



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

217 444

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 20 04 79
(21) (PV 2759-79)
(89) 136 269 DD
(32)(31)(33) Právo přednosti od 04 05 78
(WP C 08 F/205174), DD

(51) Int. Cl.³ C 08 F 220/36,
C 08 F 220/38,
C 08 F 220/34,
C 08 F 220/32

(40) Zveřejněno 28 05 82
(45) Vydáno 01 07 84

(75)
Autor vynálezu

KÜHN MANFRED dr., BERLIN,
MOHR PETER prof. dr. HOHEN-NEUENDORF, DD
ČOUPEK JIŘÍ dr.CSc., PRAHA ČSSR

(54) Způsob přípravy hydrofilních, trojrozměrných kopolymerů
s kovalentně vázanými heterocykly

Kopolymery tohoto typu mohou najít použití v komplexní katalýze, v iontovýměnné chromatografii a také jako nosiče biologických funkcí. Cílem vynálezu je vypracování široce použitelného a snadno uskutečnitelného způsobu pro imobilizaci nízkomolekulárních efektorů ze skupiny heterocyklů. Podle vynálezu se komerčně dostupné hydrofilní, makroporézní kopolymery hydroxyalkylmetakrylátů a alkylendimetykrylátů aktivují reakcí analogickou polymeraci bifunkčními epoxidy, a kopolymery s aktivními epoxidovými skupinami reagují jednoduchou reakcí s nízkomolekulárními efektorů ze skupiny heterocyklů. Jako efektorů ze skupiny heterocyklů se používají pěti-, šesti a vícečlenné heterocykly, které mají ekzocyklické a/nebo endocyklické nukleofilní skupiny, výhodně deriváty imidazolu, pyridinu, pyrimidinu, purinu, thiazolu, triazolu, thiadiazolu, oxydiazolu nebo heminu.

217 444

НАЗВАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ получения сополимеров с ковалентно связанными гетероциклами.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретение касается способа получения гидрофильных, трёхмерных сополимеров гидроксикалкиметакрилатов, которые сшиты с сомономерами и содержат ковалентно связанные гетероциклы. Вещества такого рода могут найти применение в комплексном катализе, в ионообменной хроматографии, а также как носители биологических функций.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗВЕСТНЫХ ТЕХНИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ

Известно, что различные гетероциклы, как например, пиридин и другие в своей низкомолекулярной форме, могут образовывать комплексы с переходными металлами. Большое значение имеют эти азотные основания также в белковых соединениях и других биологически активных веществах, где они также способствуют многообразнейшим комплексообразующим реакциям. Несмотря на эти свойства и значение в биологических системах, полимеры, содержащие ковалентно связанные гетероциклы, до сих пор не приобрели большого значения и не нашли широкого применения. В связи с синтезом исходных веществ для полимерных ферментных моделей или полимерных лекарственных средств такие носители находят возрастающий интерес. Более широкому их применению до сих пор противостояли сложность и неэкономичность их получения. Так полимеры с ковалентно связанными гетероциклами, например, доступны через сложные, связанные с низкими выходами, реакции циклизации на самих полимерах. Другие способы синтеза таких модифицированных носителей требуют применения сухих растворителей, в которых щелочные соли гетероциклов азота должны вступать в реакцию с соответственно активированными, а следовательно тяжело доступными полимерами. И наконец, полимеры, содержащие гетероциклы, получают путем сополимеризации

гетероциклов, иногда трудно получаемых, с ненасыщенными алифатическими боковыми группами и акриламида или акрилонитрила.

К этим трудностям при синтезе добавляются различные недостатки носителей. Они часто бывают малоустойчивыми против микроорганизмов, очень различно набухают при смене растворителя значения pH и ионной силы и во многих случаях обладают только низкой гидролитической устойчивостью, а также низкой пористостью.

Носители на основе полистирола, которые не имеют этих недостатков, привлечены уже различно к синтезу гетероцикло-содержащих полимеров, но они на основе гидрофобной природы полимерного скелета не применимы для многих целей.

Недостатков описанного рода не имеют гидрофильные, макропористые сополимеры гидроксикалметакрилатов с алкилендиметакрилатами в качестве сшивающего агента.

Они получают путём суспензионной сополимеризации мономеров в присутствии инертных органических соединений в водной или органической дисперсной среде и являются легко доступными коммерческими продуктами. Их хорошие механические свойства, сферическая форма частичек и макропористая структура, которые позволяют проникание также более крупных биомакромолекул в поры носителя, привели к широкому применению этих материалов в желатиновой, ионообменной, адсорбционной, аффинационной хроматографиях, а также для иммобилизации низкомолекулярных эффекторов и биополимеров.

ЦЕЛЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Цель изобретения заключается в разработке способа для иммобилизации низкомолекулярных эффекторов из группы гетероциклов. Он должен отличаться от до сих пор известных способов тем, что он более широко применим и легче осуществим и чтобы модифицированные полимеры не имели недостатков, имеющих у известных до сих пор продуктов.

ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Согласно изобретению, ~~активируют~~ нейтральные неионогенные

217 444

гидроксильные группы коммерчески доступных, гидрофильных, макропористых сополимеров гидроксиалкилметакрилатов (алкил C_2-C_6) и алкилендиметакрилатов^{активируют} путем полимераналогичных превращений с бифункциональными эпоксидами превращают сополимеры с активными эпоксидными группами в простой реакции с низкомолекулярными эффекторами из группы гетероциклов. Таким образом, получают нерастворимые полимеры с ковалентно связанными гетероциклическими группами.

Изобретение реализуется с большим количеством бифункциональных эпоксидов, при этом на основе легкой доступности, своей хорошей реакционной способности и своему хорошему характеру растворения особенно хорошо подходит эпихлоргидрин.

Реакция эпихлоргидрина с макропористыми сополимерами протекает очень гладко путем смешивания компонентов в воде, в органических растворителях или их смесях, которые содержат определённые количества одного из неорганических оснований, как $NaOH$, $NaHCO_3$, Na_2CO_3 .

Суспензию для замещения гидроксильных групп сополимеров на эпоксидные группы перемешивают или встряхивают при $20 - 100^\circ C$. Время и температура реакции в значительной мере влияют на выходы связанных эпоксидных групп.

В качестве эффекторов из ряда гетероциклов применяют пяти-, шести- и больше звенные гетероциклы, которые имеют экзоциклические и/или эндоциклические нуклеофильные группы. Они должны сверх того иметь по меньшей мере ещё один эндоциклический, третичный атом азота со свободной электронной парой. В качестве эффекторов применяют преимущественно производные имидазола, пиридина, пиримидина, пурина, тиазола, триазола, тиадиазола, оксидиазола или гемина. Эта реакция иммобилизации гетероциклов, согласно изобретению, проводится следующим образом:

Компоненты при размешивании и при температуре $20 - 100^\circ C$ в воде органических растворителях или их смесях, при необходимости в присутствии определенного количества неорганических оснований, как $NaOH$, $NaHCO_3$, Na_2CO_3 приводят в реакцию друг с другом. Добавление неорганических оснований делается необходимой в случае гетероциклов, у которых NH -кислотные группировки являются

составными частями гетероциклических колец или у гетероциклов с экзоциклическими, нуклеофильными гидроксильными или меркаптогруппами. При реакциях гетероциклов с экзоциклическими первичными или вторичными аминогруппами нет необходимости в добавке неорганических оснований, если основные гетероциклы не имеются в форме их солей.

Способ получения гетероциклических полимеров, согласно изобретению, упрощается тем, что макропористые сополимеры описанного типа, в случае надобности, в присутствии упомянутых неорганических оснований, приводят в реакцию вместе с эпихлоргидрином и гетероциклами, которые содержат экзо-, или эндоциклические нуклеофильные группы. Условия реакций при этом похожи на описанные выше, но при этом выхода у ковалентно связанных гетероциклов всегда ниже. Растворители, в которых протекают реакции, являются в большой мере свободно выбираемы и не являются ограничивающим фактором. Только должно быть гарантировано, чтобы неорганические основания и гетероциклы в них хотя бы частично растворялись. Обычно это лучше всего осуществимо с полярными протонными или апротонными растворителями, так что из их большого множества можно выбрать, смотря по обстоятельствам, самый подходящий. Способ получения новых гетероциклических полимеров, согласно изобретению, тем очень хорош, что полимераналогичные реакции особенно гладко протекают в воде, спиртах или их смесях.

Важные преимущества синтеза полимеров, содержащих гетероциклы, путем полимераналогичных реакций вытекают из того фактора, что при таком типе реакций замещаются только находящиеся на внутренней поверхности макропористого носителя гидроксильные группы на эпоксидные группы. Следовательно в последующей реакции гетероциклы реагируют также только с эпоксидными группами на внутренней поверхности, что при легкой доступности этих реактивных мест в полимерах также ведет к полному замещению эпоксидных групп маленькими молекулами гетероциклов. Непрореагировавшие эпоксидные группы, которые могли бы мешать последующим операциям с этими гетероцикло-содержащими полимерами, по описанному способу не появляются.

217 444

Способ получения технологически совсем прост и в больших пределах условий реакций получают воспроизводимые выходы. Простота и быстрота осуществления реакций, а также неприхотливость условий при синтезе новых гетероциклических производных макропористых сополимеров гидроксипалкилметакрилатов (алкил $C_2 - C_6$) со сшивающими средствами из группы алкилендиметилакрилатов значительно превосходят до сих пор применяемые способы получения носителей подобного типа.

Легкая доступность компонентов реакций, сопротивляемость матриц против микроорганизмов, их большая гидролитическая стойкость, позволяющая работы даже в сильно щелочной или кислой средах и возможности к простым полимераналогичным реакциям с такими носителями, являются дальнейшими преимуществами. В последующем на примерах описывается предмет изобретения, которые однако ни в коем случае не должны ограничивать изобретение.

ПРИМЕРЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Пример I

5 г сополимера из гидроксипалкилметакрилат-00-этилендиметакрилат ($M_{wLim} = 300\ 000$ дальтон) оставляют на 12 часов в 100 мл дистиллированной воды для набухания. Затем 9,5 г (0,1 моль) эпихлоргидрина и 6 г NaOH присоединяют в твердой форме и суспензию размешивают 4 часа при 80°C. После отфильтровывания носителя его промывают поочередно дистиллированной водой, этанолом, дистиллированной водой и снова суспендируют в 50 мл 1 н едкого натрия. К этому прибавляют 1,7 г (0,025 моль) имидазола и суспензию выдерживают 4 часа при температуре 80°C с перемешиванием. Носитель отфильтровывают и после промывки его дистиллированной водой, этанолом, эфиром сушат под вакуумом при 40°C. Содержание имидазола в носителе определяют из значения азота элементарного анализа ^{путем} или титрования 0,1 н соляной кислоты. Оно составляет 61 мг (0,9 ммоль)/г носителя.

Таким же способом вводят в реакцию бензимидазол и 4(5)-нитроимидазол. Для бензимидазола найдено содержание 100 мг (0,85 ммоль)/г

носителя и для 4(5)-нитроимидазола содержание 85 мг (0,75 ммоль)/г носителя.

Пример 2

5 г сополимера из гидроксиэтилметакрилат-С0-этилендиметакрилат ($M_{wLim} = 300\ 000$ дальтон) оставляют на 12 часов в 50 мл этанола для набухания. Затем присоединяют 4,2 г (0,05 моль) эпихлоргидрина, 6 г NaOH в 25 мл дистиллированной воде и 0,025 моля одного из упомянутых в примере I производных имидазола и суспензию размешивают 7 часов при 80°C. Носитель отфильтровывают, промывают дистиллированной водой, этанолом, эфиром и сушат под вакуумом при 40°C. Содержание гетероциклов определяют как в примере I и получают следующие значения:

имидазол:	27 мг (0,4 м моль)/г носителя
бензимидазол:	35 мг (0,3 м моль)/г носителя
4(5)-нитроимидазол:	17 мг (0,15 м моль)/г носителя.

Пример 3

5 г сополимера из гидроксиэтилметакрилат-С0-этилендиметакрилата ($M_{wLim} = 1\ 000\ 000$ дальтон) оставляют с эпихлоргидрином как в примере I на 3 часа. Затем к суспензии активированного носителя в 50 мл этанола добавляют 0,025 моля гетероциклического соединения, содержащего аминогруппу, и размешивают 6 часов при 70°C. Носитель отсасывают и обрабатывают как в примере I. Содержание гетероциклического соединения на грамм носителя, которое определяют также, как в примере I, был для:

I-(3-аминопропилимидазола)	: 75 мг (0,6 м моль)
метилового эфира гистидина	: 73 мг (0,49 м моль)
Гистамина	: 58 мг (0,52 м моль)
3-аминопиридина	: 59 мг (0,63 м моль)
гидразида изоникотиновой кислоты	: 78 мг (0,57 м моль)
6-аминопурина	: 71 мг (0,53 м моль)

Пример 4

5 г сополимера из гидроксиэтилметакрилат-С0-этилендиметакрилата

217 444

($M_{wLim} = 1\,000\,000$ дальтон) вводят в реакцию как в примере I с эпихлоргидрином на ³ часа. Носитель, содержащий эпоксидные группы, так же как ^{было} описано в примере I, превращают с гетероциклическим соединением, содержащим гидроксильные группы, но на этот раз на 6 часов. Носитель после реакции отсасывают и обрабатывают, как описано в примере I. Содержание гетероциклического соединения на грамм носителя был для:

I-(2-гидроксиэтилимидазола)	: 57 мг(0,48 м моль)
3-гидроксипиридина	: 48 мг(0,5 м моль)
6-гидроксипурина	: 70 мг(0,52 м моль)

Пример 5

5 г сополимера из гидроксиэтилметакрилат-СО-этилендиметакрилата ($M_{wLim} = 40\,000$ дальтон) превращают с эпихлоргидрином как в примере I на 4 часа. Активированный носитель превращают, как описано в примере I, с гетероциклическим соединением, содержащим меркаптогруппы, в продолжение 2,5 часа. Носитель после реакции отфильтровывают и обрабатывают как в примере I. Содержание гетероциклического соединения на грамм носителя был для:

I-метил-4-нитро-5-меркаптоимидазола:	124 мг (0,78 м моль)
2-меркаптобензтиазол	: 90 мг (0,67 м моль)
6-меркаптопурин	: 106 мг (0,7 м моль)
2,5-димеркапто-1,3,4-тиодиазол	: 93 мг (0,62 м моль)
2-этил-5меркапто-1,3,4-оксадиазол	: 98 мг (0,75 м моль)

Пример 6

2 г сополимера из гидроксиэтилметакрилат-СО-этилендиметакрилата ($M_{wLim} = 300\,000$ дальтон) активируют с эпихлоргидрином, как в примере I. После того, как носитель отфильтровали, его промывают в последовательности: дистиллированная вода, этанол, диметилформамид и затем суспензируют в 30 мл диметилформамида. К суспензии прибавляют 0,0025 моль гетероциклического соединения, содержащего карбоксильные группы, и 0,4 г $NaOH$ в 5 мл дистиллированной воды и всё это перемешивают

7 часов при 60°C. Носитель отсасывают, промывают 0,1 н
дистиллированной водой, этанолом, эфиром и сушат под вакуумом
при 40°C. Содержание гетероциклического соединения на грамм
носителя было для:

протопорфирин-(гемин)железа (III)	: 37 мг (0,056 м моль)
дейтеропорфирин-(дейтерогемин)железа(III)	: 32 мг(0,053 м моль)
никотиновой кислоты	: 78 мг(0,63 м моль)

Пример 7

Способ осуществляют с такими же исходными веществами, как в
примере I, с исключением, что вместо эпихлоргидрина загружают
бутандиэпоксид и что температура реакции 20°C.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения гидрофильных, трехмерных сополимеров с ковалентно связанными гетероциклами, отличающийся тем, что гидрофильные, макропористые сополимеры гидроксиалкилметакрилатов (алкил $C_2 - C_6$) и алкилендиметакрилатов активируют путем полимераналогичной реакции с бифункциональными эпоксидами и превращают с низкомолекулярными эффекторами из группы гетероциклов.
2. Способ по пункту 1, отличающийся тем, что в качестве бифункционального эпоксида применяют эпихлоргидрин, который в присутствии неорганических оснований в воде, органических растворителей или их смесей превращается при температурах $20 - 100^{\circ}C$ в течение 2 - 8 часов.
3. Способ по пунктам 1 и 2, отличающийся тем, что в качестве низкомолекулярных эффекторов применяют 5-,6- или больше-звенные гетероциклы с экзо- и/или эндоциклическими нуклеофильными группами, которые кроме этого имеют минимально ещё один эндоциклический атом азота со свободной электронной парой.
4. Способ по пунктам 1 - 4, отличающийся тем, что реакция с низкомолекулярными эффекторами в воде, органических растворителях или их смесях осуществляют в случаях необходимости в присутствии неорганических оснований при $20 - 100^{\circ}C$.

Аннотация

217 444

Сополимеры такого рода могут найти применение в комплексном катализе, в ионнообменной хроматографии, а также как носители биологических функций. Целью изобретения является развитие широкого применимого и легко осуществляемого способа для иммобилизации низкомолекулярных эффекторов из группы гетероциклов. Согласно изобретению коммерчески доступные гидрофильные, макропористые сополимеры гидроксиалкилметакрилатов и алкилендиметакрилатов активаруют путем полимераналогичных превращений с бифункциональными эпоксидами и превращают сополимеры с активными эпоксидными группами в простой реакции с низкомолекулярными эффекторами из группы гетероциклов. В качестве эффекторов из ряда гетероциклов применяют пяти-, шести- и больше звенные гетероциклы, которые имеют экзоциклические и/или энгоциклические нуклеофильные группы, предпочтительно производные имидазала, придина, пиримидина, пурина, тиазола, триазола, тидиазола, оксидиазола или гемина.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

217 444

1. Způsob přípravy hydrofilních, trojrozměrných kopolymerů s kovalentně vázanými heterocykly, vyznačující se tím, že se hydrofilní makroporézní kopolymer hydroxyalkylmetakrylátů s alkylem C_2-C_6 a alkylemdimetakrylátů aktivují polymer-analogickou reakcí s bifunkčními epoxidy a dále se nechají reagovat s nízkomolekulárními efekty ze skupiny heterocyklů.
2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako bifunkční epoxid používá epichlorhydrin, který reaguje v přítomnosti anorganických zásad ve vodě, organických rozpouštědlech nebo v jejich směsích při teplotách 20 až 100 °C po dobu 2 až 8 hodin.
3. Způsob podle bodů 1 a 2, vyznačující se tím, že se jako nízkomolekulární efekty používají heterocykly s pěti-, šesti- nebo více členy v kruhu, s ekzo a/nebo endocyklickými nukleofilními skupinami, které mimo to mají ještě jeden endocyklický atom dusíku s volným elektronovým párem.
4. Způsob podle bodů 1 až 3, vyznačující se tím, že se reakce s nízkomolekulárními efekty provádí ve vodě, organických rozpouštědlech nebo v jejich směsích v případě nutnosti v přítomnosti anorganických zásad při 20 až 100 °C.

Uznáno vynálezem na základě výsledků expertizy, provedené Úřadem pro vynálezectví a patentnictví, Berlín, DD.