

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4253714号
(P4253714)

(45) 発行日 平成21年4月15日 (2009. 4. 15)

(24) 登録日 平成21年2月6日 (2009. 2. 6)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 30/96 (2006. 01)

GO 1 N 30/96 A

BO 1 D 15/04 (2006. 01)

BO 1 D 15/04

BO 1 J 41/20 (2006. 01)

BO 1 J 41/06

BO 1 J 41/14 (2006. 01)

BO 1 J 41/14 H

CO 8 F 8/30 (2006. 01)

CO 8 F 8/30

請求項の数 13 (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願平10-538684
 (86) (22) 出願日 平成10年3月3日 (1998. 3. 3)
 (65) 公表番号 特表2001-511256 (P2001-511256A)
 (43) 公表日 平成13年8月7日 (2001. 8. 7)
 (86) 国際出願番号 PCT/US1998/004101
 (87) 国際公開番号 W01998/039367
 (87) 国際公開日 平成10年9月11日 (1998. 9. 11)
 審査請求日 平成17年3月3日 (2005. 3. 3)
 (31) 優先権主張番号 08/805, 858
 (32) 優先日 平成9年3月3日 (1997. 3. 3)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者

ダイオネックス コーポレーション
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94
 088-3603 サニーヴェイル タイ
 タン ウェイ 1228 ビーオーボック
 ス 3603

(74) 代理人

弁理士 中村 稔

(74) 代理人

弁理士 大塚 文昭

(74) 代理人

弁理士 熊倉 禎男

(74) 代理人

弁理士 穴戸 嘉一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アニオン交換クロマトグラフィーに有用な加水分解に安定な樹脂

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 合成樹脂支持粒子; 及び

(b) 前記合成樹脂支持粒子に結合したアニオン交換化合物;

を含むアニオン交換クロマトグラフィー用組成物であって、前記アニオン交換化合物が鎖を含有し、該鎖が、(i) 該鎖内部のエステル、ケトン又はアミド基と、(ii) 該鎖に対して末端のアニオン交換部位であって、第四アンモニウム塩からなり、該塩が、それと接する溶離液に存在するアニオンと相互作用可能であるアニオン交換部位とを含有し、かつ前記第四アンモニウム塩の窒素原子が、少なくとも4原子長さのリンカーによって前記エステル、ケトン又はアミド基から分離されていることを特徴とするアニオン交換クロマトグラフィー用組成物。

【請求項 2】

前記鎖が該鎖内部のエステル基を含む、請求の範囲第1項に記載のアニオン交換クロマトグラフィー用組成物。

【請求項 3】

前記リンカーが、4～約13原子長さである、請求の範囲第1項に記載のアニオン交換クロマトグラフィー用組成物。

【請求項 4】

前記リンカーの少なくとも1個の原子が、アルキル、アルコキシ、ヒドロキシアルキル及びヒドロキシルからなる群より選択される基で置換されている、請求の範囲第1項に記載

のアニオン交換クロマトグラフィー用組成物。

【請求項 5】

前記第四アンモニウム塩の窒素原子が、アルキル及びヒドロキシアルキルからなる群より選択される少なくとも 1 の基と結合している、請求の範囲第 1 項に記載のアニオン交換クロマトグラフィー用組成物。

【請求項 6】

前記アニオン交換化合物が、前記合成樹脂支持粒子に共有結合で直接結合されている、請求の範囲第 1 項に記載のアニオン交換クロマトグラフィー用組成物。

【請求項 7】

前記アニオン交換化合物が、前記合成樹脂支持粒子の表面に沈着されたラテックスポリマーに取り込まれている、請求の範囲第 1 項に記載のアニオン交換クロマトグラフィー用組成物。

10

【請求項 8】

重合されたモノマー単位を含むラテックスポリマーであって、前記モノマー単位の少なくとも 1 個が鎖を含有するアニオン交換化合物であり、該鎖が、(i) 該鎖内部のエステル、ケトン又はアミド基と、(ii) 該鎖に対して末端のアニオン交換部位であって第四アンモニウム塩からなり、該塩がそれと接する溶離液に存在するアニオンと相互作用可能であるアニオン交換部位とを含み、かつ前記第四アンモニウム塩の窒素原子が、少なくとも 4 原子長さのリンカーによって前記エステル、ケトン又はアミド基から分離されていることを特徴とするラテックスポリマー。

20

【請求項 9】

請求の範囲第 1 項に記載のアニオン交換クロマトグラフィー用組成物を含んでなるアニオン交換クロマトグラフィー用のクロマトグラフィーカラム。

【請求項 10】

アニオン交換クロマトグラフィー組成物を含有するクロマトグラフィーカラムを溶離液と接触する、該溶離液中に存在するアニオンの混合物からアニオンを分離する方法であって、前記アニオン交換クロマトグラフィー組成物が以下の成分：

(a) 合成樹脂支持粒子；及び

(b) 前記合成樹脂支持粒子に結合したアニオン交換化合物；

を含有し、前記アニオン交換化合物が鎖を含有し、該鎖が、(i) 該鎖内部のエステル、ケトン又はアミド基と、(ii) 該鎖に対して末端のアニオン交換部位であって、第四アンモニウム塩からなり、該塩がそれと接する溶離液に存在するアニオンと相互作用可能であるアニオン交換部位とを含有し、かつ前記第四アンモニウム塩の窒素原子が、少なくとも 4 原子長さのリンカーによって前記エステル、ケトン又はアミド基から分離されており、アニオン交換が前記末端アニオン交換部位で起こることを特徴とする方法。

30

【請求項 11】

前記リンカーが、4～約13原子長さである、請求の範囲第10項に記載の方法。

【請求項 12】

前記第四アンモニウム塩の窒素原子が、アルキル及びヒドロキシアルキルからなる群より選択される少なくとも 1 の基と結合している、請求の範囲第 10 項に記載の方法。

40

【請求項 13】

前記第四アンモニウム塩の前記窒素原子が、2 個のメチル基及び 1 個のエチル基と結合している、請求の範囲第 12 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

発明の分野

本発明は、高性能アニオン交換クロマトグラフィーに有用である新規な組成物及び方法に関する。

発明の背景

本発明は、改良された液体クロマトグラフィーを行うのに有用である新規な組成物に関する。更に詳細には、本発明は、用いた固定相が種々の溶離液、特に炭酸塩及び/又は重炭

50

酸塩溶液のようなアルカリ溶液中での加水分解による安定性が高められたアニオン交換クロマトグラフィーを行うための改良された組成物及び方法に関する。従って、本組成物は、クロマトグラフィーカラム性能をほとんど失うことなく長時間にわたってアニオン交換クロマトグラフィーを行うことを可能にする。

アニオン交換クロマトグラフィーは、溶液からアニオンを分析及び分離する周知の方法であり、典型的には、電解質を含有する溶離液を用いたクロマトグラフィー分離工程が含まれる。クロマトグラフィー分離工程中、導入した試料のイオンはアニオン交換官能基が結合している不溶性固定相を含むクロマトグラフィーカラムによって溶離される。そのときカラムを横切りかつ固定相に接触するアニオンがこれらの正に荷電したアニオン交換部位で交換することができる。たいていは、アニオン交換クロマトグラフィーの主官能基として第四アンモニウム基が用いられる。

10

満足すべきアニオン交換クロマトグラフィーには、酸性か又はアルカリ性を示す溶離液の使用が必要であり、該溶離液は様々な程度の酸性度又はアルカリ度を有する。しかしながら、そのような溶離液の性質は、たいてい、官能性アニオン交換部位を不溶性固定相に結合する基の加水分解による安定性に対して有害な作用を有する。そのようなものとしては、現在知られているアニオン交換クロマトグラフィーカラムはたいてい比較的短時間しか使用できず、よって高性能アニオン交換クロマトグラフィーに付随した費用をかなり増大させる。

例えば、アニオン交換カラム内の固定相に結合するのに用いられる最も一般的な化合物は、末端エポキシド基が第四アンモニウムアニオン交換部位を有するように官能基化されたアクリレートエステルやメタクリレートエステルである。更に詳しくは、アニオン交換固定相は、一般的には、末端第四アンモニウム塩を有するように官能基化された市販の化合物グリシジルメタクリレートから調製される。官能基化されると、グリシジルメタクリレート誘導化合物は末端第四アンモニウムアニオン交換部位を有し、その窒素原子が合計3個の炭素原子によって化合物の骨格の内部にあるエステル基から分けられる。そのような固定相を用いるアニオン交換カラムがアニオン交換クロマトグラフィーに用いられたが、固有の加水分解による不安定性のためにたいてい経済的に実用的でない。

20

従って、各種の異なる溶離液の存在下に加水分解による安定性が改良されたアニオン交換クロマトグラフィーに有用な新規な組成物が求められている。

発明の要約

30

本発明によれば、加水分解による安定性が用いた固定層によって高められたことにより長時間にわたる高性能アニオン交換クロマトグラフィーを可能にする新規なアニオン交換クロマトグラフィー組成物が形成された。本発明は、少なくとも部分的には、(1)アニオン交換部位を固定相に結合する鎖の内部にある、エステル基、ケトン基又はアミド基のような反応性化学基と(2)官能性アニオン交換部位自体との間の鎖内の原子数を増やすことにより加水分解による安定性が高められかつアニオン交換能が改善されることになるという新規な所見に基づくものである。従って、本発明は、クロマトグラフィー固定相の限られた安定性という共通の問題に取り組むのに役立つものである。

これに関して、本発明の態様は、

(a)合成樹脂支持体粒子;及び

40

(b)前記合成樹脂支持体粒子に結合したアニオン交換化合物;を含み、前記アニオン交換化合物が(i)鎖の内部にあるエステル、ケトン又はアミド反応性基及び(ii)前記鎖の末端にあるアニオン交換部位を含む鎖を含み、前記アニオン交換部位が溶離液中に存在するアニオンと接触して相互作用することができる第四アンモニウム塩からなり、前記第四アンモニウム塩が長さが少なくとも4原子のリンカーによって前記内部反応性基から分けられているアニオン交換クロマトグラフィー組成物を提供するものである。好適実施態様においては、アニオン交換化合物の内部反応性基はエステル基及び/又は長さが4~約13原子、更に好ましくは4~約8原子である末端第四アンモニウムアニオン交換部位の窒素原子から内部反応性基を分けているリンカーである。リンカーが構成される原子は、無置換か又は好ましくはアルキル基、アルコキシ基、ヒドロキシアルキル基又はヒドロキシ基で置換さ

50

れた炭素原子、酸素原子又はイオウ原子である。末端第四アンモニウム塩の窒素原子は、1個以上の置換基、好ましくはアルキル基又はヒドロキシアルキル基で置換されていてもよい。

本発明の他の実施態様においては、上記アニオン交換化合物は直接共有結合によってか又はラテックスポリマーに混合してから合成樹脂支持体粒子の表面に付着させることにより合成樹脂支持粒子に結合する。

本発明の他の態様は、上記アニオン交換化合物が取込まれておりかつ加水分解に安定なアニオン交換クロマトグラフィー組成物を製造する合成樹脂支持体粒子の表面に付着させるのに有効であるラテックスポリマーを提供するものである。

本発明の別の態様は、アニオン交換クロマトグラフィーに有用な上記アニオン交換クロマトグラフィー組成物を含むクロマトグラフィーカラムを提供するものである。

本発明の態様は、また、溶離液中に存在するアニオン混合物からアニオンを分離する方法であって、上記アニオン交換クロマトグラフィー組成物を含むクロマトグラフィーカラムと該溶離液とを接触させ、よってアニオン交換を生じる、前記方法を提供するものである。

本発明の他の態様は、本明細書を読取ることにより明らかになるであろう。

発明の詳細な説明

A. アニオン交換クロマトグラフィー組成物

本発明のアニオン交換クロマトグラフィー組成物は、合成樹脂支持体粒子及び(1)前記鎖の内部にある反応性基及び(2)アニオン交換部位として機能する末端第四アンモニウム塩を含む鎖を含む粒子に結合したアニオン交換化合物を含み、その内部反応性基と第四アンモニウム塩の窒素原子は長さが少なくとも4原子以上のリンカーによって分けられている。

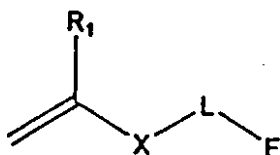
本組成物の合成樹脂支持体粒子は、本来有機又は無機であり、下記のアニオン交換化合物の結合を支持する樹脂材料から形成される。例えば、ポリ(フェノール-ホルムアルデヒド)、ポリアクリル酸、又はポリメタクリル酸又はニトリル、アミン-エピクロロヒドリンコポリマー、ポリエチレン又はポリプロピレンに対するスチレンのグラフトポリマー、スチレン、 α -メチルスチレン、クロロスチレン、クロロメチルスチレン、ビニルトルエン、ビニルナフタレン又はビニルピリジンから誘導されるもののようなポリ(ビニル芳香族)樹脂、メタクリル酸、スチレン、ビニルトルエン、ビニルナフタレン、及び類似の不飽和モノマーの対応するエステル、モノビニリジン環含有窒素複素環化合物を含むモノビニリデンモノマー及び上記モノマーのコポリマーのような合成ポリマーイオン交換樹脂が適切である。

本発明の合成樹脂支持体粒子は、例えば、モノマーの小滴を不溶である水性媒体に懸濁することを含む周知の懸濁重合法によって形成される。適切な条件下でポリマーが重合する。これは、懸濁媒体中でモノマーと添加剤を混合することにより達成される。この媒体を攪拌する場合、モノマーが小滴に分散し、重合が完了するまで攪拌を続ける。好ましくは、用いられる合成樹脂は、特にスチレン-ジビニルベンゼンコポリマーを含む当該技術において周知であるマクロ孔質型である。コポリマーは、例えば、Ikadaら, Journal of Polymer Science 12:1829, 1839(1974)又はMeitznerらの米国特許第4,382,124号に記載されるように調製される。合成樹脂支持体粒子の他の合成法は当該技術において周知であり、米国特許第3,915,642号、同第3,918,906号、同第3,920,398号、同第3,925,019号及びダウケミカル社、ミシガン州ミッドランド発行の研究論文“Dowex; Ion Exchange” 3rd. ed. (1964)に見られる。

合成樹脂支持体粒子は、好ましくは約0~約100重量%ジビニルベンゼンモノマーを含有するベンゾイルペルオキシドのような触媒の存在下に共重合するスチレン-ジビニルベンゼンコポリマーのような架橋ポリマー又はコポリマーのビーズを含む。スチレン-ジビニルベンゼンコポリマーは、更に好ましくは約25~約80重量%ジビニルベンゼンモノマーを含有する。スチレン系ポリマーの調製、構造及び形態の詳細な総説はGuyot & Bartholin, Prog. Polym. Sci. 8:277-332(1982)に示されている。

反応性ビニル基、内部反応性基を含む鎖、末端第四アンモニウム塩アニオン交換部位及び内部反応性基とアニオン交換部位を分けているリンカーを含む“アニオン交換化合物”を本発明のアニオン交換クロマトグラフィー組成物の合成樹脂支持体粒子に結合させる。本明細書に記載されるアニオン交換化合物は、反応性ビニル基を有する前駆体分子から誘導され、下記一般式(I)を有する。

式(I)



10

(式中、“ R_1 ”は水素又はメチルであり、“ X ”は鎖の内部にあり、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR_2-$ 、ここで R_2 は水素又は炭素原子1～約12個を有するアルキルである、又は $-C(=O)-$ であり、“ L ”は末端官能基“ F ”から基“ X ”を分けるために働くリンカーであり、“ F ”はエポキシド基か又はハロゲン原子である。)

本明細書に用いられる“内部反応性基”という語は、上記(I)の“ X ”で表される反応性化学基を意味するものであり、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)NR_2-$ 又は $-C(=O)-$ である。例えば、“ X ”が $-C(=O)O-$ である場合、エステル基である内部反応性基(鎖の内部にあることから“内部”)を生成する。“ X ”が $-C(=O)-$ である場合には、ケトン基である内部反応性基を生成する。

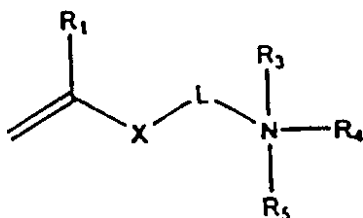
“ X ”が $-C(=O)NR_2-$ である場合には、アミド基である内部反応性基を生成する。後者の場合、内部アミド基の窒素は水素又は1～約12個の炭素原子置換されてもよく、好ましくは水素、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル又はイソブチル置換されてもよく、更に好ましくは水素置換されてもよい。好適実施態様においては、内部反応性基はエステル基であり、ラテックスポリマーに取込まれ、合成樹脂支持体粒子の表面に付着する。

20

上記のように、式(I)の“ F ”はエポキシド基か又はハロゲン原子である。後者の場合には、ハロゲン原子は好ましくは塩素又は臭素である。末端エポキシド基又はハロゲン原子“ F ”は、アニオン交換部位が形成される部位を与える。例えば、“ F ”がエポキシド基か又はハロゲン原子である場合、周知の方法を用いて第三アミンと反応させて溶離液中に存在するアニオンと接触して相互作用することができ、末端第四アンモニウム塩を生成させることができる。得られた化合物(本明細書ではアニオン交換モノマーと呼ぶ)は下記式(II)を有する。

30

式(II)



40

(式中、“ X ”は上記定義の通りであり、末端第四アンモニウム塩アニオン交換部位は($NR_3R_4R_5$)を生成し、“ N ”は窒素原子であり、 R_3 、 R_4 及び R_5 は各々独立して水素、炭素原子1～約12個の直鎖又は分枝鎖アルキル又は炭素原子1～約12個の直鎖又は分枝鎖ヒドロキシアルキルである。) R_3 、 R_4 及び R_5 は、各々独立して好ましくは水素、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル又はヒドロキシアルキル、更に好ましくはメチル又は水素である。特に好ましい実施態様においては、 R_3 及び R_4 はメチルであり、 R_5 はエチルである。内部反応性基と末端第四アンモニウム塩(下記参照)の窒素原子間のリンカー鎖が長いほど、固定相の疎水性が大きい。そのようなものとしては、長いリンカー基がアニオン交換化合物に用いられる場合、末端第四アンモニウム塩の窒素原子が少なくとも1部位でヒドロキシアルキル置換されて固定相の高疎水性を相殺することが好ましい。

50

末端第四アンモニウムアニオン交換部位を生成する反応は、合成樹脂支持体粒子の表面にアニオン交換モノマーをグラフトする前に又はラテックスポリマーにモノマーを混合する前に又は前駆体分子をラテックスポリマーに混合した後に又は前駆体分子が合成樹脂支持体粒子の表面にグラフトされた後に生じる(下記参照)。

式(I)の前駆体分子と式(II)のアニオン交換モノマーの基“L”は、末端第四アンモニウムアニオン交換部位の窒素原子から内部反応性基の基“X”を分けるために働くリンカー基を示す。これに関して、エステル基、ケトン基及びアミド基のような内部反応性基が末端第四アンモニウムアニオン交換部位に密接に接近して(即ち、3原子以内)置かれる場合、加水分解、特に、水性アルカリ媒体中で起こるタイプの加水分解に感受性があることがわかった。しかしながら、本明細書に記載されるように、内部反応性基と末端第四アンモニウムアニオン交換部位の窒素原子間の距離が大きくなるとアルカリ媒体中のアニオン交換クロマトグラフィーで加水分解に安定な組成物が得られることがわかった。従って、本明細書に記載されるように、固定相の加水分解による安定性に対する鍵は末端アンモニウム塩と内部反応性基間の正確な距離である。

市販のモノマーグリシジルメタクリレートから調製される一般に用いられる固定相は、末端第四アンモニウム塩の窒素原子から内部反応性エステル基を分けている3原子の直鎖リンカーを有する。かかる固定相は、アニオン交換クロマトグラフィーに有用であることがわかったがアニオン交換に用いられる第四アンモニウム部位の数が減少する内部反応性エステル基の加水分解のために性能を失うことに感受性があることがわかった。しかしながら、既知の固定相と対照的に、本発明のアニオン交換化合物においては、“L”は長さが少なくとも4原子、一般的には4~約13原子、通常は4~約10原子、好ましくは4~約6原子、更に好ましくは6原子の直鎖(分枝鎖を含まない)を含み、よって加水分解による高安定性を与える。“L”は直鎖又は分枝鎖、好ましくは直鎖であり、飽和又は不飽和炭素原子及び/又は酸素原子又はイオウ原子のようなヘテロ原子を含む。“L”は、好ましくは飽和又は不飽和炭素原子、更に好ましくは飽和炭素原子から構成される。“L”が分枝鎖である場合には、内部反応性基と末端第四アンモニウム塩の窒素原子はなお少なくとも4原子の鎖で分けられ、分枝鎖リンカー基は全炭素原子を通常は13個以下、好ましくは10個以下、更に好ましくは7個以下含む。分枝はリンカー鎖内の原子、好ましくは内部反応性基に隣接した原子に存在し、よって“立体障害”のために内部反応性基の加水分解に対して更に保護する。

上記のように、リンカー基“L”は炭素原子又は酸素又はイオウのようなヘテロ原子を含む。リンカー基はヘテロ原子を一般的には0~約3個、通常は0~2個、好ましくは0~1個、更に好ましくは1個含む。ヘテロ原子は、組成物のアニオン分離特性に対して有意な作用をもたない位置のリンカー基に置かれる。ヘテロ原子がリンカー鎖内に効果的に位置する場所の決定は、当該技術におけるレベルの範囲内で十分である。

末端第四アンモニウム塩の窒素原子から内部反応性基を分けるリンカー鎖の1個以上の原子は、独立してアルキル、アルコキシ、ヒドロキシアルキル又はヒドロキシル置換されてもよい。かかる置換はリンカー鎖のいずれの原子でも便利に行われる。アルキル、アルコキシ及びヒドロキシアルキル置換基は、一般的には約10個未満の炭素原子、通常は約6個未満の炭素原子、好ましくは約4個未満の炭素原子、更に好ましくは約3個未満の炭素原子を有する。置換基、通常はヒドロキシル置換基は、たいてい、末端第四アンモニウム塩を形成する第三アミンによる末端エポキシド基の官能基化の結果として末端第四アンモニウム塩の窒素原子から除去される約2原子である。第四アンモニウム塩に隣接した又は近傍に位置したヒドロキシ含有置換基は、長いリンカー鎖を有するアニオン交換化合物の高疎水性を相殺するために好ましい。

本発明のアニオン交換化合物の例は、適切な前駆体分子と第三アミンとの反応により調製され、本発明を限定することなくエポキシ-又はハロ-アルキルアクリレート又はメタクリレートのアンモニウム塩が含まれ、ここで、アルキルは炭素原子約4~約13個含みかつヘテロ原子0~約3個含んでもよい。かかる化合物の個々の例としては、例えば、2-グリシジルオキシエチルメタクリレート、3,4-エポキシブチルメタクリレート、4,5-エポキシペ

10

20

30

40

50

ンタ-2-イルメタクリレート、4,5-エポキシペンチルメタクリレート及び2-グリシジルオキシメタクリレート及び上記のアミド及びケト誘導体が挙げられる。

合成樹脂支持体粒子の表面に付着するラテックスポリマーを重合する成分又は合成樹脂支持体粒子の表面に直接グラフトする成分として有効なアニオン交換モノマーの調製は、当業者のレベルの範囲内で十分である。例えば、アクリレート及びメタクリレート系化合物の合成については、第1工程は一般的には適切なアルケニルアクリレートの形成に続いてそのアルケニルアクリレートのエポキシ化を含む。アルケニルアクリレートの調製及びそのエポキシ化の方法に関する一般総説については、各々Korshunovら, J. Org. Chem. USSR 4:990(1968)及びResowskyら, The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Interscience Publishers, Vol.19, Part 1(1964)を参照されたい。更に、本明細書に記載されたエポキシアルキル又はハロアルキルアクリレートの多くの合成及び精製は以前に記載されており、その文献は他の類似化合物の合成についても参考になる(例えば、Sandlerら, Polymer Synthesis, Chap.10, Academic Press, ロンドン(1974), Gladkikhら, J. Org. Chem. USSR 11:1602(1975), Fortら, Tetrahedron 48:5099(1992), 米国特許第2,863,851号及び同第3,001,975号参照)。

上記のアニオン交換化合物は、種々の手段で合成樹脂支持体粒子に“結合”する。例えば、本明細書で用いられるアニオン交換化合物は、Afeyanらに発行した米国特許第5,503,933号に記載された方法を用いることにより合成樹脂支持体粒子の表面に共有結合又はグラフトされる。詳しくは、Afeyanらによって記載された方法においては、固体支持体に結合している化合物及びその固体支持体自体は共にビニル基のような有効な不飽和基を有し、化合物は有効な不飽和基間のフリーラジカル反応によって固体支持体に共有結合される。本発明のアニオン交換化合物と合成樹脂支持体粒子は共にその有効な不飽和基を有することから、記載された方法はアニオン交換化合物を合成樹脂支持体粒子に共有結合するために用いられる。

更に、アニオン交換化合物は、米国特許第5,324,752号に記載された合成樹脂支持体粒子の表面に付着するラテックスポリマーに混合される。詳しくは、米国特許第5,324,752号に記載されるように、ラテックスポリマーの調製は、上記式(1)の前駆体モノマー(一方の末端にビニル基及びもう一方の末端にエポキシド基又はハロゲン原子を有する)と各末端に有効なビニル基を有するジビニル架橋モノマーと任意の他のモノビニルモノマーとの重合を含む。反応に添加される任意のモノビニルモノマーの量は、最終ポリマー生成物に存在する第四アンモニウムアニオン交換部位の相対数を希釈又は制御する手段を与える。上記成分は、一般にラテックスと呼ばれるコロイド粒子の懸濁液を形成する水相で重合し、ラテックスポリマーと固相の双方に不可逆的に結合する官能性部位を有する“分散剤”物質によって固相に不可逆的に結合し、よってその間に永続的な結合を生じる。重合反応は、モノマーの懸濁液を適切な乳化剤の存在下に適切な溶媒中で加熱及び攪拌するといった慣用の乳化重合法によって行われる。また、懸濁法、バルク法又は溶液法によって重合が行われ、続いてボールミル、ロッドミル等の機械的手段によって樹脂を所望のサイズに粉碎する。

上記のエポキシド含有前駆体分子のほかに、架橋モノマーや任意に添加されるモノビニル希釈モノマーが周知の多くの異なる合成樹脂から形成される。詳しくは、架橋モノマーは各末端にビニル基を有する分子であり、末端ビニル基を分けている基は、例えば、芳香族又は脂肪族でありかつ酸素又はイオウのような1種以上のヘテロ原子を有する。任意に添加されるモノマーは一方に末端ビニル基を有し、アクリレート又はメタクリレート系であることが好ましい。本発明に用いられる個々のジビニル架橋剤としては、例えば、ジエチレングリコールジメタクリレート及びエチレンメタクリレート又はその各アクリレートが挙げられる。個々の任意に添加されたモノビニルモノマーとしては、例えば、メチルメタクリレート及び2-エトキシエチルメタクリレート又はその各アクリレートが挙げられる。好ましくは使用したモノマー成分の相対的反応性は類似しており、最終ラテックスポリマー中の各モノマー単位のほぼ一様な分布が確かめられる。

ラテックスポリマー懸濁液が調製されると、ポリマーに取込まれたエポキシド基又はハロ

ゲン基が上記の第三アミンと反応することにより第四アンモニウム塩に変換される。場合によっては、ポリマーがまず合成樹脂支持体に結合し、続いてエポキシド基又はハロゲン基が第四アンモニウム塩に変換される。

上記のように調製されたラテックスポリマーは、ラテックスポリマーと固体支持体粒子の双方に不可逆的に結合する“分散剤”物質の架橋により合成樹脂支持体粒子の表面に“付着”(及び不可逆的に結合)し、よって架橋を形成する(米国特許第5,324,752号参照)。固体支持体粒子及びラテックスポリマーによっては、分散剤は重合に用いられる水性媒体における懸濁で凝集を阻止又は防止することができる物質である。例えば、分散剤は、メタクリル酸コポリマー、ポリマレエート、スルホン化ポリマー、ポリビニルピロリドンエステル、植物性ゴム、リグニン及びセルロース誘導体のいずれかより選ばれる。好適実施態様においては、分散剤物質は、ポリビニルアルコール、スルホン化リグニン、ポリビニルピロリジン、アラビアゴム、ゼラチン、マレイン酸-酢酸ビニルコポリマー又はスチレン-マレイン酸無水物コポリマーから形成される。分散剤は、通常は約0.1～約25重量%水分散液を含む。

分散剤の合成樹脂への不可逆結合は、種々のメカニズムによる共有結合によって生じる。1つのメカニズムはフリーラジカル重合反応による共有結合による。フリーラジカルは、典型的には、ポリマーが形成される樹脂支持体粒子に生成され、ポリマーの重合を維持しつつ分枝、架橋している新しい鎖の形成及び架橋を促進する。開始剤は、重合反応を開始及び維持する樹脂支持体粒子の重合工程で用いられる。開始剤濃度が十分高い場合には、重合反応に使用されるよりも多くのフリーラジカル部位が生成し、分散剤のような存在する化学化合物がそれらと反応することができる。従って、分散剤は樹脂基質粒子ポリマーに共有結合することができる。例えば、開始剤濃度が十分に高い場合にはポリビニルアルコール分散剤は他のポリマーに共有結合するようになる。Ikadaら, *Journal of Polymer Science* 12:1829-1839(1974)。懸濁重合中の粒子形成方法を実験しながら、ポリ塩化ビニルが分散剤に化学的にグラフトされることが見出された。Kirkら, *Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd ed. Vol.23, pp.888-890(1983)。

分散剤が樹脂支持体粒子へ不可逆的に結合する第2方法は、永続的な物理的からみ合いによる。このメカニズムにおいては、スルホン化リグニン分散剤又はポリビニルアルコール分散剤のような比較的小さいポリマーが、重合反応が起こる樹脂支持体粒子ポリマーと永続的にからみ合うようになる。

上記のように生じた分散剤のラテックスポリマーへの不可逆的な結合は、上記のような共有結合、又は静電力により生じる。例えば、合成樹脂支持体粒子はスチレン-ジビニルベンゼンコポリマーから製造され、分散剤はスルホン化リグニンとアラビアゴム分散剤の混合物である。スルホン化リグニンは共有結合か又は永続的なからみ合いによって合成樹脂支持体粒子に不可逆的に結合し、よってラテックスポリマーが静電的に凝集される負に荷電した表面を与える。上記を行う個々の方法は、米国特許第5,324,752号に見られる。

アニオン交換化合物を合成樹脂支持体粒子に上記のように結合した後、官能基化粒子は周知の方法を用いてクロマトグラフィーカラムに充填され、高性能アニオン交換クロマトグラフィーに用いられる。例えば、米国特許第4,351,909号には、合成樹脂支持体粒子へのラテックスポリマーの凝集が行われた後にカラムがそれらの粒子で圧力充填されるクロマトグラフィーカラムの調製方法が開示されている。一方、クロマトグラフィーカラムが合成樹脂支持体粒子で圧力充填された後に引き続いてラテックスポリマーの凝集が行われる。米国特許第4,438,047号及び同第4,351,909号を参照されたい。

B. アニオン交換クロマトグラフィー用組成物の使用

本発明のアニオン交換クロマトグラフィー用組成物は、主に、アニオン交換クロマトグラフィーで用いられる水性溶離液のアニオンの分離に有用である。通常、これらの溶液は、炭酸塩又は重炭酸塩溶液であり、ナトリウム又はカリウムの炭酸塩溶液が好ましい。

本発明のアニオン交換クロマトグラフィー用組成物は、アニオンの混合物からアニオンを分離する方法に使用できる。その場合、本発明のアニオン交換組成物は、アニオン交換クロマトグラフィー用のクロマトグラフィーカラムに充填される。そして、カラムが溶離液

中に存在するアニオンの混合物に接触すると、アニオン交換組成物の末端アンモニウム塩でアニオン交換が起こる。

本発明の更なる詳細を、以下の非限定的な実施例で例証する。

実施例 1 - 3,4-エポキシブチルメタクリレートの調製

3,4-エポキシブチルメタクリレートの調製は、FortらのTetrahedron 48:5099(1992)によって示される記述に従って行うことができる。しかし、この合成の目的のため、上述の化合物は、以下の2段階合成により調製した。

段階 I - 3-ブテニルメタクリレート 3-ブテン-1-オール(24.7g)及びフェノチアジン(0.1g阻害剤)が入っている250mlの丸底フラスコに、メチルメタクリレート(80ml)を添加し、マグネシウムメトキシドのメタノール溶液[無水メタノール(5ml)に金属マグネシウム(0.1g)を溶解して調製した]を加えた。混合物を攪拌し、ゆっくり加熱して、蒸留ヘッドの温度が約100℃に上昇してメチルメタクリレートが蒸留し始めるまでメタノールを蒸留した(沸点64-70℃)。そして、混合物を室温に冷却し固体をろ過した。真空下、ろ液を分別した。沸点63-66℃/30mmHgで、純粋な3-ブテニルメタクリレートを捕集した。収量:22.5g

段階 II - 3,4-エポキシブチルメタクリレート 3-ブテニルメタクリレート溶液(5.1g)を、メチレンジクロライド(70ml)中m-CPBA(10.2)の攪拌溶液にゆっくり添加した。得られた溶液を室温で5時間攪拌し、炭酸カリウムの希釈水溶液で繰り返し洗浄した。そして、得られた溶液を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、エバポレートした。純粋な3,4-エポキシブチルメタクリレートが、カラムクロマトグラフィーでシリカゲル上に分離された。収量:3.9g

実施例 2 - 4,5-エポキシペンチルメタクリレートの調製

段階 I - 4-ペンテニルメタクリレート 4-ペンテニルメタクリレートの調製は、米国特許第2,863,851号及び第3,001,975号に記載されたように行うことができる。しかし、本合成の目的のため、基本的に以下のように合成した。激しく攪拌しながら外部アイスバスで冷却されたN,N-ジメチルアニリン(40ml)中4-ペンテン-1-オール(18.1g)の溶液に、メチレンジクロライド(40ml)中メタクリロイルクロライド(10g)の溶液を、45分間で滴下して加えた。そして、反応混合物を3時間かけてゆっくり室温まで温め、この温度でさらに12時間攪拌した。その反応混合物を水(1L)に注ぎ、有機層を分離し、希塩酸で3回、水で2回洗浄して乾燥した。残りの溶媒を減圧下除去し、残渣を真空下分別して、沸点72-73℃/10mmHgの純粋な4-ペンテニルメタクリレートを得た。収量:9g

段階 II - 4,5-エポキシペンチルメタクリレート メチレンジクロライド(15ml)中4-ペンテニルメタクリレート(9g)の溶液を、メチレンジクロライド(150ml)中m-CPBA(18g)の溶液に添加し、5時間反応させた。そして、反応混合物を水に注ぎ、有機相を分離し、炭酸カリウムの希釈溶液で数回洗浄した。反応生成物を水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。純粋な生成物をカラムクロマトグラフィーで分離してシリカゲル上に得た。収量:7g

実施例 3 - 4,5-エポキシペンチン-2-イル メタクリレートの調製

4,5-エポキシペンチン-2-イル メタクリレートは、基本的に以下のように調製した。

段階 I - 4-ペンテン-2-イル メタクリレート 金属ナトリウム(0.2g)を無水メタノール(3g)に溶解し、この溶液に4-ペンテン-2-オール(18.5g)を加え、メチルメタクリレート(50g)を添加した。生成した混合物を攪拌し、メタノールが蒸留し始めるまで加熱した。蒸留されたメタノールを64-70℃で捕集した。メタノールを完全に除去した後、温度を上げ、約100℃でメチルメタクリレートが蒸留し始めた。この瞬間に、反応混合物を室温に冷却し、希硫酸(1N、250ml)及びメチレンジクロライド(150ml)とに分割した。そして、有機相を分離して水で洗浄、乾燥した。残りの溶媒を除去して残渣を真空下分別した。沸点65-68℃/25mmHgで、純粋な4-ペンテン-2-イル メタクリレートを得た。収量:17.5g

段階 II - 4,5-エポキシペンチン-2-イル メタクリレート クロロホルム(150ml)中m-CPBA(32g)の溶液を冷却水で冷却し、4-ペンテン-2-イル メタクリレート(14g)を添加した。混合物を23℃で6時間攪拌した。そして、その反応混合物を炭酸カリウム水溶液(300ml)に注ぎ、有機層を分離した。有機層を3回以上炭酸塩で洗浄し、最後に水で洗浄して乾燥した。そして、残りの溶媒を除去し、残渣をクロマトグラフィーにかけてシリカゲル上に分離させた。その結果、純粋な4,5-エポキシペンチン-2-イル メタクリレート(9.5g)を得た。

実施例 4 - 2-グリシジルオキシエチルメタクリレートの調製

2-グリシジルオキシエチルメタクリレートの調製は、以下のように、Gladkikhら、J. Org. Chem. USSR 11; 1602(1975)の方法を変形して行った。キシレン(250ml)中2-ヒドロキシエチルメタクリレート(133g)の溶液を40°Cで撹拌しながら、三弗化硼素エーテラート(1ml)を添加し、温度が75℃以上に上昇しないような速度で、エピクロロヒドリン(49ml)を加えた。混合物を1時間75℃で撹拌し、室温に冷却した。その溶液を分離漏斗に移し、水で3回洗浄し、アイスバスで冷却している反応容器に戻した。混合物を温度が-5℃に下がるまで撹拌し、50%水酸化ナトリウム水溶液(140ml)を加えた。温度は-3℃に保った。水酸化ナトリウム水溶液添加後、有機層を分離し、水で数回洗浄して乾燥した。残りの溶媒を除去し、残渣を真空下分別し、沸点75-82℃/0.1mmHgでフラクションを集めた。得られた無色の液体(33g)は、エチレングリコールジメタクリレート(40%)、グリシジルオキシエチルメタクリレート(50%)及びジエチレングリコールジメタクリレート(3%)を含んでいた。この混合物の試料(14g)をシリカゲルカラムを用いて精製した。その結果、純粋なグリシジルオキシエチルメタクリレートを得た。収量：6.8g

10

実施例 5 - 2-グリシジルオキシエチルメタクリレートを含むラテックス組成物の調製

100mlの共栓付ビンで、過硫酸カリウム(0.04g)を脱イオン水に溶解した。この溶液に、リン酸ナトリウム(0.1g)を添加し、一塩基リン酸カリウム(0.05g)、Igepal CA-897(1.05g)、2-グリシジルオキシエチルメタクリレート(1.82g)、ジエチレングリコールジメタクリレート(0.18g)及びエトキシエチルメタクリレート(0.5g)を加えた。ビンの中身を撹拌し、15分間窒素で洗浄した。この混合物に、水(2.5g)中ピロ亜硫酸カリウム(0.15g)を加え、撹拌棒を取り除いてビンを密封した。ビンを32℃で2時間ゆっくりと(6rpm)回転させた。生成したラテックスポリマー粒子は、粒径約60nm、約0.100多分散性であった。

20

実施例 6 - ラテックスポリマーの機能化(アミノ化)

実施例 5 で調製したラテックスポリマーを次のように機能化した。上記実施例 5 で調製したラテックス(5.0g)を100mlの共栓付ビンに入れて、Igepal CA-897(0.5g)、適当な三級アミン(7.0gの1M水溶液)及び硝酸(1.5gの1M水溶液)を加えた。反応混合物を90分間32℃で撹拌し続けた。反応終了時、生成したラテックスの粒径は、約100nm、約0.09多分散性に増加していた。そのラテックスに7gの1M酢酸を添加して安定化させた。

実施例 7 - 2-(2-メタクリロイルオキシエトキシ)エチル-ジメチルエチルアンモニウム プロマイドの調製

30

2-(2-メタクリロイルオキシエトキシ)エチル-ジメチルエチルアンモニウム プロマイドは、基本的に以下のように2段階合成で調製した。

段階 I - 2-(2-ジメチルアミノエトキシ)エチルメタクリレート 金属マグネシウム(4g)を少量のヨウ素(約0.1g)の存在下無水メタノール(100ml)に溶解して、マグネシウムメトキシド溶液を調製した。得られた溶液の一部(18ml)を250mlの反応容器に入れ、2-(2-ジメチルアミノエトキシ)エタノール(23.6g)を加え、フェノチアジン(0.1g)及びメチルメタクリレート(117g)を添加した。混合物を撹拌し、メタノールが蒸留し始めるまで加熱した。すべてのメタノールを捕集して、混合物を室温に冷却し、固形分をろ過した。ろ液を減圧分留した。過剰のメチルメタクリレートを分離して、純粋な2-(2-ジメチルアミノエトキシ)エチルメタクリレートを、97-102℃/4mmHgで捕集した。収量：22.1g

40

段階 II - 2-(2-メタクリロイルオキシエトキシ)エチル-ジメチルエチルアンモニウム プロマイド 2-(2-ジメチルアミノエトキシ)エチルメタクリレート(8g)をアセトン(20g)に溶解し、少量のヒドロキノン(約0.1g)を添加後、プロモエタン(8g)を加えた。混合物を室温で24時間撹拌し、減圧下25℃で溶媒を除去した。非晶質固体として生成物を得た。収量：12.2g

実施例 8 - グリシジルメタクリレートと2-グリシジルオキシエチルメタクリレートを対比した、それらから誘導されたクロマトグラフィー固定相における加水分解安定性

加圧充填アニオン交換クロマトグラフィーカラムは、合成樹脂支持粒子に機能化ラテックスポリマー(取り込まれているアニオン交換化合物は、市販され通常に使用されるグリシジルメタクリレート又は実施例4-6に記載した2-グリシジルオキシエチルメタクリレート

50

に基づいている)を凝塊形成させて調製した。そして、これらクロマトグラフィーカラムを、特定条件下での各カラムについて固定相の加水分解安定性を決定するために設計された実験装置で試験した。具体的には、両カラムを、60 で、組成及びpHが異なる一連の溶離液を用いて調べた。

表1は、2mM Na_2CO_3 及び0.7mM NaHCO_3 、pH=10.7の溶離液で流速2ml/分の場合の60 でのグリシジルメタクリレートに基づくアニオン交換固定相について得られた結果を示す。“実験時間”は、実験を行った時間(時間:分)を示し、“滞留時間”は、観察された滞留時間を分で示している。“調整時間”は、観察された滞留時間から、カラムの0.828mlポイド容量に相当する“水ピーク”の滞留時間を減じて調整された時間を示し、“減少滞留時間”は、滞留時間の減少を分で示し、“加水分解%”は、カラムからのアニオン交換部位の加水分解の程度を示す。

表 1

| 実験時間 | 滞留時間 | 調整時間 | 減少滞留時間 | 加水分解% |
|------|-------|------|--------|-------|
| 0:0 | 10.27 | 9.44 | 0 | 0 |
| 1:13 | 9.92 | 9.09 | 0.35 | 1.9 |
| 2:13 | 9.69 | 8.86 | 0.58 | 3.1 |
| 3:13 | 9.47 | 8.64 | 0.8 | 4.2 |
| 4:14 | 9.28 | 8.45 | 0.99 | 5.2 |
| 5:14 | 9.09 | 8.26 | 1.18 | 6.2 |

表1の結果は、溶離液存在下、5時間14分の間に、市販のアニオン交換部位の約6.2%は、グリシジルメタクリレートに基づくクロマトグラフィーカラムから加水分解されたことを示している。

表2及び3は、それぞれ、9mM Na_2CO_3 、pH=11.1の溶離液で流速1ml/分、カラムのポイド容量2.42ml(表2)、又は9mM Na_2CO_3 及び5mM NaOH 、pH=12.0の溶離液で流速1ml/分、カラムのポイド容量2.39ml(表3)の場合の、60 における2-グリシジルオキシエチルメタクリレートに基づくアニオン交換固定相について得られた結果を示す。

表 2

| 実験時間 | 滞留時間 | 調整時間 | 減少滞留時間 | 加水分解% |
|------|-------|-------|--------|-------|
| 0:0 | 25.15 | 22.73 | 0 | 0 |
| 1:00 | 25.05 | 22.63 | 0.04 | 0.1 |
| 2:01 | 24.95 | 22.53 | 0.2 | 0.4 |
| 3:02 | 24.87 | 22.45 | 0.28 | 0.6 |
| 4:03 | 24.8 | 22.38 | 0.35 | 0.8 |
| 5:04 | 24.72 | 22.3 | 0.43 | 0.9 |

表 3

| 実験時間 | 滞留時間 | 調整時間 | 減少滞留時間 | 加水分解% |
|------|-------|-------|--------|-------|
| 0:0 | 17.19 | 14.8 | 0 | 0 |
| 1:00 | 17.08 | 14.69 | 0.04 | 0.1 |
| 2:01 | 16.99 | 14.6 | 0.2 | 0.7 |
| 3:01 | 16.91 | 14.52 | 0.28 | 0.9 |
| 4:02 | 16.8 | 14.41 | 0.39 | 1.3 |
| 5:02 | 16.71 | 14.32 | 0.48 | 1.6 |

10

表 2 及び 3 に示された結果と表 1 に示された結果を比較すると、2-グリシジルオキシエチルメタクリレートに基づく固定相を有するアニオン交換クロマトグラフィーカラムは、通常用いられる市販のグリシジルメタクリレート化合物に基づく固定相を有するアニオン交換クロマトグラフィーカラムよりも、アルカリ性のpHにおいて、かなり加水分解に対して安定であることが実証された。

上述の説明は、本発明の実施に利用可能な特定の方法を詳述している。このような特定の方法を詳述したので、本技術分野の当業者は、本発明の結果を用いて同一の知見を得る代替的な確実な方法の工夫の仕方が十分にわかるだろう。しかしながら、詳細が本文に表現されているが、その全体の範囲を限定するものと解してはならず、むしろ、本発明の範囲は、添付の請求の範囲における適法な解釈によってのみ決定されるものである。本明細書に引用されたすべての文書は、明白に参照文献として取り入れられている。

20

フロントページの続き

(74)代理人

弁理士 竹内 英人

(74)代理人

弁理士 今城 俊夫

(74)代理人

弁理士 小川 信夫

(74)代理人

弁理士 村社 厚夫

(74)代理人

弁理士 西島 孝喜

(74)代理人

弁理士 箱田 篤

(74)代理人

弁理士 浅井 賢治

(72)発明者 ボール クリストファー

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4 5 8 7 5 0 5 0 ユニオン シティー モントレイ
コート 3 2 5 7 2

(72)発明者 ジャゴドジンスキー ジャック

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4 0 6 1 レッドウッド シティー ケントフィールド
アベニュー 1 4 8 5

(72)発明者 サイニ チャランジット

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4 0 3 5 ミルピタス スカイライン ドライヴ 2 2 9
6

審査官 郡山 順

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G01N 30/96

B01D 15/04

B01J 41/14

B01J 41/20

C08F 8/30