



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101341195 B

(45) 授权公告日 2011. 12. 14

(21) 申请号 200680047850. 0

(22) 申请日 2006. 12. 15

(30) 优先权数据

11/326, 682 2005. 12. 21 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008. 06. 19

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/047957 2006. 12. 15

(87) PCT申请的公布数据

W02007/075442 EN 2007. 07. 05

(73) 专利权人 3M 创新有限公司

地址 美国明尼苏达州

(72) 发明人 杰拉尔德·K·拉斯穆森

罗伯特·T·小菲茨西蒙斯

卡纳安·塞莎德里 西蒙·K·香农

彼得·D·维克特

詹姆斯·I·亨布里

(74) 专利代理机构 北京天昊联合知识产权代理

有限公司 11112

代理人 丁业平 张天舒

(51) Int. Cl.

C08J 5/20 (2006. 01)

C08F 20/56 (2006. 01)

C08J 9/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 5906747 A, 1999. 05. 25, 1-15.

US 6045697 A, 2000. 04. 04,

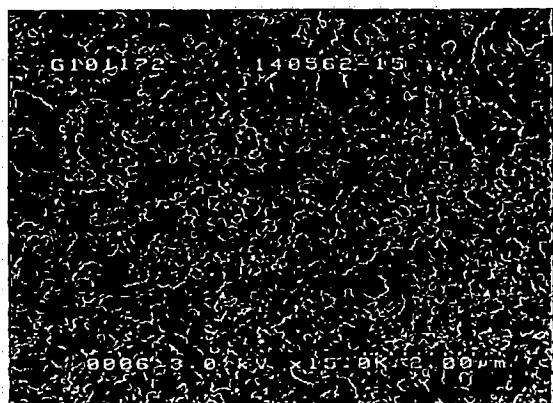
审查员 韩晓洁

(54) 发明名称

制备大孔阴离子交换树脂的方法

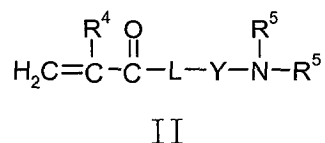
(57) 摘要

本发明描述了制备大孔阴离子交换树脂的方法。所述大孔阴离子交换树脂是颗粒（如珠粒）形式，所述的颗粒包含亲水性的交联的（甲基）丙烯酸型聚合物材料。另外，本发明描述了使用所述大孔阴离子交换树脂纯化带负电荷的材料的方法、制备包含所述大孔阴离子交换树脂的色谱柱的方法、制备包含所述大孔阴离子交换树脂的过滤器元件的方法、以及制备包含所述大孔阴离子交换树脂的多孔复合材料的方法。



1. 一种制备大孔阴离子交换树脂的方法,所述方法包括;
形成水相组合物,该水相组合物包含;
a) 单体混合物,该单体混合物包含:
i) 交联单体,该交联单体包含 N,N'-亚烷基双(甲基)丙烯酰胺、N,N'-杂亚烷基双(甲基)丙烯酰胺或它们的组合,其中基于所述单体混合物中的单体的总重量而言,所述交联单体的含量为 20 至 80 重量%;和
ii) 带正电荷的离子型单体,
其中基于所述单体混合物中单体的总重量而言,该单体混合物中亲脂性指数大于 20 的杂质的含量少于 2 重量%;和
b) 式 I 所示的水溶性致孔剂,

$$R^1-(R^2-O)_n-R^3 \quad (I)$$
其中
 R^1 为羟基、烷氧基、羧基、酰氧基或卤基;
每个 R^2 独立地为具有 1 至 4 个碳原子的亚烷基;
 R^3 为氢、烷基、羧烷基、酰基或卤代烷基;
n 为 1 至 1,000 的整数;和
c) 水相溶剂混合物,该水相溶剂混合物包含水和具有 1 至 4 个碳原子的一元醇,其中基于所述水相溶剂混合物的总重量而言,所述一元醇的含量为至少 20 重量%;
使所述水相组合物悬浮于非极性有机溶剂中;
使所述单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒;以及
除去所述颗粒中的所述致孔剂,从而形成大孔阴离子交换树脂。
2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述大孔阴离子交换树脂的至少一些孔具有小于或等于 200 纳米的直径。
3. 根据权利要求 2 所述的方法,其中所述大孔阴离子交换树脂具有至少 0.10 立方厘米/克的孔体积和至少 20m²/g 的表面积。
4. 根据权利要求 1 所述的方法,其中基于所述单体混合物中的所述单体的总重量而言,所述交联单体的含量为 25 至 80 重量%。
5. 根据权利要求 1 所述的方法,其中基于所述单体混合物中的所述单体的总重量而言,所述交联单体的含量为 25 至 75 重量%,基于所述单体混合物中的所述单体的总重量而言,所述带正电荷的离子型单体的含量为 25 至 75 重量%。
6. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述带正电荷的离子型单体为化学式 II 所示的化合物或其季铵盐,所述化学式 II 为:



其中

R^4 为氢或甲基;

L 为氧基或 -NH-;

Y 为亚烷基;且

每个 R^5 独立地为氢、烷基、羟烷基、氨基烷基,或两个 R^5 基团与它们所连接的氮原子一起形成芳族的、部分不饱和的、或饱和的杂环基团,其中所述杂环基团可以任选地与芳族的、部分不饱和的、或饱和的第二个环稠合。

7. 根据权利要求 1 所述的方法,其中 R^2 为亚乙基或亚丙基。

8. 根据权利要求 1 所述的方法,其中 R^1 为羟基并且 R^3 为氢,或者 R^1 为羟基并且 R^3 为烷基。

9. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述致孔剂包括分子量不大于 1,000g/mol 的聚氧化乙烯。

10. 根据权利要求 9 所述的方法,其中所述聚氧化乙烯具有羟基端基。

11. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述致孔剂包含由第一致孔剂与第二致孔剂构成的混合物,所述第一致孔剂包括亚烷基二醇,并且所述第二致孔剂包括聚氧化烯烃。

12. 根据权利要求 11 所述的方法,其中所述第一致孔剂包括乙二醇,并且所述第二致孔剂包括带羟基端基的聚氧化乙烯。

13. 根据权利要求 1 所述的方法,其中基于所述水相溶剂混合物的总重量而言,所述一元醇的含量为至少 50%。

14. 一种分离或纯化带负电荷的材料的方法,所述方法包括:

制备大孔阴离子交换树脂,所述制备步骤包括:

形成水相组合物,该水相组合物包含:

a) 单体混合物,该单体混合物包含:

i) 交联单体,该交联单体包含 N, N' -亚烷基双(甲基)丙烯酰胺、 N, N' -杂亚烷基双(甲基)丙烯酰胺或它们的组合其中,基于所述单体混合物中的单体的总重量而言,所述交联单体的含量为 20 至 80 重量%;和

ii) 带正电荷的离子型单体,

其中基于所述单体混合物中单体的总重量而言,该单体混合物中亲脂性指数大于 20 的杂质的含量少于 2 重量%;和

b) 式 I 所示的水溶性致孔剂,



其中

R^1 为羟基、烷氧基、羧基、酰氧基或卤基;

每个 R^2 独立地为具有 1 至 4 个碳原子的亚烷基;

R^3 为氢、烷基、羧烷基、酰基或卤代烷基;

n 为 1 至 1,000 的整数;和

c) 水相溶剂混合物,该水相溶剂混合物包含水和具有 1 至 4 个碳原子的一元醇,其中基于所述水相溶剂混合物的总重量而言,所述一元醇的含量为至少 20 重量%;

使所述水相组合物悬浮于非极性有机溶剂中;

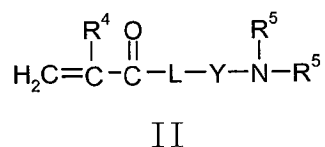
使所述单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒;并且

除去所述颗粒中的所述致孔剂以形成所述大孔阴离子交换树脂;

使所述大孔阴离子交换树脂与带负电荷的材料接触;以及

将至少一部分所述带负电荷的材料吸附到所述大孔阴离子交换树脂上。

15. 根据权利要求 14 所述的方法,其中所述带正电荷的离子型单体是化学式 II 所示的化合物或其季铵盐,所述化学式 II 为:



其中

R^4 为氢或甲基;

L 为氧基或 $-\text{NH}-$;

Y 为亚烷基;且

每个 R^5 独立地为氢、烷基、羟烷基、氨基烷基,或两个 R^5 基团与它们所连接的氮原子一起形成芳族的、部分不饱和的、或饱和的杂环基团,其中所述杂环基团可以任选地与芳族的、部分不饱和的、或饱和的第二个环稠合。

16. 根据权利要求 14 所述的方法,其中所述带负电荷的材料为生物分子。

17. 根据权利要求 16 所述的方法,其中所述生物分子是蛋白质。

18. 一种制备色谱柱的方法,所述方法包括:

制备大孔阴离子交换树脂,所述制备步骤包括:

形成水相组合物,该水相组合物包含:

a) 单体混合物,该单体混合物包含:

i) 交联单体,该交联单体包含 N,N'-亚烷基双(甲基)丙烯酰胺、N,N'-杂亚烷基双(甲基)丙烯酰胺或它们的组合,其中基于所述单体混合物中的单体的总重量而言,所述交联单体的含量为 20 至 80 重量%;和

ii) 带正电荷的离子型单体,

其中基于所述单体混合物中单体的总重量而言,该单体混合物中亲脂性指数大于 20 的杂质的含量少于 2 重量%;和

b) 式 I 所示的水溶性致孔剂,



其中

R^1 为羟基、烷氧基、羧基、酰氧基或卤基;

每个 R^2 独立地为具有 1 至 4 个碳原子的亚烷基;

R^3 为氢、烷基、羧烷基、酰基或卤代烷基;

n 为 1 至 1,000 的整数;和

c) 水相溶剂混合物,该水相溶剂混合物包含水和具有 1 至 4 个碳原子的一元醇,其中基于所述水相溶剂混合物的总重量而言,所述一元醇的含量为至少 20 重量%;

使所述水相组合物悬浮于非极性有机溶剂中;

使所述单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒;

除去所述颗粒中的所述致孔剂以形成所述大孔阴离子交换树脂;以及

将所述大孔阴离子交换树脂放置到柱中。

19. 一种制备过滤元件的方法,所述方法包括:

制备大孔阴离子交换树脂,所述制备步骤包括:

形成水相组合物,该水相组合物包含:

a) 单体混合物,该单体混合物包含:

i) 交联单体,该交联单体包含 N,N'-亚烷基双(甲基)丙烯酰胺、N,N'-杂亚烷基双(甲基)丙烯酰胺或它们的组合,其中基于所述单体混合物中的单体的总重量而言,所述交联单体的含量为 20 至 80 重量%;和

ii) 带正电荷的离子型单体,

其中基于所述单体混合物中单体的总重量而言,该单体混合物中亲脂性指数大于 20 的杂质的含量少于 2 重量%;和

b) 式 I 所示的水溶性致孔剂,



其中

R^1 为羟基、烷氧基、羧基、酰氧基或卤基;

每个 R^2 独立地为具有 1 至 4 个碳原子的亚烷基;

R^3 为氢、烷基、羧烷基、酰基或卤代烷基;

n 为 1 至 1,000 的整数;和

c) 水相溶剂混合物,该水相溶剂混合物包含水和具有 1 至 4 个碳原子的一元醇,其中基于所述水相溶剂混合物的总重量而言,所述一元醇的含量为至少 20 重量%;

使所述水相组合物悬浮于非极性有机溶剂中;

使所述单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒;

除去所述颗粒中的所述致孔剂以形成所述大孔阴离子交换树脂;以及

将所述大孔阴离子交换树脂布置于过滤介质的表面上。

20. 一种制备多孔复合材料的方法,所述方法包括:

制备大孔阴离子交换树脂,所述制备步骤包括:

形成水相组合物,该水相组合物包含:

a) 单体混合物,该单体混合物包含:

i) 交联单体,该交联单体包含 N,N'-亚烷基双(甲基)丙烯酰胺、N,N'-杂亚烷基双(甲基)丙烯酰胺或它们的组合,其中基于所述单体混合物中的单体的总重量而言,所述交联单体的含量为 20 至 80 重量%;和

ii) 带正电荷的离子型单体,

其中基于所述单体混合物中单体的总重量而言,该单体混合物中亲脂性指数大于 20 的杂质的含量少于 2 重量%;和

b) 式 I 所示的水溶性致孔剂,



其中

R^1 为羟基、烷氧基、羧基、酰氧基或卤基;

每个 R^2 独立地为具有 1 至 4 个碳原子的亚烷基;

R^3 为氢、烷基、羧烷基、酰基或卤代烷基;

n 为 1 至 1,000 的整数;和

c) 水相溶剂混合物,该水相溶剂混合物包含水和具有 1 至 4 个碳原子的一元醇,其中基

于所述水相溶剂混合物的总重量而言,所述一元醇的含量为至少 20 重量% ;
使所述水相组合物悬浮于非极性有机溶剂中 ;
使所述单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒 ;
除去所述颗粒中的所述致孔剂以形成所述大孔阴离子交换树脂 ;以及
将所述大孔阴离子交换树脂掺入到连续的多孔基质中。

制备大孔阴离子交换树脂的方法

技术领域

[0001] 本文描述了制备和使用大孔阴离子交换树脂的方法。

背景技术

[0002] 离子交换树脂在生物技术领域内广泛用于大规模分离和 / 或纯化诸如蛋白质、酶、疫苗、DNA、RNA 等多种生物分子。绝大多数的阴离子交换树脂基于苯乙烯 / 二乙烯基苯共聚物或交联的琼脂糖。苯乙烯 / 二乙烯基苯共聚物的疏水骨架可能倾向于与许多材料发生非特异性相互作用,从而导致产品的不纯。虽然交联的琼脂糖树脂通常较不易发生非特异性相互作用,但这些材料往往是相当软的凝胶,并且通常不适合用于在采用高流速的色谱柱内进行的纯化操作。

[0003] 一些已知的阴离子交换树脂基于(甲基)丙烯酸型聚合物材料。然而,这些阴离子交换树脂中有许多都是凝胶,或者具有相对较低的容量或较低的孔隙率。

发明内容

[0004] 本文描述了制备大孔阴离子交换树脂的方法、使用所述大孔阴离子交换树脂纯化带负电荷的材料的方法、制备包含所述大孔阴离子交换树脂的色谱柱的方法、制备包含所述大孔阴离子交换树脂的过滤器元件的方法和制备包含所述大孔阴离子交换树脂的多孔复合材料的方法。

[0005] 在一个方面,本文描述了形成大孔阴离子交换树脂的方法。所述的方法包括制备水相组合物,其包含:

[0006] (a) 单体混合物;

[0007] (b) 化学式 I 所示的水溶性致孔剂,

[0008] $R^1-(R^2-O)_n-R^3$ (I)

[0009] 其中 R^1 为羟基、烷氧基、羧基、酰氧基或卤基;每个 R^2 独立地为具有 1 至 4 个碳原子的亚烷基; R^3 为氢、烷基、羧烷基、酰基或卤代烷基;并且 n 为 1 至 1,000 的整数;和

[0010] (c) 水相溶剂混合物,其包含水和具有 1 至 4 个碳原子的一元醇。基于水相溶剂混合物的总重量而言,所述一元醇的含量为至少 20 重量%。所述单体混合物包含:(1) 交联单体,该交联单体包含 N, N' -亚烷基双(甲基)丙烯酰胺、 N, N' -杂亚烷基双(甲基)丙烯酰胺或它们的组合;和(2) 带正电荷的离子型单体。该单体混合物中所有单体的亲脂性指数都小于或等于 20。形成大孔阴离子交换树脂的方法还包括使所述水相组合物悬浮在非极性有机溶剂中、使所述单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒以及除去颗粒中的致孔剂。

[0011] 在第二个方面,描述了分离或纯化带负电荷的材料的方法。该方法包括形成大孔阴离子交换树脂、使该大孔阴离子交换树脂与带负电荷的材料接触以及将至少一部分的带负电荷的材料吸附到该大孔阴离子交换树脂上。

[0012] 在第三个方面,描述了制备色谱柱的方法。该方法包括形成大孔阴离子交换树脂并将该大孔阴离子交换树脂置于柱中。

[0013] 在第四个方面,描述了制备过滤元件的方法。该方法包括形成大孔阴离子交换树脂并将该大孔阴离子交换树脂布置到过滤介质的表面上。

[0014] 在第五个方面,描述了制备多孔复合材料的方法。该方法包括形成大孔阴离子交换树脂并将该大孔阴离子交换树脂掺入连续的多孔基质中。

[0015] 本发明的上述概述并非意图描述本发明的每个公开的实施例或每种实施方式。以下的附图、具体实施方式和实例将更具体地说明这些实施例。

附图说明

[0016] 结合附图,根据以下对本发明的多个实施例进行的详细描述可以更彻底地理解本发明,其中:

[0017] 图 1 示出了一种示例性的大孔阴离子交换树脂的扫描电子显微照片,其放大率为 15,000X。该大孔阴离子交换树脂是用平均分子量为 600 克 / 摩尔 (g/mol) 的聚乙二醇致孔剂制备的。

[0018] 图 2 示出了一种示例性的大孔阴离子交换树脂的扫描电子显微照片,其放大率为 15,000X。该大孔阴离子交换树脂是用平均分子量为 2,000g/mol 的聚乙二醇致孔剂制备的。

[0019] 虽然本发明可以具有各种修改和替代的形式,但是其具体的方式已通过附图中的实例示出并将会详细地描述。然而,应当理解,其目的不是将本发明限于所描述的具体实施例。相反,其目的是要涵盖属于本发明的精神和范围内的所有修改形式、等同方式及可供选择的方式。

具体实施方式

[0020] 本发明描述了制备大孔阴离子交换树脂的方法。所述大孔阴离子交换树脂是颗粒(如珠粒)形式,所述颗粒包含亲水性的交联的(甲基)丙烯酸型聚合物材料。另外,本发明描述了用所述大孔阴离子交换树脂纯化带负电荷的材料的方法、制备包含所述大孔阴离子交换树脂的色谱柱的方法、制备包含所述大孔阴离子交换树脂的过滤器元件的方法以及制备包含所述大孔阴离子交换树脂的多孔复合材料的方法。

[0021] 术语“一种”、“该”、“所述”以及未指明数量的情况与“至少一个”可互换使用,其是指一个或多个被描述的要素。

[0022] 术语“烷基”是指烷烃(其是饱和烃)自由基一价基团。烷基可以是直链的、支链的、环状的或它们的组合,并且其通常具有 1 至 20 个碳原子。在一些实施例中,所述烷基包含 1 至 10 个碳原子、1 至 8 个碳原子、1 至 6 个碳原子或 1 至 4 个碳原子。烷基的实例包括(但不限于):甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、正己基、环己基、正庚基、正辛基和乙基己基。

[0023] 术语“亚烷基”是指烷烃自由基二价基团。亚烷基可以是直链的、支链的、环状的或它们的组合。亚烷基通常具有 1 至 20 个碳原子。在一些实施例中,所述亚烷基包含 1 至 10 个、1 至 8 个、1 至 6 个或 1 至 4 个碳原子。亚烷基的自由基中心可以在同一个碳原子上(即,次烷基)或在不同的碳原子上。

[0024] 术语“酰氧基”是指由式 $-O-(CO)-R$ 表示的一价基团,其中 R 为烷基, (CO) 表示碳

以双键与氧连接。示例性的酰氧基为乙酰氧基,其中 R 为甲基。

[0025] 术语“酰基”是指由式 $-(CO)-R$ 表示的一价基团,其中 R 为烷基,(CO) 表示碳以双键与氧连接。示例性的酰基为乙酰基,其中 R 为甲基。

[0026] 术语“羧基”是指由式 $-(CO)OH$ 表示的一价基团,其中 (CO) 表示碳以双键与氧连接。

[0027] 术语“羧烷基”是指被羧基取代的烷基。

[0028] 术语“卤基”是指氟基、氯基、溴基或碘基。

[0029] 术语“卤代烷基”是指被卤基取代的烷基。

[0030] 术语“(甲基)丙烯酸型”是指作为单体组合物(其包含丙烯酸、甲基丙烯酸、丙烯酸或甲基丙烯酸的衍生物或它们的组合)的反应产物的聚合物材料。如本文所用,术语“(甲基)丙烯酸”是指这样的单体,该单体为丙烯酸、甲基丙烯酸、丙烯酸或甲基丙烯酸的衍生物或它们的组合。合适的衍生物包括可以未被取代或被取代的酯、盐、酰胺、腈等。这些衍生物当中的一些可以包括离子基团。

[0031] 术语“(甲基)丙烯酰基”是指由式 $H_2C=CR^b-(CO)-$ 表示的一价基团,其中 R^b 为氢或甲基,并且 (CO) 表示碳以双键与氧连接。

[0032] 术语“一元醇”是指具有单个羟基的醇。该醇的通式通常为 $R-OH$,其中 R 为烷基。

[0033] 术语“聚合物”或“聚合物材料”是指作为均聚物、共聚物、三元共聚物等的材料。同样,术语“使...聚合”或“聚合”是指制备均聚物、共聚物等的方法。

[0034] 术语“带电荷的材料”是指具有离子基团作为其化学结构的一部分的材料。带负电荷的物质是阴离子,带正电荷的物质是阳离子。带相反电荷的平衡离子通常与离子基团有关。调节 pH 值可以改变一些离子基团的带电性。

[0035] 短语“在...范围内”包括端值以及端值之间的所有数字。例如,在 1 至 10 的范围内这一短语包括 1、10 和 1 到 10 之间的所有数字。

[0036] 使用的关于致孔剂的术语“水溶性”表示致孔剂与水相组合物可混溶,并且不会以显著的程度从水溶液中分配到非极性有机溶剂中。例如,少于 5 重量%、少于 4 重量%、少于 3 重量%、少于 2 重量%或少于 1 重量%的致孔剂可以从水溶液中被萃取到非极性有机溶剂(例如甲苯和庚烷)中。

[0037] 如本文所用,术语“室温”指的是在 20℃至 25℃范围内的温度。

[0038] 除非另外指明,否则在所有的情况下,在本说明书和权利要求书中所用来表示特征大小、量和物理性质的所有数字都应该被理解为可以用词语“大约”来修饰。因此,除非有相反的说明,否则所给出的数字都是近似值,其可以利用本文所公开的教导内容随所需的特性而变化。

[0039] 所述的阴离子交换树脂是大孔颗粒形式。本文中的术语“大孔”是指即使在干燥状态下也具有永久性孔结构的颗粒。尽管该树脂在与溶剂接触时能够溶胀,但其不必溶胀就可允许物质通过多孔结构进入颗粒的内部。与之形成对比的是,凝胶型树脂在干燥状态下不具有永久性孔结构,必须通过合适的溶剂溶胀才可允许物质进入颗粒的内部。大孔颗粒进一步描述于文献 Sherrington, Chem. Commun., 2275-2286 (1998) 和 Macintyre 等, Macromolecules, 37, 7628-7636 (2004) 中。

[0040] 制备大孔阴离子交换树脂的方法包括使用致孔剂来改变或控制平均孔径、表面

积、阴离子交换容量或它们的组合。平均孔径、表面积和阴离子交换容量是可以改变阴离子交换树脂对目标分子的分离和 / 或纯化效力的变量。由平均孔直径表征的平均孔径、以及表面积都是通过在低温条件下进行氮吸附来测量的。阴离子交换容量是指可以吸附到阴离子交换树脂上的带负电荷的材料（即，目标分子）的量。示例性的目标分子包括（但不限于）：生物分子，例如蛋白质、酶、核酸等。阴离子交换容量可以由（例如）以下方式表示：每单位体积的在溶剂中溶胀的树脂、或每单位重量的干树脂能够吸附的诸如蛋白质（例如，牛血清白蛋白（BSA））之类的生物分子的量。

[0041] 当孔大到足以容纳所关注的分子（即，目标分子）时，阴离子交换容量往往增大。往往可以这样获得对生物分子的最大阴离子交换容量，即使大小足以容许目标分子通过扩散进入其中的孔占阴离子交换树脂总表面积的大部分。

[0042] 对于许多生物目标分子的分离来说，当阴离子交换树脂具有一定的孔径分布时通常可以获得最大的阴离子交换容量。孔的直径范围通常为约 5 纳米至约 500 纳米。对于许多生物目标分子的分离和 / 或纯化来说，往往希望阴离子交换树脂的至少一些孔的直径小于或等于 200 纳米。本文所述的制备大孔阴离子交换树脂的方法提供了这样的颗粒，其中至少一些孔的直径小于或等于 200 纳米（例如，2 至 200 纳米的范围）、小于或等于 150 纳米（例如，2 至 150 纳米的范围）或者小于或等于 100 纳米（例如，2 至 100 纳米的范围）。

[0043] 制备所述大孔阴离子交换树脂的方法包括形成水相组合物，所述组合物包含：(a) 含有交联单体和带正电荷的离子型单体的单体混合物；(b) 水溶性致孔剂；和 (c) 含有水和一元醇的水相溶剂混合物。制备大孔阴离子交换树脂的方法还包括使所述水相组合物悬浮于非极性有机溶剂中、使所述单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒和除去该阴离子交换树脂中的所述致孔剂。

[0044] 所述阴离子交换树脂为包含交联单体和带正电荷的离子型单体的单体混合物的反应产物。交联单体包括 N,N' - 亚烷基双（甲基）丙烯酰胺、N,N' - 杂亚烷基双（甲基）丙烯酰胺或它们的组合。带正电荷的单体具有能够发生自由基聚合反应的烯属不饱和基团以及能够与带负电荷的材料相互作用的带正电荷的基团。

[0045] 在所述单体混合物中，所有或基本上所有的单体都具有小于或等于 20 的亲脂性指数。本文中的术语“亲脂性指数”或“LI”是指用于表征单体的疏水性或亲水性的指数。通过单体在等体积（1 : 1）的非极性溶剂（例如，己烷）和极性溶剂（例如，75 : 25 乙腈 - 水的溶液）中的分配来确定亲脂性指数。亲脂性指数等于分配之后保留在非极性相中的单体的重量百分比。较为疏水的单体往往具有较高的亲脂性指数；类似地，较为亲水的单体往往具有较低的亲脂性指数。亲脂性指数的测量进一步描述于文献 Drtina 等，*Macromolecules*, 29, 4486-4489 (1996) 中。

[0046] 本文在涉及单体混合物的亲脂性指数小于或等于 20 时所用的术语“基本上所有”表示亲脂性指数大于 20 的任何单体都是作为杂质存在的。基于单体混合物中单体的总重量而言，亲脂性指数大于 20 的任何杂质的含量都少于 2 重量%、少于 1 重量%、少于 0.5 重量%、少于 0.2 重量%或少于 0.1 重量%。在一些阴离子交换树脂中，单体混合物中所有或基本上所有的单体的亲脂性指数不大于 15、不大于 10、不大于 5、不大于 3 或不大于 1。

[0047] 合适的交联单体包括 N,N' - 亚烷基双（甲基）丙烯酰胺、N,N' - 杂亚烷基双（甲基）丙烯酰胺或它们的组合。这些交联单体具有至少两个（甲基）丙烯酰基，其能够发生

反应使一个聚合链与另一聚合链交联或能够发生反应使聚合链的一部分与同一聚合链的另一部分交联。交联单体能溶于水相组合物中,并且具有小于或等于 20 的亲脂性指数。

[0048] 合适的 N, N' - 亚烷基双(甲基)丙烯酸酰胺交联单体包括(但不限于)具有带 1 至 10、1 至 8、1 至 6 或 1 至 4 个碳原子的亚烷基的那些,例如 N, N' - 亚甲基双丙烯酸酰胺、N, N' - 亚甲基双甲基丙烯酸酰胺、N, N' - 亚乙基双丙烯酸酰胺、N, N' - 亚乙基双甲基丙烯酸酰胺、N, N' - 亚丙基双丙烯酸酰胺、N, N' - 亚丙基双甲基丙烯酸酰胺、N, N' - 六亚甲基双丙烯酸酰胺和 N, N' - 六亚甲基双甲基丙烯酸酰胺。合适的 N, N' - 杂亚烷基双(甲基)丙烯酸酰胺交联单体包括(但不限于): N, N' - 脒胺双丙烯酸酰胺、N, N' - 哌嗪双丙烯酸酰胺和 N, N' - 哌嗪双甲基丙烯酸酰胺。这些交联单体可商购自多个供应商,例如 Sigma-Aldrich 公司(Milwaukee, WI)和 Polysciences 公司(Warrington, PA)。或者,可以由本领域中的文献(例如)Rasmussen 等, *Reactive Polymers*, 16, 199-212 (1991/1992) 中描述的方法合成这些交联单体。

[0049] 基于单体混合物中单体的总重量而言,单体混合物包含超过 10 重量%的交联单体。当使用较低量的交联单体时,阴离子交换树脂往往是凝胶形式,而不是大孔颗粒形式。材料的刚度或机械强度(其通过测量材料能够经受的压差而得到)往往随着包含在单体混合物中的交联单体的量的增加而提高。一些单体混合物包含超过 10 重量%、至少 15 重量%、至少 20 重量%、至少 25 重量%或至少 30 重量%的交联单体。

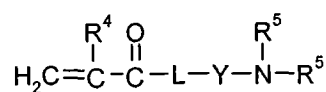
[0050] 基于单体的总重量而言,单体混合物往往包含最多 95 重量%的交联单体。当交联单体的量超过 95 重量%时,阴离子交换树脂的阴离子交换容量往往减少,因为带正电荷的离子型单体在单体混合物中的含量相应减少。一些单体混合物包含最多 90 重量%、最多 85 重量%、最多 80 重量%、最多 70 重量%、最多 65 重量%、最多 60 重量%、最多 55 重量%、最多 50 重量%、最多 45 重量%或最多 40 重量%的交联单体。

[0051] 基于单体的总重量而言,一些单体混合物包含大于 10 至 95 重量%、大于 10 至 90 重量%、20 至 90 重量%、20 至 80 重量%、25 至 80 重量%、25 至 75 重量%、25 至 70 重量%、25 至 60 重量%或 25 至 50 重量%的交联单体。

[0052] 单体混合物还包含带正电荷的离子型单体。带正电荷的离子型单体具有至少一个能够发生自由基聚合的烯属不饱和基团。在一些实施例中,烯属不饱和基团为(甲基)丙烯酰基或乙烯基。带正电荷的离子型单体可以为弱碱、强碱、弱碱盐、强碱盐或它们的组合。也就是说,带正电荷的离子型单体可以为中性状态,但如果调节 pH 值,其也能够带电荷。当适当地调节 pH 值时,所得到的阴离子交换树脂具有能与带负电荷的物质(即,阴离子)相互作用的带正电荷的基团。如果用于制备阴离子交换树脂的离子型单体包含弱碱盐或强碱盐,那么这些盐的平衡离子可以是(但不限于)卤离子(如,氯离子)、羧酸根(如,乙酸根或甲酸根)、硝酸根、磷酸根、硫酸根、硫酸氢根、甲基硫酸根或氢氧根。

[0053] 一些示例性的离子型单体为化学式 II 所示的氨基(甲基)丙烯酸酯或氨基(甲基)丙烯酸酰胺或它们的季铵盐。

[0054]



II

[0055] 在化学式 II 中, R⁴ 为氢或甲基; L 为氧基或 -NH-; 且 Y 为亚烷基(如, 含有 1 至 10

个碳原子、1 至 6 个碳原子、或 1 至 4 个碳原子的亚烷基)。每个 R^5 独立地为氢、烷基、羟烷基(即用羟基取代的烷基)或氨基烷基(即用氨基取代的烷基)。作为另外一种选择,两个 R^5 基团与它们所连接的氮原子一起可以形成芳族的、部分不饱和的(即不饱和但不是芳族的)或饱和的杂环基团,其中杂环基团可以任选地与芳族的(如苯)、部分不饱和的(如环己烯)或饱和的(如环己烷)第二个环稠合。季铵盐的平衡离子常为卤离子、硫酸根、磷酸根、硝酸根等等。

[0056] 在化学式 II 的一些实施例中,两个 R^5 基团均为氢。在其它实施例中,一个 R^5 基团为氢而另一个为含有 1 个至 10 个、1 个至 6 个或 1 个至 4 个碳原子的烷基。在又一其它实施例中,至少一个 R^5 基团为含有 1 个至 10 个、1 个至 6 个、或 1 个至 4 个碳原子的羟基烷基或氨基烷基,其中羟基或氨基位于烷基的任何碳原子上。在又一实施例中, R^5 基团与它们所连接的氮原子一起形成杂环基团。杂环基团包含至少一个氮原子并且可以包含其它杂原子,例如氧或硫。示例性的杂环基团包括(但不限于)咪唑基。杂环基团可以与另外的环(例如苯、环己烯或环己烷)稠合。与另外的环稠合的示例性杂环基团包括(但不限于)苯并咪唑基。

[0057] 示例性的氨基(甲基)丙烯酸酯(即化学式 II 中的 L 为氧基)包括(甲基)丙烯酸 N,N-二烷基氨基烷基酯,例如甲基丙烯酸 N,N-二甲氨基乙酯、丙烯酸 N,N-二甲氨基乙酯、甲基丙烯酸 N,N-二乙基氨基乙酯、丙烯酸 N,N-二乙基氨基乙酯、甲基丙烯酸 N,N-二甲基氨基丙酯、丙烯酸 N,N-二甲基氨基丙酯、甲基丙烯酸 N-叔丁基氨基丙酯、丙烯酸 N-叔丁基氨基丙酯等等。

[0058] 示例性的氨基(甲基)丙烯酰胺(即化学式 II 中的 L 为 -NH-)包括(例如): N-(3-氨基丙基)甲基丙烯酰胺、N-(3-氨基丙基)丙烯酰胺、N-[3-(二甲基氨基)丙基]甲基丙烯酰胺、N-(3-咪唑基丙基)甲基丙烯酰胺、N-(3-咪唑基丙基)丙烯酰胺、N-(2-咪唑基乙基)甲基丙烯酰胺、N-(1,1-二甲基-3-咪唑基丙基)甲基丙烯酰胺、N-(1,1-二甲基-3-咪唑基丙基)丙烯酰胺、N-(3-苯并咪唑基丙基)丙烯酰胺和 N-(3-苯并咪唑基丙基)甲基丙烯酰胺。

[0059] 化学式 II 所示的离子型单体的示例性季盐包括(但不限于):(甲基)丙烯酰胺基烷基三甲基铵盐(如 3-甲基丙烯酰胺基丙基三甲基氯化铵和 3-丙烯酰胺基丙基三甲基氯化铵)和(甲基)丙烯酰氧基烷基三甲基铵盐(如 2-丙烯酰氧基乙基三甲基氯化铵、2-甲基丙烯酰氧基乙基三甲基氯化铵、3-甲基丙烯酰氧基-2-羟基丙基三甲基氯化铵、3-丙烯酰氧基-2-羟基丙基三甲基氯化铵和 2-丙烯酰氧基乙基三甲基甲基硫酸铵)。

[0060] 可以向离子交换树脂提供带正电荷的基团的其它单体包括链烯基吡内酯的二烷基氨基烷基胺加合物(如乙烯基二甲基吡内酯的 2-(二乙基氨基)乙胺加合物、(2-氨基乙基)三甲基氯化铵加合物和 3-(二甲基氨基)丙胺加合物)和二烯丙基胺单体(如二烯丙基氯化铵和二烯丙基二甲基氯化铵)。

[0061] 基于单体混合物中单体的总重量而言,单体混合物包含至少 5 重量%的带正电荷的单体。当使用较低含量的带正电荷的单体时,阴离子交换树脂的阴离子交换容量往往减少。一些单体混合物包含至少 10 重量%、至少 15 重量%、至少 20 重量%、至少 25 重量%、至少 30 重量%或至少 35 重量%的带正电荷的单体。

[0062] 基于单体的总重量而言,单体混合物往往包含少于 90 重量%的带正电荷的离子

型单体。当使用较高含量的带正电荷的离子型单体时,阴离子交换树脂往往成为凝胶而非大孔颗粒。也就是说,较高含量的带正电荷的离子型单体往往伴随着交联单体的量相应减少。阴离子交换树脂的刚度和机械强度往往与交联单体的量有关。一些单体混合物包含少于 90 重量%、不大于 85 重量%、不大于 80 重量%、不大于 75 重量%、不大于 70 重量%、不大于 65 重量%、不大于 60 重量%、不大于 55 重量%、不大于 50 重量%、不大于 45 重量%或不大于 40 重量%的带正电荷的单体。

[0063] 基于单体的总重量而言,一些单体混合物包含 5 至少于 90 重量%、10 至少于 90 重量%、20 至少于 90 重量%、30 至少于 90 重量%、30 至 80 重量%、40 至少于 90 重量%、40 至 80 重量%、50 至 80 重量%或 60 至 80 重量%的带正电荷的单体。可以将带正电荷的单体和交联单体的量进行平衡,以提供具有阴离子交换容量和机械强度的所需组合的阴离子交换树脂。

[0064] 对于诸如包括在柱内使用大孔离子交换树脂之类的那些应用来说,包含 25 至 75 重量%的离子型单体和 25 至 75 重量%的交联单体的单体混合物往往提供阴离子交换容量与机械强度的最佳平衡。一些示例性的单体混合物包含 35 至 75 重量%的带正电荷的离子型单体和 25 至 65 重量%的交联单体、40 至 75 重量%的带正电荷的离子型单体和 25 至 60 重量%的交联单体、50 至 75 重量%的带正电荷的离子型单体和 25 至 50 重量%的交联单体或者 60 至 70%的带正电荷的离子型单体和 30 至 40 重量%的交联单体。

[0065] 在一些具体的单体混合物中,交联单体为 N, N' - 亚烷基双(甲基)丙烯酰胺,并且带正电荷的离子型单体如式 II 所示。单体混合物包含 25 至 75 重量%的带正电荷的离子型单体和 25 至 75 重量%的交联单体、35 至 75 重量%的带正电荷的离子型单体和 25 至 65 重量%的交联单体、40 至 75 重量%的带正电荷的离子型单体和 25 至 60 重量%的交联单体、50 至 75 重量%的带正电荷的离子型单体和 25 至 50 重量%的交联单体或者 60 至 70 重量%的带正电荷的离子型单体和 30 至 40 重量%的交联单体。例如,单体混合物可以包含 35 重量%的交联单体和 65 重量%的带正电荷的离子型单体。

[0066] 尽管一些单体混合物中不含除交联单体和带正电荷的离子型单体以外的其它单体,但其它的单体混合物包含具有单个烯属不饱和基团的亲水性的、但非离子型的单体。可以添加亲水性的非离子型单体,例如,其目的是调节阴离子交换容量同时保持交联单体的量恒定。也就是说,可以调节阴离子交换容量而不显著改变交联量或阴离子交换树脂的刚度。另外,可以通过用这些非离子型单体来调节阴离子交换树脂的亲水特性。

[0067] 基于单体混合物中单体的总重量而言,合适的亲水性非离子型单体的含量通常不大于 50 重量%。在一些阴离子交换树脂中,基于单体的总重量而言,单体混合物包含不大于 40 重量%、不大于 20 重量%、不大于 10 重量%、不大于 5 重量%、不大于 2 重量%或不大于 1 重量%的亲水性非离子型单体。

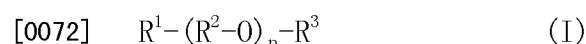
[0068] 具有足够低的亲脂性指数的非离子型单体的实例包括(但不限于):(甲基)丙烯酸羟烷基酯,如丙烯酸-2-羟乙酯、丙烯酸-3-羟丙酯、甲基丙烯酸-2-羟乙酯(如,LI 为 1)和甲基丙烯酸-3-羟丙酯(如,LI 为 2);丙烯酰胺(如,LI 为小于 1)和甲基丙烯酰胺(LI 为小于 1);甘油单甲基丙烯酸酯和甘油单丙烯酸酯;N-烷基(甲基)丙烯酰胺,如 N-甲基丙烯酰胺(如,LI 为小于 1),N,N-二甲基丙烯酰胺(如,LI 为小于 1),N-甲基异丁烯酰胺和 N,N-二甲基甲基丙烯酰胺;N-乙烯基酰胺,例如 N-乙烯基甲酰胺、N-乙烯基乙酰胺和

N- 乙烯基吡咯烷酮；(甲基) 丙烯酸乙酰氧基烷基酯，如丙烯酸 2- 乙酰氧基乙酯和甲基丙烯酸 2- 乙酰氧基乙酯（如，LI 为 9）；(甲基) 丙烯酸缩水甘油酯，如丙烯酸缩水甘油酯和甲基丙烯酸缩水甘油酯（如，LI 为 11）；和乙烯基烷基吡喃内酯，如乙烯基二甲基吡喃内酯（如，LI 为 15）。

[0069] 所述单体混合物通常基本上不含疏水性单体。更具体地说，所述单体混合物基本上不含亲脂性指数大于 20 的单体。基本上不含疏水性单体的阴离子交换树脂对杂质倾向于具有低的非特异性吸附性，所述杂质例如为非目标材料，如非目标的蛋白质、脂质等。亲脂性指数大于 20 且通常不包含在单体混合物中的单体包括（例如）二甲基丙烯酸乙二醇酯（LI 为 25）、甲基丙烯酸苯氧乙酯（LI 为 32）、三羟甲基丙烷三甲基丙烯酸酯（LI 为 37）、甲基丙烯酸甲酯（LI 为 39）、甲基丙烯酸乙酯（LI 为 53）、甲基丙烯酸丁酯（LI 为 73）、甲基丙烯酸环己酯（LI 为 90）、甲基丙烯酸月桂酯（LI 为 97）等。

[0070] 基于水相组合物（例如，单体混合物、致孔剂和水相溶剂混合物）的总重量而言，水相组合物通常包含至少 4 重量%的单体混合物。在一些实施例中，水相组合物可以包含至少 10 重量%或至少 15 重量%的单体混合物。基于水相组合物的总重量而言，水相组合物通常包含最多 50 重量%的单体混合物。在一些实施例中，水相组合物可以包含最多 40 重量%、最多 30 重量%、最多 25 重量%或最多 20 重量%的单体混合物。例如，基于水相组合物的总重量而言，水相组合物可以包含 5 至 30 重量%、5 至 25 重量%、5 至 20 重量%或 10 至 20 重量%的单体混合物。

[0071] 除了单体混合物以外，水相组合物还包含水溶性致孔剂。致孔剂有利于形成可用于纯化和 / 或分离生物分子的大孔阴离子交换树脂。致孔剂不是能够与交联单体或带正电荷的离子型单体发生自由基聚合反应的单体，并且不含诸如烯属不饱和基团之类能够与交联单体或带正电荷的离子型单体发生自由基聚合反应的基团。一般来讲，致孔剂不与聚合物材料共价连接，并且在聚合反应完成后通常要将其除去。然而，在聚合反应期间，致孔剂可以通过链转移反应与阴离子交换树脂的聚合物材料共价键合。优选的是，致孔剂不与阴离子交换树脂的聚合物材料键合。致孔剂为式 I 所示的氧化烯烃或聚氧化烯烃：



[0073] 其中 R^1 为羟基、烷氧基、羧基、酰氧基或卤基；每个 R^2 独立地为含有 1 至 4 个碳原子的亚烷基； R^3 为氢、烷基、羧烷基、酰基或卤代烷基；且 n 为 1 至 1,000 的整数。

[0074] 在一些示例性的致孔剂中，端基（即，基团 $-R^1$ 和基团 $-OR^3$ ）都为羟基（即， R^1 为羟基， R^3 为氢）。在其它示例性的致孔剂中， R^1 为羟基， R^3 为烷基（例如，具有 1 至 20、1 至 10、1 至 6 或 1 至 4 个碳原子的烷基）、卤代烷基（例如，氯烷基，如氯甲基）、酰基（例如，乙酰基）或羧烷基（例如，羧甲基）。也就是说，一个端基是羟基，而另一端基是烷氧基、卤代烷氧基、酰氧基或羧基（例如，羧烷氧基，其是用羧基取代的烷氧基）。在其它示例性的致孔剂中， R^1 为烷氧基（例如，具有 1 至 10、1 至 6 或 1 至 4 个碳原子的烷氧基）， R^3 为烷基（例如，具有 1 至 10、1 至 6 或 1 至 4 个碳原子的烷基）或酰基（例如，乙酰基）。也就是说，一个端基为烷氧基，而另一端基为烷氧基或酰氧基。在其它示例性的致孔剂中， R^1 为羧基， R^3 为羧烷基（例如，羧甲基）。也就是说，两个端基均为羧基（ $-OR^3$ 为羧烷氧基）。

[0075] 式 I 中的 R^2 基团为亚烷基，例如亚甲基、亚乙基或亚丙基。带有亚乙基 R^2 基团的合适致孔剂包括乙二醇和基于乙二醇的材料，例如二乙二醇、三乙二醇及更高级的同系物。

乙二醇的更高级同系物通常被称为聚乙二醇（即，PEG）或聚氧化乙烯（即，PEO）。带有亚丙基 R^2 基团的其它合适的致孔剂包括丙二醇和基于丙二醇的材料，例如二丙二醇、三丙二醇及更高级的同系物。丙二醇的更高级同系物通常被称为聚丙二醇（即，PPG）或聚氧化丙烯（即，PPO）。致孔剂可以为聚氧化乙烯和聚氧化丙烯的无规或嵌段共聚物。

[0076] 式 I 中的下标 n 可以为大于 1、大于 2、大于 5、大于 10、大于 20、大于 50、大于 100、大于 200 或大于 500 的整数。例如， n 可以为 1 至 1,000 范围、1 至 800 范围、1 至 600 范围、1 至 500 范围、1 至 200 范围或 1 至 100 范围内的整数。

[0077] 一些致孔剂为分子量至少 200g/mol、至少 400g/mol、至少 800g/mol、至少 1,000g/mol、至少 2,000g/mol、4,000g/mol、至少 8,000g/mol 或至少 10,000g/mol 的聚氧化烯烃。聚氧化烯烃致孔剂通常具有最多 20,000g/mol、最多 16,000g/mol、最多 12,000g/mol、最多 10,000g/mol、最多 8,000g/mol、最多 6,000g/mol、最多 4,000g/mol、最多 2,000g/mol 或最多 1,000g/mol 的平均分子量。例如，聚氧化烯烃致孔剂通常具有 200 至 20,000g/mol 范围、200 至 16,000g/mol 范围、200 至 8,000g/mol 范围、200 至 4,000g/mol 范围、200 至 2,000g/mol 范围或 200 至 1,000g/mol 范围内的平均分子量。

[0078] 在一些形成阴离子交换树脂的方法中，可以使用致孔剂的混合物。例如，致孔剂可以为第一致孔剂与第二致孔剂的混合物，所述第一致孔剂为亚烷基二醇（即，在式 I 中 n 等于 1），所述第二致孔剂是聚氧化烯烃（即，在式 I 中 n 大于 1）。在更具体的实例中，所述致孔剂可以为乙二醇与带羟基端基的聚氧化乙烯的混合物。

[0079] 具有如下端基（即， R^1 和 $-OR^3$ 基团）的聚氧化烯烃是市售可得的，所述端基选自于羟基、甲氧基、羟基和甲氧基的组合、羟基和氯基的组合、烷氧基和乙酰氧基的组合或至少一个羧基。这些材料可以从（例如）Sigma-Aldrich 公司（Milwaukee, WI）、Nektar 公司（Huntsville, AL）和 Dow Chemical 公司（Midland, MI）获得。

[0080] 阴离子交换树脂的制备方法是反相悬浮聚合法。使包含 (a) 单体混合物、(b) 致孔剂和 (c) 水相溶剂混合物的水相组合物作为液滴分散或悬浮于非极性有机溶剂中，并且非极性有机溶剂的体积通常大于水相组合物的体积。致孔剂通常为液体，其能够起到作为水相组合物内的单体混合物的常规溶剂的作用。适用的致孔剂通常不会以任何显著的程度在水相组合物与非极性有机溶剂之间分配（即，致孔剂不会以任何显著的量从水相组合物中被萃取至非极性溶剂中）。例如，少于 5 重量%、少于 4 重量%、少于 3 重量%、少于 2 重量%或少于 1 重量%的致孔剂可以从水相组合物中被萃取到非极性有机溶剂（例如甲苯、庚烷等）中。

[0081] 随着自由基聚合反应的进行，在每个水相液滴内形成许多聚合物分子。聚合物分子随反应的进行而不断生长和交联。当分子量变得足够大时，聚合物相从液滴之内的水相组合物中分离出来。虽然不想受到理论的束缚，但据信，孔的形成至少部分是由于分子量增大时含水溶剂从聚合物材料中被排出而导致的。发生相分离的时刻可以影响平均孔径和孔径分布。相分离发生较晚往往有利于形成具有较小的孔及较大表面积的阴离子交换树脂颗粒。反之，相分离发生较早往往有利于形成具有较大的孔及较小表面积的阴离子交换树脂颗粒。

[0082] 致孔剂与形成的聚合物材料的相容性以及致孔剂的量可以影响发生相分离的时刻。此外，单体混合物中交联单体的含量可以影响发生相分离的时刻，较多量的交联单体通

常有利于较早地发生相分离,因为聚合物材料的分子量增大得更快。

[0083] 同那些与形成的聚合物材料相容性较差的致孔剂(作为形成的聚合物材料的不良溶剂的致孔剂)相比,可与形成的聚合物材料相容的致孔剂(即,作为形成的聚合物材料的良溶剂的致孔剂)往往使相分离发生较晚。与那些对形成的聚合物材料具有较低溶解度的致孔剂相比,对形成的聚合物材料具有较高溶解度的致孔剂通常形成具有较小的孔及较大表面积阴离子交换树脂颗粒。反之,与那些对形成的聚合物材料具有较大溶解度的致孔剂相比,对形成的聚合物材料具有较低溶解度的致孔剂通常形成具有较大的孔及较小表面积阴离子交换树脂颗粒。

[0084] 可以针对所关注的目标分子设计阴离子交换树脂。也就是说,可以设计阴离子交换树脂,以优化对具体目标分子的阴离子交换容量。较大孔径的阴离子交换树脂往往更适合较大的目标分子。致孔剂的分子量、致孔剂的端基(即,式 I 中的 $-R^1$ 和 $-OR^3$ 基团)、致孔剂的量以及单体混合物的组成可以影响平均孔径、表面积及孔体积。

[0085] 加入致孔剂倾向于使表面积、孔径和阴离子交换容量(即,对目标分子的容量)增加,直至对于具体选择的致孔剂及单体组合物而言达到最大的结合容量。进一步加入致孔剂要么会导致阴离子交换容量不变,要么会导致阴离子交换容量减少。阴离子交换容量的减少通常伴随着表面积的减小和平均孔径的增大。如本文所用,术语“最大结合容量”是指针对具体的目标分子以及致孔剂和单体组合物的具体组合而言的最大阴离子交换容量。

[0086] 在使用含有羟基端基、并且平均分子量最多为约 1,000g/摩尔的致孔剂的情况下,可使用(例如)基于所述单体混合物中单体的重量而言,最多为 100 重量%或更多的致孔剂来制备大孔阴离子交换树脂。可以使用基于单体混合物中单体的重量而言,最多为 80 重量%、最多为 60 重量%、最多为 40 重量%、最多为 20 重量%或最多为 10 重量%的致孔剂来制备示例性的阴离子交换树脂。

[0087] 如果将带羟基端基、且平均分子量最多约 1,000g/摩尔的聚氧化乙烯用作致孔剂,则基于水相组合物的重量(例如,单体混合物、致孔剂和含水溶剂混合物的总重量)而言,致孔剂的浓度通常在 0.1 至 20 重量%的范围内。例如,基于水相组合物的总重量而言,致孔剂的量的范围可以是 0.2 至 20 重量%、0.3 至 20 重量%、0.3 至 15 重量%、0.5 至 15 重量%、1 至 15 重量%或 2 至 15 重量%。

[0088] 平均分子量大于约 1,000g/摩尔的致孔剂通常比具有较低平均分子量的致孔剂的用量低。对于这些较高分子量的致孔剂而言,在超过最大结合容量所需的量以上增加致孔剂在水相组合物中的量通常倾向于使平均孔径增加、表面积减小和阴离子容量降低。也就是说,加入更多量的所述致孔剂通常不能保持平均孔径、表面积和阴离子交换容量。

[0089] 带有烷氧基端基的致孔剂的用量通常比带有羟基端基的致孔剂的用量低。与带有羟基端基的致孔剂相比,带有烷氧基端基的致孔剂往往在水相组合物中的溶解性较差,且与形成的聚合物材料相容性较差。对于这些带有烷氧基端基的致孔剂而言,在超过最大结合容量所需的量以上增加致孔剂在水相组合物中的量通常倾向于使平均孔径增加、表面积减小和阴离子交换容量降低。也就是说,加入更多量的所述致孔剂不能保持平均孔径、表面积和阴离子交换容量。

[0090] 水相组合物包含含水溶剂混合物,所述含水溶剂混合物包含水以及具有 1 至 4 个

碳原子的一元醇。合适的一元醇包括甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、叔丁醇或它们的组合。大孔阴离子交换树脂的总孔隙率中的至少一部分是由一元醇所致的。也就是说,加入一元醇往往使离子交换树脂的孔隙率更高(即,一元醇可以起到溶剂和共致孔剂的作用)。

[0091] 至少 20 重量%的水相溶剂混合物可以为一元醇。在一些实施例中,至少 30 重量%、至少 40 重量%或至少 50 重量%的水相溶剂混合物可以为一元醇。最多 80 重量%、最多 70 重量%或最多 60 重量%的水相溶剂混合物可以为一元醇。例如,一元醇的量的范围可以是水相溶剂混合物的 20 至 80 重量%、30 至 80 重量%、40 至 80 重量%或 50 至 80 重量%。

[0092] 水相溶剂混合物也可以包含能与水和一元醇混溶的另外的共溶剂。合适的水相共溶剂包括(但不限于):二甲亚砜、二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、乙腈等。共溶剂可以(例如)提高某些单体(例如水相组合物中的交联单体)的溶解度。共溶剂能影响形成的聚合物的相分离行为,并影响所得到的阴离子交换树脂的孔隙率特性。

[0093] 将水相组合物分散或悬浮于非极性有机溶剂中。非极性有机溶剂与水相组合物的体积比范围通常是 2 : 1 至 6 : 1。通常将包含单体混合物和致孔剂的水相组合物在非极性有机溶剂中分散为相对较小的液滴。除了起分散水相组合物用的惰性介质的作用之外,悬浮介质(即,非极性有机溶剂)的主要目的是为了消散聚合反应期间产生的热量。在一些实施例中,可以选择悬浮介质的密度使之与水相组合物的密度近似相等。近似地使这些密度匹配倾向于形成更多的球形颗粒以及大小更加均匀的颗粒。

[0094] 合适的非极性有机溶剂通常为:烷烃,例如己烷、庚烷、正辛烷、异辛烷、异十二烷和环己烷;卤化烃,例如四氯化碳、氯仿和二氯甲烷;芳族化合物,例如苯和甲苯;低粘度有机硅油;或它们的组合。例如,非极性有机溶剂可以为庚烷与二氯甲烷的混合物或庚烷与甲苯的混合物。

[0095] 常用悬浮剂(即,聚合物稳定剂)来促进水相组合物液滴悬浮在非极性有机溶剂中。与亲水性的致孔剂不同,悬浮剂通常同时具有疏水性部分和亲水性部分。悬浮剂的作用是调节水相组合物与非极性有机溶剂之间的界面张力。此外,悬浮剂对水相组合物液滴提供空间稳定作用。这种空间稳定作用倾向于在聚合过程中最大程度减少或防止形成凝聚的颗粒。

[0096] 合适的悬浮剂包括倍半油酸山梨坦、聚氧乙烯(20)脱水山梨醇三油酸酯、聚氧乙烯(20)脱水山梨醇单油酸酯、三油酸山梨坦、琥珀酸二(2-乙基己酯)磺酸钠、丙烯酸异辛酯和丙烯酸的共聚物、丙烯酸己酯和丙烯酸钠的共聚物、丙烯酸异辛酯和 2-丙烯酰胺基异丁酰胺的共聚物等。悬浮剂的量能影响阴离子交换树脂的大小(即,使用较多量的悬浮剂往往使得形成较小的阴离子交换树脂颗粒)。基于单体混合物中的单体总重量而言,悬浮剂的量一般为 0.1 至 10 重量%。例如,基于单体的总重量而言,单体混合物可以包含 0.1 至 8 重量%或 0.5 至 5 重量%的悬浮剂。

[0097] 阴离子交换树脂的大小在很大程度上由水相组合物的液滴大小来确定。液滴的大小可以受诸如搅拌速度、温度、悬浮剂量、悬浮剂的选择、非极性有机溶剂的选择以及任何水相共溶剂的选择之类的变量影响。通常可以改变搅拌速率、悬浮剂的类型以及悬浮剂的量来控制所得到的颗粒的聚集或凝聚。不发生聚集通常是优选的。

[0098] 可以向水相组合物中添加引发剂来起动自由基聚合反应。自由基引发剂通常能溶

于水相溶剂混合物。一旦形成悬浮液,自由基引发剂可以通过热活化、通过光化学方式活化或通过氧化还原反应活化。基于单体混合物中的单体总重量而言,自由基引发剂的用量通常为 0.02 至 10 重量%。在一些实例中,基于单体的总重量而言,自由基引发剂的含量为 2 至 6 重量%。

[0099] 合适的水溶性热引发剂包括(例如):偶氮化合物、过氧化物或氢过氧化物、过硫酸盐等。示例性的偶氮化合物包括 2,2'-偶氮二[2-(2-咪唑啉-2-基)丙烷]二氢氯化物、2,2'-偶氮二(2-脒基丙烷)二氢氯化物和 4,4'-偶氮二-(4-氰基戊酸)。市售的偶氮化合物热引发剂的实例包括按商品名称“VAZO”购自 DuPont Specialty Chemical 公司(Wilmington,DE)的材料,例如 VAZO 44、VAZO 56 和 VAZO 68。合适的过氧化物和氢过氧化物包括过氧化乙酰、叔丁基过氧化氢、异丙苯基过氧化氢和过氧乙酸。合适的过硫酸盐包括(例如)过硫酸钠和过硫酸铵。

[0100] 在另一个实例中,自由基引发剂为氧化还原对,例如过硫酸铵和 N,N,N',N'-四甲基乙二胺(TMEDA)、或过硫酸钠和 N,N,N',N'-四甲基乙二胺;1 硫酸铵和硫酸亚铁铵、或过硫酸钠和硫酸亚铁铵;过氧化氢和硫酸亚铁铵;异丙苯基过氧化氢和 N,N-二甲基苯胺等等。聚合温度通常取决于所选择的具体的自由基引发剂和非极性有机溶剂的沸点。热引发聚合的聚合温度通常为约 50°C 至约 150°C。在一些方法中,其温度为约 55°C 至约 100°C。对于氧化还原或光化学引发的聚合反应来说,如果需要,其温度可以接近室温或在室温以下。聚合反应时间可以为约 30 分钟至约 24 小时或更长的时间。通常,2 至 4 小时的聚合时间是足够的。

[0101] 一旦引发自由基聚合反应,则形成的聚合物材料倾向于在水相组合物内析出。一些水相成分(例如致孔剂)可以截留于聚合物材料的孔中。可以经(例如)过滤或倾析来分离聚合物材料颗粒。然后可以使聚合物材料颗粒经历一系列的洗涤步骤,以除去致孔剂。用于除去致孔剂的合适溶剂包括极性溶剂,例如水、丙酮、醇类(如甲醇、乙醇、正丙醇和异丙醇)、二甲亚砜、二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、乙腈等。如果需要,可以采用任何适用的方法干燥所得到的阴离子交换树脂。在一些方法中,可以采用诸如筛分、沉淀及风选之类的技术对所得到的阴离子交换树脂进行分级。

[0102] 大孔阴离子交换树脂颗粒可以具有不规则的形状,或者可以为球形或大致为球形。在一些实例中,大孔阴离子交换树脂颗粒为小珠。可以采用诸如光散射或带图像分析的电子显微镜之类的技术来确定颗粒的平均粒度。颗粒通常具有至少 10 微米的平均粒度。例如,颗粒可以具有至少 20 微米、至少 30 微米、至少 40 微米、至少 50 微米或至少 60 微米的平均粒度。颗粒通常具有不大于 2,000 微米、不大于 1,000 微米、不大于 500 微米或不大于 200 微米的平均粒度。在某些应用中,大孔阴离子交换树脂具有 10 至 2,000 微米、20 至 2,000 微米、20 至 500 微米、50 至 500 微米、20 至 200 微米、50 至 200 微米、50 至 100 微米、50 至 75 微米、50 至 70 微米或 60 至 70 微米的平均粒度。

[0103] 如果大孔阴离子交换树脂颗粒的平均粒度小于约 10 微米或小于约 20 微米,则由所述颗粒填充的色谱柱中的反压可能会变得无法接受得大,对于能用于纯化或分离大的生物分子的大柱(例如,直径大于约 5cm 的柱)而言尤其是如此。虽然其平均粒度可以大至 2,000 微米,但在某些应用(例如,其中将大孔阴离子交换树脂置入大柱中的应用)中的平均粒度往往不超过 200 微米。如果平均粒度较大,色谱方法的效率则可能较低,对于纯化或

分离大的生物分子（例如通常以较低的扩散速率进入大孔阴离子交换树脂的孔中的蛋白质）而言尤其是如此。例如，为了用较大的阴离子交换树脂获得与使用 20 至 200 微米的阴离子交换树脂能得到的相同的分离程度或纯化程度，可能需要更多量的树脂、更长的色谱柱、更慢的流速或它们的组合。

[0104] 可以通过在低温条件下以不同的相对压力将氮吸附到颗粒表面上（即，使管内的阴离子交换树脂样品处于真空中并将该管置于液氮中冷却）来表征阴离子交换树脂颗粒的孔隙率和表面积。氮在多个相对压力（例如，从约 0.0 至约 1.0）下被吸附到样品的表面上，然后在多个相对压力下解吸附。BJH 理论可用于将多种相对压力下的氮的吸附量或解吸附量与孔径范围在约 2 至约 200 纳米的孔关联，所述的理论进一步描述于文献 E. P. Barrett、L. S. Joyner 和 P. P. Halenda, J. Am. Chem. Soc., 73, 373 (1951) 中。可以计算出孔体积、表面积和平均孔径。如本文所用，术语“孔体积”是指利用 BJH 理论、由氮在约 0.0 至约 1.0 的多个相对压力下的吸附情况计算出的累积孔体积。如本文所用，术语“表面积”是指采用 BJH 理论、由氮在约 0.0 至约 1.0 的多个相对压力下的吸附情况计算出的累积表面积。如本文所用，术语“平均孔径”为使用 BJH 理论、由氮在约 0.0 至约 1.0 的多个相对压力下的吸附情况测量的平均孔径。

[0105] 大孔阴离子交换树脂具有一定的孔径分布。孔径可高达 500 纳米或更大。阴离子交换树脂的孔具有能够由氮吸附技术测量的大小范围。也就是说，至少一些孔的直径小于 200 纳米、小于 150 纳米或小于 100 纳米。通过氮吸附技术测量的平均孔径通常为至少 2 纳米、至少 5 纳米、至少 10 纳米、至少 20 纳米或至少 30 纳米。平均孔径可以最多为 200 纳米、最多为 100 纳米或最多为 80 纳米。例如，平均孔径的范围可以是 10 至 200 纳米、10 至 100 纳米、10 至 80 纳米、20 至 100 纳米或 20 至 80 纳米。

[0106] 孔体积通常为至少 0.10 立方厘米 / 克。例如，孔体积可以为至少 0.15 立方厘米 / 克、至少 0.20 立方厘米 / 克或至少 0.25 立方厘米 / 克。孔体积的范围可以是 0.10 至 2 立方厘米 / 克、0.15 至 2 立方厘米 / 克或 0.2 至 2 立方厘米 / 克，这种孔体积由直径不大于 200 纳米的孔产生。这些孔足够大，以至于可以容纳生物材料，但也足够小，以至于可以提供足够的表面积和阴离子交换容量。

[0107] 表面积通常为至少 20m²/g、至少 30m²/g 或至少 40m²/g。表面积的范围通常是 20 至 200m²/g、30 至 200m²/g、20 至 100m²/g、30 至 100m²/g 或 40 至 200m²/g。

[0108] 阴离子交换树脂的阴离子交换容量可以以可被吸附的蛋白质（例如牛血清白蛋白 (BSA)）的量表示。更具体地讲，一些阴离子交换树脂具有的牛血清白蛋白阴离子交换容量为至少 5mg/mL（即，每毫升的阴离子交换树脂吸附 5 毫克的牛血清白蛋白）。例如，一些阴离子交换树脂具有的牛血清白蛋白阴离子交换容量为至少 15mg/mL，至少 20mg/mL，至少 25mg/mL，至少 30mg/mL，或至少 40mg/mL。更具体地讲，一些阴离子交换树脂具有的牛血清白蛋白阴离子交换容量为 5 至 100mg/mL，5 至 70mg/mL，20 至 70mg/mL，20 至 60mg/mL，30 至 60mg/mL，或 30 至 50mg/mL。

[0109] 采用本文所述的方法制备的阴离子交换树脂是亲水性的，并且通常具有较低的非特异性吸附作用（即，由低 LI 单体制备的阴离子交换树脂倾向于具有低的非特异性吸附作用）。阴离子交换树脂通常通过带负电荷的材料与阴离子交换树脂上带正电荷的基团的相互作用来吸附各种带负电荷的材料，而在阴离子交换树脂的非离子部分上通常吸附很少

(如果有的话)的材料。这种低的非特异性吸附作用能有利于更好地把带负电荷的目标材料与样品中的其它材料分离开或将其纯化。在一些实例中,带电荷的目标材料为需要从蛋白质溶液(如抗体或 IgG 溶液)中移除的诸如阴离子型蛋白质、核酸、内毒素、类脂、磷脂之类的杂质。

[0110] 在第二个方面,描述了分离或纯化带负电荷的材料的方法。该方法包括形成大孔阴离子交换树脂、使该大孔阴离子交换树脂与带负电荷的材料接触并将至少一部分的带负电荷的材料吸附到该大孔阴离子交换树脂上。通过制备以下的水相组合物来形成所述的大孔阴离子交换树脂,所述的组合物包含:(a) 单体混合物;(b) 化学式 I 所示的水溶性氧化烯烃或聚氧化烯烃致孔剂;和(c) 包含水和含有 1 至 4 个碳原子的一元醇的水相溶剂混合物。基于水相溶剂混合物的体积而言,一元醇的含量为至少 20 体积%。所述单体混合物包含:(1) 交联单体,该交联单体包含 N,N'-亚烷基双(甲基)丙烯酰胺、N,N'-杂亚烷基双(甲基)丙烯酰胺或它们的组合;和(2) 带正电荷的离子型单体。单体混合物中基本上所有的单体都具有小于或等于 20 的亲脂性指数。形成大孔阴离子交换树脂还包括使水相组合物悬浮于非极性有机溶剂中、使单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒以及除去颗粒中的致孔剂。

[0111] 可以在使所述阴离子交换树脂的基团带正电荷的 pH(如,在 pH1 至 10)下将包含带负电荷的材料的样品与阴离子交换树脂接触。一般来讲,为了使带负电荷的材料有效地吸附在所述阴离子交换树脂上,可使用超过所述材料的 pK(或蛋白质的 pI)至少约 1 至 2 个 pH 单位的 pH。如果需要从所述阴离子交换树脂中释放所吸附的材料,可使 pH 降低至少 1 至 2 个 pH 单位或更多。作为另外一种选择,当所述带电物质为生物分子时,可使样品在具有适当的 pH(如对于 BSA 而言,pH 为约 6 至 8)的低离子强度缓冲液(如 5 至 20 毫摩尔缓冲盐)中与所述阴离子交换树脂接触。为了释放所吸附的生物分子,将高离子强度的缓冲液与阴离子交换树脂接触。在一些实施例,高离子强度的缓冲液包含用于吸附该材料的同一缓冲组合物以及 1 摩尔氯化钠。吸附和释放过程通常在接近室温的温度下进行。

[0112] 适用于控制 pH 值的缓冲盐包括(但不限于):磷酸钠、碳酸钠、碳酸氢钠、硼酸钠、醋酸钠和 TRIS(三(羟甲基)氨基甲烷)。其它合适的缓冲液包括:"Good's"缓冲液,例如 MOPS(3-吗啉代丙烷磺酸)、EPPS(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-丙烷磺酸)、MES(2-吗啉代乙烷磺酸)以及其它。

[0113] 一些样品包含可以从其它样品组分中分离出来或能被纯化的生物分子。合适的生物分子包括(例如)蛋白质、酶、疫苗、DNA 和 RNA。调节样品的 pH 值可以改变一些生物分子的带电情况。

[0114] 在第三方面,描述了制备色谱柱的方法。该方法包括形成大孔阴离子交换树脂并将大孔阴离子交换树脂置于柱中。通过制备水相组合物来形成所述的大孔阴离子交换树脂,所述的组合物包含:(a) 单体混合物;(b) 化学式 I 所示的水溶性氧化烯烃或聚氧化烯烃致孔剂;和(c) 水相溶剂混合物,该水相溶剂混合物包含水和含有 1 至 4 个碳原子的一元醇。基于水相溶剂混合物的体积而言,一元醇的含量为至少 20 体积%。所述单体混合物包含:(1) 交联单体,该交联单体包含 N,N'-亚烷基双(甲基)丙烯酰胺、N,N'-杂亚烷基双(甲基)丙烯酰胺或它们的组合;和(2) 带正电荷的离子型单体。单体混合物中基本上所有的单体都具有小于或等于 20 的亲脂性指数。形成大孔阴离子交换树脂还包括:使水相组

合物悬浮于非极性有机溶剂中,使单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒以及除去颗粒中的致孔剂。

[0115] 由本文所述的方法制备的阴离子交换树脂颗粒往往是相当刚性的,并且具有在处于任何合适的流速及压力条件下的色谱柱(其具有任何合适的尺寸)中使用所需的机械强度。所述颗粒能够用于(例如)使用高流速的色谱柱中。阴离子交换树脂适合在色谱柱中经常遇到的压差的条件下使用。如本文所用,术语“压差”是指整个色谱柱中的压降。例如,用于对治疗性蛋白质进行下游纯化或分离的色谱柱可以使用诸如至少 150cm/hr、至少 250cm/hr、至少 500cm/hr 或至少 700cm/hr 等表观速度(例如,流速),以提高产率。更快的流速通常得到更高的产率。

[0116] 在小型色谱柱(例如,柱直径小于约 5cm 的色谱柱)中,阴离子交换树脂的填充床受到柱壁良好地支承。在这种柱中,具有相对较宽范围的刚性的阴离子交换树脂能够经受住超过 200psi (1,380kPa) 的压差。然而,在大型色谱柱(例如,柱直径大于约 5cm 的色谱柱)中,阴离子交换树脂的填充床受柱壁的支承较少(例如,较小部分的树脂与柱壁的表面接触)。在这种柱中,具有较高刚性的阴离子交换树脂往往能够经受住至少 25psi (173kPa) 的压差。一些阴离子交换树脂能够经受住 50psi (345kPa) 至 200psi (1,380kPa) 的压差。

[0117] 合适的柱子是本领域中已知的,并且可以用诸如玻璃、聚合物材料、不锈钢、钛及其合金或镍及其合金之类的材料进行构造。用以在柱中有效装填阴离子交换树脂的柱的填充方法是本领域中已知的。

[0118] 色谱柱可以为分析仪器(例如液相色谱仪)的组成部分。当用阴离子交换树脂装填色谱柱时,色谱柱可以用于从非离子材料中分离出离子材料,或者使一种离子材料与另一种具有不同电荷密度的离子材料分离。可以确定离子材料在样品中的量。

[0119] 色谱柱可以为用以分离或纯化离子材料的制备液相色谱系统的一部分。制备液相色谱系统可以是实验室规模的系统、试验厂规模的系统或工业规模的系统。

[0120] 在第四个方面,描述了过滤元件的制备方法。该方法包括形成大孔阴离子交换树脂并将大孔阴离子交换树脂布置到过滤介质的表面上。通过制备以下的水相组合物形成所述的大孔阴离子交换树脂,所述的组合物包含:(a) 单体混合物;(b) 化学式 I 所示的水溶性氧化烯烃或聚氧化烯烃致孔剂;和(c) 水相溶剂混合物,该水相溶剂混合物包含水和含有 1 至 4 个碳原子的一元醇。基于水相溶剂混合物的体积而言,一元醇的含量为至少 20 体积%。所述单体混合物包含:(1) 交联单体,该交联单体包含 N,N'-亚烷基双(甲基)丙烯酰胺、N,N'-杂亚烷基双(甲基)丙烯酰胺或它们的组合;和(2) 带正电荷的离子型单体。单体混合物中基本上所有的单体都具有小于或等于 20 的亲脂性指数。形成大孔阴离子交换树脂还包括:使水相组合物悬浮于非极性有机溶剂中,使单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒以及除去颗粒中的致孔剂。

[0121] 可以将过滤器元件布置在壳体内来提供滤筒。合适的过滤介质及包括滤筒的系统进一步描述于(例如)美国专利 5,468,847 (Heilmann 等人)中,所述的专利文献以引用的方式并入本文。这种滤筒可以用来纯化或分离生物分子。在这方面,由于滤筒系统中的固有压降较低,因此可以使用比色谱柱形式中的颗粒刚性低的颗粒或者使用比色谱柱形式中的颗粒小的大孔颗粒。

[0122] 过滤介质可以具有单一一个过滤层或多个过滤层,并且可以用玻璃或聚合物纤维

(例如,诸如聚丙烯纤维之类的聚烯烃纤维)制备。在一些实施例中,过滤介质包括粗预过滤层以及一层或多层较为精细的过滤层。例如,过滤介质可以包括粗预过滤层,然后是一系列平均孔径逐步减小的另外的过滤层。可以将阴离子交换树脂布置于具有最小平均孔径的过滤介质的层上。

[0123] 过滤介质孔径的选择取决于阴离子交换树脂的大小。通常选择过滤介质的孔径小于阴离子交换树脂的平均直径。然而,一部分阴离子交换树脂可能渗透到过滤介质中。

[0124] 过滤介质可以是垂直褶裥过滤器形式,例如在美国专利 No. 3, 058, 594 (Hultgren) 中描述的那些。在其它实施例中,过滤介质是水平、径向复合褶裥过滤器的形式,例如在美国专利 No. 4, 842, 739 (Tang 等人) 中描述的那些,这些专利以引用的方式并入本文。在以垂直方向使用包含过滤介质的滤筒的应用中,水平褶裥的布置方式可能是有利的。这样的布置方式能够减少在使用和储存期间阴离子交换树脂从过滤器元件中脱落。

[0125] 在第五方面,描述了制备多孔复合材料的方法。该方法包括形成大孔阴离子交换树脂并把大孔阴离子交换树脂掺入到连续的多孔基质中。通过制备水相组合物来形成所述的大孔阴离子交换树脂,所述的组合物包含:(a) 单体混合物;(b) 化学式 I 所示的水溶性氧化烯烃或聚氧化烯烃致孔剂;和(c) 水相溶剂混合物,该水相溶剂混合物包含水和含有 1 至 4 个碳原子的一元醇。基于水相溶剂混合物的体积而言,一元醇的含量为至少 20 体积%。所述单体混合物包含:(1) 交联单体,该交联单体包含 N, N' - 亚烷基双(甲基)丙烯酰胺、N, N' - 杂亚烷基双(甲基)丙烯酰胺或它们的组合;和(2) 带正电荷的离子型单体。单体混合物中基本上所有的单体都具有小于或等于 20 的亲脂性指数。形成大孔阴离子交换树脂还包括使水相组合物悬浮于非极性有机溶剂中,使单体混合物聚合形成聚合物材料颗粒以及除去颗粒中的致孔剂。

[0126] 连续的多孔基质通常为织造或非织造的纤维质基料、多孔纤维、多孔膜、多孔薄膜、中空纤维或管。合适的连续多孔基质进一步描述于美国专利 No. 5, 993, 935 (Rasmussen 等人) 中,该专利以引用的方式并入本文。

[0127] 作为纤维质基料的连续多孔基质可以提供诸如表面积大、易于制造、材料成本低以及具有各种纤维结构和密度之类的优点。虽然合适的纤维直径范围是宽泛的,但纤维通常具有 0.05 微米至 50 微米的平均直径。可以对基料的厚度进行改变(例如,约 0.2 微米至约 100cm),以适应最终用途的应用。

[0128] 复合材料可以(例如)采用熔喷法制备。例如,可以将熔融的聚合物材料挤出,以产生熔喷纤维流。可以将阴离子交换树脂引入到纤维流中并与纤维混在一起。可以在筛网上收集纤维和阴离子交换树脂的混合物,使得其形成基料。阴离子交换树脂可以分散于纤维质基料内。在一些实施例中,可以将阴离子交换树脂均匀地分散在整个纤维质基料内。

[0129] 也可以用原纤化聚合物基质(例如原纤化聚四氟乙烯(PTFE))制备复合材料。适用的方法更全面地描述于美国专利 No. 4, 153, 661 (Ree 等人)、No. 4, 565, 663 (Errede 等人)、No. 4, 810, 381 (Hagen 等人) 和 No. 4, 971, 736 (Hagen 等人) 中,这些专利均以引用方式并入本文。一般来说,这些方法包括:将阴离子交换树脂与聚四氟乙烯分散体共混以得到膏糊状物质,在 5°C 至 100°C 下对该膏糊状物质进行剧烈搅拌以使 PTFE 发生原纤化,将该膏糊状物质进行双轴压延,并干燥所得到的薄片。

[0130] 在另一种制备复合材料的方法中,可以将阴离子交换树脂分散于液体当中,然

后在足以形成均匀混合物的温度下将所得物与热塑性聚合物共混。可以将该均匀的混合物置于具有所需形状的模具中。混合物冷却后,液体可以发生相分离,从而留下包含分散的阴离子交换树脂颗粒的热塑性聚合物基质。这种方法进一步描述于美国专利 No. 4,957,943 (McAllister 等人) 中,该专利以引用的方式并入本文。

[0131] 基于所得到的复合材料的体积而言,掺入到连续多孔基质中的阴离子交换树脂的量为至少 1 体积%、至少 5 体积%、至少 10 体积%、至少 20 体积%、至少 30 体积%、至少 40 体积%或至少 50 体积%。基于所得到的复合材料的体积而言,掺入到连续多孔基质中的阴离子交换树脂的量可以为最多 99 体积%、最多 95 体积%、最多 90 体积%、最多 85 体积%或最多 80 体积%。阴离子交换树脂含量较高的复合材料往往具有较大的阴离子交换容量。

[0132] 前述内容按照发明者在现有记述的情况下可以预见的实施例描述了本发明,然而目前尚未预见的对本发明的非实质性修改形式仍可以代表本发明的等同形式。

[0133] 实例

[0134] 这些实例仅仅是用于示例性目的,并且无意于对所附的权利要求的范围进行限定。除非另有说明,否则实例中的所有份数、百分比、比例等均是按重量计。除非另有说明,否则所用的溶剂和其它试剂均来自 Sigma-Aldrich Chemical 公司 (Milwaukee, WI)。

[0135] 测试方法

[0136] 阴离子交换容量

[0137] 通过以下方法制备 50 体积%的阴离子交换珠粒在 DI (去离子) 水中的浆料,所述方法为:将珠粒与水混合,以 3,000 的相对离心力 (rcf) 对该混合物离心 20 分钟,然后调节水量使得其总体积为所填装的珠粒床的两倍。使浆料充分混合以悬浮珠粒,然后将 400 微升的该浆料的样品吸移到具有 0.45 微米孔径的 5 毫升醋酸纤维素 CENTREX MF 离心微过滤器中。微过滤器通过 VWR 公司 (Eagan, MN) 购自 Schleicher&Schuell 公司。通过在 3,000rcf 下离心 5 分钟除去微过滤器上的浆料中的水。将 4mL pH 7.5 的 10mM MOPS 的溶液与所述的珠粒在微过滤器上混合。通过再次在 3,000rcf 下离心 10 分钟除去液体。弃去滤液。将 4.5mL BSA (约 9mg/mL) (可从 Sigma-Aldrich 公司 (St. Louis, MO) 商购获得) 在相同 MOPS 缓冲液中的样品加入到包含珠粒的微过滤器中。使混合物翻滚过夜,然后通过在 3,000rcf 下离心 15 分钟而从珠粒中分离出上清液。

[0138] 通过 UV 光谱法分析所述滤液,将滤液在 280nm 的吸光率与初始 BSA 溶液的吸光率进行比较;所述差值用来计算珠粒的 BSA 阴离子交换容量。进行三次测定,并且取平均值。

[0139] 表面积和孔隙率的测定

[0140] 将约 0.1 至 1.0g 的各样品转移至购自 Micromeritics 公司 (Norcross, GA) 的 1.3 厘米 (0.5 英寸) 直径的样品管中,并且用以商品名 VACPREP 061 商购自 Micromeritics 公司的系统在 100°C 下真空 (低于 10mTorr 或 0.015mbar) 脱气 24 小时。脱气后,使样品在真空条件下于常温 (即, 20°C 至 25°C) 冷却 10 分钟,然后装到以商品名 TRISTAR3000 商购自 Micromeritics 公司的表面积和孔隙率分析仪上。

[0141] 建立 45 点吸附 / 40 点解吸附的等温线,相对压力 (P/P_0) 从约 0.0 开始,直至约 1.0, 并且 0.95 与 1.0 之间的点的分布较密集 (参见目标压力和点的表)。没有设定第一“压力固定剂量”。最大体积增量被设定为在 STP 下的 10.00cc/g, “绝对压力公差”被设定为 5mmHg, 并且“相对压力公差”被设定为 2.0%。不使用“快速抽真空”和“泄漏检测”选项。

在液氮杜瓦瓶降低的条件下（即，样品不在液氮中），在自由空间测量期间采用 0.5 小时的抽真空时间。将杜瓦瓶提升以进行分析（即，将包含样品的管置入液氮中）。在 77.350K（液氮温度）的条件下，在分析期间以 120 分钟的间隔测量 P_0 。使用氮气的标准 Pstat 与温度关系表，按以下值设定气体吸附性质：非理想因子，0.0000620；密度换算因子，0.0015468；分子横截面积，0.162nm²。基于在 45 个吸附点和 40 个解吸附点测试期间的每个相对压力下所吸附 N₂ 的量，计算直径为 17 Å 至 2,000 Å 的孔（对应于 2 至 200 纳米之间的孔）的 BJH 吸附 / 解吸附累积孔体积和累积表面积。

[0142] 下表给出用于分析的吸附和解吸附点。下文示出了多个实例中的累积表面积和累积孔体积。

[0143] 目标压力和点的表

[0144]

点	相对压力 (P/P ₀)	BJH 吸附	BJH 解吸附
1	0.060	X	
2	0.080	X	
3	0.120	X	
4	0.140	X	
5	0.160	X	
6	0.200	X	
7	0.250	X	
8	0.300	X	
9	0.350	X	
10	0.400	X	
11	0.450	X	
12	0.500	X	
13	0.550	X	
14	0.600	X	
15	0.650	X	
16	0.700	X	

[0145]

点	相对压力 (P/P ₀)	BJH 吸 附	BJH 解 吸 附
17	0.740	X	
18	0.770	X	
19	0.800	X	
20	0.820	X	
21	0.840	X	
22	0.860	X	
23	0.875	X	
24	0.890	X	
25	0.905	X	
26	0.915	X	
27	0.925	X	
28	0.933	X	
29	0.940	X	
30	0.947	X	
31	0.953	X	
32	0.959	X	
33	0.964	X	
34	0.968	X	
35	0.971	X	
36	0.974	X	
37	0.977	X	
38	0.980	X	
39	0.982	X	
40	0.984	X	
41	0.986	X	
42	0.988	X	
43	0.989	X	
44	0.990	X	
45	1.000		
46	0.990		X
47	0.989		X
48	0.988		X
49	0.986		X
50	0.984		X
51	0.982		X
52	0.980		X
53	0.977		X
54	0.974		X
55	0.971		X
56	0.968		X
57	0.964		X

[0146]

点	相对压力 (P/Po)	BJH 吸附	BJH 解吸附
58	0.959		X
59	0.953		X
60	0.947		X
61	0.940		X
62	0.933		X
63	0.925		X
64	0.915		X
65	0.905		X
66	0.890		X
67	0.875		X
68	0.860		X
69	0.840		X
70	0.820		X
71	0.800		X
72	0.770		X
73	0.740		X
74	0.700		X
75	0.650		X
76	0.600		X
77	0.550		X
78	0.500		X
79	0.450		X
80	0.400		X
81	0.350		X
82	0.300		X
83	0.250		X
84	0.200		X
85	0.140		X

[0147] 缩写表

[0148]

缩写或商品名	说明
MBA	N, N' - 亚甲基双丙烯酰胺
MAPTAC	[3-(甲基丙烯酰氧基氨基) 丙基] 三甲基氯化铵, 以其在水中的 50 重量%的溶液使用
APTAC	[3-(丙烯酰胺基丙基) 三甲基氯化铵, 以其在水中的 75 重量%的溶液使用
DMAPMA	N-[3-(二甲基氨基) 丙基] 甲基丙烯酰胺
DMA	N, N- 二甲基丙烯酰胺

[0149]

TMEDA	N, N, N', N' - 四甲基乙二胺
BSA	牛血清白蛋白
PEG 400	带羟基端基的聚乙二醇, 平均分子量为 400g/mol
PEG 600	带羟基端基的聚乙二醇, 平均分子量为 600g/mol
PEG 1000	带羟基端基的聚乙二醇, 平均分子量为 1,000g/mol
PEG 2000	带羟基端基的聚乙二醇, 平均分子量为 2,000g/mol
PEG 3400	带羟基端基的聚乙二醇, 平均分子量为 3,400g/mol
IPA	异丙醇

[0150] 实例 1

[0151] 在所述水相中使用聚乙二醇致孔剂 (PEG 400), 通过反相悬浮聚合法制备按重量计 50 : 50 的 MAPTAC/MBA 共聚物。

[0152] 将聚合物稳定剂 (0.28 克)、甲苯 (132mL) 和庚烷 (243mL) 加入到烧瓶中, 所述烧瓶装备有机械搅拌器 (搅拌速度为 450rpm)、氮气入口、温度计、带温度控制器的加热套和冷凝器。聚合物稳定剂为按重量计 91.8 : 8.2 的丙烯酸异辛酯与 2- 丙烯酰胺基异丁酰胺的共聚物 (按照在文献 Rasmussen 等, Makromol. Chem., Macromol. Symp., 54/55, 535-550 (1992) 中所描述的方法制备)。在搅拌下将烧瓶中的非水溶液加热到 35°C, 并且用氮气鼓泡 15 分钟。

[0153] 制备包含 MBA (7.0 克), MAPTAC (14.0 克, 50 重量%的水溶液)、甲醇 (35mL)、PEG 400 (15mL) 和去离子水 (38mL) 的水溶液。将该第二溶液搅拌并在 30°C 至 35°C 下加热, 以使 MBA 溶解。在再次搅拌的条件下, 向该第二溶液加入过硫酸钠 (1.12 克, 溶解于 5mL 的去离子水中)。将水溶液加入到包含非水溶液的反应烧瓶中。搅拌得到的混合物, 并用氮气鼓泡 5 分钟。

[0154] 加入 TMEDA (1.12mL) 引发聚合反应。将反应温度快速升到 42.6°C, 然后缓慢下降。从加入 TMEDA 的时刻起, 总共搅拌反应混合物 2.3 个小时, 用烧结的玻璃漏斗过滤, 然后分别用丙酮 (2×250mL)、甲醇 (2×250mL) 和丙酮 (1×250mL) 洗涤, 并在室温下真空干燥, 从而得到 15.8 克的无色颗粒。

[0155] 根据扫描电子显微照片, 所得树脂为球形颗粒形式, 直径在约 20 至 200 微米的范围内。使用 BSA 作为蛋白质, 根据在测试方法中描述的方法测量蛋白质阴离子交换容量。将数据示于表 1 中。

[0156] 在进行孔隙率测量之前, 对所述树脂进行另外的洗涤以除去任何残余的致孔剂。将大约 5mL 的树脂颗粒与 40mL 的由乙腈和水 (以体积计为 1 : 1) 构成的溶液混合。将所述混合物翻滚 3 天。将所述样品过滤, 用丙酮 (3×100mL) 洗涤, 然后在真空下干燥。按测试方法中所述的方法测量表面积和孔隙率。将数据示于表 1 中。

[0157] 比较例 C1

[0158] 按实例 1 中所述的方法制备阴离子交换珠粒,不同的是所述水溶液中的 PEG 400(致孔剂)用甲醇替换。将所得样品对蛋白质 BSA 的阴离子交换容量示于下表 1 中。

[0159] 实例 2

[0160] 对于实例 2,采用实例 1 所用的相同方法,不同的是将每种单体(MBA 和 MAPTAC)的量加倍。将所得样品对蛋白质 BSA 的阴离子交换容量以及孔隙率的测量结果示于下表 1 中。

[0161] 实例 3

[0162] 对于实例 3,采用实例 1 所用的相同方法,不同的是将每种单体(MBA 和 MAPTAC)的量加倍,在非水相中仅有的溶剂是庚烷(536mL),用 IPA(80mL)代替甲醇,并且水相的总体积是 150mL。将所得样品对蛋白质 BSA 的阴离子交换容量以及孔隙率的测量结果示于下表 1 中。

[0163] 实例 4

[0164] 对于实例 4,采用实例 1 所用的相同方法,不同的是将单体的总量加倍,并且所述单体是 MBA、MAPTAC 和 DMA。在单体混合物中每种单体的量为:35 重量%的 MBA、30 重量%的 MAPTAC 和 35 重量%的 DMA。将所得样品对蛋白质 BSA 的阴离子交换容量以及孔隙率的测量结果示于下表 1 中。

[0165] 实例 5

[0166] 对于实例 5,采用实例 4 所用的相同方法,不同的是在非水相中仅有的溶剂为庚烷(536mL)并且用 IPA 代替甲醇。将所得样品对蛋白质 BSA 的阴离子交换容量以及孔隙率的测量结果示于下表 1 中。

[0167] 实例 6

[0168] 对于实例 6,采用实例 1 所用的相同方法,不同的是将单体的总量加倍。在单体混合物中每种单体的量为:70 重量%的 MBA 和 30 重量%的 MAPTAC。将所得样品对蛋白质 BSA 的阴离子交换容量以及孔隙率的测量结果示于下表 1 中。

[0169] 实例 7

[0170] 对于实例 7,采用实例 6 所用的相同方法,不同的是在非水相中仅有的溶剂是庚烷(536mL),使用 IPA(40mL)代替甲醇,并且水相的总体积为 110mL。将所得样品对蛋白质 BSA 的阴离子交换容量以及孔隙率的测量结果示于下表 1 中。

[0171] 表 1

[0172]

例子	对 BSA 的阴离子交换容量 (mg/mL)	BJH 累积孔体积 (cc/g)	BJH 累积表面积 (m ² /g)
C1	10	NM	NM
1	72	0.68	174
2	79	0.71	192
3	30	0.17	42

4	97	0.51	137
5	86	0.65	152
6	86	0.69	221
7	46	0.59	176

[0173] NM = 未测定

[0174] 实例 8 至 12

[0175] 对于实例 8-12, 采用实例 2 所用的相同方法, 不同的是将所述 PEG 的分子量按表 2 中所示的那样改变, 并且在加入所述 TMEDA 后, 将总聚合反应时间减少至 1 小时。将所得样品对蛋白质 BSA 的阴离子交换容量以及孔隙率的测量结果列于下表 2 中。

[0176] 将实例 9 的表面的扫描电子显微照片示于图 1, 该照片的放大率为 15,000X。图 2 示出实例 11 的表面的扫描电子显微照片, 其放大率为 15,000X。

[0177] 表 2

[0178]

实例	PEG	对 BSA 的阴离子交换容量 (mg/mL)	BJH 累积表面积 (m ² /g)	BJH 累积孔体积 (cc/g)
8	400	68	124	0.49
9	600	95	93	0.46
10	1000	66	87	0.36
11	2000	8	2	0.01
12	3400	12	4	0.02

[0179] 实例 13

[0180] 对于实例 13, 采用实例 6 中所用的相同方法, 不同的是用 APTAC 代替 MAPTAC, 在非水相中仅有的溶剂是庚烷 (536mL), 使用 IPA (95mL) 代替甲醇, 并且水相的总体积为 160mL。所得样品对 BSA 的阴离子交换容量为 46mg/mL。

[0181] 实例 14

[0182] 通过实例 1 中的通用方法、使用 PEG 400 作为水相中的致孔剂来制备按重量计 65 : 35 的 DMAPMA/MBA 共聚物。在非水相中仅有的溶剂为庚烷 (536mL)。所述水相由 MBA (9.8g)、DMAPMA (18.2g)、冰醋酸 (6.15mL)、PEG 400 (15mL)、IPA (95mL)、DI 水 (43.85mL) 和过硫酸钠 (0.55g) 组成。所得样品对 BSA 的阴离子交换容量为 40mg/mL。

[0183] 比较例 C2

[0184] 对于比较例 C2, 重复实例 16 的步骤, 不同的是用 IPA (15mL) 替换 PEG 400。所得样品对 BSA 的阴离子交换容量为 3mg/mL。

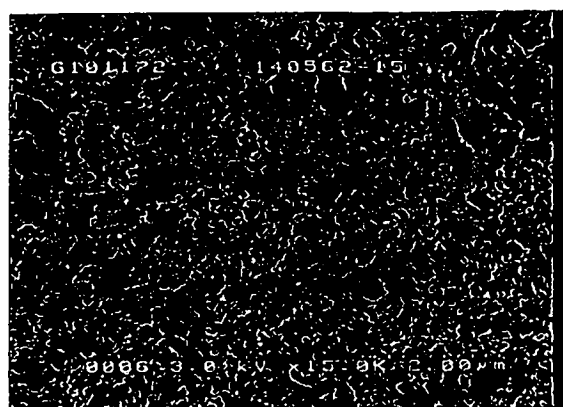


图 1

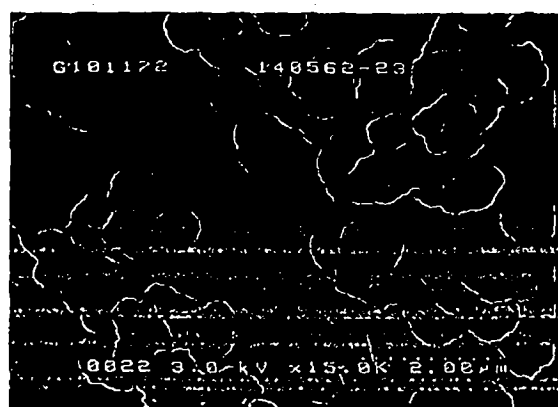


图 2