

## JAI APPLICATION NEWS

### Recycle Preparative HPLC リサイクル分取HPLC

#### 1. 分配吸着モードでのリサイクル有効性

合成試薬や抽出物の精製、またはバイオアッセイや構造解析の前処理として長年ご愛用頂いているリサイクル分取HPLCですが、近年、より分離の難しい化合物が増えてきました。特に全合成や製薬などの分野では構造異性体に始まりジアステレオマーまで、より精密に分離精製を行う事が求められています。それに伴い従来弊社より提唱させていただいているGPCリサイクルによる分離が困難な物質も増加してきました。

このような物質の分離にはシリカゲルもしくはシリカゲルやポリマーを基材に官能基を化学修飾した分配・吸着分離作用を持つカラムによる分離が一般的ですが、これらのカラムは移動相選択の煩雑さもしくは吸着性の強い物質のテーリングやリーディングを解消するための分離条件検討の困難、多大な溶媒消費量、試料負荷量を変えた際の分離度の低下等、分取を行う上での様々な障害がありました。

そこで、このようなカラムを使用して分離分取を行う際にリサイクル法を用いることによってそれらの障害を軽減した例を紹介します。

## 1-1 ジアステレオマーのリサイクル分離

5 - ( Benzyloxy)-3-(tert-butyloxycarbonyl)-1-(hydroxy-methyl)-1,2-dihydro-3H-benz[e] indole, (R)-(-)-O-Acetyl Mandelate Ester [(1R,2'R)-31 and (1S,2'R)-31] (構造式はFig. 1 参照)及び試薬残渣の混合物を分離試料としました。

試料10 mgを秤量し移動相溶媒1 mlに溶解して得られたクロマトグラム (分離条件は Table. 1に記載)をFig. 2に示します。微量注入ではFig. 2の様に分離が良好ですが、同一の分離条件で試料注入量を3倍に増やすと、Fig. 3の様に良い分離が得られませんでした。

しかし、リサイクル法を使用することによってFig. 2と同様に十分な分離が得られました。

Table. 1 分離条件

Instrument: Recycle HPLC model LC-9101
Column: JAIGEL-SIL, SH-043-10
Eluent: Dichloromethane/Ethylacetate=100/1
Column temp: Room temp (30 )
Flow rate: 9.99 ml/min
Detector: UV-3702B at 280 nm

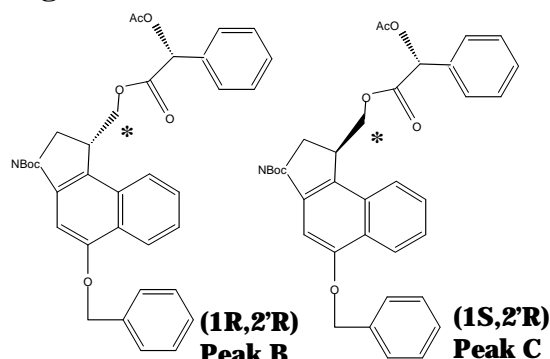


Fig. 1 試料の構造式

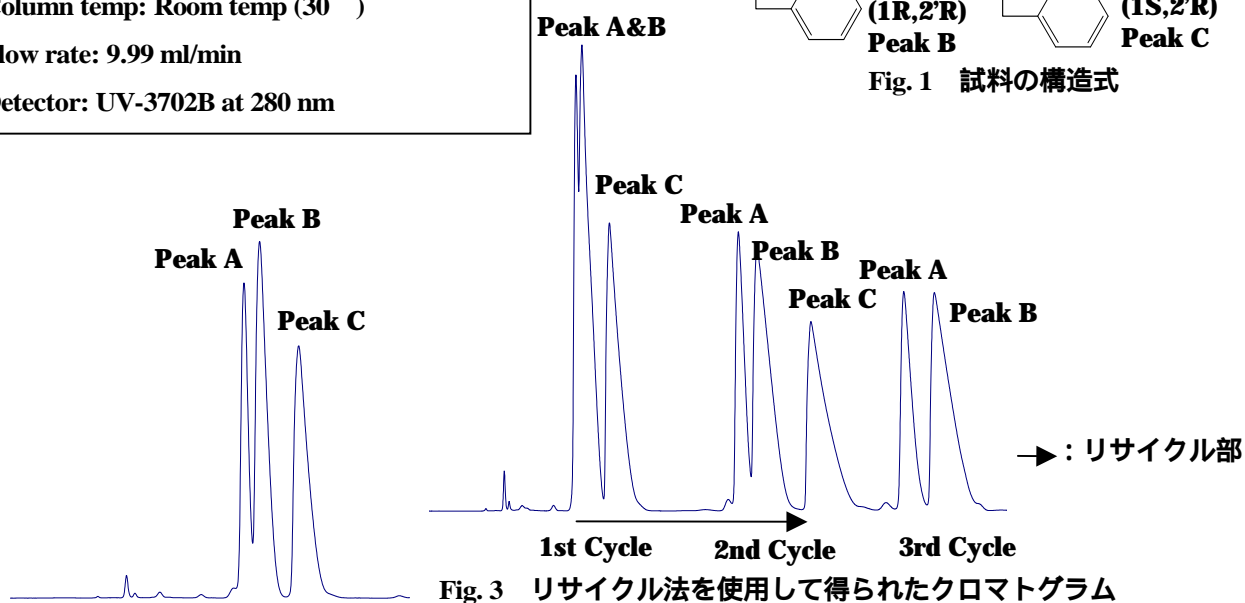


Fig. 2 リサイクル法を使用せずに得られたクロマトグラム (試料10 mg注入)

Fig. 3 リサイクル法を使用して得られたクロマトグラム (試料30 mg注入)

\* 試料は京都大学 理学研究科化学専攻 杉山先生よりご提供頂きました。

## 1-2 オキサゾール，チアゾール系化合物（構造異性体）の リサイクル分離

試料はベンゼン環、オキサゾール環及びチアゾール環で構成されている物質 (Fig. 4参照) を用いました。この物質は疎水性が強く、移動相溶媒の極性をあげると分離は向上しますが、試料の溶解度が悪く多量に注入することが出来ません。逆に溶媒極性を下げて試料溶解度を上げた際にはFig. 5の1st Cycleのピークのように十分な分離が得られません。

しかしリサイクル法を使用することにより試料負荷量をかかけた条件で、異性体をほぼ完全に分離することが出来ました。

(分離条件はTable. 2参照)

Table. 2 分離条件

Instrument: Recycle HPLC model LC-9101
Column: JAIGEL-ODS, AP-SP-120-15
Eluent: Methanol/Water=9/1
Column temp: Room temp (30 )
Flow rate: 9.99 ml/min
Detector: UV-310B at 254 nm
Sample: 20 mg/1 ml

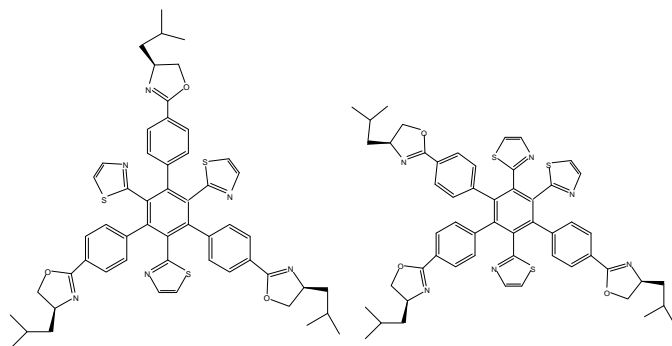


Fig. 4 試料の構造式  
(右:ピークA, 左:ピークB)

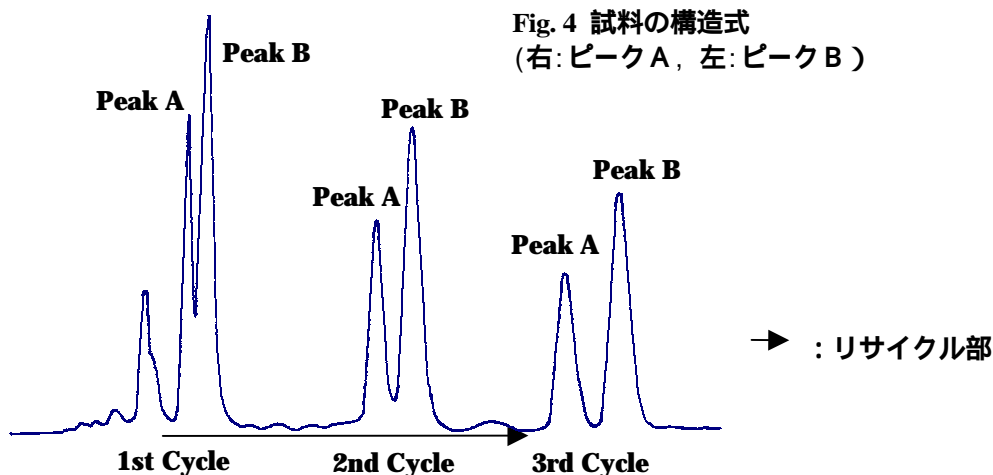


Fig. 5 リサイクル法を使用して得られたクロマトグラム

\* 試料は東京大学 塩谷研究室様よりご提供頂きました。

## 1-3 フェロモン (幾何異性体)のリサイクル分離

本試験では長鎖化合物のE-Z体混合物 (構造式はFig. 6参照)を試料として用いました。この物質は分取後に水溶媒中での安定性に疑問が持たれていたため、移動相に水を添加することが出来ません。そのため有機溶媒のみの移動相を用いて分離する必要があります。

リサイクル法を用いることで水を使用することなく分離することが出来ました。Table. 3の分離条件で得られたリサイクルクロマトグラムをFig. 7に示します。

Table. 3 分離条件

Instrument: Recycle HPLC model LC-9101
Column: JAIGEL-ODS, AP-SP-120-15
Eluent: Acetonitrile
Column temp: Room temp (30 )
Flow rate: 9.99 ml/min
Detector: UV-310B at 254nm
Sample: 20 mg/1ml



Fig. 6 試料の構造式 (HexadecenoI E-Z)

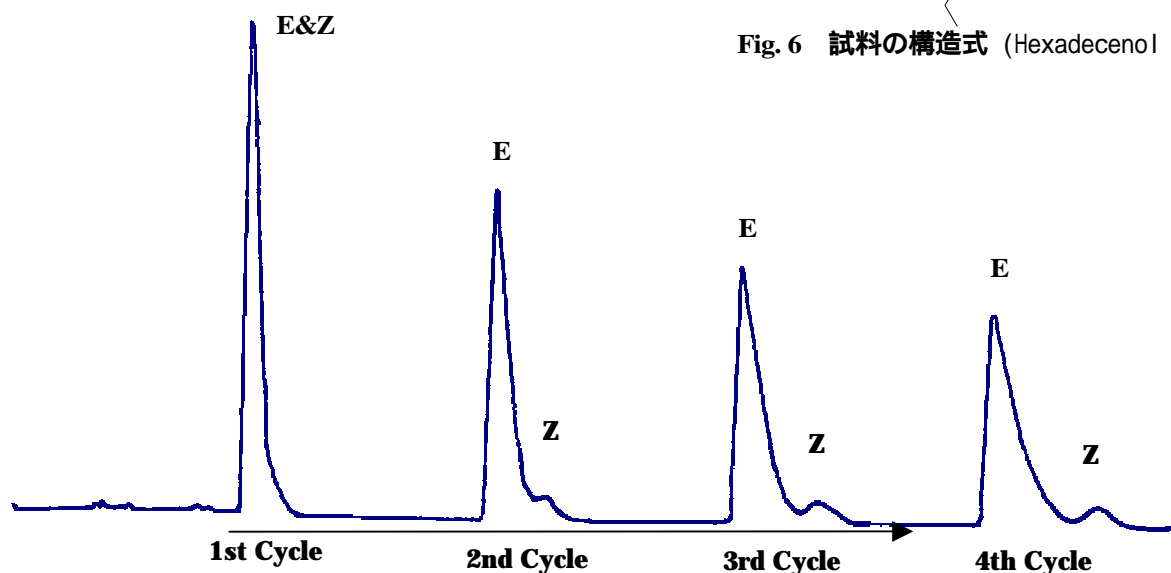



Fig. 7 リサイクル法を使用して得られたクロマトグラム



## Japan Analytical Industry Co., Ltd

このように分配, 吸着カラムでのリサイクル法を用いた分離では試料負荷量を増やした際や、多少分離の悪い条件下でも分離でき、リサイクルを用いずには分離が出来なかった物質を簡単に単離することが可能です。

さらに、溶媒消費量の低減など分離精度だけではなく分取コスト低減という利点もあります。

 日本分析工業株式会社

〒190-1213 東京都西多摩郡瑞穂町武蔵208

TEL:042-557-2331

FAX:042-557-1892

<http://www.jai.co.jp>