

有機化合物の分子構造解析

大阪事業所 森口 宏一
梅木 卓

1 はじめに

“構造解析”にはいろいろなレベルの概念が含まれるが、ここでは「有機化合物の分子構造解析」について記述する。

19世紀の初頭に原子組成は同じでも配列により物質が異なるという有機化合物の一次元的な分子構造の概念が、半ば頃にはkekuleのベンゼンの構造モデルが出され二次元的概念が生じ、後半にはvan't Hoff, Le Belらによる正四面体炭素原子の理論により有機化合物の三次元的概念が確立した。このような‘三次元分子構造’は有機化学における‘語彙’であり¹⁾、有機化合物に関する諸現象(反応や物性及び機能)の解明や新規で有用な有機化合物の開拓にはならない情報といえる。

本稿では分子構造解析手法の概要を説明したのち、筆者らが行った解析例の一部を紹介する(以下分子構造を構造と記す)。

2 構造解析手法の概要

構造解析の進め方は当初化学的な方法で進められていたが、20世紀の初頭から機器分析法が取り入れられ、1世紀を経た今日では種々の高度な手法が開発され構造解析の飛躍的スピードアップが達成された。

表1に主な機器分析法の分類と利用目的をまとめた²⁾。これらのうち、質量分析法、核磁気共鳴法及び近年

表1 機器による構造解析法の分類と利用目的

機器分析法	原理	利用目的
1 光学分析法 紫外・可視吸収スペクトル法 赤外スペクトル法 ラマンスペクトル法	電子の励起による紫外・可視光線の吸収 分子振動による赤外線吸収 分子振動による光の散乱	共役二重結合系の構造解析, 検出器 官能基の推定, 化合物の同定 官能基の推定, 化合物の同定 (赤外スペクトル法と相補的)
2 磁気分析法 核磁気共鳴法 電子スピン共鳴法	静磁場中における原子核の磁気モーメントの配向 静磁場中における電子スピンの配向	化合物の同定と構造解析, 異性体構造の特定 ラジカルの検出及び構造解析
3 質量分析法	主に電子線によるイオン化と開裂	分子量・分子式の決定, 化合物の同定と構造解析, 選択的高感度検出器
4 X線結晶構造解析法	単結晶によるX線の回折	3次元分子構造の決定, 絶対配置の決定

著しく操作性や迅速化が進んできたX線結晶構造解析法の三種の機器分析法について触れる。

や熱不安定化合物に対しても、種々のソフトイオン化法の開発により、構造解析における基本的な情報である

3 各機器分析法と応用

3.1 質量分析 (MSスペクトル) 法

MSスペクトル法は種々の方法でイオン化した化合物を質量/電荷数 (m/z) に応じて分離し、化合物の分子量及び構造に関する情報を得る方法である。

従来困難とされてきた難揮発性化合物

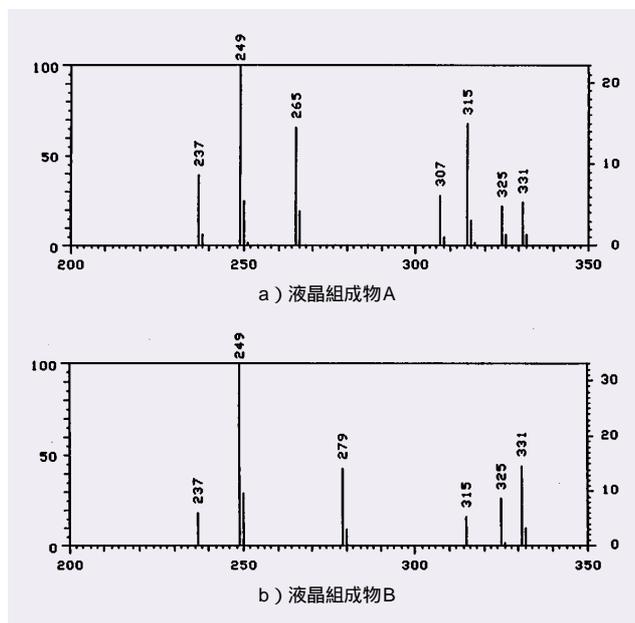


図1 液晶組成物のFD-MSスペクトル

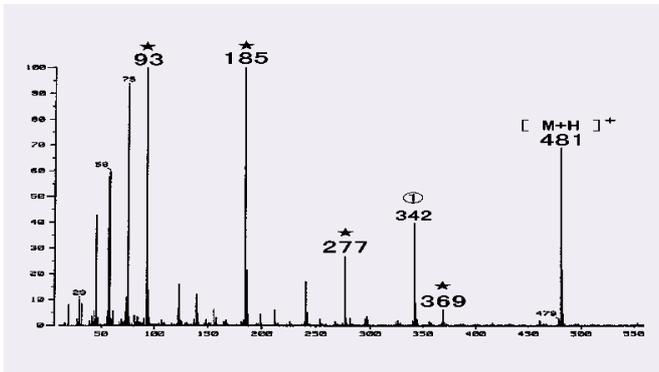


図2 樹脂添加剤AのFABイオン化MSスペクトル

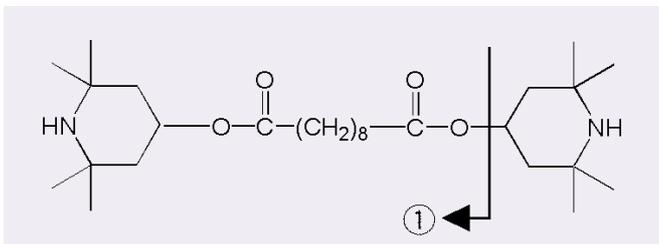


図3 樹脂添加剤Aの構造式

分子量の測定が可能となってきた³⁾。
以下に各種ソフトイオン化とその応用例について述べる。

3. 1. 1 電解脱離 (FD) イオン化法

FDイオン化では、分子イオンが生成されやすく分子イオンが開裂したフラグメントイオンは出にくいのが特徴であり、したがって分子量の異なる成分の数を求めるのに都合が良い。その例として図1に、2種類の液晶組成物のFDイオン化MSスペクトルを示した。

液晶組成物は液晶表示に必要な機能を付与させるため多種類の液晶化合物の混合物であるが、本イオン化法により液晶組成物構成成分の相違が明瞭にわかる。

FD : Field Desorption

3. 1. 2 高速原子衝撃 (FAB) イオン化法

FABイオン化は、比較的高極性の

化合物に適用され分子イオンと共にフラグメントイオンも生成するのが特徴であり構造解析に有用である。

図2に、ヒンダードアミン系樹脂添加剤AのFABイオン化MSスペクトルを示した。m/z 481はプロトンが付加した分子イオン[M+H]⁺、またm/z 342は図3の で示した結合で開裂したフラグメントイオンであることがわかった。また本イオン化は小数点以下3桁までの精密質量数ができる。このm/z481についての実測値は481.398が得られ、分子式はC₂₈H₅₂O₄N₂と求まった。

FAB : Fast Atom Bombardment

3. 1. 3 エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法

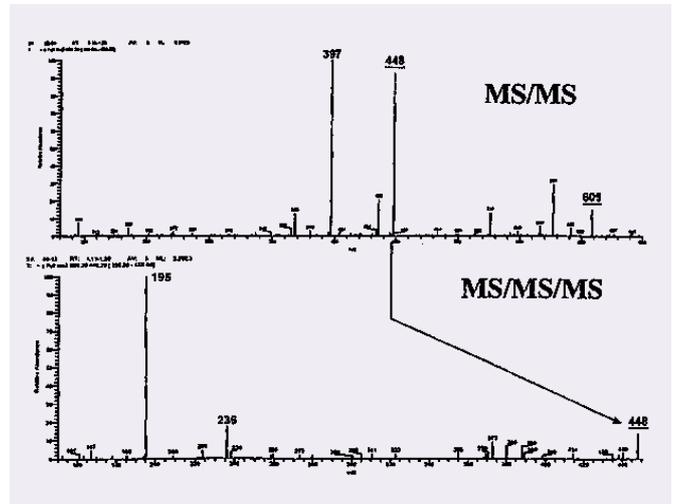


図4 レセルピンのESI-MS/MS及びMS/MS/MSスペクトル

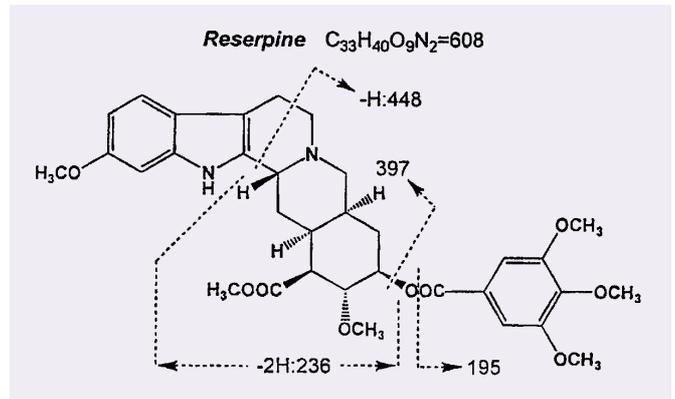


図5 レセルピンの構造と開裂様式

ESI法は高電圧に印加されたキャピラリーから試料溶液を噴霧してイオン化させる方法であり、ペプチド・糖・医薬品等極性基を有する化合物の分子量測定に適している。

イオントラップ型分離器と組合わせた装置では、容易にMS/MSやMS/MS/MS測定が可能で分子構造解析に利用される。

図4に医薬品レセルピンの例を示した。プロトン付加分子イオン([M+H]⁺: m/z 609)を親イオンとするMS/MS測定にてm/z 448や397が生成し、さらにm/z 448を前駆イオンとするMS/MS/MS測定にてm/z 236や195が検出されたことから、その開裂様式を推定しレ

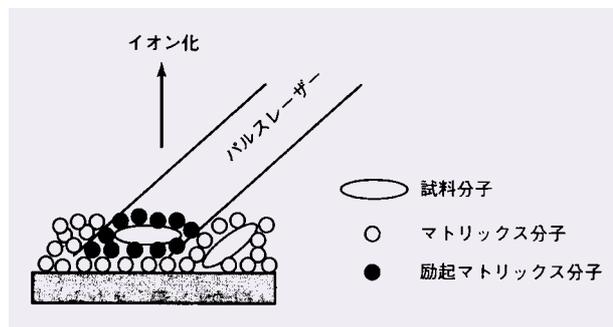


図6 MALDI法の概念図³⁾

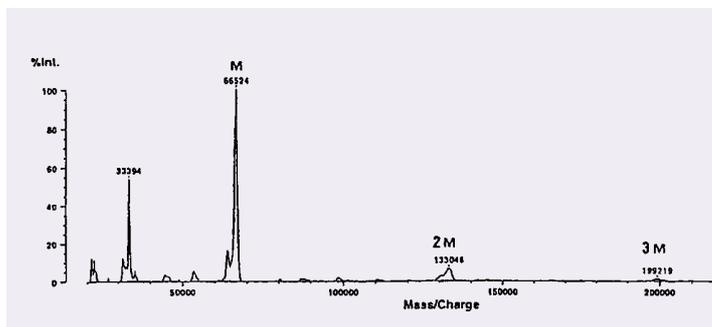


図8 牛血清アルブミンのMALDI-TOF-MSスペクトル

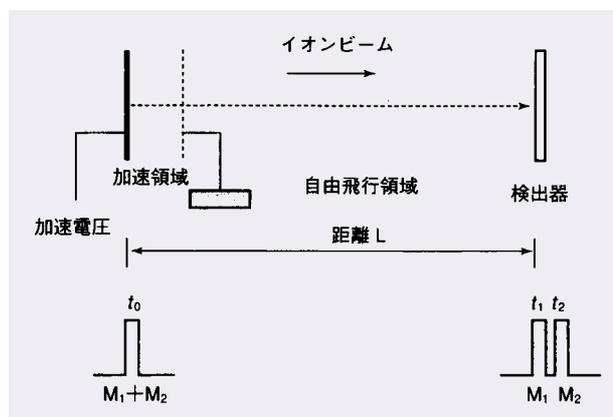


図7 TOF 質量分析計の構造と分離の原理³⁾

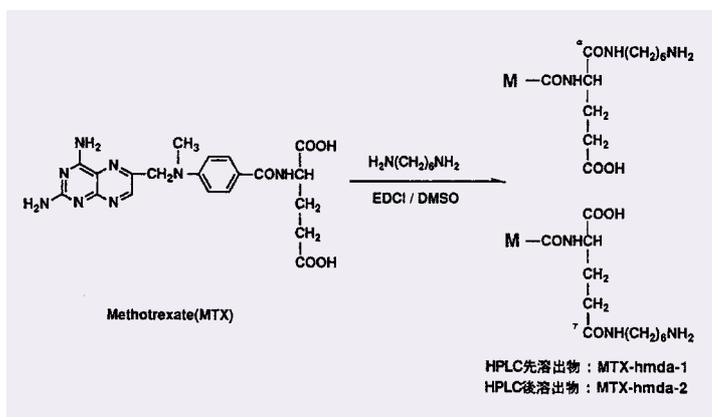


図9 MTX-hmda-1及びMTX-hmda-2の合成スキーム

セルピンの構造が確認された(図5)。

ESI: ElectroSpray Ionization

3.1.4 マトリックス支援レーザー脱離イオン化(MALDI)法

MALDI法は通常飛行時間型(TOF)の質量分析計と組合わせて測定される。数万にも及び高分子量化合物の分子イオンの検出に適しており、蛋白質やオリゴ糖といった生体高分子の測定に威力を発揮している。

図6及び図7にMALDI法とTOF法の概念図を、また図8に高分子量蛋白質への応用例として牛血清アルブミンのMALDI-TOF-MSスペクトルを示した。

約6.6万の分子イオンの他に、3量体の約20万クラスターイオンも検出され高分子量蛋白質の測定に有用であることがわかる。

MALDI: Matrix Asisted Laser
Desorption Ionization

TOF: Time Of Flight

3.2 核磁気共鳴(NMRスペクトル)法

NMRスペクトル法は有機化合物を構成する水素核(¹H:プロトン)や炭素核(¹³C)を対象とし、試料は強い静磁場中に置かれて測定される。

7.0テスラにおける¹H及び¹³Cの共鳴周波数は、それぞれ300MHz及び75MHzである。本法により化学シフト、スピン結合定数、スピン結合相互作用する¹H間の相関関係及び¹Hと¹³Cの相関関係等の情報を得ることにより構造解析が可能となる。

合成的知見やMSスペクトル法等他の測定手法から構造が予想される場合、構造の特定に威力を発揮する。

この例として異性体構造解析があり以下に述べる。

3.2.1 位置異性体解析

抗癌剤メトトレキサート(以下MTXと記す)をヘキサメチレンジアミン(以下hmdaと記す)にてアミド化すると、2種類のモノアミド異性体(MTX-hmda-1及びMTX-hmda-2)が得られた(図9)。

これらの誘導体を特殊な高分子に結合させ白血病マウスに対する抗癌活性を評価したところ、MTX-hmda-2の高分子結合体が高い活性を示した。

このMTX-hmda-2のHMBC二次元NMRスペクトル(図10)測定を行ったところ、hmdaのMTXへのアミド結合部位はグルタミン酸部であることが判明した⁴⁾。

高分子結合体になると位アミド結合体 (MTX-hmda-2) の方が、位アミド結合体 (MTX-hmda-1) より高い活性を示すという興味ある知見が得られた⁵⁾。

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
(¹Hと¹³C間の2ないし3結合離れた結合情報がわかる。図10ではC₁₄とH₁₄、H₁₆及びH₁₇間のシグナルが得られている)

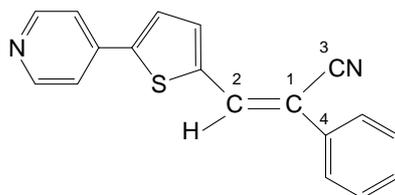
3.2.2 オレフィンE,Z異性体解析
オレフィン化合物には、E,Z異性体が存在することは良く知られているが、下記の構造式を有する化合物では二重結合に直結する水素原子(H)は一つしかなく、かつ合成的に得られた化合物はどちらか一方のみであった。

従ってこの場合ではプロトン間でよく知られているシス,トランス間スピン結合定数や、HMBCによる炭素と水素間の遠隔スピン結合による相関シグナルの有無からでは単純に結論が出しにくい構造である (EZ

体のいずれからもC3とH2及びC4とH2の相関が表れることが予想される)。

このような場合は、炭素と水素間の遠隔スピン結合定数が直接測定できるプロトン非照射下の¹³C-NMRスペクトルを測定し(図11)、³J_{C-H}の大きさを求めるのが良い。

解析の結果³J_{C3-H2}及び³J_{C4-H2}は、それぞれ14.0Hz, 6.0Hzが得られ、大きな³J_{C3-H2}を与えた該化合物はZ体であると判定された⁶⁾。



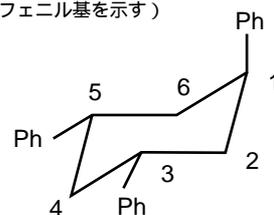
オレフィン化合物の構造式 (Z体)

3.2.3 シクロヘキサン環立体異性体解析

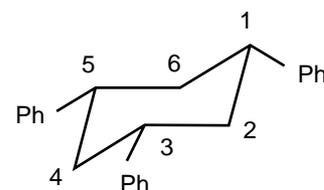
食品用ポリスチレン製品から溶出してくるとされたポリスチレン三量体化合物のうち⁷⁾、1,3,5-トリフェニルシクロヘキサン(1,3,5-TPCH)の立体構造を考察した。

この化合物の立体異性体としては(シス-トランス)体及び(シス-シス)体の2種類が存在し、出発原料フェニルスチリルケトンから2種の1,3,5-TPCHを得た(それぞれTP-1及びTP-2と記した)。この両異性体の立体構造の特定は、シクロヘキサン環自体の安定配座を椅子型として考察することができ、¹H-NMRスペクトルのシクロヘキサン環ピシナルスピン結合定数(J_{vic} 値)や¹³C-NMRのシクロヘキサン環化学シフト値の比較から可能である(この場合対称性も解析に役に立った)。

(Ph: フェニル基を示す)



TP-1: (シス-トランス)体



TP-2: (シス-シス)体

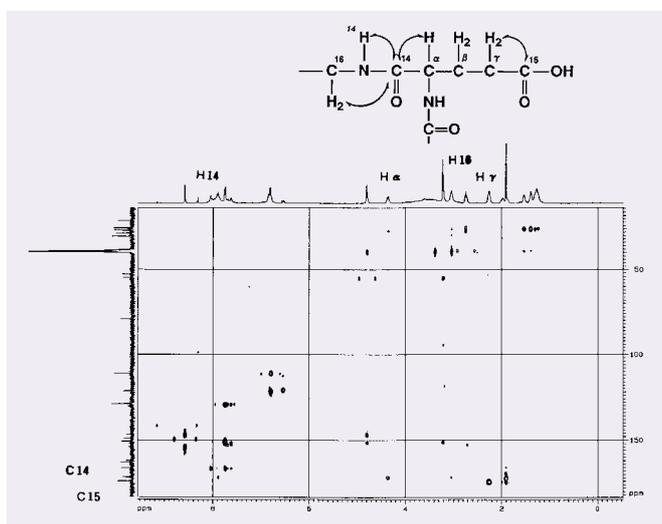


図10 MTX-hmda-2のHMBCスペクトル

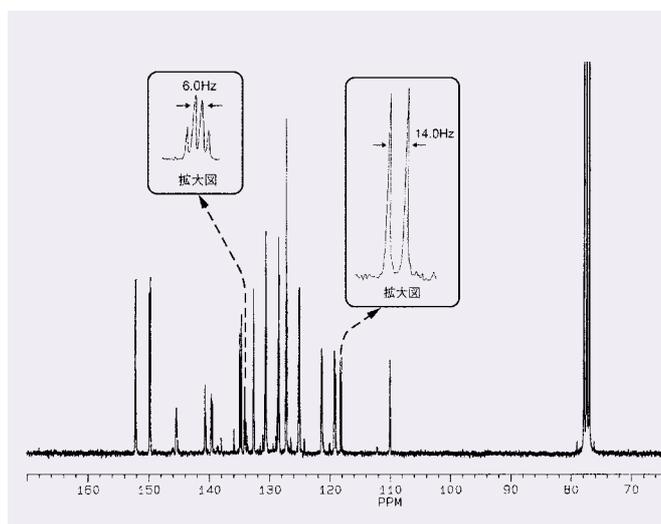


図11 プロトン非照射下の¹³C-NMRスペクトル

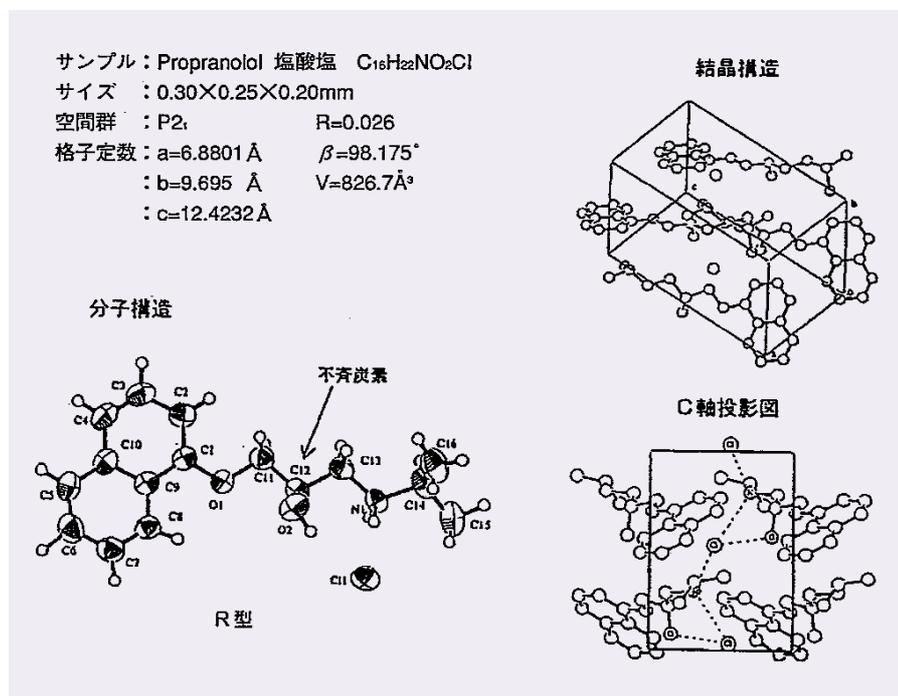


図12 絶対配置解析結果例(プロプラノロール塩酸塩の光学異性体)

TP-1の1位プロトンの J_{vic} 値は約3Hzと小さく、かつ1位の¹³C化学シフトもTP-2より高磁場シフト(TP-1の δ_{C-1} : 37.7, TP-2の δ_{C-1} : 45.0)していることから、3個のフェニル基の結合は(1-ax, 3-eq, 5-eq), すなわちTP-1は(シス-トランス)体であること、従ってTP-2は(1-eq, 3-eq, 5-eq)となり(シス-シス)体であることが判明した⁹⁾(ここでaxはアキシャル(軸)結合, eqはエクワトリアル(赤道)結合を示す)。

3.3 X線結晶構造解析法

0.1 ~ 0.3mm角程度の大きさの単結晶試料があると、本法は極めて信頼性の高い立体構造解析を行うことができる。医薬品に代表される生理活性物質には光学異性体が多く存在し、光学異性体間で活性が異なる場合や作用強度に差が見られること等が知られている。

光学異性体が存在する新規医薬品は、今後光学活性体として開発される傾向にあると考えられ、絶対配置解析のニーズは益々高まることが予想される。

本法は、PやSより重い原子が存在するとき光学異性体の絶対配置を非経験的に決定できる特徴を有する。目的化合物自体にそのような重原子が存在しない場合でも塩酸塩やカリウム塩等の単結晶の作成が可能であれば、直接化学結合させる必要はなく重原子の導入も比較的容易である。

抗高血圧薬・抗不整脈薬であるプロプラノロール塩酸塩はラセミ体であるが、その一方の光学異性体の絶対配置を解析した結果、図12に示したようにR体であることがわかった。

4 おわりに

質量分析法、核磁気共鳴法及びX線結晶構造解析法による「有機化合

物の分子構造解析」について具体例を紹介しながら述べた。

これらの構造解析手法は今なお日進月歩で発展しており、今後益々微量化、高感度化・迅速化が進むであろう。筆者としてもニーズに素早く対応した新技術を導入し、それを駆使した応用例の開拓に積極的に取組み、より良い分析サービスのご提供に努力したいと考えている。

文献

- 1) グーチェ・パスト著, 野平ら訳: “有機化学(上)”(1977, (株)東京化学同人)
- 2) 大倉ら編: “分析化学”改訂第4版(1997, 南江堂)
- 3) 日本分析化学会九州支部編: “機器分析入門”改訂第3版(1998, 南江堂)
- 4) 森口ら: 日本化学会第67春季年会講演要旨集, 3L210(1994)
- 5) 平野ら: 第52回日本癌学会総会, 2103(1993)
- 6) 中島ら: 日本分析化学会第41年会講演要旨集, 3F03(1992)
- 7) 河村ら: 食品衛生学雑誌, 39, 110(1998)
- 8) 森口ら: 分析化学 48, 623(1999)



森口 宏一
(もりぐち こういち)
大阪事業所



梅木 卓
(うめき たかし)
大阪事業所