

# TECHNICAL NEWS

## 分析技術報

### 高極性物質の GPC カラムによる分離

はじめに

アミン類のアミノ基は、合成化学薬品の製品中間体など多方面にわたって重要な化合物となる特徴がある。天然物化学ではアルカロイド、エフェドリン、生理学上ではアドレナリン、ヒスタミンなど、生体に対して大切な役割を果たしている。しかし一方で、アミノ基のもつ強い親和力は分離分析上その強い吸着力が分離を容易にする場合と困難にする場合がある。

試料がカラム内に吸着しないとされている GPC カラムを使用した場合でもアミン系試料は吸着することが多く、予定される流出位置より大幅に遅れたり、理解しにくい形状をしたピークが得られる場合が多く、しかも再現性が悪いクロマトグラムしか得られない場合が多い。アミン系試料を GPC カラムを使用して再現性よく分離する方法を開発したので報告する。

#### 実験-1 ポリエチルアミノフタレートの分離

実験条件

Sample: Polyethylaminophthalate

Flow rate: 1ml/min

Sample amount: 200  $\mu$ l  $\times$  0.5%sol

Column: Jaigel-3HA  $\times$  1PC

Solvent: Chloroform or 0.5% diethanolamine + 99.5% Chloroform

Instrument: LC-908/UV-254S

図-1 は溶離液としてクロロホルムを用いたクロマトグラムでポリアミノフタレート試料を注入してくり返し分析したものである。初回の注入で得られたクロマトグラムでは高分子側の試料が吸着を起こし分子量の大きなピークはほとんど出現しなかった。くり返して注入することによって高分子側の成分は流出するようになったが、流出位置がおくれていることと、クロマトグラム全体に再現性のないものしか得られない。化合物中にはアミノ基、カルボニル基とかベンゼン基が含まれていることから水素結合によって分子内もしくは分子間で結合ができたりできなかったりするために再現性が悪くなっているものと考えられる。又流出しない原因としては窒素原子のローンペアが充填剤(Polystyrene)と配位または吸着するものと考えられる。極性の強い化合物をカラム内で充填剤との親和性を弱めるために溶離液クロロホルムの中にローンペアと配位しやすい化合物を混入させてやることによってそれら化合物を分離できないものかと考え、配位しやすい化合物としてトリエチルアミンを 0.5%混入させることによってそれら化合物を容易に分離することができた。

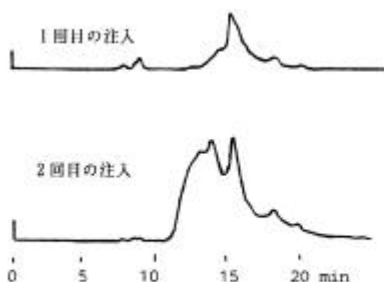


図-1 クロロホルムによるポリエチルアミノフタレートの分離

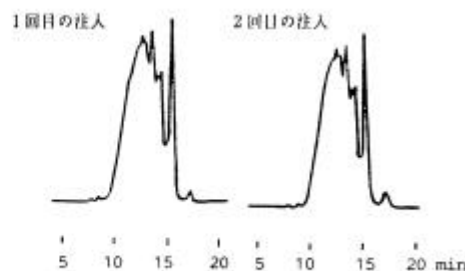
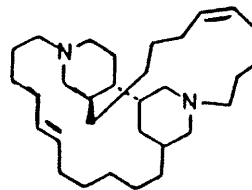


図-2 混合溶媒によるポリエチルアミノフタレートの分離

図-2 は図-1 と同一の試料をトリエチルアミンを 0.5%混入させたクロロホルムで分離すると再現性よく分析することができた。保持容量も通常の GPC と同様 Reasonable な容量であった。



Estimated structure of Xestodines

## 実験-2 Xestodines の分離

Xestodines は海産スポンジ中に含まれる生理活性物質であって分離が困難なために化学構造が未決定の化合物である。

ピリジン環 2 個と二重結合を 1 個含んだ炭素数 10 から 11 のオレフィン二本よりなる右図のような化合物である。

二重結合の位置,オレフィンの結合位置によって構造異性体が考えられることと,オレフィンの鎖長の相違によって数種の化合物が存在するものと考えられる。通常これらの化合物は,GPC カラム/クロロホルムを使用してリサイクル分析で容易に分離できると思われたが図-3 のように推定される流出位置よりも高分子側で流出してしまい,リサイクル分析しても分離の向上が見られなかった。

図-4 は 0.4%のトリエチルアミンをクロロホルムに添加して分離したものである。実験-1 と同様に Reasonable な位置に流出するようになり,リサイクル分析法によってメインピークを 4 ピークに分離することができた。The sample by the courtesy of Dr. F.J.Schmitz, University of Oklahoma)

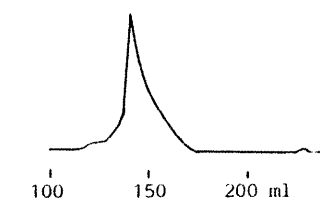


図-3 クロロホルムによるXestodinesの分離

分析条件

Column ; Jaigel-1H + 2H, total length 120 cm

Injection amount ; 150 mg

Solvent ; Chloroform or 0.4% triethylamine + 99.6% CHCl<sub>3</sub>

Detector ; UV-254S, Instrument ; LC-908

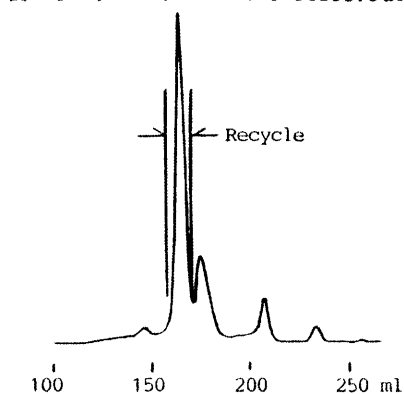
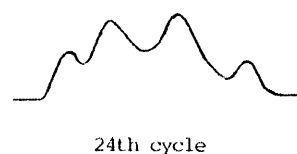


図-4 混合溶媒によるXestodienesの分離



メインピークのリサイクル分析

## 結論

極性基であるアミン系化合物は,通常の GPC 法では吸着やテーリング現象やテーリング現象によって分離が難しいことが多い。しかし溶離液にトリエチルアミンやジエタノールアミンを添加して用いると極性基をマスキングする作用がありアミン系化合物再現性よく分離することができた。

一般に GPC カラムは使用できる溶媒に制限があり,それほど溶媒を交換することができないとされているが 0.5%程度のトリエチルアミンやジエタノールアミンを添加して用いてもカラムの性能を劣化させることはなかった。むしろ長期間使用したカラムの場合カラム内に吸着によって蓄積された化合物が洗浄されるためカラムの理論段数が高くなり分離能が著しく向上した例がある。

トリエチルアミンやジエタノールアミンをクロロホルムに添加すれば,極性化合物の分離に威力を発揮することと長期間使用したカラムに対して洗浄作用があることがわかった。