

クロマチックテクノロジーズ
 ○塚本友康, 小山隆次, 長江徳和

緒論

- 逆相HPLC用固定相にC18が重用されているが、類縁体分離においては、疎水性相互作用以外の保持特性を有するユニークな固定相の選択(Biphenyl, PFP等)が時に有用である。
- フェニル系のカラムは、π電子が関わる相互作用が発現するがBiphenylやPhenylhexylなどの官能基の違いにおける相互作用に関する知見は少ない。
- そこで、C18とフェニル系カラムを用いて分離の比較をし、そのπ電子の関わる相互作用を考察を行った。

《分子間に働く相互作用》

相互作用の種類	力の起源	特徴
静電力	電荷—電荷, 永久双極子	長距離まではたらく
van der Waals力	配向力	永久双極子—永久双極子
	誘起力	永久双極子—誘起双極子
	ロンドン分散力	誘起双極子—誘起双極子
電荷移動相互作用	電子供与体—電子受容体	電荷移動吸収による着色
水素結合	OH, NHなどの官能基	特異的, 指向性強い
疎水性相互作用	極性溶媒中の無極性基	エントロピー支配

フェニル系カラムの分離は...



Phenyl系固定相と相互作用

異性体の分離比較

ベンゼンの静電ポテンシャルマップ

π/π相互作用
 T字型配置 ずれた平行配置

CH/π相互作用

他のπ相互作用
 カチオン/π相互作用
 ハロゲン/π相互作用
 π水素結合 (NH/π相互作用, OH/π相互作用) 等

★ π電子に基づく相互作用が、特異な選択性を示す。

《メチル馬尿酸の分離》

Column: SunShell 2.6μm 100 x 2.1mm
 Mobile phase: 2-Propanol / 20 mM Ammonium acetate (pH 6.8) = 3/97
 Flow rate: 0.4 mL/min Temperature: 40 °C Detection: UV@230 nm

疎水性+π電子関連の相互作用で選択性が変化
 化合物の置換基の位置で相互作用の強さが変化

《保持力：パラ位>メタ位》

分離比較と相互作用

バニリン類

Sample: 1 = プロトカテク酸 4 = バニリン
 2 = バニリン酸 5 = イソバニリン
 3 = イソバニリン酸

★ メトキシ基の位置異性体にもメチル基と同様の選択性を示す。

サルファ剤

Sample: 1 = スルファジアジン
 2 = スルファメトキサゾール
 3 = スルファメラジン
 4 = スルファモノメトキシ

★ メチル基とメトキシ基で相互作用の強さが異なる

分岐鎖アミノ酸

Column: SunShell RP-AQUA, PFP, PFP&C18, Biphenyl 2.6 μm, 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: 0.1% formic acid Flow rate: 1.0 mL/min, 0.2 mL/min for only C30
 Temperature: 40 °C
 Detection: UV@205nm Sample: 1 = L-Valine 2 = L-Isoleucine 3 = L-Leucine

★ 分岐鎖アミノ酸の分離も可能(100%水系条件)

有機溶媒の影響

Column: SunShell C18 2.6 μm 150 x 4.6 mm, SunShell C30 2.6 μm 150 x 2.1 mm, SunShell Phenyl 2.6 μm 150 x 4.6 mm, SunShell Biphenyl 2.6 μm 150 x 4.6 mm
 Mobile phase: Organic solvent/25 mM phosphate buffer pH3.0
 Flow rate: 1.0 mL/min, 0.2 mL/min for only C30
 Temperature: 40 °C
 Detection: UV@230 nm
 Sample: o-, m-, p-Methylhippuric acid

★ Biphenylカラムはアセトニトリルとメタノールで分離が大きく変化する
 ★ 移動相にTHFを用いた場合多くの逆相カラムで分離が改善される。

標準物質を用いた固定相の比較

Sample: U = Uracil (t₀), C = Caffeine, P = Phenol, B = Butylbenzene, O = o-terphenyl, A = Amylbenzene, T = Triphenylene

Phenyl: $k(c) = k(p)$

Biphenyl: $k(c) > k(p)$

Naphthyl: $k(c) = k(p)$

C18: $k(c) < k(p)$

Column: SunShell 2.6μm 150 x 4.6 mm Mobile phase: Methanol/water = 75/25
 Flow rate: 1.0 mL/min Temperature: 40 °C

選択性 (分離係数 α)	水素結合性 (C/P)	疎水性 (A/B)	形状認識 (T/o)	疎水性保持指標 (KA)
Phenyl	1.00	1.48	1.01	5.23
Biphenyl	1.82	1.44	1.28	5.01
Naphthyl	1.00	1.39	0.97	2.46
C18	0.39	1.60	1.46	10.6

※Naphthylカラムは未最適化

- ★ Phenyl系はC18より水素結合性が明らかに高い
- ★ 中でもBiphenylカラムは特に水素結合性が高い
- ★ Naphthyl基のみトリフェニレンとO-ターフェニルの溶出順が入れ替わる
- ★ Phenyl系カラムの選択性は様々で特徴的

π-πスタッキング? CH-π?

まとめ

Phenyl系のカラムは、C18カラムと比べ強い水素結合性を示した。

BiphenylカラムはPhenyl系カラムの中でも特に水素結合性が強く発現する

トリフェニレンとO-ターフェニルの分離においてNaphthylカラムのみ溶出順が異なった。

π電子の基づいた相互作用は、phenylhexylよりもBiphenylのほうが強く発現した。

BiphenylやPhenylhexylカラムは移動相にアセトニトリルを用いるとπ電子に基づく相互作用が機能しなくなる。