

クロマトグラフィーとハンセン溶解度パラメータ

山本博志^{*1}・Steven Abbott^{*2}・Charles M. Hansen^{*3}

1. 緒言

クロマトグラフィーは、混合物の分析方法としては、なくてはならない分析方法である。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は溶媒に溶けやすく、比較的分子量が大きい、耐熱性が低い化合物の分析に使われる。ガスクロマトグラフィー (GC) は蒸発しやすい化合物の分析に使われる。HPLC も GC もマススペクトルと組み合わせるなどして、あるピークの分子構造を特定している。しかし、なぜ化合物がこの順番に出てくるか、ピークの分解能を広げるにはどうしたら良いかに関しては余り説明されていない。本稿では、こうしたクロマトグラフィーのリテンション・タイム (RT) を、ハンセンの溶解度パラメータ法を用いて検討する方法を紹介する。

2. クロマトの原理とハンセンの溶解度パラメータ (HSP)

HPLC 分析で一番多用されるカラムは ODS カ

^{*1} AGC 株式会社 中央研究所

^{*2} 英国リーズ大学 (Leeds) 教授

^{*3} 元 Force Technology 上級科学者 デンマーク
Introduction of Hansen Solubility Parameter (HSP)

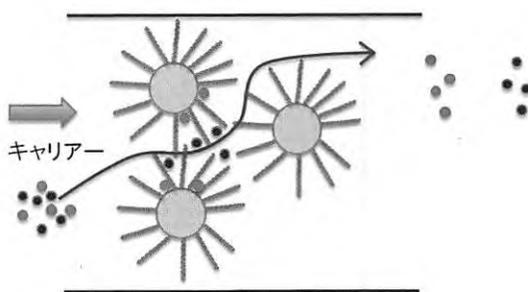


図1 HPLC の分離原理

ラムであろう。これは微細なシリカゲルの表面を、オクタデシルシランで修飾したもので、ここに溶離液に溶かした試料を流す。すると、オクタデシル基に溶けやすいものは、カラムの充填剤と強く相互作用して遅く出てくる。同時にキャリアーに溶けやすいものは早く出てくる。それを模式図的に表すと図1に示すようになる。

GC の場合、分解能の高さから、最近の傾向としてはパックド・カラムよりは、キャピラリー・カラムが多用される。これは多くの場合、ポリジメチルシロキサン (PDMS) の液膜が細いガラス管の内側にコートされた構造を取る。分離の主体が液体なので GLC と表記されることもある。

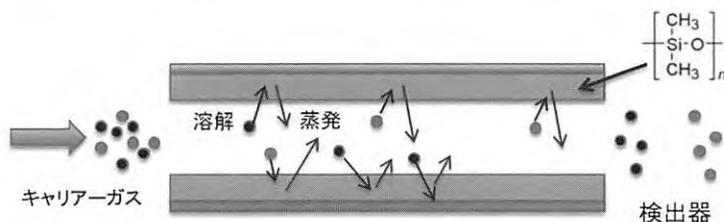


図2 GC の分離原理

この場合も、試料がポリジメチルシロキサンに溶解しやすいか、そこから蒸発しやすいかの違いによって混合物が分離する。

これらの固定相に対する溶解性、溶離液に対する溶解性を、ハンセンの溶解度パラメータ (HSP) を用いて解析する。Hansen の溶解度パラメータ (HSP) は蒸発潜熱のエネルギーを、分散項 (dD)、分極項 (dP)、水素結合項 (dH) の 3 つに分解し、3次元のベクトルとしてとらえる。そして、固定相 (移動相) の HSP ベクトルと試料の HSP ベクトルが近い場合に“似たものは似たものを溶かす”という原理によって溶解しやすくなる。ベクトルの類似度に関しては、通常のベクトル間の距離の計算法とは少し異なる(1)式を用いる。

$$\text{HSP 距離}(Ra) = \{4*(dD1-dD2)^2 + (dP1-dP2)^2 + (dH1-dH2)^2\}^{0.5} \quad (1)$$

dD 項の前に 4 という係数がつくことに注意いただきたい。この HSP 距離 (Ra) が短いと、その試料は溶解しやすいと判断される。

そして HPLC の場合には、移動相が混合溶媒であることが多い。混合溶媒の溶解度パラメータはベクトルの足し算で表現する。溶媒 1 と溶媒 2 を体積比で $a : b$ で混合すると、その混合 HSP は $[dDm, dPm, dHm] = [(a*dD1 + b*dD2), (a*dP1 + b*dP2), (a*dH1 + b*dH2)] / (a + b)$ (2)

で表すことができる。この混合溶媒の HSP,

$[dDm, dPm, dHm]$ と試料の HSP 距離を(1)式で計算することにより、混合溶媒への溶解性を評価することができる。

3. HPLC の分析結果

3. 1 紫外線吸収剤の HPLC 分析

食品に添加されるフェノール性の酸化防止剤 (図 3) を HPLC 分析¹⁾した場合、図 4 に示すチャートが得られる。

LC/MS などを測定し標準チャートと比較すれば、どのピークがどの構造であるかは決定される。しかし、なぜ 3 番 (TBHQ) と 5 番 (BHA) で溶出位置がこれほど異なるのかは、説明されていない。

解析をするためには、まず化合物の HSP 値を計算する。溶媒の HSP 値はポリマーハンドブッ

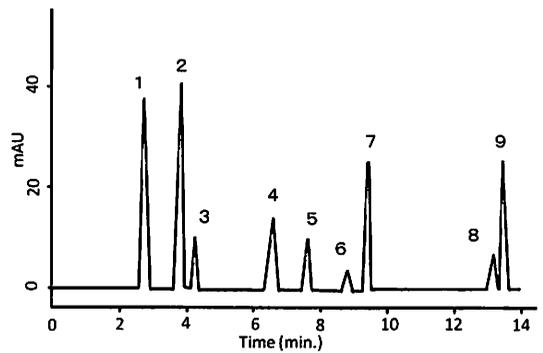


図 4 紫外線吸収剤の HPLC チャート

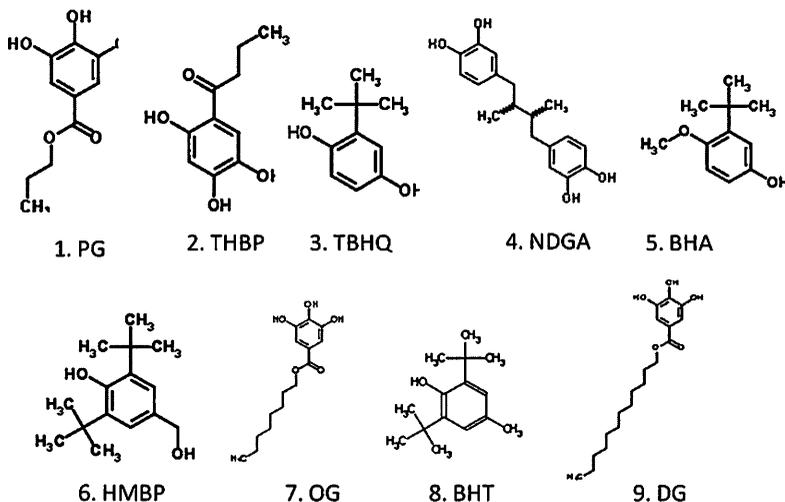


図 3 紫外線吸収剤の構造

クなどにも記載されているし、インターネットを探せば出てくる。しかし、酸化防止剤の HSP 値が記載されている文献は、残念ながらない。その場合には、HSPiP²⁾というソフトウェアを使って計算する。これは Hansen 先生、Abbott 先生が開発されたオフィシャルなソフトウェアで、1200 を超える溶媒、600 を超えるポリマーの HSP 値がデータベース化されている。もし、データベースにない構造であったとしても簡単に推算値が計算できる。ここでは、HSPiP の推算機能、Y-MB を使って酸化防止剤の HSP 値を計算する。

HSPiP を立ち上げて、 σ ボタンを押すとウィンドウが開くので、タブから Y-MB を選択する。そして酸化防止剤の Smiles の式を入れて計算ボタンを押す。自動的に分子を原子団に分割し、さ

まざまな物性を計算する(図 5)。この Y-MB は、データベースにない化合物の推算値を計算する、オフィシャルな方法である。その計算結果のうち、 dD 、 dP 、 dH と Mvol を控えておき、順番に他の化合物も計算する。

化合物の構造から Smiles の式を得るには、ChemDraw などの分子描画ソフトでは、Copy As の機能として搭載されているので、それを利用する。フリーウェアでも Smiles が扱えるものもあるので、探してみるとよいだろう。インターネット上でも、化合物の CAS# から Smiles を得ることができるサイトがいくつかあり、利用することが可能である。

計算結果をまとめると表 1 のようになる。

次に、溶離液の HSP 値と固定相の HSP 値を定

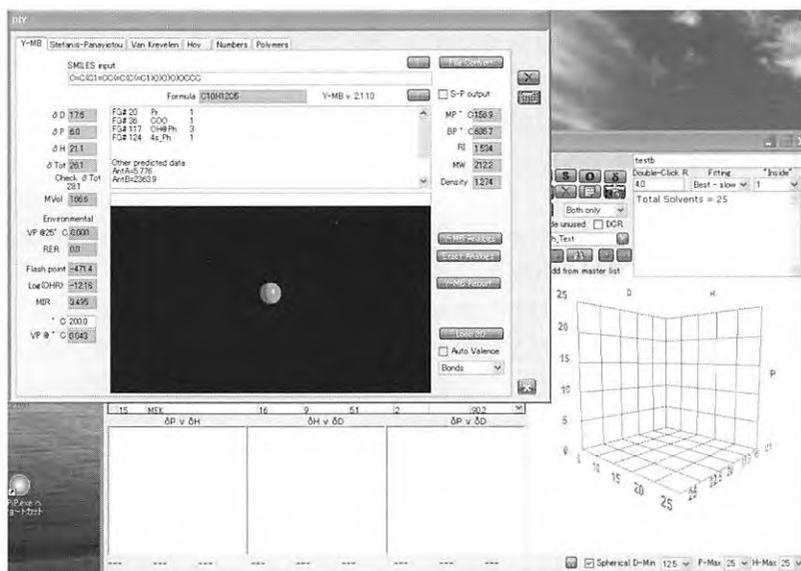


図 5 HSPiP を用いた HSP 値の推算

表 1 酸化防止剤の HSP 値 (HSPiP ver.3 計算値)

	name	CAS#	RT	dD	dP	dH	Volume
PG	Propylgallate	149-91-7	2.77	17.5	9.0	20.1	169.7
THBP	2,4,5-Trihydroxybutyrophenone	1421-63-2	3.83	18.1	9.2	21.6	160.8
BHA	Buthylated Hydroxyanisole	25013-16-5	7.60	17.5	5.2	10.2	184.1
HMBP	4-Hydroxymethyl-2,6-di-tert-buthylphenol		8.79	16.8	3.3	10.5	242.6
OG	Octyl gallate	1034-01-1	9.45	17.2	6.6	14.2	252.9
BHT	Buthylated hydroxytoluene	128-37-0	13.19	16.5	2.1	6.6	244.3
2DG	Dodecyl gallate	1166-52-5	13.46	17.0	5.7	11.8	318.8
TBHQ	tert-Buthylhydroquinone	1948-33-0	4.29	17.4	5.4	14.7	166.1
NDGA	Nordihydroguaiaretic acid	500-38-9	6.59	18.7	5.8	17.4	264.1

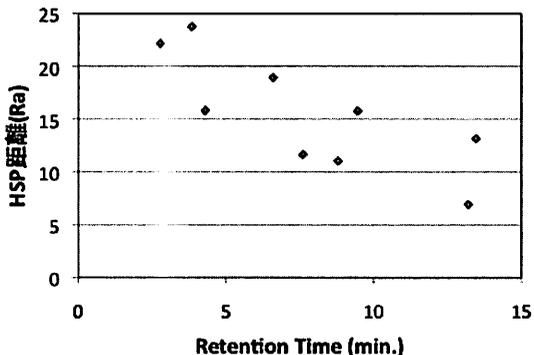


図6 固定相からの HSP 距離と保持時間の相関

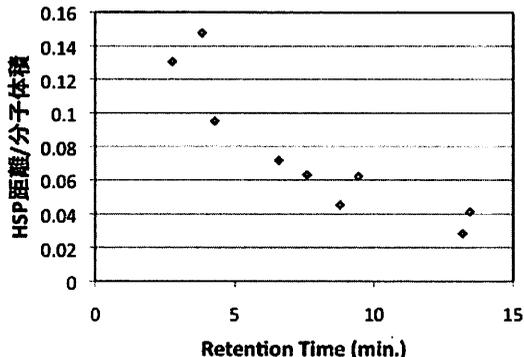


図7 分子体積を用いた HSP 距離の補正

める。HSP の場合、溶離液が混合溶媒であっても、その HSP 値はベクトルの足し算(式(2))で簡単に計算できる。

この HPLC の溶離液は MeOH/CH₃CN/水/CH₃COOH=0.2/0.2/0.57/0.03 なので、[15.27, 15.42, 30.196]になる。また、固定相はオクタデカンの HSP [16.4, 0, 0]を使うことにする。

次に、HSP 距離の計算式(1)を使って酸化防止剤とオクタデカンの距離を計算する。それをプロットすると図6のようになる。

線が2本あるように見えるが、固定相オクタデカンからの HSP 距離が長くなる化合物は早く流出する。HSP の考え方の基本では、HSP 距離が長いというのは、ベクトルの向き、大きさが違っていることを表す。つまり、オクタデカンに溶解しにくいものは小さい保持時間になることがわかる。模式図(図1)にも書いたように、固定相の ODS と相互作用せず、すぐに出てきてしまうと考えればよい。それに対して、分子中にドデシル基や t-Butyl 基を持つものなどは、HSP がオクタデカンに近くなり、HSP 距離が短く、固定相に溶解しやすいので保持時間が長くなる。

線が2本に見える理由は、酸化防止剤の分子の大きさに起因する。そこで、HSP 距離を表1にある分子の体積で割ったものをプロットすると、図7に示すようになる。先ほどの2本線はかなり近づき、分子体積による補正が有効であることがわかる。

次に、溶離液の方から検討する。この場合は分子体積の効果は、かけ算になることに注意いただきたい。溶離液からの HSP 距離の短いものほど、

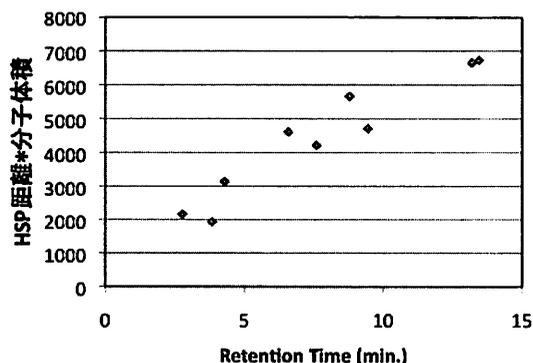


図8 溶離液からの HSP 距離(分子体積補正)と保持時間の相関

保持時間が小さいことが分かる。HSP 距離の短いものは、溶離液に良く溶解することを示している。

以上のように、固定相に溶けやすいものは遅く、溶離液に溶けやすいものは早く出てくることが HSP から理解される。

3. 2 坑てんかん薬の HPLC 解析

坑てんかん薬として図9に示す11化合物の HPLC 分析³⁾が行われている。これらの化合物を、先ほどと同様に HSPiP を用いて HSP 値を計算する。

そして、これらの化合物とオクタデカンの HSP 距離を分子体積で割ったものを保持時間に対してプロット(図10)すると、No2 Primidone を除いて良好な相関があることが理解できる。Primidone が異常値を取る理由は明らかではないが、 dH の計算値が低いいため、より疎水的(固定相

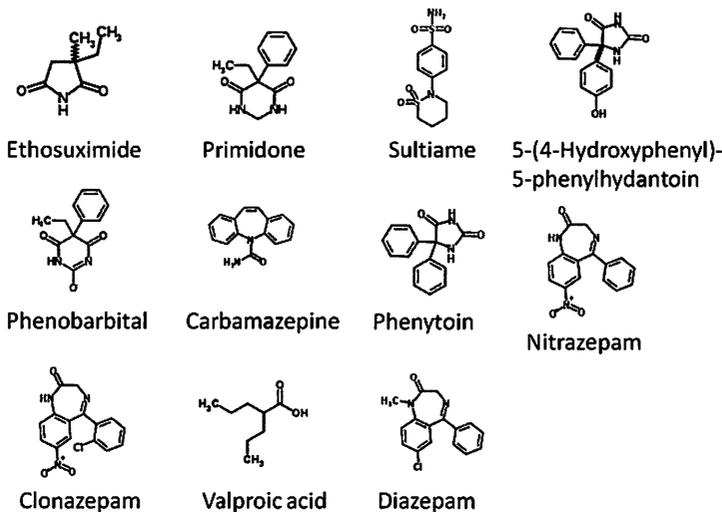


図9 抗てんかん薬の構造

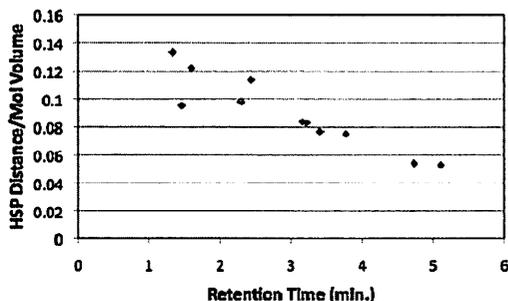


図10 固定相からのHSP 距離(分子体積補正)と保持時間の相関

に溶解しやすい」という計算結果になったと考えられる。

3.3 応用

先に示した酸化防止剤の HPLC 分析で、No.2

THBP と No.3 TBHQ は保持時間がかなり近い。この差を広げるには、一般的にはカラムを長くする、流速を調整するなどの工夫がされる。HSP の“似たベクトルは似たベクトルを溶かす”という原理に従えば、固定相との相互作用は ODS カラムを使う限り同じ溶解度になってしまうが、溶離液を工夫する余地は残っている。

つまり、溶離液として片方のベクトルに近く、もう片方からは遠いものを選べば、HSP の効果が最大になる(図11)。この場合では、THBP の保持時間を短く、TBHQ の保持時間を長くするのであれば、[18.1, 8.8, 20.6]の溶媒を使えば良いことが分かる。逆の場合は[16.9,6.4,13.7]の溶媒を用いれば良い。[18.1, 8.8, 20.6]や[16.9, 6.4, 13.7]といった HSP の溶媒を混合溶媒から作るに

表2 抗てんかん薬の HSP 値(HSPiP ver. 3 計算値)

Name	CAS#	RT	dD	dP	dH	Volume
1 ethosuximide	77-67-8	1.329	17.8	13.6	10.6	130.8
2 primidone	125-33-7	1.458	19.8	13.6	7.5	178.2
3 sultiame	61-56-3	1.596	20.6	19.3	10.7	193.2
4 5-(4-Hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin	2784-27-2	2.295	20.7	12.4	13.6	207.6
5 phenobarbital	57-30-7	2.436	19.9	16.4	10.4	181.3
6 carbamazepine	85756-57-6	3.155	20.9	10.4	7.9	189.5
7 phenytoin	57-41-0	3.216	20.7	11.4	9.1	203.9
8 Nitrazepam		3.403	21.4	12.3	1.4	206.5
9 Clonazepam		3.768	21.4	12.9	1.8	218.9
10 Valproic acid		4.732	15.9	4.0	7.6	159.8
11 Diazepam	53320-84-6	5.104	20.5	8.4	1.5	222.0

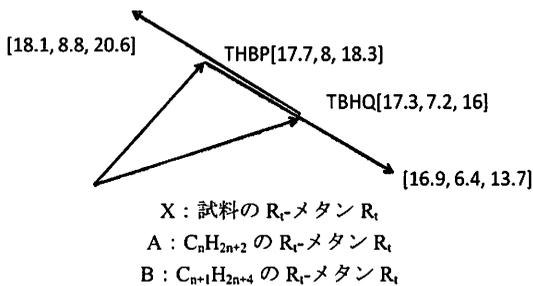


図11 最適溶離液の設計指針

は、HSPiP の“Solvent Optimizer” という機能を使う。これは、目標とする HSP を入れて計算ボタンを押すだけで、どの溶媒をどんな比率で使ったら良いのか、たちどころに計算する。

4. GC 分析

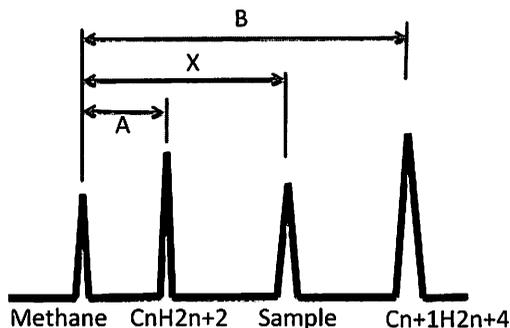
4. 1 GC のリテンション・インデックス (GCRI)

ガスクロマトグラム (GC) は、そのカラムの種類、カラムの長さ、オープン温度、インジェクション温度などさまざまな条件で、そのリテンション・タイム (RT) が変わってくる。そこで、炭素数の異なるノルマル・アルカンの RT との相対位置で化合物を評価する、GC リテンション・インデックス (RI) の考え方が生まれた (図12参照)。

化合物の沸点と GCRI をプロットすると図13に示すように、ほぼきれいな曲線関係があることがわかる。

そして、同じ沸点でありながら GCRI が変わる原因を、化合物のキャピラリー・カラムの液膜ポリマーへの溶解度であると考え (図2参照)。

そこで、ほぼ同じ沸点を持っていながら GCRI が異なる化合物を抜き出し、その化合物の HSP と GC 測定用カラム (DB-1) のコートポリマーの HSP の距離を、式(1)を用いて計算した。ただし、この場合、極性項 (dP) と水素結合項 (dH) だけの距離を使い、分散項 (dD) を無視した。これは、分散項 (dD) は分子の大きさと相関があり、沸点が同じような化合物は分散項 (dD) が似通っているため、通常の HSP 距離を取ると沸点との効果でダブルカウントになると考えられるためである。すべての温度領域で、距離の短い(極性がポリ



$$GCRI = 100 \cdot n + 100 \cdot (\log X - \log A) / (\log B - \log A)$$

図12 Kovats のリテンション・インデックス

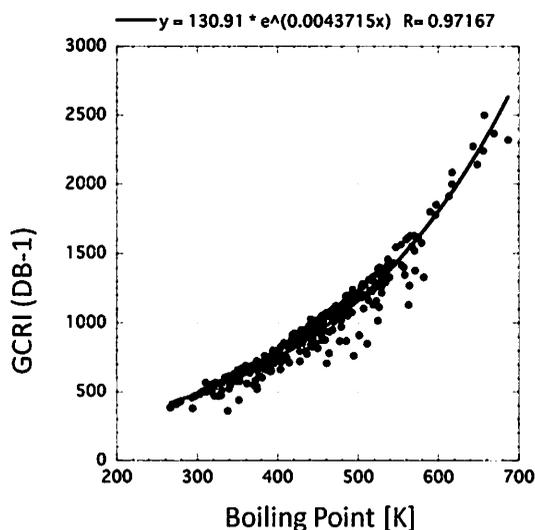


図13 GCRI と化合物の沸点の関係

ジメチルシロキサンに近く、溶解しやすい)ものは GCRI が長くなる (図14により明確になった)。

4. 2 応用例

連載第3回で紹介した、ICH 勧告の医薬品合成用溶媒、Class1,2 に属する溶媒のガスクロ分析結果⁴⁾を HSPiP を用いて解析した。この場合は、リテンション・インデックスではなくリテンション・タイムのデータだが、良好に予測できることが図15より明らかになった。最後の一点が外れる理由は、オープンの昇温が始まっており、通常よりも早く溶出してきたためである。

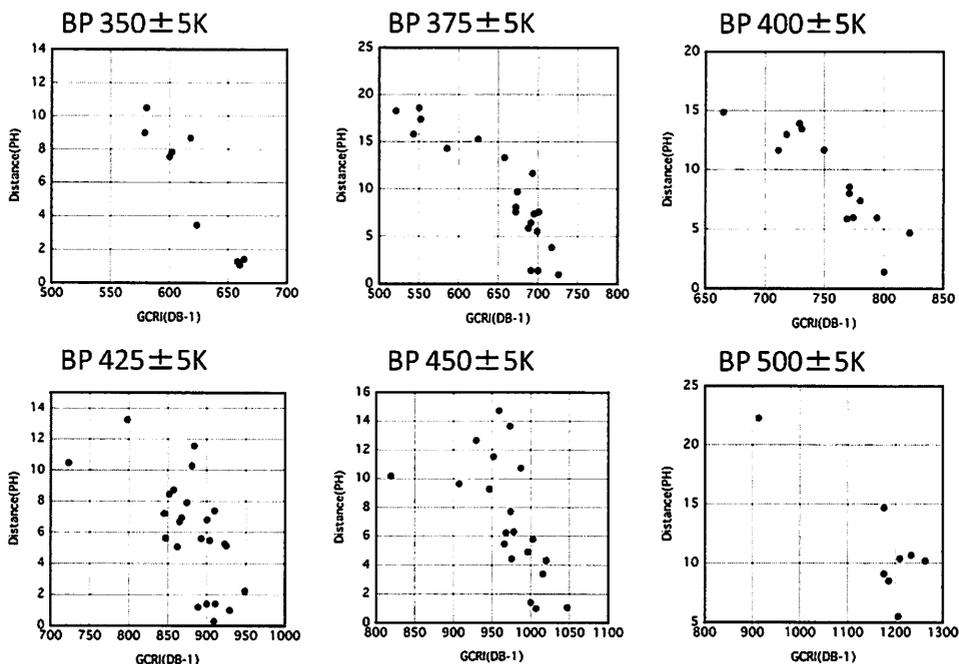


図14 HSP 距離(PH)と GCRi の相関関係

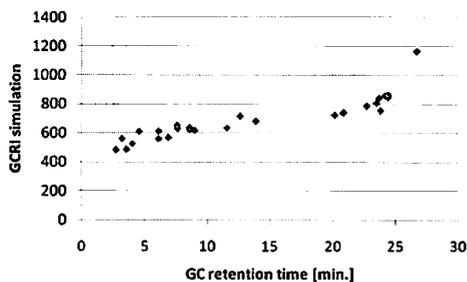


図15 医薬品合成用溶媒のガスクロ分析

5. 結 言

HSP 値を用いると、HPLC や GLC の保持時間

が非常に明快に理解できるようになることを示した。

このように化合物の溶解性が HSP 値で理解されると、例えば医薬品を液液抽出する場合の抽出溶媒の最適設計などに広く応用が可能であると考えられる。

文 献

- 1) GL Science Inc. LC Technical Note 64
- 2) HSPiP : Hansen Solubility Parameter in Practice. <http://www.hansen-solubility.com/>
- 3) 東ソー：テクニカルインフォメーション No.018 : TSKgel Super-ODS を用いた向精神薬の一斉分析
- 4) Agilent Technologies : アプリケーション