

고성능 액체 크로마토그래피에서 키랄 크라운 에테르로부터 유도된 키랄 고정상을 이용한 광학분리의 비교

황 호, 전소희, 김지연¹, 이원재*

Comparative Enantiomer Separation on Chiral Stationary Phases Derived from Chiral Crown Ether by HPLC

Hu Huang, So Hee Jeon, Ji Yeon Kim¹, and Wonjae Lee*

접수: 2012년 8월 8일 / 게재승인: 2012년 8월 25일
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Comparative liquid chromatographic enantiomer separation of α -amino acids, their esters and primary amino compounds was performed using two chiral stationary phases (CSPs) prepared by covalently bonding (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid (18-C-6-TA) of the same chiral selector. In general, the separation factors and resolution factors for these analytes on CSP 1 were greater than on CSP 2, while these capacity factors on CSP 2 were quite greater than on CSP 1. Except for leucine methyl ester and phenylalanine methyl ester, the elution orders of all analytes including α -amino α -alkyl acids and phenylglycine alkyl esters on CSP 1 are identical to those on CSP 2. This study showed that different connecting structures for these two CSPs might influence their ability to resolve the analytes depending on their structures related to the chiral recognition mechanism.

Keywords: Enantiomer separation, Chiral stationary phase, (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid, Chiral crown ether

1. 서론

본 연구팀에서 키랄 크라운 에테르인 (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid (18-C-6-TA)를 키랄 선택자로 하여 공유결합 시킨 키랄 고정상 CSP 1을 개발하여 광학분리 한 연구결과를 발표하였다 (Fig. 1) [1,2]. 이 키랄 고정상은 아미노산을 포함한 1차 아미노기를 가지는 라세미 화합물의 광학분리에 매우 효과적으로 이용되었다 [1-10]. 비슷한 시기에 일본의 Machida group에서도 (+)-18-C-6-TA를 공유결합시킨 키랄 고정상을 제조하여 광학분리 한 연구결과가 발표되었다 [11,12]. 동일한 키랄 선택자인 (+)-18-C-6-TA로부터 출발하여 이를 공유결합시킨 크라운 에테르 형태의 키랄 컬럼을 두 연구팀에서 독자적으로 각각 제조하였지만 이를 위한 화학적 제조방법이 서로 달라 광학분리를 위한 실제적인 키랄 고정상의 화학적 구조는 다르다. 이보다 중요한 것은, 본 연구팀에서 개발한 키랄 고정상인 CSP 1에서의 광학분리가 Machida group에서 개발한 키랄 고정상에서의 광학분리보다 훨씬 우수하게 보고되었다 [7,11]. 한 예로, 1차 아미노기를 가진 모든 α -amino acid 들이 CSP 1에서 성공적인 광학분리를 보였지만 CSP 2에 의해서는 전혀 광학분리가 되지 않는 경우도 여러 개 있었고 광학분리된 경우라 할 지라도 CSP 1에 비해 좋지 않아 separation factor가 낮게 나타났다. 키랄선택자 18-C-6-TA로부터 출발하여 실리카 젤에 공유결합시켜 개발된 이 chiral HPLC column이 세계 최초로 상품화되어 현재 (+)-18-C-6-TA로부터 유도된 ChiroSil RCA (+)와 (-)-18-C-6-TA로부터 유도된 ChiroSil SCA (-)라는 이름으로 시판되고 있다 [8,13]. 두 키랄선택자가 서로 enantiomer인 관계로 ChiroSil RCA (+)와 ChiroSil SCA (-)

조선대학교 약학대학 약학과
College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju, Korea
Tel: +82-62-230-6376, Fax: +82-62-222-5414
e-mail: wlee@chosun.ac.kr

¹조선대학교 식품의약학과
¹Department of Food and Drug, Chosun University, Gwangju, Korea

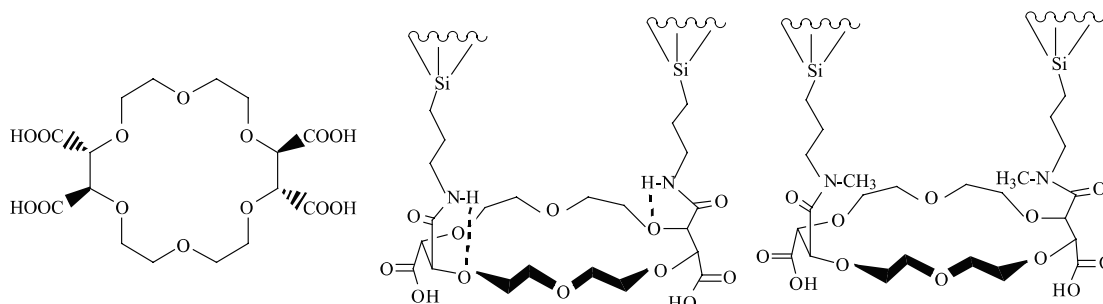


Fig. 1. The structures of (+)-18-C-6-TA (left) and its derived CSP 1 (middle) and CSP 2 (right). Two intramolecular hydrogen bondings (dotted line) between the amide N-H hydrogen of CSP 1 and the ether oxygens of the crown ether moiety of the CSP 1 were shown.

를 각각 사용함으로써 용리순서 (elution order)를 원하는 대로 바꿀 수 있는데 이는 광학순도를 측정하는 실제적인 분석과정에서 매우 유용한 장점이 있다 [8,14]. CSP 1의 키랄 인지 효율성을 높이기 위해 (+)-18-C-6-TA를 기초로 한 개선된 키랄 고정상 개발을 위한 여러 노력이 진행되었는데 그 중에서 CSP 1의 aminopropyl silica gel에서의 두 개의 amide tethers의 N-H 대신 N-CH₃로 치환된 CSP 2가 개발되었다 (Fig. 1) [15]. 본 연구에서는 α -amino acids, α -amino acid esters, chiral amines 등을 분석물질로 하여 (+)-18-C-6-TA로부터 유도된 키랄 고정상인 CSP 1, CSP 2를 이용한 광학분리를 비교 수행하여 이에 관련된 chiral recognition mechanism에 대한 연구결과를 보고하고자 한다.

2. 실험 기기 및 시약

액체 크로마토그래피 실험은 다음의 기기들로 구성된 HPLC를 사용하여 상온에서 수행하였다. Agilent 1100 HPLC system은 HP1100 series quaternary pump, HP1100 series auto-sampler, HP1100 series Diode Array detector를 사용하였다. HPLC 이동상 용매와 시약으로 methanol은 Fisher Scientific (Pittsburgh, PA)에서, perchloric acid는 일본 Junsei Chemical 회사로부터 구입하였다. 분석물질은 모두 Aldrich (Milwaukee, WI), Sigma (St. Louis, Missouri), Advanced Chem Tech (Louisville, KY) 회사로부터 구입하였다. Fig. 1에서 보여주는 바와 같이, 본 연구에서 (+)-(18-crown-6)-2,3,11, 12-tetracarboxylic acid (18-C-6-TA)으로부터 유도된 Chirosil RCA (250 mm L × 4.6 mm I.D., 5 μ m, 대전, RS Technologies) (CSP 1)과 Chirosil N-methyl RCA (250 mm L × 4.6 mm I.D., 5 μ m, 대전, RS Tech Corp) (CSP 2)를 사용하였다. 이동상 용매로 perchloric acid를 acid additive로 사용한 100% methanol 또는 90% methanol/water (V/V)을 사용하였고 유속은 1 mL/min 검출과장으로 UV 230 nm에서 실험하였다.

3. 결과 및 고찰

Table 1-3은 여러 종류의 α -amino acid와 이들의 methyl ester

그리고 키랄 1차 아민 화합물들을 동일한 HPLC 분리조건으로 CSP 1과 CSP 2에서 광학분리한 결과이다. 먼저 Table 1을 보면 α -amino acid를 분석물질로 하여 전체적으로 CSP 1과 CSP 2 모두에서 좋은 광학분리 결과를 보여주었다. 용량인자(capacity factor)는 모든 α -amino acid 분석물질에서 CSP 1보다 CSP 2에서 상당히 크게 나타났지만, 분리계수(α , separation factor)는 CSP 1에서 CSP 2보다 조금씩 크게 나타나고 분리도(Rs, resolution factor)는 serine과 threonine을 제외한 모든 분석물질에서 CSP 1이 CSP 2보다 조금씩 크게 나타났다. Table 1에서 보여주고 있는 것처럼, CSP 1과 CSP 2에서의 용리순서는 같게 관찰된다. 그래서 serine과 threonine을 제외하고는 모든 분석물질의 용리순서는 D-이성질체가 두 번째로 용리되는 것으로 나타났다. 하지만 serine과 threonine의 경우는 반대로 L-이성질체가 두 번째로 용리되었다. 다른 분석물질과 달리 serine과 threonine만 정반대의 용리순서를 보이는 것은 이들 물질의 β -carbon 위치에 hydroxy group이 존재하기 때문으로 보아진다 [8]. 이들 분자의 hydroxy group이 18-C-6-TA의 chiral selector와 수소 결합을 함으로써 앞의 경우와 다른 키랄인지 mechanism이 작용하기 때문으로 설명할 수 있다 [16,17]. Fig. 2는 대표적인 chromatogram으로, 같은 분석조건하에서 CSP 1과 CSP 2에서의 phenylglycine의 광학분리를 보여주고 있다.

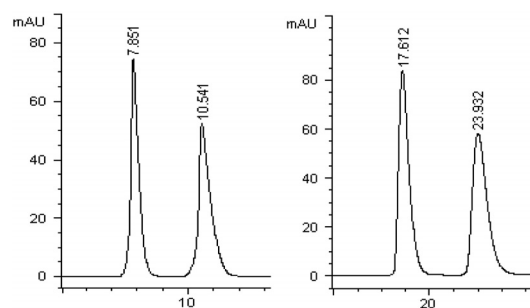


Fig. 2. Typical chromatograms of enantiomer separation of phenylglycine on CSP 1 (left) and CSP 2 (right) (the first peak: L-isomer, the second peak: D-isomer) Mobile phase: 100% methanol with 10 mM perchloric acid; Flow rate = 1 mL/min; Detection UV 230 nm (Injection amount 1 μ g).

Table 2의 여러 종류의 α -amino acid methyl esters의 광학분리결과도 전체적으로 Table 1의 결과와 비슷한 경향을

나타내었다. 용량인자는 CSP 1보다 CSP 2에서 크게 나타났고, 분리계수와 분리도에서는 몇 개의 예외를 제외하고는 CSP 1에서가 CSP 2에서 보다 대체적으로 조금씩 크게 나타났다. 그런데 Table 1의 경향과 다르게 leucine methyl ester와 phenylalanine methyl ester는 CSP 1에서 전혀 광학분리되지 않았지만 CSP 2에서는 광학분리가 되었다. 또한 threonine methyl ester와 serine methyl ester는 분리계수와 분리도가 CSP 2에서 더 크게 나타났다. 또한 용리순서 측면에서도 흥미로운 결과를 보여주고 있다. Table 2에서 CSP 1을 사용한 α -amino acid methyl esters 광학분리의 용리순서는 Table 1에서 CSP 1을 사용한 α -amino acid 광학분리의 것과 동일하다. 그러나 앞에서 언급하였던 것처럼, Table 2에서 예외적으로 CSP 2에서 CSP 1보다 더 좋은 광학분리를 보여준 leucine methyl ester와 phenylalanine methyl ester의 용리순서는 threonine methyl ester와 serine methyl ester 경우와 같이 반대의 용리순서를 보여 L-이성질체가 두 번째로 용리되었다. 분석물질의 구조가 변화될 때 용리순서가 반대로 바뀌는 것은 이들 화합구조의 변화시 키랄 인지 메커니즘에 영향을 주기 때문으로 보아지는데 그 이유에 대한 추가적인 연구가 필요하리라 본다. 또한 몇 개의 예외가 있긴 하지만 전체적으로 Table 1에서의 α -amino acid 광학분리가 Table 2에서의 α -amino acid methyl ester 보다 대체적으로 크게 나타나며 용량인자도 후자의 경우가 좀 더 크게 나타난다. Table 3의 키랄 1차 아민 화합물의 광학분리의 경우도 Table 1,2의 전체적인 경향과 비슷하다. 그래서 용량인자는 CSP 1보다 CSP 2에서 크게 나타나지만 분리계수와 분리도는 alanine- β -naphthylamide를 제외하고는 CSP 1에서 CSP 2보다 약간 크게 나타난다.

Table 1. Comparative enantiomer separation of α -amino acids on CSP 1 and CSP 2

Column Analyte	CSP 1				CSP 2			
	α	k'_1	R_s	Conf. ^a	α	k'_1	R_s	Conf. ^a
Alanine	1.46	1.97	1.18	D	1.38	3.88	1.17	D
Arginine	1.79	2.39	2.48	D	1.77	8.52	2.32	D
Aspartic acid	1.66	1.40	2.54	D	1.58	2.93	2.48	D
Glutamic acid	1.68	1.14	2.06	D	1.57	3.19	1.98	D
Glutamine	1.45	0.91	1.83	D	1.43	2.41	1.80	D
Isoleucine	1.61	0.27	1.56	D	1.37	0.84	1.45	D
Leucine	1.46	0.50	1.42	D	1.30	1.44	1.18	D
Norleucine	1.72	0.68	1.80	D	1.54	1.60	1.37	D
Norvaline	1.71	0.68	1.57	D	1.57	1.51	1.46	D
Methionine	1.48	1.41	2.94	D	1.37	4.54	2.65	D
Phenylalanine	1.46	0.63	2.11	D	1.32	1.88	1.92	D
Phenylglycine	1.58	1.45	3.74	D	1.42	4.62	2.58	D
Serine	2.17	0.72	2.45	L	2.07	2.65	3.61	L
Threonine	1.45	0.19 ¹⁾	0.74	L	1.42	0.42 ¹⁾	1.09	L
Valine	1.85	0.43 ¹⁾	1.85	D	1.68	1.00 ¹⁾	1.58	D
Aminobutanoic acid	1.81	0.60	1.63	D	1.56	1.76	1.42	D
Aminocarproic acid	1.77	0.70	1.79	D	1.68	1.41	1.72	D

Mobile phase: 100% methanol with 10 mM perchloric acid, 1) 100% methanol with 20 mM perchloric acid Flow rate = 1 mL/min; Detection UV 230nm; α separation factor, R_s resolution factor. ^aThe configuration of the second eluted isomer.

Table 2. Comparative enantiomer separation of α -amino acid methyl esters on CSP 1 and CSP 2

Column Analyte	CSP 1				CSP 2			
	α	k'_1	R_s	Conf. ^a	α	k'_1	R_s	Conf. ^a
Alanine	1.38	2.13	0.93	D	1.35	4.17	0.76	D
Asparagine	1.72	0.62 ¹⁾	2.74	D	1.51	1.22 ¹⁾	2.58	D
Aspartic acid	1.64	0.64 ¹⁾	1.50	D	1.47	1.41 ¹⁾	1.37	D
Leucine	1.00	0.99	-	-	1.22	4.57	0.52	L
Norleucine	1.36	1.08	1.24	D	1.29	2.28	1.01	D
Norvaline	1.30	1.07	1.10	D	1.27	2.61	1.04	D
Methionine	1.29	1.97	0.90	D	1.13	6.90	0.46	D
Phenylalanine	1.00	2.07	-	-	1.15	8.17	1.14	L
Phenylglycine	3.31	2.31	8.60	D	3.04	5.37	7.44	D
Serine	2.18	1.18	2.93	L	2.23	3.22	3.03	L
Threonine	1.76	0.17	1.14	L	2.04	0.55	1.89	L
Valine	1.75	0.29	0.83	D	1.19	2.20	0.60	D

Mobile phase: 100% methanol with 10 mM perchloric acid, 1) 90% methanol/water (V/V) with 10 mM perchloric acid; Flow rate = 1 mL/min; Detection UV 230 nm; α separation factor, R_s resolution factor. ^aThe configuration of the second eluted isomer.

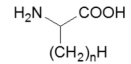
Table 1-3에서 보여주고 있는 바와 같이, CSP 1에서 보다 CSP 2에서 분리계수 뿐만 아니라 용량인자가 대체적으로 크게 나타난 이유는 CSP 1이 가지고 있는 분자구조에 기인한 것으로 보인다. 먼저 CSP 2에서 보다 CSP 1에서 분리계수가 약간 크게 나타난 이유는 Fig. 1의 CSP 1 구조에서 보여주고 있는 것과 같이, 실리카겔에 연결된 amide tether의 N-H와 crown ether oxygens 간의 intramolecular hydrogen bonding interaction으로 인하여 chiral selector분자의 freedom이 줄어들게 되는데 이것이 에너지상으로 CSP 2에서 광학분리하는 것보다 더 유리하게 작용된 것으로 보인다. 또한 CSP 1에서 보다 CSP 2에서의 용량인자가 큰 이유는, CSP 1의 경우 구조자체에서 이미 형성된 intramolecular hydrogen bonding interaction으로 인해 crown ether oxygen들과 분석물질의 NH_3^+ group간의 tripod 형태의 intermolecular hydrogen bonding interaction이 방해받기 때문에 빨리 용리되는 것으로 설명되어진다 (Fig. 1) [16,17]. 키랄 고정상의 실리카겔에 연결된 amide tether인 CSP 1의 N-H에서 CSP의 N-CH₃로 바뀌는 것만으로도 chiral recognition mechanism과 관련되어 용량인자는 물론 광학분리 전체에 영향을 미치는 것으로 보아진다.

Table 3. Comparative enantiomer separation of primary chiral amine compounds on CSP 1 and CSP 2

Column Analyte	CSP 1				CSP 2			
	α	k'_1	R_s	Conf. ^a	α	k'_1	R_s	Conf. ^a
Alanine- β -naphthylamide	1.13	9.19	1.15	R	1.22	15.38	1.76	R
α -Methylbenzylamine	1.30	4.57	1.41	S	1.26	10.13	1.21	S
α -Methyltryptamine	1.05	3.53	0.20	-	1.00	8.12	-	-
1-(1-Naphthyl)ethylamine	1.19	3.24	0.99	R	1.12	8.69	0.78	R
Norephedrine	1.07	1.89	0.36	1S,2R	1.07	3.93	0.35	1S,2R
5-Hydroxytryptophan	1.29	1.87	1.97	R	1.29	3.28	1.81	R

Mobile phase: 100% methanol with 10 mM perchloric acid; Flow rate = 1 mL/min; Detection UV 230 nm; α separation factor, R_s resolution factor. ^aThe configuration of the second eluted isomer.

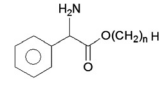
Table 4. Comparative enantiomer separation of α -amino α -alkyl acids on CSP 1 and CSP 2



Analyte	CSP 1				CSP 2			
	n	α	k' ₁	Rs	Conf. ^a	α	k' ₁	Rs
1	1.46	1.97	1.18	D	1.38	3.88	1.17	D
2	1.81	0.60	1.63	D	1.56	1.76	1.42	D
3	1.71	0.68	1.57	D	1.54	1.60	1.37	D
4	1.72	0.68	1.80	D	1.57	1.51	1.46	D
6	1.77	0.70	1.79	D	1.68	1.41	1.72	D

Mobile phase: 100% methanol with 10 mM perchloric acid; Flow rate = 1 mL/min; Detection UV 230 nm; α separation factor, Rs resolution factor. ^aThe configuration of the second eluted isomer.

Table 5. Comparative enantiomer separation of phenylglycine alkyl esters on CSP 1 and CSP 2



Analyte	CSP 1				CSP 2			
	n	α	k' ₁	Rs	Conf. ^a	α	k' ₁	Rs
1	3.31	2.31	8.60	D	3.04	5.37	7.44	D
2	3.31	2.11	7.80	D	3.15	4.68	7.30	D
4	3.35	2.22	7.42	D	3.24	4.68	7.14	D
5	3.44	1.92	7.13	D	3.24	4.44	6.99	D
6	3.47	1.93	6.85	D	3.34	4.22	6.72	D
8	3.49	1.73	6.64	D	3.39	3.93	6.58	D

Mobile phase: 100% methanol with 10 mM perchloric acid; Flow rate = 1 mL/min; Detection UV 230 nm; α separation factor, Rs resolution factor. ^aThe configuration of the second eluted isomer.

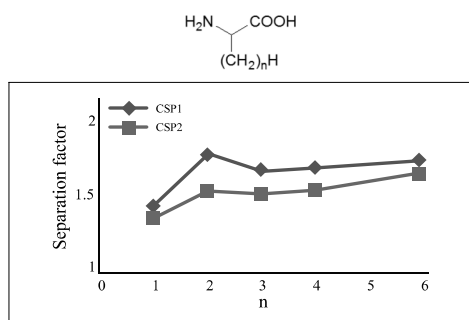


Fig. 3. Separation factor versus the number of alkyl groups of α -amino α -alkyl acids on CSP 1 and CSP 2.

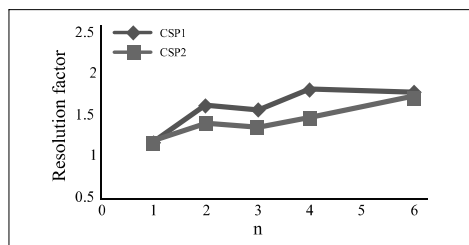


Fig. 4. Resolution factor versus the number of alkyl groups of α -amino α -alkyl acids on CSP 1 and CSP 2.

Table 4,5는 α -amino α -alkyl acid와 phenylglycine alkyl ester 분석물질을 대상으로 CSP 1과 CSP 2에서 광학분리한 결과이다. Table 4와 Fig. 3,4에서 α -amino α -alkyl acid의 alkyl group이 증가함에 따라 분리계수와 분리도가 아주 조금씩 증가하는 경향을 보여주고 있다. Table 5와 Fig. 5,6에서는 phenylglycine alkyl ester의 alkyl group이 증가함에 따라 분리계수는 아주 작게 증가하지만 분리도는 감소하는 경향을 보여주고 있다. Table 4,5에서도 Table 1,2에서 보여주고 있는 것과 동일한 경향을 보여주고 있어 전체적으로 CSP 1에서의 분리계수와 분리도 값이 CSP 2의 값보다 약간씩 크게 나타난다.

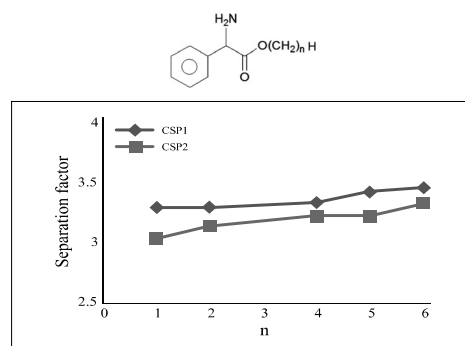


Fig. 5. Separation factor versus the number of alkyl groups of phenylglycine alkyl esters on CSP 1 and CSP 2.

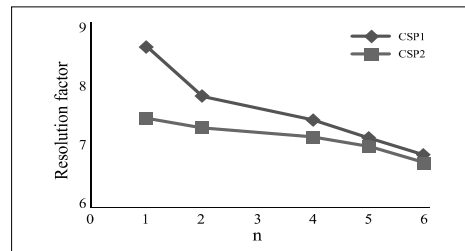


Fig. 6. Resolution factor versus the number of alkyl groups of phenylglycine alkyl esters on CSP 1 and CSP 2.

4. 결론

본 연구에서 동일한 키랄 크라운 에테르의 키랄선택자 (+)-18-C-6-TA로부터 유도된 키랄 고정상 CSP 1과 CSP 2를 이용하여, 아미노 그룹을 포함한 α -amino acids, α -amino acid esters, chiral amines 등에 대한 광학분리 실험을 수행하였고, 이에 관련된 키랄분리 메커니즘에 대해 논의하였다. 일반적으로 CSP 1에서 광학분리 결과가 CSP 2에서보다 조금씩 크게 나타나고, 용량인자의 경우는 반대로 CSP 2에서 상당히 크게 나타나는데 그 이유는 CSP 2와 달리 CSP 1이 가지고 있는 분자구조에 기인한 것으로 여겨진다. 키랄고정상 구조의 특성상 CSP 1에서 intramolecular hydrogen bonding interaction이 형성됨으로 chiral recognition mechanism에 영향을 미치는 것으로 보여진다. 본 연구와 같은 키랄분리 연구를 통하여 효율성이 더 좋은 키랄 크라운 에테르 구조를 가진 키랄

고정상이 개발되기를 기대한다.

감사

이 논문은 2012학년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

References

- Hyun, M. H., J. S. Jin, and W. Lee (1998) A new HPLC chiral stationary phase for the direct resolution of racemic quinolone antibacterials containing a primary amino group. *Bull. Kor. Chem. Soc.* 19: 819-821.
- Hyun, M. H., J. S. Jin, and W. Lee (1998) Liquid chromatographic resolution of racemic amino acids and their derivatives on a new chiral stationary phase based on crown ether. *J. Chromatogr. A.* 822: 155-161.
- Hyun, M. H., J. S. Jin, and W. Lee (1999) Liquid chromatographic resolution of racemic amines and amino alcohols on a chiral stationary phase derived from crown ether. *J. Chromatogr. A.* 837: 75-82.
- Hyun, M. H., S. C. Han, J. S. Jin, and W. Lee (2000) Separation of the stereoisomers of racemic fluoroquinolone antibacterial agents on a crown-ether-based chiral HPLC stationary phase. *Chromatographia.* 52: 473-476.
- Hyun, M. H., S. C. Han, Y. J. Cho, J. S. Jin, and W. Lee (2002) Liquid chromatographic resolution of gemifloxacin mesylate on a chiral stationary phase. *Biomed. Chromatogr.* 16: 356-360.
- Lee, W., C.-S. Baek, and K. Lee (2002) Chromatographic enantiomer separation of diphenylalanine on chiral stationary phases derived from chiral crown ethers. *Bull. Kor. Chem. Soc.* 23: 1677-1679.
- Lee, W., J. Y. Jin, and C.-S. Baek (2005) Comparison of enantiomer separation on two chiral stationary phases derived from (+)-18-crown-6-2,3,11,12-tetracarboxylic acid of the same chiral selector. *Microchem. J.* 80: 213-217.
- Jin, J. Y., W. Lee, and M. H. Hyun (2006) Development of the antipode of the covalently-bonded crown ether type chiral stationary phase for the advantage of the reversal of elution order. *J. Liq. Chrom. & Rel. Tech.* 29: 841-848.
- Jin, J. Y. and W. Lee (2007) Liquid chromatographic enantiomer resolution of N-hydrazide derivatives of 2-aryloxypropionic acids on a crown ether derived chiral stationary phase. *Chirality.* 19: 120-123.
- Jin, J. Y., C.-S. Baek, and W. Lee (2007) Development of a validated HPLC method for the simultaneous determination of D- and L-thyroxine in human plasma. *Bull. Kor. Chem. Soc.* 28: 1070-1072.
- Machida, Y., H. Nishi, K. Nakamura, H. Nakai, and T. Sato (1998) Enantiomer separation of amino compounds by a novel chiral stationary phase derived from crown ether. *J. Chromatogr. A.* 805: 85-92.
- Machida, Y., H. Nishi, and K. Nakamura (1998) Nuclear magnetic resonance studies for the chiral recognition of the novel chiral stationary phase derived from 18-crown-6 tetracarboxylic acid. *J. Chromatogr. A.* 810: 33-41.
- RS Thech, Product, Chromatography, Chirozil. <http://www.rstechcorp.com>
- Jeon, S. H. and W. Lee, (2010) Monitoring of the optical purity for levothyroxine sodium in pharmaceuticals using crown ether derived chiral columns. *KSBB J.* 25: 449-452.
- Hyun, M. H., Y. J. Cho, J. A. Kim, and J. S. Jin (2003) Preparation and application of a new modified liquid chromatographic chiral stationary phase based on (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid. *J. Chromatogr. A.* 984: 163-171.
- Bang, E., J.-W. Jung, W. Lee, D. W. Lee, and W. Lee (2001) Chiral recognition of (18-crown-6)-tetracarboxylic acid as a chiral selector determined by NMR spectroscopy. *J. C. S. Perkin Trans. 2:* 1685-1692.
- Park, H.-J., Y. Choi, W. Lee, and K.-R. Kim (2004) Enantioseparation of aromatic amino acids and amino acid esters by capillary electrophoresis with crown ether and prediction of enantiomer migration orders by a three-dimensional quantitative structure-property relationship/comparative field analysis model. *Electrophoresis* 25: 2755-2760.