〔19〕中华人民共和国专利局

[11]公开号 CN 1032346A

〔12〕发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 88102646.8

[51] Int.Cl⁴
C08L 25/06

〔43〕公开日 1989年4月12日

[22]申请日 88.5.10

[30]优先权

[32]87.5.11 [33]FR [31]87/06549

[71]申请人 罗纳-布朗克化学公司

地址 法国库伯瓦

[72]发明人 伯纳德·乔瓦尔
吉恩-克罗德·丹尼尔
克里斯汀·普斯内里

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利代理部

代理人 吴大键 全 菁

C08J 3/04

说明书页数: 13 附图页数:

[54]发明名称 其表面上固定有带可离子化或活性基团的两亲分子的聚合物颗粒，其制备方法及其在生物学上的应用

[57]摘要

本发明提出新型聚合物颗粒，其表面上固定有其HLB大于或等于10且分子量大于或等于400的两亲化合物分子，该化合物由亲水低聚链段和疏水链段组成，亲水低聚链段端部至少有1个可离子化或活性基团，而疏水链段于颗粒外层与聚合物大分子链联结，两亲分子固定量为约10^{-5}-10^{-1}mol/100g聚合物，构成颗粒的聚合物的玻璃化温度Tg高于40℃，聚合物粒径为0.01-50um左右。

1.新型聚合物颗粒，其特征是，其表面上固定有其HLB大于或等于10且分子量大于或等于400 的两亲化合物分子，该化合物由亲水低聚链段和疏水链段组成，亲水低聚链段端部至少有1 个可离子化或活性基团，而疏水链段于颗粒外层与聚合物大分子链联结，两亲分子固定量为约10^{-5} - 10^{-1} mol/100g聚合物，构成颗粒的聚合物的玻璃化温度Tg 高于约40℃，聚合物粒径为0.01- 50 μm 左右。

2.权利要求1 的新型颗粒，其特征是，两亲化合物的HLB小于20，其固定量为约10^{-4}- 10^{-2}mol/100g 聚合物，构成颗粒的聚合物的Tg 高于约70℃并且粒径为0.01—15 μm 左右。

3.权利要求1 或2 的新型颗粒，其特征是，构成颗粒的聚合物为均聚物或共聚物，其中含乙烯基芳烃衍生物单体链节，α- β不饱和酸烷基酯链节，不饱和羧酸酯链节，氯乙烯链节，1,1-二氯乙烯链节，二烯链节，带腈官能团的化合物链节。

4.上述权利要求中任一项的新型颗粒，其特征是，其表面上固定两亲化合物带有亲水聚亚氧烷基低聚链段，其中含5 — 100个（C_2- C_3）亚氧烷基链节，聚亚羧乙基和/ 或聚亚酰氨乙基和/ 或聚亚氰乙基链段，其中含4 —50个亚羧乙基和/ 或亚酰氨乙基和/ 或亚氰乙基，亲水低聚链段端部带有- OH，- SO_3H，- COOH，- CHO，- φCH_2Cl，- NH_2，- NR_2，NR_3（R为1 —2 碳烷基），- $CONH_2$，- NH- NH_2，- NH- NH- CO- NH_2，- SH，- P→O。

HO　OH

5.上述权利要求中任一项的新型颗粒，其特征是，颗粒可磁化。

6.新型聚合物颗粒水分散体，其特征是，其中含1 —50%（重量）的权利要求1 —5 中任一项的新型颗粒。

7.权利要求6 的新型分散体，其特征是，其中含5 —30%（重量）的颗粒。

8.权利要求6 的水分散体的制备方法，其特征是，其中包括以下步骤：

a） 将HLB大于或等于10且分子量大于或等于400 的两亲化合物与其玻璃化温度Tg 高于约40℃的含1 —50%（重量）聚合物颗粒的胶乳接触，构成胶乳的颗粒粒径为0.01—50 μm 左右，进行接触的两亲化合物量为约10^{-4}—1 mol/100g聚合物，接触操作的温度定在聚合物的玻璃化温度范围内，直至聚合物链和两亲化合物疏水链段进行联结

b） 除去所有未固定两亲化合物。

9.权利要求1 的新型颗粒的制备方法，其特征是，其中包括以下步骤。

a） 将HLB大于或等于10且分子量大于或等于400 的两亲化合物与其玻璃化温度Tg 高于约40℃的聚合物颗粒胶乳接触，构成胶乳的颗粒粒径为0.01—50 μm 左右，进行接触的两亲化合物量为约10^{-4}—1 mol/100g聚合物，接触操作的温度定在聚合物的玻璃化温度范围内，直至聚合物链和两亲化合物疏水链段进行联结

b） 除去所有未固定两亲化合物

c） 分离出这样得到的颗粒。

10. 权利要求8 或9 的方法，其特征是，两亲化合物的HLB小于20。

11. 权利要求8 —10中任一项的方法，其特征是，其表面上固定两亲化合物带有亲水聚亚氧烷基低聚链段，其中含5 — 100个（C_2- C_3）亚

氧烷基链节、聚亚羧乙基和/或聚亚酰氨乙基和/或聚亚氰乙基链段，其中含4—50个亚羧乙基和/或亚酰氨乙基和/或亚氰乙基，亲水低聚链段端部带有-OH，-SO_3H，-COOH，-CHO，-φCH_2Cl，-NH_2，-NR_2，NR_3（R为1—2碳烷基），-$CONH_2$，-NH-NH_2，-NH-NH-CO-NH_2，-SH，-P→O（HO OH）。

12. 权利要求9—11中任一项的方法，其特征是，颗粒胶乳中含1—50%（重量）的聚合物颗粒。

13. 权利要求8—12中任一项的方法，其特征是，颗粒胶乳中含5—30%（重量）的聚合物颗粒。

14. 权利要求8—13中任一项的方法，其特征是，颗粒粒径为0.01—15 μm 左右。

15. 权利要求8—14中任一项的方法，其特征是，构成颗粒的聚合物为均聚物或共聚物，其中含乙烯基芳烃衍生物单体链节，α-β不饱和酸烷基酯链节，不饱和羧酸酯链节，氯乙烯链节，1,1-二氯乙烯链节，二烯链节，带腈官能团的化合物链节。

16. 权利要求8—15中任一项的方法，其特征是，胶乳颗粒可磁化。

17. 权利要求8—16中任一项的方法，其特征是，接触操作是于常温下将两亲化合物引入胶乳水相中，然后将温度升至构成胶乳的聚合物玻璃化温度范围内。

18. 权利要求1—5中任一项的颗粒在生物学上的应用。

19. 权利要求6或7的颗粒分散体在生物学上的应用。

其表面上固定有带可离子化或活性基团的两亲分子的聚合物颗粒，其制备方法及其在生物学上的应用

本发明涉及其表面上固定有带可离子化或活性基团的两亲分子的聚合物颗粒，该颗粒就呈这种状态或呈水分散体，本发明还涉及其制备方法及其在生物学上的应用。

申请人旨在找到带可离子化或活性链节的聚合物颗粒，其中所说链节离颗粒表面有足够的距离以便能够在所说链节上固定大分子如蛋白质并且与大分子表面接触时不会改变所说分子的活性。

根据本发明，聚合物颗粒的特征是，其表面上固定有其HLB大于或等于10且分子量大于或等于400 的两亲化合物分子，该化合物由亲水低聚链段和疏水链段组成，亲水低聚链段端部至少有1 个可离子化或活性基团，而疏水链段于颗粒外层与聚合物大分子链联结，两亲分子固定量为约10^{-5}- 10^{-1}优选为10^{-4}- 10^{-2} mol/100g聚合物，构成颗粒的聚合物的玻璃化温度 Tg 高于约40℃优选是高于约70℃，聚合物粒径为0.01- 50 μm 左右。

粒径优选为0.1 —15 μm 左右，一般为0.3 —5 μm 左右。

构成颗粒的聚合物可用包含以下衍生物链节的均聚物或共聚物：

乙烯基芳烃单体（苯乙烯，乙烯基甲苯…）；

α- β不饱和酸烷基酯[（甲基）丙烯酸甲酯，乙酯…]；

不饱和羧酸酯（乙酸乙烯酯…）；

氯乙烯，1,1-二氯乙烯；

二烯（丁二烯…）

带腈官能团的衍生物（丙烯腈…）。

表面上固定两亲化合物的HLB大于或等于10且小于20，其中带有亲水低聚链段如聚亚氧烷基链段，其中含5 — 100个优选是5 —50个（C_2-C_3）亚氧烷基链节，聚亚羧乙基和/或聚亚酰氨乙基和/或聚亚氰乙基链段，其中含4 —50个亚羧乙基和/或亚酰氨乙基和/或亚氰乙基，亲水低聚链段端部带有可离子化或活性基团。

“可离子化或活性端基”意指：

-OH，-SO_3H，-COOH，-CHO，-φCH_2Cl，-NH_2，-NR_2，NR_3（R为1 —2 碳烷基），-$CONH_2$，-NH-NH_2，-NH-NH-CO-NH_2，-SH，-P→O。

/ \

HO OH

两亲化合物可用：

含5 —50个亚氧烷基的聚环氧乙烷和/或聚环氧丙烷脂肪醇或脂肪酸，其疏水链段中含8 —20碳（如法国Organo Synthèse 公司出售的CEMULSOL DB，Rhône-Poulenc 公司出售的SOPROPHOR LA）

脂肪醇脂，其中带有氨基脲官能团（如醇与对甲基间氨基脲苯基氨基甲酸的酯），酸官能团（如醇与壬二酸的单酯），硫醇官能团（如醇与巯基乙酸的酯）

脂肪酸酰胺（如Armour Industrial Chemical 公司出售的ETHOMID）

聚亚氧烷基和/或聚环氧丙烷烷基酚及其与磷酸的酯，其中带5 —50个亚氧烷基链节且其烷基含8 —12碳（如Rhône-Poulenc 公司出售的

SOPROPHOR BC和OP，Geronazzo 公司出售的 SOPROPHOR NFP，General Aniline and Film 公司出售的GAFAC RE）

聚环氧乙烷脂肪胺，其疏水链段含8 —22碳（如Rhone- Poulenc公司出售的 SOPROMINE，Armour Industrial 公司出售的 ETHOMEEN）。

本发明颗粒可达到某一粒度分布或更好的是达到规定粒径。

另一种颗粒是可磁化。

可磁化颗粒含0.5 —50% 优选是0.5 —35特别是0.7 —20%（重量）的磁性填料，其粒径小于1 优选为0.002 —0.05 μm；磁性填料显然应足够细以便包含在聚合物颗粒中。

该磁性填料例如可具有如下组成：

金属或其合金如铁，铁- 硅，镍，钴，或其与钼，铬，铜，钒，锰，铝，钛的合金；

铁氧化物：Fe_3O_4 或 γ- Fe_2O_3，可为纯态或组合态或与其它氧化物如氧化钴，氧化锰，氧化锌，氧化钡，稀土氧化物组成混合物；

二氧化铬。

本发明颗粒可按这样一种方法制得，该法中包括以下步骤：

1） 将HLB大于或等于10且分子量大于或等于400 的两亲化合物与其玻璃化温度Tg 高于约40℃的聚合物颗粒胶乳接触，构成胶乳的颗粒粒径为0.01—50 μm 左右，进行接触的两亲化合物量为约10^{-4}-1优选为10^{-3}-10^{-1}mol/100g聚合物，接触操作的温度定在聚合物的玻璃化温度范围内，直至聚合物链和两亲化合物疏水链段进行联结

2） 除去所有未固定两亲化合物

3）分离由这样得到的颗粒。

可用的两亲化合物如上述。

可用的胶乳含约1 —50% 优选为5 —30% 特别是10—15%（重量）

的聚合物颗粒，其性质如上述，颗粒粒径优选为0.01—15 μm 左右，一般为0.05—3 μm 左右；颗粒可达到某一粒度分布或更好的是达到规定粒径。

若希望得到可磁化颗粒，则可按欧洲专利n ' 38730 和美国专利n 4157323 所述方法得到可磁化颗粒胶乳。

两亲化合物和胶乳的接触操作是将有时呈水溶液态的两亲化合物引入胶乳水相中，其温度例如为常温，然后将温度升至构成胶乳的聚合物玻璃化温度范围内。在此温度范围内，大分子链获得一定程度的活动性，这可使其与两亲化合物的疏水部分联结起来并将此化合物固定在胶乳颗粒表面上。该操作历时约15分钟至4 小时，一般为1 —3 小时。

例如对于聚苯乙烯胶乳，该联结操作在70—80℃左右进行。

必需时可用例如增塑剂如酞酸二烷基酯，至少含5 碳的脂肪烃或芳烃降低该温度范围。

另一降低该温度范围的办法是在两亲化合物溶剂和聚合物颗粒溶胀剂存在下进行接触操作；溶剂促使两亲化合物以其疏水部分穿透聚合物颗粒的外层并与聚合物链联结起来。然后除去溶剂，如可采用真空蒸馏办法除去。

有效溶剂可举出芳烃衍生物（甲苯，乙苯，二甲苯…），氯代芳烃（单，双和三氯苯…），脂肪烃和环烃（己烷，癸烷，环己烷，萘烷…），烷基醚，醇（戊醇，环己醇…），酯（丙酸甲酯…）等。

接触操作中未固定下来的两亲化合物以及预先于胶乳中构成乳化剂的化合物然后经过水洗如超滤而除去。

这样得到的其表面固定有两亲化合物的聚合物颗粒可采用普通离心沉降方法而与水溶液介质分开。

本发明还涉及其表面固定有两亲化合物分子的聚合物颗粒水分散体或胶乳，水分散体中干重含量为1 —50% 优选为5 —30% 特别是10—15%（

重量）。

可按已知方法将颗粒直接分散在水中而得胶乳。

胶乳的优选实现方式是略去上述聚合物颗粒制法中的第三步（除去所有未固定两亲化合物之后将颗粒与接触介质分离）。

本发明颗粒或胶乳在生物学上特别有用，如用于以共价方式固定生物分子（抗体，抗原…）。

以共价方式将生物分子固定在聚合物颗粒上的操作可通过偶联反应来完成，即影响到固定两亲分子端基和待固定生物分子官能团的反应。

该偶联反应可按已知方法进行，例如：

采用偶联剂（如戊二醛，水溶性碳化二亚胺）

活化聚合物官能团（如通过溴化氰的作用而使肼…重氮化）后再与待固定分子反应

以及其它…

因此，本发明产品可用来进行凝集，放射免疫和酶催化等类型的诊断试验。

下述实施例仅为举例，因此不可能理解为是对本发明的限制。

实施例1

以CEMULSOL DB 25/18（缩写为CA-OH：带醇官能团的两亲化合物）作为两亲试剂并将其固定在规定粒径聚苯乙烯胶乳颗粒上。

两亲化合物的一般式为：

$$C_{18}H_{37}+O-CH_2-CH_2+_{50}OH$$

制成2 %（重量）的两亲试剂水溶液。

将50g 该溶液（0.535 mol 两亲试剂）混入10g 平均粒径为0.9 μm 并且干重含量为33%（重量）的规定粒径聚苯乙烯胶乳颗粒中。

混合物于70℃搅拌2 小时。

冷却后所得胶乳以2.5 l 净化水/ 10g 胶乳颗粒进行超滤洗涤以除去未固定两亲化合物分子以及初始胶乳中的乳化剂。

超滤后胶乳稳定，此即为两亲化合物的固定象征。

所得胶乳通过RMN定量。

可以得知，每100 g 最终颗粒中的固定两亲化合物重量为6.4（理论值：9.1）。

结果列于表 I。

实施例2

相同条件下重复实施例1 所述操作，只是10g CA- OH分别代以5 g 和20g CA- OH。定量结果列于表 I。

实施例4

以CEMULSOL DB 25/18 作为两亲试剂并将其固定在可磁化聚苯乙烯胶乳颗粒上。

重复实施例2 所述操作，只是所用规定粒径聚苯乙烯胶乳代以10g 干重33%（重量），由粒径0.5 —0.9 μm 且平均粒径为0.7 μm 的颗粒组成以及含41.5%（重量）γ- Fe_2O_3（以聚合物计）的聚苯乙烯胶乳颗粒。混合物处理同于实施例1 。

电导定量结果列于表 I。

实施例5

以CEMULSOL DB 25/18 作为两亲试剂并将其固定在聚氯乙烯胶乳颗粒上。

重复实施例1 所述操作，只是所用规定粒径聚苯乙烯胶乳代以10g 干重37%（重量）并由平均粒径0.7 μm 的规定粒径颗粒组成的规定粒径聚氯乙烯胶乳颗粒。

混合物于80℃下搅拌2 小时。

电导定量结果列于表 I。

实施例6

以CEMULSOL DB 25/18 作为两亲试剂并将其固定在40/60（重量）的苯乙烯/ 甲基丙烯酸甲酯共聚物胶乳颗粒上。

重复实施例1 所述操作，只是所用规定粒径聚苯乙烯胶乳代以10g 干重30%（重量）并由平均粒径0.8 μm 的规定粒径颗粒组成的苯乙烯/ 甲基丙烯酸甲酯（40/60）共聚物规定粒径胶乳颗粒。

混合物于90℃下搅拌2 小时。

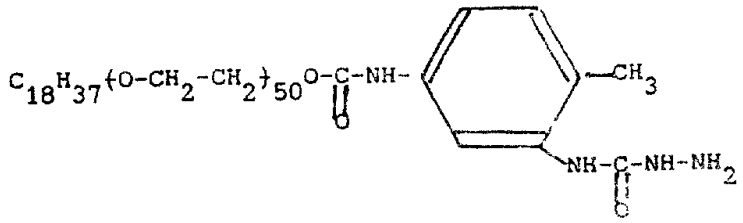
冷却后所得胶乳进行超滤。

RMN定量结果列于表 I。

实施例7

以CEMULSOL DB 25/18 和对甲基间氨基脲苯基氨基甲酸的酯（缩写为CASC：带氨基脲官能团的两亲化合物）作为两亲试剂并将其固定在规定粒径聚苯乙烯胶乳颗粒上。

两亲化合物一般式为：



制备两亲化合物

按以下两步骤：

第一步于90℃在作为溶剂的二噁烷存在下用甲苯二异氰酸酯对CEMULSOL DB 25/18 进行官能作用。

第二步于二噁烷存在下常温添加水合肼而对这样得到的CEMULSOL DB 25/18 进行官能作用。

乙醚中冷却即沉淀出所需两亲化合物。

固定

重复实施例1 所述操作，只是CEMULSOL DB 25/18 代以50g 上述制得的其衍生物的2 % 水溶液，这相当于0.494mmol 两亲化合物。

RMN定量结果列于表Ⅱ

实施例8

以CEMULSOL DB 25/18 和巯基乙酸的酯（缩写为CA-SH：带硫醇官能团的两亲化合物）作为两亲试剂并将其固定在规定粒径聚苯乙烯胶乳颗粒上。

两亲化合物一般式为：

$$C_{18}H_{37}+O-CH_2-CH_2\rightarrow_{50}O-C-CH_2-SH$$

该化合物可按美国专利n 2461920 所述方法制得。

重复实施例1 所述操作，只是CEMULSOL DB 25/18 代以50g 上述式的其巯基乙酸酯的2 % 水溶液 这相当于0.255mmol 两亲化合物。

电导定量结果列于表Ⅱ。

实施例9

将CEMULSOL DB 25/18 和对甲基间氨基脲苯基氨基甲酸的酯（缩写为CASC）固定在可磁化聚苯乙烯胶乳颗粒上。

重复实施例1 所述操作，只是规定粒径聚苯乙烯胶乳代以10g 干重33%（重量），由粒径0.5 —0.9 μm 且平均粒径为0.7 μm 的颗粒组成以及含41.5%（重量） $\gamma-Fe_2O_3$（以聚合物计）的聚苯乙烯胶乳。

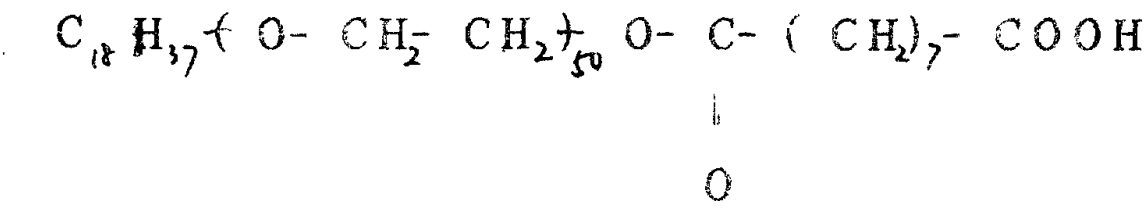
混合物处理同于实施例1 。

电导定量结果列于表Ⅱ。

实施例10

以CEMULSOL DB 25/18 和壬二酸的单酯（缩写为CA-COOH：带酸官能团的两亲化合物）作为两亲化合物并将其固定在规定粒径聚苯乙烯胶乳颗粒上。

两亲化合物一般式为：



这可于吡啶中在作为缩合剂的二环已基碳化二亚胺存在下用壬二酸酯化CEMULSOL DB 25/18 而得.

重复实施例1 所述操作，只是CEMULSOL DB 25/18 代以50g 上述式的其酯的2 % 水溶液，这相当于0.495mmol 两亲化合物。

RMN定量结果列于表Ⅱ。

实施例11

于溶胀剂存在下将CEMULSOL DB 25/18 和对甲基间氨基脲苯基氨基甲酸的酯(CASC) 固定在规定粒径聚苯乙烯胶乳上。

制成25g 2 % (重量) 两亲化合物的甲苯溶液。

先制得10g 0.1 % (重量) 月桂酸铵的水溶液并将其加到10g 干重33% (重量) 并由粒径0.8 μm 的规定粒径颗粒组成的聚苯乙烯胶乳颗粒中。再将两亲化合物的甲苯溶液加入胶乳中。混合物于45℃搅拌2 小时。

甲苯于旋转式蒸发器中于70℃和160 mm Hg 下汽提除去。

胶乳然后进行超滤洗涤。

RMN定量结果列于表Ⅱ。

实施例12

实施例1 中所得胶乳颗粒用装有转子30的离心机BECKMAN L 50(BECKMANN公司出售的仪器) 以10000 t/mn沉降15分钟，然后

用烘箱于40℃进行真空干燥后贮存在氮中。

颗粒特点是可贮存。

表 I和Ⅱ中所列有关初始聚合物的缩写符号意义如下：

PS：聚苯乙烯

PSmag ：可磁化聚苯乙烯

PVC：聚氯乙烯

P（ S/ MAM）：苯乙烯/ 甲基丙烯酸甲酯共聚物

ES：干重

表 1

实施例		1	2	3	4	5	6
胶乳	— 聚合物	PS	PS	PS	PS mag	PVC	P(S/MAM)
	— Ø um	0.9	0.9	0.9	0.5-0.9	0.7	0.8
	— ES%	33	33	33	33	37	30
两亲化合物	— 性质	CA-OH	CA-OH	CA-OH	CA-OH	CA-OH	CA-OH
	— g/100 g 聚合物	10	5	20	5	10	10
	— mol/100g 聚合物	5.35	2.675	11.70	2.675	5.35	5.35
	温度°C	70	70	70	70	80	90
	时间 h	2	2	2	2	2	2
固定%							
	— 理论值	9.1	4.8	16.7	4.8	9.1	9.1
	— 定量值	6.4	3.1	12.7	2.9	5.8	7.1

表 2

实 施 例		7	8	9	10	11	12
胶乳	— 聚合物	PS	PS	PS mag	PS	PS	PS
	— Ø um	0.9	0.9	0.5-0.9	0.9	0.8	0.9
	— ES%	33	33	33	33	33	33
两亲化合物	— 性质	CASC	CA-SH	CASC	CA-COOH	CASC	CA-OH
	— g／100g聚合物	10	10	10	10	5	10
	— mol/100g 聚合物	4.94	2.55	4.94	4.95	2.47	5.35
温度℃		70	70	70	70	45	70
时间h		2	2	2	2	2	2
固定%							
	— 理论值	9.1	9.1	9.1	9.1	4.8	9.1
	— 定量值	5.3	4.8	3.1	6.2	4.3	6.4