

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

12 OPIS PATENTOWY 19 PL 11 157086

13 B1

21 Numer zgłoszenia: 269086

51 IntCl⁵:
C07K 5/06

22 Data zgłoszenia: 27.11.1987

CZYTELNIWA
OGÓLNA

54 Sposób wytwarzania nowych biodegradowalnych, reaktywnych oligomerów typu amidodioli alifatycznych

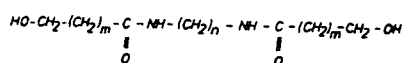
43 Zgłoszenie ogłoszono:
30.05.1989 BUP 11/89

45 O udzieleniu patentu ogłoszono:
30.04.1992 WUP 04/92

73 Uprawniony z patentu:
Polska Akademia Nauk, Zakład Polimerów,
Zabrze, PL

72 Twórcy wynalazku:
Zbigniew Jedliński, Gliwice, PL
Krystyna Brandt, Ruda Śląska, PL

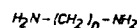
57 1. Sposób wytwarzania nowych biodegradowalnych, reaktywnych oligomerów typu amidodioli alifatycznych o ogólnym wzorze 1, w którym n oznacza liczbę całkowitą od 2 do 12, a m oznacza liczbę całkowitą od 1 do 4, znamienny tym, że lakton o ogólnym wzorze 2, w którym m ma wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji z liniową alkilendiaminą o wzorze 3, w którym n ma wyżej podane znaczenie, korzystnie w temperaturze 0-80°C, przy stosunku molowym laktonu do diaminy wynoszącym korzystnie 2 : 1.



wzór 1



wzór 2



wzór 3

PL 157086 B1

Sposób wytwarzania nowych biodegradowalnych, reaktywnych oligomerów typu amidodioli alifatycznych

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowych biodegradowalnych, reaktywnych oligomerów typu amidodioli alifatycznych o ogólnym wzorze 1, w którym n oznacza liczbę całkowitą od 2 do 12, a m oznacza liczbę całkowitą od 1 do 4, **znamienny tym**, że lakton o ogólnym wzorze 2, w którym m ma wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji z liniową alkilenodiaminą o wzorze 3, w którym n ma wyżej podane znaczenie, korzystnie w temperaturze 0-80°C, przy stosunku molowym laktonu do diaminy wynoszącym korzystnie 2:1.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w atmosferze gazu obojętnego, w środowisku wodnym, w temperaturze 5-30°C w ciągu 2-5 godzin, przy czym w końcowym stadium reakcji temperaturę podnosi się do 60-80°C.

* * *

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych reaktywnych telechelicznych oligomerów o ogólnym wzorze 1, w którym m oznacza liczbę całkowitą od 1 do 4, a n oznacza liczbę całkowitą od 2 do 12.

Oligomery te - ze względu na obecność w ich cząsteczkach ugrupowań amidowych, -NH-C(O)-, zdolne są do ulegania hydrolizie i biodegradacji np. pod wpływem enzymów z grupy proteaz. Wiadomo, że enzymy proteolityczne, w szczególności trypsyna, chymotrypsyna i papaina, katalizują rozkład wiązań amidowych zarówno w naturalnych oligopeptydach (oligoamidach otrzymanych w reakcji stopniowej polikondensacji α -aminokwasów) (np. J. Kopec'ek, „Controlled biodegradability of polymers - a key to drug delivery systems“, Biomaterials 1984, Vol. 5 (Jan), 19), jak też w syntetycznych poliamidach np. typu Nylonu 66, otrzymywanych w przemysłowych procesach polikondensacji kwasów dikarboksylowych z diaminami alifatycznymi (D. F. Williams, „The biodegradation of polyesters, polyamides and polyurethanes“, Materiały konferencyjne 2nd International Conference on Polymers in medicine, 1985, Capri, Italy).

Ponadto oligomery, będące przedmiotem wynalazku posiadają na końcach cząsteczki funkcyjne grupy karboksylowe, dzięki którym są one reaktywne i mogą wstępować w reakcje polikondensacji z odpowiednimi komonomerami (np. dichlorkami kwasowymi, diizocyjanianami, chlorofosfazenami), prowadząc do otrzymywania różnych polimerów segmentowych, typu poli(amido-estrów), poli(amido-uretanów), poli(amido-fosfazenów) i innych. Możliwość zastosowania amidodioli do syntez różnych klas polimerów segmentowych przedstawiono na schemacie II.

Wiele ze znanych dotychczas oligomerów funkcyjnych typu „telechelics“ znalazło zastosowanie w praktyce m. in. do syntez polimerów konstrukcyjnych o unikalnych własnościach (np. S. Ogata, M. Katimoto, Y. Imai. Macromolecules, 18, 1985, 851, Z. Jedliński i inni. Polski opis patentowy nr 141 794 i zgłoszenie nr P-257 230 opublikowane w BUP nr 5/88 a także w produkcji szeregu środków farmakologicznych oraz fotostabilizatorów i radioprotektorów (Polymeric Drugs, Acad. Press, New York 1978).

Właściwości reaktywnych oligomerów i otrzymywanych z nich polimerów zależą zarówno od struktury samej cząsteczki, jak też od rodzaju i położenia grup funkcyjnych. [O. Vogl. Polimery, 29, 9, 1983 (1984)], co stwarza szerokie możliwości syntez nowych użytecznych materiałów o założonych z góry właściwościach.

Szczególne zainteresowanie wzbudzają te polimery syntezowane z reaktywnych oligomerów, które wykazują zdolności do ulegania biodegradacji. Znaczenie tej grupy polimerów i tworzywnika wynika między innymi z możliwości rozkładu biologicznego zużytych materiałów z tworzywnika sztucznych i ich ewentualnej recyrkulacji. Ponadto biodegradowalne funkcyjne oligomery i polimery znajdują też coraz szersze zastosowanie w syntezie różnorodnych materiałów medycznych i środków farmakologicznych, których działanie w organizmie powinno być okresowe (np. nici

chirurgiczne, złącza kostne), lub też w istotny sposób zależy od degradacji (leki polimerowe z których enzymy „uwalniają“ aktywne fragmenty, przy czym pierwotna forma polimerowa leku jest nieaktywna biologicznie) (T. A. Connors, Possible prodrugs in Cancer chemotherapy Chem. Ind. 1980, 447-451; *Chimija i tehnologija miediko-biologiczeskich polimerów*, Moskwa 1981).

I tak na przykład, w terapii antynowotworowej wykorzystuje się fakt, że komórki rakowe odznaczają się w stosunku do komórek normalnych większą szybkością generowania enzymów typu proteaz, na przykład - chymotrypsyny i plazminy. Enzymy te zdolne są do rozszczepienia krótkich łańcuchów peptydowych. Na tej podstawie podjęto próby syntezy leków antynowotworowych, w których cząsteczki czynnika aktywnego są wbudowane w łańcuch polimerowy poprzez ich kondensację z odpowiednio funkcjonalizowanymi oligopeptydami. (J. Kapec'ek, *Biomaterials*, 1984, Vol. 5, 19-25).

Synteza oligopeptydów o określonej sekwencji z aminokwasów jest bardzo skomplikowanym, wieloetapowym procesem, wymagającym kolejnego blokowania i odblokowywania grup aminowych oraz aktywowania grup karboksylowych (R. T. Morrison, R. N. Boyd, *Chemia organiczna*, t. 2, PWN, Warszawa 1985, str. 372). Ostatnio (T. H. Barrows, II Intern. Conference on Polymers in Medicine, 1985 Capri, Italy) opisano syntezę biodegradowalnych amidodioli o wzorze 4, otrzymanych w reakcji kondensacji hydroksykwasu (glikolowego) o wzorze HOCH_2COOH z liniowymi diaminami alifatycznymi o wzorze $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$, w którym $n=2-12$. Kondensacja hydroksykwasów z diaminami jest jednak również skomplikowana, wymaga bowiem uprzedniego przeprowadzenia kwasu w chlorek kwasowy, bądź też zastosowania specjalnych układów katalitycznych (Ueda, M. Kawanarasaki, N. *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 1983, 4/12/, 801-5).

Metoda według wynalazku pozwala w łagodnych warunkach, szybko i z wysoką wydajnością otrzymać amidodiole o wzorze 1, w którym m oznacza liczbę całkowitą od 1 do 4, a n oznacza liczbę całkowitą od 2 do 12, będące homologami opisanych przez Barrowsa amidodioli o wzorze 4, w prostej, jednostopniowej reakcji, bez konieczności stosowania układów katalitycznych, ani też syntezy skomplikowanych związków przejściowych.

Istota sposobu wytwarzania nowych biodegradowalnych, reaktywnych oligomerów typu amidodioli o ogólnym wzorze 1, w którym m oznacza liczbę całkowitą od 1 do 4, a n oznacza liczbę całkowitą od 2 do 12, polega według wynalazku na tym, że lakton o ogólnym wzorze 2, w którym m ma wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji z liniową alkilenodiaminą o wzorze 3, w którym n ma wyżej podane znaczenie.

W metodzie tej w reakcji aminolizy diaminami zamiast odpowiednich hydroksykwasów stosuje się ich estry wewnętrzne czyli laktony.

Przebieg reakcji przedstawiono na schemacie I.

Sposobem według wynalazku reakcję korzystne prowadzi się w temperaturze $5-30^\circ\text{C}$, przy wkraplaniu wybranego laktonu lub jego wodnego roztworu do wodnego roztworu lub suspensji odpowiedniej diaminy. Reakcję prowadzi się w atmosferze gazu obojętnego, przy intensywnym mieszaniu reagentów w ciągu 2-5 godzin, przy czym w stadium końcowym reakcji dla uzyskania pełnej konwersji substratów korzystne jest podniesienie temperatury reakcji do $60-80^\circ\text{C}$. Otrzymane produkty w razie potrzeby oczyszcza się poprzez krystalizację z mieszaniny rozpuszczalników heksan-izopropanol (1:1) albo benzen-metanol (1:1), lub chromatograficznie na kolumnie z silikażelem.

Nowa metoda syntezy amidodioli o wzorze 1, w którym $m=1-4$, a $n=2-12$, będąca przedmiotem wynalazku ma charakter uniwersalny i pozwala otrzymywać omówione związki z wysoką wydajnością 80-95% wydajności teoretycznej, w łagodnych warunkach, w roztworze wodnym, w temperaturze zbliżonej do pokojowej, co stwarza korzystne perspektywy dla jej ewentualnego prowadzenia w skali przemysłowej. A zatem metoda według wynalazku cechuje się znaczną prostotą i jest uniwersalna, ze względu na możliwość stosowania laktonów o różnych rozmiarach pierścienia oraz szerokiej gamy diamin.

Własności niektórych ze zsyntezowanych metodą według wynalazku amidodioli zestawiono w tabelach 1 i 2. Założoną strukturę poszczególnych związków potwierdzają wyniki analizy elementarnej, oznaczenia zawartości grup hydroksylowych (tabela 1) oraz odpowiednie widma w podczerwieni, zawierające pasma absorpcji charakterystyczne dla drgań grup amidowych i hydroksylowych (tabela 2).

Wszystkie związki są substancjami krystalicznymi o ostrych temperaturach topnienia w zakresie 108-135°C. Na uwagę zasługuje ich dobra rozpuszczalność tak w wodzie, jak i w polarnych rozpuszczalnikach organicznych oraz wysoka stabilność termiczna w interwale temperatur 70-140°C powyżej odpowiednich temperatur topnienia.

Te własności otrzymanych według wynalazku amidomoli umożliwiają ich zastosowanie jako dwufunkcyjnych makromerów hydroksylowych w różnorodnych procesach polikondensacji, prowadzonych zarówno w stopie, rozpuszczalniku, a także na granicy faz woda-rozpuszczalnik organiczny. Komonomerami w tych procesach polikondensacji mogą być różne związki, zdolne do reagowania z aktywnym wodorem, jak chlorki kwasowe, chlorofosfazeny, chlorosilany, izocyjaniany (schemat II).

Polimery otrzymane w tych procesach polikondensacji, ze względu na obecność w ich łańcuchach segmentów oligoamidowych, odznaczają się zdolnością do ulegania enzymatycznej biodegradacji, przy czym ich pozostałe własności zależą m. in. od rodzaju diaminy i laktonu (tj. od wartości n i m we wzorze 1).

W szczególności, dla związków, w których $n = 4$ lub 5 , tj. dla pochodnych amin biogennych -putrescyny i kadaweryny - można spodziewać się zwiększonego powinowactwa do komórek nowotworowych (P. Pohjanpelto, „Putrescine transport is greatly increased in human fibroblasts initiated to proliferate“, J. Cell. Biol., Vol. 68, 1976, 512-520), co stwarza możliwość ich zastosowania do otrzymywania środków antynowotworowych o selektywnym działaniu, aktywowanych we wnętrzu komórek nowotworowych wskutek enzymatycznego rozszczepienia wiązań amidowych.

Amidodiole o dłuższych łańcuchach węglowych mogą znaleźć zastosowanie do syntez np. biodegradowalnych nici chirurgicznych i różnych umocnień kostnych, ulegających powolnemu rozkładowi w warunkach żywego organizmu (T. H. Barrows „The design and synthesis of bioabsorbable poly (ester-amides)“, 2nd Int. Conf. on Polymers in Medicine, 1985, Capri, Italy).

Niżej podane przykłady ilustrują sposób według wynalazku, nie ograniczając jego zakresu.

Przykład I. Do kolby czteroszyjnej pojemności 50 ml, zaopatrzonej w mieszałko, wkraplacz, chłodnicę zwrotną i rurkę z dopływem argonu wprowadzono 2,652 g (0,026 m) pentametylenodiaminy (kadaweryny) w 8 ml wody destylowanej i powoli w ciągu 1 godziny wdroplono roztwór 3,756 g (0,052 m) β -propiolaktanu w 16 ml wody w temperaturze 5-10°C. Po zakończeniu wkraplania oznaczono przez miareczkowanie 0,1 HCl zawartość nieprzereagowanych grup aminowych w próbce roztworu reakcyjnego stwierdzając, że ich konwersja do amidu wynosi około 95%. Reakcję kontynuowano jeszcze przez 4 godziny w temperaturze pokojowej i 0,5 godziny w temperaturze 60-70°C, dochodząc do konwersji 98%.

W temperaturze 60-70°C oddestylowano pod próżnią w atmosferze argonu wodę z mieszaniny reakcyjnej, a następnie pozostałość suszono 24 h w suszarce próżniowej w $t = 50^\circ\text{C}$, uzyskując 6,1 g produktu w postaci jasnożółtego oleju z tendencją do krystalizacji. Surowy produkt poddano rozdzielowi metodą preparatywnej chromatografii cieczowej na silikazelu, stosując eluent benzen-metanol = 3:1. Przebieg rozdzielu śledzono analizując frakcje wymywane z kolumny metodą chromatografii cienkowarstwowej na płytach z silikazelem w układzie benzen-metanol-trójetyloamin = 7:2:1 i wywołując chromatogramy parami jodu. Główną frakcję (3,89 g) z rozdzielu stanowił biały krystaliczny produkt $R_f = 3,38$, o temperaturze topnienia 104°C stanowiący bis-/hydroksypropioamido/pentan o wzorze 1, $n = 5$, $m = 1$, co potwierdzają wyniki przeprowadzonych analiz M^s 246 (obl. $M = 246$), $^1\text{OH} - 457,7$, (obl. $^1\text{OH} = 456,1$),

Obliczono: dla $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$: N 11,36; C 53,40; H 8,9;

Oznaczono: N 10,82; C 53,80; H 9,1;

Przykład II. W aparaturze analogicznej do opisanej w przykładzie I do roztworu 3,71 g (0,032 m) heksylenodiaminy w 10 ml wody destylowanej wdroplono w temperaturze 25°C roztwór 4,61 g (0,064 m) β -propiolaktanu w 20 ml wody destylowanej. Efekt egzotermiczny spowodował wzrost temperatury roztworu reakcyjnego do 50°C. Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej zawartość kolby mieszano w temperaturze pokojowej przez 6 godzin stwierdzając alkalimetrycznie ustalenie się w tych warunkach stopnia konwersji diaminy około 95%. Jednocześnie metodą TLC stwierdzono całkowitą konwersję laktonu. Po oddestylowaniu wody pod próżnią w atmosferze argonu oraz usunięciu resztek wilgoci w suszarce próżniowej surowy produkt poddano rozdzielowi chromatograficznemu w warunkach analogicznych do opisanych w przykładzie I. Uzyskano 5,5 g białego, krystalicznego produktu o temperaturze topnienia 109°C, zidentyfikowanego jako bis-/hydroksypropioamido/heksan o wzorze 1, w którym $n = 6$, $m = 1$.

Obliczono: dla $C_{12}H_{24}O_4N_2$, M 260, $L_{OH} = 431$,
 C 55,38; H 9,20; N 10,76;
 Oznaczono: M^+ 260, $L_{OH} = 414$,
 C 55,9; H 9,6; N 10,2.

Przykład III. Roztwór 5,82 g (0,057 m) pentylenodiaminy w 30 ml wody destylowanej ochłodzono do $5^\circ C$ i w tej temperaturze wkropiono w atmosferze azotu roztwór 9,82 g (0,114 m) δ -butyrolaktonu w 20 ml wody. Reakcję prowadzono przez 1 h w temperaturze $5-10^\circ C$, przez 3 h w temperaturze $20^\circ C$ i przez 1 h w temperaturze $60-70^\circ C$. Wydajność surowego produktu 15,16 g (96,8%). W wyniku krystalizacji z mieszaniny izopropanol-heksan = 1:1 uzyskano produkt o $t_f = 121,8^\circ C$, /bis/hydroksybutyroamido/pentan/, odpowiadający związkowi o wzorze 1, w którym $m = 2$ a $n = 5$. Własności przedstawiono w tabeli 1 i 2.

Przykład IV. 4,56 g (0,04 m) ϵ -kapolaktonu rozpuszczono w 12 ml wody destylowanej, ochłodzono wodę z lodem i wkropiono roztwór 1,76 g (0,02 m) butylenodiaminy o 8 ml wody. Reakcję prowadzono analogicznie, jak w przykładzie III. Wydajność surowego produktu 6,2 g (98,1%). W wyniku krystalizacji z izopropanol-heksan = 1:1 uzyskano związek o wzorze 1, w którym $m = n = 4$, bis/hydroksykaproamido/butan, o $t_f = 134,8^\circ C$ (DSC).

Własności przedstawiono w tabelach 1 i 2.

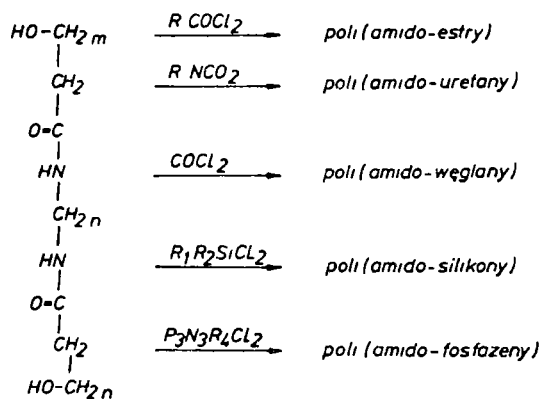
Tabela 1
 Oznaczenie składu pierwiastkowego oraz liczby hydroksylowej
 niektórych ze zsyntezowanych amidodioli o wzorze 1
 $OH-CH_2-(CH_2)_m-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-NH-(CH_2)_n-NH-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-(CH_2)_m-CH_2-OH$

m	n	wzór sumaryczny	C		H		N		L_{OH}	
			ozn	obl	ozn	obl	ozn	obl	ozn.	obl.
1	2	$C_{10}H_{20}O_4N_2$	51,4	51,7	8,2	8,6	11,5	12,0	467	483,6
	5	$C_{11}H_{22}O_4N_2$	53,3	53,6	9,5	8,9	11,8	11,4	457	456,1
	6	$C_{12}H_{24}O_4N_2$	54,9	55,3	8,9	9,2	10,9	10,7	413	431,5
2	4	$C_{12}H_{24}O_4N_2$	55,8	55,5	9,8	9,2	10,3	10,7	420	431,5
	5	$C_{13}H_{26}O_4N_2$	57,4	56,9	9,9	9,4	9,7	9,4	415	409,5
	6	$C_{14}H_{28}O_4N_2$	59,0	58,3	9,2	9,7	9,9	9,7	421	389,6
3	4	$C_{14}H_{28}O_4N_2$	58,7	58,3	9,5	9,7	9,2	9,7	395	389,6
	5	$C_{15}H_{30}O_4N_2$	59,1	59,6	9,1	9,9	8,8	9,2	378	371,5
4	4	$C_{16}H_{32}O_4N_2$	61,5	60,7	9,5	10,1	9,4	8,8	361	355,0

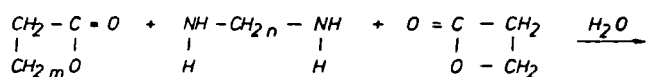
Tabela 2
 Niektóre własności amidodioli o wzorze 1

m	n	T_f w $^\circ C$	Temp. 5% ubytku masy, $^\circ C$	IR, cm^{-1}			Rozpuszczalniki
				I pasmo amidowe	II pasmo amidowe	OH	
1	4	108,0	235	1632	1548	max 3204	H_2O
	5	111,5	240	1640	1556	max 3316	
	6	109,9	265	1632	1548	max 3308	
2	4	133,1	145	1640	1544	max 3300	DMF
	5	121,8	220	1640	1536	max 3312	
	6	108,3	175	1632	1536	max 3308	
3	4	119,2	250	1632	1536	max 3304	DMSO
	5	101,0	210	1632	1532	max 3320	
4	4	134,8	280	1632	1544	max 3300	pirydyna

157 086



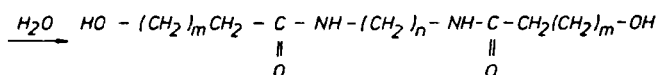
Schemat II



wzor 2

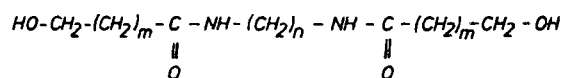
wzor 3

wzor 2

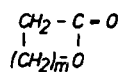


wzor 1

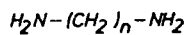
Schemat I



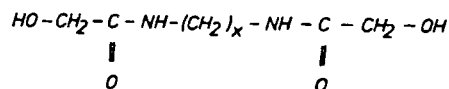
wzor 1



wzor 2



wzor 3



wzor 4