(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4262785号
(P4262785)

(45)発行日　平成21年5月13日(2009.5.13)　(24)登録日　平成21年2月20日(2009.2.20)

(51)Int.Cl.　F I
A61K 31/785 (2006.01)　A61K 31/785
A61P 3/06 (2006.01)　A61P 3/06
C08L 101/12 (2006.01)　C08L 101/12

請求項の数 8　(全 18 頁)

(21)出願番号　特願平7-27229
(22)出願日　平成7年1月24日(1995.1.24)
(65)公開番号　特開平7-206688
(43)公開日　平成7年8月8日(1995.8.8)
審査請求日　平成14年1月24日(2002.1.24)
(31)優先権主張番号　185,534
(32)優先日　平成6年1月24日(1994.1.24)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　590002035
ローム アンド ハース カンパニー
ROHM AND HAAS COMPANY
アメリカ合衆国 １９１０６－２３９９
ペンシルバニア州 フィラデルフィア，インディペンデンス モール ウエスト １００
(74)代理人　110000589
特許業務法人センダ国際特許事務所
(74)代理人　100117570
弁理士 近藤 実
(74)代理人　100101281
弁理士 辻永 和徳

最終頁に続く

(54)【発明の名称】架橋アニオン交換粒子及び該粒子を製造する方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

（ａ）アミン含有モノマーを含むモノマー混合物をラジカル重合によって重合し、（ｂ）多官能性アミン反応性化合物で非ラジカル架橋を行って、コレスチラミンよりも大きな胆汁酸封鎖力を有するポリマー粒子を与えることを含む、実質的に水不溶性の血液コレステロール濃度低下用ポリマー粒子の製造方法であって、

アミン含有モノマーが、非置換又は置換アミノアルキル（メタ）アクリレートエステルあるいは非置換又は置換アミノアルキル（メタ）アクリルアミドである方法。

【請求項２】

多官能性アミン反応性化合物が、非置換又は置換の以下の化合物：ジハロアルカン、アラルキルジハライド、アルキレンジエステル、アリールジエステル、アラルキルジエステル、アルキレンジアシルハライド、アリールジアシルハライド、アラルキルジアシルハライド、ジアルデヒド、ジエポキシアルカン、エピハロヒドリン及びアラルキルジエポキシドから選択される請求項１に記載の方法。

【請求項３】

重合を懸濁重合として行う請求項１に記載の方法。

【請求項４】

請求項１に記載の方法により調製されたポリマー粒子及び薬学的に許容できるキャリアを含む経口投与用薬剤組成物。

【請求項５】

治療学的に有効量のコレステロール生合成抑制材料を更に含む請求項４に記載の薬剤組成物。

【請求項６】

ヒトを除く哺乳動物に、請求項１に記載の方法にしたがって調製した治療学的に有効量の血液コレステロール濃度低下用ポリマー粒子を経口投与することを含む、ヒトを除く哺乳動物中の血液コレステロール濃度を低下させる方法。

【請求項７】

（ａ）分散剤を用いて、水溶性アミン含有モノマーを含むモノマー混合物をラジカル重合によって懸濁重合して、球状形態のポリマー粒子を調製し；

（ｂ）粒子の形成中に、多官能性アミン反応性化合物で非ラジカル架橋させて、コレスチラミンよりも大きな胆汁酸封鎖力を有し、側鎖連結基を介してポリマー骨格に結合したアミン官能基を有するポリマー粒子を調製することを含む、実質的に水不溶性の血液コレステロール濃度低下用ポリマー粒子を製造する方法。

【請求項８】

（ａ）アミン含有モノマーを含むモノマー混合物をラジカル重合により重合すること、および（ｂ）多官能性アミン反応性化合物で非ラジカル架橋を行うこと、を含む、コレスチラミンよりも大きな胆汁酸封鎖力を有し、実質的に水不溶性の血液コレステロール濃度低下用ポリマー粒子の製造方法であって、アミン含有モノマーのアミン官能基がビニル基に直接結合していない、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

（発明の背景）

血漿中でコレステロールの濃度が高いことは人間の冠動脈心疾患の主要な危険要素であり、血漿コレステロール濃度を低下させることによって心臓疾患の危険性が低められることが認められている。血液コレステロール濃度を制御する有効な方法としては、食事制限、例えば含コレステロール食品及び高い脂肪含有率を有する食品の摂取量を最小にしたり、コレステロール生合成を抑制したり、体によって排泄される胆汁酸の量の増加を促進させたりすることが挙げられる。

【０００２】

胆汁酸を封鎖することのできる粒子状樹脂、例えば米国特許第３，３８３，２８１号に記載されているコレスチラミン及び米国特許第３，６９２，８９５号に記載されているコレスチポールが知られている。このような樹脂は、哺乳動物の患者に経口投与すると、腸内で胆汁酸抱合体とコンプレックスを形成し、腸からの胆汁酸の再吸収を妨げるのに有効である。樹脂及び封鎖された胆汁酸は、その後、便によって体から排出され、それによって胆汁酸が体から排出される速度が増加せしめられる。他のファクターが同等である場合には、胆汁酸が体から排出される速度が増加すると、体内における胆汁酸の供給を一定に保つために、コレステロールの胆汁酸への転化が促進されることによって血漿コレステロール濃度が低下する傾向にある。胆汁酸のこの増加せしめられた合成のためのコレステロールの一部は、血漿からコレステロールを除去することによって与えられる。

【０００３】

胆汁酸封鎖剤は、種々の形態で、通常は食品との混合物として経口投与することができる。人間の血清コレステロールを低下させるのに有効な公知の封鎖剤の投与量は、通常は１０～１５ｇ／日の範囲内であるが、約５０ｇ／日までの投与量が必要とされる場合がある。粒子状の胆汁酸封鎖剤樹脂は、特に大量の投与量が必要とされ、樹脂が投与される患者において有害な側反応（消化不良、ガス発生、便秘、下痢など）が通常見られる場合には、摂取するのに不快な場合がある。

【０００４】

胆汁酸を封鎖する能力が高く、コレスチラミン及びコレスチポールを用いた場合に現在必要な量よりもより低い投与量で投与した際に血清コレステロールを減少させるのにも有効な封鎖剤を開発することによって、治療学的に有効な胆汁酸封鎖剤摂生に関連する不快な

側作用を最小にすることが、この分野において継続的に努力されてきた。
【０００５】
胆汁酸封鎖剤の新たな候補物は満足できる胆汁酸封鎖力を有していなければならないが、それらは、また、処置を受ける患者に対して非毒性でなければならない。幾つかの胆汁酸封鎖剤、例えば水溶性ポリマーは、満足できる胆汁酸封鎖力を有している可能性があるが、これらは、水溶性胆汁酸封鎖剤に曝露される生体組織の感受性のために、患者に対して細胞毒性であることが分かっている。したがって、このような水溶性ポリマーの胆汁酸封鎖力を有するが、用いる封鎖剤と封鎖剤に曝露される生体組織との間の密な接触のために生じる細胞毒側作用を有しない胆汁酸封鎖剤を提供することが望ましい。
【０００６】
物理特性の適当な組合せを有する胆汁酸封鎖剤を提供する一つの試みは、それらの官能化性のために水溶性である官能化モノマーを重合し、それを水不溶性にする程度までこのポリマーを架橋して、封鎖剤の官能部位が除去すべき目標胆汁酸に接近することを妨げることなく細胞毒効果を最小にすることである。
【０００７】
本発明の目的は、官能化水溶性モノマーから製造される架橋ポリマーに基づいて、向上せしめられた胆汁酸封鎖力及び低い哺乳動物細胞毒性を有する胆汁酸封鎖剤を提供することである。本発明の他の目的は、胆汁酸封鎖剤ポリマー粒子を、好ましくは球状ポリマー粒子として製造する方法を提供することである。
【０００８】
（発明の概要）
本発明は、アニオン交換樹脂の形態の実質的に水不溶性の胆汁酸封鎖剤ポリマー粒子、並びに、（ａ）アミン含有モノマーをラジカル重合によって重合し、（ｂ）多官能性アミン反応性化合物で非ラジカル架橋して、コレスチラミンよりも大きな胆汁酸封鎖力を有するポリマー粒子を得ることを含む、ポリマー粒子を製造する方法を提供する。
【０００９】
本発明の一態様においては、重合方法は、場合によってポリマー粒子を球状形態で与えるのに十分な量の分散剤を用いて、水溶性アミン含有モノマーを懸濁重合することを含む。本発明の他の態様は、多官能性アミン反応性化合物による架橋がポリマー粒子の形成中に起こるように重合を行うことを含む。
【００１０】
本発明の他の態様においては、上記記載の方法にしたがって製造される胆汁酸封鎖剤ポリマー粒子を含み、例えば、アミン含有モノマーが、非置換又は置換アミノアルキル（メタ）アクリレートエステルあるいは非置換又は置換アミノアルキル（メタ）アクリルアミドであり、多官能性アミン反応性化合物が、非置換又は置換の以下の化合物：ジハロアルカン、アラルキルジハライド、アルキレンジエステル、アリールジエステル、アラルキルジエステル、アルキレンジアシルハライド、アリールジアシルハライド、アラルキルジアシルハライド、ジアルデヒド、ジエポキシアルカン、エピハロヒドリン及びアラルキルジエポキシドから選択されるポリマー組成物が提供される。
【００１１】
本発明の他の態様においては、側鎖連結基を介してポリマー骨格に結合しているアミン官能基を有する胆汁酸封鎖剤ポリマー粒子を含むポリマー組成物が提供される。更に他の態様においては、ポリマー組成物は、薬学的に許容できる塩の形態のポリマー粒子を含む。
【００１２】
本発明は、治療学的に有効量の、胆汁酸封鎖剤ポリマー粒子のポリマー組成物及び薬学的に許容できるキャリアを含む薬剤組成物を提供する。
【００１３】
本発明は、また、治療学的に有効量の上記記載の方法にしたがって製造される胆汁酸封鎖剤ポリマー粒子を哺乳動物に経口投与することを含む、哺乳動物における血液コレステロール濃度を低下させる方法を提供する。

【００１４】
（好ましい態様の詳細な説明）
本発明のアニオン交換樹脂は同一の方法の種々の変法によって調製することができる。一つの変法においては、ポリマーは、アミン含有モノマーをまずモノマー可溶性多官能性アミン反応性化合物と混合し；次に混合物を、例えば加熱プレート、ロール又はシート上で加熱して、混合物を固体状に重合し、その後、固体ポリマーを、粉砕、フレーキング又は他の同様の手段によって粒子に粒状化することで、バルク重合法によって調製することができる。
【００１５】
他の変法においては、ポリマーは、アミン含有モノマーを含むモノマー混合物のラジカル重合による重合を完了させて未架橋ポリマーを生成させた後、多官能性アミン反応性化合物で非ラジカル架橋させて、架橋ポリマー粒子を形成させることによって調製することができる。好ましくは、このタイプのポリマーは水溶液中で調製され、得られたポリマーは、粉砕及び同様の工程によって所望の粒径に更に粒状化させることができる。
【００１６】
更に他の変法においては、本発明のポリマーは、懸濁重合、好ましくは水性媒体中における懸濁重合によって調製される。任意に、一以上の更なる共重合可能なモノマーを含む一以上の水溶性アミン含有モノマーのモノマー混合物を、アミン含有モノマーのアミン官能基と反応することのできる官能基を有するモノマー可溶性多官能性化合物と共に、水性媒体中において懸濁し、懸濁液を、モノマー可溶性ラジカル開始剤の存在下で重合して、アミン官能基を有するポリマー粒子を形成させる。好ましくは、懸濁助剤を用いて、球状形態のポリマー粒子を得ることができ、例えば、水性相は、溶解した無機酸及び好適な分散剤を含んでいてよい。
【００１７】
本発明の好ましい態様においては、工程は、水溶性アミン含有モノマーを含むモノマー混合物を、分散剤を用いてラジカル重合によって懸濁重合して、球状形態のポリマー粒子を調製し、粒子の形成中に多官能性アミン反応性化合物で非ラジカル架橋して、（１）コレスチラミンより大きな胆汁酸封鎖力を有し、（２）側鎖連結基を介してポリマー骨格に結合しているアミン官能基を有するポリマー粒子を調製することを含む。より好ましい態様のポリマー粒子は、コレスチラミンの少なくとも３倍の胆汁酸封鎖力を有する薬学的に許容できる塩の形態のものである。
【００１８】
ここで用いる「（メタ）アクリレート」及び「（メタ）アクリルアミド」という用語は、対応するアクリレート又はメタクリレート及びアクリルアミド又はメタクリルアミドのいずれかを意味するものである。また、ここで用いる「置換」という用語は、種々のアミン含有モノマー及び多官能性アミン反応性化合物と組み合わせて用いて、これらの化合物の一以上の水素が、例えばC_1～C_8アルキル、ハロゲン（例えばクロロ－、ブロモ－）、ヒドロキシル基などで置換されていることを意味するものである。ただし、これらの基が既に存在している官能基と不適合性（incompatible）である場合は除く。
【００１９】
これらのアミン含有モノマーの中で本発明において用いるのに好適なものは、ビニル基に直接結合していないアミン官能基を有するビニルモノマーである。このようなモノマーとしては、例えば、アミドモノマー、例えばジアルキルアミノアルキルアクリルアミド又はメタクリルアミド（例えばジメチルアミノプロピルメタクリルアミド）、Ｎ，Ｎ－ビス－（ジメチルアミノアルキル）アクリルアミド又はメタクリルアミド、Ｎ－β－アミノエチルアクリルアミド又はメタクリルアミド、Ｎ－（メチルアミノエチル）アクリルアミド又はメタクリルアミド、アミノアルキルピラジンアクリルアミド又はメタクリルアミド、アクリル酸エステルモノマー、例えばジアルキルアミノアルキルアクリレート又はメタクリレート（例えばジメチルアミノエチルアクリレート又はメタクリレート）、β－アミノエチルアクリレート又はメタクリレート、Ｎ－（ｎ－ブチル）－４－アミノブチルアクリレ

ート又はメタクリレート、メタクリルオキシエトキシエチルアミン及びアクリルオキシプロポキシプロポキシプロピルアミン；ビニルモノマー、例えばビニルピリジン；アミノアルキルビニルエーテル又はスルフィド、例えばβ－アミノエチルビニルエーテル、β－アミノエチルビニルスルフィド、Ｎ－メチル－β－アミノエチルビニルエーテル又はスルフィド、Ｎ－エチル－β－アミノエチルビニルエーテル又はスルフィド、Ｎ－ブチル－β－アミノエチルビニルエーテル又はスルフィド、及びＮ－メチル－３－アミノプロピルビニルエーテル又はスルフィド；Ｎ－アクリルオキシアルキル－オキサゾリジン及びＮ－アクリルオキシアルキルテトラヒドロ－１，３－オキサジン、例えばオキサゾリジニルエチルメタクリレート、オキサゾリジニルエチルアクリレート、３－（γ－メタクリルオキシプロピル）テトラヒドロ－１，３－オキサジン、３－（β－メタクリルオキシエチル）－２，２－ペンタメチレン－オキサゾリジン、３－（β－メタクリルオキシエチル）－２－メチル－２－プロピル－オキサゾリジン、Ｎ－２－（２－アクリルオキシエトキシ）エチル－オキサゾリジン、Ｎ－２－（２－メタクリルオキシエトキシ）エチル－５－メチル－オキサゾリジン、３－［２－（２－メタクリルオキシエトキシ）エチル］－２，２－ジメチルオキサゾリジン、Ｎ－２－（２－アクリルオキシエトキシ）エチル－５－メチル－オキサゾリジン、３－［２－（メタクリルオキシエトキシ）エチル］－２－フェニル－オキサゾリジン、Ｎ－２－（２－メタクリルオキシエトキシ）エチル－オキサゾリジン及び３－［２－（２－メタクリルオキシエトキシ）エチル］－２，２－ペンタメチレン－オキサゾリジンが挙げられる。

【００２０】

本発明において有用な好ましい水溶性アミン含有モノマーは、非置換又は置換アミノアルキル（メタ）アクリレートエステル及び非置換又は置換アミノアルキル（メタ）アクリルアミドである。これらのモノマーとしては、ジメチルアミノアルキルアクリルアミド及びメタクリルアミド、Ｎ，Ｎ－ビス－（ジメチルアミノアルキル）アクリルアミド及びメタクリルアミド、ジメチルアミノアルキルアクリレート及びメタクリレート、あるいはこれらのモノマーの任意のものを含む混合物が挙げられる。最も好ましいものは、ジメチルアミノアルキルアクリルアミド及びメタクリルアミド、ジメチルアミノアルキルアクリレート及びメタクリレート及びこれらの混合物で、アルキル基が２～約８個の炭素原子を有するものであり、特に好ましいものは、ジメチルアミノプロピルメタクリルアミド、ジメチルアミノエチルメタクリレート及びこれらの混合物である。水溶性モノマーは、主成分としてモノマー混合物中に存在する。即ち、水溶性モノマー（又はモノマー混合物）は、全モノマーの少なくとも５０重量％のレベルで存在する。ここで用いる「水溶性」という用語は、モノマーに適用して、モノマーが、水１００ｇあたり少なくとも約１ｇ、好ましくは水１００ｇあたり少なくとも約１０ｇ、より好ましくは水１００ｇあたり少なくとも約５０ｇの溶解度を有することを意味している。

【００２１】

他の非アミン含有モノマーを、モノマー混合物の少量成分として任意に存在させることができる。即ち、これらは、全モノマー混合物の約５０重量％未満の合計量で存在させることができる。このようなアミン非含有モノマーは、好ましくは全モノマー混合物の約２５重量％未満の量で存在させる。本発明において有用なアミン非含有モノマーとしては、水溶性モノマーと共重合可能なものが挙げられる。かかる他のモノマーの例としては、芳香族モノマー、例えばスチレン及びα－メチルスチレン、並びに脂肪族モノマー、例えばメチルアクリレート、メチルメタクリレート、エチルアクリレート、エチルメタクリレート、ブチルアクリレート、ブチルメタクリレート、無水マレイン酸、酢酸ビニルなど及びこれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００２２】

アミン非含有モノマーを存在させるのに加えて、不活性溶媒もモノマー混合物中に存在させることができる。即ち、これらは、全モノマー混合物の約８０重量％未満、好ましくは約５０重量％未満の量で存在させることができる。かかる不活性溶媒は、好ましくは全モノマー混合物の約２５重量％未満の量で存在させる。本発明において有用な好ましい不活

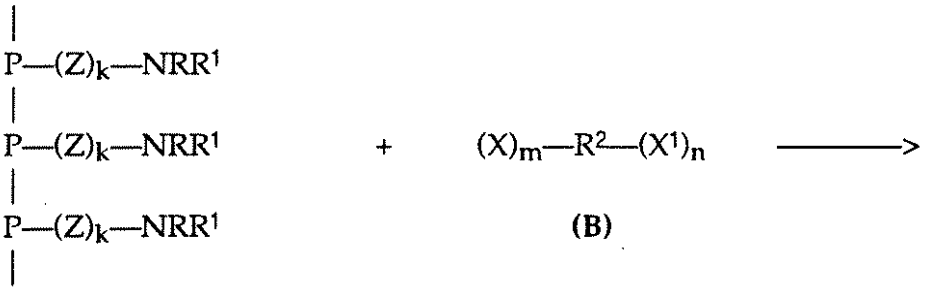
性溶媒としては、それ自体は水不溶性であるが、水溶性モノマーと混和性のものが挙げられる。水不溶性とモノマー可溶性とを組み合わせて有する不活性溶媒は、水溶性アミン含有モノマーの懸濁重合中に形成される球状ビーズの完全性を高めるのに特に有用である。かかる他の溶媒の例としては、ヘキサン、ヘプタン、イソオクタン、トルエン、キシレン、エチルベンゼン及びこれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

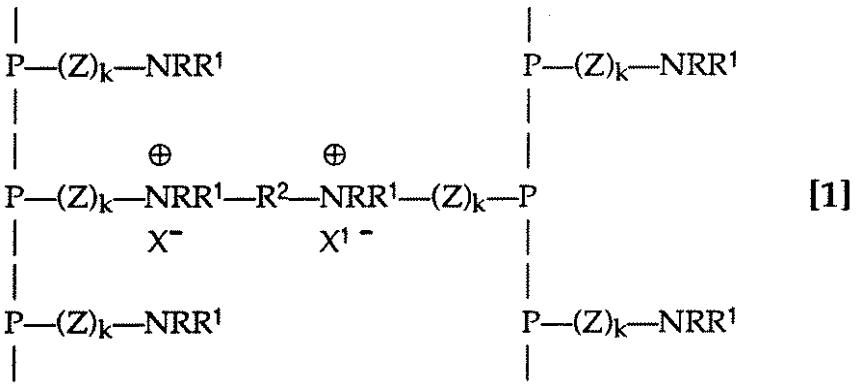
【００２３】

下式１にしたがって、一般式Ｂの架橋剤を、アミン含有ポリマー（構造Ａによって部分的に示されている）のアミン官能基、ＮＲＲ^{1}、又は対応するアミン含有モノマーと反応させて、架橋ポリマー（構造Ｃによって部分的に示されている）を調製する。

【００２４】

【化１】





【００２５】

（式中、－Ｐ－はポリマー骨格であり；Ｚは側鎖連結基であり；ｋ、ｍ、ｎは０又は１～３の整数であり、同一であっても異なっていてもよく；Ｒ、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキル基又は水素であるか、又はＲ及びＲ^{1}は、それらが結合している窒素原子と共に一緒になって、任意に、１以上の更なるヘテロ原子、例えば酸素又は窒素を有する飽和環を形成していてもよく；Ｒ^{2}は、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{20}$アルキレン、アリール、アリール－ビス－（Ｃ$_{8}$～Ｃ$_{20}$）アルキレンであり；Ｘ、Ｘ^{1}は、ハロゲン、トシレート（tosylate）、メシレート（mesylate）、ブロシレート（brosylate）、ノシレート（nosylate）、トリフレート（triflate）、ノナフレート（nonaflate）、トレシレート（tresylate）、エポキシド（Ｘ又はＸ^{1}はＣにおいてＲ^{2}に－Ｏ$^{-}$として結合している）であり、同一であっても異なっていてもよい）

【００２６】

側鎖連結基Ｚは、－ＮＲＲ^{1}とポリマー骨格との間の任意の化学的に安定な連結基である。即ち、－ＮＲＲ^{1}はポリマー骨格に直接結合はしていない。「化学的に安定」という用語は、Ｚが、重合又は架橋反応中に実質的に分解又は減成しないことを意味する。ｋがゼ

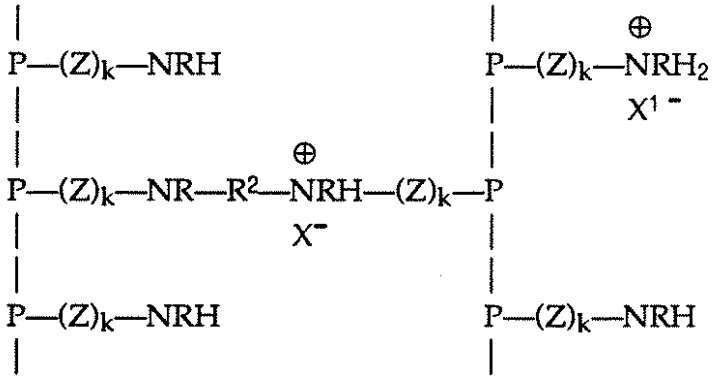
ロの場合には、アミン官能基はポリマー骨格に直接結合する。本発明において用いるのに好適な側鎖連結基のタイプとしては、例えば、
オキシアルキレン基：－Ｏ－（ＣＨＲ）$_x$ －；
チオアルキレン基：－Ｓ－（ＣＨＲ）$_x$ －；
アルキルアミノアルキル基：－（ＣＨＲ）$_x$ －ＮＲ－（ＣＨＲ）$_x$ －；
アルキレン基：－（ＣＨＲ）$_x$ －；
アリールアルキレン基：－Ｃ$_6$ Ｈ$_4$ －（ＣＨＲ）$_x$ －；
アルコキシアルキル基：－（ＣＨＲ）$_x$ －Ｏ－（ＣＨＲ）$_x$ －；
アルキルチオアルキル基：－（ＣＨＲ）$_x$ －Ｓ－（ＣＨＲ）$_x$ －（並びに対応するスルホン及びスルホキシド誘導体基）；
アミドアルキル基：－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ－（ＣＨＲ）$_x$ －；
カルボキシアルキル基：－Ｃ（＝Ｏ）Ｏ－（ＣＨＲ）$_x$ －；
（上式中、Ｒは上記において定義した通りであり、ｘは１～１０の整数である）が挙げられる。ｎ＝ｍ＝１の場合には、多官能性アミン反応性化合物は、二官能性架橋剤として表される。側鎖連結基中に存在しているイオウ及び窒素原子は、含まれる具体的な物質の反応性に依存して、多官能性アミン反応性化合物との架橋反応に関与する可能性がある。

【００２７】

式１におけるＲ及びＲ^1 のいずれも水素でない場合には、得られるポリマー中の架橋部位は、構造Ｃにおいて示されているような第４級アンモニウム塩の形態によって示される。Ｒ又はＲ^1 が水素である場合には、得られるポリマー中の架橋部位（構造Ｃ’によって部分的に示す）は、過剰のアミン官能基の存在下で、部分的に又は全体的に遊離塩基の形態であってよい。

【００２８】

【化２】



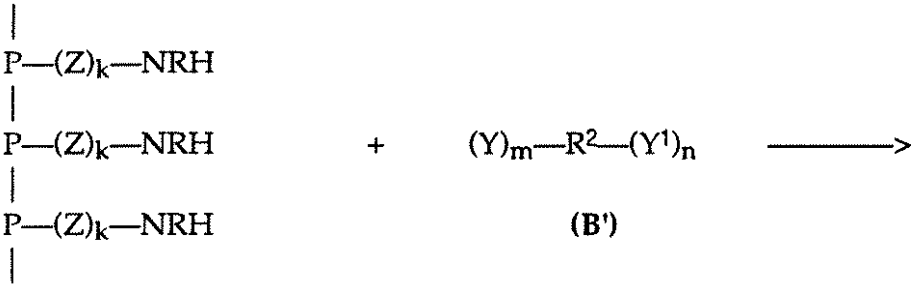
(C')

【００２９】

多官能性アミン反応性化合物が、ジエステル（式Ｂ’：Ｙ、Ｙ^1 は、－ＣＯＯＲ^3 によって表されるカルボアルコキシである）又は二酸クロリド（式Ｂ’：Ｙ、Ｙ^1 は、－ＣＯＹ^2 によって表されるハロアシルである）であり、式ＡのＲ又はＲ^1 の少なくとも一方が水素であり、Ｒ^3 がＣ$_1$ ～Ｃ$_8$ アルキルであり、Ｙ^2 がハロゲンである場合には、架橋反応は式２にしたがって起こる。式Ｂ’が二酸クロリドである場合には、得られる架橋ポリマー（構造Ｄによって部分的に示す）中のアミン官能基の一部はＨＹ^2 塩の形態になり、式Ｂ’がジエステルである場合には、アミン官能基は、架橋反応の副生成物としてＲ^3 ＯＨを有する遊離塩基の形態になる。

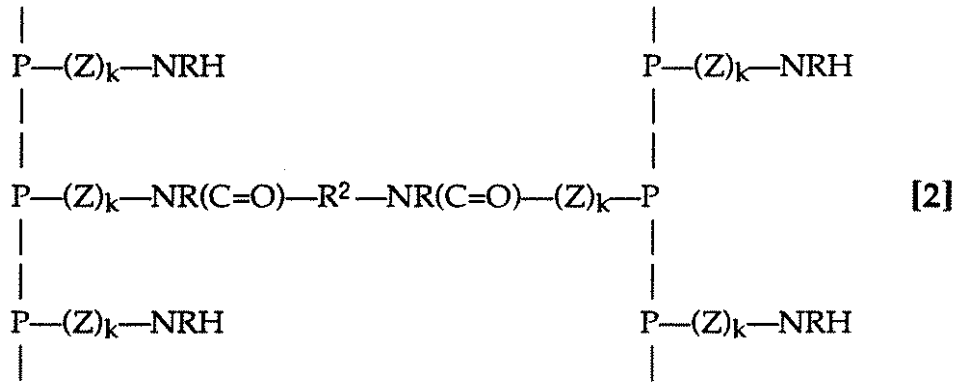
【００３０】

【化３】



(A)

(B')



(D) [2]

【００３１】
式Ａ中のアミン官能基の少なくとも一部が、Ｒ及びＲ^{1} の両方が水素であるように表される場合には、ジアルデヒドを用いてポリマーを架橋することができる。この場合、ジアルデヒドが芳香族ジアルデヒド、例えばイソフタルアルデヒド、フタルアルデヒド又はテレフタルアルデヒドである場合には、得られる架橋ポリマーはＳｃｈｉｆｆ塩基として知られるイミン基を有する。グルタルアルデヒドが好適な脂肪族ジアルデヒドの一例である。
【００３２】
Ｒ又はＲ^{1} が水素であるか、あるいはＲ及びＲ^{1} の両方が水素である場合には、Ｍｉｃｈａｅｌ反応（共役付加としても知られる）を用いて、ラジカル重合条件ではない条件下でポリマーを架橋させることができる。この方法でポリマーを架橋させるのに好適な架橋剤の例は、エチレングリコールジアクリレート、エチレングリコールジメタクリレート、トリメチロールプロパントリアクリレート、トリメチロールプロパントリメタクリレートなどである。
【００３３】
本発明を実施するのに有用な架橋剤は、１以上のアミン反応性部位を有する化合物、即ち任意の多官能性アミン反応性化合物である。本発明において架橋剤として用いるのに好適な化合物（式１及び２においてＢ又はＢ’として示している）としては、非置換及び置換の以下の化合物：ジハロアルカン、アラルキルジハライド（例えばビス（クロロメチル）ベンゼン）、アルキレンジエステル、アリールジエステル、アラルキルジエステル、アルキレンジアシルハライド（例えばスクシニルクロリド）、アリールジアシルハライド、アラルキルジアシルハライド、ジアルデヒド、ジエポキシアルカン及びアラルキルジエポキシドが挙げられる。混合した官能基を有する多官能性アミン反応性化合物（ＸとＸ^{1} 又はＹとＹ^{1} とが異なる）、例えば、エピハロヒドリン、例えばエピクロロヒドリン又はエピブロモヒドリンもまた、架橋剤として好適である。更に、非置換及び置換二官能性アルカン及びアラルカンのトシレート（ｐ－トルエンスルホネート）、メシレート（メタンスル

ホネート）、ブロシレート（ｐ－ブロモベンゼンスルホネート）、ノシレート（ｐ－ニトロベンゼンスルホネート）、トリフレート（トリフルオロメタンスルホネート）、ノナフレート（ノナフルオロブタンスルホネート）及びトレシレート（トリフルオロエタンスルホネート）誘導体は、本発明における架橋剤として好適である。

【００３４】

好ましいジハロアルカンはジクロロアルカンであり、例えば、１，２－ジクロロエタン、１，２－ジクロロプロパン、１，３－ジクロロプロパン、１，３－ジクロロ－２－プロパノール及び１，４－ジクロロブタンからなる群から選択されるものとして示される。好ましいアルキレンジエステルは、ジメチルマロネート、ジメチルスクシネート、ジエチルグルタレート、ジエチルアジペート、ジエチルスベレート（diethyl suberate）、ジエチルアゼレート及びジエチルセバケートである。

【００３５】

本発明のポリマーにおいて用いる多官能性アミン反応性化合物によって与えられる架橋剤の量は、胆汁酸封鎖剤としての効力を保持しながらポリマーを水不溶性にするのに有効な任意の量、例えば全モノマーの約０．１～約５０モル％、好ましくは約０．５～約２０モル％であってよい。本明細書において用いる「全モノマー」という用語は、アミン含有モノマーと架橋剤として用いる多官能性アミン反応性化合物の両方により構成されるものを示す。最も好ましくは、架橋剤の量は、胆汁酸封鎖剤としての高い効力を保持しながらポリマーを水不溶性にするのに有効な最小量に近い量、例えば存在する全モノマーの約２モル％～約１０モル％である。

【００３６】

多官能性アミン反応性架橋剤化合物に加えて、少量の、即ち全モノマーを基準として約１０モル％未満、好ましくは約２モル％未満、最も好ましくは約０．５モル％未満の量の、公知のラジカル反応性ポリビニルモノマーを用いて本発明のポリマーを架橋することもできる。ラジカル重合条件下で共重合する公知のポリビニルモノマーとしては、例えば、ジビニルベンゼン、トリビニルベンゼン、ジビニルトルエン、ジビニルピリジン、エチレングリコールジアクリレート、エチレングリコールジメタクリレート、トリメチロールプロパントリアクリレート、トリメチロールプロパントリメタクリレート、ジエチレングリコールジビニルエーテルなどが挙げられる。

【００３７】

理論によって拘束されることを欲するものではないが、本発明者らは、本発明の場合においては、アミン含有モノマーの重合中に架橋剤がラジカル反応性コモノマーとしては作用しないので、ポリマー骨格中に導入される異成分は僅かか又は全くないと考えている。その代わり、架橋反応は、求核置換反応機構によってポリマー骨格から離れた部位で起こる。本発明方法によれば、ラジカル共重合によって調製される従来の架橋粒子（例えばコレスチラミン及びポリビニルコモノマーを用いて調製される他のもの）か又はポリマー骨格部位を介して直接架橋することによって調製される従来の架橋粒子（例えばコレスチポール）と比べて、得られる架橋アミン含有ポリマー粒子中における架橋部位のランダムで均一な分布を得る機会が大きい。架橋部位のより均一な分布に加えて、本発明方法は、（１）従来の架橋ポリマーと比較して、架橋部分の分子寸法に対する制御が容易になり、したがって得られる架橋構造の分子の柔軟性（flexibility）が得られるようになり、それによって（２）コレスチラミンの効力よりも大きい、好ましくはコレスチラミンの効力の少なくとも３倍、最も好ましくは４倍の胆汁酸封鎖力が得られると考えられる。

【００３８】

本発明のポリマーを架橋する機構は、ポリマー側鎖の求核性アミン基と架橋剤分子のアミン反応性部位との間の反応を含む。これらの反応は、側鎖アミン基の第４級化を包含するか、あるいは第１級又は第２級アミン基の場合には、アシル化、アルキル化、縮合又は共役付加反応を包含していてもよい。ポリマーの形成と実際の架橋反応のタイミングは、多官能性アミン反応性化合物及びアミン含有モノマーの反応性に応じて変化させることができる。架橋は、アミン含有モノマーの実際の重合前、重合中又は重合後のいずれにおいて

も、あるいはこれらのいかなる組合せにおいても起こさせることができる。水性相懸濁重合の場合には、架橋反応の少なくとも一部をアミン含有モノマーの重合中に起こして、水不溶性球状粒子の形成を容易にすることが好ましい。球状粒子の形態の本発明のポリマーは、ポリマーの単離、清浄及び洗浄中の取り扱いが容易なので好ましいが、他の形態のポリマー、例えば、沈殿、粉末などの形態は、胆汁酸封鎖能力に関して同等に有効である。

【００３９】

本発明において有用な重合開始剤としては、モノマー可溶性開始剤、例えばペルオキシド、ヒドロペルオキシド及び関連する開始剤、例えばベンゾイルペルオキシド、ｔｅｒｔ－ブチルヒドロペルオキシド、クメンペルオキシド、テトラリンペルオキシド、アセチルペルオキシド、カプロイルペルオキシド、ｔｅｒｔ－ブチルペルオクトエート、ｔｅｒｔ－ブチルペルベンゾエート、ｔｅｒｔ－ブチルジペルフタレート、メチルエチルケトンペルオキシドなどが挙げられる。アゾ開始剤、例えばアゾジイソブチロニトリル、アゾジイソブチラミド、２，２’－アゾ－ビス（２，４－ジメチルバレロニトリル）、アゾ－ビス（α－メチルブチロニトリル）及びジメチル－、ジエチル－又はジブチル－アゾービス（メチルバレレート）もまた有用である。好ましい開始剤は、アゾ開始剤であり、２，２’－アゾービス（２，４－ジメチルバレロニトリル）が特に好ましい。ペルオキシド及びアゾ開始剤の好ましい使用量は、ビニルモノマーの全重量を基準として、それぞれ、約０．０１～３重量％及び約０．０１～約２重量％である。

【００４０】

水性相中における水溶性モノマーの可溶性を減少させるのに有用な塩は、一価、二価又はアルミニウムカチオン及び一価又は二価アニオンの水溶性非反応性無機塩である。例としては、一価、二価又はアルミニウムカチオン及び一価又は二価アニオンの水溶性非反応性無機塩、例えば、塩化物、臭化物、ヨウ化物、スルフェート、カーボネート及びニトレートのナトリウム、カリウム、リチウム及びアンモニウム塩、並びに、塩化物、臭化物、ヨウ化物及びニトレートのマグネシウム及びカルシウム塩が挙げられるが、これらに限定されるものではない。好ましい塩は、塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム及び硝酸ナトリウムである。塩は、全水性相重量を基準として約５重量％以上で、水性相の塩の飽和濃度以下の濃度で水性媒体中に溶解させる。ここで塩に関して用いる「非反応性」という用語は、塩が、水、モノマー又はモノマーから形成されるポリマーと化学的に反応しないことを意味する。

【００４１】

本発明のアニオン交換樹脂粒子を調製するのに有用な好ましい分散剤は、ヒドロキシアルキルセルロース骨格、１～約２４個の炭素原子を有する疎水性アルキル側鎖を有し、平均で約１～約８個、好ましくは約１～約５個のエチレンオキシド基がヒドロキシアルキルセルロース骨格のそれぞれの繰り返し単位において置換しており、アルキル側鎖が繰り返し単位１００個あたりアルキル基約０．１～約１０個のレベルでヒドロキシアルキルセルロース骨格中に存在している非イオン界面活性剤である。ヒドロキシアルキルセルロース中のアルキル基は１～約２４個の炭素原子を有していてよく、線状、分岐鎖又は環状であってよい。アンヒドログルコース単位１００個あたり約０．１～約１０個のC_{16}アルキル側鎖を有し、約２．５～約４個のエチレンオキシド基がそれぞれのアンヒドログルコース単位を置換しているヒドロキシエチルセルロースがより好ましい。これらの分散剤の特に有利な点は、これらを用いて得られる本発明の球状ポリマー粒子が凝集しない、即ち粒子の塊が互いに接着せず、重合工程中に保護されていないかあまり保護されていない粒子が衝突した場合に凝集が起こるという点である。分散剤の通常の使用量は、全水性相重量を基準として約０．０１～約４重量％である。

【００４２】

本発明のアニオン交換樹脂粒子を調製するのに有用な他の分散剤としては、シリカ、クレー、粉砕イオン交換樹脂又はイオン交換官能性を有しない粉砕された架橋懸濁コポリマー微粒粒子のような微粉砕粒子、及び、無機塩、特にヒドロキシアパタイトと組み合わせたカルシウムヒドロキシホスフェートが挙げられる。無機塩は、水中に完全に可溶であって

もなくてもよく、完全に可溶でない場合には微粉砕粒子と同等の挙動を示すものであってよい。本発明のアニオン交換樹脂粒子を調製するのに有用な更に他の分散剤は、親水性骨格を有し、二つの相の界面においてその親油性部分をモノマー相に配向し、その親水性部分を水性相に配向することのできるポリマーである。これらのポリマー分散剤としては、セルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、スターチなどが挙げられる。分散剤の混合物を用いることもできる。これらの他の分散剤は、やや多量の凝集を生成する傾向があったり、望ましくない物質を生成する傾向があるので、前述の分散剤ほどには好ましくはない。

【００４３】

本発明の胆汁酸封鎖ポリマーは、Ｍｅｉｔｚｎｅｒらの米国特許第４，２５６，８４０号に開示されているような沈殿剤の存在下で重合を行うことによって公知の方法にしたがって巨大孔状又は巨大網状形態で調製することができる。沈殿剤は、架橋剤濃度及び用いる沈殿剤に応じて、モノマー１００部あたり約２０部、即ちモノマーの２０％乃至モノマー１００部あたり約６００部、即ちモノマーの６００％の割合で存在させることができる。マクロポーラス又は巨大網目状ポリマーを調製するのに好適な沈殿剤は、モノマーに対する溶媒であって得られる架橋ポリマーに対する非溶媒である物質である。好ましい沈殿剤としては、ジアルキルケトン、例えばメチルイソブチルケトン、ジイソブチルケトンなど；C_4 ～C_{10}アルコール、例えばｔ－アミルアルコール、２－エチルヘキサノール、メチルイソブチルカルビノールなど；C_6 ～C_8 アルカン、例えばヘプタン、イソオクタンなど；及びC_7 ～C_{10}芳香族炭化水素、例えばトルエン、キシレンなどが挙げられる。

【００４４】

未架橋ポリ（ジメチルアミノプロピルメタクリルアミド）は、コレスチラミンに比べて胆汁酸封鎖剤としての有効性を示すが、ラット、サル及びイヌに経口投与した際に毒性を示す。本発明の架橋胆汁酸封鎖剤は、線状の、即ち未架橋のポリ（ジメチルアミノプロピルメタクリルアミド）に比べて哺乳動物の組織に対して低い毒性を示す。

【００４５】

好ましくは、本発明の胆汁酸封鎖剤は、乾燥ポリマーのグラムあたり約３ミリ当量（ｍｅｑ／ｇ）以上の、より好ましくは約４ｍｅｑ／ｇ以上のアニオン交換能力を示す。最も好ましくは、本発明の胆汁酸封鎖剤は、約５ｍｅｑ／ｇ～約６ｍｅｑ／ｇのアニオン交換能力を示す。

【００４６】

本発明の胆汁酸封鎖剤は、遊離塩基の形態、又は薬学的に許容できる酸塩の形態、又はこれらの混合物の形態で用いることができる。薬学的に許容できる酸塩は、治療学的に有効量で用いた場合に、それらのアニオンが、塩を投与される生体に対して不毒性であるものである。かかる塩の例は、塩酸及びリン酸のような無機酸又は酢酸、クエン酸、乳酸及びマロン酸のような有機酸から誘導されるものである。本発明の種々の塩形態は、酸を、好適な溶媒、例えば水又は水及びアルコールの溶液中に溶解し、遊離塩基を溶液で処理して塩を形成させた後、不溶の塩を溶液から単離することによって調製することができる。

【００４７】

約１０ミクロン～約４００ミクロン、好ましくは約１０～約２００ミクロンの平均粒径を示す水和された、即ち水で膨潤された粒子が、胆汁酸封鎖剤として用いるために本発明の方法によって調製されるポリマーの好ましい形態である。

【００４８】

概して、本発明の胆汁酸封鎖剤は、治療学的に有効量の胆汁酸封鎖剤を哺乳動物に経口投与することによって哺乳動物の血液コレステロール濃度を低めるために用いられる。血液コレステロールを低めるのに最も好適な封鎖剤投与量は、投与の形態、封鎖剤の具体的態様、及び、封鎖剤が投与される患者の生理学的特性によって変化する。概して、投与量は、一日あたり、哺乳動物の体重１ｋｇあたり約２～約１２５ｍｇ（ｍｇ／ｋｇ）である。（実施例５において示されているような）ビーグル犬を用いた生理学的実験に基づいて、ヒトにおける治療学的投与量は、概して、一日あたり、体重１ｋｇあたり約２～約１２５

ｍｇ（ｍｇ／ｋｇ）であると考えられる。これは、８０ｋｇのヒトの患者に対して、一日あたり約０．２～約１０ｇの投与量に相当する。より広範囲に用いる投与量は、一日あたり、体重１ｋｇあたり約３５～約５０ｍｇ／ｋｇであり、これは８０ｋｇの患者に対して約２．５～約４ｇ／日に相当する。

【００４９】

本発明の薬剤組成物は、（１）胆汁酸封鎖剤ポリマー粒子を含む治療学的に有効量のポリマー組成物と（２）薬学的に許容できるキャリアとを配合することによって調製される。本発明の胆汁酸封鎖剤は、生の形態、又は封鎖剤が薬学的に許容できるキャリアと配合されている薬剤組成物の形態、例えばタブレット、カプセル、粒子、即ち顆粒剤又は粉末剤、あるいは水性懸濁液の形態をはじめとする任意の好適な方法で経口投与することができる。経口用のタブレットの場合には、ラクトース及びコーンスターチのような通常用いられるキャリア、及びステアリン酸マグネシウムのような滑剤を加えることができる。カプセル形態の経口投与の場合には、有用な希釈剤、例えばラクトース及び乾燥スターチを使用できる。経口用に水性懸濁液が要求されている場合には、活性成分を、乳化剤及び懸濁剤と配合する。所望の場合には、甘味剤及び香味剤を加えることができる。特定の形態の封鎖剤を、アップルソース、果実シチュー、ジュース及びシリアルのような食料品との混合物として投与することができる。

【００５０】

本発明の胆汁酸封鎖剤は、血液中のコレステロール濃度を低下させるようにする他の処置と組み合わせて用いることができる。好ましい薬剤組成物は、本発明の封鎖剤とともにコレステロール生合成を抑制する治療学的に有効量の物質を含む。かかる物質の例としては、ＨＭＧ－コエンチームＡ（ＨＭＧ－ＣｏＡ）レダクターゼ抑制剤、ＨＭＧ－ＣｏＡシンターゼ抑制剤、スクアレンエポキシダーゼ抑制剤及びスクアレンシンターゼ抑制剤が挙げられるが、これらに限定されるものではない。より好ましい薬剤組成物は、コレステロール生合成抑制物質としてＨＭＧ－ＣｏＡレダクターゼ抑制剤を含む。かかるＨＭＧ－ＣｏＡレダクターゼ抑制剤の例は、ロバスタチン、シムバスタチン（simvastatin）、プラバスタチン（pravastatin）及びフルバスタチン（fluvastatin）である。ＨＭＧ－ＣｏＡシンターゼ抑制剤の例は、β－ラクトン誘導体、β－ラクタム誘導体及び置換オキサシクロプロパンアナローグである。本発明の封鎖剤と組み合わせて投与することのできる他のコレステロール濃度低下剤としては、ニアシン、プロブコール、フィブリル酸（fibric acid）（クロフィブレート及びゲムフィブロジル）及びＬＤＬ－レセプター遺伝子インデューサが挙げられる。

【００５１】

本発明はその実施態様として、以下のものを包含する。

１．（ａ）アミン含有モノマーを含むモノマー混合物をラジカル重合によって重合し、（ｂ）多官能性アミン反応性化合物で非ラジカル架橋を行って、コレスチラミンよりも大きな胆汁酸封鎖力を有するポリマー粒子を与えることを含む、実質的に水不溶性の胆汁酸封鎖剤ポリマー粒子の製造方法。

２．重合を懸濁重合として行い、アミン含有モノマーが水溶性である前記第１項に記載の方法。

３．重合中に、球状形態のポリマー粒子を与えるのに十分な量の分散剤を用いることを更に含む前記第２項に記載の方法。

４．架橋が、ポリマー粒子の形成中に起こる前記第１項に記載の方法。

５．多官能性アミン反応性化合物を、存在する全モノマーの約０．１～約５０モル％の量で用いる前記第１項に記載の方法。

６．多官能性アミン反応性化合物を、存在する全モノマーの約２～約１０モル％の量で用いる前記第１項に記載の方法。

７．工程（ａ）を完結させて未架橋ポリマーを調製した後に工程（ｂ）を行う前記第１項に記載の方法。

８．アミン含有モノマーが、非置換又は置換アミノアルキル（メタ）アクリレートエス

テルあるいは非置換又は置換アミノアルキル（メタ）アクリルアミドである前記第１項に記載の方法。
９．アミノアルキル（メタ）アクリレートエステルがジメチルアミノエチルメタクリレートである前記第８項に記載の方法。
１０．アミノアルキル（メタ）アクリルアミドがジメチルアミノプロピルメタクリルアミドである前記第８項に記載の方法。
１１．多官能性アミン反応性化合物が、非置換又は置換の以下の化合物：ジハロアルカン、アラルキルジハライド、アルキレンジエステル、アリールジエステル、アラルキルジエステル、アルキレンジアシルハライド、アリールジアシルハライド、アラルキルジアシルハライド、ジアルデヒド、ジエポキシアルカン、エピハロヒドリン及びアラルキルジエポキシドから選択される前記第１項に記載の方法。
１２．ジハロアルカンが、１，２－ジクロロエタン、１，２－ジクロロプロパン、１，３－ジクロロプロパン、１，３－ジクロロ－２－プロパノール及び１，４－ジクロロブタンからなる群から選択される前記第１１項に記載の方法。
１３．エピハロヒドリンがエピクロロヒドリンである前記第１１項に記載の方法。
１４．前記第１項に記載の方法にしたがって製造されるポリマー組成物。
１５．ポリマー粒子が、側鎖連結基を介してポリマー骨格に結合しているアミン官能基を有している前記第１４項に記載のポリマー組成物。
１６．ポリマー粒子が、薬学的に許容できる塩の形態である前記第１４項に記載のポリマー組成物。
１７．治療学的に有効量の前記第１４項に記載のポリマー組成物及び薬学的に許容できるキャリアを含む薬剤組成物。
１８．治療学的に有効量のコレステロール生合成抑制材料を更に含む前記第１７項に記載の薬剤組成物。
１９．コレステロール生合成抑制材料が、ＨＭＧ－ＣｏＡレダクターゼ抑制剤である前記第１８項に記載の薬剤組成物。
２０．哺乳動物に、前記第１項に記載の方法にしたがって調製した治療学的に有効量の胆汁酸封鎖剤を経口投与することを含む、哺乳動物中の血液コレステロール濃度を低下させる方法。
２１．投与量が、一日あたり、哺乳動物の体重１ｋｇあたり約２ｍｇ～約１２５ｍｇである前記第２０項に記載の方法。
２２．哺乳動物に、治療学的に有効量のコレステロール生合成抑制材料を投与することを更に含む前記第２０項に記載の方法。
２３．（ａ）分散剤を用いて、水溶性アミン含有モノマーを含むモノマー混合物をラジカル重合によって懸濁重合して、球状形態のポリマー粒子を調製し；
（ｂ）粒子の形成中に、多官能性アミン反応性化合物で非ラジカル架橋させて、コレスチラミンよりも大きな胆汁酸封鎖力を有し、側鎖連結基を介してポリマー骨格に結合したアミン官能基を有するポリマー粒子を調製することを含む、実質的に水不溶性の胆汁酸封鎖剤ポリマー粒子を製造する方法。
２４．アミン含有モノマーがジメチルアミノプロピルメタクリルアミドであり、多官能性アミン反応性化合物が置換ジハロアルカンである、前記第２３項に記載の方法にしたがって調製されるポリマー組成物。
２５．多官能性アミン反応性化合物を、存在する全モノマーの約２～約１０モル％の量で用いる前記第２４項に記載のポリマー組成物。
２６．置換ジハロアルカンが１，３－ジクロロプロパン又は１，３－ジクロロ－２－プロパノールである前記第２５項に記載のポリマー組成物。
２７．ポリマー粒子が、コレスチラミンの効力の少なくとも３倍の胆汁酸封鎖力を有する薬学的に許容できる塩の形態である前記第２４項に記載のポリマー組成物。
以下の実施例は本発明を例示するためのものであり、特許請求の範囲において限定される他は本発明を制限するものではない。ここで用いる比率及びパーセントは、他に示されて

いない限り全て重量基準であり、実施例において用いられている全ての試薬は他に示されていない限り良好の市販品質のものである。

【００５２】

（実施例１）

本実施例は、二官能性アミン反応性化合物である１，３－ジクロロプロパンで架橋された、水溶性ジメチルアミノプロピルメタクリルアミド（ＤＭＡＰＭＡＭ）からの本発明の球状架橋粒子の調製を示すものである。

【００５３】

用いた分散剤は、アンヒドログルコース１単位あたり約４．０モルのエチレンオキシド及びアンヒドログルコース１００単位あたり約０．７～１．０個のセチル基で置換されており、約３００，０００の分子量及び１％水溶液中の粘度が約４００メガパスカルである変性ヒドロキシエチルセルロースであった。

【００５４】

塩化ナトリウム９９．４ｇを秤量し、この塩化ナトリウムの約６ｇを１．５ｇの分散剤と共に乳鉢中で粉砕して均一な混合物にし、水溶液を調製した。未粉砕の塩化ナトリウムを、約５５℃において脱イオン水２７４．１ｇに攪拌しながら加えた。粉砕した塩化ナトリウム／分散剤混合物を水にゆっくりと加えた後、５５℃において全ての固形分が溶解するまで攪拌した。

【００５５】

６７．０ｇのＤＭＡＰＭＡＭ、３．４４ｇの１，３－ジクロロプロパン、５６．２ｇのｏ－キシレン及び０．６８７ｇの２，２’－アゾ－ビス（２，４－ジメチルバレロニトリル）を混合することによってモノマー混合物を調製した。全モノマー重量を基準とした二官能性アミン反応性化合物の含有率は５％（７．３モル％）であった。

【００５６】

２ブレードの攪拌機を取り付けた１リットルの丸底フラスコ中に水性相を配置し、５５℃で攪拌した。モノマー混合物を反応容器に移し、５５℃の温度を維持しながら１４時間攪拌した後、固形分を排出して液体を除去し、水で３回洗浄して、塩及びキシレンの大部分を除去した。

【００５７】

次に、洗浄した樹脂を減圧下６０℃で乾燥し、約２００μ未満の粒径に粉砕した。乾燥樹脂の回収率は約８０～８５％であった。Ｘ線光電子分光法（ＥＳＣＡ：Electron Spectroscopy for Chemical Analysis）によって、荷電窒素（第４級）及び中性窒素（アミド＋アミン）の存在が示された。

【００５８】

（実施例２）

本実施例は、二官能性アミン反応性化合物である１，３－ジクロロ－２－プロパノールで架橋されたＤＭＡＰＭＡＭモノマーからの本発明の球状架橋粒子の調製を示すものである。

【００５９】

本実施例の球状コポリマービーズは、１２１．８ｇのＤＭＡＰＭＡＭ、６．２５ｇの１，３－ジクロロ－２－プロパノール、１．２５ｇの２，２’－アゾ－ビス（２，４－ジメチルバレロニトリル）を用い、キシレンを用いなかった他は、実施例１と同一の手順を用いて調製した。全モノマー重量を基準とした二官能性アミン反応性化合物の含有率は５％（６．５モル％）であった。乾燥樹脂の回収量は１１６ｇ（９３％）であった。ＥＳＣＡによって、荷電窒素（第４級）及び中性窒素（アミド＋アミン）の存在が示された。

【００６０】

（実施例３：比較例）

実施例１と同様の方法で、ＤＭＡＰＭＡＭを公知のポリビニル架橋剤であるジビニルベンゼン（ＤＶＢ）と共重合することによって、多孔性球状ビーズの形態の架橋ポリ（ジメチルアミノプロピルメタクリルアミド）の試料を調製した。

【００６１】
ＤＭＡＰＭＡＭ及びＤＶＢ（活性成分５５重量％；エチルビニルベンゼン４５％）を混合することによってモノマー混合物を調製した。ｏ－キシレンは用いなかった。２，２’－アゾ－ビス（２，４－ジメチルバレロニトリル）及び２，２’－アゾ－ビス（２－メチルブタンニトリル）をベースとして混合開始剤溶液（アセトン中３０重量％）を調製した。２，２’－アゾ－ビス（２，４－ジメチルバレロニトリル）開始剤はモノマーに対して０．７重量％で用い、２，２’－アゾ－ビス（２－メチルブタンニトリル）開始剤はモノマーに対して０．３重量％で用いた。
【００６２】
分散剤（実施例１に記載されている塩化ナトリウムに代えて硫酸ナトリウムを用いた）を含む水性相を、攪拌機を取り付けた丸底フラスコ中に配置した。モノマー混合物を反応容器に移し、攪拌しながら７２℃に加熱した。次に、開始剤溶液を加え、温度を７２℃に２．５時間保持した。温度を９０℃に上げて更に３時間保持した後、１００℃に昇温し更に３時間保持した。反応混合物を冷却した後、固形分を排出して液体を除去し、十分に洗浄して塩を除去した。次に、洗浄した樹脂を対流オブン中で６０℃で乾燥し、約２００μ未満の粒径に粉砕した。
【００６３】
この実験においては、異なる量のＤＶＢで架橋した三つの異なるポリマーを調製した。試料３Ａは１モル％のＤＶＢを含んでおり、試料３Ｂは３モル％のＤＶＢを含んでおり、試料３Ｃは５モル％のＤＶＢを含んでいた。
【００６４】
（実施例４：比較例）
実施例１と同様の方法で、ＤＭＡＰＭＡＭを公知のポリビニル架橋剤であるジビニルベンゼン（ＤＶＢ）及びジエチレングリコールジビニルエーテル（ＤＥＧＤＶＥ）と共重合することによって、巨大孔性球状ビーズの形態の架橋ポリ（ジメチルアミノプロピルメタクリルアミド）の試料を調製した。
【００６５】
ＤＭＡＰＭＡＭ、ＤＶＢ（活性成分８０重量％；エチルビニルベンゼン２０％）、ＤＥＧＤＶＥ、２，２’－アゾ－ビス（２，４－ジメチルバレロニトリル）開始剤（全モノマーの１重量％）及びｏ－キシレン（モノマーの９１重量％）を混合することによってモノマー混合物を調製した。架橋剤の濃度は、全モノマーに対してＤＶＢが４重量％でＤＥＧＤＶＥが０．５重量％であった（全ジビニル架橋剤５．７モル％）。
【００６６】
残留ｏ－キシレンを蒸気スイープ蒸留によって除去した他は実施例１に記載のようにして重合及びポリマーの処理を行った。
【００６７】
（実施例５）
本発明の架橋コポリマーの胆汁酸封鎖剤としての有効性をビーグル犬において評価した。それぞれ９～１１ｋｇの体重のビーグル犬に、一定量（２００～３００ｇ／一頭／日）で、半合成低コレステロール餌料を与えて、それぞれの犬の体重を安定化させた。半合成餌料は、ビタミンフリーカゼイン３２．０１％、デキストロース４３．１４％、ラード１２．４２％、タラ肝油２．３９％、カルシウムホスフェート２．７２％、セラ（cella）小麦粉４．９２％、ヘグステッド（hegsted）ビタミンミックスＮｏ．１４　２．３９％を含んでいた。
【００６８】
胆汁酸封鎖剤を含まない半合成餌料を６カ月与え、１週あたり２回採取した血液試料の血漿コレステロールレベルを測定することによって、ベースライン血漿コレステロールレベルをそれぞれの犬に関して確定した。ベースライン血漿コレステロールレベルを決定した後、４週の間、コレスチラミン胆汁酸封鎖剤を餌料と混合し（３、６及び１２ｇ／一頭／日の投与量）、血漿コレステロールレベルを１週に２回測定して、それぞれの犬に関して

コレスチラミン投与量と血清コレステロールレベルとの間の関係を特徴づけた。

【００６９】

投与量／応答の関係を導いた後、本発明のコポリマーを３ｇ／一頭／日又は６ｇ／一頭／日のいずれかの投与量で餌料中においてコレスチラミンと置き換えるまで、犬にコレスチラミン１２ｇ／一頭／日の摂生を続けた。犬に本発明のコポリマーを与え、犬の血漿コレステロールレベルを４週間の間毎日測定した。胆汁酸封鎖剤を与えた犬の血清コレステロールレベルは、ベースラインレベル以下のレベルで安定した。式３にしたがって有効性ファクター（ＥＦ）を算出することによって、本発明の架橋胆汁酸封鎖剤と、コレスチラミン１２ｇ／日の比較投与のとの有効性の関係を求めた。

【００７０】

式３：　ＥＦ＝（（Ｎ－Ｂ）／（Ｎ－Ａ））（１２／Ｘ）　　（３）

ここで、

ＥＦ＝有効性ファクター；

Ｎ＝胆汁酸封鎖剤を含まない半合成餌料の場合の血清１デシリットル中のコレステロールのｍｇ数としての血清コレステロールレベル（コレステロールｍｇ／血清ｄｌ）；

Ａ＝コレスチラミン１２ｇ／日を含む半合成餌料の場合の血清コレステロールレベル（ｍｇ／ｄｌ）；

Ｘ＝半合成餌料中に含まれる本発明の胆汁酸封鎖剤の投与量（胆汁酸封鎖剤ｇ／日）；

Ｂ＝本発明の架橋胆汁酸封鎖剤Ｘｇを含む半合成餌料の場合の血清コレステロールレベル（ｍｇ／ｄｌ）。

【００７１】

上記の方法にしたがって、実施例２及び比較実施例３Ａ、３Ｂ、３Ｃ及び４の封鎖剤を、それぞれビーグル犬に関して試験した。水性相溶液重合によって調製し、２６１，０００の数平均分子量及び５８８，０００の重量平均分子量を有する未架橋ポリ（ジメチルアミノプロピルメタクリルアミド）の試料を、同様にこの方法にしたがって試験し、下表において試料５Ａとして示した。表１において、試験したそれぞれの封鎖剤に関して式３にしたがって算出したＥＦを、封鎖剤ｇ／一頭／日（ｇ／一頭／日）として表した投与量、並びに該投与量を与えた犬を同定する番号（犬番号）と共に示した。

【００７２】

表１の結果によって、本発明の胆汁酸封鎖剤（実施例２）が、ポリビニル架橋剤（実施例３Ａ、３Ｂ、３Ｃ及び４）で調製した封鎖剤又は架橋剤を用いずに調製した封鎖剤（実施例５Ａ）を凌ぐ向上せしめられた有効性を有することが示される。

【００７３】

【表１】

ジビニル架橋剤モル％	非ビニル架橋剤モル％	実施例番号	犬番号	投与量（ｇ／一頭／日）	ＥＦ
0	6．5	2	２０５	3	4
1．0	0	3Ａ（比較例）	２０９	3	1．3
3．0	0	3Ｂ（比較例）	２０６	3	1．7
5．0	0	3Ｃ（比較例）	２０５	3	2．1
5．7	0	4（比較例）	３０１	3	2．7
0	0	5Ａ（未架橋）	２０６	6	3．2

【００７４】

（実施例６）

脱イオン水中の封鎖剤粒子の懸濁液を調製した。懸濁液を、血清を含まない培養培地中に逐次希釈した。試験した最も濃度の高い懸濁液は、懸濁液１ミリリットルあたり封鎖剤１０００μｇ（μｇ／ｍｌ）であった。

【００７５】

指数関数的に成長するチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）の細胞培養物を、封鎖剤希釈液で３時間処理した。処理の間、培養物を振とうプラットホーム上で穏やかに振とうして、全処理時間の間、細胞上に懸濁液が均一に保持されるようにした。陰性の比較試料、即ち血清を含まない培養培地で処理したＣＨＯ細胞培養物、及び溶媒比較試料、即ち血清を含まない培養培地中で１％の脱イオン水で処理したＣＨＯ細胞培養物を試験に含めた。

【００７６】

Ｄｕｌｂｅｃｃｏホスフェート緩衝食塩水で２回培地を洗浄することによって処理を停止し、０、５又は２１時間について、即ち処理の開始から３、８又は２４時間に関して、細胞を１０％のウシ胎児血清を含むＭｃＣｏｙ５Ａ培地中に回収した。

【００７７】

トリプシン－ＥＤＴＡで処置し、細胞単層を培地フラスコから掻き出すことによって、細胞を３及び２４時間において採取した。採取した細胞をＣｏｕｌｔｅｒカウンターによって計数して、細胞数の相対的減少を測定した。選択された投与量において、血球計を用いてＴｒｙｐａｎブルー除去カウントを行なって細胞の生存率を決定し、幾つかの死亡細胞がＣｏｕｌｔｅｒカウンターで計数される可能性を制御した。８時間においては細胞の計数を行わなかったが、培養単層を、反転顕微鏡（inverted microscope）下で毒性の証拠に関して観察した。

【００７８】

実施例２及び比較実施例５Ａ（未架橋）の封鎖剤を、それぞれ、上記に示す手順を用いて細胞毒性に関して試験した。細胞毒性試験の結果を表２において、試験したそれぞれの封鎖剤に関してED_{50}値（μｇ／ｍｌ）として示す。ここで、ED_{50}値は、処理した細胞培地中の細胞の５０％を死滅させるのに有効なそれぞれの封鎖剤の最小投与量を示すものである。

【００７９】

表２における結果によって、本発明の胆汁酸封鎖剤（実施例２）は、架橋剤を用いないで調製した封鎖剤（実施例５Ａ）と比較して大きく低下せしめられた毒性を有していることが示される。１００μｇ／ｍｌ以上のED_{50}値を有する物質は一般に非毒性であると考えられ、１００μｇ／ｍｌ以下の値を有する物質は毒性であると考えられ、ED_{50}の値が１００μｇ／ｍｇを更に下回って減少するにつれて毒性の度合いが上昇すると考えられる。

【００８０】

【表２】

実施例番号	ED_{50}（μｇ／ｍｌ）
２	＞１００
５Ａ	１０．０

フロントページの続き

(72)発明者　ポール・エドワード・ブライム
アメリカ合衆国ペンシルバニア州１９４６４、ポットストーン、クライン・アベニュー　５１４
(72)発明者　ラリー・ウェイン・ステフィアー
アメリカ合衆国ニュージャージー州０８０３４、チェリー・ヒル、ファウンテン・コート　４

審査官　大宅　郁治

(56)参考文献　特開平０２－０３６１０６（ＪＰ，Ａ）
特開昭６４－０２２９２４（ＪＰ，Ａ）
カナダ国特許出願公開第２１０１０１０（ＣＡ，Ａ１）
カナダ国特許出願公開第２１０１０１１（ＣＡ，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K
C08L
WPI
REGISTRY/CA(STN)