

博士論文要旨

耐溶剤型キラル固定相の開発、およびキラル・アキラル分離への応用と分子認識機構の研究

Development of immobilized chiral stationary phases, and studies on their applications to chiral and achiral separations and on their molecular recognition mechanisms

金沢大学大学院自然科学研究科
物質化学専攻

学籍番号：1924022001

氏名：大西 敦

主任指導教員名：島本 周

提出年月日 令和3年6月25日

英文要約 “Chiral selector” is defined as an asymmetric chemical structure or a molecule, which enables to separate a pair of other enantiomers to each enantiomer through the non-equivalent interaction between its asymmetric structure and one of the enantiomers. “Chiral stationary phase (CSP)” is defined as a stationary phase for chromatography, in which a chiral selector is coated or immobilized on a support such as silica gel. “Chiral separation” is defined as a chromatographic separation of a pair of enantiomers. “Achiral separation” is defined as a chromatographic separation of molecules other than a pair of enantiomers, which is commonly recognized as an ordinary chromatographic separation. This dissertation deals with chiral and achiral separations by CSPs with a chiral selector, such as a cellulose derivative, an amylose derivative, and a crown ether. To summarize, in this dissertation, CSPs with immobilized chiral selectors were developed by cross-linking technique. The improved cross-linking technique resulted in improved resistance of CSPs to a wide range of solvents while sacrificing the chromatographic separation factor (α) to a limited degree compared to the conventional CSPs prepared by the coating technique; 94% of enantiomers investigated were successfully resolved by the immobilized CSPs. Computational chemistry such as quantum chemical calculations gained insights to the molecular recognition mechanisms by chiral selectors.

要旨本文 本研究の目的で、次の通り用語を定義する。「キラルセクター」は、非対称化学構造または分子として定義され、非対称構造とエナンチオマーの 1 つとの間の非等価相互作用を通じて、他のエナンチオマーのペアを各エナンチオマーに分離するものである。「キラル固定相 (CSP)」は、クロマトグラフィーの固定相として定義され、キラルセクターがシリカゲルなどの支持体上にコーティングまたは固定化されたものである。「キラル分離」は、一对のエナンチオマーのクロマトグラフィー分離として定義される。「アキラル分離」は、一对のエナンチオマー以外の分子のクロマトグラフィー分離として定義され、これは通常クロマトグラフィー分離として認識されているものである。本研究では、セルロース誘導体、アミロース誘導体、クラウンエーテルなどのキラルセクターを備えた CSP によるキラルおよびアキラル分離を扱う。本研究の要点として、固定化されたキラルセクターを備えた CSP を架橋技術によって調製することを検討した。架橋方法を改良することにより、コーティング方法によって調製された従来の CSP と比較して、クロマトグラフィー分離係数 (α) は多少犠牲にはなるものの、広範囲の溶媒への耐久性を有する CSP を開発することができた。この固定化 CSP を用いて 123 対のエナンチオマーの分離を検討した結果、その 94% を分離することができた。キラル分離、アキラル分離のメカニズム研究の一環として量子化学計算などの計算化学によるモデリングと安定化エネルギー計算を行い、キラルセクターによる分子認識メカニズムへの洞察を得た。以下、これらの本研究の成果について補足説明する。

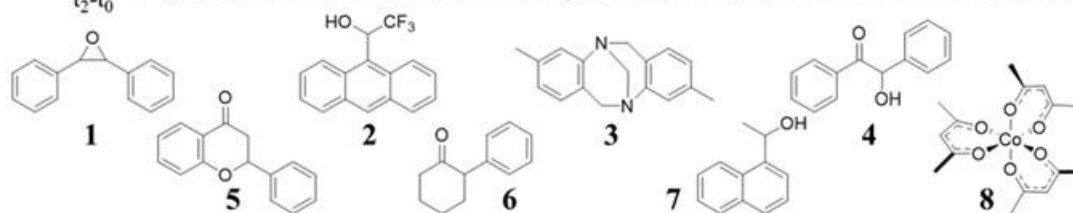
(a) 固定化されたキラルセクターを備えた CSP の開発

キラル固定相と組み合わせた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 技術は、1980 年代に

Table 1. Chromatographic separation factor α for CSPs with cellulose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) as chiral selector.

CSP Type		Conventional CSP	Immobilized CSP, Prototype	Immobilized CSP, Improved
Immobilization Technique		No immobilization (Coating)	Cross-linking, pending optimization	Cross-linking, after optimization
Separation Factor α	Enantiomers 1	2.6	1.0	1.9
	Enantiomers 2	3.1	1.9	2.4
	Enantiomers 3	1.7	1.1	1.2
	Enantiomers 4	1.6	1.2	1.4
	Enantiomers 5	1.4	1.1	1.3
	Enantiomers 6	1.3	1.1	1.1
	Enantiomers 7	1.3	1.8	1.5
	Enantiomers 8	1.2	1.1	1.0

$$\alpha = \frac{t_1 - t_0}{t_2 - t_0} \cdot t_0; \quad t_0: \text{retention time of non-retained component. } t_1 \text{ and } t_2: \text{retention times of enantiomers.}$$



最初の固定相が開発および商業化されて以来、キラル分離に広く利用されてきた。初期の CSP の市販製品では、キラルセクターはシリカゲルに物理的にコーティングされただけであり、キラルセクターは特定の溶媒に対して膨潤や溶解するなどの問題があり、使用できる溶媒の種類は相当に制約されており、耐溶剤性の改善に対してニーズがあった。本研究では、ダイセルによる耐溶剤性改善への継続的な取り組みの延長として、CSP へのキラルセクターの固定化を検討した。

固定化 CSP 開発の初期の研究において、キラルセクターとしてのセルローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)を架橋反応によってシリカゲルに固定化したところ、この固定化 CSP のプロトタイプは、対応する従来のコーティングタイプの CSP よりもクロマトグラフィー分離係数 α が著しく低下する問題が明らかとなった (Table 1)。性能低下の原因を詳しく研究したところ、3,5-ジメチルフェニルカルバモイル基の置換度のわずかな低下と、固定化プロセスで形成される高次構造が性能低下の主要な要因であることがわかった。この結果を考慮に入れ、架橋剤の選択、架橋剤の量などの反応条件が最適化を進めた結果、クロマトグラフィー分離係数 α を相当に改善することができた (Table 1)。

(b) 固定化 CSP のキラル分離への応用に関する研究

期待された通り、固定化により溶剤耐久性を高めた固定化 CSP では、移動相として使用できる溶媒の選択の幅が拡大し、これによって特定の CSP がキラル分離できるエナンチオマ

一数は増加し、つまりキラル分離の成功率は向上することとなった。成功率をさらに向上させるために、新たに 5 つの固定化 CSP を開発し、合計 6 つの固定化 CSP が利用可能となった。これら CSP のキラルセクターは、(i) アミローストリス (3,5-ジメチルフェニルカルバメート)、(ii) セルローストリス (3,5-ジメチルフェニルカルバメート)、(iii) セルローストリス (3,5-ジクロロフェニルカルバメート)、(iv) アミローストリス (3-クロロフェニルカルバメート)、(v) アミローストリス (3,5-ジクロロフェニルカルバメート)、および

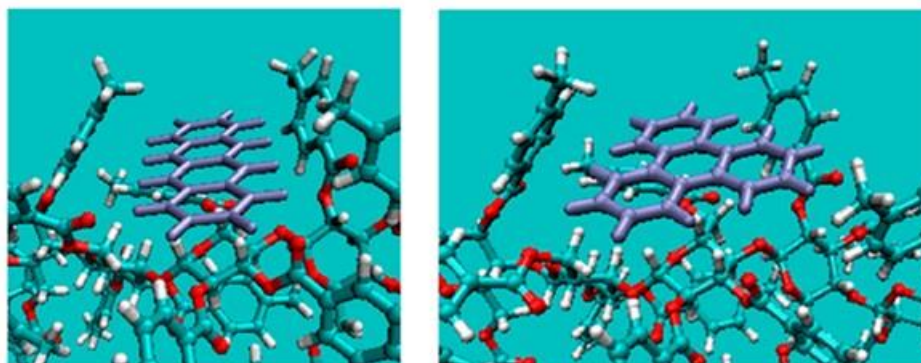
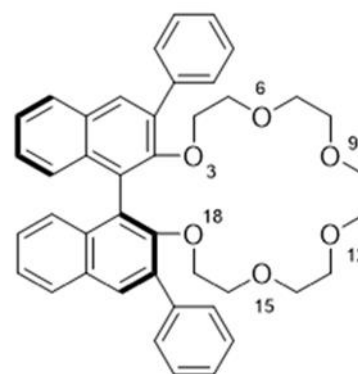


Figure 2. Models predicted *in silico* for the association of cellulose tris(4-methylbenzoate with naphthalene (left) and triphenylene (right), respectively.

(vi) アミローストリス (3-クロロ-4-メチルフェニルカルバメート) である。これら CSP を使って 123 対のエナンチオマーの分離を検討したところ、115 対 (テストしたエナンチオマーの 94%) が、開発された 6 つの CSP の 1 つ以上によって成功裡に分離された。

(c) アキラル分離への CSP の応用と分子認識メカニズムに関する研究

CSP はキラル分離だけではなく、しばしば一般的なアキラル分離にも力を発揮することが知られている。本研究では、キラルセクターとしてセルロース誘導体を用いた CSP によるアキラル分離、およびクラウンエーテル配位子を固定化した CSP によるアキラル分離を詳しく研究した。セルロース系 CSP のアキラル分析対象物として、一連の縮合芳香族炭化水素を取り上げた。また、クラウンエーテル CSP のアキラル分析対象物としてアニリンおよび置換アニリンを取り上げた。クロマトグラフィー実験に加え、量子化学計算などの計算化学によって、キラルセクターによる分子認識メカニズムへの洞察を得ることを試みた。



Scheme 1. Ligand structure of CROWNPAK® CR-I (+), (S)-(+)-(3,3-diphenyl-1,1'-binaphthyl)20-crown-6

トリス (4-メチル安息香酸) セルロースなどのセルロース系キラルセクターの場合、主鎖のグルコース単位と側鎖に囲まれた空間が分子認識に重要な役割を果たす可能性が示唆さ

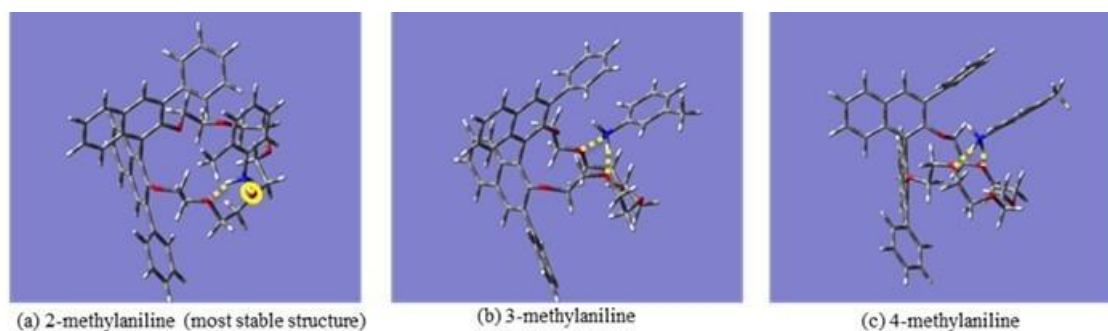


Figure 3. Models predicted *in silico* for the association of crown ether ligand and anilines.

れた (Figure 2)。クラウンエーテル配位子 (Scheme 1) を有するキラルセクターのリガンドとアニリン類の相互作用を量子化学計算で検討したところ、Cram によって提示されよく知られている水素結合の 3 点結合メカニズムと異なるものとして、2 点結合または変則 3 点結合が安定であることが示唆された (Figure 3)。

量子化学計算から得られた安定化エネルギーは、一連のクロロアニリンの溶出挙動とよく一致した (Figure 4a)。メチルアニリン類では安定化エネルギーと溶出挙動との相関関係は、クロロアニリン類の場合に比べて明確ではなかった。しかしながら、メチルアニリンの場合でも、量子化学計算アプローチにおいて、オルト置換されたものが最も弱く保持される傾向は再現された (Figure 4b)。これらの結果を通じて、キラルおよびアキラル分離のメカニズム

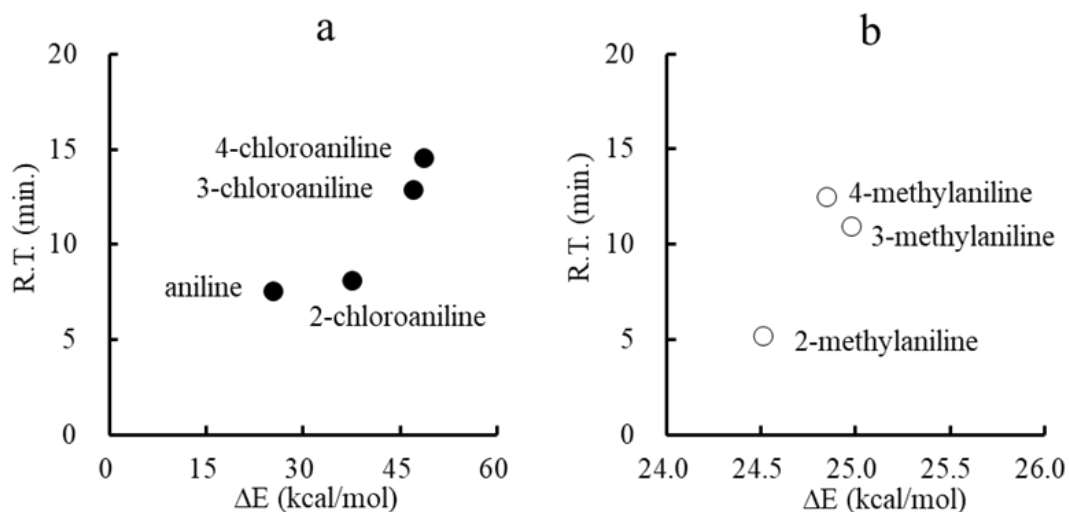


Figure 4. Retention time (R.T.) of anilines in achiral separation by CSP with crown ether ligand, (S)-(+)-(3,3-diphenyl-1,1-binaphthyl)20-crown-6 as a function of stabilization energy (ΔE) derived from quantum chemical calculation.

a: chloroanilines. b: methylanilines.

ムならびに、同分野における量子化学計算アプローチの可能性と限界についての洞察を得ることができた。

以上

学位論文審査報告書（甲）

1. 学位論文題目（外国語の場合は和訳を付けること。）

耐溶剤型キラル固定相の開発、およびキラル・アキラル分離への応用と

分子認識機構の研究

2. 論文提出者 (1) 所 属 物質化学専攻

(2) 氏 名 ^{ふり} ^{がな} ^{おおにし} ^{あつし} 大西 敦

3. 審査結果の要旨（600～650字）

提出学位論文について、各審査委員が個別に審査した後、令和3年7月16日に予備審査会を実施した。令和3年7月29日に行われた口頭発表会に引き続き、審査員による審査委員会を開催し、以下のとおり判定した。

多糖誘導体などのキラルセクターを担持したシリカゲルを固定相とした HPLC によるエナンチオマー分離（キラル分離）では、キラルセクターの溶解や膨潤を理由として使用できる移動相がアルコール類等に限られる問題があった。また、そのような固定相によるキラルおよびアキラル分離のメカニズムは不明であり、新規固定相開発や分析メソッド開発のガイドラインが存在しなかった。本論文では、HPLC 分離特性を損なわずに多糖誘導体等をシリカゲル等支持体に固定化するための要件として、多糖誘導体の置換度を高く維持したまま架橋を行う必要がある等の示唆を得て固定化方法を研究し、分離特性と耐溶剤性の両方に優れる固定相を開発した。さらに、種々溶質と固定相の安定化エネルギーを分子動力学計算および量子化学計算によって算出し、これらが HPLC 溶出挙動と整合することを示し、また、キラルセクターの分子形状や溶質との水素結合形成で溶出挙動を説明し得ることを明らかにした。

以上、本研究は、分離特性と耐溶剤性の両方に優れる HPLC 固定相を開発したものであり、また、計算化学的手法によって分離メカニズムへの理解を深めたものであり、分析化学分野の発展に貢献することが期待される。従って、本論文は博士（工学）の学位に値するものと判断する。

4. 審査結果 (1) 判 定（いずれかに○印） ○合格 ・ 不合格

(2) 授与学位 博士（工学）