

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2009 年 9 月 24 日(24.09.2009)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2009/116509 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 47/48 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61K 31/405 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/407 (2006.01) C08G 69/44 (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01) C08G 69/48 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2009/055115
- (22) 国際出願日: 2009 年 3 月 17 日(17.03.2009)
- (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 2008-069067 2008 年 3 月 18 日(18.03.2008) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本化薬株式会社(NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒1028172 東京都千代田区富士見一丁目 1 1 番 2 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 北川 正行(KITAGAWA, Masayuki) [JP/JP]; 〒1158588 東京都北区志茂 3-3-1-12 日本化薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP). 瀬野 千恵子(SENO, Chieko) [JP/JP]; 〒1158588 東京都北区志茂 3-3-1-12 日本化薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 川口 義雄, 外(KAWAGUCHI, Yoshio et al.); 〒1020094 東京都千代田区紀尾井町 7 番 1 号 上智紀尾井坂ビル 川口国際特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: POLYMER CONJUGATE OF PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE

(54) 発明の名称: 生理活性物質の高分子結合体

(57) Abstract: Disclosed is a water-soluble polymer conjugate of a physiologically active substance which enables medicament release without depending on the enzymes in a living body and which is expected to have a useful therapeutic effect. A polymer conjugate of a physiologically active substance has a substituent group represented by a general formula (1) bonded to a side-chain carboxy group of a block copolymer which has a polyethyleneglycol structural moiety and either a polyaspartic acid moiety or a polyglutamic acid moiety. Formula (1): $-Ar-CR^{15}R^{16}-O-C(=O)-A$ [In the formula: Ar represents an aromatic hydrocarbon group that may have a substituent group, or an aromatic heterocyclic group that may have a substituent group; R^{15} and R^{16} independently represent a hydrogen atom or a (C1-C6) alkyl group that may have substituent groups; and A represents a residual group of a physiologically active substance that has an amino group].

(57) 要約: 【課題】 生体の酵素に依存することなく薬物放出が可能であり、有効な治療効果が期待できるとともに水溶性を有する生理活性物質の高分子結合体が求められている。【解決手段】 ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基に、一般式 (1) $-Ar-CR^{15}R^{16}-O-C(=O)-A$ (式中、Ar は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{15} 、 R^{16} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい (C1~C6) アルキル基を示し、A はカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を示す) で表わされる置換基が結合している生理活性物質の高分子結合体を提供する。

WO 2009/116509 A1

明 細 書

生理活性物質の高分子結合体

技術分野

- [0001] 本発明は、ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸を有するポリマー部分とを有するブロック共重合体における該カルボキシ基に、特定のリンカーを介してカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基が結合している生理活性物質の高分子結合体、その用途及びその製造方法に関する。

背景技術

- [0002] 抗癌剤や抗炎症剤等の生理活性物質、特に水に溶けにくい生理活性物質を高分子担体と結合させて得られる高分子結合体は、生理活性物質自体の生体内薬物動態や水溶性等が改善され、薬物としての有効性の向上が期待されることから盛んに研究されてきた。中でも親水性と疎水性のポリマーが結合したブロック共重合体は、生理活性物質を担持した疎水性ポリマーを内殻とし表面を親水性ポリマーが覆うミセルを形成することによって、生理活性物質の担持量を増やしてもポリマー全体の水溶性を維持できるという特性を有している。
- [0003] 特許文献1にはミセルを形成し水溶性を示すポリエチレングリコールとポリアスパラギン酸のブロック共重合体に薬物を結合した化合物が記載されており、特許文献2にはポリエチレングリコール類とポリグルタミン酸とのブロック共重合体の側鎖カルボキシ基と、カンプトテシン類のフェノール性水酸基とを結合させたカンプトテシン類の高分子誘導体が記載されている。
- [0004] 又、特許文献3にはポリエチレングリコールにベンジル脱離反応をする特定のリンカーを介して薬物を結合した化合物が記載されており、特許文献4にはポリエチレングリコールに結合したアスパラギン酸のような分岐アミノ酸にベンジル脱離反応をする特定のリンカーを介して薬物を結合した化合物が記載されている。

特許文献1:特許第2694923号公報

特許文献2:国際公開第2004/39869号パンフレット

特許文献3:特表2002-508400号公報

特許文献4:特表2004-532289号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0005] 特許文献1に記載されているドキソルビシン結合体はブロック共重合体とドキソルビシンが直接アミド結合で結合されているが、アミド結合は化学的に安定な結合様式であり、生体内では加水分解による薬物の放出が極めて遅くその薬効に疑問がある。事実、本願明細書の実施例中、比較例としてドキソルビシンをブロック共重合体に直接結合させてその抗腫瘍効果を測定しているが、抗腫瘍活性は殆ど示さなかった。
- [0006] 特許文献2に記載されているカンプトテシン類の高分子誘導体は、通常フェノール性水酸基よりも加水分解反応性の高いフェノール性水酸基を有する薬物を選択し、そのフェノール性水酸基とポリグルタミン酸のカルボン酸とのエステル体を形成させることで結合した薬物を徐放させている。しかしながらこの方法は、アミノ基やカルボキシ基を有する薬物には適用できない。
- [0007] 特許文献3に記載されている高分子結合体から薬物を放出するためには、ポリエチレングリコールとリンカーとの結合を加水分解酵素により分解する必要があるが、生体の加水分解酵素は種差はもとより同一種においても個体差が大きいと考えられており、そのため放出される薬物の効果に個体差を生じることが危惧される。
- [0008] 特許文献4に記載されている高分子結合体はブロック共重合体の一部にアスパラギン酸を使用し、そのアスパラギン酸にリンカーが結合しているが、該高分子結合体のアスパラギン酸とリンカーとの結合は特許文献3と同様に加水分解酵素による分解が必要である。従って、薬物の放出には種差及び個体差を生じることが危惧される。又、特許文献4に記載の高分子結合体はミセルを形成せず、担持する薬物量を増加させると水溶性を維持できなくなる虞がある。

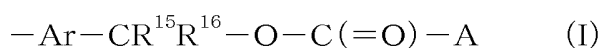
課題を解決するための手段

- [0009] 本発明者等は前記の課題を解決すべく鋭意努力した結果、ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基に、ベンジル脱離反応を起こす特定のリンカーを

介してカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を結合した化合物が生理的条件下、加水分解酵素に依存することなく生理活性物質を放出することを見出し、本発明を完成した。該化合物では、ポリアスパラギン酸又はポリグルタミン酸が生理的条件下で5又は6員環の環状イミド構造をとる事によりエステル結合が切断され、次いでベンジル脱離反応が進行して生理活性物質が放出されるものと推察できる。

[0010] 即ち、本発明は以下の(1)～(20)に関する。

(1) ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基に、一般式(I)



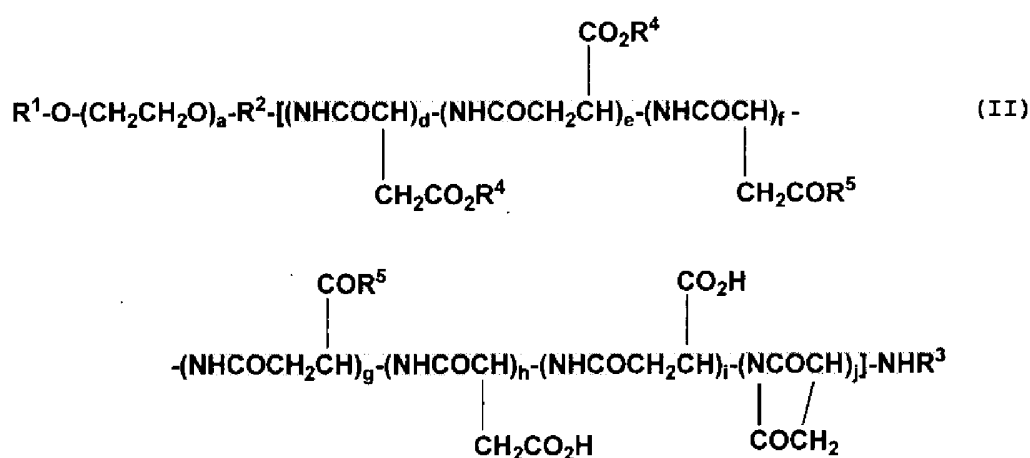
[式中、Arは置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{15} 、 R^{16} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示し、Aはカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を示す]

で表わされる置換基が結合している構造を有する生理活性物質の高分子結合体。

(2) アミノ基を有する生理活性物質がアミノ基を介して結合している上記(1)記載の生理活性物質の高分子結合体。

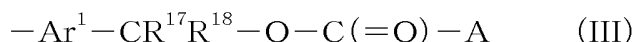
(3) 一般式(II)

[0011] [化1]



[式中、 R^1 は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、 R^2 は結合基を示し、 R^3 は

水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、 R^4 は一般式(III)



[式中、 Ar^1 は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{17} 、 R^{18} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示し、Aはカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を示す]

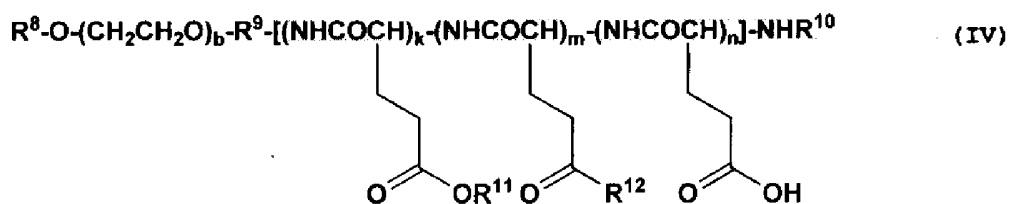
で表わされる置換基を示し、 R^5 は置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-\text{NR}^6\text{CONHR}^7$ からなる群から選ばれる置換基を示し、 R^6 、 R^7 は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、aは5～11500の整数を示し、d、e、f、g、h、i、jは各々0～200の整数を示し、且つd+eは1～200の整数を示し、且つd+e+f+g+h+i+jは2～200の整数を示し、ポリアスパラギン酸の各構成単位の結合順序は任意である]

で表される上記(1)又は(2)に記載の生理活性物質の高分子結合体。

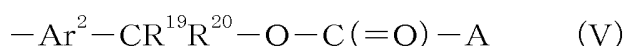
(4) R^1 が(C1～C3)アルキル基であり、 R^2 が(C2～C6)アルキレン基であり、 R^3 が(C1～C3)アシル基であり、 R^4 の一般式(III)における Ar^1 がポリマーとの結合と $\text{CR}^{17}\text{R}^{18}$ との結合がオルト位又はパラ位であるフェニル基であり、aが100～300の整数であり、d、e、f、g、h、i、jが各々0～100の整数であり、且つd+eは1～100の整数であり、且つd+e+f+g+h+i+jが6～100の整数である上記(3)記載の生理活性物質の高分子結合体。

(5) R^1 がメチル基、 R^2 がトリメチレン基、 R^3 がアセチル基であり、 R^4 の一般式(III)における R^{17} 、 R^{18} が共に水素原子、 R^5 が $-\text{NR}^6\text{CONHR}^7$ であり、 R^6 、 R^7 が共にシクロヘキシル基若しくはイソプロピル基である上記(3)又は(4)に記載の生理活性物質の高分子結合体。

(6)一般式(IV)



[式中、 R^8 は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、 R^9 は結合基を示し、 R^{10} は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、 R^{11} は一般式(V)



[式中、 Ar^2 は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{19} 、 R^{20} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示し、Aはカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を示す]

で表わされる置換基を示し、 R^{12} は置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-NR^{13}CONHR^{14}$ からなる群から選ばれる置換基を示し、 R^{13} 、 R^{14} は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、bは5～11500の整数を示し、kは1～200の整数を示し、m、nは各々0～200の整数を示し、且つ $k+m+n$ は2～200の整数を示し、ポリグルタミン酸の各構成単位の結合順序は任意である]

で表される上記(1)又は(2)に記載の生理活性物質の高分子結合体。

(7) R^8 が(C1～C3)アルキル基であり、 R^9 が(C2～C6)アルキレン基であり、 R^{10} が(C1～C3)アシル基であり、 R^{11} の一般式(V)における Ar^2 がポリマーとの結合と $CR^{19}R^{20}$ との結合がオルト位又はパラ位であるフェニル基であり、bが100～300の整数であり、kが1～90の整数を示し、m、nが各々0～90の整数を示し、且つ $k+m+n$ は6～90の整数である上記(6)に記載の生理活性物質の高分子結合体。

(8) R^8 がメチル基、 R^9 がトリメチレン基、 R^{10} がアセチル基であり、 R^{11} の一般式(V)における R^{19} 、 R^{20} が共に水素原子、 R^{12} が $-NR^{13}CONHR^{14}$ であり、 R^{13} 、 R^{14} が共にシクロヘキシル基若しくはイソプロピル基である上記(6)又は(7)に記載の生理活性物

質の高分子結合体。

(9) ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基と、ヒドロキシベンジルアルコール誘導体のフェノール性水酸基とをエステル結合させ、得られたエステル化合物のアルコール性水酸基とカルボキシ基を有する生理活性物質のカルボキシ基とを結合させること、又は該エステル化合物のアルコール性水酸基とアミノ基を有する生理活性物質のアミノ基とをカルボニル基を介して結合させることにより得られる、生理活性物質の高分子結合体。

(10) 生理活性物質が抗癌剤である上記(1)～(9)のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。

(11) アミノ基を有する生理活性物質がアンスラサイクリン系抗癌剤である上記(1)～(9)のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。

(12) アンスラサイクリン系抗癌剤がドキソルビシン、ダウノルビシン、エピルビシン、ピラルビシン又はアムルビシンである上記(11)に記載の生理活性物質の高分子結合体。

(13) 生理活性物質が生理活性ペプチドである上記(1)～(9)のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。

(14) 生理活性ペプチドがベスタチン又はその誘導体である上記(13)に記載の生理活性物質の高分子結合体。

(15) 生理活性物質が抗炎症剤である上記(1)～(9)のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。

(16) カルボキシ基を有する生理活性物質がインドメタシン若しくはエトドラク又はその誘導体である上記(1)～(9)のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。

(17) 水中でミセルを形成することを特徴とする上記(1)～(16)のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。

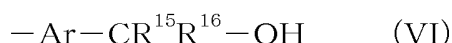
(18) 上記(1)～(17)のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体を有効成分とする医薬品。

(19) 上記(10)～(12)のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体を有効成分とする抗癌剤。

(20) 上記(15)に記載の生理活性物質の高分子結合体を有効成分とする抗炎症剤。

(21) ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基と、ヒドロキシベンジルアルコール化合物のフェノール性水酸基とをエステル結合させ、該エステル化合物のアルコール性水酸基とカルボキシ基を有する生理活性物質のカルボキシ基とを結合させること、又は、該エステル化合物のアルコール性水酸基とアミノ基を有する生理活性物質のアミノ基とをカルボニル基を介して結合させることを特徴とする上記(1)又は(2)に記載の生理活性物質の高分子誘導体の製造方法。

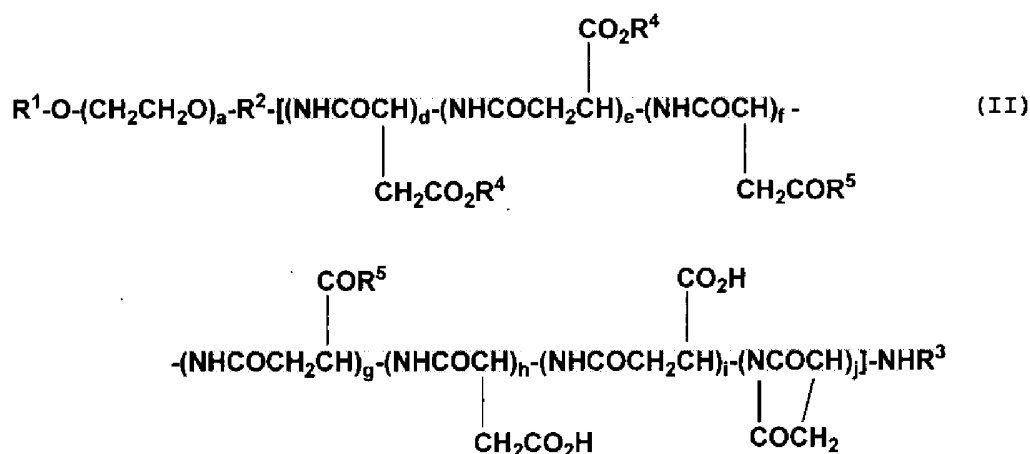
(22) ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基に、一般式(VI)



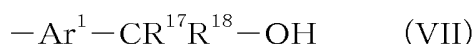
[式中、Arは置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{15} 、 R^{16} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示す]で表わされる置換基が結合している構造を有する化合物。

(23) 一般式(II)

[0013] [化3]



[式中、 R^1 は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、 R^2 は結合基を示し、 R^3 は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、 R^4 は一般式(VII)



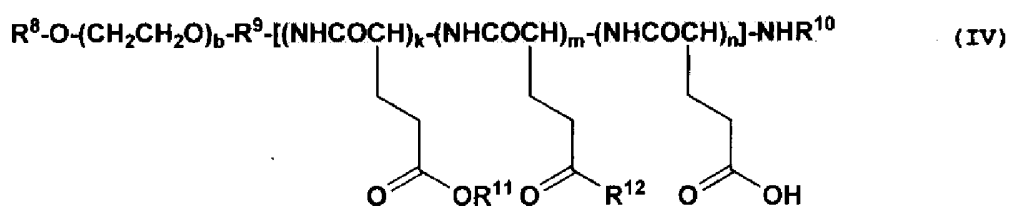
[式中、 Ar^1 は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{17} 、 R^{18} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示す]

で表わされる置換基を示し、 R^5 は置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-NR^6CONHR^7$ からなる群から選ばれる置換基を示し、 R^6 、 R^7 は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、 a は5～11500の整数を示し、 d 、 e 、 f 、 g 、 h 、 i 、 j は各々0～200の整数を示し、且つ $d+e$ は1～200の整数を示し、且つ $d+e+f+g+h+i+j$ は2～200の整数を示し、ポリアスパラギン酸の各構成単位の結合順序は任意である]

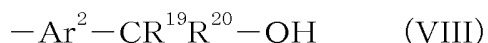
で表される化合物。

(24)一般式(IV)

[0014] [化4]



[式中、 R^8 は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、 R^9 は結合基を示し、 R^{10} は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、 R^{11} は一般式(VIII)



[式中、 Ar^2 は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{19} 、 R^{20} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示す]

で表わされる置換基を示し、 R^{12} は置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-NR^{13}CONHR^{14}$ からなる群から選ばれる置換基を示し、 R^{13} 、 R^{14} は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、bは5～11500の整数を示し、kは1～200の整数を示し、m、nは各々0～200の整数を示し、且つ $k+m+n$ は2～200の整数を示し、ポリグルタミン酸の各構成単位の結合順序は任意である]

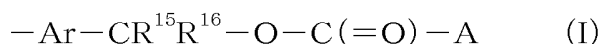
で表される化合物。

発明の効果

- [0015] 本発明の生理活性物質の高分子結合体は、ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基に、ベンジル脱離反応を惹起する特定のリンカーを介してカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を結合した化合物であり、生理的条件下、生体の加水分解酵素に依存することなく生理活性物質を放出することが可能であるため、個体差に影響されることなく、生理活性物質が有効な効果を発揮することが期待される。又、ポリアスパラギン酸とポリグルタミン酸を使い分けることで、担持させる生理活性物質に適した放出速度に調節することも可能である。

発明を実施するための最良の形態

- [0016] 本発明の生理活性物質の高分子結合体は、ポリエチレングリコール構造部分とポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基に、一般式(I)



[式中、Arは置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{15} 、 R^{16} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示し、Aはカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を示す]で表わされる置換基が結合

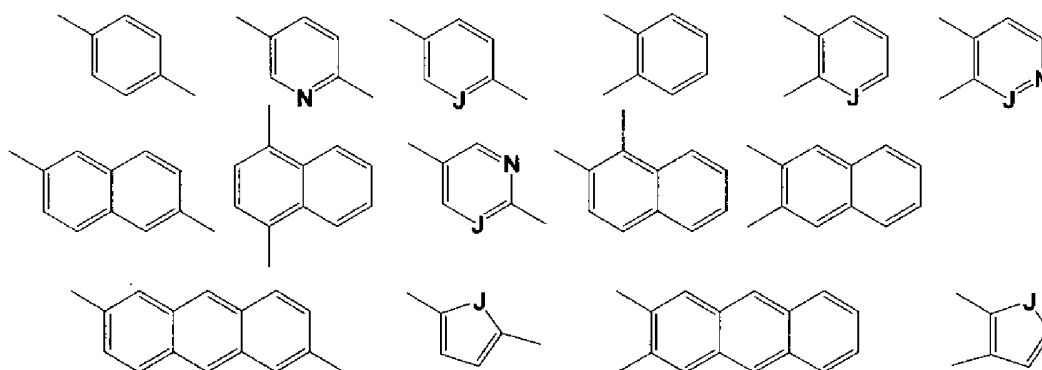
している。

[0017] 本発明の生理活性物質の高分子結合体におけるポリエチレングリコール構造部分とポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体としては、アスパラギン酸若しくはグルタミン酸又はその誘導体がアミド結合して主鎖となり、側鎖にカルボキシ基を有する重合体を形成し、ポリエチレングリコール構造部分とブロック共重合体を形成している化合物が好ましい。

[0018] 一般式(I)中、Arとしては置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基が挙げられ、該置換基としては(C1～C6)アルキル基、(C1～C6)アルコキシ基、ニトロ基、ハロゲン原子等が挙げられ、例えば、メチル基、エチル基、tert-ブチル基、メキシ基、臭素原子等が挙げられる。置換基数及び置換基の置換位置は特に限定されない。

[0019] 中でも、-Ar-としては、例えば下記の基が挙げられる。

[0020] [化5]



[式中、Nは窒素原子を示し、Jは酸素原子又は硫黄原子を示す]

[0021] 特に、無置換のフェニル基である下記式の基

[0022] [化6]



が好ましい。

[0023] 一般式(I)中、 R^{15} 、 R^{16} としては、独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基が挙げられ、「置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル

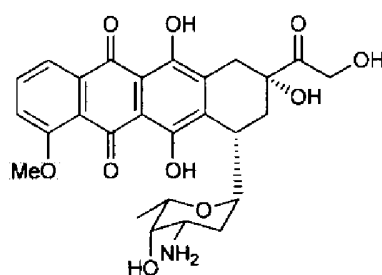
基」における(C1～C6)アルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、s-ブチル基、イソブチル基、n-ペンチル基、n-ヘキシル基等が挙げられる。「置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基」における置換基としては、例えば、アミノ基、メチルアミノ基、ジメチルアミノ基、エチルアミノ基、ジエチルアミノ基等が挙げられる。中でも好ましくは、 R^{15} 、 R^{16} が共に水素原子である。

[0024] 一般式(I)中、AH(Hは水素原子)でアミノ基を有する生理活性物質を意味し、特に限定されないが、ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基と結合したヒドロキシベンジルアルコール化合物のアルコール性水酸基に、カルボニル基を介してアミノ基を有する生理活性物質のアミノ基が結合している高分子結合体が好ましいことから、該生理活性物質としては一級若しくは二級アミノ基を有する生理活性物質が好ましい。

[0025] アミノ基を有する生理活性物質は、例えば、アンスラサイクリン系抗癌剤やシチジン系抗癌剤が挙げられ、中でもドキソルビシン、ダウノルビシン、エピルビシン、ピラルビシン、アムルビシン、エチニルシチジン、CNDAC(2'-シアノ-2'-デオキシ-1- β -D-アラビノフラノシルシトシン)、ゲムシタビン等が好ましい。

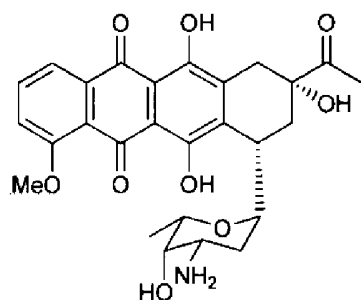
[0026] ドキソルビシン

[0027] [化7]



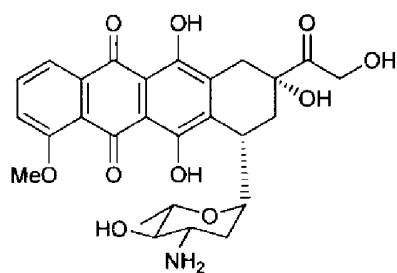
[0028] ダウノルビシン

[0029] [化8]



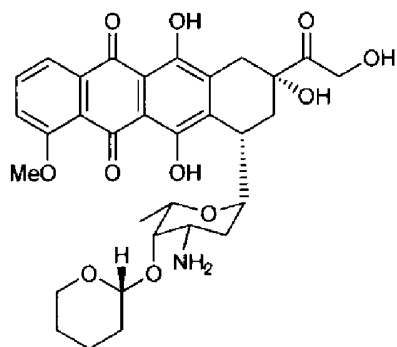
[0030] エピルビシン

[0031] [化9]



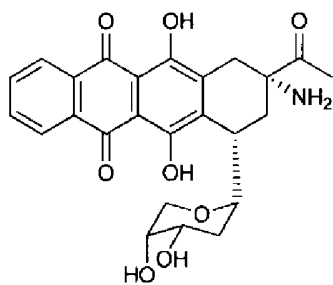
[0032] ピラルビシン

[0033] [化10]



[0034] アムルビシン

[0035] [化11]

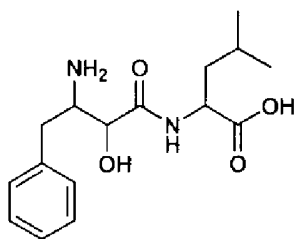


[0036] 又、一般式(I)中の生理活性物質は生理活性ペプチド類であってもよい。ペプチド類では末端等のアミノ基又はカルボキシ基を用いて高分子結合体とすることができる。ペプチド類は試験管内では有用な生理活性を示すものの、生体中では加水分解酵素等によって速やかに分解されてしまい効果を示さないものも多い。このようなペプチド類について、本発明の高分子結合体とすることにより生体中でも効果を示すことが期待される。

[0037] 該ペプチド類として、例えば、以下に示すベスタチン、ベスタチンメチルエステル等やグルファニド(Glufanide)、グレリン(Ghrelin)、テルトモチド(Tertomotide)、PR 1、オクトレオチド(Octreotide)、ランレオチド(Lanreotide)、パシレオチド(Pasireotide)等が挙げられる。

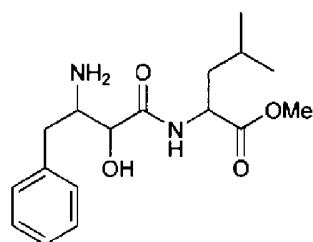
[0038] ベスタチン

[0039] [化12]



[0040] ベスタチンメチルエステル

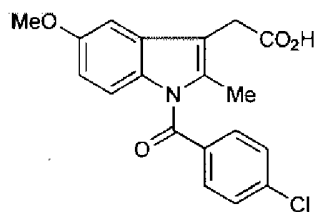
[0041] [化13]



[0042] 一般式(I)中、Aとしてのカルボキシ基を有する生理活性物質の残基とは、HO-C(=O)-Aで生理活性物質を表すことを意味する。該生理活性物質としては特に限定されないが、非ステロイド性抗炎症剤や抗癌剤が挙げられ、例えば、インドメタシン、エトドラク、メフェナム酸、ジクロフェナク、フルルビプロフェン、イブプロフェン、メトレキセート、DMXAA等が挙げられる。

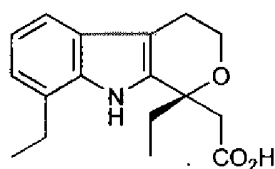
[0043] インドメタシン

[0044] [化14]



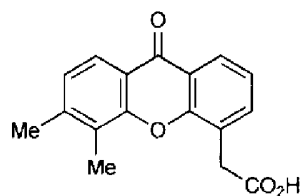
[0045] エトドラク

[0046] [化15]

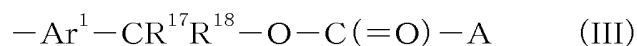


[0047] DXMAA

[0048] [化16]



[0049] 本発明の生理活性物質の高分子結合体として、上記一般式(II) [式中、 R^1 は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、 R^2 は結合基を示し、 R^3 は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、 R^4 は一般式(III)



[式中、 Ar^1 は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{17} 、 R^{18} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示し、Aはカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を示す]で表わされる置換基を示し、 R^5 は置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-\text{NR}^6\text{CONHR}^7$ から

なる群から選ばれる置換基を示し、 R^6 、 R^7 は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、 a は5～11500の整数を示し、 d 、 e 、 f 、 g 、 h 、 i 、 j は各々0～200の整数を示し、且つ $d+e$ は1～200の整数を示し、且つ $d+e+f+g+h+i+j$ は2～200の整数を示す]で表される化合物が好ましい。

- [0050] 一般式(II)中の R^1 における(C1～C6)アルキル基としては、(C1～C6)の直鎖又は分岐鎖のアルキル基が挙げられ、好ましくは(C1～C4)アルキル基が挙げられ、例えば、メチル基、エチル基、 n -プロピル基、 n -ブチル基等が挙げられ、中でもメチル基が特に好ましい。
- [0051] 一般式(II)中の R^2 における結合基としては(C2～C6)アルキレン基が好ましく、例えば、エチレン基、トリメチレン基、テトラメチレン基等が挙げられ、中でもトリメチレン基が特に好ましい。
- [0052] 一般式(II)中の R^3 における(C1～C6)アシル基としては特に限定されず、好ましくは(C1～C3)アシル基が挙げられ、例えば、ホルミル基、アセチル基、 n -プロピオニル基等が挙げられ、中でもアセチル基が特に好ましい。
- [0053] 一般式(II)中の R^4 における一般式(III)中の Ar^1 としては、上記一般式(I)の Ar と同じ基が挙げられ、好ましい基も同様である。
- [0054] 一般式(II)中の R^4 における一般式(III)中の R^{17} 、 R^{18} としては、上記一般式(I)の R^{15} 、 R^{16} と同じ基が挙げられ、好ましい基も同様に水素原子である。
- [0055] 一般式(II)中の R^4 における一般式(III)中の A としては、上記一般式(I)の A と同じ化合物が挙げられ、好ましい化合物も同様である。
- [0056] 一般式(II)中の R^5 としては、置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-NR^6CONHR^7$ からなる群から選ばれる基を示し、 R^6 、 R^7 は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基である。一般式(II)の R^5 として選択される基は、一分子中同一でも異なってもよく、又、本発明の高分子結合体に使用されるブロック共重合体

において単一であっても、 R^5 の置換基が分子間で異なる化合物の混合物であってもよい。

[0057] 該置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基としては、例えば、4-ヒドロキシメチルフェノキシ基、2-ヒドロキシメチルフェノキシ基、4-ヒドロキシメチル-2-メトキシフェノキシ基、4-ヒドロキシメチル-2, 6-ジメトキシフェノキシ基、4-ヒドロキシメチル-2, 6-ジ-tert-ブチルフェノキシ基、2-ヒドロキシメチル-4-ニトロフェノキシ基、2-ヒドロキシメチル-6-メトキシフェノキシ基、2-ヒドロキシメチル-4-ブロモフェノキシ基等が挙げられ、中でも4-ヒドロキシメチルフェノキシ基、2-ヒドロキシメチルフェノキシ基等が好ましい。

[0058] 該(C1~C30)アルコキシ基としては、直鎖又は分岐鎖の(C1~C30)アルコキシ基が挙げられ、直鎖又は分岐鎖の(C1~C10)アルコキシ基が好ましく、例えば、メトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、i-プロポキシ基、n-ブトキシ基、t-ブトキシ基等が挙げられ、(C1~C30)アラルキルオキシ基としては、直鎖又は分岐鎖の(C1~C30)アラルキルオキシ基が挙げられ、直鎖又は分岐鎖の(C1~C12)アラルキルオキシ基が好ましく、例えば、4-フェニルブトキシ基等が挙げられる。

[0059] 該(C1~C30)アルキルアミノ基又はジ(C1~C30)アルキルアミノ基としては、直鎖又は分岐鎖の(C1~C30)アルキルアミノ基又はジ(C1~C30)アルキルアミノ基が挙げられ、直鎖又は分岐鎖の(C1~C20)アルキルアミノ基又はジ(C1~C20)アルキルアミノ基が好ましく、例えば、メチルアミノ基、エチルアミノ基、n-プロピルアミノ基、i-プロピルアミノ基、n-ブチルアミノ基、t-ブチルアミノ基、ジメチルアミノ基、ジエチルアミノ基、ジ(n-ブチル)アミノ基等が挙げられる。

[0060] 該カルボキシ基が保護されたアミノ酸としては、通常のペプチド合成で用いられるカルボキシ基が保護されたアミノ酸が挙げられ、例えば、フェニルアラニンベンジルエステル等が挙げられる。

[0061] 一般式(II)の R^5 における $-NR^6CONHR^7$ [R^6 、 R^7 は同一でも異なってもよく(C3~C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1~C5)アルキル基である]としては特に限定されないが、シクロヘキシルアミノカルボニルシクロヘキシルアミノ基、イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基等が好ましい。

。

[0062] 本発明の上記一般式(II)で表される生理活性物質の高分子結合体におけるポリアスパラギン酸部分には、 α -アミノ酸型、 β -アミノ酸型、環化したもの等の構成単位があるが、これらの構成単位の結合順は特に限定されず、又、各型のアミノ酸はブロック型に結合してもよいし、ランダム型に結合してもよい。

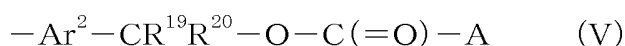
[0063] 上記一般式(II)で表される生理活性物質の高分子結合体におけるポリアスパラギン酸部分の全アスパラギン酸数は $d+e+f+g+h+i+j$ で表される。全アスパラギン酸数は、例えば、ブロック共重合体を製造する際に用いたアスパラギン酸誘導体の量から求めることができ、2～200個程度であり、好ましくは6～100個程度であり、特に好ましくは15～90個程度である。

[0064] 全アスパラギン酸数($d+e+f+g+h+i+j$)に対する生理活性物質の結合したアスパラギン酸数($d+e$)の割合は1～100%、好ましくは1～90%、更に好ましくは2～60%である。又、アスパラギン酸数($d+e$)としては1～200個程度、好ましくは1～100個程度、特に好ましくは1～90個程度である。

[0065] 全アスパラギン酸数($d+e+f+g+h+i+j$)に対する α -アミノ酸型($d+f+h$)の割合は10～100%であり、好ましくは20～100%であり、 β -アミノ酸型($e+g+i$)の割合は0～90%であり、好ましくは0～80%である。この割合は、例えば、ポリアスパラギン酸の保護基の脱保護条件等を選ぶことにより適宜変えることができる。

[0066] 上記一般式(II)のポリエチレングリコール構造部分の分子量としては300～50000程度であり、好ましくは500～100000程度、更に好ましくは1000～50000程度である。上記一般式(II)の a としては5～11500程度の整数であり、好ましくは8～2300程度の整数、更に好ましくは100～300程度の整数である。

[0067] 又、本発明の生理活性物質の高分子結合体として、上記一般式(IV)[式中、 R^8 は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、 R^9 は結合基を示し、 R^{10} は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、 R^{11} は一般式(V)



[式中、 Ar^2 は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{19} 、 R^{20} は独立して水素原子又は置換基を有してい

てもよい(C1~C6)アルキル基を示し、Aはカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を示す]で表わされる置換基を示し、 R^{12} は置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1~C30)アルコキシ基、(C1~C30)アラルキルオキシ基、(C1~C30)アルキルアミノ基、ジ(C1~C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-NR^{13}CONHR^{14}$ からなる群から選ばれる置換基を示し、 R^{13} 、 R^{14} は同一でも異なってもよく(C3~C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1~C5)アルキル基を示し、bは5~11500の整数を示し、kは1~200の整数を示し、m、nは各々0~200の整数を示し、且つ $k+m+n$ は2~200の整数を示す]で表される化合物も好ましい。

[0068] 一般式(IV)中の R^8 における(C1~C6)アルキル基としては、上記一般式(II)中の R^1 と同じ基が挙げられ、好ましい基も同様であり、メチル基が特に好ましい。

[0069] 一般式(IV)中の R^9 における結合基としては(C2~C6)アルキレン基が好ましく、例えば、エチレン基、トリメチレン基、テトラメチレン基等が挙げられ、中でもトリメチレン基が特に好ましい。

[0070] 一般式(IV)中の R^{10} における(C1~C6)アシル基としては、上記一般式(II)中の R^3 と同じ基が挙げられ、好ましい基も同様であり、アセチル基が特に好ましい。

[0071] 一般式(IV)中の R^{11} における一般式(V)中の Ar^2 としては、上記一般式(I)のArと同じ基が挙げられ、好ましい基も同様である。

[0072] 一般式(IV)中の R^{11} における一般式(V)中の R^{19} 、 R^{20} としては、上記一般式(I)の R^{15} 、 R^{16} と同じ基が挙げられ、好ましい基も同様に水素原子である。

[0073] 一般式(IV)中の R^{11} における一般式(V)中のAとしては、上記一般式(I)のAと同じ化合物が挙げられ、好ましい化合物も同様である。

[0074] 一般式(IV)中の R^{12} としては、置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1~C30)アルコキシ基、(C1~C30)アラルキルオキシ基、(C1~C30)アルキルアミノ基、ジ(C1~C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-NR^{13}CONHR^{14}$ からなる群から選ばれる基を示し、 R^{13} 、 R^{14} は同一でも異なってもよく(C3~C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよ

い(C1～C5)アルキル基である。一般式(IV)の R^{12} としては、一分子中同一でも異なっているいてもよく、又、本発明の高分子結合体に使用されるブロック共重合体において単一であっても、 R^{12} の置換基が分子間で異なる化合物の混合物であってもよい。

[0075] 該置換基を有しているてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基としては、上記一般式(II)の R^5 における置換基を有しているてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基と同じ基が挙げられ、好ましい基も同様である。

[0076] 一般式(IV)中の R^{12} における(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基としては、上記一般式(II)の R^5 における(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基と同様な基が挙げられる。

[0077] 一般式(IV)中の R^{12} におけるカルボキシ基が保護されたアミノ酸としては、通常のペプチド合成で用いられるカルボキシ基が保護されたアミノ酸が挙げられ、例えば、フェニルアラニンベンジルエステル等が挙げられる。

[0078] 一般式(IV)中の R^{12} における $-NR^{13}CONHR^{14}$ [R^{13} 、 R^{14} は同一でも異なっているてもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されているてもよい(C1～C5)アルキル基である]としては、一般式(II)の R^5 における $-NR^6CONHR^7$ と同じ基が挙げられ、好ましい基も同様である。

[0079] 本発明の上記一般式(IV)で表される生理活性物質の高分子結合体におけるポリグルタミン酸部分の全グルタミン酸数は $k+m+n$ で表され、2～200個程度であり、好ましくは6～90個程度であり、特に好ましくは6～60個である。

[0080] 全グルタミン酸数($k+m+n$)に対する生理活性物質の結合したグルタミン酸数(k)の割合は1～100%、好ましくは3～90%、更に好ましくは4～60%である。又、グルタミン酸数(k)として1～200個、好ましくは1～90個程度、特に好ましくは2～30個程度である。

[0081] 上記一般式(IV)で表される生理活性物質の高分子結合体におけるグルタミン酸構造の各構成部分は、その結合順は限定されず、又、各型のアミノ酸はブロック型に結合してもよいし、ランダム型に結合してもよい。

- [0082] 上記一般式(IV)のbとしては5～11500程度の整数であるが、好ましくは8～2300程度の整数であり、更に好ましくは100～300程度の整数である。
- [0083] 上記一般式(IV)のポリエチレングリコール構造部分の分子量は300～500000程度であり、好ましくは500～100000程度、更に好ましくは1000～50000程度である。
- [0084] 本発明の生理活性物質の高分子結合体の分子量は500～600000程度、好ましくは600～110000程度、更に好ましくは1100～80000程度である。なお、本発明における分子量とはGPC法で測定した重量平均分子量である。
- [0085] 本発明の生理活性物質の高分子結合体は、水中でポリエチレングリコール構造部分を外殻とするミセルを形成してもよい。
- [0086] 本発明の生理活性物質の高分子結合体は、ポリエチレングリコール構造部分とポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基と、アルコール性水酸基を保護したヒドロキシベンジルアルコール化合物のフェノール性水酸基とを有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させてエステル化合物とし、保護基を脱保護後、該エステル化合物のアルコール性水酸基とカルボキシ基を有する生理活性物質のカルボキシ基とを結合させること、又は、該エステル化合物のアルコール性水酸基とアミノ基を有する生理活性物質のアミノ基とをカルボニル基を介して結合させることを特徴とし、本製造方法も本発明に含まれる。又、ヒドロキシベンジルアルコール化合物の結合した中間体も本発明に含まれる。
- [0087] 即ち、例えば、特許第3268913号公報に記載の方法にて調製されるポリエチレングリコール構造部分とポリアスパラギン酸のブロック共重合体と、ベンジル位のアルコール性水酸基と必要に応じてフェノール性水酸基以外の官能基を保護したヒドロキシベンジルアルコール化合物とを、両者が溶解する有機溶媒、好ましくはN, N-ジメチルホルムアミド(DMF)、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン(DMI)又はN-メチルピロリドン(NMP)等の非プロトン性極性溶媒中、0～180℃、好ましくは5～50℃でジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、ジイソプロピルカルボジイミド(DIPC)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(WSC)、1-エ

トキシカルボニル-2-エトキシ-1, 2-ジヒドロキシキノリン (EEDQ) 等の脱水縮合剤を用いた反応に付して縮合させる。カルボキシ基を有する生理活性物質を結合させる場合には、その後ベンジル位のアルコール性水酸基の保護基を脱保護し、次いでベンジル位のアルコール性水酸基と必要に応じてカルボキシ基以外の官能基を保護した生理活性物質のカルボキシ基とを上記の溶媒中、上記の脱水縮合剤を用いてエステル結合させ、必要に応じて保護基を脱保護する製造方法である。又、アミノ基を有する生理活性物質を結合させる場合には、ベンジル位のアルコール性水酸基の保護基を脱保護した後、ベンジル位のアルコール性水酸基と必要に応じてアミノ基以外の官能基を保護した生理活性物質のアミノ基とをジサクシニルカーボネート、カルボニルジイミダゾール等を用いて上記の溶媒中、0～30℃でカルボニル基を介して縮合させ必要に応じて保護基を脱保護する製造方法である。

又、例えば、特開平5-955号公報に記載の方法にて調製されるポリエチレングリコール構造部分とポリグルタミン酸のブロック共重合体を上記のポリエチレングリコール構造部分とポリアスパラギン酸のブロック共重合体に替えて用いる製造方法でもよい。

[0088] 縮合反応の際にはN, N-ジメチルアミノピリジン (DMAP) 等の反応補助剤を用いてもよい。

[0089] 又、一般式 (II) における R^5 が基 $-NR^6CONHR^7$ [R^6 、 R^7 は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基である]である生理活性物質の高分子結合体、あるいは一般式 (I V) における R^{12} が基 $-NR^{13}CONHR^{14}$ [R^{13} 、 R^{14} は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基である]である生理活性物質の高分子結合体は、上記のカルボジイミド類を縮合剤として用いる反応によっても得られる。

[0090] 一般式 (II) あるいは (IV) の化合物中の R^5 あるいは R^{12} が(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基又はカルボキシ基が保護されたアミノ酸である化合物の製造方法としては、ブロック共重合体のカルボキシ基を通常の縮合反応で用いられる方法にて

活性化してから添加したい量の対応するアルコール、対応するアミンやカルボキシ基が保護されたアミノ酸等を塩基性条件下に反応させる方法、対応するアルコール、対応するアミンやカルボキシ基が保護されたアミノ酸等を通常の縮合反応で用いられる方法にて活性化させてからポリマーに反応させる方法等も可能である。

[0091] 又、ヒドロキシベンジルアルコール化合物を結合させた後に残余のカルボキシ基を同様の反応で再活性化し、ここに(C1~C30)アルコキシ基、(C1~C30)アラルキルオキシ基、(C1~C30)アルキルアミノ基、ジ(C1~C30)アルキルアミノ基又はカルボキシ基が保護されたアミノ酸等を導入してもよく、或いは異なるアルコール、アミン等を繰り返し反応させて、 R^5 あるいは R^{12} の種々の置換基の混成体を合成し、次いでヒドロキシベンジルアルコール化合物を縮合させてもよい。

[0092] ただし、本発明の生理活性物質の高分子結合体の製造方法は上記の方法に限定されるわけではない。

[0093] 本発明の生理活性物質の高分子結合体は、担持する生理活性物質の薬効に相当する疾患を適応症とする医薬として使用される。例えば、抗癌剤、抗炎症剤等である。該高分子結合体は、注射剤、錠剤、散剤等の通常使用されている剤型にて使用され得る。製剤化に当たり通常使用されている薬学的に許容される担体、例えば、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、溶剤、賦形剤、可溶化剤、分散剤、安定化剤、懸濁化剤、保存剤、無痛化剤、色素、香料等が使用できる。

[0094] 本発明の生理活性物質の高分子結合体は注射剤としての使用が好ましく、通常、例えば、水、生理食塩水、5%ブドウ糖又はマンニトール液、水溶性有機溶媒(例えば、グリセロール、エタノール、ジメチルスルホキシド、N-メチルピロリドン、ポリエチレングリコール、クレモフォア等及びそれらの混合液)並びに水と該水溶性有機溶媒の混合液等が使用される。

[0095] 本発明の生理活性物質の高分子結合体の投与量は、その生理活性物質の特性、患者の性別、年齢、生理的状态、病態等により当然変更され得るが、非経口的に、通常、成人1日当たり、活性成分として $0.01 \sim 500 \text{ mg/m}^2$ 、好ましくは $0.1 \sim 250 \text{ mg/m}^2$ を投与する。注射による投与は、静脈、動脈、患部(腫瘍部、炎症部等)等に行われる。

実施例

[0096] 以下、本発明を実施例により更に具体的に説明する。ただし、本発明がこれらの実施例に限定されるものではない。

ガウス分布分析は、ZetaPotential/Particlesizer NICOMP 380ZLS (Particle Sizing Systems社製)にて行った。

[0097] 実施例1 化合物1(分子量5000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が30のポリアスパラギン酸部分からなるブロック共重合体と4-(ヒドロキシメチル)フェノールとのフェニルエステル結合体:一般式(II)の $R^1=Me$ (メチル基)、 $R^2=$ トリメチレン基、 $R^3=Ac$ (アセチル基)、 $R^4=4-(ヒドロキシメチル)フェノキシ$ 基、 $R^5=$ イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基、 $d+e+f+g+h+i+j=30$ 、 $a=113$)の合成

[0098] 特許第3268913号公報に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体(アスパラギン酸の重合数30、1.0g)と特許文献4記載の方法で調製した4-(tert-ブチルジメチルシラニルオキシメチル)フェノール(847mg)をDMF(8ml)に溶解し、15℃にてDMAP(43mg)、DIP C(1.11ml)を加え20時間攪拌した。反応液にエタノール(12ml)、酢酸エチル(12ml)及びジイソプロピルエーテル(96ml)を加え、室温にて2時間攪拌した後、沈析物を濾取し、エタノール/ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、10ml)で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル(15ml)に溶解後、0℃にて4N-塩酸/ジオキサン(0.38ml)を加えて、0℃にて15分間攪拌した。反応液にエタノール(45ml)及びジイソプロピルエーテル(180ml)を加え、室温にて30分間攪拌した。上清を分離し、更にエタノール/ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、100ml)を加えて15分間攪拌した後、再び上清を分離して残渣を真空乾燥することによって化合物1(880mg)を得た。

[0099] 化合物1に結合した4-(ヒドロキシメチル)フェノール含量は、化合物1に1N-水酸化ナトリウム水溶液を加えて40℃にて1時間攪拌した後、酢酸を加えて中和し、遊離した4-(ヒドロキシメチル)フェノールをHPLC(高速液体クロマトグラフィー)で分析することによって求めた。その結果、4-(ヒドロキシメチル)フェノール含量は9.1

% (w/w)、d+e+f+g+h+i+jに対するd+eの割合は22.5%であった。

- [0100] 本方法によると、R⁵としてイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基を付加することができ、その存在比は化合物1を重水酸化ナトリウム／重水／重アセトニトリルに溶解したものの¹H-NMR(水素核磁気共鳴スペクトル)から求められる。イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、d+e+f+g+h+i+jに対するf+gの割合は7.6%であった。その他のアスパラギン酸は遊離カルボン酸(h+i)あるいは環状構造(j)である。

- [0101] 実施例2 化合物2(化合物1とドキソルビシンの結合体)の合成

実施例1で得られた化合物1(500mg)とジサクシニルカーボネート(933mg)をDMF(30ml)に溶解し、15℃にてトリエチルアミン(0.254ml)を加え20時間攪拌した。反応液にエタノール(90ml)及びジイソプロピルエーテル(360ml)を加え室温にて30分間攪拌した。上清を分離し、更にエタノール／ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、100ml)を加えて15分間攪拌した後、再び上清を分離して残渣を真空乾燥した。得られた固形物をDMF(25ml)に溶解し、15℃にてDMF(10ml)に溶解したドキソルビシン塩酸塩(116mg)とトリエチルアミン(0.028ml)を加え2時間攪拌した。反応液にエタノール(100ml)及びジイソプロピルエーテル(400ml)を加え室温にて1時間攪拌した。上清を分離し、更にエタノール／ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、150ml)を加えて15分間攪拌した後、再び上清を分離して残渣を真空乾燥した。得られた固形物をアセトニトリル(30ml)及び水(3ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製 ダウエックス50(H⁺), 5ml)に通塔し、アセトニトリル／水(10/1(v/v)、15ml)にて溶出した。得られた溶出画分に水(60ml)を加えた後アセトニトリルを減圧下留去し、その後、凍結乾燥することによって化合物2(564mg)を得た。

- [0102] 化合物2に結合したドキソルビシン含量は、化合物2(3.38mg)に1N塩酸(1ml)を加えて40℃にて1時間攪拌した後、遊離したドキソルビシンのアグリコン(アドリアマイシノン)をHPLC(高速液体クロマトグラフィー)で分析し、ドキソルビシンに同処理を行って得られたアグリコンの検量線と比較することによって求めた。その結果、結合したドキソルビシン含量は11.5%(w/w)だった。なお、化合物2中、遊離のドキソル

ビシンは未検出であった。

- [0103] 化合物2の水溶液(1mg/ml)を用いてガウス分布分析を行ったところ、平均粒径は23nm(volume weighting)だった。よって、化合物2は水中でミセルを形成しているものと考えられた。
- [0104] 実施例3 化合物3(分子量12000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が23のポリグルタミン酸部分からなるブロック共重合体と4-(ヒドロキシメチル)フェノールとのフェニルエステル結合体:一般式(IV)の $R^8=Me$ (メチル基)、 $R^9=$ トリメチレン基、 $R^{10}=Ac$ (アセチル基)、 $R^{11}=4-(ヒドロキシメチル)フェノキシ$ 基、 $R^{12}=イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ$ 基、 $k+m+n=23$ 、 $b=273$)の合成
- [0105] 特開平5-955号公報に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸ブロック共重合体(グルタミン酸の重合数23、1.0g)と特許文献4記載の方法で調製した4-(tert-ブチルジメチルシラニルオキシメチル)フェノール(295mg)をDMF(15ml)に溶解し、27°CにてDMAP(19mg)、DIPC(0.485ml)を加え、同温にて20時間攪拌した。反応液にエタノール(23ml)、酢酸エチル(23ml)及びジイソプロピルエーテル(180ml)を加え、室温にて2時間攪拌した後、沈析物を濾取し、エタノール/ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、20ml)で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル(15ml)に溶解後、0°Cにて4N-塩酸/ジオキサン(0.38ml)を加えて15分間攪拌した。反応液にエタノール(45ml)及びジイソプロピルエーテル(180ml)を加え、室温にて30分間攪拌した。上清を分離し、更にエタノール/ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、100ml)を加えて15分間攪拌した後、再び上清を分離して残渣を真空乾燥することによって化合物3(1.1g)を得た。
- [0106] 化合物3に結合した4-(ヒドロキシメチル)フェノール含量は、化合物3に1N-水酸化ナトリウム水溶液を加えて40°Cにて1時間攪拌した後、酢酸を加えて中和し、遊離した4-(ヒドロキシメチル)フェノールをHPLC(高速液体クロマトグラフィー)で分析することによって求めた。その結果、4-(ヒドロキシメチル)フェノール含量は9.4%(w/w)、 $k+m+n$ に対する k の割合は53.8%であった。
- [0107] 本方法によると、 R^{12} としてイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基を付加

することができ、その存在比は化合物3を重水酸化ナトリウム／重水／重アセトニトリルに溶解したものの¹H-NMR(水素核磁気共鳴スペクトル)から求められ、イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基がポリグルタミン酸に占める割合、即ち、 $k + m + n$ に対する m の割合は32.0%だった。その他のグルタミン酸は遊離カルボン酸(n)である。

[0108] 実施例4 化合物4(化合物3とドキシソルビシンの結合体)の合成

実施例3で得られた化合物3(500mg)とジサクシニルカーボネート(966mg)をDMF(30ml)に溶解し、15℃にてトリエチルアミン(0.263ml)を加え20時間攪拌した。反応液にエタノール(90ml)及びジイソプロピルエーテル(360ml)を加え室温にて30分間攪拌した。上清を分離し、更にエタノール／ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、100ml)を加えて15分間攪拌した後、再び上清を分離して残渣を真空乾燥した。得られた固形物をDMF(25ml)に溶解し、15℃にてDMF(10ml)に溶解したドキシソルビシン塩酸塩(120mg)とトリエチルアミン(0.029ml)を加え2時間攪拌した。反応液にエタノール(100ml)及びジイソプロピルエーテル(400ml)を加え室温にて1時間攪拌した。上清を分離し、更にエタノール／ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、150ml)を加えて15分間攪拌した後、再び上清を分離して残渣を真空乾燥した。得られた固形物をアセトニトリル(30ml)及び水(3ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製 ダウエックス50(H⁺), 5ml)に通塔し、アセトニトリル／水(10/1(v/v)、15ml)にて溶出した。得られた溶出画分に水(60ml)を加えた後アセトニトリルを減圧下留去し、その後、凍結乾燥することによって化合物4(611mg)を得た。

[0109] 化合物4に結合したドキシソルビシン含量は、化合物4(3.13mg)に1N塩酸(1ml)を加えて40℃にて1時間攪拌した後、遊離したドキシソルビシンのアグリコン(アドリアマイシノン)をHPLC(高速液体クロマトグラフィー)で分析し、ドキシソルビシンに同処理を行って得られたアグリコンの検量線と比較することによって求めた。その結果、結合したドキシソルビシン含量は17.1%(w/w)だった。なお、化合物4中、遊離のドキシソルビシンは未検出であった。

[0110] 化合物4の水溶液(1mg/ml)を用いてガウス分布分析を行ったところ、平均粒径

は43nm(volume weighting)だった。よって、化合物4は水中でミセルを形成しているものと考えられた。

[0111] 実施例5 化合物5(化合物3とベスタチンメチルエステルの結合体)の合成

実施例3で得られた化合物3(50mg)とジサクシニルカーボネート(97mg)をDMF(3ml)に溶解し、15℃にてトリエチルアミン(0.026ml)を加え20時間攪拌した。反応液にエタノール(9ml)及びジイソプロピルエーテル(36ml)を加え室温にて30分間攪拌した。上清を分離し、更にエタノール／ジイソプロピルエーテル(1／4(v／v)、10ml)を加えて15分間攪拌した後、再び上清を分離して残渣を真空乾燥した。得られた固形物をDMF(2ml)に溶解し、15℃にてDMF(0.5ml)に溶解した特開2001-131066号公報に記載のベスタチンメチルエステル塩酸塩(8.8mg)とトリエチルアミン(0.003ml)を加え2時間攪拌した。反応液にエタノール(7.5ml)及びジイソプロピルエーテル(30ml)を加え室温にて1時間攪拌した。上清を分離し、更にエタノール／ジイソプロピルエーテル(1／4(v／v)、10ml)を加えて15分間攪拌した後、再び上清を分離して残渣を真空乾燥した。得られた固形物をアセトニトリル(5ml)及び水(0.5ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製 ダウエックス50(H⁺), 1ml)に通塔し、アセトニトリル／水(10／1(v／v)、3ml)にて溶出した。得られた溶出画分に水(6ml)を加えた後アセトニトリルを減圧下留去し、その後、凍結乾燥することによって化合物5(55mg)を得た。

[0112] 化合物5に結合したベスタチンメチルエステル含量は、化合物5(4.89mg)を1モル／lのナトリウムメキシドのメタノール溶液(1ml)に溶解し室温にて1時間反応させた後、遊離したベスタチンメチルエステルをHPLC(高速液体クロマトグラフィー)で分析し、ベスタチンメチルエステルの検量線と比較することによって求めた。その結果、結合したベスタチンメチルエステル含量は14.6%(w／w)だった。なお、化合物5中、遊離のベスタチンメチルエステルは未検出であった。

[0113] 化合物5の水溶液(1mg／ml)を用いてガウス分布分析を行ったところ、平均粒径は41nm(volume weighting)だった。よって、化合物5は水中でミセルを形成しているものと考えられた。

[0114] 実施例6 化合物6(化合物3とエトドラク(1)の結合体)の合成

実施例3で得られた化合物3 (50mg)とエトドラク(和光純薬社製、10.8mg)をDMF (0.5ml)に溶解し、15℃にてDMAP (0.5mg)、DIPC (0.012ml)を加え20時間攪拌した。反応液にエタノール (1.5ml)及びジイソプロピルエーテル (6ml)を加え室温にて1時間攪拌した後、沈析物を濾取し、エタノール／ジイソプロピルエーテル (1／4 (v／v)、3ml)で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル (3ml)及び水 (0.3ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製 ダウエックス50 (H⁺)、0.5ml)に通塔し、アセトニトリル／水 (10／1 (v／v)、3ml)にて溶出した。得られた溶出画分に水 (6ml)を加えた後アセトニトリルを減圧下留去し、その後、凍結乾燥することによって化合物6 (56mg)を得た。

[0115] 化合物6に結合したエトドラク含量は、化合物6 (10.57mg)を1モル／lの水酸化ナトリウム水溶液 (10ml)に溶解して室温にて1時間反応させた後、酢酸で中和し、遊離したエトドラクをHPLC (高速液体クロマトグラフィー)で分析し、エトドラクの検量線と比較することによって求めた。その結果、結合したエトドラク含量は11.6% (w／w)だった。なお、化合物6中、遊離のエトドラクは未検出であった。

[0116] 化合物6の水溶液 (1mg／ml)を用いてガウス分布分析を行ったところ、平均粒径は49nm (volume weighting)だった。よって、化合物6は水中でミセルを形成しているものと考えられた。

[0117] 実施例7 化合物7 (化合物3とインドメタシンの結合体)の合成

実施例3で得られた化合物3 (50mg)とインドメタシン (和光純薬社製、13.5mg)をDMF (0.5ml)に溶解し、15℃にてDMAP (0.5mg)、DIPC (0.012ml)を加え20時間攪拌した。反応液にエタノール (1.5ml)及びジイソプロピルエーテル (6ml)を加え室温にて1時間攪拌した後、沈析物を濾取し、エタノール／ジイソプロピルエーテル (1／4 (v／v)、3ml)で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル (3ml)及び水 (0.3ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製ダウエックス50 (H⁺)、0.5ml)に通塔し、アセトニトリル／水 (10／1 (v／v)、3ml)にて溶出した。得られた溶出画分に水 (6ml)を加えた後アセトニトリルを減圧下留去し、その後、凍結乾燥することによって化合物7 (58mg)を得た。

[0118] 化合物7に結合したインドメタシン含量は、化合物7 (8.59mg)を1モル／lの水酸

化ナトリウム水溶液(10ml)に溶解して室温にて1時間反応させた後、酢酸で中和し、遊離したインドメタシンの分解物(脱4-クロロ安息香酸体)をHPLC(高速液体クロマトグラフィー)で分析し、インドメタシンから同処理にて得られた同じ分解物の検量線と比較することによって求めた。その結果、結合したインドメタシン含量は13.3%(w/w)だった。なお、化合物7中、遊離のインドメタシンは未検出であった。

[0119] 化合物7の水溶液(1mg/ml)を用いてガウス分布分析を行ったところ、平均粒径は61nm(volume weighting)だった。よって、化合物7は水中でミセルを形成しているものと考えられた。

[0120] 比較例1 比較化合物1(分子量5000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が30のポリアスパラギン酸部分からなるブロック共重合体とドキソルビシンとのアミド結合体)の合成

特許第3268913号公報に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体(アスパラギン酸の重合数30、240mg)をDMF(10ml)に溶解後、35℃にてN-ヒドロキシコハク酸イミド(197mg)、DIP C(0.267ml)を加えて30分間攪拌した。反応液に酢酸エチル(20ml)及びジイソプロピルエーテル(100ml)を加え、室温にて1時間攪拌した後、沈析物をろ過し、酢酸エチル/ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、10ml)で洗浄して真空乾燥した。得られた沈析物をDMF(6ml)に溶解し、25℃にてDMF(6ml)に溶解したドキソルビシン塩酸塩(130mg)とトリエチルアミン(0.038ml)を加え2時間攪拌した。反応液に酢酸エチル(24ml)及びジイソプロピルエーテル(96ml)を加え室温にて1時間攪拌した。沈析物をろ過し、酢酸エチル/ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、10ml)で洗浄して真空乾燥した。得られた沈析物をアセトニトリル(30ml)及び水(3ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製 ダウエックス50(H⁺)、5ml)に通塔し、アセトニトリル/水(10/1(v/v)、15ml)にて溶出した。得られた溶出画分に水(36ml)を加えた後アセトニトリルを減圧下留去し、その後、凍結乾燥することによって比較化合物1(338mg)を得た。

[0121] 比較化合物1に結合したドキソルビシン含量は、比較化合物1(5.16mg)に1N塩酸(1ml)を加えて40℃にて1時間攪拌した後、遊離したドキソルビシンのアグリコン(

アドリアマイシノン)をHPLC(高速液体クロマトグラフィー)で分析し、同処理を行ったドキソルビシンより得られたアグリコンの検量線と比較することによって求めた。その結果、結合したドキソルビシン含量は31.6%(w/w)だった。なお、比較化合物1中、遊離のドキソルビシンは未検出であった。

[0122] 試験例1 酵素非存在下での薬物の放出(ドキソルビシン)

本発明の高分子結合体である化合物2及び化合物4、並びに比較化合物1をそれぞれPBS(リン酸緩衝生理食塩水;pH7.1)に1mg/mlの濃度で溶解し37℃にてインキュベートした。該高分子結合体より放出されたドキソルビシンを、HPLCにて分析し検量線を用いて定量した。定量値と高分子結合体の薬物含有量から求めた全薬物量との比を図1に示した。

[0123] 図1から明らかなように、本発明の高分子結合体(化合物2及び化合物4)は加水分解酵素がなくても有意にドキソルビシンを放出した。特に、ポリアスパラギン酸構造部分を持つ化合物2は、グルタミン酸構造部分を持つ化合物4と比較して、より速くドキソルビシンを放出する。なお、化合物2において、ドキソルビシンの放出量が24時間後に減少しているのは、溶液中に放出されたドキソルビシンが溶液内で一部分解したためと考えられる。一方、アミド結合している比較化合物1は、24時間でもドキソルビシンの放出を確認できなかった。これらの結果は、本発明の高分子結合体の酵素非存在下での優れた薬物放出性能を示している。

[0124] 試験例2 酵素非存在下での薬物放出(ベスタチンメチルエステル)

本発明の高分子結合体である化合物5をPBS(リン酸緩衝生理食塩水;pH7.1)に1mg/mlの濃度で溶解し37℃にてインキュベートした。該高分子結合体より放出されたベスタチンメチルエステルを、HPLCにて分析し標準曲線を用いて定量した。定量値と高分子結合体の薬物含有量から求めた全薬物量との比を図2に示した。

[0125] 図2から明らかなように、本発明の高分子結合体は加水分解酵素がなくても有意にベスタチンメチルエステルを放出した。この結果は、本発明の高分子結合体の酵素非存在下での優れた薬物放出性能を示している。

[0126] 試験例3 酵素非存在下での薬物の放出(エトドラク、インドメタシン)

化合物6及び7をそれぞれPBS(リン酸緩衝生理食塩水;pH7.1)に1mg/mlの

濃度で溶解し37℃にてインキュベートした。該高分子結合体より放出されたエトドラクあるいはインドメタシンを、HPLCにて分析し検量線を用いて定量した。定量値と高分子結合体の薬物含有量から求めた全薬物量との比を図3に示した。

[0127] 図3から明らかなように、本発明の高分子結合体は加水分解酵素がなくても有意にエトドラクあるいはインドメタシンを放出した。この結果は、本発明の高分子結合体の酵素非存在下での優れた薬物放出性能を示している。

[0128] 試験例4 抗腫瘍作用

マウス皮下で継代しているマウス大腸癌Colon26を約2mm角のブロックにし、套管針を用いて雌性CDF1マウスの背側部皮下に移植した。腫瘍移植後8日目に本発明の高分子結合体(化合物2、化合物4)又は対照薬(比較化合物1、ドキソルビシン塩酸塩)を、各々ドキソルビシン換算で体重当たり同量となるようマウス尾静脈内に単回投与した。各化合物は5%ブドウ糖注射液で溶解し用いた。投与後、腫瘍の長径(Lmm)及び短径(Wmm)を、ノギスを用いて計測し、腫瘍体積を $(L \times W^2) / 2$ により計算して投与開始日の腫瘍体積に対する相対腫瘍体積として表1に示した。

[0129] [表1]

	投与量	投与後日数				
		0	3	7	10	14
化合物2	60mg/kg	1.00	0.73	0.22	0.22	0.72
	30mg/kg	1.00	1.58	2.94	3.59	6.67
化合物4	120mg/kg	1.00	0.89	0.33	0.17	0.03
	60mg/kg	1.00	1.65	1.51	0.78	0.71
	30mg/kg	1.00	1.96	2.76	2.17	3.44
比較化合物1	240mg/kg	1.00	3.19	9.89	22.68	42.49
ドキソルビシン	15mg/kg	1.00	1.79	3.89	5.27	12.17
コントロール		1.00	4.37	12.55	17.94	30.69

[0130] 対照薬としてのドキソルビシンは30mg/kgが致死量であるため、本試験では15mg/kgの用量で投与して抗腫瘍試験を行った。表1から明らかなように、本発明の高分子結合体はドキソルビシンより投与量幅が拡大して、より強い抗腫瘍効果を示している。一方、比較化合物1は、240mg/kgの投与量においても全く抗腫瘍効果を示

さなかった。

図面の簡単な説明

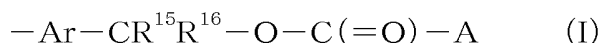
[0131] [図1]化合物2、化合物4及び比較化合物1のPBS溶液(pH7. 1、37℃)中でのドキソルビシンの全結合量に対する放出量の割合を示す

[図2]化合物5のPBS溶液(pH7. 1、37℃)中でのベスタチンメチルエステルの全結合量に対する放出量の割合を示す

[図3]化合物6あるいは化合物7のPBS溶液(pH7. 1、37℃)中でのエトドラクあるいはインドメタシンの全結合量に対する放出量の割合を示す

請求の範囲

- [1] ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基に、一般式(I)



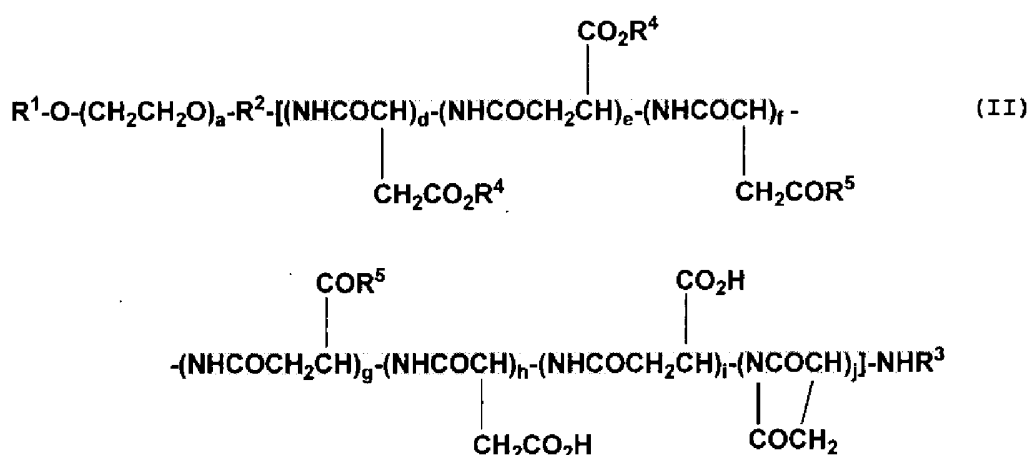
[式中、Arは置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{15} 、 R^{16} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示し、Aはカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を示す]

で表わされる置換基が結合している構造を有する生理活性物質の高分子結合体。

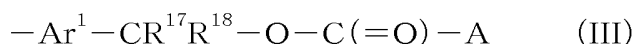
- [2] アミノ基を有する生理活性物質がアミノ基を介して結合している請求項1記載の生理活性物質の高分子結合体。

- [3] 一般式(II)

[化17]



[式中、 R^1 は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、 R^2 は結合基を示し、 R^3 は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、 R^4 は一般式(III)



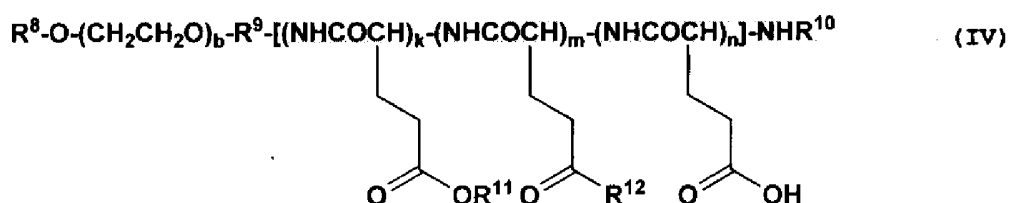
[式中、 Ar^1 は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{17} 、 R^{18} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示し、Aはカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を示す]

で表わされる置換基を示し、 R^5 は置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、 $(C1\sim C30)$ アルコキシ基、 $(C1\sim C30)$ アラルキルオキシ基、 $(C1\sim C30)$ アルキルアミノ基、ジ $(C1\sim C30)$ アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-NR^6CONHR^7$ からなる群から選ばれる置換基を示し、 R^6 、 R^7 は同一でも異なっているとしてもよく $(C3\sim C6)$ 環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい $(C1\sim C5)$ アルキル基を示し、 a は5～11500の整数を示し、 d 、 e 、 f 、 g 、 h 、 i 、 j は各々0～200の整数を示し、且つ $d+e$ は1～200の整数を示し、且つ $d+e+f+g+h+i+j$ は2～200の整数を示し、ポリアスパラギン酸の各構成単位の結合順序は任意である]

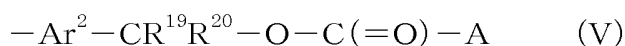
で表される請求項1又は2に記載の生理活性物質の高分子結合体。

- [4] R^1 が $(C1\sim C3)$ アルキル基であり、 R^2 が $(C2\sim C6)$ アルキレン基であり、 R^3 が $(C1\sim C3)$ アシル基であり、 R^4 の一般式(III)における Ar^1 がポリマーとの結合と $CR^{17}R^{18}$ との結合がオルト位又はパラ位にあるフェニル基であり、 a が100～300の整数であり、 d 、 e 、 f 、 g 、 h 、 i 、 j が各々0～100の整数であり、且つ $d+e$ は1～100の整数であり、且つ $d+e+f+g+h+i+j$ が6～100の整数である請求項3記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [5] R^1 がメチル基、 R^2 がトリメチレン基、 R^3 がアセチル基であり、 R^4 の一般式(III)における R^{17} 、 R^{18} が共に水素原子、 R^5 が $-NR^6CONHR^7$ であり、 R^6 、 R^7 が共にシクロヘキシル基若しくはイソプロピル基である請求項3又は4に記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [6] 一般式(IV)

[化18]



[式中、 R^8 は水素原子又は $(C1\sim C6)$ アルキル基を示し、 R^9 は結合基を示し、 R^{10} は水素原子又は $(C1\sim C6)$ アシル基を示し、 R^{11} は一般式(V)



[式中、 Ar^2 は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{19} 、 R^{20} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示し、Aはカルボキシ基を有する生理活性物質の残基又はアミノ基を有する生理活性物質の残基を示す]

で表わされる置換基を示し、 R^{12} は置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-\text{NR}^{13}\text{CONHR}^{14}$ からなる群から選ばれる置換基を示し、 R^{13} 、 R^{14} は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、bは5～11500の整数を示し、kは1～200の整数を示し、m、nは各々0～200の整数を示し、且つ $k+m+n$ は2～200の整数を示すし、ポリグルタミン酸の各構成単位の結合順序は任意である]

で表される請求項1又は2に記載の生理活性物質の高分子結合体。

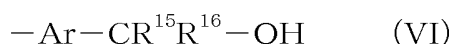
- [7] R^8 が(C1～C3)アルキル基であり、 R^9 が(C2～C6)アルキレン基であり、 R^{10} が(C1～C3)アシル基であり、 R^{11} の一般式(V)における Ar^2 がポリマーとの結合と $\text{CR}^{19}\text{R}^{20}$ との結合がオルト位又はパラ位であるフェニル基であり、bが100～300の整数であり、kが1～90の整数を示し、m、nが各々0～90の整数を示し、且つ $k+m+n$ は6～90の整数である請求項6記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [8] R^8 がメチル基、 R^9 がトリメチレン基、 R^{10} がアセチル基であり、 R^{11} の一般式(V)における R^{19} 、 R^{20} が共に水素原子、 R^{12} が $-\text{NR}^{13}\text{CONHR}^{14}$ であり、 R^{13} 、 R^{14} が共にシクロヘキシル基若しくはイソプロピル基である請求項6又は7に記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [9] ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基と、ヒドロキシベンジルアルコール化合物のフェノール性水酸基とをエステル結合させ、得られたエステル化合物のアルコール性水酸基とカルボキシ基を有する生理活性物質のカルボキシ基とを結合させること、又は該エステル化合物のアルコール性水酸基とアミノ基を有する生

理活性物質のアミノ基とをカルボニル基を介して結合させることにより得られる、生理活性物質の高分子結合体。

- [10] 生理活性物質が抗癌剤である請求項1～9のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [11] アミノ基を有する生理活性物質がアンスラサイクリン系抗癌剤である請求項1～9のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [12] アンスラサイクリン系抗癌剤がドキソルビシン、ダウノルビシン、エピルビシン、ピラルビシン又はアムルビシンである請求項11記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [13] 生理活性物質が生理活性ペプチドである請求項1～9のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [14] 生理活性ペプチドがベスタチン又はその誘導体である請求項13記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [15] 生理活性物質が抗炎症剤である請求項1～9のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [16] カルボキシ基を有する生理活性物質がインドメタシン若しくはエトドラク又はその誘導体である請求項1～9のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [17] 水中でミセルを形成することを特徴とする請求項1～16のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体。
- [18] 請求項1～17のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体を有効成分とする医薬品。
- [19] 請求項10～12のいずれか一項に記載の生理活性物質の高分子結合体を有効成分とする抗癌剤。
- [20] 請求項15に記載の生理活性物質の高分子結合体を有効成分とする抗炎症剤。
- [21] ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基と、ヒドロキシベンジルアルコール化合物のフェノール性水酸基とをエステル結合させ、得られたエステル化合物のアルコール性水酸基とカルボキシ基を有する生理活性物質のカルボキシ基とを結合させること、又は、該エステル化合物のアルコール性水酸基とアミノ基を有する

生理活性物質のアミノ基とをカルボニル基を介して結合させることを特徴とする請求項1又は2に記載の生理活性物質の高分子誘導体の製造方法。

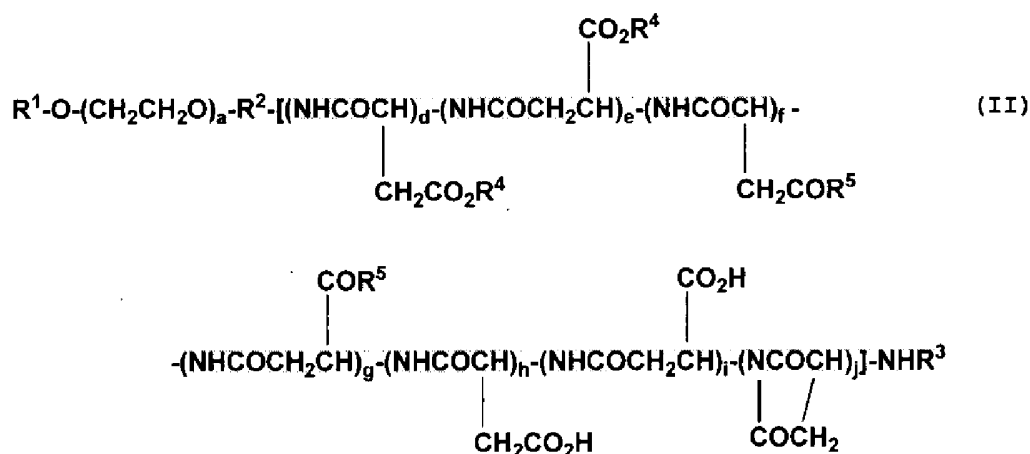
- [22] ポリエチレングリコール構造部分と、ポリアスパラギン酸部分又はポリグルタミン酸部分とを有するブロック共重合体における側鎖カルボキシ基に、一般式(VI)



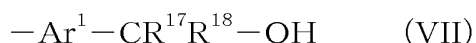
[式中、Arは置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{15} 、 R^{16} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示す]で表わされる置換基が結合している構造を有する化合物。

- [23] 一般式(II)

[化19]



[式中、 R^1 は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、 R^2 は結合基を示し、 R^3 は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、 R^4 は一般式(VII)



[式中、 Ar^1 は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{17} 、 R^{18} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示す]

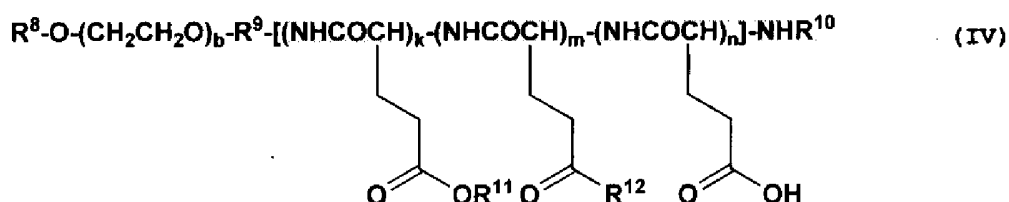
で表わされる置換基を示し、 R^5 は置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸

及び $-\text{NR}^6\text{CONHR}^7$ からなる群から選ばれる置換基を示し、 R^6 、 R^7 は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、 a は5～11500の整数を示し、 d 、 e 、 f 、 g 、 h 、 i 、 j は各々0～200の整数を示し、且つ $d+e$ は1～200の整数を示し、且つ $d+e+f+g+h+i+j$ は2～200の整数を示し、ポリアスパラギン酸の各構成単位の結合順序は任意である]

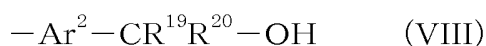
で表される化合物。

[24] 一般式(IV)

[化20]



[式中、 R^8 は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、 R^9 は結合基を示し、 R^{10} は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、 R^{11} は一般式(VIII)

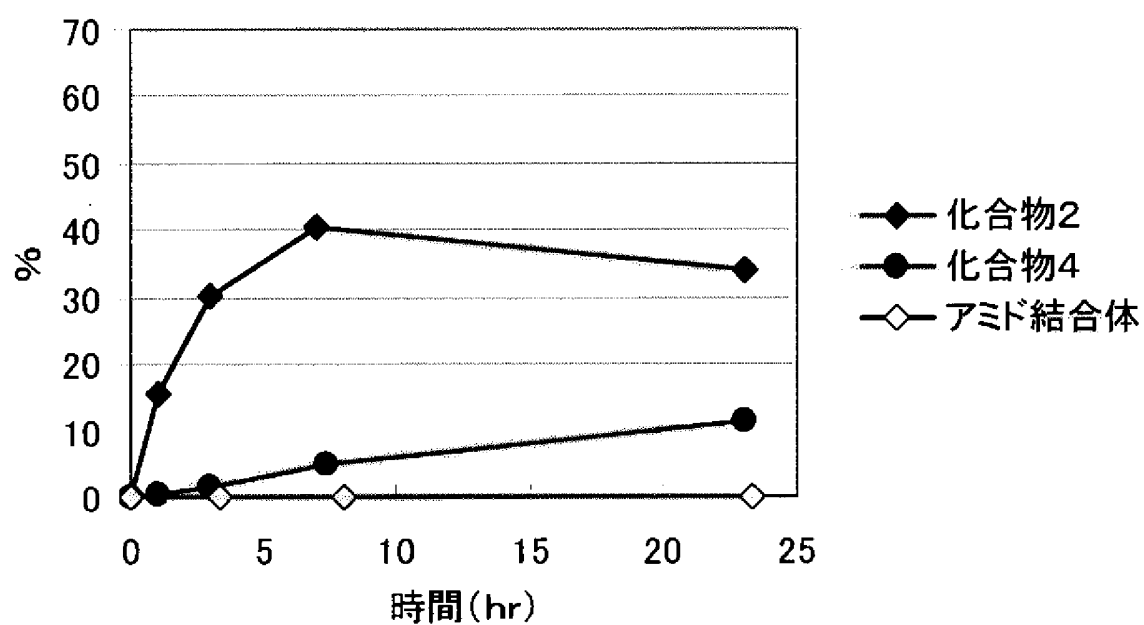


[式中、 Ar^2 は置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基又は置換基を有していてもよい芳香族複素環基を示し、 R^{19} 、 R^{20} は独立して水素原子又は置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基を示す]

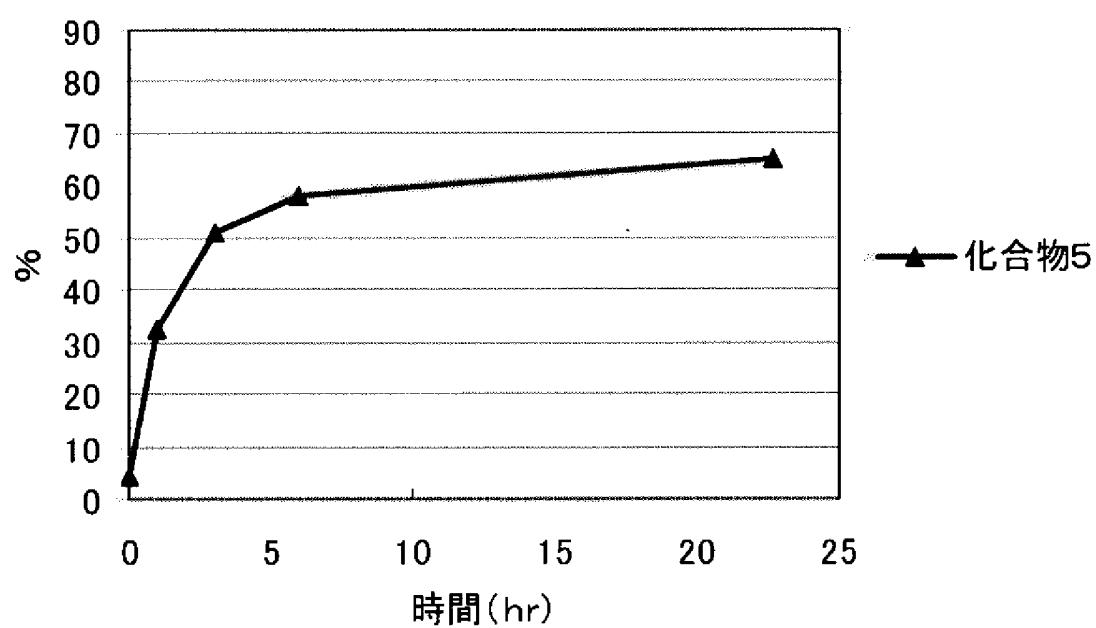
で表わされる置換基を示し、 R^{12} は置換基を有していてもよいヒドロキシメチルフェノキシ基、(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-\text{NR}^{13}\text{CONHR}^{14}$ からなる群から選ばれる置換基を示し、 R^{13} 、 R^{14} は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、 b は5～11500の整数を示し、 k は1～200の整数を示し、 m 、 n は各々0～200の整数を示し、且つ $k+m+n$ は2～200の整数を示し、ポリグルタミン酸の各構成単位の結合順序は任意である]

で表される化合物。

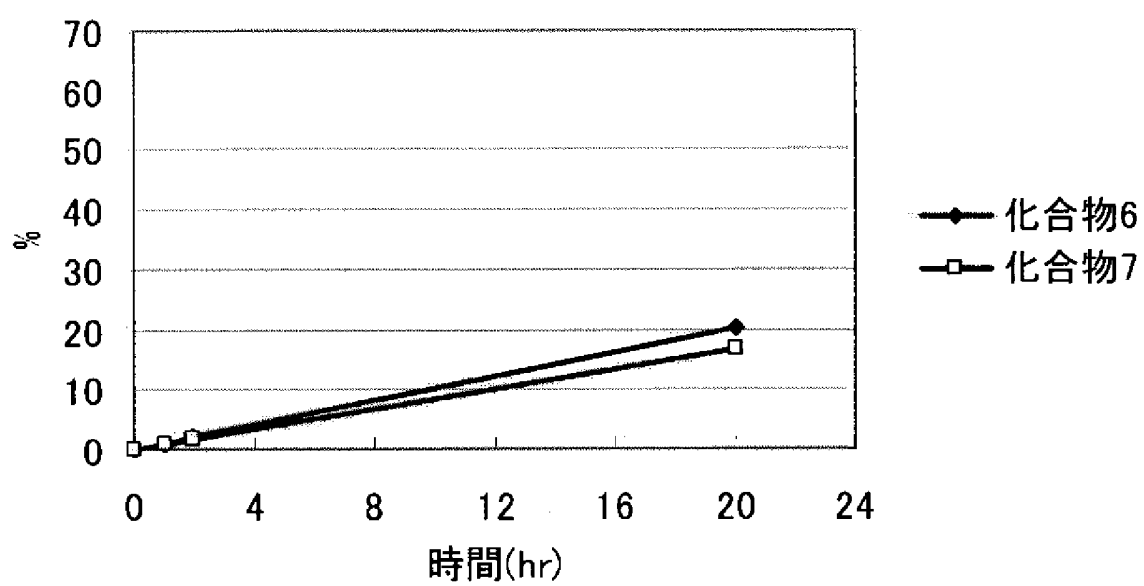
[図1]



[図2]



[図3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/055115

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K47/48(2006.01)i, A61K31/352(2006.01)i, A61K31/405(2006.01)i,
 A61K31/407(2006.01)i, A61K31/704(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i,
 A61P29/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C08G69/44(2006.01)i,
 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)

A61K47/48, A61K31/352, A61K31/405, A61K31/407, A61K31/704, A61K38/00,
 A61P29/00, A61P35/00, C08G69/44, C08G69/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2009
 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2009 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2009

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2008/010463 A1 (NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA, JP), 24 January, 2008 (24.01.08), Claims 1 to 8, 10, 12 to 15; Par. Nos. [0008], [0010]; examples 1 to 2 (Family: none)	1-24
Y	NAKANISHI, T. et al, Development of the polymer micelle carrier system for doxorubicin, J. Control. Release, 2001, Vol.74, No.1-3, p.295-302, paragraph of "2.Structure of NK911"	1-15, 17-24

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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 application or patent 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
11 June, 2009 (11.06.09)

Date of mailing of the international search report
23 June, 2009 (23.06.09)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/055115

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2005/066214 A1 (SEIKAGAKU CORP.), 21 July, 2005 (21.07.05), Par. Nos. [0056] to [0057], [0065] to [0067], [0077], [0115] to [0116]; example 47 & EP 1710257 A1 & AU 2005203988 A1 & JP 2005-516899 A & CN 1930190 A & KR 2007031274 A & US 2008/221062 A1	1, 3-24
Y	JP 61-243026 A (CESKOSLOVENSKA AKAD VED), 29 October, 1986 (29.10.86), Claim 7 & EP 187547 A & AU 8651833 A & DK 8600033 A & US 5037883 A	1-14, 17-19, 21-24
Y	WO 2007/080898 A1 (MEDCELL KABUSHIKI KAISHA), 19 July, 2007 (19.07.07), Par. No. [0073] & JP 2007-182407 A	1-15, 17-24
Y	JP 2000-516948 A (TRANSGENE S.A.), 19 December, 2000 (19.12.00), Page 15, line 23 to page 16, line 5 & WO 98/08489 A1 & AU 9737815 A & EP 941066 A1	1-15, 17-24
Y	JP 2005-508832 A (CELLGATE INC.), 07 April, 2005 (07.04.05), Par. No. [0141] & WO 2002/65986 A2 & US 2003/032593 A1 & EP 1401473 A2 & AU 2002306500 A1 & MX 2003007358 A1	1-24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/055115

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

C08G69/48(2006.01) i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC)

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. A61K47/48(2006.01)i, A61K31/352(2006.01)i, A61K31/405(2006.01)i, A61K31/407(2006.01)i,
A61K31/704(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61P29/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i,
C08G69/44(2006.01)i, C08G69/48(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. A61K47/48, A61K31/352, A61K31/405, A61K31/407, A61K31/704, A61K38/00, A61P29/00, A61P35/00,
C08G69/44, C08G69/48

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

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 9 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 9 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 9 年

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）

C. 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 請求項の番号
Y	WO 2008/010463 A1 (NIPPON KAYAKU KK,JP) 2008.01.24, 請求項 1-8、10、12-15、段落[0008]、[0010]、実施例 1-2 (ファミリーなし)	1-24
Y	NAKANISHI,T. et al, Development of the polymer micelle carrier system for doxorubicin, J. Control. Release, 2001, Vol.74, No.1-3, p.295-302 “2.Structure of NK911”の項	1-15, 17-24

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「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

の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

国際調査を完了した日

1 1 . 0 6 . 2 0 0 9

国際調査報告の発送日

2 3 . 0 6 . 2 0 0 9

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

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）

伊藤 清子

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

4 C

3 7 7 9

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 請求項の番号
Y	WO 2005/066214 A1 (SEIKAGAKU CORP) 2005.07.21, 段落[0056]－[0057]、[0065]－[0067]、[0077]、[0115]－[0116]、実施例 47 & EP 1710257 A1 & AU 2005203988 A1 & JP 2005-516899 A & CN 1930190 A & KR 2007031274 A & US 2008/221062 A1	1, 3-24
Y	JP 61-243026 A (CESKOSLOVENSKA AKAD VED) 1986.10.29, 請求項 7 & EP 187547 A & AU 8651833 A & DK 8600033 A & US 5037883 A	1-14, 17-19, 21-24
Y	WO 2007/080898 A1 (MEDCELL KK) 2007.07.19, 段落[0073] & JP 2007-182407 A	1-15, 17-24
Y	JP 2000-516948 A (TRANSGENE SA) 2000.12.19, 第 15 ページ第 23 行－第 16 ページ第 5 行 & WO 98/08489 A1 & AU 9737815 A & EP 941066 A1	1-15, 17-24
Y	JP 2005-508832 A (CELLGATE INC) 2005.04.07, 段落[0141] & WO 2002/65986 A2 & US 2003/032593 A1 & EP 1401473 A2 & AU 2002306500 A1 & MX 2003007358 A1	1-24