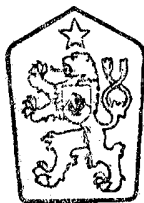


POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

254240
(11) (B1)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Prihlášené 23 05 86
(21) [PV 3790-86.U]

(40) Zverejnené 14 05 87

(45) Vydané 15 11 88

(51) Int. Cl.⁴
C 08 B 3/14

(75)

Autor vynálezu

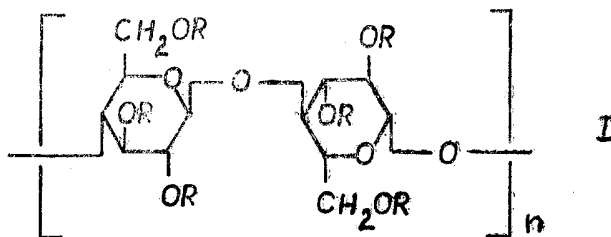
PASTÝR JÁN ing. CSc., ANTAL MIROSLAV prom. chem. CSc.,
BRATISLAVA, MICHALÍK IVAN prof. ing. DrSc., GÁLOVÁ
ZDENA RNDr., NITRA

(54) O-Benzoyl-O-(3-trimetylamónium-2-hydroxypropyl)celulóza

1

2

O-Benzoyl-O-(3-trimetylamónium-2-hydroxypropyl)celulóza je určená pre chromatografickú izoláciu a delenie organických látok. Uvedeného účelu sa dosiahne použitím O-(3-dietylamíno-2-hydroxypropyl)celulózy obecného vzorca I, kde R je vodík, 3-trimetylamónium-2-hydroxypropyl alebo benzoyl, ktorý je v polohe vodíka hydroxylových skupín na uhlíkoch C2, C3 a C6 so stupňom substitúcie pre vodík 0,05 až 0,20, so stupňom substitúcie pre 3-trimetylamónium-2-hydroxypropyl 0,15 až 0,20 a so stupňom substitúcie pre benzoyl 2,6 až 2,8 a n je 70 až 200. O-Benzoyl-O-(3-trimetylamónium-2-hydroxypropyl)celulóza má použitie v biochémií.

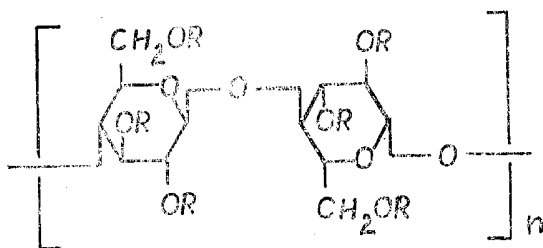


Vynález sa týka O-benzoyl-O-(3-trimetyl-amónium-2-hydroxypropyl)celulózy.

O-Benzoyl-O-(3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl)celulóza nebola doteraz pripravená. Na separáciu transférových ribonukleových kyselín sa používa benzoylovaná dietylámínoetylcelulóza, ktorá sa pripravuje pôsobením 2-chlórdietylámínhydrochloridu na celulózu v alkalickom prostredí [E. A. Peterson, H. A. Sobers: J. Am. Soc. 78, 751 (1956); D. Semenza: Helv. Chem. Acta 43, 1057 (1960); A. O. Jakubovic: Nature 184, 1065 (1959)]. Benzoyláciou dietylámínoetylcelulózy v pyridíne sa pripraví benzoyldietylámínoetylcelulóza [I. Gillam, S. Millward, D. Blew, M. Tigerstrom, E. Wimmer, G. M. Tener: Biochemistry 6, 3043 (1967)].

Doteraz používaný spôsob prípravy dietylámínoetylcelulózy má niektoré nevýhody technologického rázu, napr., že hotový produkt po vyzrážaní treba mechanicky upravovať a triediť na potrebnú zrnitosť. Ďalej pre potreby viazania transferribonukleových kyselín nie je potrebný obsah dusíka v produkte nad 1,0 % hmot. O-(3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl)celulóza bola pripravená pôsobením 3-chlóro-2-hydroxypropyltrimetylámóniumhydrochloridu v alkalickom prostredí na celulózu [Th. Krause, M. Kaufer, W. Schempp: Das Papier 35 (10A), V33 (1981); M. Kaufer, W. Schempp: Das Papier 34 (12), 575 (1980)].

Podstatou vynálezu je O-benzoyl-O-(3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl)celulóza o becného vzorca



kde

R je vodík, 3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl alebo benzoyl, ktorý je v polohe vodíka hydroxylových skupín na uhlíkoch C2, C3 a C6 so stupňom substitúcie pre vodík 0,05 až 0,20 so stupňom substitúcie pre 3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl 0,15 až 0,20 a so stupňom substitúcie pre benzoyl 2,6 až 2,8 a

n je 200.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy O-benzoyl-O-(3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl)celulózy je, že pri obsahu 0,4 až 0,7 % hmot. dusíka sa dosiahne výmenná kapacita produktu 0,5 až 0,7 mmól.g⁻¹, ktorá vyhovuje pre totálnu separáciu transférových ribonukleových kyselín. Pri benzoylácii sietovanej O-(3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl)celulózy o vhodnej veľkosti

nie je potrebná ďalšia mechanická úprava a triedenie produktu. Spôsob prípravy je jednoduchý, časove menej náročný na prípravu ekonomicky výhodnejší ako u benzoyldietylámínoetylcelulózy.

Príklad 1

Do trojhrdlej sulfonačnej banky obsahu 5 litrov opatrenej miešadlom, chladičom, deliacim lievikom a vyhrievacím kúpeľom sa do 246 g suchého pyridínu suspenduje 100 g absolútne suchej O-(3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl)celulózy s obsahom 0,13 % hmot. dusíka s výmennou kapacitou 0,15 mmól.g⁻¹ a n je 200, esterifikuje sa 256 g čerstvo predestilovaného benzoylchloridu za miešania pri teplote 60 °C po dobu 180 minút. Po skončení reakcie sa produkt zráža do 5 l chladnej (5 °C) destilovanej vody v digestore. Po premiešaní sa odsaje na sklennej frite (S-1). Za tým sa rozdrobí vo vodnom prostredí v mixéri, 3-krát sa dekantuje 2 litrami destilovanej vody, odsaje, premyje sa 2-krát 2 l 50 % obj. vodného etylalkoholu, za tým 1 l 96 % hmot. etylalkoholu. Odsaje sa, potom sa voľne vysuší a nakoniec sa dosuší pri tlaku 10 kPa a teplote 60 °C. Na sitách sa vytriedi frakcia o veľkosti častíc 0,074 až 0,297 mm. Získa sa 170 g O-benzoyl-O-(3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl)celulózy s 0,06 % hmot. dusíka a benzoylovým zbytkom odpovedajúcim stupňom substitúcie 2,6 pre benzoyl, s výmennou kapacitou 0,017 mmól.g⁻¹.

Príklad 2

Postupuje sa ako v príklade 1, s tým rozdielom, že sa použije sietovaná O-(3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl)celulóza o veľkosti častíc 0,074 až 0,297 mm s obsahom 1,15 % hmot. dusíka s výmennou kapacitou 0,7 mmól.g⁻¹ a n je 70 pri použití 342 g benzoylchloridu na esterifikáciu a teplote reakcie 80 °C po dobu 90 minút. Získa sa 180 g O-benzoyl-O-(3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl)celulózy s obsahom 0,6 % hmot. dusíka a benzoylovým zbytkom odpovedajúcim stupňu substitúcie 2,8, výmenná kapacita 0,36 mmól.g⁻¹.

O-Benzoyl-O-(3-dietylámíno-2-hydroxypropyl)celulózu pripravenú podľa príkladov 1 a 2 možno použiť na separáciu transférových ribonukleových kyselín známym spôsobom [I. C. Gillam, G. M. Tener: Methods in Enzymology 20, 55 (1971)].

Príklad 3

Ako náplň do kolóny šírky 25 mm, výšky 120 mm sa použije O-benzoyl-O-(3-trimetylámónium-2-hydroxypropyl)celulóza o veľkosti častíc 0,074 až 0,297 mm. Množstvo aplikovaných transferribonukleových kyselín je 200 mg v 20 ml pufru (30 mmól.l⁻¹

octanu sodného, 5 mmól.l⁻¹ chloridu horečnatého, 0,5 mmól.l⁻¹ etyléndiamínótetraoctovej kyseliny, 0,45 mmól.l⁻¹ chloridu sodného, pri pH 4,5), pričom elúcia sa robí gradientom soli v množstve 250 ml pufru B (30 mmól.l⁻¹ octanu sodného, 5 mmól.l⁻¹ chloridu horečnatého, 0,5 mmól.l⁻¹ etyléndiamínótetraoctovej kyseliny, 1,0 mól.l⁻¹ chloridu sodného pri pH 4,5) do 250 ml pufru A. Frakcie sa zachytávajú do 90 skúmaviek po 13 ml v celkovom elučnom objeme (V_t = 500 ml) sa kolóna ďalej premyje 1 mól.l⁻¹ chloridom sodným s 20 % obj. etylalkoholom do absorbancie A₂₆₀ = 0,3. Celková doba stanovenia totálneho preparátu transférových ribonukleových kyselín na O-benzoyl-O-(3-trimetylamónium-2-hydroxypropyl)celulóza trvá 7 hodín.

Pre porovnanie účinku O-benzoyl-O-(3-trimetylamónium-2-hydroxypropyl)celulózy s doteraz používanou O-benzoyl-O-(2-dietyl-aminoetyl)celulózou uvádzame nasledovný príklad:

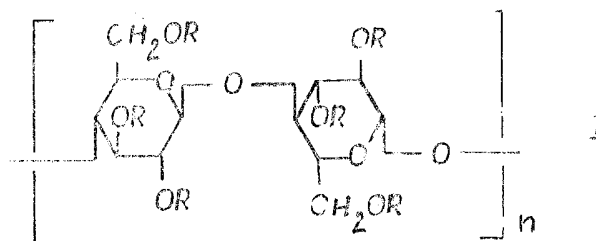
Príklad 4

Postup ako v príklade 3, s tým rozdielom, že ako náplň do kolóny sa použije O-benzoyl-O-(2-dietylaminóetyl)celulóza. Celková doba stanovenia totálneho preparátu transférových ribonukleových kyselín na danom sorbente je 8 hodín.

Vynález môže nájsť široké použitie v biochémii pri separácii transférových ribonukleových kyselín.

PREDMET VYNÁLEZU

O-Benzoyl-O-(3-trimetylamónium-2-hydroxypropyl)celulóza obecného vzorca



kde

R je vodík, 3-trimetylamónium-2-hydroxypropyl alebo benzoyl, ktorý je v polohe vodíka hydroxylových skupín na uhlíkoch C₂, C₃ a C₆ so stupňom substitúcie pre vodík

0,05 až 0,2 so stupňom substitúcie pre 3-trimetylamónium-2-hydroxypropyl 0,15 až 0,20 a so stupňom substitúcie pre benzoyl 2,6 až 2,8 a n je 70 až 200.