

平成 22 年 5 月 12 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2010

課題番号：19205011

研究課題名（和文）

精密な界面ラフネス制御による超選択的・高感度 HPLC 固定相の開発

研究課題名（英文）

High selective and sensitive HPLC by surface-roughness control

研究代表者

伊原 博隆（IHARA HIROTAKA）

熊本大学大学院自然科学研究科 教授

研究者番号：10151648

研究代表者の専門分野：機能性高分子、分析化学、超分子化学

科研費の分科・細目：4701

キーワード：液体クロマトグラフィー、分子識別、界面単分子膜、コア・シェル粒子

1. 研究計画の概要

本研究は、高感度かつ高選択的な液体クロマトグラフィー用の新規な固定相の開発を目指すものであり、固定相の界面ラフネスを物理的および分子レベルでの両方の視点から精密に制御することを特徴とする。具体的な研究目標は以下の通り。

（1）シリカ微粒子をポリマー担体界面上に単分子膜状に配向・固定化することによって均質な物理的界面増強をはかる（物理的ラフネスを精密制御）。

（2）シリカ界面あるいはポリマー界面上に、リビング重合およびテロメリゼーションを通じて、高分子性有機相の導入を行う。また、有機相の密度制御を試みる（分子レベルでの界面制御）。

（3）モノマーの選択により、弱い相互作用点をグラフト化高分子性有機相中に集積し、配向と多重相互作用を活用して分子形状識別型の精密な分離機構を発現させる。

2. 研究の進捗状況

（1）物理的な界面ラフネスの形成・制御

シリカ粒子をポリマー微粒子界面上で細密充填するための新しい方法を確立することを目的として、平均粒径 5 μm のシリカ粒子を用い、この界面に重合性のビニル基を有するシランカップラーを処理したのち、スチレンおよび架橋剤との懸濁共重合を実施した。その結果、架橋ポリスチレン微粒子の界面上にシリカ粒子がモノレイヤー上に固定化されたコア・シェル型の複合微粒子が作製できることを確認した。

同法の汎用化を図るために、各種の粒径を有する無孔質シリカ（平均粒径において 80

～450 nm）を用い、重合性官能基の導入量や重合分散媒の濃度等を系統的に変化させることによって、ポリマー表面上での組織化状態をより精密に制御できることを確認した。たとえば、モノレイヤー、ダブルレイヤー、マルチレイヤーの作製も可能となった。また同法を活用して、シリカ粒子の代わりにチタニア粒子や磁性粒子、酸化マグネシウム粒子に適用し、ポリマー界面上にこれらの無機微粒子シェル相を作製できることを確認した。

（2）高分子化による化学的界面増強

カルボニル基やピリジル基のような弱い静電相互作用を示す官能基をシリカ界面上に集積し、多重相互作用によって静電相互作用の増幅、さらには分子識別能の増強を図った。具体的には、ビニルピリジン、ビニルカルバゾール、*N*-アルキルフルイミドなどの複素環を有する重合性モノマーを用い、テロメリゼーションによるシリカへのグラフト化、およびリビング重合によるグラフト化を行い、各種の高分子層を有するシリカ粒子を作製し、構造評価を行った。

（3）HPLC への応用

当初の予測通り、多環芳香族類に対して高い分子形状識別能が発現できることを確認した。加えて予想を上回る高い選択性が、従来不可能であったトコフェロールの異性体分離（とくに 17 と 17 の異性体）において確認された。また、8 種類のステロイドホルモンの完全分離などにも達成した。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進んでいる。

（理由）

界面増強法の確立およびHPLCへの応用展開どちらにおいても、当初予定を上回る成果が得られている。たとえば、界面増強については、モノレイヤーだけでなく、ダブルレイヤーの作製に成功した。また、シリカ粒子だけでなく、当初計画には挙げていなかったチタニア粒子や磁性粒子等への応用に成功している。

また、HPLCへの応用については、得られた固定相の分離性能が予想を上回る好結果を生んでおり (*Anal. Chem.*, 2010; *Anal. Bioanal. Chem.*, 2010 に発表済み) その結果、応用研究が格段に進展中である。

4. 今後の研究の推進方策

引き続き、微粒子界面上の精密ラフネスコントロールを、物理修飾法と化学修飾法の両方の視点から推進するとともに、最終年度はとくに、粒径の精密制御を目指す。また、分離機構を解明することにより、生化学的分野での適用例の増強に繋げる。

(1) 物理修飾法の深化

前年度までに確立したコア・シェル複合粒子化をさらに発展するため、重合性の乳化剤を開発し、これによって生成する微粒子の粒径制御を図るとともに、固定化されるシリカを共有結合により安定化させることを試みる。加えて、造粒プロセスにおいて新たにパルスインジェクター駆動装置付属簡易吐出機を導入し(本年度購入予定)液滴化を精密に制御することによって、微粒子の粒径制御の精密化を目指す。

(2) 化学修飾法の深化

前年度に引き続き、弱い相互作用点の集積法として交互共重合法を深化させる。これに加え、モノマーとしてビニルフェロセンやその他のヘテロ原子を有する極性の高い低分子性モノマーに焦点を当て、新たな高分子相の作製(シリカ粒子上の界面修飾)を目指す。

高分子固定相の機能評価と分離機構の調査を目的として、構造解析(SEM、IR、NMR、元素分析等)やHPLCにおける保持挙動の評価をより綿密に実施する。

(3) アプリケーション

生化学的分野での適用例を増強し、本研究課題の妥当性を再確認する。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文](計21件)

A. K. Mallik, T. Sawada, M. Takafuji, H. Ihara: Novel Approach for the Separation of Shape-Constrained Isomers with Alternating Copolymer-Grafted Silica in Reversed-Phase Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry*, Vol.82, pp.3320-3328, 2010

A. K. Mallik, K. Shingo, U. G. Gautam, T. Sawada, M. Takafuji, H. Ihara: Complete chromatographic separation of steroids including 17 α - and 17 β -estradiols using carbazole-based polymeric organic phase in both reversed and normal phase HPLC. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Vol.397, pp.623-629, 2010

U. G. Gautam, T. Sawada, M. P. Gautam, M. Takafuji, H. Ihara: Poly(2-N-carbazolyethyl acrylate)-modified silica as a new polymeric stationary phase for reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, Vol.1216, pp.7422-7426, 2009.

H. Ihara, S. Kubota, A. Uchimura, Y. Sakai, T. Wakiya, M. M. Rahman, S. Nagaoka, M. Takafuji: A facile preparation method for self-assembled monolayers with silica particles on polystyrene-based microspheres. *Materials Chemistry and Physics*, Vol.114, pp.1-5, 2009.

[学会発表](計40件)

H. Ihara, S. Kubota, A. Kubota, T. Wakiya, T. Sawada, M. Takafuji: Facile Preparation Method for Core-Shell Microspheres with Controlled Surface Roughness. *IUPAC 45th General Assembly & IUPAC 42nd Congress*, Glasgow, UK, 2009.

[図書](計1件)

A. K. Mallik, M. M. Rahman, M. Takafuji, S. Nagaoka, H. Ihara: Self-assembled organic phase for RP/HPLC. *Encyclopedia of Chromatography*, 3rd Edition, pp.2149-2156, 2009.

[産業財産権]

出願状況(計3件)

名称: 複合粒子の製造方法及び複合粒子
発明者: 伊原博隆, 高藤 誠, 脇屋武司
権利者: 熊本大学, 積水化学工業(株)
種類: 特許権
番号: 2008-316531
出願年月日: 2008.12.12
国内外の別: 国内

[その他]

研究成果の公開(Webによる情報公開):
http://www.chem.kumamoto-u.ac.jp/~ihara/paper_s_select2007A.html