



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2013-0062936  
(43) 공개일자 2013년06월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C07K 1/06* (2006.01) *A61K 31/19* (2006.01)  
*A61K 31/185* (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2012-7030888  
 (22) 출원일자(국제) 2011년04월27일  
 심사청구일자 없음  
 (85) 번역문제출일자 2012년11월26일  
 (86) 국제출원번호 PCT/US2011/034102  
 (87) 국제공개번호 WO 2011/139752  
 국제공개일자 2011년11월10일  
 (30) 우선권주장  
 1166/CHE/2010 2010년04월27일 인도(IN)  
 (뒷면에 계속)

(71) 출원인  
**닥터 레드스 레보러토리즈 리미티드**  
 인도 500 034 안드хра 프라데시 하이데라바드 반  
 자라 힐스 로드 넘버.3 8-2-337  
**닥터 레드스 레보러토리즈, 인코포레이티드**  
 미국 08807 뉴저지 브릿지워터 7층 써머셋 코포레  
 이트 보우레바드 200  
 (72) 발명자  
**크브스 라마 라오**  
 인도 안드라 프라데시 하이데라바드 500 007 디디-  
 콜로니 비-레인 레전드-2 플랫 넘버 201  
**스리바산 산타나 크리스난**  
 인도 타밀 나두 투티코런-2 628 022 스테이트 뱅  
 크 콜로니 4/56-1  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**백덕열**

전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 **폴리펩티드 및 그의 염의 제조**

**(57) 요약**

본 발명은 폴리펩티드의 제조방법에 관련된다. 또한 본 발명에서는 글라티라머 아세테이트의 제조방법이 제공된다.

(72) 발명자

**데비 바산티**

인도 안드라 프라데시 히데라바드 500 072 쿠카트 팔리 바그 아미르 에이치 넘버 3-3-3

**간다바디 수닐 쿠마르**

인도 안드라 프라데시 히데라바드 500 036 말라크 팻트 에이치 넘버 16/2/705/32/3/1씨

**라마사미 카르티크**

인도 안드라 프라데시 히데라바드 강가람 사이 시 바 레지던시 플랫폼 넘버 107

**코마라블루 야그나 키란 쿠마**

인도 안드라 프라데시 히데라바드 미야푸르 너미티 레지던시 플랫폼 넘버 101

**바라나시 칼리안 차크라바시**

인도 안드라 프라데시 비자이나가람 535 501 파바 티푸람 레디스트리트 닥터 넘버 11-115

**보차 라메스**

인도 안드라 프라데시 히데라바드 500 050 찬다나가 휴다콜로니 에이치 넘버 씨3-224

**콘체 파라메스와라 레디**

인도 안드라 프라데시 쿠르놀 518 360 엠미가누르 에스앤티 콜로니 에이치 넘버 1/3316

**캇타 락스미 레디**

인도 안드라 프라데시 란가 레디 디스트릭트 500 055 지디메틀라 수키트라 “엑스” 로드 테자 레지던시 비-402

**샤르마 라즈고팔**

인도 안드라 프라데시 히데라바드 500 079 하스티 나푸람 센트럴 인드라프라스타 콜로니 에이치 넘버 8-7-68/피1/79

**네크칼라프 스틸라크쉬미**

인도 안드라 프라데시 히데라바드 쿠카트팔리 스미트라 나가 패드마 아파트맷츠 플랫폼 넘버 104

(30) 우선권주장

1457/CHE/2010 2010년05월27일 인도(IN)

2845/CHE/2010 2010년09월27일 인도(IN)

61/356,105 2010년06월18일 미국(US)

61/416,132 2010년11월22일 미국(US)

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

하기 단계를 포함하는 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법:

- (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;
- (b) 보호된 폴리펩티드를 산과 반응시키는 단계;
- (c) 선택적으로, 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하여 분자 불순물의 함량을 감소시키는 단계; 및
- (d) 단계 (b) 또는 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 아미노산이 L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신인 방법.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 폴리펩티드가 글라티라머인 방법.

### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 보호된 아미노산이 아미노산 N-카르복시무수물인 방법.

### 청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 산이 하나 이상의 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 염산, 브롬화수소, 불화수소, 요오드화수소, 메탄술폰산, 트리플루오로메탄술폰산, 아인산, 트리플루오로아세트산, 황산, 인산 및 차인산을 포함하는 방법.

### 청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 산이 2 이상의 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 염화수소, 브롬화수소, 불화수소, 요오드화수소, 메탄술폰산, 트리플루오로메탄술폰산, 아인산, 트리플루오로아세트산, 황산, 인산 및 차인산을 포함하는 방법.

### 청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 산이 2 이상의 아세트산, 염화수소, 브롬화수소, 요오드화수소 및 차인산을 포함하는 방법.

### 청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 산이 적어도 하나의 염화수소, 브롬화수소, 요오드화수소, 황산 및 차인산을 포함하는 방법.

### 청구항 9

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 시약이 하나 이상의 소듐 티오술폰레이트, 소듐 비술폰레이트, 소듐 메타비술폰레이트, 아스코르브산, 활성화된 탄소 섬유, 이온 교환 수지, 은염 및 소듐 비카보네이트를 포함하는 방법.

### 청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 염기가 유기 염기인 방법.

### 청구항 11

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 염기가 무기 염기인 방법.

**청구항 12**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 염기가 피페리딘을 포함하는 방법.

**청구항 13**

하기 단계를 포함하는 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법:

- (a) 보호된 아미노산 L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;
- (b) 보호된 글라티라머를 산과 반응시키는 단계;
- (c) 선택적으로, 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하여 분자 불순물의 함량을 감소시키는 단계; 및
- (d) 단계 (b) 또는 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 보호된 아미노산이 아미노산 N-카르복시무수물인 방법.

**청구항 15**

제13항에 있어서, 산이 하나 이상의 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 염산, 브롬화수소, 불화수소, 요오드화수소, 메탄술폰산, 트리플루오로메탄술폰산, 아인산, 트리플루오로아세트산, 황산, 인산 및 차인산을 포함하는 방법.

**청구항 16**

제13항에 있어서, 산이 2 이상의 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 염화수소, 브롬화수소, 불화수소, 요오드화수소, 메탄술폰산, 트리플루오로메탄술폰산, 아인산, 트리플루오로아세트산, 황산, 인산 및 차인산을 포함하는 방법.

**청구항 17**

제13항에 있어서, 산이 2 이상의 아세트산, 염화수소, 브롬화수소, 요오드화수소 및 차인산을 포함하는 방법.

**청구항 18**

제13항에 있어서, 산이 적어도 하나의 염화수소, 브롬화수소, 요오드화수소, 황산 및 차인산을 포함하는 방법.

**청구항 19**

제13항에 있어서, 시약이 하나 이상의 소듐 티오술페이트, 소듐 비술페이트, 소듐 메타비술파이트, 아스코르브산, 활성화된 탄소 섬유, 이온 교환 수지, 은염 및 소듐 비카보네이트를 포함하는 방법.

**청구항 20**

제13항에 있어서, 염기가 유기 염기인 방법.

**청구항 21**

제13항에 있어서, 염기가 무기 염기인 방법.

**청구항 22**

제13항에 있어서, 염기가 피페리딘을 포함하는 방법.

**청구항 23**

하기 단계를 포함하는 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법:

- (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계; 및
- (b) 보호된 폴리펩티드를 산과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

**청구항 24**

제23항에 있어서, 보호된 아미노산이 아미노산 N-카르복시무수물인 방법.

**청구항 25**

제23항에 있어서, 아미노산이 L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신인 방법.

**청구항 26**

제23항에 있어서, 폴리펩티드가 글라티라머인 방법.

**청구항 27**

제23항에 있어서, 산이 하나 이상의 아세트산, 요오드화수소, 아인산, 인산 및 차인산을 포함하는 방법.

**청구항 28**

제23항에 있어서, 산이 2 이상의 아세트산, 아인산, 인산 및 차인산을 포함하는 방법.

**청구항 29**

제23항에 있어서, 산이 2 이상의 아세트산, 요오드화수소 및 차인산을 포함하는 방법.

**청구항 30**

제23항에 있어서, 산이 적어도 하나의 요오드화수소를 포함하는 방법.

**청구항 31**

제13항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 추가로 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 정제하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 32**

제13항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 추가로 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 정제하는 단계를 포함하는 방법.

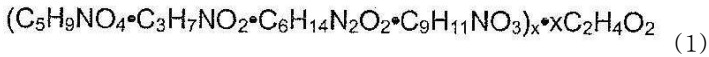
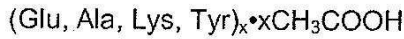
**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 폴리펩티드의 제조방법에 관련된다. 특히, 본 발명은 글라티라머 아세테이트의 제조방법에 관련된다.

**배경기술**

[0002] "글라티라머 아세테이트"(공중합체-1로서 공지됨)을 갖는 약물은 화학적으로 L-글루타민산, L-알라닌, L-리신 및 L-티로신의 중합체의 랜덤 혼합물의 아세테이트 염이다. 이것은 하기 화학식(I)의 화학 구조를 갖는다.



- [0003]
- [0004] 글라티라머 아세테이트는 4개의 자연 발생 아미노산 즉, 각각 0.141, 0.427, 0.095 및 0.338의 평균 분자 분획을 갖는 L-글루타민산, L-알라닌, L-티로신 및 L-리신을 함유하는 합성 폴리펩티드의 아세테이트 염이다. 글라티라머 아세테이트의 평균 분자량은 5,000-9,000 Daltons이다. 글라티라머 아세테이트는 재발-이장성 다발성 경화증(RRMS) 환자의 증세를 감소시키기 위해 처방되는 Teva사의 COPAXONE®로 시판되는 주사가 가능한 약제품 중의 활성 성분이다.
- [0005] 미국특허 제5,800,808호는 보호된 공중합체-1을 브롬화수소산과 반응시켜 트리플루오로아세틸 공중합체-1을 형성시킨 후, 트리플루오로아세틸 공중합체-1을 수성 피페리딘 용액으로 처리하여 공중합체-1을 형성시키고 얻어진 공중합체-1을 정제하는 것에 의한 공중합체-1의 제조방법을 개시하고 있다.
- [0006] 미국특허 제7,495,072호는 티로신, 알라닌, 감마-벤질 글루타메이트 및 N-트리플루오로아세틸리신의 N-카르복시 무수물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하고, 보호된 폴리펩티드를 아세트산 용액 내의 예비처리된 브롬화수소산으로 탈보호하여 트리플루오로아세틸 글라티라머 아세테이트를 형성한 후, 트리플루오로아세틸 글라티라머 아세테이트를 수성 피페리딘과 반응시켜 글라티라머 아세테이트의 용액을 형성하고, 글라티라머 아세테이트를 정제하는 것에 의한 글라티라머 아세테이트의 제조방법을 개시하고 있다.
- [0007] 아미노산 N-카르복시무수물의 제조는 아미노산, 그의 유도체 예컨대 에스테르 및 그의 염을 포스젠과 같은 카르보닐화제와 반응시키는 것과 관련된 미국특허 제7,294,719 B2호에 개시되어 있다.
- [0008] 미국특허 제7,049,399호는 보호된 공중합체 6 또는 그의 염을 단일 공정으로 탈보호하여 폴리펩티드 1 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 것에 의해, 폴리펩티드 1 내에 랜덤하게 배열된 L-알라닌, L-글루타민산, L-리신 및 L-티로신을 포함하는 폴리펩티드 1 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 개시하고 있다.
- [0009] 미국특허공개 제2006/0172942 A1호는 각각 글루타민산, 알라닌, 티로신 및 리신으로 구성된 폴리펩티드의 아세테이트 염의 혼합물의 제조방법을 개시하고 있다.
- [0010] 미국특허공개 제2008/0021200 A1호는 L-티로신의 N-카르복시 무수물, L-알라닌의 N-카르복시 무수물, 보호된 L-글루타메이트의 N-카르복시 무수물 및 N-t-부톡시카르보닐-L-리신의 N-카르복시 무수물의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성한 후, 보호된 글라티라머를 산으로 처리하여 글라티라머를 형성하는 것에 의한 글라티라머 아세테이트의 제조방법을 개시하고 있다.
- [0011] 국제공개 WO 2009/016643 A1호는 약제에 사용되는 공중합체-1 분획(글라티라머 아세테이트, 약 0.141, 0.427, 0.095 및 0.338의 몰비의 글루타민산, 알라닌, 티로신 및 리신을 포함하는 폴리펩티드의 혼합물)의 제조방법을 개시하고 있다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0012] 경제적이면서 환경친화적이고 높은 순도를 갖는 글라티라머 아세테이트를 포함하는 폴리펩티드의 향상된 제조방법이 요구되고 있다.

**과제의 해결 수단**

- [0013] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0014] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;
- [0015] (b) 보호된 폴리펩티드를 산과 반응시키는 단계;
- [0016] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및
- [0017] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는

염을 형성하는 단계.

- [0018] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0019] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;
- [0020] (b) 보호된 폴리펩티드를 산과 반응시키는 단계;
- [0021] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및
- [0022] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0023] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0024] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;
- [0025] (b) 보호된 글라티라머를 산과 반응시키는 단계;
- [0026] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하는 단계; 및
- [0027] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 염기와 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0028] 하나의 양상에서 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0029] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;
- [0030] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 아세트산 내에서의 차아인산(hypophosphorous acid)의 혼합물과 반응시키는 단계;
- [0031] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및
- [0032] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0033] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0034] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;
- [0035] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 아세트산 내에서의 차아인산의 혼합물과 반응시키는 단계;
- [0036] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및
- [0037] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0038] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0039] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;
- [0040] (b) 보호된 글라티라머를 요오드화수소산 및 아세트산 내에서의 차아인산의 혼합물과 반응시키는 단계;
- [0041] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하는 단계; 및
- [0042] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 염기와 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는

염을 형성하는 단계.

[0043] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0044] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0045] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 차아인산을 포함하는 산과 반응시키는 단계;

[0046] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0047] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0048] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0049] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0050] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 차아인산을 포함하는 산과 반응시키는 단계;

[0051] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0052] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0053] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0054] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;

[0055] (b) 보호된 글라티라머를 요오드화수소산 및 차아인산을 포함하는 산과 반응시키는 단계;

[0056] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0057] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 염기와 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0058] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0059] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0060] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산을 포함하는 산과 반응시키는 단계;

[0061] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0062] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0063] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0064] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0065] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산을 포함하는 산과 반응시키는 단계;

[0066] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0067] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0068] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학



적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0069] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;

[0070] (b) 보호된 글라티라머를 요오드화수소산을 포함하는 산과 반응시키는 단계;

[0071] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0072] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 염기와 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0073] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0074] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0075] (b) 보호된 폴리펩티드를 염산을 포함하는 산과 반응시키는 단계;

[0076] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0077] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0078] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0079] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0080] (b) 보호된 폴리펩티드를 염산을 포함하는 산과 반응시키는 단계;

[0081] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0082] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0083] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0084] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;

[0085] (b) 보호된 글라티라머를 염산을 포함하는 산과 반응시키는 단계;

[0086] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0087] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 염기와 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0088] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0089] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0090] (b) 보호된 폴리펩티드를 아세트산 내에서의 브롬화수소산 용액과 반응시키는 단계;

[0091] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0092] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0093] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0094] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보

호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0095] (b) 보호된 폴리펩티드를 아세트산 내에서의 브롬화수소산 용액과 반응시키는 단계;

[0096] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0097] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0098] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0099] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;

[0100] (b) 보호된 글라티라머를 아세트산 내에서의 브롬화수소산 용액과 반응시키는 단계;

[0101] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하는 단계; 및

[0102] (d) 단계 (c)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 염기와 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0103] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0104] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0105] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 아세트산 내에서의 차아인산의 혼합물과 반응시키는 단계;

[0106] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0107] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0108] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0109] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 아세트산 내에서의 차아인산의 혼합물과 반응시키는 단계; 및

[0110] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0111] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0112] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;

[0113] (b) 보호된 글라티라머를 요오드화수소산 및 아세트산 내에서의 차아인산의 혼합물과 반응시키는 단계; 및

[0114] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 염기와 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0115] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0116] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0117] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 차아인산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0118] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0119] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그

의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0120] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0121] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 차아인산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0122] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0123] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0124] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;

[0125] (b) 보호된 글라티라머를 요오드화수소산 및 차아인산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0126] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 염기와 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0127] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0128] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0129] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0130] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0131] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0132] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0133] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0134] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0135] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0136] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;

[0137] (b) 보호된 글라티라머를 요오드화수소산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0138] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 염기와 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0139] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0140] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0141] (b) 보호된 폴리펩티드를 염산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0142] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 피페리딘과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0143] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그

의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0144] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0145] (b) 보호된 폴리펩티드를 염산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0146] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 피페리딘과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0147] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0148] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;

[0149] (b) 보호된 글라티라머를 염산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0150] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 피페리딘과 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0151] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0152] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0153] (b) 보호된 폴리펩티드를 황산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0154] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 피페리딘과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0155] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0156] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;

[0157] (b) 보호된 폴리펩티드를 황산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0158] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 폴리펩티드를 피페리딘과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0159] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0160] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계;

[0161] (b) 보호된 글라티라머를 황산을 포함하는 산과 반응시키는 단계; 및

[0162] (c) 단계 (b)에서 얻어진 보호된 글라티라머를 피페리딘과 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0163] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0164] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계; 및

[0165] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 아세트산 내에서의 차아인산의 혼합물과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.

[0166] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:

[0167] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보

호된 폴리펩티드를 형성하는 단계; 및

- [0168] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 아세트산 내에서의 차아인산의 혼합물과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0169] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0170] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계; 및
- [0171] (b) 보호된 글라티라머를 요오드화수소산 및 아세트산 내에서의 차아인산의 혼합물과 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0172] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0173] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계;
- [0174] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 차아인산을 포함하는 산과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0175] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0176] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계; 및
- [0177] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산 및 차아인산을 포함하는 산과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0178] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0179] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계; 및
- [0180] (b) 보호된 글라티라머를 요오드화수소산 및 차아인산을 포함하는 산과 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0181] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0182] (a) 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계; 및
- [0183] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산을 포함하는 산과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0184] 하나의 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0185] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로부터 선택되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계; 및
- [0186] (b) 보호된 폴리펩티드를 요오드화수소산을 포함하는 산과 반응시켜 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하는 단계.
- [0187] 하나의 양상에서, 하나 이상의 하기 단계를 개별적으로 또는 순서대로 포함하는, 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법을 제공한다:
- [0188] (a) L-티로신, L-알라닌, L-글루타메이트 및 L-리신으로 구성되는 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 글라티라머를 형성하는 단계; 및
- [0189] (b) 보호된 글라티라머를 요오드화수소산을 포함하는 산과 반응시켜 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되

는 염을 형성하는 단계.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0190] 발명의 상세한 설명
- [0191] 본 발명의 양상에서 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 제조방법은 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하여 보호된 폴리펩티드를 형성하는 단계를 포함한다.
- [0192] 보호된 폴리펩티드를 형성하기 위해 보호된 아미노산의 혼합물을 중합하는 것은 하나 이상의 적당한 개시제의 존재 하에서 수행될 수 있다. 중합 반응에 사용될 수 있는 적당한 개시제는 예컨대, 디메틸아민, 디에틸아민, 디-n-프로필아민, 디이소프로필아민, 트리에틸아민, N-에틸메틸아민, 디-n-부틸아민, 디이소부틸아민, 디-sec-부틸아민, 디-tert-부틸아민, 디아밀아민, 디-n-옥틸아민, 디-(2-에틸헥실)아민, 디-이소-노닐아민, 디알릴아민, N-메틸아닐린, 디페닐아민, 헥실아민, 펜에틸아민 등과 같은 알킬 아민을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 다른 유용한 개시제는 아지리딘, 피롤, 피롤리딘, 이미다졸, 인돌, 피페리딘, 퓨린, 소듐 메톡사이드, 포타슘 t-부톡사이드, 소듐 하이드라이드, 포타슘 하이드라이드, 2,2,6,6-테트라메틸피페리딘, 디시클로헥실아민, 디시클로헥실우데칸(DCU), 리튬 디이소프로필아미드, t-부틸리튬 등; 예컨대, 나트륨, 칼륨, 리튬, 칼슘, 마그네슘, 치환 또는 비치환된 암모늄 등과 같은 이온에 결합된 수지를 포함하는 이온 교환 수지를 포함한다. 또한 2 이상의 개시제의 조합도 유용하다.
- [0193] 중합 반응에 사용될 수 있는 개시제의 양은 보호된 아미노산의 혼합물의 중량을 기준으로, 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2% 미만, 약 1% 미만, 약 0.5% 미만, 약 0.25% 미만, 약 0.1% 미만, 약 0.05% 미만, 약 0.01% 미만 및 기타 적당한 양일 수 있다.
- [0194] 보호된 폴리펩티드를 형성하기 위한 보호된 아미노산의 중합은 용매 내에서 수행될 수 있다. 사용될 수 있는 적당한 용매는 에테르, 예컨대, 디에틸 에테르, 디이소프로필 에테르, tert-부틸메틸에테르, 디부틸 에테르, 테트라하이드로푸란, 디메틸푸란, 1,2-디메톡시에탄, 2-메톡시에탄올, 2-에톡시에탄올, 아니솔, 1,4-디옥산 등; 에스테르, 예컨대, 에틸 포르메이트, 메틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 프로필 아세테이트, 부틸 아세테이트, 메틸 프로파노에이트, 에틸 프로파노에이트, 메틸 부타노에이트, 에틸 부타노에이트 등; 지방족 또는 지환족 탄화수소 예컨대, 헥산, 헵탄, 펜탄, 시클로헥산, 메틸시클로헥산 등; 니트로에탄; 할로젠화 탄화수소 예컨대, 디클로로메탄, 클로로포름, 1,1,2-트리클로로에탄, 1,2-디클로로에탄 등; 방향족 탄화수소 예컨대, 톨루엔, 자일렌, 클로로벤젠, 테트라린 등; 니트릴 예컨대, 아세토니트릴, 프로피온니트릴 등; 극성 비프로톤성 용매 예컨대, N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈, 피리딘, 디메틸술폰사이드, 술포란, 포름아미드, 아세트아미드, 프로판아미드 등; 및 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0195] 중합 반응을 위한 적당한 온도는 약 55℃ 미만, 약 45℃ 미만, 약 35℃ 미만, 약 25℃ 미만, 약 15℃ 미만, 약 10℃ 미만 또는 기타의 적당한 온도일 수 있다.
- [0196] 보호된 폴리펩티드의 분리는 반응 혼합물을 물과 조합시키는 것에 의해 수행될 수 있으며, 그 결과 보호된 폴리펩티드가 침전된다. 보호된 폴리펩티드의 분리를 위한 적당한 온도는 약 50℃ 미만, 약 40℃ 미만, 약 30℃ 미만, 약 20℃ 미만, 약 10℃ 미만 또는 기타 적당한 온도일 수 있다. 분리를 위한 적당한 시간은 약 5 시간 미만, 약 3 시간 미만, 약 2 시간 미만, 약 1 시간 미만, 약 45 분 미만 또는 더 긴 시간일 수 있다. 분리를 완료하기 위해 필요한 정확한 온도 및 시간은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 또한 예컨대, 용액 또는 슬러리의 농도 및 온도와 같은 파라미터에 의존할 것이다. 교반 또는 내용물을 혼합하는 예컨대, 셰이킹, 에지테이션 등과 같은 기타 다른 방법이 분리를 위해서도 수행될 수 있다.
- [0197] 분리되어진 보호된 폴리펩티드는 디켄테이션(decantation), 원심분리, 중력식 여과, 흡입 여과 또는 고체를 회수하기 위한 기타 다른 기법을 포함하는 방법에 의해 회수될 수 있다.
- [0198] 회수되어진 보호된 폴리펩티드는 선택적으로 건조될 수 있다. 건조는 트레이 드라이어, 진공 오븐, 에어 오븐, 유동층 건조기, 스프인 플래시 건조기, 플래시 건조기 등에서 수행될 수 있다. 건조는 약 55℃ 미만, 약 45℃ 미만, 약 35℃ 미만, 약 25℃ 미만 또는 기타 적당한 온도에서 대기압 또는 감압하에 수행될 수 있다. 예컨대, 건조 시간은 약 1 내지 약 10 시간 또는 그 이상으로 변경될 수 있다.
- [0199] 본 발명의 양상은 보호된 폴리펩티드를 산과 반응시키는 단계를 포함한다.

- [0200] 보호된 폴리펩티드를 하나 이상의 적당한 산과 반응시키는데 사용될 수 있는 적당한 산은 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 염산, 브롬화수소, 불화수소, 요오드화수소(요오드화수소산), 메탄술폰산, 트리플루오로메탄술폰산, 아인산(phosphorus acid), 트리플루오로아세트산, 황산, 인산(phosphoric acid) 및 차인산(hypophosphoric acid) 등; 또는 그의 혼합물을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다. 보호된 폴리펩티드를 하나 이상의 적당한 산과 반응시키는데 사용될 수 있는 산의 양은 보호된 폴리펩티드의 중량의 약 50 부피배 미만, 약 40 부피배 미만, 약 30 부피배 미만, 약 20 부피배 미만, 약 10 부피배 미만, 약 5 부피배 미만이다. 상기 적당한 산은 약 30중량% 미만의 농도를 가질 수 있다. 산의 농도를 변경하기 위하여, 보호된 폴리펩티드를 하나 이상의 적당한 산과 반응시키는데 사용되는 산의 양은 당업자에 의해 쉽게 계산될 수 있다.
- [0201] 구체예에서, 사용되는 산은 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하기 위해 보호된 폴리펩티드로부터 보호기를 클리브(cleave)할 수 있다.
- [0202] 보호된 폴리펩티드를 하나 이상의 적당한 산과 반응시키는데 사용될 수 있는 적당한 온도는 약 60°C 미만, 약 50°C 미만, 약 40°C 미만, 약 30°C 미만, 약 25°C 미만, 약 15°C 미만, 약 10°C 미만, 약 5°C 미만, 약 0°C 미만 또는 기타의 적당한 온도일 수 있다.
- [0203] 보호된 폴리펩티드를 하나 이상의 적당한 산과 반응시키는데 사용될 수 있는 적당한 용매는 에테르, 에컨대, 디에틸 에테르, 디소프로필 에테르, tert-부틸 메틸 에테르, 디부틸 에테르, 테트라하이드로푸란, 1,2-디메톡시에탄, 2-메톡시에탄올, 2-에톡시에탄올, 아니솔, 1,4-디옥산 등; 에스테르 예컨대, 에틸 포르메이트, 메틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 프로필 아세테이트, 부틸 아세테이트, 메틸 프로피노에이트, 에틸 프로피노에이트, 메틸 부타노에이트, 에틸 부타노에이트 등; 지방족 또는 지환족 탄화수소 예컨대, 헥산, 헵탄, 펜탄, 시클로헥산, 메틸시클로헥산 등; 니트로메탄; 할로젠화 탄화수소 예컨대, 디클로로메탄, 클로로포름, 1,1,2-트리클로로에탄, 1,2-디클로로에텐 등; 방향족 탄화수소 예컨대, 톨루엔, 자일렌, 클로로벤젠, 테트라린 등; 니트릴 예컨대, 아세토니트릴, 프로피오니트릴 등; 극성 비프로톤성 용매 예컨대, N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈, 피리딘, 디메틸술폰사이드, 술포란, 포름아미드, 아세트아미드, 프로판아미드 등; 아세트산 등 및 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0204] 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머의 분리는 용매의 제거, 냉각, 반응 매스의 농축, 항-용매제와의 조합 등을 포함하는 방법에 의해 수행될 수 있다. 구체예에서, 보호된 폴리펩티드의 분리는 반응 혼합물을 물에 부가하는 것에 의해 수행될 수 있으며, 그 결과 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머가 침전된다. 분리를 위한 적당한 온도는 약 50°C 미만, 약 40°C 미만, 약 30°C 미만, 약 20°C 미만, 약 10°C 미만 또는 기타 적당한 온도일 수 있다. 분리를 위한 적당한 시간은 약 5 시간 미만, 약 3 시간 미만, 약 2 시간 미만, 약 1 시간 미만, 약 45 분 미만일 수 있다. 분리를 완료하기 위해 필요한 정확한 온도 및 시간은 당업자에게 쉽게 결정될 수 있으며 또한 예컨대, 용액 또는 슬러리의 농도 및 온도와 같은 파라미터에 의존할 것이다. 또한 교반 또는 내용물을 혼합하는 예컨대, 웨이킹, 에지레이션 등과 같은 기타 다른 방법이 분리를 위해서도 수행될 수 있다.
- [0205] 분리되어진 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머는 디켄테이션, 원심분리, 중력식 여과, 흡입 여과 또는 고체를 회수하기 위한 기타 다른 기법을 포함하는 방법에 의해 회수될 수 있다.
- [0206] 회수된 고체는 선택적으로 건조될 수 있다. 건조는 트레이 드라이어, 진공 오븐, 에어 오븐, 유동층 건조기, 스펀 플래시 건조기, 플래시 건조기 등에서 수행될 수 있다. 건조는 약 55°C 미만, 약 45°C 미만, 약 35°C 미만, 약 25°C 미만 또는 기타 적당한 온도에서 대기압 또는 감압하에 수행될 수 있다. 구체예에서, 건조 시간은 약 1 내지 약 10 시간 또는 그 이상으로 변경될 수 있다.
- [0207] 본 발명의 양상은 폴리펩티드 또는 글라티라머를 형성하기 위해 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 염기와 반응시키는데 사용하기 이전에, 보호된 폴리펩티드를 산과 반응시키는 것에 의해 얻어지는 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하는 단계를 포함한다.
- [0208] 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하는 것은 세척, 슬러리화, 켄칭 등을 포함하는 방법에 의해 수행될 수 있다.
- [0209] 보호된 폴리펩티드를 산과 반응시키는데 사용될 수 있는 산 또는 산 조합물에서의 분자 종의 함량은 폴리펩티드 또는 글라티라머에서 관능화된 폴리펩티드의 형성에 있어서 중요한 역할을 할 수 있다.
- [0210] 예컨대, 보호된 폴리펩티드를 산과 반응시키는데 사용될 수 있는 산 또는 산 조합물에 있어서 분자 할로젠 또는 유리 할로젠 종의 함량은 폴리펩티드 또는 글라티라머에서 할로젠화된 폴리펩티드의 형성에 중요한 역할을 할

수 있다.

- [0211] 제조 공정 중에 사용되는 산 또는 산 조합물로부터 유래하는 분자 종을 함유하는 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머는, 폴리펩티드 또는 글라티라머를 형성하기 위해 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 염기와 반응시키는 동안, 폴리펩티드의 하나 이상의 관능기와 관능화 변형(functional transformation)을 일으키고, 그 결과 관능화된 폴리펩티드 또는 관능화된 글라티라머가, 수득된 폴리펩티드 또는 글라티라머 내에서 오염물로서 존재하는 것으로 밝혀졌다.
- [0212] 예컨대, 표면에 결합된 분자 할로겐 또는 유리 할로겐 종을 함유하는 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머는, 폴리펩티드 또는 글라티라머를 형성하기 위해 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 염기와 반응시키는 동안 폴리펩티드의 하나 이상의 관능기와 상호작용할 수 있고, 그 결과 할로겐화된 폴리펩티드 또는 할로겐화된 글라티라머가, 수득된 폴리펩티드 또는 글라티라머 내에서 오염물로서 존재한다.
- [0213] 이것은 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 염기와 반응시키는데 사용하기 이전에, 보호된 폴리펩티드를 산과 반응시켜 얻어진 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하는 것에 의해 방지할 수 있고, 그 결과 실질적으로 분자 종이 없는 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 형성하게 된다.
- [0214] 예컨대, 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 염기와 반응시키는데 사용하기 이전에, 보호된 폴리펩티드를 산과 반응시켜 얻어진 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하면, 실질적으로 분자 할로겐 또는 유리 할로겐 종이 없는 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 형성하게 된다.
- [0215] 분자 불순물의 함량을 감소시키기 위하여 이러한 처리에 사용될 수 있는 적당한 시약은 알칼리 또는 알칼리토 금속 티오솔페이트 예컨대, 소듐 티오솔페이트 등; 알칼리 금속 비솔페이트, 예컨대, 소듐 비솔페이트 등; 알칼리 금속 메타비솔파이트 예컨대, 소듐 메타비솔파이트 등; 아스코르브산; 활성화된 탄소 섬유; 유기-용해성 이온 교환 수지의 용액, 예컨대, Amberlite® LA-2 등; 은염; 소듐 비카보네이트; 등을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0216] Amberlite LA-2는 평균 약 350-400의 분자량, 약 2.2-2.3meq/mL의 결합능(binding capacity) 및 CAS No. 1 128-96-4을 갖는 액체 고-분자된 2급 아민이다. 이것은 유기 용매에 용해성이고 수성 매질에 비용해성이다.
- [0217] 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 시약으로 처리하여 얻어진 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머는 추가로 용매를 이용하여 세척될 수 있다. 사용될 수 있는 적당한 용매는 물, 지방족 또는 지환족 탄화수소 예컨대, 헥산, 헵탄, 펜탄, 시클로헥산, 메틸시클로헥산 등; 에테르, 예컨대, 디에틸 에테르, 디이소프로필 에테르, tert-부틸메틸에테르, 디부틸 에테르, 테트라하이드로푸란, 1,2-디메톡시에탄, 2-메톡시에탄올, 2-에톡시에탄올, 아니솔, 1,4-디옥산 등; 에스테르, 예컨대, 에틸 포르메이트, 메틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 프로필 아세테이트, 부틸 아세테이트, 메틸 프로파노에이트, 에틸 프로파노에이트, 메틸 부타노에이트, 에틸 부타노에이트 등; 및 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다
- [0218] 구체예에서, 본 발명에 기술된 방법에 따라 제조된 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머는 겔투과 크로마토그래피(GPC)와 같은 기법을 이용하여 측정되는 바와 같이, 약 2000 Daltons 내지 약 40,000 Daltons, 또는 약 4000 Daltons 내지 약 18,000 Daltons, 또는 약 4000 Daltons 내지 약 13,000 Daltons, 또는 약 5000 Daltons 내지 약 9000 Daltons 범위의 피크 평균 분자량을 갖는다.
- [0219] 본 발명의 양상은 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 염기와 반응시키는 단계를 포함한다.
- [0220] 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머, 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하기 위해 보호된 폴리펩티드 또는 보호된 글라티라머를 염기와 반응시키는데 사용될 수 있는 염기는 유기 염기 예컨대, 트리에틸아민, 트리부틸아민, N-메틸모르폴린, N,N-디이소프로필에틸아민, N-메틸피롤리딘, 피페리딘, 수성 피페리딘, 피롤리딘 피리딘, 4-(N,N-디메틸아미노)피리딘, 모르폴린, 이미다졸, 2-메틸이미다졸, 4-메틸이미다졸, 메탄올릭 암모니아 등; 무기 염기 예컨대, 알칼리 금속 하이드록사이드 예컨대, 리튬 하이드록사이드, 소듐 하이드록사이드, 포타슘 하이드록사이드 및 세슘 하이드록사이드; 알칼리토 금속 하이드록사이드 예컨대, 바륨 하이드록사이드, 마그네슘 하이드록사이드, 칼슘 하이드록사이드 등; 알칼리 금속 카보네이트 예컨대, 소듐 카보네이트, 포타슘 카보네이트, 리튬 카보네이트, 세슘 카보네이트 등, 알칼리토 금속 카보네이트 예컨대, 마그네슘 카보네이트, 칼슘 카보네이트, 바륨 카보네이트 등; 알칼리 금속 비카보네이트 예컨대, 리튬 비카보네이트, 소듐 비카보네이트, 포타슘 비카보네이트 등; 및 이 중에서 2 이상의 혼합물을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0221] 폴리펩티드 또는 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하기 위하여 보호된 폴리펩티드 또는



보호된 글라티라머를 염기와 반응시키는 것은 용매 내에서 수행될 수 있다. 폴리펩티드 또는 글라티라머를 형성하기 위하여 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시키는데 사용될 수 있는 적당한 용매는 물, 에테르, 에컨대, 디에틸 에테르, 디이소프로필 에테르, tert-부틸메틸에테르, 디부틸 에테르, 테트라하이드로푸란, 1,2-디메톡시에탄, 2-메톡시에탄올, 2-에톡시에탄올, 아니솔, 1,4-디옥산 등; 에스테르, 에컨대, 에틸 포르메이트, 메틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 프로필 아세테이트, 부틸 아세테이트, 메틸 프로파노에이트, 에틸 프로파노에이트, 메틸 부타노에이트, 에틸 부타노에이트 등; 지방족 또는 지환족 탄화수소 에컨대, 헥산, 헵탄, 펜탄, 시클로헥산, 메틸시클로헥산 등; 니트로메탄; 할로젠화 탄화수소 에컨대, 디클로로메탄, 클로로포름, 1,1,2-트리클로로에탄, 1,2-디클로로에탄 등; 방향족 탄화수소 에컨대, 톨루엔, 자일렌, 클로로벤젠, 테트라린 등; 니트릴 에컨대, 아세토니트릴, 프로피오니트릴 등; 극성 비프로톤성 용매 에컨대, N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈, 피리딘, 디메틸술폰사이드, 술폴란, 포름아미드, 아세트아미드, 프로판아미드 등; 아세트산 등; 및 이 중에서 2 이상의 혼합물을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다.

[0222] 폴리펩티드 또는 글라티라머를 형성하기 위하여 보호된 폴리펩티드를 염기와 반응시키는데 사용될 수 있는 적당한 온도는 약 60°C 미만, 약 55°C 미만, 약 50°C 미만, 약 45°C 미만, 약 40°C 미만, 약 35°C 미만, 약 30°C 미만, 약 25°C 미만, 약 15°C 미만, 약 10°C 미만, 약 5°C 미만, 약 0°C 미만, 또는 기타 적당한 온도이다.

[0223] 하나의 양상에서, 본 발명의 방법에 따라 제조된 폴리펩티드 또는 글라티라머는 정제될 수 있다. 정제는 당업계에 알려진 방법을 포함한, 임의의 수법을 이용하여 수행될 수 있다. 구체예에서, 폴리펩티드 또는 글라티라머의 정제는 투석(dialysis) 또는 초미세여과(ultrafiltration)와 같은 방법을 사용할 수 있다.

[0224] 구체예에서, 폴리펩티드 또는 글라티라머는 단계적(step) 또는 일정(constant)하게 작업하여 분자량 컷오프 막(에컨대, 1 KDa, 2 KDa, 3 KDa, 및 30 KDa)을 이용하여, 물 또는 완충제, 에컨대 아세테이트 완충제, 포스페이트 완충제, 또는 시트레이트 완충제에 대해 정용여과(diafiltration) 된다. 구체예에서, 정용여과 용액은 수성 아세트산과 같은 약산으로 산성화될 수 있고, 물에 대해 투석된다. 에컨대, 아세트산의 농도는 약 1부피% 미만, 또는 약 0.5부피% 미만일 수 있다.

[0225] 초미세여과 막을 통과하여 농축에 의해 얻어진 최종 투석 용액은 실질적으로 순수한 폴리펩티드 또는 실질적으로 순수한 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 형성하기 위해 동결건조될 수 있다.

[0226] 상기에 기술된 용어, "실질적으로 순수한"은 다른 언급이 없는 한, 약 40 KDa 초과 분자량을 갖는 하나 이상의 폴리펩티드 단편이 실질적으로 없거나 또는 약 2 KDa 미만의 분자량을 갖는 폴리펩티드 단편이 실질적으로 없는 폴리펩티드, 글라티라머, 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 지칭한다.

[0227] 상기에 기술된 용어, "실질적으로 없는"은 다른 언급이 없는 한, 약 40 KDa 이상의 분자량을 갖는 폴리펩티드 또는 약 2 KDa 이하의 분자량을 갖는 폴리펩티드 단편의 하나 이상의 대응하는 종을, 약 5중량% 미만, 약 3중량% 미만, 약 2중량% 미만, 약 1중량% 미만, 또는 약 0.5중량% 미만 함유하는 폴리펩티드, 글라티라머, 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염을 지칭한다.

[0228] 구체예에서, 본 발명에 기술된 방법에 따라 제조된 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염은 겔투과 크로마토그래피(GPC)와 같은 방법을 이용하여 측정되는 바와 같이, 약 2,000 Daltons 내지 약 40,000 Daltons 또는 약 4,000 Daltons 내지 약 18,000 Daltons 또는 약 4,000 Daltons 내지 약 13,000 Daltons 또는 약 5,000 Daltons 내지 약 9,000 Daltons 범위의 피크 평균 분자량을 가질 수 있다.

[0229] 구체예에서, 본 발명에 기술된 방법에 따라 제조된 글라티라머 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염은 겔투과 크로마토그래피(GPC)와 같은 방법을 이용하여 측정되는 바와 같이, 약 5,000 Daltons 내지 약 9,000 Daltons 범위의 피크 평균 분자량을 가질 수 있다.

[0230] 구체예에서, 본 발명에 기술된 방법에 따라 제조된 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염은 약 2,000 Daltons 내지 약 20,000 Daltons의 분자량 범위 내에서 적어도 75%의 물 분획을 갖는다.

[0231] 구체예에서, 본 발명에 기술된 방법에 따라 제조된 글라티라머 아세테이트는 약 2,000 Daltons 내지 약 20,000 Daltons의 분자량 범위 내에서 적어도 75%의 물 분획을 갖는다.

[0232] 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 분자량을 측정하는데 유용한 겔투과 크로마토그래피 방법은 Superose™ 12, 10x300-310mm, 11μm 또는 균등 컬럼을 이용한다.

[0233] 부가적인 파라미터는 표 1에 도시되어 있다.

[0234] 표 1

|        |   |
|--------|---|
| 유속     | 0.5 mL/minute (isocratic).                      |
| 검출기    | 210 nm.   |
| 컬럼 온도  | 30°C 미만   |
| 농도     | 4 mg/mL.  |
| 이동상    | 완충액: Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 및 NaCl 용액 |
| 인젝션 부피 | 50 µL.  |
| 런 타임   | 표준에 대해 60분 및 시료에 대해 90분                         |

[0235]

[0236] 폴리펩티드 내에서 아미노산의 몰 분획은 당업계에 알려진 방법을 이용하여 측정될 수 있다. 예컨대, 시료 용액은 2mg의 폴리펩티드를 이용하여 제조되고, 약 110-130°C에서 N<sub>2</sub> 분위기 하에, 6N HCl을 이용하여 가수분해된다. 각각의 글루타민산, 알라닌, 티로신 및 리신 염산염을 함유하는 아미노산 표준 용액이 제조된다. 표준 및 시료 용액은 플루오레닐메틸옥시카르보닐(Fmoc) 시약으로 유도체화된다. 표준 및 시료 용액은 UV 검출기가 장착된 기구 내에서 C18 또는 균등 컬럼을 이용하여 분석될 수 있다. 추가적인 파라미터는 표 2에 개시되어 있다.

[0237] 표 2

|       |                |
|-------|----------------|
| 유속    | 1.0 mL/minute. |
| 검출기   | 265 nm.        |
| 컬럼 온도 | 30°C.          |

[0238]

|        |  |
|--------|--|
| 이동상    | 이동상 A: pH 3.5 완충액 (소듐 아세테이트 트리하이드레이트 및 아세트산) 및 아세토니트릴 부피비 90: 10 로 혼합<br><br>이동상 B: pH 3.5 완충액 (소듐 아세테이트 트리하이드레이트 및 아세트산) 및 아세토니트릴 부피비 10: 90으로 혼합 |
| 인젝션 부피 | 50 µL.   |
| 용리     | 그라디언트  |

[0239]

[0240] 폴리펩티드 시료 내에서 아미노산의 몰 분획은 피크 면적에 기초하여 측정된다.

[0241] 본 발명의 방법에 따라 얻어진 보호된 폴리펩티드는 실질적으로 벤질 클로라이드가 없다.

[0242] 본 발명의 방법에 따라 얻어진 보호된 글라티라머는 실질적으로 벤질 클로라이드가 없다.

[0243] 본 발명의 방법에 따라 얻어진 트리플루오로아세틸 글라티라머는 실질적으로 벤질 클로라이드가 없다.

[0244] 본 발명의 방법에 따라 얻어진 폴리펩티드는 실질적으로 벤질 클로라이드가 없다.

[0245] 본 발명의 방법에 따라 얻어진 글라티라머 아세테이트는 실질적으로 벤질 클로라이드가 없다.

[0246] 여기서 용어 "실질적으로 없는"은 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 이용하여 측정되는 바와 같이, 약 3중량% 미만, 약 2중량% 미만, 약 1중량% 미만, 약 0.5중량% 미만, 약 0.3중량% 미만, 약 0.1중량% 미만, 약 0.05중

량% 미만, 또는 약 0.01중량% 미만의 벤질 클로라이드를 함유하는 화합물을 의미한다.

[0247] 벤질 클로라이드 함량을 분석하기 위한 HPLC 방법은 C18 또는 균등 컬럼을 이용한다. 추가적인 파라미터는 표 3에 개시되어 있다.

[0248] 표 3

|       |                |
|-------|----------------|
| 유속    | 1.0 mL/minute. |
| 컬럼 온도 | 엠비언트           |

[0249]

|        |  |
|--------|--|
| 이동상    | 이동상 A: 물 내에서 0.1% OPA 및 아세토니트릴 (90:10 by volume).<br>이동상 B: 물 내에서 0.1% OPA 및 아세토니트릴 (10:90 by volume).<br>OPA: 오르토인산 |
| 인젝션 부피 | 10 µL.   |
| 용리     | 그라디언트  |

[0250]

[0251] 본 발명의 방법에 따라 제조된 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염은, HPLC에 의해 측정되는 바와 같이, 하나 이상의 그에 대응하는 관능화된 폴리펩티드, 예컨대 하나 이상의 관능기가 모노-, 디- 또는 폴리-관능화된 폴리펩티드가 실질적으로 없다.

[0252] 예컨대, 본 발명의 방법에 따라 제조된 폴리펩티드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염은, 하나 이상의 그에 대응하는 할로겐화된 폴리펩티드, 예컨대 티로신 잔기가 모노-, 디-, 또는 폴리-할로겐화된 폴리펩티드가 실질적으로 없다. 할로겐의 예는 염소, 브롬 및 요오드이다.

[0253] 본 발명의 방법에 따라 얻어진 글라티라머 아세테이트는 하나 이상의 그에 대응하는 할로겐화된 폴리펩티드, 예컨대 티로신 잔기가 모노-, 디-, 또는 폴리-할로겐화된 폴리펩티드가 실질적으로 없다. 할로겐의 예는 염소, 브롬 및 요오드이다.

[0254] 본 명세서에서, 관능화된 폴리펩티드가 "실질적으로 없는"은 HPLC와 같은 방법을 이용하여 측정되는 바와 같이 약 2중량% 미만, 약 1중량% 미만, 약 0.5중량% 미만, 약 0.3중량% 미만, 약 0.1중량% 미만, 약 0.05중량% 미만, 약 0.01중량% 미만, 약 0.005중량% 미만, 또는 약 0.001중량% 미만을 의미한다. 본 명세서에서 관능화된 폴리펩티드는 다른 언급이 없는 한, 하나 이상의 관능기가 모노-, 디-, 또는 폴리-관능화된 폴리펩티드를 지칭한다.

[0255] 본 명세서에서, 할로겐화된 폴리펩티드가 "실질적으로 없는"은 HPLC와 같은 방법을 이용하여 측정되는 바와 같이 약 2중량% 미만, 약 1중량% 미만, 약 0.5중량% 미만, 약 0.3중량% 미만, 약 0.1중량% 미만, 약 0.05중량% 미만, 약 0.01중량% 미만, 약 0.005중량% 미만, 또는 약 0.001중량% 미만을 의미한다. 본 명세서에서 할로겐화된 폴리펩티드는 다른 언급이 없는 한, 티로신 잔기가 모노-, 디-, 또는 폴리-할로겐화된 폴리펩티드를 지칭한다. 할로겐의 예는 염소, 브롬, 및 요오드이다.

[0256] 본 명세서에서 모든 퍼센트 및 비는 다른 언급이 없는 한 전체 조성물의 중량%, 중량비이고, 모든 측정은 25°C 및 대기하에서 수행된다. 모든 온도는 다른 언급이 없는 한 섭씨 온도이다. 본 명세서에서 기술된 바와 같이 용어 "포함하는"은 인용된 구성요소 또는 그의 구조 또는 기능적 균등물에 더하여 기술되지 않은 임의의 다른 구성요소 또는 구성요소들을 더하는 것을 의미한다. 용어 "함유하는" "갖는" 및 "포함하는"도 다른 언급이 없는 한 개방형 의미로 이해된다. 본 명세서에서 "필수적으로 구성된"은 청구범위에 기술된 성분 이외에 본 발명에 청구된 기본적인 신규한 특성을 변경시키지 않는 추가적인 성분을 포함하는 것을 의미한다. 본 명세서에서 모든 범위는 엔드포인트를 포함하고, 2개의 값 "사이"의 범위를 언급한 것을 포함한다. 용어 "약" "일반적으로" "실질적으로" 등은 용어 또는 값이 절대적인 것이 아니라 개질될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 그러한 용어는 당업자에게 이해되는 용어로 개질되거나 상황에 맞게 정의될 것이다. 이것은 적어도 값을 측정하기 위해 사용되는 방법에 대한 예측가능한 실험적 에러, 기술적 에러 및 기구적 에러의 정도를 포함한다.

[0257] 폴리펩티드 내에서 모노-, 디-, 및 폴리-할로겐화된 티로신의 함량은 당업계에 알려진 방법을 이용하여 측정될 수 있다. 예컨대, 시료 용액은 산 및/또는 염기를 이용하여 가수분해된다. 모노-, 디- 또는 폴리-할로겐화된 티로신 표준 용액이 표 4에 개시된 희석액 1을 이용하여 제조된다. 표준 및 시료 용액은 UV 검출기가 장착된 기구 내에서 LiChroCART® RP18e, 또는 균등한 컬럼을 이용하여 분석된다. 부가적인 파라미터는 표 4에 개시되어 있다.

[0258] 표 4

|       |                                   |
|-------|-----------------------------------|
| 유속    | 1.0 mL/minute.                    |
| 컬럼 온도 | 30°C.                             |
| 파장    | 220 nm.                           |
| 희석액   | 희석액 1: 물<br>희석액 2: 물 내에서 0.1M HCl |

[0259]

|        |  |
|--------|--|
| 원충액    | 1L의 Milli Q 물 또는 균등물 내에서<br>1.0 mL의 오르토인산                  |
| 이동상    | 이동상 A: 100% 원충액<br>이동상 B: 원충액 및 아세트오니트릴<br>부피비 10: 90으로 혼합 |
| 인젝션 부피 | 10 µL.   |
| 런 타임   | 60 분   |

[0260]

[0261] 폴리펩티드 시료 내에서 모노-, 디- 및 폴리-할로겐화된 티로신의 함량은 피크 면적에 기초하여 결정된다.

[0262] 본 발명의 글라티라머와 같은 폴리펩티드를 포함하는 약제학적 조성물은 당업계에 알려져 있는 방법을 사용하여 제제화될 수 있다. 구체예에서, 액체 조성물은 동결건조되고 이어서 주사에 적합한 수성 용액을 형성하도록 용해될 수 있다. 대안으로, 글라티라머 아세테이트는 펩티드 약물의 경구(oral), 비강(nasal), 구강(buccal) 및 직장(rectal) 제제를 제조하도록 당업계에 알려진 임의의 형태로 제제화될 수 있다.

[0263] 전형적으로, 글라티라머 아세테이트는 다발성 경화증을 앓고 있는 환자에게 매일 20mg의 투여량으로 투여된다.

[0264] 정의

[0265] 다른 언급이 없는 한, 하기 정의가 본 발명과 관련하여 사용된다.

[0266] 본 발명에서 사용되는 용어 "폴리펩티드"는 적어도 2개의 아미노산으로부터 형성되는 화합물을 지칭한다.

[0267] 본 발명에서 사용되는 용어 "아미노산"은 적어도 하나의 아미노기와 적어도 하나의 산성기를 포함하는 유기 화합물을 지칭한다. 아미노산은 천연 발생 아미노산이거나 또는 합성 기원일 수 있고, 또는 아미노산 유도체 또는 아미노산 유사체일 수 있다.

[0268] 본 발명에서 사용되는 용어 "보호된 아미노산"은 관능기가 소망하지 않는 반응에 진입하는 것을 방해할 수 있고, 이어서 쉽게 제거될 수 있는 적당한 보호기로 아미노산의 관능기가 유도체화된 아미노산을 지칭한다.

[0269] 본 발명에서 사용되는 용어 "보호기"는 특정 조건 하에서 펩티드 또는 폴리펩티드로부터 클리브될 수 있는 아미노산 또는 펩티드 또는 폴리펩티드의 관능기에 결합된 기를 지칭한다. 적당한 보호기는 J.F.W. McOmie, "유기 화학에서 보호기", Plenum Press, London and New York 1973, Th.W. Greene, "유기 합성에서 보호기", Wiley, New York 1981, "펩티드", volume 3(E. Gross and J. Meienhofer, eds.), Academic Press, London and New York 1981, "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4th edition, Volume 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, H.-D.Jakubke and H.Jescheit, "아미노사우렌, 펩티드, 단백질"(아미노산, 펩티드, 단백질), E. Gross & J. Meienhofer, The Peptides: Analysis, Structure, Biology, Vol. 3: 펩티드 합성에서의 관능기의 보호(Academic Press, N.Y., 1981); Kricheldorf, H.R. α-아미노산 N-카르복시-무수물 및 관련

헤테로사이클, Springer-Verlag: Berlin, 1987; Blacklock, T. J.; Hirschmann, R.; Veber, D. F. The Peptides; Academic Press: New York, 1987; Vol. 9, p 39에 개시되어 있는 바와 같이 당업자에게 공지되어 있다.

[0270] 특정 양상 및 구체예가 하기 실시예에 의해 추가로 설명되지만, 이것은 설명을 위한 것으로 본 발명의 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0271] 실시예 1

[0272] 글라티라머 아세테이트의 제조

[0273] L-알라닌의 N-카르복시무수물(1.37g), L-티로신의 N-카르복시무수물(0.49g), N-트리플루오로아세틸 L-리신의 N-카르복시무수물(2.28g) 및  $\gamma$ -벤질 L-글루타메이트의 N-카르복시무수물(1.01)을 질소 분위기 하에서 둥근 바닥 플라스크에 넣고, 1,4-디옥산(96mL)을 25-30°C에서 부가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 디에틸아민(36  $\mu$ L)를 25-30°C에서 부가하고, 혼합물을 동일 온도에서 24시간 동안 교반하였다. 혼합물을 서서히 물(26mL)에 붓고, 매스를 30분 동안 25-30°C에서 교반하였다. 여과에 의해 고체를 수집하고, 물(20mL)로 세척하며 28-32°C에서 감압하에 건조시켜 3.86g의 보호된 글라티라머를 수득하였다.

[0274] 보호된 글라티라머(3.86g)를 둥근 바닥 플라스크에 넣고, 아세트산(38.6mL) 내의 33% HBr을 부가하고, 혼합물을 17시간 동안 25-30°C에서 교반하였다. 혼합물을 서서히 25-30°C에서 물(77.2mL)에 부가하고, 매스를 10분 동안 교반하였다. 고체를 여과에 의해 수집하고, 물(200mL) 및 헥산(50mL)의 혼합물로 세척하며, 감압하에 25-30°C에서 건조시켜 2.968g의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 수득하였다.

[0275] 트리플루오로아세틸 글라티라머(2.96g), 피페리딘(15.9g) 및 물(143.6mL)을 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 혼합물을 24시간 동안 25-30°C에서 교반하고, 이어서 투과물(permeate)의 pH가 6-6.5에 도달할 때까지 순차적으로 작업하여 암모늄 아세테이트 버퍼(pH 5.5 $\pm$ 0.3)에 대해 1KDa 분자량 컷오프 막을 이용해 정용여과시켰다. 잔류물(retentate) 용액을 pH가 4.3-4.5에 도달할 때까지 0.3% 아세트산으로 순환시키고 잔류물의 pH가 5-5.5에 도달할 때까지 과량의 아세트산을 제거하기 위해 물에 대해 정용여과하였다. 얻어진 용액을 동결건조(lyophilized)하여 900mg의 글라티라머 아세테이트를 얻었다.

[0276] GPC에 의한 글라티라머 아세테이트의 피크 평균 분자량: 8403 Daltons; 알라닌, 글루타민산, 티로신 및 리신의 평균 몰 분획: 각각 0.441, 0.155, 0.080 및 0.323.

[0277] 실시예 2

[0278] 글라티라머 아세테이트의 제조

[0279] L-알라닌의 N-카르복시무수물(5.48g), L-티로신의 N-카르복시무수물(1.96g), N-트리플루오로아세틸 L-리신의 N-카르복시무수물(9.12g) 및  $\gamma$ -벤질 L-글루타메이트의 N-카르복시무수물(4.04g)을 질소 분위기 하에서 둥근 바닥 플라스크에 넣고, 1,4-디옥산(384mL)을 25-30°C에서 부가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 디에틸아민(144  $\mu$ L)를 25-30°C에서 부가하고, 혼합물을 동일 온도에서 24시간 동안 질소 분위기 하에서 교반하였다. 혼합물을 서서히 물(1000mL)에 붓고, 매스를 30분 동안 25-30°C에서 교반하였다. 여과에 의해 고체를 수집하고, 물(80mL)로 세척하며 28-32°C에서 감압하에 건조시켜 15.10g의 보호된 글라티라머를 수득하였다.

[0280] 보호된 글라티라머(1.0g)를 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 농축 HCl(12mL) 및 빙초산(38mL)의 혼합물을 부가하고, 혼합물을 18시간 동안 15-20°C에서 교반하였다. 혼합물을 서서히 25-30°C에서 물(250mL)에 부가하고, 매스를 10분 동안 교반하였다. 고체를 여과에 의해 수집하고, 물(100mL) 및 헥산(50mL)의 혼합물로 세척하며, 감압하에 25-30°C에서 건조시켜 0.550g의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 수득하였다.

[0281] 트리플루오로아세틸 글라티라머(0.40g), 피페리딘(2.2g) 및 물(19.8mL)을 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 혼합물을 24시간 동안 25-30°C에서 교반하고, 이어서 투과물의 pH가 6-6.5에 도달할 때까지 순차적으로 작업하여 암모늄 아세테이트 버퍼(pH 5.5 $\pm$ 0.3)에 대해 1KDa 분자량 컷오프 막을 이용해 정용여과시켰다. 잔류물 용액을 pH가 4.3-4.5에 도달할 때까지 0.3% 아세트산으로 순환시키고 잔류물의 pH가 5-5.5에 도달할 때까지 과량의 아세트산을 제거하기 위해 물에 대해 정용여과하였다. 이어서, 정용여과된 시료를 3 KDa 분자량 컷오프 막을 통해 농축시키고 농축된 용액을 동결건조하여 137mg의 글라티라머 아세테이트를 얻었다.

[0282] GPC에 의한 글라티라머 아세테이트의 피크 평균 분자량: 7662 Daltons.

[0283] 실시예 3

- [0284] 글라티라머 아세테이트의 제조
- [0285] 실시예 2로부터 보호된 글라티라머(1.0g) 및 테트라하이드로푸란(200mL)을 둥근 바닥 플라스크에 넣고, 25-30℃에서 5분 동안 교반하였다. 혼합물을 0-5℃로 냉각시키고, 농축 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(10mL)을 동일 온도에서 부가하였다. 혼합물을 2시간 동안 0-5℃에서 교반하고, 이어서 20시간 동안 25-30℃에서 교반하였다. 30℃에서 혼합물로부터 용매를 증류시켰다. 물(100mL)을 25-30℃에서 얻어진 매스에 부가하고 10분동안 교반하였다. 고체를 여과에 의해 수집하고 물(100mL)로 세척하며, 감압하에 25-30℃에서 건조시켜 0.510g의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 수득하였다.
- [0286] 트리플루오로아세틸 글라티라머(0.40g), 피페리딘(2.2g) 및 물(18mL)을 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 혼합물을 24시간 동안 25-30℃에서 교반하였다. 투과물의 pH가 6-6.5에 도달할 때까지 순차적으로 작업하여 암모늄 아세테이트 버퍼(pH 5.5±0.3)에 대해 1KDa 분자량 컷오프 막을 이용해 혼합물을 정용여과시켰다. 잔류물 용액을 pH가 4.3-4.5에 도달할 때까지 0.3% 아세트산으로 순환시키고 잔류물의 pH가 5-5.5에 도달할 때까지 과량의 아세트산을 제거하기 위해 물에 대해 정용여과하였다. 얻어진 용액을 동결건조하여 100mg의 글라티라머 아세테이트를 얻었다.
- [0287] GPC에 의한 글라티라머 아세테이트의 피크 평균 분자량: 5371 Daltons.
- [0288] 실시예 4
- [0289] 글라티라머 아세테이트의 제조
- [0290] L-알라닌의 N-카르복시무수물(5.48g), L-티로신의 N-카르복시무수물(1.96g), N-트리플루오로아세틸 L-리신의 N-카르복시무수물(9.12g) 및 γ-벤질 L-글루타메이트의 N-카르복시무수물(4.04g)을 질소 분위기 하에서 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 1,4-디옥산(384mL)을 30℃에서 부가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 디에틸아민(144 μL)를 25-30℃에서 부가하고, 혼합물을 동일 온도에서 24시간 동안 질소 분위기 하에서 교반하였다. 혼합물을 서서히 물(1000mL)에 붓고, 매스를 10분 동안 25-30℃에서 교반하였다. 여과에 의해 고체를 수집하고, 물(20mL)로 세척하며 25-35℃에서 감압하에 건조시켜 15.0g의 보호된 글라티라머를 수득하였다.
- [0291] 보호된 글라티라머(0.5g)를 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 57%의 HI 및 H<sub>3</sub>PO<sub>2</sub>(5mL)의 혼합물을 부가하고, 혼합물을 17시간 동안 30℃에서 교반하였다. 혼합물을 서서히 30℃에서 물(20mL)에 부가하고, 매스를 15분 동안 교반하였다. 고체를 여과에 의해 수집하고, 물(50mL) 및 헥산(20mL)의 혼합물로 세척하며, 감압하에 25-30℃에서 건조시켜 0.165g의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 수득하였다.
- [0292] HPLC에 의한 벤질 클로라이드 함량: 0.3%.
- [0293] 트리플루오로아세틸 글라티라머(110mg), 피페리딘(0.6mL) 및 물(5.5mL)을 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 혼합물을 24시간 동안 30℃에서 교반하고, 이어서 투과물의 pH가 6-6.5에 도달할 때까지 순차적으로 작업하여 암모늄 아세테이트 버퍼(pH 5.5±0.3)에 대해 1KDa 분자량 컷오프 막을 이용해 정용여과시켰다. 잔류물 용액을 pH가 4.3-4.5에 도달할 때까지 0.3% 아세트산으로 순환시키고 잔류물의 pH가 5-5.5에 도달할 때까지 과량의 아세트산을 제거하기 위해 물에 대해 정용여과하였다. 이어서 정용여과된 시료를 3KDa 분자량 컷오프 막을 통해 농축시키고, 농축 용액을 동결건조하여 68mg의 글라티라머 아세테이트를 얻었다.
- [0294] GPC에 의한 글라티라머 아세테이트의 피크 평균 분자량: 4545 Daltons; HPLC에 의한 벤질 클로라이드 함량: 0.06%.
- [0295] 실시예 5
- [0296] 글라티라머 아세테이트의 제조
- [0297] 실시예 4로부터 보호된 글라티라머(1.0g)를 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 57%의 HI 및 아세트산(15mL) 내에서의 H<sub>3</sub>PO<sub>2</sub>(5mL)의 혼합물을 부가하고, 이 혼합물을 16시간 동안 30℃에서 교반하였다. 혼합물을 서서히 30℃에서 물(60mL)에 부가하고, 매스를 15분 동안 교반하였다. 고체를 여과에 의해 수집하고, 물(100mL) 및 헥산(40mL)의 혼합물로 세척하며, 감압하에 25-30℃에서 건조시켜 740mg의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 수득하였다.
- [0298] HPLC에 의한 벤질 클로라이드 함량: 0.25%.
- [0299] 트리플루오로아세틸 글라티라머(500mg), 피페리딘(2.75mL) 및 물(25mL)을 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 혼합물을 24시간 동안 30℃에서 교반하고, 이어서 투과물의 pH가 6-6.5에 도달할 때까지 순차적으로 작업하여 암모늄

아세트레이트 버퍼(pH 5.5±0.3)에 대해 1KDa 분자량 컷오프 막을 이용해 정용여과시켰다. 잔류물 용액을 pH가 4.3-4.5에 도달할 때까지 0.3% 아세트산으로 순환시키고 잔류물의 pH가 5-5.5에 도달할 때까지 과량의 아세트산을 제거하기 위해 물에 대해 정용여과하였다. 이어서 정용여과된 시료를 3KDa 분자량 컷오프 막을 통해 농축시키고, 농축 용액을 동결건조하여 300mg의 글라티라머 아세트레이트를 얻었다.

[0300] GPC에 의한 글라티라머 아세트레이트의 피크 평균 분자량: 6938 Daltons; HPLC에 의한 벤질 클로라이드 함량: 0.05%.

[0301] 실시예 6

[0302] 보호된 글라티라머의 제조

[0303] L-알라닌의 N-카르복시무수물(13.56g), L-티로신의 N-카르복시무수물(4.99g), N-트리플루오로아세틸 L-리신의 N-카르복시무수물(22.8g) 및  $\gamma$ -벤질 L-글루타메이트의 N-카르복시무수물(9.89g)을 질소 분위기 하에서 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 1,4-디옥산(996mL)을 25-30°C에서 부가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 디에틸아민(360  $\mu$ L)를 25-30°C에서 부가하고, 혼합물을 동일 온도에서 24시간 동안 교반하였다. 혼합물을 서서히 물(2.6L)에 붓고, 매스를 30분 동안 25-30°C에서 교반하였다. 여과에 의해 고체를 수집하고, 물(1.5L)로 세척하며 25-35°C에서 감압하에 건조시켜 34.5g의 보호된 글라티라머를 수득하였다.

[0304] 실시예 7

[0305] 글라티라머 아세트레이트의 제조

[0306] 실시예 6으로부터 보호된 글라티라머(5.0g)을 광으로부터 보호하여 33°C에서 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 57%의 HI 및 아세트산(75mL) 내에서의 H<sub>3</sub>PO<sub>2</sub>(25mL)의 예비 혼합용액을 부가하고, 혼합물을 광으로부터 보호하여 17시간 동안 30-35°C에서 교반하였다. 혼합물을 서서히 30-35°C에서 물(500mL)에 부가하고, 매스를 15분 동안 교반하였다. 고체를 여과에 의해 수집하고, 물(50mL)로 세척하여 갈색의 화합물을 얻었다. 습윤 화합물을 10% 소듐 티오술페이트 용액(Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O)(5x100mL)으로 세척하여 백색 화합물을 얻고, 물(2L)로 세척하고 마지막으로 헥산(250mL)로 세척하며, 감압하에 25-30°C에서 건조시켜 3.5g의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 수득하였다.

[0307] HPLC에 의한 모노요오드티로신 함량: 미검출; HPLC에 의한 디요오드티로신 함량: 미검출

[0308] 트리플루오로아세틸 글라티라머(3.0g), 피페리딘(16.5mL) 및 물(150mL)을 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 혼합물을 24시간 동안 25-35°C에서 교반하고, 이어서 투과물의 pH가 5.5-6.5에 도달할 때까지 순차적으로 작업하여 암모늄 아세트레이트 버퍼(pH 5.5±0.3)에 대해 1KDa 분자량 컷오프 막을 이용해 정용여과시켰다. 잔류물 용액을 pH가 4.5-4.6에 도달할 때까지 0.3% 아세트산으로 순환시키고 잔류물의 pH가 4.8-4.9에 도달할 때까지 과량의 아세트산을 제거하기 위해 물에 대해 정용여과하였다. 이어서 정용여과된 시료를 3KDa 분자량 컷오프 막을 통해 농축시키고, 농축 용액을 동결건조하여 1750mg의 글라티라머 아세트레이트를 얻었다.

[0309] GPC에 의한 글라티라머 아세트레이트의 피크 평균 분자량: 7988 Daltons; HPLC에 의한 모노요오드티로신 함량: 미검출; HPLC에 의한 디요오드티로신 함량: 미검출

[0310] 실시예 8

[0311] 글라티라머 아세트레이트의 제조

[0312] 실시예 6으로부터 보호된 글라티라머(10.0g)을 광으로부터 보호하여 33°C에서 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 57%의 HI 및 아세트산(150mL) 내에서의 H<sub>3</sub>PO<sub>2</sub>(50mL)의 예비 혼합용액을 부가하고, 혼합물을 광으로부터 보호하여 17시간 동안 30-35°C에서 교반하였다. 반응 혼합물을 동일한 3개의 부분으로 분할하고, 각각 개별적으로 추가 처리하였다.

[0313] 반응 혼합물의 부분 1(180mL)을 물(900mL)에 넣고 5분 동안 교반하였다. 고체를 여과하고, 물(100mL)로 세척하여 갈색 고체를 얻었다. 습윤 고체를 10% 소듐 티오술페이트 용액(Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O)(5x200mL)으로 세척하여 백색 고체를 얻고, 이어서 물(4L)로 세척하고 헥산(500mL)으로 세척하며, 감압하에 25-30°C에서 건조시켜 6.9g의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 얻었다.

[0314] HPLC에 의한 모노요오드티로신 함량: 미검출; HPLC에 의한 디요오드티로신 함량: 미검출

- [0315] 반응 혼합물의 부분 2(10mL)를 물(50mL) 내의 5% 아스코르브산에서 퀘칭(quench)하고 5분 동안 교반하였다. 얻어진 고체를 여과하고 물(30mL)로 세척하며, 헥산(20mL)으로 세척하고, 감압하에 25-30℃에서 건조시켜 0.15g의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 얻었다.
- [0316] HPLC에 의한 모노요오드티로신 함량: 0.016%; HPLC에 의한 디요오드티로신 함량: 미검출
- [0317] 반응 혼합물의 부분 3(10mL)를 물(50mL)에서 퀘칭하고 5분 동안 교반하였다. 얻어진 고체를 여과하고 물(50mL) 내의 5% 아스코르브산으로 2번 세척하였다. 얻어진 고체를 물(20mL), 헥산(20mL)으로 세척하고 감압하에 25-30℃에서 건조시켜 0.15g의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 얻었다.
- [0318] 부분 1의 트리플루오로아세틸 글라티라머(5.0g), 피페리딘(27.5mL) 및 물(250mL)을 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 혼합물을 24시간 동안 25-35℃에서 교반하고, 이어서 투과물의 pH가 5.5-6.5에 도달할 때까지 순차적으로 작업하여 암모늄 아세테이트 버퍼(pH 5.5±0.3)에 대해 1KDa 분자량 컷오프 막을 이용해 정용여과시켰다. 잔류물 용액을 pH가 4.5-4.6에 도달할 때까지 0.3% 아세트산으로 순환시키고 잔류물의 pH가 4.8-4.9에 도달할 때까지 과량의 아세트산을 제거하기 위해 물에 대해 정용여과하였다. 이어서 정용여과된 시료를 3KDa 분자량 컷오프 막을 통해 농축시키고, 농축 용액을 동결건조하여 3400mg의 글라티라머 아세테이트를 얻었다.
- [0319] GPC에 의한 글라티라머 아세테이트의 피크 평균 분자량: 8737 Daltons; HPLC에 의한 모노요오드티로신 함량: 미검출; HPLC에 의한 디요오드티로신 함량: 미검출
- [0320] 실시예 9
- [0321] 트리플루오로아세틸 글라티라머의 제조
- [0322] 실시예 6으로부터 보호된 글라티라머(2.0g)을 둥근 바닥 플라스크에 넣고, 아세트산(20mL) 내의 33% HBr을 부가하고, 혼합물을 17시간 동안 25-30℃에서 교반하였다. 혼합물을 서서히 25-30℃에서 물(40mL)에 부가하고, 매스를 10분 동안 교반하였다. 고체를 여과하고, 물(100mL)로 세척하여 갈색 고체를 얻었다. 습윤 고체를 10% 소듐 티오술포에이트 용액( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )(200mL)으로 세척하여 백색 고체를 얻고, 이어서 물(200mL)로 세척하고 헥산(100mL)으로 세척하며, 감압하에 25-30℃에서 건조시켜 1.35g의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 얻었다.
- [0323] HPLC에 의한 모노요오드티로신 함량: 0.36%; HPLC에 의한 디요오드티로신 함량: 미검출
- [0324] 실시예 10
- [0325] 글라티라머 아세테이트의 제조
- [0326] 실시예 6으로부터 보호된 글라티라머(1.0g)을 광으로부터 보호하여 30-35℃에서 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 57%의 HI 및 아세트산(15mL) 내에서의  $\text{H}_3\text{PO}_2$ (5.0mL)의 예비 혼합용액을 부가하였다. 혼합물을 40℃로 가열하고 광으로부터 보호하여 4시간 동안 교반하였다. 5% 소듐 티오술포에이트 용액(100mL)으로 반응물을 퀘칭하고, 10-15분 동안 교반하였다. 고체를 여과하고 소듐 티오술포에이트(50mL)의 용액으로 세척하며, 물(600mL)로 세척하고, 헥산(50mL)으로 세척하며, 감압하에 25-30℃에서 건조시켜 0.6g의 트리플루오로아세틸 글라티라머를 얻었다.
- [0327] HPLC에 의한 모노요오드티로신 함량: 미검출; HPLC에 의한 디요오드티로신 함량: 미검출
- [0328] 트리플루오로아세틸 글라티라머(500mg), 피페리딘(2.8mL) 및 물(25mL)을 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 혼합물을 24시간 동안 25-35℃에서 교반하고, 이어서 투과물의 pH가 5.5-6.5에 도달할 때까지 순차적으로 작업하여 암모늄 아세테이트 버퍼(pH 5.5±0.3)에 대해 1KDa 분자량 컷오프 막을 이용해 정용여과시켰다. 잔류물 용액을 pH가 4.5-4.6에 도달할 때까지 0.3% 아세트산으로 순환시키고 잔류물의 pH가 4.8-4.9에 도달할 때까지 과량의 아세트산을 제거하기 위해 물에 대해 정용여과하였다. 이어서 정용여과된 시료를 3KDa 분자량 컷오프 막을 통해 농축시키고, 농축 용액을 동결건조하여 1750mg의 글라티라머 아세테이트를 얻었다.
- [0329] HPLC에 의한 모노요오드티로신 함량: 미검출; HPLC에 의한 디요오드티로신 함량: 미검출