

結晶スポンジ法を応用した香気成分の分子構造の決定

佐藤 寛泰*, 山野 昭人*

1. はじめに

香りやにおいの感知は、生命体としての人間にとって極めて重要である。正しい摂食行動や危険の回避に必要なためである。香りと言っても、一般的に食品や草花の香りなどの天然由来のものや、人工的に作りだした合成香料など、様々な種類のものがある。

人間が香りを感じるのは、空気中に浮遊する香りを鼻孔に吸入した時であることから、香りの正体は基本的には揮発性物質（化合物）と考えられる。揮発性かつ微量である香気成分が、どのような分子構造をしているのか、分野を問わず古くから研究・分析が試みられてきた。

人間の嗅覚は、光学異性体を嗅ぎ分けることができる。たとえば図1に示したリモネンの光学異性体では、*d*-体は柑橘類のようなさわやかな香りを示すのに対し、*l*-体は石油のような香りを示す。空気中に漂う物質は、組成式が同一でも構造が異なると、全く違う香りとして感知されるのだ。これは香りの感知の第一段階が、香り分子とG蛋白質共役受容体（G-Protein Conjugate Receptor: GPCR）との結合であるためである⁽¹⁾。香り分子の形状によって、800種類以上もあるとされるGPCRのどのGPCRに結合するのか、結合するGPCRのどの部位にどのくらいの強さで結合するのか異なる。これが香りの特異性をもたらすと考えられている。

従って薬が「薬」として作用するには絶対配置を含めた分子構造が重要であるのと同様に、香りが目的と

する「香気」をもたらすにも、その分子構造が決定的な役割を果たすと考えられる。しかしながら香気成分は、非常に低濃度であっても人間の鼻の受容体に香りとして作用するので、基本的に微量である。従って各種分析のために天然の原料からその成分を取り出そうとしても、香気成分を含んでいる大量の原料（数kg～数tまで）から、数 μ gあるいはそれ以下しか採取できないこともある。現在ガスクロマトグラフィー（GC）や液体クロマトグラフィー（LC）、質量分析（MS）など、極微量の試料量でも分析可能な装置が主流となっているのは、このような理由からである。しかしながらこれらの分析手法では、香気成分の3次元分子構造を直接決定することは不可能である。

一方、単結晶X線構造解析は、新規未知物質の3次元構造決定は得意であるものの、高純度の試料を大量に必要とする結晶化が必須であることから、香気成分の分析には、ほとんど用いられることはなかった。この状況を劇的に変えたのが結晶スポンジ法⁽²⁾である。

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」⁽²⁾を応用して、香気成分を単離することなく、天然物から発する揮発性物質をそのまま取り込み、構造解析を試みた例を紹介する。

2. 実験方法

2.1. コンセプト

2013年に発表された結晶スポンジ法は、MOF（Metal-Organic Framework）と呼ばれるホストとなる有機金属錯体の結晶内の空孔が、シクロヘキサン分子で満たされた結晶を用いる。この結晶に目的とする化合物を含む溶液を加え、徐々に溶媒を蒸発させて濃縮することにより、目的化合物をMOFの空孔内へ取り込む。しかしながら、シクロヘキサンで満たされた結晶スポンジから出発した場合、目的化合物が取り込まれた結晶スポンジを溶媒から取り出すと、直ちに表面から乾き結晶性が低下する。そのため、溶媒の蒸発により濃縮する手法を採用する際は、結晶はできるだけ溶媒に浸された状態で取り出す必要がある。

また、目的化合物もできるだけ単離・精製されてい

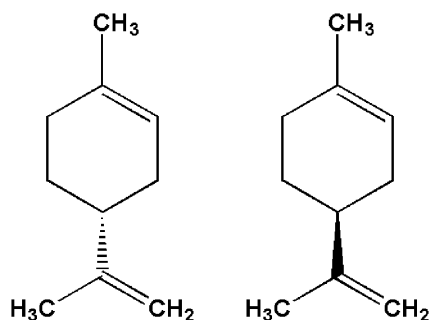


図1. リモネンの光学異性体。*d*-体（左図）は柑橘類のようなさわやかな香りを示すのに対し、*l*-体（右図）は石油のような香りを示す。

*株式会社リガク 応用技術センター

るものが望ましい。これは結晶スポンジの1つの空孔に複数のゲスト分子が入り込むと、それらの分子構造が重なり合った不規則構造となり、解析が困難になるためである。しかしながら今回は、日常手にする食品や工業品から発せられ、実際に知覚される香気成分(揮発成分)を捉えるため、敢えて抽出・分離・精製を行わずに構造を決定したい。一方、空气中に漂う未知香気成分の分子構造を決定するためには、溶媒に対する溶解性による選択を排除した上で、効率よく取り込ませる必要がある。すなわち、香気成分を直接、結晶表面に触れさせる仕組みが必要となってくる。

2.2. 結晶スポンジの調製

先述したように結晶スポンジは、MOFと溶媒(シクロヘキサン)の親和性が非常に低いため、溶媒から結晶を取り出すと、溶媒が抜けて結晶性が低下する。結晶表面をできるだけ大気に触れさせたい場合、溶媒のない状態での結晶の安定性向上が必要である。そこで、MOFの空孔を $trans$ -デカリンで満たした結晶スポンジを作成した($trans$ -デカリン結晶スポンジ)。 $trans$ -デカリン結晶スポンジの構造を図2に示す。結晶スポンジの空孔が $trans$ -デカリンで満たされている。

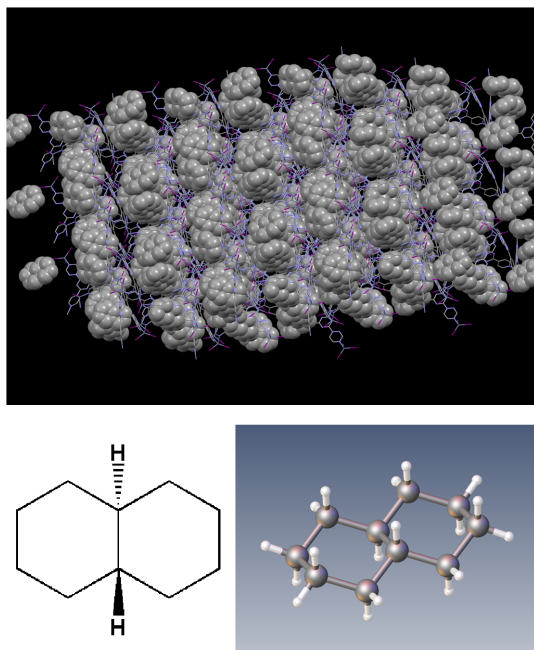


図2. $trans$ -デカリン結晶スポンジの構造。

$trans$ -デカリンは、シクロヘキサンに似たジオメトリを持ち、かつ沸点がシクロヘキサン(80.75℃)よりも高い(185℃)。このため $trans$ -デカリン結晶スポンジは、溶媒から取り出しても結晶の劣化が起こらない。この $trans$ -デカリン結晶スポンジを用いて揮発物質のみを取り込ませるソーキングを行った。

2.3. ソーキング方法

従来結晶スポンジへの目的化合物のソーキングは、結晶スポンジとシクロヘキサンが入ったバイアル瓶

に、目的化合物を溶かした溶液を加え、徐々に溶媒を蒸発させ濃縮することにより行っていた(図3)。

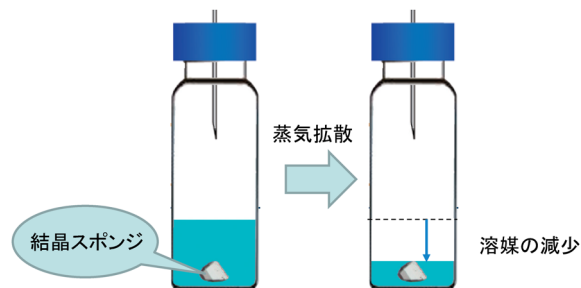


図3. 従来のソーキング方法。バイアル瓶の蓋には注射針が貫通しているため、溶媒が徐々に揮発する。

今回は、空气中に浮遊する物質を捕捉するため、密閉系でのソーキングを行った(図4)。これにより揮発性成分のみを結晶スポンジに作用させることができる。

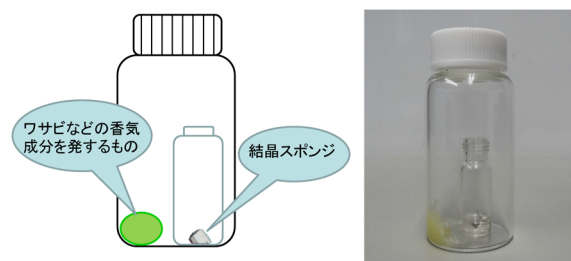


図4. 今回のソーキング方法。

結晶スポンジが目的物を取り込む量は、概ねソーキング時間に比例する。従って結晶の変色を伴う物質が取り込まれる際には、結晶自身の色も徐々に変化する(図5)。しかしながらあまり長時間にわたるソーキングでは、 $trans$ -デカリンの揮発等による結晶性の低下が多発することが判明したため、ソーキングは最長3日間程度とした。

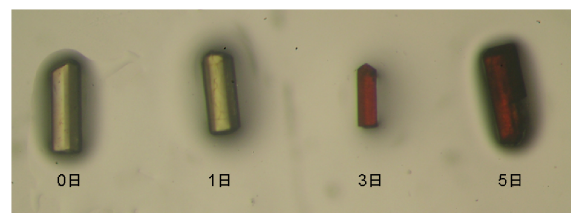


図5. ヒノキ精油をソーキングした場合の、ソーキング時間と結晶の色の変化。

3. 解析結果

3.1. 生ワサビ

市販されている生ワサビを分析した。2.3項で述べた方法で、1日ほどソーキングを行ったのち構造解析を行った。結果、イソチオシア酸アリルの分子構造を決定することができた(図6)。本試料では、分子に含まれている硫黄原子の電子密度が明確に観測されたため、空孔内での分子の位置を容易に確認することができた。

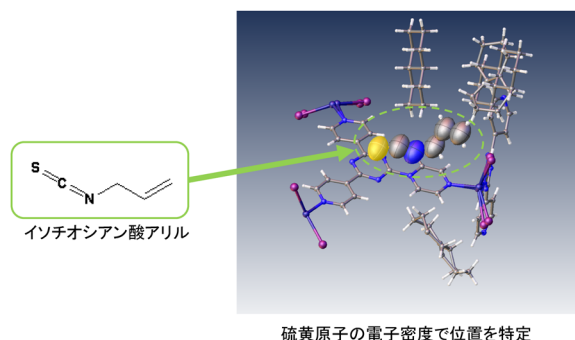


図6. 生ワサビの解析結果. イソチオシアン酸アリルの構造式 (左) と結晶スポンジに捕捉されたイソチオシアン酸アリルの3次元分子構造 (右図緑円内).

3.2. 生ニンニク

市販されている生ニンニクを分析した. ワサビと同様のソーキングを行い, 解析した結果を図7に示す.

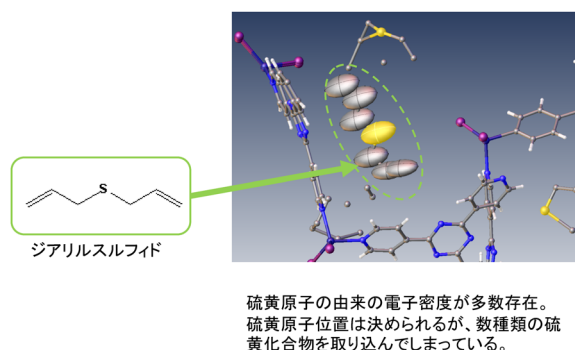


図7. 生ニンニクの解析結果. ジアリルスルフィドの構造式 (左) と結晶スポンジに捕捉されたジアリルスルフィドの3次元分子構造 (右図緑円内).

ジアリルスルフィド分子の構造を決定することができた. ジアリルスルフィド分子の硫黄として帰属できた電子密度ピークの他にも, 複数の硫黄原子由来と思われる電子密度が観測されたが, 完全な分子として解析できたのは, ジアリルスルフィドのみであり, その他の電子密度ピークは帰属することができなかった.

3.3. 食器用洗剤

市販されている食器用洗剤には, 様々な香料が含まれている. 今回はライム系の香りがする洗剤を選択して分析した (図8).

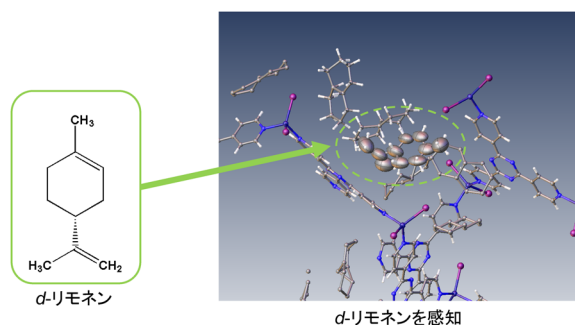


図8. 食器用洗剤の解析結果. d-リモネンの構造式 (左) と結晶スポンジに捕捉されたd-リモネンの3次元分子構造 (右図緑円内).

一般的にライム系の香料は, 複数の香料が混合されており, 今回の分析ではd-リモネンが明確に特性された. 結晶スポンジは, 取り込みやすい分子と取り込みにくい分子が混在する場合, 取り込みやすい分子を優先的に取り込むという選択性を持つ. リモネンのみが特定されたのは, 他の分子と比較して, 結晶スポンジとの親和性が高いため, 優先的に取り込まれたと考えられる.

3.4. ヒノキ精油

ヒノキ精油は, 一般的にピネンが多く含まれている. 今回は約1日の静置によるソーキングで, α-ピネンを検出することができた (図9).

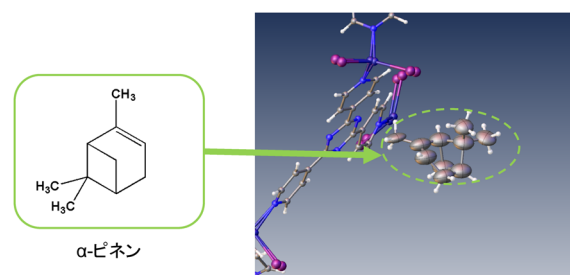


図9. ヒノキ精油の解析結果 (1日ソーキング).

しかしながら, このソーキング条件を3日以上に伸ばすと, ピネン以外の分子はおろか, ピネンも特定することが不可能となった. ピネン以外の複数の分子も取り込まれ, モデリングが不可能なほどの不規則構造になったためと考えられる.

3.5. ハッカ油

ハッカ油では, 異なるメーカーの2種類の市販品について分析を試みた. ハッカ油と言っても, 人工合成香料を主成分にしたものと, 天然のハッカから精製されたハッカ油をブレンドしたものなど多種類の製品が販売されている. はじめに人工合成香料を主成分としているものを分析した.

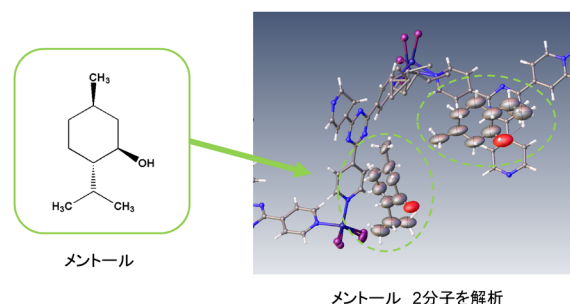


図10. 人工合成香料が主成分である市販品のハッカ油の解析結果. L-メントールの構造式 (左図) と3次元分子構造 (右図緑色円内). 結晶スポンジの1つの空孔に2分子のメントールが捕捉されている.

人工合成香料を主成分とするハッカ油ではメントールが捕捉され, その分子構造を決定することができた (図10). 主成分として多く含まれているメントールが, 優先的に取り込まれたためと考えられる. これに

対し、天然ハッカ油を主成分とする市販品からは、メントールに加えカルボンが検出された。天然ハッカ油といっても種類は多く、和ハッカ (Japanese peppermint)、洋ハッカ (Peppermint)、スペアミントなどがある。和ハッカの主成分はメントールであるが、スペアミントの場合、主成分はカルボンとなる。今回用いた天然ハッカ油は、メントールとカルボンが特定されたことから、少なくとも和ハッカ系とスペアミント系の、2種類の天然ハッカ油をブレンドした商品であると推測することができる (図11)。

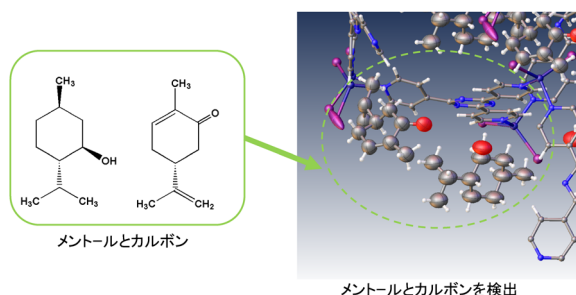


図11. 天然ハッカ油を主成分とする市販品のハッカ油の解析結果。メントールとカルボンの構造式 (左図) と3次元分子構造 (右図緑色円中)。結晶スポンジの1つの空孔に両方の分子が捕捉されている。

4. おわりに

結晶スポンジ法は、対象化合物が結晶化しなくとも単結晶X線構造解析を適用することができる強力な手法である。また、ナノグラムオーダーの量で適用できることから、揮発する香気成分の構造決定には非常に有用であった。今回は複数の成分が混在している揮発性物質を分離することなく、直接結晶スポンジに作用させ、捕捉された分子の3次元構造を単結晶構造解析により決定した。そのため結晶スポンジに優先的に取り込まれる分子のみの構造が決定された。これをGC、LCやMSなどと組み合わせ、単離された各成分についてより純度を上げた状態で適用すれば、含量の少ない成分の分子構造の決定も可能となる。これは結晶スポンジ法の出現以前には、全く不可能であった分析法である。

参考文献

- (1) たとえば、平山令明 (2017) 『「香り」の科学 匂いの正体からその効能まで』 講談社。
- (2) Y. Inokuma, S. Yoshioka, J. Ariyoshi, T. Arai, Y. Hitora, K. Takeda, S. Matsunaga, K. Rissanen and M. Fujita: *Nature*, **495** (2013), 461–466.