液に滴下した。この反応混合物を25℃で6時間攪拌した後、グラスフィルター（G4）で濾過し、濾液をジエチルエーテルに滴下した。沈澱物を濾過回収し、乾燥した後、シリカゲルカラム（溶媒：クロロホルム/メタノール = 6/1（容量/容量））で精製した。得られた化合物をクロロホルムに溶解させ、パラジウムカーボン存在下、水素ガスにて接触還元して保護基を除去した。この反応混合物を濾過した後、クロロホルムから4℃で再結晶してテトラパルミトイルリシン誘導体 7 を単離した（358 mg、収率 55%）。

<テトラパルミトイルリシン誘導体 7 の分析結果>

薄層クロマトグラフィー [シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール（4/1）（容量/容量）]：R_f：0.45（モノスポット）。

I R (cm⁻¹): 3305 (ν_{N-H} (アミド)); 1636 (ν_{C=O} (アミド)); 1555 (δ_{N-H} (アミド)) 。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 500 MHz, δ (ppm)) :
 0.86 (t, 12H, -CH₃) ; 1.24 (s, 102H, -CH₂-CH₂-,
 lys γ -CH₂) ; 1.51 (br, 6H, lys δ -CH₂) ; 1.60
 (8H, -N-CO-C-CH₂-) ; 1.82 (br, 6H, lys β -
 CH₂) ; 2.15 (br, 8H, -N-CO-CH₂-) ; 3.22 (br, 6H,
 lys ϵ -CH₂) ; 4.43 (br, 3H, lys α -CH₂) ; 5.70-
 6.75 (br, 6H, -NH-CO-, lys α -CH₂)。

(B) ジパルミトイルリシン誘導体 3 の代わりにジミリス
 トイルリシン誘導体 4、ジステアロイルリシン誘導体 5 を用
 いて、上記 (A) と同様の操作によりそれぞれ白色固体のテ
 トラアルキルリシン誘導体 (テトラミリストイルリシン誘導
 体 8、テトラステアロイルリシン誘導体 9) を得た。

<テトラミリストイルリシン誘導体 8 の分析結果>

薄層クロマトグラフィー [シリカゲルプレート、クロロホル
 ム/メタノール (4/1) (容量/容量)] : Rf : 0.42 (モ
 ノスポット)。

IR (cm⁻¹) : 3305 ($\nu_{\text{N-H}}$ (アミド)) ; 1636 ($\nu_{\text{C=O}}$
 (アミド)) ; 1555 ($\delta_{\text{N-H}}$ (アミド)) 。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 500 MHz, δ (ppm)) :
 0.86 (t, 12H, -CH₃) ; 1.24 (s, 86H, -CH₂-CH₂-,
 lys γ -CH₂) ; 1.51 (br, 6H, lys δ -CH₂) ; 1.60
 (8H, -N-CO-C-CH₂-) ; 1.82 (br, 6H, lys β -CH₂)、
 2.15 (br, 8H, -N-CO-CH₂-) ; 3.22 (br, 6H, lys
 ϵ -CH₂) ; 4.43 (br, 3H, lys α -CH₂) ; 5.70-6.75
 (br, 6H, -NH-CO-, lys α -CH₂)。

<テトラステアロイルリシン誘導体 9 の分析結果>

薄層クロマトグラフィー [シリカゲルプレート、クロロホルム / メタノール (4 / 1) (容量 / 容量)] : R f : 0.48 (モノスポット)。

I R (cm⁻¹) 3305 (ν_{N-H} (アミド)) ; 1636 (ν_{C=O} (アミド)) ; 1555 (δ_{N-H} (アミド))。

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz, δ (ppm)) :
0.86 (t, 12H, -CH₃) ; 1.24 (s, 118H, -CH₂-CH₂-, lys γ-CH₂) ; 1.51 (br, 6H, lys δ-CH₂) ; 1.60 (8H, -N-CO-C-CH₂-) ; 1.82 (br, 6H, lys β-CH₂) ; 2.15 (br, 8H, -N-CO-CH₂-) ; 3.22 (br, 6H, lys ε-CH₂) ; 4.43 (br, 3H, lys α-CH₂) ; 5.70-6.75 (br, 6H, -NH-CO-, lys α-CH₂)。

(C) テトラアルキルリシン誘導体 7 とポリオキシエチレンを以下のようにして結合させた。すなわち、テトラアルキルリシン誘導体 7 (280 mg、0.2 mmol) と DCC (41 mg、0.2 mmol) をクロロホルムに溶解し、4 °C で 1 時間攪拌した後、分子量 5,000 のモノメトキシアミノポリオキシエチレン (500 mg、0.1 mmol) とジメチルアミノピリジン (24 mg、0.2 mmol) を溶解したクロロホルム溶液に滴下した。この反応混合物を 25 °C で 24 時間攪拌した後、ガラスフィルター (G4) で濾過し、濾液をジエチルエーテルに滴下した。沈澱物を濾過回収し乾燥した後、シリカゲルカラム (溶媒 : クロロホルム / メタノール = 6 / 1 (容量 / 容量)) で本発明の両親媒性化合物 10 を

単離した (448 mg、収率70%)。

化合物10の分析結果：

薄層クロマトグラフィー [シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール (4/1) (容量/容量)] : R f : 0.78 (モノスポット)。

I R (c m⁻¹) : 3305 (ν_{N-H} (アミド)) ; 1638 (ν_{C=O} (アミド))、1556 (δ_{N-H} (アミド))。

¹H-NMR (C D C l₃、500 MHz、δ (ppm)) :
0.88 (t, 12H, -CH₃) ; 1.25 (s, 110H, -CH₂-CH₂-, lys γ-CH₂) ; 1.35-1.90 (br, 22H, lys δ-CH₂, -CH₂-C-N-, -N-CO-C-CH₂-, lys β-CH₂) ; 2.00-2.45 (br, 8H, -N-CO-CH₂-) ; 3.30 (br, 6H, lys ε-CH₂) ; 3.38 (s, 3H, -O-CH₃) ; 3.43 (br, 2H, -CH₂-NH-) ; 3.66 (PEG) ; 4.48 (br, 3H, lys α-CH₂)。

¹³C-NMR (C D C l₃、500 MHz、δ (ppm)) :
14.12; 22.68, 25.79; 26.15; 29.36; 29.42; 29.59; 29.72; 31.93; 59.03; 70.58; 71.95。

(D) 上記(C)と同様の操作により、ポリオキシエチレンの分子量と疎水基が異なる組合せで次の化合物を得た。分析結果の詳細は省略するが、¹H-NMRスペクトルによりアルキル鎖数の指標となるアルキル鎖末端メチルプロトンA (0.88 ppm、3H×アルキル鎖本数) とポリオキシエチレン末端メチルプロトンB (3.38 ppm、3H) の面積比を以下に示す。

ポリオキシエチレン（分子量 12,000）とテトラパルミトイルリシン誘導体 7（A/B = 3.9）、ポリオキシエチレン（分子量 12,000）とテトラステアロイルリシン誘導体 9（A/B = 4.0）、ポリオキシエチレン（分子量 20,000）とテトラステアロイルリシン誘導体 9（A/B = 4.0）。

実施例 3

4本のアルキル基を有する化合物は以下の合成法でも得ることができる。

(A) まず、L-リシン（1.5 g、10.3 mmol）と無水 t-ブトキシカルボニル（6.3 g、29.0 mmol）をジオキサン（20 mL）、水（10 mL）および 1 規定 NaOH（10 mL）の混合溶媒に溶解し、25℃で6時間攪拌した。この反応混合物を減圧下 10 mLまで濃縮し、ヘキサンにて再沈澱精製を行った。この沈殿を水（20 mL）に溶解し、濾過した後、濾液を凍結乾燥してアミノ基を t-ブトキシカルボニル基（Boc）で保護したリシン誘導体 11 を白色固体として得た（2.64 g、収率 74%）。

<リシン誘導体 11 の分析結果>

薄層クロマトグラフィー（シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール（4/1）（容量/容量）：R_f : 0.50（モノスポット））。

¹H-NMR（CDCl₃、500 MHz、δ（ppm））：
1.27-1.58（22H, -CH₃, lys γ-CH₂, lys δ-CH₂）；
1.74, 1.87（br, 2H, lys β-CH₂）；3.12（br, 2H,

lys ϵ -CH₂) ; 4.29 (br, 1H, lys α -CH₂) ; 4.63, 5.21 (br, 2H, -NH-COO-).

(B) リシン誘導体 11 (83 mg、0.24 mmol) と DCC (50 mg、0.24 mmol) をクロロホルムに溶解し、4℃で1時間攪拌した後、モノメトキシアミノポリオキシエチレン (1.0 g、0.2 mmol) とジメチルアミノピリジン (24 mg、0.2 mmol) を溶解したクロロホルム溶液に滴下した。この反応混合液を25℃で6時間攪拌した後、グラスフィルター (G4) で濾過し、濾液をジエチルエーテルに滴下した。沈澱物を濾過回収し乾燥してポリオキシエチレンの片末端にリシンを結合させた化合物 12 を得た (0.97 g、収率90%)。

<化合物 12 の分析結果>

薄層クロマトグラフィー (シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール (4/1) (容量/容量) : R_f : 0.62 (モノスポット)。

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz, δ (ppm)) :
1.36 (m, 2H, lys γ -CH₂) ; 1.44 (s, 18H, -CH₃) ;
1.49 (m, 2H, lys δ -CH₂) ; 1.60, 1.83 (m, 2H, lys β -CH₂) ; 1.78 (t, 2H, -CH₂-C-N-) ; 3.08 (t, 2H, -CH₂-N-) ; 3.3-3.4 (m, 2H, lys ϵ -CH₂) ;
3.36 (s, 3H, -O-CH₃) ; 3.64 (PEG) ; 4.03 (m, 1H, lys α -CH₂) ; 4.70, 5.30 (2H, -NH-COO-) ; 6.79 (1H, -NH-CO-).

(C) 化合物 12 (0.5 g、0.09 mmol) を TFA

(5 mL) に溶解し、4 °C で1時間攪拌した後、ジエチルエーテルに滴下した。沈澱物を濾過回収し乾燥して化合物13を得た(0.44 g、収率91%)。

<化合物13の分析結果>

薄層クロマトグラフィー(シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール(4/1)(容量/容量): Rf : 0.32 (モノスポット))。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 500 MHz, δ (ppm)) :
1.60 (m, 2H, lys γ -CH₂) ; 1.8-1.9 (m, 4H, -CH₂-C-N-, lys δ -CH₂) ; 2.05 (m, 2H, lys β -CH₂) ;
3.06 (t, 2H, -CH₂-N-CO-) ; 3.25-3.40 (m, 2H, lys ϵ -CH₂) ; 3.38 (s, 3H, -O-CH₃)、3.65 (PEG)、
4.15 (m, 1H, lys α -CH₂) ; 7.64, 7.83, 8.41 (br, 7H, -NH-CO-, -NH₃⁺)。

(D) 実施例1により得られたジパルミトイルリシン誘導体3(100 mg、0.15 mmol)とDCC(30 mg、0.15 mmol)をクロロホルムに溶解し、25 °Cで1時間攪拌した後、上記により得られた化合物13(200 mg、0.038 mmol)とジメチルアミノピリジン(4.5 mg、0.037 mmol)のクロロホルム溶液に滴下した。25 °Cで6時間攪拌した後、この反応混合物をジエチルエーテルに滴下した。沈澱物を濾過回収した後、シリカゲルカラム[溶媒:クロロホルム/メタノール=6/1(容量/容量)]で本発明の両親媒性化合物14を単離した(180 mg、収率78%)。

<化合物 14 の分析結果>

薄層クロマトグラフィー [シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール (4/1) (容量/容量)] : R f : 0.78 (モノスポット)。

I R (cm^{-1}) : 3305 ($\nu_{\text{N-H}}$ (アミド)) ; 1638 ($\nu_{\text{C=O}}$ (アミド)) ; 1556 ($\delta_{\text{N-H}}$ (アミド))。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz, δ (ppm)) :
0.88 (t, 12H, $-\text{CH}_3$) ; 1.25 (s, 110H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, lys γ - CH_2) ; 1.35-1.90 (br, 22H, lys δ - CH_2 , $-\text{CH}_2-\text{C}-\text{N}-$, $-\text{N}-\text{CO}-\text{C}-\text{CH}_2-$, lys β - CH_2) ; 2.00-2.45 (br, 8H, $-\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-$) ; 3.30 (br, 6H, lys ϵ - CH_2) ; 3.38 (s, 3H, $-\text{O}-\text{CH}_3$) ; 3.43 (br, 2H, $-\text{CH}_2-\text{NH}-$) ; 3.66 (PEG) ; 4.48 (br, 3H, lys α - CH_2)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz, δ (ppm)) :
14.12 ; 22.68 ; 25.79 ; 26.15 ; 29.36 ; 29.42 ;
29.59 ; 29.72 ; 31.93 ; 59.03 ; 70.58 ; 71.95。

$\text{C}_{312}\text{H}_{619}\text{N}_7\text{O}_{121}$ についての元素分析 :

計算値 : C 58.51 ; H 9.74 ; N 1.53 ; O 30.22 ;

実測値 : C 58.20 ; H 10.04 ; N 1.71 ; O 30.05。

実施例 4

本実施例では、8本のアルキル基を有する化合物 ($n = 3$) を以下のようにして合成した。

すなわち、実施例 2 により得られたステアロイル誘導体 9 (50 mg, 0.043 mmol) と DCC (8.2 mg, 0.04 mmol) をクロロホルムと DMF の混合溶媒に溶解させ

25℃で1時間攪拌した後、化合物13 (77 mg、0.015 mmol) とジメチルアミノピリジン (2 mg、0.017 mmol) のクロロホルム溶液に滴下した。この反応混合物を25℃で48時間攪拌した後、ジエチルエーテルに滴下した。沈殿物を濾過回収した後、シリカゲルカラム [溶媒：クロロホルム/メタノール=6/1 (容量/容量)] で本発明の両親媒性化合物15を単離した (83 mg、収率78%)。

<化合物15の分析結果>

薄層クロマトグラフィー [シリカゲルプレート、クロロホルム/メタノール (4/1) (容量/容量)] : R_f : 0.78 (モノスポット)。

I R (cm⁻¹) : 3305 (ν_{N-H} (アミド)) ; 1638 (ν_{C=O} (アミド)) ; 1556 (δ_{N-H} (アミド))。

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz, δ (ppm)) :
0.88 (t, 24H, -CH₃) ; 1.25 (s, 254H, -CH₂-CH₂-, lys γ-CH₂) ; 1.35-1.90 (br, 46H, lys δ-CH₂, -CH₂-C-N-, -N-CO-C-CH₂-, lys β-CH₂) ; 2.00-2.45 (br, 16H, -N-CO-CH₂-) ; 3.30 (br, 14H, lys ε-CH₂) ; 3.38 (s, 3H, -O-CH₃) ; 3.66 (PEG) ; 4.48 (br, 7H, lys α-CH₂)。

実施例 5

本実施例では、オリゴ糖を親水部として有する両親媒性化合物を以下のようにして合成した。

(A) L-グルタミン酸 (3.0 g、20.4 mmol)、p-トルエンスルホン酸 (3.9 g、20.4 mmol) および

ステアリルアルコール (11.0 g、40.8 mmol) をベンゼン (60 mL) に溶解させ生成水を除去しながら 100 °C で 14 時間還流する。ベンゼン層を炭酸ナトリウム飽和水溶液で 3 回、水で 3 回洗浄した後、溶媒を減圧除去する。残渣をメタノールから 4 °C で再結晶して濾過後、乾燥してグルタミン酸ジアルキル誘導体 16 を白色固体として得た (11.7 g、収率 88%)。

I R によるエステル結合由来のピーク (1736 cm^{-1}) の出現から目的物の生成を確認した。

(B) マルトヘプタオース (0.5 g、0.43 mmol) とグルタミン酸 (0.096 g、0.65 mmol) を DMF に溶解し、60 °C で 2.5 時間攪拌した後、マルトヘプタオースの還元末端にグルタミン酸を結合させた。さらに、DCC を用いてグルタミン酸ジアルキル誘導体 16 をアミド結合で導入した。アセトンからの再沈殿と水洗により精製し、4 本のアルキル基を有するマルトヘプタオース誘導体 17 (本発明の両親媒性化合物) を得た (0.4 g、収率 60%)。¹ H-NMR (DMSO-d₆) によるアルキル基末端メチルプロトン (0.88 ppm) とマルトヘプタオース部のプロトン (2.7~6.0) の積分比より 4 本のアシル鎖が結合していることを確認した。また、同様の方法によりデキストラン (平均分子量: 2 万) 誘導体 18 (収率 50%) を得た。

実施例 6

本実施例では、オリゴペプチドを親水部として有する両親媒性化合物を合成した。

(A) 実施例 2 で得られたテトラステアロイルリシン誘導体 9 (100 mg、0.068 mmol) と DCC (14 mg、0.068 mmol) をクロロホルムに溶解し、25℃で1時間攪拌した後、活性エステル化試薬であるN-ヒドロキシスクシンイミド (0.8 mg、0.070 mmol) を添加して25℃で6時間攪拌した。赤外吸収スペクトルによるエステル結合由来のピークの出現 (1730 cm^{-1}) によりテトラステアロイルリシン誘導体 9 のカルボキシル基を活性エステルとした誘導体 19 の生成を確認した。

(B) グルタミン酸の直鎖型オリゴマー (15~20量体) (100 mg) と誘導体 19 を DMF に溶解して4℃で12時間攪拌した。反応溶液を濾過して濾液を減圧乾固した。残渣をクロロホルムに溶解し、不溶成分を除去した後、水で3回洗浄した。クロロホルム層を乾固した後、メタノールから4℃で再結晶して、テトラアルキルオリゴペプチド誘導体 (本発明の両親媒性化合物) 20 (110 mg) を得た。

実施例 7

本実施例では、蛋白質を結合させた両親媒性化合物として、末端カルボキシル基をスクシンイミドで活性化したポリオキシエチレンをスペーサーとして、ミオグロビンを疎水性基に結合させた化合物を合成した。

(A) まず、末端に疎水性基と活性エステル基を有するポリオキシエチレン誘導体を以下のように合成した。得られる化合物は遊離アミノ基を有する全ての蛋白質に結合できる。

分子量 3,000 の両末端カルボキシル基のポリオキシエ

チレン (3 g、1 mmol) と DCC (206 mg、1 mmol) を蒸留クロロホルム (10 mL) に溶解させ、5 °C で 30 分間攪拌した。析出したジシクロヘキシル尿素をガラスフィルター (G4) で濾過した後、蒸留クロロホルム (90 mL) を加えて、エチレンジアミン無水物 (610 mg、10.1 mmol) のクロロホルム溶液に滴下し、0 °C で 24 時間攪拌した。この反応混合物をロータリーエバポレータで濃縮乾固し、未反応のエチレンジアミンを減圧留去した後、アルミナカラム (溶媒: クロロホルム / エタノール / 水 = 8 / 3 / 1) により一末端にカルボキシル基、他末端にアミノ基を有するポリオキシエチレンを単離した (978 mg、収率 33%)。

一方、実施例 2 で得られたテトラステアロイルリシン誘導体 9 (100 mg、0.068 mmol) と DCC (14 mg、0.068 mmol) をクロロホルムに溶解し、25 °C で 1 時間攪拌した後、活性エステル化試薬である N-ヒドロキシスクシンイミド (8.0 mg、0.070 mmol) を添加して 25 °C で 6 時間攪拌した。赤外吸収スペクトルによるエステル結合由来のピークの出現 (1730 cm^{-1}) により目的物の生成を確認した。これを上記のポリオキシエチレン誘導体 (185 mg、0.061 mmol) のクロロホルム溶液に添加し、25 °C で 24 時間攪拌した。この反応混合物をエーテルに滴下して沈殿物を濾過回収した後、粗生成物をシリカゲルカラム (溶媒: クロロホルム / エタノール = 6 / 1 (容量) / (容量)) により精製し、末端にカルボキシル基を有

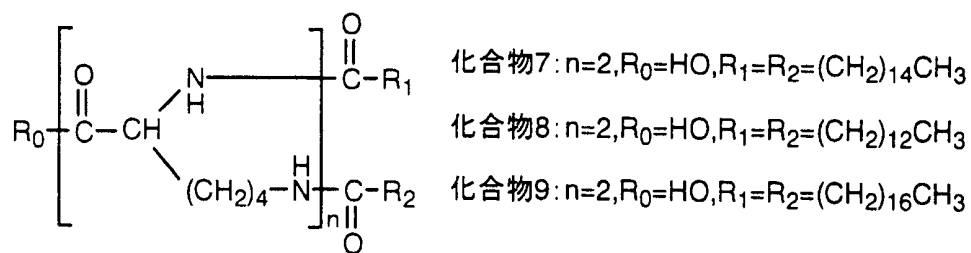
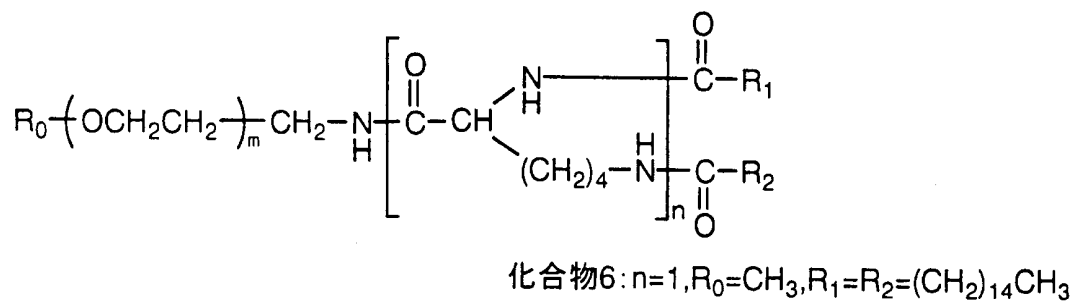
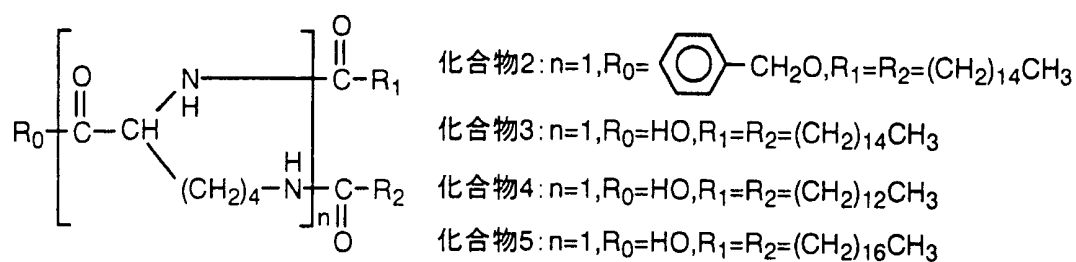
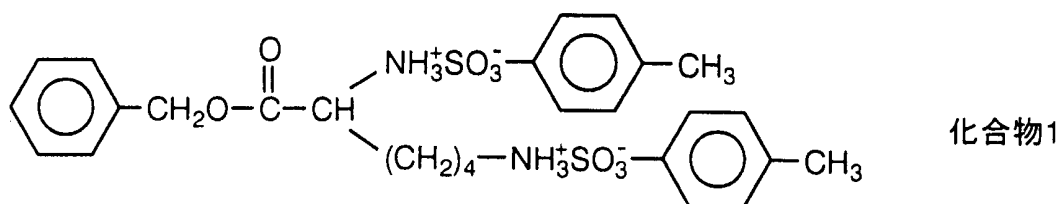
する両親媒性化合物 21 を単離した (221 mg、収率 81%)。

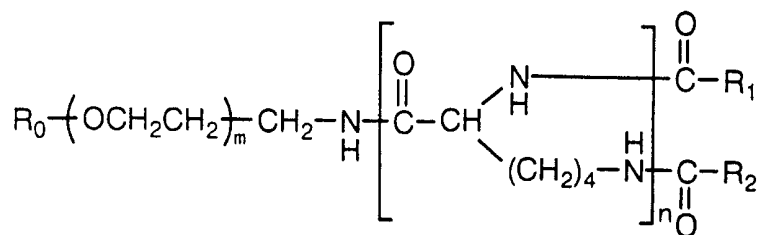
実施例 8

本実施例では、実施例 7 により得られた化合物 21 を蛋白質と結合させた。

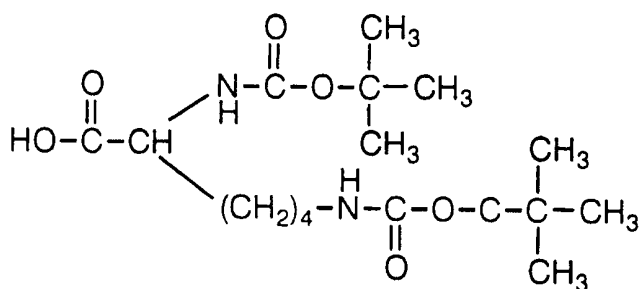
すなわち、化合物 21 (100 mg、0.022 mmol) を 1 mL クロロホルムに溶解し DCC (4.7 mg、0.023 mmol)、N-ヒドロキシスクシンイミド (2.6 mg、0.023 mmol) を加えた。5℃で 4 時間攪拌した後、エーテル再沈、真空乾燥した。これに一酸化炭素を配位させ安定化させたミオグロビン 5 重量%リン酸緩衝溶液 (6.69 mL、0.019 mmol) に加えて pH 7.4、5℃、遮光下で 24 時間攪拌した。この反応混合物を濾過した後、サイズ排除クロマトグラフィー (カラム: Asahipak GS-520) にて分取してミオグロビン誘導体 22 を精製単離した。このミオグロビン誘導体 22 を凍結乾燥し重メタノールに懸濁させた。¹H-NMR によりスクシンイミド基のピーク (2.83 ppm) の消失、および PEG 鎖 (3.36 ppm)、アルキル鎖 (0.88、1.24 ppm) 由来のピークが検出されたことにより、化合物 21 がミオグロビンに結合していることを確認した。乾燥重量法により、化合物 21 / ミオグロビンの結合比は 1.1 と算出された。

< 実施例における化合物（誘導体） 1 ~ 22 の構造 >

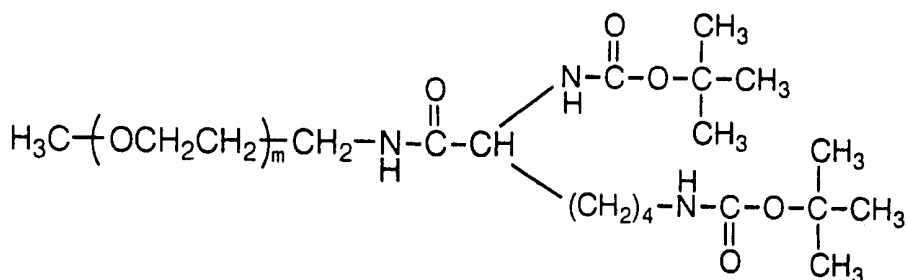




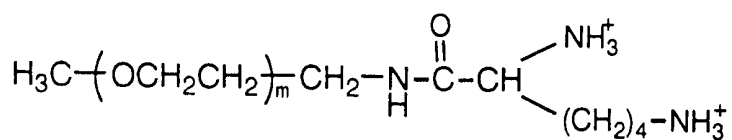
化合物10=14: n=2, R₀=CH₃, R₁=R₂=(CH₂)₁₄CH₃



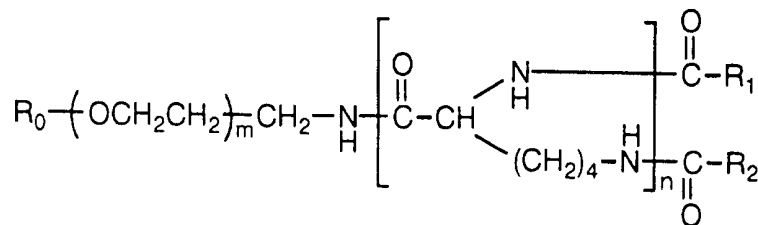
化合物11



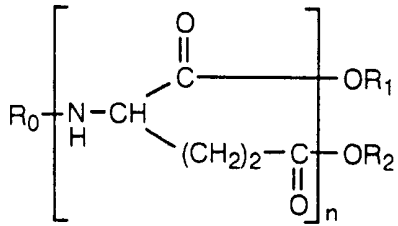
化合物12



化合物13



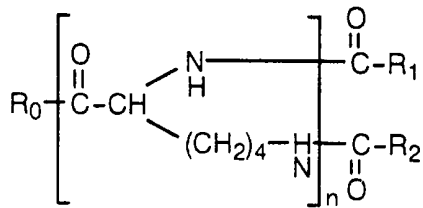
化合物15: n=3, R₀=CH₃, R₁=R₂=(CH₂)₁₆CH₃



化合物16: n=1, R₀=H, R₁=R₂=(CH₂)₁₆CH₃

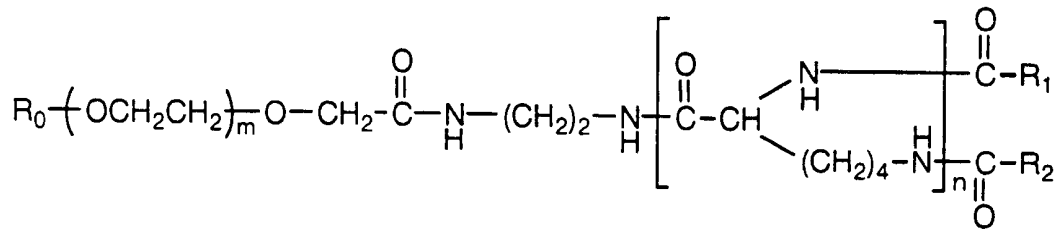
化合物17: n=2, R₀=マルチン[®] オール, R₁=R₂=(CH₂)₁₆CH₃

化合物18: n=2, R₀=アキストン, R₁=R₂=(CH₂)₁₆CH₃



化合物19: n=2, R₀=O-N₂ (ピロリジン環), R₁=R₂=(CH₂)₁₆CH₃

化合物20: n=2, R₀=ポリ[®] オール, R₁=R₂=(CH₂)₁₆CH₃



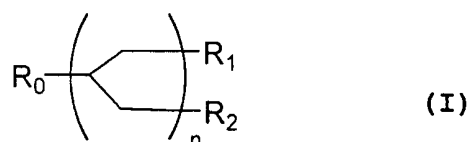
化合物21: n=2, R₀=COOH, R₁=R₂=(CH₂)₁₆CH₃

化合物22: n=2, R₀=ミカ[®] ビン, R₁=R₂=(CH₂)₁₆CH₃

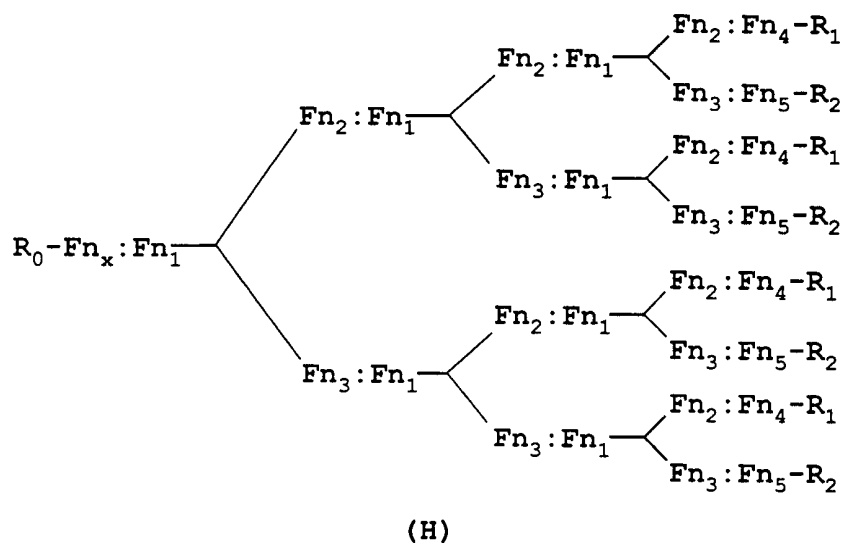
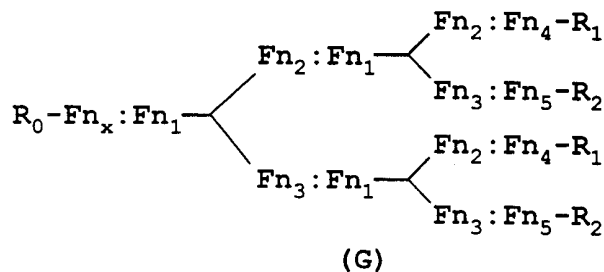
以上述べたように、本発明によれば、分子間相互作用を利用して、水溶性高分子を安定に表面に固定でき、かつその機能を損なうことなく担持できる両親媒性化合物が提供される。本発明の分岐構造を持つ両親媒性化合物は、デンドロンの分岐世代により親疎水バランスを任意に制御でき、さらに親水性基の末端に一点の結合にて蛋白質等の機能性高分子を導入することもできる。

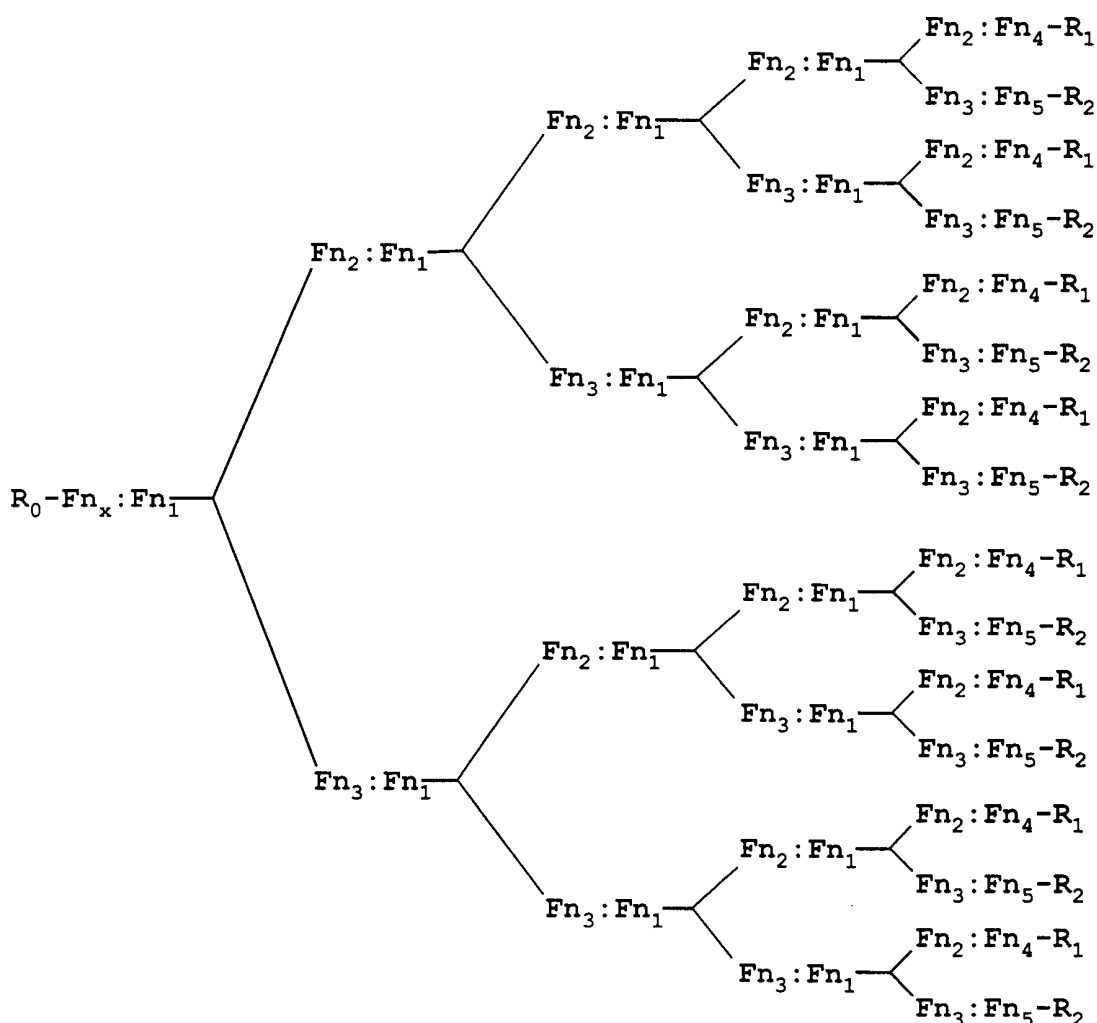
請求の範囲

1. 下記総括式 (I) :



を有し、下記式 (G) で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物、下記式 (H) で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物および下記式 (J) で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物 :





(J)

(上記各式において、 $F n_x$ 、 $F n_1$ 、 $F n_2$ 、 $F n_3$ 、 $F n_4$ および $F n_5$ は、それぞれ、官能性反応基であって相隣る官能性反応基と結合しているものを示し、 R_0 は、親水性基であり、各 R_1 および各 R_2 は、それぞれ独立に、疎水性基であり、 n は 2 ないし 4 の整数である) からなる群の中から選ばれる樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物。

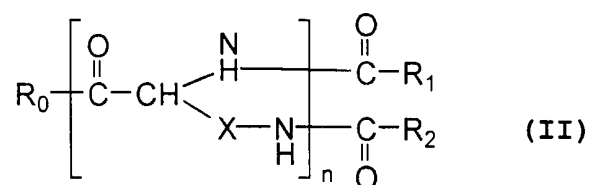
2. 官能性反応基の結合がアミド結合またはエステル結合で

ある請求項 1 に記載の両親媒性化合物。

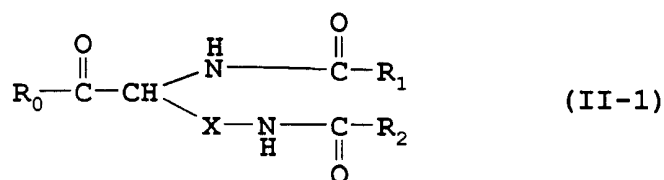
3. R_0 が、ポリもしくはオリゴオキシエチレン誘導体、ポリもしくはオリゴサッカライド誘導体、またはポリもしくはオリゴペプチドである請求項 1 に記載の両親媒性化合物。

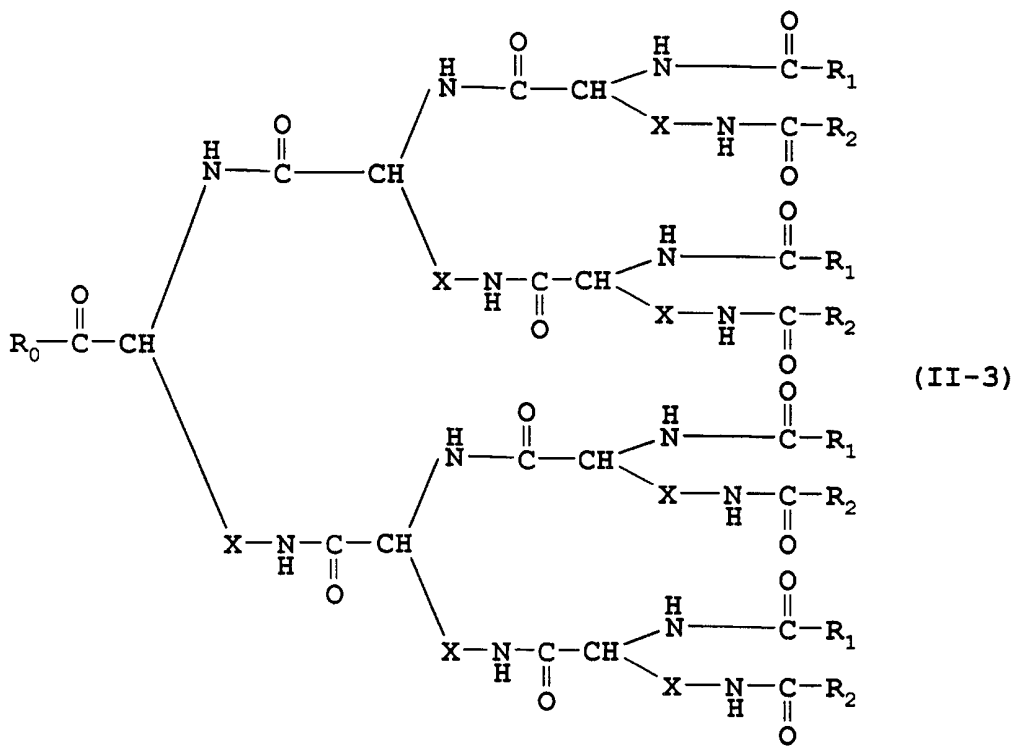
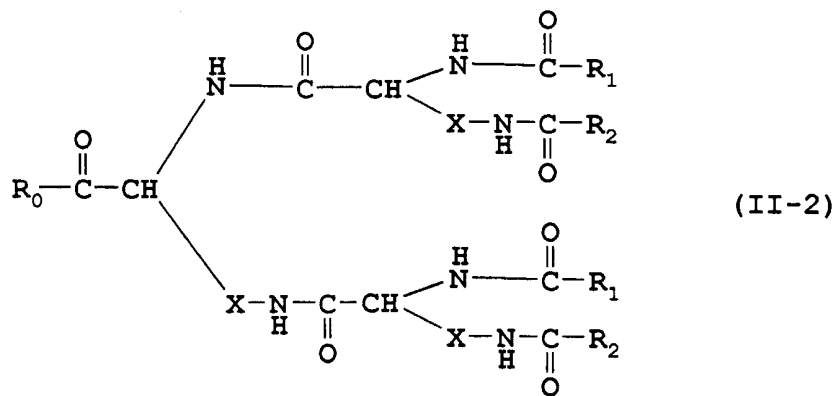
4. R_0 が、ポリもしくはオリゴオキシエチレン誘導体、ポリもしくはオリゴサッカライド誘導体、またはポリもしくはオリゴペプチドである請求項 2 に記載の両親媒性化合物。

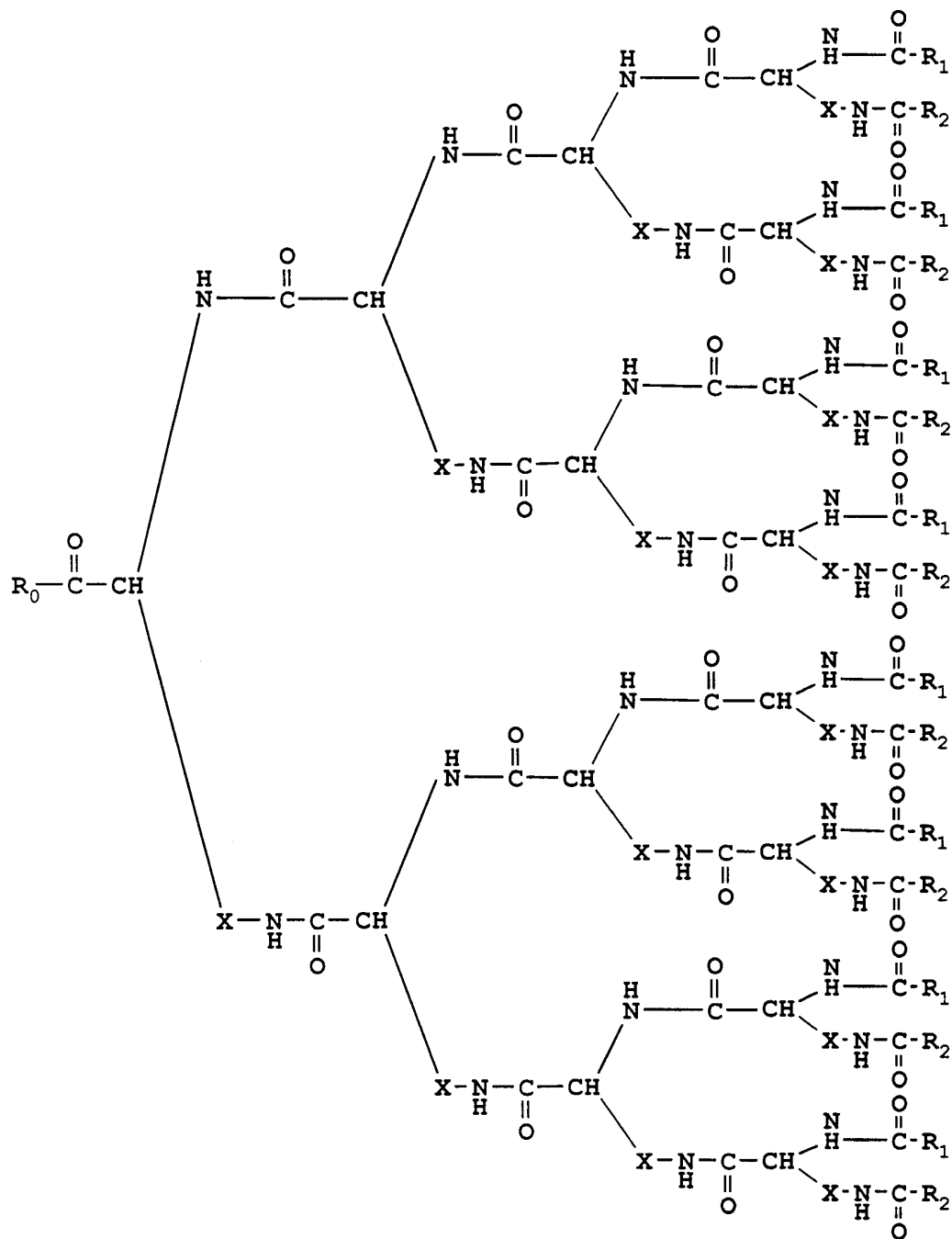
5. 下記総括式 (II) :



を有し、下記式 (II-1) で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物、下記式 (II-2) で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物、下記式 (II-3) で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物、および下記式 (II-4) で表される樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物 :







(II-4)

(上記各式において、 R_0 は、親水性基であり、 X は、 $-(CH_2)_4-$ 、または $-(CH_2)_p-CO-$ (ここで、 p は、1または2) であり、各 R_1 および各 R_2 は、それぞれ独立に、

疎水性基であり、 n は1ないし4の整数である)からなる群の中から選ばれる樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物。

6. 式(II-2)、式(II-3)または式(II-4)で示される化合物である請求項5に記載の両親媒性化合物。

7. 各 R_1 および各 R_2 が、アルキル基である請求項5に記載の両親媒性化合物。

8. アルキル基が、1個から30個までの炭素原子を含有する請求項7に記載の両親媒性化合物。

9. 各 R_1 および各 R_2 が、アルキル基である請求項6に記載の両親媒性化合物。

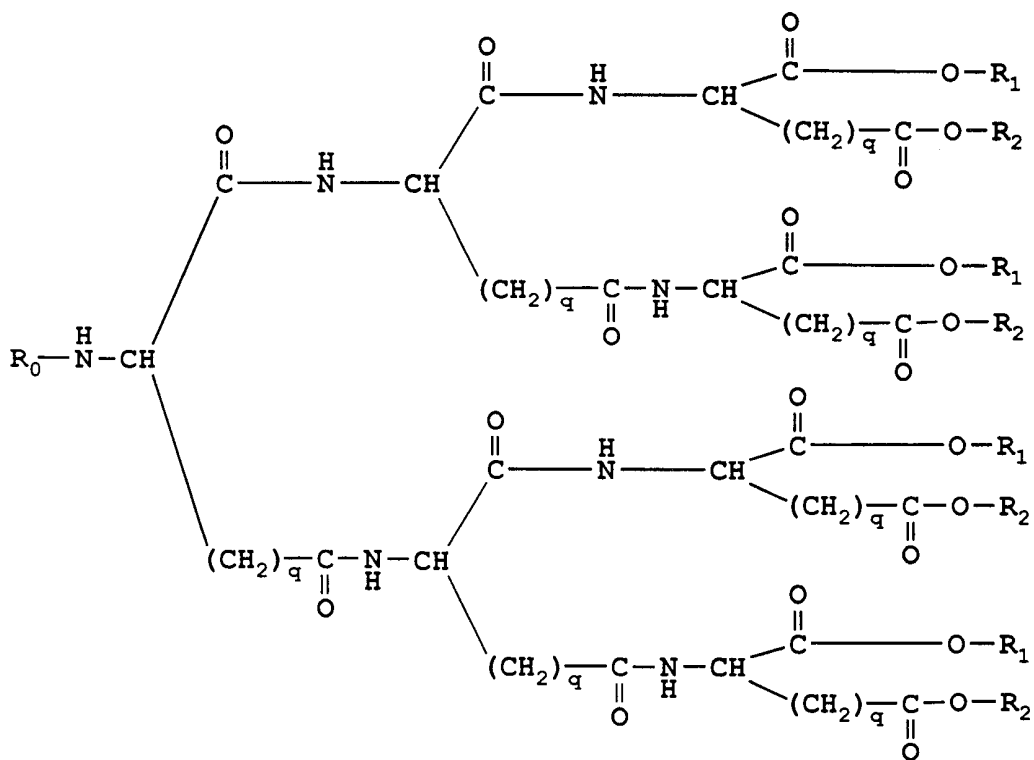
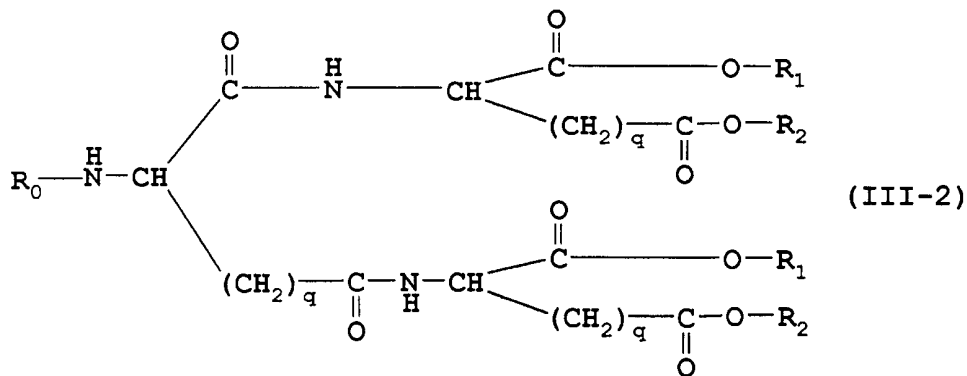
10. アルキル基が、1個から30個までの炭素原子を含有する請求項9に記載の両親媒性化合物。

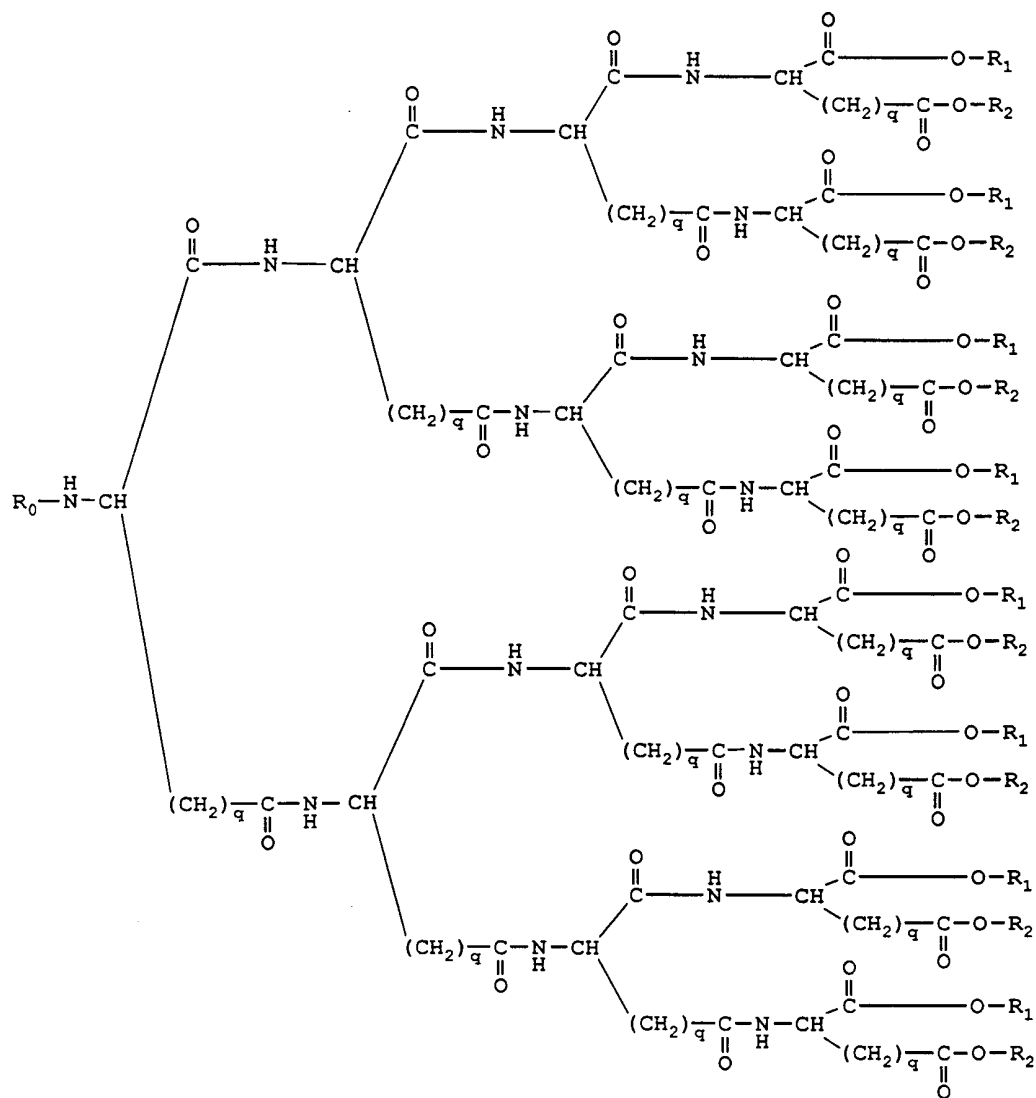
11. R_0 が、ポリもしくはオリゴオキシエチレン誘導体、ポリもしくはオリゴサッカライド誘導体、またはポリもしくはオリゴペプチドである請求項5に記載の両親媒性化合物。

12. R_0 が、ポリもしくはオリゴオキシエチレン誘導体、ポリもしくはオリゴサッカライド誘導体、またはポリもしくはオリゴペプチドである請求項6に記載の両親媒性化合物。

13. R_0 が、 $R-(OCH_2CH_2)_mCH_2NH-$ または $R-(OCH_2CH_2)_mOCH_2C(O)NHCH_2CH_2NH-$ (ここで、 R は、 $H-$ 、 CH_3- 、 $CH_3C(O)-$ 、 $HOOCCH_2-$ 、 $H_2NCH_2CH_2NHC(O)CH_2-$ 、またはポリもしくはオリゴペプチドであり、 m は、1~3000である)で表される請求項5に記載の両親媒性化合物。

14. R_0 が、 $R-(OCH_2CH_2)_mCH_2NH-$ または R





(III-4)

(ただし、上記各式において、 R_0 は、親水性基であり、各 R_1 および各 R_2 は、それぞれ独立に、疎水性基であり、 n は1ないし4の整数であり、 q は、1または2である) からなる群の中から選ばれる樹枝状分岐構造を持つ両親媒性化合物。
 16. 式 (III-2)、式 (III-3) または式 (III-4) で示される化合物である請求項15に記載の両親媒性化合物。
 17. 各 R_1 および各 R_2 が、アルキル基である請求項15に

記載の両親媒性化合物。

18. アルキル基が、1個から30個までの炭素原子を有する請求項17に記載の両親媒性化合物。

19. 各 R_1 および各 R_2 が、アルキル基である請求項16に記載の両親媒性化合物。

20. アルキル基が、1個から30個までの炭素原子を有する請求項19に記載の両親媒性化合物。

21. R_0 が、ポリもしくはオリゴオキシエチレン誘導体、ポリもしくはオリゴサッカライド誘導体、またはポリもしくはオリゴペプチドである請求項15に記載の両親媒性化合物。

22. R_0 が、ポリもしくはオリゴオキシエチレン誘導体、ポリもしくはオリゴサッカライド誘導体、またはポリもしくはオリゴペプチドである請求項16に記載の両親媒性化合物。

23. R_0 が、 $R - (OCH_2CH_2)_mCH_2NH -$ または
 $- (OCH_2CH_2)_mOCH_2C(O)NHCH_2CH_2NH -$
 (ここで、 R は、 $H -$ 、 $CH_3 -$ 、 $CH_3C(O) -$ 、 $HOOCCH_2 -$ 、 $H_2NCH_2CH_2NHC(O)CH_2 -$ 、またはポリもしくはオリゴペプチドであり、 m は、1~3000である)で表される請求項15に記載の両親媒性化合物。

24. R_0 が、 $R - (OCH_2CH_2)_mCH_2NH -$ または
 $- (OCH_2CH_2)_mOCH_2C(O)NHCH_2CH_2NH -$
 (ここで、 R は、 $H -$ 、 $CH_3 -$ 、 $CH_3C(O) -$ 、 $HOOCCH_2 -$ 、 $H_2NCH_2CH_2NHC(O)CH_2 -$ 、またはポリもしくはオリゴペプチドであり、 m は、1~3000である)で表される請求項16に記載の両親媒性化合物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05702

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁷ C08G65/333, C07C237/22, C07K5/06, 5/08, 5/10, C08B37/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl ⁷ C08G65/333, C07C237/22, C07K5/06, 5/08, 5/10, C08B37/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1926-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2000 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2000 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2000		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAS online (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO, 94/17125, A (DOW CHEM CO), 04 August, 1994 (04.08.94), Claims & AU, 9462316, A & FI, 9503530, A & EP, 680495, A & CZ, 9501905, A & US, 5560929, A & JP, 8-505899, A & CN, 1118168, A & HU, 73151, A & TW, 337531, A	1-4
X	JP, 11-71519, A (Dow Corning Corporation), 16 March, 1999 (16.03.99), Claims & US, 5902863, A	1, 2
X	JP, 11-29638, A (Dow Corning Corporation), 02 February, 1999 (02.02.99), Claims & US, 5739218, A & EP, 882755, A	1, 2
X	JP, 7-505915, A (cornell Research Foundation Inc.), 29 June, 1995 (29.06.95), Claims	1, 3
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 12 September, 2000 (12.09.00)		Date of mailing of the international search report 26 September, 2000 (26.09.00)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.


INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05702

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	& WO, 93/21259, A & EP, 636156, B & DE, 69312700, T2	

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl⁷ C08G65/333, C07C237/22, C07K5/06, 5/08, 5/10, C08B37/00</p>		
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl⁷ C08G65/333, C07C237/22, C07K5/06, 5/08, 5/10, C08B37/00</p>		
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <p>日本国実用新案公報 1926-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2000年 日本国登録実用新案公報 1994-2000年 日本国実用新案登録公報 1996-2000年</p>		
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)</p> <p>CAS online (STN)</p>		
<p>C. 関連すると認められる文献</p>		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO, 94/17125, A (DOW CHEM CO) 4. 8月. 1994 (04. 08. 94) 特許請求の範囲&AU, 9462316, A&FI, 9503530, A&EP, 680495, A&CZ, 9501905, A&US, 5560929, A&JP, 8-505899, A&CN, 1118168, A&HU, 73151, A&TW, 337531, A	1-4
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>		
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献</p>		
国際調査を完了した日	12. 09. 00	国際調査報告の発送日 26.09.00
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 吉澤 英一	4 J 9543 
		電話番号 03-3581-1101 内線 3493

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP, 11-71519, A (ダウ・コーニング・コーポレーション) 16. 3月. 1999 (16. 03. 99) 特許請求の範囲&US, 5902863, A	1, 2
X	JP, 11-29638, A (ダウ・コーニング・コーポレーション) 2. 2月. 1999 (02. 02. 99) 特許請求の範囲&US, 5739218, A&EP, 882755, A	1, 2
X	JP, 7-505915, A (コーネル リサーチ ファウンデーション、インコーポレーテッド) 29. 6月. 1995 (29. 06. 95) 特許請求の範囲&WO, 93/21259, A&EP, 636156, B&DE, 69312700, T2	1, 3