



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

230314
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 08 B 15/06

(22) Prihlášené 05 04 82

(21) (PV 2430-82)

(40) Zverejnené 31 12 82

(45) Vydané 15 10 86

(75)

Autor vynálezu

GEMEINER PETER ing. CSc., MARKO VLADIMÍR ing., BRATISLAVA,
KRISTIÁN PAVOL prof. ing. DrSc., DZURILLA MILAN doc. RNDr. CSc.,
KOŠICE

(54) Fenylhydrazónopropándinitrilové deriváty celulózy a spôsob ich prípravy

1

2

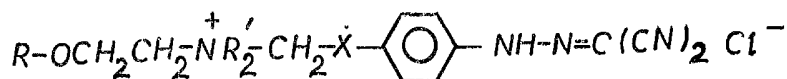
Vynález sa týka spôsobu prípravy fenylhydrazónopropándinitrilových derivátov celulózy.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že amidoderiváty celulózy reagujú s derivátmi fenylhydrazónopropándinitrolom v reakčnej zmesi tlmivého roztoku s rozpúšťadlom dióxanom.

Vynález má využitie pri príprave aktivovaných nosičov enzýmov, hormónov, protilátok a pri izolácii nízkomolekulových tiolov.

Vynález sa týka spôsobu prípravy fenylhydrazónopropándinitrilových derivátov ce-

lulózy, ktoré majú nasledovný obecný vzorec:



I

kde

R predstavuje celulózu,

R' predstavuje vodík, etyl a

X predstavuje metylén, karbonyl.

Hoci je použitie tiolových sorbentov v biochémii značne rozšírené, výber ligandov nie je veľký. Pokiaľ sú nároky aj na nereverzibilný priebeh sorpcie, výber sa zúži na disulfidické a organoortuťnaté ligandy [Ch. R. Lowe, P. D. G. Dean: Afinitní chromatografie, SNTL-Nakladatelství technické literatury, Praha (1979)].

U oboch typov ligandov je potrebné použiť pri desorpcii tiol; sťažuje to však izoláciu nízkomolekulových tiolov. Preto sú tieto systémy známe hlavne pri izolácii tiolových enzýmov/proteínov pod označením kovalentná afinitná chromatografia. Štúdium mechanizmu reakcií fenylhydrazónopropándinitrilov (FHPD) s tiolmi prinieslo dôležitý poznatok, a síce, že tieto reakcie sú reverzibilné [L. Drobnica, E. Šturdík: Biochim. Biophys. Acta 585, 462 (1979)].

Za vhodných reakčných podmienok, daných hodnotou pH prostredia a koncentrá-

ciou reaktantov, je rozpad reakčného produktu veľmi rýchly (rýchlostná konštanta $k < 10 \text{ s}^{-1}$) M. Antalík, Kandidátska dizertačná práca, Bratislava (1981)]. To znamená, že FHPD ako ligand pre izoláciu tiolov by riešil ťažkosti uvedené v prechádzajúcom. Využitie vodonerozpustných FHPD by viedlo k izolácii tak nízkomolekulových tiolov, ako aj tiolových protetínov z biologických materiálov. Vo vynáleze [V. Marko, P. Gemeiner, čs. autorské osvedčenie č. 229 972] sme popísali spôsob prípravy poly-FHPD s kratšími bočnými reťazcami o Cz a bez éterickej väzby, pri ktorom sa vychádzalo z takých matric, ktoré obsahovali primárne aromatické skupiny. To pechopiteľne znižovalo počet použiteľných východiskových aminopolymérov. Popísaný postup tiež vyžadoval viacstupňovú (dvoj- i viac-) reakciu na polyméry, čo bolo spojené s prítomnosťou ďalších funkčných skupín v produkte.

Uvedené nevýhody odstraňuje v podstatnej miere spôsob prípravy fenylhydrazónopropándinitrilových derivátov celulózy obecného vzorca:



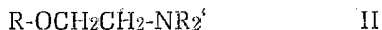
I

kde

R predstavuje celulózu,

R' predstavuje vodík, etyl a

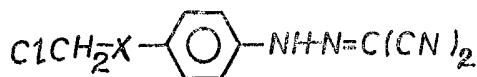
X predstavuje metylén, karbonyl s využitím amíno-derivátov celulózy s primárnymi a terciárnymi alifatickými aj aromatickými amínoskupinami obecného vzorca



kde

R predstavuje celulózu,

R' predstavuje protón, etyl, ktoré reagujú s nízkomolekulovými bifunkčnými derivátmi fenylhydrazónopropándinitrilu s halogénalkylovou skupinou v para-polohe benzenového jadra



(III)

kde

X predstavuje metylén, karbonyl, podľa vynálezu, podstata ktorého spočíva v tom, že aminoderiváty celulózy (II) reagujú s nízkomolekulovými derivátmi fenylhydrazónopropándinitrilu (III) pri mólových pomeroch amíno-skupiny celulózy: deriváty fenylhydrazónopropándinitrilu 1 : 2,5 až 5 pri laboratórnej teplote po dobu 24 hodín v reakčnej zmesi tlmivého roztoku s rozpúšťadlom dioxánom v pomere 9 : 1 v rozmedzí pH 7 až 10.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy je, že umožňuje použiť rôzne aminoderiváty (aminocelulózy s primárnymi, sekundárnymi a terciárnymi, alifatickými aj aromatickými amínoskupinami) s rôznym obsahom amínoskupín, dáva možnosť prípravy fenylhydrazónopropándinitrilových derivátov celulózy s cieľeným obsahom funkčných skupín v ich skeletoch, umožňuje dosiahnuť vysoké konverzie amínoskupín východisko-

vých polymérov, je jednoduchý a nenáročný na použité chemikálie a prístroje. Chemikálie sú buď komerčne dostupné, alebo sa dajú ľahko pripraviť [T. Zsolnai, Biochem. Pharmacol. 13, 285 (1964)].

Príklad 1

1 g amínoetylcelulózy s obsahom 0,8 mmól amínoskupín/g sa suspenduje v zmesi 40 ml boritanového tlmivého roztoku (0,5 mól l⁻¹) a dioxánu v pomere 9 : 1, ktorej pH bolo upravené na 9 a teplota na 20 °C. K suspenzii sa po častiach pridá 1 g p-chlóraceylfenylydrazónopropándinitrilu a mieša sa 24 hodín. Produkt reakcie (0,96 g) sa filtruje, 5× sa postupne premyje reakčnou zmesou tlmivého roztoku s dioxánom, roztokom chloridu sodného koncentrácie 1 mól l⁻¹, destilovanou vodou a etalonem a suší voľne na vzduchu. Obsahuje 5,0 % dusíka a 6,67 mmól fenylydrazónopropándinitrilu/g.

Príklad 2

Postup ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa amínoetylcelulóza suspenduje v zmesi 40 ml uhličitanového tlmivého roztoku (0,5 mól l⁻¹) a dioxánu v pomere 9 : 1 s pH upraveným na 10 a pridá sa 1 g p-(2-chlóretyl)-fenylydrazónopropándinitrilu. Produkt (0,96 g) obsahuje 2,0 % dusíka a 0,03 mmól fenylydrazónopropándinitrilu/g.

Príklad 3

Postup ako v príklade 1 s tým rozdielom,

PREDMET VYNÁLEZU

1. Fenylydrazónopropándinitrilové deriváty celulózy obecného vzorca



I

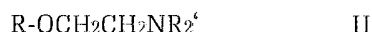
kde

R predstavuje celulózu,

R' predstavuje vodík, etyl a

X predstavuje metylén alebo karbonyl.

2. Spôsob prípravy podľa bodu 1, vyznačujúci sa tým, že amínoderiváty celulózy obecného vzorca



kde

R predstavuje celulózu,

R' predstavuje protón alebo etyl reagujú s nízkomolekulovými bifunkčnými derivátmi fenylydrazónopropándinitrilu s haloalkylovou skupinou obecného vzorca

že sa použije 1 g dietylamínoetylcelulózy s obsahom 0,9 mmól amínoskupín/g. Produkt (0,95 g) obsahuje 3,9 % dusíka a 0,40 mmól fenylydrazónopropándinitrilu/g.

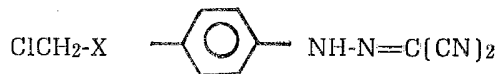
Príklad 4

Postup ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa použije 1 g dietylamínoetylcelulózy s obsahom 0,9 mmól amínoskupín/g a 0,5 g p-chlóracetylfenylydrazónopropándinitrilu. Výsledný produkt (0,95 g) obsahuje 3,2 % dusíka a 0,29 mmól fenylydrazónopropándinitrilu/g.

Príklad 5

Postup ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa použije 1 g dietylamínoetylcelulózy s obsahom 0,9 mmól amínoskupín/g ktorá sa suspenduje v 40 ml zmesi boritanového tlmivého roztoku (0,5 mól l⁻¹) a dioxánu v pomere 9 : 1 s pH upraveným na 7 a k suspenzii sa pridá 1 g p-(2-chlóretyl)-fenylydrazónopropándinitrilu. Produkt (0,97 g) obsahuje 1,3 % dusíka a 0,01 mmól fenylydrazónopropándinitrilu/g.

Vynález má využitie pri príprave aktivovaných matric pre reverzibilnú imobilizáciu biochemikálií s uplatnením v enzýmovom inžinierstve a pri izolácii nízkomolekulových tiolových zlúčenín, v priemyselnej praxi alebo výskume.



(III)

kde

X predstavuje metylén alebo karbonyl pri mólových pomeroch amíno-skupiny celulózy : deriváty fenylydrazónopropándinitrilu 1 : 2,5 až 5 pri izbovej teplote po dobu 24 hodín v reakčnej zmesi tlmivého roztoku s dioxánom v pomere 9 : 1 v rozmedzí pH 7 až 10.