

結晶スポンジ法 ～結晶化のいらない単結晶X線構造解析法～

山野 昭人*

1. はじめに

単結晶X線構造解析は、新規化合物の分子構造を決定する上で最も強力な分析手法である。特に不斉炭素周りの絶対配置を含む詳細な三次元構造を決定する手法としては、事実上唯一の方法とも言える。単結晶X線構造解析の原理は明快である。何らかの方法で位相情報を求め、測定値である強度の平方根を計数としてフーリエ変換を行うと、結晶中の電子密度が計算できる。電子密度のピーク位置に原子が存在すると仮定しモデルを構築すると、結晶中の分子の構造を再現できるというものである。

しかしながら単結晶X線構造解析の実行には、様々な障害がある。最大の障害は対象とする化合物の結晶化が必要な点である。従って結晶化が不要となれば、単結晶X線構造解析の適用範囲が飛躍的に拡大する可能性がある。この「夢」を現実のものとしたのが結晶スポンジ法である⁽¹⁾。本稿では「結晶化を必要としない単結晶X線構造解析法」である結晶スポンジ法の原理と特徴、Ramadharら⁽²⁾が提示した構造解析上の注意点、さらにBuchwald教授ら⁽³⁾による応用例について紹介する。

2. 原理

結晶スポンジ法はMOF (Metal-organic framework) が自己組織化により生成した細孔性錯体結晶に、分析対象となる化合物をソーキングにより導入し、構造決定を行う分析手法である (図1(a))。結晶スポンジ法は極めて注目度が高く、2013年の発表以降世界中で研究が進められており、現在では複数の結晶スポンジが提唱されているが^{(4),(5)}、起源となった結晶スポンジはZnI₂とトリス(4-ピリジル)-1,3,5-トリアジンが形成する「分子のカゴ」である。この結晶スポンジに分析対象となる化合物を含む溶液を作用させると、細孔に化合物が取り込まれる (図1(b))。

3. 特徴

結晶スポンジ法の最大の利点は、目的化合物の結晶化が不要という点であるが、その他にも優れた特長を多く持っている。わずか100 μ m角程度の結晶の空隙を満たすのに必要な化合物量は限られており、結晶スポンジ法を用いれば100 ngあるいはそれ以下という微量の試料量でも構造決定可能である。結晶化不要という特徴と合わせると、液体クロマトグラフィーとの連携も可能である⁽¹⁾。

構造解析上の利点も多い。通常の単結晶X線構造解析では、測定に使用する結晶の大きさが十分でないことに加え、大きすぎるとする場合もしばしば起こる。微小焦点X線管と集光光学系が主流となりつつある現状では、ビームサイズより大きな結晶は、吸収による系統誤差の原因となる可能性がある。その点結晶スポンジ法では、あらかじめ使用する結晶の大きさを能動的に選択することができる。封入管とCCD検出器に基づく普及型装置では大きい結晶を、高輝度X線源と半導体検出器を併せ持つ上位機種では小さい結晶を使うという調整が可能である。その他解析上の利点を含めた結晶スポンジ法の特長を列記する。

- ①対象とする化合物の単結晶化が不要
- ②100 ng以下という微量試料でも解析可能
- ③可能な空間群が限られている
- ④測定に使用する結晶の大きさを能動的に選択することができる
- ⑤フレームワークに重原子が存在するため初期構造が得られやすい
- ⑥対称心を持たない空間群に変化した場合、大きな異常分散シグナルが期待できる

4. 構造解析上の注意点

単結晶X線構造解析の適応範囲を大幅に拡大する可能性があるという点で、結晶スポンジ法は革命とも言える手法であるが、特別な装置やソフトウェアは不要で、従来の道具立てをそのまま使用することができる

*株式会社リガク 応用技術センター

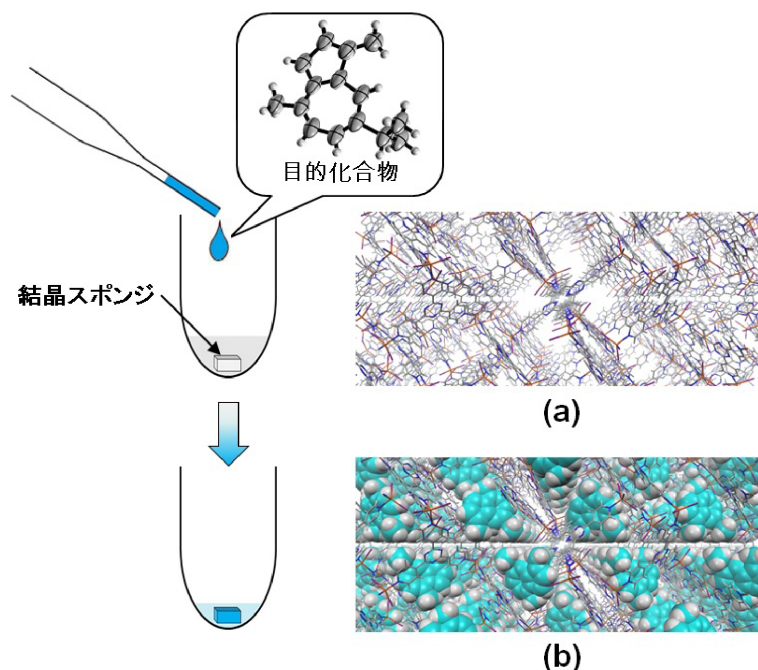


図1. 結晶スポンジ法の原理. (a) MOFによるフレームワーク（スポンジ）に構造決定を行いたい化合物の溶液を加える. (b) 空隙に化合物が取り込まれる. 通常通り単結晶X線構造解析を実施すると、フレームワークの構造とともに、目的化合物の構造も決定することができる.

のも大きな利点である. しかしながら一般に分析対象であるゲスト分子の占有率が1以下であり, かつ不規則構造を持つ構造の解析には, 注意深い測定による信頼性の高い強度データの取得が重要である. 結晶スポンジ法も同様である.

4.1. データ測定

信頼性の高いデータを得るには, 計数統計を向上させる必要がある. どの程度のカウント数とするかは検出器の特性にも依存するが, 一般的にはできるだけ輝度の高いX線源を使うほうが有利である. Ramadharらは実験室系装置と放射光とを比較し, 前者で問題であった分解能不足, 占有率が低い構造や不規則構造の解析が放射光ではすべて解決することができたとしている⁽²⁾. しかしながらRamadharらが実験室系装置として使用したのは, 封入管X線源とCCD検出器を組み合わせた装置である. 最新型の回転対陰極型高輝度微小焦点X線源と半導体検出器を組み合わせた最新装置との比較であれば, 両者の差はかなり縮小すると予想する.

4.2. 精密化

Ramadharらの論文では, データ測定のみならず結晶スポンジの構造解析の手順についても, 様々な指摘がなされている.

現在SHELXLを精密化に利用した場合, CIFファイルにはインプットファイルと反射ファイルの取り込みが必要である. 透明性を担保するためである. Ramadharらは結晶スポンジの構造解析では, 分解能不足や反射の不足, 不規則構造や占有率の低さなどの点から

幾何的な束縛を多用する傾向があるため, インプットファイルと反射ファイルの記載は特に重要であるとしている. Ramadharらはその他にも, 精密化についての様々なガイドラインを提示している⁽³⁾. 以下に精密化の手順, ゲスト分子の構築, 幾何的な束縛, 異方性温度因子, ゲスト分子の占有率と溶媒領域の残存電子密度の扱いについて記載された部分を紹介する.

4.2.1. 精密化の手順

精密化の手順如何で, 最終的な結晶学的なR値が異なることがある. 概念的には「R値平面」は想像以上に複雑で, 大域的最小値の付近にも局所的最小値が多々存在しているのであろう. 結晶スポンジの解析では, まずフレームワーク部分の構造を構築する. 結晶スポンジでは, 回折強度のほとんどがフレームワークからの寄与である. 従ってこの部分のモデルを充分正確に構築し, 可能な限り真値に近い位相にしておく必要がある. これにより目的とするゲスト分子に対応する電子密度も, より明確になることが期待できる.

4.2.2. ゲスト分子の構築

フレームワークの構造が, 不規則構造まで含めすべて異方性温度因子による精密化が完了したら, ゲスト分子と溶媒分子の解析を開始する. ゲスト分子の構造の一部が見えにくい場合は, 占有率を半分以下に下げてみるとよい. 欠落していた部分の電子密度が現れてくる場合がある. ゲスト分子の構築が完了したら, 再度占有率を精密化に含める必要がある. 温度因子が不自然に大きく歪む時には, 注意を払いながら温度因子に束縛を掛ける. Fo-Fcを係数とする差フーリエマッ

ブは、ゲスト分子の解析に非常に有効である。電子密度の状況により、解析の進め方や結果の信頼性を判断することができるためである。

4.2.3. 幾何的な束縛

電子密度が不明瞭な場合、幾何学的な束縛を用いないと、精密化が収束しない場合がある。不規則構造のモデリングで日常的に経験することである。束縛には強い束縛とゆるい束縛があるが、結晶スポンジではできるだけ強い束縛 (SHELXL の DFIX, DANG コマンド) は用いるべきではない⁽²⁾。位相は入力したモデルに大きく影響されるため、強い束縛によりゲスト分子の幾何を強制すると、基本的には電子密度に裏打ちされるべきゲスト分子の構造の特徴を、見失う危険性があるからである。従って SHELXL の SAME や SADI コマンドなどのゆるい束縛を優先するべきで、解析の最初から強い束縛を用いることは厳に慎むべきである。一方結晶スポンジは、結合距離や結合角などの詳細な議論よりも、化合物全体の構造の解明に適している。従って精密化においても、通常の解析よりは手間を省ける部分もある。メチル基の回転に関する極値が存在せず、精密化が収束しない場合がある。このような場合はメチル基の回転を強制的に停止しても構わない。また CheckCIF/PLATON によるチェックにおいて、炭素-炭素間の結合距離に関する警告が出ることがある。これについても、警告レベルが B もしくはそれ以下であれば問題ないとしている。

4.2.4. 温度因子の束縛

結晶スポンジのゲスト分子に関しては、温度因子に束縛を掛けることはやむを得ないが、適用方法には注意が必要である。例えば SHELXL の SIMU コマンドを用いて、構造全体の温度因子に束縛を掛けるのは避けるべきである。非水素原子の異方性のある電子密度分布を歪めてしまう可能性があるからである。異方性温度因子の主軸長の比率に関して、A/B レベルの警告が出た場合のみ束縛を掛ける。

4.2.5. ゲスト分子の占有率と溶媒領域の残存電子密度の扱い

結晶スポンジ法に限らず通常の錯体結晶などの構造解析においても、PLATON/SQUEEZE は多用されると推測される。見たいのは分子構造であり、溶媒分子の構造には興味がないため、見たくない部分に簡単にフタができるためである。しかしながら反射強度には溶媒からの寄与も弱いながらも確実に含まれているため、むやみに除外してしまうのは位相の劣化につながるため、主分子の幾何にも何らかの影響があるはずである。Spek は様々な機会に PLATON/SQUEEZE の適用条件を挙げている⁽⁶⁾。

①分解能が 0.84 Å 以上であること

②データの Completeness が充分であること

③適用領域以外の構造解析が水素原子を含め完了していること

④適用領域が構造既知部分からファン・デル・ワールス半径以上離れていること

⑤溶媒領域の体積に影響を与えるような不規則構造が存在しないこと

⑥構造全体の電荷に不均衡がないこと

⑦溶媒領域に強い異常分散源がないこと

⑧適用領域が単位胞の体積の 30% 以下であること

Ramadhar らの論文では上記②に関連し、低角の反射の completeness が高いこと、Fo-Fc が大きな系統誤差を持たないことが特筆されている。低角の反射は原子散乱因子の原点付近に近いため、Fo と Fc 全体のスケールに影響するためである。

5. 応用例

結晶スポンジ法の応用に関して最も魅力的な実例は、Nature の原論文中にある液体クロマトグラフィーと単結晶 X 線構造解析の連結 (LC-SCA) である。単結晶 X 線構造解析の適用範囲が大幅に拡大する可能性を示唆しているためである。創始者以外からの報告で、結晶スポンジ法の有用性を広く知らしめたのは、Buchwald 教授らの論文⁽³⁾である。

2013 年、Shen ら⁽⁷⁾はトリフルオロメチルチオール化のための、超原子価ヨウ素試薬を発表した (図 2 (a))。この化合物は無色の液体として分離されるため結晶化の見込みも低く、このままでは単結晶 X 線構造解析を行うことはできない。一方 Buchwald 教授らは、図 2 (b) の化合物とチオシアン酸銀との反応の結果得られる化合物の構造を、単結晶 X 線構造解析により調べたところ、ベンジオドキソール構造すなわち環状構

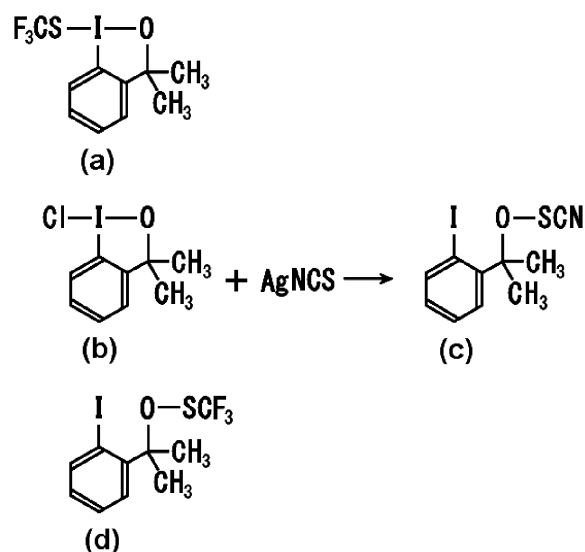


図 2. (a) Shen らの発表した化合物. (b) Buchwald らの化合物の反応. (c) (b) により得られた化合物の構造. (d) 結晶スポンジ法により明らかになった (a) の真の構造.

造を持たないことを発見した(図2(c)). 不思議に思った Buchwald 教授らは, 図2(a) の化合物について, NMR によるメチル基水素のケミカルシフトの比較や, 類似化合物を用いた単結晶 X 線構造解析を行った. 驚いたことに図2(a) の構造は採っておらず, 開環構造を示唆する結果が得られた. 決定的な証拠を得るため, 図2(a) の化合物を結晶スポンジ法で調べたところ, 図2(d) の構造であることが判明した. 結晶スポンジ法により, 結晶化しにくい物質の構造の違いが証明されたのである.

6. おわりに

結晶スポンジ法は, その方法が確立されて以来大きな変化なく使われてきた単結晶 X 線構造解析に, 革命的な新展開をもたらす可能性がある方法である. 結晶化が不要かつナノグラム程度の極微量での構造決定が可能なことから, 液体クロマトグラフィーとの結合も実現されている. 微量天然物の構造解析や, 産業利用では例えば生体内での薬物動態などへの適応も可能

であろう. 水溶性物質より大きな化合物への対応が進めば, 単結晶 X 線構造解析の適応範囲のさらなる拡大が見込まれる.

参考文献

- (1) Y. Inokuma, S. Yoshioka, J. Ariyoshi, T. Arai, Y. Hitora, K. Takada, S. Matsunaga, K. Rissanen and M. Fujita: *Nature*, **495** (2013), 461–466.
- (2) T. R. Ramadhar, S. Zheng, Y. Chen and J. Clardy: *Acta Cryst.*, **A71** (2015), 46–58.
- (3) E. V. Vinogradova, P. Müller and S. L. Buchwald: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53** (2014), 3125–3128.
- (4) S. Lee, E. A. Kapustin and O. M. Yaghi: *Science*, **353** (2016), 808–811.
- (5) T. R. Ramadhar, S. Zheng, Y. Chen and J. Clardy: *Chem. Commun.*, **51** (2015), 11252–11255.
- (6) 例 えば <http://www.ccp14.ac.uk/ccp/web-mirrors/farugia/~louis/software/wingx/hlp/pla119.htm>
- (7) X. Shao, X. Wang, T. Yang, L. Lu and Q. Shen: *Angew. Chem.*, **125** (2013), 3541–3544; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52** (2013), 3457–3460.