

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5587295号
(P5587295)

(45) 発行日 平成26年9月10日(2014.9.10)

(24) 登録日 平成26年8月1日(2014.8.1)

(51) Int.Cl.

F I

G O 1 N 30/88 (2006.01)

G O 1 N 30/88 2 O 1 X

B O 1 J 43/00 (2006.01)

G O 1 N 30/88 2 O 1 G

B O 1 J 47/12 (2006.01)

B O 1 J 43/00 Z

B O 1 D 15/08 (2006.01)

B O 1 J 47/12 Z

B O 1 J 20/281 (2006.01)

B O 1 D 15/08

請求項の数 15 (全 51 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2011-508544 (P2011-508544)
 (86) (22) 出願日 平成21年4月23日(2009.4.23)
 (65) 公表番号 特表2011-523041 (P2011-523041A)
 (43) 公表日 平成23年8月4日(2011.8.4)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2009/041563
 (87) 国際公開番号 W02009/137275
 (87) 国際公開日 平成21年11月12日(2009.11.12)
 審査請求日 平成24年4月23日(2012.4.23)
 (31) 優先権主張番号 12/118,447
 (32) 優先日 平成20年5月9日(2008.5.9)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 591025358
 ダイオネックス コーポレイション
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94
 086 サニーヴェイル タイタン ウェ
 イ 1228
 (74) 代理人 100092093
 弁理士 辻居 幸一
 (74) 代理人 100082005
 弁理士 熊倉 禎男
 (74) 代理人 100084009
 弁理士 小川 信夫
 (74) 代理人 100084663
 弁理士 箱田 篤
 (74) 代理人 100093300
 弁理士 浅井 賢治

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 イオン交換特性を有する官能化基材

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アニオン交換及びカチオン交換クロマトグラフィー性能を有するマルチモードクロマトグラフィー媒体であって、

外部表面と、該外部表面の開口に及ぶ内部細孔を画成する内部壁とを有する多孔質固体担体と、

前記内部壁に共有結合し、正又は負の第一電荷を有する第一イオン交換基を含む有機リガンドと、

第二電荷を有する第二イオン交換基を含み、該第二電荷が前記第一電荷と反対の電荷であり、前記内部細孔への液体流入を可能にするように前記担体の外部表面に直接又は間接的に結合する微粒子とを含み、

前記微粒子が第一の平均直径を有し、前記内部細孔が第二の平均直径を有し、前記微粒子の第一の平均直径が前記内部細孔の第二の平均直径よりも大きく、実質的に前記微粒子が前記内部細孔内に侵入するのを防止しており、前記媒体が、アニオン交換及びカチオン交換クロマトグラフィー性能を有し、前記担体が、シリカ、アルミナ、チタニア、ジルコニア、合成ポリマー及びそれらの組み合わせから選択される材料を含み、前記担体が、(a) フロースルーモノリス及び(b) 粒子であって多数の担体粒子が充填床中に配置される粒子から選択される、前記媒体。

【請求項 2】

前記リガンドが、 $-Z-OH$ 、 $-(Z)_nN(R^6)(R^7)$ 、 $-(Z)_nN^+(R^6)(R^7)(R^8)X^-$ 、 $-(Z)_nC(O)OR^9$ 、 $-(Z)_nS(O)_2OR^9$ 及び $-(Z)_nOP(O)(OR^{10})(OR^{11})$ から選択される要素である基
(式中、 n は 0 及び 1 から選択される整数であり、

R^6 、 R^7 及び R^8 は H、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素であり、

R^9 は H、単一負電荷及びカチオン性対イオンから選択される要素であり、

R^{10} 及び R^{11} は H、単一負電荷、カチオン性対イオン、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素であり、

X^- は存在するか又は存在しないかのどちらかであり、存在する場合にはアニオン性対イオンであり、

Z は置換又は非置換アリール及び置換又は非置換ヘテロアリールから選択される要素である)

を含む、請求項 1 に記載の媒体。

【請求項 3】

前記媒体が、アニオン交換、カチオン交換及び逆相クロマトグラフィー性能を有し、前記リガンドが、連続する少なくとも 8 つの炭素原子を有するアルキル鎖を含み、前記アルキル鎖が、前記媒体に逆相クロマトグラフィー性能を提供する、請求項 1 に記載のクロマトグラフィー媒体。

【請求項 4】

前記連続する炭素原子のうちの少なくとも 2 つが、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール及び置換又は非置換シクロアルキルから選択される環の部分である、請求項 3 に記載の媒体。

【請求項 5】

前記第一の平均直径対前記第二の平均直径の比が少なくとも 1 . 2 : 1 である、請求項 1 に記載の媒体。

【請求項 6】

前記微粒子が前記外部表面に静電力、共有結合及び永久物理的絡み合いから選択される要素によって結合する、請求項 1 に記載の媒体。

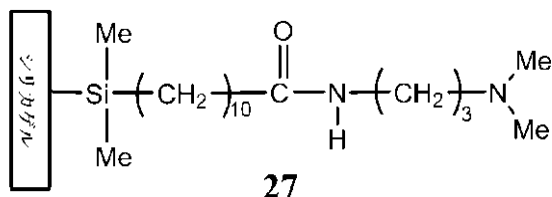
【請求項 7】

請求項 1 に記載の粒子状の媒体を含む分離媒体で充填したクロマトグラフィーカラム。

【請求項 8】

前記固体担体及び有機リガンドが一緒になって、

【化 1】



及び

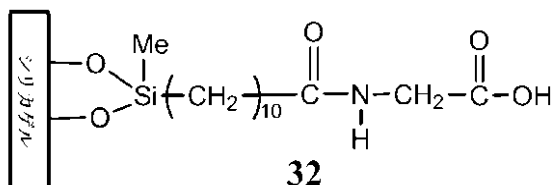
10

20

30

40

【化 2】



から選択される式の構造を有する、請求項 1 に記載の媒体。

【請求項 9】

前記固体担体及び有機リガンドが一緒になって、式 27 で表される構造を有する場合、
前記微粒子がスルホン化ラテックスであり、また前記固体担体及び有機リガンドが一緒
になって、式 32 で表される構造を有する場合、前記微粒子がアミン化ラテックスである、
請求項 8 に記載の媒体。

10

【請求項 10】

前記微粒子が、アミン化ラテックス及びスルホン化ラテックスから選択される、請求項
1 に記載の媒体。

【請求項 11】

(a) 外部表面と、該外部表面の開口に及ぶ内部細孔を画成する内部壁とを有する多孔質
固体担体を提供する工程と、

(b) 正又は負の第一電荷を有する第一イオン交換基を含むリガンドを前記内部壁に共有
結合させる工程と、

20

(c) 第二電荷を有する第二イオン交換基を含み、前記第二電荷が前記第一イオン交換基
の第一電荷と反対電荷である微粒子を前記担体の前記外部表面に直接又は間接的に結合す
る工程と

を含み、前記微粒子が第一の平均直径を有し、前記内部細孔が第二の平均直径を有し、前
記微粒子の第一の平均直径が前記内部細孔の第二の平均直径よりも大きく、実質的に前記
微粒子が前記内部細孔内に侵入するのを阻止していることを特徴とする、請求項 1 ~ 10
のいずれか 1 項に記載の、液体試料中の分析物の分離用媒体を製造する方法。

【請求項 12】

前記リガンドが、 $-Z-OH$ 、 $-(Z)_nN(R^6)(R^7)$ 、 $-(Z)_nN^+(R^6)(R^7)(R^8)X^-$ 、 $-(Z)_nC(O)OR^9$ 、 $-(Z)_nS(O)_2OR^9$ 及び $-(Z)_nOP(O)(OR^{10})(OR^{11})$ から選択される要素である基
(式中、 n は 0 及び 1 から選択される整数であり、

30

R^6 、 R^7 及び R^8 は H、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換
又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル
及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素であり、

R^9 は H、単一負電荷及びカチオン性対イオンから選択される要素であり、

R^{10} 及び R^{11} は H、単一負電荷、カチオン性対イオン、置換又は非置換アルキル、置換
又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、
置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選
択される要素であり、

40

X^- は存在するか又は存在しないかのどちらかであり、存在する場合にはアニオン性対
イオンであり、

Z は置換又は非置換アリール及び置換又は非置換ヘテロアリールから選択される要素で
ある)

を含む、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記第一の平均直径対前記第二の平均直径の比が少なくとも 1.2 : 1 である、請求項
11 又は 12 に記載の方法。

【請求項 14】

50

液体を請求項 1 に記載の媒体を含む分離媒体の床に流入する工程を含むクロマトグラフィー方法。

【請求項 1 5】

前記液体が、前記分離媒体によって各々実質的に保持されるアニオン、カチオン及び無荷電の分子を含む、請求項 1 4 に記載のクロマトグラフィー方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、クロマトグラフィー用途の固定相として有用な組成物及び上記組成物の製造方法及び使用方法に関する。

【背景技術】

【0002】

選択性は、良好なクロマトグラフィーによる分離にとって重要な因子である。逆相 (RP)、イオン交換 (IEX) 及び順相 (NP) クロマトグラフィーなどの液相クロマトグラフィー用の通常の固定相は、単一試料に対する多重分析法で必要とする制限的な選択性によって特徴づけられる。

【0003】

イオン交換液相クロマトグラフィー (IEX-LC) を用いて、イオン性又はイオン化可能な化合物を分離する。タンパク質、核酸及び無機イオンの分離における重要な役割にも関わらず、部分的には疎水性保持の欠如のため、イオン交換クロマトグラフィーは、例えば、有機小分子のような疎水性分析にめったに使用されない。

【0004】

イオン対液相クロマトグラフィーは、分離選択性を操作する強力な手段である。荷電分析物の形成を促進するために、移動相へのイオン対試薬を添加しなければならない。これらの試薬はイオン化可能な終端を有するアルキル鎖からなる。イオン対液相クロマトグラフィーで使用するカラムは、典型的には逆相 (RP) カラム (例えば、C₁₈又はC₈) である。イオン対試薬と反対の電荷を有する分析物は長時間保持され、イオン対試薬と同じ電荷を有する分析物の保持は減少する。しかしながら、中性の分析物の保持はイオン対試薬の使用によってほとんど影響を受けない。加えて、イオン対液相クロマトグラフィーは、しばしば専用カラム及び長い平衡化時間を要する。更に、移動相は典型的には質量分析装置と適合しない。

【0005】

混合モードクロマトグラフィーはイオン交換及び逆相クロマトグラフィーの特徴を組み合わせる。混合モードクロマトグラフィー用カラムは、疎水性及びイオン交換官能基を共に組み合わせ、多様な異なる分子向けに調節可能な選択性を容易にする。逆相カラムを用いて分離することが困難な親水性及びイオン化可能な化合物をしばしば混合モード樹脂を用いて溶解できる。一般に、混合モード固定相は逆相及びアニオン交換性能又は逆相及びカチオン交換性能のいずれかを組み込み、典型的には、カチオン、アニオン及び中性の分析物を単一分析で保持及び分離するのに十分な選択性を提供しない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

両イオン性又は双性イオン性官能基を含有する充填材料は既知である。しかしながら、これらの材料はアニオン交換又はカチオン交換いずれかの条件で使用されるが、これらの両方の性能を同時に提供しない。これらの固定相において、正及び負電荷を十分に分離せず、相互に中性化する傾向がある。従って、同一の固体担体上でカチオン交換及びアニオン交換の両方の性能を提供する固定相に対する要望がある。カチオン、アニオン及び無荷電の分子を単一分析で保持し分離するため、アニオン交換、カチオン交換及び逆相官能基を有する三重モード固定相を更に提供することが望ましい。本発明はこれら及び他の要望に取り組んでいる。

10

20

30

40

50

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は、液相クロマトグラフィー（LC）（例えば、高速液相クロマトグラフィー（HPLC））及び固相抽出（SPE）などの多種のクロマトグラフィー用途用の固定相として有用な組成物を提供する。

【0008】

本発明に係る組成物は、同一クロマトグラフィー材料内にアニオン交換、カチオン交換及び任意に逆相性能を含む。適切な移動相を選択する場合、上記組成物はアニオン交換及びカチオン交換性能を同時に提供する。相当数のアニオン交換基（例えば、塩基基）及び相当数のカチオン交換基（例えば、酸基）が相互に物理的に分離され、そのため、それらの間で反応を阻止する（例えば、塩橋の形成、電荷の中性化）ために、これが可能になった。

10

【0009】

一つの実施態様において、本発明は、固体担体（例えば、シリカゲル又はシリカモノリスなどの無機固体担体又は、ポリスチレン-ジビニルベンゼン共重合体などの有機ポリマー固体担体）及び上記固体担体に結合する微粒子（例えば、ラテックス粒子）を含む組成物を提供する。多様な例において、組成物は、カチオン交換基、イオン交換基及び逆相部分を含み、ここで、相当割合（例えば、大部分）のカチオン交換及びアニオン交換基がそれらの間で反応を実質的に阻止するのに十分な空間がある。一例において、逆相部分は、固体担体と共有結合的に連結する有機リガンドによって提供される。

20

【0010】

本発明は、外部表面と、内部壁によって画成された内部細孔とを有する多孔質固体担体（例えば、シリカゲル又はシリカモノリスなどの無機固体担体又は、ポリスチレン-ジビニルベンゼン共重合体などの有機ポリマー固体担体）を含む組成物を更に提供する。細孔は外部表面における開口(opening)にまで及ぶ。かかる組成物は、固体担体（例えば、固体担体及び/又はリガンドの表面上の反応性官能基を介して）に共有結合する有機リガンドを更に含む。リガンドは、細孔の内部壁及び任意に両者と結合し、担体の内部細孔壁及び外部表面と結合する。多様な例において、リガンドは、第一電荷（正及び負から選択される）を有する少なくとも一つのイオン交換基を含む。上記組成物は、第二電荷（正及び負から選択される）を有するイオン交換基を含む微粒子（例えば、ラテックス粒子）を更に含み、ここで、第二電荷は第一電荷と反対電荷であることが好ましい。微粒子は、直接又は間接的のいずれかで（例えば、微粒子のもう一つの層を介して）、例えば、静電力を介して、固体担体の外部表面に（例えば、不可逆的に）結合する。特定の実施態様において、微粒子の平均粒径は細孔の平均粒径と等しいか大きく、微粒子の大部分は外部表面と結合する。

30

【0011】

本発明は、フロースルー床(flow-through bed)内でクロマトグラフィー媒体として好適な本発明に係る組成物を更に提供する。加えて、本発明は、本発明に係る組成物を含むクロマトグラフィーカラムを提供する。本発明は、本発明に係る組成物を含む分離媒体で充填したクロマトグラフィーカラムを更に提供する。

40

【0012】

本発明は、例えば、液体試料中の分析物の分離のための本発明に係る組成物の製造方法を更に提供する。上記方法は、（a）外部表面及び外部表面における開口にまで及ぶ内部細孔を画成する内部壁を有する多孔質固体担体（例えば、シリカゲル又はシリカモノリスなどの無機固体担体又はポリスチレン-ジビニルベンゼン共重合体などの有機ポリマー固体担体）を提供する工程と、（b）有機リガンドを、例えば、固体担体及び/又はリガンドの表面上の反応性官能基を介して、内部壁に（及び任意に内部壁及び外部表面の両方に）共有結合する工程とを備える。上記リガンドは、第一電荷（正及び負から選択される）を有する少なくとも一つのイオン交換基を含む。上記方法は、（c）微粒子（例えば、ラテックス粒子）を、直接又は間接的に（例えば、微粒子のもう一つの層を介して）、固体

50

担体の外部表面に（例えば、静電力を介して）結合する工程を更に備える。上記微粒子は、正及び負から選択される第二電荷を有するイオン交換基を含む。第二電荷は第一電荷と反対電荷であることが好ましい。特定の実施態様において、微粒子の平均粒径は細孔の平均粒径と等しいか大きい。本発明は、上記方法で作った組成物を更に提供する。

【0013】

本発明は、本発明に係る組成物を含む分離媒体の床（例えば、充填床又はモノリス）を通じて液体を流動させるクロマトグラフィー方法（例えば、液体試料中の分析物の分離のための）を更に提供する。一例において、上記液体（すなわち、移動相）は、第一に水性媒体であり、任意に有機溶媒を含む。

【図面の簡単な説明】

10

【0014】

【図1A】本発明に係る組成物の概略図であり、図中、多孔質担体の表面は、カルボン酸又はスルホン酸基などの少なくとも1つの負に帯電した又は負にイオン化可能なイオン交換基を組み込んだイオン交換リガンドで官能化されている。多孔質担体の外側表面を、正に荷電した又は正にイオン化可能なイオン交換基（例えば、アミノ基）を組み込んだ微粒で更に変性する。一例において、図示したように、特定の条件下（例えば、およそ中性のpH）で、担体及び微粒子は共に荷電している。

【図1B】本発明に係る組成物の概略図であり、図中、多孔質担体の表面は、アミノ基などの少なくとも1つの正に帯電した又は正にイオン化可能なイオン交換基を組み込んだイオン交換リガンドで官能化されている。多孔質担体の外側表面を、負に荷電した又は負にイオン化可能なイオン交換基（例えば、カルボン酸又はスルホン酸基）を組み込んだ微粒で更に変性する。一例において、図示したように、特定の条件下（例えば、およそ中性のpH）で、担体及び微粒子は共に荷電している。

20

【図2】本発明に係る官能化担体及び微粒子（例えば、イオン性又はイオン化可能な/荷電した表面を有するもの）の製造に有用な典型的な反応性シリルリガンドを示す。

【図3】本発明のマルチモード材料の製造に有用な典型的な官能化担体（例えば、イオン化可能な又は荷電した表面を組み込んだもの）を示す。

【図4】組成物45（例えば、5 μ m、3 \times 50 mm）で充填したカラムを用いる無機カチオン及び無機アニオンの同時分離を示すクロマトグラムである。分析試料は、2 mM Li⁺（1）、2 mM Na⁺（2）、2 mM K⁺（3）及び6 mM Cl⁻（4）を含む。条件は次のようなもの、すなわち移動相は50 / 40 / 10 v / v / v - CH₃CN / H₂O / 100 mM NH₄OAc、pH 5、温度は30、流速は0.425 mL / 分、注入体積は5 μ L、検出はELSDである。

30

【図5】組成物45（例えば、5 μ m、3 \times 50 mm）で充填したカラムを用いる有機カチオン及び無機アニオンの同時分離を示すクロマトグラムである。分析試料は、各々約200 ppmの濃度でのテトラペンチルアンモニウム[N⁺(CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)₄]（1）、テトラブチルアンモニウム[N⁺(CH₂CH₂CH₂CH₃)₄]（2）、テトラプロピルアンモニウム[N⁺(CH₂CH₂CH₃)₄]（3）、テトラエチルアンモニウム[N⁺(CH₂CH₃)₄]（4）、テトラメチルアンモニウム[N⁺(CH₃)₄]（5）、塩素イオン（6）及び臭素イオン（7）を含む。条件は次のようなもの、すなわち勾配は-CH₃CN / H₂O / 200 mM NH₄OAc、pH 5 v / v / v 40 / 57.5 / 2.5 ~ 40 / 40 / 20を5分間にわたり、その後40 / 10 / 50を10分間とし、温度は30、流速は0.425 mL / 分、注入体積は2 μ L、検出は蒸発光散乱検出器（ELSD）である。

40

【図6】組成物45（例えば、5 μ m、4.6 \times 50 mm）で充填したカラムと、イオン交換リガンド27でシリカ官能化したカラムとを用いるカチオン性、アニオン性及び中性の有機化合物の同時分離を示す二組のクロマトグラムである。分析試料は、プソイドエフェドリン（1）、ナフタレン（2）及びサリチル酸（3）を含む。条件はつぎのようなもの、すなわち移動相はCH₃CN / H₂O / 0.2 M NaCl / 0.1 % H₃PO₄ v / v / v 40 / 40 / 10 / 10、温度は30、流速は1 mL / 分、注入体積は2 μ

50

L、検出は210 nmにおけるUVである。

【図7】組成物52（例えば、5 μm、4.6 × 50 mm）で充填したカラムと、イオン交換リガンド32で官能化したシリカとを用いるカチオン性、アニオン性及び中性の有機化合物の同時分離を示す二組のクロマトグラムである。分析試料は、サリチル酸（1）、ナフタレン（2）及びブソイドエフェドリン（3）を含む。条件はつぎのようなもの、すなわち移動相はCH₃CN / 5 mM リン酸カリウム緩衝液、pH 6.8 v / v 45 / 55、温度は30、流速は1 mL / 分、注入体積は1 μL、検出は210 nmにおけるUVである。

【図8】組成物57（例えば、5 μm、4.3 × 10 mm）で充填したカラム上のカチオン性及びアニオン性有機化合物両者の保持を示し、かかる結果を非官能化シリカゲルを用いて得たものと比較する二つのクロマトグラムのセットである。分析試料は、ナフタレン（1）、ブソイドエフェドリン（2）及びサリチル酸（3）を含む。条件は次のようなもの、すなわち移動相はCH₃CN / 5 mM NaClのH₂O溶液 v / v 40 / 60、温度は30、流速は1 mL / 分、注入体積は1 μL、検出は210 nmにおけるUVである。

【図9】非官能化シリカゲル及び組成物57（例えば、5 μm、4.3 × 10 mm）で充填したカラムを用いる無機アニオン（例えば、ヨウ素イオン、NaI 300 ppm）の保持を比較する二つのクロマトグラムのセットである。条件は次のようなもの、すなわち移動相はCH₃CN / H₂O / 0.2 M NaCl / 0.1 % H₃PO₄ v / v / v / v 40 / 40 / 10 / 10、温度は30、流速は1 mL / 分、注入体積は2 μL、検出は210 nmにおけるUVである。

【図10A】本発明の典型的な混合モード媒体をまとめた表である。

【図10B】本発明の典型的な混合モード媒体をまとめた表である。

【図10C】本発明の典型的な混合モード媒体をまとめた表である。

【図10D】本発明の典型的な混合モード媒体をまとめた表である。

【図10E】本発明の典型的な混合モード媒体をまとめた表である。図10において、(A)は約60 ~ 約140 の名目的細孔径を有する多孔質球形シリカゲル（例えば、dpが5ミクロン、細孔径が120、表面積が300 m² / gである球形シリカゲル）を表わし、(B)は約140 ~ 約240 の名目的細孔径を有する多孔質球形シリカゲル（例えば、dpが5ミクロン、細孔径が200、表面積が200 m² / g）を表わし、(C)は約240 ~ 約330 の名目的細孔径を有する多孔質球形シリカゲル（例えば、dpが5ミクロン、細孔径が300、表面積が100 m² / g）を表わし、(D)は塩基性酸化アルミニウム粉末を表わし、(E)は酸性酸化アルミニウム粉末を表わし、(F)はシリカモノリスを表わす。図10において、「スルホン化ラテックス」はスルホン化4-メチルスチレン / ジビニルスチレン共重合体（例えば、架橋度が5%、dpが150 nm）であり、「アミン化ラテックス」はアミン化ビニルベンジルグリシジルエーテル / ジビニルスチレン共重合体（例えば、架橋度が6%、dpが70 nm）であり、「カルボキシ化ラテックス」はグリシジルオキシエチルメタクリレート（GLEMA）系（例えば、例3.3）であり、「PS-DVB」はポリスチレン-ジビニルベンゼン共重合体である。

【図11】多種の分析物の保持に対する移動相のイオン強度の効果を示す図である。実験は組成物45で充填したカラム（例えば、5 μm、4.6 × 50 mm）及び下記条件を用いた。移動相が5 ~ 40 mM（総濃度）のCH₃CN / 1 % H₃PO₄ / NaCl水溶液 v / v / v 40 / 10 / 50であり、温度が30であり、流速が1 mL / 分であり、注入体積が3 μLであり、検出が210 nmにおけるUVである。

【図12】選択性及び多種の分析物の保持に対する移動相の有機溶媒含有量の効果を示す図である。実験は組成物45で充填したカラム（例えば、5 μm、4.6 × 50 mm）及び下記条件を用いた。移動相が10 mM NaCl、0.1 % H₃PO₄脱イオン水を含むCH₃CN / 緩衝液であり、温度が30であり、流速が1 mL / 分であり、注入体積が3 μLであり、検出が210 nmにおけるUVである。

【発明を実施するための形態】

【0015】

I. 定義

置換基をそれら通常の化学式で特定し、左から右へ記述する場合、構造を右から左へ記述した結果と化学的に同一な置換基を等しく包含する、例えば、 $-CH_2O-$ は $-OCH_2-$ を指すことも意図する。

【0016】

「アルキル」という用語は、それ自体又はもう一つの置換基の一部として、特に明記しない限り、直鎖又は分岐鎖、もしくは環状炭化水素ラジカル、もしくはそれらの組み合わせを意味し、完全飽和、モノ又はポリの不飽和であってもよく、所定の炭素原子数（すなわち、 $C_1 \sim C_{10}$ は 1 ～ 10 の炭素を意味する）を有する二価及び多価のラジカルを含むことができる。飽和炭化水素ラジカルの非限定の例示としては、メチル、エチル、*n*-プロピル（例えば、 $-CH_2-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-$ ）、イソプロピル、*n*-ブチル、*t*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、シクロヘキシル、（シクロヘキシル）メチル、シクロプロピルメチルや、例えば、*n*-ペンチル、*n*-ヘキシル、*n*-ヘプチル、*n*-オクチルなどの相同体及び異性体などの基が挙げられる。不飽和アルキル基は、1つ以上の二重結合又は三重結合を有するものである。不飽和アルキル基の非限定的な例示としては、ビニル、2-プロペニル、クロチル、2-イソペンテニル、2-（ブタジエニル）、2、4-ペンタジエニル、3-（1、4-ペンタジエニル）、エチニル、1-及び3-プロピニル、3-ブチニル、並びにより高級の相同体及び異性体を含む。また、「アルキル」という用語は、特に注記しない限り、「ヘテロアルキル」などの下記の下記のさらに詳細に定義するアルキル誘導体を含む意味である。炭化水素基に限定したアルキル基を「ホモアルキル」と呼ぶ。また、「アルキル」という用語は、「アルキレン」又は「アルキルジイル」並びにアルキリデンも意味することができ、これらの場合、アルキル基が二価のラジカルである

【0017】

「アルキレン」又は「アルキルジイル」という用語は、それ自体又はもう一つの置換基の一部として、アルキル基から誘導した二価のラジカルを意味し、 $-CH_2CH_2CH_2-$ （プロピレン又はプロピレン-1、3-ジイル）が非限定的に例示され、「ヘテロアルキレン」として下記に記載した基を含む。アルキル（又はアルキレン）基は、典型的には1～約30炭素原子、好適には1～約25炭素原子、より好適には1～約20炭素原子、さらにより好適には1～約15炭素原子、最も好適には1～約10炭素原子を有する。「低級アルキル」、「低級アルキレン」又は「低級アルキルジイル」は、通常約10以下の炭素原子、約8つ以下の炭素原子、約6つ以下の炭素原子又は約4つ以下の炭素原子を有する短鎖アルキル、アルキレン又はアルキルジイル基である。

【0018】

「アルキリデン」という用語は、それ自体又はもう一つの置換基の一部として、アルキル基から誘導した二価のラジカルを意味し、 $CH_3CH_2CH_2=$ （プロピリデン）が非限定的に例示される。アルキリデン基は、典型的には1～約30炭素原子、好適には1～約25炭素原子、より好適には1～約20炭素原子、さらにより好適には1～約15炭素原子、最も好適には1～約10炭素原子を有する。「低級アルキル」又は「低級アルキリデン」は、通常約10以下の炭素原子、約8つ以下の炭素原子、約6つ以下の炭素原子又は約4つ以下の炭素原子を有する短鎖アルキル又はアルキリデン基である。

【0019】

「アルコキシ」、「アルキルアミノ」及び「アルキルチオ」（又はチオアルコキシ）という用語は、それらの通常の意味で使用され、各々、酸素原子、アミノ基又は硫黄原子を介して分子の残部に結合したアルキル基をいう。

【0020】

「ヘテロアルキル」という用語は、それ自体又はもう一つの用語との組合せで、特に明記しない限り、炭素原子及びO、N、Si、S及びBからなる群から選択された少なくとも

も一つのヘテロ原子の上記要素からなる安定な直鎖又は分岐鎖、もしくは環状炭化水素ラジカル、もしくはそれらの組み合わせを意味し、窒素及び硫黄原子が任意に酸化され、窒素ヘテロ原子が任意に四級化されてもよい。一種又は複数種のヘテロ原子であるO、N、B、S及びSiを、ヘテロアルキル基のいかなる内部の位置又はアルキル基が分子の残部に結合する位置に配置できる。非限定的な例としては、 $-CH_2-CH_2O-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-CH_2-S-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$ 、 $-CH=CH-O-CH_3$ 、 $-Si(CH_3)_3$ 、 $-CH_2-CH=N-OCH_3$ 、及び $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$ が挙げられる。例えば、 $-CH_2-NH-OCH_3$ 及び $-CH_2O-Si(CH_3)_3$ のように2つまでのヘテロ原子が連続できる。同様に、「ヘテロアルキレン」という用語はそれ自体又はもう一つの置換基の一部としてヘテロアルキルに由来する二価のラジカルを意味し、例えば、 $-CH_2-CH_2-S-CH_2-CH_2-$ 及び $-CH_2-S-CH_2-CH_2-NH-CH_2-$ が非限定的に例示される。ヘテロアルキレン基において、ヘテロ原子は鎖末端の一方又は両方を占めることができる（例えば、アルキレンオキシ、アルキレンジオキシ、アルキレンアミノ、アルキレンジアミノなど）。その上更に、アルキレン及びヘテロアルキレン結合基において、記載された結合式の方向性より結合基の配向がないことを意味する。例えば、式 $-CO_2R'$ は、 $-C(O)OR'$ 及び $-O-C(O)R'$ の両方を表わす。

【0021】

「シクロアルキル」及び「ヘテロシクロアルキル」という用語は、それ自体又は他の用語と組み合わせて、特に明記しない限り、各々「アルキル」及び「ヘテロアルキル」の環状の変種を表わす。加えて、ヘテロシクロアルキルにおいて、ヘテロ原子が、ヘテロ環が分子の残部に結合する位置を占めてもよい。シクロアルキルの例としては、限定されないが、シクロペンチル、シクロヘキシル、1-シクロヘキセニル、3-シクロヘキセニル、シクロヘプチルなどが挙げられる。ヘテロシクロアルキルの非限定的な例示としては、1-(1、2、5、6-テトラヒドロピリジル)、1-ピペリジニル、2-ピペリジニル、3-ピペリジニル、4-モルホリニル、3-モルホリニル、テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロフラン-3-イル、テトラヒドロチエン-2-イル、テトラヒドロチエン-3-イル、1-ピペラジニル、2-ピペラジニルなどが挙げられる。

【0022】

「ハロ」又は「ハロゲン」という用語は、それ自体又はもう一つの置換基の一部として、明記されない限り、フッ素、塩素、臭素、又はヨウ素原子を意味する。加えて、「ハロアルキル」などの用語は、モノハロアルキル又はポリハロアルキルを含む意味である。例えば、「ハロ($C_1 \sim C_4$)アルキル」という用語は、トリフルオロメチル、2、2、2-トリフルオロエチル、4-クロロブチル、3-ブロモプロピルなどを非限定的に含むことを意味する。

【0023】

「アリール」という用語は、特に明記しない限り、ポリ不飽和芳香族置換基であり、単一環又は多重環（1～3環が好ましい）であってもよく、互いに融合又は共有結合する。「ヘテロアリール」という用語は、N、O、S、Si及びBから選択される1～4つのヘテロ原子を含むアリール基（又は環）といい、ここで、窒素及び硫黄原子は任意に酸化され、単数又は複数の窒素原子は任意に四級化される。ヘテロアリール基はヘテロ原子を通じて分子の残部と結合できる。アリール及びヘテロアリール基の非限定的な例示としては、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチル、4-ピフェニル、1-ピロリル、2-ピロリル、3-ピロリル、3-ピラゾリル、2-イミダゾリル、4-イミダゾリル、ピラジニル、2-オキサゾリル、4-オキサゾリル、2-フェニル-4-オキサゾリル、5-オキサゾリル、3-イソキサゾリル、4-イソキサゾリル、5-イソキサゾリル、2-チアゾリル、4-チアゾリル、5-チアゾリル、2-フリル、3-フリル、2-チエニル、3-チエニル、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、2-ピリミジル、4-ピリミジル、5-ベンゾチアゾリル、プリニル、2-ベンズイミダゾリル、5-インドリル、1-イ

10

20

30

40

50

ソキノリル、5 - イソキノリル、2 - キノキサリニル、5 - キノキサリニル、3 - キノリル、及び6 - キノリルが挙げられる。上記のアリール及びヘテロアリール環系のそれぞれの置換基は、以下に記述した許容される置換基群から選択される。

【0024】

簡潔のために、「アリール」という用語は、他の用語と組み合わせて使用した場合に（例えば、アリールオキシ、アリールチオキシ、アリールアルキル）、上記記載のとおりのアリール及びヘテロアリール環を含む。従って、「アリールアルキル」という用語は、アリール基がアルキル基（例えば、ベンジル、フェネチル、ピリジルメチルなど）が結合したラジカルを含むことを意味し、これらのアルキル基において、炭素原子（例えば、メチレン基）が例えば酸素原子（例えば、フェノキシメチル、2 - ピリジルオキシメチル、3 - （1 - ナフチルオキシ）プロピルなど）によって置換されたアルキル基を含む。

10

【0025】

上記各用語（例えば、「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「アリール」及び「ヘテロアリール」）は、示されたラジカルの置換及び非置換形を含む。それぞれのタイプのラジカルに好適な置換基は、下記に示すとおりである。

【0026】

アルキル及びヘテロアルキルラジカル（アルキレン、アルケニル、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、シクロアルケニル及びヘテロシクロアルケニルとも称される基を含む）のための置換基は、一般的に「アルキル基置換基」と称され、これらは、これらに限定されないが、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換ヘテロ環状アリール、 $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、ハロゲン、 $-SiR'R''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)_2R'$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR'R'''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 、及び $-NO_2$ であって、0から $(2m'+1)$ の範囲から選択される一種以上の多種の基であり、ここで、 m' は、かかるラジカルの総炭素原子数である。 R' 、 R'' 、 R''' 、及び R'''' は、好ましくは、独立して水素原子、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、例えば1～3つのハロゲンで置換されたアリール、置換又は非置換のアルキル、アルコキシ若しくはチオアルコキシ基、又はアリールアルキル基を言う。本発明の化合物が複数のR基を含むとき、例えば、複数のこれらの基が存在するときは、各R基はそれぞれ独立して R' 、 R'' 、 R''' 、及び R'''' 基として選択される。 R' 及び R'' が同じ窒素原子に結合している場合、これらは窒素原子と共に5員、6員又は7員環を形成することができる。例えば $-NR'R''$ は、1 - ピロリジニル及び4 - モルホリニルを非限定的に含むことを意味する。置換基の上記説明から、当業者であれば、「アルキル」という用語が、ハロアルキル（例えば $-CF_3$ 及び $-CH_2CF_3$ ）及びアシル（例えば $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ 等）などの水素基以外の基と結合した炭素原子を含有する基を含むことを意味すると理解する。

20

30

【0027】

上記アルキルラジカルの置換基と同様に、アリール及びヘテロアリール基の置換基を、一般的に「アリール基置換基」と呼ぶ。置換基は、例えば、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換ヘテロシクロアルキル、 $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、ハロゲン、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)_2R'$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR'R'''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 及び $-NO_2$ 、 $-R'$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、フルオロ $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシ、並びにフルオロ $(C_1 \sim C_4)$ アルキルから、0から芳香環

40

50

系上の結合可能な原子価の総数までの範囲で、選択する。ここで、 R' 、 R'' 、 R''' 、及び R'''' は、好ましくは、独立して水素原子、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、及び置換又は非置換ヘテロアリールから選択する。本発明の化合物が複数の R 基を含む場合、例えば、これらの基が複数存在する場合、各 R 基をそれぞれ独立して R' 、 R'' 、 R''' 及び R'''' 基として選択する。

【0028】

アリール又はヘテロアリール環の隣接原子上の2つの置換基を、任意に、式 $-T-C(O)-(CRR')$ _q-U-の置換基で置換でき、式中、 T 及び U は、独立して $-NR-$ 、 $-O-$ 、 $-CRR'-$ 又は単結合であり、 q は0～3の整数である。代替的に、アリール又はヘテロアリール環の隣接原子上の2つの置換基を、任意に、式 $-A-(CH_2)_r-B-$ の置換基で置換でき、式中、 A 及び B は、独立して $-CRR'-$ 、 $-O-$ 、 $-NR-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 又は単結合であり、 r は1～4の整数である。ここで形成された新たな環の単結合の1つを、任意に二重結合で置換できる。代替的に、アリール又はヘテロアリール環の隣接原子上の2つの置換基を、任意に、式 $-(CRR')_s-X-(CR''R''')_d-$ の置換基で置換でき、式中、 s 及び d は、独立して0～3の整数であり、 X は、 $-O-$ 、 $-NR'-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、または $-S(O)_2NR'-$ である。置換基 R' 、 R'' 、 R''' 及び R'''' は、独立して水素原子、置換又は非置換($C_1 \sim C_6$)アルキルから選択されることが好ましい。

【0029】

ここで用いる「シリル基置換基」という用語は、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換ヘテロシクロアルキル、アシル、 $-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、ハロゲン、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'R'C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)_2R'$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-OS(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 及び $-NO_2$ から非限定的に選択される多種の一種類又は多種の基である。 R' 、 R'' 、 R''' 及び R'''' は、独立して水素、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール例えば、1～3つのハロゲンで置換したアリール、置換又は非置換アルキル、アルコキシ又はチオアルコキシ基、もしくはアリールアルキル基を言うことが好ましい。本発明の化合物が複数の R 基を含む場合、例えば、これらの基が複数存在する場合、各 R 基をそれぞれ独立して R' 、 R'' 、 R''' 及び R'''' 基として選択する。 R' 及び R'' が同じ窒素原子に結合している場合、これらは窒素原子と共に5員、6員又は7員環を形成することができる。例えば $-NR'R''$ は、1-ピロリジニル及び4-モルホリニルを非限定的に含むことを意味する。置換基の上記説明から、当業者であれば、「アルキル」という用語が、ハロアルキル(例えば $-CF_3$ 及び $-CH_2CF_3$)及びアシル(例えば $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ 等)などの水素基以外の基と結合した炭素原子を含有する基を含むことを意味すると理解する。

【0030】

ここで用いる「非反応性シリル基置換基」という用語は、本発明の基材と反応せずシリル基置換基と基材との間に共有結合を形成しない「シリル基置換基」を意味する。典型的な「非反応性シリル基置換基」としては、アルキル(例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル及び他の低級アルキル基)又はアリール基(例えば、フェニル)が挙げられる。

【0031】

ここで用いる「反応性シリル基置換基」という用語は、本発明の基材と反応しシリル基置換基と基材との間に共有結合を形成する「シリル基置換基」を意味する。典型的な「反応性シリル基置換基」は、ハロゲン(例えば、 Cl 及び Br)などの脱離基として共有結合的に定義されるこれらの基を含む。他の典型的な「反応性シリル基置換基」は、アルコ

10

20

30

40

50

キシ基（例えば、メトキシ又はエトキシ）並びに一級及び二級アミノ基を含む。

【0032】

ここで用いる「アシル」という用語は、カルボニル残基、 $C(O)R$ を含有する置換基を言う。Rの典型的な種としては、H、ハロゲン、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルが挙げられる。

【0033】

ここで用いる「融合環系」という用語は、各環が少なくとも2原子をもう一つの環と共有する少なくとも2つの環を意味する。「融合環系」は芳香族並びに非芳香族環を含むことができる。「融合環系」の例示は、ナフタレン、インドール、キノリン、クロメンなどである。

10

【0034】

ここで用いる「ヘテロ原子」という用語は、酸素(O)、窒素(N)、硫黄(S)、ケイ素(Si)及びホウ素(B)を含む。

【0035】

記号「R」は、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキル基から選択する置換基を表す一般的な略号である。

【0036】

ここで用いる「疎水性部分」という用語は、内部イオン性、イオン化可能な又は極性基を含まないことが好ましく及び/又はイオン性、イオン化可能な又は極性置換基を含まないことが好ましく、それゆえ、事実上疎水性である部分を記載する。典型的なイオン性及びイオン化可能な基を明細書中に記載する。エーテル基、アミド基、スルホンアミド基、尿素基、カルバメート基、炭酸基などを含む疎水性部分中に、極性基を含まないことが好ましい。水酸基、アルコキシ基、エステル基などを含む疎水性部分中に、典型的な極性基を含まないことが好ましい。典型的な疎水性部分としては数個の連続する炭素原子を有する炭素鎖を含み、ここでは下限及び/又は上限によって、この数値を規定する。下限に関しては、疎水性部分は、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19又は少なくとも20個の連続した炭素原子を有する。上限に関しては、疎水性部分は、約50個以下の連続した炭素原子、約30個以下の炭素原子、約25個以下の炭素原子、約20個以下の炭素原子、約15個以下の炭素原子、約14個以下の、約13個以下の、約12個以下の、約11個以下の、約10個以下の、約9個以下の又は約8個以下の連続した炭素原子を含むことが好ましい。典型的な連続した炭素原子数の範囲は、上記上限と下限の間で形成できる。具体的な実施態様において、疎水性部分は少なくとも連続した8個の炭素原子を有する。もうひとつの実施態様において、疎水性部分は少なくとも8個の炭素原子で、20個以下の連続した炭素原子を有する。「疎水性部分」に関しては、少なくとも二個の連続した炭素原子は任意に環の部分（例えば、5員環又は6員環）であり、ここで上記環は、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル及びアリール、ヘテロアリール及びシクロアルキル環を含みうる縮合環系から選択した部分である。上記環を、非置換アルキル基（例えば、メチル、エチル又はプロピル基）などの非極性（疎水性）置換基で任意に置換する。一例において、疎水性部分は、リガンド又は本発明の官能化基材の一部であり、リガンド又は官能化基材が逆相特性を示すのに十分なほど疎水性である（例えば、少なくとも C_8 アルキル）。

20

30

40

【0037】

ここで用いる「イオン交換基」という用語は、アニオン性基又はアニオン化可能基をいう。イオン性基は荷電しており（例えば、正に帯電した四級アミン）、イオン化可能基は、イオン化可能基が曝される条件（すなわち、塩基性又は酸性）に応じて荷電でき又は荷電できない。例えば、三級アミノ基はプロトンを受け取ることにより荷電でき（塩基性基

50

）、一方カルボン酸基はプロトンを放出することで荷電できる（酸基）。イオン交換基としては、アニオン交換基、カチオン交換基、両イオン性及び双性イオン性基が挙げられる。アニオン交換基としては、一級、二級、三級及び四級アミン、並びにいずれかの他の塩基（プロトン受容性）官能基が挙げられる。カチオン交換基としては、スルホン酸、硫酸、カルボン酸、ホスホン酸、リン酸、シラノール、フェノール性水酸基並びにいずれかの他の酸（プロトン受容供与性）官能基が挙げられる。両イオン性及び双性イオン性リガンドとしては、少なくとも一つのアニオン交換及び少なくとも一つのカチオン交換基を含み、各々上記イオン交換基から選ぶことができるものが挙げられる。

【0038】

本発明の基材及び微粒子に関してここで用いる「電荷を有する」、「帯電した」、「正に帯電した」、「負に帯電した」という用語及びそれらの文法的な変形は、イオン交換基を含む材料を示す。上記のように、イオン交換基は事実上イオン性又はイオン化可能ないずれかである。従って、「帯電した」又は「電荷を有する」という用語は、「イオン性」又は「イオン化可能な」基を組み込むことを意味する。

【0039】

「基材」及び「担体」又は「固体担体」という用語を互換的に使用する。

【0040】

「実質的に保持される」という用語は、分析物（例えば、アニオン、アニオン化可能な化合物、無荷電の分子など）をいい、排除体積の後、分析物が分離媒体から溶出し、例えば、溶媒ピークから分離したベースラインに対してピークをなすことを意味する。

【0041】

本発明に係る化合物が相対的に塩基性又は酸性の官能基を含む場合、かかる化合物の塩を本発明の範囲内に含む。塩は、かかる化合物の中性形をそのまま又は適する不活性溶媒中で十分な量の所望の酸又は塩基と接触することで得られる。本発明に係る相対的に酸性の化合物用の塩の例示としては、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、有機アミノ、もしくはマグネシウム塩、もしくは同様の塩が挙げられる。本発明に係る化合物が相対的に塩基性の官能基を含む場合、酸付加塩は、かかる化合物の中性形をそのまま又は適する不活性溶媒中で十分な量の所望の酸と接触することで得られる。酸付加塩の例としては、塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、一水素炭酸、リン酸、一水素リン酸、二水素リン酸、硫酸、一水素硫酸、ヨウ化水素酸又は亜リン酸など無機酸由来のもの、並びに酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、スベリン酸、フマル酸、乳酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トリルスルホン酸、クエン酸、酒石酸、メタンスルホン酸などの有機酸に由来する塩が挙げられる。また、アルギン酸などのアミノ酸塩、グルクロン酸またはガラクトロンなど（例えば、Bergeら、Journal of Pharmaceutical Science 1977、66：1-19参照）も含む。本発明に係る特定の化合物は塩基性及び酸性官能性を共に含有し、化合物を塩基付加塩又は酸付加塩のいずれかに転化しうる。

【0042】

中性形の化合物は、通常の方法で塩を塩基又は酸と接触させ、親化合物を単離することによって再生成することが好ましい。親形の化合物は、極性溶媒中の溶解性などの特定の物理的特性において多種の塩形と異なるが、その他の点では、塩は親形の化合物と本発明の目的においては等価である。

【0043】

酸性及び塩基基の代表例は、それらの荷電した変形及び塩の変形を任意に含む。例えば、式「 $-C(O)OH$ 」又は「 $-COOH$ 」を有する置換基は、 $-C(O)O^-$ 及び $-C(O)O^-X^+$ を任意に含むことを意味し、式中 X^+ はカチオン性対イオンである。同様に、式 $-N(R)(R)$ を有する置換基は、 $-N^+H(R)(R)$ 及び $-N^+H(R)(R)Y^-$ を任意に含むことを意味し、式中 Y^- はアニオン性対イオンを表わす。

【0044】

「平均細孔径」、「平均細孔開口径」という用語又はそれらの文法的な変形いずれもが

10

20

30

40

50

基材の細孔寸法諸元を言う。細孔径は典型的にはクロマトグラフィー材料（例えばシリカゲル）の製造者により提供される。細孔径は、例えば、顕微鏡又は水銀圧入法を用いて決定できる

【0045】

「平均粒径」、「粒径」、「平均粒子径」、「メジアン粒径」という用語又はそれらの文法的な変形いずれもが本発明の基材（固体担体）用の粒径諸元を言う。粒径は典型的には製造者により提供される。粒径は、球形及び不定形粒子を含むあらゆる種類の粒子をいうことができる。

【0046】

本発明に係る特定の化合物は、非溶媒和形、並びに水和形を含む溶媒和形で存在できる。一般に、溶媒和形は、非溶媒和形と等価であり、本発明の範囲内に含まれる。本発明に係る特定の化合物は、多重の結晶形または非晶形で存在できる。一般に、すべての物理的形は、本発明によって企図された使用に対し等価であり、本発明の範囲内であることを意図している。「化合物又は化合物の薬学的に許容し得る塩又は溶媒和物」での「又は」は包括的な意味を意図しており、ここで塩と溶媒和物の両方である材料も含む。

【0047】

本発明に係る特定の化合物は不斉炭素原子（光学中心）または二重結合を有する。ラセミ体、ジアステレオマー、幾何異性体、及び個々の異性体を本発明の範囲内に含む。光学活性な（R）及び（S）異性体をキラル合成原料又はキラル剤を用いて調製でき、又は従来技術を用いて溶解できる。本明細書中に記載した化合物がオレフィン性二重結合又は他の幾何異性中心を有する場合、特に特定しない限り、化合物がE及びZ幾何異性体を共に含む意図である。同様に、すべての互変異性形も含む意図である。

【0048】

ここで用いるラセミ体、アンビスケールミック及びスケールミック又は鏡像異性的純粋化合物の図形的表現は、Maehr, J. Chem. Ed., 62: 114-120 (1985) から選んで取った。実線及び破線のくさび形を用いてキラル要素の絶対配置を示し、波線は結合が生成できうることを表わすいずれの立体化学的意味を打ち消す意図であり、実線及び破線の太線は相対配置を示すがいずれの絶対立体化学をも意味しないことを示す幾何的な記述子であり、くさび形輪郭及び点線又は破線は未定の絶対配置の鏡像異性的純粋化合物を示す。

【0049】

「鏡像異性的過剰」及び「ジアステレオマー的過剰」という用語をここでは互換的に用いる。単一の立体中心を有する化合物を「鏡像異性的過剰」にあるといい、少なくとも二個の立体中心を有する化合物を「ジアステレオマー的過剰」にあるという。

【0050】

また、本発明に係る化合物は、かかる化合物を構成する一種又は複数種の原子において非天然比率の同位体原子を含むことができる。例えば、化合物を、例えば、重水素、トリチウム（ ^3H ）、ヨウ素 125（ ^{125}I ）及び炭素-14（ ^{14}C ）などの放射性同位体で放射標識できる。本発明に係る化合物のすべての同位体変種は、放射性の有無によらず、本発明の範囲内に包含する意図である。

【0051】

II. 導入

本発明は独自のクロマトグラフィー特性を有する組成物を提供し、高速液相クロマトグラフィー（HPLC）及び固相抽出（SPE）などの多種のクロマトグラフィー用途での固定相として有用である。特定の実施態様において、本発明に係る組成物は、同一のクロマトグラフィー材料内にアニオン交換及びカチオン交換性能を共に備える。他の実施態様において、組成物は、同一のクロマトグラフィー材料内にアニオン交換、カチオン交換及び逆相性能を備える。これら組成物において、交換基間の反応（例えば、塩橋の形成、静電相互作用、荷電中性化）を最小化又は回避するために、アニオン交換基（例えば、塩基基）及びカチオン交換基（例えば、酸基）を相互に物理的に隔てる（すなわち、空間的に分離する）。一例において、アニオン交換及びカチオン交換基の空間的分離は、一種類の

イオン交換基を多孔質担体の細孔内に、他の種類のイオン交換基を固体担体の外側表面に結合する（例えば、不可逆的に）微粒子（例えば、ラテックス粒子）上に提供することで得られる。

【0052】

一つの実施態様において、本発明に係る組成物は、外部表面と、細孔径を規定する内側細孔径を有する「内部壁」により画成された細孔開口を有する多孔質固体担体（例えば、シリカゲル、シリカモノリスまたは合成有機樹脂）を含む。細孔は基材の外部表面へ開口する。固体担体はイオン交換基を含み、該イオン交換基は正又は負に帯電した基であってもよい。一例において、担体自身によって、例えば、合成樹脂重合体中に荷電したモノマーを組み込むことにより又はシリカ基材の表面上のイオン化可能なシラノール基によってイオン交換基を提供する。もうひとつの例において、固体担体（例えば、シリカゲル、シリカモノリス）を有機イオン交換リガンド（例えば、シリルリガンド）で共有結合的に（例えば、内部細孔壁及び任意に外部表面に沿って）変性する。リガンドは少なくとも1つのイオン交換基（例えば、イオン性又はイオン化可能な基）を組み込む。リガンドのイオンの性質は正又は負電荷であり得る。

10

【0053】

典型的なリガンドは塩基性及び／又は酸性イオン交換基を含む。典型的なイオン交換基はアミノ基（例えば、二級、三級又は四級アミン）などのアニオン交換基又はカルボン酸又はスルホン酸基などのカチオン交換基を含む。一例において、リガンドはアニオン交換及びカチオン交換基（すなわち、双性イオン性又は両イオン性リガンド）を共に含む。リガンドは任意に付加的な極性基（例えば、エーテル、アミド、スルホンアミド、尿素又は炭酸基）を含むことができる。リガンドは疎水性部分（例えば、アルキル又は芳香族部分）も含むことができる。一例において、かかる疎水性部分は、固定相にイオン交換特性に加えて逆相特性を付与するのに十分な疎水性を提供する。

20

【0054】

組成物はラテックス系微粒子などの微粒子を更に含み、該微粒子は上記イオン交換基材の外部表面に結合する。例えば、微粒子は基材の表面に静電力を介して（例えば、正に荷電した担体及び負に帯電した微粒子間の）結合できる。微粒子は担体上に見られる電荷と反対の電荷を有するイオン交換基を組み込む。典型的な微粒子をアミノ基又はスルホン酸基で官能化する。もうひとつの例において、基材の正味表面電荷は微粒子の正味表面電荷と反対電荷であり、それによってアニオン交換及びカチオン交換サイトを共に含むクロマトグラフィー材料を提供する、ここで、該アニオン交換及びカチオン交換サイトは物理的／空間的に互いから分離されている。

30

【0055】

一例において、微粒子は担体の細孔に入ることができる粒子数を最小化するのに十分な寸法を有し、それによって細孔の内部壁に微粒子が結合するのを低減し又は実質的に回避する。微粒子は、図1A及び図1Bに示すように理想的には基材の外側表面（外側結合）に結合する。従って、好適な実施態様において、微粒子は、細孔開口の平均粒径に等しい又はより大きい平均粒径を有する。例えば、細孔が約30nm未満の細孔径を有する一方で、微粒子の平均粒径は約50nmよりも大きい。従って、細孔の内部壁は微粒子の結合で損なわれず、もとの官能性及び特性を維持する。細孔内に配置したイオン交換基と微粒子の表面に配置したイオン交換基を物理的に分離することで、本発明の組成物はアニオン交換及びカチオン交換性能を同時に同一の固定相内で提供できる。本方式での異なるイオン交換基の空間的な分離により反対に荷電した基間の反応（例えば、塩橋の形成）を防ぐ。

40

【0056】

例えば、基材の表面（外部表面及び細孔の内部壁）を、アニオン交換（正に荷電した）サイトを有する有機リガンドで誘導化した。外部表面へ、カチオン交換（負に帯電した）サイトを提供する微粒子を結合した。微粒子は、正に荷電したサイトを基材の外部表面上に「ブロック」し、負に帯電したサイトを微粒子の表面上で「置換」する。しかしながら

50

、微粒子が大きすぎて細孔に侵入できないため、細孔の内部壁は正に荷電したサイトを提供し続ける。得られた組成物は、細孔の内側内にアニオン交換サイト及び微粒子の表面上にカチオン交換サイトを提供し、両者は互いに分離している。当業者は、細孔内にカチオン交換サイト及び微粒子の表面上にアニオン交換サイトを有する組成物をつくるために上記戦略を使用できることを理解する。

【0057】

細孔は微粒が侵入するには実質的に小さすぎるのだが、クロマトグラフィー試料中に存在する分析物はそれでも細孔に接近できる。一種類又は複数種類の分析物を含む液体試料は、細孔及び細孔の内側に入ることができ、分析物は固体担体に結合するイオン交換リガンドと相互作用できる。従って、液体試料内の分析物は、細孔内のリガンドの提供するイオン交換サイト及び微粒子の提供するイオン交換サイトの両方と相互作用できる。

10

【0058】

細孔内に位置するイオン交換と微粒子の表面に位置するイオン交換基とを物理的に分離することによって、本発明の組成物は、アニオン交換及びカチオン交換性能の両方を同時に同一の固定相内に提供できる。例えば、アニオン交換基及びカチオン交換基が共に荷電し（例えば、ほぼ中性のpHで）、そこで分析物とのイオン性相互作用に使えるように、クロマトグラフィーによる分離に使用する移動相のpHと組成物を選択する。代替的には、アニオン交換又はカチオン交換のいずれかの性能が支配的（すなわち、樹脂の正味電荷が正又は負である）になるように移動相を選択できる。典型的には、かかる条件は移動相の中性pHの下又は上で各々生じる。

20

【0059】

アニオン交換及びカチオン交換基が同時に存在することを適切な移動相を選ぶことによって選択的に使用でき（例えば、「スイッチ」を入れる又は切る、「ダイヤル」を入れる又は切る）、独自の特性を有するクロマトグラフィー固定相を提供する。例えば、その各々が無機又は有機でありうるアニオン及びカチオンを同時分析するために新規固定相を使用できる。新規固定相をアニオン交換樹脂、カチオン交換樹脂又はそれらのハイブリッドとして使用できるため、例外的なクロマトグラフィー融通性を提供する。

【0060】

加えて、疎水性部分（例えば、逆相特性を提供する）を組み込むリガンドで多孔質固体担体を変性する場合、得られた組成物はアニオン交換、カチオン交換及び逆相官能性（すなわち、三重モード相）を組み合わせることができる。かかる組成物はアニオン、カチオン及び疎水性分子を同時に分析するのに有用でありうる。一例において、逆相官能性を有するリガンドが疎水性部分（例えば、連続した少なくとも8つの炭素原子を有する炭素鎖）を組み込む。

30

【0061】

一例において、付加的な微粒子層は、上記微粒子第一層（例えば、静電結合を介して）に結合できる。従って、所望のイオン交換特性を提供する微粒子の外側層は、一層又は複数層の付加的な微粒子層を介して間接的に固体担体へ結合できる。一例において、正に荷電したラテックス粒子の第一層は基材の外側表面に結合する。その後、ラテックス粒子の第一層の上に負に帯電した微粒子の第二層を付加する。もうひとつの例において、負に帯電したラテックス粒子の第一層を基材の外側表面に結合する。その後、第一層の上に正に荷電した微粒子の第二層を付加する。微粒子の第三層（及び続く層）を順に付加できる（例えば、おのおの前層と反対電荷で）。

40

【0062】

本発明によって提供された固定相の利点としては、

1. 組成物が独自の選択性を提供する。例えば、組成物を使用して、カチオン性、アニオン性及び中性分子を単一の分析で保持及び分離できる（例5及び図4～9参照）。

2. 組成物を使用して、イオン対試薬を使用せずにイオン性又はイオン化可能な化合物をクロマトグラフ分離（例えば、保持）できる。

3. 移動相の組成物を変えることで、本発明の組成物の選択性を調整できる。移動相の

50

特性を使用して、イオン強度、pH及び有機溶媒などの添加物を含む固定相の選択性を変性できる。

4．組成物は、高い水性条件で相溶性である（例えば、100％水性条件での濡れ抵抗）。

5．組成物は、アニオン交換、カチオン交換、逆相、イオン排除及びHILICを含むマルチモード保持機構によって特徴づけられる。

6．組成物は、分析用分離カラムの製造だけでなく、新たな固相抽出（SPE）用途の開発にも有用である。

7．組成物を他のクロマトグラフィー充填材料と混合して、分離及びSPEカラム両用の多種の新規充填材料を製造できる。

8．組成物を汎用・簡易・経済的な方法で調製できる。異なる表面積及び粒径、異なるラテックスの化学的性質と粒径及び／又は固体担体上に荷電層を形成する異なる表面の化学的性質を有するベース固体担体を用いて、カチオン交換、アニオン交換及び疎水性相互作用の比率を合成的に調整できる。

【0063】

III．組成物

本発明は（a）多孔質固体担体を含む組成物を提供する。多孔質固体担体は外部表面と、内部壁によって画成された内部細孔とを有する。細孔は外部表面にまで開口が及ぶ。組成物は（b）細孔の内部壁を含む固体担体に共有結合する有機イオン交換リガンドを更に含む。多様な例において、リガンドは任意に第一電荷（正及び負から選択される）を有するイオン交換基を含む。組成物は、（c）任意に第二電荷（正又は負から選択される）を有するイオン交換基を含む微粒子（例えば、ラテックス粒子）を更に含み、ここで第二電荷が第一電荷と反対電荷である。微粒子は、直接的（例えば、Stevensらの米国特許第4,927,539号、Stevensらの米国特許第4,351,909号、Stevensらの米国特許第4,519,905号、Barrettoらの米国特許第4,383,047号及び米国特許第5,532,279号を参照、各々を参照してここに組み込む）又は間接的（例えば、付加的な微粒子層を介して、又は分散剤、例えば、Barettoらの米国特許第5,532,279号参照、参照してここに援用する）のいずれかで、固体担体の外部表面（例えば、静電結合を介して）に結合する。

【0064】

一例において、固体担体の内部細孔内に液体が流れ込むことができるように、微粒子が外部表面に結合する。様々な実施態様において、微粒子の平均粒径は細孔開口の平均粒径と同等又はそれ以上である。細孔開口は一般に微粒子よりも小さいため、細孔の外側の領域のみが通常微粒子（例えば、ラテックス粒子）で覆われている。当業者は、細孔径を有意に平均細孔径の上下に変えることができ、そのため、内部壁に結合する微粒子を有する多数の細孔を材料が含むことができることを理解する。しかしながら、細孔径と微粒子径との適切な比を選択することで、最適化した官能性を有する組成物をつくるために微粒子を含有する多数の細孔を調製できる。内部に微粒子を有する少ない割合の細孔がなお望ましい。従って、本発明は、大部分の微粒子（例えば、少なくとも約60％、少なくとも約70％、少なくとも約80％、少なくとも約90％、少なくとも約95％、少なくとも約98％又は少なくとも約99％）が固体担体の外部表面に結合する限り少数の微粒子が細孔開口に侵入する組成物を包含する。

【0065】

本発明の組成物及び方法に有用な典型的な固体担体、有機リガンド及び微粒子を下記に記載する。

【0066】

固体担体

本発明の固体担体（基材）は、細孔（例えば、クロマトグラフィー用の固定相／充填剤として有用な細孔）によって特徴付けられるいかなる固体材料であってもよい。一例において、固体担体は無機材料（例えば、シリカ）を含む。もうひとつの例において、固体担

体は有機（例えば、高分子の）材料（例えば、合成樹脂）を含む。さらにもう一つの例において、固体担体はハイブリッド無機有機材料を含む。基材は個別の分離に使用する溶媒系中で不溶であることが好ましい。

【0067】

一つの実施態様において、固体担体は金属酸化物又は半金属酸化物を含む。典型的な基材は、シリカ系（例えば、酸化ケイ素、 SiO_2 ）、チタニア系（例えば、酸化チタン、 TiO_2 ）、ゲルマニウム系（例えば、酸化ゲルマニウム）、ジルコニウム系（例えば、酸化ジルコニウム、 ZrO_2 ）、アルミナ系（例えば、酸化アルミニウム、 Al_2O_3 ）材料又はそれらの混合物を含む。他の基材は架橋及び非架橋重合体、炭化材料及び金属を含む。また、基材はポリマーネットワーク、ゾルゲルネットワーク又はそれらのハイブリッド形態を組み込むことができる。一つの実施態様において、基材はシリカ系基材である。典型的なシリカ系基材としては、シリカゲル、ガラス、ゾルゲル、重合体/ゾルゲルハイブリッド及びシリカモノリス材料を含む。

10

【0068】

本発明での有機基材として有用な典型的な合成樹脂はStevensらの米国特許第4,927,539号、Stevensらの米国特許第4,351,909号、Stevensらの米国特許第4,519,905号、Barrettoらの米国特許第4,383,047号及び米国特許第5,532,279号に記載され、それらの各開示を全ての目的についてここに参照して援用する。

【0069】

20

固体担体をあらゆる合成樹脂材料から形成できる。典型的な合成ポリマーのイオン交換樹脂としては、ポリ（フェノール-ホルムアルデヒド）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（メタクリル酸）、ポリニトリル、アミン-エピクロロヒドリン共重合体、ポリエチレン又はポリプロピレン上のスチレンのグラフトポリマー、ポリ（2-クロロメチル1,3-ブタジエン）、スチレン、アルファ-メチルスチレン、クロロスチレン、クロロメチルスチレン、ビニルトルエン、ビニルナフタレン又はビニルピリジンから誘導された樹脂などのポリ（ビニル芳香族）樹脂、アクリル酸及びメタクリル酸の対応するエステル、並びに同様の不飽和モノマー、モノビニリデン環含有窒素複素環化合物を含むモノビニリデンモノマー、並びに上記樹脂のいずれかの共重合体が挙げられる。追加的な例としては、グリシジルエーテルアクリレート系及びグリシジルメタクリレート系材料（例えば、2-グリシジルオキシエチルメタクリレート、ビニルベンジルグリシジルエーテル、2-（4-ビニルベンジルオキシ）エチルグリシジルエーテル）並びにビニルベンジルクロリド、ビニルベンジルアルコール、2-（4-ビニルベンジルオキシ）エタノール、ポリアクリルアミド、ポリビニルアルコール、ポリビニルホルムアミドからの誘導体が挙げられる。

30

【0070】

上記材料のいずれもが、任意にイオン性又はイオン化可能な（及び任意に逆相）官能性を組み込んだモノマーと共重合できる。上記材料のいずれもが、任意にイオン性又はイオン化可能な及び任意に逆相官能性を組み込んだ適当なリガンドで官能化できる。

【0071】

一つの実施態様において、担体は架橋した重合体又は共重合体を含む。典型的な共重合体はスチレン-ジビニルベンゼン共重合体（例えば、PS-DVB）である。一例において、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体は約0重量%～約100重量%ジビニルベンゼンモノマーを含む。もうひとつの例において、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体は約25重量%～約80重量%ジビニルベンゼンモノマーを含む。共重合体を、例えばIkadaらの方法、Journal of Polymer Science、Vol 12、1829-1839（1974）又はMeitznerらの米国特許第4,382,124号に記載された方法に従って調製できる。

40

【0072】

一例において、固体担体は、シリカ、アルミナ、ジルコニア又はチタニア-ポリマー樹脂ハイブリッド材料である。典型的なシリカ-有機ハイブリッドは米国特許第6,528,167号及び米国特許出願公報第2006/0070937号（出願番号第11/24

50

0、695号)に記載され、その開示を参照してすべての目的においてここに援用する。

【0073】

一例において、本発明の固体担体は周知の懸濁重合技術によって形成する。本例において、粒子を通常これと接触する溶媒に不溶であるモノマー混合物から誘導する。典型的な基材を、適当な溶媒中で適当な乳化剤の存在下モノマーの懸濁液を加熱及び攪拌することによって形成する。或いはまた、重合を懸濁、バルク又は溶液法によって行うことができ、続いて樹脂を機械的手段(例えば、ボールミル、ロッドミルなど)によって所望寸法へ粉碎する。

【0074】

固体担体は、粒子(例えば、球形、実質的に球形な、例えば、樹脂ビーズ)、チップ、塊、ブロック、モノリスなどを含むあらゆる形態で存在し得る。基材が粒子形状の場合、粒子(例えば、不規則形状又はビーズ形状、例えば、実質的に球形)はメジアン粒径(すなわち、直径)を有する。一例において、基材(例えば、球形シリカゲル)のメジアン粒径は約0.1(例えば、シリカミクロ球)~約10,000 μm (ミクロン)である。一例において、基材のメジアン粒径は約1~約5000ミクロン、約1~約1000ミクロン、約1~約500ミクロン、約1~約400ミクロン、約1~約300ミクロン、約1~約200ミクロン又は約1~約100ミクロンである。さらにもう一つの例において、基材のメジアン粒径は約1~約80ミクロン、約1~約70ミクロン、約1~約60ミクロン、約1~約50ミクロン、約1~約40ミクロン、約1~約30ミクロン、約1~約20ミクロン又は約1~約10ミクロンである。他の例において、基材粒子のメジアン粒径は約10~約100ミクロン、約10~約80ミクロン、約40~約200ミクロン、約40~約100ミクロン、約40~約80ミクロン、約60~約200ミクロン、約60~約100ミクロン、約70~約200ミクロン、約80~約200ミクロン、約100~約200ミクロン、約200~約600ミクロン、約200~約500ミクロン又は約200~約400ミクロンである。特定の例において、基材は約40~80ミクロンのメジアン粒径を有するシリカ系(例えば、シリカゲル)である。また、粒径はタイラー等価尺度で規定する「メッシュ」でも計測できる(粒子が小さいほど、メッシュ番号が大きくなる)。典型的なメッシュ指標は約10~600の範囲である。一般に、あらゆる充填床クロマトグラフィー用途に有用な基材粒子(例えば、LC、HPLC又は超高压クロマトグラフィー)は本発明に係る組成物での使用に適する。

【0075】

多様な例において、担体は粒子形状であり、多数の担体粒子を充填床中に配置する。例えば、プラスチック又は金属カラムは担体粒子で充填されている。

【0076】

他の例において、基材粒子は実質的に「単分散」又は実質的に「均一分散」であり、大多数の粒子(例えば、粒子の80、90又は95%)の粒径が実質的に(例えば、50%以下)メジアン粒径(M)未満又は超に変わることがないことを示す。典型的な単分散基材粒子集団において、粒子の90%が約0.5 \times M~約1.5 \times Mの平均粒径である。

【0077】

他の例において、基材は無機又は有機モノリスである。一例において、固体担体はシリカモノリスを含む。もうひとつの例において、固体担体はアルミナモノリスを含む。さらにもう一つの例において、固体担体はジルコニアモノリスを含む。更なる例において、固体担体はチタニアモノリスを含む。有機組成物に基づく典型的なモノリス材料およびかかる材料の製造方法は、米国特許第5,130,343号、第5,929,214号、第5,728,457号、第5,260,094号、第6,887,384号、第5,334,310号、第7,303,671号、第5,453,185号及び第7,074,331号に記載されており、それらの開示をすべてについてすべての目的のためにここに参照して援用する。

【0078】

基材の細孔はいかなる寸法であってもよい。典型的な基材において、平均細孔径は下記

10

20

30

40

50

に記載するように微粒子と等しいかより小さい。名目的細孔径は通常オングストローム (10^{-10}m 、)で計測する。一例において、基材細孔の平均粒径は約1～約5000 である。もうひとつの例において、基材細孔の体積平均径は約10～約5000、約10～約4000、約10～約3000、約10～約2000、約10～約1000、約10～約800、約10～約600、約10～約400、約10～約200、約10～約100、約20～約200、約20～約100、約30～約200、約30～約100、約40～約200、約40～約100、約50～約200、約50～約100、約60～約200、約60～約100、約70～約200、約70～約100、約80～約200、約100～約200、約100～約300、約100～約400、約100～約500、約200～約500 又は約200～約600 である。

10

【0079】

基材の比表面積は通常約0.1～約2,000 m^2/g である。例えば、基材の比表面積は、約1～約1,000 m^2/g 、約1～約800 m^2/g 、約1～約600 m^2/g 、約1～約400 m^2/g 、約1～約200 m^2/g 又は約1～約100 m^2/g 樹脂である。もうひとつの例において、基材の比表面積は、約3～約1,000 m^2/g 、約3～約800 m^2/g 、約3～約600 m^2/g 、約3～約400 m^2/g 、約3～約200 m^2/g 又は約3～約100 m^2/g 樹脂である。さらにもう一つの例において、基材の比表面積は、約10～約1,000 m^2/g 、約10～約800 m^2/g 、約10～約600 m^2/g 、約10～約400 m^2/g 、約10～約200 m^2/g 又は約10～約100 m^2/g 樹脂である。

20

【0080】

一例において、基材はリガンドで変性せず、負又は正にイオン化可能な又は荷電した基を含む。例えば、シリカゲルはpH4超の負の表面電荷を帯び、 Al_2O_3 は酸性条件では正の表面電荷、アルカリ条件では負の表面電荷を有することができる。もうひとつの例において、ポリマー有機基材を基材の表面上にイオン交換基及び任意に疎水性部分を提供するモノマーから製造する。イオン交換基を有するポリマー基材又は微粒子を調製するのに用いることができるモノマーはアクリル酸である。典型的な基材はアクリル酸と一種又は複数種の付加的なモノマーの共重合体である。生成したポリマー基材はカルボン酸基(カチオン交換基)を含む。アミン(アニオン交換基)などのアニオン交換基を、活性化アクリル酸(例えば、酸クロリド)及びジアミンから調製したモノマーを用いてポリマー基材へ導入できる。本例に係る典型的なモノマーとしては、N-(2-アミノエチル)アクリルアミド及びN-(2-アミノプロピル)アクリルアミドに関連するモノマーが挙げられる。典型的なモノマーとしては、N-(2-(ジメチルアミノ)エチル)アクリルアミド及びN-(2-(ジメチルアミノ)プロピル)アクリルアミドが挙げられる。重合の前後いずれかで更に変性してイオン交換基を有するポリマーをつくることのできる他のモノマーとしては、グリシジルアクリレート、グリシジルメタクリレート、ビニルベンジルアセテート、並びに2-グリシジルオキシエチルメタクリレート、メチルアクリレート、ビニルベンジルクロリド、ビニルベンジルアルコール、ビニルベンジルグリシジルエーテル、2-(4-ビニルベンジルオキシ)エタノール、2-(4-ビニルベンジルオキシ)エチルグリシジルエーテルが挙げられる。例えば、メチルアクリレートのエステル基を重合後加水分解して、カルボン酸基を有するポリマーを得ることができる。もうひとつの例において、上記モノマーのグリシジル基をアミン又はスルフヒドリル含有リガンドなどの求核性リガンドと反応によってさらに変性できる。ポリマー基材の変性方法を更に下記で説明する。

30

40

【0081】

好適な実施態様において、基材は有機リガンドでの化学的変性に適する。一例において、基材は有機ポリマー基材である。かかる基材をポリマー上に在る官能基を活用することにより有機リガンドで変性できる。典型的な樹脂及びかかる樹脂の製造方法をここに記載する(例えば、例7)。一例において、ポリマーは、アミノ基(例えば、例7.1.参照

50

）又はカルボン酸基（例えば、例 7 . 2 . 参照）を組み込んだリガンドで官能化したスチレンとジビニルベンゼンの共重合体（P S - D V B）である。リガンドをチオール基含有前駆体から誘導できる。2、2'-アゾビス（2-メチルプロピオニトリル）などのラジカル開始剤の存在下、チオール類縁体をポリマーと共に加熱できる。

【0082】

他の例において、基材はシリカなどの無機基材である。反応性シリルリガンドを用いてシリカを共有結合的に変性できる。典型的なリガンド及び基材へのそれらの結合方法を本明細書中以下に記載する。

【0083】

リガンド

多様な例において、基材（例えば、少なくとも基材細孔の内側ライニング）を、少なくとも一種の有機リガンドと共有結合的に変性する。一例において、リガンドは少なくとも一つのイオン交換基、例えば、アニオン化可能な又はイオン性基を含む。ここに記載したイオン交換基は、アニオン性、カチオン性、両性及び双性イオン性基を含む。アニオン交換基は一級、二級、三級及び四級アミン、並びに他のいずれかのプロトン受容性官能性を含む。カチオン交換基はスルホン酸、硫酸、カルボン酸、ホスホン酸、リン酸、シラノール並びに他のいずれかのプロトン供与性官能性を含む。両性及び双性イオン性リガンドは少なくとも一つのアニオン交換及び少なくとも一つのカチオン交換基を含み、それぞれを上記イオン交換基から選択できる。

【0084】

イオン交換リガンドは基材と結合して、官能性（例えば、イオン交換）層（例えば、基材細孔の内側壁に沿って）を形成し、それは特定の条件下（正又は負のいずれか）で荷電する。例えば、適切な pH 条件下（例えば、7 未満の pH）、アニオン交換リガンドで官能化した基材は正に荷電する。

【0085】

固体担体へのリガンドの結合

一例において、反応性リガンドを用いて固体担体を官能化する。例えば、反応性リガンド（例えば、シリルリガンド）は固体担体への結合に有用な反応性官能基を含む。リガンドの反応性官能基は固体担体（例えば、固体担体の表面上の相補的な反応性官能基と）と反応可能であり、一個又は複数個の共有結合を形成する。

【0086】

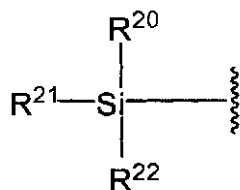
無機固体担体へのリガンドの結合

リガンドをシリカ基材などの無機基材に結合する方法は既知である。典型的な方法を本明細書中、並びに、例えば、WO 2006 / 088760 号（2006 年 2 月 10 日出願）、WO 2006 / 005455 号（2004 年 9 月 10 日出願）、WO 2005 / 047886 号（2004 年 10 月 4 日出願）、米国特許出願第 11 / 753、934 号（2007 年 5 月 25 日出願）、H. Minakuchi ら、Anal. Chem. 1996、68: 3498-3501、H. Minakuchi ら、J. Chromatogr. 1998、797: 121-131、米国特許第 6,248,798 号、米国特許第 5,968,363 号、米国特許第 5,865,994 号、米国特許第 5,936,003 号及び米国特許第 5,925,253 号中に記載され、これらの各開示を参照しすべての目的においてここに組み込む。

【0087】

一例において、反応性リガンドは反応性シリル基を含む。例えば、反応性シリル基は表面シラノール基（例えば、Si-OH）を含むシリカ基材の表面と反応し、シリルリガンドとシリカ基材間にシラノール結合をつくることができる。さまざまな実施態様において、反応性リガンドは式（I）

【化 1】



による構造を有する活性化シリル基を含む。

【0088】

式 (I) による典型的なシリル基において、 R^{20} 、 R^{21} 及び R^{22} は、それぞれ独立して選択されるシリル基置換基である。活性化シリル基は少なくとも一つの反応性シリル基置換基を有する。反応性シリル基置換基は、本発明の基材と反応し、反応性リガンドと基材間に共有結合を形成可能である。従って、 R^{20} 、 R^{21} 及び R^{22} の少なくとも一つは反応性シリル基置換基である。典型的な反応性シリル基置換基としては、アルコキシ基、ハロゲン、一級又は二級アミノ基及びカルボン酸基が挙げられる。

【0089】

一つの実施態様において、 R^{20} 、 R^{21} 及び R^{22} は、ハロゲン、 OR^{14} 、 $NR^{14}R^{15}$ 、 $OC(O)R^{16}$ 、 $OS(O)_2R^{16}$ 、アクリル、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。各 R^{14} 及び各 R^{15} は、H、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。各 R^{16} は、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。一つの実施態様において、 R^{20} 、 R^{21} 及び R^{22} の少なくとも一つが OH、非置換アルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール及び非置換ヘテロシクロアルキル以外である。もうひとつの実施態様において、 R^{20} 、 R^{21} 及び R^{22} の少なくとも一つがアルコキシ又はハロゲンである。反応性リガンドが固体担体へ共有結合するのに有用な典型的な反応性シリル基としては、 $-Si(OMe)_3$ 、 $-SiMe(OMe)_2$ 、 $-SiMe_2(OMe)$ 、 $-Si(OEt)_3$ 、 $-SiMe(OEt)_2$ 、 $-SiMe_2(OEt)$ 、 $-SiCl_3$ 、 $-SiMeCl_2$ 、 $-SiMe_2Cl$ 、 $-SiCl_2(OMe)$ 及び $-SiCl(OMe)_2$ が挙げられる。

【0090】

一例において、 R^{20} 、 R^{21} 及び R^{22} の一つは非反応性シリル基置換基である。もうひとつの例において、 R^{20} 、 R^{21} 及び R^{22} の二つは非反応性シリル基置換基である。典型的な非反応性シリル基置換基はアルキル基又はアリール基を含む。一つの実施態様において、 R^{20} 、 R^{21} 及び R^{22} の一つ又は二つは非置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル（例えば、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチルなど）から独立して選択される要素である。さらにもう一つの例において、 R^{20} 、 R^{21} 及び R^{22} の二つは、置換又は非置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル（例えば、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチルなど）などの置換又は非置換アルキルから独立して選択される要素である。具体的な実施態様において、 R^{20} 、 R^{21} 及び R^{22} の一つ又は二つはメチルである。

【0091】

一例において、固体担体の共有結合変性に有用な反応性リガンドはアニオン交換基を含む。或いはまた、反応性リガンドは、反応性リガンドが固体担体へカップリングした後、アニオン交換基に転化できる基を含む。例えば、反応性リガンドは、リガンドが固体担体へカップリングした後、脱保護して遊離酸（例えば、カルボン酸基）を提供する保護酸基（例えば、末端エステル基）を含む。

【0092】

10

20

30

40

50

異なるイオン交換及び非イオン交換リガンドのいくつでも固体担体に結合できる。一例において、官能層は一種類のリガンド（アニオン交換又はカチオン交換）から主としてなる。他の例において、官能層はアニオン及びカチオン交換リガンドから独立して選択される少なくとも二種類のリガンドを含む。もうひとつの例において、官能層は少なくとも二種類のリガンドを含み、ここで、少なくとも一種類のリガンドがアニオン交換リガンド（アニオン及びカチオン交換リガンドから選択される）であり、少なくとも一種類のリガンドが非イオン化可能な又は非イオン性リガンドである。例えば、イオン交換リガンドに加えて、本発明に係る組成物は、同一の固体担体に非イオン交換リガンドとして結合する逆相（例えば、 C_8 又は C_{18} ）リガンドを更に含むことができる。さらにもう一つの例において、官能層は少なくとも二種類のリガンドを含み、ここで、両リガンドがアニオン交換リガンドであるか、又は両リガンドがカチオン交換リガンドである。更なる例において、官能層は少なくとも二種類のリガンドを含み、ここで、少なくとも一種類のリガンドがアニオン交換リガンドであり、少なくとも一種類のリガンドがカチオン交換リガンドである。

10

【0093】

本発明に係る組成物はイオン交換リガンドのいかなる種類も含むことができる。リガンドが少なくとも一種類のアニオン交換基及び/又は少なくとも一種類のカチオン交換基を含む。典型的なイオン交換基をここに記載する。多様な例において、リガンドが、 $-Z-OH$ 、 $-(Z)_nN(R^6)(R^7)$ 、 $-(Z)_nN^+(R^6)(R^7)(R^8)X^-$ 、 $-(Z)_nC(O)OR^9$ 、 $-(Z)_nS(O)_2OR^9$ 、 $-(Z)_nOP(O)(OR^{10})(OR^{11})$ 及び $-(Z)_nB(OR^{10})(OR^{11})(OR^{12})$ の基の少なくとも一種類を含み、ここで、 n は0及び1から選択される整数である。 R^6 、 R^7 及び R^8 は、 H 、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。 R^9 は、 H 、単一負電荷及びカチオン性対イオンから選択される要素である。 R^{10} 及び R^{11} は、 H 、単一負電荷、カチオン性対イオン、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。 X^- は、有無のいずれでかであり、存在する場合、アニオン性対イオンである。 Z は、置換又は非置換アリール及び置換又は非置換ヘテロアリールから選択される要素である。

20

30

【0094】

リガンドは付加的な極性基（例えば、エーテル、チオエーテル、アミド、スルホンアミド、尿素、チオ尿素、炭酸、カルバミン酸など）を任意に含むことができる。

【0095】

また、リガンドは疎水性部分（例えば、アルキル又は芳香族部分）を含むことができる。「疎水性部分」という用語をここで定義する。一つの実施態様において、リガンドは、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11又は少なくとも12個の連続した炭素原子を有し、ここで、少なくとも2つの連続した炭素原子は任意に置換又は非置換環（例えば、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、又は置換又は非置換シクロアルキル）の一部である。一例において、疎水性部分はリガンドが逆相特性を呈するのに十分な疎水性である。本例では、リガンドは逆相部分を含む。従って、一例において、リガンドは、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11又は少なくとも12個の連続した炭素原子を含む。例えば、イオン交換リガンドが疎水性部分を含む場合、得られた本発明に係る組成物は、イオン交換性能に加えて逆相性能を提供できる。かかる材料は、例えば、イオン性又はイオン化可能な分析物（例えば、同一試料内）に加えて、無荷電の分子を分析するために使用できる。付加した逆相性能を、イオン性又はイオン化可能な分子に加えて有機疎水性及び/又は極性分子を含む試料を分析するのに活用できる。逆相部分を有する典型的なリガンド及び固体担体は、リガンド9、10、1

40

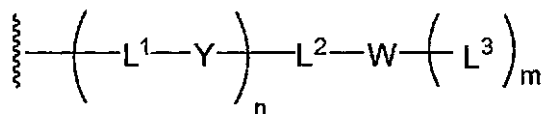
50

1、12、13、14、15、16、17及び18（図2）並びに固体担体27、28、29、30、31、32、33、34、35及び36を各々含む。

【0096】

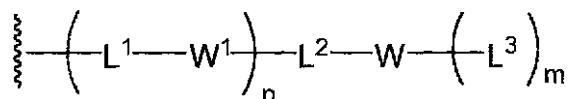
典型的な実施態様において、リガンドは、式（II）、式（III）、式（IV）又は式（V）：

【化2】

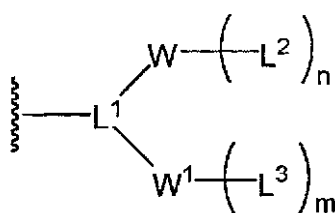


(II)

10

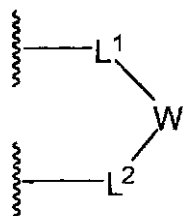


(III)



(IV)

20



(V)

（式中のm及びnは0及び1から独立して選択される整数である）の構造を有する部分を組み込む。

30

【0097】

イオン交換基W

上記いずれの実施態様に係わる典型的なリガンド（例えば、式（II）、式（III）、式（IV）又は式（V）中）において、W及びW¹は、独立して選択されるイオン交換基（例えば、イオン性又はイオン化可能な基）である。典型的なイオン交換基を上記したものとしてここに記載する。一例において、末端に配置したイオン交換基（例えば、「-W」）[例えば、mが0の式（II）または（III）中のW、nが0の式（IV）中のW、mが0の式（V）中のW¹]は、-Z-OH、-(Z)_nN(R⁶)(R⁷)、-(Z)_nN⁺(R⁶)(R⁷)(R⁸)X⁻、-(Z)_nC(O)OR⁹、-(Z)_nS(O)₂OR⁹、-(Z)_nOP(O)(OR¹⁰)(OR¹¹)及び-(Z)_nB(OR¹⁰)(OR¹¹)(OR¹²)から選択される要素であり、ここでnは0及び1から選択される整数である。他の例において、内部（例えば、「-W-」）イオン交換基[例えば、mが1の式（II）または（III）中のW、nが1の式（IV）中のW、mが1の式（V）中のW¹、式（V）中のW]は、-N(R⁶)-、-N⁺(R⁶)(R⁷)X⁻、-OP(O)(OR¹⁰)O-及び-B(OR¹⁰)(OR¹¹)O-から独立して選択される要素である。R⁶、R⁷及びR⁸は、H、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。R⁹は、H、単一負電荷及びカチオン性対イオンから選択される要素である。R¹⁰及びR¹¹は、H、単一負電荷、カチオン性対イオン、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置

40

50

換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。X⁻は、有無のいずれでかであり、存在する場合、アニオン性対イオンである。Zは、置換又は非置換アリール及び置換又は非置換ヘテロアリールから選択される要素である。

【0098】

極性基 Y

一例において、リガンドは極性基 Y を含む。例えば、式 (I I) 中の整数 n が 1 である場合、リガンドは Y を含む。上記いずれの実施態様に係わる典型的なリガンドにおいて、Y は、エーテル、チオエーテル、アミド、スルホンアミド、カーボネート、カルバメート、尿素又はチオ尿素から独立して選択される要素である。例えば、式 (I I) 中の Y は 2 つのリンカー基 L¹ 及び L² をつなぐのに有用なあらゆる基とすることができる。一つの実施態様において、L¹ 及び L² は、エーテル結合 (例えば、Y が O)、チオエーテル結合 (例えば、Y が S)、アミド (例えば、Y が -NH-C(=O)- 又は -C(=O)-NH-) 又はスルホンアミド基 (例えば、Y が -NH-S(=O)₂- 又は -S(=O)₂-NH-) によるか、或いはまたカーボネート (例えば、Y が -O-C(=O)-O-)、カルバメート (例えば、Y が -O-C(=O)-NH- 又は -NH-C(=O)-O-)、尿素 (例えば、Y が -NH-C(=O)-NH-) 又はチオ尿素基により連結される。一つの実施態様において、Y はアミド基、-C(=O)-NR¹³- 又は NR¹³-C(=O)- であり、ここで R¹³ は H、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから選択される要素である。好適な実施態様において、R¹³ は水素又はメチルなどの低級アルキルである。

【0099】

基 L

上記いずれの実施態様、例えば、式 (I I)、式 (I I I)、式 (I V) 又は式 (V) に係わる典型的なリガンドにおいて、L¹、L² 及び L³ は、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル、及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。

【0100】

一つの実施態様において、本発明のリガンドは、少なくとも 1 つの疎水性部分を含む。一例において、上記式中の少なくとも 1 つの L¹、L² 及び L³ は疎水性部分を含む。例えば、式 (I I) 中の n が 1 である場合、少なくとも 1 つの L¹ 及び L² は疎水性部分を含む。もうひとつの例において、n が 0 である場合、L² は疎水性部分を含む。「疎水性部分」という用語をここで定義する。疎水性部分はリガンドの内部に含まれるか、又はリガンドの末端部、例えば、式 (I I I) 中の L² で見ることができる。

【0101】

本発明の典型的な反応性シリルリガンドを図 2 に列挙した。本発明の典型的な基材と結合するリガンドを図 3 に列挙した。

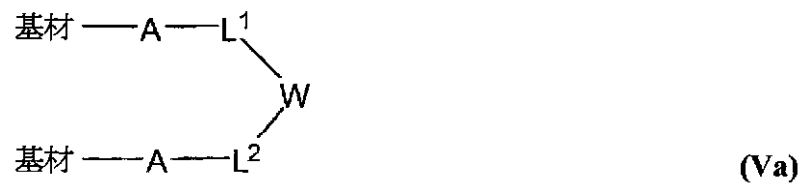
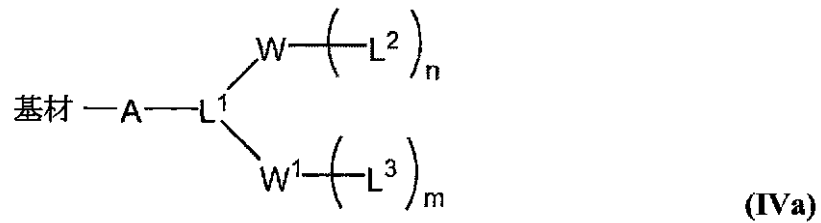
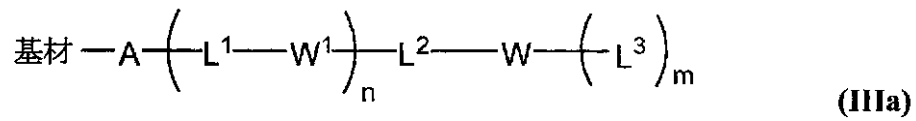
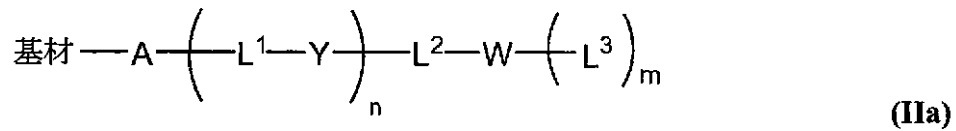
【0102】

本発明に有用なさらなる反応性リガンド、基材及び官能化基材は、例えば、WO 2006/088760 号 (2006 年 2 月 10 日出願)、WO 2006/005455 号 (2004 年 9 月 10 日出願) 及び WO 2005/047886 号 (2004 年 10 月 4 日出願) 中に開示され、各開示はすべての目的においてここに参照して援用する。

【0103】

本発明の典型的な官能化基材は、式 (I I a)、式 (I I I a)、式 (I V a) 及び式 (V a) :

【化 3】



(式中の n 、 m 、 Y 、 W 、 W^1 、 W^2 、 W^3 、 L^1 、 L^2 及び L^3 は、上記定義と同様であり、各 A は独立して選択されるリンカー基であり、リガンドを基材（固体担体）に接続し、リガンドを固体担体に共有結合するのに使用する反応性官能基に由来する）の構造を有する。一例において、各 A は独立して選択されるシリル基である。

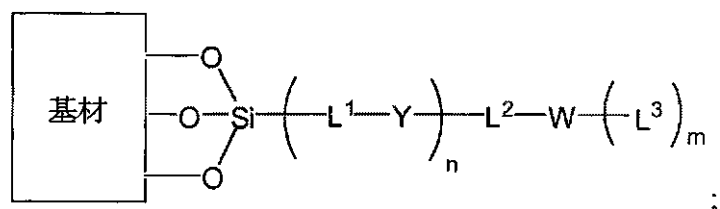
【0104】

従って、本発明は、下記式：

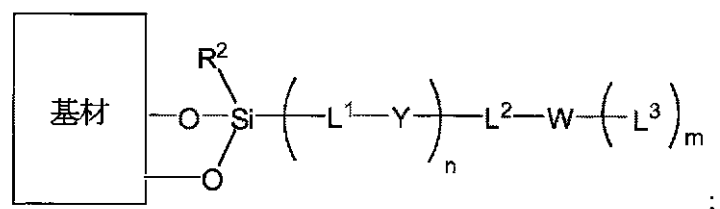
10

20

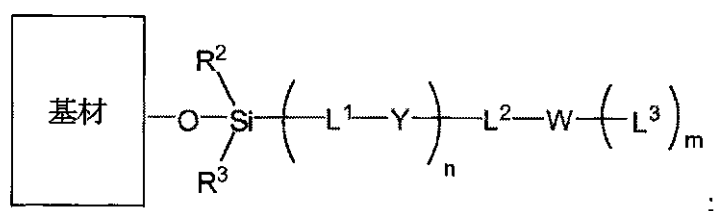
【化 4】



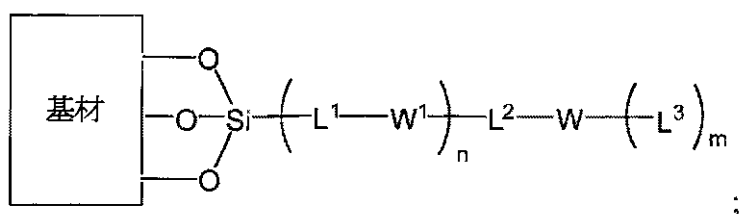
;



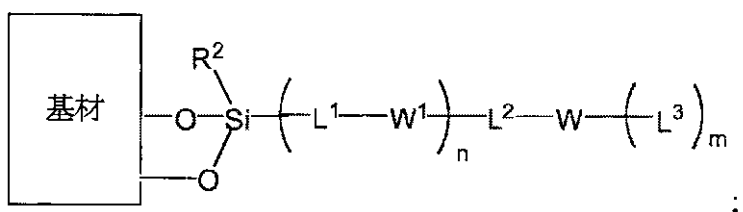
;



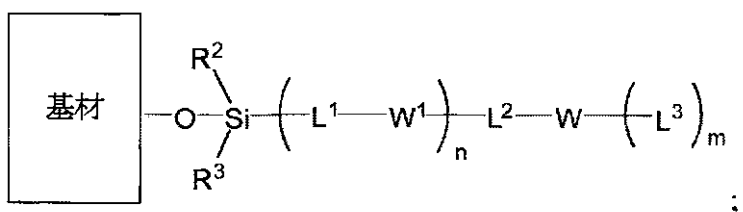
;



;



;



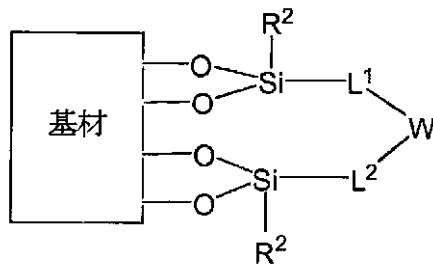
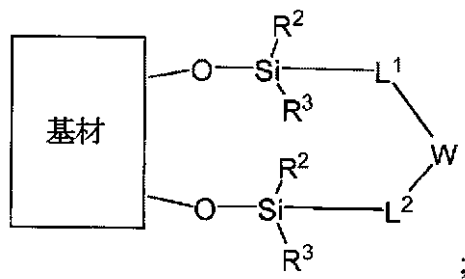
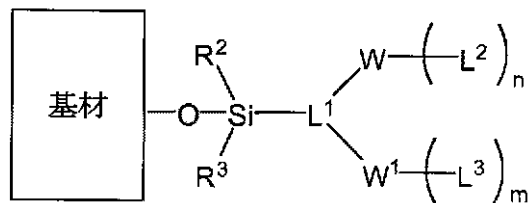
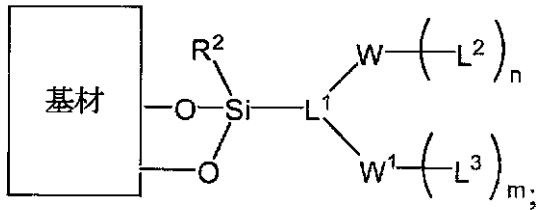
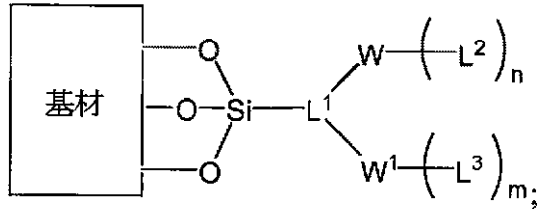
;

10

20

30

【化 5】



(式中の n 、 m 、 Y 、 W 、 W^1 、 L^1 、 L^2 及び L^3 は上記定義と同様であり、 R^2 及び R^3 はアクリル、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である) の一種類による構造を組み込んだ官能化基材を含む組成物を提供する。一例において、 R^2 及び R^3 は、置換又は非置換アルキル及び置換又は非置換アリールから独立して選択される要素である。一つの実施態様において、 R^2 及び R^3 の一つ又は二つは、非置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル (例えば、メチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピル、 n -ブチル、イソブチルなど) から独立して選択される要素である。さらにもう一つの例において、 R^2 及び R^3 の二つは、置換又は非置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル (例えば、メチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピル、 n -ブチル、イソブチル等) などの置換又は非置換アルキルから独立して選択される要素である。具体的な実施態様において、 R^2 及び R^3 の一つ又は二つはメチルである。もうひとつの実施態様において、 R^2 及び R^3 は共にメチルである。

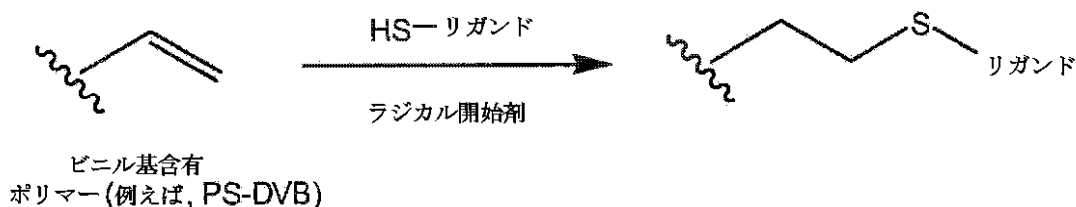
【0105】

有機（高分子の）固体担体へのリガンドの結合

高分子樹脂のような有機基材へのリガンドの結合方法は、当業者に既知である。一例において、重合後にビニル基などの不飽和基を提供するモノマーから基材を調製する。一例において、ポリマーはスチレンとジビニルベンゼンとの共重合体（PS-DVB）である。これら樹脂の不飽和基（例えば、ビニル基）を用いてアニオン交換リガンドを結合することができる。一例において、リガンドはチオール基を含み、これはラジカル中間体を含む付加機構を介して二重結合に付加してリガンドと固体担体間にチオエーテル結合を形成する。かかる反応は、例えば、WO/03022433号（2002年9月5日出願）に記載されている。例えば、アニオン交換基（例えば、アミノ基）又はカチオン交換基（例えば、カルボン酸基）を固体担体に2、2'-アゾビス（2-メチルプロピオニトリル）などのラジカル開始剤の存在下ビニル基含有樹脂（例えば、PS-DVB）をチオール基を組み込んだ反応性リガンドで加熱（及び/又は光処理）することによって付加する（例えば、例7.1.及び7.2.参照）。リガンドは、少なくとも一種類のアニオン交換基（例えば、一級、二級、三級又は四級アミノ基）、少なくとも一種類のカチオン交換基又は固体担体へのリガンドの結合後アニオン交換基に転換可能な少なくとも一種類の潜在性イオン交換基を更に含む（例えば、加水分解可能なエステル基、例えば、例7.2.参照）。典型的な方法を下記スキーム1：

【化6】

スキーム 1:

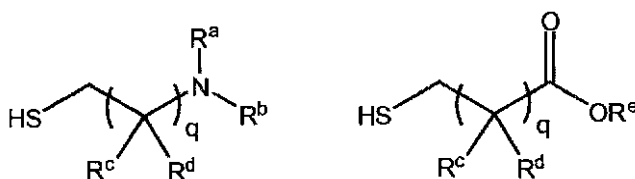


に示す。

【0106】

上記方法に有用な典型的なリガンドは下記：

【化7】



（式中のqが1～50から選択される整数である）を含む。一例において、qは1～18から選択される整数である。他の例において、qは1～10から選択される整数である。特定の例において、qは1である。一例において、R^a、R^b及びR^eはH、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。他の例において、R^a、R^b及びR^eはH及び置換又は非置換（C₁～C₄）アルキルから独立して選択される要素である。特定例において、R^a及びR^bはH及びメチルから独立して選択される要素である。もう一つの特定例において、R^eはメチル及びエチルから独立して選択される要素である。各R^c及び各R^dはH、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、アルコキシ、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。

【0107】

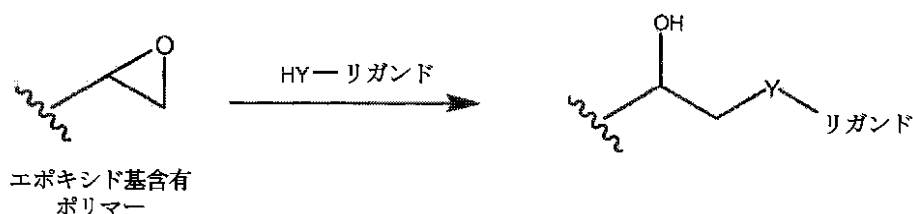
もう一つのアプローチにおいて、有機高分子固体担体は、イオン交換リガンドを固体担体へ共有結合するのに用いることができる反応性官能基を提供するモノマーを組み込む。一例において、モノマーは、カルボン酸基又は重合後に加水分解してカルボン酸基を形成できるエステル基を組み込む。本例の典型的なモノマーとしては、アクリル酸、メタクリル酸、アルキル（例えば、メチル又はエチル）アクリレート及びアルキル（例えば、メチル又はエチル）メタクリレートがある。カルボン酸基をリガンド上で相補的な反応性官能基と反応させることができる。一例において、リガンドは、カルボン酸基と反応して固体担体とリガンド間にアミド結合を形成できるアミノ基を含む。例えば、反応性リガンドとの反応前に酸クロリドの形成によってカルボン酸基を活性化できる。

【0108】

もうひとつの例において、高分子固体担体はエポキシド基を含むモノマーを組み込む。求核性リガンドを用いてエポキシド環を開環して、リガンドと固体担体間に共有結合を形成することができる。例えば、リガンドは、エポキシド環と反応して、例えばリガンドと固体担体間にそれぞれアミン又はチオエーテル結合を形成することができるアミノ基（例えば、一級アミノ基）又はスルフヒドリル基を含むことができる。エポキシド環を含み、ポリマー内に取り込むことができる典型的なモノマーとしては、グリシジルアクリレート、グリシジルメタクリレート、2-グリシジロキシエチルメタクリレート、ビニルベンジルグリシジルエーテル、2-(4-ビニルベンジロキシ)エチルグリシジルエーテルがある。典型的方法を下記スキーム2：

【化8】

スキーム 2:

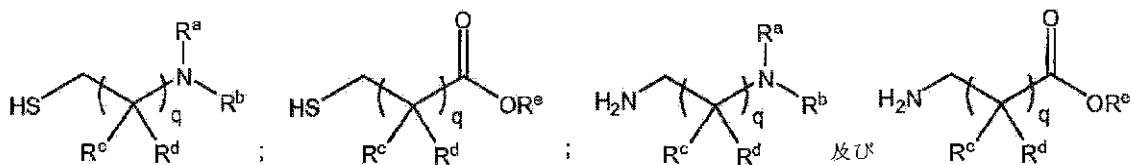


（式中のYHはスルフヒドリル基又は一級アミノ基などの求核性基であり、Yは求核性基とエポキシド環との反応由来の基である）に示す。

【0109】

上記方法に有用な典型的な求核性リガンドは下記：

【化9】



（式中のq、R^a、R^b、R^c、R^d及びR^eは上記定義と同様である）を含む。

【0110】

さらにもう一つの例において、高分子固体担体はハロゲン置換基などの脱離基を含むモノマーを組み込み、これは例えば、求核置換反応で求核性リガンドと置換してリガンドと固体担体間に共有結合を形成することができる。典型的なモノマーはビニルベンジルクロリドである。

【0111】

更なる例において、高分子固体担体はヒドロキシル基又はスルフヒドリル基を含むモノマーを組み込む。例えば、ヒドロキシル基を用いて、それぞれエーテル又はチオエーテル結合の形成を介してリガンドを固体担体と共有結合することができる。ヒドロキシル基を組み込む典型的なモノマーはビニルベンジルアルコール及び2-(4-ビニルベンジロ

キシ)エタノールを含む。

【0112】

微粒子

本発明の微粒子を無機又は有機材料から形成できる。微粒子をあらゆる既知(例えば、合成)のイオン交換樹脂から形成できる。典型的な微粒子は樹脂ポリマー(例えば、合成樹脂ポリマー)などの高分子材料を含む。樹脂ポリマーは当業界で既知であり、ラテックス及びラテックス誘導体材料を含む。典型的な微粒子は、Barrettoらの米国特許第5,324,752号及び第5,532,279号並びにPohlらの米国特許第4,376,047号中に開示され、各開示はすべての目的においてここに参照して援用する。一例において、微粒子はデンドリマーを含む。

10

【0113】

本発明の微粒子を既知の技術及びここに記載した技術を用いて形成できる。一例において、微粒子を乳化重合技術を用いてつくる。典型的な微粒子を、適当な溶媒中で適当な乳化剤の存在下少なくとも一種類のモノマーの懸濁液を加熱及び攪拌することによって形成する。或いはまた、重合を懸濁、バルク又は溶液法によって行うことができ、続いて混和(例えば、ボールミル、ロッドミル等)などの機械的手段により所望の寸法へ樹脂を粉砕する。一例において、多様な重合処理中に形成(しばしば副産物として除去される)された超微粒子(微粉)を本発明に係る組成物中の微粒子として使用できる。

【0114】

もうひとつの例において、微粒子を架橋ポリマーから形成する。微粒子を、例えばグリシジルアクリレート、グリシジルメタクリレート、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体、ジビニルベンゼン-ビニルベンジルクロリド共重合体又はメタクリレート-ビニルベンジルクロリド共重合体などのポリ(ビニル芳香族)樹脂、もしくはジビニルベンゼン-ビニルベンジルグリシジルエーテル(又はアクリルエポキシ型モノマー)又はエポキシ置換基を含有する他のビニルモノマーから形成できる。他の典型的な微粒子は、反応性ハロゲン化物(例えば、ビニルベンジルブロミド又はプロモエチルメタクリレート)又は無水物(例えば、無水マレイン酸とジビニルベンゼンの共重合体)などの反応性官能基を組み込むモノマーを含む。

20

【0115】

一例において、微粒子はラテックス粒子である。ラテックス粒子はラテックスエマルジョンから誘導することができる。微粒子の調製方法は既知である。典型的な方法をここに(例えば、例3参照)記載し、また米国特許第5,936,003号、米国特許第5,925,253号、米国特許第5,532,279号及び米国特許第5,324,752号中に記載され、それぞれすべての目的についてここに参照して援用する。

30

【0116】

一つの実施態様において、ラテックス粒子は約0.25重量%~約100重量%のモノマーを含有する架橋した重合体又は共重合体を含む。好適な実施態様において、ラテックス粒子は約1重量%~約5重量%のモノマーを含有する架橋した重合体又は共重合体を含む。

【0117】

もうひとつの例において、微粒子は、シリカ、アルミナ、ジルコニア及びチタニアなどの無機材料に由来する。典型的な無機微粒子の製造方法は、当業界で既知の無機基材の調製に適する製法を含む。例えば、超微粒子径のシリカ粒子が(超高压クロマトグラフィーに適するもの)記載されている。例えば、R.E. Majors, LCGC 2006, 24(S4):8-15; R.E. Majors, LCGC 2008, 26(3):8-15; and R.E. Majors, LCGC 2008, 26(S4):10:17参照。無機材料を、固体担体の官能化に対してここに記載したような例えば、イオン交換リガンド(例えば、反応性シリルリガンドを用いる)を介してイオン交換基で官能化できる。

40

【0118】

上記実施態様のいずれかによる多様な例において、微粒子はイオン交換基(例えば、負

50

又は正荷電をつくる)を含む。粒子の表面上のイオン交換基に関する電荷を用いて、微粒子(例えば、ラテックス粒子)を固体担体(例えば、シリカ)へ静電結合を介して結合できる(例えば、Barettoらの米国特許第5,532,279号参照、ここに参照して援用する)。イオン交換基は、重合中に微粒子内に組み込まれたモノマーから誘導できる。他の例において、微粒子の合成は中性表面を生み出す。微粒子の合成が中性表面を生み出す場合、微粒子を更に加工して、イオン交換基を少なくとも微粒子の表面へ、例えば有機イオン交換リガンドを微粒子の表面へ共有結合することによって付加する。リガンドは任意に付加的な疎水性官能性を提供できる。例えば、微粒子の表面を反応性イオン交換リガンドで、例えば有機リガンドでの高分子有機基材の変性について上述した方法によって共有結合的に官能化する。一例において、反応性リガンドはチオール基を含み、ラテックス粒子の表面へ共有結合する(例えば、ビニル基などの不飽和部分の官能化を介して)。固体担体の変性のための有機高分子樹脂の官能化方法を上記に記載した。これらの方法を各々、有機高分子微粒子の製造に等しく適用する

【0119】

イオン交換基という用語をここで定義する。典型的なイオン交換基を上記に(例えば、リガンドに関する)記載し、これらの実施態様を微粒子に関する実施態様に等しく適用する。微粒子の典型的なイオン交換基としては、 $-Z-OH$ 、 $-(Z)_nN(R^6)(R^7)$ 、 $-(Z)_nN^+(R^6)(R^7)(R^8)X^-$ 、 $-(Z)_nC(O)OR^9$ 、 $-(Z)_nS(O)_2OR^9$ 、 $-(Z)_nOP(O)(OR^{10})(OR^{11})$ 及び $-(Z)_nB(OR^{10})(OR^{11})(OR^{12})$ を含み、ここで n は0及び1から選択される整数である。 R^6 、 R^7 及び R^8 はH、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。 R^9 はH、単一負電荷及びカチオン性対イオンから選択される要素である。 R^{10} 及び R^{11} はH、単一負電荷、カチオン性対イオン、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換シクロアルキル及び置換又は非置換ヘテロシクロアルキルから独立して選択される要素である。 X^- が有無のいずれでかであり、存在する場合は、アニオン性対イオンである。 Z は置換又は非置換アリール及び置換又は非置換ヘテロアリールから選択される要素である。

【0120】

微粒子のサイズ

微粒子(例えば、ラテックス粒子)はいかなる寸法及び形状であってもよい。一例において、微粒子は約0.2nm~約1000nm(1 μ m)の範囲のメジアン径を有する。もうひとつの例において、微粒子は約1nm~約900nm、約1nm~約800nm、約1nm~約700nm、約1nm~約600nm、約1nm~約500nm、約1nm~約400nm、約1nm~約300nm、約1nm~約200nm又は約1nm~約100nmのメジアン径を有する。他の例において、微粒子は約2nm~約100nm、約4nm~約100nm、約6nm~約100nm、約8nm~約100nm又は約10nm~約100nmのメジアン径を有する。さらにもう一つの例において、微粒子は約10nm~約1000nm、約10nm~約900nm、約10nm~約800nm、約10nm~約700nm、約10nm~約600nm、約10nm~約500nm、約10nm~約400nm、約10nm~約300nm又は約10nm~約200nmのメジアン径を有する。一例において、微粒子は約2nm~約90nmの平均粒径を有するラテックス粒子である。更なる例において、微粒子は少なくとも約2nm、少なくとも約4nm、少なくとも約6nm、少なくとも約8nm又は少なくとも約10nmのメジアン径を有する。他の例において、微粒子は少なくとも約20nm、少なくとも約30nm、少なくとも約40nm、少なくとも約50nm、少なくとも約60nm、少なくとも約70nm、少なくとも約80nm、少なくとも約90nm又は少なくとも約100nmのメジアン径を有する。更なる例において、微粒子は少なくとも約200nm、少なくとも約300nm、少なくとも約400nm、少なくとも約500nm、少なくとも約600nm、少

なくとも約700 nm、少なくとも約800 nm、少なくとも約900 nm又は少なくとも約1000 nmのメジアン径を有する。

【0121】

微粒子径と細孔径との比率

一つの実施態様において、微粒子は基材細孔の平均直径に等しい平均粒径を有する。他の実施態様において、微粒子は基材細孔の平均直径よりも大きい平均粒径を有する（例えば、内部細孔内を微粒子が透過するのを実質的に阻止する）。一例において、微粒子（例えば、ラテックス粒子）の平均直径と基材細孔の平均直径との比率は約1：1～約1000：1の範囲である。一例において、微粒子の平均直径と基材細孔の平均直径との比率は、約1.2：1～約100：1、約1.4：1～約100：1、約1.6：1～約100：1、約1.8：1～約100：1、約2：1～約100：1、約4：1～約100：1、約6：1～約100：1、約8：1～約100：1又は約10：1～約100：1の範囲である。他の例において、微粒子の平均直径と基材細孔の平均直径との比率は、少なくとも約1.2：1、少なくとも約1.4：1、少なくとも約1.6：1、少なくとも約1.8：1又は少なくとも約2：1である。更なる例において、微粒子の平均直径と基材細孔の平均直径との比率は、少なくとも約3：1、少なくとも約4：1、少なくとも約5：1、少なくとも約6：1、少なくとも約7：1、少なくとも約8：1、少なくとも約9：1又は少なくとも約10：1である。他の例において、微粒子の平均直径と基材細孔の平均直径との比率は、少なくとも約20：1、少なくとも約30：1、少なくとも約40：1、少なくとも約50：1、少なくとも約60：1、少なくとも約70：1、少なくとも約80：1、少なくとも約90：1又は少なくとも約100：1である。

10

20

【0122】

粒子径と微粒子径間の比率

一例において、担体粒子の平均直径と微粒子（例えば、ラテックス粒子）の平均直径の比率は、約1000：1～約5,000：1の範囲である。典型的な比率はPohlらの米国特許第4,376,047号（1983）に記載されている。

【0123】

微粒子の固体担体への結合

ラテックス粒子のシリカゲル及びシリカモノリスへの典型的な結合（接合）方法は、Barrettoの米国特許第5,532,279号、J.P. Hutchinsonらの米国特許第5,324,752号、J. Chromatogr. 2006、1109：10：18及びK.M. Glennら、J. Chromatogr. 2007、1155：8-14に記載され、これらの開示は全体としてすべての目的においてここに参照して援用する。

30

【0124】

ラテックス粒子の有機基材への典型的な直接又は間接的静電結合（接合）方法は、Stevensらの米国特許第4,927,539号、Stevensらの米国特許第4,351,909号、Stevensらの米国特許第4,519,905号、Barettoらの米国特許第4,383,047号及び米国特許第5,532,279号に記載され、これらの開示はすべての目的においてここに参照して援用する。

【0125】

一例において、微粒子は固体担体の外部表面に共有結合する。これは、互いに反応して共有結合を形成できる固体担体及び微粒子上に相補的な官能基を用いることにより達成することができる。典型的な反応性官能基は、アミン及びカルボン酸/カルボン酸誘導体（例えば、活性化エステルなど）を含み、これを使用して固体担体と微粒子間にアミド結合を形成できる。他の例において、クリック化学を用いて二種類の成分を共有結合する。上記例において、固体担体及び微粒子おのおのが適当な官能基を提供し、それらの間に共有結合を形成するに十分な条件下で互いに接触する。ここでリガンドの固体担体及び微粒子への共有結合に関して述べた上記方法を、微粒子と固体担体間の共有結合の形成にも等しく適用する。

40

【0126】

50

特定の例において、微粒子を静電力によって基材と結合する。例えば、適当な媒体（例えば、水性媒体）中の官能化固体担体（例えば、官能化シリカゲル）のスラリーを、微粒子が担体の表面へ結合するに十分な条件下で官能化微粒子（例えば、官能化ポリマーラテックス粒子）のスラリーと接触する。固体担体スラリー及び微粒子スラリーを調製するのに用いた媒体をイオン交換基が荷電されるように選択するのが好ましい。一例において、媒体は水性媒体であり、任意に適切なpHに調整する。例えば、アニオン交換担体（例えば、アミノ基を有する）を、若干酸性のpH（例えば、約pH5）を付与する緩衝液系（例えば、酢酸アンモニウム）に懸濁する。他の例において、カチオン交換担体（例えば、スルホン化リガンドで官能化したシリカ）を、脱プロトン化酸基（例えば、ほぼ中性の又は若干塩基性のpH）を生成するのに十分なpHを有する緩衝液系（例えば、酢酸アンモニウム緩衝液）に懸濁する。

10

【0127】

一例において、微粒子スラリーを、過剰量の微粒子を提供するに十分な量で使用する。他の例において、二種類のスラリーを、所望の微粒子充填度を得るのに十分な時間混合（例えば、機械式攪拌器又は振とう機を用いて）する。反応体を適当な温度で混合する。一例において、温度をほぼ大気温度と約40の間で選択する。その後、生成した混合物をろ過し、フィルターケーキを完全に洗浄し、乾燥して本発明に係る組成物を得る。

【0128】

或いはまた、微粒子の固体担体への静電結合を「オン・カラム結合」により達成することができる。例えば、イオン交換固体担体（例えば、官能化シリカゲル又はシリカモノリス）を含有するカラムをポンプ（例えば、HPLCポンプ）と接続し、微粒子の溶液又は懸濁液をカラム中に微粒子が担体の表面に結合するに十分な条件下で圧送する。この処理の間、カラムを適当な温度（例えば、大気温度）に維持する。微粒子をカラム中に微粒子のカラムへの所望装填を得るのに十分な時間圧送する。一例において、微粒子が十分な充填を示すカラムから出るまで微粒子をカラム中に圧送する。例えば、ラテックス由来粒子などの微粒子の漏出についてカラム溶出液流を監視することにより、微粒子充填の完了を決定できる。本方法で使用するカラムは充填カラム又はモノリスとすることができる。

20

【0129】

一例において、通常のカロマトグラフィー条件下で微粒子の固体担体からの離脱を実質的に防止するあらゆる方法によって、微粒子を固体担体の外部表面へ結合する。例えば、液体を本発明によって提供されたカロマトグラフィー材料のベッド中を通す際に生じた強い電解質又はせん断力を施す場合、微粒子は実質的に固体担体に結合したままである。かかる「不可逆的」結合方法としては、共有結合、静電結合（例えば、反対電荷部分間の塩橋形成）、ポリマーの絡み合い(entanglement)、水素結合、これらの組み合わせ並びに典型的なカロマトグラフィー条件（例えば、典型的なLC、フラッシュカロマトグラフィー又はHPLC）中で固体担体からの微粒子の脱離を実質的に防止するに十分な力を提供するあらゆる他の機構がある。特定条件（例えば、非常に速い流速、極限温度、高塩伝導度（例えば、5M超のNaCl）、強酸又は強塩基条件）下で微粒子を固体担体から脱離し得ることを当業者は理解する。加えて、微粒子を通常のカロマトグラフィー条件下でも固体担体に非共有結合的に結合する場合、わずかな割合の微粒子が固体担体から脱離し得る。しかしながら、かかる解離がカラムの機能を損なわないことが好ましい。

30

40

【0130】

一つの実施態様において、微粒子を基材に間接的に結合できる。間接的結合は、微粒子の他の層を介して達成できる。例えば、正に荷電した（例えば、アミン化）ラテックス粒子の第一層を、負に帯電した固体担体（例えば、カチオン交換基で官能化したシリカ）へ静電力を介して結合する。その後、負に帯電したラテックス粒子（例えば、スルホン化ラテックス粒子）の第二層を、第一層へ静電力を介して結合する。他の例において、微粒子の間接的結合を、不可逆的、例えば共有結合的に固体担体に結合する分散剤、又はBarrettoらが米国特許第5,532,279号に記載し、ここに参照して援用した永久絡み合いを介して達成することができる。

50

【 0 1 3 1 】

他の実施態様において、微粒子を本発明の高分子有機基材に、例えばBarrettoらの米国特許第 5 , 5 3 2 , 2 7 9 号に記載し、ここに参照して援用したような永久物理的絡み合い(permanent physical entanglement)を介して結合する。

【 0 1 3 2 】

本発明に係る典型的な組成物

一つの実施態様において、本発明に係る組成物は、アニオン交換リガンド（例えば、アミノ基を含むリガンド）又はカチオン交換リガンド（例えば、カルボン酸又はスルホン酸基を含むリガンド）のいずれかで官能化した多孔質シリカ基材（例えば、シリカゲル又はシリカモノリス）を含む。シリカ基材の外部表面に、反対電荷のイオン交換基を組み込んだラテックス粒子を結合する。

10

【 0 1 3 3 】

一つの実施態様において、シリカ基材（シリカゲル又はシリカモノリス）を一級、二級、三級又は四級アミノ基を組み込んだアニオン交換リガンドで官能化して、シリカアニオン交換基材を得る。シリカアニオン交換基材の外部表面にカルボン酸及び／又はスルホン酸基を組み込んだラテックス粒子を結合する。本実施態様に係る典型的な組成物を図 1 0 にまとめた（例えば、組成物 3 7 ~ 5 0 g 及び 6 1 参照）。図 1 0 の表中に列挙した組成物の典型的なアミノ基含有リガンド／基材を、ここに参照して援用したような任意の他のアミノ基含有リガンド／基材によって置換できることを当業者は理解する。

【 0 1 3 4 】

20

他の実施態様において、シリカ基材（シリカゲル又はシリカモノリス）をカルボン酸及び／又はスルホン酸基を組み込んだカチオン交換リガンドで官能化して、シリカカチオン交換基材を得る。シリカカチオン交換基材の外部表面にアミノ基を組み込んだラテックス粒子を結合する。本実施態様に係る典型的な組成物を図 1 0 にまとめた（例えば、組成物 5 1 ~ 5 7 及び 6 3 参照）。図 1 0 の表中における組成物の典型的なカルボン酸又はスルホン酸含有リガンド／基材を、ここに参照して援用したような任意の他のカルボン酸又はスルホン酸含有リガンド／基材によって置換できることを当業者は理解する。

【 0 1 3 5 】

もうひとつの実施態様において、本発明に係る組成物は、アニオン交換リガンド（例えば、アミノ基を含有するリガンド）又はカチオン交換リガンド（例えば、カルボン酸又はスルホン酸基を含有するリガンド）のいずれかで官能化した多孔質高分子有機基材（例えば、ポリスチレンジビニルベンゼン共重合体）を含む。シリカ基材の外部表面へ反対電荷のイオン交換基を組み込んだラテックス粒子を結合する。

30

【 0 1 3 6 】

一つの実施態様において、P S - D V B 基材を一級、二級、三級又は四級アミノ基を組み込んだアニオン交換リガンドで官能化して、P S - D V B アニオン交換基材を得る。P S - D V B アニオン交換基材の外部表面にカルボン酸及び／又はスルホン酸基を組み込んだラテックス粒子を結合する。本実施態様に係る典型的な組成物を図 1 0 に列挙した（組成物 6 5 及び 6 5 a ）。図 1 0 の表中に列挙した組成物の典型的なアミノ基含有リガンド／基材を、ここに参照して援用したような任意の他のアミノ基含有リガンド／基材によって置換できることを当業者は理解する。

40

【 0 1 3 7 】

他の実施態様において、P S - D V B 基材をカルボン酸及び／又はスルホン酸基を組み込んだカチオン交換リガンドで官能化して、P S - D V B カチオン交換基材を得る。P S - D V B カチオン交換基材の外部表面に一級、二級、三級又は四級アミノ基を組み込んだラテックス粒子を結合する。本実施態様に係る典型的な組成物を図 1 0 に列挙した（組成物 6 7 ）。図 1 0 の表中における組成物の典型的なカルボン酸又はスルホン酸含有リガンド／基材を、ここに参照して援用したような任意の他のカルボン酸又はスルホン酸含有リガンド／基材によって置換できることを当業者は理解する。

【 0 1 3 8 】

50

カラム

本発明はまた、本発明に係る組成物を容器に収納した実施形態を提供する。該容器はクロマトグラフィーカラムであるのが好ましい。典型的なクロマトグラフィーカラムとしては、金属カラム、ガラスカラム及びプラスチックなどのポリマー材料からつくられたカラムが挙げられる。金属カラムは、高圧を用いるクロマトグラフィー処理（例えば、HPLC、超高压）に通常使用されるものであってもよい。プラスチックカラムは、分取クロマトグラフィー系で通常使用されるものとして行うことができる。かかるポリマーカラムはたいして使い捨てであり、しばしばカートリッジと呼ぶ。従って、一実施態様において、本発明は、本発明に係る組成物を含む分離媒体で充填したクロマトグラフィーカラムを提供する。他の例において、本発明は、本発明に係るモノリス組成物を含むクロマトグラフィーカラムを提供する。さらにもう一つの例において、本発明はクロマトグラフィー媒体としての使用に適したフロースルー床中の本発明に係る組成物を提供する。

10

【0139】

I V . 方法

本発明の組成物及び化合物を、当業界で既知かつ個々に記載（例えば、例1～7参照）した方法を用いて合成できる。これらの方法の変形は、特定の実施態様の組成物を合成するために必要かもしれない。かかる代替的方法是当業者に明白である。本発明の組成物及び化合物を調製するのに有用な出発材料及び試薬は、市販されているか、又は業界でよく知られた技術方法を用いて調製できる。反応性シリルリガンドの調製及び典型的な官能化基材（例えば、図2及び図3に示したもの）の調製用の典型的な方法は、例えば、国際特許出願公開WO2006/088760号（2006年2月10日出願）、WO2006/0054559号（2004年9月10日出願）及びWO2005/047886号（2004年10月4日出願）に提供されており、その開示をおのおの全ての目的のためここに参照して援用する。他の反応性シリルリガンドは市販されている。

20

【0140】

一般に、本発明に係る組成物を下記のように調製できる。多孔質基材の合成で少なくとも表面（疎水性特性の有無のいずれでも）上にイオン交換基を有する材料ができる場合、該材料を次工程に使用できる。基材の合成で中性表面ができる場合、該基材をイオン交換基（疎水性特性の有無のいずれでも）で共有結合的に変性する。変性は、少なくとも表面細孔を含む。別途又は基材の存在下、微粒子を合成する。合成で少なくとも表面（疎水性特性の有無のいずれでも）上にイオン交換基を有する材料ができる場合、微粒子を更なる変性なしに使用できる。微粒子の合成で中性表面ができる場合、微粒子をイオン交換基（疎水性特性の有無のいずれでも）で共有結合的に変性する。微粒子の合成を別途行う場合、続いて基材を官能化微粒子と接触する。

30

【0141】

したがって、本発明は、本発明に係る組成物を例えば液体試料中の分析物の分離用に製造する方法を更に提供する。一つの実施態様において、上記方法は（a）イオン交換微粒子を直接又は間接的に多孔質固体担体の外部表面に結合する工程を備え、ここで固体担体が外部表面における開口に及ぶ内部細孔を画成する内部壁を含み、該内部壁がイオン交換リガンドで共有結合的に官能化される。当該リガンドは、第一電荷（正及び負から選択される）を有する少なくとも一つのイオン交換基を含む。微粒子は、正及び負から選択される第二電荷を有するイオン交換基を含む。第二電荷は第一電荷と反対電荷であることが好ましい。特定の実施態様において、微粒子の平均直径は細孔の平均直径と等しいか又は大きい。上記方法は、（b）有機リガンドを、内部壁を含む固体担体と共有結合する工程を更に備えることができる。

40

【0142】

他の典型的な方法は、（a）外部表面と、この外部表面の開口に及ぶ内部細孔を画成する内部壁とを有する多孔質固体担体を提供する工程と、（b）有機リガンドを内部壁に共有結合する工程を含む。該リガンドは、第一電荷（正及び負から選択される）を有する少なくとも一つのイオン交換基を含む。上記方法は（c）微粒子を固体担体の外部表面に直

50

接又は間接的に結合（例えば、不可逆的に）する工程を更に含む。微粒子は正及び負から選択される第二電荷を有するイオン交換基を含む。第二電荷は第一電荷と反対であることが好ましい。特定の実施態様において、微粒子の平均直径は、細孔の平均直径と等しいか又は大きい。

【0143】

クロマトグラフィー方法

本発明は、クロマトグラフィー方法（例えば、液体試料中の分析物を分離するための）を更に提供する。当該方法は、本発明に係る組成物を含む分離媒体のモノリス又は充填床中に液体を流す工程を備える。一例において、上記液体は分析物を含む。例えば、液体は少なくとも一種類のアニオン（例えば、有機及び/又は無機アニオン）及び少なくとも一種類のカチオン（例えば、有機及び/又は無機カチオン）を含み、それぞれが分離媒体によって本質的に保持される。他の例において、液体は少なくとも一種類のアニオン（例えば、有機及び/又は無機アニオン）、少なくとも一種類のカチオン（例えば、有機及び/又は無機カチオン）及び少なくとも一種類の無荷電の分子（例えば、芳香族炭化水素などの疎水性分子）を含み、それぞれが分離媒体によって本質的に保持される。さらにもう一つの例において、上記方法を用いて、少なくとも一種類のアニオン（例えば、有機及び/又は無機アニオン）及び少なくとも一種類のカチオン（例えば、有機及び/又は無機カチオン）（すなわち、移動相）を分離することができる。

10

【0144】

更なる例において、上記方法を用いて、少なくとも一種類のアニオン（例えば、有機及び/又は無機アニオン）、少なくとも一種類のカチオン（例えば、有機及び/又は無機カチオン）及び少なくとも一種類の無荷電の分子（例えば、芳香族炭化水素などの疎水性分子）を分離することができる。ここで用いる動詞「分離する」又はそのいずれかの文法的変形は、分離媒体から溶出した少なくとも二種類の分析物を言い、各々分離したピークを有し、少なくとも二本のピーク間にベースラインの分離を有することが好ましい。

20

【0145】

一例において、本発明の方法に有用な移動相は水を含む。移動相の含水量は、好適には約0.1%（v/v）～100%（v/v）、より好適には約1%～約100%（v/v）、さらにより好適には約10%～約100%（v/v）、最も好適には約20%～約100%（v/v）である。

30

【0146】

本発明は、本発明に係る組成物を含むクロマトグラフィー媒体に液体試料を流す工程を備える液体試料中の分析物を分離する方法を更に提供する。

【0147】

本発明に係る組成物について上述した各実施形態及び例を等しく本発明の方法に適用する。例えば、上述したような固体担体の種類、固体担体粒子の寸法、細孔径、有機イオン交換リガンドの構造と性質、微粒子の種類と寸法、イオン交換基の種類と寸法及び疎水性部分の種類と寸法に関する各実施形態を等しく本発明の方法に適用し得る。

【0148】

一例において、上記方法は、多孔質固体担体及び該固体担体に結合した微粒子を含む組成物を使用する。かかる組成物はカチオン交換基、アニオン交換基及び逆相部分を含み、ここでカチオン交換及びアニオン交換基を互いに十分に離間させてその間での反応を回避する。逆相部分は、固体担体へ共有結合した有機リガンドによって付与される。

40

【0149】

他の例において、上記方法は（a）多孔質固体担体を含む組成物を用いる。多孔質固体担体は、外部表面と、内部壁によって画成された内部細孔とを有する。細孔は外部表面中の開口に及ぶ。組成物は、（b）細孔の内部壁を含む固体担体に共有結合した有機イオン交換リガンドを更に含む。多様な例において、リガンドは任意に第一電荷（正及び負から選択される）を有するイオン交換基を含む。組成物は、（c）任意に第二電荷（正及び負から選択される）を有するイオン交換基を含む微粒子（例えば、ラテックス粒子）を更に

50

含み、ここで第二電荷が第一電荷と反対電荷である。微粒子を、固体担体の外部表面に直接又は間接的に（例えば、付加的な微粒子の層を介して）結合（例えば、静電結合を介して）する。

【実施例】

【0150】

全般：本発明に係る組成物の調製を一般に三つの独立した工程に分割できる。

- (a) 荷電した表面を有する固体担体の調製
- (b) 荷電したポリマーラテックス粒子の調製
- (c) ポリマーラテックス粒子での固体担体表面の変性

【0151】

10

例 1

イオン交換官能を有する反応性シリルリガンドの合成

反応性シリル化合物 1 ~ 8、12 及び 18 を Gelest 社から購入した。化合物 9 及び 10 を例 1.1 に記載した方法によって調整した。化合物 11 を例 1.2 に記載した方法によって調整した。化合物 13 ~ 17 を例 1.3 に記載した方法によって調整した。

【0152】

1.1. 化合物 9（典型的なアニオン交換リガンド）の合成

0 ~ 5 で 20 分間保持した（ジメチルアミノ）プロピルアミン及び過剰量の Et_3N （2.0 当量）の CH_2Cl_2 溶液に、10 - ウンデセノイルクロリド（10 当量）の CH_2Cl_2 溶液を徐々に添加した。反応混合物を大気温度で 12 時間攪拌し、その後水洗し、 Na_2SO_4 上で乾燥した。溶媒を減圧下留去した。生成した中間体を過剰のジメチルエトキシシラン（10 当量）へ添加した。この混合物に最少量のエタノール中のヘキサクロロ白金酸のような触媒（0.1 mol %）を添加した。反応混合物を 50 で 24 時間攪拌した。その後、過剰の揮発性シラン及び溶媒を減圧下留去し、化合物 9 を得た。

20

【0153】

1.2. 化合物 11（アニオン交換リガンド）の合成

5 で 11 - ブロモ - 1 ウンデセンの THF 溶液をジメチルアミン（10 当量）の THF 溶液へ滴下した。反応混合物を大気温度で 12 時間攪拌した。揮発分を真空除去した。粗製中間体を $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{H}_2\text{O}$ 抽出によって精製し、 Na_2SO_4 上で乾燥した。揮発分を真空除去してアリル中間体を得た。その後、過剰量のジメチルエトキシシラン（10 当量）を中間体に添加し、続いて触媒の溶液（0.1 mol %）（例えば、最少量のエタノール中のヘキサクロロ白金酸）を添加した。50 で 24 時間攪拌後、シラン及び溶媒を真空除去してシリル化合物 11 を提供する。

30

【0154】

1.3. 化合物 14（カチオン交換リガンド）の合成

グリシンメチルエステル塩酸塩（1.1 当量）、トリエチルアミン（3 当量）の CH_2Cl_2 溶液（500 mL）に 5 以下の温度で窒素雰囲気下 10 - ウンデセノイルクロリド（1 当量）の CH_2Cl_2 溶液（300 mL）を 4 時間にわたって徐々に添加した。反応混合物を大気温度で 12 時間攪拌した。固体をろ別した。ろ液に水を添加し、生成物をジクロロメタンで抽出した。有機相を合わせて、 MgSO_4 上で乾燥した。揮発分を真空除去した。粗生成物を 160 / 0.06 Torr でのクーゲルロール蒸留で精製した。

40

【0155】

上記アリル中間体（10 当量）及び $(\text{MeO})_2\text{MeSiH}$ （1.5 当量）の溶液へ大気温度で Pt(0) 触媒（0.1 重量 %）を注意深く添加した（注：時々発熱反応が観察された）。その後、反応混合物を 95 へ加温し、16 時間その温度を保持した。その後、揮発分を減圧下除去して化合物 14 を得た。

【0156】

例 2

官能化固体担体の合成

イオン交換官能を含有する反応性シランを、シリカゲル、ガラスプレート、アルミナ、

50

ジルコニアなどの多種の基材と共有結合できる。シリカゲルはさまざまな細孔径を有する多孔質シリカであり、細孔径は約60 ~ 約5000 が好ましい。反応を、シリカゲルと、トルエンなどの不活性溶媒とのスラリー中で高温で行うことができる。水、酸又は塩基の添加は反応を触媒して、生成する材料の意図した用途に応じた表面被覆を促進することができる。本発明の組成物及び方法に有用な官能化基材の例を図3に列記した。

【0157】

2.1. アミン化表面を有する固体担体27の調製

シリルリガンド9(75g)のトルエン溶液(250mL)を乾燥シリカゲル(150g)に添加した。上記スラリーを注意深く分散した後、反応混合物を攪拌し48時間還流した。官能化シリカ粒子をろ別し、アセトンで完全に洗浄して固体担体27を得た。

10

【0158】

2.2. カルボキシル化表面を有する固体担体32の調製

シリルリガンド14(150g)のトルエン溶液(450mL)を乾燥シリカゲル(150g)に添加した。上記スラリーを注意深く分散した後、反応混合物を攪拌し72時間還流した。官能化シリカ粒子をろ別し、完全に洗浄した。0.1%リン酸水溶液を用いて中間体を3時間加水分解した。粒子を再びろ別し、アセトンで完全に洗浄して固体担体32を得た。

【0159】

例3

荷電したポリマーラテックス粒子の調製

20

3.1. アミン化ラテックス粒子の調製

ビニルベンジルグリシジルエーテル(VBGE)32g及び80%ジビニルベンゼン(DVB)2.7gの混合物を、70% Triton X-405(非イオン性エトキシ化アルキルフェノール)4.0g、過硫酸カリウム2.1g及び8%メタ重亜硫酸カリウム溶液15gを含有する水溶液308gに添加した。混合物を窒素で20分間脱気した。容器を封冠し、32に保持した水浴中で18時間混転して重合を完了した。その後、生成したラテックスに、安定化のため、70% Triton X-405溶液19.2gを添加した。白色不透明混合物をGF/Aガラス繊維ろ紙によりろ過してあらゆる凝塊を除去し、ラテックス336gを得た。

【0160】

30

上記ラテックス336gに1M硝酸62.4g及び5Mメチルジエタノールアミン91.2gの混合物を添加してアミン化四級化ラテックスを形成した。混合物を10分間攪拌した。さらに1M硝酸144g及び5Mメチルジエタノールアミン384gの混合物を添加し、攪拌を12時間50で継続して、アンモニア化ビニルベンジルグリシジルエーテル/ジビニルスチレン共重合体(架橋度6%、dp:70nm)を得た。

【0161】

3.2. スルホン化ラテックス粒子の調製

塩化カルシウム二水和物0.1gの脱気した水溶液(350g)に、窒素雰囲気下スチレン21.66g、市販80.5%ジビニルベンゼン1.42g、Vazo 33(2,2'-アゾビス(2,4-ジメチル-1,4-メトキシバレロニトリル))0.14g、Atl ox 3403 F(アニオン性及びノニオン性界面活性剤の混合物)3.66g及びAtl ox 3403 F1.09gの混合物を添加した。容器を封冠し、32で17時間混転した。その後、混合物にIgepal DM880(エトキシ化ジアルキルフェノール)22gを添加した。再び容器を封冠し、24時間32で混転した。反応混合物をWhatman社のGF/A、GF/D及びGF/Fフィルターを用いてろ過してラテックスからあらゆる凝塊を除去した。

40

【0162】

濃硫酸92.4gをろ過したラテックス20gに添加することによって、ラテックスをスルホン化した。混合物にクロロスルホン酸(137g)を添加した。混合物を110で2時間加熱し、その後60まで冷却した。冷却した混合物を3.22M水酸化ナトリウ

50

ム (1 8 0 0 m l) に添加して、ラテックスのスルホン化を停止した。停止したラテックスをWhatman社#541フィルターを用いてろ過して、凝塊を除去し、スルホン化4 - メチルスチレン / ジビニルスチレン共重合体 (架橋度 5 % 、 d p : 1 5 0 n m) を得た。

【 0 1 6 3 】

3 . 3 . カルボキシル化ラテックス粒子の調製

リン酸二水素カリウム 2 . 9 g 、リン酸水素二ナトリウム七水化物 5 . 8 g 、 7 0 % T r i t o n X - 4 0 5 溶液 (ノニオン性エトキシル化アルキルフェノール) 4 . 7 g 、過硫酸カリウム 1 . 4 4 g 及び 7 . 4 % メタ重亜硫酸カリウム溶液 1 0 . 8 g を含む水溶液 (2 2 8 g) にグリシジルオキシエチルメタクリレート (G L E M A) (2 4 g) を添加した。混合物を窒素で 1 5 分間脱気した。容器を封冠し、水浴中 3 2 ° で 1 6 時間混転して重合を完了した。生成するラテックスを安定化するために、混合物に 7 0 % T r i t o n X - 4 0 5 溶液 1 2 g を添加した。白色不透明混合物を G F / A ガラス繊維ろ紙によりろ過して、あらゆる凝塊を除去し、ラテックス 2 6 9 g を得た。

【 0 1 6 4 】

上記ラテックス (5 g) に 1 M 硝酸 (1 . 2 g) を添加し、pH を約 pH 3 に調整した。チオ酢酸 (ナトリウム塩) (又はチオリンゴ酸又は S - カルボキシメチル - L - システイン) の脱イオン水溶液 (5 g) を二等分 (各々 2 . 5 グラム) して添加し、第一等分添加後 1 時間 5 2 ° で撹拌した。

【 0 1 6 5 】

例 4 :

カチオン及びアニオン交換特性を有する混合モード固定相の調製

最初に、適当な水性媒体中の官能化固体担体 (例えば、材料 1 9 ~ 3 6) のスラリーを調製した。イオン交換基が荷電することを確保するように水性媒体を選択する。別途、反対電荷のポリマーラテックス粒子のスラリーを適切な pH に調整し、必要な場合希釈する。最後に、これら二種類のスラリーを特定時間混合 (例えば、機械式撹拌器又は振とう機を用いて) する。その後、生成した混合物をろ過し、フィルターケーキを完全に洗浄し、乾燥して本発明に係る組成物を得る。上記一般的方法を用いて調製できる典型的な組成物を図 1 0 に列挙した。

【 0 1 6 6 】

4 . 1 . 材料 4 5 (スルホン化ラテックス粒子で被覆した正に荷電した固体担体) の調製 - オフ・カラム製法

正に荷電したシリカ粒子 (例 2 . 1 の材料 2 7) 1 0 g を酢酸アンモニウム緩衝液 (1 0 0 m M 、 pH 5) 1 0 0 m L 中に分散する。別途、スルホン化ラテックス (例 3 . 2) 1 0 0 m L を酢酸アンモニウム緩衝液 (2 M 、 pH 5 . 4) で pH 4 ~ 5 に調整した。シリカ粒子とスルホン化ラテックスの混合物と一緒にし、生成した混合物を大気温度で 3 時間撹拌した。官能化シリカ粒子をろ別し、脱イオン水、続いてアセトンで完全に洗浄して充填材料 4 5 を得た。

【 0 1 6 7 】

4 . 2 . 材料 5 2 (アミン化ラテックス粒子で被覆した負に荷電した固体担体) の調製 - イン・カラム製法

5 0 m m で 4 . 6 m m (内径) の 3 1 6 ステンレス鋼製 H P L C カラムハウジングに、高圧スラリー充填技術を用いて材料 3 2 (例 2 . 2 . の) を充填した。別途、アミン化ラテックス溶液 (例 3 . 1 . の) 1 0 m L をリン酸緩衝液 (0 . 2 M 、 pH 7 ~ 8) で pH 7 ~ 8 に調整した。ラテックス溶液を 2 5 0 m L の H P L C 溶離液容器内に移した。H P L C ポンプを用いて充填カラムを 0 . 5 m L / 分のリン酸緩衝液 (0 . 2 M 、 pH 7) で 3 0 分間洗浄した。その後、カラムを 0 . 5 m L / 分のラテックス溶液でラテックス粒子がカラム出口で流出するのを観察するまで洗浄した。最後に、カラムをリン酸緩衝液 (0 . 2 M 、 pH 7) 、脱イオン水及び 7 0 % アセトニトリルの脱イオン水で洗浄して、材料 5 2 で充填したカラムを得た。

【0168】

4.3. 材料57（アミン化ラテックス粒子で被覆した未官能化シリカゲル粒子）の調製

10 mm × 4.3 mm（内径）の316 HPLCカラムガードカートリッジハウジングに、真空スラリー充填技術を用いて未官能化シリカ粒子を充填した。別途、アミン化ラテックス溶液（例3.1.）10 mLをリン酸緩衝液（0.2 M、pH 7～8）でpH 7～8に調整した。ラテックス溶液を250 mLのHPLC溶離液容器内に移した。HPLCポンプを用いて充填カラムを0.5 mL / 分のリン酸緩衝液（0.2 M、pH 7）で50分間洗浄した。その後、カラムを0.5 mL / 分のラテックス溶液でラテックス粒子がカラム出口を流出するのを観察するまで洗浄した。最後に、カラムをリン酸緩衝液（0.2 M、pH 7）、脱イオン水及び70%アセトニトリルの脱イオン水で洗浄して、材料50で充填したカラムを得た。

10

【0169】

4.4. 材料58（スルホン化ラテックス粒子で被覆した未官能化酸化アルミニウム粒子）の調製

未官能化塩基性酸化アルミニウム10 gを0.1%リン酸塩水溶液中に分散した。別途、スルホン化ラテックス（例3.2.）100 mLをリン酸緩衝液（100 mM、pH 7）でpH 7に調整した。酸化アルミニウム及びラテックス粒子を混合し、生成した混合物を大気温度で3時間攪拌した。その後、官能化酸化アルミニウム粒子をろ別し、脱イオン水とアセトンで完全に洗浄して、充填材料58を得た。

20

【0170】

4.5. 材料59（アミン化ラテックス粒子で被覆した未官能化酸化アルミニウム粒子）の調製

未官能化酸性酸化アルミニウム粒子10 gをリン酸緩衝液（100 mM、pH 7）中に分散した。別途、アミン化ラテックス（例3.1.）100 mLをリン酸緩衝液（100 mM、pH 7）でpH 7に調整した。酸化アルミニウム粒子及びアミン化ラテックス粒子を混合し、生成した混合物を大気温度で3時間攪拌した。官能化酸化アルミニウム粒子をろ別し、脱イオン水とアセトンで完全に洗浄して、充填材料59を得た。

【0171】

例5：

30

混合モード媒体のクロマトグラフィー用途

このセクションでは選択した本発明に係る組成物のクロマトグラフィー評価を記載する。下記物理特性、5.0 μmの平均粒径、300 m² / gの比表面積、120 の平均細孔径、100 mL / gの細孔容量を有する高純度原料シリカゲルから試料を調製した。結合したシリカを既知の高圧スラリー技術を用いてステンレス鋼製カラム内に充填した。

【0172】

5.1. 無機カチオン及び無機アニオンの同時分離

50 mm × 3.0 mm（内径）の316 HPLCカラムハウジングに、高圧スラリー充填技術を用いて材料45（例4.1.）を充填した。試験混合物をカラムへ注入した。試験混合物はLiCl、NaCl及びKCl（各2 mM）を含んだ。試験条件は以下であった。

40

溶出液：CH₃CN / 脱イオンH₂O / 100 mM NH₄OAc、pH 5（50 / 40 / 10 v / v / v）、

流速：0.425 mL / 分、

注入容積：5 μL、

温度：30、

検出：ELSD

【0173】

上記分析で得られたクロマトグラムを図4に示す。結果は、材料45を用いて無機カチオン及び無機アニオンを分離し分析できることを示す。材料45は、逆相、弱アニオン交

50

換（図 3 中の化合物 27 で示した共有結合的なアミン化シリカゲルが提供する）及び強カチオン交換（スルホン化ラテックス被覆が提供する）の保持機構を提供する。比較すると、従来の逆相カラムでもイオン交換カラムのいずれでも同一の分離を提供できない。加えて、移動相の pH、イオン強度、塩の種類及び有機組成物を変えることにより、材料 45 の選択性を調整できる。

【0174】

5.2. 有機カチオン及び無機アニオンの同時分離

組成物 45 を含有する上記カラム（例 5.1.）を以下のクロマトグラフィー評価に用いた。NMe₄Cl、NEt₄Cl、NPr₄Br 及び NBu₄Br（各 200 ppm）を含有する試験混合物をカラムに注入した。試験条件は以下であった。

溶出液：CH₃CN / 脱イオン H₂O / 200 mM NH₄OAc、pH 5（v / v / v）40 / 57.5 / 2.5 ~ 40 / 40 / 20 を 5 分間、40 / 10 / 50 を 10 分間、

流速：0.425 mL / 分、

注入容積：2 µL、

温度：30、

検出：ELSD

【0175】

上記分析の結果を図 5 に示す。図は、四種類のアルキル四級アミン及びそれらの無機アニオン性対イオンを混合モード材料 45 を充填したカラムで同時に保持し分離できることを示す。

【0176】

5.3. カチオン性、アニオン性及び中性有機化合物（組成物 45 を使用する）の同時分離

材料 45 を充填した 4.6 × 50 mm の HPLC カラムを次のクロマトグラフィー評価にかけた。試験混合物はブソイドエフェドリン（200 ppm）、ナフタレン（100 ppm）及びサリチル酸（50 ppm）を含む。試験条件は以下であった。

勾配：CH₃CN / 脱イオン H₂O / 0.2 M NaCl / 0 : 1% H₃PO₄ の脱イオン H₂O 溶液 = 40 / 40 / 10 / 10（v / v / v / v）、

流速：1 mL / 分、

注入容積：2 µL、

温度：30、

検出：210 nm における UV

【0177】

上記分析結果を図 6 に示す。図は、混合モード材料 45 が単一クロマトグラフィー運転でカチオン性、中性及びアニオン性有機分子を保持し分離できることを示す。比較すると、正に帯電した固体担体前駆体（材料 27）を充填したカラムに注入する場合、カチオン性分析物と正に帯電した表面間の静電反発作用のため、カチオン性分子ブソイドエフェドリン（図 6 中の化合物 1）が空隙容量に溶出する。

【0178】

5.4. カチオン性、アニオン性及び中性有機化合物（組成物 52 を用いる）の同時分離

ブソイドエフェドリン（200 ppm）、ナフタレン（100 ppm）及びサリチル酸（50 ppm）を含有する試験混合物を組成物 52 を充填した 4.6 × 50 mm の HPLC カラムを用いて分析した。試験条件は以下であった。

勾配：CH₃CN / 5 mM リン酸カリウム緩衝液、pH 6.8 = 45 / 55（v / v）、

流速：1 mL / 分、

注入容積：1 µL、

温度：30、

検出：210 nm における UV

【0179】

上記分析結果を図 7 に示す。図は、混合モード材料 5 2 を単一クロマトグラフィー運転でアニオン性、中性及びカチオン性有機分子を保持し分離できることを示す。比較すると、負に帯電した固体担体前駆体（材料 3 2）を充填したカラムに注入する場合、アニオン性分析物と負に帯電した表面間の静電反発作用のため、アニオン性分子、サリチル酸（図 7 中の化合物 1）が空隙容量に溶出する。加えて、移動相の pH、イオン強度及び有機組成物を変えることにより、材料 5 2 を充填したプロトタイプカラムの選択性を調整できる。

【 0 1 8 0 】

5 . 5 . カチオン性及びアニオン性有機化合物（組成物 5 7 を用いる）の同時保持
ブソイドエフェドリン（200 ppm）、ナフタレン（100 ppm）及びサリチル酸（50 ppm）を含有する試験混合物を、材料 5 7 を充填した 4 . 3 × 1 0 mm の H P L C カラムを用いて分析した。試験条件は以下であった。

勾配：C H₃ C N / 5 m M N a C l 水溶液 4 0 / 6 0 (v / v)、

流速：1 m L / 分、

注入容積：1 μ L、

温度：3 0、

検出：2 1 0 n m における U V

【 0 1 8 1 】

上記分析の結果を図 8 に示す。図は、混合モード材料 5 7 がアニオン交換（アミン化ラテックス被覆層から）及びカチオン交換（シリカ表面上の負に帯電したシラノール基から）の両特性を呈することを示す。中性有機分子ナフタレン（図 8 中の化合物 1）は、疎水性官能がないため空隙容量に溶出する。アニオン性分子サリチル酸（図 8 中の化合物 3）は組成物 5 7 によって良好に保持された。比較すると、非官能化シリカゲル（表面上の遊離シラノール基によるカチオン交換特性を有する）を用いる同一試験混合物の分析中、中性分子（疎水性の保持がないため）並びにアニオン性分子サリチル酸（図 8 中の化合物 3）に対する保持が負に帯電したシラノール基及びアニオン性有機分子間の静電反発作用のため観察されなかった。

【 0 1 8 2 】

5 . 6 . 無機アニオン - ヨウ化物の保持（材料 5 7 を使用）

材料 5 7 を充填した 4 . 3 × 1 0 mm の H P L C カラムを次のクロマトグラフィー評価にかけた。試験混合物はヨウ化ナトリウム（300 ppm）を含む。試験条件は、勾配が C H₃ C N / 脱イオン H₂ O / 0 . 2 M N a C l 水溶液 / 0 . 1 % H₃ P O₄ = 4 0 / 4 0 / 1 0 / 1 0 (v / v) であり、流速が 1 m L / 分であり、注入容積が 1 μ L であり、温度が 3 0 であり、検出が 2 1 0 n m における U V である。

【 0 1 8 3 】

図 9 は、混合モード材料 5 7 がシリカ表面上のアミン化ラテックス被覆層の結果で無機アニオン - ヨウ化物を保持することを示す。比較すると、非官能化シリカゲルはヨウ化物イオンの保持を示さない。

【 0 1 8 4 】

例 6 :

モノリス組成物の調製

6 . 1 . 逆相 / カチオン交換（内側）及びアニオン交換（外側）官能性を有するモノリスシリカ系組成物の調製

シリルリガンド（例えば、9、トルエン 5 5 m L 中 5 g）の溶液をシリカモノリスカラム（例えば、P e r f o r m a n c e S i カラム、4 . 6 × 1 0 0 mm、メルク社 K G a A N o . 1 . 5 1 4 6 5 . 0 0 0 1）中で H P L C ポンプを用いて、例えば流速 0 . 0 5 m L / 分でパージする。上記処理中、カラムを加熱（例えば、1 1 0 に設定したオーブン中で）できる。十分な反応時間（例えば、2 0 時間）後、カラムを溶剤（例えば、トルエン及びアセトン）で洗浄して材料 6 0（モノリス版の固体担体 2 7）を得た。H P L C ポンプを用いて、カラムを緩衝液（例えば、1 0 0 m M、p H 5 の酢酸アンモニウム

10

20

30

40

50

）で適当な流速（例えば、0.5 mL / 分で30分間）で洗浄できる。その後、カラムをラテックス溶液（例えば、例3.2に記載したスルホン化ラテックス）で同じ流速で、ラテックス粒子がカラム出口から流出するのを観察するまで洗浄することができる。最後に、カラムを洗浄（例えば、酢酸アンモニウム緩衝液100 mM、pH 5、脱イオン水及び70%アセトニトリルの脱イオン水で）して材料61を得た（モノリス版の混合モード相45）。

【0185】

6.2. 逆相 / カチオン交換（内側）及びアニオン交換（外側）官能性を有するモノリスシリカ系組成物の調製

シリルリガンド14（例えば、5 g）の溶媒（例えば、トルエン、55 mL）溶液をシリカモノリスカラム（例えば、Performance Si カラム、4.6 × 100 mm、メルク社 KGaA No. 1.51465.0001）中に、例えばHPLCポンプ（例えば、流速0.05 mL / 分で）を用いてパージできる。上記処理中、カラムを加熱（例えば、110 に設定したオープン中で）できる。適当な反応時間（例えば、20時間）後、カラムを適切な時間（例えば、3時間）加水分解（例えば、0.1%リン酸水溶液で）して材料62を得た（モノリス版の固体担体32）。その後、HPLCポンプを用いてカラムを洗浄（例えば、0.2 M、pH 7のリン酸緩衝液で、0.5 mL / 分で30分間）できる。その後、カラムをアミン化ラテックス溶液（例えば、例3.1に記載したアミン化ラテックス）で、例えば0.5 mL / 分で、ラテックス粒子がカラム出口から流出するのを観察するまでパージできる。最後に、カラムを洗浄（例えば、リン酸緩衝液で（0.2 M、pH 7）、脱イオン水及び70%アセトニトリルの脱イオン水）して材料63を得た（モノリス版の混合モード相52）。

【0186】

例7：

逆相及び多種のイオン交換性能を有する高分子樹脂担体の調製

7.1. 逆相 / カチオン交換（内側）及びアニオン交換（外側）官能性を有するPS - DVBポリマー系組成物の調製

2 - (ジメチルアミノ)エタンチオール塩酸塩（10 g）をPS - DVB Micro - 55樹脂（10 g）のエタノール懸濁液（100 mL）へ添加する。2, 2' - アゾビス（2 - メチルプロピオニトリル）（10 g）を混合物に添加する。混合物を48時間緩やかに還流する。その後、固体をろ別し、樹脂をエタノール（例えば、3 × 50 mL）で洗浄し、真空乾燥して材料64を得た。

【0187】

上記樹脂10 gを酢酸アンモニウム緩衝液（例えば、100 mM、pH 5）100 mL中に分散する。別途、スルホン化ラテックス（例えば、例3.2に記載したスルホン化ラテックス）100 mLをpH 4 ~ 5に調整（例えば、酢酸アンモニウム緩衝液、2 M、pH 5.4で）する。上記固体担体及び上記微粒子を混合し、攪拌する（例えば、大気温度で3時間）。官能化樹脂ビーズをろ別し、洗浄（例えば、脱イオン水、続いてアセトンで）して充填材料65を得る。

【0188】

7.2. PS - DVBポリマー系逆相 / カチオン交換（内側）及びアニオン交換（外側）官能性の調製

ブチル3 - メルカプトプロピオナート（例えば、10 g）をPS - DVB Micro - 55樹脂（例えば、10 g）のエタノール懸濁液（例えば、100 mL）に添加する。2, 2' - アゾビス（2 - メチルプロピオニトリル）（例えば、10 g）を混合物に添加する。混合物を還流（例えば、48時間）する。固体をろ別し、樹脂を洗浄（例えば、エタノール3 × 50 mLで）し、真空乾燥する。

【0189】

水酸化リチウム（例えば、10 g）水溶液（例えば、15 mL）を上記樹脂（例えば、10 g）の溶媒（例えば、テトラヒドロフラン、50 mL）懸濁液に添加する。混合物を

攪拌（例えば、5時間）する。固体をろ別し、洗浄（例えば、脱イオン水（ $3 \times 50 \text{ mL}$ ）、 1 N HCl （ $3 \times 50 \text{ mL}$ ）及び脱イオン水（ $3 \times 50 \text{ mL}$ ）で）する。弱いカチオン交換表面で官能化したポリマービーズをこのようにして得ることができる（66）。

【0190】

上記樹脂（例えば、 10 g ）を緩衝液（例えば、 100 mL のリン酸緩衝液、 200 mM 、 $\text{pH } 7$ ）中に分散する。別途、アミン化ラテックス（例えば、例3.1に記載したアミン化ラテックス）を適切な pH に調整（例えば、リン酸緩衝液で $\text{pH } 6 \sim 7$ に、 200 mM 、 $\text{pH } 7$ ）する。上記固体担体及び上記微粒子を混合し、攪拌する（例えば、大気温度で3時間）。官能化樹脂ビーズをろ別し、洗浄（例えば、脱イオン水、続いてアセトンで）して充填材料67を得る。

10

【0191】

例8：

保持に対する移動相イオン強度の効果

組成物45を充填したカラム（ $5 \mu\text{m}$ 、 $4.6 \times 50 \text{ mm}$ ）を使用して、多種の塩濃度を有する移動相を用いたナフタレン、エフェドリン、チロシン及びサリチル酸を分析した。条件は次の通り、移動相が $\text{CH}_3\text{CN} / 1\% \text{H}_3\text{PO}_4 / \text{NaCl}$ 水溶液 $5 \sim 40 \text{ mM}$ （総濃度）（ $v/v/v$ ） $40/10/50$ であり、温度が 30°C であり、流速が $1 \text{ mL} / \text{分}$ であり、注入容積が $3 \mu\text{L}$ であり、検出が 210 nm におけるUVである。図11に示した結果は、移動相のイオン強度がカチオン性（例えば、エフェドリン）及びアニオン性（例えば、サリチル酸）の両方の分析物の保持に影響することを示す。移動相内のカチオンの競合の増加につれて、カチオンの保持は短縮する。アニオンの保持は、移動相中のアニオンとの競合が増えるにつれて減少する。それゆえ、カチオン及びアニオンの保持は共に NaCl 濃度の増加につれて減少する。試験条件下（ $\text{pH } 2.2$ ）で、チロシン（双性イオン性）は正に荷電し、そのため、カチオンのように挙動する。本実験において、移動相のイオン強度は中性分析物（ナフタレン）の保持に対する効果を有しない。

20

【0192】

例9：

移動相 pH の保持に対する効果

組成物45を充填したカラム（ $5 \mu\text{m}$ 、 $4.6 \times 50 \text{ mm}$ ）を用い、 pH を変えた移動相を使用してナフタレン、エフェドリン、チロシン及びサリチル酸を分析した。条件は次の通り、移動相が $\text{CH}_3\text{CN} / \text{リン酸ナトリウム緩衝液}$ $\text{pH } 2.3$ 及び 6.5 の $5 \sim 40 \text{ mM}$ （総濃度）（ v/v ） $40/60$ であり、温度が 30°C であり、流速が $1 \text{ mL} / \text{分}$ であり、注入容積が $3 \mu\text{L}$ であり、検出が 210 nm におけるUVである。本実験において、中性の分析物（例えば、ナフタレン）は $\text{pH } 2.3$ とは逆に $\text{pH } 6.5$ では保持がわずかに長くなった。おそらく固定相上の弱アニオン交換サイトの荷電が少なくなり、そのため、より疎水性になったためである。エフェドリン（カチオン性）は、 pH の変化が外側細孔領域で強カチオン交換特性にほとんど影響しないため、両 pH で実質的には保持に差がないことを示した。比較すると、アニオン性分析物（例えば、サリチル酸）は、おそらく上記試験条件下でアニオン濃度が $\text{pH } 2.3$ よりも $\text{pH } 6.5$ の方が高いという事実のために、有意に相違する保持を示した。チロシン（双性イオン性）は、実質的には $\text{pH } 6.5$ で中性であり、異なる緩衝液濃度でも保持に差がないことを示す。 $\text{pH } 2.3$ では、チロシンは典型的なカチオンのように挙動する。

30

40

【0193】

例10：

移動相の有機溶媒含有量の保持に対する効果

組成物45を充填したカラム（ $5 \mu\text{m}$ 、 $4.6 \times 50 \text{ mm}$ ）を用い、有機溶媒（例えば、アセトニトリル）の含有量を変えた移動相を使用して、ナフタレン、エフェドリン、チロシン及びサリチル酸を分析した。条件は、移動相が $\text{CH}_3\text{CN} / 10 \text{ mM NaCl}$ を含む緩衝液、 $0.1\% \text{H}_3\text{PO}_4$ 脱イオン水溶液であり、温度が 30°C であり、流速が $1 \text{ mL} / \text{分}$ であり、注入容積が $3 \mu\text{L}$ であり、検出が 210 nm におけるUVである。図12に

50

示した結果は、上記試験条件下で全種類の分析物の保持が一般に移動相の有機含有量の増加に伴い低減することを示す。しかし、図12に示すように、溶離（選択性）の程度は有機溶媒含有量の変化で変わる。

【0194】

例11：

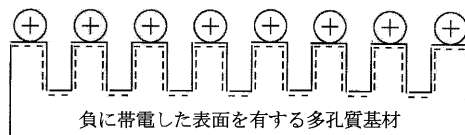
アニオン及びカチオンタイプの保持に対する効果

組成物45を充填したカラムを用い、異なるアニオン（例えば、NaClに対してNaClO₄）及び異なるカチオン（LiCl、NaCl、KCl）を各々含有する移動相を使用してナフタレン、エフェドリン、チロシン及びサリチル酸を分析した。条件は次の通り、移動相がCH₃CN / 1% H₃PO₄ / 塩添加剤で5 ~ 40 mM（総濃度）（v / v / v）40 / 10 / 50、温度が30、流速が1 mL / 分、注入容積が3 µL、検出が210 nmにおけるUVである。結果は、アニオンの種類がアニオン性分析物（例えば、サリチル酸）の保持に有意に影響することを示す。過塩素酸イオンは塩素イオンよりも強い競合アニオンであり、比較可能な塩濃度でサリチル酸（アニオン性）のより低い保持をもたらした。他方、エフェドリン及びチロシン（試験条件下、両者はカチオン性である）の保持はアニオンの種類の影響を受けず、重なった保持曲線を示す。アニオンの種類が異なると、ナフタレン（中性）に対し僅かに異なる保持をもたらした。

【0195】

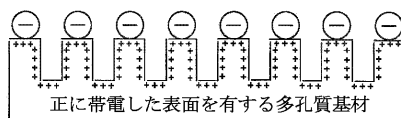
同様に、カチオンの種類がカチオン性分析物の保持に影響する。K⁺はNa⁺イオンよりも強い競合カチオンであり、Na⁺イオンはLi⁺よりも強い。従って、比較可能な塩濃度でのエフェドリンの保持はK⁺ < Na⁺ < Li⁺の順位に従う。他方、サリチル酸（アニオン性）の保持はカチオンの種類の影響を受けず、典型的なアニオン交換挙動を示した。驚くべきことに、チロシンは、全三種類の条件下でカチオンの種類に反応せず、カラムはほぼ同じ保持曲線を与えた。カチオンが異なっても、ナフタレン（中性）はほぼ同じ保持であった。

【図1A】



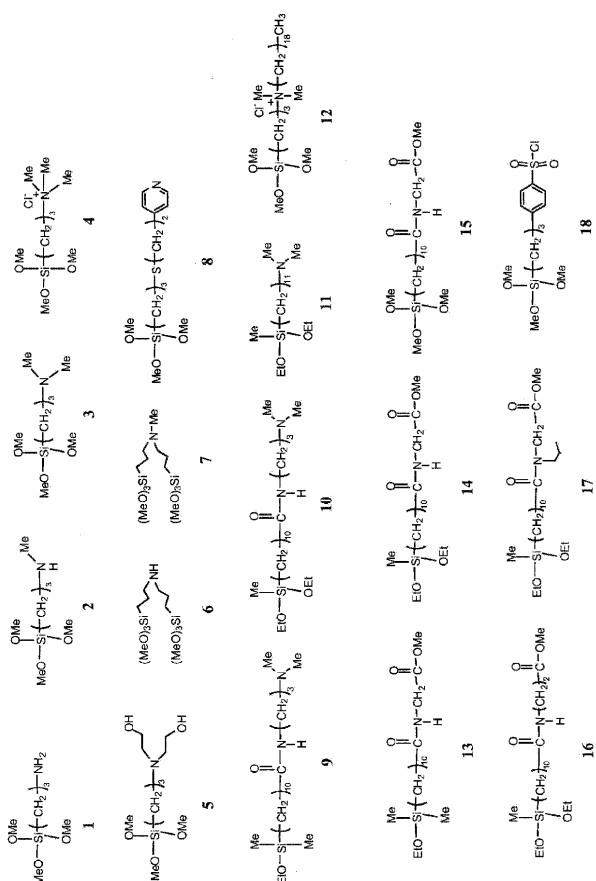
(+) 正に帯電した微粒子(例えば、ポリマーラテックス粒子)

【図1B】

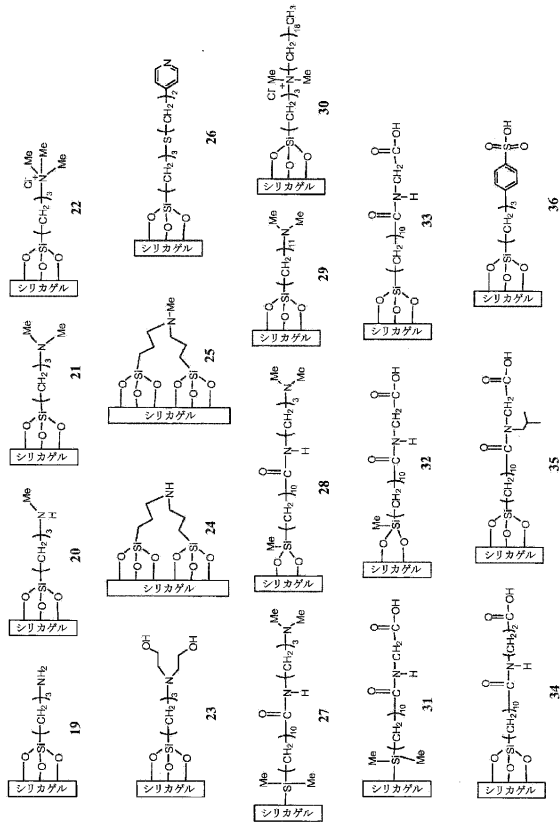


(-) 負に帯電した微粒子(例えば、ポリマーラテックス粒子)

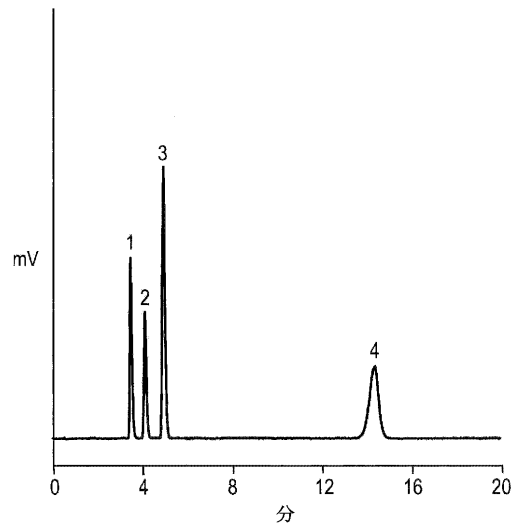
【図2】



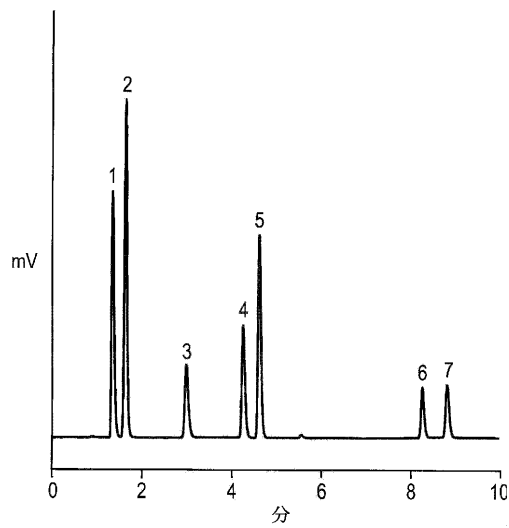
【図 3】



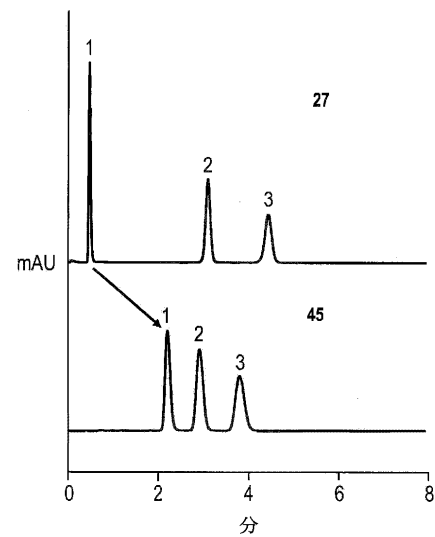
【図 4】



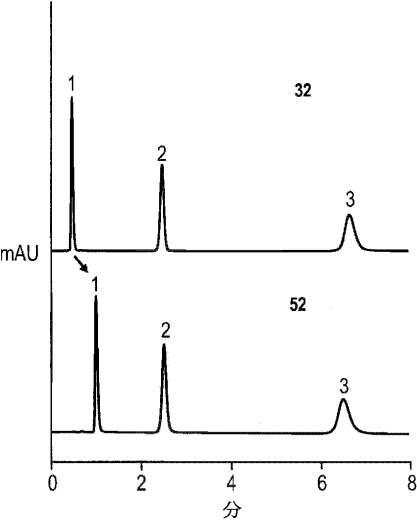
【図 5】



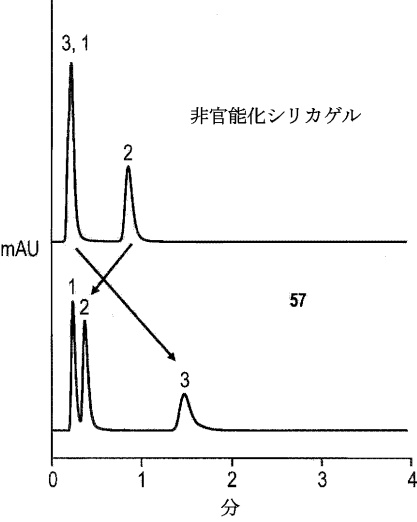
【図 6】



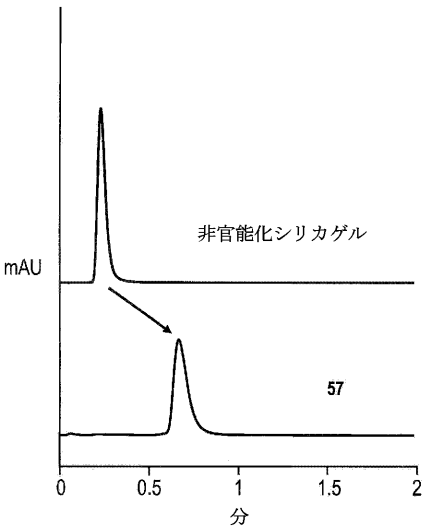
【 図 7 】



【 図 8 】



【 図 9 】



【 図 10 A 】

組成物	固体担体	イオン交換 固体担体	荷電微粒子
37	A	19	スルホン化ラテックス
37a	B	19	スルホン化ラテックス
37b	C	19	スルホン化ラテックス
37c	F	19	スルホン化ラテックス
37d	A	19	カルボキシル化ラテックス
37e	B	19	カルボキシル化ラテックス
37f	C	19	カルボキシル化ラテックス
37g	F	19	カルボキシル化ラテックス
38	A	20	スルホン化ラテックス
38a	B	20	スルホン化ラテックス
38b	C	20	スルホン化ラテックス
38c	F	20	スルホン化ラテックス
38d	A	20	カルボキシル化ラテックス
38e	B	20	カルボキシル化ラテックス
38f	C	20	カルボキシル化ラテックス
38g	F	20	カルボキシル化ラテックス
39	A	21	スルホン化ラテックス
39a	B	21	スルホン化ラテックス
39b	C	21	スルホン化ラテックス
39c	F	21	スルホン化ラテックス
39d	A	21	カルボキシル化ラテックス
39e	B	21	カルボキシル化ラテックス
39f	C	21	カルボキシル化ラテックス
39g	F	21	カルボキシル化ラテックス
40	A	22	スルホン化ラテックス
40a	B	22	スルホン化ラテックス
40b	C	22	スルホン化ラテックス

【図 10B】

組成物	固体担体	イオン交換 固体担体	荷電微粒子
40c	F	22	スルホン化ラテックス
40d	A	22	カルボキシル化ラテックス
40e	B	22	カルボキシル化ラテックス
40f	C	22	カルボキシル化ラテックス
40g	F	22	カルボキシル化ラテックス
41	A	23	スルホン化ラテックス
41a	B	23	スルホン化ラテックス
41b	C	23	スルホン化ラテックス
41c	F	23	スルホン化ラテックス
41d	A	23	カルボキシル化ラテックス
41e	B	23	カルボキシル化ラテックス
41f	C	23	カルボキシル化ラテックス
41g	F	23	カルボキシル化ラテックス
42	A	24	スルホン化ラテックス
42a	B	24	スルホン化ラテックス
42b	C	24	スルホン化ラテックス
42c	F	24	スルホン化ラテックス
42d	A	24	カルボキシル化ラテックス
42e	B	24	カルボキシル化ラテックス
42f	C	24	カルボキシル化ラテックス
42g	F	24	カルボキシル化ラテックス
43	A	25	スルホン化ラテックス
43a	B	25	スルホン化ラテックス
43b	C	25	スルホン化ラテックス
43c	F	25	スルホン化ラテックス
43d	A	25	カルボキシル化ラテックス
43e	B	25	カルボキシル化ラテックス
43f	C	25	カルボキシル化ラテックス

【図 10C】

組成物	固体担体	イオン交換 固体担体	荷電微粒子
43g	F	25	カルボキシル化ラテックス
44	A	26	スルホン化ラテックス
44a	B	26	スルホン化ラテックス
44b	C	26	スルホン化ラテックス
44c	F	26	スルホン化ラテックス
44d	A	26	カルボキシル化ラテックス
44e	B	26	カルボキシル化ラテックス
44f	C	26	カルボキシル化ラテックス
44g	F	26	カルボキシル化ラテックス
45	A	27	スルホン化ラテックス
46	B	27	スルホン化ラテックス
47	C	27	スルホン化ラテックス
45a	A	27	カルボキシル化ラテックス
46a	B	27	カルボキシル化ラテックス
47a	C	27	カルボキシル化ラテックス
47b	F	27	カルボキシル化ラテックス
48	A	28	スルホン化ラテックス
48a	B	28	スルホン化ラテックス
48b	C	28	スルホン化ラテックス
48c	F	28	スルホン化ラテックス
48d	A	28	カルボキシル化ラテックス
48e	B	28	カルボキシル化ラテックス
48f	C	28	カルボキシル化ラテックス
48g	F	28	カルボキシル化ラテックス
49	A	29	スルホン化ラテックス
49a	B	29	スルホン化ラテックス
49b	C	29	スルホン化ラテックス
49c	F	29	スルホン化ラテックス

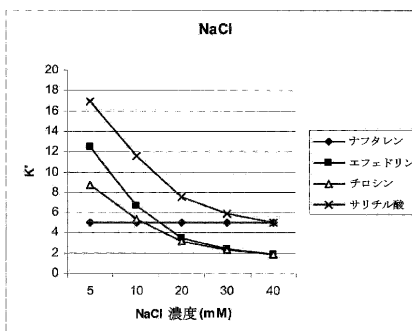
【図 10D】

組成物	固体担体	イオン交換 固体担体	荷電微粒子
49d	A	29	カルボキシル化ラテックス
49e	B	29	カルボキシル化ラテックス
49f	C	29	カルボキシル化ラテックス
49g	F	29	カルボキシル化ラテックス
50	A	30	スルホン化ラテックス
50a	B	30	スルホン化ラテックス
50b	C	30	スルホン化ラテックス
50c	F	30	スルホン化ラテックス
50d	A	30	カルボキシル化ラテックス
50e	B	30	カルボキシル化ラテックス
50f	C	30	カルボキシル化ラテックス
50g	F	30	カルボキシル化ラテックス
51	A	31	アミン化ラテックス
51a	B	31	アミン化ラテックス
51b	C	31	アミン化ラテックス
51c	F	31	アミン化ラテックス
52	A	32	アミン化ラテックス
52a	B	32	アミン化ラテックス
52b	C	32	アミン化ラテックス
53	A	33	アミン化ラテックス
53a	B	33	アミン化ラテックス
53b	C	33	アミン化ラテックス
53c	F	33	アミン化ラテックス
54	A	34	アミン化ラテックス
54a	B	34	アミン化ラテックス
54b	C	34	アミン化ラテックス
54c	F	34	アミン化ラテックス
55	A	35	アミン化ラテックス

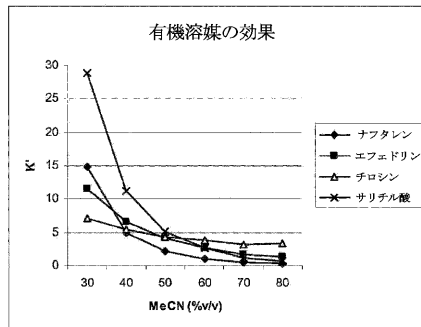
【図 10E】

組成物	固体担体	イオン交換 固体担体	荷電微粒子
55a	B	35	アミン化ラテックス
55b	C	35	アミン化ラテックス
55c	F	35	アミン化ラテックス
56	A	36	アミン化ラテックス
56a	B	36	アミン化ラテックス
56b	C	36	アミン化ラテックス
56c	F	36	アミン化ラテックス
57	A	なし	アミン化ラテックス
58	D	なし	スルホン化ラテックス
59	E	なし	アミン化ラテックス
61	F	60	スルホン化ラテックス
63	F	62	アミン化ラテックス
65	PS-DVB	64	スルホン化ラテックス
65a	PS-DVB	64	カルボキシル化ラテックス
67	PS-DVB	66	アミン化ラテックス

【図 11】



【図 12】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

B 0 1 J	20/22	D
G 0 1 N	30/88	1 0 1 K
G 0 1 N	30/88	1 0 1 H
G 0 1 N	30/88	1 0 1 E
G 0 1 N	30/88	1 0 1 P
G 0 1 N	30/88	1 0 1 L

(74)代理人 100119013

弁理士 山崎 一夫

(74)代理人 100162422

弁理士 志村 将

(72)発明者 リウ シャオドン

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 5 0 1 4 クーパーティノ キャンバリー レーン 1 0
1 6 7

(72)発明者 ポール クリストファー エイ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4 5 8 7 ユニオン シティー モントレー コート 3
2 5 7 2

(72)発明者 チェン ジンファ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 5 1 2 5 サン ホセ モントマー ウェイ 1 6 7 9

(72)発明者 ウッドラフ エル アンディー

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 5 1 2 2 サン ホセ グラナダ ウェイ 1 0 5 5

審査官 黒田 浩一

(56)参考文献 特開平02 - 233147 (JP, A)

特表2008 - 512493 (JP, A)

国際公開第99 / 012624 (WO, A1)

国際公開第2007 / 035459 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 0 1 N 3 0 / 0 0 - 3 0 / 9 6

B 0 1 D 1 5 / 0 8

B 0 1 J 4 3 / 0 0

B 0 1 J 4 7 / 1 2