

역상 액체크로마토그래피에서 벤젠 일치환체들의 머무름 메카니즘에 관한 연구 (제 2 보)

李大云[†] · 崔鎔旭 · 李 堧*

연세대학교 이과대학 화학과

*경희대학교 문리과대학 화학과

(1987. 10. 2 접수)

A Study of the Retention Mechanism of the Monosubstituted Benzenes in Reversed-phase Liquid Chromatography (II)

Dai Woon Lee[†], Yong Wook Choi, and Won Lee*

Department of Chemistry, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

*Department of Chemistry, Kyunghee University, Seoul 130-701, Korea

(Received October 2, 1987)

요 약. 역상 액체크로마토그래피에서 벤젠 일치환체들의 머무름 메카니즘과 머무름예측을 연구하기 위하여 크로마토 그래피 파라미터로 극성지표(P') 분자량(MW), 치환기 상수(π) 및 분자간 연결지수($^1\chi'$)를 머무름 데이터와 관련지어 상관관계를 조사하였다. 벤젠을 기준으로 하여 각 치환체의 크기인자와 비인 상대적 머무름($\log k'_S/k'_B$)과 각 치환체의 극성의비(P'_S/P'_B) 사이에는 상관관계가 있다. 치환기가 극성인 치환체들은 상관관계가 비교적 좋았으나 비극성 치환기를 갖는 치환체들은 분자량을 함께 고려함으로써 좋은 상관관계를 얻을 수 있다. 또한 상대적 머무름과 극성인자 및 분자량의 상관관계를 다변수 회귀분석으로 구하였다. 문헌적 머무름 자료와 소수성 파라미터로부터 유도된 치환기 상수(π)와 분자간 연결지수($^1\chi'$) 간에는 매탄올의 이동상에서 가장 좋은 상관관계를 얻었다. C_{18} 컬럼의 미반응된 실란을 기를 끝막음(end capping) 시키지 않은 컬럼에서는 이러한 상관관계가 감소되었다. 벤젠 일치환체들의 머무름과 관련지어 고려할 수 있는 파라미터는 π , P' , $^1\chi'$ 및 MW 순으로 그 관련성이 감소됨을 알았다.

ABSTRACT. The correlations between chromatographic parameters of monosubstituted benzenes and several physical parameters in reversed phase liquid chromatography were studied. The relationships between retention data and polarity index were investigated by plotting $\log(k'_S/k'_B)$ vs. P'_S/P'_B which were relative retention and relative polarity index of monosubstituted benzenes with respect to benzene, respectively. The linear relationship between relative retention and polarity index was observed for the monosubstituted benzenes having polar group, while in case of those having nonpolar group, the good linearity was observed by combination with relative molecular weight i.e. $(P'_S/P'_B)/(MW_S/MW_B)$. Multivariate regression analysis, $a(P'_S/P'_B) + b(MW_S/MW_B) + c$ did not give significantly better correlations compared to single variant analysis, $a[(P'_S/P'_B)/(MW_S/MW_B)] + c$, but multiple stepwise regression analysis was recommended when several physical parameters simultaneously were chosen. The best correlation between retention data for monosubstituted benzenes taken from the literature and substituent constant(π), derived from

hydrophobic parameter and the first order molecular connectivity index(χ^1), was established for methanol/water mobile phase system. The larger the surface coverage of the stationary phase, the higher was the correlation coefficient between these two parameters and retention data.

서 론

일반적으로 역상 액체 크로마토그래피(RPLC)에서의 시료의 머무름 메카니즘은 정지상과 이동상간의 상호작용의 견지에서 볼 때 이동상에서는 수소결합이나 쌍극자 인력과 같은 극성 상호작용이 고려되는 반면 정지상에서는 비극성 상호작용등이 고려된다.

컬럼내에서 결합정지상의 기하학적 형태 및 머무름메카니즘은 정지상의 결합 방식, 분자구조 및 이동상의 조성에 따라 크게 달라진다. 결합정지상은 보통 고체 미립자의 표면에 화학적 결합을 이루고 있어서 액체상으로 작용하기에는 부적당하므로 Locke²나 Colin³ 등은 흡착 메카니즘이 지배적이라고 주장하였다. Löchmüller⁴ 등은 벤젠에 대한 몇몇 PAH의 선택성을 LLE에서의 선택성과 비교한 결과 알킬정지상의 길이가 시료의 표면적 전체와 상호작용하기에 충분할 정도로 길어질 때까지 선택성이 증가한다고 하였다. 이러한 상황하에서는 PAH의 머무름이 분배 메카니즘과 같이 행동하게 된다고 하였다. 또한 이들은 시료의 머무름 메카니즘을 밝히기 위해 시료의 $\log k'$ 와 분배계수와의 상관관계를 관찰함으로써 시료의 머무름이 흡착, 분배 및 흡착과 분배의 혼합 메카니즘에 의한 것인지를 밝힐 수 있다고 하였다.

한편 RPLC에서 머무름 메카니즘을 밝히고 시료의 머무름을 예측하기 위해 여러가지 물리적 파라미터가 도입되었다. 한 예로서 분자간 연결지수는 분자구조에 대한 정량적인 정보를 제공하는 지수로서 분자내의 원자의 수, 연결방식, 불포화도 등을 일정한 계산방식에 의해 숫자로 표시함으로써 정량적인 구조-활성도 관계(quantitative structure-activity relationship; QSAR)를 수행하는데 유용하다.

Wells⁵ 등은 RPLC에서 알킬 벤젠 및 PAH의 머무름을 설명하고 예측하기 위해 여러 형태의 분자간 연결지수와 관련지어 다단계회귀분석

(multiple stepwise regression analysis)을 함으로써 이들간에는 좋은 상관관계가 있음을 보여 주었다. 이밖에도 생리학적 또는 약리학적 물질의 활성과 분자간 연결지수와 상관관계가 Kier와 Hall에 의해 밝혀지고 있다⁶⁻⁹. Koopmans¹⁰ 등은 소수성 파라미터와 분자간 연결지수 등과 PAH의 머무름과의 상관관계를 밝힘으로써 PAH의 친지성(lipophilicity)을 예측하였고, Hanai¹¹ 등은 RPLC 상에서 알킬벤젠과 염화벤젠들의 van der Waals 부피와 π 에너지를 계산하여 이들의 머무름 예측의 가능성을 보여주었다. 이것은 비극성 시료들의 용리현상이 분자의 부피에만 기인하도록 하기 위해 벤젠고리에 의한 π 에너지를 제거한 것이다. 이와 유사한 관계로서 Matas¹² 등은 분자의 부피나 소수성을 나타낼수 있는 파라미터와 정지상과의 극성 상호작용을 나타낼 수 있는 파라미터를 함께 고려해야 하는 머무름 지수를 제안하였다. Buydens¹³ 들도 GLC 상에서 지방산의 알킬 에스터들과 몇몇 극성시료들의 용리현상을 예측하기 위해서는 비극성 및 극성 파라미터를 동시에 고려해야 함을 강조하였다.

본 연구에서는 C_{18} , C_8 및 phenyl 결합 정지상에서 극성 및 비극성인 치환기를 가진 벤젠 일치환체들을 대상으로 이들의 머무름에 영향을 미치는 물리적 파라미터에 대해서 알아보았다. 특히 도입된 파라미터들은 극성지표(P')^{14,15} 분자량(MW), Hansch의 치환기상수(π)¹⁶ 및 분자간 연결지수(χ^1)^{17,18}이며, 이들과 벤젠 일치환체들과의 상관관계를 밝힘으로써 머무름을 예측하고, 이들의 머무름 메카니즘에 대해서 알아보았다.

실 험

측정기기 및 기구. 본 연구에서 사용한 측정기기와 기구는 이미 발표한 논문에서 기술한 것과 동일하다²¹.

시 료

Table 1. HPLC columns and mobile phases used in this study

Column	Mobile phase	No. of compound	Reference
μ -Bondapak C ₁₈ (10 μ m, 30cm \times 3.9 mm I. D.)	50% CH ₃ OH 50% CH ₃ CN	18	21
μ -Bondapak phenyl (10 μ m, 30cm \times 3.9 mm I. D.)	50% CH ₃ OH 50% CH ₃ CN 48% CH ₃ CN	18	21
Lichrosorb RP-8 (10 μ m, 25cm \times 4.6 mm I. D.)	50% CH ₃ OH 40% CH ₃ CN 37% THF	10	22
Hypersil C ₈ (5 μ m, 15cm \times 4.6 mm I. D.)	50% CH ₃ OH (pH 4.3) 30% CH ₃ CN (pH 3.5) 25% THF (pH 3.6)	12	23

벤젠 및 벤젠일치환체들은 특급 및 일급시약을 단순증류하여 메탄올에 녹여 사용하였다.

정지상 및 이동상. 본 연구에서 사용한 컬럼은 μ -Bondapak C₁₈ 및 μ -Bondapak phenyl 컬럼이었다. 본 연구의 실험결과와 비교하고, 결과에 대한 용이한 해석을 하기 위하여, 문헌상에서 Lichrosorb RP-8 및 Hypersil C₈ 컬럼에서 측정된 벤젠일치환체들의 크기 인자를 그대로 도입하여 사용하였다.

이동상은 메탄올, 아세토니트릴 및 THF를 물과 혼합하여 사용하였다. 이러한 이동상은 동일한 조성비에서 제조하였거나, 동일한 용매강도를 유지하기 위해서 벤젠^{21,22} 또는 메틸렌기²³를 기준으로 해서 제조하였다 (Table 1).

시료의 머무름과 물리학적 파라미터

RPLC에서 벤젠 일치환체들의 크기인자(k').

본 실험에 사용된 벤젠 일치환체들의 크기인자는 Table 1에 나타난 것과 같은 컬럼 및 이동상의 시스템에서 측정하였다.

본 연구에서는 시료의 절대적인 $\log k'$ 보다는 벤젠의 크기 인자에 대한 상대적인 머무름 척도가 되는 $\log \frac{k'_S}{k'_B}$ 를 사용하였다. 그 이유는 여러 가지 종류의 컬럼과 이동상을 사용하였으므로 정지상과 이동상의 특성을 표준화하기 위해서이고, 치환기만의 기여도를 정량적으로 평가하는

데 용이하기 때문이다.

물리학적 파라미터의 계산. 벤젠 일치환체들의 극성은 Rohrscheider¹⁹의 실험값으로부터 Snyder^{14,15}에 의해 정의된 극성지표(P')를 사용하여 벤젠을 기준으로 한 상대적인 P'_S/P'_B 를 이용하였다. 여기서 P'_S 와 P'_B 는 각각 벤젠일치환체들 및 벤젠의 극성지표이다. Hansch의 치환기상수(π)는 소수성 파라미터 ($\log P$)로부터 다음과 같이 표현할 수 있다.

$$\pi = \log P_S - \log P_B \quad (1)$$

여기서 P_S 및 P_B 는 각각 벤젠일치환체 및 벤젠의 분배계수이다.

분자간 연결지수(χ)는 Kier와 Hall^{16,19}이 정의한 방법으로 구하였다. 1차 원자가 분자간 연결지수(first order valence molecular connectivity index, ${}^1\chi'$)를 구하는 방법은 다음과 같다.

$${}^1\chi' = \sum (\delta_i \delta_j)^{-1/2} \quad (2)$$

$$\delta_i' = z_i' - h_i' \quad (3)$$

여기서 δ_i' 는 수소원자(h_i)를 제외한 결합수이고, z_i' 는 원자가 전자수, h_i 는 수소원자수이며, (δ_i 와 δ_j 는 서로 인접한 원자이다.) 탄소원자 이외의 δ_i' 값은 헤테로 원자에 대해 확장한 값을 사용하였다.

회귀분석. 단순 및 다변수 회귀분석 (simple and multiple regression analysis)은 SPSS (statistical package for the social science) 패키지를 이용하여 처리하였고, 사용기종은 Cyber 170-85 컴퓨터 시스템이었다.

결과 및 고찰

파라미터의 선택. Matas와 Pamies는 화합물의 머무름 지수(I)를 입체 및 전자적 상호작용의 가상적 파라미터로 나타낼 것을 제안하였다¹⁰.

$$I = \theta + B \quad (4)$$

여기서 θ 는 화합물의 몰부피와 관련된 값이고, B 는 정지상과의 극성 상호작용을 나타내는 값이다. 이와 관련지어 본 연구에서는 분자량, 극성지표(P') 치환기상수(π) 및 분자간 연결지수

(${}^1\chi''$)를 시료의 머무름에 대한 물리학적 파라미터로 선정하여 단순 및 다변수 회귀분석을 수행하여 그 상관관계를 조사하였다.

우선 극성지표와 분자량의 파라미터를 조합하였고, 치환기 상수와 분자간 연결지수를 조합하여 시료의 머무름과의 상관관계를 알아보았다. 각 파라미터간의 상호작용을 알아보기 위해 Table 2에는 파라미터간 상관관계를 상관계수(r)로 나타내었다. Table 2에서 볼 수 있는 것과 같이 상관계수 r 이 극성지표와 분자량 간에는 -0.2345 이고, 치환기상수와 분자간 연결지수 간에는 0.1588 의 값을 나타냈다. 그러므로 두 파라미터간의 상호작용은 상당히 작으며 다변수 회귀분석의 두변수로서 채택함이 합당하다는 것을 알 수 있다.

$\log k'_s/k'_B$ 와 극성지표(P') 및 분자량(MW)과의 상관관계. 벤젠을 기준으로 극성 및 비극성 치환기가 치환된 벤젠일치환체들의 머무름을 C_{18} , RP-8 및 phenyl 결합정지상에서 측정된 자료는 본 연구 및 문헌으로부터 구하였고, 이들의 물리적 파라미터 값을 Table 3에 나타내었다.

단순 회귀분석을 하기 위해 두 파라미터를 하나의 파라미터로 결합하였다. 즉 벤젠을 기준으로 치환체들의 극성지표 값의 비인 상대적 극성지표 값(P'_s/P'_B)을 상대적인 분자량 (MW_s/MW_B)으로 나누어 준 파라미터는 일종의 치환기에 의해 벤젠의 극성값과 분자량의 변화율을 나타내는 값이다. Table 4에는 Table 3의 자료와 결합된 파라미터간의 회귀분석을 수행한 결과를 나타내었다. 세 종류의 컬럼에서 모두 50% 메탄올을 이동상으로 하였을 때의 상관계수(r)가 -0.96 에서 -0.98 까지 다른 이동상에 비해 비교적 양호한 값을 나타내었다. Phenyl 결합정지상의 경우에는 이동상 중 물의 조성을 50%로 일정하게 유지하면서 유기용매의 종류에 따른 상관계수의 변화를 알아본 결과 유기용매로서 THF가 사용되었을 때 가장 좋지 않은 상관성을 보였다. 또한 phenyl 결합정지상에서 50% 메탄올에서의 벤젠의 크기인자를 기준으로 하여 48% 아세토니트릴 및 46% THF로 이동상의 용

Table 2. Correlations between the physical parameters

	P'	MW	${}^1\chi''$	π
P'	1.000	-0.2345	0.2045	-0.8682
MW		1.0000	0.6662	0.6406
${}^1\chi''$			1.0000	0.1508
π				1.0000

Table 3. Selected physical parameters for some monosubstituted benzenes

Substituted group	P'	MW	π	${}^1\chi''$
OH	—	94.11	-0.67	2.134
NH ₂	6.3	93.13	-1.23	2.199
CN	4.8	103.12	-0.57	2.259
COCH ₃	4.8	120.15	-0.55	2.865
NO ₂	4.4	123.11	-0.28	2.448
H	2.7	78.11	0.00	2.000
OCH ₃	3.8	108.13	-0.02	2.523
OC ₂ H ₅	3.3	122.16	—	3.111
CH ₃	2.4	92.13	0.56	2.411
F	3.2	96.10	0.14	2.100
Cl	2.7	112.56	0.71	2.477
Br	2.7	157.02	0.86	2.891
I	2.8	204.02	1.12	3.161

매강도를 동일하게 한 후 상관관계를 알아보았다. 여전히 50% 메탄올의 이동상에서 이들과의 상관성이 가장 좋게 나타났고, 이동상 중의 물의 조성이 증가할수록 상관성이 감소하였다. 특히 Lichrosorb RP-8 컬럼에서는 40% 아세토니트릴과 37% THF에서 상관성이 크게 떨어지는 것을 볼 수 있었다.

한편 C_{18} 결합정지상에서 50% 메탄올의 이동상에서 벤젠보다 빨리 용리되는 비교적 극성인 치환체들과 벤젠보다 늦게 용리되는 비극성 치환체들과의 $\log k'_s/k'_B$ 와 P'_s/P'_B 의 상관계수는 극성 및 비극성 치환체들에 대해 각각 -0.9160 ($n=5$) 및 -0.5158 ($n=8$) 이었고 전체적으로는 -0.9170 ($n=12$)로 나타났다. 또한 C_{18} 결합정지상에서 50%에세토니트릴을 사용하였을 경우에 메탄올 시스템에서의 동일한 비교를 하여 보면, 극성 및 비극성 치환체들의 상관계수는 각각 -0.8283 ($n=5$)과 0.0866 ($n=8$)이었고,

Table 4. Simple regression of relative retentions on P'_a/MW_a from several chromatographic system $\log k'_s/k'_B = a(P'_a/MW_a) + b$

Chromatographic	System	a	b	n	SR
μ -Bondapak C ₁₈	50% CH ₃ OH	-1.23	1.03	12	-0.9813
	50% CH ₃ CN	-0.52	0.53	12	-0.9468
μ -Bondapak phenyl	50% CH ₃ OH	-0.48	0.58	12	-0.9649
	50% CH ₃ CN	-0.39	0.48	12	-0.9621
	50% THF	-0.35	0.30	12	-0.9029
	48% CH ₃ CN	-0.40	0.39	12	-0.9565
	46% THF	-0.37	0.33	12	-0.9001
Lichrosorb RP-8	50% CH ₃ OH	-0.89	0.85	6	-0.9699
	40% CH ₃ CN	-0.75	0.68	6	-0.8713
	30% THF	-0.74	0.63	6	-0.8785

*SR=simple correlation coefficient. $P'_a = P'_s/P'_B$, $MW_a = MW_s/MW_B$.

전체적으로는 $-0.8916(n=12)$ 이었다. 이상의 결과를 종합해 보면 극성 치환체들은 극성지표와 비교적 상관성이 좋은 반면 비극성 치환체들은 상관성이 거의 없거나 상당히 좋지 않게 나타났다. 동일한 이동상의 조성에서 유기용매를 메탄올, 아세토니트릴 및 THF를 사용한 결과 메탄올이 사용되었을 때가 가장 좋은 상관성을 나타내었다.

그러나 전체적으로 상관성을 증대시키기 위해 상대적인 분자량으로 상대적인 극성물 나누어 주었을 때 극성 치환체보다는 비극성 치환체들의 상관성이 급격히 증가하는 경향을 볼 수 있었다. 이것은 할로젠 치환체들이 실제의 머무름에는 큰 차이가 있지만, 극성지표 값에는 거의 차이를 나타내지 않았기 때문에 상관성이 감소한 것이다. 그러므로 여기에 분자량인자를 고려한 결과 상관성이 급격히 증가하는 경향을 보여 주었다 (Table 5). 따라서 할로젠 치환체들에 대해서는 극성지표 값 보다는 분자량, 또는 몰 부피와 같은 물리적 파라미터가 더 좋은 머무름 인자임을 알 수 있었다.

극성지표 및 분자량과의 다변수 회귀분석

벤젠 일치환체들의 머무름의 대수값을 상대적 극성지표 및 상대적 분자량과 다변수 회귀분석을 수행한 결과는 Table 6과 같다. 단순 회귀분석에서의 마찬가지로 전체적으로 50% 메탄올 시스템에서 가장 좋은 상관관계를 보여 주었고,

Table 5. Correlation coefficients of the mixed data set on μ -Bondapak C₁₈ column

Mobile phase	$\frac{P'_s}{P'_B}$	$\frac{P'_s}{P'_B} / \frac{MW_s}{MW_B}$
50% CH ₃ OH	(1) -0.5158	-0.9628
	(2) -0.6160	-0.9872
	(3) -0.9170	-0.9795
50% CH ₃ CN	(1) 0.0866	-0.9033
	(2) -0.8283	-0.8321
	(3) -0.8916	-0.9267

(1) : $k'_B \leq k'_s$ (2) : $k'_B \geq k'_s$ (3) : (1) + (2).

특히 RP-8 결합정지상에서 40% 아세토니트릴과 37% THF의 이동상에서의 상관계수가 급격히 증가한 것을 알 수 있다. 이것은 시료의 머무름을 예측하는 물리화학적 파라미터를 찾는 데 단순 회귀분석 보다는 다변수 회귀분석이 더 강력한 수단이 되며, 유효성이 크기 때문인 것으로 판단된다.

결정계수(coefficient of determination), R^2 는 RP-8, 50% 메탄올 시스템에서 벤젠 일치환체들의 머무름을 극성지표와 분자량으로 예측하는데 약 97% 이상 설명할 수 있다는 것을 알려준다. 그러나 그 이외의 시스템에서는 거의 90% 이상 설명할 수는 있지만, 이 두가지 물리적 파라미터 만으로는 벤젠 일치환체의 머무름을 예측하는데 다소 무리가 있다.

$\log k'_s/k'_B$ 와 치환기 상수(π) 및 분자간 연

Table 6. Multiple regression of relative retentions on polarity index(P') and molecular weight(MW) form several chromatographic systems. $\log k'_s/k'_B = a(P'_s/P'_B) + b(MW_s/MW_B) + c$

Chromatographic system	a	b	c	n	MR^*	R^2
μ -Bondapak C ₁₈						
50% CH ₃ OH	-0.59	0.28	0.45	12	0.9644	0.9301
50% CH ₃ CN	-0.39	0.17	0.33	12	0.9429	0.8891
μ -Bondapak Phenyl						
50% CH ₃ OH	-0.35	0.26	0.20	12	0.9650	0.9312
50% CH ₃ CN	-0.32	0.14	0.23	12	0.9742	0.9491
50% THF	-0.32	0.80	0.28	12	0.9515	0.9054
Lichrosorb RP-8						
50% CH ₃ OH	-0.69	0.54	0.19	6	0.9878	0.9758
40% CH ₃ CN	-0.60	0.32	0.33	6	0.9342	0.8727
37% THF	-0.59	0.28	0.34	6	0.9577	0.9172

*MR=Multiple correlation coefficient.

결지수(χ')의 상관관계. 역상 액체 크로마토그래피의 머무름 메카니즘이 오직 분배에 의한 것이라면 액체-액체 추출에 의한 분배계수가 시료의 머무름을 예측하는데 매우 유용한 자료가 된다.

시료의 머무름과 분배계수의 관계를 다음과 같은 식으로 표시할 수 있다.

$$\log k' = \log P + \log \phi \quad (5)$$

여기서 k' 은 크기인자, P 는 분배계수, ϕ 는 정지상과 이동상의 부피의 비이다.

Melander¹ 등은 ϕ 를 컬럼의 틈새부피(cm^3)에 대한 충전제의 표면적(m^2)의 비로써 나타내었고 Davydov¹⁹ 등은 컬럼의 틈새부피(cm^3)에 대한 충전제의 질량(g)으로 나타내었다. 이것은 일종의 시료의 머무름이 흡착 메카니즘에 의한 것으로 가정한 경우이고, 분배 메카니즘이라고 가정할 경우에는 ϕ 가 컬럼내의 이동상의 부피와 정지상의 부피의 비로 정의된다. 그러나, 간단히 상부피비 $\phi=1$ 로 가정하기도 한다²⁰. Koopmans¹¹ 등은 분배계수 $\log P$ 를 Leo-Hansch fragment 시스템과 Rekker fragment 시스템으로 구하였다. 여기서 벤젠일치환체의 분배계수에서 벤젠의 분배계수를 빼주면 치환기들에 의한 분배계수의 변화를 볼 수 있다.

$$\pi = \log P_S - \log P_B$$

Table 7. Characteristics of stationary phase for data sets on substituent constant(π) and molecular connectivity index(χ')*

Phase number	Bonded phase	Surface coverage ($\mu \text{ mole/m}^2$)
IV, VII, X	C ₈ +TMS	3.4
V, VIII, XI	C ₈	3.3
VI, IX, XII	C ₈	2.4

*reference 23).

여기서 π 값을 치환기 상수라하며, S 및 B 는 벤젠 일치환체 및 벤젠을 나타낸다.

본 연구에서는 Fjuita¹⁶ 등이 구한 치환기 상수(π)를 $\log k'_s/k'_B$ 와 상관관계를 알아보았고, 치환기 상수와 분자간 연결지수와의 다변수 회귀분석을 수행하였다.

이때 이용한 벤젠일치환체들의 $\log k'_s/k'_B$ 값은 I에서 III은 Bakalyar²² 등의 실험값이고, IV에서 XII는 Tanaka²³ 등이 구한 실험값이다. IV에서 VII까지의 시스템은 정지상 및 이동상의 특성의 변화에 따른 선택성의 변화를 본 것이다. 이러한 정지상의 특성을 Table 7에 나타내었다. Table 7에서 phase number는 동일한 정지상에서 세 종류의 이동상을 사용한 것을 번호로 구분한 것이며, 이동상에 대해서는 Table 8에 나타내었다.

I에서 III의 시스템은 벤젠을 기준으로 세가

Table 8. Regression of $\log k'_S/k'_B$ against substituent constant(π) and molecular connectivity index($^1\chi^v$)

Mobile phase	Stationary phase No.	Parameter	Regression coefficient(beta)	MR ^a	SR ^b	n
50% CH ₃ OH	(I) ^d	π	0.50 (0.95)	0.9710	0.9710	9
		$^1\chi^v$	0.10 (0.14)	0.9815	0.2516	
		C ^c	-0.27			
40% CH ₃ CN	(II) ^d	π	0.48 (0.93)	0.9329	0.9329	9
		$^1\chi^v$	-0.31(-0.05)	0.9340	0.0603	
		C	0.14			
37% THF	(III) ^d	π	0.38 (0.96)	0.9170	0.9170	9
		$^1\chi^v$	-0.19(-0.35)	0.9823	-0.2465	
		C	0.37			
50% CH ₃ OH ^e (pH 4.3)	(IV)	π	0.56 (0.97)	0.9774	0.9774	11
		$^1\chi^v$	0.77 (0.10)	0.9825	0.2091	
		C	-0.23			
	(V)	π	0.51 (0.92)	0.9447	0.9447	11
		$^1\chi^v$	0.16 (0.22)	0.9694	0.3224	
		C	-0.23			
(VI)	π	0.43 (0.89)	0.9210	0.9210	11	
	$^1\chi^v$	0.18 (0.28)	0.9614	0.3780		
	C	-0.42				
30% CH ₃ CN (pH 3.5)	VII	π	0.60 (0.93)	0.9394	0.9394	11
		$^1\chi^v$	0.53 (0.06)	0.9414	0.1669	
		C	-0.16			
	VIII	π	0.54 (0.91)	0.9245	0.9245	11
		$^1\chi^v$	0.70 (0.09)	0.9286	0.1918	
		C	-0.19			
IX	π	0.49 (0.90)	0.9107	0.9107	11	
	$^1\chi^v$	0.96 (0.13)	0.9199	0.2321		
	C	-0.23				
25% THF (pH 3.6)	X	π	0.66 (0.95)	0.9516	0.9516	11
		$^1\chi^v$	-0.02(-0.03)	0.9521	-0.1866	
		C	0.02			
	XI	π	0.66 (0.95)	0.9512	0.9512	11
		$^1\chi^v$	-0.02(-0.03)	0.9516	-0.1800	
		C	-0.02			
XII	π	0.61 (0.95)	0.9484	0.9484	11	
	$^1\chi^v$	-0.02(-0.04)	0.9485	-0.1568		
	C	0.01				

^aMR=Multiple correlation coefficient, ^bSR=Simple correlation coefficient, ^cC: Constant of regression coefficient
^d(I), (II), (III): Lichrosorb RP-8, ^ereference Table 7.

지 이동상의 용매강도를 동일하게 유지한 것이고, IV에서 XII의 시스템에서는 에틸렌기의 선택성이 동일하도록 이동상의 조성을 유지시킨 것이다.

Table 8은 I에서 XII까지의 시스템상에서 벤

젠 일치환체들의 $\log k'_S/k'_B$ 와 π 및 $^1\chi^v$ 간의 다변수 회귀분석을 수행한 결과이다. RP-8 결합정지상에서 50% 에탄올 및 37% THF의 이동상에는 상관계수가 비교적 양호하였지만, 40% 아세토나이트릴에서는 앞의 두 시스템에 비해 상관

Table 9. Multiple stepwise regression $\log k'_S/k'_B$ against several physical parameters

Chromatographic systems	Parameter	MR	SR	Significance ($\alpha=0.05$)
μ -Bondapak C ₁₈ , 50% CH ₃ OH	π	0.9410	0.9410	0.000
	P'	0.9930	-0.8919	0.170
	$^1\chi^2$	0.9684	0.1668	0.087
	MW	0.9722	0.5660	0.363
μ -Bondapak C ₁₈ , 50% CH ₃ CN	π	0.9182	0.9182	0.000
	P'	0.9342	-0.8826	0.182
	MW	0.9430	0.5296	0.306
	$^1\chi^2$	0.9460	0.1119	0.562
μ -Bondapak phenyl, 50% CH ₃ OH	π	0.9531		0.000
	$^1\chi^2$	0.9581	0.2475	0.334
	P'	0.9617	-0.8233	0.415
	MW	0.9691	0.6823	0.240
μ -Bondapak phenyl, 50% CH ₃ CN	π	0.9650	0.9650	0.000
	P'	0.9761	-0.9108	0.073
	MW	0.9783	0.5498	0.399
	$^1\chi^2$	0.9788	0.0892	0.718
μ -Bondapak phenyl, 50% THF	P'	0.9278	-0.9278	0.000
	π	0.9573	0.9226	0.037
	$^1\chi^2$	0.9602	0.0229	0.470
	MW	0.9610	0.4229	0.718

성이 떨어지는 것을 볼 수 있다. III에서 VI의 시스템은 C₈ 결합정지상에서 50% 메탄올을 이동상을 사용한 경우이다. 이때 TMS(trimethylsilane)로 미반응된 실란올기를 끝막음 시킨 IV 시스템에서 가장 좋은 상관관계를 보여주었고, 끝막음 되지 않은 V와 C₈ 정지상의 반응 물수를 줄인 VI 시스템에서 상관성이 감소되는 경향을 나타내었다. 이와같은 회귀모델에 대한 각 파라미터의 기여도를 나타내는 베타(beta) 값을 비교하여 보면 IV>V>VI 순으로 베타값의 감소를 보인 반면, 상대적으로 $^1\chi^2$ 에 의한 베타값의 기여도는 반대로 IV<V<VI 순으로 되었다. 이러한 경향은 아세토니트릴(VII~IX 시스템) 및 THF(X~XII 시스템)의 이동상에서도 동일한 경향을 나타내었다. 이것은 결합정지상에서의 머무름 메카니즘은 미반응된 실란올기의 영향을 작게 할수록 분배메카니즘에 가깝게 되며, 정지상의 결합 물수가 작거나 미반응된 실란올기가 end capping 되지 않은 컬럼에서는 분배 및 흡착에 의한 혼합 메카니즘에 가까운 경향을 나타

내는 것으로 판단할 수 있다.

$\log k'_S/k'_B$ 와 P' , MW, π 및 $^1\chi^2$ 의 다단계 회귀분석. C₁₈ 및 phenyl 결합 정지상에서 머무름에 가장 관련 깊은 파라미터를 순서대로 선정하기 위해 극성지표, 분자량, 치환기 상수 및 분자간 연결지수의 네가지 파라미터를 벤젠일치 환체들의 머무름과 관련지어 다단계 회귀분석(multiple stepwise regression analysis)을 수행하였다.

Table 9에는 각 시스템에 따라 파라미터가 채택된 순서로 파라미터를 나열하였고, 채택될 때마다 다변수 상관계수(multiple correlation coefficient), 유의성(significance, P)의 변화를 나타내었고, 단순 상관계수(simple correlation coefficient)도 포함되었다. I에서 IV 시스템에서는 모두 치환기 상수가 먼저 채택되었고 V 시스템(phenyl, 50% THF)에서는 극성지표가 먼저 채택되었다. 또한 두번째 파라미터로서 $\log k'_S/k'_B$ 와 단순상관계수가 큰 극성지표 또는 치환기 상수가 선택되었고, 이러한 두가지 파라미터로서

벤젠일치환체들의 머무름을 90% 이상 예측할 수 있었다. II 시스템 (C₁₈, 50% 아세토니트릴)에서는 단지 87%로 나타났고, III 시스템 (phenyl, 50% 메탄올)에서는 극성지표 보다는 단순 상관 계수가 작은 분자간 연결지수가 먼저 채택되었다. 이것은 극성지표 보다는 분자간 연결지수가 치환기 상수와 더불어 더 큰 다변수 상관계수를 얻기 때문에 다변수 회귀모델에 더 합당한 파라미터인 것으로 채택되었다.

전체적으로는 다변수 상관계수가 0.94에서 0.97까지의 값을 나타내었다. 이러한 네가지 파라미터가 C₁₈ 및 phenyl 결합정지상에서 벤젠일치환체들의 머무름을 설명하기 위해 채택될 때 채택 순서는 치환기 상수, 극성지표, 분자간 연결지수 및 분자량 순이 타당할 것이다. 그러나 파라미터 채택에 따른 이러한 회귀모델에 대한 유의성 (P-value)을 고려하면 네가지 파라미터를 모두 사용한다는 것이 별 의미가 없는 것으로 나타났다. 따라서 두 파라미터 정도를 선택 하든지 또는 다른 새로운 파라미터를 찾아야 할 것으로 생각된다.

사 사 : 이 연구는 1985~1987년도 한국과학 재단 차관연구비로 수행된 것인바 재단에 깊은 감사를 드립니다.

인 용 문 헌

1. W. R. Melander and C. Horváth, In "High-Performance Liquid Chromatography", (C. Horváth Ed.), Vol. 2, Academic Press, New York, 1980.
2. D. Locke, *J. Chromatogr. Sci.*, **12**, 433 (1974).
3. H. Colin and G. Guiochen, *J. Chromatogr.*, **153**, 183 (1978).
4. C. H. Löchmuller and D. R. Wilder, *J. Chromatogr. Sci.*, **17**, 574 (1979).
5. M. J. M. Wells, C. R. Clark and R. M. Patterson, *Anal. Chem.*, **58**, 1625 (1986).
6. T. D. Paolo, L. B. Lier, and L. H. Hall, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 39 (1979).
7. A. J. Richard and L. B. Kier, *ibid.*, **69**, 124 (1980).
8. L. B. Kier and L. H. Hall, *J. Med. Chem.*, **20**, 1631 (1977).
9. L. B. Kier, L. H. Hall, W. J. Murray and M. Randic, *J. Pharm. Sci.*, **64**, 1971 (1975).
10. M. G. Matas and G. F. Pamies, *J. Chromatogr.*, **187**, 1(1980).
11. R. E. Koopmans and R. F. Rekker, *ibid.*, **285**, 267 (1984).
12. T. Hanai and J. Hubert, *J. Chromatogr.*, **290**, 197 (1984).
13. L. Buydens and D. L. Massart, *Anal. Chem.*, **53**, 1990 (1981).
14. L. R. Snyder, *J. Chromatogr.*, **92**, 223 (1974).
15. L. R. Snyder, *J. Chromatogr. Sci.*, **16**, 223 (1978).
16. T. Fujita, J. Iwasa, and C. Hansh, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 5175 (1964).
17. M. Randić, *ibid.*, **97**, 6609 (1975).
18. M. J. M. Wells, C. R. Clark and R. M. Patterson, *J. Chromatogr.*, **235**, 61 (1982).
19. V. Y. Davydov, M. E. Gonzalez, A. V. Kiseiev, and K. Lenda, *Chromatographia*, **14**, 13 (1981).
20. H. Hemetsberger, H. Klar and E. Ricken, *ibid.*, **13**, 227 (1980).
21. D. W. Lee, Y. W. Choi, H. J. Kim, and Y. S. Chung, *J. Kor. Chem. Soc.*, **31**, 55 (1987).
22. S. R. Bakalyar, R. McIlwrick, and E. Roggendorf, *J. Chromatogr.*, **142**, 353 (1977).
23. N. Tanaka, H. Goodell, and B. L. Karger, *ibid.*, **158**, 228 (1978).