



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2009 00606**

(22) Data de depozit: **03.08.2009**

(41) Data publicării cererii:
28.02.2011 BOPI nr. **2/2011**

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL DE CHIMIE
MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI",
ALEEA GRIGORE GHICA VODĂ, NR. 41A,
IAȘI, IS, RO

(72) Inventatorii:
• CHIRIAC AURICA, STR A. VLAHUȚĂ,
NR. 7B, ET. 3, AP. 16, IAȘI, IS, RO;

• NIȚĂ LOREDANA ELENA, BD. COPOSU,
NR. 42, BL. A3, SC. B, PARTER, AP. 3, IAȘI,
IS, RO;
• NEAMȚU IORDANA,
STR. THEODOR PALLADY, NR. 8, SC. B,
ET. 3, AP. 9, IAȘI, IS, RO

(54) PROCEDEU DE SINTEZĂ A UNUI COPOLIMER DIBLOC HIDROFIL- HIDROFOB

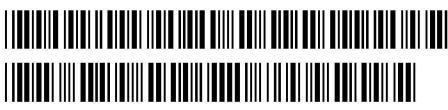
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui dibloc copolimer, utilizat ca matrice în sisteme de tip senzor. Procedeul conform inventiei constă din copoli-condensarea poli(succinimidei) și poli (etilenglicolului), având o greutate moleculară de 4000, 10000 sau 20000, în raport gravimetric de 2:1, în dimetilformamidă 6,5 mol% față de polimer, cu agitare continuă la 140°C, sub atmosferă de azot, în prezență de 1,5% față de polimeri soluție în apă de catalizator Mn(CH₃COO)₂

4H₂O, adăugat în picătură, timp de 60 min, reacția continuând timp de 6 h la 140°C, cu eliminarea apei, după care mediul de reacție se răcește și copolimerul rezultat este precipitat din metanol, spălat și uscat, pentru a rezulta un produs cu caracter hidrofil și hidrofob combinat.

Revendicări: 1

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de inventie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de inventie este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



PROCEDEU DE SINTEZĂ A UNUI COPOLIMER DIBLOC HIDROFIL – HIDROFOB

Invenția se referă la un procedeu de sinteză a unui copolimer dibloc cu caracteristici combinate de hidrofilie și hidrofobie, prin copolicondensarea în mediu de solvent organic a poli(succinimidei) și a poli(etilenglicolului) cu greutate moleculară de : 4000, 10000 sau 20000, aplicat ca matrice pentru înglobarea de substanțe sensitive la modificări termice, electrice, de pH, magnetice, biologice (în sistemele de tip senzor) sau pentru fixarea de substanțe bioactive (în transportul la țintă și eliberarea controlată a medicamentelor).

Acizii poli(aminici) de tipul poli(acidului aspartic) și copolimerii lor au fost intensiv studiați ca purtători polimerici pentru substanțele bioactive în cadrul sistemelor de eliberare controlată a medicamentelor. În particular, poli(succinimida) ca produs intermediar în sinteza poli(acidului aspartic) din acid D,L-aspartic, datorită biocompatibilității, biodegradabilității și lipsei de toxicitate, este unul dintre cei mai promișători purtători macromoleculari de medicamente deoarece ea posedă caracteristici structurale și fizico-chimice corespunzătoare scopului menționat. Combinarea în aceeași macromoleculă a caracteristicilor de hidrofilie ale poli(etilenglicolului) și hidrofobie datorată poli(succinimidei) este importantă datorită potențialelor aplicații biologice și farmaceutice care necesită solubilizare în mediu apoi și capacitatea de a crea situs-uri pentru funcționalizare de-a lungul macromoleculei.

Pentru a realiza administrarea sistemică în locuri țintite a agenților farmaceutici fară a fi nevoie de îndepărțarea ulterioară a sistemului purtător de eliberare, s-au explorat micro- și nanoparticule biodegradabile și biocompatibile încărcate cu medicament. Pentru un domeniu particular de dimensiuni ele posedă caracteristica de țintire pasivă. De exemplu, microsfere cu diametre de aproximativ 1 – 5 μm sunt ideale pentru încărcarea pasivă a celulelor antigen. Purtătorii de medicamente cu diametre mai mici de 600 nm pot fi încărcate selectiv de către țesuturile tumorale, vascularizarea acestora fiind hiperpermeabilă.

Sunt cunoscute tehnici de fabricare a microsferelor de polimeri sintetici ce includ evaporarea solventului din emulsie, coacervarea, precipitarea și tehnici prin sprayere. Asociate cu aceste tehnici sunt limitări și provocări. Este de dorit aplicarea de tehnici în absența solvenților organici toxici. Prezența chiar și la nivele de expunere reduse a solvenților organici poate conduce la efecte persistente cum ar fi comportarea neurologică deficitară. O

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENTII ȘI MÂ
Cerere de brevet de inventie
Nr. 200900606
Data depozit
03 -08 -2009

altă limitare de exemplu a metodei cu evaporarea solventului din emulsie este aceea că necesită multe etape și un control strict al condițiilor de preparare cum sunt temperatura și raportul dintre faza organică și faza apoasă. De asemenea, dimensiunea sferei și distribuția dimensiunilor este slab controlată, încât microsferele obținute trebuie filtrate sau sitate pentru izolare pe domenii de dimensiuni.

Se cunosc numeroase referințe bibliografice în literatura de specialitate asupra procedeelor de sinteză ale poli(aspartaților), poli(succinimidei) și al derivaților lor. Printre acestea, de notat este metoda descrisă în US Pat 6.933.269 (2005) care descrie policondensarea acidului D,L-aspartic cu amine. Se obține un copolimer multicomponent derivat de poliaspartat ce cuprinde unități ce se repetă de aspartamidă, succinimidă și/sau aspartat cu aplicații în industria detergenților. De asemenea se descriu ca tehnici de preparare prin adiție nucleofilă de compuși aminici la polisuccinimidă dispersată în apă, în scopul obținerii de materiale superabsorbante (în brevetele U.S. Pat. 5.955.549 din 1999 și U.S. Pat. 6.027.804 din 2000), agenți de egalizare a vopsirii pentru textile (în brevetele U.S. Pat. 5.902.357 din 1999, U.S. Pat. 5.639.832 din 1997) sau inhibitori ai coroziunii și ai depunerii de piatră (în brevetul EP 0 980 883 din 2000). În toate aceste cazuri dezavantajul major este lipsa de solubilitate în apă a copolimerului rezultat.

Brevetul US Pat 6.720.405 din 2004 descrie polimerizarea termică a unor compozиции monomerice ce conțin acid aspartic și monoaspartat de sodiu, pentru obținerea de copolimeri cu grupe aspartat sau succinimidice, aplicabili ca dispersanți în detergenți și alți agenți de spălare, inhibitori de coroziune și de formare a depunerilor de piatră, aditivi în produse de îngrijire personală. De asemenea, în brevetul U.S. Pat. 5.548.036 (1996) se obține prin polimerizare la temperaturi până la 120 °C polimeri pe bază de poli(succinimidă). Procedeele prezентate prezintă dezavantajul că sunt ineficiente, produsele rezultate conțin resturi de acid aspartic, datorită temperaturii de reacție sub 140 ° C.

În brevetul JP 8.277.329 (1996) se exemplifică un proces de polimerizare termică a aspartatului de potasiu în prezență de 5 – 30 % moli acid fosforic ca și catalizator. Dezavantajul procedeului menționat este că polimerii rezultați au greutăți moleculare scăzute, indicând absența efectului catalitic al acidului fosforic.

În brevetul U.S. Pat. 5.371.180 (1994) se descrie producerea de copolimeri de succinimidă și aspartat prin tratamentul termic al acidului maleic cu compuși de amoniu, în prezență de carbonați alcalini. Invenția include un catalizator alcalin pentru polimerizarea cu deschidere de ciclu, astfel că o parte din resturile de poli(succinimidă) pot fi convertite în forma aspartat cu ciclu deschis.

Brevetul U.S. Pat. No. 5,981,691 din 1999 descrie obținerea unor copolimeri solubili în apă amidă/imidă, pe bază de aspartați și succinimidă, pentru o varietate de aplicații. O sare monocationică de aspartat se poate polimeriza termic pentru a produce un copolimer aspartat/succinimidă solubil în apă. Comonomerul acid aspartic conduce prin polimerizare la resturi de succinimidă iar comonomerul aspartat de monosodiu la resturi de aspartat. Polimerizarea amestecului de comonomeri nu conduce integral la copolimeri, din procedeu rezultând homopolimeri în amestec și copolimer amidă/imidă (aspartat/succinimidă), cu solubilitate în apă.

Se cunoaște de asemenea aplicarea ca biosenzor, senzor optic, sau ca mediu de contrast în imagistica cu ultrasunete sau în investigarea interacțiunilor biologice, a unui model proteină-ligand obținut prin grefarea directă a biotinei pe poli(succinimidă). Tehnica aplicată direct poate detecta schimbările indicelui de refracție care apar pe un domeniu îngust de suprafață de film senzitiv.

Problema pe care o rezolvă invenția este realizarea unui copolimer dibloc cu caractere de hidrofilie și hidrofobie combinate în macromoleculă pe bază de poli(succinimidă) și poli(etilenglicol) care să permită aplicarea ca matrice pentru sisteme senzor și de eliberare controlată a medicamentelor.

Procedeul de sinteză a copolimerului dibloc cu caractere combinate de hidrofilie și hidrofobie, conform invenției, înlătură dezavantajele menționate prin aceea că se copolicondensează în atmosferă de azot și în mediu organic de dimetilformamidă, la temperatura de 140 °C, timp de 7 ore, un amestec de poli(succinimidă) și poli(etilenglicol) cu greutate moleculară de : 4000, 10000 sau 20000, în raport gravimetric de 2 : 1, în prezență de catalizator Mn(CH₃COO)₂ · 4 H₂O în proporție de 1,5 % față de cantitatea totală a celor doi polimeri.

Procedeul conform invenției prezintă următoarele avantaje :

- Este un procedeu ecologic, fără emanații toxice.
- Este simplu de aplicat și sigur în exploatare.
- Necesară un număr redus de faze tehnologice
- Copolimerul dibloc sintetizat prezintă grupe funcționale care îi permit solubilizarea în apă cât și funcționalizarea și crearea de situs-uri pentru conjugarea cu substanțe bioactive.
- Control bun asupra dimensiunii microparticulelor

Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției.

EXEMPLU

Intr-o instalație de laborator în sine cunoscută, compusă dintr-un vas de reacție de 50 ml cu fund rotund și patru gâturi, echipat cu agitator, trapă Dean-Stark cu condensator de reflux, termometru, racord la azot și baie de ulei pentru încălzire, se alimentează sub agitare puternică poli(succinimida) (PSI) (4g, corespunzător 0,040 moli unități succinimidă) și poli(etilenglicolul) (PEG) (2g, corespunzător 0,032 moli unități etilenglicol) cu greutatea moleculară de 4000, 10.000 sau 20.000, solvite în 30 ml dimetilformamidă (0,39 moli, respectiv 6,5 moli % față de polimer). Se încălzește sistemul la 140 °C menținând sub agitare și barbotând un curent de azot. Când temperatura de reacție atinge valoarea de 140 °C, se adaugă prin picurare timp de 60 minute, cantitatea de 0,09 g Mn(CH₃COO)₂ · 4H₂O (0,367 mmoli, 1,5 % față de polimer) catalizator dizolvat în 5 ml apă. Se continuă reacția pentru încă 6 ore. În acest timp se aplică un vid slab pentru a elimina aproximativ 10 apă. Se răcește mediul de reacție menținând agitarea. Soluția de copolimer dibloc rezultată se precipită în metanol (200 ml), se filtrează și se spală de câteva ori cu metanol în exces, pentru a îndepărta reactanții nereacționați. Se usucă la 45 °C sub presiune redusă. Spectroscopic nu se detectează poli(succinimidă) reziduală.

Deoarece copolimerul dibloc sintetizat este hidrofil, impuritățile cu moleculă mică (catalizator, solvent) pot fi îndepărtate prin dializa amestecului de reacție pentru 2 săptămâni, conducând la o puritate finală de peste 98%. Apa se îndepărtează prin uscare la vid, spălare cu metanol și uscare.

În legătură cu tehnicele cunoscute cât și cu cerințele impuse de aplicabilitatea copolimerului dibloc poli(succinimidă)-b-poli(etilenglicol) ca matrice pentru senzori și sisteme de eliberare controlată a medicamentelor, s-au determinat următoarele proprietăți prezentate valoric în Tabelul 1: gradul de biodegradare exprimat prin activitatea catalazei din miceliul ciupercii *Chaetomium globosum* (considerat drept marker biochimic) și din lichidul de cultură, potențialul zeta, diametrul hidrodinamic al nanoparticulei, indicele de polidispersitate și conductivitatea electrică.

Din punct de vedere al mărimii capacitații de biodegradare enzimatică a copolimerului sintetizat se întocmește următoarea ordonare a structurilor examineate, funcție de greutatea moleculară a poli(etilenglicolului) intrat în copolimerul bloc:

$$co(PSI-b-PEG\ 4000) > co(PSI-b-PEG\ 10.000) > co(PSI-b-PEG\ 20000)$$

Se observă de asemenea mărirea potențialului zeta, a diametrului hidrodinamic și a indicelui de polidispersitate, concomitent cu scăderea conductivității electrice a nanoparticulelor de

co(PSI-b-PEG), cu creșterea greutății moleculare a poli(etilenglicolului) intrat în copolimerul bloc. Co(PSI-b-PEG 4000) reprezintă proba cea mai monodispersă ca dimensiune cu indicele de polidispersitate cel mai mic.

Tabelul 1

Biodegradabilitatea și unele caracteristici fizice ale nanoparticulelor de co(PSI-b-PEG)

Greutate moleculară PEG în co(PSI-b-PEG)	Marker biochimic, UC/min/mg ^{x)}	Potențialul zeta, mV ^{xx)}	Diametru hidrodinamic, nm	Indice de polidispersitate PDI ^{xxx)}	Conductivitate electrică, mS/cm
20.000	58,9	-2,71	370	0,650	0,44
10.000	73,1	-2,61	346	0,585	0,83
4.000	100	-2,42	211	0,488	1,98

x) determină concentrația de enzimă necesară pentru a cataliza cantitatea de un micromol de substanță, pe minut, la 30°C, și la pH-ul optim de activitate al enzimei

xx) determinat la pH 7,8 și 37 °C

xxx) reflectă caracterul monodispers ca dimensiune al probei

REVENDICARE

Procedeu de sinteză a unui copolimer dibloc hidrofil-hidrofob, *caracterizat prin aceea că* se copolicondensează în atmosferă de azot și în mediu organic de dimetilformamidă 6,5 moli % față de polimer, poli(succinimida) și poli(etilenglicolul) cu greutate moleculară de : 4000, 10000 sau 20000, în raport gravimetric de 2 : 1, la 140 °C, cu agitare continuă și barbotare de azot, în prezență de catalizator $Mn(CH_3COO)_2 \cdot 4 H_2O$ în soluție apoasă, în proporție de 1,5 % față de cantitatea totală a celor doi polimeri, adăugat cu picătura timp de 60 minute și continuarea reacției timp de 6 ore la aceiași temperatură, cu eliminarea unei cantități de 10 ml apă, răcire, precipitare în metanol, spălare cu metanol , uscare la 45 °C și presiune redusă.