

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6271566号
(P6271566)

(45) 発行日 平成30年1月31日 (2018. 1. 31)

(24) 登録日 平成30年1月12日 (2018.1.12)

(51) Int. Cl.	F 1
C 0 8 G 81/00 (2006.01)	C 0 8 G 81/00
A 6 1 K 47/50 (2017.01)	A 6 1 K 47/50
A 6 1 K 47/34 (2017.01)	A 6 1 K 47/34
C 0 8 G 65/48 (2006.01)	C 0 8 G 65/48

請求項の数 30 (全 130 頁)

(21) 出願番号	特願2015-536102 (P2015-536102)	(73) 特許権者	510209133
(86) (22) 出願日	平成25年10月8日 (2013. 10. 8)		アセンディス ファーマ エー/エス
(65) 公表番号	特表2016-501919 (P2016-501919A)		デンマーク国 ディーケー-2900 ヘ
(43) 公表日	平成28年1月21日 (2016. 1. 21)		レルプ, トゥボーグ ブールバード 12
(86) 国際出願番号	PCT/EP2013/070962	(74) 代理人	100091096
(87) 国際公開番号	W02014/056926		弁理士 平木 祐輔
(87) 国際公開日	平成26年4月17日 (2014. 4. 17)	(74) 代理人	100118773
審査請求日	平成28年8月2日 (2016. 8. 2)		弁理士 藤田 節
(31) 優先権主張番号	12188228.6	(74) 代理人	100122389
(32) 優先日	平成24年10月11日 (2012. 10. 11)		弁理士 新井 栄一
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100111741
			弁理士 田中 夏夫
		(74) 代理人	100169971
			弁理士 菊田 尚子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒドロゲルプロドラッグ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒドロゲルの調製方法であって、

(a)

(a-i) 1から100kDaの範囲の分子量を有し、且つ少なくとも3個のアミン(-NH₂及び/又は-NH-)を含む、少なくとも1種の骨格試薬、

(a-ii) 6から40kDaの範囲の分子量を有し、

(i) 少なくとも2個のカルボニルオキシ基(-(C=O)-O-又は-O-(C=O)-)、及び追加的に

(ii) 活性エステル基、活性カルバメート基、活性カーボネート基及び活性チオカーボネート基からなる群から選択される少なくとも2個の活性官能末端基
を含み、且つ少なくとも70%のPEGを含むPEG系である、少なくとも1種のクロスリンカー試薬、並びに

(a-iii) 第1の溶媒、及び前記第1の溶媒と非混和性である少なくとも第2の溶媒を、前記少なくとも1種の骨格試薬と前記少なくとも1種のクロスリンカー試薬との重量比が1:99から99:1の範囲で含む混合物を準備する工程と、

(b) 工程(a)の混合物を懸濁重合でヒドロゲルに重合させる工程とを含む方法。

【請求項 2】

工程(a)の混合物が、界面活性剤をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

10

20

界面活性剤が、Cithrol DPHS、Hypermer 70A、Hypermer B246、Hypermer 1599A、Hypermer 2296又はHypermer 1083である、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

工程(b)における重合が、塩基を添加することにより開始される、請求項1から3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

塩基が、N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン(TMEDA)、1,4-ジメチルピペラジン、4-メチルモルホリン、4-エチルモルホリン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,1,4,7,10,10-ヘキサメチルトリエチレントトラミン、1,4,7-トリメチル-1,4,7-トリアザシクロノナン、トリス[2-(ジメチルアミノ)エチル]アミン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)、トリメチルアミン、N,N-ジメチルエチルアミン、N,N,N',N'-テトラメチル-1,6-ヘキサレンジアミン、N,N,N',N'',N''-ペンタメチルジエレントリアミン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン、1,5-ジアザビシクロ[4.3.0]ノナ-5-エン、及びヘキサメチレントトラミンから選択される、請求項4に記載の方法。

10

【請求項6】

工程(a)の混合物が、乳濁液である、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

方法が、

(c)前記ヒドロゲルを後処理する工程

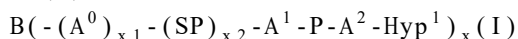
をさらに含む、請求項1から6のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項8】

少なくとも1種の骨格試薬が、

式(I)



[式中、

Bは、分岐コアであり、

SPは、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル及び $C_2 \sim 6$ アルキニルからなる群から選択されるスペーサ部分であり、

Pは、少なくとも80%のPEG、好ましくは少なくとも85%のPEG、より好ましくは少なくとも90%のPEG、最も好ましくは少なくとも95%のPEGを含むPEG系ポリマー鎖であり、

30

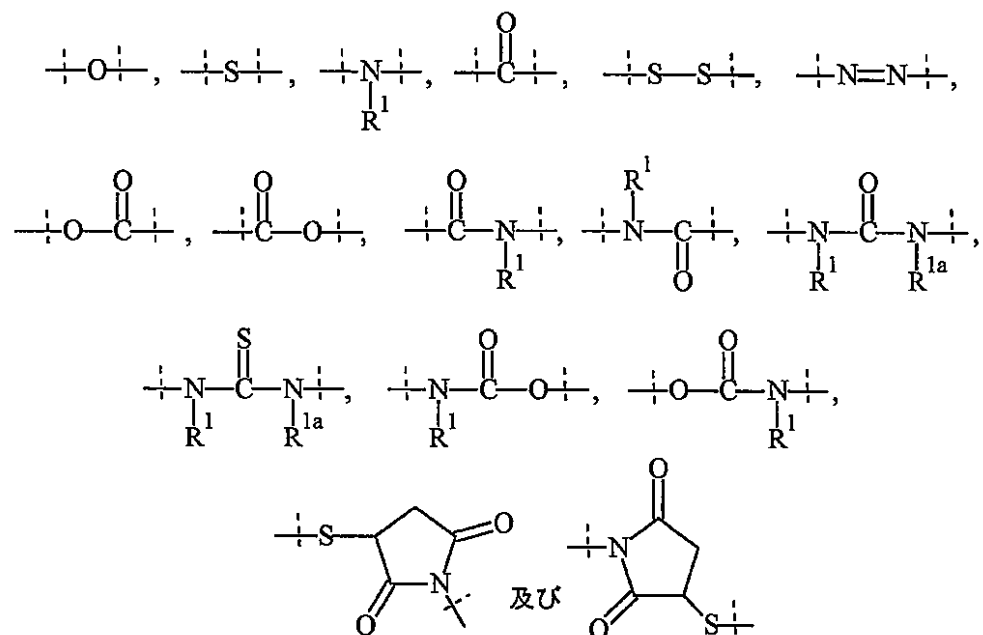
Hyp¹は、アミン(-NH₂及び/若しくは-NH-)、又は少なくとも2個のアミン(-NH₂及び/若しくは-NH-)を含むポリアミンを含む部分であり、

xは、3から16の整数であり、

x₁、x₂は、互いに独立して、0又は1であり、但し、x₂が0である場合、x₁は0であり、

A⁰、A¹、A²は、

【化 1】



10

(ここで、 R^1 及び R^{1a} は、H 及び $\text{C}_1 \sim 6$ アルキルから互いに独立して選択される)
 からなる群から互いに独立して選択される]

20

の化合物、

式(II)

$\text{Hyp}^2\text{-A}^3\text{-P-A}^4\text{-Hyp}^3$ (II)

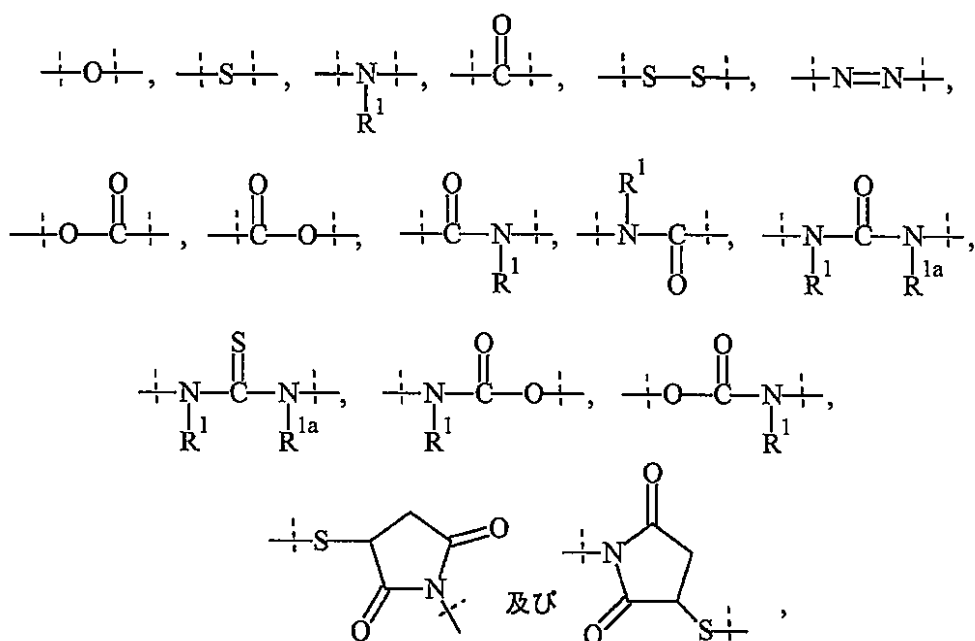
[式中、

P は、式(I)の化合物における上記のように定義され、

Hyp^2 、 Hyp^3 は、互いに独立して、少なくとも2個のアミン(- NH_2 及び / 又は - NH -)を含むポリアミンであり、

A^3 及び A^4 は、

【化 2】



30

40

(ここで、 R^1 及び R^{1a} は、H 及び $\text{C}_1 \sim 6$ アルキルから互いに独立して選択される)
 からなる群から独立して選択される]

の化合物、

式(III)

50

「式中、

Hyp⁴は、少なくとも3個のアミン(-NH₂及び/又は-NH)を含むポリアミンであり、

A^5 は、

【化 3】



20

の化合物、及び

式 (IV)

$$T^1 - A^6 - Hyp^5 \text{ (IV)}$$

「式中、

Hyp⁵は、少なくとも3個のアミン(-NH₂及び/又は-NH)を含むポリアミンであり、

A^6 は、

【化 4】



40

50

(ここで、 R^1 及び R^{1a} は、H及び $C_1 \sim 6$ アルキルから互いに独立して選択される) かなる群から選択され、

T^1 は、 $C_1 \sim 50$ アルキル、 $C_2 \sim 50$ アルケニル又は $C_2 \sim 50$ アルキニルかなる群から選択され、このフラグメントは、-NH-、-N($C_1 \sim 4$ アルキル)-、-O-、-S-、-C(O)-、-C(O)NH-、-C(O)N($C_1 \sim 4$ アルキル)-、-O-C(O)-、-S(O)-、-S(O)₂-、4員から7員ヘテロシクリル、フェニル又はナフチルから選択される1個以上の基で中断されていてもよい]

の化合物

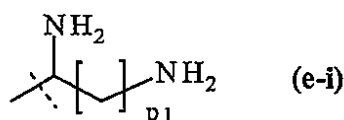
かなる群から選択される、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

Hyp¹、Hyp²、Hyp³、Hyp⁴及びHyp⁵が、

式(e-i)

【化5】



(式中、

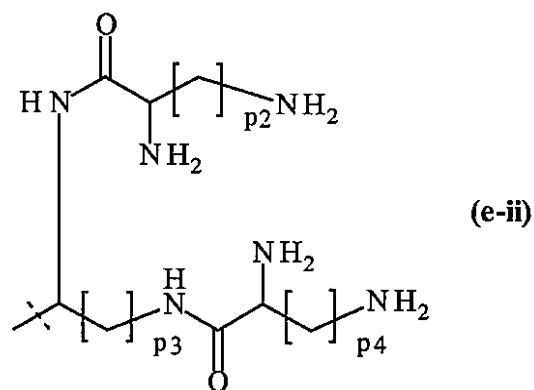
$p1$ は、1から5の整数であり、好ましくは $p1$ は4であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は A^2 への結合、及び骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合を示す)

の部分、

式(e-ii)

【化6】



(式中、

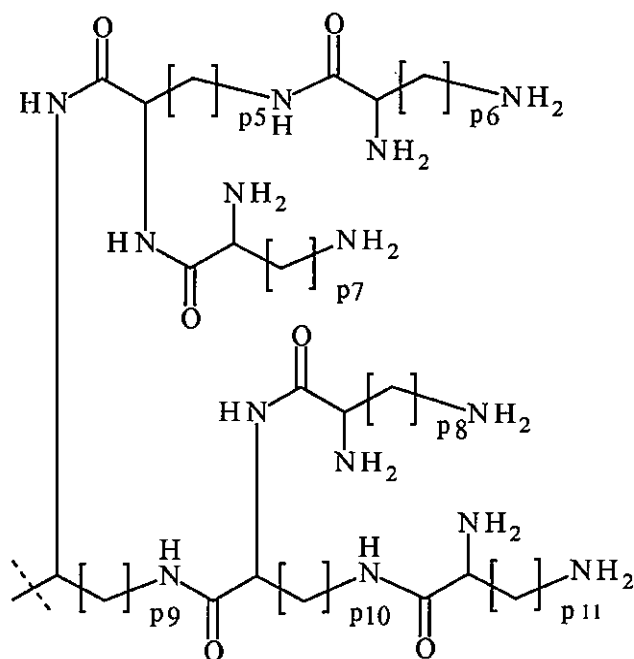
$p2$ 、 $p3$ 及び $p4$ は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、1から5の整数であり、好ましくは $p2$ 、 $p3$ 及び $p4$ は、4であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)

の部分、

式(e-iii)

【化 7】



(e-iii)

10

(式中、

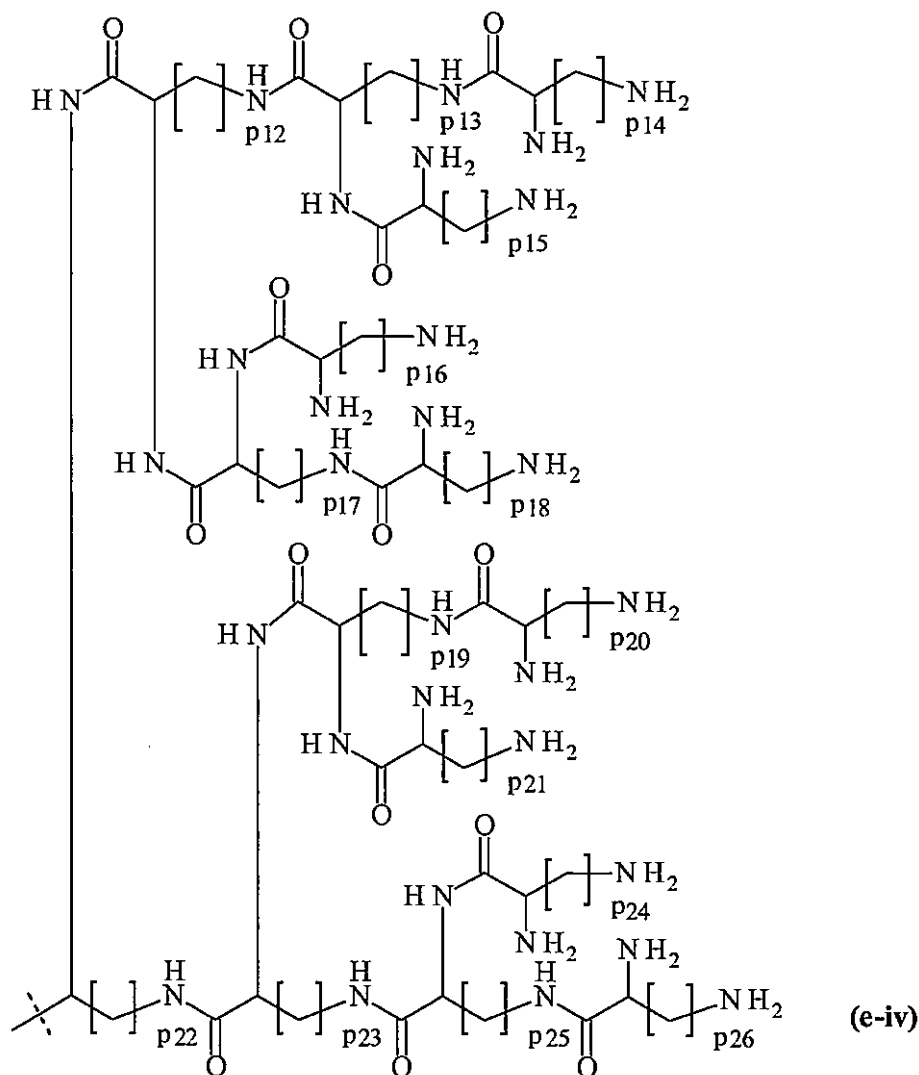
20

p5からp11は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、1から5の整数であり、好ましくは、p5からp11は、4であり、

破線は、骨格試薬が式(I)のものである場合は、A²への結合、骨格試薬が式(II)のものである場合は、A³又はA⁴への結合、骨格試薬が式(III)のものである場合は、A⁵への結合、及び骨格試薬が式(IV)のものである場合は、A⁶への結合を示す)の部分、

式(e-iv)

【化 8】



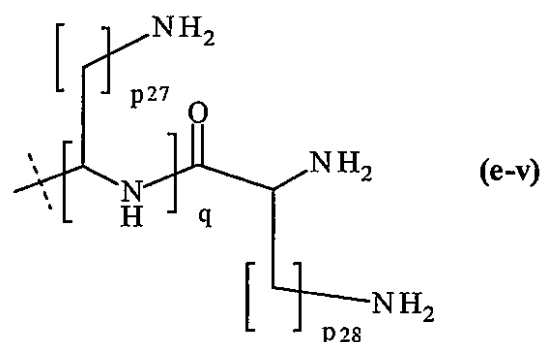
(式中、

p12からp26は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、1から5の整数であり、好ましくはp12からp26は、4であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)の部分、

式(e-v)

【化 9】



(式中、

p27及びp28は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、1から5の整数であり、好ましくはp27及びp28は、4であり、

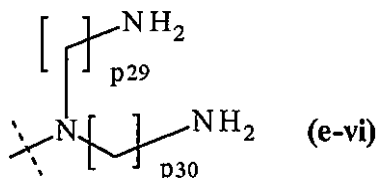
qは、1から8の整数であり、好ましくはqは、2又は6であり、最も好ましくは、qは、6であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)の部分、

式(e-vi)

【化 1 0】

10



(式中、

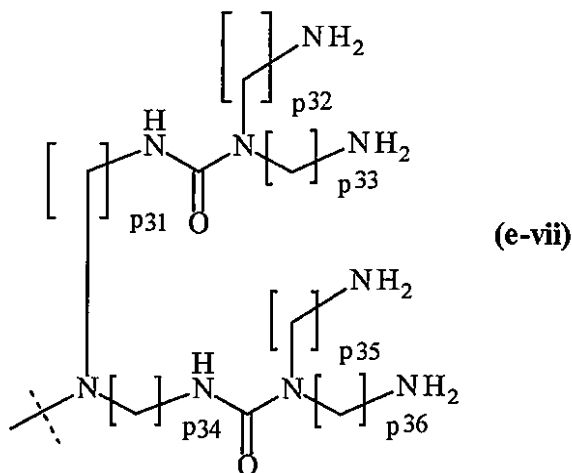
p29及びp30は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、2から5の整数であり、好ましくはp29及びp30は、3であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)の部分、

20

式(e-vii)

【化 1 1】



30

(式中、

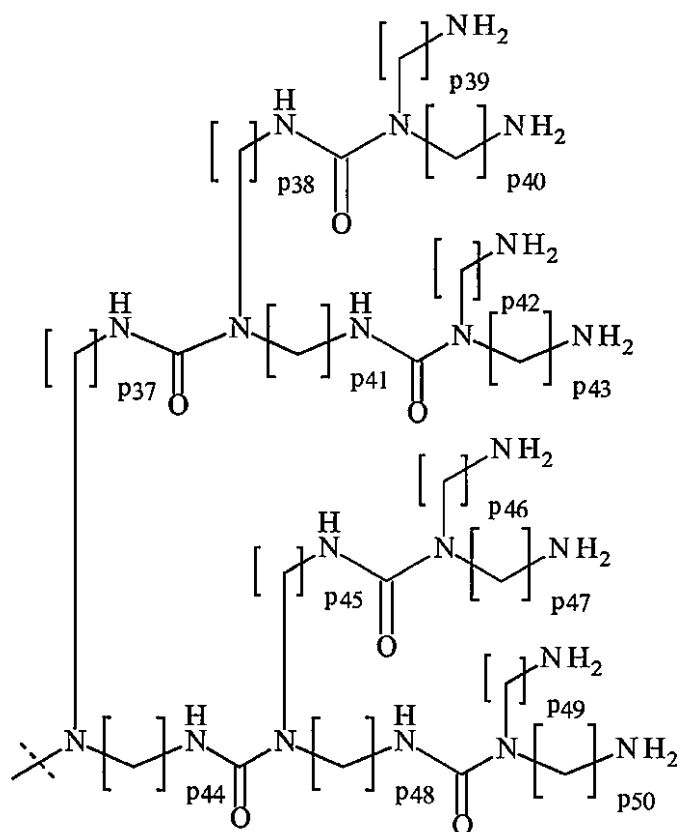
p31からp36は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、2から5の整数であり、好ましくはp31からp36は、3であり、

40

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)の部分、

式(e-viii)

【化 1 2】



(e-viii)

(式中、

p37からp50は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、2から5の整数であり、好ましくはp37からp50は、3であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)の部分、及び

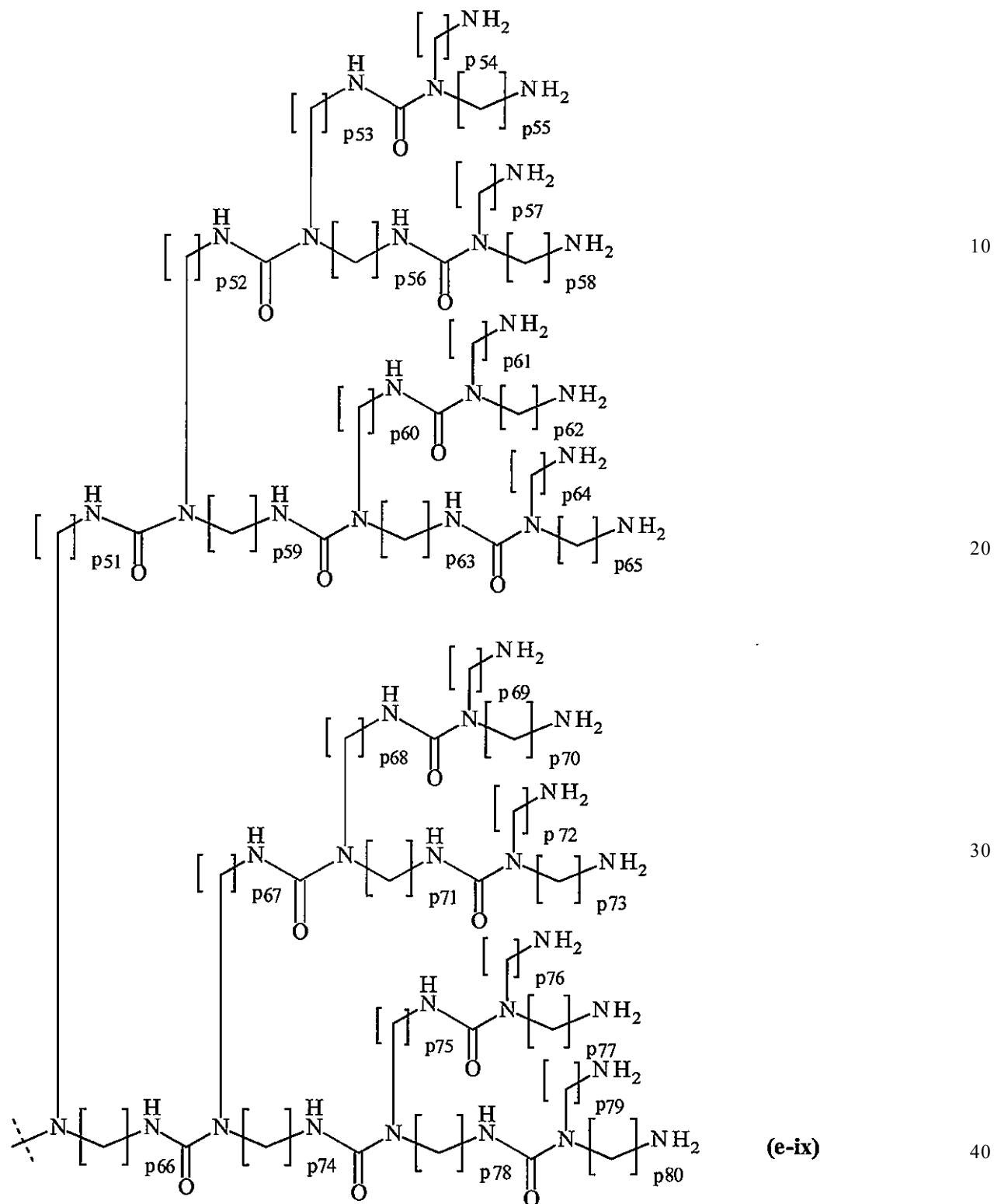
式(e-ix):

10

20

30

【化 1 3】



(式中、

p51からp80は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、2から5の整数であり、好ましくはp51からp80は、3であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)の部分

からなる群から選択され、

部分(e-i)から部分(e-v)は、それぞれのキラル中心において、R-又はS-配置であってもよく、好ましくは、部分(e-i)から部分(e-v)のキラル中心のすべては、同じ配置である、請求項8に記載の方法。

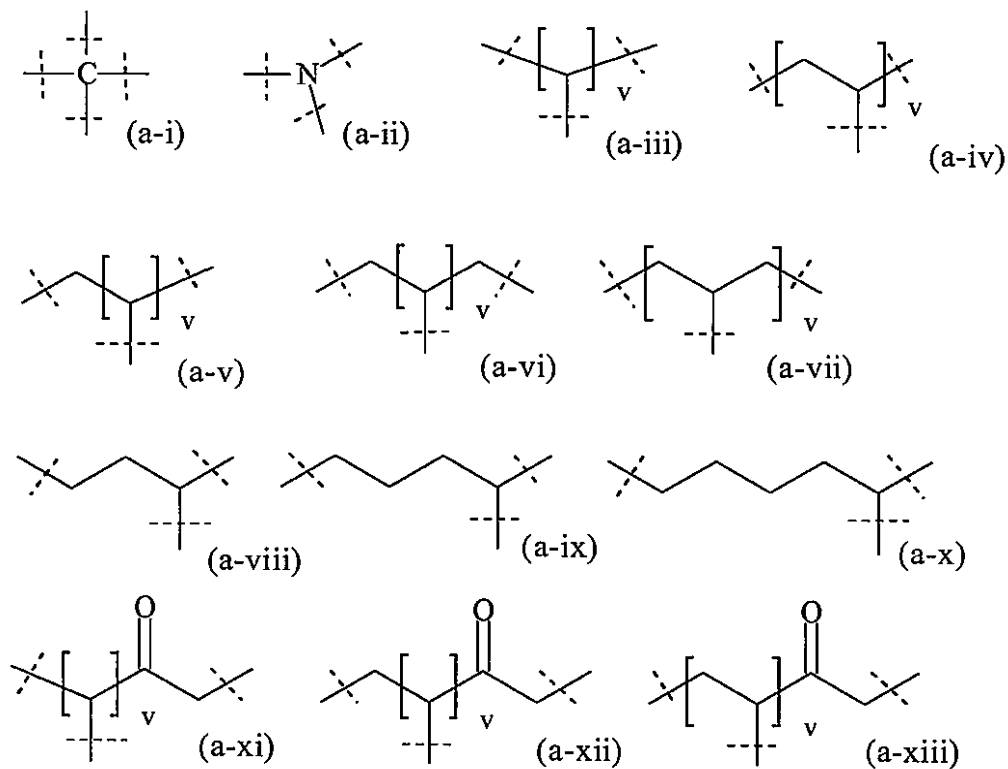
【請求項10】

骨格試薬が、式(I)の化合物である、請求項8又は9に記載の方法。

【請求項11】

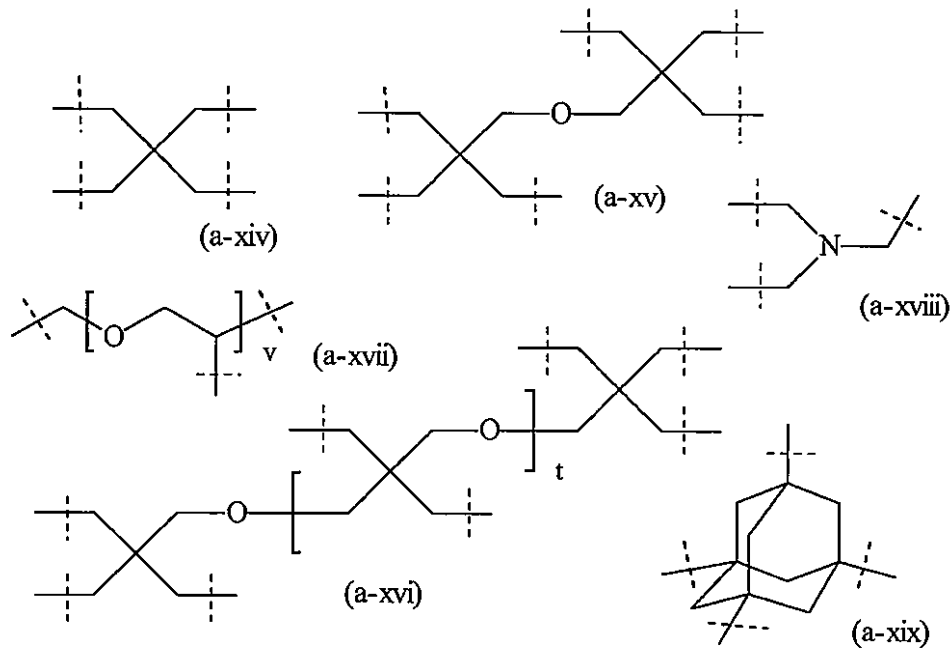
前記分岐コアBが、以下の構造：

【化14】

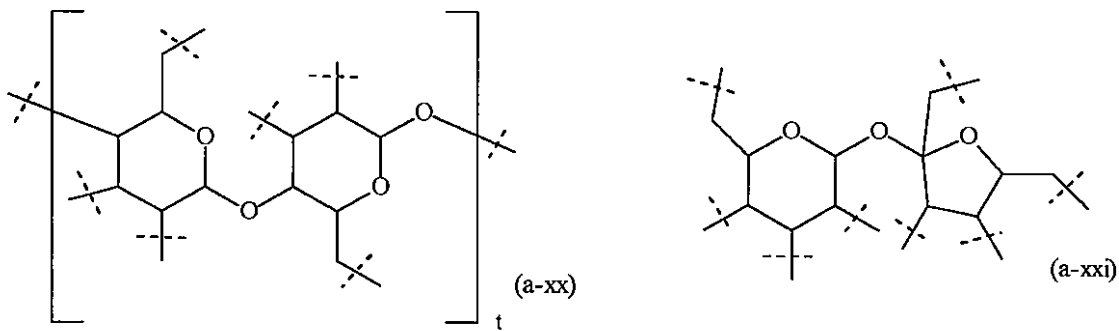


10

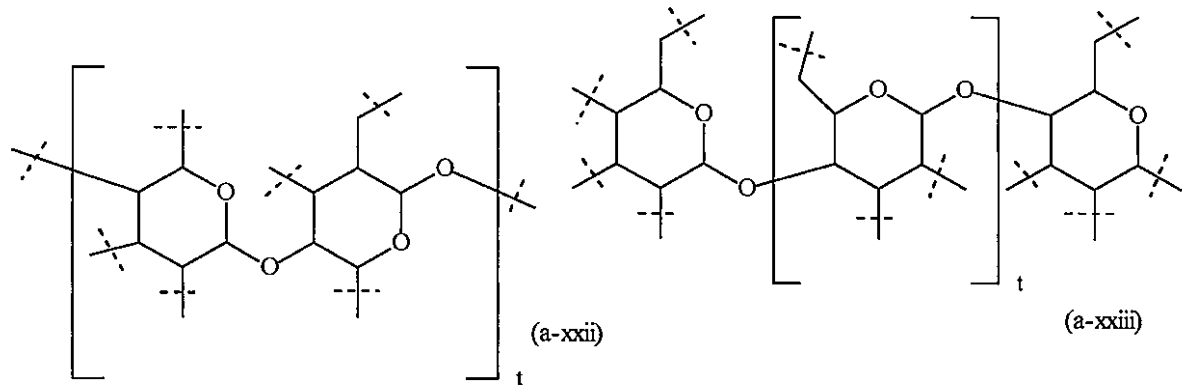
20



10



20



30

(ここで、

破線は、 A^0 への結合、又は $x1$ 及び $x2$ が両方とも0の場合は、 A^1 への結合を示し、

t は、1又は2であり、好ましくは t は、1であり、

v は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13又は14であり、好ましくは v は、2、3、4、5、6であり、より好ましくは v は、2、4又は6であり、最も好ましくは v は、2である

)

から選択される、請求項8から10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

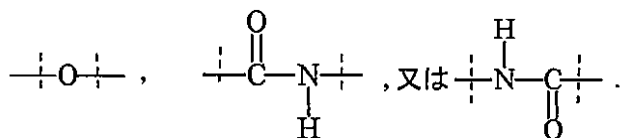
Bが、式(a-xiv)のものである、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

A^0 が、

40

【化 1 5】



である、請求項8から12のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

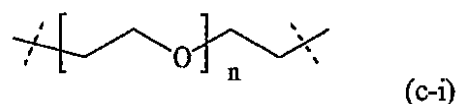
x1及びx2が、0である、請求項8から13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

Pが、式(c-i):

10

【化 1 6】



(式中、nは、6から900の範囲であり、より好ましくは20から700の範囲であり、最も好ましくは20から250の範囲である)

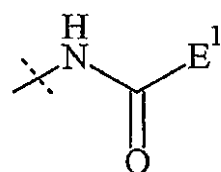
の構造を有する、請求項8から14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

部分-A²-Hyp¹が、式

20

【化 1 7】



(式中、

破線は、Pへの結合を示し、

E^1 は、式 (e-i) から式 (e-ix) から選択される)

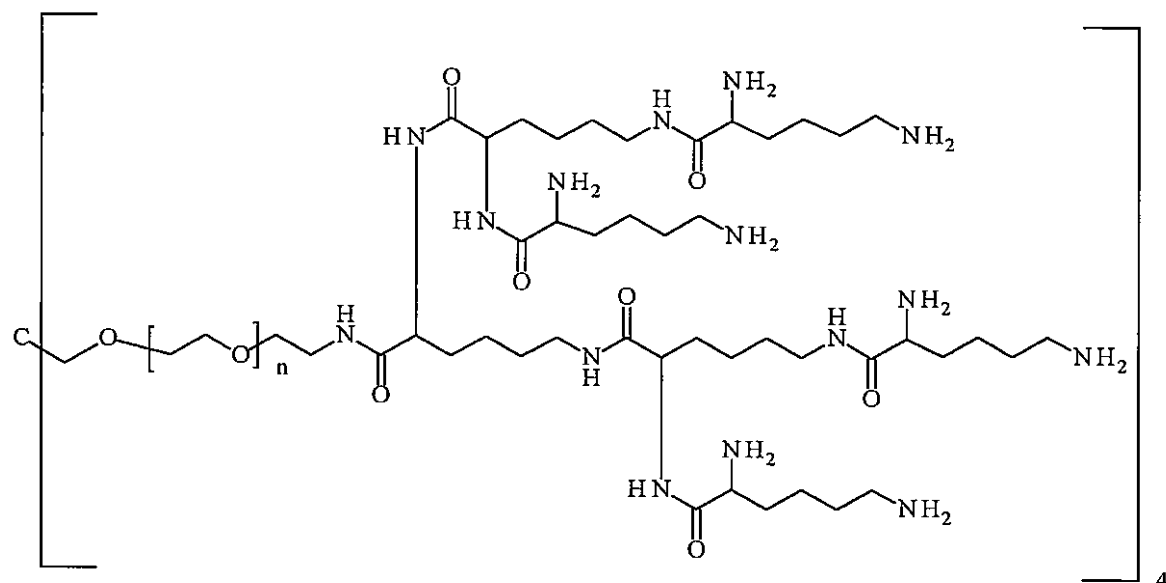
の部分である、請求項8から15のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 17】

骨格試薬が、以下の式:

【化 1 8】



(式中、

50

nは、10から40、好ましくは10から30、より好ましくは10から20の範囲である)
を有する、請求項1から16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項18】

nが、20から30kDaの範囲であり、最も好ましくはnが、28である、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

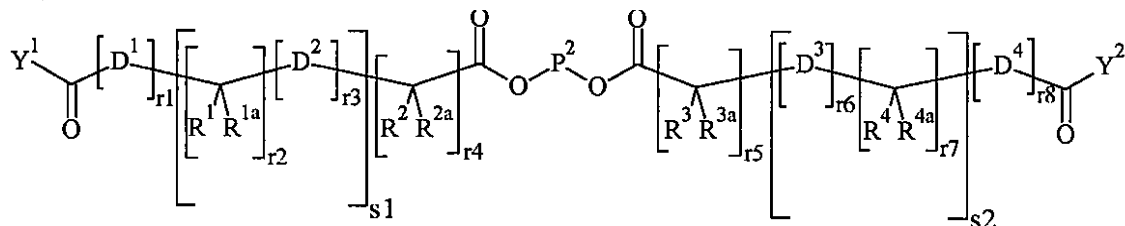
骨格試薬が、その酸性塩の形態で存在する、請求項1から18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

クロスリンカー試薬が、式(V-II):

10

【化19】



[式中、

D¹、D²、D³及びD⁴は、同一であり又は異なり、それぞれは、O、NR⁵、S及びCR⁵R^{5a}を含む群から互いに独立して選択され、

20

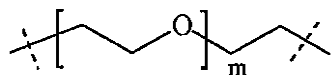
R¹、R^{1a}、R²、R^{2a}、R³、R^{3a}、R⁴、R^{4a}、R⁵及びR^{5a}は、同一であり又は異なり、それぞれは、H及びC₁~₆アルキルを含む群から互いに独立して選択され；対R¹/R^{1a}、R²/R^{2a}、R³/R^{3a}、R⁴/R^{4a}、R¹/R²、R³/R⁴、R^{1a}/R^{2a}、及びR^{3a}/R^{4a}の1つ以上は、化学結合を形成するか、或いはそれらが結合している原子と一緒にあって、C₃~₈シクロアルキルを形成し若しくは環Aを形成し、又はそれらが結合している原子と一緒にあって、4から7員ヘテロシクリル若しくは8から11員ヘテロビシクリル若しくはアダマンチルを形成してもよく、

Aは、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル及びテトラリニルからなる群から選択され、

p²は、

【化20】

30



であり、

mは、120から920、好ましくは120から460、より好ましくは120から230の範囲であり、

r1、r2、r7、r8は、独立して、0又は1であり、

r3、r6は、独立して、0、1、2、3又は4であり、

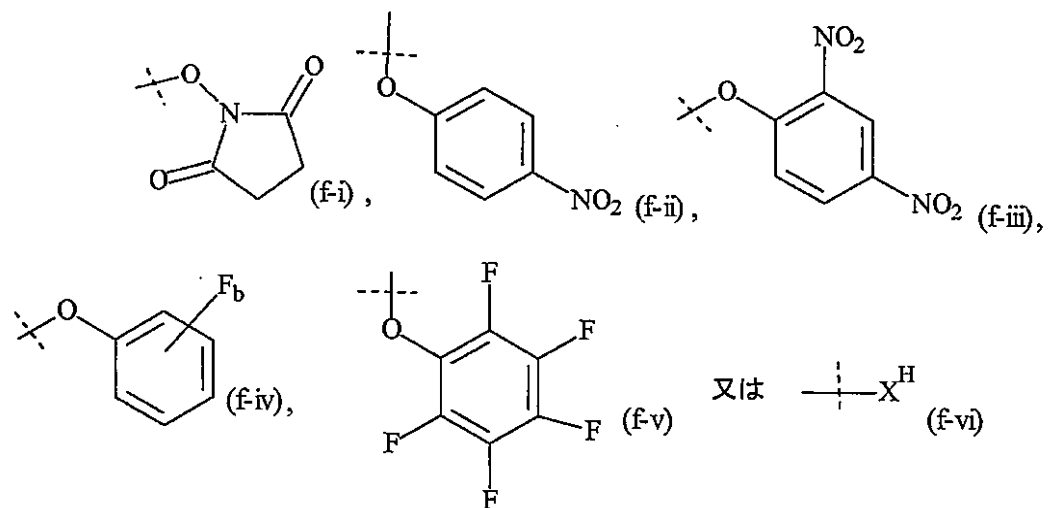
r4、r5は、独立して、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、

s1、s2は、独立して、1、2、3、4、5又は6であり、

Y¹、Y²は、同一であり又は異なり、それぞれは、式(f-i)から式(f-vi):

40

【化 2 1】



10

(式中、

破線は、分子の残りへの結合を示し、

bは、1、2、3又は4であり、

 x^H は、Cl、Br、I又はFである)

から互いに独立して選択される]

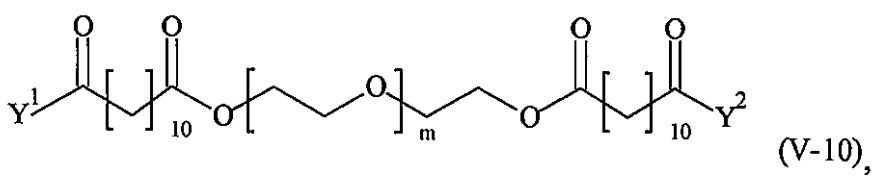
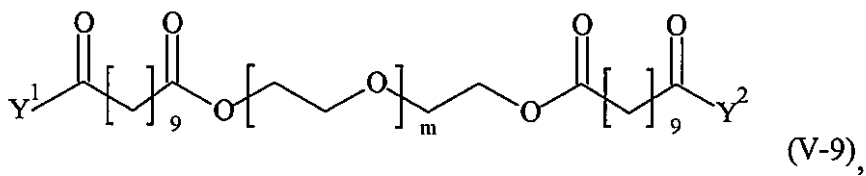
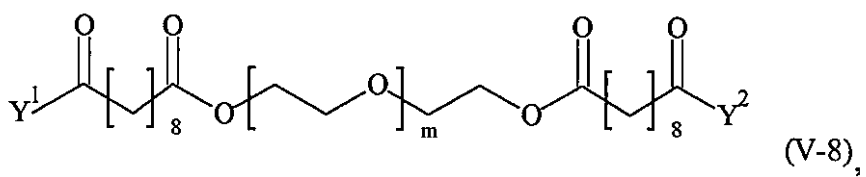
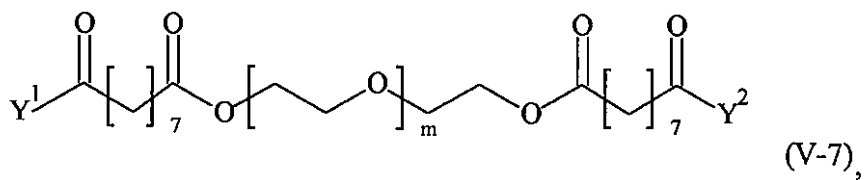
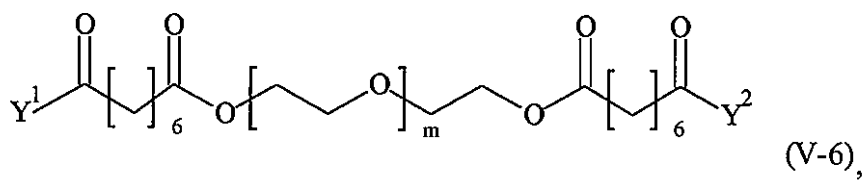
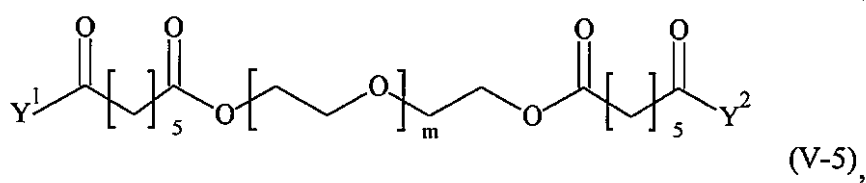
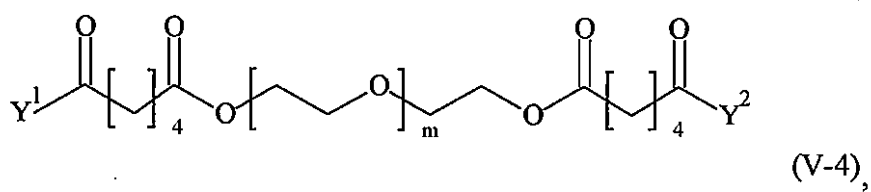
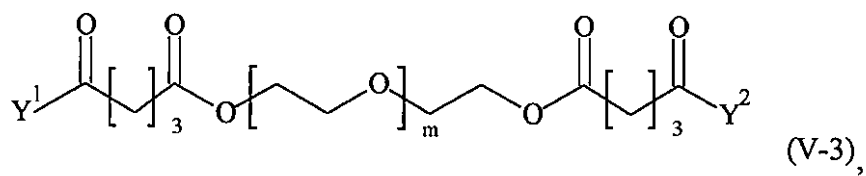
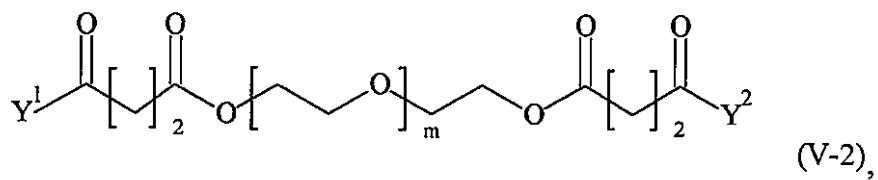
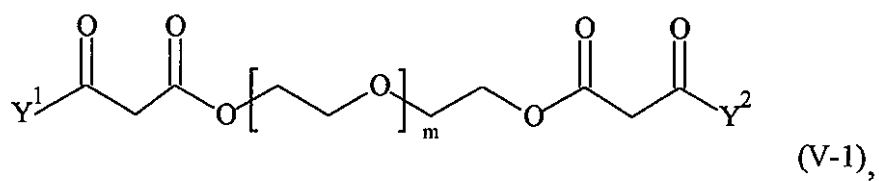
の化合物である、請求項1から19のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 2 1】

クロスリンカー試薬が、式(V-1)から式(V-54):

【化 2 2】

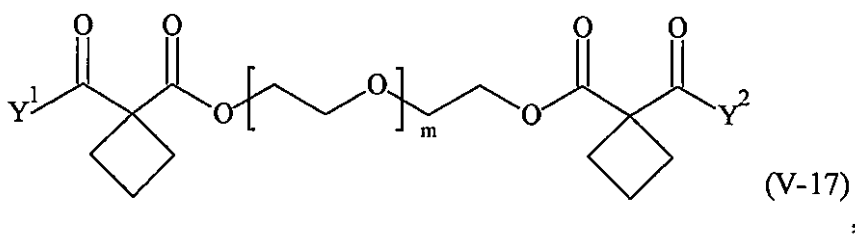
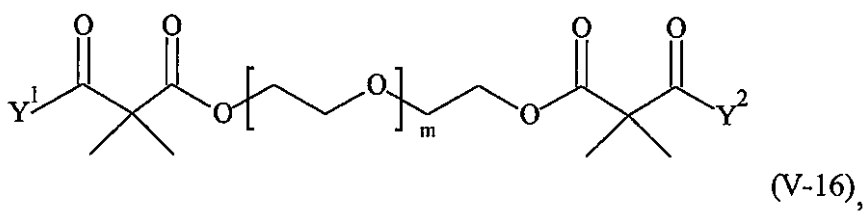
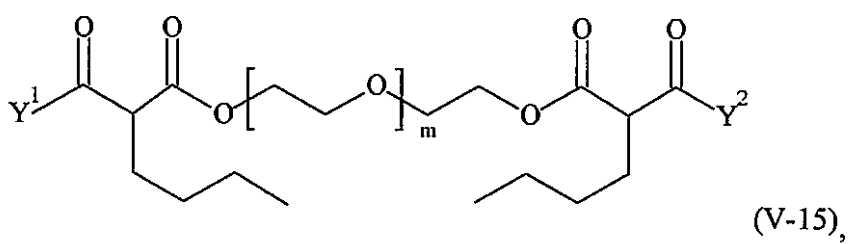
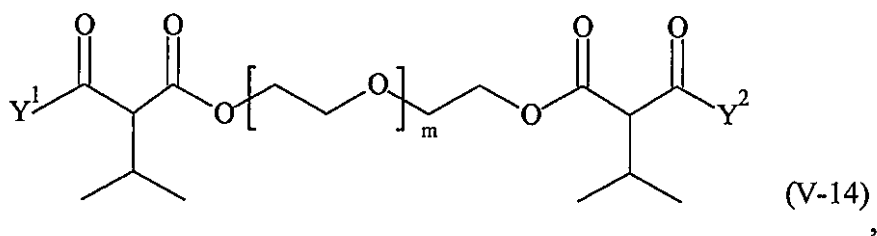
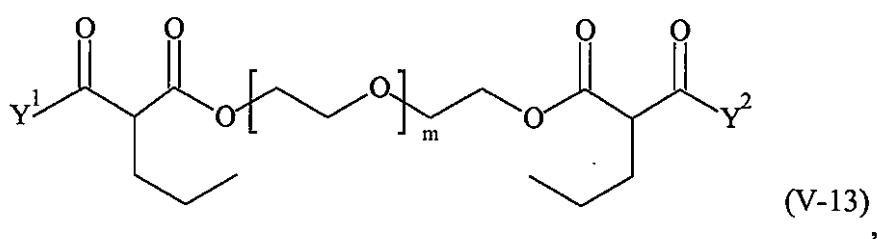
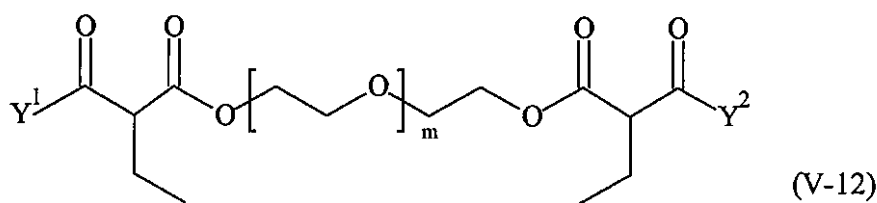
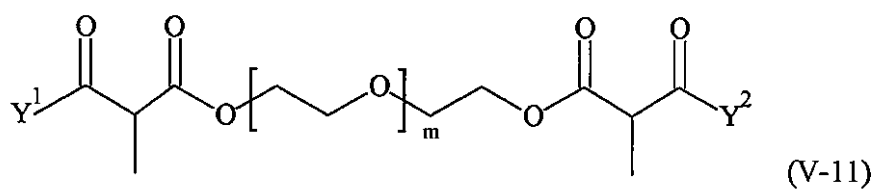


10

20

30

40

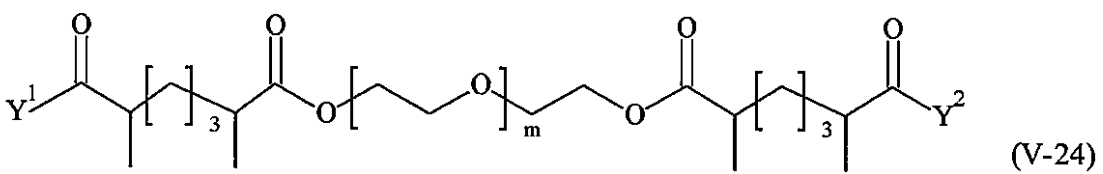
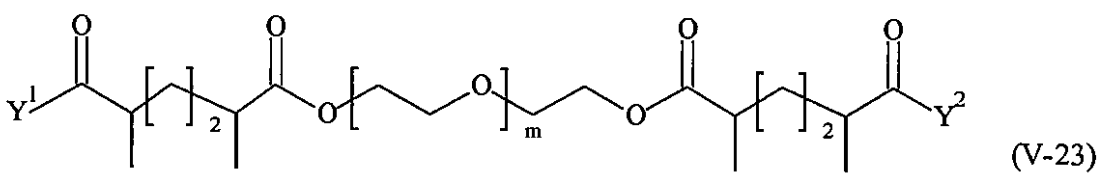
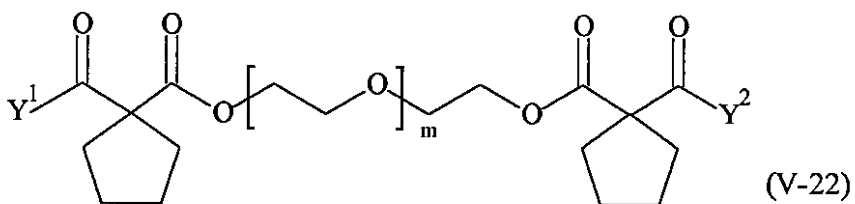
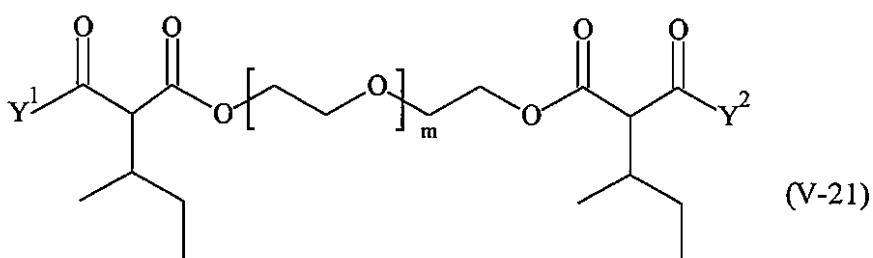
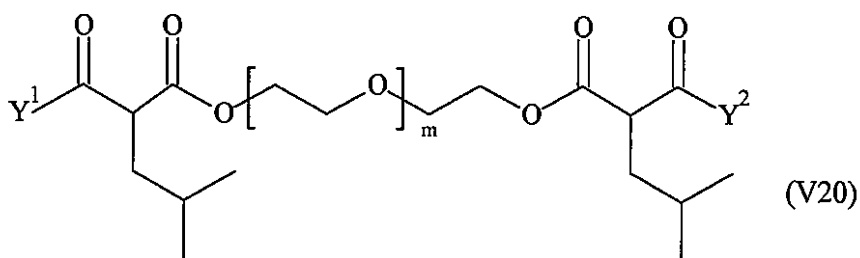
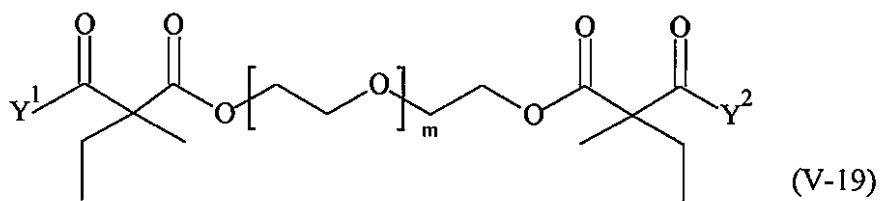
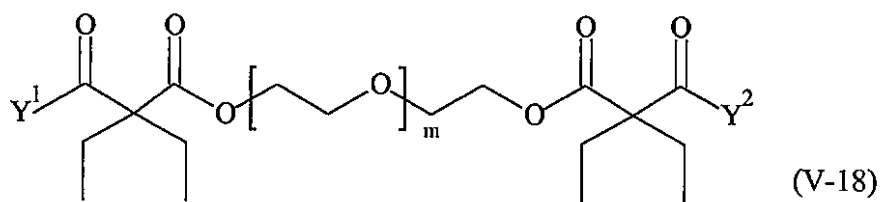


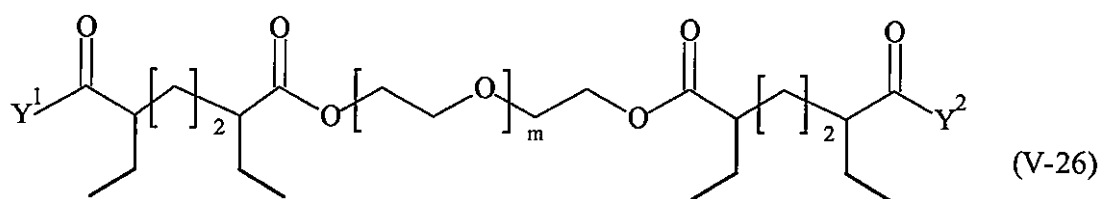
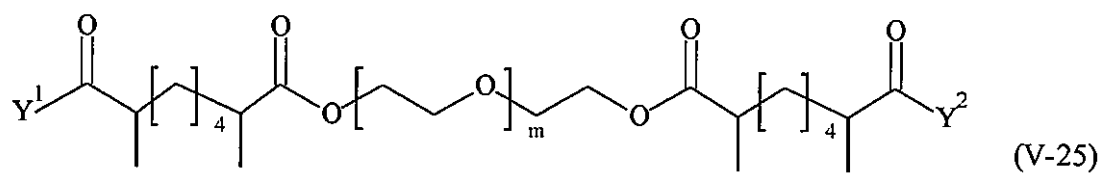
10

20

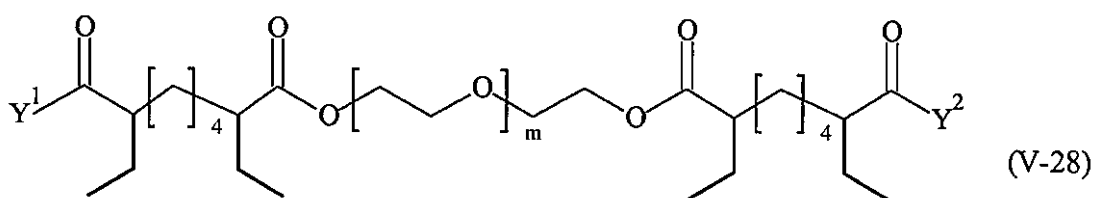
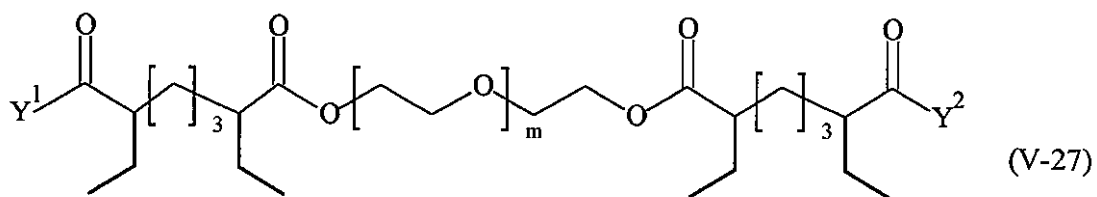
30

40

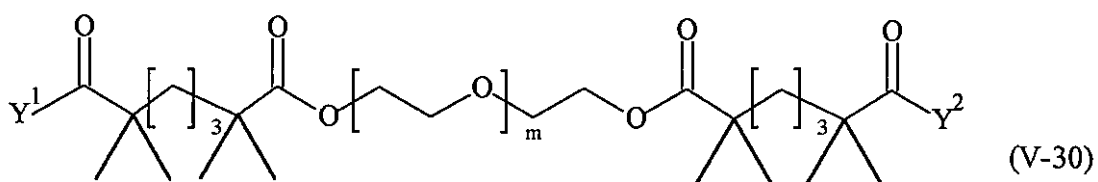
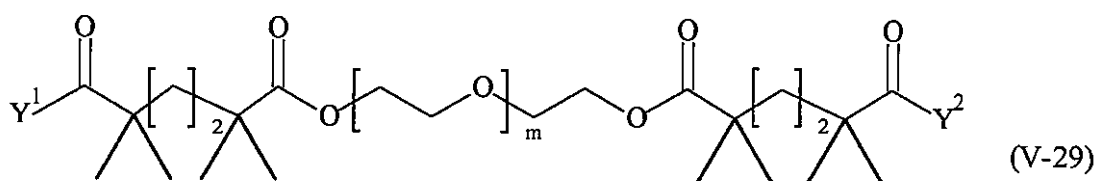




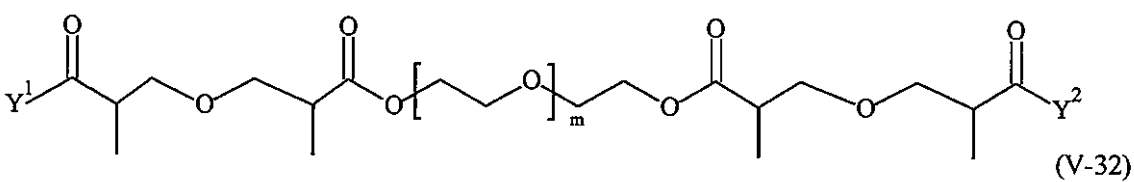
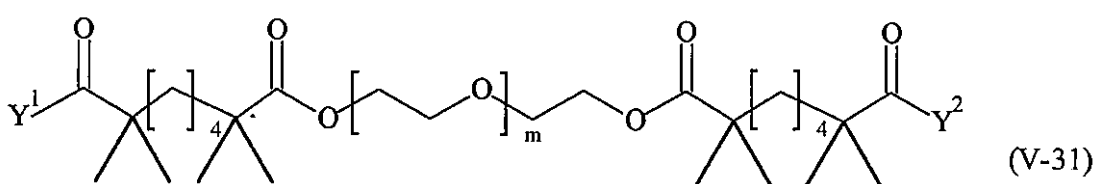
10



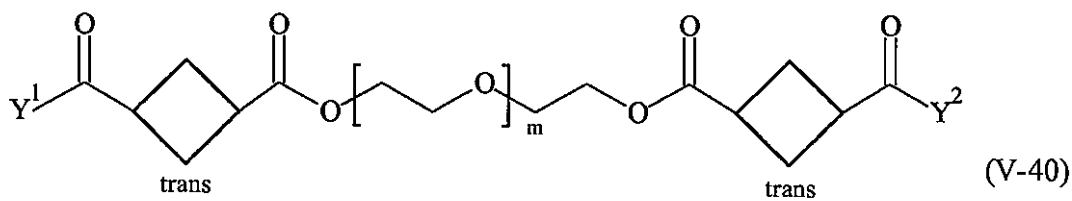
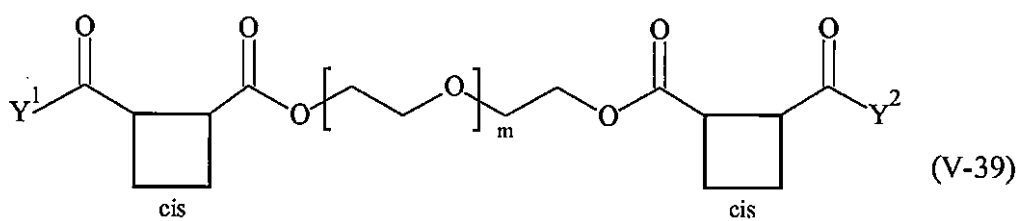
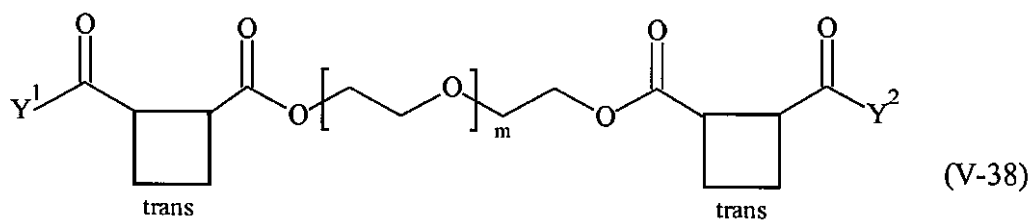
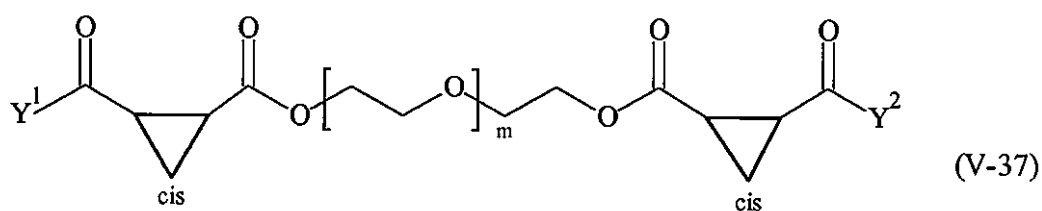
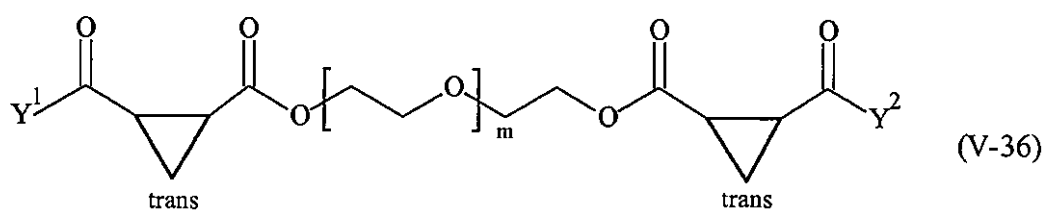
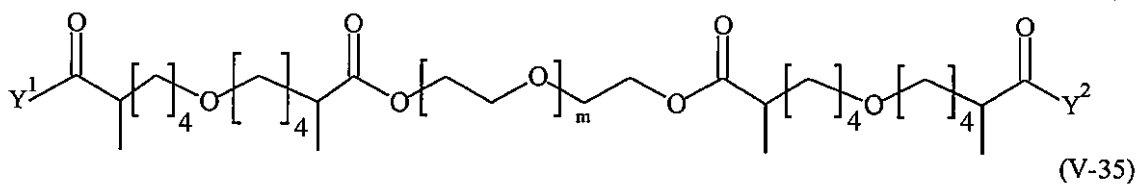
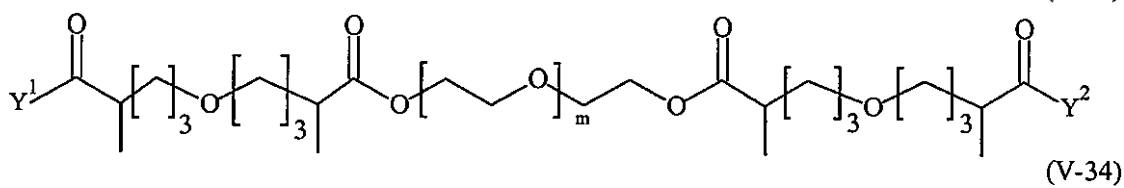
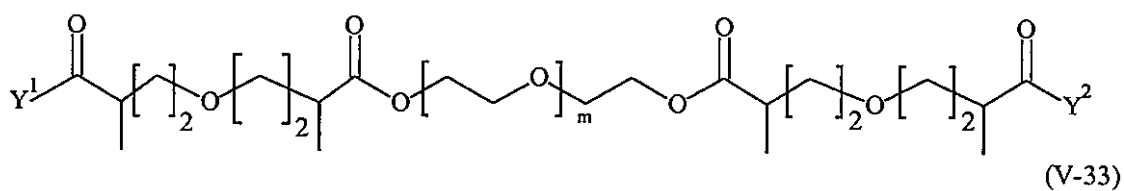
20



30



40

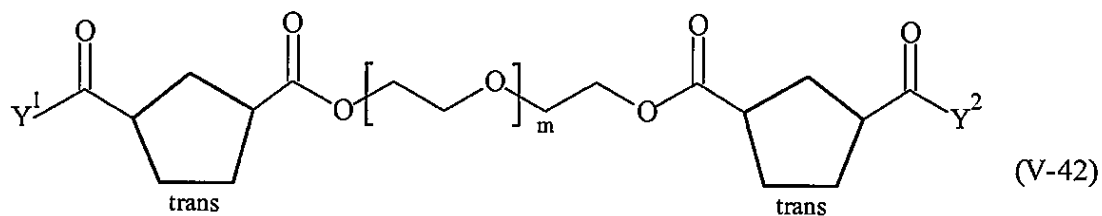
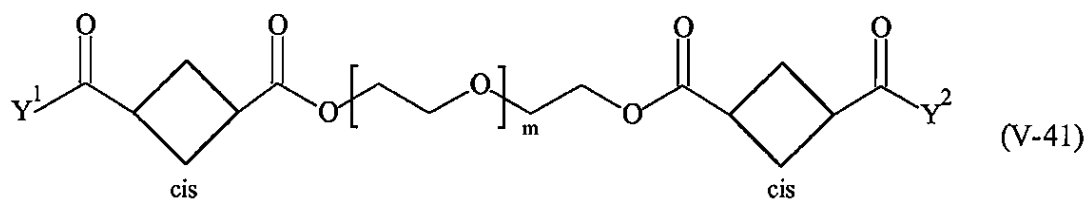


10

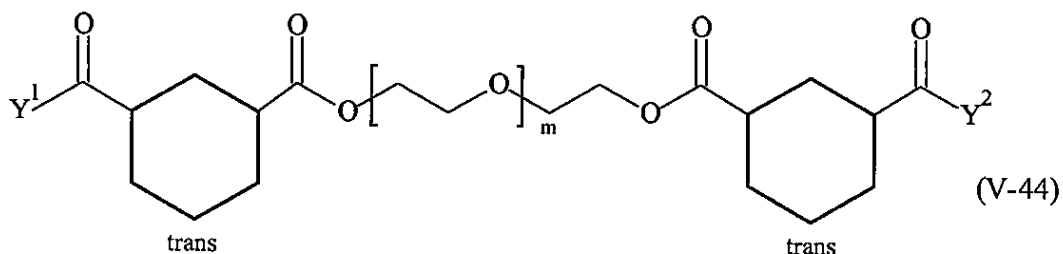
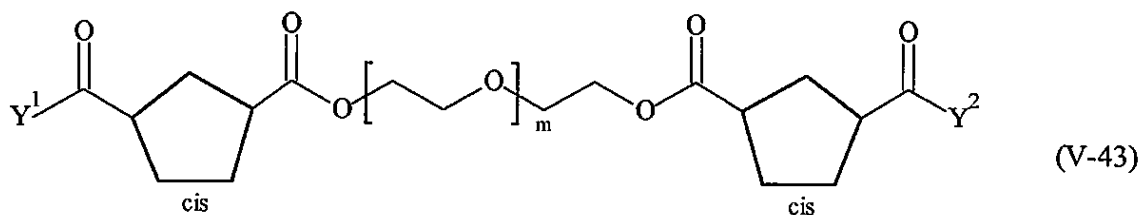
20

30

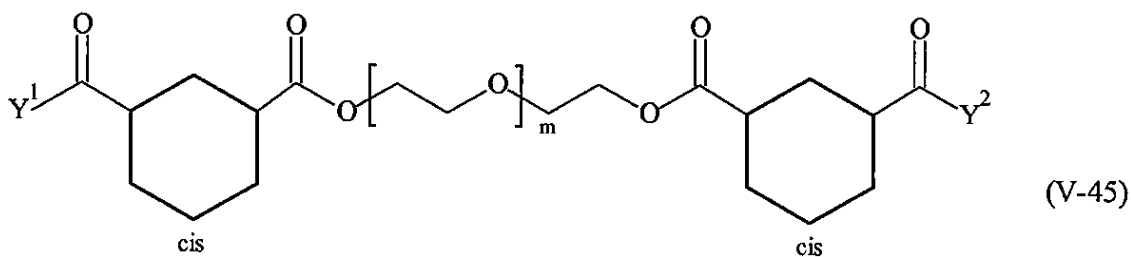
40



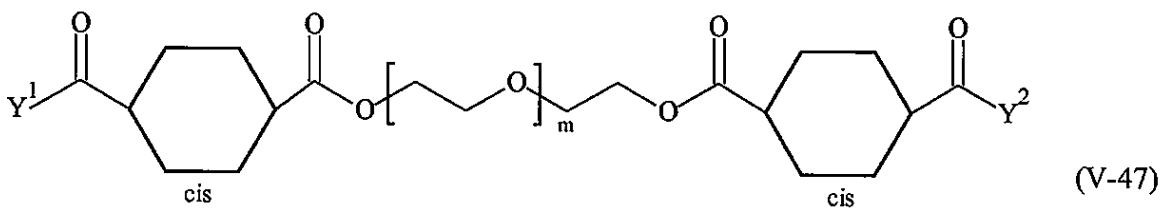
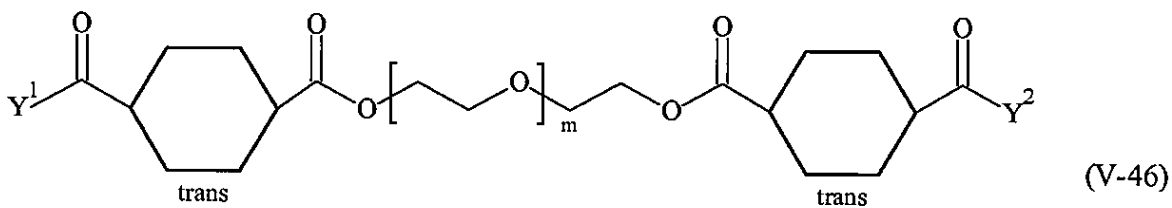
10



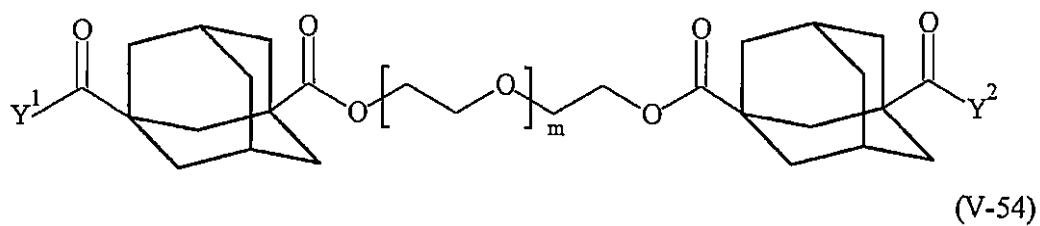
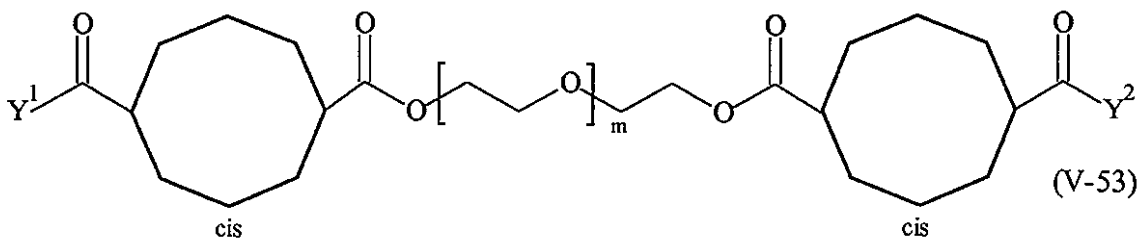
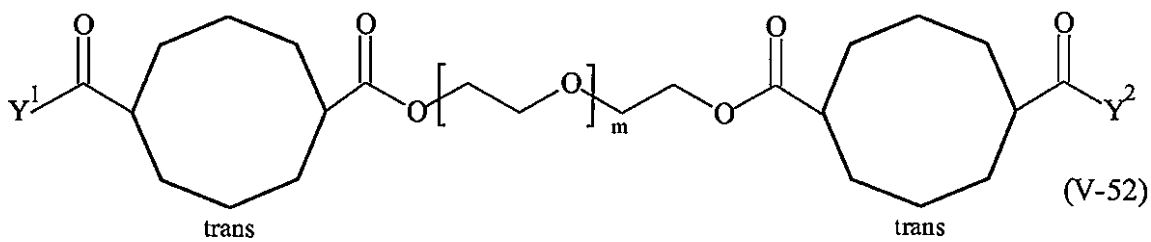
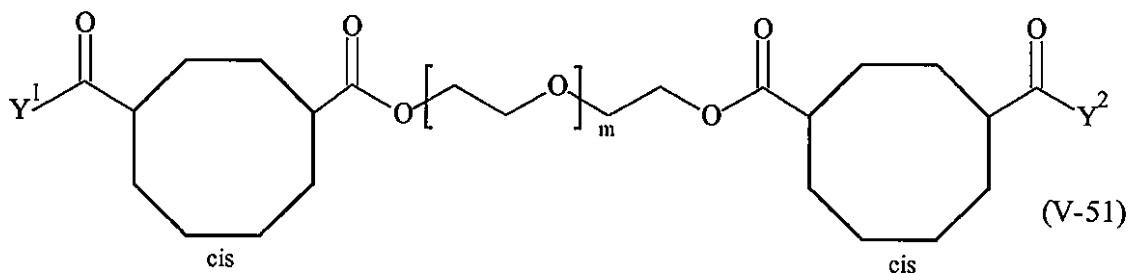
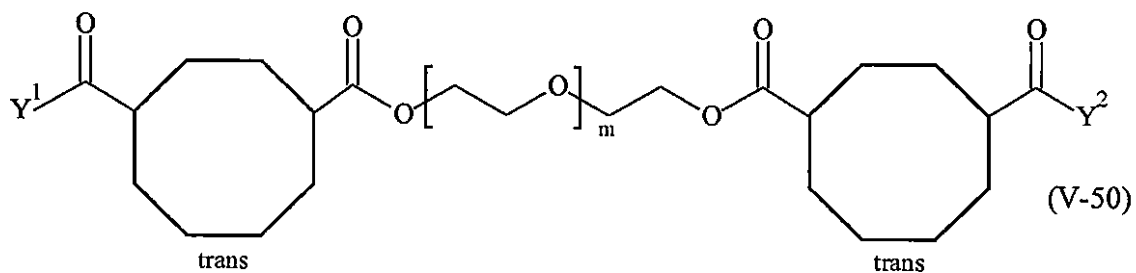
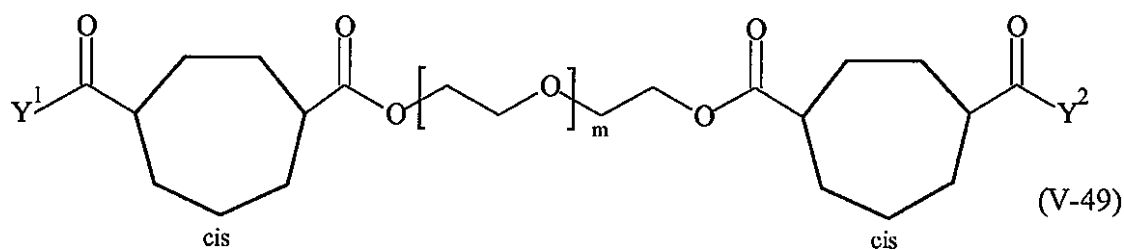
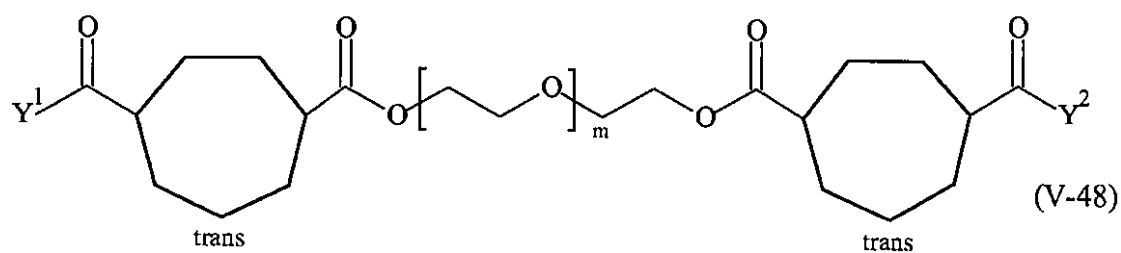
20



30



40

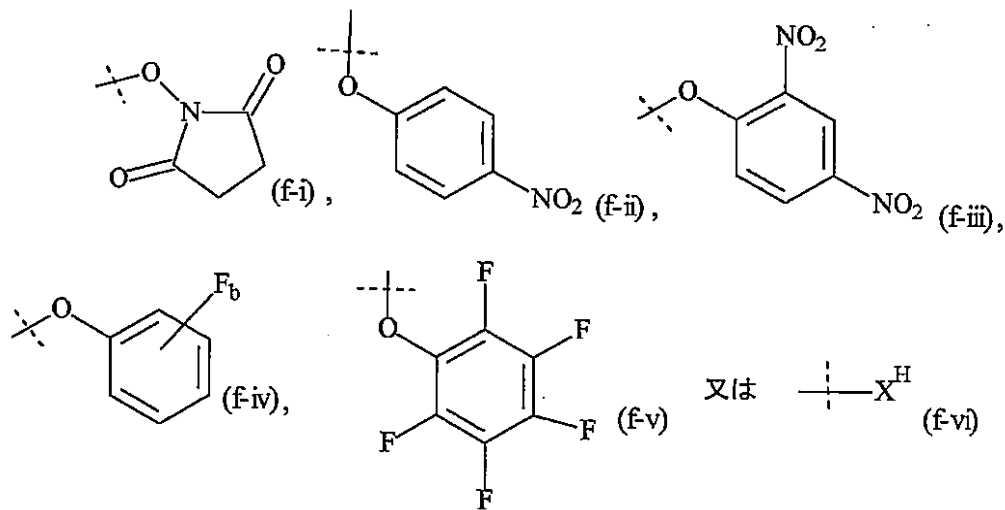


それぞれのクロスリンカー試薬は、適用可能な場合、そのラセミ混合物の形態であってもよく、且つ

mは、120から920、好ましくは120から460、より好ましくは120から230の範囲であり、

Y¹、Y²は、同一であり又は異なり、それぞれは、式(f-i)から式(f-vi):

【化 2 3】



10

(式中、

破線は、分子の残りへの結合を示し、

bは、1、2、3又は4であり、

X^Hは、Cl、Br、I又はFである)

から互いに独立して選択される]

のものである、請求項1から20のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 2 2】

重合から得られたヒドロゲルが、成形物品である、請求項1から21のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

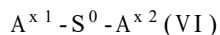
ヒドロゲルが、1から500マイクロメートルの直径を有するマイクロ粒子ビーズの形態である、請求項22に記載の方法。

30

【請求項 2 4】

ヒドロゲル-スパーサーコンジュゲートの調製方法であって、

(d) 請求項1から23のいずれか一項に記載の方法により得ることができるヒドロゲルを、式(VI)



(式中、

S⁰は、C₁~₅₀アルキル、C₂~₅₀アルケニル及びC₂~₅₀アルキニルを含む群から選択され、そのフラグメントは、-NH-、-N(C₁~₄アルキル)、-O-、-S-、-C(O)-、-C(O)NH、-C(O)N(C₁~₄アルキル)-、-O-C(O)-、-S(O)-、-S(O)₂-、4から7員ヘテロシクリル、フェニル及びナフチルから選択される1個以上の基で中断されていてもよく、

40

A^{x1}は、ヒドロゲルのアミン基との反応のための官能基であり、

A^{x2}は、官能基である)

のスパーサ試薬と、溶媒の存在下で反応させて、ヒドロゲル-スパーサーコンジュゲートを得る工程

を含む方法。

【請求項 2 5】

A^{x1}が、活性カルボン酸、Cl-(C=O)-、NHS-(C=O)- (ここで、NHSは、N-ヒドロキシスクシンイミドである)、ClSO₂-、R¹(C=O)-、I-、Br-、Cl-、SCN-及びCN-を含む群から選択され、

50

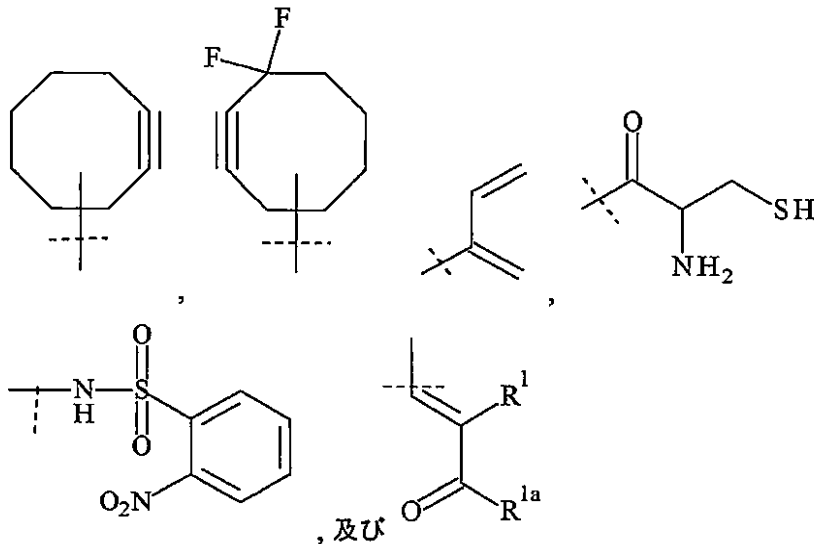
ここで、

R^1 は、H、 $C_1 \sim 6$ アルキル、アルケニル、 $C_2 \sim 6$ アルキニル、 $C_3 \sim 8$ シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、8から11員ヘテロビシクリル、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル及びテトラリニルを含む群から選択される、請求項24に記載の方法。

【請求項 2 6】

A^{x2} が、任意の保護基とともに、-マレイミド、-SH、-NH₂、-SeH、-N₃、-C≡CH、-CR¹=C(R^{1a}R^{1b})、-OH、-(CH=X⁰)-R¹、-(C=O)-S-R¹、-(C=O)-H、-NH-NH₂、-O-NH₂、-Ar-X⁰、-Ar-Sn(R¹)(R^{1a})(R^{1b})、-Ar-B(OH)(OH)、

【化 2 4】



10

20

を含む群から選択され、

ここで、

X^0 は、-OH、-NR¹R^{1a}、-SH及び-SeHであり、

Arは、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、及びテトラリニルから選択され、

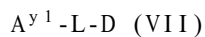
R^1 、 R^{1a} 、 R^{1b} は、H、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_2 \sim 6$ アルキニル、 $C_3 \sim 8$ シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、8から11員ヘテロビシクリル、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル及びテトラリニルを含む群から互いに独立して選択される、請求項24又は25に記載の方法。

30

【請求項 2 7】

担体連結プロドラッグの調製方法であって、

(e) 請求項1から23のいずれか一項に記載の方法により得ることができるヒドロゲル又は請求項24から26のいずれか一項に記載の方法により得ることができるヒドロゲル-スパーコンジュゲートを、式(VII)



(式中、

40

A^{y1} は、工程(b)若しくは工程(c)のヒドロゲルのアミンとの反応のための、又は工程(d)のヒドロゲル-スパーコンジュゲートの官能基 A^{x2} との反応のための官能基であり、

Lは、プロドラッグリンカーであり、

Dは、生物学的活性部分である)

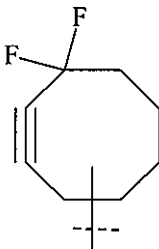
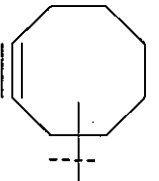
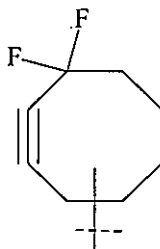
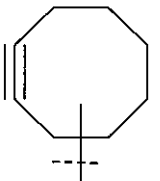
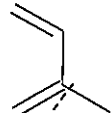
のプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬と、溶媒の存在下で反応させて、担体連結プロドラッグを得る工程

を含む方法。

【請求項 2 8】

A^{x2}/A^{y1} が、以下：

【表 1】

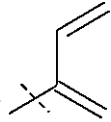
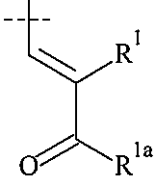
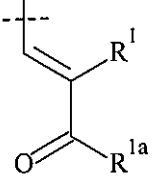
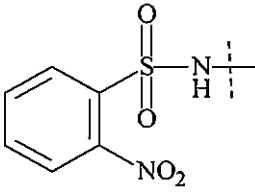
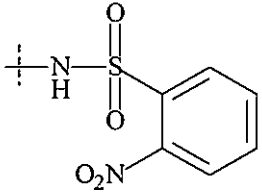
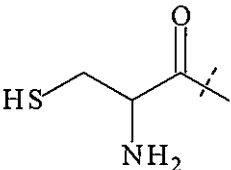
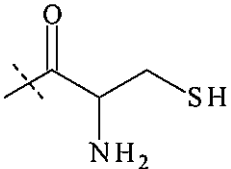
A^{x2}	A^{y1}
-マレイミド	HS-, H_2N- ,又はHSe-
-SH, $-NH_2$,又は-SeH	マレイミド-
$-N_3$	$HC\equiv C-$,  ,又は 
$-C\equiv CH$,  ,又は 	N_3-
$-CR^{1a}=CR^{1a}R^{1b}$	$R^{1b}R^{1a}C=CR^1-$ 又は 

10

20

30

40

	$R^{1b}R^{1a}C=CR^1-$
$-(C=X^0)-R^1$	
	$R^1-(C=X)-$
$-OH$	H_2N- 又は 
$-NH_2$ 又は 	$HO-$
$-(C=O)-S-R^1$	
	$R^1-S-(C=O)-$
$-(C=O)-H$	H_2N-NH- 又は H_2N-O-

10

20

30

40

$-\text{NH}-\text{NH}_2$ 又は $-\text{O}-\text{NH}_2$	$\text{H}-(\text{C}=\text{O})-$
$-\text{Ar}-\text{X}^0$	$-\text{Ar}-\text{Sn}(\text{R}^1)(\text{R}^{1a})(\text{R}^{1b})$ 又は $-\text{Ar}-\text{B}(\text{OH})(\text{OH})$
$(\text{R}^{1b})(\text{R}^{1a})(\text{R}^1)\text{Sn}-\text{Ar}$ 又は $-\text{Ar}-\text{B}(\text{OH})(\text{OH})$	$\text{X}^0-\text{Ar}-$

10

(ここで、

 X^0 は、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^1\text{R}^{1a}$ 、 $-\text{SH}$ 及び $-\text{SeH}$ であり、

R^1 、 R^{1a} 、 R^{1b} は、 H 、 $\text{C}_1 \sim 6$ アルキル、 $\text{C}_2 \sim 6$ アルケニル、 $\text{C}_2 \sim 6$ アルキニル、 $\text{C}_3 \sim 8$ シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、8から11員ヘテロビシクリル、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル及びテトラリニルを含む群から互いに独立して選択され、

Ar は、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル及びテトラリニルから選択される

)

から選択される、請求項27に記載の方法。

20

【請求項29】

 $\text{A}^{\text{x}2}$ が、チオールであり、 $\text{A}^{\text{y}1}$ が、式(VIIa) $\text{T}-\text{PG}^0-\text{S}-$ (VIIa)

(式中、

 T は、 H 又はタグ部分であり、 PG^0 は、硫黄-活性化部分であり、 S は、硫黄である)

のものである、請求項27又は28に記載の方法。

【請求項30】

D が、2から500kDa、より好ましくは5から250kDa、より好ましくは5から100kDa、最も好ましくは10から60kDaの範囲の分子量を有する、請求項27から29のいずれか一項に記載の方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ヒドロゲルの調製方法及び前記方法によって得ることができるヒドロゲルに関する。本発明はさらに、ヒドロゲル-スパーサーコンジュゲートの調製方法、前記方法によって得ることができるヒドロゲル-スパーサーコンジュゲート、担体連結プロドラッグの調製方法、並びに前記方法によって得ることができる担体連結プロドラッグ、特に担体からの薬物の制御及び/又は持続放出を与える担体連結プロドラッグに関する。さらに、本発明は、担体連結プロドラッグの調製のためのヒドロゲルの使用に関する。

40

【背景技術】

【0002】

従来のヒドロゲルは、大量の水を吸収することができる三次元の親水性又は両親媒性ポリマー網状組織である。これらの網状組織は、様々なポリマーから構成されていてもよく、共有結合による化学架橋及び/又はイオン性、疎水性相互作用若しくは絡み合いなどの物理的架橋の存在のために不溶性である。

【0003】

多くの従来のヒドロゲルは、それらの用途で極度に限定されている。一部のヒドロゲルは、創縫合、組織工学(tissue engineering)又は薬物送達などの医薬用途に使用されてい

50

る。組織シール用ヒドロゲルが、例えば、WO2008/125655A1に開示されている。

【0004】

さらに、WO99/014259A1には、薬物分子が取り込まれている架橋PEGヒドロゲルが開示されている。

【0005】

このような従来のヒドロゲルからの取り込まれた薬物分子の放出は、ヒドロゲルの分解に依存しており、バースト放出に至り、高過ぎる薬物レベルを一時的にもたらし、薬物放出を予測することを困難にすることがある。ヒドロゲルからの薬物の放出を制御し及び/又は持続させることが望ましい。WO06/003014A2及びWO2011/012715A1には、担体連結プロドラッグにおける担体としてのヒドロゲルが記載されており、ここで、生物学的活性部分

10

は、可逆的なプロドラッグリンカーを介してヒドロゲルに共有結合的に連結されている。このようなヒドロゲル連結プロドラッグは、制御され、且つ特定の半減期を有する薬物を放出する。

【0006】

しかしながら、WO2011/012715A1に開示されたヒドロゲルは、好ましくは比較的小さな薬物分子の制御及び持続放出のために使用され、比較的大きな薬物分子、例えば、タンパク質薬物に対して十分な接近を与えず、したがって、このようなヒドロゲルの薬物低負荷をもたらし得る。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

20

【0007】

ヒドロゲルの調製方法及びヒドロゲル

したがって、比較的大きな薬物分子の制御及び持続放出に適している、担体連結プロドラッグのための担体として使用され得るヒドロゲルが必要とされている。

【0008】

したがって、本発明の目的は、上述の欠点の少なくとも一部を克服すること、及び比較的大きな薬物分子の制御及び/又は持続放出に適している、担体連結プロドラッグのための担体として使用され得るヒドロゲルを提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0009】

30

一態様において、本発明は、

ヒドロゲルの調製方法であって、

(a)

(a-i) 1から100kDaの範囲の分子量を有し、且つ少なくとも3個のアミン(-NH₂及び/又は-NH-)を含む、少なくとも1種の骨格試薬、

(a-ii) 6から40kDaの範囲の分子量を有し、

(i) 少なくとも2個のカルボニルオキシ基(-(C=O)-O-又は-O-(C=O)-)、及び追加的に

(ii) 活性エステル基、活性カルバメート基、活性カーボネート基、及び活性チオカーボネート基からなる群から選択される少なくとも2個の活性官能末端基を含み、且つ少なくとも70%のPEGを含むPEG系である、少なくとも1種のクロスリンカー試薬、並びに

40

(a-iii) 第1の溶媒、及び第1の溶媒と非混和性である少なくとも第2の溶媒を、少なくとも1種の骨格試薬と少なくとも1種のクロスリンカー試薬との重量比が1:99から99:1の範囲で含む混合物を準備する工程と、

(b) 工程(a)の混合物を懸濁重合でヒドロゲルに重合させる工程とを含む方法に関する。

【0010】

一般に、架橋リンカーの設計は、ヒドロゲルの細孔サイズに影響を与えることが知られているが、架橋リンカーが長ければ長いほど、それらはヒドロゲルの内部空間への接近を妨げる二次構造をより形成しやすくなることが予期された。このような妨害物は、比較的

50

大きなタンパク質薬物がヒドロゲルの内部空間に入るのを防止し、このような薬物分子の結合は、ヒドロゲルの表面及び表面に近い領域に主として制限される。今般、意外なことに、これらの予期される制限にも関わらず、本発明のヒドロゲルに、これらのヒドロゲルをプロドラッグのための適切な担体にさせる量で、大きな薬物、例えばタンパク質が入ることができることを見出された。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本発明の範囲内で、用語は以下のとおりの意味で使用される。

【0012】

本明細書で使用される場合、「ヒドロゲル」という用語は、共有結合の化学的架橋の存在のために不溶性である、ホモポリマー又はコポリマーからなる親水性又は両親媒性ポリマー網状組織を意味する。この架橋は、網状組織構造及び物理的一体性を与える。ヒドロゲルは、それらを水性媒体中で膨潤させる水との熱力学的相溶性を示す。

10

【0013】

本明細書で使用される場合、「試薬」という用語は、別の試薬又は部分の官能基との反応のための少なくとも1個の官能基を含む化合物を意味する。

【0014】

本明細書で使用される場合、「骨格試薬」という用語は、ヒドロゲルを形成するための出発原料として適している試薬を意味する。本明細書で使用される場合、骨格試薬は、好ましくは生分解性連結を含まない。骨格試薬は、2つ以上の他の部分が結合している原子又は部分を指す「分岐コア」を含んでもよい。

20

【0015】

本明細書で使用される場合、「クロスリンカー試薬」という用語は、骨格試薬を架橋するための出発原料として適している、直鎖又は分岐の試薬を意味する。好ましくは、クロスリンカー試薬は、直鎖の化合物である。クロスリンカー試薬は、少なくとも2つの生分解性連結を含む。

【0016】

本明細書で使用される場合、「部分」という用語は、対応する試薬と比較して1個以上の原子を欠く、分子の一部を意味する。例えば、式「H-X-H」の試薬が別の試薬と反応し、反応生成物の一部となる場合、反応生成物の対応する部分は、構造「H-X-」又は「-X-」を有し、一方でそれぞれの「-」は、別の部分への結合を示す。したがって、生物学的活性部分は、薬物としてプロドラッグから放出される。

30

【0017】

したがって、「結合形態における」という語句は、試薬の対応する部分を指すように使用され、すなわち、「結合形態におけるリシン」は、リシン試薬の1個以上の原子を欠き、分子の一部であるリシン部分を指す。

【0018】

本明細書で使用される場合、「官能基」という用語は、他の官能基と反応し得る一群の原子を意味する。官能基には、以下の基:カルボン酸(-C(=O)OH)、第一級又は第二級アミン(-NH₂、-NH-)、マレイミド、チオール(-SH)、スルホン酸(-(O=S=O)OH)、カーボネート、カルバメート(-O(C=O)N<)、ヒドロキシ(-OH)、アルデヒド(-(C=O)H)、ケトン(-(C=O)-)、ヒドラジン(>N-N<)、イソシアネート、イソチオシアネート、リン酸(-O(P=)OH₂)、ホスホン酸(-O(P=O)OH₂)、ハロアセチル、ハロゲン化アルキル、アクリロイル、フッ化アリール、ヒドロキシアルキル、ジスルフィド、ビニルスルホン、ビニルケトン、ジアゾアルカン、オキシラン、及びアジリジンが含まれるが、これらに限定されない。

40

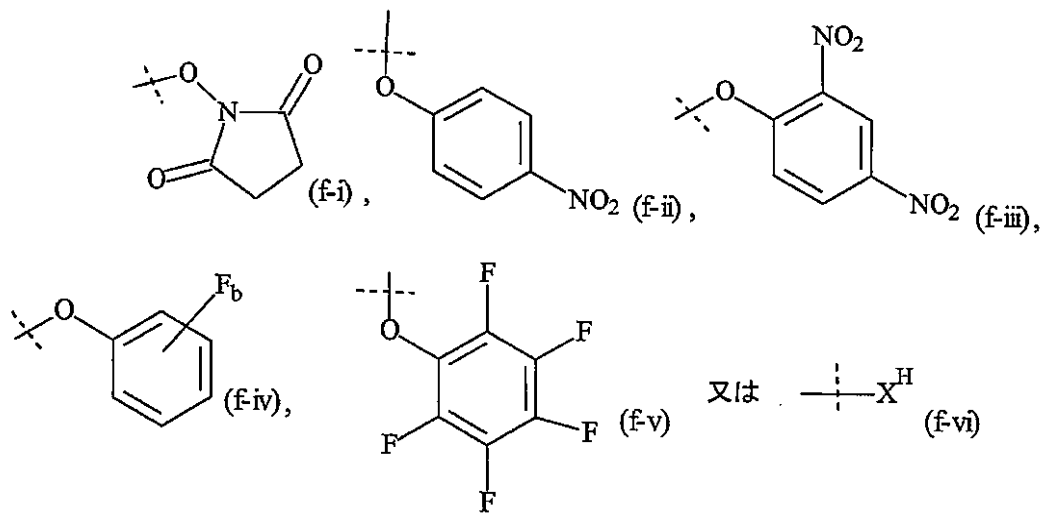
【0019】

本明細書で使用される場合、「活性官能基」という用語は、活性化基に接続されている官能基を意味し、すなわち、官能基は、活性化試薬と反応したものである。好ましい活性官能基には、活性エステル基、活性カルバメート基、活性カーボネート基及び活性チオカーボネート基が含まれるが、これらに限定されない。好ましい活性化基は、式(f-i)から

50

式(f-vi):

【化1】



10

(式中、

破線は、分子の残りへの結合を示し、

bは、1、2、3又は4であり、

X^{H} は、Cl、Br、I又はFである)

20

から選択される。

【0020】

したがって、好ましい活性エステルは、式

$\text{---(C=O)-X}^{\text{F}}$

(式中、

X^{F} は、式(f-i)、式(f-ii)、式(f-iii)、式(f-iv)、式(f-v)及び式(f-vi)から選択される)

を有する。

【0021】

したがって、好ましい活性カルバメートは、式

$\text{---N-(C=O)-X}^{\text{F}}$

30

(式中、

X^{F} は、式(f-i)、式(f-ii)、式(f-iii)、式(f-iv)、式(f-v)及び式(f-vi)から選択される)

を有する。

【0022】

したがって、好ましい活性カーボネートは、式

$\text{---O-(C=O)-X}^{\text{F}}$

(式中、

X^{F} は、式(f-i)、式(f-ii)、式(f-iii)、式(f-iv)、式(f-v)及び式(f-vi)から選択される)

40

を有する。

【0023】

したがって、好ましい活性チオエステルは、式

$\text{---S-(C=O)-X}^{\text{F}}$

(式中、

X^{F} は、式(f-i)、式(f-ii)、式(f-iii)、式(f-iv)、式(f-v)及び式(f-vi)から選択される)

を有する。

【0024】

50

したがって、「活性末端官能基」は、部分又は分子の末端に位置する活性官能基であり、すなわち、末端の活性官能基である。

【0025】

本明細書で使用される場合、「キャッピング基」という用語は、官能基に不可逆的に、すなわち、永続的に接続して、当該官能基が他の試薬又は部分の官能基と反応できなくさせる部分を意味する。

【0026】

本明細書で使用される場合、「保護基」という用語は、官能基に加逆的に接続して、当該官能基が、例えば、別の官能基と反応できなくさせる部分を意味する。好適なアルコール(-OH)保護基は、例えば、アセチル、ベンゾイル、ベンジル、 β -メトキシエトキシメチルエーテル、ジメトキシトリチル、メトキシメチルエーテル、メトキシトリチル、*p*-メトキシベンジルエーテル、メチルチオメチルエーテル、ピバロイル、テトラヒドロピラニル、トリチル、トリメチルシリル、*tert*-ブチルジメチルシリル、トリ-イソプロピルシリルオキシメチル、トリイソプロピルシリルエーテル、メチルエーテル、及びエトキシエチルエーテルである。好適なアミン保護基は、例えば、カルボベンジルオキシ、*p*-メトキシベンジルカルボニル、*tert*-ブチルオキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシアルボニル、アセチル、ベンゾイル、ベンジル、カルバメート、*p*-メトキシベンジル、3,4-ジメトキシベンジル、*p*-メトキシフェニル、及びトシルである。好適なカルボニル保護基は、例えば、アセタール及びケタール、アシラール、並びにジチアンである。好適なカルボン酸保護基は、例えば、メチルエステル、ベンジルエステル、*tert*-ブチルエステル、2,6-ジメチルフェノール、2,6-ジイソプロピルフェノール、2,6-ジ-*tert*-ブチルフェノール、シリルエステル、オルトエステル、及びオキサゾリンである。好適なリン酸保護基は、例えば、2-シアノエチル及びメチルである。

【0027】

本明細書で使用される場合、「後処理(work-up)」及び「後処理(working-up)」という用語は、化学反応、特に重合の生成物(単数又は複数)を単離及び精製するのに必要な一連の操作を指す。

【0028】

本明細書で使用される場合、「ポリマー」という用語は、合成若しくは生物学的起源又は両方の組合せのものであってもよい、直鎖状、環状、分岐状、架橋若しくは樹状様式又はそれらの組合せで化学結合により接続された反復構造単位、すなわち、モノマーを含む分子を意味する。ポリマーは、例えば、官能基又はキャッピング部分を含んでもよいことが理解される。好ましくは、ポリマーは、少なくとも0.5kDaの分子量、例えば、少なくとも1kDaの分子量、少なくとも2kDaの分子量、少なくとも3kDの分子量又は少なくとも5kDaの分子量を有する。

【0029】

本明細書で使用される場合、「ポリマーの(polymeric)」という用語は、1つ以上のポリマーを含む試薬又は部分を意味する。

【0030】

当業者は、重合反応から得られた重合生成物が、すべて同じ分子量を有するとは限らず、むしろ分子量分布を示すことを理解する。その結果として、本明細書で使用される場合の分子量範囲、分子量、ポリマー中のモノマーの数の範囲及びポリマー中のモノマーの数は、数平均分子量及びモノマーの数平均を指す。本明細書で使用される場合、「数平均分子量」という用語は、個別のポリマーの分子量の通常の算術平均を意味する。

【0031】

本明細書で使用される場合、「重合(polymerization)」又は「重合している(polymerizing)」という用語は、化学反応でモノマー試薬又はマクロモノマー試薬を反応させて、限定されないがヒドロゲルを含む、ポリマー鎖又は網状組織を形成する過程を意味する。

【0032】

本明細書で使用される場合、「マクロモノマー」という用語は、モノマー試薬の重合か

10

20

30

40

50

ら得られた分子を意味する。

【0033】

本明細書で使用される場合、「縮重合」又は「縮合反応」という用語は、2つの試薬の官能基が反応して、1つの単一分子を形成する化学反応を意味し、すなわち、反応生成物、及び低分子量分子、例えば、水、が放出される。

【0034】

本明細書で使用される場合、「懸濁重合」という用語は、モノマー試薬が第1の溶媒に溶解し、連続相を形成する第2の溶媒中で乳化される分散相を形成する、不均一及び/又は二相重合反応を意味する。本発明では、モノマー試薬は、少なくとも1種の骨格試薬及び少なくとも1種のクロスリンカー試薬である。第1の溶媒とモノマー試薬の両方ともは、第2の溶媒に可溶性でない。このような乳濁液は、攪拌、振とう、超音波又はMicrosieve(商標)乳化への暴露、より好ましくは攪拌又はMicrosieve(商標)乳化、より好ましくは攪拌によって形成される。この乳濁液は、適当な乳化剤で安定化される。重合は、第1の溶媒に可溶性である、開始剤としての塩基を添加することによって開始される。開始剤として適した好適な一般に公知の塩基は、第三級塩基、例えば、テトラメチルエチレンジアミン(TMEDA)であってもよい。

【0035】

本明細書で使用される場合、「非混和性」という用語は、2つの物質が混ぜ合わさって、均一混合物を形成することができない特性を意味する。

【0036】

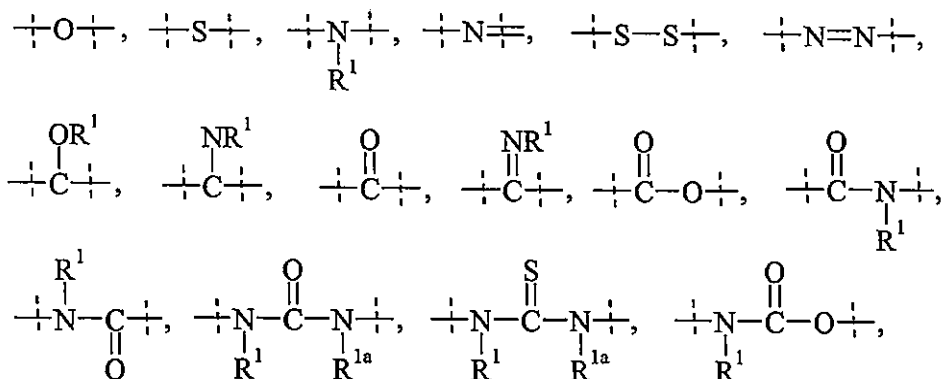
本明細書で使用される場合、「ポリアミン」という用語は、2個以上のアミン(-NH-及び/又は-NH₂)、例えば、2から64個のアミン、4から48個のアミン、6から32個のアミン、8から24個のアミン、又は10から16個のアミンを含む、試薬又は部分を意味する。特に好ましいポリアミンは、2から32個のアミンを含む。

【0037】

本明細書で使用される場合、部分又は試薬に関連して「少なくともX%のPEGを含むPEG系」という用語は、前記部分又は試薬が、少なくともX%(w/w)のエチレングリコール単位(-CH₂-CH₂O-)を含むことを意味し、ここで、エチレングリコール単位は、ブロック状に、交互に配置していてもよい、又は部分若しくは試薬内で無作為に分布していてもよく、好ましくは、前記部分又は試薬のエチレングリコール単位のすべては、1つのブロック中に存在しており、PEG-系部分又は試薬の残りの重量パーセントは、とりわけ以下の置換基及び連結:

・C₁~₅₀アルキル、C₂~₅₀アルケニル、C₂~₅₀アルキニル、C₃~₁₀シクロアルキル、4~7員ヘテロシクリル、8~11員ヘテロビシクリル、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、及びテトラリニル、並びに

【化2】

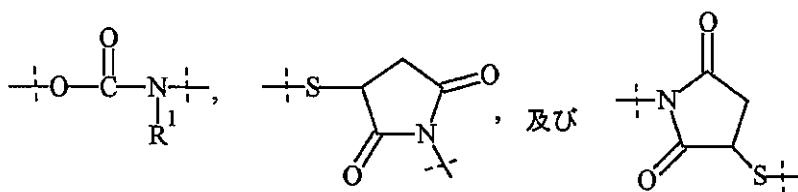


10

20

30

40



(式中、

破線は、部分又は試薬の残りへの結合を示し、 R^1 及び R^{1a} は、H及び $C_1 \sim 6$ アルキルから互いに独立して選択される)

を含む群から選択される連結

から選択される他の部分である。

10

【0038】

本明細書で使用される場合、「 $C_1 \sim 4$ アルキル」という用語は単独で又は組み合わせて、1から4個の炭素原子を有する直鎖又は分岐アルキル基を意味する。分子の末端に存在する場合、直鎖及び分岐 $C_1 \sim 4$ アルキル基の例は、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル及び*tert*-ブチルである。分子の2つの部分が $C_1 \sim 4$ アルキル基で連結されている場合、このような $C_1 \sim 4$ アルキル基の例は、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、及び $-\text{C}_2\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}_2(\text{CH}_3)-$ である。 $C_1 \sim 4$ アルキル基のそれぞれの水素原子は、以下に定義されるとおりの置換基で置き換えられていてもよい。

20

【0039】

本明細書で使用される場合、「 $C_1 \sim 6$ アルキル」という用語は単独で又は組み合わせて、1から6個の炭素原子を有する直鎖又は分岐アルキル基を意味する。分子の末端に存在する場合、直鎖及び分岐 $C_1 \sim 6$ アルキル基の例は、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、*n*-ペンチル、2-メチルブチル、2,2-ジメチルプロピル、*n*-ヘキシル、2-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2,2-ジメチルブチル、2,3-ジメチルブチル、及び3,3-ジメチルプロピルである。分子の2つの部分が $C_1 \sim 6$ アルキル基で連結されている場合、このような $C_1 \sim 6$ アルキル基の例は、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)-$ 及び $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ である。 $C_1 \sim 6$ アルキル基のそれぞれの水素原子は、以下に定義されるとおりの置換基で置き換えられていてもよい。

30

【0040】

したがって、本明細書で使用される場合、「 $C_1 \sim 20$ アルキル」という用語は単独で又は組み合わせて、1から20個の炭素原子を有する直鎖又は分岐アルキル基を意味する。「 $C_8 \sim 18$ アルキル」という用語は単独で又は組み合わせて、8から18個の炭素原子を有する直鎖又は分岐アルキル基を意味する。したがって、本明細書で使用される場合、「 $C_1 \sim 50$ アルキル」という用語は単独で又は組み合わせて、1から50個の炭素原子を有する直鎖又は分岐アルキル基を意味する。 $C_1 \sim 20$ アルキル基、 $C_8 \sim 18$ アルキル基及び $C_1 \sim 50$ アルキル基のそれぞれの水素原子は、置換基で置き換えられていてもよい。それぞれの場合、アルキル基は、分子の末端に存在していてもよい、又は分子の2つの部分が、アルキル基で連結されていてもよい。

40

【0041】

本明細書で使用される場合、「 $C_2 \sim 6$ アルケニル」という用語は単独で又は組み合わせて、2から6個の炭素原子を有して、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を含む直鎖又は分岐炭化水素部分を意味する。分子の末端に存在する場合、例は、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}=\text{CHCH}_2-\text{CH}_3$ 及び $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$ である。分子の2つの部分が $C_2 \sim 6$ アルケニル基で連結されている場合、このような $C_2 \sim 6$ アルケニルの例は、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ である。 $C_2 \sim 6$ アルケニル基のそれぞれの水素原子は、以下に定義されるとおりの置換基で置き換えられていてもよい。任意選択で、1つ以上の三重結合が存在してもよい。

【0042】

50

したがって、本明細書で使用される場合、「 $C_2 \sim 20$ アルケニル」という用語は単独で又は組み合わせて、2から20個の炭素原子を有して、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を含む直鎖又は分岐炭化水素残基を意味する。「 $C_2 \sim 50$ アルケニル」という用語は単独で又は組み合わせて、2から50個の炭素原子を有して、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を含む直鎖又は分岐炭化水素残基を意味する。分子の末端に存在する場合、例は、 $-CH=CH_2$ 、 $-CH=CH-CH_3$ 、 $-CH_2-CH=CH_2$ 、 $-CH=CHCH_2-CH_3$ 及び $-CH=CH-CH=CH_2$ である。分子の2つの部分がアルケニル基で連結されている場合、例は、例えば、 $-CH=CH-$ である。 $C_2 \sim 20$ アルケニル又は $C_2 \sim 50$ アルケニル基のそれぞれの水素原子は、以下に定義されたとおりの置換基で置き換えられていてもよい。任意選択で、1つ以上の三重結合が存在してもよい。

【0043】

本明細書で使用される場合、「 $C_2 \sim 6$ アルキニル」という用語は単独で又は組み合わせて、2から6個の炭素原子を有して、少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を含む直鎖又は分岐炭化水素残基を意味する。分子の末端に存在する場合、例は、 $-C \equiv CH$ 、 $-CH_2-C \equiv H$ 、 $CH_2-CH_2-C \equiv CH$ 及び $CH_2-C \equiv C-CH_3$ である。分子の2つの部分がアルキニル基で連結されている場合、例は、すなわち、 $-C \equiv C-$ である。 $C_2 \sim 6$ アルキニル基のそれぞれの水素原子は、以下に定義されたとおりの置換基で置き換えられていてもよい。任意選択で、1つ以上の二重結合が存在してもよい。

【0044】

したがって、本明細書で使用される場合、「 $C_2 \sim 20$ アルキニル」という用語は単独で又は組み合わせて、2から20個の炭素原子を有して、少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を含む直鎖又は分岐炭化水素残基を意味し、「 $C_2 \sim 50$ アルキニル」という用語は単独で又は組み合わせて、2から50個の炭素原子を有して、少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を含む直鎖又は分岐炭化水素残基を意味する。分子の末端に存在する場合、例は、 $-C \equiv CH$ 、 $-CH_2-C \equiv H$ 、 $CH_2-CH_2-C \equiv CH$ 及び $CH_2-C \equiv C-CH_3$ である。分子の2つの部分がアルキニル基で連結されている場合、例は、 $-C \equiv C-$ である。 $C_2 \sim 20$ アルキニル又は $C_2 \sim 50$ アルキニル基のそれぞれの水素原子は、以下に定義されたとおりの置換基で置き換えられていてもよい。任意選択で、1つ以上の二重結合が存在してもよい。

【0045】

本明細書で使用される場合、「 $C_3 \sim 8$ シクロアルキル」又は「 $C_3 \sim 8$ シクロアルキル環」という用語は、飽和されていても、飽和されていなくてもよい、3～8個の炭素原子を有する環状アルキル鎖、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、シクロヘプチル、シクロオクチルを意味する。シクロアルキル炭素のそれぞれの水素原子は、以下に定義されたとおりの置換基で置き換えられていてもよい。「 $C_3 \sim 8$ シクロアルキル」又は「 $C_3 \sim 8$ シクロアルキル環」という用語は、ノルボナン又はノルボネンのような架橋二環も包含する。したがって、「 $C_3 \sim 5$ シクロアルキル」は、3から5個の炭素原子を有するシクロアルキルを意味し、「 $C_3 \sim 10$ シクロアルキル」は、3から10個の炭素原子を有するシクロアルキルを意味する。

【0046】

したがって、本明細書で使用される場合、「 $C_3 \sim 10$ シクロアルキル」という用語は、飽和されていても、飽和されていなくてもよい、3から10個の炭素原子を有する炭素環状環系、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、シクロヘプチル、シクロオクチル、シクロノニル、シクロデシルを意味する。「 $C_3 \sim 10$ シクロアルキル」という用語は、少なくとも部分的に飽和された炭素単環及び二環も包含する。

【0047】

本明細書で使用される場合、「ハロゲン」という用語は、フルオロ、クロロ、ブロモ又はヨードを意味する。特に好ましいものは、フルオロ又はクロロである。

【0048】

本明細書で使用される場合、「4から7員ヘテロシクリル」又は「4から7員ヘテロ環」という用語は、最大数までの二重結合を含んでもよい、4、5、6又は7個の環原子を有する環

10

20

30

40

50

(完全飽和、部分的飽和又は不飽和である芳香族又は非芳香族環)であって、最大4個までで少なくとも1個の環原子が、硫黄(-S(O)-、-S(O)₂-を含む)、酸素及び窒素(=N(O)-を含む)からなる群から選択されるヘテロ原子で置き換えられており、且つ環は、炭素又は窒素原子を介して分子の残りに連結されている環を意味する。4から7員ヘテロ環の例には、アゼチジン、オキセタン、チエタン、フラン、チオフェン、ピロール、ピロリン、イミダゾール、イミダゾリン、ピラゾール、ピラゾリン、オキサゾール、オキサゾリン、イソオキサゾール、イソオキサゾリン、チアゾール、チアゾリン、イソチアゾール、イソチアゾリン、チアジアゾール、チアジアゾリン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロチオフェン、ピロリジン、イミダゾリジン、ピラゾリジン、オキサゾリジン、イソオキサゾリジン、チアゾリジン、イソチアゾリジン、チアジアゾリジン、スルホラン、ピラン、ジヒドロピラン、テトラヒドロピラン、イミダゾリジン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、ピリミジン、ビペラジン、ピペリジン、モルホリン、テトラゾール、トリアゾール、トリアゾリジン、テトラゾリジン、ジアゼパン、アゼピン及びホモビペラジンが含まれるが、これらに限定されない。4から7員ヘテロシクリル又は4から7員ヘテロ環式基のそれぞれの水素原子は、以下に定義されるとおりの置換基で置き換えられていてもよい。

【0049】

本明細書で使用される場合、「8から11員ヘテロビシクリル」又は「8から11員ヘテロ二環」という用語は、少なくとも1個の環原子が両方の環により共有されており、且つ最大数までの二重結合を含んでもよい、8から11個の環原子を有する2つの環のヘテロ環系(完全飽和、部分的飽和、又は不飽和である芳香族又は非芳香族環)であって、最大6個までで少なくとも1個の環原子が、硫黄(-S(O)-、-S(O)₂-を含む)、酸素、及び窒素(=N(O)-を含む)からなる群から選択されるヘテロ原子で置き換えられており、且つ環は、炭素又は窒素原子を介して分子の残りに連結されているヘテロ環系を意味する。8から11員ヘテロ二環の例は、インドール、インドリン、ベンゾフラン、ベンゾチオフェン、ベンゾオキサゾール、ベンゾイソオキサゾール、ベンゾチアゾール、ベンゾイソチアゾール、ベンゾイミダゾール、ベンゾイミダゾリン、キノリン、キナゾリン、ジヒドロキナゾリン、キノリン、ジヒドロキノリン、テトラヒドロキノリン、デカヒドロキノリン、イソキノリン、デカヒドロイソキノリン、テトラヒドロイソキノリン、ジヒドロイソキノリン、ベンザゼピン、プリン、及びプテリジンである。8から11員ヘテロ二環という用語は、1,4-ジオキサ-8-アザスピロ[4,5]デカンのような2つの環のスピロ構造、又は8-アザ-ビシクロ[3.2.1]オクタンのような架橋ヘテロ環も含む。8から11員ヘテロビシクリル又は8から11員ヘテロ二環の炭素のそれぞれの水素原子は、以下に定義されるとおりの置換基で置き換えられていてもよい。

【0050】

「置換された」という用語は、分子又は部分の1個以上の-H原子が、「置換基」と称される異なる原子、又は原子団で置き換えられていることを意味する。好適な置換基は、ハロゲン; CN; COOR⁹; OR⁹; C(O)R⁹; C(O)N(R⁹R^{9a}); S(O)₂N(R⁹R^{9a}); S(O)N(R⁹R^{9a}); S(O)₂R⁹; S(O)R⁹; N(R⁹)S(O)₂N(R^{9a}R^{9b}); SR⁹; N(R⁹R^{9a}); NO₂; OC(O)R⁹; N(R⁹)C(O)R^{9a}; N(R⁹)S(O)₂R^{9a}; N(R⁹)S(O)R^{9a}; N(R⁹)C(O)OR^{9a}; N(R⁹)C(O)N(R^{9a}R^{9b}); OC(O)N(R⁹R^{9a}); T; C₁~₅₀アルキル; C₂~₅₀アルケニル; 又はC₂~₅₀アルキニル、からなる群から選択され、ここで、T、C₁~₅₀アルキル、C₂~₅₀アルケニル、及びC₂~₅₀アルキニルは、同じ又は異なる1個以上のR¹⁰で任意選択で置換されており、且つC₁~₅₀アルキル、C₂~₅₀アルケニル、及びC₂~₅₀アルキニルは、T、-C(O)O-; -O-; -C(O)-; -C(O)N(R¹¹)-; -S(O)₂N(R¹¹)-; -S(O)N(R¹¹)-; -S(O)₂-; -S(O)-; -N(R¹¹)S(O)₂N(R^{11a})-; -S-; -N(R¹¹)-; -OC(O)R¹¹; -N(R¹¹)C(O)-; -N(R¹¹)S(O)₂-; -N(R¹¹)S(O)-; -N(R¹¹)C(O)O-; -N(R¹¹)C(O)N(R^{11a})-; 及び-OC(O)N(R¹¹R^{11a}); からなる群から選択される1個以上の基で任意選択で中断されており、

ここで、R⁹、R^{9a}、R^{9b}は、H、T、及びC₁~₅₀アルキル、C₂~₅₀アルケニル、又はC₂~₅₀アルキニルからなる群から独立して選択され、ここで、T、C₁~₅₀アルキル、C₂~₅₀アルケニル、及びC₂~₅₀アルキニルは、同じ又は異なる1個以上のR¹⁰で任意選択で置換されており、且つC₁~₅₀アルキル、C₂~₅₀アルケニル、及びC₂~₅₀アルキニルは、T、-C(O)O-;

10

20

30

40

50

-O-; -C(O)-; -C(O)N(R¹¹)-; -S(O)₂N(R¹¹)-; -S(O)N(R¹¹)-; -S(O)₂-; -S(O)-; -N(R¹¹)S(O)₂N(R^{11a})-; -S-; -N(R¹¹)-; -OC(O)R¹¹; -N(R¹¹)C(O)-; -N(R¹¹)S(O)₂-; -N(R¹¹)S(O)-; -N(R¹¹)C(O)O-; -N(R¹¹)C(O)N(R^{11a})-; 及び -OC(O)N(R¹¹R^{11a}); からなる群から選択される1個以上の基で任意選択で中断されており、

Tは、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、テトラリニル、C₃~₁₀シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、又は8から11員ヘテロビシクリルからなる群から選択され、ここで、Tは、同じ又は異なる1個以上のR¹⁰で任意選択で置換されており、

R¹⁰は、ハロゲン; CN; オキソ(=O); COOR¹²; OR¹²; C(O)R¹²; C(O)N(R¹²R^{12a}); S(O)₂N(R¹²R^{12a}); S(O)N(R¹²R^{12a}); S(O)₂R¹²; S(O)R¹²; N(R¹²)S(O)₂N(R^{12a}R^{12b}); SR¹²; N(R¹²R^{12a}); NO₂; OC(O)R¹²; N(R¹²)C(O)R^{12a}; N(R¹²)S(O)₂R^{12a}; N(R¹²)S(O)R^{12a}; N(R¹²)C(O)OR^{12a}; N(R¹²)C(O)N(R^{12a}R^{12b}); OC(O)N(R¹²R^{12a}); 又はC₁~₆アルキルであり、ここで、C₁~₆アルキルは、同じ又は異なる1個以上のハロゲンで任意選択で置換されており、

R¹¹、R^{11a}、R¹²、R^{12a}、R^{12b}は、H、又はC₁~₆アルキルからなる群から独立して選択され、ここで、C₁~₆アルキルは、同じ又は異なる1個以上のハロゲンで任意選択で置換されている。

【0051】

一実施形態において、R⁹、R^{9a}、R^{9b}は、互いに独立してHであってもよい。

【0052】

一実施形態において、R¹⁰は、C₁~₆アルキルである。

【0053】

一実施形態において、Tは、フェニルである。

【0054】

好ましくは、分子の最大で6個の-H原子が、置換基で独立して置き換えられており、例えば、5個の-H原子が、置換基で独立して置き換えられており、4個の-H原子が、置換基で独立して置き換えられており、3個の-H原子が、置換基で独立して置き換えられており、2個の-H原子が、置換基で独立して置き換えられており、又は1個の-H原子が、置換基で置き換えられている。

【0055】

本明細書で使用される場合、「中断された」という用語は、2個の炭素原子の間又はそれぞれの炭素原子と水素原子の間の炭素鎖の末端に、1個以上の原子が挿入されていることを意味する。

【0056】

本明細書で使用される場合、「プロドラッグ」という用語は、その薬理学的効果を示す前に生体内変換を受ける化合物を意味する。したがって、プロドラッグは、親分子の望ましくない特性を変更又はなくすために一時的に使用される特殊化された非毒性保護基に接続された生物学的活性部分と見なすことができる。これは、薬物の望ましい特性の増強、及び望ましくない特性の抑制も含む。

【0057】

本明細書で使用される場合、「担体連結プロドラッグ」という用語は、改善された物理化学的又は薬物動態学的特性をもたらす、且つ通常は加水分解による切断により、インビボで容易に除去することができる、生物学的活性部分と一時的担体基との一過性の連結を含むプロドラッグを意味する。

【0058】

本明細書で使用される場合、「可逆的プロドラッグリンカー部分」という用語は、その一方の末端で可逆的連結によって生物学的活性部分Dに結合しており、別の末端で永続的連結によって結合している部分であって、本発明において、骨格部分のアミン官能基又はA^{x2}とA^{y1}とを反応させ、それにより本発明の担体連結プロドラッグにおいて生物学的活性部分をヒドロゲル担体に連結させることによって形成される部分を意味する。「可逆的連結」は、1時間から12ヶ月の範囲の半減期で、生理学的条件(pH7.4、37°Cでの水性緩衝液)下で、非酵素的加水分解的分解性、すなわち、切断性である連結である。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 9 】

対照的に、「永続的連結」は、12ヶ月を越える半減期で、生理学的条件(pH7.4、37℃での水性緩衝液)下で、非酵素的加水分解の分解性である。

【 0 0 6 0 】

「生分解性連結」は、1時間から12ヶ月の範囲の半減期で、生理学的条件(pH7.4、37℃での水性緩衝液)下で、酵素的及び/又は非酵素的に加水分解の分解性、すなわち、切断性である連結である。好ましくは、また、生分解性連結は、生理学的条件下で非酵素的加水分解の分解性である。

【 0 0 6 1 】

本明細書で使用される場合、「トレースレス(traceless)プロドラッグリンカー」という用語は、切断後に、その遊離型で薬物を放出する可逆のプロドラッグリンカーを意味する。本明細書で使用される場合、薬物の「遊離型」という用語は、その非修飾の薬理学的に活性形態の薬物を意味する。

10

【 0 0 6 2 】

本明細書で使用される場合、「ペプチド」という用語は、ペプチド結合により連結されたアミノ酸モノマーの短いポリマーを意味する。「ポリペプチド」という用語は、50を含めて50までのアミノ酸モノマーを含むペプチドを意味する。「タンパク質」という用語は、50を超えるアミノ酸モノマーのペプチドを意味する。

【 0 0 6 3 】

本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」という用語は、100までの塩基の短い核酸ポリマーを意味する。

20

【 0 0 6 4 】

本明細書で使用される場合、「医薬組成物」という用語は、1種以上の活性成分及び1種以上の不活性成分、並びにこれらの成分の任意の2種以上の組合せ、錯化若しくは凝集から又はこれらの成分の1種以上の解離から又はこれらの成分の1種以上の他のタイプの反応若しくは相互作用から、直接又は間接に生じる任意の生成物を意味する。したがって、本発明の医薬組成物は、本発明の担体連結プロドラッグと1種以上の薬学的に許容される賦形剤とを混合することにより製造された任意の組成物を包含する。

【 0 0 6 5 】

本明細書で使用される場合、「賦形剤」という用語は、治療薬と一緒に投与される希釈剤、アジュバント又はビヒクルを指す。このような医薬品賦形剤は、限定されないが、落花生油、大豆油、鉱油、ゴマ油などを含む、石油、動物、植物又は合成起源のものを含めて、水及び油などの滅菌液であり得る。水は、医薬組成物が経口投与される場合、好ましい賦形剤である。生理食塩水及び水性デキストロースは、医薬組成物が静脈内投与される場合、好ましい賦形剤である。生理食塩水溶液及び水性デキストロース及びグリセロール溶液は、注射液用の液体賦形剤として好ましく用いられる。好適な医薬賦形剤には、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、マンニトール、トレハロース、ゼラチン、麦芽、コメ、穀粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノオステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが含まれる。医薬組成物は、必要に応じて、少量の湿潤剤又は乳化剤、pH緩衝剤[酢酸塩、コハク酸塩、トリス、炭酸塩、リン酸塩、HEPES(4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸)、MES(2-N-モルホリノ)エタンスルホン酸など]を含有し、又は界面活性剤[例えば、Tween、ポリキサマー、ポリキサミン、CHAPS、Igepal、又はアミノ酸(例えば、グリシン、リシン又はヒスチジンなど)など]を含有することもできる。これらの医薬組成物は、溶液剤、懸濁液剤、乳濁液剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、持続放出製剤などの形態をとり得る。医薬組成物は、トリグリセリドなどの伝統的なバインダ及び賦形剤と一緒に、坐剤として製剤化され得る。経口製剤は、例えば、医薬品グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどの標準的な賦形剤を含有し得る。好適な医薬品賦形剤の例は、E.W.Martinによる「Remington's Pharmaceut

30

40

50

ical Sciences」に記載されている。このような組成物は、患者への適正投与のための形態を与えるために適当量の賦形剤と一緒に、治療有効量の薬物又は生物学的活性部分を含有する。製剤は、投与の様式に適合すべきである。

【0066】

一般に、「含む(comprise)」又は「含んでいる(comprising)」という用語は、「からなる(consist of)」又は「からなっている(consisting of)」も包含する。

【0067】

方法の工程(a)で出発原料として使用され得る、骨格試薬及びクロスリンカー試薬の一部は、市販されている。さらに、骨格試薬及びクロスリンカー試薬は、実施例の項で記載される方法に従って調製され得る。適切な骨格試薬の合成方法は、WO2011/012715A1の実施例1に記載されており、これは参照により本明細書に組み込まれる。WO2011/012715A1の実施例2は、その方法が本発明に適したクロスリンカー試薬を得るために標準的な化学知識を用いて修正され得る、比較的低い分子量のクロスリンカー試薬の合成方法をさらに提供する。これらの方法に基づいて、当業者は、発明で使用される骨格試薬及びクロスリンカー試薬を得るために、標準的な化学知識を適用することができる。

【0068】

工程(a)の混合物は、第1の溶媒及び少なくとも第2の溶媒を含む。前記第1の溶媒は、好ましくはジクロロメタン、クロロホルム、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、ジメチルホルムアミド、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、プロピレンカーボネート、N-メチルピロリドン、メタノール、エタノール、イソプロパノール及び水並びにそれらの混合物を含む群から選択される。

【0069】

少なくとも1種の骨格試薬及び少なくとも1種のクロスリンカー試薬が、第1の溶媒に溶解される、すなわち、懸濁重合の分散相である。一実施形態において、骨格試薬及びクロスリンカー試薬は、別個に、すなわち、同じ又は異なる溶媒のいずれかを使用して、好ましくは両試薬のための同じ溶媒を使用して、異なる容器中で溶解される。別の実施形態において、骨格試薬及びクロスリンカー試薬は、一緒に、すなわち、同じ容器中で且つ同じ溶媒を使用して溶解される。

【0070】

骨格試薬のための好適な溶媒は、有機溶媒である。好ましくは、溶媒は、ジクロロメタン、クロロホルム、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、ジメチルホルムアミド、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、プロピレンカーボネート、N-メチルピロリドン、メタノール、エタノール、イソプロパノール及び水並びにそれらの混合物からなる群から選択される。より好ましくは、骨格試薬は、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、メタノール又はそれらの混合物を含む群から選択される溶媒に溶解される。最も好ましくは、骨格試薬は、ジメチルスルホキシドに溶解される。

【0071】

一実施形態において、骨格試薬は、1から300mg/ml、より好ましくは5から60mg/ml、最も好ましくは10から40mg/mlの範囲の濃度で溶媒に溶解される。

【0072】

クロスリンカー試薬のための好適な溶媒は、有機溶媒である。好ましくは、溶媒は、ジクロロメタン、クロロホルム、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、ジメチルホルムアミド、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、プロピレンカーボネート、N-メチルピロリドン、メタノール、エタノール、イソプロパノール、水又はそれらの混合物を含む群から選択される。より好ましくは、クロスリンカー試薬は、ジメチルホルムアミド、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、メタノール、又はそれらの混合物を含む群から選択される溶媒に溶解される。最も好ましくは、クロスリンカー試薬は、ジメチルスルホキシドに溶解される。

【0073】

一実施形態において、クロスリンカー試薬は、5から500mg/ml、より好ましくは25から3

10

20

30

40

50

00mg/ml、最も好ましくは50から200mg/mlの範囲の濃度で溶媒に溶解される。

【0074】

少なくとも1種の骨格試薬及び少なくとも1種のクロスリンカー試薬は、1:99から99:1の範囲の重量比で、例えば、2:98から90:10の範囲の比で、3:97から88:12の範囲の重量比で、3:96から85:15の範囲の重量比で、2:98から90:10の範囲の重量比で、5:95から80:20の範囲の重量比で、特に好ましくは5:95から80:20の重量比で混合され、ここで、最初の数字は骨格試薬を指し、2番目の数字はクロスリンカー試薬を指す。

【0075】

好ましくは、比は、工程(a)の混合物が、クロスリンカー試薬の活性官能末端基と比較して骨格試薬からのモル過剰のアミン基を含むように選択される。その結果として、本発明の方法から得られるヒドロゲルは、スパーサ、親和性リガンド、キレート剤及び/又は可逆的プロドラッグリンカー部分などの他の部分をヒドロゲルにカップリングさせるために使用され得る遊離アミン基を有する。

10

【0076】

少なくとも1種の第2の溶媒、すなわち、懸濁重合の連続相は、好ましくは有機溶媒、より好ましくは直鎖、分岐又は環状 $C_{5\sim 30}$ アルカン、直鎖、分岐又は環状 $C_{5\sim 30}$ アルケン、直鎖、分岐又は環状 $C_{5\sim 30}$ アルキン、直鎖又は環状ポリ(ジメチルシロキサン)、芳香族 $C_{6\sim 20}$ 炭化水素、及びそれらの混合物を含む群から選択される有機溶媒である。さらにより好ましくは、少なくとも第2の溶媒は、直鎖、分岐又は環状 $C_{5\sim 16}$ アルカン、トルエン、キシレン、メシチレン、ヘキサメチルジシロキサン、又はそれらの混合物を含む群から選択される。最も好ましくは、少なくとも第2の溶媒は、ヘプタン、オクタン、ノナン、デカン及びウンデカンなどの直鎖 $C_7\sim 11$ アルカンを含む群から選択される。

20

【0077】

好ましくは、工程(a)の混合物は、界面活性剤をさらに含む。好ましい界面活性剤は、Cithrol DPHS、Hypermer 70A、Hypermer B246、Hypermer 1599A、Hypermer 2296又はHypermer 1083である。Cithrol DPHSが最も好ましい。

【0078】

好ましくは、界面活性剤は、全混合物、すなわち、分散相と連続相を合わせて1L当たり0.1gから100gの濃度を有する。より好ましくは、界面活性剤は、全混合物1L当たり0.5gから10gの濃度を有し、最も好ましくは、界面活性剤は、全混合物1L当たり0.5gから5gの濃度を有する。

30

【0079】

好ましくは、工程(a)の混合物は、乳濁液である。

【0080】

工程(b)における重合は、塩基を添加することによって開始される。好ましくは、塩基は、アルカンに可溶性の非求核性塩基であり、より好ましくは、塩基は、N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン(TMEDA)、1,4-ジメチルピペラジン、4-メチルモルホリン、4-エチルモルホリン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,1,4,7,10,10-ヘキサメチルトリエチレントトラミン、1,4,7-トリメチル-1,4,7-トリアザシクロノナン、トリス[2-(ジメチルアミノ)エチル]アミン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)、トリメチルアミン、N,N-ジメチルエチルアミン、N,N,N',N'-テトラメチル-1,6-ヘキサレンジアミン、N,N,N',N'',N'''-ペンタメチルジエチレントリアミン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン、1,5-ジアザビシクロ[4.3.0]ノナ-5-エン、及びヘキサメチレントトラミンから選択される。さらにより好ましくは、塩基は、TMEDA、1,4-ジメチルピペラジン、4-メチルモルホリン、4-エチルモルホリン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,1,4,7,10,10-ヘキサメチルトリエチレントトラミン、1,4,7-トリメチル-1,4,7-トリアザシクロノナン、トリス[2-(ジメチルアミノ)エチル]アミン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン、1,5-ジアザビシクロ[4.3.0]ノナ-5-エン、及びヘキサメチレントトラミンから選択される。最も好ましくは、塩基はTMEDAである。

40

【0081】

50

塩基は、混合物中活性官能末端基当たり1から500当量の量、好ましくは5から50当量の量、より好ましくは5から25当量の量、最も好ましくは10当量の量で工程(a)の混合物に添加される。

【0082】

方法の工程(b)において、本発明のヒドロゲルの重合は、縮合反応であり、これは、好ましくは工程(a)の混合物の連続攪拌下で行われる。好ましくは、先端速度(先端速度= $\pi \times$ 攪拌機回転速度 \times 攪拌機直径)は、1秒当たり0.2から10メートル(m/s)、より好ましくは0.5から4m/s、最も好ましくは1から2m/sの範囲である。

【0083】

工程(b)の好ましい実施形態において、重合反応は、バッフルを備えた円筒形容器で行われる。容器の直径と高さの比は、4:1から1:2の範囲であってもよく、より好ましくは、容器の直径と高さの比は、2:1から1:1の範囲である。

10

【0084】

好ましくは、反応容器は、勾配ブレード攪拌機、船舶タイププロペラ、又はLightnin A-310を含む群から選択される軸流攪拌機を備えている。より好ましくは、攪拌機は、勾配ブレード攪拌機である。

【0085】

工程(b)は、広い温度範囲で、好ましくは-10℃から100℃の温度で、より好ましくは0℃から80℃の温度で、さらにより好ましくは10℃から50℃の温度で、最も好ましくは周囲温度で行うことができる。「周囲温度」は、通常の実験室環境で認められる温度を指し、好ましくは17から25℃の範囲の温度を意味する。

20

【0086】

好ましくは、重合から得られたヒドロゲルは、コーティング、メッシュ、ステント、ナノ粒子、又はマイクロ粒子などの成形物品である。より好ましくは、ヒドロゲルは、1から500マイクロメートルの直径、より好ましくは10から300マイクロメートルの直径、さらにより好ましくは20から150マイクロメートルの直径、最も好ましくは30から130マイクロメートルの直径を有するマイクロ粒子ビーズの形態である。前述の直径は、ヒドロゲルマイクロ粒子が水に完全に水和されているときに測定される。

【0087】

一実施形態において、本発明のヒドロゲルの調製方法は、
(c)ヒドロゲルを後処理する工程
をさらに含む。

30

【0088】

工程(c)は、以下の工程(単数又は複数):
(c1)重合反応から過剰の液体を除去する工程、
(c2)ヒドロゲルを洗浄して、重合中に使用された溶媒を除去する工程、
(c3)ヒドロゲルを緩衝溶液中に移す工程、
(c4)ヒドロゲルをサイズ分別化/篩分けする工程、
(c5)ヒドロゲルを容器中に移す工程、
(c6)ヒドロゲルを乾燥する工程、
(c7)ヒドロゲルを滅菌に適した特定の溶媒中に移す工程、及び
(c8)ヒドロゲルを、好ましくはガンマ線により、滅菌する工程
の1つ以上を含む。

40

【0089】

好ましくは、工程(c)は、以下の工程
(c1)重合反応から過剰の液体を除去する工程、
(c2)ヒドロゲルを洗浄して、重合中に使用された溶媒を除去する工程、
(c3)ヒドロゲルを緩衝溶液中に移す工程、
(c4)ヒドロゲルをサイズ分別化/篩分けする工程、
(c5)ヒドロゲルを容器中に移す工程、

50

(c7)ヒドロゲルを滅菌に適した特定の溶媒中に移す工程、及び
 (c8)ヒドロゲルを、好ましくはガンマ線により、滅菌する工程
 のすべてを含む。

【0090】

骨格試薬

少なくとも1種の骨格試薬は、1から100kDa、好ましくは2から50kDa、より好ましくは5から30kDa、さらにより好ましくは5から25kDa、最も好ましくは5から15kDaの範囲の分子量を有する。

【0091】

好ましくは、骨格試薬は、少なくとも10%のPEGを含む、より好ましくは少なくとも20%のPEGを含む、さらにより好ましくは少なくとも30%のPEGを含む、最も好ましくは少なくとも40%のPEGを含むPEG系である。

10

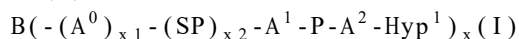
【0092】

一実施形態において、骨格試薬は、その酸性塩の形態、好ましくは酸付加塩の形態で存在する。好適な酸付加塩は、非毒性塩を形成する酸から形成される。例には、限定されないが、酢酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベシル酸塩、重炭酸塩、炭酸塩、重硫酸塩、硫酸塩、ホウ酸塩、カンシル酸塩、クエン酸塩、エジシル酸塩、エシル酸塩、ギ酸、フマル酸塩、グルセプト酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、ヘキサフルオロリン酸塩、ヒベンズ酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、イセチオン酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メシチル酸塩、メチル硫酸塩、ナフチル酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オロト酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモン酸塩、リン酸塩、リン酸水素塩、リン酸二水素塩、糖酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩及びトシル酸塩が含まれる。特に好ましくは、骨格試薬はその塩酸塩の形態で存在する。

20

【0093】

一実施形態において、少なくとも1種の骨格試薬は、
 式(I)



[式中、

Bは、分岐コアであり、

SPは、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル及び $C_2 \sim 6$ アルキニルからなる群から選択されるスペーサ部分であり、

30

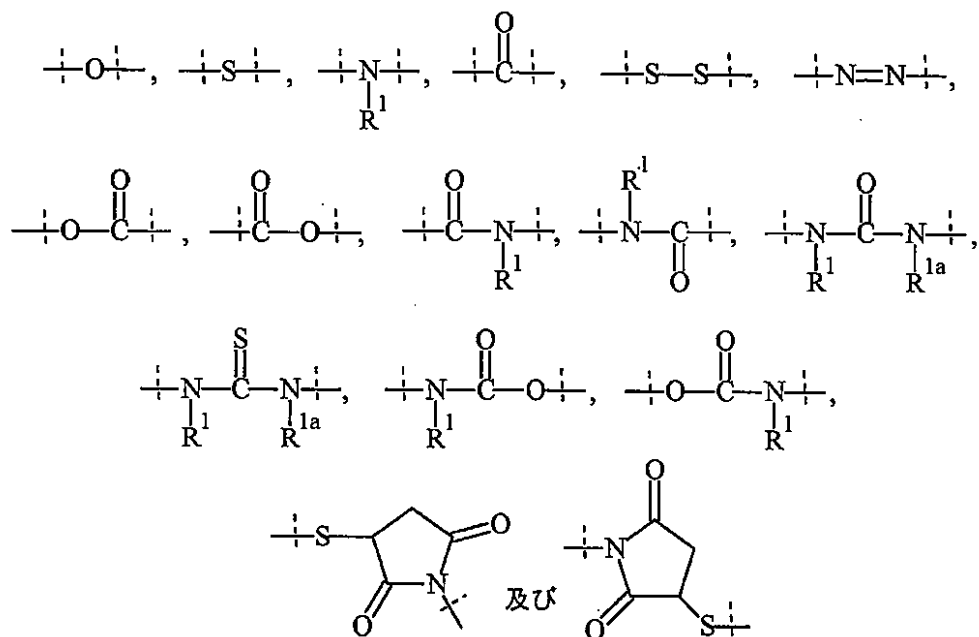
Pは、少なくとも80%のPEG、好ましくは少なくとも85%のPEG、より好ましくは少なくとも90%のPEG、最も好ましくは少なくとも95%のPEGを含むPEG系ポリマー鎖であり、

Hyp¹は、アミン(-NH₂及び/若しくは-NH-)、又は少なくとも2個のアミン(-NH₂及び/若しくは-NH-)を含むポリアミンを含む部分であり、

xは、3から16の整数であり、

x1、x2は、互いに独立して、0又は1であり、但し、x2が0である場合、x1は0であり、
 A^0 、 A^1 、 A^2 は、

【化 3】



(ここで、 R^1 及び R^{1a} は、H及び $C_1 \sim C_6$ アルキルから互いに独立して選択される) からなる群から互いに独立して選択される]

の化合物、

式(II)

$$\text{Hyp}^2 - \text{A}^3 - \text{P} - \text{A}^4 - \text{Hyp}^3 \text{ (II)}$$

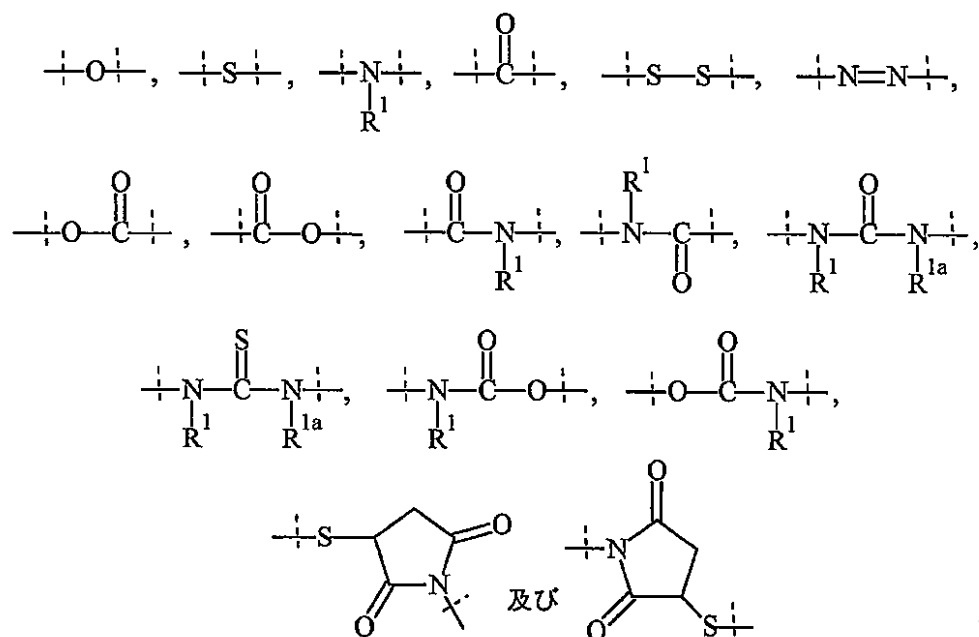
「式中、

Pは、式(I)の化合物における上記のように定義され、

Hyp²、Hyp³は、互いに独立して、少なくとも2個のアミン(-NH₂及び/又は-NH-)を含むポリアミンであり、

A^3 及び A^4 は、

【化 4】



(ここで、 R^1 及び R^{1a} は、H及び $C_1 \sim C_6$ アルキルから互いに独立して選択される) からなる群から独立して選択される]

の化合物、

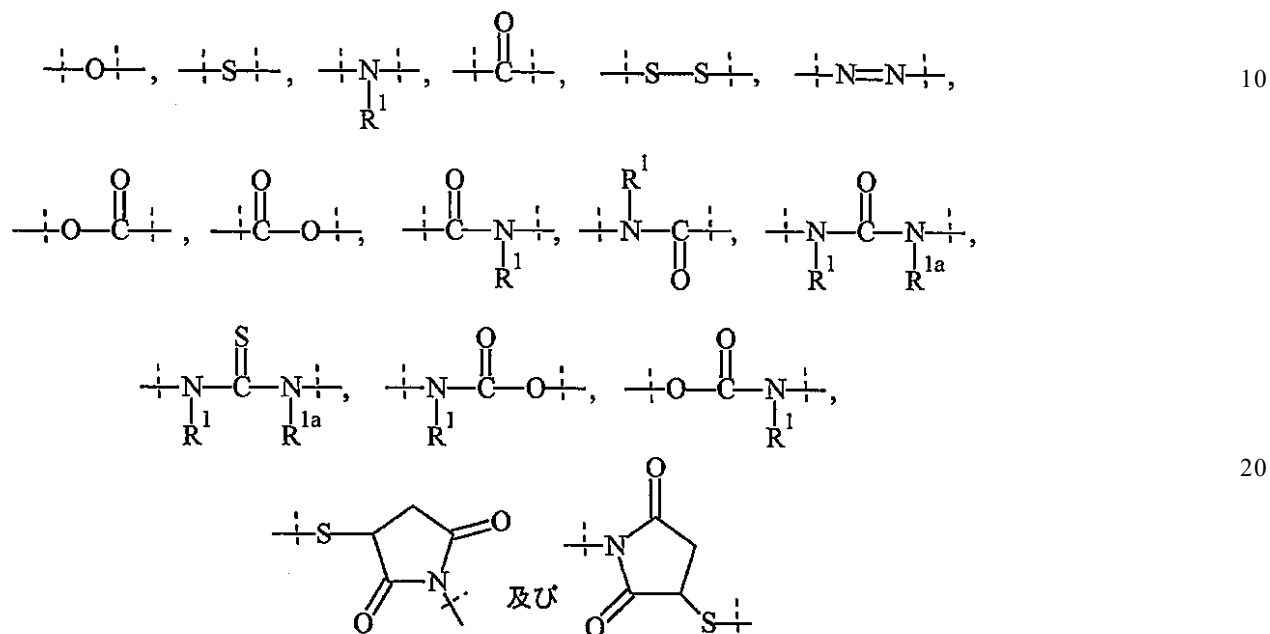
式 (III)

「式中、

Hyp⁴は、少なくとも3個のアミン(-NH₂及び/又は-NH)を含むポリアミンであり、

A^5 は、

【化 5】



の化合物、及び

式 (IV)

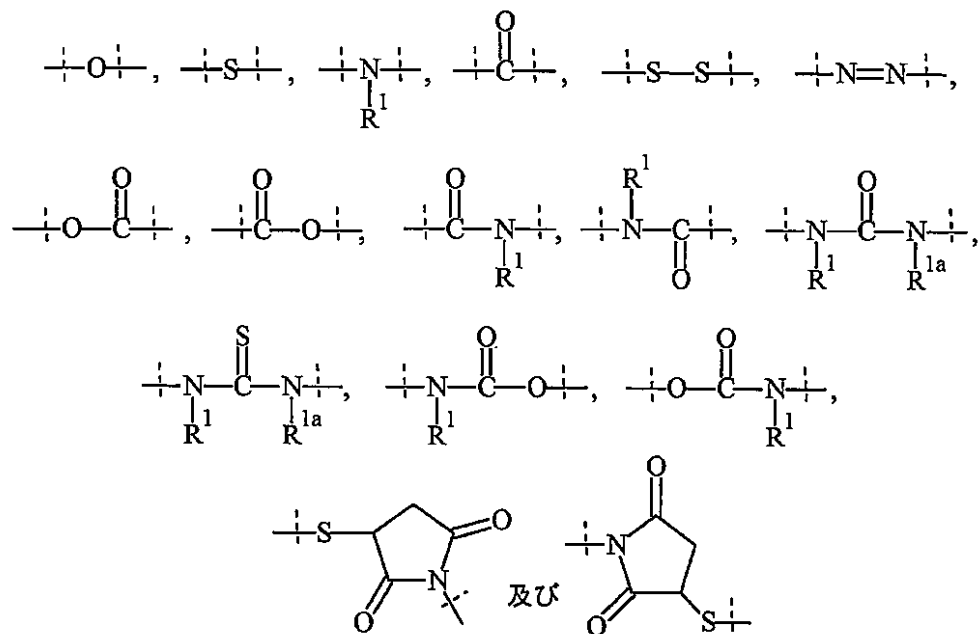
30

[式中、

Hyp⁵は、少なくとも3個のアミン(-NH₂及び/又は-NH)を含むポリアミンであり、

A^6 は、

【化 6】



10

(ここで、 R^1 及び R^{1a} は、H 及び $\text{C}_1 \sim 6$ アルキルから互いに独立して選択される) からなる群から選択され、

20

T^1 は、 $\text{C}_1 \sim 50$ アルキル、 $\text{C}_2 \sim 50$ アルケニル、又は $\text{C}_2 \sim 50$ アルキニルからなる群から選択され、このフラグメントは、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{N}(\text{C}_1 \sim 4 \text{ アルキル})-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{C}_1 \sim 4 \text{ アルキル})-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、4員から7員ヘテロシクリル、フェニル又はナフチルから選択される1個以上の基で任意選択で中断されている] の化合物

からなる群から選択される。

【0094】

以下の項において、「 Hyp^x 」という用語は、 Hyp^1 、 Hyp^2 、 Hyp^3 、 Hyp^4 及び Hyp^5 を集合的に指す。

【0095】

30

好ましくは、骨格試薬は、式(I)、式(II)又は式(III)の化合物であり、より好ましくは、骨格試薬は、式(I)又は式(III)の化合物であり、最も好ましくは、骨格試薬は、式(I)の化合物である。

【0096】

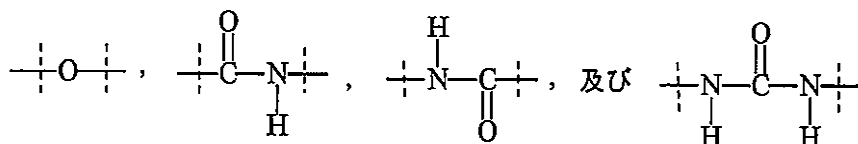
好ましい実施形態において、式(I)の化合物では、 x は、4、6 又は 8 である。好ましくは、式(I)の化合物では、 x は、4 又は 8 であり、最も好ましくは、 x は 4 である。

【0097】

好ましい実施形態において、式(I)から式(IV)の化合物では、 A^0 、 A^1 、 A^2 、 A^3 、 A^4 、 A^5 及び A^6 は、

【化 7】

40

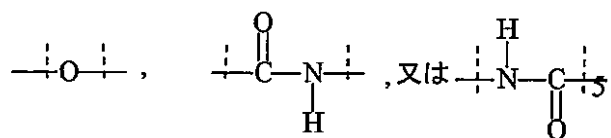


を含む群から選択される。

【0098】

好ましくは、式(I)の化合物では、 A^0 は、

【化 8】

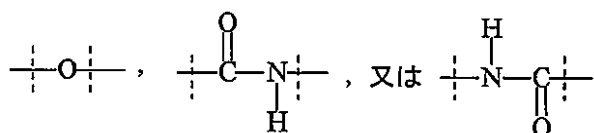


である。

【 0 0 9 9 】

好ましくは、式(I)の化合物では、A¹は、

【化 9】



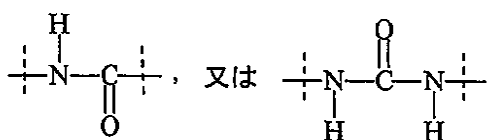
10

である。

【 0 1 0 0 】

好ましくは、式(I)の化合物では、A²は、

【化 1 0】



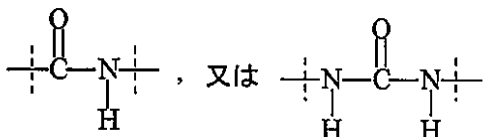
20

である。

【 0 1 0 1 】

好ましくは、式(II)の化合物では、A³は、

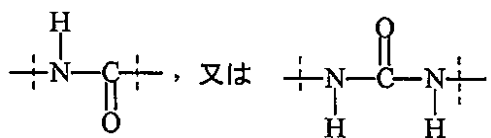
【化 1 1】



30

であり、A⁴は、

【化 1 2】

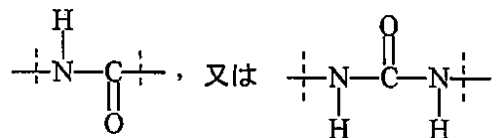


である。

【 0 1 0 2 】

好ましくは、式(III)の化合物では、A⁵は、

【化 1 3】



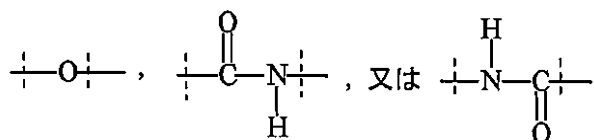
40

である。

【 0 1 0 3 】

好ましくは、式(IV)の化合物では、A⁶は、

【化 1 4】



である。

【 0 1 0 4】

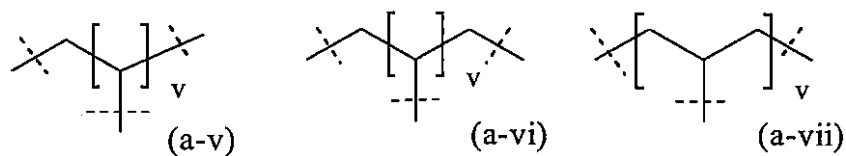
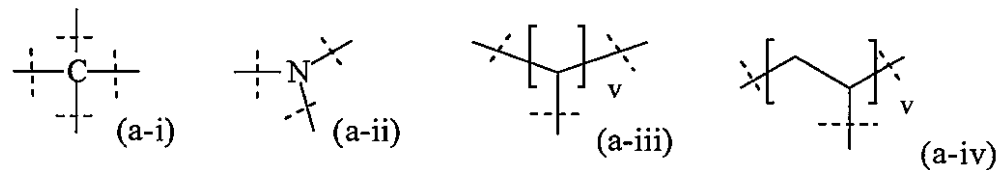
好ましくは、式(IV)の化合物では、 T^1 は、H及び $C_1 \sim 6$ アルキルから選択される。

【 0 1 0 5】

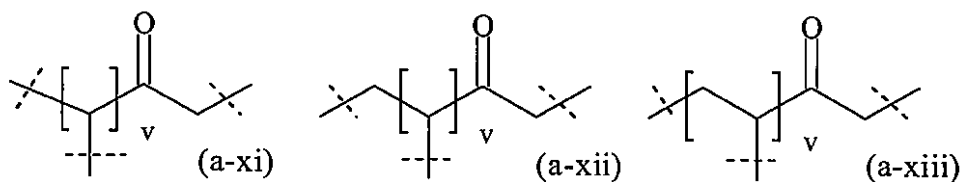
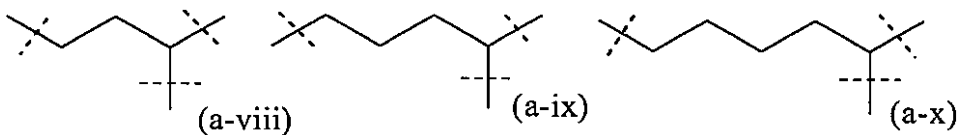
一実施形態において、式(I)の化合物では、分岐コアBは、以下の構造：

10

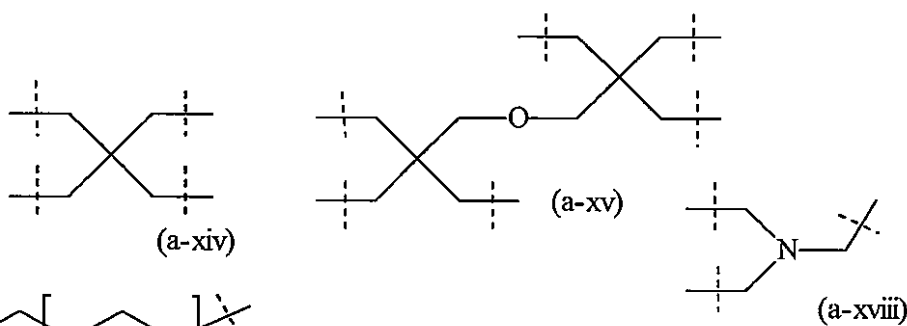
【化 1 5】



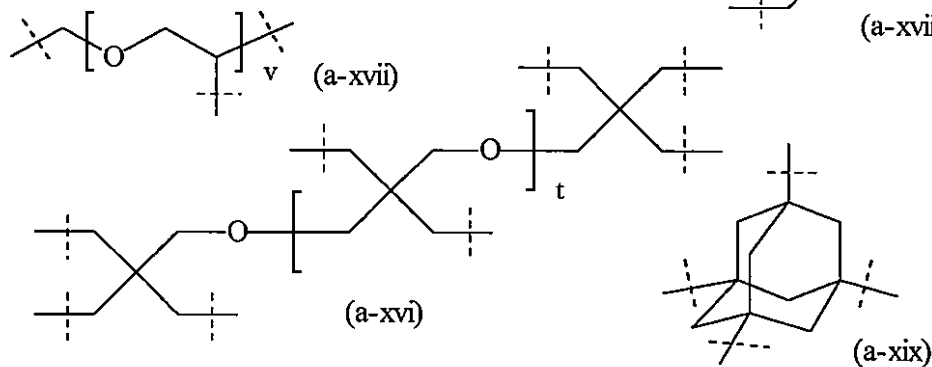
20

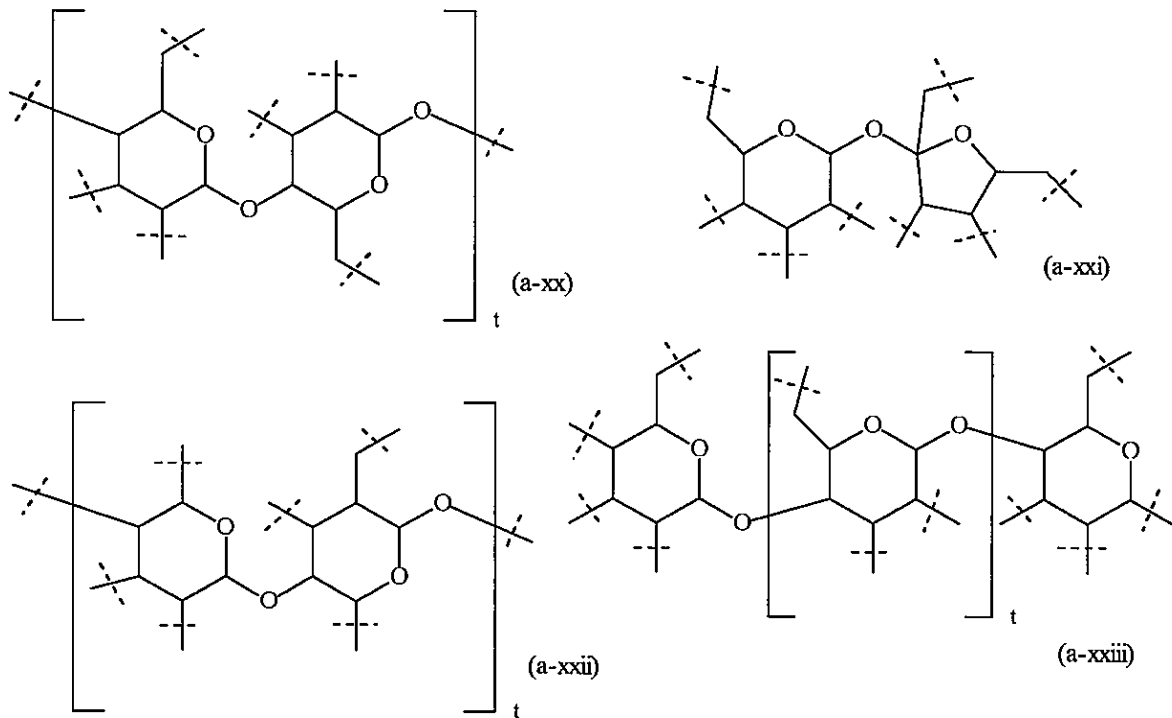


30



40





10

20

(ここで、

破線は、 A^0 への結合、又は x 及び x_2 が両方とも0である場合、 A^1 への結合を示し、

t は、1又は2であり、好ましくは、 t は1であり、

v は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13又は14であり、好ましくは、 v は、2、3、4、5、6であり、より好ましくは、 v は、2、4又は6であり、最も好ましくは、 v は2である)

から選択される。

【0106】

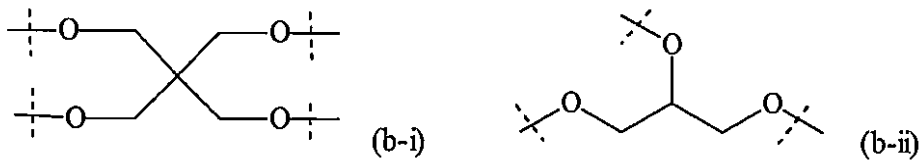
好ましい実施形態において、 B は、式(a-i)、式(a-ii)、式(a-iii)、式(a-iv)、式(a-v)、式(a-vi)、式(a-vii)、式(a-viii)、式(a-ix)、式(a-x)、式(a-xiv)、式(a-xv)又は式(a-xvi)の構造を有する。より好ましくは、 B は、式(a-iii)、式(a-iv)、式(a-v)、式(a-vi)、式(a-vii)、式(a-viii)、式(a-ix)、式(a-x)又は式(a-iv)の構造を有する。より好ましくは、 B は、式(a-xiv)の構造を有する。

30

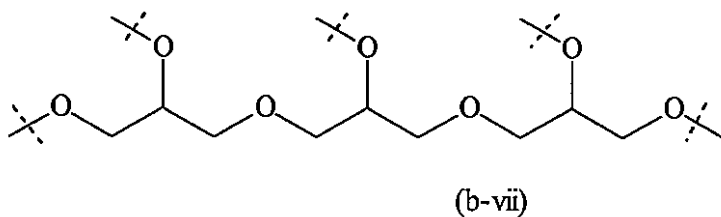
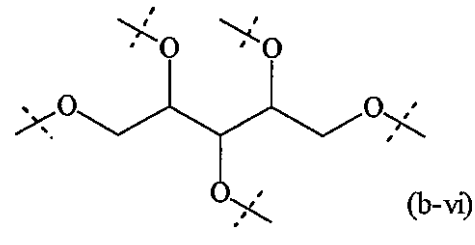
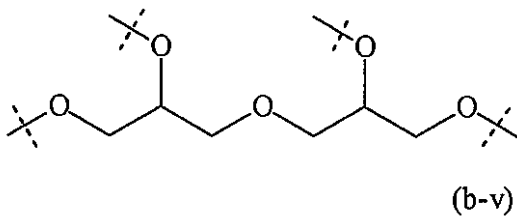
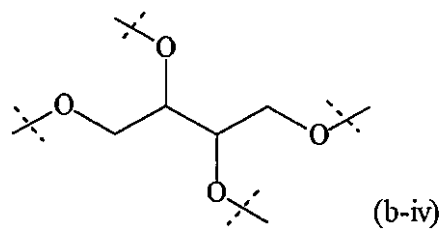
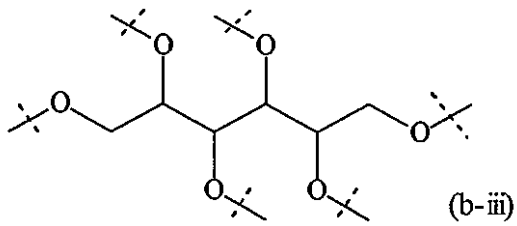
【0107】

好ましい実施形態は、 B と A^0 との組合せ、又は x_1 及び x_2 が両方とも0である場合、 B と A^1 との好ましい組合せであり、これは、以下の構造:

【化16】



40



(ここで、

破線は、SPへの結合、又はx1及びx2が両方とも0である場合、Pへの結合を示す)
から選択される。

【 0 1 0 8 】

より好ましくは、BとA⁰との組合せ、又はx1及びx2が両方とも0である場合、BとA¹との組合せは、式(b-i)、式(b-iv)、式(b-vi)又は式(b-viii)の式の構造を有し、最も好ましくは式(b-i)の式の構造を有する。

【 0 1 0 9 】

一実施形態において、式(I)のx1及びx2は、0である。

【 0 1 1 0 】

一実施形態において、PEG系ポリマー鎖Pは、0.3kDaから40kDa、例えば、0.4から35kDa、0.6から38kDa、0.8から30kDa、1から25kDa、1から15kDa、又は1から10kDaの分子量を有する。最も好ましくは、Pは、1から10kDaの分子量を有する。

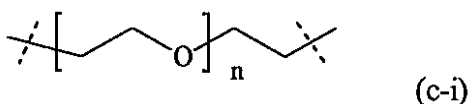
【 0 1 1 1 】

一実施形態において、PEG系ポリマー鎖P¹は、0.3kDaから40kDa、例えば、0.4から35kDa、0.6から38kDa、0.8から30kDa、1から25kDa、1から15kDa、又は1から10kDaの分子量を有する。最も好ましくは、P¹は、1から10kDaの分子量を有する。

【 0 1 1 2 】

一実施形態において、式(I)又は式(II)の化合物では、Pは、式(c-i):

【 化 1 7 】



(式中、nは、6から900の範囲であり、より好ましくは、nは、20から700の範囲であり、最も好ましくは、nは、20から250の範囲である)

の構造を有する。

【 0 1 1 3 】

一実施形態において、式(III)の化合物では、P¹は、式(c-ii):

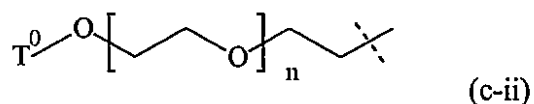
10

20

30

40

【化 1 8】



(式中、

n は、6から900の範囲であり、より好ましくは、 n は、20から700の範囲であり、最も好ましくは、 n は、20から250の範囲であり、

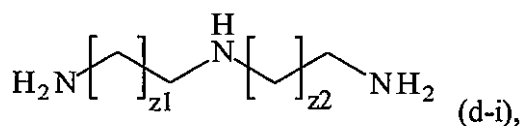
T^0 は、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{N}(\text{C}_1\sim 4\text{アルキル})-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{C}_1\sim 4\text{アルキル})-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 又は $-\text{S}(\text{O})_2-$ から選択される1個以上の基で任意選択で中断されている、 $\text{C}_1\sim 6$ アルキル、 $\text{C}_2\sim 6$ アルケニル及び $\text{C}_2\sim 6$ アルキニルを含む群から選択される)の構造を有する。

10

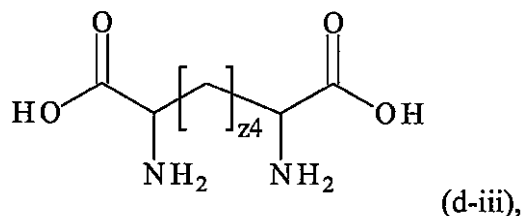
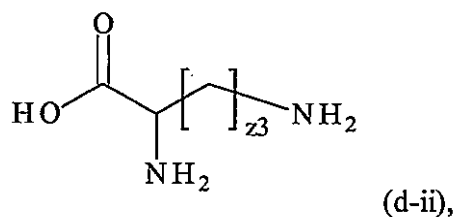
【0 1 1 4】

一実施形態において、式(I)から式(IV)の化合物では、部分 Hyp^x は、ポリアミンであり、好ましくは結合形態で、且つ適用可能な場合は、R-及び/又はS配置で、式(d-i)、式(d-ii)、式(d-iii)及び/又は式(d-iv)：

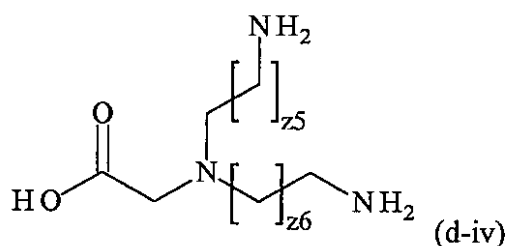
【化 1 9】



20



30



(式中、

40

$z1$ 、 $z2$ 、 $z3$ 、 $z4$ 、 $z5$ 、 $z6$ は、互いに独立して、1、2、3、4、5、6、7又は8である)の部分を含む。

【0 1 1 5】

より好ましくは、 Hyp^x は、結合形態で、且つR-及び/又はS配置で、リシン、オルニチン、ジアミノプロピオン酸及び/又はジアミノ酪酸を含む。最も好ましくは、 Hyp^x は、結合形態で、且つR-及び/又はS配置でリシンを含む。

【0 1 1 6】

Hyp^x は、40Daから30kDa、好ましくは0.3kDaから25kDa、より好ましくは0.5kDaから20kDa、さらにより好ましくは1kDaから20kDa、最も好ましくは2kDaから15kDaの分子量を有する。

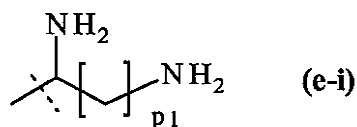
50

【 0 1 1 7 】

Hyp^xは、好ましくは

式(e-i)

【化20】



(式中、

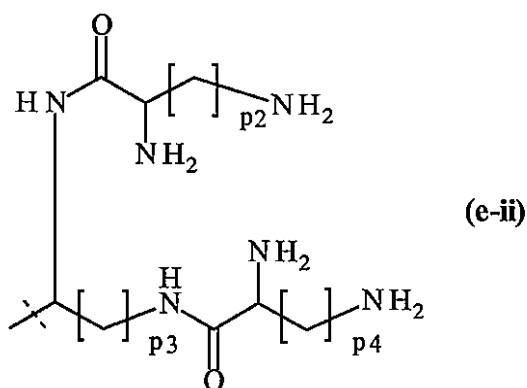
p1は、1から5の整数であり、好ましくはp1は4であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合はA²への結合、及び骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、A³又はA⁴への結合を示す)

の部分、

式(e-ii)

【化21】



(式中、

p2、p3及びp4は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、1から5の整数であり、好ましくはp2、p3及びp4は、4であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、A²への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、A³又はA⁴への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、A⁵への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、A⁶への結合を示す)

の部分、

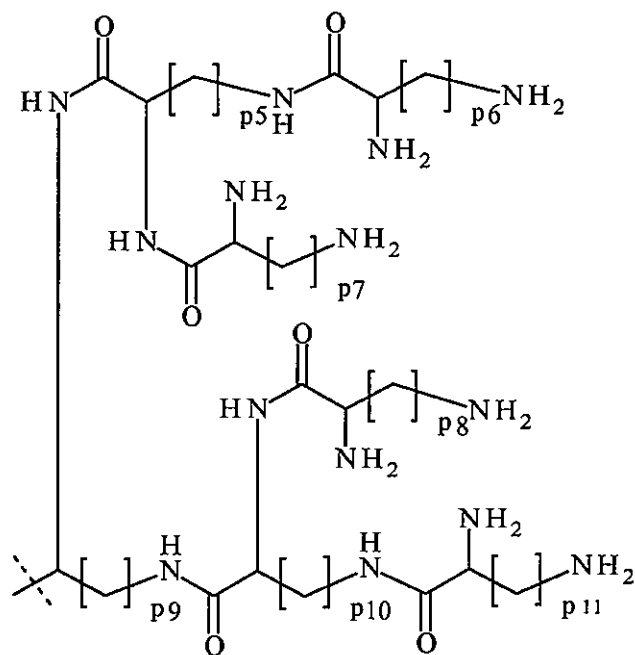
式(e-iii)

10

20

30

【化 2 2】



(e-iii)

10

(式中、

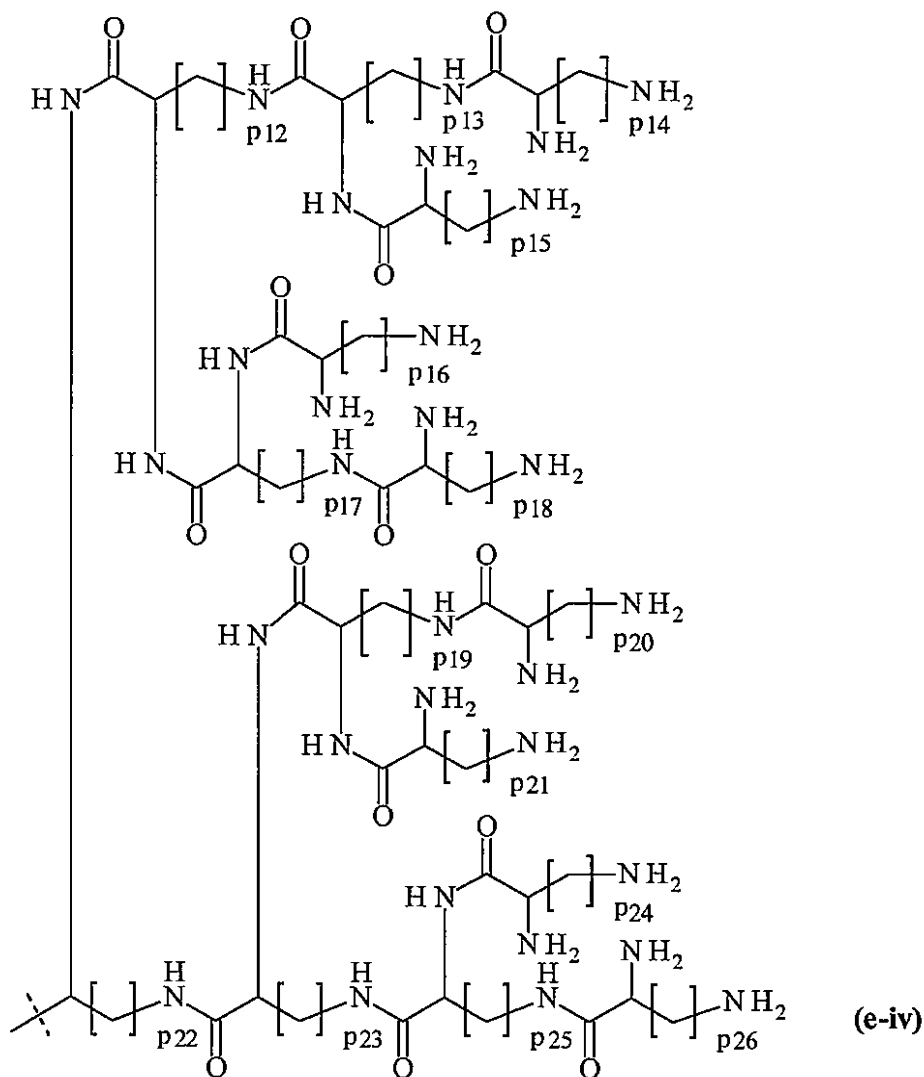
20

p5からp11は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、1から5の整数であり、好ましくは、p5からp11は、4であり、

破線は、骨格試薬が式(I)のものである場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)のものである場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)のものである場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)のものである場合は、 A^6 への結合を示す)の部分、

式(e-iv)

【化 2 3】



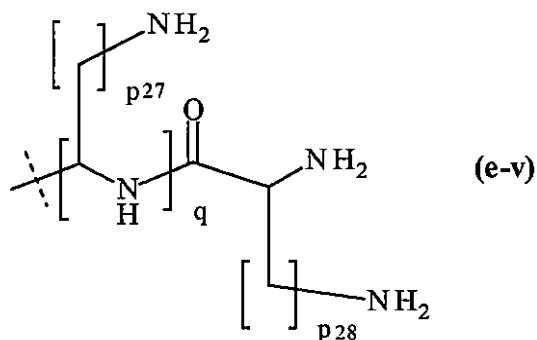
(式中、

p12からp26は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、1から5の整数であり、好ましくはp12からp26は、4であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)の部分、

式(e-v)

【化 2 4】



(式中、

p27及びp28は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、1から5の整数であり、好ましくはp27及びp28は、4であり、

qは、1から8の整数であり、好ましくはqは、2又は6であり、最も好ましくは、qは、6であり、

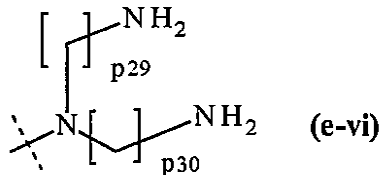
破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)

の部分、

式(e-vi)

【化 2 5】

10



(式中、

p29及びp30は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、2から5の整数であり、好ましくはp29及びp30は、3であり、

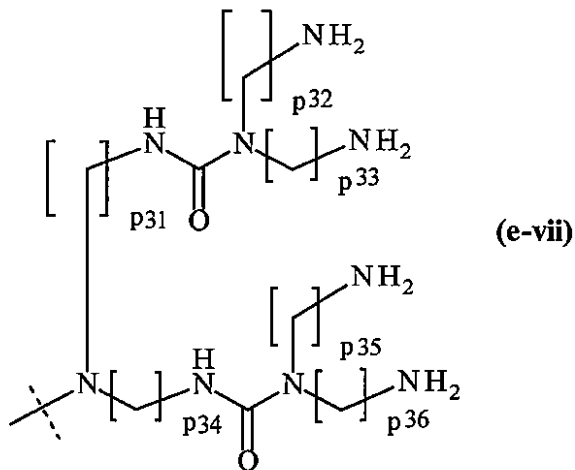
破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)

の部分、

式(e-vii)

【化 2 6】

20



30

(式中、

p31からp36は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、2から5の整数であり、好ましくはp31からp36は、3であり、

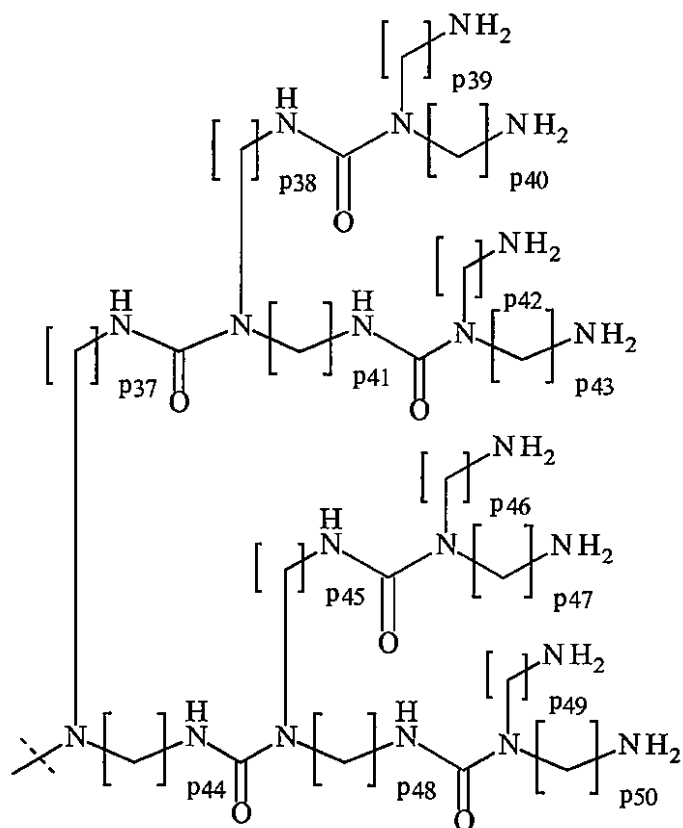
破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)

の部分、

式(e-viii)

40

【化 2 7】



(e-viii)

(式中、

p37からp50は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、2から5の整数であり、好ましくはp37からp50は、3であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)の部分、及び

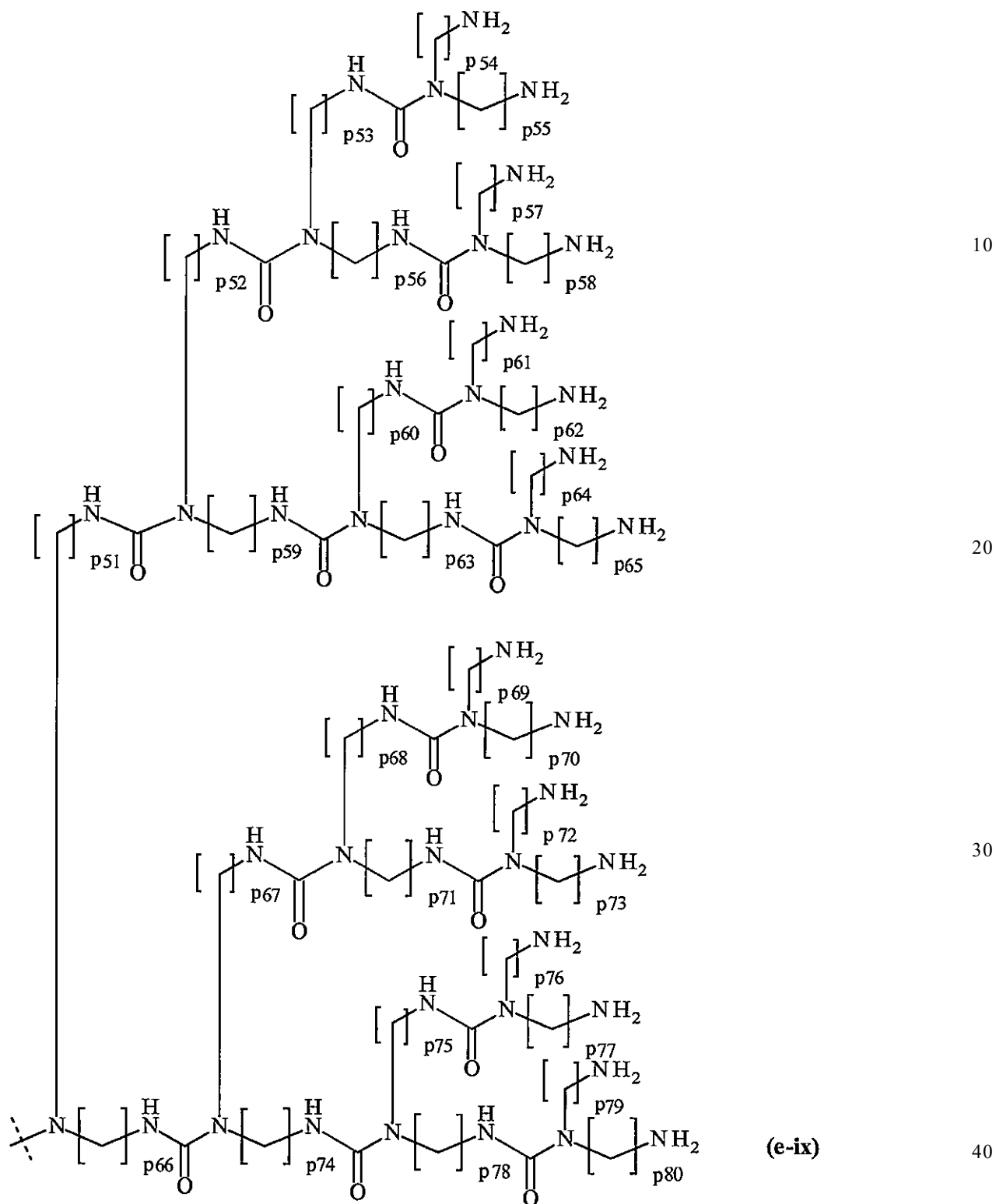
式(e-ix):

10

20

30

【化 2 8】



(式中、

p51からp80は、同一であり又は異なり、それぞれは、互いに独立して、2から5の整数であり、好ましくはp51からp80は、3であり、

破線は、骨格試薬が式(I)の構造を有する場合は、 A^2 への結合、骨格試薬が式(II)の構造を有する場合は、 A^3 又は A^4 への結合、骨格試薬が式(III)の構造を有する場合は、 A^5 への結合、及び骨格試薬が式(IV)の構造を有する場合は、 A^6 への結合を示す)の部分

からなる群から選択され、

部分(e-i)から部分(e-v)は、それぞれのキラル中心において、R-又はS-配置であってもよく、好ましくは、部分(e-i)から部分(e-v)のキラル中心のすべては、同じ配置である。

【0118】

好ましくは、Hyp^xは、式(e-i)、式(e-ii)、式(e-iii)、式(e-iv)、式(e-vi)、式(e-vii)、式(e-viii)又は式(e-ix)の構造を有する。より好ましくは、Hyp^xは、式(e-ii)、式(e-iii)、式(e-iv)、式(e-vii)、式(e-viii)又は式(e-ix)の構造を有し、さらにより好ましくは、Hyp^xは、式(e-ii)、式(e-iii)、式(e-vii)又は式(e-viii)の構造を有し、最も好ましくは、Hyp^xは、式(e-iii)の構造を有する。

【0119】

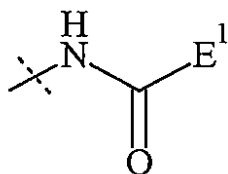
Hyp^xが結合形態でリシンを含む場合、それは、D-リシンを含むことが好ましく、その理由は、意外なことに、L-リシンを含む骨格部分とは対照的に、D-リシンを含む骨格部分を含むヒドロゲルは、患者に投与される場合、より安定であるからであることがわかったからである。

10

【0120】

骨格試薬が式(I)の構造を有する場合、好ましい部分-A²-Hyp¹は、式

【化29】



20

(式中、

破線は、Pへの結合を示し、

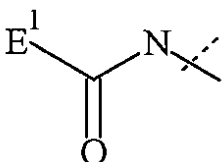
E¹は、式(e-i)から式(e-ix)から選択される)

の部分である。

【0121】

骨格試薬が式(II)の構造を有する場合、好ましい部分Hyp²-A³-は、式

【化30】



30

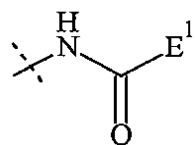
(式中、

破線は、Pへの結合を示し、

E¹は、式(e-i)から式(e-ix)から選択される)

の部分であり、好ましい部分-A⁴-Hyp³は、式

【化31】



40

(式中、

破線は、Pへの結合を示し、

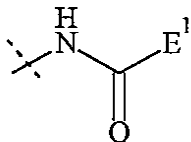
E¹は、式(e-i)から式(e-ix)から選択される)

の部分である。

【0122】

骨格試薬が式(III)の構造を有する場合、好ましい部分-A⁵-Hyp⁴は、式

【化 3 2】



(式中、

破線は、 P^1 への結合を示し、 E^1 は、式(e-i)から式(e-ix)から選択される)

の部分である。

10

【0 1 2 3】

より好ましくは、骨格試薬は、式(I)の構造を有し、Bは、式(a-xiv)の構造を有する。

【0 1 2 4】

さらにより好ましくは、骨格試薬は、式(I)の構造を有し、Bは、式(a-xiv)の構造を有し、 x_1 及び x_2 は、0であり、 A^1 は、-O-である。

【0 1 2 5】

さらにより好ましくは、骨格試薬は、式(I)の構造を有し、Bは、式(a-xiv)の構造を有し、 A^1 は、-O-であり、Pは、式(c-i)の構造を有する。

【0 1 2 6】

さらにより好ましくは、骨格試薬は、式(I)のものであり、Bは、式(a-xiv)のものであり、 x_1 及び x_2 は、0であり、 A^1 は、-O-であり、Pは、式(c-i)のものである。

20

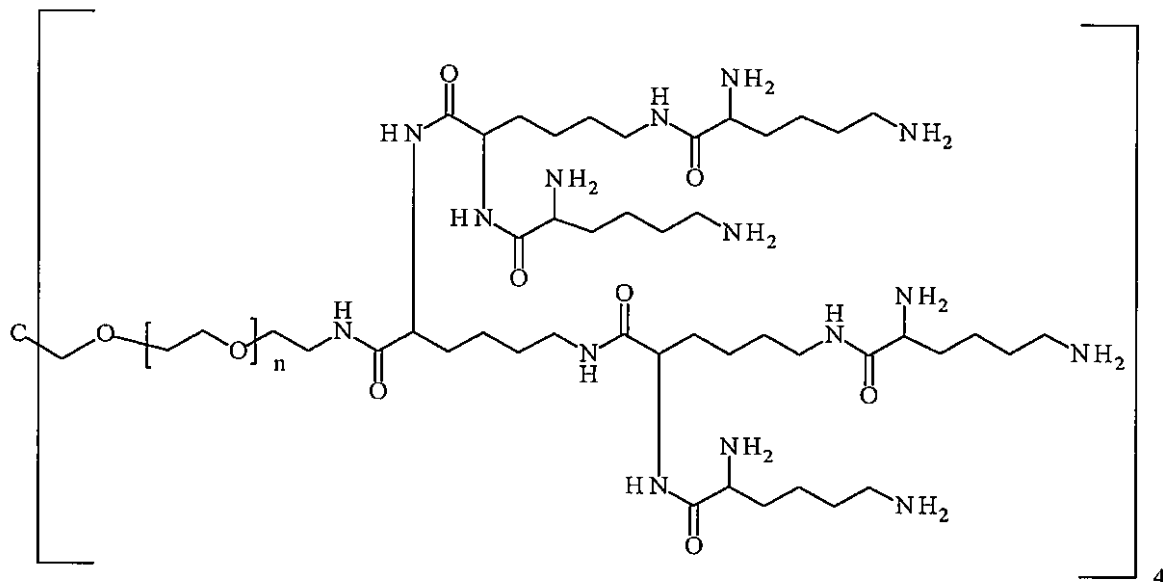
【0 1 2 7】

さらにより好ましくは、骨格試薬は、式(I)であり、Bは、式(a-xiv)のものであり、 x_1 及び x_2 は、0であり、 A^1 は、-O-であり、Pは、式(c-i)のものであり、 A^2 は、-NH-(C=O)-であり、 Hyp^1 は、式(e-iii)のものである。

【0 1 2 8】

最も好ましくは、骨格試薬は、以下の式：

【化 3 3】



30

40

4

(式中、

n は、10から40、好ましくは10から30、より好ましくは10から20の範囲である)を有する。

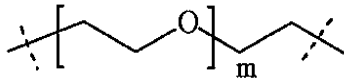
【0 1 2 9】

同様に好ましくは、 n は、20から30kDaの範囲であり、最も好ましくは、 n は28である。

【0 1 3 0】

50

【化 3 5】



であり、

mは、120から920、好ましくは120から460、より好ましくは120から230の範囲であり、

r1、r2、r7、r8は、独立して、0又は1であり、

r3、r6は、独立して、0、1、2、3又は4であり、

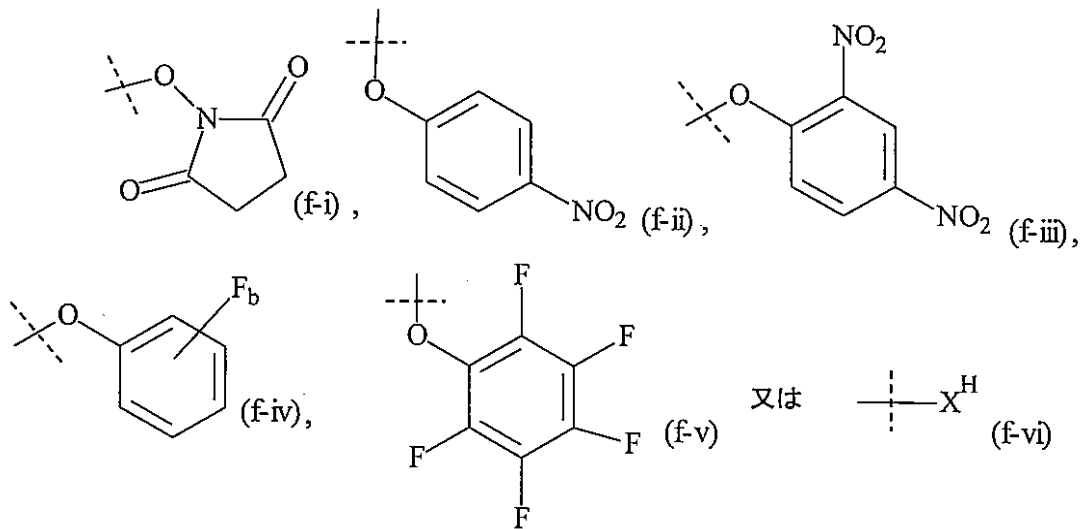
r4、r5は、独立して、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、

s1、s2は、独立して、1、2、3、4、5又は6であり、

Y¹、Y²は、同一であり又は異なり、それぞれは、式(f-i)から式(f-vi):

10

【化 3 6】



20

(式中、

破線は、分子の残りへの結合を示し、

bは、1、2、3又は4であり、

X^Hは、Cl、Br、I、又はFである)

30

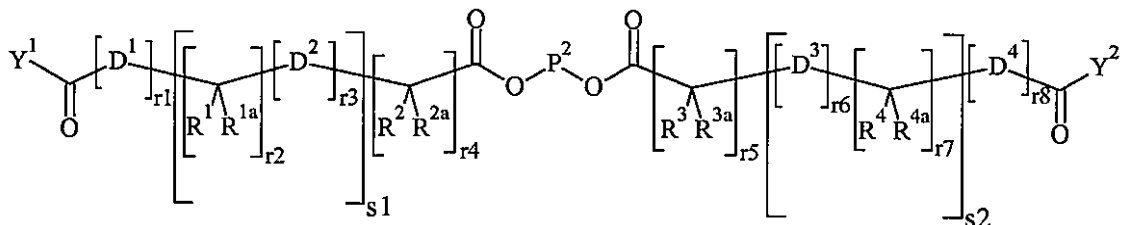
から互いに独立して選択される]

の化合物である。

【0 1 3 5】

好ましくは、クロスリンカー試薬は、式(V-II):

【化 3 7】



40

[式中、

D¹、D²、D³及びD⁴は、同一であり又は異なり、それぞれは、-O-、-NR⁵-、-S-及び-CR⁵R^{5a}-を含む群から互いに独立して選択され、

R¹、R^{1a}、R²、R^{2a}、R³、R^{3a}、R⁴、R^{4a}、R⁵及びR^{5a}は、同一であり又は異なり、それぞれは、H及びC₁~₆アルキルを含む群から互いに独立して選択され；任意選択で、対R¹/R^{1a}、R²/R^{2a}、R³/R^{3a}、R⁴/R^{4a}、R¹/R²、R³/R⁴、R^{1a}/R^{2a}、及びR^{3a}/R^{4a}の1つ以上は、化学結合を形成するか、或いはそれらが結合している原子と一緒にあって、C₃~₈シクロアルキルを形成し若しくは環Aを形成し、又はそれらが結合している原子と一緒にあって、4から

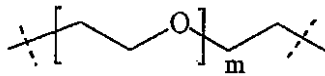
50

7員ヘテロシクリル若しくは8から11員ヘテロビシクリル若しくはアダマンチルを形成し、

Aは、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル及びテトラリニルからなる群から選択され、

p^2 は、

【化38】



であり、

mは、120から920、好ましくは120から460、より好ましくは120から230の範囲であり、

r1、r2、r7、r8は、独立して、0又は1であり、

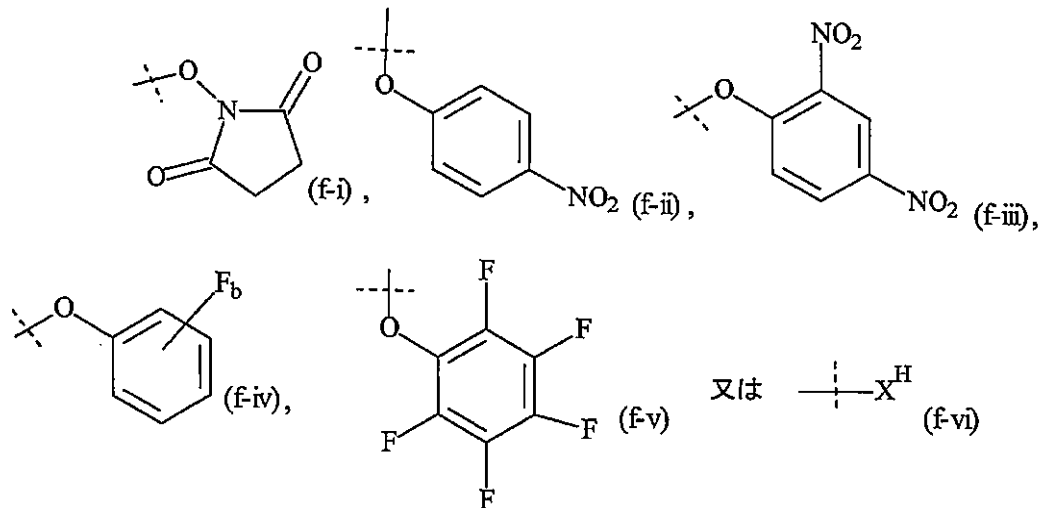
r3、r6は、独立して、0、1、2、3又は4であり、

r4、r5は、独立して、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり、

s1、s2は、独立して、1、2、3、4、5又は6であり、

Y^1 、 Y^2 は、同一であり又は異なり、それぞれは、式(f-i)から式(f-vi):

【化39】



(式中、

破線は、分子の残りへの結合を示し、

bは、1、2、3又は4であり、

x^H は、Cl、Br、I又はFである)

から互いに独立して選択される]

の化合物である。

【0136】

部分

【化40】



は、少なくとも2個の活性官能末端基を表すことが理解される。

【0137】

好ましくは、式(V-I)及び式(V-II)の Y^1 及び Y^2 は、式(f-i)、式(f-ii)又は式(f-v)の構造を有する。より好ましくは、 Y^1 及び Y^2 は、式(f-i)又は式(f-ii)の構造を有し、最も好ましくは、 Y^1 及び Y^2 は、式(f-i)の構造を有する。

【0138】

好ましくは、式(V-I)及び式(V-II)の部分 Y^1 と部分 Y^2 の両方ともは、同じ構造を有する

。より好ましくは、部分 Y^1 と部分 Y^2 の両方ともは、式(f-i)の構造を有する。

【0139】

好ましくは、式(V-I)及び式(V-II)の r_1 は、0である。

【0140】

好ましくは、式(V-I)及び式(V-II)の r_1 及び s_1 は、両方とも0である。

【0141】

好ましくは、式(V-I)及び式(V-II)の対 R^1/R^{1a} 、 R^2/R^{2a} 、 R^3/R^{3a} 、 R^4/R^{4a} 、 R^1/R^2 、 R^3/R^4 、 R^{1a}/R^{2a} 、及び R^{3a}/R^{4a} の1つ以上は、化学結合を形成するか、又はそれらが結合している原子と一緒にあって、 $C_3 \sim 8$ シクロアルキルを形成し、若しくは環Aを形成する。

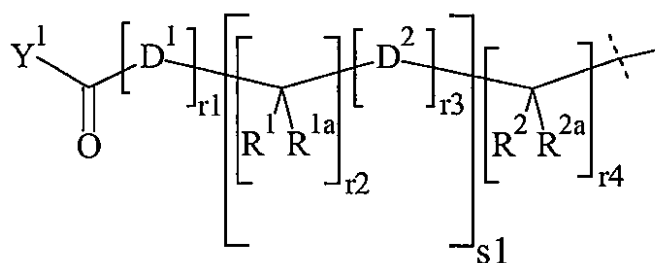
【0142】

好ましくは、式(V-I)及び式(V-II)の対 R^1/R^2 、 R^{1a}/R^{2a} 、 R^3/R^4 、 R^{3a}/R^{4a} の1つ以上は、それらが結合している原子と一緒にあって、4から7員ヘテロシクリル又は8から11員ヘテロピシクリルを形成する。

【0143】

好ましくは、式(V-I)及び式(V-II)のクロスリンカー試薬は、対称である、すなわち、部分

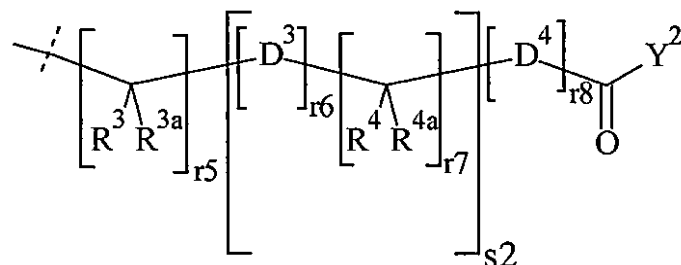
【化41】



20

は、部分

【化42】



30

と同じ構造を有する。

【0144】

1つの好ましい実施形態において、式(V-I)及び式(V-II)の s_1 、 s_2 、 r_1 及び r_8 は、0である。

【0145】

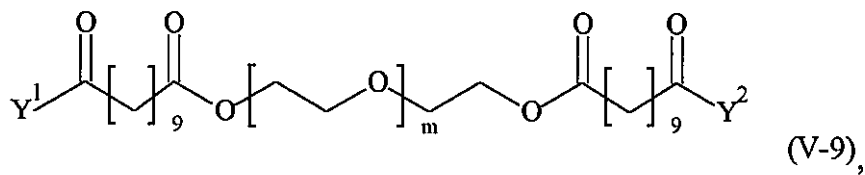
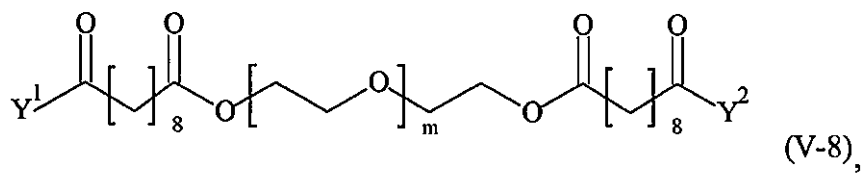
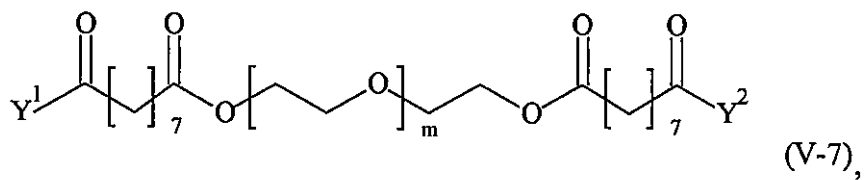
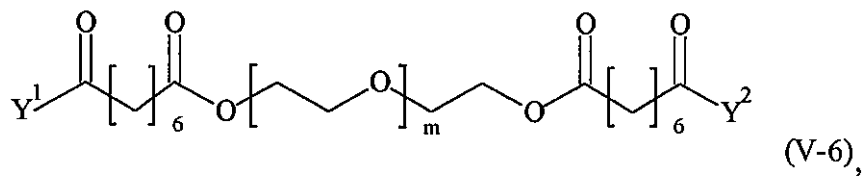
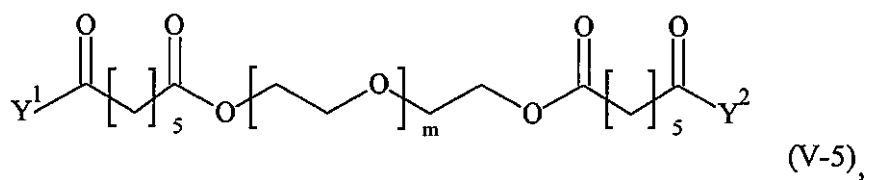
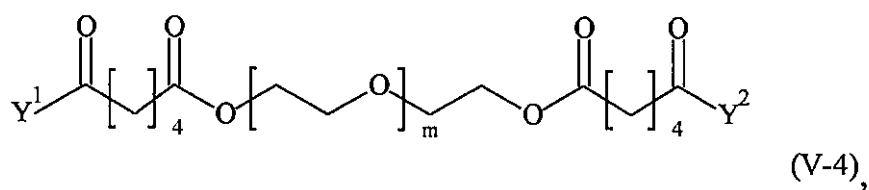
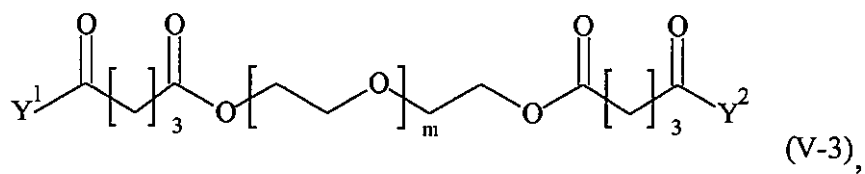
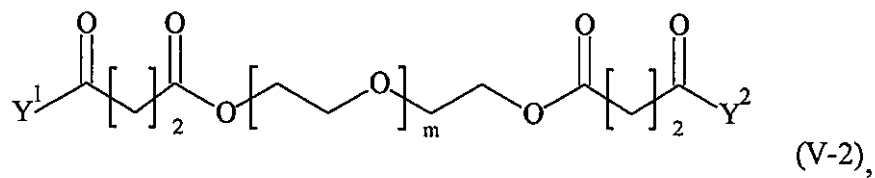
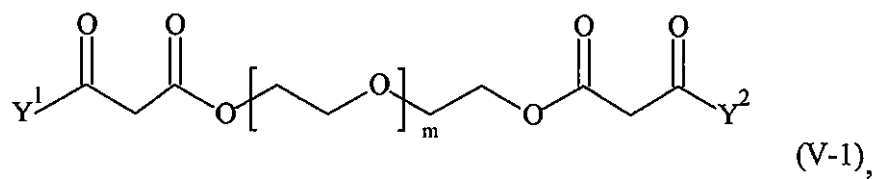
別の好ましい実施形態において、式(V-I)及び式(V-II)の s_1 、 s_2 、 r_1 及び r_8 は、0であり、式(V-I)及び式(V-II)の r_4 、並びに r_5 は、1である。

【0146】

好ましいクロスリンカー試薬は、式(V-I)から式(V-54):

40

【化 4 3】

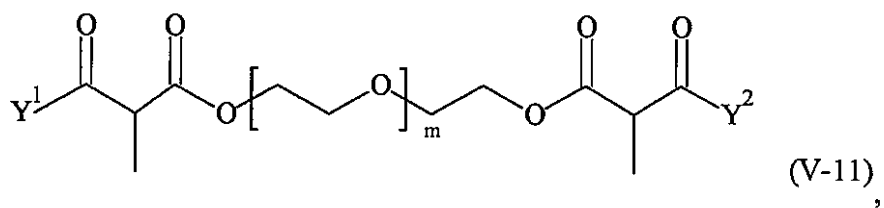
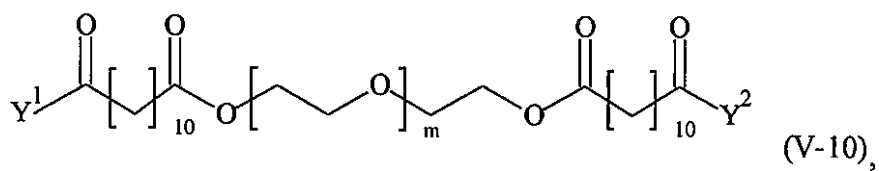


10

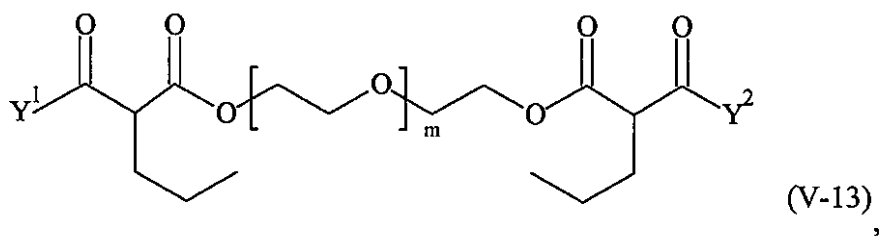
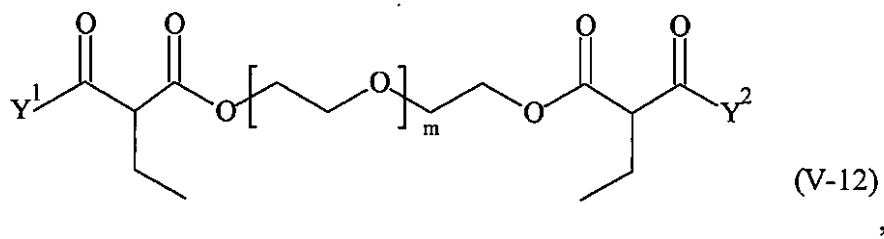
20

30

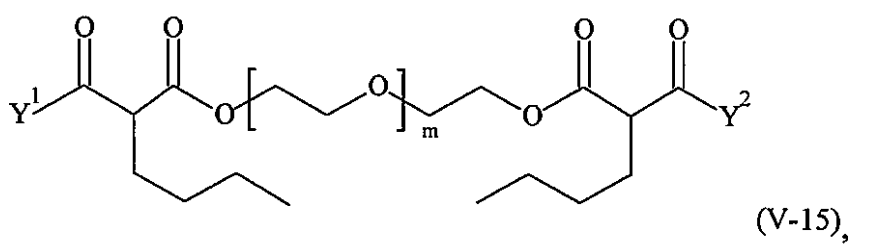
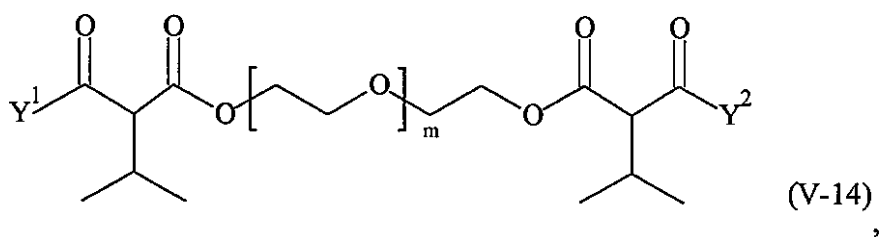
40



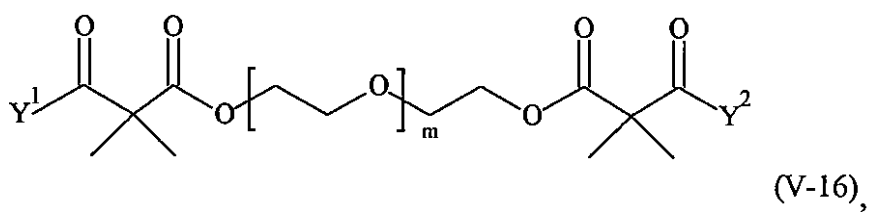
10



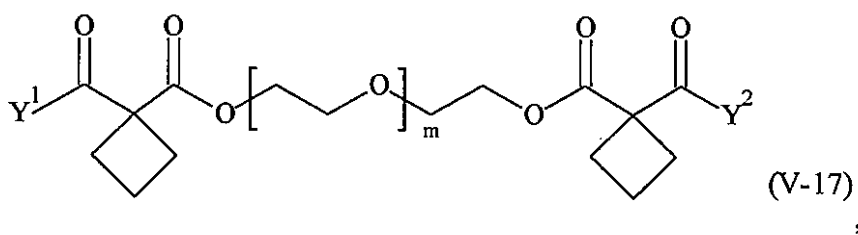
20

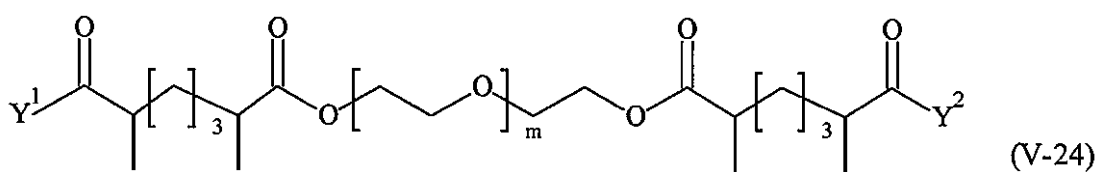
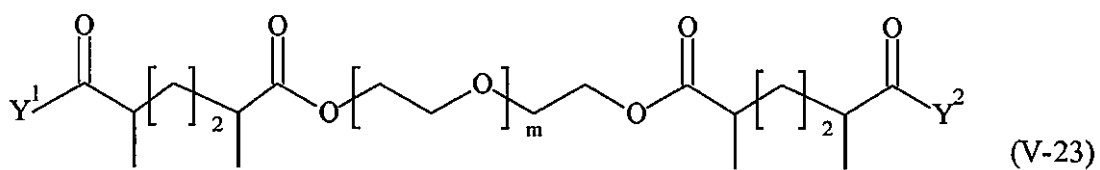
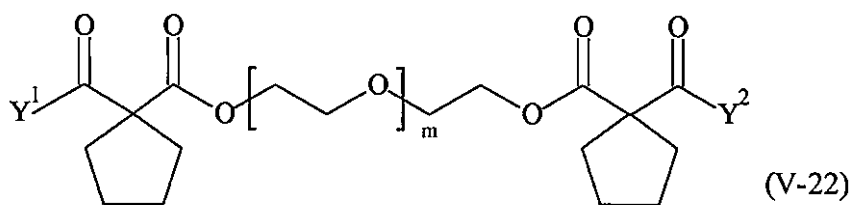
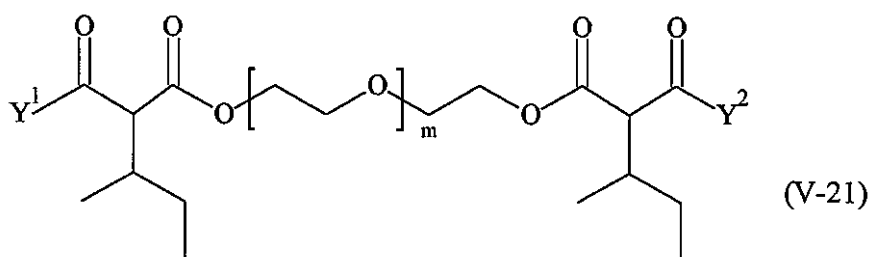
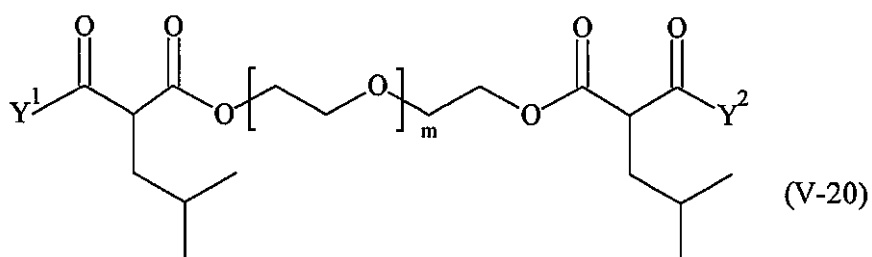
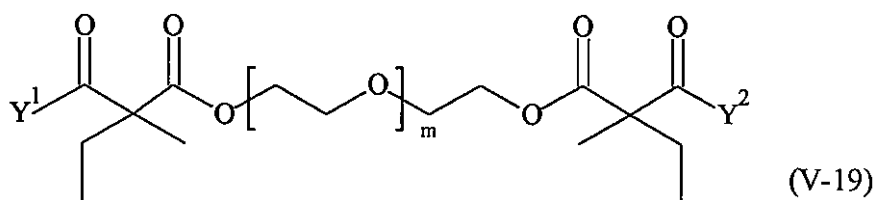
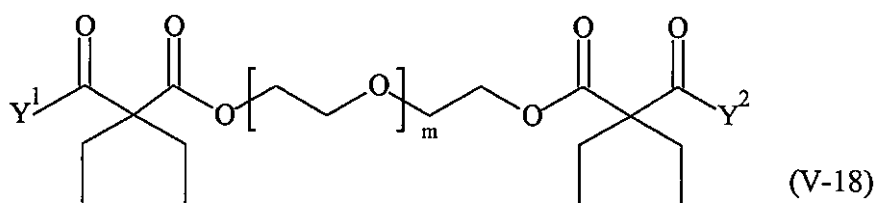


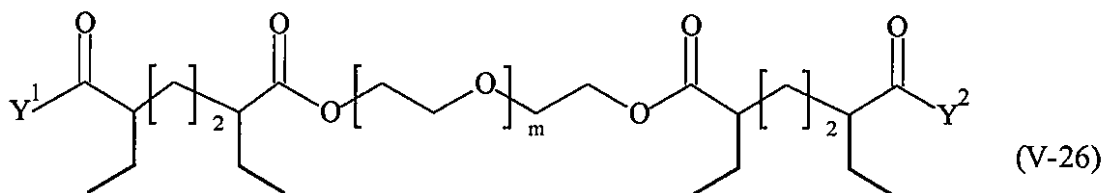
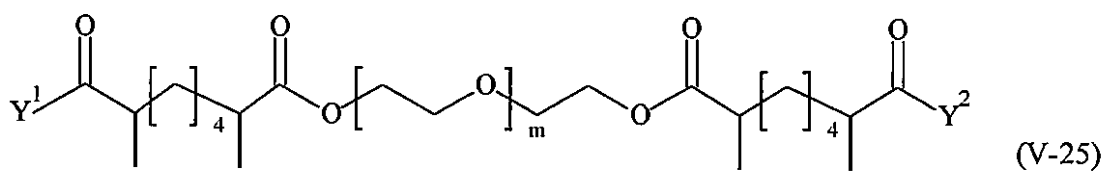
30



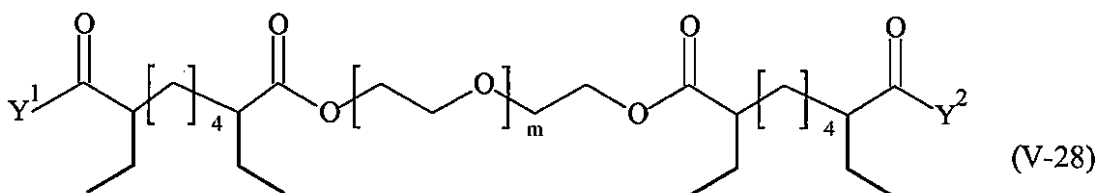
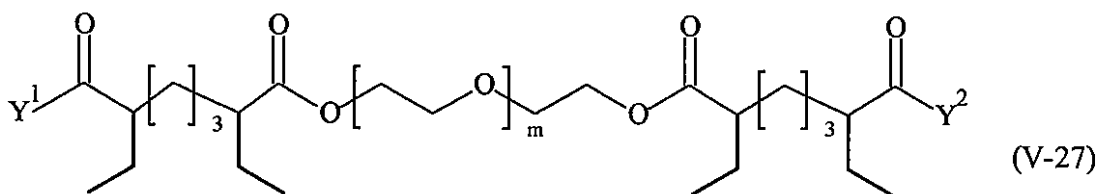
40



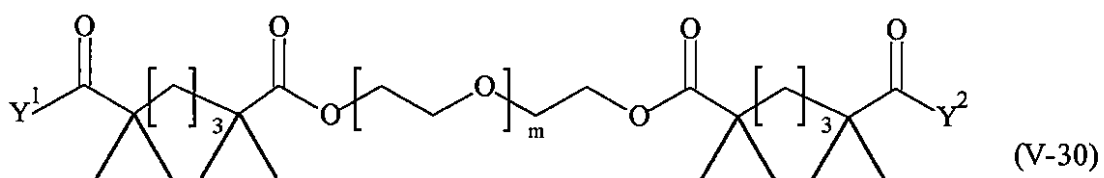
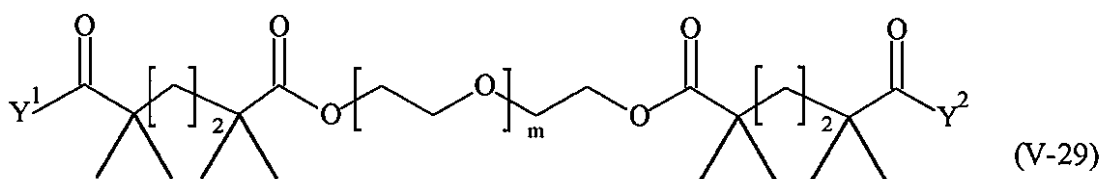




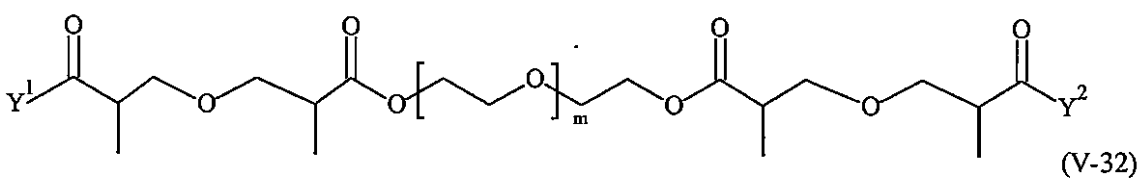
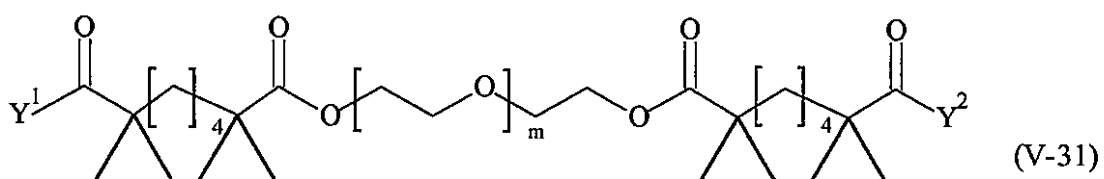
10



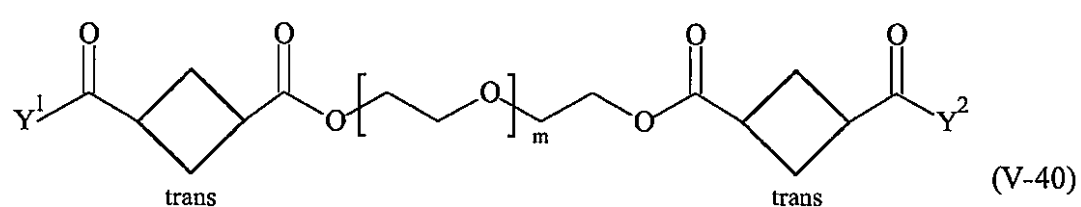
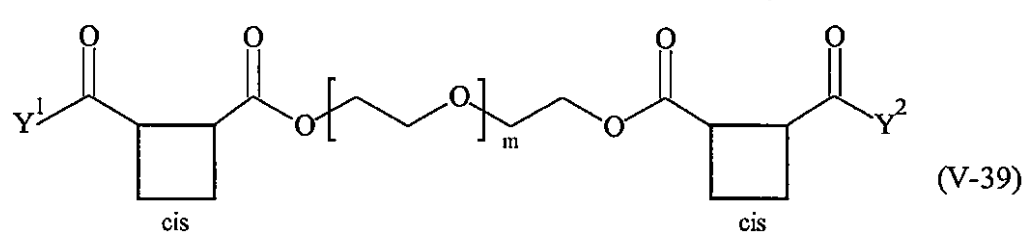
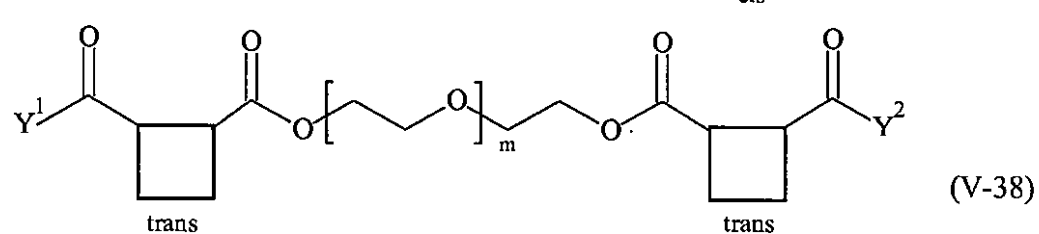
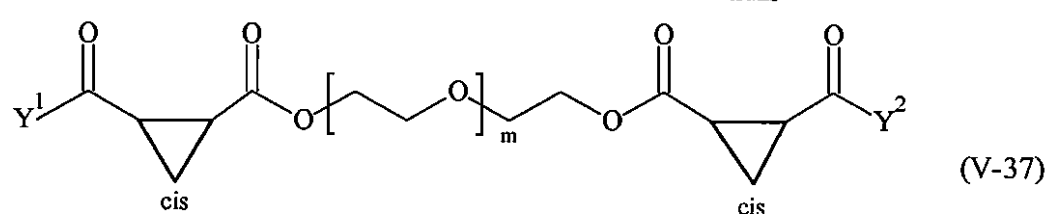
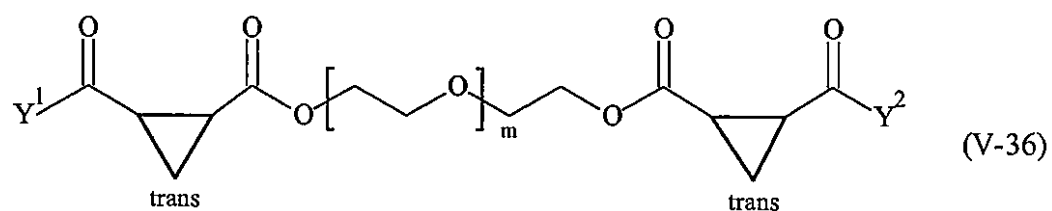
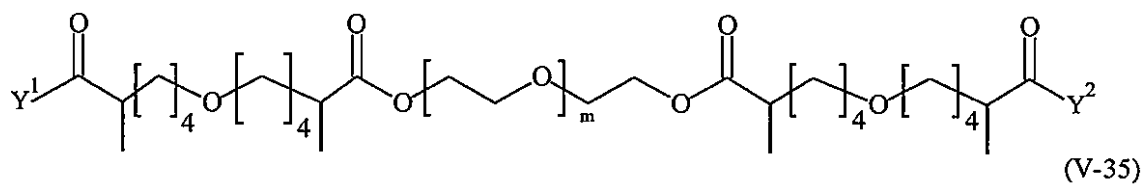
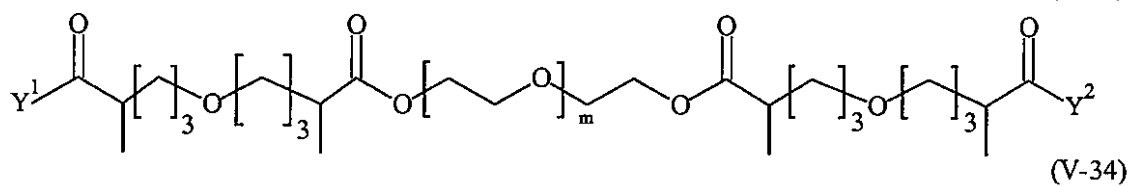
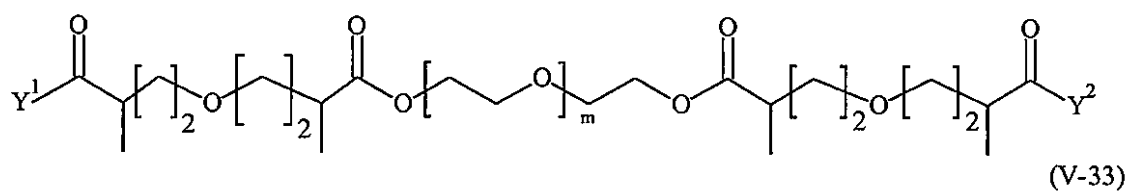
20



30



40

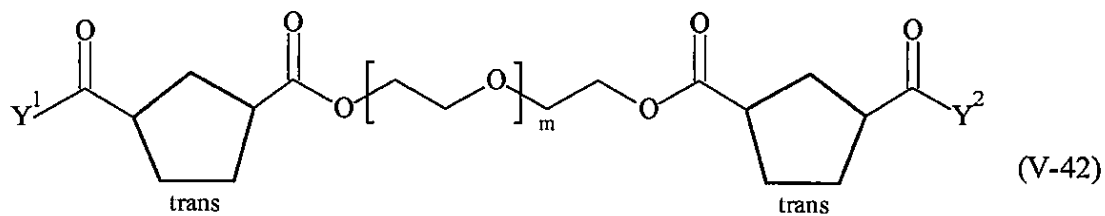
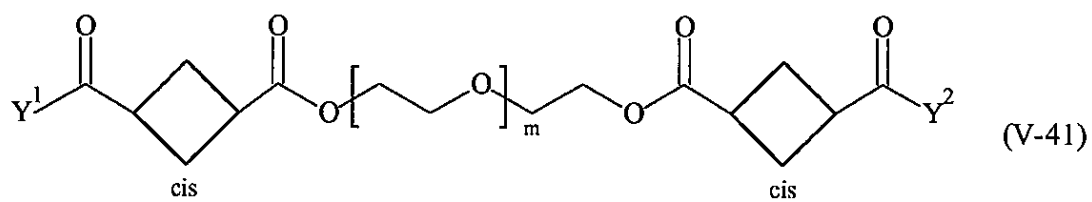


10

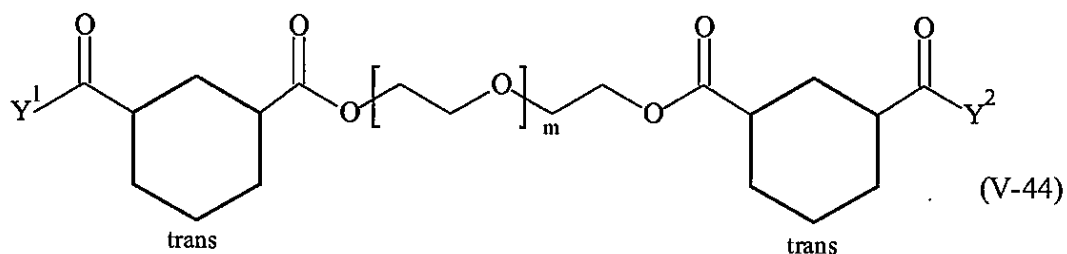
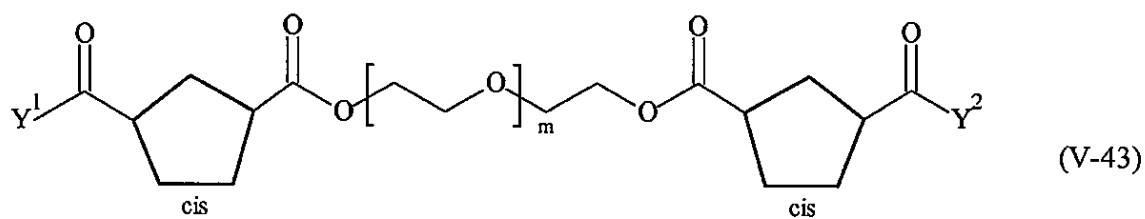
20

30

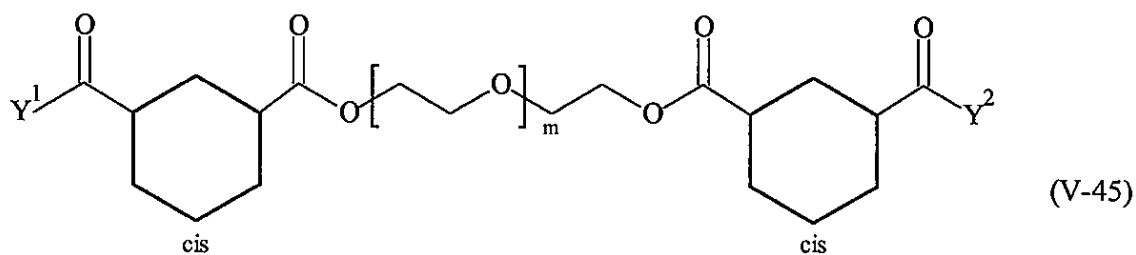
40



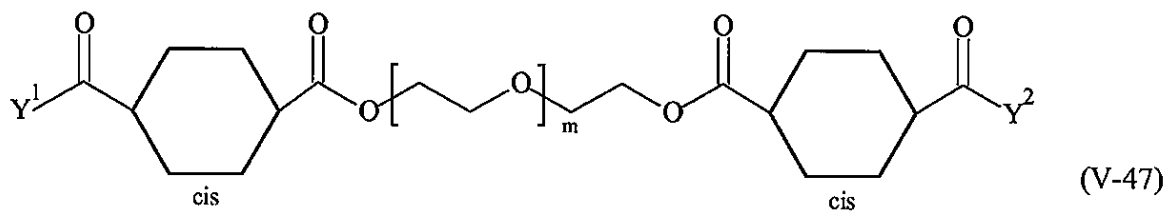
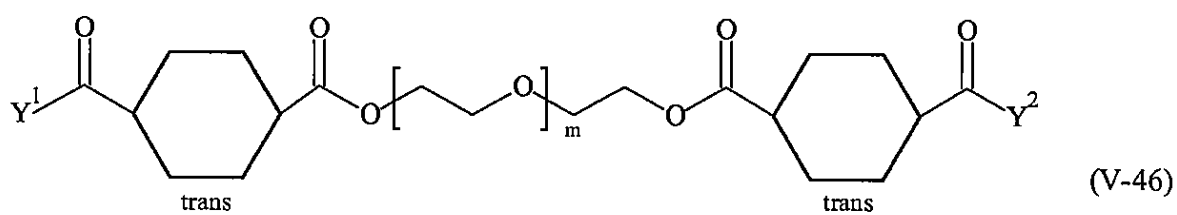
10



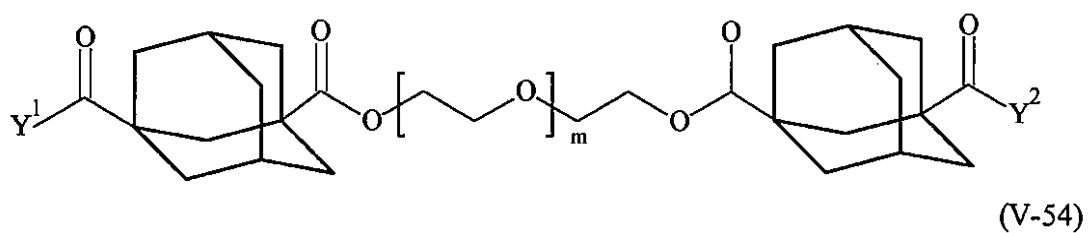
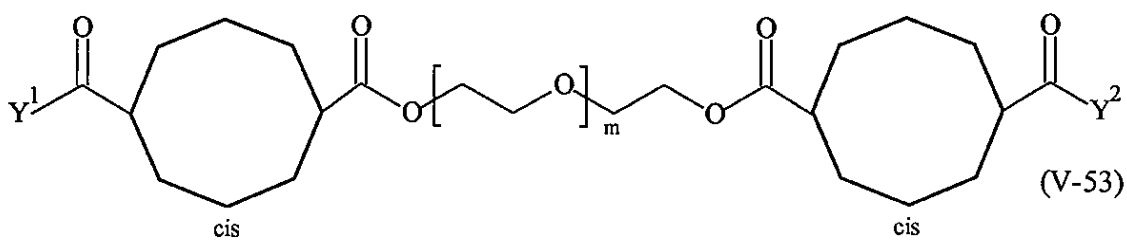
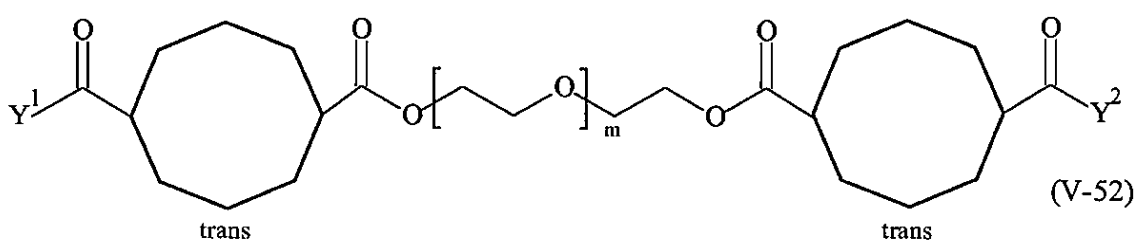
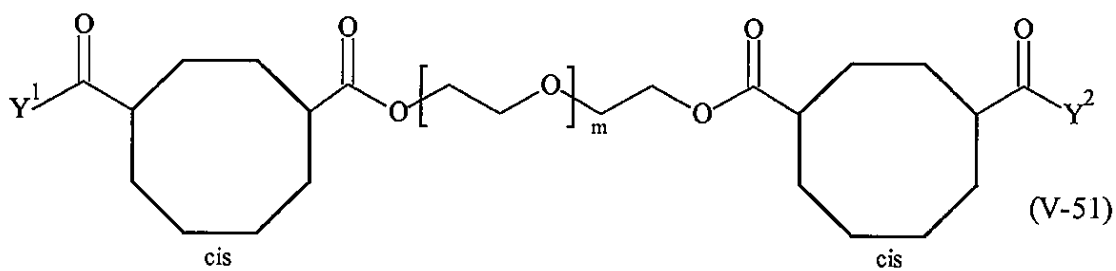
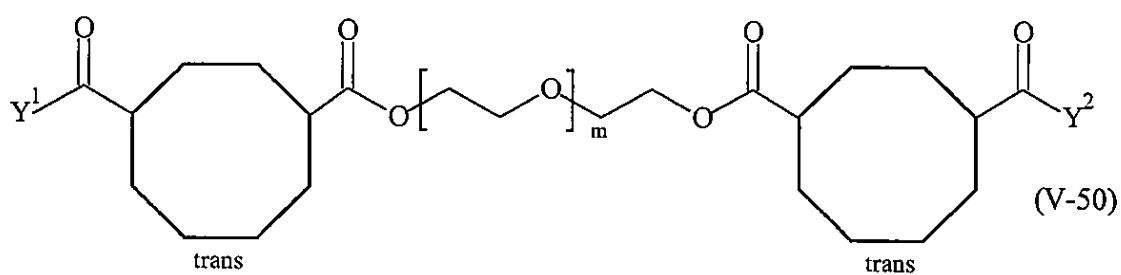
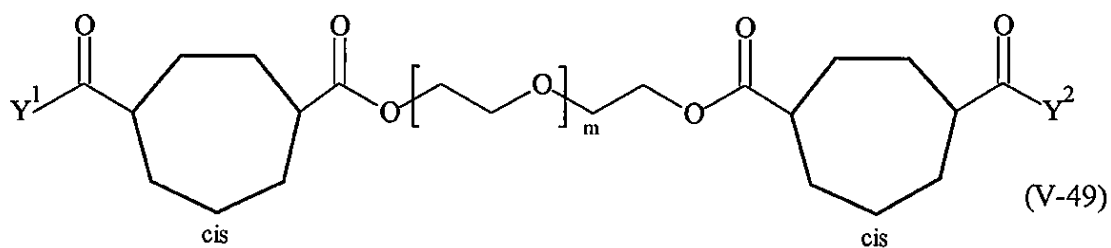
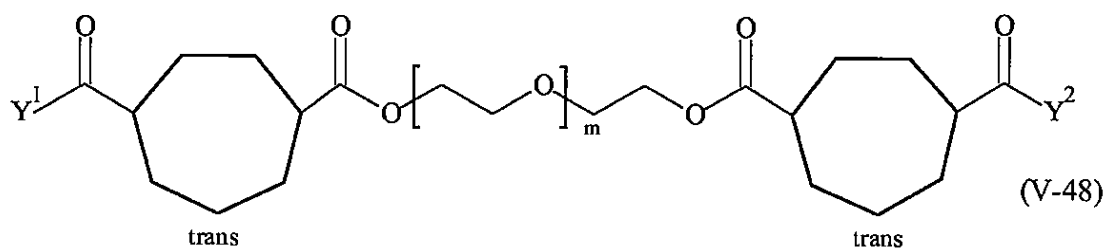
20



30



40



(ここで、

10

20

30

40

50

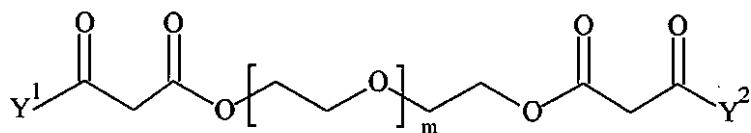
それぞれのクロスリンカー試薬は、適用可能な場合、そのラセミ混合物の形態であってもよく、

m、Y¹及びY²は、上記のとおりに定義される)のものである。

【 0 1 4 7 】

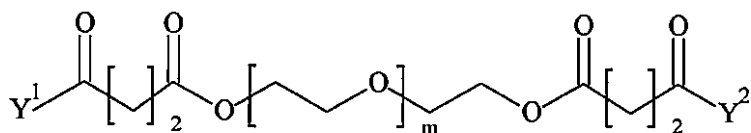
さらにより好ましいクロスリンカー試薬は、式(Va-I)から式(Va-54):

【 化 4 4 】

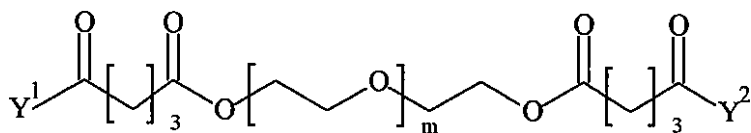


(Va-1)

10

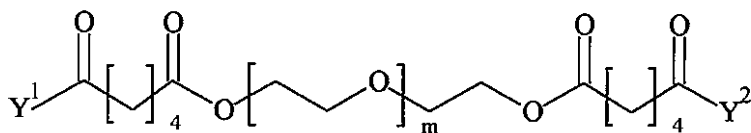


(Va-2)

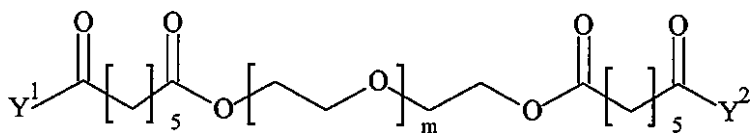


(Va-3)

20

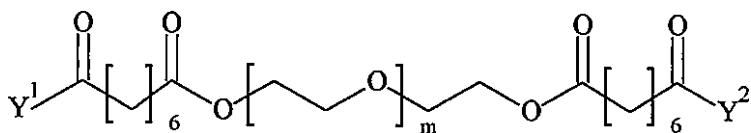


(Va-4)

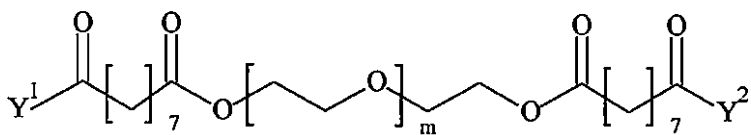


(Va-5)

30

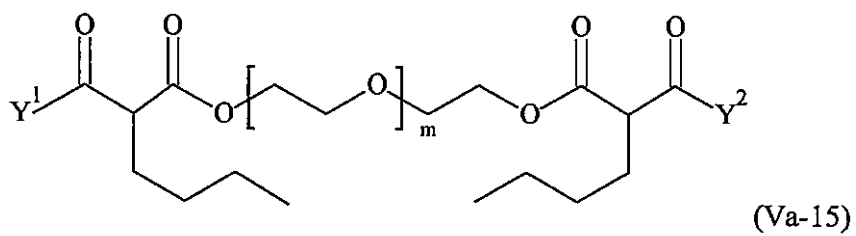
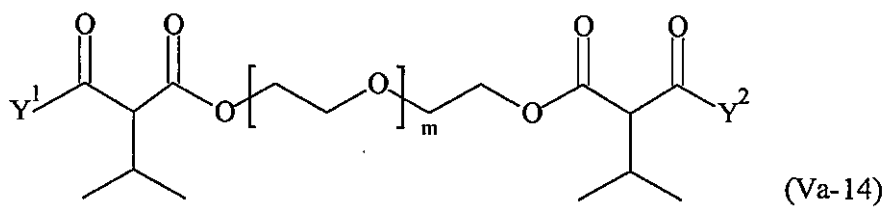
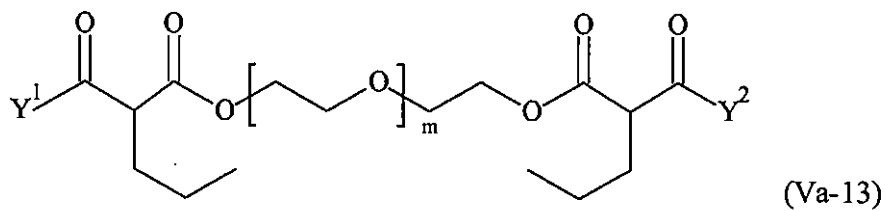
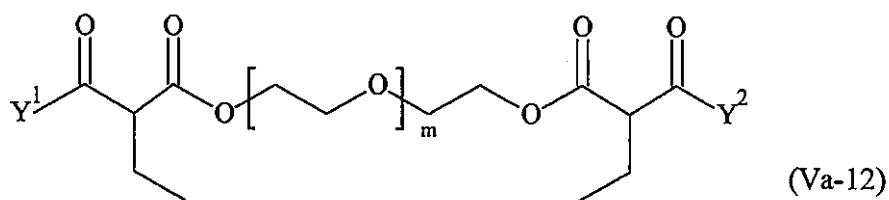
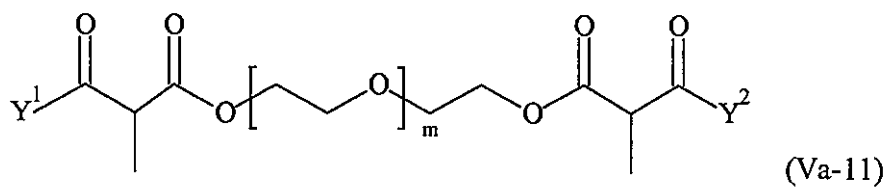
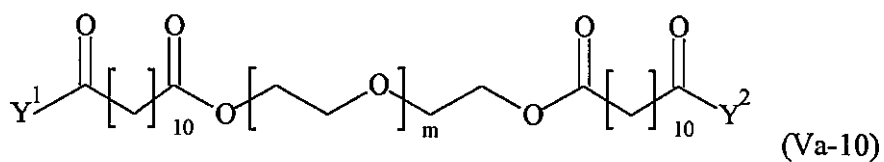
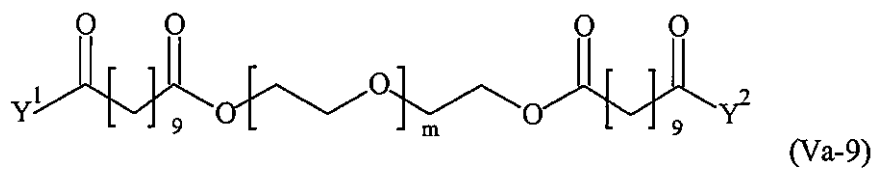
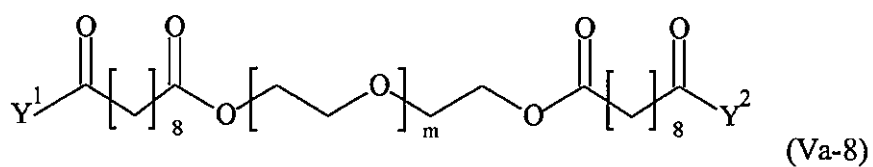


(Va-6)



(Va-7)

40

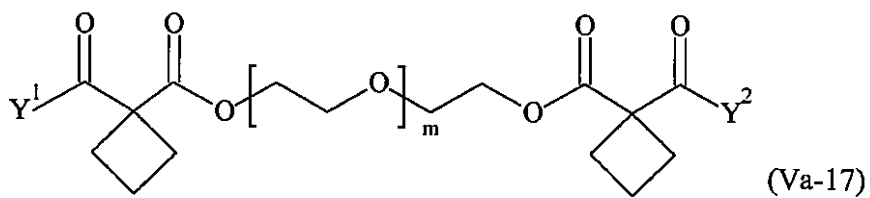
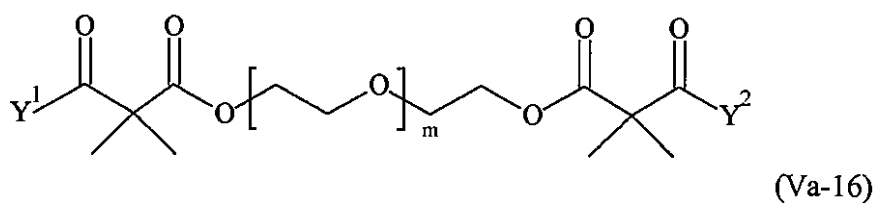


10

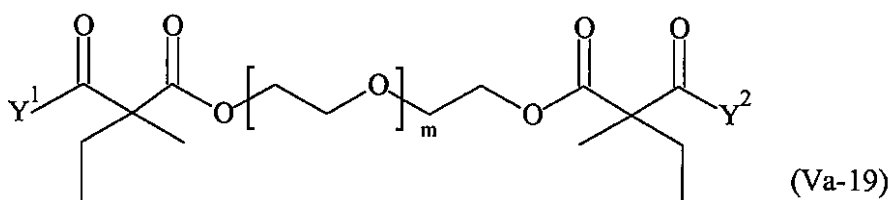
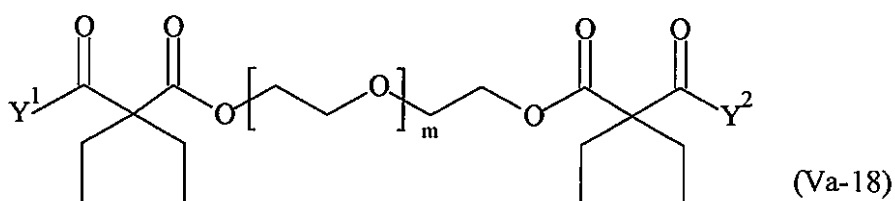
20

30

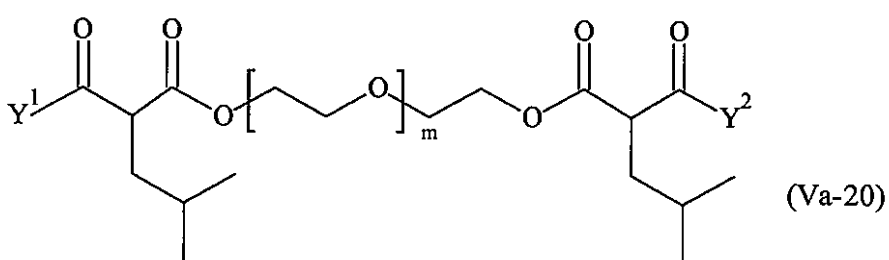
40



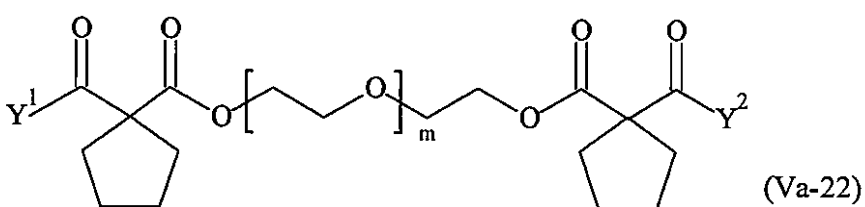
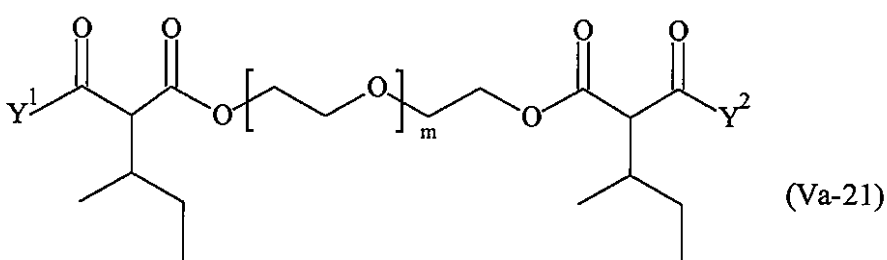
10



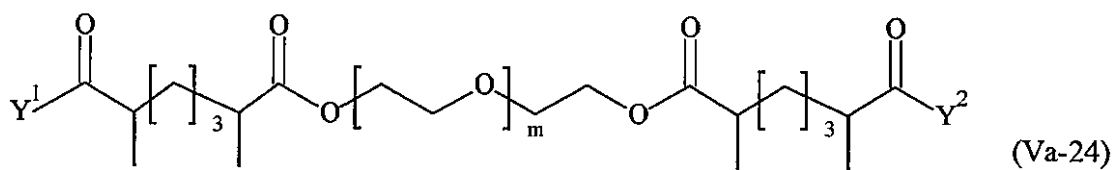
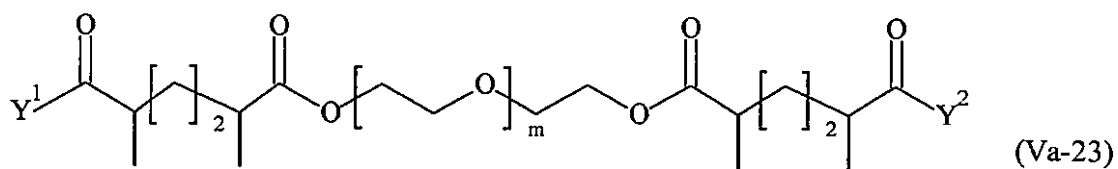
20



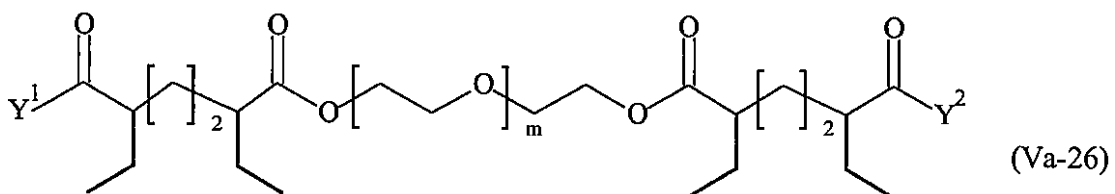
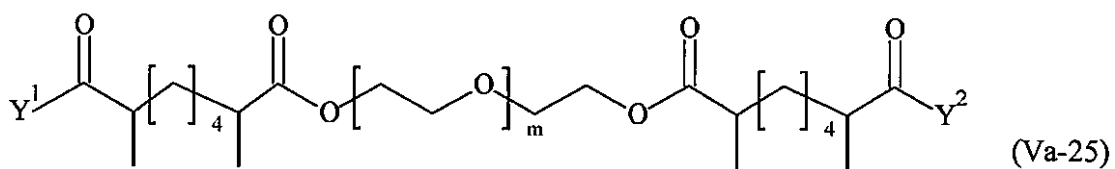
30



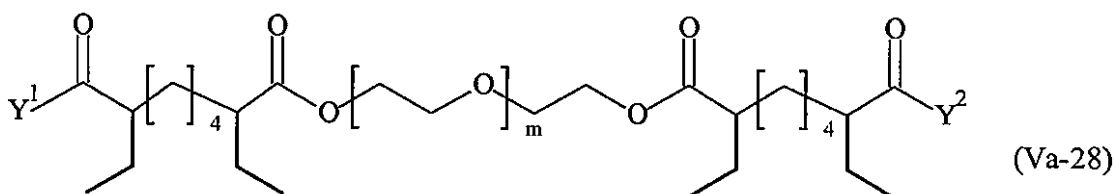
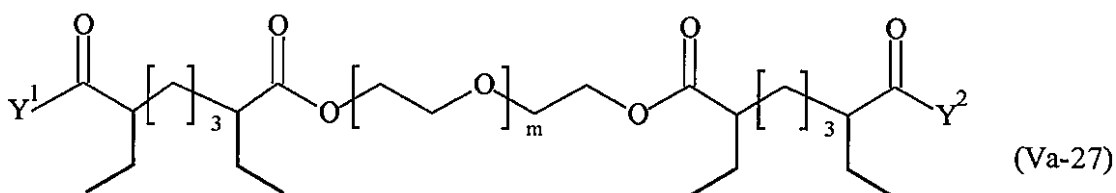
40



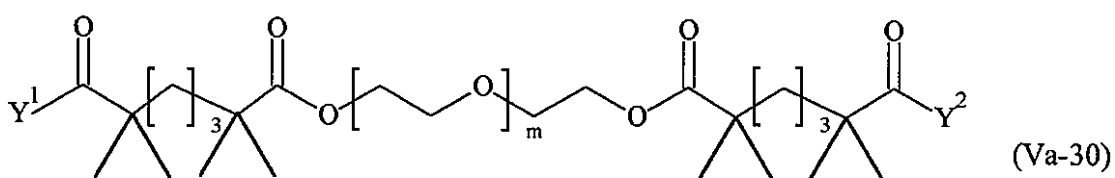
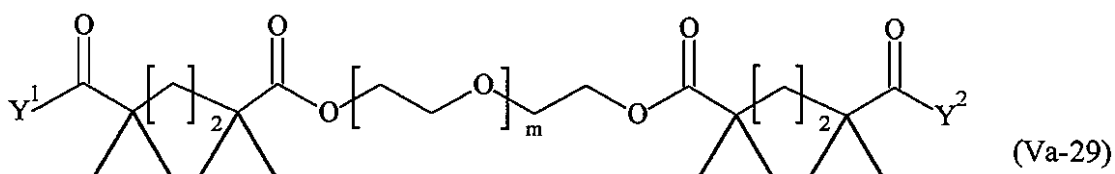
10



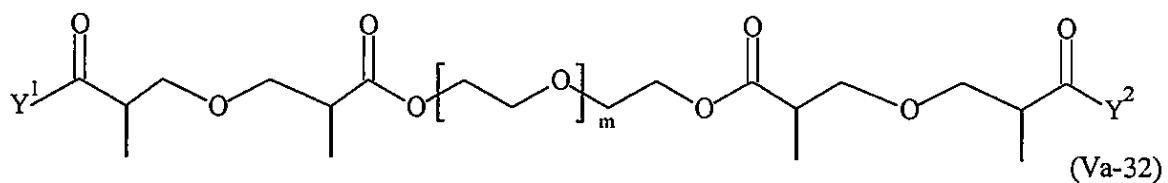
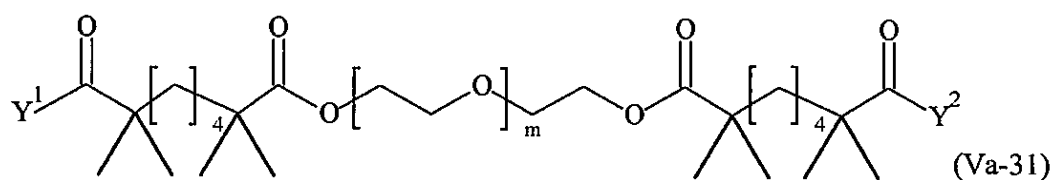
20



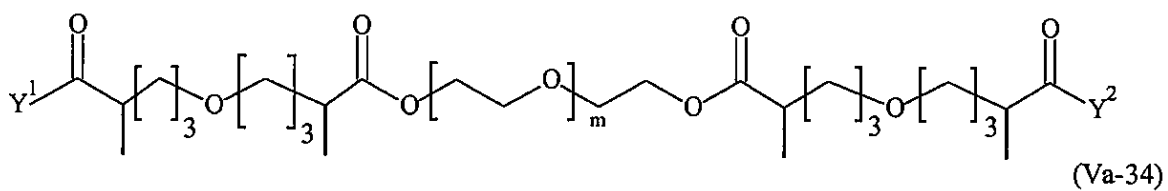
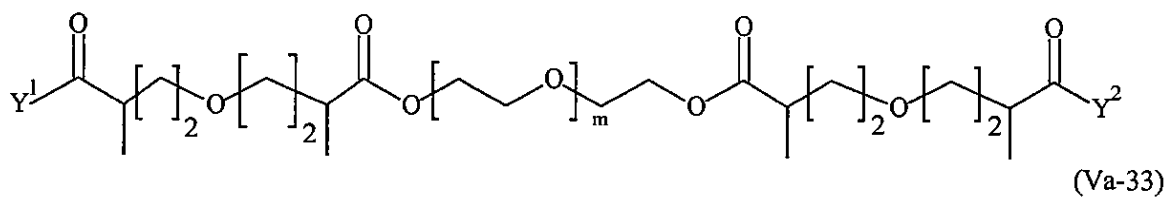
30



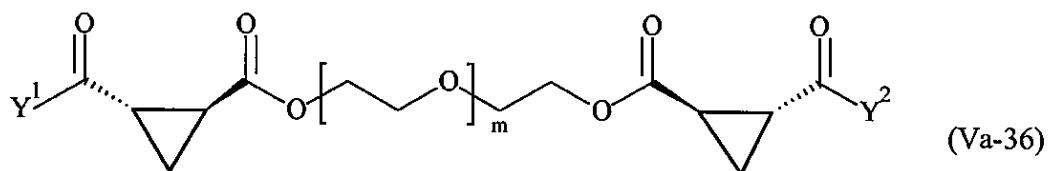
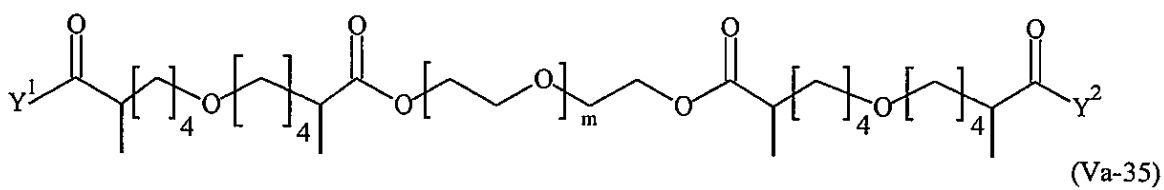
40



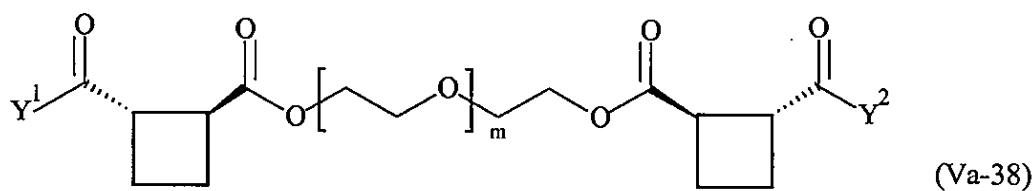
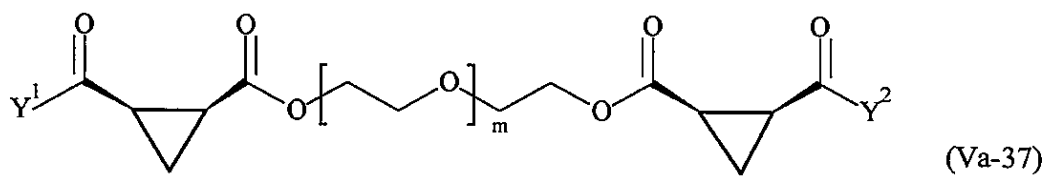
10



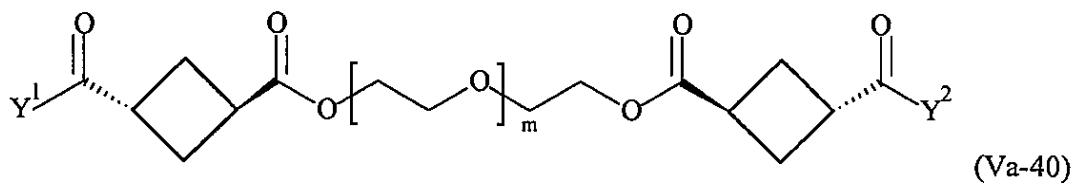
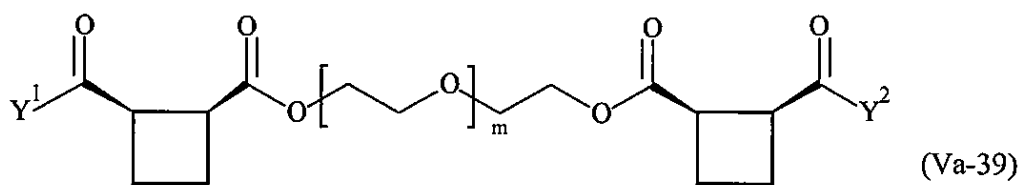
20



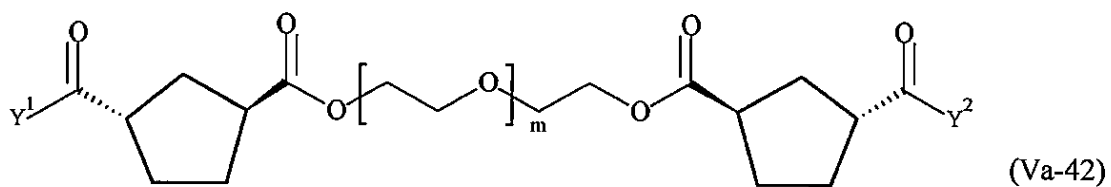
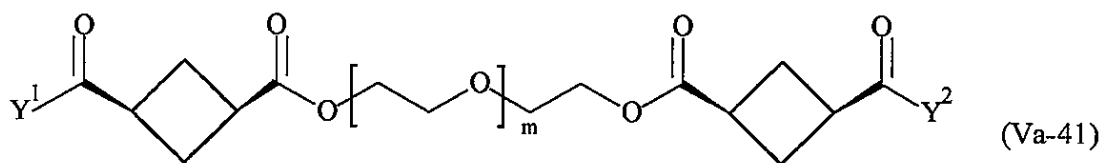
30



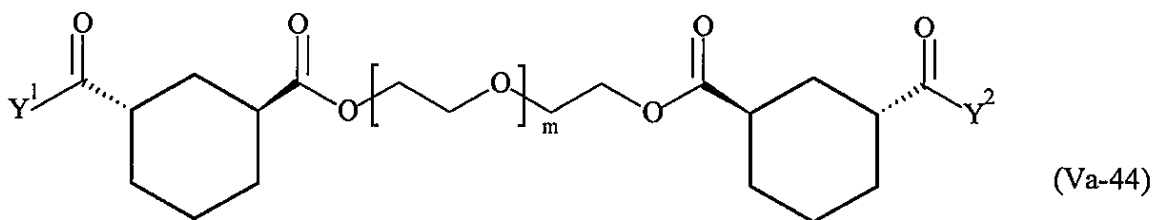
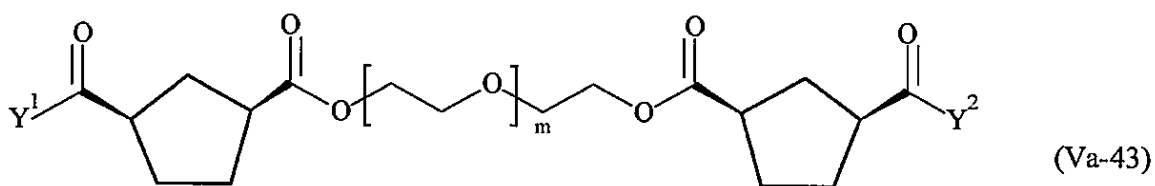
40



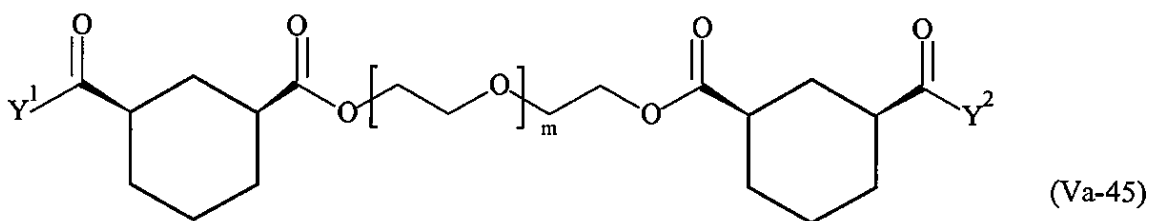
10



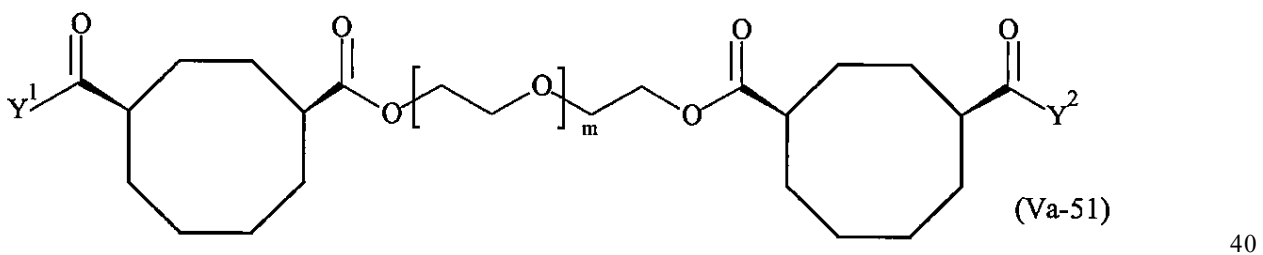
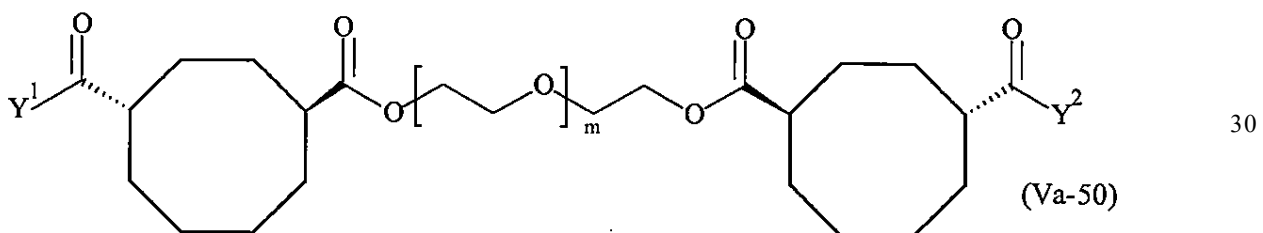
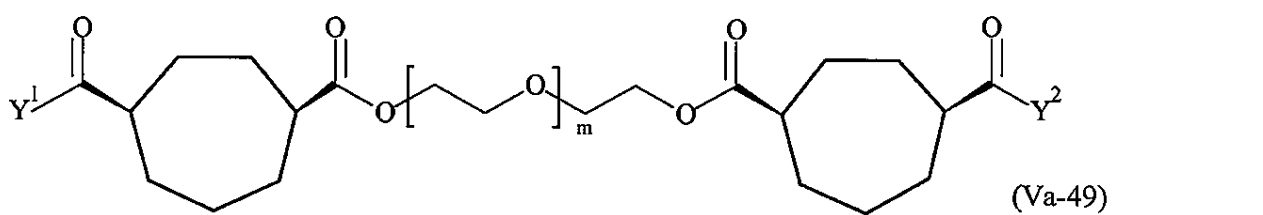
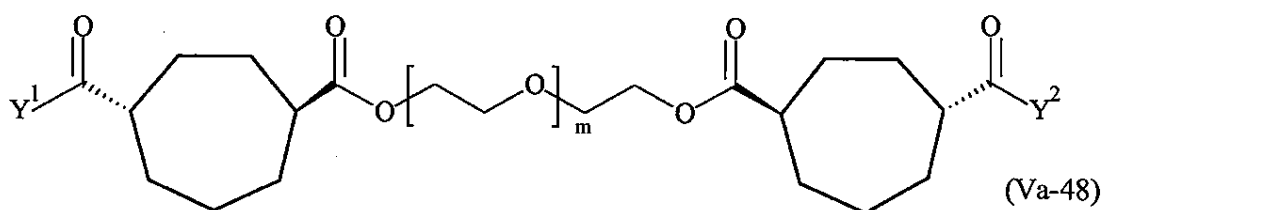
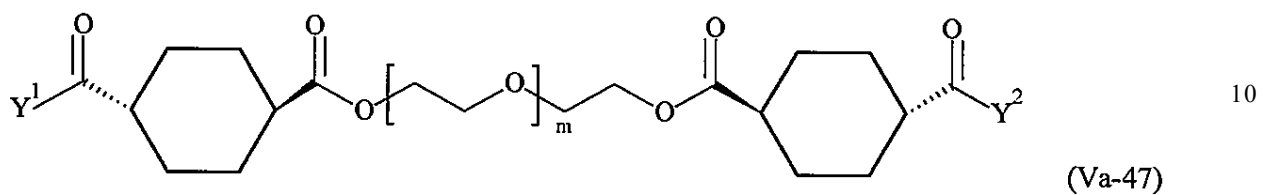
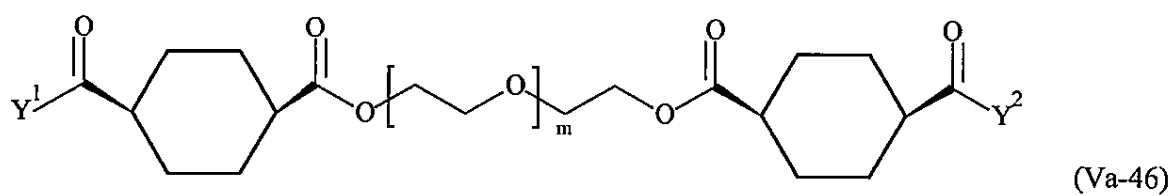
20

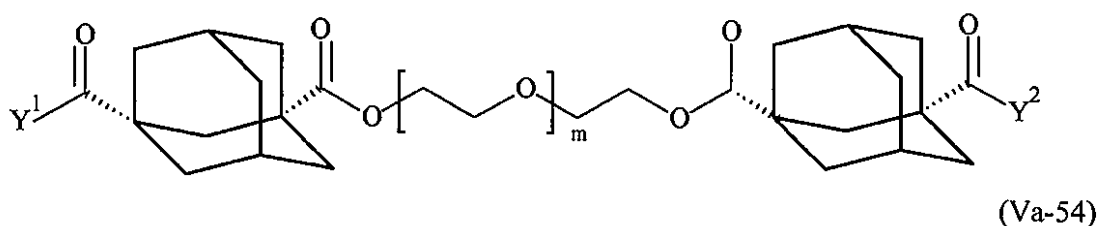
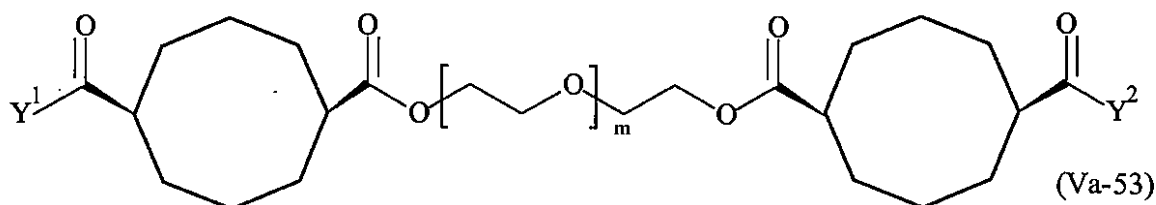
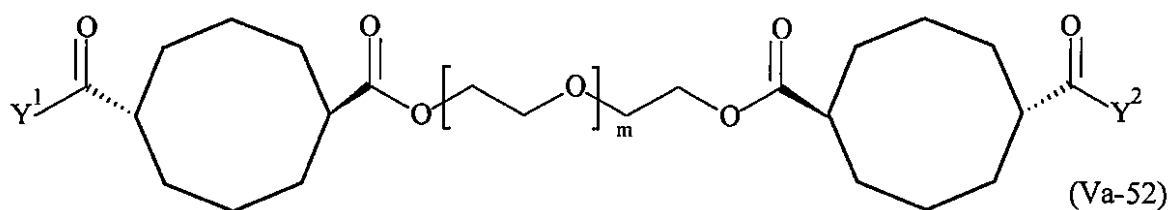


30



40





(ここで、

それぞれのクロスリンカー試薬は、適用可能な場合、そのラセミ混合物の形態であってもよく、

m、Y¹及びY²は、上記のとおりに定義される)のものである。

【 0 1 4 8 】

意外なことに、カルボニルオキシ基のアルファ炭素で、分岐、すなわち、H以外の残基を有するクロスリンカー試薬の使用は、エステラーゼによる分解などの、酵素分解に対してより耐性であるヒドロゲルの形成をもたらすことがわかった。

【 0 1 4 9 】

同様に、意外なことに、カルボニルオキシ基の(C=O)と、隣接する活性エステル、活性カルバメート、活性カーボネート、又は活性チオカルバメートの(C=O)との間で原子が少なくければ少ないほど、得られるヒドロゲルは、分解に対してより耐性、例えば、エステラーゼによる分解に対してより耐性であることがわかった。

【 0 1 5 0 】

したがって、クロスリンカー試薬V-11からV-54、V-1、V-2、Va-11からVa-54、Va-1及びVa-2は、好ましいクロスリンカー試薬である。クロスリンカー試薬Va-11からVa-54、Va-1及びVa-2は、最も好ましいクロスリンカー試薬である。最も好ましいものは、クロスリンカー試薬Va-14である。

【 0 1 5 1 】

別の実施形態において、クロスリンカー試薬V-1、V-2、V-5、V-6、V-7、V-8、V-9、V-10、V-11、V-12、V-13、V-14、V-15、V-16、V-17、V-18、V-19、V-20、V-21、V-22、V-23、V-24、V-25、V-26、V-27、V-28、V-29、V-30、V-31、V-32、V-33、V-34、V-35、V-36、V-37、V-38、V-39、V-40、V-41、V-42、V-43、V-44、V-45、V-46、V-47、V-48、V-49、V-50、V-51、V-52、V-53及びV-54は、好ましいクロスリンカー試薬である。より好ましくは、少なくとも1種のクロスリンカー試薬は、式V-5、V-6、V-7、V-8、V-9、V-10、V-14、V-22、V-23、V-43、V-44、V-45又はV-46のものであり、最も好ましくは、少なくとも1種のクロスリンカー試薬は、式V-5、V-6、V-9又はV-14のものである。

【 0 1 5 2 】

別の実施形態において、クロスリンカー試薬Va-1、Va-2、Va-5、Va-6、Va-7、Va-8、Va-9、Va-10、Va-11、Va-12、Va-13、Va-14、Va-15、Va-16、Va-17、Va-18、Va-19、Va-20、Va-21、Va-22、Va-23、Va-24、Va-25、Va-26、Va-27、Va-28、Va-29、Va-30、Va-31、Va-32、Va-33、Va-34、Va-35、Va-36、Va-37、Va-38、Va-39、Va-40、Va-41、Va-42、Va-43、Va-44、Va-45、Va-46、Va-47、Va-48、Va-49、Va-50、Va-51、Va-52、Va-53及びVa-54は、さらにより好ましいクロスリンカー試薬である。より好ましくは、少なくとも1種のクロスリンカー試薬は、式Va-5、Va-6、Va-7、Va-8、Va-9、Va-10、Va-14、Va-22、Va-23、Va-43、Va-44、Va-45又はVa-46のものであり、最も好ましくは、少なくとも1種のクロスリンカー試薬は、式Va-5、Va-6、Va-9又はVa-14のものである。

【0153】

10

したがって、上に述べたとおりの式(V-I)及び式(V-II)の化合物の好ましい実施形態は、式(V-1)から式(V-54)の好ましい化合物及び式(Va-1)から式(Va-54)のより好ましい化合物に適用される。

【0154】

別の態様において、本発明は、上に定義されたとおりの本発明の方法によって得ることができるヒドロゲルに関する。

【0155】

ヒドロゲルは、0.01から1mmol/gの第一級アミン基(-NH₂)、より好ましくは、0.02から0.5mmol/gの第一級アミン基、最も好ましくは0.05から0.3mg/gの第一級アミン基を含有する。「Xmmol/gの第一級アミン基」という用語は、乾燥ヒドロゲル1gが、Xmmolの第一級アミン基を含むことを意味する。ヒドロゲルのアミン含有量の測定は、Gudeら(Letters in Peptide Science、2002、9(4):203~206、これはその全体が参照により組み込まれる)に従って行われ、実施例の項でも詳細に記載される。

20

【0156】

好ましくは、本明細書で使用される場合の「乾燥した」という用語は、最大10%、好ましくは5%未満、より好ましくは2%未満(カールフィッシャーによって決定される)の残留水分含有量を有することを意味する。乾燥の好ましい方法は、凍結乾燥である。

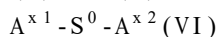
【0157】

ヒドロゲル-スペーサーコンジュゲートの調製方法

別の態様において、本発明は、ヒドロゲル-スペーサーコンジュゲートの調製方法であって、

30

(d)工程(b)又は工程(c)からのヒドロゲルを、式(VI)



(式中、

S⁰は、C₁~₅₀アルキル、C₂~₅₀アルケニル及びC₂~_{C50}アルキニルを含む群から選択され、このフラグメントは、-NH-、-N(C₁~₄アルキル)-、-O-、-S-、-C(O)-、-C(O)NH、-C(O)N(C₁~₄アルキル)-、-O-C(O)-、-S(O)-、-S(O)₂-、4員から7員ヘテロシクリル、フェニル及びナフチルから選択される1個以上の基で任意選択で中断されており、

A^{x1}は、ヒドロゲルのアミン基との反応のための官能基であり、

A^{x2}は、官能基である)

40

のスペーサ試薬と、溶媒の存在下で反応させて、ヒドロゲル-スペーサーコンジュゲートを得る工程を含む方法に関する。

【0158】

好ましくは、A^{x1}は、活性カルボン酸、Cl-(C=O)-、NHS-(C=O)- (ここで、NHSは、N-ヒドロキシスクシンイミドである)、ClSO₂-、R¹(C=O)-、I-、Br-、Cl-、SCN-、及びCN-を含む群から選択され、ここで、

R¹は、H、C₁~₆アルキル、アルケニル、C₂~₆アルキニル、C₃~₈シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、8から11員ヘテロピシクリル、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、及びテトラリニルを含む群から選択される。

50

【 0 1 5 9 】

最も好ましくは、 A^{x1} は、活性カルボン酸である。

【 0 1 6 0 】

活性カルボン酸を得るための好適な活性化試薬は、例えば、 N,N' -ジシクロヘキシル-カルボジイミド(DOC)、1-エチル-3-カルボジイミド(EDC)、ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(PyBOP)、ブロモトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(PyBrOP)、1-シアノ-2-エトキシ-2-オキソエチリデンアミノオキシ)ジメチルアミノ-モルホリノ-カルベニウムヘキサフルオロホスフェート(COMU)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)、1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール(HOAT)、 O -(6-クロロベンゾトリアゾール-1-イル)- N,N,N',N' -テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HCTU)、1-H-ベンゾトリアゾリウム(HBTU)、 O -(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)- N,N,N',N' -テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HATU)、及び O -(ベンゾトリアゾール-1-イル)- N,N,N',N' -テトラメチルウロニウムテトラフルオロボレート(TBTU)である。これらの試薬は、市販されており、当業者に周知である。

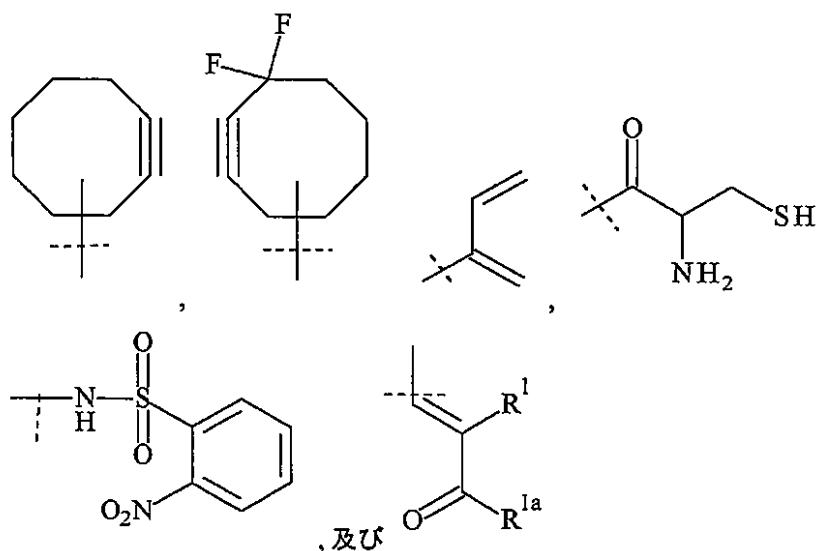
10

【 0 1 6 1 】

好ましくは、 A^{x2} は、任意の保護基とともに、-マレイミド、-SH、-NH₂、-SeH、-N₃、-C≡CH、-CR¹=CR^{1a}R^{1b}、-OH、-(CH=X⁰)-R¹、-(C=O)-S-R¹、-(C=O)-H、-NH-NH₂、-O-NH₂、-Ar-X⁰、-Ar-Sn(R¹)(R^{1a})(R^{1b})、-Ar-B(OH)(OH)、

【 化 4 5 】

20



30

(式中、

X^0 は、-OH、-NR¹R^{1a}、-SH及び-SeHであり、

Arは、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、及びテトラリニルから選択され、

R^1 、 R^{1a} 、 R^{1b} は、H、C₁~₆アルキル、C₂~₆アルケニル、C₂~₆アルキニル、C₃~₈シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、8から11員ヘテロピシクリル、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル及びテトラリニルを含む群から互いに独立して選択される)を含む群から選択される。

40

【 0 1 6 2 】

より好ましくは、 A^{x2} は、-NH₂、マレイミド及びチオールから選択され、最も好ましくは、 A^{x2} はマレイミドである。同様に好ましいものは、チオール(-SH)である。

【 0 1 6 3 】

適切な反応条件は、実施例の項で記載され、且つ当業者に公知である。

【 0 1 6 4 】

方法の工程(d)は、塩基の存在下で行われてもよい。好適な塩基には、慣例の無機又は

50

有機塩基が含まれる。これらには、好ましくはアルカリ土類金属又はアルカリ金属水素化物、水酸化物、アミド、アルコキシド、酢酸塩、炭酸塩又は重炭酸塩、例えば、水素化ナトリウム、ナトリウムアミド、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウム *tert*-ブトキシド、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、酢酸カルシウム、酢酸アンモニウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、重炭酸カリウム、重炭酸ナトリウム又は炭酸アンモニウムなど、及び第三級アミン、例えば、トリメチルアミン、トリエチルアミン、トリブチルアミン、*N,N*-ジメチルアニリン、*N,N*-ジメチルベンジルアミン、ピリジン、*N*-メチルピペリジン、*N*-メチルモルホリン、*N,N*-ジメチルアミノピリジン、ジアザビスクロオクタン(DABCO)、ジアザビスクロネン(DBN)、*N,N*-ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)、ジアザビスクロウンデセン(DBU)又はコリジンなどが含まれる。

10

【0165】

方法の工程(d)は、溶媒の存在下で行われてもよい。本発明の方法の工程(d)を行うための好適な溶媒には、有機溶媒が含まれる。これらには、好ましくは水、及び脂肪族、脂環式又は芳香族炭化水素、例えば、石油エーテル、ヘキサン、ヘプタン、シクロヘキサン、メチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、キシレン若しくはデカリンなど；ハロゲン化炭化水素、例えば、クロロベンゼン、ジクロロベンゼン、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、ジクロロエタン若しくはトリクロロエタンなど；アルコール類、例えば、メタノール、エタノール、*n*-若しくはイソプロパノール、*n*-、イソ、*sec*-若しくは *tert*-ブタノール、エタジオール、プロパン-1,2-ジオール、エトキシエタノール、メトキシエタノール、ジエチレングリコールモノメチルエーテル、ジメチルエーテル、ジエチレングリコールなど；アセトニトリル、*N*-メチル-2-ピロリドン(NMP)、ジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、*N,N*-ジメチルアセトアミド、ニトロメタン、ニトロベンゼン、ヘキサメチルホスホルアミド(HMPT)、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン(DMI)、1,3-ジメチル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2(1H)-ピリミジノン(DMPU)、酢酸エチル、アセトン、ブタノン；エーテル類、例えば、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、メチル *t*-ブチルエーテル、メチル *t*-アミルエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフラン、1,2-ジメトキシエタン、1,2-ジエトキシエタン若しくはアニソール；又はそれらの混合物が含まれる。好ましくは、溶媒は、水、アセトニトリル又は *N*-メチル-2-ピロリドンから選択される。

20

30

【0166】

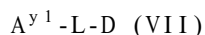
別の態様において、本発明は、上記方法によって得ることができるヒドロゲル-スペーサーコンジュゲートに関する。

【0167】

担体連結プロドラッグの調製方法

別の態様において、本発明は、担体連結プロドラッグの調製方法であって、

(e)工程(b)若しくは工程(c)のヒドロゲル、又は工程(d)のヒドロゲル-スペーサーコンジュゲートを、式(VII)



(式中、

40

A^{y1} は、工程(b)若しくは工程(c)のヒドロゲルのアミンとの反応のための、又は工程(d)のヒドロゲル-スペーサーコンジュゲートの官能基 A^{x2} との反応のための官能基であり、

Lは、プロドラッグリンカーであり、

Dは、生物学的活性部分である)

のプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬と、溶媒の存在下で反応させて、担体連結プロドラッグを得る工程

を含む方法に関する。

【0168】

方法の工程(e)は、溶媒の存在下で行われてもよい。本発明の方法の工程(e)を行うための好適な溶媒には、有機溶媒が含まれる。これらには、好ましくは水、及び脂肪族、脂環

50

式又は芳香族炭化水素、例えば、石油エーテル、ヘキサン、ヘプタン、シクロヘキサン、メチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、キシレン若しくはデカリンなど；ハロゲン化炭化水素、例えば、クロロベンゼン、ジクロロベンゼン、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、ジクロロエタン若しくはトリクロロエタンなど；アルコール類、例えば、メタノール、エタノール、*n*-若しくはイソプロパノール、*n*-、イソ、*sec*-若しくは *tert*-ブタノール、エタンジオール、プロパン-1,2-ジオール、エトキシエタノール、メトキシエタノール、ジエチレングリコールモノメチルエーテル、ジメチルエーテル、ジエチレングリコールなど；アセトニトリル、*N*-メチル-2-ピロリドン(NMP)、ジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、*N,N*-ジメチルアセトアミド、ニトロメタン、ニトロベンゼン、ヘキサメチルホスホルアミド(HMPT)、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン(DMI)、1,3-ジメチル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2(1*H*)-ピリミジノン(DMPU)、酢酸エチル、アセトン、ブタノン；エーテル類、例えば、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、メチル*t*-ブチルエーテル、メチル*t*-アミルエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフラン、1,2-ジメトキシエタン、1,2-ジエトキシエタン若しくはアニソール；又はそれらの混合物が含まれる。好ましくは、溶媒は、水、アセトニトリル、又は*N*-メチル-2-ピロリドンから選択される。

10

【 0 1 6 9 】

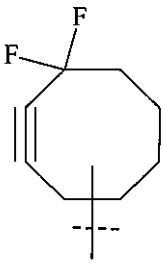
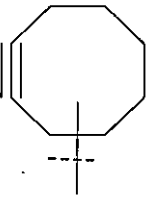
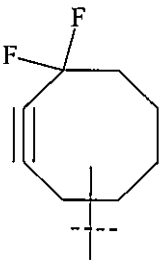
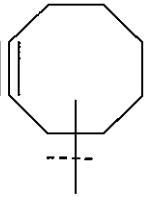
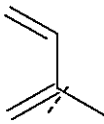
式(VII)のプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬が、工程(b)又は工程(c)のヒドロゲルのアミンと反応する場合、 A^{y1} は、マレイミド又はOH-、好ましくはマレイミドである。

20

【 0 1 7 0 】

式(VII)のプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬が、工程(d)のヒドロゲル-スペーサーコンジュゲートの A^{x2} と反応する場合、 A^{y1} の構造は、 A^{y1} が反応する A^{x2} の構造に依存する。好ましい A^{x2}/A^{y1} の対は、以下：

【表 1】

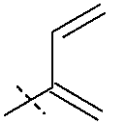
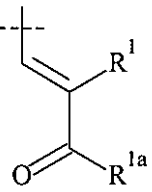
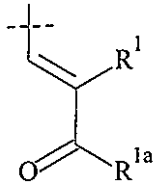
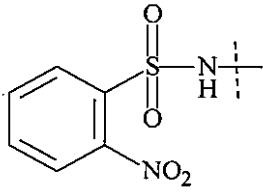
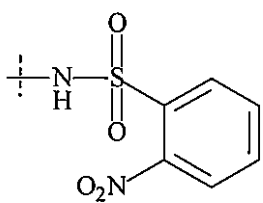
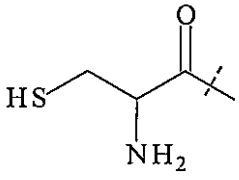
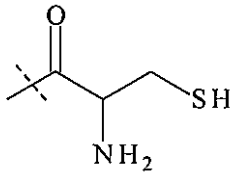
A^{x2}	A^{y1}
-マレイミド	HS-, H_2N- , 又は HSe-
-SH, $-NH_2$, 又は -SeH	マレイミド-
$-N_3$	$HC\equiv C-$,  ,又は 
$-C\equiv CH$,  ,又は 	N_3-
$-CR^{1a}=CR^{1a}R^{1b}$	$R^{1b}R^{1a}C=CR^1-$ 又は 

10

20

30

40

	$R^{1b}R^{1a}C=CR^1-$
$-(C=X^0)-R^1$	
	$R^1-(C=X)-$
$-OH$	H_2N- 又は 
$-NH_2$ 又は 	$HO-$
$-(C=O)-S-R^1$	
	$R^1-S-(C=O)-$
$-(C=O)-H$	H_2N-NH- 又は H_2N-O-

10

20

30

40

$-\text{NH}-\text{NH}_2$ 又は $-\text{O}-\text{NH}_2$	$\text{H}-(\text{C}=\text{O})-$
$-\text{Ar}-\text{X}^0$	$-\text{Ar}-\text{Sn}(\text{R}^1)(\text{R}^{1a})(\text{R}^{1b})$ 又は $-\text{Ar}-\text{B}(\text{OH})(\text{OH})$
$(\text{R}^{1b})(\text{R}^{1a})(\text{R}^1)\text{Sn}-\text{Ar}$ 又は $-\text{Ar}-\text{B}(\text{OH})(\text{OH})$	$\text{X}^0-\text{Ar}-$

10

(ここで、

X^0 は、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^1\text{R}^{1a}$ 、 $-\text{SH}$ 、及び $-\text{SeH}$ であり、

R^1 、 R^{1a} 、 R^{1b} は、 H 、 $\text{C}_1 \sim 6$ アルキル、 $\text{C}_2 \sim 6$ アルケニル、 $\text{C}_2 \sim 6$ アルキニル、 $\text{C}_3 \sim 8$ シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、8から11員ヘテロビスクリル、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、及びテトラリニルを含む群から互いに独立して選択され、

Ar は、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、及びテトラリニルから選択される)

20

から選択される。

【0171】

より好ましくは、 A^{y1} は、 $-\text{SH}$ 又は $-\text{マレイミド}$ から選択され、最も好ましくは、 A^{y1} は、 $-\text{SH}$ であり、したがって、好ましい A^{x2} は、 $-\text{マレイミド}$ 又は $-\text{SH}$ であり、最も好ましい A^{x2} は、 $-\text{マレイミド}$ である。

【0172】

特に好ましい実施形態において、 A^{x2} は、チオールであり、式(VII)の A^{y1} は、式(VIIa)

$\text{T}-\text{PG}^0-\text{S}-$ (VIIa)

(式中、

T は、 H 又はタグ部分であり、

30

PG^0 は、硫黄-活性化部分であり、

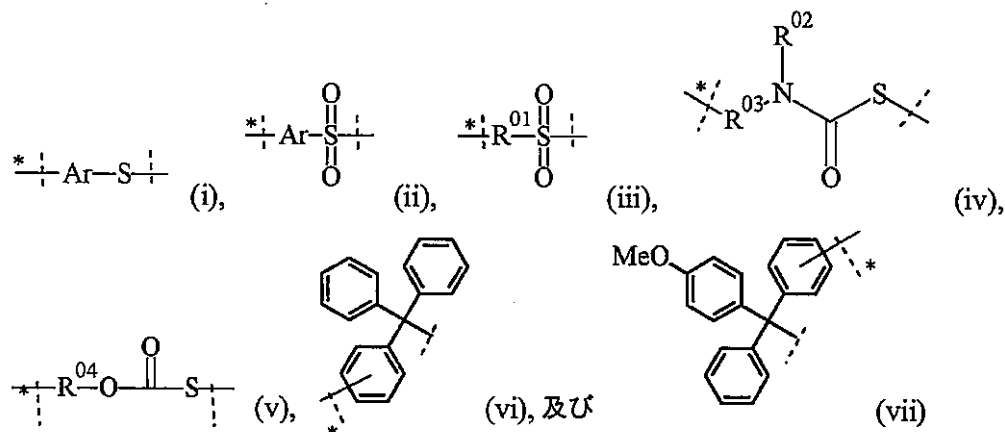
S は、硫黄である)

のものである。

【0173】

一実施形態において、式(VIIa)の PG^0 は、

【化46】



40

[ここで、

アスタリスクで印された破線は、式(VIIa)の T への結合を示し、印されていない破線は

50

、式(VIIa)の硫黄への結合を示し、

Arは、任意選択でさらに置換されている芳香族部分であり、

R^{01} 、 R^{03} 、 R^{04} は、互いに独立して、化学結合であるか、又は $C_1 \sim 50$ アルキル、 $C_2 \sim 50$ アルケニル、若しくは $C_2 \sim 50$ アルキニルであり、ここで、 $C_1 \sim 50$ アルキル、 $C_2 \sim 50$ アルケニル、及び $C_2 \sim 50$ アルキニルは、同じ又は異なる1個以上の R^3 で任意選択で置換されており、且つ $C_1 \sim 50$ アルキル、 $C_2 \sim 50$ アルケニル、及び $C_2 \sim 50$ アルキニルは、-Q-、-C(O)O-; -O-; -C(O)-; -C(O)N(R^4)-; -S(O)₂N(R^4)-; -S(O)N(R^4)-; -S(O)₂-; -S(O)-; -N(R^4)S(O)₂N(R^{4a})-; -S-; -N(R^4)-; -OC(O) R^4 ; -N(R^4)C(O)-; -N(R^4)S(O)₂-; -N(R^4)S(O)-; -N(R^4)C(O)O-; -N(R^4)C(O)N(R^{4a})-; 及び-OC(O)N(R^4R^{4a});からなる群から選択される1個以上の基で任意選択で中断されており、

10

R^{02} は、-H、 $C_1 \sim 50$ アルキル、 $C_2 \sim 50$ アルケニル、又は $C_2 \sim 50$ アルキニルであり、ここで、 $C_1 \sim 50$ アルキル、 $C_2 \sim 50$ アルケニル、及び $C_2 \sim 50$ アルキニルは、同じ又は異なる1個以上の R^3 で任意選択で置換されており、且つ $C_1 \sim 50$ アルキル、 $C_2 \sim 50$ アルケニル、及び $C_2 \sim 50$ アルキニルは、-Q-、-C(O)O-; -O-; -C(O)-; -C(O)N(R^4)-; -S(O)₂N(R^4)-; -S(O)N(R^4)-; -S(O)₂-; -S(O)-; -N(R^4)S(O)₂N(R^{4a})-; -S-; -N(R^4)-; -OC(O) R^4 ; -N(R^4)C(O)-; -N(R^4)S(O)₂-; -N(R^4)S(O)-; -N(R^4)C(O)O-; -N(R^4)C(O)N(R^{4a})-; 及び-OC(O)N(R^4R^{4a});からなる群から選択される1個以上の基で任意選択で中断されており、

Qは、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、テトラリニル、 $C_3 \sim 10$ シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、及び8から11員ヘテロピシクリルからなる群から選択され、ここで、Tは、同じ又は異なる1個以上の R^3 で任意選択で置換されており、

20

R^3 は、ハロゲン; -CN; オキソ (=O); -COOR⁵; -OR⁵; -C(O)R⁵; -C(O)N(R⁵R^{5a}); -S(O)₂N(R⁵R^{5a}); -S(O)N(R⁵R^{5a}); -S(O)₂R⁵; -S(O)R⁵; -N(R⁵)S(O)₂N(R^{5a}R^{5b}); -SR⁵; -N(R⁵R^{5a}); -NO₂; -OC(O)R⁵; -N(R⁵)C(O)R^{5a}; -N(R⁵)S(O)₂R^{5a}; -N(R⁵)S(O)R^{5a}; -N(R⁵)C(O)OR^{5a}; -N(R⁵)C(O)N(R^{5a}R^{5b}); -OC(O)N(R⁵R^{5a}); 又は $C_1 \sim 6$ アルキルであり、ここで、 $C_1 \sim 6$ アルキルは、同じ又は異なる1個以上のハロゲンで任意選択で置換されており、

R^4 、 R^{4a} 、 R^5 、 R^{5a} 、 R^{5b} は、-H、又は $C_1 \sim 6$ アルキル(ここで、 $C_1 \sim 6$ アルキルは、同じ又は異なる1個以上のハロゲンで任意選択で置換されている)からなる群から独立して選択される]

からなる群から選択される。

【0174】

30

好ましくは、 R^{01} は、 $C_1 \sim 6$ アルキルである。さらにより好ましくは、 R^{01} は、-CH₂-、-CH₂-CH₂-及び-CH₂-CH₂-CH₂-から選択される。

【0175】

好ましくは、 R^{02} は、H及び $C_1 \sim 6$ アルキルから選択される。

【0176】

好ましくは、 R^{03} は、 $C_1 \sim 6$ アルキルである。

【0177】

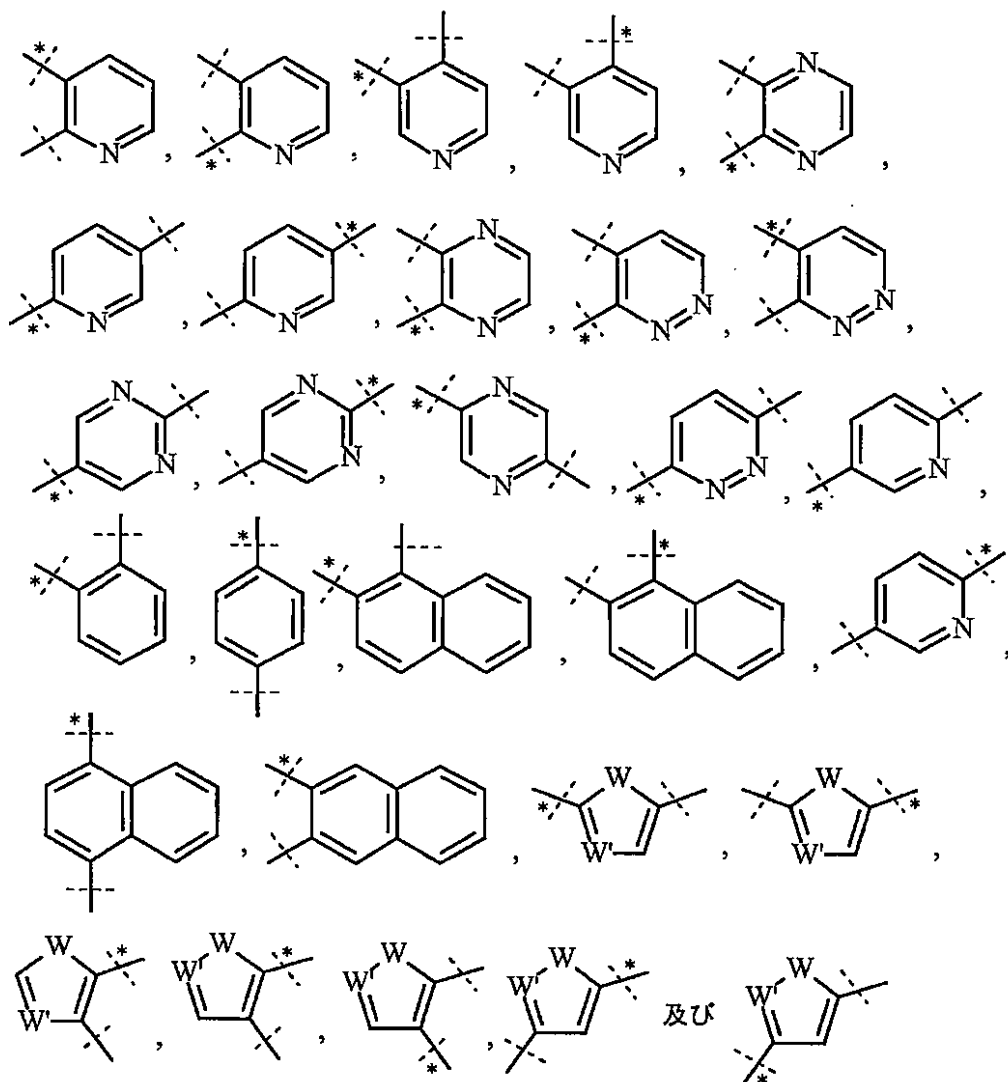
好ましくは、 R^{04} は、 $C_1 \sim 6$ アルキルである。

【0178】

好ましくは、Arは、

40

【化 4 7】



10

20

30

(式中、

アスタリスクで印された破線は、式(VIIa)のTへの結合を示し、印されていない破線は、式(VIIa)のPG⁰の残りへの結合を示し、

Wは、互いに独立して、O、S、又はNであり、

W'は、Nである)

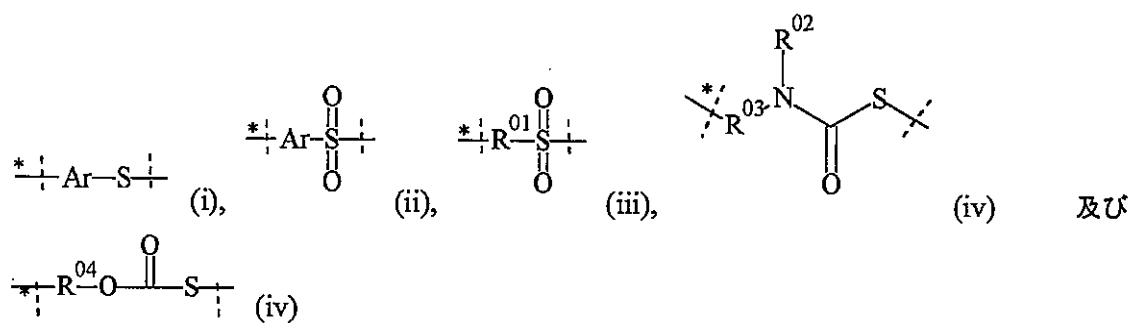
からなる群から選択され、且つ

Arは、NO₂、Cl及びFからなる群から独立して選択される1個以上の置換基で任意選択で置換されている。

【0 1 7 9】

より好ましくは、式(VIIa)のPG⁰は、

【化 4 8】



50

(式中、

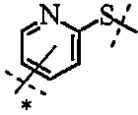
アスタリスクで印された破線は、式(VIIa)のTへの結合を示し、印されていない破線は、式(VIIa)の硫黄への結合を示し、

Ar、 R^{01} 、 R^{02} 、 R^{03} 及び R^{04} は、上記のとおり使用される)からなる群から選択される。

【0180】

より好ましくは、式(VIIa)のPG⁰は、

【化49】



10

(式中、

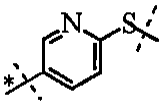
アスタリスクで印された破線は、式(VIIa)のTへの結合を示し、印されていない破線は、式(VIIa)の硫黄への結合を示す)

である。

【0181】

より好ましくは、式(VIIa)のPG⁰は、

【化50】



20

(式中、

アスタリスクで印された破線は、式(VIIa)のTへの結合を示し、印されていない破線は、式(VIIa)の硫黄への結合を示す)

である。

【0182】

1つの好ましい実施形態において、式(VIIa)のTは、Hである。

【0183】

別の実施形態において、式(VIIa)のTは、ポリマー部分を含む。好ましくは、式(VIIa)のTは、2-メタクリロイル-オキシエチルホスホイルコリン、ポリ(アクリル酸)、ポリ(アクリレート)、ポリ(アクリルアミド)、ポリ(アルキルオキシ)ポリマー、ポリ(アミド)、ポリ(アミドアミン)、ポリ(アミノ酸)、ポリ(酸無水物)、ポリ(アスパルトアミド)、ポリ(酪酸)、ポリ(グリコール酸)、ポリブチレンテレフタレート、ポリ(カプロラクトン)、ポリ(カーボネート)、ポリ(シアノアクリレート)、ポリ(ジメチルアクリルアミド)、ポリ(エステル)、ポリ(エチレン)、ポリ(アルキレングリコール)、ポリ(エチレンオキシド)、ポリ(リン酸エチル)、ポリ(エチルオキサゾリン)、ポリ(グリコール酸)、ポリ(ヒドロキシエチルアクリレート)、ポリ(ヒドロキシエチル-オキサゾリン)、ポリ(ヒドロキシメタクリレート)、ポリ(ヒドロキシプロピルメタクリルアミド)、ポリ(ヒドロキシプロピルメタクリレート)、ポリ(ヒドロキシプロピルオキサゾリン)、ポリ(イミノカーボネート)、ポリ(乳酸)、ポリ(乳酸-co-グリコール酸)、ポリ(メタクリルアミド)、ポリ(メタクリレート)、ポリ(メチルオキサゾリン)、ポリ(オルガノホスファゼン)、ポリ(オルトエステル)、ポリ(オキサゾリン)、ポリ(プロピレングリコール)、ポリ(シロキサン)、ポリ(ウレタン)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリ(ビニルアミン)、ポリ(ビニルメチルエーテル)、ポリ(ビニルピロリドン)、シリコーン、セルロース、カルボメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、キチン、キトサン、デキストラン、デキスリン、ゼラチン、ヒアルロン酸及び誘導体、官能基化ヒアルロン酸、マンナン、ペクチン、ラムノガラクトナン、デンプン、ヒドロキシアルキルデンプン、ヒドロキシエチルデンプン、及び他の炭水化物系ポリマー、キシラン、並びにそれらのコポリマーからなる群から選択されるポリマーを含む。

30

40

50

【0184】

式(IIa)のTがポリマー部分である場合、Tは、少なくとも1kDa、好ましくは少なくとも3kDa、最も好ましくは少なくとも5kDaの分子量を有することが好ましい。式(IIa)のTがポリマー部分である場合、それは、1000kDa以下、例えば、800kDa以下、500kDa以下、250kDa以下、200kDa以下、又は100kDa以下の分子量を有することが好ましい。

【0185】

別の実施形態において、式(IIa)のTは、親和性リガンドを含む。好ましくは、式(IIa)のTは、を含み、より好ましくは、Tは、4-アミノベンズアミジン、3-(2'-アミノベンズヒドリルオキシ)トロパン、ε-アミノカプロイル-p-クロロベンジルアミド、1-アミノ-4-[3-(4,6-ジクロロトリアジン-2-イルアミノ)-4-スルホフェニルアミノ]アントラキノ-2-スルホン酸、2-(2'-アミノ-4'-メチルフェニルチオ)-N,N-ジメチルベンジルアミン二塩酸塩、アンジオボイエチン-1、アプタマー、アロチノイド酸、アビジン、ビオチン、カルモジュリン、コカエチレン、サイトスボロンB、N,N-ジヘキシル-2-(4-フルオロフェニル)インドール-3-アセトアミド、N,N-ジブピロ-2-(4-クロロフェニル)-6,8-ジクロロ-イミダゾ[1,2-a]ピリジン-3-アセトアミド、5-フルオロ-2'-デオキシウリジン5'-(p-アミノフェニル)モノホスフェート、S-ヘキシル-L-グルタチオン、(S,S)-4-フェニル-α-(4-フェニルオキサゾリジン-2-イリデン)-2-オキサゾリン-2-アセトニトリル、Pro-Leu-Glyヒドロキサメート、2-(4-(2-(トリフルオロメチル)フェニル)ピペリジン-1-カルボキサミド)安息香酸、トリメチル(m-アミノフェニル)アンモニウムクロリド、ウロコルチンIII、補因子、例えば、アデノシン三リン酸、s-アデノシルメチオニン、アスコルビン酸、コバラミン、補酵素A、補酵素B、補酵素M、補酵素Q、補酵素F420、シチジン三リン酸、フラビンモノヌクレオチド、フラビンアデニンジヌクレオチド、グルタチオン、ヘム、リボアミド、メナキノ-ン、メタノフラン、メチルコバラミン、モリブドプテリン、NAD⁺、NADP⁺、糖ヌクレオチド、3'-ホスホアデノシン-5'-ホスホスルフェート、ピリドキサルリン酸、ポリヒスチジン、ピロロキノリンキノ-ン、リボフラビン、ステプトアビジン、テトラヒドロピオプテリン、テトラヒドロメタノプテリン、テトラヒドロ葉酸、ビオチンカルボキシル担体タンパク質(BCCP)、キチン結合タンパク質、FK506結合タンパク質、FLAGタグ、緑色蛍光タンパク質、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ、赤血球凝集素、マルトース結合タンパク質、mycタグ、NusA、タンパク質Cエピトープ、S-タグ、strep-タグ、チオレドキシ-ン、トリアジン及び抗体フラグメントからなる群から選択される親和性リガンド部分である。

【0186】

式(VIIa)のTが親和性リガンドを含む場合、親和性リガンドはポリヒスチジンであることが好ましい。

【0187】

別の実施形態において、式(VIIa)のTは、荷電部分を含む。好ましくは、式(VIIa)のTは、少なくとも1つの正及び/又は負の電荷を含む。Tの正及び負電荷の数は、Tが荷電分子であることを確保するために等しくないことが理解される。

【0188】

好ましくは、式(VIIa)のTは、少なくとも1の正又は負の電荷、例えば、少なくとも2の正若しくは負の電荷、少なくとも3の正若しくは負の電荷、少なくとも4の正若しくは負の電荷、少なくとも5の正若しくは負の電荷、少なくとも6の正若しくは負の電荷、少なくとも7の正若しくは負の電荷、少なくとも8の正若しくは負の電荷、少なくとも9の正若しくは負の電荷、少なくとも10の正若しくは負の電荷、少なくとも11の正若しくは負の電荷、少なくとも12の正若しくは負の電荷、少なくとも13の正若しくは負の電荷、少なくとも14の正若しくは負の電荷又は少なくとも15の正若しくは負の電荷を含む。

【0189】

より好ましくは、式(VIIa)のTは、少なくとも1の正電荷、例えば、1の正電荷、2の正電荷、3の正電荷、4の正電荷、5の正電荷、6の正電荷、7の正電荷、8の正電荷、9の正電荷、10の正電荷、11の正電荷、12の正電荷、13の正電荷、14の正電荷又は15の正電荷を含む

10

20

30

40

50

。より好ましくは、式(IIa)のTは、1の正電荷、2の正電荷、3の正電荷、4の正電荷、5の正電荷、6の正電荷、7の正電荷又は8の正電荷を含む。より好ましくは、式(IIa)のTは、2の正電荷、3の正電荷、4の正電荷、5の正電荷又は6の正電荷を含む。

【0190】

好ましくは、式(IIa)のTの少なくとも1の正電荷は、アンモニウム又はホスホニウムにより与えられる。

【0191】

好ましくは、式(IIa)のTは、少なくとも1個の第四級アンモニア残基及び/又は少なくとも1個のプロトン化アンモニウム残基を含有し、さらなる官能基を任意選択で含むポリアミドを含む。好ましくは、このような任意選択のさらなる官能基は、アミン官能基である。好ましくは、式(VIIa)のTは、少なくとも1個の第四級アンモニウム残基及び/又は少なくとも1個のプロトン化アンモニウム残基を含む。さらにより好ましくは、式(VIIa)のTは、4個の第四級アンモニウム残基及び/又は4個のプロトン化アンモニウム残基を含む。

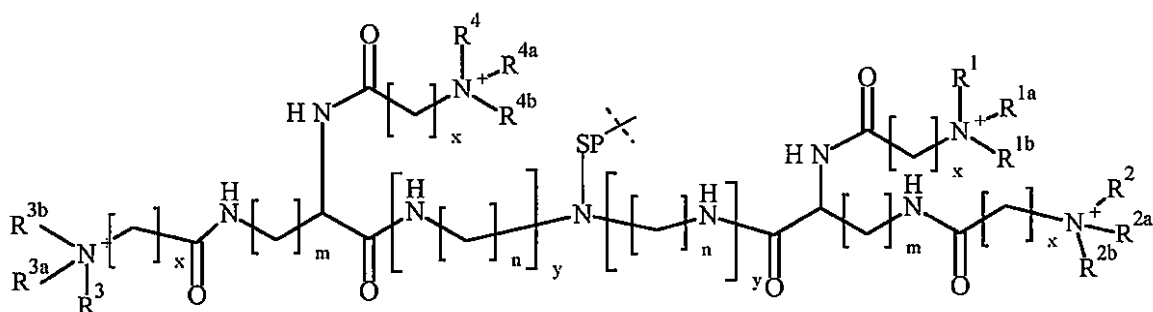
【0192】

好ましくは、式(VIIa)のTは、結合形態でポリアミンを含む。より好ましくは、式(VIIa)のTは、結合形態でエチレンジアミン、1,3-ジアミノプロパン、ヘキサメチレンジアミン、カダベリン、プトレシン、スペルミン、スペルミジン、ノルスペルミジン及びテトラエチルメチレンジアミンからなる群から選択されるポリアミンを含む。

【0193】

さらにより好ましくは、式(VIIa)のTは、式(a):

【化51】



(式中、

破線は、PG⁰への結合を示し、

R¹、R^{1a}、R^{1b}、R²、R^{2a}、R^{2b}、R³、R^{3a}、R^{3b}、R⁴、R^{4a}、R^{4b}は、互いに独立して、H又はメチルであり、

それぞれのmは、互いに独立して、1、2、3、4、5、6、7又は8であり、

それぞれのnは、互いに独立して、1、2、3、4、5、6、7又は8であり、

それぞれのxは、互いに独立して、1、2、3、4、5、6、7又は8であり

それぞれのyは、互いに独立して、0、1、2、3、4、5、6、7又は8であり、

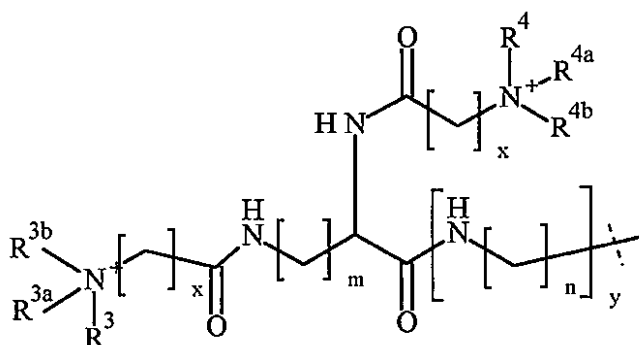
SPは、スペーサ部分である)

の部分を含む。

【0194】

好ましくは、式(a)の部分は、対称である、すなわち、この部分

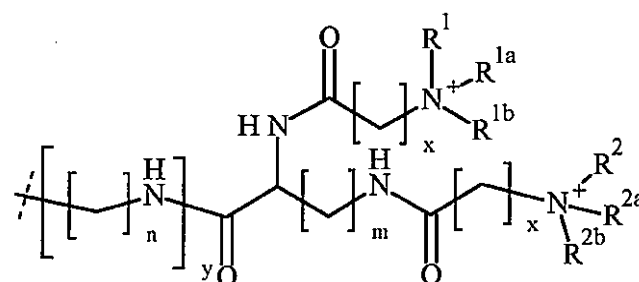
【化 5 2】



10

は、部分

【化 5 3】



20

と同じである。

【0195】

一実施形態において、式(a)の R^1 、 R^{1a} 、 R^{1b} は、すべてメチルである。

【0196】

別の実施形態において、式(a)の R^1 は、Hであり、式(a)の R^{1a} 及び R^{1b} は、両方ともメチルである。

【0197】

一実施形態において、式(a)の R^2 、 R^{2a} 、 R^{2b} は、すべてメチルである。

【0198】

別の実施形態において、式(a)の R^2 は、Hであり、式(a)の R^{2a} 及び R^{2b} は、両方ともメチルである。

【0199】

一実施形態において、式(a)の R^3 、 R^{3a} 、 R^{3b} は、すべてメチルである。

【0200】

別の実施形態において、式(a)の R^3 は、Hであり、式(a)の R^{3a} 及び R^{3b} は、両方ともメチルである。

【0201】

一実施形態において、式(a)の R^4 、 R^{4a} 、 R^{4b} は、すべてメチルである。

【0202】

別の実施形態において、式(a)の R^4 は、Hであり、式(a)の R^{4a} 及び R^{4b} は、両方ともメチルである。

【0203】

好ましくは、式(a)のmは、1、2、3、4、5又は6である。より好ましくは、式(a)のmは、2、3、4、又は5であり、さらにより好ましくは、式(a)のmは、3、4又は5であり、最も好ましくは、式(a)のmは、4である。

【0204】

好ましくは、式(a)のnは、1、2、3、4、5又は6である。より好ましくは、式(a)のnは、2、3、4、又は5であり、さらにより好ましくは、式(a)のnは、2、3又は4であり、最も好ましくは、式(a)のnは、3である。

50

【 0 2 0 5 】

好ましくは、式(a)のxは、1、2、3、4、5又は6である。より好ましくは、式(a)のnは、1、2、3、又は4であり、さらにより好ましくは、式(a)のxは、1、2又は3であり、最も好ましくは、式(a)のxは、1である。

【 0 2 0 6 】

好ましくは、式(a)のyは、1、2、3、4、5又は6である。より好ましくは、式(a)のyは、1、2、3又は4であり、さらにより好ましくは、式(a)のyは、1、2又は3であり、最も好ましくは、式(a)のyは、1である。

【 0 2 0 7 】

好ましい一実施形態において、 R^1 、 R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^2 、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^3 、 R^{3a} 、 R^{3b} 、 R^4 、 R^{4a} 、 R^{4b} は、メチルであり、mは、4であり、nは、3であり、yは、1であり、xは、1である。

10

【 0 2 0 8 】

別の好ましい実施形態において、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 は、Hであり、 R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{3a} 、 R^{3b} 、 R^{4a} 、 R^{4b} は、メチルであり、mは、4であり、nは、3であり、yは、1であり、xは、1である。

【 0 2 0 9 】

式(I)のTについての好ましい対イオンは、 Cl^- 、 TFA^- 及び SO_4^- である。

【 0 2 1 0 】

A^{y1} が、式(VIIa)のものであり、Tがタグ部分である場合、式(VII)のプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬の混合物から、部分D当たり規定数の部分 A^{y1} -Lを有する式(VI)のプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬を精製するために、Tを使用することができ、ここで、それぞれのDは、xの部分 A^{y1} -Lに接続されており、ここで、xは、正の整数、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10である。したがって、Tは、式(VII)のプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬のモノコンジュゲートを単離するために使用することができる。

20

【 0 2 1 1 】

プロドラッグリンカー-生物学的活性のモノコンジュゲートの単離方法は、式(VIIa)のタグ部分Tに依存する。

【 0 2 1 2 】

式(VIIa)のTが、式(VII)のDの少なくとも10%(w/w)の分子量を有するポリマー部分である場合、単離工程は、好ましくはサイズ排除クロマトグラフィーである。

30

【 0 2 1 3 】

式(VIIa)のTが、親和性リガンドを含む場合、単離工程は、好ましくは親和性クロマトグラフィーである。

【 0 2 1 4 】

式(VIIa)のTが、荷電部分を含む場合、単離工程は、好ましくはイオン交換クロマトグラフィーである。

【 0 2 1 5 】

好ましい実施形態において、式(VIIa)のTは、荷電部分であり、単離工程は、好ましくはイオン交換クロマトグラフィーである。

40

【 0 2 1 6 】

好ましくは、方法の工程(e)は、工程(d)のヒドロゲル-スパーサーコンジュゲートを式(VII)のプロドラッグ-生物学的活性部分試薬と反応させる工程を含む。

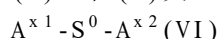
【 0 2 1 7 】

適切な反応条件は、実施例の項で記載され、かつ当業者に公知である。

【 0 2 1 8 】

結果として、担体連結プロドラッグの調製方法は、好ましくは

(d)工程(b)又は工程(c)からのヒドロゲルを、式(VI)



(式中、

50

S^0 は、 $C_1 \sim 50$ アルキル、 $C_2 \sim 50$ アルケニル及び $C_2 \sim 50$ アルキニルを含む群から選択され、このフラグメントは、 $-NH-$ 、 $-N(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NH$ 、 $-C(O)N(C_1 \sim 4 \text{ アルキル})-$ 、 $-O-C(O)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、4から7員ヘテロシクリル、フェニル及びナフチルから選択される1個以上の基で任意選択で中断されており、

A^{x1} は、ヒドロゲルのアミン基との反応のための官能基であり、

A^{x2} は、官能基である)

のスペーサ試薬と、溶媒の存在下で反応させて、ヒドロゲル-スペーサーコンジュゲートを得る工程、及び

(e)工程(d)のヒドロゲル-スペーサーコンジュゲートを、式(VII)

A^{y1} -L-D (VII)

10

(式中、

A^{y1} は、工程(d)のヒドロゲル-スペーサーコンジュゲートの官能基 A^{x2} との反応のための官能基であり、

Lは、プロドラッグリンカーであり、

Dは、生物学的活性部分である)

のプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬と、溶媒の存在下で反応させて、担体連結プロドラッグを得る工程

を含む。

【0219】

A^{x2} と A^{y1} の好ましい組合せは、上に開示されたとおりである。

20

【0220】

プロドラッグリンカー試薬又は、プロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬の一部としてのプロドラッグリンカー部分は、当技術分野で公知のいずれのプロドラッグリンカー一部分の構造を有してもよい。

【0221】

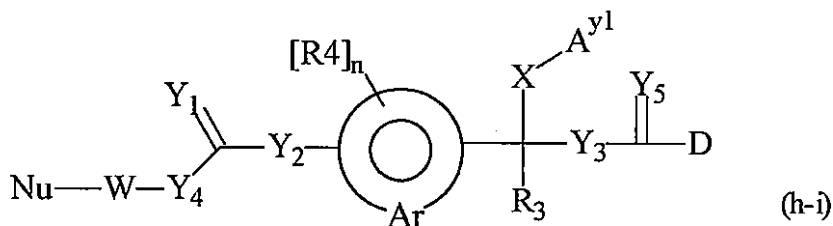
好ましくは、プロドラッグリンカー試薬又は、プロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬の一部としてのプロドラッグリンカー部分は、トレースレスプロドラッグリンカー試薬又は部分である。

【0222】

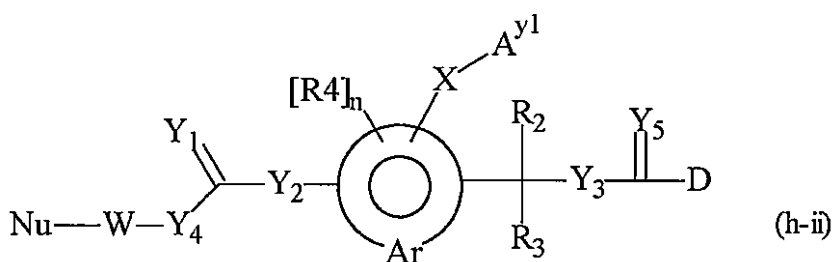
好ましいプロドラッグリンカーは、WO2005/099768A2に開示されており、それに記載されたとおりに得ることができる。したがって、好ましいプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬 A^{y1} -L-Dは、式(h-i)又は式(h-ii)：

30

【化54】



40



(式中、

A^{y1} は、工程(e)で定義されたとおりの官能基であり、

50

Dは、対応する薬物のアミン基を介してLに接続されている生物学的活性部分であり、
 Xは、 R_5 - Y_6 などのスペーサ部分であり、
 Y_1 、 Y_2 は、独立して、O、S又は NR_6 であり、
 Y_3 、 Y_5 は、独立して、O又はSであり、
 Y_4 は、O、 NR_6 又は $C(R_7)(R_8)$ -であり、
 Y_6 は、O、S、 NR_6 、スクシンイミド、マレイミド、不飽和炭素-炭素結合若しくは自由電子対を有する任意のヘテロ原子であるか又は存在せず、

R_2 、 R_3 は、ヒドロゲル、置換若しくは非置換の直鎖、分岐若しくは環状アルキル若しくはヘテロアルキル、アリール、置換アリール、置換若しくは非置換ヘテロアリール、シアノ、ニトロ、ハロゲン、カルボキシ、カルボキシアルキル、アルキルカルボニル又はカルボキサミドアルキルから互いに独立して選択され、

10

R_4 は、水素、置換又は非置換の直鎖、分岐又は環状アルキル又はヘテロアルキル、アリール、置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換の直鎖、分岐又は環状アルコキシ、置換又は非置換の直鎖、分岐又は環状ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ又はヘテロアリールオキシ、シアノ、ハロゲンから選択され、

R_5 は、置換又は非置換の直鎖、分岐又は環状アルキル又はヘテロアルキル、アリール、置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリールから選択され、

R_6 は、ヒドロゲル、置換又は非置換の直鎖、分岐又は環状アルキル又はヘテロアルキル、アリール、置換又は非置換ヘテロアリールから選択され、

R_7 、 R_8 は、水素、置換若しくは非置換の直鎖、分岐若しくは環状アルキル若しくはヘテロアルキル、アリール、置換アリール、置換若しくは非置換ヘテロアリール、カルボキシアルキル、アルキルカルボニル、カルボキサミドアルキル、シアノ又はハロゲンから独立して選択され、

20

Wは、置換又は非置換の直鎖、分岐又は環状アルキル、アリール、置換アリール、置換又は非置換の直鎖、分岐又は環状ヘテロアルキル、置換又は非置換ヘテロアリールから選択され、

Nuは、求核剤であり、

nは、ゼロ、又は正の整数であり、

Arは、多置換芳香族炭化水素又は多置換芳香族ヘテロ環である)
 の構造を有する。

30

【 0 2 2 3 】

式(h-i)及び式(h-ii)中で、Lは、 A^{y1} 及びDを連結する部分に相当する。

【 0 2 2 4 】

好ましくは、式(h-i)及び式(h-ii)の R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 及び R_8 は、H、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル及び $C_2 \sim 6$ アルキニルから独立して選択される。

【 0 2 2 5 】

好ましくは、式(h-i)及び式(h-ii)の Y_6 は、 $C_1 \sim 20$ アルキル、 $C_2 \sim 20$ アルケニル又は $C_2 \sim 20$ アルキニルである。

【 0 2 2 6 】

好ましくは、式(h-i)及び式(h-ii)のNuは、第一級、第二級及び第三級アミノ基、チオール、カルボン酸、ヒドロキシルアミン、ヒドラジン並びに窒素含有ヘテロアリールからなる求核剤の群から選択される。

40

【 0 2 2 7 】

好ましくは、式(h-i)及び式(h-ii)のWは、 $-(CR_9R_{10})_b$ -であり、ここで、 R_9 及び R_{10} は、H、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル及び $C_2 \sim 6$ アルキニルから独立して選択され、bは、1、2、3、4又は5である。

【 0 2 2 8 】

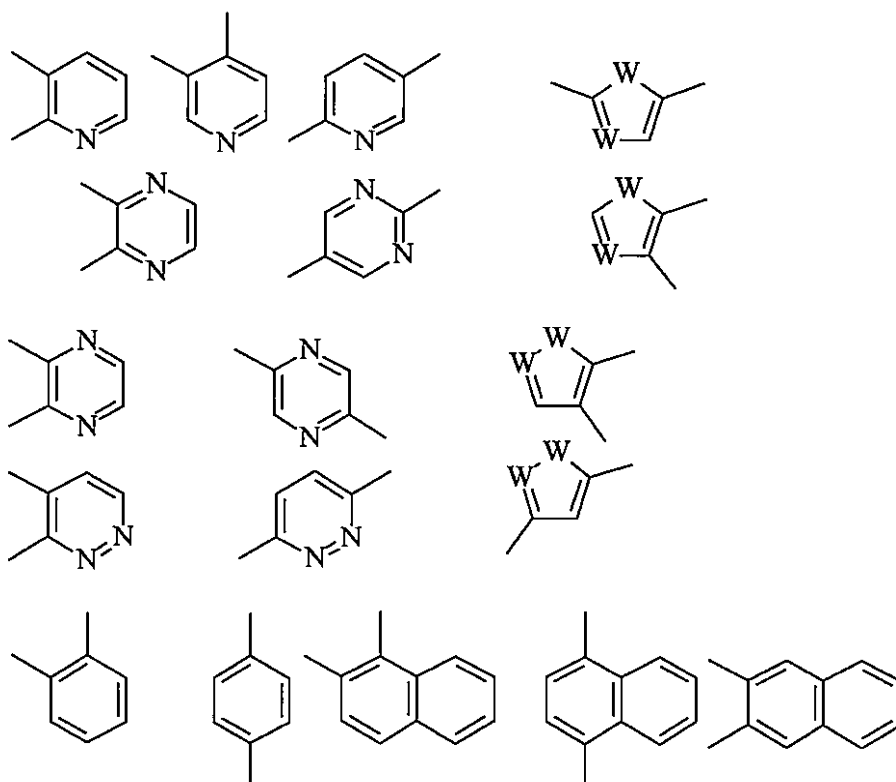
好ましくは、式(h-i)及び式(h-ii)のnは、0、1又は2であり、より好ましくは、nは、0又は1であり、最も好ましくは、nは、0である。

【 0 2 2 9 】

50

好ましくは、式(h-i)及び式(h-ii)のArは、

【化55】



10

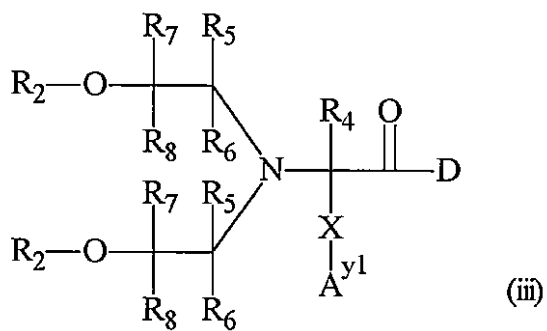
20

から選択される。

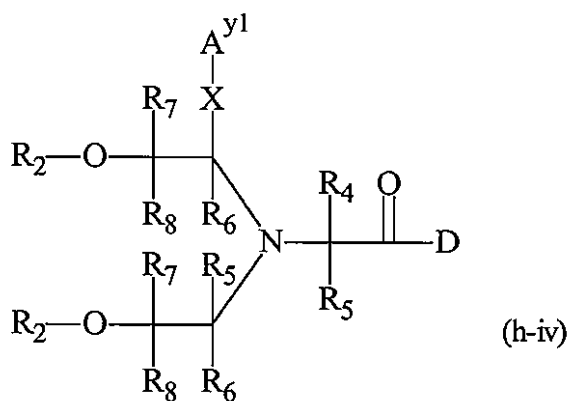
【0230】

他の好ましいプロドラッグリンカーは、WO2006/136586A2に開示されており、それに記載されたとおりに得ることができる。したがって、好ましいプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬A^{y1}-L-Dは、式(h-iii)、式(h-iv)又は式(h-v):

【化56】

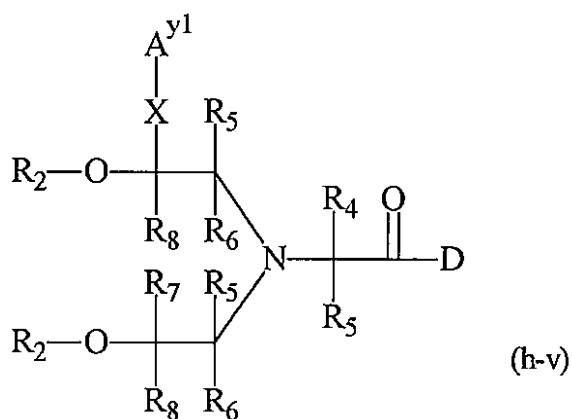


30



40

50



10

(式中、

A^{Y1} は、工程(e)で定義されたとおりの官能基であり、

Dは、アミド連結を形成する対応する薬物のアミン基を介してLに接続される生物学的活性部分であり、

Xは、R13-Y1などのスペーサ部分であり、

Y1は、O、S、NR6、スクシンイミド、マレイミド、不飽和炭素-炭素結合若しくは自由電子対を含有する任意のヘテロ原子であるか又は存在せず、

R_{13} は、置換又は非置換の直鎖、分岐又は環状アルキル又はヘテロアルキル、アリール、置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリールから選択され、

20

R_2 及び R_3 は、水素、アシル基、又はヒドロキシル基のための保護基から独立して選択され、

R_4 から R_{12} は、水素、置換又は非置換の直鎖、分岐又は環状アルキル又はヘテロアルキル、アリール、置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、シアノ、ニトロ、ハロゲン、カルボキシ、カルボキサミドから独立して選択される)の構造を有する。

【 0 2 3 1 】

式(h-iii)、式(h-iv)及び式(h-v)において、Lは、 A^{Y1} 及びDを連結する部分に相当することが理解される。

30

【 0 2 3 2 】

好ましくは、式(h-iii)、式(h-iv)及び式(h-v)の R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 及び R_{12} は、H、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル及び $C_2 \sim 6$ アルキニルから独立して選択される。

【 0 2 3 3 】

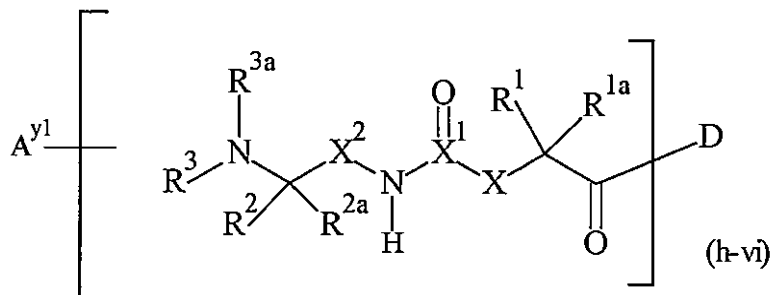
好ましくは、式(h-iii)、式(h-iv)及び式(h-v)において、Y1は、 $C_1 \sim 20$ アルキル、 $C_2 \sim 20$ アルケニル又は $C_2 \sim 20$ アルキニルである。

【 0 2 3 4 】

別の好ましいプロドラッグリンカーは、WO2009/095479A2に開示されており、それに記載されたとおりに得ることができる。したがって、好ましいプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬 A^{Y1} -L-Dは、式(h-vi):

40

【化 5 7】



10

(式中、

A^{yl} は、工程(e)で定義されたとおりの官能基であり、

Dは、アミド連結を形成することによって対応する薬物の芳香族アミンを介して分子の残りに接続される生物学的活性部分であり、

Xは、 $C(R^4R^{4a})$ 、 $N(R^4)$ 、O、 $C(R^4R^{4a})-C(R^5R^{5a})$ 、 $C(R^5R^{5a})-C(R^4R^{4a})$ 、 $C(R^4R^{4a})-N(R^6)$ 、 $N(R^6)-C(R^4R^{4a})$ 、 $C(R^4R^{4a})-O$ 、又は $O-C(R^4R^{4a})$ であり、

X^1 は、C、又はS(O)であり、

X^2 は、 $C(R^7, R^{7a})$ 、又は $C(R^7, R^{7a})-C(R^8, R^{8a})$ であり、

R^1 、 R^{1a} 、 R^2 、 R^{2a} 、 R^3 、 R^{3a} 、 R^4 、 R^{4a} 、 R^5 、 R^{5a} 、 R^6 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 、 R^{8a} は、H及び $C_1 \sim 4$ アルキルからなる群から独立して選択され、

20

任意選択で、対 R^{1a}/R^{4a} 、 R^{1a}/R^{5a} 、 R^{4a}/R^{5a} 、 R^{4a}/R^{5a} 、 R^{7a}/R^{8a} の1つ以上は、化学結合を形成し、

任意選択で、対 R^1/R^{1a} 、 R^2/R^{2a} 、 R^4/R^{4a} 、 R^5/R^{5a} 、 R^7/R^{7a} 、 R^8/R^{8a} の1つ以上は、それらが結合している原子と一緒にあって、 $C_3 \sim 8$ シクロアルキル、又は4から7員ヘテロシクリルを形成し、

任意選択で、対 R^1/R^4 、 R^1/R^5 、 R^1/R^6 、 R^4/R^5 、 R^7/R^8 、 R^2/R^3 の1つ以上は、それらが結合している原子と一緒にあって、環Aを形成し、

任意選択で、 R^3/R^{3a} は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4から7員ヘテロ環を形成し、

Aは、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、テトラリニル、 $C_3 \sim 10$ シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、及び8から11員ヘテロビシクリルからなる群から選択され、但し、 R^1 、 R^{1a} 、 R^2 、 R^{2a} 、 R^3 、 R^{3a} 、 R^4 、 R^{4a} 、 R^5 、 R^{5a} 、 R^6 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 又は R^{8a} の1個の水素は、 A^{yl} により置き換えられている)

30

の構造を有する。

【 0 2 3 5】

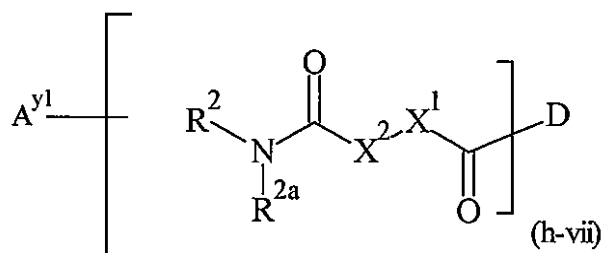
式(h-vi)において、Lは、 A^{yl} 及びDを連結する部分に相当することが理解される。

【 0 2 3 6】

別の好ましいプロドラッグリンカーは、WO2011/012721A1及びWO2011/012722A1に開示されており、それらに記載されたとおりに得ることができる。したがって、好ましいプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬 A^{yl} -L-Dは、式(h-vii):

40

【化 5 8】



(式中、

Dは、アミド連結を形成することによって対応する薬物の芳香族アミンを介して分子の

50

残りに接続される生物学的活性部分であり、

A^{y1} は、工程(e)で定義されたとおりの官能基であり、

X^1 は、 $C(R^1R^{1a})$ 、又は $C_3 \sim 8$ シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、テトラリニル、若しくは8から11員ヘテロビシクリルから選択される環状フラグメントであり、

ここで、

X^1 が環状フラグメントである場合、前記環状フラグメントは、2個の隣接する環原子を介して L^1 に組み込まれて、アミド結合の炭素原子に隣接している X^1 の環原子も炭素原子であり、

X^2 は、化学結合であるか、又は $C(R^3R^{3a})$ 、 $N(R^3)$ 、 O 、 $C(R^3R^{3a})-C(R^4R^{4a})$ 、 $C(R^3R^{3a})-N(R^4)$ 、 $N(R^3)-C(R^4R^{4a})$ 、 $C(R^3R^{3a})-O$ 、若しくは $O-C(R^3R^{3a})$ から選択され、 10

ここで、

X^1 が環状フラグメントである場合、 X^2 は、化学結合、 $C(R^3R^{3a})$ 、 $N(R^3)$ 又は O であり、

任意選択で、 X^1 が環状フラグメントであり、 X^2 が $C(R^3R^{3a})$ である場合、 L^1 内の X^1 フラグメントと X^2 フラグメントの順序は、変えられてもよく、環状フラグメントは、2個の隣接する環原子を介して L^1 に組み込まれ、

R^1 、 R^3 及び R^4 は、 H 、 $C_1 \sim 4$ アルキル及び $-N(R^5R^{5a})$ からなる群から独立して選択され、

R^{1a} 、 R^2 、 R^{3a} 、 R^{4a} 及び R^{5a} は、 H 及び $C_1 \sim 4$ アルキルからなる群から独立して選択され、 R^5 は、 $C(O)R^6$ であり、

R^6 は、 $C_1 \sim 4$ アルキルであり、 20

任意選択で、対 R^{1a}/R^{4a} 、 R^{3a}/R^{4a} 又は R^{1a}/R^{3a} は、化学結合を形成し、

但し、 R^1 、 R^{1a} 、 R^2 、 R^{2a} 、 R^3 、 R^{3a} 、 R^4 、 R^{4a} 、 R^5 、 R^{5a} 又は R^6 の1個の水素は、 A^{y1} で置き換えられている)の構造を有する。

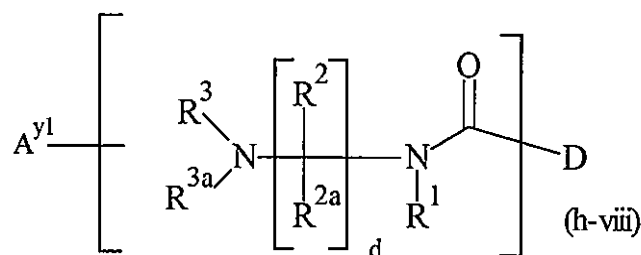
【 0 2 3 7 】

式(h-vii)において、 L は、 A^{y1} 及び D を連結する部分に相当することが理解される。

【 0 2 3 8 】

別の好ましいプロドラッグリンカーは、WO2011/089214A1に開示されており、それに記載されたとおりに得ることができる。したがって、好ましいプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬 A^{y1} - L - D は、式(h-viii): 30

【 化 5 9 】



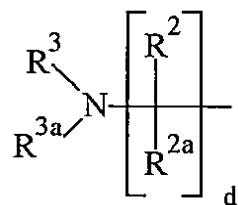
(式中、

A^{y1} は、工程(e)で定義されたとおりの官能基であり、 40

D は、カルバメート連結を形成することによって対応する薬物の芳香族ヒドロキシル(-OH)を介して分子の残りに接続される生物学的活性部分であり、

R^1 は、 $C_1 \sim 4$ アルキル、ヘテロアルキル、 $C_3 \sim 8$ シクロアルキル、及び

【 化 6 0 】



からなる群から選択され、

R^2 、 R^{2a} 、 R^3 及び R^{3a} は、水素、置換又は非置換の直鎖、分岐又は環状 $C_{1\sim 4}$ アルキル又はヘテロアルキルから独立して選択され、

それぞれのdは、独立して、2、3又は4であり、

但し、 R^1 、 R^2 、 R^{2a} 、 R^3 又は R^{3a} の1個の水素は、 A^{y1} で置き換えられている)の構造を有する。

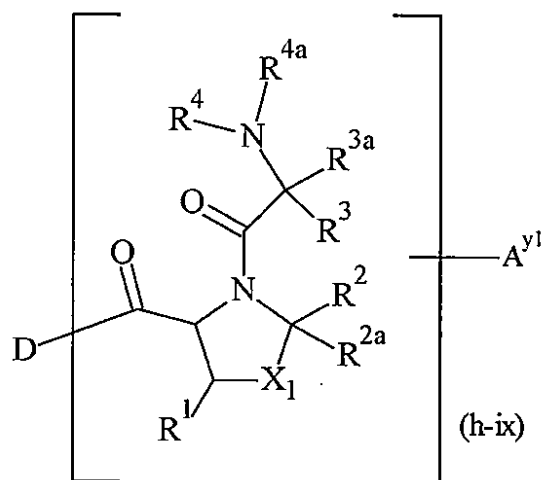
【0239】

式(h-viii)において、Lは、 A^{y1} 及びDを連結する部分に相当することが理解される。

【0240】

別の好ましいプロドラッグリンカーは、WO2011/089216A1に開示されており、それに記載されたとおりに得ることができる。したがって、好ましいプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬 A^{y1} -L-Dは、式(h-ix):

【化61】



[式中、

A^{y1} は、工程(e)で定義されたとおりの官能基であり、

Dは、アミド連結を形成することによって対応する薬物の脂肪族アミンを介して分子の残りに接続される生物学的活性部分であり、

X_1 は、O、S又は $CH-R^{1a}$ から選択され、

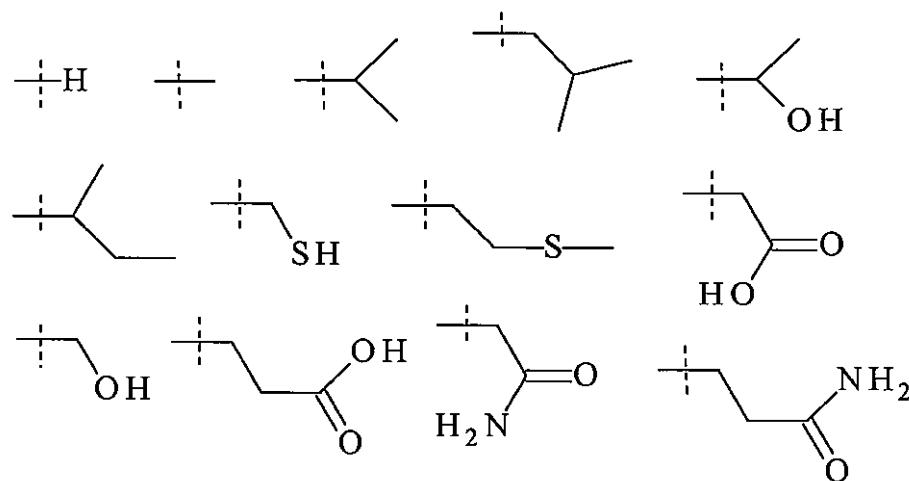
R^1 及び R^{1a} は、H、OH、 CH_3 から独立して選択され、

R^2 、 R^{2a} 、 R^4 及び R^{4a} は、H及び $C_{1\sim 4}$ アルキルから独立して選択され、

R^3 及び R^{3a} は、H、 $C_{1\sim 4}$ アルキル、及び R^5 から独立して選択され、

R^5 は、

【化62】





20

30

40

50

、4から7員ヘテロシクリル、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、テトラリニル、又は8から11員ヘテロビシクリルから選択される1つ以上の環状フラグメントを独立して形成してもよく、

任意選択で、 R^1 、 R^{1a} 、 R^2 、 R^3 、 R^{3a} 、 R^4 及び R^{4a} は、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_2 \sim 6$ アルキニル、 $C_3 \sim 8$ シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、テトラリニル、又は8から11員ヘテロビシクリルを含む群から選択される置換基でさらに置換されており、

但し、 R^1 、 R^{1a} 、 R^2 、 R^3 、 R^{3a} 、 R^4 及び R^{4a} の1個の水素は、 A^{y1} で置き換えられている)の構造を有する。

【0247】

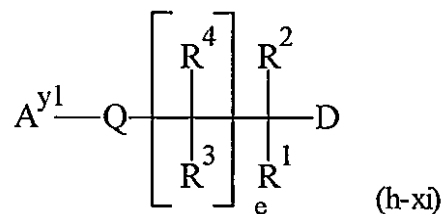
10

式(h-x)において、Lは、 A^{y1} 及びDを連結する部分に相当することが理解される。

【0248】

別の好ましいプロドラッグリンカーは、PCT/EP2012/065748に開示されており、それに記載されたとおりに得ることができる。したがって、好ましいプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬 A^{y1} -L-Dは、式(h-xi)：

【化64】



20

(式中、

A^{y1} は、工程(e)で定義されたとおりの官能基であり、

Dは、カルボン酸エステル連結を形成することによって対応する薬物のカルボン酸基(-(C=O)-OH)を介して分子の残りに接続される生物学的活性部分であり、

R^1 は、非置換アルキル、置換アルキル、非置換フェニル、置換フェニル、非置換ナフチル、置換ナフチル、非置換インデニル、置換インデニル、非置換インダニル、置換インダニル、非置換テトラリニル、置換テトラニリル、非置換 $C_3 \sim 10$ シクロアルキル、置換 $C_3 \sim 10$ シクロアルキル、非置換の4から7員ヘテロシクリル、置換された4から7員ヘテロシクリル、非置換の8から11員ヘテロビシクリル、及び置換された8から11員ヘテロビシクリルの群から選択され、

30

R^2 は、H、非置換アルキル及び置換アルキルから選択され、

R^3 及び R^4 は、H、非置換アルキル及び置換アルキルからなる群から独立して選択され、

eは、0又は1であり、

任意選択で、 R^1 及び R^3 は、それらが結合している原子と一緒にあって、環Aを形成し、

Aは、 $C_3 \sim 10$ シクロアルキル、4から7員脂肪族ヘテロシクリル、及び8から11員脂肪族ヘテロビシクリルからなる群から選択され、ここで、Aは、非置換であるか又は置換されており、

Qは、 $C_1 \sim 50$ アルキル、 $C_2 \sim 50$ アルケニル又は $C_2 \sim 50$ アルキニルを含む群から選択され、このフラグメントは、-NH-、-N($C_1 \sim 4$ アルキル)-、-O-、-S-、-C(O)-、-C(O)NH-、-C(O)N($C_1 \sim 4$ アルキル)-、-O-C(O)-、-S(O)-、-S(O)₂-、4から7員ヘテロシクリル、フェニル又はナフチルから選択される1個以上の基で任意選択で中断されている)の構造を有する。

40

【0249】

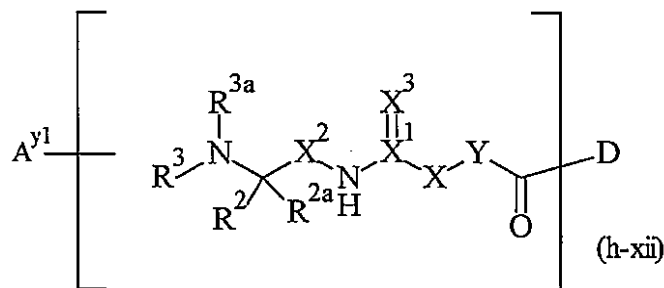
式(h-xi)において、Lは、 A^{y1} 及びDを連結する部分に相当することが理解される。

【0250】

別の好ましいプロドラッグリンカーは、EP12165516に開示されており、それに記載されたとおりに得ることができる。したがって、好ましいプロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬 A^{y1} -L-Dは、式(h-xii)：

50

【化 6 5】



(式中、

10

A^{y1} は、工程(e)で定義されたとおりの官能基であり、

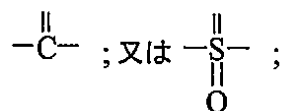
Dは、エステル又はカルバメート連結を形成することによって対応する薬物のヒドロキシル基を介して分子の残りに接続される生物学的活性部分であり、

Yは、 $-C(R^1)(R^{1a})-$ 、又は $-N(R^1)-$ であり、

Xは、 $-C(R^4)(R^{4a})-$ 、 $-N(R^4)-$ 、 $-O-$ 、 $-C(R^4)(R^{4a})-C(R^5)(R^{5a})-$ 、 $-C(R^4)(R^{4a})-N(R^6)-$ 、 $-N(R^6)-C(R^4)(R^{4a})-$ 、 $-C(R^4)(R^{4a})-O-$ 、 $-O-C(R^4)(R^{4a})-$ 、 $-C(O)-N(R^6)-$ 、又は $-N(R^6)-C(O)-$ であり、

X^1 は、

【化 6 6】



20

であり、

X^2 は、 $-C(R^7)(R^{7a})-$ 、又は $-C(R^7)(R^{7a})-C(R^8)(R^{8a})-$ であり、

X^3 は、 $=O$ 、 $=S$ 、又は $=N-CN$ であり、

R^1 、 R^{1a} 、 R^2 、 R^{2a} 、 R^3 、 R^{3a} 、 R^4 、 R^{4a} 、 R^5 、 R^{5a} 、 R^6 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 、 R^{8a} は、H、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_2 \sim 6$ アルキニル、 $C_1 \sim 20$ ヘテロアルキル及び Y_1-T からなる群から独立して選択され、且つ独立して、対 R^{1a}/R^{4a} 、 R^{1a}/R^{5a} 、 R^{4a}/R^{5a} 、 R^{7a}/R^{8a} の全てが存在するか、1つ以上が存在せず、それらが結合している対応する炭素原子は、シス二重結合を形成し、

30

Y^1 は、化学結合又は $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_2 \sim 6$ アルキニルであり、

Tは、フェニル、ナフチル、インデニル、インダニル、テトラリニル、 $C_3 \sim 10$ シクロアルキル、4から7員ヘテロシクリル、又は8から11員ヘテロピシクリルからなる群から選択され、ここで、Tは、同じ又は異なる1個以上の R^9 で任意選択で置換されており、

R^9 は、ハロゲン、 $-CN$ 、オキソ($=O$)、 $-C(O)OH$ 、 $-OH$ 、 $-S(O)_2NH_2$ 、 $-S(O)NH_2$ 、 $-S(O)_2OH$ 、 $-S(O)OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $C_1 \sim 6$ アルキル又は $C_1 \sim 10$ ヘテロアルキルであり、

任意選択で、対 R^1/R^{1a} 、 R^1/R^4 、 R^1/R^6 、 R^1/R^5 、 R^2/R^{2a} 、 R^2/R^3 、 R^4/R^{4a} 、 R^4/R^5 、 R^5/R^{5a} 、 R^7/R^{7a} 、 R^7/R^8 、 R^8/R^{8a} の1つ以上は、それらが結合している原子と一緒にあって、環Tを形成し、

40

任意選択で、 R^3/R^{3a} は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4から7員ヘテロ環を形成し、

但し、 R^1 、 R^{1a} 、 R^2 、 R^{2a} 、 R^3 、 R^{3a} 、 R^4 、 R^{4a} 、 R^5 、 R^{5a} 、 R^6 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 又は R^{8a} の1個の水素は、 A^{y1} で置き換えられている)の構造を有する。

【0 2 5 1】

式(h-xii)において、Lは、 A^{y1} 及びDを連結する部分に相当することが理解される。

【0 2 5 2】

好ましい実施形態において、プロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬 $A^{y1}-L-D$ は、式(h-i)又は式(h-ii)のものである。

50

【0253】

別の好ましい実施形態において、プロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬A^{y1}-L-Dは、式(h-vi)のものである。

【0254】

少なくとも1個の官能基を含むいずれの薬物も、プロドラッグリンカー試薬にコンジュゲートさせ、プロドラッグリンカー-生物学的活性部分試薬A^{y1}-L-Dを得ることができる。このような薬物は、ポリペプチド、タンパク質及びオリゴヌクレオチドを含む群から選択される。好ましくは、薬物はタンパク質である。

【0255】

好ましくは、Dは、2から500kDa、より好ましくは5から250kDa、より好ましくは5から100kDa、最も好ましくは10から60kDaの範囲の分子量を有する。 10

【0256】

一実施形態において、薬物は、タンパク質薬物である。好ましくは、薬物は、塩基性線維芽成長因子(bFGF)、酸性線維芽成長因子(aFGF)、形質転換成長因子アルファ(TGF α)、形質転換成長因子ベータ(TGF β)、血小板由来成長因子(PDGF)、アンジオジェニン、血小板由来内皮細胞成長因子(PD-ECGF)、インターロイキン-1(IL-1)インターロイキン-8(IL-8)、インターロイキン-12、血管内皮成長因子(VEGF)、アンジオポイエチン-I、De1-I、ホリスチン、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、肝細胞成長因子(HGF)、レプチン、ミドカイン、胎盤成長因子、プレイオトロフィン(PTN)、プログラニューリン、プロリフェリン、腫瘍壊死因子-アルファ(TNF-アルファ)、アンジオアレクチン、アンジオスタチン(プラスミノゲンフラグメント)、抗血管新生抗トロンビンIII、軟骨由来抑制因子(CDI)、CDS9補体フラグメント、エンドスタチン(コラーゲンXVIIIフラグメント)、フィブ्रोネクチンフラグメント、グロ-ベータ、ヘパリナーゼ、ヘパリンヘキササッカリドフラグメント、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)、インターフェロンアルファ/ベータ/ガンマ、インターフェロン誘発性タンパク質(IP-IO)、クリングルS(プラスミノゲンフラグメント)、メタロプロテイナーゼ阻害剤(TIMF)、2-メトキシエストラジオール、胎盤リボヌクレアーゼ阻害剤、プラスミノゲン活性化因子阻害剤、血小板因子-4(PF4)、プロラクチン16kDフラグメント、プロリフェリン関連タンパク質(PRP)、レチノイド、テトラヒドロコルチゾール-S、トロンボスポンジン-I(TSP-I)、バキュロスタチン、及びバソスタチン(カルレティキユリンフラグメント)、プロスタグランジン、成長ホルモン、インスリン様成長因子-I(IGF-I)、スフィンゴシン-1-リン酸、因子D、RTP801、補体(C1、C3及びC5を含む)の阻害剤、 α 2アドレナリンアゴニスト、mTOR、毛様体神経栄養因子(CNTF)、脳由来神経栄養因子(BDNF)、グリア細胞由来神経栄養因子(GDNF)、レンズ上皮由来成長因子(LEDGF)、ロッド由来コーン生存因子(RdCVF)、色素上皮由来因子(PEDF)から選択される生物学的標的の1種以上の活性を調節するタンパク質薬物である。 20

【0257】

薬物がタンパク質である場合、それは、好ましくは、ACTH、アデノシンデアミナーゼ、アガルシダーゼ、アルブミン、アルファ-1抗トリプシン(AAT)、アルファ-1プロテイナーゼ阻害剤(API)、アルグコシダーゼ、アルテプラーゼ、アニストレプラーゼ、アネクロッドセリンプロテアーゼ、抗体(モノクローナル又はポリクローナル及びフラグメント又は融合)、抗トロンビンIII、抗トリプシン、アプロチニン、アスパラギナーゼ、ピファリン、骨形成タンパク質、カルシトニン(サケ)、コラゲナーゼ、DNase、エンドルフィン、エンフェルチド、エンケファリン、エリスロポイエチン、因子VIIa、因子VIII、因子VIIIa、因子IX、フィブノリシン、融合タンパク質、卵胞刺激ホルモン、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、ガラクトシダーゼ、グルカゴン、グルカゴン様ペプチド様GLP-1、グルコセレブロシダーゼ、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、絨毛性ゴナドトロピン(hCG)、ヘモグロビン、B型肝炎ワクチン、ヒルジン、ヒアルロニダーゼ、イズロニダーゼ、免疫グロブリン、インフルエンザワクチン、インターロイキン(1アルファ、1ベータ、2、3、4、6、10、11、12)、IL-1受容体アンタゴニスト(rhIL-Ira)、インスリン、インターフェロン(アルファ2a、アルファ2b、アルファ2c、ベータ1a、ベータ1b、ガンマ1a、 40

50

ガンマ1b)、ケラチノサイト成長因子(KGF)、ラクターゼ、ロイプロリド、レボチロキシン、黄体形成ホルモン、ライムワクチン、ナトリウム利尿ペプチド、パンクレリパーゼ、パイン、副甲状腺ホルモン、PDGF、ペプシン、ホスホリパーゼ活性化タンパク質(PLAP)、血小板活性化因子アルセチルヒドロラーゼ(PAF-AH)、プロタクチン、タンパク質C、オクトレオチド、セクレチン、セルモレリン、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)、ソマトロピン(成長ホルモン)、ソマトスタチン、ストレプトキナーゼ、スクラーゼ、破傷風毒素フラグメント、チラクターゼ、トロンビン、チモシン、甲状腺刺激ホルモン、サイロトロピン、形質転換成長因子、腫瘍壊死因子(TNF)、TNF受容体-IgG Fc、組織プラスミノゲン活性化因子(tPA)、トランスフェリン、TSH、尿酸オキシダーゼ及びウロキナーゼからなる群から選択される。

10

【0258】

薬物が抗体である場合、それは、モノクローナル若しくはポリクローナル抗体又はそのフラグメント若しくは融合であってもよい。好ましい抗体フラグメントは、Fab(フラグメント、抗原結合)、F(ab)₂フラグメント、Fc(フラグメント、結晶性)、pFc'フラグメント、Fv(フラグメント、可変)、scFv(単鎖可変フラグメント)、ジ-scFv/二重特異性抗体、二重特異性T細胞係合剤、CDR(相補性決定領域)、単ドメイン抗体(sdABs/ナノボディ)、重鎖(α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、 μ)又は重鎖フラグメント、軽鎖(λ 、 κ)又は軽鎖フラグメント、VHフラグメント(重鎖の可変領域)、VLフラグメント(軽鎖の可変領域)、VHHフラグメント及びVNARフラグメントを含む群から選択される。

20

【0259】

薬物が親和性足場タンパク質である場合、それは、好ましくは、サメ由来親和性足場タンパク質、Kunitzドメイン由来親和性足場タンパク質、センチリン由来親和性足場タンパク質、ユビキチン由来親和性足場タンパク質、リボカリン由来親和性足場タンパク質、アンキリン由来親和性足場タンパク質、バーサボディ(versabody)(ジスルフィド富化親和性足場タンパク質)、フィブ्रोネクチン由来親和性足場タンパク質、ラクダ由来(cameloid-derived)抗体フラグメント及び親和性足場タンパク質、ラマ由来抗体フラグメント及び親和性足場タンパク質、トランスフェリン由来親和性足場タンパク質、及びシステインノット足場由来親和性足場タンパク質を有するカボチャ型プロテアーゼ阻害剤(squash-type protease inhibitor)を含む群から選択される。

30

【0260】

別の態様において、本発明は、本発明の担体連結プロドラッグの調製方法によって得ることができる担体連結プロドラッグに関する。

【0261】

このような担体連結プロドラッグは、1時間から12ヶ月、例えば、6時間から12ヶ月、12時間から11ヶ月、1日から10ヶ月、3日から9ヶ月、6日から9ヶ月、1週間から9ヶ月、2週間から7ヶ月、3週間から8ヶ月、4週間から8ヶ月、6週間から7ヶ月、8週間から7ヶ月、10週間から6ヶ月、12週間から6ヶ月又は16週間から5ヶ月の範囲の半減期で薬物分子を放出する。

【0262】

本発明の別の態様は、本発明の担体連結プロドラッグ又は薬学的なその塩を薬学的に許容される賦形剤と一緒に含む医薬組成物である。

40

【0263】

本発明のさらに別の態様は、医薬品としての使用のための、本発明の担体連結プロドラッグ、又は本発明の担体連結プロドラッグを含む医薬組成物である。

【0264】

本発明のさらに別の態様は、1種以上の状態の治療を必要としている哺乳動物患者、好ましくはヒトにおいて治療、制御、遅延又は予防する方法であって、前記患者に、治療有効量の本発明の担体連結プロドラッグ、又は本発明の担体連結プロドラッグ若しくは薬学的に許容されるその塩を含む医薬組成物を投与することを含む方法である。

【0265】

50

[実施例]

原料及び方法

原料:

アミノ4-アームPEG5000は、JenKem Technology、北京、中華人民共和国から入手した。Cithrol(商標)DPHSは、Croda International Pic、Cowick Hall、英国から入手した。シス-1,4-シクロヘキサンジカルボン酸は、TCI EUROPE N.V.、Boerenveldseweg 6-Haven 10 63、2070 Zwijndrecht、ベルギー国から入手した。

【0266】

イソプロピルマロン酸は、ABCR GmbH & Co.KG、76187 Karlsruhe、独国から入手した。

【0267】

グルタル酸モノベンジルエステルは、IRIS Biotec GmbH、95615 Marktreidwitz、独国から入手した。

【0268】

N-(3-マレイミドプロピル)-21-アミノ-4,7,10,13,16,19-ヘキサオキサ-ヘンエイコサン酸ペンタフルオロフェニルエステル(マレイミド-NH-PEG6-PFE)及びN-(3-マレイミドプロピル)-39-アミノ-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-ドデカオキサ-ノナトリアコンタン酸ペンタフルオロフェニルエステル(マレイミド-NH-PEG12-PFE)は、Biomatrik Inc.、Jiaxing、中華人民共和国から入手した。

【0269】

Oxama pure及びFmoc-L-Asp(OtBu)-OHは、Merck Biosciences GmbH、Schwalbach/Ts、独国から購入した。

【0270】

(5-メチル-2-オキソ-1,3-ジオキソール-4-イル)-メチル4-ニトロフェニルカーボネートは、Chemzon Scientific Inc.、Lachine、QC、カナダ国から購入した。

【0271】

他の化学薬品のすべては、Sigma-ALDRICH Chemie GmbH、Taufkirchen、独国からであった。

【0272】

方法:

RP-HPLCは、それぞれ、Waters 600又は2535HPLCシステム及びWaters 2487又は2489吸光度検出器に接続された、100×20mm又は100×40mm C18 ReproSil-Pur 300 ODS-3 5µカラム(Maisch博士、Ammerbuch、独国)で行った。溶液A(H₂O中0.1%TFA)及び溶液B(アセトニトリル中0.1%TFA)の直線勾配を用いた。生成物を含有するHPLC画分を合わせ、凍結乾燥させた。

【0273】

フラッシュクロマトグラフィー精製は、Biotage KP-Silシリカカートリッジ並びに溶液としてのn-ヘプタン、酢酸エチル及びメタノールを用いて、Biotage AB、スウェーデンからのIsolera Oneシステムで行った。生成物は、254nmで検出した。240nmを超えて吸収度をまったく示さない生成物について、画分をLC/MSによりスクリーニングした。

【0274】

分析用超高性能LC(UPLC)は、Thermo ScientificからのLTQ Orbitrap Discovery質量分光計に接続されたWaters BEH300 C18カラム(2.1×50mm、1.7µm粒径)を備えたWaters Aquityシステムで行った。

【0275】

HPLC-エレクトロスプレーイオン化質量分光分析(HPLC-ESI-MS)は、Waters ACQUITY UPLC BEH300 C18 RPカラム(2.1×50mm、300Å、1.7µm、流量:0.25mL/分、溶媒A:UP-H₂O+0.04%TFA、溶媒B:UP-アセトニトリル+0.05%TFA)を備えた、Thermo LTQ Orbitrap Discovery高分解能/高精度質量分光計に接続されたAquity PDA検出器を有するWaters Aquity UPLCで行った。

【0276】

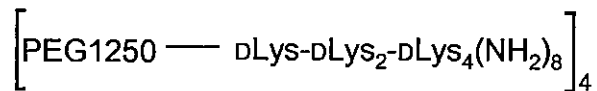
PEG生成物のMSスペクトルは、PEG出発原料の多分散性のために一連の $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$ 部分を示した。より容易な解釈のために、一つの単一代表 m/z シグナルのみを実施例で示す。

【 0 2 7 7 】

[実施例1]

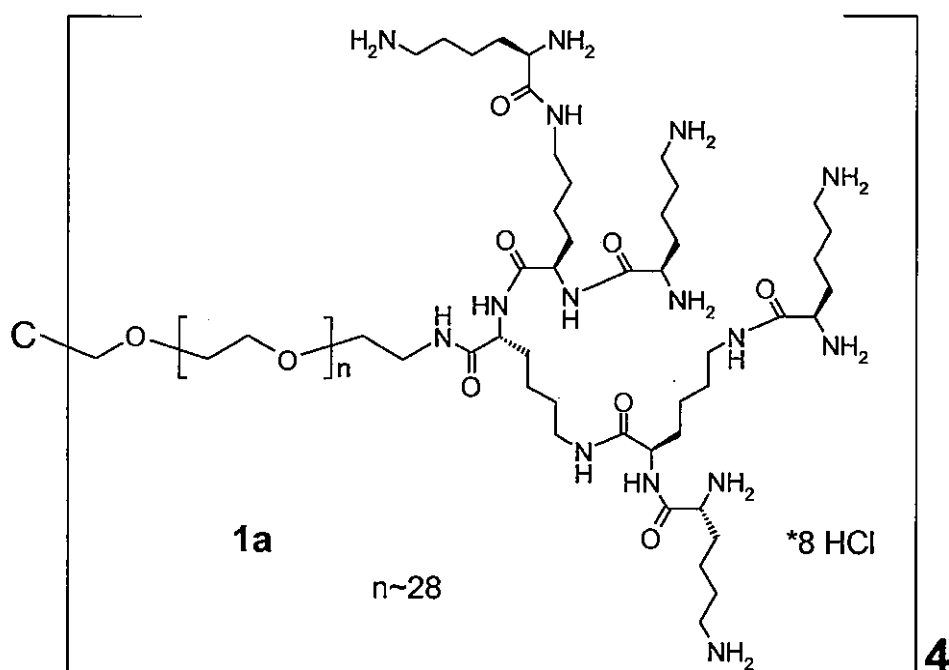
骨格試薬1a、1g及び1hの合成：

【 化 6 7 】



1a

=



【 0 2 7 8 】

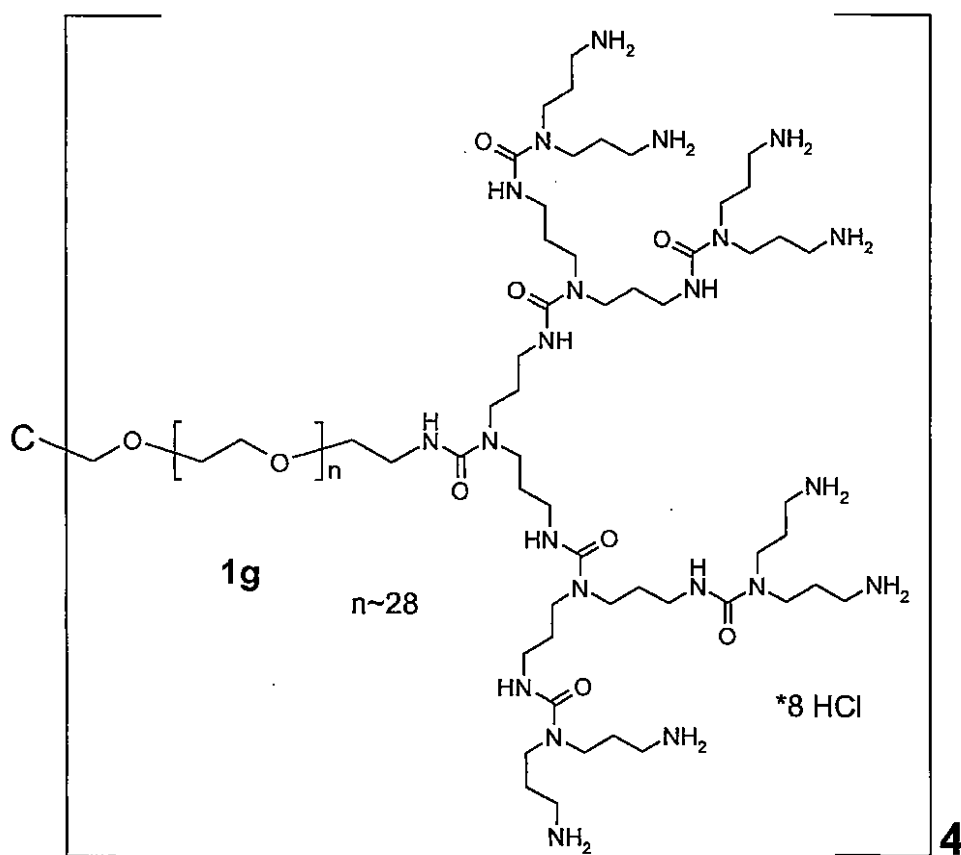
Boc-Lys(Boc)-OHの代わりにBoc-DLys(Boc)-OHを使用したことを除いてWO2011/012715A 1の実施例1に記載されたとおりに、骨格試薬1aを合成した。

MS: m/z 888.50= $[M+10H^+]^{10+}$ (計算値=888.54)

【化 6 8】

**1g**

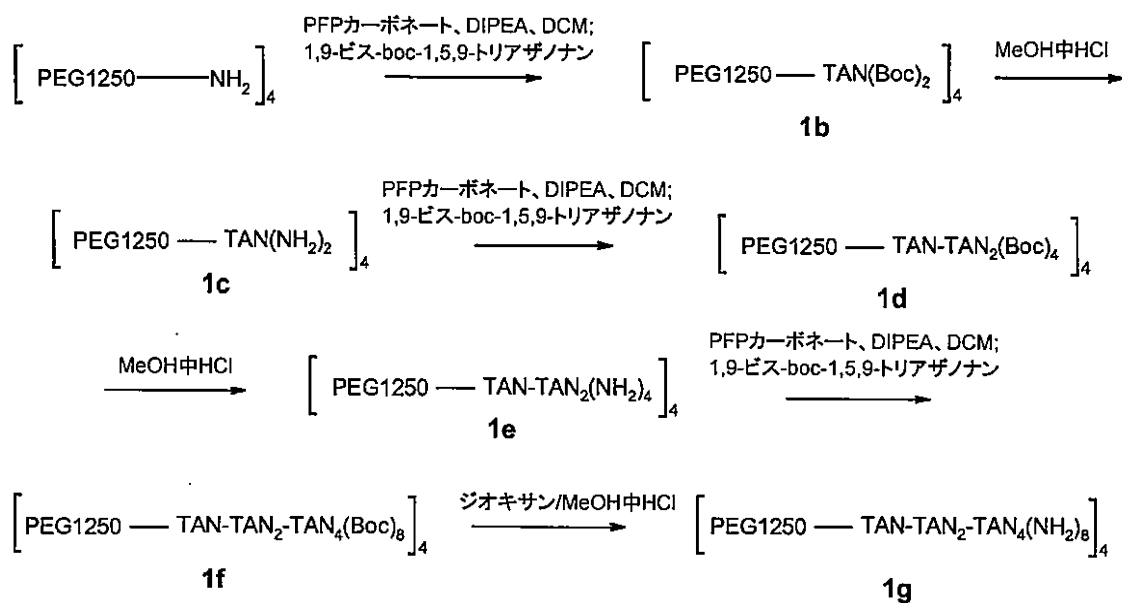
=



【 0 2 7 9】

骨格試薬**1g**は、以下のスキームに従ってアミノ4-アームPEG5000 **1b**から合成した：

【化 6 9】



10

20

30

40

50

【 0 2 8 0 】

化合物1bの合成のために、アミノ4-アームPEG5000(MW約5350g/モル、10.7g、2.00mmol、HCl塩)及びビス(ペンタフルオロフェニル)カーボネート(4.73g、12.0mmol)を43mLのDCM(無水)に溶解させ、DIPEA(3.10g、24.0mmol、4.18mL)を室温で添加した。10分後、1,9-ビス-boc-1,5,9-トリアザノナン(5.30g、16.0mmol)を添加し、混合物を15分間攪拌した。次いで、追加の1,9-ビス-boc-1,5,9-トリアザノナン(0.33g、1.0mmol)を添加した。完全な溶解後、反応混合物をろ過し、溶媒を室温で蒸発させた。

【 0 2 8 1 】

残渣を40mLのiPrOHに溶解させ、320mLのMTBEで希釈した。生成物を-20℃で一晩沈殿させた。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、200mLの冷却MTBE(0℃)で洗淨した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

10

収量11.1g(83%)白色固体1b。

MS:m/z 1112.86=[M+6H]⁶⁺(計算値:1113.04)。

【 0 2 8 2 】

化合物1cの合成のために、boc-保護化合物1b(11.1g、1.66mmol)を40mLの、MeOH中3M HClに溶解させ、45℃で20分間、次いで、55℃で10分間攪拌した。沈殿のために、10mLのMeOH及び200mLのMTBEを添加し、混合物を-20℃で16時間保存した。ガラスフィルタPro.3を通してろ過により沈殿物を集め、200mLの冷却MTBE(0℃)で洗淨した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量9.14g(89%)白色粉末1c(HCl塩)。

20

MS:m/z 979.45=[M+6H]⁶⁺(計算値=979.55)。

【 0 2 8 3 】

化合物1dの合成のために、化合物1c(9.06g、1.47mmol、HCl塩)及びビス(ペンタフルオロフェニル)カーボネート(6.95g、17.6mmol)を50mLのDCM(無水)に溶解させ、DIPEA(4.56g、35.3mmol、6.15mL)を室温で添加した。10分後、1,9-ビス-boc-1,5,9-トリアザノナン(7.80g、23.5mmol)を添加し、混合物を15分間攪拌した。次いで、追加の1,9-ビス-boc-1,5,9-トリアザノナン(0.49g、1.5mmol)を添加した。完全な溶解後、溶媒を室温で蒸発させた。

【 0 2 8 4 】

残渣を35mLのiPrOHに40℃で溶解させ、200mLのMTBEで希釈した。生成物を-20℃で一晩沈殿させた。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、200mLの冷却MTBE(0℃)で洗淨した。生成物を真空中で一晩乾燥させて、白色固体として1dを得た。

30

収量11.6g(90%)白色固体1d。

MS:m/z 1248.08=[M+7H]⁷⁺(計算値=1248.27)。

【 0 2 8 5 】

化合物1eの合成のために、boc-保護化合物1d(11.4g、1.31mmol)を40mLの、MeOH中3M HClに溶解させ、45℃で20分間、次いで、55℃で10分間攪拌した。沈殿のために、10mLのMeOH及び200mLのMTBEを添加し、混合物を-20℃で16時間保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、200mLの冷却MTBE(0℃)で洗淨した。生成物を真空中で一晩乾燥させて、白色粉末1eを得た。

40

収量7.60g(75%)白色粉末1e(HCl塩)。

MS:m/z 891.96=[M+8H]⁸⁺(計算値=892.13)。

【 0 2 8 6 】

化合物1fの合成のために、化合物1e(7.56g、0.98mmol、HCl塩)及びビス(ペンタフルオロフェニル)カーボネート(9.27g、23.0mmol)を250mLのDCM(無水)に溶解させ、DIPEA(6.08g、47.0mmol、8.19mL)を35℃で添加した。10分後、1,9-ビス-boc-1,5,9-トリアザノナン(5.30g、16.0mmol)を添加し、混合物を15分間攪拌した。次いで、追加の1,9-ビス-boc-1,5,9-トリアザノナン(0.33g、1.0mmol)を添加した。完全な溶解後、溶媒を室温で蒸発させた。

【 0 2 8 7 】

50

残渣を250mLのiPrOHに60℃で溶解させ、1350mLのMTBEで希釈した。生成物を-20℃で一晩沈殿させた。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、400mLの冷却MTBE(0℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させて、ガラス状固体として1fを得た。

収量11.1g(83%)ガラス状固体1f。

MS:m/z 1312.01=[M+10H]¹⁰⁺(計算値=1312.21)。

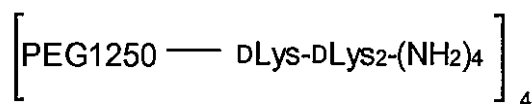
【 0 2 8 8 】

骨格試薬1gの合成のために、*boc*-保護化合物1f(7.84g、0.610mmol)を16mLのMeOHに37℃で溶解させ、55mLの、ジオキサン中4M HClの予備冷却溶液(4℃)を室温で添加した。混合物を冷却することなしに20分間撹拌した。20分後、110mLの、MeOH中3M HClを添加した。この溶液を24Falconチューブ(50mL)中で分配し、各Falconチューブに40mLの冷MTBE(-20℃)を添加することにより沈殿させた。3214rcfで1分間遠心分離後、上清をデカントし、ガラス状固体をFalconチューブ当たり5mLのMeOHに溶解させ、再び各Falconチューブに40mLの冷MTBE(-20℃)を添加することにより沈殿させた。上清を捨て、残りの固体を真空中で一晩乾燥させた。

収量5.74g(87%)白色ガラス状固体1g(HCl塩)。

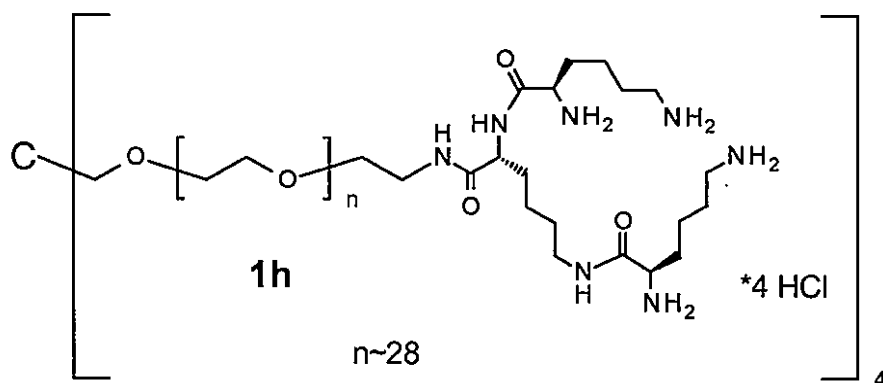
MS:m/z 965.46=[M+10H]¹⁰⁺(計算値=965.45)。

【 化 7 0 】



1h

=



【 0 2 8 9 】

Boc-Lys(Boc)-OHの代わりにBoc-DLys(Boc)-OHを使用したことを除いてWO2011/012715A1の実施例1で化合物1eについて記載されたとおりに、骨格試薬1hを合成した。

MS:m/z 848.52=[M+8H]⁸⁺(計算値=848.57)。

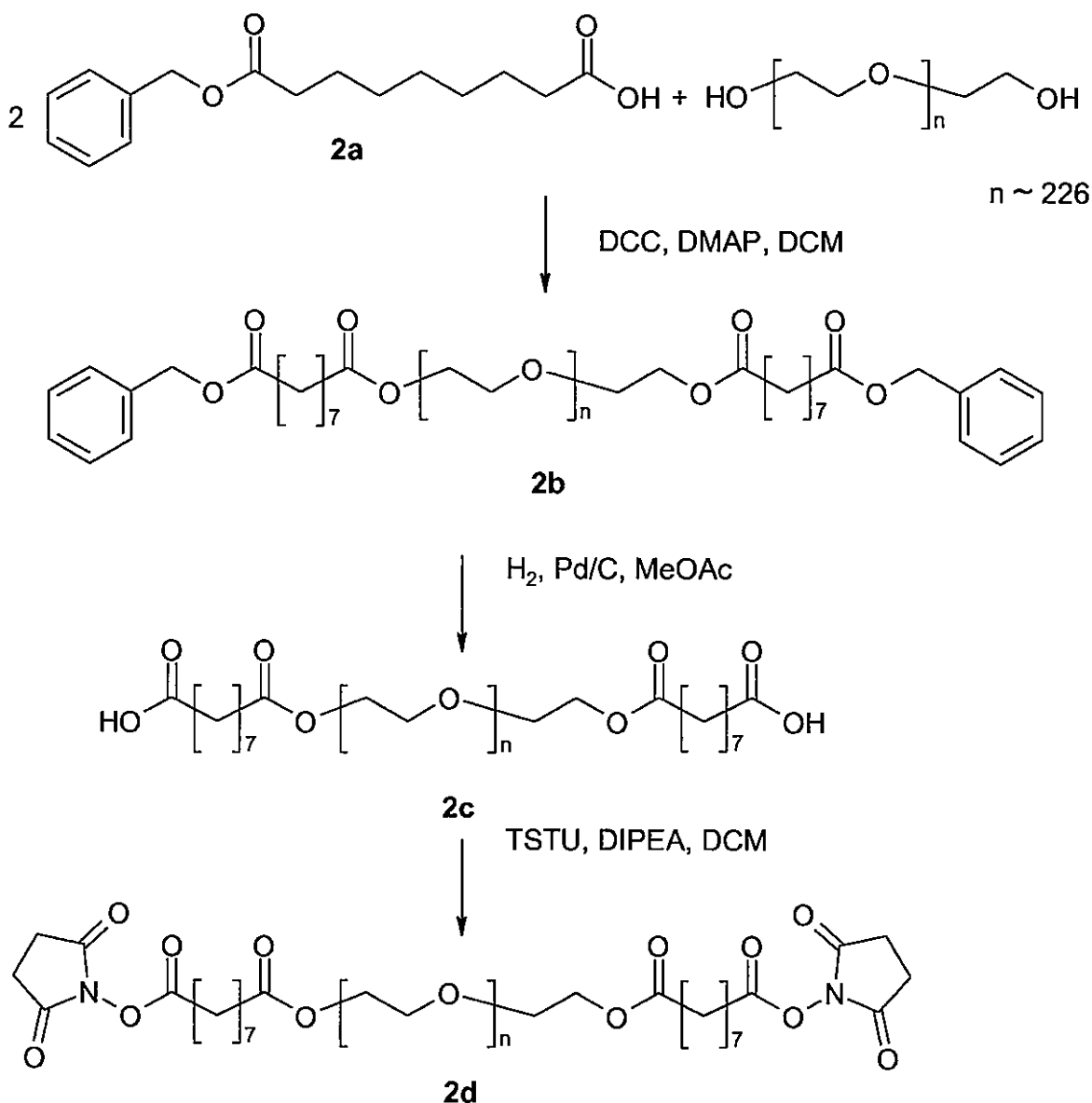
【 0 2 9 0 】

[実施例2]

クロスリンカー試薬2d、2g、rac-2k、rac-2o、2s、2v、rac-2y、2ac、2ag及び2akの合成

クロスリンカー試薬2eを、以下のスキームに従ってアゼライン酸モノベンジルエステル及びPEG10000から調製した：

【化 7 1】



【 0 2 9 1】

アゼライン酸モノベンジルエステル2aの合成のために、アゼライン酸(37.6g、200mmol)、ベンジルアルコール(21.6g、200mmol)、p-トルエンスルホン酸(0.80g、4.2mmol)、及び240mLのトルエンの混合物をDean-Stark装置で7時間還流させた。冷却後、溶媒を蒸発させ、300mLの飽和NaHCO₃水溶液を添加した。この混合物を3×200mLのMTBEで抽出した。合わせた有機相をNa₂SO₄で脱水し、溶媒を蒸発させた。溶離液として酢酸エチル/ヘプタン(10:90→25:75)を用いて2×340gのシリカ上で精製した。溶離液を蒸発させ、残渣を真空中で一晩乾燥させた。

収量25.8g(46%)無色油2a。

MS:m/z 279.16=[M+H]⁺(計算値=279.16)。

【 0 2 9 2】

化合物2bの合成については、アゼライン酸モノベンジルエステル2a(3.90g、14.0mmol)及びPEG10000(40.0g、4.00mmol)を64mLのクロロメタンに溶解させ、氷浴で冷却した。32mLのジクロロメタン中DCC(2.89g、14.0mmol)及びDMAP(0.024g、0.020mmol)の溶液を添加した。氷浴を取り除き、混合物を室温で一晩攪拌した。得られた懸濁液を0℃に冷却し、固体をろ別した。溶媒を真空中で蒸発させた。

【 0 2 9 3】

残渣を、65mLのジクロロメタンに溶解させ、室温で308mLのMTBEで希釈した。混合物を-

10

20

30

40

50

20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、250mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量40.8g(97%)白色粉末2b。

MS:m/z 835.50=[M+14H]¹⁴⁺(計算値=835.56)。

【0294】

化合物2cの合成のために、化合物2b(40.6g、3.86mmol)を酢酸メチル(250ml)に溶解させ、203mgの木炭上パラジウムを添加した。周囲圧の水素雰囲気下で、混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物をセライトのパッドを通してろ過し、ろ液を蒸発させ、真空中で一晩乾燥させた。

収量37.2g(93%)ガラス状固体2c。

MS:m/z 882.53=[M+13H]¹³⁺(計算値=882.51)。

【0295】

化合物2dの合成のために、化合物2c(32.0g、3.10mmol)及びTSTU(3.73g、12.4mmol)を150mLのジクロロメタンに室温で溶解させた。次いで、DIPEA(1.60g、112.4mmol)を添加し、混合物を1時間攪拌した。得られた懸濁液をろ過し、ろ液を170mLのジクロロメタンで希釈し、140mLの、750g水/197g NaCl/3g NaOHの溶液で洗浄した。有機相をMgSO₄で脱水し、溶媒を真空中で蒸発させた。

【0296】

残渣を、200mLのトルエンに溶解させ、室温で180mLのMTBEで希釈し、-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、100mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

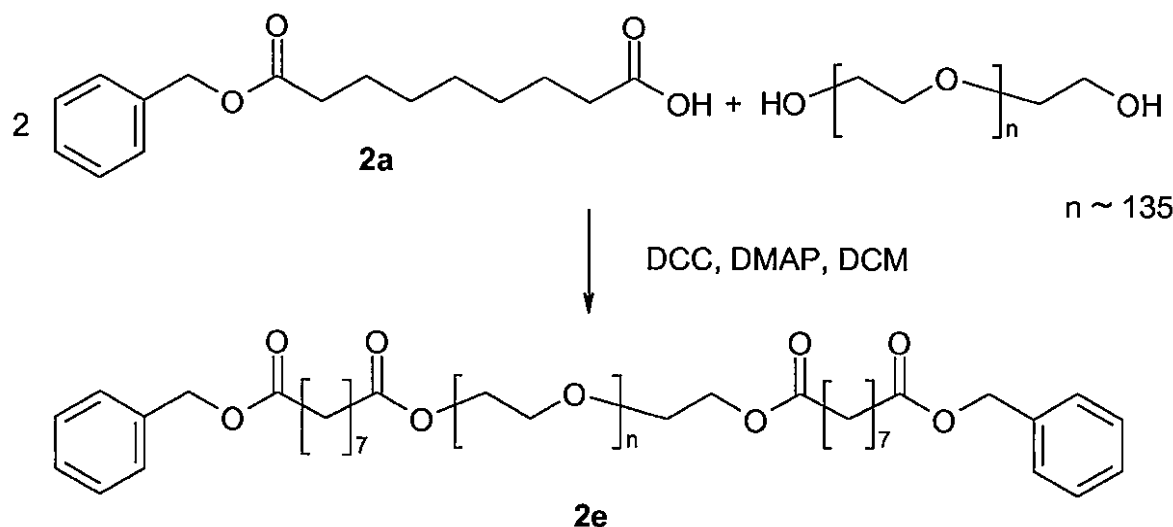
収量28.8g(88%)白色粉末2d。

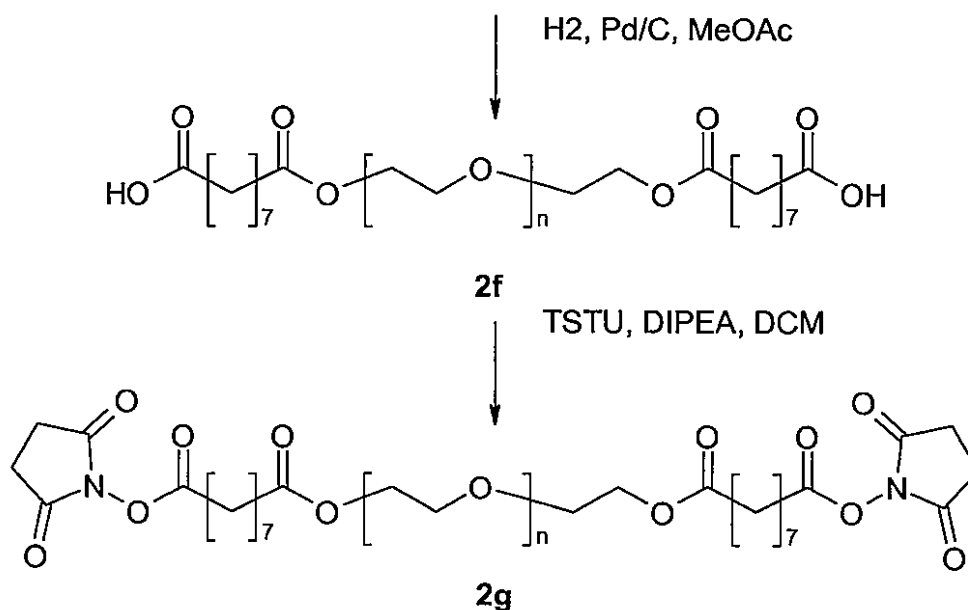
MS:m/z 795.47=[M+15H]¹⁵⁺(計算値=795.54)。

【0297】

クロスリンカー試薬2gを、以下のスキームに従ってアゼライン酸モノベンジルエステル及びPEG6000から調製した：

【化72】





10

【 0 2 9 8 】

化合物2eの合成のために、アゼライン酸モノベンジルエステル2a(6.50g、23.3mmol)及びPEG6000(40.0g、6.67mmol)を140mLのジクロロメタンに溶解させ、氷浴で冷却した。40mLのジクロロメタン中DCC(4.81g、23.3mmol)及びDMAP(0.040g、0.33mmol)の溶液を添加した。氷浴を取り除き、混合物を室温で一晩撹拌した。得られた懸濁液を0℃に冷却し、固体をろ別した。溶媒を真空中で蒸発させた。

20

【 0 2 9 9 】

残渣を、70mLのジクロロメタンに溶解させ、室温で300mLのMTBEで希釈した。混合物を-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、500mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量41.2g(95%)白色粉末2e。

MS:m/z 833.75=[M+8H]⁸⁺(計算値=833.74)。

【 0 3 0 0 】

化合物2fの合成のために、化合物2e(41.2g、6.32mmol)を酢酸メチル(238mL)及びエタノール(40mL)に溶解させ、次いで、400mgの木炭上パラジウムを添加した。周囲圧力の水素雰囲気下で、混合物を室温で一晩撹拌した。反応混合物をセライトのパッドを通してろ過し、ろ液を蒸発させ、真空中で一晩乾燥させた。

収量38.4g(96%)ガラス状固体2f。

MS:m/z 750.46=[M+9H]⁹⁺(計算値=750.56)。

30

【 0 3 0 1 】

化合物2gの合成のために、化合物2f(38.2g、6.02mmol)及びTSTU(7.25g、mmol)を130mLのジクロロメタンに室温で溶解させた。次いで、DIPEA(3.11g、24.1mmol)を添加し、混合物を1時間撹拌した。得られた懸濁液をろ過し、ろ液を100mLのジクロロメタンで希釈し、200mLの、750g水/197g NaCl/3g NaOHの溶液で洗浄した。有機相をMgSO₄上で乾燥させ、溶媒を真空中で蒸発させた。

40

【 0 3 0 2 】

残渣を、210mLのトルエンに溶解させ、室温で430mLのMTBEで希釈し、-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、450mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量35.8g(91%)白色粉末2g。

MS:m/z 857.51[M+8H]⁸⁺(計算値=857.51)。

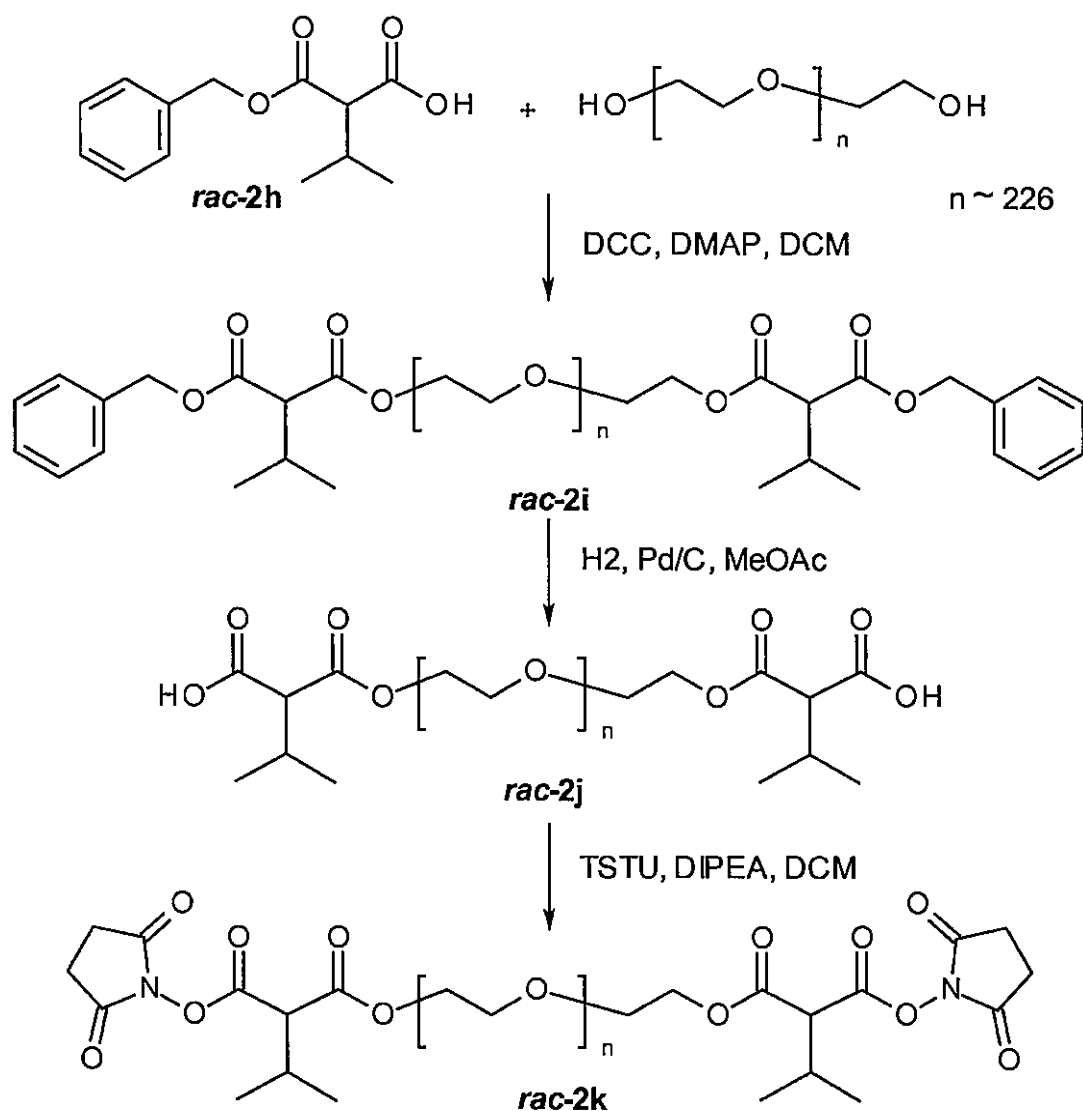
【 0 3 0 3 】

クロスリンカー試薬2kを、以下のスキームに従ってイソプロピルマロン酸モノベンジル

50

エステル及びPEG10000から調製した:

【化 7 3】



【 0 3 0 4】

イソプロピルマロン酸モノベンジルエステル*rac-2h*の合成のために、イソプロピルマロン酸(35.0g、239mmol)、ベンジルアルコール(23.3g、216mmol)及びDMAP(1.46g、12.0mmol)を100mLのアセトニトリルに溶解させた。混合物を氷浴で0℃に冷却した。150mLのアセトニトリル中DCC(49.4g、239mmol)の溶液を0℃にて15分以内で添加した。氷浴を取り除き、反応混合物を室温で一晩攪拌し、次いで、固体をろ別した。ろ液を真空中40℃で蒸発させ、残渣を300mLのMTBEに溶解させた。溶液を2×300mLの飽和NaHCO₃水溶液で抽出し、次いで、合わせた水相をpH=1~3に6N塩酸を用いて酸性化した。得られた乳濁液を2×300mLのMTBEで抽出し、溶媒を蒸発させた。合わせた有機相を200mLの飽和NaCl水溶液で洗浄し、MgSO₄で脱水した。溶離液として酢酸エチル/ヘプタン(10:90→20:80)を用いて340gのシリカ上で生成物を精製した。溶離液を蒸発させ、残渣を真空中で一晩乾燥させた。

収量9.62g(17%)無色油*rac-2h*。

MS:m/z 237.11=[M+H]⁺(計算値=237.11)。

【 0 3 0 5】

化合物*rac-2i*の合成のために、イソプロピルマロン酸モノベンジルエステル*rac-2h*(945mg、4.00mmol)及びPEG10000(10.0g、4.00mmol)を20mLのジクロロメタンに溶解させ、氷浴で冷却した。10mLのジクロロメタン中DCC(825mg、4.00mmol)及びDMAP(6mg、0.05mmol)の溶液を添加した。氷浴を取り除き、混合物を室温で一晩攪拌した。得られた懸濁液を0℃に冷却し、固体をろ別した。溶媒を真空中で蒸発させた。

【 0 3 0 6 】

残渣を室温で、20mLのジクロロメタンに溶解させ、150mLのMTBEで希釈した。混合物を-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、500mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量9.63g(92%)白色粉末rac-2i。

MS:m/z 742.50=[M+16H]¹⁶⁺(計算値=742.51)。

【 0 3 0 7 】

化合物rac-2jの合成のために、化合物rac-2i(3.38g、0.323mmol)を酢酸メチル(100mL)に溶解させ、105mgの木炭上パラジウムを添加した。周囲圧力の水素雰囲気下で、混合物を室温で一晩撹拌した。反応混合物をセライトのパッドを通してろ過し、ろ液を蒸発させ、真空中で一晩乾燥させた。

10

収量3.25g(98%)ガラス状固体rac-2j。

MS:m/z 731.25=[M+16H]¹⁶⁺(計算値=731.25)。

【 0 3 0 8 】

化合物rac-2kの合成のために、化合物rac-2j(3.10g、0.302mmol)及びTSTU(0.364g、1.21mmol)を15mLのジクロロメタンに室温で溶解させた。次いで、DIPEA(0.156g、1.21mmol)を添加し、混合物を45分間撹拌した。得られた懸濁液をろ過し、ろ液を2×10mLの0.5Mリン酸緩衝液pH=6.5で洗浄した。有機相をMgSO₄で脱水し、溶媒を真空中で蒸発させた。残渣を20mLのトルエンに溶解させ、室温にて10mLのMTBEで希釈し、-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、250mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

20

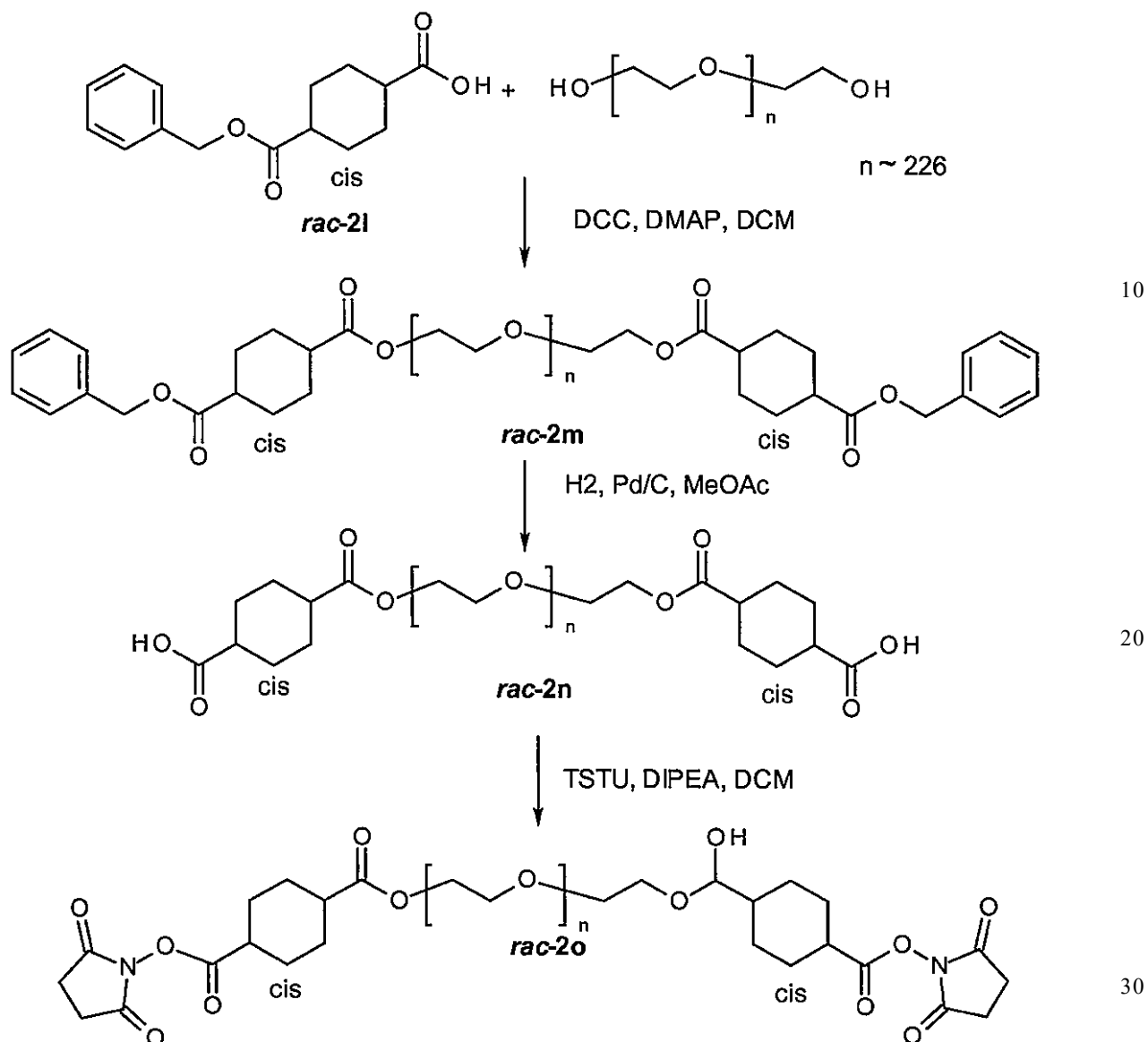
収量2.66g(84%)白色粉末rac-2k。

MS:m/z 743.37=[M+16H]¹⁶⁺(計算値=743.38)。

【 0 3 0 9 】

クロスリンカー試薬rac-2oを以下のスキームに従ってシス-1,4-シクロヘキサンジカルボン酸及びPEG10000から調製した:

【化 7 4】



【 0 3 1 0 】

シス-1,4-シクロヘキサンジカルボン酸モノベンジルエステルrac-21の合成のために、シス-1,4-シクロヘキサンジカルボン酸(20.0g、116mmol)、ベンジルアルコール(11.3g、105mmol)、及びDMAP(710mg、5.81mmol)を200mLのTHFに溶解させた。混合物を氷浴で0℃に冷却した。100mLのTHF中DCC(49.4g、239mmol)の溶液を0℃にて15分以内で添加した。氷浴を取り除き、反応混合物を室温で一晩攪拌し、次いで、固体をろ別した。ろ液を40℃で蒸発させ、残渣を300mLのMTBEに溶解させた。この溶液を2×300mLの飽和NaHCO₃水溶液で抽出し、次いで、合わせた水相をpH=1~3に6N塩酸を用いて酸性化した。得られた乳濁液を2×300mLのMTBEで抽出し、溶媒を蒸発させた。合わせた有機相を200mLの飽和NaCl水溶液で洗浄し、MgSO₄で脱水した。溶離液として酢酸エチル/ヘプタン(10:90→20:80)を用いて340gのシリカ上で生成物を精製した。溶離液を蒸発させ、無色油状残渣が真空中一晩の乾燥中に結晶化した。

収量4.82g(16%)無色結晶rac-21。

MS:m/z 263.13=[M+H]⁺(計算値=263.13)。

【 0 3 1 1 】

化合物rac-2mの合成のために、シス-1,4-シクロヘキサンジカルボン酸モノベンジルエステルrac-21(2.10g、8.00mmol)及びPEG10000(20.0g、10.0mmol)を50mLのジクロロメタンに溶解させ、氷浴で冷却した。25mLのジクロロメタン中DCC(1.65g、8.00mmol)及びDMAP(0

10

20

30

40

50

.012g、0.10mmol)の溶液を添加した。氷浴を取り除き、混合物を室温で一晩撹拌した。得られた懸濁液を0℃に冷却し、固体をろ別した。溶媒を真空中で蒸発させた。

【 0 3 1 2 】

残渣を、55mLのジクロロメタンに溶解させ、室温で300mLのMTBEで希釈した。混合物を-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、250mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量18.2g(87%)白色粉末rac-2m。

MS:m/z 745.76=[M+16H]¹⁶⁺(計算値=745.77)。

【 0 3 1 3 】

化合物rac-2nの合成のために、化合物rac-2m(9.00g、0.857mmol)を酢酸メチル(100mL)に溶解させ、157mgの木炭上パラジウムを添加した。周囲圧力の水素雰囲気下で、混合物を室温で一晩撹拌した。反応混合物をセライトのバッドを通してろ過し、ろ液を蒸発させ、真空中で一晩乾燥させた。

収量8.83g(100%)ガラス状固体rac-2n。

MS:m/z 734.50=[M+16H]¹⁶⁺(計算値=734.50)。

【 0 3 1 4 】

化合物rac-2oの合成のために、化合物rac-2n(8.92g、0.864mmol)及びTSTU(1.04g、3.64mmol)を35mLのジクロロメタンに室温で溶解させた。次いで、DIPEA(0.447g、3.46mmol)を添加し、混合物を45分間撹拌した。得られた懸濁液をろ過し、ろ液を2×10mLの0.5Mリン酸緩衝液pH=6.5で洗浄した。有機相をMgSO₄で脱水し、溶媒を真空中で蒸発させた。

【 0 3 1 5 】

残渣を、50mLのトルエンに溶解させ、室温で25mLのMTBEで希釈し、-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、400mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量7.62g(84%)白色粉末rac-2o。

MS:m/z 702.60=[M+16H]¹⁶⁺(計算値=702.59)。

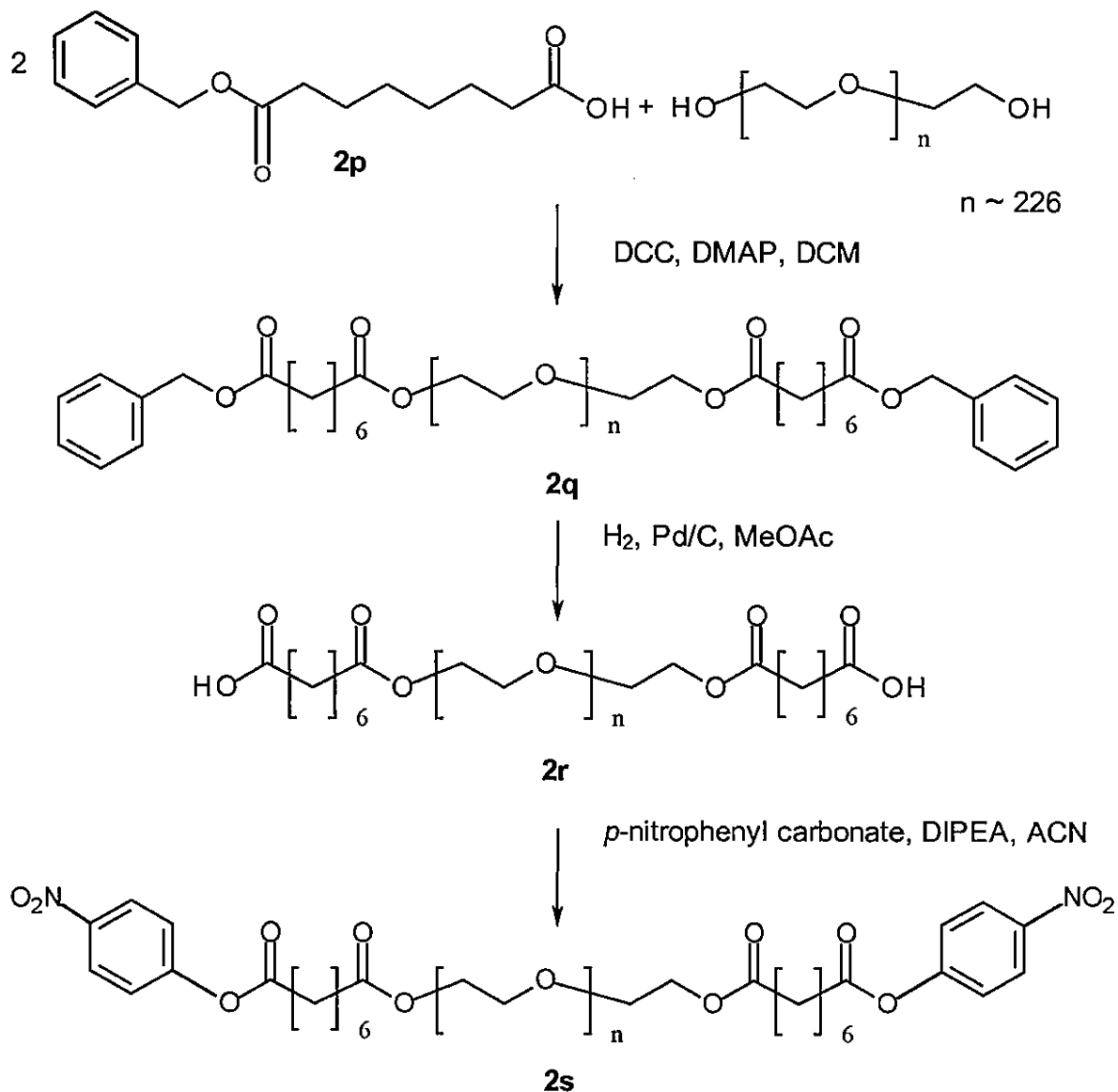
【 0 3 1 6 】

クロスリンカー試薬2sを、以下のスキームに従ってスベリン酸モノベンジルエステル及びPEG10000から調製した：

10

20

【化 7 5】



【 0 3 1 7 】

スベリン酸モノベンジルエステル**2p**は、アゼライン酸モノベンジルエステル**2a**に準じてスベリン酸及びベンジルアルコールから合成した。

【 0 3 1 8 】

化合物**2q**は、スベリン酸モノベンジルエステル**2p**及びPEG10000からPEG誘導体**2b**に準じて合成した。

【 0 3 1 9 】

化合物**2r**は、化合物**2q**からPEG誘導体**2c**に準じて合成した。

【 0 3 2 0 】

化合物**2s**の合成のために、化合物**2r**(18.0g、1.74mmol)及びp-ニトロフェニルカーボネート(2.12g、6.76mmol)を70mLのアセトニトリルに室温で溶解させた。次いで、1.0mLのジクロロメタン中DIPEA(0.90g、6.76mmol)を添加し、混合物を17時間攪拌した。混合物を室温で270mLのMTBEで希釈し、-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、200mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量17.6g(96%)淡黄色粉末**2s**。

MS:m/z 822.20=[M+14H]¹⁴⁺(計算値=822.25)。

【 0 3 2 1 】

10

20

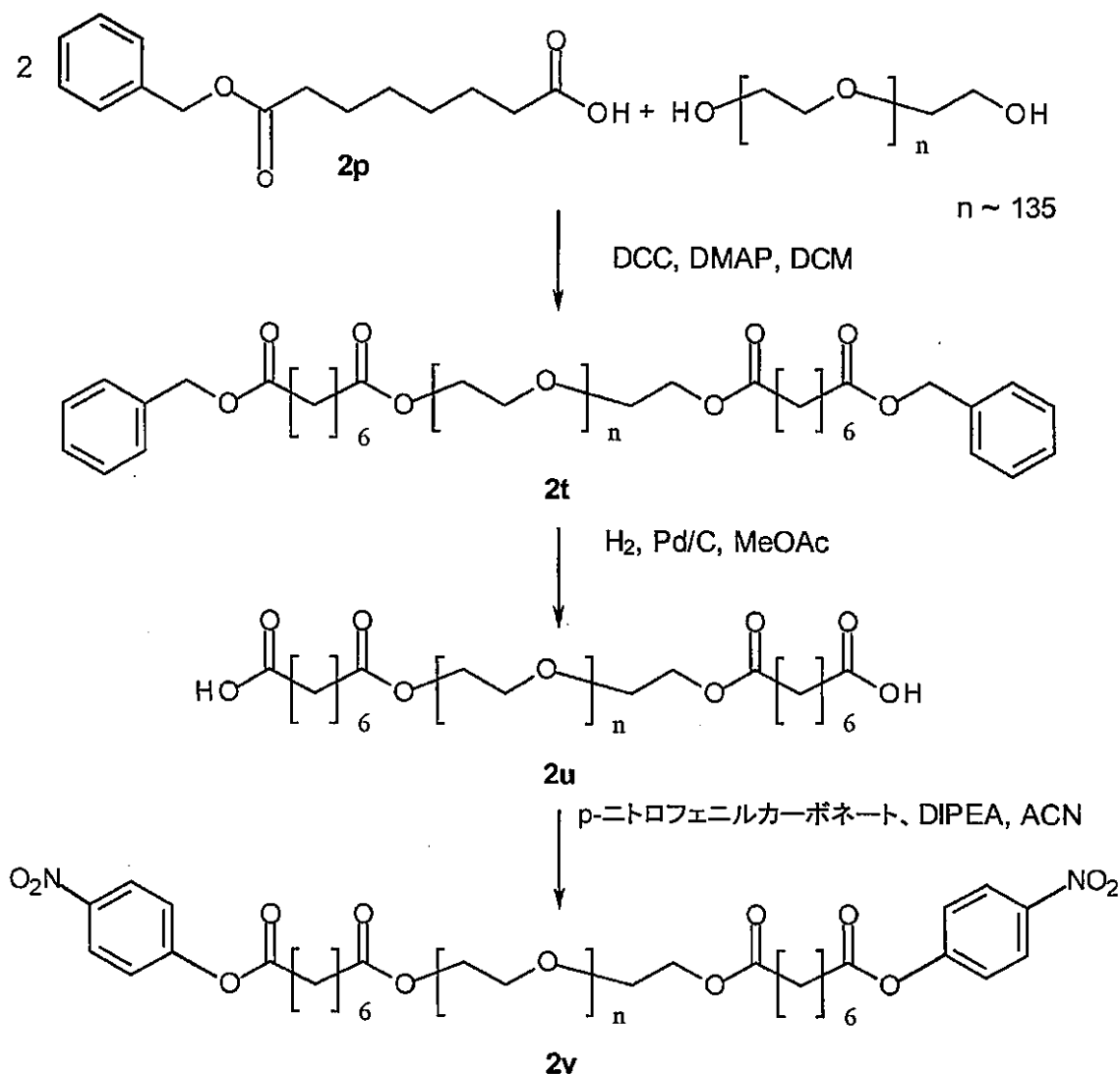
30

40

50

クロスリンカー試薬2vを、以下のスキームに従ってスベリン酸モノベンジルエステル2p及びPEG6000から調製した:

【化 7 6】



【 0 3 2 2 】

化合物2tは、スベリン酸モノベンジルエステル2p及びPEG6000からPEG誘導体2bに準じて合成した。

【 0 3 2 3 】

化合物2uは、化合物2tからPEG誘導体2cに準じて合成した。

【 0 3 2 4 】

化合物2vの合成のために、化合物2u(2.40g、0.38mmol)及びp-ニトロフェニルカーボネート(4.61g、1.52mmol)を6mLのアセトニトリルに室温で溶解させた。次いで、0.14mLのジクロロメタン中DIPEA(0.20g、1.52mmol)を添加し、混合物を1時間攪拌した。混合物を室温で26mLのMTBEで希釈し、-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、100mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量2.37g(95%)淡黄色粉末2v。

MS:m/z 774.34=[M+9H]⁹⁺(計算値=774.34)。

【 0 3 2 5 】

クロスリンカー試薬2yを、以下のスキームに従ってイソプロピルマロン酸モノベンジルエステル及びPEG8000から調製した:

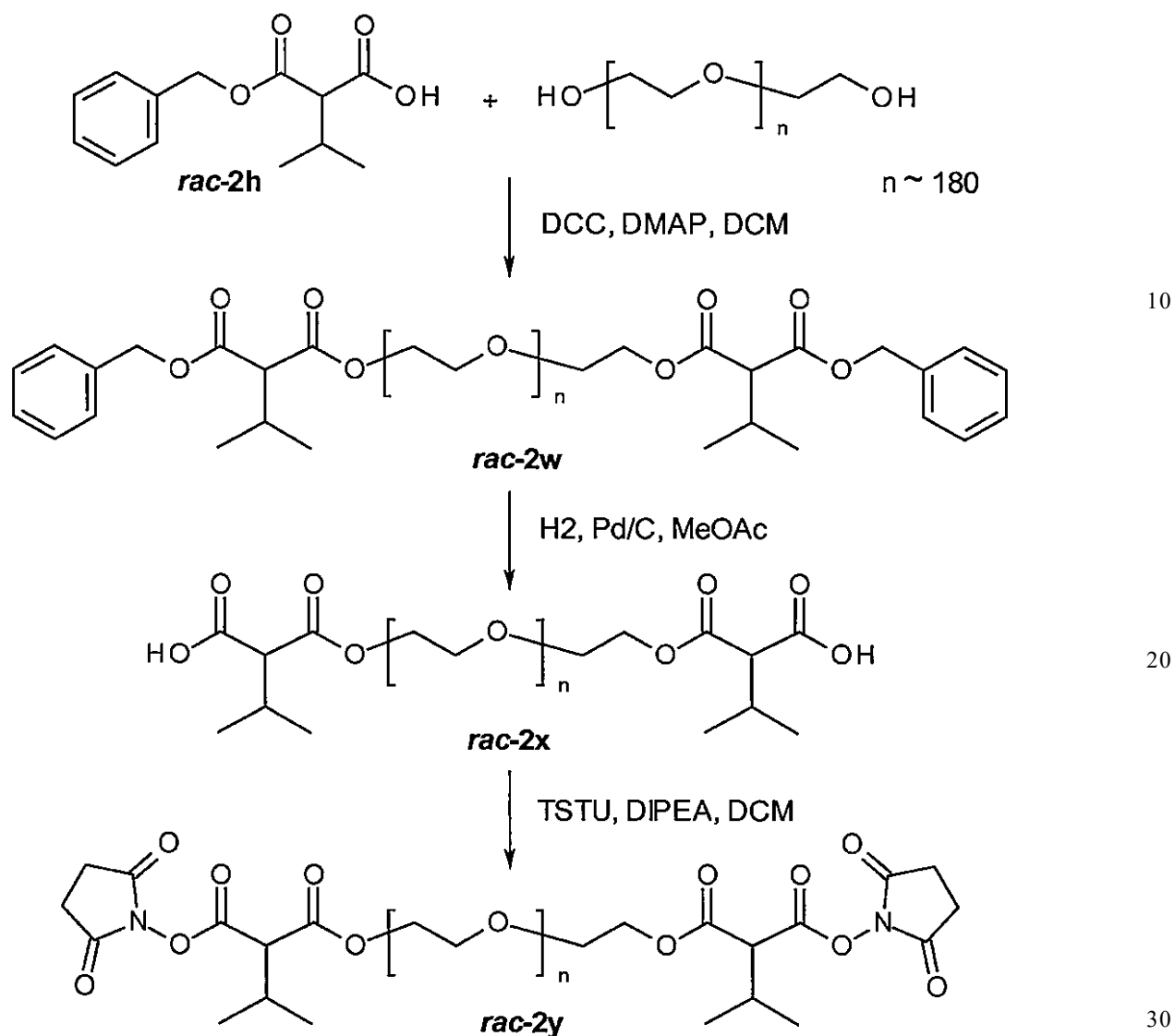
10

20

30

40

【化 7 7】



【 0 3 2 6 】

化合物rac-2wの合成のために、イソプロピルマロン酸モノベンジルエステルrac-2h(2.25g、9.50mmol)及びPEG8000(19.0g、2.38mmol)を100mLのジクロロメタンに溶解させ、氷浴で冷却した。10mLのジクロロメタン中DCC(1.96g、9.50mmol)及びDMAP(14mg、0.12mmol)の溶液を添加した。氷浴を取り除き、混合物を室温で一晩撹拌した。得られた懸濁液を0℃に冷却し、固体をろ別した。溶媒を真空中で蒸発させた。

【 0 3 2 7 】

残渣を、40mLのジクロロメタンに溶解させ、室温で270mLのMTBEで希釈した。混合物を-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、500mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量18.5g(92%)白色粉末rac-2w。

MS:m/z 737.43[M+13H]¹³⁺(計算値=737.42)。

【 0 3 2 8 】

化合物rac-2xの合成のために、化合物rac-2w(18.4g、2.18mmol)を酢酸メチル(160mL)に溶解させ、254mgの木炭上パラジウムを添加した。周囲圧力の水素雰囲気下で、混合物を室温で一晩撹拌した。反応混合物をセライトのパッドを通してろ過し、ろ液を蒸発させ、真空中で一晩乾燥させた。

収量17.7g(98%)ガラス状固体rac-2x。

MS:m/z 723.51=[M+13H]¹³⁺(計算値=723.55)。

【 0 3 2 9 】

化合物rac-2yの合成のために、化合物rac-2x(13.6g、1.65mmol)及びTSTU(1.96g、6.60mmol)を60mLのジクロロメタンに室温で溶解させた。次いで、DIPEA(852mg、6.60mmol)を添加し、混合物を45分間攪拌した。得られた懸濁液をろ過し、ろ液を70mLの酢酸エチルで希釈し、70mLの0.5Mリン酸緩衝液pH=6.5で洗浄した。有機相をMgSO₄で脱水し、溶媒を真空中で蒸発させた。残渣を80mLのトルエンに溶解させ、残りの固体をろ別し、20mLのトルエンで洗浄した。合わせたトルエン画分を室温で35mLのMTBEで希釈し、-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、600mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

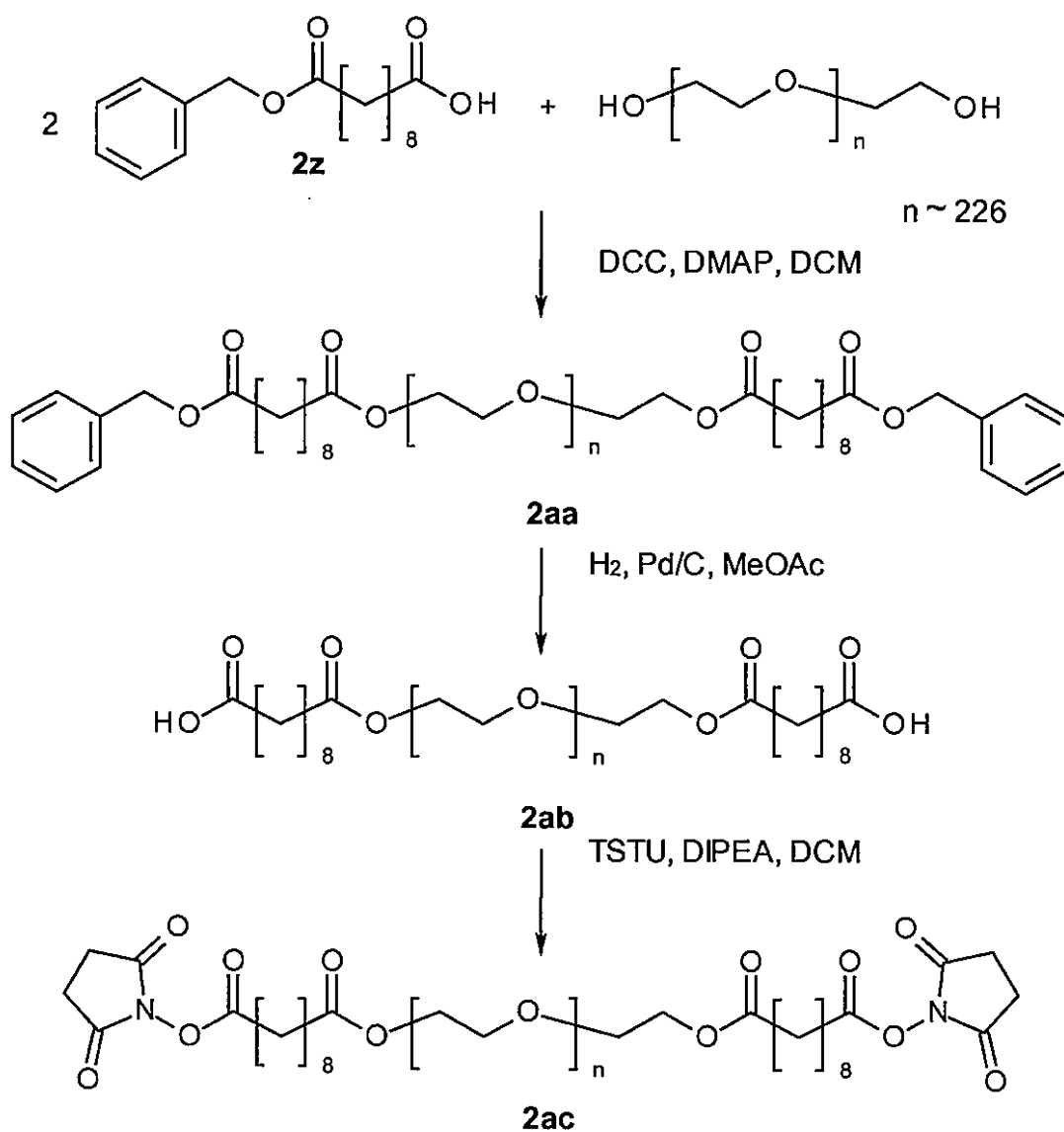
収量12.1g(87%)白色粉末rac-2y。

MS:m/z 738.51=[M+13H]¹³⁺(計算値=738.49)。

【 0 3 3 0 】

クロスリンカー試薬2acを、以下のスキームに従ってセバシン酸モノベンジルエステル及びPEG10000から調製した：

【 化 7 8 】



【 0 3 3 1 】

セバシン酸モノベンジルエステル2zの合成のために、セバシン酸(20.2g、100mmol)、ベンジルアルコール(10.8g、100mmol)、p-トルエンスルホン酸(0.40g、2.1mmol)、及び120mLのトルエンの混合物を、Dean-Stark装置で19時間還流させた。冷却後、溶媒を蒸発させ、150mLの飽和NaHCO₃水溶液を添加した。この混合物を3×100mLのMTBEで抽出した。合わ

せた有機相を Na_2SO_4 で脱水し、溶媒を蒸発させた。溶離液として酢酸エチル/ヘプタン(10:90→25:75)を用いて340gのシリカ上で生成物を精製した。溶離液を蒸発させ、残渣を真空中で一晩乾燥させた。

収量13.4g(46%)無色油2z。

MS:m/z 293.16=[M+H]⁺(計算値=293.16)。

【0332】

化合物2aaの合成のために、セバシン酸モノベンジルエステル2z(1.02g、3.50mmol)及びPEG10000(10.0g、1.00mmol)を40mLのジクロロメタンに溶解させ、氷浴で冷却した。12mLのジクロロメタン中DCC(722mg、3.5mmol)及びDMAP(6.1mg、0.05mmol)の溶液を添加した。氷浴を取り除き、混合物を室温で一晩攪拌した。得られた懸濁液を0℃に冷却し、固体をろ別した。溶媒を真空中で蒸発させた。

10

【0333】

残渣を12mLのジクロロメタンに溶解させ、室温で45mLのMTBEで希釈した。混合物を-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、250mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量9.92g(94%)白色粉末2aa。

MS:m/z 793.48=[M+15H]¹⁵⁺(計算値=793.56)。

【0334】

化合物2abの合成のために、化合物2aa(9.83g、0.93mmol)を酢酸メチル(100mL)に溶解させ、123mgの木炭上パラジウムを添加した。周囲圧力の水素雰囲気下で、混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物をセライトのバッドを通してろ過し、ろ液を蒸発させ、真空中で一晩乾燥させた。

20

収量9.14g(95%)ガラス状固体2ab。

MS:m/z 840.51=[M+14H]¹⁴⁺(計算値=840.44)。

【0335】

化合物2acの合成のために、化合物2ab(9.00g、0.87mmol)及びTSTU(1.05g、3.47mmol)を30mLのジクロロメタンに室温で溶解させた。次いで、DIPEA(449mg、3.47mmol)を添加し、混合物を1時間攪拌した。得られた懸濁液をろ過し、ろ液を30mLのジクロロメタンで希釈し、60mLの、750g水/197g NaCl/3g NaOHの溶液で洗浄した。有機相を MgSO_4 で脱水し、溶媒を真空中で蒸発させた。

30

【0336】

残渣を45mLのトルエンに溶解させ、室温で35mLのMTBEで希釈し、-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、350mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

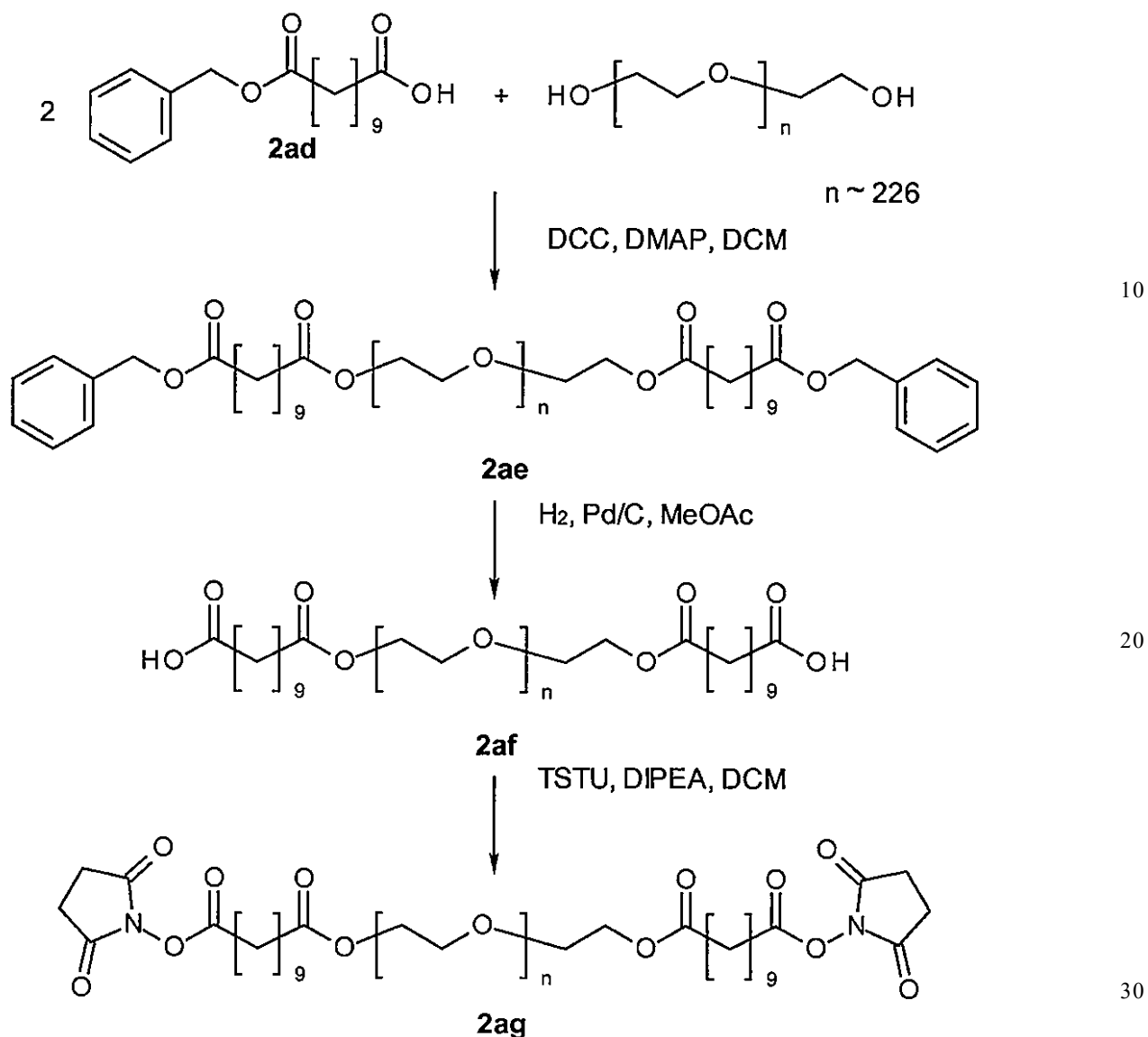
収量8.29g(90%)白色粉末2ac。

MS:m/z 794.47=[M+15H]¹⁵⁺(計算値=794.48)。

【0337】

クロスリンカー試薬2agを、以下のスキームに従ってウンデカン二酸モノベンジルエステル及びPEG10000から調製した：

【化 7 9】



【 0 3 3 8】

ウンデカン二酸モノベンジルエステル2adの合成のために、ウンデカン二酸(21.6g、100 mmol)、ベンジルアルコール(10.8g、100mmol)、p-トルエンスルホン酸(0.40g、2.1mmol)、及び120mLのトルエンの混合物を、Dean-Stark装置で19時間還流させた。冷却後、溶媒を蒸発させ、150mLの飽和NaHCO₃水溶液を添加した。この混合物を3×100mLのMTBEで抽出した。合わせた有機相をNa₂SO₄上で脱水し、溶媒を蒸発させた。溶離液として酢酸エチル/ヘプタン(10:90→25:75)を用いて340gのシリカ上で生成物を精製した。溶離液を蒸発させ、残渣を真空中で一晩乾燥させた。

収量14.8g(48%)無色油2ad。

MS:m/z 307.19=[M+H]⁺(計算値=307.19)。

【 0 3 3 9】

化合物2aeの合成のために、ウンデカン二酸モノベンジルエステル2ad(1.07g、3.50mmol)及びPEG10000(10.0g、1.00mmol)を40mLのジクロロメタンに溶解させ、氷浴で冷却した。12mLのジクロロメタン中DCC(722mg、3.5mmol)及びDMAP(6.1mg、0.05mmol)の溶液を添加した。氷浴を取り除き、混合物を室温で一晩攪拌した。得られた懸濁液を0℃に冷却し、固体をろ別した。溶媒を真空中で蒸発させた。

【 0 3 4 0】

残渣を13mLのジクロロメタンに溶解させ、室温で43mLのMTBEで希釈した。混合物を-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、250mLの冷却

10

20

30

40

50

MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量10.0g(95%)白色粉末2ae。

MS:m/z 792.48=[M+15H]¹⁵⁺(計算値=792.49)。

【0341】

化合物2afの合成のために、化合物2ae(9.83g、0.93mmol)を酢酸メチル(100mL)に溶解させ、103mgの木炭上パラジウムを添加した。周囲圧力の水素雰囲気下で、混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物をセライトのバッドを通してろ過し、ろ液を蒸発させ、真空中で一晩乾燥させた。

収量8.90g(92%)ガラス状固体2af。

MS:m/z 780.47=[M+15H]¹⁵⁺(計算値=780.47)。

10

【0342】

化合物2agの合成のために、化合物2af(8.75g、0.84mmol)及びTSTU(1.01g、3.37mmol)を30mLのジクロロメタンに室温で溶解させた。次いで、DIPEA(435mg、3.37mmol)を添加し、混合物を1時間攪拌した。得られた懸濁液をろ過し、ろ液を30mLのジクロロメタンで希釈し、60mLの、750g水/197g NaCl/3g NaOHの溶液で洗浄した。有機相をMgSO₄で脱水し、溶媒を真空中で蒸発させた。

【0343】

残渣を38mLのトルエンに溶解させ、室温で30mLのMTBEで希釈し、-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、350mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

20

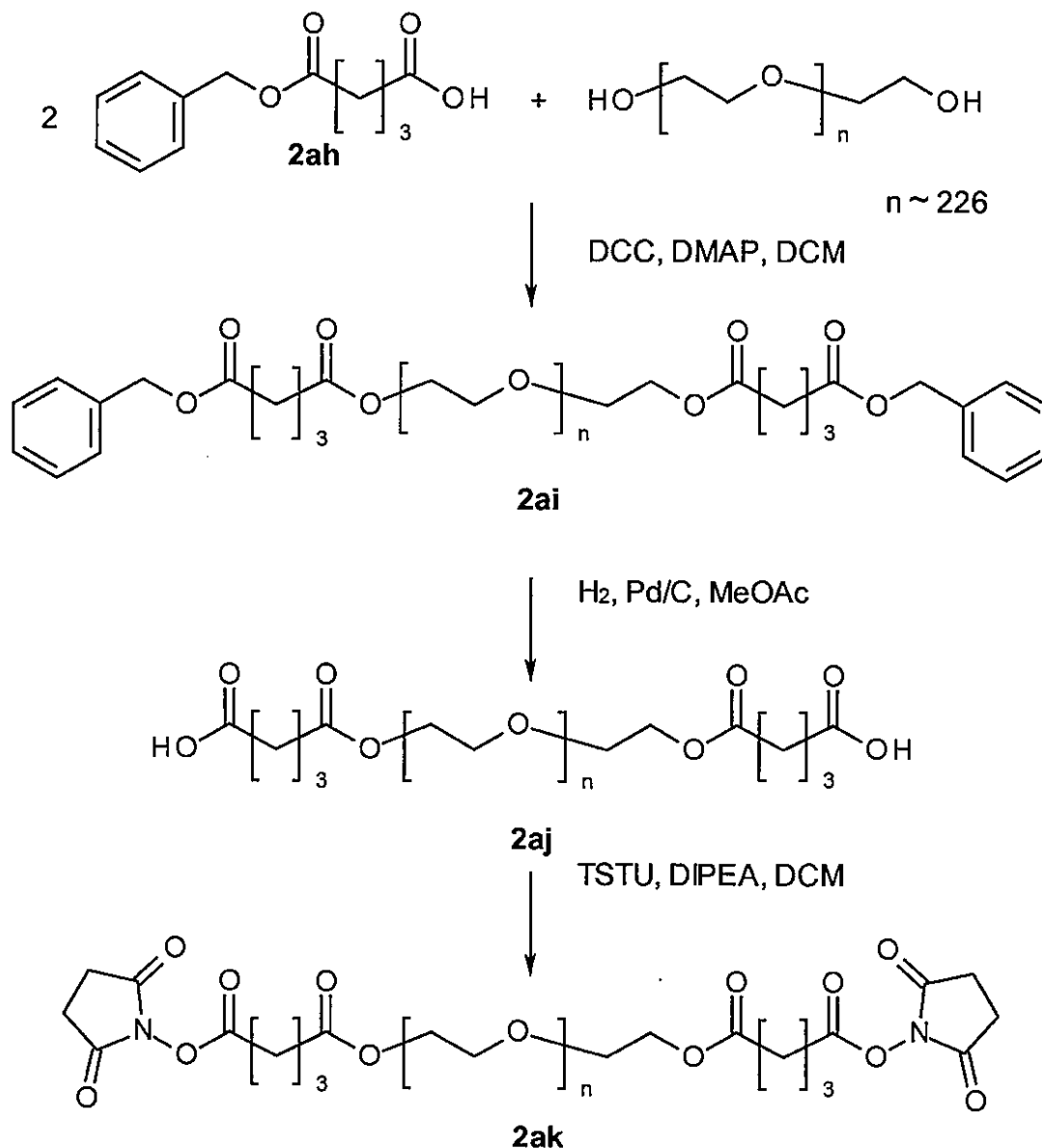
収量7.51g(84%)白色粉末2ag。

MS:m/z 793.48=[M+14H]¹⁴⁺(計算値=793.38)。

【0344】

クロスリンカー試薬2akを、以下のスキームに従ってグルタル酸モノベンジルエステル及びPEG10000から調製した:

【化 8 0】



【 0 3 4 5】

化合物aiの合成のために、グルタル酸モノベンジルエステル2ah(1.95g、8.78mmol)及びPEG10000(25.1g、2.51mmol)を70mLのジクロロメタンに溶解させ、氷浴で冷却した。18mLのジクロロメタン中DCC(1.81g、8.78mmol)及びDMAP(15.3mg、0.13mmol)の溶液を添加した。氷浴を取り除き、混合物を室温で一晩撹拌した。得られた懸濁液を0℃に冷却し、固体をろ別した。溶媒を真空中で蒸発させた。

【 0 3 4 6】

残渣を70mLのジクロロメタンに溶解させ、室温で360mLのMTBEで希釈した。混合物を-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、500mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量24.9g(95%)白色粉末2ai。

MS:m/z 740.76=[M+16H]¹⁶⁺(計算値=740.76)。

【 0 3 4 7】

化合物2ajの合成のために、化合物2ai(24.9g、2.39mmol)を酢酸メチル(220mL)に溶解させ、302mgの木炭上パラジウムを添加した。周囲圧力の水素雰囲気下で、混合物を室温で一晩撹拌した。反応混合物をセライトのパッドを通してろ過し、ろ液を蒸発させ、真空中で一晩乾燥させた。

収量24.3g(99%)ガラス状固体2aj。

MS:m/z 729.50=[M+16H]¹⁶⁺(計算値=729.49)。

【0348】

化合物2akの合成のために、化合物2aj(23.9g、2.33mmol)及びTSTU(2.81g、9.33mmol)を100mLのジクロロメタンに室温で溶解させた。次いで、DIPEA(1.21g、9.33mmol)を添加し、混合物を1時間攪拌した。得られた懸濁液をろ過し、ろ液を20mLのジクロロメタンで希釈し、120mLの、750g水/197g NaCl/3g NaOHの溶液で洗浄した。有機相をMgSO₄で脱水し、溶媒を真空中で蒸発させた。

【0349】

残渣を125mLのトルエンに溶解させ、室温で100mLのMTBEで希釈し、-20℃で一晩保存した。ガラスフィルタPor.3を通してろ過により沈殿物を集め、650mLの冷却MTBE(-20℃)で洗浄した。生成物を真空中で一晩乾燥させた。

収量22.5g(92%)白色粉末2ak。

MS:m/z 741.63=[M+16H]¹⁶⁺(計算値=741.63)。

【0350】

[実施例3]

遊離アミノ基を含有するヒドロゲルビーズ3a、3b、3c、及び3dの調製

バッフルを備えた、直径60mmの、底部出口を有する円筒形の250mL反応器において、100mLのウンデカン中218mgのCithrol(商標)DPHSの乳濁液を、直径50mmのisojet攪拌機で580rpmにて周囲温度で攪拌した。22.1gのDMSO中250mgの1a及び2205mgの2dの溶液を添加し、室温で10分間攪拌して、懸濁液を形成した。1.1mLのTMEDAを添加し、重合を行った。混合物を16時間攪拌した。1.7mLの酢酸を添加し、次いで10分後に、100mLの15重量%塩化ナトリウム水溶液を添加した。10分後、攪拌機を止め、相を分離させた。2時間後、ヒドロゲルを含有する水相を排出した。

【0351】

ビーズのサイズ分別のために、水-ヒドロゲル懸濁液を40mLのエタノールで希釈し、Ret sch As200制御篩分け機を15分間用いて、125、100、75、63、50、40、及び32µmの鋼製篩で湿式篩分けした。篩分け振幅は、1.5mmであり、水流は300mL/分であった。63及び75µmの篩で保持されたビーズ画分をプールし、0.1%のAcOHで3回、エタノールで10回洗浄し、0.1ミリバールで16時間乾燥させて、白色粉末として670gの3aを得た。

【0352】

ヒドロゲルのアミノ基含有量は、ヒドロゲル上の遊離アミノ基へのfmoc-アミノ酸のコンジュゲーション、及びその後のfmoc測定によって0.145mmol/gであることが測定された。

【0353】

560rpmの攪拌機速度の適用、350mgの1a、2548mgの2g、26.1gのDMSO、257mgのCithrol(商標)DPHS、1.5mLのTMEDA、及び2.4mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したとおりに、3bを調製し、白色粉末として550mgの3b、遊離アミノ基0.120mmol/gを得た。

【0354】

560rpmの攪拌機速度の適用、250mgの1a、3019mgのrac-2k、32.7gのDMSO、290mgのCithrol(商標)DPHS、1.1mLのTMEDA、及び1.7mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したとおりに、3cを調製し、白色粉末として770mgの3c、遊離アミノ基0.126mmol/gを得た。

【0355】

250mgの1a、2258mgのrac-2o、22.6gのDMSO、222mgのCithrol(商標)DPHS、1.1mLのTME DA、1.7mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したとおりに、3dを調製し、白色粉末として186mgの3d、遊離アミノ基0.153mmol/gを得た。

【0356】

250mgの1a、2168mgのrac-2y、21.8gのDMSO、215mgのCithrol(商標)DPHS、1.1mLのTMEDA、1.7mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したとおりに、3eを調製し、白色粉末として710mgの3e、遊離アミノ基0.154mmol/gを得た。

【 0 3 5 7 】

400rpmの攪拌機速度の適用、290mgの骨格試薬（1gとしてW02011/012715A1の実施例1に記載）、2281mgの2v、15.8gのDMSO、290mgのCithrol(商標)DPHS、2.2mLのTMEDA、3.3mLの酢酸、250、180、125、90、及び65 μ mの鋼製篩での篩分けの使用を除いて、3aについて記載したとおりに、3fを調製し、生成物を180 μ m篩上で集めた。後処理により、薄黄色粉末として820mgの3f、遊離アミノ基0.108mmol/gを得た。

【 0 3 5 8 】

500rpmの攪拌機速度の適用、300mgの骨格試薬（1gとしてW02011/012715A1の実施例1に記載）、2520mgの2s、32.4gのDMSO、300mgのCithrol(商標)DPHS、2.2mLのTMEDA、3.4mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したとおりに、3gを調製し、薄黄色粉末として770mgの3g、遊離アミノ基0.175mmol/gを得た。

【 0 3 5 9 】

200mgの1a、1995mgの2ac、19.8gのDMSO、195mgのCithrol(商標)DPHS、0.9mLのTMEDA、1.4mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したとおりに、3hを調製し、白色粉末として650mgの3h、遊離アミノ基0.131mmol/gを得た。

【 0 3 6 0 】

150mgの1a、1591mgの2ag、15.7gのDMSO、154mgのCithrol(商標)DPHS、0.7mLのTMEDA、1.0mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したとおりに、3iを調製し、白色粉末として300mgの3i、遊離アミノ基0.123mmol/gを得た。

【 0 3 6 1 】

570rpmの攪拌機速度の適用、360mgの1h、2567mgの2ak、26.3gのDMSO、257mgのCithrol(商標)DPHS、2.2mLのTMEDA、3.4mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したとおりに、3jを調製し、白色粉末として744mgの3j、遊離アミノ基0.097mmol/gを得た。

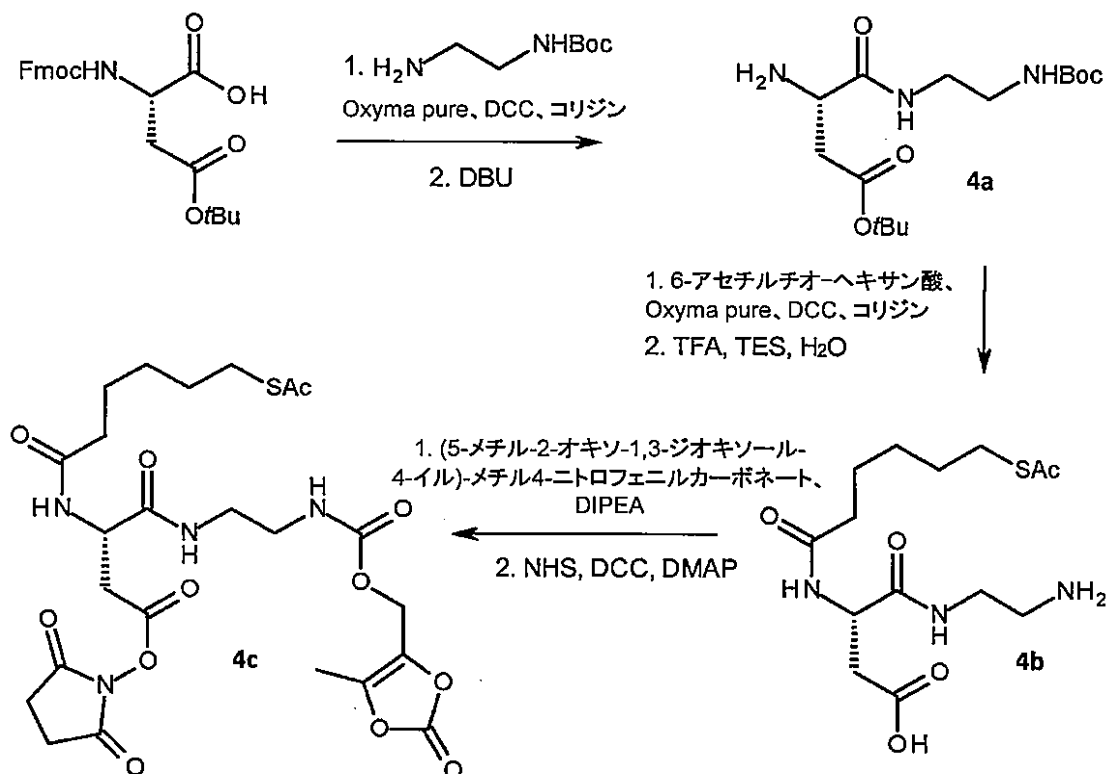
【 0 3 6 2 】

[実施例4]

リンカー試薬4cの合成

リンカー試薬4cを、以下のスキームに従って合成した：

【 化 8 1 】



【 0 3 6 3 】

4aの合成:

Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH(1.00g、2.43mmol)を、DCM(25mL)にDCC(0.70g、3.33mmol)と一緒に溶解させた。Oxya pure(0.51g、3.58mmol)及びコリジン(0.50mL、3.58mmol)を一度で添加し、DCM(15mL)中N-Boc-エチレンジアミン(0.41g、2.56mmol)の溶液をゆっくり添加した。混合物を室温で90分間攪拌後、形成された沈殿物をろ別し、ろ液を水性HCl(0.1M、50 mL)で洗浄した。水相をDCM(2×20mL)で抽出し、合わせた有機画分を飽和水性NaHCO₃(3×2 5mL)及びブライン(1×50mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し、ろ過し、真空中で濃縮した。粗製固体をフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。中間体N-boc-N'-(N-fmoc-4-tert-ブチル-L-アスパルトイル)-エチレンジアミンを白色固体として得た(0.98g、1.77mmol、73%)。

10

MS:m/z 554.29=[M+H]⁺、(計算値=554.29)。

【0364】

N-boc-N'-(N-fmoc-4-tert-ブチル-L-アスパルトニル)-エチレンジアミン(0.98g、1.77mmol)をTHF(15mL)に溶解させ、DBU(0.31mL)を添加し、溶液を室温で12分間攪拌した。反応をAcOH(0.5ml)でクエンチし、真空中で濃縮し、残渣をフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、白色固体として4a(0.61g、1.77mmol、2工程で73%)を得た。

MS:m/z 332.38=[M+H]⁺、(計算値=332.33)。

【0365】

4bの合成

6-アセチルチオヘキサン酸(0.37g、1.95mmol)をDCM(19.5mL)に溶解させ、Oxya pure(0.35g、2.48mmol)及びDCC(0.40g、1.95mmol)を一度で添加した。溶液を室温で30分間攪拌し、ろ過し、ろ液をDCM(10.5mL)中4a(0.61g、1.77mmol)の溶液に添加した。溶液にDIPEA(0.46mL、2.66mmol)を添加し、反応物を室温で2時間攪拌した。溶液を水性H₂SO₄(0.1M、2×30mL)、飽和水性NaHCO₃(2×20mL)及びブライン(1×20mL)で洗浄した。有機相をNa₂SO₄で乾燥し、真空中で濃縮した。粗製物質をフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、白色固体としてN-boc-N'-(N-6-アセチルチオヘキシル-4-tert-ブチル-L-アスパルトイル)-エチレンジアミン(0.65g、1.30mmol、2工程で73%)を得た。

20

MS:m/z 504.27=[M+H]⁺、(計算値=504.28)。

【0366】

N-boc-N'-(N-6-アセチルチオヘキシル-4-tert-ブチル-L-アスパルトイル)-エチレンジアミン(0.60g、1.18mmol)をTFA(5mL)に溶解させ、TES(0.13mL)及び水(0.13ml)を添加した。混合物を室温で30分間攪拌した。TFAをN₂の流れで除去し、粗製4bをH₂O/ACN1:1に溶解させ、RP-HPLCにより精製した。

30

収量:0.39g、0.85mmol(TFA塩)、72%。

MS:m/z 348.25=[M+H]⁺、(計算値=348.16)。

【0367】

4cの合成

4b(TFA塩、0.38g、0.80mmol)をDMF(5mL)に溶解させ、(5-メチル-2-オキソ-1,3-ジオキソ-4-イル)-メチル4-ニトロフェニルカーボネート(0.26g、0.88mmol)及びDIPEA(0.28mL、1.6mmol)を添加した。得られた懸濁液をDCM(5mL)で希釈し、室温で3時間攪拌した。さらにDIPEA(0.28mL、1.6mmol)を添加し、2時間攪拌を続けた。DCMを真空中で濃縮し、残渣をH₂O/ACN3:1で希釈し、RP-HPLCにより精製して、無色油としてN-(5-メチル-2-オキソ-1,3-ジオキソ-4-イル)-メチル-オキソカルボニル-N'-(N-6-アセチルチオヘキシル-L-アスパラチル)-エチレンジアミン(0.31g、0.62mmol、77%)を得た。

40

MS:m/z 504.16=[M+H]⁺、(計算値=504.17)。

【0368】

N-(5-メチル-2-オキソ-1,3-ジオキサール-4-イル)-メチルオキソカルボニル-N'-(N-6-アセチルチオヘキシル-L-アスパラチル)-エチレンジアミン(150mg、0.30mmol)をDCM(17.5 mL)に溶解させ、NHS(41mg、0.36mmol)、DCC(74mg、0.36mmol)及びDMAP(4mg、0.03mmol)を一度で添加した。反応物を室温で1時間攪拌し、得られた懸濁液をろ過した。沈殿物を少

50

量のDCMで洗浄し、合わせたろ液を真空中で濃縮した。4cをRP-HPLCにより精製して、無色油(144mg、0.24mmol、80%)を得た。

MS:m/z 601.18=[M+H]⁺、(計算値=601.18)。

【0369】

[実施例5]

マレイミド官能基化ヒドロゲルビーズ5aの調製

259.3mgの乾燥ヒドロゲルビーズ3aを、10mLの、NMP中1%*n*-プロピルアミン中で15分間インキュベートし、その後、NMP中1%*n*-プロピルアミンで2回、及びNMP中2%DIPEAで2回洗浄した。171mgのマレイミド-NH-PEG12-PFEを1mLのNMPに溶解させ、洗浄したヒドロゲルビーズ3aに添加した。ヒドロゲル懸濁液を室温で2時間インキュベートした。得えられたマレイミド官能基化ヒドロゲルビーズ5aを、NMP、20mMスクシネート、1mMのNa₂EDTA、0.01%Tween20、pH3.0、水で、及び0.1%酢酸、0.01%Tween20でそれぞれ5回洗浄した。

10

【0370】

マレイミド官能基化ヒドロゲルビーズ5bの調製

117.7mgの乾燥ヒドロゲルビーズ3aを5mLのNMPで膨潤させ、NMPで5回、及びNMP中2%DIPEAで5回洗浄した。5当量(56mg)のマレイミド-NH-PEG6-PFE(ヒドロゲルビーズのアミン含有量に基づく)を0.5mLのNMPに溶解させ、洗浄したヒドロゲルビーズ5bに添加した。ヒドロゲル懸濁液を室温で2.5時間インキュベートした。得られたマレイミド官能基化ヒドロゲルビーズを、NMPで、その後、0.1%酢酸、0.01%Tween20でそれぞれ5回洗浄した。

【0371】

20

[実施例6]

一時的ルセンティス(Lucentis)-リンカー-ヒドロゲルプロドラッグ6cの合成

4.6mgのルセンティス(ルセンティス-NH₂として以下のスキーム中に示される)(460 μLの、10mMヒスチジン、10重量% α, α -トレハロース、0.01%Tween20、pH5.5中10mg/mLのルセンティス)を、10mMリン酸ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、140mM塩化ナトリウム、pH7.4に緩衝液交換し、ルセンティスの濃度を16.4mg/mLに調整した。6mgのリンカー試薬4cを100 μLのDMSOに溶解させて、100mMの濃度を得た。ルセンティスの量に対して1モル当量のリンカー試薬4cをルセンティス溶液に添加した。反応混合物を注意深く混合し、室温で5分間インキュベートした。その後、追加の2モル当量のリンカー試薬4cを1モル当量の工程でルセンティス溶液に添加し、それぞれの当量の添加後に、反応混合物を室温で5分間インキュベートし、未修飾ルセンティスと保護ルセンティス-リンカーモノコンジュゲート6aとの混合物を得た。

30

【0372】

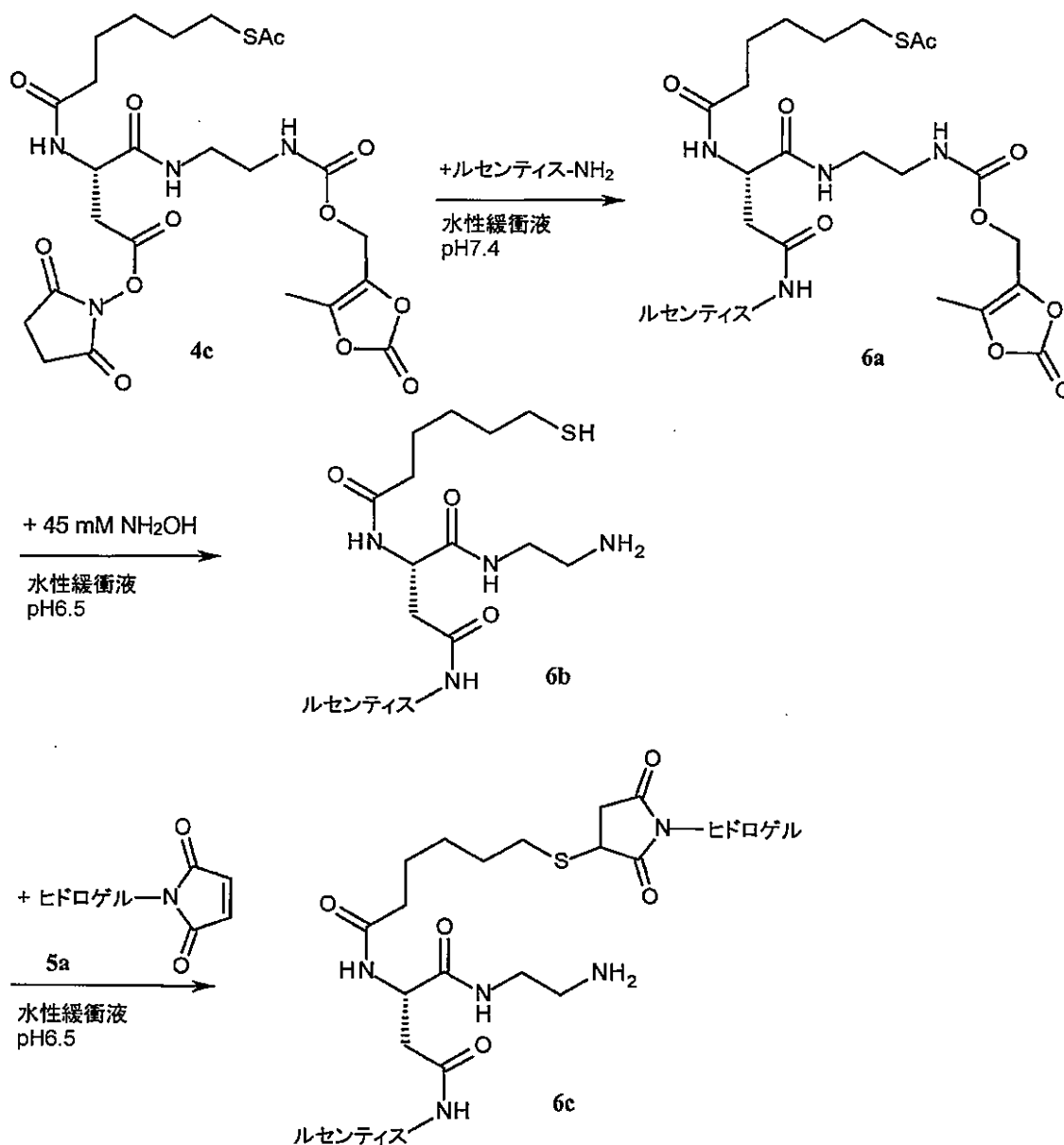
1Mクエン酸ナトリウム、pH5.0の添加によって反応混合物のpHをpH6.5に調整し、Na₂EDTAを5mMの最終濃度まで添加した。6aの保護基を除去するために、0.5MのNH₂OH(10mMクエン酸ナトリウム、140mM塩化ナトリウム、5mM Na₂EDTA、pH6.5に溶解させた)を45mMの最終濃度まで添加し、脱保護反応物を室温で4時間インキュベートし、ルセンティス-リンカーモノコンジュゲート6bを得た。ルセンティスとルセンティス-リンカーモノコンジュゲート6bとの混合物を、10mMリン酸ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、140mM塩化ナトリウム、5mM Na₂EDTA、0.01%Tween20、pH6.5に緩衝液交換し、2つのルセンティス種の全体濃度を11.8 mg/mLに調整した。混合物中ルセンティス-リンカーモノコンジュゲート6bの含有量は、ESI-MSにより測定して20%であった。

40

【0373】

4mgの、10mMリン酸ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、140mM塩化ナトリウム、5mM Na₂EDTA、0.01%Tween20、pH6.5中ルセンティス/ルセンティス-リンカーモノコンジュゲート6b混合物を、1mgのマレイミド官能基化ヒドロゲルビーズ5aに添加し、室温で一晩インキュベートし、一時的ルセンティス-リンカー-ヒドロゲルプロドラッグ6cを得た。

【化 8 2】



【 0 3 7 4 】

[実施例7]

インビトロ放出反応速度論-インビトロ半減期の決定

ルセンティス-リンカー-ヒドロゲルプロドラッグ6c(およそ1mgのルセンティスを含有する)を、60mMリン酸ナトリウム、3mM Na₂EDTA、0.01%Tween20、pH7.4で5回洗浄し、最後に1mLの前述の緩衝液に懸濁させた。懸濁液を37℃でインキュベートした。懸濁液の緩衝液を、異なる時間間隔後に交換し、HPLC-SECにより220nmで分析した。遊離されたルセンティスに相当するピークを積分し、遊離されたルセンティスの合計を合計インキュベーション時間に対してプロットした。曲線当てはめソフトウェアを適用して、一次切断速度を決定した。

【 0 3 7 5 】

[実施例8]

遊離アミノ基を含有するヒドロゲルビーズ8a及び8bの調製

400mg[PEG1250-Lys-Lys₂-Lys₄(NH₂)₈]₄、5082mgの2s、33.5gのDMSO、400mgのCithro1(商標)DPHS、2.3mLのTMEDA、及び4.8mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したと通りに、8aを調製し、白色粉末として1460mgの8a、遊離アミノ基0.057mmol/gを得た。

【 0 3 7 6 】

10

20

30

40

50

290mgの[PEG1250-_LLys-_LLys₂-_LLys₄(NH₂)₈]₄、2281mgの2v、26.1gのDMSO、257mgのCithrol(商標)DPHS、1.7mLのTMEDA、及び3.5mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したとおりに、8bを調製し、白色粉末として820mgの8b、遊離アミノ基0.108mmol/gを得た。

【0377】

250mgの[PEG1250-_LLys-_LLys₂-_LLys₄(NH₂)₈]₄、2168mgのrac-2y、21.8gのDMSO、215mgのCithrol(商標)DPHS、1.1mLのTMEDA、及び1.7mLの酢酸の使用を除いて、3aについて記載したとおりに、8cを調製し、白色粉末として810mgの8c、遊離アミノ基0.154mmol/gを得た。

【0378】

[実施例9]

ビオチンコンジュゲート化ヒドロゲル9a及び9bの調製

10

11mgの8aを、フィルタフリットを備えた注射器に移した。ヒドロゲルビーズ8aを、それぞれ、NMPで、及びH₂O/ACN/TFA(1/1/0.002、v/v/v)でそれぞれ3回洗浄した。1.14mgのビオチンアミドヘキサン酸N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(2.5 μmol)を、250 μLのH₂O/ACN/TFA(1/1/0.002、v/v/v)に溶解させ、洗浄したヒドロゲルビーズ8aに添加し、攪拌(15rpm)下室温で5分間インキュベートした。50 μLの0.5Mリン酸ナトリウム、pH7.4を添加し、反応混合物を攪拌(15rpm)下室温で60分間インキュベートした。得られたビオチンコンジュゲート化ヒドロゲル9aを、それぞれ、H₂O/ACN/TFA(1/1/0.002、v/v/v)で、及び10mMリン酸ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、140mM塩化ナトリウム、10%ACN、pH7.4でそれぞれ5回洗浄した。

【0379】

20

11.3mgのヒドロゲルビーズ8b、及び2.2mgのビオチンアミドヘキサン酸N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(4.8 μmol)を使用した以外は、9aに従って、9bを調製した。

【0380】

[実施例10]

ストレプトアビジン-ビオチンヒドロゲル10a及び10bの調製

6mgのストレプトアビジンを、10mMリン酸ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、140mM塩化ナトリウム、10%ACN、pH7.4に溶解させ、ビオチンコンジュゲート化ヒドロゲル9a(11mgの8aから調製した)に添加し、攪拌(15rpm)下室温で60分間インキュベートし、ストレプトアビジン-ビオチンヒドロゲル10aを得た。10aを、850 μLの、10mMリン酸ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、140mM塩化ナトリウム、10%ACN、pH7.4で2回洗浄し、洗浄画分を合わせた。ビオチンコンジュゲート化ヒドロゲルに結合したストレプトアビジン量を、合わせた洗浄画分中ストレプトアビジン濃度の280nmでの光度定量により間接的に定量化し、2.6mgであることがわかった。

30

【0381】

ビオチンコンジュゲート化ヒドロゲル9b(11.3mgの8bから調製した)及び8.1mgのストレプトアビジンを使用した以外は、10aに準じて、10bを調製した。ビオチンコンジュゲート化ヒドロゲル9bに結合したストレプトアビジン量は、0.5mgであることがわかった。

【0382】

[実施例11]

ブロック化ヒドロゲルビーズ11

40

ヒドロゲルビーズを実施例3cに記載した手順に従って合成し、実施例5bに記載した手順に従ってマレイミド基で官能基化した。その後、10mg/mLのヒドロゲル懸濁液4mLを、フリットを備えた20mL注射器中に移した。溶媒を追い出し、ヒドロゲルを、5mLの10mMヒスチジン/10重量%α,α-トレハロース/0.01%Tween20/pH5.5で10回洗浄した。溶媒を追い出し、10mMヒスチジン/10重量%α,α-トレハロース/0.01%Tween20/pH5.5中の1mMのβ-メルカプトエタノール5mLを注射器中に引き入れた。得られた懸濁液を穏やかな振とう下で周囲温度にて5分間インキュベートさせた。溶媒を捨て、ヒドロゲルを、10mMヒスチジン/10重量%α,α-トレハロース/0.01%Tween20/pH5.5中の1mMのβ-メルカプトエタノール5mLでさらに9回処理した。溶媒を毎回捨てた。次いで、ヒドロゲルを毎回5mLの10mMヒスチジン/10重量%α,α-トレハロース/0.01%Tween20/pH5.5で10回洗浄し、溶媒を毎回捨てた。次い

50

で、ヒドロゲルビーズを、毎回5mLのPBS-T/pH7.4で10回洗浄し、溶媒を毎回捨てた。最後に、新鮮なPBS-T/pH7.4を注射器に引き入れ、懸濁液をFalconチューブに移して、11を得た。

【 0 3 8 3 】

略語：

Ac	アセチル	
ACN	アセトニトリル	
AcOH	酢酸	
Asp	アスパラギン酸塩	
Boc	tert-ブチルオキシカルボニル	10
DBU	1,8-ジアザビシクロ(5.4.0)ウンデカ-7-エン	
DCC	ジシクロヘキシルカルボジイミド	
DCM	ジクロロメタン	
DIPEA	ジイソプロピルエチルアミン	
DMAP	ジメチルアミノピリジン	
DMF	ジメチルホルムアミド	
DMSO	ジメチルスルホキシド	
Fmoc	フルオレニルメチルオキシカルボニル	
HPLC	高速液体クロマトグラフィー	
iPrOH	イソプロパノール	20
マレイミド-NH-PEG6-PFE		
N-(3-マレイミドプロピル)-21-アミノ-4,7,10,13,16,19-ヘキサオキサ-		
ヘンエイコサン酸ペンタフルオロフェニルエステル		
マレイミド-NH-PEG12-PFE		
N-(3-マレイミドプロピル)-39-アミノ-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,3		
4,37-ドデカオキサ-ノナトリアコンタン酸ペンタフルオロフェニルエステル		
MeOAc	酢酸メチル	
MeOH	メタノール	
MS	質量分析	
MTBE	メチル-tert-ブチルエステル、	30
NHS	N-ヒドロキシスクシンイミド	
Oxya Pure	エチル2-シアノ-2-(ヒドロキシイミノ)アセテート	
PEG	ポリエチレングリコール	
RP-HPLC	逆相-高速液体クロマトグラフィー	
RT	室温	
tBu	tert-ブチル	
TAN	1,5,9-トリアザノナン	
TES	トリエチルシラン	
TFA	トリフルオロ酢酸	
THF	テトラヒドロフラン	40
TMEDA	N,N,N',N'-テトラメチルエイレンジアミン	
TSTU	O-(N-スクシンイミジル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムテトラフ	
ルオロボレート		

フロントページの続き

(74)代理人 100168893

弁理士 岩崎 正路

(72)発明者 ラウ, ハラルト

ドイツ連邦共和国 6 9 2 2 1 ドッセンハイム, タールシュトラーセ 4 1 イー

(72)発明者 フォイクト, トビアス

ドイツ連邦共和国 6 9 1 2 6 ハイデルベルク, カールスルーアー シュトラーセ 1 8 8 / 1

(72)発明者 ラウファー, ブルクハルト

ドイツ連邦共和国 6 9 2 2 1 ドッセンハイム, ゲーテシュトラーセ 8

(72)発明者 ビセク, ニコラ

ドイツ連邦共和国 6 9 1 1 5 ハイデルベルク, ダンテシュトラーセ 5 0

(72)発明者 ハーン, フランツィスカ

ドイツ連邦共和国 7 0 1 9 0 シュトゥットガルト, ネッカーシュトラーセ 1 8 8

(72)発明者 クナッペ, トーマス

ドイツ連邦共和国 6 9 1 2 4 ハイデルベルク, ケーニヒスベルガー シュトラーセ 1 9 アー

審査官 小森 勇

(56)参考文献 SERGUEI VINOGRADOV et al., Poly(ethylene glycol)-polyethyleneimine NanoGel™ particles : novel drug delivery systems for antisense oligonucleotides, COLLOIDS AND SURFACES B: BIOINTERFACES, ELSEVIER, 1 9 9 9 年, vol.16, No.1-4, p.291-304

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C 0 8 G 8 1 / 0 0

A 6 1 K 4 7 / 3 4

A 6 1 K 4 7 / 5 0

C 0 8 G 6 5 / 4 8