[19]中华人民共和国专利局

[11] 授权公告号 CN 1028492C

[12]发明专利说明书

[21] ZL 专利号 90106760.1

[51]Int.Cl[5]

[45]授权公告日 1995 年 5 月 24 日

B01D 71/00

[24]颁证日 95.3.3

[21]申请号 90106760.1

[22]申请日 90.8.8

[30]优先权

[32]89.8.9 [33]JP[31]206336/89

[32]89.12.7 [33]JP[31]320141/89

[73]专利权人 代科化学工业株式会社 地址 日本大阪府

共同专利权人 田边制药株式会社

[72]发明人 永松信二 田中芳和 柴田彻

B01D 71/82

C02F 1/28

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所

代理人 李 瑛

说明书页数: 附图页数:

[54]发明名称 分离膜和分离方法

[57]摘要

具有多孔膜结构的分离膜，其孔径分布是当膜厚度为 0.1mm 时，该膜不能渗透 90%或更多大小为 0.5 微米的颗粒，所说的膜由具有含氮化合物的材料组成，其可使液体透过以吸附或保留液体中所含有的磷酸多元醇类物质。

权 利 要 求 书

1. 一种具有多孔膜结构，可使液体透过以吸附并保留液体中含有的磷酸多元醇类物质的分离膜，其特征在于该膜的孔径分布是当膜厚度为 0.1*mm* 时，该膜不能渗透 90%或更多大小为 0.5 微米的颗粒，该膜由具有含氮化合物的材料组成。

2. 根据权利要求 1 的膜，其中化合物是含氮环形化合物。

3. 根据权利要求 1 的膜，其中化合物是具有 3 至 50 个碳原子之脂族链的含氮化合物。

4. 由含有磷酸多元醇类物质的液体中分离磷酸多元醇类物质的方法，该方法包括处理该液体使之透过权利要求 1 中所限定的膜。

5. 根据权利要求 4 的方法，其中磷酸多元醇类物质是热原。

说　明　书

分离膜和分离方法

本发明涉及由直接引入活体的液体如注射液、透析液及罐输液中，以及使用的稀释用水和洗液中分离磷酸多元醇（*PPS*）如毒性热原的膜。本发明的膜可以为同样目的用于有机溶剂。在基因技术领域中其可用于吸附 *DNA* 和 *RNA*。其可用于由细菌和动物细胞中吸附 *PPS*。

磷酸多元醇（*PPS*）是一种由磷酸部分和多元醇部分组成的化合物，如 *LPS*、脂质 *A*、核酸及磷酸甘油化合物。许多这样的多元醇化合物都具有生理学活性。它们即使量很少也可用本发明的膜除去。

本发明还涉及借助本发明的膜由液体中分离热原的方法。

吸附剂和分离膜均可用于从液体中分离某些物质的目的。分离技术的相对困难程度依据工业上待分离系统中所含物质的种类、分离能力及通过量等诸因素而不同。除去热原就是分离技术中急待解决的问题。与之相似的技术领域的例子包括除去核酸及其他 *PPS*。

应由其中除去热原的液体包括没有通过消化道直接引入活体的液体，如用于注射、营养输注及透析的液态药物，及这些药物的稀释

用水，处理上述液体的装置，以及上述液体之容器的洗液。

热原是以很小量即可使恒温动物的体温异常升高的物质。当热原作为静脉内注射的污染物进入血液时，其可引起不依赖于药物作用的严重发烧。据信当上述影响过度时，可出现寒战，有些甚至会导致休克死亡。已知的热原物质有细菌物质、炎性物质、植物多糖及血型物质等，其中最易引起发热的是细菌物质，这些物质被称为细菌毒素，且广义上可分为外毒素和内毒素。上述毒素中，称为所谓O抗原、主要由革兰氏阴性菌之细胞壁脂多糖(*LPS*)组成的内毒素具有很强的热原性质，而且很难经加热而失活。一旦内毒素有机会掺入液体中，它将很难被除去。因此热原是与内毒素或*LPS*等同的。

化学分解、膜分离、凝胶过滤、吸附等是除去热原的已知方法。由于被处理的物质对分解剂的抗性，以及来自分解剂和分解产物的污染问题，因而使化学分解的可应用性受到了限制。

膜分离和凝胶过滤可看作是利用了热原与被处理的物质之间有不同大小的分离方法。就热原的大小来说，还应考虑到热原的种类，与*LPS*的关联及脂质*A*的存在。具体地说，即使将其限制在各种热原中最重要的物质*LPS*时，参予热原作用的脂族链部分(即脂质*A*)，以及与之结合的多糖也都是依据作为*LPS*之来源的细菌的种类而不同的。与分子量约5000的*LPS*结合而形成分子量大至数百万的大的胶囊结构，而分子量约为2000的脂质*A*本身就是一种热原。

可使用超滤膜(*UF* 膜)和反渗透膜(*RO* 膜)除去热原。也已在使用膜除去热原的技术中，为达到低热原含量的目的而提出一种包含许多膜的装 置 。其例子包括日本专利公开号 207517/1982 和美国专利号 4261834(*dewinter*)中描述的装置。当被处理的液体是一种含有水和低分子量药物的水溶液时，可选用只允许被处理物质渗透而不能渗透热原和含热原之细胞的分离膜。但当被处理的物质的分子量大时，便不容易选择即允许被处理的物质始终以高回收率渗透，同时又阻止热原(特别是低分子量热原)渗透的膜，以达到低热原浓度的处理效果(即热原浓度不至于引起动物发热，此浓度将依据热原的类型而异，一般为 5*EU*(内毒素单位)/*Kg* 或更低。欲选择适于从含有高分子量物质如蛋白质的液体中除去热原的膜则更加困难，几乎不可能除去热原使之达到足够低的水平同时还保留高药物回收率。一般说来，通过膜过滤不能够分离分子量接近的物质，从而使得这些膜不适用于有很宽分子量分布的物质，如热原。

已知活性炭和离子交换树脂具有吸附并除去热原的能力。另外，适于制造多孔分离膜的材料，如聚烯烃等具有通过疏水结合力吸附热原的能力。但上述材料并不能从含药物液体中选择性地吸附热原达到很低的热原浓度，因此不适于用作获得已满意地除去了其中的热原的药物溶剂的吸附剂。

具有吸附热原能力的其他材料也是已知的。例如，日本专利公开号 112888/1 984 中公开了一种使用含氨基基团的纤维除去革兰

氏阴性细菌及其细胞壁成分的方法。从上述公开说明书的工作实施例中可知，所获得的最低热原浓度为 0.014*mg/ml*（即 14000*ng*），处理含 0.1*mg/ml* 脂多糖的水溶液时达到的去除百分率为 86%。

近年来，市场上出现了能够特异地吸附热原并因而可用于从含药物液体中除去热原的亲合吸附剂。这种类型吸附剂的有代表性的例子包括日本 专利公开号 183712/1982 中所述的其上面结合了含氮环状化合物的多糖凝胶。因此这些凝胶具有从含高分子量药物如蛋白质的水溶液中特异性地吸附并除去有不同而且很广分子量范围之热原的能力，因此在本领域中受到高度重视。上述公开说明书中所述的热原浓度达到 0.1*ng/ml*(0.5*EU/ml*)或更低。

然而，上述吸附剂并不是十全十美的。本发明人发现，这种类型的吸附剂当用于除去热原时具有有限的抗压性能，因此在升高了液体进料压力的条件下使用时不能表现出足够的功能。在常规热原吸附剂中，为使吸附部位与溶液有效地接触，而使用多糖凝胶载体作为吸附剂的基础材料。这样就必须在凝胶能够耐受的压力下使用上述吸附剂。当使用常规吸附剂时，只有通过增加吸附剂量来提高处理速度。因此，为了用小型装置以高速度处理大量液体，就需要进一步改善热原吸附剂的性能。

美国专利 4639513(*Cuno*) 和 4663163 公开了一种由纤维素、碳链和含氮基团组成的、可进行离子交换的层析膜载体。它是一种有很大孔径的深度膜。这不能看作是一种膜滤器。

本发明的目的是提供一种可用于分离分子量接近之药物、适于大量处理并具有高分离性能的分离工具。这种分离工具的一个具体实例是对热原有极好的选择性吸附能力、能够达到低热原浓度并适用于以高速度处理大量液体的吸附剂。

本发明提供了一种具有多孔膜结构的分离膜，其孔径分布使得当膜厚度为 0.1*mm* 时，不能透过 90%或更多的大小为 0.5 微米的颗粒，该膜由有含氮化合物的材料组成，可渗透液体以吸附和保留液体含有的磷酸多元醇类物质。

所说的化合物最好是有配对电子系统的含氮环形化合物，或者是有 3 至 50 个碳原子之脂族链的含氮化合物。

本发明提供了一种由含有磷酸多元醇的液体中分离出这些磷酸多元醇的方法，该方法包括处理液体以使之透过如上限定的膜。特别是适于分离热原。

膜的孔径一般为 1 毫微米(*nm*)至 20 微米。

可使用 *US* 参考内毒素(*Lot EC*—5)，给兔输注经处理的液体，以确定热原去除的程度。计数发热兔的数目。该试验中，导致发热的给药量为 5*EU*(内毒素单位)/*Kg*。因为通常每公斤体重给予 10*ml*，故导致发热的给药量计算为 0.5*EU*/*ml*。对于上述参考内毒素，该值等于 0.1*ng*/*ml*。

本发明中，膜除去热原的程度为能以 10 升/m^2/小时或更高的速度渗透含 5000*EU*/*ml* 热原的水溶液，并至少使一半被透过的液

体达到热原浓度为5*EU/ml*或更低。

本发明的分离膜的第一个特征在于所使用的分离工具为具有膜结构的亲合吸附剂，即该吸附膜上存在许多孔形成多孔膜。上述形式之膜的适当例子包括多孔均一精细过滤膜。该膜可保持其强度，其厚度足以使之与渗透液体接触，并具有许多一定大小连续性的孔，以使含有所需药物的液体通过，又不至于在与膜接触时遇到过大的阻力。其他适宜的例子包括各向异性超滤膜，该膜包括一个薄的、致密的微孔表层部分和一个厚的、有大孔的更为粗糙的核心部分。上述膜结构是分离膜领域中已知的。膜的厚度通常为10至1000*μm*，更好是50至300*μm*。必要时，也可以使用较厚的膜，并在另一个膜的顶上放上多个膜。膜分离领域中，所谓超滤或精滤中所用的孔径范围一般为1*nm*至20*μm*，更好是10*nm*至5*μm*，特别常用的膜孔径为50*nm*至1*μm*。当由含有大分子量药物如蛋白质或多糖的溶液中除去热原时，当然应根据分子大小选择有适当孔径的膜，以不会抑制药物的渗透性，膜的孔径一般以具有90%抑制率的颗粒直径来表示，该孔径是根据未吸附到膜上的颗粒的大小与抑制百分率之间的相互关系确定的。

本发明中，含氮环形化合物结合到构成上述膜的基质材料上，液体中含有的热原经微孔穿透膜而与位于距基质材料之骨架有适当距离的吸附剂的配基（含氮环形化合物）接触。对于各向异性膜来说，如果以这种方式与液体接触的膜是表层向上的，则当液体通过表层

时，热原即与配基接触，并进一步与核心部分中的配基接触。表层的存在是有利折，因为它可防止颗 粒因进入膜内而阻塞孔隙。当然，表层的孔径应能够使药物通过。可以存在许多个表层。对于均质膜来说当液体通过微孔时热原即与配基接触，从而使热原被吸附。

一种得到具有上述均质膜或各向异性膜结构之热原吸附剂的简单方法，包括由市售的具有适当结构和孔隙的分离膜中选择含具有羟基、氨基等基团之材料的膜，并使选择的膜通过化学反应结合上含氮环形化合物，同时保留膜的形式。

本发明之吸附剂的另一种形式是具有载体的多孔膜。这种多孔膜的例子 包 括由合成纤维的非纺织物形成的上述均质膜或各向异性膜。此时膜的强度是由载体物如多孔塑料薄膜或纤维制品（如纺织物、编织物或非纺织物）控制的。就上述实施方案来说，包含由不溶性载体材料及结合其上的含氮环形化合物组成之膜的主体部分，具有许多孔隙和一定的厚度，其可允许液体渗透，而又可在不至于遇到过大阻力的情况下保持适当接触。

可使用包括多孔塑料薄膜（作为载体）及不透过性基质材料的膜载体包括可由市场上购得的（商品名为“*DURAGARD*”或“*CELGARD*”）具有大空隙比的多微孔聚丙烯薄膜。

制备上述膜的方法之一包括使高分子量物质通过喷嘴或涂布器等粘结成所需的形式，如空心细丝或扁平膜，并通过洗涤或蒸发除去溶剂，以制得具有孔隙的膜。可在成膜之前或之后进行含氮环形化

合物结合到基质材料上的步骤。

也可用其他方法制备带有微孔(孔径大小可使液体透过)并使液体与吸吸附剂间的接触达到彼此平衡的膜状热原吸附剂。例如,可使用已结合了含氮环形化合物的、有很小直径(1μm 或更小些)的纤维基质材料制成片层。成膜方法本身与已知的造纸方法相似。但与普通滤纸不同的是,使用微细纤维使之有可能制成孔径大小足以确保与液体有 极好接触的精细滤膜。虽然膜的厚度也取决于膜的致密程度,但一般为如前所述厚度范围。

也可以通过化学反应使含氮环形化合物与包括预制膜的基质材料粘结而制成本发明的分离膜,其中所说预制膜有适当结构并由适当材料制成,如纤维素微孔滤膜。

对膜的形式没有特殊限制,扁平膜、空心纤维膜 、管式膜等均可使用。可以以膜组件的形式适当应用上述膜。膜组件的例子包括螺旋式、板框式、管式及空心纤维组件。

本发明的分离膜包括构成膜的基质材料及粘结于其上的含氮环形化合物。基质材料一般为不溶性的,即不溶于待处理的液体。溶剂通常是水。在特定情况下,也可使用非水溶剂,如乙醇、丙酮、乙腈、*DMSO* 和氯仿,或其水溶液。在形成吸附剂的过程中,基质材料是否可溶并无关紧 要,只要粘结了含氮环形化合物后的成品吸附剂不溶即可,许多非水溶性多糖基质材料也不溶于有机溶剂。

基质材料一般是高分子量物质,并且在许多情况下是通过分子

间力成为聚集状态的线性有机聚合物。因为基质材料是膜状的，所以它基本上是以二维伸展的。但又由于有一定厚度，故其实质上是三维的。基质材料所具有的结构使含氮环形化合物能够直接或间接地固定在其上面。例如，具有一个能够与羟基或氨基等功能性基团或其他物质反应的活性部位(如活性氢)。

基质材料的具体实例包括多糖(包括其衍生物，如氨烷基化多糖和羧烷基化多糖，如日本专利公开号 183712/1982 中提到的纤维素及其衍生物、琼脂糖及其衍生物交联葡聚糖及其衍生物和脱乙酰壳多糖)、合成的有机聚合物(如上述专利公开说明书中提到的聚丙烯腈、聚砜、聚酰胺、聚乙烯醇、聚苯乙烯和聚丙烯酸树脂，羟烷基化、氨烷基化和卤代烷基化聚苯乙烯树脂，及聚丙烯酰胺树脂)和无机聚合物(如硅胶、玻璃如氨丙基化多孔玻璃及各种陶瓷。另外也可以由 日本专利公开号 183712/1982 所述的非水溶性载体中选择基质材料。可用各种方法如共聚作用、甲基化作用或还原作用将可与配基形成键合的功能性基团，如羟基或氨基基团引入上述基质材料中。

上述基质材料构成膜，使之具有三维结构并直接或通过间隔基结合到含氮环形化合物上。包含基质材料、配基和间隔基的分子结构，连同分子的联结和孔的形成等较高级结构，均对配基与吸附剂的接触具有重要作用。选择适当的基质材料对实践本发明是很重要的。

用于本发明的含氮环形化合物可以与日本专利公开号 183712/1982 中所述者相同，且较好是具π电子体系者。其具体实例包括由式 $R-A-X$ 代表的化合物，其中含有咪唑、吡唑、嘧啶、哒嗪、吡嗪、嘌呤、㖗啶、三唑、噁二唑、四唑、吲唑、苯并三唑、苯并哒嗪、苯并嘧啶、苯并吡嗪或1,5—二氮杂萘等为骨架的含氮杂环基团 R。式中 A 是单键，亚烷基（如乙烯基、丁烯基或 C_{12}）基团或亚烯基基团，x 是氢原子、氨基基团、羟基或羧基基团，条件是含氮环化基团和亚烷基基团可以有取代基（如羧基、氧代、烷基、羟基、氨基或烷氧基）。

杂环化合物的具体实例包括组氨酸、组胺、尿刊酸、尿嘧啶、乳清酸、胞嘧啶、5—甲基胞嘧啶、2—氨基—4,6—二甲基嘧啶、2—氨基—4—羟基—6—甲基嘧啶、腺嘌呤及6,9—二氨基—2—乙氧基㖗啶，其中特别优选的是具有咪唑骨架的化合物，如组胺和组氨酸。

可借助载体键合、交联、载留（点阵型或微胶囊型）等方法使包含含氮环形化合物的配基结合到构成膜的基质材料上，其中多选用载体结合法。交联法有要求证明亲合性及确保足够流速的问题。

可以直接或借助间隔基使基质材料与含氮环形化合物结合。所用的间隔基可与日本专利公开号 183712/1982 中所述者相同。其有代表性的例子包括 $NH_2(CH_2)_nNH_2$、$HOOC(CH_2)_nCOOH$（或相应的酸酐）、$NH_2(CH_2)_nCOOH$ 和 $NH_2(CH_2)_nOH$（其中 n 是 1 至 12 的整数）。当包括基质材料的网络结构致密到可阻止热原接近吸附部位的程度时，上述间隙基的存在是特别有用的。

例如，使配基直接或间接固定于载体(包括构成膜的基质材料)上的结合方法中，结合力包括共价结合、离子结合、疏水结合、配位结合等。其中最好是借助共价键固定，因为它对含氮环形化合物的消去不敏感。共价键包括酰胺键、酯键、醚键、氨基键、亚氨基键、硫醚键、二硫键及砜键等。

可依下述方法使配基或间隔基结合到基质材料上；用卤化氰(如溴化氰)、环氧化合物(如表氯醇或双环氧乙烷)、卤代有机酸卤化物(如氯化乙酰氯或 *tresyl chloride*)、二醛(如戊二醛)、苯并醌等活化基质材料，然后使具有氨基、羟基、硫羟基或羧基，或者间隔基的含氮环形化合物结合上去。

进行结合或固定的间接方法是使用间隔基载体，包括环氧化(如表氯醇或双环氧乙烷)、脱水缩合(*WSC*、*EEDO*)、还原胺化(*NaCN*＋甲硼烷，二甲胺＋甲硼烷)及硫醇活化(*PySSPy*)。这些方法中，可使用缩合剂、活化剂将带有氧桥、羧基、氨基、肼基、甲酰基或硫羟基基团载体间隔基衍生物转化成活性中间体(在描述各方法之后给出了相应举例说明)，然后结合到具有氨基、羧基、醛或硫羟基等基团的配基上。

用环氧化方法制备吸附剂优越于本领域中最常用的溴化氰法，因为前者能够更稳定地固定配基而使非特异性吸附作用很低，所以也是本发明优选的方法。

以共价结合以外的其他方法进行固定的例子包括借助离子键合

使具有强碱性取代基的含氮环形化合物结合到其表面上结合有强酸性基团的载体上(如用作阴离子层析的商品装柱材料),并结合已借助十八烷基、辛基、苯基等制成疏水表面的基质材料,以及通过疏水键合(动态包被)结合了长链烷基或苯基基团。

上述专利公开说明书中也详细描述了基质材料、间隔基及含氮环形化合物彼此间相结合的固定方式。本发明中,可借助这种已公开的技术来固定配基。

上述配基固定技术可用以处理有实施例1所述之膜形状的材料,也可以处理实施例3中所述之没有膜形状的材料。

含脂族链的化合物最好有3至30个链上碳原子。脂族链可以接到化合物的末端、中间或侧基上。接到化合物上的含氮基团最好包括伯氨基,仲氨基、叔氨基、季铵和亚氨基。更好是伯氨基,仲氨基和亚氨基(=NH),因为它们实际上是碱性的,并且立体掩蔽作用及影响吸附性质的作用较小。末端有多个氨基〔NH_2〕的化合物也是有用的。这些链是由常用的原料,如表氯醇、戊二醛、琥珀酸、琥珀酸衍生物、六亚甲基二胺,胍及氨基酸衍生的。作为特例,下面示出脂族链A至D。

A_2—$CH_2CH(OH)CH_2NHR$

R的例子是氢原子及下列基团(括号内给出相当于R之化合物RNH_2或ROH的名称):$C(=NH)NH_2$〔胍〕、$(CH_2)_nNH_2$(N=1—12,如6)〔烯化二胺〕、$COCH(NH_2)(CH_2)_4NH_2$〔赖氨酸〕,

$COCH(NH_2)(CH_2)_2NH_2$〔鸟氨酸〕、$COCH(NH_2)(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$〔精氨酸〕、〔有2或多个伯氨基和仲氨基基团的天然多胺，如亚精胺和精胺〕

$B_2-CH_2CH(OH)CH_2NH(CH_2)_5NHR$

R 的例子是 $(CH_2)_nNH_2(n=1-12)$；

$(CH_2)_nNHC(=NH)NH_2(n=1-12)$

$C_2-CH_2CH(OH)CH_2NHCOCH_2CH_2CONHR$

R 的例子是 $(CH_2)_nNH_2(n=1-12)$，

$(CH_2)_nNHC(=NH)NH_2(n=1-12)$

$D_2-CH_2CH(OH)CH_2NH(CH_2)_6NHR$

R 的例子是 $C(=NH)NH_2$、$COCH(NH_2)(CH_2)_4NH_2$、$(CH_2)_nNH_2(n=1-12)$

脂族含氮化合物对于有高离子强度的液体是特别有效的。该化合物比常用的阴离子交换膜能更自由地发挥功能.前者中聚苯乙烯的芳环直接接到氨基上，即是说所提到的脂族链中没有碳原子。根据本发明的3至50个环上碳原子要比日本专利公开 *BHei* 1—16389 中所述的多粘菌素的环碳原子少得多。这就是当含氮脂族基团偶然滑脱到被处理的液体中时，从生理学观点看不会有太大问题的原因。

由上面的描述可以看出，本发明的分离膜在与通过膜微孔的液

体接触时，具有吸附和分离热原的能力。如上所述，膜的厚度是很小的。因此就接触时间来说，不仅比适用于常规吸附剂的间歇法短得多，而且也比柱吸附方法短得多。例如，当膜厚度和流速 分别为 $100\mu m$ ($10^{-2}cm$)和 $50l/m^2 \cdot hr$ 时，相当于柱吸附方法中 SV(空间速 度，表观值)的值为 500(每小时)。因此接触时间(表观值)为 7.2 秒(1/500 小时)，其相当于亲合柱层析法中约 20 分钟接触时间之 SV_2 的 1/100 或更低。

然而，经适当地选择基质材料和含氮环形化合物(及间隔基)，并利用含上述成员的三维分子结构和分子缔合结构及较大的立体结构，亦即具有微孔的膜结构形式.便可以使液体与吸附剂达到令人满足的接触。分离膜微孔的大小可允许药物渗透，并具有选择性地分离热原的能力，从而得到基本上完全除去了热原的液体，亦即在渗透速 率为每平方米每小时 10 升或更大的情况下，可使含有 5000 至 500EU/ml 热原的水溶液中热原浓度降低到 5EU/ml 或更低，且可进一步降低到 0.05EU/ml 或更低。

本发明的分离膜也可用于由含高浓度热原的液体中除去热原。此时，最终热原浓度并不能达到如上所述基本上完全除去的水平。然而，尽管只有很短的接触时间，也可使给进液体中所含热原的去除率高达 99%，从而足可使该实施方案付诸于某些实用目的。

分离膜可在物理形式、化学结构以及通过上述渗透方法选择性地分离出液体中所含物质的能力(即由渗透液体中除去热原的能力)

上不同于其他分离手段。例如，含有有吸附热原能力之纤维的滤纸，与装在柱内，并以足够接触时间使用的吸附剂有同样的功能。但当渗透方法的接触时间很短时，便不能达到足够地清除热原的工作能力。

本发明的膜可以由含生理活性物质的溶液中选择性地吸附并分离出磷酸多元醇如热原。生理活性物质包括氨基酸如组氨酸、丙氨酸和脯氨酸、核酸碱基如腺嘌呤和胞嘧啶、抗生素如胰岛素、维生素如核黄素、腺嘌呤、二核苷酸和 *FDA*，血清蛋白如白蛋白和 γ 球蛋白、酶如尿激酶、天冬酰胺酶和溶菌酶、抗体如免疫球蛋白及疫苗如流感疫苗。本发明适于处理右旋糖酐、果糖和葡萄糖的注射液、用于输血的柠檬酸钠溶液、静脉点滴液及人工 *iidney oj* 过滤型补充液。可应用的液体可以有不同的离子强度和浓度。可直接用于活体的液体通常离子强度约为 0.15(同生理盐水)，其可用本发明的膜，特别是带有脂族含氮基团者进行有效地处理。

根据本发明的分离热原的方法可取决于热原的浓度。如可用具有一般厚度的膜有效地处理有相对低热原含量的液体(如 500*EU/ml*)。可用厚膜或限阈膜处理有高热原含量的液体，其中利用膜的适当孔径使热原在有较高浓度的液体给进侧得到有效地分离，然后在有较低浓度 的排出侧经吸附导致分离。这就是一种处理的两种分离方式。不必进行预处理。

与具有凝胶结构的颗粒吸附剂相反，本发明的分离膜是具有多

孔结构的膜形式的。因此，使液体与分离工具接触的装置不是装在柱内，而是在膜组件内。在这种情况下，液体渗透期间所遇到的阻力主要是膜阻力，并可克服因颗粒流动引起的压力降低。膜阻力的不同取决于膜的孔径和厚度等因素，而后者则是根据被处理的液体不同而改变的。但因为膜能够耐受当用作精细过滤膜和超滤膜时所遇到的压力，所以不需要使用特殊的抗压装置。另外，即使将其用作在某区域提供较高压力的 *RO* 膜时，也可能赋予膜本身以足够的抗压能力。

因此，本发明的膜可通过降低液体渗透抗性并增加压力抗性而解决呈凝胶结构之颗 粒状吸附剂的问题。而且这种膜结构所达到的效果还不止这些。下面将通过计算实例说明本发明用小型除热原装置处理大量液体的效果。

当用 1 升具有凝胶结构的颗粒吸附剂装柱时，如在大约 $1Kg/cm^2G$ 压力下处理液体，则液体给进速率一般高达 3 至 $10L$/小时。本发明的吸附剂中，可在体积为 1 升组件内提供 1 至 $2m^2$ 的膜面积。因此，当渗透速 率为 $50L/m^2$ · 小时，液体给进速率为 50—100L/小时时，使用有同样体积的装置可使通过量比用颗粒吸附剂增加大约 10 倍。当工作压力进一步增加时，可望使通过量增加 100 倍。

如上所述，本发明的分离膜不仅在容积效变率方面，而且在可达到的热原浓度及去除百分率等方面均具有极好的分离能力。本发明的分离膜能获得好的膜分离效果，是因为它是呈膜形式的，从而提高

了它作为吸附剂的功能。上述效果使本发明适用于从含有有很宽分子量范围之药物(如蛋白质)的溶液中,以高效率选择性地分离并除去对含氮环形化合物(包括热原和核酸(*DNA*,*RNA*))有亲合性的物质。

下列实施例中的"*Wet*"是指"湿重"。

实施例1:含有含氮脂肪链之*PVA*膜的制备

用环氧树脂将聚乙烯醇(*PVA*)空心纤维膜(*Kuraray SF*—401;孔大小约0.1*μm*、内径为330*μm*、膜厚度为125*μm*、有效长度为5.5*cm*的均质膜)固定在玻璃管中,以制备小型组件。然后使用依上述方法制备的组件按步骤(1)到(5)的次序,使空心纤维膜与液体接触,以使膜经受包括构成膜之材料的化学反应在内的各种处理,从而制得本发明的*AH*—*PVA*膜吸附剂。在该例中、借助在空心纤维膜外以20至50*ml*/分钟的流速循环液体,使膜与液体接触。借助在水浴中浸渍组件以调整温度。

(1)洗涤(1*M NaCl*,纯水);(2)环氧化(60℃ 在90*ml* 1*N NaOH*中;再加入10*ml*表氯醇并使该体系于上述温度下保持2小时);(3)洗涤(纯水);(4)间隔基结合(40*ml* 0.625% 六亚甲基二胺溶液,60℃,2小时)(5)洗涤(纯水)。制成吸附剂的*AH*—*RVA*膜。

实施例2:含组氨酸之*PVA*膜的制备

按下述程序处理实施例1中制得的*AH—PVA*膜；(6)环氧化(同步骤(2)中所述条件)；(7)洗涤(纯 水)；(8)组氨酸(*His*)固定(40*ml* 1*mM His*；*pH*13，60℃，2小时)；(9)洗涤(1*M NaCl*，纯水)；及(10)使膜本身没有热原(0.2*N NaOH* 在20%乙醇中作为溶剂)。

如此制得作为本发明之吸附剂的含固定之组氨酸的膜(*His PVA* 膜)。

对*AH—PVA* 和*His PVA* 膜的元素分析值(%)，连同*PVA* 膜的相应数值(%)显示如下。

样品	碳	氢	氮
PVA 膜(作为原料)	55.14	7.92	0.02
AH—PVA 膜	54.92	8.00	0.17
His PVA 膜	54.27	7.87	0.40

实施例3：热原的去除

42*ml* 含热原的水通过实施例2得到的*His PVA* 膜循环，上述水中热原来自大肠杆菌：*B*4，1*ng* 或5.5*EU*，浓度为550*EU*/*ml*，所说的膜面积为1.7cm^2，使之以13*ml*/分钟流速掺入小型组件，并借助加压蒸煮器将膜渗透速 率调 到0.2*ml*/分钟(70升/m^2·小时)。提供压力约为0.2*Kg*/cm^2G。使用*Limulus ES—test*、*Wako*(商品名)和*Toxinometer— ET—*201(均为*Wako Pure Chemical Industries* 公

司产品)测定渗透之液体中的热原浓度。

当渗透的液体量为22*ml*时，热原浓度和热原去除百分率分别为0.055*EU/ml*和99.99%。即使使用含热原浓度为5000*EU/ml*的待处理的水，热原浓度也可下降到0.5*EU/ml*或更低。

为了进行比较，使用如实施例1中作为制备吸附剂的起始材料所使用的同样*PVA*空心纤维膜小型组件进行同样试验。用通常膜分离得到的渗透水的热原浓度和热原去除百分率分别为99*EU/ml*和82%。

实施例4

进行实施例3中所示的同样处理，不同是使用实施例1中制得的*AH—PVA*膜及下述条件：液体量为50*ml*，热原浓度为3300*EU/ml*。当渗透之液体的量为25*ml*时，热原浓度和去除程度分别为0.33*EU/ml*和99.99%。使用同样的*PVA*空心纤维膜作比较试验，结果去除程度和热原浓度分别为81%和627*EU/ml*。

实施例5：含组氨酸之*MFC*的制备

使用木浆作原料，并将180g(湿重)4%微纤维化纤维素(已使用高压匀浆器〔*Daicel Chemical Industries*公司的产品)使其直径减小到约0.4*μm*)的悬浮液悬浮在270*ml*水中。向其中加入117*ml* 2*N*氢氧化钠水溶液和27*ml*表氯醇，并将混合物40℃下搅拌2小

时。反应完成后，过滤混合物并用水洗残留物，以制得环氧化的*MFC*。

将20g(湿重)环氧化的*MFC*悬浮在120*ml* 0.625%六亚甲基二胺水溶液中并于60℃下搅拌2小时。反应完成后，过滤混合物并用水洗残留物以制得氨基己基化的*MFC*(*C*:41.9%*N*:0.22%，*H*:6.33%；下文称之为"*AH—MFC*")再次用氢氧化钠水溶液和表氯醇环氧化*AH—MFC*，以制得环氧化的*AH—MFC*。将环氧化的*AH—MFC*悬浮在60*ml* 1*mM*组氨酸(*His*)溶液中，用1*N*氢氧化钠将悬浮液的*pH*调到13，并于60℃下搅拌2小时。反应完成后，过滤混合物并用1*M*盐水洗残留物，得到21g(湿重)含有已固定之组氨酸的*MFC*(*His MFC*)(*C*:42.19%*N*:1.99%，*H*:6.44%)

实施例6：片层膜的制备

3.8g短芳族聚酰胺纤维(直径20至24*μm*，长度3*mm*)与800*ml*纯水混合，并借助混合器使之混合均匀。然后向其中加入21g实施例3中制备的*His MFC*，44.1g(湿重)直径为0.4*μm*的微纤维化芳族聚酰胺纤维的3%水悬浮液、12g热交联的聚酰胺树脂粘结剂和300*ml*水，并搅拌之。通过80目金属纱网得到混合的淤浆。压榨所得片层并在热平板上干燥，制得含*His MFC*的微滤膜(210×260×0.2*mm*)。该微滤膜含有作为基质材料的纤维素，并通过间隔基结合有组氨酸，其为与其他纤维一起成形的片层膜形式的热原

吸附剂(组氨酸含量：约1%)。由对0.5μm聚苯乙烯颗粒有20%抑制率可以看出，孔径大小为微米数量级的。

实施例7：借助片层膜吸附剂除去热原

按13mm直径剪下实施例6中制得的含*His MFC*的微滤膜，并作为片层膜固定在支架内。在以流速为0.12ml/分钟(54升/m^2·小时)的通过膜吸附剂的压力下过滤含88000EU/ml热原的10ml未处理的水(同实施例3所述者)。如此得到透过之液体的热原浓度和去除百分率分别为1100EU/ml和99%。可以证实，进一步渗透基本上同样量的未处理水，不会引起热原浓度的明显增加。同时也可以证实，当渗透速率增加约10倍时(即增至450L/m^2·小时)，在渗透基本上同样量未处理的水期间，已渗透的液体中热原浓度会迅速增加。

当按实施例4所述同样方法，并用*MFC*代替*His MFC*进行试验时，发现已渗透水中热原浓度为84700EU/ml，即是说对热原去除没有明显影响。

实施例8：生理盐水的处理

用实施例4所述的*AH—PVA*膜(面积1.7cm^2)处理含4630EU/ml热原的0.9%盐水($\mu=0.15$)，结果得到热原浓度为0.08EU/ml，去除程度为99.998%。相比之下，用*PVA*膜得到热原浓

度为 1120*EU/ml*，去除程度为 76%。

实施例 9：处理分子量约为 12,500 的细胞色素 *C*

按实施例 4 中所示同样方法，用实施例 1 的、有效表面积为 50 cm^2 的膜处理含 1130*EU/ml* 热原的 200*ml*10.0%细胞色素 *C*（*pH* 9.0，μ0.02）。循环速率为 100*ml*/分钟，回流速率为 4.5*ml*/分钟。结果表明已处理液体中热原含量为 0.23*EU/ml*，去除程度为 99.98%，且细胞色素 *C* 含量为 10.0%。兔试验结果为阴性。与之相比，使用 *PVA* 膜时去除程度为 45%，热原含量为 622*EU/ml*。

实施例 10：处理人血清白蛋白（*HSA*）

用实施例 9 的 *AH—PVA* 膜组件处理含 85*EU/ml* 热原的 100*ml* 20%*HSA*（*pH*6.5，μ 0.07），结果是热原含量为 0.84*EU/ml*，清除程度为 99%。与之相比，用 *PVA* 膜所作试验结果是热原含量为 75*EU/ml*，去除程度为 12%。

实施例 11：处理 *HSA*

按实施例 3 的同样方法，用实施例 2 的、有效表面积为 50cm^2 的 *His—PVA* 膜处理约 100*ml* 含 2.54*EU/ml* 热原、离子强度（μ）为0.02（*pH*5.2）除菌的 5%*HSA* 水溶液，其中循环速率为 100*ml*/分钟，渗透速率为 4.5*ml*/分钟。结果在渗透的液体量为 50*ml* 时，热原含

量为 0.09*EU/ml*，去除程度为 96.5%。兔试验结果为阴性，显示放热温度(℃)在 0.29 和 0.43 之间。相比之下，使用 *PVA* 膜时得到热原含量为 1.83*EU/ml*，去除程度约为 28%。