



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1929850 B

(45) 授权公告日 2010.05.12

(21) 申请号 200480032798.2

(22) 申请日 2004.09.03

(30) 优先权数据

60/500,456 2003.09.05 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2006.05.08

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2004/029008 2004.09.03

(87) PCT申请的公布数据

W02005/023896 EN 2005.03.17

(73) 专利权人 艾维动物健康公司

地址 美国堪萨斯州

专利权人 马拉尔萨米·巴拉苏布若门尼

(72) 发明人 R·马丁·伊曼纽尔

马拉尔萨米·巴拉苏布若门尼

(74) 专利代理机构 北京金信立方知识产权代理

有限公司 11225

代理人 朱梅

(51) Int. Cl.

A61K 31/765(2006.01)

A61P 37/02(2006.01)

(56) 对比文件

US 5114708 A, 1992.05.19, 全文.

US 5234683 A, 1993.08.10, 全文.

审查员 黄海波

权利要求书 5 页 说明书 18 页 附图 9 页

(54) 发明名称

精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物及其制备方法

(57) 摘要

本发明包括聚氧丙烯 / 聚氧乙烯八单元共聚物的新型制备方法, 该共聚物保留了商业制备所具有的生长促进性和免疫活性, 同时避免了一些现有技术无法避免的副作用。和现有技术相比, 本发明中的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物具有更少的低分子量组分, 共聚物的生物活性好于预期。而且, 本发明的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物由于不易被消化器官吸收, 大大降低了人类使用动物所带来的健康风险。本发明也提供了聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物的制备方法。

1. 一种精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯八单元共聚物组合物, 该组合物具有下式:



其中该共聚物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿, “a”代表的是聚氧乙烯占组合物总重的 5% -20%, “b”代表的是聚氧丙烯占化合物总重的 80% -95%; 以及共聚物含有少于 4wt% 的低分子量组分, 该低分子量组分的分子量小于 4000 道尔顿。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物, 其中组合物的分子量约为 6000-9000 道尔顿。

3. 根据权利要求 1 所述的组合物, 其中组合物的分子量约为 7000-8000 道尔顿。

4. 根据权利要求 1 所述的组合物, 其中聚氧乙烯部分约占组合物重量的 7-17%。

5. 根据权利要求 4 所述的组合物, 其中聚氧丙烯部分约占组合物重量的 83-93%。

6. 根据权利要求 1 所述的组合物, 其中聚氧乙烯部分约占组合物重量的 9-15%。

7. 根据权利要求 6 所述的组合物, 其中聚氧丙烯部分约占组合物重量的 85-91%。

8. 根据权利要求 1 所述的组合物, 其中少于 2wt% 的组合物中的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿。

9. 根据权利要求 1 所述的组合物, 其中少于 1wt% 的组合物中的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿。

10. 根据权利要求 1 所述的组合物, 其中少于 4wt% 的组合物中的共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。

11. 根据权利要求 1 所述的组合物, 其中少于 4wt% 的组合物中的共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。

12. 根据权利要求 8 所述的组合物, 其中所述共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。

13. 根据权利要求 8 所述的组合物, 其中所述共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。

14. 根据权利要求 9 所述的组合物, 其中所述共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。

15. 根据权利要求 9 所述的组合物, 其中所述共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。

16. 一种制备精制聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物的方法, 该方法包括如下步骤:

提供一种具有下述化学式的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物:



其中该组合物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿, “a”代表的是聚氧乙烯占化合物总重的 5% -20%, “b”代表的是聚氧丙烯占化合物总重的 80% -95%; 超过 4wt% 的组合物中的共聚物分子量小于 4000 道尔顿;

混合组合物、水和低沸点无毒溶剂;

分离混合物, 从而至少形成两层, 其中至少一层含有精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物, 该组合物中少于 4% 的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿; 以及

萃取出精制的组合物。

17. 根据权利要求 16 所述的方法, 其中组合物的分子量约为 6000-9000 道尔顿。

18. 根据权利要求 16 所述的方法, 其中组合物的分子量约为 7000-8000 道尔顿。

19. 根据权利要求 16 所述的方法, 其中聚氧乙烯部分约占组合物重量的 7-17%。

20. 根据权利要求 19 所述的方法, 其中聚氧丙烯部分约占组合物重量的 83-93%。

21. 根据权利要求 16 所述的方法, 其中聚氧乙烯部分约占组合物重量的 9-15%。

22. 根据权利要求 21 所述的方法,其中聚氧丙烯部分约占组合物重量的 85-91%。
23. 根据权利要求 16 所述的方法,其中少于 2wt%的组合物中的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿。
24. 根据权利要求 16 所述的方法,其中少于 1wt%的组合物中的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿。
25. 根据权利要求 16 所述的方法,其中少于 4wt%的组合物中的共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。
26. 根据权利要求 16 所述的方法,其中少于 4wt%的组合物中的共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。
27. 根据权利要求 23 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。
28. 根据权利要求 23 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。
29. 根据权利要求 24 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。
30. 根据权利要求 24 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。
31. 根据权利要求 16 所述的方法,其中溶剂选自高压或液体二氧化碳、丙酮、醇类、烃类溶剂及其混合物。
32. 根据权利要求 31 所述的方法,其中烃类溶剂选自甲烷、乙烷、丙烷、丁烷、戊烷、己烷、庚烷及其混合物。
33. 一种制备精制聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物的方法,该方法包括如下步骤:
提供一种具有下述化学式的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物:
$$(H(C_3H_6O)_b(C_2H_4O)_a)_2NC_2H_4N((C_2H_4O)_a(C_3H_6O)_bH)_2$$
其中该组合物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿,“a”代表的是聚氧乙烯占化合物总重的 5% -20%,”b”代表的是聚氧丙烯占化合物总重的 80% -95%;超过 4wt%的组合物中的共聚物分子量小于 4000 道尔顿;
混合组合物和低沸点无毒溶剂;
分离混合物,从而至少形成两层,其中至少一层含有精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物,该组合物中少于 4%的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿;以及
萃取出精制的组合物。
34. 根据权利要求 33 所述的方法,其中组合物的分子量约为 6000-9000 道尔顿。
35. 根据权利要求 33 所述的方法,其中组合物的分子量约为 7000-8000 道尔顿。
36. 根据权利要求 33 所述的方法,其中聚氧乙烯部分约占组合物重量的 7-17%。
37. 根据权利要求 36 所述的方法,其中聚氧丙烯部分约占组合物重量的 83-93%。
38. 根据权利要求 33 所述的方法,其中聚氧乙烯部分约占组合物重量的 9-15%。
39. 根据权利要求 38 所述的方法,其中聚氧丙烯部分约占组合物重量的 85-91%。
40. 根据权利要求 33 所述的方法,其中少于 2wt%的组合物中的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿。
41. 根据权利要求 33 所述的方法,其中少于 1wt%的组合物中的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿。
42. 根据权利要求 33 所述的方法,其中少于 4wt%的组合物中的共聚物的分子量小于

3000 道尔顿。

43. 根据权利要求 33 所述的方法,其中少于 4wt% 的组合物中的共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。

44. 根据权利要求 40 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。

45. 根据权利要求 40 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。

46. 根据权利要求 41 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。

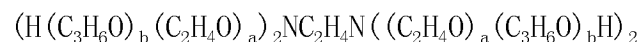
47. 根据权利要求 41 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。

48. 根据权利要求 33 所述的方法,其中溶剂选自高压或液体二氧化碳、丙酮、醇类、烃类溶剂及其混合物。

49. 根据权利要求 48 所述的方法,其中烃类溶剂选自甲烷、乙烷、丙烷、丁烷、戊烷、己烷、庚烷及其混合物。

50. 一种制备精制聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物的方法,该方法包括如下步骤:

提供一种具有下述化学式的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物:



其中该组合物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿,“a”代表的是聚氧乙烯占化合物总重的 5% -20% ,“b”代表的是聚氧丙烯占化合物总重的 80% -95%;超过 4wt% 的组合物中的共聚物分子量小于 4000 道尔顿;

向所述组合物中加入一定量的高压二氧化碳;

在压力下搅拌该混合物;

分离该混合物,从而至少形成两相,其中第一相中含有该组合物,第二相中含有精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物,该组合物中分子量小于 4000 道尔顿的共聚物的比例小于 4wt% ;以及

萃取所述的第一相。

51. 根据权利要求 50 所述的方法,其中组合物的分子量约为 6000-9000 道尔顿。

52. 根据权利要求 50 所述的方法,其中组合物的分子量约为 7000-8000 道尔顿。

53. 根据权利要求 50 所述的方法,其中聚氧乙烯部分约占组合物重量的 7-17%。

54. 根据权利要求 53 所述的方法,其中聚氧丙烯部分约占组合物重量的 83-93%。

55. 根据权利要求 50 所述的方法,其中聚氧乙烯部分约占组合物重量的 9-15%。

56. 根据权利要求 56 所述的方法,其中聚氧丙烯部分约占组合物重量的 85-91%。

57. 根据权利要求 50 所述的方法,其中少于 2wt% 的组合物中的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿。

58. 根据权利要求 50 所述的方法,其中少于 1wt% 的组合物中的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿。

59. 根据权利要求 50 所述的方法,其中少于 4wt% 的组合物中的共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。

60. 根据权利要求 50 所述的方法,其中少于 4wt% 的组合物中的共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。

61. 根据权利要求 57 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。

62. 根据权利要求 57 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。
63. 根据权利要求 58 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。
64. 根据权利要求 58 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。
65. 根据权利要求 50 所述的方法,其中溶剂选自高压或液体二氧化碳、丙酮、醇类、烃类溶剂及其混合物。
66. 根据权利要求 65 所述的方法,其中烃类溶剂选自甲烷、乙烷、丙烷、丁烷、戊烷、己烷、庚烷及其混合物。
67. 根据权利要求 50 所述的方法,其中该方法进一步包括将共聚物和一定量的硅藻土混和的步骤。
68. 一种制备精制聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物的方法,该方法包括如下步骤:
- 分别混合碱性催化剂和低分子量氮化合物;
 - 加入一定量的乙撑氧;
 - 加入一定量的氧化丙烯;
 - 分别加入一定量的吸收物质吸收催化剂、硅藻土和水;
 - 加热混合物;以及
 - 用压力过滤器过滤,得到具有下述化学式的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物:
$$(H(C_3H_6O)_b(C_2H_4O)_a)_2NC_2H_4N((C_2H_4O)_a(C_3H_6O)_bH)_2$$
- 其中该组合物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿,“a”代表的是聚氧乙烯占化合物总重的 5% -20%,”b”代表的是聚氧丙烯占化合物总重的 80% -95%;超过 4wt%的组合物的共聚物分子量小于 4000 道尔顿。
69. 根据权利要求 68 所述的方法,其中组合物的分子量约为 6000-9000 道尔顿。
70. 根据权利要求 68 所述的方法,其中组合物的分子量约为 7000-8000 道尔顿。
71. 根据权利要求 68 所述的方法,其中聚氧乙烯部分约占组合物重量的 7-17%。
72. 根据权利要求 35 所述的方法,其中聚氧丙烯部分约占组合物重量的 83-92%。
73. 根据权利要求 68 所述的方法,其中聚氧乙烯部分约占组合物重量的 9-15%。
74. 根据权利要求 37 所述的方法,其中聚氧丙烯部分约占组合物重量的 85-91%。
75. 根据权利要求 68 所述的方法,其中少于 2wt%的精制组合物中的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿。
76. 根据权利要求 68 所述的方法,其中少于 1wt%的精制组合物中的共聚物的分子量小于 4000 道尔顿。
77. 根据权利要求 68 所述的方法,其中少于 4wt%的组合物的共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。
78. 根据权利要求 68 所述的方法,其中少于 4wt%的组合物的共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。
79. 根据权利要求 75 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。
80. 根据权利要求 75 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。
81. 根据权利要求 76 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 3000 道尔顿。
82. 根据权利要求 76 所述的方法,其中所述共聚物的分子量小于 2000 道尔顿。

83. 根据权利要求 68 所述的方法, 其中的氮化合物为烷氧基胺。
84. 根据权利要求 83 所述的方法, 其中的烷氧基胺为乙二胺。

精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物及其制备方法

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本发明要求 2003 年 9 月 5 号提交的美国临时申请 60/500,456 的优先权,该优先权申请根据法律在本申请中作为参考。

技术领域

[0003] 本发明涉及精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物,以及精制和制备该聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物的方法。特别的,本发明涉及八单元聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物,该共聚物含有限量的低分子量低聚物杂质,在动物消化道中具有降低的吸附性能;以及本发明涉及在制备时限制低分子量低聚物杂质的含量精制和制备聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物

背景技术

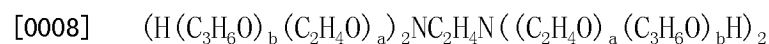
[0004] 改善喂养动物如菜牛、家禽和猪等的饲料的生产效率和生长性能是动物饲料行业一直的目标。为了实现该目标,喂养动物的农场主们在动物饲料中加入了营养辅剂和低含量的抗生素。喂食少量的抗生素如四环素、青霉素、磺胺甲噁唑发现能够极大的增加菜牛、猪和家禽的生长性能。这是因为动物消化效率取决于其消化道内自然生成的微生物。这些微生物中的一些能够改善消化,而另一些会有相反的效果。在猪、家禽和牛的饲料中加入低含量的抗生素可以抑制动物消化道中微生物的副作用。抗生素帮助肠道吸收更多的营养和水,从而帮助动物更好的利用食物生长。在动物饲料中加入抗生素也降低了动物之间的传染病传播。因此,作为人类消费的大部分菜牛、猪和家禽在其日常进食中都含有抗生素。

[0005] 尽管在动物饲料中使用抗生素有助于提高生长性能和饲养效率,但是大范围的使用抗生素会促使耐抗生素的病原体出现。此外,动物饲料中使用抗生素也会造成外界环境中的细菌暴露于抗生素。这种内部的和外部的细菌经常暴露于抗生素,容易导致动物体内的细菌有不易控制的风险。动物的土壤和水环境也会受到动物废料中残留抗生素的污染。如果耐药的细菌在动物或享用动物的人类中引起传染病,这种传染病通过常规的抗生素就不能治疗。而且,严重的传染病将使得寻找适合治疗疾病的抗生素的时间大大减少。另外,通过肉类进入人体的耐抗生素的细菌引起的疾病经常需要同时用抗生素进行治疗。当人类用抗生素治疗有害细菌引起的传染病时,人体内许多有益和正常的细菌也被抑制了。这种正常细菌的抑制将允许耐抗生素的细菌快速繁殖,从而引起比正在治疗的传染病更加严重的传染病。肉中耐抗生素的病原体繁殖和人类不加选择的使用抗生素治疗疾病所产生的耐抗生素的个体引起的病原体繁殖正在使现在的抗生素失去作用。

[0006] 因此,食品和药物管理局兽医中心联合美国农业部疾病控制中心 (NARMS) 于 1996 年建立了国家耐抗菌剂监测系统,从而监控人类和动物肠内细菌对几种抗生素的易受性。NARMS 的项目在 2001 年和 2002 年扩展为包括测试销售的肉类和动物饲料的成分。在一项研究中,疾病预防控制中心的研究人员从乔治亚州、马里兰州、明尼苏达州和俄勒冈州的四个州中选取了 26 个超市的 407 个鸡肉的样品。研究人员发现 237 个鸡肉样品受到了乳酸肠球菌的污染,该乳酸肠球菌对抗生素的组合具有耐受性。在另一项研究中,来自美国食品

和药物管理局的调查人员发现在美国华盛顿三个超市购买的 200 个火鸡、鸡肉、牛肉和猪肉样品被沙门氏菌污染。此外,84%的这些细菌至少对一种抗生素具有耐受性,53%的细菌至少对三种抗生素具有耐受性。美国每年将近有 140 万例沙门氏菌感染牛肉、猪肉、家禽、蛋类和奶类食品的案子。这在年龄较大的人和免疫功能失常的人群中风险最高。因此 FDA 在考虑禁止使用某些抗生素。现在世界上有很多禁止非治疗性抗生素使用的法规,从而防止对人类健康的威胁。相应的,动物饲料行业发展提高产量和生长性能的非抗生素化合物饲料很有必要。

[0007] 已经发现一些聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物在喂食动物或人类时具有生物活性。已经发现某些聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物能够抑制微生物如细菌、酵母菌和病毒的生长。这些商业上可以得到的共聚物的生物活性在美国专利 5114708 和 5234683 中有详细公开,喂食后对动物的免疫和生长都有作用。这些化合物由亲水聚氧乙烯 (POE) 和憎水聚氧丙烯 (POP) 块组成。一般商业上可得到的八单元共聚物有 8 个片段或块— POP 和 POE 各四个。这些共聚物的通式如下:



[0009] 商业上可得到的八单元共聚物的平均总分子量约为 1500-40000 道尔顿。“a”为聚氧乙烯 $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a$ 块的重量百分比,范围约为化合物总分子量的 10% -40%,分子量约为 176-1100 道尔顿。“b”为聚氧丙烯块的重量百分比,范围约为化合物总分子量的 60% -90%,分子量约为 232-9900 道尔顿。由于这些化合物没有显示出抗生素或激素的活性,而且它们在喂食动物或给动物注射时确实具有提高生长性能和免疫刺激的性能。

[0010] 确信的是,合成八单元共聚化合物能够在胃肠内 (GI) 提高目标动物的生长性能。不受下述理论限制,也可以确信的是,由于八单元共聚化合物具有憎水和亲水的部位,它们可以作为表面活性剂,以及调整肠胃通道中和壁上排列的上皮细胞中的浓度的分配系数。通过调整这种相互作用,单元共聚物可以增加吸收性能差的营养成分的吸收,以及限制粘附和随后低含量肠内病原体的移殖。

[0011] 由于确信合成八单元共聚化合物的生物作用发生在 GI 管道内,这些共聚物的全方位吸收既不必要也不需要。吸收到循环中后在体内分布共聚物,在目标动物中能够产生不需要的负面效应。而且,目标动物体内分散的化合物提高了动物的健康安全,这是因为任何动物组织吸收的残留物的量最终将被人类消费。正由于此,通过 GI 管道降低吸收的合成八单元共聚化合物和接着喂食动物的消化将是需要的。

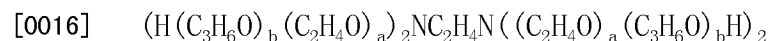
[0012] 这些合成的聚合物的分子链分布通常很宽,可以用平均分子量进行描述。商业上可得到的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯八单元共聚物的平均分子量约为 1500-40000 道尔顿。由于它们相对高的平均分子量,通常认为这些促进生长的聚合物在动物口服时不会被大量吸收。

[0013] 不过,由于商业上可得到的八单元共聚物通常含有大量的分子量小于 4000 道尔顿的聚合物链,有一个惊人的发现,即商业上可得到的八单元共聚物的小的生物活性位可以在动物体内吸收,从而使人类使用该动物时遇到麻烦。因此,本技术需要一种能够在促进生长的同时具有降低的可吸收组分的商业上可得到的八单元共聚物,从而降低动物口服时吸收的风险。相应的,本技术也需要简单和便宜的方法选择性的除去八单元共聚物中存在的可吸收组分,同时仍然保持共聚物的促生长效果。

发明内容

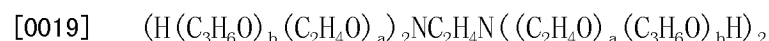
[0014] 本发明包括聚氧丙烯 / 聚氧乙烯八单元共聚物新的制备方法, 商业制备的共聚物具有生长促进和免疫提高的活性, 但是现有技术制备的共聚物具有很多副作用。和现有技术制备相比, 由于构成本发明的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物分子量分别窄, 低分子量的物质较少, 因此该共聚物的生物活性范围更好控制。而且, 由于本发明的共聚物在动物消化组织中很少吸收, 因此本发明的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物极大的降低了人类食用动物时对人类健康造成的风险。

[0015] 本发明包括下式所述的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物:



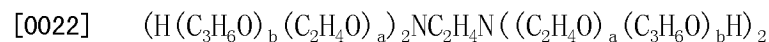
[0017] 其中该共聚物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿; “a”代表的是 POE 占化合物总重的 5% -20%, “b”代表的是 POP 占化合物总重的 80% -95%。优选共聚物优选含有少于 4wt% 的低分子量组分, 其分子量小于 4000 道尔顿。

[0018] 聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物的一第二实施例具有下述通式:



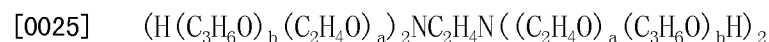
[0020] 其中该组合物的分子量约为 4000-10000 道尔顿; “a”代表的是 POE 占化合物总重的 5% -20%, “b”代表的是 POP 占化合物总重的 80% -95%, 少于 50wt% 的组合物通过动物胃肠通道吸收。

[0021] 和现有技术相比, 本发明也涉及制备聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物的方法, 该组合物具有窄的分子量分布和较少的低分子量物质。制备精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物组合物的第一种方法包括溶剂萃取技术, 其中聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物具有下述化学式:



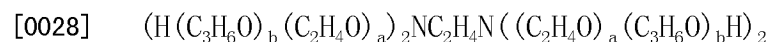
[0023] 其中该共聚物组合物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿; “a”代表的是 POE 占组合物总重的 5% -20%, “b”代表的是 POP 占组合物总重的 80% -95%; 超过 4wt% 的组成共聚物组合物的分子量小于 4000 道尔顿。共聚物组合物和水、低沸点无毒溶剂混合。然后混合物进行分离, 从而至少形成两层, 其中至少一层含有精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物, 该组合物的分子量小于 4000 道尔顿, 比例小于 4wt%。然后萃取出精制的组合物。

[0024] 在第二种方法中, 精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物首先通过提供下式所述的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物进行制备:



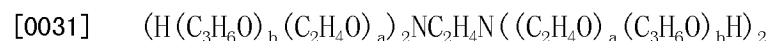
[0026] 其中该组合物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿; “a”代表的是 POE 占组合物总重的 5% -20%, “b”代表的是 POP 占组合物总重的 80% -95%; 超过 4wt% 的共聚物组合物的分子量小于 4000 道尔顿。共聚物组合物和低沸点无毒溶剂混合。然后分离得到的混合物, 从而至少形成两层, 其中至少一层含有精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物, 该组合物的分子量小于 4000 道尔顿, 比例小于 4wt%。然后萃取出精制的组合物以供使用。

[0027] 在第三种方法中, 精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物首先通过提供下式所述的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物进行制备:



[0029] 其中该组合物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿；“a”代表的是 POE 占组合物总重的 5% -20%，“b”代表的是 POP 占组合物总重的 80% -95%；超过 4wt% 的共聚物组合物的分子量小于 4000 道尔顿。在组合物中加入一些高压二氧化碳，然后在该压力下进行搅拌。分离得到的混合物，从而至少形成两相，其中第一相中含有该组合物，第二相中含有精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物，该组合物的分子量小于 4000 道尔顿，比例小于 4wt%。然后萃取第一相，从而留下精制的共聚物组合物。

[0030] 在第四种方法中，精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物首先通过分别混合碱性催化剂和低分子量氮化合物进行重新合成，其中低分子量氮化合物是水溶性的。然后混合物在真空中加热。降低温度后，在混合物中加入一些乙撑氧，接着加入一些氧化丙烯。接下来的步骤包括分别加入一些硅酸镁、硅藻土和水除去催化剂。然后冷却混合物，用压力过滤器过滤，得到具有下式所述的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯单元共聚物组合物：



[0032] 其中该组合物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿；“a”代表的是 POE 占组合物总重的 5% -20%，“b”代表的是 POP 占组合物总重的 80% -95%；超过 4wt% 组合物的分子量小于 4000 道尔顿。

附图说明

[0033] 图 1 是商业上得到的 POP/POE 共聚物的凝胶渗透色谱图；

[0034] 图 2 是实例 3 的萃取顺序流程图；

[0035] 图 3 是实例 4 的萃取顺序流程图；

[0036] 图 4 是实例 4 己烷层的凝胶渗透色谱图；

[0037] 图 5 是实例 4 水层的凝胶渗透色谱图；

[0038] 图 6 是实例 5 己烷上层的凝胶渗透色谱图；

[0039] 图 7 是实例 5 己烷底层的凝胶渗透色谱图；

[0040] 图 8 是实例 5 庚烷上层的凝胶渗透色谱图；

[0041] 图 9 是实例 5 庚烷底层的凝胶渗透色谱图；

[0042] 图 10 是实例 5 戊烷上层的凝胶渗透色谱图；以及

[0043] 图 11 是实例 5 戊烷底层的凝胶渗透色谱图。

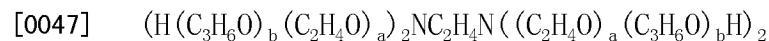
具体实施方式

[0044] 如下述实例 5-7 所示，申请人发现八单元共聚物分子的相对尺寸是决定其吸收可能性的重要因素。八单元共聚物较低分子量的组分在胃肠通道中更容易吸收。这些低分子量组分的分子量为小于 4000、小于 3500、小于 3000、小于 2500、小于 2000、小于 1750、小于 1500、小于 1250 和小于 1000 道尔顿。

[0045] 因此，本发明直接精制八单元共聚物，降低可能被动物组织吸收的低分子量组分。本发明的八单元共聚物可以通过除去商业上可得到的八单元共聚物中存在的合需要的分子得到，或者通过八单元共聚物与较少的可吸收的组分（和商业上可得到的八单元共聚物中出现的组分相比）一起重新合成得到。

[0046] 本发明优选组分包括表面活性的共聚物。该表面活性共聚物可以是下式所述的乙

撑氧 - 氧化丙烯浓缩物：



[0048] 其中该组合物的平均分子量约为 4000-10000 道尔顿, 优选为 6000-9000 道尔顿, 特别优选为 7000-8000 道尔顿。“a”代表的是 POE 占化合物总重的 5% -20%, 优选为 7-17%, 特别优选为 9-15%; “b”代表的是 POP 占化合物总重的 80% -95%, 优选为 83-92%, 特别优选为 85-91%。优选的共聚物优选含有少于 4wt% 的低聚物杂质, 更加优选为小于 2%, 特别优选为小于 1%, 杂质的分子量小于 4000 道尔顿, 优选小于 3000 道尔顿, 特别优选小于 2000 道尔顿。在共聚物另一优选的实施例中, 小于 50wt% 的组分被动物的胃肠道吸收, 优选为小于 40%, 特别优选为小于 30%, 更加优选为小于 20%, 最有效为小于 10%。

[0049] 根据本发明的方法, 本发明精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯共聚物能够用溶解萃取技术进行制备, 其中低分子量的低聚物基本从商业上购得的八单元共聚物除去, 如 BASF 公司生产的 CRL-8761。如图 1 所示的凝胶渗透色谱图, 商业级别的 CRL-8761 中分子量宽范围分布的峰出现在 9000-9500 道尔顿。图 1 也显示了在主峰旁边的一些低分子量的次峰。该峰表明在 CRL-8761 样品中含有低分子量的分子。低分子量分子的分子量范围约为 1250-1350 道尔顿。确信的是, 现有技术饲料中含有的这些低分子量的低聚物更容易被目标动物的组织吸收。使用本发明的方法, 大部分这些低分子量的物质从聚合物中除去, 从而在组合物中主要留下高分子量的物质, 这些高分子量的物质直接通过目标动物的肠胃系统, 很难进入到动物的消化组织。

[0050] 本发明的第一种方法包括用溶剂萃取技术制备聚氧丙烯 / 聚乙烯八单元共聚物, 然后在溶剂混合物中加入水。可以使用一种或多种溶剂。优选的溶剂是无毒低沸点的, 包括但不限于高压或液体二氧化碳、丙酮、包括甲醇和乙醇的醇类, 以及包括丙烷、丁烷、戊烷、己烷的烃类溶剂, 庚烷和己烷的混合是最有效的。在本发明的应用中, 共聚物 / 溶剂 / 水的混合物至少分离成三层: 上层溶剂层, 中层水层和底层水层。根据本发明, 上层溶剂层通常含有少量的共聚物主要为低分子量的物质。中间和底层的水层中的共聚物的低分子量物质含量很少。含有低分子量物质的溶剂层和含有精制共聚物的水层都可以进行几次清洗和萃取, 从而进一步从原材料中除去低分子量物质。

[0051] 在第二种方法中, 共聚物不和水混合, 但是至少和一种溶剂直接混合。然后分离混合物, 从而得到至少两层, 其中低分子量物质的共聚物在上层溶剂层中, 然后精制的共聚物从底层中萃取出来。如有需要, 底层可以清洗和萃取几次, 从而进一步从原材料中除去低分子量物质。

[0052] 在第三种方法中, 用高压二氧化碳或液体二氧化碳的溶剂清洗用于精制商业可得到的八单元共聚物样品。在该方法中, 共聚物装入设有搅拌器的高压不锈钢容器中。共聚物可以单独使用, 或和吸附性物质如硅藻土一起使用。当在反应器中搅拌时, 压缩的液体 CO₂ 经过一段时间后泵入反应器。然后共聚物中溶解或萃取出的组分通过降低 CO₂ 压力发生相分离, 进而从溶剂中分离出来。低分子量物质占有相当大比例的分离的共聚物分离并除去。回收的 CO₂ 输送到溶剂循环中。然后, 在反应器中 CO₂ 的压力持续增加的情况下继续萃取。然后低分子量物质占有相当大比例的分离的共聚物再次分离并除去。萃取再次在相同的条件下进行, 然后低分子量物质占有相当大比例的其它共聚物分离并除去。萃取完成后, 从容

器中除去低分子量组分小于 4% 的基本纯的共聚物。本领域技术人员理解, 高压或液体 CO₂ 也可以和助熔剂入甲醇混合, 这种混合的溶剂溶于上述的萃取方法中。

[0053] 在第四种方法中, 通过在低分子量水溶性氮化合物如乙二胺中加入碱性催化剂如氢氧化钾或氢氧化铯对聚氧丙烯 / 聚氧乙烯重新进行合成。混合物在真空下加热, 然后冷却。接下来的步骤包括顺序加入乙撑氧、氧化丙烯, 然后加入硅酸镁、硅藻土和水。然后冷却全部的混合物, 并用压力滤器进行过滤, 由此得到本发明的精制八单元共聚物。如果需要从精制八单元共聚物进一步除去低分子量物质, 上述公开的溶剂萃取技术也可以用于共聚物最终产品的合成方法。

[0054] 可以理解的是, 本发明下述实施例中的分子量优选用凝胶分离色谱 (GPC) 测试。GPC 单元用公知分子量、并与所测试混合物性能相近的聚合物进行校对。在本发明中, 聚氧乙烯 (100%, PEO) 标准用于校对 GPC 单元, 分子量用 PEO 标准计算, 该标准和聚乙二醇 (100%, PEG) 一样。根据本发明, 分子量用下述设备进行测试: HPLC 设备、沃特斯 510 泵、717Plus 自动取样器、HR3 沃特斯 Styragel 柱和沃特斯 410RI 探测器, 流动相 THF 每分钟为 1.0ml, 温度为 35°C。样品的制备: 准备含有 0.2wt% 共聚物的 THF 溶液, 然后注入到 GPC 系统中。高分子量的主峰和低分子量的峰用 PEG 标准进行计算。本领域的技术人员可以理解, 如果用绝对方法如光散射或 MDLDI 质谱进行测试, 用 PEO 或 PEG 标准计算的分子量和实际的分子量会有一些差异。本领域的技术人员也可以理解, 为了提高精度, 从测试一段时间的几批共聚物中获得数据很重要。最后, 可以理解的是, 相同测试条件下分子量的变化将会发生变化, 这种变化在分析测试时会根据生产的批次和时间而发生。

[0055] 本发明进一步通过下述实例进行说明, 这些实例仅是对本发明进行解释, 而不是对本发明的范围进行限制。相反, 任何对本发明实施例进行的显而易见的修改或等同替换, 都是本发明的保护范围。

[0056] 实例 1

[0057] BASF 公司销售的品牌为 CRL-8761 的八单元共聚物的化学性能通过首先在钢鼓集装箱 (steel drum shipping container) 中混和共聚物进行测定。这通过在开炼机上以 30rpm 的速度水平滚动鼓两个小时实现。然后虹吸一小部分的同质共聚物, 并输送到玻璃瓶中。从瓶中取出两个样品, 样品用下述高性能液体色谱 (HPLC) 设备进行测试: 沃特斯 510、717Plus 自动取样器、500A 和 1000A 的 Styragel 柱和 410 RI 探测器。流动相 THF 每分钟为 1.0ml。每种样品分别注射两次, 每个样品在接下来的一天重复注射。两个样品的高分子量的主峰和低分子量的峰用 PEG 标准进行计算。两个样品的主峰的平均峰分子量为 9283 道尔顿。两个样品的低分子量的平均峰分子量为 1323 道尔顿。因此, 低分子量物质占商业上得到的 CRL-8761 化合物的重量百分比为 5.13%。

[0058] 在图 1 所示的 CRL-8761 的典型凝胶分散色谱图中, 主峰的保留时间约为 6.5-7.5 分钟之间, 更加小的次峰的保留时间约为 8.5-9.5 分钟之间。此外, 还有一些低聚物的保留时间为 10-10.5 分钟之间, 不过, 在图 1 中很难分辨。主峰对应保留时间的平均分子量约为 9000 道尔顿, 次峰约为 1500 道尔顿。

[0059] 实例 2

[0060] 用上述商业上可得到的 CRL-8761 进行研究, 对共聚物中低分子量组分和高分子量组分的相对渗透性或吸水性。在该研究中, 细胞培养试验用 Caco2 细胞系进行, 该细胞系

常用于研究被动药物吸收。具体来说,Caco2 细胞系用于鉴别 CRL-8761 是如何和以多大速率穿过肠内上皮细胞。经过一个起始平衡周期后,每个孔板中 $6-7 \times 10^4$ 的 Caco2 细胞系播种在聚酯膜细胞培养插入物上,即聚碳酸酯膜 (Costar Transwell-Clear)3470 的孔的尺寸为 $0.4 \mu\text{m}$,生长面积为 0.33cm^2 。插入物的内腔和外腔分别用 0.4ml 和 0.5ml 的细胞培养基 (Vitacell Minimum Essential Medium alpha-SigmaCorporation-M0894-3H172) 和 10% 的胎牛血清及 1% 的抗生素溶液填充。然后将附有插入物的孔板在 37°C 、95% 空气和 5% 二氧化碳的氛围中培养。横跨上皮细胞的电阻 (TEER) 定期进行测试,进而用 MILLICELL-ERS 监视单层生长。约 21 天后,将孔板用于渗透性研究。

[0061] 实例 3

[0062] 用搅拌器将 CRL-8761 直接溶于细胞培养基,浓度约为 10wt%。在将 CRL-8761 浸渍的培养基加入到上述孔板的细胞层之前进行 TEER 测试。CRL-8761 浸渍的培养基放置在内腔里面,一些纯净的细胞培养基加入到外腔中。然后培育细胞。经过预设的时间间隔后,收集内嵌和外腔的样品,放置单独的试管中,然后真空干燥。

[0063] 实例 4

[0064] 制备 GPC 分析样品,在含有干燥的内腔和外腔样品的试管中加入 $0.3 \text{ml}-1.0 \text{ml}$ 的 THF。然后将试管在室温下至少旋转 1 分钟。然后混合物通过 Gelman Acrodisc $0.2 \mu\text{m}$ 的尼龙过滤器进行过滤。每 $150 \mu\text{l}$ 的样品用自动取样器注射到 GPC 中。GPC 分析的结果如表 1 所示。

[0065] 表 1 :内腔和外腔样品的 GPC 分子量特性

[0066]

样品编号 - 腔	主峰面积, mV	主峰面积%	低分子量峰面积, mV	低分子量峰面积%
181- 内	93489	97.51	2391	2.49
080- 外	1115	88.70	142	11.3
2I48- 内	14383	97.94	302	2.06
2048- 外	6096	95.03	319	4.97
3I24- 内	173	33.02	351	66.98
6048- 外	97	78.23	27	21.77
5024- 外	255	60.71	165	39.29
408- 外	10	58.82	7	41.18
6I48- 内	172930	52.16	158631	47.84
5I24- 内	9040	94.96	480	5.094

样品编号 - 腔	主峰面积, mV	主峰面积%	低分子量峰面积, mV	低分子量峰面积%
4I8- 内	41433	96.74	1395	3.26
6048- 外	9	11.84	67	88.16
5024- 外	104	39.69	158	60.31
408- 外	19	86.36	3	13.64

[0067] 实例 5

[0068] 在第二项研究中,在三个点上不是使用相同的插入物,每个时间点上使用插入物的全部成分。例如,在第 8 小时,除去插入物内侧的全部成分,将其干燥后提供一个 GPC 分析的样品。其它的插入物在第 24 小时和 48 小时进行,样品分别从这些时间点采取。注射 150u1 的样品,并用 GPC 分析。测定对应于主要分子量组分的峰和对应低分子量组分的峰,比较采取的不同样品。GPC 分析结果如表 2 所示。

[0069] 表 2 :全部插入物样品的 GPC 分子量特性

[0070]

样品编号 - 腔	主峰面积, mV	主峰面积%	低分子量峰面积, mV	低分子量峰面积%
I18- 内	3228	81.76	720	18.24
I18- 内	2733	80.74	652	19.26
018- 外		0.00	6	10.00
018- 外		0.00	3	100.00
I124- 内	603	91.52	55.9	8.48
I124- 内	620	43.60	802	56.40
0124- 外		0.00	22	100.00
0124- 外		0.00	18	100.00
I148- 内	9.8	1.92	501	98.08
I148- 内	6.8	2.03	328	97.97
I28- 内	1780	64.54	1022	36.47

样品编号 - 腔	主峰面积, mV	主峰面积%	低分子量峰面积, mV	低分子量峰面积%
I28- 内	1236	65.71	645	34.29
028- 外		0.00	6.3	100.00
028- 外		0.00	1.7	100.00
I224- 内	790	52.25	722	47.75
I224- 内	666	53.11	588	46.89
0224- 外		0.00	23	100.00
0224- 外		0.00	22	100.00
I248- 内	37	6.31	549	93.69
I248- 内	24	5.00	456	95.00
0248- 外	7	2.12	323	97.88
0248- 外	7	2.20	311	97.80
I38- 内	768	35.87	1373	56.02
I38- 内	598	26.60	1650	73.40
038- 外		0.00	10	100.00
038- 外		0.00	5	100.00
I324- 内	1062	43.98	1353	56.02
I324- 内	893	37.18	1509	62.82
0324- 外		0.00	8.44	100.00
0324- 外		0.00	8.383	100.00

[0071] 如上所示,样品外腔中的低分子量组分对应的次峰的曲线面积总是高于内腔中的低分子量组分对应的次峰的曲线面积。几乎所有外腔样品的 GPC 曲线只有低分子量组分的峰,这表明和主要的高分子量组分相比,低分子量组分更多的穿过 Caco2 细胞层。

[0072] 实例 6

[0073] 和实例 5 的条件一样。第三序列的样品用 GPC 分析。结果如表 3 所示。

[0074] 表 3 :全部插入物样品的 GPC 分子量特性

[0075]

样品编号 - 腔	主峰面积, mV	主峰面积%	低分子量峰面积, mV	低分子量峰面积%
I18- 内	3898	96.06	160	3.94
I18- 内	3652	96.23	143	3.77
018- 外	16	69.57	7	30.43
018- 外	17	65.38	9	34.62
I124- 内	1900	90.61	197	9.39
I124- 内	1409	90.38	150	9.62
0124- 外	0	0.00	6.8	100.00
0124- 外	0	0.00	4.6	100.00
I148- 内	10277	98.78	127	1.22
I148- 内	10506	98.82	125	1.18
0148- 外	8.275	80.54	2	19.46
0148- 外	33	84.62	6	15.38
I28- 内	5154	96.68	177	3.32
I28- 内	1020	82.52	216	17.48
028- 外		0.00	18	100.00
028- 外		0.00	16	100.00
I224- 内	706	76.66	215	23.34
I224- 内	490	77.53	142	22.47
0224- 外		0.00	15	100.00
0224- 外		0.00	12	100.00

样品编号 - 腔	主峰面积, mV	主峰面积%	低分子量峰面积, mV	低分子量峰面积%
I248- 内	208	69.10	93	30.90
I248- 内	168	70.59	70	29.41
0248- 外	14	43.75	18	56.25
0248- 外	259	95.22	13	4.78
I38- 内	9268	98.75	117	1.25
I38- 内	8529	98.77	106	1.23
038- 外	23	33.82	45	66.18
038- 外	30	48.39	32	51.61
I324- 内	10056	98.72	130	1.28
I324- 内	7826	98.58	113	1.42
0324- 外	24	36.36	42	63.64
0324- 外	15	31.91	32	68.09
I348- 内	14774	98.89	166	1.11
I348- 内	7718	98.91	85	1.09
0348- 外	20	32.26	42	67.74
0348- 外	21	35.00	39	65.00

[0076] 如上所述,实例 5 中的趋势也在实例 6 中出现。样品外腔中的低分子量组分泊洛沙姆 (poloxamer) 对应的次峰的曲线面积总是高于内腔中的低分子量组分对应的次峰的曲线面积。几乎所有外腔样品的 GPC 曲线只有低分子量组分的峰,这表明和主要的高分子量组分相比,低分子量组分更多的穿过 Caco2 细胞层。

[0077] 实例 7

[0078] 实例 5 和 6 中观察到的不规则数据可以解释为生物试验误差,为了鉴别某些保留有大量高分子量组分的内腔中可能的因素,进行了试验。在该试验中,发现一些插入物在渗透性研究中在单层上形成了孔,从而表明单层在取样间隔时可能不是活的。因此,为了研究但测的成活性和完整性,进行了 TEER 测试。对不含 CRL-8761 共聚物培养基的对照插入物的 TEER 值进行了测试。样品插入物的 TEER 值在 CRL-8761 共聚物 / 培养基混合物 (试验

期间)或培养基(除去样品插入物中的物质,如8小时时的样品插入物的24小时时的TEER值)中进行了测试。TEER测试如下表4所示。

[0079] 表4:TEER测试结果

[0080]

插入物 #	0 小时	8 小时	24 小时	48 小时
对照 1	1310	1552	1328	
对照 2	1450	1570	1385	
对照 3	1152	1195	1190	
插入物 8-1	1783	1325	1930	1643
插入物 8-2	1370	1094	1056	1007
插入物 8-3	1485	1245	1520	1370
插入物 8-4	1350	1080	1149	1150
插入物 24-1	1545	1286	505	984
插入物 24-2	1350	1176	480	750
插入物 24-3	1557	1256	475	798
插入物 24-4	1600	1146	466	745

[0081] 该项研究的结果表明 TEER 值没有和对照样品一样发生变化。此外,在24小时和48小时的研究后,从研究后8小时的插入物中除去CRL-8761共聚物/培养基混合物对TEER值没有影响。因此,在正常的细胞生长条件下,将细胞和共聚物一起放置超过8小时后,TEER测试表明细胞单层的完整性受到影响。因而,在解释渗透性结果时,应该考虑8-小时的样品。这是因为标准渗透性研究进行了8小时。

[0082] 实例 8

[0083] 和实例5相同条件下,用GPC分析了第四序列的样品,以证实前述实例观察到的趋势。结果如下表5所示。

[0084] 表5:全部插入物样品的GPC分子量特性

[0085]

样品编号 - 腔	主峰, 面积, mV	主峰面积%	低分子量峰面 积, mV	低分子量峰面 积%
I18- 内	60629	94.64	3433	5.36
O18- 外	23.27	59.90	15.58	40.10
I28- 内	8391	90.00	932	10.00
O28- 外	0	0.00	12.51	100.00
I38- 内	2377	90.07	262	9.93
O38- 外	0	0.00	20.68	100.00
I48- 内	4773	85.05	839	14.95
O48- 外	9.549	32.08	20.216	67.92
I224- 内	12816	92.83	990	7.17
I324- 内	10010	92.19	848	7.81
I424- 内	11018	92.22	930	7.78

[0086] 如上所述, 前述实例观察到的渗透性趋势在本实例中进行了重现, 特别时 8 小时时的样品。和内腔样品相比, 对应 CRL-8761 中低分子量组分的次峰和外腔样品中非常一致。这证实和高分子量组分相比, 低分子量组分穿过 Caco2 细胞层。

[0087] 实例 9

[0088] 为了精制上述讨论的共聚物, 在约 5 克的己烷中加入 1 克商业级的 CRL-8761, 混和形成清液。然后在共聚物 / 己烷的混合物中加入 1 克的蒸馏水, 充分混和。得到的新的混合物离心分离 40 分钟, 得到三层: 上层的清液, 浑浊的中间层和底层。对上层 (385-52-1) 和中间层 (385-52-2) 进行取样、干燥, 并用 GPC 进行分析。结果如表 6 所示。

[0089] 表 6 : CRL-8761 用己烷清洗后的 GPC 分子量特性

[0090]

样品	样品编号	主峰分子量	低分子量峰 的分子量	低分子量百 分比
CRL-8761	385-50-1	8797	1161	7.24
CRL-8761	385-50-1	8816	1173	6.93
上层己烷	385-52-1	8609	1229	27.49

样品	样品编号	主峰分子量	低分子量峰的分子量	低分子量百分比
中层		8870		2.93

[0091] 分析结果表明 CRL-8761 水溶液的萃取液集中了己烷层中的低分子量组分,而精制的共聚物留在了水层。

[0092] 实例 10

[0093] 7.2 克的 CRL-8761 和 7.6 克的水、22.0 克的己烷进行混和。混合物进行离心,得到四层:上层己烷层的清液、中间的清液层、中间的浑浊层和粘稠的白色底层。对底部的三层进行取样、干燥,并检测每层的固体含量。

[0094] 上层的己烷再次用 2.4 克的水进行萃取,然后进行离心,得到两层。将上层和底层进行取样、干燥,并检测每层的固体含量。

[0095] 第二次萃取清洗得到的上层己烷层再次用 2 克的水进行萃取、离心。再次得到两层,对每层进行取样、干燥,并检测每层的固体含量。这个萃取序列的流程图如图 2 所示。己烷萃取的结果如表 7 所示。

[0096] 表 7:第一阶段己烷萃取液的 CRL-8761 的分配

[0097]

原材料	1 st 萃取液的己烷层	1 st 萃取液的水层
CRL-8761 和 6.74% 的低分子量含量	9% 的原材料和 65% 的低分子量组分	81% 的原材料和 1.1-3.7% 的低分子量组分

[0098] * 由于操作误差和试验误差,这些组分中的固体含量百分比不等于 100%

[0099] 实例 11

[0100] 7.3305 克的 CRL-8761 溶于 22.1 克的己烷中,形成一清液。然后在己烷溶液中加入 7.0 克的水进行充分混和。混合物进行离心,得到三层层:上层己烷层的清液、中间的清液层和粘稠的白色底层。对底部的二层进行取样、干燥,并检测每层的固体含量。

[0101] 上层的己烷再次用 2.0 克的水进行萃取,然后进行离心,得到两层。将底层进行取样、干燥,并检测每层的固体含量。

[0102] 前次清洗得到的上层己烷层再次用 2.3 克的水进行萃取、离心。再次得到两层,对每层进行取样、干燥,并检测每层的固体含量。这个萃取序列的流程图如图 3 所示。己烷萃取的结果如表 8 所示。典型己烷层(含有大量的 CRL-8761 杂质)和水层(精制的 CRL-8761)的色谱图如图 4 和图 5 所示。

[0103] 表 8:第一阶段己烷萃取液的 CRL-8761 的分配

[0104]

原材料	1 st 萃取液的己烷层	1 st 萃取液的水层
CRL-8761 和 6.74% 的低分子量含量	6% 的原材料和 67% 的低分子量组分	75% 的原材料和 2.6-4.0% 的低分子量组分

[0105] * 由于操作误差和试验误差,这些组分中的固体含量百分比不等于 100%

[0106] 实例 12

[0107] 用于精制 CRL-8761 样品的简易溶剂清洗使用了三种不同烃类溶剂。在第一次清洗中,1 克的 CRL-8761 放在 5ml 的试管中,然后和 2 克的己烷进行混和。在第二次清洗中,1 克的 CRL-8761 放在 5ml 的试管中,然后和 2 克的庚烷进行混和。在第三次清洗中,1 克的 CRL-8761 放在 5ml 的试管中,然后和 2 克的戊烷进行混和。蜗旋混和后,离心共聚物/混合物。在每个试管中都得到了两层。对每层进行取样、干燥,并用 GPC 进行分析。每次清洗的两个 CRL-8761 样品也进行了对照分析。得到的结果如表 9 所示。

[0108] 表 9 :简易溶剂清洗的结果

[0109]

样品	样品编号	主峰分子量,道尔顿	低分子量峰,道尔顿	低分子量组分的 wt%
CRL-8761	385-68-8761	7332	1397	8.03
CRL-8761	385-68-8761	7379	1438	6.7
上层己烷	385-68-1XT	7082	1347	43.02
底层己烷	385-68-2XB	7572	< 3063	5.0
上层庚烷	385-68-3HT	6831	1344	63.24
底层庚烷	385-68-4HB	7347	< 2966	5.66
上层戊烷	385-69-1PT	6797	1327	49.85
底层戊烷	385-69-2PB	7326	< 2919	6.19

[0110] 如图 6 所示,上层的己烷层含有 10% 的 CRL-8761,并显示一个分子量为 7082 道尔顿的峰,其中含有 43% 的层含有低分子量组分。如图 7 所示,底层有个分子量为 7572 道尔顿的峰,并且仅含有 5wt% 的低分子量组分。如图 8 所示,上层的庚烷层含有 6% 的 CRL-8761。样品的分子量峰为 6831 道尔顿,含有 63% 的低分子量组分。如图 9 所示,底层显示的分子量峰为 7347 道尔顿,含有 5.7% 的低分子量组分。如图 10 所示,上层的戊烷层含有 10% 的 CRL-8761。样品的分子量峰为 6797 道尔顿,含有 50% 的低分子量组分。底层显示的分子量

峰为 7326 道尔顿,含有 6.2%的低分子量组分,如图 11 所示。

[0111] 为了进一步降低每个样品中低分子量组分的含量,萃取从底层己烷、庚烷和戊烷层得到的精制的共聚物,并再次分别用己烷、庚烷和戊烷进行清洗。分离后,干燥样品,用 GPC 分析以确定样品中的低分子量组分是否降低到低于 4%,优选为 3%,特别有效为 2%。精制的共聚物重复进行萃取和清洗,直至每个样品中的低分子量组分含量到达理想值。

[0112] 实例 13

[0113] 在本实例中,使用液化丙烷气的溶剂清洗用于精制 CRL-8761 样品。约 200 克的 CRL-8761 装入到设有搅拌器的 1L 高压不锈钢容器中。在搅拌反应物中的物质时,压缩的丙烷泵入到反应器中。丙烷流体和萃取容器的温度保持在 35°C。开始时,丙烷的压力保持在 1000psia,约 100Kg 的 SCF CO₂ 泵送 12 小时。溶解 / 萃取组分通过将丙烷压力降至约 400psia 产生相分离从溶剂蒸汽中分离出来。回收的丙烷反馈到溶剂循环流程中。装入到反应器中约 2.2%的 CRL-8761 通过萃取除去。通过 GPC 测试,萃取物质中含有约 75%低分子量组分。接下来在 1000psia 下进行萃取,溶剂压力升至 1500psia,萃取持续 10 多个小时,100Kg 的 SCF CO₂ 流体用 15 小时泵送至反应器。约 5.5%的 CRL-8761 进料通过萃取除去。通过 GPC 测试,萃取物质含有约 60%的低分子量组分。萃取完成后,萃取容器卸压,剩在容器中精制的 CRL-8761 用 GPC 分析。该 CRL-8761 含有约 1.6%的低分子量组分。精制 CRL-8761 的产率约为 82wt%。

[0114] 实例 14

[0115] 在本实例中,使用高压二氧化碳流体的溶剂清洗用于精制 CRL-8761 样品。约 200 克的 CRL-8761 装入到设有搅拌器的 1L 高压不锈钢容器中。在搅拌反应物中的物质时,压缩的 CO₂ 泵入到反应器中。CO₂ 流体和萃取容器的温度保持在 35°C。开始时,CO₂ 的压力保持在 2500psia,约 100Kg 的 SCF CO₂ 泵送 15 小时。溶解 / 萃取组分通过将 CO₂ 压力降至约 800psia 产生相分离从溶剂蒸汽中分离出来。回收的 CO₂ 反馈到溶剂循环流程中。装入到反应器中约 2.4%的 CRL-8761 通过萃取除去。通过 GPC 测试,萃取物质中含有约 85%低分子量组分。接下来在 2500psia 下进行萃取,溶剂压力升至 3500psia,萃取持续 15 多个小时,100Kg 的 CO₂ 流体用 15 小时泵送至反应器。约 4.5%的 CRL-8761 进料通过萃取除去。通过 GPC 测试,萃取物质含有约 25%的低分子量组分。萃取完成后,萃取容器卸压,剩在容器中精制的 CRL-8761 用 GPC 分析。该 CRL-8761 含有约 2.4%的低分子量组分。精制 CRL-8761 的产率约为 78wt%。

[0116] 实例 15

[0117] 在另一实例中,用高压二氧化碳流体作为萃取溶剂,约 150 克的 CRL-8761 和 120 克的 Hydromatrix® 硅藻土 (Varian, Inc., PaloAlto, California) 混和,然后装入到 500ml 的萃取容器中。容器连接到设有溶剂回收装置的高压萃取系统中。约 100Kg 的压缩 CO₂ 流体用 15 小时泵送到反应器中。CO₂ 萃取流体和萃取容器的温度保持在 35°C。开始时,CO₂ 的压力保持在 2500psia。溶解 / 萃取组分通过将 CO₂ 压力降至约 800psia 产生相分离从溶剂蒸汽中分离出来。回收的 CO₂ 反馈到溶剂循环流程中。装入到反应器中约 2.1%的 CRL-8761 通过萃取除去。通过 GPC 测试,萃取物质中含有约 88%低分子量组分。接下来在 2500psia 下进行萃取,溶剂压力升至 3500psia,100Kg 的 CO₂ 流体用 15 小时泵送至反应器时,萃取持续 15 多个小时。约 4.1%的初始进料通过萃取的方法除去。通过 GPC 测试,萃

取物质含有约 62% 的低分子量组分。通过额外向容器中泵入 100Kg 的 CO₂, 萃取进一步在 4500psia 下持续 15 个小时。反应器中约 12% 的初始进料通过该方法除去。通过 GPC 测试, 萃取物质含有约 34% 的低分子量组分。萃取完成后, 萃取容器卸压, Hydromatrix/CRL-8761 混合物用约 1 升的乙醇清洗。精制的 CRL-8761 通过蒸发乙醇从乙醇溶液中分离。精制的 CRL-8761 用 GPC 分析。该 CRL-8761 含有约 2.9% 的低分子量组分。精制 CRL-8761 的产率约为 71wt%。

[0118] 实例 16

[0119] 在本实例中, 约 200 克的 CRL-8761 装入到设有搅拌器的 1L 高压不锈钢容器中。在搅拌反应物中的物质时, 压缩的流体 CO₂ 泵入到反应器中。CO₂ 流体和萃取容器的温度保持在 35°C。和 5-10wt% 的甲醇混和的压缩 CO₂ 用作萃取溶剂。开始时, CO₂ 的压力保持在 2500psia, 约 60Kg 的压缩 CO₂/ 甲醇萃取流体混合物泵送 10 小时。甲醇通过分离泵泵送, 在进入萃取容器前和压缩 CO₂ 混和。调整甲醇的流率, 从而在 CO₂/ 甲醇萃取流体混合物中生成约 5wt% 的甲醇。溶解 / 萃取组分通过将 CO₂ 压力降至约 800psia 产生相分离从溶剂蒸汽中分离出来。回收的 CO₂ 反馈到溶剂循环流程中。装入到反应器中约 4% 的 CRL-8761 通过萃取除去。通过 GPC 测试, 萃取物质中含有约 76% 的低分子量组分。接下来在 2500psia 下进行萃取, 溶剂压力保持在 3500psia, 萃取持续 10 多个小时, 萃取流体中甲醇的浓度为 7%; 其中, 60Kg 的 CO₂/ 甲醇流体泵送至反应器。约 7wt% 充入的 CRL-8761 在这种条件下通过萃取除去。通过 GPC 测试, 萃取物质含有约 45% 的低分子量组分。通过额外向容器中泵入含有 9wt% 的 60Kg 的甲醇, 萃取进一步持续 10 个小时。反应器中约 13% 的 CRL-8761 在该条件下除去。通过 GPC 测试, 萃取物质含有约 24% 的低分子量组分。

[0120] 萃取完成后, 萃取容器卸压。蒸发混合物中的甲醇, 分离精制的 CRL-8761 并用 GPC 分析。该 CRL-8761 含有约 2.2% 的低分子量组分。精制 CRL-8761 的产率约为 68wt%。

[0121] 实例 17

[0122] 精制的聚氧丙烯 / 聚氧乙烯八单元共聚物通过在设于 PARR 反应器中的玻璃管中混和约 25 克的 Quadrol® (BASF Corporation, Mount Olive, New Jersey) (末端用 4mol 乙撑氧封闭的乙二胺) 和 1.25 克的氢氧化钾重新进行合成。混合物在真空、125°C 下加热约 3 小时, 然后反应器温度降至约 90-100°C, 用 24 小时慢慢加入 105 克的乙撑氧。完成乙撑氧的加入后, 用计量泵加入约 600 克的氧化丙烯。反应器内部的压力保持在 20-30psia 之间。反应完成后, 约 12.5 克的 Magnesol® (Dallas Group, White Hall, New Jersey)、3.5 克的 Celite® (World Minerals, Inc., Santa Barbara, California) 和 0.6 克的水在 6 小时内分三个不同的批次加入到反应产物中。最终的产品冷却到 40-50°C, 并用压力过滤器过滤。最终产品产量约为 600 克, 估计含有约 15wt% 的乙撑氧。最终产品的峰分子量约 7100 道尔顿, 低分子量组分的重量百分比约为 1.23%。

[0123] 实例 18

[0124] 在本发明重新合成精制组合物的另一实例中, 25 克的 Quadrol® 和 3.75 克的氢氧化铯一水化物在设于 PARR 反应器中的玻璃管中混和

[0125] 混合物在真空、125°C 下加热约 6 小时, 然后反应器温度降至约 90-100°C, 用 24 小时慢慢加入 105 克的乙撑氧。完成乙撑氧的加入后, 用计量泵加入约 600 克的氧化丙烯。反应器内部的压力保持在 20-30psia 之间。反应完成后, 约 25 克的 Magnesol®、7 克的

Celite® 和 1 克的水在 6 小时内分三个不同的批次加入到反应产物中。最终的产品冷却到 40-50°C,并用压力过滤器过滤。最终产品产量约为 600 克,估计含有约 15wt%的乙撑氧。最终产品的峰分子量约 7500 道尔顿,产品中低分子量组分的重量百分比约为 1.13%。

[0126] 实例 19

[0127] 在商业饲料场中进行研究,该研究利用平均初始体重为 361kg 的 438 只混种一岁家牛。牛作为一个单组。通过体重 (BW) 分成两组,并分别放在两个栏里饲养。在每个栏里,牛接受:(1) 饲料中含有足够量本发明精制共聚物,从而具有抑制微生物生长和/或导致生长性能的改善;或(2) 饲料中含有推荐剂量的常见抗生素和/或生长促进剂。每个栏里的牛分别用不同的饲料未央;其中每个栏里的第一个牛式随机分配的。研究的第一天分别对牛的体重进行了单独的称重。研究开始后,在 125 天(两个大栏)或 141 天(两个较小的栏)进行了屠宰。取出内脏后立即收集热胴体重量 (HCW)。用下述方程式对单个动物的平均每日收益 (ADG) 进行计算: $ADG = ((HCW/0.635) - \text{初始体重}) / \text{天饲料}$ 。在这个方程式中,0.635 表示的是所有研究动物的平均屠宰率。20 个可食组织样品从两组牛中分别随意选取,并测试存在的本发明共聚物或抗生素和/或生长促进剂。测试结果显示,和用含有常规抗生素和/或生长促进剂相比,喂食本发明共聚物的牛具有相对好的生长性能和食物效率,并且少于 50%的共聚物在测试的可食组织样品中发现。

自动比例色谱图

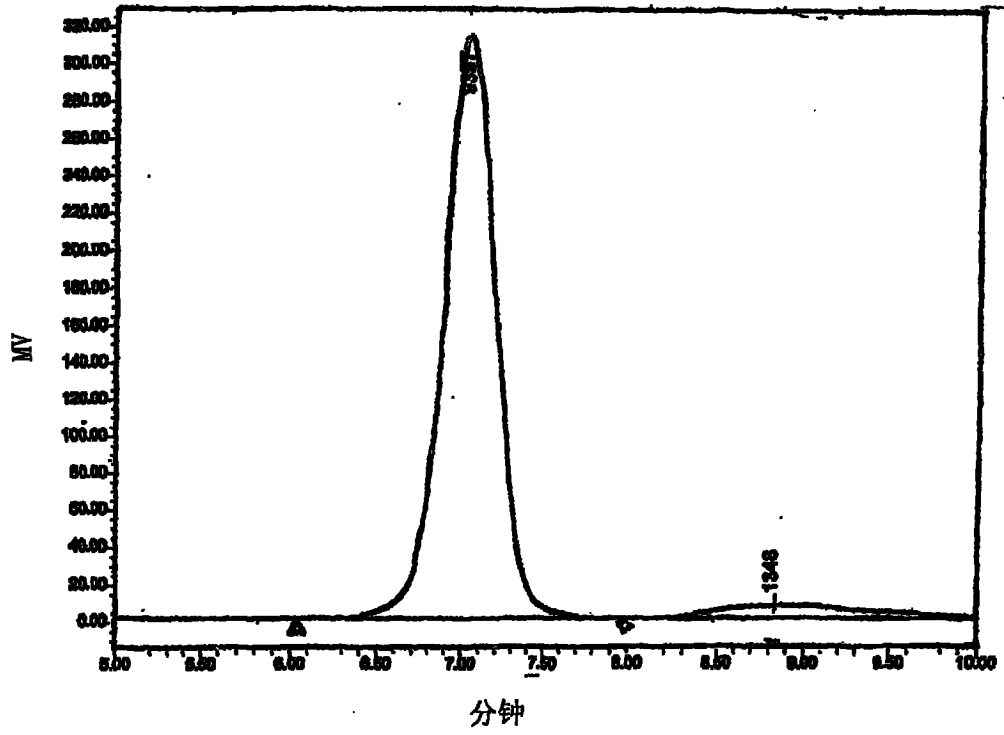


图 1

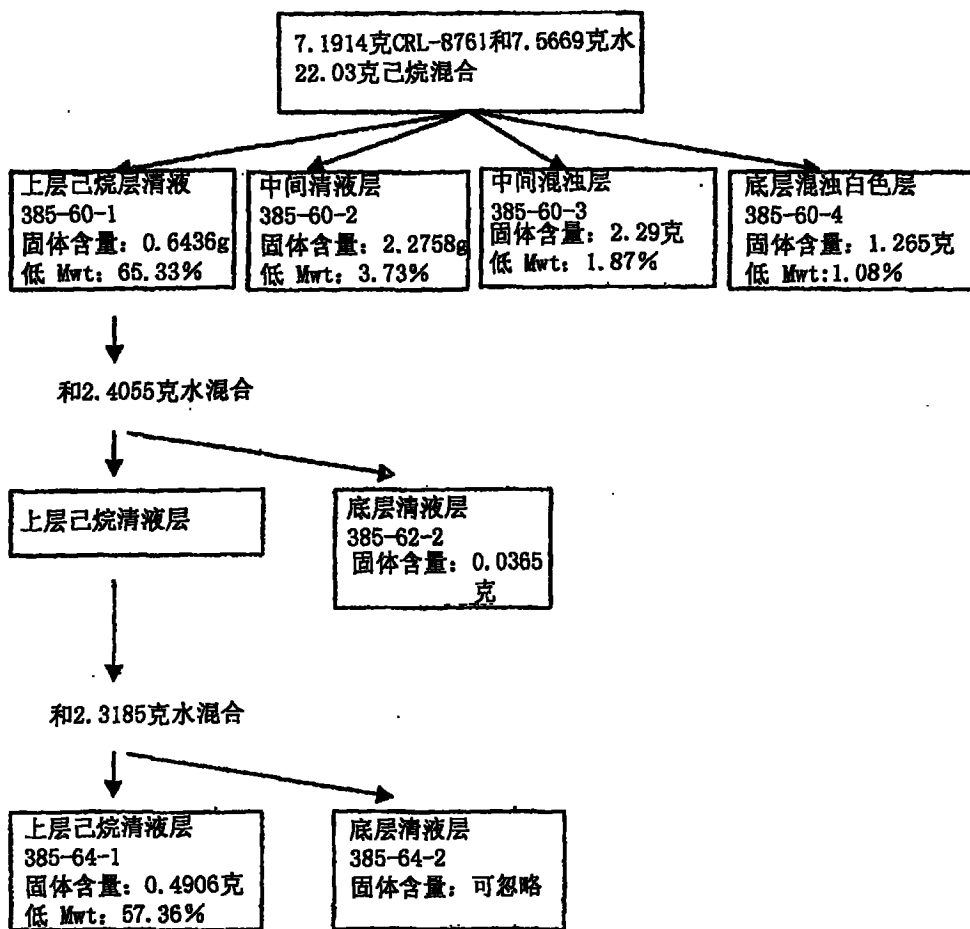


图 2

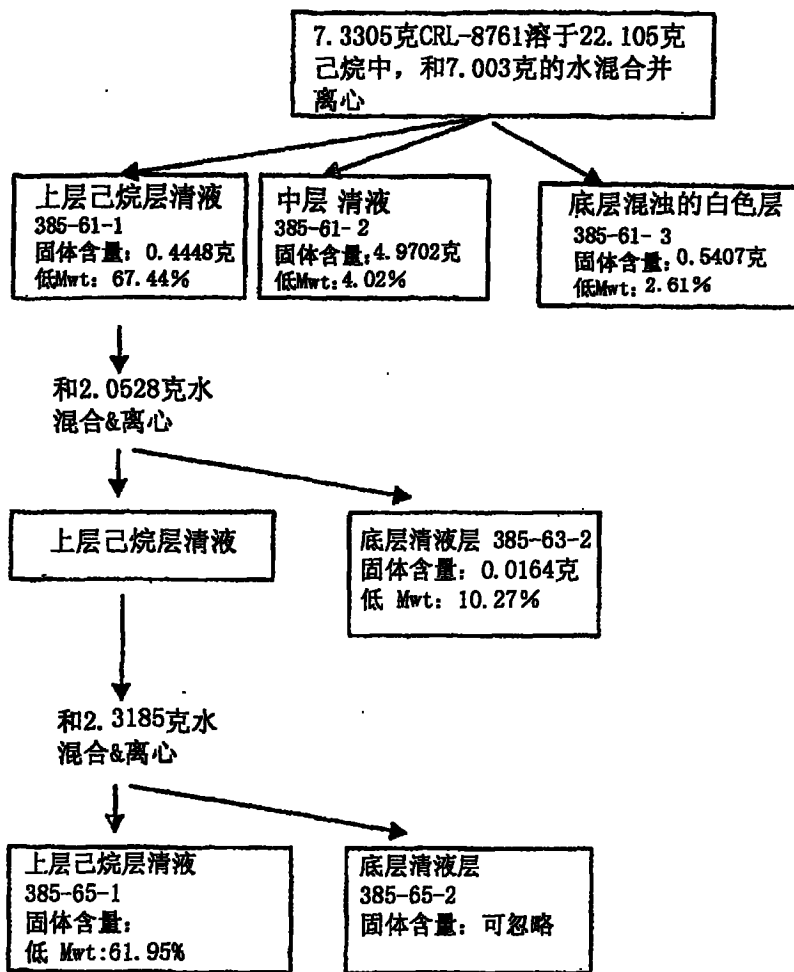


图 3

自动比例色谱图

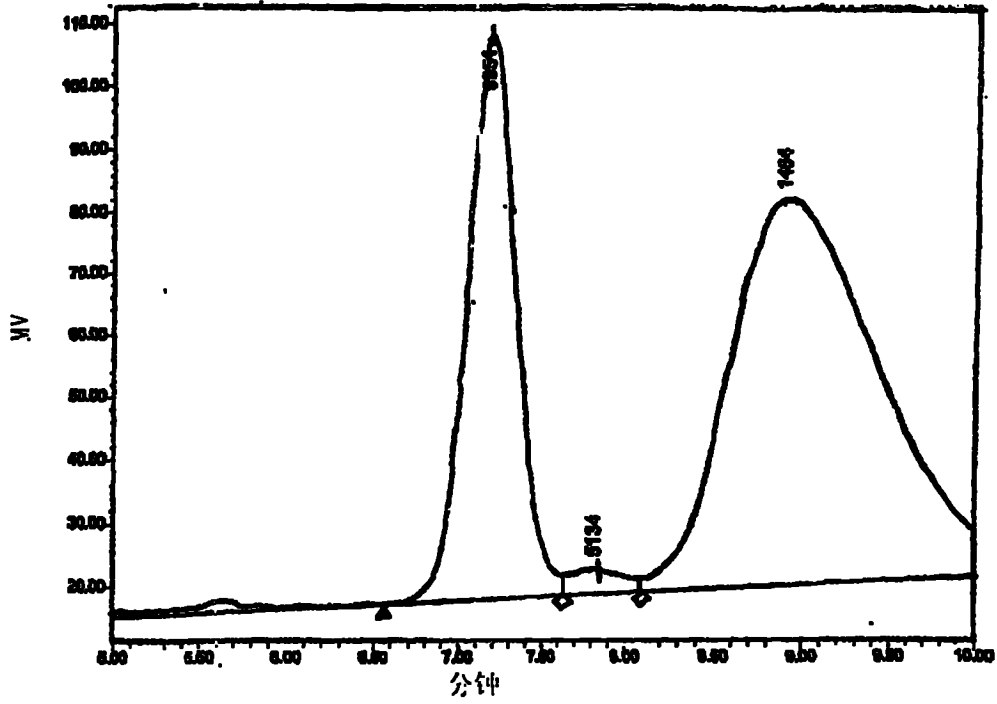


图 4

自动比例色谱图

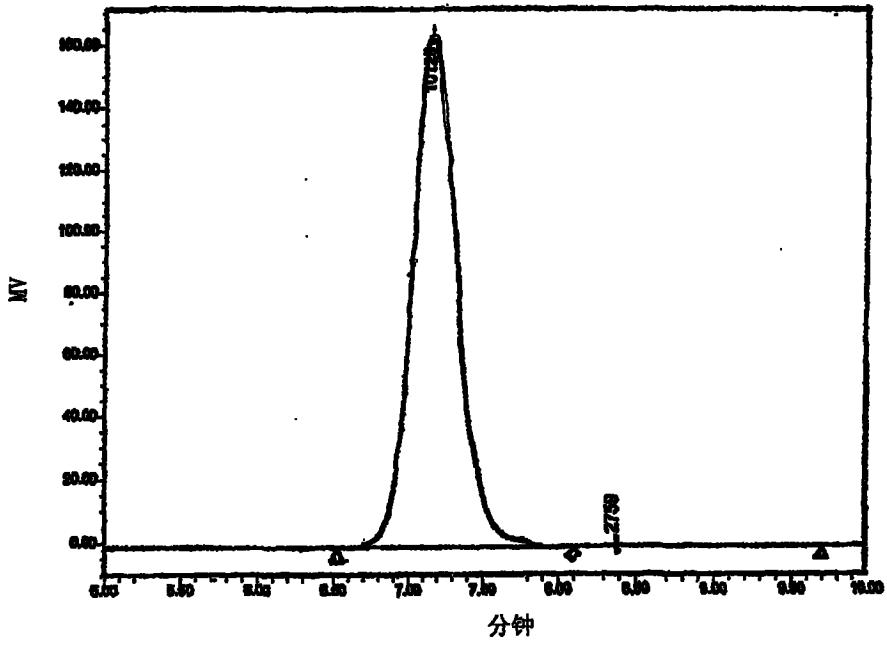


图 5

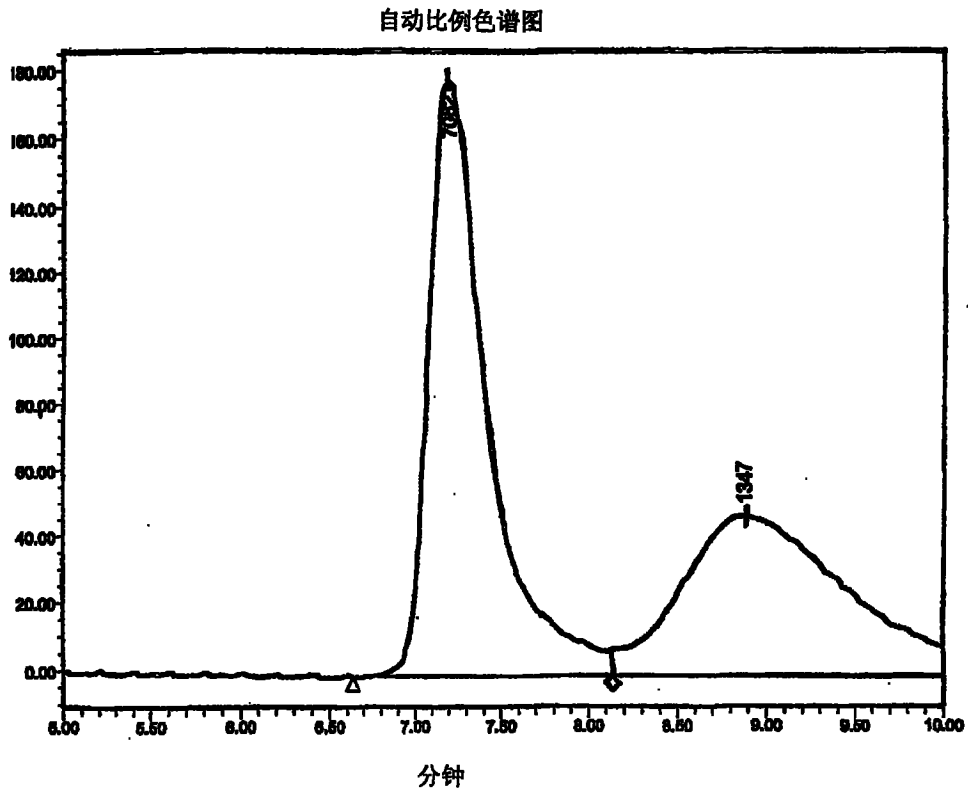


图 6

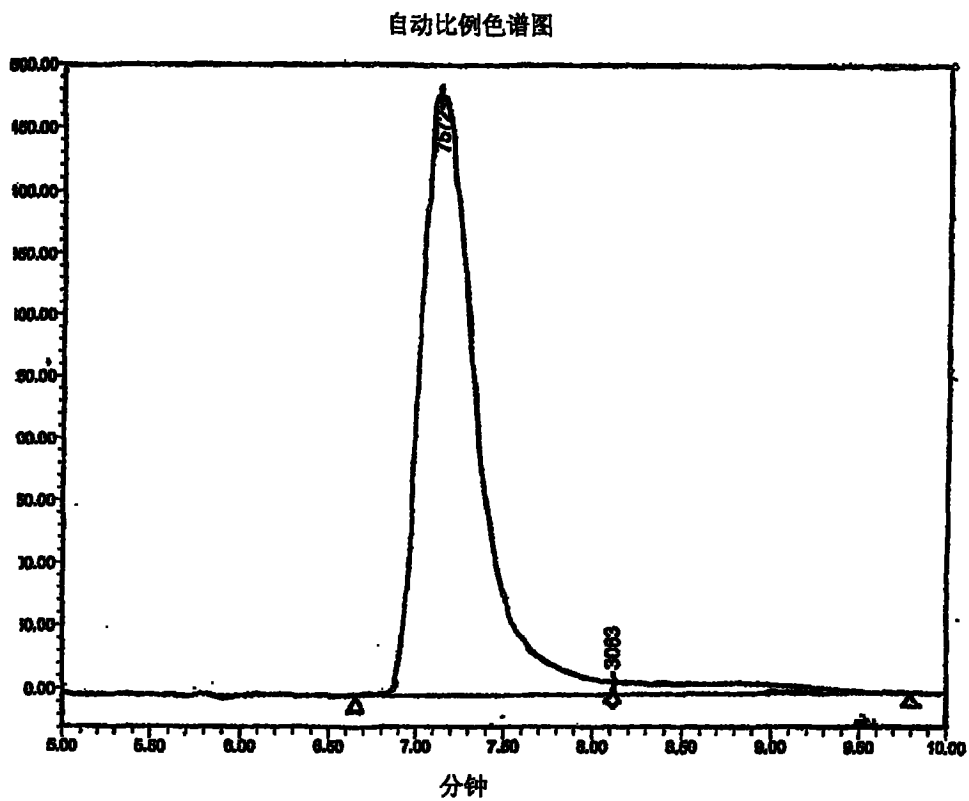


图 7

自动比例色谱图

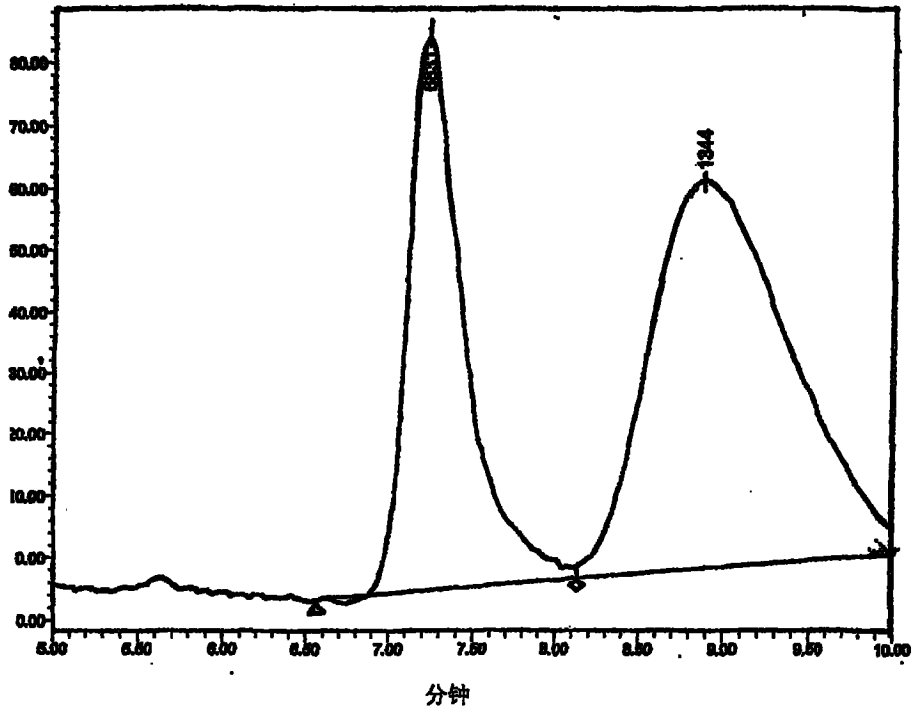


图 8

自动比例色谱图

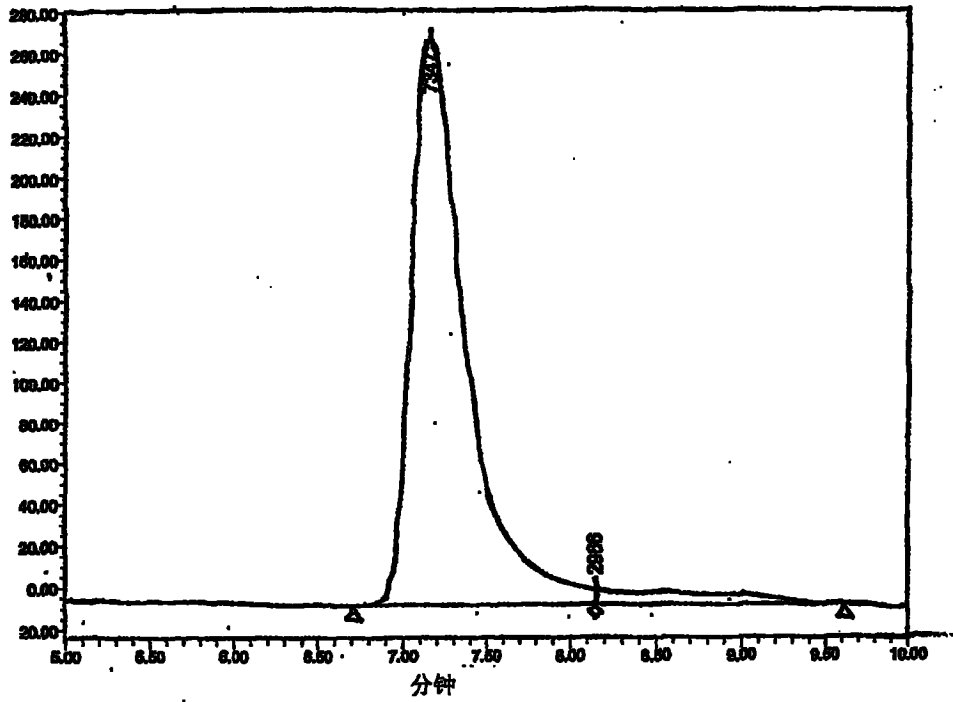


图 9

自动比例色谱图

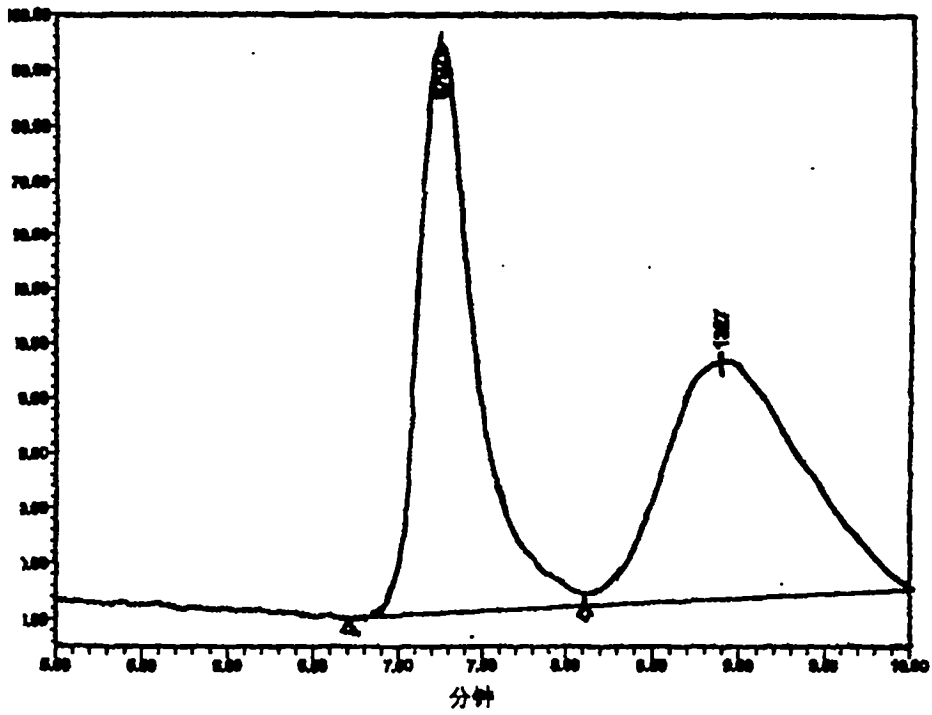


图 10

自动比例色谱图

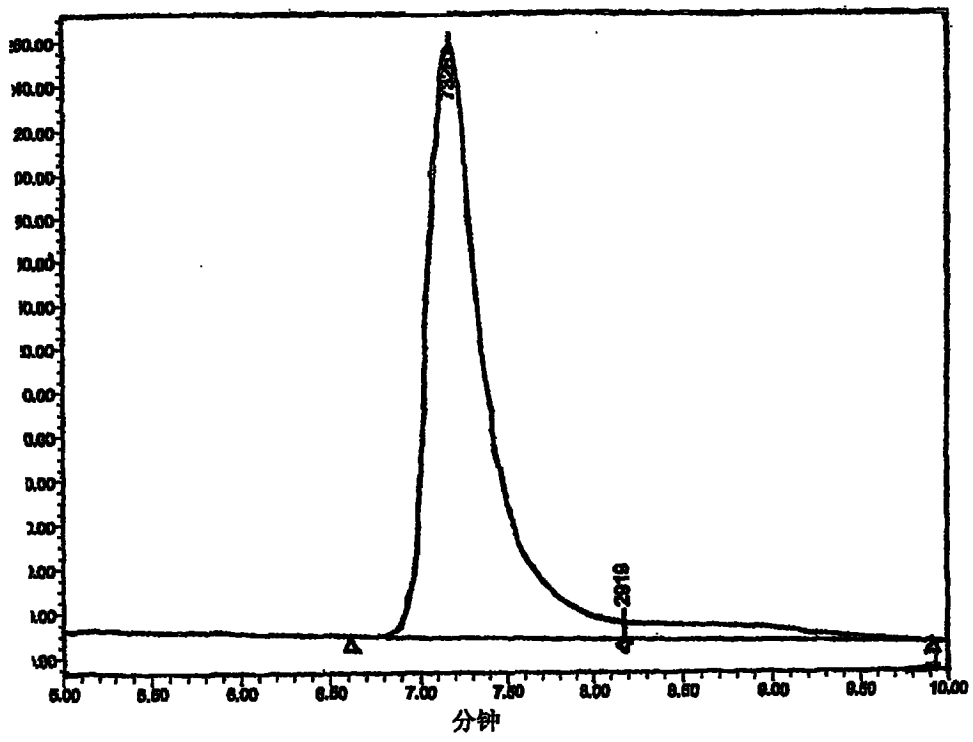


图 11