

1. 氏名	宮川 晃尚
2. 所属機関	筑波大学 数理物質系
3. 研究題目	分子クラウディング反応場を利用した溶媒抽出法の開発
4.	<p>研究の目的:本研究の目的は、新規溶媒抽出法を確立することである。現状、溶媒抽出は有機溶媒の種類を変え、試行錯誤的に抽出効率の高いものを選択している。したがって、現在の手法は環境負荷が大きく、代替の溶媒抽出法が必要である。分子クラウディングとは、生体内でタンパク質、DNAなどが込み合った状態を言う。この環境下では、バルク環境よりもタンパク質の酵素反応やDNAの二重鎖形成が促進すると報告されており、熱力学的にも速度論的にも異なった挙動を示す。しかし、その分子クラウディングの熱力学的、速度論的な挙動の説明は未だ明らかになっていない。</p> <p>申請者は、これまでの分子クラウディング研究の対象が主に構造変化を伴うマクロ分子であることに着目し、構造変化をしない錯形成反応で熱力学的挙動を解明した(<i>J. Phys. Chem. B</i>, <b>2021</b>, <i>125</i>, 9853–9859)。ここで、分子クラウディング剤であるポリエチレングリコール(PEG)を50vol%にすることで、全錯形成定数は48倍増加した。申請者は、本反応系を溶媒抽出に適用すれば、同程度の抽出率の向上が見込めると考えた。また、明らかにした分子クラウディング挙動をもとに、溶媒抽出への熱力学的寄与も明らかにできる。したがって、本申請研究で分子クラウディング反応場を利用し、錯形成反応の促進に伴う溶媒抽出の高効率化を達成するとともに、その熱力学的な挙動を明らかにし、新規溶媒抽出法としての汎用性を示すことを目的とする。</p>

5.	<p>研究の内容(手法、経過、評価など。書ききれない場合には、同一様式のページを追加してください。):</p> <p>1. 溶媒抽出条件の検討</p> <p>有機溶媒、最適pH、金属イオン、分子クラウディング剤の条件を探索した。高効率化を検討するため、バルク条件で抽出率が50%以下の条件を調べた。有機溶媒はクロロホルム、酢酸エチル、ジクロロエタンを検討した。反応系はこれまでの研究と同様に、オキシシと金属イオン(Zn, Co, Cd)を利用し、分子クラウディング剤にはPEGを用いた。しかし、PEGは上記有機溶媒への溶解性が高く、水相中での濃度の制御が困難であったため、デキストランやに変更して条件検討を行った。オキシシは高pH(&gt;9)で完全解離し、金属イオンと錯形成し、溶媒抽出されるため、抽出率50%以下の条件を狙うために中性以下のpHで条件検討を行った。結果として、デキストランを用い、オキシシとCoイオンを用い、pH 6.0で40%程度の抽出率になることを明らかにした。</p> <p>2. 溶媒抽出の高効率化</p> <p>溶媒抽出の高効率化に取り組んだ。測定は吸光光度法を用いて、オキシシと金属の錯体の抽出前後の吸光度の変化から抽出平衡定数を定量した。デキストラン濃度を増加したときの抽出平衡定数の変化を取得した。抽出平衡定数は、オキシシの分配係数、錯体の分配係数、錯体の錯形成定数、オキシシの酸解離定数のパラメータが関与している。したがって、デキストラン濃度を増加したときの各パラメータの変化を定量することで、どの平衡に分子クラウディングの寄与があるのかを調べた。オキシシの分配係数は吸収分光測定、錯体の錯形成定数は吸収滴定、オキシシの酸解離定数は吸収スペクトルのpH依存性から定量した。錯体の分配係数は定量が困難であるため、抽出平衡定数の式から算出して評価した。</p>
----	---

## 6. 研究の成果と結論、今後の課題:

### 1. 溶媒抽出条件の検討

本系を検討するにあたり適した条件を探すため、分子クラウディング剤、有機溶媒、金属イオン、pH 条件の検討を行った。分子クラウディング剤は上述の通り、PEGが有機溶媒への溶解度が高く、溶媒抽出に適していないことがわかった。デキストランを用いたところ、有機溶媒への溶解および析出は観測されなかったため、デキストランで検討を行うことにした。有機溶媒はクロロホルム、酢酸エチル、ジクロロエタンを検討したが、中性付近でオキシンの抽出率が50%未満になる溶媒がクロロホルムであった。したがって、クロロホルムを有機溶媒として選択した。金属イオンの選択は有機溶媒中で錯体とオキシンの吸収波長が変化することが重要である。Znは錯形成による吸収波長のシフトは小さく、適していないことがわかった。Co, Cdは吸収波長が20 nm程度長波長シフトしたため、本系に適している。本申請研究ではまずCoを検討した。pHは6.0で抽出率50%未満であることがわかった。

### 2. 溶媒抽出の高効率化

溶媒抽出における条件を決定したため、デキストラン(Dex)を分子クラウディング剤として用い、抽出平衡定数( $K_{ex}$ )を定量した。図1にデキストラン濃度( $C_{Dex}$ )に対する $K_{ex}$ を示す。DEX濃度の増加に伴い、 $K_{ex}$ が増加し、20w/v%以降から誤差の範囲内で一定になることが示唆された。このことから、分子クラウディング効果による抽出効率の向上を実証した。 $K_{ex}$ は、オキシンの酸解離定数( $K_a$ )、オキシンの錯形成定数( $K_{comp}$ )、オキシンの分配係数( $K_{D,ox}$ )、錯体の分配係数( $K_{D,comp}$ )を用いて、 $K_{ex} = K_{comp} K_{D,comp} K_a K_{D,ox}^{-2}$ で表すことができる。したがって、 $K_{comp}$ 、 $K_a$ 、 $K_{D,ox}$ の $C_{Dex}$ 依存性を検討した。図2に $K_{comp}$ の $C_{Dex}$ の依存性を示す。 $K_{ex}$ と同様に $C_{Dex} = 20w/v%$ まで増加し、一定になる傾向が得られた。また、それ以外の平衡定数に関しては $C_{Dex}$ に依存せず、一定の値をとった。このことから分子クラウディング効果による $K_{ex}$ の増加は $K_{comp}$ に由来することがわかった。これは先行研究から想定した結果と一致している。

本申請研究では、溶媒抽出の高効率化の一般性の確認まで検討できなかった。したがって、今後は金属イオンおよび有機溶媒を変えて、汎用性的手法として確立させる予定である。

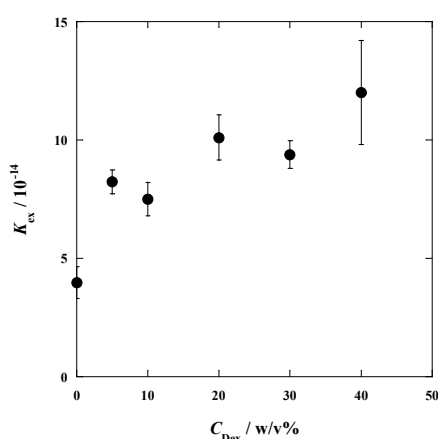


図1 DEXによる抽出平衡定数の増加

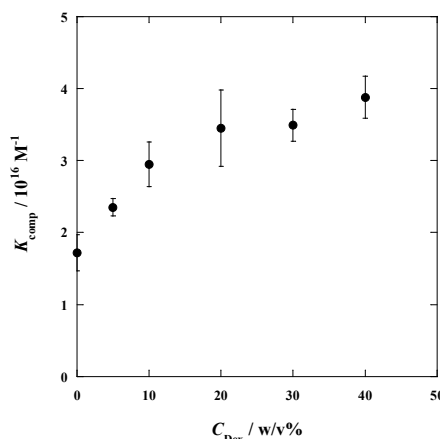


図2 DEXによる錯形成定数の増加

## 7. 成果の価値

7.1\_学術的価値:本研究では、分子クラウディング反応場による溶媒抽出効率の向上をその原理から明らかにした。分子クラウディング効果は不明瞭なことが多いため、本研究で明らかにした錯形成定数の増加が抽出効率に寄与するという原理は当該研究領域に大きな影響を与えられる。また、生化学で盛んに行われる分子クラウディングを分析化学分野へ利用した例は少なく、特に溶媒抽出への利用は全く検討されていない。したがって、本研究は分析化学分野での分子クラウディング研究のプレゼンスを高めると考えている。

7.2 社会的価値:分子クラウディング剤濃度を増加させることで、錯形成定数が増加した。また、それに応じて溶媒抽出効率も増加した。これは、分子クラウディング剤濃度で抽出効率を制御できることを意味している。したがって、有機溶媒を変更して抽出率を変える必要はなく、抽出率が低い溶媒でも、分子クラウディングにより高効率に抽出可能になる。これは有機溶媒の大量消費を避け、環境負荷の低減に寄与する。また多くの分子クラウディング剤は安価であるため、工場レベルの溶媒抽出にも利用でき、大きな波及効果を期待できる。

### 7.3\_研究成果:

#### ・研究論文

1. [A.Miyagawa](#), H. Komatsu, S. Nagatomo, K. Nakatani, Acid Dissociation Behavior of 8-Hydroxyquinolone-5-Sulfonic Acid in Molecular Crowding Environment Modeled Using Polyethylene Glycol., *J. Mol. Liq.* 360, 119526, 2022.
2. [A.Miyagawa](#), K. Nakatani, J-aggregation of 5, 10, 15, 20-tetraphenyl-21*H*, 23*H*-porphinetetrasulfonic acid in a molecular crowding environment simulated using dextran , *Anal. Sci.*, 38, 1505-1512, 2022.
3. [A.Miyagawa](#), H. Komatsu, S. Nagatomo, K. Nakatani, Thermodynamic complexation mechanism of zinc ion with 8-hydroxyquinoline-5-sulfonic acid in molecular crowding environment, *J. Mol. Liq.* 372, 121181, 2023.

#### ・特許

4. [宮川晃尚](#)、中谷清治、長友重紀、小松弘幸、植田泰之、分子クラウディング環境を利用した溶媒抽出法、特願 2023-029485, 2023 年 2 月
5. [宮川晃尚](#)、植田泰之、有機溶媒中における反応促進手法の開発、特願 2023-029486, 2023 年 2 月

#### ・受賞

6. [宮川晃尚](#), Analytical Sciences Hot Article Award, 日本分析化学会, 2022 年 9 月  
(2 番の論文に対して受賞)