



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU 195 044

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 03 05 77
(21) PV 2891-77

(11) (B1)

(51) Int. Cl.³ C 08 F 8/00
C 08 F 20/20

(40) Zveřejněno 28 02 79
(45) Vydáno 01 2 82

(75)
Autor vynálezu ČOUPEK JIŘÍ, ing., CSc., FILKA KAREL a KOCOUREK JAN, doc., RNDr., PRAHA

(54) Hydrofilní trojrozměrné kopolymeru a způsob jejich výroby

1

Vynález se týká hydrofilních trojrozměrných kopolymerů hydroxyalkylmetakrylátů, případně hydroxyalkylakrylátů se síťujícími komonomery, které obsahují kovalentně vázané sacharidy a způsobu jejich výroby přímou reakcí polymerů se sacharidy za katalýzy Lewisovými kyselinami.

Hydrofilní makroporézní kopolymeru hydroxyalkylmetakrylátů a hydroxyalkylakrylátů s alkylendimetakryláty nebo alkylendiakryláty připravené suspenzní kopolymerizací monomerů v přítomnosti inertních organických sloučenin ve vodném nebo organickém disperzním prostředí jsou známy z čs. autorského osvědčení č. 150 819 a z čs. patentu č. 148 828. Jejich vynikající mechanické vlastnosti, sférický tvar částic a makroporézní struktura, která dovoluje penetraci i značně velkých molekul do pórů nosiče, vedly k rozsáhlým aplikacím těchto materiálů v gelové, iontové výměnné, adsorpční a v afinitní chromatografii s využitím vody nebo vodných roztoků jako elučního činidla. Velmi perspektivní se zdá využití hydroxyalkylmetakrylátových a hydroxyalkylakrylátových kopolymerů v hydrofobní chromatografii, využívající interakce lipofilní části molekul dělených sloučenin s poměrně nepolární matricí nosiče, jehož hydrofilnost je způsobena přítomností neionogenních hydroxylových skupin v postranních řetězcích kopolymerů.

Pro některé aplikace se však stává tato možná hydrofobní interakce mezi nosičem a molekulami rozpuštěnými ve vodě nežádoucí. Je tomu všude tak, kde vyžadujeme jednoznačné

působení mezi funkčními skupinami nosiče a interagující sloučeniny (iontově výměnná a afinitní chromatografie) nebo kde sorpční interakce potlačujeme vůbec, jako je tomu v případě gelové chromatografie. Potom je nutno vnitřní povrch makroporézního kopolymery hydrófilisovat chemickou přeměnou hydroxylových skupin. Nejsilnější hydrofilizace lze dosáhnout substitucí hydroxylů ionogenními funkčními skupinami například postupy podle čs. autorských osvědčení č. 171 962, č. 171 963, č. 187 563, č. 177 507, č. 173 201. V řadě případů však je též přítomnost ionogenních funkčních skupin v nosiči nežádoucí. Tehdy je možno modifikovat hydroxyalkylmetakrylátové a hydroxyalkylakrylátové kopolymery vysoce hydrofilními neutrálními molekulami sacharidů.

V některých případech je u nosičů určených k dalším chemickým transformacím na závadu nízký obsah hydroxylových skupin schopných přeměny, což se projeví nižší kapacitou finálního produktu, než je požadováno. Stává se tak především v případech, kdy je nutná vysoká mechanická stabilita nosiče (u mikropartikulárních sorbentů pro aplikace ve vysokoučinné kapalinové chromatografii) a kdy je nutno volit kopolymery s vysokým obsahem síťovadla, které neobsahuje hydroxylové skupiny vůbec. V těchto případech znamená substituce hydroxylových skupin molekulou sacharidu řešení požadavku vyšší kapacity při polymeranalogických přeměnách. V neposlední řadě pak představuje chemicky vázaný sacharid ať v základní, nebo derivatizované formě východisko pro řadu polymeranalogických reakcí, kde glykosylovaný polymer je reaktivní složkou. Za další výhodu nosiče obsahujícího chemicky vázané sacharidy je možno považovat regenerovatelnost nosiče, protože hydrolytickým štěpením za drastických podmínek se získá původní nosič, který lze modifikovat znovu.

Makroporézní skla byla modifikována chemicky vázanými sacharidy firmou Pierce, která je prodává pod názvem Glykophase. Mechanická stabilita těchto produktů je srovnatelná s materiály podle vynálezu, při některých aplikacích může být však na závadu jejich nižší chemická stálost a nežádoucí nespecifické interakce způsobené silikagelovou maticí.

Vlastní reakce sacharidů s makroporézními kopolymery probíhá velmi hladce smícháním suspenze nosiče v organickém inertním rozpouštědle (s výhodou dioxan nebo tetrahydrofuran) které obsahuje určené množství chlorovodíku, fluoridu boritého nebo jejich směsi. Rozpouštědla musejí být suchá, stejně jsou sušeny i plynný HCl nebo BF₃ při sycení. K suspenzi se přidá jemně rozemletý suchý sacharid a směs se ponechá reagovat za míchání nebo třepání při pokojové nebo zvýšené teplotě. Přítomnost vody v reagujících složkách snižuje výtěžek vazebné reakce. Protože vznik α -glykosidické vazby a její hydrolyza představují rovnovážnou reakci, byly podrobně zkoumány optimální pracovní podmínky pro navázání maximálního množství sacharidů. Zvyšování reakční teploty mírně zvyšuje výtěžek do 60 až 70 °C. Při dalším růstu teploty do 100 °C výtěžek reakce klesá. Výraznější vliv na výtěžek reakce má koncentrace katalyzátoru (HCl nebo BF₃), která byla sledována až do 20 hmot. %. Nejlepších výsledků bylo dosaženo směsným katalyzátorem HCl + BF₃, kde chlorovodík působí zřejmým kokatalytickým vlivem. Naproti tomu katalyza H₃PO₄, P₂O₅, H₂SO₄ a dalšími kyselinami se ukázala za popsanych reakčních podmínek neúčinná.

Analýza obsahu navázaného sacharidu byla provedena po hydrolyze metodou podle Duboise.

Předmětem vynálezu jsou trojrozměrné kopolymery hydroxyalkylakrylátů nebo hydroxyalkylmetakrylátů v nichž alkyl obsahuje 1 až 4 atomy uhlíku se síťovadly vybranými ze skupiny divinylických nebo polyvinyllických monomerů akrylátového nebo metakrylátového typu, které jsou povrchově modifikovány α -glykosidicky vázanými sacharidy nebo jejich deriváty vybranými ze skupiny mono- a oligosacharidů, deoxycukrů, aminocukrů, acylovaných sacharidů, alkyl a aryl éterů nebo halogenderivátů monosacharidů a oligosacharidů.

Způsob výroby materiálů podle vynálezu představuje substituci hydroxylové skupiny sacharidem za tvorbu α -glykosidické vazby prováděnou v inertním organickém rozpouštědle při teplotě 20 až 100 °C za katalýzy chlorovodíkem, fluoridem boritým nebo jejich směsí.

Hmoty připravené podle vynálezu znamenají spojení vynikajících mechanických a hydrodynamických vlastností trojrozměrných hydroxyalkylakrylátových a metakrylátových kopolymerů s dobrou hydrofilností a vhodnými interakčními vlastnostmi srovnatelnými s polydextransy, agarosou nebo celulozovými materiály, které dosud nacházejí nejširší uplatnění především v biologii a v biochemii.

Způsob výroby není technologicky náročný a v širokém oboru reakčních podmínek poskytuje reprodukovatelné výtěžky.

Rozpouštědla, v nichž reakce probíhá, musejí dobře rozpouštět chlorovodík a fluorid boritý, aniž by s nimi za laboratorní nebo mírně zvýšené teploty reagovala. Dále je žádoucí, aby rozpouštědla měla polární charakter umožňující aspoň částečné rozpouštění sacharidů vybraných k vazbě na hydroxyalkylakrylátové nebo hydroxyalkylmetakrylátové nosiče.

Modifikované nosiče podle vynálezu představují východisko k nové řadě chromatografických materiálů s velmi různorodým použitím především pro separace biopolymerů a jejich fragmentů nebo pro aplikace k vazbě biologicky účinných látek určených pro katalýzu.

Hlavní předností způsobu výroby glykosylových derivátů hydroxyalkylmetakrylátových a hydroxyalkylakrylátových kopolymerů je jeho jednoduchost a rychlost, která vysoko převyšuje postupy používané dosud pro přípravu sorbentů obdobného typu. Mírnost podmínek, za kterých jsou materiály podle předmětu vynálezu připravovány, snadná dostupnost reakčních komponent, odolnost matrice vůči mikroorganismům, jednoduchá manipulace a přechovávání patří k jejich dalším přednostem.

Předmět vynálezu je objasněn v následujících příkladech, aniž by však byl jimi jakkoli omezován.

Příklad 1

70 ml dioxanu s obsahem chlorovodíku 17,5 hmot. % a 5 g kopolymeru hydroxyetylmetakrylátu s etylendimetakrylátem o vylučovacím limitu 300 000 daltonů bylo ponecháno botnat v 500 ml reakční baňce při laboratorní teplotě po dobu 7 hodin. Poté byla směs krátce evakuována. K suspenzi byly přidány 3 g bezvodé jemně rozetřené D-glukózy a vše ponecháno třepat 14 hodin za laboratorní teploty. Po uplynutí této doby byla reakce ukončena vlitím reakční směsi do 1 litru deionizované vody. Cukerný derivát gelu byl okamžitě

195 044

odsát na fritě a promýván deionizovanou vodou do neutrální reakce a do negativní reakce na cukry. Nakonec byl glykosylovaný gel promyt etanolem, acetonem a éterem a vysušen při teplotě 50 °C ve vakuu do konstantní teploty. Obsah navázaného cukru 13,5 hmot. %.

Příklad 2

4,2 g hydroxyetylmetakrylátového kopolymeru stejně jako v příkladu 1 bylo ponecháno botnat v 70 ml dioxanu syceného plynným chlorovodíkem na 5 hmot. %. Potom bylo přidáno 1,02 g D-glukózy a suspenze byla ponechána třepat při teplotě 45 °C po dobu 10 hodin. Poté byla vlitá do 1 litru deionizované vody a dále zpracována jako v příkladu 1. Procentuální obsah navázaného cukru 6,42 hmot. %.

Příklad 3

3,5 g kopolymeru 2-hydroxyetylmetakrylátu s etylendiakrylátem s vylučovacím limitem molekulové hmotnosti 300 000 daltonů bylo ponecháno botnat 12 hodin v 60 ml bezvodého dioxanu obsahujícího 6 hmot. % chlorovodíku. Poté byly přidány 1,3 g N-acetyl-D-glukosaminu a směs byla ponechána třepat 10 hodin při teplotě 35 °C. Suspenze byla vlitá do 1 litru deionizované vody a dále zpracována jako v příkladu 1. Obsah navázaného aminocukru 8,15 hmot. %.

Příklad 4

5 g kopolymeru 2-hydroxyetylmetakrylátu s etylendimetakrylátem s vylučovacím limitem 250 000 daltonů bylo ponecháno botnat v 70 ml dioxanu syceného fluoridem boritým na 7 hmot. % po dobu 12 hodin při laboratorní teplotě. K reakční suspenzi byly přidány 3 g bezvodé D-glukózy a reakční směs byla třepána 8,5 h. při teplotě 50 °C. Reakce byla ukončena vlitím směsi do 1 litru deionizované vody. Další zpracování bylo provedeno stejně jako v příkladě 1. Obsah navázaného cukru činil 12,4 hmot. %.

Příklad 5

Reakce byla provedena analogicky jako v příkladu 1, s tím rozdílem, že reakční teplota byla zvýšena na 70 °C při obsahu chlorovodíku v dioxanu 6 %. Výsledný obsah kovalentně vázané D-glukózy činil 6,25 hmot. %.

Příklad 6

5 g kopolymeru 2-hydroxyetylmetakrylátu s etylendimetakrylátem s vylučovacím limitem 300 000 daltonů bylo smícháno s 66 ml dioxanu a syceno chlorovodíkem na koncentraci 3,4 hmot. % a fluoridem boritým na 3,3 hmot. %. Suspenze byla ponechána botnat 6,6 hodin při laboratorní teplotě za občasného protřepání. Poté byly přidány 3 g bezvodé a jemně rozetřené D-glukózy a směs byla třepána při 35 °C po dobu 1 hodiny. Poté byla reakční směs zahřívána 12 hodin při laboratorní teplotě za neustálého třepání. Reakce byla ukončena vlitím reakční směsi do 1 litru deionizované vody, polymer byl dále zpracován stejně jako v příkladu 1. Procentuální obsah cukru 17,6 hmot. %.

Příklad 7

Vazba disacharidu byla provedena analogicky jako v příkladu 1, s tím rozdílem, že do reakce bylo vzato 3,26 g jemně rozetřené maltózy a reakční směs byla po dobu 10 ho-

din při teplotě 40 °C promíchávána na laboratorní třepačce. Gel s navázaným disacharidem byl zpracován stejně jako v příkladu 1. Procentuální obsah vázané maltózy činil 9,7 hmot. %.

Příklad 8

Pokus byl proveden stejně jako v příkladu 6, s tím rozdílem, že místo D-galaktózy byla použita 6-O-metylglukóza. Výsledný obsah vázaného éterického derivátu glukózy byl 15,2 hmot. %.

Příklad 9

Příprava vázaného halogenderivátu sacharidu byla provedena analogicky jako v příkladu 6, s tím rozdílem, že do reakce byla vzata 6-fluorglukóza v množství 3 g. Zpracování výsledného produktu bylo provedeno shodně jako v příkladu 6. Obsah vázané 6-fluorglukózy byl 14,78 hmot. %.

P R E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Hydrofilní trojrozměrné kopolymery hydroxyalkylakrylátů nebo hydroxyalkylmetakrylátů, v nichž alkyl obsahuje 1 až 4 atomy uhlíku, se síťovadly vybranými ze skupiny divinyllických nebo polyvinyllických monomerů akrylátového nebo metakrylátového typu, obsahující na povrchu polymeru glykosidicky vázané sacharidy nebo jejich deriváty vybrané ze skupiny monosacharidů, oligosacharidů, deoxycukrů, aminocukrů, acylovaných sacharidů, alkyl- a aryléterů nebo halogenderivátů monosacharidů a oligosacharidů.
2. Způsob výroby hydrofilních trojrozměrných kopolymerů podle bodu 1, vyznačený tím, že trojrozměrné kopolymery obsahující hydroxylové skupiny uvedené v bodě 1 se nechají reagovat se sacharidy nebo jejich deriváty uvedenými v bodě 1 v inertoním organickém rozpouštědle při teplotě 20 až 100 °C za katalýzy chlorovodíkem, fluoridem boritým nebo jejich směsí.