



(51) МПК  
*C08F 226/06* (2006.01)  
*C08F 226/10* (2006.01)  
*A61P 37/04* (2006.01)  
*A61K 31/79* (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(21), (22) Заявка: 2008128345/04, 11.07.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 11.07.2008

(45) Опубликовано: 10.02.2010 Бюл. № 4

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
 поиске: SU 1578143 A1, 15.07.1990. RU 2000004 C1,  
 15.02.1993. ХИМИЧЕСКАЯ  
 ЭНЦИКЛОПЕДИЯ. / ПОД. РЕД.  
 И.Л.КНУНЯНЦА, Т.2, КОЛ.426-427. - М.,  
 1990.

Адрес для переписки:

199004, Санкт-Петербург, В.О. Большой  
 пр-кт, 31, ИВС РАН, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Панарин Евгений Федорович (RU),  
 Иванова Надежда Петровна (RU),  
 Журавская Ольга Николаевна (RU),  
 Нестерова Наталья Александровна (RU),  
 Белохвостова Александра Тимофеевна (RU),  
 Потапенкова Любовь Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Институт высокомолекулярных соединений  
 Российской Академии наук (RU)

**(54) СОПОЛИМЕРЫ N-ВИНИЛАМИДОВ С НЕНАСЫЩЕННЫМИ ЭФИРАМИ СОРБОЗЫ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к химии высокомолекулярных соединений, в частности к сополимерам N-виниламидов. Сополимер в соответствии с данным изобретением характеризуется общей формулой:  $A_n - B_m$ , где А - N-виниламидный остаток, В - винилсахаридный остаток и где n=100 - m мол.%; m=10,0-35,0 мол.%. В качестве винилсахаридного остатка берут (мет)акрилоилсорбозу, кротоноилсорбозу. В

качестве N-виниламидных остатков используют N-винилформамид, N-винилпирролидон, N-метилвиниламид. Получают сополимеры в присутствии радикального инициатора - динитрила азо-изомасляной кислоты, затем гидролизуют в водном растворе муравьиной кислоты. Водорастворимые сополимеры в соответствии с изобретением обладают низкой токсичностью, имеют высокий уровень иммуностимулирующей активности. 2 табл.

RU 2 381 239 C1

RU 2 381 239 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.  
*C08F 226/06* (2006.01)  
*C08F 226/10* (2006.01)  
*A61P 37/04* (2006.01)  
*A61K 31/79* (2006.01)

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2008128345/04, 11.07.2008**

(24) Effective date for property rights:  
**11.07.2008**

(45) Date of publication: **10.02.2010 Bull. 4**

Mail address:

**199004, Sankt-Peterburg, V.O. Bol'shoj pr-kt, 31,  
IVS RAN, patentnyj otdel**

(72) Inventor(s):

**Panarin Evgenij Fedorovich (RU),  
Ivanova Nadezhda Petrovna (RU),  
Zhuravskaja Ol'ga Nikolaevna (RU),  
Nesterova Natal'ja Aleksandrovna (RU),  
Belokhvostova Aleksandra Timofeevna (RU),  
Potapenkova Ljubov' Sergeevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Institut vysokomolekuljarnykh soedinenij  
Rossijskoj Akademii nauk (RU)**

**(54) COPOLYMERS OF N-VINYL AMIDES WITH UNSATURATED SORBOSE ESTERS**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to the chemistry of high-molecular compounds, specifically to copolymers of N-vinyl amides. According to the invention, the copolymer is characterised by general formula  $A_n-B_m$ , where A is an N-vinyl amide residue, B is a vinyl saccharide residue, and where n=100-m mol %; m=10.0-35.0 mol %. The vinyl saccharide residue used is (meth)acryloyl-sorbose,

crotonoyl-sorbose. The N-vinyl amide residues used are N-vinyl formamide, N-vinyl pyrrolidone, N-methylvinyl amide. The copolymers are obtained in the presence of a radical initiator - dinitrile of azo-isobutyric acid, and then hydrolysed in aqueous solution of formic acid.

EFFECT: water-soluble copolymers in accordance with the invention have low-toxicity and high level of immuno-stimulating activity.

1 cl, 10 ex, 2 tbl

Изобретение относится к химии высокомолекулярных соединений, в частности к сополимерам N-виниламидов (ВА), предназначенным для использования в качестве основы для создания эффективных лекарственных средств.

Известно, что поли-N-виниламиды широко используются в медицине, биотехнологии и технике (Кирш Ю.Э. Поли-N-винилпирролидон и другие N-виниламиды. М.: Наука, 1998. 251 с.).

Синтез и поиск иммуностимуляторов является актуальной задачей в связи с широким распространением заболеваний, связанных с иммунодефицитным состоянием.

Известны сополимеры N-метакрилоилглюкозамина и N-винилацетамидов (Панарин Е.Ф., Ершов А.Ю., Иванова Н.П., Ефремова О.Н. ЖПХ. 1999. Т.72, вып.11. С.1872-1875). Однако известные сополимеры либо вообще не проявляют

иммуностимулирующих свойств, либо характеризуются очень низким их уровнем. Использование в качестве винилсахаридной компоненты в вышеуказанных сополимерах 3-О-метакрилоил-Д-глюкозы также не способствует увеличению иммуностимулирующих свойств (Панарин Е.Ф., Ершов А.Ю., Иванова Н.П. ЖПХ. 2000, Т.73. вып.12. С.1998-2001).

Технической задачей настоящего изобретения является увеличение иммуностимулирующих свойств сополимеров N-виниламидов.

Задача решена сополимерами N-виниламидов с ненасыщенными эфирами сорбозы общей формулы:

$$A_n - B_m,$$

где А - N-виниламидный остаток,

В - винилсахаридный остаток,

n и m - молекулярные %%,

с характеристической вязкостью от 0,15 до 0,45 дл/г,

n=100 - m мол.%; m=10,0-35,0 мол.%;

при этом в качестве винилсахаридного остатка берут (мет)акрилоилсорбозу, кротоноилсорбозу, а в качестве N-виниламидного остатка - N-винилпирролидон, N-винилформамид, N-метилвиниламид.

Информационный поиск показал отсутствие каких-либо опубликованных документов, в которых была бы описана совокупность существенных признаков технического решения, полностью совпадающего с заявляемым нами. Таким образом, мы можем утверждать, что заявленное изобретение характеризуется таким признаком охраноспособности, как новизна и существенные отличия.

В ходе поиска не удалось найти сведений о сополимерах N-виниламидов с ненасыщенными эфирами сорбозы. При этом найденный иммуностимулирующий эффект заявленных сополимеров существенно превышал уровень активности сополимеров N-виниламидов с ненасыщенными эфирами глюкозы. Найденный нами впервые эффект является неочевидным и не вытекает из существующего уровня техники. Это подтверждает соответствие заявляемого изобретения такому признаку охраноспособности, как изобретательский уровень.

Схема синтеза заявляемых сополимеров такова:

1. Диацетонсорбозу синтезируют по известному методу (Методы химии углеводов / Пер. с англ. Под ред. Н.К.Кочеткова. Мир, 1967. 165 с.) и очищают перекристаллизацией из гексана, т.пл. 77-78°C.

2. (Мет)акрилоилдиацетонсорбозу и кротоноилдиацетонсорбозу получают также известным способом (Klein J., Herzog D., Hajibegli A. // Makromol. Chem. Rapid Commun /

1985. V.6. N 10. P.675-678).

3. Сополимеризацию (мет)акрилоилдиацетонсорбозы и кротоноилдиацетонсорбозы с N-винилпирролидоном и N-винилформамидом проводят в растворе ДМФА (диметилформамида) в присутствии радикальных инициаторов. Условия сополимеризации представлены ниже в таблице 1. Сополимеры выделяют осаждением из реакционной среды в диэтиловый эфир.

4. Сополимеры N-винилформамида с (мет)акрилоилсорбозой и кротоноилсорбозой получают гидролизом в 80% муравьиной кислоте при 60°C сополимеров N-винилформамида и (мет)акрилоил- и кротоноилдиацетонсорбозы, очищают и лиофилизуют.

5. Сополимеры N-винилпирролидона и N-метилвиниламида с (мет)акрилоилсорбозой и кротоноилсорбозой получают гидролизом сополимеров (мет)акрилоил- и кротоноилдиацетонсорбозы с N-винилпирролидоном и N-метилвиниламидом.

Состав полученных сополимеров определяют методом протонной ЯМР-спектроскопии. Молекулярная масса характеризовалась характеристической вязкостью при 25°C.

У полученных сополимеров прежде всего определяют острую токсичность. Полимеры вводились внутривенно. Полимеры оказались малотоксичными, поэтому не удалось определить LD<sub>50</sub>. Иммуностимулирующую активность заявляемых сополимеров оценивают по их влиянию на образование антителообразующих клеток (K.N.Jerne, F.F.Nordin, Sci., V.140, 405 (1963)). Данные биологических испытаний приведены далее в таблице 2.

Для подтверждения соответствия заявленного решения условию патентоспособности промышленная применимость приводим примеры конкретной реализации изобретения, которыми не исчерпывается сущность изобретения.

Пример 1. Синтез сополимера N-винилформамида и акрилоилсорбозы.

0,3 г N-винилформамида и 0,7 г акрилоилдиацетонсорбозы (соотношение мономеров в мол.% 70:30) растворяют в 5,7 мл диметилформамида. Концентрация мономеров 15 вес.%. В раствор добавляют 0,01 г радикального инициатора - динитрила азо-изомасляной кислоты. Раствор помещают в ампулу, продувают аргоном, запаивают и нагревают в термостате при 60°C в течение суток. Образовавшийся сополимер выделяют осаждением в серный эфир. Гидролиз полученного сополимера проводят в 80% водном растворе муравьиной кислоты при 60°C в течение 4 ч. Диализованный раствор сополимера лиофилизуют. Выход составляет 69%. Соотношение звеньев N-винилформамида и акрилоилсорбозы в мол.% равно 65:35. Характеристическая вязкость, измеренная в 0,1М растворе ацетата натрия, 0,40 дл/г.

Примеры 2-10 выполнены в условиях примера 1. Все данные приведены в таблице 1.

Таблица 1

№№ примеров	Получение исходного сополимера			Целевой сополимер после гидролиза			
	Соотношение мономерных звеньев в исх. смеси		выход, мас. %	Соотношение звеньев		Характеристич. вязкость, дл/г	КИО/доза мг/кг
	ВА, мол. %	(М) АДАС, мол. %		ВА, мол. %	(М) АС, мол. %		
1	2	3	4	5	6	7	8
1	ВФА 70	АДАС 30	69,0	65	35	0,40	1,3/10
2	-/- 82	-/- 18	75,0	80	20	0,35	2,8/10
3	-/- 85	-/- 15	80,0	90	10	0,32	1,3/25
4	-/- 97	-/- 3	85,0	95	5	0,45	0,74/10
5	ВП 80	МДАС 20	65,0	85	15	0,20	2,1/10
6	ВМА 80	МДАС 20	60,0	80	20	0,25	1,8/25
7	ВП 85	КДАС 15	70,0	85	15	0,15	2,5/25
8	ВМА 70	АДАГ 30	65,0	75	АГ 25	0,30	1,28/10
9	ВФА 80	АДАГ 20	60,0	85	АГ 15	0,25	0,74/25
10	ВП 85	МДАГ 15	72,0	80	МГ 20	0,35	1,0/25

Примечания к таблице 1:

1. В строках 8-10 для сравнения приведены данные для известных сополимеров N-виниламидов (ВА) - (N-ВМА, N-ВФА и ВП) и (мет)акрилоилглюкозы.

2. В колонках 2 и 3 приведены соотношения N-виниламидов и (мет)акрилоилсорбозы в полимеризующейся смеси.

3. В колонках 5 и 6 приведены соотношения N-винилформамида, N-метилвиниламида и N-винилпирролидона и (мет)акрилоилсорбозы в целевом сополимере.

Используют следующие сокращения: ВФА - N-винилформамид; (М)АДАС и (К)ДАС - (мет)акрилоилдиацетонсорбоза и кротоноилдиацетонсорбоза; СПЛ - сополимер; N-ВМА - N-метилвиниламид; ВП - N-винилпирролидон; АС - акрилоилсорбоза; МС - метакрилоилсорбоза; КС - кротоноилсорбоза; АГ - акрилоилглюкоза; МГ - метакрилоилглюкоза; КИО - отношение числа антителиобразующих клеток (АОК) на  $10^6$  клеток селезенки в опыте к числу АОК на  $10^6$  клеток селезенки в контрольной группе животных.

Методика биологических исследований

Биологические исследования проводили на гибридных мышах - самцах линии BALB/C разводки питомника Рапполово. Исследовались различные дозы введения полимеров: 25 мг/кг и 10 мг/кг веса животных. Подопытным мышам (по 8 животных в каждой группе) вводили исследуемый полимер и эритроциты барана (ЭБ) в дозах  $5 \times 10^8$  в 0,5 мл физиологического раствора, контрольной группе мышей только ЭБ в той же дозе. На 5-е сутки после иммунизации мыши забивались, извлекалась селезенка, взвешивалась и гомогенизировалась в среде 199.

Гомогенат пропускался через капроновое сито и помещался в холодильник на 30 минут. В пробирке с подогретой на водяной бане при  $50^\circ\text{C}$  агарозной средой (1,5 мл агарозы 14% и 15 мл среды 199) быстро добавлялось по 0,05 мл 10% взвеси ЭБ и 0,05 мл взвеси клеток селезенки и полученной смесью заливались чашки Петри. Чашки инкубировались 1,5 ч в термостате при температуре  $37^\circ\text{C}$ . После инкубации в каждую чашку добавлялся комплемент в разведении 1:4 и чашки снова инкубировались в термостате в течение 1 ч. В каждой чашке подсчитывались зоны гемолиза с последующим пересчетом количества АОК на  $10^6$  ядерных клеток селезенки, а также на селезенку. Подсчитывались также клеточность селезенки и коэффициент иммунного ответа (КИО) как отношение числа АОК на  $10^6$  клеток селезенки в опыте к числу АОК на  $10^6$  клеток селезенки в контрольной группе животных.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась при помощи t - критерия Стьюдента.

Все данные приведены в таблице 2.

Таблица 2							
Влияние заявляемых сополимеров на антителигенез при внутрибрюшинном (в/б) введении							
№ № п/п	Полимер	$[\eta]_{\text{ацНа}}^{25}$ , дл/г	Доза, мг/кг	Число АОК $\times 10^6$ ядерных клеток селезенки	Клеточность селезенки $\times 10^7$	Число АОК на селезенку $\times 10^2$	КИО/доза мг/кг
1	2	3	4	5	6	7	8
1	ВФА:АС 65:35 мол.%	0,40	25	156,8 $\pm$ 20,1	20,5 $\pm$ 2,4	351,6 $\pm$ 88,9	1,3
			10	165,6 $\pm$ 22,9	16,4 $\pm$ 2,5	282,3 $\pm$ 66,4	1,3
			к (ЭБ)	123,8 $\pm$ 18,7	18,3 $\pm$ 3,2	225,4 $\pm$ 70,8	
2	ВФА:АС 80:20 мол.%	0,35	25	168,0 $\pm$ 11,1*	20,7 $\pm$ 1,8	366,9 $\pm$ 36,3*	2,0
			10	232,7 $\pm$ 16,5	18,3 $\pm$ 1,2	422,1 $\pm$ 40,4*	2,8
			к (ЭБ)	81,9 $\pm$ 10,0	17,9 $\pm$ 3,2	159,9 $\pm$ 26,7	

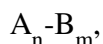
5	3	ВФА:АС 90:10 мол.%	0,32	25	426,7±51,4	19,4±2,1	820,8±129,5	1,3
				10	403,7±33,1	19,9±3,4	754,9±83,3	1,2
				к (ЭБ)	328,2±35,6	21,2±2,2	641,5±88,2	
5	4	ВФА:АС 95:5 мол.%	0,45	25	151,1±7,3*	26,8±6,3	408,0±143,0	0,74
				10	167,8±12,4	27,9±5,8	437,0±32,0	0,82
				к (ЭБ)	203,8±8,5	30,4±4,9	615,0±67,0	
10	5	ВП:МС 85: 15 мол.%	0,20	25	89,3±8,4	8,8±3,4	82±2,5	1,2
				10	157,4±17,0	16,8±6,3	190±9,8	2,1
				к (ЭБ)	75,3±10,8	7,5±1,1	117±22	
10	6	ВМА:МС 80:20 мол.%	0,25	25	353,6±51,8*	19,5±1,2	668,9±141,3	1,8
				10	213,8±23,0	23,4±2,2	464,6±39,6	1,1
				к (ЭБ)	197,8±27,9	27,6±3,4	533,5±124,9	
15	7	ВП:КС 85:15 мол.%	0,15	25	327,9*±11,9	17,3*±5,3	564±1,7	2,5
				10	203,1*±5,4	17,3±3,7	352±8,4	1,6
				к (ЭБ)	148,7±21,9	20,8±2,5	127±4,4	
15	8	ВМА:АГ 75:25 мол.%	0,30	25	70,2±5,7*	21,2±1,8	147,8±16,5*	0,57
				10	157,2±6,9*	17,0±1,1*	269,4±23,9	1,28
				к (ЭБ)	122,6±11,8	22,5±1,8	268,4±37,7	
20	9	ВФА:АГ 85:15 мол.%	0,25	25	249,5±20,4	27,6±7,1	709±24,2	0,87
				10	203,3±39,2	21,1±7,0	489±23,8	0,71
				к (ЭБ)	287,1±29,4	38,4±13,3	941±14,0	
20	10	ВП:МГ 80:20 мол.%	0,35	25	177,1±19,7	28,8±8,2	539±25,9	1,0
				10	120,2±25,6	30,3±14,4	313±14,5	0,7
				к (ЭБ)	169,7±10,7	26,5±1,4	433±0,3	

Данные, указанные в заявочном описании, подтверждают решение поставленной задачи. Видно, что выход за пределы, заявленные в описании, значительно снижает КИО.

Таким образом, данные химические соединения могут быть использованы в качестве основы для создания эффективных лекарственных средств.

#### Формула изобретения

Сополимеры N-виниламидов с ненасыщенными эфирами сорбозы общей формулы:



где А - N-виниламидный остаток;

В - винилсахаридный остаток;

n и m - содержание А и В, мол.%;

n=100 - m мол.%;

m=10,0-35,0 мол.%,

с характеристической вязкостью от 0,15 до 0,45 дл/г,

при этом в качестве винилсахаридного остатка берут (мет)акрилоилсорбозу, кротоноилсорбозу, а в качестве N-виниламидного остатка берут N-винилформамид, N-винилпирролидон, N-метилвиниламид.