



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101111765 B

(45) 授权公告日 2011.02.16

(21) 申请号 200580047438.4

B01J 20/281 (2006.01)

(22) 申请日 2005.11.29

B01J 20/286 (2006.01)

(30) 优先权数据

B01J 20/26 (2006.01)

343683/2004 2004.11.29 JP

B01J 20/10 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2007.07.30

DE 19801575 A1, 1999.07.22, 第2页第

(86) PCT申请的申请数据

55-65行和第3页第65行到第4页第2行.

PCT/JP2005/021913 2005.11.29

JP 2002-148247 A, 2002.05.22, 全文.

(87) PCT申请的公布数据

W02006/057412 JA 2006.06.01

JP 6-265534 A, 1994.09.22, 全文.

(73) 专利权人 大赛璐化学工业株式会社

W0 2004/095018 A1, 2004.11.04, 摘要部

地址 日本大阪府

分.

专利权人 默克专利股份公司

W0 94/19687 A1, 1994.09.01, 全文.

(72) 发明人 村上达史 中西昭弘 D·卢布达

M·舒特

US 6207098 B1, 2001.03.27, 全文.

DE 19726152 A1, 1998.12.24, 全文.

W0 95/03256 A1, 1995.02.02, 全文.

W0 03/072640 A2, 2003.09.04, 全文.

审查员 陈永晖

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 孙秀武 李炳爱

(51) Int. Cl.

G01N 30/88 (2006.01)

B01J 20/291 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 9 页

(54) 发明名称

旋光异构体分离剂和旋光异构体分离柱

(57) 摘要

本发明提供了在用于分离旋光异构体时具有高的不对称识别能力和尤其能够在高流速下使用的旋光异构体分离剂,以及含有该分离剂的旋光异构体分离柱。本发明提供了:用于分离包括旋光异构体的样品中的旋光异构体的旋光异构体分离剂,其包括具有在特定大孔内壁表面上形成的中孔的整体式无机型载体以及担载于该整体式无机型载体上的多糖或多糖衍生物,其中该中孔具有6-100nm的孔径;以及在柱管内装有该旋光异构体分离剂的旋光异构体分离柱。

1. 用于分离包括旋光异构体的样品中的旋光异构体的旋光异构体分离剂,其包括整体式无机型载体和担载于该整体式无机型载体上的多糖和多糖衍生物的至少一种,其中:

该整体式无机型载体包括多孔体,在该多孔体中,通过从该整体式无机型载体的一端到另一端连接腔孔而形成了通道;

该腔孔各自包括大孔和在该大孔的内壁表面上形成的中孔;

该中孔具有 20-50nm 的孔径,并且该大孔具有 0.5-30 μm 的孔径。

2. 根据权利要求 1 所述的旋光异构体分离剂,其中该大孔具有 0.5-10 μm 的孔径。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的旋光异构体分离剂,其中该大孔具有 1.0-6.0 μm 的孔径。

4. 根据权利要求 1-3 的任一项所述的旋光异构体分离剂,其中该整体式无机型载体主要由二氧化硅组成。

5. 根据权利要求 1-4 的任一项所述的旋光异构体分离剂,其中该多糖是纤维素和直链淀粉之一。

6. 根据权利要求 1-5 的任一项所述的旋光异构体分离剂,其中该多糖衍生物是多糖的酯衍生物和多糖的氨基甲酸酯衍生物之一。

7. 旋光异构体分离柱,包括柱管和装载于该柱管内的根据权利要求 1-6 的任一项所述的旋光异构体分离剂。

旋光异构体分离剂和旋光异构体分离柱

技术领域

[0001] 本发明涉及旋光异构体分离柱,更尤其涉及用于通过色谱法分离旋光异构体的旋光异构体分离柱。尤其,本发明涉及在药物、食品、农用化学品和香料的分离中可有效地分离大量化合物的旋光异构体分离柱。

背景技术

[0002] 具有实像和镜像关系的旋光异构体具有相同的物理和化学性质比如沸点、熔点和溶解度,但常常在包括味道和气味在内的与生命物质例如生物活性物质的相互作用中显示了差异。尤其,在药物制剂领域中,两种旋光异构体之间的药物和毒性效应具有重大差别。因此,在《药物生产指南》中,卫生劳动福利部写道:“当药物是外消旋体时,最好预先研究每一种异构体的吸收、分布、代谢和排泄运动”。

[0003] 如上所述,旋光异构体具有完全相同的物理和化学性质比如沸点、熔点和溶解度,因此,各旋光异构体不能通过传统的常规分离方式来分离,也不可能研究单种旋光异构体与生命物质的相互作用。因此,对分离旋光异构体的技术已经做了大量研究,以便以高精度便利地分析各种各样的旋光异构体。

[0004] 作为符合这些要求的分离技术,已经发展了用高效液相色谱法(HPLC)的旋光拆分法,尤其采用HPLC用的旋光异构体分离柱的旋光拆分方法。作为这里提到的旋光异构体分离柱,使用由不对称识别剂本身组成的手性固定相和由担载于适合载体上的不对称识别剂组成的手性固定相。

[0005] 不对称识别剂的已知实例包括旋光三苯甲基聚甲基丙烯酸酯(例如参见JP 57-150432A),纤维素,直链淀粉衍生物(例如参见Okamoto Y., Kawashima M. 和 Hatada K., J. Am. Chem. Soc., 106 :5357, 1984)以及属于蛋白的卵粘蛋白(例如参见JP 63-307829A)。

[0006] 同时,在通过将颗粒无机型填料如硅胶填充到管内所构成的柱子中,流体的流动阻力首先被提高,因此压降被提高。因此,当作为色谱法使用时,单位时间的流量减少,以及需要很长时间进行分离。另外,因为单位时间流量是小的,所以单位时间的生产率是小的,通常不足以大规模生产分离对象。

[0007] 作为解决该缺陷的柱子,由整体式无机型多孔体组成的柱子(例如参见JP 6-265534A)是已知的。作为生产这种由整体式无机型多孔体组成的柱子的方法,已知有通过用热软化塑料或玻璃来密封无机型多孔体和柱管之间的间隙的方法(例如参见JP 2002-505005A)。另外,已知有其中作为不对称识别剂的环糊精化学结合于整体式无机型多孔体的旋光异构体分离柱(例如参见JP 2000-515627A)。

[0008] 然而,在使用整体式无机型多孔体制造目前已知的旋光异构体分离柱的方法中,在一些情况下,整体式无机型多孔体与不对称识别剂的反应性很低。此外,在某些情况下,化学结合于整体式无机型多孔体的不对称识别剂在制造柱子时分解。取决于制造柱子的条件,所使用的不对称识别剂有时受到限制,在某些情况下,该柱子不能应用于广泛的旋光异构体。在旋光异构体分离柱的制造中存在上述问题,因此在其实应用中仍然有任务有待

完成。

发明内容

[0009] 本发明的目的是提供在用于分离旋光异构体时具有高的不对称识别能力和尤其能够在高流速下使用的旋光异构体分离剂,以及含有该分离剂的旋光异构体分离柱。

[0010] 在对具有特征性不对称识别能力的旋光异构体分离剂进行深入研究之后,本发明人完成了本发明。

[0011] 也就是说,本发明是用于在包括旋光异构体的样品中分离旋光异构体的旋光异构体分离剂,它包括整体式无机型载体以及担载于整体式无机型载体上的多糖和多糖衍生物的至少一种,其中:该整体式无机型载体包括多孔体,在多孔体内,通过从整体式无机型载体的一端到另一端连接腔孔而形成了通道;该腔孔各自包括大孔和在大孔的内壁表面上形成的中孔;以及该中孔具有 6-100nm 的孔径。

[0012] 此外,本发明提供了旋光异构体分离柱,包括:柱管;以及装载在柱管内的上述旋光异构体分离剂。

[0013] 根据本发明,使用具有在大孔内壁表面上形成的特定中孔的整体式无机型载体,并且能够分离旋光异构体的多糖和多糖衍生物的至少一种担载于该整体式无机型载体上。因此,本发明提供了具有高不对称识别能力的旋光异构体分离剂以及能够在高流速下用于分离、分析和分级各种各样的旋光异构体的旋光异构体分离柱。

具体实施方式

[0014] 下文详细说明本发明的一个实施方案。

[0015] 本发明的旋光异构体分离剂具有多孔整体式无机型载体和担载于该整体式无机型载体上的多糖或多糖衍生物。在本发明中,该多糖或其衍生物可以直接担载于该整体式无机型载体上,或者可以通过另一适当的化合物担载。

[0016] 该整体式无机型载体通常是圆柱形无机型多孔体,它可以装载在柱管内并具有通过从该整体式无机型载体的一端到另一端连接腔孔而形成的流路。也就是说,该整体式无机型载体不同于在柱管内填充的颗粒载体。

[0017] 该整体式无机型载体优选含有二氧化硅作为主要成分,但可以由其它无机材料组成,并且可以含有少量的有机材料。当二氧化硅是主要成分时,最好表面处理该整体式无机型载体,以便排除残留硅烷醇基的影响,但即使不进行表面处理也没有问题。

[0018] 该整体式无机型载体可以使用已知的无机型载体或其改进产品。它的实例包括:JP 2000-515627A 中所述的多孔成形体;JP 2002-505005A 中所述的整体式吸附剂;以及 JP H06-265534A 中所述的无机多孔柱。

[0019] 该整体式无机型载体可以通过已知方法及依据已知方法的方法来制备。该整体式无机型载体例如可以通过溶胶-凝胶法制造:其中具有变成巨大孔隙的富溶剂相的结构通过使用金属醇盐作为起始原料并将溶于溶剂中的适当的共存物质例如聚合物如聚氧化乙烯加入到该材料中来形成,如 JP 7-41374A 中所述。

[0020] 形成通道的腔孔各自具有大孔和在大孔的内壁表面上形成的中孔。大孔的孔径可以例如根据共存物质的粒度来控制。中孔的孔径例如可以通过固化溶胶-凝胶法的产物和

然后将该产物浸渍于酸性水溶液或碱性水溶液中来控制。

[0021] 对大孔没有特别限制,只要当在移动相的流路中提供该整体式无机型载体时,该孔形成沿着移动相的流动方向穿过该整体式无机型载体的通道。通过连接大孔形成的通道可以由沿直线的孔或在三维网络中连续的孔组成。从改进分离性能的观点来看,该通道优选由在三维网络中连续的孔形成。

[0022] 如果大孔的孔径太小,那么在将用于分离旋光异构体的多糖或多糖衍生物充分担载于整体式无机型载体上时可能引起困难。大孔的孔径太大,可能导致分离旋光异构体的性能不充分。从这种观点来看,大孔的孔径优选为 0.5–30 μm ,更优选 0.5–10 μm ,进一步优选 1.0–6.0 μm ,还更优选 1.0–4.5 μm 。

[0023] 中孔的孔径太小可能导致以下问题:难以将用于分离旋光异构体的多糖或多糖衍生物充分担载于该整体式无机型载体上;防止样品中的旋光异构体充分接近多糖或多糖衍生物;以及旋光异构体被多糖或多糖衍生物分离不充分。中孔的孔径可以增加不同于大孔孔径的水平(几百 nm)。然而,中孔的孔径太大可以导致以下问题:通过提供中孔所产生的表面积扩大效应减低;担载于整体式无机型载体上的多糖或多糖衍生物的量减少;以及旋光异构体被多糖或多糖衍生物分离不充分。从以上观点来看,中孔的孔径优选是 6–100nm,更优选 15–80nm,此外优选 20–60nm,还更优选 20–50nm。

[0024] 大孔的孔径可以用一种值来表示,该值可以代表该整体式无机型载体中的大孔的基本孔径。例如,大孔的孔径可以用该整体式无机型载体中的大孔的孔径分布的中值来表示。大孔的孔径分布可以通过使用渗汞孔隙率测定法或光栅电子显微镜来测定。

[0025] 中孔的孔径可以用一种值来表示,该值可以代表该整体式无机型载体中的中孔的基本孔径。例如,中孔的孔径可以用该整体式无机型载体中的中孔的孔径分布的中值来表示。中孔的孔径分布可以通过使用渗汞孔隙率测定法、氮吸附 BET 法或反向排阻色谱法(ISEC)来测定。

[0026] 尤其,整体式无机型载体具有孔径 0.5–10 μm 的大孔和孔径 15–80nm 的中孔,优选孔径 1.0–6.0 μm 的大孔和孔径 20–60nm 的中孔,更优选孔径 1.0–4.5 μm 的大孔和孔径 20–50nm 的中孔。

[0027] 该多糖可以是合成多糖、天然多糖和天然存在的改性多糖的任何一种,并且可以是只要具有旋光活性的任何多糖,但具有高规整性的结合方式的那些是优选的,链形多糖也是优选的。

[0028] 多糖的实例包括: β -1,4-葡聚糖(纤维素), α -1,4-葡聚糖(直链淀粉或支链淀粉), α -1,6-葡聚糖(右旋糖酐), β -1,6-葡聚糖(石耳素), β -1,3-葡聚糖(比如凝胶多糖和裂褶菌素), α -1,3-葡聚糖, β -1,2-葡聚糖(冠瘦多糖), β -1,4-半乳聚糖, β -1,4-甘露聚糖, α -1,6-甘露聚糖, β -1,2-果聚糖(菊粉), β -2,6-果聚糖(左聚糖), β -1,4-木聚糖, β -1,3-木聚糖, β -1,4-脱乙酰壳多糖, α -1,4-N-乙酰基脱乙酰壳多糖(甲壳质),普鲁兰,琼脂糖和藻酸。还包括含直链淀粉的淀粉。

[0029] 在这些当中,优选使用可以容易作为高纯度多糖获得的那些,例如纤维素,直链淀粉, β -1,4-木聚糖, β -1,4-脱乙酰壳多糖,壳多糖, β -1,4-甘露聚糖,菊粉和凝胶多糖,更优选纤维素和直链淀粉。

[0030] 优选的是,这种多糖具有 5 或更高,更优选 10 或更高的数均聚合度(即,每分子的

吡喃糖或呋喃糖环的平均数)。从容易处理的观点来看,优选的是,该数均聚合度是 1,000 或更小,但它的上限没有特别限制。尤其,优选的是,多糖的数均聚合度是 50-400,因为多糖或其衍生物被担载于具有中孔的整体式无机型载体的内壁表面上并且获得了充分的旋光异构体分离效果。

[0031] 该多糖衍生物没有特别限制,只要它是能够用于分离旋光异构体的多糖衍生物。这种多糖衍生物例如包括含有旋光多糖作为骨架和其中该多糖具有的羟基和氨基的至少一部分被作用于样品中的旋光异构体的官能团取代的多糖衍生物。

[0032] 该官能团是作用于含有所要分离的旋光异构体的样品中的旋光异构体的官能团。官能团与旋光异构体的作用不能被统一定义,因为取决于所要分离的旋光异构体的类型,官能团的类型是不同的,但对它们没有特别限制,只要它们是足以通过多糖衍生物旋光拆分旋光异构体的作用。

[0033] 这种作用包括旋光异构体与官能团的亲合性相互作用比如氢键, $\pi - \pi$ 相互作用和偶极-偶极相互作用的以及非亲和性相互作用比如位阻。通过这种相互作用,据信当一对旋光异构体接近该多糖衍生物时,可以排列该旋光异构体的方向而不干扰至少一种旋光异构体与该多糖衍生物的接近,或多糖衍生物本身的高级结构可以按照有利于不对称识别的形状排列。

[0034] 该官能团根据所要分离的旋光异构体的类型来选择。该官能团所包括的基团包括例如经由酯键、氨酯键和醚键结合于多糖并且可以具有取代基的芳族基。该芳族基包括杂环和稠环。芳族基可能具有的取代基包括例如具有多达约 8 个碳的烷基,卤素,氨基和烷氧基。

[0035] 对官能团的取代度没有特别限制。官能团可以取代例如多糖的部分或全部羟基和氨基。官能团的取代度根据各种条件例如官能团的类型和多糖的类型而任意选择。具体地说,官能团的取代度优选是 50-100%,更优选 80-100%。官能团的取代度可以通过例如元素分析来测定。

[0036] 多糖衍生物可以通过已知的方法来制备。多糖衍生物例如可以通过使能够与多糖中含有的羟基或氨基起反应的化合物(它包括该官能团或通过与羟基或氨基反应而变成该官能团)与多糖进行脱水反应来制备。从实现各种旋光异构体的分离的观点来看,特别优选的是,多糖衍生物是多糖的氨基甲酸酯衍生物或多糖的酯衍生物,如在 W095/23125A1 等中所述的。

[0037] 通过从填充含有多糖或其衍生物和溶剂的多糖溶液的整体式无机型载体中馏出溶剂,或用另一溶剂替换该溶剂,或馏出溶剂并且用另一种溶剂替换该溶剂,可以将多糖或其衍生物担载于整体式无机型载体上。

[0038] 这里提到的术语“担载”包括整体式无机型载体与多糖或其衍生物的直接或间接物理吸附,以及整体式无机型载体与多糖或其衍生物的直接或间接化学键。

[0039] 当既馏出该溶剂又用另一种溶剂替换该溶剂时,该溶剂可以馏出至一定程度,随后剩余溶剂可以用另一种溶剂替换,或者该溶剂可以用另一种溶剂替换,随后可以馏出该剩余溶剂。

[0040] 作为用于溶解多糖或其衍生物的溶剂(良溶剂),通常可以使用任何有机溶剂,只要它们可以溶解该多糖或其衍生物。

[0041] 溶剂的实例包括：作为酮型溶剂，丙酮，乙基甲基酮和苯乙酮；作为酯型溶剂，乙酸乙酯，乙酸甲酯，乙酸丙酯，丙酸甲酯，苯甲酸甲酯和乙酸苯酯；作为醚型溶剂，四氢呋喃，1,4-二噁烷，二乙醚和叔丁基甲基醚；作为酰胺型溶剂，N,N-二甲基甲酰胺和N,N-二甲基乙酰胺；作为酰亚胺型溶剂，N,N-二甲基咪唑烷酮；作为卤素型溶剂，氯仿，二氯甲烷，四氯化碳和1,2-二氯乙烷；作为烃型溶剂，戊烷，石油醚，己烷，庚烷，辛烷，苯，甲苯，二甲苯和萘；作为脲型溶剂，四甲脲；作为醇型溶剂，甲醇，乙醇，丙醇和丁醇；作为酸型溶剂，乙酸，三氟乙酸，甲酸，苯酚和儿茶酚；以及作为胺型溶剂，二乙胺，三乙胺和吡啶。这些溶剂可以单独或作为多种类型的混合物使用。

[0042] 对该另一种溶剂（贫溶剂）没有特别限制，只要它是从多糖溶液中替换该溶剂的溶剂，但优选是便于从该多糖溶液中替换该溶剂的溶剂。作为该另一种溶剂，不溶解或较差溶解该多糖或其衍生物的溶剂是优选的，并且可以根据诸如对该多糖或其衍生物的溶解度和与以上溶剂的相容性之类的条件适当地从已知溶剂中选择。

[0043] 超临界流体能够用作溶解该多糖及其衍生物的溶剂。这里提到的超临界流体是指在等于或高于气体和液体能够共存的超临界温度和/或压力下的流体。作为这种超临界流体，优选使用二氧化碳，一氧化氮，氨，二氧化硫，卤化氢，硫化氢，甲烷，乙烷，丙烷，乙烯，丙烯，卤代烃等，其中二氧化碳是更优选的。

[0044] 有机溶剂可以加入到该超临界流体中。作为这种有机溶剂，优选使用醇类比如乙醇，甲醇和2-丙醇；有机酸比如乙酸和丙酸；胺类比如二乙胺；醛类比如乙醛；和醚类比如四氢呋喃和乙醚。该有机溶剂的添加量优选是1到50%，更优选1到35%，还更优选1到20%，以该超临界流体为基准计。

[0045] 当将多糖溶液填充到整体式无机型载体中时，溶剂的浓度为1到100质量份，优选1到50质量份，更优选1到20质量份，以1质量份的多糖或其衍生物为基准计。

[0046] 与普通整体式无机型载体相比，具有上述孔径的中孔的整体式无机型载体可以在中孔内担载更大量的多糖。

[0047] 此外，与普通整体式无机型载体相比，具有上述孔径的中孔的整体式无机型载体可以促进物质转移到中孔内和从中孔内移出。因此，该整体式无机型载体可以在中孔的壁面上担载足够量的多糖，即使使用具有较高粘度的多糖溶液。

[0048] 本发明的旋光异构体分离剂可以通过包括以下步骤的方法来制备：将多糖溶液填充到整体式无机型载体中，以及从该填充溶液的整体式无机型载体中馏出溶剂和在填充了溶液的整体式无机型载体中用另一种溶剂替换该溶剂中的至少一步。

[0049] 将多糖溶液填充到整体式无机型载体中的步骤包括在多糖溶液中直接浸渍整体式无机型载体的方法和使多糖溶液在压力下通过该整体式无机型载体的方法。优选的是，将多糖溶液填充到整体式无机型载体中的步骤在压力下进行。当时的压力优选是50到400巴，更优选50到200巴。将溶液向整体式无机型载体施加压力的方法没有特别限制，包括用来自高压气体贮罐或压缩机的高压气体施加压力以及用HPLC中使用的泵来施加压力。

[0050] 作为从填充了溶液的整体式无机型载体中馏出溶剂的步骤，根据溶液的类型选择适当的方法。这种方法例如包括在常压下干燥和在减压下干燥。在本发明中，这些方法可以单独或结合使用。

[0051] 在填充了溶液的整体式无机型载体中用另一种溶剂替换该溶剂的步骤包括将填

充了溶液的整体式无机型载体直接浸入到另一种溶剂中的方法和在压力下使该另一种溶剂通过整体式无机型载体的方法,这与将多糖溶液填充到整体式无机型载体中的步骤类似。

[0052] 当将多糖溶液填充到整体式无机型载体中的步骤与从填充了溶液的整体式无机型载体中馏出溶剂和在其中用另一种溶剂替换该溶剂的至少一个步骤被整合为将多糖或其衍生物担载于整体式无机型载体上的一个步骤时,多糖或其衍生物在该整体式无机型载体上的担载可以按一个步骤进行,或可以按多个步骤反复进行,但优选的是,它优选按 1-5 个步骤,更优选 1-3 个步骤,还更优选 1 个步骤进行。

[0053] 通过整体式无机型载体与多糖或其衍生物之间的化学键,在整体式无机型载体上的多糖或其衍生物之间的化学键,使用第三组分的化学键,通过对整体式无机型载体上的多糖或其衍生物进行光照射、放射线例如 γ -射线照射以及电磁波如微波照射所产生的反应,自由基反应等形成进一步的化学键,本发明的旋光异构体分离剂可以将多糖或其衍生物更牢固地固定于整体式无机型载体上。按照这种牢固的固定,在用于分离旋光异构体时,预计在旋光异构体的分离、分析和分级等中具有进一步改进的工业利用性。

[0054] 通过化学键将多糖或其衍生物固定在整体式无机型载体上的方法的实例包含包括以下步骤的方法:将整体式无机型载体结合于通过化学键固定于该整体式无机型载体的表面上的结合剂,将多糖或其衍生物附着于该结合剂所结合的整体式无机型载体上,以及将该附着的多糖或其衍生物与该结合剂直接或间接结合。

[0055] 该方法可以进一步包括将取代基引入到结合于结合剂的多糖或其衍生物中的步骤。在包括这种步骤的情况下,可以调节多糖衍生物中的取代基的取代比。在包括该步骤的情况下,还可以将多糖结合于该结合剂以及将包括官能团的取代基引入到结合于该结合剂的多糖中。

[0056] 对该结合剂没有特别限制,只要它是通过化学键固定于整体式无机型载体的表面上并且可以进一步与多糖或其衍生物化学结合的化合物。还有,该结合剂与多糖或其衍生物可以直接化学结合,或者通过另一化合物如交联剂而间接地化学结合。该结合剂适当地根据整体式无机型载体的表面的组成来选择,而优选的结合剂例如包括有机硅化合物如硅烷偶联剂。

[0057] 本发明的旋光异构体分离柱具有柱管和装载在该柱管内的旋光异构体分离剂。

[0058] 作为柱管,根据柱子的使用形式和柱子的规模,可以使用常用的柱管。

[0059] 旋光异构体分离剂装载在柱管内,成为柱管内的流体的通道。将旋光异构体分离剂装载在柱管内的方法没有特别限制,只要它是能够密封柱管的内壁表面和与之相对的旋光异构体分离剂表面之间的间隙的方法。可以使用将整体式无机型载体装载在柱管内的已知方法。作为这种方法,如在 JP 2002-505005A 中所披露的,可以使用用塑料密封柱管的内壁表面和与之相对的整体式无机型载体的表面之间的间隙的方法等。

[0060] 本发明的旋光异构体分离柱可以通过将旋光异构体分离剂装载在柱管内来制备,或者可以通过上述步骤将多糖或其衍生物担载于柱子的整体式无机型载体上,使保持在柱管内的整体式无机型载体成为柱管内流体的通道来制备。从预防担载的多糖或其衍生物的分解、容易制备等观点来看,将多糖或其衍生物担载于具有整体式无机型载体的柱子内的方法是优选的。

[0061] 本发明的旋光异构体分离柱一般用于色谱法,例如气相色谱法,高效液相色谱法,超临界色谱法,薄层色谱法和毛细管电泳。尤其,优选将该分离柱应用于高效液相色谱法。

[0062] 实施例

[0063] 以下根据实施例来详细说明本发明,但本发明不局限于下列实施例。

[0064] < 实施例 1 >

[0065] 担载直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的整体式无机型多孔体柱的制备

[0066] (1) 直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的合成

[0067] 在氮气氛围中,将 10g 直链淀粉和 68.1g(相对于直链淀粉的所有羟基的 2.5 当量)的 3,5-二甲基苯基异氰酸酯在 300mL 干燥吡啶中在 100℃ 下加热并搅拌 48 小时,再将整个物料倒入 3L 的甲醇中。将分离出的固体过滤,在玻璃滤器上收集,用甲醇洗涤若干次,再于真空中干燥。结果,获得 34g 的黄白色固体。

[0068] (2) 直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)在整体式无机型多孔体上的担载

[0069] 将在(1)中合成的直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)溶于乙酸乙酯。该溶液的浓度是 75mg/mL。

[0070] 使用具有孔径为 1.9 μm 的大孔和在大孔的内壁表面上形成的、孔径为 25nm 的中孔的整体式无机多孔体作为该整体式无机型多孔体。在最高压力 200 巴范围内的压力下,使用 HPLC 泵从尾部将溶液注入到整体式无机型多孔体柱中。该整体式无机型多孔体柱具有保持在长度 50mm 和内径 4.6mm 的柱管内的整体式无机多孔体。在从无机型多孔体柱的顶部(与连接泵的尾部相反的无机型多孔体柱的端部)观察到含有多糖衍生物的溶液之后,停止注入该溶液。打开无机型多孔体柱的两端,将该无机型多孔体柱在常温和常压下干燥约 1 周,然后在减压下干燥 4 小时。在干燥前和干燥后测定无机型多孔体柱的重量,以确定干燥步骤的终点。如上所述,制成了担载了直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的无机型多孔体柱。

[0071] < 实施例 2 >

[0072] 按照与实施例 1 相同的方式,制备担载了直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的无机型多孔体柱,不同的是,使用在柱管内装有整体式多孔体(它具有孔径为 4.5 μm 的大孔和孔径为 23nm 的中孔)的整体式无机型多孔体柱代替实施例 1 中使用的整体式无机型多孔体柱。

[0073] < 实施例 3 >

[0074] 按照与实施例 1 相同的方式,制备担载了直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的无机型多孔体柱,不同的是,使用在柱管内装有整体式多孔体(它具有孔径为 6.0 μm 的大孔和孔径为 24.4nm 的中孔)的整体式无机型多孔体柱代替实施例 1 中使用的整体式无机型多孔体柱。

[0075] < 对比例 1 >

[0076] 按照与实施例 1 相同的方式,制备担载了直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的无机型多孔体柱,不同的是,使用在柱管内装有整体式多孔体(它具有孔径为 1.8 μm 的大孔和孔径为 10.9nm 的中孔)的整体式无机型多孔体柱代替实施例 1 中使用的整体式无机型多孔体柱。

[0077] < 对比例 2 >

[0078] 按照与实施例 1 相同的方式,制备搭载了直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的无机型多孔体柱,不同的是,使用在柱管内装有整体式多孔体(它具有孔径为 $4.5\ \mu\text{m}$ 的大孔和孔径为 10.2nm 的中孔)的整体式无机型多孔体柱代替实施例 1 中使用的整体式无机型多孔体柱。

[0079] <对比例 3>


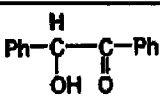
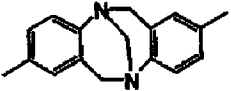
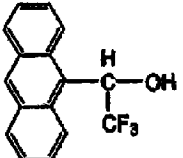
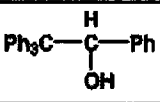
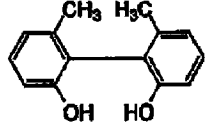
[0080] 按照与实施例 1 相同的方式,制备搭载了直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)的无机型多孔体柱,不同的是,使用在柱管内装有整体式多孔体(它具有孔径为 $5.74\ \mu\text{m}$ 的大孔和孔径为 10.0nm 的中孔)的整体式无机型多孔体柱代替实施例 1 中使用的整体式无机型多孔体柱。

[0081] <测量和评价>

[0082] 实施例 1-3 中制备的无机型多孔体柱和对比例 1-3 中制备的无机型多孔体柱分别用于通过液相色谱法分离表 1 中所示的旋光异构体。测定每一根柱中的每一种旋光异构体的停留时间,从而测定每一根柱的分离系数 α 和理论塔板数。表 1 示出了分离系数 α , 而表 2 示出了理论塔板数。

[0083] 表 1

[0084]

外消旋体	结构式	分离系数 α (-)					
		实施例1	实施例2	实施例3	对比例1	对比例2	对比例3
t-SO		3.27	3.40	3.28	3.00	2.95	2.80
Bz		1.32	1.29	1.30	1.24	1.21	1.17
TR-碱		1.29	1.28	1.28	1.14	1.12	1.00
TFAB		1.28	1.21	1.21	1.11	1.00	1.00
TrOH		2.28	2.25	2.28	2.28	2.19	2.22
Biph		2.29	2.33	2.30	2.24	2.26	2.23

[0085] 表 2

[0086]

	加载的聚合物的量 (mg)	大孔孔径 (μm)	中孔孔径 (nm)	理论塔板数 N(-)					
				t-SO		Biph		TrOH	
				N ₁	N ₂	N ₁	N ₂	N ₁	N ₂
实施例 1	110.3	1.9	25	2491	1738	1234	1077	1255	1137
实施例 2	105.2	4.5	23	1616	1119	565	439	414	357
实施例 3	104.8	6.0	24.4	1020	476	285	186	189	145
对比例 1	116.7	1.8	10.9	2063	1471	1051	763	885	752
对比例 2	107.4	4.5	10.2	1178	688	414	301	263	233
对比例 3	100.1	5.74	10.0	654	287	170	111	109	77

[0087] 表 1 中的分离系数 α 通过以下式 (1) 来测定。在式 (1) 中, k_1' 表示在所分离的旋光异构体中较快洗脱的旋光异构体的容量比, 而 k_2' 表示在所分离的旋光异构体中较慢洗脱的旋光异构体的容量比。

[0088] [式 1]

$$[0089] \text{ 分离系数 } (\alpha) = k_2' / k_1' \quad (1)$$

[0090] 容量比 k_r' 通过以下式 (2) 来测定。在式 (2) 中, t_r 表示旋光异构体的停留时间, 而 t_0 表示三叔丁基苯的洗脱时间。

[0091] [式 2]

$$[0092] \text{ 容量比 } (k_r') = (t_r - t_0) / t_0 \quad (2)$$

[0093] 表 2 中的理论塔板数目 N 通过下式 (3) 来测定。在式 (3) 中, $W_{0.5}$ 表示半高度处的峰宽度。峰宽度 W 是指在峰两侧的该峰拐点处引出的切线的交叉点与基线之间的距离 (时间)。

[0094] [式 3]

$$[0095] \text{ 理论塔板数目 } (N) = 5.5 \times (t_r / W_{0.5})^2 \quad (3)$$

[0096] 表 2 中的加载聚合物的量是指在其上加载了聚合物的无机型多孔体柱的质量与未在其上加载聚合物的无机型多孔体柱的质量之间的差 (mg)。

[0097] 表 1 和 2 昭示, 与各对比例中制备的无机型多孔体柱相比, 各实施例中制备的无机型多孔体柱作为旋光异构体分离柱表现了更好的性能。