自己会合により誘導される不斉識別法とその展開

原 昭二*・土橋 朗*・土橋保夫*

Molecular Design of Chiral Recognition Systems Based on Self Association-Induced Non-Equivalence

Shoji HARA*, Akira DOBASHI* and Yasuo DOBASHI*

In consideration of the flat-sheet structure known as a secondary structure of peptides and proteins, the self association of *N*-acyl α -amino acid derivatives may reasonably be expected to occur in non-aqueous media. To confirm the structure of dynamically formed molecular complexes, spectral studies of *N*-acetylvaline *tert*-butyl ester (1) in a carbon tetrachloride solution were carried out. A split of the amide NH resonance into two ^1H nmr signals for the *D* and *L* enantiomers, termed self-induced non-equivalence, was observed when the solute was enantiomerically enriched in the solution. A concentration study of ^1H and ^{13}C -NMR showed the diastereomeric dimers, whose associative interactions are bidentate $\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}$ (ester) hydrogen bonds, to be in the enantiomeric solutions. Ir spectra confirmed the stability difference between the diastereomeric dimers by an external comparison of optically pure and racemic samples in the carbon tetrachloride solution.

The association stereoselectivity of solute 1 was applied to the design of chromatographic phase systems. When racemic solute 1 is injected into a non-chiral silica gel column using mobile phase solvent containing chiral solute 1 as an additive component, the racemate should interact with chiral solute 1 added to the mobile phase solvent, while passing through the column, to form transient diastereomeric dimers as observed in solution, and be separated. Self association-induced resolution was confirmed experimentally using radiolabelled solute 1 and the radioactivity detection.

Attempts were made to widen the scope of application involved in the hydrogen-bond association mode to chiral recognition through the development of other resolving agents. *N*-Acetylvaline *tert*-butylamide was found to separate the homologues of *N*-acyl α -amino acid esters. Tartaric esters and amides were found capable of separating a variety of enantiomeric compounds in non-aqueous media.

1. はじめに

一対の対掌体は旋光度の符号が異なることを除けば、その物理的性質は全く同一であり、これを識別するため不斉の環境が必要である。例えば、キラルな物質(識別剤)を用い、試料の対掌体とのジアステレオマー錯体形成により識別することができる。この錯体形成においては構造的相補性の高い会合が追求され、例えば三点が同時に接触する会合¹⁾は、もっとも有力なモデルと考えられて

きた。

一方我々は、ペプチド、たんぱく質の二次構造の一つとして知られる β -シート構造における分子間の会合を模倣して*N*-アシル α -アミノ酸アミドを不斉源とする識別システムを設計し、液体クロマトグラフィーを用いて*N*-アシル α -アミノ酸エステルを光学分割して、二点接触モデルが有効に機能することを示した²⁻⁴⁾。このシステムを含むクロマトグラフィーの溶出挙動から、溶液中での head-to-tail の錯体形成が示唆された。これを一

* 東京薬科大学 ()

* Tokyo College of Pharmacy ()

般式に書き換えた二点の会合モデル(図1)において, X, Yがそれぞれ受容, 供与性の官能基であれば, 試料と識別剤は同一の対掌体対であってもよく, ジアステレオマー錯体として, ホモ二量体(図1a)とヘテロ二量体(図1b)が形成される。このような自己会合に基づくジアステレオマー錯体化に注目し, *N*-アシル α -アミノ酸エステルを用いて, 溶液中の会合現象を追跡した。またこのようなジアステレオマー錯体化によって誘導される不斉識別システムを設計した。

Fig. 1⁴⁾ Diastereomeric associated structures whose hydrogen bonds are formed between functions X and Y. Even though the side-chains R_1 and R_2 , connected to asymmetric carbons, are electrostatically neutral and no interaction is present between the two substituents, the structures (a) and (b) are in a diastereomeric relationship. These types of associations can also generate enantioselectivity by which optical resolution of enantiomers can be achieved.

2. 自己会合により誘導される磁気的非等価性

一般に対掌体の混合物をキラルな溶媒に溶かすと, 両対掌体はジアステレオマーに相当する溶質-溶媒会合体を形成する。対掌体の非等量混合物の場合, 非キラルな溶媒中において溶質-溶質相互作用が無視できない場合には, より多量の対掌体がキラルな溶媒として機能することになる。このとき対掌体 S_1 , S_d の混合物における二量体の会合平衡はつぎの式で表わされる。

この式で S_1S_1 および S_dS_d はホモキラルな二量体, 一方 S_1S_d はヘテロキラルな二量体であり, S_1 が過剰であるとき, S_1 は S_d より S_1 と優先的に会合する。これらの会合-解離が溶液中において速やかな平衡にあり, ホモキラルな会合体とヘテロキラルな会合体を構成する各原子が磁気的に非等価であれば, その NMR において, それぞれの対掌体に対応する二つのシグナルを与えると予測される。一つは S_1 , S_1S_d , S_1S_1 に由来するシグナルの加重平均に対応し, 他は S_d , S_1S_d と S_dS_d の平均に相

当する。そこでケミカルシフトの非等価性は二つの対掌体の比が大きくなる程強められる。逆に溶質対掌体の比が小さく(いわゆる“光学純度”が低く)になると, 溶質の非等価のシグナルは互いに重なるまで接近することになる。

我々は図1に示す二点接触モデルにおける自己会合平衡を証明するため, アルキルアミノ酸の一つであるバリンの *N*-アセチル-*tert*-ブチルエステル誘導体(1)(図2)を調製し, 溶媒中における会合挙動を観察した。この化合物ではアミドの NH が電子受容, エステルおよびアミドカルボニル基が供与性の官能基として機能することが期待される。*tert*-ブチル基はかさ高く, 溶質分子を互いに逆向きに配向させ, 受容基と供与基とを接近させるのに役立つであろう。

この溶質を用いて非極性溶媒中における NMR を測定すると, 明らかに非等価性が観察された⁵⁾。即ち四塩化炭素中 0.1M 溶液の -20°C の NMR において, NH プロ

Fig. 2 Molecular structure of *N*-acetyl-*L*-valine *tert*-butyl ester (1).

トンは二つの二重線を与えた。9:1 の L および D 対掌体の混合物の 200MHz におけるスペクトルを図3に示す。二つのピークの面積比は 9:1 であった。これらのシグナルは各対掌体に対応し, いずれも純粋の L 対掌体の示す化学シフトよりも高磁場にシフトする。そのシフトはラセミ体で最大となる。また対掌体の二つの分裂したシグナルの化学シフトの差 ($\Delta\delta$) は, 溶液の光学純度が低下するほど小さくなり, ラセミ体で消失する。

この化学シフトの非等価性 ($\Delta\delta$) は低温において顕著であるが, 室温においても認められた。テトラメチルシランを内部標準として, 200MHz の NMR スペクトルにおけるアミドプロトンの化学シフトの非等価性を表1に示す。この表で C は両対掌体の重量比であり, 対掌体の比を逆転(例えば 0.9 に対して 0.1, 0.7 に対して 0.3)させても同一のスペクトルが得られることは言うまでもない。ただしこの場合二つのシグナルの帰属は当然逆転する。 δ_D と δ_L は, 純 L 対掌体 ($C=1.0$) の化学シフト(ホモシフト)を基準とする, 非等量混合物中の D および L 対掌体のシフトを表わす。いずれも高磁場への移

動で、 $\Delta\delta$ は $\delta_D - \delta_L$ である。 $C=0.9$, 0.7 および 0.5 (ラセミ体) について、 -20° , 0° , 20°C における δ_D , δ_L , $\Delta\delta$ の値を表に示した。

Fig. 3⁵⁾ ^1H NMR spectrum of the amide NH group in the 1 : 9 mixture of D- and L-1 (0.1M solution in CCl_4) at -20°C . The low-field doublet ($^3J_{\text{HH}} = 8.54$ Hz, δ 6.725) and the small high-field doublet ($^3J_{\text{HH}} = 8.30$ Hz, δ 6.566) were assigned to the L and D enantiomers, respectively, on the basis of an observed intensity ratio of 9 : 1.

3. 動的会合構造の解明

3.1. NMR スペクトル 前節で見出した会合形成における動的な構造を明らかにするため、四塩化炭素溶液中におけるプロトン、炭素 13 核の NMR スペクトルを測定し、また化学シフトの濃度依存性について検討した。

溶液の濃度を 0.1M から 0.01M に希釈すると、アミド NH のシグナルは高磁場にシフトし、またアミドおよびエステルのカルボニル炭素にも類似の濃度依存性が認められ、 $\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}$ (アミド) と $\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}$ (エステル) の二組の分子間水素結合が示唆された。溶質 1 のラ

セミ体も L 対掌体と同様の濃度依存性を示したが、アミドプロトンにおいて見出されたラセミ体と L 対掌体との化学シフトの違いは、カルボニル基においてはエステルカルボニル基の ^{13}C 核にのみ認められた。したがって、分子間水素結合のうちジアステレオマー錯体の形成に寄与するのは $\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}$ (エステル) の相互作用であり、図 4 に示すように自己相補性によって会合した二つのジアステレオマー二量体が推定された。

対掌体混合物の与えるアミド NH シグナルの化学シフトから純 L 対掌体溶液の示す化学シフトを差し引き、この差 (δ) を L 対掌体の相対的な含有量 (C) に対してプロットする場合、溶液中のジアステレオマー錯体の形成が完全に統計的に調節されるならば、直線関係を与えることが知られている⁶⁾。20°C においては、 $\delta-C$ は直線的で、会合の立体選択性を NMR において見出すことは困難であった。しかし温度を下げるとこの直線性は崩壊し、曲線を描いた。このような挙動はジアステレオマー錯体の熱力学的安定性に差があり、錯体化が立体選択性を持つことを示唆する。

以上の化学シフトの非等価性は溶媒をクロロホルムに変えるとき、20°C (0.1M) においては観測できない。しかし温度を下げることによってアミド NH のシグナルは再び分裂し、 -20°C では四塩化炭素溶液で観測されるよりも大きな化学シフトの差を与えた。

3.2. IR スペクトル 自己会合構造およびその立体選択性を証明するため、さらに IR スペクトルによる測定を行った。溶質 1 の L 対掌体の四塩化炭素溶液を用いるとき、0.006M 以上の濃度域でアミド NH に帰属される二つの吸収 (3440cm^{-1} および 3360cm^{-1}) が認められた。 3360cm^{-1} の吸収は、会合 NH 伸縮振動に帰属され、アミド NH 基が分子間で水素結合を形成することが明らかとなった。また会合吸収は試料の濃度によらず一定の波数を示すことから、環状会合体の形成を示唆している。この会合 NH 吸収帯の吸光度は濃度の上昇とともに

Table 1⁵⁾ Self-induced chemical shift nonequivalence ($\Delta\delta$) of the amide NH proton of 1 in (0.1 M) CCl_4 solution^a.

temp, $^\circ\text{C}$	C^b							
	1.0	0.9 ^c			0.7 ^c			0.5 ^f
		δ_L^d	δ_D^d	$\Delta\delta^e$	δ_L^d	δ_D^d	$\Delta\delta^e$	
20	6.127(0)	0.011	0.097	0.086	0.028	0.071	0.043	0.051
0	6.389(0)	0.010	0.143	0.133	0.032	0.098	0.066	0.073
-20	6.729(0)	0.004	0.163	0.159	0.021	0.100	0.079	0.084

^aNMR spectra were recorded at 200 MHz with Me_4Si (δ 0.00) as the internal standard. Chemical shifts of the amide NH doublets were determined by a homodecoupling technique, with irradiation of ^1H of the solute 1. ^bRelative content of the L enantiomer in the mixtures. ^cIdentical spectra were obtained in the reverse enantiomeric ratio (C of 0.1 for 0.9, C of 0.3 for 0.7), but assignment of the two lines has been reversed. ^d δ_D and δ_L values exhibit upfield deviation for the D and L enantiomers in enriched mixtures, respectively, from the homo shift of the pure L enantiomer (C 1.0). ^e $\Delta\delta = \delta_D - \delta_L$. ^fThe sense of nonequivalence has vanished.

Fig. 4¹⁴⁾ Diastereomeric dimers interlinked via bidentate $\text{NH} \cdots \text{O} = \text{C}(\text{ester})$ hydrogen bonds, proposed to account for the self-induced NMR nonequivalence of the enantiomeric carbon tetrachloride solution of the chiral *N*-acetylvaline *tert*-butyl ester. The homochiral(L-L) dimer (a) is more stable than the heterochiral dimer (b).

に増加し、また L 対掌体の溶液はラセミ体の溶液より強い会合吸収を与えた。この結果は、L 対掌体溶液中の自己会合平衡はラセミ体の溶液中におけるよりも会合側にシフトしていること、すなわちホモキラルな会合体は、ラセミ体の溶液に含まれるヘテロキラルな会合種よりも安定であることを示している。一方クロロホルム溶液では、L 対掌体の会合 NH 吸収は 0.02M まで現われず、クロロホルム分子が溶質の自己会合と競争し、溶質は四塩化炭素溶液中におけるよりも解離していることが示唆された。

以上述べた *N*-アセチルバリン-*tert*-ブチルエステル(1)においては、図 1 に示す会合の形成を期待し、*O*-アルキル基としてかさ高い *tert*-ブチル基が導入された。もしこれをより小さいエチル基に変えた場合にはどうなるであろうか。その差異に注目し、エチルエステル(2)を調製して NMR および IR スペクトルの測定を行った。溶質 2 の NH プロトンにおける非等価性は -20°C においても小さく、1 : 9 の比率の 0.1M 溶液においてケミカルシフトの差は 0.078ppm (溶質 1 では 0.159ppm) に過ぎないことが判明した。また溶質 2 の四塩化炭素溶液の IR では、アミド NH に基づく伸縮振動領域に、1 において非会合体および環状会合体に帰属された吸収のほか第三の吸収を示した。この吸収は濃度の上昇によ

り低波数側にシフトし、会合平衡混合物中に鎖状オリゴマーが存在することを示唆した。このように、溶質 1 と 2 の自己会合平衡には差異が認められ、*O*-アルキル基のかさ高さによって由来するものと解釈された。

このような対掌体混合物における非等価性を NMR によって観測した例としては、すでにキニーネの重クロロホルム溶液、ジアミドの四塩化炭素溶液などが知られており⁷⁻¹⁰⁾、我々の研究例は最初のものではない。しかしながら、我々はこの分子の二量体の形成と、自己会合平衡によって誘導される非等価性を確認し、更に溶液中におけるジアステレオマー会合体の安定性の差異を明らかにした。本研究は非水溶媒中において自己会合にもとづく動的構造を明らかにし、熱力学的安定性の差を確認した最初の例であり、今後の展開が期待できる。

4. 自己会合によって誘起される光学分割

以上の研究によって、溶質 1 の対掌体の溶液中に自己会合による動的二量体が形成され、ホモ会合体はヘテロ会合体より安定であることが確認された。そこで我々は液体クロマトグラフィー・システムにこの会合系を組み込み、直接光学分割システムの構築を試みた。

即ち非キラルな充填物を填めたカラムに、純粋の対掌体を添加剤 (chiral additive, CA) として含む溶液を流し、これにラセミ体の試料を注入する。溶液中では可逆的に会合体が形成され、溶質対掌体はカラムを移動する際に充填剤と相互作用することになる。

このとき吸着剤との吸着および脱着をおこし、不安定な会合体 (溶質 1 においてはヘテロ二量体) を形成する溶質は、その平衡が非会合体側にシフトするので強く吸着され、一方より安定な会合体 (ホモ二量体) を形成する溶質はカラム中をより速く移動すると予想される。この考え方を図 5 に示す。

クロマトグラフィーのカラム理論によれば、吸脱着平衡の成立する“理論段”の数によってカラムの効率を評価することができ、カラムは一定の長さにおいてより高い理論段数をもつことが好ましい。カラムを多段に区分するため、粒径の小さい充填剤 (粒径 $3 - 10 \mu$) とこれをち密に充填するスラリー法が開発され、カラム効率は最近十年間に大きな進歩を遂げた。このカラム技術こそが“高性能液体クロマトグラフィー” (“High Performance Liquid Chromatography”, HPLC - 高圧送液系, 検出系などを含むシステムの呼称。古典的な方法である重力流下法と比べて高速化されたことから、我が国では“高速液体クロマトグラフィー”と呼ばれることが多い) の核心をなす部分であり、数千ないし一万理論段が日常的

に利用できるようになった。

そこで高効率の非キラルなシリカゲルカラムを用いる液体クロマトグラフィーにおいて、溶離液に溶質1のL対掌体をキラルな添加剤(CA1)として加え、溶質1のラセミ体の光学分割を試みた。この場合溶離する試料は添加剤と同一であるから、何らかの標識が必要である。本研究では ^{14}C で標識した溶質1を合成し、溶離液の放射活性を測定した。

Fig. 5 Liquid-solid chromatographic process for resolution of enantiomers based on the self association-induced non-equivalence.

溶離液としては錯体形成と競合しない極性の低い溶媒を用いることが必要となり、*n*-ヘキサンとクロロホルムの混合物を選択した。クロロホルムは溶質1に対して大きな溶解力を持ち、またその濃度を変えることによって保持をコントロールすることができる。ここでは溶質1のL対掌体を0.1M含む10%クロロホルム-*n*-ヘキサンに溶解した。この溶媒を用いる溶質1の溶液についても上述したと同様にIRを測定し、会合形成と会合の優先性を確認した。このシステムで溶質1のラセミ体は分割され、二つのピークはほぼ等しい放射活性を与えた。このときホモキラルな会合体を形成するL体が先に溶出し、予想と一致することが判明した。1℃における実験で分離係数 α 1.37を与え、20℃では分離係数が1.20に減少した(ここで分離係数 α は二つのピークの保持値 k' の比、すなわち $\alpha = k'_1/k'_2$ で、保持値とは見掛けの保持容量 V_R からカラムの死容積 V_0 を引き、 V_0 で割ったもの、即ち $k' = (V_R - V_0)/V_0$ で表わされ、吸着係数に比例する物理定数)¹¹⁾。

最近ニコチンやキラルなジアミド誘導体の非等量混合

物が非キラルなカラムによって分割されることが判明した^{12,13)}。これらの例においても自己会合平衡が関与していると推定されるが、会合構造に関する検討や考察は行われていない。今後研究法の精密化によって、多くの自己会合の事例が見出され、それらの動的な会合構造の解明が期待される。

5. 同族体の不斉識別

以上のように溶質1は無極性溶媒中で二つの水素結合を介して自己会合することを明らかにしたが、このような会合は、アミノ酸の α 位のアルキル基が異なっても機能すると予想される。即ち溶質1とその同族体との間でも会合体が形成され(その会合構造を図6に示す)、図4と同様の錯体化による不斉識別システムを設計し得る。そこでCA1を添加剤として用い、前節と同様の方法によって同族体の光学分割を試みた。試料として強いUV吸収をもち、検出に便利なトリプトファン(Trp)、システイン(Cys)、フェニルグリシン(PhGly)、フェニルアラニン(Phe)、チロシン(Tyr)の保護体を調製した。これらのアミノ酸の同族体は、シリカゲルカラム、クロロホルム-*n*-ヘキサンを溶離液とする液体クロマトグラフィーによって実際に分割された。保持挙動を表2に示す¹⁴⁾。

添加剤としてCA1のL体を用いるとき、注入されたL対掌体はD体より先に溶出される。溶出順序は自己会合によるものと同一であり、このことはホモ型の会合体、すなわちL型のCA1とL型の試料アミノ酸誘導体との会合体がヘテロ型の会合体、即ちL型のCA1とD型の試料との会合体より安定であることを示唆している。

以上の考察は、液体クロマトグラフィーの移動相溶媒中における会合形成と、その安定性を基礎とするものである。もしCA1が充填剤に固定され、キラルな固定相として機能することになれば、当然試料の溶離の順序は逆転するに違いない。またそのような実験結果が得られれば、これまでの推論の妥当性が支持されたことになる。

そこでCA1を充填剤に固定することを試みた。CA1の調製の過程における*N*-アセチル化の代わりにジカルボン酸の半アミドとし、遊離したカルボキシル基を用いてアミノプロピルシリル化シリカゲルにイオン結合した。合成経路を図7に示す¹⁴⁾。

この化学結合型固定相 Chemical Bonded Stationary Phase (CSP1)は60%ジクロロメタン-*n*-ヘキサンを溶離液とすると、常温においては対掌体の選択性を示さなかったが、-27℃に冷却することによって、試料としての溶質1のラセミ体を分割することができた($\alpha =$

Table 2¹⁴⁾ Optical resolution of the enantiomers of racemic *N*-acetylamino acid *tert*-butyl esters with chiral hydrogen bonding additive, *N*-acetyl-L-valine *tert*-butyl ester (CA1) on a silica gel column.

Amino acid	Capacity factor (k')		Separation factor (α) ^{a)}
	L-	D-	
<i>N</i> - <i>t</i> -BuTrp	9.51	10.73	1.13
<i>S</i> -BzlCys	9.03	10.08	1.12
α -PheGly	9.31	10.43	1.12
Phe	9.85	11.46	1.16
O-BzlTyr	12.49	15.24	1.22

a) $\alpha = k'_L/k'_D$

Chromatographic conditions: column, 25 × 0.1 cm I.D.; packing, Spherosil XOA-600 (5 μ m); mobile phase solvent, chloroform-*n*-hexane (10 : 90, v/v), containing 0.1 M of CA1; flow-rate, 30 μ l/min; column temperature, 20°C; detection, UV at 254 nm.

Fig. 6 Molecular association of the chiral *N*-acetyl-L-valine *tert*-butyl ester (1) and *N*-acetylamino acid *tert*-butyl esters via bidentate NH-O=C (ester) hydrogen bonds.

1.11, $k'_D = 2.37$, $k'_L = 2.63$)。このとき溶離の順序は、L体を結合した固定相ではD対掌体がL体より先行し、前述の添加剤としてCA1を用いるクロマトグラフィー系とは逆の順位を与えた。このような識別剤の添加と固定化による溶離順序の逆転は劇的ともいえるものであり、この事実は上記の推論によって説明できる。

6. クロマトグラフィーを用いる光学分割への展開

Fig. 7 Synthetic scheme of the chiral stationary phases, CSP 1 and 2.

6.1. キラルなジアミドを識別剤とするシステム
不斉識別のメカニズムの解明と不斉選択性の増大を志向して、クロマトグラフィーを用いる新しい光学分割システムの開発を試みた。その一つはキラルなジアミドである。このジアミドと溶質 1 およびその同族体(アミドエステル)との推定される会合体の構造を図 8 に示す。

ジアミドとアミドエステルとのシリカゲルに対する吸着性を比較すると、アミド基を二つ含む前者の方が後者より強いと推定され、実際に 2-プロパノール-*n*-ヘキサンを溶離液とするシリカゲル・クロマトグラフィーにおいてその溶離挙動からジアミドの方がより強く吸着されることが確認された。実験結果を図 9 に示す¹⁴⁾。この図では保持値(k')と溶離液の組成が両対数でプロットされ、直線関係が認められる(この直線の相関は吸着クロマトグラフィー・システムにおいて、理論的にもまた実験的にも証明されており、保持を調整するために極めて有用な関係である)¹⁵⁾。

このクロマトグラフィー系においては、溶離液に添加されたジアミド(CA2)がシリカゲルに強く吸着されるため、キラルな固定相として機能する可能性がある。L型のCA2を不斉源、クロロホルム-*n*-ヘキサンを溶離液とするシリカゲル・クロマトグラフィーにおいて、ラセ

Fig. 8 Molecular association of the chiral *N*-acetyl-L-valine *tert*-butylamide (2) and *N*-acetyl-L-valine *tert*-butyl ester (1) via bidentate NH...O=C hydrogen bonds.

ミ体の *N*-アシル α -アミノ酸を注入すると、常温において光学分割され、前節に述べた CA1 におけるより大きな α 値を与えた。また D-対掌体は L-体より先に溶出された。分離データを表 3 に示す¹⁴⁾。

この分離結果はつぎのような保持機構によって説明できる。図 10 に示すように、L 型の CA2 は二つのアミド基によってシリカゲル表面に吸着され、このとき α -位のイソプロピル基は吸着剤の表面を背にして溶離液中に配向すると考えられる。L 型の溶質 (アミドエステル) が C₅-C₅ の会合体を形成するとき、その α 位の R 基は溶離液中に吸着剤面を背にして配向し、それとは逆向きとなる D 型の溶質より立体障害が小さく、より強く保持されることになる。一方 C₅-C₇ 型の会合においても α 位の R 基は同じ方向に配向されるので、いずれの会合が優先するにせよ、二つの水素結合による会合形成において、固定相として機能する L 型の CA2 により L 型の溶質が D 体より強く保持されると推測される。

つぎに前節で述べた CA1 と同様に CA2 をシリカゲルに化学結合することによりキラルな固定相 CSP2 を調製

Fig. 9¹⁴⁾ Plot of the logarithm of the capacity factor (k') versus logarithm of the concentration of 2-propanol in *n*-hexane. ●, Chiral hydrogen-bonding additive (CA), *N*-acetyl-L-valine *tert*-butylamide (2); ○, CA, *N*-acetyl-L-valine *tert*-butyl ester (1); ▲, *N*-acetyl-L-phenylalanine *tert*-butyl ester, as a typical solute to be resolved. The k' value of CA2 could not be determined when 2-propanol-*n*-hexane (1:99, v/v) was used, as the solute was not eluted within a reasonable time.

Table 3¹⁴⁾ Optical resolution of the enantiomers of racemic *N*-acetyl-L-valine *tert*-butyl esters with chiral hydrogen bonding additive, *N*-acetyl-L-valine *tert*-butylamide (CA2) on a silica gel column.

Amino acid	Capacity factor (k')		Separation factor (α)
	D-	L-	
<i>N</i> - <i>t</i> -BuTrp	3.31	4.07	1.23
<i>S</i> -BzlCys	3.57	4.28	1.20
α -PheGly	4.22	5.10	1.21
Phe	4.30	5.56	1.29
<i>O</i> -BzlTyr	4.31	5.13	1.19

Chromatographic conditions: column, 25 × 0.4cm I.D.; packing, LiChrosorb Si 60 (5 μ m); mobile phase solvent, chloroform-*n*-hexane (40 : 60, v/v), containing 15mM of CA2, *N*-acetyl-L-valine-*tert*-butylamide; flow-rate, 1ml/min; column temperature, 20°C; detection, UV at 265 nm.

Fig. 10¹⁴⁾ The solute L-enantiomer-additive association occurring in the adsorbed state of CA2. *N*-acetyl L-valine-*tert*-butylamide on a silica gel surface. The complexed L-enantiomers, whose associative interactions are bidentate $\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}$ hydrogen bonds, can provide a more stable flat-lying orientation because their side-chains are oriented toward the bulk of the mobile phase, similar to that of CA2. The “ $\text{C}_5\text{-C}_7$ ” dimers in which the C_7 conformational site is offered by CA2 may be formed along with the “ $\text{C}_5\text{-C}_5$ ” dimers in this figure, as the solute enantiomers pass through the column.

した。その合成法は CSP1 の場合と同様であり、合成経路を 図7 に示す¹⁴⁾。CSP2 を充填したカラムを調製し、溶離液として 2-プロパノール-*n*-ヘキサンを用いてラセミ体の *N*-アシル α -アミノ酸を注入すると、常温において各対掌体に分割された。保持データを表 4 に示す¹⁴⁾。このとき溶離順序を含む保持挙動は CA2 を添加剤として用いた分離システムと同様であり、したがって CA2 がシリカゲル表面に捕捉され、固定相として機能するという考え方が支持される。

キラルなジアミド (CA2) を用いるクロマトグラフィー・システムは α -アミノ酸対掌体の系統的分析法に展開された。即ち溶質の検出感度を増大するためアシル基に発色団を導入し、試料のアミノ酸を *p*-ニトロベンジル化、更にイソプロピルエステルに誘導した¹⁶⁾。この誘導体は CA2 を不斉源とするシリカゲル液体クロマトグラフィーによって分割され、前節で述べた *N*-アセチル体の *tert*-ブチルエステルを溶質とする分離システムと同様の不斉選択性を示すことから、同じ型式のジアステレオマー会合体が形成されるものと推定される。この方法では非キラルなシリカゲルカラムを用い、試料の誘導体化は one pot で行われるので単純であり、また UV 検出器による感度は 10 pmol に達する。ここに実用性の高い高感度の分析システムが構築された。数種の α -アミノ酸誘導体を同時に分離した実験結果を 図 11 に示す。

6.2. 酒石酸誘導体を用いる識別システム 以上のように二点の接触による会合モデルを基礎として、会合のため必要な functionality を含む分子を設計し、水素結合による分子会合によって誘導される不斉選択性を見出すことができた。この会合モデルを他のキラルな分子種にも適用し、立体選択性をもつ新しい不斉源を見出し得ると考えられる。また自己会合が考えられる分子は、それ自身以外にも会合に必要な functionality をもつ類縁体を識別し得ると考えられ、数種の自己会合が可能な functionality を備えた分子は、適用範囲の広い識別剤として機能することが期待される。我々はこのような観点から酒石酸エステルに着目した。この誘導体は水素結合の供与基として水酸基、受容基として水酸基、カルボニル基を持つ。そして C_2 軸に対して対称であり、またそれらの配置は α -および β -オキシ酸、そして 1,2-ジオールにも共通している。酒石酸誘導体とその類縁体の会合部位を 図 12 に示す。

Table 4¹⁴⁾ Optical resolution of the enantiomers of racemic *N*-acetylamino acid *tert*-butyl esters on the packed amino column, modified by glutaryl L-valine *tert*-butylamide monocarboxylic acid.

Amino acid	Capacity factor (k')		Separation factor (α)
	D-	L-	
<i>N</i> - <i>t</i> -BuTrp	5.79	6.88	1.19
<i>S</i> -BzlCys	4.98	5.59	1.12
α -PheGly	6.10	6.81	1.12
Phe	5.50	6.43	1.17
<i>O</i> -BzlTyr	7.17	8.26	1.15

Chromatographic conditions: column, 50 $\times$ 0.1 cm I.D.; packing, 3-aminopropyl-silica [Nucleosil-5NH₂ (5 μm)], *in situ* modified by the chiral acid glutaryl L-valine-*tert*-butylamide monocarboxylic acid (CSP 2); mobile phase solvent; 2-propanol-*n*-hexane (1:99, v/v); flow-rate, 60 $\mu\text{l}/\text{min}$; column temperature, 20°C; detection, UV at 254 nm.

Fig. 11¹⁶⁾ Optical resolution of a mixture containing nine enantiomeric pairs of amino acids as their *N*-(4-nitrobenzoyl) *O*-isopropyl ester derivatives. The chromatographic conditions are as follows: column, two columns of 50 × 0.1(i.d.)cm each, linked in series; flow rate, 30 μl/min; column temperature, 39°C; mobile phase solvent, 45%(v/v) chloroform in *n*-hexane containing 14.02mM of CA2. Peak identifications are as follows: 1, allo-Ile; 2, Ile; 3, Val; 4, Phe; 5, Leu; 6, Thr; 7, Ala; 8, Tyr; 9, Ser.

酒石酸はすでに優れた不斉誘導試薬として知られ、高選択的な有機合成において広く利用されている。また最近 Prelog らは、酒石酸エステルを含む 1,2-ジクロロエタンと六フッ化リン酸ナトリウムを含む水相との二相分配において、β-アミノアルコールの対掌体が不斉選択性を示すことを見出し、この相システムを液・液分配クロマトグラフィーに組み込んで光学分割した^{17,18)}。

我々は非水系における識別剤を見出すことを目的として、酒石酸エステルによる不斉識別について検討した。酒石酸の種々のアルキルエステルを調製し、これらを添加剤として、酒石酸エステルの液体クロマトグラフィーによる光学分割を試みた。溶出するピークを検出するため、UV 吸収を有するジベンジルエステルを試料として用いるとき、光学分割されることが証明され、非水溶媒中における酒石酸誘導体の不斉識別性がはじめて明らか

Fig. 12 (*R,R*)-*N,N'*-diisopropyltartramide (DIPTA) can recognize the molecular chiralities of enantiomers which possess two hydrogen bond sites at 1,2- or 1,3-positions.

にされた。またこの添加剤により種々の α-オキシ酸および 1,2-ジオールを分割することができた。

更に、不斉選択性を大きくするため、種々の *N,N'*-ジアルキル酒石酸アミドを合成した。この分子設計はつぎのような想定に基づくものである。アルキルアミドは強い水素結合を作るため供与基かつ受容基となり、アミド結合の平面性はそれらの方向性を規定する。一方、自由回転により方向性が規定されない水酸基が会合を有利に支援すると考えられる。種々のアルキルアミドをクロロホルム-*n*-ヘキサンから成る非水系溶離液に添加することにより、オキシ酸の対掌体を光学分割することができた。種々のアルキルアミド誘導体のうち、有機溶媒に対する溶解度が良好な *N,N'*-ジイソプロピルアミド (DIPTA) を選び、更に広汎な対掌体群に対してその識別性を検討した^{19,20)}。

(*R,R*)-DIPTA を溶離液への添加剤とする対掌体のクロマトグラフィー分離において、α-および β-オキシ酸は *N*-アルキルアミドに誘導することにより分割された。これらの誘導体におけるアミド窒素上の置換基のかさ高さは、β-オキシ酸では分離係数を増加させ、一方、α-オキシ酸では逆の効果を示すことが観察された。α-アミノ酸は *N*-アシルアミドまたはエステルとして分割されたが、C 末端における *N* または *O*-アルキル基のかさ高さはいずれも分離係数を増加させた。β-アミノアルコールは *N*-アシル体として分割された。幾何異性体を含む α-ケトキシムでは、C=N 結合の同じ側に不斉炭素および窒素原子に結合した水酸基をもつ *syn* 体のみが分割された。DIPTA の不斉選択性は、β-オキシケトン (図 13) や 1,2-ジオールにも示された。

鎖状ジオールの系統的な研究から、溶質の分子構造と

Fig. 13⁴⁾ Optical resolution of 3-hydroxy-3-phenylpropiophenone. The chromatographic conditions are as follows: column, 50 × 0.1(i.d.)cm stainless steel tube packed with Nucleosil 100-5(5 μm); mobile phase solvent, chloroform-*n*-hexane (3:8 (v:v)) containing 3.19mM of DIPTA; flow rate, 20 μl/min; column temperature, 20°C; detection UV at 254nm. The capacity factor for the first eluted enantiomer and the separation factor are 2.61 and 1.05.

不斉選択性の間につきのような関係が認められた。選択性の大きなスレオ体では、図 14 における置換基 R のかさ高さによって、二つの水酸基は優先的にゴーシュ型のコンホーメーションとなる。またそれとは逆に選択性が小さいエリスロ体では、二つの水酸基は優先的にアンチ型となり、このことからジオールの二つの水酸基を介した DIPTA との会合がそれらの不斉識別に寄与することが示唆された。このような二つの水酸基を介しての会合に基づく識別は、アトロプ異性体にも適用できることが明らかになった。その一例として、ビ-β-ナフトールの分割の例を図 15 に示す。ビ-β-ナフトールのクロマトグラフィーによる直接光学分割は、芳香環をもつ不斉源によって達成され^{21,22)}、その大きな不斉選択性は、溶質の芳香環との相互作用に基づくものと考えられる。それと較べると、DIPTA の水素結合を主とするビ-β-ナフトールに対する不斉選択性は小さいが、π-π相互作用を含まず、従って芳香環-芳香環の相互作用を妨げる置換基をもつアトロプ異性体に対しても機能する可能性がある。DIPTA によって分割された化合物群の構造を図 16 に示す。

以上述べた DIPTA を添加剤とする対掌体のクロマトグラフィー分離において、DIPTA はカラム内で溶質対掌体と水素結合によりジアステレオマー会合体を形成

Fig. 14⁴⁾ In the *threo* family of 1,2-diol (I), an increase in the bulkiness of R substituent resulted in greater separation factors. But in the *erythro* family, the substituent bulkiness had the reverse effect on the separation factors. Variation in the separation factors due to increased bulkiness of R substituent is related to the preferential conformation of these derivatives. Increased bulkiness of R substituent caused the *threo* diols to adopt the conformation T, whereas, the *erythro* diols adopt the conformation E (For the sake of convenience, only one of enantiomers is illustrated).

し、不斉選択性はこの動的錯体形成に基づくことは明らかである。しかし錯体形成は、移動相および固定相の両相で起こり、不斉識別においていずれが支配的因子となるかを決定することは難しい。一方キラルな充填剤を用いる光学分割では、固定相表面の不斉源と溶質対掌体との間で形成されるジアステレオマー錯体の安定性のみが不斉選択に寄与する。そして安定な会合体を形成する対掌体がより大きな保持を示す。そこで酒石酸アミドで修

Fig. 15²⁰⁾ Optical resolution of bi-β-naphthol. The chromatographic conditions are the same as those described in the legend of Fig. 13 except for a flow rate. The flow of 60 μl/min is used. The capacity factor for the first eluted enantiomer and the separation factor are 9.08 and 1.08.

Fig. 16⁴⁾ Classes of solute compounds optically resolved by DIPTA containing phase system.

Fig. 17²³⁾ Synthetic scheme of the chiral stationary phase, CSP 3.

Fig. 18²³⁾ Direct resolutions of *tert*-butylamide derivatives of β -hydroxycarboxylic acids on CSP3. Chromatographic conditions are described in the legend of Table 5. a) compound 5. b) compound 9.

Table 5²³⁾ Chiral recognition of β -hydroxycarboxylic acid derivatives on CSP 3.^a

compound	R ₁	R ₂	relative configuration	k' ₁	k' ₂	α
1	Ph	H	—	6.51	7.40	1.14
2	<i>iso</i> -Pr	H	—	3.31	3.74	1.13
3	Et	H	—	5.82	6.32	1.09
4	H	Ph	—	5.05	6.06	1.20
5	H	<i>iso</i> -Pr	—	3.86	4.62	1.20
6	H	Et	—	5.60	6.42	1.14
7	Ph	Me	threo	3.25	4.46	1.37
8	Ph	Me	erythro		7.43	>1.00 ^b
9	Ph	Et	threo	2.56	3.76	1.46
10	Ph	Et	erythro	5.70	6.03	1.06
11	Ph	<i>iso</i> -Pr	threo	2.73	3.40	1.25
12	Ph	<i>iso</i> -Pr	erythro	4.51	4.92	1.09

a) The column was a 50 × 0.1 (i.d.) cm stainless steel tube packed with the modified silica gel. Chromatographic runs were performed at a constant flow rate of 60 μ l/min, and constant temperature of 20 °C. The eluent was 2 (v/v) % 2-propanol in *n*-hexane. The elute was detected by UV at 230 nm for entries 1 and 2 and at 254 nm for other entries.

b) The shoulder could be definitely detected.

飾した光学活性のシリカゲル充填剤を設計した。

シリカゲルを酒石酸ジアミドで修飾した化学結合型充填剤 CSP3 を図 17 に示す経路で合成した²³⁾。溶離液には、2-プロパノール-*n*-ヘキサンから成る二成分溶媒を用い、試料の検出は UV 吸収により行った。その結果 CSP3 により β -オキシ酸アミドなどが光学分割された²³⁾。クロマトグラムを図 18 に示す。その保持挙動は、前節で述べた DIPTA を添加剤とするクロマトグラフィーと同様であり、溶質に含まれる置換基のかさ高さは分離係数に対して影響を与えた(表 5)。

7. おわりに

以上の結果から、純粋の対掌体をその鏡像体の溶液に加えることによって自己会合に基づくジアステレオマー錯体を生じ、それが不斉識別に機能することが明らかになった。立体化学的な考察とシミュレーション、モデルの設計、スペクトルを用いる会合構造の研究などの成果の集積によって、新しい不斉識別システムの構築が可能になるであろう。

生体内における分子が互いに相手を識別する分子認識の機能のモデルとして、“鍵”と“鍵穴”との関係に相当する特異性の高い会合モデルが注目され、新しい有機化学の研究における有力な課題となっている。この領域

では主として構造的相補性の高いホスト・ゲスト錯体形成、包接現象などが追求されてきた。それに対して、ここで述べた不斉識別は構造的相補性がより低い分子間の相互作用に基づくものであり、このような会合形態の今後の追求によって、新しい分子認識に関する情報が得られるものと期待している。

(昭和 61 年 4 月 7 日受理)

文 献

- 1) C. E. Dalglish, *J. Chem. Soc.*, **1952**, 3940
- 2) S. Hara, A. Dobashi, *J. High Resolut. Chromatogr. CC*, **2**, 531 (1979); S. Hara, A. Dobashi, *J. Liq. Chromatogr.*, **2**, 883 (1979); S. Hara, A. Dobashi, *J. Chromatogr.*, **186**, 543 (1979)
- 3) A. Dobashi, K. Oka, S. Hara, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 7122 (1980)
- 4) A. Dobashi, Y. Dobashi, S. Hara, *J. Liq. Chromatogr.*, **9**, 243 (1986)
- 5) A. Dobashi, N. Saito, Y. Motoyama, S. Hara, *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 307 (1986)
- 6) M. I. Kabachnik, T. A. Mastryukova, E. I. Fedin, M. S. Vaisberg, L. L. Morozov, P. V. Petrovsky, A. E. Shipv, *Tetrahedron*, **32**, 1719 (1979)
- 7) T. Williams, R. G. Pitcher, P. Bommer, J. Gutzwiller, M. Uskokovic, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 1871

- (1969)
- 8) W. H. Pirkle, D. J. Hoover, "Topics in Stereochemistry", Vol. 13 (E. L. Eliel, N. L. Allinger eds.), p. 316 (1982), Wiley Interscience, N. Y.
 - 9) M. T. Cung, M. Marraud, J. Neel, *Biopolymer*, **15**, 2081 (1976)
 - 10) M. T. Cung, M. Marraud, J. Neel, *ibid.*, **16**, 715 (1977)
 - 11) 原 昭二, フェルマシア, **17**, 121 (1981)
 - 12) K. C. Kundy, P. A. Crooks, *J. Chromatogr.*, **281**, 17 (1983)
 - 13) R. Charles, E. Gil-Av, *ibid.*, **298**, 516 (1984)
 - 14) A. Dobashi, S. Hara, *ibid.*, **349**, 143 (1985)
 - 15) 原 昭二, "クロマトグラフィー分離システム-考え方・選び方"(原 昭二, 森 定雄, 花井俊彦編), p. 161 (1981), 丸善
 - 16) A. Dobashi, S. Hara, *Anal. Chem.*, **55**, 1805 (1983)
 - 17) V. Prelog, Ž. Stojanac, K. Kovačević, *Helv. Chim. Acta*, **65**, 377 (1982)
 - 18) V. Prelog, S. Mutak, K. Kovačević, *ibid.*, **66**, 2279 (1983)
 - 19) Y. Dobashi, A. Dobashi, S. Hara, *Tetrahedron Lett.*, **25**, 329 (1984)
 - 20) Y. Dobashi, S. Hara, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 3406 (1985)
 - 21) W. H. Pirkle, J. L. Schreiner, *J. Org. Chem.*, **46**, 4988 (1981)
 - 22) Y. Okamoto, S. Honda, I. Okamoto, H. Yuki, S. Murata, R. Noyori, H. Takaya, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 6971 (1981)
 - 23) Y. Dobashi, S. Hara, *Tetrahedron Lett.*, **26**, 4217 (1985)

書 評

触媒学会編 「触媒講座」 講談社サイエンティフィク

第4巻	反応機構決定法, 錯体触媒	368頁	4,900円
第7巻	基本工業触媒反応	294頁	4,600円
第8巻	工業触媒反応Ⅰ	342頁	4,900円
第9巻	工業触媒反応Ⅱ	360頁	4,900円
第10巻	触媒各論	320頁	4,900円

触媒学界の編集による触媒講座全10巻, 別巻1が完成し発刊された。20年前に刊行された「触媒工学講座」以来待望のもので, 触媒関係の多数のエキスパートによる分担執筆からなり, 触媒に関する基礎から応用にわたる最近の知見の総てを網羅した大作である。広い範囲をカバーする全巻のうちで, 筆者のように固体触媒よりはむしろ錯体触媒の研究とそれらの工業的応用に興味をもっている者として, 手許に置きたいと考え, 上記の5巻を選んで繙いてみた。

第4巻は錯体触媒を理解するための錯体化学が解説されている。反応機構決定法まで含めた, 合成反応よりはむしろ理論的な面の強いのが特徴といえる。7, 8, 9巻は固体触媒, 錯体触媒の両方の工業的応用がまとめられている。アンモニア合成やオキソ反応のようにプロセス的に確立され, 多大の研究成果のあるものを7巻に, メタセシスやフィッシャー・トロプシュ合成のように未

完成のものが8, 9巻に取り上げられている。とはいえ, 8, 9巻にも既に工業的に実施されているものも取り上げられているが, 更にフッ素化合物やケイ素化合物の化学から, 金属塩の量論反応など将来触媒反応や工業プロセスになる可能性を秘めたものまで広範囲に取り上げられている。第10巻は各種固体触媒と共に, チェーグラー触媒, 固定化錯体触媒, 不斉触媒などが解説されている。このように錯体触媒に関する重要な項目は, 最新のデータと共にこれらの各巻のどこかに取り上げられているので, 座右に置いて仕事の上で参考にするなり, 講義の助けにするのに大変役に立つ。難を言えば執筆者が多数であるため同じ反応が重複して取り上げられたり, 内容の精粗が気になるところもある。しかし基礎から応用に至るまで質的にも量的にも類をみない大作であって, 学生から研究者に至るまで, それぞれに役に立つものとして推薦できる。

(辻二郎)