

(19)



REPUBLIKA SLOVENIJA
Urad RS za intelektualno lastnino

(10) **SI 9620064 A**

(12)

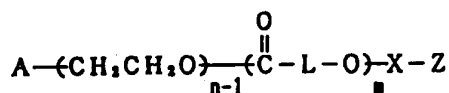
PATENT(21) Številka prijave: **9620064**(51) MPK⁶: **C08G 65/32**(22) Datum prijave: **12.04.1996**(45) Datum objave: **30.06.1998**(87) PCT objava: **WO 96/32434, 17.10.1996**(86) PCT prijava: **12.04.1996 WO PCT/JP96/01020**(30) Prednost: **14.04.1995 JP 89373/95**

(72) Izumitelj: **KATAOKA KAZUNORI, Kashiwa-shi, Chiba 277, JP;**
NAGASAKI YUKIO, Moriya-cho, Kitasoma-gun, Ibaraki 302-01, JP;
KATO MASAO, Tsukuba-shi, Ibaraki 305, JP;
OKANO TERUO, Ichikawa-shi, Chiba 272, JP;
NAKAMURA TERUO, Gotenba-shi, Shizuoka 412, JP

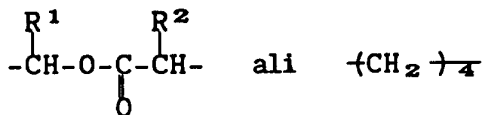
(73) Nosilec: **Kataoka Kazunori, 1083-4, Ohmuro, Kashiwa-shi, Chiba 277, JP**(74) Zastopnik: **PATENTNA PISARNA D.O.O., Čopova 14 p.p. 322, 1000 Ljubljana, SI**

(54) **POLIOKSJETILEN S SLADKORJEM NA ENEM KONCU IN RAZLIČNO FUNKCIONALNO SKUPINO NA DRUGEM KONCU TER POSTOPEK ZA NJEGOVO PRIPRAVO**

(57) Pri predloženem izumu gre za heteroteleheličen oligomer ali polimer z naslednjo formulo



kjer A pomeni sladkorni ostanek, L pomeni vezno skupino z naslednjo formulo



kjer R1 in R2 neodvisno pomenita nižji alkil, aralkil ali aril, X pomeni enojno vez ali -CH₂CH₂-, Z pomeni skupino, ki tvori nenasičen ester ali eter, ali funkcionalno skupino, kot halogen, ki se veže na -CH₂CH₂-, n pomeni celo število 5 do 10000 in m pomeni celo število 0 ali 2-10000. Pri predloženem izumu gre tudi za postopek za pripravo gornjega oligomera ali polimera in nadalje za visoko molekulski micel za uporabo polietilenoksidnega poliestrskega blok polimera, ki ima sladkorni ostanek pri svojem terminalu. Pričakujemo, da ima ta oligomer ali polimer odlično biorazpoložljivost in pričakujemo tudi, da je uporaben na področju, kot so nosilci za dajanje zdravil ali diagnostični reagenti.

SI 9620064 A

Kataoka Kazunori

Polioksietilen s sladkorjem na enem koncu in različno funkcionalno skupino na drugem koncu ter postopek za njegovo pripravo

Področje izuma

Predloženi izum se nanaša na oligomer ali polimer (heteroteleheličen oligomer ali polimer), ki ima sladkor na enem koncu in različno funkcionalno skupino na drugem koncu, ter na postopek za pripravo tega oligomera ali polimera.

Stanje tehnike

Polietilenoksid ima lastnosti, kot topnost v vodi in neimunogeničnost, in omenjene so njegove uporabe v biologiji in medicinskem inženiringu, kot njegova uporaba kot modifikator biološko aktivnih snovi, kot proteinov in zdravil.

Znano je npr., da kadar protein modificirajo s polietilenglikolom, se njegova imunogeničnost znatno zmanjša (Protein Hybrid, Yuji Inada, Hiroto Maeda and Kyoritsu Shuppan (1988)). Kadar je polietilenoksid vezan na protein na ta način, mora biti funkcijska skupina za reakcijo s proteinskim terminalom na koncu polietilenoksida. Na splošno so na površini proteina prisotne različne funkcionalne skupine, kot karboksilna skupina, amino skupina, hidroksilna skupina in merkaptoskupina, in izbira funkcionalne skupine pri reakciji s polietilenoksidom ima pogosto velik vpliv na fiziološko aktivacijo tega proteina.

Sedaj ima večina polietilenoksidnih derivatov, ki so konstruirani, hidroksilno skupino na obeh koncih ali nereaktivno alkoksi skupino na enem koncu in hidroksilno skupino na drugem koncu. Ker ima hidroksilna skupina nizko reaktivnost v primerjavi z aldehidno skupino in amino skupino, so jo poskusili pretvoriti v drugo funkcionalno skupino (Synth. Commun., 22(16), 2417-2424 (1992); J. Bioact. Com-

pat. Polym., 5(2) 227-231 (1990). Način reakcije ali uporaba polietilenoksida je bila neugodno omejena, kadar so ga uporabili kot modifikator proteina na zgoraj omenjeni način.

Nadalje so nedavno omenili pomembnost hetero vezanja za povezavo proteina z določeno funkcijo s spojino z drugo funkcijo, kot protitelesa preko polietilenoksida. V tem primeru je pomemben polietilenoksidni derivat z različnimi funkcionalnimi skupinami na obeh koncih. Metoda ob uporabi polietilenoksida s hidroksilno skupino na obeh koncih kot surovine se uporablja za sintezo tega tipa heteropolietilenoksida (Poly(ethylene glycol) Chemistry; JM/Harris, Plenum Press, 1992). Produkt, dobljen s tem tipom metode, pa je zmes nezreagirane snovi, snovi stranskih reakcij in prereagirane snovi, modificirane na obeh svojih koncih, in zato je treba ta produkt rafinirati s kolonsko operacijo ipd., tako da lahko izolirajo želeni produkt, ta postopek pa povzroča velik problem glede dobitka in čistote.

Za obvladovanje teh tipov problemov so izumitelji nedavno polimerizirali polietilenoksid z alkalijsko soljo amina ali alkohola s funkcionalno skupino kot iniciatorja in odkrili postopek za kvantitativno sintezo heteropolietilenoksida z različnimi funkcionalnimi skupinami na obeh koncih, kot so amino skupina, aldehidna skupina, merkapto skupina, karboksilna skupina in hidroksilna skupina (japonska patentna prijava št. 5-009168; Tokugan 5-194977; Tokugan 6-94532; Tokugan 6-117262; in Tokugan 6-228465).

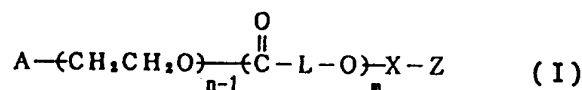
Vendar kvantitativne sinteze heteropolietilenoksida z ostankom sladkorja na enem koncu doslej še niso izvedli. Zaradi karakteristične interakcije in afinitete med tipom sladkorja in vsako komponento v telesu lahko dobimo spojino s karakteristično afiniteto za biološke komponente in z visoko biorazpoložljivostjo, če lahko sladkorno skupino kvantitativno uvedemo na en konec polietilenoksida in reaktivno funkcionalno skupino na drug konec; taka spojina bi bil material, za katerega bi lahko pričakovali, da ga naneseemo na nosilce za oddajanje zdravila, ki imajo ciljne lastnosti, in na prekursorje diagnostičnih materialov ipd.

Predmet predloženega izuma je zato priprava (heteroteleheličnega) polietilenoksidnega derivata in polioksietilen-poliestrskega derivata z ostankom sladkorja na enem koncu in reaktivno funkcionalno skupino, različno od sladkorja, na drugem koncu in zagotovitev postopka za pripravo takih derivatov selektivno ter z lahkoto in učinkovitostjo.

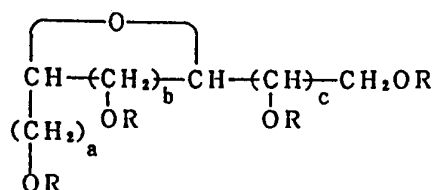
Opis izuma

Izumitelji predloženega izuma so ugotovili, da z uporabo žive polimerizacije (living polymerization) pri sladkorjih, katerih hidroksilne skupine so selektivno zaščitene, in pri etilenoksidu in laktonu ali laktidu kot cikličnih monomerih, lahko prosto pripravimo heteroteliheličen oligomer in polimer, ki imata sladkor na enem koncu in reaktivno funkcionalno skupino, različno od sladkorja, na drugem koncu, in ki imata ozko porazdelitev molekulske mase in želeno polimerizacijsko stopnjo. Za tako pripravljen polietilenoksidni derivat pričakujemo, da ima izvrstno biorazpoložljivost in da se ga s pridom uporablja kot material ali prekursor na področju biokemije in/ali zdravljenja.

Pri predloženem izumu gre za polietilenoksidni derivat z naslednjo formulo (I):



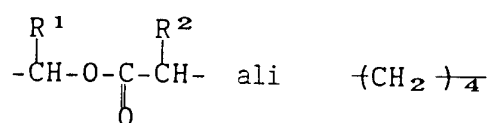
kjer A pomeni ostanek sladkorja z naslednjo formulo



kjer skupine R neodvisno pomenijo naslednje: eden od R pomeni povezavo kot kovalentno vez s sosednjo metilensko skupino preko atoma kisika; kar se tiče drugih R, včasih pomenijo atom vodika, C_{1-5} alkil, C_{1-5} alkilkarbonil ali tri- C_{1-5} alkilsilil (ti alkili so podobni ali različni) in včasih dva od teh R v kombinaciji ob tvorbi acetala skupaj z atomom kisika, na katerega so R vezani, pomenita C_{3-5} alkiliden ali benziliden, katerega metin je lahko substituiran s C_{1-3} alkilom; a pomeni celo število 0 ali 1, b pomeni celo število 2 ali 3 in c pomeni celo število 0 ali 1,

n pomeni celo število 5 - 10000,

L pomeni vezno skupino z naslednjo formulo



kjer R^1 in R^2 neodvisno pomenita atom vodika, C_{1-6} alkil, aril ali C_{1-3} alkilaril,

m pomeni celo število 0 ali 2 - 10000,

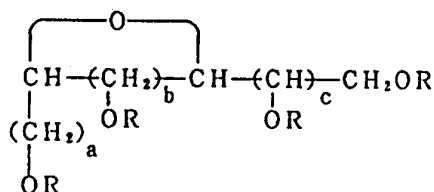
X pomeni enojno vez ali $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, in

kadar je X enojna vez, Z pomeni atom vodika, alkalijsko kovino, akrilol, metakrilol, cinamol, p-toluensulfonil, alil, karboksimetil, karboksietil, etoksikarbonilmetil, etoksikarboniletil, 2-aminoetil, 3-aminopropil, 4-aminobutil, vinilbenzil, di- C_{1-5} alkiloksi- C_{2-3} alkil ali aldehyd- C_{2-3} alkil, kadar pa je X $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ in je m 0, Z pomeni hidroksil, merkpto, amino ali atom halogena.

Pri drugem vidiku gre pri predloženem izumu za postopek za pripravo polietilenoksidnega derivata z gornjo formulo (I), ki obsega naslednje stopnje:

Stopnja (1):

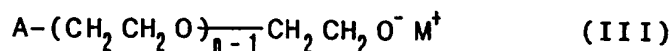
Etilenoksid polimeriziramo v prisotnosti polimerizacijskega iniciatorja z naslednjo formulo (II)



kjer skupine R neodvisno pomenijo naslednje: eden od R pomeni alkalijsko kovino (M), npr. natrij, kalij ali cesij; kar se tiče drugih R, včasih pomenijo C_{1-5} alkil, C_{1-5} alkilkarbonil ali tri- C_{1-5} alkilsilil (ti alkili so podobni ali različni) in včasih dva od teh R v kombinaciji ob tvorbi acetala skupaj z atomom kisika, na katerega so R vezani, pomenita C_{3-5} alkiliden ali benziliden, katerega metin je lahko substituiran s C_{1-3} alkilom; a pomeni celo število 0 ali 1, b pomeni celo število 2 ali 3 in c pomeni celo število 0 ali 1.

Stopnja (2):

Po potrebi oligomer ali polimer, dobljen v gornji stopnji (1), z naslednjo formulo (III)

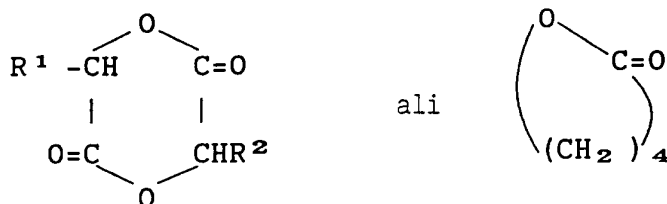


kjer sta A in n, kot je definirano v formuli (I), bodisi

(i) hidroliziramo

ali

(ii) pustimo reagirati z



kjer sta R^1 in R^2 , kot je definirano v formuli (I),

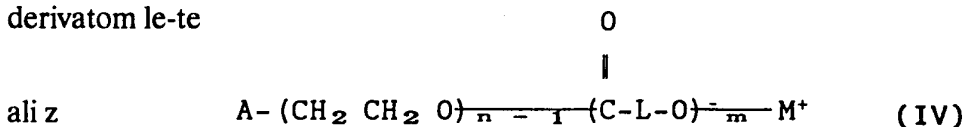
tako da lahko dobimo oligomer ali polimer z naslednjo formulo (IV)

kjer so A, L, m in n, kot je definirano v formuli (I).

Stopnja (3):

Po potrebi pustimo oligomer ali polimer, dobljen v stopnji (1) ali stopnji (2), reagirati bodisi z

(i) akrilno kislino, metakrilno kislino, p-toluensulfonsko kislino ali reaktivnim derivatom le-te



(ii) halidom z naslednjo formulo (V)

halo-E (V)

kjer halo pomeni klor, brom ali jod, E pomeni alil, karboksimetil, etoksikarbonil-

metil, etoksikarboniletil, vinilbenzil, N-ftalimid etil, N-ftalimid propil ali N-ftalimid butil.

Stopnja (4):

Po potrebi skupine R sladkornega ostanka A odstranimo razen zgoraj omenjene vezi.

Na gornji način s predloženim izumom dobimo nov heteroteleheličen polietilenoksidni ali polietilenoksid-poliestrski derivat s formulo (I), ki je monodisperzibilen ali monomodalen polimer ali oligomer kakršnekoli polimerizacijske stopnje glede na smoter in pri izumu gre tudi za postopek za učinkovito pripravo tega polimera ali oligomera.

Derivat s formulo (I) lahko uporabimo kot nosilec za podporo ali oddajanje različnih vrst zdravil. Kadar je primeren protein, npr. protitelesa ipd., vezan preko funkcionalne skupine derivata, pričakujemo, da je ta derivat koristen kot nosilec s ciljnim lastnostmi za zdravilo ali diagnostično sredstvo. Zlasti je koristen derivat, kjer m v formuli (I) pomeni celo število 2 - 10000, kot nosilec za podpiranje zdravil, ker tak derivat tvori stabilen visoki molekularni micel v vodnem topilu.

Kratka razlaga slik

Sl. 1 kaže gelni permeacijski kromatogram heteroteleheličnega polietilenoksida (t.j. vzorec primera 1, omenjen kasneje), ki ima kvantitativno 1,2; 5,6-di-O-izopropiliden-D-glukofuranozni ostanek na α -terminalu in hidroksi skupino pri ω -terminalu (stanje: kolona: TSK-gel (G4000 H x L, G3000 H x L, G2500 H x L); eluent: THF (ki vsebuje 2% trietilamina); pretočna hitrost: 1 ml/min).

Sl. 2 kaže protonske nuklearne magnetne resonančne spektre heteroteleheličnega polietilenoksida (t.j. vzorec primera 1, omenjen kasneje), ki ima kvantitativno 1,2; 5,6-di-O-izopropiliden-D-glukofuranozni ostanek pri α -terminalu in hidroksi skupino pri ω -terminalu.

Sl. 3 kaže gelni permeacijski kromatogram heteroteleheličnega polietilenoksida (vzorec primera 2, omenjen kasneje), ki ima kvantitativno 3,5-O-benziliden-1,2-O-izopropiliden-D-glukofuranozni ostanek pri α -terminalu in hidroksi skupino pri

ω -terminalu (operacijsko stanje je enako kot na sl. 1).

Sl. 4 kaže protonske nuklearne magnetne resonančne spektre heteroteleheličnega polietilenoksida (vzorec primera 2, omenjen kasneje), ki ima kvantitativno 3,5-O-benziliden-1,2-O-izopropiliden-D-glukofuranozni ostanek pri α -terminalu in hidroksi skupino pri ω -terminalu.

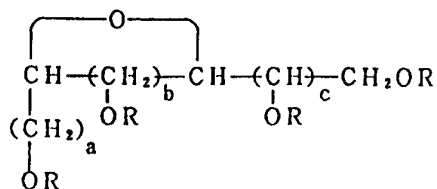
Sl. 5 kaže gelni permeacijski kromatogram heteroteleheličnega polietilenoksida (vzorec primera 3, omenjen kasneje), ki ima kvantitativno 1,2;3,4-di-O-izopropiliden-D-galaktopiranozni ostanek pri α -terminalu in hidroksi skupino pri ω -terminalu (operacijsko stanje je enako kot na sl. 1, razen da kot eluent uporabimo THF).

Sl. 6 kaže protonske nuklearne magnetne resonančne spektre heteroteleheličnega polietilenoksida (vzorec primera 3, omenjen kasneje), ki ima kvantitativno 1,2;3,4-di-O-izopropiliden-D-galaktopiranozni ostanek pri α -terminalu in hidroksi skupino pri ω -terminalu.

Sl. 7 kaže protonske nuklearne magnetne resonančne spektre glukoze (vzorec primera 4, omenjen kasneje), ki ima kvantitativno polietilenoksidno verigo pri hidroksilni skupini v legi 6.

Podroben opis izuma

Skupino A v polietilenoksidnem derivatu s formulo (I) v smislu predloženega izuma bodisi lahko pripravimo iz naravnega produkta ali derivata naravnega produkta ali kemično sintetično, kadar je ostanek monosaharida s formulo

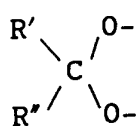


kjer so R, a, b in c, kot je definirano zgoraj.

Primeri sladkorjev iz naravnih produktov, iz katerih lahko ugodno izvedemo sladkorni ostanek, vključujejo neomejevalno naslednje: glukozo, galaktozo, manozo, fruktozo, ribozo, arabinozo, ksilozo, liksozo, alozo, altrozo, gulozo, idozo in talozo. Kar je najbolj prednostno med temi, variira glede na predmet uporabe polietilenoksidnega derivata v smislu predloženega izuma in zato ne more biti omejeno. S stališča dostopnosti surovine pa so na splošno prednostne glukoza, galaktoza, manosa, fruktoza, riboza in ksiloza. S takega stališča sta posebno prednostni glukoza in galaktoza.

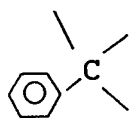
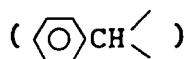
Skupine R v gornjem sladkornem ostanku, ki so namenjene za zaščito vseh hidrosilnih skupin sladkornega ostanka, ki podvržejo derivat s formulo (I) nadaljnjim reakcijam, so bodisi take skupine, ki so sposobne selektivne deprotekcije, kadar je to potrebno, ali atomi vodika, razen en sam R, ki je povezava kovalentne vezi tega sladkornega ostanka z α -terminalno metilensko skupino polietilenoksidnega segmenta derivata s formulo (I) preko atoma kisika, na katerega je ta R vezan. Konkretni primeri takih zaščitnih skupin so C_{1-5} alkilne, C_{1-5} alkilkarbonilne in tri- C_{1-5} alkilsililne skupine. Alkilni del teh skupin je lahko raven ali razvejen alkil, npr. metil, etil, propil, izo-propil, butil, sek.butil, terc.butil, pentil in izopentil. Kar se tiče tri- C_{1-5} alkilsilila, so trialkilni deli v njem lahko podobni ali različni. Prednostni primeri te skupine so trimetilsilil, trietilsilil in tripropilsilil, kjer so alkilni deli v njem podobni drug drugemu.

V drugem primeru pomenita dva od teh R v kombinaciji ob tvorbi acetala



skupaj z atomom kisika, na katerega sta R vezana, C_{3-5} alkiliden, kot izopropiliden, 1-butiliden, 2-butiliden ali 3-pentiliden in benziliden, katerega metin je lahko sub-

stituiran s C_{1-3} alkilom, kot je benziliden in metilbenziliden (CH_3).



Kadar dva R tvorita te acetale, lahko te skupine R z lahkoto selektivno odstranimo in

lahko s pridom pripravimo sladkorni ostanek, kjer R pomeni atom vodika. (S hidrok-silne skupine odstranimo zaščito).

Oznake a, b in c v gornji formuli pomenijo cela števila, ki variirajo glede na vrsto sladkorja, izbranega kot izhodni material. Oznaka a je 0 ali 1, b je 2 ali 3 in c je 0 ali 1. Kadar kot izhodno snov npr. uporabimo glukozo, je a 0, b je 3 in c je 0 v primeru D-glukopiranoze v obliki intramolekularnega hemiacetala, v primeru D-glukofuranoze je a 0, b je 2 in c je 1. Obe od teh oblik sta zato vključeni v gornji sladkorni ostanek.

Kadar po drugi strani uporabimo kot izhodni material galaktozo, je a 0, b je 3 in c je 0.

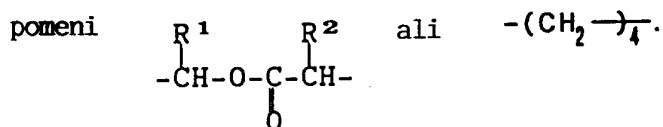
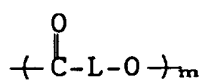
Oznaka n v segmentu $\text{-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_n\text{-}$ izvedena iz etilenoksida v formuli (I), je lahko teoretično katerokoli število, če razmerje količine etilenoksida (monomer) proti polimerizacijskemu iniciatorju naravnamo pri postopku priprave v smislu predloženega izuma s pomočjo žive polimerizacije. Da bi dosegli smoter predloženega izuma, je n prednostno celo število 5 - 10000.

Kadar je n manj kot 5, je na splošno težko držati ozko porazdelitev molekulske mase oligomera (ali polimera) s takim številom n in tako utegne biti težko pripraviti monodisperzibilen ali monomodalni oligomer (ali polimer).

Po drugi strani je n celo število največ 10000. Kot je navedeno zgoraj, lahko s postopkom priprave v smislu predloženega izuma teoretično zagotovimo polimer z višjo polimerizacijsko stopnjo. Kadar je treba uporabiti polietilenoksidni derivat v smislu predloženega izuma kot prekursor za nosilec za podporo zdravilom ipd., pa je n prednostno ne več kot 10000.

Sicer pa je treba razumeti, da izumitelji pričakujejo uporabo derivata v smislu predloženega izuma kot intermediata, iz katerega se nadalje raztezajo oksietilenski ali estrski segmenti. Bolj konkretno pa je n v derivatu s formulo (I) v smislu predloženega izuma prednostno celo število 10 do 200, bolj prednostno 20 do 50.

Oznaka L v segmentu (imenovanem tudi poliestrski segment), izvedenem iz laktida ali laktona s formulo (I)

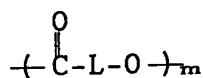


Gornja R^1 in R^2 neodvisno pomenita atom vodika, C_{1-6} alkil, aril ali $\text{C}_{1,3}$ alkilaril.

Primeri C_{1-6} alkila so ravna ali razvejena nižja alkilna skupina, kot metil, etil, propil, izo-propil, butil, sek.butil, terc.butil, pentil, izopentil in heksil. Prednosten primer arila je fenil, primeri $\text{C}_{1,3}$ alkilarila pa so benzil, etilbenzen ipd.

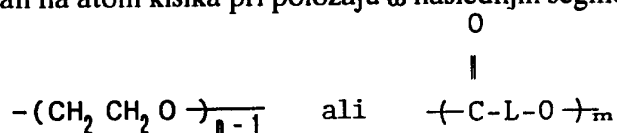
Te segmente običajno izvedemo iz laktida α -hidroksi karboksilne kisline. Ob upoštevanju biorazpoložljivosti jih prednostno izvedemo iz glikolne kisline, mlečne kisline, 2-hidroksizomaslene kisline ali takega laktida, ki obsega dve od teh kombinacij. Z drugimi besedami je prednostno, da R^1 in R^2 neodvisno pomenita atom vodika, metilno ali izopropilno skupino.

Segment



je fakultativen. Oznaka m lahko pomeni 0 (ta segment je odsoten) ali celo število 2 - 10000 in lahko tvori blok polimer. Kadar se tvori blok polimer, ta segment na splošno zagotavlja polietilenoksidni derivat v smislu predloženega izuma s hidrofobnim delom. Prednostna velikost m je zato odvisna od predmeta uporabe derivata (blok polimera) v smislu predloženega izuma ali od lastnosti skupin R^1 in R^2 . Na splošno pa je m prednostno 5 - 200, bolj prednostno 10 do 100.

Oznaka X v $-\text{X}-\text{Z}$ v formuli (I) je bodisi enojna vez v primeru, kadar je Z direktno kovalentno vezan na atom kisika pri položaju ω naslednjih segmentov





ali etilena ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$). Zato lahko, kadar je m 0, to etilensko skupino izvedemo iz $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, ki se tvori na račun adicije etilenoksida.

Kadar je X enojna vez, je lahko Z atom vodika ali alkalijska kovina. V tem primeru

zagotovimo spojino v smislu predloženega izuma kot reakcijski produkt ali njegov hidrolizat iz žive polimerizacije, kjer se uporablja anion sladkornega ostanka A kot polimerizacijski iniciator, etilenoksid kot monomer in glede na okoliščine laktid ali lakton. Tipični primeri alkalijske kovine so zato natrij, kalij in cesij.

Kadar je Z različen od alkalijske kovine in atoma vodika, zagotavlja polietilenoksidni derivat v smislu predloženega izuma različno vrsto etra in etra z različno funkcionalno skupino, ki se tvori preko ω -terminalne hidroksilne skupine. Z je lahko zato skupina, ki je sposobna tvorbe etra, kot akrilolil

($-\text{COCH}=\text{CH}_2$), metakrilolil ($-\text{COC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), cinamolil
($-\text{COCH}=\text{CH}$ ) in p-toluensulfonil ($-\text{SO}_2$ ).

Po drugi strani so primeri takih Z, ki lahko tvorijo eter,


alil ($-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), karboksimetil

($-\text{CH}_2\text{COOH}$), karboksietil ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), etoksikarbonil

metil ($-\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$), etoksikarboniletil

($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$), 2-aminoetil ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 3-amino-

propil ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 4-aminobutil ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{NH}_2$)

in vinilbenzil ($-\text{CH}_2$  $-\text{CH}=\text{CH}_2$), in

di- C_{1-5} alkiloksi - C_{2-3} -alkil, kot 2,2-dimetiloksietil

($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$), 2,2-dietoksietil ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$) in

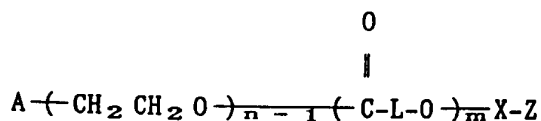
3,3-dimetoksipropil ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$), in



aldehid — C_{2-3} alkil ($-(\text{CH}_2)_{1-2}\text{CHO}$)

Nadalje, kadar Z pomeni $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ in m pomeni 0 (ničla), je lahko Z hidroksil, merkaptio ($-\text{SH}$), amino ($-\text{NH}_2$) in halogen, kot klor, brom in jod. Derivat s formulo (I) s temi substituenti lahko dobimo iz ω -terminalne p-toluensulfonirane spojine z znano reakcijo.

Naslednja tabela 1 prikazuje konkretne primere polietilenoksidnih derivatov (spojin) v smislu predloženega izuma, ki so sestavljeni iz zgoraj omenjenih substituentov.

Tabela 1



Spojina št.	A	Mesto sladkorne vezave	n-1	$\overset{O}{\parallel}{C}-L-O$	m	X	Z
1	Glu(p)*1)	3-0	20~50	-	0	-	H
2	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	K
3	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	COC(CH ₂)=CH ₂
4	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	COCH=CH ₂
5	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	SO ₂  -CH ₃
6	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂ -CH=CH ₂
7	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂ COOC ₂ H ₅
8	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂ CH ₂ COOC ₂ H ₅
9	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂ CH ₂ NH ₂
10	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂  -CH=CH ₂
11	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂ CHO
12	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂ CH ₂ CHO
13	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-CH ₂ CH ₂ -	Cl
14	Glu(p)	3-0	20~50	-	0	-CH ₂ CH ₂ -	SH
15~22	Deprotektirane*2) spojine, ki ustrezajo spojinam št. 1, 3, 4, 6, 9, 10, 13 in 14						
23	Glu (depro- tektirana)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂ COOH
24	Glu (depro- tektirana)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂ CH ₂ COOH
25	Glu (depro- tektirana)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂ CHO
26	Glu (depro- tektirana)	3-0	20~50	-	0	-	CH ₂ CH ₂ CHO
27~52	Spojine, ki ustrezajo spojinam št. 1~26, kjer je mesto sladkorne vezave 6-0						
53~66	Spojine, ki ustrezajo spojinam št. 1~14, kjer je Glu(p) Gal(p) in je mesto sladkorne vezave 6-0						

- 67~74 Spojine, ki ustrezajo spojinam št. 1, 3, 4, 6, 9, 10, 13 in 14, kjer je Glu(p) Gal(deprotektirana) in je mesto sladkorne vezave 6-0
- 75~78 Spojine, ki ustrezajo spojinam št. 23~26, kjer je Glu(deprotektirana) Gal(deprotektirana) in je mesto sladkorne vezave 6-0
- 79~92 Spojine, ki ustrezajo spojinam št. 1~14, kjer je Glu(P) Man(P)^{*4)} in je mesto sladkorne vezave 4-0
- 93~100 Spojine, ki ustrezajo spojinam št. 1, 3, 4, 6, 9, 10, 13 in 14, kjer je Glu(p) Man(deprotektirana) in je mesto sladkorne vezave 4-0
- 101~104 Spojine, ki ustrezajo spojinam št. 23~26, kjer je Glu(deprotektirana) Man(deprotektirana) in je mesto sladkorne vezave 4-0
- | | | | | | | | |
|---------|--------|-----|-------|--|--------|---|---|
| 105 | Glu(p) | 3-0 | 20~50 | $\begin{array}{c} \text{O} \qquad \qquad \text{O} \\ \parallel \qquad \qquad \parallel \\ -\text{C}-\text{CH}-\text{O}-\text{C}-\text{CH}-\text{O}- \\ \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \text{CH}_3 \end{array}$ | 20~100 | - | H |
| 106 | Glu(p) | 3-0 | 20~50 | $\begin{array}{c} \text{O} \qquad \qquad \text{O} \\ \parallel \qquad \qquad \parallel \\ -\text{C}-\text{CH}-\text{O}-\text{C}-\text{CH}-\text{O}- \\ \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \text{CH}_3 \end{array}$ | 20~100 | - | K |
| 107 | Glu(p) | 3-0 | 20~50 | $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}- \end{array}$ | 20~100 | - | H |
| 108 | Glu(p) | 3-0 | 20~50 | $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}- \end{array}$ | 20~100 | - | K |
| 109~118 | Gal(p) | 6-0 | 20~50 | $\begin{array}{c} \text{O} \qquad \qquad \text{O} \\ \parallel \qquad \qquad \parallel \\ -\text{C}-\text{CH}-\text{O}-\text{C}-\text{CH}-\text{O}- \\ \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \text{CH}_3 \end{array}$ | 20~100 | - | skupine, ki ustrezajo spojinam št. 3 ~ 12 |
- 119~128 Spojine, ki ustrezajo Gal (deprotektirana) spojin št. 109~118
- 129~132 Spojine, ki ustrezajo spojinam št. 105~108, kjer je mesto sladkorne vezave 6-0
-

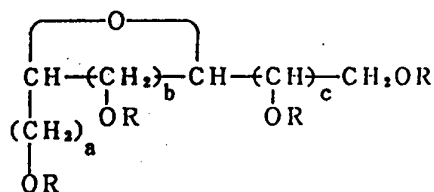
Opomba

- *1) Glu(P) pomeni, da so hidroksilne skupine, različne od tistih pri legi 3 glukoze, zaščitene z izopropilidensko skupino.
- *2) "deprotektiran" pomeni, da eliminiramo izopropilidensko skupino ali benzilidensko skupino, da nastane hidroksilna skupina.
- *3) Gal(P) pomeni, da so hidroksilne skupine, različne od tistih pri lega 6 galaktoze, zaščitene z 1,2-di-izopropilidensko skupino.
- *4) Man(P) pomeni, da so hidroksilne skupine, različne od tistih pri legi 4 manoze, zaščitene z izopropilidensko skupino.

Polietilenoksidne derivate v smislu predloženega izuma lahko učinkovito pripravimo po postopku v smislu predloženega izuma, ki obsega naslednje stopnje:

Stopnja (1):

Alkalijski (npr. natrijev, kalijev ali cezijev) glikozid s formulo (II)



kjer so R, a, b in c, kot je definirano zgoraj,

podvržemo živi polimerizaciji z etilenoksidom kot reakcijskim iniciatorjem.

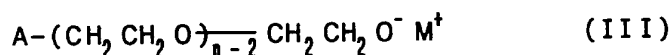
Alkalijski glikozid s formulo (II) lahko pripravimo za zaščito hidroksilnih skupin monosaharida razen ene hidroksilne skupine in nato z metaliziranjem monosaharida. To metalizacijo lahko dosežemo z uporabo alkalijske kovine, kot natrija in kalija, organske kovine, kot natrijevega naftalena, kalijevega naftalena, kumilkalija, kumilcezija, in kovinskega hidroksida, kot natrijevega hidroksida in kalijevega hidroksida, kot metalizatorja.

Tako dobljeno spojino s formulo (II) lahko prednostno spravimo v reakcijo z

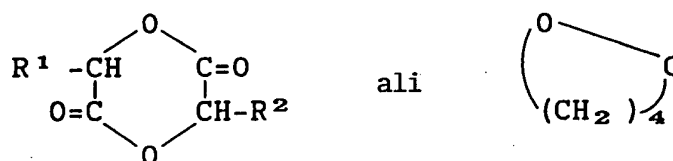
etilenoksidom bodisi v odsotnosti topila ali v brezvodnem aprotičnem topilu v širokem območju temperature od -50°C do 300°C , prednostno 10°C do 60°C , s pridom pri sobni temperaturi (20°C do 30°C). Reakcijo lahko izvajamo bodisi pod tlakom ali pod zmanjšanim tlakom. Uporabna topila, čeprav niso omejena, so benzen, toluen, ksilen, tetrahidrofuran in acetonitril. Uporabni reaktorji, čeprav niso posebej omejeni, so buča z okroglim dnom, avtoklav in tlačno odporna zataljena cev. Reaktor je prednostno zračno tesen in je bolj prednostno napolnjen z inertnim plinom. Reakcijska raztopina ima koncentracijo 0,1 do 95 mas.%, prednostno 1 do 80 mas.%, najbolj prednostno 3 do 10 mas.%. Tako dobljen polimer s formulo (III) je sam vključen v derivate s formulo (I) v smislu predloženega izuma. Nadalje lahko, kadar polimer hidroliziramo ali kadar zaščitno skupino hidroksila odstranimo iz sladkornega ostanka, dobimo derivat v smislu predloženega izuma, kjer m pomeni 0 in -X-Z pomeni atom vodika v formuli (I).

Stopnja (2)

Oligomer ali polimer s formulo (III)



kjer sta A in n, kot je definirano zgoraj, in M pomeni natrij, kalij ali cezij, pustimo reagirati s cikličnim monomerom z naslednjo formulo



kjer sta R^1 in R^2 , kot je definirano zgoraj.

Čeprav reakcijska temperatura ni omejena, lahko to stopnjo izvedemo pri sobni temperaturi kot v stopnji (1). Nadalje lahko to stopnjo izvedemo z dodatkom cikličnega monomera k reakcijski zmesi stopnje (1).

Količino monomera, uporabljenega v stopnjah (1) in (2), lahko naravnamo glede na polimerizacijsko stopnjo, ki je prikazana s številom, označenim z n in m v želeni formuli (I). V stopnji (1) je npr. razmerje spojine s formulo (II) proti uporabljenemu

etilenoksidu v molskem razmerju 1:1 do 1:10000, prednostno 1:5 do 1:10000, najbolj prednostno 1:20-200 do 1:50-200.

Stopnja (3):

Blok oligomer ali polimer s formulo (IV), dobljen v stopnji (2), je sam vključen v derivate s formulo (I) v smislu predloženega izuma. Nadalje lahko, kadar ta oligomer ali polimer hidroliziramo ali v primeru, kadar odstranimo zaščitne skupine hidroksilnih skupin v sladkornem ostanku, dobimo derivate v smislu predloženega izuma, kjer m v formuli (I) pomeni celo število 2 - 10000 in $-X-Z$ pomeni atom vodika.

V stopnji (3) hidroliziramo alkalijski alkoksid z gornjo formulo (III) ali (IV), da postane ω -terminalno hidroksilno telo, ki ga (i) spravimo v reakcijo z akrilno kislino, metakrilno kislino ali p-toluensulfonsko kislino v inertnem organskem topilu, da dobimo ω -terminalno zaestreno spojino, ali (ii) pustimo reagirati s halidom s formulo (V)

halo-E (V)

kjer sta halo in E, kot je definirano zgoraj, da dobimo ω -terminalno zaestreno spojino.

Te reakcije lahko izvedemo po znanem esterifikacijskem ali eterifikacijskem postopku. Konkretni postopki so prikazani v primerih, ki so omenjeni kasneje. Kar se tiče organske kisline v gornjem (i), s pridom uporabimo reaktivni derivat kislinskega anhidrida ali kislinskega halida.

Npr. v primeru uvedbe merkaptogrupine na ω -terminal po tozilaciji ω -terminala hidrolizata s formulo (III) ali (IV) s p-toluensulfonilkloridom uvedemo tioestrsko skupino na ω -terminal z reakcijo z elektrofilnim sredstvom, kot natrijevim tioacetatom, kalijevim tioacetatom ali kalijevim hidrosulfidom; nato izvedemo hidrolizo ω -terminalnega tioestra istočasno kot deprotekcijo sladkornega ostanka z obdelavo z alkalijo ali kislino in dobimo spojino s formulo (I). Druga metoda za pripravo spojine s formulo (I) je tudi pripajalna reakcija hidrolizata s formulo (III) ali (IV) z estrom p-toluensulfonske kisline z vezjo S-S, kot ditiodietanol ditozilat, nato reakcija redukcije, da dobimo merkaptoterminalno skupino, čemur sledi deprotekcija sladkornega ostanka z obdelavo s kislino ali z alkalijo.

Npr. v primeru uvedbe amino skupine na ω -terminal presnovimo hidrolizat s formulo (III) ali (IV) z elektrofilnim sredstvom, N-(2-bromoetil)ftalimidom, N-(3-bromopropil)ftalimidom, 1-bromo-2-(benzenamid)etanom, N-(2-bromoetil)benzil karbamatom; nato izvedemo hidrolizo ω -terminalne imidne vezi istočasno kot deprotekcijo sladkorne skupine z obdelavo z alkalijo ali kislino in dobimo spojino s formulo (I).

Npr. v primeru uvedbe aldehydne skupine na ω -terminal presnovimo halogeniran alkil, ki ima acetalno skupino, kot 2,2-dimetoksietilklorid, 2,2-dietoksietilklorid, 2,2-dimetoksietilbromid, 2,2-dietoksietilbromid ali 3,3-dimetoksipropilklorid; nato izvedemo hidrolizo ω -terminalnega acetala istočasno kot deprotekcijo sladkornega ostanka z obdelavo z alkalijo ali kislino in dobimo spojino s formulo (I).

Stopnja 4:

Kadar odstranimo zaščitne skupine sladkornega ostanka, če je potrebno, zagotovi oligomer ali polimer, dobljen v gornjem, derivate s formulo (I) v smislu predloženega izuma, kjer odstranimo zaščitne skupine R (različne od vezi) sladkornega ostanka (kot rezultat R pomeni atom vodika). Dve od zaščitnih skupin R skupaj prednostno tvorita acetal, tako da zaščitne skupine R selektivno odstranimo. Kar se tiče reakcije odstranitve, je ugodna kislinska hidroliza z uporabo trifluoroocetne kisline.

Reagent, uporabljen med hidrolizo R sladkornega ostanka in zaščitnih skupin (kadar ima skupina A zaščitne skupine) drugih delov, je lahko kislina, kot klorovodikova kislina, žveplova kislina, dušikova kislina, mravljinčna kislina in fluorovodik kot tudi gornja trifluoroocetna kislina, ali alkalija, kot natrijev hidroksid in kalijev hidroksid. Lahko uporabimo tudi reducirno sredstvo, kot litijev aluminijev hidrid.

V postopku za hidrolizo polimer, dobljen kot zgoraj, raztopimo v 0,01N - 10N, prednostno 0,1N - 5N kislini ali alkaliji. Reakcijska temperatura je 0-100°C, prednostno 10-80°C, in najbolj prednostno 20-40°C; reakcijski čas je 1 minuto do 200 ur, prednostno 30 minut do 100 ur in najbolj prednostno 1 do 2 uri.

S hidrolizo na ta način lahko selektivno dobimo polietilenoksidni derivat s formulo (I), ki ima kvantitativno sladkorno skupino na enem koncu in funkcionalno skupino, različno od sladkorja, na drugem koncu.

Po koncu reakcije lahko polietilenoksidni derivat, ki je predmet izuma, izoliramo kot oborino s tem, da damo reakcijsko raztopino v raztopino, v kateri polietilenoksid ni topen, kot je dietileter, izopropil alkohol ali heksan. Lahko ga tudi izoliramo in rafiniramo ob uporabi metod, kot so dializa, ultrafiltriranje, adsorbentska obdelava in metoda s kolonskimi kromatogrami.

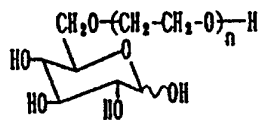
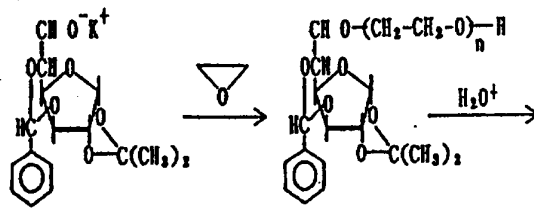
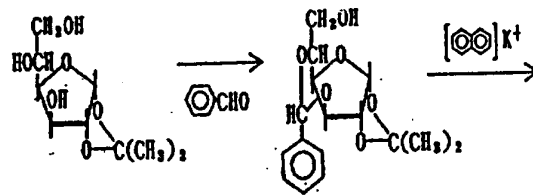
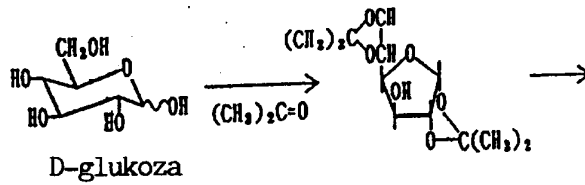
Na ta način pri predloženem izumu dobimo monomodalne derivate s formulo (I), ki imajo ozko porazdelitev molekulske mase in želeno molekulsko maso. Ti derivati so novi heterotelehelični oligomeri ali polimeri, za katere pričakujemo, da imajo izvrstno biorazpoložljivost.

V nadaljevanju podajamo konkretne primere v smislu predloženega izuma. Ni pa mišljeno, da bi ti primeri omejevali izum.

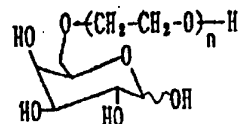
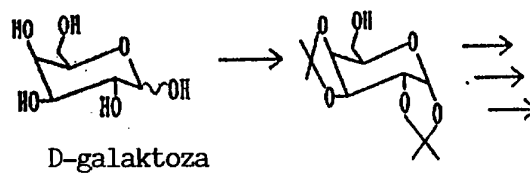
Tipična reakcijska shema:

Za lažje razumevanje predloženega izuma kažejo naslednje sheme reakcijski sistem za sintezo hetero bivalentnega poli(etilenglikola) z zmanjšano ogljikovodično skupino na enem koncu, kar je način predloženega izuma.

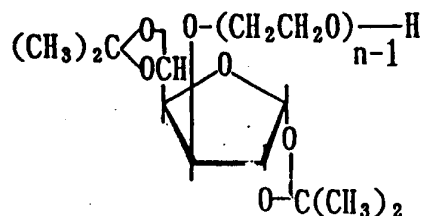
(Izhodni material: glukoza)



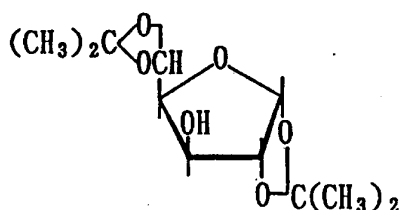
(Izhodni material: galaktoza)



Primer 1: Priprava 1, 2; 5, 6-di-O-izopropiliden-D-glukofuranoza-3-O-polietilenoksida



(1) Po raztopitvi D-glukoze (100 g) v acetonu (660 ml) dodamo cinkov klorid (80 g) in 85% vodno raztopino fosforjeve kisline (2,7 ml) in presnavljamo 32 ur pri sobni temperaturi. Po odfiltriranju nezreagirane D-glukoze filtrirano raztopino nevtraliziramo z 2,5 N vodno raztopino natrijevega hidroksida. Sol odfiltriramo in strdimo v vakuumu. Ostanek raztopimo v vodi (100 ml), produkt eluiramo s kloroformom (100 ml x 3) in po dehidraciji vakuumsko strdimo in dobimo rumeno trdno snov. To prekrizaliziramo z ligroinom in dobimo 1, 2; 5, 6-di-O-izopropiliden-D-glukofuranozo (DIG) z naslednjo formulo, dobitok je 63,6 g (43,6%).

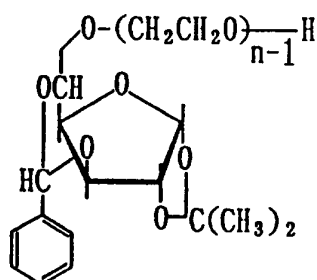


(2) DIG (260 mg), THF (20 ml) in raztopino (2 ml) kalijevega naftalena (0,5 mol)/L-tetrahidrofurana dodamo v reakcijsko posodo, mešamo 3 minute v atmosferi argona in dobimo 3-O-kalijevo 1, 2; 5, 6-di-O-izopropiliden-D-glukofuranozo. K tej raztopini dodamo etilen oksid (5,7 g) in mešamo pri sobni temperaturi pod 1 bar. Po 2-urni reakciji dodamo majhno količino vode in reakcijo ustavimo; nato reakcijsko raztopino zlijemo v eter in dobljeni polimer oborimo. Dobljeno oborino rafiniramo z liofiliziranjem iz benzena. Dobitek je 5,6 g (94%). Polimer, dobljen z gelno permeacijsko kromatografijo, je monomodalen, molekulska masa polimera je 2500 (sl. 1).

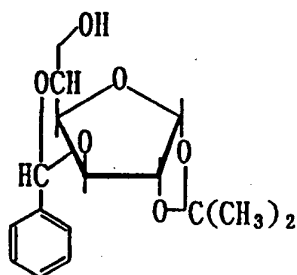
V skladu s protonskimi nuklearnimi magnetnimi resonančnimi spektri v kloroform devteridu dobljenega polimera potrdimo, da je polimer heteroteleheličen oligomer,

ki ima kvantitativno 1, 2; 5, 6-di-O-izopropiliden-D-glukofuranozno skupino na α -terminalu in hidroksilno skupino na ω -terminalu ter ima polietilenoksid (PEO) (sl. 2). Številčno povprečna molekulska masa polimera, določena z integralnim razmerjem spektrov, je 2400.

Primer 2: Priprava 3, 5-O-benziliden-1, 2-O-izopropiliden-D-glukofuranoza-6-O-polietilenoksida



(1) DIG (10 g) raztopimo v metanolu (40 ml), dodamo 0,8%-no vodno raztopino žveplove kisline (50 ml) in to pustimo stati 23 ur pri sobni temperaturi; nato dodamo barijev karbonat in to nevtraliziramo, po vrenju 10 minut pa odfiltriramo sol. Benzaldehid (18 ml) in cinkov klorid (6,0 g) dodamo k dobljeni beli trdni snovi (7,5 g) po destiliranju topila in to močno mešamo 6 ur pri sobni temperaturi. Dobljen vzorec prekrizaliziramo iz benzena in dobimo 3, 5-O-benziliden-D-glukofuranozo (BIG) z naslednjo formulo. Dobitek je 1,8 g (17,5%).

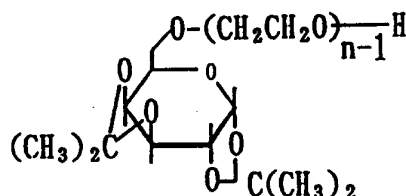


(2) BIG (308 mg), THF (20 ml) in raztopino (2 ml) kalijevega naftalena (0,5 mol/L-tetrahydrofurana dodamo v reakcijsko posodo in mešamo 3 minute v atmosferi argona; dobimo 6-O-kalijevo 3, 5-O-benziliden-1, 2-O-izopropiliden-D-glukofuranozo. Tej raztopini dodamo etilen oksid (5,3 g) in mešamo pri sobni temperaturi in 1 bar. Po reakciji 2 dni dodamo majhno količino vode in reakcijo ustavimo; nato reakcijsko

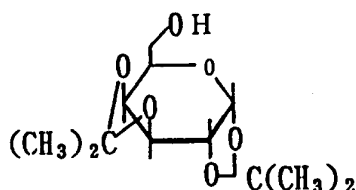
raztopino zlijemo v eter in nastali polimer oborimo. Dobljeno oborino rafiniramo z liofiliziranjem iz benzena. Dobitek je 3,5 g (63%). Polimer, dobljen z gelno permeacijsko kromatografijo, je monomodalen, številčno povprečna molekulska masa polimera je 1800 (sl. 5).

V skladu s protonskimi nuklearnimi magnetnimi resonančnimi spektri v kloroform devteridu dobljenega polimera potrdimo, da je ta polimer heteroteleheličen oligomer, ki ima kvantitativno 3, 5-O-benzililiden-1, 2-O-izopropiliden-D-glukofuranozno skupino na α -terminalu in hidroksilno skupino na ω -terminalu ter ima polietilenoksid (PEO) (sl. 4). Številčno povprečna molekulska masa blok polimera, določena z integralnim razmerjem spektrov, je 2000.

Primer 3: Priprava 1, 2; 3, 4-di-O-izopropiliden-D-galaktopiranoza-6-O-polietilenoksida



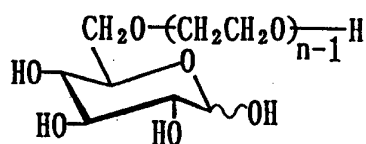
(1) Galaktozo (50 g) raztopimo v acetonu (1 l); dodamo brezvodni bakrov sulfat (100 g) in koncentrirano žveplovo kislino (5 ml) ter to mešamo ter presnavljamo 24 ur pri sobni temperaturi. Po končani reakciji nezreagirani material odfiltriramo in filtrirano raztopino nevtraliziramo z vodno raztopino kalcijevega hidroksida. Nepotrebno sol odfiltriramo, nato topilo odstranimo v vakuumu in vakuumsko destiliramo; dobimo 1, 2; 3, 4-di-O-izopropiliden-D-galaktopiranozo z naslednjo formulo. Dobitek je 35 g (48%).



Gornjo spojino (180 mg), THF (15 ml) in raztopino (2 ml) kalijevega naftalena (0,5 mol/L-tetrahidrofurana dodamo v reakcijsko posodo in mešamo 3 minute v atmosferi argona; dobimo 6-O-kalijevo 1, 2; 3, 4-di-O-izopropiliden-D-galaktopiranozo. Etilenoksid (4,4 g) dodamo k tej raztopini in mešamo pri sobni temperaturi in 1 bar. Po reakciji 2 dni dodamo majhno količino vode in reakcijo ustavimo; nato reakcijsko raztopino zlijemo v eter in nastali polimer oborimo. Dobljeno oborino rafiniramo z liofiliziranjem iz benzena. Dobitek je 1,7 g (38%). Polimer, dobljen z gelno permeacijsko kromatografijo, je monomodalen, številčno povprečna molekulska masa polimera je 3500 (sl. 5).

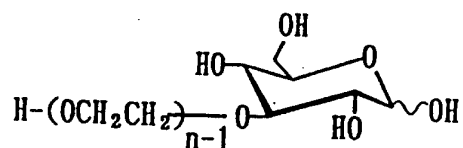
V skladu s protonskimi nuklearnimi magnetnimi resonančnimi spektri v kloroform devteridu dobljenega polimera potrdimo, da je ta polimer heteroteleheličen oligomer, ki ima kvantitativno 1, 2; 3, 4-di-O-izopropiliden-D-galaktopiranozno skupino na α -terminalu in hidroksilno skupino na ω -terminalu ter ima polietilenoksid (PEO) (sl. 6). Številčno povprečna molekulska masa polimera, določena z integralnim razmerjem spektrov, je 3300.

Primer 4: Priprava spojine z naslednjo formulo



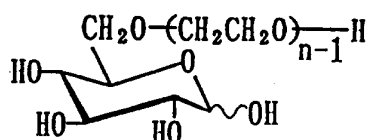
Polietilenoksidni derivat (50 mg), dobljen v primeru 2, raztopimo v 90 vol.% trifluoroacetatu in pustimo stati 40 minut pri sobni temperaturi. Po reakciji topilo vakuumsko destiliramo in rafiniramo z gelno filtracijo. Dobitek je 47 mg (94%). V skladu s protonskimi nuklearnimi magnetnimi resonančnimi spektri v kloroform devteridu dobljenega polimera potrdimo, da je ta polimer glukoza s polietilenoksidno verigo kvantitativno na hidroksilni skupini lege 6, kjer je pik benzilidena sladkorne skupine in izopropilidenske zaščitne skupine popolnoma izginil, in ki zadrži polietilenoksidno (PEO) enoto (sl. 7).

Primer 5: Priprava spojine z naslednjo formulo



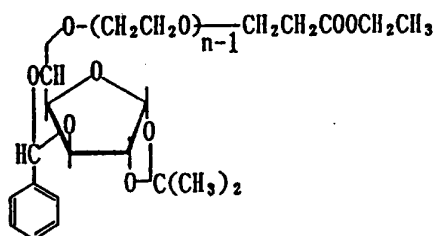
Polietilenoksidni derivat (50 mg), dobljen v primeru 1, raztopimo v 90 vol.% tri-fluoroacetatu in pustimo stati 40 minut pri sobni temperaturi. Po reakciji topilo vakuumsko destiliramo in rafiniramo z gelno filtracijo. Dobitek je 40 mg (80%). V skladu s protonskimi nuklearnimi magnetnimi resonančnimi spektri v kloroform devteridu dobljenega polimera potrdimo, da je ta polimer glukoza s polietilenoksidno verigo kvantitativno na hidroksilni skupini lege 3, kjer pik obeh izopropilidenskih zaščitnih skupin sladkorne skupine popolnoma izgine, in ki zadrži polietilenoksidno (PEO) enoto.

Primer 6: Priprava spojine z naslednjo formulo



Polietilenoksidni derivat (50 mg), dobljen v primeru 3, raztopimo v 90 vol.% tri-fluoroacetatu in pustimo stati 40 minut pri sobni temperaturi. Po reakciji topilo vakuumsko destiliramo in rafiniramo z gelno filtracijo. Dobitek je 45 mg (90%). V skladu s protonskimi nuklearnimi magnetnimi resonančnimi spektri v kloroform devteridu dobljenega polimera potrdimo, da je ta polimer glukoza s polietilenoksidno verigo kvantitativno na hidroksilni skupini lege 6, kjer pik izopropilidenske zaščitne skupine in benzilidenske skupine sladkorne skupine popolnoma izgine, in ki zadrži polietilenoksidno (PEO) enoto.

Primer 7: Priprava spojine z naslednjo formulo

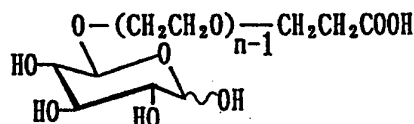


Spojino (308 mg), THF (20 ml) in raztopino (2 ml) kalijevega naftalena (0,5 mol/L-tetrahidrofurana dodamo v reakcijsko posodo in mešamo 3 minute v atmosferi argona; dobimo 6-O-kalijevo-3, 5-O-benziliden-1, 2-O-izopropiliden-D-glukopiranozo. Etilenoksid (5,3 g) dodamo k tej raztopini in mešamo pri sobni temperaturi 2 dni in

1 bar. Dimetilsulfoksidno raztopino (10 ml), ki vključuje etil 2-bromopropionatno kislino etil (0,2 g), dodamo k tej reakcijski raztopini in to kemično modificiramo v reakciji 24 ur pri sobni temperaturi. To raztopino zlijemo v eter in nastali polimer oborimo. Dobljeno oborino rafiniramo z liofiliziranjem iz benzena. Dobitek je 3,0 g (48%). Polimer, dobljen z gelno permeacijsko kromatografijo, je monomodalen, številčno povprečna molekulska masa polimera je 2000.

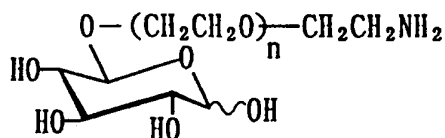
V skladu s protonskimi nuklearnimi magnetnimi resonančnimi spektri v kloroform devteridu dobljenega polimera potrdimo, da je heteroteleheličen oligomer, ki ima kvantitativno 3, 5-O-benziliden-1, 2-O-izopropiliden-D-glukofuranozno skupino na sladkornem ostanku in 3-etoksioksopropilno skupino na ω -terminalu, in kjer se pokaže nov pik na osnovi uvedenega etilester propionata (1,2, 2,3 ppm) poleg pika (3,6 ppm (PEO): 1,2, 1,5 ppm (izopropiliden), 3,8, 4,0, 4,2, 4,4, 4,5, 4,6, 6,0 ppm (glukofuranoza) na osnovi polioksietilnske verige in 3, 5-O-benziliden-1, 2-O-izopropiliden-D-glukofuranozne skupine.

Primer 8: Priprava spojine z naslednjo formulo



Polietilenoksidni derivat (50 mg), dobljen v primeru 7, raztopimo v 90 vol.% tri-fluoroacetatu in pustimo stati 40 minut pri sobni temperaturi. Po reakciji topilo vakuumsko destiliramo in rafiniramo z gelno filtracijo. Dobitek je 43 mg (86%). V skladu s protonskimi nuklearnimi magnetnimi resonančnimi spektri v kloroform devteridu dobljenega polimera potrdimo, da je ta polimer heteroteleheličen oligomer z glukozno skupino vezano pri legi 6 na α -terminalu in 3-karboksietilno skupino na ω -terminalu, kjer pik etilestra in pik izopropilidenske zaščitne skupine in benzilidenske zaščitne skupine sladkorne skupine popolnoma izgine, in ki zadrži enoto polietilenoksida (PEO).

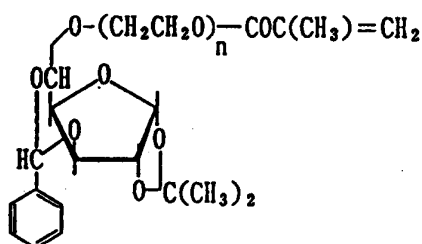
Primer 9: Priprava spojine z naslednjo formulo



(1) Spojino, dobljeno v stopnji (1) primera 2, (308 mg), THF (20 ml) in raztopino (2 ml) kalijevega naftalena (0,5 mol/L-tetrahidrofurana dodamo v reakcijsko posodo in mešamo 3 minute v atmosferi argona; dobimo 6-O-kalijevo-3, 5-O-benziliden-1, 2-O-izopropiliden-D-glukofuranozo. Etilenoksid (5,3 g) dodamo k tej raztopini ter mešamo 2 dni pri sobni temperaturi in 1 bar. Dimetilsulfoksidno raztopino (10 ml), ki vključuje N-(2-bromoetil)ftalimid (0,4 g), dodamo k tej reakcijski raztopini, presnavljamo 24 ur pri sobni temperaturi in kemično modificiramo. To raztopino zlijemo v eter in nastali polimer oborimo. Dobljeno oborino rafiniramo z liofiliziranjem iz benzena.

(2) Dobljeni polietilenoksidni derivat (50 mg), raztopimo v 90 vol.% trifluoroacetatu in pustimo stati 40 minut pri sobni temperaturi. Po reakciji topilo vakuumsko destiliramo in rafiniramo z gelno filtracijo. Dobitek je 40 mg (80%). V skladu s protonskimi nuklearnimi magnetnimi resonančnimi spektri v kloroform devteridu dobljenega polimera ta polimer zadrži polietilenoksidno (PEO) enoto, piki izopropilidenske zaščitne skupine in benzilidenske zaščitne skupine sladkorne skupine popolnoma izginejo in pokaže se nov pik na osnovi aminoetilne skupine (2,75, 3,06 ppm) in tako potrdimo, da je heteroteleheličen oligomer z glukozno skupino vezano v legi 6 na α -terminalu in 2-aminoetilno skupino na ω -terminalu.

Primer 10: Priprava spojine z naslednjo formulo



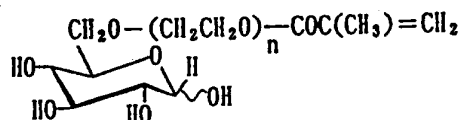
V reaktor damo 308 mg spojine, dobljene na enak način kot v stopnji (1) primera 2, 20 ml THF in 2 ml 0,5 mol/L-tetrahidrofuranske raztopine naftalen kalija in dobljeno raztopino mešamo 3 minute v atmosferi argona ter tako dobimo 6-kalijevo-3, 5-O-benziliden-1, 2-O-izopropiliden-D-glukofuranozo. K tej raztopini dodamo 5,3 g etilenoksida, ki ga nato mešamo pri sobni temperaturi pod 1 bar. Po 2-dnevni reakciji dodamo 2,0 g brezvodne metakrilne kisline in raztopino nadalje presnavljamo 48 ur pri sobni temperaturi. Nato reakcijsko tekočino zlijemo v eter, tako da se lahko nastali polimer obori. Dobljeno oborino čistimo z liofiliziranjem iz benzena. Dobitek je

4,2 g (75%). Polimer, dobljen z gelno permeacijsko kromatografijo, je monomodalen in ima številčno povprečno molekulsko maso 1800.

Protonski nuklearni magnetni resonančni spektri dobljenega polimera v kloroform devteridu kažejo, da je ta polimer heteroteleheličen oligomer, ki ima kvantitativno enoto polietilenoksida (PEO), 3, 5-O-benziliden-1, 2-O-izopropiliden-D-glukofuranozni ostanek pri α -terminalu in metakriloilno skupino pri ω -terminalu. Kar se tiče uvedbe metakriloilne skupine, le-to potrdimo tudi iz opazovanj absorpcije estrskega karbonila blizu 1700 cm^{-1} v IR absorpcijskem spektru.

NMR spekter (δ , ppm); 1,3 (s), 1,5 (s), 1,9 (s), 3,7 (s), 3,9 (s), 4,0 (s),
4,2 (s), 4,4 (s), 4,6 (d), 5,6 (s).

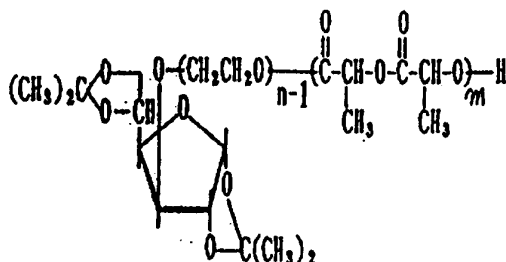
Primer 11: Priprava spojine z naslednjo formulo



Raztopimo 50 mg polietilenoksida, dobljenega v primeru 10, v 97 vol.% očetni kislini in dobljeno raztopino pustimo še 40 minut pri sobni temperaturi. Po končani reakciji topilo oddestiliramo in raztopino čistimo z gelno filtracijo. Dobitek je 45 mg (90%). Protonski nuklearni magnetni resonančni spektri dobljenega polimera v kloroform devteridu pokažejo, da je ta polimer glukoza, ki ima enoto polietilenoksida (PEO) in kjer piki benzilidenske in izopropilidenske zaščitne skupine sladkornega ostanka popolnoma izginejo in ki ima kvantitativno polietilenoksidno verigo hidroksilne skupine lege 6. Kar se tiče preostale metakriloilne skupine, le-to potrdimo tudi iz opazovanj absorpcije estrskega karbonila blizu 1700 cm^{-1} v IR absorpcijskem spektru.

NMR spekter (δ , ppm); 1,9 (s), 3,7 (s), 4,6 (s) (β), 4,8 (s), 5,2 (s) (α),
5,6 (s), 6,2 (s).

Primer 12: Priprava spojine z naslednjo formulo

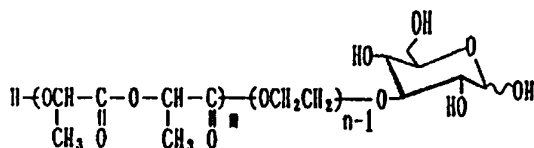


V reaktor damo 130 mg spojine, dobljene v stopnji (1) primera 1, 20 ml THF in 1 ml 0,5 mol/L-tetrahidrofuranske raztopine naftalen kalija in dobljeno raztopino mešamo 3 minute v atmosferi argona ter tako dobimo 3-O-kalijevo-1, 2; 5, 6-di-O-izopropiliden-D-glukofuranozo. K tej raztopini dodamo 3,1 g etilenoksida, ki ga nato mešamo pri sobni temperaturi pod 1 bar. Po 2-dnevni reakciji dodamo 20 ml raztopine L-laktida, raztopljenega v THF (2 mol/l) in dobljeno raztopino mešamo 1 uro pri sobni temperaturi, tako da jo lahko polimeriziramo. Po končani reakciji zlijemo reakcijsko tekočino v 15 l 2-propanola, tako da se lahko nastali polimer obori. Po rekuperaciji s centrifugiranjem čistimo dobljeni polimer z liofiliziranjem iz benzena. Dobitek je 7,6 g (85,8%). Polimer, dobljen z gelno permeacijsko kromatografijo, je monomodalen in ima številčno povprečno molekulsko maso 19000.

Protonski nuklearni magnetni resonančni spektri dobljenega polimera v kloroform devteridu kažejo, da je ta polimer blok polimer, ki ima oba segmenta polietilenoksida (PEO), in polilaktida (PLA), ta polimer pa ima kvantitativno 1, 2; 5, 6-di-O-izopropiliden-D-glukofuranozni ostanek pri α -terminalu in hidroksilno skupino pri ω -terminalu. Dolžina segmenta PEO oz. PLA je 6300 oz. 12900 v številčno povprečni moleulski masi.

NMR spekter (δ , ppm); 1,3 (d), 1,5 (d), 1,6 (s), 3,6 (s), 3,9 (s), 4,0 (s),
4,1 (s), 4,2 (s), 4,6 (s), 5,2 (s), 5,8 (s).

Primer 13: Priprava spojine z naslednjo formulo



Raztopimo 40 mg blok polimera, dobljenega v primeru 12, v 2 ml 8:2 (v/v) raztopini trifluoroacetne kisline-vode in dobljeno raztopino mešamo eno uro pri sobni temperaturi.

Vodno reakcijsko raztopino dodamo po kapljicah k 20 ml 2-propanola pri -20°C , tako da se polimer lahko obori. Po centrifugiranju očistimo polimer s sušenjem pod zmanjšanim tlakom. Dobitek je 31,1 mg (78,0%). Kar se tiče številčno povprečne molekulske mase rekuperiranega polimera, ugotovimo z gelno permeacijsko kromatografijo in NMR, da sta dolžini segmenta PEO oz. PLA 6300 oz. 11500 in da je bila glavna veriga komajda pretrgana z obdelavo z 80% trifluoroacetno kislino. Po drugi strani ugotovimo z NMR, da je izginil signal izopropilidena, ki je zaščitna skupina sladkornega ostanka, namesto tega pa opazimo signal anomernega protona reducirnega sladkorja in potrdimo kvantitativno deprotekcijo.

NMR spekter (δ , ppm); 1,6 (s), 3,6 (s), 4-5 (m),
 5,2 (s), 6,1 (s) (β), 6,4 (s) (α).

Primer 14: Priprava visokomolekulskega micela

100 mg polimera, dobljenega v primeru 12, raztopimo v 20 ml dimetil acetamida in dobljeno raztopino dializiramo proti vodi 24 ur ob uporabi dializne cevi z diferencialno molekulske maso 12000 - 14000 (vodo nadomestimo po 3, 6 in 9 urah). Ko to raztopino analiziramo z dinamičnim svetlobnim sipanjem, potrdimo nastanek micela s povprečno velikostjo delcev 40 nm. Kritična micelna koncentracija tega visokomolekulskega micela je 5 mg/l.

Primer 15: Priprava visokomolekulskega micela

Visokomolekulski micel pripravimo iz polimera, dobljenega v primeru 13, na enak način kot v primeru 14 in tako pripravimo stabilen micel s povprečno velikostjo delcev 40 nm in kritično micelno koncentracijo 5 mg/l.

Industrijska uporabnost:

Predloženi izum zagotavlja monomodalen heteroteleheličen oligomer ali polimer, ki ima polietilenoksidni segment ali tako polietilenoksidni segment kot tudi poliestrski segment in ki ima sladkorni ostanek pri enem terminalu segmenta in različno

funkcionalno skupino pri drugem terminalu. Iz njegovih sestavnih komponent predvidevamo, da bo gornji oligomer ali polimer kazal izvrstno biorazpoložljivost. Nadalje pričakujemo zaradi različnih funkcionalnih skupin pri obeh terminalih, da ta oligomer ali polimer uporabimo sam ali ob uporabi funkcionalnih skupin pri obeh terminalih kot nosilec za zdravilo ali druge aktivne materiale. Predloženi izum je zato na razpolago na področju proizvodnje oligomera ali polimera, zdravil in diagnostičnih reagentov.

Za

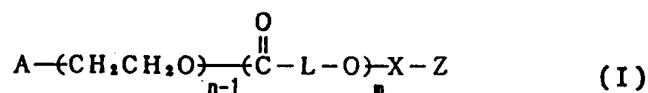
Kataoka Kazunori:

PATENTNA PISARNA, l.o.o.
LJUBLJANA, ČOPOVA 14

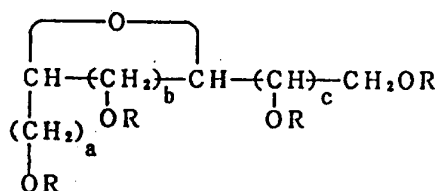


PATENTNI ZAHTEVKI

1. Polietilenoksidni derivat z naslednjo formulo (I):



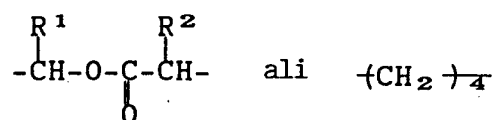
kjer A pomeni ostanek sladkorja z naslednjo formulo



kjer skupine R neodvisno pomenijo naslednje: eden od R pomeni povezavo kot kovalentno vez s sosednjo metilensko skupino preko atoma kisika; kar se tiče drugih R, včasih pomenijo atom vodika, C₁₋₅ alkil, C₁₋₅ alkilkarbonil ali tri-C₁₋₅ alkilsilil (ti alkili so podobni ali različni) in včasih dva od teh R v kombinaciji ob tvorbi acetala skupaj z atomom kisika, na katerega so R vezani, pomenita C₃₋₅ alkiliden ali benziliden, katerega metin je lahko substituiran s C₁₋₃ alkilom; a pomeni celo število 0 ali 1, b pomeni celo število 2 ali 3 in c pomeni celo število 0 ali 1,

n pomeni celo število 5 - 10000,

L pomeni vezno skupino z naslednjo formulo



kjer R¹ in R² neodvisno pomenita atom vodika, C₁₋₆ alkil, aril ali C₁₋₃ alkilaril,

m pomeni celo število 0 ali 2 - 10000,

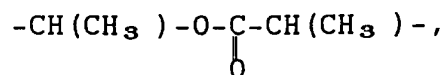
X pomeni enojno vez ali -CH₂CH₂-, in

kadar je X enojna vez, Z pomeni atom vodika, alkalijsko kovino, akrilol, metakrilol, cinamoil, p-toluensulfonil, alil, karboksimetil, karboksietil, etoksikarbonilmetil, etoksikarboniletal, 2-aminoetil, 3-aminopropil, 4-aminobutil, vinilbenzil, di-C₁₋₅ alkiloksi-C₂₋₃ alkil ali aldehid-C₂₋₃ alkil, kadar pa je X -CH₂CH₂- in je m 0, Z pomeni hidroksil,

merkpto, amino ali atom halogena.

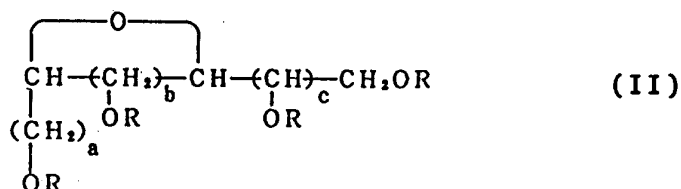
2. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da m pomeni 0.
3. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da m pomeni celo število od 2 do 10000.
4. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da sladkorni ostanek A izvedemo iz monosaharidov, izbranih iz skupine, v kateri so glukoza, galaktoza, manoza, fruktoza, riboza in ksiloza.
5. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da skupine R, ki so različne od vezi, v sladkornem ostanku vsakokrat pomenijo atom vodika.
6. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da dva R, različna od vezi, v sladkornem ostanku tvorita skupaj eno ali dve vrsti, izbrani iz skupine, v kateri so izopropiliden, benziliden, 1-butiliden, 2-butiliden, 3-pentiliden in metil benziliden.
7. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da n pomeni celo število 10 do 200.
8. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da je X enojna vez in Z pomeni atom vodika ali kalij.
9. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da je X enojna vez in Z pomeni akriloil, metakriloil ali p-toluen sulfonil.
10. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da je X enojna vez in Z pomeni alil, karboksimetil, karboksietil, etoksikarbonilmetil, etoksikarboniletal, 2-aminoetil ali vinilbenzil.
11. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da je X $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, m je 0 in Z pomeni merkpto, klor, brom ali jod.
12. Polietilenoksidni derivat po zahtevku 1, označen s tem, da je sladkorni ostanek A glukoza ali galaktoza, skupine R, različne od vezi, v sladkornem ostanku bodisi pomenijo atom vodika ali dva R v kombinaciji pomenita eno ali dve vrsti izmed

izopropilidena in benzilidena, n pomeni celo število 10 - 200, m pomeni celo število 5 do 200, L predstavlja formulo



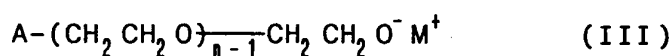
in Z pomeni atom vodika, kalijev ion, akriloil, metakriloil ali p-toluen sulfonil, alil, karboksimetil, karboksietil, etoksikarbonilmetil, etoksikarboniletal ali vinilbenzil.

13. Postopek za pripravo polietilenoksidnega derivata po zahtevku 1, označen s tem, da obsega naslednje stopnje: v stopnji (1) etilen oksid polimeriziramo v prisotnosti polimerizacijskega iniciatorja z naslednjo formulo (II)



kjer skupine R neodvisno pomenijo naslednje: eden od R pomeni alkalijsko kovino (M); drugi R pa včasih pomenijo C₁₋₅ alkil, C₁₋₅ alkilkarbonil ali tri-C₁₋₅ alkilsilil (ti alkili pa so podobni ali različni) in včasih dva od teh R v kombinaciji ob tvorbi acetala skupaj z atomom kisika, na katerega so R vezani, pomenita C₃₋₅ alkiliden ali benziliden, katerega metin je lahko substituiran s C₁₋₃ alkilom; a pomeni celo število 0 ali 1, b pomeni celo število 2 ali 3 in c pomeni celo število 0 ali 1,

v stopnji (2) po potrebi oligomer ali polimer, dobljen v gornji stopnji (1), z naslednjo formulo (III)



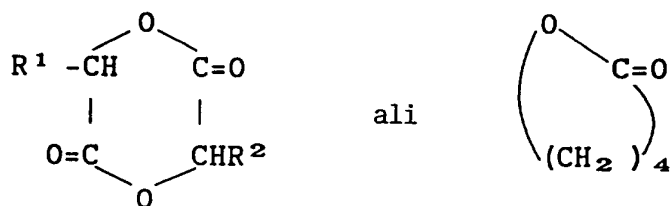
kjer sta A in n, kot je definirano pri formuli (1),

bodisi

(i) hidroliziramo

ali

(ii) spravimo v reakcijo z



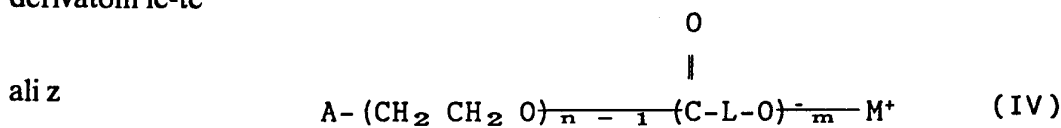
kjer sta R^1 in R^2 , kot je definirano v formuli (I),

tako da lahko dobimo oligomer ali polimer z naslednjo formulo (IV)

kjer so A, L, m in n, kot je definirano v formuli (I),

v stopnji (3) po potrebi oligomer ali polimer, dobljen v stopnji (1) ali stopnji (2), spravimo v reakcijo bodisi z

(i) akrilno kislino, metakrilno kislino, p-toluensulfonsko kislino ali reaktivnim derivatom le-te



(ii) halidom z naslednjo formulo (V)

halo-E (V)

kjer halo pomeni klor, brom ali jod, E pomeni alil, karboksimetil, etoksikarbonilmetil, etoksikarboniletil, vinilbenzil, N-ftalimid etil, N-ftalimid propil ali N-ftalimid butil,

v stopnji (IV) pa po potrebi skupine R sladkornega ostanka A odstranimo razen zgoraj omenjene vezi.

14. Visokomolekulski micel, označen s tem, da ima v vodnem topilu derivat po zahtevku 3 kot aktivno komponento.

Za

Kataoka Kazunori:

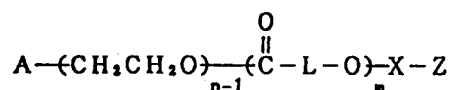
PATENTNA PISARNA, d.o.o.
LJUBLJANA, GOBEČOVA 14

26094-xi-07-mn

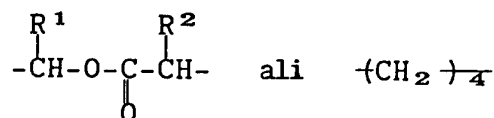
POVZETEK

Polioksietilen s sladkorjem na enem koncu in različno funkcionalno skupino na drugem koncu ter postopek za njegovo pripravo

Pri predloženem izumu gre za heteroteleheličen oligomer ali polimer z naslednjo formulo



kjer A pomeni sladkorni ostanek, L pomeni vezno skupino z naslednjo formulo



kjer R¹ in R² neodvisno pomenita nižji alkil, aralkil ali aril,

X pomeni enojno vez ali -CH₂CH₂-, Z pomeni skupino, ki tvori nenasičen ester ali eter, ali funkcionalno skupino, kot halogen, ki se veže na -CH₂CH₂-, n pomeni celo število 5 do 10000 in m pomeni celo število 0 ali 2 - 10000.

Pri predloženem izumu gre tudi za postopek za pripravo gornjega oligomera ali polimera in nadalje za visoko molekularni micel za uporabo polietilenoksidnega poliestrskega blok polimera, ki ima sladkorni ostanek pri svojem terminalu. Pričakujemo, da ima ta oligomer ali polimer odlično biorazpoložljivost in pričakujemo tudi, da je uporaben na področju, kot so nosilci za dajanje zdravil ali diagnostični reagenti.

1/7

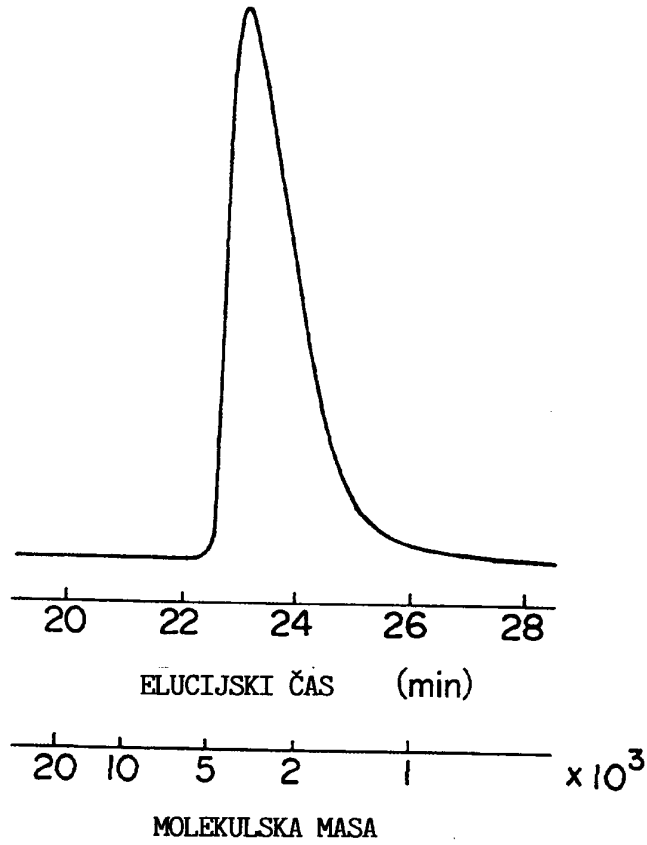


FIG. 1

2/7

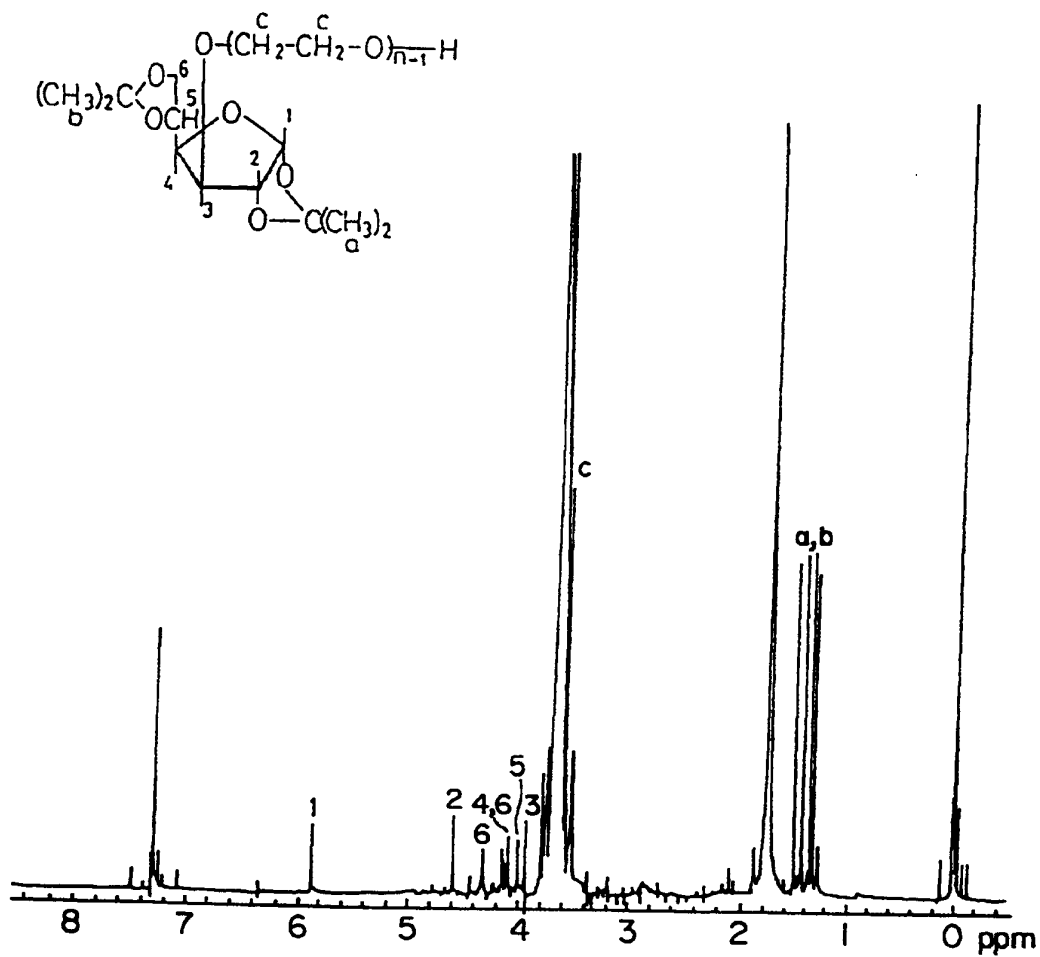


FIG. 2

3/7

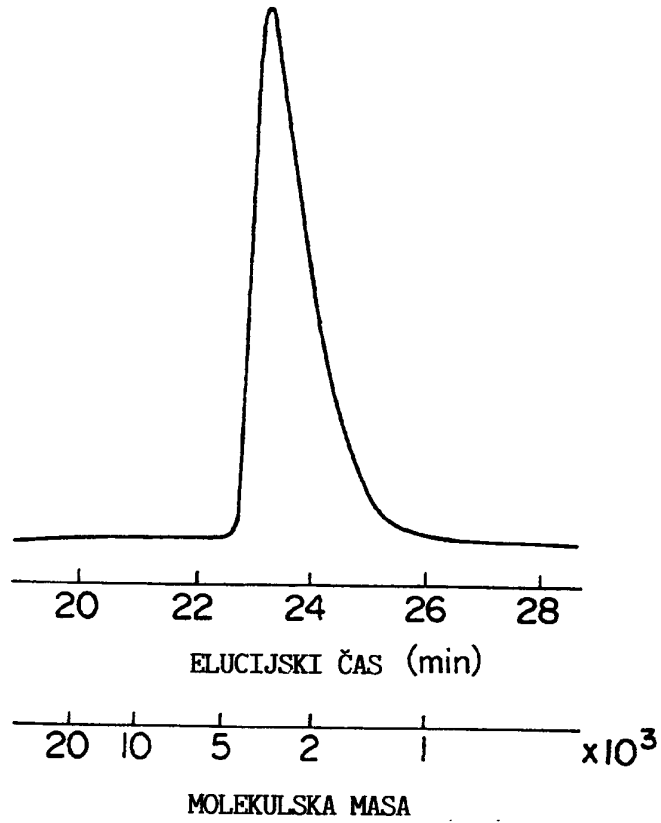


FIG. 3

4/7

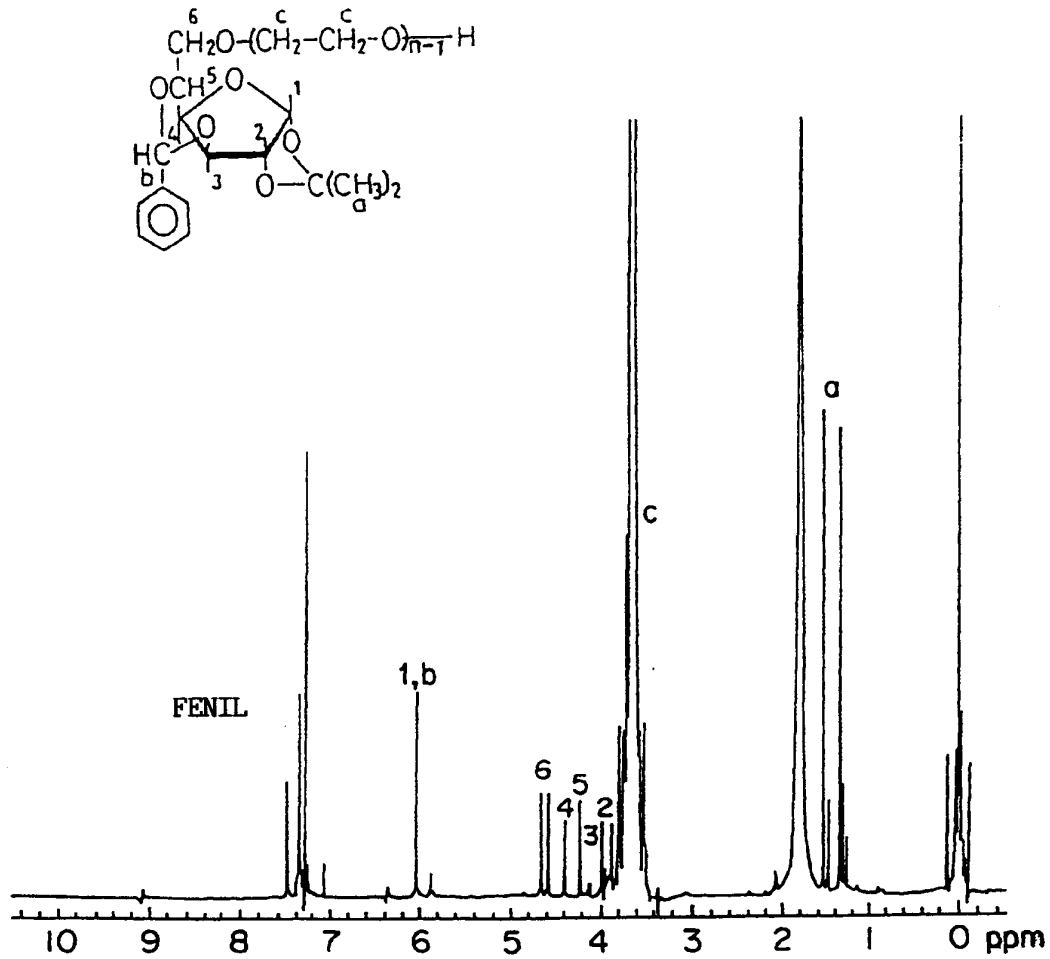


FIG. 4

5/7

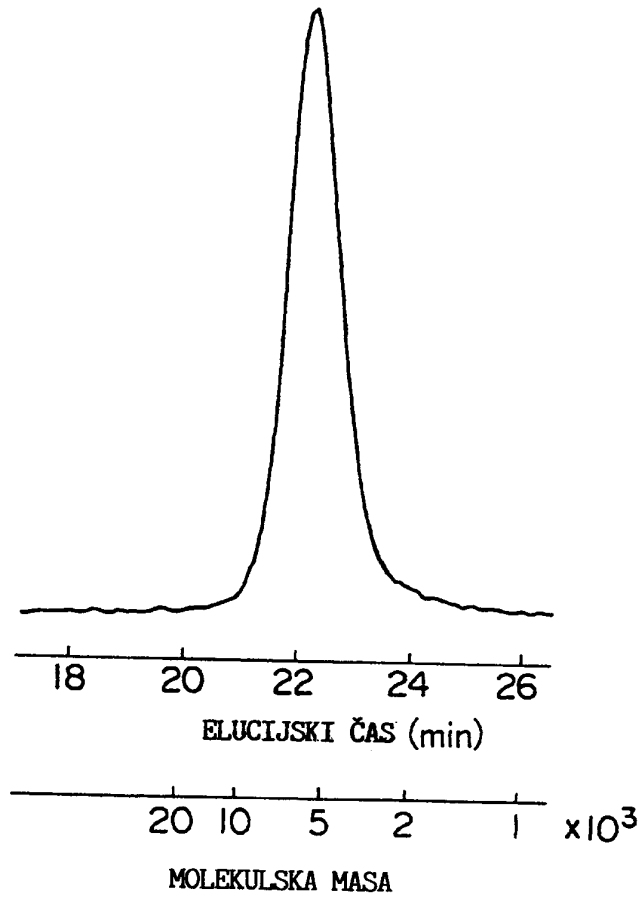


FIG. 5

6/7

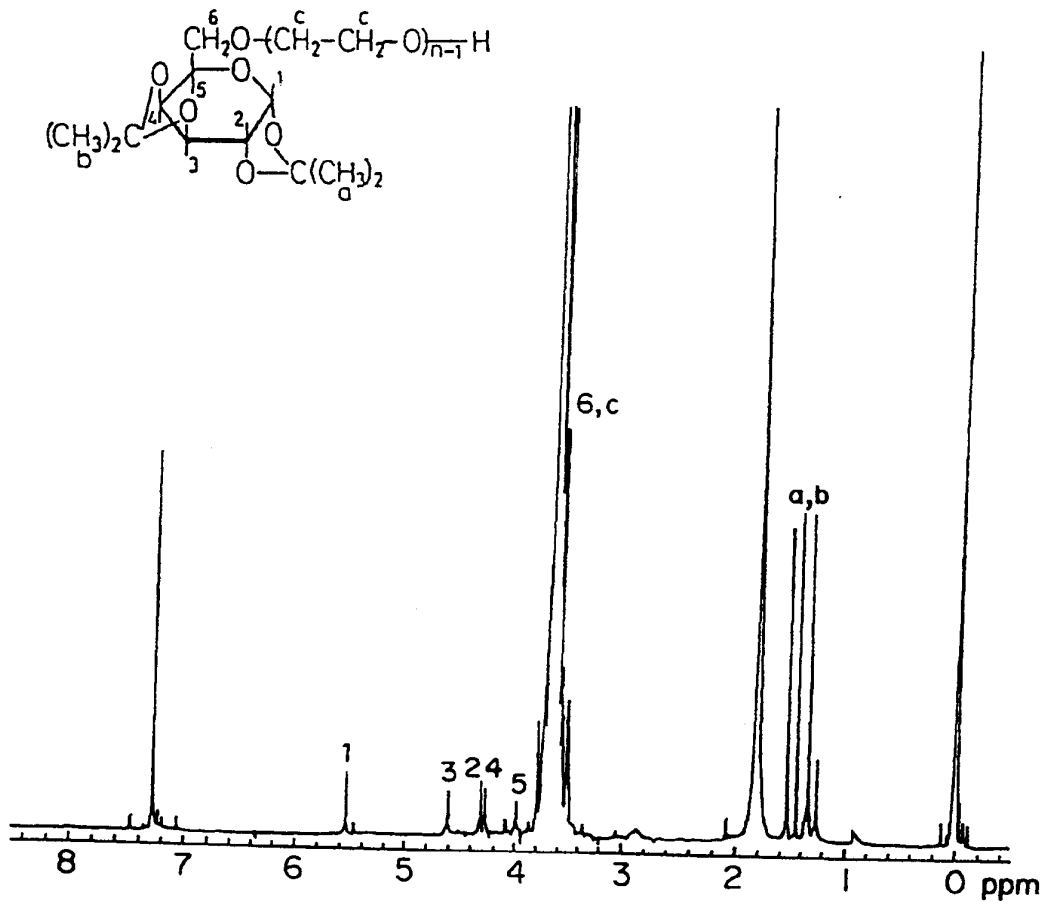


FIG. 6

7/7

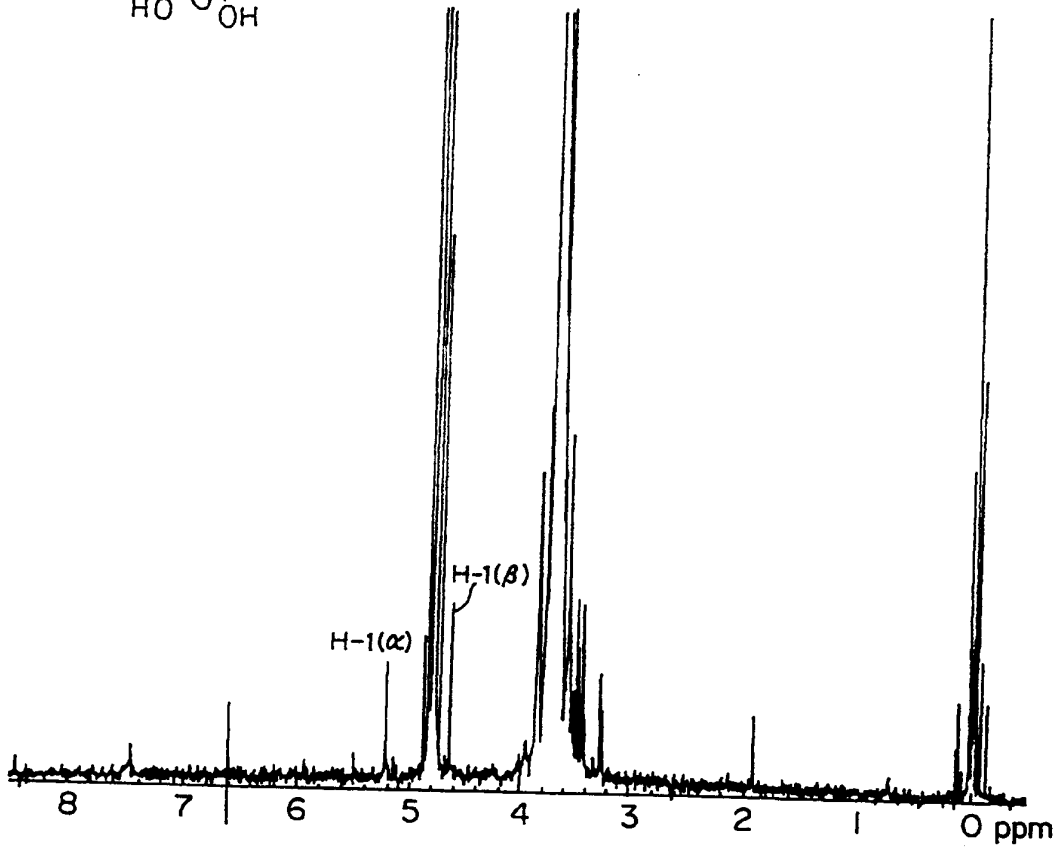
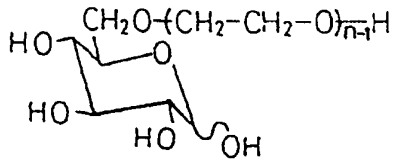


FIG. 7