



C (45) Patentti ajokas
Patent rekisteri 25 00 1000
(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 08F 218/04, 226/06, B 01D 15/08,
C 12N 11/08 // A 61K 47/32

SUOMI-FINLAND

(FI)

**Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen**

(21) Patentihakemus - Patentansökning	844889
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	11.12.84
(24) Alkuperä - Löpnummer	11.12.84
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	14.06.85
(44) Nähtäväksiapanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	15.11.91
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
13.12.83 DE 3344912 P	

(71) Hakija - Sökande

1. Hoechst Aktiengesellschaft, Frankfurt am Main, BRD, (DE)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Mauz, Otto, Heidestrasse 21, Liederbach, BRD, (DE)
 2. Noetzel, Siegfried, An den Römergärten 3, Kelkheim (Taunus), BRD, (DE)
 3. Neumann, Bernhard, Marburger Tor 4, Siegen, BRD, (DE)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

**Verkkoutettuja polymeereja, menetelmiä niiden valmistamiseksi ja niiden käyttö
Förnätade polymer, förfarande för deras framställning och deras användning**

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

DE A 3209224 (C 08F 26/06), DE A 3236776 (B 01D 15/08), DE C 2943193 (C 08F 216/06),
US A 4104208 (C 08J 9/00)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksinnön kohteena on polyvinyylisasylaattiin tai polyvinyylialkoholiin
perustuvia verkkoutettuja polymeraatteja, joiden verkkoutusyksiköt on
johdettu verkkoutusaineista, joilla on yleiset kaavat (I) ja/tai (II),



ja/tai

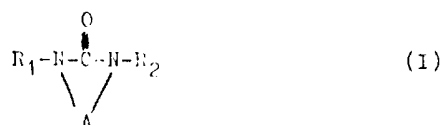


joissa R_1 ja R_2 voivat olla samanlaisia tai erilaisia ja merkitä vinyyliä,
1-asyylioksi-vinyyliä, allyyliä tai 2-asyylioksi-allyyliä, A on kaksiarvoi-
nen hiilivetytähde, jossa on 2 - 8 C-atomia, B on kaksi-, kolmi- tai neli-
arvoinen hiilivetytähde, jossa on 1 - 8 C-atomia, m on tämän tähteen ar-
voisuus ja X on asyylioksi, ja jolloin verkkoutusaine-yksiköiden määrä on
0,1 - 60 paino-%, laskettuna polymeeristä.

Nämä tuotteet ovat muunmuassa erittäin hydrolyysinkestäviä ja niillä voi
olla suuria verkkoutumistiheyksiä.

Edelleen on keksinnön kohteena menetelmä näiden polymeraattien valmista-
miseksi ja niiden käyttö kromatografiassa sekä kantimina biologisesti ak-
tiivisia aineita varten.

Uppfinningen avser tvärbundna polymerisat på polyvinylacrylat- eller polyvinylalkoholbasis, vars tvärbundna enheter härletts från tvärbindningsmedel med de allmänna formlerna (I) och/eller (II),



och/eller



där R_1 och R_2 kan vara lika eller olika och anger vinyl, 1-acyloxivinyll, allyl eller 2-acyloxiallyl, A är en tvåvärd kolväterest med 2 - 8 C-atomer, B en två-, tre- eller fyrvärd kolväterest med 1 - 8 C-atomer, m anger värdet på denna rest och x anger acyloxi, varvid mängden tvärbundna enheter utgör 0,1 - 60 vikt-% av polymeren.

Dessa produkter är bland annat speciellt hydrolysstabila och kan uppvisa höga tvärbindningstätheter.

Dessutom avser uppfinningen ett förfarande för framställning av dessa polymerisat och deras användning i kromatografi och som bärare för biologiskt aktiva substanser.

Verkkoutettuja polymeereja, menetelmiä niiden valmistamiseksi ja niiden käyttö

5 Polymeerigeelien käyttö polymeeriliuosten geeli-permeaatiokromatografiaa varten aineenerotus- tai -puhdistustarkoituksissa tai moolimassajakauman määrittämiseksi on jo kauan ollut tunnettu. Polymeerigeelejä, jotka ovat sopivia vesipitoisia systeemejä varten, kutsutaan hydrofiileiksi, kun taas sellaisia, joita voidaan käyttää
10 ainoastaan vedettömissä systeemeissä (orgaanisissa liuottimissa), kutsutaan hydrofobisiksi. Hydrofobisia geelejä ovat esimerkiksi verkkoutetut polystyreenit; hydrofiilejä geelejä ovat sitävastoin sellaiset, jotka perustuvat verkkoutettuihin dekstraaneihin, polyvinyylipyrrolidoniin,
15 polyakryyliamidiin ja polyvinyylialkoholiin. Tämänkaltaisten geelien liian voimakasta paisumistaipumista vastaan, joka esimerkiksi estää suuret läpivirtausnopeudet geeli-permeaatiokromatografiassa, voidaan vaikuttaa nostamalla verkkoutusastetta.

20 Ennestään tunnetaan jo verkkoutettuun polyvinyyliasetaattiin perustuvia hydrofobisia geelejä, joista saippuomalla asetaatti-ryhmät voidaan valmistaa verkkoutettuun polyvinyylialkoholiin perustuva hydrofiili geeli. Tärkeätä on tässä ennenkaikkea verkkoutuksen suuri hydrolyysinkestävyys.
25

Verkkouttimina tätä tarkoitusta varten on tekniikan tasolla jo kuvattu joukko yhdisteitä. Siten kuvataan DE-patentissa 1 517 935 tätä varten divinyylialkyleenien ja dikarboksyylihappojen divinyyli- ja dialkyyliestereiden
30 ohella mm. myös moniarvoisten alkoholien divinyyli- tai diallyylieettereitä. Edullinen on tällöin butaanidiolidivinyylieetteri (vrt. tätä varten myös Makromol. Chemie 176, 657 (1975)). Tämän mukaisesti saatavat verkkoutetut polyvinyyliasetaatit tai polyvinyylialkoholit voivat olla
35 myös makrohuokoisten helmien muodossa. Verkkoutus butaani-

diolidivinyylietterillä on tosin hydrolyysinkestävä, mutta tämä eetteri kopolymeroituu vinyyliasetaatin kanssa kuitenkin vain suhteellisen vaikeasti, niin että sillä voidaan saavuttaa vain suhteellisen vähäisiä verkkoutumistiheyksiä.

Muut tunnetut verkkouttimet, kuten etyleeniglykolidimetyyliakrylaatti tai glysidyylietakrylaatti (US-patentti 4 104 208) eivät tuota hydrolyysinkestäviä verkkoutumisia eivätkä ole tasarakenteisia. Siten ovat vinyyliasetaatin (M_1) ja metyylietakrylaatin (M_2) kopolymeroitumisparametrit $r_1 = 0,01$:ssä ja $r_2 = 20$:ssä. Samanlaisia kopolymeroitumisparametrejä on odotettavissa tässä mainittuja metakrylaatteja varten. Tämä tarkoittaa, että molemmat mainitut verkkouttimet kulutetaan reaktion alussa; tasainen rakenne ei sentähden ole saavutettavissa.

Tekniikan tasosta tunnetaan jo samoin hydrofiilisten polymeerigeelien käyttö affiniteettikromatografiaa varten biologisesti aktiivisten aineiden erottamiseksi tai tällaisten aineiden immobilisoimiseksi, jolloin saatetaan polymeerigeelin reaktiiviset ryhmät, useimmiten OH-ryhmät, edeltä käsin reagoimaan ns. "spacer"-yhdisteiden "käsivar-sien") kanssa. Spacer-yhdisteenä voi tällöin toimia mm. myös epikloorihydriini. (Vrt. DE-hakemusjulkaisu 2 102 514 ja DE-patentti 2 421 789).

Tämän keksinnön tehtävänä on nyt valmistaa verkkoutettu polymeeri, joka perustuu polyvinyyliesteriin ja erityisesti polyvinyylialkoholiin ja jolla ei ole tekniikan tason haittoja ja joka on erityisesti hydrolyysinkestävä ja sopii erityisen hyvin adsorbentiksi geelikromatografiassa tai kantaja-aineeksi kemiallisesti kovalenttisesti sidottuja, biologisesti aktiivisia aineita varten ja joka vahingoittaa vain vähäisesti kemiallisesti kovalenttisesti sidottujen, biologisesti aktiivisten aineiden aktiivisuutta ja takaa helpon virtauksen käsiteltävien substraattien läpi.

Keksinnön kohteena on siten verkkoutettu, helmien muodossa oleva polymeeri, joka koostuu pääasiallisesti viinyliasyylaattiyksiköistä ja verkkoutusaineen yksiköistä. Polymeerille on tunnusomaista, että verkkoutusaineella on yleinen kaava



ja/tai



jolloin R_1 ja R_2 kaavassa (I) voivat olla samanlaisia tai erilaisia ja merkitsevät vinyyliä, 1-asyylioksi-vinyyliä, allyyliä tai 2-asyylioksi-allyyliä, A on kaksiarvoinen hiilivetytähde, jossa on 2 - 8 C-atomia, B kaavassa (II) on kaksiarvoinen hiilivetytähde, jossa on 1 - 8 C-atomia, ja X on asyylioksi, ja jolloin verkkoutusaine-yksiköiden määrä on 0,1 - 60 paino-%, laskettuna polymeeristä, vinyliasyylaattiyksiköiden asyylioksiryhmät ovat läsnä sellaisenaan tai ne on osittain tai kokonaan korvattu hydroksyyli-ryhmillä ja helmien keskimääräinen osaskoko on 20-800 μm ja keskimääräinen huokoshalkaisija on 2-10 000 nm.

Edullisesti on vinyliasetatti-yksiköiden asylaat-
tiryhmät osittain tai täydellisesti korvattu OH-ryhmillä.

Keksinnön kohteena on edelleen menetelmä tällaisen verkkoutetun polymeerin valmistamiseksi kopolymeroimalla vinyliasyylaattiverkkoutusaineen kanssa dispergoimisaineen läsnäollessa, jolle menetelmälle on tunnusomaista, että verkkoutusaineella on edellä esitettyt kaavat (I) ja/tai (II). Edullisesti näin saatu polymeeri saippuoidaan sen jälkeen osittain tai täydellisesti.

Lopuksi keksinnön kohteena on myös keksinnön mu-

kaisten polymeerien käyttö adsorbenttina kromatografiassa tai kantaja-aineena biologisesti aktiivisia aineita varten.

Keksinnön mukaisen polymeerin vinyyliasylaattiyksiköt sisältävät edullisesti 2 - 18 C-atomia, erityisesti 2 - 6 C-atomia asylaattitähteessä. Edullisesti tämä on asetaatti- tai propionaattitähde. Polymeerissa voi myös olla läsnä erilaisia asylaattitähteitä, ts. sen valmistukseen voidaan käyttää myös vastaavien vinyyliasylaattien seoksia.

Kaavan (I) verkkoutusaineessa on A edullisesti haarautunut tai haarautumaton alifaattinen hiilivetytähde, jossa on 2 - 5 C-atomia, erityisesti 2 tai 3 C-atomia. Erityisen edullisesti tämä on etyleeni- tai propyleenitähde. Jos R_1/R_2 tässä kaavassa (I) ovat 1-asyylioksi-vinyyli- tai 2-asyylioksi-allyyli-, niin sisältää asyylioksi-ryhmä niissä edullisesti 2 - 18 C-atomia, erityisesti 2 - 6 C-atomia. Edullisesti asyylioksi tarkoittaa asetaatti- tai propionaattitähdettä. Edullisesti ovat tähteet R_2/R_2 vinyyliryhmiä. Eräs edullinen verkkoutusyksikkö keksinnön mukaisessa polymeerissa on tämän mukaisesti peräisin N,N'-divinyyli-etyleeniureasta. Tämä verkkoutin aikaansaa erikoisen hyvin hydrolyysin kestävästä liittymisestä. Vielä eräs edullinen edustaja on N,N'-divinyylipropyleeniurea.

Näiden yhdisteiden valmistus on tunnettu ja on kuvattu esimerkiksi US-patentissa 2 541 152 tai teoksessa Ullmann, Encyklopädie der technischen Chemie, nide 23, 611 (4. painos).

Kaavan (II) verkkoutusaineessa tarkoittaa B edullisesti kaksiarvoista hiilivetytähdettä, erityisesti haarautunutta tai haarautumatonta alkyleeni-tähdettä, jossa on 2 - 6 C-atomia, edullisesti 2 - 4 C-atomia. Asyylioksi-ryhmällä on tässä edullisesti sama merkitys kuin edellä kuvattiin tähteelle R kaavassa (I). Eräs edullinen tämän lajin verkkoutin on esimerkiksi 3,3-dimetyylipentadieeni-

2,4-diasetaatti, joka kopolymeroituu varsin helposti vi-
nyyliasylaatin kanssa. Näiden yhdisteiden valmistus voi
tapahtua esimerkiksi saattamalla vastaava di-, tri- tai
tetraketoni reagoimaan vinyyliasylaatin tai isopropenyyl-
asylaatin kanssa happamien katalyyttien läsnäollessa, jol-
loin muodostuu vastaavia enoliasylaatteja. Samanaikaises-
ti syntyvä asetoni täytyy tällöin jatkuvasti poistaa tis-
laamalla tasapainosta.

Verkkoutusaineen (II) yksiköiden määrä on yleensä 0
- 100 %, erityisesti 0 - 60 %, laskettuna polymeerissa
olevien verkkoutusyksiköiden kokonaismäärästä.

Verkkoutusyksiköiden kokonaismäärä keksinnön mukai-
sessa polymeerissa on patenttivaatimuksessa 1 määritellyl-
lä alueella ja riippuu kulloistakin käyttötarkoitusta var-
ten halutusta verkkoutustiheydestä. Siten pyritään esimer-
kiksi geelikromatografiassa suureen muodon pysyvyyteen,
minkä edellytyksenä on suuri verkkoutumistiheys ja siten
verkkoutuneiden monomeeriyksiköiden suurempi pitoisuus.
Sitävastoin voi muilla käyttöalueilla, esimerkiksi kan-
taja-aineena entsyymireaktiota varten sekoitinkattilassa
tai diagnostisia aineita varten pienempi verkkoutintiheys
olla eduksi. Verkkoutinpitoisuudet 0,1 paino-%:n alapuo-
lelta johtavat useimmissa tapauksissa tuotteisiin, jotka
eivät enää ole käyttökelpoisia. Yli 60 paino-%:n verkkou-
tinpitoisuudet ovat periaatteessa mahdollisia; mutta eivät
yleensä kuitenkaan anna mitään lisäetuja.

Kulloisenkin käyttötarkoituksen mukaan on verkkou-
tusyksiköiden määrä edullisesti 1 - 50 paino-% ja erityi-
sesti 1 - 40 paino-% polymeeristä laskettuna. Biologisesti
aktiivisia aineita varten tarkoitetuissa kantaja-aineissa
on alaraja edullisesti 2,5 paino-%:ssa ja erityisen edul-
lisesti 10 paino-%:ssa. Jos läsnä on ainoastaan kaavan
(II) mukaisia verkkoutusyksiköitä, niin on niiden alaraja
erityisen edullisesti 2,5 paino-%.

Monia käyttötarkoituksia varten saattaa olla eduk-

si, että keksinnön mukainen polymeeri lisäksi vielä sisältää vinyylasetaatin kanssa kopolymeroituvan monomeerin monomeeriyksiköitä, jolloin niiden määrä ei yleensä ylitä 10 paino-%, laskettuna kokonaispolymeeristä, ja on edullisesti välillä 0,1 - 5 paino-%. Esimerkkejä tällaisista monomeereistä, joita mahdollisesti voidaan käyttää seoksessa, ovat: N-vinyylipyrrolidoni, vinyleenikarbonaatti, (met)akryylihapo, (met)akryylnitriili, (met)akryyliamidi, (met)akryylihapoalkyyliesteri, jossa kulloinkin on 2 - 12 C-atomia, edullisesti 2 - 4 C-atomia alkyyliähteessä, (met)akryylihapon hydroksialkyyliesteri, jossa on 2 - 6 C-atomia alkyyli-ryhmässä, N-vinyyli-N-alkyyliasetamidi, styreeni, α -metyylistyreeni yms.

Keksinnön mukainen verkkoutettu polymeeri on edullisesti helmien muodossa, jotka ovat vallitsevasti pallonmuotoisia ja joiden keskimääräinen osaskoko kuivassa, paisumattomassa tilassa on 20 - 800 μm , edullisesti 50 - 300 μm ja joilla edullisesti on kapea osaskokojakauma. Osaskoon kulloinenkin optimi riippuu tällöin ennenkaikkea käyttöalueesta. Ilman painetta toteutetussa pylväsmenettelmässä valitaan osaskoko edellä esitettyjen rajojen sisällä vastaavasti suuremmaksi kuin painemenettelmässä. Keksinnön mukaiset polymeerihelmet ovat vallitsevasti makrohuokoisia. Keskimääräinen huokosläpimitta on yleensä alueella 2 - 10 000 nm, edullisesti 5 - 200 nm ja erityisesti 20 - 200 nm.

Huokosläpimitan (huokostilavuuden) määrittäminen voi tapahtua sillä tavalla, että ensin määritetään huokostilavuus kapillaaripainemenettelmän mukaisesti (elohopeahuokosmittaus) (vrt. tätä varten "Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie", nide 5 (1980), s. 751 - 752). Tästä saadaan sitten keskimääräinen huokosläpimitta mainitun julkaisun sivulla 752, vasemmassa sarakkeessa ylhäällä esitetyn yhtälön mukaisesti. Tämän ohella on huokoskoon määrittäminen mahdollista myös rasterielektronimikroskopiolla.

Vinyyliasyalaattiyksiköiden asyalaattiryhmät keksinnön mukaisessa polymeerissa ovat edullisesti saippuoituneet OH-ryhmiksi, jolloin saippuoitumisaste yleensä on suurempi kuin 50 %, edullisesti suurempi kuin 70 % ja erityisesti 90 - 100 %. Käytettäessä polymeeria kantaja-aineena biologisesti aktiivisia aineita varten on saippuomalla saaduissa verkkoutetuissa polymeereissä (polyvinyylialkoholissa) edullisesti ainakin osa OH-ryhmistä ns. "spacer"-ryhmien täyttämiä (mitä "spacer'iin" tulee, ks. jäljempänä seuraavaa). Geelikromatografian monia tarkoituksia varten voi sitävastoin olla eduksi suojata ainakin osa OH-ryhmistä hydrofobiseksi tekemällä ryhmillä, jotka eivät enää sisällä reaktiivisia tähteitä.

Keksinnön mukaisille polymeereille on erityisesti ominaista suuri hydrolyysinkestävyys suurella verkkoutustiheydellä. Tällä suurella hydrolyysinkestävyydellä ei ole suuri merkitys ainoastaan geelikromatografiassa, vaan myös käytettäessä polymeereja kantaja-aineena biologisesti aktiivisia aineita, kuten entsyymejä varten. Kantajille kiinnitettyjä entsyymejä käytetään usein vuosia voimakkaasti alkalisisä tai voimakkaasti happamassa ympäristössä. Tämä pitää erityisessä määrässä paikkansa "ei-spesifisille hydrolaaseille", jotka pilkkovat esterit tai karboksyylihapoamidisidoksia. Lisäksi on pysyvä verkkouttaminen eduksi myös saippuoitaessa asyalaatti-ryhmiä OH-ryhmiksi keksinnön mukaisissa polymeereissa.

Keksinnön mukaiset polymeerit sopivat mm. kiinteäksi faasiksi geelikromatografiassa ja kantaja-aineeksi biologisesti aktiivisille aineille.

Keksinnön mukaisten verkkoutettujen polymeerien valmistus tapahtuu tunnetulla tavalla, edullisesti helmi-polymeroimisolosuhteissa dispergoimisaineen, dispersion stabiloimisaineen ja mahdollisesti muiden lisäaineiden sekä mahdollisesti radikaalisesti vaikuttavan initiaattorin ja edullisesti inertin laimennusaineen läsnäollessa

sekä happi poissulkien.

Dispergoimisaineina helmipolymeroinnin toteuttamiseksi toimivat ennenkaikkea sellaiset yhdisteet, jotka normaaliolosuhteissa ovat nestemäisiä, joiden kiehumapiste on yli 60°C, edullisesti alueella 85 - 300°C, ja jotka eivät liuota monomeerejä, polymeeriä ja edullisesti ei myöskään initiaattoria polymeroimisolosuhteissa tai joka tapauksessa liuottavat vain aivan pienissä määrissä, emulsiopolymeroinnin ehkäisemiseksi. Monomeerifaasin suhde dispergoimisaineefaasiin voi vaihdella laajoissa rajoissa, esimerkiksi välillä 0,5:1 - 1:50, edullisesti välillä 1:1 - 1:15 (painosuhte). Edullisesti toimii keksinnön mukaisesti dispergoimisaineena vesi. Edullisesti tämä sisältää puskuria, joka toimii alkalisella alueella ja joka sito vinyyliasylaatin hydrolyysistä muodostuneen hapon. Tämä puskuuri koostuu edullisesti $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$:sta tai NaHCO_3 :sta.

Dispersion stabiloimisaineena, jonka tulee estää helmien agglomeroituminen polymeroinnin aikana, toimivat tätä varten tunnetut yhdisteet. Edullisesti tämä on hydrofiili polymeeri, kuten polyvinyylipyrrolidoni, polyvinyylialkoholi, polyakryyliamidi, polyetyleeniglykoli, metyyliiselluloosa tai etyleenioksidi-propyleenioksidi-kopolymeri. Polyvinyylipyrrolidoni on tätä tarkoitusta varten erityisen edullinen. Nämä dispersion stabiloimisaineet ovat tehokkaita jo määrissä 0,001 paino-%, laskettuna monomeerien kokonaismäärästä. Useimmiten käytetään määriä 0,05-50 paino-%:iin, edullisesti 0,01 - 20 paino-% (laskettuna monomeerien kokonaismäärästä).

Elektrolyytin (veden tapauksessa dispergoimisaineena), esimerkiksi jonkun suolan, kuten keittosuolan lisääminen vesipitoiseen faasiin on yleensä edullista, koska se aikaansaa monomeerien lähes täydellisen syrjäyttämisen ulkoisesta faasista, sen kautta emulsion muodostuksen lähes täydellisen tukahduttamisen ja sen ohella helmisaannon

kasvun. Elektrolyyttilisäyksellä voi lisäksi olla osittain myös suojakolloidin vaikutus. Useimmiten tätä elektrolyyttiä käytetään määrissä 50 paino-%:iin asti, edullisesti 30 paino-%:iin asti, laskettuna dispergoimisaineesta.

5 Radikaalisesti vaikuttavina initiaattoreina tulevat keksinnön mukaisesti kysymykseen sellaiset, jotka liukenevat hyvin monomeerifaasiin ja ovat mahdollisimman niukkaliukoisia nestemäiseen dispergoimisaineeseen. Esimerkkejä näistä ovat orgaaniset peroksidit, kuten di-tert-butyyliperoksidi, dibentsoyyliperoksidi, kumeenihydroperoksidi, sykloheksanoniperoksidi, tai alifaattiset atsoyhdisteet, kuten α, α' -atsodi-isovoihapponitriili, atso-bis-syaanivaleriaanahappo, 1,1'-atso-syklo-heksaani-1,1'-dikarboksyylihappodinitriili ja atsodikarbonamidi. Joissakin tapauksissa voidaan käyttää myös vastaavia pelkistys-hapetus-

10 butyyliperoksidi, dibentsoyyliperoksidi, kumeenihydroperoksidi, sykloheksanoniperoksidi, tai alifaattiset atsoyhdisteet, kuten α, α' -atsodi-isovoihapponitriili, atso-bis-syaanivaleriaanahappo, 1,1'-atso-syklo-heksaani-1,1'-dikarboksyylihappodinitriili ja atsodikarbonamidi. Joissakin tapauksissa voidaan käyttää myös vastaavia pelkistys-hapetus-

15 petussysteemejä. Initiaattorin määrä on useimmiten 0,01 - 5 paino-%, edullisesti 0,1 - 2 paino-% (laskettuna monomeerien kokonaismäärästä). On myös mahdollista käynnistää polymerointi säteilyttämällä, initiaattoreiden mahdollisesti samanaikaisesti läsnäollessa.

20

Helmipolymeerien mahdollisimman suuren huokoisuuden saavuttamiseksi lisätään polymerointisysteemiin tai edullisesti monomeereihin tiettyjä inerttejä, nestemäisiä komponentteja (laimennusaineita). Näillä ymmärretään sellaisia aineita, joihin monomeerit liukenevat hyvin tai ovat niiden kanssa sekoittuvia, mutta jotka ovat toisaalta dispergoimisaineeseen käytännöllisesti liukenemattomia eivätkä siten ole näiden kanssa sekoittuvia. Tällaisia laimennusaineita ja niiden vaikutustapaa on kuvattu esimerkiksi

25 DE-patentissa 1 517 935 sekä julkaisussa Makromol. Chemie 176, s. 657- (1975).

30

Optimaalinen laimennusaine tai laimennusaineseos voidaan helposti määrittää joillakin yksinkertaisilla ruutiinikokeilla. Huokoskokoon voidaan vaikuttaa inerttikomponentin lajilla ja koostumuksella sekä määrällä, mutta se

35

riippuu myös verkkouttavan komponentin määrästä.

Laimennusaineita voidaan käyttää yksinään tai seoksena ja ne voivat olla liuotus- tai saostusaineita polyvinyyliasetaatille. Esimerkkeinä mainittakoot: alkanolit, kuten butanoli, sykloheksanoli, iso-oktanoli, glykoli, tai esterit, kuten butyyliasetaatti, butyyliglykooliasetaatti, glyseriinitriasettaatti, tai amidit, kuten dimetyyliformamidi, dimetyyliasetamidi, pyrrolidoni, tai ketonit, kuten asetoni, sykloheksanoni, tai eetterit, dialkyylietterit, joissa on vähintään 6 C-atomia, kuten di-n-butylietteri, di-n-butylietteri, di-n-amylietteri, difenylietteri, tai hiilivedyt, kuten heksaani, bentseeni, iso-oktaani, parafiiniöljy. Edullisesti käytetään - tapauksessa, jossa vesi on dispergoimisaineena - laimennusaineena dialkyyliettereitä, joissa on vähintään 6 C-atomia, kuten di-n-butylietteriä tai di-n-amylietteriä. Muita edullisia laimennusaineita ovat polyglykolit, jotka on muodostettu liittämällä etyleenioksidin ja propyleenioksidin seos tai propyleenioksidi yksinään lähtömolekyylinä toimivaan alkooliin, esim. butanoliin ja joilla on mahdollisesti tilastollinen etyleenioksidi-propyleenioksidi-jakautuma tai ovat etyleenioksidin ja propyleenioksidin blokkipolymeerejä, joissa poly(oksietyleeni)-yksiköitä on liittynyt poly(oksipropyleeni)-ketjun kumpaankin päähän.

Lisätyn laimennusaineen määrä vaihtelee suuresti. Se riippuu mm. monomeerikoostumuksesta, erityisesti verkkoutusaineen pitoisuudesta, halutusta huokoisuudesta (huokoskoosta) sekä myös polymeerin tarkasta käyttötarkoituksesta. Siten on suurella verkkoutusasteella vastaavasti suuri määrä laimennusainetta suositeltava tietyn huokoisuuden (huokoskoon) saavuttamiseksi. Yhdellä ja samalla verkkoutusasteella on huokoisuus (huokoskoko) samoin sitä suurempi, mitä enemmän laimennusainetta käytetään. Luonnostaan tämä voi nousta vain tiettyjen rajojen sisällä, koska muuten mekaanisesta lujuudesta tulee liian pieni.

Useimmissa tapauksissa laimennusaineen tilavuus, joka vastaa käytettyjen monomeerien 0,02 - 5- kertaista, edullisesti 0,04 - 3-kertaista, edullisesti 0,04 - 3-kertaista tilavuutta, tyydyttäviä tuloksia.

- 5 Vinyylisylaattia sekä verkkoutinta ja muuta (tai muita) komonomeeria (komonomeerejä) käytetään sellaisissa määrissä, että tulokseksi saadaan polymeeri, jossa on edellä esitetyt määrät monomeeriyksiköitä.

- 10 Keksinnön mukainen menetelmä toteutetaan tarkoituksenmukaisesti sekoituslaitteella varustetussa reaktioastias-
tiassa useimmiten lämpötiloissa 20 - 150°C, edullisesti
20 - 100°C ja 1 - 10 baarin (100 - 1 000 kPa), edullisesti
1 - 5 baarin (100 - 500 kPa) paineessa. Helmipolymeerin
15 osaskoko säädetään tunnetulla tavalla sekoitusnopeudella
ja faasisuhteella. Reaktioastia on edullisesti tyhjiön pi-
tävä ja voidaan varustaa palautusjäähdyttimellä, tiputus-
suppilolla, kaasunjohtoputkella ja lämpötilan mittauslait-
tella. Astian kuumentaminen ja jäähdyttäminen tapahtuu
20 yleensä nestekylvyllä, esim. öljyhauteella tai vesihau-
teella. On edullista toteuttaa keksinnön mukainen menetel-
mä ilman happi poissulkien. Reaktioastia huuhdellaan sen-
tähden ennen aloittamista inerttikaasulla, edullisesti
typellä.

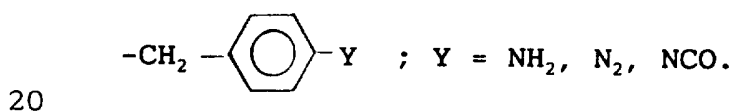
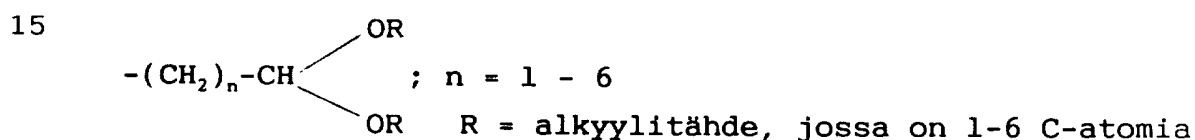
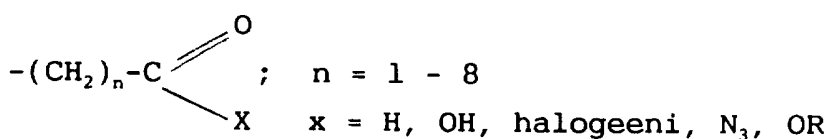
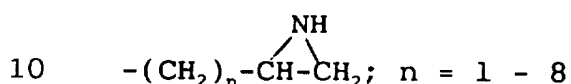
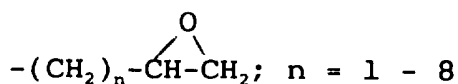
- 25 Polymeroimisreaktion lopettamisen jälkeen poiste-
taan reagoimattomat monomeerit reaktioastiasta, esim.
haihduttamalla alennetussa paineessa, edullisesti 13,33 -
2 000 Pa (0,1 - 15 torr) paineessa. Jäämämonomeerien
poistamisen jälkeen erotetaan dispergoimisaine kiinteästä
polymeeristä, esim. dekantoimalla, suodattamalla tai imu-
30 suodattamalla päällä oleva neste. Mahdollisesti käytetty
laimennusaine voidaan etukäteen poistaa vesihöyrytislauk-
sella. Sen jälkeen polymeeri, mikäli on tarpeen, pestään
helposti kiehuvilla orgaanisilla liuottimilla, esim. hii-
livedyllä, alemmalla alkoholilla tai asetonilla ja kuiva-
35 taan lopuksi. Polymeerin kuivaaminen tapahtuu useimmiten

20 - 100°C:n, edullisesti 20 - 80°C:n lämpötilassa. Kuivaaminen alennetussa paineessa on tällöin suositeltavaa.

Näin saatu polyvinyyliasetaattigeeli ei ole hydrofiili; käyttöä varten vedessä täytyy esteriryhmä hydrolysoida. Tämä voi tapahtua tunnetulla tavalla alkalisesti
5 paisuttamalla tuote alkoholissa, esim. metanolissa ja lisäämällä vesipitoista alkalia, kuten esim. NaOH, tai esteröimällä uudelleen alkoholilla turvotettu tuote katalyyttisillä määrillä happoa tai emästä poistaen juoksevasti
10 tai tislaten muodostunut esteri (vrt. DE-patentti 1 517 935). Saippuoiminen voidaan keskeyttää missä tahansa mielivaltaisessa vaiheessa, niin että kulloisenkin käyttötaroituksen mukaan geelin hydrofiilisyys voidaan säätää.

Jos helmien muodossa olevaa verkkoutettua polyvinyylialkoholigeeliä käytetään kantajana biologisesti aktiivisille aineille, jotka on kiinnitettävä kovalenttisella sidoksella kantajalle, niin on useissa tapauksissa taroituksenmukaista modifioida geeli etukäteen ns. "spacer"-yhdisteillä. "Spacer"-yhdisteellä ymmärretään tällöin yhdisteitä, jotka reagoivat sekä kantajapolymeerin että myös biologisesti aktiivisen aineen kanssa ja muodostavat näiden kahden välille tavallaan sillan. Helmipolymeerin reaktio spacer-yhdisteen kanssa voi tapahtua joko suoraan tai edullisesti asylaattiryhmien edeltävän saippuoinnin jälkeen.
25 Reaktioaste riippuu tällöin mm. spacer-yhdisteen tilanvievyydestä ja asylaattiryhmän tai siitä syntyneiden sekundaaristen hydroksyyli ryhmien luoksepäästävyydestä. Spacer-yhdisteenä tulevat keksinnön mukaisesti kysymykseen tätä varten tunnetut homo- ja hetero-bifunktionaaliset
30 yhdisteet, joiden toinen funktionaalinen ryhmä pystyy kytkeytymään kiinnitettävän biologisesti aktiivisen aineen kanssa (vrt. DE-patentti 2 421 789 ja 2 552 510 sekä Ullman'in Encyclopädie der technischen Chemie, 4. painos, nide 10, s. 540 ja "Characterization of Immobilized Biocatalysts", Verlag Chemie, Weinheim, 1979, s. 53).
35

Keksinnön mukaisesti käytettävissä spacer-yhdisteissä on kysymys esimerkiksi sellaisista, jotka liittävät seuraavassa esitetyt ryhmät:



Edullisia spacer-yhdisteitä ovat keksinnön mukaisesti sellaiset, jotka tuottavat hydrolyysinkestäviä kemiallisia sidoksia, kuten epikloorihydriini tai sen homologit (α, β -epoksi- ω -halogeenialkaanit). Polyvinyylialkoholien (polyvinyyliasetaattien) reaktio tapahtuu tällöin ilman liuotinta tai liuottimen läsnäollessa, edullisesti katalyytin läsnäollessa. Reaktioaika on (riippuen lämpötilasta - joka voi olla huoneen lämpötilan ja epikloorihydriinin palautuslämpötilan (113 - 115°C) väliltä - yleensä 30 minuutin ja 24 tunnin väliltä. Katalyytteinä tulevat kysymykseen esim. NaOH (jauheen muodossa) tai vesipitoiset alkalit, dimetyyliformamidi, trietyyliamiini ja muut happoakseptorit.

Käsitteellä biologisesti aktiiviset aineet tarkoitetaan tunnettuja in vivo tai in vitro vaikuttavia luon-

nollisia tai keinotekoisesti valmistettuja aineita, kuten entsyymejä, aktivaattoreita, inhibiittoreita, antigeenejä, vasta-aineita, vitamiineja, hormoneja, tehostimia, antibiootteja, proteiineja yms. Jälkimmäinen käsite käsittää
5 tällöin myös proteiineja, joissa on tiettyjä ei-proteiinisubstituentteja, kuten metalli-ioneja, polysakkarideja, porfyriini-ryhmiä, adeniinidinukleotidin, ribonukleiinihapon, fosfolipidejä jne. Myös polypeptidi-osaset, esim. entsyymimolekyylien aktiiviset osat, kuuluvat käsitteeseen
10 biologisesti aktiiviset aineet.

Edellä mainituista biologisesti aktiivisista aineista ovat keksinnön mukaisesti entsyymit edullisia. Esimerkkejä entsyymeistä ovat ureaasi, penisilliiniasylaasi, Daminohappo-oksidaasi, adenyylidesaminaasi, alkoholi-dehydrogenaasi, asparaginaasi, karboksipeptidaasi, kymotrypsiini, difosfoesteraasi, α -glukosidaasi, glukoosi-isome-
15 raasi, glukoosi-oksidaasi, glukoosi-6-fosfaatti-dehydrogenaasi, heksokinaasi, invertaasi, β -laktamaasi, laktaasi, laktaatti-dehydrogenaasi, erilaiset lektiinit, NAD-kinasi, neuramidinaasi, papaiini, peroksidaasi, fofotaasit,
20 (alkaliset ja happamet), 5'-fofodiesteraasi, pyruvaattikinaasi, ribonukleaasi, trypsiini.

Esimerkkejä muista biologisesti aktiivisista aineista ovat hormonit, kuten insuliini ja mitä erilaisimmat aivolisäkehormonit, gamma-globuliinijakeen proteiinit,
25 esim. luokkien G, M, A, D ja E vasta-aineet, muut veriteki-
kijät, esim. antihemofilia-tekijä, verenhyytymistekijät, erityiset vasta-aineet, esim. hepatitis-, poliomyeli-
tis-, finni-, sikotauti-, influenssa- tai kaniinin vasta-
30 aineet, antigeenit, kuten hepatitis-, poliomyelitis-, finni-, sikotauti-, influenssa- tai kaniinin antigeenit sopi-
vien vasta-aine-reaktioiden puhdistamiseksi tai kiihdyttä-
miseksi, jolloin antigeeni (liukenemattomaksi tekemisen jälkeen) jää liukenemattomaan muotoon eikä niin muodoin
35 voi tunkeutua kehoon eikä vahingoittaa tätä, sekä yleiset

kehoproteiinit, kuten hemoglobiini tai albumiini.

Kiinnittymisreaktio biologisesti aktiivisen aineen kanssa toteutetaan tunnetulla tavalla, kuten esim. julkaisussa DE-OS 2 407 340 tai DE-patenteissa 2 215 687, 2 421 789 ja 2 552 510 on kuvattu. Useimmiten reaktio tapahtuu huoneen lämpötilassa tai $+40^{\circ}\text{C}$:ssa tai sen alapuolella olevissa lämpötiloissa. Jälkimmäinen erityisesti silloin, kun ankkuroitava biologisesti aktiivinen aine on luontaisesti pysymätön; tässä tapauksessa lämpötilat ovat sitten alle $+10^{\circ}\text{C}$, edullisesti $0-5^{\circ}\text{C}$.

Kiinnittymisreaktio tapahtuu edullisesti ympäristössä, jossa on neutraali pH-arvo, esimerkiksi pH-arvot 5 - 9, koska useimmat biologisesti aktiiviset aineet tässä ovat pysyvimmillään. Yleensä ei myöskään ole tarpeen ylläpitää voimakkaampia happamia tai alkalisia olosuhteita, koska makrohuokoiset helmipolymeerit reagoivat myös jo neutraalilla alueella useimpien kysymykseen tulevien aineiden kanssa nopeasti. Tällöin syntyvä sidos tarjoaa riittävästi pysyvyyttä pitkiä varastointeja varten, ja suuren toimintapysyvyyden.

Keksintöä valaistaan seuraavassa lähemmin esimerkein.

Esimerkki 1

Keittopullossa, joka oli varustettu sekoittimella, lämpömittarilla ja palautusjäähdyttimellä, suspendoitiin typpi-atmosfäärissä orgaaninen faasi, joka koostui liuoksesta, jossa oli 97,5 g vinyyliasetaattia, 2,5 g divinyylietyyleeniureaa ja 0,1 g atsoisobutyronitriiliä, sekoittaen vesipitoiseen faasiin, joka sisälsi 4,2 g Na_2HPO_4 , 0,25 g NaH_2PO_4 , 7,0 g polyvinyylipyrrolidonia ja 700 ml H_2O . Polymeroituminen käynnistettiin kuumentamalla 75°C :seen lämpöhauteella. Kahden tunnin kuluttua lämpötila nostettiin 85°C :seen. Kahden tunnin kuluttua tästä oli polymerointi päättynyt. Saatu suspensio jäähdytettiin kaatamalla jäihin, hienojakoisen emulsion moninkertaisen dek-

antoimisen jälkeen polymeeri suodatettiin erilleen ja kuivattiin. Saatiin 80 g kuivaa tuotetta.

Hydrolyysiä varten paisutettiin 50 g tuotetta metanolissa ja sekoitettiin liuoksen kanssa, jossa oli 50 g NaOH H₂O:ssa, 25°C:ssa lämmittämättä tai vastajähdyttämättä. 12 tunnin kuluttua tuote suodatettiin erilleen, pestiin paljolla vedellä neutraaliksi ja kuivattiin.

Tuotteita käytettiin geelikromatografiassa. Saippuoimattomalle geelille havaittiin tetrahydrofuraanissa polystyreenillä moolimassa 1200 ("Ausschlussmolekulargewicht"). Saippuoitu tuote antoi polyetyleeniglykolille vedessä moolimassan 1100 ("Ausschlussmolekulargewicht").

Esimerkki 2

Esimerkin 1 polymerointi toteutettiin lisäten 140 g NaCl vesipitoiseen faasiin. Reaktion lopettamisen jälkeen kaatamalla siihen jäävettä laskeutui kaikki polymeeri heti pohjalle, niin että emulsio-osaa ei saatu juuri ollenkaan. Helmipolymeerin eristettävä saanto oli yli 90 % (laskettuna polymeroituvasta faasista).

Geelin moolimassa polystyreenille tetrahydrofuraanissa nousi 1500:aan ("Ausschlussmolekulargewicht"); saippuoinnin jälkeen saatiin vedessä polyetyleeniglykolille moolimassaa 1300 ("Ausschlussmolekulargewicht").

Esimerkki 3

Esimerkin 1 polymerointi toteutettiin yhdenmukaisesti sillä erolla, että verkkouttamiskomponentti koostui 2,0 g:sta divinyylietyyleeniureaa ja 0,5 g:sta 3,3-dimetyylipentadieeni-2,4-diasetaattia.

Geelikromatografiset arvot vastasivat esimerkin 1 vastaavia arvoja.

3,3-dimetyylipentadieeni-2,4-diasetaatin valmistus tapahtui, kuten jäljempänä kuvataan, asyloimalla 3-metyyli-butanoni-(2)-asetanhydridillä Lewis-hapon läsnäollessa ja saadun diketonin senjälkeisellä reaktiolla isopropenyy-

liasetaatin kanssa:

330 g (3,84 moolia) vastatislattua 3-metyleenibutanonia sekoitettiin 500 g:n (5 moolin) kanssa teknistä asetanhydridiä (95-%:sta) keittopullossa ja lisättiin sekoittaen ja typpeä johtaen 160 g (1,15 moolia) ZnCl_2 . Pullon sisältöä kuumennettiin 3 tuntia 120°C :ssa ja tislattiin jäähdyttämisen jälkeen vesisuihkutyhjössä.

Saatiin 363 g raakatuotetta, jonka kiehumispiste oli 62°C (12 torria, 1,60 kPa) 86 %:n GC-puhtaudessa.

Tämän aineen uudelleentislaaminen vesisuihkutyhjössä antoi 289 g yhtenäistä tuotetta, jonka kiehumapiste oli 60°C (1,6 kPa, 12 torria), joka ^1H -NMR-analyysillä osoittautui olevan 3,3-dimetyyli-pentaani-2,4-dioni (singletti 1,3 ppm:ssä ja 2,05 ppm:ssä).

110 g 3,3-dimetyyli-pentaani-2,4-dionia sekoitettiin typpi-atmosfäärissä 500 g:n kanssa kuivaa isopropenyliasetaatia ja lisättiin 5 g p-tolueeni-sulfonihappoa. Seosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen lyhyessä täytekappalekolonnissa ja 12 tunnin välein otettiin useampana päivänä kulloinkin lyhytaikaisesti tislaujakeita väliltä 54°C ja 90°C . Reaktioseoksen koostumusta seurattiin kaasukromatografisesti. 6 päivän reaktioajan kuluttua hapan katalyytti neutraloitiin karbonaattilisäyksellä ja reaktioseos tislattiin vesisuihkutyhjössä nopeasti erilleen. Uudelleentislauksella normaalipaineessa poistettiin reagoimaton isopropenyliasetatti. Asettamalla vesisuihkutyhjö saatiin uusintatislauksessa 39 g ($87,5^\circ\text{C}$ /1,6 kPa, 12 torria) kaasukromatografisesti puhdasta ainetta. Tässä tuotteessa oli kysymys 3,3-dimetyylipent-1-en-4-oni-2-asetaatista (^1H -NMR:singletti 1,3 ppm:ssä ja 2,1 ppm:ssä, dubletti 4,9 ppm:ssä).

Jäljellä olevan raakatuotteen lisätislaus öljypumputyhyhjöissä 1,33 Pa:ssa (0,01 torrissa) johtaa monoenoli-asetaatin ja toisen korkeammalla kiehuvan yhdisteen, tuoteseokseen, tästä saatiin 54°C :n ja 65°C :n välillä lisäksi

15 g dienoliasetaattia puhtaudeltaan 93-%:isena (GC).

Esimerkki 4

Heterogeenisesti verkkouttavan helmikopolymeroinnin suorittamiseksi dispergoitiin liuos, jossa oli 80 g vinyylisasetaattia, 20 g divinyylietyyleeniureaa, 1 g atsoisobutyronitriiliä ja 200 g n-heptanolia, liuokseen, jossa oli 0,175 g NaH_2PO_4 , 3 g Na_2HPO_4 ja 5 g polyvinyylipyrrolidonia 500 ml:ssa vettä, ja polymeroitiin. Lämpötilan kulku vastasi lämpötilan kulkua esimerkissä 1. Neljän tunnin kuluttua laimennusaine poistettiin vesihöyrytislauksella ja tuote eristettiin. Saanto oli 77,7 g täysin pyöreätä kirjasta helmipolymeeria. Keskimääräinen osasläpimitta oli noin 30 μm (sekoittamisnopeus 460 r/min).

Tuotteen irtotilavuus oli 1,55 ml/g. Tetrahydrofuraanissa sen geelipatjatilavuus oli 5,77 ml/g, moolimassa polystyreenille oli 80 000 ("Ausschlussmolekulargewicht"). Saippuoidun tuotteen irtotilavuus oli 1,54 ml/g, se paisui vedessä 5 ml:ksi/g ja sen moolimassa polyetyleeniglykolille oli 20 000 ("Ausschlussmolekulargewicht").

20 g:n hydrolysoitua helmikopolyymeeria annettiin paisua 200 ml:ssa epikloorihydriiniä 24 tuntia huoneen lämpötilassa. Sen jälkeen lämpötila nostettiin hitaasti sekoittaen 113 - 115°:seen ja pidettiin siinä 4 tuntia. Jäähdyttämisen jälkeen suodatettiin imusuodattamalla ja kopolymeeria sekoitettiin useita kertoja kulloinkin 1 tunti asetonissa. Asetonikostea kopolymeeri kuivattiin vakio-painoiseksi tyhjökaapissa 50°:ssa. Epoksidiekvivalentti oli 244 (mitattuna Axen'in mukaan: Acta Chem. Scand. B 29 (1975) nro 4).

Esimerkki 5

Esimerkin 4 polymerointi toteutettiin yhdenmukaisesti sillä erolla, että laimennusaine korvattiin seoksella, jossa oli 80 g 2-etyyliheksanolia ja 20 g etyleenioksidista ja propyleenioksidista saatua polyglykolia (pai-

nosuhde 1:1; tilastollinen jakautuma), jonka moolimassa oli noin 1200, ja joka oli saatu liittämällä etyleenioksidia ja propyleenioksidia butanoliin käynnistäjinä. ("Polyglykol B 11/50" firmasta Hoechst Ag).

- 5 Eristettiin 76 g kalkinvalkoista pyöreätä helmi-
polymeeria, jonka osaskoko oli 50 - 200 μm , sekoittamis-
nopeudella 460 r/min.

Esimerkki 6

- 10 Esimerkin 4 polymerointi suoritettiin yhdenmukai-
sesti sillä erolla, että laimennusaine korvattiin seok-
sella, jossa oli 70 g 2-etyyliheksanolia ja 30 g polygly-
kolia, jonka moolimassa oli noin 700 ja joka oli saatu
liittämällä propyleenioksidia butanoliin käynnistäjinä
("Polyglykol B 01/20" firmasta Hoechst Ag).

- 15 Eristettiin 82 g kalkinvalkoista pyöreätä helmi-
polymeeria, jonka osaskoko oli 50 - 200 μm sekoitusnopeu-
della 460 r/min.

Esimerkki 7

- 20 Polymerointi suoritettiin yhdenmukaisesti sillä
poikkeuksella, että laimennusaine korvattiin seoksella,
jossa oli 80 g 2-etyyliheksanolia ja 20 g polyglykolia,
joka oli saatu etyleenioksidista ja propyleenioksidista
(painosuhde:4:1; tilastollinen jakautuma; moolimassa:
noin 5 000) ja joka oli saatu liittämällä etyleenioksidia
25 ja propyleenioksidia butanoliin käynnistäjinä ("Polygly-
kol P 41/300" firmasta Hoechst Ag).

Eristettiin 68 g kalkinvalkoista, pyöreätä helmi-
polymeeria, jonka osaskoko oli alueella 50 - 200 μm se-
koittamiskierrosnopeudella 460 r/min.

- 30 Esimerkki 8

- Esimerkin 4 polymerointi suoritettiin yhdenmukai-
sesti sillä poikkeuksella, että laimennusaine korvattiin
seoksella, jossa oli 80 g 2-etyyliheksanolia ja 20 g poly-
eetteriglykolia, joka oli saatu polyoksipropyleenistä ja
35 polyoksietyleenistä, jolloin kokonaismolekyylissä oli 10

paino-% polyoksietyleeninä ja jolloin polyoksietyleeniyksiköt ovat liittyneet polyoksipropyleeni-ketjun (moolimassa: noin 1750) kumpaankin päähän ("Pluronic polyol 61" firmasta Basf, Wyandotte Corp.).

- 5 Eristettiin 72 g kalkinvalkoista, pyöreätä helmipolymeeria, jonka osaskoko oli alueella 50 - 200 μm sekoituskierrosluvulla 460 r/min.

Esimerkki 9

- 10 Esimerkin 4 polymerointi suoritettiin yhdenmukaisesti sillä erolla, että laimennusaine korvattiin seoksella, jossa oli 100 g 2-etyyliheksanolia ja 100 g di-n-butyylieetteriä. Eristettiin 83 g kalkinvalkoista, täysin pyöreätä helmipolymeeria, jonka osaskoko oli 70 μm , samalla sekoitusnopeudella kuin esimerkissä 4.

- 15 Tuotteen irtotilavuus oli 2,81 ml/g, tetrahydrofuraanissa sen geelipatjatilavuus oli 7,48 ml/g ja moolimassa ("Ausschlussmolekulargewicht") polystyreenille 2×10^6 . Hydrolysoidun tuotteen irtotilavuus oli 1,6 ml/g, geelipatjan tilavuus vedessä oli 12,8 ml/g ja moolimassa
20 ("Ausschlussmolekulargewicht") polyetyleeniglykolille oli 2×10^6 .

Esimerkki 10

- Esimerkin 4 polymerointi toteutettiin yhdenmukaisesti sillä erolla, että dispergoitu faasi koostui 70
25 g:sta vinyylasetaattia, 30 g:sta divinyylietyleeniuuraa, 1 g:sta atsoisobutyronitriiliä ja 158 g:sta di-n-butyylieetteriä. Saatiin 77 g valkoista helmipolymeeria, jossa keskimääräinen läpimitta oli 200 μm .

- Irtotilavuus oli 2,9 ml/g, geelipatjatilavuus tetrahydrofuraanissa oli 7,45 ml/g. Geelikromatografisesti ei
30 tuotteen moolimassa ("Ausschlussmolekulargewicht") voitu määrittää: polystyreeni, jonka $M=25\,000\,000$, eluoitiin miltei sisätilavuudella. Rasterielektronimikroskooppiset valokuvat osoittivat huokosia, joiden läpimitta oli yli
35 100 000 Å.

Hydrolysoidun tuotteen irtotilavuus oli 6,5 ml/g, mikä osoitti, että runkorakenne oli täysin säilynyt. Geelipatjatilavuus vedessä oli 14,5 ml/g; geelikromatografisessa tutkimuksessa oli polyetyleeniglykoli, jonka moolimassa oli $3,8 \times 10^6$, lähes koko sisätilavuuden käytettävissä.

10 g hydrolysoitua kopolymeeria kuumennettiin 24-tuntisen paisuttamisen jälkeen 100 g:ssa epikloorihydriiniä hitaasti sekoittaen 110°C :seen ja pidettiin tässä lämpötilassa 12 tuntia. Huoneen lämpötilaan jäädyttämisen jälkeen imusuodatettiin ja kopolymeeria sekoitettiin useaan kertaan 2 tuntia hitaasti asetonissa. Kuivaaminen tapahtui tyhjiökaapissa 50°C :ssa. Epoksidiekvivalentti oli 105 $\mu\text{moolia/g}$ kantaja-ainetta.

15 Keksinnön mukaisten helmenmuotoisten polymeerikantajien reaktio biologisesti aktiivisten aineiden kanssa

Esimerkki 11

100 mg:aan esimerkin 4 mukaisesti valmistettua kantajaa lisättiin 800 μl trypsiiniliuosta (6,25 mg/ml, 345 U/ml). Entsyymiliuoksen pH:n säätämiseksi 7,8:aan lisättiin l-moolista kaliumfosfaattipuskuria ja entsyymin aktiivisen keskuksen stabiloimiseksi $1.6 \cdot 10^{-2}$ -moolista bentsamidiini-liuosta. Entsyymin kiinnittymisen kesto aika kantajalle oli 72 tuntia 25°C :ssa. Sen jälkeen kantajalle eikovalenttisesti sitoutunut trypsiini imusuodatettiin lasisintterin läpi ja jäännöstä pestiin useaan kertaan l-moolisella natriumkloridiliuoksella ja sitten puskuriliuoksella. Imusuodatuskosteaa aineksen saanto oli 324 mg. Mittaaminen suoritettiin autotitrauslaitteella 37° :ssa ja pH-arvossa 7,8 N'-bentsoyyli-L-arginiinietyyliesterihydrokloridilla (BAEE) ja antoi arvon 227,5 U/g kosteassa tiilassa tai 356 U/g kuivapainosta laskettuna. Lähtö- ja pesuvesi-aktiivisuudesta voitiin laskea 20 %:n kiinnittymisaanto.

Esimerkki 12

200 mg:aan esimerkin 10 mukaisesti valmistettua epoksidoitua kantajaa lisättiin 1 500 µl ureaasiluosta (30 mg/ml, 51 U/ml), joka oli l-moolisella kaliumfosfaattipuskurilla säädetty pH-arvoon 8,0. 16-tuntisen kiinnitysajan jälkeen huoneen lämpötilassa pestiin kantajaa l-moolisella natriumkloridiliuoksella ja sen jälkeen moneen kertaan puskuriliuoksella. Imusuodatuskosteaan kantajan saanto oli 754 mg. Mittaus autotitrauslaitteella 30°:ssa ja pH 8,0:ssa, urea substraattina, antoi aktiviteetin 100 U(g (kostea) tai 377 U/g kantajan kuivapainosta laskettuna. Lähtö- ja pesuvesi-aktiivisuudesta laskettiin 98 %: n kiinnittymisaanto.

Patenttivaatimukset

1. Verkkoutettu, helmien muodossa oleva polymeeri, joka koostuu pääasiallisesti vinyyliasyylaattiyksiköistä ja verkkoutusaineen yksiköistä, t u n n e t t u siitä, että verkkoutusaineella on yleinen kaava



ja/tai



- 15 jolloin R_1 ja R_2 kaavassa (I) voivat olla samanlaisia tai erilaisia ja merkitsevät vinyyliä, 1-asyylioksisvinyyliä, allyyliä tai 2-asyylioksi-allyyliä, A on kaksiarvoinen hiilivetytähde, jossa on 2 - 8 C-atomia, B kaavassa (II) on kaksiarvoinen hiilivetytähde, jossa on 1 - 8 C-atomia, ja X on asyylioksi, ja jolloin verkkoutusaineyksiköiden määrä on 0,1 - 60 paino-%, laskettuna polymeeristä, vinyyliasyylaattiyksiköiden asyylioksiryhmät ovat läsnä sellaisenaan tai ne on osittain tai kokonaan korvattu hydroksyyli-
20 liryhmillä ja helmien keskimääräinen osaskoko on 20-800 μm ja keskimääräinen huokoshalkaisija on 2-10 000 nm.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen verkkoutettu polymeeri, t u n n e t t u siitä, että se sisältää vinyyliasettaattiyksiköitä.

30 3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen verkkoutettu polymeeri, t u n n e t t u siitä, että asyylioksiryhmä kaavan (I) tähteissä R_1 ja R_2 tai asyylioksitähde kaavassa (II) sisältää 2 - 6 C-atomia.

35 4. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 3 mukainen verkkoutettu polymeeri, t u n n e t t u siitä, että kaavan (I)

tähteet R_1 ja R_2 kulloinkin ovat vinyylejä.

5. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 4 mukainen verkkoutettu polymeeri, t u n n e t t u siitä, että verkkoutusaineyksiköiden määrä on 1 - 50 paino-%.

5 6. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 5 mukainen verkkoutettu polymeeri, t u n n e t t u siitä, että verkkoutusaineyksiköiden määrä on 1 - 40 paino-%.

10 7. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 6 mukainen verkkoutettu polymeeri, t u n n e t t u siitä, että vähintään 10 paino-% vinyyliasyylaattiyksiköiden asyylioksiryhmistä on korvattu hydroksyyliiryhmillä.

15 8. Menetelmä jonkin patenttivaatimusten 1 - 7 mukaisen verkkoutetun polymeerin valmistamiseksi kopolymeroimalla vinyyliasyylaattia verkkoutusaineen kanssa dispergoimisaineen läsnäollessa ja mahdollisesti osittain tai täydellisesti saippuoimalla saatu polymeeri, t u n n e t t u siitä, että verkkoutusaineella on patenttivaatimuksen 1 mukaiset kaavat (I) ja/tai (II).

20 9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että vinyyliasyylaatti on vinyyliasetatti.

10. Patenttivaatimuksen 8 tai 9 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että läsnä on vielä joku muu vinyyliasyylaatin kanssa kopolymeroituva monomeeri.

25 11. Jonkin patenttivaatimuksen 8 - 10 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että polymerointi suoritetaan helmipolymerointina.

30 12. Patenttivaatimuksen 11 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että dispergoimisaineena käytetään alkalista vesipitoista puskuriliuosta.

13. Patenttivaatimuksen 12 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että dispergoimisaine sisältää 0 - 50 paino-% elektrolyyttiä.

35 14. Jonkin patenttivaatimuksen 11 - 13 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että dispergoimisaine

sisältää ei-ionogeenisen rajapinta-aktiivisen yhdisteen dispersion stabiloimisaineena.

5 15. Jonkin patenttivaatimuksen 8 - 14 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että polymerointi toteutetaan dialkyylietterin, jossa on vähintään 6 C-atomia, läsnäollessa inerttinä laimennusaineena.

10 16. Menetelmä patenttivaatimuksen 7 mukaisen verkoutetun polymeerin valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että vinyyliasyyliryhmiä sisältävä polymeeri saipuoadaan siten, että yli 70 % asylaattiryhmistä korvautuu OH-ryhmillä.

17. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 7 mukaisen verkoutetun polymeerin käyttö adsorbenttinä kromatografiassa.

15 18. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 7 mukaisen verkoutetun polymeerin käyttö, mahdollisesti reaktion jälkeen spacer-yhdisteiden kanssa, kantajaan sidottujen, biologisesti aktiivisten aineiden valmistamiseksi.

19. Patenttivaatimuksen 18 mukainen käyttö, t u n n e t t u siitä, että spacer-yhdiste on epikloorihydriini.

20

Patentkrav

1. Tvärbunden polymer i form av pärlor, vilken väsentligen består av vinylacylatenheter och enheter av ett tvärbindningsmedel, k ä n n e t e c k n a t därav, att tvärbindningsmedlet har den allmänna formeln



och/eller



varvid R_1 och R_2 i formeln (I) kan vara lika eller olika och betecknar vinyl, 1-acyloxivinyl, allyl eller 2-acyloxiallyl, A är en tvåvärd kolväterest med 2 - 8 C-atomer, B i formeln (II) står för en tvåvärd kolväterest med 1 - 8 C-atomer, och X betecknar acyloxi, och varvid mängden tvärbindningsmedelenheter uppgår till 0,1 - 60 vikt-%, beräknat på polymeren, acyloxigrupperna i vinylacylatenheter är närvarande som sådana eller har delvis eller totalt ersatts med hydroxylgrupper, och pärlorna har en genomsnittlig partikelstorlek av 20-800 μm och en genomsnittlig pordiameter av 2-10 000 nm.

2. Tvärbunden polymer enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a d därav, att den innehåller vinylacetatenheter.

3. Tvärbunden polymer enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a d därav, att acyloxigruppen i resterna R_1 och R_2 i formeln (I) eller acyloxiresten i formeln (II) har 2 - 6 C-atomer.

4. Tvärbunden polymer enligt något av patentkraven 1 - 3, k ä n n e t e c k n a d därav, att resterna R_1 och

R_2 i formeln (I) i vart och ett fall står för vinyl.

5. Tvärbunden polymer enligt något av patentkraven 1 - 4, k ä n n e t e c k n a d därav, att mängden tvärbindningsmedelenheter uppgår till 1 - 50 vikt-%.

5 6. Tvärbunden polymer enligt något av patentkraven 1 - 5, k ä n n e t e c k n a d därav, att mängden tvärbindningsmedelenheter uppgår till 1 - 40 vikt-%.

7. Tvärbunden polymer enligt något av patentkraven 1 - 6, k ä n n e t e c k n a d därav, att minst 10 vikt-% av acyloxygrupperna i vinylacylatenheterna ersatts med hydroxylgrupper.

8. Förfarande för framställning av en tvärbunden polymer enligt något av patentkraven 1-7 genom sampolymerisation av vinylacrylat med ett tvärbindningsmedel i närvaro av ett dispergeringsmedel och eventuellt delvis eller total förtvålning av den erhållna polymeren, k ä n n e t e c k n a d därav, att tvärbindningsmedlet har formeln (I) och/eller (II) enligt patentkravet 1.

9. Förfarande enligt patentkravet 8, k ä n n e t e c k n a t därav, att vinylacrylatet är vinylacetat.

10. Förfarande enligt patentkravet 8 eller 9, k ä n n e t e c k n a t därav, att ytterligare en med vinylacrylatet sampolymeriserbar monomer är närvarande.

11. Förfarande enligt något av patentkraven 8 - 10, k ä n n e t e c k n a t därav, att polymerisationen utföres som pärlpolymerisation.

12. Förfarande enligt patentkravet 11, k ä n n e t e c k n a d därav, att som dispergeringsmedel används en alkalisk, vattenhaltig buffertlösning.

13. Förfarande enligt patentkravet 12, k ä n n e t e c k n a d därav, att dispergeringsmedlet innehåller 0 - 50 vikt-% av en elektrolyt.

14. Förfarande enligt något av patentkraven 11 - 13, k ä n n e t e c k n a t därav, att dispergeringsmedlet innehåller en icke-jonogen, gränsytaktiv förening som dis-

persionssstabilisator.

15. Förfarande enligt något av patentkraven 8 - 14,
k ä n n e t e c k n a t därav, att polymerisationen utförs
i närvaro av en dialkyleter med minst 6 C-atomer som inert
5 utspädningsmedel.

16. Förfarande för framställning av tvärbunden po-
lymer enligt patentkravet 7, k ä n n e t e c k n a t därav,
att polymeren som innehåller vinylacylgrupper underkastas
förtvålning på sådant sätt, att mer än 70 % av acylatgrup-
10 perna ersätts med OH-grupper.

17. Användning av en tvärbunden polymer enligt
något av patentkraven 1 - 7 som adsorptionsmedel vid kro-
matografi.

18. Användning av en tvärbunden polymer enligt
15 något av patentkraven 1 - 7, eventuellt efter omsättning
med spacer-föreningar, för framställning av bärarbundna,
biologiskt aktiva substanser.

19. Användning enligt patentkravet 18, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att spacer-föreningen är epiklorhyd-
20 rin.