

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.

A61K 47/48 (2006.01)
C08G 65/333 (2006.01)
C08G 65/329 (2006.01)
C08G 65/00 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2006-0026845
(43) 공개일자 2006년03월24일

(21) 출원번호 10-2005-7016193

(22) 출원일자 2005년08월31일

번역문 제출일자 2005년08월31일

(86) 국제출원번호 PCT/US2004/016212

(87) 국제공개번호 WO 2005/000360

국제출원일자 2004년05월21일

국제공개일자 2005년01월06일

(30) 우선권주장 60/473,213 2003년05월23일 미국(US)

(71) 출원인 넥타르 테라퓨틱스 에이엘, 코포레이션
미국 35806-2902 앨라배마주 헨즈빌 디스커버리 드라이브 490

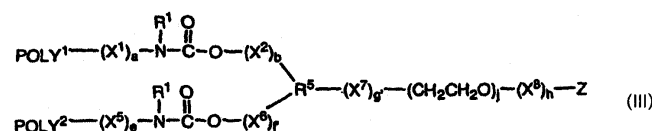
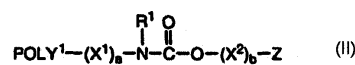
(72) 발명자 해리스 제이 밀턴
미국 35801 앨라배마주 헨즈빌 록아웃트 드라이브 3309
코즈로브스키 안토니
미국 35811 앨라배마주 헨즈빌 페어팩스 드라이브 2209
맥메이너스 사무엘 피
미국 35802 앨라배마주 헨즈빌 타코마 트레일 8867
벤틀리 마이클 디
미국 35801 앨라배마주 헨즈빌 놀렌 애비뉴 에스이 4017
찰스 스티븐 에이
미국 35806 앨라배마주 헨즈빌 펄 우드 코트 209

(74) 대리인 특허법인코리아나

심사청구 : 없음

(54) 아미도카르보네이트 연결기를 갖는 PEG 유도체

요약



본 발명은 특정 순서로 배열된 원자의 부분을 함유한 중합체성 시약을 제공하는데, 여기서 상기 부분은 수용성 중합체와 반응기 사이에 배치된다. 중합체성 시약은 다른 것들 중에서도, 중합체-활성제 콘주게이트 형성에 유용하다. 본 발명은 또한 관련 방법, 조성물, 제제 등도 제공한다.

색인어

중합체성 시약, 수용성 중합체, 반응기, 활성제, 콘주게이트

명세서

기술분야

본 발명은 일반적으로 특정한 내부 구조 배향을 함유한 신규의 중합체성 시약, 및 이들 신규 중합체성 시약의 콘주게이트(conjugate)에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 중합체성 시약을 합성하는 방법 및 중합체성 시약을 활성제 및 기타 다른 물질에 콘주게이션하는 방법에 관한 것이다. 더 나아가, 본 발명은 또한 약학적 제제, 및 콘주게이트를 환자에게 투여하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

과학자 및 임상자들은 활성제를 환자에게 전달하기에 적합한 형태로 개발하려는 시도에 있어서 다수의 어려움에 직면해 있다. 예컨대, 폴리펩티드인 활성제는 구강 경로보다는 종종 주사를 통해서 전달된다. 이런 방법으로 위의 단백질 가수분해 환경에 노출됨 없이 펩티드가 체순환으로 도입된다. 그러나 폴리펩티드의 주사는 몇 가지 단점을 갖는다. 예컨대, 다수의 폴리펩티드는 상대적으로 짧은 반감기를 가지며, 그럼으로써 반복투여를 필요로 하는데, 이는 종종 불편하고 고통스럽다. 또한, 어떤 폴리펩티드는 하나 이상의 면역반응을 유도하고 그 결과로 환자의 면역체계가 활성화되어 폴리펩티드를 분해시키게 된다. 따라서, 폴리펩티드와 같은 활성제의 전달은 종종 이들 제제가 주사로 투여되었을 때조차 문제가 있다.

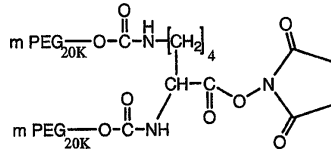
활성제를 주사로 전달하는 문제를 성공적으로 해결한 경우가 일부 있다. 예컨대, 활성제를 수용성 중합체에 콘주게이션시키면 면역원성(immunogenicity)과 항원성(antigenicity)이 감소된 중합체-활성제 콘주게이트를 얻을 수 있다. 또한, 이들 중합체-활성제 콘주게이트는 종종 콘주게이션되지 않은 이들의 대조물에 비하여, 신장을 통한 제거율(clearance)의 감소 및/또는 체순환 내 효소적 분해의 감소의 결과로 반감기가 크게 증가한다. 반감기가 더 길기 때문에, 중합체-활성제 콘주게이트는 투여 횟수를 감소시키고, 이에 따라 고통스러운 주사의 총 횟수 및 전문의료를 방문하는 불편이 감소된다. 또한, 물에 잘 녹지 않는 활성제가 수용성 중합체에 콘주게이션되면 수용성이 현저히 증가하는 경우가 종종 있다.

폴리에틸렌 글리콜은 그 문서화된 안전성 및 FDA 승인에 기인하여 국소용 및 내복용 모두에서 활성제에 콘주게이션되고 있다. 활성제가 폴리에틸렌 글리콜 또는 "PEG" 중합체에 콘주게이션되는 경우, 콘주게이션된 활성제는 통상적으로 "PEG화" 되었다고 한다. PEG화 활성제, 예컨대 PEGASYS[®] PEG화 인터페론 알파-2a(Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ), PEG-INTRON[®] PEG화 인터페론 알파-2b(Schering Corp., Kenilworth, NJ), 및 NEULASTA[™] PEG-필그라스티암(Amgen Inc., Thousand Oaks, CA)의 상업적 성공은 콘주게이트 형태인 활성제의 투여가 콘주게이션되지 않은 대조물에 비해 유의적인 이점을 가질 수 있음을 증명한다. 폴리(에틸렌 글리콜)에 콘주게이션된 디스테아로일포스파티딜에탄올아민(Zalipsky (1993) Bioconjug. Chem. 4 (4): 296-299) 및 플루오로우라실(Ouchi et al. (1992) Drug Des. Discov. 9 (1): 93-105)과 같은 소형 분자가 또한 제조되었다. Harris 등은 약제에 대한 PEG화의 효과를 검토하였다[Harris et al. (2003) Nat. Rev. Drug Discov. 2 (3): 214-221].

이들 성공에도 불구하고, 활성제에 대한 수용성 중합체의 콘주게이션은 여전히 난제로 남아있다. 이러한 난제 중 한 가지는 활성제가 상대적으로 긴 폴리에틸렌 글리콜 분자에 부착되는 즉시 비활성화된다는 것이다. 상대적으로 긴 폴리에틸렌 글리콜 분자가 수용성이 보다 큰 해당 활성제-중합체 콘주게이트를 제공할 것임에도 불구하고, 이러한 긴 폴리에틸렌 글리콜 부분(moiety)을 갖는 콘주게이트는 생체 내에서 실질적으로 비활성인 것으로 공지되어 있다. 이들 콘주게이트는 전체 활성제의 주위를 그 자체가 효과적으로 "둘러싸고", 그럼으로써 활성에 필요한 유효 리간드에 대한 접근을 봉쇄하게 되는 폴리에틸렌 글리콜 사슬의 상대적인 길이에 기인하여 비활성화되는 것으로 추정되었다.

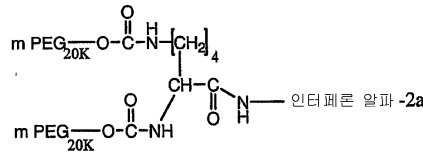
상대적으로 큰 폴리에틸렌 글리콜 부분을 갖는 비활성화 콘주게이트와 관련된 문제점은 "분지"형 중합체를 사용함으로써 부분적으로 해소되었다. 이러한 "분지"형 중합체의 예는 Harris 등의 미국 특허 제 5,932,462 호에 기재되어 있다. 여기에

기재된 바와 같이, "mPEG2-N-히드록시숙신이미드"는 생물학적으로 활성인 단백질 상의 접근성 아미노기(예컨대, 형태적 구조에 기인하여 물리적으로 봉쇄되지 않은 아미노기)에 부착될 수 있다. 이러한 분지형 중합체(분자량 약 40,000 돌턴)는 Nektar Therapeutics(Huntsville, AL)로부터 입수할 수 있으며, 하기 구조를 가진다:



(상기 식에서, mPEG_{20K}는 분자량이 약 20,000 돌턴인 메톡시 말단 캡핑 폴리에틸렌 글리콜 유도체를 나타낸다).

인터페론 알파-2a에 이러한 분지형 중합체를 커플링시키면, 인터페론 알파-2a를 중합체에 결합시키는 아미드 결합을 함유한 콘주게이트가 수득된다. 이러한 콘주게이트는 화학식으로서, 하기와 같이 나타낼 수 있다:



PEG화 인터페론 알파-2a의 PEGASYS[®] 상표(Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ)로서 상용화된 이러한 콘주게이트는 성인의 C형 간염 치료용으로 지정되었다.

분지형 중합체를 이용하여, 상대적으로 큰 선형 중합체와 관련된 문제점을 일부 해소할 수 있었음에도 불구하고, 유용한 콘주게이트를 제조하는 데는 여전히 다른 난제들이 존재한다. 예를 들면, 콘주게이트의 생체 내 분해 속도는 종종 지나치게 빠르거나 지나치게 느려서 비허용적이다. 구체적으로, 생체 내 분해 속도는 일반적으로는(필수적인 것은 아니지만) 활성제를 중합체에 연결시키는 일련의 원자 내 일부 지점에서 발생하는 가수분해의 속도에 의해 부분적으로 좌우된다. 즉, 상대적으로 빠른 가수분해 속도는 지나치게 짧은 생체 내 반감기를 갖는 비허용적 콘주게이트를 초래할 수 있는 반면, 상대적으로 느린 가수분해 속도는 지나치게 긴 생체 내 반감기를 갖는 비허용적 콘주게이트를 초래할 수 있다. 결론적으로, 특정한 일련의 원자를 갖는 중합체(중합체 그 자체 및 상응하는 콘주게이트 둘다)는 특정한 가수분해 속도를 초래할 수 있으며, 이는 다시 콘주게이트의 생체 내 분해 속도에 영향을 준다.

특정 활성제와 mPEG2-N-히드록시숙신이미드의 콘주게이트의 가수분해는 하나의 mPEG "분지"를 다른 mPEG 분지에 연결하는 원자의 사슬 상에서 발생하여, 대사산물 중 하나의 분자량이 약 20,000 돌턴이 되도록 한다. 이러한 절단이 가능한 원자의 사슬 상 한 위치는 중합체의 mPEG 부위 중 하나에 바로 인접한 $-O-C(=O)-NH-$ 부분 내부이다. $-O-C(=O)-NH-$ 부분은 절단에 가장 적합한 위치를 나타내는데, 이는 하나의 mPEG 분지를 다른 mPEG 분지에 연결하는 사슬 내부의 유일하게 다른 탄소가, 생체 내 분해에 대해서 $-O-C(=O)-NH-$ 부분보다 상대적으로 더 안정한 메틸렌기를 포함한 일련의 탄소 원자이기 때문이다. 절단 직후, 중합체의 분리형태는 mPEG-OH이다. 즉, 적어도 부분적으로는 mPEG-OH 형성에 대한 선호도에 기초하여 특정한 가수분해 속도가 초래된다.

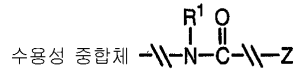
그러나, 그 가수분해 속도를 "주문제작"할 수 있는 중합체를 제공하는 것이 바람직할 것이다. 예를 들면, PEG화 인터페론 알파-2a의 전형적인 주간 투여에 대해서는, 투여 간격을 훨씬 더 넓히기 위해서 보다 느린 가수분해 속도를 제공할 수 있다. 또한, 지나치게 긴 생체 내 반감기를 갖는 콘주게이트는 가수분해에 대한 콘주게이트의 민감성을 증가시킴으로써 개선시킬 수 있다.

특정한 가수분해 속도를 갖는 중합체의 범위가 확장되면, (무엇보다도) 수용성 및/또는 생체 내 분해 속도의 목적인 증가를 제공하도록 "주문제작"된 활성제-중합체 콘주게이트를 연구자 및 과학자들에게 제공할 수 있을 것이다. 또한, 특정한 가수분해 속도를 갖는 중합체는 분지형 중합체로서 뿐만 아니라, 기타 다른 형태(예를 들면, 선형 또는 다지형)로도 사용될 수 있다. 즉, (무엇보다도) 일련의 특정한 원자를 제공함으로써, "주문제작"된 분해 속도를 제공하는 중합체가 필요하다. 본 출원인이 알고 있는 한, 현재 기술된 중합체, 콘주게이트, 제제, 및 방법은 당업계에 전혀 제안된 바가 없는 신규의 것이다.

발명의 상세한 설명

이에 따라, 본 발명의 주된 목적은 하기 구조를 포함한 중합체성 시약을 제공하는 것이다:

[화학식 I]



[상기 식에서, "수용성 중합체"는 물에 가용성인 중합체이고, "--"는 각각 독립적으로 직접 공유결합 또는 스페이서 부분을 나타내며; R¹은 H 또는 유기 라디칼이고; Z는 반응기이다]. 화학식 [1]에 도시된 바와 같이, 수용성 중합체는 $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{---}$ 부분의 질소 원자에 인접해 있고, 반응기 Z는 $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{---}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 인접해 있다. $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{---}$ 부분을 갖는 중합체성 시약이 본 발명에 포함됨에도 불구하고, $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{---}$ 의 카르보닐 탄소 원자에 근접하여 산소 원자를 보유함으로써, 종종 "카르바메이트" 또는 "우레탄"기로 지칭되는 $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{O---}$ 부분을 형성하는 것이 바람직하다. 기타 다른 관능기도 중합체성 시약의 내부 또는 중합체성 시약 상에 존재할 수 있다.

본 발명의 또 다른 목적은 R¹이 H인 상기 중합체성 시약을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 황 원자가 $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{---}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 부착됨으로써 $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{S---}$ 부분을 형성하는 상기 중합체성 시약을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 $\text{---}\text{N}(\text{R}^2)\text{---}$ 부분이 $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{---}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 부착됨으로써, R²가 H 또는 유기 라디칼인 $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{N}(\text{R}^2)\text{---}$ 부분을 제공하는 상기 중합체성 시약을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 수용성 중합체가 폴리(알킬렌 옥사이드)인 중합체성 시약을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 (i) 반응기에 대한 보호 반응기 또는 전구체 및 하나 이상의 히드록실기를 함유한 전구체 분자를 제공하는 단계; (ii) 아미노기와 반응시키기 위해 전구체 분자의 하나 이상의 히드록실기 중 하나 이상을 활성화시킴으로써 활성화 전구체 분자를 형성시키는 단계; (iii) 공유 커플링 조건하에서, 하나 이상의 활성화 히드록실기 중 하나 이상을, 아미노기를 갖는 수용성 중합체와 접촉시킴으로써, 수용성 중합체 부위, 및 반응기에 대한 보호 반응기 또는 전구체를 함유한 중합체를 형성시키는 단계; 및 (iv) 존재한다면, 보호 반응기를 탈보호화시키는 단계를 포함하는, 전술한 중합체성 시약의 제조 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 수용성 중합체, $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{---}$ 부분, 및 약리학적 활성제를 함유한 중합체 콘쥬게이트를 제공하는 것인데, 여기서 (i) 수용성 중합체는 직접 공유결합 또는 제 1 스페이서 부분을 통해 $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{---}$ 부분의 질소 원자에 연결되고; (ii) 약리학적 활성제는 직접 공유결합 또는 제 2 스페이서 부분을 통해 $\text{---}\text{N}(\overset{\text{R}^1}{\text{C}}\text{O})\text{---}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 연결되며; (iii) R¹은 H 또는 유기 라디칼이다.

본 발명의 또 다른 목적은 본원에 제공된 바와 같은 중합체성 시약을 적절한 조건하에서 활성제와 접촉시켜, 콘쥬게이트를 형성시키는 단계를 포함하는 콘쥬게이트 제조 방법을 제공하는 것이다. 전형적으로, 활성제는 중합체성 시약 상의 반응기와 활성제 상의 관능기(예를 들면, 아민) 사이의 반응을 통해서 중합체에 공유적으로 부착된다.

본 발명의 또 다른 목적은 약학적 부형제와 배합된, 본원에 제공된 바와 같은 활성제-중합체 콘쥬게이트를 포함한 약학적 제제를 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 본원에 제공된 바와 같은 활성제-중합체 콘주게이트의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 약리학적 활성제의 전달 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 추가적인 목적, 장점 및 신규 특성은 후술되는 기재에서 상세히 설명될 것이고, 부분적으로는, 본 발명이 속하는 기술 분야의 숙련된 자에게 자명할 것이며, 그렇지 않으면 본 발명을 실시함으로써 알 수 있을 것이다.

따라서, 일 구현예에서는, 수용성 중합체와 반응기 사이에 배치된 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C}^{\text{O}}$ -부분을 포함하는 중합체성 시약이 제공된다. 내부 구조 배열에서 (i) $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C}^{\text{O}}$ -부분의 질소는 수용성 중합체에 인접해 있고, (ii) $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C}^{\text{O}}$ -부분의 카르보닐 탄소는 반응기에 인접해 있으며, (iii) R^1 은 H 또는 유기 라디칼인데, 여기서 유기 라디칼은 전형적으로 알킬, 치환 알킬, 알케닐, 치환 알케닐, 알킬닐, 치환 알킬닐, 아릴 및 치환 아릴로 이루어진 군에서 선택된다.

본 발명의 중합체성 시약은 또한 수용성 중합체, $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C}^{\text{O}}$ -부분, 및 반응기를 포함하는데, 여기서 (i) 수용성 중합체는 직접 공유결합 또는 제 1 스페이서 부분을 통해 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C}^{\text{O}}$ -부분의 질소 원자에 연결되고; (ii) 반응기는 직접 공유결합 또는 제 2 스페이서 부분을 통해 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C}^{\text{O}}$ -부분의 카르보닐 탄소 원자에 연결되며; (iii) R^1 은 앞서 정의한 바와 같다.

본 발명의 중합체성 시약에 대해서, 임의의 수용성 중합체가 중합체성 시약에서의 수용성 중합체로 사용될 수 있고, 본 발명은 이와 관련하여 제한되지 않는다. 그러나, 한쪽 말단이 캡핑된 중합체가 바람직하다. 또한, 질량 평균 분자량이 약 120,000 돌턴 미만인 중합체가 바람직하다.

또 다른 구현예에서는, 본 발명의 중합체의 제조 방법이 제공된다. 요약하자면, 이 방법은 반응기에 대한 보호 반응기 또는 전구체 및 하나 이상의 히드록실기를 함유한 전구체 분자를 제공하는 것을 동반한다. 전구체 분자의 하나 이상의 히드록실기 중 하나 이상을 활성화시키면(그림으로써 활성화 전구체 분자가 형성된다), 하나 이상의 히드록실기 중 하나 이상이 아미노기와 반응하게 될 것이다. 그 다음, 활성화 전구체 분자를 공유 커플링 조건하에 두고, 아미노기를 갖는 수용성 중합체와 접촉시킴으로써, 서로 화학적으로 반응하도록 한다. 이어지는 반응으로 수용성 중합체와 활성 전구체 분자 사이에 공유결합이 형성되고, 이로써 수용성 중합체 부위 및 반응기에 대한 보호 반응기 또는 전구체를 함유한 중합체가 형성된다. 전형적으로, 이 중합체를 각종 시약과 추가로 반응시킴으로써, 중합체를 예를 들면 목적한 반응기로 관능기화시킬 수 있다. 전구체 분자가 보호 반응기를 포함하는 경우에는, 상기 방법에 반응기를 보호하는 기를 제거하는 탈보호화 단계가 포함되는 것이 유리하다. 임의적으로, 중합체를 분리하는 단계는 중합체가 보다 순수한 형태로 제공될 수 있도록 하기 위해서 수행된다.

본 발명의 또 다른 구현예에서는, 수용성 중합체, $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C}^{\text{O}}$ -부분, 및 활성제를 포함하는 콘주게이트가 제공되는데, 여기서 (i) 수용성 중합체는 직접 공유결합 또는 제 1 스페이서 부분을 통해 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C}^{\text{O}}$ -부분의 질소 원자에 연결되고; (ii) 약리학적 활성제는 직접 공유결합 또는 제 2 스페이서 부분을 통해 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C}^{\text{O}}$ -부분의 카르보닐 탄소 원자에 연결되며; (iii) R^1 은 H 또는 유기 라디칼이다. 유리하게는, 본원에 제공된 중합체성 시약과 커플링될 수 있는 임의의 활성제를 사용할 수 있고, 본 발명은 사용되는 특정 활성제와 관련하여 제한되지 않는다.

본 발명의 또 다른 구현예에서는, 콘주게이트를 제공하기에 적절한 조건하에서, 본원에 제공된 바와 같은 중합체성 시약과 활성제를 접촉시키는 단계를 포함하는 콘주게이트 제조 방법이 제공된다.

본 발명의 또 다른 구현예에서는, 약학적 부형제와 배합된 본 발명의 콘주게이트를 포함하는 약학적 제제가 제공된다. 약학적 제제는 모든 유형의 제형을 포함하며 특히 주사에 적합한 제형, 예컨대 현탁액 및 용액뿐 아니라 재구성시킬 수 있는 분말을 포함한다.

본 발명의 또 다른 구현예에서는, 본원에 제공되는 콘주게이트의 치료적 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 콘주게이트 투여 방법이 제공된다. 필수적인 것은 아니지만 전형적으로, 콘주게이트는 약학적 제제의 일부로 제공된다. 콘주게이트를 투여하는 임의의 접근법이 사용될 수 있고, 본 발명은 이와 관련하여 제한되지 않는다. 그러나, 콘주게이트는 주사를 통해 투여되는 것이 바람직하다.

본 발명을 상세히 설명하기 전에, 본 발명은 특정 중합체, 합성 기법, 활성제 등에 제한되지 않고 그 자체로 다양할 수 있음이 이해되어야 한다.

명세서에서 명백하게 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서 및 청구의 범위에서 사용되는 단수형에는 복수 참조형이 포함된다. 따라서, 예컨대, "중합체"에 대한 참조는 단일 중합체뿐 아니라 둘 이상의 동일하거나 상이한 중합체를 포함하고, "콘주게이트"에 대한 참조는 단일 콘주게이트뿐 아니라 둘 이상의 동일하거나 상이한 콘주게이트를 포함하며, "부형제"에 대한 참조는 단일 부형제뿐 아니라 둘 이상의 동일하거나 상이한 부형제를 포함하는 것 등이다.

본 발명을 설명하고 청구하는 데 있어서, 하기 용어들은 다음에 기재된 정의에 따라서 사용될 것이다.

본원에서 사용되는 "PEG", "폴리에틸렌 글리콜" 및 "폴리(에틸렌 글리콜)"은 임의의 수용성 폴리(에틸렌 옥사이드)를 포함하며 호환적으로 사용될 수 있다. 전형적으로, 본 발명에서 사용하기 위한 PEG는 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_m-$ 또는 $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-$ [여기서, (m)은 2 내지 4000이다]를 포함할 것이고, 말단기 및 전체적인 PEG의 구조는 다양할 수 있다. 본원에서 사용될 때, PEG는 또한 말단 산소가 치환되었는지의 여부에 따라 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 및 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-$ 을 포함한다. PEG가 추가적으로 스페이서 부분(아래에서 더욱 상세히 설명됨)을 함유하는 경우, 스페이서 부분을 포함한 원자는 수용성 중합체에 공유적으로 부착될 때, 산소-산소 결합(즉, "-O-O-" 또는 퍼옥사이드 연결)을 형성하지 않는다. 본 명세서 및 청구의 범위에 있어서, "PEG"라는 용어는 다양한 말단 또는 "말단 캡핑"기 등을 포함함을 상기해야 한다. "PEG"는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 서브유닛을 다수로, 다시 말해서, 50% 초과로 함유하는 중합체를 의미한다. 일반적으로 사용되는 일 PEG는 말단 캡핑 PEG이다. 본 발명에서 사용하기 위한 특정한 PEG 형태에는 이하에서 상세히 설명하게 설명될, 다양한 분자량, 구조 또는 형상(예컨대, 분지형, 선형, 포크형 PEG, 다관능성, 다지형 등)을 갖는 PEG가 포함된다.

"끝부분이 캡핑된" 또는 "말단이 캡핑된"이라는 용어는 본원에서 말단 캡핑 부분을 갖는 중합체의 말단 또는 끝점을 참조하기 위하여 호환적으로 사용된다. 전형적으로, PEG와 관련하여, 말단 캡핑 부분은 히드록실기 또는 C_{1-20} 알콕시기를 함유한다. 따라서, 말단 캡핑 부분의 예에는 알콕시(예컨대, 메톡시, 에톡시 및 벤질옥시), 뿐만 아니라 아릴, 헤테로아릴, 시클로, 헤테로시클로 등이 포함된다. 말단 히드록실기 및 알콕시기는 반복적인 에틸렌 옥사이드 단량체가 어떻게 정의되는가[예컨대, $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_m-$ 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2-$]에 따라, 구조 설계시에 반복적인 에틸렌 옥사이드 단량체의 말단 산소 원자를 포함할 수 있음을 상기해야 한다. 또한, 상기 각 말단 캡핑 부분의 포화, 불포화, 치환 및 비치환 형태도 가능하다. 또한, 상기 말단 캡핑기는 실란 또는 지질(예컨대, 인지질)일 수 있다. 상기 말단 캡핑기는 또한 검출성 표지를 함유하는 것이 유리할 수 있다. 중합체가 검출성 표지를 함유한 말단 캡핑기를 갖게 되면, 상기 중합체가 커플링되는 해당 중합체 및/또는 부분(예컨대, 활성제)의 양 또는 위치를 적절한 검출기를 사용하여 측정할 수 있다. 이러한 표지에는, 제한 없이, 형광물질, 화학발광물질, 효소 표지화에 사용되는 부분, 비색제(예컨대, 염료), 금속 이온, 방사능 부분 등이 포함된다. 적절한 검출기에는 광도계, 필름, 분광계 등이 포함된다.

중합체와 관련하여 "비자연 발생"은 온전히 그대로 자연에서 발견되지 않는 중합체를 의미한다. 그러나, 비자연 발생 중합체는, 전체 중합체 구조는 자연에서 발견되지 않더라도 자연적으로 발생하는 하나 이상의 서브유닛 또는 서브유닛의 단편을 함유할 수 있다.

"수용성 중합체"에서 "수용성"이라는 용어는 실온에서 물에 가용성인 중합체이다. 전형적으로, 수용성 중합체의 용액은 여과 후 동일한 용액에 의해서 투과되어 약 75% 이상, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 빛을 투과시킬 것이다. 중량을 기준으로, 수용성 중합체 또는 이의 단편은 바람직하게는 약 35% (중량비로) 이상 물에 녹고, 보다 바람직하게는 약 50% (중량비로) 이상 물에 녹으며, 보다 더 바람직하게는 약 70% (중량비로) 물에 녹고, 더욱 더 바람직하게는 약 85% (중량비로) 물에 녹는다. 그러나, 상기 수용성 중합체 또는 단편은 약 95% (중량비로) 물에 녹거나 완전히 물에 녹는 것이 가장 바람직하다.

본 발명의 수용성 중합체, 예컨대 PEG와 관련된 분자량은 수평균 분자량 또는 중량평균 분자량으로 표현할 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 본원에서 분자량에 대한 모든 참조는 중량평균 분자량을 의미한다. 수평균 및 중량평균 분자량 측정은

둘다 겔 투과성 크로마토그래피 또는 기타 다른 액체 크로마토그래피 기법을 사용하여 측정할 수 있다. 분자량 값을 측정하는 다른 방법도 사용할 수 있는데, 예컨대 말단기 분석 또는 종합적인 성질(예컨대, 동결점 강하, 비등점 상승, 또는 삼투압)의 측정을 사용하여 수평균 분자량을 측정하거나, 광산란 기법, 초원심분리 또는 점도계를 사용하여 중량평균 분자량을 측정한다. 본 발명의 중합체성 시약은 전형적으로, 바람직하게는 약 1.2 미만, 보다 바람직하게는 약 1.15 미만, 보다 더 바람직하게는 약 1.10 미만, 훨씬 더 바람직하게는 약 1.05 미만, 및 가장 바람직하게는 약 1.03 미만의 낮은 다분산도 (polydispersity value)를 갖는 다분산성(즉, 중합체의 수평균 분자량 및 중량평균 분자량이 동등하지 않음)이다.

본원에서 사용되는 "카르복실산"이란 용어는 -C(=O)OH 관능기["-COOH" 또는 "-C(O)OH"로도 표현]를 갖는 부분, 뿐만 아니라 카르복실산의 유도체(이러한 유도체에는 예를 들면, 보호 카르복실산이 포함됨)인 부분이다. 따라서, 명세서에서 명백하게 달리 명시되지 않는 한, 카르복실산이란 용어는 산 형태뿐 아니라, 상응하는 에스테르 및 보호 형태를 포함한다. 카르복실산에 대한 보호기 및 기타 다른 보호기의 예는 문헌 [Greene et al., "PROTECTIVE GROUPS INORGANIC SYNTHESIS," Chapter 6, 3rd Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1999 (p.454-493)]에 기재되어 있다.

"반응성" 및 "활성화된"이란 용어는 특정 관능기와 콘주게이션되어 사용될 때 또 다른 분자 상의 친전자체 또는 친핵체와 쉽게 반응하는 반응성 관능기를 의미한다. 이는 반응하기 위하여 강력한 촉매 또는 매우 비실용적인 반응조건을 요하는 관능기들(즉, "비반응성" 또는 "비활성"기)과 대조적이다.

"보호된", "보호기" 및 "보호성기"는 특정 반응 조건하에서 분자 내의 특정 화학 반응성 관능기의 반응을 방해하거나 억제하는 부분(즉, 보호기)의 존재를 의미한다. 보호기는 사용될 반응 조건 및 만약 존재한다면, 분자 내 추가적인 반응기 또는 보호기의 존재뿐 아니라 보호되는 화학적 반응기의 유형에 따라서 달라질 것이다. 당업계에 공지되어 있는 보호기는 전술한 Greene 등의 문헌에서 찾을 수 있다.

"활성화 카르복실산"은 특히 친핵성 아실 치환기와 관련하여 모 카르복실산보다 반응성인 카르복실산의 관능성 유도체를 의미한다. 활성화 카르복실산에는 산 할라이드(예컨대, 산 클로라이드), 무수물, 아마이드 및 에스테르가 포함되지만 이에 한정되는 것은 아니다.

본원에서 사용된 "관능기"라는 용어 또는 이의 임의의 유사어는 그의 보호된 형태를 포함한다.

본원에서 사용된 "스페이스" 또는 "스페이스 부분"이란 용어는 상호연결 부분, 예컨대 수용성 중합체 부위와 관능기의 말단을 연결하는 데 임의적으로 사용되는 원자 또는 원자 집단을 의미한다. 스페이스 부분은 가수분해적으로 안정할 수도 있고, 생리학적 가수분해성 또는 효소적 분해성 연결을 포함할 수도 있다.

"알킬"은 전형적으로는 길이로 약 1 내지 20의 원자 범위인 탄화수소 사슬을 의미한다. 이러한 탄화수소 사슬은 필수적인 것은 아니지만 바람직하게는 포화되며, 분지형 또는 직쇄형일 수 있지만 통상적으로는 직쇄형이 선호된다. 알킬기의 예에는 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 1-메틸부틸(즉, 2-펜틸), 1-에틸프로필(즉, 3-펜틸), 3-메틸펜틸 등이 포함된다. 본원에서 사용되는 "알킬"은 3 이상의 탄소수가 참조되는 경우에 시클로알킬도 포함한다.

"저급 알킬"은 탄소수가 1 내지 6인 알킬기를 의미하고, 직쇄형 또는 분지형일 수 있으며, 예컨대 메틸, 에틸, n-부틸, 이소-부틸, 및 tert-부틸이다.

"시클로알킬"은 바람직하게는 탄소수가 3 내지 약 12, 보다 바람직하게는 탄소수가 3 내지 약 8인, 가교, 융합, 또는 스피로 시클릭 화합물을 포함하는, 포화 또는 불포화 시클릭 탄화수소 사슬을 의미한다.

"비방해성 치환기"는 분자 내에 존재하는 경우, 통상적으로 분자 내에 함유된 다른 관능기와 비반응성인 기이다.

예컨대 "치환 알킬"에서와 같은 용어 "치환"은 C₃ 내지 C₈ 시클로알킬, 예컨대, 시클로프로필, 시클로부틸, 등; 할로, 예컨대, 플루오로, 클로로, 브로모, 및 요오도; 시아노; 알콕시; 저급 페닐; 치환 페닐 등과 같지만 이에 한정되는 것은 아닌 하나 이상의 비방해성 치환기로 치환된 부분(예컨대, 알킬기)을 의미한다. "치환 아릴"은 치환기로서 하나 이상의 비방해성기를 갖는 아릴이다. 페닐 고리 상의 치환에 있어서, 치환기는 임의의 배향(즉, 오르토, 메타 또는 파라)을 가질 수 있다.

"알콕시"는 -O-R기를 의미하는데, 여기서 R은 알킬 또는 치환 알킬, 바람직하게는 C₁ 내지 C₂₀ 알킬(예컨대, 메톡시, 에톡시, 프로톡시, 벤질옥시 등), 보다 바람직하게는 C₁ 내지 C₇이다.

본원에서 사용되는 "알케닐"은 에틸닐, n-프로페닐, 이소프로페닐, n-부틸닐, 이소부틸닐, 옥틸닐, 데세닐, 테트라데세닐 등과 같이 하나 이상의 이중결합을 갖는, 1 내지 15 원자 길이의 분지형 또는 비분지형 탄화수소기를 의미한다.

본원에서 사용되는 용어 "알키닐"은 에틸닐, n-부틸닐, 이소펜틸닐, 옥틸닐, 데세닐 등과 같이 하나 이상의 삼중결합을 갖는, 2 내지 15 원자 길이의 분지형 또는 비분지형 탄화수소기를 의미한다.

"아릴"은 각각의 코어 탄소수가 5 내지 6인 하나 이상의 방향족 고리를 의미한다. 아릴은 나프틸에서와 같이 융합될 수 있거나, 비페닐에서와 같이 비융합될 수 있는 다중 아릴 고리를 포함한다. 아릴 고리는 또한 하나 이상의 시클릭 탄화수소, 헤테로아릴, 또는 헤테로시클릭 고리와 융합되거나 비융합될 수 있다. 본원에서 사용되는 "아릴"은 헤테로아릴을 포함한다.

"헤테로아릴"은 1 내지 4 개의 헤테로원자, 바람직하게는 N, O 또는 S, 또는 이들을 조합하여 함유한 아릴기이다. 헤테로아릴 고리는 또한 하나 이상의 시클릭 탄화수소, 헤테로시클릭, 아릴, 또는 헤테로아릴 고리와 융합될 수 있다.

"헤테로고리" 또는 "헤테로시클릭"은 불포화 또는 방향족 특성을 갖거나 갖지 않고, 탄소가 아닌 하나 이상의 고리 원자를 갖는, 5 내지 12 개 원자, 바람직하게는 5 내지 7 개 원자의 하나 이상의 고리를 의미한다. 바람직한 헤테로원자에는 황, 산소, 및 질소가 포함된다.

"치환 헤테로아릴"은 하나 이상의 비방향족기를 치환기로서 갖는 헤테로아릴이다.

"치환 헤테로고리"는 비방향족 치환체로부터 형성된 하나 이상의 부사슬을 갖는 헤테로고리이다.

"친전자체"는 이온성일 수 있고, 친전자성 중심, 즉 전자를 향하고, 친핵체와 반응할 수 있는 중심을 갖는 이온 또는 원자 또는 원자의 집단을 가리킨다.

"친핵체"는 이온성일 수 있고, 친핵성 중심, 즉 친전자성 중심을 향하거나, 친핵체와 반응하는 중심을 갖는 이온 또는 원자 또는 원자의 집단을 가리킨다.

"생리학적 절단성" 또는 "가수분해성" 또는 "분해성" 결합은 생리학적 조건 하에서 물과 반응하는(즉, 가수분해되는) 비교적 약한 결합이다. 결합이 물에서 가수분해되는 경향은 두 중심원자를 이어주는 연결의 일반적 유형에만 달려있는 것이 아니라, 이들 중심원자에 부착된 치환기에도 달려있다. 적절한 가수분해적으로 불안정한 또는 약한 연결은 카르복실레이트 에스테르, 포스페이트 에스테르, 무수물, 아세탈, 케탈, 아실옥시알킬 에테르, 이민, 오르토에스테르, 펩티드 및 올리고뉴클레오티드를 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다.

"효소적 분해성 연결"은 하나 이상의 효소에 의해서 분해될 수 있는 연결을 의미한다.

"가수분해적으로 안정한" 연결 또는 결합은, 수중에서 실질적으로 안정한, 즉 장기간에 걸쳐 상당한 정도까지 생리학적 조건 하에서 가수분해를 겪지 않는 화학 결합, 전형적으로는 공유결합을 의미한다. 가수분해적으로 안정한 연결의 예는 탄소-탄소 결합(예컨대, 지방족 사슬 내), 에테르, 아마이드, 우레탄 등이 포함되지만 이에 한정되는 것은 아니다. 일반적으로, 가수분해적으로 안정한 연결은 생리학적 조건 하에서 1 일당 약 1 내지 2 % 미만의 가수분해 속도를 나타내는 연결이다. 대표적 화학 결합의 가수분해 속도는 대부분의 표준 화학 교과서에서 찾을 수 있다.

본원에서 "활성제", "생물학적 활성제" 및 "약리학적 활성제"는 호환적으로 사용되며, 생체 내 또는 시험관 내에서 입증될 수 있는, 종종 유리한 일부 약리학적 효과를 제공하는 임의의 제제, 약물, 화합물, 물질의 조성물, 또는 혼합물을 포함하는 것으로 정의된다. 이는 식품, 보조식품, 영양제, 기능식품, 약물, 백신, 항체, 비타민, 및 기타 다른 이로운 제제를 포함한다. 본원에서 사용되는 이들 용어는 또한 환자에게서 국소적이거나 전신적인 효과를 생성하는 임의의 생리학적 또는 약리학적 활성 물질을 포함한다.

"약학적 허용성 부형제" 또는 "약학적 허용성 담체"는 본 발명의 조성물에 포함될 수 있고, 환자에게 유의적인 독물학상 부작용을 야기하지 않는 부형제를 의미한다.

"약리학적 유효량", "생리학적 유효량", 및 "치료적 유효량"은 본원에서, 호환적으로, 혈류 또는 목표 조직에 요구되는 농도의 활성제 및/또는 콘주게이트를 공급하기에 필요한, 전형적으로는 약학적 제제에 존재하는 중합체-활성제 콘주게이트의 양을 의미한다. 정확한 양은, 예컨대, 특정 활성제, 약학적 제제의 성분 및 물리적 특성, 의도된 환자 모집단, 환자 개인에 대한 고려 등 여러 요인에 의존하며, 본원에 제공되고 관련 문헌에서 이용할 수 있는 정보에 근거하여 당업자에 의해서 용이하게 결정될 수 있다.

본 발명의 중합체와 관련하여 "다관능성"은 내부에 3 이상의 관능기를 갖는 중합체를 의미하며, 여기서 관능기는 동일하거나 상이할 수 있다. 본 발명의 다관능성 중합체는 전형적으로 약 3 내지 100 관능기, 또는 3 내지 50 관능기, 또는 3 내지 25 관능기, 또는 3 내지 15 관능기, 또는 3 내지 10 관능기를 함유하거나, 중합체 골격 내에 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 관능기를 함유하게 된다. "이관능성" 중합체는 내부에 동일하거나(즉, 호모 이관능성) 상이한(즉, 헤테로 이관능성) 2 관능기를 갖는 중합체를 의미한다.

중합체의 기하학적 구조 또는 전체적인 구조와 관련하여 "포크형"이란 하나의 중합체 "가지"(즉, 단일 수용성 중합체)를 갖는 이관능성 중합체를 의미하는데, 여기서 관능기는 둘다 분지 원자로 작용하는 원자에 부착되고(직접적으로 또는 하나 이상의 원자를 통해서), 이는 다시 수용성 중합체에 부착된다(직접적으로 또는 하나 이상의 원자를 통해서).

중합체의 기하학적 구조 또는 전체적인 구조와 관련하여 "분지형"이란 2 이상의 중합체 "가지"를 갖는 중합체를 의미한다. 분지형 중합체는 2 중합체 가지, 3 중합체 가지, 4 중합체 가지, 6 중합체 가지, 8 중합체 가지 또는 그 이상을 보유할 수 있다. 고도의 분지형 중합체의 특정한 일 유형은 수지상 중합체 또는 덴드리머(dendrimer)인데, 이는 본 발명의 목적에 있어서 분지형 중합체와 별개의 구조를 보유하는 것으로 간주된다.

"덴드리머" 또는 수지상 중합체는 구형의 크기 단일분산성 중합체로, 내부의 모든 결합은 통상의 분지형성 패턴 및 각각이 분지점에 기여하는 반복 유닛을 갖는 중심 초점 또는 코어로부터 용이하게 드러난다. 덴드리머는 그들을 분지형 중합체를 포함한 기타 다른 유형의 중합체와 구별시켜 주는 특정한 수지상 상태 특징, 예컨대 코어 캡슐화 등을 나타낸다.

본원에 기재되는 염기성 또는 산성 반응물은 중성, 전하성, 및 이들의 임의의 대응 염 형태를 포함한다.

"환자"라는 용어는 본원에 제공된 바와 같은 콘주게이트를 투여함으로써 예방되거나 치료될 수 있는 증상을 겪고 있거나, 이러한 증상이 생기기 쉬운 생명체를 의미하며, 인간 및 동물을 포함한다.

"유기 라디칼"은 공유결합을 통해 또 다른 원자에 부착될 수 있는 탄소-함유 부분이다. 유기 라디칼의 예에는 알킬, 치환 알킬, 알케닐, 치환 알케닐, 알키닐, 치환 알키닐, 아릴 및 치환 아릴로 이루어진 군에서 선택된 것들이 포함된다.

"임의적" 또는 "임의적으로"는 후술된 상황이 일어날 수도 있고 일어나지 않을 수도 있음을 의미함으로써, 기재내용에 상기 상황이 일어나는 경우 및 일어나지 않는 경우를 포함시킨다.

본원에서 사용되는 "할로" 지칭(예컨대, 플루오로, 클로로, 요오도, 브로모 등)은 일반적으로 분자에 할로겐이 부착된 경우에 사용하며, 접미사 "이드(ide)"(예컨대, 플루오라이드, 클로라이드, 요오다이드, 브로마이드 등)는 할로겐이 그 독립적 이온형(예컨대, 이탈기의 분자 이탈 시)으로 존재할 때의 이온형을 사용하는 경우에 사용한다.

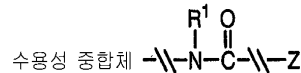
본 발명의 논의에 있어서, 하나의 구조 또는 화학식과 관련하여 제공되는 변수의 정의는 별도의 지시가 없는 한, 상이한 구조에서 반복되는 동일한 변수에 적용할 수 있음을 숙지해야 한다. 즉, 예를 들면, 중합체성 시약과 관련된 "POLY", "스페이스 부분", "(Z)" 등의 정의는 본원에서 제공되는 수용성 중합체 콘주게이트에도 동등하게 적용할 수 있다.

다시 본 발명의 제 1 구현예로 돌아가자면, 특정한 중합체성 시약이 제공된다. 이론을 통해 제한하려는 것은 아니지만, 본원에 기재된 중합체성 시약의 차별적인 성질은 원자의 특정 배향에 기인하는 것으로 사료된다. 예를 들면, 본원에 기재된 중합체성 시약이 활성제와 커플링되어 콘주게이트를 형성하는 경우, 콘주게이트의 생체 내 가수분해 속도는 동일한 원자가 상이한 순서로 배열된 콘주게이트의 가수분해 속도와 상이하다. 대안적인 가수분해 속도를 제공하는 것 외에, 본원에 제공된 중합체성 시약은 종래기술의 중합체성 시약을 능가하는 추가적인 이점을 가진다.

본 발명의 중합체는 특정한 방식으로 배향된 별개의 3 가지 성분을 포함한다. 이들 3 가지 성분은 하기와 같다: 반복되는 단량체 유닛을 포함한 수용성 중합체; 카르보닐의 탄소 원자에 공유결합된 질소 원자를 포함한 부분; 및 반응기. 중합체의 3 가지 성분은, 전술한 부분의 질소 원자가 중합체의 반복되는 단량체 부위에 인접해 있고, 탄소 원자는 반응기에 인접해 있도록 특징하게 배향된다. 본 명세서에서 "인접한"이란 용어는 공간적 거리 또는 절대적 거리가 가장 가까운 것이 아니라 연결 원자의 최단 경로에 있어서 "가장 가까운" 것을 의미함을 이해해야 할 것이다.

이에 따라, 본 발명의 중합체는 하기 화학식에 의해서 도식적으로 나타낼 수 있다:

[화학식 I]



[상기 식에서, "수용성 중합체"는 반복되는 단량체 유닛을 포함한, 물에 가용성인 중합체이고; "---"는 각각 독립적으로 직접 공유결합 또는 스페이서 부분이며; R¹은 H 또는 유기 라디칼이고; Z는 반응기이다]. 화학식 [I]에 도시된 바와 같이, $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분의 질소는 수용성 중합체에 인접해 있고, 카르보닐의 탄소 원자는 반응기 "Z"에 인접해 있다.

그러므로 본 발명의 중합체성 시약은 수용성 중합체와 반응기 사이에 배치된 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분을 포함하는데, 여기서 (i) $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분의 질소 원자는 수용성 중합체에 인접해 있고, (ii) $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자는 반응기에 인접해 있으며, (iii) R¹은 앞서 정의한 바와 같다. 수용성 중합체는 직접 공유결합 또는 제 1 스페이서 부분을 통해 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분의 질소 원자에 연결된다. 반응기는 직접 공유결합 또는 제 2 스페이서 부분을 통해 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 연결된다.

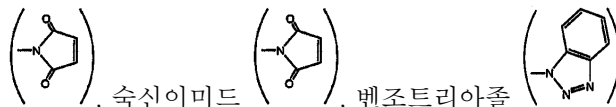
또한, 본 발명의 중합체성 시약은 수용성 중합체, $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분, 및 반응기를 포함하는 것으로 기재될 수 있는데, 여기서 (i) 수용성 중합체는 직접 공유결합 또는 제 1 스페이서 부분을 통해 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분의 질소 원자에 연결되고; (ii) 반응기는 직접 공유결합 또는 제 2 스페이서 부분을 통해 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 연결되며; (iii) R¹은 앞서 정의한 바와 같다.

$\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분(여기서, R¹은 H 또는 유기 라디칼임)은 인근 원자와는 별개로 분리시켜 고려할 때 아마이드 부분인 것으로 간주할 수 있다. 그러나, 중합체에서의 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분은 보다 큰 구조의 일부임을 상기해야 한다. 예를 들어, 산소 원자가 바람직하게는 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 직접 부착되면, 종종 "카르바메이트" 또는 "우레탄"으로서 지칭되는 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}\text{O}$ 부분이 제공될 수 있다. 이와 유사하게, 황 원자가 임의적으로 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 부착되면, $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}\text{S}$ 부분이 제공될 수 있다. 또한, $\text{---}\text{N}(\text{R}^2)\text{---}$ 부분이 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분의 카르보닐 탄소에 부착되면, R²가 H 또는 유기 라디칼인 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}\text{N}(\text{R}^2)\text{---}$ 부분이 제공될 수 있다. 끝으로, $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분과 관련하여 만들어진 모든 예는 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분으로 치환될 수 있으므로, 본 발명이 단지 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분에만 한정되는 것은 아니다.

이에 따라, 이하에서 기재하는 화학적 구조의 목적에 있어서는 일반적으로 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분을 참조로 할 것이다. 그러나, 본 기재의 목적에 있어서, $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분을 참조하는 경우에도 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}$ 부분(여기서는, 산소 원자가 카르보닐 탄소 원자에 부착되지 않음), $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}\text{S}$ 부분, $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}\text{N}(\text{R}^2)\text{---}$ 부분, $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}\text{S}$ 부분, $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}\text{O}$ 부분, $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}\text{S}$ 부분 및 $\text{---}\text{N}(\text{C}(\text{O}\text{R}^1))\text{---}\text{N}(\text{R}^2)\text{---}$ 부분 각각으로 치환될 수 있다.

$\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C(=O)-O-}$ 부분과 관련하여, 질소 원자의 한 결합은 인접한 카르보닐 탄소의 탄소 원자("카르보닐 탄소")에 부착되고, 또 다른 결합은 수용성 중합체 또는 스페이서 부분에 직접 부착되며, 제 3 결합은 치환기 "R¹"에 부착된다. R¹은 임의의 비방향성 치환기이다. R¹은 필수적인 것은 아니지만 전형적으로는 H 또는 유기 라디칼이다. 그러나, R¹은 H인 것이 바람직하다. 예를 들어 R¹이 유기 라디칼인 경우에 바람직한 유기 라디칼에는 알킬, 치환 알킬, 알케닐, 치환 알케닐, 알킬닐, 치환 알킬닐, 아릴 및 치환 아릴로 이루어진 군에서 선택된 것들이 포함된다. 바람직한 유기 라디칼의 특정한 예에는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸, tert-펜틸, 및 피페리도닐로 이루어진 군에서 선택된 것들이 포함된다.

반응기 "Z"와 관련하여, 이 관능기는 적당한 조건하에서 적절한 시약과 반응하는 임의의 관능기일 수 있다. 바람직한 반응성 부분은 친전자체 및 친핵체로 이루어진 군에서 선택된다. 이러한 반응기의 예에는 히드록실(-OH), 에스테르, 오르토에스테르, 카르보네이트, 아세탈, 알데히드, 알데히드 히드레이트, 케톤, 비닐 케톤, 케톤 히드레이트, 티온, 모노티오히드레이트, 디티오히드레이트, 헤미케탈, 모노티오케탈 헤미케탈, 디티오헤미케탈, 케탈, 디티오케탈, 알케닐, 아크릴레이트, 메트아크릴레이트, 아크릴아미드, 술폰, 아민, 히드라지드, 티올, 디술폰아이드, 티올 히드레이트, 카르복실산, 이소시아네이



트, 이소티오시아네이트, 말레이미드, 숙신이미드, 벤조트리아졸, 비닐술폰, 클로로에틸술폰, 디티오피리딘, 비닐피리딘, 요오도아세트아미드, 에폭사이드, 글리옥살, 디온, 메실레이트, 토실레이트, 티오술폰네이트, 트레실레이트, 실란, $\text{-(CH}_2\text{)}_r\text{CO}_2\text{H}$, $\text{-(CH}_2\text{)}_{r'}\text{CO}_2\text{NS}$, $\text{-(CH}_2\text{)}_r\text{CO}_2\text{Bt}$, $\text{-(CH}_2\text{)}_r\text{CH(OR)}_2$, $\text{-(CH}_2\text{)}_r\text{CHO}$, $\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-NH}_2$, $\text{-(CH}_2\text{)}_r\text{M}$, $\text{-(CH}_2\text{)}_r\text{-S-SO}_2\text{-R}$ [여기서 (r)은 1 내지 12이고, (r')은 0 내지 5이며, R은 아릴 또는 알킬이고, NS는 N-숙신이미딜이며, Bt는 1-벤조트리아졸릴이고, M은 N-말레이미딜이다], 및 이들 중 임의의 보호형과 활성형으로 이루어진 군에서 선택된 것들이 포함되지만 이에 제한되는 것은 아니다.

임의의 반응기, 및 특히 말레이미드 및 알데히드와 관련하여, 임의적 연결기가 반응기를 중합체에 연결시킬 수 있다. 즉, 예를 들면, 연결기는 반응기를 스페이서 부분 또는 분지 부분(존재한다면)에 연결시킬 수 있다. 또한, 스페이서 부분이나

분지 부분이 존재하지 않는 경우에, 연결기는 반응기를 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C(=O)-}$ 부분의 카르보닐 탄소에 직접 연결시킬 수 있다. 연결기는 탄소수가 4 이상인 직쇄형 포화 비환족 탄화수소, 예컨대 테트라메틸렌, 펜타메틸렌, 및 헥사메틸렌, 뿐만 아니라 탄소수가 4 이상인 분지형 포화 비환족 탄화수소를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 연결기의 탄화수소 부위는 $\text{-(CR}^3\text{R}^4\text{)}_g\text{-}$ 구조를 갖는데, 여기서 R³는 각각 독립적으로 H, 알킬, 또는 시클로알킬이고, R⁴는 각각 독립적으로 H, 알킬, 또는 시클로알킬이며, (g)는 3 내지 약 20, 바람직하게는 4 내지 약 12이다. 바람직한 일 구현예에서, R³ 및 R⁴는 각각 H이다. 분지형 비환족 탄화수소의 구현예에서, 분지형성은 입체 방해를 최대화하기 위해 반응기(예컨대, 말레이미드)에서 가장 가까운 2개의 탄소 원자 중 하나 이상에서 발생하는 것이 바람직하다. 또 다른 구현예에서, 연결기의 탄화수소 부위는 포화된 2가의 비환족 탄화수소를 포함하고, $\text{-(CR}^3\text{R}^4\text{)}_p\text{-C}_{3-12}\text{시클로알킬-(CR}^3\text{R}^4\text{)}_q\text{-}$ 구조를 갖는데, 여기서 p 및 q는 각각 독립적으로 0 내지 약 10, 바람직하게는 0 내지 약 6(예컨대, 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6)이고, R³ 및 R⁴는 앞서 정의한 바와 같다. 2가 시클로알킬(예컨대, 시클로알킬렌)기는 바람직하게는 C₃₋₈ 시클로알킬렌, 예컨대 시클로프로판디일의 각종 이성질체(예를 들면, 1,1-, 시스-1,2-, 또는 트랜스-1,2-시클로프로필렌), 시클로부타디일, 시클로펜타디일, 시클로헥사디일, 및 시클로헵타디일이다. 시클로알킬렌기는 하나 이상의 알킬기, 바람직하게는 C₁₋₆ 알킬기로 치환될 수 있다.

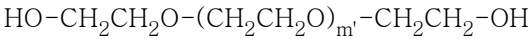
수용성 중합체와 관련하여, 본 발명의 중합체성 시약은 또한 하나 이상의 수용성 중합체 단편을 포함한다. 비펩티드이고 수용성이며, 2 내지 약 300 말단을 갖는 수용성 중합체가 본 발명에 특히 유용하다. 적절한 수용성 중합체의 예에는 폴리(알킬렌 글리콜), 예컨대 폴리(에틸렌 글리콜)("PEG"), 수용성을 갖는 에틸렌 글리콜과 프로필렌 글리콜의 공중합체, 폴리(올레핀성 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(히드록시알킬메트아크릴아미드), 폴리(히드록시알킬메트아크릴레이트), 당류, 폴리(α-히드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린, 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 예컨대 미국 특허 제 5,629,384 호에 기재된 것이 포함되지만 이에 한정되는 것은 아니다. 상대적으로 높은 수용성이 바람직한 일부 용도에서, 수용성 중합체는 폴리(프로필렌 옥사이드)가 아니다.

각 수용성 중합체의 반복 유닛은 단일중합체(여기서 수용성 중합체를 포함하는 각 단량체 단위는 동일함), 교대 공중합체(여기서 수용성 중합체 내부의 제 1 단량체 유닛은 제 2 단량체 유닛과 일관적으로 교대됨), 불규칙 공중합체(여기서 수용

성 중합체 내부의 제 1 단량체 유닛은 제 2 단량체 유닛과 비일관적으로 교대됨), 블록 공중합체(여기서 수용성 중합체 내부의 둘 이상의 제 1 단량체 유닛은 둘 이상의 제 2 단량체 유닛과 교대됨), 교대 삼중합체, 불규칙 삼중합체, 및 블록 삼중합체로 이루어진 군에서 선택된 것들을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아닌 다수의 상이한 배열을 가질 수 있다.

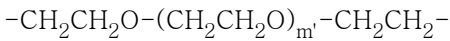
수용성 중합체는 필수적인 것은 아니지만 바람직하게는, 폴리(에틸렌 글리콜)("PEG") 또는 이의 유도체이다. 그러나, 관련 중합체도 본 발명의 실시에서 사용하기에 적합하며, 이러한 측면에서, 상기 용어 "PEG" 또는 "폴리(에틸렌 글리콜)"의 사용은 배제적인 것이 아니라 포괄적인 것임을 이해해야 한다. 결론적으로, "PEG"라는 용어는 알콕시 PEG, 이관능성 PEG, 포크형 PEG, 분지형 PEG, 펜던트 PEG, 또는 내부에 분해성 연결을 갖는 PEG를 비롯한 선형, 분지형 또는 다지형 중 임의 형태의 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함하며, 이는 이하에서 보다 완전하게 설명될 것이다.

본 발명에서 유용한 하나의 형태에서, 유리 또는 비결합 PEG는 각 말단이 히드록실기로 종결되는 선형 중합체이다:



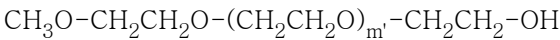
[식에서, (m')은 통상적으로 0 내지 약 4,000의 범위이다].

상기 중합체, 알파-, 오메가-디히드록실폴리(에틸렌 글리콜)은 HO-PEG-OH와 같은 간단한 형태로 나타낼 수 있고, 여기서 상기 -PEG- 기호는 다음과 같은 구조적 단위로 나타낼 수 있다고 파악된다:



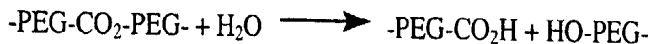
[식에서, (m')은 앞서 정의한 바와 같다].

본 발명에서 유용한 또 다른 형태의 PEG는 메톡시-PEG-OH, 또는 간단히 mPEG로서, 한쪽 말단은 상대적으로 비활성인 메톡시기이고 다른쪽 말단은 히드록실기이다. mPEG의 구조는 하기와 같다:



[식에서, (m')은 앞서 정의한 바와 같다].

앞서 기재한 형태의 PEG에 더하여, 중합체는 또한 상기 중합체 중 어느 하나를 포함하여 중합체 내에 하나 이상의 약하거나 분해가능한 연결을 가지도록 제조될 수 있다. 예를 들어, PEG는 가수분해되기 쉬운 중합체 내 에스테르 연결을 가지도록 제조될 수 있다. 하기에 나타난 바와 같이, 이러한 가수분해는 중합체를 분자량이 더 작은 조각(fragment)으로 분해한다:



중합체 골격 내 분해성 연결로 유용한 기타 가수분해적으로 분해성인 연결은 다음을 포함한다: 카르보네이트 연결; 예를 들면 아민과 알데히드의 반응으로 생성되는 이민 연결 (예컨대 문헌 [Ouchi et al. (1997) Polymer Preprints, 38(1): 582-3] 참조); 예를 들면 알코올과 포스페이트기의 반응으로 형성되는 포스페이트 에스테르 연결; 통상적으로 히드라지드와 알데히드의 반응으로 형성되는 히드라존 연결; 통상적으로 알데히드와 알코올의 반응으로 형성되는 아세탈 연결; 예를 들면 포르메이트와 알코올의 반응으로 형성되는 오르토에스테르 연결; 예를 들면 PEG와 같은 중합체 말단의 아민기와 또 다른 PEG 사슬의 카르복실기에 의해 형성되는 아마이드 연결; 예를 들면 말단 이소시아네이트기를 갖는 PEG와 PEG 알코올의 반응으로 형성되는 우레탄 연결; 예를 들면 PEG와 같은 중합체 말단의 아민기와 펩티드의 카르복실기에 의해 형성되는 펩티드 연결; 및 예를 들면 중합체 말단의 포스포르아미다이트기와 올리고뉴클레오티드의 5' 히드록실기에 의해 형성되는 올리고뉴클레오티드 연결.

당업자라면 용어 폴리(에틸렌 글리콜) 또는 PEG가 상기 모든 형태의 PEG를 나타내거나 포함한다는 것을 이해할 것이다.

상기 수용성 중합체(뿐만 아니라 중합체성 시약)의 분자량은 다양할 수 있지만, 분자량은 하기 값 중 하나 이상은 만족할 것이다: 100 돌턴 초과; 200 돌턴 초과; 400 돌턴 초과; 500 돌턴 초과, 750 돌턴 초과; 900 돌턴 초과; 1,000 돌턴 초과, 1,400 돌턴 초과; 1,500 돌턴 초과, 1,900 돌턴 초과; 2,000 돌턴 초과; 2,200 돌턴 초과; 2,500 돌턴 초과; 3,000 돌턴 초

과; 4,000 돌턴 초과; 4,900 돌턴 초과; 5,000 돌턴 초과; 6,000 돌턴 초과; 7,000 돌턴 초과; 7,500 돌턴 초과, 9,000 돌턴 초과; 10,000 돌턴 초과; 11,000 돌턴 초과; 14,000 돌턴 초과, 15,000 돌턴 초과; 16,000 돌턴 초과; 19,000 돌턴 초과; 20,000 돌턴 초과; 21,000 돌턴 초과; 22,000 돌턴 초과, 25,000 돌턴 초과; 및 30,000 돌턴 초과. 본원에서 유용한 임의의 주어진 수용성 중합체 단편의 분자량의 최대 한도는 약 300,000 돌턴임을 이해해야 한다.

수용성 중합체(뿐만 아니라 전체 중합체성 시약)의 분자량은 또한, 분자량 범위 내의 값으로 표현될 수 있다. 예시적 범위는 약 100 돌턴 내지 약 100,000 돌턴; 약 500 돌턴 내지 약 80,000 돌턴; 약 1,000 돌턴 내지 약 60,000 돌턴; 약 2,000 돌턴 내지 약 50,000 돌턴; 및 약 5,000 돌턴 내지 약 40,000 돌턴을 포함한다.

중합체성 시약 내부에 주어진 임의의 수용성 중합체(뿐만 아니라 전체 중합체성 시약)에 대한 예시적 분자량에는 약 100 돌턴, 약 200 돌턴, 약 300 돌턴, 약 300 돌턴, 약 400 돌턴, 약 500 돌턴, 약 600 돌턴, 약 700 돌턴, 약 750 돌턴, 약 800 돌턴, 약 900 돌턴, 약 1,000 돌턴, 약 2,000 돌턴, 약 2,200 돌턴, 약 2,500 돌턴, 약 3,000 돌턴, 약 4,000 돌턴, 약 4,400 돌턴, 약 5,000 돌턴, 약 6,000 돌턴, 약 7,000 돌턴, 약 7,500 돌턴, 약 8,000 돌턴, 약 9,000 돌턴, 약 10,000 돌턴, 약 11,000 돌턴, 약 12,000 돌턴, 약 13,000 돌턴, 약 14,000 돌턴, 약 15,000 돌턴, 약 20,000 돌턴, 약 22,500 돌턴, 약 25,000 돌턴, 약 30,000 돌턴, 약 40,000 돌턴, 약 50,000 돌턴, 약 60,000 돌턴, 약 75,000 돌턴, 및 약 80,000 돌턴이 포함된다.

"-(CH₂CH₂O)_m-" 또는 "-(OCH₂CH₂)_m-"과 같은 반복 에틸렌 옥사이드 단량체를 포함한 구조를 제공할 수 있는 PEG와 관련하여, (m)으로 바람직한 값은 약 3 내지 약 3,000; 약 10 내지 약 3,000; 약 15 내지 약 3,000; 약 20 내지 약 3,000; 약 25 내지 약 3,000; 약 30 내지 약 3,000; 약 40 내지 약 3,000; 약 50 내지 약 3,000; 약 55 내지 약 3,000; 약 75 내지 약 3,000; 약 100 내지 약 3,000; 및 약 225 내지 약 3,000을 포함한다.

본원에서 사용되는 용어 "수용성 중합체"는 생체적합성(biocompatible)이고 비면역원성(nonimmunogenic)인 수용성 중합체를 포함하고, 생체적합성이 아니거나 비면역원성이 아닌 임의의 수용성 중합체 단편을 특히 배제한다. 생체적합성의 측면에 있어서, 물질이 생체 조직과 관련하여 단독으로 또는 다른 물질(예컨대, 활성제)과 함께 사용될 때(예컨대, 환자에 대한 투여), 해로운 효과보다 이로운 효과가 더 크다고 내과의와 같은 임상가에 의해서 판단되는 경우, 생체적합성이 있는 것으로 간주된다. 비면역원성의 측면에 있어서, 물질의 생체 내에서의 의도적 사용이 원하지 않는 면역 반응(예컨대, 항체의 형성)을 생성하지 않거나, 만약 면역 반응이 생성되어도, 그러한 반응이 임상적으로 유의적이거나 중요하다고 임상가에 의해서 판단되지 않는 경우, 물질은 비면역원성인 것으로 간주된다. 본원에 기재된 수용성 중합체 단편 및 콘주게이트는 생체적합성이고 비면역원성인 것이 특히 바람직하다.

당업라면 실질적 수용성 중합체에 관한 상기 논의가 절대 철저한 것이 아니라 단지 예시적인 것이며, 전술한 성질을 갖는 모든 중합체 물질이 숙고될 것임을 인식할 것이다. 본원에서 사용되는 용어 "중합체성 시약"은 일반적으로 수용성 중합체 및 관능기를 포함할 수 있는 분자 전체를 의미한다. 상기 용어 "수용성 중합체"는 일반적으로 중합체성 시약, 전구체 분자, 콘주게이트 등과 같은 보다 거대한 분자의 일부분을 논의하는 데 사용하기 위한 것이다.

본원에 기재된 중합체성 시약의 각 부위(예컨대, 관능기, 활성제, 수용성 중합체 등) 및 다른 구조는 직접 공유결합을 통하여 서로 직접적으로 부착될 수 있다. 그러나, 보다 전형적으로는, 각 부위는 각 부위를 하나의 통일된 전체로 구속하는 작용을 하는 하나 이상의 원자를 포함하는 스페이서 부분을 통하여 부착된다.

본원에 기재된 중합체성 시약의 각종 부위 및 다른 구조를 부착하는 바람직한 스페이서 부분은 탄소, 질소, 산소, 및/또는 황 원자로 이루어진 원자 사슬을 포함한다. 하나 이상의 탄소, 질소, 산소, 황, 및 수소와 같은 다른 원자가 이 원자 사슬에 부착될 수 있다. 상기 사슬은 짧은 경우 2 내지 5 원자 사슬을 포함할 수 있다. 보다 긴 사슬로는 예컨대, 길이로 10, 15 또는 이를 초과하는 원자의 사슬도 고려할 수 있다. 또한, 스페이서 부분은 포화, 불포화, 뿐만 아니라 방향족일 수 있는 원자의 고리를 포함할 수 있다. 존재한다면, 스페이서 부분은 임의의 분지 원자를 제외하고 약 1 내지 20 원자의 서열을 포함하는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 스페이서 부분을 구성하는 원자(임의의 분지 원자 포함)는 산소, 탄소, 질소, 황 및 수소 원자의 어떤 조합을 포함한다. 중합체성 시약의 각 스페이스 부분(예컨대, 제 1 스페이서 부분, 제 2 스페이서 부분, 제 3 스페이서 부분 등)은 중합체에 존재하는 여타 스페이서 부분과 동일하거나 상이할 수 있다.

스페이서 부분의 비제한적 예는 -O-, -S-, -C(O)-, -O-C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-NH-, -O-C(O)-NH-, -C(S)-, -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -O-CH₂-, -CH₂-O-, -O-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-CH₂-O-, -O-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-O-CH₂-, -CH₂-

CH₂-CH₂-O-, -O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-O-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-O-, -C(O)-NH-CH₂-, -C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-NH-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-NH-, -C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-, -C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-, -C(O)-O-CH₂-, -CH₂-C(O)-O-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-O-CH₂-, -C(O)-O-CH₂-CH₂-, -NH-C(O)-CH₂-, -CH₂-NH-C(O)-CH₂-, -CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-, -NH-C(O)-CH₂-CH₂-, -CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₂-, -C(O)-NH-CH₂-, -C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -O-C(O)-NH-CH₂-, -O-C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -O-C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-, -NH-CH₂-, -NH-CH₂-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-CH₂-NH-CH₂-, -C(O)-CH₂-, -C(O)-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₂-, -O-C(O)-NH-[CH₂]₀₋₆-(OCH₂CH₂)₀₋₂-, -C(O)-NH-(CH₂)₁₋₆-NH-C(O)-, -NH-C(O)-NH-(CH₂)₁₋₆-NH-C(O)-, -O-C(O)-CH₂-, -O-C(O)-CH₂-CH₂-, -O-C(O)-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-, 2가 시클로알킬기, -N(R²)-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₂-, -O-C(O)-NH-[CH₂]_f-(OCH₂CH₂)_n-, 및 이들 중 둘 이상의 임의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 것인데, 여기서 (f)는 0 내지 6이고, (n)은 0 내지 20(바람직하게는 0 내지 10, 예컨대 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10, 및 보다 바람직하게는 4)이며, R²는 H 또는 유기 라디칼이다. 바람직한 2가 시클로알킬기는 (CR³R⁴)_p-C₃₋₁₂시클로알킬-(CR³R⁴)_q- 구조를 갖는데, 여기서 p 및 q는 각각 독립적으로 0 내지 약 10, 바람직하게는 0 내지 약 6(예컨대, 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6)이고, R³는 각각 독립적으로 H, 알킬, 또는 또 다른 시클로알킬이며, R⁴는 각각 독립적으로 H, 알킬, 또는 또 다른 시클로알킬이다. 기타 다른 2가 시클로알킬(예컨대, 시클로알킬렌)기에는 C₃₋₈ 시클로알킬, 예컨대 시클로프로판디일의 각종 이성질체(예컨대, 1,1-, 시스-1,2-, 또는 트랜스-1,2-시클로프로필렌), 시클로부타디일, 시클로펜타디일, 시클로헥사디일, 및 시클로헵타디일이 포함된다. 시클로알킬렌기는 하나 이상의 알킬기, 바람직하게는 C₁-C₆ 알킬기로 치환될 수 있다.

카르보닐 및 이에 인접한 탄소 원자 둘다를 포함한 임의의 주어진 스페이서 부분에 대해서, 스페이서 부분은 임의적으로는 카르보닐에 인접한 탄소 원자에 부착된 유기 라디칼을 포함한다. 통상적으로, 카르보닐 탄소 바로 옆의 탄소 원자는 알파 탄소가 지칭된다. 즉, 임의의 주어진 스페이서 부분의 알파 탄소는 그 곳에 부착된 저급 알킬기(예컨대, 메틸기)와 같은 유기 라디칼을 가질 수 있다.

중합체성 시약의 전체적인 구조는 임의 개수의 상이한 형태를 취할 수 있다. 예를 들면, 중합체성 시약은 선형, 분지형, 다지형, 수지상, 포크형일 수 있다. 본 발명에 따른 선형 구조는 하기 화학식 II 및 IIa에 해당한다. 그러나, 중합체성 시약은 분지형 또는 다지형 구조를 갖는 것이 바람직하다. 일반적으로, 이러한 중합체는 둘 이상의 수용성 중합체를 보유하며, 활성제를 둘러싸는 보다 크고 보다 밀집된 중합체 "구름"을 생성함으로써 커플링에 이용할 수 있는 부착 위치의 유효수를 감소시킨다. 하기 화학식 III, IIIa, IIIb, 및 IIIb₁은 2개의 수용성 중합체를 포함한 분지형 구조이다. 분지형 구조는 3개의 수용성 중합체를 포함할 수도 있다. 반면에, 다지형 중합체는 이러한 수용성 중합체를 4개 이상 포함한다. 중합체의 수지상 형태는 수개(예컨대, 3 내지 50개)의 별개인 수용성 중합체를 포함하는데, 이들은 궁극적으로는 하나 이상의 원자를 포함한 코어에 연결된다. 2개 이상의 수용성 중합체를 포함한 임의의 특정 중합체성 시약에 대해서, 각 수용성 중합체는 동일하거나 상이할 수 있다. 또한, 중합체성 시약이 3개 이상의 수용성 중합체를 포함하는 경우, 동일한 수용성 중합체와 상이한 수용성 중합체의 조합을 사용할 수 있지만, 중합체 내 각 수용성 중합체는 다른 것(들)과 동일한 것이 바람직하다.

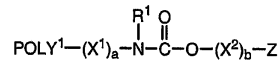
중합체성 시약의 분지형과 관련하여, 중합체의 총 분자량(실질적으로는 2개의 수용성 중합체 부위의 조합된 중량에 기초 함)에 적절한 크기의 예시적 범위는 하기 값(다시, 분자 질량으로 나타냄)을 포함한다: 약 200 돌턴 내지 약 200,000 돌턴; 약 1,000 돌턴 내지 약 100,000 돌턴; 약 2,000 돌턴 내지 약 120,000 돌턴; 약 4,000 돌턴 내지 약 100,000 돌턴; 약 5,000 돌턴 내지 약 90,000 돌턴; 약 10,000 돌턴 내지 약 80,000 돌턴; 및 약 15,000 돌턴 내지 약 60,000 돌턴. 보다 구체적으로는, 본 발명의 중합체의 분지형의 총 분자 질량(돌턴 단위)은 하기 값 중 하나에 해당한다: 약 400 돌턴; 약 1,000

돌턴; 약 1,500 돌턴; 약 2,000 돌턴; 약 3,000 돌턴; 약 4,000 돌턴; 약 10,000 돌턴; 약 15,000 돌턴; 약 20,000 돌턴; 약 30,000 돌턴; 약 40,000 돌턴; 약 50,000 돌턴; 약 60,000 돌턴; 약 80,000 돌턴; 약 90,000 돌턴; 약 100,000 돌턴; 약 120,000 돌턴; 약 160,000 돌턴; 또는 약 200,000 돌턴.

본원에 기재된 중합체성 시약의 일반적 구조를 고려할 때, 종래기술에 기재된 중합체성 시약과의 특정한 차이점을 인식하게 될 것이다. 예를 들면, 많은 종래기술의 중합체성 시약은 그들을 활성제와 커플링시키기에 부적절하게 만드는 다수의 문제점을 보유하고 있었다. 예를 들면, 일부 종래기술의 중합체성 시약은 용이하게 치환시킬 수 있는 관능기, 예컨대 반응기(예를 들면, 에스테르)가 부족했다. 용이하게 치환시킬 수 있는 관능기[예를 들면, 메틸렌(-CH₂-)기]가 부족한 중합체성 시약을 커플링시키려고 해도, 그렇게 하기 위해 필요한 조건이 매우 가혹할 것(예를 들면, 강알칼리성 조건)이기 때문에, 활성제가 분해되기 쉽다. 또한, 일부 종래기술의 중합체성 시약은 부착가능한 위치 상에 치환된 2개의 관능기(예를 들면, 카르보닐기)를 가지며, 이는 관능기 근접성의 결과인 입체 효과 및/또는 감소된 반응성에 기인하여 종종 불완전한 구조를 유발한다.

중합체의 전체적인 구조 내에 단일 수용성 중합체만 존재하는 경우, 중합체의 구조는 바람직하게는 화학식 [II]에 해당한다:

[화학식 II]



[상기 식에서, POLY¹은 수용성 중합체(예컨대, PEG 또는 mPEG)이고;

(a)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이며;

(b)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이고;

R¹는 H 또는 유기 라디칼(예컨대, 알킬, 치환 알킬, 알케닐, 치환 알케닐, 알키닐, 치환 알키닐, 아릴 및 치환 아릴로 이루어진 군에서 선택된 것)이며;

X¹는, 존재하는 경우, 제 1 스페이서 부분이고;

X²는, 존재하는 경우, 제 2 스페이서 부분이며;

Z는 반응기이다].

또한, 중합체가 전체적인 구조 내에 단일 수용성 부위만 포함하는 경우, 구조는 또한 화학식 [IIa]에 해당할 수 있다:

[화학식 IIa]



[상기 식에서, POLY¹은 수용성 중합체(예컨대, PEG 또는 mPEG)이고;

(a)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이며;

(b)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이고;

(c)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이며;

(d)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이고;

R¹는 각각 독립적으로 H 또는 유기 라디칼(예컨대, 알킬, 치환 알킬, 알케닐, 치환 알케닐, 알키닐, 치환 알키닐, 아릴 및 치환 아릴로 이루어진 군에서 선택된 것)이며;

X¹는, 존재하는 경우, 제 1 스페이서 부분이고;

X²는, 존재하는 경우, 제 2 스페이서 부분이며;

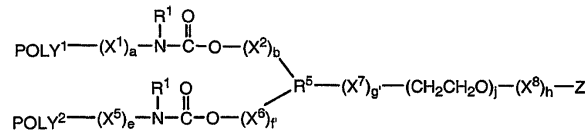
X³는, 존재하는 경우, 제 3 스페이서 부분이고;

X⁴는, 존재하는 경우, 제 4 스페이서 부분이며;

Z는 각각 독립적으로 반응기이다].

또한, 중합체성 시약의 전체적인 구조 내에 2개의 수용성 중합체가 존재하는 경우, 구조는 화학식 [III]에 해당할 수 있다:

[화학식 III]



[상기 식에서, POLY¹은 수용성 중합체(예컨대, PEG 또는 mPEG)이고;

POLY²은 수용성 중합체(예컨대, PEG 또는 mPEG)이며;

(a)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이고;

(b)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이며;

(e)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이고;

(f)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이며;

(g)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이고;

(h)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이며;

(j)는 0 내지 20(즉, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20)이고;

R¹는 각각 독립적으로 H 또는 유기 라디칼(예컨대, 알킬, 치환 알킬, 알케닐, 치환 알케닐, 알키닐, 치환 알키닐, 아릴 및 치환 아릴로 이루어진 군에서 선택된 것)이며;

X¹는, 존재하는 경우, 제 1 스페이서 부분이고;

X²는, 존재하는 경우, 제 2 스페이서 부분이며;

X⁵는, 존재하는 경우, 제 5 스페이서 부분이고;

X⁶는, 존재하는 경우, 제 6 스페이서 부분이며;

X⁷는, 존재하는 경우, 제 7 스페이서 부분이고;

X⁸는, 존재하는 경우, 제 8 스페이서 부분이며;

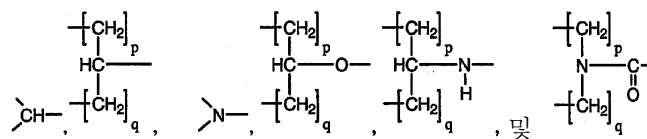
R⁵는 분지 부분이고;

Z는 반응기이다].

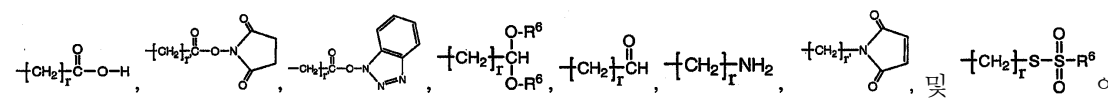
화학식 II, IIa, 및 III에 포함되는 구조를 갖는 바람직한 중합체성 시약은 각 수용성 중합체(즉, POLY¹ 및/또는 POLY²)가 폴리(알킬렌 옥사이드), 예컨대 폴리(에틸렌 옥사이드)인 것이다. 필수적인 것은 아니지만 바람직하게는, 폴리(에틸렌 옥사이드)는 한쪽 말단이 메틸, 벤질 또는 히드록실기와 같은 관능기로 말단 캡핑될 것이다. 특히 바람직한 말단 캡핑 폴리(에틸렌 옥사이드)는 하기 구조 중 하나에 해당하는 것이다: H₃C-(OCH₂CH₂)_m- 또는 H₃C-(OCH₂CH₂)_m-O-C(O)-NH-[CH₂]_f-(OCH₂CH₂)_n- {여기서 (m)은 2 내지 4000이고, (f)는 0 내지 6이며, (n)은 0 내지 20이다}.

중합체 내에 드러나며, 화학식 II, IIa, 또는 III에 포함되는 스페이서 부분(제 1 스페이서 부분이든지, 제 2 스페이서 부분이든지, 또는 제 3 스페이서 부분이든지에 상관없이)은 각각 독립적으로 앞서 스페이서 부분과 관련하여 일반적으로 정의할 바와 같다. 그러나, "X¹" 및 "X⁵"로 지정한 것과 같은 각각의 스페이서 부분은 -O-, -O-CH₂-, -O-CH₂-CH₂-, -O-C(O)-NH-CH₂-CH₂-, 및 -O-C(O)-NH-CH₂-CH₂-(OCH₂CH₂)₂-로 이루어진 군에서 선택된다. "X²" 및 "X⁶"로 지정한 스페이서 부분과 관련하여, 스페이서 부분은 -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂(OR²)-, -CH₂-CH(OR²)-CH(OR²)-, -N(R²)-로 이루어진 군에서 선택되는 것이 바람직하며, 여기서 R²는 H 또는 알킬, 치환 알킬, 알케닐, 치환 알케닐, 알킬닐, 치환 알킬닐, 아릴 및 치환 아릴로 이루어진 군에서 선택된 유기 라디칼이다. "X⁸"로 지정한 스페이서 부분과 관련하여, 스페이서 부분은 -O-, -O-CH₂-, -O-CH₂-CH₂-, -O-CH₂-CH₂-CH₂-, -O-CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-, -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₂-, 및 -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-(CH₂-CH₂O)_n-CH₂-CH₂-CH₂-로 이루어진 군에서 선택되는 것이 바람직하며, 여기서 (n)은 0 내지 20이다. 임의적으로, X⁸은 추가적인 반응기가 존재할 수 있는 추가의 분지점 또는 수개의 분지점을 포함함으로써, "포크형" 배열을 제공할 수 있다. 본 발명의 중합체에서 사용할 수 있는 다른 "포크형" 배열은 국제 출원 번호 PCT/US99/05333에 보다 완전하게 기재되어 있다.

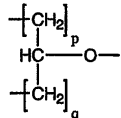
화학식 III의 분지 부분 R⁵는 3 이상의 원자에 커플링을 제공할 수 있는 임의의 분지 부분일 수 있다. 그러나, R⁵는 포화 알킬, 치환 포화 알킬,

로 이루어진 군에서 선택되는 것이 바람직하며, 여기서 (p)는 1 내지 10[예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10]이고, (q)는 1 내지 10[예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10]이다.

화학식 II, IIa 및 III에 나타난 바와 같은 반응기 "Z"는 전술한 임의의 반응기일 수 있지만, 반응기는 카르복실산, 알데히드, 술폰, 에스테르, 숙신이미드, 및 말레이미드로 이루어진 군에서 선택되는 것이 바람직하다. 스페이서 부분(예컨대, X², X⁴ 및 X⁸) 및 Z 조합의 실패에는

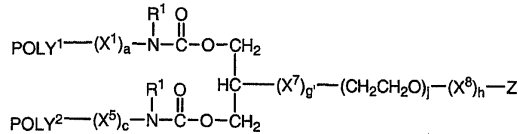
이 포함되며, 여기서 (r)은 1 내지 12[예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12]이고, (r')은 0 내지 5[예컨대, 0, 1, 2, 3, 4 또는 5]이며, R⁶는 아릴 또는 알킬이다.

당업자에게는 자명한 것이지만, 본 발명은 다수의 중합체를 포함한다. 본 발명에 따른 중합체의 비제한적 예가 하기에 제공된다.



예를 들면, 화학식 III에서 시작하여 R⁵를 $\begin{array}{c} \text{---}[\text{CH}_2]_p\text{---} \\ | \\ \text{HC---O---} \\ | \\ \text{---}[\text{CH}_2]_q\text{---} \end{array}$ 로 정의하고, 여기서 (p) 및 (q)는 각각 1이며, (b) 및 (f')은 각각 0이면, 하기 화학식 [IIIa]에 해당하는 구조를 갖는 중합체가 생성된다:

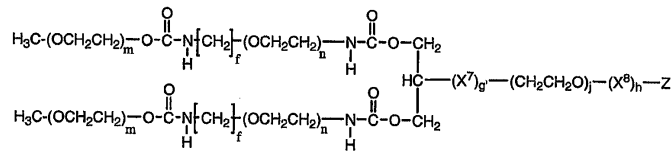
[화학식 IIIa]



[상기 식에서, POLY¹, POLY², (a), (c), (g'), (j), (h), R¹, X⁷, X⁸, 및 Z는 앞서 정의한 바와 같다].

다음으로, 화학식 IIIa는 화학식 IIIb에 해당하는 구조를 갖는 중합체성 시약을 제공하는 것으로 추가 정의할 수 있다. 구체적으로, 화학식 IIIa에서 시작하여 각각의 R¹은 H, 각각의 POLY¹ 및 POLY²는 H₃C-(OCH₂CH₂)_m-[여기서 (m)은 2 내지 4000], 각각의 (a) 및 (c)는 1, 각각의 X¹ 및 X⁵는 -O-C(O)-NH-[CH₂]_f-(OCH₂CH₂)_n-[여기서 (f)는 0 내지 6이고 (n)은 0 내지 20]로 정의하면, 화학식 IIIb에 해당하는 구조를 갖는 중합체성 시약이 형성된다:

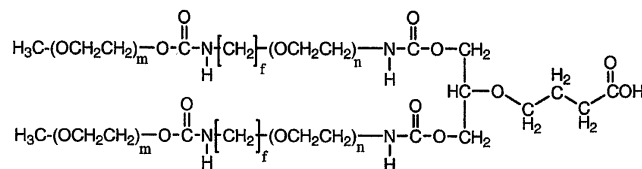
[화학식 IIIb]



[상기 식에서, 각각의 (m)은 2 내지 4000이고, (f)는 각각 독립적으로 0 내지 6이며, (n)은 각각 독립적으로 0 내지 20이고, (g'), (h), (j), X⁷, X⁸ 및 Z는 앞서 정의한 바와 같다].

다음으로, 화학식 IIIb는 화학식 IIIc에 해당하는 구조를 갖는 중합체성 시약을 제공하는 것으로 추가 정의할 수 있다. 구체적으로, 화학식 IIIb에서 시작하여 각각의 (g') 및 (j)는 0, (h)는 1, X⁸은 -CH₂-CH₂CH₂-, Z는 카르복실산으로 정의하면, 하기 화학식 IIIc에 해당하는 구조를 갖는 중합체가 형성된다:

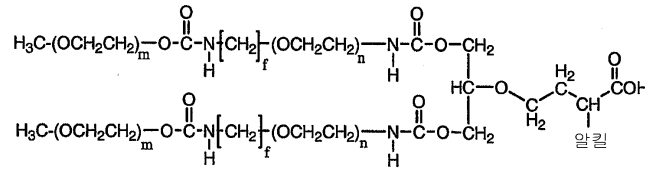
[화학식 IIIc]




[상기 식에서, 각각의 (m)은 2 내지 4000이고, (f)는 각각 독립적으로 0 내지 6이며, 각각의 (n)은 독립적으로 0 내지 20(예컨대, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20)이다].

임의적으로, 화학식 IIIc는 또한 카르복실산의 알파 또는 베타 탄소에 연결되는 알킬기를 포함할 수 있다. 카르복실산의 알파 또는 베타 탄소 상 알킬기(예컨대, 메틸기)와 관련된 구조는 화학식 IIIb₁에 해당한다.

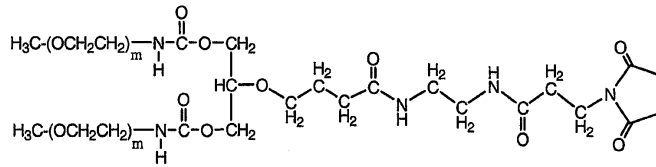
[화학식 IIIb₁]



또한, 화학식 IIIa는 또 다른 바람직한 중합체를 제공하는 것으로 추가 정의할 수 있다. 구체적으로, 화학식 IIIa에서 시작하여 각각의 POLY¹ 및 POLY²는 H₃C-(OCH₂CH₂)_m-[여기서 (m)은 2 내지 4000], 각각의 (a), (c), (g') 및 (j)는 0, (h)는

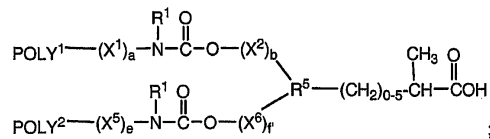
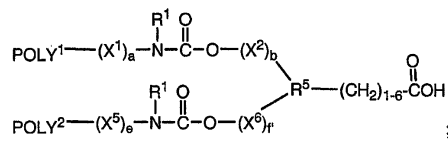
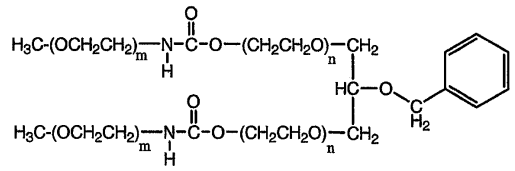
1, X⁸은 -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₂-, Z는  으로 정의하면, 하기구조를 갖는 중합체가 형성된다:

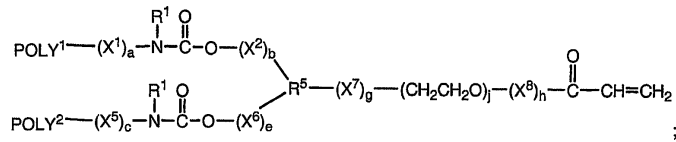
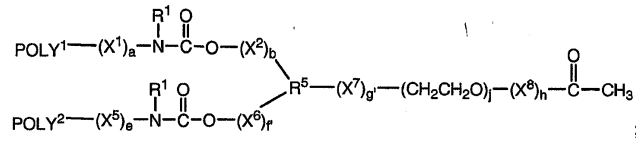
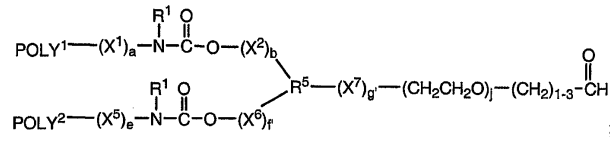
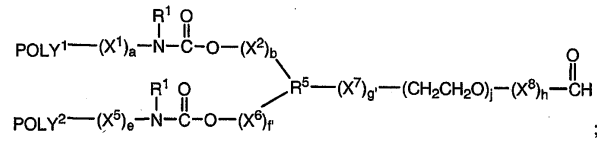
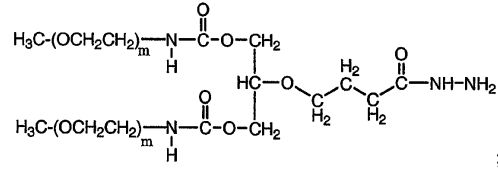
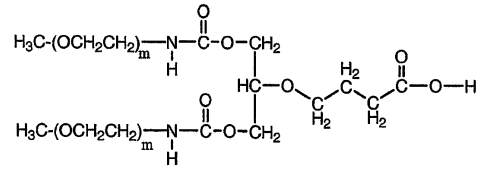
[화학식 IIId]

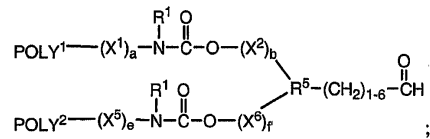
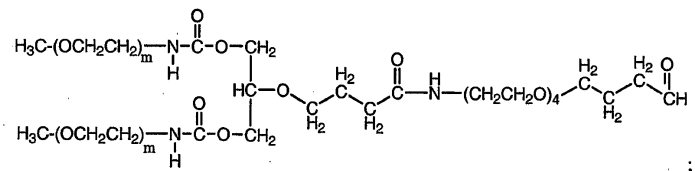
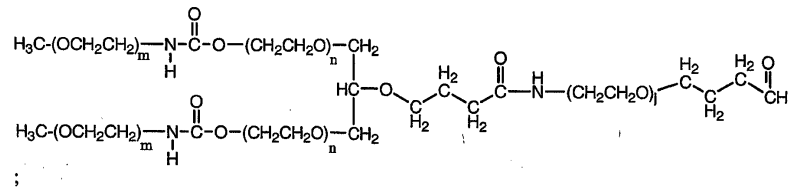
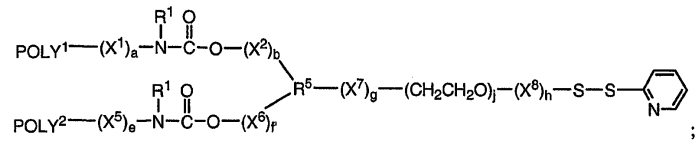
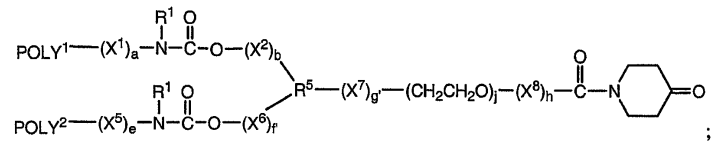


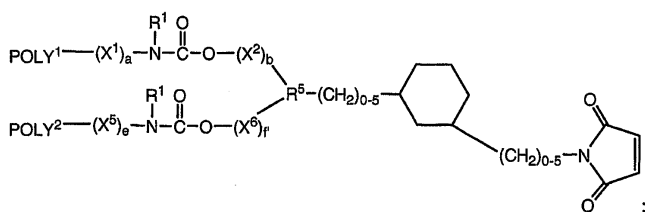
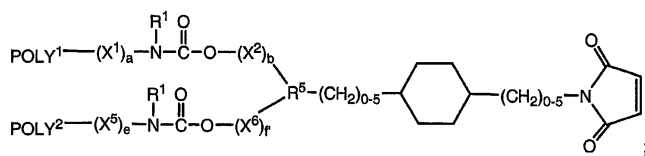
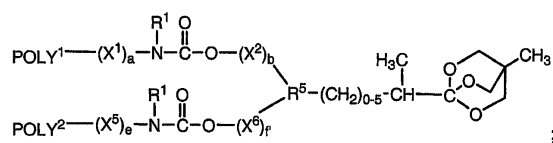
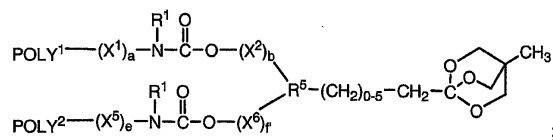
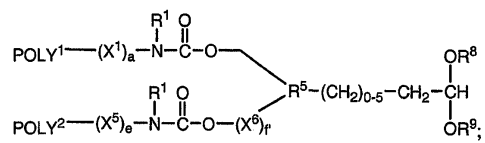
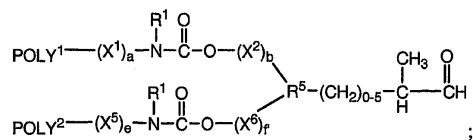
[상기 식에서, 각각의 (m)은 2 내지 4000이다].

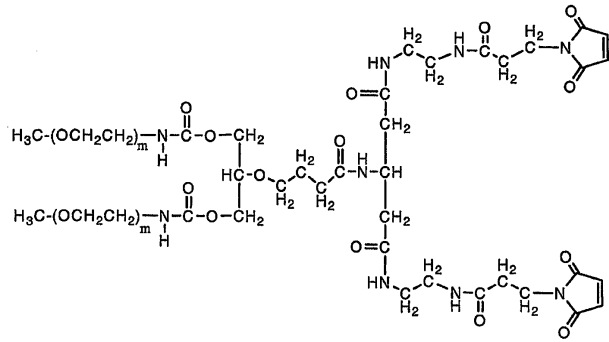
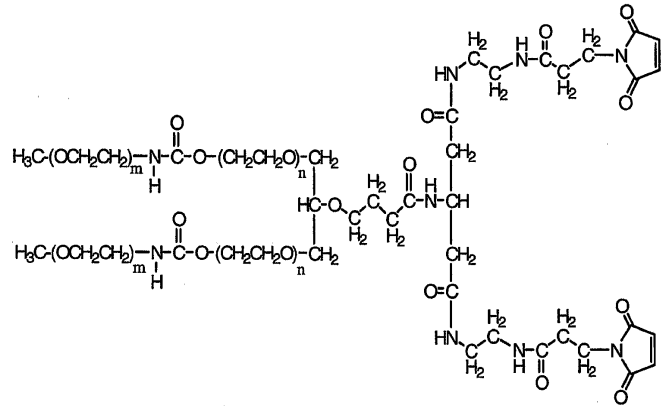
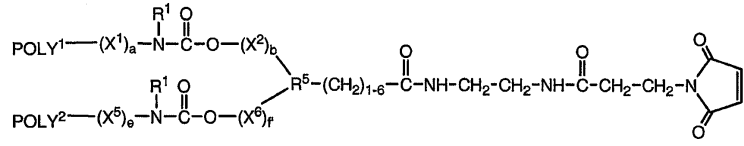
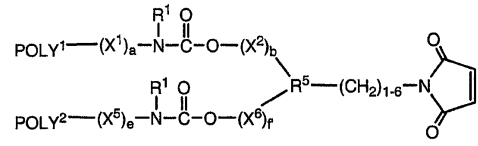
본 발명의 추가적인 중합체성 시약은 하기와 같다:

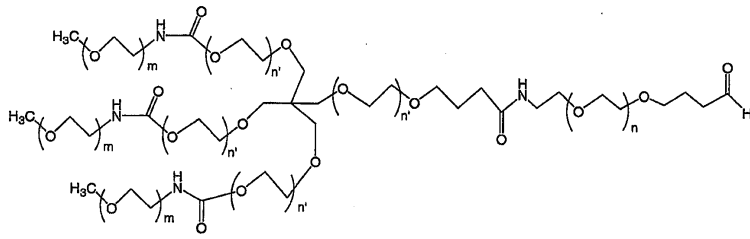
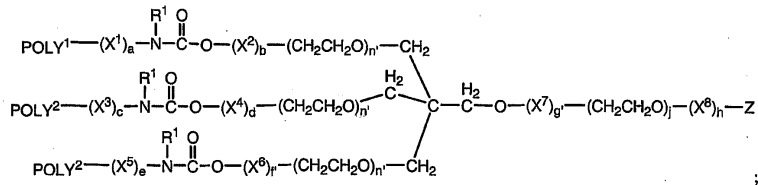
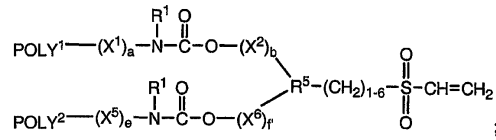
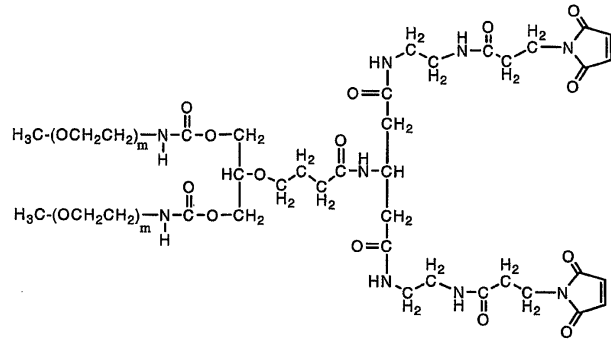


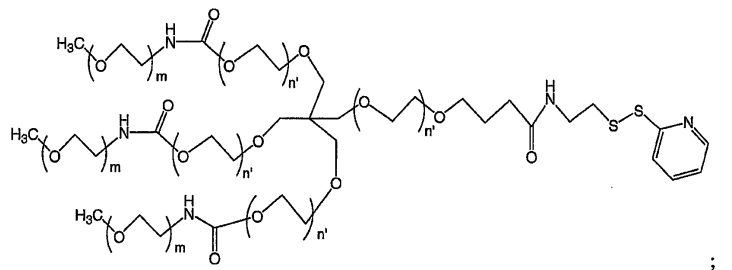
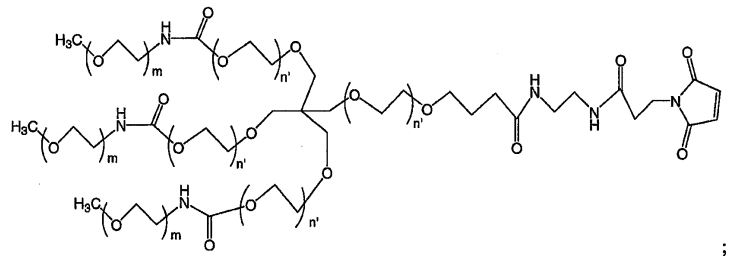
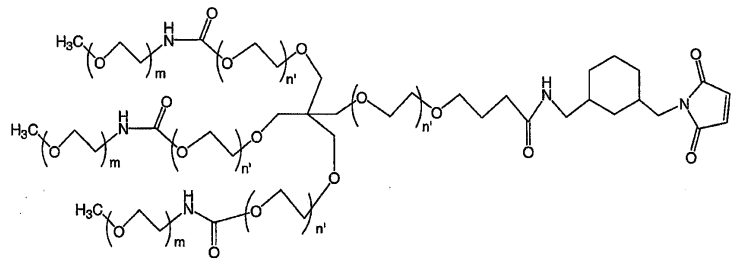
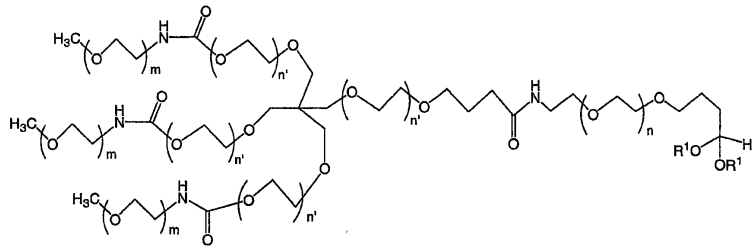


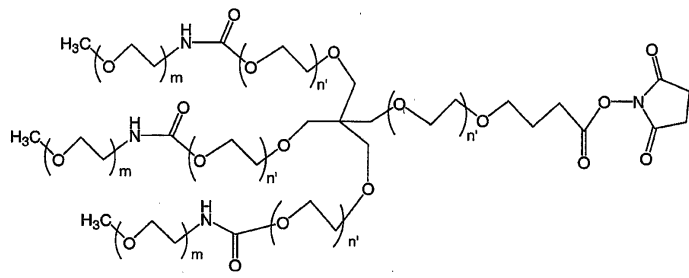
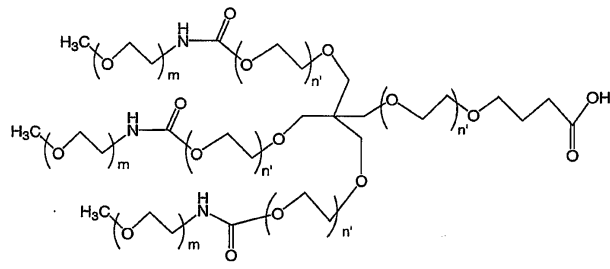
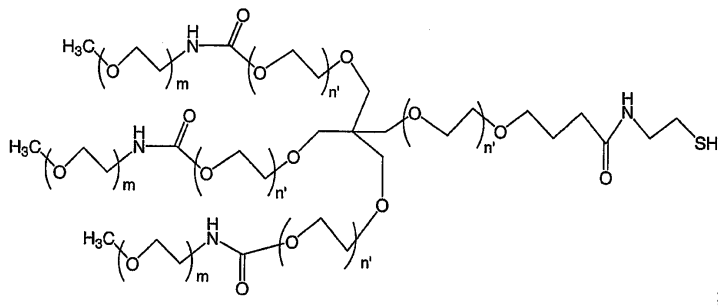
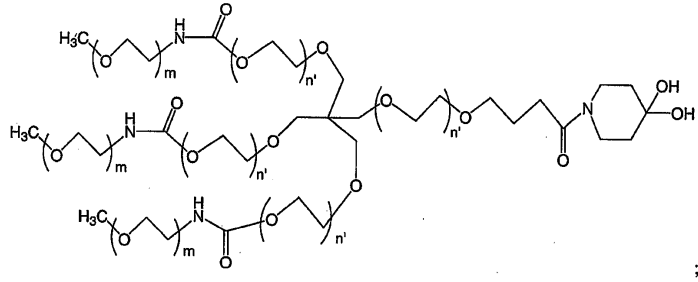
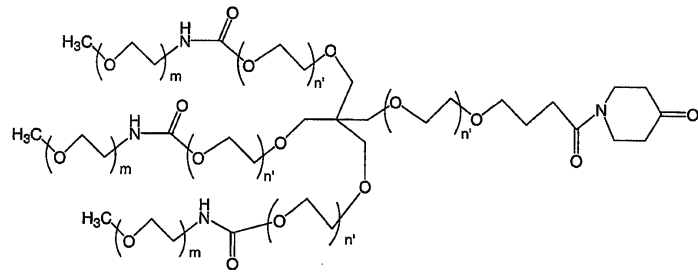












[상기 식에서, 모든 변수는 앞서 정의한 바와 같고, 각각의 (n')은 0 내지 100, 보다 바람직하게는 0 내지 40, 및 가장 바람직하게는 0 내지 20이다].

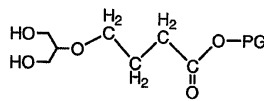
특정한 예에서, 본 발명의 중합체성 시약은 케톤 부분, 즉 2 개의 별개 탄소 원자가 각각 카르보닐 부분의 탄소 원자에 결합된 부분을 포함하지 않는다. 또한, 일부 예에서 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C=O}$ 부분은 고리 구조(예컨대, 말레이미드)의 일부가 아닌 것이 바람직하

다. 더 나아가, $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C(=O)-O-}$ 은, 예를 들면, 수용성 중합체 내 가장 가까운 원자에서 반응기에 도달하기까지 필요한 원자수와 반응기 내 가장 가까운 원자에서 반응기에 도달하기까지 필요한 원자수를 비교하여 측정하였을 때, 반응기보다 수용성 중합체에 가까운 것이 바람직하다.

본 발명은 또한 본원에 제공된 중합체성 시약의 제조 방법을 포함한다. 상기 방법에는 (i) 반응기에 대한 보호 반응기(또는 비보호 반응기로서, 방법 단계 수행시에 변화없이 유지될 수 있는 반응기) 또는 전구체 및 하나 이상의 히드록실기를 함유한 전구체 분자를 제공하는 단계를 포함한다. 보호 반응기 또는 전구체 반응기 및 하나 이상의 히드록실기를 함유한 일부 전구체 분자는 시판용으로 입수할 수 있다. 또한, 전구체 분자의 비보호 형태는 합성 후에 통상적인 기술을 사용하여 보호화(필요하다면)시킬 수 있다.

다수 형태의 적절한 전구체 분자가 존재하고, 본 발명은 이와 관련하여 한정되지 않지만, 바람직한 전구체 분자는 2 개의 히드록실기를 가진다. 적절한 전구체 분자의 바람직한 예는 하기 화학식 [IV]에 해당한다:

[화학식 IV]



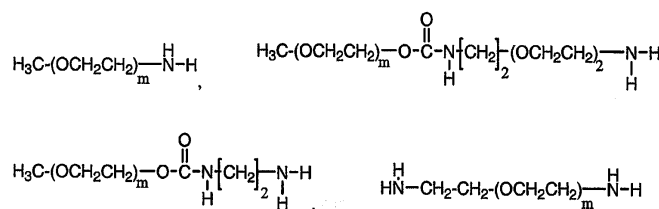
[상기 식에서, PG는 보호기이다]. 이 시약은 예컨대, 실시예 1에 기재된 바와 같이 합성할 수 있다.

바람직한 보호기의 예에는 메틸, 에틸, t-부틸, 및 벤질로 이루어진 군에서 선택된 것이 포함된다. 특히 바람직한 보호기는 메틸이다.

본 발명에 따른 중합체성 시약의 제조 방법에는 (ii) 아미노기와 반응시키기 위해 전구체 분자의 하나 이상의 히드록실기 중 하나 이상을 활성화시킴으로써 활성화 전구체 분자를 형성시키는 단계를 포함한다. 당업계에 공지된 임의의 적절한 활성화제를 사용할 수 있지만, 디(N-숙신이미딜) 카르보네이트 (DSC), N,N'-디시클로헥실카르보디이미드 (DCC), N,N'-디이소프로필카르보디이미드, N-(3-디메틸아미노프로필)-N'에틸카르보디이미드, 1,1'-카르보닐디이미다졸 (CDI), 1,1'-카르보닐드(1,2,4-트리아졸) (CDT), 비스(4-니트로페닐) 카르보네이트, p-니트로페닐 클로로카르보네이트, 4-디메틸아미노피리딘 (DMAP), 포스젠, 트리포스젠, 1-히드록시벤조트리아졸 (HOBt), 디벤조트리아졸릴 카르보네이트 (diBTC), N-히드록시숙신이미드 및 DCC, N-히드록시프탈이미드 및 DCC, 및 티아졸리딘 티온으로 이루어진 군에서 선택된 활성화제를 사용하는 것이 바람직하다.

본 발명의 중합체성 시약 제조 방법의 또 다른 단계에는 (iii) 공유 커플링 조건하에서, 하나 이상의 활성화 히드록실기 중 하나 이상을, 아미노기를 갖는 수용성 중합체와 접촉시킴으로써, 수용성 중합체 부위, 및 반응기에 대한 보호 반응기 또는 전구체를 함유한 중합체를 형성시키는 단계가 포함된다. 당업자라면, 공유 커플링을 획득하기에 적절한 pH, 온도 등의 조건을 통상의 실험을 통해서 결정할 수 있다. 예를 들면, 상기 커플링 단계는 여러 번 수행할 수 있는데, 각각은 상이한 조건의 세트(예컨대, 상이한 pH, 상이한 온도, 용매 등)하에서 수행된다. 각각의 조건 세트로부터 수용성 중합체 부위 및 보호 반응기를 함유한 중합체의 양을 측정함으로써(예컨대, 크기별 배제 크로마토그래피를 통해서), 커플링 단계를 수행하기에 가장 적절한 조건의 세트를 결정할 수 있다.

아민기를 갖는 대부분의 임의의 수용성 중합체를 사용할 수 있지만, 하기 중합체 중 하나를 사용하는 것이 특히 바람직하다:



[상기 식에서, (m)은 2 내지 4000이다]. 아민기를 갖는 수용성 중합체는 당업자에게 익히 공지된 기술을 사용하여 새로이 합성할 수도 있고, 넥타르 테라퓨틱스[Nektar Therapeutics (Huntsville, AL)]와 같은 공급업자를 통해 시판중인 것을 입수할 수도 있다.

전구체 분자에 보호기가 존재하는 경우에는, 중합체성 시약의 제조 방법에 (iv) 보호기를 탈보호화시킴으로써 중합체를 형성하는 단계가 또한 포함된다. 탈보호화 단계는 특정한 보호기를 제거하기에 적절한 임의의 접근법을 사용하여 수행할 수 있다. 임의의 특정한 보호기에 대한 적절한 탈보호화 접근법은 당업자에게 공지되어 있을 것이다. 또한, 적절한 탈보호화 접근법은 예를 들면, 전술한 Greene 등의 관련 문헌에 기재되어 있다. 알킬기 에스테르(예컨대, 메틸 에스테르)로서 보호되는 산 관능기를 탈보호화시키는 바람직한 방법은 보호기를 가진 분자를 염기-촉매화 가수분해에 노출시키는 것이다. 보호 반응기를 가진 분자를 함유한 반응 용기에 첨가하는 적절한 염기의 예에는, 제한 없이, 무기 수산화물, 예컨대 수산화 나트륨, 수산화 칼륨, 및 약산의 금속염, 예컨대 아세트산 나트륨, 탄산 나트륨, 중탄산 나트륨, 인산 나트륨, 탄산 칼륨, 중탄산 칼륨, 시트르산 칼륨, 아세트산 칼륨 등이 포함된다. 산-촉매화 가수분해 역시 오르토 에스테르에 효과적일 수 있지만, 이들 유도체에 의한 산-촉매화 가수분해에서 염기-촉매화 가수분해로 이어지는 조합을 사용할 수도 있다. 아세탈에 대해서는, 산-촉매화 가수분해는 효과적인 반면, 염기-촉매화 가수분해는 비효과적이다. 벤질 에스테르 또는 벤질 에테르에 대해서는, 촉매화 환원이 효과적이지만, 산- 또는 염기-촉매화 가수분해도 에스테르에 효과적이다.

중합체성 시약 제조 방법에 임의적으로는, 일단 형성된 중합체성 시약을 분리하는 추가 단계가 포함된다. 중합체를 분리하는 데는 공지된 방법을 사용할 수도 있지만, 크로마토그래피, 예컨대 이온 교환 크로마토그래피 또는 크기별 배제 크로마토그래피를 사용하는 것이 특히 바람직하다. 대안적으로 또는 부가적으로, 상기 방법에는 일단 형성된 중합체를 정제하는 단계가 포함된다. 역시, 중합체를 정제하는 데는 당업계에 공지된 표준 정제법을 사용할 수 있다.

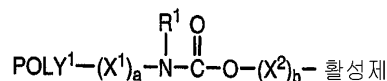
본 발명의 방법으로 제조한 임의의 주어진 중합체에 대해서, 상기 방법은 유리하게도 중합체를 추가로 변형시킴으로써(임의의 탈보호화 단계 전이나 후에) 특정한 반응기를 가지도록 하는 능력을 제공한다. 즉, 당업계에 익히 공지된 기술을 사용하여 중합체를 관능기화시킴으로써 반응기(예컨대, 활성 에스테르, 티올, 말레이미드, 케톤 등)를 포함하도록 할 수 있다.

중합체성 시약을 제조하는 각종 단계는 적절한 용매 내에서 수행한다. 당업자라면 주어진 어떠한 반응 단계에 어떠한 특정 용매가 적절한가를 결정할 수 있다. 그러나, 종종 용매는 비극성 용매 또는 극성 용매인 것이 바람직하다. 비극성 용매의 비제한적 예에는 벤젠, 크실렌 및 톨루엔이 포함된다. 특히 바람직한 비극성 용매에는 톨루엔, 크실렌, 디옥산, 테트라히드로푸란, 및 t-부틸 알코올이 포함된다. 예시적 극성 용매에는 디옥산, 테트라히드로푸란(THF), t-부틸 알코올, DMSO(디메틸 술폭사이드), HMPA(헥사메틸포스포르아미드), DMF(디메틸포름아미드), DMA(디메틸아세트아미드), 및 NMP(N-메틸피롤리돈)가 포함되지만 이에 한정되는 것은 아니다.

본 발명은 또한 수용성 중합체 부위, $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C(=O)-O-}$ 부분, 및 약리학적 활성제를 함유한 콘주게이트를 포함한다. 콘주게이트는 하기와 같은 내부 구조 배향을 가진다: (i) 수용성 중합체 부위는 직접 공유결합 또는 제 1 스페이서 부분을 통해 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C(=O)-O-}$ 부분의 질소 원자에 연결되고; (ii) 약리학적 활성제는 직접 공유결합 또는 제 2 스페이서 부분을 통해 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C(=O)-O-}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 연결되며; (iii) R^1 은 H 또는 유기 라디칼이다.

콘주게이트의 전체적인 구조 내에 단일 수용성 중합체만 존재하는 경우, 콘주게이트의 구조는 바람직하게는 화학식 [V]에 해당할 것이다:

[화학식 V]



[상기 식에서, POLY^1 은 수용성 중합체(예컨대, PEG 또는 mPEG)이고;

(a)는 0, 1, 2 또는 3(및 바람직하게는 0 또는 1)이며;

X⁷는, 존재하는 경우, 제 7 스페이스 부분이고;

X⁸는, 존재하는 경우, 제 8 스페이스 부분이며;

R⁵는 분지 부분이고;

활성제는 약리학적 활성제이다].

본원에 기재된 중합체성 시약은 생물학적인 활성제 또는 표면에 대한 콘쥬게이션에 유용하다. 본원에 기재된 중합체성 시약과의 반응에 적합한 바람직한 관능기는 친전자성 관능기 및 친핵성 관능기이다. 예시적 관능기에는 1차 아민(예컨대, 리신 잔기의 부사슬로부터의 1차 아민 또는 폴리펩티드의 N-말단), 알코올(예컨대, 세린 또는 트레오닌 잔기의 부사슬로부터의 1차 알코올), 티올, 히드라진, 히드라지드, 및 술피드릴이 포함된다. 본원에 기재된 중합체성 시약과 반응하기에 적합한 이러한 관능기들은 당업자에게 공지되어 있다. 즉, 본 발명은 콘쥬게이션 조건 하에서 활성제를 본원에 기재된 중합체성 시약과 접촉시키는 단계를 포함하는 콘쥬게이트 제조 방법을 제공한다.

적절한 콘쥬게이션 조건은 중합체성 시약과 활성제 사이에 콘쥬게이션을 생성시키기에 충분한 시간, 온도, pH, 시약 농도, 시약 관능기(들), 활성제 상에 이용가능한 관능기, 용매 등이다. 당업계에 공지된 바와 같이, 구체적인 조건은, 무엇보다도 활성제, 목적한 콘쥬게이션의 유형, 반응 혼합물 내 다른 물질의 존재 등에 의존한다. 특별한 경우에 있어서 콘쥬게이션을 생성하기에 충분한 조건은 본원 개시내용의 속도, 관련 문헌의 참조, 및/또는 통상적인 실험에 근거하여 당업자에 의해 결정될 수 있다.

예를 들면, 중합체성 시약은 N-히드록시숙신이미드 활성 에스테르(예컨대, 숙신이미딜 숙시네이트, 숙신이미딜 프로피오네이트, 및 숙신이미딜 부타노에이트)를 함유하고, 활성제는 아민기(예컨대, 폴리펩티드 상 말단 아민기 및/또는 리신 함유 폴리펩티드의 엡실론 아민)를 함유하는 경우, 콘쥬게이션은 약 7.5 내지 약 9.5의 pH 및 실온에서 효과적일 수 있다. 또한, 중합체성 시약은 비닐술폰 반응기 또는 말레이미드기를 함유하고, 약리학적 활성제는 술피드릴기(예컨대, 시스테인 함유 또는 메티오닌 함유 폴리펩티드의 술피드릴기)를 함유하는 경우, 콘쥬게이션은 약 7 내지 약 8.5의 pH 및 실온에서 효과적일 수 있다. 또한, 중합체성 시약과 결합된 반응기는 알데히드 또는 케톤이고, 약리학적 활성제는 1차 아민을 함유하는 경우, 콘쥬게이션은 약리학적 활성제의 1차 아민이 중합체의 알데히드 또는 케톤과 반응하는 환원성 아민화에 의해서 생성될 수 있다. 약 6 내지 약 9.5의 pH에서 발생하는 환원성 아민화는 처음에, 약리학적 활성제 및 중합체가 이민 결합을 통해서 연결되는 콘쥬게이션을 생성시킨다. 이민 함유 콘쥬게이트를 NaCNBH₃와 같은 적절한 환원제로 추후 처리하면 이민이 2차 아민까지 환원된다. 이들 콘쥬게이션 및 기타 다른 콘쥬게이션 반응과 관련된 추가 정보는 문헌 [Hermanson "Bioconjugate Techniques," Academic Press, 1996]을 참조한다.

예시적인 콘쥬게이션 조건에는 예를 들어 약 4 내지 약 10의 pH, 및 예를 들어, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5 또는 10.0의 pH에서 콘쥬게이션 반응을 수행하는 것이 포함된다. 상기 반응은 약 5 분 내지 약 72 시간, 바람직하게는 약 30 분 내지 약 48 시간, 보다 바람직하게는 약 4 시간 내지 약 24 시간 동안 수행되는 것이 허용된다. 콘쥬게이션이 일어나는 온도는 필수적인 것은 아니지만 전형적으로, 약 0 °C 내지 약 40 °C 범위이고, 종종 실온 이하이다. 콘쥬게이션 반응은 종종 포스페이트 완충액, 아세트산 나트륨, 또는 이와 유사한 시스템을 사용하여 수행된다.

시약 농도와 관련하여, 전형적으로는 과량의 중합체성 시약을 활성제와 혼합한다. 그러나, 일부 경우에 있어서는, 활성제의 반응기에 대한 중합체성 시약 상 반응기의 화학양론적인 양을 갖는 것이 바람직하다. 따라서, 예를 들면 2 개의 반응기를 갖는 중합체성 시약 1 몰을 활성제 2 몰과 혼합한다. 활성제에 대한 중합체성 시약의 예시적인 비는 약 1:1 (중합체성 시약:활성제), 1.5:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 8:1, 또는 10:1의 몰비를 포함한다. 상기 콘쥬게이션 반응은 실질적으로 추가의 콘쥬게이션이 일어나지 않을 때까지 수행되는 것이 허용되며, 이는 일반적으로 반응 경과 시간의 진행을 모니터링으로써 결정될 수 있다.

반응의 진행은, 다양한 시점에 반응 혼합물로부터 분취량을 회수하여, SDS-PAGE 또는 MALDI-TOF 질량 분광분석법 또는 여타 적절한 분석 방법에 의해 반응 혼합물을 분석함으로써 모니터링할 수 있다. 형성된 콘쥬게이트의 양 또는 콘쥬게이션되지 않고 잔류한 중합체성 시약의 양과 관련하여, 일단 평탄역에 도달하면, 상기 반응은 완료된 것으로 가정한다. 전형적으로, 콘쥬게이션 반응은 수분 내지 수시간 동안(즉, 5 분 내지 24 시간 또는 그 이상 동안) 임의 위치에서 일어난다.

생성된 산물의 혼합물은 반드시 정제되어야 하는 것은 아니지만, 과량의 중합체성 시약, 콘쥬게이션되지 않은 반응물(즉, 활성제) 및 불필요한 다중-콘쥬게이트종들은 분리시키는 것이 바람직하다. 생성된 콘쥬게이트는 이어서 MALDI, 모세관 전기영동, 겔 전기영동, 및/또는 크로마토그래피와 같은 분석 방법을 사용하여 추가로 특성화될 수 있다.

중합체-활성제 콘쥬게이트는 상이한 콘쥬게이트 종들을 얻기/분리하기 위해 정제될 수 있다. 대안적으로 및 보다 바람직하게는, 콘쥬게이트를 형성하는데 사용되는 저분자량(예를 들어, 약 20,000 돌턴 미만, 보다 바람직하게는 약 10,000 돌턴 미만) 중합체성 시약에 대하여, 산물 혼합물은 활성제마다의 수용성 중합체 단편 분포를 얻기 위하여 정제될 수 있다. 예를 들어, 산물 혼합물은 활성제(예를 들어, 단백질)당 평균 1, 2, 3, 4 또는 5의 중합체성 시약의 임의 위치 부착, 전형적으로 활성제(예를 들어, 단백질)당 평균 부착을 얻기 위하여 정제될 수 있다. 최종 콘쥬게이트 반응 혼합물의 정제를 위한 전략은 예를 들어, 사용된 중합체성 시약의 분자량, 특정 활성제, 바람직한 복용량 투약 계획, 및 개별적 콘쥬게이트(들)의 잔여 활성 및 생체 내 성질을 포함하는 다수의 인자에 의존할 것이다.

만약 바람직하다면, 겔 여과 크로마토그래피를 사용하여 상이한 분자량의 콘쥬게이트를 분리시킬 수 있다. 다시 말하면, 겔 여과 크로마토그래피는 상이하게 번호가 매겨진 중합체성 시약-대-활성제 비율(예를 들면, 1-머(mer), 2-머, 3-머 등, 여기서 "1-머"는 활성제에 대해 1 중합체성 시약을 나타내고, "2-머"는 활성제에 대해 2 중합체성 시약을 나타내는 등)을 그들의 상이한 분자량에 기초하여(여기서 차이는 실질적으로 수용성 중합체 단편의 평균 분자량에 해당한다) 분획화하는 데 사용된다. 예를 들면, 총 분자량이 약 20,000 돌턴인 분지형 PEG(여기서 분지형 PEG의 각 중합체 "가지"의 분자량은 약 10,000 돌턴이다)에 100,000 돌턴 단백질이 무작위로 콘쥬게이션되는 예시적인 반응에 있어서, 생성된 반응 혼합물은 비변형 단백질(분자량은 약 100,000 돌턴), 모노PEG화 단백질(분자량은 약 120,000 돌턴), 디PEG화 단백질(분자량은 약 140,000 돌턴) 등을 함유할 수 있다.

상기 접근법은 분자량이 상이한 PEG 및 기타 다른 중합체-활성제 콘쥬게이트를 분리하는데 사용될 수 있으나, 이 접근법은 일반적으로 단백질 내부에 상이한 중합체 부착 부위를 갖는 위치 이성질체를 분리하는 데는 효과적이지 않다. 예를 들어, 겔 여과 크로마토그래피를 PEG 1-머, 2-머, 3-머 등의 각각의 다른 혼합물들을 분리하는 데 사용할 수 있지만, 회수된 각 PEG-머 조성물은 활성제 내부에 상이한 반응성 아미노기(예를 들어, 리신 잔기)에 부착된 PEG를 함유할 수 있다.

이런 유형의 분리를 수행하는 데 적합한 겔 여과 컬럼은 아메르삼 바이오사이언시즈[Amersham Biosciences (Piscataway, NJ)]로부터 입수할 수 있는 Superdex™ 및 Sephadex™ 컬럼을 포함한다. 특정 컬럼의 선택은 바람직한 분획화 범위에 따라 달라진다. 용출은 일반적으로 포스페이트, 아세테이트 등과 같은 적당한 완충제를 사용하여 수행된다. 수집된 분획은 다수의 상이한 방법으로 분석될 수 있는데, 예를 들어, (i) 단백질 함량에 대한 280 nm에서의 광학 밀도(OD), (ii) 소 혈청 알부민(BSA) 단백질 분석법, (iii) PEG 함량에 대한 요오드 시험법 (Sims et al. (1980) Anal. Biochem, 107: 60-63), 및 (iv) 소듐 도데실 설페이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(SDS PAGE) 후의 바륨 요오다이드 염색이 있다.

위치 이성질체의 분리는 역상-고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC) C18 컬럼[아메르삼 바이오사이언스 또는 비닥(Vydac)]을 사용한 역상 크로마토그래피 또는 이온 교환 컬럼, 예를 들면 아메르삼 바이오사이언스로부터 입수할 수 있는 Sepharose™ 이온 교환 컬럼을 사용한 이온 교환 크로마토그래피에 의해서 수행된다. 두 접근법은 동일한 분자량의 중합체-활성제 이성질체(위치 이성질체)를 분리하는 데 사용될 수 있다.

본원에 기재된 중합체성 시약은 필름, 화학적 분리 및 정제 표면, 고체 지지체, 금속 표면, 예컨대 금, 티타늄, 탄탈, 니오븀, 알루미늄, 스틸, 및 이들의 산화물, 산화 규소, 거대분자(예를 들어, 단백질, 폴리펩티드 등), 및 소형 분자를 포함하는 다수의 실재물에 공유적으로 또는 비공유적으로 부착될 수 있다. 부가적으로, 중합체성 시약은 생화학적 센서, 생물전자성 스위치, 및 문에 또한 사용될 수 있다. 중합체성 시약은 또한 중합체-코팅된 표면 및 중합체 그래프트를 제조함으로써, 친화력 분할을 위한 중합체-리간드 콘쥬게이트를 제조하고, 가교 또는 비-가교된 히드로겔을 제조하며, 생물반응기를 위한 중합체-코펙터 첨가물을 제조하기 위한 펩티드 합성용 담체로 사용될 수 있다.

본원에 제안된 중합체성 시약에 커플링시키는 데 사용되는 생물학적 활성제는 하기 중 임의의 하나 이상일 수 있다. 적합한 활성제는 예를 들면, 최면제 및 진정제, 심리적 활성 부여제, 안정제, 호흡기 약물, 진경제, 근육 이완제, 항파킨슨제(도파민 길항제), 마취제, 항염증제, 항불안제(불안 완화제), 식욕 억제제, 항편두통제, 근육수축제, 항감염제(항생제, 항바이러스제, 항진균제, 백신), 항관절염제, 항말라리아제, 제토제, 항간질제, 기관지확장제, 시토킨, 성장 인자, 항암제, 항혈전제, 항고혈압제, 심장혈관계, 항부정맥제, 항산화제, 항진식제, 호르몬제, 예컨대 피임제, 교감신경흥분제, 이노제, 지질 조절제, 항남성호르몬제, 항기생충제, 항응집제, 중앙제, 항중양제, 저혈당제, 영양제 및 보충제, 성장 보충제, 항장염제, 백신, 항체, 진단제, 및 대조제 중에서 선택할 수 있다.

보다 구체적으로, 활성제는 소형 분자(바람직하게 불용성 소형 분자), 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 항체, 항체 단편, 다당류, 스테로이드, 뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드, 폴리뉴클레오티드, 지방, 전해질 등을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아닌 다수의 구조적 분류 중 하나에 해당할 수 있다. 바람직하게는, 본원에 기재된 중합체에 커플링시키기 위한 활성제는 천연 아미노기를 보유하거나, 또는 대안적으로는 본원에 기재된 중합체에 콘주게이션되기에 적합한 하나 이상의 반응성 아미노기를 함유하도록 변형된다.

공유결합에 적합한 활성제의 특정 예로는 아갈시다아제, 알레파셉트, 아스파리지나아제, 암독소비르(amdoxovir; DAPD), 앤티드, 비카플러민, 칼시토닌, 시아노비린, 데니루킨 디프티톡스, 에리트로포이에틴(EPO), EPO 길항제(예를 들어, 약 10 내지 40 아미노산 길이이고, WO 96/40749에 기재된 특정 코어 서열을 포함하는 펩티드), 도나아제 알파, 에리트로포이에시스 자극 단백질(NESP), 응집 인자, 예컨대 인자 V, 인자 VII, 인자 VIIa, 인자 VIII, 인자 IX, 인자 X, 인자 XII, 인자 XIII, 폰 빌리브란트 인자 (von Willebrand factor); 세레다아제, 세레자임, 알파-글루코시다아제, 콜라겐, 시클로스포린, 알파 디펜신, 베타 디펜신, 테스모프레신, 엑스딘-4(exedin-4), 과립구 집락 자극인자(GCSF), 트롬보포이에틴(TPO), 알파-1 프로티나아제 억제제, 엘카토닌, 과립구 대식세포 자극인자(GMCSF), 피브리노겐, 필그라스티프, 성장 호르몬, 인간 성장 호르몬(hGH), 소마트로핀, 성장 호르몬 방출 호르몬(GHRH), GRO-베타, GRO-베타 항체, 골형성 단백질, 예컨대 골형성 단백질-2, 골형성 단백질-6, OP-1; 산성 피브로블라스트 성장 인자, 염기성 피브로블라스트 성장 인자, CD-40 리간드, 헤파린, 인간 혈청 알부민, 저분자량 헤파린(LMWH), 인터페론, 예컨대 인터페론 알파, 인터페론 베타, 인터페론 감마, 인터페론 오메가, 인터페론 타우, 콘센서스 인터페론; 인터루킨 및 인터루킨 수용체, 예컨대 인터루킨-1 수용체, 인터루킨-2, 인터루킨-2 융합 단백질, 인터루킨-1 수용체 길항제, 인터루킨-3, 인터루킨-4, 인터루킨-4 수용체, 인터루킨-6, 인터루킨-8, 인터루킨-12, 인터루킨-13 수용체, 인터루킨-17 수용체; 락토페린 및 락토페린 단편, 황체 호르몬 방출 호르몬(LHRH), 인슐린, 프로-인슐린, 인슐린 유사체(예를 들어, 미국 특허 제 5,922,675 호에 기재된 모노-아실화 인슐린), 아밀린, C-펩티드, 소마토스타틴, 옥테레오타이드를 포함하는 소마토스타틴 유사체, 바소프레신, 여포 자극 호르몬(FSH), 인플루엔자 백신, 인슐린-유사 성장 인자(IGF), 인슐린트로핀, 대식세포 집락 자극인자(M-CSF), 플라스미노젠 활성제, 예컨대 알테플라아제, 유로키나아제, 레테플라아제, 스트렙토키나아제, 파미테플라아제, 라노테플라아제 및 테네테플라아제; 신경 성장 인자(NGF), 오스테오프로테거린, 혈소판-유래 성장 인자, 조직 성장 인자, 형질전환 성장 인자-1, 혈관 내피 성장 인자, 백혈병 저해 인자, 케라티노사이트 성장 인자(KGF), 아교 성장 인자(GGF), T 세포 수용체, CD 분자/항원, 종양 괴사 인자(TNF), 모노사이트 화학유인물질 단백질-1, 내피 성장 인자, 부갑상선 호르몬(PTH), 글루카곤-유사 펩티드, 소마트로핀, 티모신 알파 1, 라스부리케이즈, 티모신 알파 1 IIb/IIIa 억제제, 티모신 베타 10, 티모신 베타 9, 티모신 베타 4, 알파-1 안티트립신, 포스포디에스테라아제(PDE) 화합물, VLA-4(매우 늦은 항원-4), VLA-4 억제제, 비스포스포네이트, 호흡기 세포융합바이러스 항체, 낭 섬유증 막 조절제(CFTR) 유전자, 디옥시리보뉴클레아제(Dnase), 살균/침투 증가 단백질(BPI), 및 항-CMV 항체가 포함되지만 이에 한정되는 것은 아니다. 예시적인 모노클로날 항체는 이타네르셉트(etanercept)(IgG1의 Fc 부위에 연결된 인간 75 kD TNF 수용체의 세포외 리간드-결합 부위로 이루어진 이량체 융합 단백질), 아브식시마브(abciximab), 아달리무마브(adalimumab), 아펠리모마브(afelimomab), 알렘투주마브(alemtuzumab), B-림포사이트에 대한 항체, 아틀리주마브(atlizumab), 바실릭시마브(basiliximab), 베바시주마브(bevacizumab), 비시로마브(bicromab), 베르틸리무마브(bertilimumab), CDP-571, CDP-860, CDP-870, 세톡시마브(cetuximab), 클레놀릭시마브(clenoliximab), 다클리주마브(daclizumab), 에쿨리주마브(eculizumab), 에드레콜로마브(edrecolomab), 에팔리주마브(efalizumab), 에프라투주마브(epratuzumab), 폰톨리주마브(fontolizumab), 가빌리모마브(gavilimomab), 겐투주마브 오조가미신(gemtuzumab ozogamicin), 이브리투모마브 티옥세탄(ibritumomab tiuxetan), 인플릭시마브(infliximab), 이놀리모마브(inolimomab), 켈릭시마브(keliximab), 라베투주마브(labetuzumab), 레르델리무마브(lerdelimumab), 올리주마브(olizumab), 라디오라벨드림-1(radiolabeledlym-1), 메텔리무마브(metelimomab), 메폴리주마브(mepolizumab), 미투모마브(mitumomab), 무로모나드-CD3(muromonad-CD3), 네바쿠마브(nebacumab), 나탈리주마브(natalizumab), 오둘리모마브(odulimomab), 오말리주마브(omalizumab), 오레고보마브(oregovomab), 팔리비주마브(palivizumab), 펩투모마브(pemtumomab), 펙셀리주마브(pexelizumab), 루마브-VEGF(rhuMAb-VEGF), 리톡시마브(rituximab), 사투모마브 펜테티드(satumomab pentetide), 세비루마브(sevirumab), 시플리주마브(siplizumab), 토시투모마브(tositumomab), I¹³¹토시투모마브(I¹³¹tositumomab), 트라스투주마브(trastuzumab), 투비루마브(tuvirumab) 및 비실리주마브(visilizumab)를 포함한다.

공유 결합에 적합한 추가적인 활성제는 타크린(tacrine), 메만틴(memantine), 리바스티그민(rivastigmine), 갈란타민(galantamine), 도네페질(donepezil), 레벤티라세탐(levetiracetam), 레파글리니드(repaglinide), 아토르바스타틴(atorvastatin), 알레파셉트(alefacept), 타달라필(tadalafil), 바르데나필(vardenafil), 실테나필(sildenafil), 포삼프레나비르(fosamprenavir), 오셀타미비르(oseltamivir), 발라시클로비르(valacyclovir) 및 발간시클로비르(valganciclovir), 아바렐릭스(abarelix), 아데포비르(adefovir), 알푸조신(alfuzosin), 알로세트론(alosetron), 아미포스틴(amifostine), 아미오다론(amiodarone), 아미노카프로산(aminocaproic acid), 아미노히푸레이트 소듐(aminohippurate sodium), 아미노글루

테티미드(aminoglutethimide), 아미노에불린산(aminolevulinic acid), 아미노살리실산(aminosalicylic acid), 암로디핀(amlodipine), 암사크린(amsacrine), 아나그렐리드(anagrelide), 아나스트로졸(anastrozole), 아프레피탄트(aprepitant), 아리피프라졸(aripiprazole), 아스파라지나제(asparaginase), 아타자나비르(atazanavir), 아토목세틴(atomoxetine), 안트라시클린(anthracyclines), 백사로텐(bexarotene), 비칼루타미드(bicalutamide), 블레오마이신(bleomycin), 보르테조미브(bortezomib), 부세렐린(buserelin), 부설향(busulfan), 카베르골린(cabergoline), 카페시타빈(capecitabine), 카보플라틴(carboplatin), 카무스틴(carmustine), 클로람부신(chlorambucin), 실라스타틴 소듐(cilastatin sodium), 시스플라틴(cisplatin), 클라드리빈(cladribine), 클로드로네이트(clodronate), 시클로포스파미드(cyclophosphamide), 시프로테론(cyproterone), 시타라빈(cytarabine), 캄토테신(camptothecins), 13-시스 레티노산, 모든 트랜스 레티노산; 다카르바진(dacarbazine), 닥티노마이신(dactinomycin), 답토마이신(daptomycin), 다우노루비신(daunorubicin), 디페록사민(deferoxamine), 덱사메타손(dexamethasone), 디클로페낙(diclofenac), 디에틸스틸베스트롤(diethylstilbestrol), 도세탁셀(docetaxel), 독소루비신(doxorubicin), 두타스테리드(dutasteride), 엘레트리판(eletriptan), 엠트리시타빈(emtricitabine), 엔푸비르티드(enfuvirtide), 에플레레논(eplerenone), 에피루비신(epirubicin), 에스트라무스틴(estramustine), 에티닐 에스트라디올(ethinyl estradiol), 에토포시드(etoposide), 엑세메스탄(exemestane), 에제티미브(ezetimibe), 펜타닐(fentanyl), 펙소페나딘(fexofenadine), 플루다라빈(fludarabine), 플루드로코르티손(fludrocortisone), 플루오로우라실, 플루옥시메스테론(fluxymesterone), 플루타미드(flutamide), 플루티카존(fluticasone), 폰다파리누스(fondaparinux), 풀베스트란트(fulvestrant), 감마-히드록시부티레이트, 제피티니브(gefitinib), 겐시타빈(gemcitabine), 에피네프린, L-도파, 히드록시우레아, 이코텍스트린(icodextrin), 이다루비신(idarubicin), 이포스파미드(ifsosamide), 이마티니브(imatinib), 이리노테칸(irinotecan), 이트라코나졸(itraconazole), 고세렐린(goserelin), 라로니다아제(laronidase), 란소프라졸(lansoprazole), 레트로졸(letrozole), 루코보린(leucovorin), 레바미졸(levamisole), 리시노프릴(lisinopril), 로보티록신 소듐(lovothyroxine sodium), 로무스틴(lomustine), 메클로레타민(mechlorethamine), 메드록시프로게스테론(medroxyprogesterone), 메게스트롤(megestrol), 멜파란(melphalan), 메만틴(memantine), 메르캅토푸린(mercaptapurine), 메퀴놀(mequinol), 메타라미놀 비타르트레이트(metaraminol bitartrate), 메토크세이트(methotrexate), 메토클로프라미드(metoclopramide), 멕실레틴(mexiletine), 미글루스타트(miglustat), 미토마이신(mitomycin), 미토탄(mitotane), 미톡산트론(mitoxantrone), 모다피닐(modafinil), 날로손(naloxone), 나프록센(naproxen), 네비라핀(nevirapine), 니코틴, 닐루타미드(nilutamide), 니타족사니드(nitazoxanide), 니티시논(nitisinone), 노레틴드론(norethindrone), 옥트레오티드(octreotide), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 팔로노세트론(palonosetron), 파미드로네이트(pamidronate), 페메트렉세드(pemetrexed), 페르골리드(pergolide), 펜토스타틴(pentostatin), 필카마이신(pilcamycin), 포르피머(porfimer), 프레드니손(prednisone), 프로카르바진(procarbazine), 프로클로페라진(prochlorperazine), 온단세트론, 팔로노세트론, 옥살리플라틴(oxaliplatin), 랄티트렉세드(raltitrexed), 로수바스타틴(rosuvastatin), 시롤리무스(sirolimus), 스트렙토조신(streptozocin), 피메크롤리무스(pimecrolimus), 세르타코나졸(sertaconazole), 타크롤리무스(tacrolimus), 타목시펜(tamoxifen), 테가세로드(tegaserod), 테모졸로미드(temozolomide), 테니포시드(teniposide), 테스토스테론(testosterone), 테트라히드로캐나비놀(tetrahydrocannabinol), 탈리도미드(thalidomide), 티오구아닌, 티오테파, 티오토로퓸(tiotropium), 토피라메이트(topiramate), 토포테칸, 트레프로스티닐(treprostinil), 트레티노인(tretinoin), 발데콕시브(valdecocixib), 세레콕시브, 로페콕시브(rofecoxib), 발루비신(valrubicin), 빈블라스틴(vinblastine), 빈크리스틴(vincristine), 빈데신(vindesine), 비노렐빈(vinorelbine), 보리코나졸(voriconazole), 돌라세트론(dolasetron), 그라니세트론(granisetron), 포르모테롤(formoterol), 플루티카손(fluticasone), 루프롤리드(leuprolide), 미다졸람(midazolam), 알프라졸람(alprazolam), 암포테리신 B(amphotericin B), 포도필로톡신(podophylotoxins), 뉴클레오시드 항바이러스제, 아로일 히드라존(aroyl hydrazones), 수마트립탄(sumatriptan), 엘레트리판(eletriptan); 에리트로마이신(erythromycin), 오레안도마이신(oleandomycin), 트롤리안도마이신(troleandomycin), 록시트로마이신(roxithromycin), 클라리트로마이신(clarithromycin), 다베르신(davercin), 아지트로마이신(azithromycin), 플루리트로마이신(flurithromycin), 디리트로마이신(dirithromycin), 조사마이신(josamycin), 스피로마이신(spiromycin), 미데카마이신(midecamycin), 로라타딘(loratadine), 데슬로라타딘(desloratadine), 루코마이신(leucomycin), 미오카마이신(miocamycin), 로키타마이신(rokitamycin), 안다지트로마이신(andazithromycin) 및 스위놀리드 A(swinolide A)와 같은 마크롤리드; 시프로플록사신(ciprofloxacin), 오플록사신(ofloxacin), 레보플록사신(levofloxacin), 트로바플록사신(trovafloxacin), 알라트로플록사신(alatrofloxacin), 목시플록시신(moxifloxacin), 노르플록사신(norfloxacin), 에녹사신(enoxacin), 가티플록사신(gatifloxacin), 제미플록사신(gemifloxacin), 그레파플록사신(grepafloxacin), 로메플록사신(lomefloxacin), 스파르플록사신(sparfloxacin), 테마플록사신(temafloxacin), 페플록사신(pefloxacin), 아미플록사신(amifloxacin), 플레록사신(fleroxacin), 토수플록사신(tosufloxacin), 프룰리플록사신(prulifloxacin), 이르록사신(irloxacin), 파주플록사신(pazufloxacin), 클리나플록사신(clinafloxacin), 및 시타플록사신(sitafloxacin)과 같은 플루오로퀴놀론; 겐타미신(gentamicin), 네틸미신(netilmicin), 파라메신(paramycin), 토브라마이신(tobramycin), 아미카신(amikacin), 카나마이신(kanamycin), 네오마이신 및 스트렙토마이신, 반코마이신, 테이코플라닌(teicoplanin), 램폴라닌(rampolanin), 미데플라닌(mideplanin), 콜리스틴(colistin), 답토마이신(daptomycin), 그라미시딘(gramicidin), 콜리스티메테이트(colistimethate)와 같은 아미노글리코시드; 폴리믹신 B(polymixin B), 카프레오마이신(capreomycin), 바시트라신(bacitracin), 페넴(penems)과 같은 폴리믹신; 페니실린 G, 페니실린 V와 같은 페니실리

나아제-민감성 제제를 포함하는 페니실린; 메티실린, 옥사실린, 클록사실린, 디클록사실린, 플록사실린, 나프실린과 같은 페니실리나아제-저항성 제제; 암피실린, 아목시실린 및 헤타실린, 실린 및 갈람피실린과 같은 그람 음성 미생물 활성제; 카베니실린, 티카르실린, 아즐로실린, 메즐로실린, 및 피페라실린과 같은 항슈도모날 페니실린; 세프포독심(cefepodoxime), 세프프로질(cefprozil), 세프트부텐(ceftbuten), 세프티죽심(ceftizoxime), 세프트리악손(ceftriaxone), 세팔로린, 세파피린, 세팔렉신, 세프라드린, 세폭시틴(cefepoxitin), 세파만돌(cefamandole), 세파졸린(cefazolin), 세팔로리딘(cephaloridine), 세파클로르(cefaclor), 세파드록실(cefadroxil), 세팔로글리신(cephaloglycin), 세푸록심(cefuroxime), 세포라니드(ceforanide), 세포탁심(cefotaxime), 세파트리진(cefatrizine), 세파세트릴(cephacetrile), 세페핌(cefepime), 세픽심(cefixime), 세포니시드(cefonicid), 세포페라존(cefoperazone), 세포테탄(cefotetan), 세프메타졸(cefmetazole), 세프타지딴(ceftazidime), 로라카베프(loracarbef), 및 목살락탐(moxalactam)과 같은 세팔로스포린, 아즈트레오남(aztreonam)과 같은 모노박탐(monobactams); 및 이미페넴(imipenem), 메로페넴(meropenem) 및 에르타페넴(ertapenem)과 같은 카르바페넴(carbapenems), 펜타미딘 이세티오네이트(pentamidine isetionate), 알부테롤 설페이트(albuterol sulfate), 리도카인(lidocaine), 메타프로테레놀 설페이트(metaproterenol sulfate), 베클로메타손 디프레피오네이트(beclomethasone dipropionate), 트리암시놀론 아세트아미드, 부테소니드 아세트오니드, 살메테롤(salmeterol), 이프라트로프 브로마이드, 플루니솔리드(flunisolide), 크로몰린 소듐(cromolyn sodium), 및 에르고타민 타르테이트(ergotamine tartrate); 파클리탁셀(paclitaxel)과 같은 탁산(taxanes); SN-38, 및 티르포스틴(tyrphostines)을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다.

본원에 기재된 중합체에 커플링시키기에 바람직한 소형 분자는 자연 발생적 아미노기를 하나 이상 갖는 것이다. 상기와 같은 바람직한 분자는 아미노히푸레이트 소듐(aminohippurate sodium), 암포테리신 B(amphotericin B), 독소루비신(doxorubicin), 아미노카프로산(aminocaproic acid), 아미노레불린산(aminolevulinic acid), 아미노살리실산(aminosalicylic acid), 메타라미놀 비타르테이트(metaraminol bitartrate), 파미드로네이트 디소듐(pamidronate disodium), 다우노루비신(daunorubicin), 레보티록신 소듐(levothyroxine sodium), 리시노프릴(lisinopril), 실라스타틴 소듐(cilastatin sodium), 멕실레틴(mexiletine), 세팔렉신(cephalexin), 데페록사민(deferoxamine), 및 아미포스틴(amifostine)을 포함한다.

본원에 기재된 중합체에 커플링시키기에 바람직한 펩티드 또는 단백질은 EPO, IFN- α , IFN- β , 콘센서스 IFN, 인자 VIII, B-도메인 결실 인자 VIII, 인자 IX, GCSF, GMCSF, hGH, 인슐린, FSH, GLP-1 활성을 갖는 펩티드, 데스모프레신, 암독시비르 및 PTH를 포함한다.

상기 예시적인 생물학적 활성제는 이들의 적용가능한 유사체, 작용제, 길항제, 억제제, 이성질체 및 약학적 허용성 염을 포함하는 것을 의미한다. 펩티드 및 단백질과 관련하여, 본 발명은 합성, 재조합, 천연, 글리코실화, 및 비-글리코실화 형태, 뿐만 아니라 이들의 생물학적 활성 단편도 포함하고자 한다. 또한, "활성제"라는 용어에는 콘주게이션 이후의 활성제 "장기" 뿐만 아니라 콘주게이션 이전의 활성제도 포함시키고자 한다.

특히 바람직한 약리학적 활성제는 글루카곤형 펩티드(GLP-1) 수용체에 대한 작용제 또는 길항제 활성을 갖는 펩티드이다. GLP-1 및 이의 약리학적 활성 작용제 유도체는 생체 내에서, 베타 세포에 의한 인슐린 분비를 자극하고 글루카곤 분비를 억제한다. GLP-1 수용체에 대한 이러한 작용제는 인슐린 생성 조절에 유용하다.

콘주게이트로서 유용한 GLP-1 관련 제제의 예에는 하기와 같은 것들이 제한 없이 포함된다: 천연 GLP-1; 엑센딘-3; 엑센딘-4; 엑센딘-4 (1-30); 엑센딘-4 (1-30) 아미드; 엑센딘-4 (1-28) 아미드; ¹⁴Leu, ²⁵Phe 엑센딘-4 아미드; ¹⁴Leu, ²⁵Phe 엑센딘-4 (1-28) 아미드; ¹⁴Leu, ²²Ala, ²⁵Phe 엑센딘-4 (1-28) 아미드; 또는 이들의 약리학적 활성 유도체. 이들 제제 및 GLP-1 수용체에 대한 작용제 활성을 갖는 기타 다른 제제는 WO99/07404에 기재되어 있으며, 하기 일반식에 해당하는 구조를 갖는 제제를 포함한다: Xaa₁ Xaa₂ Xaa₃ Gly Thr Xaa₄ Xaa₅ Xaa₆ Xaa₇ Xaa₈ Ser Lys Gln Xaa₉ Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Xaa₁₀ Xaa₁₁ Xaa₁₂ Xaa₁₃ Leu Lys Asn Gly Gly Xaa₁₄ Ser Ser Gly Ala Xaa₁₅ Xaa₁₆ Xaa₁₇ Xaa₁₈ -Z (서열 번호: 1) [여기서, Xaa₁은 His, Arg 또는 Tyr; Xaa₂는 Ser, Gly, Ala 또는 Thr; Xaa₃은 Asp 또는 Glu; Xaa₄는 Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌; Xaa₅는 Thr 또는 Ser; Xaa₆은 Ser 또는 Thr; Xaa₇은 Asp 또는 Glu; Xaa₈은 Leu, Ile, Val, 펜틸글리신 또는 Met; Xaa₉는 Leu, Ile, 펜틸글리신, Val 또는 Met; Xaa₁₀은 Phe, Tyr 또는 나프틸알라닌; Xaa₁₁은 Ile, Val, Leu, 펜틸글리신, tert-부틸글리신 또는 Met; Xaa₁₂는 Glu 또는 Asp; Xaa₁₃은 Trp, Phe, Tyr, 또는 나프틸알라닌; Xaa₁₄, Xaa₁₅, Xaa₁₆ 및 Xaa₁₇은 독립적으로 Pro, 호모프롤린, 3Hyp, 4Hyp, 티오프롤린, N-알킬글리신, N-알킬펜틸글리신 또는 N-알킬알라닌; Xaa₁₈은 Ser, Thr 또는 Tyr; 및 Z는 -OH 또는 -NH₂이다].

또 다른 GLP-1 작용제는 미국 특허 제 6,583,111 호에 기재되어 있다. 이 참고문헌에 기재된 특허 바람직한 작용제는 NH₂-His⁷-Ala-Glu-Gly¹⁰-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp¹⁵-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu²⁰-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala²⁵-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala³⁰-Trp-Leu-Val-Lys-Gly³⁵-Arg-Gly³⁷-OH (서열 번호: 2), NH₂-His⁷-Ala-Glu-Gly¹⁰-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp¹⁵-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu²⁰-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala²⁵-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala³⁰-Trp-Leu-Val-Lys-Gly³⁵-Arg-NH₂ (서열 번호: 3), 및 NH₂-His⁷-Val-Glu-Gly¹⁰-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp¹⁵-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu²⁰-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala²⁵-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala³⁰-Trp-Leu-Val-Lys-Gly³⁵-Arg-Gly-OH (서열 번호: 4)를 포함한다.

콘주게이트로서 유용한 제제의 또 다른 예에는 WO 01/23420에 기재된 것들이 제한 없이 포함된다. 이 참고문헌에 기재된 바와 같은 다수의 하기 폴리펩티드들은 통상적인 고체상-기반 합성 기술(Michael W. Pennington & Ben M. Dunn의 Peptide Synthesis Protocols (1994), Volume 35에 기재된 것) 및/또는 재조합-기반 기술로 제조할 수 있다. 특허 바람직한 서열은 하기와 같다.

폴리펩티드

서열 번호 :

Ac-HSDAVFTENYTKLRKQNIeAAKKYLNDLKKGGT-NH ₂	5
Ac-HSDAVFTENYTKLRKQLAAKKYLNDLKKGGT-NH ₂	6
Ac-HSDAVFTENYTKLRKQLAAKKYLNDLKKGGT	7
HSDAVFTENYTKLRKQLAAKKYLNDLKKGGT	8
Ac-HSDAVFTEN(CH30-Y)TKLRKQNIeAAKKYLNDLKK-NH ₂	9
HSDAVFTENYTKLRKQLAAKKYLNDLKK	10
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSIKK-NH ₂	11
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSIKKGGT	12
HSDAVFTENYTKLRKQLAAKKYLNDLLNGGT	13
HSDAVFTDNYTKLRKQLAAKKYLNDILNGGT	14
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNDIKKGGT	15
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNDIKK-NH ₂	16
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNDLKKGGT	17
HSDAVFTENYTKLRKQLAAKKYLNDLKKGGTSWCEPGWCR	18
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNDIKKGGT	19
HSDAVFTDNYTRLRKQLAVKKYLNDIKKGGT	20
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNSIKKGGT	21
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNDIKNGGT	22
HSDAVFTDNYTRLRKQLAVKKYLNSIKKGGT	23
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKKGGT	24
HSDAVFTDNYTRLRKQLAVKKYLNDIKNGGT	25
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNSIKNGGT	26
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNDIKKGG	27
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNDIKK	28
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNDIKK	29
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNDIKKQ	30
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNDIKKNQ	31
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNDIKKKRY	32
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSIKK	33
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSIKN	34
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSILK	35
HSDAVFTDNYTELRKQMAVKKYLNSILN	36
HSDAVFTDNYTRLREOMAVKKYLNSILN	37
HSDAVFTDNYTRLRKQLAVKKYLNSILN	38
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSILN	39
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNDILN	40
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKN	41
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSILK	42
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKK	43
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKKKRY	44
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKKKR	45
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSI KKK	46

HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKRY	47
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSIKKKRY	48
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSIKKKR	49
DAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLN SIKKK	50
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSIKNKRY	51
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKK	52
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLQTIKK	53
HSDGIFTESYSRYRKQMAVKKYLAALKKKRYKQVRVKNK	57
HSDAVFTENYTRLRKQMAVKKYLNSLKK-NH ₂	58
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLSAVRHGQT-NH ₂	59
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVKQGGT-NH ₂	60
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVKKYLAAVRHG-NH ₂	61
SWCEPGWCRHSDAVFTENYTKLRKQLAAKKYLNDLKKGGT	62
HSDAVFTDNYTRLRKOLAAKKYLNDILKGGT	63
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNDILNGGT	64
HSDAVFTDNYTRLRKQLAVKKYLNDILKGGT	65
HSDGIFTDSYSRYRKQLAAKKYLADVKKGGT	66
HSDGIFTDSYSRYRKQLAAKKYLADVKK	67
HSDGIFTDSYSRYRKQLAVKKYLAAVKK	68
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVKK	69
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLNSIKK	70
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKR	71
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKNKRY	72
HSDAVFTDNYTRLRKQLAAKKYLNTIKNKRY	73
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLNSIKNKRY	74
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLQSIKNKRY	75
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNTIKNKRY	76
HSDAVFTDQYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKRY	77
HSDAVFTDQYTRLRKQLAAKKYLNTIKNKRY	78
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAHKYLNSIKNKRY	79
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKHYLNSIKNKRY	80
HSDAVFTDQYTRLRKQLAAHKYLNTIKNKRY	81
HSDAVFTDQYTRLRKOLAAKHYLNTIKNKRY	82
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKKKR	83
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLNSIKKKR	84
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLNSIKNKRY	85
HSDAVFTDNYTRLRKQVAVKKYLQSIKKKR	86
HSDAVFTDNYTRLRKQVAVKKYLQSIKKK	87
HSDAVFTDNYTRLRKQVAVKKYLQSIKNKRY	88
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKKRY	89
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKKR	90
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKK	91
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKNK	92
HSDAVFTDNYTRLRKQVAVKKYLQSIKKRY	93
HSDAVFTDNYTRLRKQVAVKKYLOSILKKR	94

HSDAVFTDNYTRLRKQVAVKKYLSILKK	95
HSDAVFTDNYTRLRKQVAACKYLSILNKRY	97
HSDAVFTDNYTRLRKQVAACKYLSILNKR	98
HSDAVFTDNYTRLRKQVAACKYLSILNK	99
HSDAVFTDNYTRLRKQMAACKYLSIKNKR	100
HSDAVFTDNYTRLRKQMAACKYLSIKNKR	101
HSDAVFTDNYTRLRKQMAEKKYLSIKNKR	102
HSDAVFTDNYTRLRKQMAFKKYLSIKNKR	103
HSDAVFTDNYTRLRKQMAGKKYLSIKNKR	104
HSDAVFTDNYTRLRKQMAHKKYLSIKNKR	105
HSDAVFTDNYTRLRKQMAIKKYLSIKNKR	106
HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKYLSIKNKR	107
HSDAVFTDNYTRLRKQMALKKYLSIKNKR	108
HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKYLSIKNKR	109
HSDAVFTDNYTRLRKQMANKKYLSIKNKR	110
HSDAVFTDNYTRLRKQMAPKKYLSIKNKR	111
HSDAVFTDNYTRLRKQMAQKKYLSIKNKR	112
HSDAVFTDNYTRLRKQMARKKYLSIKNKR	113
HSDAVFTDNYTRLRKQMASKKYLSIKNKR	114
HSDAVFTDNYTRLRKQMATKKYLSIKNKR	115
HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLSIKNKR	116
HSDAVFTDNYTRLRKQMAWKKYLSIKNKR	117
HSDAVFTDNYTRLRKQMAYYKYLSIKNKR	118
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIANKR	119
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSICNKR	120
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIDNKR	121
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIENKR	122
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIFNKR	123
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIGNKR	124
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIHNKR	125
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIINKR	126
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIMNKR	127
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSINNKR	128
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIPNKR	129
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIQNKR	130
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIRNKR	131
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSISNKR	132
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSITNKR	133
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIVNKR	134
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIWNKR	135
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIYNKR	136
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIKNAR	137
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIKNCR	138
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIKNDR	139
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLSIKNER	140

HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNFR	141
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNGR	142
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNHR	143
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNIR	144
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNLR	145
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNMR	146
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNNR	147
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNPR	148
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNQR	149
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNRR	150
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNSR	151
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNTR	152
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNVR	153
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNWR	154
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNYR	155
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKA	156
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKD	157
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKE	158
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKF	159
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKG	160
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKH	161
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKI	162
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKK	163
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKL	164
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKM	165
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKN	166
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKP	167
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKQ	168
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKS	169
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKT	170
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKV	171
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKW	172
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNKY	173
HSDAVFTDNYTRLRKQVAAKKYLQSIKNKRYSWCEPGWCR	174
HSDAVFTDDYTRLRKEVAAKKYLESIKDKRY	175
ESDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVL-NH ₂	176
HKDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVL-NH ₂	177
HSKGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVL-NH ₂	178
HSDKIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVL-NH ₂	179
HSDGKFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVL-NH ₂	180
HSDGIKTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVL-NH ₂	181
HSDGIFKDSYSRYRKQMAVKKYLAAVL-NH ₂	182
HSDGIFTKSYSRYRKQMAVKKYLAAVL-NH ₂	183
HSDGIFTDKYSRYRKQMAVKKYLAAVL-NH ₂	184
HSDGIFTDSKSRYRKQMAVKKYLAAVL-NH ₂	185

HSDGIFTDSYKRYRKQMAVKKYLA AVL-NH ₂	186
HSDGIFTDSYSEYRKQMAVKKYLA AVL-NH ₂	187
HSDGIFTDSYSRKRKQMAVKKYLA AVL-NH ₂	188
HSDGIFTDSYSRYEKQMAVKKYLA AVL-NH ₂	189
HSDGIFTDSYSRYEOMAVKKYLA AVL-NH ₂	190
HSDGIFTDSYSRYRKKMAVKKYLA AVL-NH ₂	191
HSDGIFTDSYSRYRKOKAVKKYLA AVL-NH ₂	192
HSDGIFTDSYSRYRKQMKVKKYLA AVL-NH ₂	193
HSDGIFTDSYSRYRKQMAKKKYLA AVL-NH ₂	194
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVEKYLA AVL-NH ₂	195
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKEYLA AVL-NH ₂	196
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKKLA AVL-NH ₂	197
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYKAA VL-NH ₂	198
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLKAVL-NH ₂	199
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAKVL-NH ₂	200
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLA AKL-NH ₂	201
HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVK-NH ₂	202
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIKNRI	322
HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKKYLNSIKNRI	323
HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKKYLNSIKNRI	324
HSDAVFTDNYTRLRKQMARKKYLNSIKNRI	325
HSDAVFTDNYTRLRKQMASKKYLNSIKNRI	326
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIPNRI	327
HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKKYLNSIPNRI	328
HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKKYLNSIPNRI	329
HSDAVFTDNYTRLRKQMARKKYLNSIPNRI	330
HSDAVFTDNYTRLRKQMASKKYLNSIPNRI	331
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIQNRI	332
HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKKYLNSIQNRI	333
HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKKYLNSIONRI	334
HSDAVFTDNYTRLRKQMARKKYLNSIQNRI	335
HSDAVFTDNYTRLRKQMASKKYLNSIQNRI	336
HSDAVFTDNYTRLRKQMAAKKYLNSIRNRI	337
HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKKYLNSIRNRI	338
HSDAVFTDNYTRLRKQMAKKKYLNSIRNRI	339
HSDAVFTDNYTRLRKQMARKKYLNSIRNRI	340
HSDAVFTDNYTRLRKQMASKKYLNSIRNRI	341

GLP-1 활성을 갖는 펩티드 작용제의 추가 예는 미국 특허 제 6,528,486 호에 기재되어 있으며, 예를 들면, H-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser-(Lys)₆-NH₂ (서열 번호: 342), H-Lys₆-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser-(Lys)₆-NH₂ (서열 번호: 343), H-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Ser-NH₂ (서열 번호: 344), H-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Ser-NH₂ (서열 번호: 345), H-Asn-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Ser-NH₂ (서열 번호: 346), H-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Ser-(Lys)₆-NH₂ (서열 번호: 347), H-(Lys)₆-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Ser-(Lys)₆-NH₂ (서열 번호: 348), 및 H-Asp-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Ser-(Lys)₆-NH₂ (서열 번호: 349)을 포함한다.

모든 아미노산 약어는 하기와 같은 통상적이고 일반적으로 용인되는 형태를 사용한다: 페닐알라닌은 Phe 또는 F; 루신은 Leu 또는 L; 이소루신은 Ile 또는 I; 메티오닌은 Met 또는 M; 발린은 Val 또는 V; 세린은 Ser 또는 S; 프롤린은 Pro 또는 P; 트레오닌은 Thr 또는 T; 알라닌은 Ala 또는 A; 티로신은 Tyr 또는 Y; 히스티딘은 His 또는 H; 글루타민은 Gln 또는 Q;

아스파라긴은 Asn 또는 N; 리신은 Lys 또는 K; 아스파르트산은 Asp 또는 D; 글루탐산은 Glu 또는 E; 시스테인인 Cys 또는 C; 트립토판은 Trp 또는 W; 아르기닌은 Arg 또는 R; 및 글리신은 Gly 또는 G이다. 아세틸화 펩티드는 접두사 "Ac"를 포함한다.

본 발명은 약학적 부형제와 배합된 본원에 기재한 콘주게이트를 포함하는 약학적 제제를 또한 포함한다. 일반적으로, 콘주게이트 자체는 고체 형태(예를 들면, 침전물)인데, 이것을 고체 또는 액체 형태일 수 있는 적당한 약학적 부형제와 배합할 수 있다.

예시적인 부형제에는 제한 없이, 탄수화물, 무기염, 향미생물제, 향산화제, 계면활성제, 완충제, 산, 염기 및 이들의 배합물로 이루어진 군에서 선택된 것들이 포함된다.

당, 유도된 당, 예컨대 알디톨, 알돈산(alldonic acid), 에스테르화 당, 및/또는 당 중합체와 같은 탄수화물이 부형제로서 존재할 수 있다. 특정한 탄수화물 부형제는 예를 들어, 프룩토스, 말토스, 갈락토스, 글루코스, D-만노스, 소르보스 등과 같은 단당류; 락토스, 수크로스, 트레할로스, 셀로비오스 등과 같은 이당류; 라피노스, 멜레지토스, 말토덱스트린, 텍스트린, 녹말 등과 같은 다당류; 및 만니톨, 자일리톨, 말티톨, 락시톨, 소르비톨(글루시톨), 피라노실 소르비톨, 미오이노시톨 등과 같은 알디톨을 포함한다.

부형제에는 또한 시트르산, 소듐 클로라이드, 포타슘 클로라이드, 소듐 설페이트, 포타슘 니트레이트, 소듐 포스페이트 모노베이직, 소듐 포스페이트 디베이직 및 이들의 배합물과 같은 무기염 또는 완충제가 포함될 수 있다.

제제는 미생물의 성장을 방해하거나 지연시키기 위한 향미생물제를 또한 포함할 수 있다. 본 발명에 적합한 향미생물제의 비제한적 예는 벤잘코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드, 벤질 알코올, 세틸피리디늄 클로라이드, 클로로부탄올, 페놀, 페닐에틸 알코올, 페닐메큐릭 니트레이트, 티머졸 및 이들의 배합물을 포함한다.

향산화제 또한 제제에 존재할 수 있다. 향산화제는 산화를 방지함으로써, 콘주게이트 또는 제제의 기타 다른 성분들의 열화를 방지하는 데 사용된다. 본 발명에서 사용하기에 적합한 향산화제는 예를 들어, 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화 히드록시안니솔, 부틸화 히드록시톨루엔, 히포포스포러스산, 모노티오글리세롤, 프로필 갈레이트, 소듐 비셀파이트, 소듐 포름알데히드 술폰실레이트, 소듐 메타비셀파이트, 및 이들의 배합물을 포함한다.

계면활성제가 부형제로서 존재할 수 있다. 예시적인 계면활성제는 하기를 포함한다: 폴리소르베이트, 예컨대 "Tween 20" 및 "Tween 80", 및 플루로닉스, 예컨대 F68 및 F88[둘다 뉴저지 마운트 올리브에 소재한 바스프(BASF)로부터 입수가능함]; 소르비탄 에스테르; 지질, 예컨대 인지질, 예컨대 레시틴 및 기타 다른 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민(바람직하게 리포솜 형태가 아니지만), 지방산 및 지방성 에스테르; 스테로이드, 예컨대 콜레스테롤; 및 킬레이트제, 예컨대 EDTA, 아연 및 다른 적합한 양이온.

산 또는 염기가 제제에 부형제로서 존재할 수 있다. 사용할 수 있는 산의 비제한적 예에는 염산, 아세트산, 인산, 시트르산, 말산, 젖산, 포름산, 트리클로로아세트산, 질산, 과염소산, 황산, 푸마르산, 및 이들의 배합물로 이루어진 군에서 선택된 것들이 포함된다. 적합한 염기의 예로는 수산화 나트륨, 아세트산 나트륨, 수산화 암모늄, 수산화 칼륨, 아세트산 암모늄, 아세트산 칼륨, 인산 나트륨, 인산 칼륨, 시트르산 나트륨, 포름산 나트륨, 황산 나트륨, 황산 칼륨, 푸마르산 칼륨, 및 이들의 배합물로 이루어진 군에서 선택된 염기가 포함되나 이에 한정되는 것은 아니다.

약학적 제제는 모든 유형의 제형을 포함하고, 특히 예를 들면, 현탁액 및 용액뿐만 아니라 물을 타서 사용할 수 있는 파우더와 같이 주사용으로 적합한 것들을 포함한다. 조성물 내 콘주게이트(즉, 본원에 기재된 활성제와 중합체 사이에서 형성된 콘주게이트)의 함량은 다수의 인자에 따라 달라질 것이지만, 상기 조성물을 단위 투여량 용기(예를 들면, 바이알)에 저장하였을 때 치료적 유효량이 되는 양이 최적일 것이다. 또한, 약학적 제제는 주사기에 수용할 수 있다. 치료적 유효량은 콘주게이트의 함량을 증가시키면서 반복 투여하여 어떤 함량이 임상적으로 바람직한 종말점을 나타내는지를 측정함으로써 실험적으로 결정될 수 있다.

조성물 내 임의의 개별적 부형제의 함량은 부형제의 활성 및 조성물의 특정한 필요에 따라 달라질 것이다. 전형적으로, 임의의 개별적 부형제의 최적 함량은 통상적인 실험을 통해서, 즉 다양한 함량(낮은 함량부터 높은 함량까지)의 부형제를 포함하는 조성물의 제조하여, 안정성 및 다른 매개변수들을 시험한 다음, 유의적인 부작용 없이 최적 성능이 얻어지는 범위를 측정함으로써 결정된다.

그러나, 일반적으로 조성물에서 부형제는 약 1 내지 약 99 중량%, 바람직하게는 약 5 내지 약 98 중량%, 보다 바람직하게는 약 15 내지 약 95 중량%, 가장 바람직하게는 30 중량% 미만의 농도로 존재한다.

전술한 이들 약학적 부형제는 다른 부형제들과 함께 문헌 ["Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19th ed., Williams & Williams, (1995), the "Physician's Desk Reference", 52nd ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), and Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Edition, American Pharmaceutical Association, Washington, D. C., 2000]에 기재되어 있다.

본 발명의 약학적 제제는 필수적인 것은 아니지만 전형적으로는, 주사를 통해서 투여되기 때문에 일반적으로 투여 직전에 액체 용액 또는 현탁액으로 만든다. 약학적 제제는 또한 시럽, 크림, 연고, 정제, 분말 등과 같은 다른 형태도 취할 수 있다. 폐, 직장, 경피, 경점막, 경구, 수막강내, 피하, 동맥내 등과 같은 다른 투여 모드 또한 포함된다.

전술한 바와 같은 콘쥬게이트는 정맥내 주사, 또는 덜 바람직하게는 근육내 주사 또는 피하 주사에 의해 비경구적으로 주사되어 투여될 수 있다. 비경구 투여에 적합한 제형에는 다른 것들 중에서도, 즉시 주사가 가능한 용액, 사용 전에 용매와 배합하는 건조 파우더, 즉시 주사가 가능한 현탁액, 사용 전에 비히클과 배합하는 건조 불용성 조성물, 및 에멀션과 투여 전에 희석하는 액체 농축물 등이 포함된다.

본 발명은 또한 콘쥬게이트 치료에 반응하는 증상을 겪고 있는 환자에게 본원에 제공된 콘쥬게이트를 투여하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로 주사를 통하여 치료적 유효량의 콘쥬게이트(바람직하게는 약학적 제제의 일부분으로서 제공됨)를 투여하는 것을 포함한다. 투여 방법은 특정 콘쥬게이트의 투여에 의해 치료 또는 예방될 수 있는 임의의 증상을 치료하는데 사용할 수 있다. 당업자라면 특정 콘쥬게이트가 효과적으로 치료할 수 있는 증상을 인식하고 있을 것이다. 투여되는 실제 양은 치료할 증상의 심각성, 전문의료인의 판단, 및 투여되는 콘쥬게이트뿐 아니라 환자의 나이, 체중, 및 일반적인 상태에 따라 달라질 수 있다. 치료적 유효량은 당업자에게 공지되어 있으며/거나 적당한 참고문헌 및 논문에 기재되어 있다. 일반적으로, 치료적 유효량은 약 0.001 mg 내지 100 mg, 바람직하게는 0.01 mg/일 내지 75 mg/일, 및 보다 바람직하게는 0.10 mg/일 내지 50 mg/일 범위일 것이다.

임의의 주어진 콘쥬게이트(이 또한 역시, 바람직하게는 약학적 제제의 일부분으로서 제공됨)의 단위 투여량은 임상적 판단, 환자의 요구 등에 따라 다양한 투약 계획으로 투여될 수 있다. 특정 투약 계획은 당업자에게 공지되어 있을 것이며, 그렇지 않으면 통상적인 방법을 사용하여 실험적으로 결정할 수 있다. 예시적인 투약 계획은 1 일에 5 회, 1 일에 4 회, 1 일에 3 회, 1 일에 2 회, 1 일에 1 회, 1 주에 3 회, 1 주에 2 회, 1 주에 1 회, 1 개월에 2 회, 1 개월에 1 회, 및 이들의 임의 조합을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다. 일단, 임상적인 종말점에 이르면, 조성물의 투약을 중지한다.

본 발명의 콘쥬게이트 투여의 1 가지 장점은 개별적 수용성 중합체 부위를 절단할 수 있다는 것이다. 이러한 결과는 중합체 크기 때문에 체내로부터의 제거가 잠재적으로 문제가 될 때 유용하다. 임의적으로, 각 수용성 중합체 부위의 절단은 우레탄, 아미드, 카르보네이트 또는 에스테르 함유 연결과 같은, 생리학적절단성 및/또는 효소학적 분해성 연결을 사용함으로써 촉진된다. 이러한 방식에 있어서, 콘쥬게이트의 제거율(개별적 수용성 중합체 부위의 절단을 통한)은 목적인 제거 특징을 제공하는 중합체 분자 크기 및 관능기 유형을 선택함으로써 조절될 수 있다. 당업자라면 절단성 관능기뿐 아니라 중합체의 적절한 분자 크기를 결정할 수 있다. 예를 들어, 당업자는 통상적인 실험을 사용하여, 먼저 상이한 중합체 중량 및 절단성 관능기를 가진 다양한 중합체 유도체를 제조한 다음, 상기 중합체 유도체를 환자에게 투여하고 주기적인 혈액 및/또는 소변 시료를 채취하여 제거율 프로파일을 획득함으로써(예를 들면, 주기적인 혈액 또는 소변 샘플링을 통해), 적절한 분자 크기 및 절단성 관능기를 결정할 수 있다. 일단 각 시험 콘쥬게이트에 대한 일련의 제거율 프로파일은 획득되면, 적합한 콘쥬게이트를 확인할 수 있다.

본 발명을 바람직한 특정 구현예와 관련하여 설명하였지만, 전술한 내용뿐만 아니라 하기 실시예는 단지 설명을 위한 것으로서 본 발명의 범위를 제한하려는 것은 아니다. 다른 측면에서, 본 발명의 범위에 속하는 장점 및 변형은 본 발명이 속하는 분야의 숙련자에게 자명할 것이다.

여기에 언급된 모든 논문, 서적, 특허, 특허 출원, 및 공개공보는 그 전체내용이 본원에서 참조인용된다.

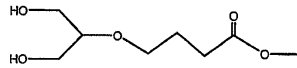
실시예

본 발명의 실시예에 있어서는, 달리 지시하지 않는 한, 당업계의 기술에 속하는 유기 합성 등의 통상적인 기술을 사용할 것이다. 상기 기술은 문헌에 충분히 설명되어 있다. 예를 들면, 전술한 문헌 [J. March, Advanced Organic Chemistry: Reactions Mechanisms and Structure, 4th Ed. (New York: Wiley- Interscience, 1992)]를 참고하라.

하기 실시예에서, 숫자(예를 들어, 합량, 온도 등)의 사용과 관련하여 정확성을 기하기 위하여 노력하였으나, 일부 실험적 오류 및 편차는 감안하여야 한다. 달리 지시하지 않는 한, 온도는 섭씨이고 압력은 해면에서의 대기압 또는 그 근처이다. 모든 시약은 달리 지시하지 않는 한 시판용이었다. 본원 전체에서 하기의 약어를 사용하였다.

실시예 1

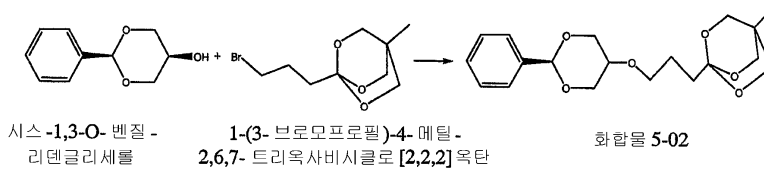
글리세롤계 전구체 분자의 제조



글리세롤계 전구체 분자 (화합물 8-02)

시스-1,3-O-벤질리덴글리세롤(7.2 g, 0.040 mol)(Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO)의 톨루엔(100 ml) 용액을 톨루엔의 증류에 의해서 공비 건조시켰다. 건조된 화합물을 무수 톨루엔(100 ml) 및 포타슘 tert-부톡사이드의 1.0 M tert-부탄올 용액(60 ml, 0.060 mol)에 용해시키고, 1-(3-브로모프로필)-4-메틸-2,6,7-트리옥사비시클로[2,2,2]옥탄(14.0 g, 0.0558 mol)을 첨가한 다음, 이 혼합물을 아르곤 대기하 100 °C에서 하룻밤 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 감압하에서 용매를 증류시켜, 15.7 g의 고체 산물(화합물 5-02)을 수득하였다. NMR (d₆-DMSO): 0.74 ppm (s, 3H), 1.61 ppm (m, 4H), 1.88 ppm (m, 2H), 3.44 ppm (t, 2H), 3.81 ppm (s, 6H), 4.05 ppm (m, 4H), 5.55 ppm (s, 1H), 7.37 ppm (m, 5H).

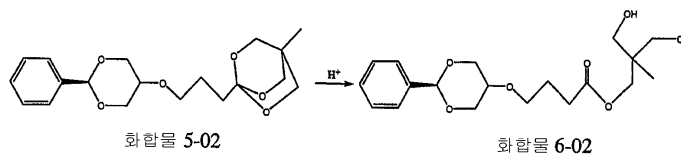
반응을 하기와 같이 반응식으로 나타냈다.



5-02의 가수분해. 화합물 5-02(15.0 g)를 아세트니트릴(150 ml)과 증류수(35 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 다음으로, H₃PO₄의 10 % 용액을 첨가하여 pH를 4.5로 조정하였다. 혼합물을 pH = 4.5에서 1 시간 동안 교반하였다. NaCl(2 g)을 첨가하고 pH를 7.5로 조정하였다. CH₂Cl₂(600 및 150 ml)로 산물을 추출하였다.

추출물을 건조시키고(MgSO₄) 감압하에서 용매를 증류시켜, 고체 산물(화합물 6-02)을 수득하였다. 수율은 14.2 g으로 측정되었다. NMR (d₆-DMSO): 0.78 ppm (s, 3H), 1.79 ppm (m, 2H), 2.41 ppm (t, 2H), 3.25 ppm (m, 6H), 3.49 ppm (t, 2H), 4.05 ppm (m, 4H), 4.48 ppm (t, 3H), 5.56 ppm (s, 1H), 7.37 ppm (m, 5H).

반응을 하기와 같이 반응식으로 나타냈다.

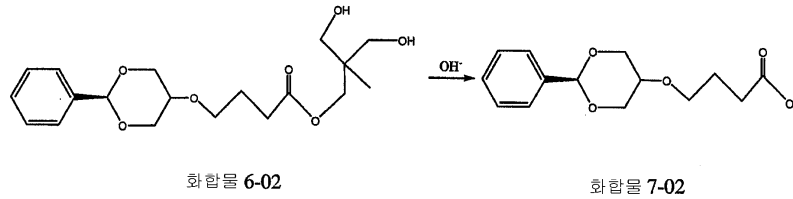


화합물 6-02(14.2 g)를 아세트니트릴(80 ml)과 증류수(80 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 다음으로, NaOH의 6 % 용액을 첨가하여 pH를 12.5로 조정하였다. NaOH의 6 % 용액을 주기적으로 첨가함으로써 유지시킨 12.3 내지 12.8 범위의 pH에

서 용액을 5.5 시간 동안 교반하였다. NaCl(5 g)을 첨가하고 5 % H₃PO₄를 사용하여 pH를 7.5로 조정하였다. CH₂Cl₂(처음에는 300 ml를 사용하고 다음에는 200 ml를 사용하여 2 회 처리)로 비산성 불순물을 추출하였다. H₃PO₄로 용액의 pH를 3으로 조정하고, CH₂Cl₂(처음에는 200 ml를 사용하고 다음에는 100 ml를 사용하여 2 회 처리)로 산물을 추출하였다.

추출물을 건조시키고(MgSO₄) 감압하에서 용매를 증류시켰다. 생성된 산물(화합물 7-02)의 수율은 8.7 g이었다. NMR (d₆-DMSO): 1.76 ppm (m, 2H), 2.31 ppm (t, 2H), 3.46 ppm (t, 2H), 4.05 ppm (m, 4H), 5.56 ppm (s, 1H), 7.37 ppm (m, 5H).

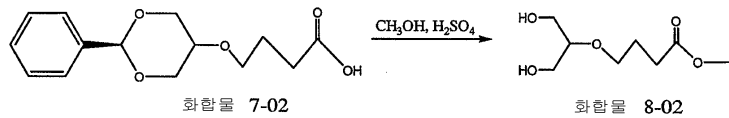
반응을 하기와 같이 반응식으로 나타냈다.



화합물 7-02(8.0 g)를 무수 메탄올(120 ml)에 용해시키고, 용해 즉시, 농축 H₂SO₄(1.6 ml)를 첨가하였다. 용액을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. NaHCO₃(8 % 용액)를 첨가하여 혼합물의 pH를 7.5로 조정하였다. CH₂Cl₂(각각 100 ml를 사용하여 2회 처리)로 산물을 추출하였다.

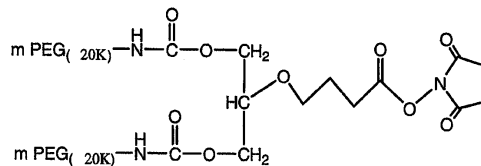
추출물을 건조시키고(MgSO₄) 감압(0.05 mmHg)하 60°C에서 휘발성 화합물을 증류시켰다. 생성된 산물(화합물 8-02)의 수율은 4.8 g이었다. NMR (d₆-DMSO): 1.72 ppm (m, 2H), 2.37 ppm (t, 2H), 3.20 ppm (m, 1H), 3.42 ppm (bm, 4H), 3.49 ppm (t, 2H), 3.59 ppm (s, 3H), 4.46 ppm (t, 2H).

반응을 하기와 같이 반응식으로 나타냈다.



실시예 2

"mPEG_{2(40K)}-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르"의 제조



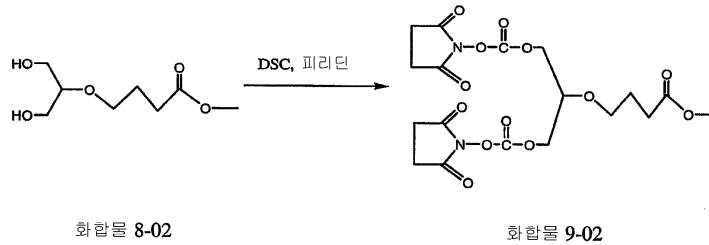
[상기 식에서, mPEG_(20K)는 분자량이 20,000 돌턴인 PEG를 지칭함]

"mPEG_{2(40K)}-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르"

전구체 분자 내 히드록실기의 활성화. 화합물 8-02(2.0 g, 0.0208 당량)를 무수 아세토니트릴(50 ml)과 무수 피리딘(2.2 ml, 0.272 mol)에 용해시킨 다음, N,N-디숙신이미딜 카르보네이트(5.86 g, 0.0229 mol, DSC)를 첨가하였다. 용액을 아르곤 대기하 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 그 다음, 혼합물을 여과하고 용매를 증류시켰다. 조생성물을 CH₂Cl₂(50

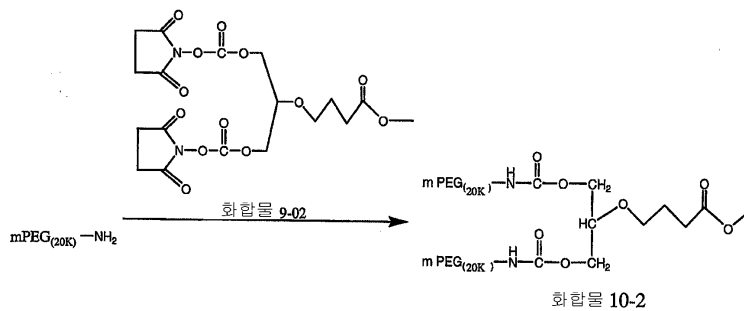
ml)에 용해시키고, 5 % H₃PO₄ 용액으로 세척하였다. 그 다음, 용액을 건조시키고(MgSO₄), 용매를 증류시켰다. 생성된 산물(화합물 9-02)의 수율은 2.8 g이었다. NMR (d₆-DMSO): 1.76 ppm (m, 2H), 2.35 ppm (t, 2H), 2.82 ppm (s, 8H), 3.56 ppm (t, 2H), 3.58 ppm (s, 3H), 3.96 ppm (m, 1H), 4.37 ppm (m, 2H), 4.52 ppm (m, 2H).

반응을 하기와 같이 반응식으로 나타냈다.



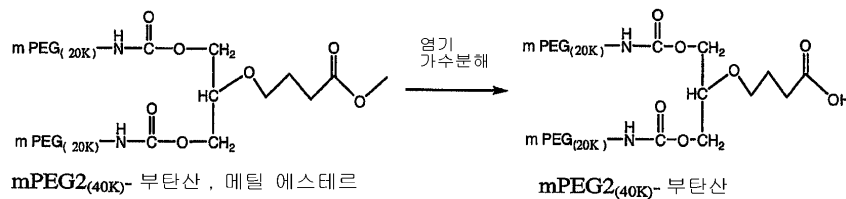
활성화 전구체와 아민 함유 수용성 중합체의 커플링. mPEG_(20K)-아민(11 g, 0.00055 mol)(Nektar Therapeutics, Huntsville, AL), 아세토니트릴(70 ml), 및 트리에틸아민(0.15 ml)의 혼합물에 화합물 9-02(0.119 g, 0.00050 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 아르곤 대기하 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 그 다음, 감압하에서 용매를 증류시켰다.

반응을 하기와 같이 반응식으로 나타냈다.



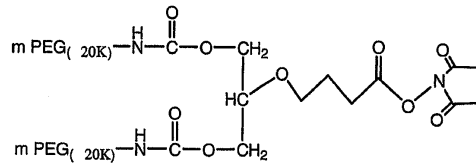
PEG2_(40K)-부탄산의 탈보호 단계 및 크로마토그래피 정제. 수득된 화합물 10-2(본원에서 PEG2_(40K)-부탄산, 메틸 에스테르로 지칭됨)를 증류수 150 ml에 용해시키고, 5 % NaOH 용액을 사용하여 용액의 pH를 12.2로 조정하였다. 용액을 pH를 12.0 내지 12.2 범위의 pH에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 그 다음, NaCl(10 g)을 첨가하고, 5 % H₃PO₄ 용액을 사용하여 pH를 2.5로 조정하였다. CH₂Cl₂ 처리하여 산물을 추출하였다. 추출물을 건조시키고(MgSO₄), 용매를 감압하에서 증류시켜, 9 g의 고체 산물을 수득하였다. 이온 교환 크로마토그래피: PEG2_(40K)-부탄산 85 %, mPEG_(20K) 아민 10 %. 산물을 미국 특허 제 5,932,462 호에 기재된 이온 교환 크로마토그래피를 통해 정제하여, 순도 100 % 산물을 수득하였다. NMR (d₆-DMSO): 1.72 ppm (q, 2H), 2.24 ppm (t, 2H), 3.24 ppm (s, 6H), 3.51 ppm (s, PEG 골격), 3.99 ppm (m, 4H), 7.19 ppm (t, 2H).

반응을 하기와 같이 반응식으로 나타냈다.



mPEG2_(40K)-부탄산은 중합체-활성제 콘주게이트 형성 반응의 중합체성 시약으로 사용할 수 있다. 또한, mPEG2_(40K)-부탄산을 추가 반응시켜 카르복실산 이외의 관능기를 갖는 중합체성 시약을 제공할 수 있다. 예를 들어, mPEG2_(40K)-부탄산의 해당하는 N-히드록시숙신이미드 에스테르뿐만 아니라 알데히드, 말레이미드, 및 티올 유도체를 하기와 같이 제조하였다.

mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르의 제조

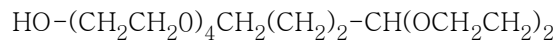


mPEG2_(40K)-부탄산(9.0 g, 0.000225 mol)(전술한 바와 같이 제조한 것)을 무수 디클로로메탄(70 ml)에 용해시키고, N-히드록시숙신이미드(0.0285 g, 0.000248 mol) 및 1,3-디시클로카르보이미드(0.0510 g, 0.000247 mol)를 첨가하였다. 혼합물을 아르곤 대기하 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 그 다음, 용매의 일부를 감압하에서 증류시키고, 이소프로필 알코올을 사용하여 실온에서 산물을 침전시킨 다음, 진공하에서 건조시켜, 8.6 g의 백색 분말을 수득하였다. NMR (d₆-DMSO): 1.81 ppm (q, 2H), 2.70 ppm (t, 2H), 2.81 ppm (s, 4H), 3.24 ppm (s, 6H), 3.51 ppm (s, PEG 골격), 3.99 ppm (m, 4H), 7.22 ppm (t, 2H).

실시예 3

"mPEG2_(40K)-부티르알데히드"의 제조

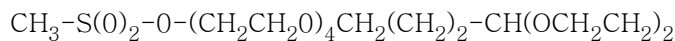
테트라(에틸렌 글리콜) 모노-부티르알데히드, 디에틸 아세탈의 제조



테트라(에틸렌 글리콜)(97.1 g, 0.500 mol)과 톨루엔(200 ml)의 혼합물을 감압하에서 톨루엔의 증류에 의해 공비 건조시켰다(회전식 증발기). 건조된 테트라(에틸렌 글리콜)을 무수 톨루엔(180 ml) 및 포타슘 tert-부톡사이드의 1.0 M tert-부탄올 용액(120.0 ml, 0.120 mol)에 용해시키고, 4-클로로부티알데히드 디에틸 아세탈(18.1 g, 0.100 mol)(Alfa Aesar, Ward Hill, MA)을 첨가하였다. 이 혼합물을 아르곤 대기하 95 내지 100 °C에서 하룻밤 동안 교반하였다. 실온까지 냉각시킨 후, 혼합물을 여과하고, 감압하에서 용매를 증류시켰다. 조생성물을 1000 ml 탈이온수에 용해시키고, 생성된 용액을 활성 탄소를 통해서 여과시켰다. 염화 나트륨(100 g)을 첨가하고, 산물을 디클로로메탄(250, 200, 및 150 ml)으로 추출하였다. 추출물을 건조시키고(MgSO₄ 상에서), 용매를 감압하에서 증류시켰다(회전식 증발기 사용).

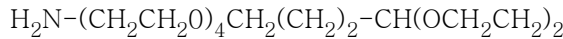
조생성물을 300 ml의 10 % 포스페이트 완충액(pH = 7.5)에 용해시키고, 에틸 아세테이트(2 x 50 ml)를 사용하여 불순물을 추출하였다. 생성된 산물을 디클로로메탄(200, 150, 및 100 ml)으로 추출하였다. 추출물을 건조시키고(MgSO₄ 상에서), 용매를 감압하에서 증류시켰다(회전식 증발기 사용). 수율: 20.3 g. NMR (d₆-DMSO): 1.10 ppm (t, CH₃-C-), 1.51 ppm (m, C-CH₂-CH₂-), 3.49 ppm (bm, -OCH₂CH₂O-), 4.46 ppm (t, -CH, 아세탈), 4.58 ppm (t, -OH). 순도: 약 100 %(미반응 시초 물질의 징후가 없음).

테트라(에틸렌 글리콜)-α-메실레이트-ω-부티르알데히드, 디에틸 아세탈의 제조



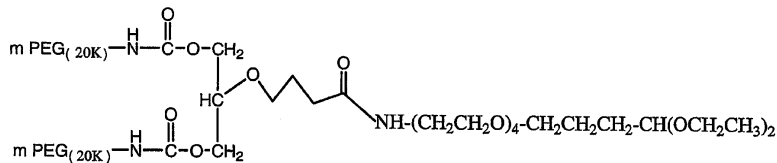
테트라(에틸렌 글리콜) 모노-부티르알데히드, 디에틸 아세탈(12.5 g, 0.037 mol)과 톨루엔(120 ml)의 혼합물을 감압하에서 톨루엔의 증류에 의해 공비 건조시켰다(회전식 증발기). 건조된 테트라(에틸렌 글리콜) 모노-부티르알데히드, 디에틸 아세탈을 무수 톨루엔(100 ml)에 용해시켰다. 용액에 20 ml의 무수 디클로로메탄 및 5.7 ml의 트리에틸아민(0.041 mol)을 첨가하였다. 그 다음, 4.5 g의 메탄술포닐 클로라이드(0.039 mol)를 점적식으로 첨가하였다. 용액을 질소 대기하 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 다음에, 탄산 나트륨(5 g)을 첨가하고, 혼합물을 1 시간 동안 교반하였다. 그 다음, 용액을 여과하고, 용매를 감압하에서 증류시켰다(회전식 증발기). NMR (d₆-DMSO): 1.10 ppm (t, CH₃-C-), 1.51 ppm (m, C-CH₂-CH₂-), 3.17 ppm (s, CH₃-메탄술포네이트), 3.49 ppm (bm, -OCH₂CH₂O-), 4.30 ppm (m, -CH₂-메탄술포네이트), 4.46 ppm (t, -CH, 아세탈). 순도: 약 100 %.

테트라(에틸렌 글리콜)- α -아미노- ω -부티르알데히드, 디에틸 아세탈



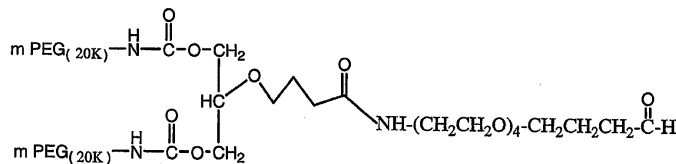
테트라(에틸렌 글리콜)- α -메실레이트- ω -부티르알데히드, 디에틸 아세탈(14.0 g), 농축 수산화 암모늄(650 ml), 및 에틸 알코올(60 ml)의 혼합물을 실온에서 42 시간 동안 교반하였다. 그 다음, 모든 휘발성 물질을 감압하에서 증류시켰다. 조생성물을 150 ml의 탈이온수에 용해시키고, 1.0 M NaOH를 사용하여 용액의 pH를 12로 조정하였다. 산물을 디클로로메탄(3 x 100 ml)으로 추출하였다. 추출물을 건조시키고(MgSO₄), 용매를 감압하에서 증류시켰다(회전식 증발기). 수율: 10.6 g. NMR (D₂O): 1.09 ppm (t, CH₃-C-), 1.56 ppm (m, C-CH₂-CH₂-), 2.69 ppm (t, CH₃-N), 3.56 ppm (bm, -OCH₂CH₂O-), 4.56 ppm (t, -CH-, 아세탈). 순도: 약 100 %.

분지형 mPEG2(40.3 KDa)-부티르알데히드, 디에틸 아세탈



mPEG2(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르(실시예 2)(5.0 g, 0.000125 mol)의 염화 메틸렌 용액(100 ml)에 테트라(에틸렌 글리콜)- α -아미노- ω -부티르알데히드, 디에틸 아세탈(0.050 g, 0.000148 mol) 및 트리에틸아민(0.035 ml)을 첨가하고, 이 반응 혼합물을 아르곤 대기하 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 회전식 증발기를 사용하여 용매를 증발시킴으로써 건조시켰다. 조생성물을 염화 메틸렌에 용해시키고, 이소프로필 알코올로 침전시켰다. 습윤 산물을 감압하에서 건조시켰다. 수율: 4.8 g. NMR (d₆-DMSO): 1.10 ppm (t, 6H), 1.51 ppm (m, 4H), 1.67 ppm (m, 2H), 2.12 ppm (t, 2H), 3.12 ppm (q, 4H), 3.24 ppm (s, 3H), 3.51 ppm (s, PEG 골격), 3.99 ppm (m, 4H), 4.46 ppm (t, 1H, 아세탈), 7.22 ppm (t, 2H), 7.82 ppm (t, 1H). 치환율: 약 100 %.

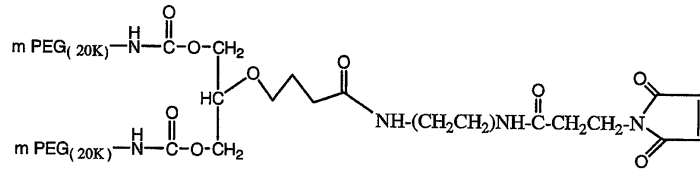
분지형 mPEG2(40.3 KDa)-부티르알데히드



분지형 PEG2(40.3 KDa)-부티르알데히드, 디에틸 아세탈(4.8 g)을 물 100 ml에 용해시키고, 희석 인산을 사용하여 용액의 pH를 3으로 조정하였다. 용액을 실온에서 3 시간 동안 교반한 다음, 용액의 pH를 약 7로 조정하기에 충분한 양의 0.5 M 수산화 나트륨을 첨가하였다. 산물(분지형 mPEG2(40.3 KDa)-부티르알데히드)을 염화 메틸렌으로 추출하고, 이 추출물을 무수 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 용매를 감압하에서 증류시켰다. 수율: 4.2 g. NMR (d₆-DMSO): 1.67 ppm (m, 2H), 1.76 ppm (p, -CH₂-CH₂-CHO-, 2H), 2.11 ppm (t, 2H), 2.44 ppm (dt, -CH₂-CHO), 3.24 ppm (s, -OCH₃, 6H), 3.51 ppm (s, PEG 골격), 3.99 ppm (m, 4H), 7.24 ppm (t, 2H), 7.83 ppm (t, 1H), 9.66 ppm (t, -CHO). 치환율: 약 100 %.

실시예 4

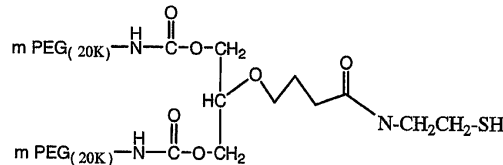
"mPEG2(40K)-말레이미드"의 제조



mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르(실시예 2)(5.0 g, 0.000125 mol)의 무수 아세토니트릴 용액(100 ml)에 트리플루오로아세트산 염 형태의 N-(3-말레이미드프로피온아미도)에틸렌디아미드(0.042 g, 0.000129 mol) 및 트리에틸아민(0.050 ml)을 첨가하고, 이 반응 혼합물을 아르곤 대기하 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 회전식 증발기를 사용하여 용매를 증발시킴으로써 건조시켰다. 조생성물을 소량의 염화 메틸렌에 용해시키고, 이소프로필 알코올로 침전시켰다. 습윤 산물을 감압하에서 건조시켰다. 수율: 4.7 g. NMR (d₆-DMSO): 1.69 ppm (m, 2H), 2.09 ppm (t, 2H), 2.31 ppm (t, 2H), 3.03 ppm (q, 4H), 3.12 ppm (q, 4H), 3.24 ppm (s, 6H), 3.51 ppm (s, PEG 골격), 3.99 ppm (m, 4H), 7.00 ppm (s, 2H, 말레이미드), 7.21 ppm (t, 2H), 7.75 ppm (t, 1H), 7.96 ppm (t, 1H).

실시예 5

"mPEG2_(40K)-티올"의 제조



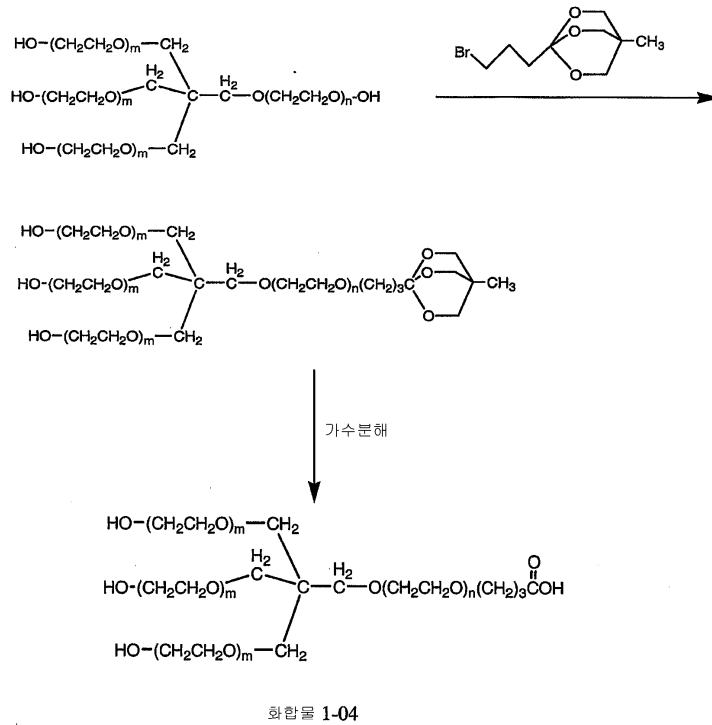
mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르(실시예 2)(5.0 g, 0.000125 mol)의 염화 메틸렌 용액(50 ml)에 시스타민 디히드로클로라이드(0.0142 g, 0.000126 당량) 및 트리에틸아민(0.040 ml)을 첨가하고, 이 반응 혼합물을 아르곤 대기하 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 다음에, 디티오프레이톨(0.054 g, 0.000350 mol) 및 트리에틸아민(0.25 ml)을 첨가하고, 이 혼합물을 아르곤 대기하 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 회전식 증발기를 사용하여 용매를 증발시킴으로써 건조시켰다. 조생성물을 소량의 염화 메틸렌에 용해시키고, 이소프로필 알코올로 침전시켰다. 습윤 산물을 감압하에서 건조시켰다. 수율: 4.8 g. NMR (CDCl₃): 1.68 ppm (m, -SH, 1H), 1.35 ppm (t, 2H), 2.65 ppm (q, -CH₂SH, 2H), 3.15 ppm (q, 6H), 3.36 ppm (s, 6H), 3.65 ppm (s, PEG 골격), 4.15 ppm (m, 4H). 치환율: 약 100 %.

실시예 6

펜타에리트리톨 연결기를 사용한

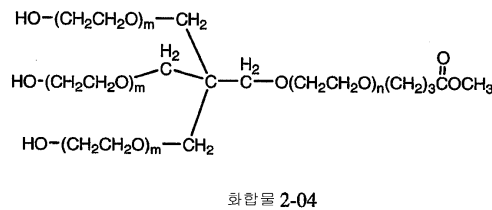
"mPEG3_(60K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르"의 제조

화합물 1-04의 제조



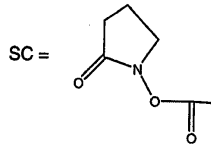
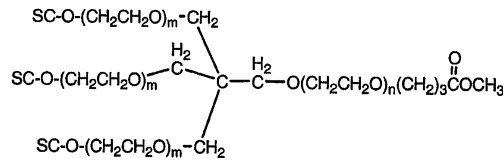
펜타에리트리톨 에톡실레이트(15/4 EO/OH, Mn = 797, Sigma- Aldrich)(100 g, 0.125 mol)과 톨루엔(200 ml)의 혼합물을 감압하에서 톨루엔의 증류에 의해 공비 건조시켰다. 건조된 펜타에리트리톨 에톡실레이트를 무수 톨루엔(150 ml) 및 포타슘 tert-부톡사이드의 1.0 M tert-부탄올 용액(30 ml, 0.03 mol)에 용해시키고, 1-(3-브로모프로필)-4-메틸-2,6,7-트리옥사비시클로[2,2,2]옥탄(6.3 g, 0.025 mol)을 첨가하였다. 그 다음, 이 혼합물을 아르곤 대기하 80 내지 85 °C에서 하룻밤 동안 교반하였다. 실온까지 냉각시킨 후, 혼합물을 여과하고, 감압하에서 용매를 증류시켰다. 조생성물을 800 ml 탈이온수에 용해시켰다. 5 % 인산을 사용하여 용액의 pH를 2로 조정하고, 용액을 실온에서 15 분 동안 교반하였다. 그 다음, 1 M 수산화 나트륨을 사용하여 pH를 12로 조정하고, 1 M 수산화 나트륨을 주기적으로 첨가하여 pH를 12로 유지하면서, 용액을 2 시간 동안 교반하였다. 염화 나트륨(40 g)을 첨가하고, 미반응 펜타에리트리톨 에톡실레이트를 디클로로메탄으로 추출하였다. 그 다음, 5 % 인산을 사용하여 pH를 3으로 조정하고, 산물을 디클로로메탄으로 추출하였다. 추출물을 무수 황산 마그네슘으로 건조시키고, 용매를 감압하에서 증류시켰다. 수율: 15 g. NMR (d₆-DMSO): 1.72 ppm (q, 2H), 2.24 ppm (t, 2H), 3.51 ppm (s, 60H), 4.57 ppm (t, 3H).

화합물 2-04의 제조



화합물 1-04(15 g, 0.017 mol)를 무수 메탄올(300 ml)에 용해시키고, 농축 황산(4 ml)을 첨가하였다. 용액을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. NaHCO₃(8 % 용액)를 첨가하여 혼합물의 pH를 7.5로 조정하였다. 산물을 CH₂Cl₂로 추출하였다. 추출물을 건조시키고(MgSO₄), 휘발성 화합물을 감압하에서 증류시켰다. 수율: 13.5 g. NMR (d₆-DMSO): 1.72 ppm (q, 2H), 2.37 ppm (t, 2H), 3.51 ppm (s, 60H), 4.57 ppm (t, 3H).

화합물 3-04의 제조



화합물 3-04

화합물 2-04(13.5 g, 0.0444 당량)를 무수 아세트니트릴(100 ml) 및 무수 피리딘(4.4 ml, 0.544 mol)에 용해시키고, N,N-디숙신이미딜 카르보네이트(12.40 g, 0.0484 mol)를 첨가하였다. 용액을 아르곤 대기하 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 그 다음, 혼합물을 여과시키고 용매를 증류시켰다. 조생성물을 CH₂Cl₂(200 ml)에 용해시키고, 5 % H₃PO₄ 용액으로 세척하였다. 그 다음, 용액을 건조시키고(MgSO₄), 용매를 증류시켰다. 수율: 16.5 g. NMR (d₆-DMSO): 1.72 ppm (m, 2H), 2.37 ppm (t, 2H), 2.82 ppm (s, 12H), 3.50 ppm (s, 48H), 3.70 ppm (m, 6H), 4.45 (m, 6H).

화합물 4-04(PEG3_(60K)-부탄산, 메틸 에스테르)의 제조. mPEG_(20K)-아민(15 g, 0.00075 mol)(Nektar Therapeutics, Huntsville, AL), 아세트니트릴(70 ml), 및 트리에틸아민(0.15 ml)의 혼합물에 화합물 3-04(0.259 g, 0.00060 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 아르곤 대기하 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 그 다음, 감압하에서 용매를 증류시켰다.

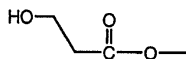
PEG3_(60K)-부탄산의 탈보호 단계 및 크로마토그래피 정제. 화합물 4-04(본원에서 "PEG3_(60K)-부탄산, 메틸 에스테르"로 지칭됨)를 증류수 150 ml에 용해시키고, 5 % NaOH 용액을 사용하여 용액의 pH를 12.2로 조정하였다. 용액을 12.0 내지 12.2 범위의 pH에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 그 다음, NaCl(10 g)을 첨가하고, 5 % H₃PO₄ 용액을 사용하여 pH를 2.5로 조정하였다. CH₂Cl₂ 처리하여 산물을 추출하였다. 추출물을 건조시키고(MgSO₄), 용매를 감압하에서 증류시켜, 13.8 g의 고체 산물을 수득하였다. 이온 교환 크로마토그래피: PEG3_(60K)-부탄산 82 %, M-PEG_(20K)-아민 18 %. 산물을 미국 특허 제 5,932,462에 기재된 이온 교환 크로마토그래피를 통해 정제하여 순도 100 % 산물을 수득하였다. NMR(d₆-DMSO): 1.72 ppm (q, 2H), 2.24 ppm (t, 2H), 3.24 ppm (s, 6H), 3.51 ppm (s, PEG 골격), 3.99 ppm (m, 6H), 7.19 ppm (t, 3H).

mPEG_(60K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르의 제조. 수득된 mPEG3_(60K)-부탄산(전 단계에서 제조한 것)(9.0 g, 0.000225 mol)을 무수 디클로로메탄(70 ml)에 용해시키고, N-히드록시숙신이미드(0.0285 g, 0.000248 mol) 및 1,3-디시클로헥실카르보다이미드(0.0510 g, 0.000247 mol)를 첨가하였다. 혼합물을 아르곤 대기하 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 그 다음, 용매의 일부를 감압하에서 증류시키고, 이소프로필 알코올을 사용하여 실온에서 산물을 침전시킨 다음, 진공하에서 건조시켜, 8.6 g의 백색 분말을 수득하였다. NMR(d₆-DMSO): 1.81 ppm (q, 2H), 2.70 ppm (t, 2H), 2.81 ppm (s, 4H), 3.24 ppm (s, 6H), 3.51 ppm (s, PEG 골격), 3.99 ppm (m, 4H), 7.22 ppm (t, 2H).

실시예 7

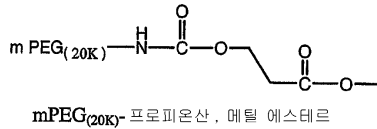
단관능성 mPEG의 제조

단일 수용성 중합체를 함유한 본 발명의 중합체를 제조하였다. 화합물 8-02를 3-히드록시-프로피온산, 메틸 에스테르로 대체한 것을 제외하고는 실시예 2의 절차를 따랐다.



3-히드록시-프로피온산, 메틸 에스테르

생성된 화합물("mPEG-프로피온산, 메틸 에스테르")은 하기 구조를 갖는 것으로 밝혀졌다:



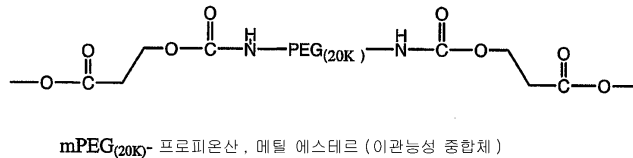
mPEG_(20K)-프로피온산, 메틸 에스테르는 해당 카르복실산을 제공할 수 있다. 예를 들면, 메틸 에스테르를 증류수에 용해시키고, NaOH 용액을 사용하여 pH를 약 12로 조정할 수 있다. 그 다음, 염화 나트륨과 같은 염을 첨가하고, 적절한 산을 사용하여 pH를 약 3으로 조정할 수 있다. 염화 메틸렌 처리를 사용하여 해당 카르복실산(mPEG_(20K)-프로피온산)을 추출하고, 건조시킨 다음, 모든 잔류 용매를 증류시켰다.

mPEG_(20K)-프로피온산은 중합체-활성제 콘주게이트 형성 반응의 중합체성 시약으로 사용할 수 있다. 또한, mPEG_(20K)-프로피온산을 추가 반응시켜 카르복실산 이외의 관능기를 갖는 중합체성 시약을 제공할 수 있다. 예를 들면, 전술한 기술을 사용하여, mPEG_(20K)-프로피온산의 해당 N-히드록시숙신이미드 에스테르(실시예 2 참조), 알데히드(실시예 3 참조), 말레이미드(실시예 4 참조), 및 티올(실시예 5 참조) 유도체를 제조할 수 있다.

실시예 8

호모 이관능성 PEG의 제조

단일 수용성 중합체 부위를 함유한 본 발명의 호모 이관능성 중합체를 제조하였다. mPEG_(20K)-아민을 아민-PEG_(20K)-아민으로 대체한 것을 제외하고는 실시예 7의 절차를 따랐다. 생성된 화합물은 하기 구조를 갖는 것으로 밝혀졌다:



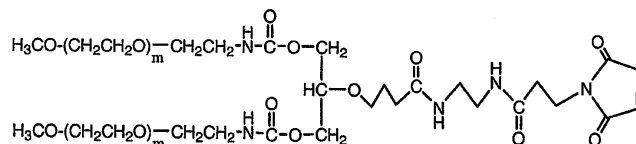
mPEG_(20K)-디프로피온산, 메틸 에스테르는 해당 디카르복실산을 제공할 수 있다. 예를 들면, mPEG_(20K)-디프로피온산, 메틸 에스테르를 증류수에 용해시키고, NaOH 용액을 사용하여 pH를 약 12로 조정할 수 있다. 그 다음, 염화 나트륨과 같은 염을 첨가하고, 적절한 산을 사용하여 pH를 약 3으로 조정할 수 있다. 염화 메틸렌 처리를 사용하여 해당 디카르복실산(mPEG_(20K)-디프로피온산)을 추출하고, 건조시킨 다음, 모든 잔류 용매를 증류시킬 수 있다.

mPEG_(20K)-디프로피온산은 중합체-활성제 콘주게이트(2 개의 활성제를 함유) 형성 반응의 중합체성 시약으로 사용할 수 있다. 또한, mPEG_(20K)-디프로피온산을 추가 반응시켜 카르복실산 이외의 관능기를 갖는 중합체성 시약을 제공할 수 있다. 예를 들면, 전술한 기술을 사용하여, mPEG_(20K)-프로피온산의 해당 디N-히드록시숙신이미드 에스테르(실시예 2 참조), 디알데히드(실시예 3 참조), 디말레이미드(실시예 4 참조), 및 디티올(실시예 5 참조) 유도체를 제조할 수 있다.

실시예 9

콘주게이션

술포드릴 선택성 반응기를 갖는 mPEG_{2(40K)}-말레이미드(실시예 4)를 서열 번호 1 내지 349로 제공된 각각의 폴리펩티드 서열과 반응시켰다.



상기 구조에서, (m)은 약 454이고/거나 각 수용성 중합체의 분자량은 약 20,000 돌턴이며, 그럼으로써 분자량이 약 40,000 돌턴인 시약이 제공된다.

임의의 특정 폴리펩티드에 술포드릴기가 부족한 만큼(예를 들면, 폴리펩티드에 메티오닌 및 시스테인 잔기가 둘 다 부족한 경우), 통상적인 합성 기술을 사용하여 폴리펩티드에 메티오닌 또는 시스테인 잔기를 첨가할 수 있다. 예를 들면, WO 90/12874를 참조한다.

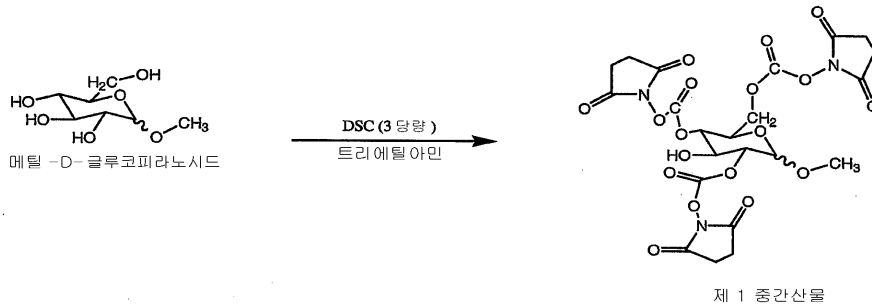
각각의 폴리펩티드에 대해서, 폴리펩티드를 함유한 반응 용기에 과량의 중합체를 첨가하였다. 반응 조건에는 약 7 내지 약 8의 pH 및 실온이 포함되었다. 약 5 시간 후에, 폴리펩티드와 중합체의 콘주게이트가 생성되었다.

실시예 10

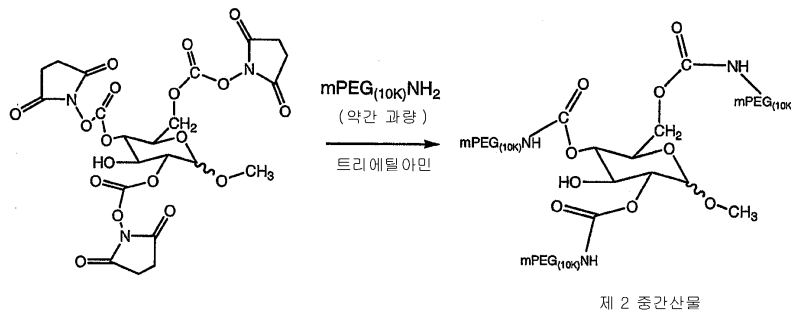
다지형 중합체

하나 이상의 반응기를 함유한 다지형 중합체를 하기와 같이 제조하였다.

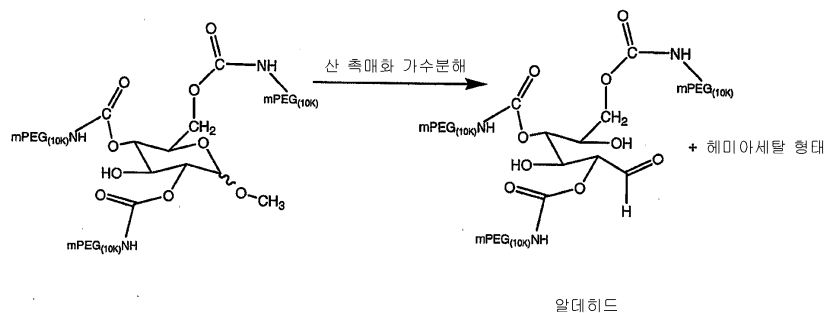
트리에틸아민 내에서 탄산 비스-(2,5-디옥소-피롤리딘-1일)에스테르 3 당량을 메틸-D-글루코피라노시드와 배합하여 하기에 나타낸 바와 같이 제 1 중간산물을 산출시켰다:



그 다음, 제 1 중간산물을 트리에틸아민 존재하에 약간 과량인 mPEG_(10K)-아민에 노출시켜, 하기에 나타낸 바와 같이 제 2 중간산물을 산출시켰다:



그 다음, 제 2 중간산물을 산-촉매화 가수분해시켜, 하기에 나타낸 바와 같이 알데히드 및 헤미아세탈 형태를 산출시켰다:



알데히드는 3개의 10K PEG를 함유함으로써, 총 30K의 분지형 구조를 제공하였다. 이어서, 알데히드는 임의적으로, 산을 통해 다른 유도체로 전환되었다(예를 들어, 알데히드를 약한 산화 조건에 노출시키면 카르복실산이 형성됨).

상기 접근법은 2 개의 가지뿐만 아니라 4 개의 가지를 제공하는 데도 사용할 수 있다.

임의의 주어진 절차 동안에, 물질들의 혼합물(예컨대, 이중 치환되고 일부는 사중 치환된)이 생성될 수 있다. 또한, 임의의 중합체의 위치 이성질체도 생성될 수 있다.

실시예 11

중합체-EPO 콘주게이트의 제조 - EPO의 무작위 PEG화

제조합 에리트로포이에틴인 "EPO"(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이니즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)를 분지형 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

EPO(약 2 mg)를 1 ml의 50 mM 포스페이트 완충액(pH 7.6)에 용해시키고, 분지형 PEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 EPO 몰농도의 5배로 첨가하였다. 환원제로 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 실온에서 24 시간 동안 교반하여, 아민 연결을 통해 분지형 PEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

반응 혼합물을 SDS-PAGE로 분석하여 콘주게이션 정도를 측정하였다. 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간형 (MALDI-TOF) 질량 분광분석기를 통해 콘주게이션 정도를 확인하였다. 천연 종과 단일콘주게이션된 종에 대해 나타난 피크는 대략 40,000 돌턴 정도 차이가 있었다. 생성된 반응 혼합물은 천연 단백질과 단일콘주게이션된 단백질의 혼합물을 함유하였다. 단백질에 대한 PEG 시약의 비율을 증가시키면, 콘주게이션 정도가 증가하였다.

상기 내용은 본 발명의 예시적 단백질의 무작위 PEG화에 의해서 PEG화 EPO 산물의 분포가 수득됨을 증명하였다. 필요하다면, 반응 산물을 추가로 분리시켜, 후술할 개별적 이성질체를 분리해낼 수 있다.

상이한 분자량을 갖는 PEG 콘주게이트를 겔 여과 크로마토그래피를 통해서 분리하였다. 상이한 PEG 콘주게이트를 그들의 상이한 분자량(이 경우, 대략 40,000 돌턴까지 다양함)에 기초하여 분획화하였다. 구체적으로, 분리하는 예컨대 Superdex™200 컬럼(아메르삼 바이오사이언스)으로 관찰된 범위의 분자량을 갖는 산물을 효과적으로 분리하기에 적절한 연속 컬럼 시스템을 사용하여 수행하였다. 산물을 10 ml 아세트이트 완충액을 사용하여 1.5 ml/분의 유속으로 용출시켰다. 수집된 분획(1 ml)을, 단백질 함량에 대해서는 280 nm의 OD를 사용하고, PEG 함량에 대해서는 요오드 시험을 사용하여 분석하였다(Sims et al. (1980) Anal. Biochem. 107: 60-63). 부가적으로, 결과를 SDS PAGE 겔에 전개시킨 다음, 요오드화 바륨으로 염색함으로써 가시화시킬 수 있다. 용출 피크에 해당하는 분획을 수집하고, 멤브레인을 사용하여 초여과에 의해서 농축시킨 다음, 동결건조했다. 이러한 방법으로, 동일한 분자량을 갖는 콘주게이트는 분리/정제되지만, 동일한 분자량 및 상이한 PEG화 부위를 갖는 콘주게이트(즉, 위치 이성질체)는 분리되지 않는다.

위치 이성질체의 분리는 RP-HPLC C18 컬럼(아메르삼 바이오사이언스 또는 비탁)을 사용하여 역상 크로마토그래피에 의해서 수행하였다. 상기 절차는 동일한 분자량을 갖는 PEG-생물분자 이성질체(위치 이성질체)를 분리하는 데 효과적이다. 역상 크로마토그래피는 RP-HPLC C18 예비 컬럼을 사용하여 수행하고, 물/0.05 % TFA(용출액 A) 및 아세트니트릴/0.05 % TFA(용출액 B)의 구배로 용출시켰다.

용출 피크에 해당하는 분획을 수집하고, 증발시켜 아세트니트릴 및 TFA를 제거한 다음, 용매를 제거하여 개별적 위치 PEG-이성질체를 분리하였다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 EPO의 콘주게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 12

중합체-EPO 콘주게이트의 제조 - EPO의 N-말단 PEG화

제조합 에리트로포이에틴인 "EPO"(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이나이즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)를 분지형 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

EPO(약 2 mg)를 1 ml의 0.1 mM 아세트산 나트륨(pH 5)에 용해시키고, mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 EPO 몰농도의 5배로 첨가하였다. 환원제로 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 4 °C에서 24 시간 동안 교반하여, 아민 연결을 통해 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

반응 혼합물을 SDS-PAGE로 분석하여 콘주게이션 정도를 측정하였다. 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간형(MALDI-TOF) 질량 분광분석기를 통해 콘주게이션 정도를 확인하였다. 천연 종과 단일콘주게이션된 종에 대해 나타난 피크는 대략 40,000 돌턴 정도 차이가 있었다. 생성된 반응 혼합물은 주로 천연 단백질과 단일콘주게이션된 단백질의 혼합물을 함유하였다. 단일콘주게이션된 종을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 유리 EPO 및 고분자량 종을 제거하였다.

펩티드 맵핑으로 N-말단 PEG화를 확인하였다. 단백질에 대한 PEG의 비율을 증가시키면, PEG화 정도가 증가하여 다중 콘주게이션된 단백질이 산출되었다.

상기 내용은 본 발명의 예시적 단백질의 PEG화에 의해서 유력하게 N-말단 단일 PEG화 단백질이 산출됨을 증명하였다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 EPO의 콘주게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 13

GCSF의 N-말단 PEG화

제조합 과립구 집락 자극인자인 "GCSF"(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이나이즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)를 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

GCSF(약 2 mg)를 1 ml의 0.1 mM 아세트산 나트륨(pH 5)에 용해시키고, mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 GCSF 몰농도의 5배로 첨가하였다. 환원제로 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 4 °C에서 24 시간 동안 교반하여, 아민 연결을 통해 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

생성된 반응 혼합물을 SDS-PAGE로 분석하여 콘주게이션 정도를 측정하였다. 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간형(MALDI-TOF) 질량 분광분석기를 통해 콘주게이션 정도를 확인하였다. 천연 종과 단일콘주게이션된 종에 대해 나타난 피크는 대략 40,000 돌턴 정도 차이가 있었다. 생성된 반응 혼합물은 주로 천연 GCSF와 단일콘주게이션된 GCSF의 혼합물을 함유하였다. 단일콘주게이션된 GCSF를 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 유리 GCSF 및 고분자량 종을 제거하였다. 펩티드 맵핑으로 N-말단 PEG화를 확인하였다. 단백질에 대한 PEG의 비율을 증가시키면, 콘주게이션 정도가 증가하여 다중콘주게이션된 단백질이 산출되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 GCSF의 콘주게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 14

인터페론-α의 N-말단 PEG화

제조합 인터페론-알파인 "IFN-α"(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이나이즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)를 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

IFN-α(약 2 mg)를 1 ml의 0.1 mM 아세트산 나트륨(pH 5)에 용해시키고, mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 IFN-α 몰농도의 5배로 첨가하였다. 환원제로 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 4 °C에서 24 시간 동안 교반하여, 아민 연결을 통해 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

반응 혼합물을 SDS-PAGE로 분석하여 콘주게이션 정도를 측정하였다. 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간형(MALDI-TOF) 질량 분광분석기를 통해 콘주게이션 정도를 확인하였다. 천연 종과 단일콘주게이션된 종에 대해 나타난

피크는 대략 40,000 돌턴 정도 차이가 있었다. 생성된 반응 혼합물은 주로 천연 단백질과 단일콘주게이션된 단백질의 혼합물을 함유하였다. 단일콘주게이션된 종을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 유리 인터페론- α 및 고분자량 종을 제거하였다. 펩티드 맵핑으로 N-말단 PEG화를 확인하였다. 단백질에 대한 PEG의 비율을 증가시키면, 콘주게이션 정도가 증가하여 다중콘주게이션된 IFN- α 가 산출되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 IFN- α 의 콘주게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 15

인간 성장 호르몬의 N-말단 PEG화

재조합 인간 성장 호르몬인 "hGH"(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이나이즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)를 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

hGH(약 2 mg)를 1 ml의 0.1 mM 아세트산 나트륨(pH 5)에 용해시키고, mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 hGH 몰농도의 5배로 첨가하였다. 5 내지 20배 몰 초과량의 환원제 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 4 °C에서 24 시간 동안 교반하여, 아민 연결을 통해 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

반응의 진행을 SDS-PAGE 또는 MALDI-TOF 질량 분광분석기로 분석하여 콘주게이션 정도를 측정하였다. 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간형(MALDI-TOF) 질량 분광분석기를 통해 콘주게이션 정도를 확인하였다. 천연 종과 단일콘주게이션된 종 및 기타 다른 종에 대해 나타난 피크는 대략 40,000 돌턴 정도 차이가 있었다. 생성된 반응 혼합물은 주로 천연 단백질과 단일콘주게이션된 단백질의 혼합물을 함유하였다. 단일콘주게이션된 종을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 유리 hGH 및 고분자량 종을 제거하였다. 펩티드 맵핑으로 N-말단 PEG화를 확인하였다. 단백질에 대한 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드의 비율을 증가시키면, 콘주게이션 정도가 증가하여 다중콘주게이션된 hGH 집단이 산출되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 hGH의 콘주게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 16

인터페론- β 의 N-말단 PEG화

재조합 인터페론- β 인 "IFN- β "(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이나이즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)를 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

IFN- β (약 2 mg)를 1 ml의 0.1 mM 아세트산 나트륨(pH 5)에 용해시키고, mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 IFN- β 몰농도의 5배로 첨가하였다. 5 내지 20배 몰 초과량의 환원제 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 4 °C에서 24 시간 동안 교반하여, 아민 연결을 통해 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

반응의 진행을 SDS-PAGE 또는 MALDI-TOF 질량 분광분석기로 분석하여 콘주게이션 정도를 측정하였다. 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간형(MALDI-TOF) 질량 분광분석기를 통해 콘주게이션 정도를 확인하였다. 천연 종과 단일콘주게이션된 종에 대해 나타난 피크는 대략 40,000 돌턴 정도 차이가 있었다. 생성된 반응 혼합물은 주로 천연 단백질과 단일콘주게이션된 단백질의 혼합물을 함유하였다. 단일콘주게이션된 종을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 유리 IFN- β 및 고분자량 종을 제거하였다. 펩티드 맵핑으로 N-말단 PEG화를 확인하였다. 단백질에 대한 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드의 비율을 증가시키면, 콘주게이션 정도가 증가하여 다중콘주게이션된 IFN- β 집단이 산출되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 IFN- β 의 콘주게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 17

FSH의 N-말단 PEG화

재조합 여포 자극 호르몬인 "FSH"(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이나이즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)를 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

FSH(약 2 mg)를 1 ml의 0.1 mM 아세트산 나트륨(pH 5)에 용해시키고, mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 FSH 몰농도의 5배로 첨가하였다. 5 내지 20배 몰 초과량의 환원제 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 4 °C에서 24 시간 동안 교반하여, 아민 연결을 통해 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

반응의 진행을 SDS-PAGE 또는 MALDI-TOF 질량 분광분석기로 분석하여 콘쥬게이션 정도를 측정하였다. 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간형(MALDI-TOF) 질량 분광분석기를 통해 콘쥬게이션 정도를 확인하였다. 천연 종과 단일콘쥬게이션 종 및 기타 다른 종에 대해 나타난 피크는 대략 40,000 돌턴 정도 차이가 있었다. 생성된 반응 혼합물은 주로 천연 단백질과 단일콘쥬게이션된 단백질의 혼합물을 함유하였다. 단일콘쥬게이션 종을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 유리 FSH 및 고분자량 종을 제거하였다. 펩티드 맵핑으로 N-말단 PEG화를 확인하였다. 단백질에 대한 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드의 비율을 증가시키면, 콘쥬게이션 정도가 증가하여 다중콘쥬게이션된 FSH 집단이 산출되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 FSH의 콘쥬게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 18

인자 VIII의 N-말단 PEG화

제조합 인자 VIII인 "F8"(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이니즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)을 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

F8(약 2 mg)을 1 ml의 0.1 mM 아세트산 나트륨(pH 5)에 용해시키고, mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 F8 몰농도의 5배로 첨가하였다. 5 내지 20배 몰 초과량의 환원제 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 4 °C에서 24 시간 동안 교반하여, 아민 연결을 통해 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

반응의 진행을 SDS-PAGE 또는 MALDI-TOF 질량 분광분석기로 분석하여 콘쥬게이션 정도를 측정하였다. 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간형(MALDI-TOF) 질량 분광분석기를 통해 콘쥬게이션 정도를 확인하였다. 천연 종과 단일콘쥬게이션 종 및 기타 다른 종에 대해 나타난 피크는 대략 40,000 돌턴 정도 차이가 있었다. 생성된 반응 혼합물은 주로 천연 단백질과 단일콘쥬게이션된 단백질의 혼합물을 함유하였다. 단일콘쥬게이션 종을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 유리 F8 및 고분자량 종을 제거하였다. 펩티드 맵핑으로 N-말단 PEG화를 확인하였다. 단백질에 대한 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드의 비율을 증가시키면, 콘쥬게이션 정도가 증가하여 다중콘쥬게이션된 F8 집단이 산출되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 F8의 콘쥬게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 19

B-도메인 결실 인자 VIII의 N-말단 PEG화

제조합 B-도메인 결실 인자 VIII인 "BDD F8"(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이니즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)을 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

BDD F8(약 2 mg)을 1 ml의 0.1 mM 아세트산 나트륨(pH 5)에 용해시키고, mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 BDD F8 몰농도의 5배로 첨가하였다. 5 내지 20배 몰 초과량의 환원제 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 4 °C에서 24 시간 동안 교반하여, 아민 연결을 통해 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

반응의 진행을 SDS-PAGE 또는 MALDI-TOF 질량 분광분석기로 분석하여 콘쥬게이션 정도를 측정하였다. 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간형(MALDI-TOF) 질량 분광분석기를 통해 콘쥬게이션 정도를 확인하였다. 천연 종과 단일콘쥬게이션 종 및 기타 다른 종에 대해 나타난 피크는 대략 40,000 돌턴 정도 차이가 있었다. 생성된 반응 혼합물은 주로 천연 단백질과 단일콘쥬게이션된 단백질의 혼합물을 함유하였다. 단일콘쥬게이션 종을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 유리 BDD F8 및 고분자량 종을 제거하였다. 펩티드 맵핑으로 N-말단 PEG화를 확인하였다. 단백질에 대한 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드의 비율을 증가시키면, 콘쥬게이션 정도가 증가하여 다중콘쥬게이션된 BDD F8 집단이 산출되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 BDD F8의 콘쥬게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 20

mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르를 사용한 인자 VIII의 PEG화

재조합 인자 VIII인 "F8"(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이나이즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)을 mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르(실시예 2에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

F8을 수용성 액체에 용해시키고, mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르를 F8 몰농도의 1 내지 10배로 첨가하여 반응 용액을 형성시켰다. 반응 용액의 pH를 약 8 내지 9.5로 조정하고, 온도는 실온으로 유지시켰다. 반응 용액을 수시간 동안 교반하여, 아미드 연결을 통해 중합체성 시약을 F8에 커플링시켰다. 반응 용액의 시험을 통해서, N-말단 및 리신 부위 둘다에서 콘쥬게이션이 발생하였음이 측정되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 F8의 콘쥬게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 21

mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르를 사용한B-도메인 결실 인자 VIII의 PEG화

재조합 B-도메인 결실 인자 VIII인 "BDD F8"(대장균, 포유류 세포, 예컨대, 차이나이즈 햄스터 난소 세포, 또는 또 다른 공급원으로부터 생성된 것)을 mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르(실시예 2에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

BDD F8을 수용성 액체에 용해시키고, mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르를 F8 몰농도의 1 내지 10 배로 첨가하여 반응 용액을 형성시켰다. 반응 용액의 pH를 약 8 내지 9.5로 조정하고, 온도는 실온으로 유지시켰다. 반응 용액을 수시간 동안 교반하여, 아미드 연결을 통해 중합체성 시약을 BDD F8에 커플링시켰다. 반응 용액의 시험을 통해서, N-말단 및 리신 부위 둘다에서 콘쥬게이션이 발생하였음이 측정되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 BDD F8의 콘쥬게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 22

데스모프레신의 N-말단 PEG화

데스모프레신을 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

데스모프레신(약 2 mg)을 1 ml의 0.1 mM 아세트산 나트륨(pH 5)에 용해시키고, mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 BDD F8 몰농도의 5배로 첨가하였다. 5 내지 20배 몰 초과량의 환원제 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 4 °C에서 24 시간 동안 교반하여, 아민 연결을 통해 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

반응의 진행을 SDS-PAGE 또는 MALDI-TOF 질량 분광분석기로 분석하여 콘쥬게이션 정도를 측정하였다. 매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화 비행시간형(MALDI-TOF) 질량 분광분석기를 통해 콘쥬게이션 정도를 확인하였다. 천연 종과 단일콘쥬게이션 종 및 기타 다른 종에 대해 나타난 피크는 대략 40,000 돌턴 정도 차이가 있었다. 생성된 반응 혼합물은 주로 천연 단백질과 단일콘쥬게이션된 단백질의 혼합물을 함유하였다. 단일콘쥬게이션 종을 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 유리 데스모프레신 및 고분자량 종을 제거하였다. 펩티드 맵핑으로 N-말단 PEG화를 확인하였다. 단백질에 대한 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드의 비율을 증가시키면, 콘쥬게이션 정도가 증가하여 다중콘쥬게이션된 데스모프레신 집단이 산출되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 데스모프레신의 콘쥬게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 23

mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르를 사용한

데모프레신의 PEG화

데모프레신을 mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르(실시예 2에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

데모프레신을 수용성 액체에 용해시키고, mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르를 데모프레신 몰농도의 1 내지 10배로 첨가하여 반응 용액을 형성시켰다. 반응 용액의 pH를 약 8 내지 9.5로 조정하고, 온도는 실온으로 유지시켰다. 반응 용액을 수시간 동안 교반하여, 아마이드 연결을 통해 중합체성 시약을 데모프레신에 커플링시켰다. 반응 용액의 시험을 통해서, 콘쥬게이션이 발생하였음이 측정되었다.

실시예 24

암독시비르(DAPD)의 PEG화

암독시비르(DAPD)를 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드(실시예 3에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

암독시비르(약 2 mg)를 1 ml의 0.1 mM 아세트산 나트륨(pH 5)에 용해시키고, mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드를 암독시비르 몰농도의 5배로 첨가하였다. 5 내지 20배 몰 초과량의 환원제 NaCNBH₃를 첨가하고, 용액을 4 °C에서 24 시간 동안 교반하여, 아마이드 연결을 통해 mPEG2(40 KDa)-부티르알데히드 시약을 단백질에 커플링시켰다.

반응의 진행을 SDS-PAGE 또는 MALDI-TOF 질량 분광분석기로 분석하였다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 암독시비르의 콘쥬게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

실시예 25

mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르를 사용한

암독시비르(DAPD)의 PEG화

암독시비르(DAPD)를 mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르(실시예 2에 기재된 바와 같이 제조된 것)와 커플링시켰다.

암독시비르를 수용성 액체에 용해시키고, mPEG2_(40K)-부탄산, N-히드록시숙신이미드 에스테르를 암독시비르 몰농도의 1 내지 10배로 첨가하여 반응 용액을 형성시켰다. 반응 용액의 pH를 약 8 내지 9.5로 조정하고, 온도는 실온으로 유지시켰다. 반응 용액을 수시간 동안 교반하여, 아마이드 연결을 통해 중합체성 시약을 암독시비르에 커플링시켰다. 반응 용액의 시험을 통해서, 콘쥬게이션이 발생하였음이 측정되었다.

이 실시예는 본 발명의 중합체성 시약을 암독시비르의 콘쥬게이트 형성에 사용할 수 있음을 증명하였다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

수용성 중합체와 반응기 사이에 배치된 $\text{-N}(\text{R}^1)\text{-C(=O)-O-}$ 부분을 함유한 중합체성 시약으로서, (i) $\text{-N}(\text{R}^1)\text{-C(=O)-O-}$ 부분의 질소 원자는 수용성 중합체에 인접해 있고; (ii) $\text{-N}(\text{R}^1)\text{-C(=O)-O-}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자는 반응기에 인접해 있으며; (iii) R^1 은 H 또는 유기 라디칼인 중합체성 시약.

청구항 2.

제 1 항에 있어서, R^1 이 H인 중합체성 시약.

청구항 3.

제 2 항에 있어서, R^1 이 알킬, 치환 알킬, 알케닐, 치환 알케닐, 알키닐, 치환 알키닐, 아릴 및 치환 아릴로 이루어진 군에서 선택된 유기 라디칼인 중합체성 시약.

청구항 4.

제 2 항에 있어서, R^1 이 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸, tert-펜틸 및 피페리도닐로 이루어진 군에서 선택되는 중합체성 시약.

청구항 5.

제 1 항에 있어서, 수용성 중합체 부위가 폴리(알킬렌 옥사이드), 폴리(비닐 피롤리돈), 폴리(비닐 알코올), 폴리옥사졸린, 폴리(아크릴로일모르폴린), 및 폴리(옥시에틸화 폴리올)로 이루어진 군에서 선택된 중합체인 중합체성 시약.

청구항 6.

제 1 항에 있어서, 수용성 중합체 부위가 폴리(알킬렌 옥사이드)인 중합체성 시약.

청구항 7.

제 6 항에 있어서, 폴리(알킬렌 옥사이드)가 폴리(에틸렌 글리콜)인 중합체성 시약.

청구항 8.

제 7 항에 있어서, 폴리(에틸렌 글리콜)의 말단이 히드록실 및 알콕시로 이루어진 군에서 선택된 말단 캡핑 부분으로 캡핑된 중합체성 시약.

청구항 9.

제 7 항에 있어서, 폴리(에틸렌 글리콜)의 말단이 메톡시로 캡핑된 중합체성 시약.

청구항 10.

제 8 항에 있어서, 폴리(에틸렌 글리콜)의 분자량이 약 100 돌턴 내지 약 100,000 돌턴인 중합체성 시약.

청구항 11.

제 10 항에 있어서, 폴리(에틸렌 글리콜)의 분자량이 약 1,000 돌턴 내지 약 60,000 돌턴인 중합체성 시약.

청구항 12.

제 13 항에 있어서, 폴리(에틸렌 글리콜)의 공칭 평균 분자 질량이 약 2,000 돌턴 내지 약 50,000 돌턴인 중합체성 시약.

청구항 13.

제 1 항에 있어서, 수용성 중합체가 단일중합체인 중합체성 시약.

청구항 14.

제 1 항에 있어서, $\begin{matrix} R^1 & O \\ | & || \\ -N & -C-O- \end{matrix}$ 부분의 질소 원자가 직접 공유결합을 통해 수용성 중합체에 연결된 중합체성 시약.

청구항 15.

제 1 항에 있어서, $\begin{matrix} R^1 & O \\ | & || \\ -N & -C-O- \end{matrix}$ 부분의 질소 원자가 제 1 스페이서 부분을 통해 수용성 중합체에 연결된 중합체성 시약.

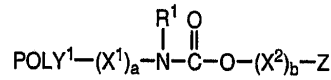
청구항 16.

제 1 항에 있어서, 반응기가 히드록실, 에스테르, 오르토에스테르, 카르보네이트, 아세탈, 알데히드, 알데히드 히드레이트, 케톤, 비닐 케톤, 케톤 히드레이트, 티온, 모노티오히드레이트, 디티오히드레이트, 헤미케탈, 모노티오케탈 헤미케탈, 디티오헤미케탈, 케탈, 디티오케탈, 알케닐, 아크릴레이트, 메트아크릴레이트, 아크릴아미드, 술폰, 아민, 히드라지드, 티올, 디술폰, 티올 히드레이트, 카르복실산, 이소시아네이트, 이소티오시아네이트, 말레이미드, 숙신이미드, 벤조트리아졸, 비닐술폰, 클로로에틸술폰, 디티오피리딘, 비닐피리딘, 요오도아세트아미드, 에폭사이드, 글리옥살, 디온, 메실레이트, 토실레이트, 티오술포네이트, 트레실레이트, 실란, $-(CH_2)_rCO_2H$, $-(CH_2)_rCO_2NS$, $-(CH_2)_rCO_2Bt$, $-(CH_2)_rCH(OR)_2$, $-(CH_2)_rCHO$, $-(CH_2)_2-NH_2$, $-(CH_2)_rM$, $-(CH_2)_r-S-SO_2-R$ [여기서 r은 1 내지 5이고, r'은 0 내지 5이며, R은 아릴 또는 알킬이고, NS는 N-숙신이미딜이며, Bt는 1-벤조트리아졸릴이고, M은 N-말레이미딜이다], 및 이들 중 임의의 보호형과 활성형으로 이루어진 군에서 선택되는 중합체성 시약.

청구항 17.

제 1 항에 있어서, 하기 구조를 포함한 중합체성 시약:

[화학식 II]



[상기 식에서, POLY¹은 수용성 중합체이고;

(a)는 0, 1, 2 또는 3이며;

(b)는 0, 1, 2 또는 3이고;

R¹는 H 또는 유기 라디칼이며;

X¹는, 존재하는 경우, 제 1 스페이서 부분이고;

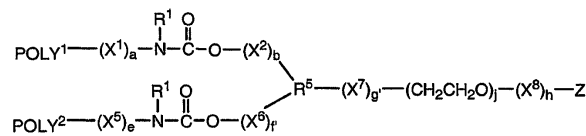
X²는, 존재하는 경우, 제 2 스페이서 부분이며;

Z는 반응기이다].

청구항 18.

제 1 항에 있어서, 하기 구조를 포함한 중합체성 시약:

[화학식 III]



[상기 식에서, POLY¹은 수용성 중합체이고;

POLY²은 수용성 중합체이며;

(a)는 0, 1, 2 또는 3이고;

(b)는 0, 1, 2 또는 3이며;

(e)는 0, 1, 2 또는 3이고;

(f)는 0, 1, 2 또는 3이며;

(g)는 0, 1, 2 또는 3이고;

(h)는 0, 1, 2 또는 3이며;

(j)는 0 내지 20이고;

R¹는 각각 독립적으로 H 또는 알킬, 치환 알킬, 알케닐, 치환 알케닐, 알킬닐, 치환 알킬닐, 아릴 및 치환 아릴로 이루어진 군에서 선택된 유기 라디칼이며;

X¹는, 존재하는 경우, 제 1 스페이서 부분이고;

X²는, 존재하는 경우, 제 2 스페이서 부분이며;

X⁵는, 존재하는 경우, 제 5 스페이서 부분이고;

X⁶는, 존재하는 경우, 제 6 스페이서 부분이며;

X⁷는, 존재하는 경우, 제 7 스페이서 부분이고;

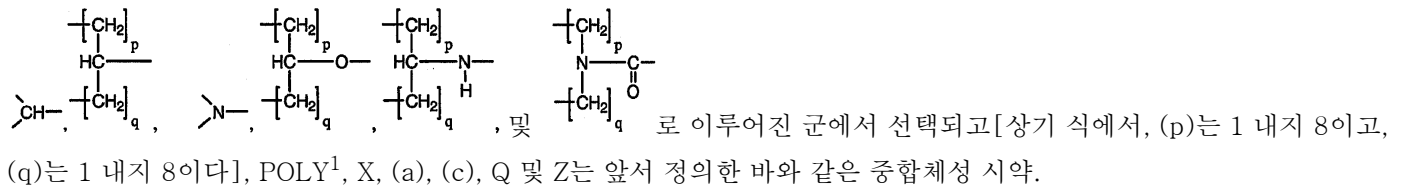
X⁸는, 존재하는 경우, 제 8 스페이서 부분이며;

R⁵는 분지 부분이고;

Z는 반응기이다].

청구항 19.

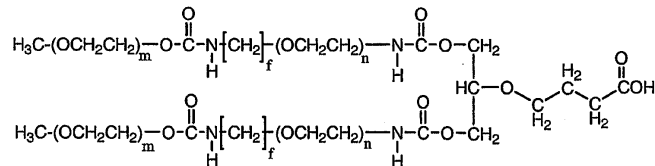
제 18 항에 있어서, R⁵는



청구항 20.

제 18 항에 있어서, 하기 구조를 포함한 중합체성 시약:

[화학식 IIb]



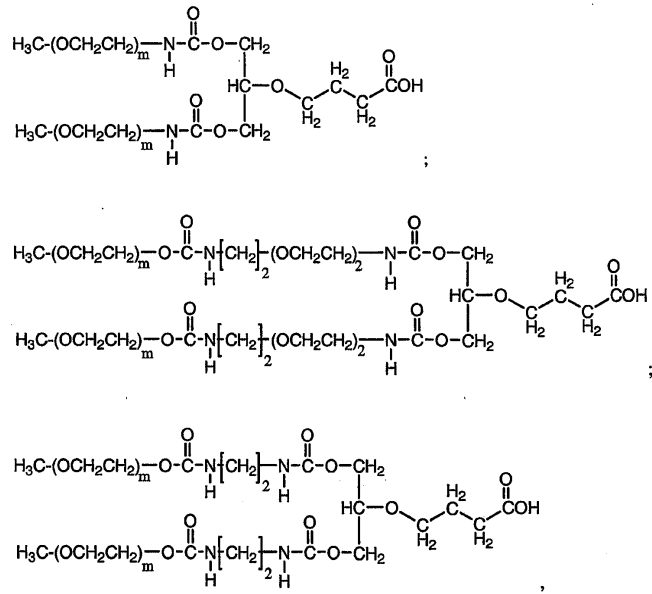
[상기 식에서, (m)은 2 내지 4000이고, (f)는 0 내지 6이며, (n)은 0 내지 20이다].

청구항 21.

제 20 항에 있어서, (f)는 2 내지 4이고, (n)은 0 내지 4인 중합체성 시약.

청구항 22.

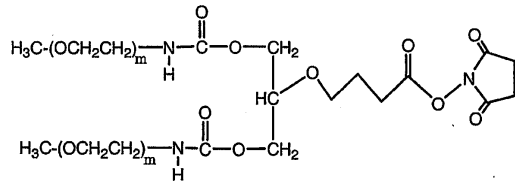
제 1 항에 있어서, 하기로 이루어진 군에서 선택된 구조를 포함한 중합체성 시약:

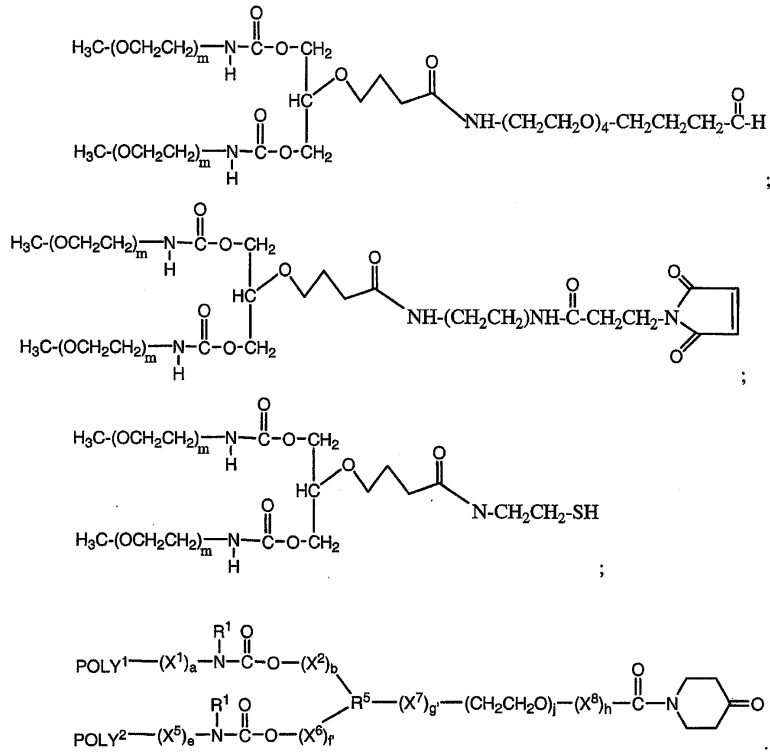


[상기 식에서, 각각의 (m)은 2 내지 4000이다].

청구항 23.

제 18 항에 있어서, 하기로 이루어진 군에서 선택된 구조를 포함한 중합체성 시약:

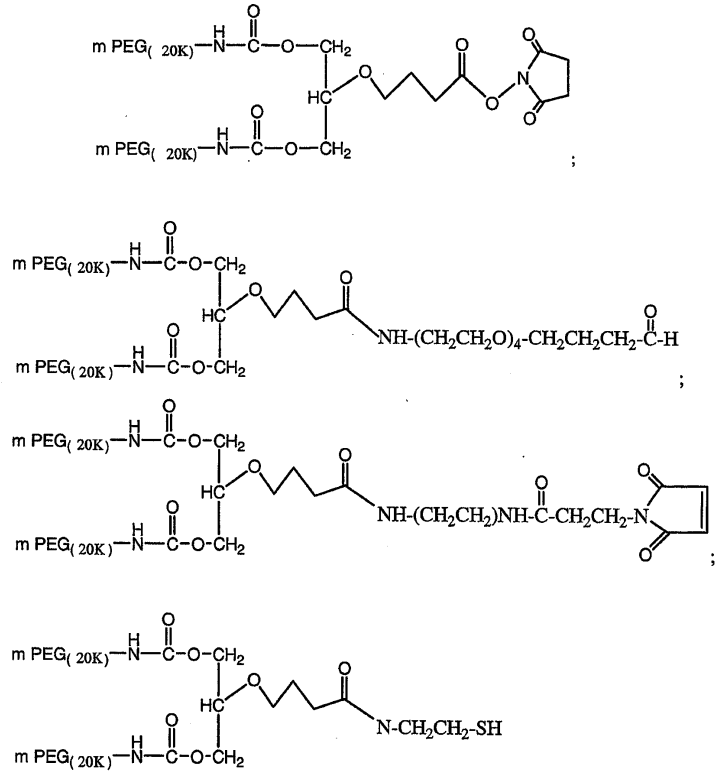




[상기 식에서, 각각의 (m)은 2 내지 4000이다].

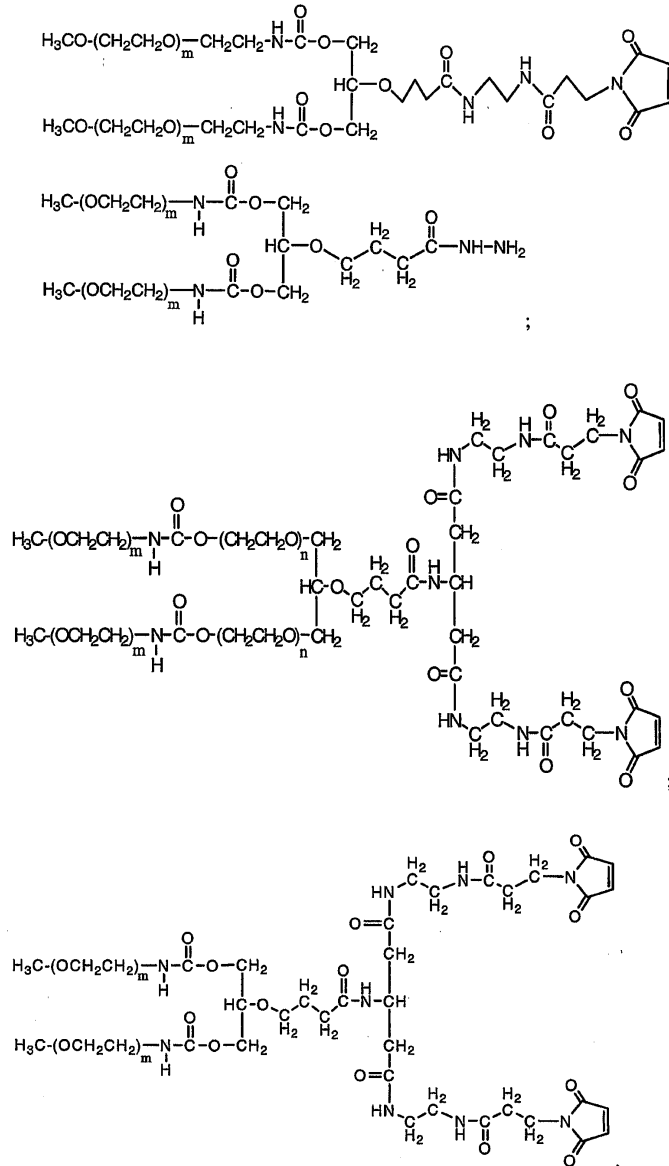
청구항 24.

제 1 항에 있어서, 하기로 이루어진 군에서 선택된 구조를 포함한 중합체성 시약:



청구항 25.

제 1 항에 있어서, 하기로 이루어진 군에서 선택된 구조를 포함한 중합체성 시약:



[상기 식에서, 각각의 (m)은 2 내지 4000이고, (n)은 0 내지 20이다].

청구항 26.

하기 단계를 포함하는 중합체성 시약의 제조 방법:

- (i) 보호 반응기 및 하나 이상의 히드록실기를 임의적으로 함유한 전구체 분자를 제공하는 단계;
- (ii) 아미노기와 반응시키기 위해 전구체 분자의 하나 이상의 히드록실기 중 하나 이상을 활성화시킴으로써 활성화 전구체 분자를 형성시키는 단계;
- (iii) 공유 커플링 조건하에서, 상기 하나 이상의 활성화 히드록실기 중 하나 이상을, 아미노기를 갖는 수용성 중합체와 접촉시킴으로써, 수용성 중합체 부위 및 보호 반응기를 함유한 중합체를 형성시키는 단계; 및
- (iv) 존재한다면, 보호 반응기를 탈보호시킴으로써, 중합체성 시약을 형성시키는 단계.

청구항 27.

제 26 항에 있어서, 중합체성 시약을 분리하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 28.

제 27 항에 있어서, 분리 단계를 크로마토그래피에 의해서 수행하는 방법.

청구항 29.

제 26 항에 있어서, 보호 전구체 분자가 1 개의 히드록실기 또는 이의 보호형을 함유하는 방법.

청구항 30.

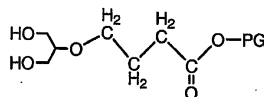
제 26 항에 있어서, 보호 전구체 분자가 2 개의 히드록실기 또는 이의 보호형을 함유하는 방법.

청구항 31.

제 26 항에 있어서, 보호 전구체 분자가 3 개의 히드록실기 또는 이의 보호형을 함유하는 방법.

청구항 32.

제 26 항에 있어서, 보호 전구체 분자가 하기 구조를 가지는 방법:



[상기 식에서, PG는 보호기이다].

청구항 33.

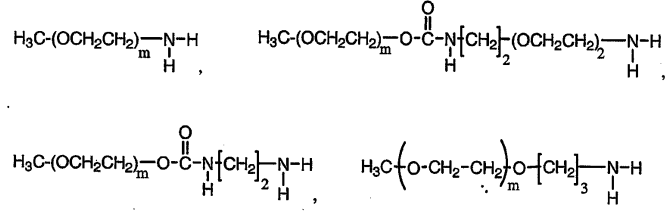
제 26 항에 있어서, 보호 전구체가 메틸, 에틸, 메틸옥시메틸(MOM), 메틸티오메틸(MTM), 테트라히드로피라닐(THP), 벤질옥시메틸, 페나실, N-프탈이미도메틸, 2,2,2-트리클로로에틸, 2-할로에틸, 2-(p-톨루엔술포닐)에틸, t-부틸, 신나밀, 벤질, 디페닐메틸, 트리페닐메틸, 비스(o-니트로페닐)메틸, 9-안트릴메틸, 2-(9,10-디옥소)안트릴메틸, 피페로닐, 트리메틸실릴 및 t-부틸디메틸실릴로 이루어진 군에서 선택된 보호기를 포함하는 방법.

청구항 34.

제 26 항에 있어서, 활성화제가 디(N-숙신이미딜) 카르보네이트 (DSC), N,N'-디시클로헥실카르보디이미드 (DCC), N,N'-디이소프로필카르보디이미드, N-(3-디메틸아미노프로필)-N'에틸카르보디이미드, 1,1'-카르보닐디이미다졸 (CDI), 1,1'-카르보닐(1,2,4-트리아졸) (CDT), 비스(4-니트로페닐) 카르보네이트, p-니트로페닐 클로로카르보네이트, 포스겐, 트리포스겐, 1-히드록시벤조트리아졸 (HOBt), 디벤조트리아졸릴 카르보네이트 (diBTC), N-히드록시숙신이미드 및 DCC, N-히드록시프탈이미드 및 DCC, 및 티아졸리딘 티온인 방법.

청구항 35.

제 26 항에 있어서, 아미노기를 갖는 수용성 중합체가 하기로 이루어진 군에서 선택되는 방법:



[상기 식에서, (m)은 2 내지 4000이다].

청구항 36.

제 26 항에 있어서, 탈보호화 단계가 염기-촉진화 가수분해, 산-촉매화 가수분해 및 환원으로 이루어진 군에서 선택된 방법을 포함하는 방법.

청구항 37.

제 26 항에 있어서, 반응기를 상이한 반응기로 전환시키는 임의적 단계를 포함하는 방법.

청구항 38.

제 26 항에 있어서, 반응기의 반응성을 증가시키는 단계를 수행하는 임의적 단계를 포함하는 방법.

청구항 39.

수용성 중합체, $\overset{\text{R}^1}{\text{N}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}$ -부분, 및 약리학적 활성제를 함유한 콘쥬게이트(conjugate)로서, (i) 수용성 중합체는 직접 공유결합 또는 제 1 스페이서 부분을 통해 $\overset{\text{R}^1}{\text{N}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}$ 부분의 질소 원자에 연결되고; (ii) 약리학적 활성제는 직접 공유결합 또는 제 2 스페이서 부분을 통해 $\overset{\text{R}^1}{\text{N}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 연결되며; (iii) R¹은 H 또는 유기 라디칼인 콘쥬게이트.

청구항 40.

제 1 항에 따른 중합체성 시약을 적절한 조건하에서 활성제와 접촉시킴으로써 약물 콘쥬게이트를 제공하는 단계를 포함하는 콘쥬게이트 제조 방법.

청구항 41.

약학적 부형제가 배합된, 제 40 항에 따라 제조한 콘쥬게이트를 함유한 약학적 제제.

청구항 42.

제 41 항에 있어서, 부형제가 당인 약학적 제제.

청구항 43.

제 41 항에 있어서, 동결건조된 형태인 약학적 제제.

청구항 44.

제 41 항에 있어서, 액체 희석제를 추가로 함유한 약학적 제제.

청구항 45.

제 44 항에 있어서, 액체 희석제가 주사용 정균수, 수중 5 % 텍스트로스, 포스페이트 완충 식염수, 링거액, 식염수, 멸균수, 탈이온수 및 이들의 배합물로 이루어진 군에서 선택되는 약학적 제제.

청구항 46.

제 41 항에 있어서, 단위 투여형인 약학적 제제.

청구항 47.

제 41 항에 있어서, 유리병에 수용된 약학적 제제.

청구항 48.

제 39 항에 따른 콘쥬게이트의 치료적 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 콘쥬게이트 전달 방법.

청구항 49.

수용성 중합체, $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C(=O)-O-}$ 부분 및 반응기를 함유한 중합체로서, (i) 수용성 중합체는 직접 공유결합 또는 제 1 스페이서 부분을 통해 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C(=O)-O-}$ 부분의 질소 원자에 연결되고; (ii) 반응기는 직접 공유결합 또는 제 2 스페이서 부분을 통해 $\text{-N}^{\text{R}^1}\text{-C(=O)-O-}$ 부분의 카르보닐 탄소 원자에 연결되며; (iii) R^1 은 H 또는 유기 라디칼인 중합체.