

第 1 章

本研究の背景と目的

Background and aims on this study

1.1 本研究の背景

1.1.1 化学物質の機能と認識

アメリカ化学会の情報部門 “Chemical abstracts service (CAS)” が有する “CAS REGISTRYSM” には有機及び無機物質 (合金, 配位化合物, 鉱物, 混合物, ポリマー, 塩等を含む) に関する化学物質情報が登録されており, その登録件数は 2009 年までで約 5,000 万件に上り, 2014 年 11 月には 6,500 万件を超えている [1]。この 5 年間に追加された化学物質の数だけを見ても, 化学物質が人類にとって如何に重要な存在であるかが理解できる。現在, 工業的に生産されている 10 万種類以上といわれ, 欧州連合の REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals) 規制に関わる EU 既存商業化学物質インベントリー EINECS (European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances) には約 10 万物質, 米国の有害物質規制法 TSCA (Toxic Substances Control Act) には約 8 万物質, さらに日本の化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法) には公称 2 万物質が登録されている [2]。このように, 数万物質以上もの化学物質が我々の周りで流通していることとなる。

多種多様な化学物質が人類社会を支えているその裏で, 化学物質の使用により開発当時には予測できなかった事態が引き起こされたという事例も少なくない。例えば, 農薬の使用は農作物の収穫量や品質を格段に向上させることが可能であるが, 一部の農薬では農薬散布地域に生息する生物及び生態環境に対し負の影響を与えることが報告されている。厳しい治験と審査を得て承認される医薬品においても同様の事例は多々ある。発売当時には高い安全性を謳っていた催眠鎮静薬の一種サリドマイドは妊婦が服用することにより胎児に催奇性をもたらすことが発覚し, その薬害の世界的な規模から“サリドマイド禍”と呼ばれた。このように化学物質によって生じる弊害についての報告は後を絶たない。これらの問題は, 化学物質が発現する機能がその化学物質が置かれた『場 (field)』によって大きく異なるということに起因する。つまり, 『場』が化学物質を認識し, 認識された化学物質は『場』と融

合して機能発現をするということを理解しなければ、化学物質の機能を適切に利用することが困難であるということを意味している。

大辞林第三版によると、『機能』とは

“ある物事に備わっている働き。器官・機械などで、相互に関連し合って

全体を構成する個々の各部分が、全体の中で担っている固有の役割。”

と定義されている。この定義文の“全体”を自然界や実験系などにおける『場 (field) 』に、“個々の各部分”を『場』の構成単位である“原子”や“分子”あるいは“素粒子”，さらには物理的要素と置き換えることにより，自然科学において観察される『機能』に相当する定義となると考えられる。

ここで、『場』を構成するすべての物質・要素は，互いに複雑に作用し合いながら存在している。『場』に存在する化学物質の相互作用の種類やエネルギーポテンシャルは，その化学物質固有の物性だけでなく，その化学物質と『場』（場を構成する物質や要素等）との関係によって決定される。つまり、『場』に存在する化学物質や構成要素だけを一義的に注視しても『場』における機能の発現や機序を正確に理解することは難しく，これら化学物質や構成要素と『場』との関係，さらにはそれらを包括した上での『場』の外的要因となる周辺環境をも十分に加味した思考が必要となる。

『場』と物質との関係について，当時東北大学の教授であった四ツ柳隆夫はこの組み合わせによりもたらされる機能創造・機能創発を「化学システム論」と呼び，そのモデルを以下のように考えた [3]。

- ・「物質」は，それが置かれた「場」においてその機能を発揮する。
- ・「場」は，そこで働くべき「物質」を求めている。
- ・「物質」と「場」がマッチしたとき，そこに新しい機能が発現（創発）する。

ここで，四ツ柳は「創発する」という表現を用いているが，創発とは，進化論・システム論の用語で，生物進化の過程やシステムの発展過程において，先行する条件からは予測や説明のできない新しい特性が生み出されることを意味している（岩波書店 広辞苑第六版）。この四ツ柳の考えは，『場』には物質を認識する固有の力が存在し，その力の性質や多寡は『場』によって大きく異なるということを示している。

一方で、化学物質は各々固有の性質を有しており、同一の場であっても異なる化学物質では発現される機能に差が生じるということも意味している。

四ツ柳の考えを裏返してみると、『特定の物質を求めている場』を創出できれば特定の化学物質を選択的 (特異的) に認識できるということとなる。このような『場』は、特定の化学物質を吸着・分離するための『場』 (本論文では『分離場 (separation field)』と定義する) として活用可能であると考えられる。

生体は、化学物質に対する選択的 (特異的) な認識場として理解することができる。例えば、生体中の酵素は多数の化学物質により構成され、非常に複雑な構造を有しているが、活性部位において特定の化学物質を認識して酵素としての機能を発現する。分子認識能や発現する機能の程度は酵素を取り巻く要因 (溶液の液性, pH, 温度, さらに共存化学物質との競合等) によって大きく変化する。酵素と標的分子物質 (厳密には、構成原子/原子団) との間に生じる相互作用は、これらの要因により発現される機能の増減 (極端な場合には失活) が決定される。このような酵素の機能は、分子認識場としての活性部位における原子や分子の間で生じる相互作用の集積であるといえる。このような相互作用や機能を正しく理解し、それらを模倣すると同時に人為的に調節することが可能となれば生体系に相当する化学的な分離場を創出可能となるものと考えられる。Fig. 1.1 に四ツ柳の考え [3] を基に、著者が考えた化学的な分離場の構築に至る概念図を示す。

Creation of a specific separation field

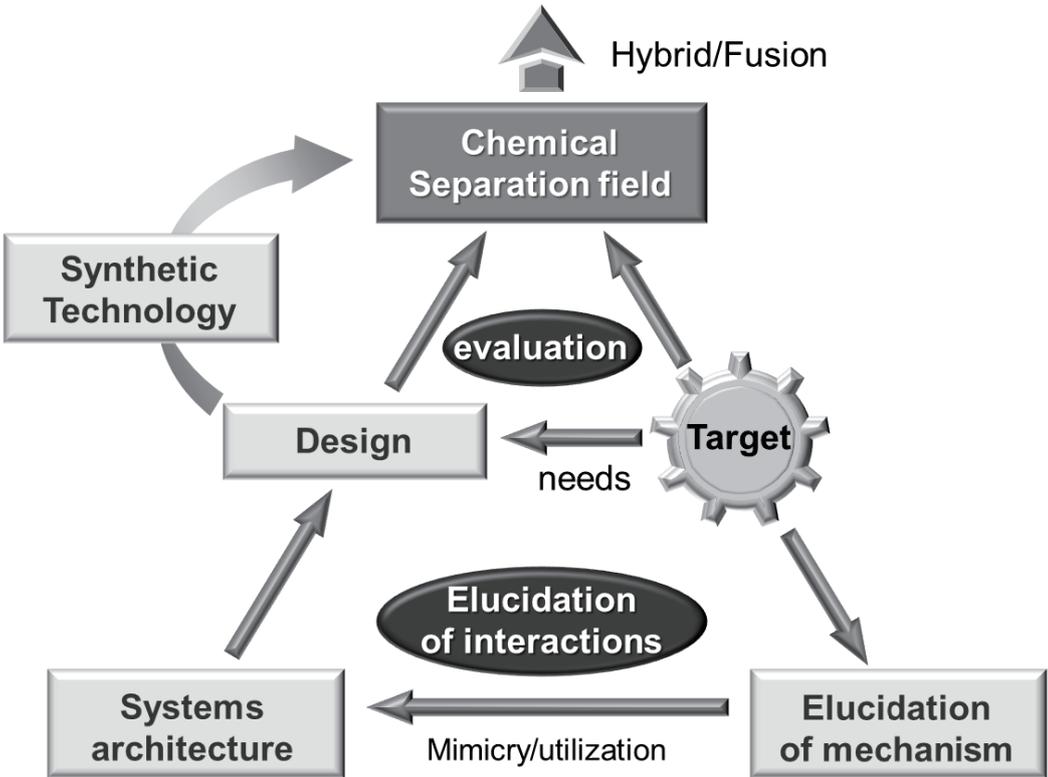


Fig. 1.1 Concept of the creation of a chemical specific separation field

1.1.2 液体クロマトグラフィーとその分子認識能

『場』における分子間相互作用のポテンシャルの差異を評価するにはクロマトグラフィーが最も簡便でかつ汎用的な手法である。

クロマトグラフィーとは、

「固定相と移動相とが平衡状態にある場において、試料中の各成分が固定相と移動相とそれぞれ相互作用して分布し、分離の場に保持されている間にその分布平衡が繰り返されて移動し、その相互作用の差に応じて成分の保持の挙動が異なるために成分が分離し、分離された成分が定性的に検出され、定量的に測定される分析法である」 [4]

と定義されている。クロマトグラフィーは近年で最も普及した分離科学的手法で、多種多彩な検出器と組み合わせが可能であり、広範囲な分野で使用されている。

移動相に液体を使用するクロマトグラフィーを液体クロマトグラフィー (Liquid chromatography: LC) と呼ぶ。LC の移動相には水やアセトニトリル、メタノール等の溶媒の単一溶媒または混合溶液が用いられる。また、固定相にはシリカゲルやポリマー等を担体とし、固定相の形状によってカラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、ペーパークロマトグラフィーの 3 つに大別される。特に、カラムクロマトグラフィーは 1969 年に Du Pont 社の J.J. Kirkland らにより開発された高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) の登場によって LC が分離分析法として確立される契機となった。当時の HPLC は、耐圧性の表面多孔性充填剤が高压充填されたカラムと高压送液ポンプとの組み合わせによって構成された。これにより安定したクロマトグラムを短時間で得ることが可能となった。その後、充填剤の微粒子化・高性能化、LC 装置の高耐圧化、検出器の高感度化・多様化に関する活発な研究開発の成果により、今日までにあらゆる科学分野にて利用される汎用的な分離分析手法の一つとなった。

LC は固定相と移動相の種類、すなわち分離の『場』の構成を実験者自らが選択し、多様な分離特性を引き出せることに最大の特徴がある。LC は固定相、移動相、溶質の組み合わせによっていくつかの分離モードに分類される。大きくは、吸着クロマトグラフィー、分配クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー (IEC)、サイ

ズ排除クロマトグラフィー (SEC) の 4 つに分類されている。この内、分配クロマトグラフィーは固定相と移動相との極性の組み合わせに基づき、逆相クロマトグラフィー (RPC) と順相クロマトグラフィー (NPC) とに分けられている。

Fig 1.2 は、同一のポリスチレンゲルを充填したカラムを用いて移動相の極性 (溶解パラメータ δ [5]) を変化させて得られたフタル酸エステルのカロマトグラムを示す [6]。Fig. 1.2 で明白な通り、移動相の極性が変化すると、同一の固定相と溶質を用いているにもかかわらず溶質の溶出順、分離の選択性、ピーク形状に変化が生じている。固定相とほぼ同一の極性を持つ移動相を用いた場合、固定相との間での相互作用が打ち消され、溶質は分子サイズに基づき分離される (SEC)。しかし、固定相の極性より低い極性を示す移動相を用いた場合には、極性の低い溶質から溶出される (NPC)。一方、逆の組合せでは、極性の高い溶質から溶出される (RPC)。各要素が有する極性に基づいた分離の差について、Table 1.1 にまとめた。

移動相に用いられる溶媒の極性や溶解力を示す指標としては、溶解パラメータが用いられる。溶解パラメータ (Solubility parameter δ , SP 値) は、Hildebrand によって導入された正則溶液論により定義された値で、溶解度パラメータ、溶解性パラメータとも呼ばれる。代表的な溶媒の溶解パラメータ δ を Table 1.2 に示す [5]。溶解パラメータ δ は極性の程度を表し、この値が低ければ非極性溶媒、逆に高ければ極性溶媒となる。また、この値が近似している溶媒と溶質の組み合わせは一般に溶解性が非常に高く、この値が近似している溶媒同士は混和しやすい。

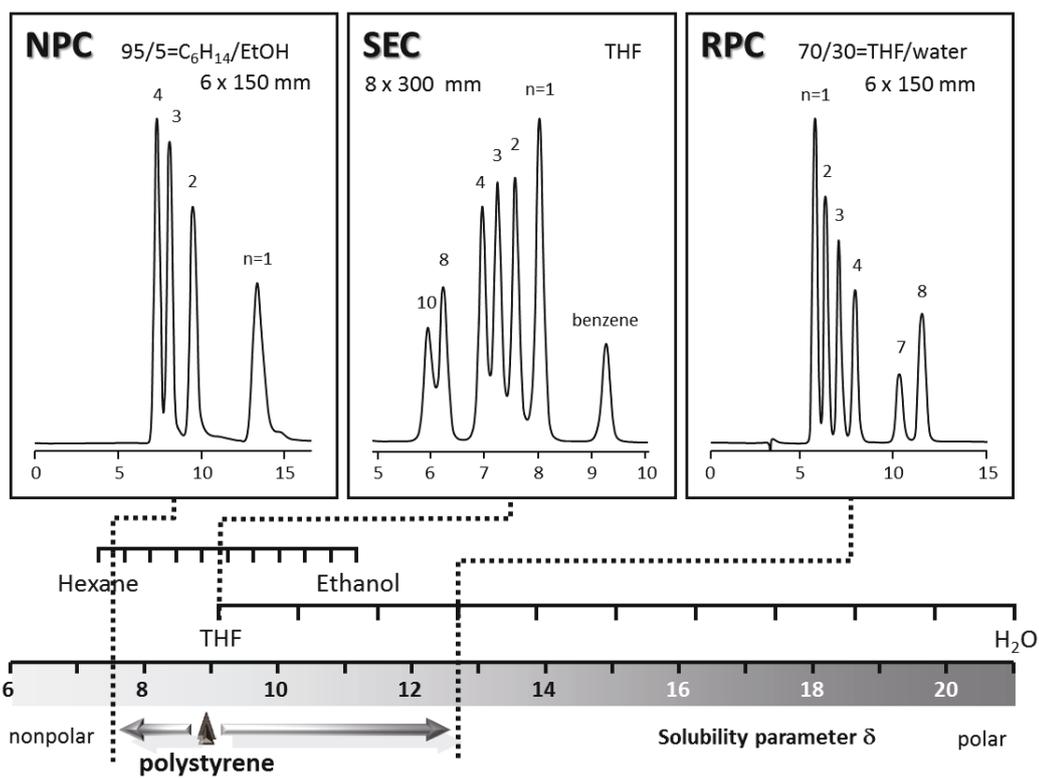


Fig. 1.2 Comparison of the separation in the different mobile phases

Stationary phase, polystyrene gel (6 μm); sample: alkyl phthalates.

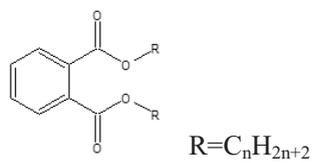


Table 1.1 Polarity of the mobile phase in normal-phase and reversed-phase, and elution order of analyte

polar	normal-phase (NP)		reversed-phase (RP)
stationary phase	high polarity (hydrophilic)	—	low polarity (hydrophobic)
mobile phase	low polarity (hydrophobic)	—	high polarity (hydrophilic)
stationary phase — mobile phase	stationary phase > mobile phase	stationary phase = mobile phase	stationary phase < mobile phase
stationary phase — solute	stationary phase > solute	stationary phase = mobile phase	stationary phase < solute
mobile phase — solute	mobile phase < solute	mobile phase = solute	mobile phase > solute
			
separation mode	NPC	SEC	RPC
elution order of solute	from low polarity	from high molecular weight	from high polarity

SEC: size exclusion chromatography

Table 1.2 Solubility parameters δ of solvents [5]

solvents	structure	solubility parameters (δ) [cal ^{1/2} cm ^{-3/2}]
<i>n</i> -pentane	C ₅ H ₁₂	7.1
<i>n</i> -hexane	C ₆ H ₁₄	7.3
<i>n</i> -heptane	C ₇ H ₁₆	7.4
diethylether	C ₂ H ₅ OC ₂ H ₅	7.4
ethylacetate	C ₂ H ₅ OCOCH ₃	8.6
toluene	C ₆ H ₅ CH ₃	8.9
tetrahydrofuran (THF)	C ₄ H ₈ O	9.1
benzene	C ₆ H ₆	9.2
acetone	CO(CH ₃) ₂	9.4
chlorobenzene	C ₆ H ₅ Cl	9.6
1,4-dioxane	C ₄ H ₈ O ₂	9.8
1-propanol	C ₃ H ₇ OH	10.2
pyridine	C ₅ H ₅ N	10.4
nitrobenzene	C ₆ H ₅ NO ₂	11.1
ethanol	C ₂ H ₅ OH	11.2
phenol	C ₆ H ₅ OH	11.4
<i>N,N</i> -dimethylformamide (DMF)	HCON(CH ₃) ₂	11.5
acetonitrile	CH ₃ CN	11.8
dimethylsulfoxide	CS(CH ₃) ₂	12.8
methanol	CH ₃ OH	12.9
water	H ₂ O	21.0

Fig. 1.3 に、HPLC 及び固相抽出法 (SPE) において使用されている固定相の比率を示す [7]。また、分離モード別に書き換えたものを Fig. 1.4 に示す。図で明白な通り、RPC の使用頻度が最も高く、HPLC では 50%、SPE では 44% とほぼ半分である。RPC では、オクタデシル基が導入されたシリカゲル (C18 または ODS と呼ばれる) が主に用いられる。RPC では C18 カラムと溶質との疎水的な親和性の差異によって分離を行うため、その分離挙動は溶質成分が有する水-オクタノール分配定数 ($\text{Log } P_{o/w}$) に依存する。分配定数は“溶解性”という分子の総合的な特性を示す値である。複雑な溶質組成を有する食品や環境、生体といった試料を RPC で分離を行う場合、被検成分と $\text{Log } P_{o/w}$ が近似している夾雑成分との分離が困難なことが多い。このように分子認識能が乏しいにもかかわらず RPC が多用される理由は、質量分析計 (MS) 等の高感度/高選択的な検出器とのハイフネーション化とその普及に基づくものだと考えられる。被検成分が十分にイオン化可能であれば、被検成分は質量分析計で質量毎に分離・検出される。従って、カラムによる分離が多少不十分であったとしても、被検成分に基づく特異的な質量でモニターすることにより、高選択的かつ高感度に検出することが可能である。

質量分析計の使用は『分離と検出の高度な融合』と呼ぶこともできるが、分子認識という視点で見ると、カラムという分離場による単離・純化を諦めて質量分析計の力に依存し、あたかも分離が行われているかのように装っているに過ぎない。このようなシステムの普及は分離分析の拡大に貢献しているかもしれないが、分離場における分子認識能の向上については半ば置き去りにされているように思われる。

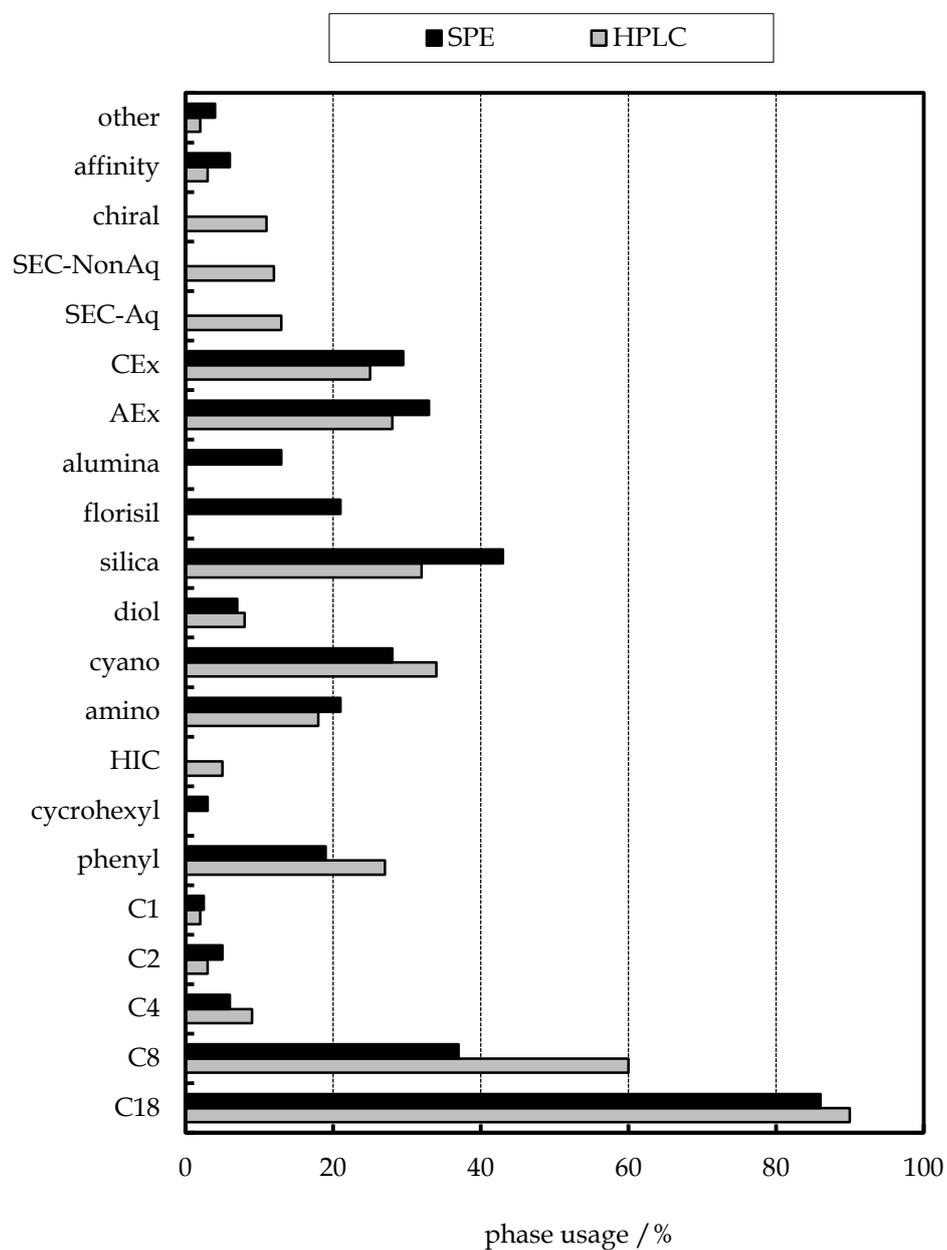
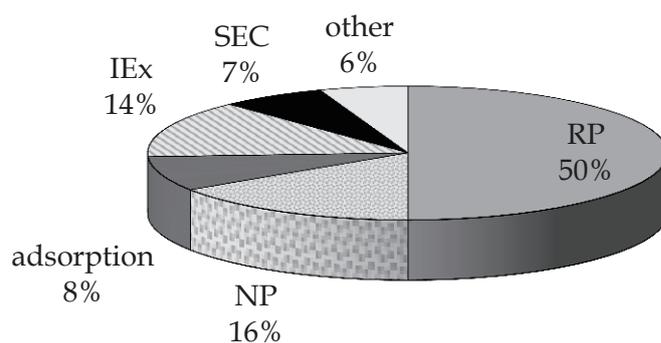


Fig. 1.3 Comparison of phase usage in HPLC and SPE [7]

SEC-NonAq: Non Aqueous Size Exclusion Chromatography, SEC-Aq: Aqueous Size Exclusion Chromatography, CEx: Cation Exchange, AEx: Anion Exchange, HIC: Hydrophobic Interaction Chromatography

a) HPLC



b) SPE

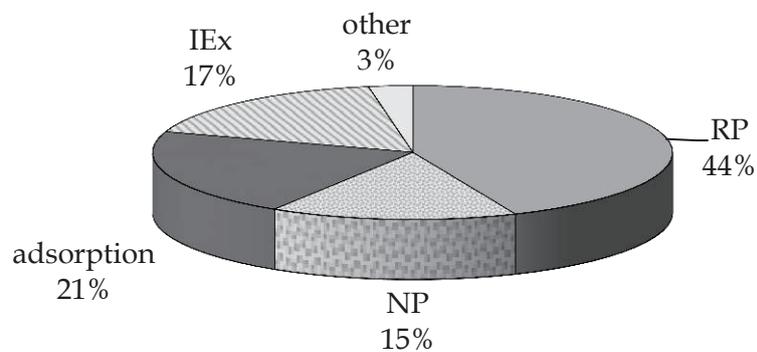


Fig. 1.4 Comparison of phase usage in HPLC and SPE from Fig. 1.3

RP: Reversed Phase, NP: Normal Phase, SEC: Size Exclusion Chromatography

IEx: Ion Exchange

1.1.3 種々の相互作用エネルギーとその特徴

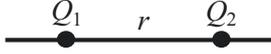
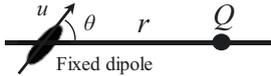
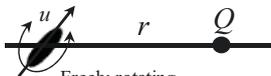
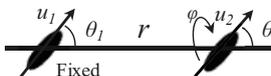
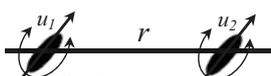
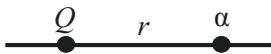
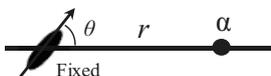
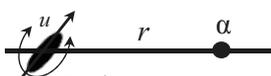
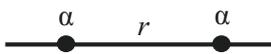
分子間相互作用は化学結合の一種であり、化学結合は大きく「強い化学結合力」と「弱い化学結合力」に分類される。「強い化学結合力」とは共有結合力やイオン結合力、金属結合力等を指し、主に分子構造の骨格を形成する力である。

分子間相互作用の種類とそのエネルギーはおおよそ Table 1.3 のように定義される [8]。また、Table 1.4 及び Table 1.5 に一般的な原子間の共有結合の結合エネルギーを示す [9]。結合の距離は 0.1 ~ 0.2 nm と非常に短く、そのエネルギーは 200 ~ 800 kJ と非常に強い。ただし、イオン結合の主となる Coulomb 相互作用は非常に長距離においても働く。

また、「弱い化学結合力」とは水素結合や van der Waals 力等の相互作用を指し、主に分子内及び分子間のコンフォメーションに影響を及ぼす。分子間相互作用のエネルギーは主に電気的分極の多寡によって決定し、双極子相互作用や London 分散力は相互作用の中でも非常に弱いことが表中の式から理解できる。また、上記の表は真空中における相互作用エネルギーであり、LC のように固定相-溶質間が移動相で満たされ、これらがごく近接した状態にある凝集系の場合では、移動相の溶媒分子に基づく相互作用の遮蔽及び競合等も考慮しなくてはならない。

LC における固定相、移動相、溶質の組み合わせはほぼ無限であるが、実際に生じる分子間相互作用の種類はある程度限定される。花井らは、LC の一般的な分類とそのクロマトグラフィーで用いられる相互作用の種類と寄与度合を Table 1.6 のように考察した [10]。また、同様に固定相として用いる充填剤から考察した場合の寄与度合は、Table 1.6 下部のようになるとした [11]。尚、花井らは、表内の空欄の箇所に関しては事実上、考慮する必要が無いとしている。

Table 1.3 Common types of interactions and their pair-potentials $w(r)$ between two atoms, ions, or small molecules in a vacuum ($\epsilon=1$) [8]

Type of interaction	Interaction energy $w(r)$
Charge - charge	 $Q_1 Q_2 / 4\pi\epsilon_0 r$ (Coulomb energy)
Charge - dipole	 Fixed dipole $-Qu \cos\theta / 4\pi\epsilon_0 r^2$
	 Freely rotating $-Q^2 u^2 / 6(4\pi\epsilon_0)^2 k T r^4$
dipole - dipole	 Fixed $-u_1 u_2 [2\cos\theta_1 \cos\theta_2 - \sin\theta_1 \sin\theta_2 \cos\phi] / 4\pi\epsilon_0 r^3$
	 Freely rotating $-u_1^2 u_2^2 / 3(4\pi\epsilon_0)^2 k T r^6$ (Keesom energy)
Charge - non-polar	 $-Q^2 \alpha / 2(4\pi\epsilon_0)^2 r^4$
Dipole - non-polar	 Fixed $-u^2 \alpha (1 + 3\cos^2\theta) / 2(4\pi\epsilon_0)^2 r^6$
	 Rotating $-u^2 \alpha / (4\pi\epsilon_0)^2 r^6$ (Debye energy)
Two non-polar molecules	 $-3h\nu \alpha^2 / 4(4\pi\epsilon_0)^2 r^6$ (London dispersion energy)

Where, $w(r)$ is the interaction free energy or pair-potential (in J); Q , electric charge (C); μ , electric dipole moment (C m); α , electric polarizability ($C^2 m^2 J^{-1}$); r , distance between the centers of the interacting atoms or molecules (m); k , Boltzmann constant ($1.381 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$); T , absolute temperature (K); h , Planck's constant ($6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}$); ν , electronic absorption (ionization) frequency (s^{-1}); ϵ_0 , dielectric permittivity of free space ($8.854 \times 10^{-12} \text{ C}^2 \text{ J}^{-1} \text{ m}^{-1}$).

The force $F(r)$ is obtained by differentiating the energy $w(r)$ with respect to distance r : $F = -dw/dr$. The stabilizing repulsive "Pauli exclusion" interaction (not shown) usually follow an exponential function $w(r) \propto \exp(-r/r_0)$, but for simplicity they are usually modeled as power laws: $w(r) \propto -1/r^n$ [where $n = 9-12$].

Table 1.4 Dipole moment of molecules, bonds, and molecular groups [9]

(in Debye units: $1 \text{ D} = 3.336 \times 10^{-30} \text{ Cm}$)

Molecules

bond	energy	bond	energy
alkanes	0	H ₂ O	1.85
C ₆ H ₆	0	C _n H _{2n+1} OH (alcohols)	1.7
CCl ₄	0	C ₆ H ₁₁ OH (cyclohexanol)	1.7
CO ₂	0	OMCTS*	0.42
CO	0.11	CH ₃ COOH (acetic acid)	1.7
CHCl ₃	1.06	C ₂ H ₄ O (ethylene oxide)	1.9
HCl	1.08	CH ₃ COCH ₃ (acetone)	2.9
HF	1.91	HCONH ₂ (formamide)	3.7
NH ₃	1.47	C ₆ H ₅ OH (phenol)	1.5
CH ₃ Cl	1.87	C ₆ H ₅ NH ₂ (aniline)	1.5
NaCl	8.5	C ₆ H ₅ Cl (chlorobenzene)	1.8
CsCl	10.4	C ₆ H ₅ NO ₂ (nitrobenzene)	4.2

* OMCTS: octamethylcyclotetrasiloxane

Bond moments

bond	energy	bond	energy	bond	energy
C-H ⁺	0.4	C-C	0	C ⁺ -Cl	1.5 ~ 1.7
N-H ⁺	1.31	C=C	0	N ⁺ -O	0.3
O-H ⁺	1.51	C ⁺ -N	0.22	C ⁺ =O	2.3 ~ 2.7
F-H ⁺	1.94	C ⁺ -O	0.74	N ⁺ =O	2.0

Group moments

bond	energy	bond	energy	bond	energy
C ⁺ -CH ₃	0.4	C ⁺ -COOH	1.7	adenine	~ 3
C ⁺ -OH	1.65	C ⁺ -OCH ₃	1.3	thymine	~ 4
C ⁺ -NH ₂	1.2 ~ 1.5	C ⁺ -NO ₂	3.1 ~ 3.8	guanine	~ 7
				cytosine	~ 8

Table 1.5 Energy values for single bonds [9]

Units: kcal mol⁻¹

bond	energy	bond	energy	bond	energy
H-H	104.2	P-H	76.4	Si-Cl	85.7
C-C	83.1	As-H	58.6	Si-Br	69.1
Si-Si	42.2	O-H	110.6	Si-I	50.9
Ge-Ge	37.6	S-H	81.1	Ge-Cl	97.5
Sn-Sn	34.2	Se-H	66.1	N-F	64.5
N-N	38.4	Te-H	57.5	N-Cl	47.7
P-P	51.3	H-F	134.6	P-Cl	79.1
As-As	32.1	H-Cl	103.2	P-Br	65.4
Sb-Sb	30.2	H-Br	87.5	P-I	51.4
Bi-Bi	25	H-I	71.4	As-F	111.3
O-O	33.2	C-Si	69.3	As-Cl	68.9
S-S	50.9	C-N	69.7	As-Br	56.5
Se-Se	44.0	C-O	84.0	As-I	41.6
Te-Te	33	C-S	62.0	O-F	44.2
F-F	36.6	C-F	105.44	O-Cl	48.5
Cl-Cl	58.0	C-Cl	78.5	S-Cl	59.7
Br-Br	46.1	C-Br	65.9	S-Br	50.7
I-I	36.1	C-I	57.4	Cl-F	60.6
C-H	98.8	Si-O	88.2	Br-Cl	52.3
Si-H	70.4	Si-S	54.3	I-Cl	50.3
N-H	93.4	Si-F	129.3	I-Br	42.5

Table 1.6 The contribution degree of the interaction in the main chromatographic mode [10, 11]

chromatographic mode stationary phases	radius van der Waals	repulsive force	London dispersion force	(hydrophobic interaction)	dipole–dipole	π – π interaction	charge transfer interaction	hydrogen bonding	ion–ion	ion–dipole	Coulomb force	coordinate bonding	complexation	salting-out effect	ion -pair	steric effect
size exclusion	●	○	○													
reversed phase	○	○	○	●	△			△								
ion-pair	○	○	○	●	△					●						
ion partition	○	○	○					○		●						
ion exchange	○	○	○	○	○			△		●				○		
adsorption	○	○	○		●		○	●					△		○	
charge transfer	○	○	○		○		●			○						
salting out	○	○	○	○	○					○				●		
ligand exchange	○	○	○							○		●				
complexation	○	○	○							○			●			
affinity	○	○	○	○	○		○	○		○		○	○		●	
enantiomeric separation	○	○	○		○		○	○				○			●	
cation exchange	○	○	○	○	△		●	△		●		●	●	○	○	
anion exchange, NH ₂	○	○	○	○	△		●	○		●				○	○	
silica gel	○	○	○					●							△	●
alumina	○	○	○					●								

●: main interaction, ○: considerable interaction, △: interaction considerable depending on a stationary phase.

1.1.4 弱い分子間相互作用を利用する分離場

一般に、分離場は生物的分離場と化学的分離場の2つに分類される。それぞれ、分離場と物質間で働く分子間相互作用の種類や強さの違いを Fig. 1.5 に示す。

生物的分離場は化学的分離場とは異なり比較的弱い相互作用が働くことが知られている。酵素や受容体等のタンパク質を例にした場合、タンパク質の構成単位であるアミノ酸は、その側鎖に由来する酸・塩基の両イオン性の原子団やアルキル基やヒドロキシ基、芳香族基等といった中性の原子団を親水性の骨格内部に多数有する。これら官能基に基づき静電相互作用や疎水効果、極性相互作用、 π - π 相互作用、双極子相互作用、London 分散力といった弱い分子間相互作用種を発現することが可能となる。これらは立体認識効果によって多点的かつ立体的に働き、対象とする分子に対し高い認識能を発現する。上述した花井らの考える相互作用とクロマトグラフィーの分類 (Table 1.6 [10]) においても同様で、生物的分離場を固定相として利用するアフィニティークロマトグラフィーの場合には主となる相互作用が存在せず、立体認識効果が主として働き分離が行われる [10]。他方、化学的分離場においてはクーロン相互作用等の比較的強い相互作用が主となり、物質に対し相互作用が単点的かつ平面的に働く。従って、生物的分離場に比べ、分離場における特異性 (分子認識能) は明らかに劣る。

生物的分離場の持つ特異性を化学的に造り上げる手法の一つとして分子鑄型ポリマーMIPs (Molecular Imprinting Polymers) が知られている。MIPs は吸着対象とする分子 (またはその類似構造を持つ分子) を直接鑄型分子として用い、吸着対象とする分子と親和力の高い機能性モノマーを共重合させることにより得られるポリマーのことである。MIPs は重合終了後に鑄型分子を洗浄によって除去することにより、吸着対象とする分子とほぼ同程度の空間を得ることが可能であり、かつその空間は吸着対象とする分子との親和性が非常に高い分子認識場として機能する。また、重合方法も比較的簡単である点も特徴である。MIPs は対象とする物質の鑄型を持つことにより、生物学的な分離場と類似した多点的かつ立体的な認識能、特異性を獲得している。しかし、MIPs は立体的認識能という点で生物的分離場を模倣しているものの、対象物質の持つ原子や原子団に基づく特異性の認識を目的と

した分離場設計がなされていないため、生物的分離場の分子認識能を完全に模倣できているとはいえない。

化学的分離場が対象物質を認識するためには、『場』とそこに存在する相互作用を理解しなければならない。すなわち、『場』に存在する力を解析し、それを模倣・利用するということである。例えば、ここに示す『場』が化学物質を特異的に認識することが可能であるとした場合、この『場』には化学物質を特異的に認識する力を持ったサイトが存在する。この認識サイトの持つ力を分離場を利用することにより、対象とする化学物質を特異的に認識・捕捉可能な新規な『分離場』の創出が期待できる (Fig. 1.6, Table 1.7)。

生物的分離場では弱い相互作用により対象物質への親和力を飛躍的に向上させていた。化学的分離場においても、弱い相互作用は分子認識に寄与するだろう。例えば π - π 相互作用のように立体性が大きく関与する相互作用や Debye 相互作用のように指向性を持つ相互作用等、分離場に利用される相互作用の種類は非常に多彩であり、また分離場を構成する原子や原子団の選択によって相互作用の強弱を調整することが可能であるといった点で優れている。

このような二次的な相互作用として働く弱い相互作用 (弱い力) を用いる分離場は、強い分子間相互作用を主相互作用とする既存の化学的分離場では成しえない汎用性と特異性を兼ね備えることが可能であると考え (Fig. 1.7)。また、この弱い相互作用 (弱い力) を用いる分離場の創出により、既存の化学的分離場では対応しきれなかった高マトリックス試料領域への適応も可能であると考え。

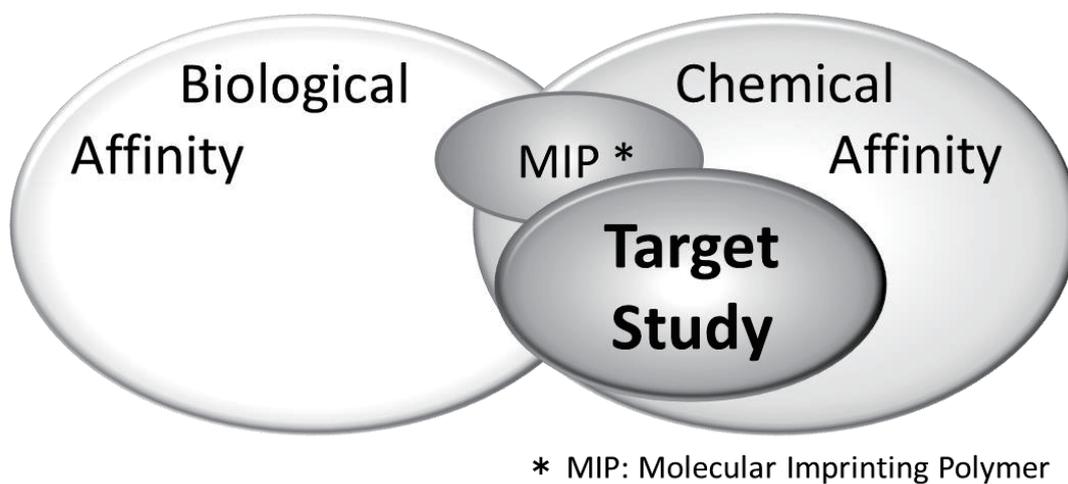


Fig. 1.5 Target fields in bioaffinity and the chemical affinity

Table 1.7 Comparison of the interaction in bioaffinity and the chemical affinity

bio affinity		chemical affinity
multiple	interaction	single ~ double
steric	site structure	planer
weak (strong)	interaction power	strong ~ weak
size exclusion		Coulomb interaction
dispersion force	interaction type	Keesom interaction
electrostatic force		Debye interaction
		dispersion force

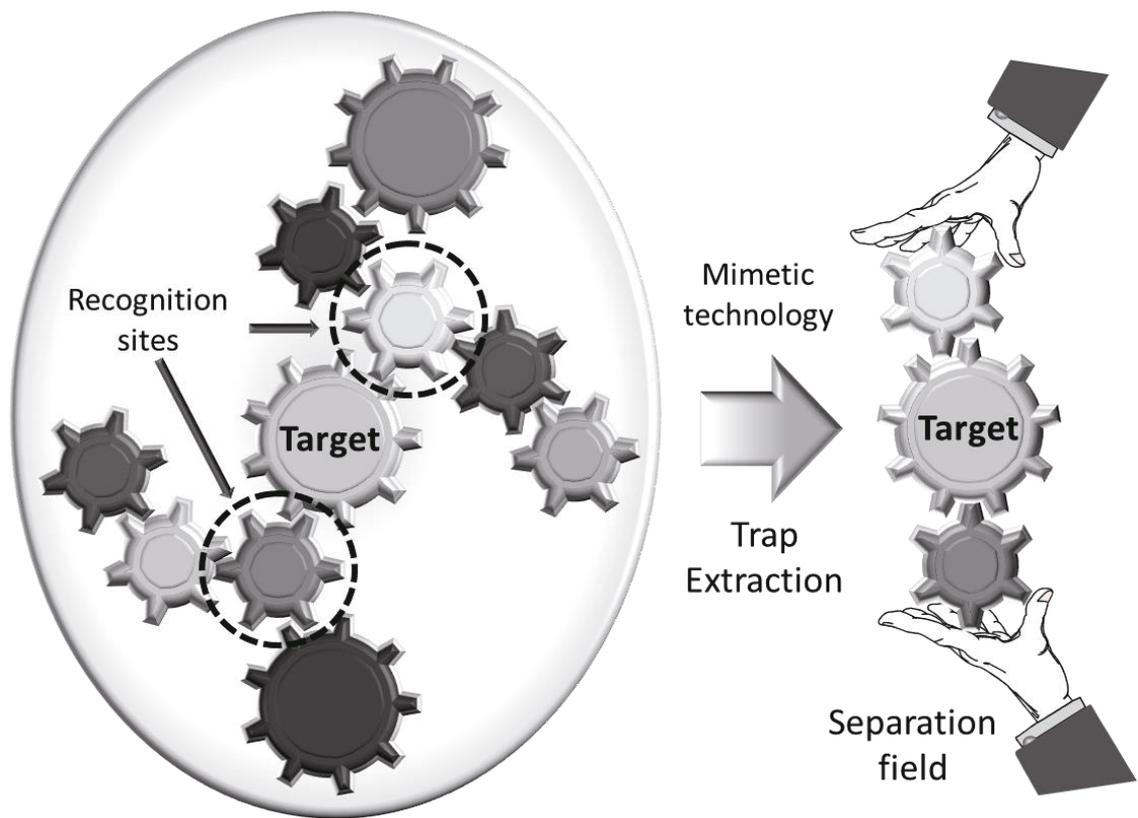


Fig. 1.6 Creation of a specific separation field

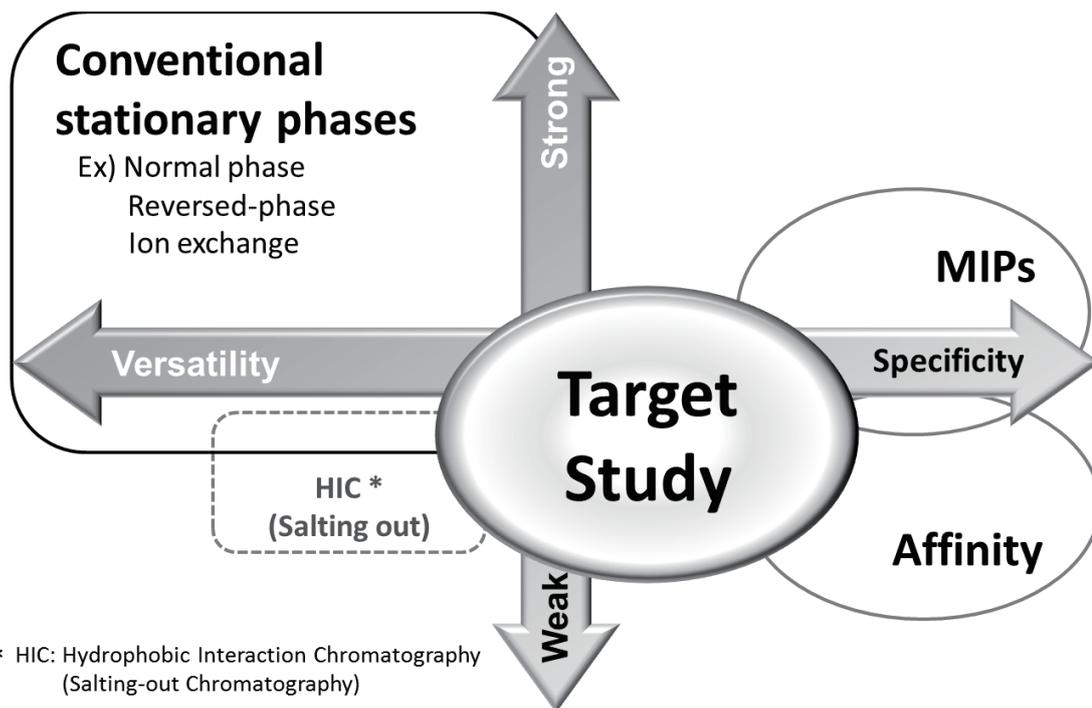


Fig. 1.7 Strength of the versatility and interaction used in the target study

1.2 本研究の目的

本研究は、クロマトグラフィーにおける分離の根源に回帰するものである。前記背景を鑑み、二次効果相互作用として見落とされた相互作用を根底から見直し、特異的な分子認識能を発現する新規な分離場として

『弱い分子間相互作用の積極的利用による選択的分離場の創出』

を目指すものである。

現状の LC の相互作用として副次的な役割に止まっていたこれら弱い分子間相互作用を分子認識の主たる相互作用として利用するには、分離場を形成する固定相、移動相、溶質の3要素における相互作用の本質を理解しなければならない。これら構成要素の選択の鍵となるのは分子間相互作用の源となる電気双極子である。本研究ではこの電気双極子に着目し、電気双極子に基づく相互作用である London 分散力及び双極子相互作用を明確に発現する分離剤を調製し、これらの相互作用に基づく各種溶質の保持特性を精査・解析することとした。

まず、官能基の導入が可能な反応性官能基を有するポリマー系親水性多孔質基材にハロゲン化芳香族を導入した分離剤を調製した。このハロゲン化芳香族を導入分離剤におけるハロゲン化及び非ハロゲン化芳香族化合物の保持挙動を HPLC 並びに SPE により詳細に調べた。また、官能基中のハロゲン基の種類や数に基づく捕捉特性の際に関しても精査した。次いで、同様のポリマー系親水性多孔質基材にニトロ化芳香族を導入した分離剤を調製し、双極子を有する種々の溶質に対する保持能力を HPLC 並びに SPE により詳細に調べた。さらに、上記知見を基に食品中の農薬並びにカビ毒の抽出分離に適用することにより、本研究の『弱い分子間相互作用の積極的利用による選択的分離場』の有用性を確認した。

本研究は、『弱い分子間相互作用の積極的利用による選択的分離場』の有用性を見出すことが目的であるが、多種多様な試料への適用、実用化には他の相互作用との複合化が必要であると考えられる。しかし、分離場に複数の分子間相互作用を組み込むという発想のみでは分離場の特異性の向上は望めない。実際、現状の LC 用固定相やカラムの中には多機能カラムやミックスベッドカラム等、異なる官能基が複数導入された分離場を有するものも市販されている。しかし、これらを用い

ても分子認識能は加算的にしか発揮されず、飛躍的な向上は期待できない。分子認識能の相乗的な結果を求めるためには、さらに別の機能との融合が必要である。従って、本研究の成果・知見を基に、弱い力を主相互作用あるいは複合相互作用とする新奇分離剤創出のための設計指針を見出すことを最終的な目的とした。

第2章では、本研究の技術的背景を明確化することを目的として、本研究の基盤となる分離場に利用される力（相互作用）に関して概説すると共に、本研究の基盤技術であるポリマー系分離剤の高機能化に関わる技術を既報並びに著者らの研究グループのこれまでの研究成果を基に概説した。

第3章では、ハロゲン化合物の選択的固相抽出剤の開発を目的として、親水性多孔質基材に種々のハロゲン化フェノキシ基を導入した固相抽出剤を調製し、主にハロゲン化フェノール類に対する固相抽出特性を精査した。非ハロゲン化フェノール類はハロゲン化フェノキシ基導入固相抽出剤に全く捕捉されなかったが、ハロゲン化フェノール類は強固に捕捉された。捕捉されたハロゲン化フェノール類は分散力の高い溶媒によって速やかに溶出され、これらハロゲン化フェノール類の捕捉には水素結合と共にハロゲン原子に基づく分散力が強く寄与していることを明らかとした。

第4章では、第3章で開発したジブromoフェノキシ基を有する固相抽出剤を微粒子化して HPLC 用固定相を調製した。HPLC を用いて種々のハロゲン化芳香族化合物の保持特性を精査すると共に、市販 HPLC 用固定相との保持特性比較を行った。オクタデシル基導入シリカゲルとの保持比較において、非ハロゲン化芳香族化合物とハロゲン化芳香族化合物との溶出順の逆転が観察され、ジブromoフェノキシ基がハロゲン化芳香族化合物に対して高い親和性を示すことが判明した。また、3-(ペンタブromoベンジルオキシ)-プロピル基結合シリカよりもハロゲン化芳香族化合物に対して高い親和性を示し、ジブromoフェノキシ基導入樹脂が大きな方向双極子モーメントを示すことを明らかとした。

第5章では、第3章及び第4章における分散力の本質は双極子相互作用にあると考え、強い電子吸引性を持つニトロフェノキシ基、シアノフェノキシ基を導入した固相抽出剤を調製し、ハロゲン化芳香族化合物及び安息香酸類の捕捉特性を精査

した。これらの固相抽出剤においても非ハロゲン化芳香族化合物は全く捕捉されなかったが、ハロゲン基やシアノ基、ニトロ基を有するフェノール類や安息香酸類を強固に捕捉した。

第6章では、本研究において開発した弱い相互作用を用いる分離場を持つ抽出分離剤の実用試料への適用性評価として、食品に含まれる農薬やカビ毒等の有害因子物質分析の試料前処理に適用した結果について記述した。

第7章では、本研究の成果を総括すると共に、今後の研究課題並びに弱い相互作用（弱い力）を用いる分離場の将来的展開について記述した。

以上の研究から、『弱い分子間相互作用の積極的利用による選択的分離場』を持つ分離剤の創出、並びに弱い分子間相互作用に基づく選択性・特異性の発現に対する基本的観念の正しさを証明することを目指した。また、得られた知見から、『弱い分子間相互作用を明確に発現する多官能型選択的分離剤開発のための設計指針を見出し、最終的な目標である『弱い分子間相互作用を主相互作用とした新奇分離場構築』のための基礎を確立することを目指した。

引用文献

- [1] アメリカ化学会: Chemical abstracts service (CAS), “CAS REGISTRYSM”
<http://www.cas-japan.jp/about-cas/cas-history.html>
- [2] 山田隼: 製品評価技術基盤機構化学物質管理センター成果発表会 2012
http://www.safe.nite.go.jp/seika2012/pdf/slide/2012_04_s.pdf#search='%E6%B5%81%E9%80%9A%E5%8C%96%E5%AD%A6%E7%89%A9%E8%B3%AA%E6%95%B0'
- [3] 四ツ柳隆夫: 「安全神話の崩壊と分析化学の役割」, ぶんせき, **2002**, No. 10, p. 553 (2002).
- [4] 波多野博行, 花井俊彦: 『新版 実験高速液体クロマトグラフィー』, 化学同人, 東京, 1988.
- [5] 日本分析化学会関東支部編: 『高速液体クロマトグラフィーハンドブック』, 改訂2版, p. 179, 丸善, 東京, 2000.

- [6] 井上嘉則博士提供データ.
- [7] R.E. Majors: *LCGC North America Online*, Nov 1 (2008).
<http://chromatographyonline.findanalytichem.com/lcgc/Column%3A+Sample+Prep+Perspectives/The-Role-of-Polymers-in-Solid-Phase-Extraction-and/ArticleStandard/Article/detail/564645>
- [8] J. N. Israelachvili: “*Intermolecular and surface force*”, p. 36, Table 2.2, Academic Press, USA, 2011.
- [9] Linus Pauling: “*The nature of the chemical bond*”, third edition, p.85, Cornell University Press, New York, 1960.
- [10] 花井俊彦: 科学の領域 増刊 121 号, 波多野博行編 「新・高速液体クロマトグラフィー」, 南江堂, 東京, 1978.
- [11] 原昭二編: 「クロマトグラフィー分離システム-考え方, 選び方」, 丸善, 東京, 1981.

