



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 98749

(13) U

(51) МПК

C08G 63/12 (2006.01)

C08G 63/685 (2006.01)

C08G 77/46 (2006.01)

C08G 63/66 (2006.01)

C08G 63/668 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

- (21) Номер заявки: **u 2014 11139**
(22) Дата подання заявки: **13.10.2014**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **12.05.2015**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **12.05.2015, Бюл.№ 9**

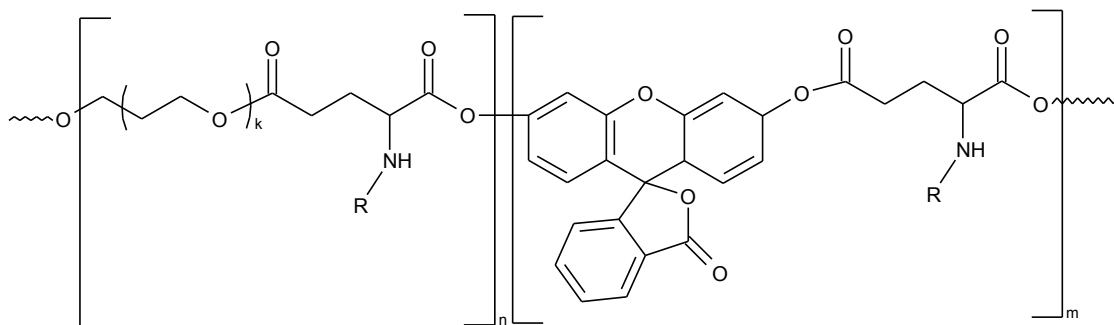
- (72) Винахідник(и):
**Варваренко Сергій Миколайович (UA),
Самарик Володимир Ярославович (UA),
Воронов Андрій Станіславович (UA),
Носова Наталія Геріанівна (UA),
Тарнавчик Ігор Тарасович (UA),
Фігурка Наталія Володимирівна (UA),
Дронь Ірина Анатоліївна (UA),
Ференс Марія Василівна (UA),
Нагорняк Михайло Ігорович (UA),
Тарас Роман Степанович (UA),
Воронов Станіслав Андрійович (UA)**

- (73) Власник(и):
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
"ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА",
вул. С. Бандери, 12, м. Львів, 79013 (UA)**

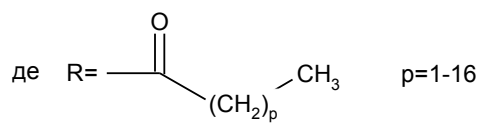
(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ КОПОЛІЕСТЕРІВ ПРИРОДНИХ ДВООСНОВНИХ α -АМІНОКИСЛОТ ТА ПОЛІЕТЕРІВ ГЛІКОЛІВ

(57) Реферат:

Спосіб одержання кополіестерів природних двоосновних α -амінокислот та поліетерів гліколів включає взаємодію двоосновної N-захищеної α -амінокислоти та поліетеру гліколю в присутності активатора карбоксильних груп дициклогексилкарбодііміду та каталізатора N,N'-диметиламінопіридину. Попередньо до N-захищеної α -амінокислоти та поліетеру гліколю додають флуоресцеїн. Взаємодію проводять при мольному співвідношенні амінокислота:поліетер гліколь:флуоресцеїн, 1:0,95÷1,03:0,02÷0,1 до одержання кополіестеру з флуоресцентними хромоформними групами в структурі макромолекули формули:



UA 98749 U



k=5-20

n=6-15

m=1-3

Корисна модель належить до хімії високомолекулярних сполук, а саме одержання кополієстерів, які можуть бути використані для створення нових полімерних систем транспорту ліків з можливістю візуалізації їх накопичення в певних зонах організму. Це дозволяє проводити оцінку ефективності дії лікарських засобів та створювати нові тераностичні системи адресної доставки ліків.

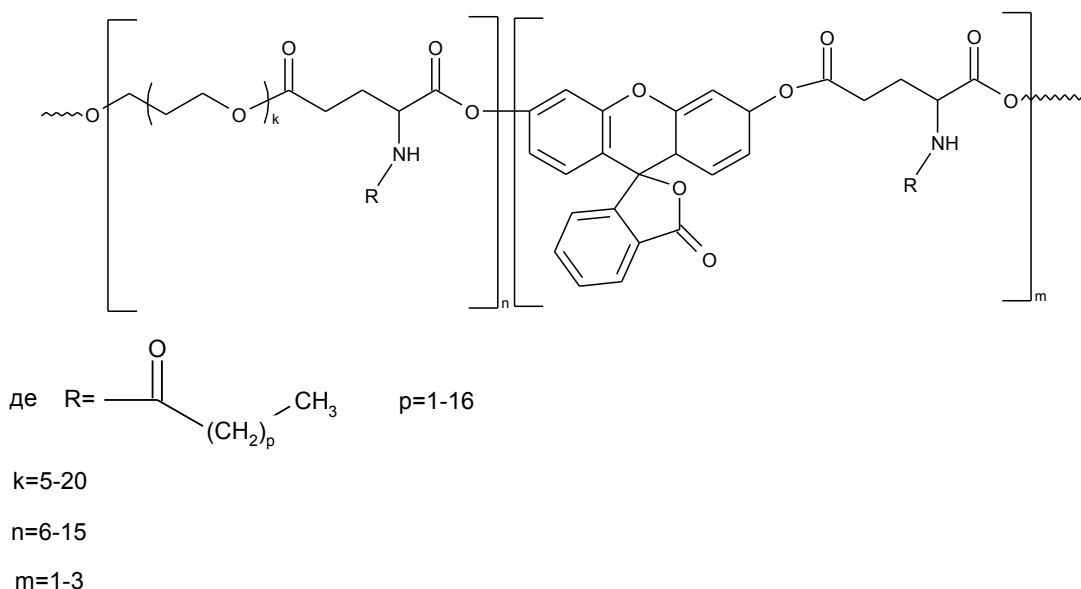
Відомий спосіб одержання кополієстерів природних двоосновних амінокислот та полієтерів гліколів, що включає взаємодію N-захищеної двоосновної амінокислоти та полієтеру гліколю (ПЕГ) в присутності активатора карбоксильних груп N,N'-дициклогексилкарбодііміду.

Властивості нових полімерів - їх біодеградабельність, не токсичність продуктів деградації та утворення у водних розчинах стійних дисперсій з частинками 50÷200 нм робить їх цікавими об'єктами з точки зору використання в якості мікро- та нанорозмірних полімерних носіїв для іммобілізації біологічно активних речовин та їх адресної доставки в різні клітини-мішені. (Патент на винахід № 106270 UA, МПК C08G63/12; 63/685; 77/46; 63/66; 63/668, Амфіфільні блок-кополімери N-похідних природних двоосновних амінокислот та полієтерів гліколів, Варваренко С.М., Воронов А.С., Самарик В.Я., Носова Н.Г., Тарнавчик І.Т., Пузько Н., Дронь І.М., Тарас Р.С., Воронов С.А., заявл. 24.09.2012. № а201211041, опубл. Бюл. № 15, 11.02.2014.)

Але спосіб одержання кополієстерів є двостадійним, а відсутність у складі амфіфільного кополієстеру хромофорних груп не дає можливості виявляти спектральними методами зони накопичення його наночастинок в певних зонах організму, при їх використанні як засобів транспорту ліків.

В основу корисної моделі поставлено задачу - створити спосіб одержання кополієстерів природних двоосновних α -амінокислот та полієтерів гліколіз, в якому використання флуоресцеїну забезпечило би утворення в одну стадію кополієстеру з ковалентно приєднаними флуоресцентними хромофорними групами, що дає можливість візуалізувати зони накопичення його наночастинок в певних зонах організму, при їх використанні як засобів транспорту ліків.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі одержання кополієстерів природних двоосновних α -амінокислот та полієтерів гліколів в присутності активатора карбоксильних груп дициклогексилкарбодііміду та каталізатора N,N'-диметиламінопіридину, згідно з корисною моделлю, до N-захищеної амінокислоти та полієтеру гліколю додають флуоресцеїн, а взаємодію проводять при мольному співвідношенні амінокислота: полієтер гліколь: флуоресцеїн 1:0,95 ÷ 1,03 : 0,02 ÷ 0,1 до одержання кополієстеру з флуоресцентними хромофорними групами в структурі макромолекули формули:



Молекула флуоресцеїну у неводному середовищі може знаходитися у таутомерних формах, які включають наявність двох гідроксильних груп, що дозволяє розглядати його як мономер при кополіконденсації з двоосновною N-захищеною амінокислотою. Включення флуоресцентної хромофорної групи у структуру макромолекули забезпечує здатність до емісії електронів у вигляді спектра випромінювання, що дає можливість контролю за локалізацією кополієстеру в тканинах організму. Ковалентне зв'язування флуоресцентної хромофорної групи з полімером унеможливорює автономну міграцію флуоресцеїну, як це може мати місце при використанні його в молекулярній формі.

Для одержання кополієстерів природних двоосновних α -амінокислот та полієтерів гліколів були використані:

- N-захищені природні двоосновні амінокислоти 2-(алканоїламіно)-пентадіонові кислоти (Glu-R): 2-(гептадеканоїламіно)пентадіонова кислота (Glu-St), 2-(додеканоїламіно)-пентадіонова кислота (Glu-L) (Aldrich). Перед використанням їх сушили у вакуумі над фосфорним ангідридом до постійної ваги.

- Полієтери гліколів ПЕГ-400, ПЕГ-600, ПЕГ-1000 і ПЕГ-1200 молярної маси 400, 600, 1000, 1200 г/моль відповідно (Aldrich).

- N,N'-дициклогексилкарбодіїмід (ДЦК) (Aldrich); 4-Диметиламінопіридин (ДМАП), 99 % (Alfa Aesar). Використовували без додаткового очищення.

- Бензол очищали за відомими методиками [Вайсберг А., Проскауэр Э., Риддис Д. и др. Органические растворители. - М.: Иностранная литература, 1976. - С. 285-286, 389]

- Флуоресцеїн (Aldrich)

Утворення кополієстерів з флуоресцентною хромофорною групою підтверджували тонкошаровою хроматографією їх структуру підтверджували ^1H ЯМР спектроскопією при застосуванні приладів Thermo Scientific Nicolet 8700 та JEOL's ECA Series Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer. Молекулярну масу визначали гель-проникною хроматографією у тетрагідрофурані з використанням модуля Waters Alliance 2690 з рефрактометром Wyatt Optilab DSP, багатокутним лазерним фотометром Dawn (Wyatt) і колонками Waters Styragel HR 3-4. Спектральні характеристики полімеру визначали спектрофлуориметрично у воді, етанолі, октанолі та конденсованій фазі за допомогою спектрофлуориметра CM 2203.

Хоча протонні спектри нових кополієстерів недостатньо інформативні внаслідок перекривання сигналів великої кількості ароматичних протонів у хромофорному фрагменті, але порівняльна оцінка загальної інтегральної інтенсивності протонів ароматичних фрагментів хромофорної групи і протонів α -CH груп 2-(алканоїламіно)пентадіонові кислоти у кополієстері дозволяє оцінити співвідношення вмісту флуоресцентної хромофорної групи і ланок амінокислоти. Мас-спектри полімеру не містять піків молекулярних іонів, а фрагментація макромолекул підтверджує їх склад.

Розміри частинок дисперсної фази синтезованих кополієстерів у водних середовищах визначали на приладі Malvern autosizer 4700, поверхневий натяг визначали по методу відриву кільця (тензіометр Du Nouy).

Приклади конкретного виконання

Приклад 1. Одержання кополієстеру на основі 2-(гептадеканоїламіно)пентадіонової кислоти (Glu-St), полієтеру гліколю (ПЕГ-400) та флуоресцеїну при їх мольному співвідношенні як 1,00:1,03:0,02.

В реактор об'ємом 25 мл завантажували 1 ммоль N-захищеної глутамінової кислоти (Glu-St), 1,03 ммоль діолу та 0,02 ммоль флуоресцеїну, заливали 15 мл бензолу і через насадку Діна-Старка відбирали 5 мл азеотропної суміші. Після цього реакційну масу охолоджували до 7°C , додавали 10 мл попередньо осушеного бензолу і при перемішуванні послідовно вводили попередньо приготовлені розчини 2,1 ммоль ДЦК в 5 мл бензолу та 0,15 ммоль ДМАП в 2 мл бензолу. Після додавання всіх реагентів, температуру реакційної маси піднімали до 15°C і утримували протягом 3-х годин, після чого прогрівали ще 3 години при 35°C . Далі реакційну масу фільтрували від дициклогексилсечовини, яка виділилася у вигляді осаду і фільтрат упарювали. Для очистки кополієстеру від залишків мономерів, каталізатора та непрореагованого ДЦК, готували його 10 % розчини у бензолі, тричі промивали 15 %-ним розчином NaCl у 0,1N HCl, потім 15 %-ним розчином NaCl у воді до нейтрального pH, сушили над сульфатом магнію, фільтрували і упарювали. Отримали кополієстер у вигляді аморфної речовини світло-жовтого кольору в кількості 0,67 гр., що складає 82 % від розрахункового. Відсутність у продукті неприщепленого флуоресцеїну підтверджували тонкошаровою хроматографією (Пластики ALUGRAM® SIL G/UV₂₅₄, елюент - суміш хлороформу та ацетону у співвідношенні 1 до 3 по об'єму, R_f кополієст=0,415, а R_f флуоресцеїну = 0,566). Молекулярна маса (середньо-чисельна) кополієстеру становила 12300. У спектрах флуоресценції спостерігали максимум випромінювання при $\lambda_{\text{макс}}=524$ нм (для флуоресцеїну $\lambda_{\text{макс}}=512$ нм). Одержаний кополієстер понижує поверхневий натяг води до 37 мН/м, на ізотермах поверхневого натягу у воді спостерігається два перегини: перший - при критичній концентрації міцелоутворення $\text{KKM}_1=0,016\%$ та другий перегин при перебудові унітарних міцел у більш складні надмолекулярні міцелярні структури $\text{KKM}_2=0,21\%$. Водні розчини кополієстеру є самостабілізованими дисперсіями кополієстеру з гідродинамічним діаметром частинок 120-350 нм (за даними Malvern autosizer 4700). Дані про умови одержання та характеристики отриманих полієстерів наведено в таблиці.

Приклад 2-4. Одержання кополієстерів на основі 2-(гептадеканоїламіно)пентадіонової кислоти (Glu-St), полієтерів гліколів (ПЕГ-600, ПЕГ-1000, ПЕГ-1200) та флуоресцеїну здійснювали аналогічно. Співвідношення мономерів та характеристики одержаних кополієстерів наведені в таблиці.

- 5 Приклад 5. Одержання кополієстерів на основі 2-(додеканоїламіно)-пентадіонової кислоти (Glu-L), полієтеру гліколю (ПЕГ-600) та флуоресцеїну здійснюються аналогічно. Співвідношення мономерів та характеристики одержаних кополієстерів наведені в таблиці.

Таблиця

Умови одержання та характеристики отриманих кополієстерів

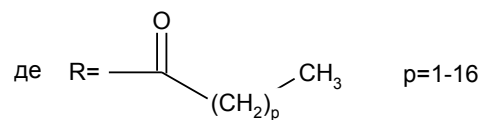
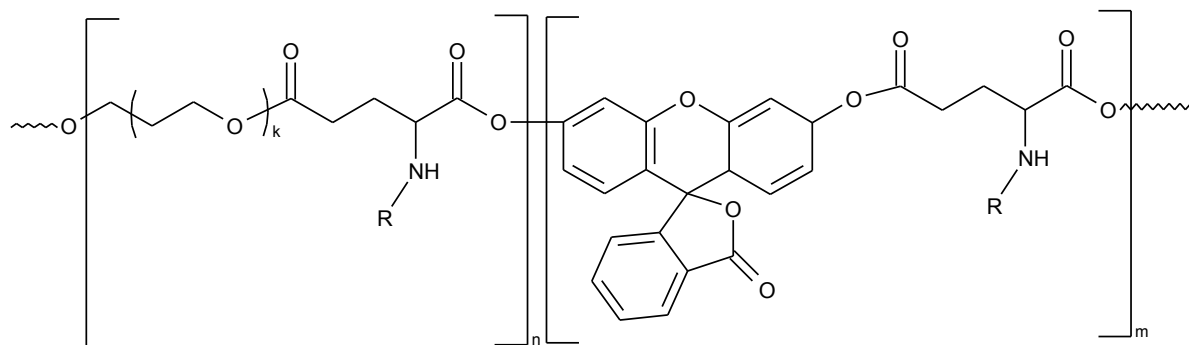
№	Співвідношення мономерів, мольні					Вихід %	Молекулярна маса	Вміст флуоресцентної хромофорної групи, % мольн.	Максимум випромінювання в 1-октанолі*, $\lambda_{\text{макс}}$, нм, (збудження $\lambda=360$ нм)	ККМ ₁ %	ККМ ₂ %	Максимальне пониження поверхневого натягу, Мн/м
	Амінокислота	Частка амінокислоти	ПЕГ	Частка ПЕГ	Частка флуоресцеїну							
1	Glu-St	1	PEG400	1,00	0,05	82	12300	1,2	529	0,016	0,21	37
2	Glu-St	1	PEG600	1,03	0,02	81	9500	1,0	528	0,014	0,16	39
3	Glu-St	1	PEG 1000	1,03	0,02	75	7200	0,7	530	0,009	0,11	40
4	Glu-St	1	PEG1200	1,01	0,04	74	4800	0,5	530	0,01	0,22	52
5	Glu-L	1	PEG600	0,95	0,1	80	10500	0,98	528	0,008	0,10	42

*- максимум поглинання флуоресцеїну в 1-октанолі складає $\lambda_{\text{макс}}=517$ нм

- 10 Одержані кополієстери завдяки чергуванню у макромолекулі ліпофільних і гідрофільних блоків проявляють себе як поверхнево-активні речовини - понижають поверхневий натяг на межі вода-повітря та солюбілізують нерозчинні в воді речовини і завдяки здатності до флуоресценції можуть бути використані для створення нових тераностичних систем адресної доставки та візуалізації ліків. Дані про умови одержання та характеристики отриманих полієстерів наведено в таблиці.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 20 Спосіб одержання кополієстерів природних двоосновних α -амінокислот та полієтерів гліколів, що включає взаємодію двоосновної N-захищеної α -амінокислоти та полієтеру гліколю в присутності активатора карбоксильних груп дициклогексилкарбодііміду та каталізатора N,N'-диметиламінопіридину, який **відрізняється** тим, що попередньо до N-захищеної α -амінокислоти та полієтеру гліколю додають флуоресцеїн, а взаємодію проводять при мольному співвідношенні амінокислота:полієтер гліколь:флуоресцеїн, $1:0,95 \div 1,03:0,02 \div 0,1$ до одержання
- 25 кополієстеру з флуоресцентними хромофорними групами в структурі макромолекули формули:



$k=5-20$

$n=6-15$

$m=1-3$

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601