

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1738-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **05. 06. 98**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 12. 99**
(Věstník č. 12/99)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 08 G 69/10
C 08 G 69/04
C 07 K 1/06

(71) Přihlášovatel:

ÚSTAV MAKROMOLEKULÁRNÍ CHEMIE AV
ČR, Praha, CZ;

(72) Původce:

Rypáček František RNDr. CSc., Praha, CZ;
Dvořák Milan Ing. CSc., Praha, CZ;
Kubies Dana Mgr., Košice, SK;
Machová Luďka prom. chem., Praha, CZ;

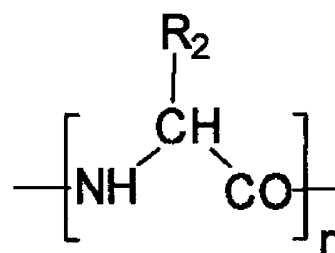
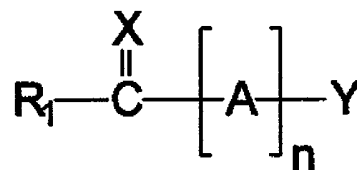
(54) Název přihlášky vynálezu:

**Funkcionalizované polymery alfa-amino-
kyselin a způsob jejich přípravy**

(57) Anotace:

Předmětem řešení jsou funkcionalizované polymery .alfa.-aminokyselin podle obecného vzorce 1, v kterém X je atom kyslíku nebo síry, R₁ je radikál ze skupiny zahrnující C1-C20alkyl, C2-C20 alkenyl, substituovaný alkyl, aryl nebo substituovaný aryl, struktura [A]_n představuje řetězec poly/aminokyseliny/tvořený jedním typem nebo kombinací více typů strukturních jednotek .alfa.-aminokyselin, případně zbytků derivátů .alfa.-aminokyselin s vhodně chráněnými funkčními skupinami v bočních řetězcích, spojených peptidickými vazbami způsobem podle vzorce 2, v kterém R₂ představuje zbytek příslušné .alfa.-aminokyseliny nebo jejího derivátu, přičemž index n znamená celkový počet aminokyselinových strukturních jednotek v řetězci a může nabývat hodnot v rozmezí 1 až 500, má specifický význam. Způsob přípravy polymerů spočívá v tom, že se směs monomeru ve vhodném poměru s iniciátorem a katalyzátorem ponechá ve vhodném rozpouštědle při zvolené teplotě po dobu potřebnou k provedení reakce a vzniklý polymerní produkt se izoluje z reakční směsi běžnými postupy, přičemž takto získaný polymer může být podle potřeby

bud' to konečným produktem přípravy, nebo meziproduktem pro další reakční kroky, zahrnující následné modifikační reakce koncových funkčních skupin a funkčních skupin v bočních řetězcích polymeru.



CZ 1738-98 A3



Název: Funkcionalizované polymery α -aminokyselin a způsob jejich přípravy

Oblast techniky

Vynález se týká funkcionalizovaných polymerů, obsahujících strukturní jednotky odvozené od α -aminokyselin, a způsobu jejich přípravy, který umožňuje získat uvedené polymery s úzkou distribucí molekulárních parametrů a s definovanými funkčními skupinami na koncích polymerních řetězců.

Dosavadní stav techniky

Syntetické polymery α -aminokyselin, poly(AA), obsahují peptidické vazby v hlavním řetězci polymeru a mohou být tvořeny stejnými strukturními jednotkami (α -aminokyselinami) jako polyaminokyseliny přírodního původu, tj. polypeptidy a proteiny. V tomto ohledu je lze považovat za analogy proteinů. V živých systémech, kombinací zpravidla dvaceti druhů aminokyselin, vzniká nepřeberné množství strukturálně definovaných polymerů, proteinů, které plní řadu nezastupitelných funkcí stavebních i funkčních díky své jedinečné molekulární struktuře. Jedinečnost molekulární struktury proteinů je výsledkem biosyntetického procesu polymerizace na templátu informačních molekul nukleových kyselin, vedoucí k produkci identických molekul proteinu daného složení a trojrozměrné molekulové struktury.

Dostupné chemické metody polymerizace aminokyselin postrádají specifitu a reprodukovatelnost templátové polymerizace v živých systémech a zpravidla poskytují heterogenní směsi polymerních molekul s více či méně širokou distribucí jak v zastoupení strukturních jednotek tak délek polymerních řetězců. Heterogenita složení a molekulárních parametrů je hlavním rozdílem mezi syntetickými poly(AA) a proteiny. Tak jako u jiných syntetických polymerů, i u syntetických poly(AA) tato heterogenita značně omezuje možnosti vytváření definovaných nadmolekulárních struktur a uplatnění molekulárních interakcí s vysokou specifitou, typických pro biologické systémy. Snahou moderní makromolekulární chemie je využití řízených polymerizačních procesů pro přípravu lépe definovaných polymerů s úzkou distribucí molekulárních parametrů, umožňující vytvářet nadmolekulární struktury se specifickými vlastnostmi. Jednou z důležitých cest je příprava blokových kopolymerů, které v jedné molekule spojují polymerní řetězce odlišných chemických a fyzikálních vlastností. Kromě významných technologických aplikací blokových kopolymerů při modifikaci fyzikálních vlastností

polymerních materiálů, dobře definované blokové kopolymery spontánně vytvářejí asociáty, organizované molekulární vrstvy a nadmolekulární struktury s unikátními vlastnostmi. Pro tyto své vlastnosti získávají definované blokové kopolymery s úzkou distribucí molekulárních parametrů stále větší pozornost vědců a otevírají i nové možnosti komerčního využití.

Blokové kopolymery α -aminokyselin, přes své potenciální výhody jako analogů specifických biopolymerů, dosud nebyly významně použity. Důvodem je nedostatek vhodných syntetických metod umožňujících v prakticky aplikovatelném řízeném procesu připravit poly(AA) s úzkou distribucí molekulárních parametrů a s koncovými funkčními skupinami vhodnými pro zřetězení polymerních řetězců odlišných vlastností nebo pro jiné chemické modifikace. Syntetické poly(AA) se připravují zpravidla polymerizací otevřením kruhu *N*-karboxyanhydridů (NCA) příslušných α -aminokyselin. V bohaté literatuře veřejné i patentové je popsána řada postupů přípravy poly(AA). Známé reakce vedoucí k polymerizaci NCA, nebo tuto polymerizaci doprovázející, jsou přehledně uvedeny např. v práci Kricheldorfa (Kricheldorf H.R. *α -Aminoacid-N-carboxyanhydrides and related heterocycles. Synthesis, properties and polymerization*. Springer Verlag, Berlin, 1987). Tyto známé postupy využívají dvou hlavních mechanismů polymerizace NCA.

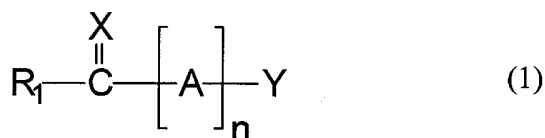
Při uplatnění tzv. aminového mechanismu polymerní řetězec propaguje prostřednictvím nukleofilní skupiny, zpravidla aminové skupiny, na konci řetězce. Tento mechanismus se uplatňuje při iniciaci polymerizace protickými nukleofily. Protické nukleofily iniciují polymerizaci NCA reakcí své nukleofilní skupiny s karbonylovou skupinou C-5 NCA kruhu. Otevřením NCA kruhu vzniká karbamová kyselina, která dekarboxyluje za vzniku volné aminoskupiny a uvolnění oxidu uhličitého. Volná aminoskupina se chová jako nukleofil, napadá další molekulu NCA a tím polymerní řetězec propaguje. Vlastnosti konečného produktu jsou ovlivněny uplatněním vedlejších reakcí. Jednou z těchto reakcí je vznik koncového karbamátového iontu, jehož přítomnost značně ovlivňuje kinetický průběh polymerizace. Jinou vedlejší reakcí, která se uplatňuje při polymerizaci esterů dikarboxylových aminokyselin, např. esterů kys. asparagové a glutamové, je reakce koncové nukleofilní skupiny s esterem v bočním řetězci koncové strukturní jednotky. Tato reakce vede k zastavení propagace řetězce a ztrátě koncové funkční skupiny. Důsledkem těchto vedlejších reakcí je heterogenita výsledného kopolymery, projevující se často bimodální distribucí molekulových hmotností, a neurčitost ve struktuře koncové skupiny polymeru.

Druhým hlavním mechanismem polymerizace NCA je tzv. mechanismus aktivovaného monomeru. Tento mechanismus se uplatňuje při iniciaci bázemi, které nemohou reagovat jako nukleofil, např. při iniciaci terciárními aminy. Reakcí báze s monomerem (NCA) dochází k deprotonaci dusíkového atomu v kruhu NCA. Vznikající NCA aniont pak reaguje s další molekulou monomeru za vzniku dimeru s vysoce elektrofilní *N*-acylovou NCA skupinou a s nukleofilní karbamátovou skupinou na druhém konci dimeru. K propagaci dochází reakcí další molekuly NCA aniontu (aktivovaného monomeru) s vysoce reaktivní *N*-acyl NCA skupinou. Opakováním tohoto propagačního kroku dochází k rychlému růstu polymerního řetězce, zatímco další řetězce mohou dále vznikat v průběhu polymerizace mnohem pomalejší iniciální reakcí NCA aniontu s neacylovaným monomerem. Tento kinetický průběh polymerizační reakce vede k produktu s velmi širokou distribucí molekulových hmotností, jehož dosažený průměrný stupeň polymerizace není přímo úměrný konverzi monomeru ani koncentraci přidaného iniciátoru. Dalším faktorem komplikujícím průběh reakce je přítomnost druhé koncové skupiny polymeru, kterou je karbamát nebo, po jeho dekarboxylaci, aminoskupina, umožňující současný růst řetězce i výše popsaným aminovým mechanismem. V důsledku uplatnění těchto reakcí lze jen obtížně regulovat výsledné molekulární parametry vznikajícího polymeru a strukturu koncových funkčních skupin.

Zjistili jsme nyní, že vedlejší reakce při polymerizaci NCA lze významně omezit použitím iniciálního systému, který zamezuje vzniku druhého růstového centra a umožňuje, aby k růstu polymerního řetězce docházelo převážně, nebo pouze, na připravených růstových centrech zvolené struktury. Dále jsme zjistili, že omezením propagační reakce na jeden definovaný mechanismus jsou vytvořeny podmínky, při kterých je možné regulovat stupeň polymerizace narůstajícího polymeru a získat poly(AA) o žádaném polymerizačním stupni a s úzkou distribucí molekulárních parametrů. Dále jsme zjistili, že strukturu iniciálního systému lze volit v široké škále vhodných derivátů α -aminokyselin a tím lze volit i strukturu počáteční tj. *N*-koncové strukturní jednotky polymeru poly(AA). Aplikací těchto poznatků lze připravit požadované poly(AA) s úzkou distribucí molekulárních parametrů a vhodnými koncovými funkčními skupinami, včetně blokových kopolymerů. Podstata vynálezu a jeho jednotlivé znaky jsou dále podrobněji popsány a vysvětleny na příkladech.

Podstata vynálezu

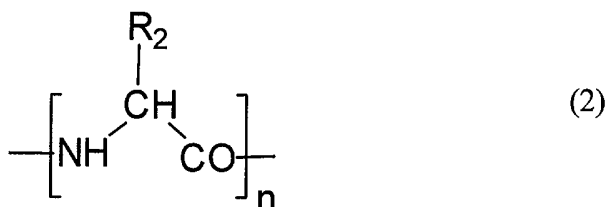
Předmětem předloženého vynálezu jsou funkcionalizované homopolymery a kopolymery α -aminokyselin obecného vzorce 1,



v kterém X je atom kyslíku nebo síry,

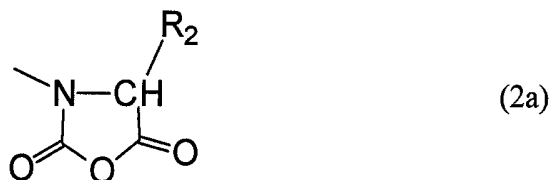
R_1 je radikál ze skupiny zahrnující C1 - C20 alkyl, C2-C20 alkenyl, substituovaný alkyl např. t-butoxyl, aryl nebo substituovaný aryl, např. fenyl, 4-nitrofenyl, 3,5-dinitrofenyl, arylalkyl a substituovaný arylalkyl, např. benzyl, benzyloxyl, 9-fluorenylmethoxyl;

struktura $[A]_n$ představuje řetězec poly(aminokyseliny) tvořený jedním typem nebo kombinací více typů strukturních jednotek α -aminokyselin, případně derivátů α -aminokyselin s vhodně chráněnými funkčními skupinami, spojených peptidickými vazbami způsobem vyznačeným vzorcem 2,



v kterém R_2 představuje zbytek příslušné α -aminokyseliny nebo jejího derivátu, přičemž index n znamená celkový počet aminokyselinových strukturních jednotek v řetězci a může nabývat hodnot v rozmezí 1 až 500, zvláště výhodně v rozmezí 5 až 200;

Y je buďto OH, nebo struktura obecného vzorce 2a,



v kterém R_2 je H nebo zbytek aminokyseliny ze skupiny zahrnující α -aminokyseliny a jejich

deriváty uvedené výše, nebo je Y struktura obecného vzorce 3,



kde Z a Z' je NH nebo O; R₃ je chemická struktura ze skupiny zahrnující C2 až C20 alkyl, substituovaný alkyl, aryl nebo substituovaný aryl nebo polymer ze skupiny zahrnující polyethylenoxid, polypropylenoxid a polybutadien; P je atom vodíku, nebo acyl odvozený od karboxylové kyseliny ze skupiny zahrnující alkanové kyseliny, kys. jantarovou, maleinovou, akrylovou, methakrylovou, ftalovou a cyklohexandikarboxylovou, nebo acyl ze skupiny zahrnující látky obecného vzorce 4



kde R₄ je vybráno ze skupiny zahrnující C1 až C5 alkyly, CH₂-O-CH₂-CH₂, CH₂-O-CH₂-CH₂-CH₂, a O-(CH₂)₃-O, přičemž R₄ může být ve všech strukturních jednotkách stejné nebo různé a index m značí celkový počet strukturních jednotek a může nabývat hodnot v rozmezí 2 - 600, s výhodou pak hodnot v rozmezí 8 - 300.

Význakem polymerů podle předmětného vynálezu je, že struktura [A]_n představuje řetězec polyaminokyselin, tvořený strukturními jednotkami α-aminokyselin vybraných jednotlivě nebo v kombinaci ze skupiny α-aminokyselin zahrnující glycin, alanin, valin, leucin, isoleucin, fenylalanin, tryptofan, threonin, methionin, lysin, ornithin, arginin, histidin, serin, asparagin, glutamin, tyrosin, cystein, kyselinu asparagovou, kyselinu glutamovou, kyselinu 2,3-diaminopropionovou, kyselinu 2,4-diaminomáseľnou, dále jejich analogy a substituované deriváty.

Dalším význakem polymerů podle předloženého vynálezu je, že deriváty α-aminokyselin vhodné jako strukturní jednotky tvořící strukturu [A]_n mohou být vybrány ze skupiny zahrnující β-alkylestery a β-alkylamidy kyseliny asparagové, přičemž alkylem je alkyl ze skupiny zahrnující C1-C18 alkyly a substituované alkyly. Vhodnými deriváty tohoto typu jsou deriváty vybrané ze skupiny zahrnující β-methylaspartát, β-cholesterylaspartát, β-t-butylaspartát, β-benzylaspartát,

β -allylaspartát a β -(2,2,2-trichloroethyl)aspartát, *N*-(2-hydroxyethyl)asparagin, *N*-hydroxypropylasparagin, *N*-hydroxybutylasparagin apod..

Polymery podle předloženého vynálezu jsou dále vyznačené tím, že deriváty α -aminokyselin vhodné jako strukturní jednotky tvořící strukturu $[A]_n$ mohou být vybrány ze skupiny zahrnující γ -alkylestery a γ -alkylamidy kyseliny glutamové, přičemž alkylem je alkyl ze skupiny zahrnující C1-C18 alkyly a substituované alkyly. Zvlášť vhodné jsou γ -alkylestery a γ -alkylamidy kyseliny glutamové ze skupiny zahrnující γ -methylglutamát, γ -cholesterylglutamát, γ -t-butylglutamát, γ -allylglutamát, γ -benzylglutamát a γ -(2,2,2-trichloroethyl)glutamát, *N*-(2-hydroxyethyl)glutamin, *N*-hydroxypropylglutamin, *N*-hydroxybutylglutamin.

Dalším význakem polymerů podle předloženého vynálezu je, že deriváty α -aminokyselin vhodné jako strukturní jednotky tvořící strukturu $[A]_n$ mohou být vybrány rovněž ze skupiny zahrnující N_ϵ -t-butyloxykarbonyl-L-lysin, N_ϵ -benzyloxykarbonyl-L-lysin, N_ϵ -allyloxykarbonyl-L-lysin, N_ϵ -ftalimido-L-lysin, N_δ -t-butyloxykarbonyl-ornithin, N_δ -benzyloxykarbonyl-ornithin, N_δ -allyloxykarbonyl-ornithin, N_δ -ftalimido-ornithin, N_γ -t-butyloxykarbonyl-2,4-diaminomásečná kyselina, N_γ -benzyloxykarbonyl-2,4-diaminomásečná kyselina, N_γ -allyloxykarbonyl-2,4-diaminomásečná kyselina, N_γ -ftalimido-2,4-diaminomásečná kyselina, N_β -t-butyloxykarbonyl-2,3-diaminopropionová kyselina, N_β -benzyloxykarbonyl-2,3-diaminopropionová kyselina, N_β -allyloxykarbonyl-2,3-diaminopropionová kyselina, N_β -ftalimido-2,3-diaminopropionová kyselina.

Polymery podle předloženého vynálezu jsou dále vyznačené tím, že nejméně jedna ze strukturních jednotek α -aminokyselin tvořících strukturu $[A]_n$ může být vybrána ze skupiny zahrnující arginin nebo derivát argininu substituovaný na guanidinové skupině, s výhodou N_δ, N_ϵ -bis-benzyloxykarbonyl-L-arginin.

Dále jsou polymery podle předloženého vynálezu vyznačené tím, že nejméně jedna ze strukturních jednotek α -aminokyselin tvořících strukturu $[A]_n$ může být serin nebo derivát serinu se substituovanou hydroxyskupinou, s výhodou O-t-butylserin, O-benzylserin, O-trifenylnmethylserin, nebo O-allylserin.

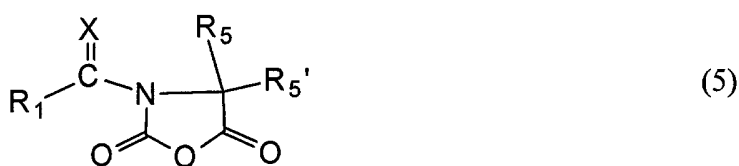
Polymery podle předloženého vynálezu jsou dále vyznačené tím, že R_1 je radikál ze skupiny zahrnující substituované alkyly, alkenyly, aryly a arylalkyly, s výhodou ze skupiny zahrnující

methyl, allyl, fenyl, 4-nitrofenyl, 3,5-dinitrofenyl, benzyl, benzyloxyl, t-butoxyl, allyloxyl a 9-fluorenylmethoxyl.

Význakem polymerů podle předloženého vynálezu je dále, že P může být polymerní acyl ze skupiny zahrnující poly(L-laktid), poly(D,L-laktid), kopolymery typu poly(L-laktid-*stat*-D,L-laktid), polyglykolid, kopolymery typu poly(laktid-*stat*-glykolid), poly(ϵ -kaprolakton) a kopolymery obsahující strukturní jednotky odvozené od ϵ -kaprolaktonu v kombinaci se strukturními jednotkami odvozenými od laktidu nebo glykolidu.

Vynález dále zahrnuje polymery podle předloženého vynálezu, vyznačené tím, že jejich struktura odpovídá vzorci 1, v kterém seskupení $R_1-(C=X)-$ je nahrazeno atomem vodíku.

Způsob přípravy polymerů podle předmětného vynálezu, spočívá v tom, že směs monomeru, kterým je jednotlivě nebo v kombinaci *N*-karboxyanhydrid (NCA) α -aminokyseliny, bázeického katalyzátoru a iniciátoru, kterým je látka vybraná ze skupiny látek obecného vzorce 5,



v kterém X je atom kyslíku nebo síry, R_1 je radikál ze skupiny zahrnující C1 - C20 alkyl, C2-C20 alkenyl, substituovaný alkyl, aryl nebo substituovaný aryl, arylalkyl a substituovaný arylalkyl, R_5 je atom vodíku, nebo alkyl ze skupiny zahrnující C1-C5 alkyly, R_5' je atom vodíku nebo nebo alkyl ze skupiny zahrnující C1-C5 alkyly, aryl, arylalkyl a substituovaný alkyl, přičemž molární poměr monomer/iniciátor je v rozmezí 2 - 1000, s výhodou v rozmezí 5- 300, a molární poměr monomer/katalyzátor je v rozmezí 1 - 500, s výhodou v rozmezí 5-300, se reaguje v prostředí aprotického rozpouštědla po dobu potřebnou k provedení reakce a vzniklý polymerní produkt může být podle potřeby buďto konečným produktem přípravy, nebo meziproduktem pro další reakční kroky, zahrnující následné modifikační reakce koncových funkčních skupin a funkčních skupin v bočních řetězcích polymeru.

Při provádění způsobu přípravy polymerů se podle vynálezu postupuje tak, že se směs monomeru ve vhodném poměru s iniciátorem a katalyzátorem se ponechá reagovat ve vhodném rozpouštědle při zvolené teplotě po dobu potřebnou k provedení reakce a vzniklý polymerní produkt se izoluje z reakční směsi běžnými postupy, přičemž takto získaný polymer může být podle potřeby buďto konečným produktem přípravy, nebo meziproduktem pro další reakční kroky, zahrnující následné modifikační reakce koncových funkčních skupin a funkčních skupin v bočních řetězcích polymeru.

Při postupu podle vynálezu jsou vhodnými monomery *N*-karboxyanhydridy (NCA) α -aminokyselin, zejména α -aminokyselin ze skupiny zahrnující běžné přírodní aminokyseliny jako jsou glycin, alanin, valin, leucin, isoleucin, fenylalanin, tryptofan, methionin, dále jejich analogy a substituované deriváty, např. halogenované deriváty, jako pentafluorofenylalanin, fluoroleucin apod., a deriváty α -aminokyselin s vhodně chráněnými funkčními skupinami, např. β -alkylestery a β -(arylalkyl)estery kys. asparagové jako jsou β -methylasspartát, β -terc-butylaspartát, β -benzylaspartát apod., γ -alkylestery a γ -(arylalkyl)estery kys. glutamové, jako jsou γ -methylglutamát, γ -dodecylglutamát, γ -cholesterylglutamát, γ -(*t*-butyl)glutamát, γ -benzylglutamát, γ -(2,2,2-trichloroethyl)glutamát apod., *N*_ε-benzyloxykarbonyl-lysin, *O*-allyl-L-serin, *O*-*t*-butyl-L-serin, *O*-trifenylmethyl-L-serin a *O*-benzyl-L-serin, *N,N*-bis-benzyloxycarbonyl-arginin, apod.

*N*_α-karboxyanhydridy příslušných α -aminokyselin lze připravit známými postupy. U aminokyselin obsahujících vedle aminoskupiny a karboxylové skupiny na α -uhlíkovém atomu ještě další protické funkční skupiny, jako je tomu např. u lysinu, ornithinu, argininu, serinu, tyrosinu, kys. asparagové a glutamové, je nutné tyto další funkční skupiny nejdříve chránit vhodnými chránicími skupinami. Vhodnými chránicími skupinami při přípravě NCA vícefunkčních α -aminokyselin jsou chránící skupiny dostatečně stálé v kyselém prostředí. Příkladem takových skupin jsou zejména alkylesterové skupiny pro chránění karboxylových skupin, alkyletherové skupiny vhodné pro chránění hydroxyskupin, nebo urethanové skupiny vhodné pro chránění aminoskupin. Tyto skupiny i reakce používané pro jejich zavedení jsou běžně známy v oboru.

Vhodnými iniciátory jsou látky obecného vzorce 5,



v kterém

X je atom kyslíku nebo síry;

R₁ je radikál ze skupiny zahrnující C1 - C20 alkyl, C2-C20 alkenyl, substituovaný alkyl, např. t-butoxyl, aryl nebo substituovaný aryl, např. fenyl, 4-nitrofenyl, 3,5-dinitrofenyl, arylalkyl a substituovaný arylalkyl, např. benzyl, nebo alkoxyl, např. t-butoxyl, allyloxyl, benzyloxyl, 9-fluorenylmethoxyl;

R₅ a R₅' je atom vodíku nebo radikál ze skupiny zahrnující C1-C5 alkyl, aryl, arylalkyl a substituovaný alkyl, např. 2-(benzyloxykarbonyl)ethyl, (benzyloxykarbonyl)methyl, 2-(t-butyloxykarbonyl)ethyl, 2-(t-butyloxykarbonyl)methyl, 4-(benzyloxykarbonylamido)butyl, 3-(benzyloxykarbonylamido)propyl, 2-(trifenyloxy)ethyl, 2-(t-butoxy)ethyl, 2-(benzyloxy)-ethyl, apod.

Tyto látky jsou buďto komerčně dostupné, nebo je lze připravit známými postupy.

Vhodnými katalyzátory při postupu podle vynálezu jsou báze, které jsou vyznačené tím, že jsou schopné odejmout proton atomu dusíku v kruhu *N*-karboxyanhydridu, přičemž ale nemohou reagovat jako nukleofil a vytvořit kovalentní vazbu s C5 uhlíkovým atomem *N*-karboxyanhydridu, ať již v důsledku nedostatku valence nebo z důvodů sterických. Vhodnými bázemi tohoto typu jsou terciární aminy, například triethylamin, tributylamin, *N*-methylmorpholin, nebo stericky bráněné sekundární aminy s objemnými substituenty na dusíku, např. diisopropylamin, dicyklohexylamin apod.

Vhodnými rozpouštědly pro uplatnění postupu podle vynálezu jsou aprotická rozpouštědla bez protických nečistot, ve kterých jsou reakční složky, nebo reakční produkt, nejlépe však všechny složky reakce, přiměřeně rozpustné. Příkladem vhodných rozpouštědel jsou halogenované uhlovodíky, jako jsou dichlormethan, dichlorethan a chloroform, ethery, jako jsou tetrahydrofuran nebo dioxan, aromatická rozpouštědla, jako jsou benzen, toluen, polární

rozpouštědla, jako jsou dimethylformamid a dimethylsulfoxid, dále směsi těchto rozpouštědel ve vhodném poměru. Volba vhodného rozpouštědla závisí na zvolené struktuře reakčních složek a vlastnostech produktů a lze ji odvodit na základě zkušeností v oboru.

Výhody postupu podle vynálezu jsou založeny na mechanismu, kterým na sebe působí výše uvedené složky reakce. Zjistili jsme, že látky se strukturou podle obecného vzorce 5 reagují s monomerem, tj. NCA α -aminokyselin, v přítomnosti uvedených katalyzátorů mnohem rychleji než molekuly monomeru spolu navzájem. Zjistili jsme rovněž, že toto výrazné zvýšení rychlosti reakce není způsobeno předpokládaným zvýšením elektrofility C5 karbonylu NCA kruhu, ale je podmíněno současnou interakcí látky vzorce 5 a iontového páru tvořeného monomerem a katalyzátorem. To znamená, že látka podle vzorce 5 je dostatečně stabilní vůči nežádoucím vedlejším reakcím a její zvýšená reaktivita se projeví především až ve styku s monomerem(NCA) a katalyzátorem. To umožňuje použít látku podle vzorce 5 jako výhodného iniciátoru polymerizace NCA, jehož prostřednictvím lze na počátku do systému dodat definované množství reakčních center. Významným faktorem je skutečnost, že pro reaktivitu iniciátoru je důležitá přítomnost karbonylu (thiokarbonylu) jako substituentu na dusíkovém atomu, přičemž struktura radikálu R_1 má až druhotnou důležitost. Reakcí iniciátoru s monomerem vzniká *N*-acylovaná NCA skupina, v které se opakuje seskupení na dusíkovém atomu vyznačené vzorcem 5. Tato *N*-acylovaná NCA skupina reaguje s komplexem monomer/katalyzátor analogicky jako bylo výše popsáno pro reakci s iniciátorem. Opakováním této reakční sekvence dochází k růstu polymerního řetězce, který propaguje koncovou *N*-acylovanou NCA skupinu, a má strukturu analogickou vzorci 5, v kterém R_1 reprezentuje narůstající polymerní řetězec.

Uplatněním tohoto postupu dojde k omezení propagační reakce na jeden definovaný mechanismus, neboť druhý konec rostoucího polymeru zůstává blokován skupinou R_1 . Tím jsou vytvořeny podmínky, v kterých je možné regulovat stupeň polymerizace narůstajícího polymeru molárním poměrem monomeru a iniciátoru a získat tak poly(AA) o žádaném polymerizačním stupni. Vzhledem k tomu, že iniciační růstová centra jsou přítomna v reakční směsi v plném počtu od počátku reakce, všechny polymerní řetězce začínají růst současně a vzniká produkt s úzkou distribucí molekulárních parametrů, jak bude dále doloženo na příkladech.

Významnou vlastností postupu podle vynálezu je skutečnost, že strukturu iniciačního systému lze volit v široké škále vhodných derivátů α -aminokyselin a tím lze volit i strukturu počáteční

tj. *N*-koncové strukturní jednotky polymeru poly(AA). Volbou substituentu R_1 je možné připravit polymery s definovanými koncovými skupinami. Např. polymer s koncovou skupinou tvořenou lipofilním alifatickým řetězcem lze připravit, zvolíme-li R_1 ze skupiny vyšších alkylů. Strukturu R_1 lze rovněž volit tak, aby *N*-koncová acylová skupina připraveného polymeru byla odštěpitelná za mírných podmínek a tím došlo k uvolnění koncové aminoskupiny polymeru, kterou lze následně využít pro další modifikační reakce. Vhodnými iniciátory pro tento způsob přípravy jsou látky obecného vzorce 5, v kterém R_1 je vybrán ze skupiny zahrnující alkyloxylové skupiny, např. benzyloxyl, *t*-butoxyl, allyloxyl a 9-fluorenylmethoxyl.

Při vlastní polymerizační reakci je možné přidat celé množství monomeru hned v počátku reakce, přičemž monomerem může být NCA pouze jednoho typu aminokyseliny, nebo jím může být směs NCA dvou nebo více typů aminokyselin. Podle toho pak výsledným produktem může být homopolymer tvořený jedním typem strukturních jednotek, nebo statistický kopolymer tvořený různými typy strukturních jednotek.

Jiným postupem podle vynálezu je možné zahájit reakci určitým množstvím monomeru v počátku reakce a po dosažení zvoleného stupně konverze monomeru, kterým může být i jeho úplná nebo téměř úplná konverze, je možné přidat další množství buďto téhož monomeru nebo monomeru jiného a pokračovat polymerací v druhém stupni. Přiměřeným uplatněním tohoto postupu lze získat kopolymery s částečně blokovým uspořádáním strukturních jednotek, nebo čistě blokové kopolymery.

Kinetický průběh polymerizační reakce je možné ovlivňovat množstvím a strukturou zvoleného katalyzátoru. Katalyzátor je možné přidat v jedné dávce na počátku reakce, nebo je možné jej přidávat postupně v průběhu reakce, například v závislosti na spotřebě a způsobu přidávání monomeru.

Významnou vlastností postupu podle vynálezu je skutečnost, že naprostá většina rostoucích polymerních řetězců nese jednu "živou", reaktivní *N*-acyl-NCA koncovou skupinu, a že tato skupina zůstává přítomna dostatečnou dobu i poté, co byl spotřebován veškerý monomer. Reaktivita této skupiny je možné využít buďto pro cílené ukončení růstu polymerního řetězce a její převedení na jinou, stálou funkční skupinu reakcí s vhodným nukleofilem, nebo pro další polymerizační krok s monomerem jiného typu. Takto, reakcí s bifunkčními nukleofilními činidly, např. diaminoalkany nebo aminoalkanoly, lze připravit poly(AA) s nukleofilní skupinou na C

konci. Touto skupinou může být např. aminoskupina použijeme-li diaminoalkanu, nebo hydroxyskupina použijeme-li diolu nebo aminoalkoholu. V případě bifunkčních činidel obsahujících nejméně dvě ekvivalentní nukleofilní skupiny, např. u diaminoalkanů, lze s výhodou použít jejich monosubstituované deriváty, v kterých je jedna z nukleofilních skupin chráněna proti acylaci polymerem. Příkladem takového činidla jsou chráněné diaminoalkany ze skupiny zahrnující *N*-tBOC-1,2-diaminoethan, *N*-tBOC-1,3-diaminopropan, *N*-tBOC-1,4-diaminobutan, *N*-tBOC-1,5-diaminopentan a *N*-tBOC-1,6-diaminohexan a analogické deriváty s benzyloxykarbonylovou, fluorenylmethyloxykarbonylovou nebo allyloxykarbonylovou chránící skupinou. Jiným vhodným typem nukleofilního činidla jsou α , ω -telechelické polymery obsahující koncové hydroxyskupiny nebo aminoskupiny. Příklady takových činidel lze nalézt ve skupině zahrnující polyethery, jako jsou polyethylenglykol, mono-methoxy-polyethylenoxid, polypropylenglykol, α , ω -diamino(polyethylenoxid), α -methoxy- ω -amino(polyethylenoxid) a α , ω -diamino(polypropylenoxid), α , ω -funkcionalizované polybutadieny, jako jsou α , ω -dihydroxy(polybutadien) a α , ω -diamino(polybutadien). Tyto polymery s α , ω -nukleofilními funkčními skupinami, nebo jejich substituované deriváty s chráněnou jednou z nukleofilních skupin, jsou komerčně dostupné ve variantách s různou molekulovou hmotností nebo je lze připravit známými postupy. Pro postup podle vynálezu je možné použít polyethery v rozmezí molekulových hmotností 300- 120 000, zvláště vhodně v rozmezí 1200 - 30 000, nebo deriváty polybutadienu v rozmezí molekulových hmotností 300-20000, výhodně v rozmezí 600-12 000.

Po reakci s "živou" koncovou skupinou polymeru je možné druhou nukleofilní skupinu navázaného činidla odblokovat některou ze známých reakcí. Vhodnou reakcí je např. reakce s trifluoroctovou kyselinou v případě t-BOC chránící skupiny, nebo s piperidinem v případě Fmoc chránící skupiny, nebo lze použít katalytickou hydrogenaci, jako v případě benzyloxykarbonylové skupiny. Vhodné chráněné deriváty bifunkčních činidel jsou komerčně dostupné, nebo jsou metody jejich přípravy obecně známy v oboru, stejně tak jako metody jejich odblokování.

Takto připravené polymery s nukleofilními funkčními skupinami lze výhodně použít jako meziprodukty pro následné modifikační reakce. O nukleofilních skupinách typu aminoskupiny nebo hydroxyskupiny je známo, že je lze snadno modifikovat využitím acylačních případně alkylačních reakcí. Nukleofilní skupiny mohou například iniciovat polymerizaci NCA a být tak acylovány vznikajícím polymerem, který v tomto případě propaguje aminovým mechanismem.

V jiném případě mohou protické nukleofilní skupiny, jakými jsou uvedené aminy nebo hydroxyskupiny, iniciovat polymerizaci laktonů při použití vhodných katalyzátorů a být tak acylovány vznikajícím polylaktonem (polyesterem).

Kombinací těchto postupů lze připravit hetero telechelické poly(AA) s různými funkčními skupinami na opačných koncích řetězce, nebo blokové kopolymery tvořené segmenty poly(AA) s různým charakterem aminokyselinových strukturních jednotek v jednotlivých blocích, nebo blokové kopolymery tvořené bloky s odlišnou strukturou základního řetězce, například poly(AA) a polyester.

Postupem podle vynálezu lze připravit blokové kopolymery tvořené poly(AA) a polyesterem tak, že poly(AA), nesoucí nukleofilní aminoskupiny nebo hydroxyskupiny na jednom nebo obou koncích polymerního řetězce, připravené řízenou polymerizací podle výše popsaného postupu a následnou modifikací, se použijí jako makromolekulární ko-iniciátory pro roubovací polymerizaci vhodného laktonu.

Vhodným laktonem v duchu tohoto vynálezu může být lakton vybraný ze skupiny zahrnující L-laktid, D,L-laktid, glykolid, ϵ -kaprolakton, butyrolakton, valerolakton, 2,5-dioxepan-on, trimethylenkarbonát, apod.

Vhodnými katalyzátory pro přípravu blokových kopolymerů s polyesterovými bloky jsou katalyzátory obecně známé v oblasti polymerizace laktonů otevřením kruhu. Vhodné příklady takových katalyzátorů lze hledat mezi karboxyláty a alkoxidy přechodových kovů, např. Sn(II)oktanoát, Al-alkoxidy apod. Tyto katalyzátory, stejně tak jako podmínky provedení polymerizace, jsou dostatečně známé v oboru.

Významnou vlastností blokových kopolymerů připravených podle vynálezu je skutečnost, že jsou tvořeny polymerními řetězci rozdílné struktury a fyzikálních vlastností, přičemž všechny složky kopolymeru mohou být odvozeny od látek přírodního původu, jako jsou přírodní aminokyseliny a hydroxykyseliny. Tato skutečnost umožňuje využít polymery podle vynálezu v aplikacích, v kterých je důležité, aby použité látky byly biologicky odbouratelné nebo metabolizovatelné. Takovými aplikacemi jsou např. aplikace v oblasti biomedicínálních materiálů a farmaceutických přípravků.

Uvedeným výkladem byly popsány nejvýznamnější postupy vedoucí k polymerům, které jsou

předmětem vynálezu. Je zřejmé, že kombinací uvedených postupů a postupů všeobecně známých v oboru, je možné vyvodit další varianty, které budou v souladu s předmětným vynálezem. Předmět vynálezu je dále vysvětlen pomocí typických příkladů, aniž by se tím na tyto uvedené příklady omezoval.

Příklady provedení

Příklad 1

N-karboxyanhydrid β -benzyl L-aspartátu (BzlAsp-NCA) (3,0 g, 12 mmol) a *N*-acetyl-Gly-NCA (0,142 g, 1 mmol, připravený podle Dvořák, M., Kandidátská disertační práce, Praha, 1996) byly rozpuštěny v bezvodém dichlorethanu (DCE) (300 ml) a k roztoku byl přidán diisopropylamin (101 mg, 1 mmol). Reakční směs byla míchána za laboratorní teploty a po 30 min byl přidán roztok 2-aminoethanolu (122 mg, 2 mmol) v DCE (50 ml). Po 1 hod byla reakční směs okyselena zředěnou HCl a produkt izolován srážením do směsi methanol/voda. Získaný polymer byl přesrážen z roztoku v dimethylformamidu (DMF) do diethyletheru, promyt a vysušen ve vakuu. Získaný polymer (88 % teoretického výtěžku) byl analyzován pomocí NMR. Zjištěná struktura polymeru odpovídala vzorci 1, v kterém R_1 je metyl, X je atom kyslíku, Y je 2-hydroxyethylaminová skupina a $[A]_n$ je poly(benzyl L-aspartát) o polymerizačním stupni 11 ($n = 11$). Molekulární parametry stanovené pomocí gelové permeační chromatografie (GPC) odpovídaly hodnotám $\bar{M}_w = 2700$, $\bar{M}_n = 2280$, $pd = 1,18$.

Příklad 2

Vzorky poly(Bzl L-Asp) o různé molekulové hmotnosti byly připraveny postupem podle příkladu 1, použitím reakčních směsí s různým poměrem monomer/iniciátor. Monomerem byl BzlAsp-NCA a iniciátorem byl *N*-acetylglycin-NCA. Polymerizační reakce byla zahájena přidáním katalyzátoru, kterým byl dicyklohexylamin, ve stejném molárním množství jako iniciátor. Polymerizační reakce byla ve všech případech ukončena po 2 hod reakce přidáním dvojnásobného molárního množství *t*-butylaminu vzhledem k množství iniciátoru. Polymery byly izolovány srážením do směsi methanol/voda a sušeny ve vakuu. Jejich molekulární parametry

byly stanoveny pomocí GPC. Analýzou aminokyselin a pomocí NMR byl stanoven poměr glycinových jednotek pocházejících od iniciátoru a t-butylových jednotek pocházejících z terminační reakce vzhledem k jednotkám Bzl-Asp. V Tabulce 1 jsou uvedeny údaje o složení polymerizační směsi a molekulárních parametrech výsledných polymerů, dokumentující, že molekulární parametry získaných polymerů je možné dobře regulovat v závislosti na poměru monomer/iniciátor. Poměry Gly/Asp a t-butyl/Gly naznačují, že získané polymery jsou převážně tvořeny řetězci obsahujícími glycinovou strukturní jednotku na jednom konci a t-butylovou skupinu na konci druhém.

Tabulka 1. Závislost molekulárních parametrů poly(Bzl L-Asp) na molárním poměru Bzl-Asp-NCA a *N*-acetylglycin-NCA ($[M]/[I]$) v reakční směsi. Sloupec "konverze monomeru" udává hodnotu konverze monomeru v % v okamžiku ukončení reakce.

$[M]/[I]$	konverze monomeru (%)	Gly/Asp	t-bu/Gly	$\bar{M}_w$	$\bar{M}_n$	polydispersita ($\bar{M}_w/\bar{M}_n$)
12	~ 100	11,5	0,92	2700	2280	1,18
25	~ 100	27	0,94	5600	4850	1,15
50	97	49	1,08	10900	9670	1,13
100	96	91	1,10	22650	18900	1,20
200	86	170	0,90	39000	28550	1,37

Příklad 3

Poly(benzyl L-aspartát) podle příkladu 1 (2,28 g, 1 mmol, vzhledem ke koncovým hydroxyethyl skupinám) a D,L-laktid (5 g, 35 mmol) byl vložen do skleněné polymerizační ampule a pod clonou N_2 byl přidán bezvodý dioxan a roztok Sn(II)oktanoátu (0.7 mmol) v dioxanu tak, aby výsledná koncentrace D,L-laktidu byla 1 mol.l^{-1} . Ampule byla uzavřena zatavením pod vakuem a reakční směs zahřívána po dobu 72 hod na teplotu 60°C . Produkt byl izolován přesrážením do směsi methanol/voda. Získaný polymer měl unimodální distribuci molekulových hmotností při

GPC analýze a svým složením odpovídal blokovému kopolymeru typu AB, v kterém blok A je poly(Bzl-Asp) a blok B je tvořen poly(mléčnou kyselinou), přičemž blok B a A jsou spojeny 2-hydroxyethylaminovou skupinou. Struktura blokového kopolymeru tak odpovídá vzorci 1, v kterém R_1 je metyl, X je atom kyslíku, $[A]_n$ je poly(benzyl L-aspartát) o polymerizačním stupni 11 ($n = 11$), Y odpovídá vzorci 3, v kterém Z je NH, Z' je O, R_3 je $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ a P je polymer kyseliny mléčné podle vzorce 4, v kterém R_4 je CHCH_3 a $m = 80$.

Příklad 4

K roztoku NCA benzyl-L-glutamátu (2,63 g, 10 mmol) a NCA *N*-acetylglycinu (14,5 mg, 0,1 mmol) v DCE byl přidán diisopropylamin (19,6 mg, 0,2 mmol). Po 120 minutách reakce při teplotě laboratoře byl do reakční směsi přidán NCA L-phenylalaninu (382 mg, 2 mmol) a diisopropylamin (10 mg, 0,1 mmol). Reakce pokračovala při laboratorní teplotě po další 4 hod a pak byla ukončena přidáním *t*-butylaminu. Polymer byl izolován srážením do diethyletheru, přesrážen z DMF do methanolu a sušen ve vakuu. Analýza složení a molekulové hmotnosti odpovídala blokovému kopolymeru o struktuře $\text{Ac-Gly-[Bzl-Glu]}_{92}\text{-[Phe]}_{16}\text{-N-C(CH}_3)_3$.

Příklad 5

K roztoku NCA dodecyl-L-glutamátu (DDG) (3,41 g, 10 mmol) a NCA *N*-acetylglycinu (29 mg, 0,2 mmol) ve směsi DCE/benzen byl přidán diisopropylamin (20 mg, 0,2 mmol). Po 4 hod reakce při teplotě laboratoře byl do reakční směsi přidán NCA γ -2,2,2-trichlorethyl-L-glutamátu (TCEG) (3,04 g, 10 mmol) a diisopropylamin (20 mg, 0,2 mmol). Reakce pokračovala při laboratorní teplotě po další 4 hod a pak byla ukončena vysrážením polymeru do diethyletheru. Polymerní produkt byl promyt etherem, methanolem a vodou a sušen ve vakuu. Analýza složení odpovídala blokovému kopolymeru o struktuře $\text{Ac-Gly-[DDG]}_{44}\text{-[TCEG]}_{36}$.

Příklad 6

K roztoku NCA benzyl L-glutamátu (6 g, 0,0228 mol) a NCA *N*-BOC-glycinu (Fluka, kat.č.

15428) (0,36 g, 0,0018 mol) v DCE byl přidán diisopropylamin (186 mg, 0,0018 mol). Po 45 minutách reakce při teplotě laboratoře byl přidán mono-*N*-BOC -1,6-diaminohexan (Fluka, kat. č. 15392) (0,7 g) v benzenu a vzniklá reakční směs byla míchána 1 hod při laboratorní teplotě. Produkt reakce byl izolován srážením do methanolu a sušen ve vakuu. Získáno 4,3 g polymeru s úzkou distribucí molekulové hmotnosti ($\bar{M}_w = 4150$, $\bar{M}_n = 3690$, $pd = 1,12$) odpovídající svou strukturou poly(γ -benzyl L-glutamátu) o polymerizačním stupni $P_n = 14$, s jednou koncovou skupinou tvořenou *N*-BOC-1,6-diaminohexanem a druhou koncovou skupinou tvořenou BOC-glycinem.

Příklad 7

Polymer připravený podle příkladu 6 (0,5 g) byl rozpuštěn v DCE a roztok ochlazen na 0 °C. K roztoku bylo přidáno 5 ml kyseliny trifluoroctové a roztok se míchal po dobu 2 hod při 0 °C. Po odpaření rozpouštědla byl zbytek rozpuštěn v chloroformu, vytřepán roztokem NaHCO₃ a vodou a produkt vysrážen do methanolu. Získáno 312 mg polymeru, který je telechelickým kopolymerem benzyl L-glutamátu s jednou koncovou skupinou tvořenou α -aminomethylovou skupinou glycinu a druhou koncovou skupinou tvořenou aminohexylovou skupinou, odpovídající struktuře $\text{H-Gly-[Bzl-Glu]}_{14}\text{-NH-(CH}_2\text{)}_6\text{-NH}_2$.

Příklad 8

K roztoku telechelického polymerního diaminu připraveného podle příkladu 7 (0,14 g, 0,078 mmol NH₂) a L-laktidu (0,62g, 4,32 mmol) v dioxanu byl přidán Sn(II)-oktanoát (0,029 g) a reakční směs byla zahřívána v zatavené polymerizační ampuli v atmosféře bezvodého N₂ po dobu 72 h při teplotě 60 °C. Produkt reakce byl izolován přesrážením do methanolu a sušen ve vakuu. Získaný polymer (výtěžek 94 %) odpovídal složením blokovému kopolymeru typu ABA, v kterém bloky A jsou tvořené poly(mléčnou kyselinou), (PLA) a blok B poly(γ -benzyl-L-glutamátem).

Příklad 9

Blokový kopolymer Ac-Gly-[DDG]₄₄-[TCEG]₃₆ (2 g) připravený podle příkladu 5 byl rozpuštěn v DMF (20 ml), k roztoku byl přidán 2-aminoethanol (980 mg, 16 mmol) a reakční směs byla míchána po dobu 4 hod při laboratorní teplotě. Získaný produkt byl srážen do směsi aceton/voda okyselené HCl, promyt a vysušen. Bylo získáno 1,44 g polymeru jehož složení odpovídalo blokovému kopolymeru tvořenému lipofilním blokem poly(γ -dodecyl-L-glutamátu) a hydrofilním blokem poly[N-(2-hydroxyethyl)-L-glutaminu].

Příklad 10

Blokový kopolymer podle příkladu 8 byl rozpuštěn v DMF a do roztoku byl suspendován palladiový katalyzátor (Pd na aktivovaném uhlí, Fluka) a suspenze byla sycena vodíkem po dobu 72 hod při laboratorní teplotě. Suspendovaný katalyzátor byl odstraněn filtrací, roztok byl okyselen HCl a polymer izolován srážením do směsi methanol/voda. Získaný produkt byl analyzován pomocí NMR a GPC. Složení produktu odpovídalo blokovému kopolymeru typu ABA, v kterém bloky A jsou tvořeny polymerem kyseliny mléčné (PLA) a blok B je tvořen poly(glutamovou kyselinou).

Příklad 11

Poly(benzyl L-aspartát) podle příkladu 1 (2,28 g, 1 mmol, vzhledem ke koncovým hydroxyethyl skupinám) byl vložen do skleněné polymerizační ampule a pod clonou N₂ byl přidán ϵ -kaprolakton (4 g, 35 mmol) a Sn(II)oktanoát (0.7 mmol) v bezvodém dioxanu tak, aby výsledná koncentrace ϵ -kaprolaktonu byla 1 mol.l⁻¹. Ampule byla uzavřena zatavením pod vakuem a reakční směs zahřívána na 60 °C po dobu 72 hod. Produkt byl izolován přesrážením do methanolu. Získaný polymer měl unimodální distribuci při GPC analýze a svým složením odpovídal blokovému kopolymeru typu AB, v kterém blok A je poly(Bzl-Asp) a blok B je polykaprolakton, přičemž bloky A a B jsou spojeny skupinou -O-CH₂-CH₂-NH-.

Příklad 12

K roztoku N_α , N_ϵ -di-benzyloxykarbonyl-lysin-NCA (0,44 g, 0,1 mmol) a NCA N_ϵ -benzyloxykarbonyl-lysinu (6,12 g, 2 mmol) v DCE byl přidán triethylamin (10 mg, 0,1 mmol) a reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě. Po 2 hod byl do reakce přidán 2-aminoethanol (30 mg) a reakční směs ponechána další 4 hod. Produkt byl izolován srážením do methanolu a diethyletheru. Výsledky GPC a NMR analýzy odpovídaly polymeru o struktuře N_α -CBZ- $[N_\epsilon$ -CBZ-Lys] $_{22}$ -NH-CH $_2$ -CH $_2$ -OH.

Příklad 13

Poly(CBZ-lysin) s koncovou hydroxyethylovou skupinou připravený podle příkladu 12 byl použit jako makromolekulární ko-iniciátor v roubovací kopolymerizaci L-laktidu za katalýzy Sn(II)-oktanoátem a analogicky k postupu podle příkladu 3 byl získán blokový kopolymer typu AB, v kterém blok A je tvořen poly(CBZ-Lys) a blok B je tvořen polylaktidem (PLA).

Příklad 14

Blokový kopolymer $[CBZ-Lys]_{22}$ -*block*- $[L-LA]_{72}$ připravený podle příkladu 13 byl hydrogenován v přítomnosti palladiového katalyzátoru. Hydrogenací byly odstraněny chránící benzyloxykarbonylové skupiny v polylysinovém segmentu blokového kopolymeru a byl získán amfifilní blokový kopolymer o složení poly(L-lys)-*block*-poly(L-LA).

Příklad 15

K roztoku NCA β -benzyl-L-aspartátu (2,99 g, 12 mmol) a NCA N_α -FMOC-glycinu (Fluka) (0,32 g, 1 mmol) v bezvodém DCE byl přidán diisopropylamin (0,05 g) a směs ponechána reagovat za míchání při laboratorní teplotě. Po 30 min byl k reakční směsi přidán 2-aminoethanol (0,3 g) a po dalších 3 hod reakce byl produkt izolován vysrážením do methanolu. Získaný polymer byl po vysušení použit jako makromolekulární iniciátor při polymerizaci L-laktidu. Postupem analogickým příkladu 3 byl získán blokový kopolymer typu AB, jehož analýza

odpovídala struktúře N -Fmoc-Gly-[Bzl-Asp]₁₃-NH-CH₂-CH₂-O-[CO-CHCH₃-O]₁₁₂-H.

Příklad 16

Polymer připravený podle příkladu 15 (0,5 g) byl rozpuštěn v DMF (10ml) , roztok byl ochlazen na 0 °C a byly přidány 3 ml piperidinu. Po 30 min reakce při 0 °C byl polymer izolován srážením do etheru. Po vysušení byl získaný polymer (0,210 g) rozpuštěn v bezvodém DMF, přidán N_α , N_δ , N_ϵ -tri-CBZ-arginyl- N -oxy-sukcinimid (0,02 g) a směs ponechána reagovat po dobu 16 hod. V získaném modifikovaném polymeru byl pomocí analyzátoru aminokyselin zjištěn molární poměr arginin:glycin: asparagová kys. = 0.95 : 1 : 12,5, odpovídající modifikovanému kopolymeru o struktúře N_α , N_δ , N_ϵ -tri-CBZ-Arg-Gly-BzlAsp-[Bzl-Asp]_{11,5}-NH-CH₂-CH₂-O-[CO-CHCH₃-O]₁₁₂-H. Katalytickou hydrogenací, analogicky k postupu podle příkladu 14, byl získán amfifilní blokový kopolymer s průměrným složením odpovídajícím struktúře Arg-Gly-Asp-[Asp]_{11,5}-NH-CH₂-CH₂-O-[CO-CHCH₃-O]₉₂-H

Příklad 17

Amfifilní blokový kopolymer připravený podle příkladu 9 byl rozpuštěn v N,N -dimethylacetamidu (1% roztok) a dialyzován proti vodě přes dialyzační membránu (Visking Dialysis Tubing, Serva, Heidelberg, SRN). Po oddialyzování organického rozpouštědla došlo k asociaci molekul blokového kopolymeru ve vodném prostředí a byl získán micelární roztok blokového kopolymeru. Z měření metodou dynamického rozptylu světla byl stanoven hydrodynamický poloměr micelárních částic ($R_H = 62$ nm).

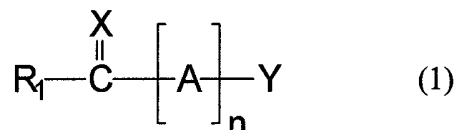
Příklad 18

Blokový kopolymer připravený podle příkladu 10 byl rozpuštěn v chloroformu (1 mg / ml) a roztok nanesen na vodní hladinu v přístroji vybaveném posuvným omezovačem plochy vodní hladiny a tlakovým čidlem (Lauda). Pomocí tlakového čidla byl zaznamenán průběh povrchového napětí v závislosti na stlačení molekulární vrstvy na rozhraní voda/vzduch.

Zaznamenaný průběh je charakteristický pro Langmuierovské molekulární vrstvy. Analýzou této závislosti, pomocí elektronové mikroskopie filmu vytvořeného přenesením monomolekulární vrstvy z vodní hladiny na mica podložku a na základě měření povrchových vlastností naneseného filmu bylo zjištěno, že blokový kopolymer vytváří orientovanou monomolekulární vrstvu, v které hydrofilní segmenty kopolymeru, t.j. poly(Asp), jsou orientovány do vodného prostředí a hydrofobní řetězce (PLA) blokového kopolymeru vytvářejí vrstvu paralelně uspořádaných segmentů.

PATENTOVÉ NÁROKY

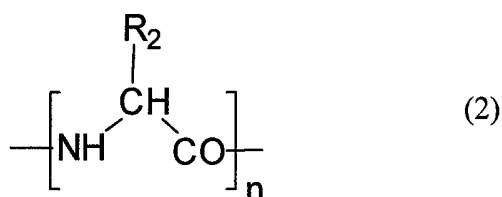
1. Funkcionalizované polymery α -aminokyselin podle obecného vzorce 1,



v kterém X je atom kyslíku nebo síry,

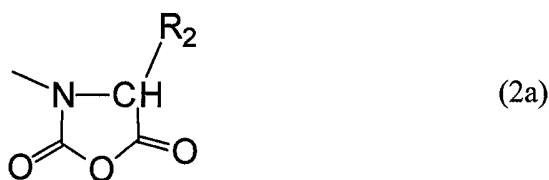
R_1 je radikál ze skupiny zahrnující C1 - C20 alkyl, C2-C20 alkenyl, substituovaný alkyl aryl nebo substituovaný aryl,

struktura $[A]_n$ představuje řetězec poly(aminokyseliny) tvořený jedním typem nebo kombinací více typů strukturních jednotek α -aminokyselin, případně derivátů α -aminokyselin s vhodně chráněnými funkčními skupinami v bočních řetězcích, spojených peptidickými vazbami způsobem podle vzorce 2,



v kterém R_2 představuje zbytek příslušné α -aminokyseliny nebo jejího derivátu, přičemž index n znamená celkový počet aminokyselinových strukturních jednotek v řetězci a může nabývat hodnot v rozmezí 1 až 500,

Y je buďto OH, nebo struktura obecného vzorce 2a,



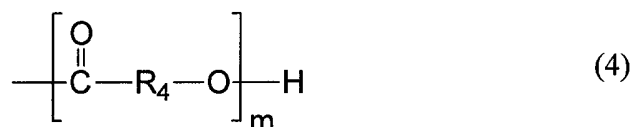
v kterém R_2 je H nebo zbytek aminokyseliny ze skupiny zahrnující α -aminokyseliny a jejich deriváty uvedené výše, nebo je Y struktura obecného vzorce 3,



v kterém Z a Z' je NH nebo O,

R₃ je chemická struktura ze skupiny zahrnující C2 až C20 alkyl, substituovaný alkyl, aryl nebo substituovaný aryl nebo polymerní řetězec ze skupiny zahrnující polyethylenoxid, polypropylenoxid a polybutadien,

P je atom vodíku, nebo acyl odvozený od karboxylové kyseliny ze skupiny zahrnující alkanové kyseliny, kys. jantarovou, maleinovou, akrylovou, methakrylovou, ftalovou a cyklohexandikarboxylovou, nebo acyl ze skupiny zahrnující látky obecného vzorce 4,



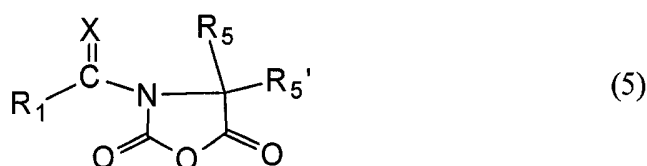
v kterém R₄ je vybráno ze skupiny zahrnující C1 až C5 alkyl, CH₂-O-CH₂-CH₂, CH₂-O-CH₂-CH₂-CH₂ a O-(CH₂)₃-O, přičemž R₄ může být stejné ve všech strukturních jednotkách nebo různé a index m značí celkový počet strukturních jednotek a může nabývat hodnot v rozmezí 2 - 800.

2. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že struktura [A]_n představuje řetězec polyaminokyselin, tvořený strukturními jednotkami α-aminokyselin vybraných jednotlivě nebo v kombinaci ze skupiny α-aminokyselin zahrnující glycin, alanin, valin, leucin, isoleucin, fenylalanin, tryptofan, threonin, methionin, lysin, ornithin, arginin, histidin, serin, asparagin, glutamin, tyrosin, cystein, kyselinu asparagovou, kyselinu glutamovou, kyselinu 2,3-diaminopropionovou, kyselinu 2,4-diaminomáseľnou, jejich analogy a substituované deriváty.
3. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že nejméně jedna ze strukturních jednotek α-aminokyselin tvořících strukturu [A]_n je vybrána ze skupiny zahrnující β-alkylestery a β-alkylamidy kyseliny asparagové, přičemž alkylem je alkyl ze skupiny zahrnující C1-C18 alkyly a substituované alkyly.

4. Polymery podle nároku 3, vyznačené tím, že nejméně jedna ze strukturních jednotek α -aminokyselin tvořících strukturu $[A]_n$ je vybrána ze skupiny zahrnující β -methylasspartát, β -cholesterylasspartát, β -t-butylaspartát, β -benzylaspartát, β -allylaspartát a β -(2,2,2-trichloroethyl)aspartát, *N*-(2-hydroxyethyl)asparagin, *N*-hydroxypropyl-asparagin, *N*-hydroxybutylasparagin.
5. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že nejméně jedna ze strukturních jednotek α -aminokyselin tvořících strukturu $[A]_n$ je vybrána ze skupiny zahrnující γ -alkylestery a γ -alkylamidy kyseliny glutamové, přičemž alkylem je alkyl ze skupiny zahrnující C1-C18 alkyly a substituované alkyly.
6. Polymery podle nároku 5, vyznačené tím, že nejméně jedna ze strukturních jednotek α -aminokyselin tvořících strukturu $[A]_n$ je vybrán ze skupiny zahrnující γ -methylglutamát, γ -cholesterylgutamát, γ -t-butylglutamát, γ -allylglutamát, γ -benzylglutamát a γ -(2,2,2-trichloroethyl)glutamát, *N*-(2-hydroxyethyl)glutamin, *N*-hydroxypropyl-glutamin, *N*-hydroxybutylglutamin.
7. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že nejméně jedna ze strukturních jednotek α -aminokyselin tvořících strukturu $[A]_n$ je vybrána ze skupiny α -aminokyselin zahrnující *N*_ε-t-butyloxykarbonyl-L-lysin, *N*_ε-benzyloxykarbonyl-L-lysin, *N*_ε-allyloxykarbonyl-L-lysin, *N*_ε-ftalimido-L-lysin, *N*_δ-t-butyloxykarbonyl-ornithin, *N*_δ-benzyloxykarbonyl-ornithin, *N*_δ-allyloxykarbonyl-ornithin, *N*_δ-ftalimido-ornithin, *N*_γ-t-butyloxykarbonyl-2,4-diaminomásečná kyselina, *N*_γ-benzyloxykarbonyl-2,4-diaminomásečná kyselina, *N*_γ-allyloxykarbonyl-2,4-diaminomásečná kyselina, *N*_γ-ftalimido-2,4-diaminomásečná kyselina, *N*_β-t-butyloxykarbonyl-2,3-diaminopropionová kyselina, *N*_β-benzyloxykarbonyl-2,3-diaminopropionová kyselina, *N*_β-allyloxykarbonyl-2,3-diaminopropionová kyselina, *N*_β-ftalimido-2,3-diaminopropionová kyselina.
8. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že nejméně jedna ze strukturních jednotek α -aminokyselin tvořících strukturu $[A]_n$ je vybrána ze skupiny α -aminokyselin zahrnující arginin nebo derivát argininu substituovaný na guanidinové skupině, s výhodou *N*_δ,*N*_ε-bis-benzyloxykarbonyl-L-arginin.
9. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že nejméně jedna ze strukturních jednotek

α -aminokyselin tvořících strukturu $[A]_n$ je vybrána ze skupiny α -aminokyselin zahrnující serin nebo derivát serinu se substituovanou hydroxyskupinou, svýhodou O-t-butylserin, O-benzylserin, O-trifenylmethylserin, nebo O-allylserin.

10. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že R_1 je radikál ze skupiny zahrnující substituované alkyly, alkenyly, aryly a arylalkyly, s výhodou ze skupiny zahrnující methyl, allyl, fenyl, 4-nitrofenyl, 3,5-dinitrofenyl, benzyl, benzyloxyl, t-butoxyl, allyloxyl a 9-fluorenylmethoxyl.
11. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že P je polymerní acyl ze skupiny zahrnující poly(L-laktid), poly(D,L-laktid), kopolymery typu poly(L-laktid-*stat*-D,L-laktid), polyglykolid, kopolymery typu poly(laktid-*stat*-glykolid), poly(ϵ -kaprolakton) a kopolymery obsahující strukturní jednotky odvozené od ϵ -kaprolaktonu v kombinaci se strukturními jednotkami odvozenými od laktidu nebo glykolidu.
12. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že jeho struktura odpovídá vzorci 1, v kterém seskupení $R_1-(C=X)-$ je nahrazeno atomem vodíku.
13. Způsob přípravy polymerů podle nároku 1 vyznačený tím, že směs monomerů, kterým je jednotlivě nebo v kombinaci *N*-karboxyanhydrid (NCA) α -aminokyseliny, báze kyseliny, katalyzátoru a iniciátoru, kterým je látka vybraná ze skupiny látek obecného vzorce 5,



v kterém X je atom kyslíku nebo síry, R_1 je radikál ze skupiny zahrnující C1 - C20 alkyl, C2-C20 alkenyl, substituovaný alkyl, aryl nebo substituovaný aryl, arylalkyl a substituovaný arylalkyl, R_5 je atom vodíku, nebo alkyl ze skupiny zahrnující C1-C5 alkyly, $R_{5'}$ je atom vodíku nebo nebo alkyl ze skupiny zahrnující C1-C5 alkyly, aryl, arylalkyl a substituovaný alkyl, přičemž molární poměr monomer/iniciátor je v rozmezí 2 - 1000, s

výhodou v rozmezí 5- 300, a molární poměr monomer/katalyzátor je v rozmezí 1 - 500, s výhodou v rozmezí 5-300, se reaguje ve prostředí aprotického rozpouštědla po dobu potřebnou k provedení reakce a vzniklý polymerní produkt může být podle potřeby buďto konečným produktem přípravy, nebo meziproduktem pro další reakční kroky, zahrnující následné modifikační reakce koncových funkčních skupin a funkčních skupin v bočních řetězcích polymeru.

14. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že nejméně jedním z monomerů použitých jednotlivě nebo v kombinaci je *N*-karboxyanhydrid (NCA) α -aminokyseliny ze skupiny zahrnující glycin, alanin, valin, leucin, isoleucin, fenylalanin, tryptofan, methionin a jejich analogy a substituované deriváty.
15. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že nejméně jedním z monomerů použitých jednotlivě nebo v kombinaci je *N*-karboxyanhydrid (NCA) α -aminokyseliny ze skupiny zahrnující deriváty kyseliny asparagové, glutamové, lysinu, ornithinu, argininu, serinu, histidinu a tyrosinu s chráněnými funkčními skupinami.
16. Způsob přípravy podle nároku 15, vyznačený tím, že nejméně jedním z monomerů použitých jednotlivě nebo v kombinaci je (NCA) α -aminokyseliny ze skupiny zahrnující β -alkylestery a β -alkylamidy kyseliny asparagové, přičemž alkylem je alkyl ze skupiny zahrnující C1-C18 alkyly a substituované alkyly.
17. Způsob přípravy podle nároku 16, vyznačený tím, že nejméně jedním z monomerů použitých jednotlivě nebo v kombinaci je (NCA) α -aminokyseliny ze skupiny zahrnující β -terc-butylaspartát, β -cholesteryl aspartát, β -allylaspartát, β -benzylaspartát a β -(2,2,2-trichlorethyl)aspartát.
18. Způsob přípravy podle nároku 15, vyznačený tím, že nejméně jedním z monomerů použitých jednotlivě nebo v kombinaci je *N*-karboxyanhydrid (NCA) α -aminokyseliny ze skupiny zahrnující γ -alkylestery a γ -alkylamidy kyseliny glutamové, přičemž alkylem je alkyl ze skupiny zahrnující C1-C18 alkyly a substituované alkyly.
19. Způsob přípravy podle nároku 18, vyznačený tím, že nejméně jedním z monomerů použitých jednotlivě nebo v kombinaci je *N*-karboxyanhydrid (NCA) α -aminokyseliny ze

skupiny zahrnující γ -methylglutamát, γ -ethylglutamát, γ -dodecylglutamát, γ -cholesterylglutamát, γ -allylglutamát, γ -terc-butylglutamát, γ -benzylglutamát a γ -(2,2,2-trichlorethyl)glutamát.

20. Způsob přípravy podle nároku 15, vyznačený tím, že nejméně jedním z monomerů použitých jednotlivě nebo v kombinaci je *N*-karboxyanhydrid (NCA) α -aminokyseliny ze skupiny zahrnující N_ϵ -t-butyloxykarbonyl-L-lysin, N_ϵ -benzyloxykarbonyl-L-lysin, N_ϵ -allyloxykarbonyl-L-lysin, N_ϵ -ftalimido-L-lysin, N_δ -t-butyloxykarbonyl-ornithin, N_δ -benzyloxykarbonyl-ornithin, N_δ -allyloxykarbonyl-ornithin, N_δ -ftalimido-ornithin, N_γ -t-butyloxykarbonyl-2,4-diaminomásečná kyselina, N_γ -benzyloxykarbonyl-2,4-diaminomásečná kyselina, N_γ -allyloxykarbonyl-2,4-diaminomásečná kyselina, N_γ -ftalimido-2,4-diaminomásečná kyselina, N_β -t-butyloxykarbonyl-2,3-diaminopropionová kyselina, N_β -benzyloxykarbonyl-2,3-diaminopropionová kyselina, N_β -allyloxykarbonyl-2,3-diaminopropionová kyselina, N_β -ftalimido-2,3-diaminopropionová kyselina.
21. Způsob přípravy podle nároku 15, vyznačený tím, že nejméně jedním z monomerů použitých jednotlivě nebo v kombinaci je *N*-karboxyanhydrid (NCA) N_δ, N_ϵ -bis-benzyloxycarbonyl-L-argininu.
22. Způsob přípravy podle nároku 15, vyznačený tím, že nejméně jedním z monomerů použitých jednotlivě nebo v kombinaci je *N*-karboxyanhydrid (NCA) α -aminokyseliny ze skupiny zahrnující O-allyl-L-serin, O-t-butyl-L-serin, O-trifenylnmethyl-L-serin a O-benzyl-L-serin.
23. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že iniciátorem je látka obecného vzorce 5, ve kterém R_1 je radikál ze skupiny zahrnující alkyly, substituované alkyly, alkenyly, aryly a arylalkyly.
24. Způsob přípravy podle nároku 23, vyznačený tím, že iniciátorem je látka obecného vzorce 5, v kterém R_1 je vybráno ze skupiny zahrnující methyl, fenyl, 4-nitrofenyl, 3,5-dinitrofenyl, benzyl, benzyloxyl, t-butoxyl, allyloxyl a 9-fluorenylmethoxyl.
25. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že iniciátorem je látka obecného vzorce 5, v kterém R_5 je H a R_5' je radikál ze skupiny zahrnující 2-(benzyloxykarbonyl)ethyl, (benzyloxykarbonyl)methyl, 2-(t-butyloxykarbonyl)ethyl, (t-butyloxykarbonyl)methyl, 4-

(t-butyloxykarbonylamido)butyl, 4-(benzyloxykarbonylamido)butyl, 3-(benzyloxykarbonylamido)propyl, 2-(trifenylmethoxy)methyl, 2-(t-butoxy)methyl, 2-(benzyloxy)methyl, 2-(allyloxy)methyl.

26. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že iniciátorem je látka obecného vzorce 5, v kterém R_5 i R_5' jsou H.
27. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že katalyzátorem je látka ze skupiny zahrnující terciární aminy a stericky bráněné sekundární aminy.
28. Způsob přípravy podle nároku 27, vyznačený tím, že katalyzátorem je látka nebo kombinace látek ze skupiny zahrnující triethylamin, tributylamin, diisopropylamin, dicyklohexylamin a N-methylmorfolin.
29. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že potřebné množství katalyzátoru je do polymerizační směsi tvořené monomerem a iniciátorem přidáno v jedné dávce na počátku reakce. .
30. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že katalyzátor je do polymerizační směsi přidáván opakovaně nebo postupně v průběhu reakce.
31. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že potřebné množství monomeru, jednoho typu nebo v kombinaci více typů, je do polymerizační směsi přidáno v jedné dávce na počátku reakce.
32. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že monomer je do polymerizační směsi přidáván opakovaně nebo průběžně v různých fázích reakce, přičemž může jít o tentýž monomer nebo o monomery různé struktury.
33. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že polymerizační reakce je ve zvolené fázi konverze monomeru ukončena přidáním nukleofilního činidla obsahujícího nejméně jednu volnou aminoskupinu nebo hydroxyskupinu.
34. Způsob přípravy podle nároku 33, vyznačený tím, že nukleofilním činidlem je amin vybraný ze skupiny zahrnující diaminoalkany, chráněné diaminoalkany a aminoalkanoly.
35. Způsob přípravy podle nároku 34, vyznačený tím, že nukleofilním činidlem je amin

vybraný ze skupiny zahrnující 1,2-diaminoethan, 1,3-diaminopropan, 1,4-diaminobutan, 1,5-diaminopentan a 1,6-diaminohexan, *N*-tBOC-1,2-diaminoethan, *N*-tBOC-1,3-diaminopropan, *N*-tBOC-1,4-diaminobutan, *N*-tBOC-1,5-diaminopentan a *N*-tBOC-1,6-diaminohexan.

36. Způsob přípravy podle nároku 34, vyznačený tím, že nukleofilním činidlem je látka vybraná ze skupiny zahrnující 2-aminoethanol, 3-aminopropanol, 4-aminobutanol.
37. Způsob přípravy podle nároku 33, vyznačený tím, že nukleofilním činidlem je polyether ze skupiny zahrnující polyethylenglykol, mono-methoxy-polyethylenglykol, α,ω -diamino(polyethylenoxid) a α -methoxy- ω -amino(polyethylenoxid) o molekulové hmotnosti v rozmezí 300 - 120000, výhodně v rozmezí 1200 - 30 000.
38. Způsob přípravy podle nároku 33, vyznačený tím, že nukleofilním činidlem je látka vybraná ze skupiny zahrnující telechelicky funkcionalizované deriváty polybutadienu, zejména dihydroxy-polybutadien, diamino-polybutadien, a jejich substituované deriváty, o molekulové hmotnosti v rozmezí 300 - 20000, výhodně v rozmezí 600 - 12 000.
39. Způsob přípravy podle nároku 33 a 34, vyznačený tím, že získaný polymer obsahující koncovou volnou aminoskupinu nebo hydroxyskupinu je použit jako makromolekulární ko-iniciátor pro roubovací kopolymerizaci laktonů.
40. Způsob přípravy podle nároku 39, vyznačený tím, že lakton pro roubovací kopolymerizaci je vybrán jednotlivě nebo v kombinaci ze skupiny zahrnující glykolid, L-laktid, D,L-laktid, ϵ -kaprolakton, 1,4-dioxan-2-on, 1,5-dioxepanon a trimethylenkarbonát.
41. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že *n* je zvoleno v rozmezí 3 - 200.
42. Polymery podle nároku 1, vyznačené tím, že *m* je zvoleno v rozmezí 8 - 300.
43. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že poměr monomer/iniciátor je zvolen v rozmezí 3-200.
44. Způsob přípravy podle nároku 13, vyznačený tím, že poměr monomer/katalyzátor je zvolen v rozmezí 3-200.