

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3666023号
(P3666023)

(45) 発行日 平成17年6月29日(2005.6.29)

(24) 登録日 平成17年4月15日(2005.4.15)

(51) Int.Cl.⁷C O 8 B 33/02
G O 1 N 30/48

F I

C O 8 B 33/02
G O 1 N 30/48

W

請求項の数 5 (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願平5-132333	(73) 特許権者	000002901
(22) 出願日	平成5年5月12日(1993.5.12)		ダイセル化学工業株式会社
(65) 公開番号	特開平6-322001		大阪府堺市鉄砲町1番地
(43) 公開日	平成6年11月22日(1994.11.22)	(74) 代理人	100101362
審査請求日	平成11年5月20日(1999.5.20)		弁理士 後藤 幸久
審判番号	不服2002-20624(P2002-20624/J1)	(72) 発明者	岡本 佳男
審判請求日	平成14年10月24日(2002.10.24)		愛知県名古屋市東区矢田町2-66 名古屋大学官舎222号
		(72) 発明者	榎本 直樹
			愛知県知多郡阿久比町大字植大字西案留60
		(72) 発明者	古川 佐千子
			愛知県知立市谷田町本林2-16-2
		(72) 発明者	小笠原 靖
			愛知県碧南市志貴町3-88
			最終頁に続く

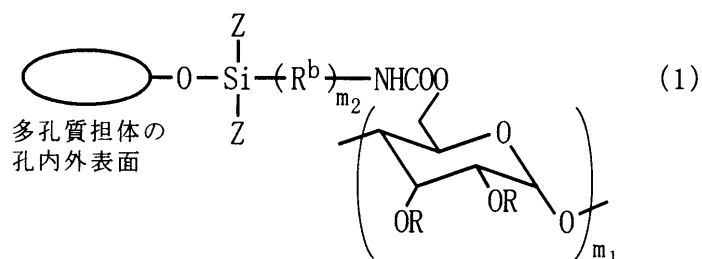
(54) 【発明の名称】 クロマト用充填剤

(57) 【特許請求の範囲】

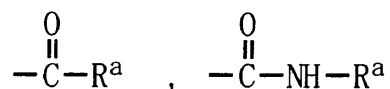
【請求項1】

多孔質担体の孔内外表面に、アミロース誘導体がアミロースの6位の水酸基の一部で、イソシアナート基を有するシラン処理剤(A1)を介して、またはシラン処理剤(A2)と架橋剤としての多官能イソシアナート誘導体(B)とを介して化学結合した物質であって、下記の一般式(1)で表される構造を主構造とする物質。

【化1】

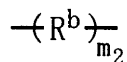
(式中、RはR^a，

【化 2】



のいずれかであり、 R^a は置換もしくは非置換アルキル基、置換もしくは非置換フェニル基、及び置換もしくは非置換複素環式基の中から選ばれた置換基である。下記式

【化 3】



10

で表される基は、多孔質担体表面にアミロース誘導体がイソシアナート基を有するシラン処理剤 (A1) を介して結合している場合には、該シラン処理剤 (A1) 由来のケイ素原子と該シラン処理剤 (A1) のイソシアナート基由来の $-\text{NHCO}-$ 基との間の基を意味し、多孔質担体にアミロース誘導体がシラン処理剤 (A2) と架橋剤としての多官能イソシアナート誘導体 (B) とを介して結合している場合には、該シラン処理剤 (A2) 由来のケイ素原子と該多官能イソシアナート誘導体 (B) の 1 つのイソシアナート基に由来する $-\text{NHCO}-$ 基との間の基を意味する。前記 R^b は置換もしくは非置換メチレン基、置換もしくは非置換フェニレン基、ヘテロ原子、 $-\text{NH}-$ 基またはカルボニル基を示す。前記 m_2 は共有結合している R^b の総数を意味し、1 ~ 20 の整数を示す。 m_1 はアミロース誘導体の平均重合度を意味し、平均で 3 ~ 1000 の整数を示す。Z はシラン処理剤 (A1) または (A2) 由来のケイ素原子に結合している基を意味し、多孔質担体表面の基に由来する基、アルコキシ基、ハロゲン原子、アルキル基、フェニル基、シラン処理剤に由来する基のいずれかを示す)

20

【請求項 2】

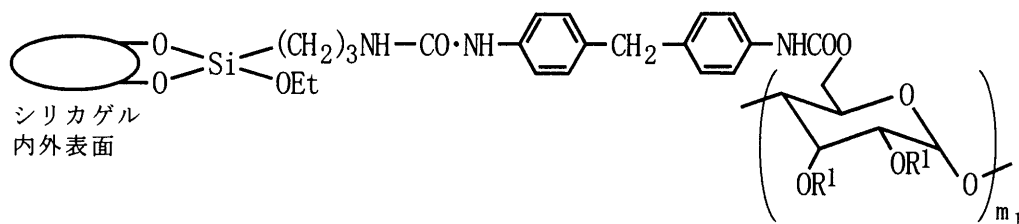
多孔質担体がシリカゲルである請求項 1 記載の物質。

【請求項 3】

下記式 (2)

【化 4】

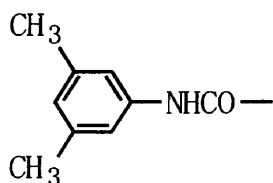
30



40

(式中、 R^1 は

【化 5】



を示す。 m_1 はアミロース誘導体の平均重合度を意味し、平均で 3 ~ 1000 の整数を示す。Et はエチル基を示す)

50

で表される物質である請求項 1 記載の物質。

【請求項 4】

アミロースの 6 位の水酸基の一部あるいは全部を保護基を用いて保護し、残りの水酸基に請求項 1 記載の一般式 (1) における置換基 R^a を導入した後、前記保護基をはずし、6 位の水酸基の一部で、イソシアナート基を有するシラン処理剤 (A1) を介して、またはシラン処理剤 (A2) と架橋剤としての多官能イソシアナート誘導体 (B) とを介して多孔質担体の孔内外表面に化学結合させることを特徴とする請求項 1 記載の物質の製造法。

【請求項 5】

請求項 1 ～ 3 の何れかの項に記載の物質を有効成分とするクロマト用充填剤。

【発明の詳細な説明】

10

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、新規物質、その製造法及び用途に関し、詳しくは水酸基の一部または全部に特定の置換基が導入されたアミロース誘導体を、その 6 位の水酸基で架橋剤を介して多孔質担体と化学結合させた新規物質、その製造法及び該新規物質を主成分とするクロマト用分離剤に関する。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】

これまでに、シリカゲルにセルロースやアミロースなどの多糖またはその誘導体を物理的方法により担持させたクロマト用分離剤が光学分割に有用なことは知られている。しかしながら、この化合物は耐溶媒性が低く、液体クロマトグラフィー法等に用いる場合、使用する溶離液が限られるため、多糖の有用性を十分に引き出せない。さらに、汚染されたカラムを洗浄する場合の洗浄液も制限されるため、カラム劣化の原因を引き起こすという問題がある。また、これまでに上記問題点を克服するために、多糖誘導体をシリカゲルに化学結合させた化合物も知られている。しかしこの場合、シリカゲルに化学結合させる部位が選択できないため、多糖自体の高次構造に影響を与え、多糖の持つ有用な性質の低下を招いている。さらに、結合部位が不特定であることに起因して、得られるシリカゲル化合物の品質のばらつきが大きい等の欠点があった。

20

【0003】

そこで、本発明者らはこの課題を解決すべく検討した結果、クロマト用分離剤として用いた場合、アミロースの 6 位水酸基が光学分割にあまり関与していないことを見出した。そこで、例えば多孔質担体としてシリカゲルを用い、その孔内外表面にアミロース誘導体が、その 6 位の水酸基の一部で架橋剤を介して化学結合した化合物を合成し、この化合物のクロマト用分離剤としての有用性について検討を重ね、本発明を完成したのである。

30

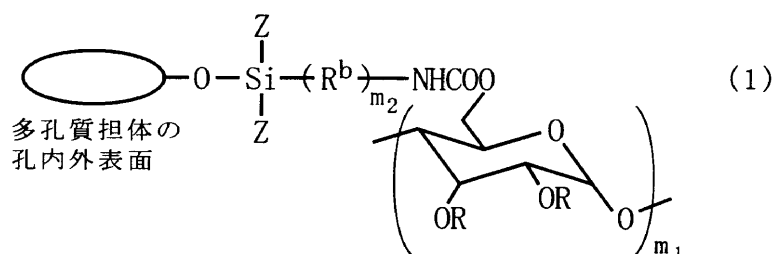
【0004】

【課題を解決するための手段】

すなわち、本発明は、多孔質担体の孔内外表面に、アミロース誘導体がアミロースの 6 位の水酸基の一部で、イソシアナート基を有するシラン処理剤 (A1) を介して、またはシラン処理剤 (A2) と架橋剤としての多官能イソシアナート誘導体 (B) とを介して化学結合した物質であって、下記の一般式 (1) で表される構造を主構造とする物質を提供する。

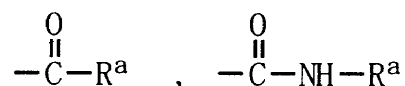
40

【化 6】

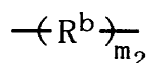


50

(式中、RはR^a，
【化7】



のいずれかであり、R^aは置換もしくは非置換アルキル基、置換もしくは非置換フェニル基、及び置換もしくは非置換複素環式基の中から選ばれた置換基である。下記式
【化8】



10

で表される基は、多孔質担体表面にアミロース誘導体がイソシアナート基を有するシラン処理剤（A1）を介して結合している場合には、該シラン処理剤（A1）由来のケイ素原子と該シラン処理剤（A1）のイソシアナート基由来の-NHCO-基との間の基を意味し、多孔質担体にアミロース誘導体がシラン処理剤（A2）と架橋剤としての多官能イソシアナート誘導体（B）とを介して結合している場合には、該シラン処理剤（A2）由来のケイ素原子と該多官能イソシアナート誘導体（B）の1つのイソシアナート基に由来する-NHCO-基との間の基を意味する。前記R^bは置換もしくは非置換メチレン基、置換もしくは非置換フェニレン基、ヘテロ原子、-NH-基またはカルボニル基を示す。前記m₂は共有結合しているR^bの総数を意味し、1～20の整数を示す。m₁はアミロース誘導体の平均重合度を意味し、平均で3～1000の整数を示す。Zはシラン処理剤（A1）または（A2）由来のケイ素原子に結合している基を意味し、多孔質担体表面の基に由来する基、アルコキシ基、ハロゲン原子、アルキル基、フェニル基、シラン処理剤に由来する基のいずれかを示す）

20

【0005】

本発明は、また、アミロースの6位の水酸基の一部あるいは全部を保護基を用いて保護し、残りの水酸基に前記一般式（1）における置換基R^aを導入した後、前記保護基をはずし、6位の水酸基の一部で、イソシアナート基を有するシラン処理剤（A1）を介して、またはシラン処理剤（A2）と架橋剤としての多官能イソシアナート誘導体（B）とを介して多孔質担体の孔内外表面に化学結合させることを特徴とする上記物質の製造法を提供する。

30

【0006】

本発明は、さらに、上記物質を有効成分とするクロマト用充填剤を提供する。

【0007】

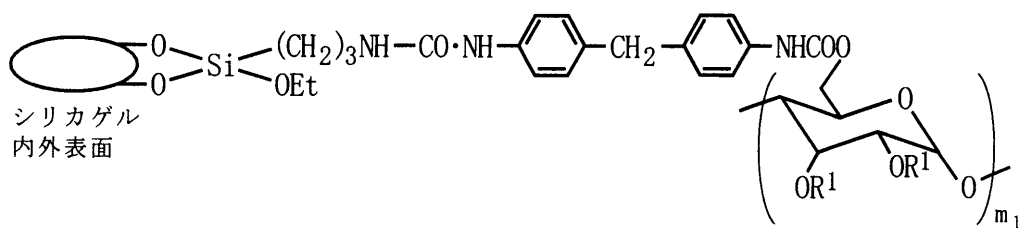
なお、上記一般式（1）で表される化合物において、m₁個存在する6位の炭素の少なくとも1個所は、上記式に示したように、シラン処理剤または架橋剤の末端と結合しており、残りの6位の炭素はORであるが、これは略してある。

【0008】

以下に、本発明の新規物質の1例として、下記の一般式（2）で表される化合物について、その製造法の1例と共に具体的に説明する。

40

【化9】

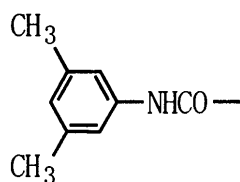


(2)

(式中、 R^1 は

【化10】

10

を示す。 m_1 は前記と同じ。Etはエチル基を示す)

【0009】

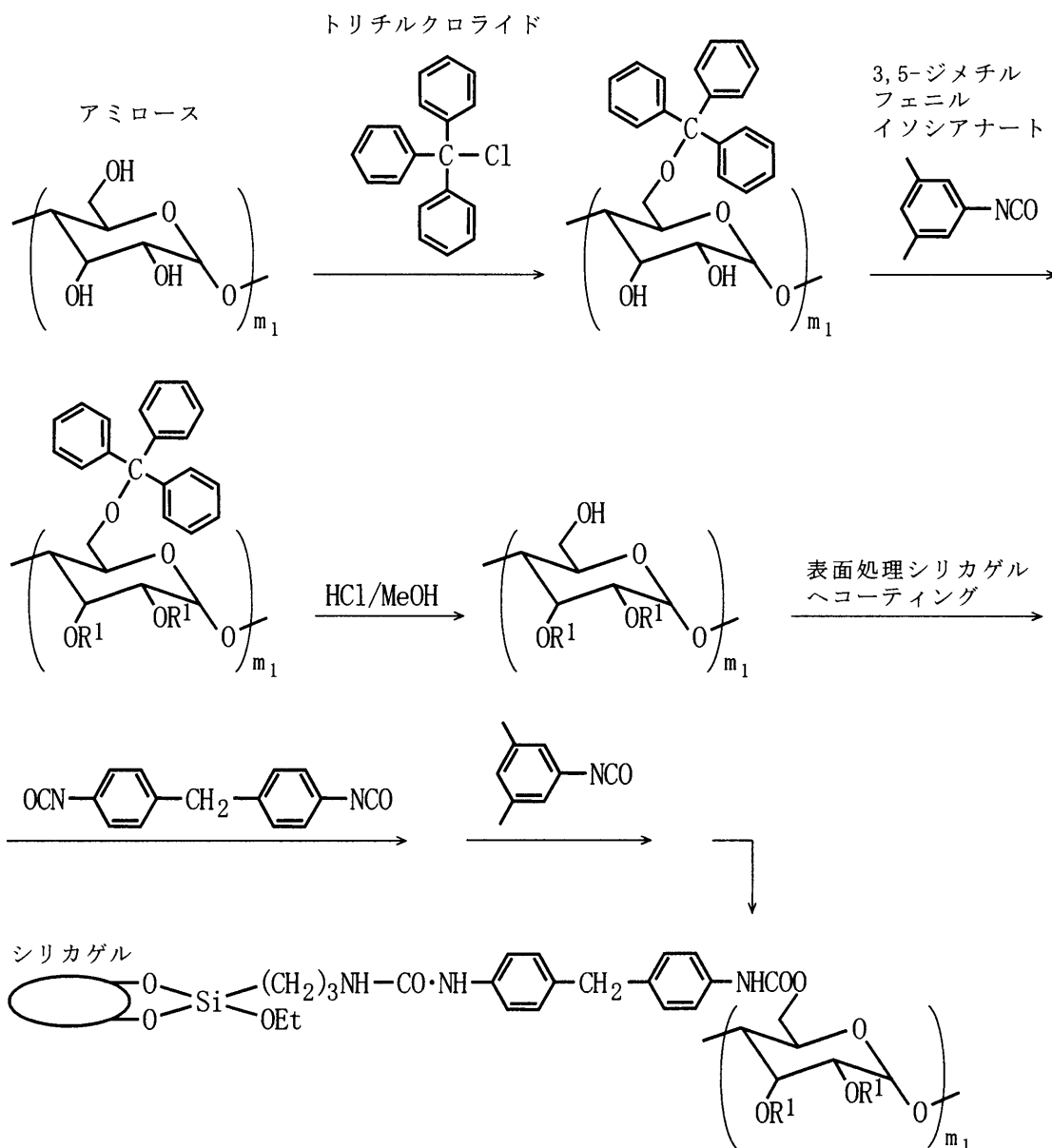
20

なお、上記一般式(2)で表される化合物において、 m_1 個存在する6位の炭素の少なくとも1個所は、上記式に示したように、架橋剤末端と結合しており、残りの6位の炭素はORであるが、これは略してある。まず、アミロースの6位の水酸基にトリチル基を導入して保護し、続いて残りの水酸基を修飾剤として3,5-ジメチルフェニルイソシアナートを用いて置換した。次に、得られたアミロース誘導体のトリチル基を酸に浸漬してはし、表面処理したシリカゲルにコーティングした後、架橋剤としてジフェニルメタン-4,4'-ジイソシアナートを用いてアミロースの6位の水酸基と表面処理シリカゲルを化学結合させることによって目的とする上記一般式(2)で表される新規物質を得た。この場合の反応スキームを以下に示す。なお、一般式(2)で表される化合物において、 m_1 個存在する6位の炭素の少なくとも1個所は、上記式に示したように、架橋剤末端と結合しており、残りの6位の炭素はORであるが、これは略してある。

30

【0010】

【化11】



10

20

30

【0011】

この方法により合成した上記一般式(2)で表される本発明の新規化合物は、多孔質シリカゲル孔内外表面に糖部の6位の水酸基の一部で、架橋剤を介して化学結合したものであり、前記の課題を解決したものである。

【0012】

本発明に用いられるアミロースとは、合成アミロース、天然アミロースのいずれであってもよい。また、アミロース含量の高い澱粉も使用することができる。これらアミロースの数平均重合度としては3以上であり、上限については特に制限はないが、取扱いの点から1000程度が好ましい。

40

【0013】

また、本発明に使用する多孔質担体は、多孔質無機担体や多孔質有機担体であり、具体的にはシリカゲル、けいそう土、多孔質ガラス、ヒドロキシアパタイト、アルミナ、酸化チタン、マグネシア等の多孔質無機担体やポリアクリルアミド、ポリアクリレート等の多孔質有機担体があり、特にシリカゲルが好ましい。シリカゲルとしては、その粒径が1~1000μm、好ましくは2~100μmであり、平均孔径は10オングストローム~100μm、好ましくは5~500nmのものが用いられる。なお、多孔質担体として多孔質膜を使用して新規なクロマト用分離膜とすることも可能である。

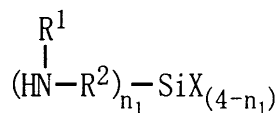
【0014】

50

本発明中のシリカゲルへの表面処理剤としては、アミノ基を持つもの、水酸基をもつもの、メルカプタン基を持つものが好ましいが、従来シランカップリング剤として市販されているものや下記的一般式で示されるものを用いて、架橋剤が結合できるよう合成したものであってもよい。なお、前記一般式中の $\underline{R^b}$ は、置換もしくは非置換メチレン基、置換もしくは非置換フェニレン基、ヘテロ原子等が共有結合したものを示すが、具体的には下記に示すシラン処理剤の側鎖の一部あるいはスペーサー（架橋剤）とシラン処理剤が化学結合したものの一部を示す。

【0015】

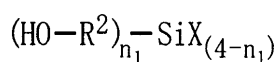
【化12】



10

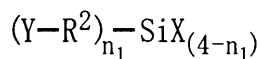
【0016】

【化13】



【0017】

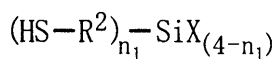
【化14】



20

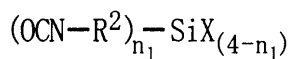
【0018】

【化15】



【0019】

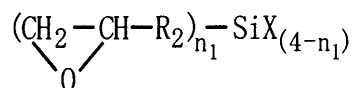
【化16】



30

【0020】

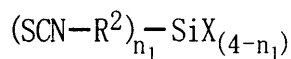
【化17】



40

【0021】

【化18】



【0022】

上記各式中、 n_1 は1～3の整数、 R^1 は水素原子または炭素数1～20程度のアルキル鎖またはその誘導体、 R^2 は炭素数1～20程度のアルキル鎖またはその誘導体、 X は炭素数1～10の置換もしくは非置換アルコキシ基、ハロゲン原子（好ましくは塩素原子）、

50

水酸基、または置換もしくは非置換フェノキシ基（但し、Xの少なくとも1つは炭素数1～10の置換若しくは非置換アルコキシ基である）、Yはハロゲン原子をそれぞれ示す。本発明の新規物質を製造する場合におけるシリカゲルへの表面処理は、公知の方法で行うことができる。

【0023】

架橋剤としてはアミロースの水酸基と表面処理シリカゲルとを化学結合できるものであればよく、つまり1分子中に2個以上の官能基を持っている化合物であればよいが、本発明では多官能のイソシアナート誘導体を用いる。多官能のイソシアナート誘導体としては、脂肪族あるいは芳香族多官能イソシアナートが挙げられる。例示すれば、ヘキサメチレン-1, 6-ジイソシアナート、テトラメチレン-1, 4-ジイソシアナート、ジフェニルメタン-4, 4'-ジイソシアナート、2, 4-トリレンジイソシアナート等のジイソシアナートがある。また、これらジイソシアナートを用いてアミロースと表面処理シリカゲルとを化学結合させる方法は従来公知の方法で行うことができる。

10

【0024】

また、架橋剤を使用しないで前記シリカゲルへの表面処理剤として例示した化合物のうち5番目の化合物のようにイソシアナート基を有する処理剤を直接用いてシリカゲルに化学結合させることも可能である。ここで述べる架橋率とは、架橋剤と糖水酸基が1:1で反応すると仮定してアミロース全水酸基数に対する架橋剤の反応率に相当する値である。

【0025】

上記一般式(1)で表される化合物のアミロース水酸基の一部もしくは全部に導入される置換基(R^a)は該水酸基を修飾するものであり、アミロース部1分子中の水酸基に2種以上の異なる置換基を導入することもできる。該置換基は置換もしくは非置換アルキル基、置換もしくは非置換フェニル基及び置換もしくは非置換複素環式基の中から選ばれ、具体的にはメチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、t-ブチル基、フェニル基、メチルフェニル基、ジメチルフェニル基、エチルフェニル基、ジエチルフェニル基、トリメチルシリルフェニル基、アルコキシフェニル基、ジアルコキシフェニル基、ハロゲン化フェニル基、ジハロゲン化フェニル基、フェニルアゾフェニル基、ナフタレン基、アントラセン基、ピリジル基、フリル基等が挙げられる。上記一般式(1)の糖部水酸基へのこれら置換基の導入法は従来公知の方法で行うことができる。

20

【0026】

化学結合するアミロース誘導体の量はシリカゲルに対して1～50%、好ましくは5～30%である。

30

【0027】

【実施例】

以下に実施例を示して本発明を詳しく説明する。

実施例1

一般式(2)で表される新規物質の合成

(1-1) アミロースのトリチル化及びカーバメート誘導体の合成

アミロース（林原社製、商品名：アミロースB）3g及びトリチルクロライド10.3gを200ml三口ナスフラスコ中で60℃にて2時間真空乾燥させた後、無水ピリジン60mlを加えて80℃で窒素下29時間反応させた。一部アミロースをサンプリングし、IRスペクトルによりトリチル化されていることを確認し、6-O-トリチルアミロースを得た。

40

【0028】

次に、この反応液に3, 5-ジメチルフェニルイソシアナート9.55gを添加し、90℃で24時間反応させることにより、残りの水酸基を置換した。一部をサンプリングし、IRスペクトルにより 1710 cm^{-1} にカルボニル基の伸縮振動が認められた。この反応液をメタノール1リットル中に落とし込み、沈殿物をメタノールで数回洗浄後、1% HCl-メタノール溶液400ml中に沈殿物を落とし、室温で1晩攪拌させることによりトリチル基を切断した。得られた沈殿物を中性になるまで洗浄、濾過を繰り返し、真空乾燥

50

して 3.85 g の沈殿物を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (溶媒:ピリジン- d_5 、500 MHz、基準物質 TMS、温度 80 °C) よりアミロースの 2, 3 位の炭素に結合した 3, 5-ジメチルフェニルカーバメート由来のメチルプロトン (1.90–2.00 ppm) とアミロースの 6 位の炭素に結合した 3, 5-ジメチルフェニルカーバメート由来のメチルプロトン (2.23 ppm) との面積比より 6 位の水酸基が 5 割程度残っていることが確認された。このようにして 6 位の水酸基が一部未修飾のアミロースカーバメート誘導体を合成した。

【0029】

(1–2) アミロースカーバメート誘導体のシリカゲルへの固定化 (架橋率 3%)
 予め活性化 (180 °C、2 時間真空乾燥) しておいたシリカゲル (ダイソー社製、平均孔径 100 nm、粒径 7 μm) に常法により 3-アミノプロピルトリエトキシシランを結合させて得られた表面処理シリカゲル 3.3 g を上記 (1–1) で得られたアミロースのカーバメイト誘導体をテトラヒドロフラン (THF) 10 ml に溶解した溶液中に分散させ、次に THF を留去させることにより表面処理シリカゲルにアミロースのカーバメイト誘導体をコーティングした。このアミロースのカーバメイト誘導体をコーティングした表面処理シリカゲルに無水トルエン 10 ml、無水ピリジン 2 ml、ジフェニルメチレン-4, 4'-ジイソシアナート 0.015 g を添加し 90–100 °C で 5 時間反応後、さらに残りの水酸基を 3, 5-ジメチルフェニルイソシアナート 0.46 g を添加して 30 時間反応させることにより置換した。

【0030】

反応停止後、ガラスフィルター G4 で濾過し、THF、メタノール、アセトン、ヘキサンで洗浄し、シリカゲルに未結合のアミロース誘導体を除いた。60 °C で 2 時間の真空乾燥後の重量は 3.45 g であった。得られた表面処理シリカゲルの IR スペクトルより 1710 cm^{-1} にカルボニル基の伸縮振動が認められたことにより、シリカゲルへの結合を確認した。これをクロマト用分離剤として使用し、各種ラセミ化合物に対する分離剤としての評価を行った。結果を第 1 表に示す。なお、第 1 表中 α は分離係数であり、下式により求められる。 k_1 及び k_2 は保持容量比であり、それぞれ下式により求められる。

【0031】

α (分離係数) = k_2 (保持容量比) / k_1 (保持容量比)

k_1 (保持容量比)

= [(先に溶出してきた対掌体の保持時間) – デッドタイム] / デッドタイム

k_2 (保持容量比)

= [(後に溶出してきた対掌体の保持時間) – デッドタイム] / デッドタイム

【0032】

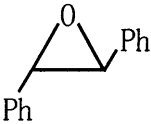
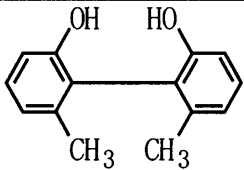
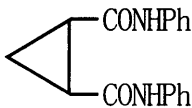
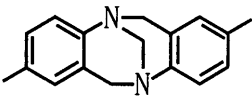
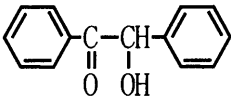
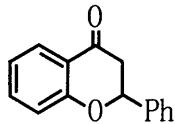
【表 1】

10

20

30

第 1 表

ラセミ体	本発明の物質 架橋率3% α	対照の物質 物理的吸着 α
	2.53(+)	3.04(+)
$(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}-\text{CHOH}$ C_6H_5	1.94(+)	1.98(+)
	2.10(-)	2.11(-)
	1.75(+)	2.01(+)
	1.37(+)	1.58(+)
	1.09(-)	1.21(-)
	~1(+)	1.12(+)

【 0 0 3 3 】

応用例

光学分割用カラムの作製と光学分割能

実施例 1 の (1-2) で得られた物質を 0.46 × 25 cm のステンレススチール製空カラムにスラリー充填法にて充填した。なお、充填装置はケムコ社製のパッキングシステムを用いた。このカラムを用いて光学分割能を評価した。高速液体クロマトグラフシステムはウォーターズ 510 ポンプ及び 486 UV 検出器等を使用した。また、比較例としてアミローストリス (3, 5-ジメチルフェニルカーバメイト) 誘導体を表面処理シリカゲル

10

20

30

40

50

に物理的に吸着した分離剤を用い、これを同条件で分析した結果を第1表に示した（CHEMISTRY LETTERS pp.1857-1860, 1987参照）。表から明らかなように、本発明の物質の光学分割能は、比較例のものと同等であることがわかった。

【0034】

さらに、本発明により得られた光学分割用カラムの耐溶媒性を調べるために、THF溶液を流速1ml/minで2時間流した後の光学分割能を測定したところ、変化が認められず、優れた耐溶媒性を有していることが確認できた。なお、分析は溶離液としてヘキサン：IPA＝90：10を用い、流速0.5ml/min、室温で実施した。

【0035】

【発明の効果】

本発明によれば、水酸基の一部または全部に特定の置換基が導入されたアミロース誘導体を、その6位の水酸基で架橋剤を介して多孔質担体と化学結合させた新規物質を効率よく得ることができる。この物質は光学分割のためのクロマト用充填剤として有用である。

フロントページの続き

- (72)発明者 赤野 裕文
愛知県半田市有脇町2-46-28
(72)発明者 川村 吉也
愛知県江南市古知野町古渡132

合議体
審判長 森田 ひとみ
審判官 中野 孝一
審判官 弘實 謙二

- (56)参考文献 特開昭62-270602 (JP, A)
特開昭60-196663 (JP, A)
特開昭62-270602 (JP, A)
特開昭60-24446 (JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)
C08B33/02
G01N30/48