



[12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 94112724.9

[51]Int.Cl⁶

B01D 71 / 68

[43]公开日 1996年7月3日

[22]申请日 94.12.28

[71]申请人 中国科学院大连化学物理研究所

地址 辽宁省大连市中山路161号

[72]发明人 商振华 郭为 于亿年 周良模

[74]专利代理机构 中国科学院沈阳专利事务所

代理人 汪惠民

权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图页数 0 页

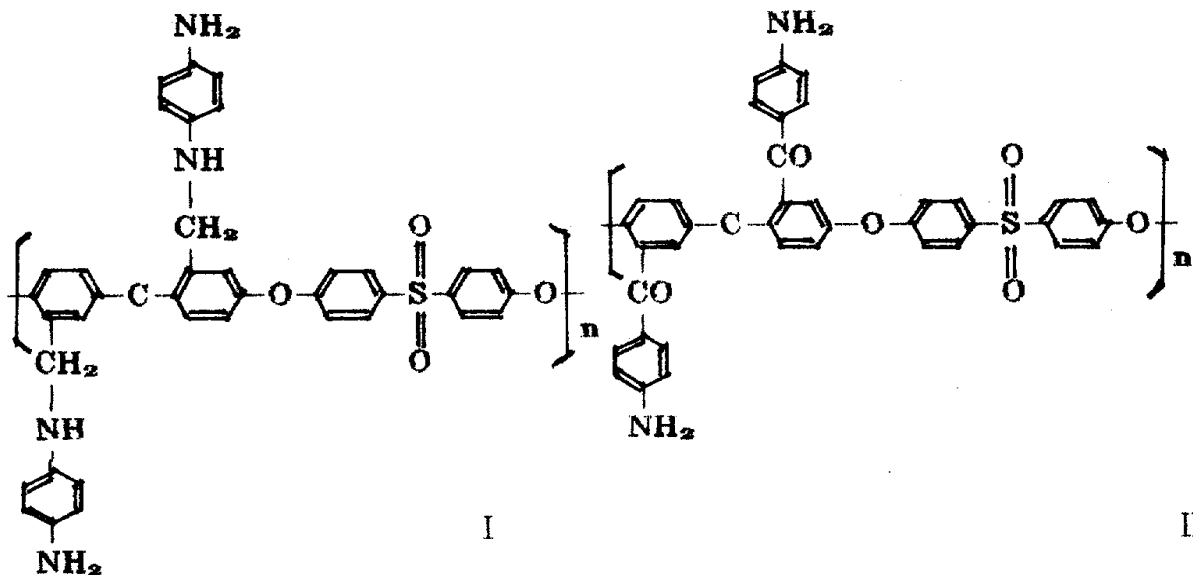
[54]发明名称 一种改性聚砜超滤膜及其制备和应用

[57]摘要

一种改性聚砜超滤膜，是聚砜经酰化-胺化或氯甲基化-胺化法进行改性反应制得的，该超滤膜的物性为：平均孔径 20~80 μm ；孔密度： $5 \times 10^9 \sim 8 \times 10^9$ 孔 / cm^2 ，膜的皮层厚度为 5~12 μm ；支撑层厚度：50~120 μm 。这种超滤膜，可通过二戊醛的交联作用下与胰蛋白酶进行交联，也可通过重氮化反应在 0~4 $^{\circ}\text{C}$ 下与胰蛋白酶固载化制成亲和超滤膜，该膜可用于纯化分离胰蛋白酶抑制剂，使其纯度达到 98.5%。

权 利 要 求 书

1. 一种改性聚砒超滤膜, 其特征在于该滤膜中接有带活性官能团 $-NH_2$ 的间隔臂基团, 可用结构式 I 或 II 表示:



2. 按照权利要求1所述的超滤膜, 其特征在于该滤膜具有下列物理性能: 平均孔径: $20 \sim 80 \mu m$; 孔密度: $5 \times 10^9 \sim 8 \times 10^9$ 孔/ cm^2 , 膜的皮层厚度为 $5 \sim 12 \mu m$; 支撑层厚度: $50 \sim 120 \mu m$ 。

3. 一种按照权利要求1所述的改性聚砒超滤膜的制备方法, 包括聚砒的改性和成膜两个主要步骤, 其特征在于聚砒的改性可采用酰化-胺化法或氯甲基化-胺化法进行: 所谓酰化-胺化法是聚砒在三氯化铝的催化作用下, 于 $60 \sim 80^\circ C$, 使其与对硝基苯甲酰氯进行酰化反应, 所得生成物在于 $40 \sim 60^\circ C$ 下与胍(联胺)进行胺化反应, 使聚砒分子上接有带极性官能团 $-NH_2$ 基的间隔臂基团;

所谓氯甲基化-胺化法是聚砒在 $20 \sim 30^\circ C$ 下先与氯甲醚进行氯甲基化反应, 再将反应物与对苯二胺在 $55 \sim 65^\circ C$ 下进行胺化反应, 制成带苯胺基的改性聚砒。

4. 一种按照权利要求1所述的改性聚砒超滤膜用于胰蛋白酶抑制剂的纯化分离, 其特征在于可先将该超滤膜在戊二醛的作用下与胰蛋白酶进行交联, 也可通过重氮化反应在 $0 \sim 4^\circ C$ 下与胰蛋白酶固载化, 制成亲和滤膜; 以该亲和滤膜组装在膜分离器上可用于对工业纯胰蛋白酶抑制剂进行纯化分离。

说 明 书

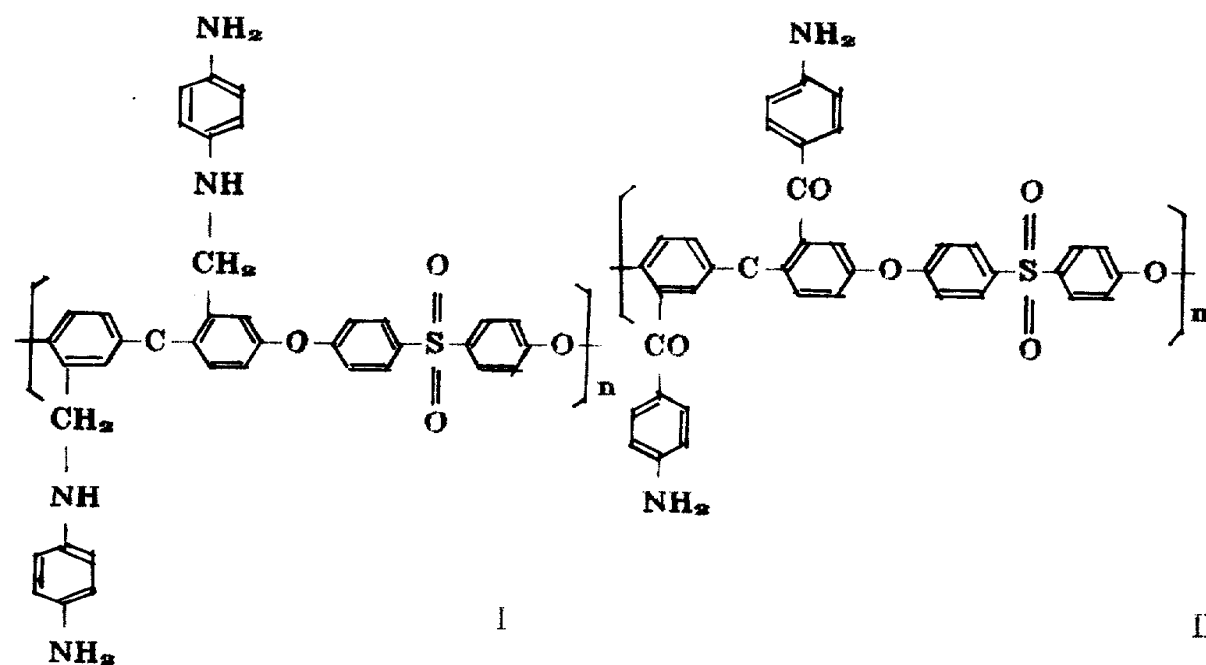
一种改性聚砜超滤膜及其制备和应用

本发明涉及一种膜分离技术，具体地说是提供一种改性的聚砜超滤膜及其制备法。同时又提供了利用该膜制成亲和超滤膜的方法，该膜可对胰蛋白酶抑制剂进行纯化分离。

亲和分离由于具有很高的特异性，良好的选择性，极高的纯化倍数，因此该技术发展十分迅速，已制成了多种亲和分离色谱填料，广泛应用于生物工程目标产品的纯化分离和生命科学的研究。近来，随着膜分离科学的迅速发展已出现了把亲和配基共价结合到微孔滤膜或超滤膜上，制成亲和膜，应用到一些生物大分子如酶、蛋白质等的纯化分离上，所用的膜材料大部分为纤维素膜或纤维素共混膜。也有人把亲和配基共价结合到一些高聚物颗粒上(如聚丙烯酰胺，聚三羟甲基丙烯酸酯等)，采用普通超滤膜，对生物大分子进行纯化分离，取得较好的效果。与本发明的技术相近，A·L·Nguyen等人(Biotechnol Bioeng, 1989, 34:1186)采用丙烯酰氯与氨基苯甲脒和丙烯酰胺在隔绝空气的条件下进行液相本体聚合，制成一种水溶性的高聚物。将这种共聚物与胰蛋白酶直接产生亲和作用，制成了带胰蛋白酶亲和配基的水溶性聚合物。再利用截留为十万道尔顿的普通超滤膜进行超滤分离，以去除其它杂蛋白，达到纯化分离胰蛋白酶或其抑制剂的目的。但采用这种方法，不仅合成时所用丙烯酰氯、苯甲脒等毒性较大，而且手续复杂。同时，又由于共聚物与胰蛋白酶是直接连接的，没有间隔臂，因此分离效率低，对胰蛋白酶的最高截留率仅为90%，结合容量为10.5mg/ml。

本发明的目的是提供一种改性聚砜超滤膜及制备方法。该制备技术操作简易，生产成本低，产品收率高，所得的超滤膜上易于对酶或蛋白质进行固载化制成亲和超滤膜可用于对工业纯胰蛋白酶抑制剂进行纯化分离。

本发明提供的聚砒超滤膜是采用聚砒为原料经改性处理得到一种超滤膜，其特征在于该滤膜中接有带活性官能团 $-NH_2$ 的间隔臂可用结构式 I 或 II 表示：

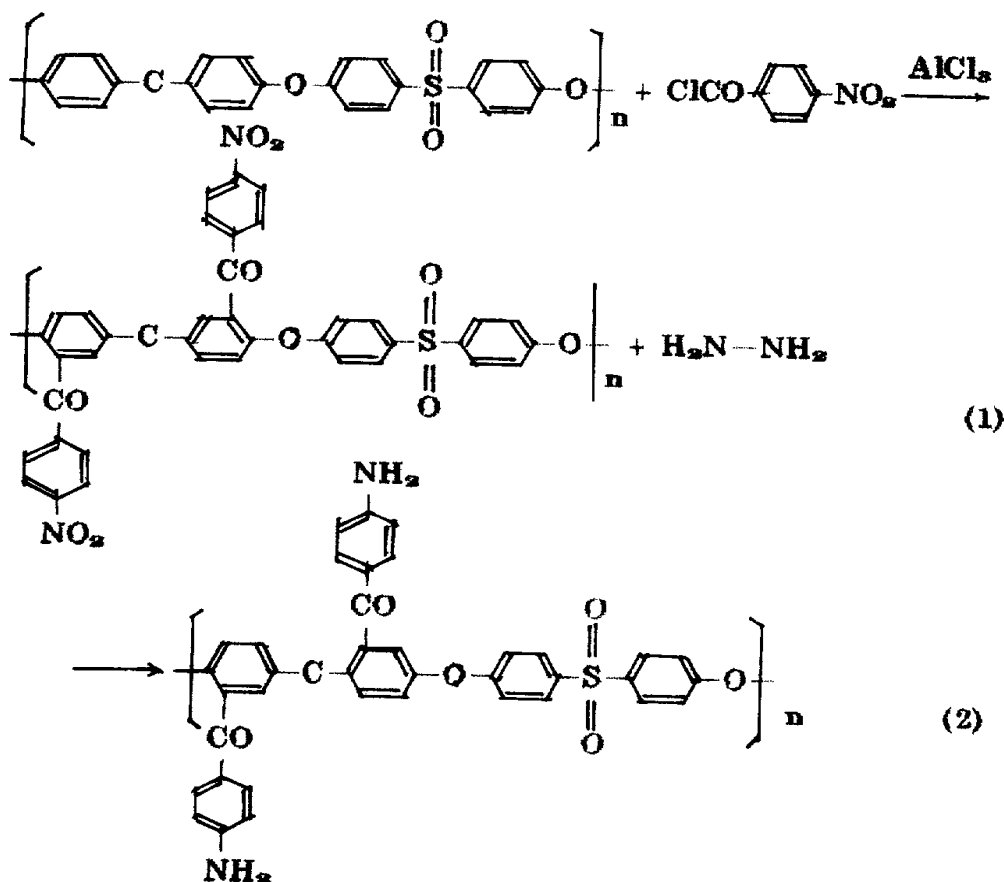


上述改性聚砒超滤膜的物理性能为：平均孔径在 $20\sim 80\text{nm}$ ，孔密度在 $5\times 10^9\sim 8\times 10^9$ 孔/ cm^2 ，膜的皮层厚度为 $5\sim 12\ \mu\text{m}$ ，支撑层厚度为 $50\sim 120\ \mu\text{m}$ 。

本发明的改性聚砒超滤膜的制备方法主要有二个步骤：1. 对聚砒原料的化学改性处理和 2. 超滤膜的成膜，其特征在于聚砒的化学改性可选择下述两种合成方法之一进行：

1) 酰化-胺化法：

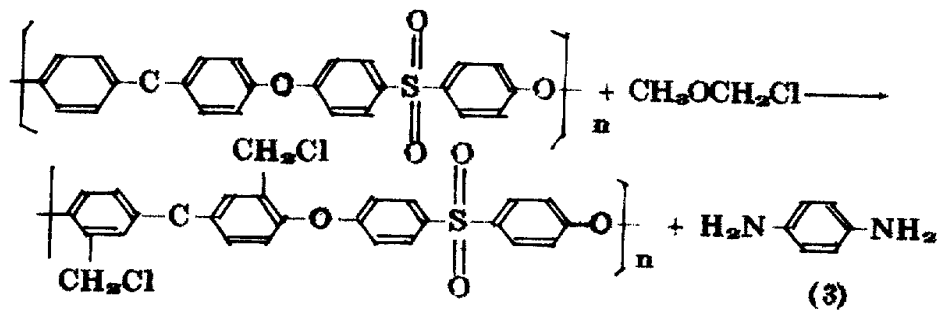
酰化-胺化法是以聚砒为原料，在三氯化铝的催化作用下，于 $60\sim 80^\circ\text{C}$ 下，使其与对硝基苯甲酰氯进行酰化反应(1)，所得生成物在于 $40\sim 60^\circ\text{C}$ 下与肼(联胺)进行胺化反应(2)，使聚砒分子上接有带极性官能团 $-NH_2$ 基的间隔臂基团，其反应式为：

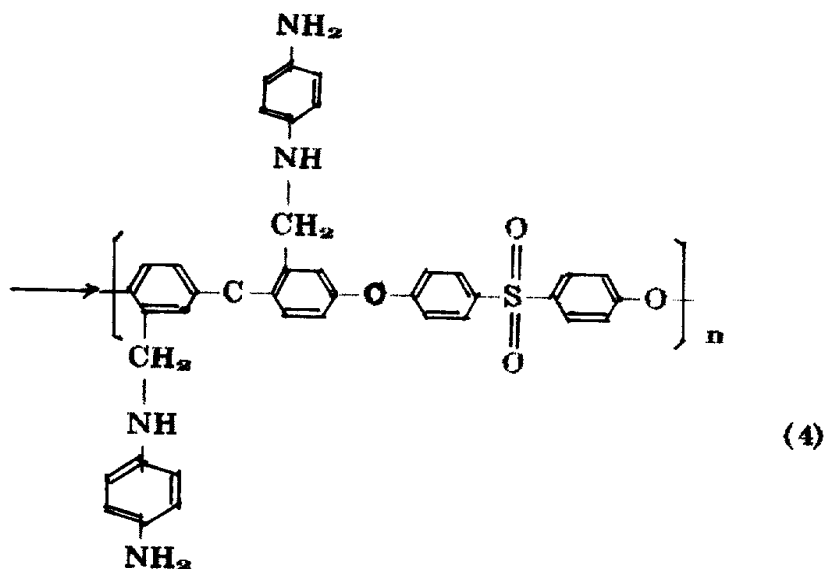


上述反应(1)中, 催化剂的加入量为聚砒重的1~8%, 反应物对硝基苯甲酰氯的加入量(摩尔数)应为聚砒的1~4倍, 反应时间为1~6小时, 反应(2)中, 反应物肼的加入量应为聚砒的1~5倍, 反应时间为2~6小时。反应(2)结束后, 聚砒的转化率在30~50%。

2) 氯甲基化-胺化法

氯甲基化-胺化法是将聚砒在20~30℃下先与氯甲醚进行氯甲基化反应(3), 再将反应产物与对苯二胺在55~65℃下进行胺化反应(4), 制成带苯胺基的化学改性聚砒, 其反应式为





上述反应(3)中,反应物氯甲醚的加入量(摩尔数)应为聚砜的1~4倍,反应时间为1~6小时,反应(4)中反应物对苯二胺的加入量应为聚砜的1~4倍,反应时间为2~6小时,反应(4)结束后聚砜的转化率在40~75%。

本发明超滤膜的成膜,可用相转化法,按常规工艺进行,其特征在于也可按下述步骤进行膜制备:

将化学改性聚砜在45~60℃下,通过连续不断地均匀搅拌溶解在N,N-二甲基甲酰胺中,完全均匀溶解后,在氮气保护下将溶解液过滤,然后脱气,在玻璃板上用刮刀刮制成膜,在空气中暴露20~50秒后,浸入含2~10%NaCl的二次蒸馏水中成膜。经此过程制得平均孔径在20~80nm之间,孔密度在 $5 \times 10^9 \sim 8 \times 10^9$ 孔/cm²,膜的皮层厚度为5~12 μm,反撑层厚度为50~120 μm的超滤膜。

如上述按本发明所提供方法所制备出的改性聚砜超滤膜带有活性基团-NH₂,由于可在戊二醛的作用下与胰蛋白酶等生物大分子交联,也可通过重氮化反应在0~4℃下,与其产生共价结合,制成亲和分离介质(亲和超滤膜)。这种亲和超滤膜可以用于对生物大分子,如胰蛋白酶抑制剂进行纯化分离,下面通过实例对本发明的技术给予进一步地说明。

实例1, 改性聚砜超滤膜的制备1

采用酰化-胺化法对聚砜进行改性处理,其过程如下:以大连第一塑料厂产的PS-DL(1)($\eta=0.57$)聚砜为原料,三氯化铝为催化剂(加入量为聚砜重量的5%),在70°C下,使其与对硝基苯甲酰氯进行反应(加入量为聚砜摩尔克数的3倍),反应2小时后,分离出产物。在50°C下,与生成物肼反应(肼加入量为聚砜摩尔克数的4倍),反应4小时,分离出反应物,洗涤产物。其聚砜的转化率达45%,利用常规相转化法以上述产物制成改性聚砜超滤膜,其膜厚度为100 μm ,平均孔径为40 μm 的带指状孔结构的改性聚砜超滤膜1。

实例2 改性聚砜超滤膜的制备2

采用氯甲基化-胺化法对聚砜进行改性处理,其过程如下:以大连第一塑料厂产的PS-DL(1)($\eta=0.57$)聚砜为原料,在25°C下先与氯甲醚进行反应(氯甲醚加入量为聚砜摩尔数的4倍),反应1小时,再将反应物与对苯二胺(加入量为聚砜摩尔数的3倍)反应,在60°C下反应4小时,分离产物进行洗涤,其聚砜的转化率为70%。

利用上述改性聚砜为原料,在50~60°C下溶解在N,N-二甲基酰胺中(聚砜与二甲基酰胺的重量比为8~15%),在N₂气下将溶解液过滤,然后脱气,在玻璃板上用刮刀刮制成膜,在空气中暴露40~50秒后,浸入10%NaCl的二次蒸馏水溶液中成膜,其厚度为105 μm 的带指状孔结构的改性聚砜超滤膜。

实例3, 改性聚砜亲和滤膜的制备

使用实例1和2所制备的改性聚砜超滤膜,利用重氮化法进行胰蛋白酶固载化反应.其反应温度为4°C,使用胰蛋白酶的浓度为0.5mg/ml的磷酸缓冲液(0.05mol/L, PH8.1),为反应液,进行固载化反应4小时,反应结束后,依次用去离子水,0.1~1.0mol/L的NaCl溶液,去离子水反复多次清洗滤膜,直到清洗液在紫外分光光度计的280nm处检测不出胰蛋白酶为止。对固载化酶膜进行测定:实例1的亲和膜上每克改性聚砜膜上固载化13.5mg胰蛋白酶,固载化的胰蛋白酶的相对活力为

13000u/g。实例2的亲膜上每克改性聚砜膜上固载化15mg胰蛋白酶，固载化的胰蛋白酶的相对活力为18200u/g，

实例4 改性聚砜亲和滤膜的应用

利用实例3制得的亲和滤膜，组装到膜分离器中，并用此分离器，对工业纯大豆胰蛋白酶抑制剂进行纯化，纯化条件为：以浓度为0.2mg/ml工业纯大豆胰蛋白酶抑制剂的磷酸缓冲液，以0.5mol/min的流量循环通过亲和膜分离器，1小时后分别用0.05mol/L磷酸缓冲液和去离子水充分洗涤膜仓，直到流出液中检测不出胰蛋白酶抑制剂的存在为止。再用6mol/L的尿素溶液在同样流速下通过亲和膜分离器，收集洗脱液，用高效液相色谱进行分析，其胰蛋白酶抑制剂的纯度可达到98.5%，比原工业胰蛋白酶抑制剂纯度提高了68倍。

由上述实例，本发明所提供的改性聚砜超滤膜的制备方法简单，反应条件易于控制，所制得的超滤膜易于胰蛋白酶的固载化，而得到实用性强的可用于纯化分离胰蛋白酶抑制剂的超滤膜。