

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

多孔質の一体型無機系担体と、この一体型無機系担体に担持されている多糖又はその誘導体とを有し、試料中の光学異性体の分離に用いられる光学異性体用分離剤。

【請求項 2】

前記多糖誘導体は、光学活性な多糖を骨格として含み、前記多糖の水酸基及びアミノ基の少なくとも一部が、前記試料中の光学異性体に作用する官能基で置換されており、前記多糖又はその誘導体は、前記多糖又はその誘導体と溶剤とを含有する多糖類の溶液が充填された前記一体型無機系担体から、前記溶剤を留去及び/又は前記溶剤を他の溶媒に置換することによって一体型無機系担体に担持していることを特徴とする請求項 1 記載の光学異性体用分離剤。

10

【請求項 3】

前記一体型無機系担体は、シリカを主成分とすることを特徴とする請求項 1 又は 2 に記載の光学異性体用分離剤。

【請求項 4】

前記多糖は、セルロース又はアミロースであることを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の光学異性体用分離剤。

【請求項 5】

前記多糖誘導体は、多糖のエステル誘導体又は多糖のカルバメート誘導体であることを特徴とする請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の光学異性体用分離剤。

20

【請求項 6】

多孔質の一体型無機系担体と、この一体型無機系担体に担持されている多糖又はその誘導体とを有し、試料中の光学異性体の分離に用いられる光学異性体用分離剤を製造する方法であって、

前記多糖又はその誘導体と溶剤とを含有する多糖類の溶液を前記一体型無機系担体に充填する工程と、前記溶液が充填された前記一体型無機系担体から、前記溶剤を留去及び/又は前記溶剤を他の溶媒に置換する工程とを含む、光学異性体用分離剤の製造方法。

【請求項 7】

前記多糖誘導体は、光学活性な多糖を骨格として含み、前記多糖の水酸基及びアミノ基の少なくとも一部が、前記試料中の光学異性体に作用する官能基で置換されていることを特徴とする請求項 6 記載の光学異性体用分離剤の製造方法。

30

【請求項 8】

前記多糖類の溶液を前記一体型無機系担体に充填する工程は、前記溶液を前記一体型無機系担体に加圧下で注入することを特徴とする、請求項 6 又は 7 に記載の光学異性体用分離剤の製造方法。

【請求項 9】

前記一体型無機系担体は、シリカを主成分とすることを特徴とする請求項 6 から 8 のいずれか一項に記載の光学異性体用分離剤の製造方法。

【請求項 10】

前記多糖は、セルロース又はアミロースであることを特徴とする請求項 6 から 9 のいずれか一項に記載の光学異性体用分離剤の製造方法。

40

【請求項 11】

前記多糖誘導体は、多糖のエステル誘導体又は多糖のカルバメート誘導体であることを特徴とする請求項 6 から 10 のいずれか一項に記載の光学異性体用分離剤の製造方法。

【請求項 12】

カラム管と、このカラム管に保持されている、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の光学異性体用分離剤とを有する光学異性体用分離カラム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

50

本発明は、光学異性体用分離カラム、特にクロマトグラフィーによる光学異性体の分離に用いられる光学異性体用分離カラムに関するものである。特に医薬品、食品、農薬、香料の分離において、幅広い化合物を効率的に分離する光学異性体用分離カラムに関する。

【背景技術】

【0002】

実像と鏡像の関係を有する光学異性体には、物理的、化学的性質、例えば沸点、融点、溶解度などの物性が全く同一であるが、生体に対する相互作用、例えば味、匂いなどの生理活性に差異がみられるケースが往々にしてある。特に医薬品の分野においては、光学異性体間でその薬効、毒性の点で顕著な差が見られる。このため、厚生省は、医薬品製造指針において「当該薬物がラセミ体である場合には、それぞれの異性体について、吸収、分布、代謝、排泄動態を検討しておくことが望ましい」と記載している。

10

【0003】

先に述べたように、光学異性体の物理的、化学的性質、例えば沸点、融点、溶解度といった物性は全く同一であるために、古典的な通常の方法では、個々の光学異性体を分離することができず、個々の光学異性体の生体に対する相互作用を研究することができなかった。そこで、幅広い種類の光学異性体を簡便に、かつ精度良く分析するために、光学異性体を分離する技術の研究が精力的に行われてきた。

【0004】

そして、これらの要求に応える分離手法として、高性能液体クロマトグラフィー（HPLC）による光学分割法、とくにHPLC用の光学異性体用分離カラムによる光学分割方法が進歩してきた。ここで言う光学異性体用分離カラムでは、不斉識別剤そのもの、あるいは不斉識別剤を適当な担体上に担持させたキラル固定相が使用されている。

20

【0005】

前記不斉識別剤としては、例えば光学活性ポリメタクリル酸トリフェニルメチル（例えば、特許文献1参照。）、セルロース、アミロース誘導体（例えば、非特許文献1参照。）、タンパク質であるオボムコイド（例えば、特許文献2参照。）等が知られている。

【0006】

一方、シリカゲル等の粒子状の無機系充填剤を筒内に充填して構成されたカラムは、まず、流体の流れに対する抵抗が大きく、それ故に圧力損失が大きい。その結果、単位時間当たりの流量が少なくなり、クロマトグラフィーとして用いるには、分離に長時間を要する。更には、単位時間当たりの流量が少ないため、単位時間当たりの生産性が小さく、分離対象物の大量生産には一般に不向きであった。

30

【0007】

この欠点を解消するためのカラムとしては、一体型の無機系多孔質体からなるカラム（例えば、特許文献3参照。）が知られており、このような一体型の無機系多孔質体からなるカラムの製造方法としては、無機系多孔質体とカラム管との間を、プラスチックやガラスを熱によって軟化させることにより封じる方法が知られている（例えば、特許文献4参照。）。更には一体型の無機系多孔質体に不斉識別剤としてシクロデキストリンを化学結合させた光学異性体用分離カラムも知られている（例えば、特許文献5参照。）。

【0008】

しかし、現在知られている一体型の無機系多孔質体を用いた光学異性体用分離カラムの製造は、一体型の無機系多孔質体と不斉識別剤との反応性が低い場合がある。また、前記一体型の無機系多孔質体に化学結合している不斉識別剤がカラムの製造時に分解する場合があります。カラムの製造条件によっては、用いられる不斉識別剤が限定され、幅広い光学異性体の分離に適用できないことがある。前記光学異性体用分離カラムの製造は、前述したような問題があり、実用化には未だ課題が残されている。

40

【特許文献1】特開昭57-150432号公報

【特許文献2】特開昭63-307829号公報

【特許文献3】特開平6-265534号公報

【特許文献4】国際公開02/505005号パンフレット

50

【特許文献5】国際公開00/515627号パンフレット

【非特許文献1】Y. Okamoto, M. Kawashima and K. Hatada, J. Am. Chem. Soc., 106, 5337, 1984

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明は、光学異性体の分離に用いたときに、不斉識別能力が高く、特に高流速下で使用可能な光学異性体用分離剤、及びこれを有する光学異性体用分離カラムを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明者らは、特徴ある不斉識別能力を有した光学異性体用分離剤に関して鋭意研究を行った結果、本発明に達した。

【0011】

すなわち、本発明は、多孔質の一体型無機系担体と、この一体型無機系担体に担持されている多糖又はその誘導体とを有し、試料中の光学異性体の分離に用いられる光学異性体用分離剤である。

【0012】

また、本発明は、前記光学異性体用分離剤を製造する方法であって、前記多糖又はその誘導体と溶剤とを含有する多糖類の溶液を前記一体型無機系担体に充填する工程と、前記溶液が充填された前記一体型無機系担体から、前記溶剤を留去及び/又は他の溶媒に置換する工程とを含む、光学異性体用分離剤の製造方法を提供する。

【0013】

また、本発明は、カラム管と、このカラム管に保持されている前記光学異性体用分離剤とを有する光学異性体用分離カラムを提供する。

【発明の効果】

【0014】

本発明によれば、多孔質の一体型無機系担体に多糖又はその誘導体を担持させることから、光学異性体の分離に用いたときに、圧力損失が小さく、製造及び取り扱いが容易で、試料流体との単位面積当たりの接触面積が大きく、不斉識別能力が高い光学異性体用分離剤が得られ、幅広い光学異性体の分離、分析、及び分取において高流速下で使用することができる光学異性体用分離カラムを得ることができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0015】

以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。

本発明の光学異性体用分離剤は、多孔質の一体型無機系担体と、この一体型無機系担体に担持されている多糖又はその誘導体とを有する。本発明では、多糖又はその誘導体は、前記一体型無機系担体に直接担持されていても良いし、また適当な他の化合物を介して担持されていても良い。

【0016】

前記一体型無機系担体は、カラム管に保持され得る、一般に円柱状の無機系の多孔質体であり、カラム管に充填される粒子状の担体とは異なる。前記一体型無機系担体は、シリカを主成分とすることが好ましいが、他の無機材料で構成されていても良いし、また少量の有機材料を含んでいても良い。シリカを主成分とする場合には、前記一体型無機系担体は、残存シラノール基の影響を排除するために表面処理が施されていることが望ましいが、表面処理が施されていなくても問題はない。前記一体型無機系担体には、公知の無機系担体又はその改良品を用いることができ、例えば、国際公開00/515627号パンフレットに記載されている多孔質造形体や、国際公開02/505005号パンフレットに記載されている一体型吸着剤や、特開平6-265534号公報に記載されている無機系多孔質カラム等を用いることができる。

10

20

30

40

50

【0017】

前記一体型無機系担体は、公知の方法又はそれに準ずる方法によって作製することができる。前記一体型無機系担体は、例えば、特開平7-41374号公報に記載されているように、金属アルコキシドを出発原料とし、ポリオキシエチレンのように溶媒に溶ける高分子等の適当な共存物質を原料に添加して、巨大空孔となる溶媒リッチ相を持つ構造を生じせしめるゾル-ゲル法によって製造することができる。また、前記ゾル-ゲル法の生成物の固化後に、酸性水溶液又は塩基性水溶液中に浸漬することにより、前記一体型無機系担体の細孔径を調整することができる。前記一体型無機系担体は、孔径500nm以上で三次元網目状に連続した貫通孔と、この貫通孔の内壁面に形成される細孔とを有する。貫通孔の孔径は500nm以上が好ましく、より好ましくは1000nm以上である。細孔の孔径は、5~100nmが好ましく、5~80nmがより好ましく、5~50nmが更に好ましい。

10

【0018】

前記多糖は、合成多糖、天然多糖及び天然物変性多糖のいずれかを問わず、光学活性な多糖であればいかなるものでもよいが、結合様式の規則性の高いものが好ましく、また鎖状のものが好ましい。

【0019】

例示すれば、-1,4-グルカン(セルロース)、-1,4-グルカン(アミロース、アミロペクチン)、-1,6-グルカン(デキストラン)、-1,6-グルカン(ブスツラン)、-1,3-グルカン(例えばカードラン、シゾフィラン等)、-1,3-グルカン、-1,2-グルカン(Crown Gall多糖)、-1,4-ガラクトタン、-1,4-マンナン、-1,6-マンナン、-1,2-フルクタン(イヌリン)、-2,6-フルクタン(レバン)、-1,4-キシラン、-1,3-キシラン、-1,4-キトサン、-1,4-N-アセチルキトサン(キチン)、プルラン、アガロース、アルギン酸等であり、アミロースを含有する澱粉も含まれる。

20

【0020】

これらの中では、高純度の多糖を容易に入手できるセルロース、アミロース、-1,4-キシラン、-1,4-キトサン、キチン、-1,4-マンナン、イヌリン、カードラン等が好ましく、特にセルロース、アミロースが好ましい。

【0021】

多糖の数平均重合度(1分子中に含まれるピラノースあるいはフラノース環の平均数)は5以上、好ましくは10以上であり、特に上限はないが、1000以下であることが、取り扱いの容易さの点で望ましい。特に、多糖の数平均重合度は、50~400であると、細孔を有する一体型無機系担体の内壁面に多糖又はその誘導体を担持させ、かつ十分な光学異性体分離効果を得る上で好ましい。

30

【0022】

前記多糖誘導体は、光学異性体の分離に用いることができる多糖誘導体であれば特に限定されない。このような多糖誘導体としては、例えば、光学活性な多糖を骨格として含み、この多糖が有する水酸基及びアミノ基の少なくとも一部が、試料中の光学異性体に作用する官能基で置換されている多糖誘導体が挙げられる。

40

【0023】

前記官能基は、分離対象の光学異性体を含有する試料中の光学異性体に作用する官能基である。光学異性体に対する官能基の作用は、分離対象の光学異性体の種類に応じて官能基の種類が異なるので一概には言えないが、多糖誘導体による前記光学異性体の光学分割を行うのに十分な程度の作用であれば特に限定されない。このような作用としては、例えば前記光学異性体と前記官能基との水素結合、相互作用、双極子-双極子相互作用等の親和的な相互作用、及び立体障害等の非親和的な相互作用が挙げられる。このような相互作用によって、一对の光学異性体が多糖誘導体に接近する際に、多糖誘導体への少なくとも片方の光学異性体の接近を邪魔せずに光学異性体の向きを整え、あるいは多糖誘導体自身の高次構造が不斉識別する上で有利な形状に整えられるものと考えられる。

50

【0024】

前記官能基は、分離対象の前記光学異性体の種類に応じて選択される。前記官能基としては、例えば、エステル結合や、ウレタン結合、エーテル結合を介して多糖と結合し、置換基を有していても良い芳香族基を含む基等が挙げられる。前記芳香族基は、複素環や縮合環を含む。前記芳香族基が有していても良い置換基としては、例えば炭素数8程度までのアルキル基、ハロゲン、アミノ基、アルコキシル基等が挙げられる。また、前記官能基の置換度や多糖誘導体における配置は特に限定されず、官能基の種類や多糖の種類等に応じて適宜選択される。

【0025】

前記多糖誘導体は、公知の方法によって作製することができる。前記多糖誘導体は、例えば、多糖が有する水酸基又はアミノ基と反応可能な化合物であって、前記官能基を含むか又は前記水酸基又はアミノ基との反応によって前記官能基となる化合物と、多糖とを脱水反応によって反応させることにより作製することができる。前記多糖誘導体は、幅広い光学異性体の分離を実現する観点から、例えば国際公開95/23125号パンフレット等に記載されているような、多糖のカルバメート誘導体又は多糖のエステル誘導体であることが特に好ましい。

10

【0026】

前記多糖又はその誘導体は、前記多糖又はその誘導体と溶剤とを含有する多糖類の溶液が充填された前記一体型無機系担体から溶剤を留去するか、あるいは前記溶剤を他の溶媒に置換するか、あるいは前記溶剤の留去と前記溶剤の他の溶媒への置換との両方を行うことによって前記一体型無機系担体に担持することができる。ここで言う担持とは、一体型無機系担体と多糖又はその誘導体との直接的又は間接的な物理的吸着や、一体型無機系担体と多糖又はその誘導体との直接的又は間接的な化学的結合を含む。前記溶剤の留去と前記溶剤の他の溶媒への置換との両方を行う場合では、前記溶剤をある程度留去した後に残った前記溶剤を他の溶媒に置換しても良いし、前記溶剤を他の溶媒に置換した後に残った前記溶剤を留去しても良い。

20

【0027】

多糖又はその誘導体の溶解に使用される溶剤(良溶剤)は、多糖又はその誘導体を溶解することができるのであれば、通常使用されている有機溶剤のいかなるものを使用しても良い。例を挙げると、ケトン系溶剤としては、アセトン、エチルメチルケトン、アセトフェノンなどが、エステル系溶剤としては酢酸エチル、酢酸メチル、酢酸プロピル、プロピオン酸メチル、安息香酸メチル、酢酸フェニルなどが、エーテル系溶剤としては、テトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、ジエチルエーテル、tert-ブチルメチルエーテルなどがアミド系溶剤としては、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミドなどが、イミド系溶剤としてはN,N-ジメチルイミダゾリジノンが、ハロゲン系溶剤としてはクロロホルム、塩化メチレン、四塩化炭素、1,2-ジクロロエタンなどが、炭化水素系溶剤としては、ペンタン、石油エーテル、ヘキサン、ヘプタン、オクタン、ベンゼン、トルエン、キシレン、メシチレンなどが、尿素系溶剤としてはテトラメチル尿素が、アルコール系溶剤としては、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、酸系溶剤としては、酢酸、トリフルオロ酢酸、ギ酸、フェノール、カテコールなどが、アミン系溶剤としてはジエチルアミン、トリエチルアミン、ピリジンなどの溶剤が該当する。これらの溶剤は単独で用いても、複数種類を混合して用いても良い。

30

40

【0028】

前記他の溶媒(貧溶剤)は、前記多糖類の溶液から溶剤と置き換えられる溶媒であれば特に限定されないが、前記多糖類の溶液から前記溶剤に優先的に置き換えられる溶媒であることが好ましい。このような他の溶媒としては、多糖又はその誘導体に対して不溶性であるか、又は溶解性が低い溶媒が好ましく、公知の溶媒の中から、多糖又はその誘導体に対する溶解性や前記溶剤との相溶性等の条件に応じて適宜選択することができる。

【0029】

また、多糖又はその誘導体を溶解させる溶剤として、超臨界流体も使用することができ

50

る。ここでいう超臨界流体とは、気体と液体とが共存することができる超臨界温度及び/又は超臨界圧力以上における臨界状態の流体をいう。この超臨界流体としては、二酸化炭素、亜酸化窒素、アンモニア、二酸化硫黄、ハロゲン化水素、硫化水素、メタン、エタン、プロパン、エチレン、プロピレン、ハロゲン化炭化水素等が好ましく、二酸化炭素がより好ましい。

【0030】

前記超臨界流体には、有機溶剤を添加することができる。この有機溶剤としては、エタノール、メタノール、2-プロパノール等のアルコール類、酢酸、プロピオン酸等の有機酸、ジエチルアミン等のアミン類、アセトアルデヒド等のアルデヒド類、テトラヒドロフラン、エチルエーテル等のエーテル類が好ましい。超臨界流体に対する有機溶剤の添加量は、1~50%が好ましく、より好ましくは1~35%、更に好ましくは1~20%である。

10

【0031】

前記一体型無機系担体に前記多糖類の溶液を充填する際の前記溶剤の濃度は、多糖又はその誘導体1質量に対して1~100質量、好ましくは1~50質量、より好ましくは1~20質量である。

【0032】

本発明の光学異性体用分離剤は、前記多糖類の溶液を前記一体型無機系担体に充填する工程と、前記溶液が充填された前記一体型無機系担体から前記溶剤を留去する工程、及び前記溶液が充填された前記一体型無機系担体から前記溶剤を他の溶媒に置換する工程のいずれか一方又は両方の工程と、を含む方法によって製造することができる。

20

【0033】

前記多糖類の溶液を前記一体型無機系担体に充填する工程としては、一体型無機系担体を多糖類の溶液に直接浸漬させる方法や、一体型無機系担体に多糖類の溶液を、圧力をかけて通液させる方法などが挙げられる。前記多糖類の溶液を前記一体型無機系担体に充填する工程は、加圧下で行われることが好ましい。この時の圧力は、50~400barが好ましく、50~200barがより好ましく、80~150barが更に好ましい。前記溶液を前記一体型無機系担体に向けて加圧する方法については、特に限定されず、ポンプやコンプレッサからの高圧ガスによる加圧や、ピストンによる加圧等が挙げられる。

【0034】

前記溶液が充填された前記一体型無機系担体から前記溶剤を留去する工程としては、溶剤の種類に応じて適当な方法が選択される。このような方法としては、例えば常圧下における乾燥や、減圧乾燥等が挙げられる。本発明では、このような方法を単独で用いても良いし、併用しても良い。

30

【0035】

前記溶液が充填された前記一体型無機系担体から前記溶剤を他の溶媒に置換する工程としては、前記多糖類の溶液を前記一体型無機系担体に充填する工程と同様に、前記溶液が充填された一体型無機系担体を他の溶媒に直接浸漬する方法や、前記一体型無機系担体に他の溶媒を、圧力をかけて通液させる方法等が挙げられる。

【0036】

前記多糖類の溶液を前記一体型無機系担体に充填する工程、及び前記溶液が充填された前記一体型無機系担体から前記溶剤を留去及び/又は前記溶液を他の溶媒に置換する工程を、一体型無機系担体に多糖又はその誘導体を担持させる一つの工程とした場合、一体型無機系担体への多糖又はその誘導体の担持は、一度の工程で行っても良いし、複数回の工程の繰り返しで行っても良いが、好ましくは1~5回、より好ましくは1~3回、更に好ましくは1回で行うことが良い。

40

【0037】

本発明の光学異性体用分離剤は、一体型無機系担体と多糖又はその誘導体との間の化学結合、一体型無機系担体上の多糖又はその誘導体同士の化学結合、第三成分を使用した化学結合、一体型無機系担体上の多糖又はその誘導体への光照射、線などの放射線照射、

50

マイクロ波などの電磁波の照射による反応、ラジカル反応などによって、さらなる化学結合を形成せしめることで、一体型無機系担体上における多糖又はその誘導体のより強固な固定化を行ってもよい。このような強固な固定化によれば、光学異性体の分離に用いたときに、光学異性体の分離、分析、及び分取等の産業上における利用性のさらなる向上が期待される。

【0038】

前記一体型無機系担体上に前記多糖又はその誘導体を化学結合によって固定する方法としては、例えば、一体型無機系担体とこの一体型無機系担体の表面に化学結合によって固定される結合剤とを結合させる工程と、前記結合剤が結合した一体型無機系担体に多糖又はその誘導体を付着させる工程と、付着した多糖又はその誘導体と前記結合剤とを直接又は間接的に結合させる工程とを含む方法が挙げられる。

10

【0039】

この方法は、前記結合剤に結合した多糖又はその誘導体に置換基を導入する工程をさらに含んでも良い。このような工程を含む場合では、多糖誘導体における前記置換基の置換割合を調整することが可能である。また、前記の工程を含む場合では、多糖を前記結合剤に結合させ、前記結合剤に結合した多糖に、前記官能基を含む前記置換基を導入させることも可能となる。

【0040】

前記結合剤は、一体型無機系担体の表面に化学結合によって固定され、かつ前記多糖又はその誘導体をさらに化学結合することができる化合物であれば特に限定されない。また、前記結合剤と多糖又はその誘導体とは、直接化学結合されても良いし、架橋剤等の他の化合物を介して間接的に化学結合されても良い。結合剤は、一体型無機系担体の表面の組成によって適宜選択されるが、好ましい結合剤としては、例えばシランカップリング剤等の有機ケイ素化合物が挙げられる。

20

【0041】

本発明の光学異性体用分離カラムは、カラム管と、このカラム管に保持されている前記光学異性体用分離剤とを有する。

【0042】

前記カラム管は、カラムの使用形態やカラムの規模に応じて、通常使用されるカラム管を用いることができる。

30

【0043】

前記光学異性体用分離剤は、カラム管内において流体の流路となるようにカラム管に保持されている。このように前記光学異性体用分離剤をカラム管に保持する方法としては、前記カラム管の内壁面とこれに対向する前記光学異性体用分離剤の表面との間を密封することができる方法であれば特に限定されず、前記一体型無機系担体をカラム管に保持させる公知の方法を利用することができる。このような方法としては、例えば国際公開02/505005号パンフレット等に開示されているように、前記カラム管の内壁面とこれに対向する前記一体型無機系担体の表面との間をプラスチックにより密封する方法等を利用することができる。

【0044】

本発明の光学異性体用分離カラムは、前記光学異性体用分離剤をカラム管に保持させることによって製造しても良いし、前記カラム管内において流体の流路となるようにカラム管に保持されている前記一体型無機系担体を有するカラムの一体型無機系担体に、前述した工程により多糖又はその誘導体を担持させることによって製造しても良い。前記一体型無機系担体を有するカラムに多糖又はその誘導体を担持させる方法は、担持されている多糖又はその誘導体の分解の防止や製造の容易さ等の観点から好ましい。前記カラム管内において流体の流路となるように前記一体型無機系担体をカラム管に保持しているカラムとしては、例えばChromolith(MERCK社の登録商標)が用いられる。

40

【0045】

本発明の光学異性体用分離カラムは、ガスクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィ

50

一、超臨界クロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動などのクロマトグラフィー法に一般に用いられる。特に液体クロマトグラフィー法に応用するのが好ましい。

【実施例】

【0046】

以下、本発明を実施例により詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

【0047】

<実施例1> セルロース トリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)を担持させた一体型の無機系多孔質体カラムの製造

10

(1)セルロース トリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)の合成

窒素雰囲気下、セルロース10g(数平均重合度:200)と、3,5-ジメチルフェニルイソシアネート68.1g(セルロースが有する全ての水酸基に対して2.5当量)とを、乾燥ピリジン300ml中100で48時間加熱攪拌を行った後、メタノール3Lに注ぎ込んだ。析出した固体はガラスフィルターで濾取し、メタノールで数回の洗浄後、真空乾燥を行った。その結果、黄色がかった白色固体34gが得られた。

【0048】

(2)一体型の無機系多孔質体上へのセルロース トリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)の担持

前記(1)で合成したセルロース トリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)をアセトンに溶解した。このときの溶液濃度は150mg/mlであった。この溶液を、遠心分離機(3000rpm)に20分間かけた。

20

【0049】

一体型の無機系多孔質体として、一体型の無機系多孔質体カラムであるメルク社製 Chromolith(同社の登録商標) SpeedROD RP-18eカラム(長さ50mm×内径4.6mm)を用いた。前記溶液で満たしたカラム(長さ50mm×内径4.6mm)と一体型の無機系多孔質体カラム(長さ50mm×内径4.6mm)とを、ステンレス製キャピラリーカラム(長さ30mm×内径1mm)を介して連結した。

【0050】

溶液で満たしたカラムにおける、前記キャピラリーカラムとの接続端とは反対側の端部から、90~100barの圧力を、適当な減圧弁を備える窒素ポンベにより加えた。多糖誘導体を含む前記溶液が、前記無機系多孔質体カラムの末部(前記無機系多孔質体カラムにおける、前記キャピラリーカラムとの接続端とは反対側の端部)から出てくるのを確認した後、圧力を解除した。前記無機系多孔質体カラムの両端を開放し、前記無機系多孔質体カラムを常温、常圧下で約10時間乾燥させ、その後、減圧下にて2時間乾燥させた。乾燥前後における前記無機系多孔質体カラムの重量を測定することにより、乾燥工程の終点を決定した。

30

【0051】

<比較例1>

(1)セルロース トリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)を粒子状シリカゲルに担持させた充填剤の製造

40

実施例1の(1)により得られたセルロース トリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)16gをアセトン320mlに溶解させてポリマードープを得た。公知の方法により3-アミノプロピルトリエトキシシランと反応させることによりアミノプロピルシラン処理した多孔質シリカゲル(粒子径5μm)64gに、前記ポリマードープを均一に塗布した。塗布後、減圧留去を行うことで、目的の、セルロース トリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)を粒子状シリカゲルに担持させた充填剤を得た。

【0052】

(2)セルロース トリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)を粒子状シリカゲルに担持させた充填剤を用いた充填カラムの製造

50

(1)で製造された充填剤を、長さ50mm、内径4.6mmのステンレス製カラムにスラリー法により充填し、目的の、セルローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)を粒子状シリカゲル担持させた充填剤を用いた充填カラムを得た。

【0053】

<応用例1>

実施例1で製造された前記無機系多孔質体カラム、及び比較例1で製造された充填カラムをそれぞれ使い、液体クロマトグラフィーにより光学異性体の分離を行い、これらのカラムの保持時間及びカラム特性を測定した。測定結果を表1に示す。

【0054】

【表1】

表1

流速 (ml/min)	実施例1			比較例1		
	t ₁	t ₂	背圧(kg)	t ₁	t ₂	背圧(kg)
1.0	1.60	3.60	1	2.00	4.78	5
2.0	0.81	1.78	5	1.01	2.38	15
3.0	0.56	1.21	10	0.69	1.60	25
4.0	0.43	0.91	17	0.53	1.20	37
5.0	0.35	0.74	24	0.48	0.95	49

10

20

【0055】

表1から、実施例1で製造された前記無機系多孔質体カラムは、比較例1で製造された充填カラムに比べて、圧力損失が低く、また分析時間が早く、カラム特性において優れていることが明らかになり、また不斉識別能力において同等であることが明らかになった。

【0056】

<実施例2>

一体型の無機系多孔質体カラムであるChromolith(MERCK社の登録商標) Performance 100mm×4.6mm Si(バッチNo.UM2069、ロッドNo.UM2069/058)を、各々の長さが50mmになるように二つに切断した。切断したカラムを20mlのアセトンで洗浄し、減圧下60で一晚乾燥させた。この乾燥処理後のカラムの、エンド-フィッティングを除いた重量は、2.5207gであった。

30

【0057】

前記の乾燥後のカラムを、10%(v/v)のシランカップリング剤であるγ-グリシドキシプロピルトリメトキシシランのクロロホルム溶液で20分間洗浄し、それからこのカラムの両端を封じ、室温で一晩(12時間)放置した。前記クロロホルム溶液をカラムから排出し、減圧下60で3時間カラムを再び乾燥させた。この処理後のカラムの重量は、2.5507gであった。これは、36.3mgの前記シランカップリング剤が前記カラムのシリカゲルに結合したことを意味している。

40

【0058】

シランカップリング剤が結合したカラムを、6位の水酸基の30%が未反応のセルロース-3,5-ジメチルフェニルカルバメートの100mg/mlアセトン溶液で満たした。このカラムを、アセトンを揮発させるためにエンド-フィッティングを装着せずに室温で放置した。次いでこのカラムを、減圧下40で12時間乾燥させた。この処理後のカラムの重量は、2.5624gであった。これは、約73.2mgの前述したセルロース誘導体が前記カラムに吸着されたことを意味している。

【0059】

このカラムを、幾つかのキラル検体を用いて光学選択性を試験したところ、光学異性分

50

離能を有することが確認された。

【0060】

<実施例3>

実施例2で得られたカラムを、10%の三フッ化ホウ素エーテル錯化合物の乾燥トルエン溶液で満たし、カラムからの試薬の揮発を防ぐために両端を封じ、室温で一晩放置した。この処理後、カラムに50mlのアセトンを通し、固定化されていない前記セルロース誘導体を除去し、このカラムを減圧下60℃で12時間乾燥させた。カラムから洗い出された前記セルロース誘導体の量は23mgであった。よって、カラムには、50.7mgの前記セルロース誘導体が固定化されており、カラムの製造者によって公表されているカラム中の一体型シリカの重量(250mg)を基準にすると、前記カラムの前記セルロースの担持量は16.8%から16.9%となる。

10

【0061】

このカラムを、幾つかのキラル検体を用いて光学選択性を試験したところ、光学異性分離能を有することが確認された。

【0062】

<実施例4>

実施例3で得られたカラムを、700μlのピリジンに300μlの3,5-ジメチルフェニルイソシアナートを溶解した溶液で満たし、カラムの両端を封じて80℃で12時間放置した。その後カラムをピリジン及びメタノールで洗浄して、未反応のイソシアナートを除去し、減圧乾燥器において80℃で12時間乾燥させた。得られたカラムの重量は、反応前に比べて22mg増加していた。

20

【0063】

このカラムを、幾つかのキラル検体を用いて光学選択性を試験したところ、光学異性分離能を有することが確認された。

【0064】

実施例2から4におけるカラムの生成に関する反応式を図1に示す。また、本実施例で得られるカラムの光学選択性の試験結果を以下の表2及び表3に示す。

【0065】

【表2】

表2

キラル被検体	t_1' (min)	t_2' (min)	k_1' (-)	k_2' (-)	α (-)	N_1 (-)	N_2 (-)	R_s (-)
ベンゾイン	7.00	8.00	3.38	4.00	1.19	1410	1540	1.1
コバルトアセトアセトナート	3.80	4.28	1.13	1.68	1.48	1400	1300	0.9
2,2'-ジヒドロキシ-6,6'-ジメチルビフェニル	6.00	16.40	2.94	9.79	3.33	1250	910	6.2
フラバノン	4.00	4.40	1.50	1.75	1.17	----	----	----
2-フェニルシクロヘキサノン	3.05	3.33	0.60	0.75	1.25	1100	1080	0.8
2,2,2-トリフルオロ-1-(9-アントリル)エタノール	4.30	6.30	1.69	2.94	1.74	1520	1400	3.0
2-トリフルエタノール	4.52	5.00	1.82	2.13	1.17	1170	1080	0.8
トレガ-塩基	3.80	4.52	1.13	1.82	1.61	1025	980	1.0

30

40

【0066】

50

【表 3】

表 3

キラル被検体	k_1' (-)	k_2' (-)	α (-)
2,2'-ジヒドロキシ-6,6'-ジメチルフェニル	5.90	12.10	2.05
トカゲ-塩基	1.21	1.62	1.34

10

【0067】

表 2 は、一体型の無機系多孔質体カラムに対して 16.7 質量%のセルロール-3,5-ジメチルフェニルカルバメートが共有結合によって固定されたカラムの試験用ラセミ検体の光学選択性の試験結果を示している。なお、この試験では、n-ヘキサンと 2-プロパノールとを体積比で 95 対 5 で混合した混合溶媒を移動相に用い、この移動相を 0.5 ml/min の流速で流した。

【0068】

表 3 は、n-ヘキサンとクロロホルムと 2-プロパノールとを体積比で 90 対 10 対 1 で混合した混合溶媒を移動相に用いた場合の前記カラムの光学選択性の試験結果を示している。

20

【0069】

なお、表中の文字は以下のように定義される。

「 t (t')」は光学異性体の検出時間を示す。「 k' 」は光学異性体の容量比を示す。容量比は以下の式 (1) によって求められる。「 α 」は分離係数を示す。分離係数は k_1' に対する k_2' の比である。「 N 」は理論段数を示す。理論段数は以下の式 (2) によって求められる。「 R_s 」は分離度を示す。分離度は以下の式 (3) によって求められる。「1」はカラムにより弱く吸着される光学異性体を示し、「2」はカラムにより強く吸着される光学異性体を示す。

【0070】

$$\text{容量比 (} k' \text{)} = (t_r - t_0) / t_0 \quad (1)$$

30

(式中、 t_r は光学異性体の保持時間を示し、 t_0 は試料の注入から溶媒の検出までの時間 (デッドタイム) を示す。)

【0071】

$$\text{理論段数 (} N \text{)} = 16 \times (t_r / W)^2 \quad (2)$$

(式中、 t_r は光学異性体の保持時間を示し、 W はピーク幅を示す。ピーク幅 W は、ピーク左右の変曲点に引いた接線とベースラインとの交点間の距離 (時間) である。)

【0072】

$$\text{分離度 (} R_s \text{)} = 2 \times L / W \quad (3)$$

(式中、 L は両光学異性体のピーク間の距離を示し、 W は両ピークのバンド幅の合計を示す。)

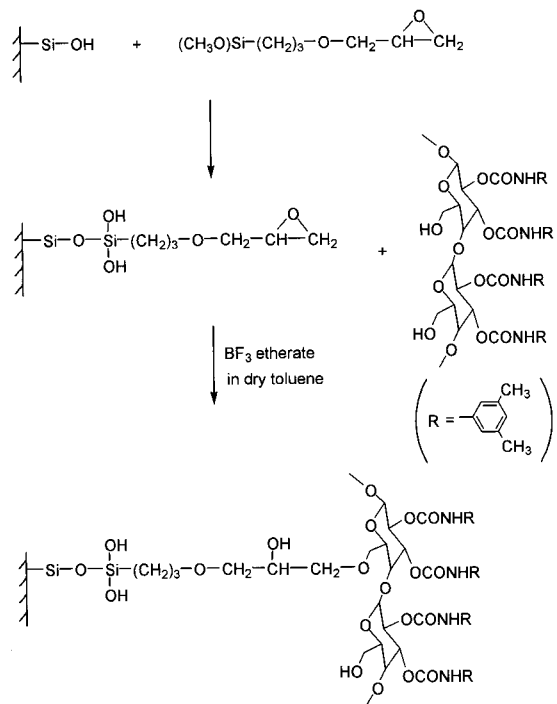
40

【図面の簡単な説明】

【0073】

【図 1】実施例 2 から 4 におけるカラムの生成に関する反応式を示す図である。

【 図 1 】



フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
	B 0 1 J 20/26	G
	G 0 1 N 30/88	W

(72)発明者 ベツアン, チャンクベターゼ
グルジア共和国 トビリシ 3 8 0 0 2 8 , チャフチャバズ アフ 1 , トビリシ ステイト
ユニバーシティ
Fターム(参考) 4G066 AA22C AC01B AC02B AD11B AD15B CA19 EA01 FA12