

Cold ESI-MSの開発 —不安定有機金属錯体の構造解析—

千葉大学分析センター 山口健太郎

はじめに

質量分析法は有機構造解析にとって欠かすことのできない重要な分析手法として定着し、現在もなお急速な進歩を続けている。NMR、X線解析および種々の計算化学的手法等の中であって、質量分析は分子の三次元構造の解明に限定した場合、他の手法に比べ、より間接的であるといわざるを得ない。これは質量分析が元来、分子の質量電荷比を与えることのみを目的とし開発されたからである。しかしながら現在では、衝突活性化による気相反応を用いた構造解析への応用が積極的に検討され、数々の立体構造に関する解析成果が得られるようになった。一方、最近特に進展の著しい溶液質量分析においては、より不安定な分子種や溶液中の早い平衡状態の解析へ向けての新しい取り組みが功を奏しつつある。

ここでは、溶液の質量分析法として近年注目されている、エレクトロスプレーイオン化に関し、最近の分析センターにおける研究を紹介する。

質量分析とは？

物質の構成元素の核種組成の積算値である平均分子質量を、標準核種¹²Cの原子質量を12.00000として相対的に表した量を相対分子質量と呼び、この物理量の測定が質量分析の目的となる。この量を求めるには、①分子をイオン化し、②質量/電荷数 (m/z) に従って分離し、③これを電氣的に検出する。①のイオン化手法として分子に電子線を照射してその衝撃によりイオンを生成する電子イオン化 (Electron Ionization, EI) が古くから知られているが、現在まで種々の新しいイオン化法が提案され、広範囲におよぶ有機化合物のイオン化に適用されている。②の質量分離法に関しても当初考案された磁場や電場によるもの他、四重極を用いるものや、各種イオントラップ法等が実用化がされている。③のイオン検出手法として写真乾板やイオンマルチプライヤー等に加え、最近ではCCDを用いる検出器等も登場している。このように質量分析は、これら三つの構成要素別に開発された種々の技術を組み合わせることにより、多様な装置の構築が可能となっている。

質量分析の限界

質量分析法では物質をまずイオン化しなければならない。このとき分子は高エネルギーに曝されるため、一般に不安定分子の分析は困難であると言われている。また、分子量が増大すると、これに従って気相中にイオンとして取出しにくくなるのも事実である。さらに、イオン化に基づく制約として、測定試料の純度の問題がある。物質間に大きなイオン化能の差があるため、混合物を平均的にイオン化することは不可能であり、従って被験試料を高度に精製する必要がある。一方、原理的な問題として分子の立体構造に関する情報が得にくい点があげられる。精密分子量測定を行えば組成を解析することも可能であるが、異性体を識別することはできない。

このように質量分析には多くの制約が課せられていた。しかし、現在にいたるまで斬新なアイデアが次々に提出され、この限界を克服する数々の技術が実用化されている。

溶液試料の質量分析

溶液試料のイオン化は前述の古典的制約の中でも最も困難な、不安定分子のイオン化法の確立

を必要条件としている。さらに、多量の溶媒分子の分離を果たさなければならない。しかし、これらの問題を解決すれば、溶液中の不安定な分子種の解析をはじめ、有機構造化学にとって大いに役立つことが期待できる。

質量分析は気相でのイオン挙動の解析に基づいているため、専ら高真空下で測定が行われる。従って、キャリアガスを必要とするガスクロマトグラフや大量の溶媒を用いる液体クロマトグラフとの連結においては、これらの除去法が律速となり、この開発に多くの時間がついやされてきた。特に高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) においては種々の溶媒除去を目的としたインターフェイスが提案された。ここで取り上げるエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) もこの一つである。

エレクトロスプレーイオン化 (electrospray ionization: ESI)

このイオン化法は溶液試料を直接分析できる有力な手法であり、最も洗練されたイオン化法として注目されている。ESIはイオン源構造がシンプルであり、低分子から高分子まで幅広く対応し、また大気圧下、室温で作動するなどのすぐれた特徴を有している。本手法によれば、溶液としての試料を、その環境を生かして効率的かつマイルドにイオン化することが可能であり、不安定有機化合物の溶液中の構造解析に適している。

図1に従来のESIの原理図を示す。溶液試料は高電圧を印加したノズルよりネブライザーガスである窒素とともに噴霧され、帯電液滴を生成する。これが溶媒濃縮により収縮し、表面電荷密度が急激に上昇することによりイオンが生成されると考えられている。しかし、この過程には疑問も多く、現在なお議論中である。

我々は本手法に改良を加え、より不安定な分子種の質量分析を可能にした低温ESIを開発し、これによるGrignard試薬の平衡構造の解析や配位結合の自発的生成に基づく超分子の構造解析を行った。

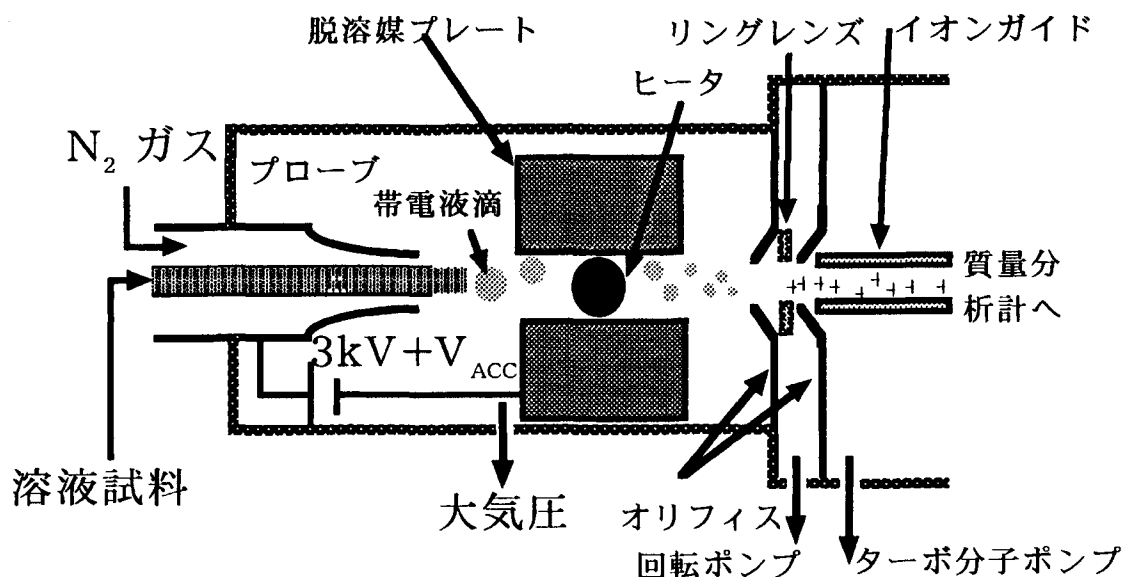


図1 既存の ESI

低温ESIのイオン化法

従来のESIは大気圧下、試料溶液を高電圧を印加したキャピラリーより噴霧し、生成した帯電液滴を不活性乾燥ガスにより濃縮してイオン化を行うことはすでに述べた。このため溶媒除去に伴う高温により試料が分解し、不安定有機化合物への適用は困難であった。

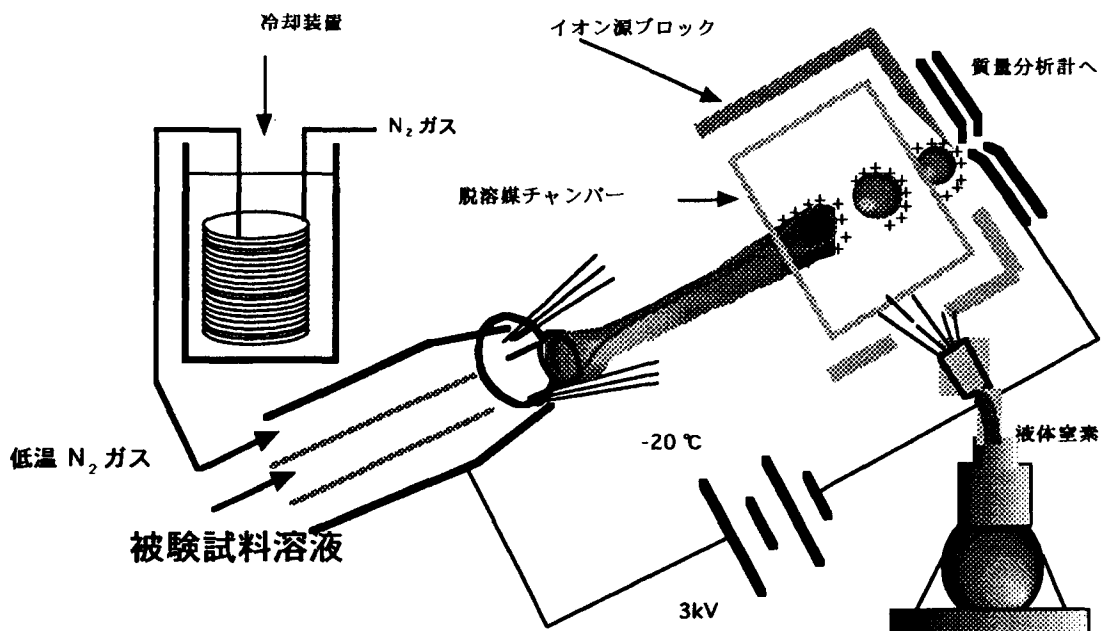


図2 低温ESI装置概略

我々はスプレーおよび液滴飛行経路を冷却することにより試料の分解を防ぎ、さらに低温における溶媒等の誘電率上昇による分極促進を利用した低温ESI装置を開発した。(図2) 気化ガスとして用いる窒素をあらかじめ冷却しスプレープローブへ導入する。約 -100°C に冷却された窒素ガスは被験試料溶液とともに同軸管を流れてノズル先端に達するが、この間、溶液が冷却され、 -20°C 程度の低温スプレーとなって噴霧される。不安定な水溶液試料については、さらに脱溶媒チャンバーやイオン源全体を冷却することで分解を防ぎ、良好な測定結果を得ている。

この手法を用いて不安定なナノメートルサイズの自己集合金属錯体であるアダマンタノイドや分子量の大きな三次元インターロックカテナン類、さらに分子カプセルや分子ネックレスの構造解析を行った。従来のESIでは分解物のイオンしか観測されないのに対して、低温ESIでは溶媒分子の付加した明確な多価分子イオン群を検出し、その構造を確定することができた。一例として図3にアダマンタノイド型自己集合ナノ錯体の低温ESI-MSと従来のESI-MSスペクトルとの比較を示す。さらに、アルカリ金属イオンの付加したクラウンエーテル類を内部標準物質として用いることにより、低温ESIを含め、種々のイオン化において簡便に精密質量数を求めることが可能であることを示した。

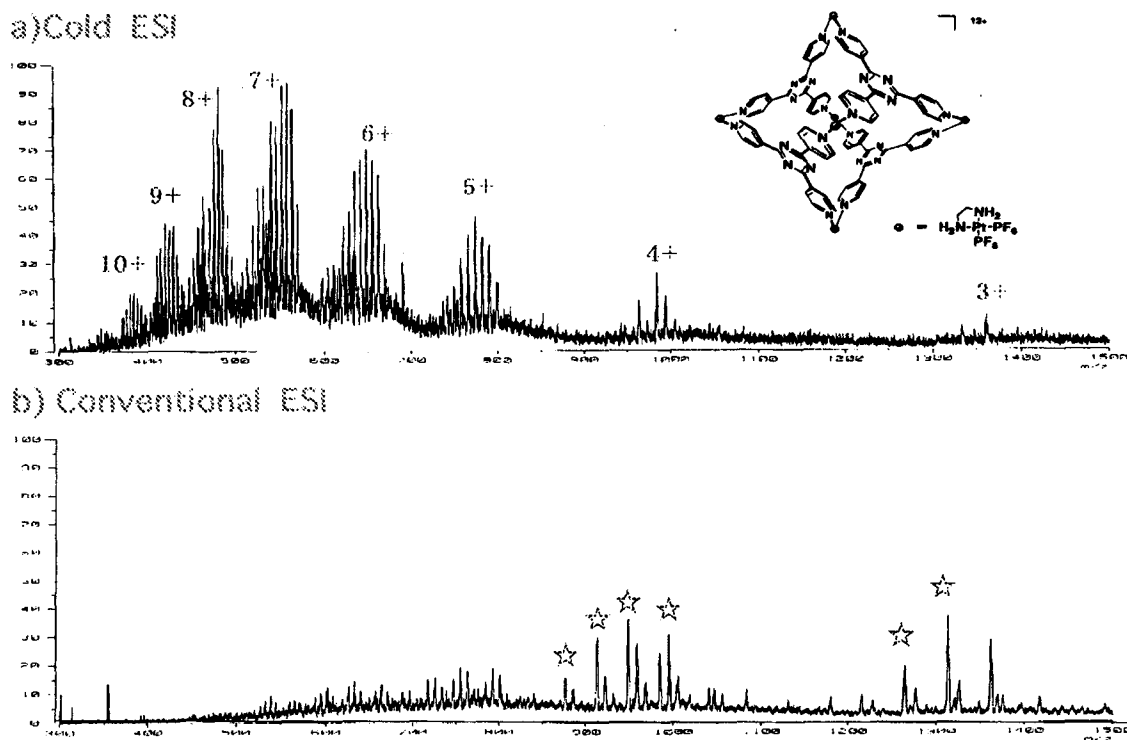
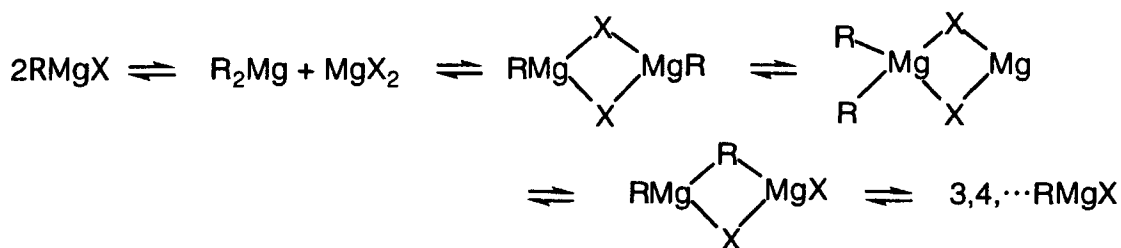


図3 自己集合アダマンタノイドのESIスペクトル
(星印は分解物を示す)

Grignard試薬の平衡構造

本手法を用いればダイナミックな平衡の移り変わりを検出することが可能である。そこで、次にGrignard試薬の平衡構造の解明を試みた。Grignard試薬は約100年前に見い出されて以来現在に至るまで、有機合成化学における重要な試薬として利用されて来た。

しかしながら、この有機合成化学における成功とはうらはらに、RMgXとシンプルに表されるこの試薬の溶液中の構造はとても複雑で、論理計算や種々の分光学的手法による解析にもかかわらず現在でもその平衡構造はほとんど解明されていない。



これらはSchlenk平衡として知られており2, 3, 4, 5量体等の組成の存在が推定されているが未だ3量体以上の構造は確認されていない。そこで、低温ESIを用いて数種類のGrignard試薬(THF溶液)について測定を行なった結果、3量体平衡構造の存在が明らかとなった。一例として、図4にPhMgClのマスペクトルを示す。

このスペクトルからもわかるようにGrignard試薬のTHF溶液におけるESI-MSの測定結果は、 $[\text{RMg}_2\text{Cl}_3(\text{THF})_n\text{-H}]^+$ を示している。これらは、Schlenk平衡の一部(三量体構造)として理解できる。

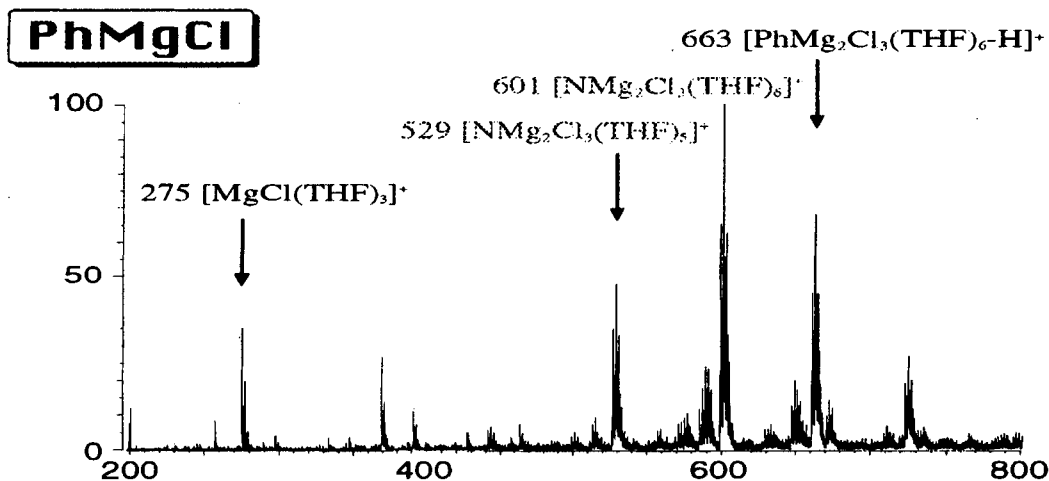


図 4

これに加えて原子状窒素が付加してイオン化したと考えられる $[\text{NMg}_2\text{Cl}_3(\text{THF})_n]^+$ を観測した (点線表示)。THFを用いたESI-MSにおいて、窒素が付加する報告例はないためさらに詳しく検討した。この結果THFの他、cyclohexane, diethylether及び n-hexane等にも直接窒素が付加することがわかった (図 5)。

[M+N]⁺の検討 (1)溶媒のESI-MS

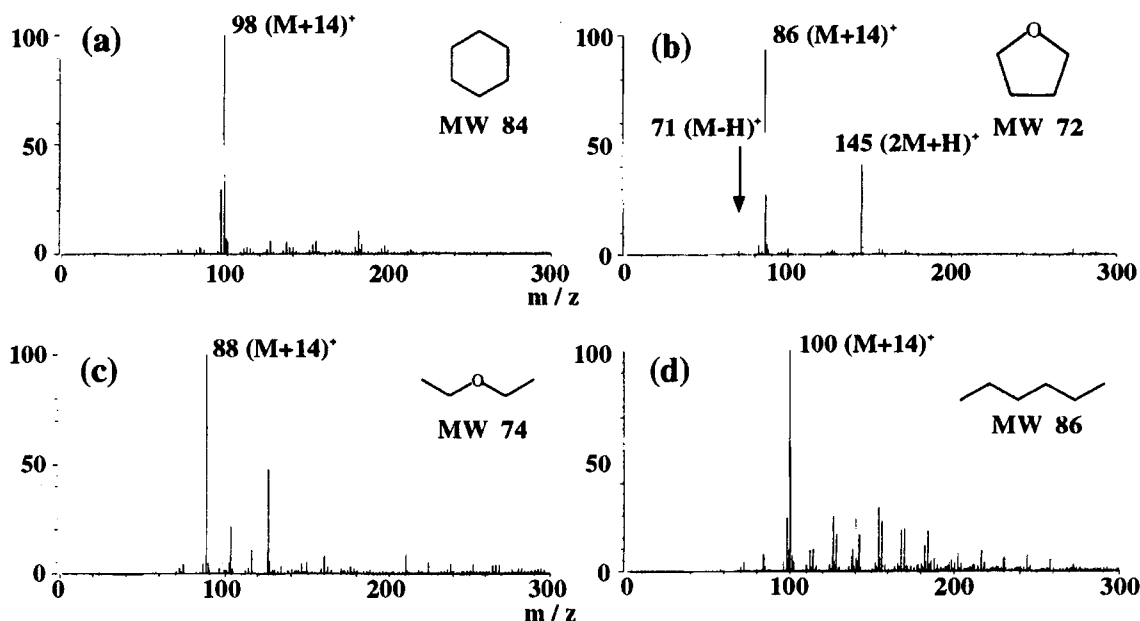
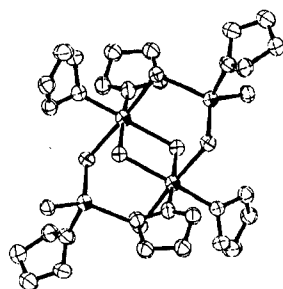


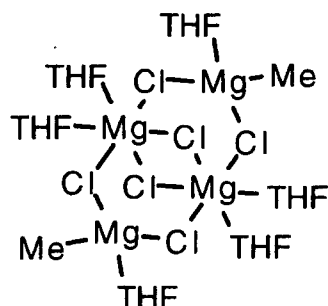
図 5

THFの場合、予想される二つのピーク、 $[\text{M}-\text{H}]^+(71\text{u})$, $[2\text{M}+\text{H}]^+(145\text{u})$ も同時に観測されるため、これを用いて $[\text{M}+\text{N}]^+(86\text{u})$ の精密質量数を測定し、0.2mmuの誤差でN付加化合物を同定した。この窒素はスプレーイオン化に用いるシーズガスに由来するため、これを¹⁵Nに置き換えた実験を行ないこのマスシフトを確認した。一方、迅速X線回折により数種類のGrignard試薬の構造を検討した。アルゴン置換したSchlenk管にGrignard試薬のTHF溶液を入れ、そこへ、ヘキサンを加え、析出した結晶を用い、100Kで迅速X線結晶解析を行なった。一例として図 6 にMeMgClより得られた結晶の解析結果を示す。

結晶解析の結果、これらもSchlenk平衡の一部であることがわかった。



(a) ORTEP



(b)構造式

図 6

むすび

以上述べてきたように、Cold ESI-MSは従来測定不可能であると思われていた不安定な有機金属錯体等の溶液質量分析への道が開かれつつある。本手法を用いて単寿命反応中間体や、より弱い分子間力に基づく会合体の構造解析が計画されており、今後のスプレーイオン化法の更なる発展に期待が持たれる。

参考文献

- 1) Self-assembly of ten molecules into nanometre-sized organic host frameworks.
M. Fujita, D. Oguro, M. Miyazawa, H. Oka, K. Yamaguchi, and K. Ogura
Nature, **378**, 469-471 (1995).
- 2) Atomic Nitrogen Adducts Formation at sp^3 Carbon in the Electrospray Ionization Process
K. Yamaguchi, S. Sakamoto, H. Tsuruta and T. Imamoto
Chem. Commun., **1998**, 2123-2124.
- 3) Made-to-Order Assembling of [2]Catenanes from Palladium(II)-Linked Rectangular Molecular Box
M. Fujita, M. Aoyagi, F. Ibukuro, K. Ogura and K. Yamaguchi
J. Am. Chem. Soc., **120**, 611-612 (1998).
- 4) Synthesis of a Five-Membered Molecular Necklace[5]MN: A2+2 approach
S.-G. Roh, K.-M. Park, G.-J. Park, S. Sakamoto, K. Yamaguchi and K. Kim
Angew. Chem. Int. Ed. **38**, 637-641 (1999).
- 5) A nanometer-sized hexahedral coordination capsle assembled from 24 components
N. Takeda, K. Umemoto, K. Yamaguchi & M. Fujita
Nature **398**, 794-796 (1999).
- 6) マススペクトロメトリーの進歩, 山口健太郎, ファルマシア 31, 498-501(1995).
- 7) 液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) による有機分析の進歩
山口健太郎, 衛生化学 42, 367-384 (1996).
- 8) 生体高分子の質量分析, 山口健太郎, Bunseki 3, 199-206 (1997).
- 9) エレクトロスプレーイオン化質量分析法
山口健太郎, 坂本 茂, Bunseki 4, 315-321 (1999).
- 10) Spontaneous assembling of ten components into two interlocked identical coordination cages.
M. Fujita, N. Fujita, K. Ogura and K. Yamaguchi
Nature **400**, 52-55 (1999).