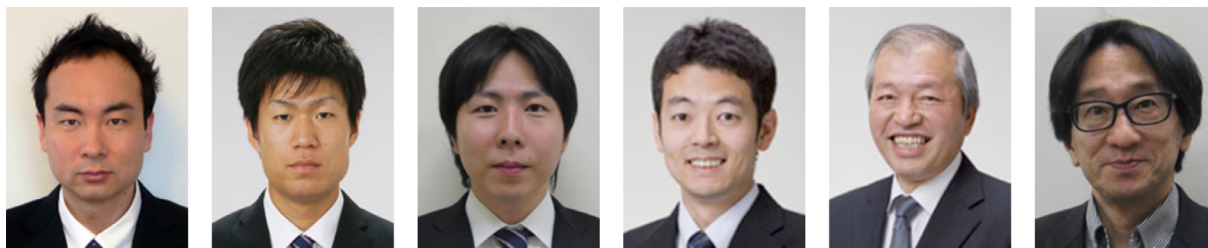




本記事は、文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム事業 秀でた利用 6 大成果について紹介するものです。

文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム平成 27 年度秀でた利用 6 大成果 溶出順序を自在に反転できるキラル固定相の開発

金沢大学大学院自然科学研究科 前田 勝浩, 石立 涼馬, 下村 昂平, 井改 知幸, 加納 重義
名古屋大学大学院工学研究科 八島 栄次



(左から) 金沢大学自然科学研究科 前田 勝浩, 石立 涼馬, 下村 昂平, 井改 知幸, 加納 重義, 名古屋大学大学院工学研究科 八島 栄次



1. はじめに

我々の生体を構成するタンパク質や核酸などの生体高分子のほとんどはキラルであり、一方のエナンチオマー(鏡像異性体)だけ(L体のアミノ酸およびD体の糖)から構成されている。そのため、生体はキラリティに対して極めて敏感であり、各エナンチオマーに対して全く異なる応答を示すことがある。例えば、人間の舌は、旨味調味料として使用されているL体のグルタミン酸ナトリウムにはうま味を感じるが、そのエナンチオマーであるD体のグルタミン酸ナトリウムにはうま味を感じない(図1)。また、キラルな医薬品の場合には、エナンチオマー間で著しく異なった生理活性を示し、一方のエナンチオマーのみが薬効を示し、他方は強い副作用を示すこともある。従って、医薬、農薬、食品などの生理活性物質を扱う分野では、高純度の光学活性化合物の取得とキラル化合物の微量分析が不可欠となっている。また、最近では、非線形光学材料、強誘電性液晶などの機能性材料の研究・開発の面からも、純粋なエナンチオマーを得ることの重要性がますます高まっている。

キラル固定相を用いた高速液体クロマトグラフィー(High Performance Liquid Chromatography: HPLC)による直接光学分割(図2)は、キラル化合物の分取と分析の両方の目的に利用可能な方法として広く普及しており、キラルな低分子化合物やらせん構造を有する高分子など様々な化合物を固定相に応用した例が報告されている[1][2][3][4][5][6]。中でも、天然に豊富に存在する光学活性高分子である多糖誘導体は、そのらせんキラリティに由

来する優れた不斉識別能を発現することが見出され、多種多様なキラル化合物を分割可能なキラル固定相として既に実用化され、世界中で利用されている[2][3][4][6]。HPLCによる光学分割では、先に溶出する成分が後から溶出する成分に重なることがある。従って、鏡像異性体組成比の精密分析を行う際は、少ない成分が先に溶出する方が好ましく、光学活性体を大量分取する際は、必要とする成分が先に溶出した方が高い光学純度で得られる。

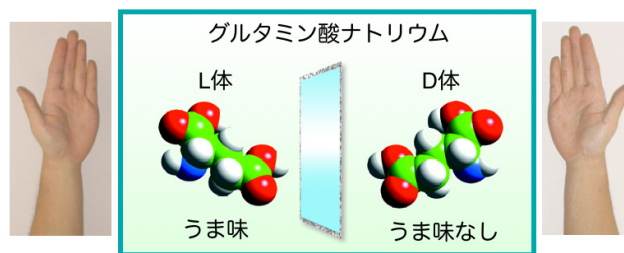


図1 グルタミン酸ナトリウムのエナンチオマー

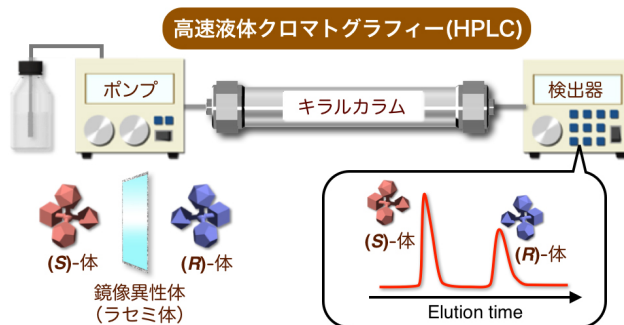


図2 キラルHPLCの概略図

つまり、効率的に光学分割を行うためには、エナンチオマーの溶出順序が非常に重要となる。溶出順序を逆転させる確実な方法として、互いに逆のキラリティを有する二種類のキラル固定相を使い分ける方法が挙げられる。しかし、溶出順序のみを自在に制御可能なキラル固定相は、これまで報告例はなかった。

一方、巻き方向の制御されたらせん構造を有する高分子は、生体高分子が示す精緻な機能を分子レベルで解明するためのモデルとして学術的な観点から有用であるだけでなく、らせんキラリティ（“右巻き”と“左巻き”）に起因する特異な機能の発現が期待されるため、機能性材料として応用の観点からも興味深い。そのため、「らせん高分子の構築とその巻き方向の制御」に関する研究が世界中で活発に展開されている。これまでに様々ならせん高分子が合成されているが、高分子鎖中で迅速ならせん反転が起こる「動的らせん高分子」は、僅かな光学活性ユニットを共有結合または非共有結合を介して導入することによって、高分子鎖全体が一方向巻きに片寄る「不斉増幅現象」を示すことが知られている非常にユニークならせん高分子である [7]。我々の研究グループでは、このような動的らせん高分子の特性を活用した新しい機能発現を目指して研究を展開している。そのためには、キラリティ分光測定や高分子化合物の構造解析が不可欠であり、2012年度より文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム事業（名古屋大学 分子・物質合成プラットフォーム）のキラリティ分光測定／キラル分離／有機・高分子化合物構造解析の豊富な装置群を積極的に活用させて頂いている。本稿では、ナノテクノロジープラットフォーム事業の支援により得られた成果の中から、動的らせん高分子の特性を活用してエナンチオマーの溶出順序を自在にスイッチングできる HPLC 用のキラル固定相の開発に成功した研究について紹介する。

2. 実験

ビフェニル基を有するアセチレン誘導体 (A) を合成し、ロジウム錯体 ($[\text{Rh}(\text{nbd})\text{Cl}]_2$) を用いて重合することによって、立体規則性 (シス-トランソイド) のポリマー (poly-A) を合成した (図 3 (a))。サイズ排除クロマトグラフィー測定により求めた分子量は、 $M_n = 4.6 \times 10^5$, $M_w/M_n = 1.7$ であった。生成ポリマーを有機溶媒に溶解し、大孔径シリカゲルにコーティングすることによってキラル充填剤を調製した。スラリー法により、調製したシリカゲルを高压で HPLC 用のステンレスカラムに充填し、キラルカラムを作製した。

3. 実験結果および考察

3.1 固体状態でらせん構造の誘起と記憶が可能なポリアセチレン誘導体の HPLC 用キラル固定相への応用

側鎖にカルボキシル基やリン酸基を有する光学不活性なポリフェニルアセチレンに、光学活性アミンとの酸-塩基相互作用を介して一方向巻きに片寄ったらせん構造が誘起され、光学活性アミンをアキラルアミンで置換することにより、誘起されたらせん構造が記憶として長時間安定に保持される [7][8][9]。我々は、側鎖に動的な軸性キラリティを有する 2,2'-ビフェノール由来の置換基を導入した poly-A が、光学活性アルコール (1) のキラリティに応答して一方向巻きに片寄ったらせん構造を形成し、1 を完全に除去した後も、そのらせん構造が記憶として保持されることを見出した (図 3 (b)) [10]。従来のポリフェ

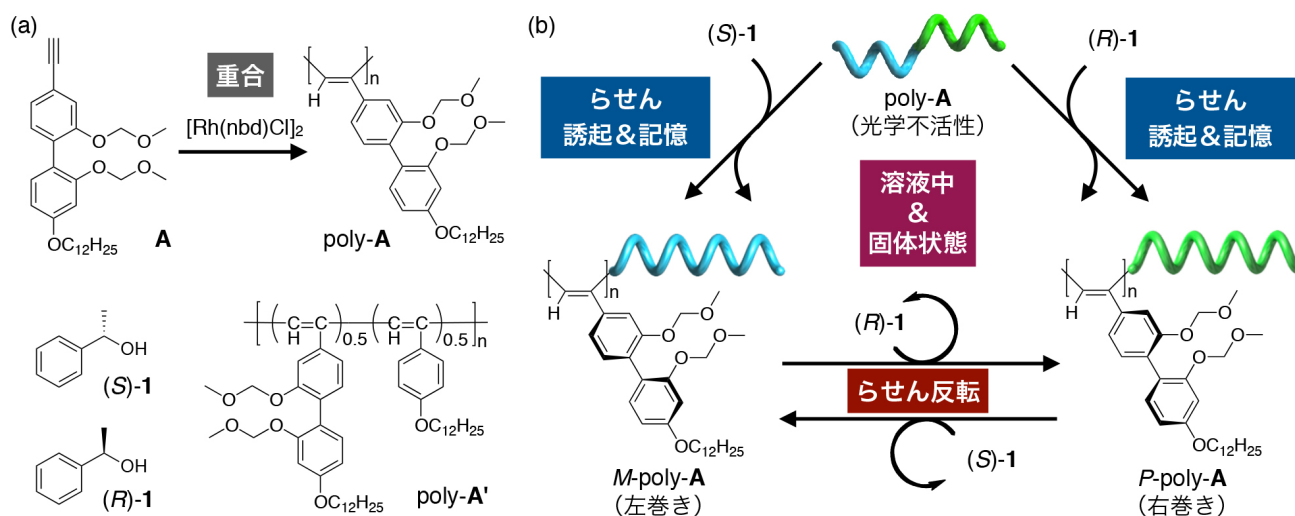


図 3 (a) ポリアセチレン誘導体 (poly-A) の合成と光学活性アルコール (1) および共重合体 (poly-A') の構造式 (b) 溶液中および固体状態での poly-A へのらせん誘起・記憶・反転の模式図

ニルアセチレン誘導体とは異なり，poly-A の場合にはアキラル化合物による置換は必要なく，一旦誘起されたらせん構造は自動的に記憶として保持された．振動円二色性測定の結果から，poly-A の主鎖に一方向巻きのらせん構造が誘起されると側鎖のビフェニル基にも一方向にねじれた軸性キラリティが誘起されていることが示唆された．また，poly-A の一部をビフェニル基のないフェニルアセチレンユニットに置換した構造に相当する共重合体 (poly-A') では，誘起されたらせん構造は記憶されなかった．これらの結果から，poly-A の一方向巻きたせん構造の誘起・記憶の発現には，側鎖の軸性キラリティとビフェニルユニット間に働く協同的な相互作用が重要な役割を果たしていると考えられる．興味深いことに，poly-A への一方向巻きたせん誘起と記憶が，溶液中だけでなく固体状態でも可能であることを見出した．つまり，poly-A は 1 に不溶であるが，固体状態の poly-A を光学活性な (S)-1 または (R)-1 に浸漬するだけで，それぞれ左巻きたせん構造と右巻きたせん構造に自在にスイッチングできることが明らかになった (図 3 (b)) [10]．そこで，固体状態で poly-A が示す「らせん構造の誘起・記憶・反転」の現象に着目し，poly-A をキラル固定相に応用することによって，エナンチオマーの溶出順序を自在に切り替え可能なキラル固定相として機能するかどうかを調べた．

光学不活性な poly-A を担持したシリカゲルを充填した HPLC 用カラムを作成し，(R)-1 のアセトン溶液 (50vol%) をカラムに満して静置した後に，メタノールを通過することによって (R)-1 を除去するという前処理により，カラム内で poly-A に右巻きたせん構造を誘起・記憶させた (P-poly-A)．このカラムを用いて *trans*-スチルベンオキシド (2) の光学分割を行ったところ，(+) 体が先に溶出し，ほぼ完全に光学分割された (図 4 左)．続いて，このカラムに (S)-1 のアセトン溶液を用いて同様の前処理を行うことにより，カラム内で左巻きたせん構造を誘起・記憶した

poly-A (M-poly-A) へとスイッチングした後に光学分割を行うと，溶出順序のみが反転し，(-) 体が先に溶出した (図 4 右)．したがって，「固体状態でのらせん誘起・記憶・反転」の現象を利用することによって，poly-A がエナンチオマーの溶出順序を自在に反転することが可能な全く新しいタイプのキラル固定相として機能することが実証された (図 4) [10]．これは，溶出時間や分離能を変化させることなく鏡像異性体の溶出順序のみを逆転することができるキラル固定相の初めての例である．特筆すべきは，動的らせん高分子の最大の特徴である不斉増幅現象により，光学純度の低い 1 を用いても，光学的に純粋な 1 の場合と同じように poly-A のらせんを一方向巻きに片寄らせることが可能であった．実際，50%ee の 1 (R 体過剰) のアセトン溶液による前処理を行ったキラルカラムを用いて，2 の光学分割を行ったところ，光学的に純粋な (R)-1 を使用した場合とほぼ同じ光学分割結果が得られた．

3.2 側鎖の化学修飾による光学分割能の向上

本特性を有するキラル固定相の高性能化を目指して，分割対象となるラセミ体との相互作用部位としてポリマーの側鎖末端にエステル基やカルバメート基などを導入したポリマー (poly-B1-poly-B4) を合成した (図 5)．その結果，ビフェニル基の 4' 位に極性官能基を導入した poly-B1-poly-B4 においても poly-A と同様に一方向巻きたせん構造の誘起・記憶が可能であることがわかった [11] [12]．光学活性アルコール (R)-1 を使用して一方向巻きたせん構造を誘起・記憶した poly-B1-poly-B4 をキラル固定相に用いて，ラセミ化合物 3-11 に対する光学分割能の評価を行ったところ，エステル基を導入した poly-B1 では，3-5 や 9-11 のラセミ体の光学分割が可能であり，特に，9-11 のような「キラルな金属錯体」に対して良好な光学分割能を示した．一方，poly-B1 とはエステル結合の向き

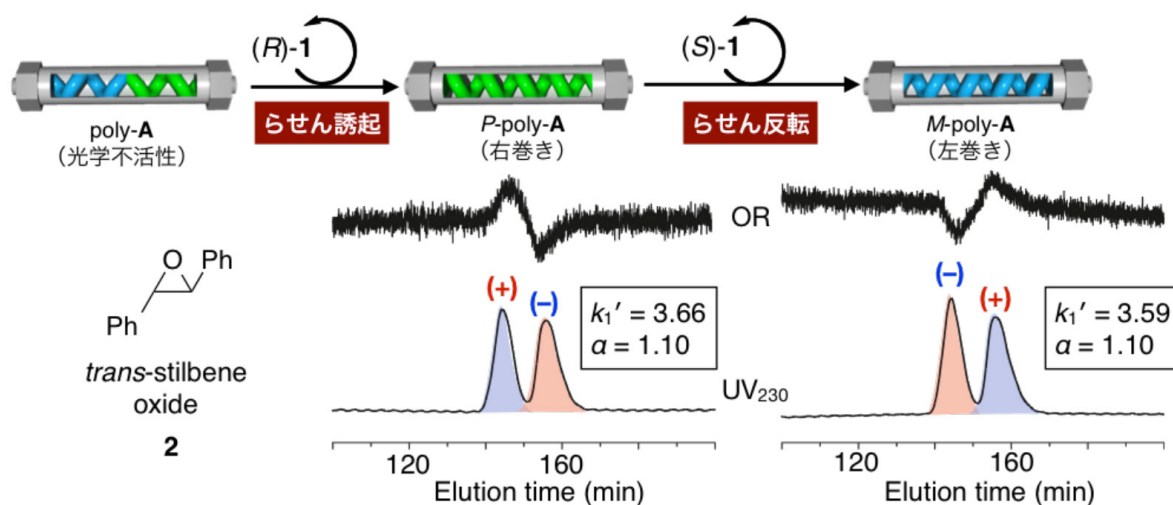


図 4 固体状態での「一方向巻きたせん構造の誘起・記憶・反転」を利用したスイッチングキラル固定相 (poly-A) によるキラル化合物 2 の光学分割．カラム：25 × 0.20 (i.d.) cm．溶離液：メタノール/水 (75/25, v/v)．流速：0.025mL/min．温度：0°C．

が異なる poly-B2 は, poly-B1 では分割できなかつた 6 および 8 に対して不斉識別能を発現したが, 「金属錯体」に対する光学分割能が著しく低下した. カルバメート基を有する poly-B3 では, 「水酸基を 2 つ有する軸不斉化合物 3 および 5-7」の光学分割が可能であり, 中でも水酸基が立体的に込み合った環境にある 3 に対して優れた不斉識別能を示すことが明らかとなった. らせん構造の誘起・記憶現象を利用して調製した上記ポリマーからなる固定相は, 側鎖に光学活性基を有していないため, ポリマー主鎖が形成する一方向巻きのらせん構造に沿って規則的に配列した側鎖のカルバメート基やエステル基が形成する不斉空間が光学分割能の発現に重要な役割を果たしているものと考えられる.

3.3 化学結合型キラル固定相の開発

上述のキラル固定相は, ポリマーをコーティングによりシリカゲルに物理吸着させているため, 繰り返し不斉選択性のスイッチングを行う過程でポリマーがシリカゲ

ルから剥離し, カラム性能が低下するという欠点を有していた. そこで, らせん反転に基づく溶出順序のスイッチング特性を損なうことなく, ポリマーをシリカゲルに固定化する手法について検討を行った.

末端に水酸基を有するモノマー (C) との共重合により, 側鎖に水酸基を 1% 含有する共重合体を合成した (poly-B1') (図 6). 得られたポリマーをジカルボン酸 (Tetradecanedioic acid) との縮合反応によりシリカゲル上で架橋させ, ネットワーク構造を形成させることでシリカゲル表面に固定化した (図 7). 得られた化学結合型キラル固定相をステンレスカラムに充填し, (R)-1 を用いて処理した後, 光学分割を行ったところ, コーティング型キラル固定相で分割可能であったラセミ体に対して光学分割能を示した [13]. この結果は, シリカゲル表面上に固定化されたポリマーにも一方向巻きのらせん構造が誘起されたことを示唆している. さらに, 本固定相を逆の絶対配置をもつ (S)-1 により処理したところ, 分離能を変化させることなく光学活性体の溶出順序のみを切り替えることに成功した. 同様の操作によって, 不斉識別能

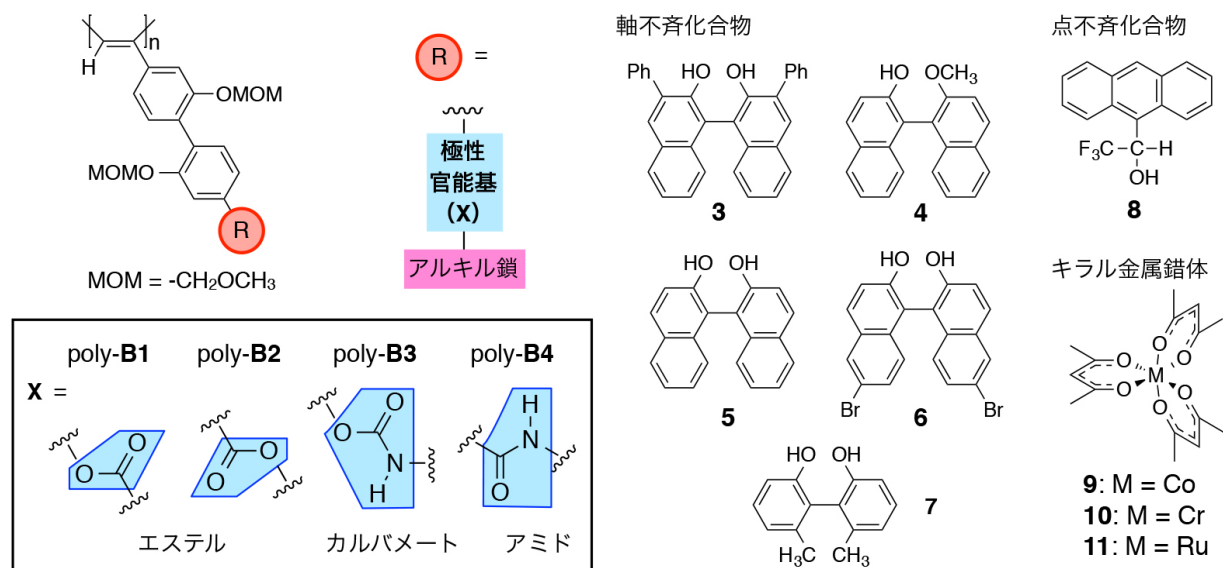


図 5 極性基を導入した poly-B1-poly-B4 の構造と分割可能化合物の一例

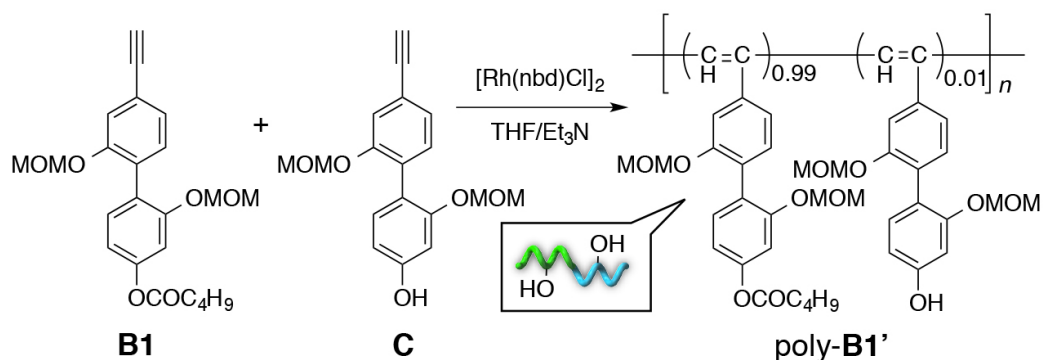


図 6 架橋部位を有する poly-B1' の合成

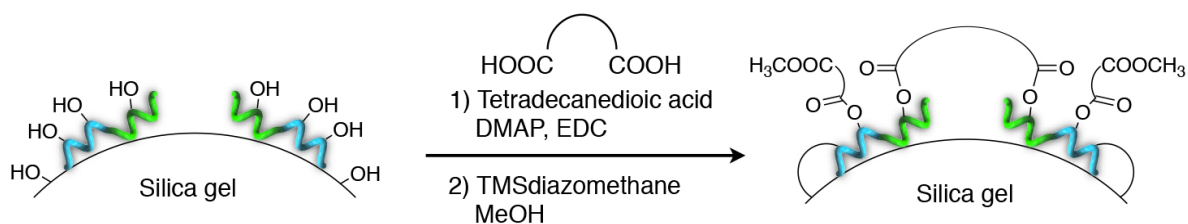


図7 Poly-B1'を用いた化学結合型キラル固定相の合成

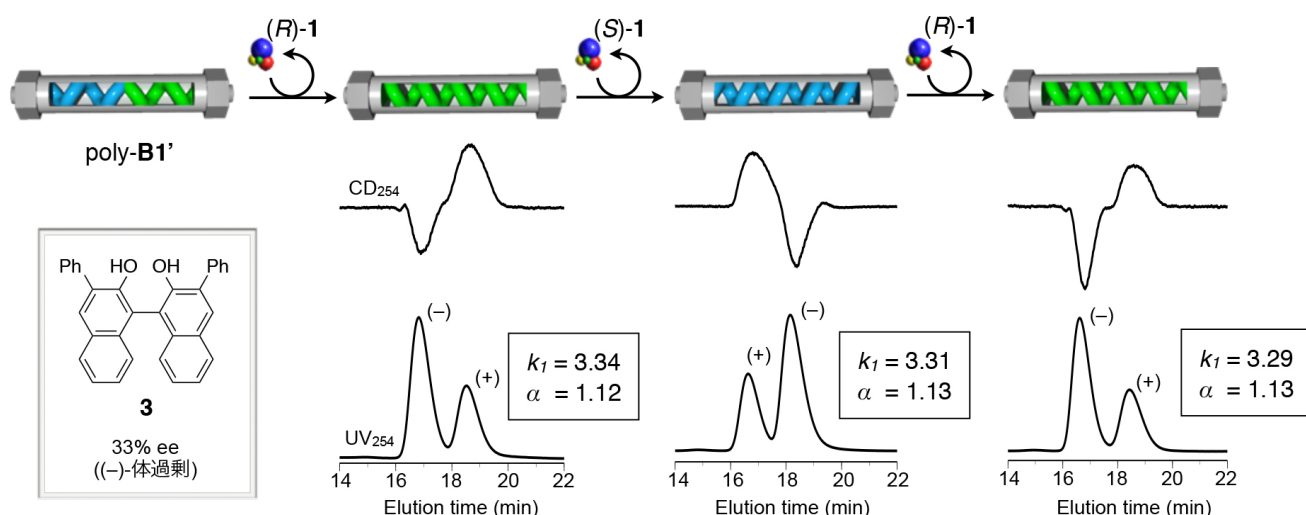


図8 固体状態での「一方向巻きらせん構造の誘起・記憶・反転」を利用した化学結合型スイッチングキラル固定相 (poly-B1') によるキラル化合物 **3** (33% ee, (-)-体過剰) の光学分割. カラム: 25 × 0.20 (i.d.) cm. 溶離液: ヘキサン/2-プロパノール (97/3, v/v). 流速: 0.2mL/min. 温度: 0°C.

のスイッチング挙動は繰り返し観測された (図8)。以上のように、光学分割能及びスイッチング特性を保持したまま、固定化によって高い耐久性を賦与できることを明らかにした。また他の極性基を導入したポリマーにおいても、同様の手法により安定な溶出順序の切り換えが可能であったことから、本固定化手法が一般性の高い手法であることが示唆された。

4. まとめ

本研究では、固体状態でもらせん構造の制御が可能なポリアセチレン誘導体を用いて、らせん反転に基づく溶出順序の切り換えが可能なキラル固定相の開発に成功した。また、本ポリマーの側鎖末端に様々な極性基を導入することで多種多様なキラル化合物の光学分割が可能であることを明らかにした。さらに、架橋反応を利用してポリマーを担体上に固定化することで耐久性を賦与し、安定に繰り返し溶出順序の切り換えが可能なキラル固定相の開発にも成功した。

キラルカラムを用いたHPLCによる光学分割により市場に供されている医薬品の売り上げは約6,000億円にも達しており (2008年)、今後も更に増加することが予想

される。目的とする高付加価値キラル化合物群の迅速な分離と供給には、溶出順序の制御が極めて重要であるが、これを可能にするキラル材料・技術はこれまでに皆無であった。固体状態でらせんの巻き方向を制御可能な本キラルカラムにより、キラル物質の格段に効率的な分離と創製プロセスの開発が可能となり、キラル生理活性物質を扱う産業分野への多大な貢献が期待できる。

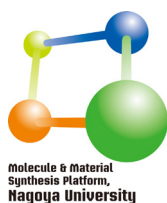
謝辞

本研究成果は、文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム事業 (名古屋大学 分子・物質合成プラットフォーム) の支援を受けて実施されました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

参考文献

- [1] T. Nakano, *J. Chromatogr. A* **906**, 205-225 (2001).
- [2] C. Yamamoto and Y. Okamoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **77**, 227-257 (2004).
- [3] Y. Okamoto and T. Ikai, *Chem. Soc. Rev.* **37**, 2593-

- 2608 (2008).
- [4] T. Ikai and Y. Okamoto, *Chem. Rev.* **109**, 6077-6101 (2009).
- [5] E. Yashima, H. Iida and Y. Okamoto, *Top. Curr. Chem.* **340**, 41-72 (2013).
- [6] J. Shen and Y. Okamoto, *Chem. Rev.* **116**, 1094-1138 (2016).
- [7] E. Yashima, K. Maeda, H. Iida, Y. Furusho and K. Nagai, *Chem. Rev.*, **109**, 6102-6211 (2009).
- [8] E. Yashima, K. Maeda and Y. Okamoto, *Nature* **399**, 449-451 (1999).
- [9] K. Maeda, K. Morino, Y. Okamoto, T. Sato and E. Yashima, *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 4329-4342 (2004).
- [10] K. Shimomura, T. Ikai, S. Kanoh, E. Yashima and K. Maeda, *Nat. Chem.* **6**, 429-434 (2014).
- [11] R. Ishidate, K. Shimomura, T. Ikai, S. Kanoh and K. Maeda, *Chem. Lett.* **44**, 946-948 (2015).
- [12] R. Ishidate, T. Sato, K. Shimomura, T. Ikai, K. Maeda, S. Kanoh and E. Yashima, *Polym. Prepr. Jpn.* **63**, 653-654 (2014).
- [13] R. Ishidate, T. Sato, K. Shimomura, T. Ikai, K. Maeda, S. Kanoh and E. Yashima, *Polym. Prepr. Jpn.* **64**, 3G12 (2014).
- (金沢大学大学院自然科学研究科 前田 勝浩)



【お問い合わせ】

分子・物質合成プラットフォーム

名古屋大学

☎ 052-789-4609

E-mail nano-platform@apchem.nagoya-u.ac.jp

ホームページ

<http://nano-platform.apchem.nagoya-u.ac.jp/>