

博士論文

高速液体クロマトグラフィーによる
金属イオン分離のための
ヘテロ環アゾ化合物の開発

2009年

安井孝志

名古屋工業大学博士論文

乙第254号(論文提出による)

平成21年3月16日授与

目次

| | |
|--|----|
| 第1章 序論 | |
| 1-1 微量金属イオンの定量 | 1 |
| 1-2 有機呈色試薬 | 1 |
| 1-3 ヘテロ環アゾ化合物 | 3 |
| 1-4 逆相高速液体クロマトグラフィー | 4 |
| 1-5 金属イオンの誘導体化 | 5 |
| 1-6 プレカラム誘導体化法へのヘテロ環アゾ化合物の応用 | 8 |
| 1-7 キレーション-イオンクロマトグラフィー | 10 |
| 1-8 本研究の目的と概要 | 11 |
| 1-9 参考文献 | 14 |
| 第2章 試薬および金属錯体の特性 | |
| 2-1 試薬 | 20 |
| 2-1-1 ヘテロ環アゾ化合物の合成 | 20 |
| 2-1-2 酸解離定数 | 25 |
| 2-1-3 ケト-エノール互変異性 | 27 |
| 2-1-4 金属イオンの抽出挙動 | 34 |
| 2-2 金属錯体 | 36 |
| 2-2-1 酸化還元電位 | 36 |
| 2-2-2 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル | 38 |
| 2-3 参考文献 | 39 |
| 第3章 1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール錯体の逆相 HPLC 挙動 | |
| 3-1 緒言 | 40 |
| 3-2 実験 | 40 |
| 3-3 結果および考察 | 41 |
| 3-4 結論 | 48 |
| 3-5 参考文献 | 48 |
| 第4章 銅, コバルト錯陽イオンのイオン対生成 | |
| 4-1 ピリジルアゾ化合物陽イオン性コバルト(III)錯体のイオン対抽出における イオン対生成定数とイオン対分配定数の決定 | |
| 4-1-1 緒言 | 49 |
| 4-1-2 実験 | 50 |
| 4-1-3 結果および考察 | 51 |
| 4-1-4 結論 | 56 |
| 4-1-5 参考文献 | 57 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 4-2 | ヘテロ環アゾ化合物の配位不飽和な銅(II)錯体のイオン対生成に対する電荷の影響 | |
| 4-2-1 | 緒言 | 58 |
| 4-2-2 | 実験 | 58 |
| 4-2-3 | 結果および考察 | 61 |
| 4-2-4 | 結論 | 66 |
| 4-2-5 | 参考文献 | 67 |
| | | |
| 第5章 | 鉄, コバルト錯体の酸化還元電位と HPLC 挙動 | |
| 5-1 | 緒言 | 68 |
| 5-2 | 実験 | 69 |
| 5-3 | 結果および考察 | 71 |
| 5-4 | 結論 | 79 |
| 5-5 | 参考文献 | 80 |
| | | |
| 第6章 | 鉄, ニッケル中性錯体の分離に及ぼすヘテロ環効果 | |
| 6-1 | 緒言 | 82 |
| 6-2 | 実験 | 83 |
| 6-3 | 結果および考察 | 84 |
| 6-4 | 結論 | 92 |
| 6-5 | 参考文献 | 92 |
| | | |
| 第7章 | 長鎖アルキル基を有する二座および三座ヘテロ環アゾ化合物の金属イオンの イオンクロマトグラフィー用コート試薬としての利用 | |
| 7-1 | 緒言 | 94 |
| 7-2 | 実験 | 94 |
| 7-3 | 結果および考察 | 97 |
| 7-4 | 結論 | 102 |
| 7-5 | 参考文献 | 102 |
| | | |
| 第8章 | 結語 | 104 |
| | | |
| | 謝辞 | 110 |
| | | |
| | 本論文に関わる発表論文 | 111 |

第1章 序論

1-1 微量金属イオンの定量

現在、微量元素の分光学的分析法として、誘導結合プラズマ発光分光法 (ICP-AES)、X線マイクロアナライザー (EPMA)、蛍光X線分光法 (XRFS)、原子吸光分光法 (AAS) などの手法が広く利用されている。しかしながら、これらの装置の多くは非常に高価であり、日々のメンテナンスにかかるコストも高い。また、装置固有の様々なタイプの干渉を受けることがあるため、熟練した技術を必要とする場合が多い。

一方、可視分光光度法は、装置が比較的安価であり、測定結果の再現性もよく、操作も簡単である。また、分析対象物質のモル吸光係数(ϵ)が高い場合は、他の機器分析法に比べても十分高感度な検出が可能である。可視分光光度法の応用範囲はきわめて広く、工業用水試験法 (JIS-K0101)、工場排水試験法 (JIS-K0102)、食品分析法などの公定法や臨床検査において、数多くの項目の測定法として定められている。

1-2 有機呈色試薬

無機比色分析法がカバーしてきたかなりの部分を上述の機器分光法が肩代わりした現在においても、比色分析法の重要性は失われていない。今でも新しい有機試薬の合成に力が注がれており、すぐれた呈色試薬が報告されている。有機試薬の特徴は、特異性 (specific)、選択性 (selective)、鋭敏性 (sensitive) の3つにあるとされている。しかしながら、これらの優れた諸性質を併せ持つ有機試薬の発見は、多くの経験則と理論的解明が試みられている現在でも容易なことではない。また、もし理想の試薬の設計が論理的に可能であったとしても、合成の難しさとコストが問題となることが多い。

吸光光度法を高速液体クロマトグラフィー等の分離技術と組み合わせる場合、新しい有機試薬開発の指針として、選択性を考慮する必要はなくなる。むしろ、多くの金属イオンと反応する非選択的な試薬が望まれる。一方、鋭敏性については、1-1 で述べたように、

微量金属の定量に対しては、できるだけ大きなモル吸光係数を与える呈色試薬を選択する必要がある。

光吸収に関するランベルト・ベールの法則

$$\log(I_0/I) = \epsilon cl \quad (1)$$

におけるモル吸光係数 (ϵ) の意味は、そのディメンジョン $L^2 M^{-1}$ ($M = [\text{mass}], L = [\text{length}]$) から光吸収に関係する呈色化学種の面積吸収係数と考えられる。 ϵ は Braude らの考察をもとにして近似的に次の式で表される¹。

$$\epsilon \approx 10^4 Pa \quad (2)$$

ここで、 a は分子の断面積 (\AA)、 P は呈色化学種に含まれる電子が光のエネルギーを吸収して遷移する確率である。今、 $a = 10 \text{\AA}^2$ の分子の場合、式 (2) は $\epsilon \approx 10^5 P$ となる。一方、金属錯体の電子スペクトルに関する遷移は、遷移金属イオン内での励起による d-d または f-f 遷移、共役二重結合をもつ多くの呈色試薬にみられる配位子内の $\pi - \pi^*$ 遷移および金属-配位子間の電荷移動による遷移に大別される。d-d および f-f 遷移は禁制遷移で、後二者は許容遷移である。禁制遷移のように低い遷移確率 ($P = 0.01$ 以下) の場合は、 $\epsilon \sim 10^3$ と小さく、 $\pi - \pi^*$ 遷移に基づく許容遷移のように高い遷移確率 ($P \approx 1$) では、 $\epsilon \sim 10^5$ となる。

一般に有機化合物では、共役系が長くなると吸収強度が増加し、その強さには、大きな双極子能率をもった構造、分子の主要な共鳴構造において種々の位置を占めるイオン電荷、電子対をもつ助色団によって得られる電子移動効果などが関与する。また、錯体のモル吸光係数 (ϵ) は配位子の数に比例するため、高次錯体ほど大きくなる。例えば、1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (β -PAN: HL) の銅錯体の場合、 $[\text{CuL}]^+$ では、 $\epsilon = 2.1 \times 10^4 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 、 $[\text{CuL}_2]$ では、 $\epsilon = 4.4 \times 10^4 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ となり、約 2 倍になる。

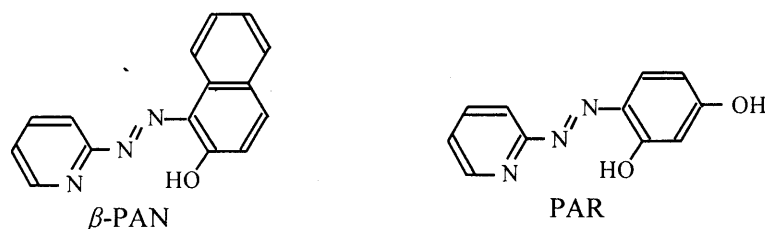
分子断面積の大きな試薬としてヘテロ環をもつ試薬が次々に合成され、アゾ化合物、ニトロソ化合物、フェナントロリン誘導体、ポルフィリン誘導体そしてヒドラゾン化合物などが微量金属の吸光光度定量試薬として検討され、現在に至っている。

1-3 ヘテロ環アゾ化合物

1955年に K. L. Cheng らによって、1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (β -PAN) が分析試薬として紹介されて以来², 数多くのヘテロ環を有する *o*-ヒドロキシアゾ化合物が合成され用いられてきた。これらの試薬は一般にヘテロ環の窒素原子, アゾ基の窒素原子とフェノールやナフトールのヒドロキシル基の酸素原子とで配位する *N,N,O*-三座配位子として働き, アルカリおよびアルカリ土類金属を除く多くの金属イオンと安定な錯体を形成する。錯体のモル吸光係数は $10^4 \sim 10^5 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ と非常に大きい。また, 試薬自身とは異なる波長領域に吸収をもつことが多いため, 測定の際に試薬ブランクの影響が少ないという利点をもつ。

ピリジルアゾ化合物の構造とその比色試薬としての機能に関する研究は, 主として日本の研究者を中心に行われてきた。現在, 同仁化学研究所(熊本)から入手できる *o*-ヒドロキシヘテロ環アゾ化合物は, 以下のようになっている。

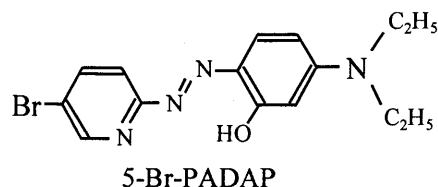
① β -PAN, PAR



β -PAN は上述のように, 最初に分析試薬として報告された, 最も代表的なヘテロ環アゾ化合物である。本論文においては, この化合物の挙動を常に基準としている。また, PAR は 1959年に紹介され³, β -PAN と並んで最も広く使用されている化合物である。アゾ基の *p*-位にあるヒドロキシル基の解離により, 錯体は通常, 陰イオンとなる。

② 5-Br-PADAP, 5-Cl-PADAP, 3,5-DiBr-PADAP, 5-Br-PAPS, Nitro-PAPS

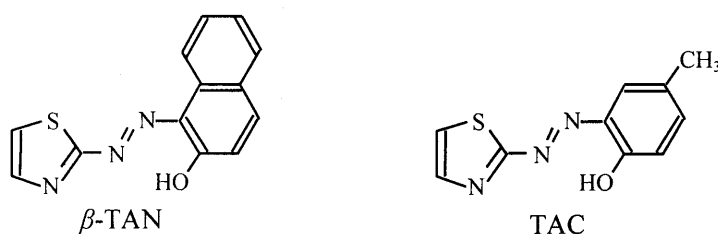
例として, 5-Br-PADAP の構造式を下に示す.



これらの一群は β -PAN と同じピリジルアゾ誘導体であるが, アゾ基の *p*-位にアルキルアミノ基を有しており, 錯体が charged quinoid 構造をとるため, モル吸光係数が 1-2 で示した理論最大値 $10^5 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ を超える場合がある. 微量金属イオンの分析に対する応用例も多い⁴⁻⁷. 本論文において, 第 5 章でこの類縁体を評価しており, 錯体構造についても記述してある. なお, 本化合物群に含まれる PAPS 誘導体とは, 5-Br-PADAP のエチル基の代わりにスルホプロピルアミノ基を導入し, 水溶化したものである.

③ TAN, TAR, TAC, TAM

例として, TAN および TAR の構造式を下に示す.



これらのチアゾリルアゾ誘導体は, ピリジルアゾ誘導体に比べて錯体の安定度定数が小さい. また, 錯体が置換活性であるため, 滴定指示薬としては非常に有用である. 金属イオンの比色分析においては, 選択性を重視する目的で使用されることが多い.

以上示したように, 現在市販されている *o*-ヒドロキシヘテロ環アゾ化合物は種類が限られており, 化合物の構造とその金属錯体の高速液体クロマトグラフ (HPLC) 挙動の関係を系統的に把握するためには, 過去の報告から HPLC 分離に関する情報を得ると共に, 必要な化合物を新規に合成する必要がある.

1-4 逆相高速液体クロマトグラフィー

液体クロマトグラフィー (LC) は古くから有機化合物の分取に広く用いられてきたが、近年、安定性の高い微粒子状充填剤の開発ならびに化学結合型充填剤の導入、さらには高性能な装置の開発により著しい発展を遂げた。現在では、LC といえば、通常、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を指す。HPLC は、化学、環境、医薬等の様々な分野で、欠くことのできない分離技術として確固たる地位を築いている。

分離に関与する作用には、疎水性相互作用、イオン交換、サイズ排除等、様々なものがあるが、疎水性相互作用に基づく系が非極性あるいは極性の低い化合物の分離に対して広く用いられている。疎水性相互作用の分離様式は、固定相と移動相の組み合わせにより 2 つのモード、順相モード (normal-phase: NP) と逆相モード (reversed-phase: RP) に分けることができる。順相モードでは、固定相の極性が移動相の極性よりも高く、多くの場合、固定相にシリカゲルを、移動相にヘキサンあるいはクロロホルムなどの有機溶媒を用いる。この方法は有機化合物の分取などに用いられるが、固定相の安定性がよくない上に、分離効率もそれほど高くないため、現在では分析用途にはあまり用いられていない。これに対して、逆相モードでは、固定相の極性が移動相の極性よりも低く、通常、固定相としてオクタデシルシランを代表とするアルキルシランを化学修飾したシリカゲルを、移動相として水とアセトニトリルあるいはメタノールなどの混合溶媒を用いる。アルキル基結合型シリカゲルは非常に安定で、高い分離効率が得られる。現在では、逆相高速液体クロマトグラフィー (RP-HPLC) は最もよく利用されるクロマトグラフ系となっている。

RP-HPLC のもう 1 つの利点は、移動相として水系を用いるために、種々の塩を添加できることにある。したがって、イオン性化合物に対しても、イオン会合などの二次的な反応を用いることで、逆相固定相への分配が可能となる、この逆相イオン対クロマトグラフィー (RP-IP-HPLC) は、イオン交換体を固定相とするイオンクロマトグラフィーと同様にイオン性物質の分離に広く用いられている。

1-5 金属イオンの誘導体化

HPLC の検出部の一つとして紫外可視検出器が広く用いられており、特に溶質が可視領域に吸収を持つ場合、紫外領域に吸収を有する移動相の有機溶媒あるいは添加塩によるバ

ックグラウンド吸収による干渉がなく、高感度な検出が可能となる。また、近年ではフォトダイオードアレイを用いた検出器により、ピークの吸収スペクトルをモニターできることから、保持時間のみではなくスペクトルからも試料を同定することが可能となった。このことは、目的物質の同定を確実にするとともに定量操作を著しく軽減させる。

紫外可視検出器を用いるにあたり、金属イオンは、HPLC システムにおける流れの中で、呈色試薬により高感度な錯体に誘導体化される必要がある。分離カラムを基準にしてどの位置で誘導体化が行われるかにより、以下の 3 種類の誘導体化法が提案されている。

(1) ポストカラム法

システムに注入された金属イオンがカラムで分離されたのち、別の流路から導入された呈色試薬と混合されることにより、検出器の直前で錯体を形成し、検出器に導かれ順次検出される。本研究においても、プレコートカラムを評価する際、亜鉛、カドミウム、マンガンを検出は、この方法で行っている (第 7 章)。Fig. 1-1 に用いたクロマトシステムの概略を示す。本系では、分離カラムから溶出した金属イオンを呈色させるために、呈色試薬として TAR を用いている。

ポストカラム法は、すでに確立されている分離系、例えばイオンクロマトグラフィーに対して、独立に最適化した検出系を組み合わせることにより、容易に分離検出システムが構築できる利点を有する。誘導体化試薬は、微量金属イオンを発色させる役割だけを担えばよいことになる。しかしながら、この方法は、移動相、すなわち分離をおこなう流路と呈色試薬の流路を混合する装置が必要であり、系が複雑になるという欠点をもつ。また、呈色試薬によるバックグラウンド吸収が金属錯体のピーク面積の再現性を低下させることもある。

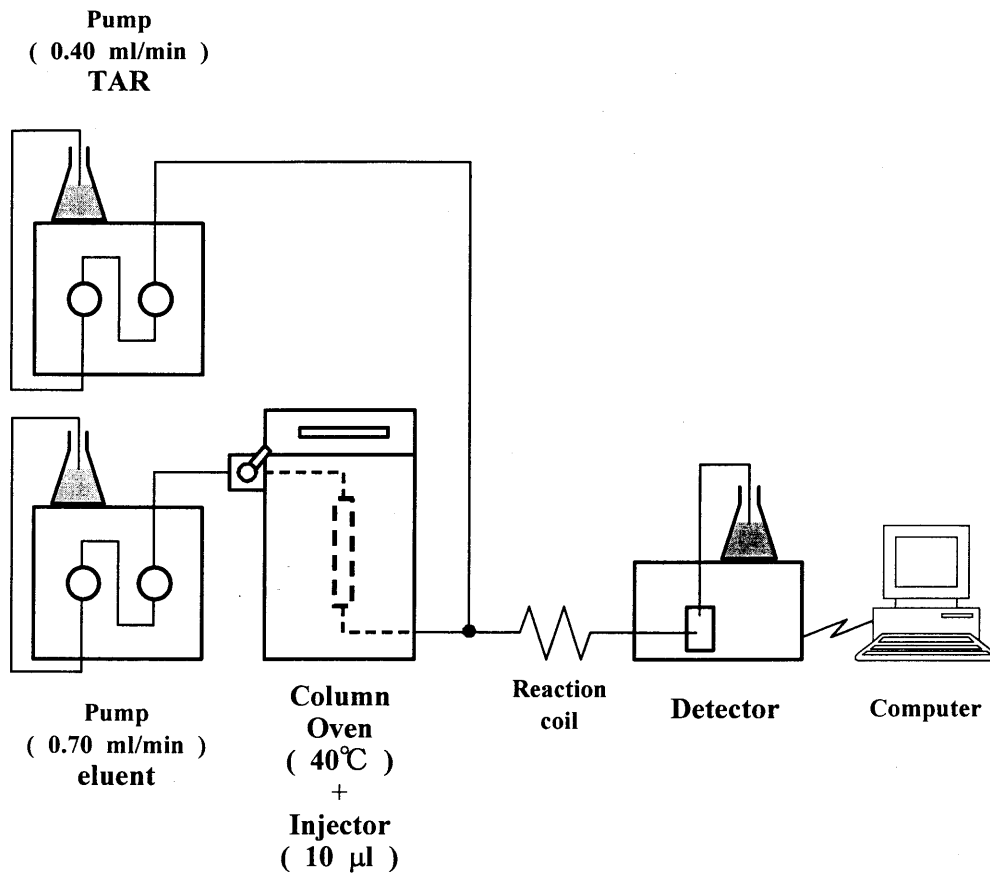


Fig. 1-1 Chromatographic system (Post-column derivatization)

(2) オンカラム法

金属イオンがそのままシステムに注入される点で (1) のポストカラム法と同じであるが、移動相に添加された呈色試薬とカラム中で錯形成が行われ、生成した錯体はカラムで分離され、検出器に導かれ順次検出される。オンカラム法では、Fig. 1 の呈色試薬用のポンプは不要であるため、ポストカラム法に比べ流路が 1 つでよいために系が単純となる利点を有する。一方で、金属イオンが錯体としてカラムで分離されるため、呈色試薬は、金属イオンを発色させる目的以外に、金属イオンの分離に対しても効果的に作用する能力を有する必要がある。なお、錯形成速度の差が利用出来る場合には、本系は非常に有効な手段と

なり得る。

(3) プレカラム法

ポストカラム法およびオンカラム法とは異なり、システムに注入する前に金属イオンを過剰の呈色試薬と十分に錯形成させる。そして、注入した錯体および未反応の試薬がカラムで分離され、検出器に導かれ順次検出される。オンカラム法と同様に、ポストカラム法に比べ流路が 1 つでよいために系が単純となる利点を有する一方で、金属イオンが錯体としてカラムで分離されるため、呈色試薬は、金属イオンを発色させる目的以外に金属イオンの分離に対しても効果的に作用する能力を有する必要がある。

より高感度な検出を目的とするとき、プレカラム法は、ポストカラム法あるいはオンカラム法に比べて大きな利点を有する。プレカラム法では、金属イオンは錯体としてシステムに注入され、分離、検出される。流路に呈色試薬を含まないため、錯体が検出器を通過する際、他の 2 つの方法とは異なり、試薬によるバックグラウンド吸収がない。このことは、安定なベースラインを与え、金属イオンの検出限界を低くする。加えて、比較的高価な有機呈色試薬の使用量を極限まで抑えることができる。

また、移動相に試薬を添加しないことは、もう 1 つの利点を生み出す場合もある。分離過程において、いずれの錯体も過剰の呈色試薬から分離された後、カラムから溶出するまでに徐々に解離するが、置換不活性な錯体では十分高いピークが得られる。一方、置換活性な錯体ではその影響が大きく、検出されない、あるいは非常に低いピークを与える。したがって、例えば、試料中のマトリックス成分が置換活性な錯体を形成する場合、積極的に置換活性な錯体を解離させることで、それらの妨害ピークを消失させることもできる。

このように、プレカラム法は、系が単純であり、流路に呈色試薬を含まないため、多くの利点を有する。HPLC における錯体間の分離挙動に大きく影響を与える、つまり、各金属イオンに対して異なる性質の錯体が形成可能な呈色試薬を選択することにより、本法は最も優れた誘導体化法になり得る。

1-6 プレカラム誘導体化法へのヘテロ環アゾ化合物の応用

現在までに、ピリジルアゾ化合物およびチアゾリル化合物をプレカラム誘導体化試薬として、逆相 HPLC により金属錯体の保持挙動を調べた例が 100 件以上報告されている。

ピリジルアゾ化合物の応用例として、 β -PAN は、Fe, Co, Ni, Cu の分離^{8,9,10,13,16,17} および Pd, Pt, Rh の分離^{10-12,14,15} に用いられている。また、PAR は Fe, Co, Ni, Cu の分離^{18-24,27-29,31,36,37,39,40,43,44} および V, Nb, Ta の分離^{25,26,30,32-35,38,41,42,45} に用いられている。先に述べたように、PAR は錯陰イオンを形成するので、テトラブチルアンモニウムイオンのような疎水性カチオンを用いたイオン対分配クロマトグラフィーが採用されることが多い。

5-Br-PADAP も、Fe, Co, Ni の分離^{47-50,55} 以外には、V, Nb, Ta, Ti の分離^{51-54,56} に用いられている。5-Br-PAPS はスルホン酸基をもつため、錯陰イオンを形成し、イオン対分配クロマトグラフィーにより分離される。Fe, Co, Ni の分離^{57,61-63,65} 以外には、Bi, In, Tl, V, Pt, Rh, Pd, Nb, Ta, Sb の分離^{58,59,60,64,66} に用いられている。Nitro-PAPS は 5-Br-PAPS とほとんど同じ性質をもつと考えられるが、Cu, Fe, V, Co, Ni の分離⁶⁷⁻⁷⁰ に用いられているだけで、5-Br-PAPS にくらべて対象金属が少ない。3,5-DiBr-PADAP は報告例が少ないが、V, Cu, Zr, Pd, Fe, Ni, Co の分離⁷¹ に用いられている。

チアゾリルアゾ化合物の応用例は、ピリジルアゾ化合物にくらべてずっと少ない。 β -TAN は、Pd, Pt, Rh, Ir, Ru の分離⁷² と Pd, Cu, Ni, Fe, Co, Rh の分離⁷³ に用いられている。TAR は、Rh, Ru, Cu, Co, Fe の分離⁷⁴⁻⁷⁷ に用いられている。TAM は Fe, Cu, Co, Ni の分離⁷⁸ 以外に、V, Cd, Zn, Mn, Al の分離^{79,80} に用いられている。これらはいずれも市販の化合物である。

一方、市販されていないピリジルアゾ化合物およびチアゾリルアゾ化合物の応用もいくつか報告されている。PAN, PAR, PADAP のピリジン環の 5 位にニトロ基を導入した化合物、5-Nitro-PAN⁸¹, 5-Nitro-PAR^{82,83}, 5-Nitro-PADAP⁸⁴ が Fe, Co, Ni, Cu あるいは Nb, V, Ru, Pd, Ta の分離に用いられている。また、TADAP が Co, Ni, Cu, あるいは Pd, Rh, Ru, V, Nb, Ta, Pt, Ir, Os の分離に用いられている⁸⁵⁻⁸⁸。PAN あるいは TAN のナフト

ール環にスルホン酸基を導入した化合物も評価されている^{89-92,93}。これらの化合物の錯陰イオンは、イオン対分配モードで分離される。

ピリジン環あるいはチアゾール環以外のヘテロ環を有する化合物もいくつか評価されている。キノリン環あるいはベンゾチアゾール環を有する化合物を用いて、Fe, Co, Ni, Cu の分離がなされている⁹⁴⁻¹⁰¹。

ここまでみてきたように、ヘテロ環アゾ化合物の金属錯体の逆相 HPLC 分離が数多くなされてきたが、提供される試薬が限られており、定量目的のために感度を優先しているために、同条件で化合物の性能を比較するという系統的な検討がなされていないのが現状である。この溝を埋めるための基礎データの収集が、当該分野のさらなる発展に貢献することが期待される。

1-7 キレーション-イオンクロマトグラフィー

複雑なマトリックス中の微量金属の定量は、分析化学者が興味をそそるフィールドのひとつである。近年、いわゆる高速キレーションイオンクロマトグラフィー (HPCIC) がこの目的の有効なツールとなってきている。HPCIC は、固定された配位子との金属錯体の形成および解離に関する熱力学および速度にしたがって分離を行う方法である。この技術については、Jones と Nesterenko が最近レビューを発表している¹⁰²。よく用いられる固定相としては、イミノ二酢酸を導入したシリカ¹⁰³やキレーティング染料を含浸させたポリスチレン-ジビニルベンゼン樹脂性能物質¹⁰⁴などがあげられる。可能性のある共存イオン交換効果を押さえ込むために、通常、溶離は高いイオン強度の条件下で行われる。このような条件で、飽和塩水中のアルカリ土類¹⁰⁵、海水中の遷移金属および重金属¹⁰⁶、あるいは粉ミルク中のストロンチウム¹⁰⁷の定量が達成されている。

上に述べたものに加えて、錯形成表面の創製に対するもうひとつの方法がある。それは、固定相に分配可能なキレート試薬を溶離剤に加えることによって構造するダイナミックシステムである。この方法を用いると、平衡は物質表面に吸着した配位子と移動相中の配位

子の濃度との間で確立される。溶離液中の配位子の濃度，pH，固定相の性質を変えることにより，ダイナミック平衡を変えることが可能であり，金属の選択性に影響を与える。メチルチモールブルーを含む移動相からなるダイナミックシステムが，いくつかの遷移および重金属を分離するために用いられた¹⁰⁸。

1-6に示したように，ヘテロ環アゾ化合物をプレカラム誘導体化試薬として用いたとき，鉄，コバルト，ニッケル，銅錯体は一般的にカラム中で安定であり，分離定量することができる。対照的に，マンガン，亜鉛，カドミウム錯体は，カラム中で過剰の試薬から分離された後に解離するために，検出されない。しかしながら，錯体の不安定さは逆に，HPCICによりこれらの金属イオンを分離できる可能性を秘めている。これまでにヘテロ環アゾ化合物をHPCICに応用した例は報告されていない。新規分離カラムの構築について，系統的な検討を行うことは大変興味深い。

1-8 本研究の目的と概要

紫外可視分光光度法 (UV-Vis) は，汎用性に優れ，操作が簡単であるため，分析対象物質のモル吸光係数が高い場合，非常に有効な分析手段になり得る。微量金属イオンの高感度発色試薬の開発において，従来は，分析対象となる金属イオンと選択的に反応することが要求されてきた。しかしながら，UV-Vis 検出を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 等の分離技術と組み合わせる場合，選択性を考慮する必要はなく，むしろ，多くの金属イオンと反応する非選択的な試薬が望まれる。1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (β -PAN) に代表される *o*-ヒドロキシヘテロ環アゾ化合物は，アルカリおよびアルカリ土類金属を除く多くの金属イオンと安定な錯体を形成する。錯体のモル吸光係数は $10^4 \sim 10^5 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ と非常に大きく，この分離定量法に最適な化合物である。

これらのヘテロ環アゾ化合物をプレカラム誘導体化試薬として用い，形成した錯体を逆相 HPLC により分離し，UV-Vis により検出した応用例が報告されている。プレカラム法は，系が単純であり，また，高感度定量に適するという利点を有するが，誘導体化試薬は，金

属イオンによって多様な性質をもつ錯体を形成することが要求される。試薬構造と錯体の保持挙動を系統的に比較検証することにより、分析対象となる金属イオンの分離に最適な化合物の開発に有用な知見を得ることが期待されるが、これまでの報告のほとんどは、市販の限られた化合物しか検討しておらず、十分な情報が得られていない。

そこで本研究では、1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (β -PAN) を基準化合物として、ジアゾ成分 (ヘテロ環) あるいはカップリング成分の差異が、錯体の逆相 HPLC 挙動に与える影響を詳細に調べることにした。安定で性質の異なる鉄(II)、コバルト(III)、ニッケル(II)、銅(II)錯体を選択した。また、置換活性なため逆相 HPLC においてピークが得られなかったマンガン(II)、亜鉛(II)、カドミウム(II)錯体に関して、ヘテロ環アゾ化合物をプレコートしたカラムによるキレーションクロマトグラフィーの応用を検討した。

本論文は全8章で構成されている。第2章以降の概要を以下に述べる。

第2章では、アゾ化合物の合成および一般的な特性 (酸解離定数, ケト-エノール互変異性, 錯形成反応), 錯体の酸化還元および分配挙動, 分光学的特性について示す。とくに、3-ニトロ- α -PAN で、ケト-エノール互変異性に関して興味ある結果が得られたので詳細に述べる。

第3章では、1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (PAN) の Cu(II), Co(III), Ni(II) および Fe(II) 錯体のアルキル基結合シリカゲル固定相に対する HPLC 挙動を詳細に調べた結果を述べる。アセトニトリル-水 (70:30, v/v) 移動相を用いたとき, $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ および $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ のピークは得られるが, 錯陽イオンである $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{PAN})]^+$ および $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{PAN})_2]^+$ は, 残存シラノール基との相互作用により固定相に吸着されることを見出した。塩を移動相に添加することにより, $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{PAN})_2]^+$ はシャープなピークを伴って溶離されるのに対して, $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{PAN})]^+$ のピークは, チオシアン酸アンモニウムの添加によってのみ得られることを明らかにした。

第4章では、コバルト(III)および銅(II)錯陽イオンのイオン対生成について述べる。4-1では、4種類のピリジルアゾ化合物のコバルト(III)錯陽イオンのアルコールおよびクロロホ

ルムへの抽出平衡を解析し、対アニオン(ClO_4^- , SCN^- , Br^- , Cl^-) とのイオン対の生成定数および分配定数を決定した結果を述べる。4-メチル-2-(2-ピリジルアゾ)フェノール (PAC) 系では、唯一、塩化物イオンとのイオン対生成定数 ($\log K_f = 1.7$) が臭化物イオン ($\log K_f = 1.0$) よりも大きく、アルコール溶媒系においては、イオン対生成定数は、主に静電的相互作用を反映することを明らかにした。4-2 では、銅(II)錯陽イオンと対アニオン(ClO_4^- , SCN^- , Br^- , Cl^-) とのイオン対生成を3つの手法、イオン対抽出、逆相 HPLC、イオンクロマトグラフィーにより調べた結果を述べる。配位的に相互作用するチオシアン酸イオンと他のアニオンとの挙動の差異を定量的に示した。

第5章では、鉄およびコバルトのヘテロ環アゾ化合物との錯体の酸化還元電位を求め、それらの金属錯体の逆相 HPLC 挙動との関連性を調べた結果を述べる。錯体の酸化還元電位は、カップリング成分に関して、 α -ナフトールあるいは *p*-クレゾール誘導体 > β -ナフトール誘導体 > アルキルアミノフェノール誘導体の順であった。どちらの錯体でも配位子の酸解離定数と錯体の酸化還元電位との間に直線関係が成立し、コバルト錯体と鉄錯体の酸化還元電位の差 ($E_{\text{Fe}} - E_{\text{Co}}$) は約 0.6 V であった。酸化還元電位が約 0 V であるコバルトあるいは鉄錯体では、逆相 HPLC 条件によって、2 価および 3 価のどちらのピークも得られることを見出した。この中で、鉄(III)錯体のピークが得られる配位子では、サンプル調整時に酸化剤を添加することにより、コバルト(III)錯体および鉄(III)錯体として、比較的短い時間で分離できることを明らかにした。

第6章では、中性錯体である $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ および $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ の分離に対するヘテロ環の効果について述べる。ジアゾ成分としてピリミジン環を有する化合物では、両金属錯体間の分離度が大きく向上することを見出した。 $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持を基準にして相対保持比 ($k_{\text{Ni}}/k_{\text{Zn}}$ あるいは $k_{\text{Fe}}/k_{\text{Zn}}$) を調べることにより、ピリミジン誘導体では、ピリジン誘導体と比べて、鉄錯体の保持が選択的に強められることにより、高い分離度が達成されることを明らかにした。また、 $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の $^1\text{H-NMR}$ の測定から、 $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ ではピリミジン環が絶えず回転して、亜鉛イオンに配位する窒素原子が入れ替わっているのに対して、

[Fe^{II}L₂] では、そのような交換は起こらないためであることを明らかにした。

第7章では、長鎖アルキル基を有する二座 (N,N-) および三座 (N,N,O-) ヘテロ環アゾ化合物をカラムにプレコートし、キレーションイオンクロマトグラフィーへの応用性を検討した結果を述べる。対象金属イオンとして、マンガン、亜鉛、カドミウムを選択し、ヘテロ環アゾ化合物の配位能が、スルホン酸基等のイオン交換能と比べて、金属イオンの分離に大きく寄与していることを明らかにした。また、長鎖アルキル基を有する場合、逆相固定相中で適切な方向にコートされるため、配位子の供与原子が移動相中の金属イオンと接近しやすく、同じコート量でもより大きな保持が得られることも見出した。

第8章では、得られた結論を総括し、高速液体クロマトグラフィーによる金属イオン分離のためにヘテロ環アゾ化合物を開発する上での展望を述べる。

1-9 参考文献

1. E. A. Braude, *J. Chem. Soc.*, **1950**, 194.
2. K. L. Cheng and R. H. Bray, *Anal. Chem.*, **1955**, 27, 782.
3. P. Wehber, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **1957**, 158, 10.
4. D. A. Johnson and T. T. Florence, *Anal. Chim. Acta*, **1971**, 53, 73.
5. S. Taguchi and K. Goto, *Talanta*, **1975**, 22, 253.
6. T. Makino, M. Saito, D. Horiguchi, and K. Kina, *Clin. Chim. Acta*, **1982**, 120, 127.
7. S. C. Hung, C. L. Qu, and S. Sheng, *Talanta*, **1982**, 29, 629.
8. G. Schwedt and R. Budde, *Chromatographia*, **1982**, 15, 527.
9. S. V. Galushko, I. P. Shishkina, and Yu. I. Usatenko, *Zh. Anal. Khim.*, **1982**, 37, 1833.
10. I. P. Alimarin, Yu. S. Nikitin, V. M. Ivanov, T. A. Bol'shova, E. M. Basova, and N. B. Morozova, *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **1986**, 288, 1112.
11. E. M. Basova, T. A. Bol'shova, and V. M. Ivanov, *Zh. Anal. Khim.*, **1986**, 41, 991.
12. Yu. S. Nikitin, N. B. Morozova, S. N. Lanin, T. A. Bol'shova, V. M. Ivanov, and E. M.

- Basova, *Talanta*, **1987**, *34*, 223.
13. P. N. Nesterenko, N. B. Morozova, V. M. Ivanov, T. A. Bol'shova, and Yu. S. Nikitin, *Zh. Anal. Khim.*, **1987**, *42*, 219.
14. T. A. Bol'shova, P. N. Nesterenko, E. M. Basova, V. M. Ivanov, and N. B. Morozova, *Zh. Anal. Khim.*, **1987**, *42*, 1648.
15. E. M. Basova, T. A. Bol'shova, V. M. Ivanov, and N. B. Morozova, *Zh. Anal. Khim.*, **1989**, *44*, 680.
16. T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *J. Chromatogr.*, **1994**, *659*, 359.
17. E. M. Basova, T. A. Bol'shova, and V. M. Ivanov, *J. Anal. Chem.*, **1997**, *52*, 647.,
18. M. Blaszkewicz and B. Neidhart, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **1983**, *14*, 11.
19. E. Watanabe, H. Nakajima, T. Ebina, H. Hoshino, and T. Yotsuyanagi, *Bunseki Kagaku*, **1983**, *32*, 469.
20. T. Yotsuyanagi, *Anal. Chem.*, **1985**, *57*, 625.
21. H. Yamada and T. Hattori, *J. Chromatogr.*, **1986**, *361*, 331.
22. J. B. Noffsinger and N. D. Danielson, *J. Liq. Chromatogr.*, **1986**, *9*, 2165.
23. X. Zhang, X. Zhu, and C. Lin, *Talanta*, **1986**, *33*, 838.
24. C. Baiocchi, F. Cantone, A. Marchetto, M. C. Gennaro, E. Mentasti, and C. Sarzanini, *Chromatographia*, **1987**, *23*, 736.
25. J. Godin, *J. Chromatogr.*, **1990**, *532*, 445.
26. S. J. J. Tsai and Y. S. Lee, *Analyst (Cambridge, United Kingdom)*, **1991**, *116*, 615.
27. T. Okutani, A. Sakuragawa, and M. Murakami, *Anal. Sci.*, **1991**, *7* (Suppl., Proc. Int. Congr. Anal. Sci., 1991, Pt. 1), 109.
28. X. Ming, Y. Wu, and G. Schwedt, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **1992**, *342*, 556.
29. A. R. Timerbaev, O. M. Petrukhin, V. I. Orlov, and A. A. Aratskova, *J. Liq. Chromatogr.*, **1992**, *15*, 1443.

30. S. J. J. Tsai and S. J. Hsu, *Analyst (Cambridge, United Kingdom)*, **1994**, *119*, 403.
31. I. V. Mishenina, P. V. Smirnov, E. N. Shapovalova, T. A. Bol'shova, and N. Yu. Meglitskaya, *J. Anal. Chem.*, **1995**, *50*, 507.
32. N. Vachirapatama, M. Macka, B. Paull, C. Munker, and P R Haddad, *J. Chromatogra. A*, **1999**, *850*, 257.
33. N. Vachirapatama , P Doble, and P R Haddad, *J. Chromatogra. A*, **2000**, *885*, 369.
34. S. Oszwaldowski and M. Jarosz, *Mikrochim. Acta*, **1997**, *126*, 241.
35. N. Vachirapatama, M. Macka, B. Paull, C. Munker, and P. R. Haddad, *J. Chromatogr. A*, **1999**, *850*, 257.
36. H. L. Sun, H. M. Liu, and S. J. J. Tsai, *J. Chromatogr. A*, **1999**, *857*, 351.
37. F. Tadayon, A. Massoumi, and M. Eslami, *J. Chromatogr. Sci.*, **1999**, *37*, 371.
38. N. Vachirapatama, G. W. Dicoski, A. T. Townsend, and P. R. Haddad, *J. Chromatogr. A*, **2002**, *956*, 221.
39. A. Atanassova, R. Lam, D. B. Zamble, *Anal. Biochem.*, **2004**, *335*, 103.
40. S. Srijaranai, R. Burakham, R. L. Deming, and T. Khammeng, *Talanta*, **2002**, *56*, 655.
41. N. Vachirapatama, G. W. Dicoski, A. T. Townsend, and P. R. Haddad, *J. Chromatogr. A*, **2002**, *956*, 221.
42. H. Hoshino, *Bunseki Kagaku*, **2002**, *51*, 597.
43. A. Atanassova, R. Lam, and D. B. Zamble, *Anal. Biochem.*, **2004**, *335*, 103.
44. J. Peng, S. Liu, and C. Deng, *Anal. Sci.*, **2005**, *21*, 259.
45. N. Vachirapatama, Y. Jirakiattikul, G. Dicoski, A. T. Townsend, P. R. Haddad, *Anal. Chim. Acta*, **2005**, *543*, 70.
46. S. Srijaranai, S. Chanpaka, C. Kukulamude, and K. Grudpan, *Talanta*, **2006**, *68*, 1720.
47. C. Li, *Chromatographia*, **1992**, *34*, 182.
48. J. Miura and N. Tokunaga, *Bunseki Kagaku*, **1992**, *41*, 393.

49. J. Miura and N. Tokunaga, *Nippon Kagaku Kaishi*, **1993**, (2), 177.
50. N. Uehara, A. Katamine, and Y. Shijo, *Analyst (Cambridge, United Kingdom)*, **1994**, 119, 1333.
51. H. Wang, Y. Miao, H. Zhang, and J. Cheng, *Talanta*, **1994**, 41, 685.
52. S. Oszwaldowski, *Analyst (Cambridge, United Kingdom)*, **1995**, 120, 1751.
53. N. Vachirapatama, P. Doble, Z. S. Yu, and P. R. Haddad, *Chromatographia*, **1999**, 50, 601.
54. D. Li, X. Hu, and H. Wang, *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 449, 237.
55. S. Oszwaldowski and A. Pikus, *Talanta*, **2002**, 58, 773.
56. D. Li, X. Hu, and H. Wang, *Talanta*, **2004**, 63, 233.
57. Y. Shijo and K. Sakai, *J. Chromatogr.*, **1985**, 333, 133.
58. Y. Shijo and T. Shimizu, *Analyst (Cambridge, United Kingdom)*, **1988**, 113, 1201.
59. N. Uehara, K. Morimoto, T. Shimizu, and Y. Shijo, *Chem. Lett.*, **1989**, (3), 411.
60. N. Uehara, Y. Annoh, T. Shimizu, and Y. Shijo, *Anal. Sci.*, **1989**, 5, 111.
61. Y. Shijo, N. Uehara, T. Kudo, and S. Aratake, *Anal. Sci.*, **1994**, 10, 951.
62. Y. Shijo, H. Sato, N. Uehara, and S. Aratake, *Analyst (Cambridge, United Kingdom)*, **1996**, 121, 325.
63. N. Uehara, K. Fukuda, and Y. Shijo, *Anal. Sci.*, **1998**, 14, 343.
64. N. Vachirapatama, P. Doble, and P. R. Haddad, *Anal. Chim. Acta*, **2000**, 409, 35.
65. K. Yamaguchi, N. Uehara, I. Hiramatsu, and T. Shimizu, *Bunseki Kagaku*, **2001**, 50, 267.
66. N. Uehara, C. Kawasaki, and T. Shimizu, *Tetsu to Hagane*, **2004**, 90, 795.
67. T. Okutani, T. Yamaji, and A. Sakuragawa, *Anal. Sci.*, **1995**, 11, 765.
68. T. Okutani, Y. Tsukada, A. Sakuragawa, T. Yamaji, and S. Morita, *J. Chromatogr. A*, **1997**, 788, 113.
69. B. Chen, Q. Zhang, H. Minami, S. Inoue, and M. Uto, *J. Chromatogr. Sci.*, **1999**, 37, 306.
70. C. Ohtsuka, Y. Mori, S. Hayashi, T. Tsuda, and H. Wada, *J. Liq. Chromatogr. Related*

- Technol.*, **2000**, *23*, 669.
71. Y. Yuan and Y. Wang, *Talanta*, **1989**, *36*, 777.
72. N. A. Beketova, E. M. Basova, V. M. Ivanov, and T. A. Bol'shova, *Zh. Anal. Khim.*, **1990**, *45*, 2178.
73. E. M. Basova, T. A. Bol'shova, and V. M. Ivanov, *J. Anal. Chem.*, **1997**, *52*, 647.
74. E. M. Basova, T. A. Bol'shova, E. N. Shapovalova, and V. M. Ivanov, *Zh. Anal. Khim.*, **1990**, *45*, 1947.
75. C. Lin, X. Zhang, and X. Liu, *Analyst (Cambridge, United Kingdom)*, **1991**, *116*, 277.
76. Q. Liu, H. Zhang, and J. Cheng, *Talanta*, **1991**, *38*, 669.
77. R. Saraswati, N. R. Desikan, and T. H. Rao, *Mikrochim. Acta*, **1992**, *109*, 253.
78. L. Li, M. Gui, and Y. Zhao, *Talanta*, **1995**, *42*, 89.
79. J. Miura, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **1992**, *344*, 294.
80. J. Miura, M. Yoshitome, I. Goto, Y. Nakamura, H. Watanabe, *Anal. Sci.*, **1993**, *9*, 255.
81. T. Yasui, T. Ohnishi, Y. Mizuno, N. Ohata, and H. Yamada, *Bunseki Kagaku*, **2003**, *52*, 1121.
82. H. Zhang, W. Mou, and J. Cheng, *Talanta*, **1994**, *41*, 1459.
83. H. Wang, Y. Miao, W. Mou, H. Zhang, and J. Cheng, *Mikrochim. Acta*, **1994**, *117*, 65.
84. H. Wang, H. Zhang, and J. Cheng, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **1995**, *351*, 683.
85. E. N. Shapovalova, I. V. Mishenina, E. M. Basova, T. A. Bol'shova, and O. A. Shpigun, *Zh. Anal. Khim.*, **1991**, *46*, 1503.
86. I. V. Mishenina, E. N. Shapovalova, T. A. Bol'shova, P. V. Smirnov, and O. A. Shpigun, *J. Anal. Chem.*, **1996**, *51*, 270.
87. H. Wang, H. Zhang, J. Cheng, and P. Qiu, *Microchem. J.*, **1997**, *55*, 332.
88. H. Wang, H. Zhang, and J. Cheng, *Talanta*, **1999**, *48*, 1.
89. H. Niwa, T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *Anal. Sci.*, **1997**, *13*, 137.

90. H. Niwa, T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *Anal. Sci.*, **1997**, *13*, 643.
91. X. Zhang, L. Shi, L. Zhang, L. You, and S. Chang, *J. Chromatogr. A*, **1997**, *789*, 485.
92. T. Yasui, H. Niwa, Y. Niwa, H. Yamada, and H. Wada, *ITE Lett. Batt. New Tech. Med.*, **2001**, *2*, 225.
93. E. M. Basova, T. A. Bol'shova, and O. A. Shpigun, *Zh. Anal. Khim.*, **1991**, *46*, 2362.
94. H. Niwa, T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *J. Chromatogr. A*, **1997**, *789*, 491.
95. Q. Hu, G. Yang, J. Yang, and J. Yin, *J. Environ. Monitor.*, **2002**, *4*, 956.
96. G. Li, Q. Wei, Q. Hu, Z. Huang, and G. Yang, *Microchim. Acta*, **2007**, *158*, 95.
97. Z. Li, G. Yang, B. Wang, C. Jiang, and J. Yin, *J. Chromatogr. A*, **2002**, *971*, 243.
98. H. Niwa, T. Yasui, T. Ishizuki, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *Talanta*, **1997**, *45*, 349.
99. Q. Liu, Y. Wang, J. Liu, and J. Cheng, *Anal. Sci.*, **1993**, *9*, 523.
100. W. Liu and Q. Liu, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **1994**, *350*, 671.
101. Q. Liu, T. Zhao, J. Liu, and J. Cheng, *Mikrochim. Acta*, **1996**, *122*, 27.
102. P. Jones and P.N. Nesterenko, *J. Chromatogr.*, **1997**, *789*, 413.
103. P.N. Nesterenko and P. Jones, *J. Chromatogr.*, **1997**, *770*, 129.
104. B. Paull and P. Jones, *Chromatographia*, **1996**, *42*, 528.
105. B. Paull, M. Foulkes, and P. Jones, *Anal. Proc.*, **1994**, *31*, 209.
106. B. Paull, M. Foulkes, and P. Jones, *Analyst*, **1994**, *119*, 937.
107. P. Jones, M. Foulkes, and B. Paull, *J. Chromatogr.*, **1994**, *673*, 173.
108. B. Paull, P. Nesterenko, and P.R. Haddad, *Anal. Chim. Acta*, **1998**, *375*, 117.

第2章 試薬および金属錯体の特性

2-1 試薬

2-1-1 ヘテロ環アゾ化合物の合成

本研究で使用した *o*-ヒドロキシアゾ化合物は、市販で入手可能なものも含め、すべて合成した。合成方法は α -体、 β -体で異なる。各章で比較検討した化合物の合成法は、該当部分の実験項に別途記載しているので、ここではその一例を詳細に示すことにする。対応する化合物を Table 2-1 に示す。また、Fig. 2-1 にピリミジン誘導体の合成スキームを示す。

2-1-1-1 合成法 I (α -体)¹

2-ヒドラジノピリジン誘導体の合成²

・2-ヒドラジノピリミジン

2-クロロピリミジン 4.8 g をナスフラスコにとり、エタノール 50 ml、ヒドラジンヒドレート (1 水和物) 4.0 g を加え、ウォーターバス上で1時間還流した。還流終了後、氷浴上で冷却し、析出した結晶を濾別した。これをエタノール中で再結晶した。

・2-ヒドラジノピラジン

2-クロロピラジン 2.5 g をナスフラスコにとり、ヒドラジンヒドレート (1 水和物) 1.6 g を加え、ウォーターバス上で1時間還流した。還流終了後、溶液を分液ロートに移し、下層を分取した。

・2-ヒドラジノニトロピリジン

2-クロロニトロピリジン 2.5 g をナスフラスコにとり、エタノール 50 ml、ヒドラジンヒドレート (1 水和物) 1.5 g を加え、ウォーターバス上で30分還流した。還流終了後、溶液を水に注ぎ沈殿を析出させた。沈殿をエタノールに溶かし、活性炭を用いて精製した後、再結晶した。

2-ヒドラジノピリジン誘導体と 1,2-ナフトキノンの反応

1,2-ナフトキノンを 1.5 g をビーカーにとり、熱酢酸 50 ml に溶かした。ここに 2-ヒドラジノピリジン誘導体を当量加え、70 °C に加温しながら 1 時間反応させた。

精製

・ α -PMAN および α -PZAN

得られた赤色の酢酸溶液に水を加え、沈殿を析出させた。沈殿をクロロホルムに溶かし、分液ロートに移し、まず pH 7 の緩衝液を加えて振とうし、目的物の含まれる有機相を分取した。引き続き、pH 13 の水酸化ナトリウム水溶液を加えて振とうし、目的物の含まれる水相を分取し、酢酸水溶液で中和した。得られた沈殿をエタノールで再結晶した。

・ニトロ- α -PAN

得られた赤色の酢酸溶液に水を加え、沈殿を析出させた。沈殿を濾別し、熱エタノール及び少量の熱ジオキサンで洗浄することにより不純物を除去した。残った沈殿をジオキサン及びエタノールで再結晶した。

2-1-1-2 合成法 II (β -体)

亜硝酸ブチルの合成

亜硝酸ナトリウム 38 g を水 150 ml に溶解し、これに氷片を加え、ice bath 中で常に 0 °C 以下に保ち、激しく攪拌しながら、水 10 ml、濃硫酸 13.6 ml、n-ブタノール 45.7 ml の混合物を少しずつ加えて合成した。粗生成物は、塩化ナトリウム 5 g と炭酸ナトリウム 0.4 g を 100 ml の水に溶解したもので、二回洗浄した。

ジアゾ化

2-アミノピリジン誘導体 4.7 g をナスフラスコに取り、ジエチルエーテル 100 ml、当量の亜硝酸ブチル、ナトリウムアミドを加え 3 時間還流した。得られたジアゾニウム塩はデン

ケーター中で保管した。

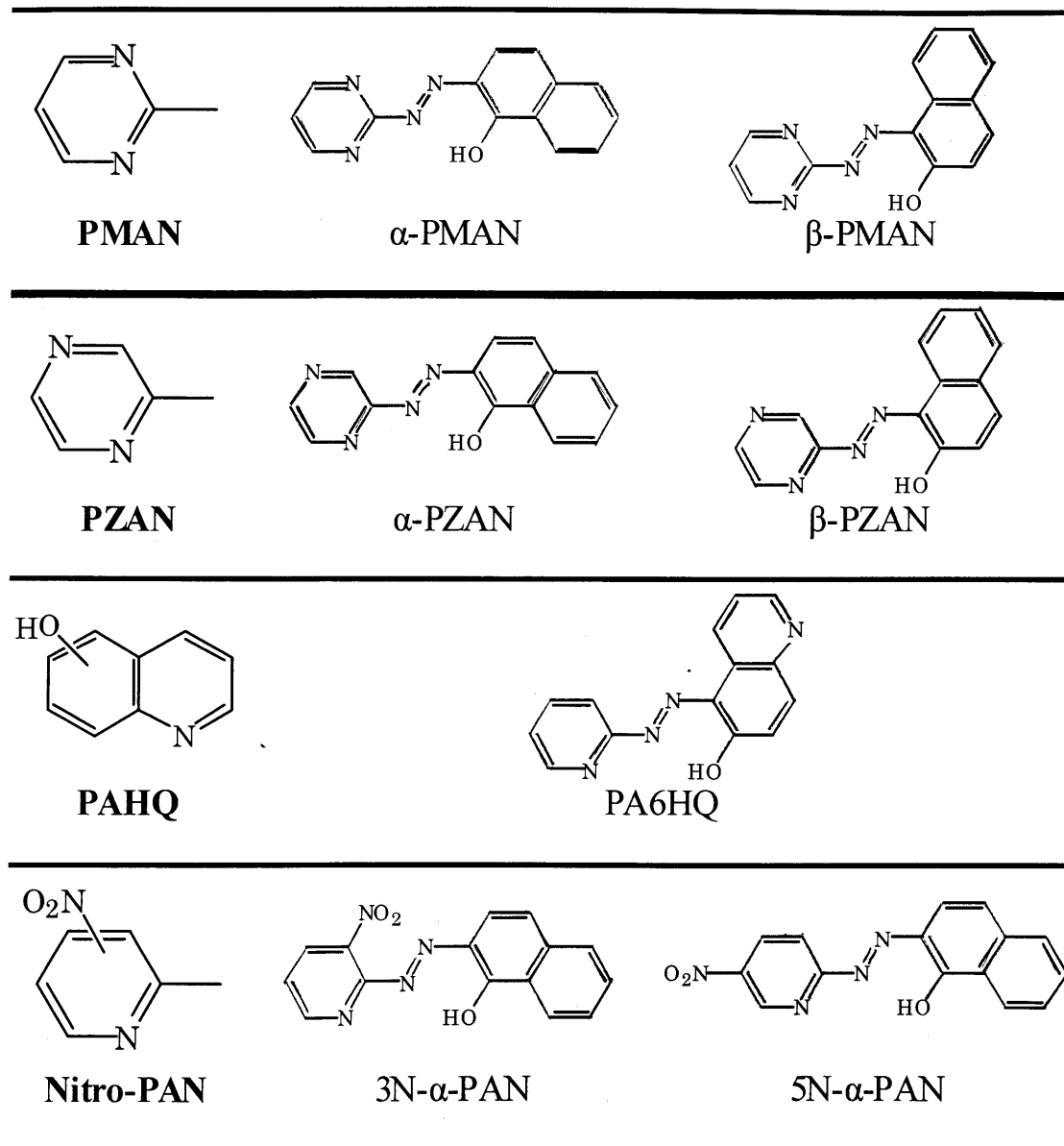
カップリング

ジアゾ化によって得られたジアゾニウム塩を当量の2-ナフトールあるいは6-ヒドロキシキノリンと共にエタノールに加え、40 °Cで24時間放置した。その後、二酸化炭素を1時間溶液中に通し、赤色の溶液を得た。

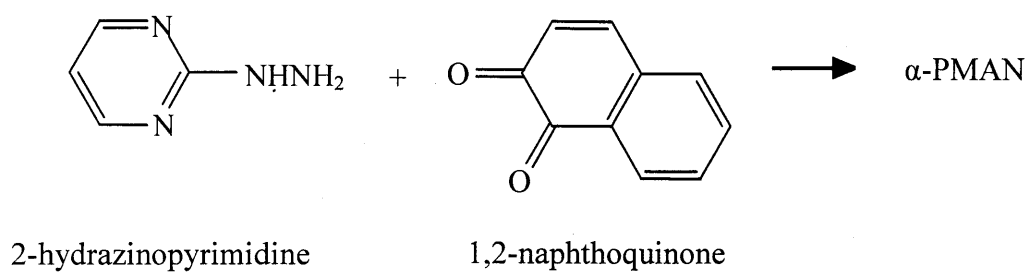
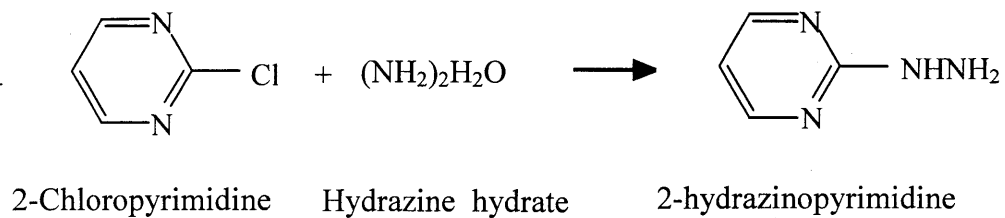
精製

カップリング反応後、エタノールをエバポレータで蒸発させた。粗生成物をクロロホルムに溶かし、分液ロートに移し、まずpH7の緩衝液を加えて振とうし、目的物の含まれる有機相を分取した。引き続き、pH13の水酸化ナトリウム水溶液を加えて振とうし、目的物の含まれる水相を分取し、酢酸水溶液で中和した。得られた沈殿をエタノールで再結晶した。

Table 2-1 Structure of *o*-hydroxy heterocyclic azo compounds



(A) Scheme I (α -form)



(B) Scheme II (β -form)

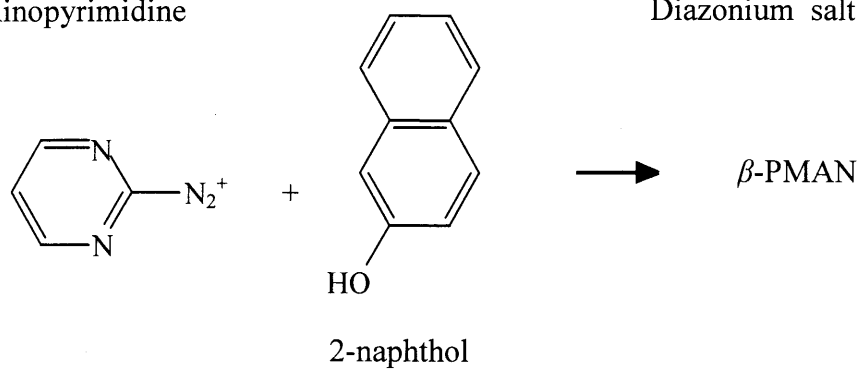
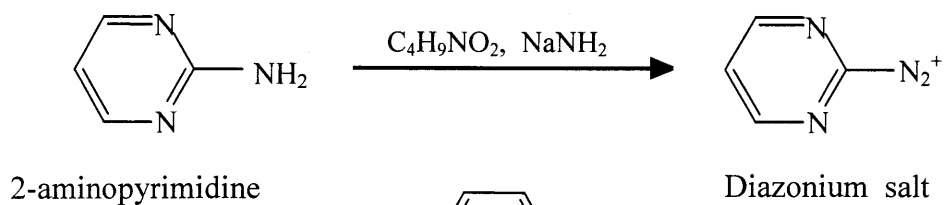
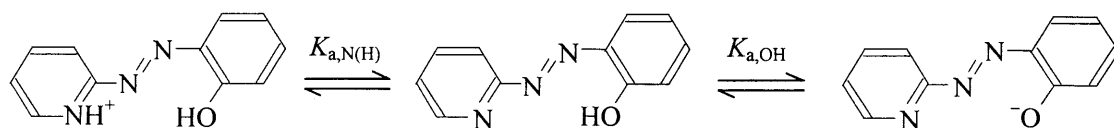


Fig. 2-1 Synthetic scheme of PMANs

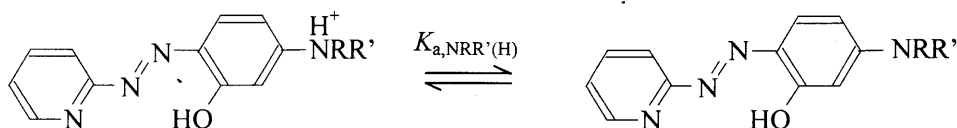
2-1-2 酸解離定数

錯体形成反応はルイス酸である金属イオンとルイス塩基である配位子との反応であり、通常、配位子のルイス塩基としての塩基性が強いほど錯体の生成定数は大きくなる。しかし、配位子はブレンステッド塩基でもあるため、配位子の酸解離定数も錯体形成反応に影響を及ぼす。そこで、本研究で検討した各 *o*-ヒドロキシアゾ化合物の酸解離定数の比較を行った。酸解離定数は、以下の解離平衡に対して、式 (1), (2) で与えられる。



$$K_{a,N(H)} = \frac{[H^+][HL]}{[H_2L^+]} \quad (1), \quad K_{a,OH} = \frac{[H^+][L^-]}{[HL]} \quad (2)$$

また、アルキルアミノ基を有する化合物では、以下の酸解離平衡が存在するため、酸解離定数は式(1)', (2)', (3)' で与えられる。



$$K_{a,N(H)} = \frac{[H^+][H_2L^+]}{[H_3L^{2+}]} \quad (1)', \quad K_{a,NRR'(H)} = \frac{[H^+][HL]}{[H_2L^+]} \quad (2)', \quad K_{a,OH} = \frac{[H^+][L^-]}{[HL]} \quad (3)'$$

プロトン解離による有意の吸収スペクトルの変化が認められたため、Hildebrand³らの方法に従って、 $\log([HL]/[L^-])$ の値を pH に対してプロットすることにより $pK_{a,OH}$ を求めた。また、解析が可能な化合物については、同様の手法を用いて、 $pK_{a,N(H)}$ 、 $pK_{a,NRR'(H)}$ も決定した。その結果を他の研究⁴⁻⁷で得られた値とともに Table 2-2 に示す。チアゾリル誘導体と比べて、ピリミジル誘導体の $pK_{a,OH}$ は比較的大きい。この差が金属錯体の性質に大きく影響する。ピリミジリアゾ化合物に関する詳細な議論は第 6 章で行っている。

Table 2-2 Structures and dissociation constants of heterocyclic azo compounds

| Abbreviation | Structure | $pK_{a,N(H)}$ | $pK_{a,NRR(H)}$ | $pK_{a,OH}^{a)}$ |
|-------------------------------|--|---------------|-----------------|-------------------|
| <i>Pyridylazo compounds</i> | | | | |
| | | | | |
| β -PAN (1) | R^3, R^4 : 1,3-butadienyl | 2.9 | | 11.6 ⁴ |
| α -PAN (2) | R^5, R^6 : 1,3-butadienyl | 2.9 | | 9.8 ⁵ |
| PAC (3) | R^4 : CH ₃ | 2.6 | | 8.9 ⁶ |
| 5N- α -PAN (4) | X: NO ₂ R^5, R^6 : 1,3-butadienyl | < 1 | | 7.2 |
| 5N-PAC (5) | X: NO ₂ R^4 : CH ₃ | < 1 | | 7.8 |
| PADMAP (6) | R^5 : N(CH ₃) ₂ | 1.4 | 4.1 | 11.4 |
| PAEAP (7) | R^5 : NH(C ₂ H ₅) | 1 | 4.2 | 11.4 |
| PAEAC (8) | R^4 : CH ₃ , R^5 : | 1.8 | 4.2 | 11.6 |
| PADEAP (9) | R^5 : N(C ₂ H ₅) ₂ | 1.4 | 4.2 | 11.3 |
| 5-Cl-PADEAP (10) | X: Cl R^5 : N(C ₂ H ₅) ₂ | 0.8 | 2.8 | 11.0 |
| <i>Pyrimidylazo compounds</i> | | | | |
| | | | | |
| β -PMAN (11) | R^3, R^4 : 1,3-butadienyl | < 1 | | 11.4 |
| α -PMAN (12) | R^5, R^6 : 1,3-butadienyl | 1 | | 9.5 |
| <i>Thiazolylazo compounds</i> | | | | |
| | | | | |
| β -TAN (21) | R^3, R^4 : 1,3-butadienyl | 2.4 | | 8.7 ⁷ |
| TAC (23) | R^4 : CH ₃ | < 0.5 | | 8.3 ⁷ |
| TADMAP (26) | R^5 : N(CH ₃) ₂ | < 1 | 3.1 | 8.7 ⁷ |

a) 4: in water extrapolated from aqueous dioxane; 5: in water extrapolated from aqueous ethanol; 6, 7, 8, 9, 10: in 5 % aqueous ethanol; 11, 12: in 10 % aqueous ethanol.

2-1-3 2-(3-ニトロ-2-ピリジルアゾ)-1-ナフトールのケト-エノール互変異性

2-1-3-1 緒言

プレカラム誘導体化試薬として評価してきた一連のヘテロ環アゾ化合物の中で、2-(2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (α -PAN) のピリジン環の3位にニトロ基を導入した2-(3-ニトロ-2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (3N- α -PAN) は、逆相 HPLC において極めて小さい保持を示すことがわかった。これは、本論文の主題である金属イオンの定量とは直接の関係がないが、著しく高い極性を有するケト型の存在が予想されたので、試薬の酸解離および液-液分配について詳しく検討するとともに、3N- α -PAN の結晶構造を決定した。

2-1-3-2 実験

2-1-3-2-1 装置

高速液体クロマトグラフは、PU-980i 型インテリジェントポンプ（日本分光製）、10 μ l サンプルループを装着した 9725i 型サンプルインジェクター（Reodyne 製）、860-CO 型カラムオーブン（日本分光製）、MD-915 型紫外可視マルチ検出器（200-900 nm, 日本分光製）、DP-L915/V 型データ処理システム（日本分光製）で構築した。カラムは、L-column ODS (4.6 mm i.d. \times 150 mm, 粒径 5 μ m, 化学物質評価研究機構製) を使用した。

酸解離平衡および液-液分配平衡の解析には、UV-2200A 型自記分光光度計（島津製）および 6028-10T 型複合電極（堀場製）を備えた COM20 型 pH メーター（電気化学計器製）を JIS 標準 pH 緩衝液で校正して用いた。

X線構造解析は、X線回折データの測定には MSC Mercury CCD（リガク社製）を、計算には Silicon Graphics O₂ ワークステーションを使用した。

2-1-3-2-2 試薬

α -PAN ニトロ誘導体は、川瀬の方法¹ にしたがって、2-ヒドラジノニトロピリジンと 1,2-ナフトキノンカップリングすることにより合成した。2-クロロニトロピリジン 2.5 g

Table 2-3 Crystallographic data and experimental details for 3N- α -PAN

| | | | |
|--------------------|-------------------------------|---|----------------------------------|
| Formula | $C_{15}H_{10}N_4O_3$ | μ | 1.11 cm^{-1} |
| Formula Weight | 294.27 | $2\theta_{max}$ | 55.0° |
| Crystal System | Monoclinic | No. of Reflections Observed | 10381 |
| Space Group | $P2_1/c$ | No. of Reflections Used | 2597 |
| Lattice Parameters | $a = 7.490(3) \text{ \AA}$ | $(I > 0.5\sigma(I), 2\theta < 54.97^\circ)$ | |
| | $b = 15.799(6) \text{ \AA}$ | No. of Variables | 239 |
| | $c = 11.138(5) \text{ \AA}$ | R_I^a | 0.067 |
| | $\beta = 103.626(5)^\circ$ | R^b | 0.074 |
| | $V = 1280.9(9) \text{ \AA}^3$ | R_w^c | 0.147 |
| Z | 4 | Largest Residuals | $0.40, -0.40 \text{ e \AA}^{-3}$ |
| ρ | 1.526 g cm^{-3} | Shift / Error | 0.003 |
| $F(000)$ | 608.00 | | |

^a $R_I = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$ for $I > 2\sigma(I)$ data.

^b $R = \sum (F_o^2 - F_c^2) / \sum F_o^2$.

^c $R_w = [\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_o^2)^2]^{1/2}$, $w^{-1} = \sigma^2(F_o^2)$.

をナスフラスコにとり，エタノール 50 ml，ヒドラジンヒドレート（一水和物）1.5 g を加え，ウォーターバス上で 30 分還流した．還流終了後，溶液を水に注ぎ沈殿を析出させた．沈殿をエタノールに溶かし，活性炭を用いて精製した後，再結晶することにより，2-ヒドラジノニトロピリジンを得た．1,2-ナフトキノン 1.5 g をビーカーにとり，熱酢酸 50 ml に溶かした．ここに 2-ヒドラジノニトロピリジンを当量加え，70 °C に加温しながら 1 時間反応させた．得られた赤色の酢酸溶液に水を加え，沈殿を析出させた．沈殿を濾別し，熱エタノールおよび少量の熱ジオキサンで洗浄することにより不純物を除去した．残った沈殿をジオキサンおよびエタノールで再結晶した．

2-1-3-2-3 HPLC 操作

試料溶液は， $2.5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ 試薬ジオキサン溶液 4 ml に，Fe(III)，Co(II)，Ni(II)，Cu(II) をそれぞれ $1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ を含む水溶液 1 ml を加えることにより調製した (pH ca. 4)．室温で 30 分間放置した後，その 10 μl をサンプルインジェクターによりクロマトグラフ

に注入した。流速は 0.8 ml min^{-1} ，カラム温度は 40°C に設定した。紫外可視マルチ検出器により $200\text{-}900 \text{ nm}$ の吸光度をモニターし，その中で， $400\text{-}800 \text{ nm}$ における最大吸光度からクロマトグラムを得た。一方，ピークの同定には吸収スペクトルを用いた。

2-1-3-2-4 結晶構造解析

X線回折データの測定は，グラファイトで単色化した $\text{MoK}\alpha$ 線 ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) を X 線源とし 173 K で行った。測定には $3\text{N-}\alpha\text{-PAN}$ の赤色針状の単結晶を用いた。全反射データに対

し，Lorentz 因子および偏光因子の補正を加えた後，独立な反射を用いて解析を行った。

構造は直接法 SIR88^8 により解析した。非水素原子には異方性温度因子を適用し，吸収補正を加えて完全マトリックス最小二乗法により精密化した。原子散乱因子および異常分散項は International Tables for X-ray Crystallography Vol. IV⁹ の値を採用した。水素原子の座標は差フーリエ図から決定し，等方性温度因子を適用した。最終的な差フーリエ図には原子に帰属されるような余分なピークは認められなかった。構造解析および精密化は構造解析プログラム teXsan^{10} により行った。Table 2-3 に結晶データおよび実験条件を示す。

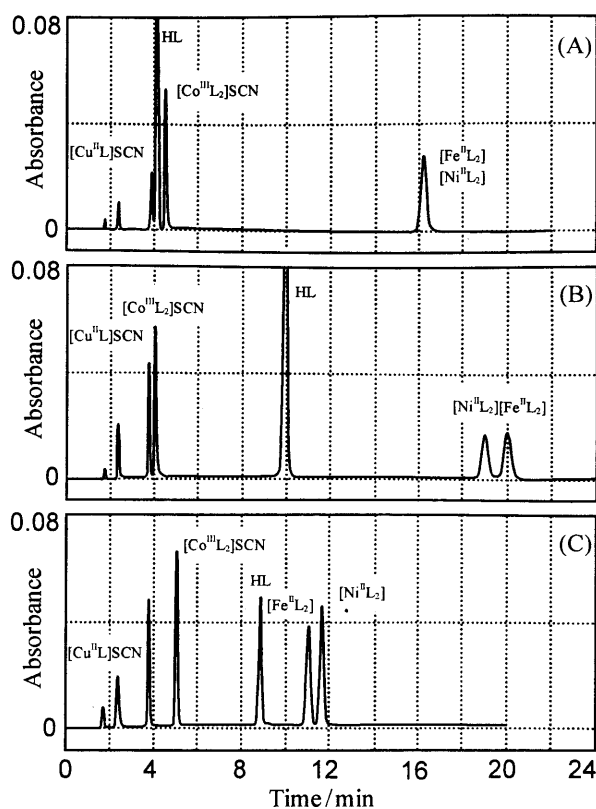
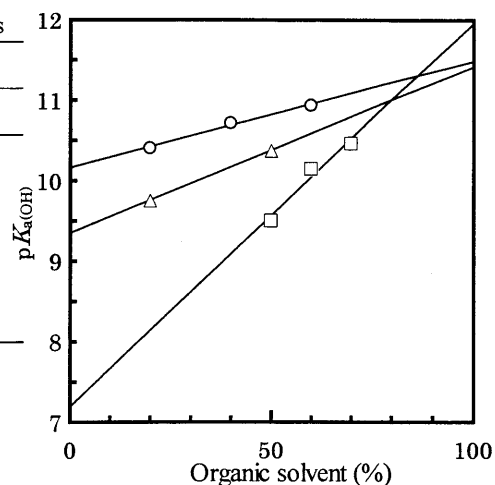


Fig. 2-2 Chromatograms of $3\text{N-}\alpha\text{-PAN}$ (A), $5\text{N-}\alpha\text{-PAN}$ (B) and $\alpha\text{-PAN}$ (C) complexes. Mobile phase: acetonitrile-water (70:30, v/v) containing $0.01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NH}_4\text{SCN}$.

Table 2-4 Dissociation and partition constants of α -PAN derivatives

| Reagent | $pK_a(\text{OH})$ | $\log K_D$ | |
|-------------------|-------------------|------------|--------|
| | | Chloroform | Octane |
| 3N- α -PAN | 10.2 | 5.1 | 1.6 |
| 5N- α -PAN | 7.2 | 7.6 | 5.1 |
| α -PAN | 9.3 | — | — |

Fig. 2-3 Determination of acid dissociation constants. (○): 3N- α -PAN; (□): 5N- α -PAN; (△): α -PAN.

2-1-3-3 結果と考察

2-1-3-3-1 逆相 HPLC における保持挙動

実験 2-1-3-2-3 に示した操作法に従って、各化合物の逆相 HPLC 挙動を調べた結果を Fig. 2-2 に示す。錯陽イオンである $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ および $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ の溶出を確実にするために、移動相として $0.01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NH}_4\text{SCN}$ を含むアセトニトリル-水 (70:30, v/v) 混合溶媒を用いた。

いずれの試薬系においても、 $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ 、 $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ のピークが検出された (Fig. 2-2)。試薬自身の保持は、導入したニトロ基の位置によって大きく異なった。これらの *o*-ヒドロキシアゾ化合物では、アゾ (エノール) 型-ヒドラゾン (ケト) 型の互変異性がよく知られている¹¹。その平衡がヒドラゾン型にシフトすれば、保持が小さくなると考えられる。

2-1-3-3-2 酸解離平衡

3N- α -PAN の酸解離定数を求め、5N- α -PAN および α -PAN と比較した。ピリジン窒素の酸解離定数は 1 以下であり、正確な値を求めることができないため、2-1-2 にしたがって、ヒドロキシル基の酸解離定数のみを決定した。

3N- α -PAN および 5N- α -PAN について、3 種のエタノールあるいはジオキサン濃度で $pK_a(\text{OH})$ を求め、外挿によって水中での酸解離定数を算出した。また、 α -PAN について

は、文献値^{1,12}を用いて同様に算出した。その結果を Fig.2-3 および Table 2-4 に示す。

3N- α -PAN の $pK_a(OH)$ は 10.2 という極めて大きな値となった。5N- α -PAN より 3 も大きかった。電子吸引性の高いニトロ基を有しているにもかかわらず、 α -PAN よりも約 1 大きくなった。

2-1-3-3-3 液-液分配平衡

2-1-3-3-3-1 試薬の分配

既報¹³にしたがって、クロロホルム系およびオクタン系における分配定数 K_D を求めた。比較のため、5N- α -PAN についても同様の検討を行った。pH > 12 では、分配比の対数 $\log D_L$ は (2) 式で与えられる。

$$\log D_L = \log K_D - \text{pH} + pK_a(OH) \quad (2)$$

pH に対して $\log D_L$ をプロットすると傾斜は 1 となり、その切片の値と $pK_a(OH)$ を用いて $\log K_D$ を決定することができる。得られた結果を Fig. 2-4 および Table 2-4 に示す。クロロホルム系に比べてオクタン系では、3N- α -PAN、5N- α -PAN のいずれの分配定数も小さくなったが、3N- α -PAN ではその傾向が顕著であった。3N- α -PAN がオクタンのような非極性溶媒中でも、極性の高い構造を維持しようとするために、分配が悪いと考えられる。

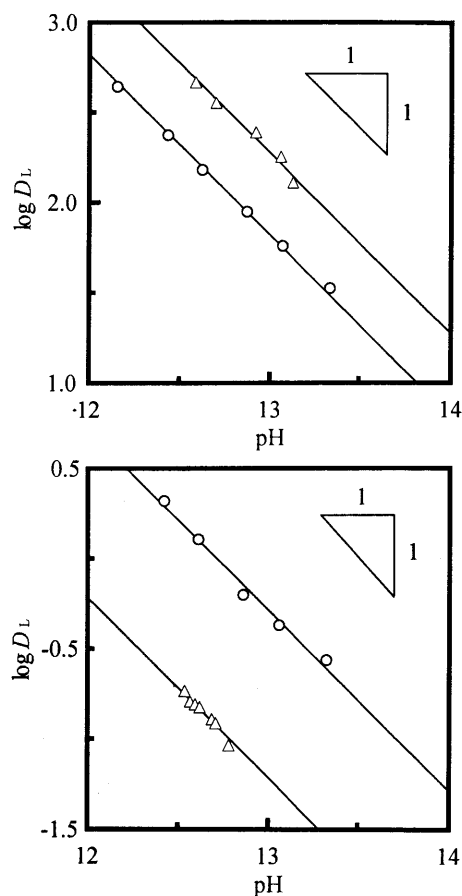


Fig. 2-4 Determination of partition constants of 3N- α -PAN and 5N- α -PAN. Organic phase: (A) Chloroform; (B) Octane. (Δ): 3N- α -PAN; (O): 5N- α -PAN.

2-1-3-3-2 結晶構造解析

エタノールからの再結晶により得られた 3N- α -PAN の結晶に関する X線構造解析の結果を Fig. 2-5 および Table 2-5 に示す。観測された N(2)-N(3) の距離は 1.336(3)Åであった。アゾ型 (-N=N-) およびヒドラゾン型 (-NH-N=) の標準的な距離は、それぞれ、 1.24 ± 0.01 Å, 1.39 ± 0.01 Å と報告されており¹¹, ヒドラ

Table 2-5 Bond distances (Å)

| | distance | distance | |
|-------------|----------|-------------|----------|
| O(1)-C(6) | 1.242(3) | O(2)-N(4) | 1.227(3) |
| O(3)-N(4) | 1.237(3) | N(1)-C(1) | 1.340(3) |
| N(1)-C(5) | 1.335(4) | N(2)-N(3) | 1.336(3) |
| N(2)-C(1) | 1.387(3) | N(3)-C(7) | 1.323(3) |
| N(4)-C(2) | 1.461(3) | C(1)-C(2) | 1.403(4) |
| C(2)-C(3) | 1.385(4) | C(3)-C(4) | 1.370(4) |
| C(4)-C(5) | 1.386(4) | C(6)-C(7) | 1.482(4) |
| C(6)-C(15) | 1.467(4) | C(7)-C(8) | 1.443(4) |
| C(8)-C(9) | 1.331(4) | C(9)-C(14) | 1.448(4) |
| C(10)-C(11) | 1.392(4) | C(10)-C(14) | 1.403(4) |
| C(11)-C(12) | 1.391(4) | C(12)-C(13) | 1.383(4) |
| C(13)-C(15) | 1.399(4) | C(14)-C(15) | 1.409(4) |
| N(2)-H(10) | 0.99(3) | C(3)-H(1) | 0.99(3) |
| C(4)-H(2) | 1.03(3) | C(5)-H(3) | 0.98(3) |
| C(8)-H(4) | 0.96(3) | C(9)-H(5) | 1.00(3) |
| C(10)-H(6) | 0.95(3) | C(11)-H(7) | 1.02(3) |
| C(12)-H(8) | 1.00(3) | C(13)-H(9) | 0.99(3) |
| O(1)-H(10) | 1.81(3) | O(2)-H(10) | 1.98(3) |

ゾン型の値により近い。また、

O(1)-C(6) の距離は 1.242(3)Å であった。一方、フェノール型 (C-OH) およびキノイド型 (C=O) の標準的な距離が、それぞれ、 1.38 ± 0.01 Å, 1.22 ± 0.01 Å と報告されているので、キノイドの値に極めて近い。さらに、N(2)-H(10) および O(1)-H(10) の距離は、それぞれ、0.99(3)Å, 1.81(3)Å であり、N(2)-H(10)⋯O(1) 水素結合を示している。加えて、O(2)-H(10) の距離が 1.98(3)Å であることから、N(2)-H(10)⋯O(2) 水素結合も生じていると考えられる。前に記した特異な挙動は、3N- α -PAN が溶液中においても、ヒドラゾン(ケト)型として存在しているとすれば合理的に説明できる。

2-1-3-3-4 結語

3N- α -PAN は、極めて安定なヒドラゾン型互変異性体として存在するため、ODS カラム、非極性溶媒等への分配が小さい。逆相 HPLC では、錯陽イオン [Co^{III}L₂]⁺ よりも小さい保持が得られた。

本研究において確認された 3N- α -PAN の構造特性は、新規プレカラム誘導体化試薬を設計する上で一つの重要な指針を与える。ピリジルアゾフェノール類縁体において、アゾ

(エノール) 型-ヒドラゾン (ケト) 型互変異性の平衡をヒドラゾン (ケト) 型にシフトさせたい場合には、ピリジン環の 3 位へのニトロ基の導入が有効である。試薬 (HL) の 3 位のニトロ基は、ピリジン環に隣接するアゾ窒素と位置的に近いので、試薬がケト型互変異性体となった際に、ニトロ基の酸素がヒドラゾンの $-NH$ と水素結合し、ケト型の安定化に寄与する。

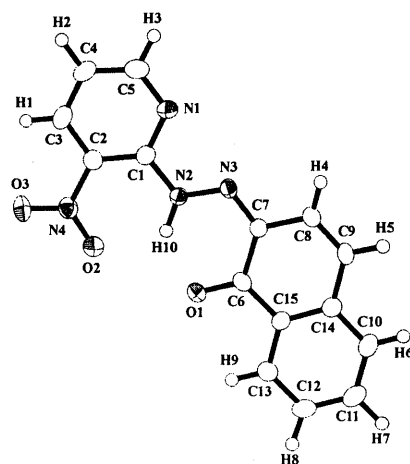


Fig. 2-5 Perspective view of the molecule and the numbering of atoms.

2-1-4 金属イオンの抽出挙動

種々の *o*-ヒドロキシアゾ化合物を用いたこれまでの一連の研究から、クロマトグラフ上では、各金属錯体は通常、 $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ 、 $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ の型をとるとき、ピークを与えることがわかっている。従って、サンプル調製及び移動相の条件は、これらの錯体ができるだけ安定に存在できるように設定しなくてはならない。そこで、各 *o*-ヒドロキシアゾ化合物錯体の形成に及ぼす pH の影響を調べた。

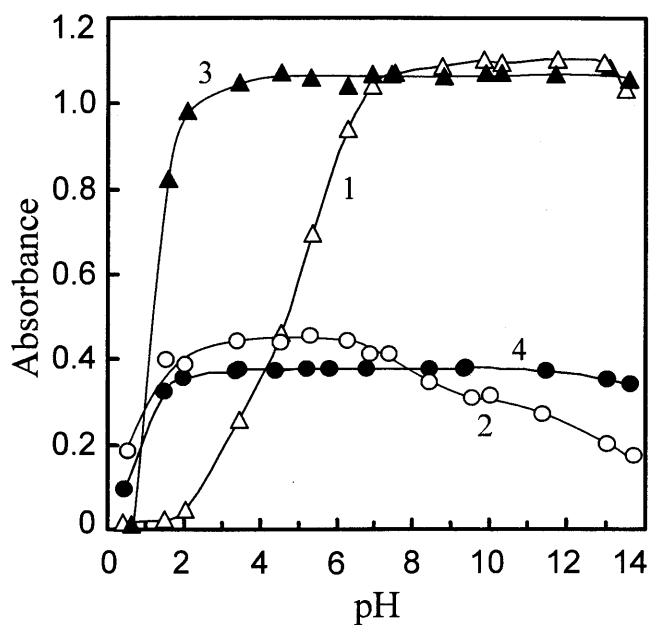


Fig.2-6 Effect of pH on the extraction of α -PMAN complexes. Aqueous phase (10 ml) concentrations; metal 1.0×10^{-5} M; α -PMAN = 1.25×10^{-5} M (Cu) or 2.5×10^{-5} M (others); buffer = 0.01 M; KCl = 0.1 M; ascorbic acid = 2.0×10^{-4} M (Fe); $\text{KIO}_4 = 1.0 \times 10^{-3}$ M (Co). Organic phase (10 ml): chloroform. Metal, wavelength: (1) Cu, 553 nm; (2) Co, 605 nm; (3) Ni, 600 nm; (4) Fe, 759 nm.

錯体のカラム内での移動相-固定相間分配を想定して、水-クロロホルム系で検討を行った。カラム中での安定性を見積もるためにできるだけ遊離の配位子が存在しないように濃度設定を行った。鉄及びコバルト錯体の系では、 $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ あるいは $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ の形成を優位にするために、それぞれ、アスコルビン酸と過ヨウ素酸カリウムを添加した。陽イオン性錯体を抽出するための対イオンとして塩化物イオンを選択した。このイオンは過剰に存在しても錯体の形成を阻害しない。

α -PMAN で得られた結果を Fig. 2-6 に示す。pH に対して、各錯体の極大吸収波長での吸光度をプロットしてある。鉄およびニッケルでは pH 2-13 の範囲で吸光度が一定となった。pH 2 という低い領域でこれらの錯体が存在できるということは、サンプル調製あるいは移動相 pH の設定を容易にする。

銅は pH が高くなると、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ より $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_2]$ を優位に形成する。これは *o*-ヒドロキシ
アゾ化合物に一般的に言えることである。pH の増加と共に吸光度がなだらかに増加してい
るが、pH 5 付近で、錯体の極大吸収波長が低波長側にシフトしていることから組成の変化
が確認できる。 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_2]$ はカラム中で徐々に $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ へ解離するために、ピークとして検
出されない。 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ を優位に存在させることができる pH の上限は 4-5 である。

コバルトは pH 6 以上で吸光度の減少が見られた。これは、酸化剤の存在下においても、
pH の増加と共に $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ から $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ への酸化が不利になるためである。これも錯体の
吸収波長の変化から確認できる。 $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ は上記の $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と同様にカラム中では不安定
であり、ピークとしては検出されない。 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ が優位に存在するように pH を低くして
おく必要がある。

以上により、 α -PMAN では pH 4-5 の範囲で、銅およびコバルト錯体が安定な形で存在
することが示された。

同様に、 β -PMAN で得られた結
果を Fig.2-7 に示す。鉄、ニッケ
ル錯体は pH 2-13 の範囲で吸光度
が一定となった。銅は、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$
から $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_2]$ への組成変化が
 α -PMAN よりも高い pH で起こる。
このため、pH 5 付近までは
 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ が優位に存在している。
pH 6 以上での $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}_2]$ への組成
変化は、極大吸収波長が低波長側
へシフトすることから確認でき
る。

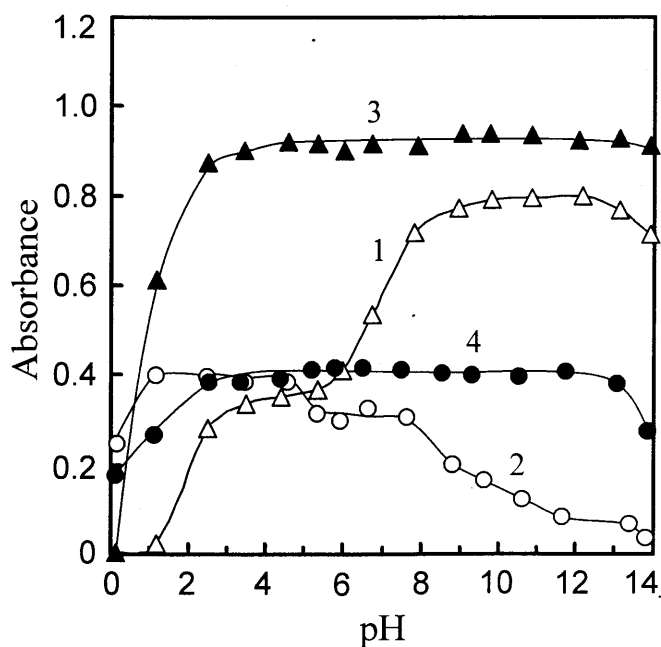


Fig.2-7 Effect of pH on the extraction of β -PMAN complexes. Aqueous phase (10 ml) concentrations; metal 1.0×10^{-5} M; β -PMAN = 1.25×10^{-5} M (Cu) or 2.5×10^{-5} M (others); buffer = 0.01 M; KCl = 0.1 M; ascorbic acid = 2.0×10^{-4} M (Fe); $\text{KIO}_4 = 1.0 \times 10^{-3}$ M (Co). Organic phase (10 ml): chloroform. Metal, wavelength: (1) Cu, 545 nm; (2) Co, 583 nm; (3) Ni, 563 nm; (4) Fe, 776 nm.

コバルト，ニッケルおよび鉄錯体の抽出挙動は， α -PMAN を用いた場合とほとんど変わらない。

2-2 金属錯体

2-2-1 鉄およびコバルト錯体の酸化還元電位

2-2-1-1 CV 操作

スクリーキャップ式遠沈管に 1×10^{-2} M 試薬エタノール溶液 1 ml および 1×10^{-2} M 金属溶液 1 ml を採り，Fe(II)錯体の抽出では 4×10^{-3} M アスコルビン酸溶液 1 ml を，Co(III)錯体の抽出では 3 M 過塩素酸ナトリウム 1 ml を加えた。5N- α -PAN，5N-PAC，TAC，および α -PMAN の Co(III)錯体を形成させる場合には 1×10^{-2} M 過ヨウ素酸カリウム溶液 1 ml も加えた後に，水で全量を 10 ml とした。各錯体が完全に抽出されるように 0.1 M 水酸化ナトリウムを用いて pH を調整した後，1,2-ジクロロエタン 10 ml と 30 分振とうした。3000 rpm で 5 分間遠心分離することによって相を分離し，有機相の溶媒をロータリーエバポレーターで蒸発させた。得られた沈殿を 0.1 M 過塩素酸テトラブチルアンモニウム-ジクロロエタン溶液 5 ml に溶かした。以上の操作により，過剰の試薬，金属イオンおよび酸化還元試薬を含まない 1×10^{-3} M $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ あるいは $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]\text{ClO}_4$ のジクロロエタン溶液を得た。

CV測定にはP-1100型POLAROGRAPHIC ANALYZER (Yanaco, Tokyo, Japan) および1120型POTENTIO-GALVANOSTAT (Huso Electrochemical System, Kanagawa, Japan) を用いた。作用電極にMPTE型微小白金電極 (25 μm i.d., BAS, Tokyo, Japan)を，参照電極にRE-5型非水溶媒系比較電極 ($\text{Ag}/\text{Ag}^+/\text{ACN}/\text{TBAP}$, BAS) を，対極に白金線を用いた。

2-2-1-2 鉄およびコバルト錯体の酸化還元電位

Table 2-7 に鉄およびコバルト錯体の酸化還元電位を示す。

コバルト錯体では， β -PAN 錯体の値を基準とすると α -PAN および PAC 錯体の $E^0_{\text{CoL}_2}$

は 0.13 V 高く, ニトロ誘導体である 5N- α -PAN および 5N-PAC 錯体の E^0_{CoL2} はさらに約 0.3 V 高くなった. 一方, アルキルアミノ誘導体である PADMAP, PAEAP, PAEAC および PADEAP 錯体の E^0_{CoL2} は, β -PAN 錯体に比べて 約 0.2 V 低かったが, PADEAP にクロロ基を導入することにより(5-Cl-PADEAP), E^0_{CoL2} は 0.1 V 増加した. この増減は, 配位子の酸解離定数と極めて高い相関をもつことがわかった. 詳細は第 5 章に記載する. なお, Table 2-7 中で, チアゾリルアゾ化合物では, 酸解離定数が低いにも拘わらず, 鉄錯体の酸化還元電位は対応するピリジルアゾ化合物と変わらなかった. コバルト錯体では, そのような現象がないことから, この特異的挙動は非常に興味深い. しかしながら, 第 5 章では, ピリジルアゾ化合物のみを取り扱った.

Table 2-6 Redox potentials

| Abbreviation | $\Sigma \text{p}K_a^{a)}$ | Redox potential ^{b)} | |
|-------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------|
| | | E^0_{Co} | E^0_{Fe} |
| β -PAN | 14.5 | -0.40 | 0.19 |
| α -PAN | 12.7 | -0.27 | 0.27 |
| PAC | 11.5 | -0.27 | 0.34 |
| 5N- α -PAN | 8.2 | 0.03 | 0.59 |
| 5N-PAC | 8.8 | 0.00 | 0.52 |
| PADMAP | 16.9 | -0.62 | -0.01 |
| PAEAP | 16.6 | -0.58 | -0.01 |
| PAEAC | 17.6 | -0.61 | -0.06 |
| PADEAP | 16.9 | -0.60 | -0.03 |
| 5-Cl-PADEAP | 14.6 | -0.49 | 0.05 |
| β -PMAN | 12.4 | -0.21 | 0.42 |
| α -PMAN | 10.5 | -0.04 | 0.48 |
| β -TAN | 11.1 | -0.19 | 0.17 |
| TAC | 8.8 | -0.05 | 0.33 |
| TADMAP | 12.8 | -0.46 | -0.05 |

a) $\Sigma \text{p}K_a = \text{p}K_{a,\text{N(H)}} + \text{p}K_{a,\text{NRR(H)}} + \text{p}K_{a,\text{OH}}$

b) $E^0/\text{V vs. Ag} | 0.01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Ag}^+ (\text{AN})$.

2-2-3 試薬および錯体の $^1\text{H-NMR}$

Fig. 2-8 に α -PAN の鉄錯体で得られた $^1\text{H-NMR}$ スペクトルとケミカルシフト値を示す。測定したすべての鉄錯体および亜鉛錯体で良好なスペクトルが得られた。詳細は第 6 章に記述する。鉄錯体では、ピリジン窒素近隣のプロトンのケミカルシフト値は著しく高磁場側にシフトし、電子が移動していることがわかる。

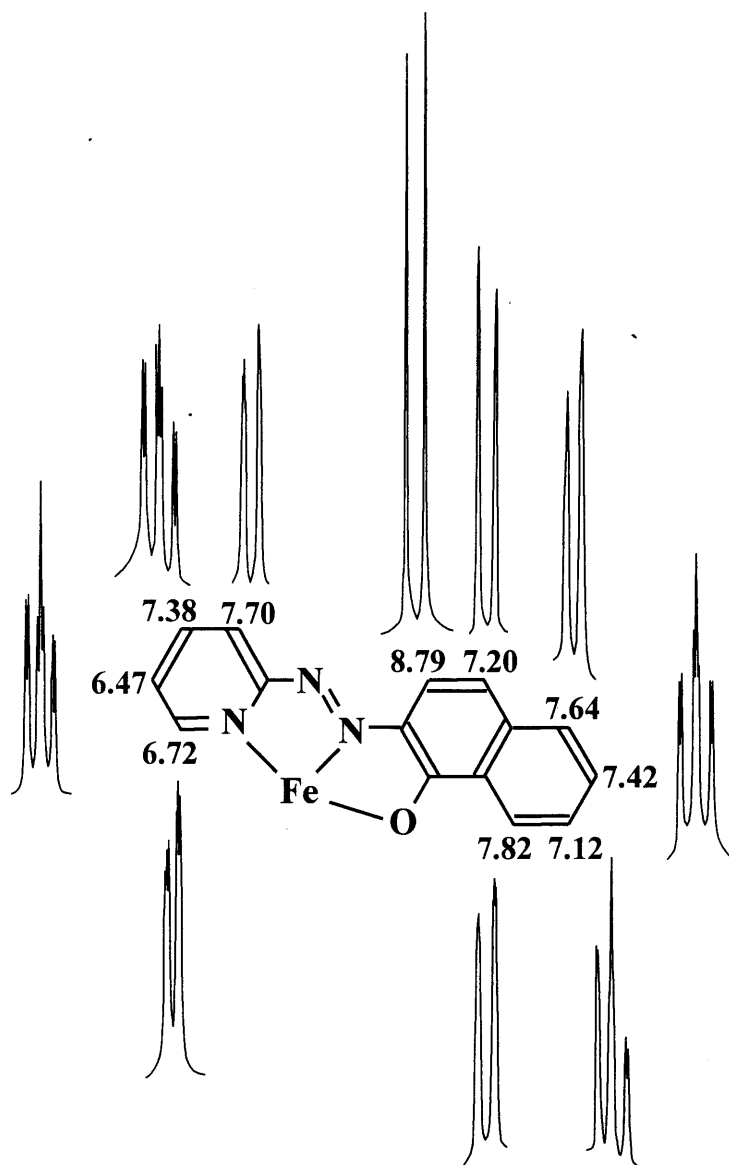


Fig. 2-8 $^1\text{H-NMR}$ chemical shifts of $\text{Fe}^{\text{II}}(\alpha\text{-PAN})_2$ Complex

2-3 参考文献

1. A. Kawase, *Bunseki Kagaku*, **1967**, 16, 569.
2. A. Mangini and B. Frenguelli, *Bazz. Chim. Ital.*, **1939**, 69, 86; *Chem. Abstr.*, **1939**, 33, 5398.
3. G. P. Hildebrand and C. N. Reilly, *Anal. Chem.*, **1957**, 29, 258.
4. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1963**, 84, 639.
5. K. Ohshita, H. Wada, and G. Nakagawa, *Anal. Chim. Acta*, **1982**, 140, 291.
6. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1962**, 83, 1098.
7. K. Ueno, T. Imamura, and K. L. Cheng, "Handbook of Organic Analytical Reagents", **1992**, CRC Press, 227.
8. M. C. Burla, M. Camalli, G. Cascarano, C. Giacovazzo, G. Polidori, R. Spagna, and D. Viterbo, *J. Appl. Cryst.*, **1989**, 22, 389.
9. J. A. Ibers and W. C. Hamilton (Eds.), "International Tables for X-ray Crystallography" Vol. IV, Kynoch Press, Birmingham.
10. teXsan Crystal Structure Analysis Package, Molecular Structure Corporation (1985 and 1992).
11. M. Kurahashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1976**, 49, 2927.
12. K. Ohshita, H. Wada, and G. Nakagawa, *Anal. Chim. Acta*, **1982**, 140, 291.
13. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1963**, 84, 636.

第3章 1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール錯体の逆相 HPLC 挙動

3-1 緒言

1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (PAN) は、金属イオンと非選択的に反応するため、比色および抽出試薬として様々な金属イオンの分離定量に対して広く用いられてきた。この試薬の利用および個々の金属との錯形成を記述した多くの研究が報告されているが¹, PAN 錯体の RP-HPLC 挙動に関する論文は少ない (第1章 1-6)。その中で、Cu(II), Co(III), Ni(II) および Fe(II) 錯体の RP-HPLC 分離が試みられているが², Ni(II)と Fe(II)錯体間の良い分離は得られていない。

本研究では、アルキル基結合シリカゲル固定相に対する PAN および Cu(II), Co(III), Ni(II)および Fe(II) 錯体の RP-HPLC 挙動を広く研究した。陽イオン性錯体, $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{PAN})]^+$ および $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{PAN})_2]^+$ の残存シラノール基への吸着, そして, 中性錯体, $\text{M}(\text{PAN})_2$ [M: Ni(II), Fe(II)] を含む全錯体の保持を議論した。

3-2 実験

3-2-1 装置

HPLC システムには、東ソー製 CCPD デュアルポンプ (樹脂仕様), サヌキ工業製 SVM-6M2L セラミックバルブインジェクター (デッドボリューム 2 μl , サンプルループ 8 μl), NEC パーソナルコンピューターと接続した日本分光製 Multi-330 マルチチャンネル検出器 (測定波長 200-900 nm, フローセル 4 μl , 1 mm I.D., 光路長 5 mm) を用いた。日本分光製 DP-L320/98 データ処理システムにより, 検出器からの三次元データの取り込み, データ解析, ピーク解析を行った。とくに断らない限り, ジェルサイエンス製 Inertsil ODS-2 カラム (250 mm \times 4.6 mm I.D., 粒径 5 μm) を用いた。日本分光製 860-CO 空気循環式カラムオープンを用いてカラム温度を制御した。メタルフリーのポンプ, インジェクター, カラム, チューブを用いることにより, HPLC 装置からの金属汚染を最小限

に抑えた。

3-2-2 試薬

PAN は 2-1-1 で述べた方法に従って合成し、エタノールに溶かした。金属ストック溶液 (1×10^{-2} M) は分析特級の金属銅、コバルト、ニッケル硝酸塩あるいは鉄硫酸塩から、0.01-0.1 M の酸を含むように調製した。移動相に添加する有機あるいは無機塩には試薬特級及び試薬一級を用いた。移動相有機溶媒はすべて試薬特級をそのまま用いた。各種溶液および移動相の調製に使用した水は、東レ製超純水製造装置トレピュア LV-10T で精製した。

3-2-3 クロマトグラフ操作

銅(II)、コバルト(II)、ニッケル(II)および鉄(II)をそれぞれ 1×10^{-4} M 含む水溶液 (pH ca. 4) 1 ml を、 2.5×10^{-4} M PAN エタノール溶液 4 ml に加え、少なくとも 30 分間放置した。定量的に反応させるために、必要に応じて 80°C で加熱した。この溶液を吸引によってサンプルループにロードし、10 μl をカラムに注入した。移動相は使用する前に東洋濾紙製のメンブランフィルター (孔径 0.2 μm) でろ過し、アスピレーターによる減圧下で 5 分間超音波脱気した。移動相の流速は 0.8 ml min^{-1} とし、各移動相で少なくとも 30 分間カラムを平衡化した後、サンプルを注入した。ボイドボリューム測定用の標準物質として亜硝酸ナリトウムの保持時間を用い、PAN および金属錯体のリテンションファクター (k) を計算した。

3-3 結果および考察

3-3-1 PAN 錯体のクロマトグラフ挙動

操作項で述べた条件 (pH 約 4) で、銅およびコバルトは $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{PAN})]^+$ および $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{PAN})_2]^+$ の錯陽イオンを形成し、ニッケルおよび鉄は $[\text{M}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ の中性錯体を形成する。分析対象物の RP-HPLC 挙動はしばしば抽出挙動から推測される。なぜなら、保持

は主に固定相と移動相間の分配に基づくからである。PAN を用いて金属のクロロホルムへの抽出性を紫外可視分光光度法で調べた。その結果を Fig.3-1 に示す。イオン強度は KCl で 0.1 M に調整した。陽イオン性の Cu(II) および Co(III) 錯体は、 $[\text{Cu}(\text{PAN})]^+ \text{Cl}^-$ および $[\text{Co}(\text{PAN})_2]^+ \text{Cl}^-$ として抽出された。

pH 4-10 で、Cu(II)、Co(III)、Ni(II) および Fe(II)錯体が定量的に抽出された。それらの吸収スペクトル

および吸収極大波長はこの pH 範囲で変化しなかった。唯一、 $\text{pH} > 7$ で、Cu(II) - PAN のスペクトルが $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ の形成によって変化した。

Cu(II)-、Co(III)-、Ni(II)- および Fe(II)-PAN 錯体と過剰の PAN を含む溶液をカラムに注入した。Fig.3-2(A) は、移動相として添加剤を含まないアセトニトリル-水 (70:30, v/v) を用いて得られたクロマトグラムを示す。PAN、 $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ および $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ 中性錯体に対応する 3 本のピークのみが観察され、 $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{PAN})]^+$ および $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{PAN})_2]^+$ 錯陽イオンに対応するピークは得られなかった。

アルキル結合型シリカゲルの表面にはエンドキャッピング後もシラノール基が残っており、塩基性あるいは極性化合物のクロマトグラムに影響を及ぼすことが報告されている³⁻⁵。シラノール基の $\text{p}K_a$ は約 7 であるので⁶、Cu(II)および Co(III)の錯陽イオンは $\text{pH} > 7$ で解離型のシラノール基 ($-\text{SiO}^-$) に吸着され、より低い pH では、シラノールのプロトンと交換されると予想される。

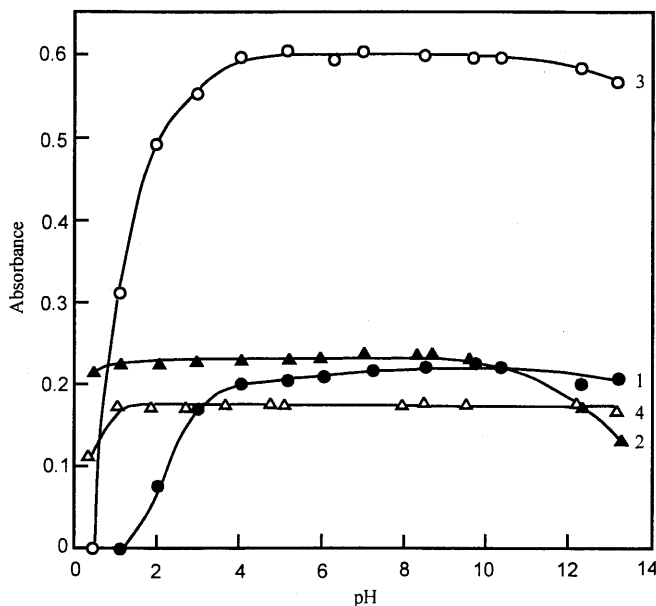


Fig.3-1 Effect of pH on the extraction of PAN complexes. Aqueous phase (10 ml) concentrations; metal 1.0×10^{-5} M; PAN = 1.25×10^{-5} M (Cu) or 2.5×10^{-5} M (others); buffer = 0.01 M; KCl = 0.1 M; ascorbic acid = 2.0×10^{-4} M (Fe); $\text{KIO}_4 = 1.0 \times 10^{-3}$ M (Co). Organic phase (10 ml): chloroform. Metal, wavelength: (1) Cu, 565 nm; (2) Co, 583 nm; (3) Ni, 569 nm; (4) Fe, 765 nm.

3-3-2 移動相 pH の影響

PAN および Cu(II), Co(III), Ni(II) および Fe(II)錯体の保持に対する移動相 pH (約 1-7) の影響を, 硫酸を含むアセトニトリル-水 (70:30, v/v) を用いて調べた (Fig.3-2(B),(C)). Co(III) および Cu(II) 錯体の低いピークがそれぞれ, pH \cong 5 および pH \cong 3 で得られた. pH \cong 3 での Cu(II) および Co(III) 錯体の保持は, ボイドボリューム測定用の標準物質である亜硝酸ナトリウムの保持とほとんど同じであった. pH 3 では, 残存シラノール基がほとんど無視できることは明らかである. しかしながら, この pH では, Fig.3-2(C) にみられるように, 錯体の解離によって Cu(II) および Ni(II)錯体のピーク高さが低下した.

3-3-3 移動相添加剤の影響

種々の有機および無機塩 (総濃度を 0.01 M に調整) をアセトニトリル-水 (70:30, v/v) 移動相に添加し, PAN 錯体の保持に対する影響を調べた.

Fig.3-2(D) に 0.01 M チオシアン酸アンモニウムを含む移動相を用いて得られたクロマトグラムを示す. また, 陽イオン性の PAN 錯体のリテンションファクター (k) と理論段数 (N) を他の塩とともに, Table 3-1 にまとめる. 中性の Ni(II) および Fe(II)錯体の保持は, どの塩を添加しても変化しなかった.

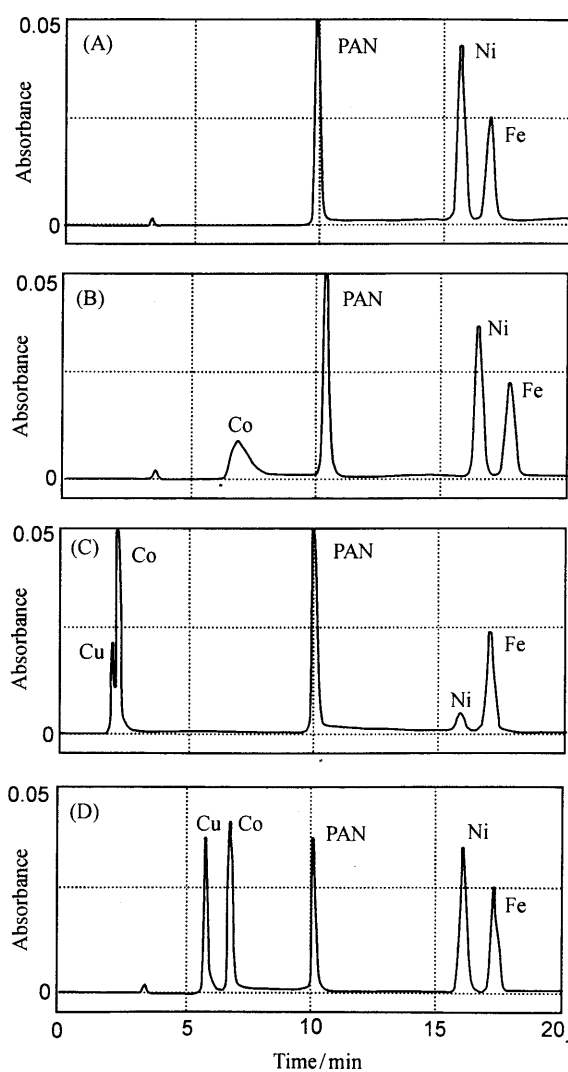


Fig.3-2 Chromatogram of PAN complexes. Column: Inertsil ODS-2. Mobile phase: acetonitrile-water (70:30,v/v) containing (A) no additives; (B) 1.0×10^{-5} M H_2SO_4 , pH 5.4; (C) 1.0×10^{-4} M H_2SO_4 , pH 3.3; (D) 1.0×10^{-2} M NH_4SCN , pH 5.3. Flow-rate; 0.8 ml min^{-1} . Column temperature: 40°C. Metal, amlunts injected (μg), detection wavelength (nm): Cu, 0.013, 555; Co, 0.012, 447; Ni, 0.012, 560; Fe, 0.011, 466

Table 3-1 Effect of salts on chromatographic behavior of cationic PAN complexes

| Salt (0.01 M) | Retention factor (<i>k</i>) | | Theoretical plate number (<i>N</i>) ^a | |
|--|-------------------------------|---------|--|---------|
| | Cu(II) | Co(III) | Cu(II) | Co(III) |
| Sodium 2-Naphthalenesulfonate | – | 3.80 | – | 6500 |
| Sodium 1-Pentanesulfonate | – | 2.37 | – | 7200 |
| Acetic acid-Sodium Acetate (pH 5) ^b | – | 3.12 | – | 4800 |
| Citric acid-Sodium Citrate (pH 5) ^b | – | 1.85 | – | 9200 |
| Tetra-n-butylammonium Bromide | – | 1.60 | – | 4300 |
| Sodium Bromide | – | 1.90 | – | 7600 |
| Ammonium Bromide | 0.88 | 1.60 | 300 | 9600 |
| Sodium Azide | 1.90 | 3.42 | 100 | 7000 |
| Sodium Thiocyanate | 1.32 | 2.28 | 1500 | 6800 |
| Ammonium Thiocyanate | 1.15 | 1.53 | 11700 | 5800 |

$$^a N = 5.54(t_R / W_{1/2})^2.$$

^b The sodium ion concentration is less than 0.01 M.

Co(III) 錯体は、いずれの塩を移動相に添加しても、カチオンとアニオンによらず、シャープなバンドとして溶出した。その際、リテンションファクターは 1.6-3.8 まで変化した。一方 Cu(II) 錯体は 4 種類の塩でのみ溶出した。チオシアン酸塩を用いて得られた理論段数はアジ化物塩あるいは臭化物塩を用いたときよりも著しく大きかった (NaSCN と NaN₃ との比較, NH₄SCN と NH₄Br との比較)。さらに、アンモニウム塩はナトリウム塩よりも小さな保持でシャープなピークを与えた (NH₄SCN と NaSCN との比較)。

したがって、アンモニウムとチオシアン酸の組み合わせが、添加剤としてもっとも効果的であることがわかった (Fig.3-2(D))。アンモニウムイオンは解離型シラノール基への錯陽イオンの吸着を抑制し、チオシアン酸イオンは銅錯体の電荷を中和して、[Cu(PAN)]⁺ SCN⁻ を形成する。結果として、錯体とシラノール間の相互作用が減少し、固定相に適切に分配される。

3-3-4 固定相の影響

市販のアルキル基結合シリカゲル充填カラム 8 種類を用いて、PAN 錯体の保持挙動を調べた。置換基はオクタデシル基 (-C₁₈; 6 メーカー)、オクチル基 (-C₈; 1 メーカー)、メチル基 (-C₁; 1 メーカー) であった。添加剤を含まない移動相を用いたとき、錯陽イオンは上

Table 3-2 Effect of columns on chromatographic behavior of PAN complexes^a

| Column | CH ₃ CN-water | Retention factor (<i>k</i>) | | | | |
|-----------------------------------|--------------------------|-------------------------------|---------|------|--------|--------|
| | | Cu(II) | Co(III) | PAN | Ni(II) | Fe(II) |
| Inertsil ODS-2 (GL Sciences) | 70:30 | 1.23 | 1.78 | 2.85 | 5.32 | 5.82 |
| Shim-pack CLC-ODS (Shimadzu) | 70:30 | 1.28 | 2.02 | 2.68 | 5.08 | 5.50 |
| TSKgel ODS-80Ts (TOSOH) | 70:30 | 1.50 | 2.27 | 2.98 | 6.32 | 6.86 |
| TSKgel ODS-120T (TOSOH) | 70:30 | 1.04 | 2.39 | 2.53 | 3.68 | 3.97 |
| Kaseisorb ODS-SUPER (TOKYO KASEI) | 70:30 | 1.08 | 1.33 | 2.47 | 4.73 | 5.17 |
| Kaseisorb ODS-300-5 (TOKYO KASEI) | 70:30 | 0.23 | 0.23 | 0.54 | 1.03 | 1.13 |
| | 60:40 | 0.45 | 0.56 | 0.97 | 2.42 | 2.70 |
| Unisil Q C8 (GL Sciences) | 70:30 | 1.06 | 3.50 | 1.99 | 3.05 | 3.24 |
| | 60:40 | 1.98 | 8.28 | 3.33 | 6.71 | 7.23 |
| Finepak C1-5 (JASCO) | 70:30 | 0.21 | 0.71 | 0.24 | 0.32 | 0.32 |
| | 50:50 | 0.95 | 2.69 | 0.75 | 1.29 | 1.33 |

^a Mobile phase: acetonitrile-water containing 0.01 M NH₄SCN.

記のいずれのカラムからも溶出されなかった。Kaseisorb ODS-300-5 だけが Co(III)錯体のピークを示したが、再現性のある保持係数は得られなかった。一方、0.01 M チオシアン酸アンモニウム存在下では、すべての錯体がすべてのカラムから溶出された。PAN 錯体の保持係数 (*k*) を Table 3-2 にまとめる。用いた ODS の間で、幾つかの相違点がみられた。例えば、TSK-gel ODS-120T での Cu(II) および Co(III)錯体の強い保持は、このカラム上に存在する残存シラノール基が多いために、より高濃度のチオシアン酸アンモニウムを必要とすることを示唆する。しかしながら、いずれのカラムでも溶出順は同じであり、錯体間の保持係数の比もお互いに似ていた。

アルキル鎖長は PAN 錯体の保持に大きな影響を与えた。炭素数の減少に伴い、PAN と Cu(II), Ni(II) および Fe(II)錯体の保持は徐々に小さくなったが、Co(III)錯体の保持は C₈ で最大となった (Fig.3-3)。結果として、C₁ および C₈ カラムを用いたとき、[Co^{III}(PAN)₂]⁺ SCN⁻ の保持が [Ni^{II}(PAN)₂] および [Fe^{II}(PAN)₂] の保持よりも大きくなった。C₁ カラムの場合には、アセトニトリル-水 (50:50, v/v) で

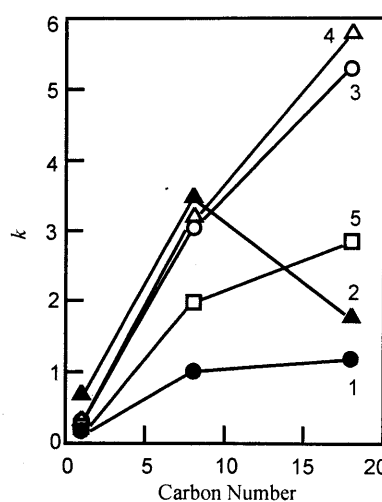


Fig.3-3 Effect of carbon number on retention factor (*k*).
Column: C₁₈, Inertsil ODS-2; C₈, Unisil Q C₈; C₁, Finepak SIL C1-5. Mobile phase: acetonitrile-water (70:30, v/v) containing 1.0×10⁻² M NH₄SCN. (1) Cu; (2) Co; (3) Ni; (4) Fe; (5) PAN.

$[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{PAN})]^+ \text{SCN}^-$ が PAN よりも強く保持された (Table 3-2). したがって, 固定相のアルキル鎖長によって, 分離, さらには溶離順序さえ, 変えることができる. アルキル鎖長が短い場合, 残存シラノール基との相互作用が起りやすいことが示唆される.

3-3-5 移動相有機溶媒の影響

錯体の溶出に対するアセトニトリル, アセトン, メタノール, エタノールのような有機溶媒の影響を調べた. 圧力損失の小さい東京化成製 Kaseisorb ODS-300-5 充填カラム (250 mm × 4.6 mm I.D., 粒径 5

μm) を用いた. 結果を Fig.3-4 に示す. 0.01 M チオシアン酸アンモニウムを含むアセトニトリル-水を用いたとき (Fig.3-4(A)), 移動相の極性の減少に伴って, $\text{Co}(\text{III})$, $\text{Ni}(\text{II})$ および $\text{Fe}(\text{II})$ 錯体の保持が減少する割合は, $\text{Cu}(\text{II})$ および PAN よりも大きかった. $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{PAN})]^+ \text{SCN}^-$ で得られた傾きは PAN とほとんど同じであったが, $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{PAN})_2]^+ \text{SCN}^-$, $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$, $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ では傾きは2倍となった.

その比は, 各錯体に含まれる PAN 配位子の数に一致

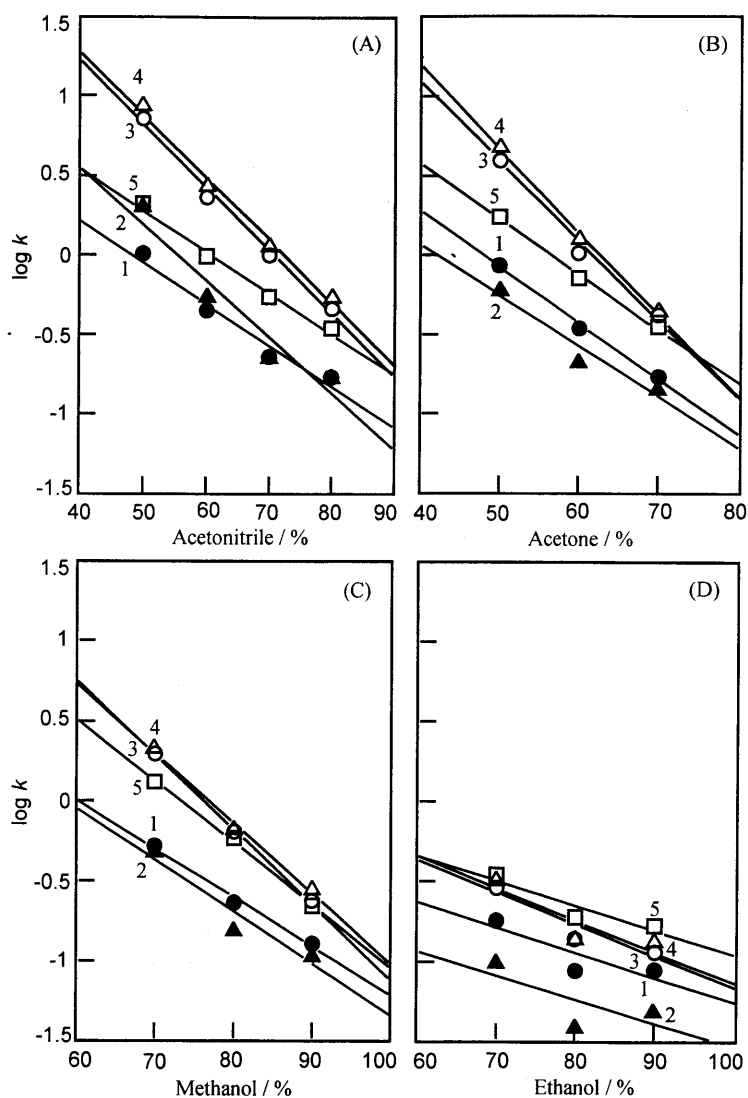


Fig.3-4 Effect of organic modifier on retention factor (k). Column: Kaseisorb ODS-300-5. Mobile phase: (A) acetonitrile-water; (B) acetone-water; (C) methanol-water; (D) ethanol-water containing 1.0×10^{-2} M NH_4SCN . 1 (●) Cu; 2 (▲) Co; 3 (○) Ni; 4 (△) Fe; 5 (□) PAN.

する。一方、切片の値は、陽イオン性種が中性種よりも小さい ($[\text{Co}^{\text{III}}(\text{PAN})_2]^+ \text{SCN}^-$ と $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ あるいは $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{PAN})_2]$ との比較, $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{PAN})]^+ \text{SCN}^-$ と PAN との比較). したがって、アセトニトリル含有率を増加させる

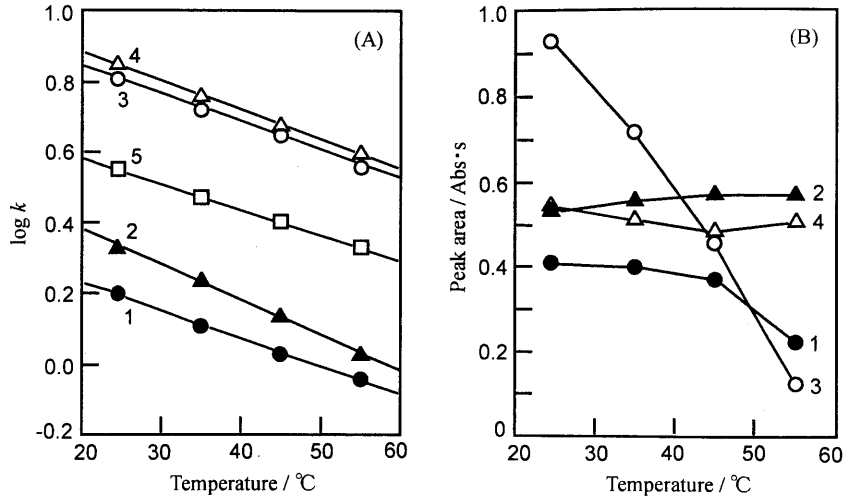


Fig.3-4 Effect of column temperature on retention factor (k) (A) and peak area (B). Column: Inertsil ODS-2. Mobile phase: acetonitrile-water (70:30, v/v) containing 1.0×10^{-2} M NH_4SCN . Other conditions are the same as in Fig. 3-2. (1), Cu; (2), Co; (3), Ni; (4), Fe; (5), PAN.

と、Ni(II) あるいは Fe(II)錯体と PAN との間の分離、そして Co(III) と Cu(II)錯体間の分離が悪くなった。アセトン - 水、メタノール - 水、エタノール - 水のような極性の低い溶媒系では、Co(III) と Cu(II)錯体の溶出順が逆転する (Fig.3-4(B)-(D)). エタノール - 水では、さらに、Ni(II) および Fe(II)錯体が PAN より先に溶出した。

3-3-6 錯体の保持に対するカラム温度の影響

Fig.3-5(A) は PAN およびその錯体の $\log k$ 値に対するカラム温度の影響を示す。カラム温度の増加に伴い、溶出時間が減少したが、すべての錯体に関する傾きがほとんど同じであるため、PAN および錯体の良い分離は維持された。上で述べたように、移動相中の有機溶媒濃度の増加によっても溶出時間は減少したが、Cu(II) および Co(III)錯体間の分離は悪くなった (Fig.3-4(A)).

Cu(II), とくに Ni(II)錯体のピーク面積が温度の増加に伴い減少した (Fig.3-5(B)). そのような減少はチオシアン酸塩を添加しないときには観察されないので、高い温度では、Ni(II)に配位した PAN がチオシアン酸イオンによって置換されたと考えられる。

3-4 結論

PAN 錯体の RP-HPLC 挙動に対する、移動相の水素イオン濃度、添加剤、有機溶媒、固定相のアルキル鎖長、カラム温度の影響を調べた。添加剤としてチオシアン酸アンモニウムを用いることにより、錯陽イオンの固定相への吸着を抑制できること、アルキル鎖長および移動相有機溶媒の極性を変えることにより溶出順序が変わること、カラム温度を上げることにより良い分離度を保ったまま溶出時間を短くできることが明らかになった。これらの結果は、錯陽イオンおよび中性錯体を含む分析対象物の RP-HPLC に関する基礎的な情報を与える。

3-5 参考文献

1. S. Shibata, in H.A. Flaschka and A. J. Barnard, Jr. (Editors), *Chelates in Analytical Chemistry*, Vol. IV, Marcel Dekker, New York, **1972**, pp.1-232.
2. G. Schwedt and R. Budde, *Chromatographia*, **1982**, *15*, 527.
3. S. G. Weber and W. G. Tramposch, *Anal. Chem.*, **1983**, *55*, 1771.
4. Y. Ohtsu, Y. Shiojima, T. Okumura, J. Koyama, K. Nakamura, and O. Nakata, *J. Chromatogr.*, **1989**, *481*, 147.
5. K. Kimata, K. Iwaguchi, S. Onishi, K. Jinno, R. Eksteen, K. Hosoya, M. Araki, and N. Tanaka, *J. Chromatogr. Sci.*, **1989**, *27*, 721.
6. K. K. Unger, *Porous Silica (Journal of Chromatography Library, Vol. 16)*, Elsevier, Amsterdam, **1979**, p. 133.

第4章 銅, コバルト錯体のイオン対生成

4-1 ピリジリアゾ化合物コバルト(III)錯陽イオンのイオン対抽出におけるイオン対生成定数とイオン対分配定数の決定

4-1-1 緒言

第3章で示したように, 1-(2-ピリジリアゾ)-2-ナフトール (中性型を HL と略す) の金属錯体の RP-HPLC 挙動を調べた結果, 移動相として 1×10^{-2} M チオシアン酸アンモニウムを含むアセトニトリル-水 (70:30, v/v) を用いることにより, 4 金属イオンを ODS カラムで分離することが可能であり, その溶出順は $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+ \text{SCN}^- < [\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+ \text{SCN}^- < \text{HL} < [\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2] < [\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ であった. 一方, メタノール-水あるいはアセトン-水移動相を用いたとき, $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+ \text{SCN}^-$ と $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+ \text{SCN}^-$ の溶出順序が逆転した. $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+ \text{SCN}^-$ の保持が他の錯体に対して選択的に減少したことによる. 本章では, 移動相-固定相間におけるイオン対の詳細な保持機構を明らかにすることを目的とする.

イオン対抽出はこの目的に対して非常に有用な方法である. イオン対抽出において, 対象となるイオンは水相中でカウンターイオンとイオン対を形成し, そのイオン対が有機相に分配する. したがって, イオン対の抽出平衡を詳細に理解するためには, イオン対生成とイオン対分配に関する情報が非常に重要である. しかし, これまで, イオン対抽出系における全平衡定数である抽出定数の議論はなされているが¹⁻⁸, 生成定数および分配定数を個々に決定した報告はほとんどない. これまで使用されてきたクロロホルムなどの有機溶媒系では, イオン対の分配定数が大きく, 水相中のイオン対を正確に定量することが困難であったためである.

1-オクタノールとオクタン混合溶媒の組成を調整することにより, 2-(2-ピリジリアゾ)-1-ナフトール-4-スルホン酸およびその銅(II)錯体とテトラブチルアンモニウムイオンとのイオン対生成とそれらの分配定数が決定された⁹.

本研究では、有機相としてアルコールあるいはクロロホルムを用いて、4種類のピリジルアゾ化合物のコバルト(III)錯陽イオンのイオン対抽出を行い、イオン対生成定数およびイオン対分配定数を決定した。コバルト(III)錯陽イオンの静電的および疎水的特性がイオン対生成に影響を及ぼした。4-メチル-2-(2-ピリジルアゾ)フェノール (PAC) 系では、唯一、塩化物イオンとのイオン対生成定数が臭化物イオンよりも大きいことが示された。Co(III) - PAC 錯体の構造を Fig. 4-1 に示す。

4-1-2 実験

4-1-2-1 試薬

PAC, 5-ジメチルアミノ-2-(2-ピリジルアゾ)フェノール (PAM), 5-(2-ピリジルアゾ)-6-ヒドロキシキノリン (PA6HQ) および 7-(2-ピリジルアゾ)-8-ヒドロキシキノリン (*o*-PAHQ) は、以前に研究室で合成したものをそのまま用い、 1.5×10^{-3} M エタノール溶液とした。オクタン (和光純薬工業, 試薬特級) は、濃硫酸, 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液, 0.1 M 過塩素酸溶液および水で順次洗浄することにより精製した。1-オクタノール (和光純薬工業, 特級試薬) および 1-ノナノール (ナカライ, 特級試薬) は、0.1 M 水酸化ナトリウム溶液, 0.1 M 過塩素酸溶液および水で順次洗浄した。クロロホルムは 4.0 M 水酸化ナトリウム溶液および水で順次洗浄した。コバルト(II)標準溶液は、硫酸コバルト(II)七水和物 (和光純薬工業, 99.0%) から 3.0×10^{-3} M 水溶液を調製し、EDTA 滴定により正確な濃度を決定した。他の試薬はすべて試薬特級をそのまま用いた。水は超純水製造装置トレピュア LV-10T (東レ製) で精製した。

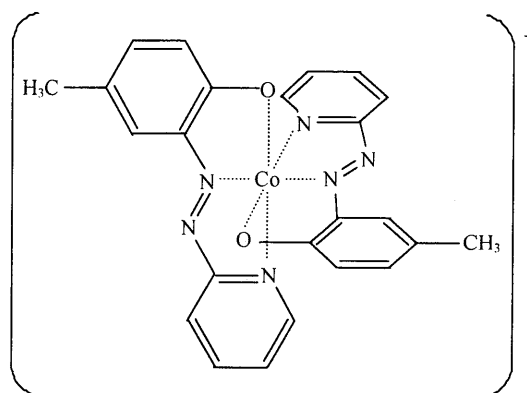


Fig.4-1 The structure of $[Co^{III}L_2]^+$ (L: PAC)

4-1-2-2 抽出操作

50 ml の共栓付遠沈管に、 1.0×10^{-5} M Co(II)溶液、 5.0×10^{-5} M アゾ試薬、 H_2SO_4 溶液 (pH = 4)、 5.0×10^{-2} M の $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 1.0×10^{-4} - 1.0 M の対陰イオンを含む溶液 15 ml を調製し、1-オクタノール、1-ノナノールあるいはクロロホルム 15 ml を加え、25 °C の恒温槽中 約 150 strokes / min で 30 分間振とうした後、3000 rpm で 5 分間遠心分離した。相分離後の水相の吸収スペクトルを測定して錯体を定量し、総濃度からこれを差し引くことにより、有機相中の錯体濃度および分配比を決定した。今回検討したすべてのピリジルアゾ化合物において、Co(II)が酸化剤を用いなくても定量的に Co(III)錯体を形成すること、また、水相中の Co(III)錯体の吸収スペクトルが対アニオン濃度に影響を受けないことを確認した。

4-1-2-3 イオンクロマトグラフィーによる水相中の対アニオンの定量

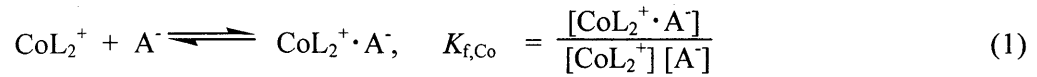
抽出平衡解析において、 $[A^-]$ を $C_{A,w}$ と近似することの妥当性を確認するために以下の操作を行った。有機相には1-ノナノールを、対アニオンにはチオシアン酸および臭化物を選択した。コバルトおよび試薬を含まない以外は、上述の実験項と同じ手順によって調製した水相 (15 ml) を 1-ノナノール 15 ml で 30 分間振とうした。5 分間遠心分離した後、水相 10 μl をイオンクロマトグラフに注入した。陰イオン交換カラムとしてウォーターズ製の SPHERISORB SAX-5 (4.6 mm I.D. \times 150 mm) を用い、移動相には 5.0×10^{-3} M フタル酸および 5.0×10^{-3} M トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン緩衝液 (pH 約 4) を含む水溶液を用いた。アニオンの溶出は電気伝導度検出器でモニターした。各アニオンのピーク面積に基づく検量線は 1.0×10^{-3} - 1.0×10^{-2} の範囲で直線であった。

4-1-3 結果および考察

4-1-3-1 イオン対抽出平衡の解析

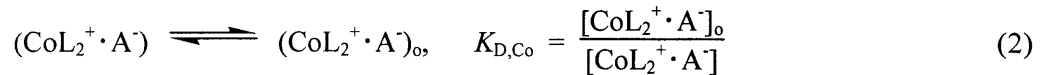
Co(III)錯陽イオンと対アニオンとのイオン対抽出平衡は、次の2種類の平衡よりなる。

水相における Co(III)錯陽イオンと対アニオンとのイオン対生成平衡は



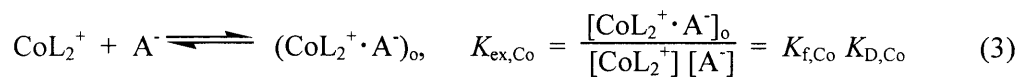
ここで、 A^- は対アニオンを示す。

イオン対の分配平衡は



ここで添え字 o は有機相を示す。

全抽出平衡及び抽出定数は次のように表される。



本系における CoL_2^+ の分配比は次のように書くことができる。

$$D_{\text{Co}} = \frac{[\text{CoL}_2^+ \cdot \text{A}^-]_o}{[\text{CoL}_2^+] + [\text{CoL}_2^+ \cdot \text{A}^-]} \quad (4)$$

式(1), (3) 及び (4)から、次の関係が得られる。

$$D_{\text{Co}} = \frac{K_{\text{ex,Co}} [\text{A}^-]}{1 + K_{\text{f,Co}} [\text{A}^-]} \quad (5)$$

式(5) の対数をとると,

$$\log [\text{A}^-] - \log D_{\text{Co}} = \log (1 + K_{\text{f,Co}} [\text{A}^-]) - \log K_{\text{ex,Co}} \quad (6)$$

水相において, $C_{\text{A,w}} \gg C_{\text{CoL}_2^+}$ ($C_{\text{A,w}} = C_{\text{A}} - [C_{\text{CoL}_2^+} \cdot \text{A}^-]_0$) の条件下では, 上式はさらに次のように近似されうる. なお, 実験項 4-1-2-3 から, 対アニオンは Co(III)錯陽イオンが存在しないときには有機相に抽出されないことが確認された.

$$\log C_{\text{A,w}} - \log D_{\text{Co}} = \log (1 + K_{\text{f,Co}} C_{\text{A,w}}) - \log K_{\text{ex,Co}} \quad (6)'$$

式(6)'の左辺を Y , $C_{\text{A,w}}$ を X で置き換えると, 式は $Y = \log (1 + X)$ と等価である. したがって, $\log C_{\text{A,w}} - \log D_{\text{Co}}$ を $C_{\text{A,w}}$ に対してプロットすれば, $\log (1 + X)$ を $\log X$ に対してプロットした規格化曲線に一致し, プロットと規格化曲線のずれから, イオン対抽出定数 $K_{\text{ex,Co}}$ とイオン対生成定数 $K_{\text{f,Co}}$ を求めることができる.

また, 式(3)よりイオン対分配定数 $K_{\text{D,Co}}$ が求まる. 例として, 1-ノナノール - PAC - SCN 系に関する結果を Fig. 4-2 に示す.

4-1-3-2 Co(III)錯陽イオンの抽出に対する有機溶媒の影響

本研究において, クロロホルム, 1-オクタノール, 1-ノナノールの3種類の有機溶媒を有機相と

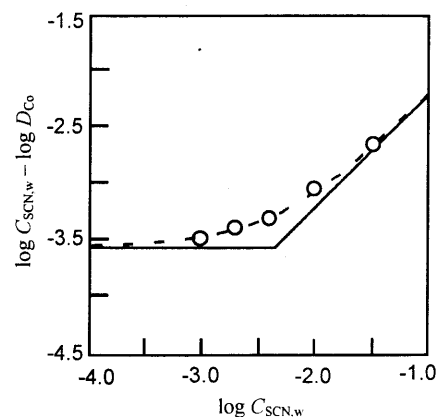


Fig.4-2 Determination of the formation and partition constants of Co(III)-PAC complex with SCN⁻. The dotted curve is the normalized curve, $\log (1+X)$ vs. $\log X$, and the solid lines the asymptotes of the normalized curve.

して検討したが、アゾ化合物の種類により、イオン対の抽出平衡解析ができない溶媒があった。PAC および PA6HQ では、クロロホルムと 1-オクタノールは抽出性が高く、適切な分配比が得られなかった。一方、*o*-PAHQ では、アルコール系溶媒を用いたとき、チオシアン酸系を除いては抽出されなかった。また、*o*-PAHQ - 1-オクタノール - チオシアン酸系においては、再現性のある分配比が $C_{SCN} > 0.1 \text{ M}$ で得られなかったために、正確な解析が行えなかった。PAC - 1-オクタノール - 過塩素酸、PAM - クロロホルムあるいは PA6HQ - 1-ノナノール - チオシアン酸系においては、イオン対の分配定数が大きすぎるため、 $K_{D,Co}$ および $K_{f,Co}$ の値を求めることができなかった。各ピリジルアゾ化合物系の抽出平衡の解析によって見積もられた抽出定数 ($K_{ex,Co}$)、生成定数 ($K_{f,Co}$)、分配定数 ($K_{D,Co}$: $K_{ex,Co}/K_{f,Co}$) を Table 4-1 にまとめた。

クロロホルム、1-オクタノール、1-ノナノール間で抽出定数を比較すると、アルコール系溶媒を用いたときクロロホルム系に比べてかなり低い値が得られた (PAM, *o*-PAHQ)。*o*-PAHQ - SCN 系におけるクロロホルムと 1-ノナノール間の比較から、抽出定数の差には、分配定数の差以上に生成定数の差が反映されていることがわかった。

さらに、1-オクタノールと 1-ノナノール間における抽出定数の比較から、抽出定数にはほとんど差がないにもかかわらず、そのイオン対生成とイオン対分配の寄与が大きく異なることが示された (PAM)。1-ノナノールでは、1-オクタノールと比べて、イオン対生成定数は大きく ($\Delta \log K_{f,Co} \approx 0.4$)、一方で、分配定数は小さかった ($\Delta \log K_D \approx -0.3$)。水相へのアルコールの溶解度の差 (アルコールの溶媒和によるイオン対生成の障害) および比誘電率をそれぞれ反映していると考えられる。

Table 4-1 The extraction, partition and formation constants of Co(III) complexes

| Reagent | Solvent | Counter anion | $\log K_{\text{ex}}$ | $\log K_{\text{D}}$ | $\log K_{\text{f}}$ |
|----------------|------------------|------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| PAC | 1-nonanol | ClO_4^- | 3.0 | - | - |
| | | SCN^- | 3.6 | 1.3 | 2.3 |
| | | Br^- | 2.3 | 1.3 | 1.0 |
| | | Cl^- | 2.5 | 0.8 | 1.7 |
| PAM | Chloroform | ClO_4^- | 4.7 | - | - |
| | | SCN^- | 4.3 | - | - |
| | | Br^- | 2.6 | - | - |
| | | Cl^- | 1.4 | - | - |
| | 1-nonanol | ClO_4^- | 1.4 | 0.3 | 1.1 |
| | | SCN^- | 1.8 | 0.3 | 1.5 |
| | | Br^- | 0.6 | -0.1 | 0.7 |
| 1-octanol | Cl^- | 0.0 | 0.0 | 0.0 | |
| | ClO_4^- | 1.3 | 0.6 | 0.7 | |
| | SCN^- | 1.7 | 0.6 | 1.1 | |
| | Br^- | 0.3 | 0.3 | 0.0 | |
| PA6HQ | 1-nonanol | Cl^- | 0.1 | - | - |
| | | ClO_4^- | 2.6 | 1.3 | 1.3 |
| | | SCN^- | 2.8 | - | - |
| | | Br^- | 1.6 | 0.8 | 0.8 |
| <i>o</i> -PAHQ | Chloroform | Cl^- | 1.0 | 0.8 | 0.2 |
| | | ClO_4^- | 4.9 | 1.4 | 3.5 |
| | | SCN^- | 4.3 | 1.4 | 2.9 |
| | | Br^- | 2.5 | 1.0 | 1.5 |
| | 1-nonanol | Cl^- | 0.8 | -0.2 | 1.0 |
| | 1-nonanol | SCN^- | 0.4 | 0.0 | 0.4 |
| | 1-octanol | SCN^- | 0.7 | - | - |

4-1-3-4 Co(III)錯陽イオンの抽出に対する対アニオンの影響

各対アニオン系で得られた抽出定数を比較したとき、その大きさの順位は有機溶媒により異なった。クロロホルムでは $\text{ClO}_4^- > \text{SCN}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$ であり、対アニオンの疎水性の順と一致した (PAM, *o*-PAHQ)。アルコール溶媒では ClO_4^- と SCN^- の順番が逆転し (PAC,

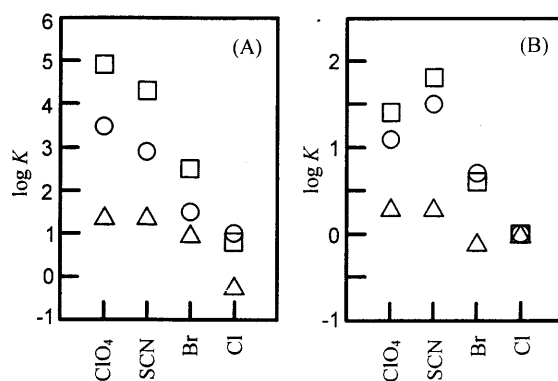


Fig.4-3 Effect of counter anion on the extraction, formation and partition constants. (A) *o*-PAHQ-chloroform systems, (B) PAM-1-nonanol systems; (\square) K_{ex} , (\circ) K_{f} , (\triangle) K_{D} .

PAM, PA6HQ), とくに PAC では, 唯一, Br^- と Cl^- の順番が逆転した. 抽出定数へのイオン対分配定数およびイオン対生成定数の寄与を明瞭に示すために, Fig.4-3 にはクロロホルムおよび 1-ノナノールでの代表例として, それぞれ *o*-PAHQ および PAM で得

られた, 抽出定数, 生成定数, 分配定数をプロットした. また, Fig.4-4 には, 有機

溶媒として 1-ノナノールを用いて得られた 3 種類のアゾ化合物 (PAC, PA6HQ, PAM) での生成定数と分配定数を示す. Fig.4-3(A),(B) より, クロロホルムおよび 1-ノナノールのいずれにおいても, イオン対分配定数 (Δ) の大きさは, ClO_4^- と SCN^- で同じであるのに対し, イオン対生成定数 (\circ) は, クロロホルムで $\text{ClO}_4^- > \text{SCN}^-$, 1-ノナノールで $\text{SCN}^- > \text{ClO}_4^-$ となっており, その大小関係が抽出定数に反映されていることがわかる. また, Fig.4-4(A) より, PA6HQ および PAM におけるイオン対生成定数の大きさは, $\text{Br}^- > \text{Cl}^-$ であるのに対し, PAC では, $\text{Cl}^- > \text{Br}^-$ となっている. アルコール溶媒において, SCN^- および Cl^- とのイオン対生成定数が, ClO_4^- および Br^- に対して相対的に大きくなったことから, 静電的相互作用の寄与が疎水性相互作用よりも大きいことが示唆される. とくに小さい錯陽イオンを形成する PAC でその効果が大きかったのは妥当であると考えられる.

4-1-4 結論

ピリジルアゾ化合物のコバルト(III)錯陽イオンのイオン対抽出に関する研究から次のことが明らかになった. アルコール溶媒, とくに 1-ノナノールを有機相として用いることにより, より多くの錯体のイオン対生成定数およびイオン対分配定数の決定が可能となった. また, アルコール溶媒を用いて得られるイオン対生成定数から, イオ

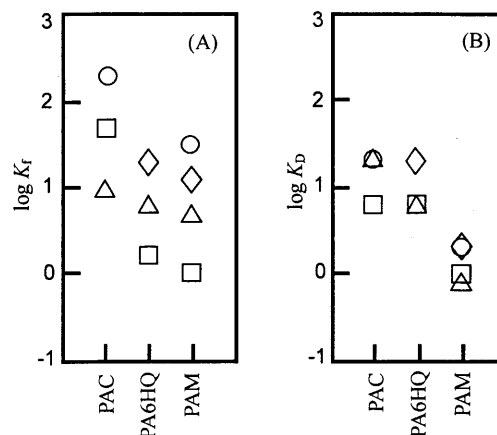


Fig.4-4 Effect of chelating reagents on the extraction, formation constants (A) and partition constants (B) (1-nonanol systems). (◇) ClO_4^- , (○) SCN^- , (△) Br^- , (□) Cl^- .

ンに対する溶媒和の影響を推察することができた。本抽出系においては、イオン対生成定数の大小が抽出定数に大きく反映され、また、アニオンへのアルコールの溶媒和がイオン対生成を大きく阻害することが示唆された。このとき、静電的相互作用の寄与が大きいイオン対では、溶媒和による阻害が少し緩和されることがわかった。これらの結果は、RP-HPLCにおける錯陽イオンの保持に対する基本的な情報を与える。

4-1-5 参考文献

1. S. Motomizu, S. Hamada, and K. Toei, *Bunseki Kagaku*, **1983**, 32, 648.
2. S. Motomizu, S. Hamada, and K. Toei, *Bunseki Kagaku*, **1983**, 32, 703.
3. S. Motomizu, *Bunseki Kagaku*, **1984**, 33, 31.
4. S. Motomizu, *Bunseki Kagaku*, **1989**, 38, 147.
5. S. Taguchi, K. Nakamura, T. Hiraide, and K. Goto, *Bunseki Kagaku*, **1982**, 31, 548.
6. K. Goto, S. Taguchi, H. Miyabe, and K. Haruyama, *Bunseki Kagaku*, **1983**, 32, 678.
7. I. Kasahara, Y. Ohgaki, K. Matui, K. Sano, S. Taguchi, and K. Goto, *Nippon Kagaku Kaishi*, **1986**, 894.
8. H. Matsunaga and T. Yotsuyanagi, *Nippon Kagaku Kaishi*, **1982**, 785.
9. H. Yamada, K. Teranishi, H. Niwa, Y. Shigematsu, T. Uchida, and H. Wada, *Anal. Sci.*, **1997**, 13, 545.

4-2 配位不飽和な銅(II)–ヘテロ環アゾ化合物錯体のイオン対生成に対する電荷の影響

4-2-1 緒言

4-1 では配位飽和なコバルト(III)錯陽イオンのイオン対抽出について述べた。ここでは、配位不飽和な銅(II)錯陽イオンのイオン対抽出について得られた結果を述べる。第3章で述べたように、RP-HPLC において、配位不飽和な銅(II)錯陽イオンでは、チオシアン酸イオンを移動相に添加したときのみ、シャープなピークが適切な保持時間で得られ、混合配位子錯体の形成が推察された。

本研究では、1+の Cu 錯体を形成する試薬として 2-(2-ピリジルアゾ)-メチルフェノール (PAC) を、2+の Cu 錯体を形成する試薬として 8-(3,5-ジブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-アミノキノリン (3,5-DiBr-PAAQ, 以下では R と略す) を選択し、その銅錯陽イオンの混合配位子錯体およびイオン対生成挙動を、イオン対抽出の平衡解析および RP-HPLC により明らかにするとともに、錯体の電荷が及ぼす影響を検討した。また、銅錯陽イオンと対アニオンとの相互作用を調べるためのもう一つの方法として、担持された金属錯体によるアニオンのイオンクロマトグラフィーがある。N,N-ビス(2-ピリジルメチル)オクタデシルアミンの2+の銅錯陽イオンが陰イオンクロマトグラフィーに用いられているが¹、1+の銅錯陽イオンを担持した報告例はない。そこで、長鎖アルキル基を導入した 2-(2-ピリジルアゾ)-4-オクチルオキシフェノール (PAOOP) および 8-(3,5-ジブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-オクチルアミノキノリン (3,5-DiBr-PAO AQ) を合成し、それらの銅錯陽イオンをコートした ODS カラムでのアニオンのイオンクロマトグラフ挙動を検討した。以上、3種類の方法で得られた結果を比較検証した。

4-2-2 実験

4-2-2-1 装置

クロマトグラフシステムは以下の装置で構成した。ポンプは日本分光製 PU-980 型インテリジェ

ント HPLC ポンプを、インジェクターはレオダイン製 9725i 型 サンプルインジェクターを用い、サンプルループの容積は 10 μ l に設定した。カラムオーブンは日本分光製 CO-965 型 カラムオーブンをを用いた。金属錯体の RP-HPLC 分離には紫外可視吸光度検出器として日本分光製 MD-915 型マルチ検出器 (200 - 800 nm) を用い、一方、コート型カラムを用いた陰イオンの分離には昭和電工製 Shodex CD-5 型イオンクロマトグラフィー用電気伝導度検出器を用いた。カラムは RP-HPLC には L-column ODS (4.6 mm i.d. \times 250 mm, 5 μ m, 化学物質評価研究機構製) を、銅(II)錯体コーティング用には Inertsil ODS-3 (4.0 mm i.d. \times 100 mm, 3 μ m, GL サイエンス) を用いた。

4-2-2-2 試薬

2-(2-ピリジルアゾ)-クレゾール (PAC) および 8-(3,5-ジブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-アミノキノリン (3,5-DiBr-PAAQ) は過去に合成したものをそのまま用いた^{2,3}。長鎖アルキル誘導体として、2-(2-ピリジルアゾ)-4-オクチルオキシフェノール (PAOOP) は、以前に報告された方法⁴にしたがって合成し、*n*-ヘキサン / 酢酸エチル (2 : 1) を用いるシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。8-(3,5-ジブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-オクチルアミノキノリン (3,5-DiBr-PAOAQ) は、5-オクチルアミノキノリン⁵ を 2-アミノ-3,5-ジブロモピリジンのジアゾニウム塩とカップリングすることにより調製した。得られた沈殿をクロロホルム溶液として分液ロートに移し、0.01 M 塩酸と振とうした。クロロホルム相を水洗し、エバポレーターにより溶媒を除去した後、*n*-ヘキサン / 酢酸エチル (1 : 2) を用いるシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。

合成したヘテロ環アゾ化合物のストック溶液は特級エタノールを用いて調製した。金属イオン溶液はコバルト(II)および銅(II)の硝酸塩 (特級) から 1.0×10^{-2} M ストック溶液 (pH 2) を調製し、必要に応じ適宜希釈して用いた。溶媒抽出に用いた 1-オクタノール、1-ノナノール、オクタンは硫酸および水酸化ナトリウムで精製した。

4-2-2-3 イオン対抽出

50 ml の共栓付遠沈管に、 1.0×10^{-5} M の Cu(II)、 5.0×10^{-5} M の PAC、 H_2SO_4 溶液 (pH = 4)、 5.0×10^{-2} M の $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 4.0×10^{-6} – 0.8 M の対陰イオンを含む溶液 15 ml をとり、1-ノナノールあるいは1-オクタノール/オクタン混合溶媒 (3 : 7) 15 ml を加えた。3,5-DiBr-PAAQ の場合には、 1.0×10^{-5} M の Cu(II)、 1.5×10^{-5} M の 3,5-DiBr-PAAQ、 H_2SO_4 溶液 (pH = 3)、 2.0×10^{-4} – 0.4 M の対陰イオン溶液を含む溶液 10 ml に 1-オクタノール 10 ml を加えた。25 °C の恒温槽中 約 150 strokes / min で 30 分間振とうした後、3000 rpm で 5 分間遠心分離した。両相共存下で水相の pH を測定した。相分離後の水相の吸収スペクトルを測定して錯体を定量し、総濃度からこれを差し引くことにより、有機相中の錯体濃度および分配比を決定した。

4-2-2-4 クロマトグラフ操作

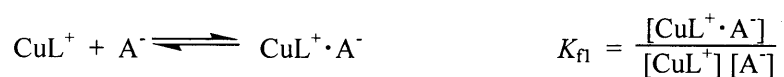
とくに断らない限り、流速 0.8 ml/min、カラム温度 40 °C でクロマトグラフ操作はを行った。RP-HPLC による金属錯体の分離では、 1×10^{-4} M のコバルト(II)および銅(II) 溶液 1 ml に、 2.5×10^{-4} M の試薬エタノール溶液 2 ml を加えたものを室温で 30 分以上放置した後注入し、移動相に 1×10^{-2} M のチオシアン酸アンモニウムあるいは塩化アンモニウムを添加したアセトニトリル/水で展開した。

陰イオンの分離では、 1×10^{-2} M の塩化物、臭化物、チオシアン酸、過塩素酸イオンのナトリウム塩を注入し、移動相として 5×10^{-3} M のモノクロロ酢酸で展開した。カラムは以下のようにして調製した。カラムをアセトンで 30 分洗浄した後、銅(II)イオンと PAOOP あるいは 3,5-DiBr-PAOAOQ の 1:1 混合物を水-アセトン (25:75) 混合溶媒に溶解して ODS カラム に送液した。流出液の吸光度が一定になってから 30 分間送液を続けた後、カラムを外し、クロマトグラフ内をアセトンで洗浄し、水に置換した後に、再度カラムを取り付けた。

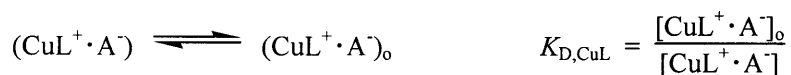
4-2-3 結果および考察

4-2-3-1 銅錯体のイオン対抽出挙動

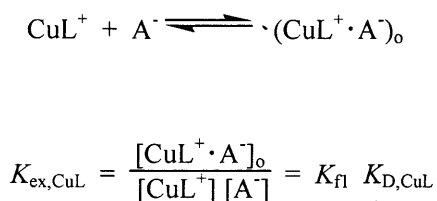
PAC は、pH 3 で Cu(II)イオンと陽イオン性の 1:1 錯体 $[\text{CuL}]^+$ を形成する。この錯体は、水相においてアニオン (A^-) と次のようにイオン対を生成する。



このイオン対の有機相への分配定数は次のように表される。



この全抽出平衡は次のように表される。

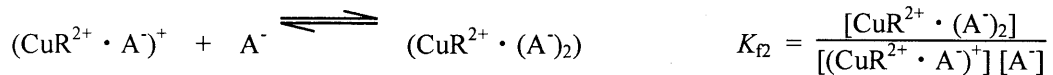
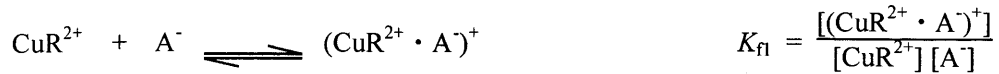


実測の CuL^+ の分配比 D_{Cu} はこれらの定数を用いて次式のように表される。

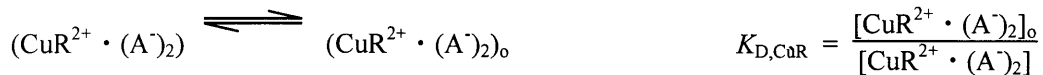
$$D_{\text{Cu}} = \frac{[(\text{CuL}^+ \cdot \text{A}^-)_o]}{[\text{CuL}^+] + [\text{CuL}^+ \cdot \text{A}^-]} = \frac{K_{\text{ex,CuL}}[\text{A}^-]}{1 + K_{\text{fl}}[\text{A}^-]}$$

一方、3,5-DiBr-PAAQ とは pH 3 で 1:1 の錯体 $[\text{CuR}]^{2+}$ を生成し、この錯体は水相において

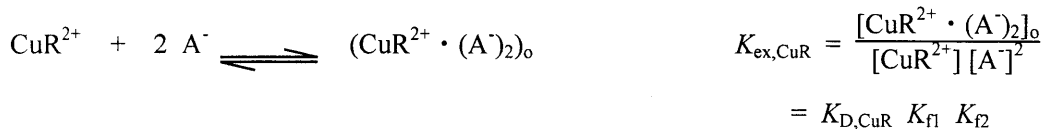
陰イオンと次のように 2 段階でイオン対を生成する。ここで K_{f1} 、 K_{f2} はそれぞれ 1 個目、2 個目のイオン対生成定数である。



同様にして錯体の分配定数を



イオン対抽出定数 K_{ex} を次のように表すことができる。



CuR^{2+} の分配比 D_{Cu} は次式で表される。

$$D_{\text{Cu}} = \frac{[\text{CuR}^{2+} \cdot (\text{A}^{-})_2]_o}{[\text{CuR}^{2+}] + [(\text{CuR}^{2+} \cdot \text{A}^{-})^{+}] + [\text{CuR}^{2+} \cdot (\text{A}^{-})_2]} = \frac{K_{ex, \text{CuR}} [\text{A}^{-}]^2}{1 + K_{f1} [\text{A}^{-}] + K_{f1} K_{f2} [\text{A}^{-}]^2}$$

実際にイオン対抽出が起こる条件でのアニオン濃度 $[\text{A}^{-}]$ は錯体の濃度と比べて十分大きいので、 $[\text{A}^{-}] = C_{\text{A},w}$ と近似できる。各反応系において、 D_{Cu} の実測値と計算値とが最も

良い一致を示すようにイオン対生成定数と分配定数を決定した。幾つかの反応系に関する D_{Cu} vs $[A]$ のプロットを Fig.4-5 に、また、得られた定数を Table 4-2 に示す。有機相としては平衡解析に適した分配比を示す 1-オクタノールを用いたが、分配が大きい場合には、代わりにオクタンとの混合溶媒あるいは 1-ノナノールを用いた。PAC 錯体-SCN の場合、これらの混合溶媒を用いてもイオン対の有機相への分配が大きすぎるため、平衡解析ができなかった。一方、PAC 錯体- ClO_4 の系では抽出が起きなかった。3,5-DiBr-PAAQ 錯体-Cl,Br

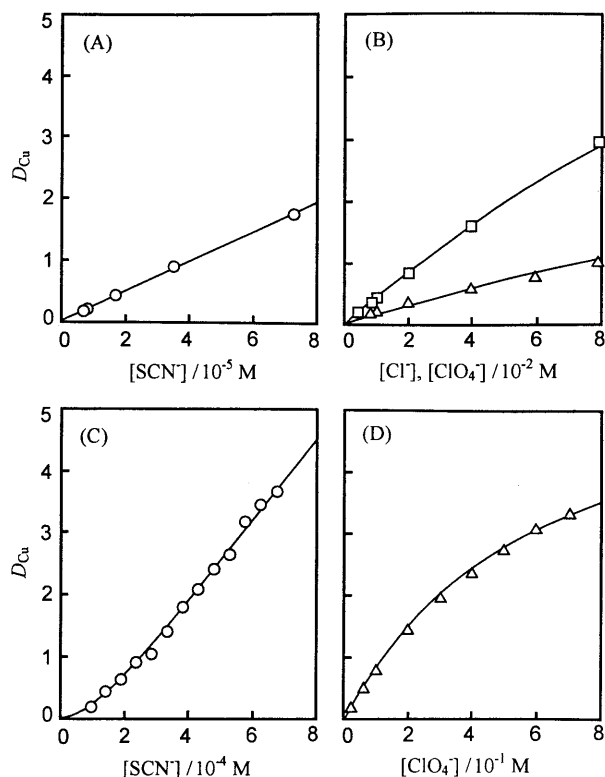


Fig. 4-5 Equilibrium analysis on ion-pair extraction of copper(II) complexes of heterocyclic azo compounds with anions. Heterocyclic azo compound, organic phase: (A,B) PAC, 1-nonanol; (C,D) 3,5-DiBr-PAAQ, 1-octanol. Anion: \circ , SCN^- ; \square , Cl^- , \triangle , ClO_4^- .

の系では、水相で二段目のイオン対生成がほとんど起こらないため、 $K_{D,CuR} K_{R2}$ は積としてのみ算出された。しかしながら、 K_{R2} の値は PAC 錯体の K_{R1} の値や 3,5-DiBr-PAAQ 錯体- ClO_4 系の K_{R2} の値などから $10^{0.5}$ 程度と推定できるので、これを用いておよその $K_{D,CuR}$ の値を算出し、括弧内に示した。

PAC 錯体の K_{R1} は、陰イオンの種類によらず同程度で小さい ($10^{0.4} - 10^{0.7}$)。これに対して、3,5-DiBr-PAAQ 錯体の K_{R1} ははるかに大きく、この差は銅イオン上の電荷の違いによる。なお後者の値は銅(II)イオンの錯体生成定数 (イオン強度 $I=0.5$ で 10^0 (Cl^-), $10^{-0.1}$ (Br^-), $10^{1.9}$ (SCN^-)) よりも 10^2 倍程度大きくなっており、配位子の疎水性が関与していると考えられる。3,5-DiBr-PAAQ 錯体-Cl,Br, ClO_4 系の場合、 K_{R2} は K_{R1} と比較すると小さい。これは多価のイオン対抽出に一般的に見られる傾向である。これに対して、3,5-DiBr-PAAQ 錯体-SCN 系の場合には K_{R2} もかなり大きい値を示した。これはいずれの段階のイオン対生成に

Table 4-2 Parameters on ion-pair extraction of copper complexes

| Reagent | Complex | Solvent | Counter anion | $\log K_{ex}$ | $\log K_D$ | $\log K_{fl}$ | $\log K_{f2}$ | $\log (K_D K_{f2})$ |
|---------------|------------|------------------------------------|---------------|---------------|---------------------|---------------------|---------------|---------------------|
| PAC | CuL^+ | 1-nonanol | Cl^- | 1.6 | 1.1 | 0.5 | | |
| | | | Br^- | 1.7 | 1.1 | 0.6 | | |
| | | | SCN^- | 4.4 | (2.3) ^{a)} | (2.1) ^{a)} | — | — |
| | | | ClO_4^- | 1.2 | 0.8 | 0.4 | | |
| | | 1-octanol / octane (30:70, v/v) | Cl^- | 0.7 | 0.1 | 0.6 | | |
| | | | Br^- | 1.0 | 0.3 | 0.7 | | |
| | | | SCN^- | 3.3 | n.d. | n.d. | — | — |
| | | | ClO_4^- | n.e. | n.e. | n.e. | | |
| 3,5-DiBr-PAAQ | CuR^{2+} | 1-octanol | Cl^- | 4.2 | — | 2.7 | — | 1.5 |
| | | | Br^- | 4.1 | — | 2.0 | — | 2.1 |
| | | | SCN^- | 7.5 | 1.8 | 3.6 | 2.1 | 3.9 |
| | | | ClO_4^- | 3.6 | 0.8 | 2.7 | 0.2 | 1.0 |

n.d.: not determined separately; n.e.: no extraction.

a) see text for details.

も配位が関わっているためと考えられる。

4-2-3-2 逆相 HPLC 挙動

移動相に 1.0×10^{-2} M のチオシアン酸アンモニウムあるいは塩化アンモニウムを含むアセトニトリル/水 (60:40, v/v あるいは 40:60, v/v) を、固定相に ODS カラムを用いて得られた PAC および 3,5-DiBr-PAAQ 錯体の保持挙動を Fig.4-6 に示す。シラノール処理効果が極めて高い ODS カラムを用いた。PAC の場合、移動相 pH は約 5 で、中性の配位子の保持は一定であるのに対し、コバルト錯体の保持はチオシアン酸の添加によって増大した。銅錯体の保持はより顕著に増大するとともにピーク形状も改善した (Fig.4-6(A,C))。

アセトニトリル-水移動相での

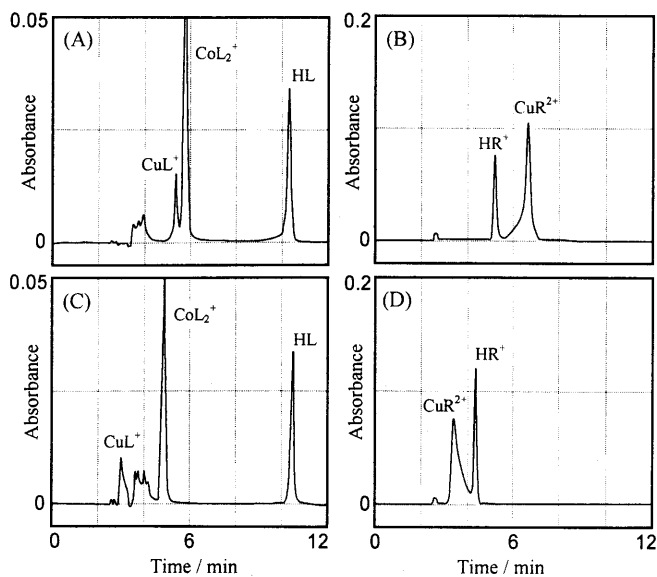


Fig. 4-6 Chromatograms of cationic complexes with heterocyclic azo compounds. Column: L-column ODS; eluent: acetonitrile-water containing 1×10^{-2} M SCN^- [(A), (B)] or Cl^- [(C), (D)]. Flow-rate: $0.8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Column temperature: 40°C . Ligand: (A), (C) PAC; (B), (D) 3,5-DiBr-PAAQ. Acetonitrile (% , v/v): 60 (PAC); 40 (3,5-DiBr-PAAQ).

[CuL]⁺ Cl⁻, [CuL]⁺ SCN⁻, HL の log *k* (それぞれ -0.26, 0.07, 0.49) とノナノール/水間での [CuL]⁺ Cl⁻, HL の log *K_D* (1.1, 3.7) との直線関係から見積もった [CuL]⁺ SCN⁻ の log *K_D* 値は 2.3 であった. [CuL]⁺ SCN⁻ の log *K_f* は 2.1 と見積もられ, Table 4-2 にカッコ付けで示した.

3,5-DiBr-PAAQ の場合は, 移動相 pH は 3 に調節したが, この条件では配位子も +1 の電荷を有するために (キノリン窒素の p*K_a* 4.1), チオシアン酸の添加によって保持が増加した. しかしながら, 保持の増加は銅錯体で特に顕著であり, 配位の寄与が認められる (Fig.4-6(B,D)).

なお, Co 錯体は酸化還元反応によって複雑な挙動をとるため検討しなかった.

4-2-3-3 銅錯体コート型 ODS カラムにおける陰イオンの保持

以上で検討した試薬に長鎖アルキル基を導入した化合物の Cu(II)錯体をコートした ODS カラムを用いてアニオンの保持挙動を検討した. PAOOP 錯体をコートしたカラムでのアニオンの保持係数の対数をモノクロ酢酸の濃度の対数に対してプロットした (Fig.4-7). すべてのアニオンで傾き -1 の直線関係が得られた. 荷電錯体アニオン交換基に対するアニオンの保持係数 *k* は次の式で近似されることが報告されている¹.

$$k = \left\{ \frac{K_{ex} \text{Cap}}{[E]} \right\} \left\{ \frac{w}{v_0} \right\}$$

ここで, *K_{ex}*, *E*, *Cap*, *w* および *v₀* はそれぞれ, アニオン交換定数, 溶離剤アニオン, 充填剤のアニオン交換容量, カラム中の充填剤の質量, カラムのボイドボリュームを示す. *Cap*, *w* および *v₀* は一定であるので, Fig. 4-7 において, アニオン間での直線の

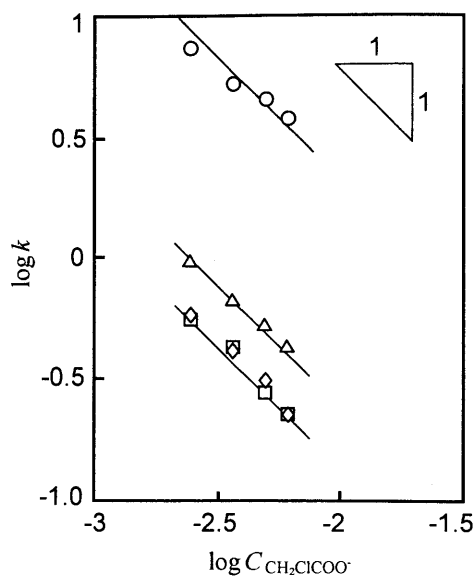


Fig.4-7 Logarithmic retention factors of anions on column coated with PAOOP complex plotted against logarithmic concentration of monochloroacetate. Column: Inertsil ODS-3; Coated amount: 1.2×10^{-6} mol; eluent: CH₂ClCOOH-NaOH (pH 3). Flow-rate: 0.8 cm³ min⁻¹. Column temperature: 40°C. Anion: Δ, ClO₄⁻; ○, SCN⁻; ◇, Br⁻; □, Cl⁻.

切片の差は K_{ex} を反映しており, K_{ex} は $[CuL]^+$ と アニオン A^- あるいは モノクロロ酢酸 E^- とのイオン対生成定数 $K_{f,A}, K_{f,E}$ の比, $K_{f,A} / K_{f,E}$ である. SCN^- と Cl^- 間の切片の差は約 1.3 であり, イオン対抽出と RP-HPLC によって求められた K_f の差とほぼ一致する ($2.1-0.5 = 1.6$). PAOOP 錯体のコート溶液濃度, コート量, サンプル陰イオンの保持時間の間には良い相関がみられた. 同濃度のコート溶液を用いた場合, 3,5-DiBr-PAOAQ 錯体のコート量は PAOOP 錯体に比べて少なかった. 両錯体が有する電荷の違いのためと考えられる. Fig.4-8 に錯

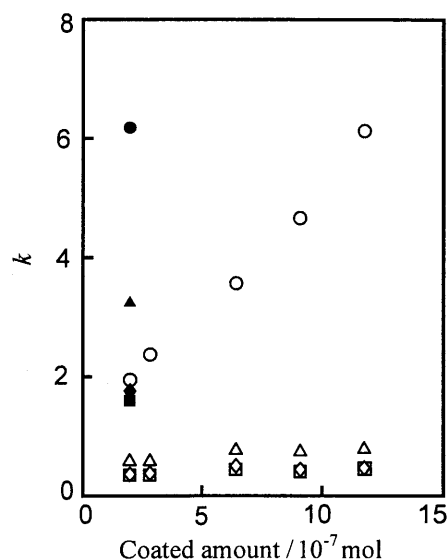


Fig.4-8 Retention times of anions on columns coated with cationic copper(II) complexes. Column: Inertsil ODS-3; eluent: 5.0×10^{-3} M $CH_2ClCOOH-NaOH$ (pH 3). Flow-rate: 0.8 ml min^{-1} . Column temperature: 40°C . Reagent: open symbols, PAOOP; closed symbols, 3,5-DiBr-PAOAQ. Anion: $\triangle, \blacktriangle, \circ, \bullet, \diamond, \blacklozenge, \square, \blacksquare, \text{Cl}^-$.

体コート量に対する陰イオンの保持時間を示す. コート量が同程度の場合 (約 2.0×10^{-7} mol), 3,5-DiBr-PAOAQ 錯体による陰イオンの保持は PAOOP 錯体に比べて著しく大きかった. これは金属錯体上の電荷に基づくものであり, $Cu(II)$ 錯体のイオン対抽出の平衡解析において, 3,5-DiBr-PAAQ の K_{fl} あるいは K_{ex} が PAC よりも大きいことと一致する (Table 4-2).

チオシアン酸イオンの保持が 3,5-DiBr-PAOAQ 錯体と同じになる PAOOP 錯体のコート量は約 6 倍の 1.2×10^{-6} mol であった. この条件で, PAOOP 錯体コート型カラムでは, 3,5-DiBr-PAOAQ 錯体コート型カラムと比べて過塩素酸, 臭化物, 塩化物イオンの保持が相対的に小さくほとんど同じであった.

4-2-4 結論

PAC の 1+ の銅錯陽イオンと 3,5-DiBr-PAAQ の 2+ の銅錯体を用いて, イオン対生成あるいは混合配位子錯体形成挙動をイオン対抽出の平衡解析および RP-HPLC により調べた. $[CuL]^+ A^-$

の分配定数は $[\text{CuR}]^{2+}(\text{A}^-)_2$ とほとんど同じであった。さらに $[\text{CuL}]^+ \text{A}^-$ のイオン対生成定数 ($K_{f1}=10^{0.4}$ (ClO_4^-); $10^{1.8}$ (SCN^-)) は $[\text{CuR}]^{2+}(\text{A}^-)_2$ の第 2 イオン対生成定数 ($K_{f2}=10^{0.2}$ (ClO_4^-); $10^{2.1}$ (SCN^-)) とほぼ同じであった。したがって、 $[\text{CuR}]^{2+}(\text{A}^-)_2$ の抽出性は、第 1 イオン対生成定数の分だけ $[\text{CuL}]^+ \text{A}^-$ より高い。 $[\text{CuR}]^{2+}$ のアニオンとの高い親和性は 3,5-DiBr-PAO AQ を用いたイオンクロマトグラフィーにおいて、とくに SCN^- の高い保持に反映された。

4-2-5 参考文献

1. N. Hirayama, W. Umehara, H. Makizawa, and T. Honjo, *Anal. Chim. Acta*, **2000**, 409, 17.
2. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1964**, 85, 202.
3. G. Nakagawa, H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1962**, 83, 1098.
4. T. Yasui, N. Komatsu, K. Egami, H. Yamada, and A. Yuchi, *Anal. Sci.*, **2007**, 23, 1011.
5. G. L. Isele and A. Lüttringhaus, *Synthesis*, **1971**, 266.

第5章 鉄およびコバルト錯体の酸化還元電位とクロマトグラフ挙動

5-1 緒言

逆相 HPLC のプレカラム誘導体化試薬として一連のヘテロ環アゾ化合物が評価されてきた中で¹⁻⁶、鉄およびコバルトについては試薬によって異なる化学種として検出された。

通常は、第3章で評価した 1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (β -PAN, HL) のように、ニッケルイオンとは中性錯体 $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ を、銅イオンとは 1:1 錯陽イオン $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ を生成するのに対して、鉄(III)イオンとは還元を伴って中性錯体 $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ を、コバルト(II)イオンとは酸化を伴って 1:2 錯陽イオン $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ を形成する。中性錯体、1:2 錯陽イオン、1:1 錯陽イオン、遊離試薬の性質は著しく異なるために完全に分離でき、さらに二つの中性錯体も分離することができた。このとき、コバルトおよび銅錯体に対しては、移動相にチオシアン酸アンモニウムを添加し、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]\text{SCN}$ および $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]\text{SCN}$ とすることにより¹、残存シラノールとの影響を回避し、適度な保持を持たせた⁵。

しかしながら、2-(5-ニトロ-2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (5N- α -PAN) を用いた場合には、コバルト(II)を単独で誘導体化すると、生成した $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ は試料溶液中で $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ に酸化されることなく、さらにアセトニトリル-水移動相を用いた HPLC カラム中でも酸化を受けずにそのまま $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ として溶出した⁴。同様の例として、2-(5-ブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-ジエチルアミノフェノール (5-Br-PADAP) を用いて鉄(III)を誘導体化した場合、生成した $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ はドデシル硫酸ナトリウムを含むアセトニトリル-水を移動相とすることにより、カラム溶出に至るまで還元を受けずに、そのまま検出されることが報告されている⁶。

化合物の差異による HPLC 挙動の違いは、それらのコバルトおよび鉄錯体の酸化還元電位に起因していると考えられるが、ヘテロ環アゾ化合物のコバルトおよび鉄錯体の酸化還元電位に関する報告は少なく、2-(2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (α -PAN)、1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (β -TAN)、 β -PAN⁷ とそれらのスルホン化誘導体⁸ のコバルト錯体に関

するものだけであり、鉄錯体に関してはみあたらない。

本研究では、10種類のピリジルアゾ化合物について、コバルトおよび鉄錯体の酸化還元電位を求め、その逆相カラム中での挙動との相関を調べた。

5-2 実験

5-2-1 試薬

Table 1 に検討したピリジルアゾ化合物の構造を示す。3種類の化合物 (2-(2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (α -PAN, **2**), 2-(5-ニトロ-2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール(5N- α -PAN, **4**), および 2-(5-ニトロ-2-ピリジルアゾ)-*p*-クレゾール (5N-PAC, **5**) は、2-ヒドラジノピリジンあるいは 2-ヒドラジノピミジンと 1,2-ナフトキノンあるいは 1,2-ベンゾキノンの縮合反応により合成した^{9, 10}。5N-PAC は鉄(II)錯体としてクロマトグラフ分離することにより異性体と分離し、そのクロロホルム溶液を塩酸とイオン交換することにより得た。他の化合物、1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (β -PAN, **1**), 2-(2-ピリジルアゾ)-*p*-クレゾール (PAC, **3**), 2-(2-ピリジルアゾ)-5-ジメチルアミノフェノール (PADMAP, **6**), 2-(2-ピリジルアゾ)-5-エチルアミノフェノール (PAEAP, **7**), 2-(2-ピリジルアゾ)-5-エチルアミノ-*p*-クレゾール (PAEAC, **8**), 2-(2-ピリジルアゾ)-5-ジエチルアミノフェノール (PADEAP, **9**), 2-(5-クロロ-2-ピリジルアゾ)-5-ジエチルアミノフェノール (5-Cl-PADEAP, **10**) はジアゾニウム塩とナフトール誘導体あるいはフェノール誘導体とのカップリング反応により合成した¹¹⁻¹³。粗生成物は、クロロホルム溶液の酸およびアルカリによる抽出、あるいはエタノール水溶液からの再結晶により精製した。すべての化合物の純度は、Model Gemini 300 スペクトロメーター (300 MHz, Varian, CA, USA) を用いた¹H-NMR および逆相 HPLC により確認した。各化合物を、サイクリックボルタンメトリー用としては 1×10^{-2} M, RP-HPLC 用としては 2.5×10^{-4} M となるようにエタノールあるいはジオキサン (5N- α -PAN および 5N-PAC) に溶解した。金属イオン溶液は、鉄(III)およびコバルト(II)の硝酸塩から 1×10^{-2} M ストック溶液 (pH 2) を調製し、必要に応じて希釈して用いた。また、鉄(II)溶液は硫酸塩から調製した。

5-2-2 CV 操作

スクリーキャップ式遠沈管に 1×10^{-2} M 試薬エタノール溶液 1 ml および 1×10^{-2} M 金属溶液 1 ml を採り, Fe(II)錯体の抽出では 4×10^{-3} M アスコルビン酸溶液 1 ml を, Co(III)錯体の抽出では 3 M 過塩素酸ナトリウム 1 ml を加えた. 5N- α -PAN, 5N-PAC, TAC, および α -PMAN の Co(III)錯体を形成させる場合には 1×10^{-2} M 過ヨウ素酸カリウム溶液 1 ml も加えた後に, 水で全量を 10 ml とした. 各錯体が完全に抽出されるように 0.1 M 水酸化ナトリウムを用いて pH を調整した後, 1,2-ジクロロエタン 10 ml と 30 分振とうした. 3000 rpm で 5 分間遠心分離することによって相を分離し, 有機相の溶媒をロータリーエバポレーターで蒸発させた. 得られた沈殿を 0.1 M 過塩素酸テトラブチルアンモニウム-ジクロロエタン溶液 5 ml に溶かした. 以上の操作により, 過剰の試薬, 金属イオンおよび酸化還元試薬を含まない 1×10^{-3} M $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ あるいは $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]\text{ClO}_4$ のジクロロエタン溶液を得た.

CV 測定には P-1100 型 POLAROGRAPHIC ANALYZER (ヤナコ) および 1120 型 POTENTIO-GALVANOSTAT (扶桑電気化学システム) を用いた. 作用電極に MPTE 型微小白金電極 (25 μm i.d., BAS) を, 参照電極に RE-5 型非水溶媒系比較電極 (Ag/Ag⁺/ACN/TBAP, BAS) を, 対極に白金線を用いた.

5-2-3 HPLC 操作

鉄(II), 鉄(III), コバルト(II) およびコバルト(III)錯体溶液は, 2.5×10^{-4} M 試薬溶液 1 ml に 1×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ あるいは $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 溶液 1 ml, 4×10^{-3} M アスコルビン酸溶液 1 ml あるいは 1×10^{-2} M 過ヨウ素酸カリウム溶液 1 ml, エタノール 2 ml を加えることにより, それぞれ調製した (pH *ca.* 3.2). したがって, この溶液は 5×10^{-6} M の錯体に加えて過剰の試薬 (1×10^{-5} M) および酸化剤あるいは還元剤を含む. 4 種類の金属イオンを含む系では, 2.5×10^{-4} M 試薬エタノール溶液 4 ml に, Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) をそれぞれ 1×10^{-4} M 含む水

溶液 1 ml を加えることにより調製した (pH *ca.* 4).

HPLC システム (日本分光製) は, PU-980 型インテリジェント HPLC ポンプに, CO-965 型 カラムオープン, MD-915 型紫外可視マルチ検出器 (200 – 900 nm) を組み合わせて用いた. 固定相として L-column ODS (4.6 mm i.d. × 250 mm, particle diameter 5 μ m, 化学物質評価研究機構製) を用いた. 移動相はメンブランフィルター (アドバンテック製) で濾過し, 脱気して用いた. 金属錯体溶液 10 μ l を SVM-6U7 型セラミックバルブサンプルインジェクター (サヌキ製) を用いてカラムに注入し, アセトニトリル/水混合溶媒を移動相として流速 0.8 ml min⁻¹ で分離し, 400-800 nm の吸光度をモニターした.

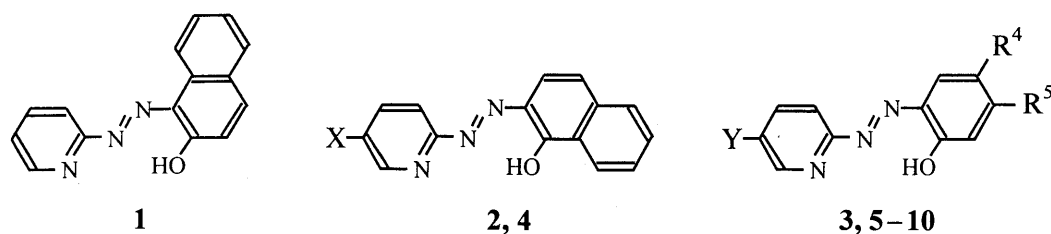
5-3 結果および考察

5-3-1 ピリジルアゾ化合物の酸解離定数

参考文献 12 の方法にしたがって, 7 種のピリジルアゾ化合物 (4 – 10) の酸解離定数を適切な溶媒中で分光光度法により決定した. その結果を他の 3 種の化合物 (1 – 3) の文献値¹¹⁻¹³ とともに Table 5-1 に示す. アゾ基への *o*-OH の水素結合および互変異性体 (*o*-ケトヒドラゾ化合物) の形成が塩基性に寄与する可能性もあるが¹⁴⁻¹⁷, 最も小さい酸解離定数を便宜的に $K_{a, OH}$ として表す.

カップリング成分に導入された置換基が酸解離定数に及ぼす影響は以下のとおりであった. 2-ナフトール誘導体である β -PAN (1) を基準にすると, 1-ナフトール誘導体 [α -PAN (2)] およびフェノール環の 4 位へのメチル基の導入 [PAC (3)] により, 水酸基の塩基性 ($pK_{a, OH}$) は減少した. さらに, これらの化合物のピリジン環 5 位へニトロ基を導入すると [5N- α -PAN (4) および 5N-PAC (5)], 水酸基およびピリジン窒素 ($pK_{a, N(H)}$) が減少した. 対照的に, フェノール環の 5 位へのアルキルアミノ基の導入 [PADMAP (6), PAEAP (7), PAEAC (8) および PADEAP (9)] により, β -PAN (1) と比較して, 同程度の $pK_{a, OH}$ 値とか

Table 5-1 Structures and acid dissociation constants of pyridylazo compounds



| No. | Abbreviation | Structure | $pK_{a,N(H)}$ | $pK_{a,NRR(H)}$ | $pK_{a,OH}^a$ |
|-----|-------------------|---|---------------|-----------------|--------------------|
| 1 | β -PAN | | 2.9 | | 11.6 ¹² |
| 2 | α -PAN | X: H | 2.9 | | 9.8 ¹³ |
| 3 | PAC | Y: H R ⁴ : CH ₃ , R ⁵ : H | 2.6 | | 8.9 ¹¹ |
| 4 | 5N- α -PAN | X: NO ₂ | < 1 | | 7.2 |
| 5 | 5N-PAC | Y: NO ₂ R ⁴ : CH ₃ , R ⁵ : H | < 1 | | 7.8 |
| 6 | PADMAP | Y: H R ⁴ : H, R ⁵ : N(CH ₃) ₂ | 1.4 | 4.1 | 11.4 |
| 7 | PAEAP | Y: H R ⁴ : H, R ⁵ : NH(C ₂ H ₅) | 1 | 4.2 | 11.4 |
| 8 | PAEAC | Y: H R ⁴ : CH ₃ , R ⁵ : NH(C ₂ H ₅) | 1.8 | 4.2 | 11.6 |
| 9 | PADEAP | Y: H R ⁴ : H, R ⁵ : N(C ₂ H ₅) ₂ | 1.4 | 4.2 | 11.3 |
| 10 | 5-Cl-PADEAP | Y: Cl R ⁴ : H, R ⁵ : N(C ₂ H ₅) ₂ | 0.8 | 2.8 | 11.0 |

a. **4**: in water extrapolated from aqueous dioxane; **5**: in water extrapolated from aqueous ethanol; **6, 7, 8, 9, 10**: in 5% aqueous ethanol.

なり低い $pK_{a,N(H)}$ が得られた。PADEAP (**9**) のピリジン環 5 位へクロロ基を導入すると [5-Cl-PADEAP (**10**)], $pK_{a,NRR(H)}$ が大きく低下した。

5-3-2 鉄およびコバルト錯体の安定度定数

適切な化合物を選択し、鉄(III)、鉄(II)およびコバルト(II)錯体の安定度定数 ($\beta_{ML_2^+} = [ML_2^+]/[M^{3+}][L]^2$, $\beta_{ML_2} = [ML_2]/[M^{2+}][L]^2$; M: Fe, Co) を参考文献 18 に述べられている方法にしたがって、60% ジオキサン水溶液中で分光光度法により決定した。なお、錯形成平衡を解析するために、酸解離定数も同じ媒体中で決定した。その結果を文献値¹⁹とともに Table 5-2 に示す。Figure 5-1 は $\beta_{FeL_2^+}$, β_{FeL_2} , β_{CoL_2} の対数値と配位子の配位能の尺度としての ΣpK_a 値の間の関係を示す。次に示す直線関係がみられた：

$$\log \beta_{FeL_2^+} = 2.05 \times \Sigma pK_a + 0.39, \quad (1)$$

$$\log \beta_{\text{FeL}_2} = 0.85 \times \Sigma pK_a + 15.57, \quad (2)$$

$$\log \beta_{\text{CoL}_2} = 0.54 \times \Sigma pK_a + 17.10. \quad (3)$$

Table 5-2 Overall stability constant of iron and cobalt complexes with pyridylazo compounds

| No. | Abbreviation | Overall stability constant ($\log \beta$) ^a | | | Acid dissociation constant ^a | | |
|-----|-------------------|--|-----------------------------------|-----------------------------------|---|--------------------------------|--------------------|
| | | $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2^+$ | $\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2$ | $\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2$ | $pK_{a,\text{N(H)}}$ | $pK_{a,\text{NRR}'(\text{H})}$ | $pK_{a,\text{OH}}$ |
| 1 | β -PAN | 29.9 | 27.9 | 24.9 | 1.5 | | 12.6 |
| 3 | PAC | | 25.5 ¹⁹ | | | | |
| 4 | 5N- α -PAN | 16.3 | 22.6 | 21.5 | < 1 | | 9.8 |
| 9 | PADEAP | 33.8 | 30.1 | | 1.0 | 3.0 | 12.6 |

a. 1, 4, 9: in 60 % aqueous dioxane.

アルキルアミノ誘導体の錯体をこの相関に適合させるには、 ΣpK_a に $pK_{a,\text{NRR}'(\text{H})}$ を含める必要があった。アルキルアミノ基は Fig. 5-2 に示されるような charged quinoid 構造において、金属イオンへの配位に寄与すると考えられる²⁰。鉄(III)錯体の安定度は、鉄(II)およびコバルト(II)錯体よりも配位子の塩基性に強く依存する。その結果、鉄(III)と鉄(II)錯体の相対的な安定度は ΣpK_a 約 13

で逆転する。

5-3-3 コバルトおよび鉄錯体の酸化還元電位

例として 5-CI-PADEAP (10) の鉄錯体の結果を Fig. 5-3 に示したように、すべてのピリジルアゾ化合物のコバルトおよび鉄錯体のサイクリックボルタモグラムは、 $[\text{M}^{\text{III}}\text{L}_2^+]/[\text{M}^{\text{II}}\text{L}_2]$ に対応する準可逆的な一電子酸化還元波を示した。ピーク間電位差、 ΔE は掃引速度 (ν) が速くなるにつれて大きくなり、酸化ピーク電流および還元ピーク電流は $\nu^{1/2}$ に比例

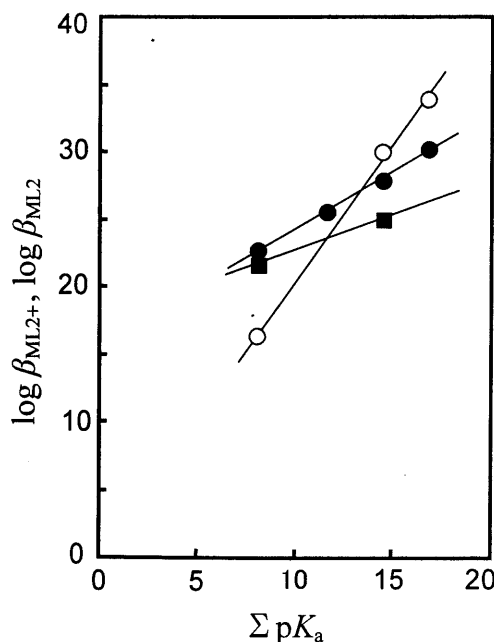


Fig. 5-1 Correlation between overall stability constants of iron and cobalt complexes and total basicities of ligands denoted by ΣpK_a . Metal: ●, Fe(II); ○, Fe(III); ■, Co(II).

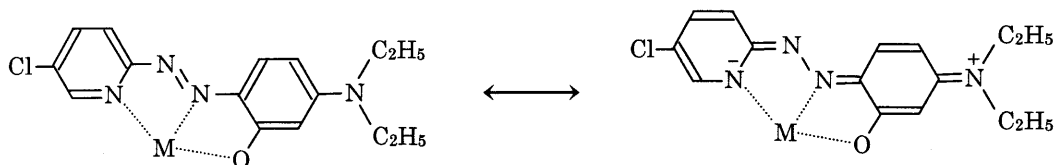


Fig. 5-2 Charged quinoid structure of metal complex with 5-Cl-PADEAP.

した. 酸化還元電位, $E_{ML_2}^0$, は $1/2(E_p^a + E_p^c)$ として決定した. ここで, E_p^a と E_p^c はそれぞれ, 参照電極 Ag/0.01 M Ag⁺ に対する酸化および還元電位である. 10 種のアゾ化合物のコバルトおよび鉄錯体で得られた酸化還元電位を Table 5-3 に示す.

コバルト錯体では, β -PAN (1) 錯体の値を基準とすると, α -PAN (2) およ

び PAC (3) 錯体の $E_{CoL_2}^0$ は 0.13 V 高く, ニトロ誘導体である 5N- α -PAN (4) および 5N-PAC (5) 錯体の $E_{CoL_2}^0$ はさらに約 0.3 V 高くなった. 一方, アルキルアミノ誘導体である PADMAP (6), PAEAP (7), PAEAC (8) および PADEAP (9) 錯体の $E_{CoL_2}^0$ は, β -PAN (1) 錯体に比べて 約 0.2 V 低かったが, PADEAP (9) にクロロ基を導入することにより (5-Cl-PADEAP (10)), $E_{CoL_2}^0$ は 0.1 V 増加した. 鉄錯体においても, 酸化還元電位に対する各置換基の効果はほとんど同じであった.

1,2-ジクロロエタン中の金属錯体, $M^{III}L_2^+/M^{II}L_2$, の酸化還元電位 ($E_{ML_2}^0$) は金属イオン, M^{3+}/M^{2+} , の酸化還元電位 ($E_{M^{3+}/M^{2+}}^0$) と次式によって関連付けられる:

$$E_{ML_2}^0 = E_{M^{3+}/M^{2+}}^0 - 0.0592 \log (\beta_{ML_2^+,o} / \beta_{ML_2,o}), \quad (4)$$

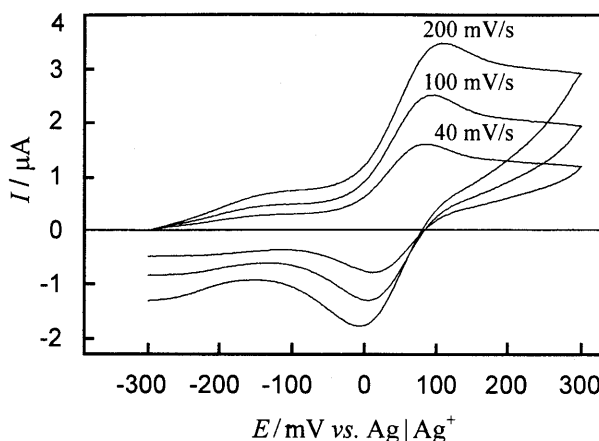


Fig. 5-3 Cyclic voltammograms of iron complex with 5-Cl-PADEAP. $C_{Fe} = 1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$. Solvent: 1,2-dichloroethane containing 0.1 mol dm⁻³ tetra-*n*-butylammonium perchlorate.

Table 5-3 Redox potentials and HPLC behavior of cobalt and iron complexes with pyridylazo compounds

| No. | Abbreviation | ΣpK_a^a | Redox potential ^b | | HPLC behavior ^c | | | |
|-----|-------------------|-----------------|------------------------------|----------------|----------------------------|------------------------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | | | E°_{Co} | E°_{Fe} | (Co ^{II}) | (Co ^{II}) _{SCN} | (Fe ^{III}) | (Fe ^{III}) _{SCN} |
| 4 | 5N- α -PAN | 8.2 | 0.03 | 0.59 | Co ^{II} | n.d. | Fe ^{II} | Fe ^{II} |
| 5 | 5N-PAC | 8.8 | 0.00 | 0.52 | Co ^{II} | n.d. | Fe ^{II} | Fe ^{II} |
| 3 | PAC | 11.5 | -0.27 | 0.34 | Co ^{III} | Co ^{III} | Fe ^{II} | Fe ^{II} |
| 2 | α -PAN | 12.7 | -0.27 | 0.27 | Co ^{III} | Co ^{III} | Fe ^{II} | Fe ^{II} |
| 1 | β -PAN | 14.5 | -0.40 | 0.19 | Co ^{III} | Co ^{III} | Fe ^{II} | Fe ^{II} |
| 10 | 5-CI-PADEAP | 14.6 | -0.49 | 0.05 | Co ^{III} | Co ^{III} | Fe ^{II} | Fe ^{II} |
| 7 | PAEAP | 16.6 | -0.58 | -0.01 | Co ^{III} | Co ^{III} | Fe ^{II} | Fe ^{III} |
| 6 | PADMAP | 16.9 | -0.62 | -0.01 | Co ^{III} | Co ^{III} | Fe ^{II} | Fe ^{III} + Fe ^{II} |
| 9 | PADEAP | 16.9 | -0.60 | -0.03 | Co ^{III} | Co ^{III} | Fe ^{II} | Fe ^{III} |
| 8 | PAEAC | 17.6 | -0.61 | -0.06 | Co ^{III} | Co ^{III} | Fe ^{II} | Fe ^{III} |

a. $\Sigma pK_a = pK_{a,N(H)} + pK_{a,NRR(H)} + pK_{a,OH}$.

b. E°/V vs. $Ag | 0.01 \text{ mol dm}^{-3} Ag^+ (AN)$.

c. $(M^{III})_{SCN}$, (M^{III}) : metal complexes injected in the mobile phase containing $0.01 \text{ mol dm}^{-3} NH_4SCN$ and no salts. M^{III} , M^{II} : metal complexes detected in the HPLC system; n.d.: not detected.

ここで, $\beta_{ML_{2+0}}$ and $\beta_{ML_{2,0}}$ は 1,2-ジクロロエタン中での錯体の全安定度定数である.

$[Fe^{III}L_2^+]/[Fe^{II}L_2]$ に関して, $\beta_{ML_{2+0}}/\beta_{ML_{2,0}}$ と $\beta_{ML_{2+}}/\beta_{ML_2}$ との間に相関があると仮定すると,

式(1)および式(2)を式(4)に代入することにより, 鉄錯体の $E^\circ_{FeL_2}$ は式(5)のように ΣpK_a

の関数としてあらわすことができる:

$$\begin{aligned}
 E^\circ_{FeL_2} &= (2.05 - 0.85) \times 0.0592 \times \Sigma pK_a + \text{const.} \\
 &= -0.070 \times \Sigma pK_a + \text{const.} \quad (5)
 \end{aligned}$$

鉄錯体に関して実験的に得られたプロットを Fig. 5-4 に示す. 傾き -0.069 , 切片 1.135 の直線関係が得られ, これは式(5)によく一致する. コバルト錯体に関するプロットも傾き -0.071 , 切片 0.607 の直線関係を示し, 鉄錯体との切片の差は 0.6 V であった. なお, 安定度定数の場合と同様に, アルキルアミノ誘導体の錯体をこの相関に適合させるには, ΣpK_a に $pK_{a,NRR'(H)}$ を含める必要があった. このような酸解離定数と酸化還元電位との相関は, PAN 誘導体の $Co^{III/II}$ 錯体および置換フェナントロリンの $Cu^{III/II}$ 錯体について報告されている^{7,8,21}.

5-3-4 コバルトおよび鉄錯体のプレカラ

ム誘導体化反応

ピリジリアゾ化合物のエタノールあるいはジオキサン溶液に、MES 緩衝溶液 (pH 6.5), 続いてコバルト(II)水溶液を加えたとき、混合溶液は初めにコバルト(II)錯体固有の色を示し、その後、酸化剤がない場合でも徐々にコバルト(III)錯体の色に変化した。コバルト(II)錯体の酸化挙動にしたがって、試薬を3つのグループに分類することができる：Group A

(5N- α -PAN (4) および 5N-PAC (5) 錯

体； $E^0_{CoL_2} \geq 0.00$ V), Group B (PAC (3) および α -PAN (2) 錯体； $E^0_{CoL_2} \cong -0.27$), Group C (β -PAN (1), 5-Cl-PADEAP (10), PAEAP (7), PADMAP (6), PADEAP (9) および PAEAC (8) 錯体； $E^0_{CoL_2} \leq -0.40$ V). Group C の化合物のコバルト(II)錯体の酸化は速く、一方 Group B の化合物のコバルト(II)錯体の酸化は遅かった。Group A の化合物のコバルト(II)錯体は定量的にはコバルト(III)錯体に酸化されなかった。

すべての化合物で、過ヨウ素酸カリウムの添加によりコバルト(III)錯体が得られ、一方で、アスコルビン酸の存在下でコバルト(II)錯体が得られた。Group A の化合物のコバルト(III)錯体は、一旦形成しても、アスコルビン酸の添加により素早く還元されるが、Group B および C の化合物のコバルト(III)錯体は、アスコルビン酸を添加しても還元することはできなかった。

エタノール水溶液あるいはジオキサン水溶液中の鉄(II)との反応において、すべての化合物で $[Fe^{II}L_2]$ が得られ、数時間は酸化されなかった。鉄(III)との反応では、すべて

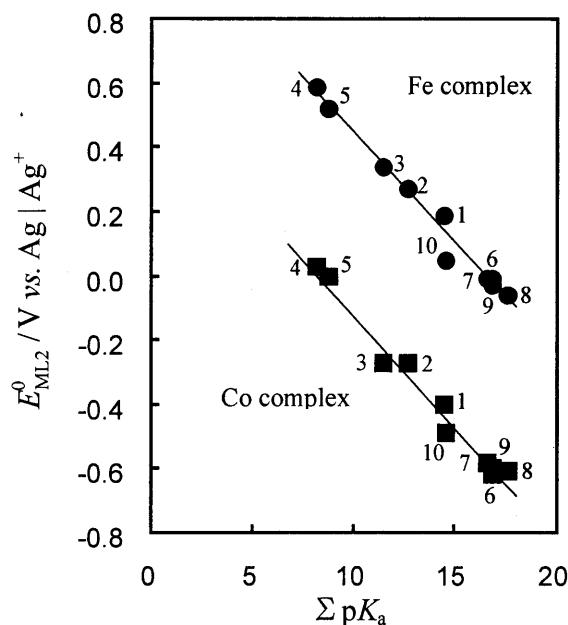


Fig. 5-4 Correlation between redox potentials of cobalt and iron complexes and total basicities of ligands denoted by ΣpK_a . Circles, Fe complexes; squares, Co complexes.

の化合物で $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ が得られ安定であった。なお、アスコルビン酸の添加により還元することができた。

5-3-5 コバルトおよび鉄錯体のクロマトグラフ挙動

$[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$, $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$, $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ あるいは $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ を単独で注入し、アセトニトリル水溶液を移動相として溶離した。その際、移動相添加イオンとして SCN^- の有無を検討し、その影響も調べた。注入時における試料溶液中の金属錯体の酸化状態はアスコルビン酸あるいは過ヨウ素酸カリウムの添加によって制御した。いずれの化合物の場合も、注入した $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ あるいは $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ は酸化状態が変化することなく検出された。 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ のピークはチオシアン酸イオンの存在によってシャープになり、イオン対、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+\text{SCN}^-$ として好ましい保持が得られた¹。

$[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ あるいは $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ を注入したとき、HPLC で検出されたコバルトおよび鉄錯体を Table 5-3 に示した。Group A の化合物 (5N- α -PAN (4) and 5N-PAC (5)) のコバルト(II)錯体は添加剤を含まない移動相で酸化状態を保ったまま、シャープなピークで溶出した(Fig. 5-5(A))。一方、Group C の化合物では、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ だけがシャープなピークで検出された。コバルト(II)錯体がカラムの上端部でアスコルビン酸から分離された後、直ちに酸化されることが示唆される。Group B の化合物では $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ だけが検出されたが、PAC (3) の場合には広幅化が、 α -PAN (2) の場合はごくわずかにテーリングがみられ (Fig. 5-5(B)), $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の酸化が素早く起こ

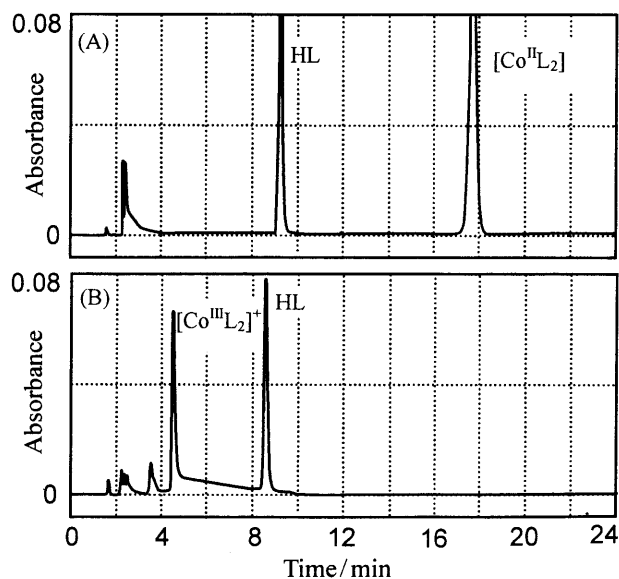


Fig. 5-5 Chromatograms of 5N- α -PAN (A) and α -PAN (B) -cobalt(II) complexes. Column, L-column ODS; eluent, acetonitrile-water (70:30, v/v). Flow-rate, $0.8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Column temperature, 40°C .

らないことが予想される。
 これらの知見は Mochizuki
 らによる β -PAN のコバルト(II)錯体の形成と酸化に
 関する系統的な研究の結果と一致する：(1) 還元剤
 が共存しない場合、たとえ
 真空ラインを用いてもコ
 バルト(III)錯体の形成を完
 全に避けることはできな
 かった²²；(2) 還元剤の存
 在下で調製したコバルト
 (II)錯体は、DMSO 中では
 たとえ酸素ガスをバブリ
 ングしても酸化されない
 が、極少量の水を添加す
 ることにより直ちに酸化さ
 れた⁷。

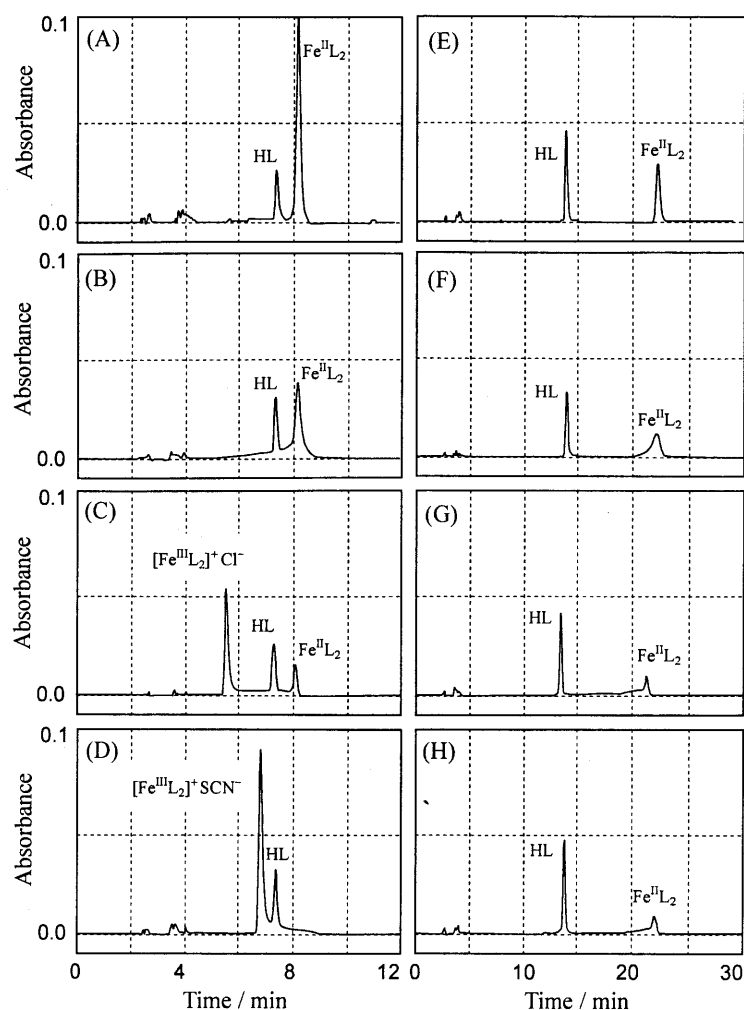


Fig. 5-6 Chromatographic behavior of $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ (A, E) and $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ (B-D, F-H) with PADEAP (A-D) and 5-Cl-PADEAP (E-H). Column, L-column ODS; eluent, acetonitrile-water (65:35, v/v) containing no additives (A, B, E, F), $1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ammonium chloride (C, G), and $1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ammonium thiocyanate (D, H). Flow-rate, $0.8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Column temperature, 25°C .

$[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ を $0.01 \text{ M NH}_4\text{SCN}$ を含む移動相に注入したとき、Group A の化合物 (5N- α -PAN (4) and 5N-PAC (5)) では、チオシアン酸イオンとの配位子交換反応のためにコバルトのピークが消失した。

$[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ のクロマトグラフ挙動に対する依存性において、化合物はこれまでと変わり 2 つのグループに分類された：Group X (5N- α -PAN (4), 5N-PAC (5), PAC (3), α -PAN (2), β -PAN (1) および 5-Cl-PADEAP (10) 錯体； $E^0_{\text{FeL}_2} \geq 0.05 \text{ V}$), Group Y (PAEAP (7), PADMAP (6), PADEAP (9) および PAEAC (8) 錯体； $E^0_{\text{FeL}_2} \leq -0.01 \text{ V}$). Group Y の化合

物として PADEAP (9) の, Group X の化合物として 5-Cl-PADEAP (10) の $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ および $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ のクロマトグラムを Fig. 5-6 に示す. これらの化合物の $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ を, 添加剤を含まない移動相に注入したとき, $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ のシャープなピークが得られた (Fig. 5-6(A), (E)). $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ を, 添加剤を含まない移動相に注入したとき, Fig. 5-6(B), (F) に示されるように, $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ だけがわずかなリーディングを伴って検出された. 鉄(III)錯体は, 他のピリジルアゾ化合物で明らかになっているように, 過ヨウ素酸から分離した後還元された^{6,23}. PADEAP (9) の $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ を NH_4Cl を含む移動相に注入したとき, $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ の高いピークと $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の低いピークの両方が得られた (Fig. 5-6(C)). NH_4SCN の場合には, $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ のピークだけが得られた (Fig. 5-6(D)). より高い親油性のアニオンは $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ を安定にする. 他の Group Y の化合物の錯体の中で, PAEAP (7) および PAEAC (8) では $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ だけが得られ, 一方, PADMAP (6) では, 両方のピークが得られた. アミノ基のより嵩高い置換基は, $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ のイオン対を安定にする. 高い塩基性をもつアゾ化合物の配位は, 解離や鉄(II)錯体への還元に対して鉄(III)錯体を安定にし, Fe(III)錯体のピークを与える²⁴. 対照的に, 5-Cl-PADEAP (10) に関しては, たとえ NH_4Cl あるいは NH_4SCN の存在下でさえ, リーディングを伴った $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ のピークだけが得られた (Fig. 5-6(G), (H)).

5-4 結論

ピリジルアゾ化合物のコバルトおよび鉄錯体の酸化還元電位は配位子の塩基性と直線関係にあった. その関係は, 配位子の塩基性への $[\text{M}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ および $[\text{M}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の安定度の依存性の差異によって定量的に説明された. 逆相 HPLC 系において, コバルトは最も高い $E^0_{\text{ML}_2} \cong 0.0 \text{ V}$ あるいは最も低い塩基性の化合物でのみ, $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ として検出できた. 一方, 鉄は, 最も低い $E^0_{\text{ML}_2} \cong 0.0 \text{ V}$ あるいは最も高い塩基性の化合物でのみ, $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ として検出できた. 最も低い電位のコバルト錯体では $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ のピークのみが得られ, 一方, 最も高い電位の鉄錯体では $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ のピークだけが得られた.

コバルト(II)および鉄(III)イオンを含む試料をピリジルアゾ化合物で誘導体化するとき、鉄錯体の酸化還元電位はコバルト錯体よりも 0.6 V 高いので、相互の酸化還元反応によって、当量の $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ と $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ が形成される。化合物 **1-3** および **10** の場合には、過剰のコバルト(II)あるいは鉄(III)イオンは、酸化剤あるいは還元剤によって $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ あるいは $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ に誘導体化されうる。2つの他の方法のうちの1つは、5N- α -PAN (**4**) あるいは 5N-PAC (**5**) を還元剤と組み合わせて用いることで、コバルトおよび鉄は $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ および $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ として検出される。もう一方は、PAEAP (**7**), PAEAC (**8**) あるいは PADEAP (**9**) を酸化剤組み合わせて用いることで、コバルトおよび鉄は $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ および $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ として検出される。誘導体化試薬および補助試薬 (酸化剤あるいは還元剤あるいは無添加) が試料組成に応じて最適化されるべきである。

5-5 参考文献

1. T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *J. Chromatogr. A*, **1994**, 659, 359.
2. H. Niwa, T. Yasui, T. Ishizuki, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *Talanta*, **1997**, 45, 349.
3. H. Niwa, T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *J. Chromatogr. A*, **1997**, 789, 491.
4. T. Yasui, T. Ohnishi, Y. Mizuno, N. Ohata, and H. Yamada, *Bunseki Kagaku*, **2003**, 52, 1121.
5. T. Yasui, Y. Kashihara, F. Miyake, S. Sugitani, H. Yamada, and A. Yuchi, *Anal. Sci.*, **2008**, 24, 993.
6. S. Oszwaldowski and A. Pikus, *Talanta*, **2002**, 44, 593.
7. K. Mochizuki and M. Fujimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1985**, 58, 1520.
8. A. Yuchi, K. Matsui, T. Ishizuki, and H. Wada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1993**, 66, 1826.
9. A. Kawase, *Anal. Chim. Acta*, **1972**, 58, 311.
10. D. Betteridge and D. John, *Analyst (Cambridge, U.K.)*, **1973**, 98, 377.

11. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1962**, *83*, 1098.
12. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1963**, *84*, 639.
13. K. Ohshita, H. Wada, and G. Nakagawa, *Anal. Chim. Acta*, **1982**, *140*, 291.
14. T. Ishizuki, T. Murakawa, T. Yamada, A. Yuchi, H. Wada, and M. Shiro, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1995**, *68*, 2281.
15. D. A. Oxspring, T. J. Maxwell, and W. F. Smyth, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, *323*, 97.
16. M. Kurahashi, M. Fukuyo, A. Shimada, and A. Kawase, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1976**, *49*, 872.
17. M. Kurahashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1976**, *49*, 292.
18. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1962**, *83*, 1190.
19. H. Segawa, T. Saitoh, T. Kamidate, H. Watanabe, K. Haraguchi, and M. Miyajima, *Bunseki Kagaku*, **1991**, *40*, 101.
20. A. Ohashi, S. Tsukahara, and H. Watarai, *Langmuir*, **2003**, *19*, 4645.
21. P. M. Bush, J. P. Whitehead, C. C. Pink, E. C. Gramm, J. L. Eglin, S. P. Watton, and L. E. Pence, *Inorg. Chem.*, **2001**, *40*, 1871.
22. K. Mochizuki, T. Imamura, T. Ito, and M. Fujimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1978**, *51*, 1743.
23. H. Inoue and K. Ito, *Microchem. J.*, **1994**, *49*, 249.
24. S. Pehkonen, *Analyst*, **1995**, *120*, 2655.

第6章 鉄およびニッケル中性錯体の分離に及ぼすヘテロ環効果

6-1 緒言

第3章で示したように、1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (β -PAN) に代表される *o*-ヒドロキシヘテロ環アゾ化合物は、一般に、銅およびコバルトイオンとそれぞれ陽イオン性の $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ および $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ を、鉄およびニッケルイオンと中性の $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ および $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ を形成する。逆相 HPLC の条件を最適化することにより、ニッケルおよび鉄錯体は、銅およびコバルト錯体とは組成あるいは電荷が異なるので容易に分離できる。一方、鉄とニッケル錯体は同一の電荷と組成を有するために、ベースラインセパレーションを得ることは可能であったが、十分に大きな分離度を達成することはできなかった¹。

これらの鉄とニッケル錯体の保持は *o*-ヒドロキシヘテロ環アゾ化合物中のジアゾ成分によって大きく影響を受けることが明らかとなってきた。アセトニトリル/水移動相を用いたとき、2-ナフトール誘導体の中で、ピリジン環を有する β -PAN およびキノリン環を有する 1-(2-キノリルアゾ)-2-ナフトール (β -QAN) では、鉄錯体はニッケル錯体より保持が大きい ($\text{Ni} < \text{Fe}$) のに対して^{1,4}、チアゾール環を有する 1-(2-チアゾリルアゾ)-2-ナフトール (β -TAN) では鉄錯体の保持がニッケル錯体よりも小さくなる ($\text{Fe} < \text{Ni}$)⁵。また、1-ナフトール誘導体の中では、キノリン環を有する 2-(2-キノリルアゾ)-1-ナフトール (α -QAN) では鉄錯体はニッケル錯体よりも保持が大きい¹のに対して ($\text{Ni} < \text{Fe}$)、ピリジン環を有する 2-(2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (α -PAN) では鉄錯体の保持がニッケル錯体よりも小さい ($\text{Fe} < \text{Ni}$)⁶。

ピリミジン環を有する *o*-ヒドロキシアゾ化合物として、1968 年に 2-(2-ピリミジルアゾ)-1-ナフトール (α -PMAN) が Anderson らによって合成され、滴定試薬としての評価がおこなわれているが⁷、金属イオンの分析への応用例は非常に少ない^{8,9}。ピリジン環をピリミジン環に変えることにより錯体の安定度定数はわずかに低下したが、大きな差異はみられなかった。したがって、EDTA との配位子交換を利用する滴定用試薬として、それ以上

の検討は行われなかった。しかし、HPLC 用プレカラム誘導体化試薬と利用することを想定した場合、錯体の安定度が比較的高いことは、むしろ好都合である。また、配位に関与しない窒素原子により、錯体の極性が比較的高いため、ピリジル誘導体に比べてより速い溶出が期待される。

本研究では、ヘテロ環が中性錯体の保持に与える効果を検討するために、2-(2-ピリミジルアゾ)-1-ナフトール (α -PMAN) , 1-(2-ピリミジルアゾ)-2-ナフトール (β -PMAN), 2-(2-ピラジリアゾ)-1-ナフトール (α -PZAN), 1-(2-ピラジリアゾ)-2-ナフトール (β -PZAN) のプレカラム誘導体化試薬としての性能を評価した。これらの中で α -PMAN 以外の試薬は本研究で始めて合成したものである。鉄(II), コバルト(II), ニッケル(II)および銅(II)錯体の逆相 HPLC 挙動を調べた結果、ピリミジル誘導体を用いると、ピリジル誘導体と比べて、ピーク高さの低下はみられず、分析時間を短縮しながら、鉄およびニッケル錯体を良好に分離できることを明らかにした。

6-2 実験

6-2-1 試薬

2-(2-ピラジリアゾ)-1-ナフトール (α -PAN), 2-(2-ピリミジリアゾ)-1-ナフトール (α -PMAN) および 2-(2-ピラジリアゾ)-1-ナフトール (α -PZAN) は、2-ヒドラジノピリジン, 2-ヒドラジノピミジンおよび 2-ヒドラジノピラザンと 1,2-ナフトキノンとの縮合反応により合成した^{7,10,11}。1-(2-ピリミジリアゾ)-2-ナフトール (β -PAN), 1-(2-ピリミジリアゾ)-2-ナフトール (β -PMAN) および 1-(2-ピラジリアゾ)-2-ナフトール (β -PZAN) はジアズニウム塩と 2-ナフトールとのカップリング反応により合成した¹²。粗生成物は、クロロホルム溶液の酸およびアルカリによる抽出、あるいはエタノール水溶液からの再結晶により精製した。すべての化合物の純度は¹H-NMR および逆相 HPLC により確認した。各化合物を 2.5×10^{-4} M となるようにエタノールに溶解した。金属イオン溶液は、鉄(III), コバルト(II), ニッケル(II)および銅(II)の硝酸塩から 1.0×10^{-2} M ストック溶液 (pH 2) を調製し、必要に応じて希釈して用いた。

6-2-2 HPLC 操作

2.5 × 10⁻⁴ M 試薬エタノール溶液 4 ml に, Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II)をそれぞれ 1 × 10⁻⁴ M 含む水溶液 1 ml を加えることにより調製した (pH 約 4). HPLC システム (日本分光製) は, PU-980 型インテリジェント HPLC ポンプに, CO-965 型 カラムオーブン, MD-915 型紫外可視マルチ検出器 (200 - 900 nm) を組み合わせて用いた. 固定相として L-column ODS (4.6 mm i.d. × 150 mm, particle diameter 5 μm, 化学物質評価研究機構製) および CAPCELL PAK C18 (4.6 mm i.d. × 250 mm, particle diameter 5 μm, 資生堂製)を用いた. 移動相はメンブランフィルター (アドバンテック製) で濾過し, 脱気した後用いた. 金属錯体溶液 10 μl を SVM-6U7 型セラミックバルブサンプルインジェクター (サヌキ工業製) を用いてカラムに注入し, 流速 0.8 ml min⁻¹ で分離し, 400-800 nm の吸光度をモニターした. *t*₀ は各移動相における亜硝酸ナトリウムの保持により決定した.

6-3 結果および考察

6-3-1 ヘテロ環アゾ化合物の比較

試薬の化学的性質として, 酸解離定数, 金属錯体のスペクトル特性, 錯体の水相からクロロホルムへの 100% 抽出 pH 範囲を Table 6-1 に示す. 試薬の塩基性と抽出能との間には相関性がみられた. PMANs および PZANs の [Co^{III}L₂]⁺ の 100% 抽出に対する pH の上限

Table 6-1 Chemical properties of metal complexes with *o*-hydroxy heterocyclic azo compounds

| Reagent (HL) | diazo component | coupling component | pK _{OH} ^a | CuL ₂ | | | CoL ₂ ⁺ | | | NiL ₂ | | | FeL ₂ | | |
|--------------|-----------------|--------------------|-------------------------------|------------------|-------------------|------|-------------------------------|-------------------|------|------------------|-------------------|------|------------------|-------------------|------|
| | | | | λ _{max} | ε/10 ⁴ | pH | λ _{max} | ε/10 ⁴ | pH | λ _{max} | ε/10 ⁴ | pH | λ _{max} | ε/10 ⁴ | pH |
| α-PMAN | | | 9.5 | 553 | 5.5 | 7-13 | 605 | 2.2 | 1-6 | 600 | 5.4 | 4-13 | 759 | 1.9 | 2-13 |
| α-PZAN | | | 8.8 | 579 | 5.3 | 8-13 | 630 | 2.5 | 2-5 | 577 | 5.3 | 5-13 | 758 | 1.5 | 4-12 |
| α-PAN | | | 9.8 ^b | 560 | 5.9 | 7-13 | 605 | 2.9 | 1-10 | 600 | 5.7 | 4-13 | 745 | 1.5 | 2-12 |
| β-PMAN | | | 11.4 | 545 | 4.0 | 9-12 | 583 | 2.0 | 1-5 | 563 | 4.7 | 3-13 | 776 | 2.1 | 2-12 |
| β-PZAN | | | 10.7 | 575 | 4.4 | 8-13 | 605 | 2.4 | 1-5 | 588 | 5.4 | 4-13 | 774 | 1.7 | 4-13 |
| β-PAN | | | 11.6 ^c | 565 | 4.4 | 7-13 | 583 | 2.2 | 1-10 | 569 | 6.0 | 4-12 | 765 | 1.7 | 1-12 |

a. α-PMAN, β-PMAN, β-PZAN: in 10% aqueous ethanol; α-PZAN: in 20% aqueous ethanol.

b. From Ref.13

c. From Ref.14

は、PANs の場合よりも低く、PMANs および PZANs では、コバルトは pH > 6 で酸化剤の存在下でさえ $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ として抽出された。クロマトグラフ操作におけるプレカラム誘導体化の最適な pH を 4 とした。銅はこの pH 条件ではこれらの試薬と主として $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ を形成する。

固定相として L-column ODS を、移動相としてアセトニトリル/水混合溶媒を用い、PMANs、PZANs

および PANs の鉄、コバルト、ニッケルおよび銅錯体の保持を検討した。Fig. 6-1 には、アセトニトリル-水 (70:30, v/v) を移動相とした際のクロマトグラムを示す。残存シラノールの影響を除くために、0.01 M のチオシアン酸アンモニウムを添加した¹。ジアゾ成分の配位に関与しない環内窒素原子により配位子およびその金属錯体の親水性が高まるため、PZANs および、とくに PMANs 錯体の保持は PANs 錯体よりも小さかった (PANs > PZANs > PMANs)。PANs を用いる場合と比較して、PMANs を用いると分析時間が短縮しているにもかかわらず (PMANs では 5 分、PANs では 12 分)、ニッケルと鉄は良好に分離できた。一方、PZANs の場合、PANs と比べて両錯体間の分離度はむしろ低下した。配位に関与しない環内窒素原子の位置により、すべての錯体の保持および鉄とニッケル錯体間の分離度が改善された。

ニッケルと鉄錯体間の分離度を比較するため、鉄錯体の溶出時間がほぼ同じになるように移動相中のアセトニトリル濃度を調整した際の保持を Fig. 6-2 に示す。1-ナフトール誘

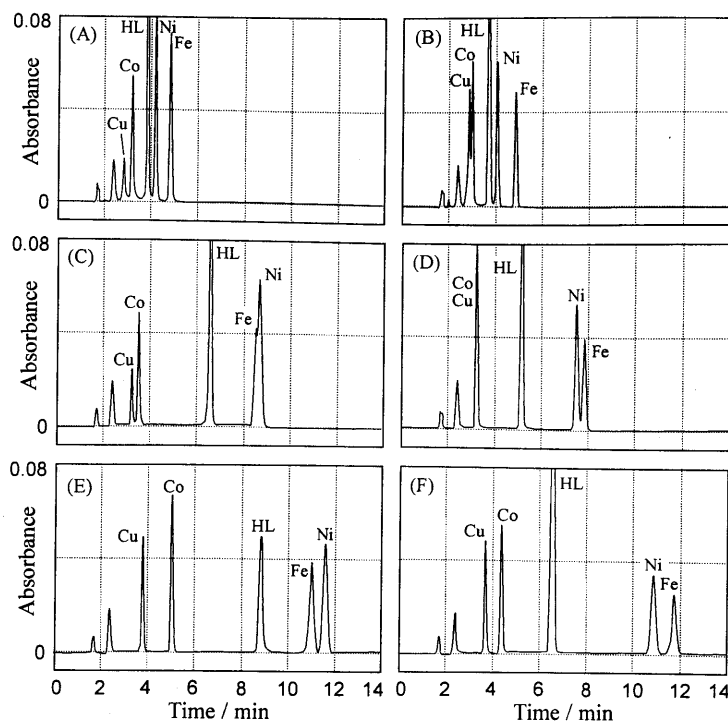


Fig. 6-1 Chromatograms of iron, cobalt, nickel, and copper complexes with *o*-hydroxy heterocyclic azo compounds. Column: L-column ODS; eluent: acetonitrile-water (70:30, v/v) containing $1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3} \text{ N H}_4\text{SCN}$. Flow-rate: $0.8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Column temperature: 40°C . Ligand: (A) α -PMAN (B) β -PMAN (C) α -PZAN (D) β -PZAN (E) α -PAN (F) β -PAN.

導体の中で、 α -PAN および α -PZAN では、両錯体の溶出順は $Fe < Ni$ であった。一方、 α -PMAN では $Ni \ll Fe$ の順であった。2-ナフトール誘導体では、溶出順はすべて $Ni \ll Fe$ であった。鉄とニッケル錯体間の最も高い分離度が β -PMAN を用いることにより得られた。

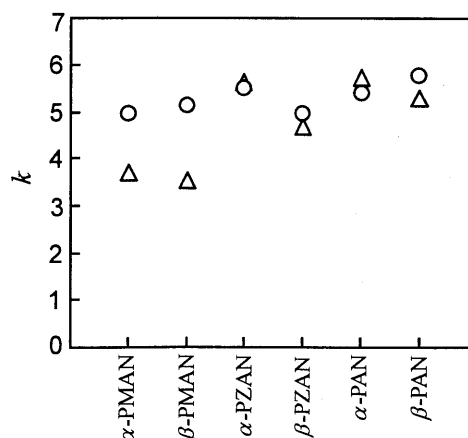


Fig. 6-2 Retention factor of iron and nickel complexes with *o*-hydroxy heterocyclic azo compounds. Column: L-column ODS; eluent: acetonitrile-water containing $1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3} \text{ NH}_4\text{SCN}$. Flow-rate: $0.8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Column temperature: 40°C . Acetonitrile (% v/v): 55 (α -PMAN, β -PMAN); 65 (α -PZAN, β -PZAN); 70 (α -PAN, β -PAN). Metal: Δ , Ni; \circ , Fe.

6-3-2 移動相有機溶媒の影響

金属錯体の保持と分離に対する移動相有機溶媒の影響を調べた。Fig. 6-3 に、アセトニトリル

濃度に対する保持係数 (k) の対数値のプロットを示す。いずれの錯体の場合も両者の間に直線関係が観測された。直線の傾きはソルボホビク理論にしたがい、試薬が2つ配位した $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$, $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ および $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ で最も大きく、試薬が1つ配位した $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ で中程度であり、HL で最も小さい。したがって、これらの3つのグループ間の分離は、移動相のアセトニトリル濃度を最適化することにより改善することが可能である。一方、鉄とニッケル錯体間の分離度は改善できない。

アセトニトリル以外にも、移動相有機溶媒としてメタノール、エタノール、アセトンを用いたときの $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持挙動も調べた。Table 6-2 に、移動相中の有機溶媒含有率、鉄およびニッケル錯体の保持係数 (k)、分離係数 (α) および分離能 (R_s) をまとめた。理論上、 $R_s > 1.5$ でベースラインセパレーションが得られる。メタノール/水移動相では、アセトニトリル/水移動相と比べて α -PMAN 錯体の分離係数が低下した。一方、 α -PZAN および α -PAN では、ニッケル錯体に対して鉄錯体の保持が相対的に増加し、溶出順序が逆転した。メタノール/水移動相では、アセトニトリル/水移動相と比べて分離係数が同じ場合でも、ピークの僅かな広幅化がおこるため、分離能が低下することがわかった。

エタノール/水移動相では、アセトニトリル/水移動相に比べて、 α -PMAN 錯体の分離

係数はメタノールの場合と同様に低くなったが、一方で、 β -PMAN および β -PAN 錯体の分離係数は高くなった。しかしながら、メタノール/水移動相の場合よりも更にピークの広幅化がおこるため、分離度の増加には反映されなかった。

アセトン/水移動相では、メタノールおよびエタノールの場合とは対照的に、ピークの広幅化が起こらなかった。いずれの化合物の場合も、分離係数および分離能ともにアセトニトリル/水移動相と同等であった。

以上のように、鉄とニッケル錯体間の分離度は、移動相有機溶媒およびその含有率によって十分に改善することはできなかった。分離度は、実質的に誘導体化試薬に左右されることがわかった。この点において、ピリミジルアゾ化合物では、移動相有機溶媒に関わらず、非常に高い分離度 (R_S : 2.2 ~ 5.3) が得られていた。

6-3-3 熱力学的考察

金属錯体の保持挙動の差異を明瞭にするために、6つの化合物の $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持に対する温度の影響を5 ~ 50°Cの間で調べた (Fig. 6-4)。移動相として、 β -PMAN

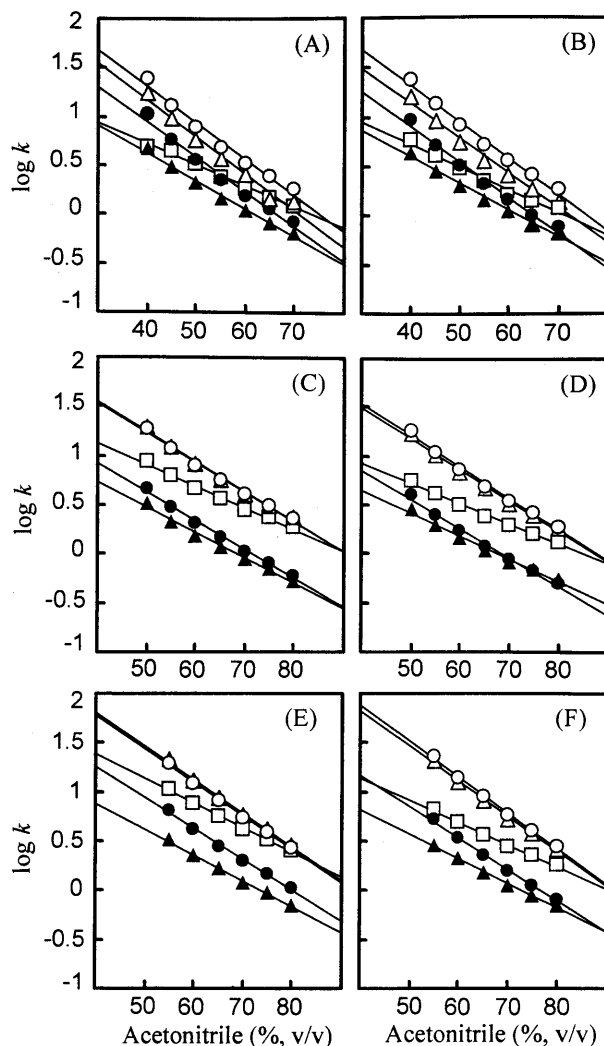


Fig. 6-3 Effect of acetonitrile content on retention factor. Column: L-column ODS; eluent: acetonitrile-water containing $1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3} \text{ NH}_4\text{SCN}$. Flow-rate: $0.8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Column temperature: 40°C . Ligand: (A) α -PMAN (B) β -PMAN (C) α -PZAN (D) β -PZAN (E) α -PAN (F) β -PAN. Metal: \blacktriangle , Cu; \bullet , Co; \square , HL; \triangle , Ni; \circ , Fe.

Table 6-2 Effect of organic modifier on separation factor and resolution between iron and nickel complexes

| Reagent | Acetonitrile | | | | | Methanol | | | | | Ethanol | | | | | Acetone | | | | |
|----------------|--------------|----------|----------|----------|-------|----------|----------|----------|----------|-------|---------|----------|----------|----------|-------|---------|----------|----------|----------|-------|
| | % | k_{Ni} | k_{Fe} | α | R_S | % | k_{Ni} | k_{Fe} | α | R_S | % | k_{Ni} | k_{Fe} | α | R_S | % | k_{Ni} | k_{Fe} | α | R_S |
| α -PMAN | 55 | 3.72 | 4.97 | 1.34 | 4.3 | 70 | 4.79 | 5.68 | 1.19 | 2.2 | 50 | 3.07 | 3.81 | 1.24 | 2.8 | 50 | 3.16 | 4.20 | 1.33 | 4.9 |
| β -PMAN | 55 | 3.54 | 5.12 | 1.45 | 5.3 | 65 | 4.17 | 5.83 | 1.40 | 4.1 | 45 | 3.63 | 5.43 | 1.50 | 3.8 | 50 | 3.13 | 4.75 | 1.52 | 4.3 |
| α -PZAN | 65 | 5.62 | 5.51 | 0.98 | (0.3) | 80 | 4.35 | 4.54 | 1.04 | 0.7 | 55 | 5.50 | 5.62 | 1.02 | 0.6 | 60 | 3.77 | 3.62 | 0.96 | (0.7) |
| β -PZAN | 65 | 4.68 | 4.97 | 1.06 | 0.7 | 75 | 4.14 | 4.56 | 1.10 | 1.7 | 55 | 3.59 | 4.12 | 1.15 | 1.7 | 60 | 3.70 | 3.93 | 1.06 | 0.7 |
| α -PAN | 70 | 5.72 | 5.38 | 0.94 | (0.9) | 75 | 6.46 | 6.40 | 0.99 | 0.1 | 55 | 6.30 | 6.30 | 1.00 | 0.0 | 60 | 4.40 | 4.10 | 0.93 | (1.0) |
| β -PAN | 70 | 5.28 | 5.77 | 1.09 | 1.4 | 75 | 4.86 | 5.21 | 1.07 | 1.2 | 55 | 5.13 | 5.75 | 1.12 | 1.7 | 60 | 4.53 | 5.12 | 1.13 | 1.7 |

Retention factor: $k = (t_R - t_M) / t_M$. Separation factor: $\alpha = k_{Fe} / k_{Ni}$. Resolution: $R_S = 2(t_{R,Fe} - t_{R,Ni}) / (w_{b,Fe} + w_{b,Ni})$.The value in parentheses denotes $R_S = 2(t_{R,Ni} - t_{R,Fe}) / (w_{b,Fe} + w_{b,Ni})$.

ではアセトニトリル-水 (55:45, v/v), β -PAN ではアセトニトリル-水 (70:30, v/v) を用いた。カラム温度の増加とともに, β -PAN の両金属錯体の保持は同じ割合で減少した。対照的に, β -PMAN では, 減少する割合が両錯体間で大きく異なった。

カラム温度に対する保持係数 (k) の依存性は一般的な方法において¹⁴, 式(1)によって与えられる;

$$\log k = \frac{-\Delta H^\circ}{2.303RT} + \frac{\Delta S^\circ}{2.303R} + \log \phi \quad (1)$$

ここで, ΔH° および ΔS° はそれぞれ移動相から固定相への移動エンタルピーおよび移動エントロピー変化, ϕ は二相間の比率 (固定相の容積 / 移動相の容積), R は気体定数, そして T はカラムの絶対温度である。 ΔH° , ΔS° および ϕ が温度に依存しない場合, この関係式は, ファン・ホッフのプロット ($\log k$ vs. $1/T$) になる。ファン・ホッフのプロットの傾きは, 移動エンタルピーが一定であれば分配および吸着ともに直線が得られ, 傾きの大きさは溶質特性に依存している。プロットの傾きから $-\Delta H^\circ / 2.3R$, 切片から $(\Delta S^\circ / 2.3R + \log \phi)$ が求められる。それぞれ

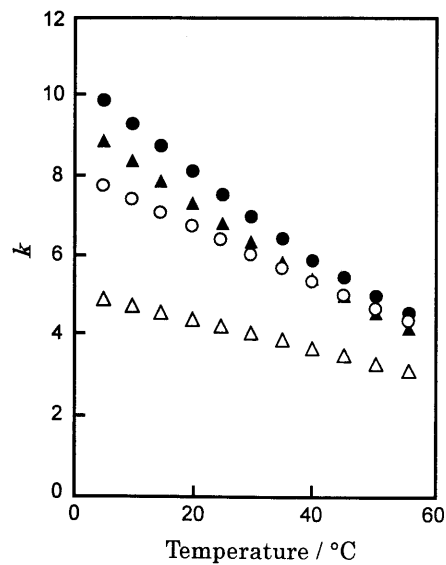


Fig. 6-4 Effect of column temperature on retention factor of iron and nickel complexes with β -PMAN and β -PAN. Column: L-column ODS; eluent: acetonitrile-water. Flow-rate: $0.8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Acetonitrile (% v/v): 55 (β -PMAN); 70 (β -PAN). Metal: Δ , \blacktriangle , Ni; \circ , \bullet , Fe. Ligand: open symbols, β -PMAN; closed symbols, β -PAN.

Table 6-3 Thermodynamic parameters for the retention of iron and nickel complexes

| Reagent | $-\Delta H^\circ/2.3R$ | | $\Delta S^\circ/2.3R + \log \phi$ | | $\Delta\Delta H^\circ_{\text{Fe-Ni}}$ (kJ mol ⁻¹) | $T\Delta\Delta S^\circ_{\text{Fe-Ni}}$ (kJ mol ⁻¹) | $\Delta\Delta G^\circ_{\text{Fe-Ni}}$ (kJ mol ⁻¹) |
|----------------|------------------------|-----|-----------------------------------|-------|--|---|--|
| | Fe | Ni | Fe | Ni | | | |
| α -PMAN | 377 | 283 | -0.49 | -0.32 | -1.80 | -0.97 | -0.83 |
| β -PMAN | 451 | 351 | -0.72 | -0.56 | -1.91 | -0.91 | -1.00 |
| α -PZAN | 478 | 467 | -0.77 | -0.72 | -0.21 | -0.29 | 0.08 |
| β -PZAN | 491 | 473 | -0.85 | -0.82 | -0.34 | -0.17 | -0.17 |
| α -PAN | 585 | 590 | -1.13 | -1.12 | 0.10 | -0.06 | 0.16 |
| β -PAN | 611 | 586 | -1.18 | -1.15 | -0.48 | -0.17 | -0.31 |

$$\Delta\Delta H^\circ_{\text{Fe-Ni}} = \Delta H^\circ_{\text{Fe}} - \Delta H^\circ_{\text{Ni}}; T\Delta\Delta S^\circ_{\text{Fe-Ni}} = T\{(\Delta S^\circ_{\text{Fe}} - 2.3R \log \phi) - (\Delta S^\circ_{\text{Ni}} - 2.3R \log \phi)\}, T = 298 \text{ K.}$$

$$\Delta\Delta G^\circ_{\text{Fe-Ni}} = \Delta G^\circ_{\text{Fe}} - \Delta G^\circ_{\text{Ni}}$$

Acetonitrile (% v/v): 70 (α -PAN, β -PAN); 65 (α -PZAN, β -PZAN); 55 (α -PMAN, β -PMAN).

れの試薬においてファント・ホッフのプロットを引き、傾きおよび切片を決定した。その結果を Table 6-3 に示す。PMANs のプロットは極僅かに下に凸の曲線になったので、評価には接線の傾きを用いた。 $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 間の ΔH° および ΔS° の差、 $\Delta\Delta H^\circ_{\text{Fe-Ni}}$ および $\Delta\Delta S^\circ_{\text{Fe-Ni}}$ も Table 6-3 に一緒に示した。

PMANs 錯体の $\Delta\Delta H^\circ_{\text{Fe-Ni}}$ および $\Delta\Delta S^\circ_{\text{Fe-Ni}}$ 値は PZANs および PANs 錯体よりも非常に大きかった。PMANs 錯体の鉄とニッケル錯体間の高い分離度は、PMANs 錯体の小さい $\Delta\Delta H^\circ_{\text{Fe-Ni}}$ 値に対して、 $\Delta\Delta S^\circ_{\text{Fe-Ni}}$ 値ではその効果を十分に相殺できないことによる。両錯体間の極性の差異が $\Delta\Delta H^\circ_{\text{Fe-Ni}}$ 値に大きく影響していると考えられる。

6-3-4 ピリミジルアゾ化合物の鉄錯体の選択的な保持の増大

$[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持を評価するための基準として、亜鉛錯体、 $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持を検討した。亜鉛は今回検討した他の金属イオンに比べて、より高い pH (8-12) で *o*-ヒドロキシヘテロ環アゾ化合物と錯体を形成する。また、形成した錯体は、pH < 8 で、過剰の配位子から分離された後、カラム中で解離する。一方、一般的なシリカベースのカラムは pH > 8 で酸解離し、錯体のカラムへの好ましくない吸着が起こる。そこで、シリコンでコートしたシリカゲル粒子にオクタデシル基を結合することにより、耐アルカリ性を付与したカ

プセルタイプのカラム (CAPCELL PAK C₁₈) と, N-シクロヘキシル-2-アミノエタンスルホン酸 (CHES) 緩衝剤 (pH 9) を含む移動相を用いた. なお, CHES 緩衝剤の濃度は金属錯体の保持に影響を与えなかった. すべての錯体が 15 分程度 ($k \approx 4$) で溶出するように, 移動相中のアセトニトリル含有率 (PMANs: 55%, PANs: 70%) を調節した.

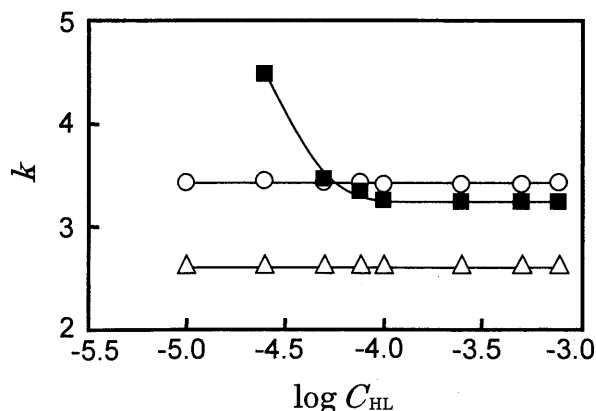


Fig. 6-5 Effect of ligand concentration in mobile phase on retention factor of α -PMAN complexes. Column: CAPCELL PAK C₁₈; eluent: acetonitrile-water (55:45, v/v) containing $1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ CHES-NaOH buffer (pH 9.0). Flow-rate: $0.8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Column temperature: 40°C . Metal: Δ , Ni; \blacksquare , Zn; \circ , Fe.

移動相に添加する試薬濃度が亜鉛錯体の保持に与える影響を検討した. α -PMAN での結果を Fig.6-5 に示す. 試薬濃度が低い範囲ではカラム中で亜鉛錯体が解離して錯陽イオンである $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}]^+$ となり, シラノール基と相互作用するために保持が大きかった. 移動相中の試薬濃度を増加すると解離が抑制されて, 亜鉛錯体の保持は減少し $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ 以上で一定値に収束した. 他の試薬についても同様の検討を行い, 一定値に収束する試薬濃度を決定した (β -PMAN: $\geq 2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$, α -PAN: $\geq 2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$, β -PAN: $\geq 1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$).

そのような評価に基づいて, $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の固有の保持係数を決定した. $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持係数を $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持係数で規格化した値 ($k_{\text{Fe}}/k_{\text{Zn}}$ あるいは $k_{\text{Ni}}/k_{\text{Zn}}$) を比較した (Fig. 6-6). PMANs の $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の相対保持比 (α -PMAN: 0.82, β -PMAN: 0.89) は PANs の保持比 (α -PAN: 0.73, β -PAN: 0.83) とほとんど同じであった. 一方, PMANs の $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の相対保持比

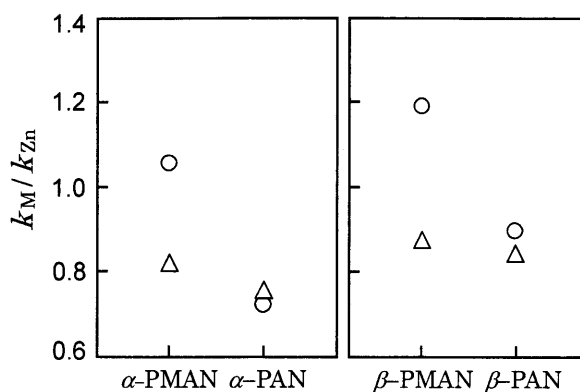


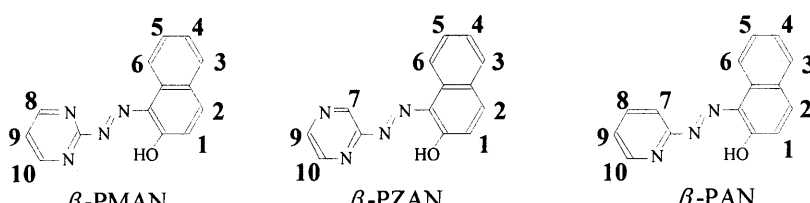
Fig. 6-6 Relative retention of iron and nickel complexes to zinc complex with pyrimidylazo and pyridylazo compounds. Column: CAPCELL PAK C₁₈; eluent: acetonitrile-water containing $1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ CHES-NaOH buffer (pH 9.0). Flow-rate: $0.8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Column temperature: 40°C . (Ligand, acetonitrile (% v/v), $C_{\text{HL}} / \text{mol dm}^{-3}$): (α -PMAN, 55, 1.0×10^{-4}), (α -PAN, 70, 2.5×10^{-5}), (β -PMAN, 55, 2.5×10^{-4}), (β -PAN, 70, 1.0×10^{-4}). Metal: Δ , Ni; \circ , Fe.

(α -PMAN: 1.06, β -PMAN: 1.19) はPANs の保持比 (α -PAN: 0.69, β -PAN: 0.89) よりも著しく大きい。したがって、ピリジンをピリミジンに置換することによって, $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持が選択的に増大するために, $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 間の分離係数が大きくなったと結論できる。

6-3-5 $^1\text{H-NMR}$ による溶液中における金属錯体の動的挙動の推察

$[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ のカラム中での動的挙動に関する知見を得るために, 重クロロホルム中での $^1\text{H-NMR}$ を測定した。Table 6-4 に β -PMAN, β -PZAN, β -PAN の $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の各配位子プロトンのケミカルシフトを示す。 $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ では, $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ に比べて配位に参与しているヘテロ環窒素の近隣のプロトン(9, 10) のケミカルシフトが大きく高磁場にシフトしていることがわかった。鉄原子からヘテロ環への電子の逆供与が示唆される。このため, 鉄イオンは亜鉛イオンよりもヘテロ環窒素との結合が強くなっていると考えられる。本来, β -PMAN のピリミジン窒素の酸解離定数はとても大きく ($\text{p}K_{\text{NH}} < 1$), 金属イオンとの錯形成に参与するにはとても不利である。Table 6-4 に示したように, $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ では, プロトン(8, 10) のピークが得られなかった。プロトン(9) のケミカルシフトは, 配位子とは異なっているため, ピリミジン環が回転して, 配位に参与する窒素原子が交互に入れ替わっていることを示唆する。一方, $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ では, プロトン(8, 10) のピークは帰属できた。ピリミジン環のいずれかの窒素原子が強く配位していると考えられる。これらのことから,

Table 6-4 $^1\text{H-NMR}$ chemical shifts (ppm) for zinc and iron complexes^a



| Position | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---------------|----|------|------|------|------|------|-------|------|------|------|------|
| β -PMAN | Zn | 6.80 | 7.78 | 7.58 | 7.44 | 7.70 | 10.03 | — | n.d. | 6.91 | n.d. |
| | Fe | 6.60 | 7.63 | 7.70 | 7.50 | 7.92 | 10.58 | — | 8.35 | 6.50 | 7.52 |
| β -PZAN | Zn | 6.82 | 7.77 | 7.62 | 7.45 | 7.71 | 9.90 | 9.06 | — | 8.20 | 7.53 |
| | Fe | 6.60 | 7.61 | 7.72 | 7.52 | 7.92 | 10.38 | 8.90 | — | 7.69 | 6.92 |
| β -PAN | Zn | 6.88 | 7.73 | 7.75 | 7.38 | 7.66 | 9.90 | 7.62 | 7.80 | 6.95 | 7.66 |
| | Fe | 6.65 | 7.58 | 7.80 | 7.47 | 7.90 | 10.53 | 7.73 | 7.42 | 6.47 | 6.72 |

a. Measured in CDCl_3 .

n.d.: not detected.

[Fe^{II}L₂] の逆相固定相への移動が [Zn^{II}L₂] よりも有利に起こることが推察できる。なお、[Ni^{II}L₂] の配位状態は [Zn^{II}L₂] により近いと予想される。

6-4 結論

・ピリジルアゾ化合物をプレカラム誘導体化試薬として用いると、鉄錯体の保持の選択的な増大のために、鉄とニッケル錯体間の分離度が改善された。緒言 (6-1) で述べた例の他にも、 α -PAN のピリジン環の 5 位にニトロ基を導入すると、鉄錯体の保持が相対的に大きくなることがわかっている⁸。このように、プレカラム誘導体化試薬の構造の僅かな違いが金属錯体の保持に大きく影響する。本研究で得られたような配位子の構造と錯体の保持に関する知見を蓄積することによって、これらの挙動の統一的な理解とより優れた誘導体化試薬の開発が成し遂げられる。

6-5 参考文献

1. T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *J. Chromatogr. A*, **1994**, 659, 359.
2. H. Inoue and K. Ito, *Microchem. J.*, **1994**, 49, 249.
3. H. Niwa, T. Yasui, T. Ishizuki, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *Talanta*, **1997**, 45, 349.
4. H. Niwa, T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, and H. Wada, *J. Chromatogr. A*, **1997**, 789, 491.
5. J. Miura, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 1424.
6. T. Yasui, T. Ohnishi, Y. Mizuno, N. Ohata, and H. Yamada, *Bunseki Kagaku*, **2003**, 52, 1121.
7. R. G. Anderson and G. Nickless, *Analyst (Cambridge, U.K.)*, **1968**, 93, 20.
8. I. Singh and R. Saini, *Talanta*, **1994**, 41, 2173.
9. M. Gaber, M. M. Ayad, and Y. S. Y. El-Sayed, *Spectrochim. Acta, Part A: Mol. & Biomol. Spectroscopy*, **2005**, 62, 694.
10. A. Kawase, *Anal. Chim. Acta*, **1972**, 58, 311.
11. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1964**, 85, 202.

12. K. Ohshita, H. Wada, and G. Nakagawa, *Anal. Chim. Acta*, **1982**, *140*, 291.

13. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1963**, *84*, 639.

14. L. A. Cole, J. G. Dorsey, and K. A. Dill, *Anal. Chem.*, **1992**, *64*, 1324.

第7章 長鎖アルキル基を有するヘテロ環アゾ化合物のイオンクロマトグラフィー用コート試薬としての応用

7-1 緒言

第1章で述べたように、N,N,O-三座配位子系ヘテロ環アゾ化合物をプレカラム誘導体化試薬として用いた場合、鉄、コバルト、ニッケル、銅錯体は一般的にカラム中で安定であるが、一方で、マンガン、亜鉛、カドミウム錯体は、カラム中で過剰の試薬から分離された後に解離するために検出されない。しかしながら、これらの錯体の不安定さは逆に、ヘテロ環アゾ化合物を逆相固定相にコートし、金属イオンをイオン交換クロマトグラフィーにより分離する可能性を示唆している。

本研究では、固定相への試薬の分配を高める長鎖アルキル基を有する一連のアゾ試薬を合成し、そのコートカラムを用いることにより、マンガン、亜鉛、カドミウムイオンの保持挙動を系統的に調べた。

7-2 実験

7-2-1 装置

クロマトグラフシステムは以下の装置から構成された。ポンプは日本分光製 PU-980 型インテリジェント HPLC ポンプを2台用いた。インジェクターはレオダイン製 9725i 型サンプルインジェクターを用い、サンプルループの容積は 10 μ l に設定した。カラムオーブンは日本分光製 CO-965 型カラムオーブンをを用いた。検出器は紫外可視吸光度検出器として日本分光製 MD-915 型マルチ検出器 (200 – 800 nm) を用いた。金属イオンの溶出をモニターするために、必要に応じて、昭和電工製 Shodex CD-5 型イオンクロマトグラフィー用電気伝導度検出器を用いた。配位子コーティング用の固定相として、同一サイズ (内径 4.6 mm \times 250 mm, 粒径 5 μ m) の2本の C8 結合型シリカゲルカラム (Unisil Q C8 および Inertsil C8, GLサイエンス製) と1本の C18 結合型シ

リカゲルカラム (L-column ODS, 化学物質評価研究機構製) を用いた。

バッチ系の測定には以下の装置を使用した。吸収スペクトルは島津製自記分光光度計 UV-2200A により記録した。¹H-NMR スペクトルの測定には Varian 社製 NMR システム GEMINI 300 を用いた。

7-2-2 試薬

Table 7-1 に検討した化合物の構造を示す。親化合物の中で、2-(2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (α -PAN)¹ および 4-(2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (p -PAN)² は、2-ヒドラジノピリジンと 1,2-ナフトキノンおよび 1,4-ナフトキノンの縮合反応からそれぞれ調製した。1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (β -PAN)³ は 2-ピリジンジアゾニウム塩と 2-ナフトールとの、4-(2-チアゾリルアゾ)-1-ナフトール (p -TAN)⁴ は 2-チアゾールジアゾニウム塩と 1-ナフトールとのカップリング反応により合成した。粗生成物は、クロロホルム溶液の酸およびアルカリによる抽出、あるいはエタノール水溶液からの再結晶により精製した。2-(2-ピリジルアゾ)-4-メチルフェノール (PAC)⁵ は、得られたものをそのまま用いた。

長鎖アルキル誘導体の1つである 2-(2-ピリジルアゾ)-4-(*n*-オクチル)フェノール (PAOOP) は、2-ピリジンジアゾニウム塩と 4-*n*-オクチルオキシフェノールとのカップリング反応によって調製した。クロロホルムを用いた抽出およびエタノール水溶液からの再沈殿により精製した。さらに、0.01 M 水酸化ナトリウムの 50%アセトン水溶液とヘキサンを用いた抽出により異性体と分離した。他の長鎖アルキル誘導体は、Williamson エーテル合成法にしたがって、1-プロモオクタンと親化合物であるピリジルアゾあるいはチアゾリルアゾナフトールから調製した。2-(2-ピリジルアゾ)-1-(オクチルオキシ)ナフタレン (α -PAOON) および 1-(2-ピリジルアゾ)-2-(オクチルオキシ)ナフタレン (β -PAOON) の調製には、セチルトリメチルアンモニウムブロミドを含む 30%炭酸ナトリウム水溶液を、一方、4-(2-ピリジルアゾ)-1-(オクチルオキシ)ナフタレン (p -PAOOP) および 4-(2-チアゾリルアゾ)-1-(オクチルオキシ)ナフタレン (p -TAOON) の調製には水素化ナトリウムの *N,N*-ジメチルホルムアミド溶

Table 7-1 Dissociation constants of heterocyclic azo compounds ^a

| Abbreviated name | Substituents | | | $pK_{a(NH)}$ | $pK_{a(OH)}$ |
|-----------------------|----------------------------|--|--|--------------|--------------|
| Long alkyl derivative | | | | | |
| 1 PAOOP | R ¹ : pyridyl | R ³ : OC ₈ H ₁₇ | R ⁶ : OH | 1.9 | 10.3 |
| 2 α-PAOON | R ¹ : pyridyl | | R ⁶ : OC ₈ H ₁₇ | 3.9 | — |
| 3 β-PAOON | R ¹ : pyridyl | R ⁴ : H | R ⁶ : OC ₈ H ₁₇ | 5.4 | — |
| 4 p-PAOON | R ¹ : pyridyl | R ⁴ : OC ₈ H ₁₇ | R ⁶ : H | 2.8 | — |
| 5 p-TAOON | R ¹ : thiazolyl | R ⁴ : OC ₈ H ₁₇ | R ⁶ : H | <1 | — |
| Parent compound | | | | | |
| 1' PAC | R ¹ : pyridyl | R ³ : CH ₃ | R ⁶ : OH | 1.8 | 10.5 |
| 2' α-PAN | R ¹ : pyridyl | | R ⁶ : OH | 2.4 | 10.7 |
| 3' β-PAN | R ¹ : pyridyl | R ⁴ : H | R ⁶ : OH | 2 | 12.3 |
| 4' p-PAN | R ¹ : pyridyl | R ⁴ : OH | R ⁶ : H | 3.6 | 9.6 |
| 5' p-TAN | R ¹ : thiazolyl | R ⁴ : OH | R ⁶ : H | <1 | 7.4 |

a. Ethanol-water, 50:50 (v/v); $I = 0.1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ KCl}$

液を用いた。得られた粗精製物は、シリカゲルカラム上でのクロマトグラフィー、酸あるいはアルカリを用いた抽出、酢酸エチル溶液へのヘキサン添加による再沈殿により精製した。化合物の純度は¹H-NMR および逆相 HPLC により確認した。

化合物のエタノール溶液は、カラムコーティング用としては $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ 、また、バッチ系用としては $2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ となるよう調製した。金属イオン溶液は、亜鉛(II)、マンガン(II)、カドミウム(II)の硝酸塩 (特級) から $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ ストック溶液 (pH 2) を調製し、必要に応じて適宜希釈して用いた。

7-2-3 クロマトグラフ操作

各化合物のカラムへのコートは以下の手順でおこなった。エタノールで置換されたカラムに 1×10^{-3} M の化合物エタノール水溶液を 2 時間送液した。このとき、各化合物のコート量を比較できるように、エタノール/水の割合を調整した。溶出液のスペクトルを測定することによりカラム内が平衡に達していることを確認した。マンガン(II), 亜鉛(II), カドミウム(II), およびこれらすべてを含む 1×10^{-3} M 金属溶液を 10 μ l サンプルループに吸引により注入した。流速 0.7 ml min, カラム温度 40 $^{\circ}$ Cで行った。ポストカラム検出用の発色試薬として 4-(2-チアゾリルアゾ)レゾルシノール (TAR) もしくは 4-(2-ピリジルアゾ)レゾルシノール (PAR) を使用した (1×10^{-4} M, pH 10)。すべての金属錯体の極大吸収波長がモニターできるように、検出波長範囲を 200-800 nm に設定した。

7-3 結果および考察

7-3-1 溶液中での金属イオンとの反応とスペクトル変化

今回新規に合成した5種類のオクチルオキシ誘導体および親化合物の酸解離定数を50%エタノール水溶液中で可視吸収スペクトル変化から求めた。0.1 M KCl でイオン強度を調整した。金属共存下で、pH 3-11 の広い範囲で沈殿を生成しないようにするためには、この比率までエタノールを添加することが必要だった。結果を Table 7-1 にまとめる。オクチル基の導入により α -PAN や β -PAN のピリジン窒素の塩基性は増加したが、PAC, *p*-PAN, *p*-TAN では変わらないか、むしろ減少した。窒素の塩基性の順は次の通りであった： β -PAOON > α -PAOON > *p*-PAOON > PAOOP > *p*-TAOON。オクチル化によって可視吸収極大は親化合物に比べてかなり長波長側にシフトした。例えば、 α -PAN の 485nm は 545nm に、 β -PAN の 470nm は 538nm にシフトした。

これらの化合物といくつかの金属イオン (Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+}) との反応性を可視吸収スペクトル変化から推察した。二座配位子である α -PAOON, β -PAOON, *p*-PAOON, *p*-TAOON の場合にはほとんど色変化が見られなかったのに対して、三座配位子である PAOOP の場合にはかなりの色変化が確認された。金属イオン共存下での PAOOP の吸収スペクトルに対する pH の影響を調

べた。各金属イオン固有の波長での吸光度を pH に対してプロットした (Fig. 7-1)。亜鉛は pH 5 以上で、カドミウムは pH 6 以上で、マンガンは pH 7 以上で錯形成による吸光度の増加を示した。これより PAOOP の金属イオンに対する反応性の順は $Zn^{2+} > Cd^{2+} > Mn^{2+}$ と考えられる。

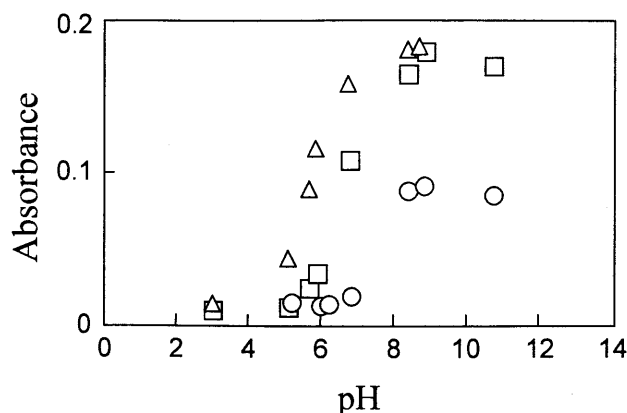


Fig. 7-1 Effect of pH on absorbance of binary systems consisting of PAOOP and metal ions. Metal, 1×10^{-5} ; PAOOP, 1×10^{-5} ; buffer, 1×10^{-2} M. Ethanol-water (50:50, v/v); 25°C. Metal, wavelength: △, Zn, 586 nm; □, Cd, 581 nm; ○, Mn, 575 nm.

二座配位子の金属イオンに対する反応性を

acetone- d_6 - D_2O (70:30, v/v) 中で 1H NMR により検討した。芳香環のプロトンは Fig. 7-2 のように帰属できた。錯体が置換活性であるために錯形成反応による化学シフトの変化は観測されなかった。しかしながら、 Zn^{2+} 共存下ではアゾ窒素に隣接するナフタレン環のプロトンの吸収線が広巾化した。 Cd^{2+} の場合も、ある程度の広巾化が起こったが、 Mn^{2+} の場合には変化は観察されなかった。以上の結果より、二座配位子の金属イオンに対する反応性も $Zn^{2+} > Cd^{2+} > Mn^{2+}$ と考えられる。

二座配位子を代表して、*p*-POON の金属イオンとの反応性を 1H NMR (acetone- d_6 - D_2O , 70:30, v/v) により検討した。すべての芳香族プロトンが Fig.7-2(A) に示されるように明確に帰属できた。 Zn^{2+} の添加は、その錯体が不安定なために、これらのプロトンのケミカルシフトを引き起こさなかったが、アゾ基に隣接するプロトンピークの著しいブロード化が観察された (Fig.7-2(B))。カドミウムイオンもまた僅かではあるがブロード化を引き起こしたが、マンガンイオンでは観察されなかった。このブロード化は二座配位子の反応性も $Zn^{2+} > Cd^{2+} > Mn^{2+}$ の順であることを示している。

7-3-2 誘導体化試薬およびカラムに関する予備的検討

新規に合成した試薬, α -PAN, および β -PAN の 10^{-3} M エタノール溶液を L-columnODS

に通じて、そのコート量を測定した。

PAOOP では 2.10 μmol , α -PAOON では 6.25 μmol , β -PAOON では 6.45 μmol , p -PAOON では 2.23 μmol , α -PAN では 7.26 μmol , β -PAN では 7.47 μmol であった。

これらのカラム上でのコート剤との相互作用の弱い Mn^{2+} および強い Zn^{2+} の保持を予備的に検討し、その結果を Fig.7-3 に示す。三つの三座配位子の中では、コート量が少ないにもかかわらず PAOOP が著しく大きな保持を示した。このことから、PAOOP はその長鎖アルキル基で固定相に分配した際に、キレート官能基が移動相中の金属イオンと相互作用しやすい

ような状態にあると考えられる。これに対して α -PAN や β -PAN では、試薬全体が固定相深く分配するために、移動相中の金属イオンとの反応が起こりにくい。金属イオンに保持を持たせ、分離するためには PAOOP が適している。

3 種の二座化合物、 α -PAOON, β -PAOON, p -PAOON は三座配位子よりも金属イオンの保持が小さかった。これらの三つの化合物の中で、 p -PAOON はその塩基性が低いにもかかわらず最も大きな保持を示した。 p -PAOON は、固定相に分配されるときに、錯形成に関与する配位原子が長鎖アルキル基の反対側に存在する。このために、移動相中の金属イオンと相互作用し易くなっていると考えられる。以上より、フェノレートの OH 基を有することが金属イオンの良好な保持には不可欠であり、以後の検討には PAOOP を選択した。

市販カラムを用いて PAOOP コート固定相を調製し、 Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} の保持を検討した。2 種類の C8 カラムに比べて L-column ODS では試薬が多くコートされるために保持が

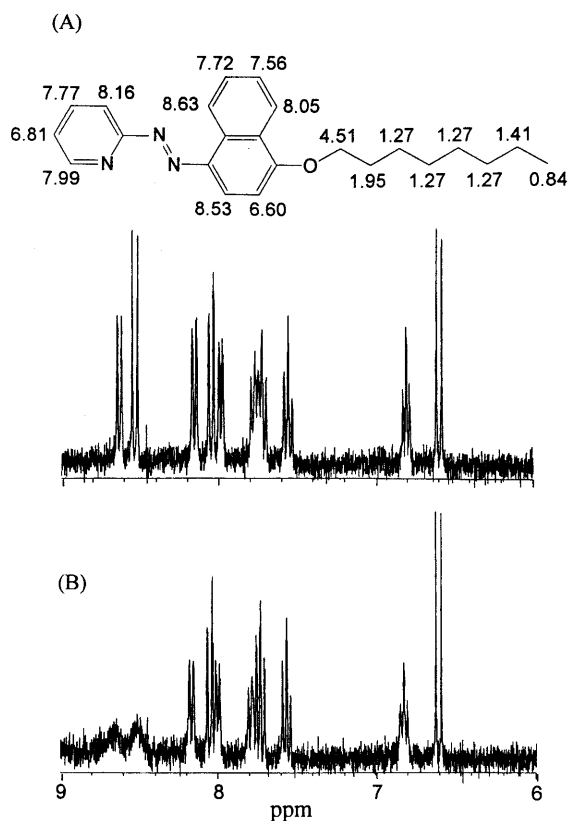


Fig. 7-2 $^1\text{H-NMR}$ spectra of p -PAOON (A) and $\text{Zn-}p$ -PAOON complex (B). Solvent: acetone- d_6 - D_2O (70:30, v/v) containing 0.03 % TMS.

大きいが、時として亜鉛のピークの分裂が観測された。Inertsil C8でも同様であった。これに対して、Unisil C8では安定したクロマトグラムが得られた。また、Unisil C8では、残存シラノール基により Mn^{2+} の適切な保持が得られている⁸。以下の検討では Unisil C8 を用いることとした。

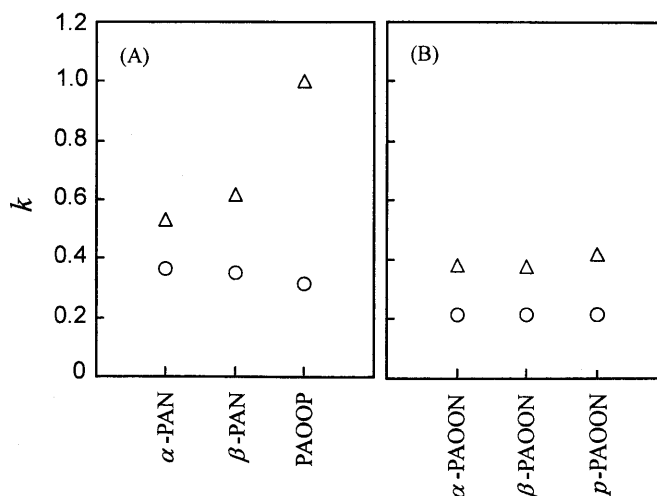


Fig. 7-3 Comparison of coating ligands. Column, L-column ODS; eluent, 2×10^{-3} M oxalate, (A) pH 6, (B) pH 6.5; flow-rate, 0.7 ml min^{-1} ; column temperature, 40°C . Metal: Δ , Zn; \circ , Mn.

7-3-3 クロマト条件の最適化とクロマトグラム

Unisil C8 カラムに PAOOP をコートした固定相を用いて pH 4-7 の範囲で、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} および Cd^{2+} の保持挙動を調べた。得られた結果を Fig.7-4 に示す。PAOOP をコートしていないカラムを用いたときの保持も比較として示した。溶離剤として添加されているシュウ酸の pK_{a2} および pK_{a1} はそれぞれ、1.19と4.21であるので、pH 5.2 以上ではほとんど解離しており、その濃度は一定である。PAOOP をコートしたオクチルシリル化シリカゲルカラムにおいて、移動相 pH を高くすると金属イオンの保持が著しく増加した。特に Zn^{2+} の保持変化は大きく、pH 6 以上で溶出順序の逆転が観測された。PAOOP は Fig.7-1 で示した均一溶液中での錯形成能をカラム中でも維持していると考えられる。コート試薬のない場合にも、pH の増加とともに保持の増加が僅かに観測された。これは残存シラノールとの相互作用による。なお、

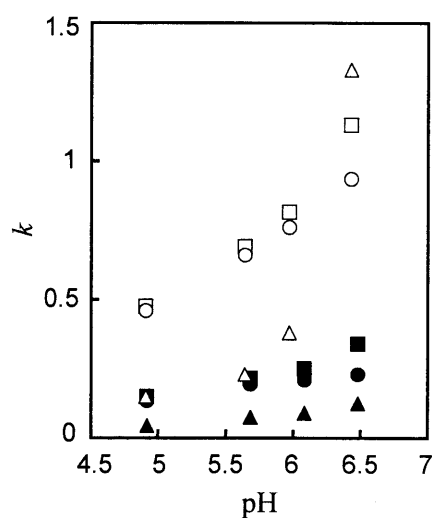


Fig. 7-4 Effect of pH on retention of metal ions with and without coating of PAOOP. Column, Unisil Q C8; eluent, 1×10^{-3} M oxalate; flow-rate, 0.7 ml min^{-1} ; column temperature, 40°C . Metal: Δ , Zn; \square , Cd; \circ , Mn (coated with PAOOP); \blacktriangle , Zn; \blacksquare , Cd; \bullet , Mn (uncoated).

pH 6 以下では、コート試薬の有無における保持の差は Zn^{2+} よりも Mn^{2+} と Cd^{2+} のほうがむしろ大きい。比較的高い pH 領域とは異なる保持機構の存在を示唆する。例えばフェノーレートを除いてピリジン環およびアゾ基窒素と金属イオンとの相互作用が考えられる。

溶離剤として5種類のアニオンを選択し、全ての溶離剤が完全にプロトン解離型となる pH 6.5 における Mn^{2+} , Zn^{2+} および Cd^{2+} の保持挙動を調べた。その結果を Fig.7-5 に示す。全てのアニオンを同条件で比較するため、溶離剤濃度を比較的高い 6.0×10^{-3} M に設定した。クエン酸では、すべての金属イオンはほとんど保持されず(亜鉛錯体の安定度定数, $K_{ZnA} = 10^{5.2}$)⁹, 一方, チオシアン酸($K_{ZnA} = 10^{0.25}$)¹⁰, 塩化物($K_{ZnA} = 10^{0.78}$)¹⁰, 酒石酸($K_{ZnA} = 10^{2.69}$)⁹ を溶離剤として用いた場合は, Zn^{2+} が溶出されなかった。シュウ酸を用いたとき, 比較的シャープな形状のピークが得られ, 保持時間は全て 5 分以内であった。PAOOP をコート配位子として利用する場合にはにおいては, 溶離剤として $1.0 \sim 2.0 \times 10^{-3}$ M のシュウ酸が最適であった。

金属イオンの競争カチオンとして, 移動相へのエチレンジアンモニウムの添加効果を pH 5.5

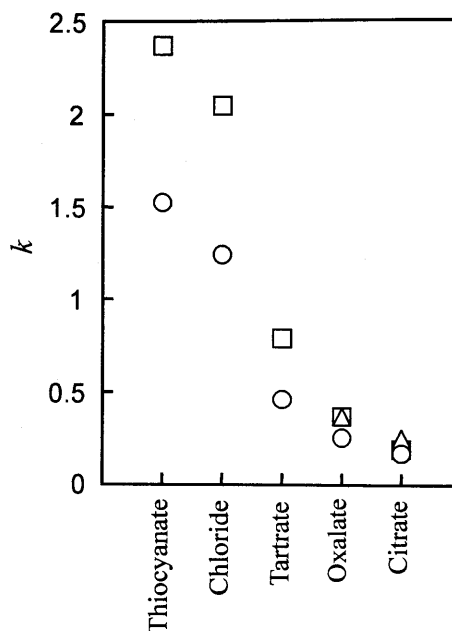


Fig. 7-5 Effect of additives on retention of metal ions. Column, Unisil Q C8 coated with PAOOP; eluent, 6×10^{-3} M additive solution, pH 6.5; flow-rate, 0.7 ml min^{-1} ; column temperature, 40°C . Metal: Δ , Zn; \square , Cd; \circ , Mn.

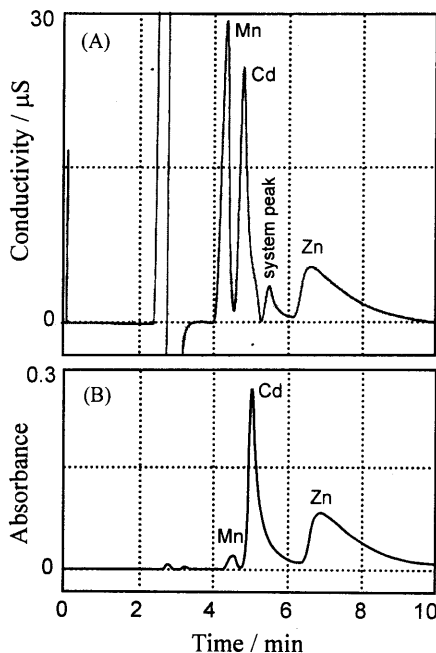


Fig. 7-6 Typical chromatograms of metal ions with coating of PAOOP. (A) Conductometric detection; (B) spectrophotometric detection. Column, Unisil Q C8; eluent, $1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ oxalate containing 1×10^{-3} M ethylenediammonium ion, pH 6.5; flow-rate, 0.7 ml min^{-1} ; column temperature, 40°C .

で検討した。その濃度が高くなるにつれて Mn^{2+} および Cd^{2+} の保持は減少し、ピーク形状もシャープになった。一方、 Zn^{2+} の保持の減少はほとんどみられなかった。これは、 Zn^{2+} がシュウ酸との錯形成能が高いために、移動相中で遊離イオンとしてほとんど存在していないためと考えられる。エチレンジアンモニウムイオンは残存シラノールなどのイオン交換サイトにおける相互作用を封じるのに対して有効である。本系においては、 Mn^{2+} と Cd^{2+} の保持を考慮すると 1×10^{-3} M が適切な濃度である。

上の検討で最適化されたクロマトグラフ条件下で得られた PAOOP のクロマトグラムをそれぞれ Fig.7-6(A),(B) に示す。10 分以内で 3 つの金属イオンのベースラインセパレーションが達成された。ポストカラム法による分光光度検出では、シュウ酸イオンによる錯形成の妨害により、マンガンのピークが低くなっているが、伝導度検出においては、両者の良好なピークが得られている。

7-4 結語

ヘテロ環アゾ化合物を逆相 HPLC カラムにコートし、金属イオンのイオン交換クロマトグラフ分離に用いた。操作の間、長鎖アルキル基の有無に関係なく、すべての化合物は水系溶離剤ではカラムから漏出せず、金属イオンの保持挙動特性を示した。長鎖アルキル基は、アゾ化合物の分配を高めるだけでなく、移動相中における金属イオンとの相互作用に対して適切に供与原子を配向させた。

本研究では、ヘテロ環アゾ化合物に対して親和性が小さいマンガンは、残存シラノール基との相互作用によって保持された。マンガンの保持を得るためのもうひとつの可能性は、今回提示したヘテロ環アゾ化合物にスルホン酸基のようなアニオン交換サイトを導入することである。

7-5 参考文献

1. A. Kawase, *Anal. Chim. Acta*, **1972**, 58, 311.
2. D. Betteridge and D. John, *Analyst*, **1973**, 98, 377.

3. S. Shibata, "*Chelates in Analytical Chemistry*", ed. H. A. Flaschka and A. J. Barnard, Jr., **1972**, Vol. IV, Marcel Dekker, New York, 1.
4. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1964**, 85, 202.
5. G. Nakagawa and H. Wada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1962**, 83, 1098.
6. M. Liua, K. Ushida, A. Kira, and H. Nakahara, *Thin Solid Films*, **1998**, 327–329, 491.
7. V. J. Jacques and M. Isabelle, *Synth. Commun.*, **2001**, 31(1), 1.
8. J. Nawrocki, *J. Chromatogr. A*, **1997**, 779, 29.
9. L. G. Sillen and A. E. Martell, "*Stability Constants of Metal-ion Complexes, and Supplement No.1*", **1964** and **1971**, The Chemical Society, London.
10. E. Högfeltdt, "*Stability Constants of Metal-ion Complexes, Part A*", IUPAC, **1982**, Pergamon, Oxford.

第8章 結語

本研究では、微量の金属イオンを分離定量するために、高感度発色試薬である *o*-ヒドロキシヘテロ環アゾ化合物を選択し、逆相高速液体クロマトグラフィーのプレカラム誘導体化試薬として、あるいは、キレーションイオンクロマトグラフィーのプレコート試薬として評価し、以下の知見を得た。

8-1 ヘテロ環アゾ化合物錯体の代表的な逆相 HPLC 挙動 (第3章)

最も代表的な化合物である 1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール (β -PAN, HL) を選択し、Cu(II), Co(III), Ni(II)および Fe(II) 錯体のアルキル基結合シリカゲル固定相における HPLC 挙動を詳細に調べた。各金属イオンは、カラム中で、それぞれ、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$, $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$, $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ および $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ として保持されることがわかった。錯陽イオンである、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ および $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ の保持は、シリカゲル固定相に残存するシラノール量に大きく影響を受けた。 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ は有機あるいは無機塩の種類に関係なく、何れか一つを移動相に添加することによりシャープなピークを得ることができたが、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ はチオシアン酸アンモニウム添加によってのみシャープなピークを得ることができた (Fig.8-1)。 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ に対しては、混合配位子錯体を形成できるアニオンが不可欠であることが示唆された (8-2 へ)。また、同じ電荷、組成、構造である、 $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ および $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ は、最適条クロマトグラフ条件下で得られたクロマトグラムにおいて (Fig.8-1)、ピーク間のベースラインセパレーションが得られたものの、十分な分離度が達成されているとは言えなかった (8-3, 8-4 へ)。

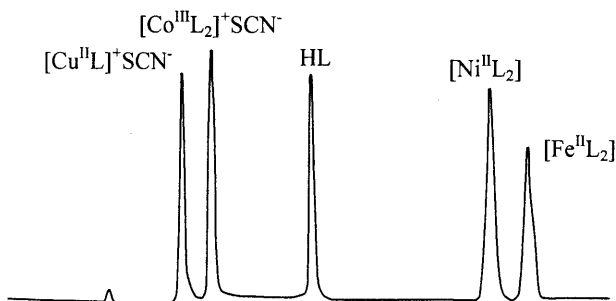


Fig. 8-1 Chromatogram of β -PAN complexes.

8-2 錯陽イオンのイオン対および混合配位子錯体の生成 (第4章)

錯陽イオンの逆相 HPLC 挙動を定量的に解釈するために、適切なピリジルアゾ化合物 (HL) を選択し、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ および $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ のイオン対抽出をおこなった。

8-2-1 コバルト(III)錯陽イオンのイオン対抽出

$[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ と対アニオン (ClO_4^- , SCN^- , Br^- , Cl^-) とのイオン対生成定数およびイオン対分配定数を抽出平衡解析により決定した。有機相としてアルコールあるいはクロロホルムを用いた。最も極性の高いピリジルアゾ化合物 (*o*-PAHQ) を選択したとき、唯一、抽出性の高いクロロホルムでの平衡解析が可能であり、同一錯体のイオン対生成定数をクロロホルム相と1-ノナノール相との場合で比較することが可能であった。1-ノナノールが飽和した水相における $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ と SCN^- とのイオン対生成定数 ($K_f = 10^{0.4}$) は、クロロホルムが飽和した水相におけるイオン対生成定数 ($K_f = 10^{2.9}$) よりも極めて小さかった。 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ および SCN^- への1-ノナノールの溶媒和がイオン対生成を阻害することが示唆された。 β -PAN 錯体の逆相 HPLC において、移動相にアルコール-水混合溶媒を用いたとき、アセトニトリル-水混合溶媒のときと比べて、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+\text{SCN}^-$ の保持が選択的に減少し、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+\text{SCN}^-$ の保持との逆転が観察されたが、同様の阻害を反映していると推察される。

8-2-2 銅(II)錯陽イオンのイオン対抽出

$[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ と対アニオン (ClO_4^- , SCN^- , Br^- , Cl^-) とのイオン対生成定数およびイオン対分配定数を抽出平衡解析により決定した。ピリジルアゾ化合物として PAC を、有機相としてアルコールを用いた。 SCN^- に関しては、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+\text{SCN}^-$ のアルコール相への抽出性が高すぎるため、イオン対抽出定数 ($K_{\text{ex}} = 10^{4.4}$) だけが得られた。そこで、HL, $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+\text{Cl}^-$, および $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+\text{Br}^-$ の、逆相 HPLC における保持係数と水/1-ノナノール間での分配定数との相関関係から、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+\text{SCN}^-$ の分配定数 ($K_D = 10^{2.3}$) を見積り、イオン対生成定数 ($K_f = K_{\text{ex}}/K_D = 10^{2.1}$) を得た。他の対アニオン (ClO_4^- , Br^- , Cl^-) とのイオン対生成定数 ($K_f = 10^{0.5}$) と比べて著しく大きな値であった。1-ノナノールの溶媒和の影響を受けていないことから、混合

配位子錯体である $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}(\text{SCN})]$ を形成していることが示唆される。混合配位子錯体の形成とその大きな分配定数により、逆相 HPLC において、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}(\text{SCN})]$ のシャープなピークと適切な保持時間が得られた (Fig.8-2).

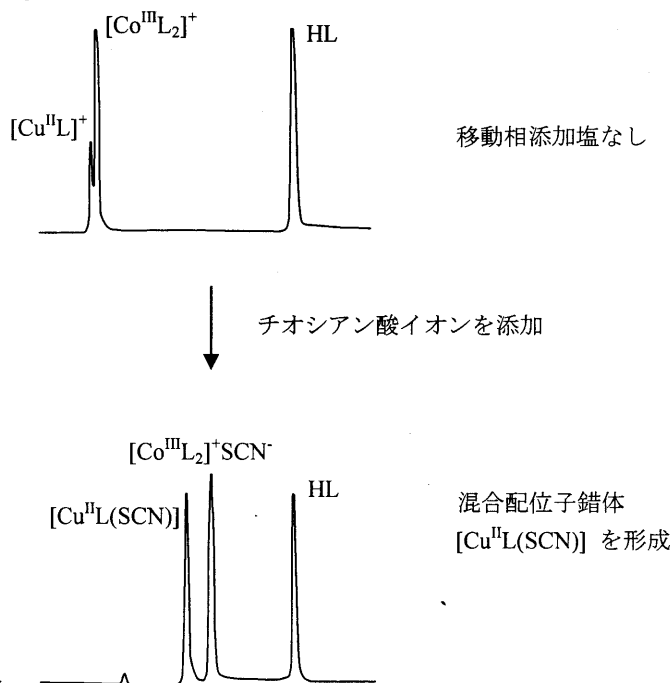


Fig. 8-2 Chromatogram of cationic complexes.

8-3 鉄(III)錯陽イオンの生成 (第5章)

β -PAN 錯体の逆相 HPLC で得られた $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の分離度を向上させるための一つの手段として、 $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ を安定種として形成するヘテロ環アゾ化合物の探索をおこなった。その結果、フェノール環の 5 位にアルキルアミノ基をもつピリジルアゾ化合物である PAEAP, PAEAC および PADEAP が該当することがわかった。その挙動を定量的に解釈するため、これらの化合物を含めて、これまでに検討してきたピリジルアゾ化合物の鉄錯体の酸化還元電位を測定した。上記のアルキルアミノ誘導体の鉄錯体では、本測定条件下で最も低い電位 $E^0 \cong 0.0 \text{ V}$ が得られた。この値より E^0 が高い場合、例えば $E^0 = 0.19 \text{ V}$ の β -PAN 錯体はもちろんのこと、市販で入手可能な 5-Cl-PADEAP の錯体 ($E^0 = 0.05 \text{ V}$) ではその差が僅かであるにもかかわらず、 $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ のピークは得られなかった。なお、PAEAP, PAEAC あるいは PADEAP では、 $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ あるいは $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ をそれぞれ注入した場合、そ

のまま $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ あるいは $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ のピークを得ることができた。試料中に共存する金属成分に応じて、どちらの型で注入するかを選択すればよい (Fig.8-3)。

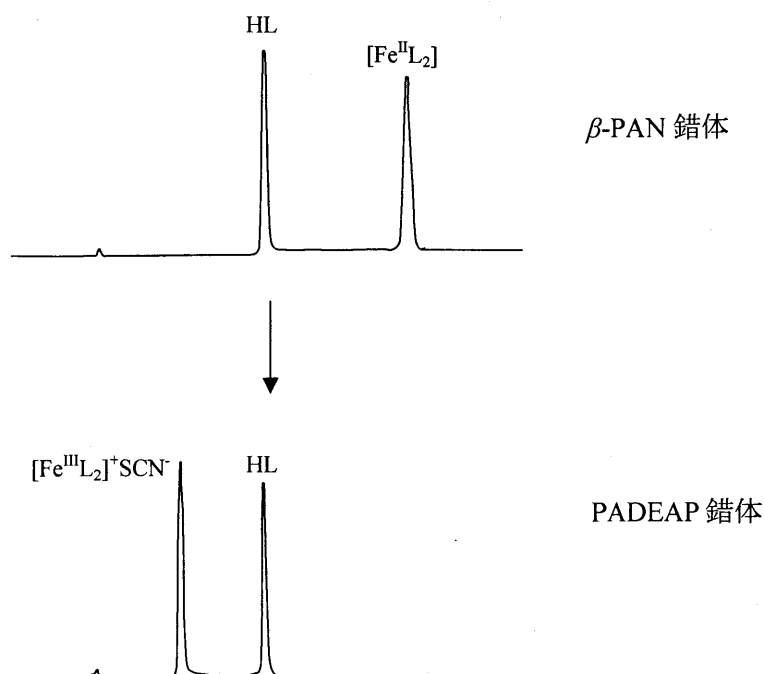


Fig. 8-3 Chromatogram of iron complexes.

8-4 ニッケル(II)および鉄(II)錯体の保持に対するヘテロ環の効果 (第6章)

β -PAN 錯体の逆相 HPLC で得られた $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の分離度を向上させるためのもう一つの手段として、 $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の極性が大きく異なるヘテロ環アゾ化合物の探索をおこなった。既存の化合物、例えば、 β -TAN をプレカラム誘導体化試薬として用いると、両金属錯体の保持は $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2] < [\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ となり、 β -PAN のとき ($[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2] < [\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$) と逆転した。その他にもジアゾ成分あるいはカップリング成分の種類によって、溶出順が異なることがわかったが、 $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の分離度が大きく改善されるまでには至らなかった。その中で、ジアゾ成分としてピリミジン環を有する化合物は、両金属錯体間の分離度が大きく向上した (Fig.8-4)。 $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持を基準にして相対保持比 ($k_{\text{Ni}}/k_{\text{Zn}}$ あるいは $k_{\text{Fe}}/k_{\text{Zn}}$) を調べた結果、ピリミジル誘導体では、ピリジル誘導体に比べて、鉄錯体の保持が選択的に強められることにより、高い分離度が達成されることがわかった ($[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2] \ll [\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$)。なお、 $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の $^1\text{H-NMR}$ の結果から、 $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ ではピリミジル環が回転して、

亜鉛イオンに配位する窒素原子が入れ替わっているのに対して、 $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ では、一方の窒素原子が常に配位していることが示唆された。 $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の挙動は $[\text{Zn}^{\text{II}}\text{L}_2]$ に類似すると考えられ、このことが両錯体の極性の差に反映されていると推察される。

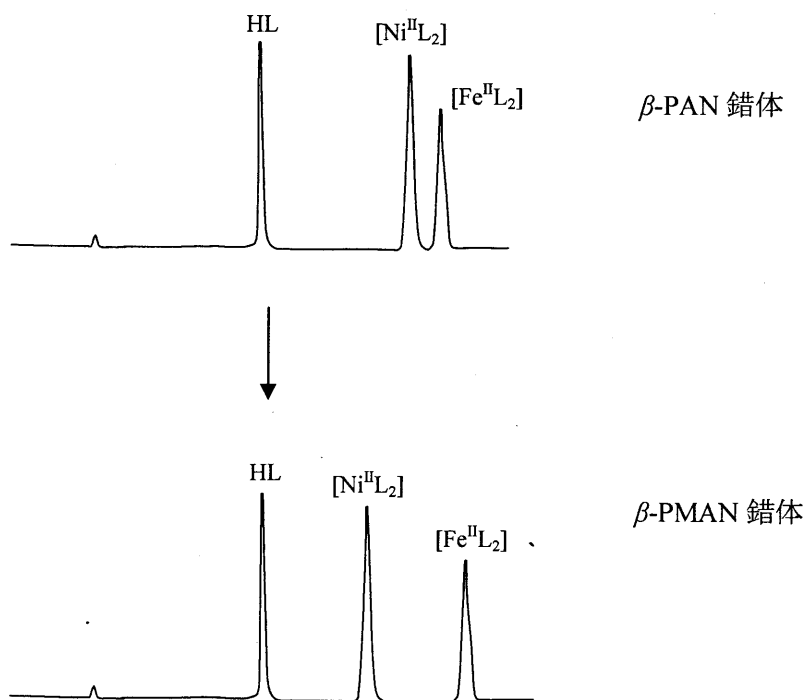


Fig. 8-4 Chromatogram of iron and nickel complexes.

8-5 プレコート試薬としてのヘテロ環アゾ化合物 (第7章)

長鎖アルキル基を有する二座 (N,N -) および三座 (N,N,O -) ヘテロ環アゾ化合物をカラムにプレコートし、キレーションイオンクロマトグラフィーへの応用性を検討した。対象金属イオンとして、マンガン、亜鉛、カドミウムを選択した。これらのイオンは、通常、カラム中での錯体の解離を伴うため、ヘテロ環アゾ化合物を用いたプレカラム誘導体化法では、逆相 HPLC によって分離検出できなかった。しかし、この錯形成能の低さにより、イオンクロマトグラフィー法による分離に適応できた。本研究の目的は大きく分けて二つあった。一つは、ヘテロ環アゾ化合物の配位能が、スルホン酸基等のイオン交換能と比べて、金属イオンの分離に対して有意の差を与えることが出来るかということであった。この点については、検討したすべての化合物で確認できた。もう一つは、長鎖アルキル基の必要

性を検証することであった。長鎖アルキル基を有する場合、逆相固定相中で適切な方向にコートされるため、配位子の配位部分が移動相中の金属イオンと接近しやすく、同じコート量でもより大きな保持が得られた (Fig.8-5)。プレコート法では高いコート量を得ることが難しいため、金属イオンとの錯形成に関与するコート配位子の割合が大きいことはとても重要である。

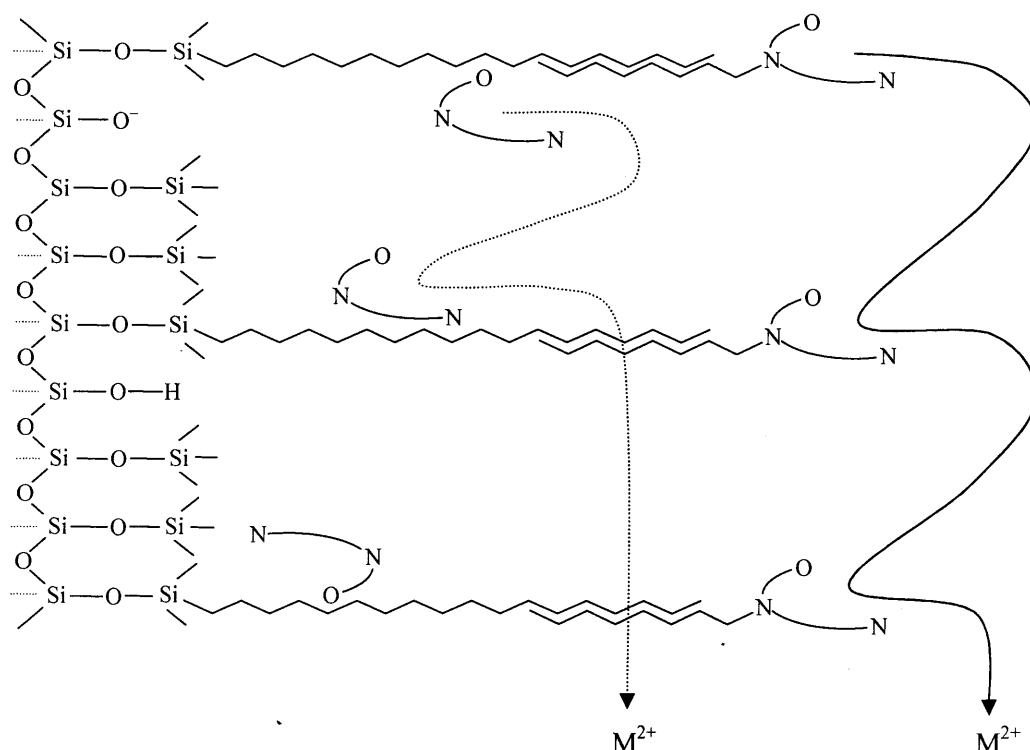


Fig. 8-5 Chelation ion chromatography of metal ions.

以上、本研究で得られた知見は、高速液体クロマトグラフィーによる金属イオン分離のためのヘテロ環アゾ化合物を開発する上で重要な指針を示すものである。鉄、コバルト、ニッケルおよび銅の分離に対して、相当数の新規化合物を合成し、現段階で最も大きな分離度を与える化合物を提示できるように努めた。そのため、通常考えられ得る基本骨格の化合物はほとんど網羅できたと考えている。今後は、その基本骨格の配位子特性を維持しつつ、新たなる官能性を付与した新規化合物の開発が待ち望まれる。また、本研究で示された酸化還元電位等の情報は、これらの化合物のプレカラム誘導体化試薬以外での応用に興味を抱かせるには十分であった。こちらも併せて今後の展開が期待される。

謝辞

本研究を遂行するに当たり終始御指導と御鞭撻を賜りました名古屋工業大学大学院工学研究科物質工学専攻 湯地昭夫教授に厚くお礼申し上げます。また日々御教示と御助言を頂いた名古屋工業大学 和田弘子名誉教授，山田碩道元教授，高田主岳准教授，小澤忠夫技術部次長に深く感謝いたします。

化合物の結晶構造解析において格別な御指導，御助力を頂きました名古屋工業大学 増田秀樹教授，大畑奈弓博士，錯体の¹H-NMR測定においてご助言を賜りました名古屋工業大学 吉野明広准教授，錯体の酸化還元電位測定においてご指導頂きました福井県立大学 片野肇准教授に感謝の意を表します。更に，実験を遂行するに当たり，ご協力を頂きました大学院生，学部生諸君にお礼申し上げます。

本論文の作成に際し，御助言を賜りました名古屋工業大学 大谷肇教授，多賀圭次郎教授に深く感謝いたします。

本論文に関わる発表論文

論文 1 (第 3 章)

Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatographic Behaviour of Some Metal 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol Chelates, Takashi Yasui, Akio Yuchi, Hiromichi Yamada and Hiroko Wada, *Journal of Chromatography A*, **1994**, 659, 359-365.

論文 2 (第 4 章)

Determination of Formation and Partition Constants of Ion Associates in Extraction of Cationic Cobalt(III) Complexes with Pyridylazo Compounds, Takashi Yasui, Fumiko Miyake and Hiromichi Yamada, *Analytical Sciences*, **2001**, 17, i1349-i1352.

論文 3 (第 2 章)

Retention properties of nitro derivatives of pyridylazo naphthol and their metal complexes in RP-HPLC, Takashi Yasui, Takashi Ohnishi, Yoshiyuki Mizuno, Nayumi Ohata, and Hiromichi Yamada, *Bunseki Kagaku*, **2003**, 52, 1121-1129.

論文 4 (第 7 章)

Bidentate and Tridentate Heterocyclic Azo Compounds Having Long Alkyl Chains as Coating Reagents for Ion Chromatography of Manganese, Zinc and Cadmium Ions, Takashi Yasui, Nozomu Komatsu, Kazuki Egami, Hiromichi Yamada, and Akio Yuchi, *Analytical Sciences*, **2007**, 23, 1011-1014.

論文 5 (第 4 章)

Liquid-Liquid Extraction and Liquid Chromatographic Studies on Interactions of Inorganic Anions with Coordinatively Unsaturated Copper(II) Complexes of Heterocyclic Azo Compounds, Takashi Yasui, Yuki Kashihara, Fumiko Miyake, Seiko Sugitani, Hiromichi Yamada and Akio Yuchi, *Analytical Sciences*, **2008**, 24, 993-997.

論文 6 (第 6 章)

Selectively Enhanced Retention of Neutral Iron(II) Complex in RP-LC with *o*-Hydroxy Pyrimidylazo Compounds as Precolumn Derivatizing Reagent, Takashi Yasui, Yoshiyuki Mizuno, Kuroudo Maeda, Hiromichi Yamada and Akio Yuchi *Chromatographia*, **2008**, 68, 387-391.

論文 7 (第 5 章)

Redox potentials and HPLC behaviors of cobalt and iron complexes with heterocyclic azo compounds, Takashi Yasui, Yoko Nunome, Takashi Ohnishi, Masayo Yamaguchi, Saki Tamamura, Hiromichi Yamada, and Akio Yuchi, *Analytical Sciences*, **2008**, 24, 1575-1580.

参考論文

1. Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography of Several Metal-8-quinolinethiol complexes, Takashi YASUI, Akio YUCHI, Hiroko WADA and Genkichi NAKAGAWA, *Journal of Chromatography*, **1992**, 596, 73-78.
2. Ion Chromatography of Alkaline Earth and Heavy Metal Ions by On-Column Derivatization with Bisazochromotropic Acid, Hiroko WADA, Muneyoshi Matsushita, Takashi YASUI, Akio YUCHI, Hiromichi YAMADA and Genkichi NAKAGAWA, *Journal of Chromatography A*, **1993**, 657, 87-93.
3. Separation and Simultaneous Determination of Cobalt, Nickel and Copper with 2-(4-Methyl-2-quinolyazo)-5-diethylaminophenol by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography, Hiroshi NIWA, Takashi YASUI, Tomosuke ISHIZUKI, Akio YUCHI, Hiromichi YAMADA and Hiroko WADA, *Talanta*, **1997**, 45, 349-355.
4. Use of 2-Quinolyazo Compounds for the Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatographic Separation of Metal Ions, Hiroshi NIWA, Takashi YASUI, Akio YUCHI, Hiromichi YAMADA and Hiroko WADA, *Journal of Chromatography A*, **1997**, 789, 491-496.
5. Reversed-Phase Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatography of Metal Chelates with Sulfonated 2-(2-Pyridylazo)-1-naphthols. Positional Effect of Sulfonate Group, Hiroshi NIWA, Takashi YASUI, Akio YUCHI, Hiromichi YAMADA and Hiroko WADA, *Analytical Sciences*, **1997**, 13, 137-140.
6. Retention Behavior of Anionic Complexes of Cobalt(III) in Reversed-Phase HPLC. Importance of Local Charge Distribution within the Complex, Hiroshi NIWA, Takashi YASUI, Akio YUCHI, Hiromichi YAMADA and Hiroko WADA, *Analytical Sciences*, **1997**, 13, 643-645.
7. Unique Retention Properties of Metal Chelates with 1-(2-Pyridylazo)- and 1-(2-Thiazolylazo)-2-naphthol-7-sulfonic Acids in RP-IP-HPLC, Takashi YASUI, Hiroshi NIWA, Yukiyo NIWA, Hiromichi YAMADA and Hiroko WADA, *ITE Letters on Batteries, New Technologies & Medicine*, **2001**, 2, 225-233.
8. Solvent extraction mechanism of 2-(2-pyridylazo)-1-naphthol-4-sulfonate and its divalent metal complex anions with tetrabutylammonium cation using 1-nonanol/octane mixed solvents, Takahiro UCHIDA, Takashi YASUI, Tetsuyoshi NAITO and Hiromichi YAMADA, *Bunseki Kagaku*, **2003**, 52, 731-739.