

報 文*

チアカリックスアレーン修飾均一径ポリマー粒子の
調製とその特性解析平 夏樹¹, 田中 信男¹, 細 矢 憲¹Preparation and characterization of polymer-based stationary phase
modified with Thiocalix[4]areneNatsuki HIRA¹, Nobuo TANAKA¹ and Ken HOSOYA¹¹ Department of Polymer Science, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 606-8585

(Received 7 May 2004, Accepted 10 August 2004)

We have prepared a polymer-based stationary phase modified with thiocalix[4]arene. Thiocalix[4]arene (5,11,17,23-tetra-*tert*-butyl-25,26,27,28-tetrahydroxy-2,8,14,20-tetrathiocalix[4]arene) is an amphiphilic molecule, that consists of four *p-tert*-butylphenol-related groups cyclically connected through a single sulphur atom between each pair. It has a high-electron density area formed by hydroxyl groups and sulfur atoms. We studied the applicability of this interesting compound as a selector because of its specific feature for high-performance liquid chromatography (HPLC). First of all, uniformly sized polymer particles were prepared using ethylene glycol dimethacrylate (EDMA) as a cross-linker through a multi-step swelling and polymerization method. Methacrylic acid (MAA) was introduced onto the surface of polymer particles through an invented modification method. Thiocalix[4]arene was covalently bonded to MAA using 1,4-dibromo-butane as a spacer to reduce any steric hindrance of MAA on the surface of the polymer particles. The prepared polymer-based stationary phase was evaluated with HPLC. It provided a specific chromatographic retention behavior only for catechol among positional isomers of xylene, cresol, and benzene-diol. Catecholamine showed a specific chromatographic retention behavior as catechol.

Keywords : Thiocalixarene; catechol; catecholamine; uniformly size polymer particle; surface modified.

1 緒 言

チアカリックス[*n*]アレーンは Fig. 1 に示すように、*n* 個の *p*-アルキルフェノールを硫黄で架橋した cone 型配座をとる環状化合物¹⁾であり、その構造は *tert*-butyl 基どうしによる反発、また、水酸基どうしによる引き合いで保たれている。この化合物は、基本骨格がフェノールであるため化学修飾が容易であること²⁾、架橋部位の硫黄が酸化可能

であること、また、その特徴的構造などの理由から多方面で研究が活発に行われている。例えば、チアカリックスアレーンの硫黄部位と、水酸基部位を利用したもので、カチオン認識能として金属イオンの液-液抽出に応用しているものが報告されている^{3)~5)}。また、チアカリックスアレーンの疎水性認識能として、ベンゼン環どうしで形成する疎水的空孔を利用して、水中から有機ハロゲン化合物を除去する報告がある⁶⁾⁷⁾。本研究では近接した水酸基と硫黄によって形成される親水性部位と、ベンゼン環どうしで形成する疎水的空孔を持つチアカリックスアレーンを調製したポリマー均一径粒子に導入し、これを充填剤として、アル

* 若手研究者の初論文特集

¹ 京都工芸繊維大学繊維学部: 606-8585 京都府京都市左京区松ヶ崎御所海道町

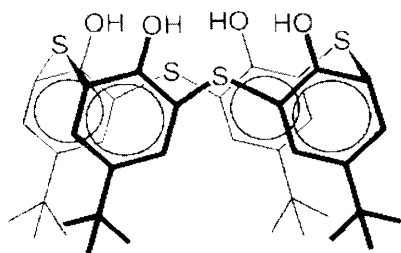


Fig. 1 The structure of thiacalix[4]arene

キルベンゼンとキシレン、クレゾール、ベンゼンジオールの各位置異性体、またカテコールアミン類であるノルアドレナリンを用いて、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によるこの化合物の分子認識能の解析を行った。

2 実験

2.1 試薬

チアカリックス[4]アレーン：コスモ石油から恵与された。スチレン：和光純薬製特級試薬を、亜硫酸水素ナトリウム水溶液、5% 水酸化ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄後、塩化カルシウムで乾燥し、蒸留した (b.p. 41°C, 17 mmHg)。トルエン：ナカライテスク製特級試薬を蒸留した。エチレングリコールジメタクリレート (EDMA)：ナカライテスク製化学用試薬を減圧蒸留した (b.p. 64°C, 0.2 mmHg)。メタクリル酸 (MAA)：和光純薬製特級試薬を減圧蒸留した (b.p. 41°C, 1.0 mmHg)。フタル酸ジブチル：和光純薬製特級試薬を減圧蒸留した (b.p. 164°C, 2.0 mmHg)。過酸化ベンゾイル：ナカライテスク製化学用試薬をクロロホルムに溶解させ、メタノール中に注ぐ再沈法で精製した。ピリジン：和光純薬製特級試薬を水素化カルシウムで乾燥した。クロロホルム：和光純薬製特級試薬にモレキュラーシーブ 5A を加え乾燥した。テトラヒドロキシフラン (THF)：和光純薬製 1 級試薬を水素化カルシウムで乾燥して蒸留した後、カリウム-ナトリウム合金で乾燥して蒸留した。その他の試薬及び溶媒は市販品をそのまま使用した。メタノール (MeOH)：ナカライテスク製 1 級試薬を蒸留した。水：水道水をイオン交換樹脂によりイオン交換後蒸留し、Model D46 BARNSTEAD E-Pure を用いて精製した。

2.2 充填剤の調製

2.2.1 均一径ポリマー粒子の調製 ソープフリー乳化重合法⁹⁾により調製したポリスチレン種粒子、膨潤助剤としてフタル酸ジブチル、架橋剤として EDMA、希釈剤としてトルエン、表面修飾剤として MAA を用いて、二段階膨潤重合法⁹⁾と添加法¹⁰⁾により均一径ポリマー粒子 EDMA-MAA (粒子径約 4 μm) を調製した。

2.2.2 チアカリックスアレーンの粒子への導入 チアカリックスアレーンを dry THF に溶かし、1.2 当量の水素化ナトリウムを加え常温で反応させた後、過剰量のジブチロモブタンを加え、85°C で反応させた。生成物を精製、抽出した後 THF に溶解させ、過剰量のアンモニア水を加え常温で反応させて、チアカリックスアレーンに末端がアミンとなっているスペーサーを結合させた化合物を調製した。調製した EDMA-MAA 粒子に過剰量の塩化チオニルを 40°C で反応させた後、洗浄し、ピリジンに調製したチアカリックスアレーン誘導体の過剰量とともに加え還流を行った後、MeOH を加え還流を行った。調製したチアカリックスアレーン修飾均一径ポリマー粒子はスラリー溶媒を用い、ステンレススチールカラム (2 mm i.d. × 150 mm) に湿式充填した。

2.2.3 スペーサー修飾粒子の調製 基材粒子に修飾したチアカリックスアレーンの分子識別能を検討するためには比較用のスペーサー部のみで修飾した粒子を調製した。

調製した EDMA-MAA 粒子に過剰量の塩化チオニルを 40°C で反応させた後、洗浄し、ピリジンに過剰量の *n*-ブチルアミンとともに加え還流を行った後、MeOH を加え還流を行った。調製したスペーサー修飾均一径ポリマー粒子はスラリー溶媒を用い、ステンレススチールカラム (2 mm i.d. × 150 mm) に湿式充填した。

2.3 HPLC を用いたチアカリックスアレーン修飾粒子径均一粒子の評価

調製したチアカリックスアレーン修飾粒子とスペーサー修飾粒子を用いて、アルキルベンゼンとキシレン、クレゾール、ベンゼンジオールの各位置異性体、またカテコールアミン類であるノルアドレナリンを用いて保持挙動について比較を行った。測定条件は、移動相にメタノール水溶液を用いて、流量 150 μl/min、測定波長紫外 (UV) 210 nm、測定温度 20°C 又は 30°C で測定を行った。HPLC は次の装置から構成したシステムを使用した。送液ポンプ：資生堂製 NANOSPACE SI-1 ポンプ 2001、インジェクター：資生堂製 NANOSPACE SI-1 オートサンプラー 2002、UV 検出器：資生堂製 NANOSPACE SI-1 UV-VIS 検出器 2003。

保持係数 (k') は次式より求めた。

$$k' = (t_r - t_0) / t_0$$

t_r : 溶質の保持時間, t_0 : 保持されない溶質 (本実験ではアセトンを用いた) の保持時間。

3 結果, 考察

3.1 チアカリックスアレーンの導入量

元素分析の結果より、チアカリックスアレーンは粒子

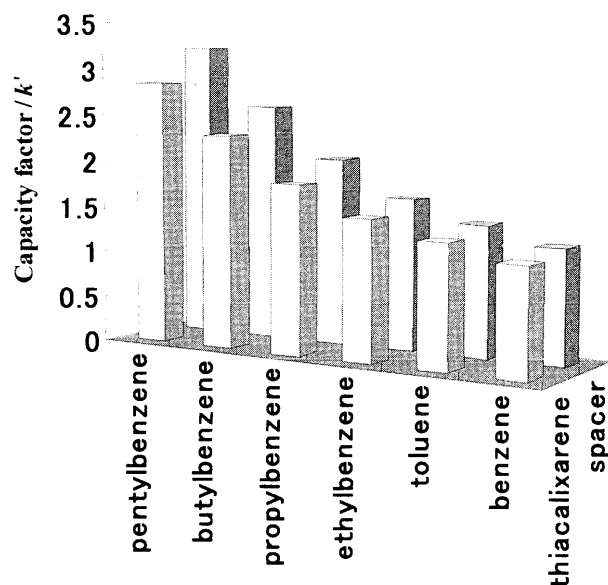


Fig. 2 Capacity factor (k') for alkylbenzene on stationary phases modified with thiacalix[4]arene or spacer

HPLC conditions—Mobile phase: MeOH/H₂O = 80/20 (v/v), Flow rate: 150 μ l/min, Temperature: 30°C, Detection: 210 nm UV

Table 1 Hydrophobicity of alkylbenzenes

	log P
benzene	2.05
toluene	2.51
ethylbenzene	2.91
propylbenzene	3.31
butylbenzene	3.70
pentylbenzene	4.10

1 g 当たり 1.41×10^{-4} mol 導入されていることが確認された。

3・2 保持特性

3・2・1 アルキルベンゼン チアカリックスアレーンを修飾した充填剤とスパーサーのみを修飾した充填剤のアルキルベンゼンに対する k' を Fig. 2 に示す。また, Table 1 にアルキルベンゼンの *n*-octanol/water の分配係数 (log P) を示した。log P 値は疎水性度の指標とされる値である¹¹⁾。チアカリックスアレーン修飾充填剤とスパーサー修飾充填剤は共に疎水性が増加するに従い保持が増加している。これら二つの充填剤はアルキルベンゼンの疎水性度に従って溶出したものと考えられることから、ほぼ同等の疎水性を示すことが分かった。

3・2・2 位置異性体 Table 2 に評価に用いた位置異性体の構造式一覧とその log P 値を, Fig. 3 に各充填剤での

Table 2 Structures and hydrophobicity of positional isomers of xylene, cresol, benzene-diol and norepinephrine

	<i>o</i> -	<i>m</i> -	<i>p</i> -	log P
xylene				2.98
cresol				2.23
benzene-diol				1.26
norepinephrine				0.22

位置異性体の k' を示す。

チアカリックスアレーンを導入した充填剤はスパーサーのみを導入した充填剤とは違う保持挙動を示すことが分かった。スパーサーのみを修飾した充填剤は, log P 値で示される溶質の疎水性が増大するにつれて, オルト, メタ, パラ位それぞれにおいて保持が増加することが示された。しかし, チアカリックスアレーンを修飾した充填剤はこの測定条件下において, パラ位のみ疎水性が増大するにつれて保持が増加する挙動を示した。各位置異性体のオルト位における比較では, *o*-キシレンと *o*-クレゾールを比較すると, 疎水性が大きい *o*-キシレンのほうが保持は大きかった。しかし, 二つの水酸基が隣接している疎水性の小さなカテコールに対する保持は, 疎水性の大きい *o*-キシレンより大きいことが示された。また, 各位置異性体のメタ位における比較でも, より疎水性の大きい *m*-キシレンが *m*-クレゾールより保持が大きかったにもかかわらず, レゾルシノールも *m*-キシレンより若干保持が大きかった。これらのことより, 近隣に水酸基がある化合物に対して, 特異的な保持があることが示唆された。

3・2・3 ノルアドレナリン 次にチアカリックスアレーン修飾充填剤がカテコール骨格を持つノルアドレナリンに対してカテコールに見られたような特異的な保持を示すか, オルト位に官能基を持つ化合物と比較検討を行った。評価に用いたノルアドレナリンはその構造にカテコール骨格を持つカテコールアミン類の一つであり, log P 値よりその疎水性はカテコールより小さいことが分かる。よっ

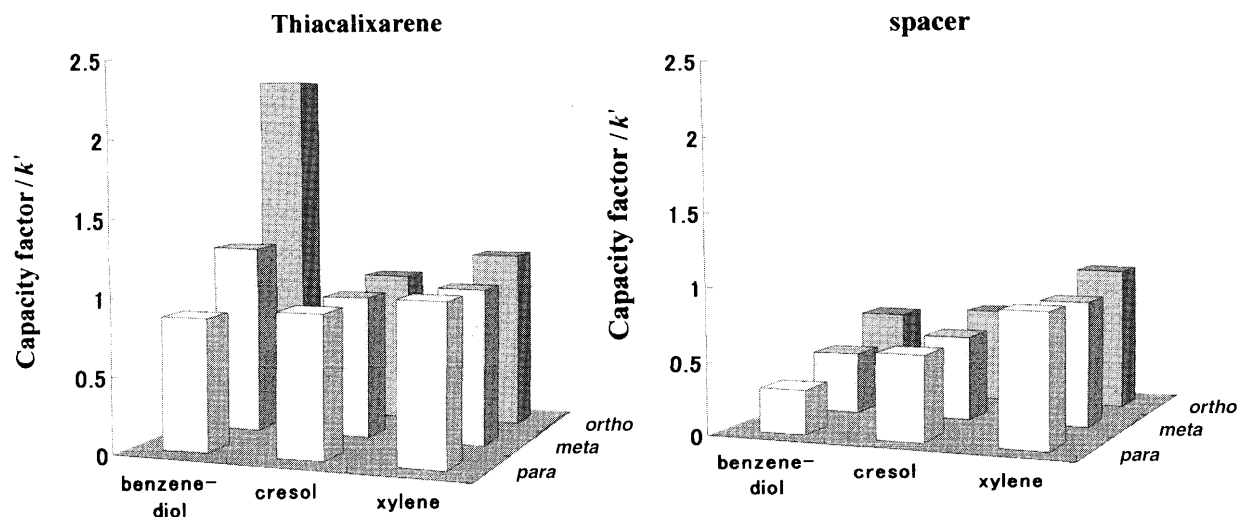


Fig. 3 Capacity factor (k') for positional isomers on stationary phases modified with Thiacalix[4]arene or spacer
HPLC conditions—Mobile phase: MeOH/H₂O = 90/10 (v/v), Flow rate: 150 μ l/min, Temperature: 30°C, Detection: 210 nm UV

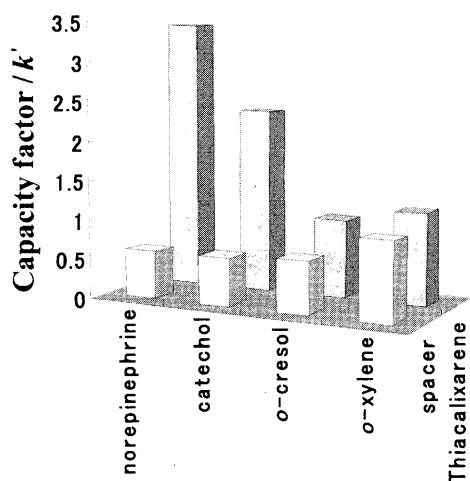


Fig. 4 Capacity factor (k') for ortho positional isomers and norepinephrine on stationary phases modified with thiacalix[4]arene or spacer

HPLC conditions—Mobile phase: MeOH/H₂O = 90/10 (v/v), Flow rate: 150 μ l/min, Temperature: 20°C, Detection: 210 nm UV

て、疎水性で相互作用するなら、最も保持が小さくなると思われ。チアカリックスアレーン修飾充填剤とスペーサー修飾充填剤における各オルト位化合物の k' を Fig. 4 に示す。スペーサー修飾充填剤は疎水性度によって保持が増加した。チアカリックスアレーン修飾充填剤は疎水性度によって *o*-キシレンが *o*-クレゾールより大きい保持を示したが、ノルアドレナリンが catechol 同様、疎水性が小さいにもかかわらず最も大きい保持を示した。

これらのことから、チアカリックスアレーン修飾充填剤

は疎水性度が増加するにつれて保持が大きくなる逆相条件下においても、疎水性度が小さい catechol 又は catechol 骨格を持つノルアドレナリンがキシレンより保持が大きくなることが示された。この特異的な保持挙動はチアカリックスアレーンが持つ、水酸基、硫黄の密集による効果であると考えられる。本研究において、チアカリックスアレーン修飾充填剤は catechol、ノルアドレナリンに対して、従来の逆相クロマトグラフィーには見られない特異的な保持挙動を示したことから、catechol 骨格を持つ化合物又は隣接して水酸基が結合しているような化合物の選択的分離への応用が期待される。

チアカリックスアレーン及びそれに関する貴重な資料を提供いただき、かつ元素分析で便宜を図っていただいたコスモ石油中央研究所の宮成節子氏に深謝する。

文 献

- 1) H. Kumagai, M. Hasegawa, S. Miyanari, Y. Sugawa, Y. Sato, T. Hori, S. Ueda, H. Kamiyama, S. Miyano: *Tetrahedron Lett.*, **38**, 3971 (1997).
- 2) N. Iki, F. Narumi, T. Suzuki, A. Sugawara, S. Miyano: *Chem. Lett.*, **1998**, 1065.
- 3) N. Iki, H. Kumagai, N. Morohashi, K. Ejima, M. Hasegawa, S. Miyanari, S. Miyano: *Tetrahedron Lett.*, **39**, 7559 (1998).
- 4) N. Iki, N. Morohashi, F. Narumi, S. Miyano: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **71**, 1597 (1998).
- 5) N. Morohashi, N. Iki, A. Sugawara, S. Miyano: *Tetrahedron*, **57**, 5557 (2001).
- 6) N. Iki, T. Fujimoto, S. Miyano: *Chem. Lett.*, **1998**, 625.
- 7) N. Iki, T. Fujimoto, T. Shindo, K. Koyama, S. Miyano: *Chem. Lett.*, **1999**, 777.
- 8) V. Smigol, F. Svec, K. Hosoya, Q. Wang, J. M. J.

- Frechet: *Angew Makromol. Chem.*, **195**, 151 (1992).
9) K. Hosoya, J. M. J. Frechet: *Polym. Sci. Part A, Polymer Chemistry*, **31**, 2191 (1993).
10) K. Hosoya, Y. Watabe, T. Kubo, N. Hoshino, N. Tanaka, T. Sano, K. Kaya: *J. Chromatogr. A*, **1030**, 237 (2004).
11) V. N. Viswanadhan, A. K. Ghose, G. R. Revankar, R. K. Robins: *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **29**, 163 (1989).

要 旨

チアカリックスアレーンを導入した充填剤を調製し、液体クロマトグラフィーを用いて評価を行った。チアカリックスアレーンは4つ以上の *p*-アルキルフェノールを硫黄で架橋した環状化合物である。本研究では二段階膨潤重合法で調製した均一径ポリマー粒子の表面にカルボニル基を導入し、そこへスパーサーを結合させたチアカリックスアレーンを修飾した。評価にはアルキルベンゼンとキシレン、クレゾール、ベンゼンジオールの各位置異性体、そしてカテコール骨格を持つカテコールアミンを用いた。各位置異性体との比較により、チアカリックスアレーンを導入した充填剤は、カテコールに対し、逆相条件下でより疎水性の大きな *o*-キシレンよりも大きな保持を示した。カテコールアミンに対してもカテコール同様、選択的な保持を示した。このことからチアカリックスアレーンを導入した充填剤は近接して水酸基をもつ化合物の分離に有用であることが示唆された。