

## 光学活性クラウンエーテルによるアミノ酸の D/L 識別機構の解明

長田 裕臣

Structural Requirement for Chiral Recognition of Amino Acid  
by (18-Crown-6)-tetracarboxylic Acid

Hiroomi NAGATA

Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, 3-16-89 Kashima, Yodogawa-ku, Osaka 532-8505, Japan

(Received October 7, 2009; Accepted November 17, 2009)

(+)-(18-Crown-6)-tetracarboxylic acid ( $18C_6H_4$ ) is used as a chiral selector for various amino acids, where the L-isomer is usually eluted prior to the D-isomer in HPLC using  $18C_6H_4$ -linked column, except in the case of serine and threonine. To clarify the structural scaffold of (+)- $18C_6H_4$  responsible for chiral separation of amino acids, we investigated the interaction mode between (+)- $18C_6H_4$  and amino acids both in solution and solid states using X-ray and NMR analyses and molecular orbital calculations. Consequently, it was found that an asymmetrical bowl-like conformation of (+)- $18C_6H_4$  is necessary for chiral separation. This conformation is constructed by chiral-specific interaction between the  $C_\alpha$ -H groups of the amino acid and the polar oxygen atoms of (+)- $18C_6H_4$ . It was also found that the exceptional reverse elution observed with serine and threonine is due to additional interaction between the polar groups of the amino acid side chain and (+)- $18C_6H_4$ .

**Key words**—chiral separation; crown ether; amino acid; X-ray crystal structure

## 1. はじめに

生体は核酸、タンパク質、多糖などの光学活性な高分子物質の集合体であり、光学異性体に対して生理活性を示すことが多い。キラルな医薬品の場合、光学異性体の一方は本来の薬理作用を示し、他方は副作用や拮抗阻害などを引き起こす場合も少なくない。例えば、抗菌剤のペニシリン G、抗パーキンソン病薬のドーパ、女性ホルモンのエストロンはいずれも活性を示すのは一方の対掌体のみであるし、あるいはプロポキシフェンでは *d* 体には鎮痛作用が、( *l* 体には鎮咳作用があることか

ら、対掌体それぞれが別の医薬品として上市されている。<sup>1)</sup> このような背景より、ICH (日米 EU 医薬品規制調和国際会議) の品質ガイドライン Q6A<sup>2)</sup> において、光学活性な原薬およびその製剤については、有効性および安全性の観点から不純物として混入する光学異性体の量を正確に把握する必要性が述べられている。従って、キラルな医薬品の光学純度の確保は、製薬メーカーにとって医薬品の品質を保障する上で不可欠な要素の一つとなっている。

化合物の光学純度を評価するための分析法としては、高速液体クロマトグラフ (HPLC)、ガス

田辺三菱製薬株式会社 CMC 研究センター分析研究部, 〒532-8505 大阪市淀川区加島 3-16-89,

e-mail: nagata.hiroomi@md.mt-pharma.co.jp

本論者は、博士論文をもとに再構成したものである。

クロマトグラフ (GC), キャピラリー電気泳動 (CE) あるいは核磁気共鳴スペクトル (NMR) などが挙げられる<sup>3,4)</sup>。その中で、キラル固定相を利用した HPLC 法は測定精度および汎用性の面で非常に有用であり、幅広く利用されている。本手法は、光学活性な部位又は環境を導入したキラル固定相との相互作用力が光学異性体間で異なることを利用した直接的な光学分離であり、様々なタイプのキラルカラムが知られている<sup>5-7)</sup>。全ての光学活性化化合物を光学分離できるキラルカラムは存在しないため、光学純度試験法を設定する際はカラムや移動相など測定条件のトライ&エラーを繰り返し、最適な試験条件を見出すことになる。それ故に、光学分離を事象としてだけ捕らえるのではなくその分離機構を把握しておくことは、適切な光学純度

試験法の設定あるいは新規キラル固定相を開発する上で重要である。しかし、その光学分離機構を分子レベルで総合的に解明した事例は見当たらない。

(+)-18-クラウン-6-テトラカルボン酸(18C6H<sub>4</sub>)は光学活性なクラウンエーテルであり、これを担体に化学結合させ固定化した (+)-18C6H<sub>4</sub> カラム (Fig.1) は、アミノ酸など様々な一級アミン化合物を光学分離することができる。そこで、(+)-18C6H<sub>4</sub> によるアミノ酸の光学分離機構の解明を目的として、HPLC 測定、単結晶 X 線構造解析、分子軌道計算および <sup>1</sup>H-NMR 測定による検証を試みた。まず、(+)-18C6H<sub>4</sub> カラムを用いた HPLC 分析を行い、各種アミノ酸の光学分離状況を検証した。次に、各種アミノ酸など各種化合物の (+)-

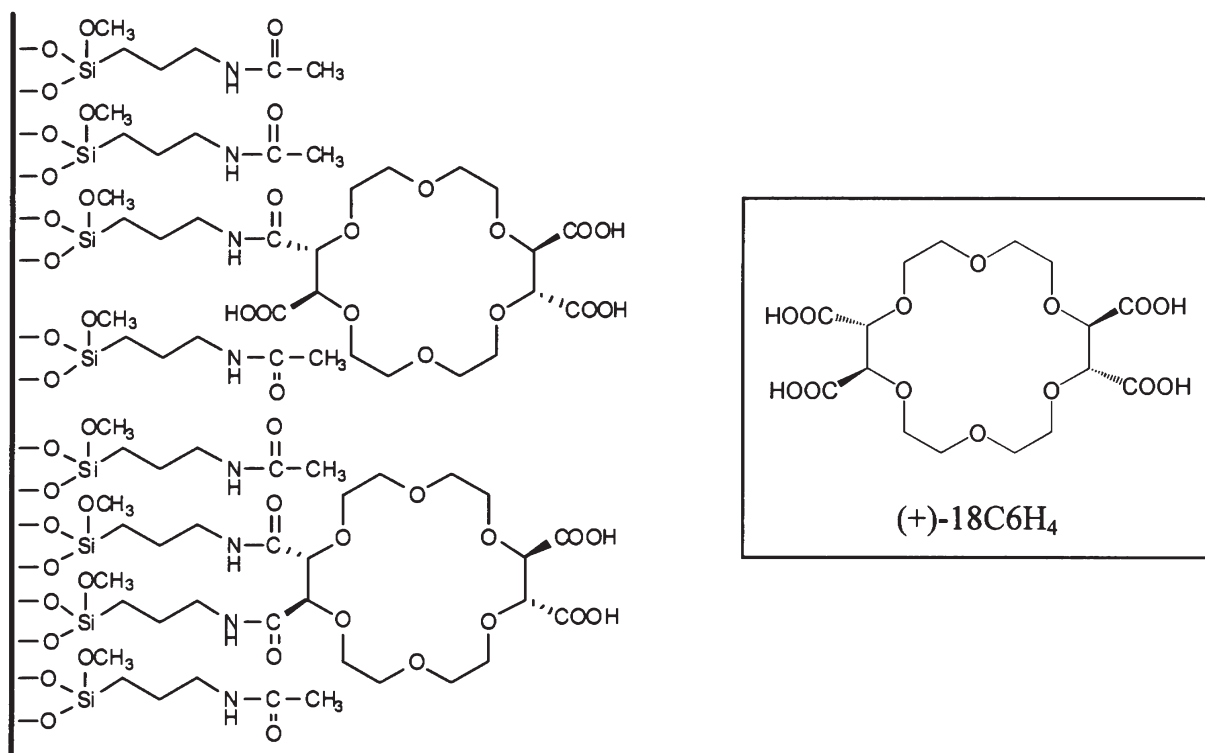


Fig. 1. Schematic diagram of (+)-18C6H<sub>4</sub> column prepared by immobilizing (+)-(18-crown-6)-tetracarboxylic acid ((+)-18C6H<sub>4</sub>) on 3-aminopropylsilanized silica-gel.

18C6H<sub>4</sub> 複合体につき単結晶 X 線構造解析を行い、固体中における (+)-18C6H<sub>4</sub> の分子構造およびゲスト分子とのキラル相互作用様式について検討すると共に、半経験的分子軌道法により (+)-18C6H<sub>4</sub> のコンフォメーションエネルギーを検討した。更に、<sup>1</sup>H-NMR 測定により溶液中での (+)-18C6H<sub>4</sub> と光学活性アミノ酸のキラル相互作用を検討した。

## 2. (+)-18C6H<sub>4</sub> カラムによるアミノ酸の光学分離

(+)-18C6H<sub>4</sub> カラムを用いた HPLC 分析により、Ala など 18 種の代表的なアミノ酸について光学分離を試みた。その結果、側鎖の種類に関係なく全てのアミノ酸において光学異性体分離が達成された。これは、アミノ酸の基本骨格であるアミノ基、カルボキシル基および C<sub>α</sub>-H 基における (+)-18C6H<sub>4</sub> とのキラル相互作用が光学異性体分離の基盤であることを示唆している。代表的

なクロマトグラムとして、Ala および Ser でのキラル分離例を Fig. 2 に示す。Ala など大部分のアミノ酸は L 体→D 体の順で溶出し (L-アミノ酸 *first elution* ルール)、(+)-18C6H<sub>4</sub> に対する結合定数が D 体アミノ酸 > L 体アミノ酸であることを意味している。一方、側鎖に水酸基を有する Ser および Thr では D → L 体と例外的に溶出順序が逆転した。Ser および Thr の側鎖水酸基がメチル基に置換された化学構造を有する ABA ( $\alpha$ -amino-n-butyric acid) および Val では通常どおり L 体→D 体の順で溶出することから、Ser および Thr における溶出順序の逆転現象は、これらの側鎖水酸基に起因していると考えられる。

以上の光学異性体分離は、アミノ酸の D 体と L 体とで (+)-18C6H<sub>4</sub> に対する相互作用が異なることに基づくが、その分離機構の詳細やアミノ酸の種類によって溶出順が異なる原因は不明である。(+)-18C6H<sub>4</sub> によるアミノ酸光学異性体分離機構の解明を目的として、単結晶 X 線構造解析、分子軌道計算および <sup>1</sup>H-NMR 測定を行った。

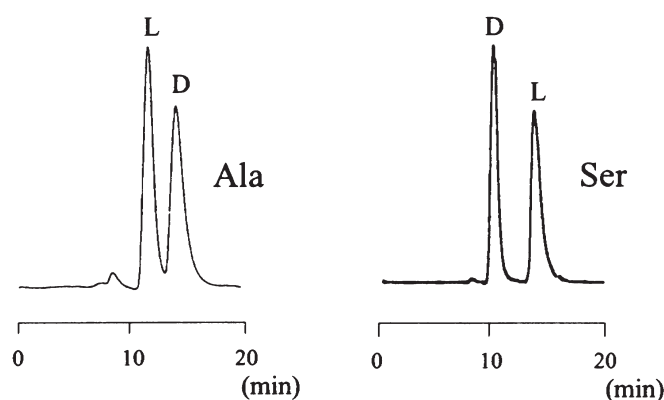


Fig. 2. Enantiomer separation of Ala and Ser by (+)-18C6H<sub>4</sub> column. Chromatograms were obtained by using 100% water containing 1 mM perchloric acid as mobile phase, with a flow rate of 0.2 mL/min at 0 °C (UV 200nm detected).

### 3. (+)-18C6H<sub>4</sub> 複合体結晶の X 線構造解析

(+)-18C6H<sub>4</sub> によるアミノ酸とのキラル分子間相互作用様式の解明を目的として、10 種の D/L 体アミノ酸 (Ala, ABA, Thr, Val, Tyr, Ile, Met, PheG, Ser および Glu) に関して (+)-18C6H<sub>4</sub> との複合体結晶の調製に成功、X 線結晶構造解析を実施した。さらに、5 種の光学不活性化化合物 (Gly, H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, H<sub>5</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> および CH<sub>3</sub>NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) と (+)-18C6H<sub>4</sub> の複合体結晶についても X 線結晶構造解析を行った。また、各結晶中で存在した (+)-18C6H<sub>4</sub> の各種コンフォメーションのエネルギー状態を比較するために、X 線結晶構造解析より得られた主な (+)-18C6H<sub>4</sub> 分子の原子座標を用いて、半経験的な分子軌道計算法 (PM3)<sup>11)</sup> により、真空中における (+)-18C6H<sub>4</sub> 分子のトータルエネルギー値を一点計算で求めた。

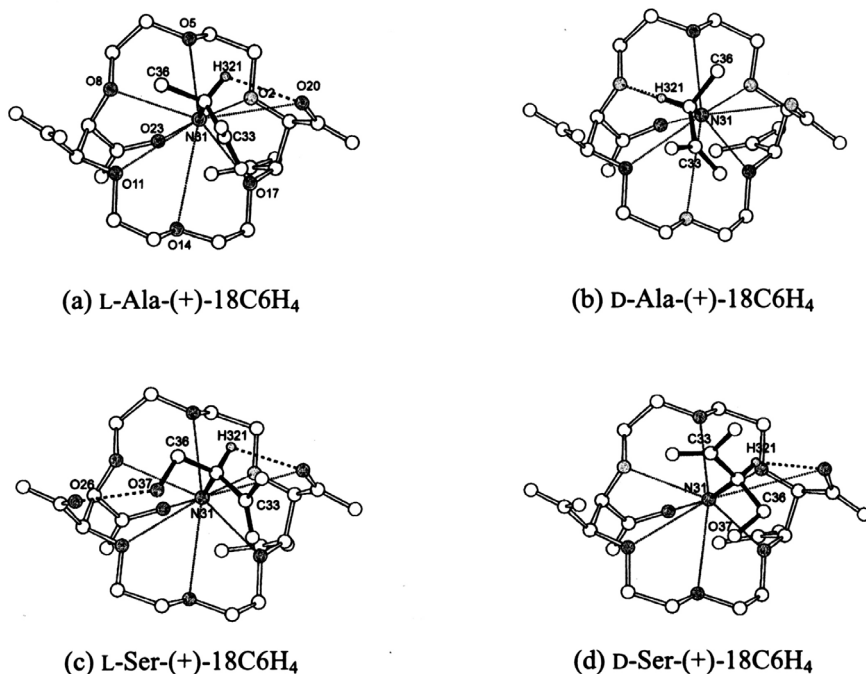


Fig. 3. Stereoscopic views of molecular interactions of (a) L-Ala, (b) D-Ala (c) L-Ser and (d) D-Ser with (+)-18C6H<sub>4</sub>, viewed perpendicular to the crown ether ring. Amino acids and (+)-18C6H<sub>4</sub> are depicted with filled and open bonds, respectively. The thin dotted lines represent N-H...O/N...O interactions and the thick dotted lines represent C<sub>α</sub>-H...O or O-H...O

### (+)-18C6H<sub>4</sub> の分子コンフォメーション

結晶中において、(+)-18C6H<sub>4</sub> のコンフォメーションとしては、対称的な convex/C<sub>2</sub> 型, planar/C<sub>2</sub> 型および planar/C<sub>2s</sub> 型, 並びに、非対称的な convex/C<sub>1</sub> 型の計 4 種類が存在していた (Fig. 6 を参照). 分子軌道計算により求めた各コンフォマーの分子エネルギー値に有意差はなく、さらに非対称単位中にコンフォメーションが異なる独立 2 分子の (+)-18C6H<sub>4</sub> を含む複合体結晶が存在する場合もあることより、(+)-18C6H<sub>4</sub> の 4 種のコンフォメーションはエネルギー的に同等と判断された。これらのうち、アミノ酸と複合体を形成した (+)-18C6H<sub>4</sub> のコンフォメーションは非対称的な convex/C<sub>1</sub> 型 (conformer I-III) であった。

### (+)-18C6H<sub>4</sub> とアミノ酸の相互作用

複合体結晶中におけるホスト - ゲスト相互作用の代表例として、L-Ala, D-Ala および L-Ser によ

る (+)-18C6H<sub>4</sub> との相互作用部位を Fig. 3 に示す.

全ての複合体結晶中において, (+)-18C6H<sub>4</sub> は アミノ酸を 1:1 の比率で包接していた. アミノ酸のアミノ基は L 体, D 体共に (+)-18C6H<sub>4</sub> のクラウンエーテル環およびカルボキシル基の 8 つの酸素原子で形成される半径約 3Å の半球の中心付近に位置し, それら酸素原子と N-H...O 水素結合あるいは N...O 静電的相互作用を形成していた. その N-H...O 水素結合の距離および角度はアミノ酸の L 体と D 体で同様であり (Fig. 4 (a)), アミノ酸の L 体と D 体でアミノ基による (+)-18C6H<sub>4</sub> との相互作用の強さに差がないことを示している. また, アミノ酸のカルボキシル基は複合体を形成している (+)-18C6H<sub>4</sub> との間で

相互作用はなかった. 一方, アミノ酸 C<sub>α</sub>-H 基による (+)-18C6H<sub>4</sub> のクラウンエーテル環 O 原子との C-H...O 水素結合はアミノ酸の L 体と D 体とで相違し (Fig. 4 (b)), その強さは D 体 > L 体と判断された. なお, アミノ酸の基本骨格部分 (アミノ基, カルボキシル基および C<sub>α</sub>-H 基) における (+)-18C6H<sub>4</sub> との相互作用は, アミノ酸側鎖の種類に関係なく D 体同士, あるいは L 体同士で共通していた. ただし, L-Ser (Fig. 3 (c)) および L-Thr ではその側鎖水酸基が (+)-18C6H<sub>4</sub> と水素結合していたが, D-Ser (Fig. 3 (d)), D-Thr および他の D/L 体アミノ酸の側鎖部分において (+)-18C6H<sub>4</sub> との相互作用はなかった.

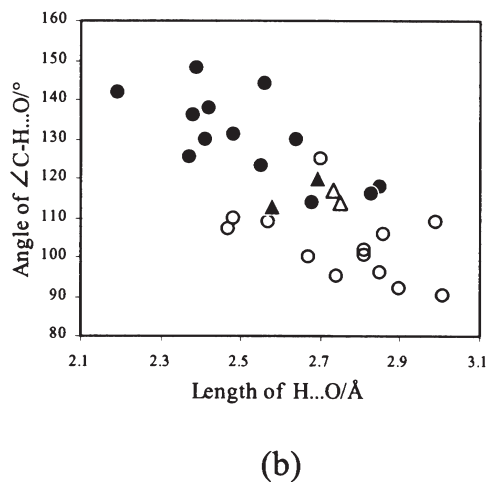
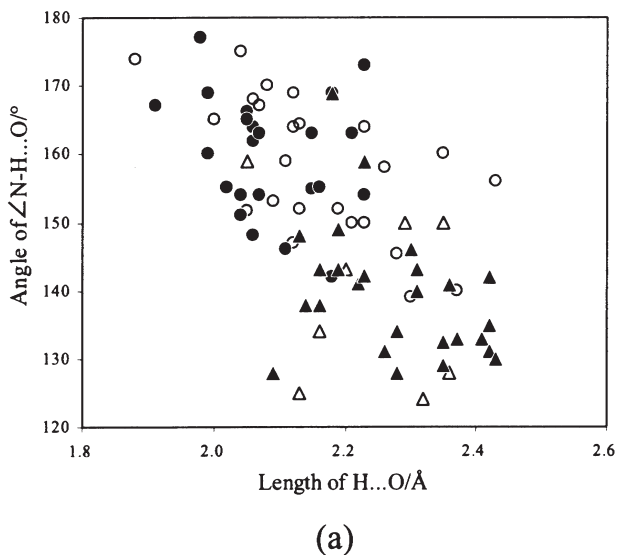


Fig. 4. Distribution charts describing the geometry of (a) N-H...O and (b) C<sub>α</sub>-H...O interactions of various amino acids with (+)-18C6H<sub>4</sub> in complex crystals; ● D-enantiomer (straight interaction type), ▲ D-enantiomer (branched interaction type), ○ L-enantiomer (straight interaction type) and △ L-enantiomer (branched interaction type).

#### 4. NMR による溶液中でのキラル相互作用の検証

溶液中における (+)-18C6H<sub>4</sub> とアミノ酸のキラル分子間相互作用を調査するため、<sup>1</sup>H-NMR 測定を実施した。代表的な <sup>1</sup>H-NMR スペクトルを Fig. 5 に示す。

Ala, Ser および ABA について、(+)-18C6H<sub>4</sub> との複合体形成比を Job plot<sup>12)</sup> により、また見かけの会合定数 ( $K_a$ ) を Scott plot<sup>13)</sup> により求めた。その結果、各アミノ酸は L 体、D 体共に (+)-18C6H<sub>4</sub> と 1:1 の複合体を形成し、見かけの結合定数 ( $K_a$ ) は全て D 体 > L 体であった (Table 1)。

次に、Ala, ABA, Ser, Val および Thr につき、

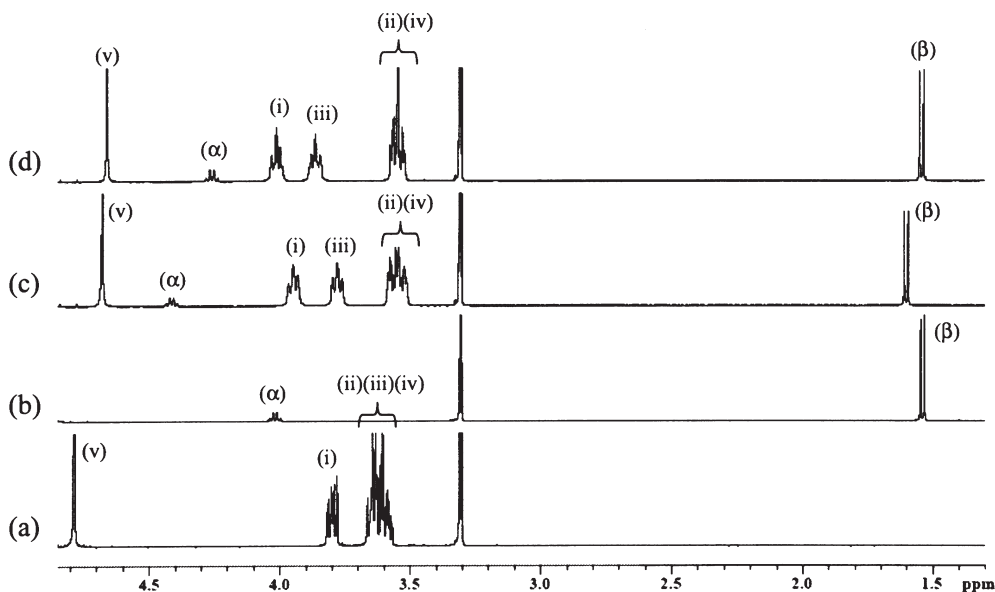


Fig. 5. <sup>1</sup>H NMR spectra of Ala-(+)-18C6H<sub>4</sub> with equimolar mixtures (6 mM each); (a) (+)-18C6H<sub>4</sub>, (b) DL-Ala, (c) L-Ala with (+)-18C6H<sub>4</sub> and (d) D-Ala with (+)-18C6H<sub>4</sub>. (α): C<sub>α</sub> protons of Ala, (β): C<sub>β</sub> protons of Ala, (i)~(iv): methylene protons of (+)-18C6H<sub>4</sub>; (i) H3a, H7b, H12a and H16b, (ii) H3b, H7a, H12b and H16a, (iii) H4a, H6b, H13a and H15b, (iv) H4b, H6a, H13b and H15a, and (v) methine protons of (+)-18C6H<sub>4</sub>: H1, H9, H10 and H18.

Table 1. Complex-induced chemical shifts (ppm) at saturation ( $\Delta\delta_c$ ) and apparent binding constants  $K_a/\text{mol}^{-1}$

|     | $\Delta\delta_c$ (D) | $\Delta\delta_c$ (L) | $K_a$ (D) | $K_a$ (L) |
|-----|----------------------|----------------------|-----------|-----------|
| Ala | 0.39                 | 0.28                 | 2332      | 1642      |
| ABA | 0.74                 | 0.23                 | 1323      | 1236      |
| Ser | 0.64                 | 0.23                 | 1455      | 1323      |

All chemical shifts are reported in ppm relative to TMS in CD<sub>3</sub>OD at 298 K..

(+)-18C6H<sub>4</sub> との複合体形成に伴う各プロトンのケミカルシフト値の変化を調べた。その結果を Table 2 にまとめる。C<sub>α</sub> プロトンの変化量は全て

D 体 > L 体であり、アミノ酸の C<sub>α</sub>-H 基による (+)-18C6H<sub>4</sub> との C-H...O 水素結合の強さの違いに起因すると考えられた。また、C<sub>α</sub> プロトンの変化パ

Table 2. <sup>1</sup>H chemical shifts (ppm) of Ala, Ser, ABA, Thr and Val in the absence or presence of (+)-18C6H<sub>4</sub>.

|                                   | <sup>1</sup> H chemical shifts of amino acids <sup>a</sup> |                   |                  |
|-----------------------------------|--|-------------------|------------------|
|                                   | C <sub>α</sub> H   | C <sub>β</sub> H  | C <sub>γ</sub> H |
| DL-Ala (Free)                     | 4.02   | 1.54              | -                |
| L-Ala with (+)-18C6H <sub>4</sub> | 4.17   | 1.54              | -                |
| Δ <sub>δ</sub> (L)                | 0.15   | 0.00              | -                |
| D-Ala with (+)-18C6H <sub>4</sub> | 4.28   | 1.58              | -                |
| Δ <sub>δ</sub> (D)                | 0.26   | 0.04              | -                |
| ΔΔ <sub>δ</sub> (D-L)             | 0.11   | 0.04              | -                |
| DL-Ser (Free)                     | 4.04   | 3.99/3.95         | -                |
| L-Ser with (+)-18C6H <sub>4</sub> | 4.15   | 4.03/3.99         | -                |
| Δ <sub>δ</sub> (L)                | 0.11   | (NA) <sup>b</sup> | -                |
| D-Ser with (+)-18C6H <sub>4</sub> | 4.37   | 4.04/3.88         | -                |
| Δ <sub>δ</sub> (D)                | 0.33   | (NA)              | -                |
| ΔΔ <sub>δ</sub> (D-L)             | 0.22   | (NA)              | -                |
| DL-ABA (Free)                     | 3.93   | 1.96              | 1.07             |
| L-ABA with (+)-18C6H <sub>4</sub> | 4.04   | 1.98/1.94         | 1.06             |
| Δ <sub>δ</sub> (L)                | 0.11   | 0.02/-0.02        | -0.01            |
| D-ABA with (+)-18C6H <sub>4</sub> | 4.31   | 2.00/1.92         | 1.08             |
| Δ <sub>δ</sub> (D)                | 0.28   | 0.04/-0.04        | 0.01             |
| ΔΔ <sub>δ</sub> (D-L)             | 0.17   | (NA)              | 0.00             |
| DL-Thr (Free)                     | 3.81   | 4.28              | 1.34             |
| L-Thr with (+)-18C6H <sub>4</sub> | 3.86   | 4.25              | 1.34             |
| Δ <sub>δ</sub> (L)                | 0.05   | -0.03             | 0.00             |
| D-Thr with (+)-18C6H <sub>4</sub> | 3.93   | 4.25              | 1.34             |
| Δ <sub>δ</sub> (D)                | 0.12   | -0.03             | 0.00             |
| ΔΔ <sub>δ</sub> (D-L)             | 0.07   | 0.00              | 0.00             |
| DL-Val (Free)                     | 3.85   | 2.31              | 1.09             |
| L-Val with (+)-18C6H <sub>4</sub> | 3.98   | 2.26              | 1.15/1.05        |
| Δ <sub>δ</sub> (L)                | 0.13   | -0.05             | 0.06/-0.04       |
| D-Val with (+)-18C6H <sub>4</sub> | 4.24   | 2.19              | 1.17/1.08        |
| Δ <sub>δ</sub> (D)                | 0.39   | -0.12             | 0.08/-0.01       |
| ΔΔ <sub>δ</sub> (D-L)             | 0.26   | -0.07             | (NA)             |

<sup>a</sup> All chemical shifts are reported in ppm relative to TMS in CD<sub>3</sub>OD at 298 K.

<sup>b</sup> Not available.

ターンが, Ser と ABA, あるいは Thr と Val で差はなかったことから, HPLC 分析において Ser および Thr では溶出順が逆転した原因がアミノ酸の基本骨格以外の部分, すなわち側鎖水酸基に起因することが示唆された. 一方, (+)-18C6H<sub>4</sub> との複合体形成に伴う各アミノ酸の側鎖部分 (C<sub>β</sub> あるいは C<sub>γ</sub> プロトン) のケミカルシフト変化量は非常に小さく, (+)-18C6H<sub>4</sub> との相互作用は極めて小さいものと考えられた.

## 5. (+)-18C6H<sub>4</sub> の光学認識機構に関する提唱

以上の検討より得られた知見に基づき, (+)-18C6H<sub>4</sub> によるアミノ酸の光学認識機構に関する仮説を次の通り提唱する.

### コンフォメーション変化による光学認識能の発現

(+)-18C6H<sub>4</sub> のコンフォメーション変化フローに関する仮説を Fig. 6 に示す.

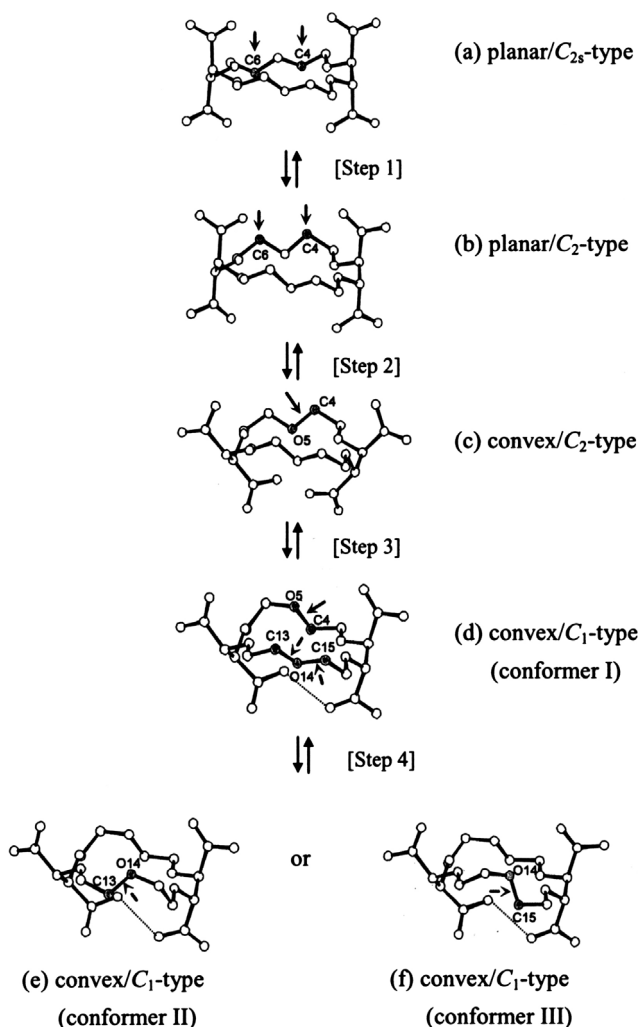


Fig. 6. Possible flow of transition of (+)-18C6H<sub>4</sub> from its planar/ $C_{2s}$ -type to convex/ $C_1$ -type conformation. The dotted lines represent O-H...O intramolecular interactions.

Step 1; (a) planar/ $C_{2s}$ -type is changed to (b) planar/ $C_2$ -type by moving the C4 and C6 atomic positions (the arrows in (a) and (b)). Step 2; (b) is then changed to (c) convex/ $C_2$ -type by distortion of the crown ether ring. Step 3; (c) is further changed to (d) convex/ $C_1$ -type (conformer I) by successive rotation around the C4-O5 bond (the arrows in (c) and (d)). Step 4; (d) is then converted into an equilibrium state with (e) convex/ $C_1$ -type (conformer II) or (f) convex/ $C_1$ -type (conformer III) by successive rotation around the C13-O14 or O14-C15 bond (the dotted arrows in (d) ~ (f)).



(+)-18C6H<sub>4</sub>にはエネルギー的に等価な4種のコンフォメーションが存在し、エネルギー的な障壁なく自由に各コンフォメーションをとることができると考えられる。この4種のコンフォメーションの中で光学認識に最も効果的なコンフォメーションは、分子形状が非対称性的である convex/*C*<sub>1</sub>型と推測される。実際、各種アミノ酸との複合体結晶中での(+)-18C6H<sub>4</sub>のコンフォメーションは、非対称的な convex/*C*<sub>1</sub>型であった。以上より、(+)-18C6H<sub>4</sub>が光学認識能を発現するには、対称的なコンフォメーション (planar/*C*<sub>2s</sub> ~ planar/

*C*<sub>2</sub> ~ convex/*C*<sub>2</sub>型) から非対称的な convex/*C*<sub>1</sub>型コンフォメーションに変化する必要性が考えられる。

#### (+)-18C6H<sub>4</sub>によるアミノ酸光学認識機構

アミノ酸 (-+)-18C6H<sub>4</sub>複合体結晶の代表例である Ala-(+)-18C6H<sub>4</sub>複合体のX線構造解析結果を用いて作成した(+)-18C6H<sub>4</sub>によるアミノ酸の光学認識機構に関する概念図を Fig. 7に、その模式図を Fig. 8に示す。

convex/*C*<sub>1</sub>型コンフォメーションは大小2つの

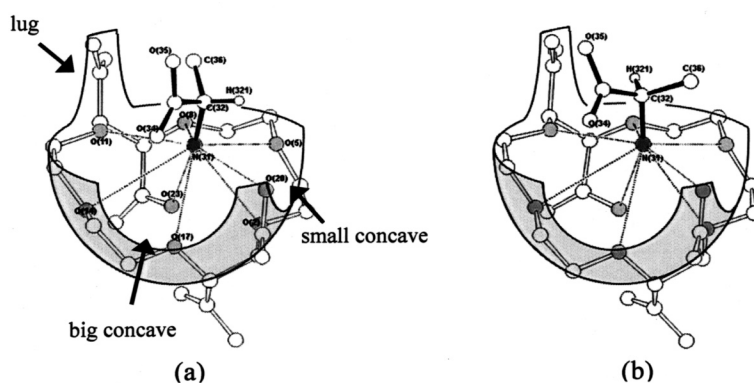


Fig. 7. Schematic interaction patterns of (a) L-Ala and (b) D-Ala with (+)-18C6H<sub>4</sub>. The dotted lines represent N-H...O/N...O interactions. The conformation of (+)-18C6H<sub>4</sub> is roughly depicted with a bowl-shaped figure with two concave and one lug.

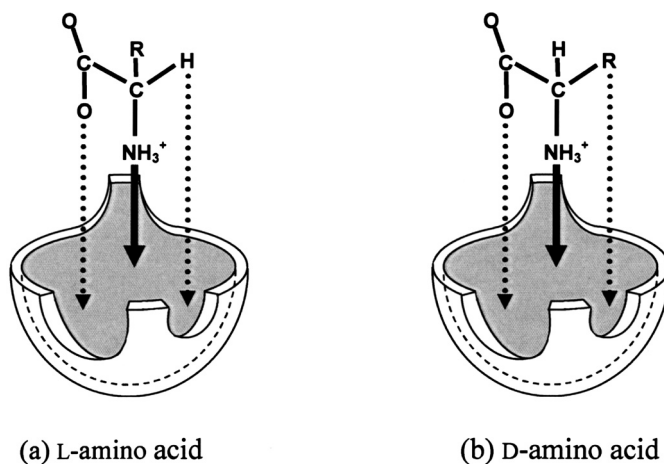


Fig. 8. Possible general interaction model of (+)-18C6H<sub>4</sub> with amino acid. (+)-18C6H<sub>4</sub> is depicted with a bowl-like shape with two hollows (big and small) and a lug on the rim.

窪みと1つの取っ手を有する「非対称なお椀」状であり、この構造上の非対称性がアミノ酸の光学分離を誘引すると考えられる。(+) -18C6H<sub>4</sub> はアミノ酸のアミノ基と N-H $\cdots$ O 水素結合を形成し 1:1 の比率で包接するが、その強さはアミノ酸の D 体と L 体で差はないため光学分離の直接的な要因とはならないと考えられる。一方、アミノ酸のカルボキシル基は、(+) -18C6H<sub>4</sub> と直接的には相互作用しないもののアミノ酸の L 体、D 体共に「非対称なお椀」の大きな窪み部分に配置される。すなわち、アミノ酸のカルボキシル基は (+) -18C6H<sub>4</sub> に対する包接アミノ酸の空間的配置を決定する重要な役割を果たすと考えられる。これにより、アミノ酸の L 体と D 体で C $\alpha$ -H 基による (+) -18C6H<sub>4</sub> との C-H $\cdots$ O 水素結合様式が異なり、その強さが D 体 > L 体であるため HPLC 分析において L 体  $\rightarrow$  D 体の順で溶出すると推測される。ただし、Ser および Thr の場合は L 体においてのみ側鎖水酸基が (+) -18C6H<sub>4</sub> と水素結合を形成するため、その影響により溶出順序が例外的に逆転すると考えられる。

### C $\alpha$ -H $\cdots$ O 水素結合に関して

一般に、C-H $\cdots$ O 型の水素結合は O-H $\cdots$ O 型や N-H $\cdots$ O 型などの他の水素結合に比べてその結合力は弱い<sup>14)</sup>。C 原子と O 原子、あるいは C 原子と H 原子のファンデルワールス半径<sup>15)</sup>の和はそれぞれ 3.22 Å および 2.90 Å であり、C-H $\cdots$ O における C $\cdots$ O および H $\cdots$ O 距離がこれらのファンデルワールス半径の和よりも短いことが C-H $\cdots$ O 水素結合の有無の目安となる。例えば、D-H $\cdots$ A における H と A の距離がファンデルワールス半径の和よりも 0.2 Å 以上短いと水素結合とみなす Hamiltom-Ibers<sup>16)</sup>の基準がある。さらに、水素結合は方向性を有するためその結合角度も重要であり、180° を極大として結合角度が小さくなるほど結合力は弱くなり、C-H $\cdots$ O 水素結合における結合角度の限界値は 110° との提言もある<sup>17)</sup>。ただし、様々な

X 線結晶構造解析事例を考慮すると上記の水素結合距離あるいは角度クライテリアは厳しすぎるものと考えられ、これらクライテリアを満たさない場合でも C-H $\cdots$ O 水素結合として判断されている事例は数多い<sup>18)</sup>。

各種アミノ酸 -(+) -18C6H<sub>4</sub> 複合体結晶中での C $\alpha$ -H $\cdots$ O 水素結合において、その C $\alpha$ - $\cdots$ O 距離の平均値は L 体、D 体共に 3.2 Å とファンデルワールス半径の和とほぼ一致したが、H $\cdots$ O 距離の平均値は L 体：2.76 Å および D 体：2.53 Å、C $\alpha$ -H $\cdots$ O の角度は L 体：105° および D 体：129° であった。これらの値は C $\alpha$ -H $\cdots$ O 水素結合が存在し、かつ、その水素結合の強さがアミノ酸の L 体と D 体で相違することを示しており、この C $\alpha$ -H $\cdots$ O 水素結合力の差が光学分離を誘引することを十分に証明するものと言える。

以上、一般に C-H $\cdots$ O 水素結合は弱い分子間力であるが、今回の (+) -18C6H<sub>4</sub> によるアミノ酸の光学認識といったホスト - ゲスト反応に代表される分子特異的認識のための結合力として C $\alpha$ -H $\cdots$ O 水素結合は非常に有効であることを示している。

**謝辞** 本研究を行うにあたり、終始御懇篤な御指導と御鞭撻を賜りました大阪薬科大学石田壽昌教授に心より謝意を表します。本研究をまとめるにあたり、御討論を賜りました大阪薬科大学土井光暢教授、同じく大阪薬科大学浦田秀仁教授に厚く御礼申し上げます。本研究の実施と発表の機会を恵与されました田辺三菱製薬株式会社 CMC 研究センター長中村耕治博士に深く感謝致します。本研究に関し、御討論頂くとともに有益な御助言を頂きました安田女子大学西博行教授および田辺三菱製薬株式会社 CMC 研究センター分析研究部グループマネージャー町田佳男博士に深謝致します。分子軌道計算に関し、有益な御助言を頂きました神戸薬科大学上垣内みよ子講師に深く感謝致します。NMR 実験に御協力頂くと共に、数々の御助言を賜りました大阪薬科大学箕浦克彦助教

に謹んで御礼申し上げます。また、種々の御助言を頂きました大阪薬科大学友尾幸司准教授，尹康子講師，並びに薬品物理化学教室の皆様に心より感謝致します。

## REFERENCES

- 1) Kato R., *Gekkan Yakuji*, **29**, 2039-2042 (1987).
- 2) ICH (International Conference on Harmonization of Technical Requirement of Pharmaceuticals for Human Use) guideline, topics Q6A: establishment of specification and testing method.
- 3) Srinivas N. R., *Biomed. Chromatogr.*, **18**, 207-233 (2004).
- 4) McConnell O., Bach II A., Balibar C., Byrne N., Cai Y., Carter G., Chlenov M., Di L., Fan K., Goljer I., He Y., Herold D., Kagan M., Kerns E., Koehn F., Kraml C., Marathias V., Marquez B., McDonald L., Nogle L., Petucci C., Schlingmann G., Tawa G., Tischler M., Williamson R. T., Sutherland A., Watts W., Young M., Zhang M. -Y., Zhang Y., Zhou D., Ho D., *Chirality*, **19**, 658-682 (2007).
- 5) Zhang Y., Wu D. -R., Wang-Iverson D. B., Tymiak A. A., *Drug Discov. Today*, **10**, 571-577 (2005).
- 6) Cancelliere G., D'Acquarica I., Gasparrini F., Maggini M., Misiti D., Villani C., *J. Sep. Sci.*, **29**, 770-781 (2006).
- 7) Ravelet C., Peyrin E., *J. Sep. Sci.*, **29**, 1322-1331 (2006).
- 8) Machida Y., Nishi H., Nakamura K., *J. Chromatogr. A.*, **805**, 85-92 (1998).
- 9) Myung H. H., Hye J. K., Jong S. J., Wonjae L., *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **23**, 2669-2682 (2000).
- 10) Berkecz R., Sztojtkov-Ivanov A., Ilisz I., Forro E., Fulop F., Hyun M. H., Peter A., *J. Chromatogr. A.*, **1125**, 138-143 (2006).
- 11) Stewart J. J. P., *J. Comput. Chem.*, **10**, 209 (1989).
- 12) Job P., *Ann. Chim.*, 113-203 (1928).
- 13) Scott R. L., *Rec. Trav. Chim.*, **75**, 787-789 (1956).
- 14) Steiner T., *Angrew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 48-76 (2002).
- 15) Bondi A., *J. Phys. Chem.*, **68**, 441-451 (1964).
- 16) Hamilton W. C., Ibers J. A., *Hydrogen Bonding in Solid*, Benjamin (1968).
- 17) Steiner T., *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, 1315-1319 (1995).
- 18) Yates J. R., Pham T. N., Pickard C. J., Mauri F., Amado A. M., Gil A. M., Brown S. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 11315-11323 (2002).