

低分子単結晶X線回折実験の応用例

佐藤 寛泰*

1. はじめに

最近の単結晶X線構造解析は、X線発生装置や検出器に関わる要素技術の発展により、必要とされる試料の大きさが飛躍的に小さくなってきており、数 μm でも測定できる場合がある。また、分子構造だけでなく、応用として様々な結晶の状態を知ることにも可能となっている。

質の良いデータを得るためには、測定試料に合わせて、適切な発生装置や検出器などを選択することが重要となる。また、使用するX線の波長も測定に大きく影響する。低分子の結晶においては、主にCuやMo線源が使用されており、測定の用途に応じて変更する必要がある。

本稿では、2波長搭載の単結晶X線構造解析システムを用いて微小結晶を測定した例などの応用例を紹介する。

2. 微小結晶

2.1. 有機物（線源：Cu）

軽原子で構成される有機化合物においては、エネルギーの高いCu線源を用いることで、高角側まで十分な回折スポットを観測することができる。

図1, 2は、 $0.04 \times 0.04 \times 0.04 \text{ mm}$ 角のシンコニンのマウント例とVariMax DW with RAPIDを用いて測定した回折イメージである。

有機薄膜材料においては、 0.002 mm 程度の薄膜で

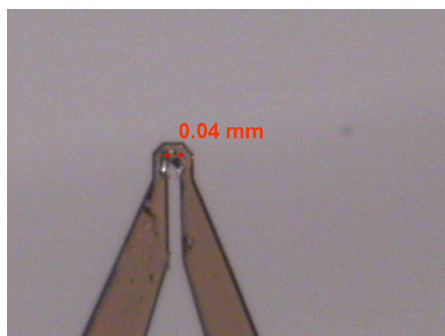


図1. シンコニンの結晶。

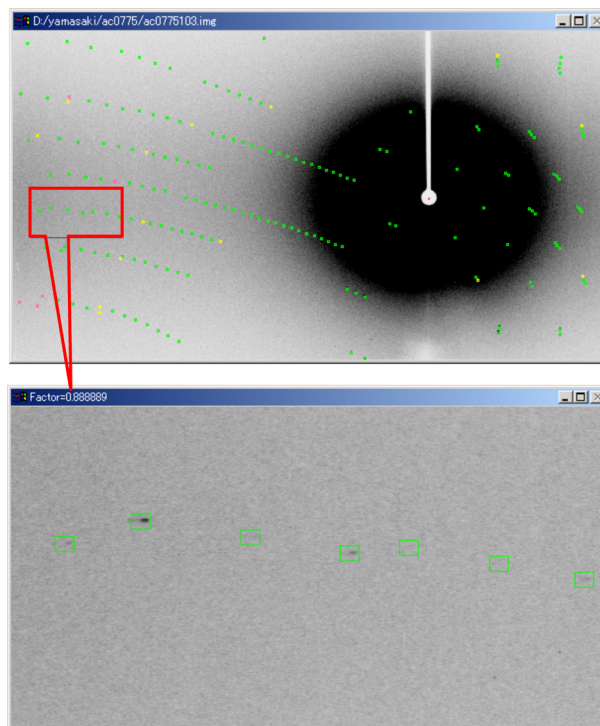


図2. シンコニンの回折イメージ。

も測定することが可能である（図3）。

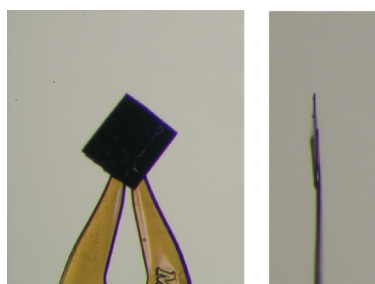
2.2. 無機物（線源：Mo）

構成される原子のX線吸収係数が大きい無機物の場合、透過力の高いMo線源を用いるのが有効である。また、無機物においては、有機物よりも強い回折スポットを観測できることもあり、より小さい結晶で測定が可能である（図4）。

3. 双晶、多結晶解析の例（線源：Mo/Cu）

いわゆる単結晶が、同一の分子団がある一定の規則性を持って3次元に配列したものであるのに対して、複数の結晶が接合している場合を双晶と呼ぶ。双晶を測定した場合は、異なったそれぞれのドメインからの回折スポットが同時に観測されることになるが、2つのドメインの結晶学的方位を判別することができれば、測定したデータの解析も可能となる⁽¹⁾。双晶の判断は、逆格子空間ビューワー機能を使用することで比

*株式会社リガク X線機器事業部 応用技術センター



試料名:ペンタセン
組成式: $C_{22}H_{14}$
結晶サイズ: $0.32 \times 0.30 \times 0.002$ mm

測定装置:VariMax DW with RAPID

測定温度: -173°C

測定時間:3.5時間

空間群: $P-1$

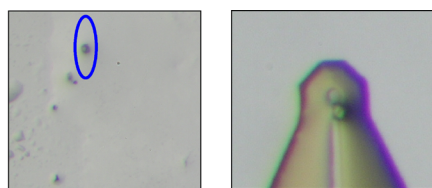
格子定数:

$a=6.2764(3)$ Å, $b=7.6575(4)$ Å,
 $c=14.3560(7)$ Å, $\alpha=76.934(5)^{\circ}$,
 $\beta=88.235(6)^{\circ}$, $\gamma=84.355(6)^{\circ}$,
 $V=668.82(6)$, $Z=2$

$R_{\text{merge}}=5.20\%$

$R_1=5.22\%$

図3. ペンタセンの測定例.



試料名:二酸化ケイ素

組成式: SiO_2

結晶サイズ: $0.01 \times 0.01 \times 0.01$ mm

測定装置:VariMax DW with Saturn

測定温度: -173°C

測定時間:27時間

空間群: $P3_12_1$

格子定数:

$a=4.902(4)$ Å, $c=5.399(4)$ Å,
 $V=112.37(14)$ Å³, $Z=3$

$R_{\text{merge}}=3.80\%$

$R_1=2.69\%$

図4. 二酸化ケイ素の測定例.

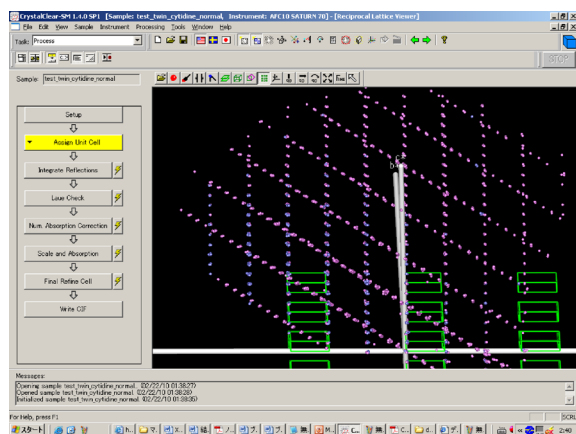


図5. 逆格子空間ビューワー.

較的容易に行うことができ、特別な知識を必要としない。図5は、シチジンの双晶を逆格子空間ビューワーで表示したものである。緑色のボックスは現在の格子定数を反映した逆格子を、青色の点はその格子で説明がつく反射を示している。説明のつかない反射はピンク色で示される。ピンクの点のみでも層線を確認する

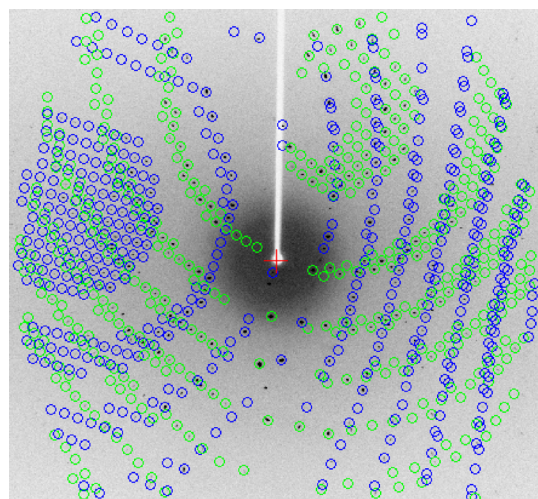


図6. 結晶格子の確認.

ことができ、双晶であることを目で見えて判断することができる。

図6は2つのドメインからなる双晶の回折パターンである。図中の青と緑のボックスは、それぞれ決定し

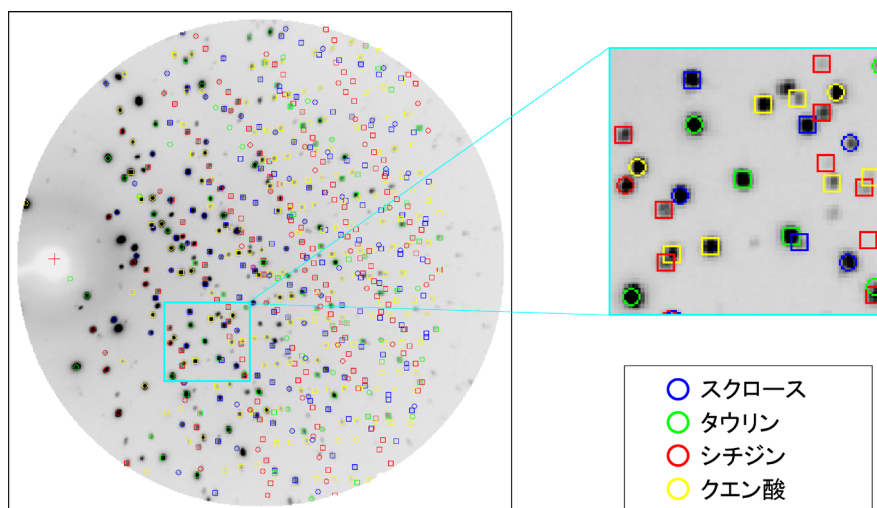


図7. 多結晶の指数付け.

表1. 多結晶の解析結果.

	スクロース	タウリン	シチジン	クエン酸
Formula	$C_{12}H_{22}O_{11}$	$C_2H_7O_3NS$	$C_9H_{13}O_5N_3$	$C_6H_{10}O_8$
Space group	$P2_1$ (#4)	$P2_1/c$ (#14)	$P2_12_12_1$ (#19)	$P2_12_12_1$ (#19)
Z	2	4	4	4
R_{merge}	3.76%	2.73%	5.22%	8.95%
R_i	3.98%	4.03%	4.98%	6.41%
wR	11.48%	10.57%	16.57%	16.69%
GOF	1.172	1.129	1.232	1.091

た2つのドメインから予想される回折スポットの位置を示している。観測された回折スポットと各ボックスの位置が良く一致しており、決定した2つのドメインの結晶学的方位が正しいことが視覚的にわかる。

双晶のみならず、格子の違ういくつかの結晶が混じっている場合でも、分離して解析を行うことが可能である。擬似的な多結晶としてスクロース、タウリン、シチジン、クエン酸の4種の結晶を混ぜた多結晶を作成し、その指数付けと解析を行った。図7、表1に示したように4つの結晶をそれぞれ分離・解析することができている。このように様々な格子が混じった結晶に遭遇しても、十分解析が可能なので、すぐにあきらめることはない。

4. 創薬関連（線源：Cu）

4.1. 軽原子から構成される化合物の絶対構造の決定

生体内の光学異性体は、生理作用が異なる場合が多々あり、投与される化合物の3次元構造は相対・絶対配置とともに純粋に構築されなければならない。したがって、創薬分野において薬となる化合物の絶対構造

の決定は、非常に重要な情報の一つである。

絶対構造を決める際、標的化合物に重原子が含まれているとMo線源でも精度よく決定可能である。しかし医薬品など炭素、水素、窒素、酸素原子などの軽原子から構成される化合物においては、以前までは安易に決定出来ないため、化合物に重原子（ハロゲン原子など）を導入し、決定する手法が多かった。現在では、図8に示すように、Cu線源を用いることで、軽原子のみからなる化合物においても、ルーチン測定で絶対構造を決定できるようになっている⁽²⁾。

結晶1粒の絶対構造を決めておけば、実際に得られるCDスペクトルの符号がどちらの異性体に属するのかスペクトルの符号と比較することができる。また、分子自体に不斉点を持たず、析出した結晶がキラル結晶の場合、固体CDスペクトルを測定しての解釈を行うなどの応用例もある（図9）。

4.2. 単結晶から粉末までの総合解析（線源：Cu）

先に述べたようにリガクの単結晶X線回折装置は、最新の技術により数 μm の極微小単結晶の構造解析が可能となっている。以前は粉末として扱われていた試

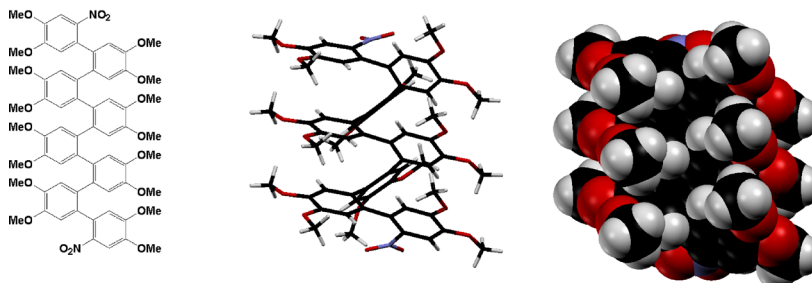
【組成式】 $C_{71}H_{74.5}N_{5.5}O_2$ 【測定温度】 -73°C 【空間群】 $C2$ 【格子定数】 $a = 26.4650(5)$, $b = 13.3084(2)$, $c = 20.9193(4)$ Å, $\beta = 116.1258(7)^{\circ}$,
 $V = 6615.2(2)$ Å³, $Z = 4$ $R_{\text{merge}} = 3.00\%$ $R_1 = 4.86\%$ Flack parameter $\chi = -0.01(14)$ 

図8. 軽原子で構成される化合物の絶対構造の決定.

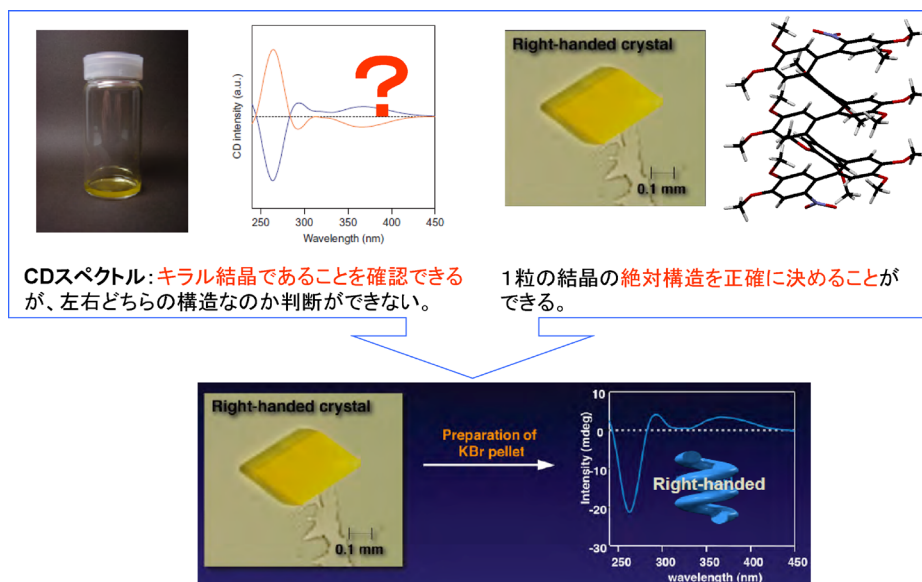


図9. CD スペクトルの解釈.

料が、単結晶として扱える場合も出てきている。また、広い検出画面を有するIPを用いれば、簡易的な粉末回折パターンも得ることができる。

図10は、ロキソニン錠剤について単結晶および粉末測定のアプローチから解析した例である。

錠剤中に含まれる単結晶で分子の3次元構造を導き出し、さらにその結果から粉末回折パターンをシミュレーションすることができる。一方、錠剤を粉碎し、キャピラリーに詰めて測定することで簡易的な粉末回折パターンを得ることができる。実測から得られた粉末回折パターンと単結晶構造解析結果からのシミュレーションで得られたパターンが一致することで、結晶構造と、錠剤全体の成分が一致していることを確認できる。

4.3. 相転移を伴う結晶の測定 (線源: Cu)

創薬分野や材料開発において、原料物質の物理的構造変化は、基礎・応用を問わず重要な研究対象となっている。物理的な構造変化を捉える分析手法の例として、粉末X線回折(PXRD)と示差走査熱量測定(DSC)がある。PXRDは化合物結晶の構造、結晶粒子の大きさ、結晶化度などの情報が短時間かつ非破壊測定で得られ、DSCは試料純度の評価やポリマー硬化の測定などが行えるため、両手法とも産業界で有用視されている。リガクは、PXRDとDSCを一つに集約させ同時測定を可能にした、X線回折-示差走査熱量同時測定装置 X-ray DSC を擁している。そこで、X-ray DSCで多形解析した試料そのものから結晶を分離し、単結晶X線構造解析を行った例を図11, 12に示す。

このように粉末X線回折、熱分析、単結晶X線構造

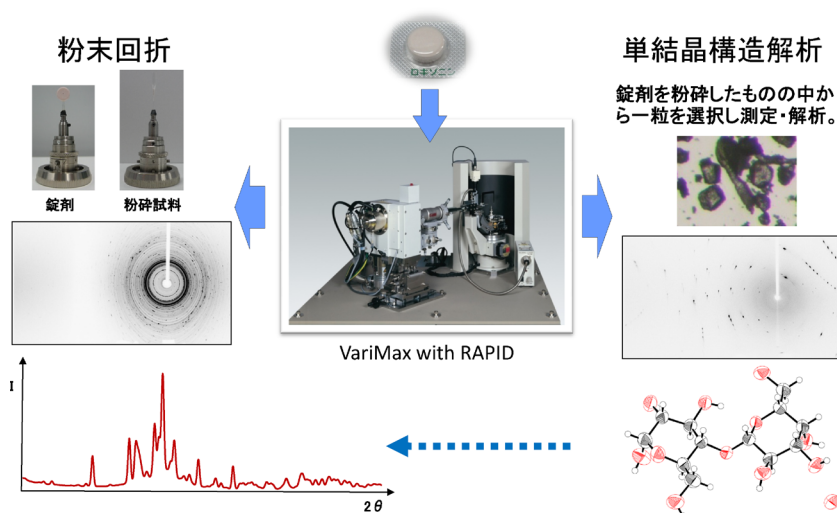


図10. ロキソニン錠剤中の賦形剤の解析.

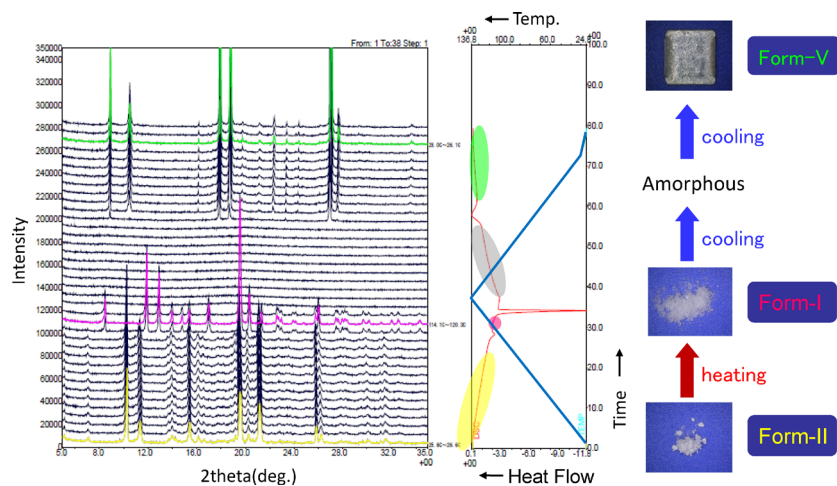


図11. トルブタミドの相転移.

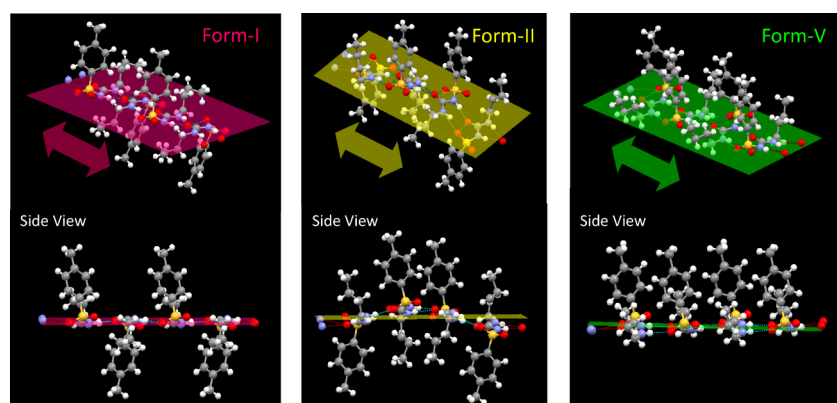


図12. トルブタミドの各相の結晶構造.

解析を融合させることにより、総合的な新しい知見を引き出すことができる。

5. 高圧ダイヤモンドアンビルセル(DAC)での測定 (線源: Mo/Ag)

物質の構造と状態を決める上で、圧力は温度と並んで重要なパラメータである。特に対象物質の構造変化を“その場観測”するためにDACを用いたX線回折

測定が活発に行われている。DACは、高圧力を実現するため、 $\sim 200\ \mu\text{m}$ 以下の試料室に対象物を入れることが必須である。したがってDACにより減衰を受けた微量な試料からの回折線を観測することになるため、一般的には放射光が用いられている。しかし、近

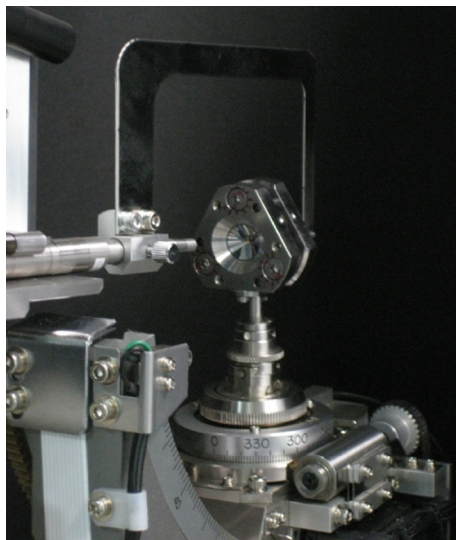


図13. DAC設置例.

年の要素技術の進歩により、実験室系の装置でも数 μm 程度の極微小単結晶から構造が得られることから、この技術に応用したしDACによるX線回折測定が可能である。図13にDACを設置した例を示す。

本装置で測定したイメージを図14に示す。100秒間露光した程度であるが、十分な強度のデータを得た。また、 $200\ \mu\text{m}$ のガスケットを使用した際、ガスケットより小さいサイズのコリメーター ($100\ \mu\text{m}$) を使用してもガスケット由来の回折線が観測されてしまう。しかし、より小さい $30\ \mu\text{m}$ のコリメータを使用することで、図15で示す通りガスケット由来のピークの影響を軽減できており、試料そのものからの回折ピークが明瞭にわかるデータになっている⁽³⁾。

6. 高分解能測定 (線源: Mo)

高角側まで強い回折スポットを有する結晶の場合、通常の構造解析を行う分解能 (Mo線源の場合: $0.83\ \text{\AA}$ 以上) より高分解能で測定した方がより良いデータを得ることが可能である。テトラクロロ白金酸カリウムの結晶を $0.46\ \text{\AA}$ の高分解能で測定したイメージを図16に示す。また、 $0.83\ \text{\AA}$ および $0.46\ \text{\AA}$ の分解能で測定

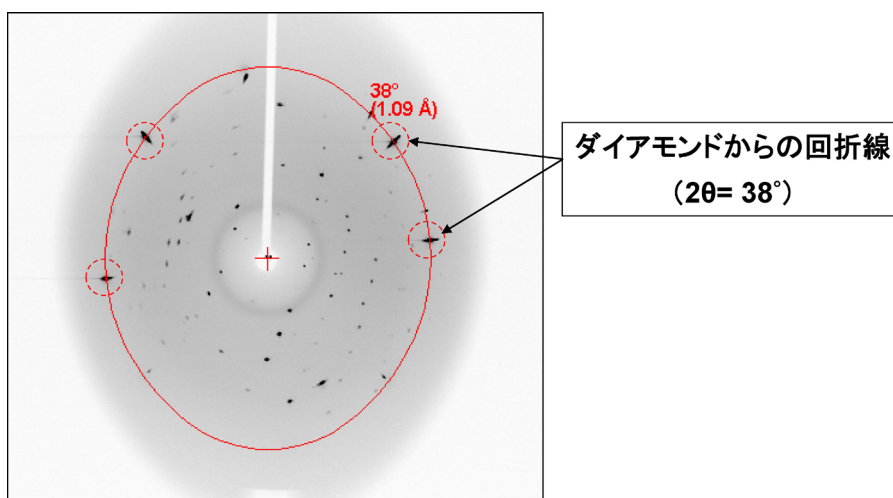


図14. DACを用いた単結晶の回折イメージ.

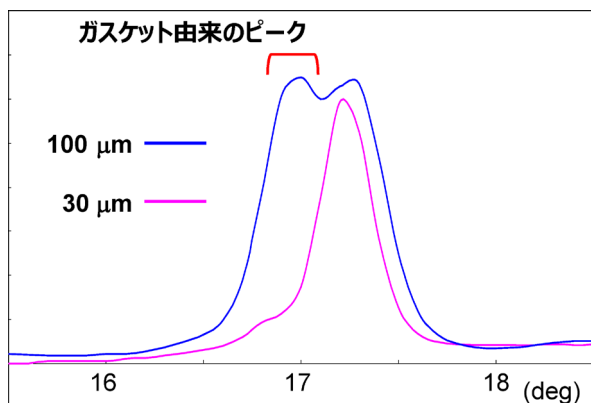


図15 コリメータの効果.

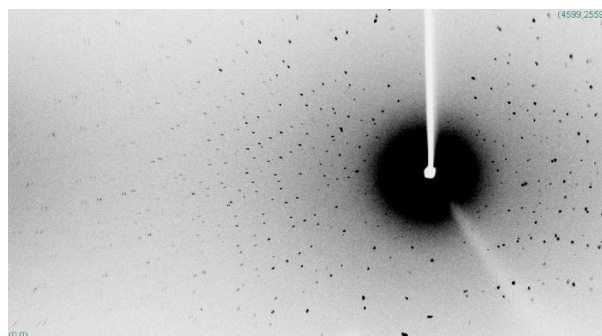


図16. K_2PtCl_4 の高分解能測定.

表2. 通常測定と高分解能測定の比較.

試料名	テトラクロロ白金酸カリウム	
組成式/式量	$\text{K}_2\text{PtCl}_4/415.1$	
空間群	$P4/mmm$ (#123)	
格子定数	$a=7.02276(13) \text{ \AA}$ $c=4.14235(8) \text{ \AA}$ $V=204.297(7) \text{ \AA}^3$	
測定温度 (K)	293 K	
結晶サイズ (mm)	$0.15 \times 0.10 \times 0.10$	
X線源	Mo $K\alpha$	
分解能 ($\text{\AA}$)	0.83	0.46
Total/Unique reflections	1668/136	18292/691
Reflections $I > 2\sigma(I)$ (%)	136 (100)	691 (100)
R_{merge} (%)	5.18	5.84
R_1 ($> 2\sigma(I)$)%, wR_2 %	1.54, 3.47	1.55, 3.53
Data: parameter ratio	12.4 (11)	62.8 (11)
結合長 ($\text{\AA}$)		
Pt-Cl	2.309 (2)	2.3091 (4)
K-Cl	3.238 (2)	3.2380 (3)

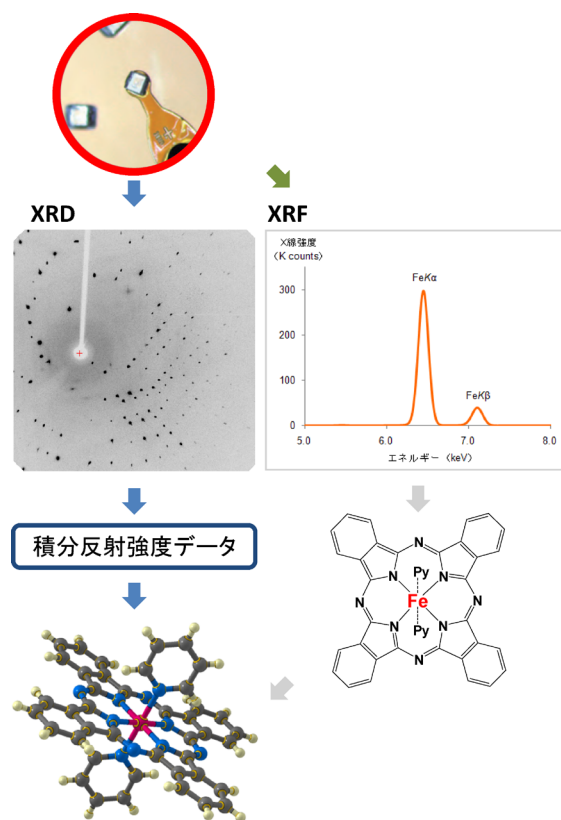


図18. 蛍光X線分析との同時測定.

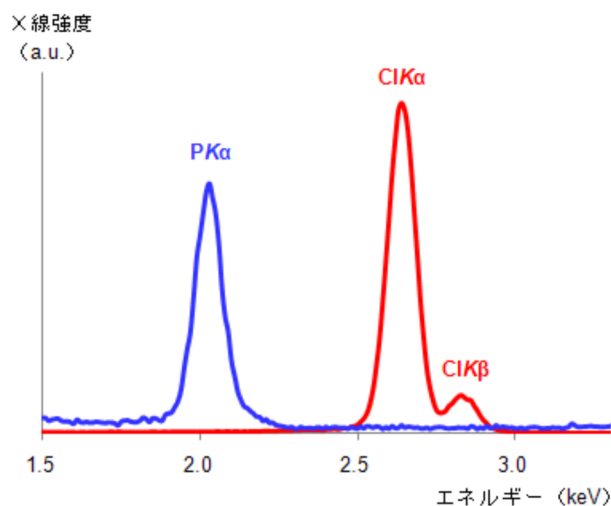
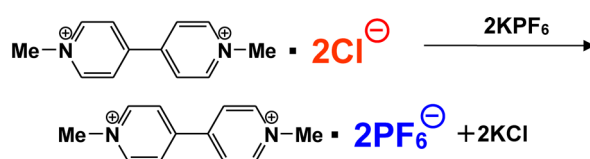


図17. 元素分析アタッチメント Element Analyzer.

した結果を表2に示す. 高分解能で測定することにより, $0.83 \text{ \AA}$ で測定したデータに比べ, 観測される反射数も多くなる. R_1 の値は同程度のまま, データ/パラメーター比が改善されるため, 結合長の偏差も小さくなり, 質の良いデータとなっている.

7. 元素分析アタッチメントを用いた解析例

錯体合成において配位子に金属が挿入されたことを確認する場合, 色の変化の観察や元素分析などが有効な分析手法として用いられる. また, 一方で錯体形成の際に単結晶が偶然出来れば, 単結晶X線構造解析で決定する研究者も多くいるだろう. そこで, 蛍光X線測定ができる元素分析アタッチメント Element Analyzer (図17) を単結晶X線構造解析に組み合わせ



【蛍光X線スペクトル】反応前 — 反応後 —

図19. ビオロゲンのカウンター交換の例.

ることで, より確実に錯体が形成したことを確認することができる (図18).

また, 図19に示すようにカウンター交換などを行っ

た際に、1粒の単結晶でも交換が確実に行われたのかを知ることができる。



図20. VariMax-DW システム.

8. おわりに

標的化合物にあわせて適した装置を選択することは、非常に重要である。本稿で紹介したような例は、DW システム (図20) や DualSource システム (図21) を用いれば、1台でCuと、Mo線源の実験を行うことができる。また、元素分析アタッチメント Element ANalyzer (図17) は、Mo線源の装置であれば、既存の装置にも増設することができる。

今回紹介した応用例は、ごく一部である。今後さらなる要素技術の発展により、単結晶X線構造解析装置を用いた新たな応用例はますます増えるであろう。

参考文献

- (1) 佐藤寛泰, 山野昭人: リガクジャーナル, **27** (2011), 22-23.
- (2) E. Ohta, H. Sato, S. Ando, A. Kosaka, T. Fukushima, D. Hashizume, M. Yamasaki, K. Hasegawa, A. Muraoka, H. Ushiyama, K. Yamashita and T. Aida: *Nature Chem.*, **3**(2011), 68-73.
- (3) 佐藤寛泰, 山野昭人: 第52回 高圧討論会 講演要旨集, 講演番号 2P10.

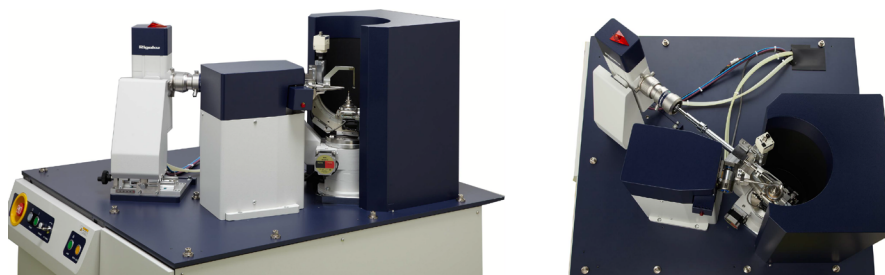


図21. DualSource RAPID II システム.