



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

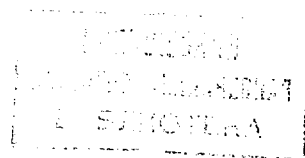
(19) **SU** (11) **1503875** **A 1**

(5D) 4 В 01 J 20/00

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



- 1
- (21) 4337655/31-26
(22) 04.12.87
(46) 30.08.89. Бюл. № 32
(71) Институт биоорганической химии
АН БССР
(72) А. А. Ахрем, Л. Н. Горская,
А. П. Дрожженюк, В. П. Егорова,
Б. И. Желнин, Д. Ю. Ландо, К. И. Сакодынский,
А. А. Соколов и Т. А. Шумилина
(53) 661.183.12(088.8)
(56) Main R. K., Wikins M. I., Cole L. I.
A Modified Calcium Phosphate for Column
Chromatography of Polinucleotides and Pro-
teins. J. Amer. Chem. Soc., 1959, 81, № 24,
6490—6495.
Mazin A. L., Sulimova G. E., Vanyu-
shin B. F. Granulated Hydroxyapatite:
Preparation and Chromatographic Properties.
Analytical Biochemistry, 1974, 61 № 1, 62—71.

- 2
- (54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ОКСИАПА-
ТИТА
(57) Изобретение относится к получению
сорбентов для хроматографии биополиме-
ров, может быть использовано для синте-
за оксиапатита и позволяет в 3—11 раз
повысить его адсорбционную емкость по
ДНК, а также в 1,5—2 раза увеличить раз-
мер его кристаллов. Сущность способа
заключается в осаждении брушита путем
эквивалентного смешивания раствора хлори-
да натрия с раствором гидрофосфата
натрия или суспензией, полученной путем
добавления раствора хлорида кальция к из-
бытку раствора гидрофосфата натрия при мо-
лярном отношении кальция к фосфору, ра-
вном 0,7—0,9, с последующим его превра-
щением в оксиапатит путем нагревания в
щелочном растворе гидрофосфата калия.
Осаждение брушита также ведут путем двух-
стадийного смешивания сначала раствора
хлорида кальция и вышеприведенной су-
спензии, а затем растворов хлорида кальция
и гидрофосфата натрия при молярном отно-
шении кальция и фосфора, равном 1,10—
1,25. 1 з.п.ф.-лы, 1 табл.

Изобретение относится к получению сор-
бентов для хроматографии биополимеров,
конкретно, к усовершенствованному способу
получения оксиапатита, который широко
используется для хроматографического раз-
деления и очистки различных биополимеров
и их компонентов (нуклеиновых кислот, бел-
ков, олигопептидов, аминокислот и др.).

Цель изобретения — повышение адсорб-
ционной емкости оксиапатита по ДНК и уве-
личение размеров кристаллов оксиапатита.

Пример 1. 200 мл 0,5 М раствора Na_2HPO_4
сливают с 200 мл 0,4 М раствора CaCl_2
со скоростью 10 мл/мин при интен-

сивном перемешивании. В результате полу-
чают гранулы брушита размером 40—50 мк.
Брушит превращают в оксиапатит путем
15-минутного кипячения в 150 мл 1,5 М рас-
твора K_2HPO_4 . Скорость протекания раство-
рителя через стандартную колонку с таким
сорбентом равна 20 мл/ч. После 5 деканта-
ций в дистиллированной воде и удаления мел-
ких обломков оксиапатита скорость проте-
кания растворителя увеличивается до
48 мл/ч. Адсорбционная емкость для высоко-
полимерной ДНК равна 1,5 мг/мл.

Примеры 2, 3. Синтез проводят по приме-
ру 1. Отличаются только концентрации CaCl_2

(19) SU (11) 1503875 A 1

Во втором примере 0,45 М, а в третьем — 0,49 М.

Пример 4. В 200 мл 0,5 М раствора Na_2HPO_4 добавляют 0,5 мл 0,4 М раствора CaCl_2 . Затем 200 мл 0,4 М водного раствора CaCl_2 и 200 мл суспензии сливают одновременно со скоростью 10 мл/ч. В результате получают частицы брусита размером 60—80 мк. Оксипатит, синтезированный из такого брусита по примеру 1, характеризуется адсорбционной емкостью 0,9 мг/мл и скоростью протекания растворителя через стандартную колонку 81 мл/ч.

Примеры 5, 6. Синтез проводят по примеру 4, изменяя только количество раствора CaCl_2 , используемого для получения суспензии. Пример 5 — 2 мл, пример 6 — 10 мл.

Примеры 7, 8. Проводят синтез по примеру 4, изменяя только концентрацию раствора CaCl_2 , которая составляет в примере 7—0,45 М, а в примере 8—0,49 М.

Примеры 9, 10. Проводят синтез по примеру 4 с той разницей, что концентрацию CaCl_2 берут равной 0,35 М. В примере 9 используют чистый раствор Na_2HPO_4 , а в примере 10 суспензию, полученную путем добавления 2 мл CaCl_2 .

Примеры 11, 12. Повторяют примеры 9 и 10 соответственно с той разницей, что используют концентрацию CaCl_2 , равную 0,3 М.

Пример 13. В 200 мл 0,45 М раствора Na_2HPO_4 добавляют 0,5 мл 0,4 М CaCl_2 . Затем 200 мл 0,4 М водного раствора CaCl_2 и 200 мл суспензии сливают одновременно со скоростью 15 мл/мин, в течение 15 мин ($\text{Ca}/\text{P}=0,89$). Затем шланги перемещают в чистые растворы 0,45 М Na_2HPO_4 и 0,5 М CaCl_2 ($\text{Ca}/\text{P}=1,11$). Сливание продолжают 40 мин со скоростью 17 мл/мин. В результате получают частицы брусита размером 90—150 мк. Брусит превращают в оксипатит путем нагревания в 1,5 М водном растворе K_2HPO_4 до 99°C и выдерживания при этой температуре 30 мин.

Пример 14. Полностью повторяет пример 13, только скорость сливания на первой стадии увеличивают в 2 раза.

Пример 15. Полностью повторяет пример 13, только скорость сливания на первой стадии уменьшают в 2 раза.

Пример 16. Полностью повторяет пример 13, только на второй стадии используют 0,55 М раствора CaCl_2 ($\text{Ca}/\text{P}=1,23$).

Пример 17. Полностью повторяет пример 13, только на второй стадии используют 0,45 М раствор CaCl_2 ($\text{Ca}/\text{P}=1$).

Пример 18. Полностью повторяет пример 13, только на второй стадии используют 0,6 М раствор CaCl_2 ($\text{Ca}/\text{P}=1,39$).

Пример 19. Полностью повторяет пример 13, только на второй стадии используют 0,53 М раствор CaCl_2 ($\text{Ca}/\text{P}=1,23$).

Пример 20. Полностью повторяет пример 13, только на второй стадии используют 0,47 М раствор CaCl_2 ($\text{Ca}/\text{P}=1,09$).

Характеристики оксипатитов, полученных по примерам 1—20, в сравнении с прототипом, представлены в таблице.

Как видно из представленных в таблице данных все образцы оксипатита, полученные по описываемому способу, характеризуются в 3—11 раз большей адсорбционной емкостью по ДНК в сравнении со способом-прототипом.

В то же время образцы, полученные в две стадии по примерам 13—17 и 19, 20, обладают в 1,5—2 раза большим, по сравнению с прототипом, размером частиц, что и обуславливает соответственно большую скорость протекания через них растворителя.

Формула изобретения

1. Способ получения оксипатита, включающий эквиобъемное смешивание раствора хлорида кальция с гидрофосфатом натрия с последующим превращением осажденного брусита в оксипатит путем нагревания осадка в щелочном растворе, отличающийся тем, что, с целью повышения адсорбционной емкости по ДНК, смешивание ведут при молярном отношении кальция к фосфору, равном 0,7—0,9, причем используют или раствор гидрофосфата натрия, или суспензию, полученную путем добавления раствора хлорида кальция к избытку гидрофосфата натрия, а нагревание ведут в растворе гидрофосфата калия.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что, с целью увеличения размера кристаллов оксипатита, после смешивания раствора хлорида кальция и суспензии, полученной путем добавления раствора хлорида кальция к избытку гидрофосфата натрия, проводят смешивание растворов хлорида кальция и гидрофосфата натрия при молярном отношении кальция к фосфору, равном 1,10—1,25.

При- мер	Молярное отноше- ние Са/Р**	Скорость протека- ния, мл/ч	Емкость по ДНК, мг/мл
1	0,8	20/48*	1,5
2	0,9	12/19*	2
3	0,98	6/9*	3,1
4	0,8	81	1,05
5	0,8	68	0,85
6	0,8	75	0,97
7	0,9	71	0,95
8	0,98	51	1,02
9	0,7	21(47)*	1,45
10	0,7	42	1,3
11	0,6	21	1,62
12	0,6	15	1,7
13	1,16	180	0,45
14	1,16	172	0,47
15	1,16	243	0,41
16	1,28	142	0,43
17	1,05	128	0,45
18	1,40	122	0,49
19	1,23	185	0,47
20	1,09	130	0,44
про- тотип	1,0	120	0,13

*Скорость протекания после пяти
декантаций осадка.

**Молярное отношение Са/Р в приме-
рах 13-20 на второй стадии
смешивания.

Редактор М. Товтин
Заказ 5178/10

Составитель Т. Чиликина
Техред И. Верес
Тираж 486

Корректор Т. Малец
Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5
Производственно-издательский комбинат «Патент», г. Ужгород, ул. Гагарина, 101