



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110291113 B

(45) 授权公告日 2022.03.04

(21) 申请号 201880011867.3
 (22) 申请日 2018.02.13
 (65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 110291113 A
 (43) 申请公布日 2019.09.27
 (30) 优先权数据
 62/459,800 2017.02.16 US
 62/489,500 2017.04.25 US
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2019.08.14
 (86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/US2018/017907 2018.02.13
 (87) PCT国际申请的公布数据
 W02018/152074 EN 2018.08.23
 (73) 专利权人 营养与生物科学美国4公司
 地址 美国纽约州
 (72) 发明人 邱伟明 D.J.阿德尔曼
 G.M.迪伦佐
 (74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公
 司 72001
 代理人 王琳 周齐宏

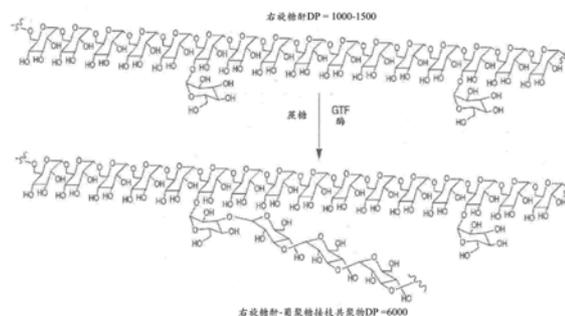
(51) Int.Cl.
 C08B 37/00 (2006.01)
 C08B 37/02 (2006.01)
 C08L 5/02 (2006.01)
 (56) 对比文件
 US 2014087431 A1,2014.03.27
 CN 105916922 A,2016.08.31
 CN 105111512 A,2015.12.02
 CN 106103551 A,2016.11.09
 US 3275576 A,1966.09.27
 US 2015218532 A1,2015.08.06
 CN 1097767 A,1995.01.25
 Dr.S.K.Bajpai等.《Swelling behavior of cross-linked dextran hydrogels and preliminary Gliclazide release behavior》.《International Journal of Biological Macromolecules》.2016,第93卷978-987.
 徐玉福等.《葡聚糖纳凝胶的水相合成及环境敏感性研究》.《高分子材料科学与工程》.2008,(第01期),6-9.

审查员 洪倩

权利要求书1页 说明书32页 附图3页

(54) 发明名称
 交联的右旋糖酐和交联的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物

(57) 摘要
 本文公开了包含一种或多种交联的右旋糖酐或交联的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的组合物。进一步公开了用于制备这类交联材料的方法,以及它们在吸收应用中的用途。



1. 一种包含交联的接枝共聚物的组合物,其中,该交联的接枝共聚物的接枝共聚物部分包含:

(i) 包含右旋糖酐的骨架,和

(ii) 包含至少50%的 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖侧链,

其中该交联的接枝共聚物的一个或多个交联键是共价的,和其中该交联的接枝共聚物通过使至少溶剂、交联剂和接枝共聚物接触产生。

2. 如权利要求1所述的组合物,其中,该交联的接枝共聚物的一个或多个交联键包含磷。

3. 如权利要求2所述的组合物,其中,该交联的接枝共聚物的一个或多个交联键包含磷酸二酯键。

4. 如权利要求1所述的组合物,其中,该交联的接枝共聚物的接枝共聚物部分包含至少50重量%的右旋糖酐。

5. 如权利要求1所述的组合物,其中,该右旋糖酐具有至少100000道尔顿的重均分子量(Mw)。

6. 如权利要求5所述的组合物,其中,该右旋糖酐具有至少1千万道尔顿的Mw。

7. 如权利要求6所述的组合物,其中,该右旋糖酐具有至少5千万道尔顿的Mw。

8. 如权利要求7所述的组合物,其中,所述右旋糖酐的Mw为至少1亿道尔顿。

9. 如权利要求1所述的组合物,其中,所述右旋糖酐包含至少90%的 α -1,6-糖苷键。

10. 如权利要求1至9任一项所述的组合物,其中,所述聚 α -1,3-葡聚糖侧链包含至少80%的 α -1,3-糖苷键。

11. 如权利要求10所述的组合物,其中,所述聚 α -1,3-葡聚糖侧链包含至少95%的 α -1,3-糖苷键。

12. 如权利要求1至9任一项所述的组合物,其中,一个或多个单个的聚 α -1,3-葡聚糖侧链的Mw为至少100000道尔顿。

13. 如权利要求1所述的组合物,其中,该交联的接枝共聚物具有每g交联的接枝共聚物至少6 g水性流体的离心保留容量。

14. 如权利要求1所述的组合物,其中所述交联剂包含磷酸氯,和/或所述溶剂是水性溶剂。

15. 如权利要求1所述的组合物,其中,该组合物是个人护理产品、家用护理产品、医疗产品、或工业产品。

16. 一种生产交联的接枝共聚物的方法,所述方法包括:

使至少溶剂、交联剂、和接枝共聚物接触,其中该接枝共聚物包含:

(i) 包含右旋糖酐的骨架,和

(ii) 包含至少50%的 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖侧链,

由此产生具有一个或多个共价交联键的交联的接枝共聚物。

17. 如权利要求16所述的方法,其中,该溶剂是水性的。

18. 如权利要求16或17任一项所述的方法,进一步包括分离交联的接枝共聚物。

交联的右旋糖酐和交联的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物

[0001] 本申请要求美国临时申请号62/459,800 (2017年2月16日提交) 和62/489,500 (2017年4月25日提交) 的权益,这两个申请通过援引以其全文并入本文。

技术领域

[0002] 本公开属于多糖领域。例如,本公开涉及交联的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的生产,以及这些共聚物在具有有利的水性液体吸收特征的组合物中的用途。

背景技术

[0003] 超吸收性材料总体上能够吸收大量水性液体,通常相当于其自身重量的许多倍,并且能够在高压下保留水性液体。通常应用超吸收性材料的吸收性产品包括尿布、训练裤、成人失禁产品和女性护理产品。在这些和其他产品中使用超吸收性材料增加了它们的吸收能力,同时减少了它们的总体体积。

[0004] 目前使用的大多数超吸收性材料由交联的合成聚合物构成,并且被称为超吸收性聚合物(SAP)。这些包括,例如,丙烯酸或丙烯酰胺的聚合物和共聚物。尽管它们具有超吸收性的优点,但大多数商业SAP具有显著的缺点,诸如不能衍生自可再生资源 and/或缺乏足够的可生物降解性。

[0005] 某些多糖组合物已用于超吸收应用,从而潜在地利用这些生物衍生组分的总体可再生性和可生物降解性。例如,美国专利号3345358描述了包含羧甲基淀粉的形成凝胶的多糖衍生物。作为另一个实例,在美国专利号2639239中已描述了含有羧甲基纤维素的水溶性碱金属盐的高度溶胀的凝胶颗粒。

[0006] 尽管有这些过去的进展,仍然需要进一步开发基于多糖的组合物以获得增强的超吸收功能。

发明内容

[0007] 在一个实施例中,本公开涉及一种包含交联的接枝共聚物的组合物,其中该交联的接枝共聚物的接枝共聚物部分包含:(i) 包含右旋糖酐的骨架,和(ii) 包含至少约50%的 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖侧链。

[0008] 在另一个实施例中,本公开涉及一种生产交联的接枝共聚物的方法,该方法包括:(a) 使至少溶剂、交联剂、和接枝共聚物接触,其中该接枝共聚物包含:(i) 包含右旋糖酐的骨架,和(ii) 包含至少约50%的 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖侧链,由此产生交联的接枝共聚物;以及(b) 任选地,分离在步骤(a)中产生的交联的接枝共聚物。

[0009] 在另一个实施例中,本公开涉及一种包含交联的右旋糖酐的组合物,其中该右旋糖酐包含:(i) 约87-93重量%在位置1和6处连接的葡萄糖;(ii) 约0.1-1.2重量%在位置1和3处连接的葡萄糖;(iii) 约0.1-0.7重量%在位置1和4处连接的葡萄糖;(iv) 约7.7-8.6重量%在位置1、3和6处连接的葡萄糖;以及(v) 约0.4-1.7重量%在以下位置处连接的葡萄

糖：(a) 位置1、2和6，或 (b) 位置1、4和6；其中该右旋糖酐的重均分子量 (Mw) 为约50-200百万道尔顿。

附图说明

[0010] 图1:可用于制备如目前所公开的交联的接枝共聚物的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的一部分的实例。在这一具体图示中,聚 α -1,3-葡聚糖链(“葡聚糖接枝”)由葡糖基转移酶(GTF)脱去 α -1,4-连接到右旋糖酐骨架的侧链葡萄糖而合成的。

[0011] 图2:可用于制备交联的接枝共聚物的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的实例的图形表示。该右旋糖酐骨架和聚 α -1,3-葡聚糖侧链大致呈现为彼此成比例。例如,骨架可以是约1000DP_w,而每个侧链可以是约1000DP_w。

[0012] 图3:曲线图展示了起始右旋糖酐浓度(g/L)对在2小时和24小时葡糖基转移酶反应中产生的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的DP_w的影响。参考实例2。

[0013] 图4示出了含有10.6重量%的右旋糖酐的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物样品的照片。参考实例6。

[0014] 图5示出了含有0.9重量%的右旋糖酐的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物样品的照片。参考实例6。

具体实施方式

[0015] 所有引用的专利和非专利文献的公开内容通过援引以其全文并入本文。

[0016] 除非另有公开,否则如本文中所述的术语“一个/一种”旨在涵盖一个/一种或多个/多种(即至少一个/一种)所引用的特征。

[0017] 如果存在,所有范围是包含性的和可组合的,除非另有说明。例如,当列举“1至5”的范围时,所列举的范围应解释为包括“1至4”、“1至3”、“1至2”、“1至2和4至5”、“1至3和5”等范围。本文中任何可能的量/百分比列表可以用于描述范围,其中范围可以设定在列表中的任何两个量/百分比之间。

[0018] 本文中的术语“共聚物”是指包含至少两种不同类型的 α -葡聚糖(诸如右旋糖酐和聚 α -1,3-葡聚糖)的聚合物。

[0019] 本文中的术语“接枝共聚物”、“分支共聚物”等通常是指包含“骨架”(或“主链”)和从骨架分支的侧链的共聚物。侧链在结构上与骨架不同。本文中的接枝共聚物的实例是右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物,该共聚物包含含有右旋糖酐的骨架和聚 α -1,3-葡聚糖的侧链。在一些方面,右旋糖酐骨架可以具有聚 α -1,3-葡聚糖延伸,因为右旋糖酐的非还原端可以通过葡糖基转移酶引发聚 α -1,3-葡聚糖合成。因此,骨架在一些情况下可以是右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖线性共聚物。在一些方面,骨架可以本身是如下文公开的分支结构;将聚 α -1,3-葡聚糖添加到这种骨架中增加了原始分支结构的支化。

[0020] 本文中的术语“交联的接枝共聚物”和其他类似术语是指诸如交联的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的接枝共聚物。本文中的术语“交联”和其他类似术语通常是指连接聚合物的一个或多个键(共价键和/或非共价键)。具有多个键的交联通常包含一个或多个原子,这些原子是用于形成交联的交联剂的一部分。在一些方面,非共价键可以通过离子、疏水、H键或范德华相互作用。

[0021] 本文中的术语“交联剂(crosslinking agent)”、“交联剂(crosslinker)”等是指可以在葡聚糖聚合物(例如聚 α -1,3-葡聚糖、右旋糖酐)之间产生交联键的原子或化合物。典型实施例中的交联剂具有可以与接枝共聚物的葡萄糖单体的羟基基团反应的基团。

[0022] 本文中的术语“交联反应”和类似术语(例如,“交联组合物”、“交联制剂”)通常是指包含至少溶剂、交联剂、和接枝共聚物的反应。在一些方面,交联反应包括水性溶剂,诸如水,而在其他方面,该溶剂是非水性的。

[0023] 术语“聚 α -1,3-葡聚糖侧链”和“聚 α -1,3-葡聚糖分支”(和类似术语)在本文中可互换地使用。聚 α -1,3-葡聚糖侧链通常是右旋糖酐分支(例如,侧链葡萄糖或短链)的延伸,因为右旋糖酐分支具有非还原端,该非还原端可以通过葡糖基转移酶引发聚 α -1,3-葡聚糖合成。

[0024] 如本文中所用的,“聚 α -1,3-葡聚糖均聚物”和类似术语是指不是(i)接枝共聚物或(ii)右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖线性共聚物的一部分的聚 α -1,3-葡聚糖。

[0025] 术语“ α -葡聚糖”、“ α -葡聚糖聚合物”等在本文中可互换地使用。 α -葡聚糖是包含通过 α -糖苷键连接在一起的葡萄糖单体单元的聚合物。右旋糖酐和聚 α -1,3-葡聚糖是 α -葡聚糖的实例。

[0026] 术语“配糖键(glycosidic linkage)”和“配糖键(glycosidic bond)”等在本文中可互换地使用,并且是指将碳水化合物分子彼此连接的共价键。术语“糖苷键(glucosidic linkage)”、“糖苷键(glucosidic bond)”、“键(linkage)”等在本文中可互换地使用,并且是指两个葡萄糖分子之间的配糖键。如本文所用的术语“ α -1,6-糖苷键”是指通过在相邻 α -D-葡萄糖环上的碳1和碳6将 α -D-葡萄糖分子彼此连接的共价键。该定义类似地应用于术语“ α -1,3-糖苷键”、“ α -1,2-糖苷键”和“ α -1,4-糖苷键”,但使用各自的碳数。本文中,“ α -D-葡萄糖”被称为“葡萄糖”或“单体”。本文中所公开的所有糖苷键都是 α -糖苷键,除非另有说明。

[0027] 术语“聚 α -1,3-葡聚糖”、“ α -1,3-葡聚糖聚合物”、“ α -1,3-葡聚糖”等在本文中可互换地使用。在某些方面,聚 α -1,3-葡聚糖包含至少约50%(例如, $\geq 95\%$)的 α -1,3键。

[0028] 术语“右旋糖酐”、“右旋糖酐聚合物”、“右旋糖酐分子”等在本文中可互换地使用,并且是指总体上包含基本上(大部分)具有 α -1,6-连接的葡萄糖单体的主链的 α -葡聚糖,通常其中周期分支通过 α -1,3键、 α -1,2键、和/或 α -1,4键与主链连接。

[0029] 在一些方面,右旋糖酐主链包含右旋糖酐聚合物的全部葡萄糖单体的超过约90%-95%。在一些情况下,右旋糖酐主链可以基本上(或大部分)包含 α -1,6键,这意味着它可以具有至少约98.0%的 α -1,6键。在一些方面,右旋糖酐主链可以包含少量的 α -1,3键,这意味着它可以具有小于约2.0%的 α -1,3键。

[0030] 右旋糖酐分支通常较短(长度为一个(侧链)至三个葡萄糖单体),并且包含右旋糖酐聚合物的全部葡萄糖单体的小于约10%。这类短分支可以包含 α -1,2键、 α -1,3键、和/或 α -1,4键。在一些实施例中,右旋糖酐还可以具有大部分包含 α -1,6键的分支;这种分支的长度可以类似于该分支起源的链的长度。

[0031] 本文中的 α -葡聚糖的键谱图可以使用本领域已知的任何方法确定。例如,可以使用采用核磁共振(NMR)光谱法(例如, ^{13}C NMR或 ^1H NMR)的方法确定键谱图。可以使用的这些和其他方法公开于Food Carbohydrates:Chemistry,Physical Properties,and

Applications[食品碳水化合物:化学、物理特性和应用](S.W.Cui编,第3章,S.W.Cui, Structural Analysis of Polysaccharides[多糖的结构分析],Taylor&Francis Group LLC,Boca Raton,FL[佛罗里达州波卡拉顿的泰勒与弗朗西斯集团有限公司],2005)中,其通过援引并入本文。

[0032] 本文中的右旋糖酐的“分子量”可以表示为数均分子量(Mn)或重均分子量(Mw),其单位为道尔顿或克/摩尔。可替代地,分子量可以表示为DP_w(重均聚合度)或DP_n(数均聚合度)。较小的α-葡聚糖聚合物的分子量通常可以以“DP”(聚合度)提供,该DP仅指α-葡聚糖内包含的葡萄糖的数目。用于计算这些分子量测量值的各种手段在本领域中是已知的,诸如使用高压液相色谱法(HPLC)、尺寸排阻色谱法(SEC)、或凝胶渗透色谱法(GPC)。

[0033] 术语“葡糖基转移酶”、“GTF酶”、“GTF”、“葡聚糖蔗糖酶”等在本文中可互换地使用。本文中的葡糖基转移酶的活性催化底物蔗糖的反应以制成产物α-葡聚糖和果糖。葡糖基转移酶反应的副产物可以包括葡萄糖、各种可溶性葡萄糖-寡糖(DP₂-DP₇)、和明串珠菌二糖。葡糖基转移酶的野生型形式总体上含有(在N-末端至C-末端方向上)信号肽、可变结构域、催化结构域和葡聚糖结合结构域。根据CAZy(碳水化合物活性酶)数据库(Cantarel等人,Nucleic Acids Res.[核酸研究]37:D233-238,2009),将本文中的葡糖基转移酶分类在糖苷水解酶家族70(GH70)下。术语“右旋糖酐蔗糖酶”可以任选地用于表征产生右旋糖酐的葡糖基转移酶。

[0034] 术语“酶促反应”、“葡糖基转移酶反应”、“葡聚糖合成反应”等在本文中可互换地使用,并且通常指最初包含至少水、蔗糖、右旋糖酐和葡糖基转移酶的反应。这种反应产生接枝共聚物,然后该接枝共聚物可以如目前所公开的进行交联。

[0035] 如本文所用的术语“吸收(absorb)”和类似术语是指吸收(taking up或soaking up)水性液体的作用。如目前所公开的组合物吸收可以例如根据如本文所公开的保水值(WRV)和/或离心保留容量(CRC)来测量。

[0036] 如本文所用的术语“水性液体”、“水性流体”等可以是指水或水性溶液。本文中的“水性溶液”可以包含一种或多种溶解的盐,其中在一些实施例中最大总盐浓度可以是约3.5重量%。虽然本文中的水性液体通常包含水作为液体中的唯一溶剂,但水性液体可以任选地包含一种或多种可混溶于水中的其他溶剂(例如极性有机溶剂)。因此,水性溶液可以包含具有至少约10重量%的水的溶剂。

[0037] 术语“家用护理产品”和类似术语通常是指与家及其内部的处理、清洁、护理、和/或调节有关的产品、商品和服务。

[0038] 术语“个人护理产品”和类似术语通常是指与人的治疗、清洁、清洗、护理、和/或调节有关的产品、商品和服务。

[0039] 术语“医用产品”和类似术语通常是指与患者的诊断、治疗、和/或护理有关的产品、商品和服务。

[0040] 术语“工业产品”和类似术语通常是指工业环境中使用的产品、商品和服务,但不是个人消费者使用的。

[0041] 术语“按体积计百分比(percent by volume)”、“体积百分比(volume percent)”、“体积%(vol%)”、“体积/体积%(v/v%)”等在本文中可互换地使用。溶质在溶液中的按体积计百分比可以使用下式确定: $[(\text{溶质体积}) / (\text{溶液体积})] \times 100\%$ 。

[0042] 术语“按重量计百分比 (percent by weight)”、“重量百分比 (weight percentage, wt%)”、“重量-重量百分比 (weight-weight percentage, %w/w)”等在本文中可互换地使用。按重量计重量比是指当材料包含在组合物、混合物、或溶液中时, 该材料在质量基础上的百分比。

[0043] 如本文所用的关于多肽氨基酸序列的术语“序列同一性”、“同一性”等如美国专利申请公开号2017/0002336中所定义和确定的, 该专利通过援引并入本文。

[0044] 本文中的交联的接枝共聚物或交联的右旋糖酐 (和用于其合成的反应) 可以任选地被表征为“分离的”, 因为它是合成的/人造的, 和/或具有非天然存在的特性。

[0045] 除非另有公开, 否则如本文所用的术语“增加的”可以是指一种量或活性, 该量或活性比与该增加的量或活性进行比较的量或活性多至少约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、50%、100%、或200%。术语“增加的”、“提高的”、“增强的”、“大于”、“改进的”等在本文中可互换地使用。

[0046] 需要进一步开发基于多糖的组合物以获得增强的超吸收功能。因此, 为了解决这种需要, 本文公开了例如右旋糖酐- α -1,3-葡聚糖接枝共聚物, 该共聚物在其酶促合成后已经是交联的。这类交联的接枝共聚物的各种实施例具有增强的水性液体吸收特征。

[0047] 本公开的某些实施例涉及一种包含交联的接枝共聚物的组合物, 其中该交联的接枝共聚物的接枝共聚物部分包含:

[0048] (i) 包含右旋糖酐的骨架, 和

[0049] (ii) 包含至少约50%的 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖侧链。

[0050] 在典型的实施例中, 交联的接枝共聚物的一种或多种交联键是共价的 (即, 接枝共聚物彼此化学交联)。然而, 预期在一些替代性实施例中, 一个或多个交联键可以是非共价的。本文中的交联键可以在至少两个接枝共聚物分子之间 (即, 分子间交联键)。预期在一些实施例中, 交联键也可以是分子内的, 诸如在同一接枝共聚物分子的单独的聚 α -1,3-葡聚糖侧链之间, 和/或同一接枝共聚物分子的右旋糖酐骨架的不同部分之间。

[0051] 本文中的交联通常经由两个或更多个共价键连接部分。这种交联可以包括, 例如, 至少与葡萄糖单体的氧原子 (之前在交联前为羟基基团) 的共价键, 和与另一个葡萄糖单体的氧原子 (之前在交联前为羟基基团) 的共价键。经由两个共价键的交联连接部分可以具有与 (i) 葡萄糖单体的氧原子和 (ii) 另一个葡萄糖单体的氧原子键合的原子 (“交联原子”)。一个或多个交联原子可以任选地具有与一个或多个其他原子 (例如氢、氧) 的一个或多个其他键, 该一个或多个其他原子通常衍生自用于产生交联的交联剂。例如, 如果使用磷酰氯 (POCl_3 , 也称为三氯化磷) 或三偏磷酸钠 (STMP) 来产生交联, 则这种交联可以任选地表征为具有磷原子作为单个交联原子; 除了与被连接的葡萄糖单体的氧的两个共价键之外, 磷原子还经由双键与氧键合, 并且经由单键与另一个氧键合。在一些实施例中, 交联剂可以具有两个或更多个 (例如, 3、4、5、6、7、8或更多个) 交联原子; 在这些实施例中, 有效连接部分的共价键的数目随交联原子的数目相应地增加。

[0052] 在本公开的一些方面, 交联的接枝共聚物的一个或多个交联键可以包含磷。这种交联的实例是磷酸二酯键。本文中的磷酸二酯键通常在葡萄糖单体的羟基基团之间形成。例如, 磷酸二酯键可以在第一接枝共聚物内的葡萄糖单体的羟基基团与第二接枝共聚物内

的葡萄糖单体的羟基基团之间形成(在该实例中这种键是分子间的)。可以在本文中用于制备包含磷酸二酯键的交联的交联剂可以是例如 POCl_3 。在一些方面,可用于制备包含磷的交联的交联剂可以包括 POCl_3 、多磷酸盐、或STMP。

[0053] 如上所述,本文中的交联可以使用例如 POCl_3 、多磷酸盐、或STMP作为交联剂来制备。合适的交联剂的其他实例包括含硼化合物(例如硼酸、二硼酸盐、四硼酸盐诸如四硼酸盐十水合物、五硼酸盐、聚合化合物诸如Polybor®、碱金属硼酸盐),多价金属(例如,含钛化合物诸如乳酸钛铵、三乙醇胺钛、乙酰丙酮钛、或钛的多羟基络合物;含锆化合物诸如乳酸锆、碳酸锆、乙酰丙酮锆、三乙醇胺锆、乳酸二异丙胺锆、或锆的多羟基络合物),乙二醛,戊二醛,二乙烯基砜,表氯醇,多元羧酸(例如柠檬酸、苹果酸、酒石酸、琥珀酸、戊二酸、己二酸),二氯乙酸,和多胺。适合的交联剂的再其他实例描述于美国专利号4462917、4464270、4477360和4799550以及美国专利申请公开号2008/0112907中,这些专利都通过援引并入本文。在某些方面,交联剂可以溶解在本文中的水性溶剂中。然而在一些方面,交联剂不是含硼化合物(例如,如上所述)。

[0054] 在某些方面,本文中的交联可以涉及可能已衍生到葡萄糖单体上的羧基基团(例如,由该羧基基团制备)。在某些方面,接枝共聚物可以包含添加的羧基基团以用于这种交联化学。然而,在一些方面,交联的接枝共聚物不包含基于这种化学的交联。

[0055] 在一些方面,交联的接枝共聚物在初始交联后可以进一步进行表面交联(在聚合物表面进行交联)。本文中的表面交联方案的实例包括使用多羟基化合物(例如,聚乙烯醇)和/或使用羧甲基纤维素(CMC)加交联剂(例如表氯醇、STMP、磷酸、氨基丙基硅氧烷)。表面交联可以任选地涉及,例如,可能已衍生到葡萄糖单体上的羧基基团和/或可能在初始交联期间引入的羧基基团(例如,由这些羧基基团制备)。本文中的表面交联可以包括美国专利号5462972、6821331、7871640、8361926、或8486855中的任一个中公开的试剂和/或方法,这些专利都通过援引并入本文。然而,在一些方面,交联的接枝共聚物不是表面交联的。

[0056] 除了交联本身的任何影响之外,交联的接枝共聚物通常未衍生化(例如,未醚化、酯化、氧化),也不具有通常已衍生化的接枝共聚物(用于产生交联的接枝共聚物)。

[0057] 本文中的交联的接枝共聚物可以包含同质或异质的接枝共聚物组分。具有同质的接枝共聚物组分的交联的接枝共聚物可以使用接枝共聚物的一种形式、批次、或制剂(例如像在特定酶促反应中制成的那些)来制备。具有异质的接枝共聚物组分的交联的接枝共聚物通常使用接枝共聚物的两者或更多种不同的形式、批次、或制剂(例如像在不同的酶促反应中制成的那些)来制备。例如,分别包含约60重量%的右旋糖酐或90重量%的右旋糖酐的接枝共聚物可以进行交联以形成具有异质接枝共聚物组分的交联的接枝共聚物。

[0058] 在一些实施例中,交联的接枝共聚物可以进一步包含未与右旋糖酐骨架通过糖苷键连接的聚 α -1,3葡聚糖均聚物。这类实施例可以由在右旋糖酐/聚- α -1,3-葡聚糖接枝共聚物(后者由右旋糖酐引物的 α -1,3-葡聚糖合成产生)的酶促合成期间的游离的、未引发的聚 α -1,3-葡聚糖的共同产生引起。这种游离的聚 α -1,3葡聚糖均聚物可以在这些实施例中进行化学交联(例如,与接枝共聚物交联),并且可以具有例如如本文所公开的聚 α -1,3葡聚糖侧链的任何 M_w 。

[0059] 如目前所公开的交联的接枝共聚物在水性条件下通常是不溶性的(水不溶性的)。例如,交联的接枝共聚物在高达约 50°C 、 60°C 、 70°C 、 80°C 、 90°C 、 100°C 、 110°C 、或 120°C 的温

度下可能是不溶性的或者不完全溶解于水或另一种水性组合物中。本文中的水性组合物(诸如水性溶液)可以包含具有至少约10重量%的水的溶剂。在一些实施例中,例如,溶剂为至少约20、30、40、50、60、70、80、90、或100重量%(或在10与100重量%之间的任何整数)的水。在一些实施例中,水性溶液的pH在4与9之间。

[0060] 在一些方面,交联的接枝共聚物的交联度可以使用下式确定(以百分比表示):
[(使用的交联剂中反应性基团的总数)/(接枝共聚物分子中的二糖单元的总数)] \times 100。在一些方面,交联度预期在例如约0.5%-70%、0.5%-50%、2.5%-70%、2.5%-50%、5%-70%、或5%-50%之间。例如,通过改变使用的交联剂的含量可以相应地改变交联度。

[0061] 形成本文中的交联的接枝共聚物的接枝共聚物部分的骨架的右旋糖酐可以包含例如约或至少约50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%的 α -1,6-糖苷键。这种百分比的 α -1,6键谱图考虑了右旋糖酐中所有键的总和(合并的主链和分支部分)。本文中的“右旋糖酐分支”和类似术语意图涵盖在右旋糖酐聚合物用于制备接枝共聚物之前存在于该右旋糖酐聚合物中的任何分支。在一些实施例中,右旋糖酐包含主链,该主链包含约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%的 α -1,6-糖苷键。在一些实施例中,右旋糖酐是完全线性的(100%的 α -1,6-糖苷键)。

[0062] 本文中的右旋糖酐可以包含例如约或至少约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、或20%的 α -1,4-、 α -1,3和/或 α -1,2-糖苷键。通常,这类键全部或几乎全部存在于右旋糖酐的分支部分中,包括分支点。在一些实施例中,右旋糖酐分支可以包含一种、两种(例如, α -1,4和 α -1,3; α -1,4和 α -1,2; α -1,3和 α -1,2)、或全部三种这些类型的键。本文中的右旋糖酐中的 α -1,4-、 α -1,3和/或 α -1,2-糖苷键的总百分比通常不大于50%。在一些方面,诸如对于包含具有约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%的 α -1,6-糖苷键的主链的右旋糖酐,这种右旋糖酐包含约、或至少约、或小于约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、或10%的 α -1,4-、 α -1,3和/或 α -1,2-糖苷键。

[0063] 本文中的右旋糖酐的分支点可以包含 α -1,4-、 α -1,3-、或 α -1,2-糖苷键(例如,分支可以 α -1,3-连接到右旋糖酐主链)。在一些实施例中,可以存在这些分支点中的全部三种,然而在一些实施例中,仅存在这些分支点中的一种或两种(例如, α -1,4和 α -1,3; α -1,4和 α -1,2; α -1,3和 α -1,2)类型。例如,预期右旋糖酐主链的平均每(或至少约每)5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、10至30、15至25、20至30、或20至40个葡萄糖单元出现一个分支点。本文中的包含 α -1,4-、 α -1,3-、和/或 α -1,2-糖苷键的右旋糖酐分子的分支的长度通常为一至三个葡萄糖单体,并且包含右旋糖酐聚合物的全部葡萄糖单体的小于约5%-10%。包含一个葡萄糖单元的分支可以任选地被称为侧链葡萄糖基团。在一些实施例中,右旋糖酐分子的分支可以包含右旋糖酐分子的全部葡萄糖单体的约或小于约10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、或1%。在某些实施例中,按聚合物中糖苷键的百分比,右旋糖酐可以具有约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、或10%的分支点。本文中的分支的糖苷键谱图可以任选地表征为包括糖苷键,该分支通过该糖苷键连接到另一条链。

[0064] 在某些实施例中,接枝共聚物的骨架可以完全由如目前所公开的右旋糖酐构成。然而,在一些方面,骨架可以包含其他元素。例如,接枝共聚物骨架可以包含源自右旋糖酐主链的非还原侧的聚 α -1,3-葡聚糖,这是由于该主链(在其非还原端)在接枝共聚物合成期间用于引发聚 α -1,3-葡聚糖合成。

[0065] 本文中的右旋糖酐的分子量(M_w [重均分子量])可以是例如约、或至少约、或约小于约1000、2000、5000、10000、25000、40000、50000、75000、100000、125000、150000、175000、200000、240000、250000、500000、750000、或1000000道尔顿,或者在约100000-200000、125000-175000、130000-170000、135000-165000、140000-160000、或145000-155000道尔顿的范围内。在一些方面,右旋糖酐的 M_w 可以是约、或至少约、或小于约2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、或200百万道尔顿,或者在约10-80、20-70、30-60、40-50、50-200、60-200、70-200、80-200、90-200、100-200、110-200、120-200、50-180、60-180、70-180、80-180、90-180、100-180、110-180、120-180、50-160、60-160、70-160、80-160、90-160、100-160、110-160、120-160、50-140、60-140、70-140、80-140、90-140、100-140、110-140、120-140、50-120、60-120、70-120、80-120、90-120、90-110、100-120、110-120、50-110、60-110、70-110、80-110、90-110、100-110、50-100、60-100、70-100、80-100、90-100、或95-105百万道尔顿的范围内。本文中的具有至少约50百万道尔顿(例如,50-200百万道尔顿)的 M_w 的右旋糖酐可以任选地被称为“非常大的右旋糖酐”或“非常高分子量的右旋糖酐”。例如,在一些方面,右旋糖酐的 M_w 不低于100000道尔顿,并且因此不是T10($M_w=10000$)、T25($M_w=25000$)或T40($M_w=40000$)右旋糖酐。本文中的任何右旋糖酐 M_w 可以任选地以重均聚合度(DP_w)表示, DP_w 为 M_w 除以162.14。

[0066] 在一些方面,非常大的右旋糖酐可以包含(i)约87-93重量%仅在位置1和6处连接的葡萄糖;(ii)约0.1-1.2重量%仅在位置1和3处连接的葡萄糖;(iii)约0.1-0.7重量%仅在位置1和4处连接的葡萄糖;(iv)约7.7-8.6重量%仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖;以及(v)约0.4-1.7重量%仅在以下位置处连接的葡萄糖:(a)位置1、2和6,或(b)位置1、4和6。在某些实施例中,右旋糖酐可以包含(i)约89.5-90.5重量%仅在位置1和6处连接的葡萄糖;(ii)约0.4-0.9重量%仅在位置1和3处连接的葡萄糖;(iii)约0.3-0.5重量%仅在位置1和4处连接的葡萄糖;(iv)约8.0-8.3重量%仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖;以及(v)约0.7-1.4重量%仅在以下位置处连接的葡萄糖:(a)位置1、2和6,或(b)位置1、4和6。本文中的非常大的右旋糖酐的适合实例描述于下文实例5和6中。

[0067] 在一些方面,非常大的右旋糖酐可以包含约87、87.5、88、88.5、89、89.5、90、90.5、91、91.5、92、92.5、或93重量%仅在位置1和6处连接的葡萄糖。在一些情况下,可以存在约87-92.5、87-92、87-91.5、87-91、87-90.5、87-90、87.5-92.5、87.5-92、87.5-91.5、87.5-91、87.5-90.5、87.5-90、88-92.5、88-92、88-91.5、88-91、88-90.5、88-90、88.5-92.5、88.5-92、88.5-91.5、88.5-91、88.5-90.5、88.5-90、89-92.5、89-92、89-91.5、89-91、89-90.5、89-90、89.5-92.5、89.5-92、89.5-91.5、89.5-91、或89.5-90.5重量%仅在位置1和6处连接的葡萄糖。

[0068] 在一些方面,非常大的右旋糖酐可以包含约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、或1.2重量%仅在位置1和3处连接的葡萄糖。在一些情况下,可以存在约0.1-1.2、0.1-1.0、0.1-0.8、0.3-1.2、0.3-1.0、0.3-0.8、0.4-1.2、0.4-1.0、0.4-0.8、0.5-1.2、

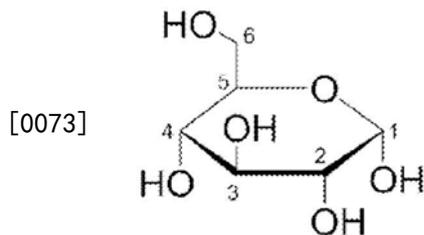
0.5-1.0、0.5-0.8、0.6-1.2、0.6-1.0、或0.6-0.8重量%仅在位置1和3处连接的葡萄糖。

[0069] 在一些方面,非常大的右旋糖酐可以包含约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、或0.7重量%仅在位置1和4处连接的葡萄糖。在一些情况下,可以存在约0.1-0.7、0.1-0.6、0.1-0.5、0.1-0.4、0.2-0.7、0.2-0.6、0.2-0.5、0.2-0.4、0.3-0.7、0.3-0.6、0.3-0.5、或0.3-0.4重量%仅在位置1和4处连接的葡萄糖。

[0070] 在一些方面,非常大的右旋糖酐可以包含约7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、或8.6重量%仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖。在一些情况下,可以具有约7.7-8.6、7.7-8.5、7.7-8.4、7.7-8.3、7.7-8.2、7.8-8.6、7.8-8.5、7.8-8.4、7.8-8.3、7.8-8.2、7.9-8.6、7.9-8.5、7.9-8.4、7.9-8.3、7.9-8.2、8.0-8.6、8.0-8.5、8.0-8.4、8.0-8.3、8.0-8.2、8.1-8.6、8.1-8.5、8.1-8.1、8.1-8.3、或8.1-8.2重量%仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖。

[0071] 在一些方面,非常大的右旋糖酐可以包含约0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、或1.7重量%仅在 (a) 位置1、2和6或 (b) 位置1、4和6处连接的葡萄糖。在一些情况下,可以存在约0.4-1.7、0.4-1.6、0.4-1.5、0.4-1.4、0.4-1.3、0.5-1.7、0.5-1.6、0.5-1.5、0.5-1.4、0.5-1.3、0.6-1.7、0.6-1.6、0.6-1.5、0.6-1.4、0.6-1.3、0.7-1.7、0.7-1.6、0.7-1.5、0.7-1.4、0.7-1.3、0.8-1.7、0.8-1.6、0.8-1.5、0.8-1.4、0.8-1.3重量%仅在 (a) 位置1、2和6或 (b) 位置1、4和6处连接的葡萄糖。

[0072] 本文中的“在位置1和6处连接的葡萄糖(葡萄糖单体)”是指其中只有葡萄糖单体的碳1和碳6涉及各自与两个相邻葡萄糖单体的糖苷键的右旋糖酐的葡萄糖单体。该定义同样适用于 (i) “在位置1和3处连接的”和 (ii) “在位置1和4处连接的”葡萄糖,相应地,将每个对应的键中涉及的不同碳位置考虑在内。本文中的“在位置1、3和6处连接的葡萄糖(葡萄糖单体)”是指其中葡萄糖单体的碳1、碳3和碳6涉及各自与三个相邻葡萄糖单体的糖苷键的右旋糖酐的葡萄糖单体。仅在位置1、3和6处连接的葡萄糖是分支点。该定义同样适用于 (i) 在位置1、2和6处和 (ii) 在位置1、4和6处连接的葡萄糖,但因此将在每个各自的键中涉及的不同碳位置考虑在内。本文中的葡萄糖位置(葡萄糖碳位置)1、2、3、4和6在本领域中是已知的(在以下结构中描绘):



[0074] 可以使用按照本文公开的任何方案产生的右旋糖酐来确定非常大的右旋糖酐的糖苷键谱图。适合的键确定方案的实例可以与美国申请公开号2016/0122445(例如,其中第97段或实例9)中公开的方案相似或相同,该申请通过援引并入本文。

[0075] 据信,本文中的非常大的右旋糖酐可以是分支结构,其中存在彼此迭代分支的长链(主要含有或全部为 α -1,6-键)(例如,长链可以是另一个长链的分支,另一个长链进而本身可以是另一个长链的分支,等等)。分支结构还可以包含来自长链的短分支;这些短链被认为主要包含例如 α -1,3键和 α -1,4键。非常大的右旋糖酐中的分支点,无论是来自从另一个长链分支的长链还是从长链分支的短链,似乎都包含没有 α -1,3键、 α -1,4键、或 α -1,2键而涉及 α -1,6键的葡萄糖。在一些实施例中,平均来说,非常大的右旋糖酐的全部分支点的

约20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、15-35%、15-30%、15-25%、15-20%、20-35%、20-30%、20-25%、25-35%、或25-30%分支成长链。大多数(>98%或99%)或全部其他分支点分支成短链。

[0076] 在一些方面,非常大的右旋糖酐分支结构的长链的长度可以相似。长度相似,这意味着分支结构中全部长链的至少70%、75%、80%、85%、或90%的个体长度(DP)是在分支结构的全部长链的平均长度的加/减15%(或10%、5%)之内。在一些方面,非常大的右旋糖酐的长链的平均长度(mean length或average length)为约10-50DP(即,10-50个葡萄糖单体)。例如,长链的平均个体长度可以是约10、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50、10-50、10-40、10-30、10-25、10-20、15-50、15-40、15-30、15-25、15-20、20-50、20-40、20-30、或20-25DP。

[0077] 在非常大的右旋糖酐的某些实施例中,长链可以包含大量的 α -1,6-糖苷键和少量(小于2.0%)的 α -1,3-糖苷键和/或 α -1,4-糖苷键。例如,非常大的右旋糖酐长链可以包含约或至少约98%、98.25%、98.5%、98.75%、99%、99.25%、99.5%、99.75%、或99.9%的 α -1,6-糖苷键。在某些实施例中,右旋糖酐长链不包含 α -1,4-糖苷键(即,这种长链主要具有 α -1,6键和少量的 α -1,3键)。相反,在一些实施例中,右旋糖酐长链不包含 α -1,3-糖苷键(即,这种长链主要具有 α -1,6键和少量的 α -1,4键)。上述实施例的任何右旋糖酐长链可以进一步不包含例如 α -1,2-糖苷键。仍然在一些方面,右旋糖酐长链可以包含100%的 α -1,6-糖苷键(除了被这种长链用于从另一个链分支的键)。

[0078] 在一些方面,非常大的右旋糖酐分子的短链的长度为一至三个葡萄糖单体,并且包含右旋糖酐聚合物的全部葡萄糖单体的小于约5%-10%。本文中的至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或全部的短链的长度为1-3个葡萄糖单体。右旋糖酐分子的短链可以包含例如非常大的右旋糖酐分子的全部葡萄糖单体的小于约10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、或1%。

[0079] 在一些方面,非常大的右旋糖酐分子的短链可以包含 α -1,2-糖苷键、 α -1,3-糖苷键、和/或 α -1,4-糖苷键。当考虑全部一起(非个体)时,短链可以包含例如(i)这些键中的全部三种、或(ii) α -1,3-糖苷键和 α -1,4-糖苷键。

[0080] 关于包含非常大的右旋糖酐的接枝共聚物,预期本文中的“骨架”是非常大的右旋糖酐的长链。聚 α -1,3-葡聚糖侧链自始至终都可以以如目前所公开的方式(例如,从短链[例如侧链葡萄糖]或长链的非还原端延伸)连接到非常大的右旋糖酐的长链上。

[0081] 本文中的非常大的右旋糖酐的 M_w 为约50-200百万,或落入该范围内的如上文所公开的右旋糖酐的任何 M_w 。

[0082] 本文中的非常大的右旋糖酐的 z -平均回转半径可以是约200-280nm。例如, z -平均 R_g 可以是约200、205、210、215、220、225、230、235、240、245、250、255、260、265、270、275、或280nm(或在200-280nm之间的任何整数)。作为其他实例, z -平均 R_g 可以为约200-280、200-270、200-260、200-250、200-240、200-230、220-280、220-270、220-260、220-250、220-240、220-230、230-280、230-270、230-260、230-250、230-240、240-280、240-270、240-260、240-250、250-280、250-270、或250-260nm。

[0083] 本文中的术语“回转半径”(Rg)是指右旋糖酐的平均半径,并且计算为右旋糖酐分子的组分(原子)与分子重心的均方根距离。Rg可以例如埃或纳米(nm)单位提供。本文中的

右旋糖酐的“z-平均回转半径”是指如使用光散射(例如,MALS)所测量的右旋糖酐的R_g。用于测量z-平均R_g的方法是已知的,并且相应地可以在本文中使用。例如,z-平均R_g可以如以下中所公开的进行测量:美国专利号7531073、美国专利申请公开号2010/0003515和2009/0046274、Wyatt (Anal.Chim.Acta[分析化学学报]272:1-40)、以及Mori和Barth (Size Exclusion Chromatography[尺寸排阻色谱法],Springer-Verlag,Berlin[柏林施普林格出版社],1999),它们全部通过援引并入本文。

[0084] 在一些方面,非常大的右旋糖酐的M_w和/或z-平均R_g可以按照与美国申请公开号2016/0122445(例如,其中第105段或实例9)中公开的方案相似或相同的方案进行测量,该申请通过援引并入本文。

[0085] 例如,本文中的非常大的右旋糖酐可以根据美国申请公开号2016/0122445的公开内容进行酶促合成,该申请通过援引并入本文。例如,如该参考文献中所述,这种右旋糖酐可以在适合的反应中产生,该反应包含GTF 0768或者含有与GTF 0768的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%的同一性的氨基酸序列的GTF。

[0086] 本文中的交联的接枝共聚物的接枝共聚物部分包含右旋糖酐骨架,其中存在包含至少约50%的 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖侧链。这些侧链通常可以经由使如本文中目前所公开的右旋糖酐与可以合成聚 α -1,3-葡聚糖的葡糖基转移酶进行反应而获得。为了清楚起见,这些侧链不应被认为是右旋糖酐的分支。

[0087] 在某些方面,聚 α -1,3-葡聚糖侧链可以包含约或至少约50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、69%、70%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%的 α -1,3糖苷键。在一些方面,预期侧链是用葡糖基转移酶使用侧链葡萄糖或右旋糖酐的其他分支(两者都将非还原端提供给酶用于延伸)作为引物合成的。在侧链由其本身 α -1,3-连接到右旋糖酐主链的侧链葡萄糖合成时,所得的侧链可以具有100%或非常高(例如98%或更高)百分比的 α -1,3-糖苷键。在一些实施例中,在右旋糖酐主链与侧链葡萄糖或更长分支之间的糖苷键被认为是侧链的键。在一些实施例中,在确定侧链的键谱图时考虑了在右旋糖酐主链与分支之间的糖苷键以及在合成侧链的分支内的糖苷键。在一些替代性实施例中,聚 α -1,3-葡聚糖侧链可以包含约或至少约30%的 α -1,3糖苷键。本文中的任何聚 α -1,3-葡聚糖侧链中的键的平衡通常可以伴随着 α -1,6键。

[0088] 本文中的聚 α -1,3-葡聚糖侧链的M_w可以是例如约或至少约1620、1650、1700、2000、5000、10000、15000、16200、20000、25000、30000、40000、50000、60000、70000、75000、80000、90000、100000、110000、120000、125000、130000、140000、150000、160000、162000、或165000道尔顿。预期本文中的接枝共聚物的侧链大小相对均匀。接枝共聚物的侧链可以各自具有例如在约150000-165000、155000-165000、或160000-165000道尔顿范围内的M_w。如果需要,也可以称为接枝共聚物侧链的平均M_w;前述侧链的M_w中的任一个都可以被认为是共聚物的全部侧链的平均M_w。本文公开的侧链的M_w中的任一个(或任何葡聚糖M_w)都可以任选地根据DP_w(即,M_w/162.14)来表征。

[0089] 本文中的接枝共聚物的聚 α -1,3-葡聚糖侧链的数目可以是或可以是至少,例如3

个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个、26个、27个、28个、29个、或30个。在一些实施例中，侧链的数目是例如4个、5个、或6个。在一些方面，前述数目的聚 α -1,3-葡聚糖侧链是侧链的特征，这些侧链为至少约100000、120000、140000、160000、162000、或165000道尔顿。仍然，在另外的方面，前述数目的聚 α -1,3-葡聚糖侧链可以表征其中右旋糖酐组分平均每15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或25个右旋糖酐主链的葡萄糖单元具有一个侧链葡萄糖和/或分支(可以由侧链葡萄糖和/或分支引发/合成侧链)的接枝共聚物。基于右旋糖酐组分的大小(例如，100000-200000道尔顿)、分支/侧链葡萄糖在右旋糖酐主链上的定位(例如，每20个葡萄糖单元约一个)、和接枝共聚物的聚 α -1,3-葡聚糖侧链的数目，在一些情况下，预期接枝共聚物的大部分(例如，至少80%、85%、90%、95%)原始右旋糖酐分支/侧链葡萄糖没有延伸为聚 α -1,3-葡聚糖侧链(即，大部分分支/侧链葡萄糖在其用于合成接枝共聚物之前如它们存在于右旋糖酐中一样)。仍然，在一些其他实施例中，据信可能的是，本文中的接枝共聚物可以具有多达约50、100、500、1000、5000、10000、15000、或20000个聚 α -1,3-葡聚糖侧链。

[0090] 本文中的交联的接枝共聚物的接枝共聚物部分的 M_w (即，原始右旋糖酐分子和接枝共聚物的聚 α -1,3-葡聚糖侧链的组合 M_w)可以是例如约或至少约750000、800000、900000、1000000、1100000、1200000、1300000、1400000、1500000、1600000、1700000、1800000、1900000、或2000000道尔顿。在一些实施例中，包含非常大的右旋糖酐组分的接枝共聚物的 M_w 被认为与如上文对于非常大的右旋糖酐组分本身所公开的重量相似，但是外加了约0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75或2百万道尔顿(在其中存在几个聚 α -1,3-葡聚糖侧链的实施例中)。本文中的接枝共聚物的多分散性指数(M_w/M_n)(PDI)可以是例如约、至少约、或小于约5.0、4.75、4.5、4.25、4.0、3.75、3.5、3.25、3.0、2.75、2.5、2.25、或2.0。

[0091] 在某些实施例中，接枝共聚物可以包含约或至少约0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、99.50-95、60-95、50-90、或60-90重量%的一种或多种如本文所公开的右旋糖酐化合物。

[0092] 例如，本文中的交联的接枝共聚物的接枝共聚物部分可以使用如国际申请公开号W02017/079595(申请号PCT/US2016/060579)中所公开的酶促反应产生，该申请通过援引并入本文。这种酶促反应通常包括至少：(i)水，(ii)蔗糖，(iii)一种或多种如本文所公开的右旋糖酐化合物，和(iv)合成聚 α -1,3-葡聚糖的葡糖基转移酶。在该反应中通过葡糖基转移酶合成聚 α -1,3-葡聚糖可以至少部分地经由使用右旋糖酐作为聚 α -1,3-葡聚糖合成的引物。在酶促产生葡聚糖-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物之后，可以将其化学交联以产生如目前所公开的交联的接枝共聚物。

[0093] 用于制备本文中的接枝共聚物的酶促反应中的右旋糖酐的初始浓度可以是例如约或至少约0.5g/L、1.0g/L、1.5g/L、2g/L、2.5g/L、3g/L、4g/L、5g/L、7.5g/L、10g/L、15g/L、20g/L、或25g/L。“右旋糖酐的初始浓度”是指在葡糖基转移酶反应中在刚添加完所有反应组分(例如，至少水、蔗糖、右旋糖酐、葡糖基转移酶)之后的右旋糖酐浓度。例如，用于进入

反应的右旋糖酐可以来自商业来源或酶促制备。在一些方面,酶促产生(例如,使用右旋糖酐蔗糖酶的右旋糖酐可以(i)以某种方式从初始右旋糖酐合成酶促反应中分离(例如,从葡聚糖蔗糖酶反应中分离),并且然后进入 α -1,3-葡聚糖侧链合成的酶促反应中,或(ii)在不从初始右旋糖酐合成酶促反应中分离的情况下进入 α -1,3-葡聚糖侧链合成的酶促反应中(例如,完成的和/或热灭活的反应直接用于 α -1,3-葡聚糖侧链合成反应)。

[0094] 用于产生接枝共聚物的酶促反应通常包含可以合成包含至少约30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%的 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖的葡糖基转移酶。这种酶可以从右旋糖酐引物位点合成聚 α -1,3-侧链(如上文所公开的),从而形成本文中的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物。在具体的方面,葡糖基转移酶可以合成(i)包含至少约100%或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%的 α -1,3-糖苷键,和/或(ii)至少约16200道尔顿的聚 α -1,3-葡聚糖。

[0095] 例如,在某些实施例中,用于产生聚 α -1,3-葡聚糖侧链的葡糖基转移酶可以包含如在美国专利申请公开号2014/0087431中所公开的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成,该申请通过援引并入本文。此类序列的实例包括与美国专利申请公开号2014/0087431中所公开的SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、26、28、30、34、或59具有100%同一性或至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98.5%、99%、或99.5%同一性并具有葡糖基转移酶活性的那些序列。在一些方面,具有SEQ ID NO:2、4、8、10、14、20、26、28、30、或34的葡糖基转移酶可以合成包含至少约90%的 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖。

[0096] 如果需要,可以控制用于产生接枝共聚物的酶促反应的温度。在某些实施例中,反应的温度可以在约5°C至约50°C、约20°C至约40°C、或约20°C至约30°C之间(例如,约22°C-25°C)。在某些实施例中,酶促反应的pH可以在约4.0至约8.0之间、或约5.0至约6.0之间。可替代地,pH可以为例如约4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、或8.0。可以通过添加或掺入适合的缓冲液来调节或控制pH,该缓冲液包括但不限于:磷酸盐、三羟甲基氨基甲烷、柠檬酸盐、或其组合。例如,葡聚糖合成反应中的缓冲液浓度可以是0mM至约100mM,或约10、20、或50mM。

[0097] 用于产生接枝共聚物的酶促反应中的蔗糖的初始浓度可以是例如约20-400、200-400、250-350、75-175、或50-150g/L。在一些方面,蔗糖的初始浓度可以是例如约或至少约40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、180、200、250、300、或400g/L。“蔗糖的初始浓度”是指在葡糖基转移酶反应中在刚添加完所有反应组分(例如,至少水、蔗糖、葡糖基转移酶)之后的蔗糖浓度。

[0098] 用于产生接枝共聚物的酶促反应中可以使用一种或多种葡糖基转移酶。例如,本文中的酶促反应可以含有一种、两种、或更多种葡糖基转移酶。在一些方面,仅一种或两种葡糖基转移酶被包含在反应中。本文中的反应组合物可以是并且通常是不含细胞的(例如,无全细胞存在)。反应组合物可以包含在适用于应用本文公开的一种或多种反应条件的任何容器(例如,惰性容器/器皿)中。在一些方面,惰性容器可以是不锈钢、塑料、或玻璃(或包含这些组分中的两种或更多种)并且具有适合于包含特定反应的大小。通常,反应时间可以是约1、2、3、4、5、10、12、24、36、48、60、72、84、或9小时。

[0099] 在酶促合成之后,如果需要,接枝共聚物可以在交联之前进行分离(例如,通过过滤或离心)。在这样做时,接枝共聚物从大多数反应溶液中分离,该反应溶液可能包含水、果

糖和某些副产物(例如明串珠菌二糖、可溶性寡糖DP2-DP7、葡萄糖)。分离可以任选地进一步包括用水或其他水性液体洗涤接枝共聚物产物一次、两次、或更多次,和/或干燥该产物。这种洗涤可以使用原始反应或产物样品的体积的约或至少约0.5倍、1倍、1.5倍、或2倍的洗涤体积,和/或涉及例如过滤和/或离心。

[0100] 如目前所公开的交联的接枝共聚物可以例如通过使本文中的接枝共聚物与至少一种交联剂和溶剂接触来产生。该过程步骤可以任选地表征为在水性条件或非水性条件下(取决于所用的溶剂)使接枝共聚物与交联剂接触。因此可以使用本文公开的任何交联剂和/或接枝共聚物。下文和实例中公开的任何过程参数同样可以应用于这些过程限定产物的实施例中。

[0101] 本文进一步公开了一种生产交联的接枝共聚物的方法/过程。该方法可以包括:

[0102] (a) 使至少溶剂、交联剂、和如目前所公开的接枝共聚物接触,由此产生交联的接枝共聚物,并且

[0103] (b) 任选地,分离在步骤(a)中产生的交联的接枝共聚物。

[0104] 方法步骤(a)可以任选地表征为在水性或非水性条件下(取决于溶剂)使接枝共聚物与交联剂接触,和/或可以任选地表征为交联反应。因此在该方法中可以使用本文公开的任何交联剂和/或接枝共聚物。在上述过程和过程限定产物实施例的接触步骤中,总体上需要在适用于使交联剂进行交联的条件下进行。从本公开显而易见的是,进入交联反应的接枝共聚物本身通常如本文所公开的那样在没有任何化学交联的情况下酶促制成。

[0105] 在某些方面,本文中的交联反应可以在水性条件下进行。例如,反应可以任选地包括在水性液体(例如水)中提供至少一种接枝共聚物(例如,如本文所公开的任何接枝共聚物)的制剂(通常为浆液或混合物)作为第一步骤。在这种制剂中接枝共聚物的重量%可以是例如约或至少约1、5、10、15、20、25、30、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10、10-30、10-25、10-20、或10-15(如果需要,这种重量%同样可以应用于非水性反应)。该制剂可以任选地孵育,优选在搅拌下孵育约或至少约0.25、0.50、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、或48小时,和/或在约15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C、50°C、15°C-25°C、15°C-30°C、15°C-40°C、15°C-50°C、20°C-25°C、20°C-30°C、20°C-40°C、或20°C-50°C的温度的室温下孵育。该制剂通常首先在没有pH调节的情况下进行,但可以任选地与pH调节同时制备(下文)。

[0106] 因此,在某些方面,水性制剂的pH可以进行调节(增加或降低)。例如像,当使用 POCl_3 作为交联剂时,可以添加碱(例如氢氧化钠[NaOH])以将pH升高至约8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5、12、8-12、9-12、10-12、8-11.5、9-11.5、或10-11.5。pH调节的制剂可以任选地孵育,优选在搅拌下孵育至少约10、15、20、25、30、45、或60分钟,和/或在如上所列的温度下孵育。pH的调节大体上在之前进行,但可以任选地与交联剂的添加同时进行(下文)。在一些方面,增加pH可以部分或完全地溶解接枝共聚物。

[0107] 通常在pH调节之后,将交联剂(例如,可以在水性条件下溶解的如本文所公开的任何交联剂)溶解在制剂中。所得的制剂中交联剂的浓度可以是例如约或至少约0.2、0.4、0.5、1、1.5、1.6、1.7、2、4、6、8、10、0.5-2、1-2、1.5-2、或1.5-1.7重量%(如果需要,这种重量%同样可以应用于非水性反应)。通常在溶解交联剂的同时施加搅拌(例如,摇动或搅动)。该制剂通常优选在搅拌下孵育至少约0.25、0.50、1、2、3、4、或5小时,和/或在如上所列

的温度下孵育。

[0108] 如果经过pH调节,交联反应可以任选地在完成时被中和(例如,如果pH已经增加则使用HCl),或在分离反应的交联的接枝共聚物产物的同时被中和。中和通常使pH值约为7.0(例如,6.0-8.0、6.5-7.5、6.8-7.2)。

[0109] 例如,根据所使用的交联剂的类型,可以相应地调节上述用于进行交联反应的条件/参数。

[0110] 本文中的交联反应中产生的交联的接枝共聚物可以任选地被分离。例如,可以通过过滤或离心(或本领域已知的从固体中除去液体的任何其他方法)从反应/反应后液体中分离交联产物。分离可以任选地进一步包括用水或其他水性液体洗涤交联的产物一次、两次、或更多次,和/或干燥该产物。在一些方面,可以进行洗涤,使得在洗涤的产物中不能检测到盐(例如NaCl)。一些方面,干燥可以使用本领域已知的任何方法进行,诸如真空干燥、空气干燥或、冷冻干燥。干燥可以任选地在至少约70°C、80°C、90°C、或70°C-90°C的温度下进行。如果需要,干燥的产物可以诸如通过压碎和/或研磨制成微粒形式。

[0111] 本文中的交联反应的交联的接枝共聚物产物的产量百分比可以是例如约或至少约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、或95%。交联的接枝共聚物的产量百分比可以通过例如将实际产物产量除以理论产物产量并乘以100%来测量。

[0112] 包含在本文的组合物中的交联的接枝共聚物可以吸收水性液体。水性液体可以是例如水。在某些方面,水性液体可以是水性溶液,诸如盐溶液(盐水溶液)。盐溶液可以任选地包含约或至少约0.01、0.025、0.05、0.075、0.1、0.25、0.5、0.75、0.9、1.0、1.25、1.5、1.75、2.0、2.5、3.0、0.5-1.5、0.5-1.25、0.5-1.0、0.75-1.5、0.75-1.25、或0.75-1.0重量%的盐(这种重量%值通常是指一种或多种盐的总浓度)。可以用于本文中的水性溶液中的盐的实例包括一种或多种钠盐(例如,NaCl、Na₂SO₄)。盐的其他非限制性实例包括具有(i) 铝、铵、钡、钙、铬(II或III)、铜(I或II)、铁(II或III)、氢、铅(II)、锂、镁、锰(II或III)、汞(I或II)、钾、银、钠、铈、锡(II或IV)、或锌阳离子,和(ii) 乙酸盐、硼酸盐、溴酸盐、溴化物、碳酸盐、氯酸盐、氯化物、亚氯酸盐、铬酸盐、氨脒、氰化物、重铬酸盐、磷酸二氢盐、铁氰化物、亚铁氰化物、氟化物、碳酸氢盐、磷酸氢盐、硫酸氢盐、硫化氢、亚硫酸氢盐、氢化物、氢氧化物、次氯酸盐、碘酸盐、碘化物、硝酸盐、氮化物、亚硝酸盐、草酸盐、氧化物、高氯酸盐、高锰酸盐、过氧化物、磷酸盐、磷化物、亚磷酸盐、硅酸盐、锡酸盐、亚锡酸盐、硫酸盐、硫化物、亚硫酸盐、酒石酸盐、或硫氰酸盐阴离子的那些盐。因此,例如,具有上述(i)的阳离子和上述(ii)的阴离子的任何盐可以在如目前所公开的水性液体中。

[0113] 例如,可以通过测量交联的接枝共聚物的保水值(WRV)来判定包含在本文的组合物中的交联的接枝共聚物对水性液体的吸收。本文中的WRV可以通过本领域已知的任何手段来测量,诸如经由美国专利申请公开号2016/0175811(例如,其中的实例7)中所公开的方法,该申请通过援引并入本文。简而言之,WRV可以使用下式来计算:((湿的交联的接枝共聚物的质量-干燥的交联的接枝共聚物的质量)/干燥的交联的接枝共聚物的质量)*100。例如,可以相对于如目前所公开的任何水性液体测量WRV。因此,尽管术语WRV包含单词“水”,但应理解的是,可以关于本文公开的任何类型的水性液体(诸如水性溶液)测量WRV。

[0114] 在一些实施例中,包含在本文的组合物中的交联的接枝共聚物可以具有约或至少

约400的WRV。例如,本文中的WRV可以是约或至少约400、500、600、700、800、900、1000、1250、1500、1750、2000、2250、2500、2750、3000、或3300。

[0115] 例如,可以通过如下文实例8中或美国专利号8859758(通过援引并入本文)中所公开的测量离心保留容量(CRC)来任选地判定包含在本文的组合物中的交联的接枝共聚物对水性液体的吸收。本文中的CRC值可以根据每克交联的接枝共聚物的水性流体克数(“g/g”)提供。在一些实施例中,交联的接枝共聚物可以具有约或至少约6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、28-33、28-32、20-25、21-24、或22-24g/g的CRC。如果需要,可以通过将CRC测量值乘以100来得到相应的WRV。然而,本文中的吸收可以任选地通过确定负载下吸收(AUL)来测量,诸如经由美国专利号8859758中公开的方法或EDANA(欧洲一次性用品和非织造布协会)标准测试WSP242.2.R3(12),二者均通过援引并入本文。AUL测量值可以根据每克交联的接枝共聚物的水性液体克数(“g/g”)提供,并且可以在合适的压力(例如,约0.5-1.0、0.75-1.0、0.80-0.85、或0.82的psi)下测量。

[0116] 在大多数或所有方面,预期交联的接枝共聚物的吸收性大于接枝共聚物的吸收性,因为接枝共聚物在进行交联形成交联的接枝共聚物之前存在。例如,交联的接枝共聚物的吸收性可以比接枝共聚物的吸收性大至少约2、3、4、5、6、7、或8倍,因为它在交联之前存在。

[0117] 本文中的吸收可以任选地根据可以渗入一定量的交联的接枝共聚物中并被该共聚物保留的水性液体的最大量来表征。在一些方面,具有至少15、20、或15-20g(克)水性液体/g交联的接枝共聚物的吸收能力的交联的接枝共聚物可以表征为是超吸收性的。

[0118] 例如,包含如目前所公开的交联的接枝共聚物的组合物可以呈个人护理产品、家用产品、医疗产品、或工业产品的形式或包含在其中。在这种情况下,在某些实施例中,组合物可以用作吸收性或超吸收性材料,这取决于成分交联的接枝共聚物所表现出的吸收程度。本文中的个人护理产品、家用产品、医疗产品、或工业产品任选地至少部分地设计用于处理水性液体吸收。

[0119] 本文中的个人护理产品和/或用途的实例包括吸收性个人卫生产品,诸如婴儿尿布、如厕训练裤/护垫、失禁产品(例如垫、成人尿布)和女性卫生产品(例如卫生巾/垫、卫生棉条、阴唇间产品、卫生护垫)。因此,在一些方面,个人护理产品可以被表征为可以紧贴或靠近皮肤放置以吸收和容纳从身体排出或流出的流体的个人护理吸收制品。可以相应地调整以利用本文中的交联的接枝共聚物的吸收性(例如,替代或补充产品中最初使用的吸收性材料)的个人护理产品的实例公开在以下中:W01999/037261;美国专利申请公开号2004/0167491、2009/0204091、2001/0014797、2013/0281949、2002/0087138、2010/0241098、2011/0137277和2007/0287971;以及美国专利号4623339、2627858、3585998、3964486、6579273、6183456、5820619、4846824、4397644、4079739、8987543、4781713、5462539、8912383、3749094、3322123、4762521和5342343,所有这些专利申请和专利出版物都通过援引并入本文。

[0120] 本文中的工业产品和/或用途的实例包括电缆包装(例如,用于电力或通信电缆的包装);食物垫;诸如用于将水保留在土壤中和/或将水释放到植物根部的农业和林业应用;消防设备;和清除酸性或碱性水溶液溢出物。可以相应地调整以利用本文中的交联的接枝

共聚物的吸收性的工业产品的实例公开于以下中：美国专利申请公开号2002/0147483、2006/0172048、20050008737、2008/0199577、2012/0328723和2004/0074271；以及美国专利号5906952、7567739、5176930、6695138、4865855、7459501、5456733、9089730、5849210、7670513、7670513、5683813、5342543、4840734和4894179，所有这些专利申请和专利出版物都通过援引并入本文。

[0121] 本文中的医疗产品和/或用途的实例包括伤口愈合敷料，诸如绷带和手术垫；医院床单；卫生巾；药物控释设备；细胞固定化岛；三维细胞培养基质；用于再生医学的生物活性支架；胃膨胀设备；和受控药物的处置。可以相应地调整以利用本文中的交联的接枝共聚物的吸收性的医疗产品的实例公开于以下中：W01998/046159；美国专利申请公开号2005/0256486、20030070232和20040128764；以及美国专利号6191341、7732657、4925453、9161860、3187747和5701617，所有这些专利申请和专利出版物都通过援引并入本文。

[0122] 在一些实施例中，本文中的个人护理产品、家用产品、和/或医疗产品可以吸收体液，诸如尿液、血液、血清、液体粪便物（例如腹泻）、胆汁、胃酸/胃液、呕吐物、羊水、母乳、脑脊髓液、分泌液、淋巴液、黏液（例如鼻腔引流、痰（phlegm））、腹膜液、胸膜液、脓、稀黏液（rheum）、唾液、痰（sputum）、滑液、汗液、和/或眼泪。

[0123] 如目前所公开的组合物可以包含例如约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、99.5、或99.9重量%的本文中的一种或多种交联的接枝共聚物。在某些方面，干组合物可以是呈粉末、颗粒、微胶囊、薄片的形式或任何其他形式的微粒物质。其他实例包括更大的组合物，诸如球粒、棒、核、珠粒、片剂、条棍、或其他附聚物。本文中的干组合物通常具有其中包含的小于3、2、1、0.5、或0.1重量%的水。

[0124] 目前公开了一种吸收方法，该方法包括至少使本文中的交联的接枝共聚物与含水性液体的组合物接触，其中该组合物从含液体的组合物中吸收水性液体。含水性液体的组合物可以是如本文所公开的任何组合物。例如，这种组合物可以是尿液、血液、血清、液体粪便物、胆汁、胃酸/胃液、呕吐物、羊水、母乳、脑脊髓液、分泌物、淋巴液、黏液、腹膜液、胸膜液、脓、稀黏液、唾液、痰、滑液、汗液、眼泪、水、或生理盐水。

[0125] 在某些替代性实施例中，组合物可包含已经交联的非常大的右旋糖酐（非常高分子量的右旋糖酐）。据信，本文所公开的用于交联接枝共聚物的大多数或所有条件可用于交联任何非常大的右旋糖酐（未包含在本文中的接枝共聚物中的右旋糖酐），如上文、下文实例、和美国专利申请公开号2016/0122445中所公开的，该申请通过援引并入本文。还据信，交联的非常大的右旋糖酐可以用于本文公开的任何水性液体吸收应用（例如，超吸收剂）或方法中。因此，在本领域技术人员认为合适的范围内，本公开的关于交联接枝共聚物的任何特征同样可以表征其中交联和使用非常大的右旋糖酐的实施方案。例如，在本领域技术人员认为合适的范围内，如本公开所用的术语“接枝共聚物”可以任选地用术语“非常大的葡右旋糖酐”或“非常高分子量的右旋糖酐”代替。虽然本文中的具有交联的非常大的右旋糖酐的组合物通常独立于包含交联的接枝共聚物的那些组合物，但本文中的一些实施例涉及包含两种类型的交联材料（即，交联的非常大的右旋糖酐和交联的接枝共聚物）的组合物。

- [0126] 本文公开的组合物和方法的非限制性实例包括：
- [0127] 1. 一种包含交联的接枝共聚物的组合物，其中该交联的接枝共聚物的接枝共聚物部分包含：(i) 包含右旋糖酐的骨架，和(ii) 包含至少约50%的 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖侧链。
- [0128] 2. 如实施例1所述的组合物，其中该交联的接枝共聚物的一个或多个交联键是共价的。
- [0129] 3. 如实施例1或2所述的组合物，其中该交联的接枝共聚物的一个或多个交联键包含磷。
- [0130] 4. 如实施例3所述的组合物，其中该交联的接枝共聚物的一个或多个交联键包含磷酸二酯键。
- [0131] 5. 如实施例1、2、3、或4所述的组合物，其中该交联的接枝共聚物的接枝共聚物部分包含至少约50重量%的右旋糖酐。
- [0132] 6. 如实施例1、2、3、4、或5所述的组合物，其中该右旋糖酐具有至少约100000道尔顿的重均分子量(Mw)。
- [0133] 7. 如实施例1、2、3、4、5、或6所述的组合物，其中所述聚 α -1,3-葡聚糖侧链包含至少约95%的 α -1,3-糖苷键。
- [0134] 8. 如实施例1、2、3、4、5、6、或7所述的组合物，其中一个或多个单个的聚 α -1,3-葡聚糖侧链的Mw为至少约100000道尔顿。
- [0135] 9. 如实施例1、2、3、4、5、6、7、或8所述的组合物，其中该右旋糖酐包含：(i) 约87-93重量%在位置1和6处连接的葡萄糖；(ii) 约0.1-1.2重量%在位置1和3处连接的葡萄糖；(iii) 约0.1-0.7重量%在位置1和4处连接的葡萄糖；(iv) 约7.7-8.6重量%在位置1、3和6处连接的葡萄糖；以及(v) 约0.4-1.7重量%在以下位置处连接的葡萄糖：(a) 位置1、2和6，或(b) 位置1、4和6；其中该右旋糖酐的Mw为约50-200百万道尔顿。
- [0136] 10. 如实施例9所述的组合物，其中该右旋糖酐的Mw为至少约100百万道尔顿。
- [0137] 11. 如实施例1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10的组合物，其中该交联的接枝共聚物具有每克(g) 交联的接枝共聚物至少约6克(g) 水性流体的离心保留容量(CRC)。
- [0138] 12. 如实施例1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、或11所述的组合物，其中该交联的接枝共聚物通过使该接枝共聚物部分与交联剂和溶剂接触来生产，任选地，其中该交联剂包含磷酸氯，和/或该溶剂是水性溶剂。
- [0139] 13. 如实施例1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、或12所述的组合物，其中该组合物是个人护理产品、家用护理产品、医疗产品、或工业产品。
- [0140] 14. 一种生产交联的接枝共聚物(诸如实施例1至13中任一项所述的交联的接枝共聚物)的方法，该方法包括：(a) 使至少溶剂、交联剂、和接枝共聚物接触，其中该接枝共聚物包含：(i) 包含右旋糖酐的骨架，和(ii) 包含至少约50%的 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖侧链，由此产生交联的接枝共聚物；以及(b) 任选地，分离在步骤(a)中产生的该交联的接枝共聚物。
- [0141] 15. 如实施例14所述的方法，其中该溶剂是水性的。
- [0142] 16. 一种包含交联的右旋糖酐的组合物，其中该右旋糖酐包含：(i) 约87-93重量%在位置1和6处连接的葡萄糖；(ii) 约0.1-1.2重量%在位置1和3处连接的葡萄糖；(iii) 约

0.1-0.7重量%在位置1和4处连接的葡萄糖；(iv)约7.7-8.6重量%在位置1、3和6处连接的葡萄糖；以及(v)约0.4-1.7重量%在以下位置处连接的葡萄糖：(a)位置1、2和6，或(b)位置1、4和6；其中该右旋糖酐的重均分子量(Mw)为约50-200百万道尔顿。

[0143] 17.如实施例16所述的组合物，其中该交联的右旋糖酐的一个或多个交联键是共价的。

[0144] 18.如实施例16或17所述的组合物，其中该交联的右旋糖酐的一个或多个交联键包含磷。

[0145] 19.如实施例18所述的组合物，其中该交联的右旋糖酐的一个或多个交联键包含磷酸二酯键。

[0146] 20.如实施例16、17、18、或19所述的组合物，其中该右旋糖酐具有至少约100百万道尔顿的Mw。

[0147] 21.如实施例16、17、18、19、或20的组合物，其中该交联的右旋糖酐具有每g交联的接枝共聚物至少约6g水性流体的离心保留容量(CRC)。

[0148] 22.如实施例16、17、18、19、20、或21所述的组合物，其中该交联的右旋糖酐通过使该右旋糖酐与交联剂和溶剂接触来生产，任选地，其中该交联剂包含磷酰氯，和/或该溶剂是水性溶剂。

[0149] 23.如实施例16、17、18、19、20、21、或22所述的组合物，其中该组合物是个人护理产品、家用护理产品、医疗产品、或工业产品。

[0150] 24.一种生产交联的接枝共聚物(诸如实施例16至23中任一项所述的交联的接枝共聚物)的方法，该方法包括：(a)使至少溶剂、交联剂、和实施例16所述的右旋糖酐接触，由此产生交联的接枝共聚物；以及(b)任选地，分离在步骤(a)中产生的该右旋糖酐。

[0151] 25.如实施例24所述的方法，其中该溶剂是水性的。

[0152] 实例

[0153] 本公开在以下实例中进一步举例说明。应当理解，这些实例尽管说明了本文的某些优选方面，但仅是以例证的方式给出的。从上述论述和这些实例中，本领域的技术人员可确定所公开的实施例的必要特性，并且在不脱离所公开的实施例的精神和范围的情况下，可进行各种变化和修改以使所公开的实施例适应多种用途和条件。

[0154] 实例1

[0155] 由高分子量的右旋糖酐引物合成聚 α -1,3-葡聚糖

[0156] 本实例描述了使用可商购获得的具有高重均分子量(平均150kDa)的右旋糖酐作为引物，用葡糖基转移酶合成聚 α -1,3-葡聚糖。产生包含右旋糖酐骨架和聚 α -1,3-葡聚糖侧链的接枝共聚物。

[0157] 用包含水、蔗糖(约100g/L)、右旋糖酐、和基于唾液链球菌(*Streptococcus salivarius*)的葡糖基转移酶的反应(A和B)进行两种单独的聚 α -1,3-葡聚糖聚合，该葡糖基转移酶合成具有全部或几乎全部 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖。可用于这类反应的葡糖基转移酶的实例包括美国专利申请公开号2014/0087431中公开的那些葡糖基转移酶，该申请通过援引并入本文(例如，其中的SEQ ID NO:4或8)。

[0158] 通过混合940g(克)DI(去离子)水、100g蔗糖(OmniPur Calbiochem 8550;批次VF20C;FW 342.30)、和1.36g单磷酸钾(MW136.09;西格玛(Sigma)P5379)来制备反应A和B中

的每一个。使用电导仪测量pH为5.6,并使用几滴1N H₂SO₄将pH下调至5.54。取出1mL样品用于HPLC时间点零(右旋糖酐添加之前)。然后,分别向反应A和B中添加5g和10g的150kDa(平均)的右旋糖酐(西格玛D4876)。将每个反应的500mL装进各个烧瓶中。

[0159] 在以约190RPM混合每个反应以溶解所添加的右旋糖酐之后,从每个反应取出1mL HPLC样品用于时间点零(右旋糖酐添加后)分析。将每个反应放入设定为25℃的循环加热器/冷却器中,并以150rpm开始搅拌。允许反应达到温度(约24.4℃)并在添加酶之前搅拌约45分钟。然后将50U的葡糖基转移酶添加到每个反应中。

[0160] 在每个反应的2小时和结束(24小时)时,从反应A和B的每一个中取出滤液样品(即从不溶性产物中分离的液体)(1mL)用于HPLC。通过在90℃下热淬灭10分钟使样品失活用于HPLC。将样品通过0.45μm PTFE过滤器过滤并稀释用于HPLC分析。

[0161] 除了反应B的2小时和24小时样品之外,对所有时间点滤液样品进行两次相同的稀释。样品A 2小时、B 2小时、和B 24小时均很难通过0.45μm PTFE过滤器进行过滤。所有样品都在各种的HPLC柱中以一式两份运行。

[0162] 在2小时从反应A和B的每一个中取出全反应样品(50ml)并尽可能干地通过塑料一次性过滤器进行吸滤。在用50mL热水洗涤不溶性产物两次之前,将滤液除去并单独保存。将不溶性聚合物样品保存在玻璃小瓶中并储存在10℃,然后通过尺寸排阻色谱法(SEC)分析以确定表观DP(聚合度)、真实DP、表观IV(特性黏度)和真实IV。将来自每个2小时样品的过量不溶性聚合物在60℃的真空烘箱中在氮气下干燥3天,并称重以确定固体百分比。

[0163] 抽吸来自合成的聚合物的滤液花费的时间比预期的更长,并且可能与仍然含有蔗糖和葡糖基转移酶的滤液中的不溶性聚合物的持续产生有关。一旦收集了全部滤液,就取出1mL样品并使其失活用于HPLC(参见上文),同时在70℃-80℃水浴中持续15分钟使剩余物失活,冷却,并且然后过滤以除去不溶性聚合物产物。

[0164] 然后将滤液置于透析管(14kDa截留分子量[MWCO])中并在流动水中透析2天以除去单糖(果糖、葡萄糖)和低聚物(DP 2-7)。在透析期间形成一些小的固体,因此内容物首先被过滤,并且然后旋转蒸发(旋蒸)成液体浓缩物,将其冷冻在液氮中。然后将冷冻浓缩物冷冻干燥2-3天,之后对于固体称重并通过SEC进行分析。

[0165] 24小时后,对反应A和B的每一个中产生的聚合物产物浆液进行吸滤。单独保存每种滤液并取出HPLC样品。用500mL蒸馏水将聚合物洗涤两次(室温),之后吸出总水量,留下湿滤饼。对湿滤饼称重并取出其样品用于SEC分析。将湿滤饼样品(约5-6g)进行烘干(60℃持续3天),并基于初始湿滤饼重量计算总的不可溶性聚合物产物产量。将剩余的聚合物湿滤饼冷冻用于后续分析。使剩余的滤液在90℃水浴中持续15分钟而失活,并如上所述在流动水中透析2天。过滤透析液,旋蒸至约80mL,冷冻干燥,称重并提交用于SEC。经HPLC分析,聚合反应A与B之间的单糖和低聚物(DP 2-7)生成是正常的和相似的。通过在室温下在DMSO/2%LiCl中摇动10分钟,将湿滤饼样品溶解用于SEC分析。

[0166] 下表1-4中提供了反应A和B的滤液和不可溶性产物的各个方面。

[0167] 表1

[0168] 滤液中存在的总固体

冷冻干燥的滤液固体*		
反应	2 小时	24 小时
A	0.27 g	3.13 g
B	0.37 g	4.75 g
*包括低聚物		

[0170] 表2

[0171] 蔗糖和右旋糖酐转化率

反应	蔗糖 转化率	右旋糖酐 转化率
A	99.3%	73%
B	99.3%	64%

[0173] 表3

[0174] 在滤液中回收的右旋糖酐

回收的右旋糖酐					
反应/时间点	Mn	Mw	DPw	Mz	Mw/Mn
A/2 小时	15196	212556	1312	2644592	13.99
A/24 小时	10195	30003	185	72429	2.94
B/2 小时	15541	190473	1176	1921736	12.26
B/24 小时	11340	45326	280	137362	4.00
起始右旋糖酐	20120	244127	1507	1260514	12.13

[0176] 表4

[0177] 右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖共聚物产物的分子量分布

反应/时间点	右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖共聚物				
	Mn (kDa)	Mw (kDa)	DPw	Mz (kDa)	Mw/Mn
A/2 小时	525	1156	7137	1942	2.2
A/24 小时	322	1011	6244	2126	3.14
B/2 小时	465	1005	6202	1765	2.16
B/24 小时	285	802	4948	1764	2.81

[0179] 每个反应中使用的起始右旋糖酐的SEC分析示出它是分支的。据估计,右旋糖酐的每20个单体单元约有一个从起始右旋糖酐分支的侧链葡萄糖。每个聚合反应(24小时)得到具有高DPw的水不溶性聚合物:反应A为约6000(10g/L右旋糖酐负载),并且反应B为约5000(20g/L右旋糖酐负载)(表4)。聚 α -1,3-葡聚糖链从右旋糖酐分支点生长出来,形成接枝共聚物(参考图1和2)。

[0180] 右旋糖酐酶降解分析表明,聚 α -1,3-葡聚糖侧链各自具有大致1000的DPw。简言之,通过单独使右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物产物与缓冲反应(pH 5.3-5.7,室温,章动)中的右旋糖酐酶反应约4天来进行右旋糖酐酶测定。

[0181] 因此,考虑到起始右旋糖酐具有约1500的测量DPw(表3),并且每个侧链为约

1000DP_w,所以每个右旋糖酐上可能平均具有约4-5个聚 α -1,3-葡聚糖链。基于这一观察结果,似乎只有右旋糖酐的侧链葡萄糖单元的一小部分用于引发聚 α -1,3-葡聚糖侧链合成(即,可能仅有约4-5个侧链,然而鉴于右旋糖酐的每20个单体单元存在一个侧链葡萄糖基团,因此可能具有约75个侧链[DP_w 1507除以20])。

[0182] 与起始右旋糖酐分子量相比,在24小时反应的滤液样品中回收的右旋糖酐的分子量较低(表3)。虽然有一种假设是右旋糖酐可能已经被反应中的葡糖基转移酶降解,但发现并非如此(参见实例3)。因此,可能在反应过程中右旋糖酐被有效分馏,其中较高分子量的右旋糖酐优先用作引发聚 α -1,3-葡聚糖侧链合成的底物。在这一情况下,用于引发不溶性接枝共聚物的合成的较大右旋糖酐分子将从可溶性池(soluble pool)中除去,从而在反应滤液中留下较小的右旋糖酐分子。这一观察结果是有趣的,特别是考虑到其他工作(W015/119859),表明右旋糖酐分子量在通过葡聚糖转移酶对包含1,3-糖苷键的葡聚糖合成的右旋糖酐引发中不起作用。

[0183] 因此,产生了包含右旋糖酐骨架和聚 α -1,3-葡聚糖侧链的接枝共聚物。例如,这些接枝共聚物中的每一种都可以任选地按照下文实例8中公开的程序进行交联。可能有趣的是,考虑到理论上可能已经有至少10-15倍以上的合成的侧链,存在相对较少的侧链(4-5个)。而且,在用于制备该接枝共聚物的反应中,与较低分子量的右旋糖酐相反,似乎高分子量的右旋糖酐优先用作通过葡糖基转移酶合成主要包含 α -1,3-糖苷键的葡聚糖的底物。

[0184] 实例2

[0185] 控制葡糖基转移酶反应的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物产物的分子量和多分散性

[0186] 本实例是对实例1的补充,例如,它们一起表明,右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物产物的分子量和多分散性可以通过改变进入葡糖基转移酶反应的右旋糖酐的浓度来控制。

[0187] 一般来讲,除了如下所示之外,应用实例1中所述的程序来合成并分析右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖共聚物。

[0188] 简言之,用100g/L蔗糖和100U/L基于唾液链球菌的葡糖基转移酶、在约25°C下在150rpm搅拌下运行两个500mL葡聚糖合成反应,该葡糖基转移酶合成具有全部或几乎全部 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖。为了建立这些反应,将100g蔗糖(OmniPur Calbiochem 8550)和1.36g磷酸氢二钾(西格玛P5379)溶解于940g自来水中并用NaOH调节至pH 5.5。取出1mL样品($t=0$)用于HPLC分析,之后将溶液分成两个500mL部分。反应A和B的烧瓶各自装有500mL蔗糖溶液和分别1.25g或2.5g的150kDa(平均)的右旋糖酐(西格玛D4876)。取出HPLC($t=0$)样品,之后添加葡糖基转移酶。

[0189] 添加酶后2小时,从反应A和B的每一个中取出50mL样品(反应溶液和不溶性产物)并吸滤。保存滤液;取出1mL的每种滤液用于HPLC($t=2$ 小时)。将不溶性聚合物产物用50mL热水洗涤两次并通过SEC进行分析。使滤液在80°C水浴中持续15分钟而失活,在流动水中重新过滤并透析(14kDa MWC0)18天,以除去单糖(果糖、葡萄糖)和低聚物(DP 2-7)。

[0190] 添加酶后24小时,将在反应A和B中的每一个中产生的聚合物产物浆液在循环浴中加热至65°C并搅拌1小时来使酶失活。然后将浆液吸滤;保存每种滤液并取出1mL样品($t=24$ 小时)用于HPLC分析。洗涤聚合物,之后吸出总水量,留下湿滤饼。对湿滤饼称重并取出其

样品用于SEC分析。将湿滤饼样品进行烘干(60℃持续3天),并基于初始湿滤饼重量计算总的不溶性聚合物产物产量。将剩余的聚合物湿滤饼冷冻用于后续分析。如上所述将滤液在流动水中透析17天。过滤透析液,旋蒸至约80mL,冷冻干燥,称重并提交用于SEC。经HPLC分析,聚合反应A与B之间的单糖和低聚物(DP 2-7)生成是正常的和相似的。

[0191] 下表5-7中提供了本实例的反应A和B的滤液和不溶性产物的各个方面。

[0192] 表5

[0193] 滤液中存在的总固体

冷冻干燥的滤液固体*		
反应	2 小时	24 小时
A	0.057 g	0.086 g
B	0.099 g	0.322 g
*去除的单糖和低聚物		

[0195] 表6

[0196] 蔗糖和右旋糖酐转化率

反应	蔗糖转化率	质量余量	右旋糖酐转化率
A	99.3%	98.2%	92%

B	99.4%	99.0%	86%
---	-------	-------	-----

[0199] 表7

[0200] 右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖共聚物产物的分子量分布

反应	时间点	起始右旋糖酐浓度	右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖共聚物				
			Mn (kDa)	Mw (kDa)	DPw	Mz (kDa)	Mw/Mn
A (实例 2)	24 小时	2.5 g/L	261	1198	7394	2520	4.59
B (实例 2)	24 小时	5 g/L	301	1236	7629	2518	4.10
A (实例 1)	24 小时	10 g/L	322	1011	6244	2126	3.14
B (实例 1)	24 小时	20 g/L	285	802	4948	1764	2.81
A (实例 2)	2 小时	2.5 g/L	177	1762	10873	2814	9.96
B (实例 2)	2 小时	5 g/L	259	1499	9255	2555	5.78
A (实例 1)	2 小时	10 g/L	525	1156	7137	1942	2.2
B (实例 1)	2 小时	20 g/L	465	1005	6202	1765	2.16

[0202] 在本实例中,24小时后每个聚合反应产生具有约7500的高DPw的水不溶性聚合物(表7)。不溶性聚合物产物的多分散性(Mw/Mn)相对较高,尤其是对于使用较少起始右旋糖酐的反应(表7),这表明除了右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物之外,不溶性产物中还存在聚 α -1,3-葡聚糖均聚物。在缺乏右旋糖酐的体系中可以预期这种结果;实际上,具有较高量的起始右旋糖酐的反应(实例1)生成具有较低多分散性的产物(表7)。因此,似乎可以将本文中产生的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的多分散性作为进入葡糖基转移酶

反应中的右旋糖酐水平的函数进行控制。

[0203] 图3示出,对于其中在大部分起始右旋糖酐已被消耗的24小时反应,起始右旋糖酐浓度与所形成的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物产物的DPw之间的关系。在低右旋糖酐浓度下,单独的聚 α -1,3-葡聚糖的均聚反应与右旋糖酐引发相竞争,而在较高右旋糖酐浓度下,每个右旋糖酐链获得较少的葡聚糖接枝物。当在具有100g/L蔗糖和100U/L葡糖基转移酶的反应中使用5g/L右旋糖酐(图3,表7)时,似乎产生最大的接枝共聚物分子量。因此,似乎可以将本文中产生的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的分子量作为进入葡糖基转移酶反应中的右旋糖酐水平的函数进行控制。

[0204] 因此,产生了包含右旋糖酐骨架和聚 α -1,3-葡聚糖侧链的接枝共聚物。例如,这些接枝共聚物中的每一种都可以任选地按照下文实例8中公开的程序进行交联。而且,右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖共聚物产物的分子量和多分散性可以通过改变进入葡糖基转移酶反应的右旋糖酐的浓度来控制。

[0205] 实例3

[0206] 葡糖基转移酶活性不降解右旋糖酐

[0207] 本实例证明,实例1和2中使用的合成右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的葡糖基转移酶不降解右旋糖酐。因此,在以上反应中观察到的表观右旋糖酐分配效应不是由于葡糖基转移酶活性对右旋糖酐的降解所致。

[0208] 如实例1中所述,当用右旋糖酐引发葡糖基转移酶的聚 α -1,3-葡聚糖合成时,回收的未反应的右旋糖酐具有比最初用于该反应中的右旋糖酐显著更低的分子量。尚不清楚右旋糖酐在葡糖基转移酶反应中是否被有效分馏-优先使较大的右旋糖酐链反应以形成不溶性右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖共聚物,从而在反应溶液中留下较小的未反应的右旋糖酐链-或者葡糖基转移酶是否能够降解右旋糖酐。

[0209] 该实验的目的是检查在正常反应条件下(但没有蔗糖),将右旋糖酐暴露于实例1和2中使用的葡糖基转移酶是否将导致右旋糖酐降解。将2.5g的150kDa(平均)右旋糖酐(西格玛D4876)和0.68g磷酸氢二钾(西格玛P5379)溶解于490g自来水中以提供pH 5.59的溶液。在25°C下在反应器中搅拌该溶液,之后添加50U的葡糖基转移酶。然后在150rpm下搅拌该溶液持续24小时,并且然后从热水浴中旋蒸以留下潮湿的固体。在20mL蒸馏水中吸收固体,并通过吸滤使所得的混浊溶液变得澄清;去除非常少量(约0.1g)的浅棕色固体。将滤液冷冻干燥以回收2.87g右旋糖酐,将其通过SEC进行分析并与起始右旋糖酐进行比较(表8)。

[0210] 表8

[0211] 暴露于葡糖基转移酶之前和之后对右旋糖酐分子量的分析

[0212]

右旋糖酐	Mn (kDa)	Mp (kDa)	Mw (kDa)	Mz (kDa)	Mw/Mn	DPw
起始	60.07	83.6	258	1221	4.29	1593
回收的	58.01	83.6	249	1255	4.30	1537

[0213] 表8中的结果表明,葡糖基转移酶在实例1和2中使用的反应条件下(但没有蔗糖)不会降解右旋糖酐。该结果表明,聚 α -1,3-葡聚糖接枝到右旋糖酐上的酶促过程有效地作用于如上所述基于分子量的右旋糖酐分馏。

[0214] 实例4

[0215] 由较低分子量右旋糖酐合成聚 α -1,3-葡聚糖

[0216] 本实例描述了使用可商购获得的重均分子量为约40kDa的右旋糖酐引物,用葡糖基转移酶合成聚 α -1,3-葡聚糖。

[0217] 该实验的目的是使用比实例1和2中使用的右旋糖酐具有更低分子量的右旋糖酐来合成右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物。该实验中使用的右旋糖酐具有约35-45kDa的分子量,该分子量比实例1和2中使用的右旋糖酐的分子量大致低四倍。

[0218] 如下进行1000mL的聚 α -1,3-葡聚糖聚合反应。将蔗糖(100g;OmniPur Calbiochem 8550)、右旋糖酐(10g,35-45kDa,DPw=220-280,西格玛D1662)和磷酸氢二钾(1.36g,西格玛P5379)溶解于940g自来水中以得到pH 5.67。然后开始在25°C/150rpm下搅拌,之后添加100U的以上实例中使用的葡糖基转移酶;继续在25°C/150rpm下搅拌24小时。1.5小时后,将50mL不溶性产物样品进行吸滤、洗涤并抽吸为潮湿的湿滤饼(8.7g),并提交用于SEC分析。在24小时,将不溶性产物浆液进行吸滤并用500mL热自来水洗涤三次。吸取总水量并对湿滤饼称重(480g)。取出湿滤饼样品用于SEC分析和固体百分比确定(7.6重量%),后者通过烘干(60°C持续3天)完成。基于初始湿滤饼重量和固体百分比计算总不溶性右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖产物产量。确定1.5小时和12小时时每种不溶性产物的分子量分布(表9)。

[0219] 表9

[0220] 右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖共聚物产物的分子量分布

		右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖共聚物				
[0221] 时间点	Mn (kDa)	Mp (kDa)	Mw (kDa)	DPw	Mz (kDa)	Mw/Mn
1.5 小时	359	478	593	3660	946	1.65
24 小时	210	365	474	2926	836	2.26

[0222] 基于测量的DPw,似乎在右旋糖酐上合成了两个或至多三个聚 α -1,3-葡聚糖侧链。这个结果似乎很有趣,因为比本实例中使用的右旋糖酐(40kDa)大致大四倍的右旋糖酐(平均150kDa,实例1)具有约4-5个合成于其上的聚 α -1,3-葡聚糖侧链(参见实例1)。如果2-3个侧链可以在40kDa右旋糖酐上合成,则可以预期在150kDa右旋糖酐上会合成约8-12个侧链(而不是4-5个)。

[0223] 如本实例所示,约40kDa的右旋糖酐可以用于引发聚 α -1,3-葡聚糖侧链合成。就实例1而言,这个结果是值得注意的,该结果示出当存在较大的右旋糖酐分子时,具有相似分子量的右旋糖酐不引发这种侧链合成。鉴于本实例表明较小分子量的右旋糖酐在单独使用时可以引发聚 α -1,3-葡聚糖侧链合成的结果,实例1中观察到的分配效应(较大的右旋糖酐优先用于引发不溶性产物的合成,而较小的右旋糖酐保留在溶液中)因此更有趣。无论这些见解如何,本实例中产生的每种接枝共聚物都可以任选地按照例如下文实例8中公开的程序进行交联。

[0224] 实例5

[0225] 由非常高分子量的右旋糖酐引物聚合聚 α -1,3-葡聚糖

[0226] 本实例描述了使用具有非常高的重均分子量(至少50百万道尔顿)的右旋糖酐,用葡糖基转移酶合成聚 α -1,3-葡聚糖。产生了包含非常大的右旋糖酐主链和聚 α -1,3-葡聚糖侧链的接枝共聚物。

[0227] 具有非常高分子量的右旋糖酐

[0228] 首先如通过援引并入本文的美国专利申请公开号2016/0122445(其中的使用GTF 0768的实例9)中所述制备具有非常高重均分子量的右旋糖酐,但使用300g/L蔗糖(而不是100g/L蔗糖)。认为该右旋糖酐的键结构与US2016/0122445(其中的实例9)中公开的键结构一致;表10列出了最初溶解在DMSO或DMSO/5%LiCl中的样品的键,如US2016/0122445(其中的实例9中所公开的)。

[0229] 表10

[0230] 非常高分子量的右旋糖酐的键谱图

样品	右旋糖酐中葡萄糖单体的重量%/摩尔%				
	3-glc ^a	6-glc ^b	4-glc ^c	3,6-glc ^d	2,6- + 4,6-glc ^e
DMSO	0.4	90.2	0.4	8.3	0.7
DMSO/5% LiCl	0.9	89.3	0.4	8.0	1.4

[0232] ^a在碳位置1和3处连接的葡萄糖单体。

[0233] ^b在碳位置1和6处连接的葡萄糖单体。

[0234] ^c在碳位置1和4处连接的葡萄糖单体。

[0235] ^d在碳位置1、3和6处连接的葡萄糖单体。

[0236] ^e在碳位置1、2和6,或1、4和6处连接的葡萄糖单体。

[0237] 基于该信息和一些其他研究(数据未示出),预期该产物是分支结构,其中长度约为20DP(平均值)的长链(包含大多数或全部 α -1,6-键)彼此迭代分支(例如,长链可以是另一个长链的分支,另一个长链进而本身可以是另一个长链的分支,等等)。分支结构也似乎包含来自长链的短分支;这些短链被认为长度为1-3DP,并且主要包括例如 α -1,3-键和 α -1,4-键。右旋糖酐中的分支点,无论是来自从另一个长链分支的长链还是从长链分支的短链,似乎都包含没有 α -1,3-键、 α -1,4-键或 α -1,2-键而涉及 α -1,6-键的葡萄糖。右旋糖酐的所有分支点中大致25%分支成长链。

[0238] 认为本实例中制备的右旋糖酐的分子量和其他尺寸特征与US2016/0122445(其中的实例9)中公开的特征一致,这些特征如下:重均分子量(Mw)为 $1.022(+/-0.025) \times 10^8$ g/mol(即约100百万道尔顿)(来自MALS分析),z-平均回转半径为243.33(+/-0.42)nm(来自MALS分析),z-平均流体动力学半径为215nm(来自QELS分析),并且粒度分布(PSD)的标准偏差为约0.259(来自QELS分析,表明根据流体动力学尺寸的多分散性)。在本实例中产生的非常高分子量的右旋糖酐可以任选地用于下文实例9中所述的用于制备交联的右旋糖酐的程序中。

[0239] 包含非常高分子量的右旋糖酐的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物

[0240] 将上文制备的非常高重均分子量的右旋糖酐用于以下酶促反应中以制备右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物。

[0241] 使用以上实例中使用的100g/L蔗糖、9.8g/右旋糖酐和100U/L葡糖基转移酶,在25°C下在150rpm的搅拌下进行500mL聚 α -1,3-葡聚糖合成反应。为了建立该反应,将右旋糖酐(4.9g)在研钵和研杵中研磨,并在50°C下与470g自来水一起搅拌16小时以得到混浊溶液。然后添加蔗糖(50g,OmniPur Calbiochem 8550)和磷酸氢二钾(0.68g,西格玛P5379)并搅拌溶解以得到pH5.75。在25°C下在反应器中搅拌溶液,之后添加葡糖基转移酶(50U)。在大约半小时内,反应已经变成大小约5mm的坚硬、海绵状颗粒的悬浮液。

[0242] 在2小时,从反应中取出50mL样品(聚合物颗粒堵塞移液管,因此没有获得太多不溶性产物)。将该样品(悬浮液)静置几个小时,然后吸滤、洗涤并抽吸成潮湿的湿滤饼(1.3g),并提交用于SEC分析。该样品未被失活以杀死酶活性,所以在其吸滤之前可能形成另外的聚 α -1,3-葡聚糖。加热滤液使其中的酶失活。继续反应至24小时,之后抽滤不溶产物浆液;保存滤液(350mL)并通过HPLC进行分析。

[0243] 通过以100mL/min和10psig循环穿过Millipore PELLICON 2PLCTK再生纤维素交叉流动膜(30kDa截留;0.1m²)将初始滤液进行透析。该透析用于除去单糖和低聚物(经由渗透物),并将未反应的可溶性右旋糖酐留在保留物中。将去离子水连续添加到再循环进料中以代替失去渗透物的水;最后,使用3500mL的水洗掉单糖和低聚物。然后将保留物冷冻干燥以回收<0.1g未反应的右旋糖酐。酶反应中仅有少量可溶性右旋糖酐的这些结果表明大多数右旋糖酐用于引发聚 α -1,3-葡聚糖合成,因此将右旋糖酐吸引到该反应的不溶性产物中。

[0244] 将葡糖基转移酶反应的不溶性产物(右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物)用500mL热自来水洗涤三次;该产物由大部分5mm颗粒和少量细粒组成。吸取总水量并对潮湿的颗粒称重(82.8g,24小时样品);取出产物样品用于SEC和固体百分比测定。为此,将湿滤饼样品(1.105g)烘干(60°C/2天)。分离的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物包含约25%右旋糖酐和75%聚 α -1,3-葡聚糖。

[0245] 右旋糖酐酶降解分析(如实例1中所述进行)表明合成的共聚物的聚 α -1,3-葡聚糖侧链各自具有大致1000的DP_w。该侧链长度分子量估计值与对于由较低分子量的右旋糖酐合成的侧链观察到的相同(实例1-2)。

[0246] 因此,产生了包含(i)非常大的分支右旋糖酐骨架和(ii)聚 α -1,3-葡聚糖侧链的接枝共聚物。这种接枝共聚物中可以任选地按照例如下文实例8中公开的程序进行交联。

[0247] 实例6

[0248] 另外的包含非常高分子量的右旋糖酐的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的制备

[0249] 在本实例中制备了另外的包含非常高分子量的右旋糖酐的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物。实例5中描述的非常高分子量的右旋糖酐用于合成这些另外的接枝共聚物。

[0250] 建立了八个葡糖基转移酶(100U/L)反应,并且总体上如实例5所述进行,但具有以下修改。这些反应在25°C下使用螺旋带搅拌器在150rpm搅拌下在1L反应中进行。表11列出了进入每个反应中的右旋糖酐和蔗糖的量。反应的pH值为5.2-5.8,且未进行调节。在开始反应之后24小时取出不溶性产物样品;通过过滤和洗涤处理这些样品。对所得的湿滤饼称重并干燥其样品以确定固体百分比和产量。通过SEC和NMR分析不溶性产物样品。每个反应的结果汇总在表11中。

[0251] 表11

[0252] 在葡糖基转移酶反应中产生的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的特性

1 L 反应			共聚物产物特征		
右旋糖酐 (g)	蔗糖 (g)	转化的蔗糖 (%)	共聚物产量 (g)	共聚物中的右旋糖酐 (重量%)	共聚物外观
5	100	100	40.0	10.6	停止搅拌; 大颗粒 (约 5 mm 球), 非常粗糙的微粒, 没有细粒, 沉降的
5	200	100	68.8	5.9	悬浮在细浆中的大颗粒 (约 4 mm); 大多数是颗粒状的
[0253] 2	100	100	38.4	4.5	停止搅拌; 保持悬浮状态的大颗粒
5	300	69	78.9	4.1	悬浮在细浆中的小颗粒
3	200	100	67.5	3.9	悬浮在细浆中的沙粒大小的颗粒
3	300	71	84.5	2.4	悬浮在细浆中的大颗粒 (约 4 mm)
1	200	99	75.8	1.4	细颗粒; 比以上产物 (1-6 行) 更难以过滤
1	300	77	105.3	0.9	细颗粒; 比以上产物 (1-6 行) 更难以过滤

[0254] 总体而言, 具有较高右旋糖酐含量 (例如 2.4-10.6 重量%) 的接枝共聚物以较大的颗粒出现, 并且与其具有较低右旋糖酐含量 (例如, 0.9-1.4 重量%) 的对应物相比更容易过滤。图 4 和 5 分别示出了含有 10.6 重量% 右旋糖酐 (表 11, 第 1 行, 更多可过滤) 和 0.9 重量% 右旋糖酐 (表 11, 第 8 行, 更少可过滤) 的接枝共聚物样品的照片。

[0255] 使用 100g/L 蔗糖和 2g/L、5g/L 或 10g/L 的右旋糖酐, 建立另外三个葡糖基转移酶 (100U/L) 反应并总体上如上所述进行。这些反应 (24 小时) 产生了分别包含 95%、87.5% 或 75% 的 α -1,3 糖苷键的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物。该产物键谱图与表 11 的第 1 行和第 3 行中列出的产物一致, 这些产物是在类似的反应条件 (初始蔗糖和右旋糖酐水平) 下制成的 (注意每种产物中的右旋糖酐组分大都表示 α -1,6-糖苷键)。

[0256] 本实例中产生的每种接枝共聚物都可以任选地按照例如下文实例 8 中公开的程序进行交联。

[0257] 实例 7

[0258] 另外的包含非常高分子量的右旋糖酐的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的制备

[0259] 在本实例中制备了又另外的包含非常高分子量的右旋糖酐的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物。

[0260] 按照下文描述为过程 76、77 和 79 的三个单独的酶程序来制备右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物的样品。在这些接枝共聚物的每一种中, 非常高分子量的右旋糖酐的重量百分比超过 50%。

[0261] 过程 76

[0262] 向22升搅拌的圆底烧瓶中添加1978g蔗糖、4831g去离子(DI)水、和5.18g磷酸二氢钾。固体溶解后,将pH调节至6.5。当批料温度达到27℃时,添加4.8mL含有GTF 0768的细胞裂解物(美国申请公开号2016/0122445)以开始具有非常高分子量的右旋糖酐的聚合。11.8小时之后,将反应加热至60℃并保持30分钟以使GTF酶失活。向该制剂中添加9930g DI水和11.8g磷酸二氢钾。将pH调节至5.5并将温度稳定在33℃。然后通过添加42mL的包含合成具有全部或几乎全部 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖的基于唾液链球菌的葡糖基转移酶的细胞裂解物,开始第二次聚合(用于由非常高分子量的右旋糖酐合成 α -1,3-葡聚糖侧链)。该酶添加之后,立即以3.0mL/min的速度开始添加56重量%的水性蔗糖溶液。将蔗糖溶液进料2小时19分钟。在蔗糖添加停止之后,在搅拌下将反应在33℃保持23.75小时。然后将反应加热至60℃并保持30分钟以使第二种酶失活,从而完成右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物产物的合成。最终浆液的重量分析测得3.1%的产物。在含有2%氯化锂的氘代DMSO中进行的质子NMR分析表明接枝共聚物产物含有61重量%的葡聚糖。

[0263] 过程77

[0264] 向22升搅拌的圆底烧瓶中添加2245g蔗糖、5721g DI水、和6.05g磷酸二氢钾。固体溶解后,将pH调节至6.5。当批料温度达到31℃时,添加5.6mL含有GTF 0768的细胞裂解物(美国申请公开号2016/0122445)以开始具有非常高分子量的右旋糖酐的聚合。72.9小时之后,将反应加热至60℃并保持30分钟以使GTF酶失活。向该制剂中添加9940g DI水和11.8g磷酸二氢钾。将pH调节至5.5并将温度稳定在33℃。然后通过添加42mL的包含合成具有全部或几乎全部 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖的基于唾液链球菌的葡糖基转移酶的细胞裂解物,开始第二次聚合(用于由非常高分子量的右旋糖酐合成 α -1,3-葡聚糖侧链)。该酶添加之后,立即以3.0mL/min的速度开始添加56重量%的水性蔗糖溶液。将蔗糖溶液进料3小时28分钟。这相当于添加431g的蔗糖。然后将反应加热至60℃并保持15分钟以使第二种酶失活,从而完成右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物产物的合成。在含有2%氯化锂的氘代DMSO中进行的质子NMR分析表明接枝共聚物产物含有82重量%的葡聚糖。

[0265] 过程79

[0266] 向2升搅拌且夹套的容器中添加295g蔗糖、721g DI水、和0.77g磷酸二氢钾。固体溶解后,将pH调节至6.5。当批料温度达到27℃时,添加0.72mL含有GTF 0768的细胞裂解物(美国申请公开号2016/0122445)以开始具有非常高分子量的右旋糖酐的聚合。71.8小时之后,将反应加热至60℃并保持15分钟以使GTF酶失活。向该制剂中添加1516g DI水和1.80g磷酸二氢钾。将pH调节至5.5并将温度稳定在33℃。然后通过添加6mL的包含合成具有全部或几乎全部 α -1,3-糖苷键的聚 α -1,3-葡聚糖的基于唾液链球菌的葡糖基转移酶的细胞裂解物,开始第二次聚合(用于由非常高分子量的右旋糖酐合成 α -1,3-葡聚糖侧链)。该酶添加之后,立即以41.4mL/hr的速度开始添加56重量%的水性蔗糖溶液。添加总计62.5mL的水性蔗糖溶液。这相当于添加44.1g的蔗糖。将反应在33℃下保持17.6小时,并且然后加热至60℃并保持15分钟以使第二种酶失活,从而完成右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物产物的合成。在含有2%氯化锂的氘代DMSO中进行的质子NMR分析表明接枝共聚物产物含有90重量%的葡聚糖。

[0267] 因此,按照上述程序制备另外的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物样品。这些接枝共聚物中的每一种分别用于下文实例8中以制备交联的接枝共聚物。

[0268] 实例8

[0269] 用于水性液体吸收应用的交联的接枝共聚物的制备

[0270] 本实例描述了交联右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物以产生交联的接枝共聚物。这些交联的接枝共聚物与它们的非交联对应物相比,表现出增强的水性液体的吸收。

[0271] 交联反应

[0272] 使用在过程76中制备的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物(具有61重量%的右旋糖酐的接枝共聚物)、实例7的过程77(具有82重量%的右旋糖酐的接枝共聚物)、或过程79(具有90重量%的右旋糖酐的接枝共聚物),按照以下方案进行单独的交联反应。为了便于下文的讨论,这些接枝共聚物将参考它们各自的合成过程号(76、77、或79)。

[0273] 1. 将约5g(过程76)或10g(过程77或过程79)的接枝共聚物分别在约45或90g的DI水中水合,从而得到包含约10重量%的接枝共聚物的混合物。

[0274] 2. 向混合物中添加NaOH溶液(50重量%)(12g的NaOH用于5g接枝共聚物,24g的NaOH用于10g接枝共聚物)。

[0275] 3. 将混合物在振动台上搅拌30分钟,在此期间接枝共聚物溶解并且粘度增加。所得溶液的颜色为琥珀色。

[0276] 4. 在剧烈搅拌下将两等份新蒸馏的磷酰氯(POCl_3)缓慢添加到溶液中,使得 POCl_3 的最终浓度为1.6重量%,从而提供交联反应。包含过程76接枝共聚物的交联反应增稠至必须添加DI水才能允许在 POCl_3 添加期间和之后继续搅拌的程度。

[0277] 5. 将反应搅拌1小时,在此期间该反应凝胶化。然后,将反应过滤并洗涤至接近中性条件(根据需要调节HCl),直至使用 AgNO_3 不能检测到NaCl。

[0278] 6. 将交联的接枝共聚物产物在80℃真空烘箱中干燥,氮气冲洗约60小时。所得的每种交联反应的材料都是脆性的;将每种产品在小型咖啡研磨机中研磨并储存。

[0279] 因此,产生交联的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物(以下称为交联的过程76、过程77、或过程79接枝共聚物)。测得交联的过程76、过程77、和过程79接枝共聚物的产物产量分别为95%、31%和38%。

[0280] 离心保留容量(CRC)评估

[0281] 经由如下的CRC评估测试每种交联的接枝共聚物以及其各自的非交联对应物的水性液体吸收能力。

[0282] 将多糖(交联或非交联的接枝共聚物)(200mg)热密封到称重的50mm×80mm茶袋中,并浸泡在DI水或0.9重量%的NaCl溶液中30分钟。NaCl溶液用于模拟尿液。然后将茶袋置于篮式离心机中并以1878rpm旋转3分钟。因此确定茶袋、干燥多糖和由茶袋保留的液体的重量。使用以下等式计算篮式CRC(每g干聚合物保留的液体g):

[0283]
$$\left[(\text{茶袋和聚合物离心后的重量}) - (3 \times \text{干茶袋的重量} + \text{干燥聚合物的重量}) \right] / \text{干燥聚合物的重量}$$

[0284] *由于茶袋吸收了可能使结果偏斜的额外液体,因此通过实验确定了茶袋重量的3倍的校正因子,并相应地应用于上式中。

[0285] 某些观察结果

[0286] -交联的过程76、过程77、和过程79接枝共聚物中的每一种均水合得很好。

[0287] -在洗涤期间,交联的过程76、过程77、和过程79接枝共聚物中的每一种均显著溶

胀。这是一个令人鼓舞的迹象,表明交联发生伴随着吸水性的改善。

[0288] -CRC评估结果在下面的表12中报告(数据代表两次重复的平均值)。一般来讲,每种交联的接枝共聚物与其各自的非交联对应物相比,表现出更高的水性液体吸收。应注意,过程76接枝共聚物的交联反应在 POCl_3 添加期间需要大量添加DI水以实现充分搅拌。这种较高的稀释可能解释了,与交联的过程77和过程79接枝共聚物相比,该交联的接枝共聚物表现出较低的吸收曲线的原因。

[0289] 表12

[0290] 右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物对水性液体的吸收(交联对非交联)

样品		CRC (g/g)	
		DI水	0.9重量%的NaCl
[0291] 过程76接枝共聚物	非交联的	5.543	5.57
	交联的	10.914	6.04
过程77接枝共聚物	非交联的	4.085	4
	交联的	29.116	9.41
过程79接枝共聚物	非交联的	6.188	6.04
	交联的	32.527	10.86

[0292] 因此,本文中的交联的接枝共聚物与它们的非交联对应物相比,表现出增强的水性液体的吸收。鉴于这种活性,预期交联的右旋糖酐-聚 α -1,3-葡聚糖接枝共聚物适用于如上所述的各种水性液体吸收应用。

[0293] 实例9

[0294] 用于水性液体吸收应用的交联的非常高分子量的右旋糖酐的制备

[0295] 本实例描述了使用各种交联剂交联非常高分子量的右旋糖酐(“非常大的右旋糖酐”)。

[0296] 使用例如如上文实例5和7所公开的酶GTF 0768(美国申请公开号2016/0122445)生产在本实例中的所有交联研究中使用的右旋糖酐样品。按照上文实例8中描述的程序完成CRC测量。按照EDANA标准测试WSP 242.2.R3(12)中公开的程序完成负载下吸收(AUL)测量,该标准测试通过援引并入本文在此。

[0297] 与磷酰氯(POCl_3)交联

[0298] 在搅拌下将非常高分子量的右旋糖酐(2.5g)分批添加到水(22.5g)中。将溶液缓慢搅拌至均匀。然后添加氢氧化钠溶液(6g,飞世尔科技(Fisher Scientific),50%)。将所得的制剂在室温下缓慢搅拌30分钟。然后分两批添加 POCl_3 (0.4g,奥德里奇(Aldrich),新蒸馏,沸点 106°C - 107°C)。将所得的制剂用玻璃棒剧烈搅拌约20分钟。将所得的凝胶在室温下放置过夜,然后用水彻底洗涤至接近中性pH,并在冷冻干燥器上干燥,以得到白色固体。因此,产生了交联的非常高分子量的右旋糖酐。

[0299] 然后使用0.9%的NaCl溶液进行产物的AUL和CRC测量,因为液体被吸收。测得交联的非常高分子量的右旋糖酐在0.82的psi(磅/平方英寸)下的AUL为17.3g/g,并且CRC为23.1g/g。

[0300] 与三偏磷酸钠(STMP)交联

[0301] 将非常高分子量的右旋糖酐(5g)溶解在具有机械搅拌器的烧瓶中的50mL水中。然

后在约159rpm的搅拌下添加氢氧化钠溶液(10%, 1g)。然后将STMP溶液(在10mL的DI中的2.0g的STMP)添加到搅拌的制剂中。搅拌1小时之后,滴加另外1.0g的NaOH(10%)溶液。在另一小时后,再次滴加1.0g的NaOH(10%)溶液。将搅拌调节至51rpm并继续过夜。将所得的材料用大量水洗涤至中性pH,然后在真空下干燥,以得到白色固体。因此,产生了交联的非常高分子量的右旋糖酐。

[0302] 然后使用0.9%的NaCl溶液进行产物的AUL和CRC测量,因为液体被吸收。测得交联的非常高分子量的右旋糖酐在0.82的psi下的AUL为13.3g/g,并且CRC为12.2g/g。

[0303] 与柠檬酸交联

[0304] 在搅拌下将非常高分子量的右旋糖酐(5.6g)分批添加到水(48.5g)中。缓慢搅拌制剂直至形成均匀的粘稠溶液。然后添加柠檬酸(1.0g),之后将制剂在真空烘箱中在60°C下干燥3天。添加水(5mL),并且将所得的制剂在室温下搅拌6小时,以得到粘性制剂。将该制剂冷冻干燥,以得到白色固体。因此,产生了交联的非常高分子量的右旋糖酐。

[0305] 然后使用0.9%的NaCl溶液进行产物的AUL和CRC测量,因为液体被吸收。测得交联的非常高分子量的右旋糖酐在0.82的psi下的AUL为7.1g/g,并且CRC为9.5g/g。

[0306] 与硼酸交联

[0307] 将硼酸(0.16g)溶解在水(5mL)中,之后添加NaOH溶液(2%,约2.5mL)以将pH调节至约10。然后添加更多的水以使总溶液体积达到14mL。在搅拌下将非常高分子量的右旋糖酐(0.97g)分批添加到该溶液中。将制剂在室温下放置过夜,并且然后通过冷冻干燥进行干燥,以得到固体。因此,产生了交联的非常高分子量的右旋糖酐。

[0308] 然后使用0.9%的NaCl溶液进行产物的AUL和CRC测量,因为液体被吸收。测得交联的非常高分子量的右旋糖酐在0.82的psi下的AUL为14.2g/g,并且CRC为17.2g/g。

[0309] 与表氯醇(ECH)交联

[0310] 在搅拌下将非常高分子量的右旋糖酐(2.5g)分批添加到水(17.5g)中。缓慢搅拌溶液直至形成均匀的凝胶。然后添加氢氧化钠溶液(10%, 10g)和水5g,之后添加ECH(0.84g)。将该制剂在室温下搅拌。将所得的凝胶用水洗涤至接近中性pH。通过冷冻干燥将洗涤的凝胶干燥,以得到固体。因此,产生了交联的非常高分子量的右旋糖酐。

[0311] 然后使用0.9%的NaCl溶液进行产物的AUL和CRC测量,因为液体被吸收。测得交联的非常高分子量的右旋糖酐在0.82的psi下的AUL为15.4g/g,并且CRC为10.1g/g。

[0312] 与二乙烯基砒(DVS)交联

[0313] 将非常高分子量的右旋糖酐(5.0g)添加到50g水和2.5g的NaOH溶液(2重量%)中。将该制剂搅拌过夜,之后在搅拌下添加4.5g水中的DVS(0.225g)。添加DVS之后,制剂的粘度迅速增加。将制剂在室温下放置3天,之后用水洗涤至接近中性pH,并且然后通过冷冻干燥进行干燥,以得到固体。因此,产生了交联的非常高分子量的右旋糖酐。

[0314] 然后使用0.9%的NaCl溶液进行产物的AUL和CRC测量,因为液体被吸收。测得交联的非常高分子量的右旋糖酐在0.82的psi下的AUL为13g/g,并且CRC为10.6g/g。

[0315] 因此,使用不同的交联剂交联非常高分子量的右旋糖酐。这些交联的右旋糖酐材料中的每一种都表现出水性液体的吸收,并且因此预期适用于如上所述的各种水性液体吸收应用。

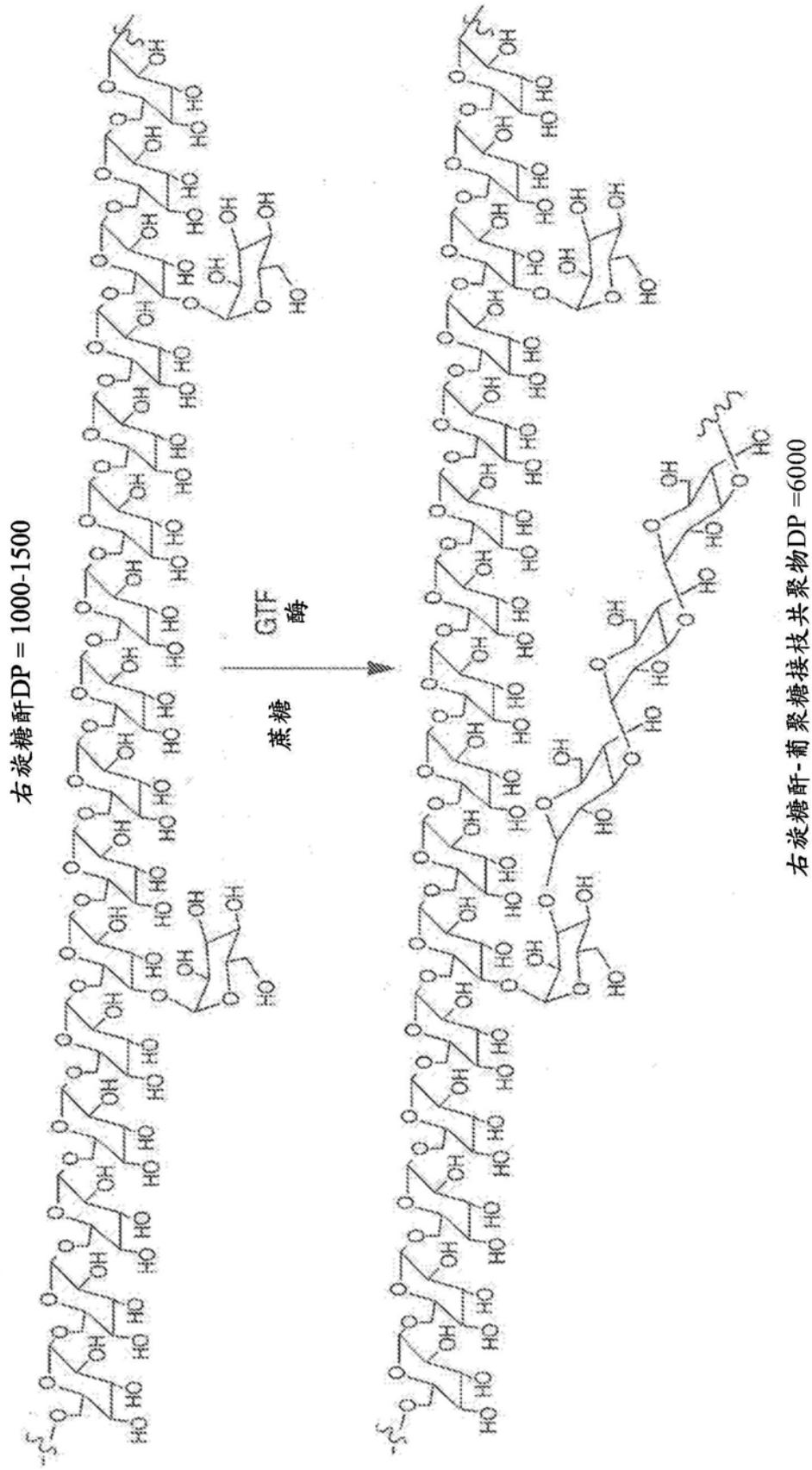


图1

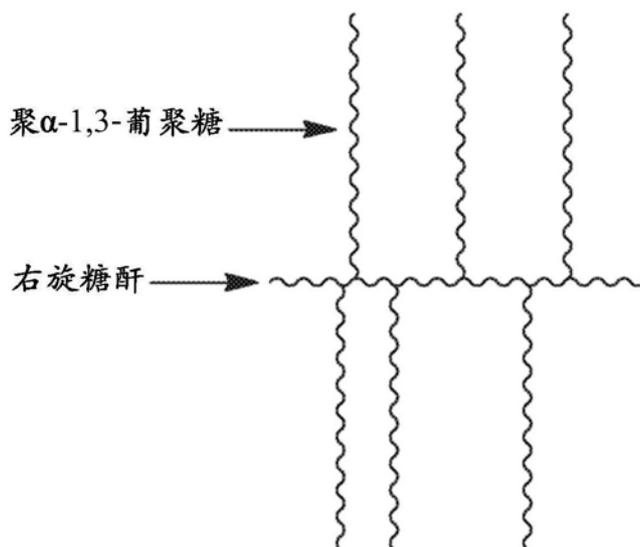


图2

起始右旋糖酐浓度对接枝共聚物产物MW的影响

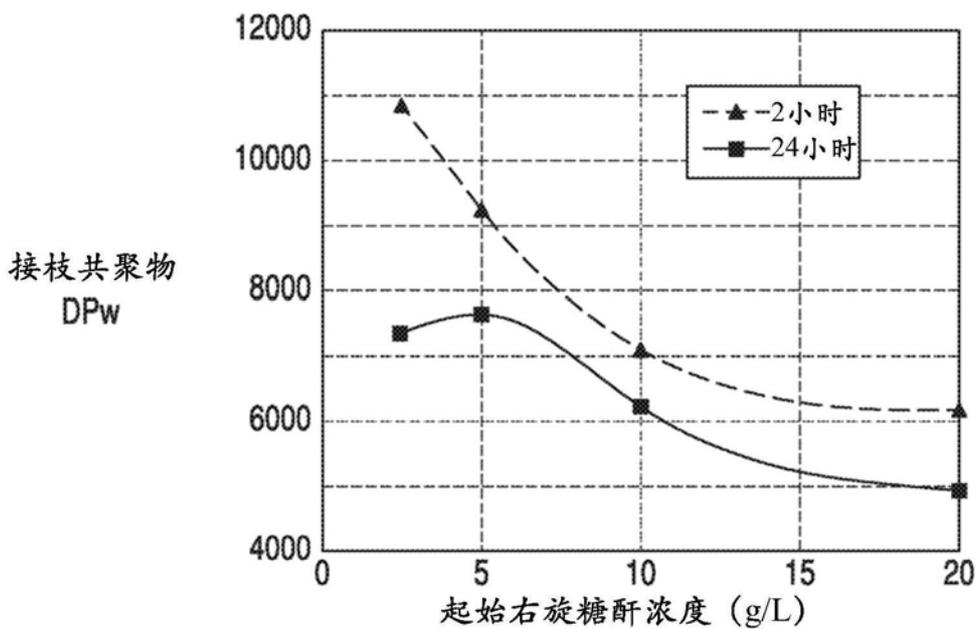


图3



图4

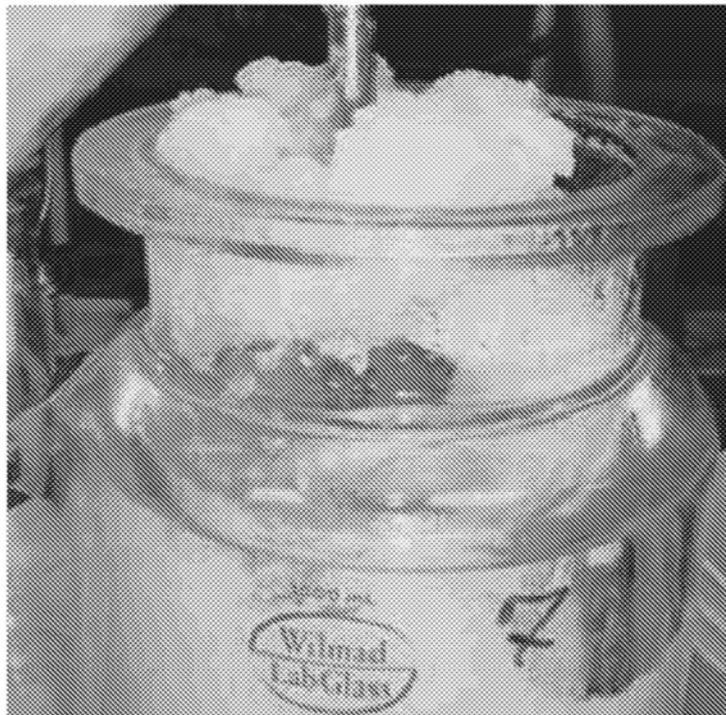


图5