ČESKOSLOVENSKÁ SOCIALISTICKÁ REPUBLIKA
(19)

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

200 353

(11) (B1)

(61)
(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 12 02 74
(21) PV 8587-77

(51) Int. Cl.³ B 01 J 43/00

(40) Zveřejněno 31 12 79
(45) Vydáno 30 11 83

(75)
Autor vynálezu MIKEŠ OTAKAR Dr.ing. DrSc.,
ŠTROP PETR ing. a
ČOUPEK JIŘÍ ing.CSc., PRAHA

(54) Způsov přípravy amfoterních ionexů a hydrofilní polymerní matricí

Vynález se týká způsobu přípravy hydrofilních polymerních gelů, které ve své struktuře obsahují současně kationické i anionické funkční skupiny.

Ionexové hydrofilní polymerní gely s regulovatelnou porositou připravené podle čs. autorského osvědčení č. 171 962, 171 963 a č. 187563 obsahují ve své struktuře buď funkční skupiny anionické (měniče kationtů) nebo kationické (měniče aniontů). Bylo prokázáno, že tyto materiály předčí svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi dosavadní běžně užívané katexy a anexy s celulózovou nebo polydextranovou matricí při sorpci a chromatografii různých biopolymerů.

Kromě běžných katexů a anexů byly však již dříve připraveny syntetické organické polystyren- divinylbenzenové ionexy, které ve své struktuře obsahovaly současně bazické i kyselé funkční skupiny. Na polystyrenový anex se iontovou výměnou sorbovala kyselá složka (například kyselina akrylová), která po průniku do zrnka anexu byla potom do jeho sítě zapolymerována, většinou vklíněním jejího makromolekulárního řetězce. Podobně je možno vázat bazické složky na katex. Těmito postupy byly vyrobeny komerční amfoterní ionexy např. typu Retardion, které nalezly své plaatnění především v procesu nazývaném iontové zabrzdění. Tento separační postup nachází uplatnění jak v laboratorním, tak ve výrobním měřítku.

Současný rozvoj chromatografie biopolymerů ukazuje na velký význam amfoterních ionexů, jsou-li jejich funkční skupiny vázány na matrici dovolující penetraci makromolekul, jako je například polydextran (J. Porath, L. Fryklund: Nature 226(1970) 1169 : J.Porath, N. Fornstedt : J. Chromatogr.51 (1970) 479. Vzhledem k výhodným chemickým i mechanickým vlastnostem hydrofilních hydroxyakrylátových a hydroxymethakrylátových gelů připavených podle (čs. patentu č. 148 828 a autor osvědčení č. 150 819), které v mnoha ohledech předčí deriváty polysacharidové, je tento syntetický polymerní gel velmi vhodným nosičem i pro amfoterní nebo dipolární ionogenní skupiny. Předmětem vynálezu je způsob přípravy amfoterních ionexů s hydrofilní polymerní matricí určených zvláště pro izolaci a separaci biologických materiálů, který spočívá v tom, že se hydrofilní anex z polymerních gelů připravených kopolymerizací monomerů patřících do skupiny hydroxyalkylmethakrylátů, hydroxyalkylakrylátů, kde alkyl obsahuje 1 až 6 atomů uhlíku, hydroxyalkylakrylamidů a hydroxyalkylmethakrylamidů s alkylem obsahujícím 1 až 6 atomů uhlíku se síťujícími komonomery obsahujícími 2 nebo více akryloylových nebo methakryloylových skupin v molekule vybranými ze skupiny di - a polyakrylátů, methakrylátů, glykolakrylátů, glykolmethakrylátů a divinylbenzenu neutralizuje kysele reagujícími monomery vybranými ze skupiny sulfoalkylakrylátů, sulfoalkylmethakrylátů, sulfoalkylakrylamidů, sulfoalkylmethakrylamidů, kde alkyl obsahuje 1 až 4 atomy uhlíku, kyseliny akrylové a kyseliny methakrylové a poté se reaktivní dvojné vazby produktu neutralizace radikálově kopolymerizují se zbylými dvojnými vazbami přítomnými v původním anexu.

Kopolymerizaci lze s výhodou provést tak, že se nejprve připraví makroporézní anex suspenzí kopolymerizací kationogenního monomeru s větším množstvím (více než 10 % mol) síťovadla, takže po provedené polymerizaci obsahuje polymer určitou část nezreagovaných akryloylových nebo methakryloylových dvojných vazeb.

Radikálové kopolymerizace se provádí v přítomnosti inertních organických rozpouštědel vybraných ze skupiny organických kyselin, alkoholů, aminů nebo nitrilů ve vodné disperzní fázi.

Při syntéze amfoterního ionexu hraje často roli významný požadavek, aby opačně nabité skupiny byly nejen ve stechiometrické akvivalenci, nýbrž aby byly stericky tak situovány, aby dovolovaly v důsledku volné otáčivosti řetězců jejich nezávislé kroužení v roztoku a zaujímání polohy v prostoru určeném délkou svých ramen. Přitom je žádoucí, aby se mohly v jednom místě setkat a vytvořit iontovou vazbu.

Amfoterní ionexové hydrofilní gely mají veliký význam pro rozvoj jemných frakcionačních metod. Dělí se na nich směsi bílkovin a nukleových kyselin již při lineární chromatografii, aniž by se vylučovala možnost použití elučních gradientů. Dosaženými výsledky předčí separace na amfoterních ionexech dělení dosažená na obvyklých monofunkčních ionexových derivátech.
(J. Porath : Chromatographic Methods in Fractionation of Enzymes / in Biotechnology and Bioengineering Symp. No. 3, 145- 166, 1972/). K těmto účelům dosud používané deriváty polydextranů Sephadexu nebo Sepharosy (chráněné slovní známky) mají ve srovnání s hydrofilními

deriváty hydroxyakrylátových a hydroxymethakrylátových gelů podstatně menší chemickou a mechanickou stabilitu. Nové ionexy připravené podle tohoto vynálezu navíc jen velmi málo bobtnají, při vyšších průtocích nedochází k ucpávání kolon naplněných těmito materiály. Gely jsou vzdorné vůči mikrobielní infekci a v případě potřeby je lze sterilovat varem.

Příklad 1

0,5 g měniče aniontů připraveného podle čs. AO 187563 s kapacitou 2,0 meq/g v OH formě bylo smícháno s 15 ml 10%ního roztoku kyseliny akrylové ve vodě. Po 30 minutách byl přebytek kyseliny vypláchnut na fritě asi 2[illegible] destilované vody, voda byla odsáta na fritě do sucha a přidáno 10 ml 0,1 % amonium persulfátu a 20 ml tetramethylendiaminu ve vodě. Roztok byl odsát na fritě a polymerován 2 hodiny při 40° C. Celý postup byl opakován ještě 1 x. Vazba kyseliny akrylové byla sledována z titračních křivek.

Příklad 2

Bylo postupováno stejným způsobem jako v příkladu 1 s tím rozdílem, že místo kyseliny akrylové byla použita kyselina methakrylová ve stejném množství.

Příklad 3

Stejným způsobem jako v příkladu 1 byl připraven amfoterní měnič iontů za použití sulfoethylakrylátu místo kyseliny akrylové (15 ml 5%ního roztoku). Zabudování druhého monomeru bylo sledováno z titrační křivky a podle obsahu síry. Reakce byla opakována 3 x až bylo dosaženo molárního poměru S/N = 0,8.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přípravy amfoterních ionexů s hydrofilní polymerní matricí určených zvláště pro izolaci a separaci biologických materiálů, vyznačený tím, že se hydrofilní anex z polymerních gelů připravených kopolymerizací monomerů patřících do skupiny hydroxyalkylmethakrylátů, hydroxyalkylakrylátů, kde alkyl obsahuje 1 až 6 atomů uhlíku, hydroxyalkylakrylamidů a hydroxyalkylmethakrylamidů s alkylem obsahujícím 1 až 6 atomů uhlíku se síťujícími komonomery obsahujícími 2 nebo více akryloylových nebo methakryloylových skupin v molekule vybranými ze skupiny di - a polyakrylátů, methakrylátů, glykolakrylátů, glykolmethakrylátů a divinylbenzenu neutralizuje kysele reagujícími monomery vybranými ze skupiny sulfoalkylakrylátů, sulfoalkylmethakrylátů, sulfoalkylakrylamidů, sulfoalkylmethakrylamidů, kde alkyl obsahuje 1 až 4 atomy uhlíku, kyseliny akrylové a kyseliny methakrylové a poté se reaktivní dvojné vazby produktu neutralizace radikálově kopolymerizují se zbylými dvojnými vazbami přítomnými v původním anexu.

Tz 66 - 5-7771 - 82

Cena 2,40 Kčs