

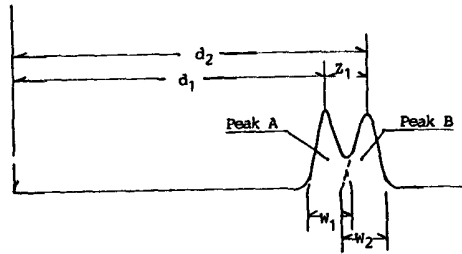
「リサイクル分取HPLCによる異性体分離」

日本分析工業(株) 中橋 計治 大栗 直毅

1) 完全分離を行なうために必要なリサイクル回数

分離不良のピークをそのままポンプ吸入側を經由して カラム入口へ再度導入することによって分離をよくする手段である。完成されたリサイクル分取HPLCでリサイクル分析を行うということは、通常のリサイクル分析のできないHPLCでカラム長さを1倍 2倍 3倍と長くして分析した場合と同一のクロマトグラムが得られるということである。下記のクロマトグラムで分離不完全なピークAとピークBをリサイクル法で分離させたとする。

ピークAのリテンションタイムを d_1 ピーク幅を w_1 カラムの段数を N とすると



$$1 \text{ サイクル目では} \quad N = \left(4 \frac{d_1}{w_1} \right)^2 \quad (1)$$

$$2 \text{ サイクル目では} \quad 2N = \left(4 \frac{2 \times d_1}{w_2} \right)^2 \quad (2)$$

$$n \text{ サイクル目では} \quad n \times N = \left(4 \frac{n \times d_1}{w_n} \right)^2 \quad (3)$$

$$\text{式(1), (3)より} \quad \sqrt{n \times 4} \frac{d_1}{w_1} = 4 \frac{n \times d_1}{w_n}$$

$$w_n = \sqrt{n} \times w_1 \quad (4)$$

ピークBのリテンションタイムを d_2 とし、 $d_1 - d_2 = Z_1$ としピークBのピーク幅をピークAのピーク幅と同一と仮定し理論段数も N で変わらないとすると
 n サイクル目でのピークの間隔 $Z_n = n \times Z_1$ であるから 2つのピークの間隔はリサイクル回数に比例する。

(4)より n サイクル目でのピーク幅は \sqrt{n} 即ちリサイクル回数の平方根に比例する。そこで ピーク間隔 Z_n が ピーク幅 w_n より大であれば分離したことになる。

$$\text{即ち} \quad n Z_1 \geq \sqrt{n} \times w_1$$

$$\sqrt{n} \times Z_1 \geq w_1$$

$$n \geq \left(\frac{w_1}{Z_1} \right)^2$$

完全分離を行なうために必要なリサイクル回数 = (ピーク幅 - リテンションタイムの差)² となる。

2) 通常のHPLCでは分離が困難な化合物の反応中間体の調整を目的としての分離

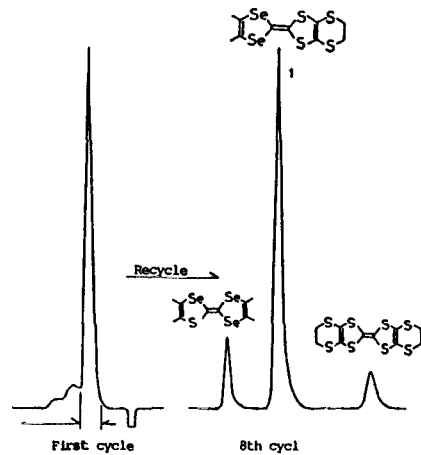
2) - 1 ノリカ系充填剤に不安定な化合物の分離

1は有機超電導体を与えるトナー分子DMET (Dimethyldithiadiselenafulvalenium)

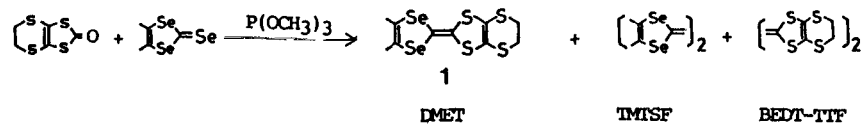
である。下記のクロスカノプリング

反応を利用して合成するが 当然
対称型カノプリング生成物も生成
してしまう。これらの混合物の中
から目的のDMET (非対称) を
8回のリサイクル分析で完全分離
している。1)

これらの化合物はノリカ系充填剤
に対して不安定な化合物であるが
小林らは、H-Seriesカラムを使
用することによって効率よく反応
中間体を調整している。



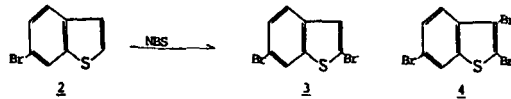
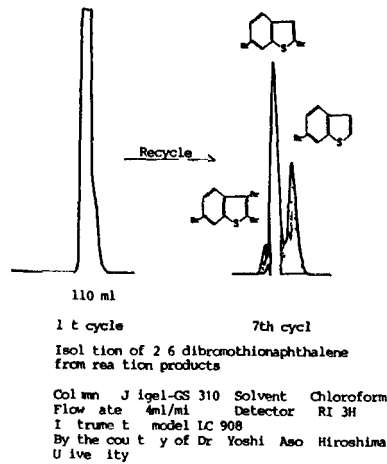
Separation of w do o fo th o g ic
p co d to
Column J igel 1H 2H each 1 pc Solvent Chloroform
Flow rat 3 5ml/mi Detector fractive inde detector
Instrument model LC 08
K Kobay hi t al Synthetic Metals 19 (1987) 555 558



合成中間体として3を得る目的で2をNB Sで臭素化を行ない3, 4を得た。

これらの化合物はTLCではわずかに分離することができなが 順相ノリカクロマト
では分離することができず

また2位のブロムが不安定となるためGS-310カラム/クロロホルムで分離を行なった。8回リサイクル分析を行うことによって原料2と臭素化の進行しすぎた4を除くことができ純粋な3を得ることができた。2)

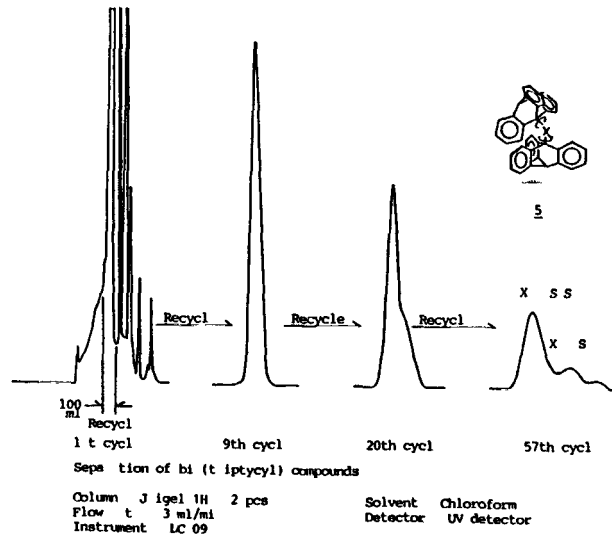


2) - 2 ノリカ系カラムでは分離不可能な化合物の分離

5は分子内部回転が相関を持って起こる位相異性体の中間体である。3)

この中間体を合成した場合X = S
とX = S Sの化合物が合成されるが Xは分子の内部に存在するため 化合物の極性の差で分離を行うノリカ系カラムでは分離が不可能であった。

1Hカラム2本を使用して57回リサイクルを続けることによって岩村らはXの相違を完全に分離している。通常 この程度の分子量の化合物でイオウ原子1個の差

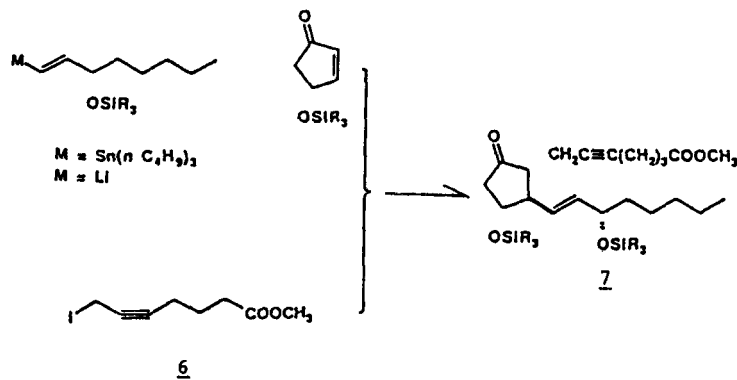


であれば10回程度のリサイクルで完全分離できる。

57回という長時間の分離時間を要したということはイオウ原子1個の長さがGPC的にイオウ原子1個の長さとして反映されていないものと推定される。

7はプロスタグランデインの合成中間体であり6及び下記の化合物とを反応させることにより合成されている。4)

反応後未反応の6と目的物7の分離はTLCでは分離が極めて困難であったが野依らは1Hカラム, 2Hカラム各1本でクロロホルムを溶媒としてリサイクル分析をすることなく1リサイクルのみで分離している。



3) 構造異性体の分離

GPCカラムでは分子量の異なるオリゴマー等の分離が得意であって分子量の似通った化合物とか異性体は分離できないと信じられてきた。

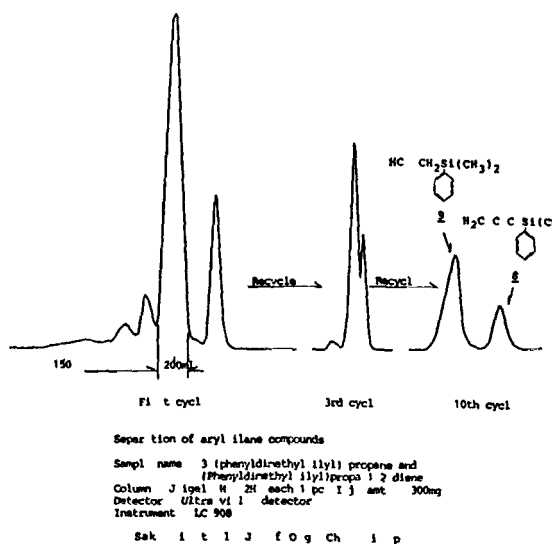
JAIによって完成されたリサイクル分析法をGPCカラムに適用するとそれら異性体が容易に分離できる様になった。

溶媒としては一般にクロロホルムを使用するため疎水性試料に対して溶解度に優れていること、溶媒消費量が逆相クロマトに比べ $1/10 \sim 1/20$ の量で目的物質を分離できることなどが現在リサイクル分取HPLCが多用される理由と考えられる。

構造異性体を完全に分離するには通常10回~20回のリサイクルが必要である。

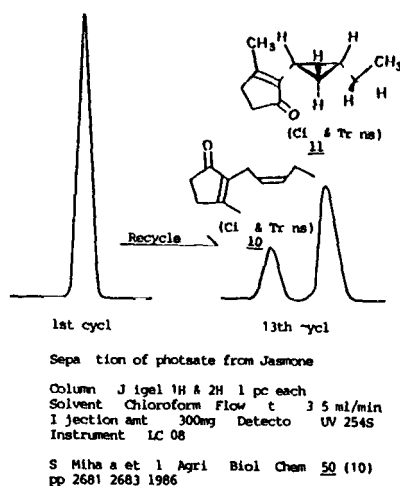
8, 9はノリル系化合物で分配クロマトでは展開が速すぎて分離に苦労する化合物である。

この化合物はSE-30カラムを使用しても分離できなかった。化合物であったがGPCカラムを使用して桜井らは300mgの試料を10回のリサイクルで完全に分離を行っている。5)

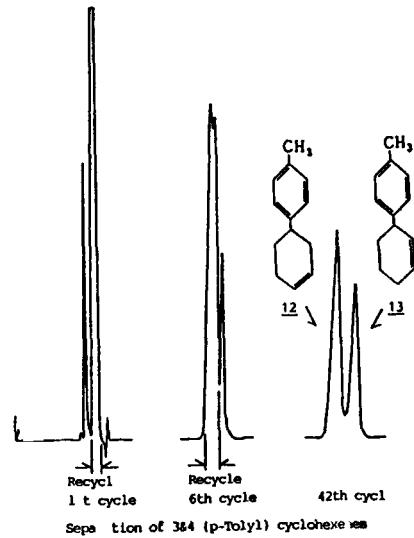


Cis-ジャスモン10に10時間紫外線を照射するとtrans-ジャスモン及び分子内にシクロプロピル基を含んだ化合物11のCis体, trans体が生成する。6)

10と11はTLCで分離を試みたが分離できなかったので三原らは1H, 2H各体を使用して13回のリサイクルで完全分離を行なっている。



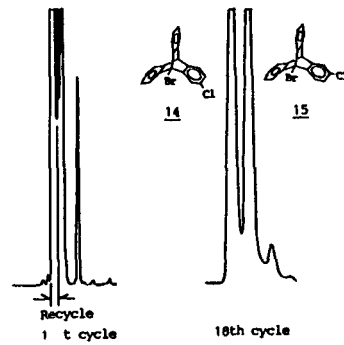
12と13はGCでは容易に分離できる化合物であるがノリカカラムでは分離できない化合物である。GPC的にはさほど分子サイズに差のない化合物であるが上方らは1H, 2Hカラムで42回のリサイクルでほぼ完全に分離している。7)



Column J igel 1H 2H 1 pc each
 Solvent Chloroform Flow rate 3.5 ml/min
 Injection amt 300mg Detector RI 3H
 Instrument LC 08
 N Kanigata et al J Chem Soc Parkin Trans 1
 i pres

14, 15 は 5と同様分子内部回転が相関を持って起こる位相異性体の中間体である。8)

2位又は6位に塩素が結合した位置異性体であるが岩村らはノリカカラムでは分離ができず最終的にはGPCカラムを使用し18回のリサイクル分析法によって分離を行っている。

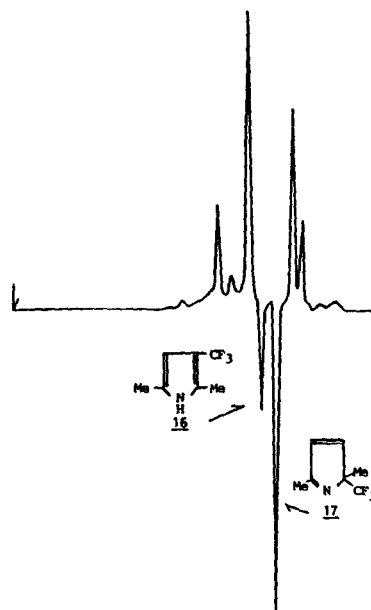


Column J igel 1H 2H 1 pc each
 Solvent Chloroform Flow rate 3.5 ml/min
 Injection amount 300mg Detector UV 254S
 Instrument : LC 08
 Hiizu Iwamura et al J Am Chem Soc
 Vol 105 No 6 pp 1449-1459 (1983)

GPCカラムを使用してリサイクル分析法を用いなくて構造異性体を完全に分離した例がある。過酸化物

(CF₃CO)₂を使用してノメチルピロールにトリフルオロメチルを付加させると16, 17が得られこれらを上方からはリサイクルをすることなく分離している。9)

この分離はGPC分離ではなく、クロロホルム中で試料と充填剤との間に



Separation of 2,5-dimethyl-2 and 3-trifluoromethylpyrroles

Column: Jigel 1H 2H 1pc each
Solvent: Chloroform Flow rate: 3.5 ml/min
Injection amount: 300 mg Detector: RI 3H
Instrument: LC 09

N. Kanigat et al. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, p. 909 (1989)

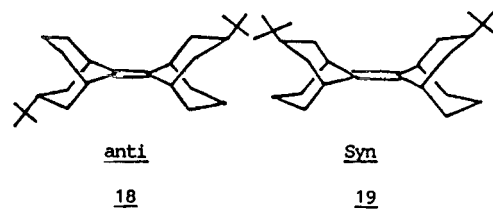
4) 立体異性体の分離

立体異性体を分離するにはそれらの分離を目的とした専用カラムを選ぶ必要がある。特に光学異性体を分離する場合は専用カラムとリサイクル分析法を併用することを奨めたい。

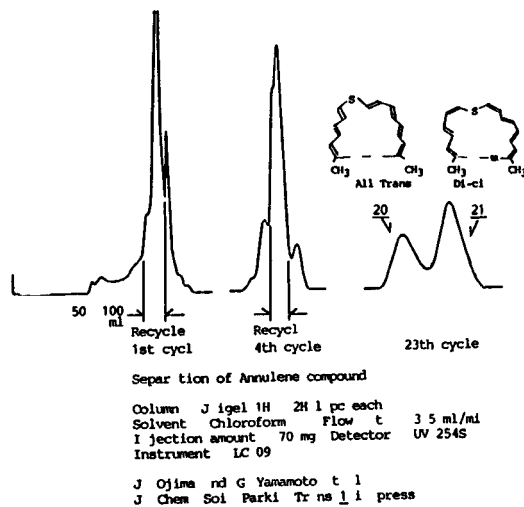
現在市販されているこれらの専用カラムの最大の難点は試料処理量が内径20mmのカラムでもせいぜい1~2mgしか注入できないという点である。

GPCカラムでは光学異性体を分離することは不可能であるが C1s-Trans異性体であれば通常試料の処理量(200mg/個)をリサイクル分析法によって容易に分離することができる。

18, 19はオレフィン化合物で元素の種類は炭素と水素だけからなる化合物でLC, GC (OV-1パノクトカラム)で分離を試みたが分離不可能との事であった。1Hカラム2本 溶媒クロロホルム、検出器はRI-2型で1回の試料注入量は400mgで20回のリサイクルによって安藤らはこの異性体の分離を行っている。10)

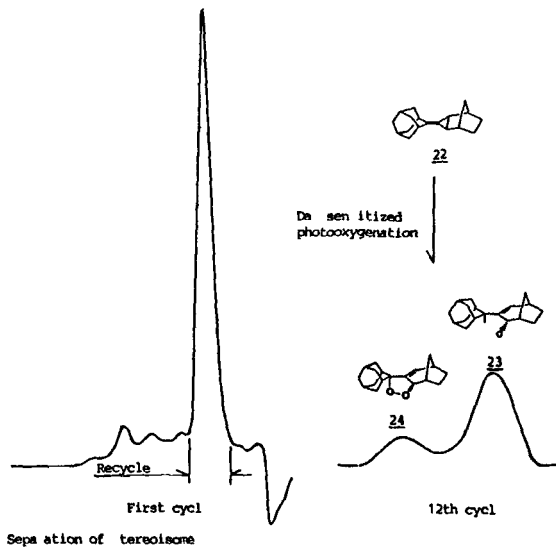


20と21は幾何異性体で尾島山本らによって23回のリサイクルをもって分離することができたと報告されている。11)



22をメチレンブルー等光増感剤の存在下400mm程度の可視光を照射しながら酸素を供給すると光増感酸素酸化反応によって21及び22を生じる。23と24の生成比はその反応条件によってコントロールすることができる。(12)

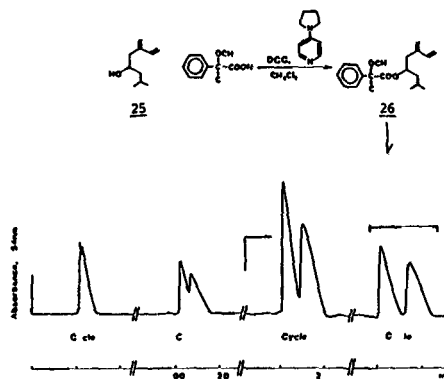
安藤らはこのendo体 exo体をGPCカラム2本(1H+2H)を使用し12回のリサイクルによって完全に分離している。



Separation of tereoisomer

Column : J igel 1H 2H each 1 pc 1 j ant 200mg
 Detector Ref tive index detecto Instrument Lc 09
 W Ando et 1 J Am Chem Soc Vol 109 No 4 1260 1262 (1987)

25はアメリカ産の松食い虫を誘引するフェロモンで (S)- (+)と (S)- (-) の異性体が合成品の場合存在する。久保らは分離を容易とするためにMTPAによってノアステレオマー26とし ノリカゲルカラムを使用して7回のリサイクルで完全分離を行なっている。(13)



Separation of diastereomer

Column: Mucrosil Silica 50 (50cm x 10mm)
 Solvent: pe tane acetone (100 0 2 v/v)
 Flow te: 10ml/min Detector: UV 254S
 Instrument: LC 09
 I Kubo et 1 J of Chromatogr 363 pp 309 314 (1986)

References

- 1 Keiji Kobayashi, Koichi Kikuchi, Takahisa Namiki and Isao Ikemoto, Synthetic Metals, 19 pp 555-558 (1987)
- 2 By the courtesy of DR Yoshio Aso, Hiroshima University
- 3 Yuxo Kawada, Joji Isikawa, Hiroshi Yamazaki, Gen Koga, Shigeru Murata, and Hiizu Iwamura, Tetrahedron Letters, Vol 28, No 4, pp 445-448 (1987)
- 4 Yasushi Morita, Masaaki Suzuki and Ryoji Noyori, J of Org Chem, Vol 54, No 8, pp 1785-1787 (1989)
- 5 M Kira, T Taki, and H Sakurai, J of Org Chem in press
- 6 Hideki Tateba and Satoru Mihara, Agric Biol Chem, 50 (10), pp 2681-2683, (1986)
- 7 Nobumasa Kamigata et al J Chem Soc Perkin Trans 1 in press
- 8 Yuzo Kawada and Hiizu Iwamura, J Am Chem Soc, Vol 105, No 6, pp 1449-1459 (1983)
- 9 M Yoshida, T Yoshida, M Kobayashi, and N Kamigata, J Chem Soc, Perkin Trans 1 in press
- 10 Yoshio Kabe, Toshikazu Takata, Katsuhiko Ueno, and Wataru Ando, J Am Chem Soc, Vol 106, No 26, pp 8174-8180
- 11 J Ojima, and G Yamamoto et al, J Chem Soc Perkin Trans 1 in press
- 12 Takeshi Akasaka and Wataru Ando, J Am Chem Soc, Vol 109, No 4, pp 1260-1262 (1987)
- 13 Isao Kubo, Sakae Komatsu, Tetsuo Iwagawa, and David L Wood, J of Chromatogr 363, pp 309-314 (1986)