

# 有機合成化学に果たす分取液体クロマトグラフの役割

大阪大学産業科学研究所 兼田隆弘

## 1 はじめに

有機合成化学に携わる研究者は反応を仕込んで生成物の構造と収量をその都度確認していくが、そのためには反応混合物から望みの化合物を分離・精製するというプロセスが不可欠である。各種機器分析装置の進歩と普及によって構造決定が容易になった現在、この分離・精製プロセスをいかに迅速に済ますかということが現場に課せられた大きな使命の一つになっており、一般性のある簡便な方法が望まれる。各種クロマトグラフィーは反応混合物をそのまま処理できるので広く利用されているが、一般に分離条件の設定にはかなり経験を必要とする。その点、GPC<sup>1)</sup>型分取液体クロマトグラフィー（以下、GPC-PLC と略す）は、俗に言う”バカチョンの”であり、特に数グラムまでの純品を得る方法として、次の理由から最も優れている。1) 操作が簡単である、2) スピーディーである、3) (吸着型と違って) 液媒系の選択に煩わされない、4) 試料の回収率がよい、5) 化学変化を起こしにくい、6) 再現性がよい、7) 保持容量から構造に関する知見が得られる。当研究室では以前より日本分析工業社製の GPC 型分取液体クロマトグラフ (LC - 07, 08, 09) を利用しており、その成果の一部は積層型シクロファン類の大量分取についての坂田・三角の総説にまとめられている。<sup>2)</sup>今回は、共通した構造ユニットをもつ一連の環状ポリエーテルにおける分子構造と保持容量との相関関係について紹介したい。分子の構造あるいはサイズの差がどの位であれば GPC - PLC で分離することができるかを知っておくことが大切であると思うからである。

## 2 GPC 型分取液体クロマトグラフのシステム構成と分析条件

保持容量を比較するための GPC-PLC データの収集は日本分析工業社製の GPC 型分取液体クロマトグラフ LC - 20 システムを使用した。その構成は、LC-20 本体 - プレカラム(1本)-JAIGEL-1H(内径 20×長さ 300mm,2本);同 2H(2本)-示差屈折計(RI-2HC 型) - 2ペンレコーダー(YEW3021型)であり、分析条件は以下の通りである。

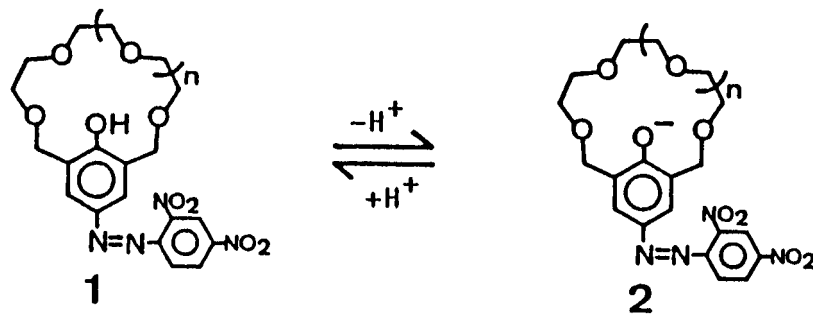
流速：3.5ml/min、試料量： $3 \times 10^{-3} \sim 3 \times 10^{-2}$ M 溶液約 1ml、レンジ

：64(本体) - 20mV(記録計) カラム温度：32 - 33、溶媒：クロロホルム。

後述する自動分取はさらにフラクションコレクター(Gilson Model 201)とリピートインジェクター(JRS - 86)を併用して行った。

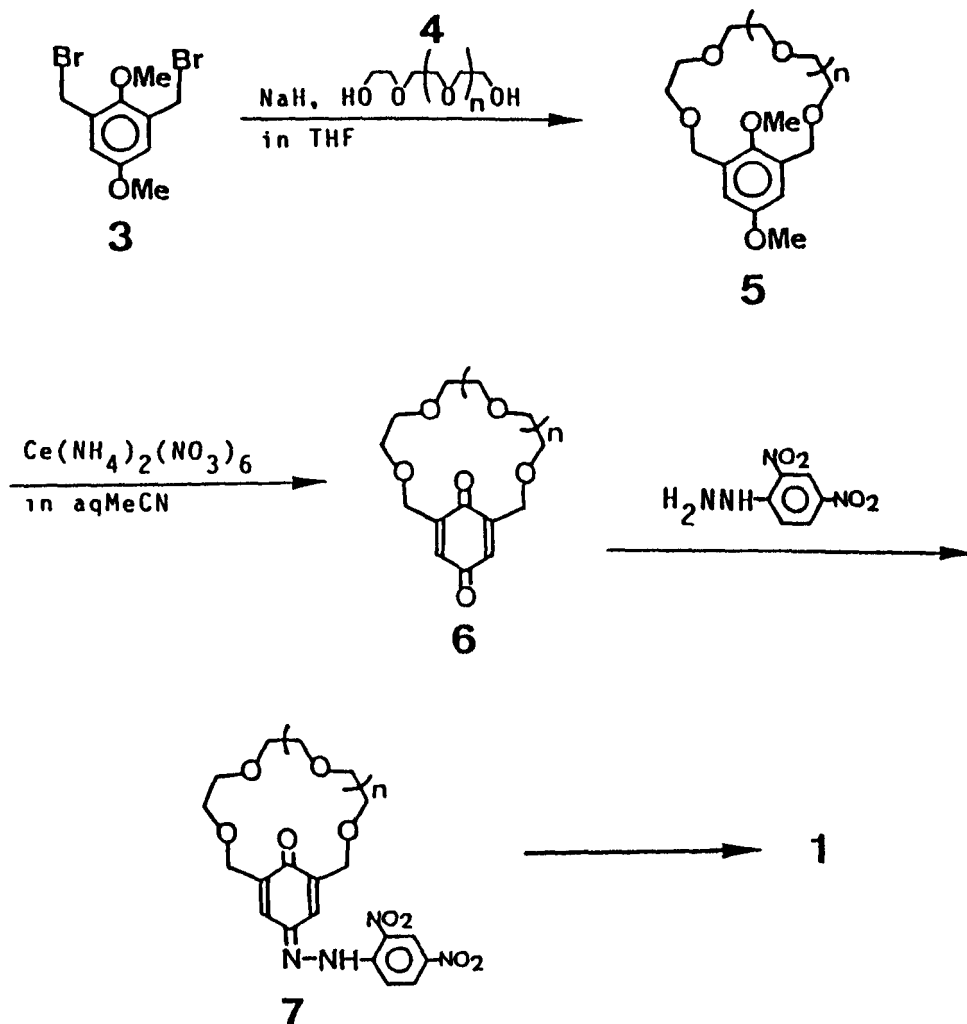
### 3 研究の進展にはたす GPC 型分取液体クロマトグラフの役割

アゾ色素化クラウンエーテル 1 は黄色であるが、イオン化してフェノラート 2 が生成すると青色に変化する。さらに、2 は種々のゲストカチオンと錯体を形成すると赤～青紫色を呈する。これらの特性を利用して、我々はゲスト選択呈色について研究を行ってきた。



二臭化物 3 にポリエチレングリコール 4 を反応させると目的物である環状単量

体 5 以外にも環状二量体なども副生するので、これらを分離する必要がある。一般に、最初の反応は往々にして条件が適切でないので副産物が多く生成するばかりか、目的物の物性や収率が不明であるため分離・精製がしにくい。このような時に GPC - PLC はその威力を発揮する。すなわち、過剰の NaH やそれに付随するミネラルオイルを除去した反応混合物の一部 (約 0.2 - 0.5g) をクロロホルム (約 4ml) に



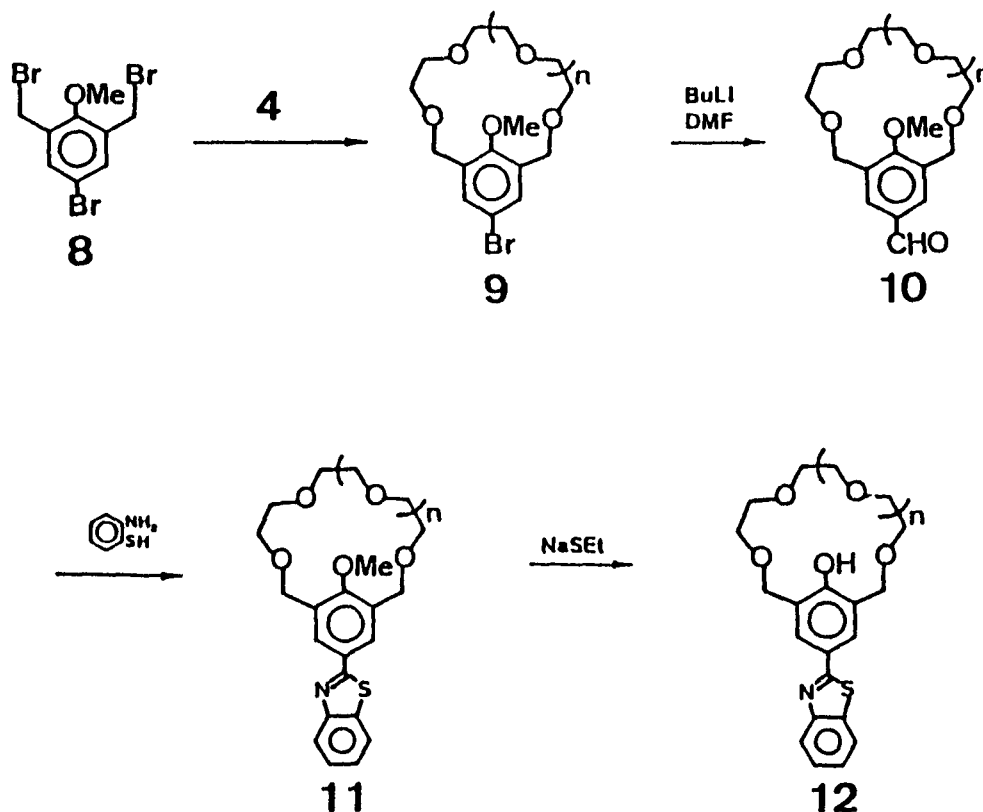
溶かし、インジェクトすればよい。約 30 分後からチャート上にピークが現れるか

ら、ピークごとに溶出液を集める。その後は常法に従って目的物がどのピークに対応しているかを定める。こうして一旦目的物の保持容量や TLC の Rf 値が判明すると、反応条件の改善等が一段とやりやすくなる。これは結果的に収率の向上につながる。構造が似たものを合成する時には、たとえ最初の反応であっても分離・精製が非常しやすくなる。たとえば、5 (n=1) の保持容量がわかっていれば、その付近を捕集すれば 5 (n=2) が得られるとの確信をもてるのである。このような確かな予測は労力軽減つまり省力化に寄与することになる。

5 を酸化して得られるキノン 6 に 2, 4 - ジニトロフェニルヒドラジンを作用させるとヒドラゾン 7 が生成するが、これは直ちに互変異性化してアゾフェノール 1 になる。<sup>3)</sup> 1 はシリカゲルやアルミナと接触すると 2 を与え、青くなる。このような場合でも、GPC - PLC は有効である。1(n=1)を用いて 25 - 250ppb のリチウムイオンを定量することができた。

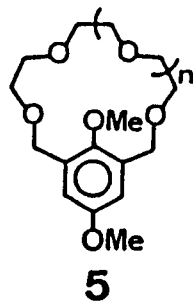
1(n=1)より感度が高い蛍光試薬の開発ををめざして蛍光性環状ポリエーテル 12 を合成した。<sup>5)</sup> 9 の分離・精製にも GPC - PLC が使われ、その際、類似体 5 についてのデータが役立った。10 は再結晶法により、11 はシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製された。12 場合には GPC PLC とカラムクロマトグラフィーが使われた。12 (n=1) を用いると 0.39 - 39ppb のリチウムイオンが定量でき、1 (n=1) と比べて感度が一桁向上した。<sup>6)</sup>

以上、当研究室での GPC-PLC の一般的な利用法を具体的に紹介したが、これはほんの一例に過ぎない。構造決定用のサンプルを得る目的のためには GPC-PLC は特に便利である。



#### 4 分子構造と保持容量との相関関係

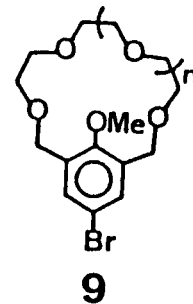
ある化合物の構造からその保持容量を予想したり、逆に保持容量から構造を推定できればよいと思うが、それをここで試みてみよう．9では $n$ の数が大きくなるにつれて、保持容量（以下、RVと略す）が順次小さくなっている．これは大きな分子はど早く流出するというGPCの原則に合致する．5でも $n=1$ を除けば同様であり、 $n=1$ の変異は小さい．同じ環サイズの5と9を比較すると、 $n=3$ の前後でRVが逆転していることがわかる．従って、置換基の大きさを比較する時、クラウン環部に自由度のない $n=1$ の場合を比へて、Br基よりもOMe基の方が少し大き



n	RV(ml)
0	171
1	166
2	167
3	161
4	157

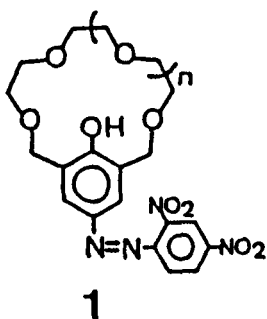
5

n	RV(ml)
0	179
1	176
2	172
3	161
4	154



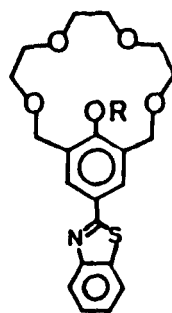
9

いとみなす方が妥当であろう。我々にとって、5や9のような環状単量体が154 - 179ml付近で流出してくるという事実は重要であった。1(n=0)と5(n=0)のRVが同じあることは、OMe基よりも2,4-ジニトロフェニルアゾ基の方がずっと大きいことを考えると理解しがたい。吸着によって1のRVが大きくなったためだろうか？

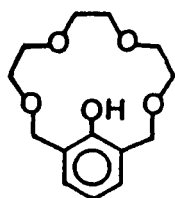


n	RV(ml)
0	172
1	164
2	160
3	156
4	152

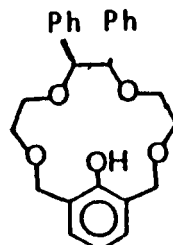
1



R=Me	11(161ml)
R=H	12(164ml)



13(175ml)

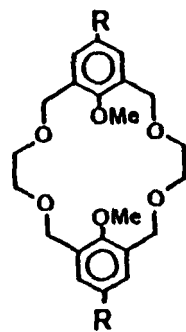


14(171ml)

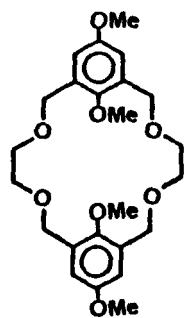
クラウン環内に OR 基があるので 11(n=1)と12(n=1)のRVは同じであると予想し

たが、実際には 3ml の差がみられた。置換基は多分環外に突き出ているのであろう。

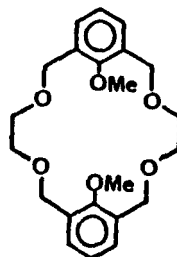
13 の骨格を共通してもつ 1 (n=1) 12 (n=1) 13, 14 の RV には問題はない。9 (n=0) は 15 を伴って生成するが、両者の RV には 24ml もの大きな差があるので、容易に分離できた。9 (n=1) と 16 あるいは 5 (n=1) と 17 の組も同様である。15 と 16 の RV は ける値である。18 と 19 の差 7ml は 5 (n=1) と 13 の差 9ml を考慮すると納得できる。19 と 20 の差 4ml は前述した 11(n=1)と 12(n=1)の差とほぼ等しい。19 と 20 の間の構造上の違いは偉かであるので、この 4ml の差は実用的な分離という観点から非常に大きな意味がある。なぜなら、19 と 20 の混合物はリサイクル処理によって完全に分離できたからである (図 1)。



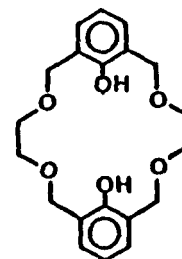
R=Br,	n=2	15 (155ml)
R=Br,	n=3	16 (151ml)
R=OMe,	n=3	17 (149ml)



18 (164ml)



19 (171ml)



20 (175ml)

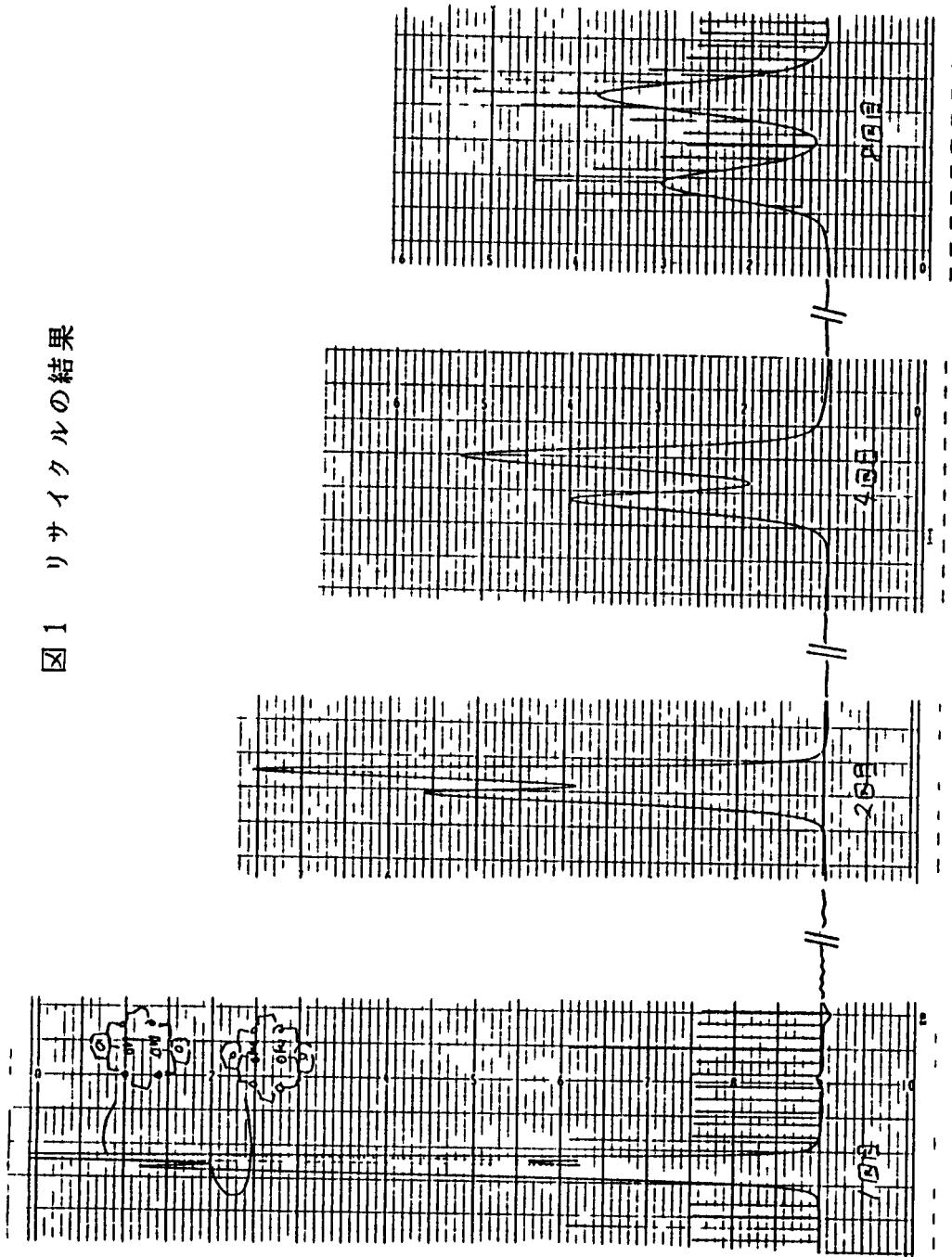


図1 リサイクルの結果



環状単量体 5 ( $n=1$ ) (ピーク B) と対応する環状二量体 (ピーク A) の分取を例にあげて自動分取の操作を簡単に解説してみよう (図 2)。試料を注入してから約 40 分後チャート上に順次ピーク A, B が出現するので、目視しながら別の容器に分取する。普通、これらの操作はすべて人が手動で行わねばならず、大量の試料を繰り返し処理する時は大変煩わしい。自動分取はこのような操作を全て文字どおり自動的に行う方法である。15 種類のうち、ここでは最も単純で実用的なタイムプログラムモード法について具体的に紹介する。

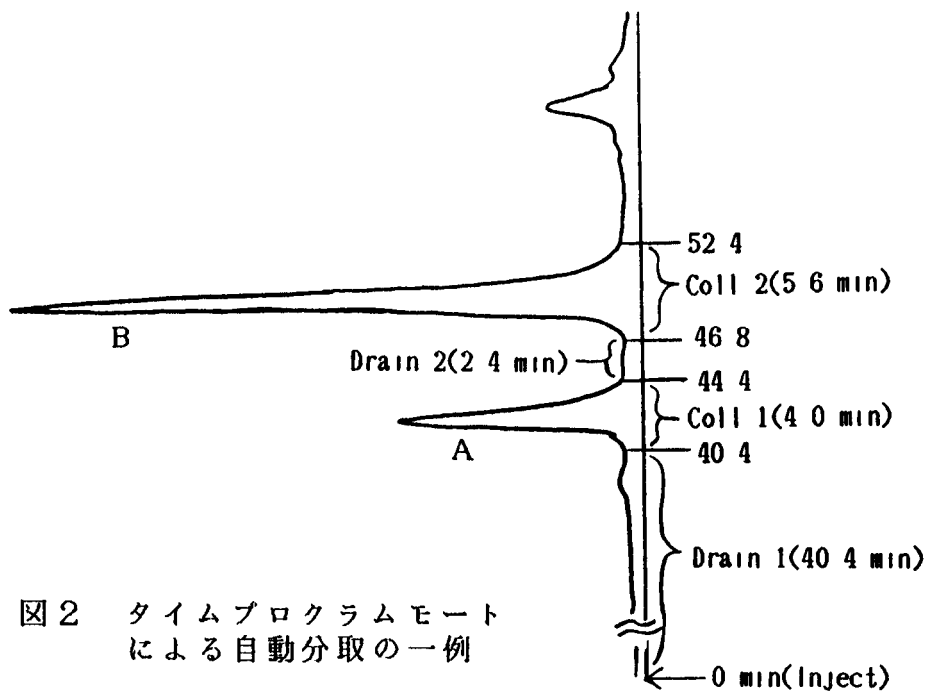


図 2 タイムプログラムモードによる自動分取の一例

- 1) 分取に必要な時間パラメータをチャートスピードから算出し、図 2 のように決める。
- 2) リピートインジェクターに試料をセットして、一回分の注入量を設定する。
- 3) 流路をサイホンからフラクションコレクターに変え、Fr1 と Fr2 に大きめの

容器を備える .

- 4) キー操作で各種パラメータを入力する . ( 方法は会話式で簡単 . 5 分もあれば OK . )
- 5) 最後に、" Ready - Hit Start と表示されたら、" start " キーを押す .

こうして、自動的に試料の注入が始まり、指定した時間にピーク A , B がそれぞれ Fr1 と 2 に分取される . 52 . 4 分後には 2 回目の注入が始まり、再び A が Fr1 に B が Fr2 に追加される。 この様なサイクルが指定した回数だけ自動的に繰り返されることになる .

以上はほんの一例である . 自動分取の利点を理解していただけただけでしょうか ?

## 6 その他

UV 検出器を備えた普通の分析用 HPLC ( 逆相 ) は純度のチェック等に多用されているが、紫外部に吸収がないオリゴエチレングリコール 4 などに対しては無力である . LC - 20 の検出器には大量分取に都合がよい示差屈折計を用いているが、2 - 3mg の試料でも検出できるので、紫外部に吸収のない物質にも適用でき便利である .

## 7 おわりに

メタノール専用カラムも市販されているが、ここでは触れなかった . GPC - PLC はもちろん万能ではない . しかし、系統的に研究を進める時や粗生成物が液体である場合にはよい武器となる . 筆者は、『反応混合物を得たら、とにかく目をつむって GPC - PLC にかけてみよう . もし分離できなければ、その時本気で考えよう。』をモットーにしている .

1) Gel Permeation Chromatography

2) 坂田祥光、三角荘一 化学の領域 増刊 109号 79頁(1976)

3) K.Sugihara, T.Kaneda, S.Misumi, Heterocycles, 18, 57(1982)

4) K.Nakashima, S.Nakatsuji, S.Akiyama, I.Tanigawa, T.Kaneda, S.Misumi,  
Chem. Pharm. Bull., 34, 168(1986)

5) I.Tanigawa, K.Tuemoto, T.Kaneda, S.Misumi, Tetrahedron Lett., 25,  
5327(1984)

6) K.Nakashima, S.Nakatsuji, S.Akiyama, I.Tanigawa, T.Kaneda, S.Misumi,  
Talanta, 31, 749(1984)