



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **124918** (13) **C2**
(51) МПК

C08G 63/12 (2006.01)
C08G 63/66 (2006.01)
C08G 63/668 (2006.01)
C08G 63/685 (2006.01)
C08G 63/692 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2021 02108**
(22) Дата подання заявки: **21.04.2021**
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **09.12.2021**
(41) Публікація відомостей про заявку: **04.08.2021, Бюл.№ 31**
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **08.12.2021, Бюл.№ 49**

(72) Винахідник(и):
Стасюк Анна Василівна (UA),
Фігурка Наталія Володимирівна (UA),
Дронь Ірина Анатоліївна (UA),
Букартик Наталія Миколаївна (UA),
Причак Софія Петрівна (UA),
Лях Володимир Іванович (UA),
Остапів Дмитро Дмитрович (UA),
Носова Наталія Геріанівна (UA),
Варваренко Сергій Миколайович (UA),
Влізло Василь Васильович (UA),
Самарик Володимир Ярославович (UA)

(73) Володілець (володільці):
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
"ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА",
вул. Степана Бандери, 12, м. Львів, 79013 (UA)

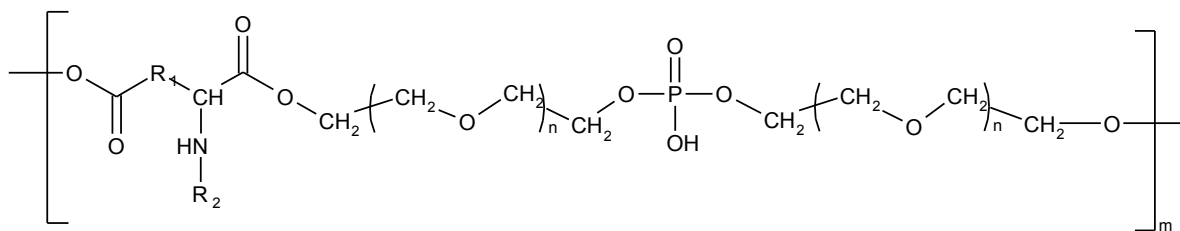
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
А. В. Стасюк та ін.. «Синтез деяких фосфоровмісних похідних поліетиленгліколів», Chemistry, Technology and Application of Substances, Vol. 2, No. 2, 2019, стор. 18-24
WO 2019/030230 A1, 14.02.2019
US 4792599 A, 20.12.1988
UA 106270 C2, 11.08.2014

(54) ФОСФОРОВМІСНІ ПОЛІЕСТЕРЕТЕРИ ПОХІДНИХ ДВООСНОВНИХ ПРИРОДНИХ α -АМІНОКИСЛОТ ТА ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛІВ

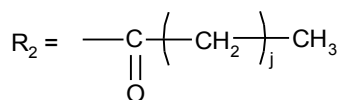
(57) Реферат:

Галузь застосування: створення нових дисперсних систем транспорту лікарських препаратів в людському організмі та як матеріали медичного та біомедичного застосування.
Суть винаходу: вперше одержано фосфоровмісні поліестеретери похідних двоосновних природних α -амінокислот та поліетиленгліколів, які містять фрагменти фосфатної кислоти в основному ланцюгу поліестеретерів, загальної формули:

UA 124918 C2



де $\text{R}_1 = \text{---CH}_2\text{CH}_2\text{---}$ або $\text{---CH}_2\text{---}$,

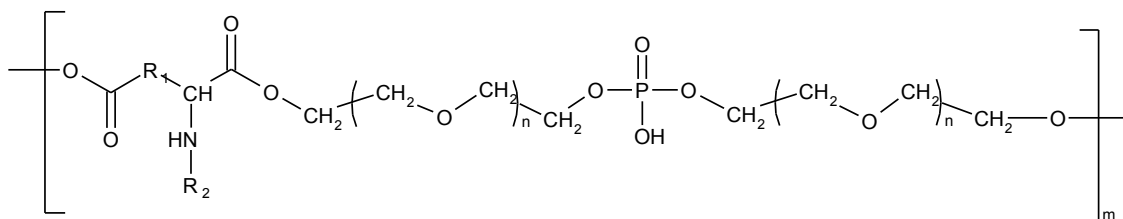


$j = 16$,

$n = 4-24$,

$m = 2-12$.

Технічний результат: синтезовані фосфоровмісні поліестеретери похідних двоосновних природних α -амінокислот та поліетиленгліколів проявляють себе як поверхнево-активні речовини - понижають поверхневий натяг на межі вода-повітря та солюбілізують нерозчинні у воді речовини у кількостях, достатніх для моделювання дисперсних засобів транспорту та пролонгованої цільової доставки лікарських засобів. Наявність в структурі поліестеретеру фосфатних груп робить їх придатними для іонного зв'язування біологічно активних речовин. Колоїдно-хімічні властивості поліестеретерів регулюються за рахунок молекулярної маси поліетиленгліколю (гідрофільного блока), що створює передумови для побудови на їх основі стабільних систем дисперсних частинок складної архітектури, які можуть бути перспективними як наноконтейнери для транспортування лікарських засобів.



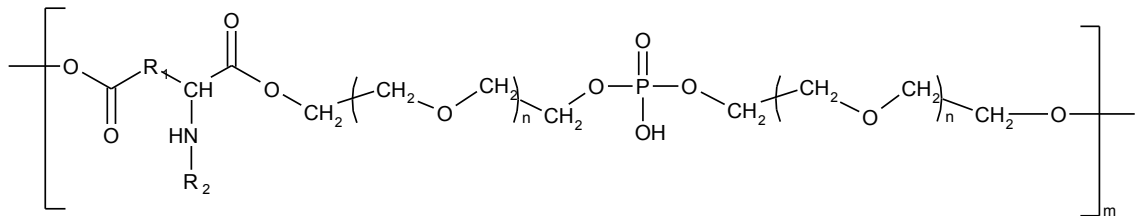
Винахід належить до органічної хімії, стосується хімії високомолекулярних сполук, а саме фосфоровмісних поліестеретерів, які можуть бути використані для створення нових дисперсних систем транспорту лікарських препаратів в людському організмі та як матеріали медичного та біомедичного застосування.

5 Найбільш близьким до пропонованого винаходу є амфіфільні блок-кополімери N-похідних природних двоосновних амінокислот та поліетерів гліколів [Патент України на винахід № 106270 UA, МПК C08G 63/12; 63/685; 63/66; 63/668, Амфіфільні блок-кополімери N-похідних природних двоосновних амінокислот та поліетерів гліколів, Варваренко С.М., Воронов А.С., Самарик В.Я., Носова Н.Г., Тарнавчик І.Т., Пузько Н.В., Дронь І.А., Тарас Р.С., Воронов С.А., заявл. 10 24.09.2012. № а201211041, опубл. Бюл. № 15, 11.08.2014], які завдяки регулярному чергуванню у макромолекулі ліпофільних і гідрофільних блоків проявляють себе як поверхнево-активні речовини. Лабільний естерний зв'язок, який з'єднує окремі блоки у блок-кополімерах, забезпечує біодеградабельність, а будова елементарних ланок - легкий метаболізм та виведення з організму.

15 Однак, поліестеретери такого типу не містять в своїй структурі реакційноздатних груп для ковалентного або іонного зв'язування органічних молекул. Введення фосфатної групи в основний ланцюг поліестеретеру дає можливість задавати функціональність полімерної молекули. У такий спосіб це розширить сферу їхнього використання як матеріалів медичного та біомедичного застосування.

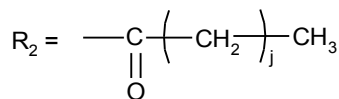
20 В основу винаходу поставлено задачу створити нові фосфоровмісні поліестеретери похідних двоосновних природних α-амінокислот та поліетиленгліколів, у яких містяться фрагменти фосфатної кислоти в основному ланцюгу полімерної молекули, що забезпечує регулювання поверхнево-активних властивостей та здатність утворювати стійкі колоїдні системи у водних розчинах і за рахунок цього зв'язувати ряд органічних сполук, при їх солюбілізації, стійкими іонними зв'язками для зменшення швидкості їх десорбції з частинок дисперсної фази, та використовувати їх як наноконтейнери для транспортування лікарських засобів.

Поставлене завдання вирішується тим, що вперше одержано фосфоровмісні поліестеретери похідних двоосновних природних α-амінокислот та поліетиленгліколів, які 30 містять фрагменти фосфатної кислоти в основному ланцюгу поліестеретеру, загальної формули (1):



, (1)

35 де
R₁ = —CH₂CH₂— або —CH₂— ,



j=16,

n=4-24,

40 m=2-12.

Сполуки заявленої структури, що належать до класу поліестеретерів, в літературі не описані і синтезовані вперше.

На Фіг. 1 зображено ¹H ЯМР спектр фосфоровмісного поліестеретеру з етилфосфатною групою.

45 Синтезовані фосфоровмісні поліестеретери похідних двоосновних природних α-амінокислот та поліетиленгліколів проявляють себе як поверхнево-активні речовини - понижають поверхневий натяг на межі вода-повітря та солюбілізують нерозчинні у воді речовини у кількостях, достатніх для моделювання дисперсних засобів транспорту та пролонгованої цільової доставки лікарських засобів. Наявність в структурі поліестеретеру фосфатних груп

робить їх придатними для іонного зв'язування біологічно активних речовин. Колоїдно-хімічні властивості поліестеретерів регулюються за рахунок молекулярної маси поліетиленгліколю (гідрофільного блока), що створює передумови для побудови на їх основі стабільних систем дисперсних частинок складної архітектури, які можуть бути перспективними як наноконтейнери для транспортування лікарських засобів.

Для одержання фосфоровмісних поліестеретерів похідних двоосновних природних α -амінокислот та поліетиленгліколів можуть бути використані:

- як приклад N-захищеної природної двоосновної α -амінокислоти: N-стеароїлглутамінова кислота (GluSt) (Aldrich). Перед використанням сушили у вакуумі над фосфорним ангідридом до постійної маси;

- диполіетиленглікольетилфосфат (DPEP400, DPEP600) на основі поліетиленгліколів PEG-400, PEG-600 молекулярної маси 400, 600 г/моль відповідно, який синтезували за методикою [Стасюк А.В., Дронь І.А., Хом'як С.В., Гевусь О.І., Самарик В.Я. Синтез деяких фосфоровмісних похідних поліетиленгліколів. - Науковий журнал "Хімія, технологія речовин та їх застосування". - 2019. - Volume 2. - Issue 2. - С. 18-25];

- N,N'-дциклогексилкарбодіімід (DCC) (Aldrich); Використовували без додаткового очищення;

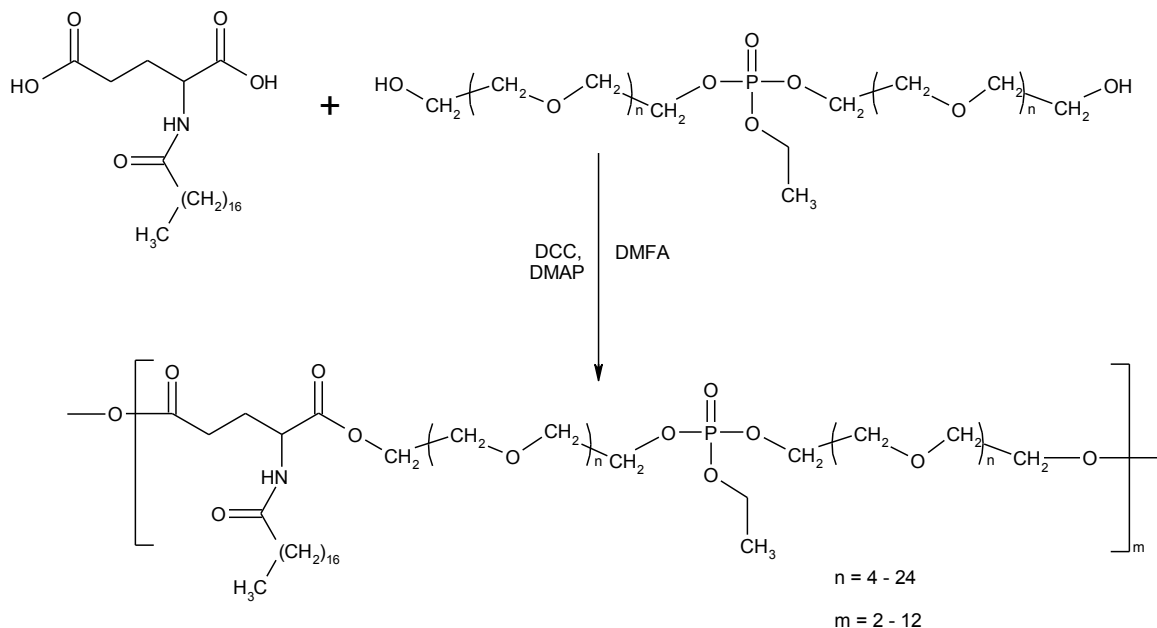
- 4-диметиламінопіридин (DMAP), 99 % (Alfa Aesar). Використовували без додаткового очищення;

- 0,1 н водний розчин хлоридної кислоти (HCl);

- розчинники: диметилформамід, ацетон, хлороформ очищали за відомими методиками [Гордон А. Спутник хіміка / А. Гордон, Э. Форд. - М.: Мир, 1976. - 541 с].

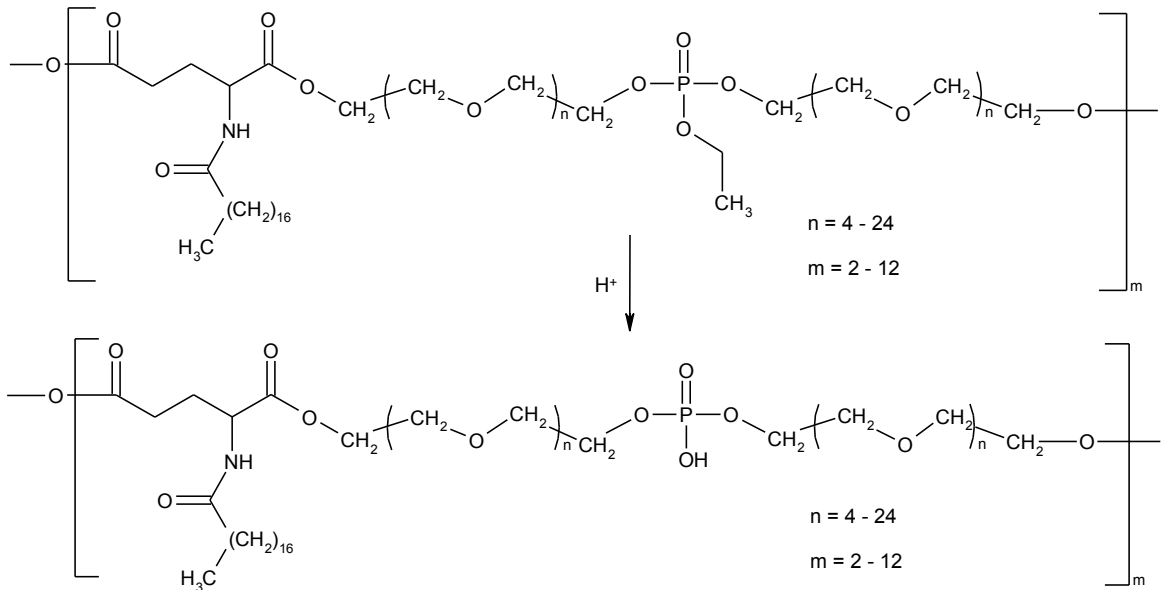
Синтез фосфоровмісних поліестеретерів похідних двоосновних природних α -амінокислот та поліетиленгліколів проводили у дві стадії.

На першій стадії проводили поліконденсацію у розчині диметилформаміду за реакцією Стегліха при взаємодії N-захищеної природної двоосновної α -амінокислоти, як приклад N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt), з диполіетиленглікольетилфосфатом (DPEA) різної молекулярної маси згідно схеми (2) з отриманням фосфоровмісного поліестеретеру з етилфосфатною групою.



(2).

На другій стадії проводили селективний гідроліз етоксильних груп фосфоровмісного поліестеретеру, які отримали на першій стадії згідно схеми (3). Умови гідролізу (водневий показник, температура гідролізу) підібрані так, що естерні групи в основному ланцюгу макромолекул практично не гідролізували. В результаті отримували поліестеретер з кислотною фосфатною групою.



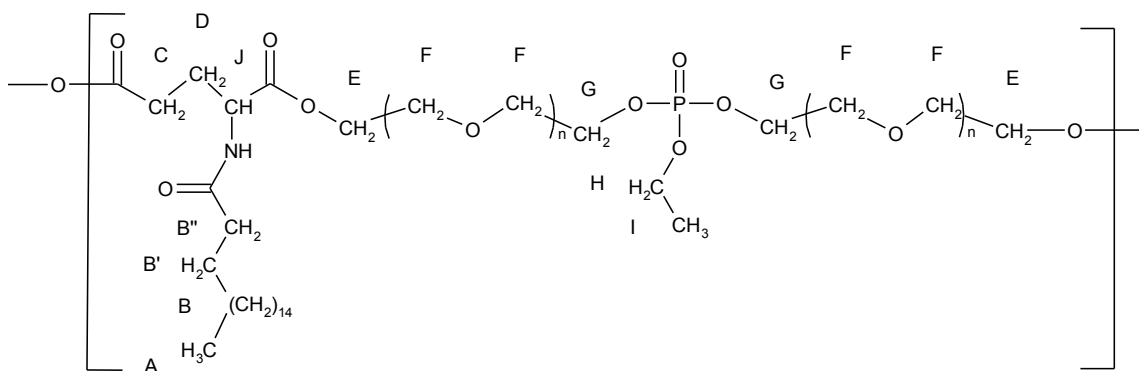
(3).

Структуру отриманих фосфоровмісних поліестеретерів з етилфосфатною та кислотною фосфатними групами підтверджували методами ІЧ-, ^1H -, ^{31}P ЯМР спектроскопією при застосуванні приладів Thermo Scientific Nicolet 8700 та JEOL's ECA Series Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer. Поверхневий натяг визначали по методу відриву кільця (тензіометр Du Nouy). Загальну кислотність визначали потенціометричним титруванням при застосуванні іономера рН-150МИ з комбінованим скляним електродом ЭСК-10603.

Винахід підтверджується прикладами:

Приклад 1. Одержання фосфоровмісних поліестеретерів похідних двоосновних природних α -амінокислот та поліетиленгліколів на прикладі N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та диполіетиленглікольетилфосфату (DPEP400).

В тригорлий реактор, оснащений магнітною мішалкою, двома крапельними лійками, завантажують 5,247 г (12,5 ммоль) N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt), 9,989 г (11,3 ммоль) диполіетиленглікольетилфосфату (DPEP400) та 60 г диметилформаміду. Реакційну суміш охолоджують до 278 К і прикапують 5,233 г (25,4 ммоль) N, N'-дициклогексилкарбодііміду (DCC) в 30 г диметилформаміду. Витримують реакційну масу при 278 К 30 хв, після чого прикапують 0,1977 г (1,6 ммоль) 4-диметиламінопіридину (DMAP) в 1 г диметилформаміду. Після прикапування розчину DMAP, температуру піднімають до 283 К і витримують 2 години при інтенсивному перемішуванні. Після цього реакційну суміш залишають на 12 год. при кімнатній температурі. Для очистки продукту від N,N-дициклогексилсечовини (DCU), реакційну масу фільтрують, фільтрат упарюють у вакуумі водоструминного насосу. Після цього продукт розчиняють у 5 мл ацетону, додають 0,1 мл води і активно перемішують впродовж 30 хв, після чого повторно фільтрують і упарюють фільтрат. Продукт сушать до постійної маси та отримують 15,05 г фосфоровмісного поліестеретеру (вихід 97-99 %). Будова отриманих фосфоровмісних поліестеретерів з етилфосфатною групою підтверджена ^1H ЯМР спектром (на фіг. 1), віднесення сигналів протонів наведено в таблиці 1.



Таблиця 1

Віднесення сигналів ^1H ЯМР спектра протонів фосфоровмісного поліестеретеру з етилфосфатною групою отриманого на основі N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та диполіетиленглікольетилфосфату (DPEG400)

Позн.	Зсув, ppm	Тип	Віднесення	Фрагмент	Кількість протонів	Інтеграл
A	0,83-0,85	т	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	Steroyl	3	3
B	1,21-1,34	м	$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	Steroyl	28	30,56
I			$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-$	Ethyl	3	
B'	1,57-2,85	шм	$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$	Steroyl	2	8,43
B''			$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$	Steroyl	2	
C			$-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH})-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$	Glu	2	
D			$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH})-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu	2	
G	3,98-4,49	шм	$-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})-$	PEG	4	10,92
E			$-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$	PEG	4	
J			$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH})-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu	1	
F			$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-$	PEG	64	
H	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-$	Ethyl	2			

Дані ІЧ-спектроскопії, а саме дуже слабо проявлена широка смуга в області 3050-2950 см⁻¹, свідчать про залишкову кількість карбоксильних груп в складі полімеру як кінцевих. Зміщення смуги поглинання карбонільної групи до 1730 см⁻¹ та поява сильної смуги поглинання при 1240 см⁻¹ підтверджує утворення естерних груп.

Наявність в макромолекулі атому Фосфору підтверджується спектром ³¹P ЯМР (CDCl₃): 0,445-0,881 [(-O-)₂P(=O)(-OCH₂CH₃)].

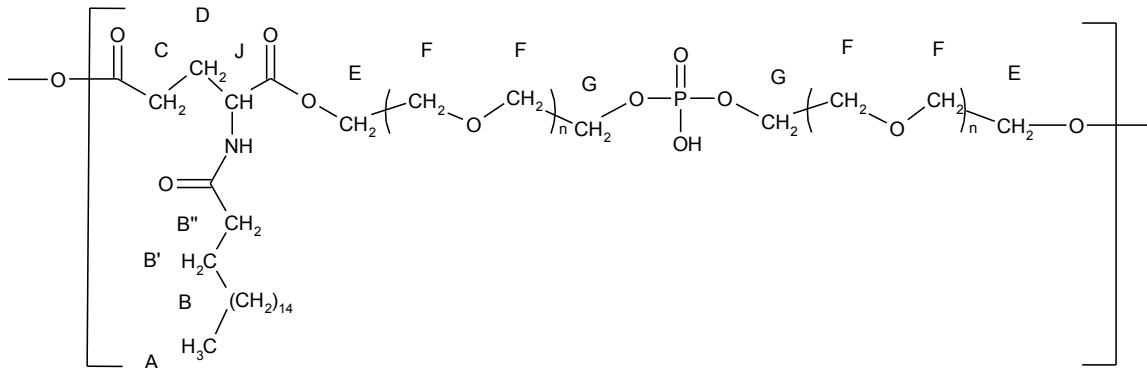
Характеристики одержаних фосфоровмісних поліестеретерів з етилфосфатною групою наведені в таблиці 3.

Приклад 2. Одержання фосфоровмісних поліестеретерів похідних двоосновних природних α-амінокислот та поліетиленгліколів на прикладі N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та диполіетиленглікольетилфосфату (DPEP600).

Здійснювали аналогічно до прикладу 1, але використовували диполіетиленглікольетилфосфат (DPEP600) на основі PEG-600. Вихід фосфоровмісного поліестеретеру 96-99 %. Характеристики одержаних фосфоровмісних поліестеретерів з етилфосфатною групою наведені в таблиці 3.

Приклад 3. Гідроліз етоксильних груп фосфоровмісних поліестеретерів з етилфосфатною групою, які отримали у прикладі 1.

В двогорлий реактор, оснащений магнітною мішалкою, крапельною лійкою та зворотнім холодильником, завантажують 3,16 г фосфоровмісного поліестеретеру з етилфосфатною групою на основі N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та диполіетиленглікольетилфосфату (DPEP400) з прикладу 1 та 42 г дистильованої води, створюючи концентрацію поліестеретеру 70 мг/г розчину. Додають 0,1 н водний розчин HCl до водневого показника розчину в межах 2-КЗ. Витримують реакційну суміш при 353 К до приросту загальної кислотності за даними потенціометричного титрування 7,7 · 10⁻⁴ г-екв/г. Для виділення продукту з водного розчину, його тричі екстрагують хлороформом по 20 мл. Тоді хлороформ упарюють у вакуумі водоструминного насосу. Продукт сушать до постійної маси та отримують 2,8 г фосфоровмісного поліестеретеру з кислотною фосфатною групою (вихід 80-90 %). Будову отриманої сполуки підтверджено ¹H ЯМР спектром, віднесення сигналів протонів наведено в таблиці 2. Характеристики одержаних фосфоровмісних поліестеретерів наведені в таблиці 3.



Таблиця 2

Віднесення сигналів ¹H ЯМР спектра протонів фосфоровмісного поліестеретеру з кислотною фосфатною групою отриманого на основі N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та диполіетиленглікольетилфосфату (DPEP400)

Позн.	Зсув, ppm	Тип	Віднесення	Фрагмент	Кількість протонів	Інтеграл
A	0,83-0,85	т	H ₃ C - CH ₂ - CH ₂ - CH ₂ —	Steroyl	3	3
B	1,21-1,34	м	H ₃ C (—CH ₂) ₁₄ - CH ₂ - CH ₂ —	Steroyl	28	27,35

Віднесення сигналів ¹H ЯМР спектра протонів фосфоровмісного поліестеретеру з кислотною фосфатною групою отриманого на основі N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та диполіетиленглікольетилфосфату (DPEP400)

Позн.	Зсув, ppm	Тип	Віднесення	Фрагмент	Кількість протонів	Інтеграл
B'	1,57-2,85	ШМ	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$	Steroyl	2	8,27
B''			$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$	Steroyl	2	
C			$-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH})-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$	Glu	2	
D			$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH})-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu	2	
G	3,98-4,49	ШМ	$-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$	PEG	4	9,42
E			$-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$	PEG	4	
J			$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH})-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu	1	
F	3,49-3,74	ШМ	$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-$	PEG	64	62,61

Приклад 4. Гідроліз етоксильних груп фосфоровмісних поліестеретерів з етил фосфатною групою, які отримали у прикладі 2.

Здійснювали аналогічно до прикладу 3, але використовували фосфоровмісні поліестеретери з етилфосфатною групою, які отримали у прикладі 2. Витримують при температурі 353 К до приросту загальної кислотності $5,7 \cdot 10^{-4}$ г-екв/г. Вихід фосфоровмісного поліестеретеру з кислотною фосфатною групою 82-89%. Будову отриманої сполуки підтверджено ¹H ЯМР спектром. Характеристики одержаних фосфоровмісних поліестеретерів наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Характеристики отриманих фосфоровмісних поліестеретерів

№ прикладу	Вихід, %	Загальна кислотність, 10 ³ г-екв/г	ККМ, %	ККА, %	Максимальне пониження поверхневого натягу, Мн/м
1	97-99	1,1	0,0078	-	39
2	96-99	0,9	0,0075	-	41
3	80-90	1,6	0,0088	0,0882	36
4	82-89	1,4	0,0085	0,0805	38

10

Для отриманих фосфоровмісних поліестеретерів спостерігається пониження поверхневого натягу їх водних розчинів. На ізотермах поверхневого натягу полімерів з прикладу 3 та 4 спостерігається два злами при критичній концентрації міцелоутворення (ККМ) і критичній

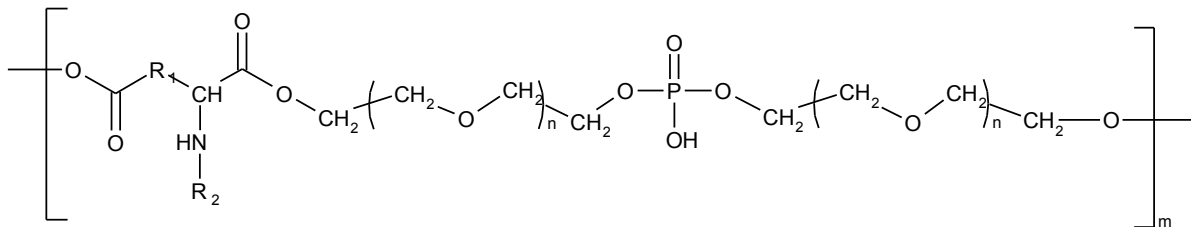
концентрації агрегатоутворення (ККА), що свідчить про впорядкованість процесу утворення міцел та їх здатність до перебудови з ростом концентрації полімеру. Ця властивість має надзвичайно важливе значення для створення дисперсних систем транспорту лікарських препаратів.

5

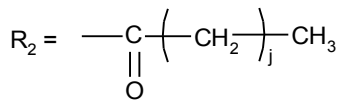
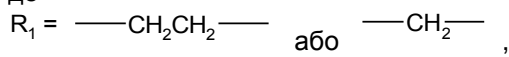
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Фосфоровмісні поліестеретери похідних двоосновних природних α -амінокислот та поліетиленгліколів загальної формули:

10



,
де



15

$j = 16,$
 $n = 4-24,$
 $m = 2-12.$