

新しい有機媒体としてのオルガノゲル

- 1) Self-assembling オルガノゲル
- 2) 分離科学への応用

熊本大学
伊原博隆

1) Self-assembling オルガノゲル

機能性オルガノゲル～キラリティの増幅, 制御, 利用

(熊本大・工) 伊原博隆, 高藤 誠, 櫻井敏彦
(崇城大・工) 鉢迫 博

はじめに 分子集積の魅力は、分子固有の機能が増幅されたり変換されたりする点にある。分子集積には、脂質のような両親媒性化合物を利用する方法が簡便で、分子構造を適切にデザインすることによって機能のターゲティングも行いやすい。この一連の研究において、著者らは脂質の有機溶媒中での分子集積に早くから注目し、新しい有機メディアの構築を目指してきた。本報告では、分子間水素結合を分子集積の駆動力とする脂質群 **1** の特異な機能について紹介する。

脂質群 **1** は L-グルタミン酸の誘導体である。R に長鎖アルキル基を採用し、官能基 X として親水基を導入すると、水系で二分子膜を形成する。分子内にキラリティが存在すること、また分子間水素結合での安定化により、Fig. 1 に示すように、ナノチューブやらせん状の二分子膜会合体¹⁾ が形成される。一方、X として疎水性のあるものを選択すると、有機溶媒中でも強く会合するようになる²⁾。その際、有機溶媒をしばしばゲル化させるので、このような状態をオルガノゲルと呼ぶ。カルボキシル基のようにそれほど親水性の高くない官能基を含む (**1b**) 場合、水および有機溶媒の両系で二分子膜状の超構造体が形成される。

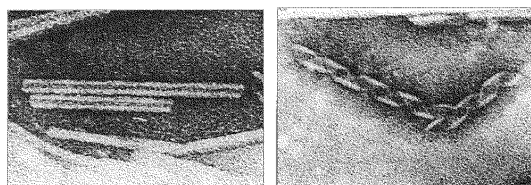
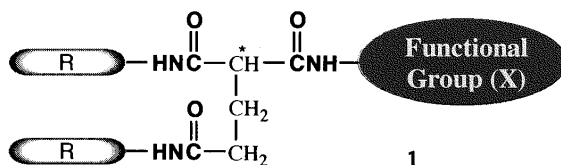
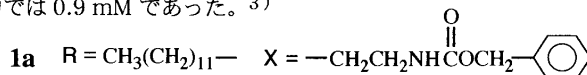


Fig. 1 TEM images of nano-tubes and -helices in water.

オルガノゲル生成の機構 脂質 **1a** をベンゼンやトルエンに加熱溶解させ室温に放置すると、1 mM 以上の濃度でオルガノゲル形成を確認することができる。このゲルを凍結乾燥し、走査電子顕微鏡で観察すると Fig. 2b のようなマイクロ繊維によるネットワークが観察された。エックス線回折や示差走査熱量分析等により、マイクロ繊維は脂質が高度に配向した分子膜であることが明らかとなった。一方、臨界ゲル化濃度 (cgc) および臨界会合濃度 (cac) が存在することも明らかとなった。すなわち、ゲル化が観察されない濃度においても、cac 以上の濃度では **1a** が繊維状の会合体として分散していることがわかった。なお、これらの濃度は溶媒に著しく依存し、たとえばベンゼン溶液での cac は 0.03 mM であるが、クロロホルム中では 0.9 mM であった。³⁾



キラリティの増幅と誘起 キラルな脂質が水系で分子配向するとしばしば特異な光学活性の発現が観察される。オルガノゲルにおいてもそれは例外ではない。またこのことは、オルガノゲル中の会合体が水系二分子膜と同様に高度に配向していることを示している。Fig. 3 には脂質 **1b** のベンゼン溶液中における色素 NK-77 の円二色 (CD) スペクトルを示す。NK-77 には光学活性がないので、Fig. 3 における CD スペクトルの発現は、それがいわゆる誘起 CD であることを示す。興味深いことに、この誘起 CD の強度は、温度や添加物によって著しく変化する。すなわち、外部刺激によって NK-77 の集積状態 (環境) の変化を鋭敏に検知することができる。たとえば、温度を 10℃ から 70℃ に変えると、CD の強度は約 1/100 に減少する。この現象は、**1b** の集合体にゾル-ゲル転移が存在する

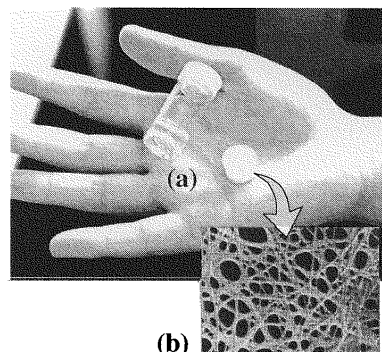


Fig. 2 Organogel (a) and SEM image of xerogel (b) from lipid **1a** (10 mM).

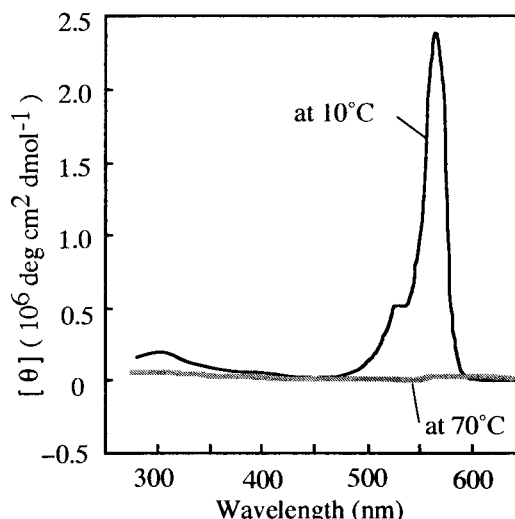
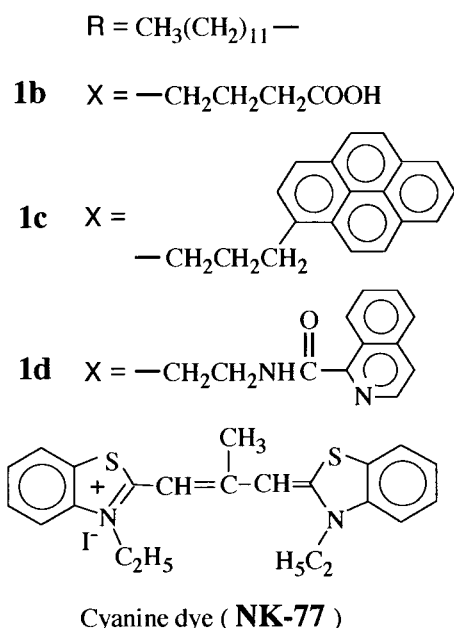


Fig. 3 Induction of optical activity toward achiral cyanine dye NK-77 (0.01 mM) by **1b** (5 mM) aggregates in benzene.

ことと密接に関係している。すなわち、ゲル（結晶）を形成する温度で分子は高度に配向し、ゾル状態でミセル化あるいはコロイド化する。

キラルエキサイマーの生成 官能基Xにピレニル基を導入した脂質 **1c** もベンゼンやシクロヘキサン中で分子会合し、オルガノゲル形成が観察される。シクロヘキサン中で蛍光スペクトルを調査すると、Fig. 4 に示すように、10°Cでエキサイマーに特有なスペクトルが観察された。エキサイマーに基づくスペクトルは、温度の上昇に伴い減少し、かわってモノメリック種に基づくスペクトルが現れる。すなわち、ゲル条件下では、エキサイマー生成に有利な分子配向状態が形成されていることがわかる。なお、図中波線のスペクトルは、三つのアミド結合のうち二つがエステル結合である場合の脂質 **2c** を用いたときのスペクトルである。エステル型脂質ではまったくエキサイマー生成は確認されなかったため、分子配向にアミド結合による多重水素結合型相互作用が関与していることがわかる。

金属イオンによるキラリティの制御 脂質 **1d** には錯形成能のあるイソキノリン環が存在する。そこで **1d** のシクロヘキサゲルを形成させ、これに平面4配位性の Cu^{2+} を添加すると、ゲル化は維持されたままCDスペクトルに特異な変化が観察された

(Fig. 5, 太線)。これに対し、6配位性の Co^{3+} を添加すると、CD強度の著しい低下ならびにゲル状態の劣化が観察された。これらの結果は、金属イオンと配位することにより、脂質の配向状態が大きく変化し、新たなキラル構造の形成あるいは会合状態の崩壊が誘起されたものと考えられる。

光学分割への適用 ここで取り扱うオルガノゲルはすべて非常に大きな光学活性を有する。そこで、オルガノゲル/水相間でのアミノ酸誘導体の輸送現象を調査したところ、明確な不斉選択性が検出された。この選択性発現の機構は複雑で、マトリックスとなっている脂質の分子配向によって結合部位が強調される時に発現しているものと推察された。したがって、マトリックス脂質にエステル型を利用しても不斉選択性は発現しない。

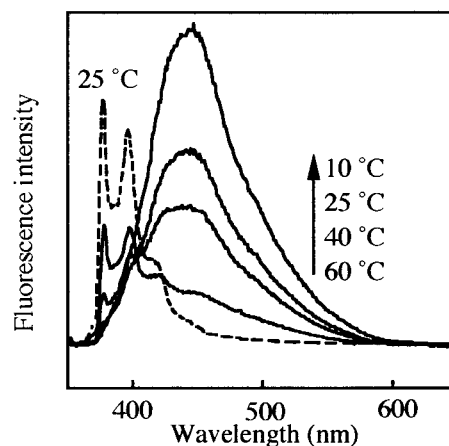


Fig. 4 Excimer formation of lipid **1c** (0.1 mM, solid lines) in cyclohexane. The corresponding diester lipid **2c** does not show excimer formation (broken lines).

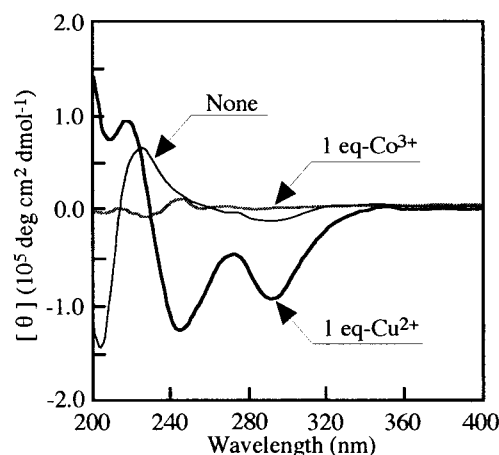


Figure 5 CD spectra of **1d** (0.3 mM)-solutions with Cu^{2+} or Co^{3+} in cyclohexane at 25 °C.

- 1) H. Ihara, et al., *Chem. Lett.*, **1983**, 43; H. Ihara, M. Takafuji, et al., *Langmuir*, **8**, 1548 (1992).
- 2) H. Ihara, H. Hachisako, et al., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 1234.
- 3) H. Ihara, M. Takafuji, H. Hachisako, et al., *Liq. Cryst.*, **26**, 1021 (1999)

Focussing Review

バイオミメティックなHPLCを目指して — 脂質膜類似配向場を利用する分子形状識別能の増幅 —

伊原博隆

熊本大学大学院自然科学研究科

〒860-8555 熊本市黒髪2-39-1

ihara@kumamoto-u.ac.jp

New Organic Phase for Biomimetic HPLC

— Enhanced Molecular-Shape Selectivity through Molecular Orientation —

Hirotaka Ihara

Graduate School of Science & Technology, Kumamoto University, Kumamoto 860-8555, Japan

Received, February 17, 2000. Accepted, May 31, 2000.

Abstract

Lipid membranes work as important media for generation of various biofunctions in which precise separation and permeation of chemical substances are included. Therefore, immobilization of lipid membrane functions onto carrier particles such as silica promises to increase possible applications, especially in column separation chemistry. However, stabilization of lipid membranes is generally accompanied by disappearance of lipid membrane functions because of suppressing the lateral diffusion of lipids. To overcome this dilemma, we have developed a method to graft the comb-shaped polymers as lipid membrane analogues. In this review, we wish to introduce that specific separation behavior in HPLC can be realized through highly-oriented structures from the lipid membrane analogues on silica.

Key words : liquid chromatography, molecular recognition, shape selectivity, highly-oriented structure, carbonyl- π interaction, thermo-responsive polymer, lipid bilayer membranes

1. はじめに

生体膜の基本構成成分である脂質二分子膜は、生命現象にかかわる主要な化学反応の媒体であり、また、情報の形成や変換、伝達などをつかさどる精密かつ多機能な超小型デバイスである。この天然デバイスを人工的に構築し、有機化学や工業化学の分野で利用することができれば、化学物質の分離や反応等が精密に制御できると思われる。しかしながら、生体膜を *in vitro* で利用しようとするれば、明らかにその物理的

あるいは化学的不安定さの壁にぶつかるであろう。生体膜は常に代謝の中で再生され、機能を維持し続けているからである。そのため、数ある生体膜モデルに関する研究があるにもかかわらず、それらが実用化に供された例はきわめて少ない。もし、カラム分離や膜分離のようなプロセスにおいて生体膜あるいはそのモデルを利用しようとするなら、それらの安定化を最優先して検討を加えなければならない。

本稿は、生体膜を構成する脂質二分子膜の機能を分離化学、

とりわけ高性能液体クロマトグラフィー (HPLC) に導入しようとする試みについて紹介する。すなわち、脂質二分子膜あるいは類似機能を有する物質を固定相中に導入することによって、生体膜に類似したインテリジェントな分離特性を再現しようとする試みである。もちろん、HPLCでは、固定相からの脂質の溶出や固定相の劣化を極度に嫌うので、この試みは決して容易なチャレンジではないが、本稿では著者ら独自のアプローチを含めた研究成果を中心に、その可能性について紹介したい。

2. 脂質膜アナログ

2.1 脂質膜の機能

脂質膜の特徴 (機能) を思いつくままに羅列すると、(1) 二分子膜構造、(2) イオン性、(3) 疎水性、(4) キラリテイ、(5) 流動性 (側方拡散)、(6) 分子配向 (結晶相と液晶相)、(7) 相転移、(8) 相分離、(9) フリップ・フロップ、(10) 膜融合、などを挙げることができ、脂質膜が通常の有機媒体とは著しく異なる点を理解できるだろう。中でも、脂質の流動性と分子配向性は特殊機能発現の原点であり、これらを達成するために、脂質膜は分子集合という手法によって構築されている。実はこの点に応用展開上の最大の難関が存在する。

2.2 脂質膜の固定化における問題提起

脂質膜をHPLCにおける固定相としてそのまま利用することは困難であるばかりでなく、効率も良くない。シリカのような物理的に安定な担体に固定化する方が得策である。しかしながら、脂質膜は分子集合によって形成されているので、脂質膜そのものを担体に固定化することも困難であり、したがって、脂質膜を化学的に安定化し、それを固定化する方法が近道であることは容易に推測できる。しかしながら、ここにも重大な問題が待ち構えている。脂質膜の物理的安定化が脂質の流動性を著しく抑制するためであり、これによって脂質膜の機能が消失する点にある。そのもっとも分かりやすい例は、ホスファチジルコリンの分子末端をシリカに固定化し

たケースである。リン脂質 2¹⁾ は共有結合によって固定化されているので、通常の有機溶媒 (移動相) で離脱することはない。安定化 (固定化) という視点に立てば問題はなく、シリカ表面に特殊な有機相が導入されたことになる。しかしながら、アンカーとなるシリカ上のシラノール基間の空間配置は、固定化後の脂質 2 に厳密な分子配向を認めない。すなわち、共有結合による固定化は脂質の安定化を約束するが、脂質膜としての分子配向や流動性を消失させる。

同様なジレンマは脂質膜の高分子化 (重合) の場合にもあてはまる。脂質の重合は、脂質膜を安定化させるもっとも簡便な方法である。脂質 3²⁾ はもっとも初期に開発された重合性の脂質であり、脂質膜形成後に光やγ線、ラジカル開始剤の存在化で重合する。重合により脂質膜からの脂質の離脱はなくなり、また二分子膜構造も維持される。しかしながら、脂質の流動性が完全に消失することは明白であり (Fig. 3a), そのため厳密な分子配向状態は維持できない。そこで、脂質の流動性を損なわない脂質膜の安定化方法も検討されてきた。高分子イオン対^{3,4)} を用いる方法がその典型的な例である (Fig. 3b)。同法は、実際にセンサー素子^{5,6)} として利用されるに至っている。しかしながら筆者は、同法においても

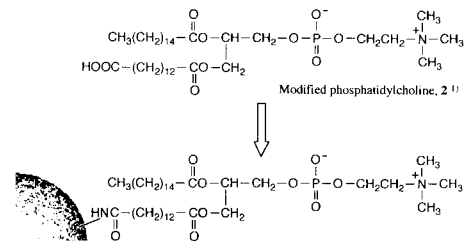
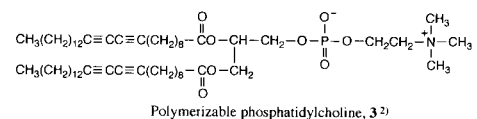


Fig. 2 Direct immobilization of phosphocholine onto silica for HPLC



Polymerizable phosphatidylcholine, 3²⁾

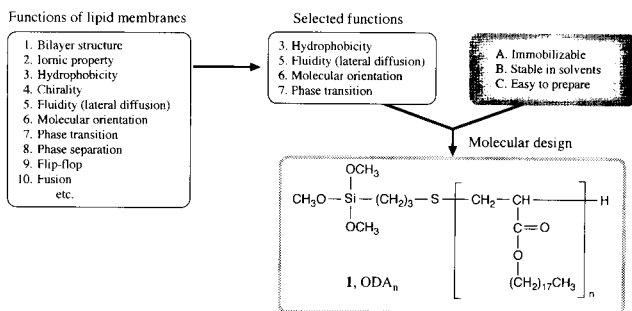


Fig. 1 Lipid membrane analogue (1, ODA_n) as organic stationary phase for HPLC

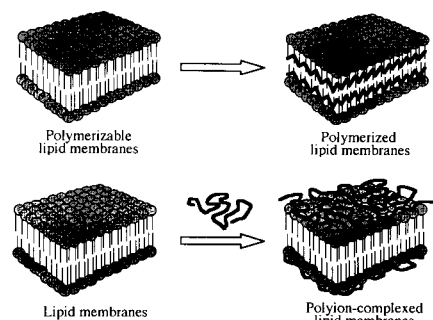


Fig. 3 Stabilization of lipid membranes by polymerization (a) and complexation with polyions (b)^{3,4)}

HPLCには利用できないと考えている。それは、同法では脂質の溶出を押さえることができない点にあり、またきわめて複雑なイオン性もHPLCには不向きであると考えられる。

2.3 HPLCのための脂質膜アナログ

以上のような指摘は、脂質膜をHPLC用の有機相として利用することが不可能なように思わせるが、ここで脂質膜の機能をもう一度眺め直してみると、以外に単純な物質が脂質膜のモデルとして浮上してくる。すなわち、2.1の項で脂質膜が多彩な機能を有することを述べたが、HPLCの有機相としてとらえた場合、すべての機能を再現する必要がないことに気がつく。目的に応じて機能を選択すべきであり、たとえば逆相系の液体クロマトグラフィー (RPLC) に照準を合わせるのであれば、疎水性や配向性 (結晶あるいは液晶相) を中心に考えるべきであり、二分子膜構造や膜融合機能、フリップ・フロップなどを固定相上で再現する必要はないと決断できる。また、光学分割を対象としないのであれば、キラリティも導入する必要はない。RPLCに照準を合わせるのであれば、イオン性もかえって邪魔になるので、分子設計はその分、単純化できる。このような観点から、疎水性と配向性を有し、高分子化によっても側方拡散性がある程度維持される分子に限定すれば、分子設計はますます簡単になる。もちろん、固定化のための官能基の導入と容易に合成できることも考慮しなければならない。ポリマーODA_nは以上のような視点に立ち、著者らによって提案された最初の固定相用脂質膜アナログ⁷⁻¹⁰⁾ である。一般的に言えば、くし型ポリマーの範疇に入る化合物であり、テロメリゼーションと呼ばれる方法 (Fig. 4) により一段階で収率よく合成できる単純高分子である。テロメリゼーションとは、連鎖移動定数の大きい試剤XY (テロゲン) 存在下でのモノマーM (主としてビニル化合物) の重合反応であり、X-M_n-Yが得られる。重合度も50以下のものであれば、重合時のテロゲンとタクソゲンの初期仕

込み比によって調節できる。一見すると、ODA_nは二分子膜とは無縁の化合物に見えるが、機能を限定すれば脂質二分子膜をここまで一般化することができるという見本である。すなわち、ODA_nは決して水中では二分子膜を形成しないが、有機溶媒中で脂質膜同様に側鎖がよく配向し、結晶-液晶-等方相間の相転移を行う。さらに、この化合物の特徴として、高分子鎖の片方の末端にシラノール基との反応性が高いトリメトキシシリル基が導入されている点にあり、容易にシリカゲルのような支持体に共有結合によって固定化することができる。また、片方の末端だけが固定されるので、側鎖の配向性に及ぼす支持体からの影響も小さくなる。

2.4 脂質膜アナログの合成と固定化

テロメリゼーションのテロゲンとしては3-メルカプトトリメトキシシランが便利である。末端メルカプト基は連鎖移動定数が極めて大きいので、アクリレートなどのビニル化合物との相性が良く、モル比によって容易に重合度が調節できる (Fig. 4)。テロメリゼーションの特徴として、重合度分布が狭いことも特筆的である。固定化後も均質な特性が得られやすくなる。なお、通常はポリマーとしての特性が十分に期待できる重合度30前後のものを調製している。本報では主にオクタデシルアクリレートとのポリマーについて述べるが、Fig. 4に示すように、このテロメリゼーションは多彩なモノマーに適用でき、それらを利用して様々なポリマーグラフト型固定相¹²⁻¹⁶⁾ の調製が可能となる。これらについては他の機会に紹介する。

得られたポリ (オクタデシルアクリレート) を適当な有機溶媒に溶解させ、多孔質のシリカを加えてかき混ぜるだけでポリマーのグラフト化が効率よく進行する。たとえば、粒径5 μm、細孔径150 Å、比表面積300 m² g⁻¹のシリカ粒子に対して実施した場合、最大重量比で25%までの導入が確認されている。

3. 固定化脂質膜アナログのキャラクタリゼーション

ポリマーODA_n (nは平均重合度) を乾燥状態において示差走査熱量分析 (DSC) を行うと、昇温過程では40~45℃付近にショルダーを有し、約48℃に鋭い吸熱ピークをもつ相転移現象が観察される (Fig. 5a)。偏光顕微鏡観察では、これらの転移が、結晶-液晶、液晶-等方相間の相転移であることを示す。エックス線回折¹⁸⁾ により、室温ではオクタデシル基が約4 Åの間隔で配向していることが明らかとなっている。同様な相転移挙動は、RPLCでよく使用される有機溶媒 (たとえば、メタノール、エタノール、アセトニトリルやそれらの混合溶液) 中でも観察される。一方、脂質膜は有機溶媒中でそのような相転移を示すことはないばかりか、溶解するであ

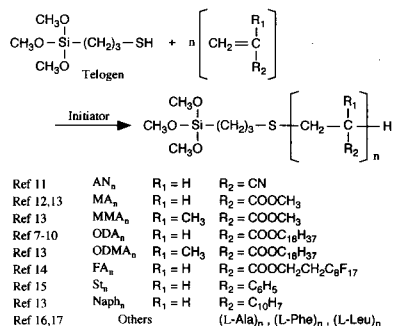


Fig. 4 Preparation of ODA_n as a lipid membrane analogue by telomerization. This method is applied to polymerization of many monomers. The resultant polymers can be grafted onto silica through the reactive terminal group at one side of the main chain.

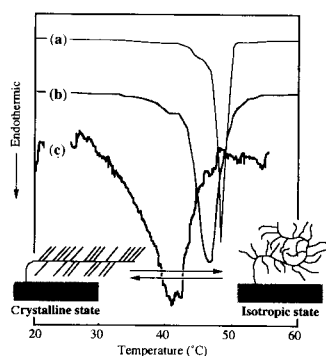


Fig. 5 DSC thermograms of ODA₂₇ (a and b) and Sil-ODA₂₇ (c). The thermograms b and c were obtained in the presence of methanol and methanol-water (7 : 3), respectively.

ろう。これらの点に関しては、明らかに脂質膜アナログとしてのODA_nの方がお手本である脂質膜より機能的であると言えるだろう。

シリカゲルに担持されたODA_n (以下, Sil-ODA_nと略す)も吸熱ピークを示すが, メタノール中では前転移は不明瞭になり, ピークトップの温度がさらに低温側にシフトする (Fig. 5c)。このことは, シリカゲル担体がODA_nの配向性にいくらか影響を及ぼすが, 少なくともODA_n側鎖の配向 (結晶) 状態が固定化後も維持されることを示している。シリカ固定化後の相転移挙動ならびに室温での分子配向性については, ¹H-NMR (ナノプローブ)¹⁹によって容易に確認できる。

Fig. 5には, ODA_nのシリカ上での相転移 (結晶相-等方相)の様子を模式的に表している。なお, ODA_nの重合度と相転移温度の関係を調査すると, 重合度が約15までは重合度の増大とともに相転移温度の上昇が観察されるが, それ以上の温度ではほぼ一定となる。

4. HPLCへの応用

4-1 ODSと何が違うか-まずは分子の平面性識別能について

Sil-ODA_nをステンレスカラムに充填し, メタノールを溶離液として各種の飽和炭化水素や多環芳香族の同族体の50°Cで分離を試みると, 溶出順序はもっとも普及しているRPLC充填剤, オクタデシル化シリカゲル (ODS) とほぼ同一であった (Fig. 6a)。このことは, 分離モードに疎水性 (極性) に対する識別 (いわゆるRPLCモード) が含まれていることがわかる。ODA_nの側鎖がODSと同等のオクタデシル基を多数有することを考えれば, この結果に容易に理解できる。

Sil-ODA_nの特長は分離の温度依存性に見いだすことができる。ここで議論を単純化するために, スチルベンの2種の異性体に対する分離について取り上げる (代表的なクロマトグ

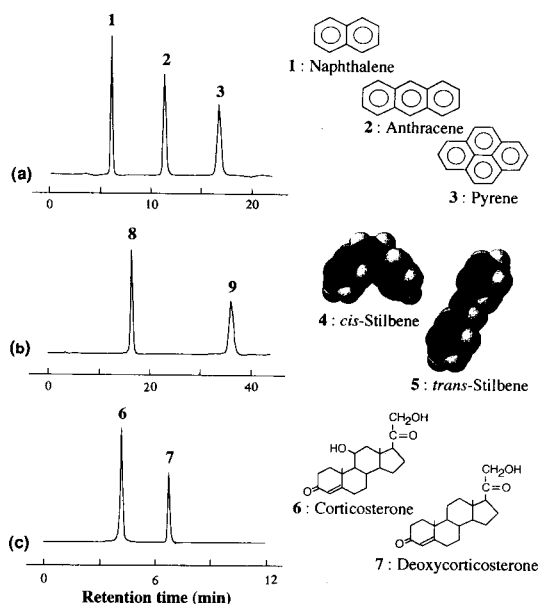


Fig. 6 Typical chromatograms with Sil-ODA_n columns (n = 27 in a and b; n = 17 in c) at 20°C. Mobile phases: methanol (a and c); methanol-water (7 : 3, b).

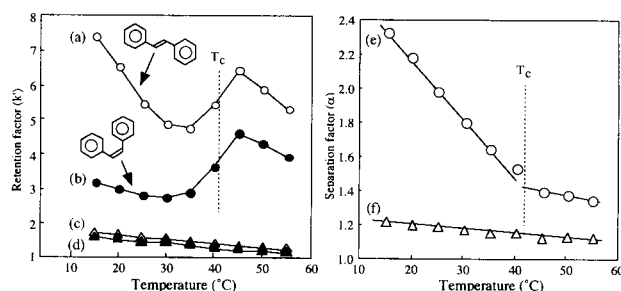


Fig. 7 Temperature dependencies on retention factors (a, b, c and d) for geometrical isomers of stilbenes with Sil-ODA₂₇ (O, ●) and ODS (△, ▲), and separation factors (e and f) between *trans*- and *cis*-stilbenes with Sil-ODA₂₇ (O), and ODS (△). T_c which corresponded to a peak-top temperature in a DSC thermogram was determined in a methanol-water (7 : 3) dispersion. Mobile phases: methanol-water = 7 : 3 (a, b and e), = 5 : 5 (c, d and f).

ラムをFig. 6bに示す)。Fig. 8は両異性体の保持係数 (*k'*) ならびに分離例数 (*a*) の温度依存性を示している。まず, *k'* 値の温度依存性に着目すると, Sil-ODA_nにはODS には見られない著しい屈曲が見られ, その温度がSil-ODA_nの溶離液中での相転移温度とよく一致することがわかる (Fig. 7aとb)。このような特殊な温度依存性は分離係数においても観察される (Fig. 7e)。ODS では, 温度に対して無関係にほぼ同一で低い分離能 ($a = 1.1 \sim 1.2$) が得られるのに対し, Sil-ODA_nでは相転移温度以下の温度で分離能が著しく増大することがわかる (20°Cで $a = 2.2$)。^{9, 10)}

同様な特殊な温度依存性は, スチルベンと同様な幾何異性を有する各種のアゾベンゼン²⁰⁾ やターフェニルの異性体²¹⁾ についても観察できる。これらの異性体の分離に対する共通

Table 1 Typical retention factor and separation factor for aromatic hydrocarbons with Sil-ODA₂₃ and ODS in ethanol as a mobile phase

aromatic hydrocarbons	Sil-ODA ₂₃ at 5°C		Sil-ODA ₂₃ at 60°C		ODS at 5°C	
	k'	α	k'	α	k'	α
naphthalene (NL) C ₁₀ H ₈	0.22	2.1	0.22	1.5	0.20	2.0
anthracene (AC) C ₁₄ H ₁₀	0.46		0.33		0.40	
naphthacene (NC) C ₁₈ H ₁₂	2.35	5.1	0.54	1.1	0.65	1.03
chrysene (CS) C ₁₈ H ₁₂	1.30		0.48		0.63	
pentacene (PC) C ₂₂ H ₁₄	41.4	9.4	1.13	1.6	1.03	1.06
1,2,5,6-dibenzoanthracene (DBA) C ₂₂ H ₁₄	4.40		0.70		0.97	

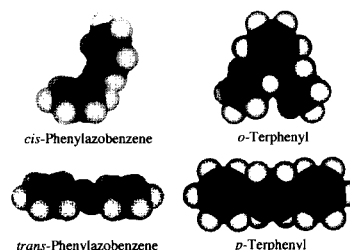
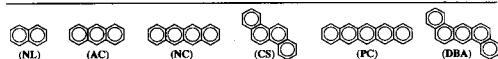


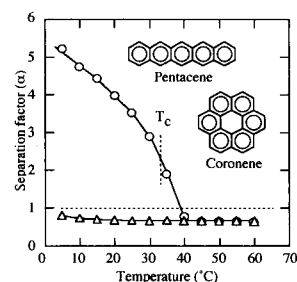
Fig. 8 Structural differences between geometrical isomers. Crystalline ODA, recognizes their molecular planarity.

点の一つとして、平面性の高いトランス異性体や *p*-体において高い保持係数を示し、シス体や *o*-体のようにかさ張った異性体に対して低い保持係数を示す点に見いだせる (Fig. 8)。分子配向している脂質膜中に平面性の高いコレステロールが溶解しやすいように、結晶相にある Sil-ODA_n は、溶質の分子平面性に敏感な選択的取り込み (吸着) を示し、逆に等方性液体状態ではそのような分子形状に依存しない分配型の取り込みを示すものと考えられる。なお、アダマンタンのように著しくかさ高い有機化合物の保持挙動を調査すると、固定相が結晶相から等方相に変化する温度で著しく保持係数が増大する現象を書く察することができる。¹⁰⁾ もちろん、このような異常性は、ODS では認められない。なぜなら、ODS には温度変化に伴う物理状態の著しい変化 (相転移) が存在しないためである。

4-2 分子長を識別する

4-1 では固定相の分子配向性が分子平面性の識別能を増幅させることを明確にしたが、より正確には、溶質の分子形状に敏感であると言ったほうが良い。たとえば、溶質として Benzene, Naphthalene, Anthracene, Naphthacene, Pentacene を選択し、これらの保持係数や分離能を比較すると興味深い結果が得られる。これらの溶質はいずれも剛直で平面的な構造を有し、分子厚もほぼ同一である。異なるのは元素数と分子長である。Table 1²¹⁾ に代表的な結果をまとめているが、結晶相にある Sil-ODA_n においてのみ著しい分子長依存性が確認できる。しかしこの比較は元素数が異なるので、元素数の等しい Naphthacene と Chrysene, Pentacene と 1,2:5,6-Dibenzoanthracene の間で比較するとさらに興味深い結論を導き出すことができる。すなわち、より分子直線性が高い物質に対して選択性が高いことがわかる。

固定相の分子配向性と分子長識別能との関係をさらに明確にするために、Pentacene と Coronene の分離能をとりあげてみた。²¹⁾ Fig. 9 に示すように、ODS では、Coronene は Pentacene より常に高い保持係数 ($k'_{\text{Pentacene}} / k'_{\text{Coronene}} = 0.6 - 0.8$) を示す。これに対し、Sil-ODA₂₃ では、40°C 以下の温度で選択

Fig. 9 Temperature dependencies on the separation factor ($k'_{\text{Pentacene}} / k'_{\text{Coronene}}$) with Sil-ODA₂₃ (O) and ODS (Δ) column. Mobile phase, ethanol.

性は逆転し、10°C では約 5 まで増大した。一方、40°C 以上の温度での選択性は ODS とほぼ一致する。以上の結果は、(1) 等方相にある時は溶質の炭素数 (あるいは疎水性) に依存した分離 (すなわち RPLC モード) を示すが、(2) 結晶相において初めて、分子形状 (分子長) に対する識別能が増大することを示している。

固定相が結晶相にあるときにのみ著しい分子形状識別能が発現することが明らかとなったが、これを側鎖の分子配向だけで説明することはできない。なぜなら、移動相にアセトンやアセトニトリルのような π 電子含有溶媒を添加すると選択性が低下することや、側鎖が短く結晶相を形成しにくい Sil-MA_n においてもある程度多環芳香族に対して幾何異性識別能が発現することが確認されるからである。また、分子のかさ張り度 (分子厚あるいは分子平面性) に対する識別能については理解できるが、分子長に対する識別能についての説明もできない。以上の矛盾を埋める説明として、Sil-ODA_n に含まれるカルボニル基の存在に注目した。すなわち、カルボニル基とベンゼン環の間の相互作用 (カルボニル- π 相互作用)^{12, 13, 18)} を考慮することによって、特異な現象の多くを説明することができる。たとえば、(1) アセトンやアセトニトリルの添加による選択性の低下はそれらの π 電子によるものと理解できる。(2) 側鎖配向性を有しない Sil-MA_n の選択性もカルボニル基の存在に帰することができる。(3) Sil-ODA_n の分子形状識別能は、飽和炭化水素類よりも多環芳香族類に

対して著しく高いことも、カルボニル- π 相互作用によるものと考えられる。最後に、(4)カルボニル- π 相互作用の大きさを見積もるため、ホルムアルデヒド-ベンゼン錯体について *Ab initio* 計算を実施すると、約2.8 kcal mol⁻¹という大きな数値が得られる¹⁸⁾ことが上げられる。この値は、まったく同等の計算方法で求められたメタン-ベンゼン、ベンゼン-ベンゼン間の相互作用²²⁾よりも大きい。以上のことを考慮し、Sil-ODA_nの分子形状識別能をFig. 10²¹⁾のように推定した。Sil-ODA_nは結晶相で側鎖の配向とともにカルボニル基の配向も促進する。配向したカルボニル基は溶質分子が平面性に富み、また直線性が高い時にもっとも有効なカルボニル- π 相互作用(多重相互作用)が可能となる(Fig. 10b)。PnetaceneやNaphthacene, *trans*-Stilbene, *p*-Terphenylなどがその典型的な例である。しかしながら結晶相にあっても、溶質がCoroneneのようにディスク状である場合には、カルボニル- π 相互作用点が減少し、その分、保持係数の低下として観察される。Dibenzoanthracene (Fig. 10a)やChrysene,あるいはねじれ構造を有する *cis*-Stilbeneや *o*-Terphenylなどがその例となる。一方、等方相にある場合には、側鎖だけでなくカルボニル基の配向も存在しない(Fig. 10c)。従って、分離モードはあたかもODS類似のRPLCとなる。

4-3 光学分割(ジアステレオマー分離)への応用

Sil-ODA_nには光学活性は存在しない。光学分割剤として利用するには、分子設計の段階でキラリティの導入を考慮する必要があるが、ジアステレオマー化剤の併用によってSil-ODA_nの光学分割への可能性を推し量ることができる。現在広く知られているジアステレオマー化剤^{23, 24)}は、検出感度を高めるために各種の芳香環が導入されている場合がほとんどである。たとえば市販されている(S)-(-)-2,3-Naphthalenedicarboximidyl propionyl fluoride²⁴⁾を例にとり、Phenylethylamineとのジアステレオマーに対して液体クロマトグラフィーを実施すると、予想通りSil-ODA_nが結晶相にある温度で分割能の増大が観察される。¹⁸⁾一方、等方相となる温度では選択性は低下し、ODSと同等になる。選択性の温度依存性および結晶相での選択性の増大も、ジアステレオマー間での分子

平面性あるいは直線性の差(Fig. 11)に帰することができる。

4-4 ダイオキシン類への適用

Sil-ODA_nのカルボニル- π 相互作用に基づく分子形状識別能は、様々な物質の分離に適用することができると考えられる。たとえば、芳香環に塩素原子が置換された各種のダイオキシン類は多数の異性体が存在し、毒性はそれらの化学構造に著しく依存する。塩素原子の置換度が異なる場合には、異性体間での疎水性にある程度の差が存在するので、ODSによるRPLCによって分離可能であるが、置換位置がわずかに異なる場合に分離は困難となる。これに対し、Sil-ODA_nの場合には溶質の π 電子に由来する電子状態の差に敏感であるため、このような異性体の分離にきわめて効率的に作用する。²⁵⁾

5. おわりに

現在、ODS全盛の感はいない。しかしながら、研究報告を検索すれば興味深い新規な有機相が数多くあり、ODSでは達成できない特殊な分離モードが確認されている。²⁶⁾ 本稿では、とくに著者らの研究成果を中心に特殊な有機相としてのくし型ポリマー、ODA_nを紹介させていただいた。ODA_nは、機能を極度に制限した脂質膜類似物と考えており、液体クロマトグラフィーの分野において、バイオミメティックな分離モードを導入するために開発されたものである。その化学構造は極めて単純で、それ自身、水中では二分膜を形成することはできないが、にもかかわらず、その特性は実に脂質二分膜に類似しており、従来のRPLCでは達成しにくい分子形状認識型の分離を可能としている。

この新しい脂質膜類似物は、その化学構造において今後多様なモディフィケーションが可能である。¹¹⁻¹⁶⁾ 今回はその機能を著しく限定したために、イオン性やキラリティを排除しているが、たとえば光学分割を目的とする場合、分子中にキララル中心を導入することも容易である。また、固定化方法も極めて単純であるので、テロゲン(末端の官能基に相当する)を変えることによって様々な担体への固定化も可能となり、カラム分離にとどまらず、今後、膜分離やセンサーシステムへの展開も期待される。

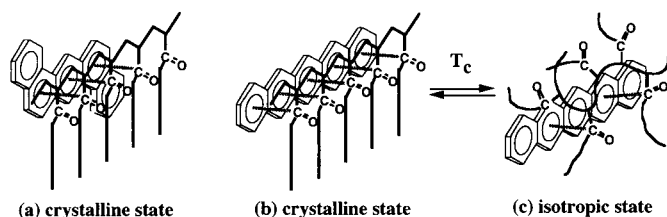


Fig. 10 Schematic illustration to explain the temperature dependence of molecular-linearity recognition through carbonyl- π interaction. If the carbonyl groups are linearly-aligned on highly-oriented structure, multiple interaction will be dominated for linear and planar substances.

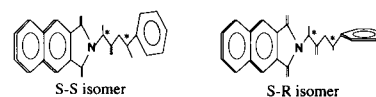


Fig. 11 Structural difference between S-S and S-R isomers optimized by CAChe-Mopac Ver. 6.00 with the PM3 option.

参考文献

- 1) C. Pidgeon, U. V. Venkataram, *Anal. Biochem.*, **36** (1989) 176.
- 2) E. Ropez, D. F. O'Brien, T. H. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, **104** (1982) 305.
- 3) L. Regen, J. Shin, K. Yamaguchi, *J. Am. Chem. Soc.*, **106** (1984) 2446.
- 4) T. Kunitake, A. Tsuge, N. Nakashima, *Chem. Lett.*, **1984**, 1783.
- 5) Y. Okahata, O. Shimizu, *Langmuir*, **3** (1987) 1171.
- 6) K. Toko, K. Hayashi, M. Yamanaka, K. Yamafuji, *Technology Digest of the 9th Sensor Symposium*.
- 7) C. Hirayama, H. Ihara, T. Mukai, *Macromol.*, **25** (1992) 6375.
- 8) H. Ihara, T. Fukumaoto, C. Hirayama, *Anal. Sci.*, **9** (1993) 711.
- 9) T. Fukumoto, H. Ihara, S. Sakaki, H. Shosenji, C. Hirayama, *J. Chromatogr.*, **672** (1994) 237.
- 10) H. Ihara, H. Tanaka, S. Nagaoka, K. Sakaki, C. Hirayama, *J. Liq. Chromatogr.*, **19** (1996) 2967.
- 11) H. Ihara, S. Okazaki, K. Ohmori, S. Uemura, C. Hirayama, S. Nagaoka, *Anal. Sci.*, **14** (1998) 349.
- 12) H. Ihara, H. Tanaka, M. Shibata, S. Sakaki, C. Hirayama, *Chem. Lett.*, **1997**, 113.
- 13) H. Ihara, S. Uemura, S. Okazaki, C. Hirayama, *Polym. J.*, **30** (1998) 394.
- 14) C. Hirayama, H. Ihara, S. Nagaoka, T. Wada, *Polym. J.*, **26** (1994) 499.
- 15) H. Ihara, N. Nakamura, S. Nagaoka, C. Hirayama, *Anal. Sci.*, **11** (1995) 739.
- 16) H. Ihara, T. Nakanishi, T. Sagawa, C. Hirayama, T. Sakurai, T. Kinoshita, Y. Tsujita, *Chem. Lett.*, **1998**, 963.
- 17) H. Ihara, T. Nakanishi, T. Sagawa, T. Sakurai, C. Hirayama, *Proc. 22nd International Symposium on Capillary Chromatogr.*, (1999) PG306, pp. 1-5.
- 18) H. Ihara, T. Sagawa, K. Nakashima, K. Mitsuishi, Y. Goto, J. Chowdhury, S. Sakaki, *Chem. Lett.*, **2000**, 128.
- 19) 伊原博隆, 佐川 尚, 未発表資料
- 20) H. Ihara, T. Sagawa, Y. Goto, S. Nagaoka, *Polymer*, **40** (1999) 2555.
- 21) H. Ihara, T. Sagawa, Y. Goto, J. Chowdhury, *Proc. 22nd International Symposium on Capillary Chromatogr.*, (1999) PG301, pp. 1-7.
- 22) S. Sakaki, K. Kato, T. Miyazaki, Y. Musashi, K. Ohkubo, H. Ihara, C. Hirayama, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*, **1993**, 659.
- 23) 例えば, S. Einarson, B. Josefsson, P. Moller, D. Sanchez, *Anal. Chem.*, **59** (1987) 1191; S. Miyano, S. Okada, H. Hotta, M. Takeda, C. Kabuto, H. Hashimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **62** (1989) 1528; N. Nimura, T. Kinoshita, *J. Chromatogr.*, **352** (1986) 169; H. Bruckner, B. Strecker, *J. Chromatogr.*, **627** (1992) 97.
- 24) Y. Yasaka, M. Tanaka, *Japan Patent*, H6-179653
- 25) 岩本 政樹, 未発表資料
- 26) 例えば, H. Kanazawa, K. Yamamoto, Y. Matsushima, N. Takaki, A. Kikuchi, Y. Sakurai, T. Okano: *Anal. Chem.*, **68** (1996) 100; K. Kimata, T. Hirose, K. Morichi, K. Hosoya, T. Araki, N. Tanaka, *Anal. Chem.*, **67** (1995) 2556; S. Chen, M. E. Meyerhoff, *Anal. Chem.*, **70** (1998) 2523; J. Xiao, M. R. Savina, G. B. Martin, A. H. Francis, M. E. Meyerhoff, *J. Am. Chem. Soc.*, **116** (1994) 9341; K. Jinno, C. Okumura, M. Harada, Y. Saito, *J. Liq. Chromatogr.*, **19** (1996) 2883.