



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

217739

(11)

(B1)

(22) Přihlášeno 17 04 81
(21) (PV 2341-81)

(40) Zveřejněno 28 05 82

(45) Vydáno 15 02 85

(51) Int. Cl.³
C 07 C 103/52
C 08 G 65/48
C 08 G 13/83
C 03 G 69/48

(75)

Autor vynálezu

MASAR BOHUMIL ing. CSc., ČEFELÍN PAVEL ing. DrSc., PRAHA

(54) Alternující blokové kopolymery syntetických polypeptidů
s lineární strukturou

1

2

Předmětem vynálezu jsou alternující blokové kopolymery syntetických polypeptidů s lineární strukturou typu $(A-B)_n$, kde $n \leq \infty$ a kde A je polypeptidový segment a B je stejný nebo různý segment syntetického polyétheru, polyurethanu nebo polyamidu, kde molekulová hmotnost polypeptidových segmentů se pohybuje v rozmezí 600 až 10 000.

Alternující blokové kopolymery peptidů podle vynálezu je možno použít v obalové technice, u spotřebního zboží a v neposlední řadě i pro polymerní lékařské pomůcky, protézy, implantáty apod. Přítomnost peptidických jednotek s prostorovou konfigurací L — je základní podmínkou pro to, aby daný materiál byl citlivý k biodegradaci účinkem rostlinných a živočišných organismů.

Vynález se týká alternujících blokových kopolymerů syntetických polypeptidů s lineární strukturou.

Syntetické polypeptidy jsou materiálem, který jak svým složením, tak i vlastnostmi stojí nejbližší přírodním materiálům, jako je vlna, hedvábí anebo kolagen. Dnes jsou získávány polymerací N-karboxyanhydridů α -aminokyselin a v některých zemích jsou vyráběny pro komerční i výzkumné účely. Vlastnosti syntetických polypeptidů z různých aminokyselin jsou podrobně prozkoumány a některé z nich jsou velmi dobrými materiály pro výrobu kvalitních vláken, filmů a umělé kůže.

Syntetické pepity, obsahující jako monomerní jednotky L-isomery α -aminokyselin, mají kromě různých vhodných technických vlastností jednu specifickou vlastnost, která chybí u ostatních technických polymerů. Je to biodegradabilita, zaručená přítomností jednotek selektivně štěpitelných enzymovým aparátem živých organismů. Z toho plyne velká potenciální možnost aplikace v medicíně, farmakologii a tam, kde jde o znečištění prostředí plastickými hmotami.

V patentové a vědecké literatuře nalézáme řadu aplikací syntetických polypeptidů z N-karboxyanhydridů aminokyselin (dále NCA), kdy jsou známé polymery modifikovány kopolymerací s N-karboxyanhydridy. Takovým způsobem se modifikují např. polyurethany, resp. polyétery a polyepoxydy, jak uvádí literatura: Fujimoto Y., Masumura I., Tatsukawa K., Koshimoto S. a Doiuchi T.: Ger. Offen. 2, 117, 982/28. 10. 1971; Fujimoto Y., Teranishi M.: Ger. Offen. 2, 124, 042 (2. 12. 1971, Kyowa Fermentation Industrial Co.); Tojima H., Hasegawa Y., Minami T.: Japan. Kokai 72 42,991 (28. 12. 1972, Toyoba Co.); Kajiyama S., Nakanishi T., Kusushita T.: Japan. 74 41,118 (25. 8. 1970, Matsushita Electric Industrial Co.); Hoshizumi S., Nakagoe Y.: Japan 73 23,882 (17. 7. 1973, Honey Chemicals), s cílem získat materiály s kožovitými vlastnostmi, vhodným omakem a vodopropustností. Takto byly modifikovány i jiné materiály, např. vinylické polymery, přičemž polypeptidy byly připojeny chemickou vazbou jako rouby [Kinoshita N.: Japan Kokai 75 12,189 (7. 2. 1975 Mitsubishi Monsanto Chem. Co.); Ebihara S., Akata A.: Japan Kokai 76 26,997 (5. 5. 1976, Agency of Ind. Sciences). Syntetické polypeptidy byly aplikovány i ve formě kopolymerů, a významným typem jsou kopolymery blokové. Dosud známé blokové kopolymery peptidů byly připraveny polymerizací N-karboxyanhydridů aminokyselin v přítomnosti makroiniciátorů nesoucích jednu koncovou aminoskupinu (Perly A., Douy A., Gallot B.: Makromol. Chem. 1976, 177, 2569; Douy A., Gallot B.: Polym. Eng. Sci. 1977, 17, 523; Vlasov G. P., Rudkovskaya G. D., Ovsjannikova L. A., Baranovskaja I. A., Sokolova T. A., Uljanova N. N., Šestova N. V.: Vysokomol. Soed. 1980,

22B, 216] případně i zčásti dvě koncové aminoskupiny [Nakajima A., Hayashi T., Kugo K., Shinoda K.: Macromolecules 1979, 12, 840; Nakajima A., Kugo K., Hayashi T.: Macromolecules 1979, 12, 844; Nakajima A., Kugo K., Hayashi T., Sato H.: Biomedical Polymers, Academic Press 1980, 243 až 274]. Zejména posledně uvedené práce míří k bioaplikaci syntetických blokových kopolymerů peptidů. Existuje řada prací o chování syntetických polypeptidů implantovaných do živého organismu a výsledky se jeví nadějně z hlediska snášenlivosti i postupného nahrazení tkání. (Je třeba zdůraznit, že makroiniciátory obohacené částicemi nesoucími dvě aminoskupiny, které uvádí ve výše zmíněných pracích A. Nakajima a spolupracovníci, nebyly kvantitativně analyzovány na poměr monofunkčních a dvojfunkčních částic. Připravit čistě dvojfunkční polypeptidový makroiniciátor pouhou polymerací N-karboxyanhydridů α -aminokyselin je nemožné, protože vždy vznikají též jiné koncové skupiny — viz H. Sekiguchi: Pure and Applied Chemistry 53, 1689 až 1714 (1981/).

Známé kopolymery peptidů jsou typu A—B nebo A—B—A, kde A je polypeptidový segment, a jen velmi zřídka po pracné laboratorní separaci byly získány blokové kopolymery peptidů, které by byly jednotného typu.

Předmětem vynálezu jsou alternující blokové kopolymery syntetických polypeptidů s lineární strukturou typu $(A—B)_n$, kde $n \geq 2$ a kde A je polypeptidový segment a B je segment syntetického polyéteru, polyurethanu nebo polyamidu, kde molekulová hmot. polypeptidových segmentů se pohybuje v rozmezí 600 až 10 000.

Významem vynálezu je dále to, že jednotlivé segmenty B v kopolymerních řetězcích jsou zvoleny ze skupiny zahrnující segmenty více druhů.

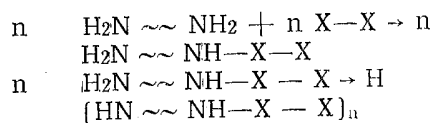
U blokových kopolymerů podle vynálezu je jeden ze segmentů A a B tvořen řetězcem α -aminokyselin, které mohou být buď přírodní nebo syntetické. Druhý ze segmentů by mohl být složen též z aminokyselinových jednotek, a jeho odlišnost od segmentu pravého by mohla spočívat v jiném druhu aminokyselin, ale i v jejich počtu a sekvenci. Struktura bloků A a B nemusí být totiž jednotná, nýbrž mohou být tvořeny kopolymery, a to jak statistickými, tak i alternujícími, resp. i blokovými. Významný případ však nastane tehdy, když druhý z bloků není polypeptid, ale jiný polymerní nebo i oligomerní blok jiného syntetického polymeru.

Podobný typ alternujících kopolymerů s polypeptidovou složkou byl dosud neznám.

Alternující blokové kopolymery syntetických peptidů podle vynálezu lze připravit z telechelických polypeptidů, jejichž způsob přípravy je předmětem čs. autorského osvědčení č. 217 238.

Předmětem citovaného československého autorského osvědčení číslo 217 238 jsou lechelické polypeptidy a kopolypeptidy, to je dvojfunkční peptidové polymery s koncovými reaktivními skupinami, v daném případě zakončeny primárními a nebo sekundárními aminoskupinami, to znamená jsou např. typu $\text{H}_2\text{N} \sim \text{NH}_2$, kde vlnovka znázorňuje oligo- nebo polypeptidový řetězec.

Telechelické polypeptidy, připravené podle čs. autorského osvědčení č. 217 238 je možno s výhodou využít k přípravě blokových kopolymerů alternujícího typu, např. polyaddicí s jinými dvojfunkčními prepolymerem zakončenými vhodnými koncovými skupinami, schopnými reagovat a aminoskupinami podle schémat



přičemž výsledný produkt je kopolymerem typu $(\text{A}-\text{B})_n$, (Poznámka: v uvedeném schématu je vodíkový atom na původně koncové aminoskupině telechelického polypeptidu vázán v segmentu $\text{X}-\text{X}$, za předpokladu polyaddiční reakce. Proto není ve schématu po reakci vyznačen).

Složení druhého bloku souvisí s možností přípravy rozpustných nebo s výhodou kapalných polymerů se skupinami, které reagují rychle a pokud možno do vysokého stupně konverze s aminoskupinami za vzniku kovalentní chemické vazby. Takovou podmínku splňují například polyethery a jiné kondenzační polymery, do nichž je možno zavést isokyanátové koncové skupiny, a které se běžně užívají v technologii polyurethanů a polymočovin. Takovou podmínku však splňují i jiné polymery připravené polykondenzací. Příkladem mohou být polyamidy. S výhodou lze při jejich přípravě využít roztokové nebo mezifázové kondenzace dikarboxylových kyselin, jako například kyseliny adipové, s diaminy, jako je např. hexamethylendiamin. Při takové polykondenzaci jsou již přítomny koncové acylchloridové skupiny, vhodné pro ukotvení polyamidového bloku. Provede-li se příprava polyamidového „prepolymeru“ přímo „in situ“ v přítomnosti telechelického polypeptidu, dojde současně i k tvorbě blokového kopolymeru.

Jiným nárokováným typem blokového alternujícího kopolymeru peptidů jsou takové kopolymery, kde struktura druhého bloku není jednotná a pravidelná, jak znázorňuje příklad pro polyurethan s peptidovou složkou.

Alternující blokové kopolymery peptidů je možno podle jejich primární struktury považovat za řetězce syntetických polymerů, pravidelně přerušované peptidickými můstky. Tento specifický rys jejich struktury má význam z hlediska aplikace syntetických

polymerů v obalové technice, u spotřebního zboží a v neposlední řadě i pro polymerní lékařské pomůcky, protézy, implantáty a podobně. Přítomnost peptidických jednotek s prostorovou konfigurací L — je základní podmínkou pro to, aby daný materiál byl citlivý k biodegradaci účinkem rostlinných a živočišných organismů. Tento druh degradace se vyznačuje vysokou selektivitou i rychlostí a je podmíněn účinkem enzymů. Technickým syntetickým polymerům selektivní štěpitelnost chybí a výrobky z nich jsou po opotřebení často obtížným balastem, který zamožuje přírodu. Alternující blokové kopolymery polypeptidů definované struktury a obsahující aminokyseliny s L-konfigurací mohou tedy významně přispět k řešení ekologických problémů. Pro dosažení významného efektu v tomto smyslu může být dostačující i malý hmotnostní podíl polypeptidu v blokovém kopolymeru, čehož se lehce dosáhne tím, že molekulová hmotnost druhé složky kopolymeru je vyšší nežli u složky polypeptidové.

Limitní viskozitní číslo (vnitřní viskozita) $[\eta]$ je v následujících příkladech udáváno v dl/g.

Příklad 1

Blokový kopolymer polypeptidového „prepolymeru“ s poly(oxyethylenovým) „prepolymerem“.

0,40 g kopolymeru D,L-fenylalaninu s L-leucinem $[-\text{NH}_2] = 2,558 \text{ mol/kg}$ a 0,495 gramu poly(oxyethylenu), [obsahujícího 2,065 mol/kg isokyanátových koncových skupin připraveného z poly(oxyethylenu) (běžně nazývaného též: polyethylenglykol) m. hmotnosti 600 a hexamethylendiisokyanátu při molárním poměru $[-\text{NCO}]/[-\text{OH}]$ 2:1 a 60 °C po dobu 40 hodin; $[\eta] = 0,13$ dichloroctová kyselina (DCA), 25 °C] bylo vysušeno 16 hod. při tlaku 0,07 Pa . s při 25 °C a rozpuštěno v 14 ml chloroformu zbaveného kyselých nečistot a stop vody. Po 6 hodinách reakce v přítomnosti 0,66 μl dibutylcindilaurátu při 25 °C za vyloučení vzdušné vlhkosti byl čirý roztok zfiltrován a volně odpařen na skleněné misce po dobu 48 hodin, odparek extrahován 3krát 4 hodiny při 40 °C cyklohexanem a vysušen při 50 °C ve vakuu do konstantní hmotnosti.

Takto získaný vzorek byl extrahován vodou 3krát 2 hodiny při 40 °C a nerozpuštěný podíl ve formě pevné ohebné fólie vážil 0,891 g a obsahoval 44,8 hmot. procent polypeptidové složky. Vnitřní viskozita $[\eta]$ tohoto alternujícího blokového kopolymeru činila 6,89 (DCA, 25 °C). Při rovnovážném nabobtnání obsahoval vzorek 12,1 hmot. % vody (25 °C).

Příklad 2

Blokový kopolymer z telechelického poly(D,L-fenylalaninu-co-L-leucinu) s poly(oxyethylenem) 0,379 g peptidového kopolymeru, $[-\text{NH}_2] =$

= 2,558 mol/kg, a 2,647 g poly(oxyethylenového) „prepolymeru“ s isokyanátovými skupinami (připraveného v poly(oxyethylenu) m. hmotnosti 4000 reakcí s hexamethylen-diisokyanátem při výchozím molárním poměru —NCO a —OH skupin 2 : 1 při 60 °C/40 hodin a obsahujícího 0,353 mol NCO/kg [η = 0,42] bylo rozpuštěno v 32 ml chloroformu. Reakce při 25 °C po dobu 72 hodin byla provedena v uzavřené nádobě pod dusíkem. Hustý a čirý reakční roztok byl zpracován stejně jako reakční směs v příkladu 1 a bylo získáno 3,020 g blokovaného kopolymeru, který je rozpustný ve vodě a má vnitřní viskozitu 4,93 (DCA, 25 °C).

Příklad 3

Polyurethan z telechelického poly(L-alaninu- $\text{co-}\gamma$ -benzyl-L-glutamátu). 8,74 g poly(oxytetramethylenu) s koncovými —OH skupinami o mol. hmotnosti 1000, vnitřní viskozity 0,10 (DCA, 25 °C), bylo zahříváno na 80 °C v atmosféře dusíku za přídavku 2,97 gramu hexamethylen-diisokyanátu po dobu 5 hodin. Po ochlazení bylo přidáno 30 g dichlormethanu, 3 g 3,6-dioxa-1,8-oktandiolu a 2 g telechelického kopolymeru L-alaninu a γ -benzyl-L-glutamátu, [—NH_2] =

= 0,332 mol/kg, a směs byla homogenizována a nalita na skleněnou desku potaženou vrstvou želatiny. Po 12 hodinách reakce při 80 °C byla fólie sejmuta, vyextrahována vodou a vysušena. Hmotnost kopolymeru polyurethanového typu činila 16,50 g, vnitřní viskozita 4,20 (DCA, 25 °C).

Příklad 4

Blokový kopolymer obsahující poly(D,L-fenylalanin- co-L-leucin) a poly(hexamethylenadipamid). Roztok 1 g telechelického „prepolymeru“ z D,L-fenylalaninu a L-leucinu (obsah —NH_2 skupin: 2,558 mol/kg, —COOH skupin: 0,040 mol/kg [η] = 0,12 (25 °C, DCA) v 50 ml chloroformu prostého kyselých nečistot se přikape během 2 hodin za intenzivního míchání k roztoku 3,5 g čerstvě destilovaného adipoylchloridu v 50 ml chloroformu. Po 2 hodinách při pokojové teplotě se reakční roztok přileje v mixéru k roztoku 6,6 g hexamethylen-diaminu ve vodě (70 g vody a 30 g ledu). Po 20 minutách se produkt odfiltruje, promyje horkým ethanolem (300 ml) a vysuší při 0,13 Pa. s a 70 °C. Získá se 6,6 g bílého prášku, [η] = 1,8 (25 °C, DCA).

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Alternující blokové kopolymery syntetických polypeptidů s lineární strukturou typu $(A-B)_n$, kde $n \geq 2$ a kde A je polypeptidový segment a B je segment syntetického polyéteru, polyurethanu nebo polyamidu, kde molekulová hmotnost polypeptidových

segmentů se pohybuje v rozmezí 600 až 10 000.

2. Alternující blokové kopolymery podle bodu 1, kde jednotlivé segmenty B v kopolymerních řetězcích jsou libovolně zvoleny ze skupiny zahrnující segmenty více druhů.