

極性化合物の捕捉を可能にする HILIC 型固相抽出剤の開発

[研究代表者] 村上博哉 (工学部応用化学科)

[共同研究者] 手嶋紀雄 (工学部応用化学科)

研究成果の概要

固相抽出法は、定量分析の前処理手法として汎用的に利用されている。中でも逆相系固相抽出剤は、広汎な化合物の前処理に利用されている。一方、逆相系固相抽出剤の捕捉は疎水性相互作用を主に利用することから、極性化合物への捕捉能は相対的に劣る。そのため、その他の分離モードを利用した極性化合物へ適用可能な固相抽出剤の開発が望まれている。そこで本研究では、親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) を分離モードとして利用した固相抽出剤の開発を行った。種々の被覆する親水性高分子種について検討などを進めることによって、HILIC 型固相抽出剤開発における有用な知見を得た。なお、本研究成果の内容は、高い学術性を有していたため、日本分析化学会の学術誌である「Analytical Sciences」誌に投稿し、掲載された内容である。ここではその一部について紹介する。

研究分野：分析化学

キーワード：前処理、固相抽出剤、HILIC、親水性高分子、水和層

1. 研究開始当初の背景

固相抽出法は、様々な定量分析の前処理手法として広く利用されている。固相抽出は一般的に、カートリッジなどに封入された固相抽出剤を利用し、目的成分の抽出を行う。その固相抽出剤としては、吸着や分配、イオン交換などの種々の分離モードが付与されたものが利用される。中でも、逆相モードを利用した固相抽出法は、様々な化合物への適用が可能であることから、広範な定量分析の前処理手法として適用されている。一方、逆相モードの主相互作用が疎水性相互作用であることから、極性化合物の捕捉能が低いという欠点もあり、その改善が望まれていた。当研究室でも、逆相系固相抽出剤の捕捉特性改善を目指し、種々の逆相系固相抽出剤の開発に力を入れており、報告している¹⁾³⁾。これらの逆相系固相抽出剤では、市販品と比較して高い捕捉能を有する固相抽出剤の開発を達成したが、高極性化合物の捕捉能については不十分であることも明らかとなった。

親水性相互作用クロマトグラフィー (hydrophilic interaction chromatography, HILIC) は近年、高極性化合物の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) での分離において、

汎用的に利用されている分離モードである。HILIC モードを利用した HPLC での高極性化合物分離については数多く報告されている。また HILIC モードを利用した固相抽出法についても同様に近年、報告されるようになってきている。その一方で、固相抽出法への適用に最適化された HILIC 型固相抽出剤に関する研究はそれほど多くないことから、固相抽出法に最適化された HILIC 型固相抽出剤の開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、HILIC 型固相抽出剤の高性能化目的とし、研究を行った。HILIC モードは、固定相として親水性基材樹脂表面に形成される水和層と、移動相として比較的極性が高く、高有機溶媒濃度の溶離液を用い、順相分配により分離が達成される。そのため、固定相中に形成される安定な水和層の形成が分離および抽出に大きな影響を与える。それに加えて、水和層形成に重要な役割を担う極性官能基は、分離能に大きな影響を与える。本研究では、これらの影響について、様々な極性官能基を有する親水性高分子を基材樹脂に被覆し、その捕捉特性に対する影響について検

討を行った。

3. 研究の方法

本研究では、親水性基材樹脂に親水性高分子を被覆して HILIC 型固相抽出剤を合成し、その捕捉特性の評価を行った。基材樹脂としては、エチレングリコールジメタクリレート (EGDM) とグリシジルメタクリレート (GMA) をモノマーとして利用し、懸濁重合法を用いて基材樹脂を合成した。被覆する親水性高分子としては、構造の異なる 4 種類の diallylamine-maleic acid (DAM) copolymer、diallylamine-acrylamide copolymer (DAA)、allylamine-maleic acid copolymer (MAM)、および partly methylcarbonylated allylamine acetate copolymer (MAC) を用い、基材樹脂に被覆を行った。捕捉特性評価としては、極性化合物としてウラシルやウリジン、アデノシンなどを利用し、固相抽出における捕捉特性について評価を行った。固相抽出は、試料として 95 % のアセトニトリル水溶液に溶解されたものを評価試料溶液とし、その試料を合成した HILIC 型固相抽出剤を封入した固相抽出用カートリッジに負荷し、アセトニトリルで洗浄、および水にて溶出を行うことにより、その捕捉特性について評価を行った。

4. 研究成果

合成した HILIC 型固相抽出剤について、元素分析を行った。それぞれの親水性高分子には窒素を構造中に含有しているため、窒素含有率から被覆の有無を確認した結果、すべての樹脂で親水性高分子の被覆が確認された。

そこで得られたそれぞれの高分子を被覆した HILIC 型固相抽出剤について捕捉特性の評価を行った。まず、MAM および MAC を被覆した固相抽出剤については、それほど高い捕捉特性を確認することが出来なかった。その一方で、DAA が被覆された固相抽出剤については、高い捕捉能を有することが明らかとなったが、固相抽出剤からの脱着が困難であることも明らかとなった。DAA を被覆した樹脂では、その他の検討により、樹脂が含有する水分量が、その他と樹脂と比較して、相対的に低いことが明らかとなっている。そのため、DAA に由来する二次効果相互作用がより強く発現してしまい、脱着性が悪くなった可能性が考えられる。DAM 被覆型固相抽出剤については、ある程度の高い捕捉特性と脱着性を有することが明らかとなった。

以上のように本研究では、4 種類の親水性高分子を被覆した HILIC 型固相抽出剤を合成し、その捕捉特性について評価を行った。その結果、類似の構造を有する親水性高分子を利用した場合でも、捕捉特性が異なることが明らかとなった。検討した親水性高分子の中では、DAM 被覆型の固相抽出剤が捕捉と脱着のバランスが良いことが明らかとなった。本研究成果は、HILIC 型固相抽出剤の高性能化に関する研究を推進する上で重要な知見であり、今後はこの知見を元にし、更なる高性能化の研究を進める予定である。

5. 参考文献

- 1) H. Murakami, T. Aoyanagi, Y. Miki, H. Tomita, Y. Esaka, Y. Inoue, N. Teshima, *Talanta*, **185**, 427-432, (2018).
- 2) H. Murakami, H. Tomita, T. Aoyanagi, T. Sugita, Y. Miki, Y. Esaka, Y. Inoue, N. Teshima, *Anal. Chim. Acta*, **1075**, 106-111 (2019).
- 3) H. Tomita, T. Sugita, H. Murakami, Y. Esaka, Y. Inoue, N. Teshima, *BUNSEKI KAGAKU*, **69**, 25-30 (2020).