



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

C08G 65/30 (2006.01)
C08G 65/32 (2006.01)
C08G 65/329 (2006.01)
C08G 65/00 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0058549
(43) 공개일자 2007년06월08일

(21) 출원번호 10-2007-7007148
(22) 출원일자 2007년03월29일
심사청구일자 없음
번역문 제출일자 2007년03월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US2005/030518
국제출원일자 2005년08월25일

(87) 국제공개번호 WO 2006/028745
국제공개일자 2006년03월16일

(30) 우선권주장 10/932,629 2004년09월01일 미국(US)

(71) 출원인 다우 글로벌 테크놀로지스 인크.
미국 48674 미시건주 미들랜드 워싱턴스트리트 빌딩 1790

(72) 발명자 샤페로우, 크리스토퍼, 엠.
미국 48642 미시건주 미들랜드 애보트 로드 2610
다우그스, 에드워드, 디.
미국 48642 미시건주 미들랜드 엔. 튜펠로 드라이브 2788
가틀링, 스틸링, 씨.
미국 48642 미시건주 미들랜드 스위트 애버뉴 5101
시케마, 케빈, 디.
미국 48640 미시건주 미들랜드 우드론 스트리트 4214
투로우스키, 마쎬즈
미국 48642 미시건주 미들랜드 바우스 코트 1705
월링포드, 로스, 에이.
미국 웨스트 버지니아주 스코트 디포 애플루사 레인 4

(74) 대리인 김영
장수길

전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 고순도의 고분자량 메톡시-폴리에틸렌글리콜 (M P E G)

(57) 요약

본 발명은 중합이 완료된 후 mPEG 알콜로부터 PEG 디올을 제거하여 신규한 고분자량 및 고순도 mPEG 알콜 조성물을 얻기 위한 방법뿐만 아니라 상술한 조성물에 관한 것이다.

특허청구의 범위

청구항 1.

다분산도 값이 1.1 미만이고 규정된 분자량이 10,000 달톤 내지 약 60,000 달톤인 적어도 95 중량% 화학적 순도의 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜).

청구항 2.

제 1항에 있어서, 다분산도 값이 1.05 미만인 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜).

청구항 3.

(a) 불결한 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)을 공급하는 단계, 및

(b) 중합체의 흡착/탈착, 한외여과, 크로마토그래피, 침전 및 이들의 조합 (이에 제한되지는 않음)과 같은 분리 기술로 불결한 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)을 정제하는 단계,

를 포함하는, 다분산도가 1.1 미만이고 규정된 분자량이 10,000 달톤 내지 약 60,000 달톤인 적어도 95 중량% 화학적 순도의 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜) 조성물을 얻는 방법.

청구항 4.

제 3항에 있어서, 정제 단계가 불결한 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)로부터 PEG 디올의 분리를 포함하고, 분리된 PEG 디올의 분자량이 얻어진 정제된 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)의 분자량과 상이한 방법.

청구항 5.

제 4항에 있어서, 분리 기술이 중합체의 흡착/탈착을 포함하고, 중합체가 프로톤성 용매의 존재하에서 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜) 및 PEG 디올의 에테르 산소 원자와 수소 결합할 수 있는 반복되는 펜던트 관능기를 함유하는 방법.

청구항 6.

제 5항에 있어서, 중합체의 반복되는 펜던트 관능기가 CO_2H , SO_3H , PO_3H_2 , NH , NH_2 , OH 또는 SH 로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 7.

제 5항에 있어서, 중합체가 폴리산인 방법.

청구항 8.

제 7항에 있어서, 중합체가 폴리(카르복실산)인 방법.

청구항 9.

제 8항에 있어서, 중합체가 가교된 폴리(카르복실산) 수지인 방법.

청구항 10.

제 5항에 있어서, 프로톤성 용매가 물, C_1 내지 C_3 알콜 및 이들의 혼합물을 포함하는 군으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 11.

제 10항에 있어서, 프로톤성 용매가 물인 방법.

청구항 12.

제 3항에 있어서, 한외여과의 기술이 저분자량의 물질을 막에 통과시켜 제거하기에 적합한 구멍 크기를 갖는 막과 불결한 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜) 용액을 접촉시키는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 13.

제 3항에 있어서, 수용액으로부터 목적하는 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜) 조성물을 분리하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 14.

제 13항에 있어서, 분리가 분무 건조에 의하여 달성되는 방법.

청구항 15.

폴리에틸렌 글리콜 및 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)을 유도체화제와 반응시켜 유도 폴리에틸렌 글리콜 및 유도 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)을 형성한 후 임계 조건하에서 액체 크로마토그래피함을 특징으로 하며, 시료는 임계 조건 하에서 액체 크로마토그래피에 의해 크로마토그래프로 분석되는, 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜) 중의 폴리에틸렌 글리콜을 결정하기 위한 개선된 화학적 분석 방법.

청구항 16.

제 15항에 있어서, 유도체화제가 벤조일 클로라이드인 방법.

청구항 17.

제 16항에 있어서, 벤조일 클로라이드가 디니트로 벤조일 클로라이드인 방법.

명세서

기술분야

본 발명은 mPEG 알콜로부터 PEG 디올을 제거하여 신규한 고분자량 및 고순도 mPEG 알콜 조성물을 얻기 위한 방법뿐만 아니라 상술한 조성물에 관한 것이다.

배경기술

생활성 (bioactive) 분자의 치료학적 효력은 이들을 폴리(에틸렌 글리콜) (PEG)과 접합시킴으로써 향상시킬 수 있다. PEG는 종종 메틸 기로 캡핑된 하나의 수산화 말단 기 및 접합을 위해 활성화된 다른 수산화 기가 있는 선형 폴리(에틸렌 글리콜)이다. 활성화 mPEG는 전형적으로 메탄올 또는 그의 동등물로 에틸렌 옥사이드의 음이온 중합을 개시시킴으로써 만들어지는 mPEG 알콜로부터 만들어진다. 만약 중합에서 임의의 물이 있다면, 양쪽 말단 모두에 수산화 기가 있는 선형 PEG가 형성된다. PEG 디올이 mPEG 알콜과 동일한 활성화 및 접합 화학을 갖기 때문에 mPEG 알콜 내의 PEG 디올의 존재는 바람직하지 않다.

PEG 디올의 양은 중합 반응기에서 물의 양을 감소시킴으로써 줄일 수 있다. 미국 특허 제 6,455,639호는 매우 건조한 조건하에서의 EO의 중합에 의한 분자량이 20,861까지인 mPEG 알콜의 제조를 개시하고 있다. 이러한 물의 매우 낮은 수준을 얻기 위해선 큰 노력이 필요하다.

별법으로, PEG 디올을 그의 비반응성 디메틸 에테르로 변환할 수 있다. 이는 벤질 알콜로 EO의 중합을 개시하고, (벤질 PEG 및 PEG 디올 양쪽 모두에 있는) 모든 수산화 기를 과메틸화한 후, 벤질 기를 제거하여 mPEG 알콜 및 디메틸 PEG를 얻음으로써 수행한다 (미국 특허 제 6,448,369호). PEG 디올의 과메틸화는 두 개의 추가적인 화학 단계를 필요로 하고, 바람직한 mPEG 알콜의 농도는 디메틸 PEG의 존재에 의하여 감소한다.

상기 기술한 방법 이외에, 과량의 디올의 제거를 위한 다양한 정제 기술이 문헌에 기술되어 있다. 스노우 (Snow) (스노우의 미국 특허 제 5,298,410호, 1994)는 모든 수산화 기를 디메톡시트리틸 에테르로 변환시키고, 역상 크로마토그래피로 메틸 트리틸 PEG로부터 디트리틸 PEG를 분리한 후, 메틸 트리틸 PEG로부터 트리틸 기를 제거하여 mPEG를 얻었다. 라피에니스 (Lapienis) (문헌 [Lapienis and Penczek, J. Bioactive Compatible Polymers, 16, 206 (2001)])는 분석의 의하면 임의의 PEG가 있을 경우 이는 거의 제거되지 않았음을 나타내지만, 한외여과를 사용하여 2 K mPEG를 정제하였다. 카잔스키 (Kazanskii) (문헌 [Kazanskii et al, Polymer Science Ser. A, 42, 585 (2000)])도 또한 한외여과를 사용하여 불순물을 제거하였다. 코쿠푸타 (Kokufuta) (문헌 [Kokufuta et al, Polymer, 24, 1031 (1983)])는 폴리아크릴산 (PAA)으로 착화시켜 PEG의 분자량 분포를 좁히는 것을 기술하였다.

상기 인용한 모든 종래 기술의 정제는 분자량이 5 킬로달톤 이하인 mPEG 알콜을 사용한다. PEG에 부착된 생활성 분자의 수명은 PEG의 분자량과 함께 증가한다. 그러므로, 분자량이 적어도 10 킬로달톤인 활성화 mPEG 알콜을 사용하는 것이 바람직하다.

<발명의 개요>

본 발명은 mPEG로부터 PEG 디올을 제거하기 위한 분리 기술을 사용하여 신규한 고분자량 및 고순도 mPEG 알콜 조성물을 얻기 위한 방법뿐만 아니라 상술한 조성물에 관한 것이다.

발명의 상세한 설명

본 발명은 다분산도 값이 1.1 미만이고 규정된 분자량이 10,000 달톤 내지 약 60,000 달톤인 적어도 95 중량% 화학적 순도의 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)을 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)은 다분산도 값이 1.05 미만이다. 본 발명은 추가로 다분산도 값이 1.1 미만이고 규정된 분자량이 적어도 10,000 달톤 내지 약 60,000 달톤 이하인 적어도 95 중량% 화학적 순도의 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)을 얻기 위한 방법을 포함한다. 이 방법은 폴리(에틸렌글리콜) (이하 "PEG 디올"이라 지칭함) 및 저분자량 유기 및 무기 분자를 포함하여 1종 이상의 불순물이 있는 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)로 특징되는 불결한 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)을 공급하는 첫번째 단계를 포함한다. 불결한 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)은 "폴리(에틸렌 옥사이드)" (문헌 [F.E. Bailey, Jr. and J.V. Koleske, Academic Press, New York, 1976])에서 기술된 것과 같은 널리 공지된 중합 기술에 따라 얻을 수 있다.

불결한 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)은 중합체의 흡착/탈착, 한외여과, 크로마토그래피, 침전 또는 상기의 하나 이상의 조합 (이에 제한되지는 않음)과 같은 하나 이상의 분리 기술에 의하여 직접적으로 정제한다. 그 다음에, 분리된 PEG 디올 및 저분자량 유기 또는 무기 분자를 정제된 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)로부터 제거한다. PEG 디올은 여기서 얻어진 정제된 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜)보다 고분자량 또는 저분자량일 수 있다.

본 발명의 일 실시양태에서, 분리 기술은 중합체의 흡착/탈착을 포함한다. 중합체의 흡착/탈착은 바람직하게는 프로톤성 용매의 존재하에서, mPEG 알콜 및/또는 PEG 디올의 에테르 산소 원자와 수소 결합할 수 있는 반복되는 펜던트 관능기를 함유하는 중합체로의 불결한 mPEG 알콜의 처리를 포함한다. 바람직하게는, 펜던트 관능기는 CO_2H , SO_3H , PO_3H_2 , NH , NH_2 , OH 및 SH 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직하게는, 상기 중합체는 폴리산이다. 더 바람직하게는, 상기 중합체는 폴리(카르복실산)이다. 더 바람직하게는, 상기 중합체는 가교된 폴리(카르복실산) 수지이다. 바람직하게는, 상기 프로톤성 용매는 물, C_1 내지 C_3 알콜 또는 이들의 혼합물을 포함하는 군으로부터 선택된다. 더 바람직하게는, 상기 프로톤성 용매는 물이다.

본 발명의 제 2 실시양태에서, 분리 기술은 한외여과를 포함한다. 한외여과는 저분자량의 물질이 막을 통과하여 제거되기에 적합한 구멍 크기를 갖는 막과 불결한 mPEG 알콜 용액을 접촉시키는 것을 포함한다.

크로마토그래피의 분리 기술은 활성 지지물로 충전된 컬럼의 한쪽 끝에 중합체를 넣고, 적합한 용매를 컬럼에 통과시키고, 컬럼의 다른 끝에서 분획물을 수집하는 것을 포함한다. 불결한 알콜의 다양한 성분이 컬럼에서 분리되어 분리된 분획물로 수집된다.

PEG 디올 함량에 대한 mPEG 중합체의 분석은 임계 조건 HPLC 분석에 의하여 결정한다 (문헌 [Gorshkov; J. Chrom. 523, 91 (1990)], 문헌 [Kazanskii et al, Polymer Science Ser. A, 42, 585 (2000)], 문헌 [Lapienis and Penczek, J. Bioactive Biocompat Polymers, 16, 206 (2001)]). 중합체의 머무름 시간은 분자량에 독립적이고 오로지 중합체 말단기에 따라 좌우되므로, 임계 조건 크로마토그래피는 PEG 디올로부터의 mPEG의 분석 분리를 위한 상기 적용에서 유용하다. 특히 이 경우, mPEG 및 PEG 디올 중합체는 3,5-디니트로벤조일 클로라이드로 유도되고 역상 분석 컬럼 상의 임계점에서 분리되고 UV로 검출된다.

침전의 분리 기술은 혼화성 비용매의 첨가에 의하여, 제어된 냉각에 의하여, 또는 용매의 제어된 증발에 의하여 용액으로부터 중합체를 연속적으로 침전시키는 것을 포함한다. 고분자량인 중합체 분자가 먼저 침전된다.

본 발명의 바람직한 실시양태에서, 방법은 추가로 분무 건조, 비용매의 첨가, 양호한 용매로 추출한 후 비용매의 첨가 및 진공 하에서의 용매의 증발로 이루어진 군으로부터 선택된 분리 기술에 의하여 수용액으로부터 순수한 모노메톡시 폴리(에틸렌글리콜) 조성물을 분리하는 단계를 포함한다. 더 바람직한 분리 기술은 분무 건조를 포함한다. 분무 건조의 단계는 중합체의 용액을 챔버로 분무하여 비말을 형성하고, 흐르는 뜨거운 공기에서 비말의 용매를 증발시켜 건조된 분말을 얻는다.

실시에

실시에 1 - 한외여과

30 K mPEG로부터의 저분자량 중합체의 제거

조 mPEG (Mp 31,491, 5.0 mol% 디올)의 3.8 kg 시료를 약 75 kg의 DI 수에 용해시키고 한외여과 공급 탱크에 적재하였다. 오스모닉스 (Osmonics) 2.5 m² 10 K MWCO 막 (모델 # PW2540F1080)을 장치하였다. 재순환 펌프는 28 % 출력으로 켜다. 보유물 및 투과물 배압 밸브를 조정하여 30 psi 막투과 압력과 15 lpm의 보유물 유속을 달성하였다. 탱크 부피를 초기에 약 40 리터로 농축시켜 낮추고, 이 때 일정한 탱크 부피를 유지하기 위해 DI 수를 계속해서 첨가하였다. 총 303 kg의 투과물을 약 0.4 lpm의 평균 속도에서 수집하였다. 복합 시료의 GPC 분석은 투과물이 0.7 kg의 mPEG를 함유하고 있음을 나타내었다. 투과물의 GPC 프로파일은 저분자량 물질 쪽으로 현저히 구부러져 있었다. 추가로 공급 탱크 중의 보유물 분획물을 약 33 리터로 농축한 후 0.2 마이크론 폴리프로필렌 폴리쉬 (polish) 필터를 통해 배수하였다. 32.9 kg의 최종 보유물 시료는 GPC에 의거하여 7.6 % mPEG (2.5 kg mPEG)를 함유하였다. DI 수를 공급 탱크에 적재하고 약 15 분 동

안 재순환시켜 막 및 배관을 행구었다. GPC 분석은 36.3 kg의 행군 시료가 추가 0.6 kg의 mPEG를 함유하고 있음을 나타내었다. 최종 보유물 시료 중의 mPEG를 분무 건조기를 사용하여 분리하였다. 최종 분리된 생성물 중의 디올 농도는 2.7 mol%였다.

실시예 2 - 폴리아크릴산 (PAA)

주위 온도에서 20 K mPEG로부터의 고분자 성분의 제거

조 20 kDa mPEG를 DI 수에 용해시켜 mPEG의 1.49 중량% 용액을 만들었다. 이 용액의 317.3 g을 기계적 교반기가 장착된 1 L 삼각 플라스크에 첨가하였다. 교반하면서 총 21 g의 다우엑스 (Dowex) MAC-3 PAA 이온 교환 수지 (48 중량%의 물을 함유함)를 첨가하였다. 반응은 25 °C에서 42 시간 동안 교반하였다. 수지를 여과하였다. 상응하는 여과액의 GPC 분석은 고분자량 성분이 8.6 면적%에서 0.3 면적%로 감소하였음을 나타내었다.

고온에서 20 K mPEG로부터의 고분자 성분의 제거

조 20 kDa mPEG를 DI 수에 용해시켜 mPEG의 1.19 중량% 용액을 만들었다. 이 용액의 571.2 g을 재순환 수조, 기계적 교반기 및 응축기가 장착되고 N₂ 정화되는 1 L 둥근 바닥 플라스크에 첨가하였다. 교반하면서 22.4 g의 다우엑스 MAC-3 PAA 이온 교환 수지 (약 50 중량%의 물을 함유함) 및 0.083 g의 히드로퀴논을 첨가하였다. 반응은 63 °C에서 4.3 시간 동안 교반하였다. 수지를 여과하였다. 상응하는 여과액의 GPC 분석은 고분자량 성분이 9.2 면적%에서 0.6 면적%로 감소하였음을 나타내었다.

20 K mPEG로부터의 고분자 및 저분자 성분의 제거

0.725 % 수성 mPEG의 8017.1 g을 기계적 교반기, 응축기 및 온도 조절기가 장착되고 N₂ 정화되는 장착된 12 리터 둥근 바닥 플라스크에 첨가하였다. 교반하면서 93 g의 다우엑스 MAC-3 PAA (약 50 %의 물을 함유함) 및 1.4 g의 히드로퀴논을 첨가하였다. 반응은 56 °C에서 39 시간 동안 교반하였다. 고분자 PEG 성분을 함유하는 수지를 여과에 의하여 분리하고 버렸다. 31 g의 mPEG를 함유하는 7900 g의 여과액을 수집하였고 GPC 분석은 고분자량 성분이 4.6 면적%에서 0.2 면적%로 감소하였음을 나타내었다.

여과액을 (75 % 초과 mPEG를 착화시키기엔 충분한) 91 g의 새로운 PAA와 함께 반응기에 다시 첨가하였다. 반응 혼합물을 61 °C에서 32 시간 동안 교반하였다. mPEG를 함유하는 PAA 수지를 여과에 의하여 수집하고 여과액 (7872 g)을 버렸다. (mPEG를 함유하는) 115 g의 PAA 수지 습윤 케이크를 탈이온수로 세척하고 237 g의 30 % 수성 테트라히드로푸란 (THF)과 함께 반응기에 다시 첨가하였다. 혼합물을 25 °C에서 20 시간 동안 교반하였다. 방금 mPEG가 제거된 PAA 수지를 여과에 의하여 mPEG 용액으로부터 분리하고 버렸다. 여과액의 GPC 분석은 저분자량 성분이 4.0 %에서 0.7 %로 감소하였음을 나타내었다. THF를 여과액으로부터 제거하고 여과액을 클로로포름으로 추출하여 14.8 g의 mPEG를 분리하였다.

실시예 3 - 분무 건조

부치 (Buchi) B-191 소형 분무 건조기를 다음과 같은 작동 파라미터로 설정하였다. 질소 흐름은 700 L/h였고, 주입구 온도는 95 °C였고, 진공 흡입기는 최고 속도의 50 %였고, DI 수는 최고 속도의 15 %로 공급하였다. 계가 30 분 동안 평형에 도달한 후에, 배출구 온도는 36 °C였다. 3.0 중량%의 mPEG (28.5 g)를 함유하는 951 g의 수용액을 최고 속도의 15 %로 적재하였다. 3 시간 10 분 첨가의 과정을 거쳐, 주입구 온도를 97 °C, 그 다음에 99 °C로 조정하였다. 배출구 온도는 36 °C 내지 38 °C의 범위에 이르렀다. 집진장치로부터 총 9.5 g의 mPEG가 보풀 같은 흰 분말로 수집되었다. mPEG는 칼 피서 적정에 의거하여 0.31 중량%의 물을 함유하였다.

실시예 4 - PAA, 한외여과, 및 분무 건조

mPEG (Mp 28164, 3.6 mol% PEG 디올)의 시료를 상기 기술한 것과 같이 PAA로 처리하여 92.7 g의 중합체를 함유하는 15.2 kg의 수용액을 생성하였다. 이 용액을 상기 기술한 것과 같이 오스모닉스 10 K MWCO 폴리에테르설폰 막을 사용하여 한외여과하여 67.7 g의 중합체를 함유하는 3.2 kg의 수용액을 생성하였다. 수용액의 일부를 상기 기술한 것과 같이 분무 건조하여 1.3 mol%의 PEG 디올을 함유하는 9.1 g의 mPEG 중합체 (Mp 29178)를 생성하였다.