

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：36102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860033

研究課題名(和文) 時間分解コールドスプレーイオン化質量分析法による不安定化学種の溶液動態解析

研究課題名(英文) Analysis of soluble and labile chemical species changes using time dependent cold-spray ionization mass spectrometry

研究代表者

小原 一朗(小原一朗)(Ohara, Kazuaki)

徳島文理大学・薬学部・助教

研究者番号：60581775

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：金属と有機配位子の結合を壊さないソフトなイオン化法であるコールドスプレーイオン化質量分析法(CSI-MS)を用いて、弱い相互作用で構築された化合物の反応追跡を行った。二種類の有機配位子を異なる配位子比で混合して金属溶液を加えた後、錯形成を行った。貧溶媒を加えて結晶化を行ったところ、二種類の結晶が異なる配位子比で別々に得られた。CSI-MS測定で得られたイオンピークが結晶構造変化と対応して変化することが分かった。このことからCSI-MS測定によるイオンピーク変化は溶液構造体変化と関連している。同時にソフトイオン化で検出されたピークを解析する成分組み合わせ解析の有用性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Cold-spray ionization mass spectrometry (CSI-MS) is a soft ionization method to ionize chemical species constructed with weak interaction without fragmentation. In this study, several coordination species were detected by CSI-MS in complexation. Two different ligands solutions were mixed at different ratios and metal solution was added to their ligands solutions, and then coordination complexes were synthesized. After crystallization by adding a poor solvent to the solutions, two different crystals were obtained at two different ratios. This fact indicated that ion peaks change of CSI-MS was related to a crystalline structure change. In addition, it was found that component-composition analysis could effectively assign the ion peaks detected in soft ionization.

研究分野：分析化学，錯体化学

キーワード：コールドスプレーイオン化 ソフトイオン化 配位オリゴマー 錯形成反応追跡 帰属

1. 研究開始当初の背景

質量分析法において、対象分子種をイオン化する際に、レーザー照射、高温加熱、および電子の衝突を必要とする場合が多い。そのために、対象種は結合エネルギーを超えた内部エネルギーを持つことになり、観測されるイオン種はフラグメンテーションを伴う。一方、Electrospray Ionization (ESI)に類似したCold-Spray Ionization (CSI)は、ネブライザーガス温度を下げることで、イオン解離の促進、フラグメンテーションの抑制を達成出来る。そのため、溶液中の構造と対応した構造をイオン種として質量分析法(MS)にて観測出来る。一方で、Cooksらは溶液にネブライザーガスをそのまま吹き付けることで検出対象種を閉じ込めた液滴を形成し、脱溶媒過程を経て、イオン種として検出方法を見出した。これを反応追跡に適用すると、溶液の濃縮効果により反応が促進された。このようにフラグメンテーションが抑制されたイオン化法と溶液中の構造は注目されている課題であった。しかしながら、ソフトイオン化法によって検出される不安定化学種や可溶性配位オリゴマーの反応追跡はこれまで行われていなかった。また、近年常用で分解能数十万に達するマスマスペクトル(MS スペクトル)が得られるフーリエ変換型イオンサイクロトロンマスマスペクトロメトリー(FT-ICR MS)により精密質量同定が容易になっている。また、その検出濃度下限は 1×10^9 M程度と非常に感度が良く、反応追跡に適している。

2. 研究の目的

本研究は、弱い相互作用で構築された配位化合物または不安定化学種を検出出来るCSI-MSを用いて、反応中間体や特定条件下で安定な化学種、並びに、多成分からなる可溶性オリゴマーの反応追跡が目的である。そこで、以下の三つの課題について検討を試みた。

- (1) 有機化学反応における不安定中間体の検出と反応追跡
- (2) 有機金属試薬を用いた反応のそのまま検出
- (3) 結晶性多成分配位高分子の形成過程の可溶性オリゴマーの追跡

3. 研究の方法

- (1) 有機化学反応における不安定中間体の検出と反応追跡

第一級アミンとケトンまたはアルデヒドとのイミン形成反応をCSI-MSにより追跡する。同時にNMRによる測定結果と比較することでCSI-MSがNMRと同等に反応追跡が可能であることを明らかにする。

- (2) 有機金属試薬を用いた反応のそのまま検出

有機リチウム試薬、Grignard試薬、有機亜

鉛試薬などの反応において、有機金属試薬は反応性が高いので、反応をモニターするためにはクエンチ作業を要する。CSI-MSは、 μ Lオーダーのサンプリング量、且つ、イオン源を嫌気下や低温下へと対応できることから、反応溶液中の化学種をそのまま追跡可能である。一方、一般のNMRは試料の均一性、溶液の温度や濃度の測定条件から追跡することが難しい。CSI-MSにより有機金属化合物がどのような反応中間体および反応活性種を与えるか実験的に検討する。さらに、中間体が不明な系や反応活性種が助触媒によって決まる系において、その構造体を数や電荷数によって議論し、最適化することができる。

- (3) 結晶性多成分配位高分子形成過程の可溶性オリゴマーの追跡

配位高分子は、金属の配位環境と配位子の形や大きさに基づき、多様な構造を設計できる。これまで複数の配位子を導入する際は配位形成や配位能が大きく異なる官能基を用いてきた。CSI-MSを用いて、結晶性配位高分子の前駆体といえる溶液中のオリゴマーを追跡することで、オリゴマー構造体中に異なる配位子または金属が導入されることを質量数や同位体パターンから確認できる。そのため、同じ官能基でも配位能のわずかな違いを区別できる。可溶性オリゴマーの構造が同一の官能基を持つ異なる配位子からなったことをCSI-MSにより追跡することを目的とする。その後、構造同定のために多成分結晶性配位高分子を形成し、溶液構造との比較をする。

4. 研究成果

- (1) 有機化学反応における不安定中間体の検出と反応追跡

アミン**1**とケトン**2**を用いてCSI-MS測定を行ったところ、ケトン**2**は陰イオンモードでのみ検出されたため、出発物質と生成物の同時測定が出来なかった。次いで、アミン**3**とケトン**4**を用いて同様に測定を行ったところ、両者を陽イオンモードで捉えることが出来たが、溶媒自身が形成するオリゴマーイオンピークが現れたために、出発物質と生成物の識別は困難であった。

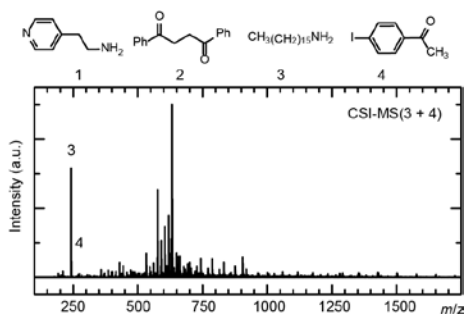


図 1.3,4 によるイミン形成反応と帰属困難なオリゴマーピーク群。

(2)有機金属試薬を用いた反応のそのまま検出

Grignard 試薬フェニルマグネシウムブロマイド(5)とベンズアルデヒド(6)の反応追跡を行った。濃度として数 100 mM 程度の条件で反応を行ったところ、ニードルの詰まりを生じた。同程度の濃度では塩の析出を抑制出来なかった。これはイオン源内の水や酸素との反応が原因であると考えられた。THF による希釈によって測定を行うことで MS スペクトルを得たが、さまざまなイオンピークが観測されたために化合物 5, 6 から得られた生成物を確認することができなかった。これについて、分解生成物、溶媒やカチオン付加体として検出された可能性があるが多数のイオンピークが観測されたため帰属を明らかに出来なかった。

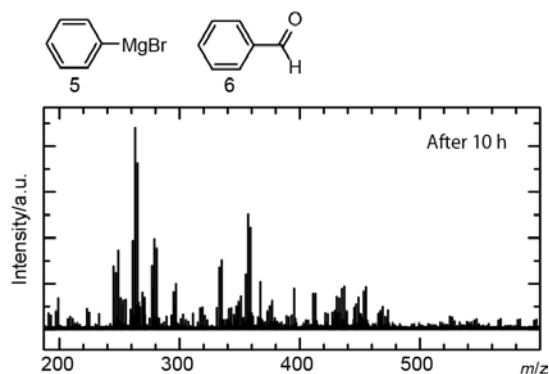


図 2. Grignard 試薬を用いた反応(10 時間後). THF 希釈後の CSI-MS スペクトル.

(3)結晶性多成分配位高分子の形成過程の可溶性オリゴマーの追跡

金属間を連結する配位子(連結配位子)7 と金属の配位環境を囲う配位子(留め具配位子)8 の二種類の配位子を金属と連続的に混合し、15 分ごとに溶液を取り分けた。得られた溶液中の配位化合物について CSI-MS 法でイオンピーク強度を追跡した。また、ソフトイオン化に適した帰属方法を開発し、その有用性を検討した。

(a)成分組み合わせ解析の有用性

あるイオンピークの質量数について用いた成分の組み合わせから候補となる組成式を構築し、帰属する方法を開発した。これにより、いままで予想が難しかった溶媒やカウンターイオンの付加体を考慮したイオンピーク帰属が可能となった。同時にそれ以外のピークはノイズや不純物、またはイオン化の過程で壊れた物質と判断できるようになった。さらに、本解析方法は組成式を求める方法であるので、得られた候補解に対して電荷バランス比較と同位体パターン比較を行うことで質量数 1000 においても解を一つに絞り込むことが可能であることが分かった。元素組成解析では質量数 1000 では候補解が数万に達することから本解析手法がソフトイオン化で得られたイオンピークの帰属において強力な解析方法であるといえる。これに

よって、目的(1), (2)の帰属問題を解決出来るようになった。

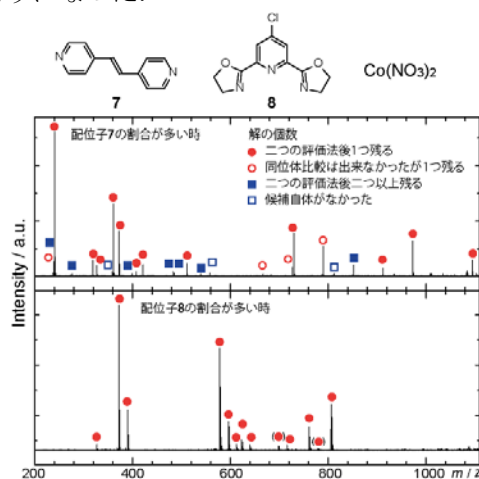


図 3. 成分組み合わせ解析による二つのスペクトル中に観測されたイオンピークの帰属結果.

(b)CSI-MS によるイオンピーク強度追跡と配位化合物との相関

先の実験系について、得られた溶液を貧溶媒により結晶化を行った。ジエチルエーテルを用いた場合、7 の割合が多い場合(45-90 分)、無限次元鎖構造の配位高分子 7a が得られたのに対して、8 の割合が多い場合(135 分以降)、金属回りを覆った直線状分子 8a が得られた。これらの結晶構造変化に伴って、特定のイオンピーク強度も変化していたことから、溶液中の構造体を CSI-MS によって追跡することで結晶化によって得られる配位化合物の構造変化を結晶化前に判別出来ることが分かった。

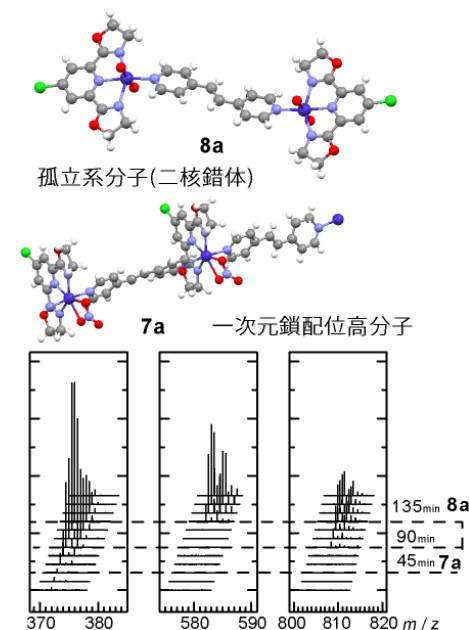


図 4. イオンピーク強度変化と結晶構造変化 (c)イオンピーク強度を用いた溶液化学的議論の可能性

一般的に質量分析法は系の制約無しでは定量分析に用いられない。一方で CSI-MS 法

が溶液中の弱い相互作用からなる構造体を検出できることから溶液化学的議論が出来る可能性がある。そこで、直線状配位子を9へ変えた系について、先と同様に配位子の割合を変えて混合した後、各イオンピークの帰属を行った。図のように得られた配位化合物のピークプロファイルをもとめた。酸塩基平衡の概念を参考に化学種の平衡反応式を立式することを検討した。得られた式はルシャトリエの法則を満たすことがわかり、化学的に意味のある式の導出に成功した。

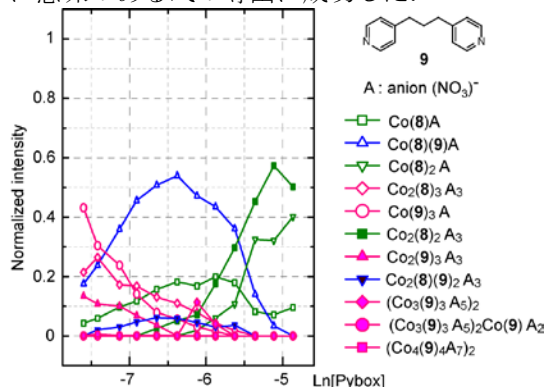


図 5. イオンピーク強度プロファイル。

(4)結論

ソフトイオン化法による反応追跡を行うにあたり、得られるイオンピークが溶媒やカウンターイオンの付加体として多数観測されるため、手作業による解析では帰属が困難であった。そこで、ソフトイオン化に適した成分組み合わせ解析を開発した。これによりイオンピーク自体の帰属だけでなく、目的化合物が含まれるか、ノイズであるか、といった判断が可能となった。CSI-MS法による錯形成過程の追跡をおこなった結果、溶液中に生成する錯体のイオンピーク強度の変化は結晶化によって得られる構造体の変化と相関を持つことが分かった。また、イオンピーク強度のプロファイルを経験平衡論に基づき解析を行うと平衡反応式を導出することができ、且つ、それがルシャトリエの法則に従った。これはMSスペクトルのイオンピーク強度から化学的に意味のある平衡反応式の導出に成功した初めての例といえる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

(1) Kazuaki Ohara, Ayaka Nakai, and Kentaro Yamaguchi, “Laser desorption ionization of stilbenes in crystalline sponge”, *Eur. J. Mass Spectrom.*, **2015**, in press, 査読有
DOI: 10.1255/ejms.1319

(2) Kazuaki Ohara, Masahide Tominaga, Isao Azumaya, and Kentaro Yamaguchi, “Solvent-dependent Assembly of Discrete and Continuous CoCl₂ Adamantane-based Ligand

Complexes: Observation by CSI-Mass Spectrometry and X-ray Crystallography”, *Anal. Sci.*, **2013**, *29*, 773-776, 査読有。

DOI: 10.2116/analsci.29.773

(3) Masahide Tominaga, Akitaka Iekushi, Kosuke Katagiri, Kazuaki Ohara, Kentaro Yamaguchi, “Organic crystals bearing both channels and cavities formed from tripodal adamantane molecules”, *J. Mol. Struct.*, **2013**, *1046*, 52-56, 査読有。

<http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2013.03.033>

[学会発表] (計 11 件)

(1) 小原一朗, 山口健太郎, CSI-MSによる配位子比依存作形成状態の溶液化学的議論の可能性, 日本分析化学会第63年会, 広島大学東広島キャンパス, 広島, 平成26年9月17-19.

(2) 小原一朗, 山口健太郎, 配位化合物のソフトイオン化質量分析と組成式解析の有用性, 日本化学会第95春季年会, 日本大学船橋キャンパス, 千葉, 平成27年3月26-29日.

(3) Kazuaki Ohara, Masahide Tominaga, Isao Azumaya, Kentaro Yamaguchi, “Coordination Polymer Formation Observed by Cold-Spray Ionization Mass Spectrometry”, Joint Congress of ACTS-2014 and CGOM11, June 17-20, 2014, Nara Prefectural New Public Hall, Nara (Japan).

(4) 小原一朗, 山口健太郎, 弱い相互作用からなるオリゴマー化学種の精密質量分析による追跡, 第74回分析化学討論会, 日本大学工学部, 福島, 平成26年5月24,25日.

(5) 小原一朗, 綾野武司, 山口健太郎, 二成分配位子によるCo錯体の精密質量による追跡, 第62回質量分析総合討論会, ホテル阪急エキスポパーク, 大阪, 平成26年5月14-16日.

(6) 小原一朗, 山口健太郎, 錯体を対象としたコールドスプレーイオン化質量分析法における精密質量検出と組成式解析法, 日本化学会第94春季年会名古屋大学東山キャンパス, 愛知, 平成26年3月27-30日.

(7) 中井彩夏, 小原一朗, 藤田誠, 山口健太郎, 三次元細孔を有する有機金属錯体内へのStilbene包接とレーザーイオン化質量分析, 日本薬学会第134年会熊本大学, 熊本, 平成26年3月27-30日.

(8) 林侑加子, 小原一朗, 山口健太郎, CSI-MSによる二種類の多座配位子を用いた錯形成追跡, 日本薬学会第134年会熊本大学, 熊本, 平成26年3月27-30日.

(9) 小原一朗, 高溝一郎, 川幡正俊, 藤田誠, 山口健太郎, “マトリクスを必要としないMALDI:結晶スポンジによる脱離イオン化質量分析”, 第52回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会・中国四国支部学術大会, 松山大学, 平成25年10月26,27日.

(10) 小原一朗, 山口健太郎, 有機多座配位子と金属からなる可溶複合体のCSI-MS貧溶媒

導出結晶化,第 61 回 質量分析総合討論会,
つくば国際会議場エポルカ,茨城,平成 25
年 9 月 10-12 日.

(11) 小原一朗,伊藤文博,山口健太郎,コー
ルドスプレーイオン化法による配位化合物
へのヘテロ配位子導入の検討,第 80 回 日
本分析化学会有機微量分析研究懇談会,第 90
回 計測自動制御学会力学量計測部会,第 30
回 合同シンポジウム,長良川国際会議場,
長野,平成 25 年 5 月 30 日,6 月 1 日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小原一朗 (OHARA KAZUAKI)

徳島文理大学・香川薬学部・助教

研究者番号 : 60581775

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :