

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6318089号
(P6318089)

(45) 発行日 平成30年4月25日(2018.4.25)

(24) 登録日 平成30年4月6日(2018.4.6)

(51) Int.Cl.

GO 1 N 30/88 (2006.01)

F 1

GO 1 N	30/88	2 O 1 X
GO 1 N	30/88	1 O 1 P
GO 1 N	30/88	C
GO 1 N	30/88	X

請求項の数 10 (全 40 頁)

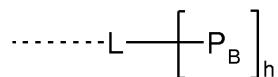
(21) 出願番号	特願2014-530254 (P2014-530254)	(73) 特許権者	505360395 インストラクション・ゲーエムベーハー ドイツ連邦共和国 68199 マンハイム, ヤンダーシュトラッセ 3
(86) (22) 出願日	平成24年9月17日 (2012.9.17)	(74) 代理人	100074332 弁理士 藤本 昇
(65) 公表番号	特表2014-526692 (P2014-526692A)	(74) 代理人	100114432 弁理士 中谷 寛昭
(43) 公表日	平成26年10月6日 (2014.10.6)	(72) 発明者	アーレント, マルクス ドイツ連邦共和国 68766 ホッケンハイム, ゲルハルト-ハウプトマン-シュトラッセ 4
(86) 國際出願番号	PCT/EP2012/068198	(72) 発明者	デーゲル, ビヨルン ドイツ連邦共和国 67454 ハスロッホ, レーンスシュトラッセ 3
(87) 國際公開番号	W02013/037994		最終頁に続く
(87) 國際公開日	平成25年3月21日 (2013.3.21)		
審査請求日	平成27年7月29日 (2015.7.29)		
(31) 優先権主張番号	11181412.5		
(32) 優先日	平成23年9月15日 (2011.9.15)		
(33) 優先権主張国	欧洲特許庁 (EP)		

(54) 【発明の名称】有機分子の精製のための陽イオン性またはプロトン化可能な脂肪族残基をその表面に含む吸着材

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

固体支持材料を含む吸着材であって、表面に以下の一般式(I)の残基を含む吸着材：
【化 1】



式(I)

ここで、前記固体支持材料の表面は、ポリマーのフィルムにより被覆されており、該ポリマーは、架橋剤に由来する官能基を介して共有結合により互いに架橋されているが、前記固体支持材料の表面には共有結合によっては結合されていない個別の鎖を含んでいる、またはそれらにより構成されており、

前記残基は、前記固体支持材料の表面上における前記ポリマーのフィルムの表面の前記ポリマーのいずれかの官能基であって、前記架橋剤に由来する官能基でない官能基に、式(I)の点線で表される共有単結合を介して付着しており、

記号及び符号は、以下の意味を有する。

Lは、共有単結合、または、1~30個の炭素原子を有する(h+1)価の直鎖状脂肪族炭化水素基、または、3~30個の炭素原子を有する(h+1)価の分枝鎖状もしくは環状脂肪族炭化水素基であり、

前記炭化水素基の1つ以上のCH₂部分は、-C(O)-、-C(O)NH-、O

10

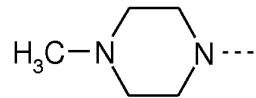
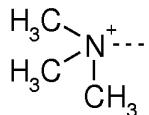
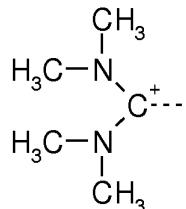
20

、Sまたは-S(O)₂-により置換されていてもよく、

1つ以上の水素原子は、D、F、ClまたはOHにより置換されていてもよく、好みしくはOHにより置換されていてもよい；

P_Bは、以下の基の1つである；

【化2】



10

hは、Lに結合されたP_B部分の数を示す符号であり、1、2または3である；

ただし、Lが共有単結合を示す場合には、hは1であり、P_Bは前記ポリマーのいずれかの官能基にP_B基の炭素原子を介して結合する。

【請求項2】

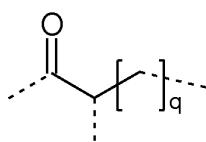
Lが

共有単結合、

- (C₁₋₆-アルキレン)-、
- (C₁₋₆-アルキレン)-CH(OH)- (C₁₋₆-アルキレン)-、
- (C₁₋₆-アルキレン)-X- (C₁₋₆-アルキレン)-、ここで、XはO、SまたはS(O)₂-、
- (C₁₋₃-アルキレン)-CH(OH)- (C₁₋₃-アルキレン)-O- (C₁₋₆-アルキレン)-O- (C₁₋₃-アルキレン)-CH(OH)- (C₁₋₃-アルキレン)-、
- C(O)-、
- C(O)- (C₁₋₆-アルキレン)-、
- C(O)- (C₁₋₃-アルキレン)-CH(OH)- (C₁₋₃-アルキレン)-、
- C(O)- CH(NHC(O)O- (C₁₋₆-アルキル))- (C₁₋₆-アルキレン)-、
- C(O)- (C₁₋₆-アルキレン)-C(O)-、
- C(O)- (C₁₋₆-アルキレン)-C(O)-NH-、
- C(O)- (C₁₋₆-アルキレン)-C(O)-NH- (C₁₋₆-アルキレン)-、
- C(O)- (C₁₋₆-アルキレン)-NH-C(O)- (C₁₋₆-アルキレン)-、

及び、

【化3】



ここで、qは1、2、3、4、5、6、7または8、より構成される群から選択される、請求項1に記載の吸着材であって、

該点線または自由末端線は、前記固体支持材料または前記ポリマーフィルムの官能基及びP_Bへの結合を示す、吸着材。

【請求項3】

hが1である、請求項1または2に記載の吸着材。

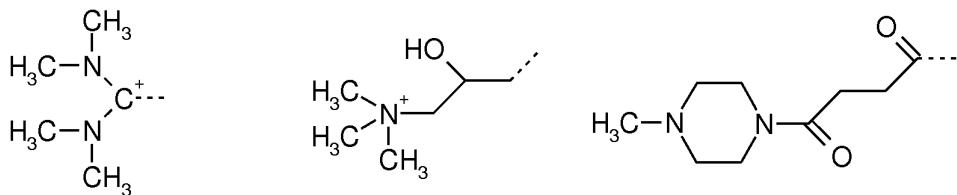
【請求項4】

式(I)の前記残基が、以下の1つである、請求項1～3のいずれか1項に記載の吸着材：

30

40

【化4】



【請求項5】

前記吸着材が、式(I)に従う2つ以上の異なる残基を含む、請求項1～4のいずれか1項に記載の吸着材。10

【請求項6】

前記ポリマーが、ポリアミン、ポリビニルアミンまたはポリアミンを含むコポリマーもしくはポリマー混合物である、請求項1～5のいずれか1項に記載の吸着材。

【請求項7】

有機分子の精製のための、請求項1～6のいずれか1項に記載の吸着材の使用。

【請求項8】

前記有機分子が、1つ以上の陰イオン性もしくは脱イオン化可能な基、及び／または複数のヒドロキシル基もしくはクロロ基を含む、請求項7に記載の使用。

【請求項9】

前記有機分子の有する分子量が、100～200000g/molの範囲である、請求項7または8に記載の使用。20

【請求項10】

前記有機分子が、パクリタキセル、10-デアセチルバッカチンIII、モンテルカスト、ドセタキセル、スガマデクス、ペンタマイシン、フルオコルトロン、それらの誘導体、及びエンドトキシンからなる群から選択される、請求項7～9のいずれか1項に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、表面に一般式(I)の残基を含む固体支持材料を含む吸着材であって、前記残基が、バルク状の固体支持材料自身の表面、または前記固体支持材料の表面上におけるポリマーフィルムの表面のいずれかの官能基に、共有単結合により付着している吸着材に関する。さらに、本発明は、好ましくはクロマトグラフィーの適用において、有機分子、特に薬理活性化合物を精製するための、本発明に従う前記吸着材の使用にも関する。30

【背景技術】

【0002】

従来、有機分子及び生体分子のためのクロマトグラフィー媒体は、以下の試料との相互作用様式のうち、1つ以上の可能な様式に従って分類されている。

- 疎水性相互作用(逆相)
- 親水性相互作用(順相)
- 陽イオン交換
- 陰イオン交換
- サイズ排除
- 金属イオンキレート

【0003】

新規な化学化合物が提供されると、植物抽出物または動物からの発見によるものであれ、または化学合成によるものであれ、新規なクロマトグラフィー材料の提供や、既知のクロマトグラフィー材料のさらなる発展、または単純でコスト効率の良い該化学化合物の新規精製方法の発見が常に求められる。すなわち、同じ要因によって必要とされる液体容積のスケールアップなしに大容量を扱うことのできる、新規な選択性の高いダウンストリー4050

ム精製技術が、常に求められている。

【0004】

所定の分離問題に対し、従来において上記クロマトグラフィー分類を段階的に適用することは、生産物の純度の一歩ずつ着実な改善において反映されてきたが、各段階における生産物の損失にも反映され、該損失は最終的に著しく蓄積し、操作時間や商品コストについては言うまでもない。一連の逐次のクロマトグラフィー工程をただ1つに減少させることができが数多く実証され得たことから、アフィニティーコロマトグラフィーを早い段階でダウンストリームプロセスへ導入することは、この要求に対する解答となり得る。アフィニティーコロマトグラフィーは、化学的観点からすると、上記と同じ相互作用様式に基づき、通常、2つ以上の様式の組み合わせに基づくにもかかわらず、それ自身がしばしば1つの種類として見なされる。アフィニティーコロマトグラフィーを用いることにより、検体とクロマトグラフィー材料のマトリクス表面に結合された活性残基との間、及び該検体と該マトリクス自身の表面特性との間の両方において、該検体と吸着材との間の特定の相互作用が検証され得る。10

【0005】

アフィニティーコロマトグラフィーは、大抵はバルクのゲル相樹脂を用いて行われている。優れたゲル形成材料としては、媒体に架橋した多糖類、ポリアクリルアミド及びポリ(エチレンオキシド)が挙げられる。そのようなヒドロゲルでは、その柔軟性(配座柔軟性、弾性係数)、大きい細孔系、高い極性、高い含水量により、また、反応性の化学基や変性させる化学基が無いため、配位子の活性残基及びそれと相互作用する検体の両方によく適合する適合性の表面がしばしば確認される。それらは、タンパク質などの検体を天然状態で保持することができる。即ち、タンパク質の正確に折り畳まれた3次元構造、会合状態及び機能的な完全性を保存し、または、複雑な薬理活性化合物の構造を化学的に変化させない。しかしながら、これら媒体は圧力が適用されると圧縮するものであり、攪拌、カラム充填または高い液流量によるせん断応力に耐えられないため、これら媒体の機械的抵抗は、無機支持材料よりもはるかに弱い。そのため、過酷なHPLC工程条件に対して十分に適合可能なアフィニティーアクティベーター吸着材はほとんどない。20

【0006】

ごく最近において、固定相の機械抵抗は吸着材支持材のバルク特性であり、吸着材支持体では、固定相と移動相との間の界面における薄層だけが、質量交換及び生物学的検体との相互作用の原因となることが認識されてきている。従って、機械的に非常に強固かつ寸法的に安定な多孔質3次元コアと、検体を拘束するための活性残基を支持するゲル状の界面層との機能を組み合わせる思想が提起されており、関連する合成上の問題は、技術的に解決されている。そのようなハイブリッド材料としては、無機酸化物または密に架橋した極性の低いポリマーのいずれかを基材にした、緩く架橋した極性の高いポリマーが採用されている。30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

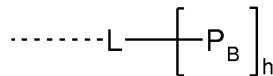
本発明の目的は、クロマトグラフィーの用途のための新規な吸着材であって、機械的応力に関して、または溶離液の溶液特性を考慮して、材料の高い安定性を要求するクロマトグラフィーの用途において用いた場合であっても、単純でコスト効率の良い有機分子の精製を可能にする新規な吸着材を提供することであった。40

【課題を解決するための手段】

【0008】

したがって、本発明は、表面に一般式(I)の残基を含む固体支持材料を含む吸着材を提供する：

【化1】



式(I)

ここで、前記固体支持材料の表面は、ポリマーのフィルムにより被覆されており、該ポリマーは、架橋剤に由来する官能基を介して共有結合により互いに架橋されているが、前記固体支持材料の表面には共有結合によっては結合されていない個別の鎖を含んでいる、またはそれらにより構成されており、

前記残基は、前記固体支持材料の表面上における前記ポリマーのフィルムの表面の前記ポリマーのいずれかの官能基であって、前記架橋剤に由来する官能基でない官能基に、式(I)の点線で表される共有単結合を介して付着しており、

記号及び符号は、以下の意味を有する。

Lは、共有単結合、または、1~30個の炭素原子を有する(h+1)価の直鎖状脂肪族炭化水素基、または、3~30個の炭素原子を有する(h+1)価の分枝鎖状もしくは環状脂肪族炭化水素基であり、

前記炭化水素基の1つ以上のCH₂部分は、-C(O)-、-C(O)NH-、O、Sまたは-S(O)₂-により置換されていてもよく、

1つ以上の水素原子は、D、F、ClまたはOHにより置換されていてもよく、好ましくはOHにより置換されていてもよい；

P_Bは、有機性の陽イオン基または有機性のプロトン化可能な基を示す；

hは、Lに結合されたP_B部分の数を示す符号であり、1、2または3である；

ただし、Lが共有単結合を示す場合には、hは1であり、P_Bは前記ポリマーのいずれかの官能基にP_B基の炭素原子を介して結合する。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】粗ペントマイシン(実線)と精製されたペントマイシン(破線)との分析クロマトグラムの比較(実施例7)。

【図2】実施例10に従うパクリタキセルの分画。

【図3】スガマデクスの精製における分画クロマトグラムの印刷出力(実施例9)。

【図4】実施例8に従うパクリタキセルの分画。

【図5】粗パクリタキセル(破線)と精製されたパクリタキセル(実線)との分析クロマトグラムの比較(実施例8)。

【図6】実施例11に従う10-デアセチルバッカチンIIの分画。

【図7】実施例12に従うモンテルカストの分画。

【図8】粗モンテルカスト(実線)と精製されたモンテルカスト(破線)との分析クロマトグラムの比較(実施例12)。

【図9】実施例13に従うドセタキサルの分画。

【図10】実施例14に従うフルオコルトロンの分画。該生成物の分画は、5.5~11.5分に取得された。

【図11】粗フルオコルトロン(破線)と精製されたフルオコルトロン(実線)との分析クロマトグラムの比較(実施例14)。矢印は、主要な不純物を示す。

【図12】本発明に従う実施例15の吸着材による、実施例16に従う異なるジクロロフェノールの分画。

【図13】市販の吸着材Kromasil(C18、100、10μm)を用いた、実施例17に従う異なるジクロロフェノールの分画。

【図14】4-トルエンスルホン酸を用いた漏出測定法(前分析)による、アミン基の量を決定するための試料曲線。

【図15】実施例15より製造された本発明に従う吸着材により分離された、糖の粗混合物における試料分画のクロマトグラム(実施例18参照)。

10

20

20

30

40

50

【図16】市販の吸着材Kromasil(NH₂、100、10μm)により分離された糖の粗混合物における試料分画のクロマトグラム(実施例19参照)。

【発明を実施するための形態】

【0010】

一実施形態では、本発明に従う吸着材において、式(I)に従う前記残基は、前記固体支持材料の表面上のポリマーフィルムの前記官能基に、共有単結合により付着していることが好ましい。

【0011】

前記P_B基は、有機性の陽イオン基または有機性のプロトン化可能な基(すなわち、溶液中で陽イオン基になり得る基)である。好ましくは、これらの基は、水溶液中で6~8のpH範囲において、陽イオン形態(すなわち、プロトン化された形態)として存在することが好ましい。前記用語「有機性の基(有機基)」においては、水素原子及び炭素原子を含む基のみではなく、アミンのような窒素及び水素を含む基でもあると理解されるべきである。本発明に従う吸着材の表面に陽イオン基またはプロトン化可能な基が存在することにより、前記吸着材では、精製される対象である、複数のヒドロキシル基もしくはクロロ基を有する化合物、または陰イオン基もしくは脱プロトン化可能な基を有する化合物に対する、その拘束容量が高められ得る。

【0012】

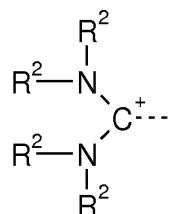
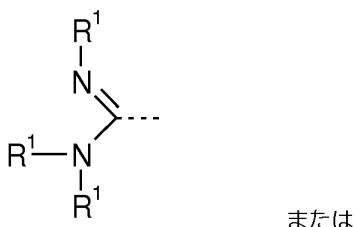
さらに好ましくは、前記P_B基は、アミンの形態である窒素原子を少なくとも1つ含んでいる。前記アミンは、第1級、第2級、第3級または第4級であってもよい。第2級、第3級または第4級の場合には、残基はC_{1~6}アルキル基が好ましい。

【0013】

前記P_B基は、より好ましくは、以下の基である:

a)

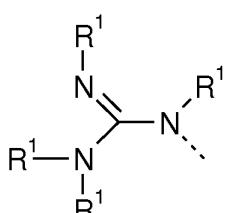
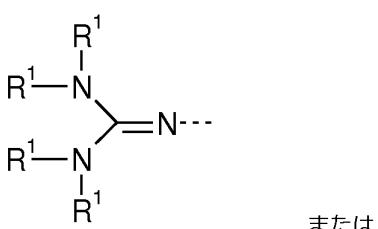
【化2】



ここで、R¹は各々独立してHまたはC_{1~6}アルキルであり、好ましくはHまたはCH₃であり、より好ましくは、各R¹はそれぞれ同じ意味を有する。R²は各々独立してC_{1~6}アルキルであり、好ましくはCH₃であり、より好ましくは、各R²はそれぞれ同じ意味を有する。

b)

【化3】



ここで、R¹は各々独立してHまたはC_{1~6}アルキルであり、N(R¹)₂基の各R¹は、互いに独立して、他の該基の各R¹と共に-(CH₂)_p-単位を形成してもよい。ここで、pは2、3、4または5である。

10

20

30

40

50

c) - N (R³)₂ または - [N (R³)₃]⁺。ここで、R³ は H、C₁₋₆-アルキル、単環式あるいは多環式の芳香族環系、または単環式あるいは多環式のヘテロ芳香族環系である。

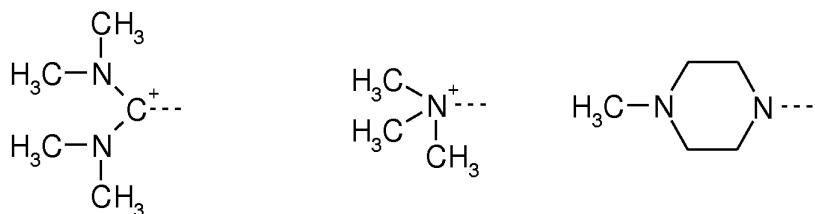
d) 4 位が R³ により置換されたピロリジン、ピペリジン、モルフィリンまたはピペラジンであり、該 R³ は項目 c) における定義と同じ意味を有する。ピペラジンがより好ましく、R³ が - CH₃ またはフェニルであるピペラジンが最も好ましい。

e) - NH - (C₁₋₆-アルキレン) - NH₂。ここで、- NH - (CH₂)_n - NH₂ (n = 1, 2, 3, 4, 5 または 6) がより好ましい。

【0014】

本発明において特に好ましくは、前記 P_B 基は、以下の基の 1 つである：

【化 4】



【0015】

1 ~ 30 個の炭素原子を有する (h + 1) 値の直鎖状脂肪族炭化水素基または 3 ~ 30 個の炭素原子を有する (h + 1) 値の分枝鎖状もしくは環状脂肪族炭化水素基は、好ましくは、以下の群の 1 つである：メチレン、エチレン、n-プロピレン、iso-プロピレン、n-ブチレン、iso-ブチレン、sec-ブチレン (1-メチルプロピレン)、tert-ブチレン、iso-ペンチレン、n-ペンチレン、tert-ペンチレン (1, 1-ジメチルプロピレン)、1, 2-ジメチルプロピレン、2, 2-ジメチルプロピレン (ネオペンチレン)、1-エチルプロピレン、2-メチルブチレン、n-ヘキシレン、iso-ヘキシレン、1, 2-ジメチルブチレン、1-エチル-1-メチルプロピレン、1-エチル-2-メチルプロピレン、1, 1, 2-トリメチルプロピレン、1, 2, 2-トリメチルプロピレン、1-エチルブチレン、1-メチルブチレン、1, 1-ジメチルブチレン、2, 2-ジメチルブチレン、3, 3-ジメチルブチレン、2-エチルブチレン、1-メチルペンチレン、2-メチルペンチレン、3-メチルペンチレン、シクロペンチレン、シクロヘキシレン、シクロヘプチレン、シクロオクチレン、2-エチルヘキシレン、トリフルオロメチレン、ペンタフルオロエチレン、2, 2, 2-トリフルオロエチレン、エテニレン、プロペニレン、ブテニレン、ペンテニレン、シクロペンテニレン、ヘキセニレン、シクロヘキセニレン、ヘプテニレン、シクロヘプテニレン、オクテニレンまたはシクロオクテニレン。ここで、前記炭化水素基の 1 つ以上の CH₂ 部分は、- C (O) -、- C (O) NH -、O、S または - S (O)₂ - により置換されていてもよく、1 つ以上の水素原子は、D、F、Cl または OH により置換されていてもよく、好ましくは OH により置換されていてよい。

【0016】

さらに好ましくは、(置換されている場合には) L の CH₂ 部分の 1 つまたは 2 つだけが、- C (O) -、- C (O) NH -、O、S または - S (O)₂ - により置換されており、一層好ましくは、2 つの CH₂ 部分がそれぞれ - C (O) - により置換されており、好ましくは、それらは互いに直接隣り合ってはいない。そのようなヘテロ原子を含む部分が存在することにより、これらの部分と精製される対象の化合物との間に水素結合が形成され、それにより拘束力及び精製容量が高められるという利点が得られる。

【0017】

さらに好ましくは、(置換されている場合には) L の水素原子の 1 つだけが D、F、Cl または OH により置換されており、OH は水素結合を形成できるため、OH が好ましい。

10

20

30

40

50

【0018】

好ましくは、Lは、1～20個の炭素原子を有する、さらに好ましくは1～10個の炭素原子を有する(h+1)価の直鎖状脂肪族炭化水素基、または3～20個の炭素原子を有する、さらに好ましくは3～10個の炭素原子を有する(h+1)価の分枝鎖状または環状の脂肪族炭化水素基であり、ここで、前記炭化水素基の1つ以上のCH₂部分は、-C(O)-、-C(O)NH-、O、Sまたは-S(O)₂-により置換されていてもよく、1つ以上の水素原子は、D、F、ClまたはOHにより置換されていてもよく、好ましくはOHにより置換されていてもよい。

【0019】

2価の連結単位としてのLの例は、以下の通りである：

10

共有単結合、

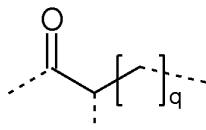
- (C₁ -₆ - アルキレン) -、
- (C₁ -₆ - アルキレン) - CH(OH) - (C₁ -₆ - アルキレン) -、
- (C₁ -₆ - アルキレン) - X - (C₁ -₆ - アルキレン) -、ここで、XはO、Sまたは-S(O)₂-、
- (C₁ -₃ - アルキレン) - CH(OH) - (C₁ -₃ - アルキレン) - O - (C₁ -₆ - アルキレン) - O - (C₁ -₃ - アルキレン) - CH(OH) - (C₁ -₃ - アルキレン) -、
- C(O) -、
- C(O) - (C₁ -₆ - アルキレン) -、
- C(O) - (C₁ -₃ - アルキレン) - CH(OH) - (C₁ -₃ - アルキレン) -、
- C(O) - CH(NHC(O)O - (C₁ -₆ - アルキル)) - (C₁ -₆ - アルキレン) -、
- C(O) - (C₁ -₆ - アルキレン) - C(O) -、
- C(O) - (C₁ -₆ - アルキレン) - C(O) - NH -、
- C(O) - (C₁ -₆ - アルキレン) - C(O) - NH - (C₁ -₆ - アルキレン) -、及び
- C(O) - (C₁ -₆ - アルキレン) - NH - C(O) - (C₁ -₆ - アルキレン) -。

20

【0020】

Lが3価の連結単位である場合には、Lは、好ましくは以下の式である：

【化5】



ここで、qは1、2、3、4、5、6、7または8である。

【0021】

40

2価の連結単位としてのLの好ましい例は、以下の通りである：

共有単結合、

- (CH₂)₂ -、
- (CH₂)₄ -、
- CH₂ - CH(OH) - CH₂ -、
- (CH₂)₂ - S(O)₂ - (CH₂)₂ -、
- CH₂ - CH(OH) - CH₂ - O - CH₂CH₂ - O - CH₂ - CH(OH) - CH₂ -、
- C(O) - CH₂ -、
- C(O) - CH₂CH₂ -、

50

- C (O) - CH (CH₃) -、
 - C (O) - CH₂ - CH (OH) - CH₂ -、
 - C (O) - CH (NH C (O) O - (iso-ブチル)) - CH₂ CH₂ CH₂ -
 、
 - C (O) - CH₂ CH₂ - C (O) -、
 - C (O) - CH₂ CH₂ - C (O) - NH -、
 - C (O) - CH₂ CH₂ - C (O) - NH - CH₂ CH₂ -、及び
 - C (O) - CH₂ CH₂ CH₂ - NH - C (O) - (CH (tert-ブチル))
 -。

【0022】

10

Lは、最も好ましくは、以下の単位の1つである：

共有単結合、

- CH₂ - CH (OH) - CH₂ -、
 - C (O) - CH₂ - CH (OH) - CH₂ - (好ましくは、C (O) - 基を介して前記支持材料に結合する)、または
 - C (O) - CH₂ CH₂ - C (O) -。

ここで、列挙された上記Lの定義の全てにおいて、点線または自由末端線は、前記固体支持材料またはポリマーフィルムの官能基及びP_Bへの結合を示し、好ましくは、上記のリンカーリの全てにおいて、自由末端線を有する先頭の元素が、当該位置にて前記固体支持材料に接続されている。

20

【0023】

本発明によれば、C₁₋₆-アルキルは、直鎖状、分枝鎖状または環状アルキル基である。直鎖状アルキル基は、好ましくは1~6個、より好ましくは1~3個の炭素原子を有する。分枝鎖状または環状アルキル基は、好ましくは3~6個の炭素原子を有する。これらのアルキル基の1つ以上の水素原子は、フッ素原子により置換されていてもよい。さらに、1つ以上のCH₂基が、NR、OまたはSにより置換されていてもよい(Rは、好ましくはHまたはC₁₋₆-アルキル)。1つ以上のCH₂-基が、NR、OまたはSにより置換されている場合には、これらの基の1つだけが置換されていることが好ましく、O原子により置換されていることがより好ましい。これらの化合物の例は、以下を含む：メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、i-ブチル、s-ブチル、t-ブチル、2-メチルブチル、n-ペンチル、s-ペンチル、シクロペンチル、n-ヘキシル、シクロヘキシル、n-ヘプチル、シクロヘプチル、n-オクチル、シクロオクチル、2-エチルヘキシル、トリフルオロメチル、ペンタフルオロエチル及び2,2,2-トリフルオロエチル。

30

【0024】

C₁₋₆-アルキレンまたはC₁₋₃-アルキレンは、上記で定義されたアルキル基であって、1つの水素原子が存在せず、その結果として生じる2価の単位が2つの結合を有する。

【0025】

本発明において、単環式または多環式の芳香族環系は、6~28個の炭素原子を芳香族環原子として有する芳香族環系であることが好ましい。前記用語「芳香族環系」において、系は必ずしも芳香族基のみを含むわけではなく、sp³混成のC、O、N等や-C(O)-といった短鎖の非芳香族単位(Hと異なる原子が10%未満、好ましくはHと異なる原子が5%未満)が、1を超える芳香族単位に接続またはそれらの間に入っていてもよい系であると理解されるべきである。これらの芳香族環系は、単環式または多環式であってもよく、すなわち、芳香族環系は、1つ(例えば、フェニル)または2つ(例えば、ナフチル)またはそれ以上(例えば、ビフェニル)の芳香族環を含んでいてもよく、縮合していくてもいなくてもよく、縮合環と共有結合で接続された環との組み合わせであってもよい。前記環系の芳香族原子は、D、F、Cl、OH、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、NH₂、-NO₂、-B(OH)₂、-CNまたは-NCにより置換されていてもよ

40

50

い。

【0026】

好ましい芳香族環系は、例えば：フェニル、ビフェニル、トリフェニル、ナフチル、アントラシル、ビナフチル、フェナントリル、ジヒドロフェナントリル、ピレン、ジヒドロピレン、クリセン、ペリレン、テトラセン、ペンタセン、ベンゾピレン、フルオレン、インデン及びフェロセニルである。

【0027】

さらに好ましくは、単環式または多環式の該芳香族環系は、6～14個の芳香族環原子を有し、置換されていてもよい。すなわち、より好ましくは、Arはフェニル、ナフチル、アントラシルまたはピレニル(pyril)であり、置換されていてもよい。10

【0028】

本発明において、単環式または多環式のヘテロ芳香族環系は、5～28個、好ましくは5～14個、最も好ましくは5個の芳香族環原子として有する芳香族環系であることが好ましい。前記ヘテロ芳香族環系は、N、O、S及びSeから選択される少なくとも1つのヘテロ原子を含む(残りの原子は炭素)。前記用語「ヘテロ芳香族環系」において、系は必ずしも芳香族基及び/またはヘテロ芳香族基のみを含むわけではなく、sp³混成のC、O、N等や-C(O)-といった短鎖の非芳香族単位(Hと異なる原子が10%未満、好ましくはHと異なる原子が5%未満)が、1を超える(ヘテロ)芳香族単位に接続またはそれらの間に入っていてもよい系であると理解されるべきである。これらのヘテロ芳香族環系は、単環式または多環式であってもよく、すなわち、ヘテロ芳香族環系は、1つ(例えば、ピリジル)または2つ以上の芳香族環を含んでいてもよく、縮合していくよい、縮合環と共有結合で接続された環との組み合わせであってもよい。20

【0029】

好ましいヘテロ芳香族環系は、例えば、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、1,2,3-トリアゾール、1,2,4-トリアゾール、テトラゾール、フラン、チオフェン、セレノフェン、オキサゾール、イソオキサゾール、1,2-チアゾール、1,3-チアゾール、1,2,3-オキサジアゾール、1,2,4-オキサジアゾール、1,2,5-オキサジアゾール、1,3,4-オキサジアゾール、1,2,3-チアジアゾール、1,2,4-チアジアゾール、1,2,5-チアジアゾール、1,3,4-チアジアゾールなどの5員環や、ピリジン、ピリダジン、ピリミジン、ピラジン、1,3,5-トリアジン、1,2,4-トリアジン、1,2,3-トリアジン、1,2,4,5-テトラジン、1,2,3,4-テトラジン、1,2,3,5-テトラジンなどの6員環や、インドール、イソインドール、インドリジン、インダゾール、ベンゾイミダゾール、ベンゾトリアゾール、プリン、ナフトイミダゾール、フェナントロイミダゾール、ピリドイミダゾール、ピラジンイミダゾール、キノキサリンイミダゾール、ベンゾオキサゾール、ナフトオキサゾール、アントロオキサゾール、フェナントロオキサゾール、イソオキサゾール、ベンゾチアゾール、ベンゾフラン、イソベンゾフラン、ジベンゾフラン、キノリン、イソキノリン、ブテリジン、ベンゾ-5,6-キノリン、ベンゾ-6,7-キノリン、ベンゾ-7,8-キノリン、ベンゾイソキノリン、アクリジン、フェノチアジン、フェノキサジン、ベンゾピリダジン、ベンゾピリミジン、キノキサリン、フェナジン、ナフチリジン、アザカルバゾール、ベンゾカルボリン、フェナントリジン、フェナントロリン、チエノ[2,3b]チオフェン、チエノ[3,2b]チオフェン、ジチエノチオフェン、イソベンゾチオフェン、ジベンゾチオフェン、ベンゾチアジアゾチオフェン(benzothiadiazothiophene)などの縮合基またはこれらの基の組み合わせである。さらに好ましくは、イミダゾール、ベンゾイミダゾール及びピリジンである。40

【0030】

式(I)に従う前記残基は、好ましい態様において、Lのための好ましい及び最も好ましい意味と、P_Bの最も好ましい意味とのあらゆる組み合わせであってもよい。

【0031】

10

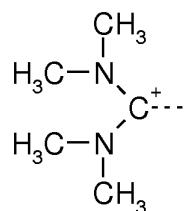
20

30

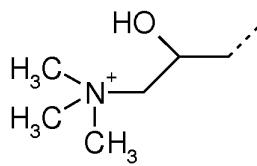
40

50

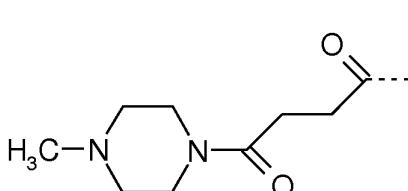
しかしながら、さらに好ましくは、式(I)の残基は、以下の1つである：
【化6】



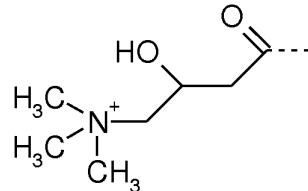
(I)-1



(I)-2



(I)-3



(I)-4

【0032】

20

本発明に従う吸着材は、さらなる残基をさらに含んでいてもよく、前記さらなる残基は、前記固体支持材料がポリマーフィルムを含むか否かに応じて、バルク状の固体支持材料自身の表面、または(好ましくは)前記固体支持材料の表面上におけるポリマーフィルムの表面のいずれかの官能基に、共有単結合を介して付着している。

【0033】

前記さらなる官能基は、検体と相互作用可能な任意の残基であってもよい。好ましくは、前記さらなる残基は、式(I)に従う前記第1の残基と異なる式(I)に従う残基である。換言すると、本発明に従う前記吸着材は、少なくとも2つの式(I)に従う残基を含んでいてもよい。

【0034】

30

しかしながら、本発明の吸着材は、必ずしも全ての場合において1つを超える残基を含んでいる必要はない。すなわち、本発明の吸着材は、一実施形態では、式(I)に従う前記第1の残基以外のさらなる残基を含まなくてもよい。この場合において、式(I)に従う前記残基は、好ましくは、式(I)-1、(I)-2、(I)-3または(I)-4の1つである。

【0035】

40

一実施形態では、本発明は少なくとも2つの式(I)に従う異なる残基を含む。この実施形態において、さらに好ましくは、2つの異なる残基は、式(I)-1、(I)-2、(I)-3及び(I)-4の残基から選択される。最も好ましくは、本発明の吸着材は、式(I)-1に従う残基及び式(I)-2に従う残基を含む。

【0036】

式(I)-2に従う残基に対する式(I)-1に従う残基のモル比は、好ましくは5:1~35:1、より好ましくは15:1~30:1、最も好ましくは20:1~25:1の範囲である。このとき、残基の量は、元素分析により決定される。

【0037】

前記固体支持材料は、好ましくはマクロ多孔質材料である。前記固体支持材料の孔サイズは、好ましくは少なくとも6nmであり、より好ましくは20~400nmであり、最も好ましくは50~250nmである。この範囲の孔サイズは、精製容量を十分に高くすることを確実にするために重要である。前記孔サイズが上述の上限を超えると、より多くの表面上のポリマーが架橋されなければならず、そのため、ポリマーの柔軟性が不十分と

50

なる。精製される化合物を拘束するために重要となる位置に、拘束基が十分に入り込むことができないかもしれないということが考えられる。孔サイズが小さすぎる場合には、ポリマーフィルムが孔を被覆することがあり、吸着材の空隙率による効果が失われる。

【0038】

本発明に従う吸着材の一実施形態によれば、前記固体支持材料は、 $1\text{ m}^2/\text{g} \sim 1000\text{ m}^2/\text{g}$ の比表面積を有し、より好ましくは $30\text{ m}^2/\text{g} \sim 800\text{ m}^2/\text{g}$ 、最も好ましくは $50 \sim 500\text{ m}^2/\text{g}$ の比表面積を有する。

【0039】

好ましくは、前記固体支持材料は、 $30 \sim 80$ 容積%の空隙率を有し、より好ましくは $40 \sim 70$ 容積%、最も好ましくは $50 \sim 60$ 容積%の空隙率を有する。該空隙率は、DIN 66133に従う水銀圧入法により決定し得る。前記固体支持材料の孔サイズもまた、DIN 66133に従う水銀圧入法を用いた細孔充填により決定し得る。該比表面積は、DIN 66132に従うBET法を用いた窒素吸着により測定し得る。10

【0040】

前記固体支持材料は、有機ポリマー材料であってもよく、無機材料であってもよい。前記固体支持体が有機ポリマー材料の場合、それは実質的に非膨潤性である。そのため、最も好ましくは、前記ポリマー材料は高い架橋度を有する。

【0041】

前記ポリマー材料は、前記ポリマー材料における架橋可能な基の総数に基づき、好ましくは少なくとも5%の架橋度、より好ましくは少なくとも10%の架橋度、最も好ましくは少なくとも15%の架橋度で架橋されている。好ましくは、前記ポリマー材料の架橋度は50%を超えない。20

【0042】

好ましくは、前記固体支持材料に用いられる前記ポリマー材料は、汎用または表面修飾ポリスチレン（例えば、ポリ（スチレン-ジビニルベンゼンコポリマー）、ポリスチレンスルホン酸、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリアクリルアミド、ポリビニルアルコール、多糖類（澱粉、セルロース、セルロースエステル、アミロース、アガロース、セファロース、マンナン、キサンタン、デキストランなど）及びそれらの混合物からなる群より選択される。

【0043】

本発明で用いられ得る前記ポリマー材料は、架橋が行われる前ににおいて、 $10 \sim 10000$ 個、特に好ましくは $20 \sim 5000$ 個、非常に好ましくは $50 \sim 2000$ 個の繰り返し単位を有する。架橋が行われる前の前記ポリマー材料の分子量 M_w は、好ましくは $10000 \sim 2000000\text{ g/mol}$ であり、特に好ましくは $100000 \sim 1500000\text{ g/mol}$ であり、非常に好ましくは $200000 \sim 1000000\text{ g/mol}$ の範囲である。 M_w の決定は、例えば、内部標準物質としてポリスチレンを用いたゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）により、当業者にとって既知の標準的な技術に従い行われる。30

【0044】

前記（多孔質）固体支持材料が無機材料の場合、前記無機材料は、何らかの無機鉱物酸化物であり、好ましくは、シリカ、アルミナ、マグネシア、チタニア、ジルコニア、フルオロシラン、マグネタイト、ゼオライト、ケイ酸塩（セライト、ケイ藻土）、雲母、ヒドロキシアパタイト、フルオロアパタイト、金属有機構造体、セラミックス、制御多孔質ガラス（controlled pore glass）（例えば、trisoperl）のようなガラス、アルミニウム、ケイ素、鉄、チタン、銅、銀、金などの金属、及び、グラファイトまたは非晶質炭素からなる群より選択される。40

【0045】

前記固体支持材料がポリマー材料であるか無機材料であるかに関わらず、前記固体支持材料は、最小限の剛直性及び硬度を有しており、不溶性支持体として機能する固体基材を提供する。また、前記固体支持材料は、固定相と移動相との間の分配工程の分子的基盤として検体と相互作用する場である前記相間の界面を拡大するための、及び、特に流動及び50

/または加圧環境下において機械的強度及び摩損性を向上させるための基盤を提供する。

【0046】

本発明に従う前記固体支持材料は、均質または不均質な組成物であってもよく、したがって、1種以上の上記材料の組成物である材料、特に多層複合材料をも包含する。

【0047】

前記固体支持材料は、粒子状材料であってもよく、好ましくは、 $5 \sim 500 \mu\text{m}$ の粒子径を有していてもよい。前記固体支持材料は、膜のようなシート状または繊維状材料であってもよい。したがって、前記固体支持材料の外表面は、平面状(板、シート、箔、円盤、スライド、フィルター、膜、織布または不織布、紙)であってもよく、曲面状(凹面または凸面:球、ビーズ、粒、(中空)繊維、管、毛細管、小瓶、試料トレイのウェル)であってもよい。10

【0048】

前記固体支持材料の内表面における孔構造は、特に、規則的な途切れのない毛管路または不規則な(フラクタル)配置の空洞より構成されていてもよい。微視的には、製造方法に応じて、該構造は滑らかでも粗くてもよい。細孔系は、前記固体支持材料全体を途切れなく貫通して延びていてもよく、(分枝した)空洞内にて止まっていてもよい。前記移動相での溶媒和と前記固定相の表面での保持力との間における検体の界面平衡の速度、及びそれによる連続流分離系の効率は、前記固体支持材料の孔を通じた拡散による物質移送、及びそれによる特徴的な粒度及び孔サイズ分布により、概ね決定される。孔サイズは、場合により、非対称な、多モードの、及び/または空間的に(例えば、断面的に)不均質な分布として現れてもよい。20

【0049】

上述したように、前記固体支持材料の表面は、好ましくは、個別の鎖を含むまたはそれらにより構成されるポリマーのフィルムにより被覆されている。前記ポリマー鎖は、好ましくは共有結合により互いに架橋されている。前記ポリマーは、好ましくは、前記固体支持材料の表面には共有結合によっては結合されない。驚くべきことに、特に疎水性部分、及び陽イオン性またはプロトン化可能な部分の両方を有する化合物の精製のためには、前記疎水性部分、及び陽イオン性またはプロトン化可能な部分の両方が、精製される対象の前記化合物の疎水性部分、及び親水性部分または陰イオン性部分と接触し得ることが可能となる配置を取るのに十分な程度に、前記ポリマーが柔軟であることが重要であることを、本発明の発明者らは見出した。前記支持材料の表面に共有結合により結合されたポリマーフィルムが用いられる場合では、精製容量が顕著に低下することを本発明の発明者らは観測した。すなわち、共有結合以外により表面に結合された架橋ポリマーをポリマーフィルムとして用いる場合、以下の3つの利点が得られる:(1)表面で結合されないことによるポリマーの柔軟性;(2)架橋により、前記フィルムが前記支持材料の表面に密着し、失われないことを確実にする;(3)前記ポリマーが前記ポリマーに共有結合により結合されない場合、前記ポリマーの厚みは所望の薄さに調整され得る。30

【0050】

さらに好ましくは、前記ポリマーを被覆する前記支持材料は、親水性ポリマーである。前記ポリマーの親水性能は、前記吸着材と精製される化合物との間の親水性相互作用が起これり得ることを確実にする。40

【0051】

前記架橋可能なポリマーとして好ましいポリマーは、好ましくは、少なくとも(好ましくは、その側鎖に)親水性基を含むモノマーによって集合させられる。好ましい親水性基は、 $-NH_2$ 、 $-NH$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-OCOCH_3$ 、酸無水物、 $-NHC(O)-$ 及び糖類であり、 $-NH_2$ 及び $-OH$ がより好ましく、 $-NH_2$ が最も好ましい。

【0052】

前記支持材料の表面における前記ポリマーフィルムは、官能基(親水性基)を、式(I)に従う残基を有しない前記吸着材の総容積に対して、好ましくは $300 \sim 700 \mu\text{m}^0$ $1/\text{mL}$ 、より好ましくは $350 \sim 650 \mu\text{m}^0$ $1/\text{mL}$ 、最も好ましくは $400 \sim 60$ 50

$0 \mu\text{mol}/\text{mL}$ の範囲で含んでいる。

【0053】

コポリマーが採用される場合には、好ましいコモノマーは、単純なアルケンモノマー、またはビニルピロリドンのような極性を有する貧反応性モノマーである。

【0054】

前記支持材料を被覆するポリマーの例としては、以下の通りである：ポリビニルアミン、ポリエチレンイミン、ポリアリルアミン、ポリリジンなどのポリアミノ酸等のようなポリアミンや、ポリビニルアルコール、ポリ酢酸ビニル、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸のようなアミノ基を含むもの以外の機能性ポリマー、ポリ（無水マレイン酸）、ポリアミドのようなそれらの前駆体ポリマーまたは多糖類（セルロース、デキストラン、フルランなど）。ポリビニルアミン及びポリアリルアミンのようなポリアミンがより好ましく、ポリビニルアミンが最も好ましい。
10

【0055】

さらに、本発明に従う吸着材は、式(I)に従う残基を、前記吸着材の総容積に対して、好ましくは $50 \sim 700 \mu\text{mol}/\text{mL}$ 、より好ましくは $80 \sim 650 \mu\text{mol}/\text{mL}$ 、最も好ましくは $100 \sim 620 \mu\text{mol}/\text{mL}$ の範囲で含んでいる。このとき、残基の量は、元素分析により決定される。

【0056】

より優れた精製容量に関し、さらに好ましくは、本発明に従う吸着材では、前記ポリマーの官能基の量に対する式(I)に従う前記残基のモル比（誘導体化度(derivation degree)）が、好ましくは0.2を超える。式(I)に従う残基の量は、元素分析により決定され、前記官能基の量は、式(I)に従う前記残基が適用される前に、前記吸着材の滴定により決定される。
20

【0057】

前記ポリマーは、吸収、気相堆積、液相、気相またはプラズマ相からの重合、スピニング、表面凝縮、湿潤(wetting)、液浸(soaking)、浸漬(dipping)、突流(rushing)、噴霧(spraying)、給湿(damping)、蒸発、電場または圧力の適用や、例えば液晶、ラングミュア-プロジェットまたは交互吸着(layer-by-layer)フィルム形成法などの分子自己集合に基づいた方法のような、当業者に既知のあらゆる手段により、マクロ多孔質支持体に塗布され得る。したがって、前記ポリマーは、単層として、または多層として、または互いの層の上に個々の単層を段階的に並べたものとして、直接的に被覆される。好ましくは、本発明では、未架橋ポリマーが水溶液中の前記支持材料に与えられ、その後に架橋されるようにして、前記ポリマーが前記支持材料に被覆させられる。
30

【0058】

本発明に従う吸着材では、前記支持材料の重量に対する前記支持体を被覆する前記ポリマーの重量の比率は、好ましくは $0.03 \sim 0.2$ 、より好ましくは $0.045 \sim 0.12$ の範囲である。上記比率が上限を超えると、前記ポリマーフィルムが厚すぎて前記支持材料の孔が完全に被覆され／塞がれ、その結果、吸着材が有効な孔を有さなくなる。上記比率が下限を下回ると、ポリマーの量が前記支持材料全体を被覆するのに不十分となる。さらに、後者の場合には、前記ポリマーを支持体に定着させるために、より多くの架橋剤を用いることが必要となり、またその結果、ポリマーフィルムの柔軟性が不十分となる。
40

【0059】

本発明に従う吸着材の好ましい実施形態によれば、前記架橋ポリマーの架橋度は、架橋ポリマーの架橋可能な基の総数に基づき、少なくとも2%である。より好ましくは、該架橋度は、架橋ポリマーの架橋可能な基の総数に基づき、5~50%であり、さらに好ましくは5~30%であり、最も好ましくは10~20%である。該架橋度は、用いられる架橋剤の化学量論量によって容易に調整され得る。該架橋剤のほぼ $100 \text{ mol}\%$ が反応し、架橋を形成すると思われる。このことは、分析方法によって確認され得る。該架橋度は、MAS-NMR分光法及びポリマー量に対する架橋剤の量の定量決定によって決定され得る。この方法は、最も好ましい。該架橋度は、例えば、較正曲線を用いたC-O-Cま
50

たはO Hの振動に基づく赤外分光法(I R)によっても決定され得る。いずれの方法も、当業者にとって標準的な分析方法である。該架橋度が上述の上限を超えると、前記ポリマー・フィルムの柔軟性が不十分となり、その結果として精製容量が低下する。該架橋度が上述の下限を下回ると、前記フィルムの前記支持材料の表面における安定性が不十分となる。

【 0 0 6 0 】

ポリマーを架橋するために用いる架橋剤は、好ましくは、ジカルボン酸、ジアミン、ジオール、尿素及びビスエポキシドからなる群より選択され、より好ましくは、テレフタル酸、ビフェニルジカルボン酸、エチレングリコールジグリシジルエーテル及び1 , 12 - ビス - (5 - ノルボルネン - 2 , 3 - ジカルボキシイミド) - デカンジカルボン酸などのジカルボン酸及びビスエポキシドであり、エチレングリコールジグリシジルエーテル及び1 , 12 - ビス - (5 - ノルボルネン - 2 , 3 - ジカルボキシイミド) - デカンジカルボン酸がより好ましい。一実施形態では、前記少なくとも1種の架橋剤が、4 ~ 20原子の長さを有する直鎖状の立体構造的に柔軟な分子である。

【 0 0 6 1 】

用いられる前記ポリマーの好ましい分子量は、限定されないが、5000 ~ 50000 g / mol の範囲にわたり、これは特にポリビニルアミンに当てはまる。上記範囲の下限に近い分子量を有するポリマーは、担体の狭い孔にも貫入することを示すため、大きい表面積を有し、結果的に良好な物質移送速度、良好な溶解性、良好な拘束容量を備えた固体状態の材料が、本発明の吸着材において用いられ得る。

【 0 0 6 2 】

さらなる実施形態によれば、前記架橋ポリマーは、官能基、すなわち上述の親水性側鎖基を有する。

【 0 0 6 3 】

前記用語「官能基」は、前記固体支持材料の表面上の前記架橋ポリマーまたは前記固体支持材料の表面上に前記ポリマー・フィルムを調製する間に架橋可能な前記ポリマーの有する、区別され得る単純な化学的部分を意味する。従って、該官能基は、化学的な付着点またはアンカーとして機能してもよい。該官能基は、好ましくは、少なくとも1種の弱い結合及び/または少なくとも1種のヘテロ原子を含み、好ましくは、求核剤または求電子剤として機能する基を含む。

【 0 0 6 4 】

好ましい官能基としては、第1級、第2級のアミノ基、ヒドロキシル基、及びカルボン酸またはエステル基が挙げられ、式(I)の前記残基がこれらの基に結合される前ににおいてこのような形となっている。前記残基が該官能基に結合される際に、これらの基の性質が、結合される前記残基の構造に対して変化する。

【 0 0 6 5 】

本発明は、吸着材、好ましくは本発明に従う吸着材を調製する方法にも関し、以下を含む。

(i) 官能基を有するポリマーを提供する；

(i i) 担体の表面上に前記ポリマーを吸着させる；

(i i i) 少なくとも1種の架橋剤により、前記吸着させたポリマーの前記官能基の所定の一部分を架橋させる；

(i v) 式(I)に従う1つ以上の残基と架橋した前記ポリマーの前記官能基のさらなる所定の一部分を誘導体化する。

【 0 0 6 6 】

前記担体の表面上に吸着させる対象の前記ポリマーは、好ましくは、前記ポリマーを溶解または懸濁させるためにpHが適切に調整された水性媒体に溶解される。前記担体の表面上における前記ポリマーの吸着は、好ましくは、前記ポリマーを含有する溶液または懸濁液の中に、前記担体を浸漬することにより行われる。次に、該混合物は、成分の完全な混合を得るため、好ましくは振とうされる。毛細管力によって、前記担体の孔が溶媒また

10

20

30

40

50

は懸濁液に確実に漬される。続いて、40～60の間の温度において、水を真空中にて蒸発させ、それによって前記ポリマーを前記孔の内壁にフィルム形状にて堆積させる。次に、前記被覆されたポリマーは、イソプロパノールまたはジメチルホルムアミド(DMF)のような有機溶媒中に、好ましくは懸濁され、エチレングリコールジグリシジルエーテルのような架橋剤により、好ましくは25～60の間の温度において4～8時間、好ましくは架橋される。

【0067】

前記官能基の種類に応じて、及び式(I)に従う前記残基に応じて、前記固体支持体の誘導体化において異なる方策が用いられ得る。前記固体支持材料が官能基としてアミノ基を含む場合には、カルボン酸基を含む残基が、カルボキシルの炭素原子を介して前記アミンの窒素原子に付着され得る。該付着は、2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸(HBTU)、O-(1H-6-クロロベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸(HCTU)、ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシ-トリス-ピロリジノ-ホスホニウムヘキサフルオロリン酸(PyBOP)、プロピルホスホン酸無水物(T3P)等のようなカップリング試薬を用いるペプチド化学により行われ得るか、イソシアネート、エポキシドまたは無水物のような反応試薬を用いることにより行われ得る。前記固体支持材料がアミノ基を含む場合には、式(I)に従う残基における脂肪族炭素原子が、脂肪族求核置換反応によりアミンの窒素原子に結合されてもよい。

【0068】

前記固体支持材料がヒドロキシル基を含む場合には、カルボン酸基を含む式に従う残基が、前記官能基に付着される前に、カルボキシルの炭素原子を介して前記ヒドロキシル基の酸素原子に付着され得る。該付着は、カルボン酸塩化物またはカルボン酸基のエステルを用いることにより行われ得る。前記固体支持材料がヒドロキシル基を含む場合には、式(I)に従う残基における脂肪族炭素原子が、脂肪族求核置換反応によりヒドロキシル基の酸素原子に結合されてもよい。

【0069】

前記固体支持材料がカルボン酸基、カルボン酸エステルまたはカルボン酸無水物を含む場合には、-NH₂、-OH、-SHのような求核基の、前記カルボン酸基、カルボン酸エステルまたはカルボン酸無水物の炭素原子への求核攻撃により、式(I)に従う残基が付着され得る。それにより、アミド、エステルまたはチオエステルが形成され得る。

【0070】

本発明に従う吸着材の一実施形態では、好ましくは、Lはアミン基(好ましくは、-NH₂)である前記官能基に結合される。さらに、好ましくは、前記誘導体化度は100%未満であり、好ましくは90%未満であり、それにより前記ポリマーフィルムはプロトン化もされ得る遊離アミノ基を含み、したがって精製される対象の前記化合物とイオン結合を形成可能な吸着材を提供する陽イオンを形成することを確実とする。しかも、前記P_B基を備えた式(I)に従う残基により、本発明に従う吸着材は、前記ポリマーフィルムの表面における比較的柔軟でないアミン基に比べてより柔軟な陽イオン基及びプロトン化可能な基を確実に有する。本発明に従う吸着材の十分な精製容量を確実とするためには、これらの全ての相互作用を合わせることが好ましい。

【0071】

本発明の吸着材は、有機分子(有機化合物)を精製するため、またはある有機分子から溶液を精製するために使用され得る。すなわち、本発明はさらに、有機分子を精製するため、またはある有機分子から溶液を精製するための、本発明の吸着材の使用に関する。

【0072】

前記用語「精製」は、前記有機分子を含む混合物から有機分子を分離すること、または有機分子の濃度及び/または純度を上げることを含むものともされる。

【0073】

換言すると、本発明は、本発明の吸着材を用いることにより、不要な有機分子を溶液か

10

20

30

40

50

ら分離することを含む、有機分子の精製方法についても目的とする。

【0074】

有機分子の精製のための本発明の吸着材の使用、または本発明に従う吸着材の使用により有機分子を精製する方法は、以下のステップを備える：

(i) 本発明に従う吸着材または本発明に従う方法により製造された吸着材を含有するクロマトグラフィーカラムに、液体中に溶解または懸濁した有機分子を含む粗混合物を適用する；

(ii) 溶離液を用いて、前記カラムから前記有機分子を溶離させる。

【0075】

工程(iii)で用いられる前記溶離液は、前記有機分子の精製に必要とされる状況に応じて、工程(i)にて用いられる液体と同じ溶媒であってもよく、異なっていてもよい。工程(i)の液体または工程(ii)の溶離液としては、クロマトグラフィー分野において利用される様々な種類の溶媒や緩衝系が用いられ得る。本発明において用いられる液体／溶媒の例は、以下の通りである：テトラヒドロフラン、メタノール、エタノール、水、氷酢酸、アセチル酢酸、ギ酸水溶液、ヘキサン、ヘプタン、ペンタン、酢酸エチル、酢酸、トルエン、ジクロロメタン、トリクロロメタン及びこれらの溶媒の2種以上の混合物。より好ましい例は、以下の通りである：テトラヒドロフラン、メタノール、水、氷酢酸、アセチル酢酸、ギ酸水溶液、ヘキサン、酢酸エチル、酢酸、トルエン、ジクロロメタン及びこれらの溶媒の2種以上の混合物。これらの溶媒における好ましい混合物は、以下の通りである：テトラヒドロフラン／メタノール、水／氷酢酸、メタノール／アセチル酢酸、メタノール／ギ酸水溶液、ヘキサン／酢酸エチル／メタノール、水／酢酸、トルエン／メタノール、ジクロロメタン／酢酸エチル及びジクロロメタン／酢酸／メタノール。

10

20

30

【0076】

本発明の吸着材によって精製される有機分子は、好ましくは、薬理活性化合物である。

【0077】

精製される対象の前記有機分子は、好ましくは、陰イオン性もしくは極性基、水素ブリッジ基、脱プロトン化可能な基を1つ以上、好ましくは1つを超えて有する化合物であるか、複数のヒドロキシル基またはクロロ基を有する化合物である。その構造内にこれらの基を1つ以上有する分子は、好ましい態様において、式(I)に従う前記残基の陽イオン性基または脱イオン化可能な基、及び／または前記ポリマーの前記官能基と相互作用可能である。

30

【0078】

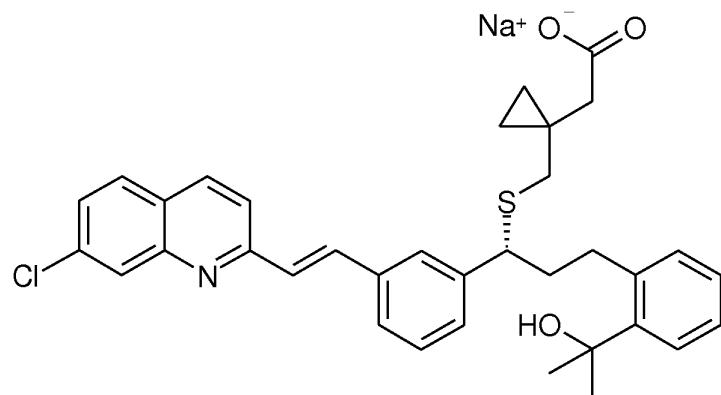
前記有機分子は、好ましくは100～200000g/mol、より好ましくは100～150000g/mol、最も好ましくは100～2500g/molの範囲の分子量を有する。

【0079】

本発明の使用／工程において用いられる有機分子として特に好ましいものは、パクリタキセル、10-デアセチルバッカチンIII、モンテルカスト、ドセタキセル、スガマデクス、ペニタマイシン及びフルオコルトロン、またはこれらの分子の誘導体、またはジクロロフェノールの同位体混合物、または糖、好ましくはフルクトースまたはグルコースのような单糖であり、最も好ましい有機分子は、下記の構造を有する：

40

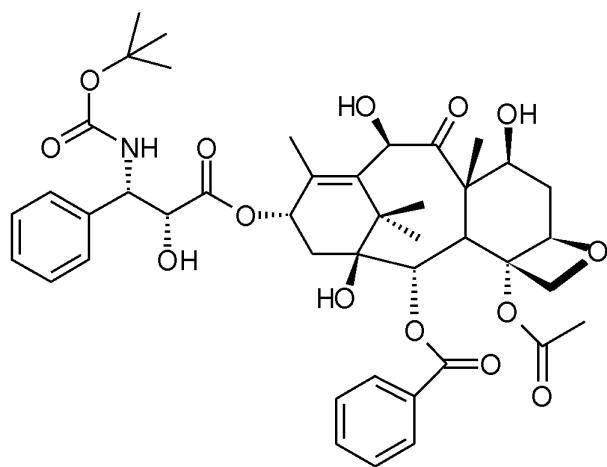
【化7】



10

モンテルカスト、

【化8】

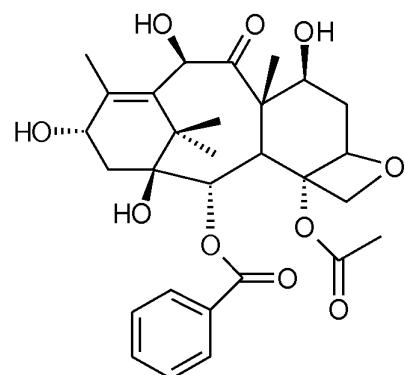


20

ドセタキセル、

30

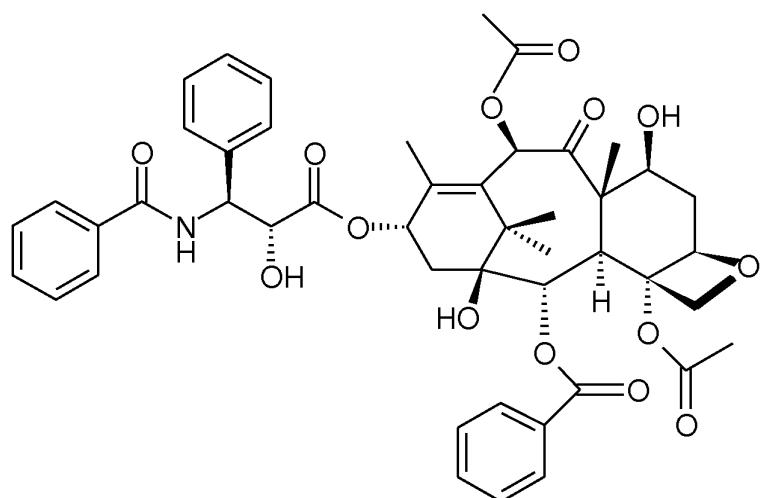
【化9】



40

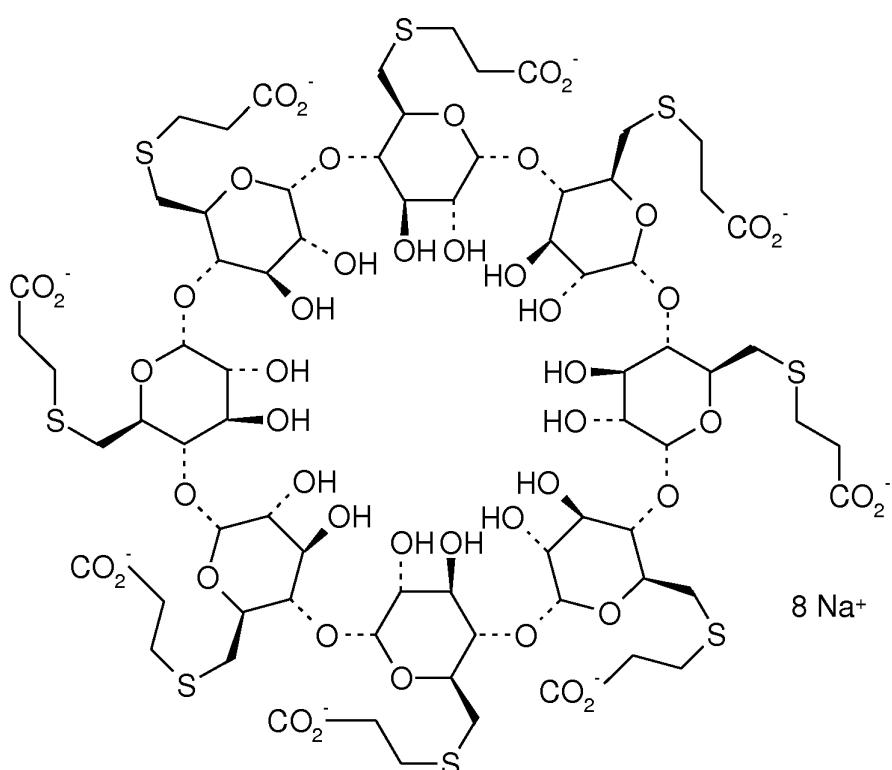
10-デアセチルバッカチンIII、

【化10】



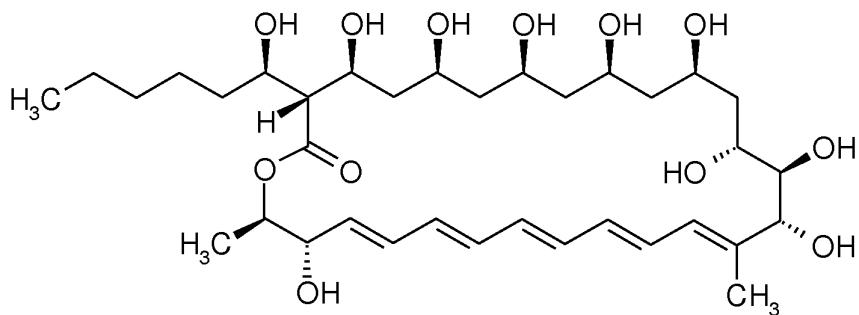
パクリタキセル、

【化11】



スガマデクス、

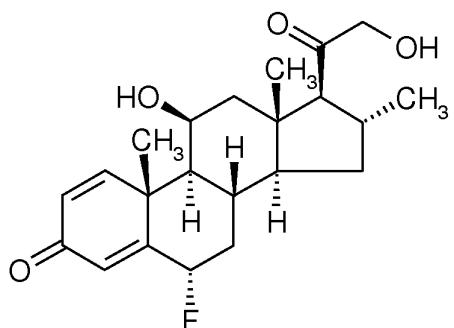
【化12】



10

ペントマイシン、及び

【化13】



20

フルオコルトロン。

【0080】

さらには、本発明に従う吸着材は、溶液からエンドトキシンを分離するために用いられてもよい。本発明にて用いられる前記用語「エンドトキシン（内毒素）」は、生化学物質の分野に関する。エンドトキシンは、ヒトにおいて様々な生理的反応を開始させ得る、細菌の分解生成物である。エンドトキシンは、グラム陰性菌または藍藻類の細胞外膜（OM）の成分である。化学的な観点からは、エンドトキシンは、親水性の多糖成分と、親油性の脂質成分とで構成されるリポ多糖（LPS）である。エンドトキシンの起源である細菌と対照的に、エンドトキシンは熱的に非常に安定であり、滅菌に耐える。現段階で最も感度の高いエンドトキシンの測定方法は、アメリカカブトガニから単離された変形細胞の溶解物における凝固カスケードの活性化によって行われる。この試験は、いわゆる LAL 試験として公知である。

30

【0081】

パクリタキセル、10-デアセチルバッカチンIII、モンテルカスト、ドセタキセル、スガマデクス、ペントマイシン及びフルオコルトロン、またはそれらの誘導体、または糖の精製の場合には、好ましくは、式（I）に従う残基を含んでいる本発明に従う吸着材が用いられる。

40

【0082】

パクリタキセル、10-デアセチルバッカチンIII、モンテルカスト、ドセタキセル、スガマデクスもしくはペントマイシン、またはそれらの誘導体の精製の場合には、好ましくは、式（I）に従う残基を1種のみ含んでいる本発明に従う吸着材が用いられる。この場合には、特に好ましくは、前記残基は式（I）-1、（I）-2または（I）-3の残基の1つである。

【0083】

10-デアセチルバッカチンIII、モンテルカスト及びドセタキセル、またはそれら

50

の誘導体の精製の場合には、好ましくは、式(Ⅰ)-3に従う残基を含んでいる本発明に従う吸着材が用いられる。

【0084】

パクリタキセルまたはその誘導体の精製の場合には、好ましくは、式(Ⅰ)-2または式(Ⅰ)-3に従う残基のいずれかを含んでいる本発明に従う吸着材が用いられる。

【0085】

スガマデクスまたはその誘導体の精製の場合には、好ましくは、式(Ⅰ)-2に従う残基を含んでいる本発明に従う吸着材が用いられる。

【0086】

ペンタマイシンまたはその誘導体の精製の場合には、好ましくは、式(Ⅰ)-1に従う残基を含んでいる本発明に従う吸着材が用いられる。 10

【0087】

フルオコルトロンまたはその誘導体の精製の場合には、好ましくは、2つの異なる種類の式(Ⅰ)に従う残基を含んでいる本発明に従う吸着材が用いられる。さらに好ましくは、式(Ⅰ)に従う1つの残基は式(Ⅰ)-1の残基であり、式(Ⅰ)に従う1つの残基は式(Ⅰ)-2の残基である。

【0088】

ジクロロフェノールの混合物の分離または糖の分離の場合には、好ましくは、式(Ⅰ)-4に従う残基を含んでいる本発明に従う吸着材が用いられる。

【0089】

本発明は、液体クロマトグラフィーまたは固相抽出のためのカラムにも関し、該カラムは、管状格納容器内に固定相として本発明に従う吸着材または本発明に従う方法に従って調製された吸着材を含み、場合により、フリット、濾板、分流器、封止材、継手、ねじ、バルブまたはその他の流体取扱要素や接続要素のような構成要素を含む。一実施形態では、前記方法は、20 barまでの圧力の適用、110までの熱の適用及び一般的な消毒手順に対するその物理的及び化学的抵抗力により特徴付けられ、それによって1000回まで、好ましくは5000回までの繰り返し使用を可能となる。本発明はまた、本発明に従う複数の同じまたは異なった吸着材による、または本発明に従う方法に従って調製された複数の吸着材による、または並列処理可能なマイクロプレート、マイクロチップアレイ、マルチキャピラリーもしくはマイクロ流体デバイス様式の本発明に従う複数のカラムによる集合体にも関する。 30

【0090】

本発明は、診断または実験室における精製キットにも関し、該キットは、本発明に従う吸着材、本発明に従う方法に従って調製された吸着材、本発明に従うカラムまたは本発明に従う吸着材もしくはカラムを含み、さらに、同じパッケージ単位内に、本発明に従う方法、または別の分析、診断、またはそれらと異なる実験室的方法を行うために必要な化学的または生物学的な試薬及び/または消耗品を含む。

【0091】

本発明は、さらに以下の実施形態にも関する。

(i) 本発明に従う吸着材を用いることによる有機分子の精製方法。 40

(ii) 前記有機分子が薬理活性化合物である、実施形態(i)の方法。

(iii) 前記有機分子の有する分子量が、100~200000 g/molの範囲内である、実施形態(i)または(ii)の方法。

(iv) 前記有機分子が、パクリタキセル、10-デアセチルバッカチンIII、モンテルカスト、ドセタキセル、スガマデクス、ペンタマイシン、フルオコルトロン、ジクロロフェノール、それらの誘導体及びエンドトキシンからなる群から選択される、実施形態(i)~(iii)のいずれか1つの方法。

【0092】

本発明は以下の図面及び実施例によりさらに説明されるが、それらは本発明の範囲を限定するものとは理解されない。 50

【実施例】

【0093】

分析方法：

4 - トルエンスルホン酸を用いた漏出測定法によるアミン基の量の決定（前分析）

それぞれの吸着材を、33.5 × 4 mm寸法のカラムに充填する（ベッド容積0.42 mL）。次に、前記充填されたカラムを、以下の媒体により流速1.0 mL/分にて洗い流す。

・水	5 mL	
・100 mM 酢酸アンモニウム水溶液	10 mL	
・水	1 mL	10
・100 mM トリフルオロ酢酸水溶液	10 mL	
・水	10 mL	

【0094】

ポンプ及びUV検出器を有するHPLC装置を通して、水を0.5 mL/分にて5分間送液した後、該HPLC装置でベースラインを検出する。その後、10 mM 4 - トルエンスルホン酸水溶液を送液すると、溶離液の吸光度が274 nmに検出される。前記吸光度は、数分の間に約700 mA Uの水準まで上昇し、該水準を維持する（流入曲線（flux h-in curve））。25分後、ポンプと検出器との間に前記カラムを適用し、前記カラムを10 mM 4 - トルエンスルホン酸により0.5 mL/分にて洗い流す。その後、4 - トルエンスルホン酸が前記カラムに拘束されるため、前記吸光度は0 mA Uに落ちる。前記カラムの容量が使い果たされると、溶離液の前記吸光度は、再び開始時の水準である700 mA Uまで上昇する。

【0095】

4 - トルエンスルホン酸の容量を決定するため、流入曲線の水準より低い範囲を比較範囲として統合し、それによって表面積と4 - トルエンスルホン酸との関係を得る。その後、トルエンスルホン酸溶液が前記カラムに吸着された範囲（漏出範囲）を滴定し、該装置の容積及び前記カラムの死容積（0.5 mL）を減じる。前記漏出範囲は、前記カラムに拘束された4 - トルエンスルホン酸の量を直接的に示している。この量を前記カラムの容積で割ることにより、前記吸着材におけるトルエンスルホン酸のmLあたりの容量が得られ、その結果、前記吸着材におけるアミン基の量も得られる。この方法について理解を深めるため、図4にこのような例における曲線を示す。

【0096】

実施例1：式(I)-1の残基を含む、本発明に従う吸着材の製造方法：

シリカゲル6000 gに対し、pH 9.0に調整された12.4%ポリビニルアミン溶液（水中）を2900 g用いて、シリカゲルSP-1000-20（ダイソー製）を、ポリビニルアミンにより被覆した。前記溶液がシリカゲルの孔内に完全に吸い上げられるまで、該混合物を振動篩において攪拌した。その後、前記吸着材を、水が完全に蒸発するまで真空中にて50℃で乾燥させた。続いて、前記乾燥した吸着材を、イソプロパノール18 L中に懸濁し、エチレングリコールジグリシジルエーテル72.8 gと共に55℃で5時間攪拌した。その後、前記吸着材を濾過し、イソプロパノール18 L、0.5 M トリフルオロ酢酸水溶液30 L、水30 L及びメタノール30 Lにより洗浄した。乾燥させた後、前記吸着材は続く改質を行える状態となる。

【0097】

得られた中間体におけるアミン基の量は、滴定により決定可能であり、約442 μmol/L/mLであった。

【0098】

被覆及び架橋された前記吸着材13.5 Lを、0.5 M トリエチレンアミン（DMF中）20 Lにより洗浄し、その後、DMF 12.6 L中に懸濁した。2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオリン酸（HBTU）1991 g及びトリエチレンアミン（TEA）730 mLを加え、該混

10

20

30

40

50

合物を 25 ℓ にて 18 時間攪拌した。その後、該混合物を濾過し、前記吸着材を DMF 5 L、0.5 M トリフルオロ酢酸 (DMF 中) 20 L、DMF 5 L、0.5 M TFA (DMF 中) 15 L 及び DMF 20 L により再び洗浄した。前記吸着材を DMF 9 L 中に懸濁し、HBTU 996 g 及び TFA 365 mL を加えた。該混合物を再び 25 ℓ にて 18 時間攪拌した。その後、前記溶液を濾過し、前記吸着材を DMF 5 L、0.5 M TFA (DMF 中) 20 L、TFA (水中) 30 L、水 30 L 及びメタノール 30 L により洗浄した。真空中にて 50 ℃ で乾燥させた後、前記吸着材は使用できる状態となる。

【0099】

得られた吸着材は、式 (I) - 1 に従う残基を約 119 μmol / mL 含んでおり、これは元素分析により決定される。誘導化前に決定されたアミン基の量に対する式 (I) - 1 に従う残基の比率は、約 0.27 である。10

【0100】

実施例 2 : 式 (I) - 2 の残基を含む、本発明に従う吸着材の製造方法 :

Daisogel SP-1000-10 (ダイソー製) 150 g を、実施例 1 に記載されるように、11.2% ポリビニルアミン水溶液 133.9 g により被覆した。架橋は、ジメチルホルムアミド 560 mL 中にて 1,12-ビス-(5-ノルボルネン-2,3-ジカルボキシimid) - デカンジカルボン酸 9.6 g と共に、25 ℓ にて 4 時間行った。その後、前記吸着材を濾過し、DMF 1.8 L、0.5 M TFA (DMF 中) 3 L、0.1 M TFA (水中) 6 L、水 1.8 L 及びメタノール 1.8 L により洗浄した。前記吸着材を真空中にて 40 ℃ で乾燥させた。20

【0101】

被覆及び架橋された前記吸着材 10.5 g を、0.5 M トリエチレンアミン (ジメチルホルムアミド中) 300 mL により洗浄し、その後、DMF 20 mL 中に懸濁した。グリシジルトリメチルアンモニウムクロリド溶液 (75%、水中) 4.42 mL を加え、該混合物を 25 ℓ にて 3 日攪拌した。その後、該混合物を濾過し、前記吸着材を水 300 mL、0.5 M TFA (DMF 中) 300 mL 及び水 300 mL により洗浄した。前記吸着材を水 20 mL 中に懸濁し、グリシジルトリメチルアンモニウムクロリド溶液 (75%、水中) 4.42 mL を加えた。該混合物を再び 25 ℓ にて 3 日攪拌した。その後、前記溶液を濾過し、前記吸着材を水 300 mL、0.1 M TFA (DMF 中) 300 mL、TFA (水中) 500 mL、水 300 mL 及びメタノール 300 mL により洗浄した。真空中にて 50 ℃ で乾燥させた後、前記吸着材は使用できる状態となる。30

【0102】

実施例 3 : 式 (I) - 2 の残基を含む、本発明に従う吸着材の製造方法 (別の架橋法) :

シリカゲル 300 g に対し、12.4% ポリビニルアミン溶液 (水中) を 145.2 g 用いて被覆を実施した。850 mL イソプロパノール中、エチレングリコールジグリシジルエーテル 3.64 g を用いて、25 ℓ で 4 時間架橋を行った。

【0103】

得られた中間体におけるアミン基の量は、滴定により決定可能であり、約 559 μmol / mL であった。

【0104】

他の全パラメータ及び被覆された前記吸着材の改質は、実施例 2 に従い行った。40

【0105】

得られた吸着材は、式 (I) - 2 に従う残基を約 268 μmol / mL 含んでおり、これは元素分析により決定される。誘導化前に決定されたアミン基の量に対する式 (I) - 2 に従う残基の比率は、約 0.48 である。

【0106】

実施例 4 : 式 (I) - 3 の残基を含む、本発明に従う吸着材の製造方法 :

Jupiter SP-300-15 (Phenomenex 製) 25 g を、実施例 1 に記載の 9.8% ポリビニルアミン水溶液 20.4 g により被覆した。架橋は、ジメチルホルムアミド 150 mL 中にて 1,12-ビス-(5-ノルボルネン-2,3-ジカルボ

キシイミド) - デカンジカルボン酸 1.3 g と共に、25 にて 18 時間行った。その後、前記吸着材を濾過し、DMF 230 mL、0.1 M TFA (水中) 780 mL、水 230 mL 及びメタノール 230 mL により洗浄した。前記吸着材を真空中にて 40 で乾燥させた。

【0107】

得られた中間体におけるアミン基の量は、滴定により決定可能であり、約 470 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ であった。

【0108】

被覆及び架橋された前記吸着材 25 g を、0.5 M TEA (DMF 中) 200 mL により洗浄し、その後、DMF 100 mL 中に懸濁した。1-メチルピペラジン-4-コハク酸アミド 4.43 g、2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸 (HBTU) 8.4 g 及びトリエチルアミン 2.24 g を加え、該混合物を 25 にて 12 時間攪拌した。その後、該懸濁液を濾過し、前記吸着材を DMF 250 mL、0.1 M TFA (DMF 中) 400 mL、DMF 250 mL 及び 0.5 M TEA (DMF 中) 300 mL により再び洗浄した。前記吸着材を DMF 100 mL 中に再び懸濁した。HBTU 2.22 g 及びトリエチルアミン 1.12 g を加え、該混合物を再び 25 にて 12 時間攪拌した。前記懸濁液を濾過し、前記吸着材を DMF 250 mL、0.1 M TFA (水中) 400 mL、水 250 mL 及びメタノール 250 mL により洗浄した。真空中にて 50 で乾燥させた後、前記吸着材は使用できる状態となる。

10

20

【0109】

得られた吸着材は、式(I)-3 に従う残基を約 410 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 含んでおり、これは元素分析により決定される。誘導化前に決定されたアミン基の量に対する式(I)-3 に従う残基の比率は、約 0.87 である。

【0110】

実施例 5：式(I)-3 の残基を含む、本発明に従う吸着材の製造方法（別の固体支持体）：

シリカゲル 100 g に対し、13.4% ポリビニルアミン溶液（水中）59.7 g 及び追加の水 40 g を pH 9.5 に調整して用いて、シリカゲル SP-1000-10（ダイソーフ）を、ポリビニルアミンにより被覆した。前記溶液がシリカゲルの孔内に完全に吸い上げられるまで、該混合物を振動篩において攪拌した。その後、前記吸着材を、水が完全に蒸発するまで真空中にて 50 で乾燥させた。続いて、前記乾燥した吸着材を、イソプロパノール 300 mL 中に懸濁し、エチレングリコールジグリシジルエーテル 1.62 g と共に 55 で 5 時間攪拌した。その後、前記吸着材を濾過し、イソプロパノール 500 mL、0.5 M トリフルオロ酢酸（水中）500 mL、水 500 L 及びメタノール 500 L により洗浄した。乾燥させた後、前記吸着材は続く改質を行える状態となる。

30

【0111】

得られた中間体におけるアミン基の量は、滴定により決定可能であり、約 596 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ であった。

【0112】

40

実施例 4 に従って改質を行い、その際、該量が改質に用いられる吸着材の量となるよう調節した。

【0113】

得られた吸着材は、式(I)-3 に従う残基を約 423 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 含んでおり、これは元素分析により決定される。誘導化前に決定されたアミン基の量に対する式(I)-3 に従う残基の比率は、約 0.71 である。

【0114】

実施例 6：式(I)-1 の残基と式(I)-2 の残基とを含む、本発明に従う吸着材の製造方法：

12.0% ポリビニルアミン溶液（水中）600 g 及び追加の水 340 g を用いて、シ

50

リカゲル S P - 1 0 0 0 - 1 0 (ダイソー製) 1 2 0 0 g を、ポリビニルアミンにより被覆した。前記溶液がシリカゲルの孔内に完全に吸い上げられるまで、該混合物を振動篩において攪拌した。その後、前記吸着材を、水が完全に蒸発するまで真空中にて 5 0 で乾燥させた。続いて、前記乾燥した吸着材を、イソプロパノール 4 . 4 L 中に懸濁し、エチレングリコールジグリシジルエーテル 1 4 . 5 g と共に 5 0 で 4 時間攪拌した。その後、前記吸着材を濾過し、イソプロパノール 7 L、0 . 5 M トリフルオロ酢酸 (水中) 1 4 L、水 1 4 L 及びメタノール 8 L により洗浄した。乾燥させた後、前記吸着材は続く改質を行える状態となる。

【 0 1 1 5 】

得られた中間体におけるアミン基の量は、滴定により決定可能であり、約 4 9 4 $\mu\text{mole}/\text{mL}$ 10 であった。

【 0 1 1 6 】

第 1 の改質のため、前記吸着材 L を、0 . 5 M T E A (D M F 中) 1 3 L により洗浄し、その後、D M F 2 L 中に懸濁した。H B T U 4 6 5 g 及び T E A 1 7 1 mL を加え、該混合物を 2 5 にて 1 9 時間攪拌し、その後濾過して、D M F 1 . 5 L、0 . 5 M T F A (D M F 中) 1 . 5 L、D M F 1 . 5 L、0 . 5 M T E A (D M F 中) 1 . 5 L 及び D M F 1 . 5 L により洗浄した。該混合物を D M F 2 L 中に再び懸濁し、H B T U 4 6 5 g 及び T E A 1 7 1 mL を加え、該混合物を 2 5 にてさらに 1 9 時間攪拌した。その後に濾過し、D M F 1 . 5 L、0 . 5 M T F A (D M F 中) 1 . 5 L、D M F 1 . 5 L、0 . 5 M T E A (D M F 中) 1 . 5 L 及び D M F 1 . 5 L により洗浄した。 20

第 2 の改質は、実施例 2 に従い、被覆された吸着材 1 . 3 k g に対して、グリシジルトリメチルアンモニウムクロリド 1 8 3 . 2 g 及び T E A 1 2 2 . 2 g (D M F 3 . 5 L 中) による 2 ステップにおいて行った。

【 0 1 1 7 】

得られた吸着材は、式 (I) - 1 に従う残基を約 1 1 4 $\mu\text{mole}/\text{mL}$ 、及び式 (I) - 2 に従う残基を約 5 $\mu\text{mole}/\text{mL}$ 含んでおり、これらは元素分析により決定される。誘導化前に決定されたアミン基の量に対する式 (I) - 1 及び式 (I) - 2 に従う残基の比率は、約 0 . 2 4 である。

【 0 1 1 8 】

実施例 7 : 実施例 1 にて製造された吸着材を用いるペントマイシンの精製 :

30

ペントマイシン及び複数の不純物の粗混合物を、D i o n e x H P L C 装置を用いて分離した。該装置は、4 チャンネル低圧グラジエントポンプ (L P G 5 8 0 、 L P G 6 8 0 または L P G 3 4 0 0)、オートサンプラー (G i n a 5 0 , A S I - 1 0 0 または W P S - 3 0 0)、6 チャンネルカラム切替バルブ (B e s t a 製)、カラムオーブン及びダイオードアレイ U V 検出器 (U V D 1 7 0 U 、 U V D 3 4 0 S または V W D 3 4 0 0) により構成される。実施例 1 にて製造された吸着材を、2 5 0 × 5 0 . 8 mm のスチール製カラムに充填した。分離方法を表 1 に示す。

【 0 1 1 9 】

【表1】

ペントマイシンの精製方法

時間 [分]	安定化された THF [%]	メタノール [%]	水 / 氷酢酸 2/8 [%]	流速 [mL/分]
0	92	8		239
40	92	8		239
40			100	318
45			100	318
45	92	8		318
58	92	8		318
58	92	8		318
60	92	8		239

10

【0120】

複数の分画の分析を、下記の表2に示す。

【0121】

【表2】

ペントマイシンの粗混合物における複数の分画(EW1～EW4)の分析結果

分画収集 [分:秒]	化合物	EW1 [%]	EW2 [%]	EW3 [%]	EW4 [%]	平均 [%]
24:30～ 40:00	RRT 0.58	0.10	0.10	0.09	0.11	0.10
	RRT 0.90	0.80	0.80	0.83	0.79	0.81
	ペントマイシン	97.64	97.58	97.63	97.62	97.62
	RRT 1.46	0.73	0.72	0.73	0.72	0.73

20

*RRT：分析クロマトグラムにおける相対的保持時間

【0122】

図1は、主な不純物が、クロマトグラム1(粗生成物、実線)から、クロマトグラム2(精製物、破線)まで減少したことを示す。

30

【0123】

実施例1と同様に製造され、 $100 \mu\text{mol}/\text{mL}$ を下回る量の式(I)-1に従う残基を含む吸着材は、実施例1の吸着材よりも低い純度及び収率を示した。配位子の量が $80 \mu\text{mol}/\text{mL}$ を下回ると、精製容量及び収率が顕著に低下する。配位子の量が $50 \mu\text{mol}/\text{mL}$ 未満まで低くなると、ペントマイシンの選択性がほとんど見られない。

【0124】

同様に、前記ポリマーの官能基の量に対する式(I)-1に従う前記残基のモル比として0.2を下回るモル比を有する吸着材では、保持力が非常に低いため、得られるペントマイシンの純度及び収率に関しては20%を超えて低下する。

40

【0125】

実施例8：実施例2にて製造された吸着材を用いるパクリタキセルの精製：

パクリタキセル及び複数の不純物の粗混合物を、Dionex HPLC装置を用いて分離した。該装置は、4チャンネル低圧グラジエントポンプ(LPG 580、LPG 680またはLPG 3400)、オートサンプラー(Gina 50, ASI-100またはWPS-300)、6チャンネルカラム切替バルブ(Besta製)、カラムオープン及びダイオードアレイUV検出器(UVD 170U、UVD 340SまたはVWD 3400)により構成される。実施例2にて製造された吸着材を、 $40 \times 4 \text{ mm}$ のスチール製カラムに充填した。5%メタノール(アセチル酢酸中)によるイソクラティック法を用いた単一のクロマトグラフィーステップにて、パクリタキセルを精製した。分画の

50

推移を図4に示す。取得された異なる分画（B1～B14）を、表3に示す。

【0126】

【表3】

取得された異なる分画中におけるパクリタキセルの純度及び収率

分画番号	純度 [%]	収率 [%]
B 1	0.59	2.2
B 2	0.66	0.4
B 3	3.53	0.4
B 4	26.71	3.0
B 5	90.29	20.3
B 6	96.79	26.4
B 7	96.71	21.5
B 8	96.65	11.9
B 9	83.5	12.3
B 10	24.52	1.1
B 11	14.09	0.2
B 12	0.57	0.3
B 13	3.55	0.1
B 14	3.73	0.0

10

【0127】

20

図5において、粗混合物（破線のクロマトグラム）を、精製された生成物（実線）と比較することにより、不純物が減少していることがよくわかる。

【0128】

実施例9：実施例3にて製造された吸着材を用いるスガマデクスの精製：

スガマデクス及び複数の不純物の粗混合物を、Dionex HPLC装置を用いて分離した。該装置は、4チャンネル低圧グラジェントポンプ（LPG 580、LPG 680またはLPG 3400）、オートサンプラー（Gina 50, ASI-100またはWPS-300）、6チャンネルカラム切替バルブ（Besta製）、カラムオーブン及びダイオードアレイUV検出器（UVD 170U、UVD 340SまたはVWD 3400）により構成される。実施例3にて製造された吸着材を、250×25.4mmの軸圧縮Mod Colスチール製カラムに充填した。60%メタノール（（合計）500mMギ酸水溶液中）によるイソクラティック法を用いて、スガマデクスを精製した。異なる分画を取得した分画のクロマトグラムを図3に示す。異なる分画の含有物を表4に示す。

30

【0129】

【表4】

主生成物 Org_25_AT(スガマデクス)及び異なる不純物Org_48_C,Org_19_B等の異なる分画(AS1～AS6)における含有物

分画	純度 Org_25_AT [%]	純度 Org_48_C [%]	純度 Org_19_B [%]	純度 ピークRRT 2.4 [%]	収率 Org_25_AT [%]
AS1	1.72	13.44	16.1	3.38	0
AS2	7.34	74.4	11.75	1.7	0
AS3	96.11	2.32	0.89	0.23	12
AS4	98.54	0.69	0.32	0.15	28
AS5	98.97	0.18	0.08	0.17	59
AS6	10.03	0	0	3.1	0
実質的に組み合わされた分画					
AS3-AS5	98.50	0.59	0.25	0.17	99
AS4-AS5	98.83	0.35	0.16	0.16	87
バッチ乙の開始品質	92.86	4.68	1.12	0.16	

RRT: 分析クロマトグラムにおける相対的保持時間

【0130】

実施例3と同様に製造され、100 μmol/mLを下回る量の式(I)-2に従う残基(配位子)を含む吸着材は、なお許容可能な精製容量を良好な収率にて示した。配位子の量が80 μmol/mLを下回ると、精製容量及び収率が顕著に低下する。配位子の量が50 μmol/mL未満まで低くなると、スガマデクス選択性がほとんど見られない。

【0131】

同様に、前記ポリマーの官能基の量に対する式(I)-2に従う前記残基のモル比として0.2を超えるモル比を有する吸着材では、なおスガマデクス選択性を示した。 $\cdot \text{BR} > \text{Y}$ モル比が0.2を下回ると、非常に低いスガマデクス選択性しか示さないか、スガマデクス選択性をほとんど示さなかった。

【0132】

実施例10: 実施例4にて製造された吸着材を用いるパクリタキセルの精製:

パクリタキセル及び複数の不純物の粗混合物を、Dionex HPLC装置を用いて分離した。該装置は、4チャンネル低圧グラジエントポンプ(LPG 580、LPG 680またはLPG 3400)、オートサンプラー(Gina 50, ASI-100またはWPS-300)、6チャンネルカラム切替バルブ(Besta製)、カラムオーブン及びダイオードアレイUV検出器(UVD 170U、UVD 340SまたはVWD 3400)により構成される。実施例4にて製造された吸着材を、33.5 × 4 mmのスチール製カラムに充填した。ヘキサン/酢酸エチル/メタノール = 50/44/6によるイソクラティック法を用いた单一のクロマトグラフィーステップにて、パクリタキセルを精製した。これにより、開始純度93%のパクリタキセルが、収率68%にて純度99.34%、及び収率92%にて純度99.22%にそれぞれ精製された。分画の推移を図2に示す。主な不純物である7-エピパクリタキセル、2-ジベンゾイル-2-チグロ

10

20

30

40

50

イルパクリタキセル、2' - O - ベンゾイルパクリタキセル及び7,13-ビス - 側鎖 - パクリタキセルは、0.1未満まで減少し、ある場合では、表5に示されるように、UV検出の限界に近づき、またはそれを下回る。

【0133】

【表5】

分画中に取得された異なる分画(J1～J10)における含有物

分画	パクリタキセル		7-エピ-パクリタキセル		2-ジベンゾイル-2-チグロイル-パクリタキセル	
	純度[%]	収率[%]	純度[%]	収率[%]	純度[%]	収率[%]
J1	0.16	0.00	6.936	82.38	0.051	0.57
J2	92.474	4.29	0.583	15.15	2.987	69.26
J3	98.889	13.33	0.016	1.24	0.133	8.99
J4	99.419	12.42	0.003	0.22	0.078	4.89
J5	99.361	19.86	0.006	0.73	0.045	4.56
J6	99.338	15.80	0.003	0.29	0.015	1.22
J7	99.288	20.13			0.028	2.87
J8	98.804	10.37			0.083	4.33
J9	96.87	3.07			0.209	3.31
J10	10.88	0.73				0.00

10

20

【0134】

実施例4と同様に製造され、 $200 \mu\text{mol}/\text{mL}$ を下回る量の式(I)-3に従う残基(配位子)を含む吸着材は、実施例4に従う吸着材の80%を超える精製容量をなお示した。低い純度及び収率を示した。配位子の量が約 $80 \mu\text{mol}/\text{mL}$ まで低くなる場合には、精製容量及び収率はなお許容可能な範囲にあった。配位子の量が $50 \mu\text{mol}/\text{mL}$ 未満まで低くなると、もはやパクリタキセルの選択性は見られない。

【0135】

同様に、前記ポリマーの官能基の量に対する式(I)-3に従う前記残基のモル比として0.2を超えるモル比を有する吸着材では、非常に低い収率ながら、なお高いパクリタキセル選択性を示した。該モル比が0.2を下回ると、非常に低いパクリタキセル選択性しか示さないか、パクリタキセル選択性をほとんど示さなかった。

30

【0136】

実施例11：実施例4にて製造された吸着材を用いる10-デアセチルバッカチンIIIの精製：

10-デアセチルバッカチンIII及び複数の不純物の粗混合物を、Dionex HPLC装置を用いて分離した。該装置は、4チャンネル低圧グラジエントポンプ(LPG 580、LPG 680またはLPG 3400)、オートサンプラー(Gina 50, ASI-100またはWPS-300)、6チャンネルカラム切替バルブ(Best a製)、カラムオープン及びダイオードアレイUV検出器(UVD 170U、UVD 340SまたはVWD 3400)により構成される。実施例4にて製造された吸着材を、 $250 \times 20 \text{ mm}$ のスチール製カラムに充填した。表6に示される方法に従って、10-デアセチルバッカチンIIIを精製した。10-デアセチルバッカチンIIIの分画を図5に示す。

40

【0137】

【表6】

10-デアセチルバッカチンIII 精製のためのクロマトグラフィー方法

時間 [分]	流速 [mL/分]	ヘキサン	酢酸エチル	メタノール	酢酸/水 4:1
0	20	59	34	7	0
80	20	59	34	7	0
80.1	20	0	0	0	100
100	20	0	0	0	100
100.1	20	0	0	100	0
110	20	0	0	100	0
110.1	20	59	34	7	0
120	20	59	34	7	0

10

【0138】

取得された分画は、表7に従い分析された。

【0139】

【表7】

取得された分画(AG1～AG15)の分析結果

分画	純度 [%]	収率 [%]
AG1	0	0
AG2	0	0
AG3	0	0
AG4	35.94	1
AG5	71.06	3
AG6	83.03	9
AG7	86.79	9
AG8	90.49	19
AG9	93.67	19
AG10	89.33	16
AG11	84.99	11
AG12	83.53	7
AG13	79.3	3
AG14	73.38	4
AG15	0	0

20

30

40

【0140】

実施例3と同様に製造され、100 μmol / mLを下回る量の式(I)-3に従う残基(配位子)を含む吸着材は、なお許容可能な精製容量を良好な収率にて示した。配位子の量が80 μmol / mLを下回ると、精製容量及び収率が顕著に低下する。配位子の量が50 μmol / mL未満まで低くなると、10-デアセチルバッカチンIII選択性は見られない。

【0141】

同様に、前記ポリマーの官能基の量に対する式(I)-3に従う前記残基のモル比として0.2を超えるモル比を有する吸着材では、なお10-デアセチルバッカチンIII選

50

択性を示した。該モル比が0.2を下回る吸着材では、非常に低い10-デアセチルバッカチンII選択性しか示さないか、10-デアセチルバッカチンII選択性をほとんど示さなかった。

【0142】

実施例12：実施例5にて製造された吸着材を用いるモンテルカストの精製：

モンテルカスト及び複数の不純物の粗混合物を、Dionex HPLC装置を用いて分離した。該装置は、4チャンネル低圧グラジエントポンプ（LPG 580、LPG 680またはLPG 3400）、オートサンプラー（Gina 50, ASI-100またはWPS-300）、6チャンネルカラム切替バルブ（Besta製）、カラムオーブン及びダイオードアレイUV検出器（UVD 170U、UVD 340SまたはVWD 3400）により構成される。実施例5にて製造された吸着材を、 $250 \times 4\text{ mm}$ のスチール製カラムに充填した。精製のため、トルエン/メタノール=97.5/2.5によるイソクラティック法を用いた。分画の推移を図7に示す。粗混合物の純度95%より開始して、モンテルカストを収率82%にて純度99.8%で得ることができた。図8は、粗混合物（実線）と比較した、精製された生成物（破線）の分析クロマトグラムを示す。

【0143】

実施例5と同様に製造され、 $100 \mu\text{mol}/\text{mL}$ を下回る量の式(I)-3に従う残基（配位子）を含む吸着材は、許容可能な精製容量を良好な収率にて示した。配位子の量が $80 \mu\text{mol}/\text{mL}$ を下回ると、精製容量及び収率が顕著に低下する。配位子の量が $50 \mu\text{mol}/\text{mL}$ 未満まで低くなると、モンテルカスト選択性は見られない。

【0144】

同様に、前記ポリマーの官能基の量に対する式(I)-3に従う前記残基のモル比として0.2を超えるモル比を有する吸着材では、なおモンテルカスト選択性を示した。該モル比が0.2を下回る吸着材では、非常に低いモンテルカスト選択性しか示さなかった。

【0145】

実施例13：実施例4にて製造された吸着材を用いるドセタキセルの精製：

ドセタキセル及び複数の不純物の粗混合物を、Dionex HPLC装置を用いて分離した。該装置は、4チャンネル低圧グラジエントポンプ（LPG 580、LPG 680またはLPG 3400）、オートサンプラー（Gina 50, ASI-100またはWPS-300）、6チャンネルカラム切替バルブ（Besta製）、カラムオーブン及びダイオードアレイUV検出器（UVD 170U、UVD 340SまたはVWD 3400）により構成される。実施例4にて製造された吸着材を、 $250 \times 4\text{ mm}$ のスチール製カラムに充填した。精製のため、ジクロロメタン/酢酸エチル=97/3によるイソクラティック法を用いた。分画の推移を図9に示す。ドセタキセルを収率84%で、純度99.03%にて得ることができた。

【0146】

実施例4と同様に製造され、 $200 \mu\text{mol}/\text{mL}$ を下回る量の式(I)-3に従う残基（配位子）を含む吸着材は、実施例4に従う吸着材の80%を超える精製容量をなお示した。低い純度及び収率を示した。配位子の量が約 $80 \mu\text{mol}/\text{mL}$ まで低くなる場合には、精製容量及び収率はなお許容可能な範囲にあった。配位子の量が $50 \mu\text{mol}/\text{mL}$ 未満まで低くなると、もはやドセタキセルの選択性は見られない。

【0147】

同様に、前記ポリマーの官能基の量に対する式(I)-3に従う前記残基のモル比として0.2を下回るモル比を有する吸着材では、非常に低い収率ながら、なお高いドセタキセル選択性を示した。該モル比が0.2を下回ると、非常に低いドセタキセル選択性しか示さないか、ドセタキセル選択性をほとんど示さなかった。

【0148】

実施例14：実施例6にて製造された吸着材を用いるフルオコルトロンの精製：

10

20

30

40

50

フルオコルトロン及び複数の不純物の粗混合物を、Dionex HPLC装置を用いて分離した。該装置は、4チャンネル低圧グラジエントポンプ（LPG 580、LPG 680またはLPG 3400）、オートサンプラー（Gina 50, ASI-100またはWPS-300）、6チャンネルカラム切替バルブ（Besta製）、カラムオーブン及びダイオードアレイUV検出器（UVD 170U、UVD 340SまたはVWD 3400）により構成される。実施例6にて製造された吸着材を、 $40 \times 4\text{ mm}$ のスチール製カラムに充填した。精製のため、100%ジクロロメタン及び洗浄ステップに用いる1%酢酸（メタノール中）によるイソクラティック法を用いた。分画の推移を図10に、粗生成物（破線）及び精製された生成物（実線）の分析クロマトグラムを図11に示す。この方法により、フルオコルトロンを収率93%で、純度99.0%にて得ることができた。
10

【0149】

実施例6と同様に製造され、 $100\text{ }\mu\text{mol}/\text{mL}$ を下回る量の式(I)-1及び(I)-2に従う残基（配位子）を含む吸着材は、実施例6の吸着材よりも低い純度及び収率を示した。配位子の量が $80\text{ }\mu\text{mol}/\text{mL}$ を下回ると、精製容量及び収率が顕著に低下する。配位子の量が $50\text{ }\mu\text{mol}/\text{mL}$ より低くなると、フルオコルトロン選択性はほとんど見られない。

【0150】

同様に、前記ポリマーの官能基の量に対する(I)-1及び(I)-2に従う前記残基のモル比として0.2を下回るモル比を有する吸着材では、得られるフルオコルトロンの純度及び収率に関しては10%を超えて低下する。
20

【0151】

実施例15：式(I)-4の残基を含む、本発明に従う吸着材の製造方法：

シリカゲル600gに対し、pH8.0~8.5の間に調整され、追加の水250gにより希釈された11.8%ポリビニルアミン溶液（水中）254gを用いて、シリカゲルSP-120-10（ダイソー製）を、ポリビニルアミンにより被覆した。前記溶液がシリカゲルの孔内に完全に吸い上げられるまで、該混合物を振動篩において攪拌した。その後、前記吸着材を、水が完全に蒸発するまで真空中にて50で乾燥させた。続いて、前記乾燥した吸着材を、イソプロパノール2700mL中に懸濁し、エチレングリコールジグリシジルエーテル12.12gと共に55で6時間攪拌した。その後、前記吸着材を濾過し、イソプロパノール3000mL、0.1M塩化水素酸（HCl）（水中）9000mL、水3000mL及びメタノール4500mLにより洗浄した。乾燥させた後、前記吸着材は続く改質を行える状態となる。
30

【0152】

得られた中間体におけるアミン基の量は、滴定により決定可能であり、約 $720\text{ }\mu\text{mol}/\text{mL}$ であった。

【0153】

被覆及び架橋された前記吸着材50gを、DMF150mL中に懸濁し、DMF300mL、0.5Mトリエチルアミン（TEA）300mL及びDMF300mLにより洗浄し、DMF150mL中に再び懸濁した。L-カルニチン5.76g、O-ベンゾトリアゾール-1-イル-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸13.56g及びTEA4.98gを加え、該混合物を50にて4時間攪拌した。その後、該混合物を濾過し、該樹脂を上記の第2反応ステップのために処理した。その後、該樹脂をDMF300mL、0.1M HCl（DMF中）300mL、0.1M HCl（DMF中）300mL、水300mL及びメタノール300mLにより洗浄した。真空中にて50で乾燥させた後、前記吸着材は使用できる状態となる。
40

【0154】

得られた吸着材は、式(I)-4に従う残基を約 $612\text{ }\mu\text{mol}/\text{mL}$ 含んでおり、これは元素分析により決定される。誘導化前に決定されたアミン基の量に対する式(I)-4に従う残基の比率は、約0.85である。
50

【0155】

実施例16：実施例15にて製造された吸着材を用いる、異なるジクロロフェノールの分離：

3,4-ジクロロフェノール、3,5-ジクロロフェノール、2,4-ジクロロフェノール、2,5-ジクロロフェノール及び2,6-ジクロロフェノールを含む粗混合物を、Dionex HPLC装置を用いて分離した。該装置は、4チャンネル低圧グラジエントポンプ（LPG 580、LPG 680またはLPG 3400）、オートサンプラー（Gina 50、ASI-100またはWPS-300）、6チャンネルカラム切替バルブ（Besta製）、カラムオーブン及びダイオードアレイUV検出器（UVD 170U、UVD 340SまたはVWD 3400）により構成される。実施例15にて製造された吸着材を、 $250 \times 4\text{ mm}$ のスチール製カラムに充填した。精製のため、以下の表8に示される2つの溶離液（A及びB）の異なるグラジエントを用いた。溶離液Aは水であり、溶離液Bはアセトニトリルである。

図12は、分画の推移を示す。

【0156】

【表8】

グラジエント1			
時間 [分]	流速 [mL/分]	溶離液A	溶離液B
		H ₂ O [%]	MeCN [%]
0	1.00	0	100
1	1.00	0	100
10	1.00	100	0
15	1.00	100	0
15	1.00	0	100
20	1.00	0	100

【0157】

実施例15と同様に製造され、 $100\text{ }\mu\text{mol}/\text{mL}$ を超える式(I)-4に従う残基(配位子)を含む吸着材は、なお許容可能な分離を示した。配位子の量が $80\text{ }\mu\text{mol}/\text{mL}$ を下回ると、分離容量が顕著に低下する。配位子の量が $50\text{ }\mu\text{mol}/\text{mL}$ 未満まで低くなると、分離は見られない。

【0158】

同様に、前記ポリマーの官能基の量に対する式(I)-4に従う前記残基のモル比として0.2以上のモル比を有する吸着材では、なお十分に分離をした。該モル比が0.2を下回る吸着材では、非常に低い分離性しか示さなかった。

【0159】

実施例17(比較例)：吸着材Kromasil(C18、100、10μm)を用いる、異なるジクロロフェノールの分離：

吸着材Kromasil(C18、100、10μm)を用いた以外は、実施例16と全く同じ分離方法を適用した。分画の推移を図13に示す。

【0160】

10

20

30

40

50

実施例 18：実施例 15 にて製造された吸着材を用いる、グルコースとフルクトースとの混合物の分離：

グルコースとフルクトースとを含む粗混合物を、Dionex HPLC 装置を用いて分離した。該装置は、4 チャンネル低圧グラジエントポンプ（LPG 580、LPG 680 または LPG 3400）、オートサンプラー（Gina 50, ASI-100 または WPS-300）、6 チャンネルカラム切替バルブ（Besta 製）、カラムオーブン及びダイオードアレイ UV 検出器（UVD 170U、UVD 340S または VW D 3400）により構成される。実施例 15 にて製造された吸着材を、 $4.0 \times 4 \text{ mm}$ のスチール製カラムに充填した。精製のため、以下の表 9 に示される 2 つの溶離液（A 及び B）の異なるグラジエントを用いた。溶離液 A はギ酸を 1 重量 % 含む水であり、溶離液 B はギ酸を 1 重量 % 含むアセトニトリルである。

図 15 は、分画の推移を示す。

【0161】

【表 9】

グラジエント 1					
時間 [分]	流速 [mL/分]	溶離液 A		溶離液 B	
		H ₂ O HCOOH	[%]	MeCN HCOOH	[%]
0	1.00	10	90		
1	1.00	10	90		
10	1.00	100	0		
15	1.00	100	0		
15	1.00	10	90		
20	1.00	10	90		

【0162】

実施例 15 と同様に製造され、 $100 \mu\text{mol}/\text{mL}$ を超える式 (I) - 4 に従う残基（配位子）を含む吸着材は、なお許容可能な分離を示した。配位子の量が $80 \mu\text{mol}/\text{mL}$ を下回ると、分離容量が顕著に低下する。配位子の量が $50 \mu\text{mol}/\text{mL}$ 未満まで低くなると、分離は見られない。

【0163】

同様に、前記ポリマーの官能基の量に対する式 (I) - 4 に従う前記残基のモル比とし

10

20

30

40

50

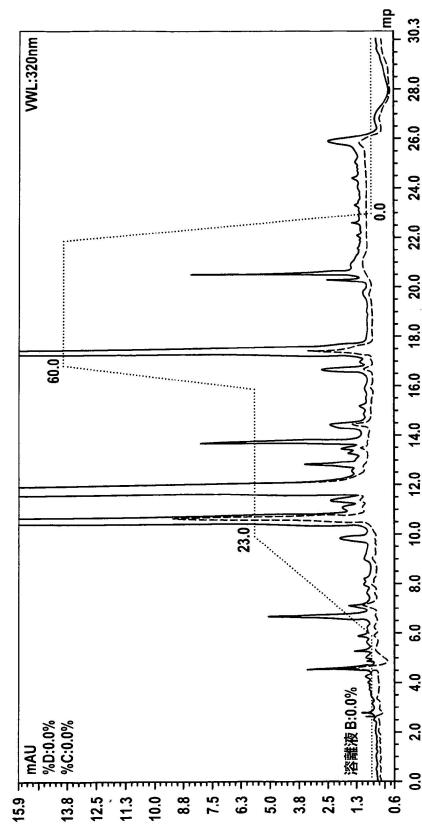
て0.2以上のモル比を有する吸着材では、なお十分に分離をした。該モル比が0.2を下回る吸着材では、非常に低い分離性しか示さなかった。

【0164】

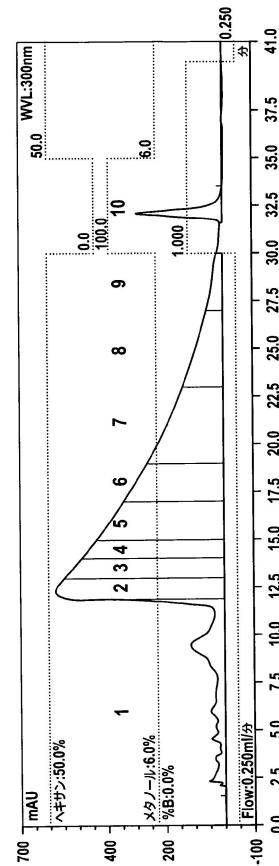
実施例19(比較例)：吸着材Kromasil(C18、100、10μm)を用いる、糖混合物の分離：

吸着材Kromasil(C18、100、10μm)を用いた以外は、実施例18と全く同じ分離方法を適用した。分画の推移を図16に示す。

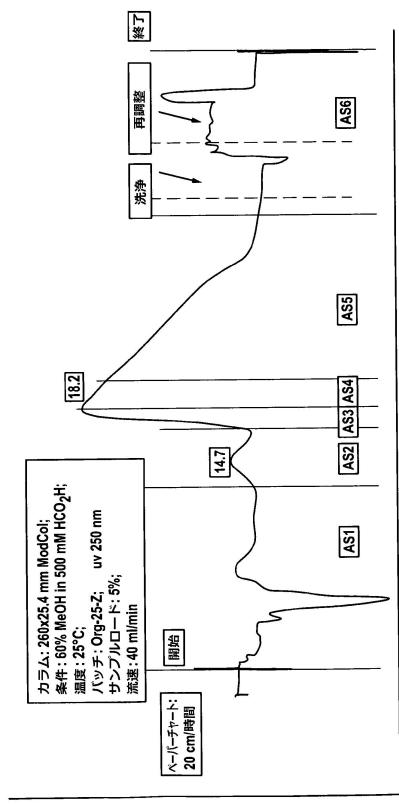
【図1】



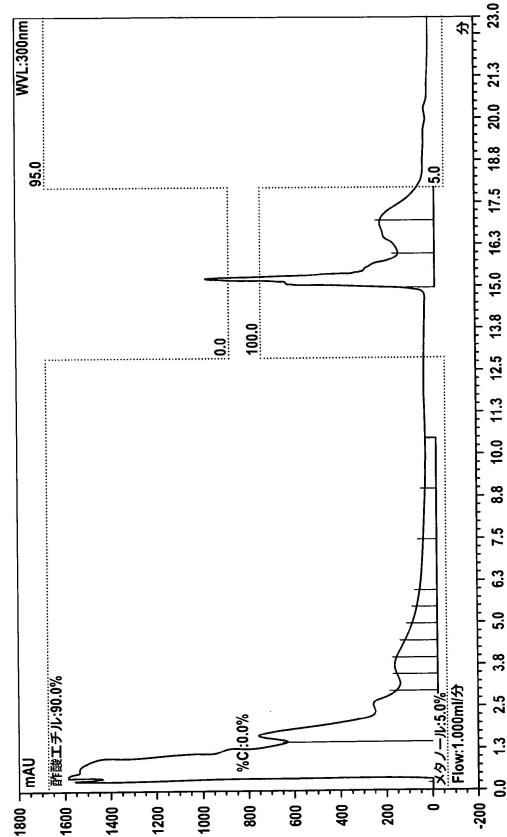
【図2】



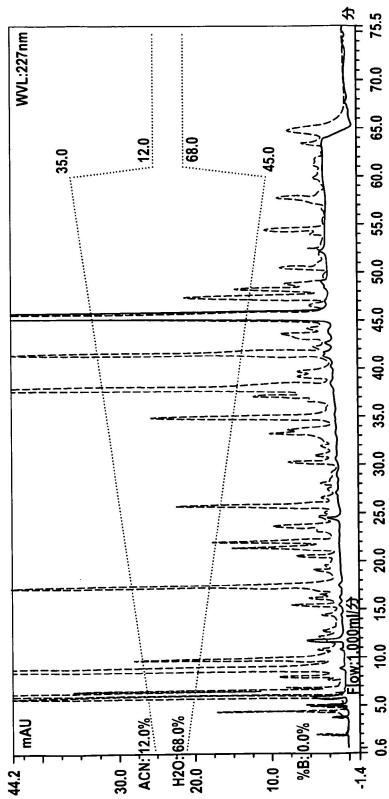
【図3】



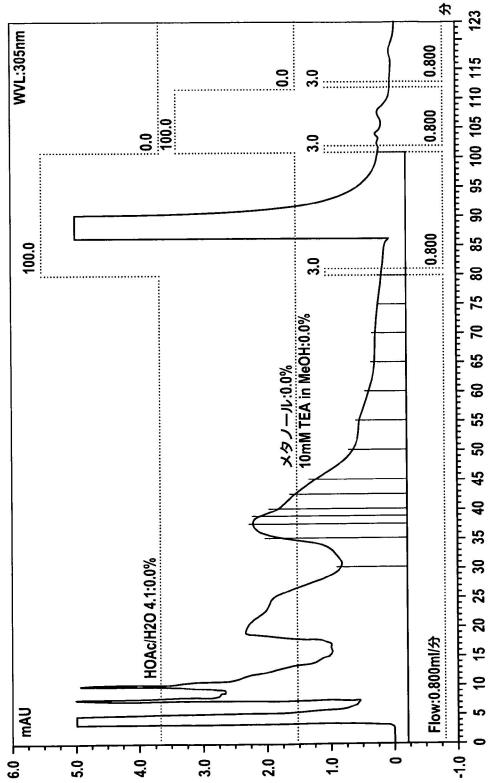
【図4】



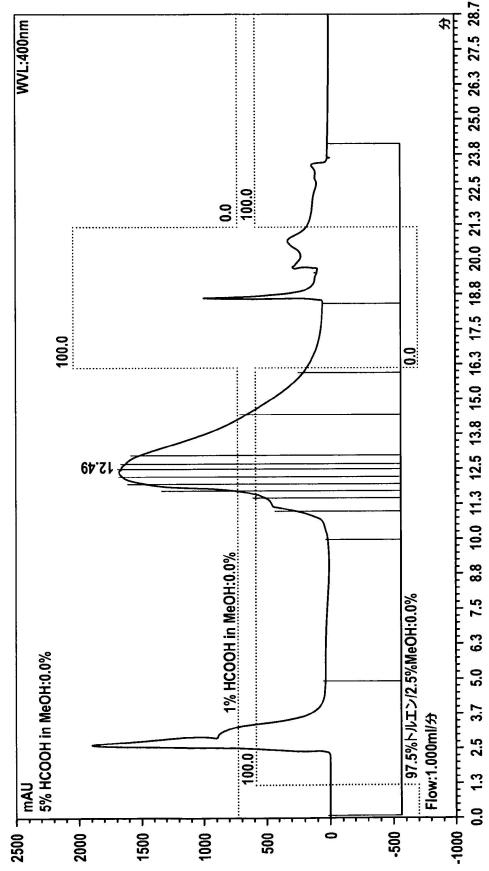
【図5】



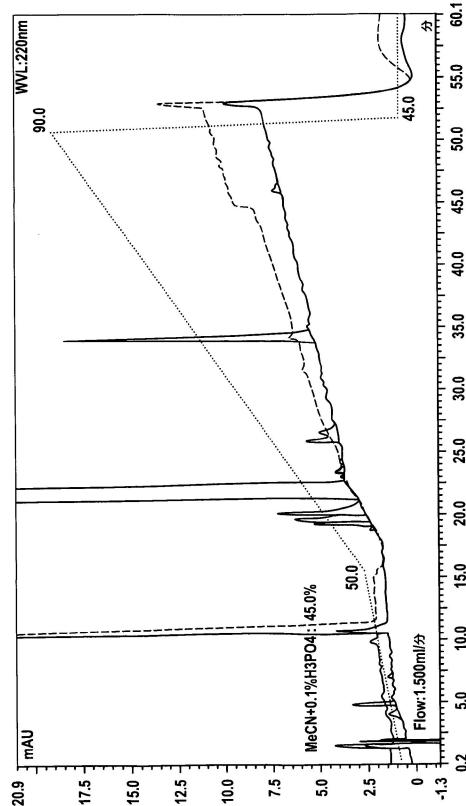
【図6】



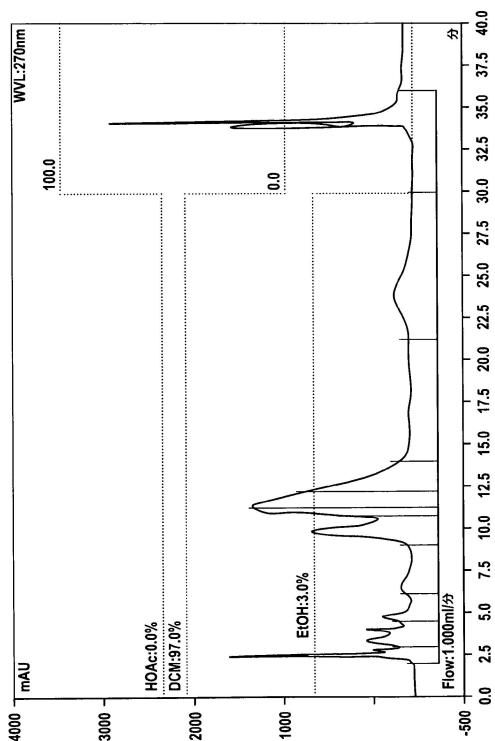
【図7】



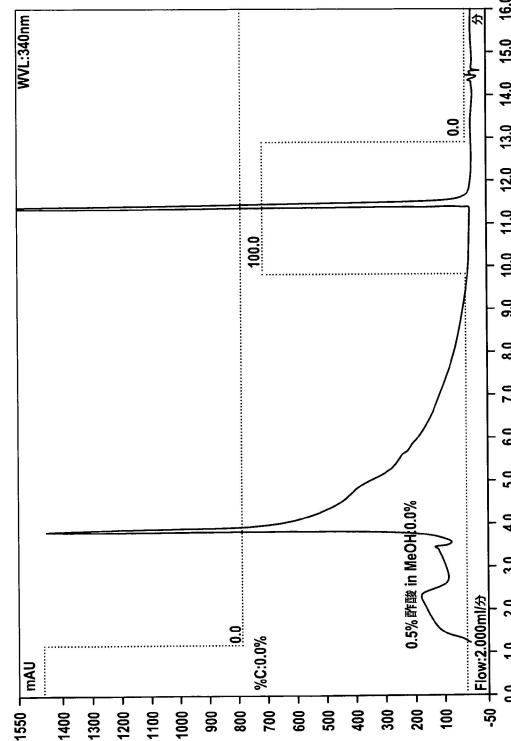
【図8】



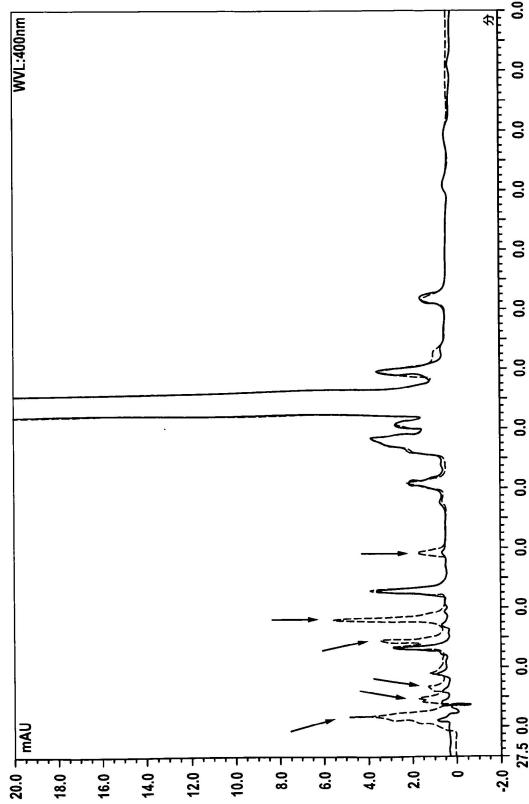
【図9】



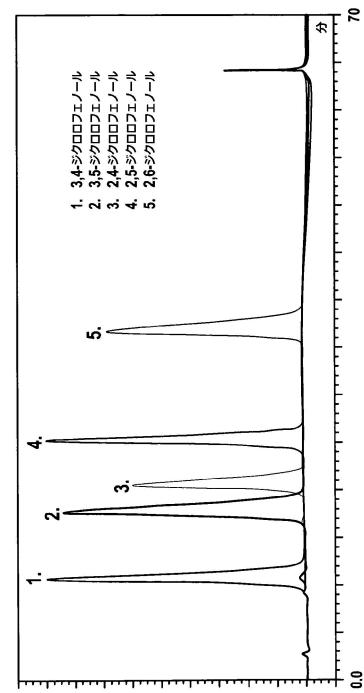
【図10】



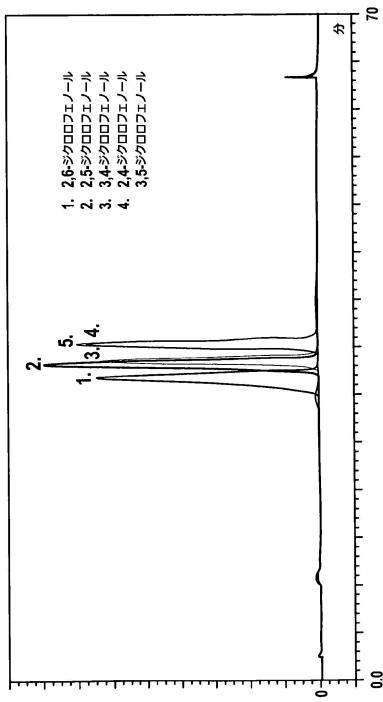
【図11】



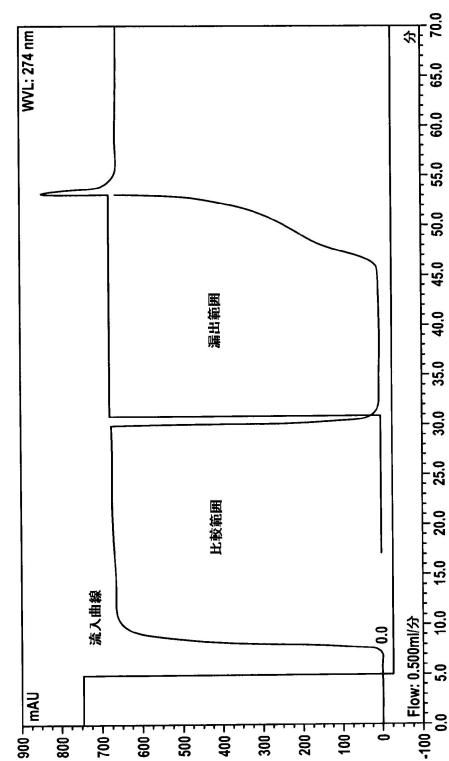
【図12】



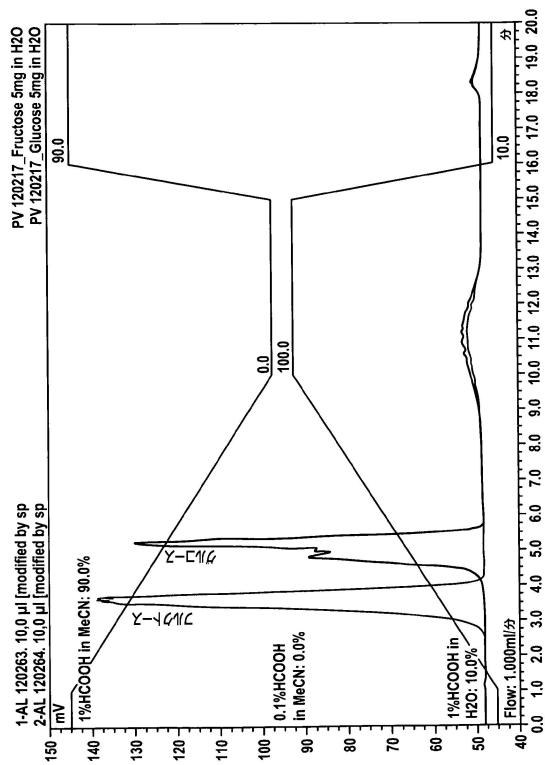
【図13】



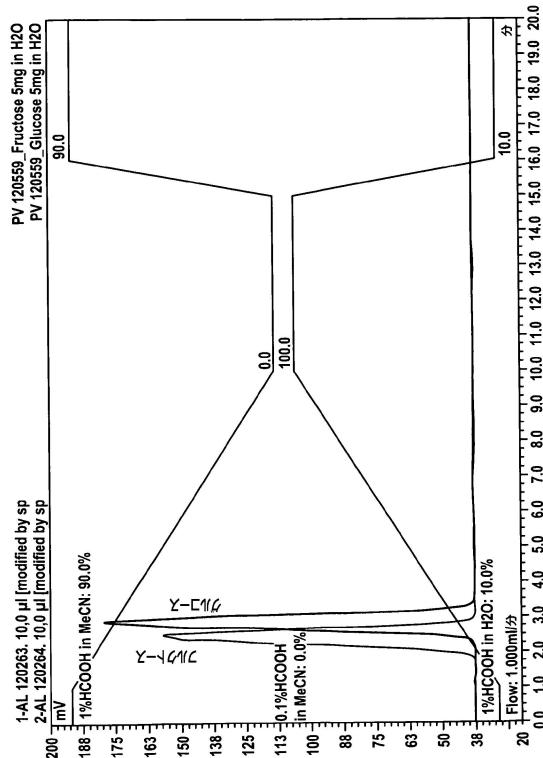
【図14】



【図15】



【図16】



フロントページの続き

(72)発明者 シュヴァルツ, トマス
ドイツ連邦共和国 42799 ライヒリンゲン, メットホルツ 23

(72)発明者 シュトゥンム, ゲルハルト
ドイツ連邦共和国 22143 ハンブルク, パールブレッケンスシュティーグ 15

(72)発明者 ヴェルター, マルティン
ドイツ連邦共和国 69118 ハイデルベルク, ジッツブルフヴェク 91

審査官 大瀧 真理

(56)参考文献 国際公開第2011/072873 (WO, A1)
国際公開第2011/012302 (WO, A1)
特表2006-520789 (JP, A)
特開平07-136506 (JP, A)
米国特許出願公開第2008/0261312 (US, A1)
国際公開第91/004086 (WO, A1)
特開昭57-183712 (JP, A)
特開2002-249517 (JP, A)
特表平09-505844 (JP, A)
国際公開第01/058561 (WO, A1)
特表平10-502339 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 01 N	30 / 00	-	30 / 96
B 01 D	15 / 00	-	15 / 42
B 01 J	20 / 00	-	20 / 34