



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 08 380 T2 2004.07.15**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 194 479 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 08 380.2**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/CA00/00701**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 938 405.8**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 77/081**

(86) PCT-Anmeldetag: **12.06.2000**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **21.12.2000**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **10.04.2002**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **18.02.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **15.07.2004**

(51) Int Cl.⁷: **C08J 9/20**

B01J 20/26, B01D 15/08, C08J 9/28

(30) Unionspriorität:

329289 10.06.1999 US

(73) Patentinhaber:

Prometic Biosciences Inc., Montreal, Quebec, CA

(74) Vertreter:

Samson & Partner, Patentanwälte, 80538 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**Smiley, Leonard H., Philadelphia, US; Lowe,
Christopher, Saffron Walden, GB; Tucker, Julie,
Pembury, GB**

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON FLUORINIERTEN ABSORBIERENDEN POLYMERPARTIKELN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Teilchen von Adsorptionsmittel aus fluoriertem Polymer und deren Verwendung als stationäre Phase zum Ausführen von chromatographischen Trennungen.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Trägermaterialien für eine Verwendung bei der Flüssigkeitschromatographie mit hoher Produktivität müssen mechanische Festigkeit aufweisen, um einem Betrieb mit hohen Flussraten unter hohen Drücken zu widerstehen. Darüber hinaus müssen sie über den breiten pH-Bereich, dem solche Materialien während eines normalen Betriebs und einer Regeneration ausgesetzt werden, stabil sein. Die Stabilität der polymeren Teilchen in ihrer Umgebung sollte es diesen erlauben, Abbau und Zersetzung zu widerstehen. Physikalische Eigenschaften von besonderer Bedeutung für teilchenförmige Chromatographiemedien sind (1) sphärische oder kugelförmige Gestalt der Teilchen; (2) hohe Oberfläche; (3) hohes Porenvolumen und Verfügbarkeit; (4) breiter Bereich von Porendurchmessern; und (5) breiter Bereich von Teilchendurchmessern.

[0003] US-A-4035316 offenbart die Herstellung von Mikrokugeln ausgehend von einer wässrigen Monomerlösung, welche 2-Hydroxyethylmethacrylat, Methacrylsäure, Trifluorethylmethacrylat und Ethylenglycoldimethacrylat umfasst.

Zusammenfassung der Erfindung

[0004] Gemäß einem Aspekt der Erfindung umfasst eine in Wasser unlösliche Lösung von organischen Verbindungen (a) ein aus C_{2-4} -Alkylenglycolestern einer C_{3-4} -Acrylsäure und einem Divinylbenzol ausgewähltes Monomer; (b) ein polyfluoriertes Vinylmonomer; (c) ein aus Acrylsäure, Methacrylsäure und Estern davon ausgewähltes Monomer; (d) einen radikalischen Starter; und (e) ein in Wasser unlösliches, in organischem Lösemittel lösliches porenbildendes Material, wobei das Gewichtsverhältnis der Comonomere (a) plus (b) plus (c) zu dem porenbildenden Material 0,5 : 1 bis 2 : 1 beträgt.

[0005] Gemäß einem weiteren Aspekt der Erfindung sind Teilchen durch Polymerisation einer solchen Lösung erhältlich.

[0006] Teilchen der Erfindung können in einer medizinischen Vorrichtung verwendet werden. Sie können mit einem hydrophilen Polymer überzogen werden. Sie können in einem Verfahren zur chromatographischen Auftrennung von auftrennbaren Komponenten einer flüssigen Lösung verwendet werden, welches umfasst, die flüssige Lösung durch ein Bett der Teilchen zu leiten.

[0007] Teilchen der Erfindung stellen eine Verbesserung gegenüber bekannten Teilchen in Hinblick auf viele der gewünschten Eigenschaften, die oben beschrieben worden sind, dar. Darüber hinaus weist die fluorierte Oberfläche von bestimmten der Teilchen der Erfindung eine unübliche und unerwartete Polarität auf, die bei der Ausführung von chromatographischen Auftrennungen, wie jener, die für DNA verwendet wird, nützlich ist.

[0008] Insbesondere umfasst ein Verfahren zur Herstellung von porösen kugelförmigen oder sphärischen Teilchen von Adsorptionsmittel aus fluoriertem Polymer die Schritte:

- (1) eine in Wasser unlösliche Lösung, wie oben definiert, zu bilden;
- (2) eine verdünnte Lösung eines Dispergiermittels in Wasser, aus welchem ein jeglicher Sauerstoff mit Inertgas herausgespült worden ist, zu bilden;
- (3) unter Bewegung und Spülen mit Inertgas die in Wasser unlösliche Lösung von organischen Verbindungen aus Schritt (1) schnell in der verdünnten wässrigen Lösung aus Schritt (2) zu dispergieren und, sofern erforderlich, die Temperatur der Dispersion auf 30–90°C einzustellen, um die Copolymerisation der Monomere zu starten, wobei das Niveau der Mischenergie ausreichend ist, um die in Wasser unlösliche Lösung von organischen Verbindungen in der Lösung aus Schritt (2) in Form von Flüssigkeitströpfchen, welche einen durchschnittlichen Durchmesser von nicht mehr als 10–300 µm aufweisen, wobei wenigstens 90% der Tröpfchen innerhalb von 40% oberhalb oder unterhalb des durchschnittlichen mittleren Teilchendurchmessers liegen, zu dispergieren;
- (4) die Bewegung und das Sauerstoff-Spülen der Dispersion aus Schritt (3) für eine ausreichende Zeitspanne fortzusetzen, um eine vollständige Copolymerisation der Monomere und Teilchenbildung aus den Tröpfchen in Form von fein verteilten Polymerteilchen durch Ausfällung des Copolymers darin zu bewirken;
- (5) die fein verteilten Copolymerteilchen von dem Polymerisationsreaktionsmedium abzutrennen;
- (6) das porenbildende Material aus den abgetrennten Copolymerteilchen von Schritt (5) durch Waschen der Teilchen mit einem inerten organischen Lösemittel herauszulösen, wodurch Poren innerhalb des Copolymers gebildet werden; und
- (7) die porösen Copolymerteilchen zu trocknen.

[0009] Die Erfindung umfasst ferner Adsorptionsmittelteilchen, welche durch das oben beschriebene Verfah-

ren hergestellt worden sind.

[0010] Die Erfindung umfasst ferner Verwendungen für die erfindungsgemäßen Teilchen als stationäre Phase in Chromatographietechniken. Bestimmte Teilchen der Erfindung sind für eine Verwendung besonders geeignet, wenn die einer Chromatographie zu unterziehende Probe ein Nukleotide, Nukleoside oder Polypeptide, wie DNA, RNA oder Endotoxine, enthaltendes Makromolekül ist.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0011] Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Fluorpolymer-Adsorptionsmittelteilchen von hoher Qualität durch Suspensionspolymerisation mit Hilfe einer wässrigen Lösung, welche ein herkömmliches Dispergiermittel enthält. Die grundlegenden Komponenten des Verfahrens sind (1) das in Wasser unlösliche Polymerisationssystem, das hauptsächlich aus einem polyfluorierten Monomer, zwei oder mehr ethylenisch ungesättigten Monomeren und einem radikalischen Start-Katalysator gebildet wird, und (2) das Dispergiermedium, welches eine verdünnte wässrige Lösung ist, welche ein herkömmliches Dispergiermittel enthält. Mit in Wasser unlösliche Lösung wird eine Lösung gemeint, die in Wasser aus reichend unlöslich ist, so dass ermöglicht wird, dass eine Suspensionspolymerisation auftritt. Bevorzugte ethylenisch ungesättigte Monomere sind Monomere, die eine Divinylfunktionalität aufweisen. Nicht-fluorierte Monomere mit Divinylfunktionalität sind mehr bevorzugt. Poly(vinylalkohol) und Poly(vinylpyrrolidon) sind bevorzugte Dispergiermittel.

A. Dispergiermittel

[0012] Die Polymerisation des polyfluorierten Copolymers für eine Verwendung in der Erfindung wird in Gegenwart einer verdünnten wässrigen Lösung, welche ein Dispergiermittel, beispielsweise Poly(vinylalkohol) oder Poly(vinylpyrrolidon), enthält, ausgeführt. Die Hauptfunktion des Dispergiermittels besteht darin, die an der Grenzfläche auftretende Oberflächenspannung zwischen den fein dispergierten, in Wasser unlöslichen Polymerisationskomponenten und der kontinuierlichen Phase des wässrigen Mediums einzustellen. Durch Regulierung der Konzentration des in dem wässrigen Medium gelösten Dispergiermittels kann die Tröpfchengröße des dispergierten Polymerisationssystems und folglich die Größe der resultierenden polymerisierten Teilchen feiner kontrolliert werden.

[0013] Solange das Dispergiermittel im wesentlichen vollständig in dem wässrigen Medium gelöst wird, kann ein breites Spektrum von Molekulargewichten des Dispergiermittels mit Erfolg bei der praktischen Ausführung der Erfindung verwendet werden. Ein bevorzugtes Dispergiermittel ist PVA, das zu wenigstens 80% hydrolysiert ist und mehr bevorzugt zu wenigstens 86% hydrolysiert ist, mit einem Molekulargewicht von wenigstens ungefähr 1000. Das maximale verwendbare Molekulargewicht ist abhängig von der Umgebungswasserlöslichkeit des Dispergiermittels. Beispielsweise wird das Molekulargewicht des verwendeten PVA normalerweise 150000 nicht überschreiten und ist vorzugsweise nicht höher als 100000.

[0014] Für die Zwecke der Erfindung sollte die Konzentration von PVA in dem wässrigen Medium innerhalb des Bereichs von 1 bis 50 ml PVA pro Liter Wasser liegen. Unter 1 ml/l ist die modifizierende Wirkung des PVA unzureichend und über ungefähr 50 ml/l ist kein weiterer Vorteil feststellbar. Es ist selbstverständlich wünschenswert, geringere Mengen von PVA zu verwenden, um energieverschwendende Erhöhungen der Viskosität des wässrigen Mediums zu vermeiden.

B. Polymerisationssystem

1. Polyfluoriertes Monomer:

[0015] Wie oben erläutert, muss das Fluor-enthaltende Comonomer eine Mehrzahl von Fluor (F)-Substituenten enthalten. Es ist bevorzugt, dass das fluorierte Comonomer wenigstens drei F-Substitutionen enthält. Mehr bevorzugt ist dieses Monomer perfluoriert. Zusätzlich zu diesen Einschränkungen hinsichtlich dessen Fluorierungsausmaßes ist es essentiell, dass das fluorierte Comonomer bei den auftretenden Polymerisationstemperaturen in Wasser im wesentlichen vollständig unlöslich ist und in den anderen Komponenten des dispergierten Polymerisationssystems im wesentlichen vollständig löslich ist.

[0016] Geeignete polyfluorierte Comonomere sind jene, die aktive Vinylstellen enthalten, wie Acrylate, Methacrylate, Vinylverbindungen, Maleate und Itaconate. Unter den vielen Verbindungen innerhalb von jenen Kategorien befinden sich Pentafluorstyrol, Bishexafluorisopropylitaconat, Bishexafluorisopropylmaleat, Heptadecafluordecylacrylat, Perfluoroctylmethacrylat, 2,2,3,3-Tetrafluorpropylmethacrylat, Monotrifluorethylitaconat, 2,2,2-Trifluorethylmaleat, Vinylbenzylperfluoroctanoat und Vinyltrifluoracetat.

2. Vinyl-Comonomere:

[0017] Es ist bevorzugt, dass die Comonomer-Komponente des polyfluorierten Copolymers für eine Verwendung im Rahmen der Erfindung ein nicht-fluoriertes C_{2-4} -Alkylenglycolester einer C_{3-4} -Acrylsäure (das der Vernetzung dienende Comonomer) ist.

[0018] Das der Vernetzung dienende Comonomer muss wenigstens zwei Vinylgruppen aufweisen. Geeignete Comonomere, die diese Zusammensetzung aufweisen, sind Ethylenglycoldimethacrylat, 1,3-Propylenglycoldimethacrylat, 1,4-Butandiolmethacrylat, Ethylenglycolitaconat, Ethylenglycoldiacrylat und Ethylenglycoldimaleat. Divinylbenzol kann für diesen Zweck ebenfalls verwendet werden.

[0019] Es kann auch eine Mischung von nicht-fluorierten Comonomeren verwendet werden, wobei ein nicht-fluoriertes Comonomer wenigstens zwei Vinylgruppen aufweist, d. h. das der Vernetzung dienende Comonomer, und das dritte Monomer, d. h. das Comonomer (c) Acrylsäure, Methacrylsäure oder ein Ester von Acryl- oder Methacrylsäure ist. Typische Ester sind die Methyl-, Ethyl- und Hydroxyethylester von diesen Säuren, Epoxid-enthaltende Ester von diesen Säuren und Aminester von diesen Säuren. So kann bei der Synthese ein viertes Comonomer, welches aus den Comonomeren (c) ausgewählt wird, verwendet werden.

[0020] Die Anwesenheit von Comonomer (c) erleichtert die Anheftung von Liganden für eine Verwendung bei chromatographischen Auftrennungen, indem die Verwendung von PVA als Linker oder Verbindungsmolekül zwischen dem perfluorierten Teilchen und dem Ligand vermieden wird, wie in den U.S.-Patenten mit den Nrn. 5,773,587 und 6,046,246 beschrieben. Die Zugabe von Monomer (c) hat nur geringen Einfluss auf die Eigenschaften der verbesserten Teilchen der Erfindung, wie Stabilität des Teilchens oder Porengröße.

[0021] Wir haben gezeigt, dass zwischen 1 und 30% der der Vernetzung dienenden Verbindung Ethylenglycoldimethacrylat durch ein drittes oder viertes Monomer, welches aus den Comonomeren (c) ausgewählt wird, ersetzt werden können. Diese Comonomere können abhängig von der gewünschten Funktionalität ausgewählt werden. Es können beispielsweise funktionale (funktionelle Gruppen aufweisende) Ester von Acryl- und Methacrylsäure zugesetzt werden, wie jene, die Hydroxyl, Epoxid, Amin, quartäres Ammonium, Sulfonsäure u. s. w. enthalten, können verwendet werden.

3. Radikalischer Starter:

[0022] Eine essentielle Komponente der Polymerisation ist eine Quelle für freie Radikale. Insbesondere muss das System eine oder mehrere Verbindungen enthalten, die sich unter den Polymerisationsbedingungen thermisch unter Bildung von freien Radikal-Spezies zersetzen. Ein bevorzugtes radikalisiertes Mittel ist eine Mischung von Azobisisobutyronitril (AIBN) und Benzoylperoxid (BPO). Für diesen Zweck werden ungefähr 10 bis ungefähr 50 mg/l benötigt. Es wird anerkannt, dass höhere Konzentrationen von der Funktionalität her einsetzbar sind. Es ist jedoch bevorzugt, so geringe Mengen wie möglich zu verwenden, um die Menge von fremden Materialien in den gebildeten Polymerteilchen zu verringern.

C. Porenbildner

[0023] Geeignete porenbildende Materialien sind jene organischen Verbindungen, die (1) in Hinblick auf die anderen Komponenten der Polymerisationsphase chemisch inert sind, (2) in dem Polymerisationssystem vollständig löslich sind, (3) in der kontinuierlichen wässrigen Phase vollständig unlöslich sind und (4) aus den polymerisierten Teilchen bei relativ niedrigen Temperaturen mit einem organischen Lösemittel mit niedrigem Molekulargewicht leicht herauslösbar sind. Dibutylphthalat, das leicht entfernt wird, indem die Polymerteilchen mit Dichlormethan gewaschen werden, ist ein bevorzugter Porenbildner für eine Verwendung im Rahmen der Erfindung. Andere geeignete Porenbildner umfassen Toluol, Isopropylbenzol, 2-Methyl-4-pentanon, 2-Methyl-4-pentanol und Chlorbenzol.

D. Polymerisationsprozedur

[0024] Die Polymerisation sollte in im wesentlichen vollständiger Abwesenheit von Luft oder einer jeglichen anderen Quelle für Sauerstoff-Verunreinigungen, die zu schädlichen Reaktionen mit einer jeglichen der Komponenten des Polymerisationssystems, speziell den Monomeren, dem Vernetzungsmittel und dem radikalischen Starter, führen könnten, ausgeführt werden. Es ist festgestellt worden, dass die praktikabelste Weise zur Entfernung und Verhütung der Einführung von Sauerstoff in das Polymerisationssystem darin besteht, das Polymerisationsreaktionssystem vor, während und nach dem Abschluss des Polymerisationsverfahrens mit einem Inertgas zu spülen. Selbstverständliches ist ein jegliches der Inertgase für diesen Zweck geeignet. Jedoch sind Argon und Stickstoff die am wenigsten teuren und werden in den meisten Fällen bevorzugt sein. Da die Polymerisation unter Bedingungen eines Mischens mit sehr hoher Energie ausgeführt wird, ist das Verfahren zur Einführung des Spülgases nicht besonders kritisch, solange es hinsichtlich des Volumens adäquat ist.

[0025] Das Dispergiermittel wirkt hauptsächlich für eine genauere Kontrolle der Grenzflächenspannung zwischen den dispergierten Monomertröpfchen und dem wässrigen kontinuierlichen Medium. Die Tröpfchengröße wird dominanter durch die Menge an Mischenergie, die verwendet wird, um das Polymerisationssystem zu dispergieren, kontrolliert. Dementsprechend werden nur vergleichbar geringe Konzentrationen von PVA als Dispergiermittel in dem wässrigen Medium benötigt, d. h. in der Größenordnung von 1–100 g/l. Eine PVA-Konzentration innerhalb des Bereichs von 0,5–40 g/l ist bevorzugt. Obwohl höhere Konzentrationen verwendet werden können, verbessern sie die Funktionalität nicht. Aufgrund der Notwendigkeit, während der Polymerisation sehr kleine Tröpfchen zu bilden, ist es selbstverständlich wünschenswert, höhere PVA-Konzentrationen zu vermeiden, die das wässrige Medium viskoser machen würden.

[0026] Die Menge des Energieaufwands für die Polymerisation ist hauptsächlich eine Funktion der Polymer Teilchengröße, die gewünscht wird. So sinkt das Ausmaß des Mischens (der Energieaufwand), wenn größere Teilchen angestrebt werden. Wenn kleinere Teilchen angestrebt werden, steigt das Ausmaß des Mischens. Es ist bevorzugt, dass die Tröpfchengröße während der Polymerisation kontrolliert wird, um Polymerteilchen innerhalb des Bereichs von 5–300 Mikrometern zu erhalten, wobei 20–100 Mikrometer besonders bevorzugt sind.

[0027] Die Polymerisation wird bei 30–90°C, vorzugsweise 70–90°C ausgeführt.

F. Teilcheneigenschaften

[0028] Ideale Chromatographiemedien müssen die folgenden Eigenschaften aufweisen: (1) sphärische oder kugelförmige Gestalt; (2) hohe Oberfläche; Verfügbarkeit eines breiten Bereichs von (3) Porendurchmessern und (4) Teilchendurchmessern; (5) hohes Porenvolumen; (6) hohe mechanische Festigkeit; und (7) sowohl chemische als auch mechanische Stabilität innerhalb des gesamten pH-Bereichs, dem die Medien bei einer Verwendung ausgesetzt werden.

[0029] Die sphärische oder kugelförmige Gestalt der Teilchen anstelle von unregelmäßigen, körnchenförmigen Gestalten ist vorteilhaft, um einen minimalen Widerstand für den Fluss durch ein gepacktes Bett der Teilchen und einen minimalen Gegendruck sicherzustellen. Bei solchen regelmäßig geformten Teilchen besteht eine geringere Wahrscheinlichkeit, dass sie während einer Verwendung eine Verdichtung erfahren.

[0030] Teilchengröße und -größenverteilung sind ebenfalls wichtige Eigenschaften der Teilchen der Erfindung. Im allgemeinen vereinfachen Teilchen, die größer als ungefähr 20 Mikrometer sind, einen niedrigen Gegendruck in gepackten Säulen. Darüber hinaus sind die chromatographische Peakbreite und die Peakgestalt, die mit größeren Teilchen erhalten werden, üblicherweise breiter als die Peakbreite und -gestalt, die mit Teilchen im Bereich von 3–15 Mikrometern erhalten werden. Für viele Arten von Trennungen werden häufig enge Peakgestalten gewünscht.

[0031] Es ist üblicherweise bevorzugt, dass die verfügbare Oberfläche von polyfluorierten Teilchen, welche durch das Verfahren der Erfindung hergestellt werden, wenigstens ungefähr 200 m²/g beträgt, um eine höhere Beladung mit Antigenen auf den teilchenförmigen Medien zu erhalten. Nichtsdestotrotz können Medien, die viel geringere Oberflächen aufweisen, gemäß der Erfindung leicht hergestellt werden, indem die in dem Polymerisationssystem verwendete Menge von Porenbildner verändert und die Größe der Teilchen verringert wird. Entsprechend wird ein hohes Porenvolumen von wenigstens 0,5 ml/g benötigt, um eine hohe Oberfläche zu erhalten.

[0032] Für unterschiedliche chromatographische Prozeduren muss ein breiter Bereich von Porengrößen verfügbar sein. Große Poren werden für den effizienten Einfang von größeren Molekülen, wie Proteinen, benötigt, während kleine Poren für den effizienten Einfang von kleinen Molekülen benötigt werden. Im allgemeinen kann der Bereich von Porengrößen sich von unter 60 Å bis hinauf zu z. B. 1000 Å erstrecken, wobei 300–800 Å bevorzugt sind. Dieser Größenbereich ist unter Verwendung des Verfahrens der Erfindung zum Anpassen der relativen Menge und der Art des Porenbildners innerhalb der gebildeten Polymerteilchen relativ leicht erhältlich.

[0033] Aufgrund des breiten Bereichs von pH-Werten, bei welchen Chromatographiemedien verwendet werden, und aufgrund der sehr hohen pH-Bereiche, die häufig angetroffen werden, um diese zu reinigen und zu regenerieren, ist es erforderlich, dass sie innerhalb des gesamten Bereichs von solchen pH-Expositionen chemisch inert sind. Insbesondere müssen Chromatographiemedien in der Lage sein, dem hohen pH (12 oder höher) zu widerstehen, der durch die Verwendung von NaOH zum Reinigen der Medienteilchen, typischerweise 0,1–1 normal, angetroffen wird.

G. Verwendungen der Teilchen

[0034] Die Adsorptionsmittelteilchen der Erfindung sind relativ vielseitig und können als stationäre Phase zum Ausführen einer großen Vielzahl von chromatographischen Auftrennungen verwendet werden. Beispiele für die chromatographischen Auftrennungen, an die gedacht wird, umfassen Umkehrphasen-Auftrennungen, Affi-

nitätsauftrennungen, Auftrennungen in einem expandierten Bett, Ionenaustauschchromatographie, Gelfiltration, chromatographische Komponenten-Auftrennung, Festphasenextraktion, Filtration und andere anerkannte technischen Methoden zum Unterscheiden, Messen oder Sammeln von Komponenten einer chemischen, biologischen oder physikalischen Mischung. Die Teilchen können als Träger, um verschiedene Arten von Liganden aufzupropfen, verwendet werden. Bestimmte der Teilchen sind für eine Verwendung besonders geeignet, wenn die der Chromatographie zu unterziehende Probe aus DNA, RNA oder Polypeptiden besteht.

[0035] Die polyfluorierten Teilchen der Erfindung können für chromatographische Auftrennungen entweder mit oder ohne einen Überzug aus einem hydrophilen Polymer, wie Poly(vinylalkohol), verwendet werden.

[0036] Die Oberfläche der nicht-überzogenen Teilchen der Beispiele 3 und 4 ist hydrophob, aber mit einer geringfügigen Polarität, welche Kombination von Eigenschaften für chromatographische Umkehrphasen-Auftrennungen ideal ist. Die Umkehrphasen-Chromatographie umfasst die Verwendung einer relativ nicht-polaren stationären Phase in Verbindung mit einer sehr polaren mobilen Phase, die üblicherweise Wasser ist. Diese Technik wird verwendet, um gelöste Stoffe von geringerer Polarität aufzutrennen. Die Umkehrphasen-Chromatographie wird üblicherweise unter Verwendung von Siliciumdioxid, welches mit einem organischen Silan überzogen ist, um Hydrophobizität bereitzustellen, ausgeführt. Jedoch weist das hydrophob gemachte Siliciumdioxid eine schwerwiegende Einschränkung auf, indem es bei pH-Werten über 11 nicht verwendet werden kann und mit konzentrierten Natronaugenlösungen nicht gereinigt werden kann, ohne die Teilchen aufzulösen. Ein substantieller Vorteil der polyfluorierten Teilchen der Erfindung besteht darin, dass sie diese Einschränkung nicht aufweisen.

[0037] Die Verwendung der nicht-überzogenen Teilchen der Erfindung für eine Umkehrphasen-Chromatographie wird durch Beispiel 28 veranschaulicht und die Stabilität der Teilchen der Erfindung gegenüber basischen Lösungen wird durch die Daten gezeigt, die in Beispiel 29 unter erhalten werden.

[0038] Geeignete hydrophile Polymere für eine Verwendung beim Überziehen der polyfluorierten Teilchen der Erfindung sind jene, die ungeladen, wasserlöslich, nicht-cyclisch sind und eine Mehrzahl von Hydroxylgruppen aufweisen. Obwohl recht viele derartige hydrophile Polymere für diese besondere Aufgabe nützlich sind, ist Poly(vinylalkohol) bevorzugt.

[0039] Vorteilhafterweise können die polyfluorierten Verbindungen der Erfindung in medizinischen Vorrichtungen mit oder ohne Liganden auf ihren Oberflächen verwendet werden, um Auftrennungen vorzunehmen, die nicht als chromatographisch eingestuft werden. Beispielsweise können Blutkomponenten unter Verwendung einer medizinischen Vorrichtung aufgetrennt werden, in welcher das Blut durch eine außerhalb des Körpers befindliche Kartusche gepumpt wird und in den Körper zurückgeführt wird. Eine Komponente, wie ein Toxin, würde entfernt und nicht in den Körper zurückgeführt werden.

[0040] Aufgrund der Stabilität der polyfluorierten Teilchen der Erfindung kann eine Sterilisation durch Gammaabstrahlung erfolgen, ohne das Teilchen zu zerstören. Diese Eigenschaft macht die Teilchen besonders gut geeignet für Verwendungen in medizinischen Vorrichtungen, die keimfrei gemacht werden müssen.

H. Derivatisierung von Teilchen

[0041] Sofern gewünscht, können die PVA-überzogenen polyfluorierten Teilchen der Beispiele 5 und 6 funktionalisiert werden, indem geeignete Moleküle mit den Hydroxylgruppen des PVA umgesetzt werden. So kann den Teilchenoberflächen eine starke kationische Ionenaustauschfunktionalität vermittelt werden, indem Sulfonsäuregruppen auf der Oberfläche angeordnet werden. In ähnlicher Weise kann eine starke anionische Ionenaustauschfunktionalität bereitgestellt werden, indem quartäre Amine angewandt werden. Eine schwache Kationenfunktionalität kann durch die Verwendung von Carboxylgruppen erzeugt und eine schwache Anionenfunktionalität kann durch die Verwendung von primären Aminen erhalten werden.

BEISPIELE

Beispiel 1: Herstellung eines porösen Copolymers von Ethylenglycoldimethacrylat, Pentafluorstyrol und Hydroxyethylmethacrylat

[0042] Vierhundertneunzig ml destilliertes Wasser wurden in ein Gefäß gegeben und mit einem Schaufelrührwerk mit hoher Effizienz bei 800 Upm gerührt. Unter fortgesetztem Rühren wurde Argongas zugeführt, um Sauerstoff aus dem Wasser herauszuspülen, und es wurden 3,9 g Poly(vinylalkohol) zu dem Wasser hinzugesetzt. Das Rühren und das Spülen wurden 30 min fortgesetzt, während welchen das Vortexen der Mischung verringert wurde, indem der Winkel des Rührwerks geändert wurde. Ethylenglycoldimethacrylat (50,1 g) und Pentafluorstyrol (39,8 g) und Hydroxyethylmethacrylat (5,6 g) wurden miteinander vermischt und 127 ml Dibutylphthalat wurden der Mischung zugesetzt, wonach 0,48 g Azobisisobutyronitril (AIBN) und 0,45 g Benzoylperoxid (BPI) zugesetzt wurden. Die Mischung wurde dann gerührt, bis sie homogen war. Die homogene Mischung wurde dann schnell zu der wässrigen Poly(vinylalkohol)-Lösung zugesetzt und die resultierende Polymerisati-

onsmischung wurde auf ungefähr 80°C erwärmt. Die Bewegung bei 800 Upm und das Spülen mit Argon wurden ohne Unterbrechung fortgesetzt, bis die Polymerisation vollständig abgeschlossen war.

[0043] Nach dem Abtrennen der gebildeten Fluorpolymer-Teilchen von dem Polymerisationsmedium wurden diese nacheinander mit (1) 200 ml destilliertem Wasser bei 60°C, (2) 200 ml Aceton bei 60°C und (3) 200 ml einer 30/70 Vol.-% Mischung von heißem Wasser und Aceton bei 70°C gewaschen. Nach Abschluss der Waschschriffe wurden die Teilchen über Nacht in einem Ofen bei 70°C getrocknet.

[0044] Die gewaschenen und getrockneten Fluorpolymer-Teilchen wurden dann mit 10 Gew.-% Dichlormethan 6–7 h bei 50°C unter Rückfluss gekocht, um das porenbildende Material aus den Teilchen zu entfernen. Die Porenbildner-freien Teilchen wurden auf einen Sinterglastrichter gegeben und mit 50 ml Aceton pro Gramm Teilchen gespült, wonach die gespülten Teilchen über Nacht bei 70°C getrocknet wurden.

[0045] Die gewaschenen polyfluorierten Teilchen hatten eine durchschnittliche Teilchengröße von 51 Mikrometern, eine Oberfläche von 300 m²/g und ein Porenvolumen von 1,0 ml/g. Diese Prozedur war sehr effektiv, um poröse, sphärische Kügelchen ("Beads") herzustellen, die bei einer chromatographischen Auftrennung einem Druck von 2000 psi widerstehen würden.

[0046] Es wurden auch Variationen dieses Beispiels, wie folgt, ausgeführt. Ein poröses Copolymer von Ethylenglycoldimethacrylat und Pentafluorstyrol und Epoxyethylmethacrylat wurde hergestellt, indem zu 490 ml destilliertem Wasser Stickstoffgas über einen 30-minütigen Zeitraum zugeführt wurde, um den Sauerstoff aus dem Wasser zu spülen. Polyvinylalkohol (3,9 g) wurde zugesetzt. Pentafluorstyrol (30,9 g), Divinylbenzol (35,7 g), Epoxyethylmethacrylat (20,0 g) und Dibutylphthalat (127 ml) wurden miteinander in einem separaten Gefäß vermischt. Azobisisobutyronitril (0,40 g) und Benzoylperoxid (0,30 g) wurden zu den gemischten Monomeren hinzugesetzt. Die Mischung der Monomere und der Peroxid-Katalysatoren wurde zu einer gerührten Mischung des Wassers und des PVR zugesetzt. Die Mischung wurde unter Rühren mit 800 Upm ausgehend von einer durch einen Motor angetriebenen Rührschaufel auf 80°C erwärmt. Man ließ die Mischung über einen 4-stündigen Zeitraum polymerisieren, wonach die Polymerisation als vollständig angesehen wurde. Die Polymerteilchen wurden von dem Wasser abgetrennt und gewaschen und getrocknet. Der Porenbildner wurde entfernt, wie oben beschrieben.

[0047] Die Polymerisation wurde ausgeführt wie in Beispiel 1, nur wurde das PVA-Dispergiermittel durch Poly(vinylpyrrolidon) ersetzt. Die Polymerisation erfolgte wie in Beispiel 1, nur waren die Teilchen nach dem Trocknen feiner verteilt. In Beispiel 1 klumpten die Teilchen beim Trocknen oftmals zusammen, wurden aber durch mechanische oder Ultraschall-Methoden leicht auseinandergebrochen. Die Verwendung von Poly(vinylpyrrolidon) verhinderte das Verklumpen.

[0048] Poröse, perfluorierte Ionenaustauscherteilchen können auch hergestellt werden, indem der Vernetzer, Ethylenglycoldimethacrylat, durch ein funktionales Comonomer ersetzt wird. Ein Beispiel ist die ersatzweise Verwendung von 20,0 g Methacrylsäure anstelle des Ethylenglycoldimethacrylats. Das resultierende Polymer kann als ein schwacher Kationenaustauscher wirken.

Beispiel 2: Herstellung eines porösen Copolymers aus Ethylenglycoldimethacrylat, 2-(N-Ethylperfluoroctansulfonamido)perfluormethacrylat und Methacrylsäure

[0049] Ein poröses Copolymer von Ethylenglycoldimethacrylat, 2-(N-Ethylperfluoroctansulfonamido)perfluormethacrylat und Methacrylsäure wurde auf die folgende Weise hergestellt:

Aufbau:

[0050] Zylindrischer 1 l-Reaktor, ausgestattet mit einem Rührer vom "E-Typ" (Cole Palmer, 6 cm Durchmesser und 10 cm Höhe), Rückflusskühler, Glaseinlassrohr und eingetauchter Temperatursonde. Der Rührer ist so positioniert, dass sein oberer Rührflügel sich unmittelbar oberhalb des Spiegels der wässrigen Phase befindet.

Wässrige Phase:

3,9 g PVA (Aldrich, 85000 bis 146000 Dalton, zu 97–99% hydrolysiert) in 490 ml entionisiertem (DI) Wasser

Organische Phase:

1,7 g Polystyrol (Aldrich, 90000 MW Standard)

171 ml Isopropylbenzol (Aldrich, 99%)

68,5 g Ethylenglycoldimethacrylat (Aldrich, 98%, 100 ppm Hydrochinonmethylether (MEHQ))

85,6 g 2-(N-Ethylperfluoroctansulfonamido)ethylmethacrylat (Monomers, Polymers and Dajack)

17,1 g Methacrylsäure

0,57 g AIBN (Aldrich, 99%)

1,14 g BPO (Aldrich, 98%)

[0051] Die wässrige Phase wurde hergestellt, indem vorab das PVA in Wasser bei ungefähr 50°C gelöst wurde. Die wässrige Phase wurde in den Reaktor eingefüllt und 25 min mit Stickstoff in Bläschen gespült.

[0052] Das Polystyrol wurde vorab in dem Isopropylbenzol gelöst. Dann wurde die Mischung der drei Monomere zugesetzt, gefolgt von den Startern. Nach Rühren für 1 h erschien die organische Phase nach wie vor wolkig und wurde als solche zu dem Reaktor hinzugesetzt. Unter Stickstoffspülung wurde die Mischung über einen Zeitraum von 30 min mit 800 Upm gerührt und auf 80°C erwärmt. Nach Erreichen der Reaktionstemperatur agglomerierte der größte Teil der organischen Phase zu einer einzelnen Masse, die nach 25 min wieder in einzelne Kügelchen aufbrach.

[0053] Nach 9 h bei der Reaktionstemperatur ließ man das System abkühlen, die wässrige Phase wurde ausgehebert und die Harzkügelchen wurden mit 500 ml DI-Wasser, 500 ml Aceton, 500 ml Aceton : Wasser (30 : 70), 500 ml heißem Wasser und zweimal mit 500 ml Aceton gewaschen.

[0054] Nach dem Lufttrocknen beträgt das Harzgewicht 168 g.

[0055] Das Harz wird 5 h in 1 l Methylenchlorid unter Rückfluss gekocht, mit 1 l Aceton gewaschen und luftgetrocknet.

[0056] Die gewaschenen und getrockneten Fluorpolymerteilchen wurden dann mit 10 Gew.-% Dichlormethan 6–7 h bei 50°C unter Rückfluss gekocht, um das porenbildende Material aus den Teilchen zu entfernen. Die Porenbildner-freien Teilchen wurden auf einen Sinterglastrichter gegeben und mit 50 ml Aceton pro Gramm Teilchen gespült, wonach die gespülten Teilchen über Nacht bei 70°C getrocknet wurden. Die resultierenden porösen Kügelchen hatten eine Teilchengröße von 50 µm und eine Oberfläche von 300 m/g.

Beispiel 3: Herstellung eines porösen Copolymers von Ethylenglycoldimethacrylat und Pentafluorstyrol

[0057] Ein poröses Copolymer von Ethylenglycoldimethacrylat und Pentafluorstyrol wurde gemäß der in Beispiel 1 beschriebenen Vorgehensweise hergestellt, indem 55,7 g Ethylenglycoldimethacrylat und 39,8 g Pentafluorstyrol miteinander vermischt wurden. Zu der Mischung wurde kein Ethylmethacrylat zugesetzt. Diese Vorgehensweise war ebenso sehr effektiv, um sphärische poröse Teilchen aus Pentafluorstyrol herzustellen.

Beispiel 4: Herstellung eines porösen Copolymers aus Ethylenglycoldimethacrylat und 2-(N-Ethylperfluoroc-tansulfonamido)perfluormethacrylat

[0058] Ein poröses Copolymer von Ethylenglycoldimethacrylat und 2-(N-Ethylperfluoroc-tansulfonamido)perfluormethacrylat wurde gemäß Beispiel 2 hergestellt mit der Ausnahme, dass die organische Phase gebildet wurde aus:

1,7 g Polystyrol (Aldrich, 90000 MW Standard)

171 ml Isopropylbenzol (Aldrich, 99%)

85,6 g Ethylenglycoldimethacrylat (Aldrich, 98%, 100 ppm Hydrochinonmethylether (MEHQ))

85,6 g 2-(N-Ethylperfluoroc-tansulfonamido)ethylmethacrylat (Monomers, Polymers and Dajack)

0,57 g AIBN (Aldrich, 99%)

1,14 g BPO (Aldrich, 98%)

[0059] Die Vorgehensweise war sehr effektiv, um poröse sphärische Teilchen aus Perfluormethacrylat herzustellen.

[0060] Es wurden Variationen von Beispiel 3 und 4 ausgeführt, um die Flexibilität des Verfahrens bei der Herstellung von Teilchen mit verschiedenen Porenmorphologien zu zeigen, wie in der folgenden Tabelle veranschaulicht wird:

Porenbildner	% Ethylenglycol in Pentafluor- styrol-Mischung	Poren- durchmesser A	% Ethylenglycol in Methacrylat- Mischung	Poren- durchmesser A
Toluol	50	37		
Toluol	40	122		
Dibutylphthalat	50	105	50	184
Dibutylphthalat	40	73	40	261
Dibutylphthalat	30	78		
2-Methyl-4- pentanon	50	339	50	46

[0061] Die obige Tabelle veranschaulicht die Wirkung, die die Art und die Menge des ausgewählten Porenbildners in verschiedenen Monomersystemen haben können.

Beispiel 5: Überziehen von styrolischen Fluorpolymer-Teilchen mit PVA

[0062] Unter Verwendung von trockenen Fluorpolymer-Teilchen, die auf die Weise von Beispiel 3 hergestellt worden sind, wurden 50 g von solchen Teilchen durch Beschallen in Methanol für 5 min desagglomeriert und man ließ sie über Nacht in 150 ml Methanol quellen. Dieser Desagglomerationsschritt wurde in separaten Portionen von 2 g Harz in 20 ml Methanol ausgeführt.

[0063] Die Methanol-Harz-Aufschlammung wurde in einen 3 l-Rundkolben gegeben und es wurde genug Methanol herausgehebert, so dass dieses die Kügelchen gerade bedeckte. Eine Lösung von 80 g PVA (31000 bis 50000 Dalton, zu 98% hydrolysiert) in 1 l entionisiertem Wasser, welche zuvor hergestellt worden war, indem das PVA bei 50°C gelöst wurde, wurde dann zu dem Kolben hinzugesetzt und die resultierende Aufschlammung bei Raumtemperatur 24 h gerührt. Nach Sammeln einer Probe für die Analyse des PVA-Gehalts wurde die Beladungslösung von den Kügelchen durch Dekantation abgetrennt. Die Kügelchen wurden auf eine Filternutsche überführt und zweimal 10 min mit 500 ml entionisiertem Wasser gewaschen, gefolgt von der Entfernung des Wassers durch Saugen. Die wässrigen Waschflüssigkeiten wurden vereinigt und eine Probe für eine Analyse des PVA-Gehalts zurückbehalten. Die gewaschenen Kügelchen wurden in den Rundkolben zurückgegeben und es wurde 1 l entionisiertes Wasser zugesetzt. Das Rühren wurde wieder aufgenommen und es wurde 1 ml einer 50%-igen wässrigen Lösung von Glutaraldehyd zugesetzt, unverzüglich gefolgt von 8 ml von 5 N wässriger HCl. Nach Rühren für weitere 24 h bei Raumtemperatur wurden die Kügelchen auf eine Filternutsche überführt, man ließ sie abtropfen, sie wurden dreimal mit 1 l entionisiertem Wasser gewaschen und als eine nasse Aufschlammung beseite gestellt.

[0064] Dieses Beispiel zeigt, dass gemäß der Erfindung hergestellte sphärische polyfluorierte Teilchen auf diese Weise leicht mit Poly(vinylalkohol) überzogen werden können.

Beispiel 6: Überziehen von styrolischen Fluorpolymer-Teilchen mit PVA

[0065] Wieder unter Verwendung von auf die Weise von Beispiel 3 hergestellten trockenen Fluorpolymer-Teilchen ließ man 50 g der Teilchen in Methanol quellen und überzog sie mit PVA auf die Weise von Beispiel 5 mit der Ausnahme, dass die Konzentration des PVA in der wässrigen Lösung auf 20 g/l erhöht wurde.

Beispiel 7: Überziehen von methacrylischen Fluorpolymer-Teilchen mit PVA

[0066] In diesem Beispiel wurden 50 g von auf die Weise von Beispiel 4 hergestellten Fluorpolymer-Teilchen auf die Weise von Beispiel 5 mit PVA überzogen.

Beispiel 8: Messung des PVA-Überzugs auf Fluorpolymer-Teilchen

[0067] Die PVA-Konzentration wurde bestimmt, indem die bei 690 nm gemessene Absorption des PVA/Iod/Borsäurekomplexes gemessen und diese mit einer Kalibrierungskurve, welche unter Verwendung von PVA-Standardlösungen hergestellt worden war, verglichen wurde. Der lineare Bereich des kalorimetrischen Assays geht bis 1 mg PVA/ml. Die Menge von PVA, die an dem Harz adsorbiert wird, wurde durch die Differenz der anfänglichen Konzentration der für das Überziehen verwendeten Lösung minus der Endkonzentration der

Lösung bestimmt. Die Ergebnisse werden in mg oder g PVA/g trockenes Harz angegeben.

[0068] Für eine PVA-Überzugslösung von 9,31 mg/ml Proben 100-fach mit destilliertem Wasser verdünnen. 2,0 ml der in 1) hergestellten Proben in eine Küvette pipettieren zusammen mit 0,5 ml der 0,6 M Borsäurelösung und 0,1 ml der KI/I₂-Lösung. Mischen und im Dunkeln 30 + 5 min stehen lassen, bevor die Absorptionsmessung bei 690 nm vorgenommen wird. Das Gewicht von auf den Fluorpolymer-Kügelchen adsorbiertem PVA durch die folgende Gleichung berechnen:

$$\text{mg PVA/g Harz} = \frac{(C_i)(V_i) - (C_f)(V_f)}{W}$$

worin:

C_i = Konzentration (mg/ml) der anfänglichen PVA-Überzugslösung

V_i = Volumen (ml) der PVA-Überzugslösung

C_f = Konzentration (mg/ml) der PVA-Überzugslösung am Ende des Beschichtungsprozesses

V_f = Endvolumen (ml) der Überzugslösung

V_f kann aufgrund eines Beitrags ausgehend von dem der Benetzung dienenden Lösemittel höher als V_i sein.

W = Gewicht (g) von trockenem Fluorpolymer, das in dem Beschichtungsprozess verwendet wird

[0069] Unter Verwendung dieser Methode wurde die Menge von an den perfluorierten Polymeren adsorbiertem PVA zu 0,4 g PVA pro g des trockenen Fluorpolymers, welches wie in Beispiel 5 hergestellt worden war, und zu 1,51 g PVA pro g des trockenen Fluorpolymers, das wie in Beispiel 7 hergestellt worden war, gemessen.

[0070] Dieses Beispiel zeigt, dass das polyfluorierte Polymer der Erfindung mit Poly(vinylalkohol) gut überzogen war.

Beispiel 9: Messung der HSA-Kapazität von PVA-überzogenen Fluorpolymer-Teilchen

[0071] Fluorpolymer, das auf die Weise von Beispiel 5 hergestellt und mit einer großen Menge PVA überzogen worden war, wurde hinsichtlich dessen Kapazität oder Aufnahmevermögen für menschliches Serumalbumin (HSA) getestet. Insbesondere wurden 4 ml einer 4 mg/ml-Lösung von HSA in 20 mM Phosphatpuffer bei pH 7,4 zu 0,5 g PVA-überzogenen Kügelchen, die wie in Beispiel 5 hergestellt worden waren, zugesetzt und die resultierende Aufschlammung auf einem Flachbettmischer 16 h bei Raumtemperatur rotiert. Dann wurde die HSA-Konzentration im Überstand unter Verwendung des Bradford-Assay bestimmt. Die Menge von nicht-spezifisch an das Harz gebundenem Protein, berechnet anhand der Differenz, betrug 2 mg/g trockenes Fluorpolymer.

[0072] Dieses Beispiel zeigt klar, dass Protein an das unbeschichtete Substrat der Erfindung effizienter binden wird als an das entsprechende überzogene Substrat.

Beispiel 10: Messung der HSA-Kapazität von PVA-überzogenen Fluorpolymer-Teilchen

[0073] Fluorpolymer-Teilchen, die auf die Weise von Beispiel 5 hergestellt und mit einer geringen Menge PVA überzogen worden waren, wurden hinsichtlich ihrer HSA-Kapazität durch die gleiche Vorgehensweise wie Beispiel 9 getestet. Die adsorbierte HSA-Menge wurde zu 12,5 mg/g trockenes Harz bestimmt.

[0074] Das Beispiel zeigt, dass, wenn Poly(vinylalkohol) als Überzug auf die polyfluorierten Teilchen der Erfindung aufgebracht wird, dieser ein gleichförmiger effektiver Überzug ist.

Beispiel 11: Messung der Lysozym-Kapazität von PVA-überzogenen Fluorpolymer-Teilchen

[0075] Fluorpolymer-Teilchen, die auf die Weise von Beispiel 6 hergestellt und mit einer großen Menge PVA überzogen worden waren, wurden hinsichtlich ihrer Kapazität oder ihres Aufnahmevermögens für Lysozym durch die gleiche Vorgehensweise wie Beispiel 9 getestet. Insbesondere wurden 4 ml einer 4 mg/ml-Lösung von Lysozym in 20 mM Carbonatpuffer bei pH 9,0 zu 0,5 g von mit PVA überzogenen Kügelchen, die wie in Beispiel 6 hergestellt worden waren, zugesetzt. Die resultierende Aufschlammung wurden auf einem Flachbettmischer 16 h bei Raumtemperatur rotiert. Dann wurde die Lysozymkonzentration im Überstand basierend auf der Adsorption des Überstands bei 280 nm bestimmt. Die Menge von nicht-spezifisch an die Fluorpolymer-Kügelchen gebundenem Protein, berechnet anhand der Differenz, betrug 5 mg/g trockenes Harz.

Beispiel 12: Größenausschlusschromatographie von Proteinen

[0076] Eine 10 ml-Pharmacia HR 10/30-Säule wurde mit wie in Beispiel 5 hergestellten Fluorpolymer-Teilchen gepackt und mit 20 nM Phosphatpuffer bei pH 7,0 äquilibriert. Das Hohlraumvolumen der Säule (V₀) wurde

bestimmt, indem das Elutionsvolumen (V_e) von Blue Dextran 2000 (0,5 ml Injektion, 4 mg/ml, 20 mM Phosphatpuffer bei pH 7,0) gemessen wurde. 0,05 ml einer jeweils 10 mg/ml Ribonuklease A, Ovalbumin und Aldolase enthaltenden Lösung wurde auf die Säule aufgeladen und mit dem Äquilibrationpuffer mit 0,02 ml/min eluiert. In ähnlicher Weise wurde eine Lösung von Chymotrypsinogen A und Rinderserumalbumin auf die Säule aufgeladen und mit dem Äquilibrationpuffer mit einer Flussrate von 0,02 ml/min eluiert. Die Elutionsvolumen der verschiedenen Proteine wurden gemessen ausgehend von dem Chromatogramm (UV-Detektion) und deren jeweiligen Verteilungskoeffizienten (K_{av}), welche unter Verwendung der folgenden Gleichung berechnet wurden:

$$K_{av} = (V_e - V_o) / (V_t - V_o),$$

worin V_t das Gesamtvolumen der Säule ist.

[0077] Die Ergebnisse, die in der nachfolgenden Tabelle 1 zusammengefasst sind, zeigen die erwartete umgekehrte Beziehung zwischen dem Verteilungskoeffizienten und dem Molekulargewicht für globuläre Proteine.

Tabelle 1

PROTEIN	MOLEKULARGEWICHT (Dalton)	VERTEILUNGSKOEFFIZIENT
Ribonuklease A	13700	1
Chymotrypsinogen A	25000	0,36
Ovalbumin	43000	0,18
Albumin	67000	0,13
Aldolase	158000	0,07

Beispiel 13: Bindung von blauem Farbstoff an PVA-überzogene Fluorpolymer-Teilchen

[0078] Dieses Beispiel war auf die Bindung eines blauen Farbstoffs mit geringer Konzentration an PVA-überzogene Fluorpolymer-Teilchen gerichtet.

[0079] Zu 1 ml von PVA-überzogenen Fluorpolymer-Kügelchen, die wie in Beispiel 5 hergestellt worden waren, wurden eine Lösung von 50 Mikromol (40 mg) Cibacron Blue F3G-A in 8,4 ml Wasser und 250 Mikroliter 2 M NaCl zugesetzt. Nach Mischen für 30 min auf einem Flachbettmischer wurden 500 Mikromol Na_2CO_3 zugesetzt und die Aufschlammung 16 h bei 80°C durch Umkippen gemischt. Die Kügelchen wurden dann auf einer gesinterten Glasfritte mit jeweils 50 ml Wasser, 1 M NaCl, Dimethylformamid, Wasser, 3% (Vol./Vol.) Methanol/Wasser, Wasser, Methanol, Wasser, 1 M NaOH und abschließend 100 ml-Fractionen von Wasser, bis das Filtrat klar wurde, gewaschen, wobei die Filtrate aufbewahrt wurden. Die an das Harz gebundene Menge von Cibacron Blue F3G-A – 15 Mikromol/ml wurde durch Messung der Farbstoffkonzentration in den Waschlösungen, welche durch Adsorption bei 620 nm bestimmt wurde, und Berechnen der gebundenen Menge anhand der Differenz bestimmt.

Beispiel 14: Bindung von blauem Farbstoff an PVA-überzogene Fluorpolymer-Teilchen

[0080] Dieses Beispiel war auf das Binden von Cibacron Blue F3G-A-Farbstoff an PVA-überzogene styrolische Fluorpolymer-Teilchen mit einer hohen Konzentration des blauen Farbstoffs gerichtet. Das Harz wurde mit dem PVA auf die Weise von Beispiel 6 überzogen mit der Ausnahme, dass die Wassermenge, um die 50 mMol von blauem Farbstoff zu lösen, 1 ml betrug. Der Farbstoff wurde auf die Weise von Beispiel 13 aufgebracht. Die resultierende Ligandendichte betrug 25 Mikromole pro ml der Fluorpolymer-Teilchen.

Beispiel 15: Lysozym-Kapazität des Affinitätspolymers

[0081] Dieses Beispiel wurde unter Verwendung eines auf die Weise von Beispiel 13 hergestellten Fluorpolymers, welches einen blauen Farbstoff gebunden mit niedriger Ligandendichte enthielt, ausgeführt. Eine 1 ml-Pharmacia HR 5/10-Säule wurde mit einem wie in Beispiel 13 hergestellten Harz gepackt und mit Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH 7,4) äquilibriert. 4 ml einer 5 mg/ml-Lösung von Lysozym in dem Äquilibrationpuffer wurden auf das Harz mit 1 ml/min aufgeladen. Das Lysozym wurde dann von dem Harz unter Verwendung von 1 M NaCl in 20 mM Natriumphosphatpuffer, pH 7,4, eluiert. Die eluierte Lysozymmenge, wie be-

stimmt durch Messen der Absorption des Eluenten bei 280 nm, betrug 18 mg pro ml Fluorpolymer.

[0082] Dieses Beispiel sollte mit Beispiel 11 verglichen werden, wo kein blauer Farbstoff an den Poly(vinylalkohol) gebunden war.

Beispiel 16: Lysozym-Kapazität des Affinitätspolymers

[0083] Dieses Beispiel wurde unter Verwendung eines auf die gleiche Weise wie Beispiel 14 hergestellten Fluorpolymers, welches aber eine hohe Ligandendichte aufwies, ausgeführt. Die eluierte Lysozymmenge betrug 20 mg/ml Harz.

Beispiel 17: Nicht-Adsorption von Myoglobin durch das Affinitätspolymer

[0084] Es wurde ein Fluorpolymer unter Verwendung der Vorgehensweise von Beispiel 14 unter Verwendung von Myoglobin als Protein hergestellt. Es konnte keine Proteinadsorption durch das Polymer nachgewiesen werden.

Beispiel 18: Bettexpansion

[0085] In diesem Test wurde eine 40 cm × 1 cm-Säule mit auf die Weise von Beispiel 14 hergestellten und nachfolgend auf einen 63 bis 82 Mikrometer-Teilchendurchmesserbereich gesiebten Fluorpolymer-Teilchen gepackt. Wasser wurde im Aufwärtsstrom in die Säule gepumpt und das Bettexpansionsverhältnis (das Verhältnis der Betttiefe bei einer gegebenen Flussrate gegenüber der Betttiefe ohne Fluss), He/Ho, bei verschiedenen Flussraten gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

TABELLE 2

Flussrate (cm/h)	8	25	40	55	68
Bettexpansionsverhältnis (He/Ho)	1,2	1,7	1,75	1,9	2,1

[0086] Diese Daten veranschaulichen die vorteilhafte Verwendung der Teilchen der Erfindung, welche aus deren höherer Dichte, d. h. 1,2 g/ml gegenüber nur 1,09 g/ml für polymere Teilchen des Standes der Technik, resultiert.

Beispiele 19 bis 27: Chemische Stabilität des Harzes

[0087] Es wurde eine Reihe von Tests ausgeführt, um die chemische Stabilität des Adsorptionsmittelharzes, welches auf die Weise von Beispiel 3 hergestellt worden ist, zu bestimmen. Für diese Reihe ließ man 200 mg wie in Beispiel 14 hergestellte Fluorpolymer-Teilchen in 2 ml des angegebenen Lösemittels quellen. Das Lecken von Cibacron Blue F3G-A wurde über die Zeit überprüft, indem die Absorption des Überstands bei 620 nm überwacht wurde. Die in dem Überstand nach 37 Tagen gemessenen Farbstoffkonzentrationen sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

TABELLE 3

	LÖSEMITTEL (Mikromol)	FARBSTOFFKONZENTRATION
BEISPIEL 19	25% wässr. Glycerol	0,008
BEISPIEL 20	1% wässr. Natriumdo- dec.sulfat	0,008
BEISPIEL 21	8 M Harnstoff	0,004
BEISPIEL 22	1 M NaSCN	0,01
BEISPIEL 23	5 M HCl	0,002
BEISPIEL 24	Dimethylformamid	0,01
BEISPIEL 25	Methanol	n.b.
BEISPIEL 26	Aceton	n.b.
BEISPIEL 27	Wasser	0,002

Beispiel 28: Verwendung der nicht-überzogenen polyfluorierten Teilchen der Erfindung für eine Umkehrphasen-Chromatographie

[0088] Auf die Weise der Beispiele 3 und 4 hergestellte Polymerteilchen wurden mit 1600 psi in Edelstahl-Säulen von 250 cm Länge und 0,46 cm Innendurchmesser gepackt. Das Aufschlammungslösemittel war 50/50 (bezogen auf das Volumen) Methanol/Isopropanol. Das Gradienten-Testmischungslösemittel war 50/50 (bezogen auf das Volumen) Acetonitril/Wasser mit 0,1 TFA. Die mobile Phase war A = Wasser mit 0,1% TFA, B – Acetonitril mit 0,1% TFA. Die Testmischung bestand aus Vitamin B-12 (1,0 mg), Rinder-Insulin (3,0 mg), Ribonuklease A (3,0 mg), menschlichem Albumin (3,0 mg) und Thyroglobulin (3,0 mg). Die Retentionszeiten (Minuten), welche zum Vergleich der Wirksamkeit von methacrylischen Teilchen mit den Pentafluorstyrolpolymer-Teilchen der Erfindung dienen, sind in Tabelle 4 aufgeführt.

TABELLE 4

WIRKSAMKEIT VON PENTAFLUORSTYROLPOLYMER- UND FLUORIERTEN METHACRYLISCHEN POLYMER-SUBSTRATEN BEI EINER UMKEHRPHASEN-CHROMATOGRAPHIE

Gelöste Substanz	Pentafluorstyrolpolymer	Fluoriertes meth- acrylisches Polymer
	(Retentionszeit, min)	
Vitamin B-12	1,00	1,00
Rinder-Insulin	1,59	1,75
Ribonuklease A	1,83	2,02
Menschliches Albumin	2,08	2,32
Thyroglobulin	2,40	2,72

[0089] Eine Korrelation der Daten zeigte, dass glatte, symmetrische, nicht-überlappende Kurven erhalten wurden. Die Daten zeigen dementsprechend klar, dass sowohl die Teilchen aus nicht-überzogenem Pentafluorstyrolpolymer als auch aus nicht-überzogenem fluoriertem methacrylischem Polymer wirksame Medien für die chromatographische Auftrennung von Mischungen von Materialien, wie Proteinen, sind.

Beispiel 29:

[0090] Unter Verwendung der Säulen von Beispiel 28, welche mit den nicht-überzogenen polyfluorierten Harzteilen gefüllt waren, wurden die Säulen mit 60 Säulenvolumen von 5,0 normaler Natriumhydroxidlösung, gefolgt von 60 Säulenvolumen entionisiertem Wasser gewaschen. Die gelösten Substanzen wurden dann erneut injiziert und es wurde der gleiche Gradient, wie er in Beispiel 28 resultierte, beobachtet. Insbesondere zeigte das mit Natronlauge gewaschene Harz die gleiche Retention wie das Harz, das keine solche Wä-

sche durchlaufen hatte, was folglich die Robustheit der Teilchen veranschaulicht.

Beispiel 30: Modifizierung von Synthesevariablen, um Polyfluorstyrol-Teilchen mit stark unterschiedlicher Teilchengröße herzustellen

TABELLE 5

VARIATION VON VERFAHRENSVARIABLEN, UM UNTERSCHIEDLICHE TEILCHENGRÖSSEN HERZUSTELLEN

Teilchengröße, Mikrometer	16	120
Reaktanten		
Entionisiertes Wasser, ml	660	490
Poly(vinylalkohol), g	16	3,9
Pentafluorstyrol, g	10	39,8
Ethylenglycoldimethacrylat, g	14	55,7
Dibutylphthalat, ml	32	127
Azobisisobutyronitril, g	0,12	0,48
Benzylperoxid, g	0,12	0,49
Natriumlaurylsulfat, g	0,06	keines
Rührergeschwindigkeit, Upm	900	395

[0091] Nach einer Durchsicht der Leistungseigenschaften der Adsorptionsmittel der Erfindung und Vergleich von jenen Eigenschaften mit den Eigenschaften von anderen weithin verwendeten Adsorptionsmittelmaterialien ist ausgehend von den Daten in Tabelle 5 oben klar, dass die polyfluorierten Adsorptionsmittel der Erfindung hinsichtlich allen physikalischen und chemischen Eigenschaften, die für deren Funktion entscheidend sind, gleichförmig sehr gut sind.

TABELLE 6

VERGLEICH DER ERFINDUNG MIT ANDEREN KOMMERZIELL ERHÄLTlichen CHROMATOGRAPHIE-TRÄGERN

Matrix	Chemische Stabilität (pH)	Mechanische Stabilität	Permeabilität für Maccro-	Nicht-spezifische Adsorption	Leichtigkeit der Derivatisierung	Widerstandsfähigkeit gegen 5 N NaOH
Agarose	4-9	Gering	Hervorragend	Gering	Gut	Schlecht
Vernetzt	2-14	Gering	Hervorragend	Gering	Gut	Schlecht
Vernetztes Dextron	72	Gering	Schlecht	Gering	Gut	Schlecht
Vernetztes Polyacrylamid	2-10	Mittel	Schlecht	Gering	Gut	Schlecht
Polyacrylamid/Dextran	3-11	Gering	Hervorragend	Mittel	Gut	Schlecht
Polyacrylamid/Agarose	3-10	Mittel	Gut	Mittel	Gut	Schlecht
Vernetztes Hydroxyethyl	1-14	Hoch	Gut	Hoch	Schlecht	Sehr schlecht
Methacrylat-Siliciumdioxid	2-9	Hoch	Gut	Hoch	Schlecht	Sehr schlecht
Polystyrol/ Divinylbenzol	1-14	Hoch	Gut	Hoch	Gut	Gut
Polyfluoriertes Teilchen der Erfindung mit hydrophilem Oberflächenüberzug	1-14	Hoch	Hervorragend	Gering	Hervorragend	Hervorragend

[0092] Aus den Daten in Tabelle 6 kann leicht ersehen werden, dass die Adsorptionsmittel der Erfindung über einen sehr breiten pH-Bereich chemisch stabil sind und eine hohe mechanische Stabilität aufweisen. Die Adsorptionsmittel der Erfindung haben auch eine hervorragende Permeabilität für Makromoleküle und, recht wünschenswert, geringe nicht-spezifische Adsorptionseigenschaften. Zusätzlich weisen die beanspruchten Adsorptionsmittel eine hervorragende Leichtigkeit der Derivatisierung und hervorragende Widerstandsfähigkeit gegenüber den korrosiven Wirkungen von 5 N NaOH-Lösungen auf. Keines der anderen wohlbekannten Adsorptionsmittel weist ein solches gleichförmig hervorragendes Verhalten bei allen der aufgelisteten funktionell wichtigen Eigenschaften auf.

Beispiel 31: Verwendung der fluorierten Teilchen der Erfindung bei der Auftrennung von Komponenten von Plasmiden

[0093] Der mit einem Plasmid (Amp-resistent) transformierte Wirt (DH5-alpha) wurde in einem angereicherten Medium bis zu einer hohen Dichte vermehrt und das Bakterienpellet wurde einer alkalischen Lyseprozedur unterworfen. Das Lysat wurde filtriert und dann mit 0,7 Volumen eiskaltem Isopropylalkohol (IPA) durch Zentrifugation bei $8000 \times g$ für 45 min präzipitiert. Die Flüssigkeit aus der Chromatographie wurde als die der Chromatographie zu unterziehende Probe verwendet.

[0094] Eine Säule der Vantage L-Serie (4,4 cm Innendurchmesser) wurde mit einer ethanolischen Aufschlämmung, welche ungefähr 90 ml der in Beispiel 3 beschriebenen Teilchen (50 μm , Oberfläche 300/m², nicht-PVA-überzogen) enthielt, gepackt. Die Säule wurde mit ungefähr 20 ml/min (ungefähr 80 cm/h lineare Flussrate) gepackt und mit 16 ml/min betrieben. Der Säuleneffluent oder -ausfluss wurde bei 260 nm überwacht und die Absorption wurde auf einem Bandschreiber detektiert. Die Säule wurde mit EQB (0,1 M Kaliumphosphat, pH 7, 2 mM Tetrabutylammoniumphosphat (TBAP) und 1% Ethanol) äquilibriert und die oben beschriebene, der Chromatographie zu unterziehende Probe (entsprechend 30 mg) wurde nicht aufgeladen, bevor der pH des Effluents geringer als 9 war. Der Waschpuffer WB1 bestand aus 93% Natriumchlorid/TRIS/EDTA, pH 8, und 7% Ethanol. Die Elutionspuffer waren die Folgenden: EL1 (Elutionspuffer 1) bestand aus 0,1 M Kaliumphosphat, 2 mM TBAP, 10% Ethanol; EL2 (Elutionspuffer 2) bestand aus 0,1 M Kaliumphosphat, 2 mM TBAP, 12,5% Ethanol; und EL3 (Elutionspuffer 3) bestand aus 0,1 M Kaliumphosphat, 2 mM TBAP, 10% Ethanol.

Teilchenanalyse:

[0095] Probe 1 wurde während des Beladungs- und erneuten Äquilibrierungsschritts gesammelt. Auf Teilchen in der gepackten Säule war keine DNA vorhanden.

[0096] Probe 2 wurde gesammelt, während WB1 durch die Säule lief, und enthielt die Hauptmenge der RNA und eine geringe Menge von gespaltenen offener zirkulärer DNA.

[0097] Probe 3 und 4 wurden während WB1 gesammelt. Probe 3 enthielt eine geringe Menge von supergeknäuelter DNA, mehr gespalten/offene zirkuläre DNA und den letzten Rest der RATA. Probe 4 enthielt eine geringe Menge DNA.

[0098] Der DNA-Verlust kann verringert werden, indem der Ethanolgehalt von WB1 zurückgefahren oder die TBAP-Konzentration erhöht wird, wobei das Letztgenannte von diesen bevorzugt ist, da dies nach wie vor eine Speziesselektivität aufgrund der Ethanolkonzentration bei den Proben 4, 5 und 7 ermöglichen könnte.

[0099] Probe 5 (EL1) enthielt supergeknäuelte DNA und Spuren Mengen von nicht-supergeknäuelter DNA.

[0100] Probe 6 (EL2) enthielt die Hauptmenge der DNA, von der mehr als 90% supergeknäuelte war.

[0101] Probe 7 (EL3) enthielt die restliche DNA, von der wenigstens 25% nicht-supergeknäuelte war.

Beispiel 32: Ein poröses Copolymer von Divinylbenzol, Pentafluorstyrol wurde auf die folgende Weise hergestellt

[0102] Zu 490 ml destilliertem Wasser wurde Stickstoffgas über einen Zeitraum von 30 min zugeführt, um den Sauerstoff aus dem Wasser heraus zu spülen. Es wurde Polyvinylalkohol (3,9 g) zugesetzt. Pentafluorstyrol (30,9 g), Divinylbenzol (55,0 g) und Dibutylphthalat (127 ml) wurden miteinander vermischt. Azobisisobutyronitril (0,40 g) und Benzoylperoxid (0,30 g) wurden zu den gemischten Monomeren hinzugefügt. Die Mischung der Monomere und der Peroxid-Katalysatoren wurde zu einer gerührten Mischung des Wassers und des PVA zugesetzt. Die Mischung wurde unter Bewegung mit 800 Upm ausgehend von einer mittels eines Motors angetriebenen Rührschaufel auf 80°C erwärmt. Man ließ die Mischung über einen Zeitraum von 4 h polymerisieren, wonach die Polymerisation als vollständig angesehen wurde. Die Polymerteilchen wurden von dem Wasser abgetrennt und gewaschen und getrocknet. Der Porenbildner wurde wie in Beispiel 1 entfernt. Die resultierenden Teilchen waren porös und hatten eine Teilchengröße von 50 μm .

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von porösen kugelförmigen Teilchen von Adsorptionsmittel aus fluoriertem Polymer, welches die Schritte umfasst:

(1) eine in Wasser unlösliche Lösung von organischen Verbindungen zu bilden, welche (a) ein aus C₂₋₄-Alkylenglycolestern einer C₃₋₆-Acrylsäure und einem Divinylbenzol ausgewähltes Monomer; (b) ein polyfluoriertes Vinylmonomer; (c) ein aus Acrylsäure, Methacrylsäure und Estern davon ausgewähltes Monomer; (d) einen radikalischen Starter; und (e) ein in Wasser unlösliches, in organischem Lösemittel lösliches porenbildendes Material umfasst, wobei das Gewichtsverhältnis der Comonomere (a) plus (b) plus (c) zu dem porenbildenden

Material 0,5 : 1 bis 2 : 1 beträgt;

(2) eine verdünnte Lösung eines Dispergiermittels in Wasser, aus welchem jeglicher Sauerstoff mit einem Inertgas herausgespült worden ist, zu bilden;

(3) unter Bewegung und Spülen mit Inertgas die in Wasser unlösliche Lösung von organischen Verbindungen aus Schritt (1) schnell in der verdünnten wässrigen Lösung aus Schritt (2) zu dispergieren und, sofern erforderlich, die Temperatur der Dispersion auf 30–90°C einzustellen, um die Copolymerisation der Monomere zu starten, wobei das Niveau der Mischenergie ausreichend ist, um die in Wasser unlösliche Lösung von organischen Verbindungen in der Lösung aus Schritt (2) in Form von Flüssigkeitströpfchen, welche einen durchschnittlichen Durchmesser von nicht mehr als 10–300 µm aufweisen, wobei wenigstens 90% der Tröpfchen innerhalb von 40% oberhalb oder unterhalb des durchschnittlichen mittleren Teilchendurchmessers liegen, zu dispergieren;

(4) die Bewegung und das Sauerstoff-Spülen der Dispersion aus Schritt (3) für eine ausreichende Zeitspanne fortzusetzen, um eine vollständige Copolymerisation der Monomere und Teilchenbildung aus den Tröpfchen in Form von fein verteilten Polymerteilchen durch Ausfällung des Copolymers darin zu bewirken;

(5) die fein verteilten Copolymerteilchen von dem Polymerisationsreaktionsmedium abzutrennen;

(6) das porenbildende Material aus den abgetrennten Copolymerteilchen von Schritt (5) durch Waschen der Teilchen mit einem inerten organischen Lösemittel herauszulösen, wodurch Poren innerhalb des Copolymers gebildet werden; und

(7) die porösen Copolymerteilchen zu trocknen.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Monomer (a) aus Ethylenglycoldimethacrylat, 1,3-Propylenglycoldimethacrylat, 1,4-Butandiol-dimethacrylat, Ethylenglycolitaconat, Ethylenglycoldiacrylat und Ethylenglycoldimaleat ausgewählt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, wobei das Monomer (b) perfluoriert ist.

4. Verfahren nach einem beliebigen vorangehenden Anspruch, wobei das Monomer (b) aus Pentafluorstyrol, Bishexafluorisopropylitaconat, Bishexafluorisopropylmaleat, Heptadecafluordecylacrylat, Perfluoroctylmethacrylat, 2,2,3,3-Tetrafluorpropylmethacrylat, Monotrifluorethylitaconat, 2,2,2-Trifluorethylmaleat, Vinylbenzylperfluoroctanoat und Vinyltrifluoracetat ausgewählt wird.

5. Verfahren nach einem beliebigen vorangehenden Anspruch, wobei das Monomer (c) aus Acrylsäure, Methacrylsäure, Methyl-, Ethyl und Hydroxyethylestern von Acrylsäure oder Methacrylsäure, Epoxid enthaltenden Estern von Acrylsäure oder Methacrylsäure und Aminestern von Acrylsäure oder Methacrylsäure ausgewählt wird.

6. Verfahren nach einem beliebigen vorangehenden Anspruch, wobei das porenbildende Material (e) aus Dibutylphthalat, Isopropylbenzol, Toluol, 2-Methyl-4-pentanon, 2-Methyl-4-pentanol, Chlorbenzol und Mischungen davon ausgewählt wird.

7. Verfahren nach einem beliebigen vorangehenden Anspruch, welches bei einer Temperatur von 70–90°C ausgeführt wird.

8. In Wasser unlösliche Lösung von organischen Verbindungen, welche (a) ein aus C₂₋₄-Alkylenglycolestern einer C₃₋₆-Acrylsäure und einem Divinylbenzol ausgewähltes Monomer; (b) ein polyfluoriertes Vinylmonomer; (c) ein aus Acrylsäure, Methacrylsäure und Estern davon ausgewähltes Monomer; (d) einen radikalischen Starter; und (e) ein in Wasser unlösliches, in organischem Lösemittel lösliches porenbildendes Material umfasst, wobei das Gewichtsverhältnis der Comonomere (a) plus (b) plus (c) zu dem porenbildenden Material 0,5 : 1 bis 2 : 1 beträgt.

9. Lösung nach Anspruch 8, wobei das Monomer (a) wie in Anspruch 2 definiert ist.

10. Lösung nach Anspruch 8 oder Anspruch 9, wobei das Monomer (b) wie in Anspruch 3 oder Anspruch 4 definiert ist.

11. Lösung nach einem der Ansprüche 8 bis 10, wobei das Monomer (c) wie in Anspruch 5 definiert ist.

12. Lösung nach einem der Ansprüche 8 bis 11, wobei das Material (e) wie in Anspruch 6 definiert ist.

13. Teilchen, erhältlich durch Polymerisation einer Lösung nach einem der Ansprüche 8 bis 12.

14. Teilchen, erhältlich durch ein Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7.
15. Teilchen nach Anspruch 13 oder Anspruch 14, welche mit einem hydrophilen Polymer überzogen sind.
16. Teilchen nach Anspruch 15, wobei das hydrophile Polymer Polyvinylalkohol ist .
17. Verfahren zur chromatographischen Auftrennung von trennbaren Bestandteilen einer flüssigen Lösung, welches umfasst, die flüssige Lösung durch ein Bett von Teilchen nach einem der Ansprüche 13 bis 16 zu leiten.
18. Verfahren nach Anspruch 17, welches eine Umkehrphasen-Auftrennung ist.
19. Verfahren nach Anspruch 17, welches eine Affinitätsauftrennung ist.
20. Verfahren nach Anspruch 17, welches in einem expandierten Bett ausgeführt wird.
21. Verfahren nach einem der Ansprüche 17 bis 20, welches eine Adsorption eines aus Nukleotiden, Nukleosiden und Polypeptiden ausgewählten Makromoleküls an den Teilchen umfasst.
22. Medizinische Vorrichtung, welche Teilchen nach Anspruch 15 oder Anspruch 16 umfasst.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen