Journal of the Korean Chemical Society
2009, *Vol. 53, No. 2*
Printed in the Republic of Korea

다당유도체로 공유결합된 카이랄 칼럼에서 이동상과 분석물질의 용매가 거울상 이성질체의 광학분할에 미치는 영향

황 호 · 이범규† · 백채선 · 이원재*
조선대학교 약학대학 약학과
†조선대학교 자연과학대학 화학과
(2009. 1. 16 접수)

The Effect of Mobile Phase and Dissolving Solvent on the Enantiomer Separation Using a Covalently Immobilized Chiral Column Derived from Polysaccharide Derivative

Hu Huang, Beom-Gyu Lee†, Chae-Sun Baek, and Wonjae Lee*
College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju, Korea
†Department of Chemistry, Chosun University, Gwangju, Korea
(Received January 16, 2009)

요 약. 공유결합된 다당유도체에서 유도된 카이랄 칼럼인 Chiralpak IC을 사용하여 *N*-BOC α-amino acid와 그들의 ethyl ester 유도체의 액체크로마토그래피 거울상 이성질체의 분리를 수행하였다. 다양한 이동상에서 공유결합된 카이랄 칼럼인 Chiralpak IC에서 거울상 이성질체가 분리된 실험결과를 나타내었으며, 광학분할의 선택성과 분리인자가 이동상에 따라 크게 영향을 받았다. 또한 동일한 이동상에서 분석물질의 녹이는 용매에 따라 거울상 이성질체의 분리에 미치는 영향과 분석용 컬럼에서 거울상 이성질체의 분리의 여러 예를 나타내었다.

주제어: 광학 분할, 키랄 컬럼, 아미노산, Chiralpak IC, 액체크로마토그래피

ABSTRACT. Liquid chromatographic enantiomer separation of *N*-tert-butoxycarbonyl (BOC) α-amino acids and their ethyl esters was performed on covalently immobilized chiral column (Chiralpak IC) derived from polysaccharide derivative. The solvent versatility of the covalently immobilized Chiralpak IC in enantiomer separation of *N*-BOC α-amino acid ethyl ester derivatives was shown and the chromatographic parameters of their enantioselectivities and resolution factors were greatly influenced by the nature of the mobile phase. Also the effect on the dissolving solvent for these analytes on the enantiomer separation using the same mobile phase and the examples of preparative enantiomer separation on analytical column were shown.

Keywords: Enantiomer separation, Chiral column, Amino acid, Chiralpak IC, Liquid chromatography

서 론

고성능 액체 크로마토그래피에서 다당류(셀루로스와 아밀로오스)에서 유도된 카이랄 칼럼을 이용하여 많은 거울상 이성질체 화합물이 효과적으로 분리될 수 있음이 보고되어 왔다.[1-3] 이러한 다당류에서 유도된 카이랄 칼럼은 카이랄 선택자로 사용되는 다당류 유도체가 실리카 모체에 코팅되었기 때문에, 칼럼의 안정성 측면에서 본질적인 약점을 갖고 있어 이동상이나 사용하는 용매에 제한이 있다. 그러므로 카이랄 선택자가 코팅된 이러한 유형의 카이랄 컬럼은 다당유도체의 카이랄 선택자를 부분적으로 혹은 전부 녹

이는 할로겐화 용매(디클로로메탄과 클로로포름), 테트라히드로푸란, 에틸 아세테이트 및 아세톤 등 용매는 이동상 뿐만 아니라 소량의 분석물의 용매라도 사용이 제한되며 이러한 분석조건에 따르지 않을 경우 칼럼자체를 망가뜨릴 수 있다.[4-5] 대표적으로 순상 크로마토그래피(normal phase chromatography)에서 코팅 형태의 다당류 유도체를 사용한 카이랄 칼럼에서 표준 이동상으로 알코올 (주로 2-propanol 사용)과 hydrocarbon (주로 hexane 사용)이 혼합용매로 국한되어 사용된다.[3] 코팅 형태의 카이랄 칼럼에서 이동상 용매의 제한은 in-situ상태의 반응분석이나 분석물질의 용해도와 관련된 측면에서, 그리고 preparative separation에서는 매우 큰 단점으로 부각되게 된다.

이러한 이유로 최근들어 다당 유도체인 키랄 선택자의 코팅 형태의 카이랄 칼럼 대신 공유결합시킨 카이랄 칼럼이 개발되어 상품화되었고 범용적인 용매를 사용할 수 있는 장점들을 이용한 광학분할 결과가 보고되고 있다.[4-9] 아주 최근에 키랄선택자인 cellulose tris(3,5-dichlorophenylcarbamate)를 공유결합으로 고정시킨 카이랄 칼럼인 Chiralpak IC가 개발되어 소개되었다.[10,11] 현재까지 Chiralpak IC를 이용한 연구는 몇몇 시료를 대상으로 공유결합으로 고정시킨 카이랄 칼럼끼리 비교연구한 결과가 부분적으로 몇 논문에서 보고되어 있고[11-13] *N*-phthaloyl 또는 fluorenylmethoxycarbonyl α-amino acids, non-steroidal anti-inflammatory drugs 같이 일련의 시료에 대한 광학분할결과는 본 연구팀에 의해서만 발표되어 있다.[14,15] 본 연구에서는 새롭게 개발된 다당유도체에서 유도된 공유결합 타입의 키랄컬럼인 Chiralpak IC에서 이동상과 분석물질의 용매의 변화에 따른 광학분할의 유용성을 보기위하여 카이랄 물질의 선구물질이나 카이랄 중간체로서 매우 유용하게 사용되고 있는 *N*-protected t-butoxycarbonyl (BOC) α-amino acid와 그들의 ethyl ester유도체의 광학분리를 Chiralpak IC를 이용하여 시도하였으며 그 실험결과를 보고하고자 한다.

실 험

실험 기기 및 시약

액체 크로마토그래피 실험은 다음의 기기들로 구성된 HPLC를 사용하여 상온에서 수행하였다. HPLC 구성 기기로 Waters model 1525 binary pump, 20 μL loop를 가진 Rheodyne model 7125 주입기, a dual absorbance detector (Waters 2487 detector)를 사용하였다. 카이랄 칼럼으로는 Chiralpak IC (250 mm L x 4.6 mm I.D. 일본 Daicel Chemical 회사) 칼럼을 사용하였다. HPLC 용매로 사용하는 hexane, iso-propanol (IPA), ethanol (EtOH), tetrahydrofuran (THF)와 methyl t-butyl ether (MTBE)들은 J. T Baker에서 dioxane은 Fluka 회사에서 구입하였다. Trifluoroacetic acid (TFA)와 실험에 사용된 amino acid 등 시약들은 모두 Aldrich 또는 Sigma 회사로부터 구입하였다. 분석물질로서 라세미(racemic)와 L-form의 *N*-BOC protected α-amino acid와ethyl ester 유도체들을 다음과 같은 방법으로 합성하였다.[16,17] 각각의 α-amino acid 10 mmol을 dioxane 수용액과 1 N NaOH 용액에 녹인 다음 $(BOC)_2O$ 11 mmol을 가하여 5시간동안 상온에서 교반시킨 후, 반응액을 dichloromethane로 추출하여 각각의 *N*-BOC α-amino acid를 합성하였다. *N*-BOC α-amino acid 0.5 mmol을 ethanol 10 ml에 녹인 다음 DCC를 0.6 mmol을 가한 후 상온에서 15시간동안 반응시킨 후 dichloromethane 로 추출하여 *N*-BOC α-amino acid ethyl ester를 합성하였다. (*Fig.* 1)

결과 및 고찰

Table 1과 2는 카이랄 선택자가 공유결합으로 지지된 Chiralpak IC 칼럼을 이용하여 여러 가지의 *N*-BOC α-amino acid 와 *N*-BOC α-amino acid ethyl ester들의 분리가 이동상의 종류에 따른 효과에 대한 실험결과를 나타내고 있다. *N*-BOC α-amino acid 와

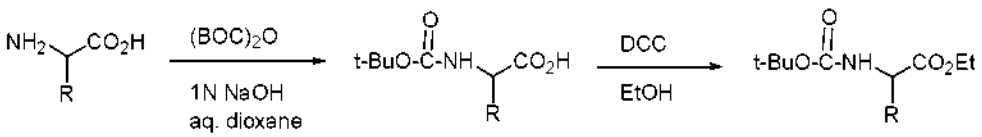

Fig. 1. Preparation of racemic and (L)-*N*-BOC protected α-amino acid and its ethyl ester.

Table 1. Effect of mobile phase on enantiomer separation of *N*-BOC α-amino acids on Chiralpak IC.

Mobile phase	5% IPA/hexane (V/V) with 0.1% TFA				5% THF/hexane (V/V) with 0.1% TFA				10% Dioxane/hexane (V/V) with 0.1% TFA				45% MTBE/hexane (V/V) with 0.1% TFA			
Analyte	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]
Ala	1.11	2.35	0.97	D	1.47	6.92	3.81	D	1.56	7.00	6.69	D	2.05	3.41	7.50	D
Leu	1.27	1.45	1.58	D	1.00	4.91	-	-	1.00	3.57	-	-	1.00	2.67	-	-
Met	1.08	3.72	0.98	L	1.16	10.35	1.95	D	1.16	9.93	2.22	D	1.11	5.09	1.35	D
PG	1.13	3.41	1.84	L	1.04	10.75	0.46	L	1.04	9.41	0.29	L	1.42	2.61	3.86	L
Phe	1.06	3.14	0.80	D	1.05	10.42	0.76	L	1.15	8.78	1.72	L	1.42	4.57	3.81	L
Val	1.00	1.47	-	-	1.29	3.28	4.34	D	1.16	3.51	2.06	D	1.10	1.88	0.83	D

Chromatographic conditions: Flow rate=1 mL/min: Detection UV 220 nm: [a]Selectivity factor. [b]Capacity factor of the first eluted enantiomer. [c]Resolution factor. [d]The absolute configuration of the second eluted enantiomer.

Table 2. Effect of mobile phase on enantiomer separation of *N*-BOC α-amino acid ethyl esters.

Mobile phase	5% IPA/hexane (V/V)				2% IPA/hexane (V/V)				5% THF/hexane (V/V)				50% MTBE/hexane (V/V)			
Analyte	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]
Ala	1.08	1.16	0.48	D	1.12	2.97	0.94	D	1.38	2.48	1.07	L	1.87	1.92	3.50	D
Leu	1.32	0.31	1.24	L	1.35	0.72	1.63	L	1.37	0.87	1.49	L	1.37	0.86	1.49	D
Met	1.42	0.90	2.11	L	1.58	2.36	3.15	L	1.13	1.36	0.86	L	1.50	2.44	2.48	D
PG	1.39	2.27	4.88	L	1.35	4.20	5.47	L	1.77	1.67	3.03	L	1.41	2.04	3.38	L
Phe	1.35	0.96	1.59	L	1.47	2.45	2.51	L	1.00	1.27	-	-	1.12	2.81	0.54	L
Val	1.11	0.40	0.17	L	1.15	0.82	0.81	L	1.10	1.12	0.24	L	1.58	0.74	1.79	D

Chromatographic conditions: Flow rate=1 mL/min: Detection UV 220 nm: [a]Selectivity factor. [b]Capacity factor of the first eluted enantiomer. [c]Resolution factor. [d]The absolute configuration of the second eluted enantiomer.

이들의 ethyl ester유도체의 광학분할의 선택성과 머무름 시간 등 HPLC 파라미터가 이동상의 종류에 따라 영향을 많이 받고 있음을 보여주고 있다.[11] *Table* 1의 *N*-BOC α-amino acid 거울상 이성질체 분리의 경우, IPA와 hexane을 사용하는 표준 이동상에서 보다도 코팅 형태의 칼럼에서 사용할 수 없는 MTBE, dioxane, THF를 사용하는 비표준 이동상에서 더 좋은 분리 결과를 보여주고 있다. 일반적으로는 비표준 이동상보다도 표준 이동상에서 더 좋은 광학분리 결과를 보여준 것으로 보고되어 왔다.[4-5] 특히 0.1% TFA를 포함한 MTBE/hexane의 이동상에서 *N*-BOC leucine을 제외하고는 상당히 높은 분리의 선택성과 (α=1.10-2.05) 좋은 분리인자 (Rs=0.83-7.50)를 보여주었다.

이에 반해, *Table* 2의 *N*-BOC α-amino acid ethyl ester 거울상 이성질체 분리의 경우, 일반적인 경향으로 2% IPA/hexane과 50% MTBE/hexane를 이동상으로 사용했을 때 좋은 광학분할 결과를 나타내었고, 5% THF/hexane를 이동상으로 사용했을 때 가장 낮은 광학분할 결과를 주고 있다. 특히 표준 이동상인 2% IPA/hexane을 사용할 경우, 좋은 선택인자(α=1.12-1.58)와 분리인자 (Rs=0.81-5.47)를 보여주었다. 비표준 이동상으로는 50% MTBE/hexane를 이동상으로 사용했을 때 상당히 좋은 결과를 가져왔는데 그 가운데 *N*-BOC alanine ethyl ester와 *N*-BOC valine ethyl ester의 광학분할에서 각각 가장 큰 선택성과 (α=1.87, 1.58) 가장 높은 분리인자를 (Rs=3.50, 1.79) 보여주었다. 본 연구의 *N*-BOC α-amino acid와 이들의 ethyl ester 분석을 위해 UV 220nm 조건하에서 검출하였는데 *Table* 1, 2에서 사용한 이들 용매 이외에 디클로로메탄, ethyl acetate, dibutyl ether 등을 이동상의 용매로 사용할 때에는 용매의 cut-off와 분석물질의 낮은 UV 감도로 인해 검출되지 않았다. 또한 *N*-BOC α-amino acid의 분리에는 이동상에서 dioxane/hexane을 사용시 UV 220nm 조건하에서 검출이 가능하였으나 *N*-BOC α-amino acid ethyl ester

Table 3. Effect of solute solvent on enantiomer separation of *N*-BOC α-amino acid ethyl esters using 5 % IPA/hexane as a mobile phase.

Solute solvent	IPA				EtOH				THF			
Analyte	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]
Ala	1.08	1.16	0.48	D	1.00	1.18	-	-	1.00	1.14	-	-
Met	1.42	0.90	2.11	L	1.16	0.92	1.70	L	1.84	0.69	n.c.[e]	L
Phe	1.35	0.96	1.59	L	1.13	1.01	1.08	L	1.84	0.70	n.c.[e]	L

Chromatographic conditions: Flow rate=1 mL/min; Detection UV 220 nm; [a]Selectivity factor. [b]Capacity factor of the first eluted enantiomer. [c]Resolution factor. [d]The absolute configuration of the second eluted enantiomer. [e]Not calculable.

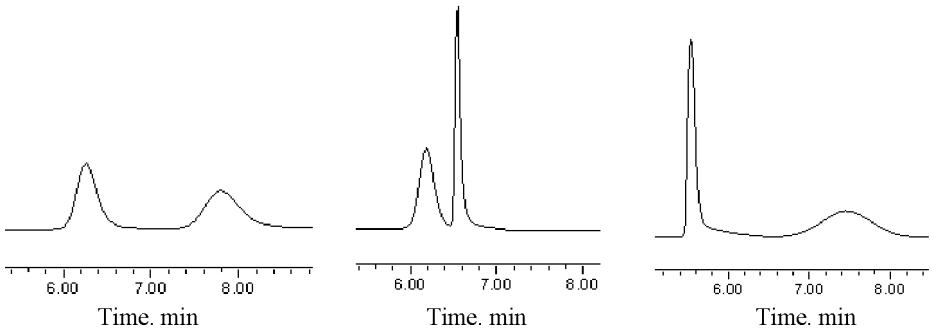

Fig. 2. Chromatograms of enantiomer separation of racemic *N*-BOC methionine ethyl ester (injected amount: 5μg) dissolved in solute solvent (left: IPA, middle: EtOH, right: THF) using 5% IPA/hexane (V/V) as a mobile phase. See Table 3 for chromatographic conditions and results.

의 분리에는 가능하지 않았다. 이동상의 변화시 광학분할한 *N*-BOC α-amino acid와 이들의 ethyl ester의 용출순서를 비교하여 보면 각각 이동상에서의 용출순서들이 이동상의 변화에 따라 항상 동일하게 나타나지 않는 것으로 보아 각각의 이동상에서의 chiral recognition 메커니즘이 동일한 유형으로 진행되지 않는 것으로 여겨진다.[5] *N*-BOC으로 보호된 alanine, valine, leucine의 α-amino acid 로 제한시켰을 때 (이들 시료의 키랄중심에 간단한 알킬그룹만 존재하므로), 이들이 광학분리될 경우 늦게 용출되어 나오는 것은 D-이성질체로 일관성이 있으나 광학분할 선택성에서는 일정한 경향을 찾아보기 어려웠으며 이들 ethyl ester 화합물의 경우에는 더욱 더 뚜렷한 일관성을 보이지 않았다.

Table 3과 *Fig*. 2, 그리고 *Table* 4와 *Fig*. 3-5는 IPA/hexane을 이용하는 표준 이동상에서 분석물질을 녹이는 용매의 종류에 따라 *N*-BOC α-amino acid ethyl ester들의 광학적 분리에 영향을 주는 실험결과와 이것들을 보여주는 대표적인 분리의 크로마토그램이다. *Table* 3에서 보여주는 것처럼, 5% IPA/hexane

Table 4. Effect of solute solvent on enantiomer separation of *N*-BOC α-amino acid ethyl esters using 2 % IPA/hexane as a mobile phase.

Solute solvent	IPA				EtOH				THF			
Analyte	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]	α[a]	k_1[b]	*Rs*[c]	Conf.[d]
Ala	1.12	2.97	0.94	D	1.00	2.13	-	-	1.11	2.96	0.76	D
Met	1.58	2.36	3.15	L	1.12	2.18	0.91	L	1.58	2.50	3.01	L
Phe	1.47	2.45	2.51	L	1.19	2.17	0.78	L	1.47	2.61	2.44	L

Chromatographic conditions: Flow rate=1 mL/min; Detection UV 220 nm [a]Selectivity factor. [b]Capacity factor of the first eluted enantiomer. [c]Resolution factor. [d]The absolute configuration of the second eluted enantiomer. [e]Not calculable.

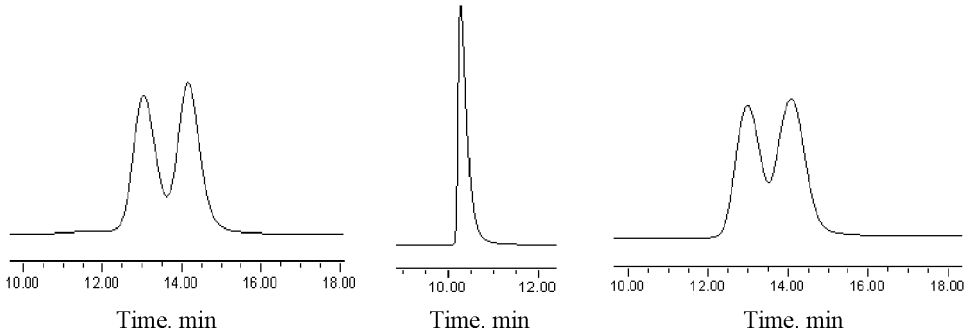

Fig. 3. Chromatograms of enantiomer separation of racemic *N*-BOC alanine ethyl ester (injected amount: 5μg) dissolved in solute solvent (left: IPA, middle: EtOH, right: THF) using 2% IPA/hexane (V/V) as a mobile phase. See Table 4 for chromatographic conditions and results.

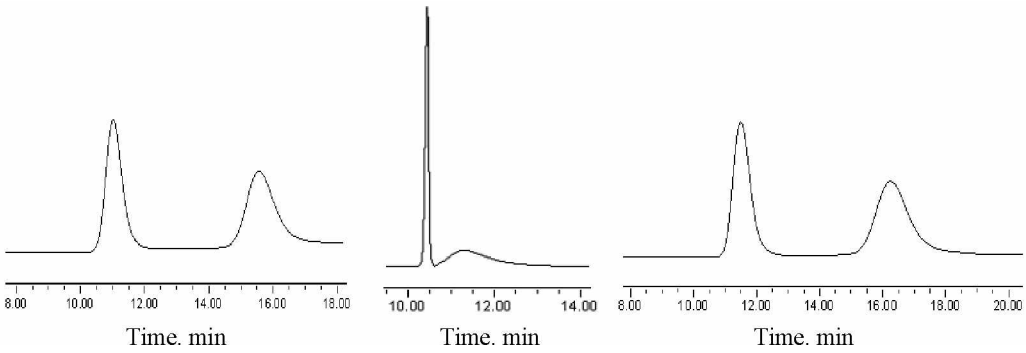

Fig. 4. Chromatograms of enantiomer separation of racemic *N*-BOC methionine ethyl ester (injected amount: 5μg) dissolved in solute solvent (left: IPA, middle: EtOH, right: THF) using 2% IPA/hexane (V/V) as a mobile phase. See Table 4 for chromatographic conditions and results.

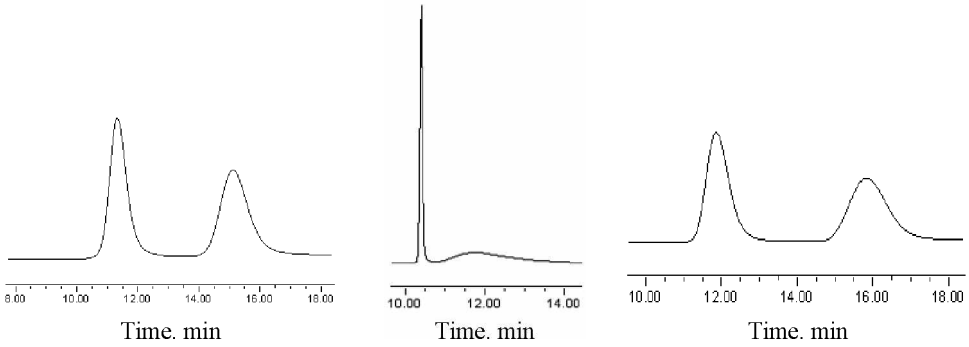

Fig. 5. Chromatograms of enantiomer separation of racemic *N*-BOC phenylalanine ethyl ester (injected amount: 5μg) dissolved in solute solvent (left: IPA, middle: EtOH, right: THF) using 2% IPA/hexane (V/V) as a mobile phase. See Table 4 for chromatographic conditions and results.

을 이용하는 이동상에서 분석물질을 이동상의 용매로 쓰이는 IPA대신 EtOH이나 THF에 녹여 시료를 주입할 경우, 분석물질을 녹이는 용매의 종류가 광학적 분리에 상당히 영향을 미치는 것을 보여주고 있다. IPA/hexane을 이용하는 표준 이동상에서 일반적으로 시료용매로 IPA대신 다른 용매를 사용시, 광학적인 분리가 감소하거나 분리 봉우리 모양에 영향을 미치거나 꼬리끌기 봉우리로 인해 바탕선 분리가 되지않

는 등 부정적인 영향을 나타내었다. 한 예로 *Fig.* 2의 BOC-methionine ethyl ester경우, 5% IPA/hexane을 이용하는 이동상에서 THF를 시료의 용매로 사용할 때가 IPA를 사용하는 때보다 분리의 선택성은 α가 1.42에서 1.84로 증가하여 외형적인 분리는 더 잘 되는 것처럼 보이나 첫번째 피크의 꼬리끌기로 인해 바탕선 분리가 되지 않아 분리인자(Rs)는 계산할 수 없는 결과를 보여주고 있다.

또한 2% IPA/hexane을 이용하는 이동상을 사용하는 *Table* 4와 *Fig.* 3-5에서 보는 바와 같이 IPA/hexane의 이동상에서 분석물질 용매가 IPA에서 THF로 바뀔 때보다는 EtOH로 바뀌었을 때 분석결과에 더 큰 영향을 주고 있다. 그 예로 *Fig.* 3에서 *N*-BOC alanine ethyl ester 분리를 위해 분석물질 용매로 IPA를 사용할 때 어느정도 분리가 되었지만 (α = 1.12, Rs = 0.94), EtOH을 사용할 경우에는 전혀 분리가 되지 않았다. 특히 *Fig.* 4와 *Fig.* 5에서 보여주는 것같이 *N*-BOC methionine ethyl ester와 *N*-BOC phenylalanine ethyl ester 광학적 분리를 위해 분석물질 용매로 이동상에서 사용된 IPA대신 EtOH을 사용할 때, 첫번째로 용출되는 피크는 매우 예리하게 나타나지만 두번째로 용출되는 피크는 매우 완만하게 나타난다. 이러한 현상은 시료 용매로 사용되는 강한 극성의 양성자성 용매인 EtOH에 의한 광학이성질체와의 강한 solvation 효과가 chiral recognition 메커니즘에 직접적인 영향을 주는 것으로 설명되어진다. 실제로 chiral 칼럼의 chiral selector와 분석하고자 하는 분석물질 사이에 일어나는 chiral recognition 과정은 분석물질이 주입될 때 분석물질이 녹이는 용매에 의해 solvation되어 있다가 chiral recognition 메커니즘이 진행되기 전 desolvation되는 것과 동시에 chiral selector와 chiral recognition interaction이 일어나게 되며, 그 이후 각각의 분리된 거울상 이성질체는 다시 용매에 의해 solvation되는 순서로 진행되기 때문에 분석물질 용매로 더 극성인 EtOH의 강한 solvation 효과가 광학분할에 직접적인 영향을 준 것이라 설명된다.

결과적으로 분석물질을 녹이는 용매로 이동상에서 사용되는 용매가 아닌 다른 용매를 사용할 경우, 분석물질과 함께 매우 작은 용매의 양이 주입된다 해도 분석물질을 녹이는 용매가 광학적 분리에 상당히 직접적인 영향을 줄 수 있음을 고려해야 할 것이다. 특히 순상 크로마토그래피의 경우 본 실험의 경우와 같이 이동상이 2-5% IPA/hexane 같이 비극성 성질이 매우 강한 경우에 이러한 현상이 더욱 크게 나타날 것으로 생각된다. 분석물질을 녹이는 용매가 광학적인 분리에 미치는 영향을 최소화 하기 위해서는 가능하면 분리에서 사용하는 이동상을 분석물질을 녹이는 용매로 쓰는 것이 가장 이상적이다. 그러나 시료의 용해도의 한계 때문에 실제적인 상황에서 그렇게 되기는 어렵기 때문에 이동상에서 사용하는 alcohol같은 용해도가 좋은 극성 용매를 사용하되 주입하는 용매의 양을 최소한으로 하도록 하는 것이 바람직하다. 이러한 측면은 asymmetric synthesis의 in-situ상태의 반응분석이나 on-line 상의 반응분석의 사용되는 용매가 이동상에서 사용하는 용매와 많이 다르기 때문에 in-situ나 on-line 상의 반응에서 직접 분리분석을 하는 경우에는 상당히 유의할 필요가 있다.[5,15]

Fig. 6은 2% IPA/hexane 이동상에서 라세미 혼합물인 *N*-BOC methionine acid ethyl ester 시료를 녹이는 용매로서 IPA를 이용하여 Chiralpak IC 분석용 컬럼에서(250 mm L x 4.6 mm I.D.) 실험한 분취형 광학분할 크로마토그램(preparative type enantiomer separation chromatogram)이다. 5 μg, 25 μg, 50 μg, 75 μg, 100 μg의 시료의 양에 따른 각각의 분취형 크로마토그램에서 보는 바와 같이 분석용 컬럼에서 1회 주입으로 75 μg까지는 어느 정도 광학순도가 높은 물질을 얻을 수 있으리라 기대한다. 그러나 위의 분석조건과 다르게 IPA대신 EtOH이나THF를 시료의 용매로 사용하거나 5% IPA/hexane 이동상에서는 위에서의 광학적 분리보다는 좋지 못한 분취형 분리를 보여주었다. 카이랄 미량시료를 분석하는 경우보다 분취

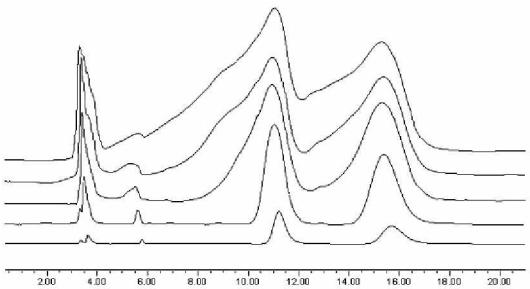

Fig. 6. Chromatograms of preparative enantiomer separation of racemic *N*-BOC methionine ethyl ester [injected amount: 5μg(the bottom), 25μg, 50μg, 75μg, 100μg(the top)] dissolved in solute solvent of IPA using 2% IPA/hexane (V/V) as a mobile phase.

목적의 카이랄 제조용 분리의 경우가 시료의 양이 더욱 증가되므로 이동상에서 사용되는 용매의 조건 또는 이동상과 다른 용매의 사용 여부, 시료 농도에 따른 영향 등으로 시료용 용매의 역할이 분리에 더 크게 작용되어질 것으로 예상되므로 이러한 점들을 고려해야 할 것이다.

결 론

본 연구에서는 최근 소개된 다당유도체에서 유도된 공유결합 형태의 카이랄 칼럼인 Chiralpak IC에서 *N*-BOC α-amino acid와 이들의 ethyl ester유도체의 광학이성질체의 분리에 관한 액체크로마토그래피 연구를 수행하였다. Chiralpak IC는 공유결합 형태의 카이랄 칼럼이므로 이동상 용매의 제한을 받지 않기 때문에 in-situ상태 또는 on-line 상의 반응에서 광학순도를 측정하는 직접적인 분리 분석이 가능하므로 코팅 형태의 카이랄 칼럼보다 훨씬 유용한 것을 알 수 있다.[4,5,15] 표준 이동상인 IPA/hexane과 다른 이동상들이 분리에 미치는 결과를 비교하였으며, IPA/hexane의 이동상에서 분석물질을 녹이는 용매가 분리에 미치는 영향과 분석용 컬럼에서 분취분석에 관련된 결과에 대해서도 논의하였다.

인 용 문 헌

1. Yashima, E. *J. Chromatogr. A*, **2001**, *906*, 105-125.
2. Okamoto, Y.; Yashima, E. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, *37*, 1020-1043.
3. Application guide for chiral HPLC selection; 3rd Ed., Daicel Chemical Industries, Ltd.
4. Ali, I.; Aboul-Enein, H. Y. *J. Sep. Sci.*, **2006**, *29*, 762-769.
5. Ghanem, A. J. *J. Sep. Sci.*, **2007**, *30*, 1019-1028.
6. Zhang, T.; Kientzy, C.; Franco, P.; Ohnishi, A.; Kagamihara, Y.; Kurosawa, H. *J. Chromatogr. A*, **2005**, *1075*, 65-75.
7. Zhang, T.; Nguyen, D.; Franco, P.; Murakami, T.; Ohnishi, A.; Kurosawa, H. *Anal. Chim. Acta*, **2006**, *557*, 221-228.
8. Jin, J. Y.; Lee, W.; Park, J. H.; Ryoo, J. J. *J. Liq. Chrom. & Rel. Tech.*, **2006**, *29*, 1793-1801.
9. Jin, J. Y.; Bae, S. K.; Lee, W. *Chirality*, **2009**, in press.
10. CHIRALPAK IC, Analytical HPLC applications; Daicel Chemical Industries, Ltd, 2007.
11. Zhang, T.; Nguyen, D.; Franco, P.; Isobe, Y.; Michishita, T.; Murakami, T. *J. Pharma. Biomed. Anal.*, **2008**, *46*, 882-891.
12. Zhang, T.; Nguyen, D.; Franco, P. *J. Chromatogr. A*, **2008**, *1191*, 214-222.
13. Franco, P.; Zhang, T. *J. Chromatogr. B*, **2008**, *875*, 48-56.
14. Jin, J. Y.; Lee, W.; Baek, C. S. *Chin. J. Anal. Chem.*, **2008**, *36*, 1207-1211.
15. Jin, J. Y.; Lee, W. *Bull. Kor. Chem. Soc.*, **2008**, *29*, 491-493.
16. Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*; 3rd Ed., John Wiley & Sons: New York, 1999.
17. Bodansky, M.; Bodansky, A. *The Practice of Peptide Synthesis*; Springer: New York, 1984.