

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3699115号

(P3699115)

(45) 発行日 平成17年9月28日(2005.9.28)

(24) 登録日 平成17年7月15日(2005.7.15)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	
GO 1 N 27/447	GO 1 N 27/26	3 3 1 F
BO 1 D 57/02	BO 1 D 57/02	
BO 1 F 17/00	BO 1 F 17/00	
GO 1 N 30/02	GO 1 N 30/02	L

請求項の数 15 (全 46 頁)

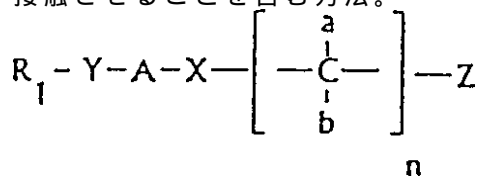
<p>(21) 出願番号 特願平7-509896</p> <p>(86) (22) 出願日 平成6年9月20日(1994.9.20)</p> <p>(65) 公表番号 特表平9-503295</p> <p>(43) 公表日 平成9年3月31日(1997.3.31)</p> <p>(86) 国際出願番号 PCT/US1994/010655</p> <p>(87) 国際公開番号 W01995/008529</p> <p>(87) 国際公開日 平成7年3月30日(1995.3.30)</p> <p>審査請求日 平成13年9月6日(2001.9.6)</p> <p>(31) 優先権主張番号 08/124,681</p> <p>(32) 優先日 平成5年9月20日(1993.9.20)</p> <p>(33) 優先権主張国 米国(US)</p>	<p>(73) 特許権者 ウォーターズ コーポレーション アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 1 7 5 7 ミルフォード, メイプル ストリ ート 3 4</p> <p>(74) 代理人 弁理士 細田 芳徳</p> <p>(72) 発明者 マツエーオ, ジェフリー アール. アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 1 8 2 4 チェルムズフォード, ムーア ス トリート 5 0</p> <p>(72) 発明者 グローバー, エドワード アール. アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 2 3 6 8 ランドルフ, アンダーソン ドラ イブ 6 7</p> <p style="text-align: right;">最終頁に続く</p>
--	--

(54) 【発明の名称】 キラール界面活性剤及びそれらのキラール分離における使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

キラール化合物をその構成対掌体に分離する方法であって、該キラール化合物を下記一般式を有するキラール界面活性剤の有効量と、電気泳動の毛管クロマトグラフィー条件下で接触させることを含む方法。



式中、 $R_1 = C_4 \sim C_{18}$ の直鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ の分岐鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ のハロゲン置換直鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ のポリエーテル炭化水素、キラール中心をもつ $C_4 \sim C_{18}$ のアルキル、上記のすべてのアルキルは不飽和結合を有していてもよく、及びコレステロール炭化水素(cholesterolic hydrocarbons)であり、 $Y = O$ 、 $NH$ 又は $CH_2$ であり、 $A = NH$ 、 $CO$ 、 $SO$ 又は $SO_2$ であり、 $X = CO$ 、 $O$ 又は $NH$ であり、 $C =$ 炭素であり、 $a$ と $b$ は同一でなく、 $n$ は1から5までであればよく、 $Z = COO^-$ 、 $SO_4^-$ 、 $SO_3^-$ 、 $PO_3^-$ 、 $PO_4^-$ 、 $NR'_3^+$ 、 $PR'_3^+$ 、 $-OH$ 、ポリエーテル類、両性イオン類、ポリアルコール類であり、 $R' = H$ 又は $C_1 \sim C_4$ の直鎖又は分岐の炭化水素であり、ハロゲン化されていてもよく、不飽和結合を有していてもよい、そして $R_1$ が直鎖の炭化水素であり、 $Y = CH_2$ であり、 $A = CO$ であり、 $X = NH$ であり、 $Z = COO^-$ であり、 $a$ 又は $b$

10

20

= Hであるが a と b は同一でないときは、a 又は b は低級アルキルでない。

【請求項 2】

Y = O、A = CO、X = NH、a = アミノ酸側鎖かつ b = H、又はその逆、そして Z = OH、SO<sub>4</sub><sup>-</sup>、又はCOO<sup>-</sup>である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

Y = NH、A = CO、X = NH、a = アミノ酸側鎖かつ b = H、又はその逆、そして Z = OH、SO<sub>4</sub><sup>-</sup>、又はCOO<sup>-</sup>である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

Y = CH<sub>2</sub>、A = SO<sub>2</sub>、X = NH、a = アミノ酸側鎖かつ b = H、又はその逆、そして Z = OH、SO<sub>4</sub><sup>-</sup>、又はCOO<sup>-</sup>である、請求項 1 記載の方法。

10

【請求項 5】

Y = CH<sub>2</sub>、A = CO、X = NH、a = 低級アルキル以外のアミノ酸側鎖かつ b = H、又はその逆、そして Z = OH、SO<sub>4</sub><sup>-</sup>、又はCOO<sup>-</sup>である、請求項 4 記載の方法。

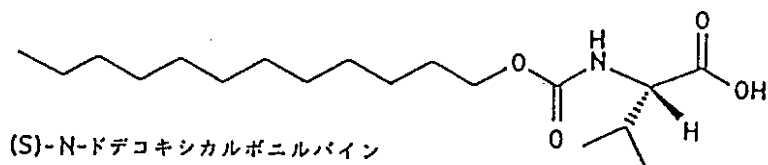
【請求項 6】

Y = CH<sub>2</sub>、A = NH、X = CO、a = アミノ酸側鎖かつ b = H、又はその逆、そして Z = NR'<sub>3</sub><sup>+</sup>、ここで、R' = H 又は C<sub>1</sub> ~ C<sub>8</sub> の直鎖又は分岐の炭化水素であり、ハロゲン化されていても不飽和であってもよい、請求項 1 記載の方法。

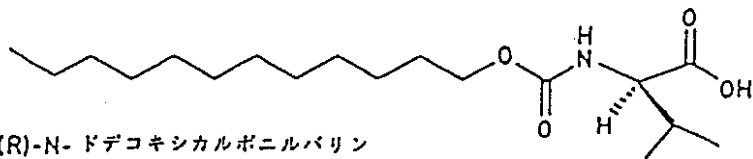
【請求項 7】

キラル界面活性剤が下記式を有するものからなる群より選ばれた少なくとも 1 種である請求項 1 記載の方法。

20

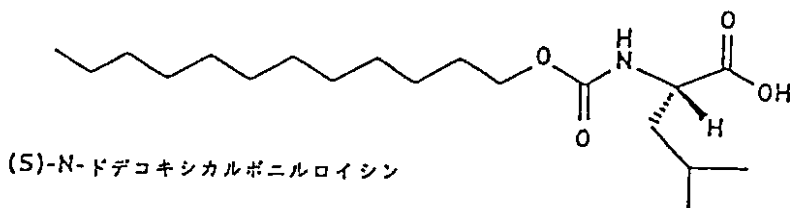


(S)-N-ドデコキシカルボニルバリン



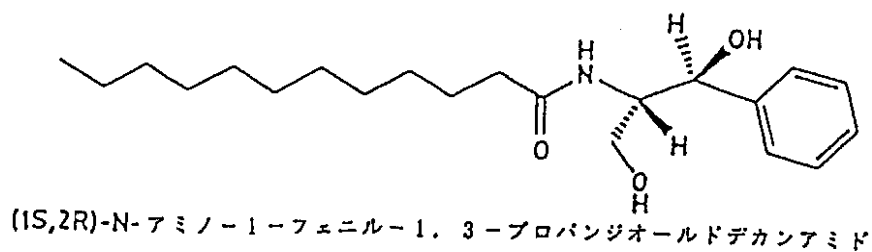
(R)-N-ドデコキシカルボニルバリン

10



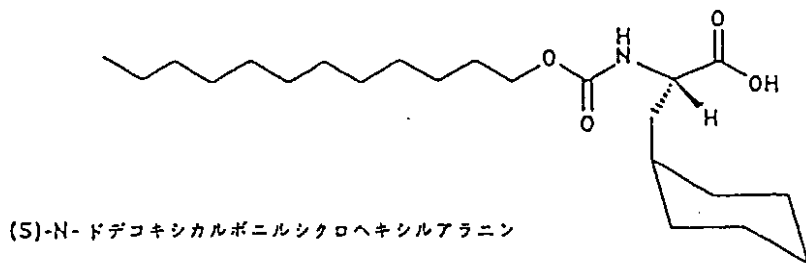
(S)-N-ドデコキシカルボニルロイシン

20



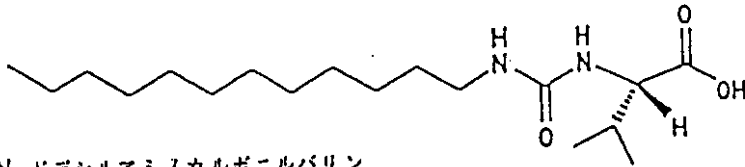
(1S,2R)-N-アミノ-1-フェニル-1,3-プロパンジオールドデカンアミド

30

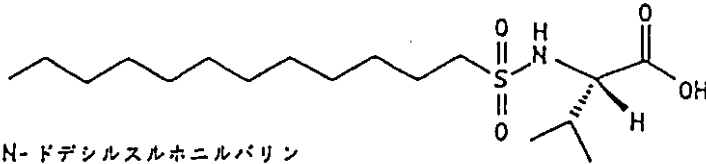


(S)-N-ドデコキシカルボニルシクロヘキシルアラニン

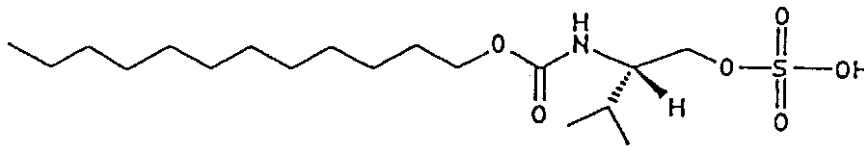
40



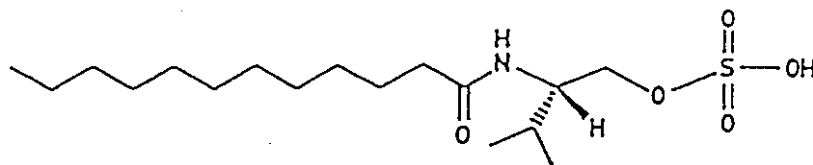
(S)-N-ドデシルアミノカルボニルバリン



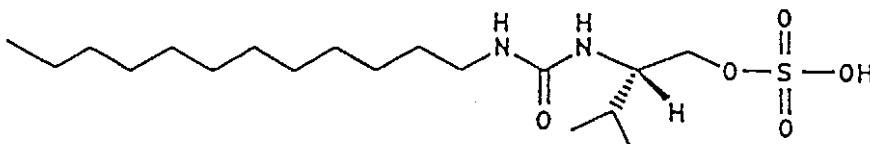
(S)-N-ドデシルスルホニルバリン



(S)-2-((1-オキソドデコキシ)アミノ)-3-メチル-1-スルホオキシプタン



(S)-2-((1-オキソドデシル)アミノ)-3-メチル-1-スルホオキシプタン



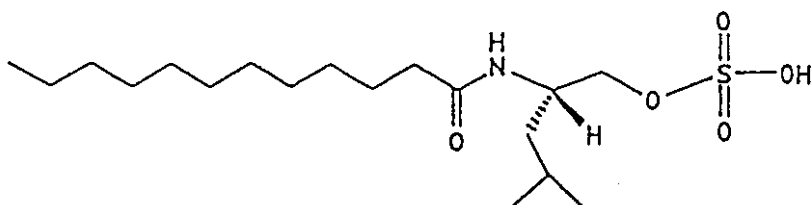
(S)-2-((1-オキソドデシルアミノ)アミノ)-3-メチル-1-スルホオキシプタン

10

20

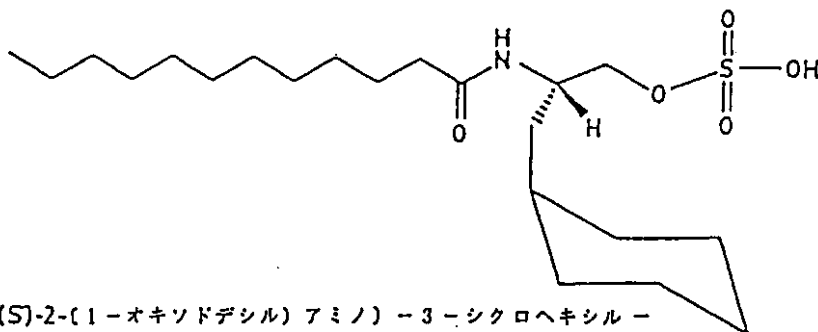
30

40



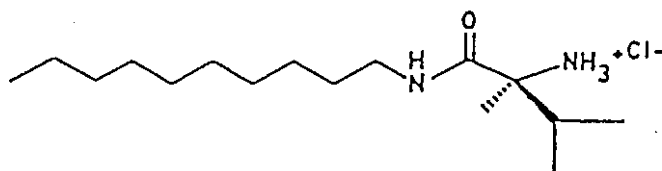
(S)-2-(1-オキソドデシル)アミノ-4-メチル-1-スルホオキシペンタン

10



(S)-2-(1-オキソドデシル)アミノ-3-シクロヘキシル-1-スルホオキシプロパン

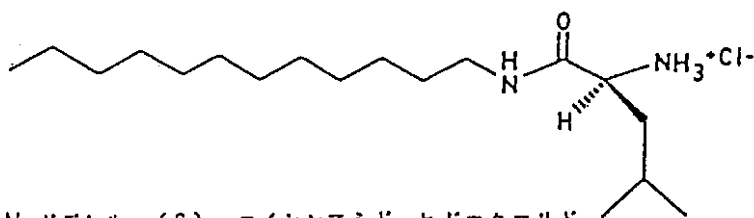
20



N-デシル-(S)-バリンアミド ヒドロクロリド

30

及び



N-ドデシル-(S)-ロイシンアミド ヒドロクロリド

40

## 【請求項 8】

該キラール化合物を第 2 のキラール界面活性剤を含む第 2 の容器と接触させることを含む請求項 1 記載の方法であって、該キラール界面活性剤が混合キラール界面活性剤処方となるように混合されるものである方法。

## 【請求項 9】

該キラール界面活性剤が実質的水性溶液中でその臨界ミセル濃度、又はそれより高い濃度で存在する、請求項 1 ~ 8 いずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 10】

該電気泳動条件が実質的電気浸透流を含むものである、請求項 1 ~ 9 いずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 11】

50

該キラール化合物がアスパルテームである、請求項 1 ~ 10 いずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

該キラール化合物が生体液 (biological fluid) 中に混在しているものである、請求項 1 ~ 10 いずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

該生体液が尿である請求項 12 記載の方法。

【請求項 14】

アスパルテームを分析する方法であって、アスパルテームの試料を、請求項 1 ~ 7 いずれか 1 項に記載のキラール界面活性剤を含む電解質を有するミセル電気動力学毛管電気泳動装置中に注入する工程、アスパルテームの対掌体を分離する工程、及び次いで分離された対掌体を検出する工程を含んでなる方法。

10

【請求項 15】

請求項 1 ~ 7 いずれか 1 項に記載のキラール界面活性剤とを組合わせた、キラールな化合物をそれらの構成対掌体に分離するための装置であって、

(a) ミセル・キラール毛管電気泳動に有効な電解質、

(b) 該電解質を含むことができるチャンネル (channel)、

(c) 少なくとも約  $10\text{ V/cm}$  ~ 約  $1\text{ kV/cm}$  の電界強度を作りだすことができる電源、

(d) 該チャンネルの該両端に電氣的に連結された少なくとも 1 個の陽極と陰極、そして

(e) 該分離された対掌体の存在を検知するための検出器、

20

を含んでなる装置。

【発明の詳細な説明】

#### 1. 技術分野

本発明は、クロマトグラフィーの分野におけるものである。殊に、本発明はミセル電気動力学毛管クロマトグラフィーによるキラール化合物分離法の改良に関する。

#### 2. 背景技術

毛管電気泳動 ("CE") は良く知られた分離技術であり、分離に関与している者の関心が高まっている技術である。それは電気泳動の改良法であり、典型的には、紙又はゲルのような 2 次元の表面の代わりに薄いガラス製毛細管中で実施される。この技術は、競合する分析技術、例えばゲル電気泳動、ガスクロマトグラフィー、及び液体クロマトグラフィーと比較すると、高効率、高分離能、迅速分離、少試料分析能、及び必要な装置の観点から望ましい単純さなどの利点を提供する。すべての分離システムと同様に、高い分離能が最終目的であり、そして他のシステムと同様に分離能は効率 (理論段数 (theoretical plates) と選択性の関数である (ワインバーガー (Weinberger, R. "Practical Capillary Electrophoresis", Academic Press, San Diego, CA 1993))。)

30

毛管電気泳動の利点は、大部分、分離過程で発生する熱の効果的な除去を可能とする狭い直径の毛細管を使用することから生ずる。この熱の除去により、分離能を低下させる対流による混合が阻止される。狭い直径の管は、電流を制限し従って熱の発生を制限しつつ毛細管内に電場を作りだすために高い電圧をかけることも可能とする。

CE 分離は、支持電解質で毛細管を充填することから開始する。次に少量の試料を毛細管の一端に注入する。試料注入量の範囲は典型的には 1 ~ 20 ナノリットルである。試料注入後、高電圧を毛細管に加える、そして試料成分を荷電 / 質量比の相違に基づき分離する。毛管電気泳動分離は電気浸透流と呼ばれる大量液流で増強することもできる。これが存在すると、すべての成分が同じ速度で毛細管中を移動し、そして一般的には異なる試料成分の分離能には寄与しない。最後に、試料成分は UV 検出器のような適当な検出器を通過する。これは分離されたそれぞれの試料帯の検出と定量を行うことができる。

40

ミセルとは界面活性剤分子から形成されるコロイド粒子である。ミセルの存在下に毛管電気泳動を実施することは、通常ミセル電気動力学クロマトグラフィー (micellar electrokinetic chromatography) と呼ばれる (Terabe, S., Otsuka, K., Ichikawa, K., Tsuchiya, A., and Ando, T. Analytical Chemistry, 1984, (56)111-113, Terabe, S., Otsuka, K., and Ando, T

50

.Analytical Chemistry,1985,(57)834-841)。この用語は、ミセル電気泳動分離 (micellar electrophoretic separations) (電気浸透流が無視できる場合の分離) とミセル動力学的分離 (micellar electrokinetic separations) (電気浸透流が分離時間に影響を与える場合の分離) の双方を指すために使用される。MEKCにおける滞留と分離能に対する方程式は方程式 1 及び 2 のように示される (Terabe,S.,et al.上記)。

$$k = \frac{t_r - t_0}{t_0 \left(1 - \frac{t_r}{t_{mc}}\right)}$$

方程式 1

10

式中、 $t_r$  = 溶質の滞留時間

$t_0$  = ミセルが存在しない場合の溶質の滞留時間

$t_{mc}$  = ミセルの滞留時間

そして  $k$  は溶質の容積因子 (capacity factor) である。

$$Rs = \left(\frac{N^{\frac{1}{2}}}{4}\right) \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right) \left(\frac{k_2}{k_2 + 1}\right) \left(\frac{1 - \frac{t_0}{t_{mc}}}{1 + \frac{t_0}{t_{mc}} k_1}\right)$$

方程式 2

20

式中、 $N$  = 効率 (理論段数 (theoretical plates))

= 選択性。

方程式 3 は、HPLC のための分離能方程式 (resolution equation) であり、用語はすべて上記のとおりである。

$$Rs = \left(\frac{N^{\frac{1}{2}}}{4}\right) \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right) \left(\frac{k_2}{k_2 + 1}\right)$$

方程式 3

30

MEKC の分離能方程式は HPLC の分離能方程式に極めてよく似ている。事実、 $t_{mc}$  が無限大に近づくにつれて方程式は同一 (方程式 3) になる。 $t_{mc}$  又は  $t_0$  が無限大に等しい場合を考えると、HPLC と MEKC の間の相違を容易に知ることができる。HPLC と MEKC の間の実際の相違は分離能方程式の効率の項に関連する。HPLC では、 $N$  (理論段数) の典型値は 5000 であるが、MEKC の  $N$  の典型値は 100, 000 である。定量的面では、二つのピークの実測値に対する広く受け入れられている目標値は 1.5 という値である。 $k' = 1$  と仮定すれば、1.5 という分離能の要求は HPLC の場合 1.20 という値が要求されることになる。しかしながら、MEKC の効率ははるかに高いため同じ 1.5 という分離能を達成するためには極めて小さな値である 1.04 でよいことが分かる。従って、多くの部分的 HPLC 分離に伴う小さな値が MEKC 系で達成され得るであろうときは、有用な分離能が得られるであろう。(分離能は、 $\left(\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right) / \left(\frac{k_2}{k_2 + 1}\right)$  の項に依存しており、1.04 という値は 1.02 という値の 2 倍の分離能を与える点に注意せよ。)

40

キラル分離は種々の技術を用いて達成できる。過去 30 年にわたって、研究者はキラル分離が、ガスクロマトグラフィー (GC) 及び液体クロマトグラフィー (LC) (Zief, M. and Crane, L.J. 編 "Chromatographic Chiral Separations" Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, 1988)、ゲル電気泳動 (Barton, J.K., J. Biomolecular Structure and Dynamics, 1983, (1)621-632)、ペーパー電気泳動 (Fanali, S., Cardaci V., Ossicini, L., J. Chromatogr. 1983, (265)131-135)、及び毛管電気泳動 (CE) (Snopek, J., Jelinek, I. and Smolkova-Keulemansova, E. Journal of Chromatography, 1992, (609)1-17) を用いて可能であ

50

ることを明らかにした。これらの分離は、試料中の対掌体が分離系の一部であるキラール相と異なる相互作用をするという能力に基づく。

キラール相は様々な方法で具体化することができる。クロマトグラフィーではキラール相は通常固定相即ちカラムの一部である。GC、LC共に多様なキラールカラムが入手可能である。固定相による対掌体の吸着が非キラール相互作用とキラール相互作用両者の総和である。非キラール相互作用にはイオン相互作用、水素結合、及び疎水性吸着が含まれるかも知れない。キラール相互作用は非キラール相互作用の空間的關係から生ずる。このキラール相互作用が寄与するエネルギー差はキラール分離の基礎である。

キラールクロマトグラフィー系の電流発生効率は一般に低い。従ってキラールモディファイアーと対掌体との間の相互作用の自由エネルギー差は適当な分離能を得るためには比較的大きくなければならない。この大エネルギー差という要求は多くのキラールHPLC系の低効率(5000~10000段数)に寄与しており、そしてピークのテーリングが多くのキラールカラムで観察される。この大エネルギー差という要求はキラールHPLCカラムが一般的に使用されるのを妨害してもいる。今日、キラールHPLCカラムは小型の化合物に選択的であり、50以上のキラール相が市販されている。この状況で、方法の開発は高度に経験的であり、そして極めて退屈なものである。キラール分離それ自体は今日ほとんど新規性はない。チャレンジすべきは、より大型の対掌体を分離する系を創り出すこと又はより簡便な方法の開発を提供することにある。

通常電気泳動では、キラール相はゲルバッファーにキラールモディファイアーを添加することにより又はゲルマトリックスにモディファイアーを共有結合的に結合させることにより作られる(Barton, J.K., *J. Biomolecular Structure and Dynamics*, 1983, (1)621-632)。その分離は、クロマトグラフィーにおけるように、個々の対掌体とキラール相との相互作用の差により生ずる。ゲル電気泳動では、これは二つのキラール分子の全体としての電気泳動の移動度における変化を生ずる。二つの対掌体が異なる速度でゲルを通過するとき、分離が行われる。ゲルの存在により大量液体移動は厳しく低減されるので、電気泳動分離において普通に見られる浸透流は最小に抑えられる。従って、最終的キラール分離は二つの対掌体の電気泳動の移動度における変化に大部分依存することになる。

キラール分離におけるCEの主要な潜在的長所の一つは、この技術の比較的高い効率である。この高効率のため、二つの対掌体とキラールモディファイアーとの間の自由エネルギー差が僅かしか生じないようなモディファイアーを利用することが可能となる。CEではキラール相は、一般に支持電解質に加えられる。通常ゲル電気泳動におけるように、二つの対掌体はキラールモディファイアーに異なる結合をし、その結果電気泳動の移動度に変化をもたらす。その結果生ずる二つの対掌体の移動度間の差がそれらの分離をもたらす。電気浸透流がCE分離に存在することも時にはあるが、それは一般的にはキラール分離の質に重要な寄与をすることはない。

キラールCE分離は最初1985年に開示された(Zare, R.N. and Gassmann, E.U.S. Patent 4,675,300, June 23, 1987)、そして幾つかの試料が今日までに分析されている。しかしながら、現在の技術水準では幅広い多様な化合物の有用な分離を行うことはできない。即ち、キラールHPLC分離と同様な制限を受け、方法開発が大変であり、そして選択性が狭い。すべての分離は支持電解質へのキラールモディファイアーの添加により行われている。使用されるキラールモディファイアーの種類は三つのカテゴリーに分けられる。第1はアミノ酸/金属錯体(Zare, R.N. and Gassmann, E.U.S. Patent 4,675,300, June 23, 1987、Gassmann, E., Kuo, J.E. and Zare, R.N. *Science*, 1985, (230)813-814、Gozel, P., Gassmann, E., Michelsen, H. and Zare, R.N. *Analytical Chemistry*, 1987, (59)44-49)の使用である。このタイプの錯体は高度に水溶性であり、キラールアミノ酸の分離に巧く機能する。この系は既に同じ試料セットについてLC及びゲル電気泳動を用いて機能することが示されている。第2のカテゴリーのキラールモディファイアーはシクロデキストリンと呼ばれる炭水化物の1群である(Guttman, A., Paulus, A., Cohen, A.S., Grinberg, N. and Karger, B.L. *Journal of Chromatography*, 1988, (448)41-53、Fanali, S. *Journal of Chromatography*, 1989, (474)441-446)。これらのモディファイアーも高度に水溶性であり、LCに広く使用さ

10

20

30

40

50

れてもいる。第3のカテゴリーのキラールモディファイアーはキラール洗剤 (chiral detergent) である (Cohen, A.S., Paulus, A. and Karger, B.L. Chromatographia, 1987, (24) 15-24、Dobashi, A., Ono, T., Hara, S. and Yamaguchi, J. Analytical Chemistry, 1989, (61) 1984-1986、Terabe, S., Shibata, M. and Miyashita, Y. Journal of Chromatography, 1989, (480) 403-411)。

キラール洗剤 (S) - N, N - ジデシルアラニン、キラール分離を行うためにドデシル硫酸ナトリウムミセルと共にそして銅錯塩形成をさせて使用されている (Cohen, A.S., Paulus, A. and Karger, B.L. Chromatographia, 1987, (24) 15-24)。そのキラール分離のメカニズムは上記ザレ (Zare) により報告された系におけると同様にリガンド交換に基づく。キラール洗剤を支持電解質中でその臨界ミセル濃度以上の濃度で使用することは、ソジウムドデカノイルパリンの使用 (Dobashi, A., Ono, T., Hara, S. and Yamaguchi, J. Analytical Chemistry, 1989, (61) 1984-1986、Dobashi, A., Ono, T., Hara, S. and Yamaguchi, J. Journal of Chromatography, 1989, (480) 413-420) 及び胆汁酸塩の使用 (Terabe, S., Shibata, M. and Miyashita, Y. Journal of Chromatography, 1989, (480) 403-411) の両方で実施されてきた技術である。これらの洗剤から形成されるミセルは、多数の個々の洗剤分子から構成される一つの構造である。ミセルの内部は一般に疎水性環境であり、逆相クロマトグラフィー充填の疎水性層と非常によく似ている。ミセルの外部には親水性基が存在し、時にはイオン化しており、その結果ミセル粒子に水溶性を付与する。この界面活性剤のどこかにミセル環境にキラリティーを与える一つ又は複数のキラール中心が存在する。

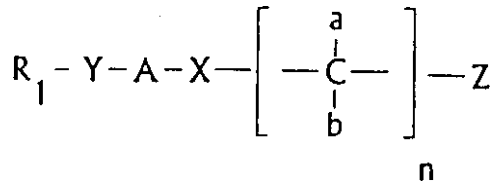
CE及び特にMEKCの今日の技術水準は、広い適用可能性を示す系が存在しないという点でHPLCの技術水準に似ている。ザレ (Zare) らは、キラール電気泳動分離及びキラールHPLC分離の両分野でよく知られており、他の型の化合物の大部分には有用でない銅錯体に基づくアミノ酸分離を明らかにしている。シクロデキストリン分離はシクロデキストリン空洞と相互作用をすることができる分子に限られる。キラールMEKC分離は酸性化合物にも一定のクラスの化合物範囲にも適用されていない。ハラ (Hara) によって報告されたソジウムドデカノイルパリンは中性アミノ酸誘導体並びに他の幾つかの中性化合物のキラール分離を可能とする。このキラール界面活性剤を用いて有機塩基又は有機酸の分離に成功したとは示されていない。胆汁酸塩は、縮合環系を含む極めてリジッドな構造をもつ被分析化合物のキラール分離を示すことができるにすぎない。

### 3. 本発明の開示

本発明は、一組のキラール界面活性剤及びその使用方法、すなわちキラール分離を行うことを目的として毛管電気泳動装置と組合せて使用される方法を提供する。本発明は単純な、効率的な、そして高速の方法であって、良好な分離能と高い感度を有する方法を提供し、そして広範かつ多様なキラール化合物を効率的に分離するための容易な方法開発を提供する。そのようなものとして本発明は初めて、困難な分離のため特殊な固定相カラムに頼ることなく、キラール化合物を分離する普遍的方法を提供する。

本発明の好ましい態様によれば、キラール界面活性剤は次の部分から構成されるものと定義される。第1に、キラール選択部。これはアミノ酸もしくはそれらの誘導体、又はアミノアルコール、または酒石酸誘導体のいずれであってもよい。それはキラール分子と相互作用をする機能を有する。第2に、キラール選択部に連結されている親水性頭部であって、ミセルに全体的溶解性を付与し、そして対掌体選択性を強化 (増強) もする。第3に、キラール選択部に尾部を連結している "リンカー" 基。この "リンカー" 基はキラール選択部のキラール選択性を強化するためにも用いられる。第4に、疎水性炭素鎖すなわち尾部。それは疎水性を示し及び/又はキラール界面活性剤分子中に被分析分子を分配するように機能する限り、鎖長は変わってもよく、直鎖、分岐鎖、置換、その他の形でもよい。この尾部はキラール選択部のキラール選択性を強化もする。

本発明は下記一般式を有するキラール界面活性剤を含む。



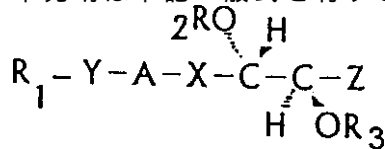
上式中、 $R_1 = C_4 \sim C_{18}$ の直鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ の分岐鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ のハロゲン置換直鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ のポリエーテル炭化水素、キラール中心をもつ $C_4 \sim C_{18}$ のアルキル、上記のすべてのアルキルは不飽和結合を有していてもよく、及びコレステロール炭化水素 (cholesterolic hydrocarbons) であり、

$A = NH$ 、 $CO$ 、 $SO$ 又は $SO_2$ であり、 $Y = O$ 、 $NH$ 又は $CH_2$ であり、 $X = CO$ 、 $O$ 又は $NH$ であり、 $C =$ 炭素であり、 $a$ と $b$ は同一でなく、 $n$ は1から5までであればよく、 $Z = COO^-$ 、 $SO_4^-$ 、 $SO_3^-$ 、 $PO_3^-$ 、 $PO_4^-$ 、 $NR'_3^+$ 、 $PR'_3^+$ 、 $-OH$ 、ポリエーテル、両性イオン、ポリアルコールであり、

$R' = H$ 又は $C_1 \sim C_4$ の直鎖又は分岐の炭化水素であり、ハロゲン化されていてもよく、不飽和結合を有していてもよい、そして

$R_1$ が直鎖の炭化水素であり、 $Y = CH_2$ であり、 $A = CO$ であり、 $X = NH$ であり、 $Z = COO^-$ であり、 $a$ 又は $b = H$ であるが $a$ と $b$ は同一でないときは、 $a$ 又は $b$ はメチル又はイソプロピルでない。

本発明は下記一般式を有するキラール界面活性剤をも含む。



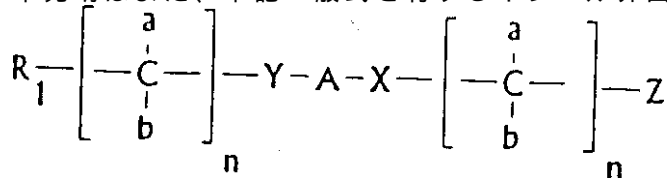
上式中、 $R_1 = C_4 \sim C_{18}$ の直鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ の分岐鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ のハロゲン置換直鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ のポリエーテル炭化水素、キラール中心をもつ $C_4 \sim C_{18}$ のアルキル、上記のすべてのアルキルは不飽和結合を有していてもよく、及びコレステロール炭化水素であり、

$R_2, R_3 = H$ 又は $C_1 \sim C_8$ の直鎖又は分岐のアルキル又はアルケニル炭化水素であり、 $Y = CH_2$ 、 $A = NH$ 、 $X = CO$ 、 $C =$ 炭素、

$Z = COO^-$ 、 $SO_4^-$ 、 $SO_3^-$ 、 $PO_3^-$ 、 $PO_4^-$ 、 $NR'_3^+$ 、 $PR'_3^+$ 、 $-OH$ 、ポリエーテル、両性イオン、ポリアルコールであり、及び

$R' = H$ 又は $C_1 \sim C_4$ の直鎖又は分岐の炭化水素であり、ハロゲン化されていてもよく、不飽和結合を有していてもよい。

本発明はまた、下記一般式を有するキラール界面活性剤を含む。



上式中、 $R_1 = C_4 \sim C_{18}$ の直鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ の分岐鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ のハロゲン置換直鎖アルキル、 $C_4 \sim C_{18}$ のポリエーテル炭化水素、キラール中心をもつ $C_4 \sim C_{18}$ のアルキル、上記のすべてのアルキルは不飽和結合を有していてもよく、及びコレステロール炭化水素であり、

$R' = H$ 又は $C_1 \sim C_4$ の直鎖又は分岐の炭化水素であり、ハロゲン化されていてもよく、不飽和結合を有していてもよく、

$Y = O$ 、 $NH$ 又は $CH_2$ であり、 $A = CO$ 、 $SO$ 又は $SO_2$ であり、 $X = O$ 又は $NH$ であり、 $a$ と $b$ は同一でなく、 $n$ は1から5までであればよく、及び

$Z = COO^-$ 、 $SO_4^-$ 、 $SO_3^-$ 、 $PO_3^-$ 、 $PO_4^-$ 、 $NR'_3^+$ 、 $PR'_3^+$ 、 $-OH$ 、ポリエーテル、両性イオン、又はポリアルコールである。

本発明は、

10

20

30

40

50

少なくとも一つのキラール中心を持つキラール選択部、

該キラール選択部に結合する親水性頭部であって該キラール選択部との組合せによりキラール化合物の実質的分離を行うのに十分な程該キラール界面活性剤のキラール選択性を強化するもの、

該キラール選択部に結合するリンカーであって、該キラール選択部との組合せによりキラール化合物の実質的分離を行うのに十分な程該キラール界面活性剤のキラール選択性を強化するもの、及び

該リンカーに結合する疎水性尾部であって、該キラール選択部との組合せによりキラール化合物の実質的分離を行うのに十分な程該キラール界面活性剤のキラール選択性を強化するもの、を含むキラール界面活性剤をも含む。

この頭部は第4級アンモニウム類、アンモニウム塩類、カルボキシレート類、アルコール類、スルフェート類、スルホン酸類、ポリアルコール類、両性イオン類、及びこれらの各塩からなる群より選ばれるものである。スルフェート頭部の代表例は(S)-2-[(1-オキソドデコキシ)アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタンである。カルボキシレート頭部群としては、(S)-N-ドデコキシカルボニルバリン、(R)-N-ドデコキシカルボニルバリン、(S)-N-ドデコキシカルボニル-tert-ロイシン、(S)-N-テトラデコキシカルボニルバリン、及び(S)-N-ドデコキシカルボニルフェニルグリシンが挙げられる。アルコール頭部群としては、(S)-N-ドデカノイルバリノール、(S)-N-ドデシルアミノカルボニルバリノール、及び(S)-N-ドデコキシカルボニルバリノールが挙げられる。

キラール選択部は、アミノ酸類、アミノアルコール類、及びタートレーツ(tartrates)及びそれらの塩類からなる群より選ばれる。キラール選択部としてアミノ酸を用いる本発明の代表的化合物の例としては、(S)-N-ドデコキシカルボニルセリン、(S)-N-ドデコキシカルボニルアラニン、(S)-N-ドデコキシカルボニルロイシン、及び(S)-N-ドデコキシカルボニルプロリンが挙げられる。キラール選択部としてアミノアルコールを用いる本発明の代表的化合物の例としては、(S)-N-ドデカノイルバリノール、(1S, 2R)-N-ドデカノイルエフェドリン、(1S, 2R)-N-アミノ-1-フェニル-1, 3-プロパンジオールドデカンアミド、及び(S)-2-[(オキソドデシル)アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタンが挙げられる。キラール選択部として酒石酸誘導体を用いる本発明の代表的化合物の例としては、(R, R)-N-ドデシル-O, O'-ジアセチル酒石酸モノアミド、(R, R)-N-ドデシル酒石酸モノアミド、(R, R)-N-デシル-O, O'-ジアセチル酒石酸モノアミド、及び(R, R)-N-デシル酒石酸モノアミドが挙げられる。

本発明は、リンカーがアミド類、カルバメート類、スルホンアミド類、及びウレア類からなる群より選ばれるキラール界面活性剤をも含む。カルバメート含有リンカーとしては、(S)-N-ドデコキシカルボニルバリン、(R)-N-ドデコキシカルボニルバリン、(S)-N-ドデコキシカルボニル-tert-ロイシン、(S)-N-テトラデコキシカルボニルバリン、(S)-N-ドデコキシカルボニルフェニルグリシンが挙げられる。スルホンアミド含有リンカーとしては(S)-N-ドデシルスルホニルバリンが挙げられる。ウレア含有リンカーとしては(S)-N-ドデシルアミノカルボニルバリン、及び(S)-N-ドデシルアミノカルボニルバリノールが挙げられる。アミド含有リンカーとしては、(R, R)-N-デシル酒石酸モノアミド、(S)-2-[(1-オキソドデシル)アミノ]-3-メチル-1-スルホキシブタン、及びN-ドデシル-(S)-ロイシンアミドヒドロクロリドが挙げられる。

本発明は、その尾部が直鎖アルキル類、置換直鎖アルキル類、直鎖アルケニル類、置換直鎖アルケニル類、コレステロール炭化水素類、及びポリエーテル炭化水素類からなる群より選ばれるものであるキラール界面活性剤をも含む。これらには、C<sub>4</sub>~C<sub>18</sub>の直鎖アルキル類、C<sub>4</sub>~C<sub>18</sub>の分岐アルキル類、C<sub>4</sub>~C<sub>18</sub>のハロゲン置換直鎖アルキル類、C<sub>4</sub>~C<sub>18</sub>のポリエーテル炭化水素類、キラール中心を有するC<sub>4</sub>~C<sub>18</sub>のアルキル類を含み、不飽和結合を有するこれらのすべてのアルキル類、及びコレステロール炭化水素が含まれ

10

20

30

40

50

る。異なる長さの尾部の例としては、(S) - N - オクタノイルバリノール、(S) - N - オクトキシカルボニルバリン、(S) - N - ドデコキシカルボニルバリン、及び(S) - N - ペンタデカフルオロオクタノイルバリンと(S) - N - テトラデコキシカルボニルバリンが挙げられる。ハロゲン置換尾部としては、フルオロカーボン尾部、特に(S) - N - ペンタデカフルオロオクタノイルバリンが挙げられる。ポリエーテル炭化水素尾部もここに例示され、(S) - N - ドデシルポリオキシエチレン(4)オキシカルボニルバリンが挙げられる。コレステロール尾部もここに例示され、(S) - N - コレステロキシカルボニルバリノールが挙げられる。

本発明はキラール化合物をそれらの構成対掌体に分離するためのキットをも含む。このキットは、本発明のキラール界面活性剤単独、又は本発明のキラール界面活性剤とキラール毛管電気泳動用の効果的電解質、電解質を入れることができるチャンネル、少なくとも約10V/cmから約1kV/cmの電界強度を発生することができる電源、少なくともチャンネルの両端に電氣的に連結された1個の陽極及び陰極、及び分離された対掌体の存在を感知するための検出器との組合せを含んでなるものである。

本発明はキラール化合物をそれらの構成対掌体に分離するためのキットであって、1個以上の容器が狭い区域内に生ずるように仕切られたキットであり、本発明のキラール界面活性剤のいずれかを含む第1の容器を組合せの場合に含むものをも含む。このキットは少なくとも本発明の異なるキラール界面活性剤を含む第2の容器を含んでいてもよい。この場合、該別種のキラール界面活性剤は混合キラール界面活性剤処方となるように混ぜ合わされる。このキットには、非キラールな界面活性剤を含む容器をさらに含めることもできる

。本発明はキラール化合物をその構成対掌体に分離する方法をも含む。この方法は、電気泳動毛管クロマトグラフィー条件下にミセルキラール界面活性剤の有効量と該キラール化合物とを接触させる工程を含み、該キラール界面活性剤は、少なくとも一つのキラール中心を持つキラール選択部、該キラール選択部との組合せによりキラール化合物の実質的分離を行うのに十分な程該キラール界面活性剤のキラール選択性を強化する、該キラール選択部に結合している親水性頭部、該キラール選択部との組合せによりキラール化合物の実質的分離を行うのに十分な程該キラール界面活性剤のキラール選択性を強化する、該キラール選択部に結合しているリンカー、及び該キラール選択部との組合せによりキラール化合物の実質的分離を行うのに十分な程該キラール界面活性剤のキラール選択性を強化する、該リンカーに結合している疎水性尾部を含んでなるものである。この方法は、キラール界面活性剤が実質的に水性の溶液中でその臨界ミセル濃度で又はそれ以上の濃度で存在する場合にも適用され、また電気泳動条件が実質的電気浸透流を含む場合にも適用される。

本発明は、ジペプチドであるアスパルテームの新規な分析方法をも含む。この方法は、本発明のキラール界面活性剤を含有する電解質を有するミセル電気動力学的毛管電気泳動装置にアスパルテームの試料を注入する工程、アスパルテームの対掌体に分離する工程、及び次いで分離された対掌体を検出する工程を含んでなる方法である。本発明は食物市場や飲料市場における迅速な試験方法を提供する。

本発明の目的は、単一の又は少数のキラール界面活性剤を用いて広範かつ多様な化合物を分離する能力を付与する広い選択性を持つキラール界面活性剤を提供することにある。

他の目的は、広いpH範囲及び広い濃度範囲にわたって溶解性を有するキラール界面活性剤のタイプを増大させることにある。これにより、さらにキラール分離を発展させる場合の柔軟性とより広い選択性とを与えることができる。

さらに他の目的は、リンカーグループ、親水性頭部グループ、及び疎水性尾部グループを変えることにより対掌体選択性を調整する能力を提供することにある。

さらに別の目的は、より良好なUV透過性を与えることにある。これによりより良好な感度と定量の直線性が得られる。

本発明の他の側面、長所、及び目的は下記の詳細な説明と併記する図面とから明らかになるであろう。

**【図面の簡単な説明】**

10

20

30

40

50

図 1 は、典型的な毛管電気泳動系のブロックダイヤグラムである。

図 2 ( A ) は、本発明で述べるキラール界面活性剤のブロックダイヤグラム構成の重要な要素、すなわち尾部、リンカー、キラール選択部及び頭部を示す。

図 2 ( B ) は、図 2 ( A ) のブロックダイヤグラムに相当する典型的なキラール界面活性剤の化学構造である。

図 3 は、本発明で調製され、対掌体選択性を評価された界面活性剤の構造のリストである。

図 4 は、1 例としてドデシル硫酸ナトリウムを用い、ミセルの構造の概念図を示す。

図 5 は、典型的な低電気浸透流キラール M E K C 分離におけるミセル、電気浸透及び被分析化合物の移動度のベクトルダイヤグラムである。

図 6 は、アテノロールのキラール分離に対する、( S ) - N - ドデコキシカルボニルバリンの濃度を 2 5 m M から 1 0 m M まで増加させた場合の影響を示す。

図 7 は、疎水性被分析化合物であるプロプラノロールのキラール分離を行うために、( S ) - N - ドデコキシカルボニルバリンの濃度を 2 5 m M から 5 m M まで下げることができることを示す。

図 8 は、2 5 m M の ( S ) - N - ドデシルポリオキシエチレン ( 4 ) オキシカルボニルバリンで得られた疎水性被分析化合物オクスプレノロール ( oxprenolol ) のキラール分離である。

図 9 は、5 0 m M の ( S ) - N - ペンタデカフルオロオクタノイルバリンで得られたブピバカイン ( bupivacaine ) のキラール分離である。

図 1 0 は、2 5 m M の ( S ) - N - ドデコキシカルボニルバリンと 3 0 % アセトニトリルを用いて疎水性被分析化合物プロプラノロールのキラール分離である。

図 1 1 は、バリン、フェニルグリシン、プロリン、及びセリンベースのキラール界面活性剤を用いる数種の P T H - アミノ酸の分離を示す。

図 1 2 ( A ) は、2 5 m M の ( S ) - N - ドデカノイルバリン / 2 5 m M ドデシル硫酸ナトリウムで得られた P T H - トリプトファンのキラール分離を示す。

図 1 2 ( B ) は、2 5 m M の ( R , R ) - N - ドデシル酒石酸モノアミドのナトリウム塩 / 2 5 m M ドデシル硫酸ナトリウムで得られたテルブタリン ( terbutaline ) のキラール分離を示す。

図 1 2 ( C ) は、1 5 m M の ( 1 S , 2 S ) - N - アミノ - 1 - フェニル - 1 , 3 - プロパンジオール ドデカンアミド / 1 5 m M ドデシル硫酸ナトリウムで得られたブピバカイン ( bupivacaine ) のキラール分離を示す。

図 1 3 ( A ) は、2 5 m M の ( S ) - N - ドデシルスルホニルバリン ( スルホンアミドリンカー ) で得られたメトプロロール ( metoprolol ) のキラール分離を示す。

図 1 3 ( B ) は、2 5 m M の ( S ) - N - ドデシルアミノカルボニルバリン ( ウレアリンカー ) で得られたメトプロロール ( metoprolol ) のキラール分離を示す。

図 1 3 ( C ) は、2 5 m M の ( S ) - N - ドデコキシカルボニルバリン ( カルバメートリンカー ) で得られたメトプロロール ( metoprolol ) のキラール分離を示す。

図 1 4 ( A ) は、2 5 m M の ( S ) - N - ドデコキシカルボニルバリン ( カルバメートリンカー ) を用い、1 . 0 1 で行われたケタミンのキラール分離を示す。

図 1 4 ( B ) は、2 5 m M の ( S ) - N - ドデシルアミノカルボニルバリン ( ウレアリンカー ) を用い、1 . 0 4 で行われたケタミンのキラール分離を示す。

図 1 5 は、プログルミド ( proglumide ) と C B Z - トリプトファンの構造を示す。

図 1 6 ( A ) は、2 5 m M の ( S ) - 2 - [ ( 1 - オキソドデシル ) アミノ ] - 3 - メチル - 1 - スルホオキシブタンで p H 3 . 0 で得られたプログルミド ( proglumide ) のキラール分離を示す。

図 1 6 ( B ) は、2 5 m M の ( S ) - 2 - [ ( 1 - オキソドデシル ) アミノ ] - 3 - メチル - 1 - スルホオキシブタンで p H 3 . 0 で得られた C B Z - トリプトファンのキラール分離を示す。

図 1 7 は、N - 6 - キノリルアミノカルボニル標識誘導体を作成するための 1 級又は 2 級

10

20

30

40

50

アミンの反応順序を示す。

図18は、100mMの(S)-N-ドデコキシカルボニルバリンを用いてラセミのN-6-キノリルアミノカルボニルアルギニンのキラール分離を示す。

図19(A)は、20mMの(S)-2-[(1-オキソドデシル)アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタンを用い、 $1.4 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{Vs}$  (pH 4.0)の電気浸透移動度で得られたベンゾインのキラール分離を示す。

図19(B)は、20mMの(S)-2-[(1-オキソドデシル)アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタンを用い、 $3.19 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{Vs}$  (pH 6.0)の電気浸透移動度で得られたベンゾインのキラール分離を示す。

図20(A)は、25mMの(S)-N-ドデコキシカルボニルバリンを用い、 $0.7 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{Vs}$ の電気浸透移動度、pH 7、被覆された毛細管中で得られたエフェドリンのキラール分離を示す。 10

図20(B)は、25mMの(S)-N-ドデコキシカルボニルバリンを用い、 $5.7 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{Vs}$ の電気浸透移動度、pH 7、被覆されない毛細管中で得られたエフェドリンのキラール分離を示す。

図21(A)~(C)は、尿中のエフェドリンの分離のクロマトグラムである。

図22(A)~(B)は、(S)-2-[(1-オキソドデシル)アミノ]-4-メチル-1-スルホオキシペンタンを用い、N-ベンゾイル-DL-アラニンの分離を示すクロマトグラムである(図3bd, C12-アミド-ロイシノール-スルフェート)、図22(B)は、N-ドデシル-(S)-ロイシンアミドヒドロクロリド(図3b1, C12-アミド-ロイシン-アンモニウム塩)上での同じ化合物の分離を示す。 20

図23は、キラール界面活性剤(S)-N-ドデコキシカルボニルロイシン(図3ak)を用いるアンフェタミン分離のクロマトグラムである。

図24(A)~(B)は、キラール界面活性剤(S)-N-ドデコキシカルボニルシクロヘキシルアラニン(図3ao, 図24A)及び(R,R)-N-デシル酒石酸モノアミドナトリウム塩(図3ag, 図24B)を用いるアンフェタミン分離のクロマトグラムである。

図25は25mMのN-ドデシル-(S)-プロリンアミドヒドロクロリド(図3bn), pH 3.0を用いる陰イオン性化合物であるカルボキシベンゾイル-DL-アラニンの分離を示すクロマトグラムである。 30

図26(A)~(B)は、図26Aでは100mMの(S)-ドデシルアミノカルボニルバリン(図3g, C12尾), pH 8.0で得られたニコチンの分離を示し、図26Bでは100mMの(S)-デシルアミノカルボニルバリン(図3ay, C10尾), pH 7.5で得られたニコチンの分離を示すクロマトグラムである。

図27は、25mMの(S)-2-[(1-オキソドデシル)-アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタン(図3m), pH 3.5を用いるアスパルテームの4種の立体異性体のすべての分離を示すクロマトグラムである。

##### 5. 本発明の実施の態様

本発明はキラール界面活性剤、それを作成する方法及び使用する方法、本発明の新規化合物を用いるキラール分離を実施するための装置及びキットを含む。ミセルを形成する能力に加えて、本発明のキラール界面活性剤は幾つかのその他の特徴をも有している。第1に、それら是对掌体混合物に対して対掌体選択性、即ちアルファを示す。第2に、それらは問題の化合物を分配する能力を示す。第3に、それらは高い効率、即ちMEKC系で用いられたとき、高い段数を示す。第4に、それらは検出様式に関して望ましい諸性質を有する。最後に、MEKC緩衝液の伝導度に対する寄与は極小である。下記の図及び実施例はこれらの特性をさらに明らかにする。 40

図1は、CEシステムのブロックダイヤグラムを示す。このシステムは約5 $\mu\text{m}$ ~500 $\mu\text{m}$ の範囲の内径、約100 $\mu\text{m}$ ~1000 $\mu\text{m}$ の範囲の外径、そして約5cm~200cm範囲の長さを有する溶融シリカ毛細管10を含む。この毛細管は、電解質を含む貯蔵室30に浸漬された入口端20及び電解質50に浸漬された出口端40を有する。入口及 50

び出口の電解質貯蔵室は毛細管と同様にキラル界面活性剤を含む支持緩衝液から構成される電解質で満たされる。毛細管も電解質で満たされる。二つの貯蔵室を接続するのは高電圧電源100の出力端子80及び90に連結されている別々の電極60及び70である。電気回路は、入力電極から充填された毛細管を通して毛細管の出口端そして出口貯蔵室に浸漬されている高電圧電極までで完成する。高電圧電源出力は制御器110で設定され、分離はUV/VIS検出器120でモニターされる。

本発明のキラル界面活性剤の構造的成分は図2に示される。これらの界面活性剤は四つの構造単位に分けることができる。左から始めると、第1は親水性尾部であり、これは界面活性剤のミセル形成能を決定する助けとなる。この尾部は、ミセルの疎水性環境と水相との間で被分析化合物分子の分配を可能とするミセルの疎水性部分を提供する。尾部は鎖長が4から20炭素まで変えることができるが、好ましい態様は6から18炭素であり、そして直鎖でも分岐の構造でもよい。尾部の長さを変えると臨界ミセル濃度(cmc)も変わる。界面活性剤の濃度を変えることにより分配を調整することができる。尾部はその疎水性部分に加えてエーテルやポリエーテル部分を含んでもよい。炭素骨格上の水素をハロゲンで置換してもよい。特に、ハロゲンとしては塩素、フッ素、臭素及びヨウ素が好ましい。最も好ましいのは塩素とフッ素である。実施例21では、尾部の長さが対掌体選択性に影響しうることを明らかにする。尾部内のキラル中心の位置は、分岐の程度と同様に、得られうるアルファ値に影響することが示される。

キラル界面活性剤の第2の部分はこの分子の疎水性尾部部分とキラル中心との間の連結部である。この連結部を変えると対掌体選択性が顕著に変わる。これは、おそらくこのリンカーがキラル選択部に物理的に隣接しているからであろう。四つのタイプのリンカーが研究され、本明細書に記載される。それらは、アミド類、カルバメート類、スルホンアミド類、及びウレア類である。アミドリナーとしては図2(B)中にR-CO-NH-R'ユニットで示されている。カルバメートリンカーは、図3(A)にR-OCO-NH-R'ユニットで示されている。スルホンアミドリナーは、図3(H)にR-SO<sub>2</sub>-NH-R'ユニットで示されている。ウレアリナーは、図3(G)にR-NH-CO-NH-R'ユニットで示されている。本発明の驚くべき結果の一つは、リンカーが分離に対してかくも強力な影響を有するという事実である。実施例で示すように、一つの型のリンカーを他のものに置換することにより、限界的分離を分離可能なものに形質を変換することができる。本発明のいかなる理論によっても限定することを意図するものではないが、正しいリンカーの選択はキラル選択部のキラル選択性を強化ないし増強すると考えられる。本発明に記載されていない他のリンカーも、キラル選択部を強化するものであれば、本発明の範囲に含まれることになる。

この分子の第3の部分はキラル中心である。キラル中心はいかなるキラル化合物から誘導することもできる。キラル分子とは偏光面を回転させるものである。キラル分子はその鏡像に重ね合わせることができないものと定義される(March, J., Advanced Organic Chemistry, Third ed., John Wiley & Sons, New York, 1985, p82)。本発明はアミノ酸類、アミノアルコール類、及び酒石酸誘導体を含むキラル化合物を例示する。アミノ酸類及びそれらの誘導体は、両方の対掌体を利用可能であるので特に好ましいキラル選択部である。本明細書に記載される20種の必須アミノ酸だけでなく、少なくとも1個のキラル中心を有する他のすべてのアミノ酸も本発明の範囲に含まれる。実施例には、少なくとも8種の異なるアミノ酸、即ちフェニルグリシン、セリン、バリン、プロリン、アスパラギン酸、ロイシン、イソロイシン、及びtert-ロイシンなどを含む選択部の合成を提供する。アミノアルコールもキラル選択部として例示される。アミノアルコールの代表例は、バリノール - 、エフェドリン - 、及びアミノプロパンジオール - ベースのキラル界面活性剤である。酒石酸誘導体はその分子の中心に2個のキラル中心を、そして両端に2個のカルボキシル基を有する(図3af - ai参照)。界面活性剤への酒石酸の連結はカルボキサミド基の形成による。酒石酸誘導体は一つの前駆体分子中に二つの官能部(頭部とキラル選択部)を取り込ませたものであり、必要な合成工程数を低減できる。本発明のキラル界面活性剤の4個の官能基の中の2個以上を取り込んでいる他の2官

10

20

30

40

50

能性分子を作成することもできる。

この分子の最後の部分は頭部である。この部分の構造はミセルのサイズ、集合数、及び溶解性に強く影響する。ミセルでは、頭部は周辺に位置し、水相に向かって外側に向いている。頭部は水相との溶解性を高めるためイオン化可能な部分を含まなければならない。中性 pH でイオン化しない部分は pH を上げ又は下げるとき荷電し、その結果溶解性を高めるようになればよい。本発明は 3 種の型の頭部基、すなわちカルボキシレート類、スルフェート類、及びアルコール類を開示する。カルボキシレート類 ( $R-COOH$ ) は、数が最も多く、1 例を図 3 (a) に示す。スルフェート類 ( $SO_3O^-M^+$ ) は、図 3 (p) に示すように、頭部基としても有用である。アルコール類、 $-OH$  も図 3 (i) に示すように溶解性を高めるために用いることもできる。アルコール性頭部基は、イオン化可能な化合物の例である。アルコール類は低い pH ではプロトン化されるようになり、高い pH では脱プロトン化されるようになり、その結果純荷電を生じ、水性媒体中での溶解性を高める。他のイオン化可能な基、例えばアミン類 ( $NH$ )、特に第 4 級アミン ( $NR_4^+$ ) 及びアンモニウム塩  $NH_3^+$ 、スルフヒドラル類 ( $SH$ )、スルホネート類 ( $SO_3^-$ )、アミド類 ( $CONH$ )、アミジン類、及びグアニジン類なども本発明の範囲に含まれる。

表 1 は調製された 4 種の構造単位の異なる型を要約する。

表 1

### 研究された異なる型の頭部基、キラル選択部、リンカー及び尾部の一覧

頭部基	キラル 選択部	リンカー	疎水性 尾部
アルコール	タートレート	ウレア	ポリエーテル-炭化水素
スルフェート	アミノ酸	カルバメート	コレステロール
カルボキシレート	アミノアルコール	スルホンアミド	フルオロヒドロカーボン置換
アンモニウム塩		アミド	C8-C18直鎖状炭化水素、キラル分岐状尾部

図 3 は、合成されそして毛管電気泳動を用いて対掌体選択性を試験された多様なキラル界面活性剤の一覧表である。これらの界面活性剤は、1 群のカルバメート結合界面活性剤、1 群のウレア結合界面活性剤、スルホンアミド結合界面活性剤、ポリエーテル炭化水素尾部界面活性剤、1 群のフルオロヒドロカーボン尾部界面活性剤、1 群のコレステロール尾部界面活性剤、尾部長の異なる 1 群のキラル界面活性剤、1 群のアルコール頭部基界面活性剤、1 群のスルフェート頭部基界面活性剤、1 群のカルボキシレート頭部基界面活性剤、1 群のアミド結合界面活性剤、タートレーツ (tartrates) 由来のキラル選択部を含む 1 群の界面活性剤、アミノ酸由来のキラル選択部を含む 1 群の界面活性剤、及びアミノアルコール由来のキラル選択部を含む 1 群の界面活性剤からなる。一部の例では、キラル界面活性剤の対掌体の両方を用い、対掌体移動の順序の逆転が示された。今日まで、全部で 68 種の界面活性剤が合成され、試験された。

#### 実施例

特記のない限り、化学品はアルドリッチケミカル社 (Aldrich Chemical) またはシグマ社 (Sigma) より購入した。

実施例 1 - (S) - N - ドデコキシカルボニルバリンの合成 (図 3 a)

温度計、追加したロート及び機械的攪拌装置を付けた三つ口の丸底フラスコ中に (S) - バリン [アルドリッチケミカル社] (34.17 g, 291 mmol)、水 (180 mL) とアセトン (120 mL) を加えた。そのスラリーを 0 ~ 5 まで冷却した。温度を 5

10

20

30

40

50

～ 10 の間に維持しながら、水酸化ナトリウムのペレット (21.25 g、531 mmol) を徐々にスラリーに加えた。リヒターとテュッカーの方法 [リヒターとテュッカー (Richter, R. and Tucker, B.), Journal of Organic Chemistry, 1983, (48) 2625 - 2627] により調製したドデシルクロロホルメート (48.21 g、207 mmol) を反応混合液に1時間かけて滴下して加え、その間温度は5～10 に保った。反応混合液を0～5 で1時間攪拌し、室温まで温め、16時間攪拌した。反応混合液は透明で微黄色溶液であった。その溶液をロータリーエバポレーターで濃縮し、得られた水相を水 (700 mL) で希釈して酢酸エチル (6 × 250 mL) で抽出した。水相を5～10 まで冷却して濃 HCl を加え pH を1に下げた。水相と油状の沈澱物を酢酸エチル (4 × 250 mL) で抽出した。有機相を蒸発させ白色固体 (47.6 g、73%) を得た、その固体は、<sup>1</sup>H-NMR により目的物であり、HPLC (C18 逆相、メタノール/水/酢酸移動相) により純品であった。

10

実施例 2 - 図 3 b ~ 3 f、図 3 a j ~ 3 a x の化合物の合成

この方法により、(R)-N-ドデコキシカルボニルバリン (図 3 b)、(S)-N-ドデコキシカルボニル-tert-ロイシン (図 3 c)、(S)-N-テトラドデコキシカルボニルバリン (図 3 d)、(S)-N-ドデコキシカルボニルフェニルグリシン (図 3 e) 及び (S)-N-ドデシルポリオキシエチレン(4)-オキシカルボニルバリン (図 3 f) も合成した。(S)-N-ドデシルポリオキシエチレン(4)-オキシカルボニルバリンの合成の出発物質は、Brij 30 [アルドリッチケミカル社] すなわちポリオキシエチレン(4~12)ラウリルエーテルとミリスチルエーテルとの混合物であった。こう

20

して生成したキラールな界面活性剤もまた混合物であった。上記概略の合成方法に従って、図 3 a j ~ 3 a x の化合物も調製した、但し、合成される相当する界面活性剤の尾部構造に基づきクロロホルメートを使用したことを除く。

実施例 3 - 図 3 g、3 a y の化合物の合成

実施例 1 と同様の方法を用いて該ウレアリンカー化合物を合成した、但し、ドデシルクロロホルメートの代わりにドデシルイソシアネート [コダック社] を使用したことを除く。生成物は73%の収量で得られ、<sup>1</sup>H-NMR と HPLC により純品であった。

上記概略の合成方法に従って、図 3 a y の化合物も調製した、但し、ドデシルイソシアネートの代わりにデシルイソシアネートを使用したことを除く。

実施例 4 - 図 3 h の化合物の合成

30

実施例 1 と同様の方法を用いて該スホンアミド (sulfonamide) を合成した、但し、ドデシルクロロホルメートの代わりにドデシルスルホニルクロリド [ランカスターラクス (Lancaster Labs)] を使用したことを除く。反応中に目的物とドデカンスルホン酸よりなる沈澱物が生成した。目的物は調製用 HPLC (C18 逆相、メタノール/水/酢酸、50% 収量) で単離し、<sup>1</sup>H-NMR と HPLC により純品であった。

実施例 5 - 図 3 s ~ 3 y の化合物の合成

実施例 1 と同様の方法を用いて該アミドリンカー、図 3 w を合成した、但し、ドデシルクロロホルメートの代わりにドデカノイルクロリドを使用したことを除く。メチレンクロリド抽出により生成物を97%収量で単離した。続いてその生成物をそのまま (ラウリン酸を3%含む) CE 実験に使用し; 又は調製用 HPLC (C18 逆相、メタノール/水/酢酸) で純品を単離した。

40

(S)-N-ドデカノイルフェニルグリシン (図 3 s)、(S)-N-ドデカノイルセリン (図 3 t)、(S)-N-ドデカノイルプロリン (図 3 u)、(S)-N-ドデカノイルアスパラギン酸 (図 3 v)、(S)-N-オクタノイルバリン (図 3 x) 及び (S)-N-ヘキサデカノイルバリン (図 3 y) も同様に合成した。

実施例 6 - 図 3 a b ~ a e、及び図 3 a z ~ 3 b c の化合物の合成

温度計、追加したロート及び機械的攪拌装置を付けた三つ口の丸底フラスコ中に (S)-バリノール (25.9 g、251 mmol) とジクロロメタン (180 mL) を加えた。溶液を窒素雰囲気下、0～5 まで冷却した。温度を5～10 の間に維持しながら、ジ

50

クロロメタン (120 mL) 中のドデカノイルクロリド (27.3 g、125 mmol) を反応混合液に1.5時間かけて滴下して加えた。その反応混合液を0~5℃で1時間攪拌し、室温まで温め、17時間攪拌した。白色沈澱物が見られた。アンモニウム塩を除くため、反応混合液を水 (1×250 mL)、0.1モルの塩酸水溶液 (1×250 mL) 及び水 (1×250 mL) で抽出した。有機相をロータリーエバポレーターで濃縮し、生成する白色固体を一晩真空乾燥させ、目的物 (35.0 g、98%収量) を得た。その生成物 (S)-N-ドデカノイルバリノール (図3ab) はHPLCと<sup>1</sup>H-NMRにより純品であった。

(S)-N-オクタノイルバリノール (図3ac)、(1S, 2R)-N-ドデカノイルエフェドリン (図3ad) 及び (1S, 2S)-N-アミノ-1-フェニル-1, 3-プロパンジオールドデカンアミド (図3ae) も同様に合成された。

上記概略の合成方法に従って、図3az~3bcの化合物も調製した。

実施例7-図3i~kの化合物の合成

該カルバメートリンカー、(S)-N-ドデコキシカルボニルバリノールもアミド、(S)-N-ドデカノイルバリノール (実施例6) と同様な方法で合成した、但し、酸クロリドの代わりにドデシルクロロホルメートを使用したことを除く。

(S)-N-コレステロキシカルボニルバリノール (図3j) も同様にバリノールとコレステリルクロロホルメートから合成された。

(S)-N-ドデシルアミノカルボニルバリノール (図3k) も同様にバリノールとドデシルイソシアネートから合成された。

実施例8-図3l~o、図3bd~bgの化合物の合成

温度計、追加したポート及び機械的攪拌装置を付けた三つ口の丸底フラスコ中に (S)-N-ドデカノイルバリノール (5.00 g、17.5 mmol) とジクロロメタン (120 mL) を加えた。溶液を窒素雰囲気下、0~5℃まで冷却した。温度を5~10℃の間に維持しながら、ジクロロメタン (30 mL) 中のクロロスルホン酸 (2.04 g、17.5 mmol) を反応混合液に0.5時間かけて滴下して加えた。その反応混合液を0~5℃で2時間攪拌した。溶液をロータリーエバポレーターで濃縮し、残留する白色固体を真空乾燥させた。その固体に、メタノール (100 mL)、R.O.水 (10 mL) 及び水酸化ナトリウムのペレット (0.700 g、17.5 mmol) を加えた。ペレットが完全に溶解した時、溶液をロータリーエバポレーターで濃縮し、残留する白色固体を25℃で17時間真空乾燥させた。生成物、(S)-2-[(1-オキシドデシル)アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタン (図3m)、(6.64 g、98%収量) の同定を<sup>1</sup>H-NMRにより確認した。

(S)-2-[(1-オキシドデコキシ)アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタン (図3l)、(S)-2-[(1-オキシドデシルアミノ)アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタン (図3n) 及び (S)-[オキシコレステロキシルアミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタン (図3o) も同様な方法で合成した。

上記概略の合成方法に従って、図3bd~3bgの化合物も調製した。

実施例9-(S)-N-ペンタデカフルオロオクタノイルバリンメチルエステルから図3z ((S)-N-ペンタデカフルオロオクタノイルバリン) の化合物の合成

温度計、追加したポート及び機械的攪拌装置を付けた三つ口の丸底フラスコ中に (S)-バリンメチルエステルヒドロクロリド (5.81 g、34.7 mmol)、ジクロロメタン (350 mL) 及びトリエチルアミン (8.53 g、84.3 mmol) を加えた。溶液を窒素雰囲気下、0~5℃まで冷却した。温度を5~10℃の間に維持しながら、ジクロロメタン (50 mL) 中のペンタデカフルオロオクタノイルクロリド (15.0 g、34.7 mmol) を0.5時間かけて滴下して加えた。その反応混合液を0~5℃で1時間攪拌し、室温まで温め、2時間攪拌した。白色沈澱物が見られた。反応混合液を水 (1×250 mL)、0.1モルの塩酸水溶液 (1×250 mL) 及び水 (1×250 mL) で抽出した。溶液をロータリーエバポレーターで濃縮し、生成する白色固体を一晩真空乾燥させ、目的物 (18.2 g、99%収量) を得た。生成物はHPLCと<sup>13</sup>C-NMR

10

20

30

40

50

により純品であった。

温度計、ストッパー及び機械的攪拌装置を付けた三つ口の丸底フラスコ中に(S)-N-ペンタデカフルオロオクタノイルバリンメチルエステル(2.00g、3.8mmol)、テトラヒドロフラン(100mL)及び水(22mL)を加えた。溶液を0~5℃まで冷却した。水酸化カリウムのペレット(0.70g、12.5mmol)を徐々に加えた。12時間後反応容器に栓をし、さらに12時間冷蔵庫内に置いた。溶液をロータリーエバポレーターで濃縮し、残留溶液を水(150mL)で希釈し、5~10℃まで冷却した。溶液を濃HClでpH1まで酸性にした。添加の間、温度を5~15℃に維持した。白色沈澱物が生成した。水相と沈澱物を酢酸エチル(3×150mL)で抽出した。有機相をロータリーエバポレーターで濃縮し、白色固体を得、一晩真空乾燥させ、目的物(2.02g、97%収量)を得た。13C-NMRスペクトルとHPLC分析はその生成物が純品であることを示した。

10

実施例10-図3ag[(R,R)-N-ドデシル-O,O-ジアセチル酒石酸モノアミドから(R,R)-N-ドデシル酒石酸モノアミド]、図3ai、(R,R)-N-デシル酒石酸モノアミド及び図3bf、(R,R)-N-オクチル酒石酸モノアミドの化合物の合成

温度計、追加したロート及び機械的攪拌装置を付けた三つ口の丸底フラスコ中に1-ドデシルアミン(17.15g、92.5mmol)、テトラヒドロフラン(350mL)及びトリエチルアミン(9.36g、92.5mmol)を加えた。溶液を窒素雰囲気下、0~5℃まで冷却した。温度を5~10℃の間に維持しながら、テトラヒドロフラン(150mL)中の(R,R)-O,O-ジアセチルタータリックアンヒドリド(20.0g、92.5mmol)を反応混合液に1時間かけて滴下して加えた。その反応混合液を1時間0~5℃で攪拌し、室温まで温め、4時間攪拌した。溶液をロータリーエバポレーターで濃縮し、生成した褐色の粘性油を一晩真空乾燥させ、粗生成物(46.1g)を99%収量で得た。

20

温度計、ストッパー及び機械的攪拌装置を付けた三つ口の丸底フラスコ中に(R,R)-N-ドデシル-O,O-ジアセチル酒石酸モノアミド(トリエチルアミン型;6.18g、12.3mmol)、メタノール(150mL)及び水(15mL)を加えた。水酸化ナトリウム(1.62g、41.0mmol)を反応混合液に加えた。0.5時間後、白色沈澱物が生成した。その反応混合液を55℃まで加熱し、18時間攪拌した。固体をろ取し、真空乾燥させ、生成物(3.96g、95%収量)を得、1H-NMRにより純品であることが明らかになった。

30

(R,R)-N-デシル酒石酸モノアミド(図3ai)(ナトリウム型)及び図3bf、(R,R)-N-オクチル酒石酸モノアミドも同様な2段階法により合成された。

実施例11-図3bh~bnの化合物の合成

温度計、追加したロート及び機械的攪拌装置を付けた500mLの三つ口の丸底フラスコ中にN-t-Boc-(S)プロリン(シグマケミカル社、13.69g、63.6mmol)、トリエチルアミン(6.44g、63.6mmol)及びジクロロメタン(250mL)を加えた。溶液を窒素雰囲気下、0~5℃まで冷却した。温度を5~10℃の間に維持しながら、ジクロロメタン(50mL)中のイソブチルクロロホルメート(アルドリッチケミカル社、8.69g、63.6mmol)を反応混合液に0.5時間かけて徐々に滴下して加えた。添加完了後、反応混合液を0~5℃で15分間攪拌した。それから、温度を5~10℃の間に維持しながら、ジクロロメタン(50mL)中の1-ドデシルアミン(11.79g、63.6mmol)を反応混合液に0.5時間かけて徐々に滴下して加えた。反応混合液を2時間0~5℃で攪拌し、室温まで温め、それから16時間攪拌した。反応混合液を塩酸水溶液(0.1N;2×100mL)、水酸化ナトリウム水溶液(0.1N;2×100mL)及びR.O.水(2×100mL)で抽出した。溶媒をロータリーエバポレーターで蒸発させ、残留する白色固体を一晩真空乾燥させ、粗生成物(24.02g)を99%収量で得た。1H-NMRスペクトルとHPLC分析(C18逆相、メタノール/水/酢酸移動相)により、目的物が得られた純品であることが明らか

40

50

になった。

上述の粗生成物 (24.0 g、62.7 mmol) をメタノール (160 mL) 中、濃塩酸 (12 N、480 mmol) と25 で16時間反応させることにより、N - ドデシル - (S) - プロリンアミドヒドロクロリドを得た。溶媒をロータリーエバポレーターで蒸発させ、残留する白色固体を一晩真空乾燥させ、粗生成物 (19.68 g) を98%収量で得た。1H - NMRスペクトルとHPLC分析 (C18逆相、メタノール/水/酢酸移動相) により、目的物が得られ純品であることが明らかになった。

この同じ方法を用いて、N - オクチル - (S) - バリンアミドヒドロクロリド (図3 b i)、N - デシル - (S) - バリンアミドヒドロクロリド (図3 b h)、N - テトラデシル - (S) - バリンアミドヒドロクロリド (図3 b j)、N - ドデシル - (S) - アラニンアミドヒドロクロリド (図3 b k)、N - ドデシル - (S) - ロイシニアミドヒドロクロリド (図3 b l) 及びN - ドデシル - (S) - イソロイシニアミドヒドロクロリド (図3 b m) を合成した。

10

#### 実施例12 ~ 17 対掌体の分離

界面活性剤をその臨界ミセル濃度 (cmc) 以上に水性環境に加えたとき、個々の界面活性剤分子は集合し、ミセルと呼ばれる構造を形成する。この構造のモデルを図4 (界面活性剤、ドデシル硫酸ナトリウムを例として示す) に示す。界面活性剤の長い疎水性尾部はその構造内に埋もれ、一方、極性の頭部の基は電解質の水と水和している。いったん試料を毛管内に注入すれば、電解質中で形成されたキラールなミセルと相互作用をする機会がある。もし、化合物またはその一部分が疎水性であるなら、ミセルの疎水環境内に分配されるであろう。

20

そのミセルはミセルに電気泳動的移動度を与える特有の電荷/質量比率を持つ。本発明の界面活性剤の移動度は約  $1 \sim 5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{V s e c}$  の間で変化する。その電気泳動的移動度の結果として、ミセルは特有の移動時間、 $t_{mc}$  で毛細管を通して移動するであろう、 $t_{mc}$  は毛細管の長ささと電界強度に依存する。被分析化合物がミセル内に分配されるとき、それもミセルの見かけ上の移動度を示すであろう。それから、もし分子が全て水相内に分配されるなら、電荷/質量比率で定義されたそれ自体の特有の電気泳動的移動度を持つだろう。図5において、ミセル移動度 ( $-4 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{V s}$ ) 及び電気浸透移動度 ( $+1 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{V s}$ )、並びにミセル内で50%、ミセル外の溶液中で50%の時間を過ごす中性の被分析化合物の見かけの移動度 ( $-1.5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{V s}$ ) のベクトル図を示す。いったんミセル内に分配されると、試料の被分析化合物はキラール中心と相互作用する機会を持つ。もし試料分子が一部の時間のみミセル内に分配し、試料の対掌体はキラール中心と異なる相互作用をするなら、2つの対掌体がわずかに異なった見かけの移動度を持ち、そして分離できるであろう。最大の分解能を与える分配の最適レベル、すなわちkは、方程式2で示すように分離系の効率と選択性により決定される。

30

#### 実施例12 ~ 17のための実験装置と条件

Waters Quanta<sup>R</sup> 4000 CEユニットを用いて、毛管電気泳動分離を行った。50  $\mu\text{m}$  内径  $\times$  60 cmの非被覆もしくはポリエチレングリコールで被覆した (J&W サイエンティフィック社 (J&W Scientific)) 溶融シリカ毛細管内で、検出のために52.5 cmの注入で分離を行った。印加電圧は12 kVで、20 ~ 60  $\mu\text{A}$  の範囲の電流が生じた。試料溶液に浸した毛細管の入口の末端を出口の末端より10 cmの高さまで2 ~ 5秒間上げることにより、注入を行った。カラム上でのUV検出は214 nmで行った。緩衝液をリン酸塩もしくはリン酸塩/ホウ酸塩ストックから調製し、界面活性剤を溶解させた後、所望のpHに調整した。データ収集は、Waters ExpertEase<sup>TM</sup>もしくはMillennium<sup>TM</sup>ソフトウェア [ウォーターズ株式会社 (Waters Corporation)、Milford, MA] を用いて行った。

40

#### 実施例12 - アテノロールの分離と分配に対する界面活性剤濃度の効果

分配を調節できることは本発明の重要な要素である。図6に示したC12 - カルバメート - 連結バリン界面活性剤 (図3 a) を使用したアテノロールの分離でこのことを証明した

50

。25 mM (図6A)の界面活性剤の濃度では、 $k = 0.8$ 、 $\beta = 1.04$ 及び分解能  $R_s = 1.0$ であった。界面活性剤の濃度を100 mM (図6B)にまで上げたとき、 $k$ は2.2及び分解能は2.5に上昇し、 $\beta$ は変わらなかった。このような方法で界面活性剤の濃度を変化させることにより分配を最適化した。大きな $k$ 値を持つ試料のためのシステムを最適化するために、はるかに低い濃度の界面活性剤を使用することができる。図7に示すように、25 mM (図7A)ではプロプラノロールはほとんど全てミセル内に分配し、対掌体は分離しなかった。しかし、5 mM (図7B)まで濃度を下げ $k$ を減少させることにより、分離が見られた。しかし、界面活性剤の濃度をcmcの範囲まで下げると、段数は急速に減少した。

#### 実施例13 - 疎水性の変動の効果

10

分配を調節するもう1つの方法は、界面活性剤の疎水性を変化させることである。図8は、バリンで修飾したBrj-30界面活性剤(図3f)を使用した疎水性ラセミ体、オクスプレノロールのキラール分離を示す。Brj界面活性剤は前に用いた炭化水素よりも親水性であるので、前述の実施例のミセル内に非常に強く分配する疎水性被分析化合物は分配における望ましい減少と改良された分離を示す。ポリエーテルやグリコールのような他の鎖の組成物も可能である。

#### 実施例14 - ハロゲン化した尾部の炭化水素の効果

界面活性剤の炭化水素鎖のハロゲン化を通して、分配を調節することも可能である。図9は、フッ素化した炭化水素で修飾したバリン(図3z)を使用したプビバカインの分離を示す。対応する炭化水素の界面活性剤は、これらの条件下ではミセル形成さえもしない。

20

#### 実施例15 - 電解液の疎水性の変動の効果

MEKC緩衝液に有機溶媒を加えることにより、分配も変化させ得る。このことを図10に示す、ここでプロプラノロールは25 mM (S) - N - ドデコキシカルボニルバリン(図3a)と30%アセトニトリルで分離される。図7Aでは、有機溶媒の非存在下で25 mMではプロプラノロールは完全にミセル内に分配されていたことを想起せよ。

#### 実施例16 - 選択性に対するキラール選択部を変えることの効果

キラール分離の選択性は、キラール選択部を変えることにより調節できる。種々のアミノ酸が使用され得るであろう。図11は、いくつかのPTH - アミノ酸の分離におけるいくつかのアミノ酸で修飾した界面活性剤の25 mMの濃度での使用を示す。図11Aは、バリンを基部とする界面活性剤(図3q)とフェニルグリシンを基部とする界面活性剤(図3s)を用いるPTH - アラニンの分離を示し、フェニルグリシンの界面活性剤が分離を示した。図11Bは、プロリン(図3u)、フェニルグリシン及びバリンを基部とする界面活性剤を用いるPTH - ノルバリンの分離を示す。この場合、三者すべていくらかの分離を示すけれども、フェニルグリシンの界面活性剤が最良の分離を示す。図11Cと11Dは、セリン(図3t)、バリン、プロリン及びフェニルグリシンを基部とする界面活性剤におけるPTH - トリプトファンの分離を示し、バリンの界面活性剤が最良の分離を示す。試料の被分析化合物のスクリーンを使用することにより、ある種のアミノ酸の選択部が他の物より良く作用することが明らかである。これらのデータを表2にまとめる。

30

表 2

6つの異なったアミノ酸で修飾した界面活性剤により得られたいくつかの対掌体対の $\alpha$ 値

化合物	バリン	フェニルアラニン	アスパギン酸	セリン	プロリン	3級ロイシン
ベンゾイン	1.057	1.039	1.000	1.000	1.000	1.000
PTH-アラニン	1.000	1.067	1.000	-	1.000	1.000
PTH-ノルロイシン	1.122	1.213	1.000	1.096	1.000	1.000
PTH-ノルバリン	1.119	1.181	1.000	1.000	1.040	1.000
PTH-セリン	1.000	-	1.000	-	-	1.000
PTH-トリプトファン	1.266	1.196	1.000	1.108	1.036	1.000
PTH-バリン	1.125	1.180	1.000	1.116	1.035	1.000

10

20

非アミノ酸のキラールな選択部も使用され得る。アミノアルコール、酒石酸を含む有機酸、シクロデキストリン、単糖類、オリゴサッカリド及び他の有機キラール分子はこの目的のために使用され得る。バリノール(図3k)(12A)、酒石酸(図3ag)(12B)及び(1S, 2S)-N-2-アミノ-1-フェニル-1,3-プロパンジオールドデカンアミド(図3ae)(12C)を用いる実施例を図12に示す。

#### 実施例17 - 選択性に対するリンカーの効果

キラール中心に隣接する化学的な環境も選択性に重要な変化を導き得る。キラール中心の環境を調節する予期されぬ効果的な方法は、界面活性剤の疎水性尾部にキラール中心を連結させる化学基を変えることである。図13に示すように、スルホンアミドリンカー(図3h)(13A)、ウレアリンカー(図3g)(13B)及びカルバメートリンカー(図3a)(13C)の使用は、特定の分離の選択性を劇的に変化させることができる。表3は、これらの3つのリンカーを含む界面活性剤を使用した1セットの条件下でスクリーニングされた14個の化合物のリストを示す。

30

表 3

ウレア、スルホンアミド及びカルバメートを連結した界面活性剤に対する 14 個のラセミ体の試験の  $\alpha$  値と分解能の差

被分析化合物	ウレア $\alpha$	カルバメート $\alpha$	スルホンアミド $\alpha$	ウレア Rs	カルバメート Rs	スルホンアミド Rs
アテノロール	1.03	1.04	1.02	0.30	0.80	0.50
テビカイン	1.14	1.05	1.04	2.16	1.16	0.80
エフェドリン	1.09	1.10	1.08	1.56	1.81	0.89
ホマトロピン	1.10	1.03	1.00	1.20	0	0
ケタミン	1.04	1.01	1.00	1.03	0.24	0
メブプロロール	1.03	1.06	1.00	0.20	1.00	0
N-メチルシュドエフェドリン	1.04	1.32	1.29	0.25	2.50	2.00
ナドロール (1)	1.02	1.03	1.04	0.30	0.55	1.15
ナドロール (2)	1.00	1.00	1.05	0	0	0.86
ナルエフェドリン	1.06	1.10	1.06	1.16	1.74	1.05
ナルフェニルエフリン	1.05	1.09	1.06	0.90	1.79	0.73
オクトミン	1.02	1.05	1.02	0.60	0.54	0.23
ピンドロール	1.03	1.06	1.04	0.25	1.06	0.73
テルブタリン	1.06	1.01	1.03	2.12	0.40	0.69

明らかに、最適の選択性と分解能は試料である被分析化合物と界面活性剤の特異的な相互作用に依る。表 3 に示される  $\alpha$  値の差異は小さいようであるけれども、0.01 ~ 0.03 の違いは劇的に性能を改良できる。図 14 は、1.01 の  $\alpha$  値 (14 A、カルバメートリンカー) 及び 1.04 の  $\alpha$  値 (14 B、ウレアリンカー) を用いたキラールの分離の 1 例を示す。これは同様な段数と分配で、分解能では 4 倍の増加を示す。分離の質における改良は劇的である。界面活性剤は混合物でも使用でき、単一の界面活性剤よりも良い分離が行われる。表 4 は、これらの界面活性剤の 3 分子混合物におけるデータを示し、14 個の化合物中、13 個の分離に効果がある。

10

20

30

40

表 4

15 mM の各スルホンアミド、ウレアー及びカルバメート  
 - 連結界面活性剤で分離した14個のラセミ体の分離データ

被分析化合物	k	R <sub>s</sub>	α測定値
アノロール	2.18	1.20	1.03
アバフィン	10.9	2.22	1.06
エフェドリン	5.18	3.06	1.07
ホマトロピン	4.74	2.07	1.04
ケタミン	3.28	1.05	1.02
メトプロロール	8.42	1.53	1.03
N-メチルシュドエフェドリン	2.80	6.17	1.19
ナドロール (1)	4.49	1.60	1.04
ナドロール (2)	4.72	1.12	1.05
ナルエフェドリン	4.39	2.67	1.06
ナルフェニルエフィリン	1.69	2.87	1.08
オクトパミン	0.97	1.16	1.03
ピンドロール	7.09	1.73	1.04
テルブタリン	2.88	0	1.00

すべての課題を解決する普遍的なキラール中心、リンカー、尾部もしくは頭部基は存在しない。選択性と分配を変動させる柔軟性は、キラール分離を総体的に成功させるためには決定的である。カラムの交換がオペレーターの介入を含むHPLCやGCの状況と異なり、多くのCE機器は自動的な緩衝液の選択が可能である。このように、本明細書中に述べられた界面活性剤の1セットは最良の分離を見つけ出すために自動的にスクリーニングで

#### 実施例 18 - キラール分離に対する pH の効果

上述のように、本発明の正常な操作において被分析化合物はミセル内に分配されなければならない。いくつかの例では、この相互作用は水性環境の pH を変化させることにより調節できる。例えば、典型的には負に荷電した被分析化合物は、負に荷電したミセル内には分配しない。2つの酸の実施例を図15に示す。しかし、もし pH を下げ被分析化合物のカルボン酸の官能基がプロトン化されたら、そのときは今中性の被分析化合物がさらに容易にミセル内に分配することができるだろう。しかし、前に述べた本発明の態様は界面活性剤の溶解性に必須のカルボン酸の官能基をも含む。これらの界面活性剤が中性になると、もはや溶解出来ない。それ故、使用可能な pH 範囲で荷電状態にある荷電した頭部基が

酸の分離を可能にするだろう。しかし、スルフェートのような異なった頭部基の付加はこの性質を劇的に変化させる。1つの態様において、スルフェート基がC12アミド連結のバリノールの界面活性剤(図3m)のカルボン酸の官能基と置換される。今、この界面活性剤を使用しpHを2.0に下げると分離が行われ得る。図16は、pHを6又はそれ以上に上げると不可能であった図15における有機酸のキラール分離を示す(16Aはプログルミド、16BはCBZ-トリプトファン)。スルホン酸、スルホネート、アルコール及びジオールのような他の頭部基も可能である。

図17に示すように、本発明を使用して分離した別の型の分子は、6-キノリルアミノカルボニルを付加したアミノ含有化合物である。図18に典型的な分離を示す。

#### 実施例19 - 電気浸透流の効果

溶解シリカ毛細管内での電気泳動の副効果の1つは、電気浸透流と呼ばれる大きな液体流動である。この液体流動は、キラール分離の分離能へ貢献することなくすべての分離組成物を同じ速度で毛細管内を移動させる。図19にこれを示す。pH4.0(19A)では、浸透流の移動度は $1.4 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{Vs}$ で一方、ミセルの移動度は $-4.4 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{Vs}$ であった。pHを6.0(19B)まで上げると、ミセルの移動度は同じであるのに対し、浸透流の移動度は $2.28 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{Vs}$ に上昇した。この電気浸透流の増強は見かけ上の分離能に影響を与えなかったが、総体的に数分間の分析時間の増加となった。本発明の別の態様において、ある化学物質で壁を修飾した溶解シリカ毛細管を使用することにより、電気浸透流を大幅に下げた。図20にこの態様を示す、pH7で25mMの(S)-N-ドデコキシカルボニルバリンを使用した(20Aは被覆した毛細管、 $\mu_{os} = 0.7 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{Vs}$ 、20Bは被覆しない毛細管、 $\mu_{os} = 5.7 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{Vs}$ )。この場合、電気浸透流の存在は分析時間を短縮するが、分離能を改良しない。

#### 実施例20 - 尿中のエフェドリン対掌体の検出

MEKCは、生理学的試料の分離を行うためにも有用である。図21は、未処理の尿中のエフェドリン対掌体の分離を示すエレクトロフェログラム(electropherogram)である。図21(A)は、100ug/mLのラセミ体エフェドリン標準液を示す。ベースラインの分離が17分と18分の間で起きる。図21(B)は、同じ条件下で泳動した100ug/mLのエフェドリンをスパイクした尿の試料を示すが、ほとんど同じ時間に分離が起こる。図21(C)は、尿の対照である。17分と18分の間の領域に干渉するピークが1つも見られないことに注目する。尿試料中のキラール化合物及び非キラール化合物の両者を分離する可能性は本方法の広い適応性を示すものである。

条件：毛細管50um内径×60cm長さ；+15kV印加電圧；214nmで検出，0.1秒間定常値；10ポイント/秒でデータの取得、5秒間で注入。緩衝液は25mMのリン酸塩/ホウ酸塩、pH8.8と50mMのN-ドデコキシカルボニルバリンであった。試料の調製はる過のみであった。

#### 実施例21 - 対掌体選択性を強化する尾部

尾部が対掌体選択性を強化することを明らかにするために、同一リンカー(カルバメート)、同一キラール選択部(バリン)及び同一頭部(カルボキシレート)を持つが、尾部の異なる4個の新しいキラール界面活性剤を使用して、10個の被分析化合物で得られた値を比較した。4個の新しいキラール界面活性剤は(S)-N-ドデシルオキシエチレン-(4)-オキシカルボニルバリン(図3f、Brj-30尾部)、(S)-N-ドデコキシカルボニルバリン(図3a、直鎖状炭化水素尾部)、(S)-N-(2R)-オクトキシカルボニルバリン(図3av、キラール(R)、分岐状炭化水素尾部)及び(S)-N-(2S)-オクトキシカルボニルバリン(図3au、キラール(S)、分岐状炭化水素尾部)であった。すべての分離をpH8.8で、25mM(直鎖状炭化水素尾部)、50mM(Brj-30尾部)あるいは100mM(R及びS分岐状炭化水素尾部)のいずれかの界面活性剤を用いて行った。

それぞれの尾部においてテストした化合物に対する値を下記表5に示す。ナドロール、オクトパミン及びテルブタリンの場合を除いて、直鎖状炭化水素尾部は一般的に最も高い

10

20

30

40

50

値を示した。テルブタリンでは(S)-N-(2R)-オクトキシカルボニルバリン(R尾部)が最高の値を示し、ナドロール(1)では(S)-N-(2S)-オクトキシカルボニルバリン(S尾部)が最高の値を示し、ナドロール(2)では(S)-N-ドデシルオキシエチレン-(4)-オキシカルボニルバリンが最高の値を示し及びオクトパミンには(S)-N-(2S)-オクトキシカルボニルバリン(S尾部)が最高の値を示した。少なくとも1つの尾部により、すべての化合物に対する値が異なっていたことに注目せよ。

表 5

被分析化合物	Brij-30 尾部 $\alpha$	炭化水素 尾部 $\alpha$	キラールR 尾部 $\alpha$	キラールS 尾部 $\alpha$
ゲバフィン	1.02	1.05	1.01	1.02
エフェリン	1.03	1.10	1.07	1.10
ホマトピン	1.01	1.03	1.03	1.02
ケタミン	1.00	1.01	1.00	1.00
ナドロール(1)	1.03	1.03	1.03	1.04
ナドロール(2)	1.04	1.00	1.00	1.00
ルフェニルエフィン	1.05	1.09	1.06	1.09
オクトパミン	1.03	1.05	1.04	1.07
ピンドロール	1.04	1.06	1.05	1.05
テルブタリン	1.03	1.01	1.05	1.00

他の型の尾部も対掌体選択性に影響する。表6は、(S)-N-ドデカノイルバリン(炭化水素尾部、アミドリンカー、バリンキラール選択部、カルボキシレート頭部)に対する(S)-N-パーフルオロオクタノイル-(L)-バリン(パーフルオロ尾部、アミドリンカー、バリンキラール選択部、カルボキシレート頭部)で得られた対掌体選択性を比較する。すべての場合において、2つの尾部は異なる対掌体の選択値を示した。条件はpH 8.8における25mM界面活性剤であった。

表 6

被分析化合物	パーフルオロ 尾部 $\alpha$	炭化水素 尾部 $\alpha$
デバフィン	1.07	1.06
エフェリン	1.04	1.05
ホマトロビン	1.00	1.02
メトフロール	1.00	1.01
ナドロール (1)	1.03	1.00
ナドロール (2)	1.02	1.00
テルブタリン	1.03	1.00

10

## 実施例 2 2 - 対掌体選択性を強化する頭部

親水性の頭部が対掌体選択性を強化することを示すため、6つの新しいキラール界面活性剤に基づく11個の化合物で得られた値を比較した。これらの6つの界面活性剤はすべてC12尾部とバリンベースのキラール選択部を持つ。スルフェートとカルボキシレートの頭部基を3つのリンカー（アミド、カルバメート及びウレア）について比較した。6つの新しい界面活性剤は、(S)-N-ドデカノイルバリン（図3q、アミド-バリン-カルボキシレート）、(S)-N-ドデコキシカルボニルバリン（図3a、カルバメート-バリン-カルボキシレート）、(S)-N-ドデシルアミノカルボニルバリン（図3g、ウレア-バリン-カルボキシレート）、(S)-2-[(1-オキソドデシル)-アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタン（図3m、アミド-バリノール-スルフェート）、(S)-2-[(1-オキソドデコキシ)アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタン（図3l、カルバメート-バリノール-スルフェート）及び(S)-2-[(1-オキソドデシルアミノ)アミノ]-3-メチル-1-スルホオキシブタン（図3n、ウレア-バリノール-スルフェート）である。条件は、pH 8.8で25mMの界面活性剤であった。

20

30

下記表7は、それぞれのリンカーについてスルフェート対カルボキシレートの比較データを示す。ほとんどの場合、値は2つの頭部基により異なっていた。一般的にカルボキシレート基の方が優れていた。



表 8

被分析化合物	Ala	Asp	Ile	Leu	t-Leu	Thre	Val
アフェタミン	1.00	1.00	1.00	1.02	1.00	1.00	1.00
ピピカイン	1.03	1.00	1.13	1.03	1.06	1.09	1.05
エフェドリン	1.08	1.04	1.11	1.14	1.09	1.07	1.10
ホマトロピン	1.02	1.03	1.02	1.03	1.00	1.00	1.03
ケタミン	1.01	1.00	1.01	1.02	1.02	1.00	1.01
メトプロロール	1.04	1.03	1.06	1.08	1.04	1.05	1.06
ナルエフェドリン	1.07	1.04	1.10	1.11	1.09	1.07	1.10
ナルフェニルエフェリン	1.10	1.04	1.08	1.10	1.06	1.07	1.09
ピンドロール	1.05	1.04	1.06	1.08	1.04	1.06	1.06
テルブタリン	1.01	1.00	1.00	1.00	1.00	1.01	1.01

10

20

#### 実施例 24 - 親水性の頭部基は分配に影響する

前述のように、スルフェート頭部基は酸性 pH で使用される能力においてはカルボキシレート頭部基以上に有利な点がある。酸性 pH では酸の荷電が最小であるので、親水性の酸を分離することが可能であり、それらが完全にアニオンである中性 pH よりも分配が高い。中性 pH における低分配の理由は、アニオンのミセルによるアニオンの被分析化合物の荷電反発によるものである。荷電の引力は分配を高めるであろうから、正に荷電した頭部基もアニオン化合物の分配と分離能の改良に導く。例えば、図 25 は、pH 3.0 で 25

30

#### 実施例 25 - 分配と対掌体選択性に影響する pH

本研究では、pH 7.0 と 8.8 において、25 mM の (S) - N - ドデコキシカルボニルバリン (図 3 a) を 12 個の塩基性被分析化合物と 1 つの中性化合物 (ベンゾイン) を分離するために使用した。下記表 9 は、2 つの pH における 13 個の化合物すべての自由溶液移動度データ ( $\mu$ )、容積因子値 ( $k$ ) 及び  $\beta$  値を示す。ベンゾイン (両 pH で中性) を除くすべての被分析化合物について、自由溶液移動度は pH 7.0 の方が高かった。すべての塩基性被分析化合物は pH 7 ~ 9 の範囲の pKa 値を持つアミノ基を含むことから、これらの結果は予想された。より低い pH では、化合物はより正に荷電し移動度が増加した。ベンゾインを除くすべての被分析化合物において、容積因子値は pH 7.0 の方が高かった。これはアニオンのミセルとカチオンの被分析化合物の間のイオン引力の増加によるものである。最後に  $\beta$  値はすべての塩基性化合物において同じか、pH 8.8 よりも pH 7.0 の方が高かった。特にピピカイン、ケタミン及びメトプロロールについては  $\beta$  値が大きく増加していることに注目せよ。pH 7.0 の方が低い対掌体の選択性を示す塩基はなかった。

40

このデータは、アニオンミセルのカチオン被分析化合物の分配と対掌体選択性を決定する際の電荷の重要性を明らかに示している。アニオンの被分析化合物とカチオンのミセルについても同様な傾向が予想され得る。

表 9

被分析化合物	$\mu$		$k$		$\alpha$	
	pH 7.0	pH 8.8	pH 7.0	pH 8.8	pH 7.0	pH 8.8
アノール	1.44	1.29	1.94	1.56	1.05	1.04
ベンゾイン	0	0	2.35	2.41	1.04	1.04
カバイン	1.54	0.41	40.5	7.62	1.26	1.05
エフェリン	2.16	1.79	6.60	3.77	1.14	1.10
ホマトロビン	1.79	1.66	4.10	3.35	1.03	1.03
ケタミン	1.58	0.13	12.5	2.20	1.06	1.01
メトプロロール	1.58	1.30	26.5	7.44	1.19	1.06
N-メチルシュドエフェリン	2.45	1.44	4.05	1.96	1.38	1.32
ナルエフェリン	2.18	1.42	6.10	3.44	1.12	1.10
ナルフェニルエフェリン	1.99	0.94	2.02	1.01	1.09	1.09
オクトミン	1.97	1.03	1.09	0.64	1.05	1.05
ピンドロール	1.84	1.44	9.50	6.70	1.09	1.06
テルブタリン	1.82	1.60	3.32	2.40	1.02	1.01

## 実施例 26 - 溶解性を可能にする尾部の長さ

カルボキシレート頭部基を含むキラル界面活性剤において、それ以下では界面活性剤が不溶化する最小 pH があることがわかった。この最小 pH 値は炭化水素尾部の長さの関数である。例えば、カルバメートリンカー、バリンキラル選択部及びカルボキシレート頭部基を含む界面活性剤において、C14 尾部を持つ誘導体、(S)-N-テトラデコキシルカルボニルバリンは pH 7.5 以下で不溶であり、C12 尾部を持つ誘導体、(S)-N-ドデコキシルカルボニルバリンは pH 6.5 以下で不溶であり、C10 尾部を持つ誘導体、(S)-N-デコキシルカルボニルバリンは pH 5.5 以下で不溶であり、及び C8 尾部を持つ誘導体、(S)-N-オクトキシルカルボニルバリンは pH 4.5 以下で不溶である。イオン化できる化合物において対掌体選択性と分配は pH に影響されるので(上記参照)、広い範囲の pH の溶解性を持つことは重要である。より広い pH 範囲の溶解性の結果、より高い臨界ミセル濃度 (cmc) が得られる。

より良い pH 溶解性により尾部の長さが分離能をいかに改良できるかという 1 例を、ニコチン対掌体の分離、図 26A と 26B で示す。図 26A で示す分離は、pH 8.0 で 100 mM の (S)-ドデシルアミノカルボニルバリン (図 3g、C12 尾部) を用いて得られた。不完全な分離能とピークのテーリングが明らかであった。テーリングは界面活性剤が pH 7.8 では不溶であるという事実によるためであり、pH 8.0 の分析では界面活性剤は壁に結合していた。対掌体選択性が低過ぎたため、分離が不完全であった。図 26B で示す分離は、pH 7.5 で 100 mM の (S)-デシルアミノカルボニルバリン (図 3ay、C10 尾部) を用いて得られた。ベースラインの分離と対称的なピークが得られ

10

20

30

40

50

た、この pH では、C10 誘導体は溶解最小 pH ( pH 6 . 7 ) より十分上であり、より高い対掌体選択性が得られたためである。

#### 実施例 27 - アスパルテーム立体異性体の分離

アスパルテーム、すなわち Nutrasweet™ ( G D S e a r l e , C h i c a g o , I L ) はダイエット清涼飲料から薬剤に至る製品に使用される人工甘味料である。アスパルテームはアスパラギン酸とフェニルアラニンのジペプチドで、C 末端がメチルエステルで保護されている。ジペプチドは 2 つのキラル中心を持つので、全部で 4 つの立体異性体 ; LL , DD , LD , DL が可能である。LL 異性体が甘味料として市販されている。しかし、最終生成物と原料物質の両方における他の立体異性体をも同様にモニターすることが重要である。

図 27 は、pH 3 . 5 で 25 mM の ( S ) - 2 - [ ( 1 - オキシドデシル ) - アミノ ] - 3 - メチル - 1 - スルホオキシブタン ( 図 3 m ) を用いた 4 つの立体異性体すべての分離を示す。4 つの立体異性体は 19 分以内でベースラインを分離した。22 分と 24 分の遅いピークはおそらく主要な異性体の分解産物によるものであろう。

#### 実施例 28 - UV バックグラウンドに対するリンカーの効果

キラル M E C C 緩衝液のバックグラウンド UV 吸収に対するリンカーの影響を示すために、次の実験を行った：

( S ) - N - ドデカノイルバリン ( アミドリンカー )、( S ) - N - ドデシルアミノカルボニルバリン ( ウレアリンカー ) 及び ( S ) - N - ドデコキシカルボニルバリン ( カルバメートリンカー ) の 25 mM 溶液をそれぞれ、25 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  / 25 mM  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  緩衝液中で調製した。50  $\mu\text{m}$  内径の毛細管と 214 nm での UV 検出を用いて、脱イオン水を真空で毛細管内に吸引し吸光度を 0 . 000 吸光度ユニットにセットした。それから、対照緩衝液、25 mM の ( S ) - N - ドデカノイルバリン緩衝液、25 mM の ( S ) - N - ドデシルアミノカルボニルバリン緩衝液及び 25 mM の ( S ) - N - ドデコキシカルボニルバリン緩衝液を真空で毛管内に吸引し、UV 吸光度を測定した。各溶液の吸光度を下記表 10 に示す。

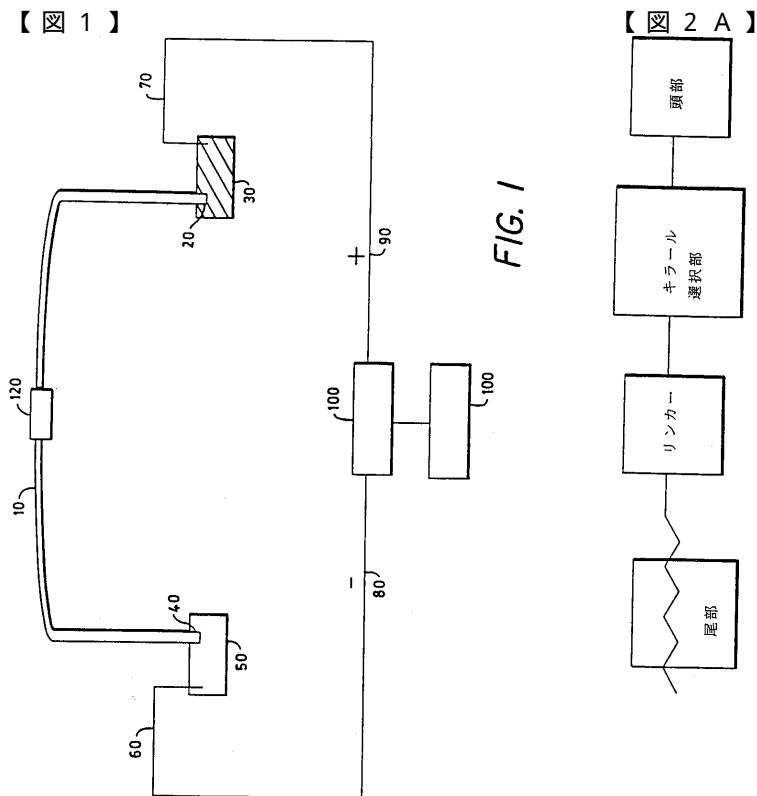
表 10

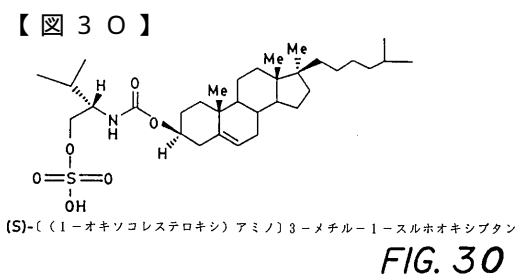
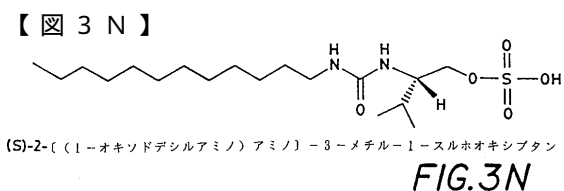
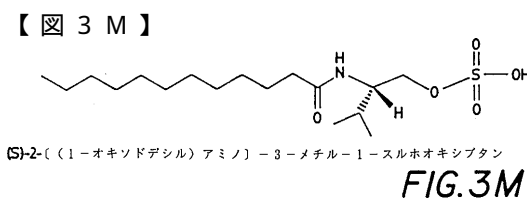
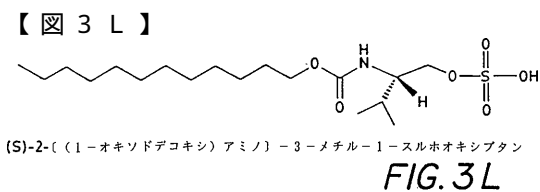
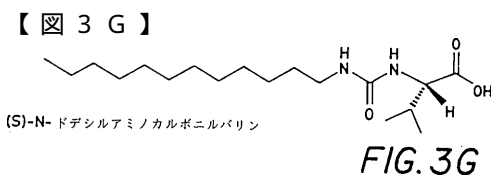
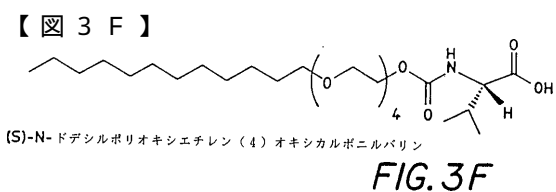
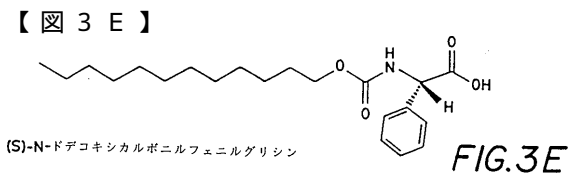
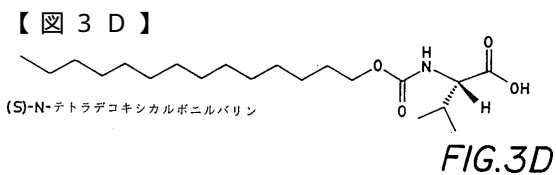
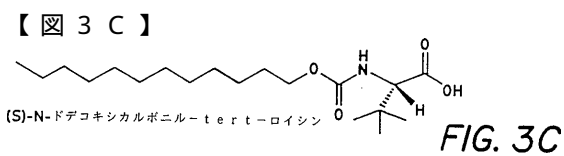
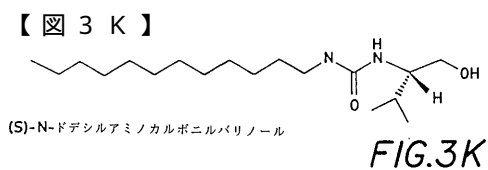
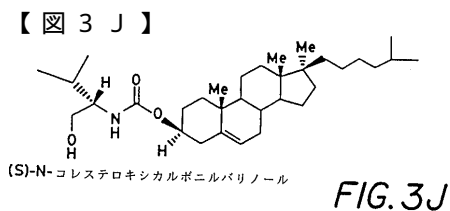
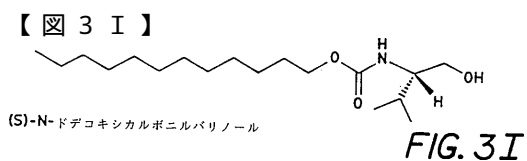
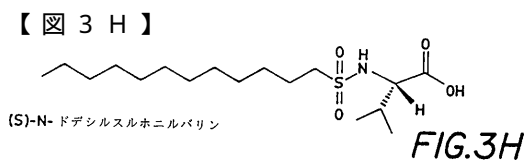
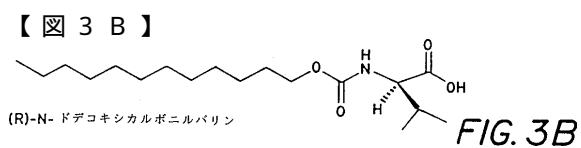
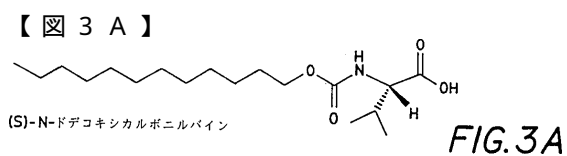
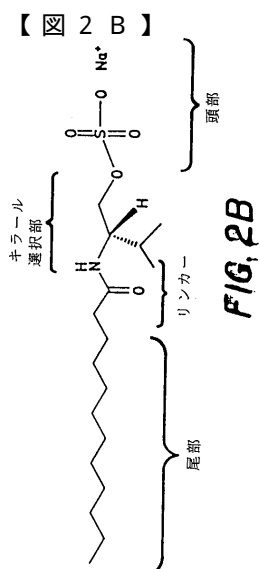
溶液	吸光度 (吸光度 単位)
ブランク 緩衝液	0.000
緩衝液中 25 mM アミドリンカー	0.037
緩衝液中 25 mM ウレアリンカー	0.026
緩衝液中 25 mM カルバメートリンカー	0.007

表から明らかなように、アミドリンカーはウレアの吸光度の 1 . 4 倍でカルバメートの吸光度の 5 . 3 倍という最高の吸光度となった。CE において、高いバックグラウンドの吸光度は、ノイズレベルを上げ、検出の直線範囲を狭めるので重大な不利益である。2 つのアミド基を持つ界面活性剤は、( 界面活性剤の他の部分が UV 不活性だとすると ) 1 つのアミド基だけを持つ界面活性剤の約 2 倍の吸光度を示すであろうことに注目せよ。UV 吸収検出器を使用するとき、キラル界面活性剤において、カルバメートリンカーの大きな有利性ばかりでなくアミドリンカーの不利な面をこのデータは明確に示す。

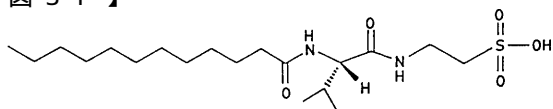
上述の発明は明解さと理解容易のために図面と実施例により記述したけれども、追加した請求の範囲にのみ限定され、本発明の範囲内で一定の変化と修正をもって実施され得ることは明らかであろう。例えば、キラル選択部は 1 つ又はそれ以上のキラル炭素であってもよく、互いに近接して配列されてもよく、ある距離だけ離れていてもよい。しかし、ここに示す酒石酸誘導体は多数のキラル選択部の配列の 1 例に過ぎない。キラル選択

部は特に限定されず、むしろ想像できるキラール分子のどんなクラスから選んでもよく、これらも本発明の範囲内に含まれる。同様に、その分子の尾の部分も、第一義的にはキラール被分析化合物と疎水性の相互作用（分配）を高めるために存在しているけれども、本明細書に記述するようにキラール炭素を含んでもよい。キラール中心は、被分析化合物のキラール中心と相互作用できるように尾部内のどこに位置しても構わない。頭部基は、ミセルを支持する溶媒中に分子を溶解させる第一義的機能を果たし、対掌体選択性を強化する限りはどんな構造であっても構わない。キラール選択部のキラール選択性を強化するどんなリンカー分子も本発明の範囲内に含まれる。





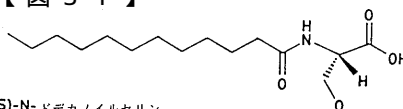
【 図 3 P 】



(S)-2-((1-オキソ-N-ドデカノイルバリン) アミノ)エタンスルホン酸

FIG.3P

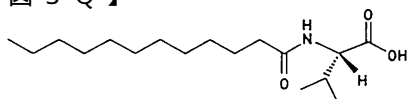
【 図 3 T 】



(S)-N-ドデカノイルセリン

FIG.3T

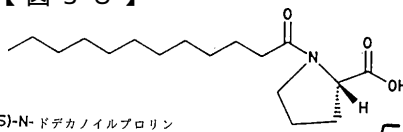
【 図 3 Q 】



(S)-N-ドデカノイルバリン

FIG.3Q

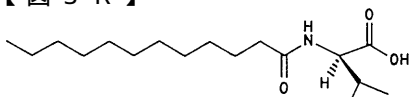
【 図 3 U 】



(S)-N-ドデカノイルプロリン

FIG.3U

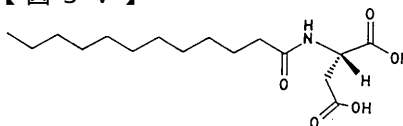
【 図 3 R 】



(R)-N-ドデカノイルバリン

FIG.3R

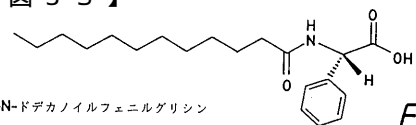
【 図 3 V 】



(S)-N-ドデカノイルアスパラギン酸

FIG.3V

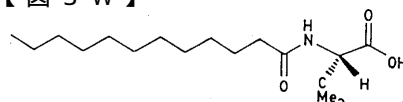
【 図 3 S 】



(S)-N-ドデカノイルフェニルグリシン

FIG.3S

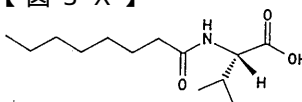
【 図 3 W 】



(S)-N-ドデカノイル-tert-ロイシン

FIG.3W

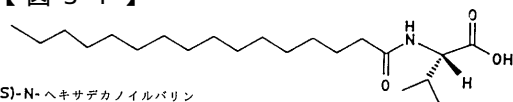
【 図 3 X 】



(S)-N-オクタノイルバリン

FIG.3X

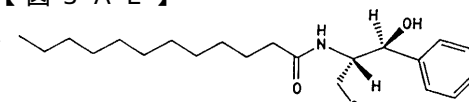
【 図 3 Y 】



(S)-N-ヘキサデカノイルバリン

FIG.3Y

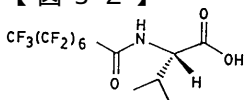
【 図 3 A E 】



(1S,2R)-N-アミノ-1-フェニル-1,3-プロパンジオールドデカンアミド

FIG.3AE

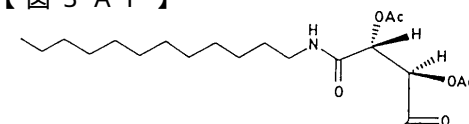
【 図 3 Z 】



(S)-N-ペンタデカフルオロオクタノイルバリン

FIG.3Z

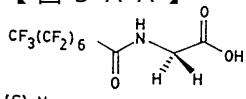
【 図 3 A F 】



(R,R)-N-ドデシル-O, O'-ジアセチル酒石酸モノアミド  
(M=H, Et3NH+ 又は1属金属)

FIG.3AF

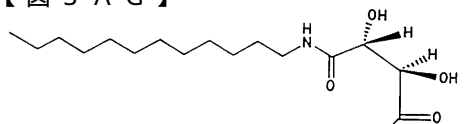
【 図 3 A A 】



(S)-N-ペンタデカフルオロオクタノイルグリシン

FIG.3AA

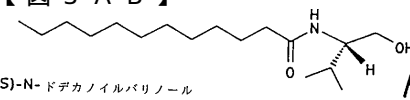
【 図 3 A G 】



(R,R)-N-ドデシル酒石酸モノアミド  
(M=H, Et3NH+ 又は1属金属)

FIG.3AG

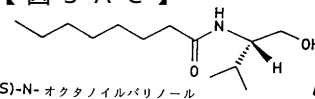
【 図 3 A B 】



(S)-N-ドデカノイルバリンオール

FIG.3AB

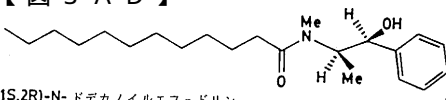
【 図 3 A C 】



(S)-N-オクタノイルバリンオール

FIG.3AC

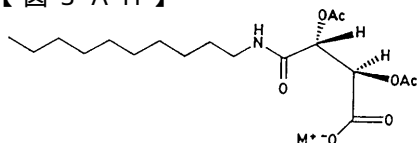
【 図 3 A D 】



(1S,2R)-N-ドデカノイルエフェドリン

FIG.3AD

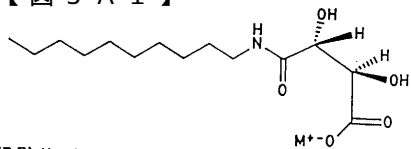
【 図 3 A H 】



(R,R)-N- デシル- $O, O'$ -ジアセチル酒石酸モノアミド  
(M=H, Et3NH+ 又は 1 価金属 )

FIG.3AH

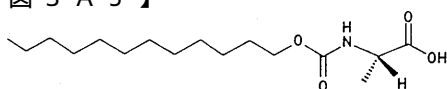
【 図 3 A I 】



(R,R)-N- デシル酒石酸モノアミド  
(M=H, Et3NH+ 又は 1 価金属 )

FIG.3AI

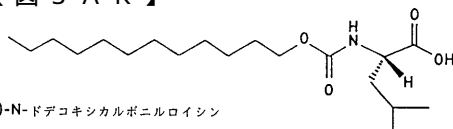
【 図 3 A J 】



(S)-N- ドデコシカルボニルアラニン

FIG. 3AJ

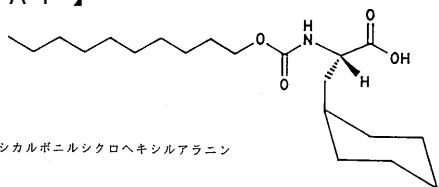
【 図 3 A K 】



(S)-N- ドデコシカルボニルロイシン

FIG. 3AK

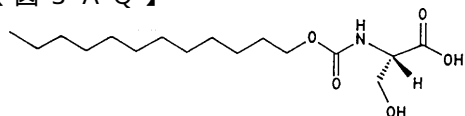
【 図 3 A P 】



(S)-N-ドデコシカルボニルシクロヘキシルアラニン

FIG. 3AP

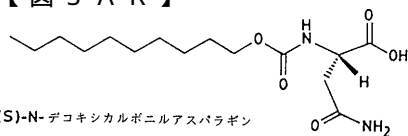
【 図 3 A Q 】



(S)-N- ドデコシカルボニルセリン

FIG. 3AQ

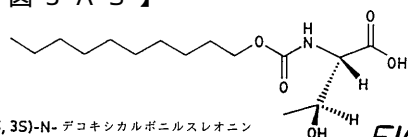
【 図 3 A R 】



(S)-N-ドデコシカルボニルアスパラギン

FIG. 3AR

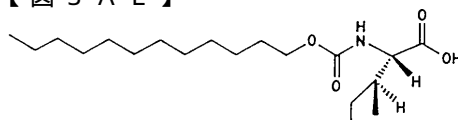
【 図 3 A S 】



(2S,3S)-N-ドデコシカルボニルスレオニン

FIG. 3AS

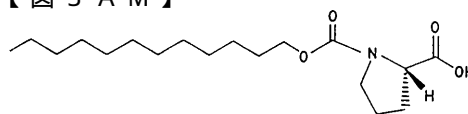
【 図 3 A L 】



(2S,3S)-N-ドデコシカルボニルイソロイシン

FIG.3AL

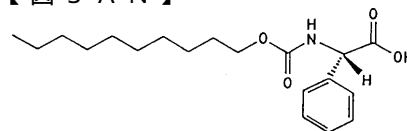
【 図 3 A M 】



(S)-N-ドデコシカルボニルプロリン

FIG.3AM

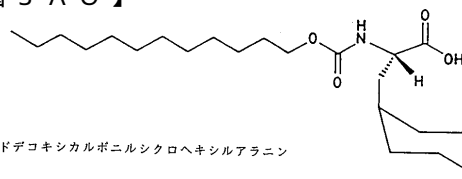
【 図 3 A N 】



(S)-N-ドデコシカルボニルフェニルグリシン

FIG. 3AN

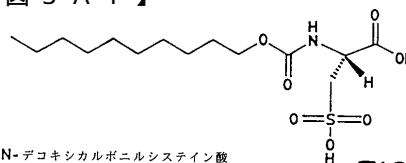
【 図 3 A O 】



(S)-N-ドデコシカルボニルシクロヘキシルアラニン

FIG. 3AO

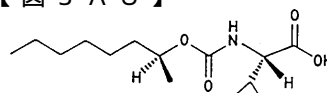
【 図 3 A T 】



(S)-N-ドデコシカルボニルシステイン酸

FIG. 3AT

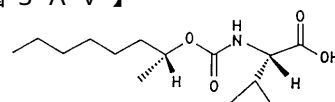
【 図 3 A U 】



(S)-N-(2S)-オクトキシカルボニルバリン

FIG. 3AU

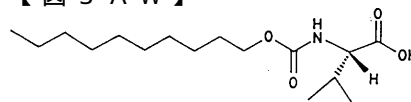
【 図 3 A V 】



(S)-N-(2R)-オクトキシカルボニルバリン

FIG. 3AV

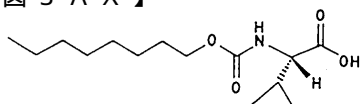
【 図 3 A W 】



(S)-N-ドデコシカルボニルバリン

FIG. 3AW

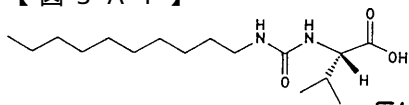
【 図 3 A X 】



(S)-N-オクトキカルボニルバリン

FIG. 3AX

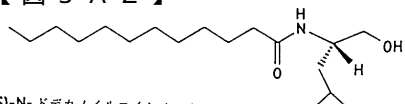
【 図 3 A Y 】



(S)-N-デシルアミノカルボニルバリン

FIG. 3AY

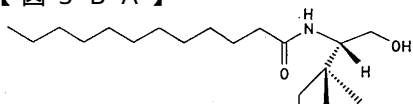
【 図 3 A Z 】



(S)-N-ドデカノイルロイシノール

FIG. 3AZ

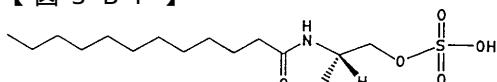
【 図 3 B A 】



(S)-N-ドデカノイルイソロイシノール

FIG. 3BA

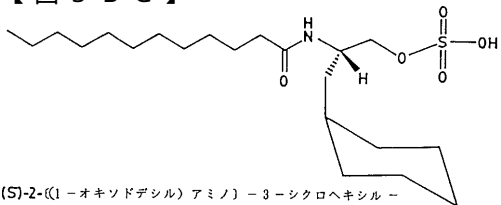
【 図 3 B F 】



(S)-2-((1-オキソドデシル)アミノ)-1-スルホオキシプロバリン

FIG. 3BF

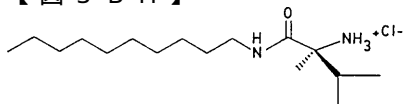
【 図 3 B G 】



(S)-2-((1-オキソドデシル)アミノ)-3-シクロヘキシル-1-スルホオキシプロバリン

FIG. 3BG

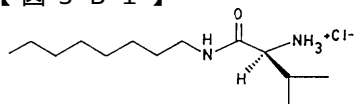
【 図 3 B H 】



N-デシル-(S)-バリンアミド ヒドロクロリド

FIG. 3BH

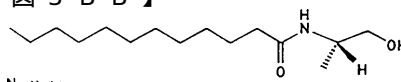
【 図 3 B I 】



N-オクチル-(S)-バリンアミド ヒドロクロリド

FIG. 3BI

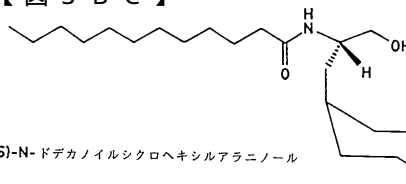
【 図 3 B B 】



(S)-N-ドデカノイルアラニノール

FIG. 3BB

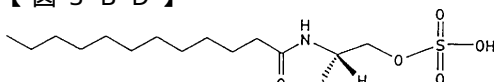
【 図 3 B C 】



(S)-N-ドデカノイルシクロヘキシルアラニノール

FIG. 3BC

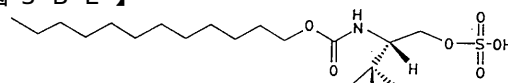
【 図 3 B D 】



(S)-2-((1-オキソドデシル)アミノ)-4-メチル-1-スルホオキシペンタン

FIG. 3BD

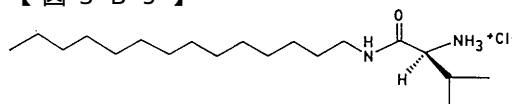
【 図 3 B E 】



(S)-2-((1-オキソドデシル)アミノ)-3-メチル-1-スルホオキシペンタン

FIG. 3BE

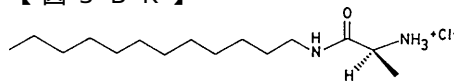
【 図 3 B J 】



N-テトラデシル-(S)-バリンアミド ヒドロクロリド

FIG. 3BJ

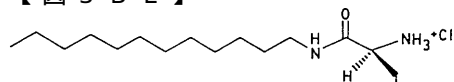
【 図 3 B K 】



N-ドデシル-(S)-アラニンアミド ヒドロクロリド

FIG. 3BK

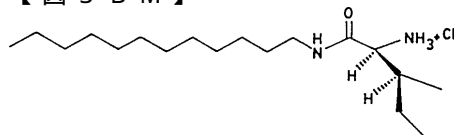
【 図 3 B L 】



N-ドデシル-(S)-ロイシンアミド ヒドロクロリド

FIG. 3BL

【 図 3 B M 】



N-ドデシル-(S)-イソロイシンアミド ヒドロクロリド

FIG. 3BM

【 図 3 B N 】

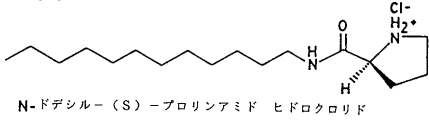


FIG.3BN

【 図 3 B O 】

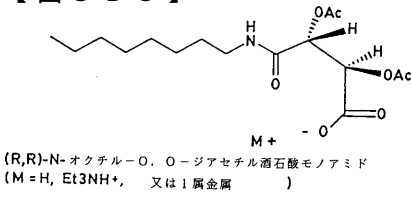


FIG.3BO

【 図 3 B P 】

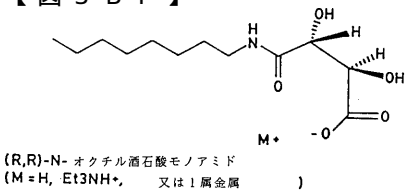
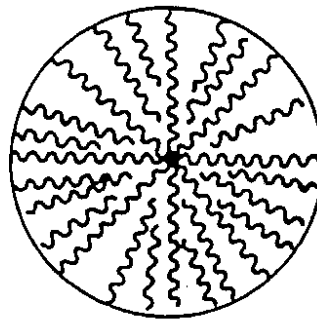


FIG.3BP

【 図 4 】  
ミセル



60 Å

FIG.4

【 図 5 】  
(+)

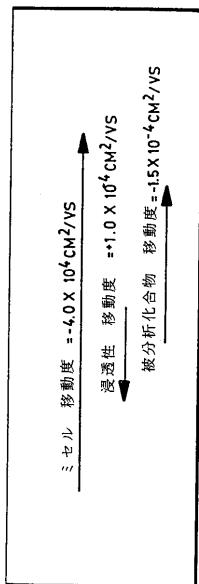


FIG.5

【 図 6 A 】

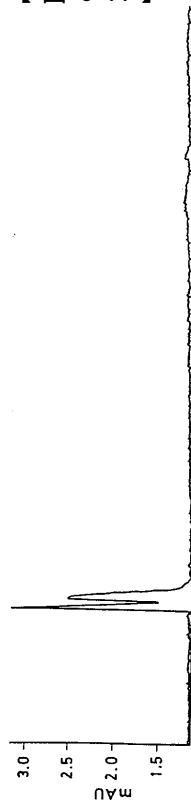
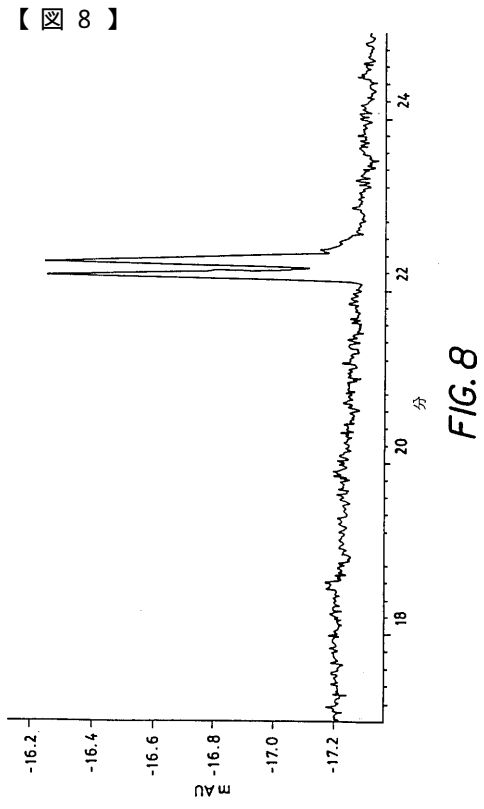
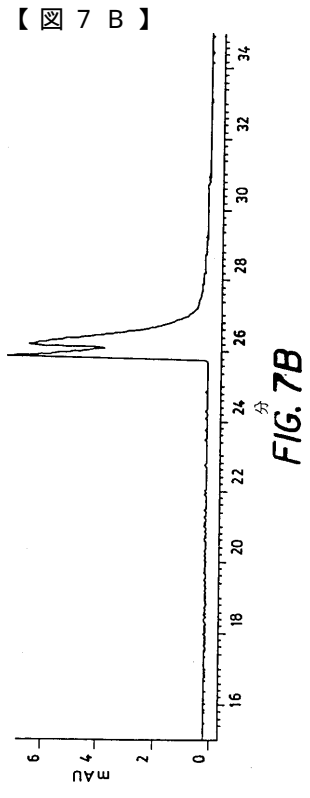
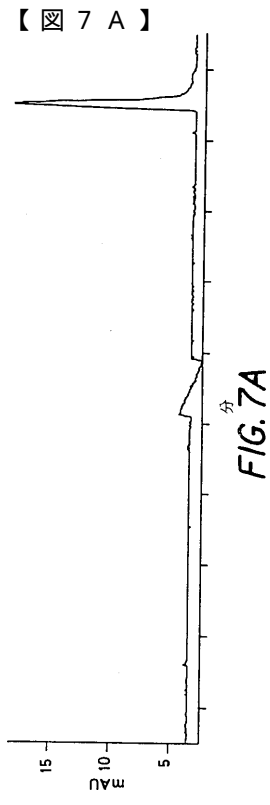
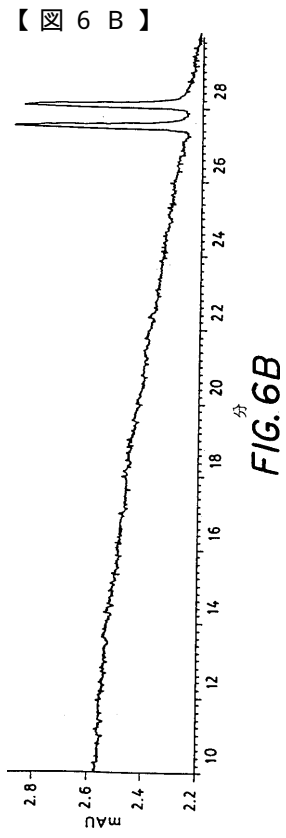
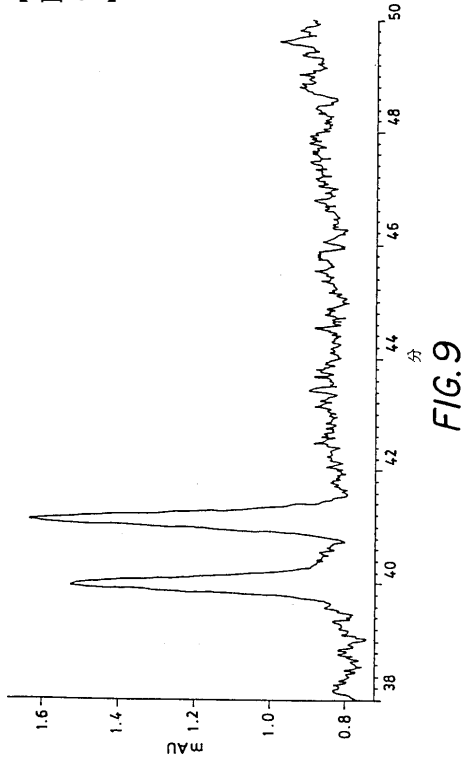


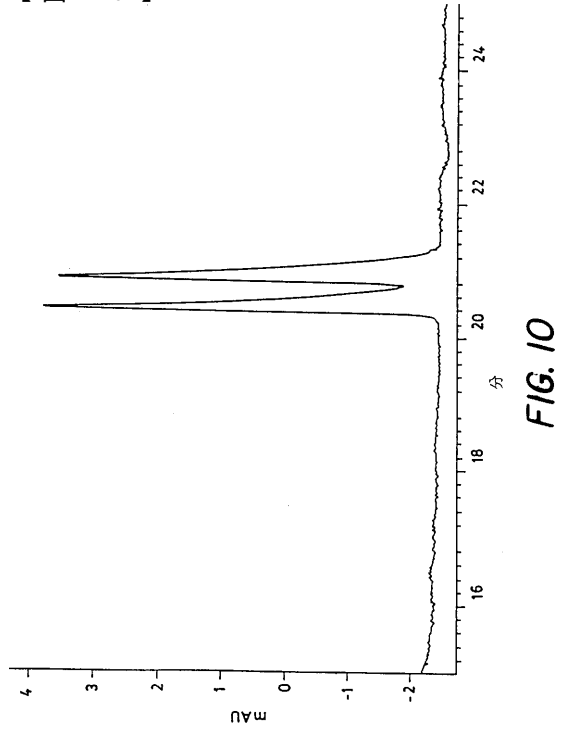
FIG.6A



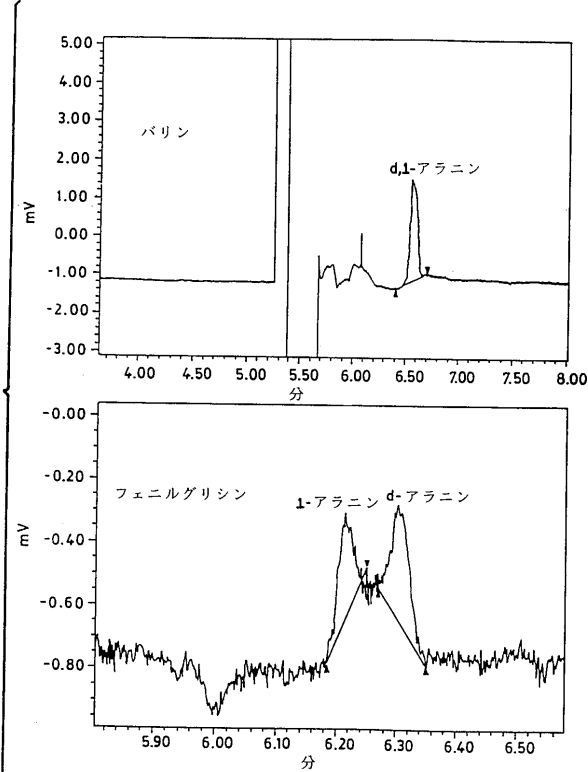
【 図 9 】



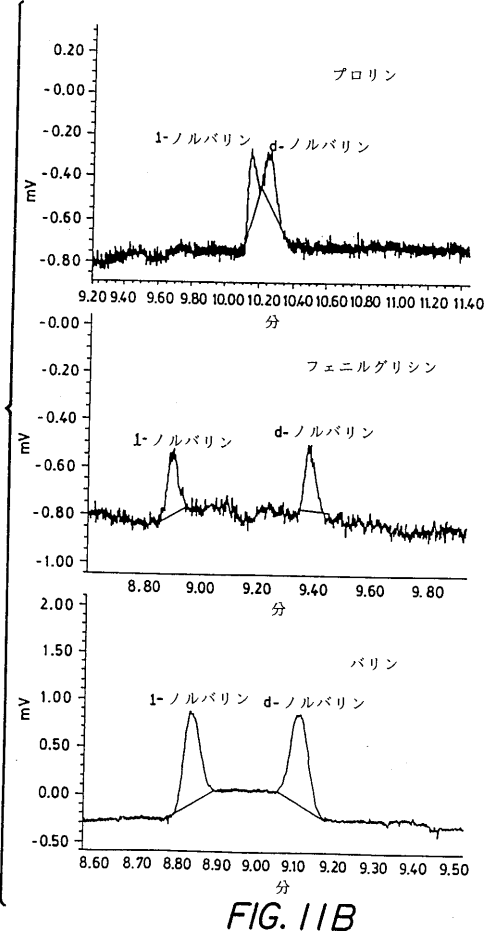
【 図 10 】



【 図 11 A 】



【 図 11 B 】



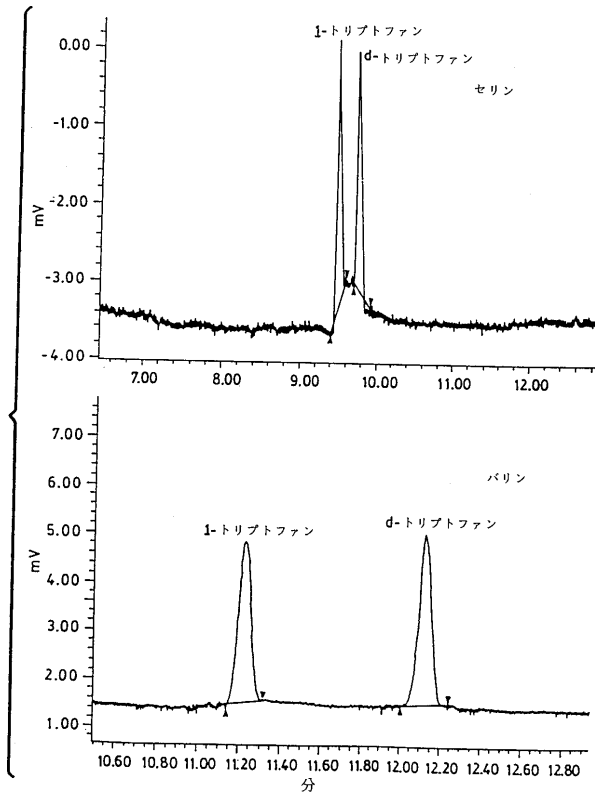


FIG. 11B

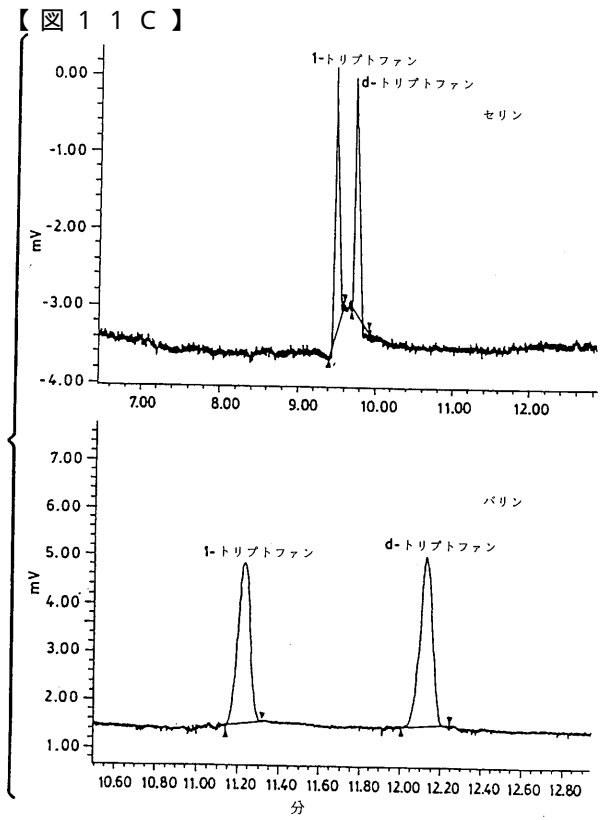


FIG. 11C

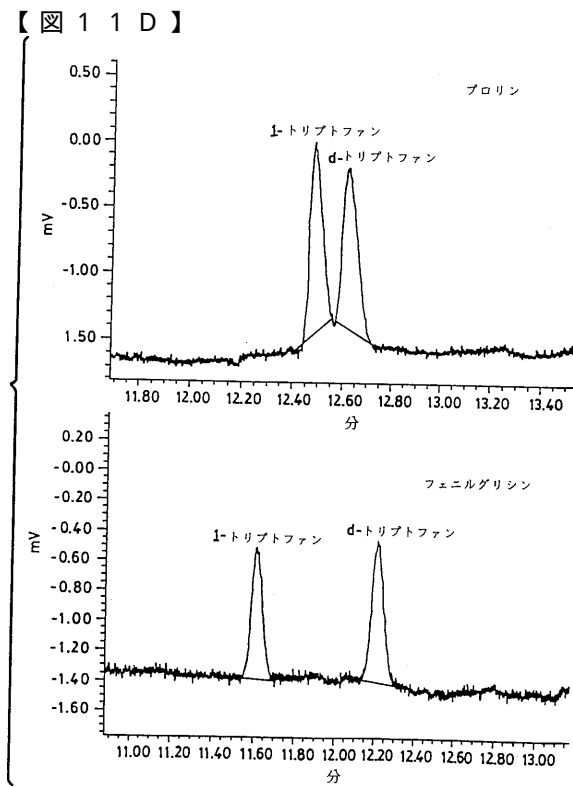


FIG. 11D

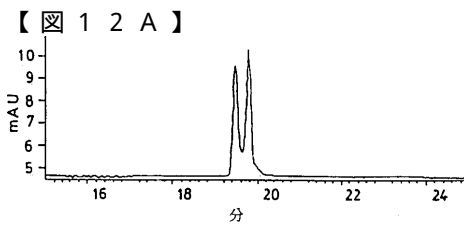


FIG. 12A

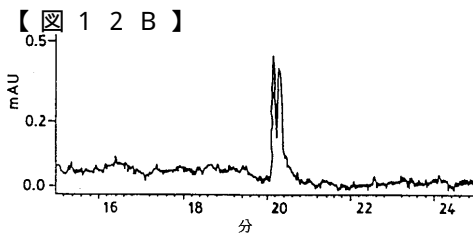


FIG. 12B

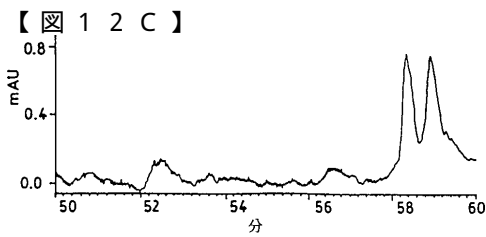
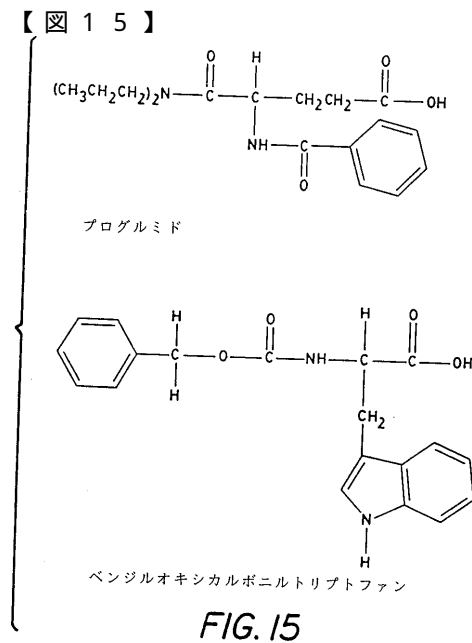
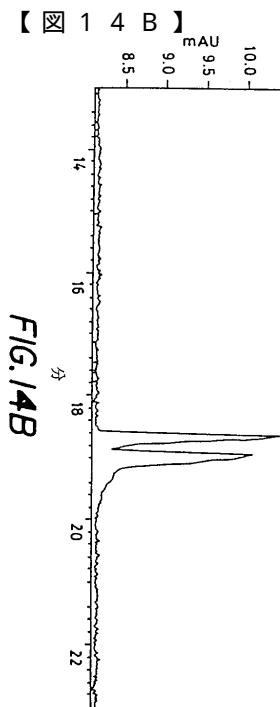
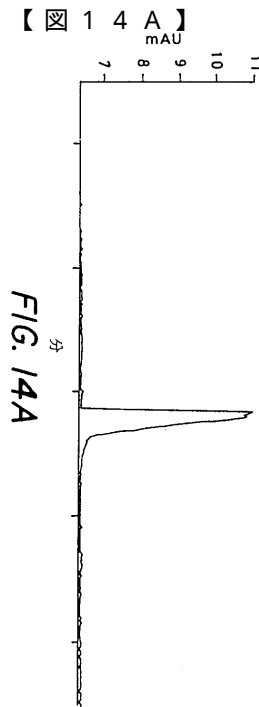
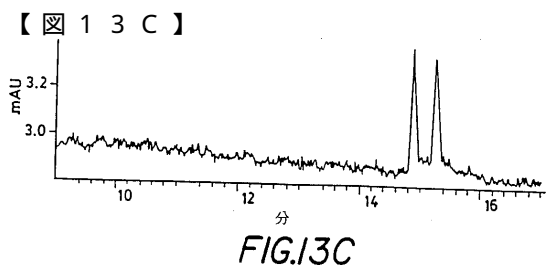
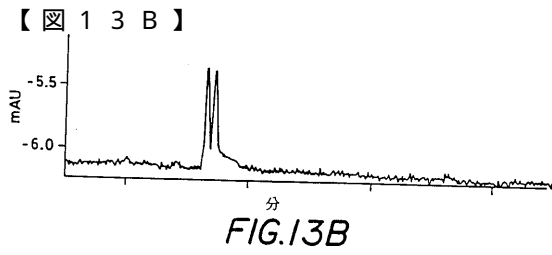
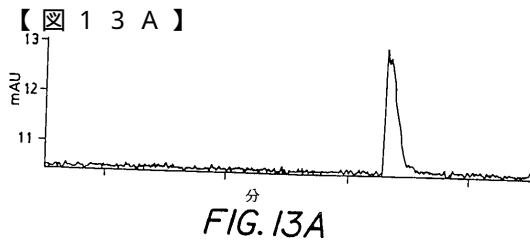
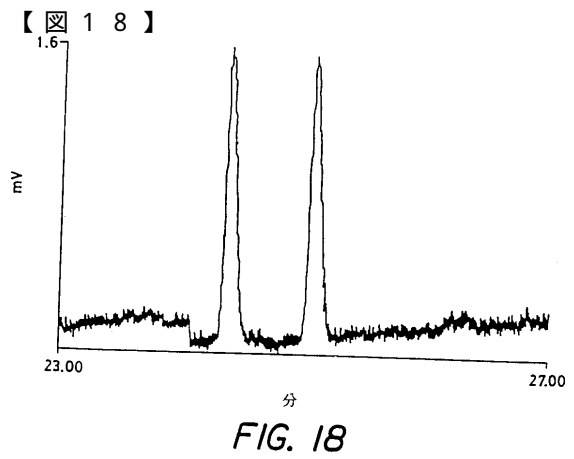
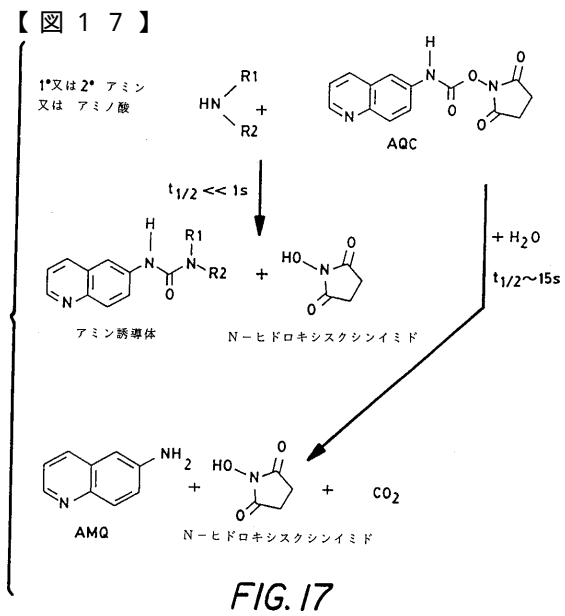
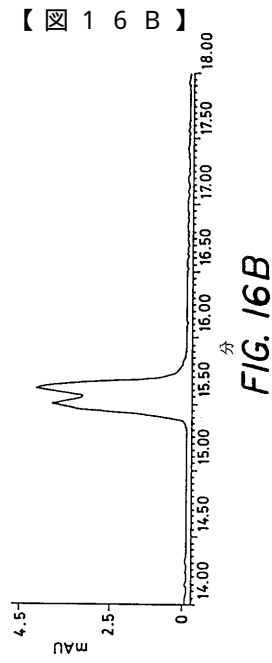
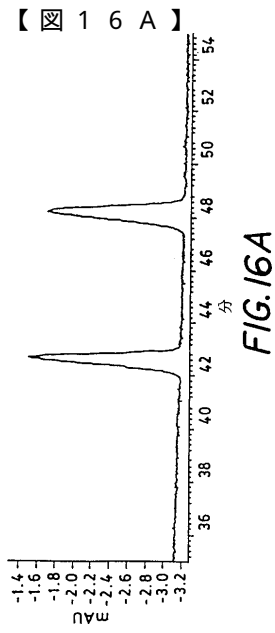
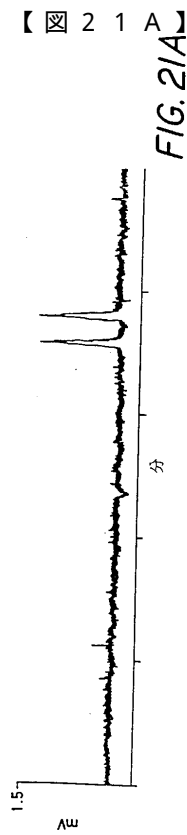
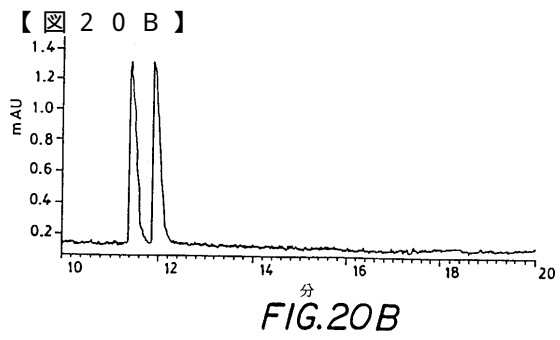
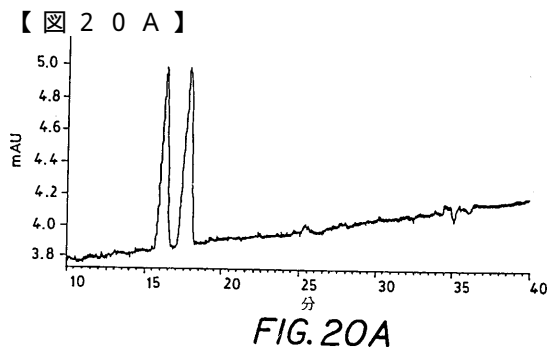
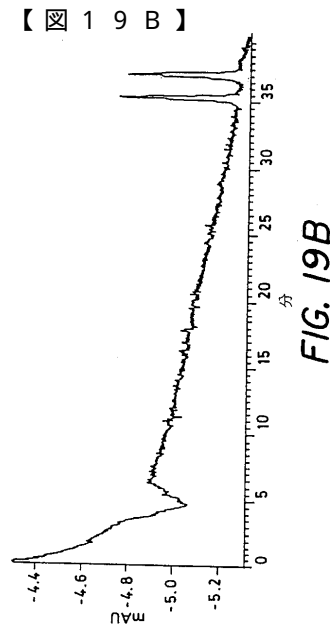
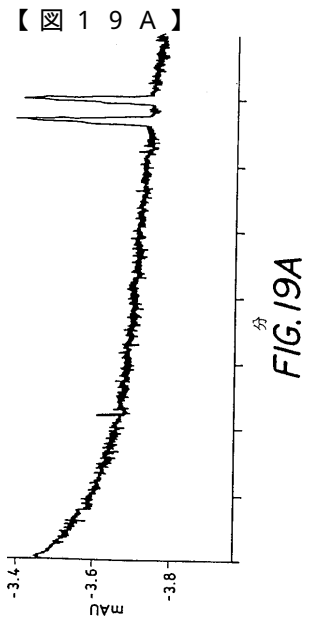


FIG. 12C







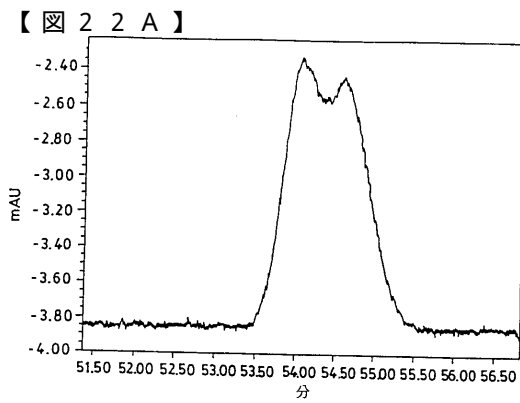
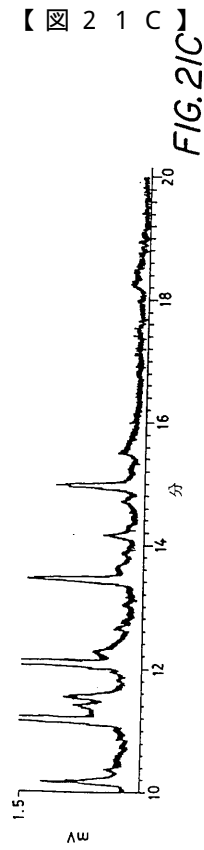
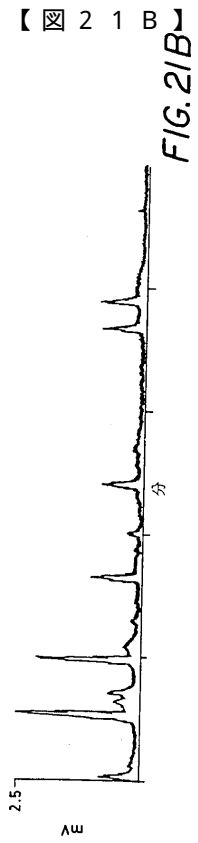


FIG. 22A

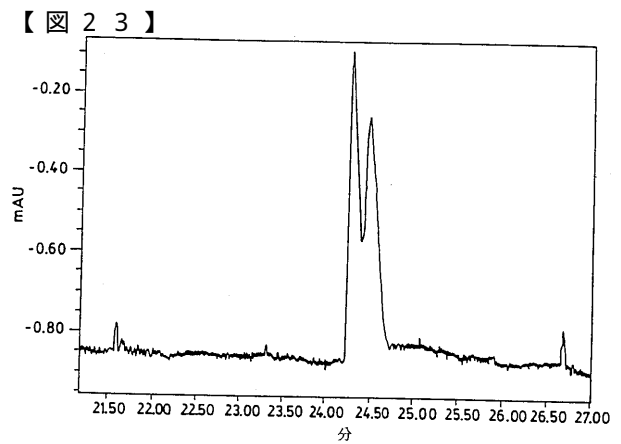


FIG. 23

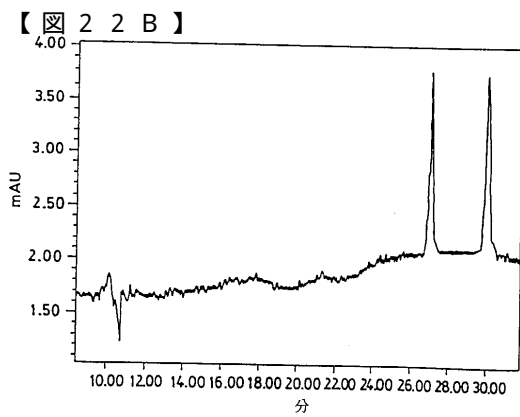


FIG. 22B

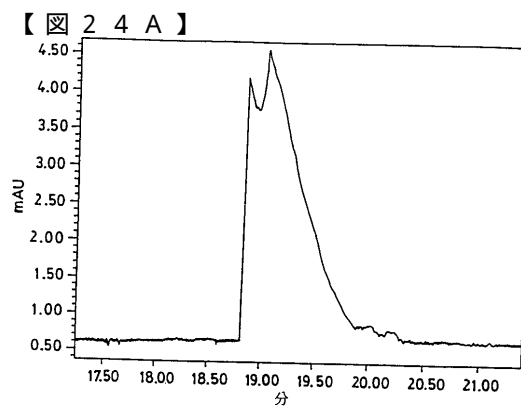


FIG. 24A

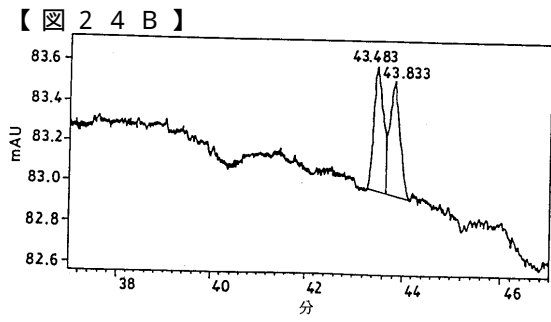


FIG. 24B

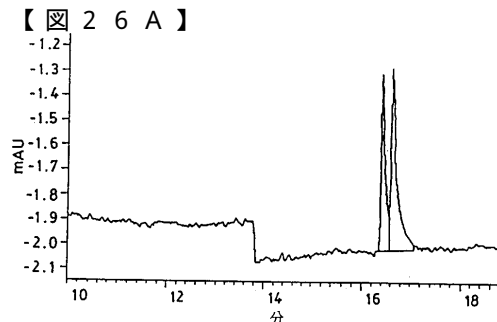


FIG. 26A

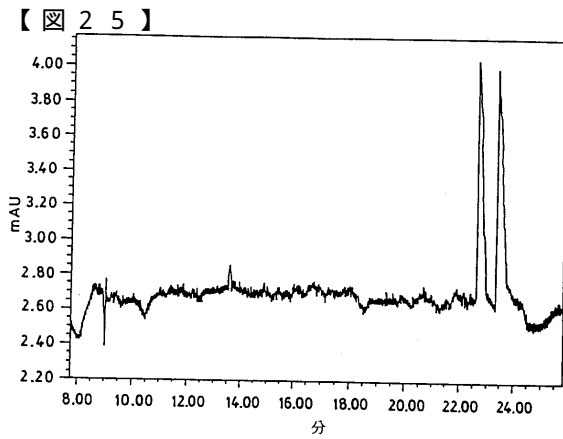


FIG. 25

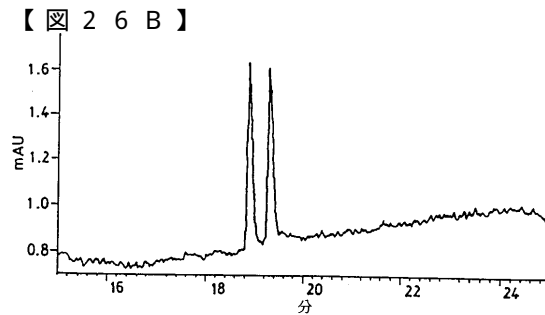


FIG. 26B

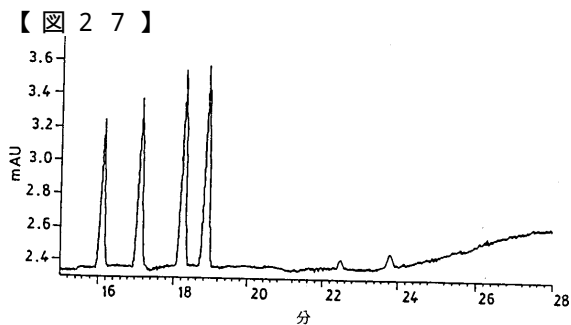


FIG. 27

---

フロントページの続き

- (72)発明者 シュワルツ, マイケル イー.  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01569 アクスブリッジ, プロビデンス ロード 11  
6
- (72)発明者 メリオン, マイケル  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 95032 ロス ゲイトス, ユークリッド アヴェニュー  
22
- (72)発明者 ピーターセン, ジョン エス.  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01720 アクトン, ベラントーニ ドライブ 1

審査官 竹中 靖典