



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU 198 554

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

(11) (B1)

(51) Int. Cl.³ A 61 K 37/48

(61)

(23) Výstavná priorita

(22) Prihlásené 24 11 77

(21) PV 7768-77

(40) Zverejnené 17 09 79

(45) Vydané 30 09 82

(75)

Autor vynálezu ZÁMOCKÝ JURAJ ing. CSc., BRATISLAVA, ZEMEK JURAJ ing. CSc., LEHNICA,
KUNIAK ĽUDOVÍT ing. CSc. a KUČÁR ŠTEFAN RNDr. CSc., BRATISLAVA

(54) Spôsob jednostupňovej prípravy polyetylénimín izotiočkanátového enzýmového nosiča

1

Predmetom vynálezu je nový spôsob prípravy enzýmového nosiča na báze polyetylénimínu so substituovanými primárnymi aminoskupinami tiofosgénom.

Doteraz známy spôsob prípravy izotiočkanátových enzýmových nosičov na báze polyetylénimínu je spôsob dvojestupňový (Ľ. Kuniak, J. Zemek, Čsl. pat. č. 159063), kde v prvom stupni pôvodne vodorozpustný polyetylénimín sa nechá zosieťovať epichlórhydrínom a v následnom stupni prebieha substitúcia primárnych aminoskupín tiofosgénom. Nedostatok uvedeného postupu je v tom, že substitúcia s tiofosgénom prebieha už na nerozpustnom zosieťovanom polyetylénimíne, t.j. v heterogénnej fáze v dôsledku čoho je distribúcia -NCS skupín vo výslednom produkte nie rovnomerná.

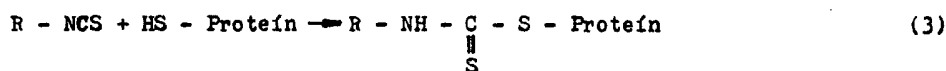
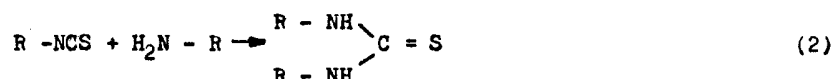
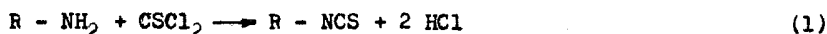
Uvedený nedostatok sa dá eliminovať novým postupom, ktorý je založený na substitúcii primárnych aminoskupín polyetylénimínu tiofosgénom v homogénnej fáze, t.j. priamo v roztoku, pričom vhodné zosietenie makromolekúl substituovaného polyetylénimínu prebieha na úrovni reakcie časti vzniklých -NCS skupín s voľnými primárnymi aminoskupinami v reakčnej zmesi.

Základný polymér polyetylénimínu sa komerčne vyrába pre rôzne odvetvia priemyslu a je preto dostupnejší a lacnejší ako iné typy polymérov. Vlastná reakcia s tiofosgénom je veľmi jednoduchá, a preto sú predpoklady, že výsledný nosič bude podstatne lacnejší ako preparáty vyrábané podľa doteraz známych postupov (Ľ. Kuniak, J. Zemek, Čsl. pat. č. 159063; S. A. Barker, P. J. Somers, E. M. Crook a i., Res. 14, 287, 1970).

Podstata vynálezu spočíva v tom, že vodný roztok komerčného polyetylénimínu o koncentrácii 1,0 až 40 % sa nechá reagovať s tiofosgénom v molárnom pomere 1 : 0,25 až 1 : 2 za intenzívneho miešania pri teplote od 10 do 40 °C po dobu 2 až 5 hodín.

Vznikne polyetylénimín izotiokyanát obsahujúci až 150 µkv. -NCS skupín na 1 gram východzieho polyetylénimínu, ktorý je veľmi vhodným nosičom pre viazanie rôznych enzýmov a látok s -SH skupinami.

Prípravu enzýmového nosiča a väzbu proteínu možno vyjadriť nasledovnou reakčnou schémou:



R = Polyetylenimín

Výhodou nového spôsobu prípravy vhodného enzýmového nosiča je, že:

- umožňuje prípravu enzýmového nosiča s absolútne homogénnou distribúciou -NCS skupín,
- umožňuje prípravu preparátov tak rozpustných vo vode a niektorých organických rozpúšťadlách, ako i nerozpustných,
- umožňuje vyššiu účinnosť hlavnej reakcie aminoskupín s tiofosgénom.

Príklad 1

1,8 g 50 %-ného vodného roztoku polyetylénimínu (0,02 mólu) o strednej molekulovej váhe 40 000 sa rozpustí v 18 ml destilovanej vody a vzniklý roztok sa neutralizuje kyselinou soľnou. Do roztoku sa pridá 10 g práškoveho $CaCO_3$ a do vzniklej suspenzie sa za intenzívneho miešania na magnetickej miešačke pridá 2,3 g tiofosgénu (0,02 mólu). Po hodinovom miešaní pri teplote 18 °C sa do reakčnej zmesi pridá nových 2,3 g tiofosgénu. Po ďalšom dvojhodinovom miešaní sa z reakčnej zmesi odsaje nadbytočný $CaCO_3$. Filtrát sa v deliacom lieviku pretrepe chloroformom (25 ml), vodná vrstva sa zriedi destilovanou vodou (50 ml) a zahustí vo vákuu pri 40 °C na menší objem, čím sa získa vodný roztok surového finálneho produktu, použiteľného na impregnáciu vhodných povrchov.

Príklad 2

Postup podľa príkladu 1, s tým rozdielom, že získaný vodný roztok surového produktu sa odparí vo vákuu do sucha a extrahuje do chloroformu (500 ml). Opatrným oddestilovaním chloroformu sa získa žiadaný produkt vo forme hnedej, vo vode dobre rozpustnej pasty, ktorá stáťím prechádza do vo vode nerozpustnej formy. Obsah -NCS skupín sa stanovil titráciou cysteínom ($U-^{14}C$) na 114 µkv. na 1 g východzieho polyetylénimínu.

Príklad 3

Postup podľa príkladu 1, s tým rozdielom, že vodný roztok polyetylénimínu sa pred

pridaním tiofosgénu neneutralizuje. Získa sa produkt s obsahom síry 8,9 % a s obsahom -NCS skupín 82 μ ekv. na 1 g východzieho polyetylénimínu.

Vynález má široké možnosti využitia pre prípravu pútaných enzýmov, a to tak pre účely výskumné, tak i aplikáciu v rôznych odvetviach potravinárskeho priemyslu.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob prípravy polyetylénimín izotiokyanátového enzýmového nosiča vyznačujúci sa tým, že na vodný roztok komerčného polyetylénimínu o koncentrácii 1,0 až 40 % sa pôsobí tiofosgénom v molárnom pomere 1 : 0,025 až 1 : 2 za intenzívneho miešania pri teplote od 10 do 40 °C po dobu 2 až 5 hodín.