

二塩基酸エステルの高速液体クロマトグラフィー

—アジピン酸ベンジルの場合—

田 崎 美 智 子

Studies on High Performance Liquid Chromatography of Dibasic Acid Esters

— Adipic Acid —

Michiko TAZAKI

Abstract

High performance liquid chromatography (HPLC) is being applied to many analytical problems. It was described in this report, to apply HPLC to gain information on the esterification products of dicarboxylic acid. Adipic acid as the dicarboxylic acid was esterified with benzyl alcohol in benzene or toluene solvent in the presence of a few of p-toluenesulfonic acid. The water which was formed in the reaction was removed by azeotropic distillation and the mol variation of the benzyl alcohol in the reaction mixture was followed by the removed water.

After partial esterification, HPLC analysis of the reaction mixture gives the data from which unreacted benzyl alcohol, dibenzyl adipate and hydrogen benzyl adipate are calculated.

The recommended conditions for the chromatographic separation were as follows; column packing, octadecyl silica (Unisil C18); column size, 4.6 i.d. \times 250 mm; eluent, acetonitrile/water (70/30, vol/vol); detector, UV 254 nm.

緒 言

直鎖状炭化水素で両端の炭素がカルボキシル基で置換しているいわゆる α, ω -ジカルボン酸をエステル化する反応について検討する。

直鎖状炭化水素で両端の炭素に官能基が存在する物質は両方の基の反応性が同等なので一方を反応させただけで他方をフリーの状態に単離するのは困難である場合が多い。しかし酸無水物をアルコールでアルコールシスすれば、例えば無水コハク酸からはエチル水素コハク酸を得る。精製は蒸留で可能である。しかしこれはすべての二塩基酸のモノエステル生成に適用できるわけではないし、エチル水素コハク酸もそのものを放置しておくと、ジエチルエステルとコハク酸とに徐々に変化していった。

ジカルボン酸をフィッシャーの方法でエステル化する

場合、一方のカルボキシル基だけが反応した物質は反応の過程で存在するが、それは安定に存在しにくい物質が多い。反応途中でモノエステルがどのように生成し、それがどのようにジエステル化物に変わっていくかを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて検討したのがこの報告である。すでにコハク酸¹⁾、アゼライン酸²⁾はそのエチルエステル化の過程を検討してそれらについての知見を得ている。

本報告はこれらの結果を考慮して、HPLC を用いてデータを得るのにより好ましい物質として、ジカルボン酸にはアジピン酸 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$)₂ を、アルコールとしては芳香族系のベンジルアルコール ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OH}$) を使い、二物質のエステル生成を検討した。

芳香族系のベンジルアルコールおよびそのエステルは紫外部の波長吸収が顕著であるので、HPLC の検出器には紫外吸光度計を用い、設定波長は 254 nm とした。この波長では原料のアジピン酸はほとんど吸収をおこさない。

アジピン酸とベンジルアルコールをある条件下で反応させて、反応系全体でエステル基がどのくらい生成したかは共沸法により、生成した水を共沸用溶媒とともに系外へ留去させて測定する方法をとった。生成した水の量より系全体で生成したエステル基の量を知ることができる。この生成した水の量がわかっているときに、モノエステルとジエステルがどんな割合で系内に生成しているかは HPLC の分析により、クロマトグラム上にあらわれるピークを測定して定量化する方法をとった。

これらのデータを検討の結果、アジピン酸をベンジルアルコールでエステル化する反応で、ある条件下では、モノエステルがジエステルより、より多く (モル比) 存在するときがあるが、この割合は時間の経過とともに変化し、モノエステルはジエステルへと変っていく。

実験の部

1. 試薬

アセトニトリル, HLC grade, 和光純薬株式会社製
純水, イオン交換水をガラス容器で蒸留, アセトニトリルと混合して溶離剤に使用

アジピン酸, 和光純薬株式会社製, 一級, mp 151~152°C

ベンジルアルコール, 関東化学株式会社製

ベンゼン, 和光純薬株式会社製, 試薬一級

トルエン, 関東化学株式会社製

p-トルエンスルホン酸, 関東化学株式会社製

2. 高速液体クロマトグラフ

モデル 502-2B 型 (ガスクロ工業株式会社) 検出器は紫外吸光度計を用いた。

3. 分離管

ガスクロ工業株式会社製充てんカラムを用いた。充てん剤は Unisil C18 (平均粒径 10 μ) でカラムの大きさは 4.6 i.d. \times 250 mm である。この充てん剤はシリカゲルにオクタデシル基を化学結合させた ODS-シリカといわれているもので、HPLC の対象となる物質の 80% までは、この種の充てん剤で分析が可能であるといわれている。

4. 溶離剤

アセトニトリルと水を体積比で 70 : 30 の割合で混合したものを脱気して用いた。

5. 検量線

ベンジルアルコールとジベンジルアジペートは標準と

なる物質を用いて、これらを適当量づつ混合してアセトニトリルの一定量に溶かした。このときの内部標準物質としてはベンジルアルコールを用いた。これを一定量とり HPLC カラムに注入しクロマトグラムを得て、試料の混合比 (モル比) とこのクロマトグラム上の両物質のピークの高さの比を求める。これをグラフ上にプロットして検量線とする。Fig. 1 のようなほぼ傾きが 1 の直線がえられた。

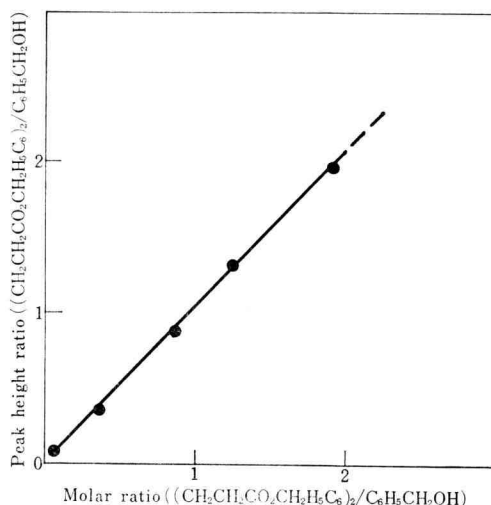


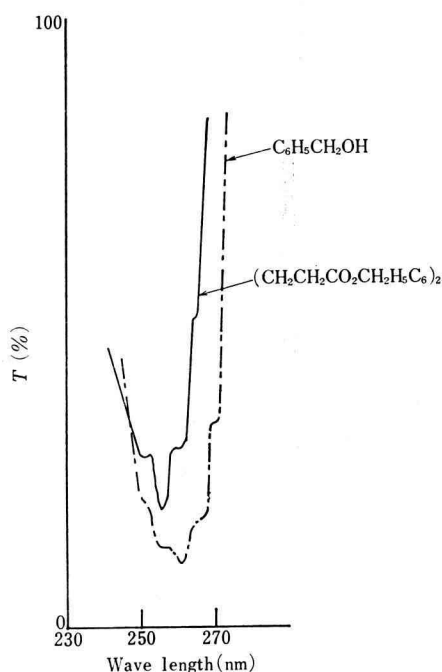
Fig. 1 Calibration plots of benzyl alcohol and dibenzyl adipate

6. 方法

ベンジルアルコールとアジピン酸および他の試薬を Table 1 のようにあらかじめ混合して、Dean-Stark 水分離管²⁾をつけた三つ口フラスコに入れる。それぞれの溶剤の沸点で還流させる。反応により生成する水はトルエン、ベンゼンと共沸することにより系外へ除去される。一定時間ごとにこの生成する水の量を測定した。同時に系内の一部を試料として採取してすぐにアセトニトリルに溶かす。これの一定量を HPLC にて分析しクロマトグラムを得た。ベンジルアルコール、ジベンジルアジペートの紫外部の波長の吸収は Fig. 2 に示すスペクトルのようになった。254 nm に検出器の波長を設定しておけば、生成するベンジルエステル、未反応のベンジルアルコールおよび溶媒のピークのクロマトグラムがえられる。実験番号 3 の試料採取時におけるクロマトグラムを Fig. 3-1, 3-2, 3-3, 3-4, 3-5 に示す。Fig. 3-1 から順に反応が進んでいく過程がわかる。これらのクロマトグ

Table 1 Experimental conditions

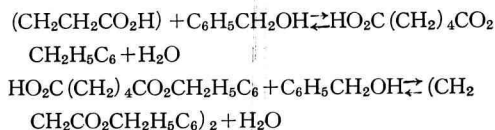
Run no.	Materials					Condition
	$(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2$ g (mol)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OH}$ g (mol)	p-TSA g	C_6H_6	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ ml	Temp. °C
1	14.6 (0.1)	21.6 (0.2)	0.2	40		reflux (80°C)
2	14.6 (0.1)	43.2 (0.4)	0.2	80		"
3	14.6 (0.1)	21.6 (0.2)	0.2	80		"
4	14.6 (0.1)	10.8 (0.1)	0.2	80		"
5	14.6 (0.1)	21.6 (0.2)	0.2	80	80	reflux (110°C)

Fig. 2 UV spectra of benzyl alcohol and dibenzyl adipate (CH_3OH soln)

ラムからそれぞれの試料採取時の反応混合物中に存在している成分の変化を求めて図示すると、Fig. 4-2 のごとくなる。

すなわち、生成した水の量がわかっているときの試料より任意量を採取する。適当の濃度にアセトニトリルで希釈する。それを HPLC 用の注入試料とする。HPLC でクロマトグラムを得て、そのクロマトグラムの中でベンジルアルコールとジベンジルアジペートのピークの高さの比を求める。この値と検量線とから反応系内全体のその条件下 (試料採取時) で、未反応のベンジルアルコ

ールと反応により生成したジベンジルアジペートの量の比を知る。そして反応にあづかったベンジルアルコールの絶対量が生成した水の量からわかっているから、その絶対量からジベンジルアジペートの生成に寄与しているベンジルアルコールを減じた残りがモノベンジルアジペートの生成に関与しているとみることが出来る。これを計算により求めた。この計算の根拠になっている反応は次式に示すようである。



結果および考察

脂肪族の直鎖状炭化水素で両端にカルボキシル基を含んでいる二塩基酸に求核的試薬を用いて反応を行なわせる場合、エステル化もその一つであるが、反応は一塩基酸と同様に進行するが、カルボキシル基間の C 数の影響でその進む状態は段階的⁴⁾である。両端の反応基がどのように個々に関与していくかについての具体的な報告はみあたらない。エステル化反応に限らずこの種の反応はどれも同じように進行するだろうことは推定できる。

モノベンジルアジペートの生成、その利用についての文献⁵⁾は多くみあたらない。ジベンジルアジペートについては、それが高分子化合物の可塑剤として使われるような実用面があることより、かなり多くの報告⁶⁾に接することができる。

本報では二塩基酸 (アジピン酸) に p-トルエンスルホン酸を触媒として加えて、ベンジルアルコールと脱水反応をさせてエステル結合を得るフィッシャー法によるエステル生成の過程を HPLC の助けで検討を試みた。

このエステル化反応で生成した反応物は、それぞれを単離したりあるいはある種の誘導体を経たりしないで、

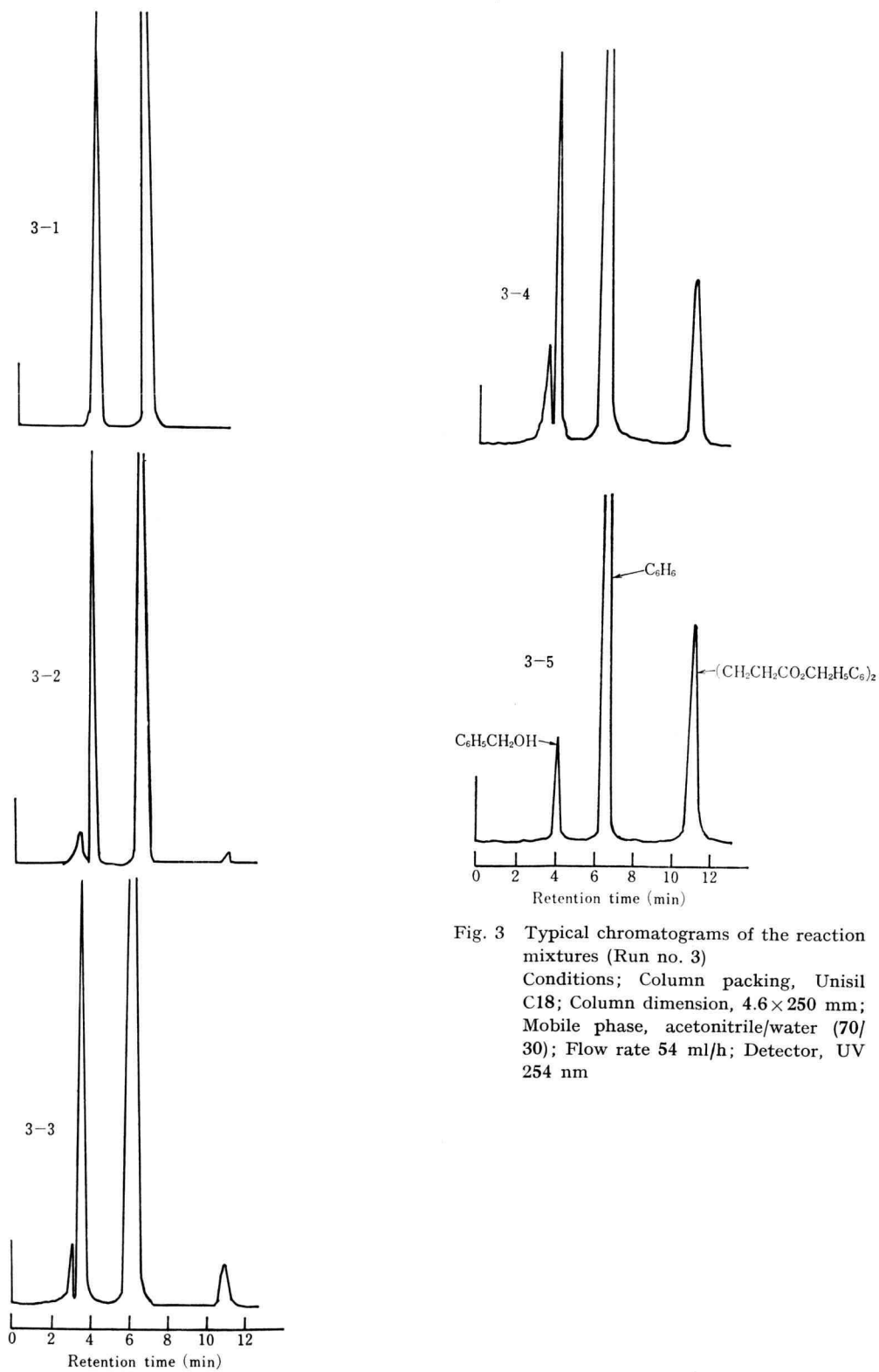


Fig. 3 Typical chromatograms of the reaction mixtures (Run no. 3)
 Conditions; Column packing, Unisil C18; Column dimension, 4.6×250 mm;
 Mobile phase, acetonitrile/water (70/30); Flow rate 54 ml/h; Detector, UV 254 nm

この反応の中間の混合物を採取して、その HPLC によるクロマトグラムを得て、そのクロマトグラムを分析することでそれぞれの反応の進行の状態を求めた。Table 1 に示した条件で行なったときの反応経過を HPLC のクロマトグラムの分析により求めるとそれぞれの反応経過で、水の生成量、ジベンジルアジペートの量そしてモノベンジルアジペートの量の変化は Fig. 4 の一連の図に示すようになった。

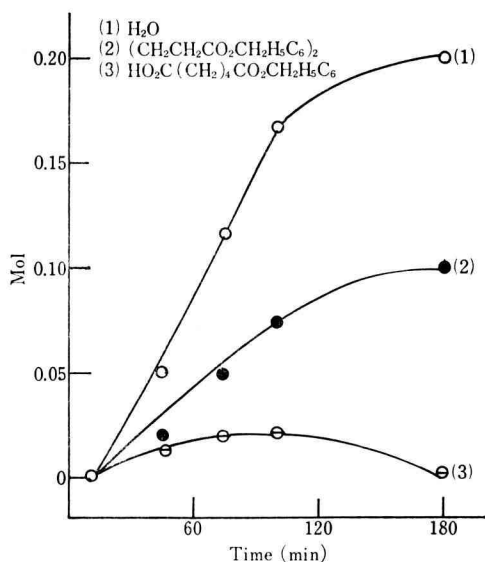


Fig. 4-1 Relationships between time and products (Run no. 2)

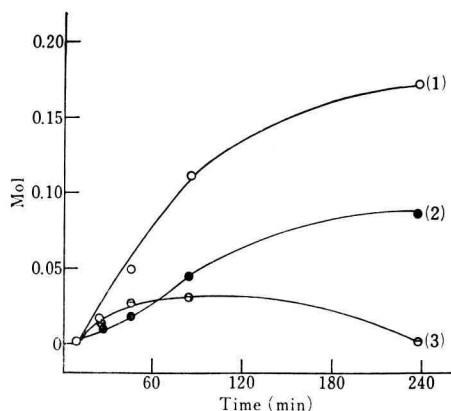


Fig. 4-2 Relationships between time and products (Run no. 3).
(1), (2), (3); same as Fig. 4-1

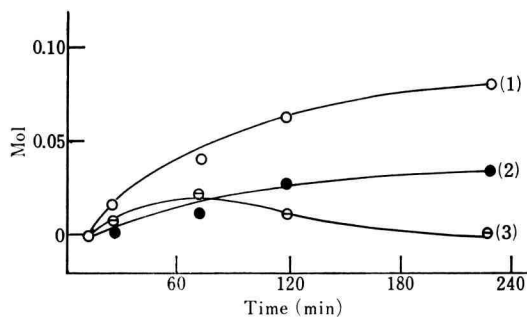


Fig. 4-3 Relationships between time and products (Run no. 4)
(1), (2), (3); same as Fig. 4-1

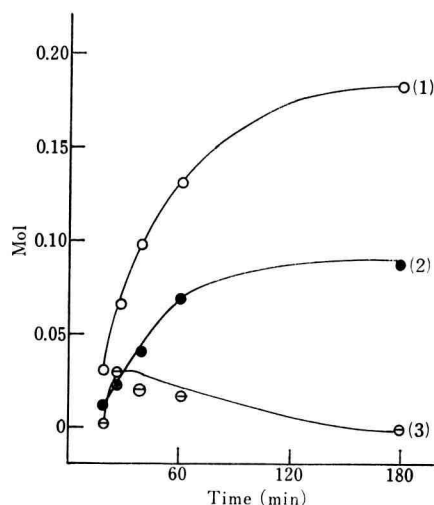


Fig. 4-4 Relationships between time and products (Run no. 5)
(1), (2), (3); same as Fig. 4-1

酸とアルコールのモル比が 1:1 である実験番号 4 をみると、共沸によって系外に留出する水の量が計算量に達していなかった。またクロマトグラム上にも未反応のベンジルアルコールのピークが現れていた。そして生成するエステルはほとんどジエステルとなっていた (Fig. 4-3)。酸とアルコールのモル比が 1:2 の場合は、途中経過にモノエステルの生成が同じようにみられるが、最終的にはすべてジベンジルアジペートとなってしまった。溶剤がベンゼンの場合、その量の違いは反応に影響する。実験番号 1 の場合はベンゼンの沸点で反応系が均一液にならなかった。したがって HPLC 用に好ましい

Table 2 Retention time (Rt), HETP and theoretical plate (TP) of $C_6H_5CH_2OH$ and C_6H_6 according to the different eluents

Materials	Eluents					
	CH ₃ OH			CH ₃ CN/H ₂ O (70/30)		
	Rt ^{a)}	HETP ^{b)}	TP ^{c)}	Rt ^{a)}	HETP ^{b)}	TP ^{c)}
C_6H_6	4.0	1.0	256	6.8	0.24	1024
$C_5H_5CH_2OH$	2.7	1.7	144	4.0	0.39	640

a) min, b) mm, c) Unisil C18 25 cm

試料の採取が困難であった。ベンゼンとトルエンとの違いは Fig. 4-2 と Fig. 4-4 に示す通りであった。

HPLC の充てん剤に ODS-シリカ (Unisil C18) を用いてベンジルアルコールとベンゼンを分析した結果について HETP と理論段数を求めて Table 2 に示す。溶離剤がメタノール 100% のものとアセトニトリル/水 (70/30, vol/vol) の混合溶剤の場合について比較してその値を求めたものである。Table 2 より Unisil C18 のカラムで分析を試みる場合の溶剤は、この場合はアセトニトリルと水の混合溶剤の方が適していることがわかる。

有機化合物の合成に HPLC を用いてその反応過程を追跡したものに、C. E. Dunlap⁷⁾ が 3-ニトロ-4-フルオロフェニルアジドがヒドラジンと反応して生成する物質についてのものがある。またカルボキシル基のエステル化反応については、GC (ガスクロマトグラフィー) を利用して、P. J. Sniegoski⁸⁾ による報告がある。GC は HPLC にくらべれば歴史が長く、データの集積も多いが、試料が気化しにくい物質については利用できない。ジベンジルアジペートのような不揮発性の物質をあつかうことはできない。

HPLC である種の反応過程を検討するには、それらが反応して生成する物質、反応しないで残っている物質を効率よく分離してくれるカラム充てん剤を用いなければならない。Unisil C18 はベンジルアルコール、ジベンジルアジペートそして溶媒のベンゼンなどをアセトニトリルと水の混合溶離剤で比較的好く分離した。分離された物質は 254 nm の紫外部の波長で検出できた。

ま と め

一般にカルボキシル基を直接エステル化する反応は酸触媒で行なわれる場合が多く、その反応の速度は酸あるいはアルコールの立体障害の影響を受けることが多い。

本報では、酸としては炭素数が 6 ケの直鎖状の物質であるアジピン酸を用い、芳香族アルコールの代表的なものの一つであるベンジルアルコールを使って二塩基酸のエステル化の反応を検討した。

酸とアルコールのモル比が 1:1, 1:2 のいずれの場合も、共沸法によって生成する水を系外に除去する方法では、生成するエステルは比較的早くジエステルの方が多くなってしまふ。終結点で存在するエステルはジエステルだけである。

これらの反応経過は、反応により生成するそれぞれの成分を分離して、それぞれを分析する方法ではなく、反応系の混合物のままの成分比を HPLC によるクロマトグラムで求めて追跡した。

HPLC の分析条件は、カラム充てん剤が ODS-シリカ (Unisil C18) で、平均粒子径は 10 μ のものであり、溶離剤はアセトニトリルと水との体積比が 70:30 のものであった。検出器は紫外吸光光度計でその検出波長は 254 nm であった。

生成する水の量を測定しながら、モノエステルがジエステルへと変化していく量的関係が時間的に明らかとなった。

おわりに終始あたたかい御教示をして下さいました芳崎徳蔵教授に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 田崎, 幾徳工大研究紀要, No B-3 (1978).
- 2) 芳崎, 田崎, 幾徳工大研究紀要, No B-4 (1979).
- 3) S. Nalelson, S. Gottfried, *Org. Synth., coll. vol. III*, 381 (1955).
- 4) 井本ら編, 大有機化学 4, p 317, 朝倉書店 (1959) など
- 5) CA, **79**, 28228k (1973).

- 6) 1970年代のものでは
CA, **86**, 156398x (1977);
CA, **84**, 74990d (1976);
CA, **83**, 130690z (1975);
CA, **82**, 16502u (1975);
CA, **81**, 78556c (1974);
- CA, **74**, 7632u (1971).
- 7) C.E. Dunlap, *J. Chromatogr. Sci.*, **16**, 235 (1978).
- 8) P.J. Sniegoski, *J. Chromatogr. Sci.*, **16**, 19 (1978).