

光学分割用充てん剤 “Enantio P1, P2 及び その誘導体” によるラセミ体の直接分割

北 山 隆 一
小 宮 克 夫
加 藤 芳 男

Direct Optical Resolutions of Racemates by “TSKgel Enantio P1 and P2 and Their Derivatives”

Ryuichi KITAYAMA
Katsuo KOMIYA
Yoshio KATO

Several kinds of chiral stationary phases (C. S. P.) were synthesized from commercially available optically active amine, (S)-(-)-1-(α -naphthyl) ethyl amine for the optical resolution of racemates.

This paper reports the investigation of the power and character of optical resolution by the chiral stationary phase with several kinds of interaction on the racemates under the conditions using normal phasic and reversed phasic eluents. The result indicates that the chiral stationary phase having steric bulky (t-Butyl) moiety (TSKgel Enantio P1), and π -acid (3,5-dinitrobenzoyl) moiety (TSKgel Enantio P2) are most efficient to the optical resolution of racemates.

1. はじめに

光学活性体の有用性は広く知られるところであり、医学・生理学・薬学・農薬学・合成化学・天然物化学・その他の分野で増々高まっている。それに伴い、光学活性体を得る方法もまた開発・研究が盛んに進められている。

その方法には大きく大別して2つある。1つは、鏡像体の一方のみを選択的に得る方法であり、酵素法・不斉合成法などに代表される。もう一つは、ラセミ分割と呼ばれるものである。後者としては、古くからラセミ化合物の物理・化学的性質を利用した、i) 自然分晶、ii) 化学的ジアステレオマー変換法などがあり、それぞれ総説が数多く報告されている^{1~3)}。

これらの方法は利点とともに欠点も存在し一般的方法とはなっていない。i) の方法は、ラセミ化合物の物理的性質に大きく依存するものであり特殊法である。ii)

の方法は、化学的変換の行程中常にラセミ化の有無を確認して進めなければならない、又、ラセミ体の化学構造に大きく依存し、分割時間も一般的に長い場合がほとんどである。

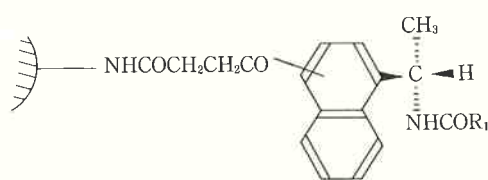
近年、液体クロマトグラフィーの進歩は急速であり、これまで困難とされてきた分析分野に使用される充てん剤・機器及びソフトが開発されている。

その中に光学分割も含まれ、最近、種々の方法が報告されている^{4~6)}。

高速液体クロマトグラフィーによる光学分割の大きな特徴は、分析時間の短縮と操作の平易さである(前述の化学的ジアステレオマー変換法は技術が困難な場合が多い)。

これまで報告されている、高速液体クロマトグラフィーの考え方は次の通りである。

物理的・化学的性質が同一の鏡像体の立体を認識させ



R₁: Me C.S.P.I

t-Bu C.S.P.II (TSKgel Enantio P1)

CH₂O-menthyl-(L) C.S.P.III

3,5-Dinitrobenzoyl C.S.P.IV (TSKgel Enantio P2)

Fig. 1 The structure of chiral stationary phase.

るためにジアステレオメリックな環境を分析モードの中に形成させることである。その方法は2つに大別される。

1つは、移動相中にラセミ体と相互作用を形成する光学活性体を加え、ジアステレオメリックな場を作り、従来よりある種々の固定相で分析・分取する方法である。

もう1つは、固定相を光学活性体とし、ラセミ体と固定相間でジアステレオメリックな相互作用を形成させ、鏡像体間の溶出に差を生じさせる方法である。

これまで知られている光学活性固定相としては次のようなものがある。i) 水素結合・ π - π 相互作用などの3点接触理論に基づく光学活性アミド固定相^{7~11)}, ii) 光学活性アミノ酸-Cu(II) 錯体形成反応を利用する配位子交換型光学活性固定相¹²⁾, iii) シクロデキストリン・光学活性クラウンエーテルなどの抱合作用型光学活性固定相^{13,14)}, iv) 天然多糖体(セルロース)およびその修飾体を光学活性固定相とするもの^{15~18)}, v) α_1 -アシドグリコプロテインなどの不斉認識能を有するタンパク質を固定相としたものなどが知られている¹⁹⁾。

本稿は、i) に属する光学活性固定相であり容易に入手可能な光学活性体である(S)-(-)-1-(α -ナフチル)エチル・アミンから合成し、ラセミ分割に対する性能を種々検討した。

光学活性固定相は次の点を考慮して合成した。

i) 原料となる光学活性体は容易に入手できる。

ii) π - π 相互作用・水素結合などの性質を有する官能基及び立体的関係を自由に調整できる。

iii) 化学的安定性(光学活性体固定相のラセミ化が起こらない)。

Fig. 1 に示す光学活性固定相を合成した。

2. 実 験

合成した化合物の構造は IR により確認した。IR スペクトルは島津製作所製 IR-400 を用いて測定した。

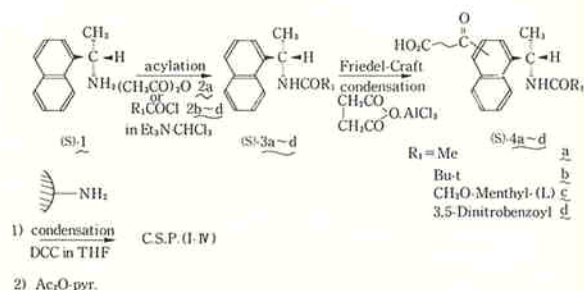


Fig. 2 The synthesis of C. S. P. (I ~ IV).

(1) 光学活性固定相の合成²⁰⁾

光学活性固定相の合成経路は Fig. 2 に示す。

一般的合成法

(S)-(-)-1-(α -ナフチル)エチル・アミン (S)-1 (58.5 mmole) をクロロホルム 500 ml に溶解し、その溶液にトリエチルアミン (175.4 mmole) を加え、続いて氷冷下、酸無水物、又は、酸クロリド (2a~d) (64.4 mmole) を加え、氷冷~室温下約5時間反応させた。反応終了後、反応混合物をクロロホルム 500 ml で希釈し、有機層を希塩酸、希水酸化ナトリウム水溶液で順次洗浄、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、クロロホルムを減圧溜去し、粗生成物を得た。これをエタノールにより再結晶を行い、N-アシル-(S)-1-(α -ナフチル)エチルアミンを得た。

N-アチセル-(S)-1-(α -ナフチル)エチル・アミン (3a), N-ピバロイル-(S)-1-(α -ナフチル)エチル・アミン (3b), N-((L)-メントキシアセチル)-(S)-1-(α -ナフチル)エチル・アミン (3c)。

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1640 (アミド), 1600 (アロマティック)。

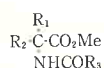
N-3,5-ジニトロベンゾイル-(S)-1-(α -ナフチル)エチル・アミン (3d)。

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1640 (アミド), 1600 (アロマティック), 1560, 1350 (ニトロ基)。

得られた光学活性アミド化合物 (3a~d) (13.7 mmole) を無水塩化メチレン 1.5 l に溶解し、氷冷下無水コハク酸 (15.1 mmole) を加え溶解させた後、塩化アルミニウム (54.8 mmole) を少量ずつ加え、氷冷下~室温中、約20時間攪拌する。反応終了後、0.1N-塩酸水溶液で反応をトラップし、有機層を0.1N-塩酸水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。次に溶媒を減圧溜去して光学活性アミド-カルボン酸を得る(粗収率95.0%)。

これらの化合物 (4a~d) は HPLC {カラム: TSKgel ODS 80TM (4.6 mm I.D. × 15 cm L.), 移動相 (0.1M リン酸緩衝液 -pH 2.5: MeOH 3:7 混液)} に於いて完全

1) (dl)-AMINO ACID



2) (dl)-AMINE

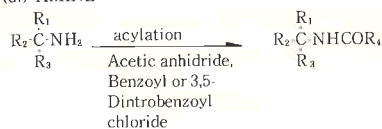


Fig. 3 Modification of racemates (Amino acid and Amine).

に原料が変換されていること、及び生成物は芳香環に於ける位置異性体が存在することを確認した。

(4a~c) IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1720 (カルボン酸), 1690 (ケトン), 1640 (アミド), 1600 (芳香環)。

(4d) IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1720 (カルボン酸), 1690 (ケトン), 1640 (アミド), 1600 (芳香環), 1560, 1350 (ニトロ基)。

得られた光学活性アミド-カルボン酸 (4a~d) (1.8 mmole) をテトラヒドロフラン 40 ml に溶解し、ジシクロヘキシルカルボジイミド (1.98 mmole) を加え、室温で1時間攪拌後、 γ -アミノプロピルグラフトシリカゲル (粒径 4 μm , 細孔径 100 \AA , アミノ基導入量 0.9 mmole/g) (3.6 mmole) を加え、縮合し光学活性固定相を得た。

残存するアミノ基は無水酢素-ピリジン中で反応させアセチル化した。

(2) 測定

ラセミ体は一般的な修飾法によって行った²¹⁾。その経路を Fig. 3 に示す。

測定はポンプに CCPD, 検出器に UV-8000 紫外可視検出器 (ともに東ソー株式会社製) を用い 254 nm で検出しすべて、25°C の恒温室で行った。カラムの充てんは、内径 4.6 mm 長さ 25.0 cm のステンレスカラムにポンプを用いてスラリー法で行った。

3. 結果と考察

(1) 基本的性質

(1) 固定相の特徴

本稿で合成した光学活性固定相 (I~IV) は容易に入手できる (S)-(-)-1-(α -ナフチル) エチル・アミンに種々のアシル化剤を作用させて得られる光学活性アミド (3a~d) から導かれるものであるから、アシル化剤を種々変化させることにより種々の機能を有する光学活性固

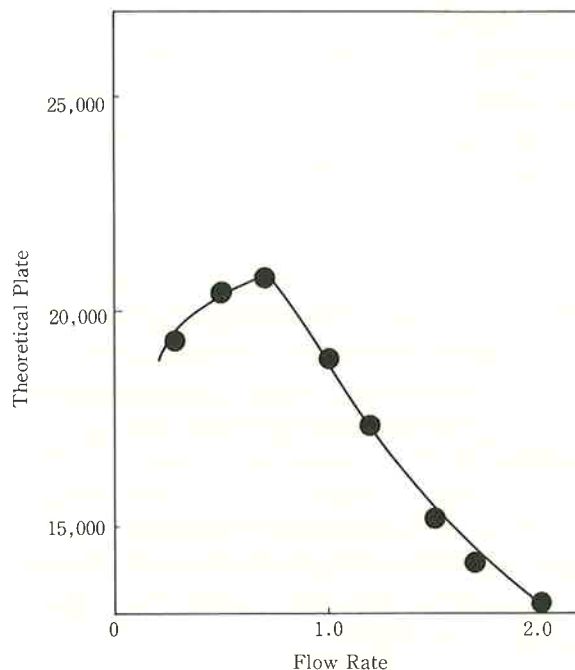


Fig. 4 The effect of flow rate on theoretical plate on chiral stationary phase (IV).

conditions: column size (4.6 mm I.D. \times 25.0 cm L.), eluent (n-hexane: 1,2-dichloroethane: ethanol (70:29:1)), sample (N-3, 5-dinitrobenzoyl-(l)-Val-methyl ester), Temp.: (25°C).

定相をデザインできるという特徴を持つ。Fig. 1 に示したようにアセチル体を基準とし、立体的にかさ高い *t*-ブチル基を持つピバロイル体 (TSKgel Enantio P1), 不斉を導入した (L)-メントキシアセチル体及び π -酸性基として働く 3,5-ジニトロベンゾイル体 (TSKgel Enantio P2) の種々の固定相を合成し、ラセミ分割への影響を検討した。

(2) 基本的性質

ラセミ分割の検討を示す前に、まず最初に基本的性質 (流速と段数の関係及び負荷量と段数・溶出位置の関係) を固定相 (IV) を用いて Fig. 4, 5 にそれぞれ示す。ここでは示さないが他の固定相 (I~III) も同様の傾向を示す。

まず、流速と段数の関係は一般的に広く充てん剤にみられる傾向がこの光学活性固定相においてもみられた。

つまり、流速の上昇とともに (約 0.7 ml/min から) 段数の減少がみられ大きな流速依存性があった。このことから 0.7 ml/min~1.0 ml/min の流速が最適であるといえる。(Fig. 4)

次に負荷量と段数及び溶出時間の関係をみると、2 μg

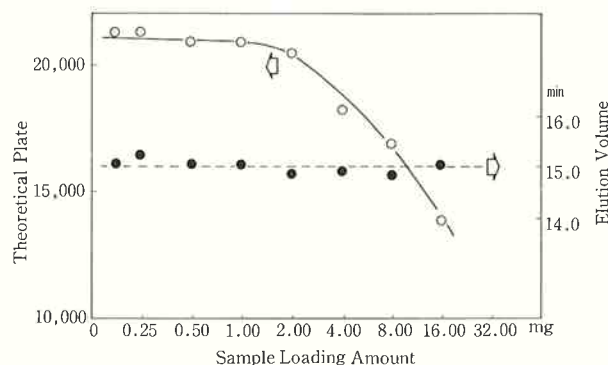


Fig. 5 The effect of sample loading amount on theoretical plate and elution volume.

volume: condition: column size (4.6 mm I.D. × 25.0 cm L.), sample (N-3, 5-dinitrobenzoyl l-Val methylester), eluent (n-hexane: 1, 2-dichloroethane: ethanol (70:29:1) temp. (25°C), flow rate (1.0 ml/min.), detect (UV. 254 nm).

Table 1 The optical resolutions of N-3, 5-dinitrobenzoyl-(dl)-amino acid methyl ester on the four chiral stationary phases.

Conditions; Column Size (0.46 cm I.D. × 25.0 cm L.), Flow Rate (1.0 ml/min.), Eluent (n-Hexane: 1, 2-Dichloroethane: Ethanol 70:29:1), Temp. (25°C), Detect (UV. 254 nm).

CSP	I (Me)			II (t-Bu)			III (Men)			IV (DNB)*		
	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α
Ala	7.27	8.93	1.22	9.05	15.08	1.67	7.05	8.59	1.22	7.95	9.52	1.20
But*	5.00	6.50	1.30	5.85	12.44	2.13	4.71	6.31	1.34	5.88	7.67	1.30
n-Val	4.67	6.33	1.36	5.65	12.69	2.25	4.19	5.73	1.37	5.05	6.91	1.37
Val	3.13	4.40	1.41	3.49	7.92	2.27	2.99	4.32	1.44	3.61	5.05	1.40
n-Leu	3.93	5.40	1.37	5.21	11.81	2.27	3.69	4.93	1.36	4.39	6.25	1.42
Leu	4.60	6.73	1.46	5.97	14.41	2.41	4.16	5.93	1.43	5.13	7.74	1.51
i-Leu	2.98	3.80	1.28	3.40	7.73	2.27	3.33	4.83	1.45	3.15	4.63	1.47
Pro	1.00	1.00	1.00	0.95	0.95	1.00	1.13	1.13	1.00	2.06	2.18	1.06
P-Gly*	5.67	6.03	1.06	9.23	11.02	1.19	5.87	6.20	1.06	7.45	8.46	1.14
Phe	5.40	6.93	1.28	6.66	11.54	1.73	4.99	6.62	1.43	6.27	7.79	1.24

*: But (α-Amino Butyric Acid), P-Gly (α-Phenylglycine), DNB (3, 5-Dinitrobenzoyl).

負荷から段数の減少がみられるが、溶出位置には大きな変化がみられない。このことから段数の負荷量依存性の方が大きく約 2.0 μg までが適切な負荷量 (DL 体としては約 4.0 μg) である。(Fig. 5)

(2) 順相系移動相でのラセミ分割

(1) N-3, 5-ジニトロベンゾイル修飾ラセミ体の分割
まず、水素結合型光学活性固定相のラセミ分割に一般

的に使用される順相系移動相 (ヘキサン系) での検討を行った。

Table 1 に N-3, 5-ジニトロベンゾイル-(dl)-アミノ酸メチルエステルの分割を示す。アミノ酸残基の構造は分割へ大きな影響を及ぼしていることがわかる。アミノ酸残基の立体的なかさ高さが大きくなれば、保持の減少及び分離係数 (α 値) の上昇がみられる。同様のことが同一炭素数アミノ酸残基の幾何異性体間でもみられる (n-バリン修飾体とバリン修飾体及び n-ロイシン, ロイシン及び i-ロイシン)。

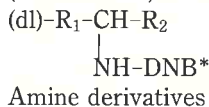
これらのことから次の考えが推定される。つまり、アミノ酸残基自体の光学活性個性相との相互作用は立体的関係が大きく、障害が大きくなればラセミ体の相互作用は弱められ保持は減少するが鏡像体間の固定相との安定性の差は増大するために分離係数は増大すると考えられる。次に固定相間での分割の変化をみると、基準としたアセチル体光学活性固定相 (I) と不斉を導入した (L)-メントキシアセチル体光学活性固定相 (III) では保持、分離係数とも同程度である一方、立体的にかさ高い置換基を有するピバロイル体光学活性固定相 (II) は保持、分離係数共に上昇している。このことから単なる不斉部分の導入より、立体的にかさ高い官能基の方が不斉識別には適していると考えられる。さらに π-酸性官能基である 3, 5-ジニトロベンゾイル体光学活性固定相 (IV) は先に溶出する異性体の保持は脂肪族アミノ酸修飾体の場合は (I, III) の固定相とほぼ同程度であり芳香族アミノ酸修飾体の場合は保持は (II) とほぼ同程度であるが分離係数は減少している。しかしながらこの固定相の特徴は他の固定相で分割能がみられなかった 2 級アミノ酸修飾体 (窒素置換プロトンの消失体) を分割することである。つまり水素結合供与体である N-プロトンの消失により水素結合能が弱まり (I ~ III) の固定相では保持は大きく減少し分割能も消失しているが (IV) の固定相ではあまり大きな保持の減少は起こらず、分離能も保持している。

Table 2 に同様の検討を N-3, 5-ジニトロベンゾイル-(dl)-アミンを試料として行った結果を示す。アミンの場合にも Table 1 の傾向と同様であり、ラセミ体の立体障害が大きくなると分離係数が上昇している。

これまで、示したラセミ分割は総て N-3, 5-ジニトロベンゾイル修飾ラセミ体を対象試料とした。つまりラセミ修飾体中に常に π-酸性基が存在しており、常に光学活性固定相中の π-塩基性基であるナフチル基と π-π 相互作用が形成可能であり又、ニトロ基は水素結合受容体として相互作用の 1 つの要素ともなり得る。このため 1

Table 2 The optical resolutions of N-3,5-dinitrobenzoyl-(dl)-amines on the four chiral stationary phases.

conditions: column size (0.46 cm I.D.×25.0 cm L.), mobile phase (n-hexane: 1,2-dichloroethane: ethanol (70:29:1)), flow rate (1.0 ml/min.), temp. (25°C), detect. (UV. 254 nm).



Sample/CSP		I (Me)			II (t-Bu)			III (Men)			IV (DNB)		
R ₁	R ₂	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α
Me	ET	7.27	7.50	1.03	9.86	11.07	1.12	6.88	7.27	1.06	7.98	8.39	1.05
Me	Pr	5.79	6.05	1.04	9.53	10.83	1.14	6.14	6.47	1.05	6.45	6.87	1.05
Me	Pen	5.27	5.55	1.05	7.27	8.33	1.15	4.74	5.05	1.07	5.37	5.82	1.09
Me	Phe	10.20	12.47	1.22	14.88	22.98	1.54	10.99	13.09	1.19	13.40	16.23	1.21
Me	α-Nap	10.07	13.83	1.37	14.19	36.52	2.57	10.91	14.97	1.37	17.25	28.42	1.65

* 3,5-Dinitrobenzoyl.

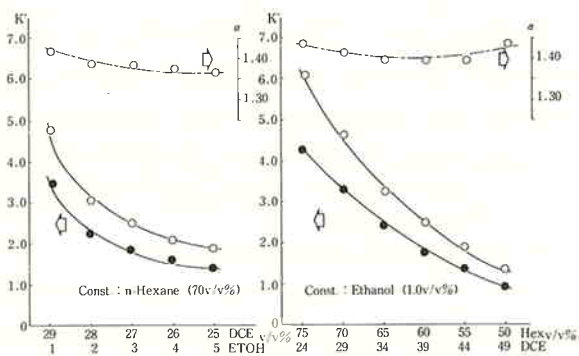


Fig. 6 The effects of the compositions of eluent on the optical resolution of the racemate on the chiral stationary phase (IV).

condition: column size (0.46 cm I.D.×25.0 cm L.), flow rate (1.0 ml/min.), temp. (25°C), detect. (UV. 254 nm), sample (N-3,5-Dinitrobenzoyl-(dl)-Valine methyl ester).

級アミノ基を有するラセミ体の修飾体としては最適であるといえる。

また固定相間では立体的にかさ高い N-ピバロイル体光学活性固定相(II)及び π-酸性基である N-3,5-ジニトロベンゾイル体光学活性固定相(IV)がラセミ分割に効果的であることがわかった。

(2) 溶離液組成変化の分離に及ぼす影響

Fig. 6 に光学活性固定相として N-3,5-ジニトロベンゾイル体(IV)を用いて、溶離液の組成変化(極性変化)

の分離に及ぼす影響を示す。

移動相の極性を上げると、保持は大きく減少するが、不斉識別能つまり分離係数には大きな影響はみられない。このことから、ある溶離液組成に於いて保持が小さすぎ完全分割が達成されない場合又は、保持が大きすぎ分析時間が長時間となる場合には、溶離液の極性を変化させ最適な分割を行なえることが分かる。

(3) N-アシル-(dl)-化合物の分割 (3,5-ジニトロベンゾイル修飾化以外のラセミ修飾体の分割)

分割対称ラセミ体には分子の中にアミド結合を有する場合も多く、それは一般に π-酸性及び塩基性基を有するとは限らない。このような π-π 的に相互作用がないアミド結合置換ラセミ体の分割を検討することは光学活性固定相の分割対称試料の範囲を知るために重要である。

Table 3 に N-ベンゾイル-(dl)-アミノ酸メチルエステル、Table 4 に N-ベンゾイル及びアセチル-(dl)-アミンの分割例を示す。

N-ベンゾイル-(dl)-アミノ酸メチルエステルの分割の場合、N-ベンゾイル基は π-中性基であるから、結果は示していないが、移動相として n-ヘキサン-1,2-ジクロロエタン-エタノール (70 : 29 : 1) では、各固定相とも、その保持が大きく減少し、満足な分離は得られない。そこで、前項で示した性質を利用し、溶離液の極性を下げ保持を増大させ検討を行ない、Table 3 には移動相に n-ヘキサン-1,2-ジクロロエタン-エタノール (97 : 2 : 1) の分割例を示す。

N-アセチル光学活性固定相(I)では、保持を上昇させても不斉識別能はみられず、不斉を導入した(L)-メントキシアセチル光学活性固定相(III)では[2]-(1)項の検討ではみられなかった(I)との違いが表われ分割能がみられた。やはり、分割能が大きい光学活性固定相は立体

Table 3 The optical resolutions of N-benzoyl-(dl)-amino acid methyl esters on the four chiral stationary phases.

conditions: column size (0.46 cm I.D.×25.0 cm L.), mobile phase (n-hexane: 1,2-dichloroethane: ethanol (97:2:1)), flow rate (1.0 ml/min.), temp. (25°C) detect. (UV. 254 nm).

CSP	I (Me)			II (t-Bu)			III (Men)			IV (DNB)		
Sample	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α
Leu	4.81	4.81	1.00	4.29	4.73	1.10	4.62	4.76	1.03	9.81	10.54	1.07
Met	8.33	8.33	1.00	7.88	8.40	1.07	8.71	9.01	1.03	11.86	12.03	1.04
α-Phe-Gly	4.61	4.61	1.00	4.39	4.45	1.01	5.23	5.23	1.00	7.73	7.99	1.03

Table 4 The optical resolutions of N-DNB*, N-Bz* and N-Ac*-(dl)-amine derivatives on the four chiral stationary phases.

conditions: column size (0.46 cm I.D. × 25.0 cm L.), mobile phase (n-hexane: 1,2-dichloroethane: ethanol (70:29:1)), flow rate (1.0 ml/min.), temp. (25°C), detect. (UV. 254 nm).

(dl)-Amine is used α -phenylethyl amine (A) and 1-(α -naphthyl)ethyl amine (B).

Sample/CSP	I (Me)			II (t-Bu)			III (Men)			IV (DNB)		
	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α
(A)												
DNB	10.20	12.47	1.22	14.88	22.98	1.54	10.99	13.09	1.19	13.40	16.23	1.21
Bz	1.43	1.00		1.09	1.17	1.07	1.20	1.00		2.11	2.41	1.14
Ac	3.40	1.00		2.43	2.53	1.04	2.25	2.33	1.04	4.13	4.59	1.11
(B)												
DNB	10.07	13.83	1.37	14.19	36.52	2.57	10.91	14.97	1.37	17.25	28.42	1.65
Bz	1.47	1.00		1.19	1.33	1.12	1.06	1.15	1.06	2.83	4.27	1.51
Ac	3.40	1.00		2.44	2.60	1.07	2.28	2.37	1.04	5.39	7.48	1.39

* DNB: 3,5-Dinitrobenzoyl, Bz: Benzoyl, Ac: Acetyl.

的にかさ高い置換基を導入した N-ピバロイル光学活性固定相(II)である。 π -酸性基を導入した N-3,5-ジニトロベンゾイル光学活性固定相(IV)も不斉識別能はみられたが、この固定相の特徴は他の固定相と比べ保持が大きいことである。固定相に置換しているニトロ基が水素結合などの相互作用を強めていることが推定され、 π -中性ラセミ体分割に効果的である。

Table 4 も同様に (dl)-アミン修飾体の分割例を示す。N-3,5-ジニトロベンゾイル修飾、ベンゾイル修飾及びアセチル修飾ラセミ体の分割能を比較すると、N-3,5-ジニトロベンゾイル修飾ラセミ体が π -酸性基であるため、分離係数・保持共に最大であり π -中性基修飾体では分離係数・保持が減少する。又、立体的かさ高さの小さいアセチル体の方がベンゾイル体より保持は大きく分離係数は小さい。このことから、ラセミ体の立体的な大きさが保持・分割に大きく影響していることがわかる。

さらに (dl)- α -フェニルエチルアミン修飾体と (dl)-1-(α -ナフチル)エチルアミン修飾体の分割を比較すると、一般的に立体的にかさ高い (dl)-1-(α -ナフチル)エチルアミン修飾体の方が分離係数が大きいこともこれまでの推定を支持する。

固定相間を比較すると、N-アセチル光学活性固定相(I)では π -中性基修飾ラセミ体の分割はみられず、不斉を導入した光学活性固定相(III)では、分割能が N-ベンゾイル-(dl)-アミノ酸メチル I ステルの分離結果と同

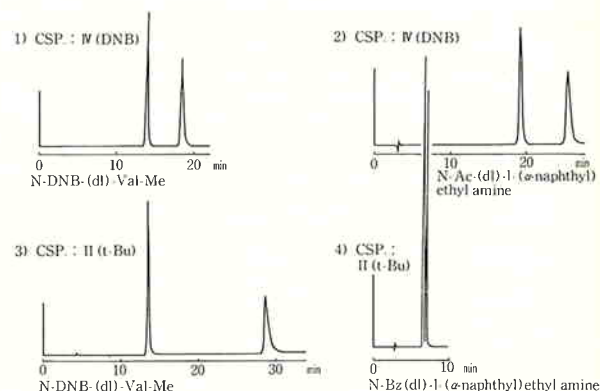


Fig. 7a The chromatograms of the optical resolutions of racemates on the chiral stationary phases (II, IV).

condition: column size (0.46 cm I.D. × 25.0 cm L.), mobile phase (n-hexane: 1,2-DCE: ETOH 70:29:1), flow rate (1.0 ml/min.), temp. (25°C), detect. (UV. 254 nm).

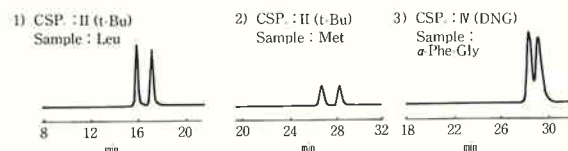


Fig. 7b The chromatograms of the optical resolutions of N-benzoyl-(dl)-amino acid methyl esters on the chiral stationary phases (II, IV).

condition: all the Table 3.

様に分割能がみられた。さらに、これまでと同様に(II, IV)の光学活性固定相で大きな分離係数を持つ。特に、 π -酸性置換基を有する光学活性固定相(IV)が最も効果的である。又、N-3,5-ジニトロベンゾイル光学活性固定相では (dl)-1-(α -ナフチル)エチルアミン修飾体の分割において、修飾部分に π - π 相互作用形成能がなくとも、ラセミ体のナフチル部と固定相の3,5-ジニトロベンゾイル部間で π - π 相互作用が形成されるため分離係数の低下は大きくない。しかし、相互作用の組合せが異なるため、保持は低下したと考えられる。Fig. 7 に主な分割のクロマト例を示す。

以上のことより、分割対象試料の範囲は固定相(II, IV)が種々の相互作用の形成があると考えられるため最も広いと結論できる。

(3) 逆相系溶離条件でのラセミ分割

これまで、この型の固定相による分割はほとんど順相的溶離条件下行なわれてきた。しかしながら水系でも、 π - π 相互作用が消失しないことが知られている。水素結合などは大きく減弱されることが考えられるが、逆相

Table 5 Studies on the optical resolutions under the condition using reversed phasic eluent on the chiral stationary phase (IV).

conditions: column size (0.46 cm I.D. × 25.0 cm L.), flow rate (1.0 ml/min.), mobile phase (H₂O-Methanol or H₂O-Acetonitril) temp. (25°C), detect. (UV. 254 nm), sample (N-3, 5-Dinitrobenzoyl-(dl)-Valine methyl ester).

Eluent/CSP		IV (DNB)		
H ₂ O	MeOH	K ₁	K ₂	α
2	8	0.40	0.47	1.18
3	7	0.73	0.80	1.10
H ₂ O	CH ₃ CN	K ₁	K ₂	α
2	8	0	0	1.00
3	7	0.07	0.07	1.00
4	6	0.20	0.20	1.00
1	1	0.60	0.63	1.05
6	4	1.33	1.49	1.12
7	3	2.63	2.83	1.08

的性質である疎水の分配により保持が形成される。又、水系でのラセミ体分割の検討は、種々の親水性ラセミ体への適用性を知るうえでも重要である。

Table 5 には、まず最初に、溶離液組成(極性)変化の分割に及ぼす影響についてラセミ体サンプルとして N-3,5-ジニトロベンゾイル-(dl)-バリンメチルエステルを用いての検討を示す。

水-メタノール系と水-アセトニトリル系で検討を行い、メタノールの方が保持・分離係数共に効果的有機溶媒である。しかし、極性を上げるとカラム圧の上昇が水-アセトニトリル系に比べ大きいため水-アセトニトリル系で主に検討を行った。

極性と保持の関係は逆相的支配を受け極性を上げると保持は大きくなる。水-アセトニトリル系の場合、水-アセトニトリル-6:4及び7:3で水-メタノール-3:7による分離能を得ることができた。カラム圧を考慮して水-アセトニトリル-7:3で以下の検討を行った。

Table 6 に上述の検討より得られた移動相を用いて N-3,5-ジニトロベンゾイル-(dl)-アミノ酸メチルエステル及び N-アシル-(dl)-アミンの分割例を示す。

一般的に逆相的支配を受け、ラセミ体が疎水性となるに従い保持は大きくなるが、順相系に比較し α 値は小さい。又、立体的にかさ高くなれば α 値が上昇していることから、逆相的溶離条件下でも立体的相互作用が失なわれていないと推定される。さらに、立体的にかさ高い光学活性固定相(II)が最も高い分割能を示しているこ

Table 6 The optical resolutions of racemates on the chiral stationary phases (I~IV) under the condition using reversed phasic eluent.

conditions: column size (0.46 cm I.D. × 25.0 cm L.), mobile phase (H₂O: CH₃CN (7:3)), flow rate (1.0 ml/min.), temp. (25°C), detect. (UV. 254 nm).

Samples/CSP	I (Me)			II (t-Bu)			III (Men)			IV (DNB)		
	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α	K ₁	K ₂	α
1) N-DNB-AA-Me*												
Ala	0.68	0.68	1.00	1.57	1.75	1.11	1.59	1.66	1.04	1.53	1.53	1.00
But*	0.79	0.83	1.05	1.81	2.15	1.19	1.94	2.07	1.07	1.89	2.01	1.06
n-Val	0.97	1.03	1.06	2.64	3.18	1.20	2.92	3.11	1.07	2.52	2.68	1.06
Val	0.85	0.91	1.07	2.21	2.79	1.26	2.63	2.93	1.11	2.63	2.83	1.08
n-Leu	1.27	1.34	1.06	3.79	4.52	1.19	3.98	4.19	1.05	3.67	3.93	1.07
Leu	1.15	1.23	1.07	3.46	4.15	1.20	3.95	4.17	1.06	3.27	3.57	1.09
Pro	1.76	1.76	1.00	0.98	0.98	1.00	1.05	1.05	1.00	1.14	1.14	1.00
Phe	1.53	1.53	1.00	4.77	5.32	1.12	5.24	5.55	1.06	5.40	5.63	1.04
2) Amines												
N-DNB-PE*	1.61	1.91	1.19	4.65	5.75	1.24	5.55	6.31	1.14	4.78	5.34	1.12
N-Bz-PE	0.95	0.95	1.00	1.75	1.75	1.00	1.98	1.98	1.00	2.07	2.21	1.07
N-Bz-NE*	1.80	1.80	1.00	3.83	4.07	1.06	4.66	4.95	1.06	6.71	9.22	1.37

* N-DNB-AA-Me: 3,5-Dinitrobenzoyl-(dl)-Amino Acid Methyl Esters, But: α-Amino Butyric Acid, PE: α-Phenylethyl amine, NE: 1-(α-Naphthyl)ethyl amine.

とからも支持される。

π-π 相互作用の存在も N-3,5-ベンゾイル-(dl)-フェニルチルアミン、N-ベンゾイル-(dl)-ナフチルエチルアミンが、π-酸性導入光学活性体固定相(IV)により大きな分割能が保持していることから推定される。

以上のことより、逆相系でも、立体的にかさ高い光学活性固定相(II)及び π-酸性基導入光学活性固定相(IV)が光学分割に効果的である。

4. おわりに

以上のように、容易に入手可能な光学活性アミンである (S)-(-)-1-(α-ナフチル)エチルアミンよりアシル化して得られる種々の光学活性固定相のなかで光学分割に効果的な固定相は立体的にかさ高い置換基を有する又は π-酸性基を有する光学活性固定相であることがわかった。又、光学活性アミド型固定相は、逆相系移動相でも使用できることがわかった。

上述した2つの光学活性固定相は TSKgel Enantio P1 及び TSKgel Enantio P2 としてそれぞれ商品化され、広く光学分割に対して寄与するものと考えられる。

文 献

- 1) 野中博之ほか, 「光学異性体の分離と応用」, “分離技術”, **16**, 262 (1986)
- 2) 干畑一郎ほか, <化学総説4>「不斉合成の化学」, 学会出版センター, 233 (1973)
- 3) 野平; 「自然分晶の条件と実用例」, 大塚, 向山編 “化学増刊97: 不斉合成と光学分割の進歩”, 化学同人, 165 (1982)
- 4) Blaschke, G.; *Angew. chem. Int. Ed. Engl.*, **19**, 13 (1980)
- 5) Pirkle, W. H., Finn, J.; in “Asymmetric Synthesis”, **1**, p. 87, Ed. by Morrison, J. D., Academic Press, New, (1983)
- 6) Schurig, V.; *Angew. chem. Soc.*, 3940 (1952)
- 7) Dobashi, A., Dobashi, Y., Hara, S.; *J. Liq. Chromatogr.*, **9**, 243 (1986)
- 8) Pirkle, W. H., House, D. W.; *J. Org. Chem.*, **44**, 1957 (1979)
- 9) Pirkle, W. H., Hyun, M. H., Bank; B., *J. Chromatogr.*, **316**, 585 (1984)
- 10) Pirkle, W. H., Mahler, G., Myung, H. H.; *J. Liq. Chromatogr.*, **9**, 443 (1986)
- 11) Ôi, N., Kitahara, H.; *J. Liq. Chromatogr.*, **9**, 511 (1986)
- 12) Davankov, V. A., Rogozhin, S. V.; *J. Chromatogr.*, **60**, 280 (1971)
- 13) Fujimura, K., Veda, T., Ando, T.; *Anal. Chem.*, **55**, 446 (1983)
- 14) Kawaguchi, Y., Tanaka, M., Nakae, M., Funazo, K., Shono, T.; *Anal. Chem.*, **55**, 1852 (1983)
- 15) Shibata, T., Okamoto, I., Ishii, K.; *J. Liq. Chromatogr.*, **9**, 313 (1986)
- 16) Blaschke, G., *J. Liq. Chromatogr.*, **9**, 341 (1986)
- 17) Okamoto, Y., Hatada, K.; *J. Liq. Chromatogr.*, **9**, 369 (1986)
- 18) Allenmark, S., *J. Liq. Chromatogr.*; **9**, 425 (1986)
- 19) Hermansson, J., Eriksson, M.; *J. hiq. Chromatogr.*, **9**, 621 (1986)
- 20) 特許出願中
- 21) Tedder, J. M.; *Chem. Rev.*, **55**, 787 (1955)



著 者

氏名 北 山 隆 一
Ryuichi KITAYAMA
入社 昭和59年4月2日
所属 科学計測事業部
企画開発部
ソフト開発室
分離材料開発グループ
副主任研究員



著 者

氏名 小 宮 克 夫
Katsuo KOMIYA
入社 昭和47年4月1日
所属 科学計測事業部
企画開発部
ソフト開発室
分離材料開発グループ
グループリーダー



著 者

氏名 加 藤 芳 男
Yoshio KATO
入社 昭和45年4月6日
所属 科学計測事業部
企画開発部
ゲル開発室
ゲル開発室長