

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

5 ENE. 1978
Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

PATENTE DE INVENCION

19 ES	11 NUMERO	10 A1
	21 471.858	
	22 FECHA DE PRESENTACION	
	19-7-78	

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
31 NUMERO		
818.918	25-7-77	EE.UU.

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	A61K	

64 TITULO DE LA INVENCION

"UN METODO PARA SEPARAR EL FACTOR ESPECIFICO DE COAGULACION DE LA SANGRE DE UNA MEZCLA CON OTRAS PROTEINAS DE LA SANGRE EN UN MEDIO FLUIDO"

71 SOLICITANTE (S)

MONSANTO COMPANY 07-21-0781A SP

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, Missouri 63166, Estados Unidos de América

72 INVENTOR (ES)

Joseph Edward Fields y Robert Jackson Slocombe

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

D. FERNANDO DE ELZABURU MARQUEZ (P.- 69.486)

FUNDAMENTO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a la fraccionación de la sangre y más particularmente a la fraccionación de los factores de coagulación de la sangre con ciertos polielectrolitos singulares.

El procedimiento de coagulación de la sangre es una actividad fisiológica complicada que involucra la interacción de numerosas sustancias encontradas en sangre entera normal. Se sabe que ciertos factores asociados con el mecanismo de coagulación de la sangre están ausentes o son seriamente deficientes en ciertos individuos. Así, en aquellos pacientes que sufren de hemofilia clásica, es deficiente el factor antihemofílico A (AHF, factor VIII). En aquellos pacientes que sufren de hemofilia B, el componente de tromboplastina del plasma (PTC, Factor IX) falta de la sangre. Un pequeño porcentaje de hemofílicos carece también del llamado factor de Von Willebrand que es semejante al Factor VIII. Algunos otros factores que son importantes en el mecanismo de coagulación, la ausencia de los cuales puede también conducir a perturbaciones del sangrado son, por ejemplo, Factores II, VII y X. Estos últimos tres factores junto con el Factor IX se denominan frecuentemente factores complejos de protrombina.

En el desarrollo de los programas modernos de formación de bancos de sangre, que involucran la recolección y almacenamiento de grandes cantidades de sangre y de componentes de la sangre, es crítico el establecimiento de sistemas de conservación adecuados. Desde la Segunda Guerra Mundial ha sido una práctica común recoger la sangre en una solución de ácido cítrico, citrato de sodio y dextrosa, co

5 conocida como sangre ACD. El problema de conservar la sangre se ha simplificado mucho, sin embargo, cuando se reduce a la conservación de los diversos componentes de la sangre, ya que es más fácil de satisfacer los requerimientos ambientales de los componentes separados que de la sangre entera.

10 Además, es inútil y aún perjudicial para el paciente administrar más componentes de sangre que los requeridos. De tal manera, el hemofílico que necesita ciertos factores de coagulación de la sangre debe recibir idealmente sólo aquellos factores requeridos o por lo menos un concentrado purificado de aquellos factores.

15 La fraccionación de los factores de coagulación de la sangre, particularmente el Factor VIII y aquellos factores asociados con el complejo de protrombina, es bien conocida, según puede verse de la patente de E.U.A. 3.682.881 y otras numerosas patentes y publicaciones. Los diversos materiales utilizados en tal fraccionación son, por ejemplo, sulfato de bario, hidróxido de aluminio, polietilenglicol, rivanol (lactato de 6,9-diamino-2-etoxiacridina), glicina, DEAE-celulosa y DEAE-Sephadex.

20 Otro grupo de sustancias que se han encontrado útiles en la fraccionación de los componentes de la sangre, son los copolímeros de polielectrolito reticulados, insolubles en agua, descritos en la patente de E.U.A. 3.554.985. Estas sustancias se describen como copolímeros reticulados de (a) un monómero insaturado de 2 a 12 átomos de carbono, y (b) un monómero seleccionado del grupo que consiste de (1) una mezcla de un ácido o anhídrido policarboxílico insaturado y una amina-imida de ácido policarboxílico

insaturado, y (2) una amina-imida de ácido policarboxílico insaturado, conteniendo las unidades polímeras un porcentaje mínimo definido de un grupo de amina-imida que es un grupo de dialcoholo inferior-aminoalcoholo inferior-imida en donde el alcoholo inferior tiene de 1 a 5 átomos de carbono. Cada una de las unidades polímeras contiene sitios reactivos en forma de un grupo de anhídrido o dos grupos carboxilo o derivados de estos grupos. Por lo menos el 3% de estos sitios reactivos se convierte en la dialcoholo inferior-aminoalcoholo inferior-imida.

Los copolímeros de polielectrolito anteriores son conocidos como útiles para la preparación de diversos componentes de la sangre tales como albúmina, gamma-globulina, lipoproteínas, hemoglobina y el factor antitripsina como se describe en la patente de E.U.A. 3.555.001. En la fraccionación de estos componentes, la adsorción de una especie de proteína cargada a una superficie de substrato insoluble, cargada, se logra a través de interacciones electrostáticas entre sitios de carga opuesta, y ésta está relacionada a su vez con el pH isoeléctrico (IEpH) de la especie de proteína y el pH del medio.

En la fraccionación de los factores de coagulación, tales como el Factor VIII, con algunos de los polielectrolitos descritos en las patentes de E.U.A. 3.555.001 y 3.554.985, se ha encontrado que el uso del factor de la sangre separado en las pruebas de tiempo de coagulación normales, causa una reducción notable en el tiempo de coagulación. Esta preactivación del componente del Factor VIII separado, representa una deficiencia seria en la utilidad clínica de este material. Tal preactivación ha sido obser

vada solamente por reacción en perros cuando el Factor VIII separado se inyectó intravenosamente en los mismos. Estas reacciones consistieron de:

5

- (1) un cambio de comportamiento, por el cual el perro gira en su jaula durante 24 horas,
- (2) una reacción de hemólisis evidenciada por la hemoglobinuria, y
- (3) una disminución notable del recuento de plaquetas de la sangre acompañada por una elevación en la presión de la sangre.

10

Se ha encontrado que esta preactivación está relacionada con la estructura y composición del polielectrolito adsorbente en que puede haber grupos hidroxilo libres, capaces de reaccionar por unión con hidrógeno. Así, el copolímero de polielectrolito puede incluir las siguientes unidades estructurales polímeras:

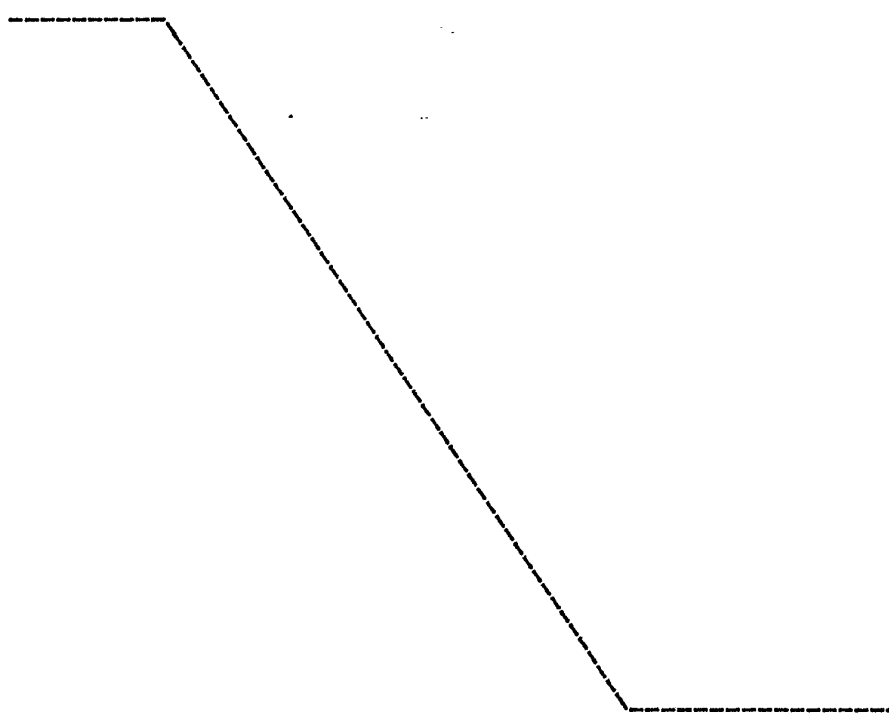
15

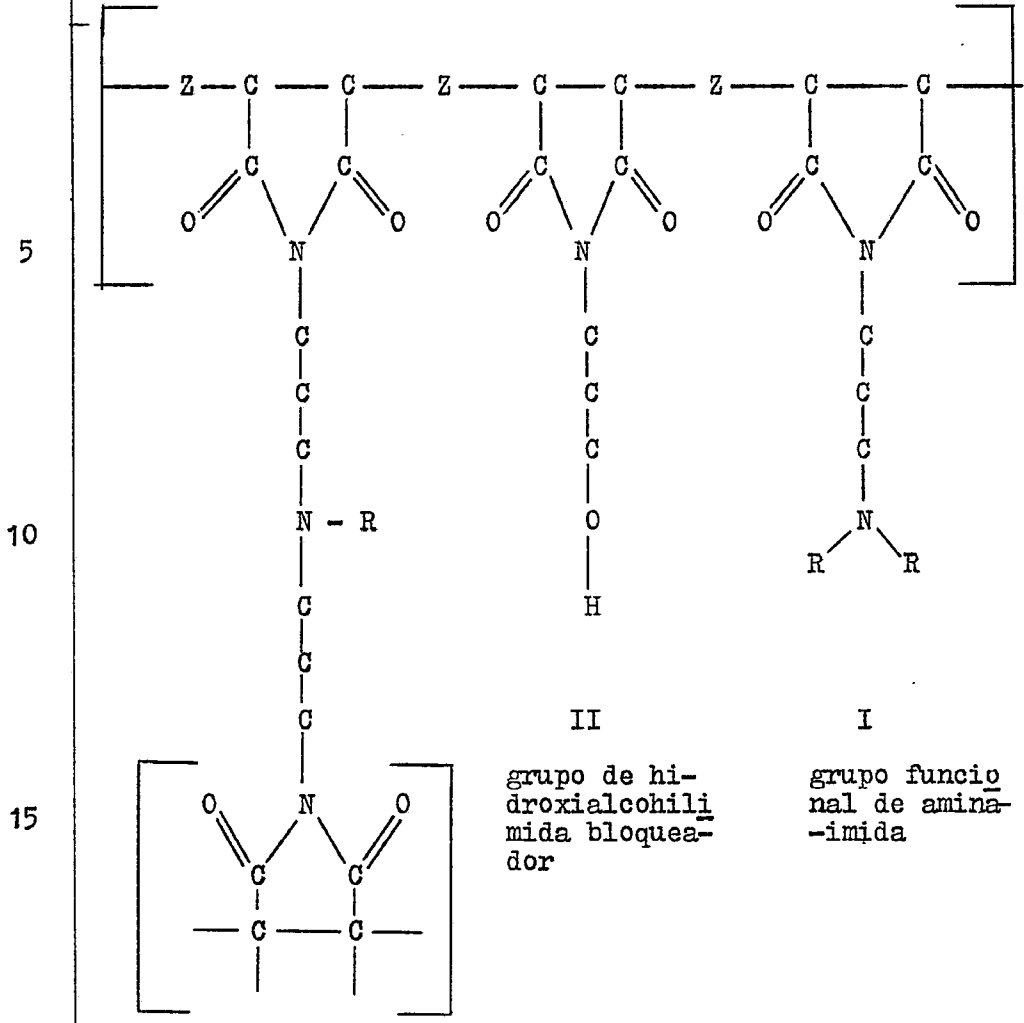
20

25

30

05088





5

10

15

20

25

II grupo de hidroxialcoholimida bloqueador

I grupo funcional de amina-imida

III grupo de reticulación

R = alcoholilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono

Z = radical de hidrocarburo divalente que tiene de 2 a 18 átomos de carbono

La patente de E.U.A. 3.555.001 describe que el polielectrolito puede poseer de 2 a 100% de uniones de amina-imida, estando los grupos carboxilo restantes en la forma de anhídrido (columna 5, líneas 29-31). Se establece además que las unidades de anhídrido polímero residuales, no modifi-

5 - cadas, pueden convertirse en grupos o unidades neutros por
reacción de las unidades de anhídrido que no han reacciona
do, con compuestos tales como alcoholaminas, aminoalcoholes
y alcoholes (columna 5, líneas 54-60). En la fórmula ilus-
trativa anterior, las uniones funcionales de amina-imida
se muestran en I, las uniones de imino-imida de reticula-
ción se muestran en III, y los grupos carboxilo restantes
en la forma de anhídrido se muestran para ser convertidos
en los grupos neutros por bloqueo o reacción con un amino
10 alcohol en II, alcanzando así unidades de hidroxialcoholi-
mida.

Independientemente del bloqueo anterior de gru-
pos anhídrido residuales con aminoalcohol en II, se ha en-
contrado que los hidroxilos libres así introducidos sobre
15 la estructura de base polímera en la forma de grupos hidroxil-
alcoholimida como se muestra en II en la fórmula anterior,
contribuyen a la preactivación anteriormente mencionada del
Factor VIII que ha sido fraccionado con este tipo de poli-
electrolito

20 Se ha encontrado además que la preformación de la
forma de sal de este tipo de polielectrolito, por ejemplo,
la sal clorhidrato, acentúa más la preactivación anterior-
mente mencionada. Aunque la forma de amino libre no neces-
ariamente produce activación, la forma de sal del polielec-
25 trolito se prefiere desde el punto de vista de estabilidad
y facilidad de tratamiento para separar el material extraí-
ble, soluble en agua, que podría encontrar su paso hacia
el componente de sangre fraccionado.

Aunque no se pretende limitarse por ninguna teo-
ría, se cree que la activación anterior del Factor VIII pue

de deberse, en parte, a la presencia de zimógenos o enzimas de plasma que resultan de la activación de zimógeno en la fracción de Factor VIII separada. Estos zimógenos son conocidos como activados por superficies cargadas negativamente o superficies hidroxiladas susceptibles de unirse por hidrógeno, tales como el colágeno. Los polímeros anteriormente mencionados, que tienen el hidroxilo libre son susceptibles de unirse al hidrógeno intra- e intercadenas con proteínas, con áreas resultantes de carga negativa parcial. Con el fin de vencer este procedimiento global de activación, en la presente invención se han sintetizado nuevos polielectrolitos del tipo general anterior en los cuales el grupo hidroxilo anteriormente mencionado es bloqueado (disminuyendo así a un mínimo la capacidad de unión con hidrógeno).

RESUMEN DE LA INVENCION

De conformidad con la presente invención, los polielectrolitos del tipo general anteriormente descrito se modifican en su estructura, con lo cual pueden ser utilizados para la fraccionación de los factores de coagulación, especialmente el Factor VIII, que no están preactivados. En breves palabras, esta modificación consiste en bloquear los grupos hidroxilo anteriormente descritos introducidos en el esqueleto de base polímera. Este bloqueo puede realizarse por alcoholilación, acilación, esterificación y procedimientos similares conocidos para bloquear grupos hidroxilo en general. Un método alternativo y preferido para lograr el mismo resultado final es convertir las unidades de anhídrido que no han reaccionado durante la síntesis en uni

dades de alcoxialcoholimida utilizando una alcoxialcoholami-
na tal como por ejemplo, metoxipropilamina. Este bloqueo
con anhídrido puede realizarse en cualquier secuencia de la
síntesis de polielectrolito.

5

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

En la presente invención, se consideran varias rea-
lizaciones de los polielectrolitos no activadores. Aunque la
memoria descriptiva concluye con reivindicaciones que esta-
blecen particularmente y reivindican distintivamente la ma-
teria considerada como formativa de la invención, se cree
que la invención y sus ventajas serán mejor comprendidas a
partir de la siguiente descripción de las realizaciones pre-
feridas.

15

En general, los polielectrolitos que pueden modi-
ficarse mediante bloqueo de los grupos de anhídrido sobre
el esqueleto polímero de conformidad con esta invención, in-
cluyen los descritos en las patentes de E.U.A. 3.554.985 y
3.555.001, anteriormente mencionadas.

20

Con fines de conveniencia, los polímeros descri-
tos en dichas patentes serán denominados como polímeros de
EMA (etileno/anhídrido o ácido maléico). Estos polímeros se
ilustran mediante los ejemplos generales en las siguientes
secciones I y II:

25

I

Los polímeros de ácido policarboxílico pueden ser
de tipo no vecinal, incluyendo los que contienen unidades
monómeras, tales como ácido acrílico, anhídrido acrílico,
ácido metacrílico, ácido crotónico o sus respectivos deriva-

dos, incluyendo sales parciales, amidas y ésteres o del tipo vecinal, incluyendo ácidos maleico, itacónico, citracónico, α -dimetilmaleico, α -butilmaleico, α -fenilmaleico, fumárico, aconítico, α -cloromaleico, α -bromomaleico, y α -cianomaleico, incluyendo sus sales, amidas y ésteres. Se emplean también ventajosamente los anhídridos de los ácidos anteriores.

Los comónómeros adecuados para utilizarse con los monómeros de ácido policarboxílico anteriores incluyen α -olefinas, tales como etileno, 2-metilpenteno-1, propileno, isobutileno, 1- ó 2-buteno, 1-hexeno, 1-octeno, 1-deceno, 1-dodeceno, 1-octadeceno, y otros monómeros vinílicos, tales como estireno, α -metilestireno, viniltolueno, acetato de vinilo, cloruro de vinilo, formiato de vinilo, vinil-alcohol-éteres v.gr, éter metilvinílico, acrilatos de alcohol, metacrilatos de alcohol, acrilamidas y alcoholacrilamidas, o mezclas de estos monómeros. La reactividad de algunos grupos funcionales en los copolímeros que resultan de algunos de estos monómeros, permite la formación de otros grupos funcionales útiles en el copolímero formado, incluyendo grupos hidroxilo, lactona, amina y lactama.

Cualquiera de los ácidos carboxílicos mencionados o sus derivados pueden copolimerizarse con cualquiera de otros monómeros anteriormente descritos, y cualquier otro monómero que forme un copolímero con ácidos carboxílicos insaturados o sus derivados. Aunque estos copolímeros pueden prepararse mediante polimerización directa de los diversos monómeros, frecuentemente se preparan más fácilmente mediante una modificación después de la reacción, de un copolímero existente. Los copolímeros se identifican convenientemente

te en términos de sus constituyentes monómeros. Los nombres así aplicados se refieren a la estructura molecular y no están limitados a los polímeros preparados mediante la copolimerización de los monómeros especificados.

5 Los polímeros de ácido o anhídrido carboxílico-olefina del tipo de EMA, especialmente polímeros de ácido o anhídrido maleico-olefina del tipo anterior, son conocidos, por ejemplo, de las patentes de E.U.A. 2.378.629; 2.396.785; 3.157.595; y 3.340.680. Generalmente, los copo-
10 límeros se preparan haciendo reaccionar etileno y otros monómero insaturado, o mezclas de los mismos, con el anhídrido de ácido en presencia de un catalizador de peróxido y en un disolvente de hidrocarburo alifático o aromático para los monómeros, pero no disolvente para el interpolímero formado. Los disolventes adecuados incluyen benceno, to-
15 lueno, xileno, benceno clorado y similares. Aunque el peróxido de benzofilo es usualmente el catalizador preferido, otros peróxidos tales como peróxido de acetilo, peróxido de butirilo, peróxido de di-ter-butilo, peróxido de lau-
20 roílo y similares, o cualesquiera de los numerosos catalizadores azoicos, son satisfactorios debido a que son solubles en los disolventes orgánicos. El copolímero contiene de modo preferible cantidades substancialmente equimolares del residuo olefínico y del residuo de anhídrido. General-
25 mente, tendrá un grado de polimerización de aproximadamente 8 a 100.000, preferiblemente de aproximadamente 100 a 5.000 y un peso molecular de aproximadamente 1000 a 1.000.000, preferiblemente de aproximadamente 10.000 a 500.000. Las propiedades del polímero, tales como el peso molecular, por ejemplo, se regulan mediante elección ade-

cuada del catalizador y el control de una o más de las variables tales como la relación de los reactivos, la temperatura y la concentración de catalizador o la adición de agentes reguladores de transferencia de cadena, tales como diisopropilbenceno, ácido propiónico, alcoholaldehidos, y similares. Numerosos polímeros de éstos se encuentran comercialmente disponibles.

Después de la formación del polímero de tipo EMA inicial, el polímero es agregado preferiblemente por calentamiento en un disolvente orgánico inerte a una temperatura de aproximadamente 155°C a 160°C, pero menor que el punto de reblandecimiento del polímero durante por lo menos aproximadamente 15 minutos. Este agregado mejora las características de filtrabilidad, de secado, y la forma física del polímero usado para preparar el polielectrolito sin disminuir significativamente la capacidad de adsorción de proteína del polielectrolito. Sin embargo, dicho agregado no es esencial para la presente invención.

El polímero inicialmente preparado, anteriormente mencionado, ya sea agregado no agregado, se reticula y substituye con los grupos de amina-imida en cualquier secuencia y optimiza las propiedades deseadas confeccionando la distribución de los grupos específicos dentro de las partículas. Estos grupos son esencialmente grupos básicos que pueden ser grupos alifáticos de cadena recta o pueden ser grupos alicíclicos o aromáticos. Los grupos alifáticos de cadena recta son preferiblemente grupos de dialcoholo inferior-aminoalcoholo inferior-imida o uniones de alcoholo inferior-iminodialcoholo inferior-imida como se describe previamente en las patentes de E.U.A. 3.554.985 y

3.555.001. Tales productos se ilustran adicionalmente mediante los ejemplos generales en la siguiente sección II.

II

5 Los copolímeros iniciales de los anhídridos y otro monómero pueden convertirse en copolímeros que contienen carboxilo, mediante reacción con agua, y en sales de amonio, de metal alcalino y alcalino-térreo y dialcohilamina de los mismos por reacción con compuestos de metal alcalino, compuestos de metal alcalino-térreo, aminas o amoníaco. Otros derivados adecuados de los polímeros anteriores incluyen los ésteres alcohólicos u otros ésteres, alcohilamidas, dialcohilamidas, fenilalcohilamidas o fenilamidas preparados haciendo reaccionar grupos carboxilo sobre la cadena polímera con las aminas o alcohol alcohílico o fenilalcohílico seleccionados, así como aminoésteres, aminoamidas, hidroxiamidas e hidroxieésteres, en los que los grupos funcionales están separados por grupos alcohileno, fenilo, fenilalcohilo, fenilalcohilfenilo, o alcohilfenilalcohilo, u otros grupos arilo. Los restos que contienen amina o sales de amina, incluyendo grupos de sal cuaternaria, se forman convenientemente por reacción de los carboxilos o sus precursores de anhídrido si es aplicable, con aminas polifuncionales tales como dimetilaminopropilamina a temperaturas superiores, formando un enlace de imida con los carboxilos vecinales. Tales grupos de amina libre pendientes pueden ser convertidos, si se desea, en sus sales simples o cuaternarias.

Las imidas parciales de un polímero que contiene carboxilo o anhídrido de ácido carboxílico, v.gr, EMA, se

— producen:

(A) Calentando una cantidad limitada de una aminoalcoholo inferior-amina secundaria o terciaria con el anhidrido o la forma del polímero que contiene carboxilo, en un disolvente adecuado (v.gr, xileno) a una temperatura de aproximadamente 140-150°C hasta que no se desprende ya más agua. Dicha reacción da como resultado simultáneamente la formación de grupos de imida en proporción con la cantidad de amina agregada y la reformación de grupos de anhídrido para el resto de las unidades polímeras. De esta manera, se forman productos de polímero de imida que poseen típicamente 2 a 100% de uniones de imida, estando los grupos carboxilo restantes, cuando están presentes, en la forma de anhídrido.

(B) Alternativamente, un producto de amida-polímero parcial puede convertirse al producto de imida-polímero parcial calentando un producto de amida-polímero parcial al vacío a 140-150°C hasta que no se desprende ya más agua. Dicho producto de imida-polímero posee asimismo proporciones semejantes de grupos de imida y de anhídrido, dependiendo del número de grupos de amida contenidos originalmente en el producto de amida-polímero parcial de partida.

Las aminoalcoholo inferior-amidas secundarias o terciarias, parciales, del polímero de partida que contiene carboxilo o anhídrido de ácido carboxílico, v.gr, EMA, se obtienen poniendo en contacto el polímero con una cantidad limitada de la amina seleccionada en suspensión en un disolvente tal como benceno o hexano, dando como resultado la formación de un derivado parcial de amida-anhídrido de ácido del polímero, o un correspondiente derivado de

amida-carboxilato del mismo. El número de grupos de amida depende de la cantidad de amina utilizada en comparación con la cantidad de polímero empleado. Tales productos de amida-polímero comprenden típicamente de 2 a 100% de grupos de amida, estando presentes el resto de los grupos carboxilo como grupos de ácido o de anhídrido.

Puede efectuarse cuando se requiera, bloqueo y desbloqueo adecuados del resto de amina del reactivo empleado para preparar aminas o imidas. Las unidades polímeras residuales, no modificadas, o los anhídridos, pueden convertirse opcionalmente a grupos o unidades neutras por reacción con ciertos compuestos no funcionales, incluyendo alcoholaminas, aminoalcoholes y alcoholes.

Alternativamente, puede proporcionarse carácter catiónico adicional en el polímero mediante incorporación de monómeros que imparten un carácter básico o catiónico, tales como C-vinilpiridinas, vinilamina, los varios vinilbencenos amino-substituidos (o toluenos y similares) a acrilatos que contienen amina (o metacrilatos y similares), vinilimidazol y tales monómeros similares.

Así, en cualquier caso, el producto polímero tendrá grupos activos o reactivos residuales que pueden ser de varios tipos, incluyendo mezclas, pero estos grupos activos o reactivos residuales o "sitios residuales" o "sitios reactivos" residuales en el polímero, comprenderán de uno u otro modo, cierto porcentaje de naturaleza básica, de tal modo que se imparta la naturaleza básica requerida al producto polímero.

Los polímeros especialmente preferidos con base en los requerimientos previamente mencionados, se seleccio

nan del grupo que consiste de copolímeros de etileno/ácido o anhídrido maleico, copolímeros de estireno/ácido o anhídrido maleico, copolímeros de metilpenteno/ácido o anhídrido maleico, y copolímeros de isobutileno/ácido o anhídrido maleico.

Según será evidente de lo anterior, los grupos básicos esenciales del polielectrolito policatiónico o poliamfólitico (P E) empleado, son de naturaleza imídica, involucrando agrupamientos dialcoholo inferior-aminoalcoholo inferior-imida, como se producen haciendo reaccionar una dialcoholo inferior-amino-alcoholo inferior-amina con los grupos carboxilo de un polímero preformado o polimerizando una olefina insaturada con un anhídrido o ácido insaturado que tiene dichos grupos de imida preformados en por lo menos una porción del reactivo de ácido policarboxílico insaturado. De conformidad con la invención, tales grupos se prefieren para los fines de la invención.

Alternativamente, aunque tales grupos preformados estén o no presentes, los grupos de imida pueden proporcionarse por reticulación del polímero con una alcoholo inferior-imino-bis-alcoholo inferior-amina que en el procedimiento de reticulación por reacción entre los grupos de amina terminales del reticulador y los grupos carboxilo en la cadena polímera produce grupos imido en ambos extremos de la cadena de reticulación con formación de las uniones de alcoholo inferior-imino-bis-alcoholo inferior-imida. Pueden también estar presentes otros grupos, tales como grupos dialcoholo inferior-amino-alcoholo inferior-amida, de los cuales pueden obtenerse grupos de imida deseados por calentamiento a temperaturas elevadas. También pueden es-

5 tar presentes grupos de éster dialcoholo inferior-aminoalcohílico inferior, así como otros grupos, en tanto estén también presentes los porcentajes prescritos de grupos de imida del tipo prescrito, en la molécula de polielectrolito así como los grupos de ácido residuales del ácido o anhídrido insaturado de partida cuando el polielectrolito es un poliamfolito. Según se reconocerá, tanto los grupos de ácido como los grupos de imida no necesariamente necesitan estar presentes en el polielectrolito como tales, sino que
10 pueden estar presentes en la forma de sus derivados simples, v.gr, sales, como se indicó ya.

15 Los grupos alicíclicos o aromáticos que pueden substituirse sobre los polímeros de tipo EMA agregados, son por ejemplo, aminoalcoholo inferior-piridina, piperidina, piperazina, picolina, pirrolidina, morfolina e imidazol. Estos grupos pueden substituirse sobre el polímero agregado de manera análoga a las aminas de cadena alifática pero utilizando, en vez de ello, aminas cíclicas tales como por ejemplo:

20 2-aminopiridina
2-amino-4-metilpiridina
2-amino-6-metilpiridina
2-(2-aminoetil)-piridina
4-(aminoetil)-piperidina
25 3-amino-N-etilpiperidina
N-(2-aminoetil)-piperidina
N-(2-aminoetil)-piperazina
3-picolilamina
4-picolilamina
30 2-(aminometil)-1-etilpirrolidina

N-(3-aminopropil)-2-pirrolidina

N-(2-aminoetil)-morfolina

N-(3-aminopropil)-morfolina

4-imidazol

5 Los grupos bloqueadores de anhídrido pueden introducirse en cualquier secuencia deseada durante la producción de los polielectrolitos anteriormente mencionados. Sin embargo, se introducen preferiblemente después de la reticulación y sustitución con los grupos de amina-imida funcionales, deseados. Cualesquiera grupos de anhídrido libres serán así bloqueados empleando un exceso del agente bloqueador.

15 Los agentes bloqueadores de anhídrido preferidos son alcoxilalquilaminas que tienen de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 átomos de carbono en el grupo alcoholilo y de aproximadamente 1 a 4 átomos de carbono en el grupo alcoxi. Los agentes bloqueadores preferidos son metoxipropilamina y metoxietilamina. A manera de comparación, los agentes bloqueadores de anhídrido tales como hidroxipropilamina e hidroxietilamina son ineficaces para evitar la preactivación de los factores de coagulación fraccionados con los polielectrolitos.

25 Otros agentes ilustrativos para bloquear el grupo hidroxilo de las unidades de hidroxialquilimida pueden utilizarse de conformidad con esta invención, tales como agentes de alcoholación (v.gr, diazometano), diacilación (v.gr, cloruro de acetilo), y de esterificación (v.gr, ácido acético).

Los ejemplos específicos siguientes ilustrarán adicionalmente la producción y uso de los polímeros de po

5 — lielectrolito de esta invención, aunque deberá entenderse que la invención no está limitada a estos ejemplos específicos. Los resultados obtenidos en varios ejemplos se establecen en forma tabular conveniente siguiendo a los ejemplos respectivos. En estos ejemplos, se definen las abreviaturas de varios materiales, de la manera siguiente:

10 MIBPA = metilimino-bis-propilamina
 DMAPA = dimetilaminopropilamina
 DEAEA = dietilaminoetilamina
 HOEtA = monoetanolamina
 HMDA = hexametilendiamina

EJEMPLO 1

15 Se cargan en un matraz de reacción de 5 litros, equipado con condensador de reflujo, columna de extracción de Dean-Stark, agitador, recipiente de adición de reactivo, termómetro y conexiones para purga con nitrógeno, 193,05 g de copolímero de etileno/anhidrido maleico (EMA) (1,5 moles, base en el anhidrido) y 2700 ml de xileno. La carga se agita a 200 rpm con un agitador de tipo de paletas de 16,5 cm mientras se calienta a la temperatura de reflujo. Esta temperatura de reflujo varía de 135 a 139°C, dependiendo del contenido de agua del EMA y de que este agua se separe azeotrópicamente durante el período de reflujo siguiente. En este caso, la suspensión se mantiene a reflujo total durante 60 minutos bajo retorno por reflujo total a una temperatura de 135°C. Después de 1 hora, el reactor se enfría a 125°C bajo nitrógeno y se agregan 7,66 g (0,075 moles) de dimetilaminopropilamina (DMAPA). La agitación se mantiene durante 1 hora a 125°C sin reflujo, después de lo

cual se agregan 10,89 g (0,075 moles) de dimetilimino-bis-propilamina (MIBPA), después de lo cual la mezcla total se agita durante 1 hora más a 125°C. La mezcla se calienta a reflujo (134°C) y se mantiene a reflujo durante 7 horas mientras se separa el agua de reacción continuamente mediante destilación azeotrópica. La temperatura final es de 138°C y se recogen 5,3 ml de agua. La temperatura de la suspensión se baja a 115°C y se agregan 127,02 g (1,42 moles) de metoxipropilamina (MOPA). La mezcla se agita durante 1 hora sin reflujo a 115-118°C y después la temperatura se eleva a 120°C, en donde empieza el reflujo del azeótropo xileno-agua. El reflujo se mantiene durante 6 horas mientras se separa el agua de la reacción continuamente por destilación azeotrópica, y la temperatura final es de 138°C y se recogen 23,6 ml de agua.

El producto se recuperó en la forma de amina libre utilizando el siguiente procedimiento. La suspensión final anterior se filtró en caliente (100°C) y la torta del producto se volvió a suspender en 2700 ml de una mezcla 3:1 de xileno y etanol, se agitó a la temperatura de reflujo durante 1 hora y se filtró. Esta etapa se repitió una segunda vez utilizando una mezcla de extracción de xileno-alcohol 3:1. Después de filtrar nuevamente, la torta del producto se volvió a suspender en xileno (2700 ml) y se agitó 1 hora a reflujo y se filtró. La extracción con xileno se repitió una segunda vez y la torta del producto final se volvió a suspender en 2700 ml de hexano durante 1 hora a temperatura ambiente, y se filtró. La extracción con hexano se repitió tres veces adicionales y la torta de filtro final se secó al aire en una vasiija durante 1 hora, se ta

mizó a través de un tamiz de abertura de mallas 0,149 mm sin molienda y se secó al vacío durante la noche a 50°C. Se obtuvieron 165 g del producto fino (a través de un tamiz de 0,149 mm de abertura de malla) y 14 g de producto grueso (sobre un tamiz de 0,149 mm de abertura de malla). El producto fino arrojó un análisis de 8,09 % para nitrógeno y fue inmediata y fácilmente dispersable en solución salina 0,04 M. El pH de dicha dispersión (0,2 g de producto en 20 ml de solución salina 0,04 M) fue de 8,10.

EJEMPLO 2

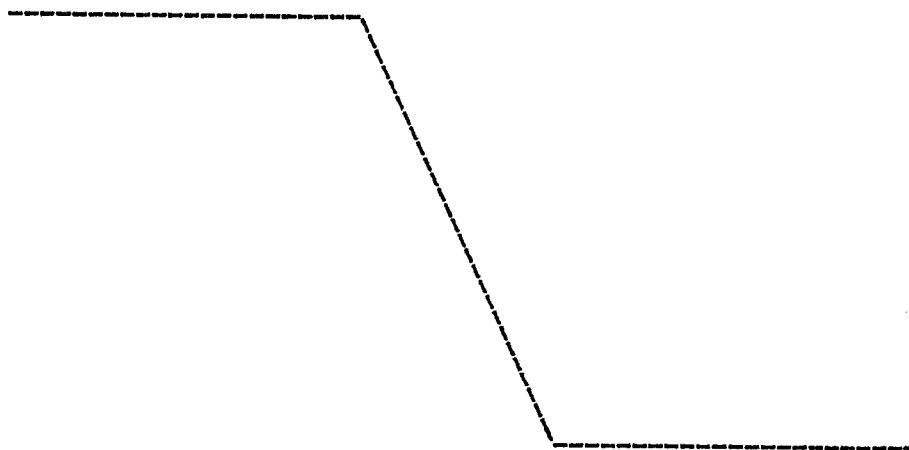
Para tratamiento en la forma de sal clorhidrato, la suspensión de reacción final del Ejemplo 1 se filtró en caliente y la torta producida se volvió a suspender a reflujo en xileno-álcohol 3:1 por dos veces, se volvió a empastar a reflujo en xileno dos veces como en el Ejemplo 1, y en seguida se extrajo dos veces a temperatura ambiente durante 1 hora con 2700 ml de acetona. El producto filtrado se convirtió en el clorhidrato volviendo a suspender en 2700 ml de acetona y añadiendo gradualmente con agitación (durante 10 minutos) 14 ml de ácido clorhídrico concentrado (12N) y agitando a temperatura ambiente durante 2 horas. El producto filtrado se lavó subsiguientemente (suspensión con agitación) tres veces consecutivas con 10 litros de agua (desionizada) durante 2 horas cada vez y finalmente se filtró. La torta de sal filtrada se volvió a suspender cuatro veces en 2700 ml de acetona (1 hora cada vez) para separar el agua, se filtró, se secó al aire durante 30 minutos y se secó en un horno al vacío a 55°C.

El producto secado final se tamizó sin molienda

pasando el 95% del producto a través de un tamiz de 0,149 mm de abertura de malla antes de envasarse para ser utilizado. El producto arrojó un análisis de 7,79% de nitrógeno y 2,62% de cloro como cloruro iónico. Se obtuvieron 186 g de producto en forma de sal (a través de un tamiz de 0,149 mm de abertura de malla). Se dispersó en solución salina 0,04 M (5 g por 120 ml) y la dispersión tenía un pH de 3,85.

EJEMPLO 3

Se repitió el procedimiento del Ejemplo 1 en donde de la composición de producto se cambió añadiendo diferentes proporciones de las aminas empleadas en el Ejemplo 1. Se utilizó la misma secuencia de reacción de la amina que en el Ejemplo 1 y en ningún caso se agregó agua a las aminas para facilitar la reacción. Todos los productos se acabaron en forma de los derivados de amina libre como en el Ejemplo 1. El período de reflujo de 1 hora inicial de EMA en suspensión en xileno, se realizó bajo reflujo total como en el Ejemplo 1 (sin separación de agua) o como se indica en la Tabla, con reflujo azeotrópico separando cualquier agua que pueda haber sido endógena para el EMA.



30
05088

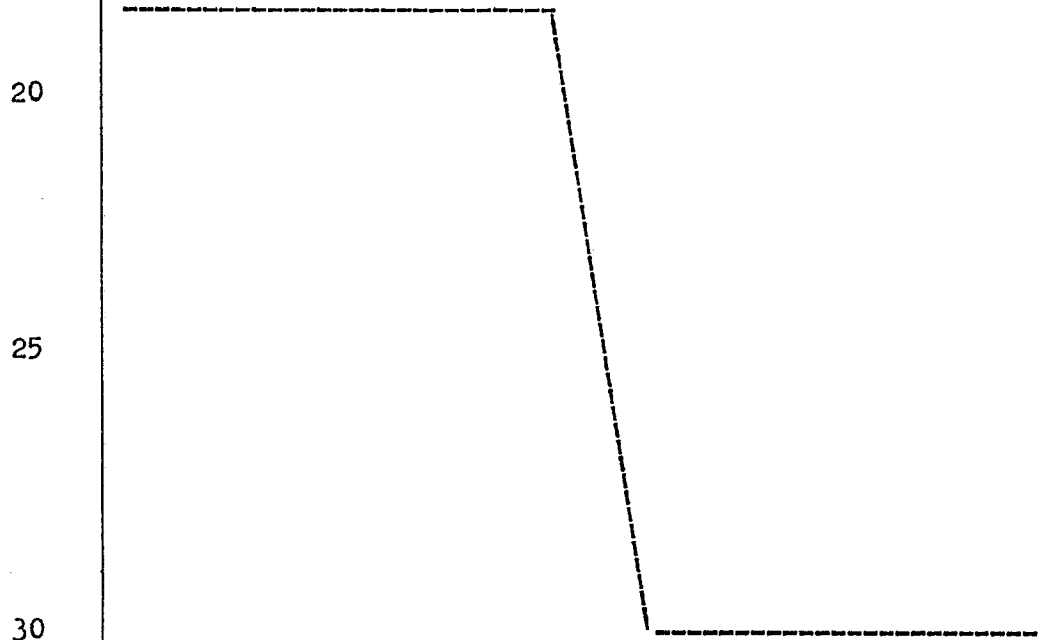
25 20 15 10 5

Opera- ción	Agua sepa- rada duran- te el agre- gado	DMAPA		MIBPA		MOPA		Producto Rendimien- to total, g	% N
		g.	% molar	g.	% molar	g.	% molar		
1	No	7,66	5,0	10,89	5,0	127,02	85	166	8,24
2	No	7,66	5,0	10,89	5,0	127,02	85	210	7,89
3	No	7,66	5,0	10,89	5,0	127,02	85	208	7,60
4	No	7,66	5,0	10,89	5,0	127,02	85	211	7,81
5	No	7,66	5,0	21,79	10,0	113,60	75	214	8,00
6	No	7,66	5,0	21,79	10,0	113,60	75	239	8,22
7	Si	7,66	5,0	21,79	10,0	113,60	75	228	8,27
8*	Si	7,66	5,0	10,89	5,0	113,60	75	237	8,05
9	No	7,66	5,0	43,57	20,0	86,9	55	254	8,79
10	Si	7,66	5,0	43,57	20,0	86,9	55	250	8,94
11	Si	7,66	5,0	43,57	20,0	86,9	55	262	8,74

* En la operación 8, el MIBPA se agregó en dos porciones consecutivas, cada vez con un período de reflujo de 1 hora, como una variación de reticulación de dos etapas antes de la separación del agua de reacción a partir del DMAPA más MIBPA.

EJEMPLO 4

5 Cuando se realizó el período de reflujo inicial de 1 hora con EMA-xileno bajo condiciones de destilación azeotrópica, es decir, separando toda el agua de estos reactivos antes de las reacciones subsiguientes con amina, entonces, las reacciones subsiguientes con amina son difíciles de iniciar, de modo que los tiempos de reacción totales se prolongan para lograr la reacción completa. La adición de cantidades pequeñas de agua con las diversas aminas
10 compensa esta dificultad. Se hicieron varias operaciones utilizando el método general del Ejemplo 1 pero separándose el agua de reflujo del EMA-xileno durante el período inicial de 1 hora como en el Ejemplo 3, operaciones Nos. 7, 8, 10 y 11. En estas operaciones, se agregó agua adicional
15 variadamente con las tres aminas como se indica en la tabla siguiente. Todas las operaciones se acabaron en forma de la amina libre como en el Ejemplo 1.

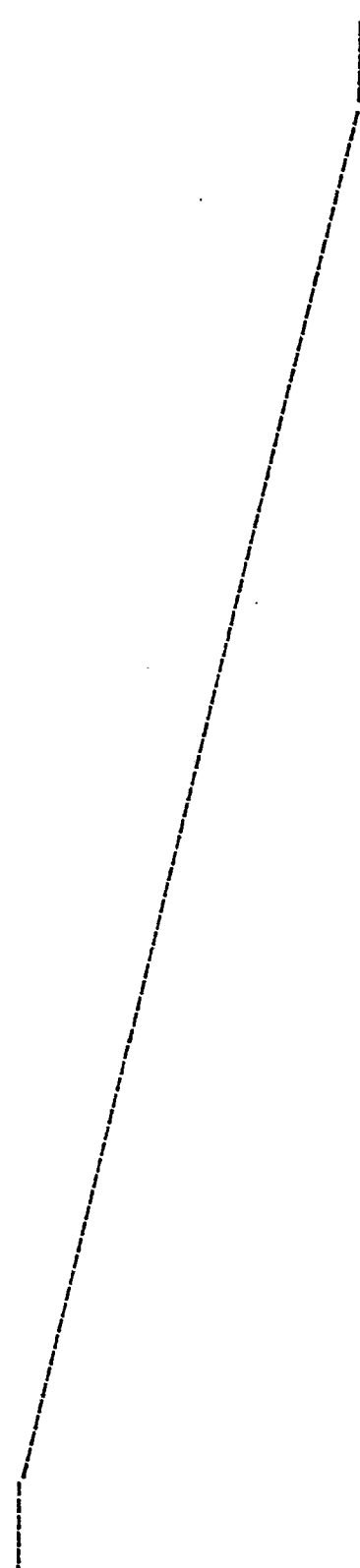


EJEMPLO 5

El equipo utilizado en el Ejemplo 1 se cargó con 193,05 g (1,5 moles) de EMA y 2700 ml de xileno, y la carga se llevó a reflujo (137°C) con agitación a 200 rpm y se mantuvo a reflujo durante 1 hora, tiempo durante el cual cualquier agua en la mezcla se separó continuamente por destilación azeotrópica. Se recogió un total de 1,6 ml de agua en el separador de Dean-Stark. Después de 1 hora, la suspensión se enfrió a 125°C y se agregaron 7,66 g (0,075 moles) de DMAPA y esta mezcla se mantuvo durante 1 hora a 125°C, después de lo cual se agregó una mezcla de 21,70 g (0,15 moles) de MIBPA y 1,5 ml de agua. Después de 1 hora adicional a 125°C, la suspensión se calentó a reflujo (136°C) y se mantuvo a reflujo mientras se separaba continuamente del agua en el separador de Dean-Stark durante 15 horas, separando así un total de 6,3 ml de agua a una temperatura final de 138°C. La suspensión se enfrió a 120°C y se agregaron 113,65 g (1,25 moles) de MOPA y la suspensión resultante se mantuvo a 120°C durante 1 hora más. La temperatura se elevó después a 136°C y el reflujo con separación azeotrópica de agua continuó durante 6 horas para recoger 21,5 ml de agua. El producto se convirtió en la sal clorhidrato siguiendo el procedimiento del Ejemplo 2. Se realizó un total de cuatro operaciones utilizando cantidades variables de ácido clorhídrico concentrado (12N) con el fin de probar el efecto de HCl tanto deficiente como excesivo sobre las propiedades de producto final.

5
10
15
20
25

Operación	HCl concentrado agregado, ml	% del teórico	Rendimiento, g	pH del líquido de solución salina	% N	% Cl	% de Cl como cloruro iónico
1	8,0	0,5	206	6,95	8,24	1,77	1,70
2	15,0	1,0	207	5,55	8,10	3,00	2,76
3	30,0	2,0	214	4,40	8,22	3,32	---
4	60,0	4,0	219	4,10	8,21	3,40	3,37



EJEMPLO 6

Se repitió el procedimiento del Ejemplo 5, excepto que después de la reacción del DMAPA y el MIBPA, se agregaron 95,77 g (1,27 moles) de metoxietilamina (MOEA) en vez de la metoxipropilamina (MOPA). Se prepararon dos productos, uno en forma de la amina libre mediante los procedimientos de tratamiento del Ejemplo 1 y el otro como la sal HCl mediante el procedimiento de tratamiento del Ejemplo 2.

Ope- ra- ción	HCl con- centrado añadido, ml	Rendi- miento, g	% N	% Cl
1	Ninguno	206	8,61	-----
2	15,0	205	8,15	3,18

EJEMPLO 7

Se utilizó el procedimiento del Ejemplo 1 para preparar productos en los cuales los grupos de anhídrido en exceso que permanecen después de la reacción de DMAPA y MIBPA se hicieron reaccionar totalmente ya sea con hidroxietilamina, 3-hidroxipropilamina, o 2-hidroxipropilamina como se muestra en la tabla siguiente. Los productos se prepararon tanto en las formas de amina libre utilizando el procedimiento del Ejemplo 1 que como de la sal de HCl utilizando el procedimiento del Ejemplo 2. El período de agregado de 1 hora inicial del reflujo de EMA-xileno se realizó bajo separación azeotrópica de agua y, en cada caso, se agregó MIBPA en forma de una mezcla con 1,5 ml de agua.

05088
30

25 20 15 10 5

Composición de producto (con base en la amina) *

Opera- ción	% molar de DMAPA	% molar de MIBPA	% molar de amina de acabado		Forma de pro- ducto **	% N	% Cl
1	5(7,66 g)	5(10,89 g)	85(87,05 g)	Etanolamina	A.L.	8,57	--
2	5	5	85(87,05 g)	Etanolamina	HCl	8,41	1,81
3	5	5	85(107 g)	3-hidroxi-propilamina	A.L.	8,02	--
4	5	5	85(107 g)	3-hidroxi-propilamina	HCl	7,65	1,82
5	5	5	85(113 g)	2-hidroxi-propilamina	A.L.	7,93	--
6	5	5	85(113 g)	2-hidroxi-propilamina	HCl	7,75	1,85
7	5	7(15,25 g)	81(85,2 g)	Etanolamina	A.L.	8,63	--
8	5	7	81(85,2 g)	Etanolamina	HCl	8,49	2,57

* Todas las relaciones molares de las composiciones en estos ejemplos y en ejemplos subsiguientes están sobre una base de amina. Ya que el agente de reticulación reacciona en ambos extremos, los moles de agente de reticulación serán del doble de los mostrados cuando la relación molar se convierte en una base de anhídrido.

** Acabada como A.L. = Amina Libre; HCl = sal clorhidrato.

EJEMPLO 8

Se preparó una serie de polielectrolitos en los cuales el reticulador (MIBPA) se mantuvo en 5% molar y la amina bloqueadora para reaccionar con el exceso de grupos de anhídrido fue siempre etanolamina al nivel de 85% molar. El resto funcional, aquel que suministró la función catiónica potencial, se mantuvo en 5% molar pero la naturaleza y estructura del resto funcional fue alterada mediante el uso de dieciseis aminas reactivas diferentes según se establece en la tabla siguiente. Se utilizó un procedimiento general como sigue:

Todas las preparaciones utilizaron el mismo equipo y la misma carga de EMA y xileno que en el Ejemplo 1. La suspensión se calentó a 90-95°C y se agregaron 10,89 g (-0,075 moles) de MIBPA y se agitaron a 95°C durante 1 hora. Después se agregaron 0,075 moles de la amina funcional (véase tabla dada más adelante) y se agitó a 95°C durante 1 hora. La suspensión se calentó a reflujo (134°C) y el agua de reacción se separó completamente por destilación azeotrópica a una temperatura final de 139°C. La suspensión se enfrió después a 95°C y se agregaron 87,05 g de hidroxietilamina, y la suspensión se agitó a 95°C durante 1 hora. La temperatura de la suspensión se elevó después a 134°C y el agua de reacción total se separó completamente por destilación azeotrópica a una temperatura final de 139 a 140°C. La suspensión final se filtró en caliente y se trató como la amina libre mediante el procedimiento del Ejemplo 1, se secó, se molió mediante un molino de bolas y se tamizó a través de un tamiz de 0,149 mm de abertura de malla.

5

10

15

20

25

30
05088

TABLA DEL EJEMPLO 8

Opera- ción	Amina Funcional Utilizada	Gramos de ami- na utilizada	Rendimiento de producto, g	% N
1	Dimetilaminoetilamina	6,60	240	8,86
2	Diethylaminoetilamina	8,71	255	8,68
3	Dimetilaminopropilamina	7,66	252	8,71
4	Diethylaminopropilamina	9,84	228	8,61
5	Dihidroxiethylaminopropilamina	12,20	256	8,56
6	Dibutylaminopropilamina	13,98	255	8,58
7	2-amino-5-dietilaminopentano	11,86	240	8,63
8	2-aminoetil-1-etilpirrolidina	9,61	237	7,50
9	3-amino-N-etilpiperidina	9,61	232	8,67
10	N-2-aminoetilpiperidina	9,61	219	8,73
11	N-3-aminoetil-2-pirrolidina	10,66	221	8,35
12	N-2-aminoetilmorfolina	10,06	250	8,75
13	N-3-aminoetilmorfolina	10,81	252	8,78
14	N-2-aminoetilpiperazina	9,69	240	9,13
15	2(2-aminoetil)piridina	9,64	240	8,97
16	N-feniletilendiamina	10,21	249	8,91

En la serie anterior, las aminas en las operaciones 1 a 7 son ejemplos de sustitución con dialcoholaminoalcoholimida sobre el polielectrolito, mientras que las de las operaciones 8 a 15 son ejemplos de sustitución con aminoalcoholimida heterocíclica. Tres de los anteriores se prepararon también como sales clorhidrato preformadas, para evaluación. Se siguió el método de preparación del Ejemplo 1, y la conversión en la sal siguió el procedimiento del Ejemplo 2. La dimetilaminopropilamina (operación 3 anterior) se seleccionó como representante de la sustitución con dialcoholaminoalcoholimida y la 3-amino-N-etilpiperidina y N-3-aminopropilmorfolina (operaciones 9 y 13 anteriores) se seleccionaron como representantes de la sustitución con aminoalcoholimida heterocíclica. En los tres casos, los polielectrolitos en la forma de sal se prepararon utilizando tanto hidroxietilamina como metoxipropilamina como tercera amina para reaccionar con el exceso de grupos anhídrido. Estas preparaciones por operación se dan en el ejemplo 9.

EJEMPLO 9

Se utilizó la metodología de los Ejemplos 1 y 2 para preparar sales clorhidrato preformadas de polielectrolitos que tienen la composición general de 5% molar de reticulación como MIBPA, 5% molar de las tres porciones de aminoalcoholimida funcional diferentes y 85% molar de porciones de imida no funcionales, como se muestra en la tabla siguiente.



5

10

15

20

25

Opera- ción	Composición, % molar		Rendimien- to de pro- ducto, g	% CI	
	MIBPA	Amina Funcional		Tercera Amina	N
1	5	5 - Dimetilaminopro- pilamina	236	8,41	1,81
2	5	5 - Dimetilaminopro- pilamina	186	7,79	2,62
3	5	5 - 3-amino-N-etil- piperidina	238	7,37	1,54
4	5	5 - 3-amino-N-etil- piperidina	244	8,19	1,20
5	5	5 - 3-aminopropil- morfolina	250	8,55	1,68
6	5	5 - 3-aminopropil- morfolina	234	7,58	1,59

EJEMPLO 10

Este ejemplo ilustra la preparación de derivados de metoxipropilimida de copolímero de estireno-anhidrido maleico, siguiendo el procedimiento del Ejemplo 5. El equipo utilizado fue el mismo que en el Ejemplo 1. La carga inicial de 101,1 g (0,5 moles) de estireno-anhidrido maleico y 2,7 litros de xileno, se llevó a reflujo a 135°C con destilación azeotrópica de agua durante 1 hora, y después se enfrió a 125°C, después de lo cual se agregaron 2,55 g (0,025 moles) DMAPA y la mezcla se calentó sin reflujo durante 1 hora. Después de 1 hora, se agregó una mezcla de 2,91 g (0,025 moles) de hexametilendiamina (HMDA) y 1 ml de agua y se continuó el calentamiento sin reflujo durante 1 hora. Después de 1 hora se hizo una segunda adición de 2,55 g DMAPA (0,025 moles) seguida por un período de calentamiento durante 1 hora a 125°C. La suspensión se calentó después a 135°C y se llevó a reflujo durante 4 horas bajo destilación azeotrópica de agua (se recogieron 1,25 ml). Después de enfriar a 125°C, se agregaron 40,56 g de metoxipropilamina y la suspensión se calentó a 125°C durante 1 hora. La suspensión se calentó después a reflujo (136°C) bajo destilación azeotrópica durante 6 horas, separando así 8,2 ml de agua en el separador de Dean-Stark. La temperatura final fue de 138°C. El producto se obtuvo en forma de la sal clorhidrato utilizando el procedimiento del Ejemplo 2, empleando 5,0 ml de ácido clorhídrico concentrado (12N). El producto lavado y secado final recogido fue de 113 g y arrojó un análisis de 5,27% de nitrógeno y 1% de cloro.

EJEMPLO 11

Este ejemplo ilustra la preparación de derivados de metoxipropilimida de copolímero de isobutileno-anhidrido maleico siguiendo el procedimiento del Ejemplo 5 y utilizando el equipo del Ejemplo 1. La carga inicial de 154,16 g (1,0 moles) de isobutileno-anhidrido maléico y 2,7 litros, se llevó a reflujo a 135°C bajo separación azeotrópica de agua durante 1 hora, y después se enfrió a 125°C. Después se agregaron 5,11 g (0,05 moles) de DMAPA y la suspensión se calentó a 120-125°C sin reflujo, durante 1 hora. A esta suspensión se le agregaron 7,26 g (0,05 moles) de MIBPA y 1 ml de agua y de nuevo, la mezcla se calentó durante 1 hora a 120-125°C sin reflujo. La suspensión se calentó después a reflujo (135°C) y el agua se separó por destilación azeotrópica durante un período de 4 horas. La temperatura final fue de 137°C y se recogieron 1,20 ml de agua. Después de hacer bajar la temperatura de la suspensión a 120°C, se agregaron 84,7 g de metoxipropilamina y esta mezcla se calentó a 120-125°C sin reflujo, durante 1 hora. La temperatura de la suspensión se elevó a reflujo (135°C) y el agua de reacción se separó azeotrópicamente durante un período de 6 horas. La temperatura final fue de 137°C y se obtuvieron 16,3 ml de agua. El producto se obtuvo en forma de la sal clorhidrato usando el procedimiento del Ejemplo 2, empleando 10 ml de ácido clorhídrico concentrado (12N). El producto final, lavado y secado recogido fue de 186 g y arrojó un análisis de 6,44% de nitrógeno y 1,25% de cloro.

EJEMPLO 12

Un matraz de reacción de 5 litros, equipado con condensador de reflujo, extractor de agua de Dean-Stark, agitador, recipiente de adición de reactivo, termómetro y accesorios de purga con nitrógeno, se cargó con 193,05 g de co-
5 polímero de etileno/anhidrido maleico (EMA) (1,5 moles, con base en el anhidrido) y 2700 ml de xileno. La carga se agi-
tó a 200 rpm con un agitador de tipo de paletas de 16,5
10 cm mientras se calentaba a la temperatura de reflujo. La suspensión se mantuvo a reflujo total durante 60 minutos ba-
jo retorno por reflujo total a una temperatura de 135°C.
Después de 1 hora, el reactor se enfrió a 125°C bajo nitró-
geno, y se añadió una mezcla en solución de 10,89 g de
15 MIBPA (0,075 moles) y 1,5 ml de agua. La mezcla se calentó a reflujo (134°C) y se mantuvo a reflujo durante 1 hora
mientras se separaba continuamente azeótropo de agua (la
temperatura final fue de 137°C). La mezcla de reacción se
llevó de nuevo a 125°C bajo nitrógeno y se agregó una mez-
20 cla en solución de 153,3 g DMAPA (1,5 moles) y 4,5 ml de agua. La suspensión se calentó después a 133°C y se mantu-
vo a esta temperatura (1-10 minutos) hasta que empezó el reflujo como consecuencia de que se formara agua durante
la reacción química. La agitación y el reflujo de la sus-
25 pensión de reacción se continuó hasta que se completó la separación de agua por destilación azeotrópica. La tempe-
ratura final fue de 139°C.

Para tratamiento en la forma de sal clorhidrato, la suspensión anterior se filtró en caliente y la torta producida se volvió a hacer lodo en 2700 ml de una mezcla

3:1 de xileno y alcohol, se agitó a la temperatura de reflujo durante 1 hora y después se filtró en caliente. Esto se repitió una segunda vez durante un período de 2 horas y una tercera vez durante un período de reflujo de 3 horas, en cada caso seguido de filtración en caliente. El producto extraído resultante se volvió a suspender en 2700 ml de acetona durante 1 hora a temperatura ambiente, y se filtró, y la torta se suspendió de nuevo en 2700 ml de acetona durante 1 hora a temperatura ambiente, y se filtró. Esta torta extraída se suspendió en 2700 ml de alcohol a temperatura ambiente y se convirtió en la sal clorhidrato por adición, durante un período de 10 minutos, de 112 ml de ácido clorhídrico concentrado (12N) y agitando a temperatura ambiente durante 2 horas. El producto filtrado se lavó subsiguientemente (suspensión con agitación) tres veces consecutivas con 10 litros de agua desionizada durante 2 horas cada vez, y se filtró. La torta de forma de sal se volvió a suspender cuatro veces en 2700 ml de acetona (1 hora cada vez) para separar el agua, se filtró, se secó al aire durante 30 minutos y se secó en un horno de vacío a 55°C durante la noche. El producto final consistió de 333 g tamizados a través de un tamiz de 0,149 mm de abertura de malla (sin moler en molino de bolas o sin trituración) con un análisis de 10,65% de nitrógeno y 13,03% de cloro como ion cloruro.

EJEMPLO 13

Utilizando el mismo equipo y esencialmente el mismo procedimiento que en el Ejemplo 1, se preparó una muestra de polielectrolito conteniendo sólo reticulador

de MIBPA y restos de metoxipropilimida (MOPA), es decir, sin DMAPA u otras aminas funcionales.

La carga de 193,05 g de EMA y 2700 ml de xileno, se llevó a reflujo durante 1 hora bajo extracción de agua a 135°C, separando 1,2 ml de agua. Esta suspensión se enfrió a 125°C y se agregaron 13,37 g (0,150 moles) de MOPA y se agitaron a 125°C durante 1 hora. Después se agregó el MIBPA en dos etapas, primero añadiendo 21,79 g de MIBPA (0,150 moles) más 1,5 ml de agua y agitando durante 1 hora sin reflujo a 125°C, y después elevando la temperatura a 135°C y extrayendo el agua mediante destilación azeotrópica bajo reflujo durante 4 horas, separando así 7,4 ml de agua. Después de enfriamiento a 125°C, se hizo una segunda adición de 21,79 g de MIBPA (0,150 moles) más 1,5 ml de agua, y la suspensión se calentó a 125°C durante 1 hora sin reflujo. Se realizó después a 138°C una segunda separación de agua a reflujo azeotrópico, separando así 5,7 ml de agua durante 7 horas. La suspensión se enfrió de nuevo a 125°C y se agregaron 80,23 g de MOPA, se agitaron a 125°C durante 1 hora y después se llevaron a reflujo azeotrópicamente (135°C a 138°C), durante 8 horas, separando así 16,2 ml de agua. La suspensión final se filtró en caliente y se acabó en forma de la amina libre utilizando el procedimiento del Ejemplo 1. El producto consistía en 260 g con un contenido de nitrógeno de 8,57%.

EJEMPLO 14

Este ejemplo ilustra los métodos utilizados para adsorber el factor de coagulación Factor VIII del plasma humano a diversos polielectrolitos descritos en los Ejem-

5 plos 1 a 13, eluyendo y recuperando el Factor VIII del complejo de polímero-Factor VIII para análisis de (1) recuperación o rendimiento de Factor VIII, y (2) contenido de enzimas activadoras que influyen (acortan) sobre las propiedades del tiempo de coagulación del Factor VIII. Los métodos de análisis se dan en el Ejemplo 15.

10 El plasma humano utilizado para los estudios de fraccionación fue plasma congelado fresco de donaciones de sangre entera, obtenidas de la Cruz Roja de St. Louis. El contenido proteínico total de dichos plasmas varió de 60 a 80 g por litro, observándose mayores concentraciones en el verano que en el invierno. Las unidades recibidas fueron del tipo bien O positiva o A positiva.

15 Aunque no fue absolutamente necesario, el Factor IX de coagulación se separó del plasma como un paso inicial antes de adsorber el Factor VIII. Las etapas siguientes describen el procedimiento global.

- 1.- Se descongelan 5 unidades de plasma congelado fresco en un baño de agua a 37°C.
- 20 2.- Se reúne el plasma descongelado en un vaso de precipitados de polietileno o polipropileno. Se mide un litro en un cilindro graduado de polietileno y se vierte en un vaso de precipitados de polietileno de 2 litros.
- 25 3.- Se agregan 0,35 a 0,5 g de polielectrolito del Ejemplo 12, y se ajusta el pH a 8 con NaOH molar sobre un agitador magnético. Se agita durante 20 minutos manteniendo el pH en 8.
- 30 4.- Se filtra sobre un embudo de Buchner de 12,5

cm con papel Whatman No. 54 a una botella de polietileno dentro de un matraz de vacío sin fondo, de 4 litros, sobre una placa de vidrio. Se guarda el filtrado.

5 5.- Se raspa el polímero filtrado del papel filtro a un vaso de precipitados de polietileno de 100 ml, se lava el papel filtro con 20 ml de agua destilada y se agrega el polímero al vaso de precipitados. Se agita durante 5 minutos sobre un agitador magnético. Se filtra a través de papel Whatman No. 1 en un embudo de Buchner de 4,25 cm como antes, a un vaso de precipitados de polietileno.

10
15 6.- Se reúnen los filtrados de los pasos 4 y 5 como plasma deficiente en Factor IX, del cual puede separarse el Factor VIII en las siguientes etapas.

20 Para fines de tamizado, se utilizaron alícuotas de 10 ml de este plasma deficiente en el Factor IX en el siguiente procedimiento de fraccionación del Factor VIII. Con modificaciones apropiadas en el equipo, se utilizó el mismo procedimiento general para separar el Factor VIII de porciones de un litro de plasma no diluido, deficiente en el Factor IX.

25 7.- Se dispersan 0,50 g del polielectrolito que se va a utilizar, en 10 ml de solución salina 0,154 M y se ajusta el pH a 4 ya sea con HCl 1N o con ácido cítrico 1M. El ácido cítrico se prefiere generalmente

debido a su efecto estabilizador sobre el Factor VIII. Si se utiliza la forma de amina del polielectrolito, el pH se ajusta ya sea con HCl o con ácido cítrico, pero sin embargo, si se utiliza la forma de sal HCl preformada, el pH será cercano a 4 después de la dispersión. Todas las operaciones siguientes utilizando alícuotas de 10 ml se hicieron en tubos de centrifuga de polipropileno o policarbonato de 50 ml. La agitación se hizo con barras magnéticas muy pequeñas.

5

10

15

20

25

- 8.- Se centrifuga la dispersión de la etapa 7 durante 5 minutos a 2000 rpm y se desecha el sobrenadante.
- 9.- Se añaden 10 ml de solución salina 0,154M y se ajusta cuidadosamente el pH a 5,8 ya sea con NaOH 1N o NaOH 0,1N.
- 10.- Se centrifuga la dispersión del paso 9 durante 5 minutos a 2000 rpm y se desecha el sobrenadante.
- 11.- Se ajusta cuidadosamente el plasma deficiente del Factor IX de la etapa 6, a pH 5,8 con ácido cítrico 1M.
- 12.- Se agrega una alícuota de 10 ml de plasma de la etapa 11 al polielectrolito sedimentado de la etapa 10. Se agita durante 20 minutos manteniendo el pH en 5,8.
- 13.- Se centrifuga durante 5 minutos a 2000 rpm.
- 14.- Se separa una muestra apropiada del sobre-

nadante de la etapa 13 para análisis del Factor VIII (no adsorbido) (véanse métodos de análisis en el Ejemplo 15). Se desecha el resto del sobrenadante.

- 5 15.- Se añaden 10 ml de solución salina 0,154N al complejo de polímero-Factor VIII de la etapa 13, se agita durante 5 minutos, se centrifuga y se desecha el sobrenadante.
- 10 16.- Se agregan 10 ml de solución salina 1,7M al complejo de polímero-Factor VIII de la etapa 15 y se ajusta el pH a 6,0 con ácido cítrico 0,10M para eludir el Factor VIII.
- 17.- Se agita durante 20 minutos manteniendo el pH en 6,0.
- 15 18.- Se centrifuga durante 5 minutos a 2000 rpm y se separa una muestra apropiada del sobrenadante para los análisis del Factor VIII (recuperado). Se desecha el sobrenadante restante.

20 Con modificaciones apropiadas en el equipo para la operación del tipo de filtración y utilizando pequeñas modificaciones en los métodos de lavado y elución, se utilizó el método anterior para fraccionaciones de un litro del Factor VIII de la etapa 6, utilizando 60 g de polielectrolito por litro de plasma. De nuevo, se realizó el análisis para el Factor VIII sobre el filtrado de la etapa 14 (Factor VIII no adsorbido) y sobre el filtrado de la etapa 25 18 para la recuperación del Factor VIII.

EJEMPLO 15

5 Se utilizaron dos evaluaciones para comparar las resinas previamente descritas con respecto a (1) recuperación (rendimiento comparativo) del Factor VIII (AHF) de plasma humano no diluido mediante la metodología del Ejemplo 14 y (2) el nivel comparativo de la activación del Factor VIII así obtenido.

1) Recuperación o rendimiento del Factor VIII

10 Se utilizó un análisis de dos etapas para la medición de AHF como una modificación de la prueba de generación de tromboplastina como es descrito por R. J. Biggs and A.S. Douglas, "The Thromboplastin Generation Test (TGT)" J. Clin. Pathol. 1, 15-22 (1953). Esencialmente, esta prueba mide el tiempo para coagular un plasma de sustrato normal (fresco pobre en plaquetas) después de la generación de un nivel intermedio de actividad de coagulación por la adición controlada con el tiempo de los factores de coagulación requeridos de otras fuentes. Los factores requeridos para los tiempos de coagulación en la TGT normal in vitro (12-20 segundos) son los Factores XII, XI, IX, VIII, V, fosfolípidos y CaCl_2 . Estos factores son suministrados por las cargas iniciales de CaCl_2 , suero humano para los factores XII, XI y IX, suero bovino para el Factor V y un extracto del cerebro humano en cloroformo para los fosfolípidos sobre un programa de tiempo seguido por adición de plasma de sustrato pobre en plaquetas. El tiempo de coagulación del plasma de sustrato final se mide automáticamente. El control de plasma fresco (el mismo plasma usado para la frac-

cionación del Factor VIII) o los eluyentes de AHF finales, a dilución apropiada, se agregan como fuente medible del Factor VIII antes de la adición final del plasma de substrato.

5 Se prepararon curvas normalizadas utilizando un plasma de contenido de AHF conocido, normalizado contra una preparación de Squibb distribuida a través de Bureau of Biologics que contenía una unidad de AHF por ml. Las curvas normalizadas graficaron el tiempo de coagulación en segundos
10 contra unidades de actividad de AHF por ml (diluciones de control de plasma anterior) sobre papel log-log. El contenido de AHF en unidades/ml para muestras de prueba se obtuvo de estas curvas normalizadas. Las curvas normalizadas se prepararon para cada operación diaria de determinaciones de
20 AHF.

 El análisis completo fue controlado por el tiempo y la temperatura utilizando un Fibrómetro BBL "Fibro SystemTM" distribuido por la BBL Division of Becton, Dickinson and Co., Cockeysville, Maryland, equipado con dos unidades de calentamiento Thermal Prep Block y una pipeta automática de control de tiempo.

2) Análisis de Activación de AHF

 El análisis se diseñó para medir los tiempos de activación relativos de AHF (Factor VIII) fuera del ambiente del plasma como una modificación de la prueba de tiempo de tromboplastina parcial anterior. En esta prueba se agregó solamente el fosfolípido y CaCl_2 al substrato de plasma pobre en plaquetas. Los tiempos de coagulación se midieron sobre el Fibrómetro BBL añadiendo las diluciones de AHF de
25

prueba apropiadas al substrato de plasma. Un control de plasma no activado en esta prueba dió consistentemente tiempos de coagulación de encima de 190 segundos. Tiempos de coagulación más rápidos, inferiores a 150 segundos indican activación o presencia de enzimas activadoras. Se realizaron 5
dos controles de las preparaciones de tiempo de coagulación rápidas así como un control de plasma y regulador de pH de blanco, con cada serie de determinaciones de activación.

Los análisis de recuperación se realizaron sobre 10
los sobrenadantes de las etapas 14 y 18 del Ejemplo 14 mientras que los análisis de activación se realizaron sobre los sobrenadantes de la etapa 18. Todos los sobrenadantes se diluyeron apropiadamente en un regulador de pH de imidazol para dar niveles de solución salina final inferiores a 0,00 15
molar.

EJEMPLO 16

Rendimiento de AHF y Activación de Materiales Preparados Mediante los Ejemplos Utilizando Fracciones de 20 10 ml de Plasma del Ejemplo 14

La amplia variedad de materiales preparados por los ejemplos 1 a 13 se valoró para la fraccionación del Factor VIII y activación mediante el procedimiento del Ejemplo 14, y se analizaron para estos parámetros mediante los análisis del Ejemplo 15. Los resultados dados más adelante son 25
para fraccionaciones utilizando 10 ml de plasma y utilizando de 0,1 a 0,8 g de PE por 10 ml de plasma. La predeterminación del pH, para PE preparado y utilizado como la forma de amina (véase etapa 7, Ejemplo 14) formó la sal "in situ" durante el procedimiento de fraccionación y se hizo ya 30
05088

sea con HCl o ácido cítrico como se indica.

El plasma, como se indica en el Ejemplo 14, varía de carga a carga, y de invierno a verano en el contenido total de proteína. Asimismo, las diversas unidades de plasma utilizadas para estos estudios varían en el contenido de AHF (Factor VIII) de 0,8 a 1,3 unidades por ml según se analizan bajo el Ejemplo 15-análisis 1. El tiempo de coagulación del plasma, utilizando la prueba de activación (Ejemplo 15 - análisis 2) varía entre 185 y 240 segundos.

En la tabla siguiente:

AL = amina libre

HCl = forma de sal de HCl

5

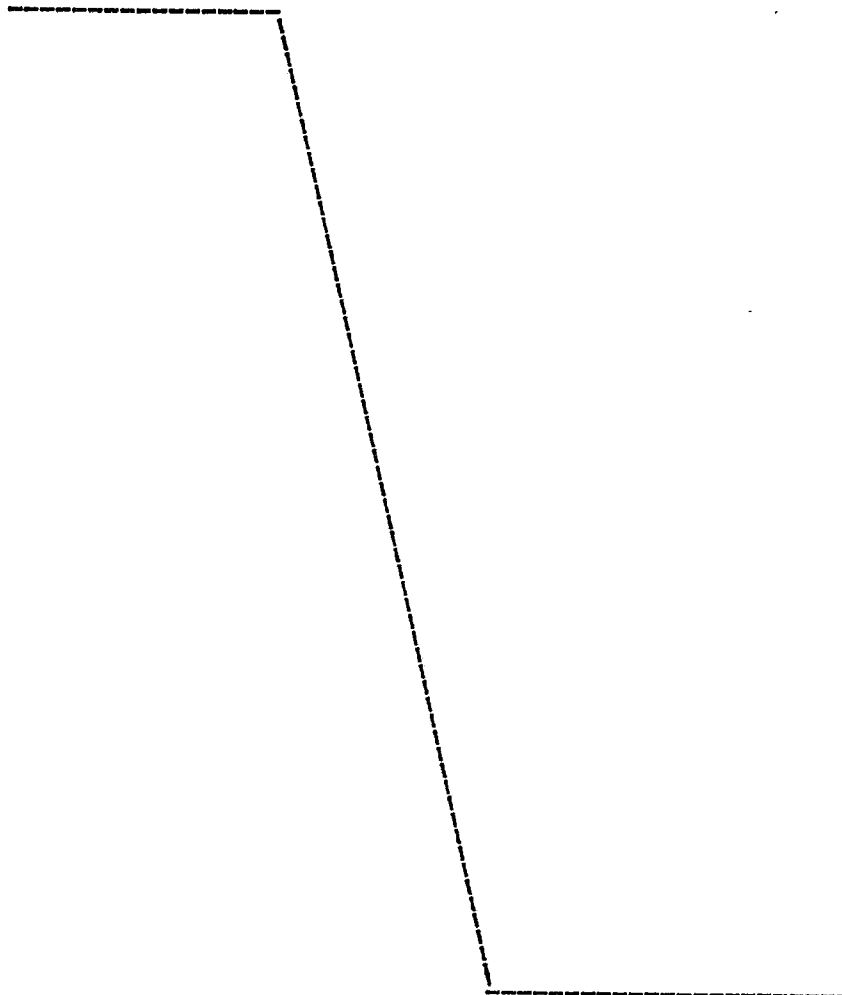
10

15

20

25

30
05088



5

10

15

20

25

30
05088

TABLA DEL EJEMPLO 16

Composi- ción de po- lielectro- lito del ejemplo No.	For- ma uti- liza- da	Gramos de PE por 10 ml de plasma	pH pre- fijado con	Recupera- ción de unidades de AHF (VIII)/ml	Activación de AHF Tiempos de coagulación, segundos	Activación
1	AL	0,6	cítrico	0,72	299	No
1	AL	0,4	HCL	0,56	270	No
1	AL	0,4	No #	0,62	273	No
* el pH se ajustó directamente a 5,8 con ácido cítrico. No se fijó previamente el pH a 4,0.						
2	HCL	0,8	No	0,49	259	No
2	HCL	0,5	No	0,42	272	No
7	Opera- ción 2	0,4	No	0,43	104	Si
"	"	0,5	No	0,66	113	Si
"	"	0,4	No	0,53	98	Si

5

10

15

20

25

TABLA DEL EJEMPLO 16 (continuación)

Composi- ción de polielectro- lito del ejemplo No.	Forma uti- liza da	Gramos de PE por 10 ml de plas- ma	pH prefri- jado con	Recuperación de unidades de AHF (VIII)/ml	Activación de AHF	
					Tiempos de coagulación, segundos	Activación
3 Opera- ción 1	AL	0,5	cítrico	0,49	198	No
-2	AL	0,4	HCl	0,56	270	No
-3	AL	0,6	cítrico	0,65	308	No
-4	AL	0,6	cítrico	0,50	324	No
-5	AL	0,6	cítrico	0,90	317	No
-6	AL	No se probó		---	---	---
-7	AL	0,6	cítrico	0,60	340	No
-8	AL	0,5	cítrico	0,78	269	No
-9	AL	0,6	cítrico	0,80	317	No
-10	AL	No se probó		---	---	---
-11	AL	No se probó		---	---	---

5

10

15

20

25

TABLA DEL EJEMPLO 16 (continuación)

Composición de polielectrolito del ejemplo No.	Forma utilizada	Gramos de PE por 10 ml de plasma	pH fijado con	Recuperación de unidades de AHF (VIII)/ml	Activación de AHF Tiempos de coagulación, segundos	Activación
4 Operación 1	AL	No se probó		---	--	--
-2	AL	0,5	HCl	0,56	269	No
-3	AL	0,5	cítrico	0,67	283	No
-4	AL	0,5	cítrico	0,57	305	No
-5	AL	0,5	cítrico	0,72	303	No
-6	AL	0,5	cítrico	0,61	315	No
-7	AL	0,4	HCl	0,49	296	No
-8	AL	0,5	cítrico	0,57	277	No
-9	AL	0,5	cítrico	0,64	314	No

5

10

15

20

25

30
05088

TABLA DEL EJEMPLO 16 (continuación)

Composición de polielectrolito del ejemplo No.	Forma utilizada	Gramos de PE por 10 ml de plasma	pH prefijado con	Recuperación de unidades de AHF (VIII)/ml	Activación de AHF		
					Tiempo de coagulación, segundos	Activación	
5 Operación	1	HCl	0,5	No	0,76	258	No
	2	HCl	0,5	No	0,72	254	No
	3	HCl	0,5	No	0,80	261	No
	4	HCl	0,5	No	0,80	338	No
7 Operación	2	HCl	0,5	No	0,62	111	Si
6 Operación	1	AL	0,5	cítrico	0,61	252	No
	2	HCl	0,5	No	0,58	240	No

5
10
15
20
25

TABLA DEL EJEMPLO 16 (continuación)

Composición de polielectrolito del ejemplo No.	Forma utilizada	Gramos de PE por 10 ml de plasma	pH prefijado con	Recuperación de unidades de AHF (VIII)/ml	Activación de AHF Tiempos de coagulación, segundos	Activación
7 Operación 1	AL	0,5	cítrico	0,43	198	No
2	HCL	0,5	No	0,57	107	Si
3	AL	0,5	cítrico	0,55	225	No
4	HCL	0,5	No	0,60	91	Si
5	AL	0,5	cítrico	0,49	248	No
6	HCL	0,5	No	0,57	94	Si
7	AL	0,5	HCL	0,45	231	No
8	HCL	0,5	No	0,51	117	Si

5

10

15

20

25

30
05088

TABLA DEL EJEMPLO 16 (continuación)

Composición de polielectrolito del ejemplo No.	Forma utilizada	Gramos de PE por 10 ml de plasma	pH prefijado con	Recuperación de unidades de AHF (VIII)/ml	Activación de AHF tiempos de coagulación, segundos	Activación
Ejemplo 8 Operación 1	AL	0,5	cftrico	0,45	299	No
2	AL	No se probó		---	---	---
3	AL	0,5	cftrico	0,54	272	No
4	AL	0,5	cftrico	0,64	279	No
5	AL	0,5	cftrico	0,59	244	No
6	AL	No se probó		---	---	---
7	AL	No se probó		---	---	---
8	AL	No se probó		---	---	---
9	AL	0,5	HCl	0,43	252	No
10	AL	0,5	cftrico	0,66	314	No
11	AL	0,5	cftrico	0,42	257	No

5

10

15

20

25

TABLA DEL EJEMPLO 16 (continuación)

Composición de polielectrolito del ejemplo No.	Forma utilizada	Gramos de PE por 10 ml de plasma	pH prefijado con	Recuperación de unidades de AHF (VIII)/ml	Activación de AHF Tiempos de coagulación, segundos	Activación
12	AL	0,5	cítrico	0,62	246	No
13	AL	0,5	cítrico	0,52	279	No
14	AL	0,5	cítrico	0,42	257	No
15	AL	0,5	cítrico	0,57	253	No
16	AL	0,5	cítrico	0,48	288	No
Ejemplo 9						
Operación 1	HCL	0,5	No	0,66	113	Si
2	HCL	0,5	No	0,42	272	No
3	HCL	0,5	No	0,58	90	Si
4	HCL	0,5	No	0,54	225	No
5	HCL	0,5	No	0,55	146	Si
6	HCL	0,5	No	0,50	218	No

5
10
15
20
25

TABLA DEL EJEMPLO 16 (continuación)

Composición de polielectrolito del ejemplo No.	Forma utilizada	Gramos de PE por 10 ml de plasma	pH prefijado con	Recuperación de unidades de AHF (VIII)/ml	Activación de AHF Tiempos de coagulación, segundos
10	HCL	0,5	No	0,39	172
11	HCL	0,5	No	0,33	210
12	HCL	0,4	No	0,30	253
	HCL	0,1	No	0,54	205
13	AL	0,5	HCL	0,52	263

EJEMPLO 17

Se utilizaron varios polielectrolitos preparados con metoxipropilamina y descritos en los Ejemplos 1 a 13 anteriores, para fraccionar el Factor VIII de baños de plasma de un tamaño de un litro utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14 pero con modificaciones apropiadas en equipo y cantidades de reactivo necesarias para acomodar la operación a escala mayor.

5

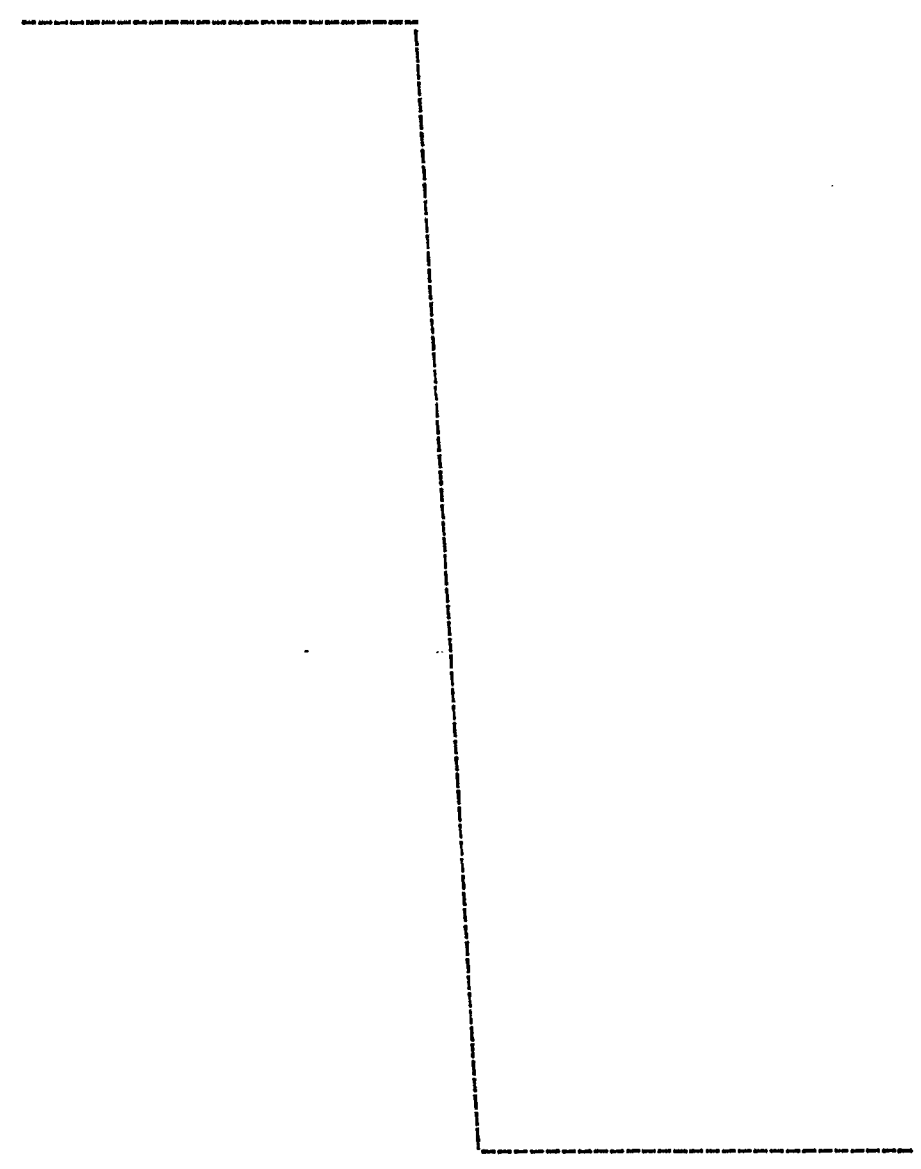
10

15

20

25

30
05088



30
05088

25 20 15 10 5

Composición de polielectrolito del ejemplo	Forma utilizada	Gramos de PE por litro de plasma	pH prefijado con	Recuperación de unidades de AHF (VIII) por litro de plasma	Activación de AHF Tiempo de coagulación, segundos	Acti- vación
12	HCl	10	No	223	210	No
1	Al	60	cftrico	600	287	No
3 Operación 3	Al	60	cftrico	406	301	No
4 Operación 1	Al	60	cftrico	737	300	No
3 Operación 5	Al	60	cftrico	650	265	No
3 Operación 7	Al	60	cftrico	510	364	No
4 Operación 2	Al	60	cftrico	770	336	No
3 Operación 9	Al	60	cftrico	480	239	No

EJEMPLO 18

5 Dos muestras de AHF (Factor VIII) preparadas utilizando el polielectrolito del ejemplo 1 y del ejemplo 7, operación 2, se compararon para las manifestaciones tóxicas mediante inyección I.V. a perros de raza beagle. Se usaron perros de un peso de 8 a 9 kg y la AHF se preparó en agua estéril a 10 unidades/ml. Se dieron a cada perro dosis individuales de 100 unidades (10 ml). Se observaron los siguientes resultados.

Perro	1	2
Del polielectrolito:	Ejemplo 1	Ejemplo 7, operación 2
Comportamiento después de inyección	Normal	Se movió en rotación en la jaula (perturbación del SNC)
15 Presión sanguínea ¹	Normal	Elevada
Hematocrito	Normal (1-24 hr.)	Disminuyó substancialmente
Recuento de plaquetas ³	Sin cambio (1-24 hr)	Bajó a 60%
Pulso ¹	Normal	-----
20 Glóbulos blancos	Sin cambio (1-24 hr)	-----
Glóbulos rojos ²	Sin cambio (1-24 hr)	-----
Hemoglobina	Sin cambio (1-24 hr)	-----
25 Química sanguínea ⁴	Normal (1-24 hr)	-----

1. Vía un catéter femoral conectado a un fisiógrafo registrador para la presión sanguínea y el pulso
2. Vía un contador de Coulter
3. Vía un Hemocitómetro
4. Operación sobre un sistema Technicon SMAC (18 análisis)

Los resultados anteriores muestran una falta total de efectos tóxicos para el Factor VIII derivado del polielectrolito utilizando el ejemplo 1 que emplea metoxipropilamina en contraste distintivo con los diferentes efectos tóxicos severos con el Factor VIII derivado del polielectrolito utilizando el Ejemplo 7, operación 2 que empleó hidroxietilamina y se preformó como la sal clorhidrato.

5

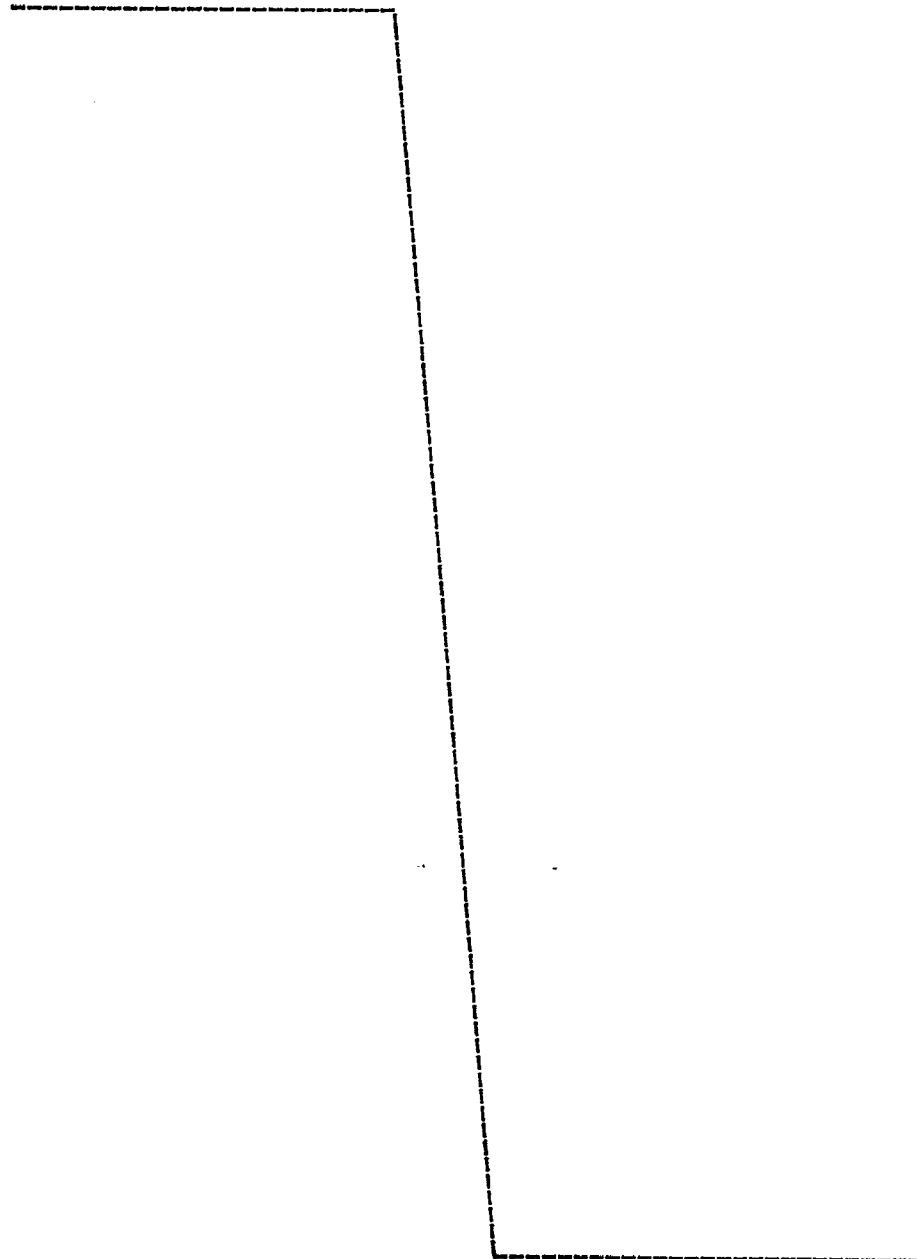
10

15

20

25

30
05088



REIVINDICACIONES

5 Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

10 1ª. Un método para separar el factor específico de coagulación de la sangre de una mezcla con otras proteínas de la sangre en un medio fluido, caracterizado por poner en contacto dicho medio con un copolímero de polielectrolito reticulado, insoluble en agua, de (a) monómero insaturado que tiene de 2 a aproximadamente 18 átomos de carbono y (b) un monómero seleccionado del grupo que consiste de ácido o anhídrido policarboxílico insaturado que tiene de 4 a aproximadamente 12 átomos de carbono, en donde de 2 a 100% de los sitios de carboxilo están substituidos con amina-imidas y substancialmente todos los anhídridos libres
15 están bloqueados, para adsorber así selectivamente dicho factor de coagulación específico con la exclusión substancial de dichas otras proteínas de la sangre sin producir ninguna preactivación substancial de dicho factor de coagulación.
20

25 2ª. El método de conformidad con la reivindicación 1ª, caracterizado porque el copolímero es un copolímero de ácido o anhídrido maléico y monómero seleccionado del grupo que consiste de etileno, estireno e isobutileno.

3ª. El método de conformidad con la reivindicación 1ª, caracterizado porque el copolímero es un copolíme

ro de etileno y anhídrido o ácido maleico.

4ª. El método de conformidad con la reivindicación 1ª, caracterizado porque la amina-imida es dialcoholo inferior-amino-alcoholo inferior-imida.

5 5ª. El método de conformidad con la reivindicación 1ª, caracterizado porque los anhídridos libres son bloqueados con un agente bloqueador de alcoxilalcoholamina.

10 6ª. El método de conformidad con la reivindicación 5ª, caracterizado porque el agente bloqueador de alcoxilalcoholamina es metoxipropilamina.

7ª. El método de conformidad con la reivindicación 5ª, caracterizado porque el agente bloqueador de alcoxilalcoholamina es metoxietilamina.

15 8ª. El método de conformidad con la reivindicación 1ª, caracterizado porque el factor de coagulación específico es el Factor VIII y el contacto con el polielectrolito se realiza a un pH que varía de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 9,5.

20 9ª. Un copolímero de polielectrolito reticulado insoluble en agua, caracterizado por (a) un monómero insaturado que tiene de 2 a aproximadamente 18 átomos de carbono y (b) un monómero seleccionado del grupo que consiste de ácido o anhídrido policarboxílico insaturado que tiene de 4 a aproximadamente 12 átomos de carbono, teniendo dicho copolímero de 2 a 100% de sus grupos carboxilo sustituidos con amina-imidas seleccionadas del grupo que consiste de dialcoholo inferior-amino-alcoholo inferior-imida y alcoholo inferior-imino-dialcoholo inferior-imida, y teniendo además dicho copolímero substancialmente todos sus anhídridos libres bloqueados, con lo cual los polielectro

litos pueden utilizarse para la separación del factor de coagulación de la sangre específico, de otras proteínas de la sangre en un medio líquido, sin causar por ello ninguna preactivación substancial de dicho factor de coagulación.

5
10
10ª. El polielectrolito de conformidad con la reivindicación 9ª, caracterizado porque el copolímero es un copolímero de ácido o anhídrido maléico y el monómero se selecciona del grupo que consiste de etileno, estireno e isobutileno.

11ª. El polielectrolito de conformidad con la reivindicación 9ª, caracterizado porque el copolímero es un copolímero de etileno y ácido o anhídrido maléico.

15
12ª. El polielectrolito de conformidad con la reivindicación 9ª, caracterizado porque los anhídridos libres se bloquean con un agente bloqueador de alcoxialcohilamina.

20
13ª. El polielectrolito de conformidad con la reivindicación 12ª, caracterizado porque el agente bloqueador de alcoxialcohilamina es metoxipropilamina.

14ª. El polielectrolito de conformidad con la reivindicación 12ª, caracterizado además porque el agente bloqueador de alcoxialcohilamina es metoxietilamina.

25
15ª. Un método para separar el factor específico de coagulación de la sangre de una mezcla con otras proteínas de la sangre en un medio líquido.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de sesenta y una hojas escri

tas a máquina por una sola cara.

Madrid, 18. AGO. 1978

P.A.

Fernando de Elizaburu
Por Poder.

5

10

15

20

25

30
05088
EBI.-