

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 117**

51 Int. Cl.:

C08G 73/10 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

A61K 47/34 (2007.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C08G 65/333 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.08.2012 PCT/JP2012/072160**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.03.2013 WO13035641**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.08.2012 E 12830758 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2017 EP 2754682**

54 Título: **Método para la fabricación de un copolímero de bloques**

30 Prioridad:

11.09.2011 JP 2011197760

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

02.10.2017

73 Titular/es:

**NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA (100.0%)
1-1, Marunouchi 2-chome
Chiyoda-ku, Tokyo 100-0005, JP**

72 Inventor/es:

**YAMAMOTO KEIICHIROU y
KITAGAWA MASAYUKI**

74 Agente/Representante:

POLO FLORES, Carlos

ES 2 635 117 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para la fabricación de un copolímero de bloques

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a una preparación micelar que contiene un copolímero de bloques y un fármaco que usa el copolímero, y a un método para producir un copolímero de bloques para un fármaco anticanceroso que contiene la composición micelar como principio activo.

10

Antecedentes

Muchos fármacos, particularmente los fármacos contra el cáncer, son compuestos hidrófobos que en su mayor parte no se disuelven en agua. Con el fin de obtener un efecto terapéutico deseado usando dicho fármaco, normalmente, el fármaco se solubiliza y se administra a un paciente. Por lo tanto, la solubilización de un fármaco moderadamente soluble en agua, particularmente un fármaco anticanceroso moderadamente soluble en agua, es importante para las preparaciones orales o parenterales, particularmente en preparaciones para la administración intravenosa.

Como uno de los métodos para solubilizar un fármaco anticancerígeno moderadamente soluble en agua, se puede usar un método de adición de un tensioactivo. Por ejemplo, se conoce el uso de un derivado de aceite de ricino de polioxietileno (Cremophor) para solubilizar paclitaxel. Además, con respecto a otros métodos, se describen métodos de uso de un copolímero de bloques formador de micelas como vehículo farmacológico en el Documento de Patente 1, Documento de Patente 2, Documento de Patente 3, y similares. El Documento de Patente 4, el Documento de Patente 5 y el Documento de Patente 6 describen micelas encapsuladas con paclitaxel que usan copolímeros de bloques que tienen restos estructurales de polietilenglicol (PEG) y restos estructurales de poliaminoácidos, como vehículos farmacológicos.

El Documento de Patente 5 describe que se obtienen micelas encapsuladas con paclitaxel que tienen un efecto antitumoral predominantemente alto alterando la estructura del resto estructural poliaminoácido del copolímero de bloques que forma las micelas utilizadas en el Documento de Patente 4.

El Documento de Patente 6 describe que cuando se usa un método de producción diferente al del Documento de Patente 5, disminuye la cantidad de estructuras de ácido carboxílico residual en la estructura del resto de estructura de poliaminoácido del copolímero de bloques que forma micelas y se reduce la toxicidad en comparación con las micelas encapsuladas con paclitaxel descritas en el Documento de Patente 5.

Lista de citas**Documentos de Patentes**

40

Documento de patente 1: JP 6-107565 A
 Documento de patente 2: JP 6-206815 A
 Documento de patente 3: JP 11-335267 A
 Documento de patente 4: JP 2001-226294 A
 Documento de patente 5: WO 2004/082718 A
 Documento de patente 6: WO 2006/033296 A

45

Sumario de la invención**50 Problema técnico**

El método para producir un copolímero de bloques descrito en el Documento de Patente 6 implica introducir primero un alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente en un PEG-pAsp (ácido poliaspártico)-Ac producido por el método descrito en el Documento de Patente 2, y aislar el producto. A continuación, se lleva a cabo la introducción de un resto de transferencia de urea de pAsp y una reacción de ciclación para reducir la cantidad de grupos carboxilo residuales de pAsp. Sin embargo, el alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente que se separa parcialmente por esta reacción de calentamiento de la segunda etapa. Por consiguiente, ha sido necesario llevar a cabo la regulación de la relación introducida del alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente tanto en la primera etapa como en la segunda etapa. Por lo tanto, la regulación de la cantidad de grupos carboxilo residuales de pAsp y la relación introducida del alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un

60

sustituyente hasta ahora ha sido difícil.

Solución al problema

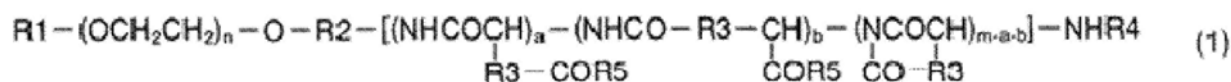
5 Los inventores de la presente invención llevaron a cabo una investigación exhaustiva con el fin de resolver los problemas descritos anteriormente y, como resultado, los inventores sorprendentemente encontraron un método para producir el copolímero de bloques descrito en el Documento de Patente 6 en un proceso en un solo reactor, aplicando específicamente condiciones de reacción restringidas al método para producir un copolímero de bloques descrito en el Documento de Patente 5. Además, los inventores también resuelven las dificultades descritas
10 anteriormente en la producción, y por lo tanto completan la presente invención.

Es decir, la presente invención se refiere a lo siguiente:

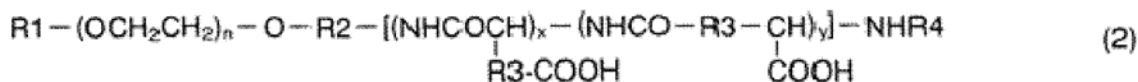
1) Un método para producir un copolímero de bloques representado por la siguiente fórmula (1):

15

[Fórmula Química 2]



en la que, R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1-C5); R2 representa un grupo alquileo (C1-C5); R3 representa un grupo metileno o un grupo etileno; R4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo
20 (C1-C4); R5 representa un grupo hidroxilo, un grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente, o -N(R6)-CO-NHR7 (en la que R6 y R7, iguales o diferentes entre sí, representan un grupo alquilo cíclico (C3-C6), o un grupo alquilo (C1-C5) que puede estar sustituido con un grupo amino terciario); n representa de 20 a 500; m representa de 2 a 200; a representa de 0 a 100; y b representa de 0 a 100, siempre que la suma de a y b sea mayor o igual que 1 y no mayor que m; la proporción de R5 que representa un grupo hidroxilo es del 0 % al 5 % de m; la proporción de R5
25 que representa un grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente es del 10 % al 80 % de m; y la proporción de R5 que representa -N(R6)-CO-NHR7 es del 11 % al 30 % de m, el método que incluye un compuesto representado por la siguiente fórmula (2):



30

en la que, R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1-C5); R2 representa un grupo alquileo (C1-C5); R3 representa un grupo metileno o un grupo etileno; R4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo (C1-C4); n representa de 20 a 500; x representa de 0 a 100; e y representa de 0 a 100, con la condición de que la suma de x e y sea de 2 a 200,

35 para reaccionar con un alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente, y un compuesto a base de carbodiimida en una cantidad de 2 (x + y) equivalentes o superior con relación a la cantidad de grupos carboxilo en la fórmula (2) (suma de x e y) en un disolvente entre 15 °C y 30 °C durante 2 horas a 48 horas en un proceso en un solo reactor.

2) El método para producir un copolímero de bloques como se describe en el punto 1) anterior, en el que R1 representa un grupo metilo; R2 representa un grupo trimetileno; R3 representa un grupo metileno; R4 representa un grupo acetilo; n es de 80 a 400; m es de 15 a 60; a es de 5 a 60; y b es 5 a 60.

3) El método para producir un copolímero de bloques tal como se describe en el punto 1) o 2) anterior, en el que el compuesto a base de carbodiimida es dietilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida, dicitlohexilcarbodiimida, o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida o una de sus sales de un ácido inorgánico.

45 4) El método para producir un copolímero de bloques como se describe en cualquiera de los puntos 1) a 3) anteriores, en el que el compuesto a base de carbodiimida es diisopropilcarbodiimida.

Efectos ventajosos de la invención

50 El método para producir un copolímero de bloques de la presente invención es tal que cuando la temperatura de reacción se controla estrictamente en el método de producción descrito en el Documento de Patente 5 y se lleva a cabo una reacción usando un compuesto a base de carbodiimida en una cantidad de 2 (x + y) equivalentes o superior a la cantidad de grupos carboxilo en la fórmula (2) (suma de x e y), en contraste con la expectativa, se obtiene no el copolímero de bloques descrito en el Documento de Patente 5, sino el copolímero de bloques descrito

en el Documento de Patente 6.

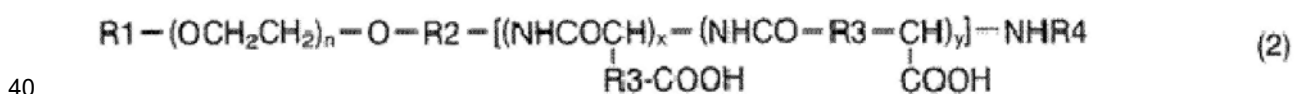
El método para producir un copolímero de bloques de la presente invención puede regular la velocidad de introducción del alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente en el compuesto representado por la fórmula (2). Esto se debe a que el alcohol de arilalquilo (C1-C8) que se ha introducido una vez no se separa por ciclación como en el caso del método de producción descrito en el Documento de Patente 6 y la cantidad de alcohol de arilalquilo (C1-C8) libre en la solución de reacción no aumenta. Como resultado, el número de grupos carboxilo sin reaccionar de pAsp en el compuesto representado por la fórmula (2) se puede reducir de manera fiable. Por lo tanto, en comparación con el método de producción descrito en el Documento de Patente 6, el método para producir un copolímero de bloques de la presente invención es un método de producción excelente desde el punto de vista industrial en el que la producción del producto se puede controlar fácilmente por una reacción en una etapa.

Como resultado, en comparación con el método para producir un copolímero de bloques descrito en el Documento de Patente 6, cada uno de los procesos de reacción y de aislamiento se llevan a cabo una vez de manera que se puede acortar el período de producción y la cantidad de disolvente usado se puede reducir a aproximadamente la mitad de la cantidad del Documento de Patente 6.

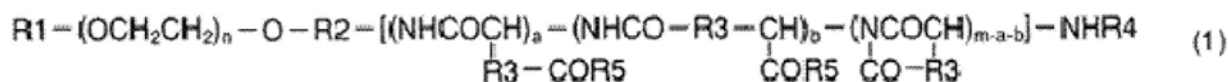
Descripción de realizaciones

La presente invención se refiere a un método para producir un copolímero de bloques representado por la siguiente fórmula (1) [en la que, R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1-C5); R2 representa un grupo alquileo (C1-C5); R3 representa un grupo metileno o un grupo etileno; R4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo (C1-C4); R5 representa un grupo hidroxilo, un grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente, o -N(R6)-CO-NHR7 (en la que R6 y R7, que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representan cada uno un grupo alquilo cíclico (C3-C6) o un grupo alquilo (C1-C5) que puede estar sustituido con un grupo amino terciario); n representa de 20 a 500; m representa de 2 a 200; a representa de 0 a 100; b representa de 0 a 100, con la condición de que la suma de a y b sea mayor o igual que 1 y no mayor que m; la proporción de R5 que representa un grupo hidroxilo es del 0 % al 5 % de m, la proporción de R5 que representa un grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente es del 10 % al 80 % de m, y la proporción de R5 que representa -N(R6)-CO-NHR7 es del 11 % al 30 % de m], el método que incluye un compuesto representado por la siguiente fórmula (2) [en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1-C5); R2 representa un grupo alquileo (C1-C5); R3 representa un grupo metileno o un grupo etileno; R4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo (C1-C4); n representa de 20 a 500; x representa de 0 a 100; e y representa de 0 a 100, con la condición de que la suma de x e y sea de 2 a 200; mientras que los diversos valores numéricos son valores medios], que tiene un resto estructural de polietilenglicol (PEG) y un resto estructural de poliaminoácido, para reaccionar con un alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente y un compuesto a base de carbodiimida en una cantidad de 2 (x + y) equivalentes o superior con relación a la cantidad de grupos carboxilo en la fórmula (2) (suma de x e y), en un disolvente de 15 °C a 30 °C y preferentemente a 20 °C a 30 °C, durante 2 horas a 48 horas.

[Fórmula Química 3]



[Fórmula Química 4]



Con respecto a los compuestos representados por las fórmulas (1) y (2) utilizadas en la presente invención, R1 puede ser un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1-C5), pero se prefiere un grupo alquilo (C1-C5). Ejemplos específicos del grupo alquilo (C1-C5) pueden incluir, pero no se limitan a, un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo, un grupo isopropilo, un grupo n-butilo, un grupo s-butilo, un grupo t-butilo, y un grupo n-pentilo, pero particularmente, se prefiere un grupo metilo.

Ejemplos específicos del grupo alquileo (C1-C5) de R2 pueden incluir, pero no se limitan a, un grupo metileno, un grupo etileno, un grupo trimetileno y un grupo tetrametileno, y se prefieren un grupo etileno y un grupo trimetileno.

R3 puede ser un grupo metileno o un grupo etileno, pero se prefiere un grupo metileno.

R4 puede ser un átomo de hidrógeno o un grupo acilo (C1-C4), y se prefiere un grupo acilo (C1-C4). Los ejemplos específicos pueden incluir, pero no se limitan a, un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo propionilo y un grupo butirilo, y se prefiere particularmente un grupo acetilo.

En lo que se refiere al compuesto representado por la fórmula (2), n es de 20 a 500, y preferentemente de 80 a 400. x es de 0 a 100, y preferentemente de 5 a 60. y es de 0 a 100, y preferentemente de 5 a 60. La suma de x e y es de 2 a 200, preferentemente de 10 a 100, y en particular preferentemente de 5 a 60.

10

En el compuesto representado por la fórmula (1), el grupo arilalcoxi (C1-C8) para R5 puede ser un grupo alcoxi (C1-C8) lineal o ramificado en el que está unido un grupo hidrocarburo aromático tal como un grupo fenilo o un grupo naftilo. Los ejemplos específicos pueden incluir, pero no se limitan a, un grupo benciloxi, un grupo feniloxi, un grupo fenilpropoxi, un grupo fenilbutoxi, un grupo fenilpentiloxi, un grupo fenilhexiloxi, un grupo fenilheptiloxi, un grupo feniloctiloxi, un grupo naftiletoxi, un grupo naftilpropoxi, un grupo naftilbutoxi y un grupo naftilpentiloxi.

15

Ejemplos del sustituyente para el grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente pueden incluir, pero no se limitan a, grupos alcoxi inferior tales como un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo isopropoxi, un grupo n-butoxi y un grupo t-butoxi; átomos de halógeno tales como un átomo de flúor, un átomo de cloro y un átomo de bromo; un grupo nitro; y un grupo ciano. En la presente invención se incluyen formas sustituidas que tienen un número de sustituciones de los sustituyentes entre uno y el número máximo capaz de sustitución en cada posible posición de la sustitución, pero se prefiere una forma no sustituida.

20

El grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente puede ser un grupo fenilalcoxi (C1-C6) no sustituido. Los ejemplos pueden incluir, pero no se limitan a, un grupo benciloxi no sustituido, un grupo feniloxi no sustituido, un grupo fenilpropoxi no sustituido, un grupo fenilbutoxi no sustituido, un grupo fenilpentiloxilo no sustituido y un grupo fenilhexiloxilo no sustituido. Los ejemplos preferidos pueden incluir, pero no se limitan a, un grupo benciloxi no sustituido y un grupo fenilbutoxi no sustituido.

25

Ejemplos específicos del grupo alquilo cíclico (C3-C6) o del grupo alquilo (C1-C5) que puede estar sustituido con un grupo amino terciario para R6 y R7 pueden incluir, pero no se limitan a, un grupo ciclopropilo, un grupo ciclopentilo, un grupo ciclohexilo, un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo isopropilo, un grupo n-butilo, un grupo 3-dimetilaminopropilo y un grupo 5-dimetilaminopentilo. Entre ellos, se prefieren un grupo etilo, un grupo isopropilo, un grupo ciclohexilo y un grupo 3-dimetilaminopropilo, y se prefiere en particular un grupo isopropilo.

30

En cuanto al compuesto representado por la fórmula (1), n está preferentemente en el mismo intervalo que para la fórmula (2), y m es de 2 a 100, preferentemente de 10 a 100, y en particular preferentemente de 15 a 60. La suma de a y b es mayor o igual que 1 y no mayor que m.

35

m en la fórmula (1) significa el grado de polimerización de la unidad estructural de aminoácidos del resto estructural poliaminoácido. El resto estructural poliaminoácido incluye varias unidades estructurales en las que R5 de la fórmula (1) representa un grupo hidroxilo, un grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente, o -N(R6)-CO-NHR7, y una unidad estructural que tiene una estructura de imida cíclica.

40

La proporción de R5 en la fórmula (1) que representa un grupo hidroxilo es del 0 % al 5 %, y preferentemente del 0 % al 3 %, de m. La proporción de R5 que representa un grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente es del 10 % al 80 %, y preferentemente del 20 % al 80 %, de m. La proporción de R5 que representa -N(R6)-CO-NHR7 es del 11 % al 30 % de m.

45

Es especialmente preferible que la proporción de R5 del compuesto representado por la fórmula (1) que representa un grupo hidroxilo sea el 0 % de m. Que la proporción de R5 que representa un grupo hidroxilo sea el 0 % de m significa que todos los grupos carboxilo del resto estructural poliaminoácido del compuesto representado por la fórmula (2) han sido sustituidos con un grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente y/o -N(R6)-CO-NHR7. Mientras tanto, la proporción de grupos hidroxilo de m se puede analizar por cromatografía líquida de alto rendimiento usando una columna de intercambio aniónico y el caso en el que el compuesto relevante no se retiene en la columna implica que m es el 0 %. Además, en la presente invención, la proporción de grupos hidroxilo de m se analiza mediante un método de titulación por diferencia de potencial utilizando una base y cuando m es el 0 %, se encuentra que la proporción de grupos hidroxilo de m es de 0,1 mmol/g o inferior.

50

Con respecto al resto estructural poliaminoácido de los compuestos representados por la fórmula (1) y la fórmula (2)

60

utilizados en la presente invención, los restos unitarios estructurales de los aminoácidos respectivos pueden unirse aleatoriamente o pueden unirse en forma de bloques.

5 El alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente que se usa en la presente invención es un alcohol que corresponde al grupo arilalcoxi (C1-C8) anteriormente mencionado que puede tener un sustituyente.

Para el alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente, se pueden usar compuestos que están disponibles en el mercado. Además, también se pueden usar compuestos producidos por métodos de síntesis orgánica conocidos, y compuestos producidos aplicando reacciones orgánicas conocidas.

10

A continuación, se explicará la reacción entre el compuesto representado por la fórmula (2) y un compuesto a base de carbodiimida.

15 La presente reacción se lleva a cabo en un disolvente, y ejemplos del disolvente usado pueden incluir, pero no están limitados a, disolventes polares tales como dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), acetonitrilo, tetrahidrofurano y dioxano; y disolventes no polares tales como benceno, n-hexano y éter dietílico. Otros ejemplos pueden incluir agua y mezclas disolventes de los mismos, y no se limitan a estos. La cantidad a usar del disolvente normalmente es de aproximadamente 1 a 100 veces en peso en base al compuesto de la materia prima.

20 El compuesto a base de carbodiimida utilizado en la presente reacción puede ser un compuesto a base de carbodiimida que tiene un grupo alquilo (C3-C6) cíclico o un grupo alquilo (C1-C5) que puede estar sustituido con un grupo amino terciario. Ejemplos específicos pueden incluir, pero no están limitados a, dietilcarbodiimida, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC·HCl), dicitclohexilcarbodiimida (DCC), y diisopropilcarbodiimida (DIPCI). Entre estos, el compuesto a base de carbodiimida
25 es preferentemente DCC o DIPCI, y en particular preferentemente DIPCI.

La cantidad a usar del compuesto a base de carbodiimida en la presente reacción es 2 (x + y) equivalentes o superior, y más preferentemente de 2 (x + y) equivalentes a 5 (x + y) equivalentes, con relación a la cantidad de grupos carboxilo en la fórmula (2) (suma de x e y). Cuando se utiliza una cantidad en exceso del compuesto a base
30 de carbodiimida a una temperatura de reacción de 15 °C a 30 °C, la introducción de un resto de transferencia de urea en el resto estructural poliaminoácido del compuesto representado por la fórmula (2) y la reacción de ciclación se pueden llevar a cabo sin provocar la separación del alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente. El compuesto a base de carbodiimida puede usarse de manera que se puede añadir toda la cantidad al comienzo de la reacción, o las porciones divididas se pueden añadir apropiadamente en el medio de la reacción.
35 Preferentemente, se lleva a cabo una reacción para introducir un alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente, una reacción para introducir un resto de transferencia de urea y una reacción de ciclación usando 2 (x + y) equivalentes o superior de un compuesto a base de carbodiimida, posteriormente se añaden 0,5 (x + y) equivalentes o superior de un compuesto a base de carbodiimida de manera que todos los grupos carboxilo del resto estructural poliaminoácido del compuesto representado por la fórmula (1) reaccionen y, de este modo, se completa
40 la reacción para introducir un resto de transferencia de urea y la reacción de ciclación.

En el momento de la reacción entre el compuesto representado por la fórmula (2) y el compuesto a base de carbodiimida, se pueden incorporar agentes auxiliares de reacción tales como N-hidroxisuccinimida, 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), imida del ácido N-hidroxi-5-norbomen-2,3-dicarboxílico (HOBN), 4-dimetilaminopiridina
45 (DMAP), N,N-diisopropiletilamina, o trietilamina, y entre ellos, se prefiere la DMAP. Cuando se usan los agentes auxiliares de reacción, la cantidad a usar de los mismos es de aproximadamente 0,1 (x + y) equivalentes a 5 (x + y) equivalentes, y preferentemente de aproximadamente 0,2 (x + y) equivalentes a 2 (x + y) equivalentes, con respecto a la cantidad de grupos carboxilo en la fórmula (2) (suma de x e y).

50 La cantidad a usar del alcohol de arilalquilo (C1-C8) utilizado en la presente reacción es de 0,4 a 1,0 equivalentes molares con respecto a 1 mol de grupos carboxilo del compuesto representado por la fórmula (2). Cuando se regula la cantidad de alcohol de arilalquilo (C1-C8) utilizado de acuerdo con el grado medio de polimerización del compuesto representado por la fórmula (2), se puede regular la cantidad del alcohol de arilalquilo (C1-C8) introducido.

55

La temperatura de reacción normalmente es de 15 °C a 30 °C, y es preferible llevar a cabo la reacción entre 20 °C y 30 °C, y en particular preferentemente entre 22 °C y 27 °C. El tiempo de reacción es de 2 horas a 48 horas, y preferentemente de 6 horas a 36 horas.

60 Ejemplos

A continuación, la presente invención se describirá a modo de Ejemplos específicos, pero la presente invención no pretende limitarse a los siguientes ejemplos.

5 El cálculo de la relación de reacción de 4-fenil-1-butanol (PhBuOH) en los Ejemplos se llevó a cabo como sigue.

<Cálculo de la relación de reacción de 4-fenil-1-butanol>

10 Cuando la masa de toda la solución de reacción antes de la adición de DIPCI se designa como Q1, la masa de toda la solución de reacción después de la adición de DIPCI se designa como Q2, el valor del área de pico se puede obtener con una solución de muestra antes de añadir DIPCI (cantidad de muestra: P1) y determinado por HPLC de fase inversa como se describe a continuación se designa como AS, y el valor del área de pico se puede obtener con una solución de muestra después de añadir DIPCI (cantidad de muestra: P2) y determinado por HPLC de fase inversa como se describe a continuación se designa como AT, la relación de reacción se expresa mediante la siguiente fórmula (usando el mismo matraz de medida que el utilizado para las dos soluciones de muestra):

[Fórmula Química 5]

$$\text{PhBuOH relación de reacción (\%)} = \left\{ \frac{1-AT \times P1 \times Q2}{(AS \times P2 \times Q1)} \right\} \times 100$$

20

Las condiciones de medición de la HPLC de intercambio aniónico en los Ejemplos fueron las siguientes. Mientras tanto, con respecto a la HPLC de intercambio aniónico, si un reactivo tiene grupos carboxilo, el reactivo se retiene en la columna.

25

<Condiciones para la medición de la HPLC por intercambio aniónico>

Columna: TSKgel DEAE-5PW (fabricada por Tosoh Corp.)

Concentración de la muestra: 5 mg/ml

30

Volumen de inyección: 20 µl

Temperatura de la columna: 40 °C

Fase móvil

35

(A) solución tampón Tris-ácido clorhídrico 20 mM (pH 8,0): acetonitrilo = 80: 20

(B) solución tampón Tris-ácido clorhídrico 20 mM + solución acuosa 1 M de cloruro de sodio (pH 8,0): acetonitrilo = 80: 20

40

Caudal: 1 ml/min

Condiciones de gradiente B% (minutos): 10 (0), 10 (5), 100 (40), 10 (40,1), parada (50,1)

Detector: Detector de espectrofotómetro de luz ultravioleta-visible (longitud de onda de detección: 260 nm)

45 Las condiciones de medición de la HPLC de fase inversa en los Ejemplos fueron las siguientes. Además, también se llevó a cabo la medición de la relación de reacción del 4-fenil-1-butanol en las mismas condiciones.

<Condiciones para la medición de la HPLC en fase inversa>

[HPLC] - Método de la curva de calibración absoluta -

50

Columna: InertsilL ODS - 3, 5 µm (4,6 mm ID x 150 mm l)

Volumen de inyección: 20 µl

Temperatura de la columna: 40 °C

Fase móvil: H_3PO_4 al 0,1 % ($\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN} = 60:40$)

Caudal: 1,0 ml/min

Detector: Detector de espectrofotómetro de luz ultravioleta-visible (longitud de onda de detección: 260 nm)

5

Ejemplo 1

Producción de copolímero de bloques 1

- 10 Se añadió DMF (1132 ml) a 65,0 g de PEG (peso molecular promedio: 12.000)-pAsp (ácido poliaspártico, grado medio de polimerización: 41,6)-Ac (en la fórmula (2) R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo, n es aproximadamente 272, x es aproximadamente 10,4 e y es aproximadamente 31,2, en adelante abreviado como PEG-pAsp-Ac-1) producido por el método descrito en el Documento de Patente 2, se disolvió el compuesto a 35 °C y se añadieron DMAP (19,2 g) y
- 15 4-fenil-1-butanol (15,9 g: 0,106 moles, 0,67 equivalentes molares con respecto a 1 mol de grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-1). La porción adherida en el momento de la adición se añadió por lavado con DMF (66 ml). Después de que se confirmase que los compuestos se habían disuelto, la solución de reacción se ajustó a 25 °C, y se añadió DIPC1 (39,7 g: 2 (x + y) equivalentes con respecto a los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-1 = 83,2 equivalentes), se añadió la porción adherida en el momento de la adición mediante lavado con DMF (60 ml) y la solución de reacción se dejó reaccionar durante 22 horas a 25 °C. En este caso, 20 horas después desde el inicio de la reacción, la relación de reacción de los enlaces éster del 4-fenil-1-butanol se hizo constante. Por otra parte, según un análisis por HPLC de intercambio aniónico, los reactivos quedaron retenidos en la columna. 22 horas después de la reacción, se añadió DIPC1 (9,92 g: 0,5 (x + y) equivalentes basados en los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-1 = 20,8 equivalentes) y la reacción continuó. Se verificó, mediante un análisis por HPLC de intercambio aniónico, que
- 25 los reactivos ya no estaban retenidos en la columna y 26 horas después desde el inicio de la reacción, la reacción se terminó. La solución de reacción se añadió gota a gota a un disolvente mixto de heptano y acetato de etilo, y la mezcla se agitó. La mezcla se dejó reposar durante la noche, y se recogió un precipitado obtenido de esta forma por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 76,2 g de cristales en bruto.
- 30 Estos cristales en bruto (75,0 g) se disolvieron en DMF (1050 ml), y a continuación se le añadió la resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 (248 ml). Además, la porción adherida en el momento de la adición se añadió mediante lavado con DMF (75 ml), y la mezcla se agitó durante 3 horas. La resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 se separó por filtración mientras se lavaba con acetato de etilo y a continuación se añadió gota a gota la disolución de reacción obtenida de este modo a un disolvente mixto de heptano y acetato de etilo. La mezcla se
- 35 agitó. La mezcla se dejó reposar durante la noche, y el precipitado obtenido de este modo se recogió por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 73,5 g del copolímero de bloques 1.

- Se disolvió el copolímero en bloques 1 (17,60 mg) en 1 ml de acetonitrilo, y se añadieron 1 ml de agua y 2 ml de una solución acuosa 0,5 N de hidróxido sódico. La mezcla se agitó durante 60 minutos a temperatura ambiente para
- 40 hidrolizar los enlaces éster, y a continuación la mezcla se neutralizó con 1 ml de una solución acuosa al 4 % de ácido fosfórico. La cantidad de líquido se ajustó a 25 ml con el 50 % de acetonitrilo hidratado. Se analizó cuantitativamente el 4-fenil-1-butanol aislado del líquido preparado mediante HPLC de fase inversa. Como resultado del análisis, la cantidad de 4-fenil-1-butanol unido al éster fue del 16,3 % (p/p) de PEG-pAsp-Ac-1. La relación de reacción de los enlaces éster del 4-fenil-1-butanol fue del 82,4 %, y la relación de introducción de 4-fenil-1-butanol
- 45 fue del 55,2 % de los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-1.

Este copolímero de bloques 1 se analizó por HPLC de intercambio aniónico en las condiciones de medición descritas a continuación, pero no se reconoció ningún pico que indicara retención en la columna.

- 50 Se pesó con precisión el copolímero de bloques 1 (501,4 mg) y se añadieron 25 ml de etanol para suspender el copolímero. Posteriormente, se añadieron 35 ml de agua para disolver la suspensión. Esta solución de copolímero de bloques 1 se tituló (método de titulación por diferencia de potencial) con 0,1 mol/l de hidróxido de potasio líquido, y el número de grupos carboxilo por gramo de copolímero de bloques 1 se calculó mediante la siguiente fórmula. Como resultado, el número de grupos carboxilo fue de 0,05 mmol/g. Como se ha descrito anteriormente, dado que el
- 55 número de grupos carboxilo en el caso en que la proporción de grupo carboxilo era del 0 % fue de 0,1 mmol/g o inferior, el copolímero de bloques 1 no tenía ningún grupo carboxilo residual.

[Fórmula Química 6]

$$\text{Número de grupos carboxilo por gramo de copolímero de bloques (mmol/g)} = \frac{[(\text{título de la muestra ml}) - (\text{Título en blanco ml})] \times 0,1 \times f/\text{muestra (g)}}{1}$$

Observación) f: Factor de 0,1 mol/l de hidróxido de potasio líquido

- 5 Con el fin de verificar la cantidad de unión del resto de transferencia de urea en el copolímero de bloques, se midió la cantidad de diisopropilurea en el copolímero de bloques. Se pesó con precisión el copolímero de bloques 1 (25,18 mg), se añadió una solución de patrón interno para obtener exactamente 1 ml, y se usó como solución de muestra. Por separado, en un recipiente al que se habían introducido previamente 5 ml de la solución de patrón interno, se pesó con precisión isocianato de isopropilo y se añadió la solución de patrón interno a la misma para obtener exactamente 20 ml. Se pesaron con precisión 2,5 ml de este líquido y se añadió la solución de patrón interno a la misma para obtener con precisión 50 ml. Esto se usó como solución patrón. La cromatografía de gases se llevó a cabo con 1 µl de la solución de muestra y 1 µl de la solución patrón en las siguientes condiciones, y así se determinaron las relaciones de Q_T y Q_S del área del pico de isocianato de isopropilo en relación con el área del pico del material de patrón interno, respectivamente. La cantidad de diisopropilurea (% (p/p)) en el copolímero de bloques 1 se calculó mediante la siguiente fórmula. Como resultado, la cantidad fue del 3,5 % (p/p).

[Fórmula Química 7]

$$\text{Cantidad de diisopropilurea (\%)} = \frac{Q_T}{Q_S} \times \frac{\text{peso de isocianato de isopropilo (g) / peso de muestra (g)}}{\text{peso de isocianato de isopropilo (g) / peso de muestra (g)}} \times \frac{(100 - \text{Contenido de agua de la muestra (\%)})}{100} \times 1/4 \times 1.695$$

Solución de patrón interno: Solución de acetato de etilo en acetonitrilo (1 → 2000)

20

Condiciones de la prueba:

Detector: Detector de ionización de llama

Columna: La superficie interna de un tubo de sílice fundido que tiene un diámetro interior de 0,53 mm y una longitud de 30 m, recubierto con un polietilenglicol para cromatografía de gases con un espesor de 1,0 µm

25

Temperatura de la columna: 50 °C durante 8 minutos, y a continuación la temperatura se aumentó hasta 200 °C a una velocidad de 25 °C por minuto

Temperatura del puerto de entrada: Temperatura constante próxima a 270 °C

30

Temperatura del detector: Temperatura constante próxima a 250 °C

Gas portador: Helio

Caudal: 3,5 ml/min

Relación de división: 1: 50

Intervalo de medición del área: 10 minutos

35

Ejemplo 2

Producción de copolímero de bloques 2

- 40 Se añadió DMF (536 ml) a 30,0 g de PEG (peso molecular promedio: 12.000)-pAsp (ácido poliaspártico, grado medio de polimerización: 36,4)-Ac (en la fórmula (2) R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo, n es aproximadamente 272, x es aproximadamente 9,1 e y es aproximadamente 27,3, en adelante abreviado como PEG-pAsp-Ac-2) producido por el método descrito en el Documento de Patente 2, el compuesto se disolvió a 35 °C, y DMAP (8,18 g) y 4-fenil-1-butanol (7,35 g: 0,049 moles; 0,73 equivalentes molares con respecto a 1 mol de grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-2). La porción adherida en el momento de la adición se añadió por lavado con DMF (27 ml). Después de que se confirmase que los compuestos se habían disueltos, la solución de reacción se ajustó a 25 °C, y se añadió DIPCI (16,9 g: 2 (x + y) equivalentes con respecto a los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-2 = 72,8 equivalentes). La porción adherida en el momento de la adición se añadió por lavado con DMF (27 ml) y la solución de reacción se dejó reaccionar durante

45

22 horas a 25 °C. En este caso, después de 18 horas desde el inicio de la reacción, la relación de reacción de los enlaces éster del 4-fenil-1-butanol se hizo constante. Por otra parte, según un análisis por HPLC de intercambio aniónico, los reactivos quedaron retenidos en la columna. 22 horas después de la reacción, se añadió DIPCI (4,23 g: 0,5 (x + y) equivalentes en base a los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-2 = 18,2 equivalentes) y la reacción continuó. Mediante un análisis por cromatografía líquida de alto rendimiento usando una columna de intercambio aniónico se comprobó que los reactivos ya no se retenían en la columna, y 26 horas después desde el inicio de la reacción, la reacción se terminó. La solución de reacción se añadió gota a gota a un disolvente mixto de heptano y acetato de etilo, y la mezcla se agitó. La mezcla se dejó reposar durante la noche, y el precipitado obtenido de este modo se recogió por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 34,3 g de cristales en bruto.

10

Estos cristales en bruto (33,5 g) se disolvieron en DMF (469 ml), y a continuación se le añadió la resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 (111 ml). Además, la porción adherida en el momento de la adición se añadió por lavado con DMF (34 ml), y la mezcla se agitó durante 3 horas. La resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 se separó por filtración mientras se lavaba con acetato de etilo y a continuación se añadió gota a gota la disolución de reacción obtenida de este modo a un disolvente mixto de heptano y acetato de etilo. La mezcla se agitó. La mezcla se dejó reposar durante la noche, y el precipitado obtenido de este modo se recogió por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 32,2 g del copolímero de bloques 2.

15

El copolímero de bloques 2 se hidrolizó por el mismo método que el usado en el Ejemplo 1 y se analizó mediante HPLC de fase inversa. La cantidad de 4-fenil-1-butanol unido al éster fue del 15,5 % (p/p) de PEG-pAsp-Ac-2. La relación de reacción de los enlaces éster del 4-fenil-1-butanol fue del 77,3 %, y la relación de introducción de 4-fenil-1-butanol fue del 56,4 % de los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-2.

20

El copolímero de bloques 2 se analizó mediante HPLC de intercambio aniónico en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, y no se reconoció ningún pico que indicara retención en la columna.

25

Se tituló una solución de copolímero de bloques 2 (método de titulación por diferencia de potencial) por el mismo método que en el Ejemplo 1 con 0,1 mol/l de hidróxido de potasio líquido, y el número de grupos carboxilo por gramo fue de 0,05 mmol/g. Como se ha descrito anteriormente, dado que el número de grupos carboxilo en el caso en que la proporción de grupo carboxilo era el 0 % era de 0,1 mmol/g o inferior, el copolímero de bloques 2 no tenía ningún grupo carboxilo residual.

30

Para el copolímero de bloques 2, la cantidad de diisopropilurea en el copolímero de bloques 2 se calculó por el mismo método que en el Ejemplo 1, y la cantidad fue del 3,0 % (p/p).

35

Ejemplo 3

Producción del copolímero de bloques 3

Se añadió DMF (570 ml) a 30,0 g de PEG (peso molecular promedio: 12.000)-pAsp (ácido poliaspártico, grado medio de polimerización: 46,8)-Ac (en la fórmula (1) R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo, n es aproximadamente 272, x es aproximadamente 11,7 e y es aproximadamente 35,1, en adelante abreviado como PEG-pAsp-Ac-3) producido por el método descrito en el Documento de Patente 2, el compuesto se disolvió a 35 °C y se añadieron DMAP (9,68 g) y 4-fenil-1-butanol (7,29 g: 0,0486 moles, 0,61 equivalentes molares con respecto a 1 mol de grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-3), y la porción adherida en el momento de la adición se añadió por lavado con DMF (32 ml). Después de que se confirmase que los compuestos se habían disueltos, la solución de reacción se ajustó a 25 °C, y se añadió DIPCI (20,00 g: 2 (x + y) equivalentes con respecto a los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-3 = 93,6 equivalentes). La porción adherida en el momento de la adición se añadió por lavado con DMF (32 ml) y la solución de reacción se dejó reaccionar durante 22 horas a la misma temperatura. En este caso, después de 18 horas desde el inicio de la reacción, la relación de reacción de los enlaces éster del 4-fenil-1-butanol se hizo constante. Por otra parte, según un análisis por HPLC de intercambio aniónico, los reactivos quedaron retenidos en la columna. 22 horas después de la reacción, se añadió DIPCI (5,0 g: 0,5 (x + y) equivalentes basados en los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac = 23,4 equivalentes) y la reacción continuó. Se comprobó mediante un análisis por cromatografía líquida de alto rendimiento usando una columna de intercambio aniónico que los reactivos ya no se retenían en la columna, y 29 horas después desde el inicio de la reacción, se terminó la reacción. La solución de reacción se añadió gota a gota a un disolvente mixto de heptano y acetato de etilo, y la mezcla se agitó. La mezcla se dejó reposar durante la noche, y el precipitado obtenido de este modo se recogió por filtración y se secó bajo presión reducida. Se obtuvieron 35,4 g de cristales en bruto.

60

Estos cristales en bruto (34,5 g) se disolvieron en DMF (483 ml) y a continuación se le añadió la resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 (114 ml). Además, la porción adherida en el momento de la adición se añadió mediante lavado con DMF (35 ml), y la mezcla se agitó durante 3 horas. La resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 se separó por filtración mientras se lavaba con acetato de etilo y a continuación se añadió gota a gota la disolución de reacción obtenida de este modo a un disolvente mixto de heptano y acetato de etilo. La mezcla se agitó. La mezcla se dejó reposar durante la noche, y el precipitado obtenido de este modo se recogió por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 33,1 g del copolímero de bloques 3.

El copolímero de bloques 3 se hidrolizó por el mismo método que el usado en el Ejemplo 1 y se analizó mediante HPLC de fase inversa. La cantidad de 4-fenil-1-butanol unido al éster fue del 17,2 % (p/p) de PEG-pAsp-Ac-3. La relación de reacción de los enlaces éster del 4-fenil-1-butanol fue del 86,8 %, y la relación de introducción de 4-fenil-1-butanol fue del 53,0 % de los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-3.

El copolímero de bloques 3 se analizó mediante HPLC de intercambio aniónico en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, y no se reconoció ningún pico que indicara retención en la columna.

Se tituló una solución de copolímero de bloques 3 (método de titulación por diferencia de potencial) por el mismo método que en el Ejemplo 1 con 0,1 mol/l de hidróxido de potasio líquido, y el número de grupos carboxilo por gramo fue de 0,05 mmol/g. Como se ha descrito anteriormente, dado que el número de grupos carboxilo en el caso en que la proporción de grupo carboxilo era del 0 % fue de 0,1 mmol/g o inferior, el copolímero de bloques 3 no tenía ningún grupo carboxilo residual.

Para el copolímero de bloques 3, la cantidad de diisopropilurea en el copolímero de bloques 3 se calculó por el mismo método que en el Ejemplo 1, y la cantidad de diisopropilurea en el copolímero de bloques 3 fue del 3,8 % (p/p).

Ejemplo 4

Producción de copolímero de bloques 4

Se añadió DMF (1102 ml) a 62,0 g de PEG (peso molecular promedio: 12.000)-pAsp (ácido poliaspártico, grado medio de polimerización 41,6)-Ac (en la fórmula (1) R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo, n es aproximadamente 272, x es aproximadamente 10,4 e y es aproximadamente 31,2, en adelante abreviado como PEG-pAsp-Ac-4) producido por el método descrito en el Documento de Patente 2, el compuesto se disolvió a 35 °C, y se le añadió DMAP (18,69 g) y 4-fenil-1-butanol (15,50 g: 0,103 moles; 0,67 equivalentes molares con respecto a 1 mol de grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-4), y la porción adherida en el momento de la adición se añadió mediante lavado con DMF (61 ml). Después de confirmar que los compuestos se habían disueltos, la solución de reacción se ajustó a 25 °C, y se añadió DIPCI (38,66 g: 2 (x + y) equivalentes con respecto a los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-4 = 83,2 equivalentes). La porción adherida en el momento de la adición se añadió mediante lavado con DMF (61 ml) y la solución de reacción se dejó reaccionar durante 22 horas a 25 °C. En este caso, 20 horas después desde el inicio de la reacción, la relación de reacción del 4-fenil-1-butanol se hizo constante. Por otra parte, según un análisis por cromatografía líquida de alto rendimiento utilizando una columna de intercambio aniónico, los reactivos quedaron retenidos en la columna. 22 horas después de la reacción, se añadió DIPCI (9,66 g: 0,5 (x + y) equivalentes basados en los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac = 20,8 equivalentes) y la reacción continuó. Se comprobó mediante un análisis por HPLC de intercambio aniónico que los reactivos ya no se retenían en la columna, y 25 horas después desde el inicio de la reacción, se terminó la reacción. La solución de reacción se añadió gota a gota a un disolvente mixto de heptano y acetato de etilo, y la mezcla se agitó. La mezcla se dejó reposar durante la noche, y el precipitado obtenido de este modo se recogió por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 72,9 g de cristales en bruto.

Estos cristales en bruto (71,5 g) se disolvieron en DMF (1001 ml), y a continuación se le añadió la resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 (236 ml). Además, la porción adherida en el momento de la adición se añadió lavando con DMF (72 ml) y la mezcla se agitó durante 3 horas. La resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 se separó por filtración mientras se lavaba con acetato de etilo y a continuación se añadió gota a gota la disolución de reacción obtenida de este modo a un disolvente mixto de heptano y acetato de etilo. La mezcla se agitó. La mezcla se dejó reposar durante la noche, y el precipitado obtenido de este modo se recogió por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 69,7 g del copolímero de bloques 4.

El copolímero de bloques 4 se hidrolizó por el mismo método que el utilizado en el Ejemplo 1 y se analizó por HPLC de fase inversa. La cantidad de 4-fenil-1-butanol unido al éster fue del 16,6 % (p/p) de PEG-pAsp-Ac-4. Por lo tanto,

la relación de reacción de los enlaces éster del 4-fenil-1-butanol fue del 81,4 %, y la relación de introducción de 4-fenil-1-butanol fue del 54,5 % de los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-4.

El copolímero en bloques 4 se analizó mediante HPLC de intercambio aniónico en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, y no se reconoció ningún pico que indicara retención en la columna.

Una solución de copolímero de bloques 4 se tituló (método de titulación por diferencia de potencial) por el mismo método que en el Ejemplo 1 con 0,1 mol/l de hidróxido de potasio líquido, y el número de grupos carboxilo por gramo fue de 0,05 mmol/g. Como se ha descrito anteriormente, dado que el número de grupos carboxilo en el caso en el que la proporción de grupo carboxilo era del 0 % fue de 0,1 mmol/g o inferior, el copolímero de bloques 4 no tiene ningún grupo carboxilo residual.

Para el copolímero de bloques 4, la cantidad de diisopropilurea en el copolímero de bloques 4 se calculó mediante el mismo método que en el Ejemplo 1, y la cantidad de diisopropilurea en el copolímero de bloques 4 fue de 3,3 % (p/p).

Ejemplo Comparativo 1 (Producción de acuerdo con el método de producción descrito en los Ejemplos del Documento de Patente 5)

20 Producción de copolímero de bloques 5

Se añadió DMF (70 ml) a 3,50 g de PEG (peso molecular promedio: 12.000)-pAsp (ácido poliaspártico, grado de polimerización medio: 43,2)-Ac (en la fórmula (2) R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo, n es aproximadamente 272, x es aproximadamente 10,8 e y es aproximadamente 32,4, en adelante abreviado como PEG-pAsp-Ac-5) producido por el método descrito en el Documento de Patente 2, el compuesto se disolvió a 35 °C y se añadieron DMAP (0,87 g), 4-fenil-1-butanol (1,34 g: 0,0089 moles, 1,00 equivalentes molares con respecto a 1 mol de grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-5) y DIPC1 (1,12 g: 1 equivalente con respecto a 1 mol de los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-5) y se dejó que la mezcla reaccionara durante 26 horas a 35 °C. Esta solución de reacción se añadió gota a gota a un disolvente mixto de éter diisopropílico y etanol, y se recogió un precipitado por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 3,70 g de cristales crudos. Estos cristales brutos se disolvieron en una solución acuosa al 50 % de acetonitrilo y a continuación la solución se pasó a través de una resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 (40 ml) y se lavó con acetonitrilo al 50 %. El eluato se concentró a presión reducida y después se liofilizó, y así se obtuvieron 3,72 g de copolímero de bloques 5.

El copolímero de bloques se hidrolizó por el mismo método que el usado en el Ejemplo 1 y se analizó por HPLC de fase inversa. La cantidad de 4-fenil-1-butanol unido al éster fue del 15,5 % (p/p) de la fórmula (2). La relación de reacción de los enlaces éster del 4-fenil-1-butanol fue del 49,0 %, y la relación de introducción de 4-fenil-1-butanol fue del 49,0 % de los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-5.

El copolímero de bloques 5 se analizó mediante HPLC de intercambio aniónico en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, y se detectó un pico a un tiempo de retención de 14,3 minutos.

El copolímero de bloques 5 se tituló (método de titulación por diferencia de potencial) por el mismo método que el del Ejemplo 1 con 0,1 mol/l de hidróxido de potasio líquido, y el resultado del cálculo para el número de grupos carboxilo por gramo fue de 0,23 mmol/g. Como se ha descrito anteriormente, dado que el número de grupos carboxilo en el caso en que la proporción de grupo carboxilo fue del 0 % era de 0,1 mmol/g o inferior, se entiende que el copolímero de bloques 5 tenía grupos carboxilo residuales.

Para el copolímero de bloques 5, se calculó la cantidad de diisopropilurea en el copolímero de bloques 5 por el mismo método que en el Ejemplo 1, y la cantidad de diisopropilurea fue del 2,3 % (p/p).

Ejemplo Comparativo 2 (Producción de acuerdo con el método de producción descrito en los Ejemplos del Documento de Patente 6)

55 Producción de copolímero de bloques 6

Se añadió DMF (13,0 l) a 1,73 kg de PEG (peso molecular promedio: 12.000)-pAsp (ácido poliaspártico, grado medio de polimerización 41,0)-Ac (en la fórmula (2) R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo, n es aproximadamente 272, x es aproximadamente

- 10,3 e y es aproximadamente 30,8, en adelante abreviado como PEG-pAsp-Ac-6) producido por el método descrito en el Documento de Patente 2, el compuesto se disolvió a 35 °C, y se añadieron DMAP (412 g, incorporado mediante lavado en DMF: 8,7 l) y 4-fenil-1-butanol (443 g: 2,95 moles, 0,70 equivalentes molares con respecto a 1 mol de grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-6, incorporados mediante lavado usando DMF: 2,2 l) y la solución de reacción se enfrió a 22,5 °C. Se añadieron DIPCI (532 g: 1 equivalente con respecto a 1 mol de los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-6, incorporado por lavado usando DMF: 2,2 l) y la mezcla se dejó reaccionar durante 22 horas a 22,5 °C. Se añadieron acetato de etilo y heptano a la solución de reacción y se agitó, y el precipitado así obtenido se recogió por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 2,08 kg de cristales en bruto.
- 10 Los cristales en bruto se hidrolizaron por el mismo método que el usado en el Ejemplo 1 y se analizaron mediante HPLC de fase inversa. La cantidad de 4-fenil-1-butanol unido al éster fue del 17,0 % (p/p) de la fórmula (2). La relación de reacción de los enlaces éster del 4-fenil-1-butanol fue del 77,0 %, y la relación de introducción de 4-fenil-1-butanol fue del 53,9 % de los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac-6.
- 15 Los cristales en bruto se analizaron por HPLC de intercambio aniónico bajo las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, y se detectó un pico a un tiempo de retención de 16,9 minutos.

- Se añadieron 14,6 l de DMF a los cristales en bruto (1,94 kg) obtenidos como se ha descrito anteriormente para disolver los cristales en bruto a 31 °C, y se añadieron DMAP (307 g, incorporado por lavado usando DMF: 9,7 l) y DIPCI (491 g: 1 equivalente en base a los grupos carboxilo de PEG-pAsp-Ac, incorporado por lavado usando DMF: 4,9 l) y la mezcla se dejó reaccionar durante 20 horas a 31 °C. Se añadieron acetato de etilo y heptano a la solución de reacción y se agitó, y el precipitado así obtenido se recogió por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 1,85 kg de cristales en bruto. 1,83 kg de estos cristales en bruto se disolvieron en DMF (22,0 l), y a continuación se añadió a la solución la resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 (6,0 l). La porción adherida en el momento de la adición se añadió mediante lavado con DMF (5,5 ml), y la mezcla se agitó durante una hora. La resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 se eliminó por filtración mientras se lavaba con acetato de etilo (69 l) y a continuación se añadieron acetato de etilo y heptano a la solución de reacción así obtenida. La mezcla se agitó. El precipitado así obtenido se recogió por filtración y se secó a presión reducida. Se obtuvieron 1,79 kg de copolímero de bloques 6.
- 30 El copolímero de bloques 6 se hidrolizó por el mismo método que el usado en el Ejemplo 1 y se analizó mediante HPLC de fase inversa. La cantidad de 4-fenil-1-butanol unido al éster fue del 15,8 % (p/p) de la fórmula (2). La relación de introducción de 4-fenil-1-butanol pasó a ser del 50 % después de la reacción de la segunda etapa.

- 35 El copolímero de bloques 6 se analizó mediante HPLC de intercambio aniónico en las mismas condiciones que en el Ejemplo 1, y no se reconoció ningún pico que indicara retención en la columna.

- El copolímero de bloques 6 se tituló (método de titulación por diferencia de potencial) por el mismo método que el del Ejemplo 1 con 0,1 mol/l de hidróxido de potasio líquido, y el número de grupos carboxilo por gramo fue de 0,04 mmol/g. Como se ha descrito anteriormente, dado que el número de grupos carboxilo en el caso en que la proporción de grupo carboxilo era del 0 % fue de 0,1 mmol/g o inferior, se entiende que el copolímero de bloques 6 no tenía grupos carboxilo residuales.

- Para el copolímero de bloques 6, la cantidad de diisopropilurea se calculó por el mismo método que en el Ejemplo 1, y la cantidad de diisopropilurea fue del 3,6 % (p/p).

Los resultados para los copolímeros de bloques obtenidos en los Ejemplos 1 a 4 y los Ejemplos Comparativos 1 y 2 se resumen en la Tabla 1.

50

[Tabla 1]

	Grado medio de polimerización de PEG-pAsp-Ac	4-Fenil-1-butanol (equivalentes molares)	Contenido de 4-fenil-1-butanol	Tiempo de retención HPLC de intercambio aniónico (minutos)	Número de grupos carboxilo residuales (mmol/g)	Cantidad de diisopropilurea (%)
Ejemplo 1	41,6	0,67	16,3	No detectado	0,05	3,5
Ejemplo 2	36,4	0,73	15,5	No detectado	0,05	3,0
Ejemplo 3	46,8	0,61	17,2	No detectado	0,05	3,8
Ejemplo 4	41,6	0,67	16,6	No detectado	0,05	3,3

Ejemplo Comparativo 1	43,2	1,00	15,5	14,3	0,23	2,3
Ejemplo Comparativo 2	41,0	0,70	15,8	No detectado	0,04	3,6

Observación) El término "no detectado" en HPLC de intercambio aniónico significa que no se reconoció ningún pico retenido.

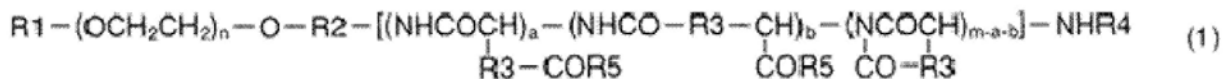
5 Como se muestra en la Tabla 1, todos los copolímeros de bloques exhibieron el contenido similar de 4-fenil-1-butanol. Por otra parte, los copolímeros de bloques 1, 2, 3, 4 y 6 no se retuvieron en la columna en el análisis mediante HPLC de intercambio aniónico y mostraron números casi iguales de grupos carboxilo residuales. Estos resultados implican que los copolímeros de bloques esencialmente no tienen grupos carboxilo. Con respecto a la cantidad de diisopropilurea, solo el copolímero de bloques 5 tiene un contenido menor. A partir de los resultados
 10 anteriores, se encontró que los copolímeros de bloques de la presente invención eran diferentes del copolímero de bloques descrito en el Documento de Patente 5 y eran los mismos que el copolímero de bloques 6 descrito en el Documento de Patente 6.

En el método para producir un copolímero de bloques descrito en el Ejemplo Comparativo 2, en primer lugar, puesto
 15 que la relación introducida se ajustó introduciendo 4-fenil-1-butanol en una cantidad mayor que el contenido deseado de 4-fenil-1-butanol y recortando la cantidad de 4-fenil-1-butanol por la reacción de la segunda etapa, sirve para controlar dos reacciones diferentes. Además, en la reacción de la segunda etapa, puesto que también es necesaria la regulación de grupos carboxilo residuales de pAsp, el control de producción es complicado y difícil en la práctica. Por otra parte, en la presente invención, el contenido de 4-fenil-1-butanol se puede controlar produciendo el
 20 copolímero de bloques en una reacción. Por lo tanto, se puede ver que el método de producción de acuerdo con la presente invención es un método de producción excelente desde el punto de vista industrial con un control de producción fácil del producto, en comparación con el método de producción descrito en el Documento de Patente 6.

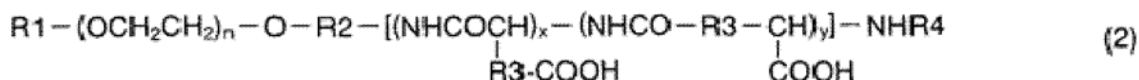
REIVINDICACIONES

1. Un método para producir un copolímero de bloques representado por la siguiente fórmula (1):

[Fórmula Química 1]



- 5 en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1-C5); R2 representa un grupo alquileo (C1-C5); R3 representa un grupo metileno o un grupo etileno; R4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo (C1-C4); R5 representa un grupo hidroxilo, un grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente, o -N(R6)-CO-NHR7, en la que R6 y R7, que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representan cada uno un grupo alquilo (C3-C6) cíclico o un grupo alquilo (C1-C5) que puede estar sustituido con un grupo amino terciario; n representa de 20 a 500; m representa de 2 a 200; a representa de 0 a 100; b representa de 0 a 100, con la condición de que la suma de a y b sea mayor o igual que 1 y no mayor que m; la proporción de R5 que representa un grupo hidroxilo es del 0 % al 5 % de m; la proporción de R5 que representa un grupo arilalcoxi (C1-C8) que puede tener un sustituyente es del 10 % al 80 % de m; y la proporción de R5 que representa -N(R6)-CO-NHR7 es del 11 % al 30 % de m,
15 el método que comprende permitir un compuesto representado por la siguiente fórmula (2):



- 20 en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1-C5); R2 representa un grupo alquileo (C1-C5); R3 representa un grupo metileno o un grupo etileno; R4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo (C1-C4); n representa de 20 a 500; x representa de 0 a 100; e y representa de 0 a 100, con la condición de que la suma de x e y sea de 2 a 200,
25 para reaccionar con un alcohol de arilalquilo (C1-C8) que puede tener un sustituyente, y un compuesto a base de carbodiimida en una cantidad de 2 (x + y) equivalentes o superior con relación a la cantidad de grupos carboxilo en la fórmula (2) (suma de x e y) en un disolvente entre 15 °C y 30 °C durante 2 horas a 48 horas en un proceso en un solo reactor.
- 30 2. El método para producir un copolímero de bloques según la reivindicación 1, en el que R1 representa un grupo metilo; R2 representa un grupo trimetileno; R3 representa un grupo metileno; R4 representa un grupo acetilo; n es de 80 a 400; m es de 15 a 60; a es de 5 a 60; y b es de 5 a 60.
- 35 3. El método para producir un copolímero de bloques según la reivindicación 1 o 2, en el que el compuesto a base de carbodiimida es dietilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida, dicitclohexilcarbodiimida o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida o una de sus sales de un ácido inorgánico.
4. El método para producir un copolímero de bloques de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el compuesto a base de carbodiimida es diisopropilcarbodiimida.