



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103974766 A

(43) 申请公布日 2014. 08. 06

(21) 申请号 201280045238. 5

(22) 申请日 2012. 09. 17

(30) 优先权数据

11181412. 5 2011. 09. 15 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 03. 14

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2012/068198 2012. 09. 17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/037994 EN 2013. 03. 21

(71) 申请人 因思特艾克申有限公司

地址 德国曼海姆

(72) 发明人 M·阿伦特 B·德格尔 T·施瓦茨

G·斯图姆 M·韦尔泰尔

(74) 专利代理机构 北京博华智恒知识产权代理
事务所(普通合伙) 11431

代理人 樊卫民 祝妍

(51) Int. Cl.

B01J 20/32(2006. 01)

B01J 20/288(2006. 01)

B01J 20/286(2006. 01)

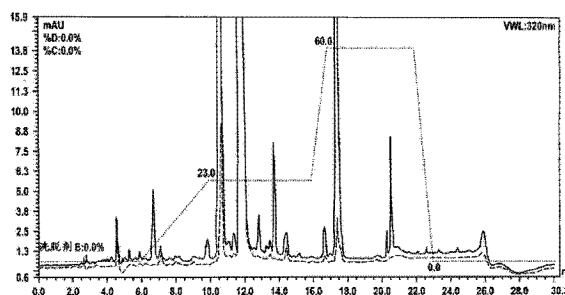
权利要求书3页 说明书26页 附图16页

(54) 发明名称

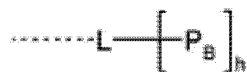
用于有机分子提纯、表面上具有正离子或质子化脂族残基的吸附剂

(57) 摘要

本发明涉及一种具有固体支承材料的吸附剂,所述吸附剂的表面具有如通式(I)的残基,其中所述残基通过共价单键连接到位于固体支承材料表面上的聚合物膜表面的官能团或者本体固体支承材料本身表面上的官能团。而且,本发明涉及所述吸附剂的用途,优选在色谱应用方面,其用于有机分子尤其是药学活性化合物的提纯。本发明涉及一种具有固体支承材料的吸附剂,所述固体支承材料的表面具有如通式(I)的残基,其中所述残基通过共价单键连接到位于固体支承材料表面上的聚合物膜表面上或者本体固体支承材料本身表面上的官能团。而且,本发明涉及所述吸附剂的用途,优选在色谱应用方面,其用于有机分子尤其是药学活性化合物的提纯。



1. 一种具有固体支承材料的吸附剂,所述吸附剂的表面具有如下通式(I)的残基,



通式(I)

其中所述残基通过通式(I)中虚线所示的共价单键连接到位于固体支承材料表面上的聚合物膜表面上的官能团或者本体固体支承材料本身表面上的官能团;以及

其中所用符号和标记具备以下含义:

L为具有1到30个碳原子的(h+1)价直链脂肪烃基或具有3到30个碳原子的(h+1)价支链烃基或脂环烃基,

其中,

所述基团中的一个或多个 CH_2 -部分被 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、O、S或 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 取代,以及一个或多个氢原子可以由D、F、Cl、或OH取代,优选OH;

P_B 为有机正离子基或有机质子化基;

h为代表结合于L的 P_B -部分个数的指数,且h为1、2或3;

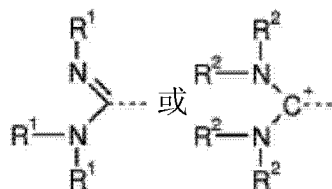
条件是,如果L代表共价单键,则h为1并且 P_B 通过所述 P_B 基团的碳原子结合于上述官能团。

2. 如权利要求1所述的吸附剂,其中 P_B 为含有至少一个氮原子为胺形式的基团。

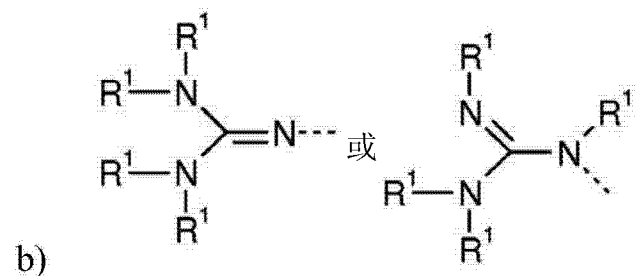
3. 如权利要求2所述的吸附剂,其中所述胺为伯、仲、叔或季胺。

4. 如权利要求3所述的吸附剂,其中 P_B 为以下基团之一:

a)



其中, R^1 在每处独立地代表H或 C_{1-6} 烷基,并且 R^2 在每处独立地代表 C_{1-6} 烷基;



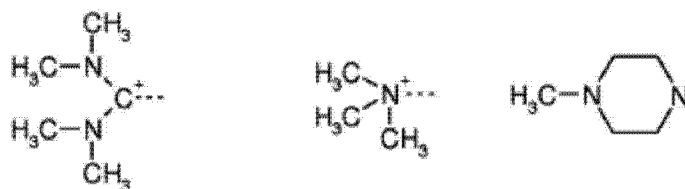
其中, R^1 在每处独立地代表H或 C_{1-6} 烷基;并且其中基团 $\text{N}(\text{R}^1)_2$ 中的各个 R^1 可以与其它基团的各个 R^1 一起独立地构成 $-(\text{CH}_2)_p-$ 单元,其中p为2、3、4或5;

c) $-\text{N}(\text{R}^3)_2$ 或 $-\text{N}(\text{R}^3)_3^+$,其中 R^3 为H、 C_{1-6} -烷基、单或多环芳环体系、或单或多环杂芳环体系;

d) 吡咯烷、哌啶、吗啉或哌嗪,在4-位被 R^3 取代, R^3 的定义与c)项中的相同;以及

e) $-\text{NH}-(\text{C}_{1-6}\text{-亚烷基})-\text{NH}_2$ 。

5. 如权利要求4中所述的吸附剂,其中 P_B 为以下所述基团之一:



6. 如权利要求 1 到 5 中任一项所述的吸附剂, 其中 L 选自由如下基团构成的组:

共价单键、

-(C₁₋₆-亚烷基)-、

-(C₁₋₆-亚烷基)-CH(OH)-(C₁₋₆-亚烷基)-、

-(C₁₋₆-亚烷基)-X-(C₁₋₆-亚烷基)-, 其中 X 为 O、S 或 -S(O)₂-、

-(C₁₋₃-亚烷基)-CH(OH)-(C₁₋₃-亚烷基)-O-(C₁₋₆-亚烷基)-O-(C₁₋₃-亚烷基)-CH(OH)-(C₁₋₃-亚烷基)-、

-C(O)-、

-C(O)-(C₁₋₆-亚烷基)-、

-C(O)-(C₁₋₃-亚烷基)-CH(OH)-(C₁₋₃-亚烷基)-、

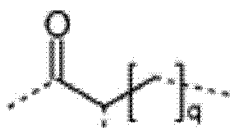
-C(O)-CH(NHC(O)O-(C₁₋₆-烷基))-(C₁₋₆-亚烷基)-、

-C(O)-(C₁₋₆-亚烷基)-C(O)-、

-C(O)-(C₁₋₆-亚烷基)-C(O)-NH-、

-C(O)-(C₁₋₆-亚烷基)-C(O)-NH-(C₁₋₆-亚烷基)-、

-C(O)-(C₁₋₆-亚烷基)-NH-C(O)-(C₁₋₆-亚烷基)- 以及

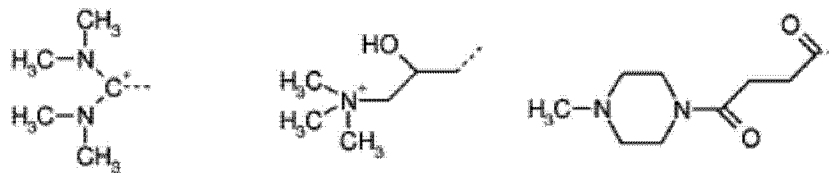


其中, q 为 1、2、3、4、5、6、7 或 8,

其中, 所述虚线或自由端线代表与上述固体支承材料的官能团或所述聚合物膜的官能团、及 P_B 的官能团连接的键。

7. 如权利要求 1 到 6 中任一项所述的吸附剂, 其中 h 为 1。

8. 如权利要求 1 到 7 中任一项所述的吸附剂, 其中所述通式(I) 残基为以下之一:



9. 如权利要求 1 到 8 中任一项所述的吸附剂, 其中所述吸附剂包括两个以上不同的通式(I) 残基。

10. 如权利要求 1 到 9 中任一项所述的吸附剂, 其中所述固体支承材料的表面由一种聚合物膜覆盖, 所述聚合物包括彼此共价交联的单独链段或由彼此共价交联的单独链段构成, 但所述单独链段未共价结合于所述固体支承材料的表面。

11. 如权利要求 10 所述的吸附剂, 其中所述聚合物为聚胺、聚乙烯胺、或含有聚胺的共聚物或共混聚合物。

12. 如权利要求 1 到 11 中任一项所述的吸附剂在有机分子提纯上的应用。
13. 如权利要求 12 所述的应用,其中所述有机分子包括一个或多个负离子或去质子化基团、和 / 或多个羟基或氯基。
14. 如权利要求 12 或 13 所述的应用,其中所述有机分子的分子量范围为 100 到 200000g/mol。
15. 如权利要求 12 到 14 中任一项所述的应用,其中所述有机分子选自由紫杉醇、10- 去乙酰 - 浆果赤霉素 III、孟鲁司特、多烯紫杉醇、舒更葡糖、喷他霉素、氟可龙、它们的衍生物、以及内毒素组成的组。

用于有机分子提纯、表面上具有正离子或质子化脂族残基的吸附剂

技术领域

[0001] 本发明涉及一种具有固体支承材料的吸附剂,所述吸附剂的表面具有如通式 (I) 的残基,其中所述残基通过共价单键连接到位于固体支承材料表面上的聚合物膜表面的官能团或者本体固体支承材料本身表面上的官能团。而且,本发明涉及所述吸附剂的用途,优选在色谱应用方面,其用于有机分子尤其是药学活性化合物的提纯。

背景技术

[0002] 根据一个或多个以下与试样可能的反应模式,对用于有机分子以及生物分子的色谱介质进行传统分类。

[0003] - 疏水性反应(反相)

[0004] - 亲水性反应(正相)

[0005] - 阳离子交换

[0006] - 阴离子交换

[0007] - 体积排阻

[0008] - 金属离子螯合

[0009] 通过植物提取或动物性或化学合成等方式提供新化合物往往要求提供新色谱材料、现有色谱材料的进一步研发、或者简单廉价的化合物提纯新方法。即,一直需要高度选择性下游提纯新技术,其能够在相同条件下无需扩大所需液体容积而大规模地处理。

[0010] 对于给定的分离问题以上类别色谱的传统步骤应用得到的结果是每个阶段在产品纯度一步步地稳定提高的同时将导致产品损失,最后严重累积,更不用说操作时间和商品成本。将连续系列的顺序色谱步骤缩减为仅一个已经被多次证明,因此将早期阶段的亲和和色谱引入下游工艺中会解决这个问题。从化学的观点来看,尽管亲和色谱是基于上述的相同反应模式,但通常是基于两个以上的模式的组合,亲和色谱有时被视为它自身的类别。通过采用亲和色谱,在分析物和吸附剂之间的特定反应可以在分析物和结合于色谱材料基质表面上的活性残基之间、以及在分析物和上述基质自身表面特性之间得到证实。

[0011] 亲和色谱大多数采用整体凝胶相树脂。优秀的凝胶成型材料为中等-交联多糖、聚丙烯酰胺、以及聚(乙烯氧)。此类水凝胶一般确保相容性界面,由于其软度(变形挠性、弹性模数)、大孔体系、高极性以及高含水量以及无反应性或者变性化学基团,所述界面能够很好地容纳所述配位体的活性残基和与之反应的分析物。它们能够保有分析物(诸如蛋白质)于其自然状态,即保持它们正确折叠三维结构、连接状态、以及功能整体性,或者不会以化学方式改变复杂药学活性化合物的结构。但是,由于在施加压力的情况下会被压缩并且不能耐受因搅拌、柱填充或高液流速率导致的剪切应力,这些介质的机械耐性要远弱于无机支承材料。因此,与剧烈的 HPLC 处理条件完全相容的亲和吸附剂是非常少的。

[0012] 仅仅在不久之前,发现固定相的机械耐性是上述吸附剂支承体的主体性质,而仅仅是固定相和流动相之间界面上的薄层负责物质交换及与生物性分析物的反应。因此,结

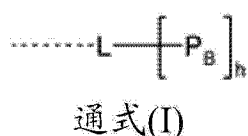
合了机械性能极硬和尺寸稳定性、多孔三维核以及生物相容、凝胶状界面层功能的概念被提出,上述凝胶状界面层运载上述活性残基用于结合上述分析物,并且相关的合成问题已经得到技术性解决。此类混合材料采用了在无机氧化物或紧密交联的低极性聚合物的基体上松散交联的高极性聚合物。

发明内容

[0013] 本发明的目的在于提供一种色谱用新吸附剂,即使是在应用于考虑机械应力或洗脱剂的溶液性质的情况下需要材料的高稳定性的色谱时,该吸附剂也能简单廉价地提纯有机分子。

[0014] 本发明提供一种具有固体支承材料的吸附剂,所述吸附剂的表面具有如以下通式(I)的残基,

[0015]



[0016] 其中所述残基通过通式(I)中虚线所示的共价单键连接到位于固体支承材料表面上的聚合物膜表面的官能团或者本体固体支承材料本身表面上的官能团;以及

[0017] 其中所用符号和标记具备以下含义:

[0018] L为具有1到30个碳原子的(h+1)价直链脂肪烃基或具有3到30个碳原子的(h+1)价支链烃基或脂环烃基,

[0019] 其中,

[0020] 所述基团中的一个或多个CH₂-部分可以被-C(O)-、-C(O)NH-、O、S或-S(O)₂-取代,以及

[0021] 一个或多个氢原子可以由D、F、Cl、或OH取代,优选OH;

[0022] P_B代表有机正离子基或有机质子化基;

[0023] h是代表结合于L的P_B-部分数量的指数,并为1、2或3,更优选1或2,最优选1;

[0024] 条件是,如果L代表共价单键,h为1并且P_B通过所述P_B基团的碳原子结合于上述官能团。

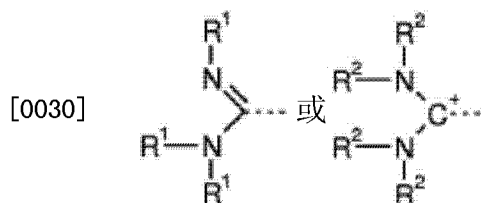
[0025] 在一个实施方式中,更优选地,本发明吸附剂中通式(I)的残基连接到位于固体支承材料表面上的聚合物膜表面上的官能团。

[0026] P_B基团为有机正离子基或质子化基团,即能够在溶液中变成正离子基。优选地,在水溶液pH的范围为6到8时,该基团为正离子形式,即质子化形式。对于术语有机基团,可以认为不仅是含有氢和碳原子的基团,还可以是包括氮及氢的基团,诸如胺。本发明吸附剂的表面上存在所述正离子或质子化基团,保证提高所述吸附剂与具有多个羟基或氯基或具有负离子或去质子化基团的待提纯化合物的结合能力。

[0027] 进一步优选,基团P_B为含有至少一个胺形式的氮原子的基团。所述胺为伯、仲、叔或季胺。在仲、叔或季胺的情况下,所述残基优选为C₁₋₆烷基。

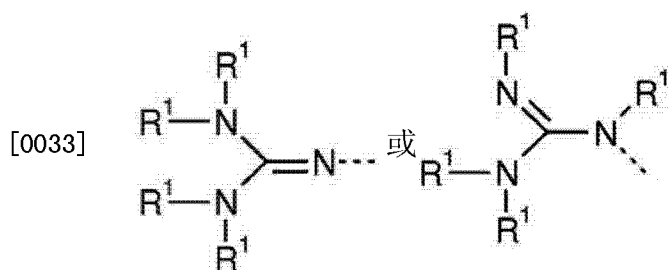
[0028] 基团P_B优选以下基团之一:

[0029] a)



[0031] 其中, R^1 在每处独立地代表 H 或 C_{1-6} 烷基, 优选为 H 或 CH_3 , 及更优选每个 R^1 具有相同含义, 并且 R^2 在每处独立地代表 C_{1-6} 烷基, 优选 CH_3 , 及更优选每个 R^2 具有相同含义;

[0032] b)



[0034] 其中, R^1 在每处独立地代表 H 或 C_{1-6} 烷基; 并且其中基团 $N(R^1)_2$ 中的 R^1 可以与其它基团的每个 R^1 一起构成 $-(CH_2)_p-$ 单元, 彼此不同, 其中 p 为 2、3、4 或 5;

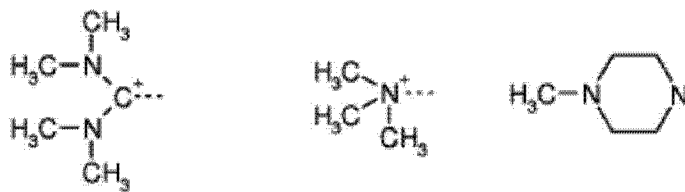
[0035] c) $-N(R^3)_2$ 或 $-[N(R^3)_3]^+$, 其中 R^3 为 H、 C_{1-6} -烷基、单-或多环芳环体系或单-或多环杂芳环体系;

[0036] d) 吡咯烷、哌啶、吗啉或哌嗪, 在 4-位被 R^3 取代, R^3 具有 c) 项相同的含义, 更优选哌嗪, 并且最优选 R^3 为 $-CH_3$ 或苯基的哌嗪;

[0037] e) $-NH-(C_{1-6}-\text{亚烷基})-NH_2$, 其中更优选 $-NH-(CH_2)_n-NH_2$, $n=1、2、3、4、5$ 或 6。

[0038] 在本发明中, 所述基团 P_B 优选为以下基团中的一个:

[0039]



[0040] 具有 1 到 30 个碳原子的 $(h+1)$ 价直链脂肪烃基或具有 3 到 30 个碳原子的 $(h+1)$ 价支链或脂环烃基优选为以下基团之一: 亚甲基、亚乙基、正亚丙基、异亚丙基、正亚丁基、异亚丁基、仲亚丁基 (1-甲基亚丙基)、叔亚丁基、异亚戊基、正亚戊基、叔亚戊基 (1, 1-二甲基亚丙基)、1, 2-二甲基亚丙基、2, 2-二甲基亚丙基 (新亚戊基)、1-乙基亚丙基、2-甲基亚丁基、正亚己基、异亚己基、1, 2-二甲基亚丁基、1-乙基-1-甲基亚丙基、1-乙基-2-甲基亚丙基、1, 1, 2-三甲基亚丙基、1, 2, 2-三甲基亚丙基、1-乙基亚丁基、1-甲基亚丁基、1, 1-二甲基亚丁基、2, 2-二甲基亚丁基、1, 3-二甲基亚丁基、2, 3-二甲基亚丁基、3, 3-二甲基亚丁基、2-乙基亚丁基、1-甲基亚戊基、2-甲基亚戊基、3-甲基亚戊基、环亚戊基、环亚己基、环亚庚基、环亚辛基、2-乙基亚己基、三氟亚甲基、五氟亚乙基、2, 2, 2-三氟亚乙基、亚乙烯基、亚丙烯基、亚丁烯基、亚戊烯基、环亚戊烯基、亚己烯基、环亚己烯基、亚庚烯基、环亚庚烯基、亚辛烯基或环亚辛烯基, 其中

[0041] 所述基团中的一个或多个 CH_2- 部分被 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、O、S 或 $-S(O)_2-$ 取代, 并

且一个或多个氢原子可以由 D、F、Cl、或 OH 取代, 优选 OH 取代。

[0042] 进一步优选, - 如果取代 -, L 的仅一个或两个 CH_2 - 部分由 $-\text{C}(\text{O})$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、O、S 或 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 取代, 更优选两个 CH_2 - 部分被 $-\text{C}(\text{O})-$ 取代, 其优选不直接彼此邻接。有这样含杂原子的部分的优势在于在这些部分和所述待提纯的化合物之间形成氢键, 因此提高了结合强度和提纯能力。

[0043] 进一步优选, - 如果取代 -, L 的仅一个氢原子由 D、F、Cl、或 OH 取代, 优选由 OH 取代, 因为 OH 能形成氢键。

[0044] 优选地, L 为具有 1 到 20 个碳原子, 更优选 1 到 10 个碳原子的 (h+1) 价直链脂肪烃基或具有 3 到 20 个碳原子, 更优选 3 到 10 个碳原子的 (h+1) 价支链或脂环烃基, 其中所述基团中的一个或多个 CH_2 - 部分可以被 $-\text{C}(\text{O})$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、O、S 或 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 取代, 并且一个或多个氢原子可以由 D、F、Cl、或 OH, 优选由 OH 取代。

[0045] L 作为二价连接单元的优选实例如下:

[0046] 共价单键,

[0047] $-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-$,

[0048] $-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-\text{CH}(\text{OH})-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-$,

[0049] $-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-\text{X}-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-$, X 为 O、S 或 $-\text{S}(\text{O})_2-$,

[0050] $-(\text{C}_{1-3}-\text{亚烷基})-\text{CH}(\text{OH})-(\text{C}_{1-3}-\text{亚烷基})-\text{O}-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-\text{O}-(\text{C}_{1-3}-\text{亚烷基})-\text{CH}(\text{OH})-(\text{C}_{1-3}-\text{亚烷基})-$,

[0051] $-\text{C}(\text{O})-$,

[0052] $-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-$,

[0053] $-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_{1-3}-\text{亚烷基})-\text{CH}(\text{OH})-(\text{C}_{1-3}-\text{亚烷基})-$,

[0054] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}(\text{NHC}(\text{O})\text{O}-(\text{C}_{1-6}-\text{烷基}))-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-$,

[0055] $-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-\text{C}(\text{O})-$,

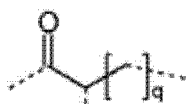
[0056] $-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$,

[0057] $-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-$ 以及

[0058] $-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_{1-6}-\text{亚烷基})-$ 。

[0059] 当 L 为三价连接单元, 其优选如下通式:

[0060]



[0061] 其中, q 为 1、2、3、4、5、6、7 或 8。

[0062] L 作为二价连接单元的优选实例如下:

[0063] 共价单键,

[0064] $-(\text{CH}_2)_2-$,

[0065] $-(\text{CH}_2)_4-$,

[0066] $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$,

[0067] $-(\text{CH}_2)_2-\text{S}(\text{O})_2-(\text{CH}_2)_2-$,

[0068] $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$,

[0069] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-$,

- [0070] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$,
[0071] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}(\text{CH}_3)-$,
[0072] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$,
[0073] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}(\text{NHC}(\text{O})\text{O}-(\text{异丁基}))- \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$,
[0074] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$,
[0075] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$,
[0076] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 以及
[0077] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}(\text{叔丁基}))-$ 。

[0078] 最优选 L 为以下单元之一：

- [0079] 共价单键，
[0080] $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$,
[0081] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$ (优选通过 $\text{C}(\text{O})-$ 基团结合于支承材料) 或
[0082] $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$,

[0083] 其中, 在所有以上 L 的定义中, 所述虚线或自由端线表示与所述固体支承材料的官能团或聚合物膜及 P_B 的官能团结合的键, 并且其中在所有以上列出的连接 L 中, 优选首次提到的具有一个自由端线的原子于此位置连接到所述固体支承材料。

[0084] 根据本发明, C_{1-6} -烷基为直链、支链或环烷基。直链烷基优选具有 1 到 6 个、更优选 1 到 3 个碳原子。支链或环烷基优选具有 3 到 6 个碳原子。这些烷基的一个或多个氢原子可以被氟原子取代。而且, 一个或多个 CH_2- 基团可以被 NR 、 O 或 S (R 优选为 H 或 C_{1-6} -烷基) 取代。如果一个或多个 CH_2 基团被 NR 、 O 或 S 取代, 则优选这些基团中的仅一个被取代; 更优选被一个 O 原子取代。这些化合物的实例如下: 甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、2-甲基丁基、正戊基、仲戊基、环戊基、正己基、环己基、正庚基、环庚基、正辛基、环辛基、2-乙基己基、三氟甲基、五氟乙基以及 2, 2, 2-三氟乙基。

[0085] C_{1-6} -亚烷基或 C_{1-3} -亚烷基的定义如上述的烷基, 其中一个氢原子缺位, 并且所得二价单元具有两个键。

[0086] 对于本发明而言, 单-或多环芳环体系优选具有 6 到 28 个碳原子作为芳环原子。对于术语“芳环体系”, 可以认为该体系不一定必须仅含有芳香基, 而且体系中超过一个芳香单元可以通过短的非芳香单元连接或间断 (<10% 的原子不同于 H , 优选 <5% 的原子不同于 H), 诸如 sp^3 杂化 C 、 O 、 N 等或 $-\text{C}(\text{O})-$ 。这些芳环体系可以为单-或多环, 即它们可包括一个 (例如苯基) 或两个 (例如萘基) 或多个 (例如联苯) 芳环, 所述芳环可以是稠合或非稠合的, 或者, 这些芳环可为稠合及共价连接的环。所述环体系的芳环原子可由 D 、 F 、 Cl 、 OH 、 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷氧基、 NH_2 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{B}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{CN}$ 或 $-\text{NC}$ 取代。

[0087] 优选芳环体系实例为苯基、联苯、三苯基、萘基、蒽基、联萘、菲基、二氢菲基 (dihydrophenanthryl)、苳、二氢苳 (dihdropyrene)、蒽、苳、苳、并四苯、并五苯、苯并苳、苳、苳、和二茂铁基。

[0088] 进一步优选, 所述单或多环芳环体系具有 6 到 14 个芳环原子, 其可以为取代或未取代。即环体系更优选为苯基、萘基、蒽基、或苳基, 其可以为取代或未取代。

[0089] 对于本发明而言, 单-或多环杂芳环体系优选是具有 5 到 28 个、优选 5 到 14 个芳环原子的芳环体系。所述杂芳环体系含有至少一个选自 N 、 O 、 S 和 Se (其余原子为碳) 中的

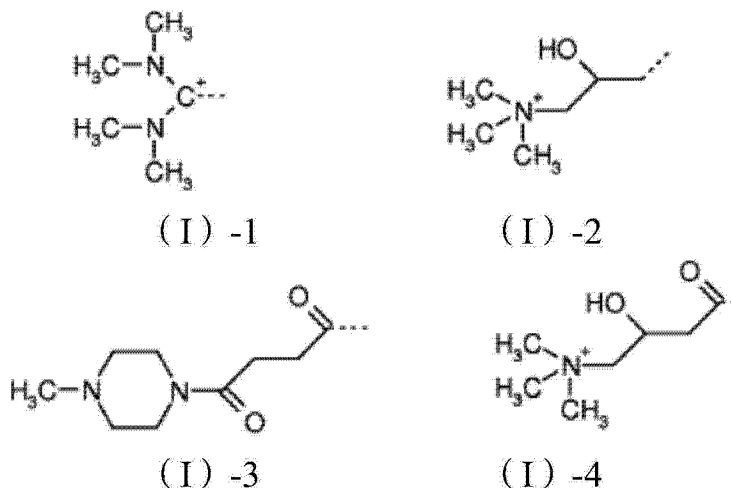
杂原子。对于术语“杂芳环体系”，可以认为该体系不一定必须仅含有芳香基和/或杂芳基，而且体系中超过一个(杂)芳香单元可以通过短的非芳香单元连接或间断(<10%的原子不同于H，优选<5%的原子不同于H)，诸如 sp^3 杂化C、O、N等或 $-C(O)-$ 。这些杂芳环体系可以为单-或多环，即它们可包括一个(例如吡啶基)或两个以上芳环，所述芳环可以是稠合或非稠合的，或者，这些芳环可为稠合及共价连接的环。

[0090] 优选杂芳环体系例如为五元环，诸如吡咯、吡唑、咪唑、1,2,3-三唑、1,2,4-三唑、四唑、呋喃、噻吩、硒吩、噁唑、异噁唑、1,2-噻唑、1,3-噻唑、1,2,3-噁二唑、1,2,4-噁二唑、1,2,5-噁二唑、1,3,4-噁二唑、1,2,3-噻二唑、1,2,4-噻二唑、1,2,5-噻二唑、1,3,4-噻二唑、六元环如吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、1,3,5-三嗪、1,2,4-三嗪、1,2,3-三嗪、1,2,4,5-四嗪、1,2,3,4-四嗪、1,2,3,5-四嗪、或稠合基、例如吲哚、异吲哚、吲哚嗪、吡啶并咪唑、吡嗪并咪唑(pyrazinimidazole)、喹噁啉咪唑(chinoxalinimidazole)、苯并噁唑、萘噁唑、蒽并噁唑、菲并噁唑、异噁唑、苯并噻唑、苯并呋喃、异苯并呋喃、二苯并呋喃、喹啉、异喹啉、蝶啶、苯并-5,6-喹啉、苯并6,7-喹啉、苯并7,8-喹啉、苯并异喹啉、吡啶、吩噻嗪、吩噻嗪、苯并哒嗪、苯并嘧啶、喹噁啉、吩嗪、萘啶、氮杂呋唑(azacarbazole)、苯并呋啉(benzocarboline)、菲啶、邻二氮菲、噻吩并[2,3b]噻吩、噻吩并[3,2b]噻吩、二噻吩并噻吩、异苯并噻吩、二苯并噻吩、苯并噻二唑噻吩或它们的组合，更优选咪唑、苯并咪唑和吡啶。

[0091] 通式(I)的残基优选为L的优选及最优选实例与 P_B 最优选实例的所有组合。

[0092] 但是，进一步优选通式(I)的残基为如下之一：

[0093]



[0094] 本发明吸附剂进一步包括其它残基，其中所述其它残基通过共价单键连接于官能团上，所述官能团位于主体固体支承材料本身的表面上，或者，优选地，取决于所述固体支承材料包括聚合物膜与否，所述官能团位于固体支承材料表面的聚合物膜的表面上。

[0095] 所述其它残基为可与所述分析物反应的任意残基。优选地，所述其它残基还可以是通式(I)的残基，其不同于所述通式(I)的第一残基。换言之，本发明吸附剂可包括至少两种通式(I)的残基。

[0096] 但是，不是在每种情况下，本发明吸附剂都必须包括超过一种残基，即在一个实施方式中本发明吸附剂不包括通式(I)的第一残基之外的其它残基。在这种情况下，通式(I)

的残基优选通式(I)-1、(I)-2、(I)-3 或(I)-4 中之一。

[0097] 在一种实施方式中,本发明吸附剂包括至少两种通式(I)的不同残基。在本实施方式中,进一步优选,所述两种不同残基选自通式(I)-1、(I)-2、(I)-3 或(I)-4 中的两个残基。最优选本发明吸附剂包括通式(I)-1 的残基和通式(I)-2 的残基。

[0098] 通式(I)-1 的残基和通式(I)-2 的残基的摩尔比范围优选为 5:1 到 35:1,更优选 15:1 到 30:1,最优选 20:1 到 25:1,其中所述残基量通过元素分析来计算。

[0099] 所述固体支承材料优选为大孔材料。所述固体支承材料的孔径优选至少 6nm,更优选 20 到 400nm,并且最优选 50 到 250nm。孔径处于这个范围对于确保足够高的提纯能力是重要的。如果所述孔径超出以上高限,在表面上必定交联的聚合物越多,导致聚合物韧性不够。人们认为,所述结合基团可能无法进入到对于结合待充分提纯的化合物来说很重要的位置上。如果所述孔径太小,则聚合物膜可能会覆盖所述孔,并且所述吸附剂的孔隙效应丧失了。

[0100] 根据本发明吸附剂的一个实施方式,所述固体支承材料具有 $1\text{m}^2/\text{g}$ 到 $1000\text{m}^2/\text{g}$, 更优选 $30\text{m}^2/\text{g}$ 到 $800\text{m}^2/\text{g}$, 以及最优选 $50\text{m}^2/\text{g}$ 到 $500\text{m}^2/\text{g}$ 的比表面积。

[0101] 优选所述固体支承材料具有 30 到 80% (按体积计), 优选 40 到 70% (按体积计), 最优选 50 到 60% (按体积计) 的孔隙度。上述孔隙度是依照 DIN66133 通过压汞法来测定的。上述固体支承材料的孔径也可以利用依照 DIN66133 的压汞法通过孔填充来测定。上述比表面积可以利用依照 DIN66132 的 BET 法通过氮吸附来测定。

[0102] 所述固体支承材料可以是有机聚合物材料或无机材料。

[0103] 如果上述固体支承材料为有机聚合物材料,它基本是不膨胀的。出于这个原因,最优选所述聚合物材料具有高交联度。

[0104] 上述聚合物材料,基于聚合物材料中的可交联基团的总量,优选以至少 5%,更优选至少 10% 以及最优选至少 15% 的程度进行交联。优选地,所述聚合物材料的交联度不超过 50%。

[0105] 优选用于所述固体支承材料的聚合物材料选自由普通或表面改性聚苯乙烯(例如,聚(苯乙烯-共-二乙烯基苯))、聚苯乙烯磺酸、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酰胺、聚乙烯醇、多糖(诸如淀粉、纤维素、纤维素酯、直链淀粉、琼脂糖、琼脂糖(凝胶)、甘露聚糖、黄原胶以及右旋糖酐),以及其混合物组成的组。

[0106] 本发明可用的聚合物材料,在所述交联实施前,优选具有 10 到 10000,特别优选 20 到 5000 并且非常特别优选 50 到 2000 个重复单元。所述聚合物材料交联前的分子重量 M_w 范围优选 10000 到 2000000g/mol、特别优选 100000 到 1500000g/mol、并且非常特别优选 200000 到 1000000g/mol。根据现有标准技术通过利用凝胶渗透色谱(GPC)采用聚苯乙烯(例如)作为内标,可以进行 M_w 的测定。

[0107] 如果上述固体支承材料为无机材料,上述无机材料为某种无机矿物氧化物,优选选自由氧化硅、氧化铝、氧化镁、氧化钛、氧化锆、氟硅酸盐、磁铁矿、沸石、硅酸盐(硅藻土(cellite), kieselguhr)、云母、羟磷灰石、氟磷灰石、金属有机框架、陶瓷以及玻璃、如可控孔度玻璃(例如 trisoperl)、金属诸如铝、硅、铁、钛、铜、银、金以及石墨或无定型碳组成的组。

[0108] 无论所述固体支承材料是聚合物材料或无机材料,所述固体支承材料提供作为不

溶性支撑的最小刚度和硬度的固体基础,并且提供一种基础,所述基础增加了固定相和流动相间的界面,所述界面为与分析物反应的场所,作为所述相之间的分离工艺的分子基础,并且所述基础特别在流动和/或压力条件下可用于提高机械强度和磨损性。

[0109] 本发明的所述固体支承材料可为均质或多相复合物,并且由此可包括一种或多种以上所述材料的复合物,特别是多层复合物。

[0110] 所述固体支承材料可为粒状材料,优选具有 5 到 500 μm 的粒度。所述固体支承材料可为片状或纤维状材料诸如膜。所述固体支承材料的外部表面可以是平坦的(板、片、箔、盘、滑板(slides)、滤片(filters)、膜、织物或无纺布、纸),或为弯曲的(凹形或者凸形、球、珠、粒、(空心)纤维、管、毛细管、瓶、样品盘中的孔)。

[0111] 所述固体支承材料的内部表面的孔结构,其中包括构成规则、连续毛细管道或者构成不规则(不规则碎片)几何形状的空腔。微观地,其为平滑或粗糙的,取决于制作的方式。所述孔体系将连续地延伸贯穿整个固体支承材料或者终结于(分支)空腔。分析物在其溶解于流动相和保留在固定相表面之间的界面平衡速率、以及连续流动分离体系的效率,主要由通过扩散穿过上述固体支承材料的孔的物质传递和颗粒的特性分布及孔径来决定。孔径可任选地表示为非对称、多峰地(multimodal)和/或螺旋(例如,剖面)的不均匀分布。

[0112] 如上述,上述固体支承材料的表面优选覆盖聚合物膜,所述聚合物包括独立链段或由独立链段组成。上述聚合物链优选彼此共价键交联。所述聚合物优选不是共价连接到上述固体支承材料的表面。本发明的发明人惊奇地发现,特别是用于提纯同时具有疏水性和正离子或质子化部分的化合物时,重要的是所述聚合物容易弯曲足以变形到可以让疏水性和正离子或质子化部分均可以与待提纯的化合物的疏水性及亲水性或负离子部分接触。本发明的发明人观察发现,如果使用共价连接到所述支承材料的表面的聚合物膜,提纯能力显著减小了。即,采用非共价表面结合交联聚合物作为聚合物膜具有三个优点:(1)聚合物的柔性,由于其不是表面结合;(2)交联确保所述膜结合于所述支承材料的表面且不丢失;(3)如果所述聚合物不共价连接到所述聚合物,则聚合物的厚度就能够被调整到所需薄的程度。

[0113] 进一步优选,覆盖所述支承材料的聚合物为亲水性聚合物。聚合物的亲水性保证在吸附剂和待提纯的化合物间的亲水反应得以发生。

[0114] 所述可交联聚合物的优选聚合物优选至少包括亲水基的单体(优选在其侧链)。优选亲水基为 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OOCCH}_3$ 、酸酐、 $-\text{NHC}(=\text{O})-$ 以及糖,其中更优选 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{OH}$,并且最优选 $-\text{NH}_2$ 。

[0115] 如果采用共聚物,优选共聚单体为简单烯烃单体或极性、惰性单体如乙烯基吡咯烷酮。

[0116] 覆盖所述支承材料的聚合物实例:聚胺诸如聚乙烯胺、聚乙烯亚胺、聚烯丙胺、如聚赖氨酸等的聚氨基酸,以及除了那些含有氨基之外的功能聚合物诸如聚乙烯醇、聚乙酸乙烯酯、聚丙烯酸、聚甲基丙烯酸,其前体聚合物诸如聚马来酸酐、聚酰胺或多糖(纤维素、右旋糖酐、支链淀粉等),其中聚酰胺诸如聚乙烯胺和聚烯丙胺是优选的,并且聚乙烯胺是最优选的。

[0117] 并且,相对于本发明吸附剂的总量,优选本发明吸附剂中通式(I)残基含量范围为

50 到 700 $\mu\text{mol/mL}$, 更优选 80 到 650 $\mu\text{mol/mL}$, 最优选 100 到 620 $\mu\text{mol/mL}$, 其中所述量通过元素分析来测定。

[0118] 至于优异的提纯能力, 进一步优选在本发明吸附剂中, 通式(I)残基与所述聚合物(衍生度)的官能团的摩尔比优选超过 0.2, 其中在通式(I)残基应用之前, 通式(I)残基的数量通过元素分析来测定, 并且官能团的数量通过滴定来测定。

[0119] 所述聚合物可以通过本领域已知的所有涂覆方式应用于所述大孔支承体, 所述涂覆方式诸如: 吸附、气相沉积、(液相、气相或等离子相) 聚合反应、旋涂、表面凝结、浸润、浸泡、浸渍、冲洗、喷涂、湿润加工(damping)、蒸涂、施加电场或压力, 以及基于分子自组装机法, 诸如(例如)液晶、LB 膜技术或层膜成型(layer-by-layer film formation)。因此, 所述聚合物可以直接涂覆作为单层或多层或在各层之上作为单独单层按顺序进行。优选在本发明中, 所述聚合物涂覆于所述支承材料, 其中所述非交联聚合物以水溶液形式应用到所述支承材料之后交联。

[0120] 在本发明的吸附剂中, 覆盖所述支承材料的聚合物重量与所述支承材料的重量之比优选范围为 0.03 到 0.2, 更优选 0.045 到 0.12。如果上述比例超出高限, 上述聚合物膜太厚, 并且所述支承材料的孔被完全覆盖, 导致吸附剂没有可用的孔。如果上述比例低于所述低限, 所述聚合物的量不足以覆盖全部支承材料。而且, 在后一种情况下, 不得不使用更多交联剂以固定所述聚合物于上述支承材料, 再次导致化合物膜不够坚韧。

[0121] 根据本发明的吸附剂的优选实施方式, 基于所述交联聚合物中的可交联基团的总数量, 所述交联聚合物的交联度为至少 2%。基于所述交联聚合物中的可交联基团的总数量, 更优选所述交联度为 5 到 50%, 再优选 5 到 30%, 最优选 10 到 20%。所述交联度通过所使用的上述交联剂的化学计量予以方便地调节。据推断, 将近 100mol% 的交联剂发生反应并形成交联。这点可以通过分析方法证实。上述交联度可以通过 MAS-NMR 光谱法和所述交联剂量与聚合物量的关系的定量测定来确定。本方法是最优选的。所述交联度还可以通过红外光谱法例如采用基于 C-O-C 或 OH 振动的校正曲线来确定。这两种方法都是本领域常规的标准分析方法。如果上述交联度超出高限, 则上述聚合物膜不够柔韧, 导致提纯能力较差。而且适用于结合的基团的数量和浓度减少。如果所述交联度低于上述低限, 则所述膜在上述支承材料的表面上不够稳定。

[0122] 用于交联所述聚合物的交联剂优选选自由二羧酸、二胺、二醇、脲和双环氧基化合物组成的组, 更优选二羧酸和双环氧基化合物组成的组, 诸如乙二醇二缩水甘油醚、1,12-双-(5-降冰片烯-2,3-二甲酰亚胺基)-癸烷二羧酸、对苯二甲酸、联苯二羧酸、乙二醇二缩水甘油醚, 最优选 1,12-双-(5-降冰片烯-2,3-二甲酰亚胺基)-癸烷二羧酸。在一个实施方式中, 所述至少一个交联剂为直链, 柔韧可变形的分子长度为 4-20 个原子。

[0123] 优选所述聚合物的分子量使用范围为 5000 到 50000g/mol, 但不限于该范围, 该范围特别适用于聚乙烯胺。具有接近以上给定范围低限分子量的聚合物表现出能穿透载体上很窄的孔, 所以具有高表面积及良好物质传递动力学、溶解率以及结合能力的固态材料可以用于本发明的吸附剂。

[0124] 根据另一个实施方式, 所述交联聚合物具有官能团, 即以上提到的亲水侧链基团。

[0125] 术语“官能团”是指任意简单清楚的化学部分, 其属于位于所述固体支承材料表面上的交联聚合物, 或属于在所述固体支承材料表面上聚合物制备过程中的可交联聚合物。

因此,所述官能团可作为化学连接点或锚。官能团优选含有至少一个弱键和/或一个杂原子,优选基团作为亲核试剂或亲电试剂。

[0126] 当前述通式(I)的残基结合于所述基团,优选官能团为伯和仲胺、羟基、以及羧酸或酯基。当所述残基与官能团结合,这些基团的性质将根据上述结合残基的结构而变化。

[0127] 本发明还涉及一种制备吸附剂的方法,优选地,本发明的吸附剂包括:

[0128] (i) 提供具有官能团的聚合物;

[0129] (ii) 将所述聚合物的膜吸附到载体表面;

[0130] (iii) 所述吸附的聚合物的官能团上是限定部分与至少一种交联剂进行交联;

[0131] (iv) 所述交联聚合物的所述官能团上的其他限定部分与一个或多个通式(I)的残基结合(derivatising)。

[0132] 优选被吸附在所述载体表面的聚合物溶解于水性介质中,其中水性介质的 pH 可以适当调整以溶解或悬浮所述聚合物。所述聚合物在所述载体表面的吸附优选通过将所述载体浸渍于含有所述聚合物的溶液或悬浮液中进行。然后,所述混合物优选振荡以实现所述成分的充分混合。毛细力确保所述载体的孔吸满所述溶液或悬浮液。然后,优选所述水在 40–60°C 的温度下真空蒸发,由此将所述聚合物以膜形式沉积在所述孔的壁上。然后,所述涂覆材料优选在有机溶剂诸如异丙醇或二甲基甲酰胺(DMF)中悬浮,并且优选通过交联剂如乙二醇二缩水甘油醚进行交联,优选在 25–60°C 的温度下交联 4 到 8 小时。

[0133] 依据所述官能团的种类并依据通式(I)的残基,可以采用所述固体支承体的各种衍生方法(derivatization strategies)。如果所述固体支承材料含有氨基作为官能团,含有羧酸基团的残基可通过羧基碳原子并通过肽化学采用耦合剂或通过采用试剂中的反应性基团被连接到胺基氮原子上,所述耦合剂例如 2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐(HBTU)、O-(1H-6-氯代苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐(HCTU)、六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基-三-吡咯烷基磷(PyBOP)、丙基磷酸酐(T3P)等,所述试剂如异氰酸酯、环氧化物或酸酐。如果所述固体支承材料含有氨基,通式(I)残基的脂族碳原子可通过饱和碳原子亲核取代反应结合于所述胺基氮原子。

[0134] 如果所述固体支承材料含有羟基,在连接到所述官能团上之前,含有羧酸基团的通式的残基可采用羧酸酐或羧酸酯通过羧基碳原子连接到所述羟基的氧原子上。如果上述固体支承材料含有羟基,通式(I)残基的脂族碳原子可通过饱和碳原子亲核取代反应连接到上述羟基的氧原子上。

[0135] 如果所述固体支承材料含有羧酸基团、羧酸酯或羧酸酐,通式(I)和(II)的残基可通过诸如 -NH_2 、 -OH 、 -SH 等亲核基团的亲核攻击而结合在羧酸基团、羧酸酯或羧酸酐的亲电碳原子上,从而形成酰胺、酯或硫酯。

[0136] 在本发明的吸附剂的一个实施方式中,优选 L 结合所述官能团,优选上述官能团为胺基,优选 -NH_2 。而且,进一步优选衍生化程度为 100% 以下,优选 90% 以下,确保所述聚合物膜包括可质子化的自由氨基由此形成正离子,从而提供一种能形成与待提纯的化合物结合的另外离子键的吸附剂。并且,与相对不柔韧的胺基相比,具有基团 P_b 的所述通式(I)残基确保本发明吸附剂在聚合物膜的表面上具有更加柔韧的正离子或质子化基团。所有这些反应全部优选以确保本发明吸附剂的充分提纯能力。

[0137] 本发明吸附剂可用于有机分子(有机化合物)的提纯或源自特定有机分子的溶液

的提纯。即,本发明进一步涉及本发明吸附剂用于有机分子的提纯或有机分子的溶液的提纯。

[0138] 术语“提纯”是指包括从含有所述有机分子分离或增加有机分子的浓度和 / 或纯度。

[0139] 换言之,本发明涉及提纯有机分子的方法,其还包括通过使用本发明吸附剂从溶液中分离不需要的有机分子。

[0140] 本发明吸附剂在提纯有机分子上的应用,或者通过使用本发明吸附剂用于提纯有机分子的方法,包括以下步骤:

[0141] (i) 将溶解或悬浮在液体中的含有有机分子的粗混合物应用在具有本发明吸附剂或本发明方法制备的吸附剂的色谱柱;

[0142] (ii) 通过采用洗脱剂将所述有机分子从所述色谱柱中洗脱。

[0143] 在步骤(ii)中使用的洗脱剂可以是与步骤(i)中所用液体相同的溶剂,但也可以不同,这取决于提纯有机分子的必需条件。作为步骤(i)的液体或步骤(ii)的洗脱剂,可以采用色谱领域内采用的各种溶剂或缓冲体系。本发明所用的液体 / 溶剂的实例如下:四氢呋喃、甲醇、乙醇、水、冰醋酸、乙酸乙酯、含水甲酸、己烷、庚烷、戊烷、乙酸乙酯、乙酸、甲苯、二氯甲烷、三氯甲烷以及两种以上这些溶剂的混合物。更优选实例为:四氢呋喃、甲醇、水、冰醋酸、乙酸乙酯、含水甲酸、己烷、乙酸乙酯、乙酸、甲苯、二氯甲烷以及两种以上这些溶剂的混合物。这些溶剂的优选混合物如下:四氢呋喃 / 甲醇、水 / 冰醋酸、甲醇 / 乙酸乙酯、甲醇 / 含水甲酸、己烷 / 乙酸乙酯 / 甲醇、水 / 乙酸、甲苯 / 甲醇、二氯甲烷 / 乙酸乙酯以及二氯甲烷 / 乙酸 / 甲醇。

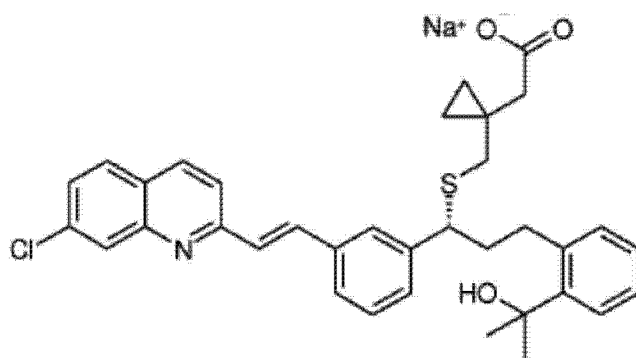
[0144] 通过本发明吸附剂提纯的有机分子优选为药理学活性化合物。

[0145] 待提纯的有机分子,优选具有一个或多个(优选多个)负离子或极性、氢桥接或去质子化基团的化合物,或者具有多个羟基或氯基的化合物。在其结构中具有一个或多个所述基团的分子能够以优选方式与通式(I)吸附剂和 / 或聚合物的官能团的正离子或去质子化基团反应。

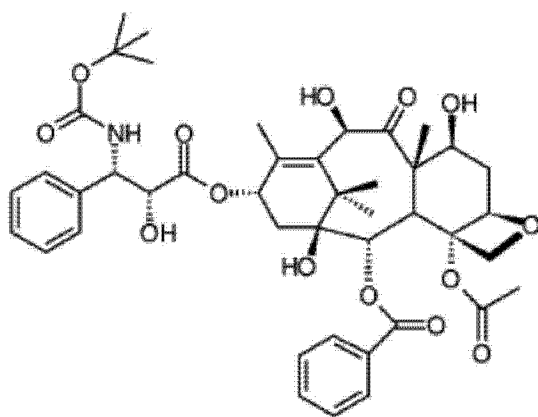
[0146] 有机分子优选分子量范围为 100 到 200000g/mol、更优选 100 到 150000g/mol、最优选 100 到 2500g/mol。

[0147] 特别优选本发明的应用 / 方法中使用的有机分子为紫杉醇、10-去乙酰-浆果赤霉素(baccatin) III、孟鲁司特、多烯紫杉醇、舒更葡糖(新型肌松药拮抗药, sugammadex)、喷他霉素(pentamycine)、氟可龙(flucortolone), 及这些分子的衍生物, 或二氯苯酚异构体的混合物, 或糖, 优选单-糖诸如果糖以及葡萄糖, 最优选以下结构的分子:

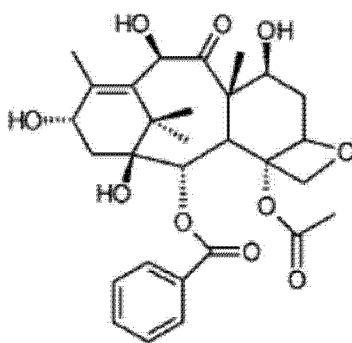
[0148]



孟鲁司特

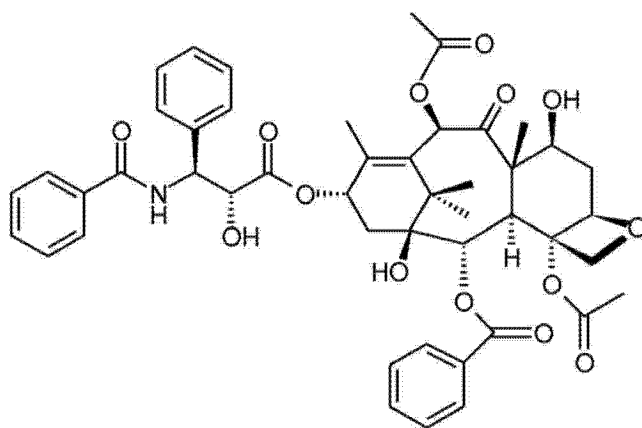


多烯紫杉醇

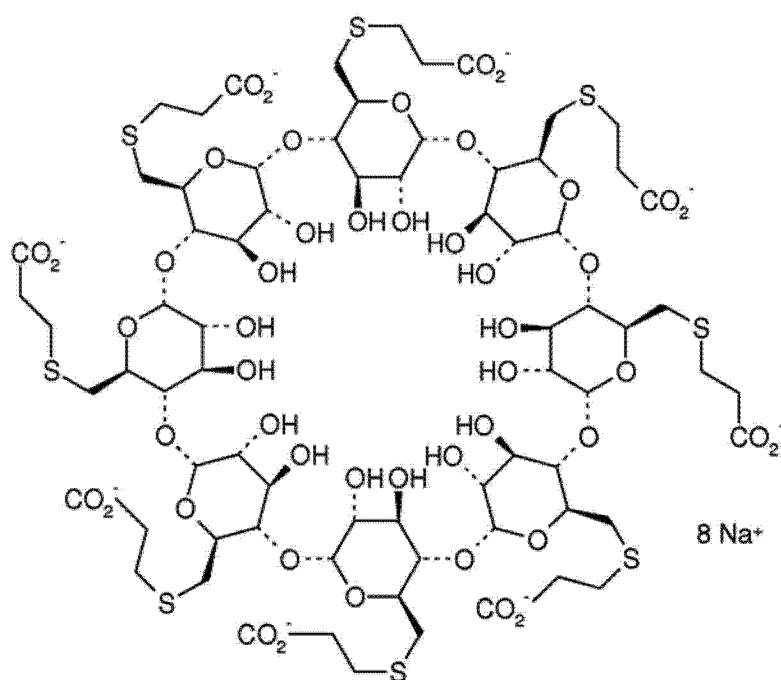


10-去乙酰-浆果赤霉素 III

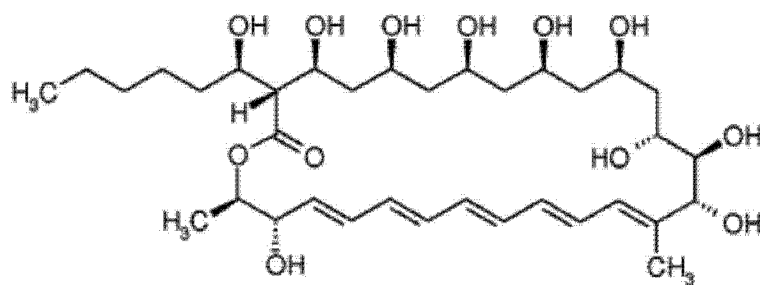
[0149]



紫杉醇

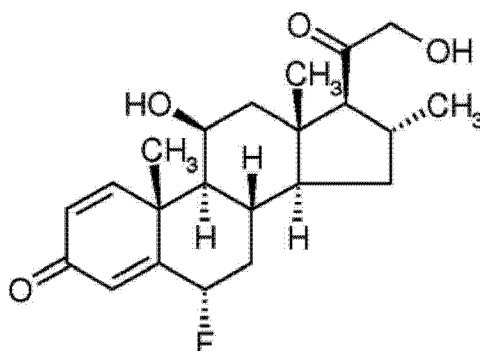


舒更葡糖 (sugammadex)



喷他霉素、以及

[0150]



氟可龙。

[0151] 而且,本发明吸附剂还可用于从溶液中分离内毒素。本发明中使用的术语“内毒素”是指一类生物化学物质。内毒素为细菌的分解产物,其可以引起人体中的多种生理反应。内毒素为革兰氏阴性菌或蓝藻的外细胞膜(OM)的成分。从化学的角度来说,内毒素为脂多糖类(LPS),其由亲水性多糖组分和亲脂性脂质组分构成。与上述起源于细菌的内毒素对比,内毒素热稳定性非常好并且耐受杀菌。目前最灵敏的内毒素测定方法是通过活化从鲎中分离的阿米巴样菌的溶菌产物中的凝血级联来实现的。该测试就是众所周知的LAL测试。

[0152] 在紫杉醇、10-去乙酰-浆果赤霉素III、孟鲁司特、多烯紫杉醇、舒更葡糖(sugammadex)、喷他霉素(pentamycine)、氟可龙及它们的衍生物,或糖的提纯过程中,优选使用本发明吸附剂,其含有通式(I)的残基。

[0153] 在紫杉醇、10-去乙酰-浆果赤霉素III、孟鲁司特、多烯紫杉醇、舒更葡糖(sugammadex)、喷他霉素(pentamycine)或它们的衍生物的提纯过程中,优选使用本发明吸附剂,其含有仅一种通式(I)的残基。在这种情况下,特别优选上述残基为通式(I)-1、(I)-2或(I)-3中之一。

[0154] 在10-去乙酰-浆果赤霉素III、孟鲁司特、多烯紫杉醇或它们的衍生物的提纯过程中,优选本发明吸附剂含有通式(I)-3的残基。

[0155] 在紫杉醇或其衍生物的提纯过程中,优选使用本发明吸附剂,其含有(I)-2或(I)-3中的残基。

[0156] 在舒更葡糖(sugammadex)及其衍生物的提纯过程中,优选使用本发明吸附剂,其含有通式(I)-2的残基。

[0157] 在喷他霉素(pentamycine)及其衍生物的提纯过程中,优选本发明吸附剂含有通式(I)-1的残基。

[0158] 在氟可龙及其衍生物的提纯过程中,优选使用本发明吸附剂,其含有通式(I)的两种不同残基。进一步优选,通式(I)的一种残基为通式(I)-1的残基,以及通式(I)的一种残基为通式(I)-2的残基。

[0159] 在二氯苯酚混合物的分离过程中或糖的分离过程中,优选使用本发明吸附剂,其含有通式(I)-4的残基。

[0160] 本发明还涉及用于液相色谱或固相提取柱,所述柱包括本发明吸附剂或本发明方法制备的吸附剂作为管状容器中的固定相,以及可选择的其他部件诸如:筛板(frits)、过滤板、流动分配器、密封件、连接件、螺栓、阀门或其他流体处理或连接元件。在一个实施

方式中,上述方法进一步特征在于其物理及化学耐性,可承受高达 20bar 的处理压力、高达 110℃的加热、以及常规消毒方法(sanitisation protocols),因此其重复使用次数可高达 1,000 次,优选高达 5,000 次。本发明还涉及一批多个相同或不同的本发明吸附剂,或一批本发明方法制备的吸附剂,或一批微板或微芯片阵列形式的本发明的柱,亦或是能够并行处理的多毛细管或微流体装置。

[0161] 本发明还涉及诊断或实验室提纯试剂盒,所述试剂盒具有本发明吸附剂,或本发明方法制备的吸附剂,或本发明的柱,或一批本发明吸附剂或柱,并且在同一包装单元中,进一步包括用于实现本发明方法或不同的分析、诊断或实验方法所需的其他化学或生物试剂和/或一次性产品。

[0162] 本发明还涉及以下实施方式:

[0163] (i) 通过使用本发明吸附剂提纯有机分子的方法。

[0164] (ii) 根据实施方式 (i) 的方法,其中所述有机分子为药学活性化合物。

[0165] (iii) 根据实施方式 (i) 或 (ii) 的方法,其中所述有机分子的分子量范围为 100 到 200000g/mol。

[0166] (iv) 根据实施方式 (i) 到 (iii) 中的任一个方法,其中所述有机分子选自由由紫杉醇、10-去乙酰-浆果赤霉素 III、孟鲁司特、多烯紫杉醇、舒更葡糖(sugammadex)、喷他霉素(pentamycine)、氟可龙、二氯苯酚、它们的衍生物以及内毒素组成的组。

附图说明

[0167] 本发明将通过以下附图和实施例得到进一步解释说明,所述附图与实施例不应当理解为对本发明保护范围的限制。

[0168] 图 1. 粗喷他霉素(实线)和纯化喷他霉素(短划线)的分析色谱对比(实施例 7)。

[0169] 图 2. 实施例 10 中的紫杉醇分级。

[0170] 图 3. 舒更葡糖提纯的分级色谱(实施例 9)打印输出图。

[0171] 图 4. 实施例 8 中的紫杉醇的分级。

[0172] 图 5. 将所述粗紫杉醇(短划线)和所述提纯紫杉醇(实线)的分析色谱对比。

[0173] 图 6. 实施例 11 中的 10-去乙酰-浆果赤霉素 III 的分级。

[0174] 图 7. 实施例 12 中的孟鲁司特的分级。

[0175] 图 8. 将所述粗孟鲁司特(实线)和所述提纯产品(短划线)的分析色谱对比(实施例 12)。

[0176] 图 9. 实施例 13 中的多烯紫杉醇的分级。

[0177] 图 10. 实施例 14 中的氟可龙的分级,产品馏分取自 5.5 到 11.5 分钟区段。

[0178] 图 11. 将所述粗氟可龙(短划线)和所述提纯产品(实线)的分析色谱对比,箭头代表所述主要杂质(实施例 14)。

[0179] 图 12. 利用实施例 15 中的本发明吸附剂对实施例 16 中的不同二氯苯酚分级。

[0180] 图 13. 利用市售 Kromasil, C18, 100Å, 10 μm 吸附剂对实施例 17 中的不同二氯苯酚的分级。

[0181] 图 14. 通过采用 4-甲苯磺酸(前期分析)突破测试确定胺基数量的试样曲线。

[0182] 图 15. 通过实施例 15 制备的本发明吸附剂分离的糖(见实施例 18)粗混合物试样

分级的色谱。

[0183] 图 16. 通过市售吸附剂 Kromasil (NH_2 , 100Å, 10 μm) 吸附剂分离的糖粗混合物 (见实施例 19) 试样分级的色谱。

具体实施方式

[0184] 分析方法：

[0185] 通过采用 4- 甲苯磺酸(前期分析) 突破测试确定胺基数量。

[0186] 向尺寸 33.5x4mm(床容量 0.42mL) 的柱中填充各个吸附剂。随后所述填充柱采用以下介质以 1.0mL/min 的流速冲洗：

[0187] • 5mL 水

[0188] • 10mL100mM 乙酸铵水溶液

[0189] • 1mL 水

[0190] • 10mL100mM 三氟乙酸水溶液

[0191] • 10mL 水

[0192] 在水以 0.5mL/min 速率被泵送通过上述装置 5 分钟之后,在具有泵和紫外检测仪的 HPLC 装置中观察到基线。在 10mM 的 4- 甲苯磺酸水溶液被泵送后,观察到在 274nm 处洗脱剂消失。在数分钟内,所述消失升高到约 700mAU 的水平,并且在这个水平(冲洗曲线)保持稳定。在 25 分钟后,上述柱被应用在泵和检测仪之间,并且用 10mM4- 甲苯磺酸以 0.5mL/min 的速度冲洗。由于上述柱结合 4- 甲苯磺酸,上述消失下降到 0mAU。如果所述柱的容量被耗尽,上述洗脱剂的消失再次上升至开始的水平约为 700mAU。

[0193] 为了确定 4- 甲苯磺酸的能力,在冲洗曲线水平下方的区域被集成为一个对照区,因此获得表面区和 4- 甲苯磺酸的量之间的关系。之后,滴定由柱吸附的所述甲苯磺酸溶液区域(突破区),并且减去所述装置的容积和所述柱的死体积(0.5mL)。所述突破区直接表示结合到上述柱上的上述 4- 甲苯磺酸的数量。将该数量除以上述柱的容量则得到每 mL 吸附剂的甲苯磺酸容量,还得到吸附剂的胺基数量。为了更好地理解本方法,图 14 给出这样的试验曲线。

[0194] 实施例 1 :含有通式(I)-1 的残基的本发明吸附剂制备方法；

[0195] 用聚乙烯胺涂覆来自 DAISO 的硅凝胶 SP-1000-10 获得 6000g 硅凝胶,所述聚乙烯胺采用 pH 调整为 9.0 的范围的 2900g 的 12.4% 聚乙烯胺水溶液。上述混合物在振筛机上搅拌直到所述溶液在上述硅凝胶的孔中完全吸满。之后,所述吸附剂在 50℃下真空干燥直到上述水被完全蒸发。然后,干燥的吸附剂悬浮于 18L 异丙醇并且在 55℃下和 72.8g 乙二醇二缩水甘油醚搅拌 5 小时。然后,所述吸附剂被过滤并以 18L 异丙醇、30L0.5M 三氟乙酸的水溶液、30L 水以及 30L 甲醇洗涤。干燥后,上述吸附剂已经可以进一步改性。

[0196] 通过滴定确定所得中间体的胺基数量为约 442 $\mu\text{mol/mL}$ 。

[0197] 13.5L 已涂覆并交联的吸附剂以 20L0.5M 三乙胺的二甲基甲酰胺溶液洗涤并随后悬浮于 12.6L DMF 中。加入 1991g2-(1H- 苯并三唑-1-基)-1,1,3,3- 四甲基脲六氟磷酸盐 (HBTU) 和 730mL 三乙胺 (TEA),并且在 25℃下搅拌 18 小时。之后,上述混合物经过滤,并且所述吸附剂分别以 5L DMF、20L0.5M 三氟乙酸的 DMF 溶液、5L DMF、15L0.5M TEA 的 DMF 溶液以及 20L DMF 再次洗涤。所述吸附剂悬浮于 9L DMF,并且加入 996g HBTU 和 365mL TEA。

并且所述混合物再次在 25℃ 下搅拌 18 小时。之后,上述溶液经过滤,并且所述吸附剂分别以 5L DMF、20L 0.5M TFA 的 DMF 溶液、30L TFA 的水溶液、30L 水以及 30L 甲醇洗涤。之后于 50℃ 下真空干燥,所述吸附剂备用。

[0198] 通过元素分析测定,所得吸附剂含有约 119 $\mu\text{mol/mL}$ 通式(I)-1 的残基。通式(I)-1 的残基与改性前测定的胺基数量比值为约 0.27。

[0199] 实施例 2:含有通式(I)-2 的残基的本发明吸附剂制备方法;

[0200] 如实施例 1 中所述,150g 来自 DAISO 的 Daisogel SP-1000-10 以 133.9g 的 11.2% 聚乙烯胺水溶液涂覆。在 560mL DMF 和 9.6g 1,12-双-(5-降冰片烯-2,3-二甲酰亚胺基)-癸烷二羧酸中,并且在 25℃ 下进行交联 4 小时。之后,上述溶液经过滤,并且所述吸附剂分别以 1.8L DMF、3L 0.5M TFA 的 DMF 溶液、6L 0.1M TFA 的水溶液、1.8L 水以及 1.8L 甲醇洗涤。之后于 40℃ 下真空干燥。

[0201] 10.5g 已涂覆并交联的吸附剂以 300mL 0.5M 三乙胺的二甲基甲酰胺溶液洗涤并且随后悬浮于 20mL 水中。加入 4.42mL 缩水甘油基三甲基氯化铵溶液(75% 水溶液),并且所述混合物于 25℃ 下搅拌 3 天。之后,所述混合物经过滤,所述吸附剂以 300mL 水、300mL 0.5M TEA 的 DMF 溶液和 300mL 水洗涤。所述吸附剂悬浮于 20mL 水和 4.42mL 缩水甘油基三甲基氯化铵(75% 水溶液)中。所述混合物再次于 25℃ 下搅拌 3 天。之后,所述溶液被过滤,并且所述吸附剂以 300mL 水、300mL 0.1M TFA 的 DMF 溶液、500mL TFA 的水溶液、300mL 水及 300mL 甲醇洗涤。之后于 50℃ 下真空干燥备用。

[0202] 实施例 3:含有通式(I)-2 的残基的本发明吸附剂制备方法(不同交联)

[0203] 以 145.2g 的 12.4% 聚乙烯胺水溶液进行涂覆以得到 300g 硅凝胶。以 3.64g 乙二醇二缩水甘油醚在 850mL 异丙醇溶液中在 25℃ 下进行交联 4 小时。

[0204] 通过滴定确定所得中间体的胺基数量约为 559 $\mu\text{mol/mL}$ 。

[0205] 所述涂覆的吸附剂的所有其他参数以及改性根据实施例 2 来进行。

[0206] 通过元素分析测定,所得吸附剂含有约 268 $\mu\text{mol/mL}$ 通式(I)-2 的残基。通式(I)-2 的残基与改性前测定的胺基的比值为约 0.48。

[0207] 实施例 4:含有通式(I)-3 的残基的本发明吸附剂制备方法

[0208] 按照实施例 1 中所述的方法,来自 Phenomenex 的 Jupiter SP-300-15 以 20.4g 的 9.8% 聚乙烯胺水溶液涂覆,得到 25g 硅凝胶。所述交联于 150mL 二甲基甲酰胺和 1.3g 1,12-双-(5-降冰片烯-2,3-二甲酰亚胺基)-癸烷二羧酸在 25℃ 下进行交联 18 小时。然后,所述溶液被过滤,并且所述吸附剂以 230mL DMF、780mL 0.1M TFA 水溶液、230mL 水以及 230mL 甲醇洗涤。所述吸附剂在 40℃ 下真空干燥。

[0209] 通过滴定确定所得中间体的胺基数量约为 470 $\mu\text{mol/mL}$ 。

[0210] 25g 已涂覆硅凝胶以 200mL 0.5M TEA 的 DMF 溶液洗涤,并且之后悬浮于 100mL DMF 中。加入 4.43g 1-甲基哌嗪-4-琥珀酸酰胺、8.4g 2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐(HBTU)以及 2.24g 三乙胺,并且在 25℃ 下搅拌混合物 12 小时。上述悬浮液经过滤,并且所述吸附剂分别以 250mL DMF、400mL 0.1M TFA 的 DMF 溶液、250mL DMF 以及 300mL 0.5M TEA 的 DMF 溶液洗涤。所述吸附剂再次悬浮于 100mL DMF。加入 2.22g HBTU 和 1.12g 三乙胺,并且所述混合物在 25℃ 下搅拌 12 小时。上述悬浮液经过滤,并且所述吸附剂分别以 250mL DMF、400mL 0.1M TFA 的水溶液、250mL 水、以及 250mL 甲醇洗涤。所述吸附

剂在 50℃下真空干燥后备用。

[0211] 通过元素分析测定,所得吸附剂含有约 410 $\mu\text{mol/mL}$ 通式(I)-3 的残基。通式(I)-3 的残基与改性前测定的胺基数量的比值为约 0.87。

[0212] 实施例 5:含有通式(I)-3 的残基的本发明吸附剂制备方法(不同固体支承体)

[0213] 来自 DAISO 的硅凝胶 SP-1000-10 以 59.7g 的 13.4% 聚乙烯胺水溶液和另外加入 40g 水将 pH 调整为 9.5 的聚乙烯胺涂覆,获得 100g 硅凝胶。上述混合物在振筛机上搅拌直到所述溶液在上述硅凝胶的孔中完全吸满。之后,所述吸附剂在 50℃下真空干燥直到上述水被完全蒸发。然后,上述干燥的吸附剂悬浮于 300mL 异丙醇,并且在 55℃下和 1.62g 乙二醇二缩水甘油醚搅拌 5 小时。然后,所述吸附剂被过滤并以 500mL 异丙醇、500mL 0.5M 三氟乙酸的水溶液、500L 水以及 500L 甲醇洗涤。干燥后,上述吸附剂已经可以进一步改性。

[0214] 通过滴定确定所得中间体的胺基数量为约 596 $\mu\text{mol/mL}$ 。

[0215] 根据实施例 4 进行改性,将其量调整到用于改性的吸附剂的量。

[0216] 通过元素分析测定,所得吸附剂含有约 423 $\mu\text{mol/mL}$ 通式(I)-3 的残基。通式(I)-3 的残基与改性前测定的胺基的比值为约 0.71。

[0217] 实施例 6:含有通式(I)-1 的残基及通式(I)-2 的残基的本发明吸附剂制备方法

[0218] 1200g 来自 DAISO 的硅凝胶 SP-1000-10 以 600g 的 12.0% 聚乙烯胺水溶液并另外加入的 340g 水来涂覆聚乙烯胺。将 pH 调整为 9.3,并且上述混合物在振筛机上搅拌直到所述溶液在上述硅凝胶的孔中完全吸满。之后,所述吸附剂在 50℃下真空干燥直到上述水被完全蒸发。然后,干燥的吸附剂悬浮于 4.4L 异丙醇,并且在 50℃下和 14.5g 乙二醇二缩水甘油醚搅拌 4 小时。然后,所述吸附剂被过滤并以 7L 异丙醇、14L 0.5M 三氟乙酸的水溶液、14L 水以及 8L 甲醇洗涤。干燥后,上述吸附剂已经可以进一步改性。

[0219] 通过滴定确定所得中间体的胺基数量为约 494 $\mu\text{mol/mL}$ 。

[0220] 对于第一次改性,所述吸附剂以 13L 0.5M TEA 的 DMF 溶液,并且随后悬浮在 2L DMF 中。加入 465g HBTU 和 171mL TEA,并且在 25℃下搅拌混合物 19 小时。之后过滤,并分别以 1.5L DMF、1.5L 0.5M TFA 的 DMF 溶液、1.5L DMF、1.5L 0.5M TEA 的 DMF 溶液以及 1.5L DMF 洗涤。所述混合物再次悬浮于 2L DMF。加入 465g HBTU 和 171mL TEA,并且所述混合物在 25℃下再搅拌 19 小时。之后经过滤,并且以 1.5L DMF、1.5L 0.5M TFA 的 DMF 溶液、1.5L DMF、1.5L 0.5M TEA 的 DMF 溶液以及 1.5L DMF 洗涤。

[0221] 第二次改性是依照实施例 2 利用 183.2g 缩水甘油基三甲基氯化铵以及 122.2g TEA 在 3.5L DMF 中的溶液分两步进行,从而得到 1.3kg 涂覆的吸附剂。

[0222] 通过元素分析测定,所得吸附剂含有约 114 $\mu\text{mol/mL}$ 通式(I)-1 的残基与 5 $\mu\text{mol/mL}$ 通式(I)-2 的残基。通式(I)-1 及通式(I)-2 的残基与改性前测定的胺基数量的比值为约 0.24。

[0223] 实施例 7:通过利用实施例 1 中制备的吸附剂提纯喷他霉素

[0224] 通过采用四通道低压梯度泵(LPG580、LPG680、或 LPG3400)、自动进样器(Gina50、ASI-100 或 WPS-300)、六通道柱转换阀(Besta)、柱式加热器以及二极管阵列紫外检测仪(UVD170U、UVD340S、或 VWD3400)构成的 Dionex HPLC 系统,得以分离所述喷他霉素和几种杂质的粗混合物。实施例 1 中制备的所述吸附剂被填充于 250x50.8mm 钢柱。分离方法如表 1 所示。

[0225] 表 1 :用于提纯喷他霉素的方法 :

[0226]

时间 [分钟]	稳定的 THF [%]	甲醇 [%]	水/冰醋酸 2/8 [%]	流速 [mL/min]
0	92	8		239
40	92	8		239
40			100	318
45			100	318
45	92	8		318
58	92	8		318
58	92	8		318
60	92	8		239

[0227] 几种馏分的分析如下表 2 所示。

[0228] 表 2 :喷他霉素粗混合物的几种馏分(EW1 到 EW4) 分析结果 :

[0229]

馏分收集 分钟: 秒	化合物	EW1 [%]	EW2 [%]	EW3 [%]	EW4 [%]	平均 [%]
24:30 to 40:00	RRT 0.58	0.10	0.10	0.09	0.11	0.10
	RRT 0.90	0.80	0.80	0.83	0.79	0.81
	喷他霉素	97.64	97.58	97.63	97.62	97.62
	RRT 1.46	0.73	0.72	0.73	0.72	0.73

[0230] *RRT: 在分析色谱中的相对保留时间。

[0231] 图 1 所示为色谱 1 (粗,实线) 到色谱 2 (提纯,短划线) 的所述主要杂质。

[0232] 依照实施例 1 亲和制备的吸附剂,含有通式(I)-1 的残基(配体) 低于 $100 \mu\text{mol/L}$ 将导致比实施例 1 的吸附剂更低的纯度和产率。将配体量减少到低于 $80 \mu\text{mol/L}$ 将使提纯能力和产率显著降低。可见,如果配体量减少到低于 $50 \mu\text{mol/L}$,就几乎对喷他霉素没有选择性了。

[0233] 同样地,通式(I)-1 的残基与聚合物的官能团量的摩尔比低于 0.2 的吸附剂,其得到的喷他霉素的纯度和产率方面降低了 20%,原因在于保有率非常低。

[0234] 实施例 8 :通过利用实施例 2 中制备的吸附剂提纯紫杉醇

[0235] 通过采用四通道低压梯度泵(LPG580、LPG680、或 LPG3400)、自动进样器(Gina50、ASI-100 或 WPS-300)、六通道柱转换阀(Besta)、柱式加热器以及二极管阵列紫外检测仪(UVD170U、UVD340S、VWD3400)构成的Dionex HPLC 系统,得以分离所述紫杉醇和几种杂质的粗混合物。实施例 2 中制备的所述吸附剂被填充于 40x4mm 钢柱。在一个单一色谱步骤采用 5% 甲醇的乙酸乙酯溶液的等度法对紫杉醇进行提纯。所述分级过程如表 4 所示。所取的不同馏分(B1 到 B14) 如表 3 所示。

[0236] 表 3 :所取的不同馏分中紫杉醇的纯度和产率 :

[0237]

馏分 NO.	纯度 [%]	产率 [%]
B1	0.59	2.2
B2	0.66	0.4
B3	3.53	0.4
B4	26.71	3.0
B5	90.29	20.3
B6	96.79	26.4
B7	96.71	21.5
B8	96.65	11.9
B9	83.5	12.3
B10	24.52	1.1
B11	14.09	0.2
B12	0.57	0.3
B13	3.55	0.1
B14	3.73	0.0

[0238] 在图 5 中,通过将粗混合物(短划线色谱)与上述提纯产品(实线)进行比较,能够清楚看到杂质的去除。

[0239] 实施例 9 :通过利用实施例 3 中制备的吸附剂提纯舒更葡糖

[0240] 通过采用四通道低压梯度泵(LPG580、LPG680、或 LPG3400)、自动进样器(Gina50、ASI-100 或 WPS-300)、六通道柱转换阀(Besta)、柱式加热器以及二极管阵列紫外检测仪(UVD170U、UVD340S、VWD3400)构成的 Dionex HPLC 系统,得以分离所述舒更葡糖和几种杂质的粗混合物。实施例 3 中制备的所述吸附剂被填充于轴向压缩的 ModCo1250x25.4mm 钢柱。通过等度法采用 60% 甲醇在(全部)500mM 甲酸水溶液来提纯舒更葡糖。图 3 所示为具有不同所取馏分的分级色谱。不同馏分的含量如表 4 所示。

[0241] 表 4 :所述主要产品 Org_25_AT(舒更葡糖)和不同杂质 Org_48_C、Org19B 等的不同馏分(AS1 到 AS6)含量

[0242]

馏分	纯度 Org_25_A T [%]	纯度 Org_48_C [%]	纯度 Org_19_B [%]	纯度 峰值 RRT 2.4 [%]	产率 Org_25_A T [%]
AS1	1.72	13.44	16.1	3.38	0
AS2	7.34	74.4	11.75	1.7	0
AS3	96.11	2.32	0.89	0.23	12
AS4	98.54	0.69	0.32	0.15	28
AS5	98.97	0.18	0.08	0.17	59
AS6	10.03	0	0	3.1	0
虚拟组合馏分					
AS3-AS5	98.50	0.59	0.25	0.17	99
AS4-AS5	98.83	0.35	0.16	0.16	87
批次Z的开始质量	92.86	4.68	1.12	0.16	

[0243] RRT: 在分析色谱中的相对保留时间。

[0244] 依照实施例 3 亲和制备的吸附剂, 含有通式(I)-2 的残基(配体) 超过 100 $\mu\text{mol/mL}$ 还能得到优异产率下的可接受的提纯能力。将配体量减少到低于 80 $\mu\text{mol/mL}$ 将使提纯能力和产率显著降低。如果配体量减少到低于 50 $\mu\text{mol/mL}$, 就几乎对舒更葡糖没有选择性了。

[0245] 同样地, 通式(I)-2 的残基与聚合物的官能团量的摩尔比为 0.2 以上的吸附剂, 仍表现出对于舒更葡糖的选择性。吸附剂中所述比例低于 0.2, 则对于舒更葡糖的选择性非常低或几乎无选择性。

[0246] 实施例 10 : 通过利用实施例 4 中制备的吸附剂提纯紫杉醇

[0247] 通过采用四通道低压梯度泵(LPG580、LPG680、或 LPG3400)、自动进样器(Gina50、ASI-100 或 WPS-300)、六通道柱转换阀(Besta)、柱式加热器以及二极管阵列紫外检测仪(UVD170U、UVD340S、或 VWD3400) 构成的 Dionex HPLC 系统, 得以分离所述紫杉醇和几种杂质的粗混合物。实施例 4 中制备的所述吸附剂被填充于 33.5x4mm 钢柱。通过己烷/乙酸乙酯/甲醇 50/44/6 的等度法在单一色谱步骤中来提纯紫杉醇, 从起始纯度 93% 分别达到纯度 99.34%、产率 68% 以及纯度 99.22%、产率 92%。分级过程如图 2 所示。关键杂质 7- 表紫杉醇、2- 去苯甲酰基-2- 甲基巴豆酰基紫杉醇(2-debenzoyl-2-tigloylpaclitaxel)、2'-O- 苯甲酰基紫杉醇(2'-O-benzoylpaclitaxel) 以及 7,13- 双侧链- 紫杉醇(7,13-bis-sidechain-paclitaxel) 被除去了低于 0.1%, 并且在某些情况下接近或低于所述紫外检测限度如表 5 所示。

[0248] 表 5 : 在分级过程中所取的不同馏分含量(J1 到 J10)

[0249]

馏分	紫杉醇		7-表紫杉醇		2-去苯甲酰基-2-甲基巴豆酰基紫杉醇	
	纯度 [%]	产率 [%]	纯度 [%]	产率 [%]	纯度 [%]	产率 [%]
J1	0,16	0,00	6,936	82,38	0,051	0,57
J2	92,474	4,29	0,583	15,15	2,987	69,26
J3	98,889	13,33	0,016	1,24	0,133	8,99
J4	99,419	12,42	0,003	0,22	0,078	4,89
J5	99,361	19,86	0,006	0,73	0,045	4,56
J6	99,338	15,80	0,003	0,29	0,015	1,22
J7	99,288	20,13			0,028	2,87
J8	98,804	10,37			0,083	4,33
J9	96,87	3,07			0,209	3,31
J10	10,88	0,73				0,00

[0250] 依照实施例 4 亲和制备的吸附剂, 含有通式(I)-3 的残基(配体)超过 $200 \mu\text{mol/mL}$ 还能得到提纯能力比实施例 4 吸附剂提纯能力的 80% 要高。将配体量减少到低于 $80 \mu\text{mol/mL}$, 提纯能力和产率还处于可接受的范围。可见如果配体量减少到低于 $50 \mu\text{mol/mL}$, 就几乎对紫杉醇没有选择性了。

[0251] 同样地, 通式(I)-3 的残基与聚合物的官能团量的摩尔比为 0.2 以上的吸附剂仍可得到高纯度紫杉醇, 尽管产率很低。吸附剂中所述比例低于 0.2, 则对于紫杉醇的选择性非常低或几乎无选择性。

[0252] 实施例 11: 通过利用实施例 4 中制备的吸附剂提纯 10- 去乙酰 - 浆果赤霉素 III

[0253] 通过采用四通道低压梯度泵(LPG580、LPG680、或 LPG3400)、自动进样器(Gina50、ASI-100 或 WPS-300)、六通道柱转换阀(Besta)、柱式加热器以及二极管阵列紫外检测仪(UVD170U、UVD340S、或 VWD3400)构成的 Dionex HPLC 系统, 得以分离所述 10- 去乙酰 - 浆果赤霉素 III 和几种杂质的粗混合物。实施例 4 中制备的所述吸附剂被填充于 $250 \times 20\text{mm}$ 钢柱。根据表 6 中的方法提纯 10- 去乙酰 - 浆果赤霉素 III。10- 去乙酰 - 浆果赤霉素 III 的分级过程如图 5 所示。

[0254] 表 6: 用于提纯 10- 去乙酰 - 浆果赤霉素 III 的色谱法

[0255]

时间 [分钟]	流速 [mL/min]	己烷	乙酸乙酯	甲醇	乙酸/水 4:1
0	20	59	34	7	0
80	20	59	34	7	0
80.1	20	0	0	0	100
100	20	0	0	0	100
100.1	20	0	0	100	0
110	20	0	0	100	0
110.1	20	59	34	7	0
120	20	59	34	7	0

[0256] 表 7 所示为对所取馏分的分析。

[0257] 表 7: 所取不同馏分(AG1 到 AG15)的分析结果:

[0258]

馏分	纯度 [%]	产率 [%]
AG1	0	0
AG2	0	0
AG3	0	0
AG4	35.94	1
AG5	71.06	3
AG6	83.03	9
AG7	86.79	9
AG8	90.49	19
AG9	93.67	19
AG10	89.33	16
AG11	84.99	11
AG12	83.53	7
AG13	79.3	3
AG14	73.38	4
AG15	0	0

[0259] 依照实施例 3 亲和制备的吸附剂, 含有通式(I)-3 的残基(配体) 超过 $100 \mu\text{mol/mL}$ 仍表现出良好产率条件下的可接受提纯能力。将配体量减少到低于 $80 \mu\text{mol/mL}$, 将显著降低提纯能力和产率。如果配体量减少到低于 $50 \mu\text{mol/mL}$, 就对 10- 去乙酰 - 浆果赤霉素 III 没有选择性了。

[0260] 同样地, 通式(I)-3 的残基与聚合物的官能团量的摩尔比大于 0.2 的吸附剂仍表现出对于 10- 去乙酰 - 浆果赤霉素 III 的选择性。吸附剂中所述比例低于 0.2, 则对于 10- 去乙酰 - 浆果赤霉素 III 的选择性非常低或几乎无选择性。

[0261] 实施例 12 : 通过利用实施例 5 中制备的吸附剂提纯孟鲁司特

[0262] 通过采用四通道低压梯度泵(LPG580、LPG680、或 LPG3400)、自动进样器(Gina50、ASI-100 或 WPS-300)、六通道柱转换阀(Besta)、柱式加热器以及二极管阵列紫外检测仪(UVD170U、UVD340S、VWD3400) 构成的 Dionex HPLC 系统, 得以分离所述孟鲁司特和几种杂质的粗混合物。实施例 5 中制备的所述吸附剂被填充于 $250 \times 4 \text{mm}$ 钢柱。采用甲苯 / 甲醇 97.5/2.5 的等度法进行提纯。图 7 所示为分级过程。可以从起始纯度 95.0% 的粗混合物得到纯度 99.8% 产率 82% 的孟鲁司特。图 8 所示为提纯产品(短划线) 与粗混合物(实线) 对比的分析色谱。

[0263] 依照实施例 5 亲和制备的吸附剂, 含有通式(I)-3 的残基(配体) 超过 $100 \mu\text{mol/mL}$ 仍表现出良好产率条件下的可接受提纯能力。将配体量减少到低于 $80 \mu\text{mol/mL}$, 将显著降低提纯能力和产率。如果配体量减少到低于 $50 \mu\text{mol/mL}$, 就对孟鲁司特没有选择性了。

[0264] 同样地, 通式(I)-3 的残基与聚合物的官能团量的摩尔比大于 0.2 的吸附剂仍表现出对于孟鲁司特的选择性。吸附剂中所述比例低于 0.2, 则对于孟鲁司特的选择性非常低

或几乎无选择性。

[0265] 实施例 13 :通过利用实施例 4 中制备的吸附剂提纯多烯紫杉醇

[0266] 通过采用四通道低压梯度泵(LPG580、LPG680、或 LPG3400)、自动进样器(Gina50、ASI-100 或 WPS-300)、六通道柱转换阀(Besta)、柱式加热器以及二极管阵列紫外检测仪(UVD170U、UVD340S、或 VWD3400)构成的 Dionex HPLC 系统,得以分离所述多烯紫杉醇和几种杂质的粗混合物。实施例 4 中制备的所述吸附剂被填充于 250x4mm 钢柱。采用二氯甲烷/乙酸乙酯 97/3 的等度法进行提纯。图 9 所示为分级过程。可以得到纯度 99.03%、产率 84% 的多烯紫杉醇。

[0267] 依照实施例 4 亲和制备的吸附剂,含有通式(I)-3 的残基(配体)超过 200 $\mu\text{mol/mL}$ 仍能得到提纯能力比实施例 4 吸附剂提纯能力的 80% 要高。将配体量减少到低于约 80 $\mu\text{mol/mL}$,提纯能力和产率还处于可接受的范围。可见如果配体量减少到低于 50 $\mu\text{mol/mL}$,就对多烯紫杉醇没有任何选择性了。

[0268] 同样地,通式(I)-3 的残基与聚合物的官能团量的摩尔比为 0.2 以上的吸附剂仍能得到高纯度多烯紫杉醇,尽管产率低。吸附剂中所述比例低于 0.2,则对于多烯紫杉醇的选择性非常低或几乎无选择性。

[0269] 实施例 14 :通过利用实施例 6 中制备的吸附剂提纯氟可龙

[0270] 通过采用四通道低压梯度泵(LPG580、LPG680、或 LPG3400)、自动进样器(Gina50、ASI-100 或 WPS-300)、六通道柱转换阀(Besta)、柱式加热器以及二极管阵列紫外检测仪(UVD170U、UVD340S、或 VWD3400)构成的 Dionex HPLC 系统,得以分离所述氟可龙和几种杂质的粗混合物。实施例 6 中制备的所述吸附剂被填充于 40x4mm 钢柱。采用 100% 二氯甲烷的等度法和 1% 乙酸的甲醇溶液洗涤步骤进行提纯。图 10 所示为分级过程,及图 11 所示为粗混合物(短划线)和提纯产品(实线)的分析色谱。使用该方法可以得到纯度 99.0%、产率 93% 的氟可龙。

[0271] 依照实施例 6 亲和制备的吸附剂,含有通式(I)-1 和(I)-2 的残基(配体)低于 100 $\mu\text{mol/mL}$ 将导致比实施例 6 吸附剂更低的纯度及产率。将配体量减少到低于约 80 $\mu\text{mol/mL}$,将显著降低提纯能力和产率。如果配体量减少到低于 50 $\mu\text{mol/mL}$,就几乎对氟可龙没有任何选择性了。

[0272] 同样地,通式(I)-1 和(I)-2 的残基与聚合物的官能团量的摩尔比低于 0.2 的吸附剂,对于所得到氟可龙的纯度及产率将降低 10% 以上。

[0273] 实施例 15 :含有通式(I)-4 的残基的本发明吸附剂制备方法

[0274] 来自 DAISO 的硅凝胶 SP-120-10 以 254g 的 11.8% 聚乙烯胺水溶液的聚乙烯胺涂覆,并另外加入 250g 水稀释将 pH 调整为 8.0-8.5,获得 600g 硅凝胶。上述混合物在振筛机上搅拌直到所述溶液在上述硅凝胶的孔中完全吸满。之后,所述吸附剂在 50℃ 下真空干燥直到上述水被完全蒸发。然后,干燥的吸附剂悬浮于 2700mL 异丙醇,并且在 55℃ 下和 12.12g 乙二醇二缩水甘油醚搅拌 6 小时。然后,所述吸附剂被过滤并以 3000mL 异丙醇、9000mL 0.1M 盐酸(HCl)的水溶液、3000mL 水以及 4500mL 甲醇洗涤。干燥后,上述吸附剂已经可以进一步改性。

[0275] 通过滴定确定所得中间体的胺基数量为约 720 $\mu\text{mol/mL}$ 。

[0276] 50g 已涂覆的交联吸附剂悬浮于 150mL DMF,以 300mL DMF、300mL 0.5M 三乙胺

(TEA)的 DMF 溶液以及 300mL DMF 洗涤,并且再次悬浮于 150mL DMF。加入 5.76g 左旋肉碱(L-Carnitine)、13.56g 0-苯并三唑-1-基-四甲基脲六氟磷酸盐(0-Benzotriazol-1-yl-tetramethyluroniumhexafluorophosphate)以及 4.98g TEA,并且所述混合物在 50℃下搅拌 4 小时。之后,上述混合物经过滤,并且所述树脂以上述第二反应步骤进行处理。之后,所述树脂以 300mL DMF、300mL 0.1M HCl 的 DMF 溶液、300mL 0.1M HCl 的水溶液、300mL 水以及 300mL 甲醇洗涤。所述吸附剂在 50℃下真空干燥后备用。

[0277] 通过元素分析测定,所得吸附剂含有约 $612 \mu\text{mol/mL}$ 通式(I)-4 的残基。通式(I)-4 的残基与改性前测定的氨基数量的比值约为 0.85。

[0278] 实施例 16 :通过利用实施例 15 中制备的吸附剂分离不同的二氯苯酚

[0279] 通过采用四通道低压梯度泵(LPG580、LPG680、或 LPG3400)、自动进样器(Gina50、ASI-100 或 WPS-300)、六通道柱转换阀(Besta)、柱式加热器以及二极管阵列紫外检测仪(UVD170U、UVD340S、或 VWD3400)构成的 Dionex HPLC 系统,得以分离含有 3,4-二氯苯酚、3,5-二氯苯酚、2,4-二氯苯酚、2,5-二氯苯酚以及 2,6-二氯苯酚的粗混合物。实施例 15 中制备的所述吸附剂被填充于 250x4mm 钢柱。为了提纯,使用了不同梯度的两种洗脱剂(A 和 B),如下表 8 所示。洗脱剂 A 为水,且洗脱剂 B 为乙腈。

[0280] 图 12 所示为分级过程。

[0281] 表 8

[0282]

梯度 1			
		洗脱剂 A	洗脱剂 B
时间	流速	H ₂ O	MeCN
[分钟]	[mL/min]	[%]	[%]
0	1.00	0	100
1	1.00	0	100
10	1.00	100	0
15	1.00	100	0
15	1.00	0	100
20	1.00	0	100

[0283] 依照实施例 15 亲和制备的吸附剂,含有通式(I)-4 的残基(配体)超过 $100 \mu\text{mol/mL}$ 仍具有可接受的分离能力。将配体量减少到低于 $80 \mu\text{mol/mL}$,将降低分离能力。可见如果配体量减少到低于 $50 \mu\text{mol/mL}$,就没有分离能力。

[0284] 同样地,通式(I)-4 的残基与聚合物的官能团量的摩尔比为 0.2 以上的吸附剂仍能充分实现分离。若吸附剂中所述比例低于 0.2,则分离能力非常低。

[0285] 实施例 17 (对照例):通过使用吸附剂 Kromasil (C18, $100 \text{ \AA}$, $10 \mu\text{m}$) 分离不同的二氯苯酚:

[0286] 除了采用吸附剂 Kromasil (C18, $100 \text{ \AA}$, $10 \mu\text{m}$) 外,应用与实施例 16 中完全相同的分离方法。分级过程如图 13 所示。

[0287] 实施例 18 :通过利用实施例 15 中制备的吸附剂分离葡萄糖和果糖混合物

[0288] 通过采用四通道低压梯度泵(LPG580、LPG680、或 LPG3400)、自动进样器(Gina50、

ASI-100 或 WPS-300)、六通道柱转换阀(Besta)、柱式加热器以及二极管阵列紫外检测仪(UVD170U、UVD340S、或 VWD3400)构成的 Dionex HPLC 系统,得以分离含有葡萄糖和果糖的粗混合物。实施例 15 中制备的所述吸附剂被填充于 40x4mm 钢柱。为了提纯,使用了不同梯度的两种洗脱剂(A 和 B),如下表 9 所示。洗脱剂 A 为含有 1wt% 甲酸的水溶液,及洗脱剂 B 为含有 1wt% 甲酸的乙腈溶液。

[0289] 图 15 所示为分级过程。

[0290] 表 9

[0291]

梯度 1			
时间 [分钟]	流速 [mL/min]	洗脱剂 A	洗脱剂 B
		H ₂ O 的 1%HCOOH	MeCN 1%HCOOH
		[%]	[%]
0	1.00	10	90
1	1.00	10	90
10	1.00	100	0
15	1.00	100	0
15	1.00	10	90
20	1.00	10	90

[0292] 依照实施例 15 亲和制备的吸附剂,含有通式(I)-4 的残基(配体)超过 100 $\mu\text{mol/mL}$ 仍具有可接受的分离能力。将配体量减少到低于 80 $\mu\text{mol/mL}$,将降低分离能力。如果配体量减少到低于 50 $\mu\text{mol/mL}$,就没有分离能力了。

[0293] 同样地,通式(I)-4 的残基与聚合物的官能团量的摩尔比为 0.2 以上的吸附剂仍能充分实现分离。若吸附剂中所述比例低于 0.2,则分离能力非常低。

[0294] 实施例 19 (对照例):通过使用吸附剂 Kromasil (NH₂, 100Å, 10 μm) 分离糖混合物

[0295] 除了采用吸附剂 Kromasil (C18, 100Å, 10 μm) 外,应用与实施例 18 中完全相同的分离方法。分级过程如图 16 所示。

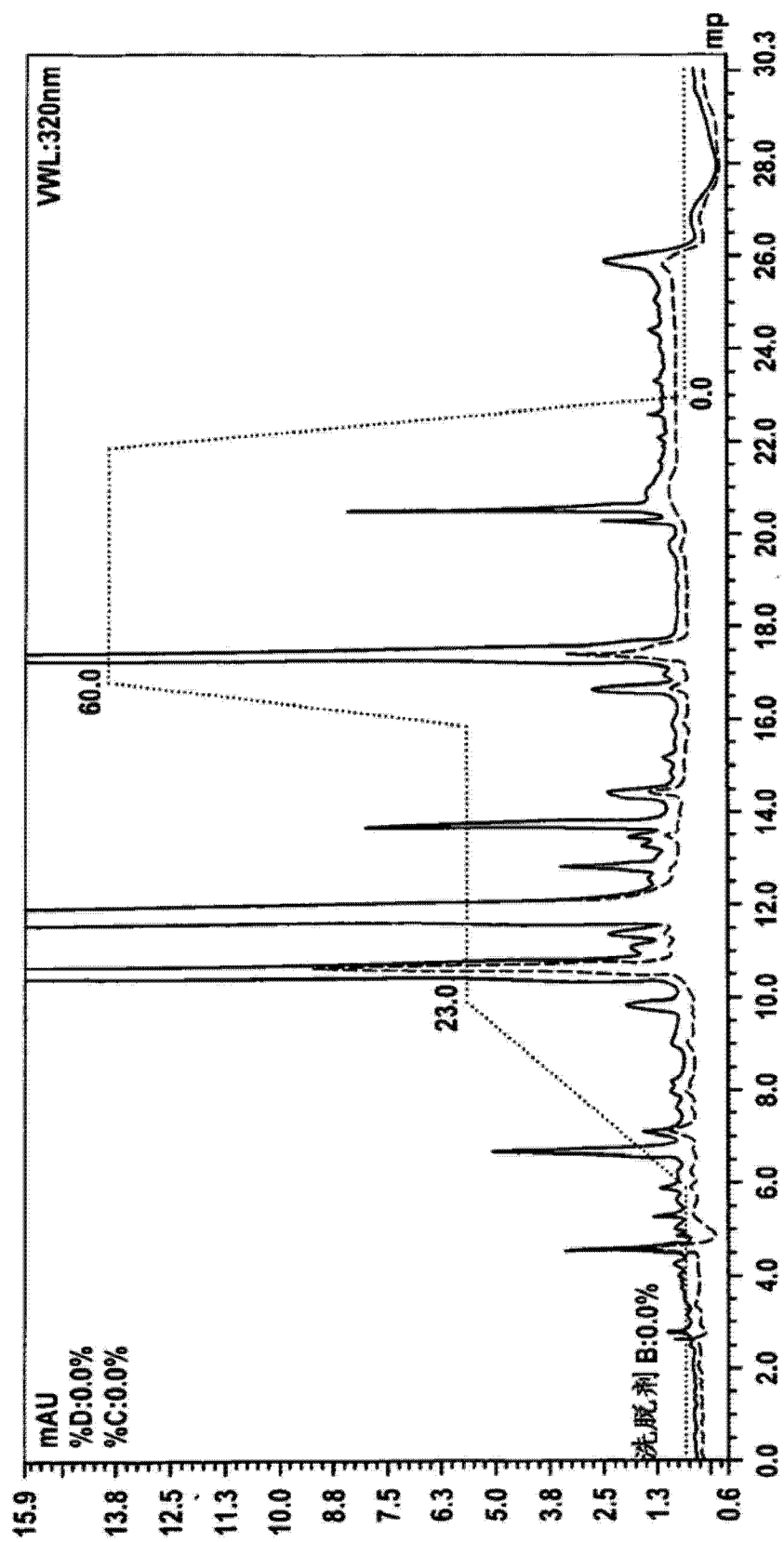


图 1

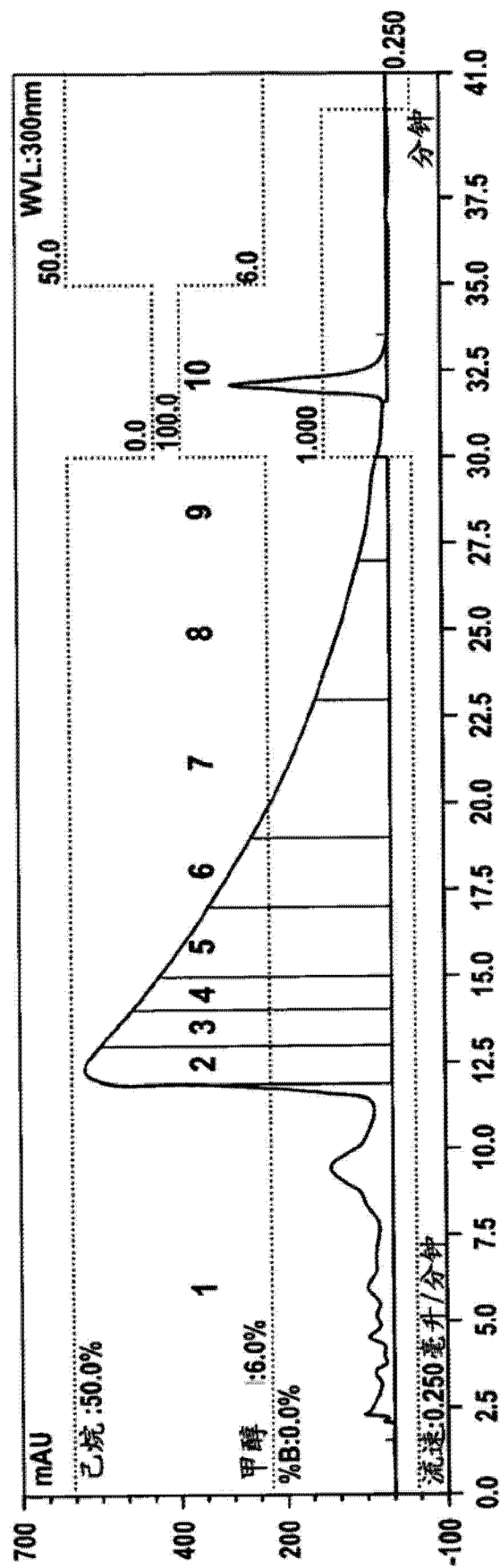


图 2

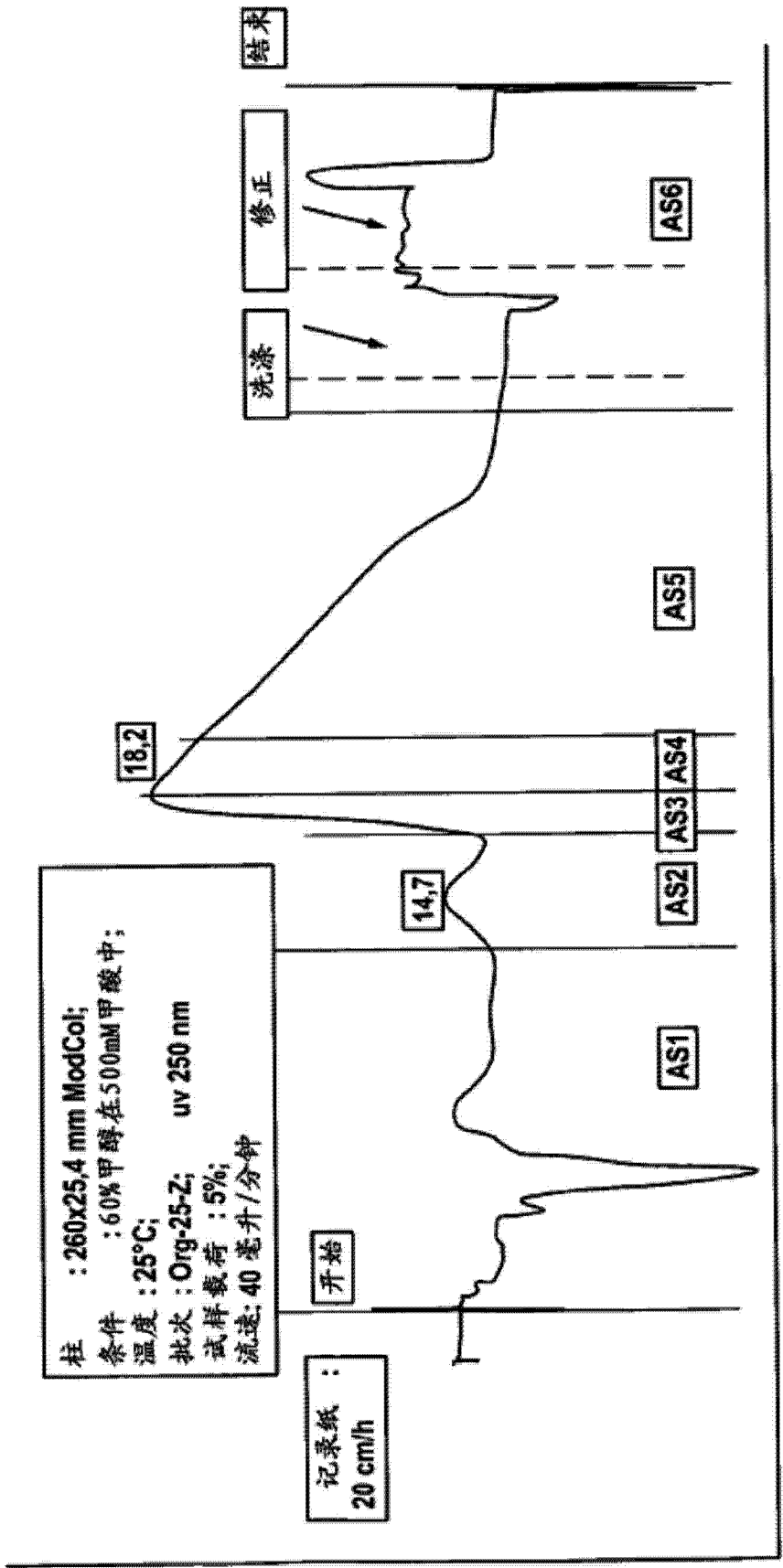


图 3

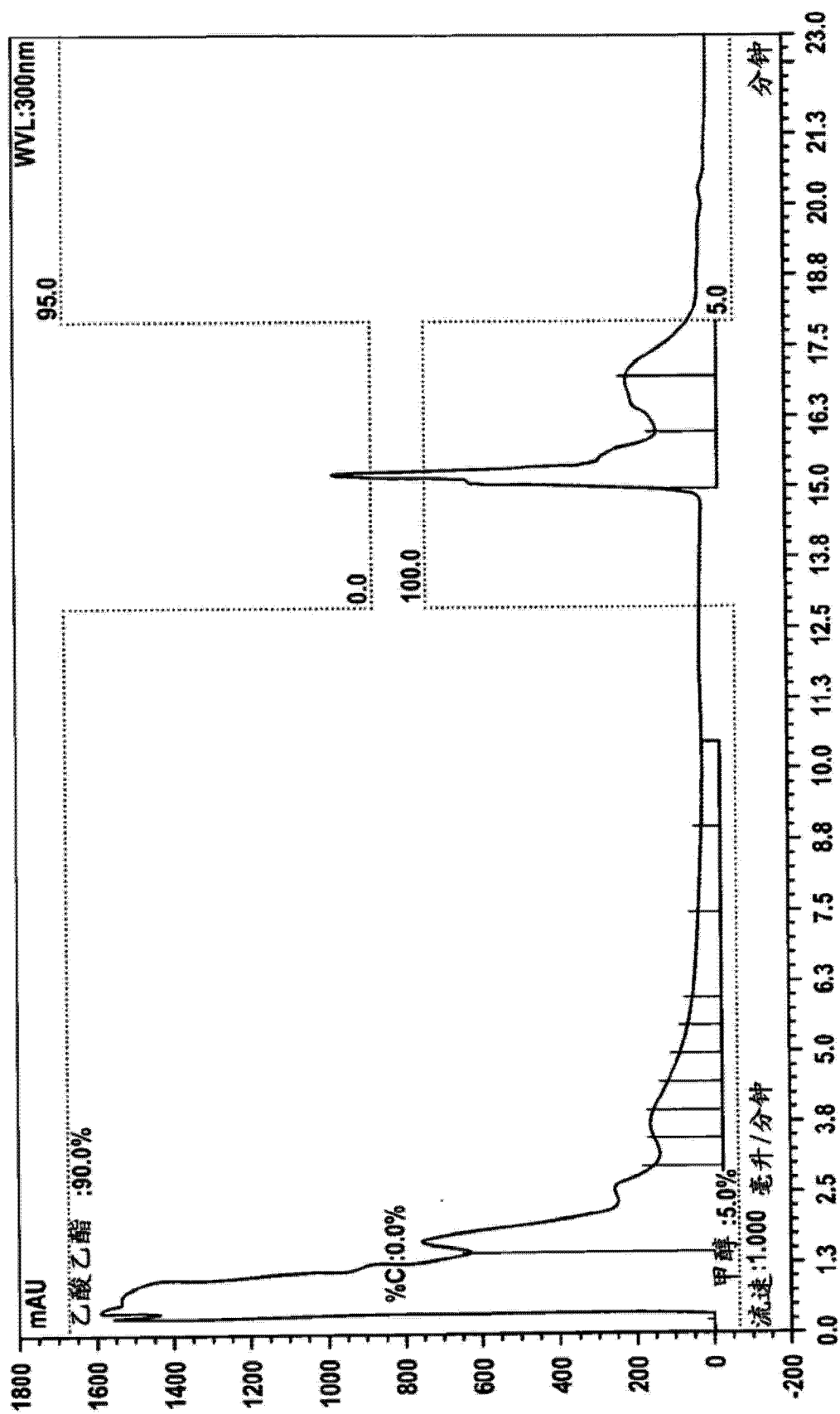


图 4

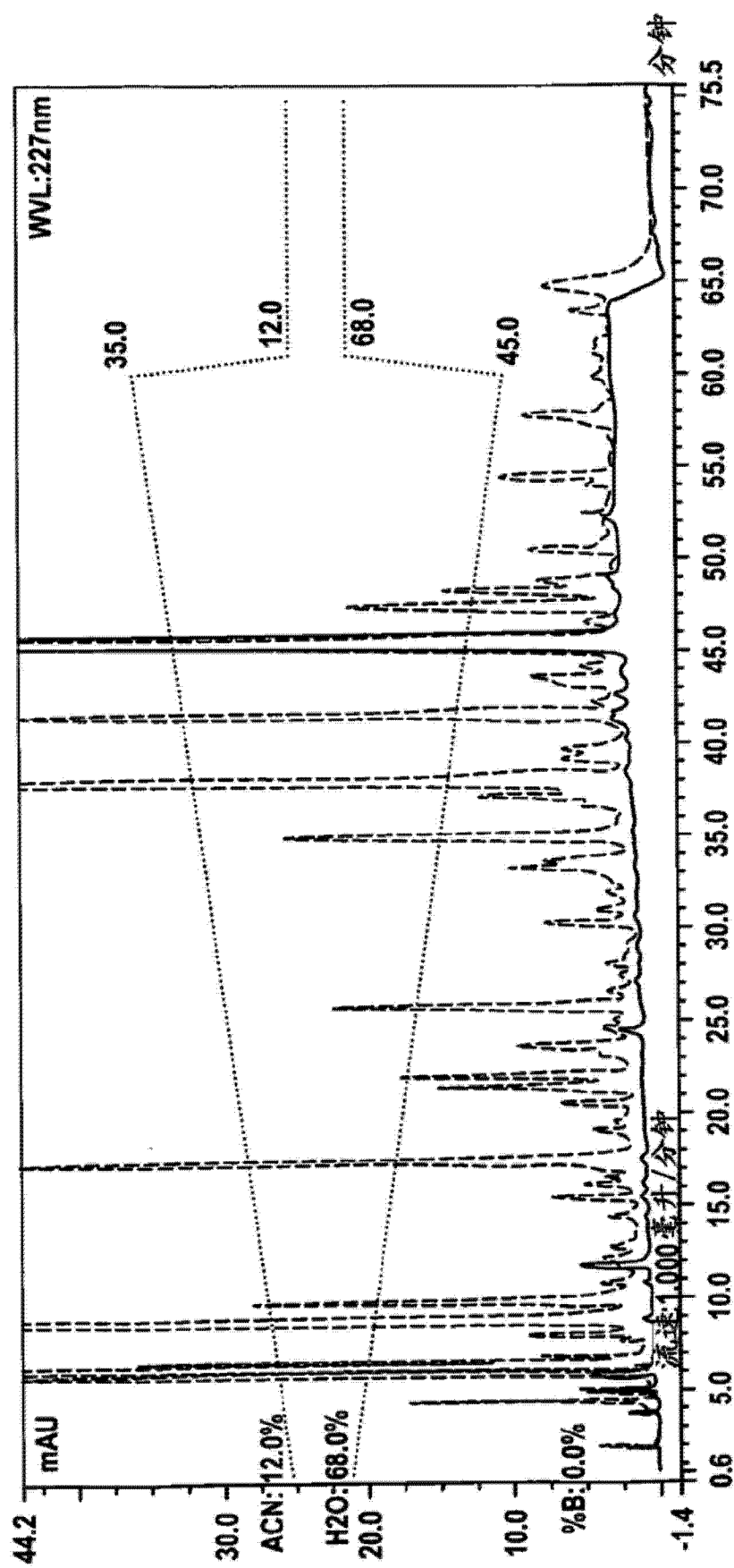


图 5

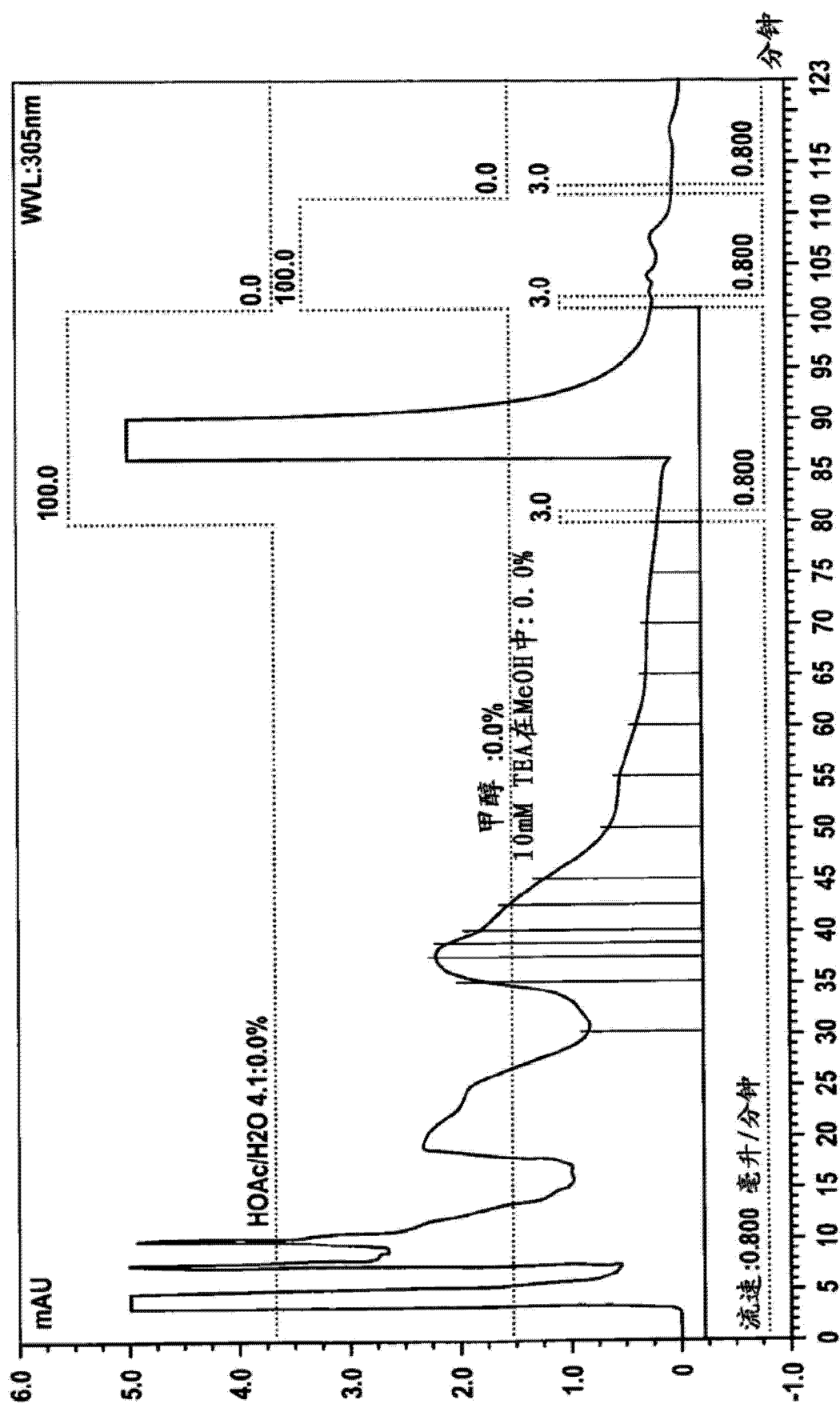


图 6

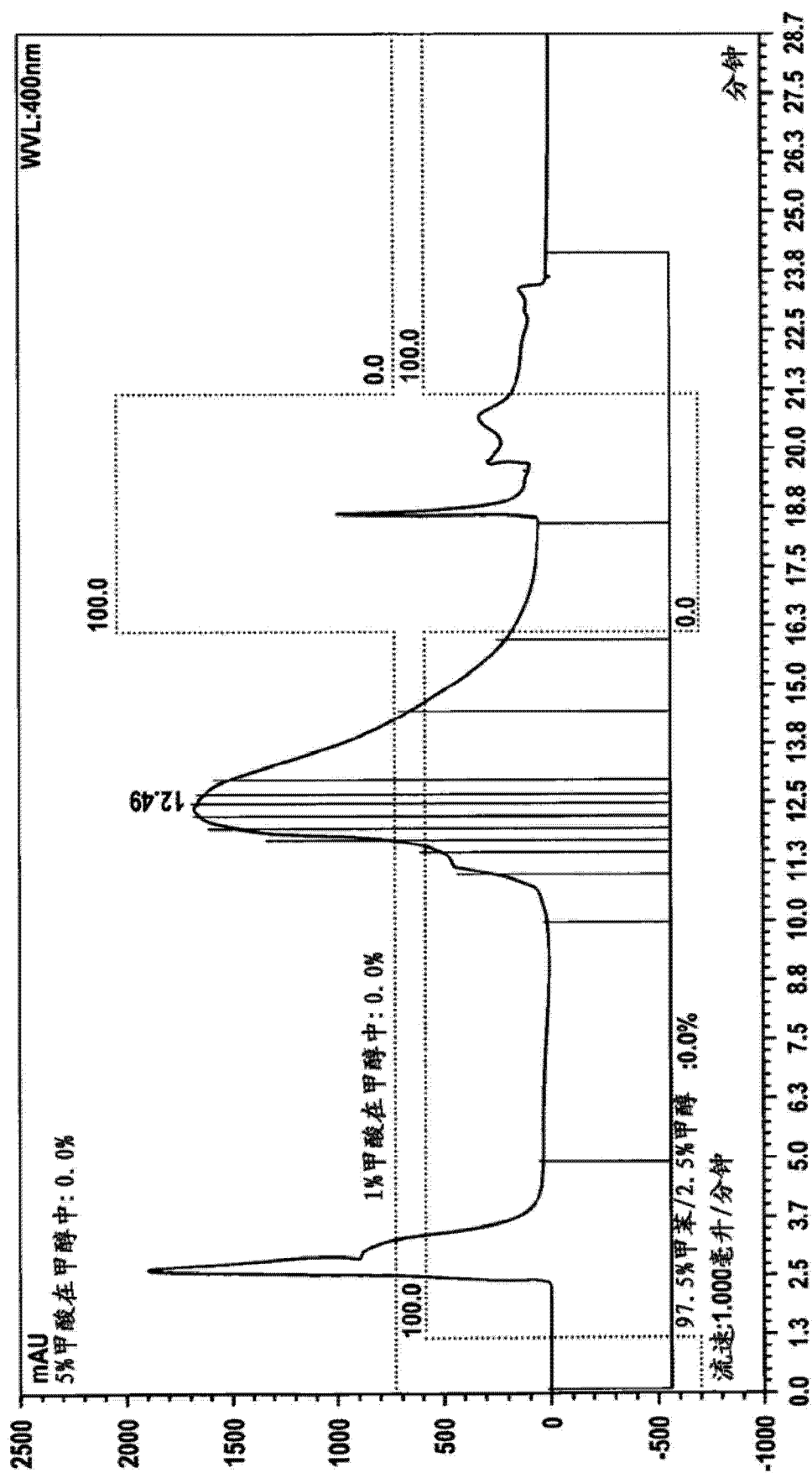


图 7

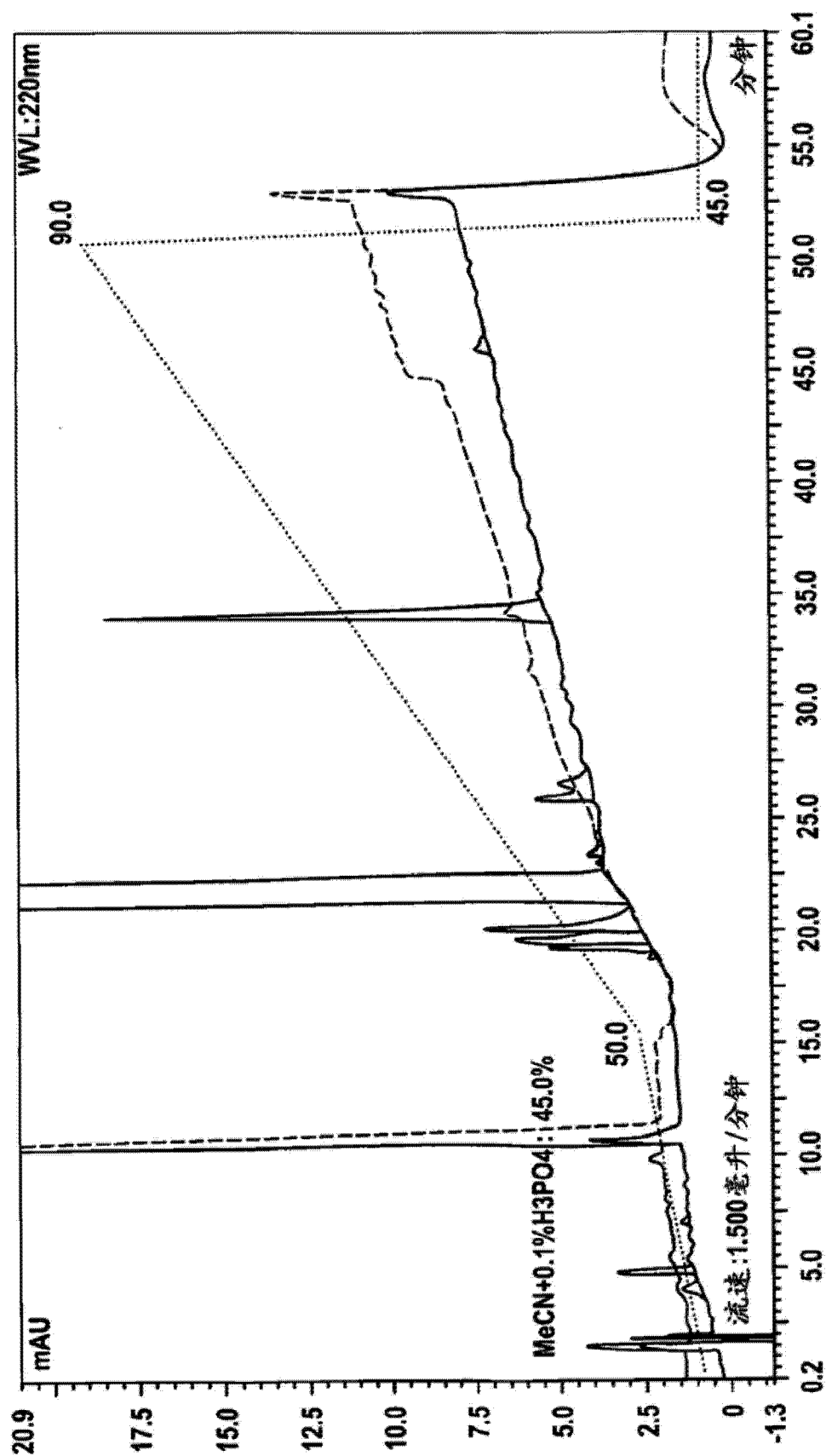


图 8

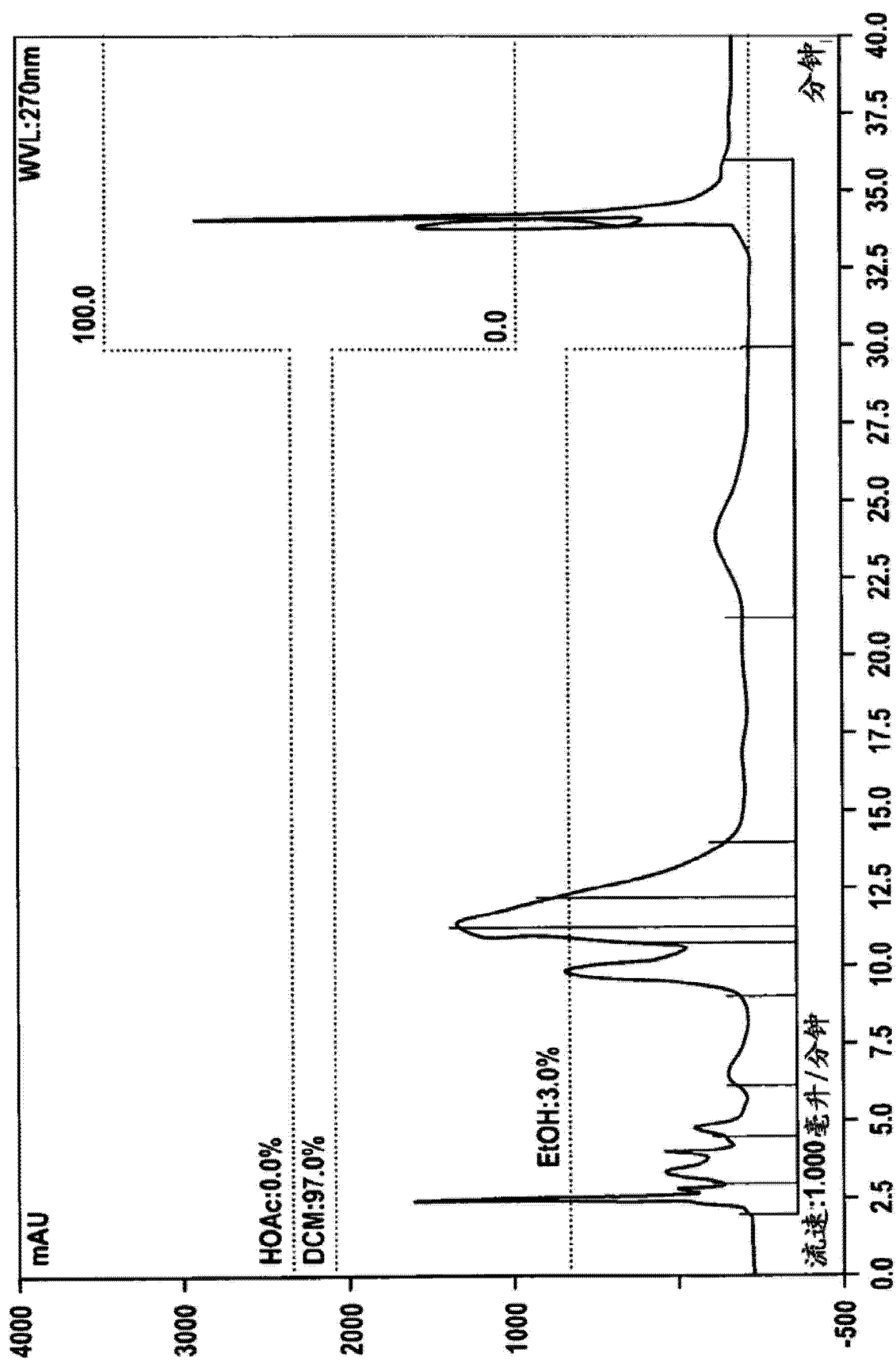


图 9

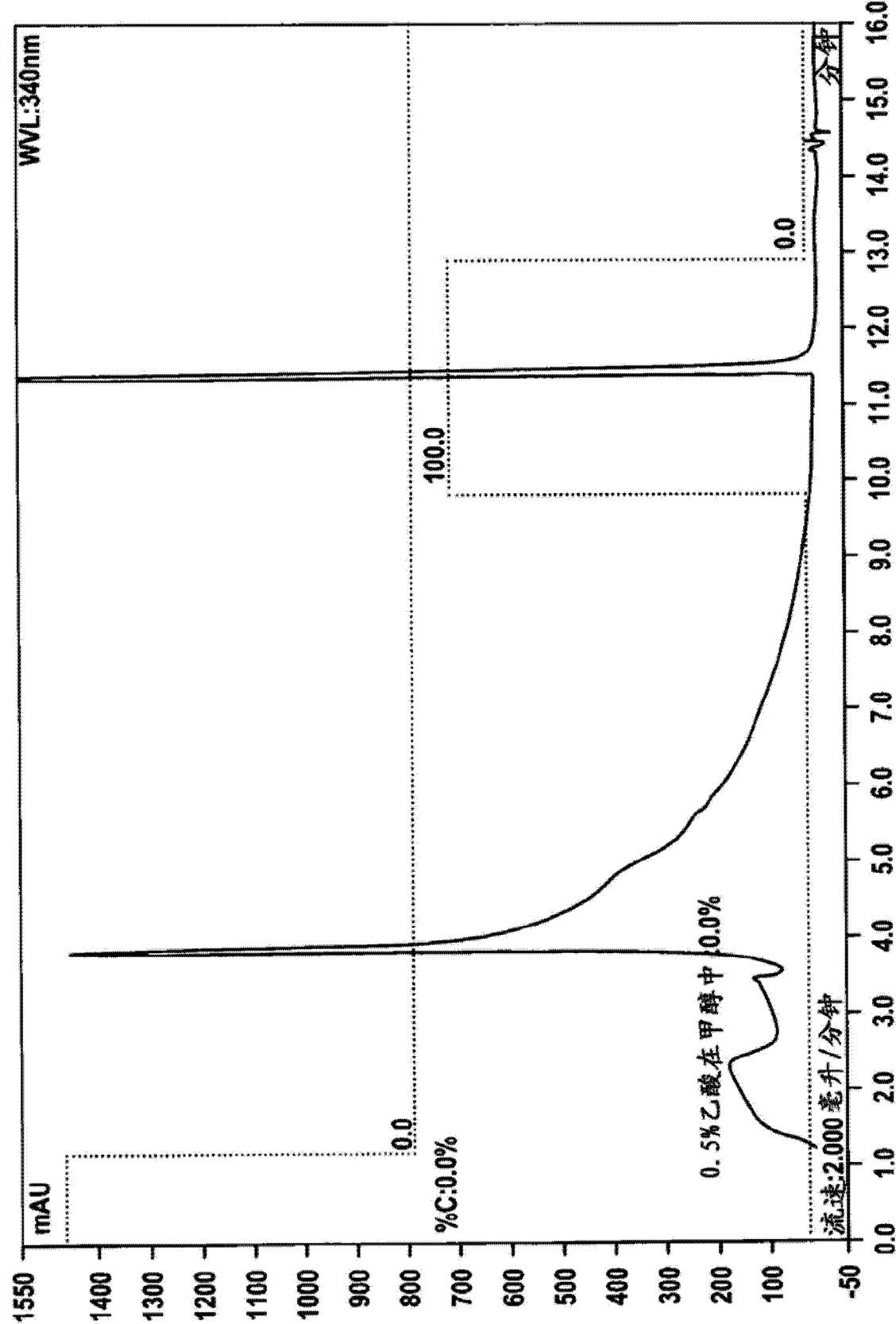


图 10

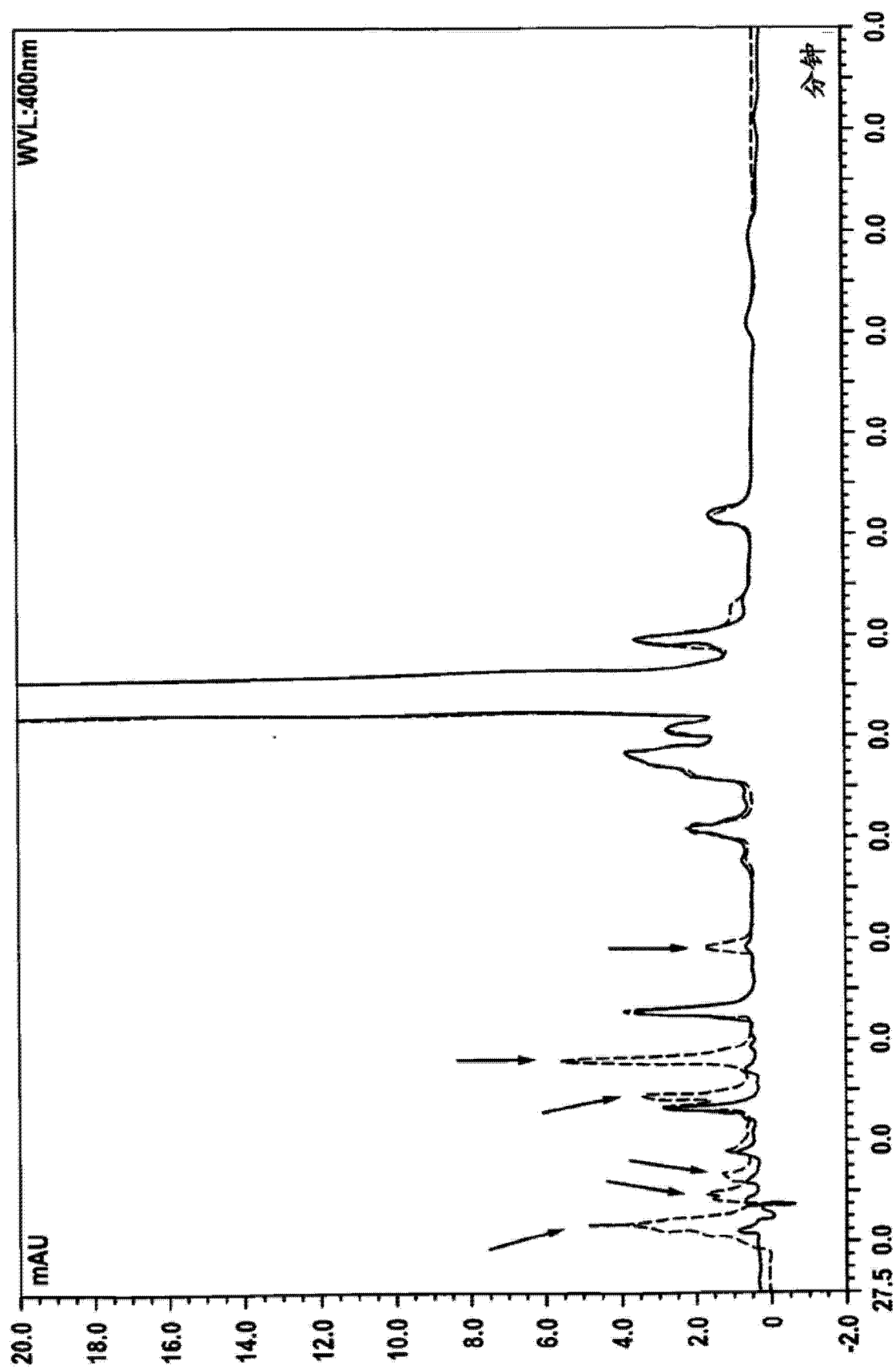


图 11

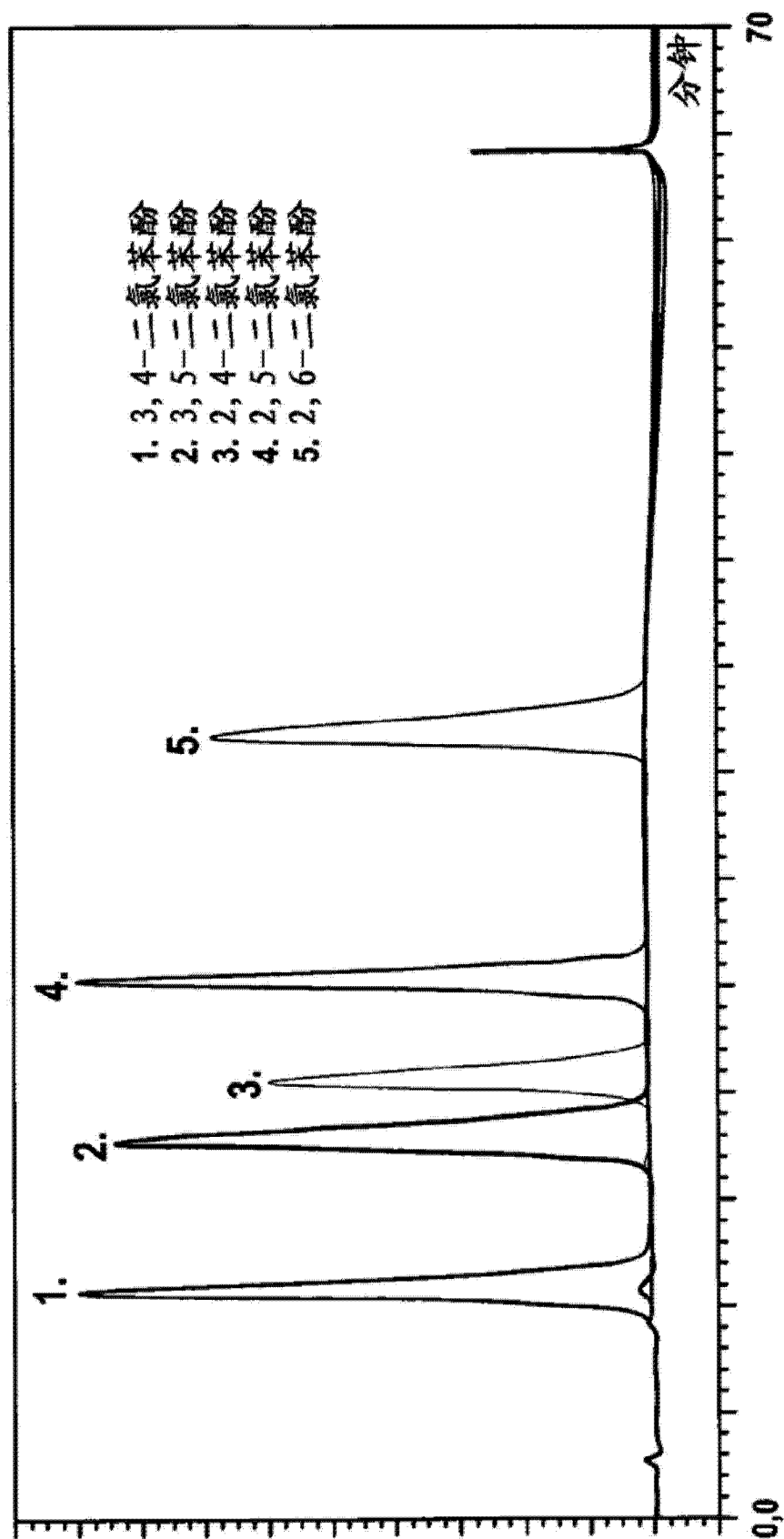


图 12

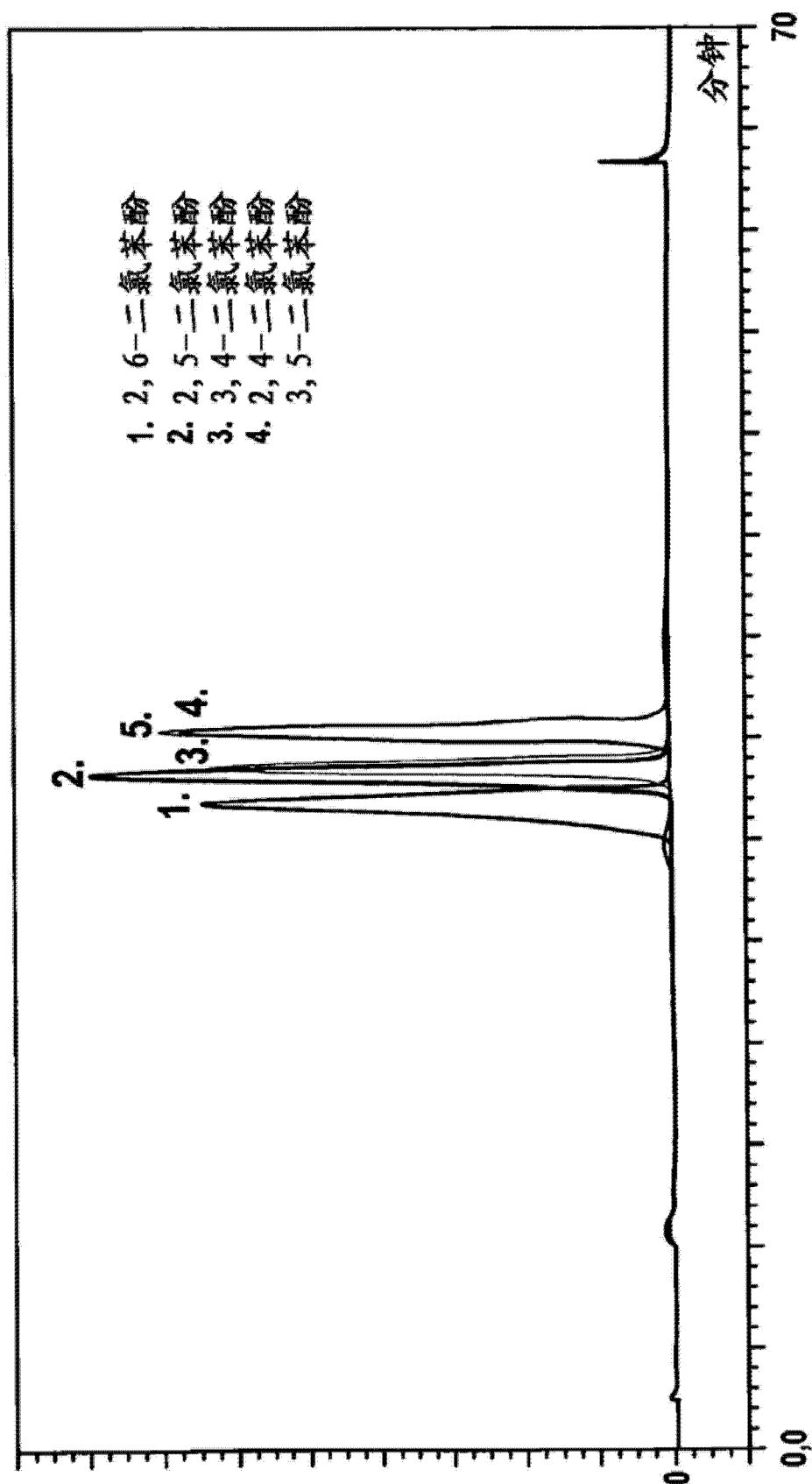


图 13

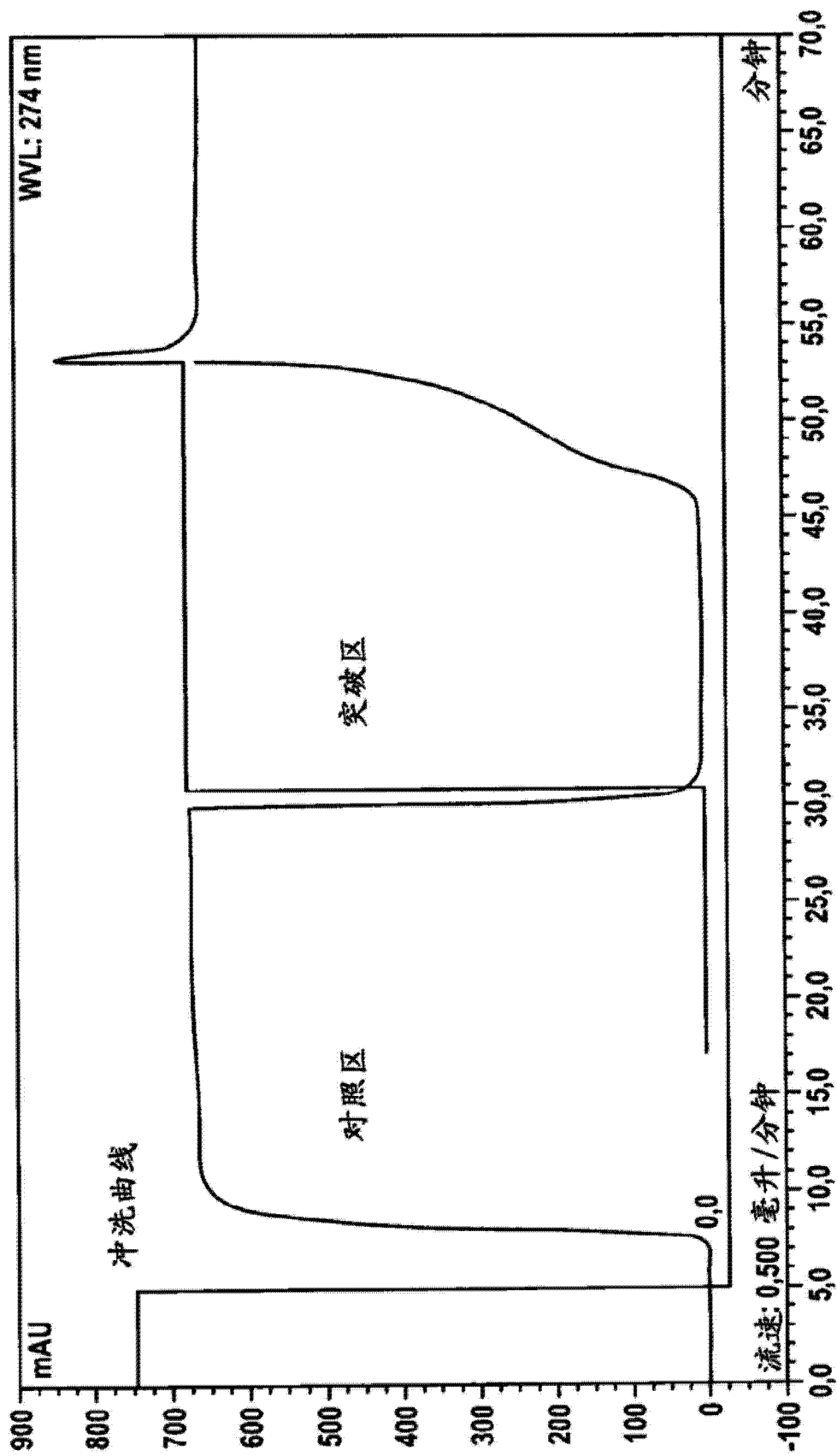


图 14

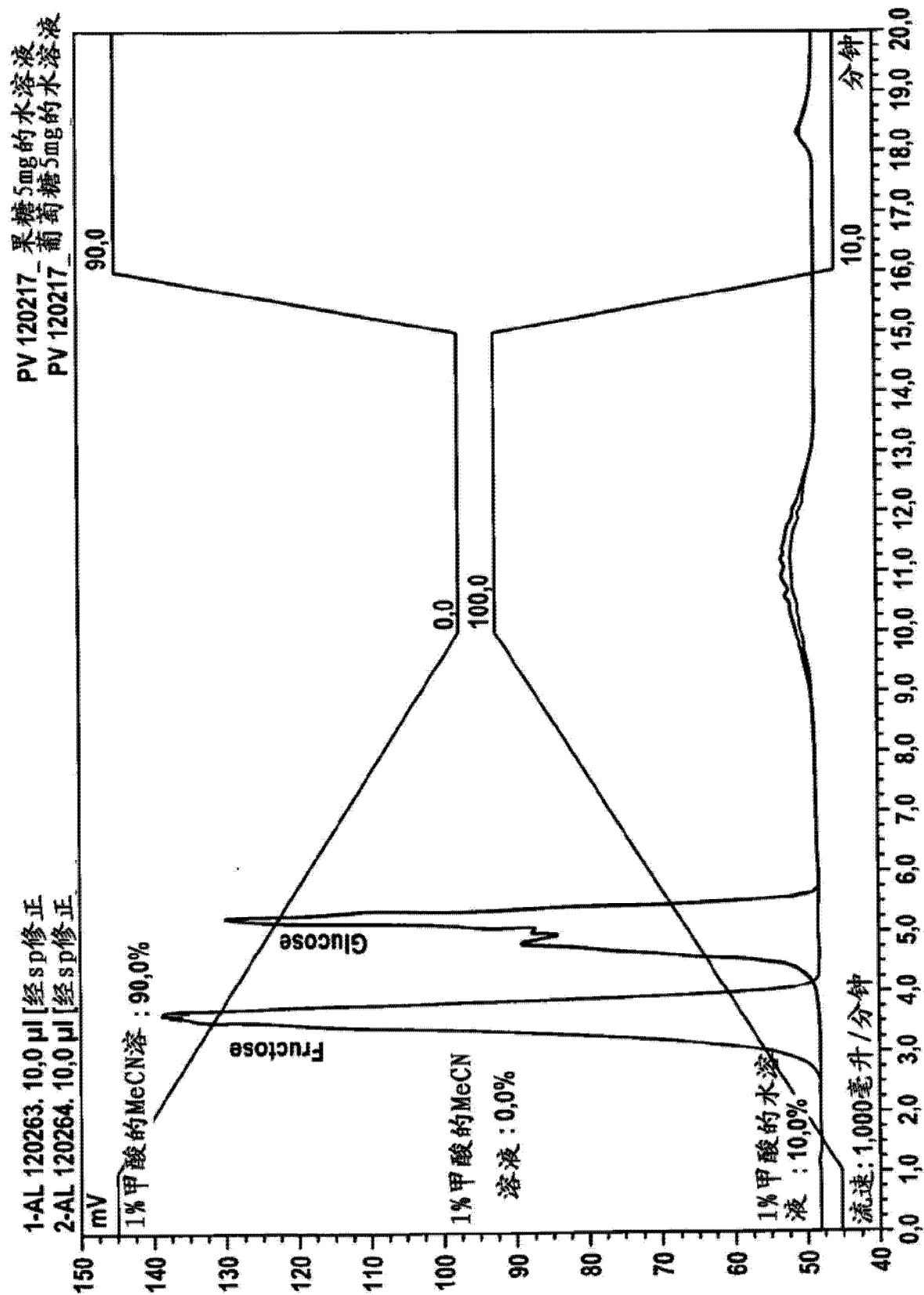


图 15

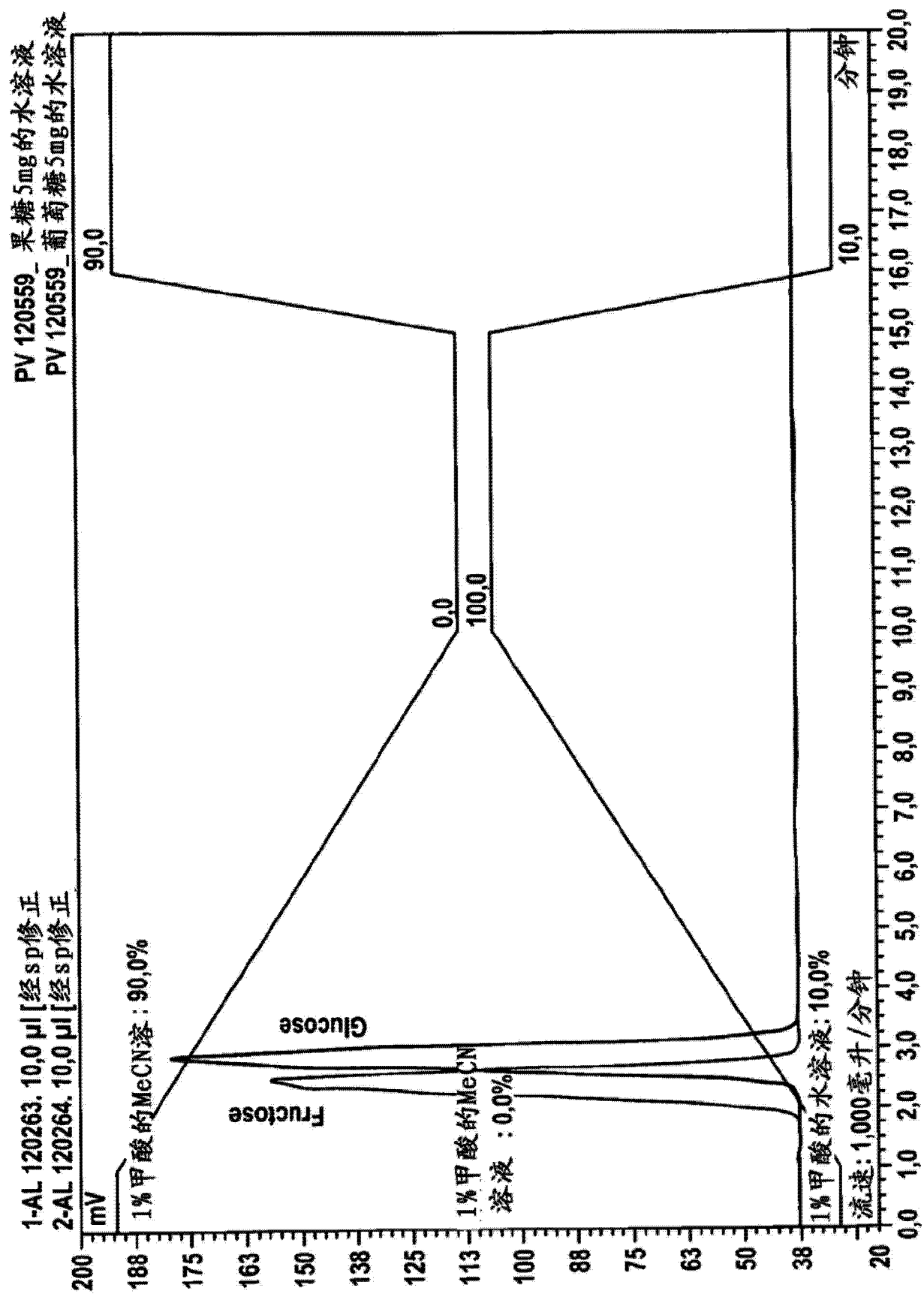


图 16