

報 文

逆相高速液体クロマトグラフィーにおけるピリジルアゾナフトールのニトロ誘導体及びその金属錯体の保持特性

安井 孝志^{®1}, 大西 卓¹, 水野 芳之¹, 大畑 奈弓², 山田 碩道¹

Retention properties of nitro derivatives of pyridylazo naphthol and their metal complexes in RP-HPLC

Takashi YASUI¹, Takashi OHNISHI¹, Yoshiyuki MIZUNO¹,
Nayumi OHATA² and Hiromichi YAMADA¹

¹ Shikumi College, Nagoya Institute of Technology, Gokiso-cho, Showa-ku, Nagoya-shi, Aichi 466-8555

² Omohi College, Nagoya Institute of Technology, Gokiso-cho, Showa-ku, Nagoya-shi, Aichi 466-8555

(Received 24 July 2003, Accepted 17 September 2003)

The retention properties of mono-nitrated 2-(2-pyridylazo)-1-naphthol ($xN\text{-}\alpha\text{-PAN}$, $x = 3$ or 5), in which a nitro group was involved at the 3- or 5-position of each pyridine ring, and their metal complexes in reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) were investigated. The retention time for the neutral complexes became longer in the nitro derivatives systems than in the $\alpha\text{-PAN}$ system. The bulkiness of the nitro group strongly influences the retention time for each metal complex. The peaks for cobalt(II) complexes as well as that for cobalt(III) complexes were observed in the $N\text{-}\alpha\text{-PAN}$ systems. Moreover, only in the $3N\text{-}\alpha\text{-PAN}$ system, the retention time of the reagent itself was observed to be shorter than that of the cationic Co(III) complex. The acid dissociation constant, the partition constant, and the crystal structure of $3N\text{-}\alpha\text{-PAN}$ suggested that the neutral form exists as a hydrazone (keto) tautomer.

Keywords : 2-(3-nitro-2-pyridylazo)-1-naphthol ($3N\text{-}\alpha\text{-PAN}$); acid dissociation constant; partition constant; crystal structure; azo-hydrazone tautomerism.

1 緒 言

金属イオンの高感度定量において、呈色試薬として利用されてきた有機試薬により誘導体化し、錯体として検出する方法がしばしば用いられる。その中でも、プレカラム誘導体化法はあらかじめ金属イオンと呈色試薬を錯形成させ、クロマトグラフに注入するため、ポストカラム法やオンカラム法に比べ系が単純であり、安定したベースラインが得られ、呈色試薬が検出感度を高めるだけでなく保持を大きく支配する。

プレカラム誘導体化試薬としては、従来、分光光度定量に使用された有機呈色試薬が用いられており、その中の一つに1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール ($\beta\text{-PAN}$) に代表されるヘテロ環アゾ化合物が挙げられる。この化合物はアルカリ金属やアルカリ土類金属を除く多くの金属イオンと非選択的に反応し、高感度で安定な錯体を形成する¹⁾²⁾。Sommerらの総説により³⁾、ヘテロ環アゾ化合物の金属錯体と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を取り扱った研究が広範囲にわたって行われていることが分かる。当研究室においても、以前より多くの新規化合物を合成し、金属の比色試薬、溶媒抽出試薬、キレート試薬としての性能を評価し、逆相 HPLC のプレカラム誘導体化試薬としても応用してきた^{4)~6)}。

これらのアゾ化合物 (HL) は通常、-1 価の N,N,O-三

¹ 名古屋工業大学しくみ領域: 466-8555 愛知県名古屋市昭和区御器所町

² 名古屋工業大学おもひ領域: 466-8555 愛知県名古屋市昭和区御器所町

座配位子として働き、金属の酸化数や配位数に応じて、中性あるいは陽イオン性の錯体を形成する。例えば、鉄、コバルト、ニッケル、銅イオンと錯形成するとき、鉄及びニッケルイオンとは $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 及び $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の中性錯体を、コバルトあるいは銅イオンとは $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ あるいは $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ の錯陽イオンを安定種として形成する。したがって、これらの錯体を逆相 HPLC に注入して分離させるとき、いずれの化合物を用いても組成と電荷の差異により、中性錯体、コバルト錯体、銅錯体、遊離試薬間の分離は達成される。しかし、任意の金属錯体の保持を制御する必要が生じた場合には、これまでとは性質が異なる錯体を形成するアゾ化合物が望まれる。

β -PAN の類縁体が川瀬によって紹介され⁷⁾、その中で、2-(5-ニトロ-2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (5N- α -PAN) は、 β -PAN あるいは 2-(2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (α -PAN) と比べて、錯体のモル吸光係数が最大約 2 倍と高く、微量金属イオンの定量に適していると報告されている。また、 α -PAN が β -PAN と同様に、Co(II) 錯体を形成した後、速やかに酸化されて Co(III) 錯体になるのに対し、5N- α -PAN では Co(II) 錯体が安定であるとしている。その後、5N- α -PAN は数名の研究者によって銅、ニッケル、亜鉛の定量に応用されてきている^{8)~11)}。

本研究では、新規化合物として、2-(3-ニトロ-2-ピリジルアゾ)-1-ナフトール (3N- α -PAN) を合成し、5N- α -PAN とともにプレカラム誘導体化-逆相 HPLC により、 $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 、 $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ 、 $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 、 $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ の保持挙動を調べ、 α -PAN 系と比較した。更に、ニトロ基の導入位置が試薬及び錯体の保持に与える効果を詳細に検証するために、試薬の酸解離定数、試薬及びコバルト錯体の液-液分配における各定数、3N- α -PAN の結晶構造を求めた。

2 実 験

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 μl 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 型カラムオープン (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) から成った。カラムは、L-column ODS (4.6 mm i.d. \times 150 mm, 粒径 5 μm , 化学物質評価研究機構製) を使用した。

酸解離平衡及び液-液分配平衡の解析には、UV-2200A 型自記分光光度計 (島津製) 及び 6028-10T 型複合電極 (堀場製) を備え付けた、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 (リガク製) を、計算機には Silicon Graphics O₂ ワークステーションを使用した。

2.2 試 薬

α -PAN ニトロ誘導体は、川瀬の方法⁷⁾に従って、2-ヒドラジノニトロピリジンと 1,2-ナフトキノン を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 をナスフラスコに取り、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 をビーカーに取り、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。

金属イオン溶液は、それぞれ試薬特級硝酸塩及び希硝酸により調製した 10^{-2} mol dm⁻³ ストック溶液 (pH 2) を適宜希釈して用いた。その際、必要に応じてアルカリ、緩衝剤により pH を調整した。液-液分配平衡に用いた有機溶媒は既報¹²⁾に準じて精製したものをを用いた。その他の試薬は市販の特級試薬をそのまま使用した。水は LV-10 型超純水製造装置 (東レ製) により精製したものをを用いた。

2.3 HPLC

試料溶液は、 2.5×10^{-4} 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 1×10^{-4} 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 約 4)。また、コバルト(II) 錯体溶液は、 2.5×10^{-4} mol dm⁻³ 試薬ジオキサン溶液 3 ml に、アスコルビン酸 4×10^{-3} mol dm⁻³ を含む 2.5×10^{-4} mol dm⁻³ Co(II) 1 ml を加えることにより調製した (pH 約 6)。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 200~900 nm の吸光度をモニターし、その中で、400~800 nm における最大吸光度からクロマトグラムを得た。また、ピークの同定には吸収スペクトルを用いた。

2.3 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 MoK α 線 ($\lambda = 0.71073$ Å) を X 線源とし 173 K で行った。測定には 3N- α -PAN の赤色針状の単結晶を用いた。全反射

Table 1 Crystallographic data and experimental details for 3N- α -PAN

Formula	C ₁₅ H ₁₀ N ₄ O ₃	μ	1.11 cm ⁻¹
Formula Weight	294.27	2 θ_{\max}	55.0°
Crystal System	Monoclinic	No. of Reflections Observed	10381
Space Group	P2 ₁ /c	No. of Reflections Used	2597
Lattice Parameters	$a = 7.490(3) \text{ \AA}$ $b = 15.799(6) \text{ \AA}$ $c = 11.138(5) \text{ \AA}$ $\beta = 103.626(5)^\circ$ $V = 1280.9(9) \text{ \AA}^3$	($I > 0.5\sigma(I)$, $2\theta < 54.97^\circ$)	
Z	4	No. of Variables	239
ρ	1.526 g cm ⁻³	$R_1^a)$	0.067
$F(000)$	608.00	$R^b)$	0.074
		$R_w^c)$	0.147
		Largest Residuals	0.40, -0.40 e \AA^{-3}
		Shift/Error	0.003

a) $R_1 = \Sigma||Fo| - |Fc||/\Sigma|Fo|$ for $I > 2\sigma(I)$ data, b) $R = \Sigma(Fo^2 - Fc^2)/\Sigma Fo^2$, c) $R_w = [\Sigma w(Fo^2 - Fc^2)^2/\Sigma w(Fo^2)^2]^{1/2}$, $w^{-1} = \sigma^2(Fo^2)$

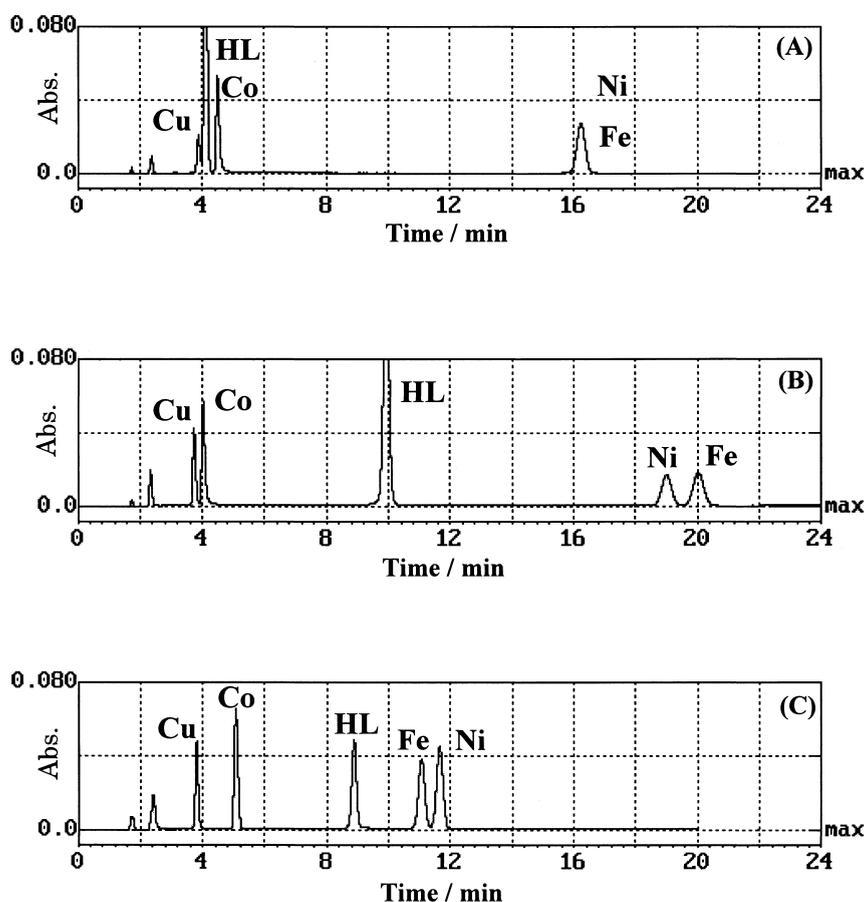


Fig. 1 Chromatograms of 3N- α -PAN (A), 5N- α -PAN (B) and α -PAN (C) complexes

Mobile phase: acetonitrile-water (70 : 30, v/v) containing 0.01 mol dm⁻³ NH₄SCN

データに対し, Lorentz 因子及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 SIR88¹³⁾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. 原子散乱因子及び異常分散項は International Tables for X-ray Crystallography Vol. IV¹⁴⁾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. 構造解析及び精密化は構造解析プログラム teXsan¹⁵⁾により行った. Table 1 に結晶データ及び実験条件を示す.

3 結果と考察

3・1 逆相 HPLC における保持挙動

実験 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. 1 に示す. 錯陽イオンで

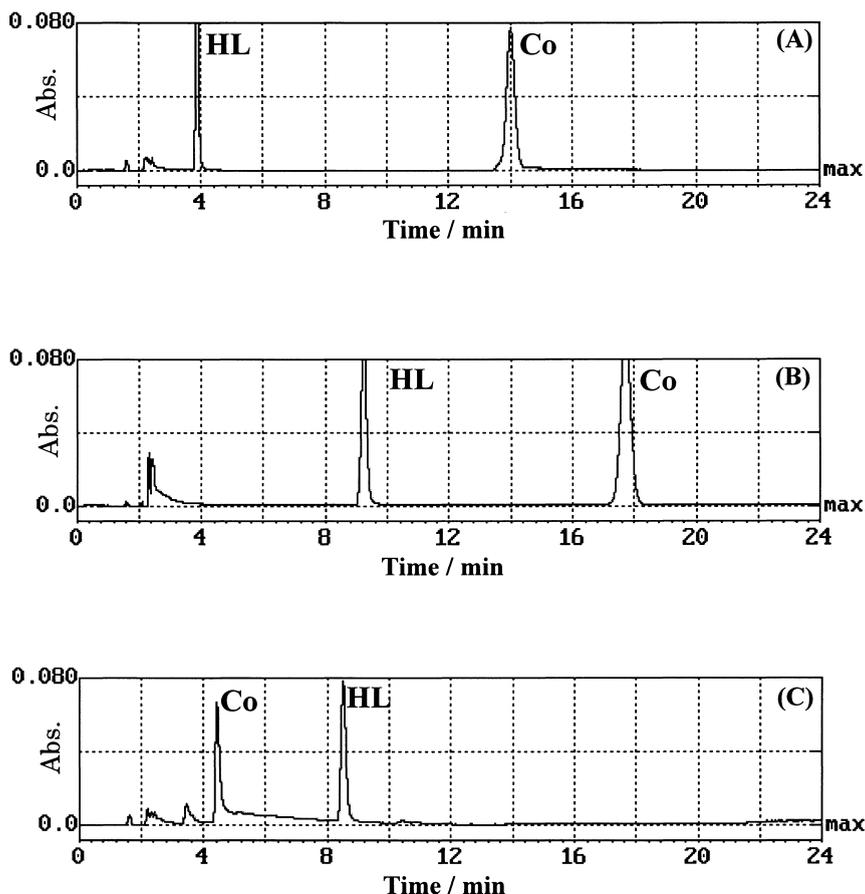


Fig. 2 Chromatograms of cobalt(II)- 3N- α -PAN (A), 5N- α -PAN (B) and α -PAN (C) complexes

Mobile phase: acetonitrile-water (70 : 30, v/v) containing 0.01 mol dm^{-3} aqueous MES-NaOH buffer of pH 6.4

ある $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ 及び $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]^+$ の溶出を確実にするために、移動相として 0.01 mol dm^{-3} NH_4SCN 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. 1)。上で述べたように、5N- α -PAN 系では、Co(II) 錯体が安定であると報告されているが、この系においても、共存する Fe(III) 錯体との酸化還元反応により、試料溶液中では $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ が主成分として存在することが示唆される。

ピリジン環へのニトロ基の導入により、中性錯体である $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ 及び $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持が大きくなり、ニトロ基のかさ高さが大きく影響することが分かった。また、 $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の溶出順に変化が見られた。 α -PAN 系、3N- α -PAN 系、5N- α -PAN 系へと配位子が変わることにより、 $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$ の保持が $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ に対して選択的に大きくなっていくことが分かる。更に、本検討から、中性錯体の保持が大きい試薬ほど $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+\cdot\text{SCN}^-$ の保持が小さくなるという結果が得られた。スルホン酸基を有する α -PAN あるいは

β -PAN を用いて行った錯陰イオンのイオン対逆相 HPLC において¹⁶⁾¹⁷⁾、鉄、ニッケル錯体とコバルト錯体の間に同様の傾向が得られているが、これは非常に興味深い現象である。

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。したがって、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。しかし、3N- α -PAN で見られるように、錯陽イオンのイオン対である $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+\cdot\text{SCN}^-$ よりも小さな保持は極めてまれであると考えられる。

Fig. 2 に、コバルト(II) 錯体溶液をカラムに注入して得られたクロマトグラムを示す。移動相として 0.01 mol dm^{-3} MES-NaOH 緩衝剤 (pH 6.4) を含むアセトニトリル-水 (70 : 30, v/v) 混合溶媒を用いた。 α -PAN 系では $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ のピークは得られず、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ の比較的シャープなピークのみが得られた。注入後、カラムの上端部でほとんど定量的に酸化されることが示唆される。一方、3N-

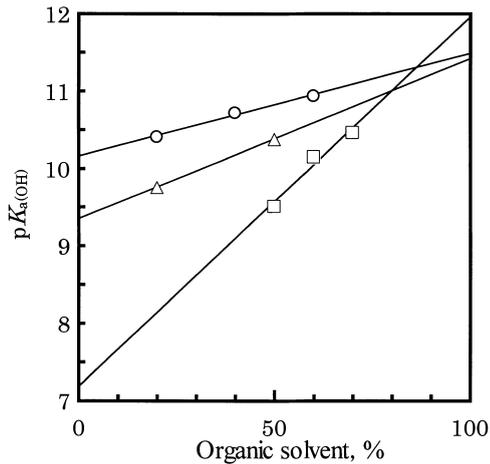


Fig. 3 Determination of the acid dissociation constants

○: 3N-α-PAN, □: 5N-α-PAN, △: α-PAN

α-PAN 系及び 5N-α-PAN 系では, 注入した $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ のピークのみが得られた. 川瀬によって確認されていた $\text{Co}(\text{II})$ -5N-α-PAN 錯体と同様, $\text{Co}(\text{II})$ -3N-α-PAN 錯体も ODS カラム中において安定に存在できることが分かった. $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$ と $[\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2]^+$ のいずれでも溶離可能な N-α-PAN は, コバルトイオンを含む実試料の分離分析に対して, 幅広く対応できる試薬となり得る.

3・2 酸解離平衡

3N-α-PAN 錯体のモル吸光係数が 5N-α-PAN 錯体に比べて, 同じかわずかに小さいことを考慮に入れると, Fig. 1 及び Fig. 2 で得られた $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_2]$, $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_2]$, $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{L}_2]$ のピーク面積の比較から, 錯体の安定性は 3N-α-PAN 系と 5N-α-PAN 系で大きな差はないと考えられる. 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と錯体の生成定数は比例関係にある. そこで, 3N-α-PAN の酸解離定数を求め, 5N-α-PAN 及び 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, ヒドロキシル基の酸解離定数のみを決定した.

酸解離定数 $K_{\text{a}(\text{OH})}$ は式(1) で与えられる.

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

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, Hildebrand¹⁸⁾らの方法に従って $\log([\text{HL}]/[\text{L}^-])$ の値を pH に対してプロットすることにより $\text{p}K_{\text{a}(\text{OH})}$ を求めた. 3N-α-PAN 及び 5N-α-PAN について, それぞれ 3 水準のエタノールあるいはジオキサン濃度を

Table 2 Dissociation and partition constants of α-PAN derivatives

Reagent	$\text{p}K_{\text{a}(\text{OH})}$	$\log K_{\text{D}}$	
		Chloroform	Octane
3N-α-PAN	10.2	5.1	1.6
5N-α-PAN	7.2	7.6	5.1
α-PAN	9.3	—	—

設定して各 $\text{p}K_{\text{a}(\text{OH})}$ を求め, それらの値を用い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⁷⁾¹⁹⁾を用いて同様に算出した. その結果を Fig. 3 及び Table 2 に示す.

3N-α-PAN の $\text{p}K_{\text{a}(\text{OH})}$ は 10.2 という極めて大きな値となった. 5N-α-PAN より 3 も大きく, しかも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.

3・3 液-液分配平衡

3・3・1 試薬の分配 逆相 HPLC における 3N-α-PAN の極めて小さな保持が液-液分配において再現されるかを確認するため, 既報²⁰⁾に従ってクロロホルム系及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. $\text{pH} > 12$ では, 分配比の対数 $\log D_{\text{L}}$ は式(2) で与えられる.

$$\log D_{\text{L}} = \log K_{\text{D}} - \text{pH} + \text{p}K_{\text{a}(\text{OH})} \quad (2)$$

pH に対して $\log D_{\text{L}}$ をプロットするとその傾斜は 1 となり, $\text{p}K_{\text{a}(\text{OH})}$ から $\log K_{\text{D}}$ を決定することができる. 得られた結果を Fig. 4 及び Table 2 に示す. クロロホルム系, オクタン系のいずれにおいても 3N-α-PAN の分配定数は 5N-α-PAN よりも小さくなったが, その差は両有機溶媒系で異なった. クロロホルム系では 2.5 であった差が, オクタン系では 3.5 となった. 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, 親和性が得られないためであると考えられる.

3・3・2 コバルト(III) 錯体の分配 逆相 HPLC において, 3N-α-PAN の保持特性は, 金属錯体の保持には反映されなかった. この挙動について試薬の場合と同様, 液-液分配において確認した. 金属錯体として実験可能な分配比をもつ $\text{Co}(\text{III})$ -N-α-PAN 錯体を選択した. $\text{Co}(\text{III})$ -N-α-PAN 錯体 (CoL_2^+) は, 水相において対アニオン (A^-) と次のようにイオン対を生成すると考えられる.



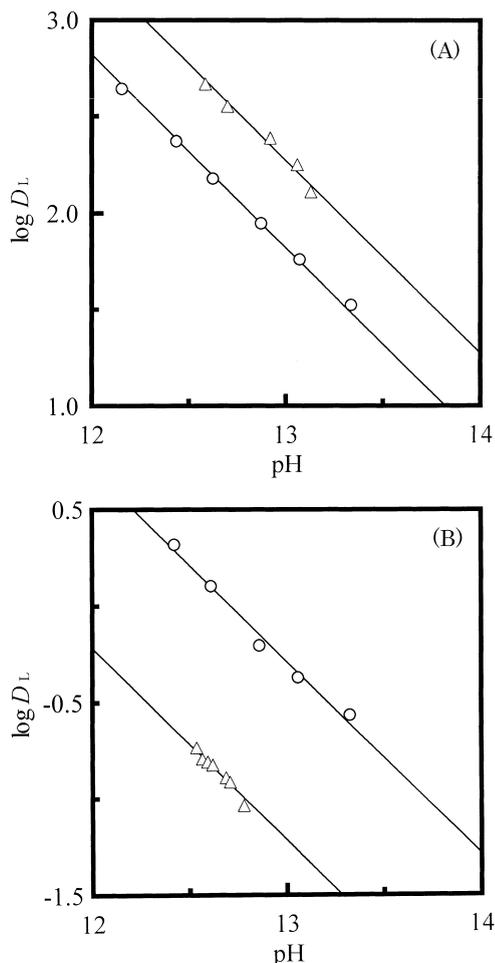


Fig. 4 Determination of the partition constants on 3N- α -PAN and 5N- α -PAN

Organic phase: (A) Chloroform, (B) Octane; \triangle : 3N- α -PAN, \circ : 5N- α -PAN

$$K_{f,CoL_2} = \frac{[CoL_2^+ \cdot A^-]}{[CoL_2^+][A^-]} \quad (3)$$

ここで、 K_{f,CoL_2} はイオン対生成定数を表す。生成したイオン対の分配及びイオン対分配定数は、次のように表すことができる。

$$(CoL_2^+ \cdot A^-) \rightleftharpoons (CoL_2^+ \cdot A^-)_o$$

$$K_{D,CoL_2} = \frac{[CoL_2^+ \cdot A^-]_o}{[CoL_2^+ \cdot A^-]} \quad (4)$$

ここで、添字の o は有機相に存在する化学種を示す。そして全抽出平衡は、次のように表すことができる。

$$CoL_2^+ + A^- \rightleftharpoons (CoL_2^+ \cdot A^-)_o$$

$$K_{ex,CoL_2} = \frac{[CoL_2^+ \cdot A^-]_o}{[CoL_2^+][A^-]} = K_{f,CoL_2} \cdot K_{D,CoL_2} \quad (5)$$

以上の平衡を考慮すると、Co(III)-N- α -PAN 錯体 (CoL_2^+) の分配比は次のように表すことができる。

$$\text{分配比 } D_{CoL_2} = \frac{[CoL_2^+ \cdot A^-]_o}{[CoL_2^+] + [CoL_2^+ \cdot A^-]} = \frac{K_{ex,CoL_2}[A^-]}{1 + K_{f,CoL_2}[A^-]} \quad (6)$$

ここで水相中の遊離の対アニオン濃度 ($[A^-]$) は、次のように表すことができる。

$$[A^-] = C_{A,w} - [CoL_2^+ \cdot A^-] \quad (7)$$

添加した対アニオンの濃度が、錯体の濃度より十分に濃い条件で ($C_A \gg C_{CoL_2}$)、一次近似として水相中の総濃度で置き換えると ($[A^-] \approx C_{A,w}$)、式(6) は次式のように表される。

$$\frac{C_{A,w}}{D_{CoL_2}} = \frac{1}{K_{D,CoL_2}} C_{A,w} + \frac{1}{K_{ex,CoL_2}} \quad (8)$$

式(8)に基づき、 $C_{A,w}/D_{CoL_2}$ を $C_{A,w}$ に対してプロットすると、直線が得られるはずである。このとき、最小二乗法により求めた近似直線の各係数から、Co(III)-N- α -PAN 錯体のイオン対分配定数 K_{D,CoL_2} とイオン対抽出定数 K_{ex,CoL_2} を求めることができ、また、式(5)より、イオン対生成定数 K_{f,CoL_2} を求めることができる。

Fig. 5, 6 及び Table 3 に、対イオンとして塩化物イオン及び過塩素酸イオンを用いて得られた結果を示す。有機相として、塩化物系では1-オクタノール/オクタン (3:7, v/v) 混合溶媒を、過塩素酸系では1-オクタノール/オクタン (1:9, v/v) 混合溶媒を選択した。かさ高い過塩素酸系では、Co(III)-5N- α -PAN 錯体のイオン対分配定数 $\log K_D$ は、3N- α -PAN 錯体よりも0.28大きくなった。また、イオン対生成定数 $\log K_f$ も、わずかではあるが5N- α -PAN 錯体のほうが大きい値が得られた。一方、塩化物系ではイオン対分配定数にはほとんど差がなく、また、イオン対生成定数では、3N- α -PAN 錯体のほうが5N- α -PAN 錯体よりも0.2大きい値が得られた。これらの結果は、ニトロ基の位置のみを反映していると考えられ、3N- α -PAN の分配で見られた特異的な挙動は、錯体の液-液分配では観察されないことが示された。

3・4 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 7及びTable 4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-) 及びヒドラゾン型 (-NH-N=) の標準的な距離が、それぞれ 1.24 ± 0.01 Å, 1.39 ± 0.01 Å と報告

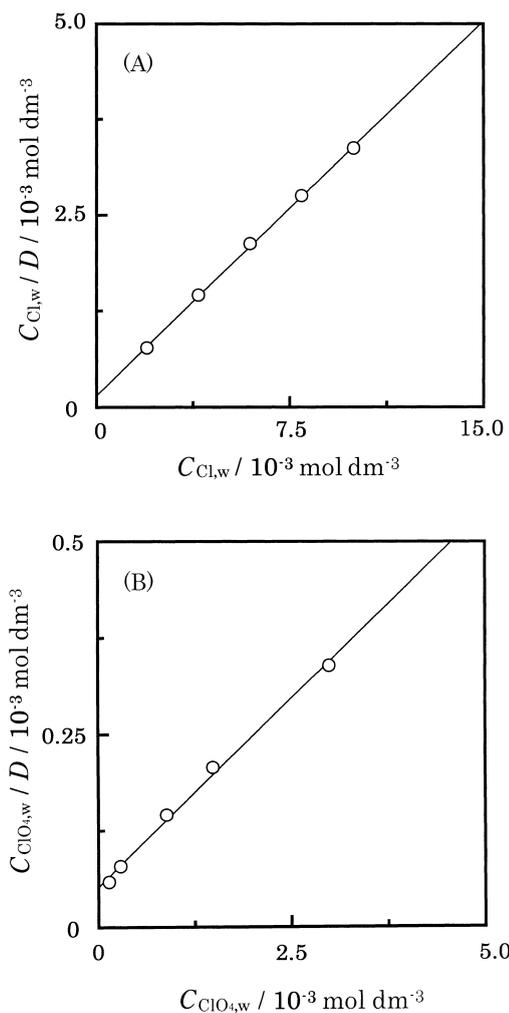


Fig. 5 Determination of the extraction, partition and formation constants on the ion-associate of Co(III)-3N- α -PAN complex cation (CoL_2^+) with chloride ion in the 1-octanol/octane (3 : 7, v/v) mixed solvent systems (A) and with perchlorate ion in the 1-nonanol/octane (1 : 9, v/v) mixed solvent systems (B)

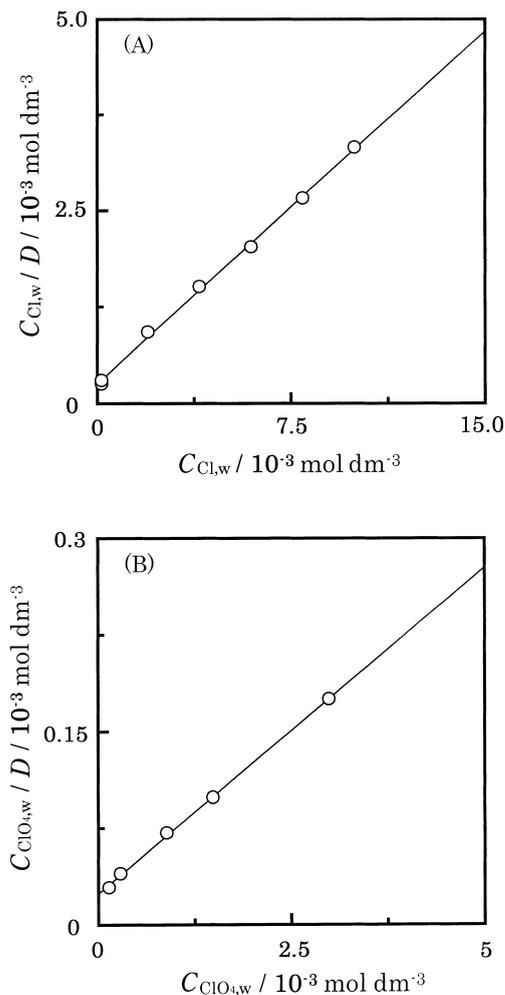


Fig. 6 Determination of the extraction, partition and formation constants on the ion-associate of Co(III)-5N- α -PAN complex cation (CoL_2^+) with chloride ion in the 1-octanol/octane (3 : 7, v/v) mixed solvent systems (A) and with perchlorate ion in the 1-octanol/octane (1 : 9, v/v) mixed solvent systems (B)

されていることから²¹⁾, ヒドラゾン型に相当する値により近い。また, O(1)-C(6) の距離は 1.242(3) Å であった。フェノール型 (C-OH) 及びキノイド型 (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, キノイド型に相当する値に極めて近い。更に N(2)-H(10) 及び 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。以上のことより, 3N- α -PAN は溶液中においても極めて安定なヒドラゾン (ケト) 型として存在していることが示唆される (Fig. 8)。

Table 3 Extraction, partition and formation constants of Co(III)-N- α -PAN complexes

Reagent	Counter anion	log K_{ex}	log K_{D}	log K_{f}
3N- α -PAN	Cl^-	3.81	0.49	3.32
	ClO_4^-	4.31	1.01	3.30
5N- α -PAN	Cl^-	3.63	0.51	3.12
	ClO_4^-	4.65	1.29	3.36

4 結 語

α -PAN のニトロ誘導体は, 安定なコバルト (II) 錯体を形成する。また, 一般的なヘテロ環アゾ化合物と同様, 安定なコバルト (III) 錯体も形成可能である。逆相 HPLC に

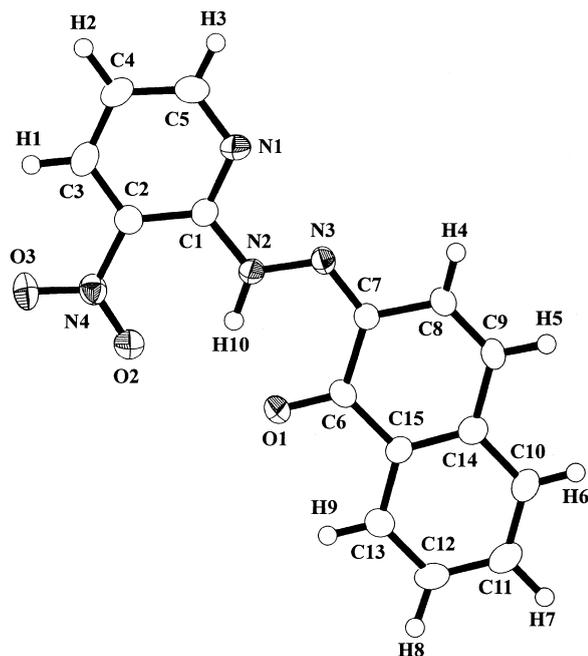


Fig. 7 Perspective view of the molecule and the numbering of atoms

Table 4 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)

において、検討したすべての金属錯体のピークが検出可能であったことから、一連のアゾ化合物の中でコバルトイオンを含むサンプルに対するプレカラム誘導体化試薬としての潜在能力は非常に高いことが示唆される。

また、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、錯陽イオンである [Co^{III}L₂]⁺ よりも小さい保持が得られた。この特性は、疎水相互作用に基づいたコバルト(III) 錯体の濃縮分離を行う際に、過剰の遊離配位子が錯体の ODS カラムあるいは

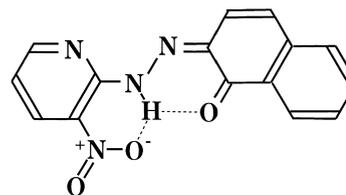


Fig. 8 Hydrazone (keto) form for 3N- α -PAN

ODS ディスク等への分配を妨害しないという利点を有する。

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と考えられる。今後、 α -PAN 以外のピリジルアゾフェノール類縁体へのニトロ基の導入が検討されることにより、更に興味ある知見が得られることを期待する。

(2003 年 5 月, 日本分析化学会第 64 回分析化学討論会において一部発表)

文 献

- 1) S. Shibata: "Chelates in Analytical Chemistry, Vol. IV", Edited by H. A. Flaschka, and A. J. Barnard, Jr., p. 1 (1972), (Marcel Dekker, New York).
- 2) K. Ueno, T. Imamura, K. L. Cheng: "Handbook of Organic Analytical Reagents", p. 227 (1992), (CRC Press).
- 3) L. Sommer, J. Dolezal: *Scripta. Chem.*, **26**, 65 (1997).
- 4) T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, H. Wada: *J. Chromatogr. A*, **659**, 359 (1994).
- 5) H. Niwa, T. Yasui, T. Ishizuki, A. Yuchi, H. Yamada, H. Wada: *Talanta*, **45**, 349 (1997).
- 6) H. Niwa, T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, H. Wada: *J. Chromatogr. A*, **789**, 491 (1997).
- 7) 川瀬 晃: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **16**, 569 (1967).
- 8) D. Ingvar: *Anal. Chim. Acta*, **62**, 145 (1972).
- 9) 境 幸夫: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **28**, 10 (1979).
- 10) Y. Sakai: *Sizen Kagaku*, **45**, 11 (1979).
- 11) S. A. Abbasi: *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **36**, 173 (1989).
- 12) T. Yasui, F. Miyake, H. Yamada: *Anal. Sci.*, **17**, i1349 (2001).
- 13) M. C. Burla, M. Camalli, G. Cascarano, C.

- Giacovazzo, G. Polidori, R. Spagna, D. Viterbo: *J. Appl. Cryst.*, **22**, 389 (1989).
- 14) J. A. Ibers, W. C. Hamilton (Eds.): “*International Tables for X-ray Crystallography*”, Vol. IV, (1974), (Kynoch Press, Birmingham).
- 15) teXsan Crystal Structure Analysis Package, Molecular Structure Corporation (1985, and 1992).
- 16) H. Niwa, T. Yasui, A. Yuchi, H. Yamada, H. Wada: *Anal. Sci.*, **13**, 137 (1997).
- 17) T. Yasui, H. Niwa, Y. Niwa, H. Yamada: *ITE Lett. Batt. New Tech. Med.*, **2**, 225 (2001).
- 18) G. P. Hildebrand, C. N. Reilly: *Anal. Chem.*, **29**, 258 (1957).
- 19) K. Ohshita, H. Wada, G. Nakagawa: *Anal. Chim. Acta*, **140**, 291 (1982).
- 20) 中川元吉, 和田弘子: 日本化学雑誌 (*Nippon Kagaku Zasshi*), **84**, 636 (1963).
- 21) M. Kurahashi: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **49**, 2927 (1976).

要 旨

ピリジン環の 3-位あるいは 5-位にニトロ基を導入した 2-(2-ピリジルアゾ)-1-ナフトールのニトロ誘導体 ($xN-\alpha$ -PAN, $x = 3$ or 5) 及びその金属錯体の逆相高速液体クロマトグラフィーにおける保持特性を調べた。N- α -PAN 系では, α -PAN 系に比べて中性錯体の保持が大きくなった。ニトロ基のかさ高さが錯体の保持に強く影響を及ぼす。また, N- α -PAN 系では, Co(III) 錯体はもちろんのこと, Co(II) 錯体のピークが得られた。更に 3N- α -PAN 系においてのみ, 試薬の保持時間が陽イオン性である Co(III) 錯体の保持時間よりも短くなることが観察された。3N- α -PAN の酸解離定数, 分配定数, 結晶構造は, その中性型がヒドラゾン (ケト) 互変異性体で存在していることを示唆した。