

博 士 論 文

結晶スポンジ-レーザー脱離イオン化質量
分析による微量構造解析法の開発

徳島文理大学大学院薬学研究科
薬学専攻 博士課程

林 侑 加 子

指導教授 山口健太郎

平成三十一年提出

目次

略語一覧	1
第一章 緒論	
1-1. はじめに	2
1-2. レーザー脱離イオン化法	4
1-3. 結晶スポンジ	14
1-4. 結晶スポンジ-レーザー脱離イオン化質量分析	24
第二章 末端に芳香環をもつ直鎖状 ene 化合物の取り込みとレーザー脱離イオン化	
2-1. はじめに	27
2-2. 直鎖状 ene 化合物の結晶スポンジ取り込み	28
2-3. 直鎖状 ene 化合物包接結晶スポンジの色の経時変化	30
2-4. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル	34
2-5. 直鎖状 ene 化合物包接結晶スポンジの単結晶 X 線構造解析	35
2-6. 直鎖状 ene 化合物包接結晶スポンジの CS-LDI-MS	47
2-7. 結晶スポンジ抽出ゲストの ¹ H NMR	51
2-8. まとめ	54
第三章 単結晶 X 線構造解析と質量分析の検出下限比較	
3-1. はじめに	55
3-2. 9,10-Dibromoanthracene の結晶スポンジ取り込み	57
3-3. 9,10-Dibromoanthracene 包接結晶スポンジの色の経時変化	58
3-4. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル	60
3-5. 9,10-Dibromoanthracene 包接結晶スポンジの単結晶 X 線構造解析	61
3-6. 9,10-Dibromoanthracene 包接結晶スポンジの CS-LDI-MS	63

3-7. 結晶スポンジ抽出ゲストの ^1H NMR.....	64
3-8. まとめ	65
第四章 1,3-Benzodioxole 誘導体の分析	
4-1. はじめに.....	66
4-2. 1,3-Benzodioxole 誘導体の結晶スポンジ取り込み.....	66
4-3. 1,3-Benzodioxole 誘導体包接結晶スポンジの色の経時変化	68
4-4. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル.....	73
4-5. 1,3-Benzodioxole 誘導体包接結晶スポンジの単結晶 X 線構造解析.....	74
4-6. 1,3-Benzodioxole 誘導体包接結晶スポンジの CS-LDI-MS	91
4-7. 結晶スポンジ抽出ゲストの ^1H NMR.....	95
4-8. まとめ	98
第五章 大環状化合物の分析	
5-1. はじめに.....	100
5-2. 大環状化合物の結晶スポンジ取り込み	100
5-3. 大環状化合物包接結晶スポンジの色の経時変化	102
5-4. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル.....	109
5-5. 大環状化合物包接結晶スポンジの単結晶 X 線構造解析.....	110
5-6. 大環状化合物包接結晶スポンジの CS-LDI-MS	130
5-7. 結晶スポンジ抽出ゲストの ^1H NMR.....	136
5-8. まとめ	141
第六章 複素環化合物の分析にタンデム質量分析を導入した手法 (CS-LDI-MS/MS)	
6-1. はじめに.....	143
6-2. Indole 誘導体の結晶スポンジ取り込み	144
6-3. Indole 誘導体包接結晶スポンジの経時色変化	146
6-4. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル.....	151

6-5. Indole 誘導体包接結晶スポンジの単結晶 X 線構造解析	152
6-6. Indole 誘導体包接結晶スポンジの CS-LDI-MS/MS	157
6-7. 結晶スポンジ抽出ゲストの ¹ H NMR.....	163
6-8. まとめ	166
第七章 総括	167
実験の部	
試料・装置.....	170
結晶スポンジの合成	172
結晶スポンジ内ゲストの TPT 骨格分子に対する物質量比	174
固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル	175
引用文献	177
発表論文	187
謝辞.....	188

略語一覽

AuNPs	Au nano-particles
BSA	Bovine Serum Albumin
CS	Crystalline Sponge
CS-LDI-MS	CS-Laser Desorption Ionization-Mass Spectrometry
CDCl_3	deuterated chloroform
CID	Collision Induced Dissociation
DHB	2,5-Dihydroxybenzoic acid
DIOS	Desorption/Ionization on Silicon
IMS	Imaging Mass Spectrometry
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization
MOFs	Metal Organic Frameworks
MS/MS	tandem mass spectrometry
PAH	polycyclic aromatic hydrocarbons
SALDI	Surface Assisted Laser Desorption/Ionization
TPT	2,4,6-Tris(4-pyridyl)-1,3,5-triazine
UV-vis	ultraviolet-visible spectroscopy
9,10-BrAN	9,10-Dibromoanthracene

第一章 緒論

1-1. はじめに

質量分析法は、気相中にイオン種を生じさせ、そのイオンを真空中で電磁場によって、質量電荷比に基づき分けて検出する方法である。イオン化の中で、レーザー脱離イオン化法は、分析種がレーザーエネルギーを吸収することでイオン化する。その際に、余剰の内部エネルギーを持つため、分子内結合の開裂が引き起こされる。これをフラグメンテーションと呼び、高質量分子、特にタンパク質をそのままの状態を検出できないため問題となった。それらを解決する方法として、田中らはコバルトの金属超微粉末を、Karasらはグリセロールをタンパク質へ添加することで穏やかにイオン化できる方法を各々見出した。これをマトリクス支援レーザー脱離イオン化法 (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, MALDI) と呼び、現在、生命分野の分析では欠かせないイオン化法となっている。

しかしながら、本手法ではマトリクスの選択やホットスポットと呼ばれるイオン化効率の良い場所の探索といった実験条件を経験的に最適化する必要がある。特に分析種とマトリクスの共結晶生成は再現性が乏しい。また、分析種がイオン化しにくい場合、その原因を明らかにすることは難しい。それらの解決方法として、細孔を有するシリコン表面や金属ナノ粒子の表面の静電的相互作用に基づいて、分析種を集積化し、効率よくイオン化を達成する方法が開発された。前者を DIOS (Desorption/Ionization on Silicon)、後者を表面支援レーザー脱離イオン化法 (Surface Assisted Laser Desorption/Ionization, SALDI) と呼ぶ。本論文では、両者を粒子および細孔の表面を利用するという意味で、広義の SALDI とみなす。これらの方法では静電的相互作用や水素結合といった弱い相互作用を用いることで、目的の分析種を集積化および高感度化を達成している。一方、定量的観点からは、化学修飾された表面や相互作用に寄与する面積被覆率といった点を見積もることが難しい。ところで、近年、藤田らは結晶性を有する細孔性錯体がさまざまな有機分子をその細孔内へ取り込み、共結晶の構造解析から、細孔内に存在する有

機分子の構造解析を同時に達成する方法を開発した。この手法を結晶スポンジ法 (Crystalline sponge method, CS 法) と呼ぶ。CS 法は、結晶化プロセスを必要としないため、室温で油状であるゲスト (分析種) に適用できるので、『結晶化を必要としない』結晶構造解析法である。

これまでに当研究室において、stilbene 誘導体を CS 内へ取り込み、そのレーザー脱離イオン化から、CS 骨格に由来するイオンだけでなく、分析種の分子イオンを検出できることを発見した。この際に、単結晶 X 線構造解析により、細孔内における CS 骨格分子とゲスト (分析種) との相対配置をナノスケールで明らかにし、 π - π 相互作用の存在を確かめた。本手法を結晶スポンジ-レーザー脱離イオン化質量分析法 (Crystalline Sponge Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry method, CS-LDI-MS) と呼ぶ。

本論文では、CS-LDI-MS 法によって有機分子の微量構造解析を可能とするために、CS 内に様々な分析種を系統立てて取り込ませることで、イオン化に必要な条件を分子レベルで確かめ、また CS 法に対してレーザー脱離イオン化質量分析法を組み合わせることで分析種の情報がどの程度明らかに出来るか検討した。本章では、マトリクス支援および表面支援に基づくレーザー脱離イオン化について簡単に振り返る。また、結晶性ナノ空間を用いて特異的物性や結晶学的分子構造解析を行った例について、特に CS 法の発展について述べる。第二章では、CS 内へ取り込まれる分子サイズを調べるために末端に芳香環をもつ直鎖状 ene 化合物について取り込みを試みた。第三章では、CS-LDI-MS 法において単結晶 X 線構造解析と質量分析法においてどちらの検出感度が優れているか調べるために、占有率が低い場合でも構造解析が可能な重原子を持つ化合物の取り込み濃度を変化させ検討を行った。次いで、第四章では、1,3-benzodioxole 誘導体を取り込み、質量分析法から分子構造に特徴的なイオンが生成するか調べた。さらに、第五章では、異なる大きさの単環化合物を取り込み、CS 骨格との相互作用がない状態でのレーザー脱離イオン化挙動を調べた。最後に、第六章では、CS 骨格を含まない目的分析種のみからの MS 情報を得る方法として、タンデム MS (tandem mass spectrometry, MS/MS) を適用し、質量分析による分子構造解析への可能性を検討した。

1-2. レーザー脱離イオン化法

質量分析法は、高感度にイオンを検出できるため、古くから多種多様な分子からなる生体分析への適用が進められてきた。しかしながら、レーザー脱離イオン化をはじめとするイオン化法は、対象分析種が真空下で高い内部エネルギーを有するため、容易に自己開裂反応を起こす。これをフラグメンテーションと呼ぶ。フラグメンテーションは、分子情報を与える場合と失う場合がある。前者は、有機小分子を対象としたとき骨格構造と側鎖情報が得られるのに対して、後者は、タンパク質といったある構成成分からなるコポリマーについて、もとの状態を知ることができなくなる。これらを解決した方法として、田中らはコバルト金属を¹、Karasらはグリセロールを^{2,3}、タンパク質へ添加することで穏やかにイオン化できる方法を見出した。これはMALDI法として知られており、タンパク質のイオン化法として、現在、欠かせない手法である。それ以外にも合成ポリマー^{4,5}やナノファイバー⁶といった構造体、イオン形成メカニズムの議論^{7,8}といった幅広い分野で用いられている⁹⁻¹³。しかしながら、マトリクス選択やホットスポットの探索が必要となるため、熟練を有する点や再現性が低くなる点が問題であった¹⁴。これらの解決方法として、マトリクスとの相互作用を強化することを目的とし、金属ナノ粒子、ゼオライト細孔およびシリコンの表面を利用することが検討された。特に表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance, SPR) センサーは金属表面基板上で試料を高感度に検出する方法であるため、レーザー脱離イオン化法への移行がしやすく、質量分析との組み合わせが試みられてきた。これらについて次に述べる。

まず、はじめに無機物質表面であるシリコンに着目した例として、Siuzdakらは細孔を有するシリコン表面を無修飾, dodecyl 化, ethylphenyl 化, そして, 酸化体といった状態にてレーザー脱離イオン化法に用いることで caffeine や抗ウイルス薬, ペプチドといった対象分析種を高感度に検出できることを初めて見出した¹⁵. これは DIOS と呼ばれる (Fig. 1).

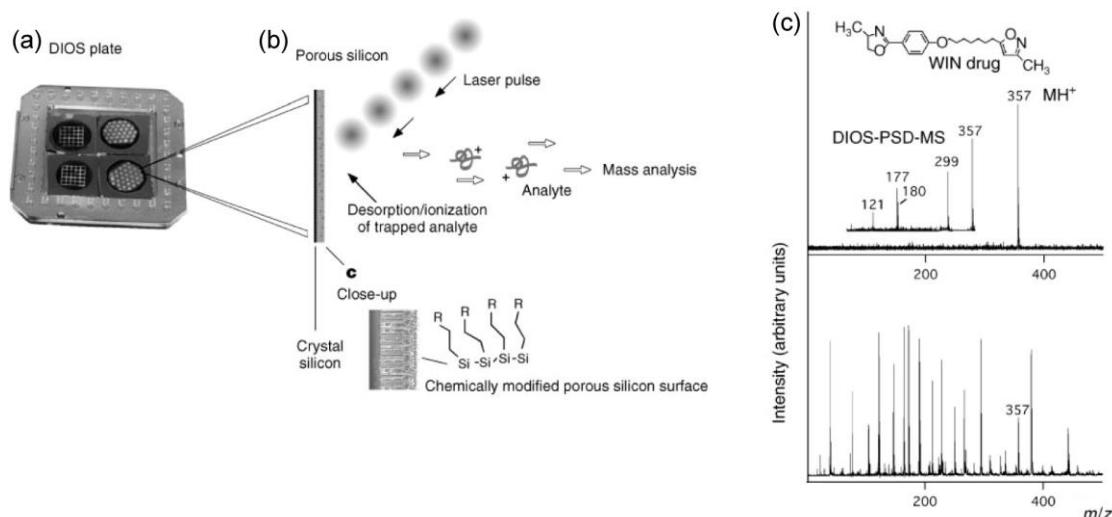


Fig. 1 (a) DIOS プレート, (b) プレート上の化学修飾の詳細とレーザー脱離の様子, (c) 薬分子の陽イオンマスペクトルの高感度検出, DIOS 法 (上), MALDI 法 (下)

これまで試料とマトリクスは溶液状態にて混合する必要があった. 化学修飾による相互作用によって試料を化学吸着することで, 効率よくイオン化できることが示された. これにより様々な表面の改質や修飾による試料のイオン化が試みられてきた. 先に示したシリコンについては, 平板表面¹⁶⁻²⁰だけでなく細孔性シリコン²¹の表面についてもレーザー脱離イオン化が試みられてきた. その他に他の金属の担持体としても用いられている^{19,20,22-26}. また, メソ細孔を持つ材料として知られるゼオライトについても金属担持や表面修飾によるレーザー脱離イオン化が行われている²⁷⁻³⁵.

Tang らは, ゼオライトナノ粒子表面にジカルボン酸を含む末端二級アミンアルキル鎖を修飾して, Fe 金属を取り込ませたのちに β -casein のトリプシン消化物のイオン化を行った³⁶ (Fig. 2).

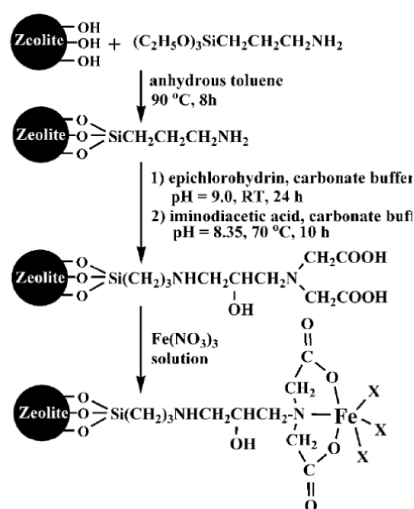


Fig. 2 ゼオライト表面への Fe 金属担持の手順

表面修飾として、最も着目されているのは生体分子相互作用を利用できる抗体であった。

Xiaoming らは、細孔性シリコンプローブの上に牛血清アルブミン (Bovine Serum Albumin, BSA) を共有結合して化学修飾した。様々な抗体を含む BSA は種々の分子と反応するので、ここでは ketoprofen (6.0 mg/mL) , sulpride (5.0 mg/mL) の溶液 2.0 μL を用いて検出を行ったところ、ketoprofen のピークが選択的に検出された³⁷ (Fig. 3)。

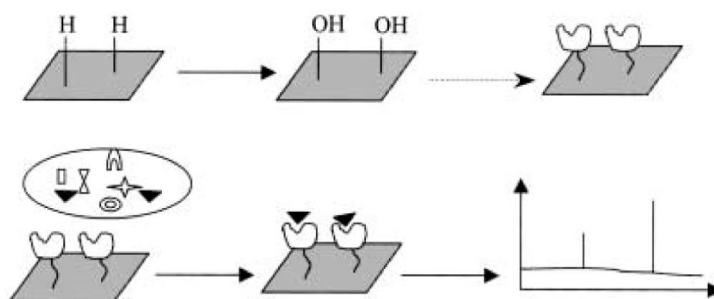


Fig. 3 タンパク質担持細孔性シリコンウェハの作成と質量分析への流れ

一方で、抗原抗体反応の検出方法として Au または Ag 金属表面に生じる SPR の屈折率応答が用いられてきた。この金属表面に捕らえられた分子をそのままレーザー脱離イオン化する方法が試みられた。Krone らは、angiotensin II や secretin, myotoxin a の 0.01 mg/mL 溶液をマトリクスである α -cyano-4-hydroxycinnamic acid を共存させて流し、SPR

センサーにて検出を行った。その後、センサー部を大気下で乾燥し、time-of-flight (ToF) 質量分析測定を行ったところ、試料の分子イオンが数百 fmol オーダーの吸着量で検出できた³⁸ (Fig. 4)。

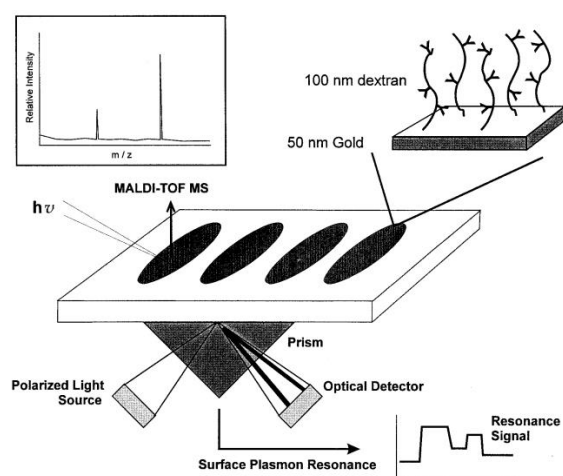


Fig. 4 SPR センサーと質量分析の組み合わせイメージ図

(タンパク質のアフィニティーを行った後、センサーチップを取り外し、質量分析を行う)

この他にも同様に SPR センサーでタンパク質の吸着を確認した後、マトリクスと混合することでレーザー脱離イオン化を達成する例が多数報告された³⁸⁻⁶³。特に近年では、SPR センサー上に組織切片を置き、SPR イメージとともに質量分析による IMS 測定と組み合わせた応用例も知られている^{56,64-76}。例えば、Masson らはネズミの腎臓切片を SPR センサー上にのせる際に組織との間にマイクロ細孔を持つナイロン膜を挟みこんだ。これにより組織のタンパク質や有機小分子の拡散を抑制することで空間分解能を 100 μm 程度まで達成することができている。これは抗原抗体反応といった相互作用で分析種をとどめていない点が利点である⁵⁶ (Fig. 5)。

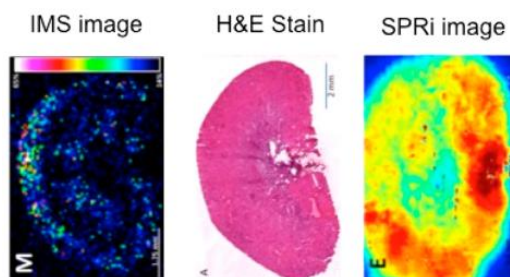


Fig. 5 マウスの腎臓切片，IMS イメージ (左)，H&E 染色 (中)，SPR イメージ (右)

さらに Ag や Au 金属ナノ粒子で生じる局在表面プラズモン共鳴 (Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR) を利用して、質量分析を行う方法が検討されてきた^{65,68,69,71-75,77-83}. Huang らは⁷⁷, SiO₂ のナノ粒子表面を Ag ナノ粒子で覆った SiO₂@Ag コアシェル構造を構築した. SiO₂ 表面上に担持させること SPR を形成するナノ粒子 (nanoparticles, NPs) のサイズを調整することとともに NPs 自身の凝集を考慮せずすみ, 取扱いが容易になった. また, 代謝生成物となる有機小分子の同定に役立つことを示した (Fig. 6).

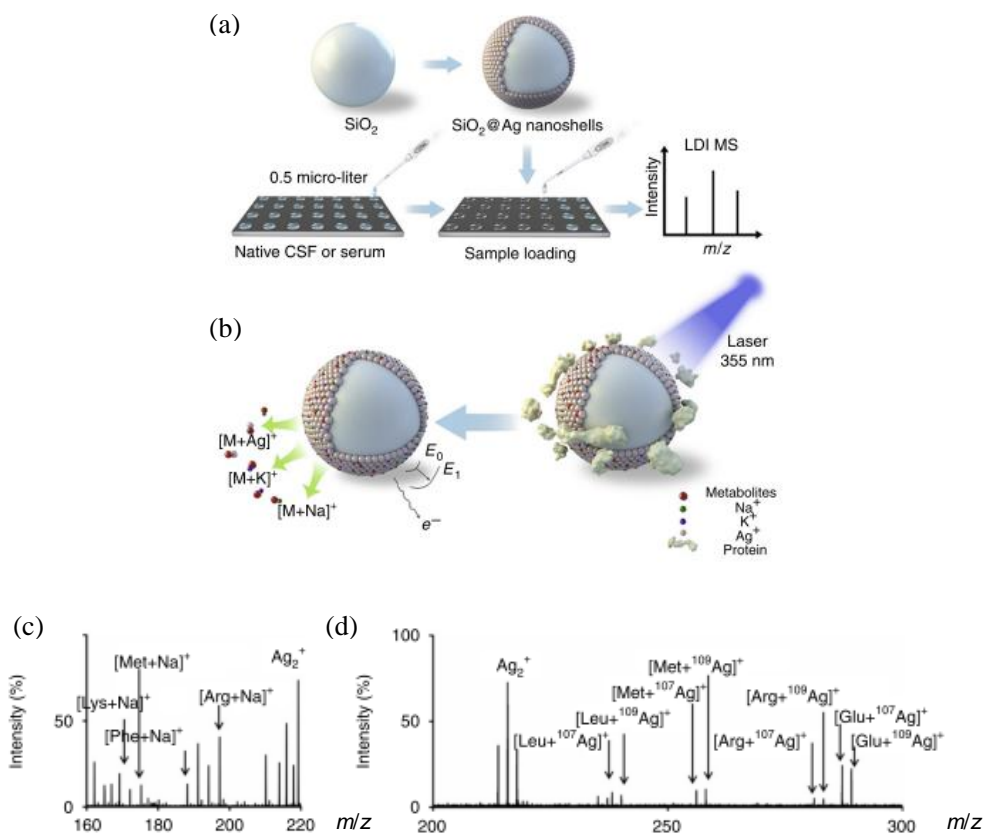


Fig. 6 (a) SiO₂@Ag の合成方法と試料導入方法, (b) LDI-MS 測定の模式図, (c) メチオニン検出への適用例, (d) 種々のアミノ酸のイオン化の様子.

Russell らは, AuNPs を直径 2, 5, 10 nm の球状にサイズ選択的合成を行い, BSA やリン酸化ペプチドをイオン化できることを示した. 特に Au サイズが小さい方が Au 由来のイオンピーク強度が減少し, 分析種イオンを強く与えることが示された⁸⁴.

また、Chang らは、AuNPs にさらに銀をコートすることで得られる金銀コアシェルナノ粒子を用いてアミノグリコシドのイオンピークを効率よく得た。これは既存の LC/MS/MS 解析と同程度の感度であると示された⁸⁵ (Fig. 7)。

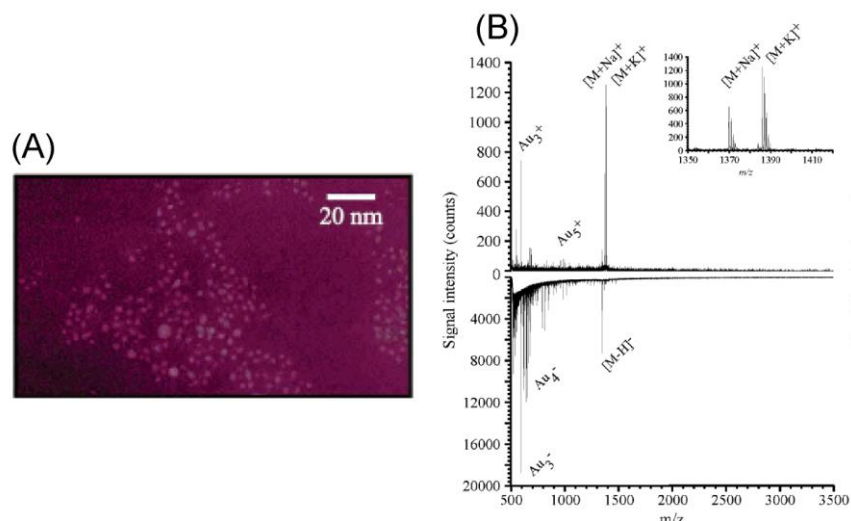


Fig. 7 (A) 金銀コアシェルの SEM 像, (B) 陽イオン質量分析スペクトル, 上, と陰イオンスペクトル, 下

また、Cheng らは⁶⁵, Au/Ag 合金 NPs を使い, その組成比によって, 人の指由来の脂質を高コントラストにイメージングできることを示した (Fig. 8)。

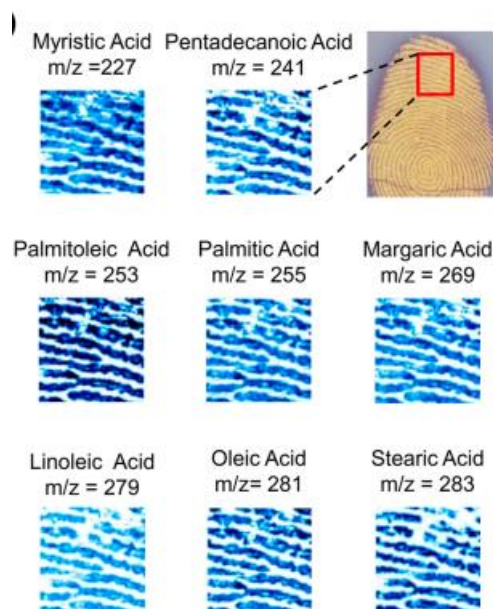


Fig. 8 指紋中に含まれるさまざまな脂質のイメージング図

Au や Ag といった SPR 活性の元素以外の金属または金属酸化物のナノ粒子についても化学的安定性や形状制御といった観点から、LDI 利用について検討されてきた^{15,22,36,86-117}. 荒川らは Pt ナノ構造体の集合体をナノフラワーと呼び、これらが angiotensin I, insulin, cytochrome C といった高質量数を持つ生体分子を、AuNPs を用いた場合と比較して 100 程度高感度に検出することに成功した¹⁰² (Fig. 9).

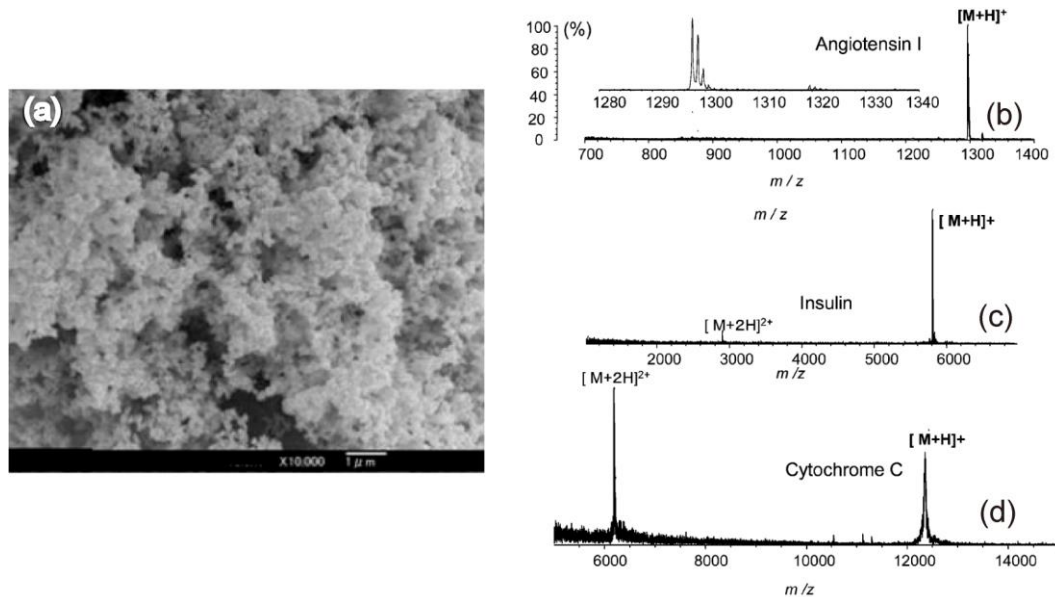


Fig. 9 (a) Pt ナノ構造体の SEM 像, 正イオン質量分析スペクトル, (b) Angiotensin I, (c) Insulin, (d) Cytochrome C

磁性を有する金属酸化物に着目した例として、Chen らは $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$ コアシェルナノ粒子を合成し、金属自身もつ静電的相互作用によるアフィニティプローブとして用いた。同時に、Fe の磁性を利用して溶液状態から金属ナノ粒子を集積し、さらに遠心分離により濃縮を行うことで、 β -casein のトリプシン消化物中のリン酸化修飾ペプチドをイオン化した。その検出下限は 500 pM の溶液を 100 μL 、つまり、50 fmol で検出できた⁹⁸。また、荒川らは同様の FePtCu ナノ粒子を用いて、種々の四残基ペプチドのイオン化を行った。その際、各ペプチドの等電点 (pI) を越えるように pH 調製して、イオン化を行ったところ、ペプチドの pI に依存して、イオン化されるペプチドが変化することが示された。これにより生体内の目的となるペプチドを pH 選択的にイオン化できることを示した¹¹³ (Fig. 10)。

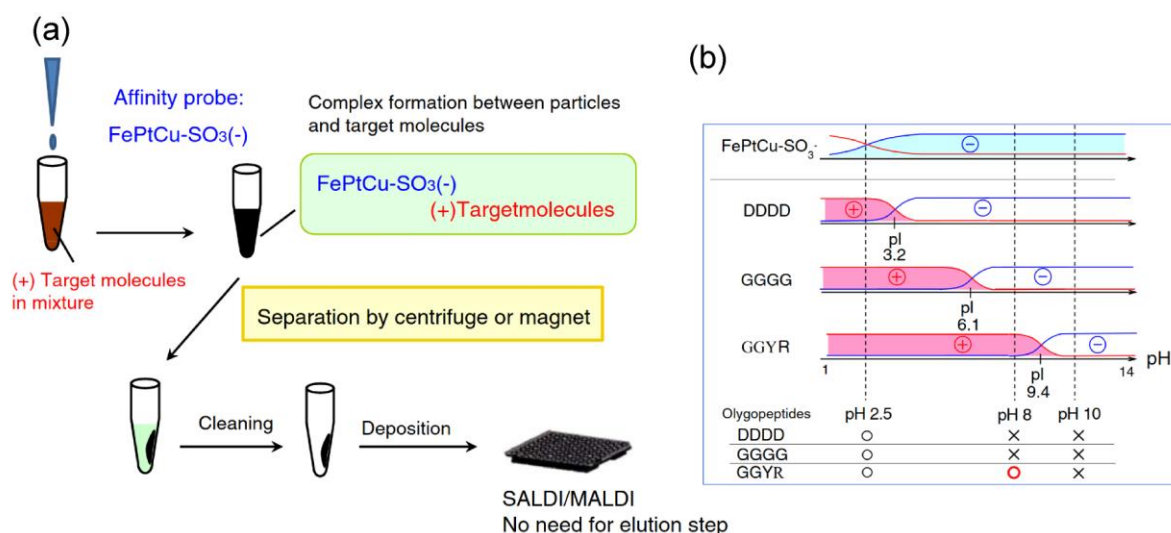


Fig. 10 (a) FePtCu ナノ粒子を用いたサンプル調製の手順, (b) pH 選択的な四残基アミノ酸検出

有機無機ハイブリッド材料である金属有機構造体 (Metal Organic Frameworks, MOFs) も、その細孔内へ種々の分子を取り込むホスト性を有することから、レーザー脱離イオン化への適用が検討されてきた¹¹⁸⁻¹³²。

Huang らは球状細孔を持つ MIL を用いてレーザー脱離イオン化を試みた¹²⁴。分析対象物として、有害物質である多環芳香族炭化水素 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH) である anthracene, pyrene, benzo[a]anthracene, chrysene, benzo[a]pyrene を選んだ。ターゲットプレート上に試料溶液および MOFs を含む溶液をそれぞれ滴下し、自然乾燥させ

ることで調製した. 370°C 以上においても骨格構造が壊れる様子はなく, 安定であった. 比較として, AuNPs および他の MOFs である SBA-15 を用いて測定を行ったところ, マトリクスノイズおよび分析種のシグナルの両方が改善された良い SN を与えることが示された (Fig. 11).

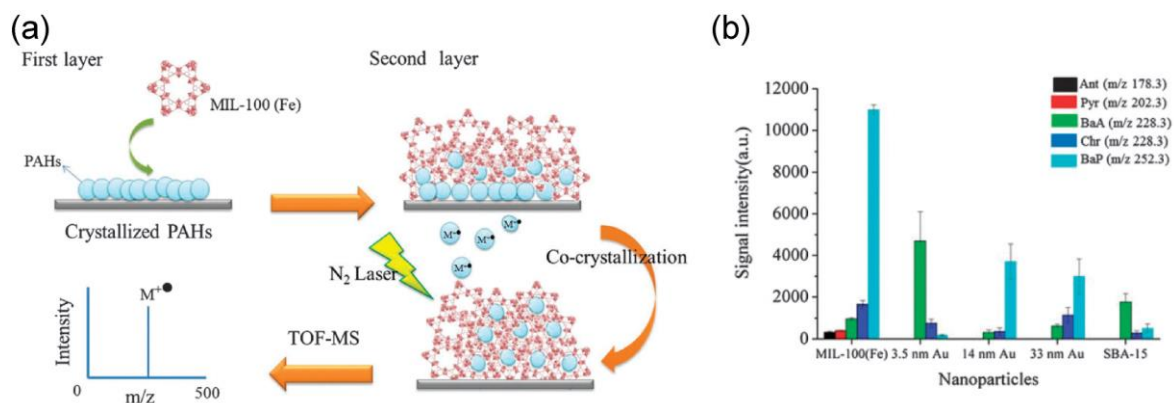


Fig. 11 (a) MOFs を用いた PAH の試料調製の手順, (b) 各 PAH のイオン強度比較

以上のように、ナノ粒子表面や細孔内面の物性を用いることで、目的分析種を効率よくイオン化できることが示されてきた。特に、化学修飾による狙った相互作用から選択的に目的分析種を観測できるようになった点は SALDI 法の優位な点といえる。また、MALDI 法で問題となっていた点として、マトリクス選択と試料調製による共結晶作成の再現性があげられる。SALDI 法は相互作用により試料（分析種）を集積することで、マトリクスの選択や共結晶化といった問題は基本的に生じない。

しかしながら、ナノ粒子や細孔の表面を利用した場合においても、ソフトイオン化の要となる分析種とマトリクス間でのエネルギー伝達に関する詳細を明らかにした例はない。これは、これまでの手法では分子の配置を含めた相互作用の状態を正確に知ることができないからである。特に MOFs は結晶性を有する細孔性有機無機ハイブリッド材料であるが、骨格構造が結晶学的に高い対称性を持つため、分析種の対称性もそれに準ずるものでなければ、単結晶 X 線構造解析によって構造を明らかにすることはできない。これらの点を踏まえ、結晶学的に対称性が低い骨格と細孔を有する材料である CS に着目した。

1-3. 結晶スポンジ

2013 年、藤田らはナノ細孔を有する結晶性配位高分子へ有機分子を取り込ませることで、有機分子自身の結晶化を行わずに結晶性配位高分子の骨格構造（ホストと呼ぶ）とともに細孔内有機分子（ゲストと呼ぶ）の結晶構造解析を行う方法を見出した¹³³。この結晶構造解析法を CS 法とよぶ。単結晶 X 線構造解析により、CS は三次元構造を有する網目状の骨格であることが明らかにされている（Fig. 12, 下）。実際に用いる CS は、ハロゲン化亜鉛と TPT（2,4,6-tris(4-pyridyl)-1,3,5-triazine）の錯形成から得られる金属錯体の単結晶であり、その特徴は 2002, 2004 年に報告されている^{134,135}。具体的には、TPT の nitrobenzene/methanol 溶液と ZnI_2 の methanol 溶液の液液拡散法による錯形成から $[(ZnX_2)_3(TPT)_2 \cdot x(\text{solvent})]_n$ が得られる。以下、骨格部を CS、細孔内包接分子を G とする。その包接 CS を $G \subset CS$ と記す。CS は用いるハロゲンによって異なるので X ごとに CS (X = Cl or I) と記す（Fig. 12, 上）。

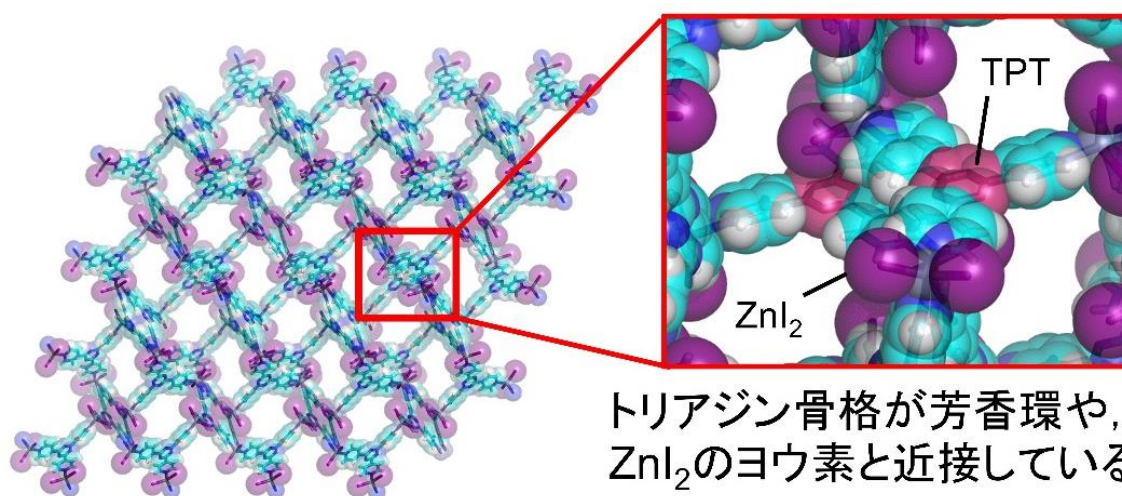
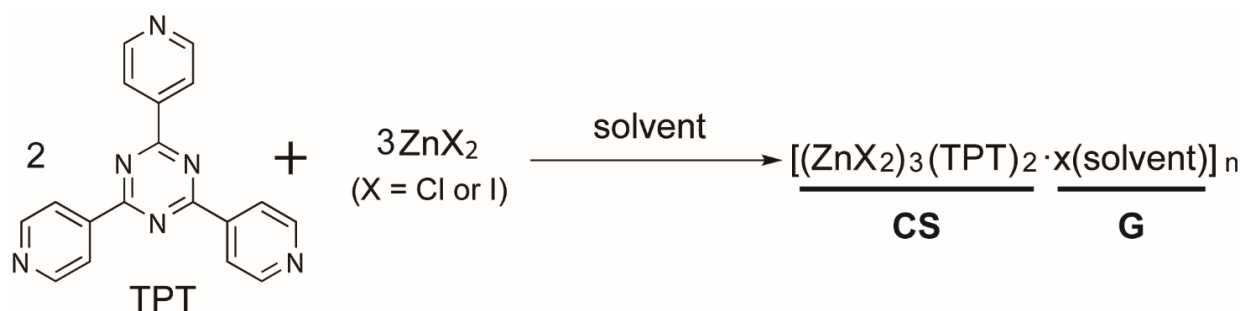


Fig. 12 結晶スポンジの構造

CS の発展について次に述べる。

CS 内の溶媒分子が single-crystal-to-single-crystal にて, 芳香族系分子である benzene や bromoform, さらには, triphenylene, perylene, triphenylphosphine oxide と置き換わること, つまり, ゲスト交換 (guest-exchange) が起こることが見出された^{134,135}. このように溶媒分子より大きいサイズの有機分子がナノ細孔中で観測される例は多くなかった. また, 同様に結晶性配位高分子のナノ空間においても特異的な反応が見出されてきた. CS 内へクロミズム分子である salicylideneaniline を取り込んだ場合, ナノ空間により平面性を失うためにフォトクロミズムを示す. クロミズム物性は置換基の嵩高さによって制御されるのが一般であるが, ナノ空間に取り込まれることで thermochromic から photochromic 物性へと変化する例を示した¹³⁶ (Fig. 13).

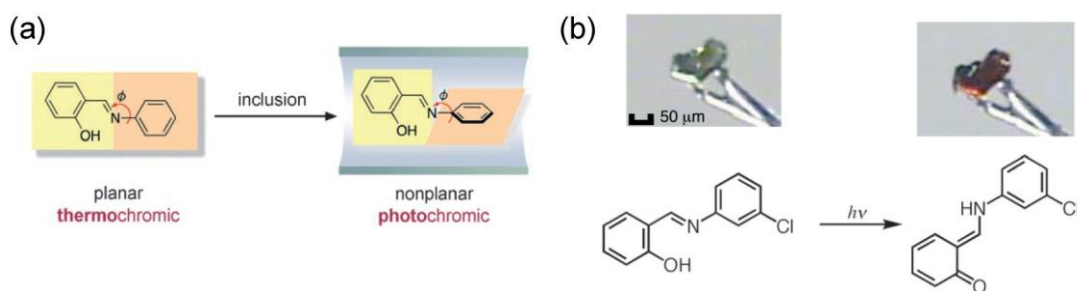


Fig. 13 (a) 細孔内外でのクロミズム変化, (b) 結晶内 salicylidene の photochromic

また, 結晶性配位高分子の骨格構造に π - π 相互作用によって分子を挟み込み¹³⁷, その分子の官能基の反応を結晶学的に追跡することで, 反応のスナップショットを見出すことに成功している. 具体的には, triphenylene に導入された amino 基の Schiff 塩基形成反応やアミド結合形成反応の追跡に成功している¹³⁸. 特に加水分解を受けやすい Schiff 塩基を細孔性ナノ空間内でみることで安定に検出できるといった点が特徴である (Fig. 14).

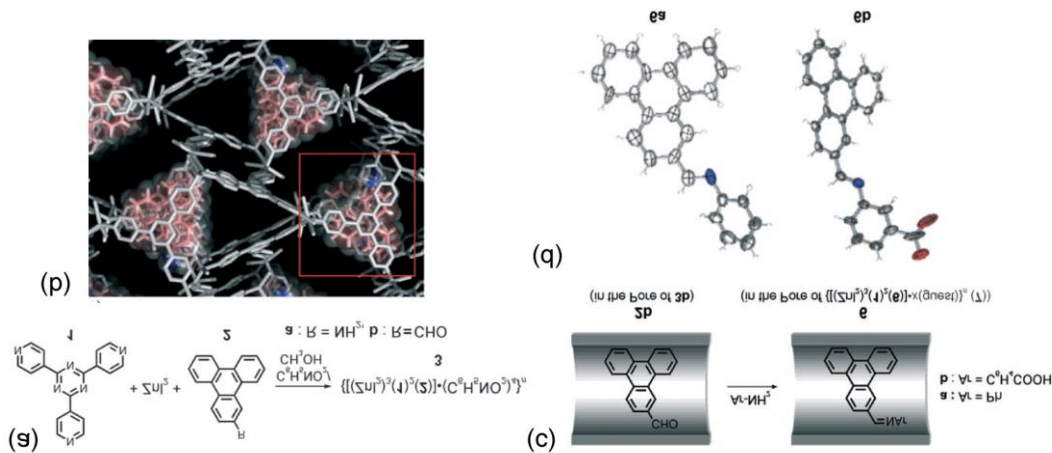


Fig. 14 (a) 非共有結合的に多環芳香族を取り込んだ細孔性配位高分子, (b) 結晶構造結果, (c) Formyl 基のイミン反応, (d) 反応後多環芳香族構造解析結果

このようにこれまでも結晶性ナノ空間が分子構造変化を調べる手法として用いられてきた。これらを踏まえて、猪熊らはゲストの結晶化を必要としない結晶化法として CS 法を提案した。Guaiazulene のような芳香環をもつ平面性の高い分子のみならず、nitro 基, formyl 基, methoxy 基, エステル, ハロゲン, といった様々な置換基を含む有機小分子の構造を決定した¹³³。また, 配位結合を含む細孔性錯体でありながら, 水酸基やアミノ基といった求核性置換基を含むゲストの取り込みについても成功している (Fig. 15)。

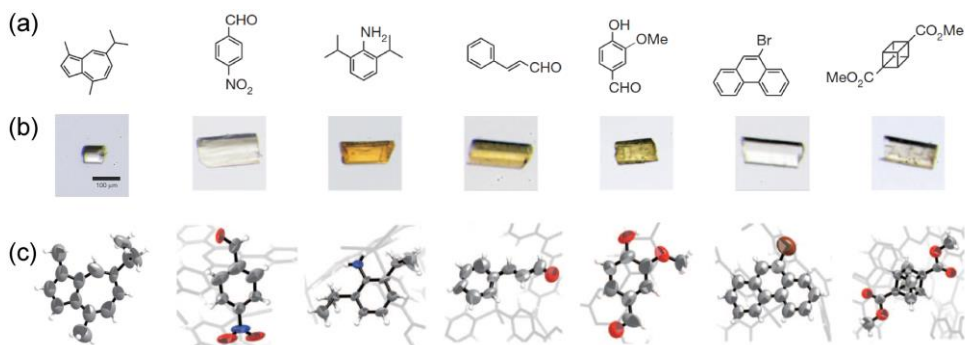


Fig. 15 (a) 取り込んだ分析種構造式, (b) 単結晶 X 線構造解析に用いた結晶の光学写真, (c) 構造解析結果

また, *santonin* のように不斉炭素を含む分子の立体構造についても構造解析できることが示された¹³³。ゲストの立体が CS 骨格に伝わることで, CS 自体がもつ結晶学的に

achiral 空間群である $C2/c$ から chiral な空間群である $C2$ へと変化することが示された。しかしながら、このような包接分子の構造情報が骨格へ伝わるという **chirality** 転写の具体的機構は不明である (Fig. 16)。

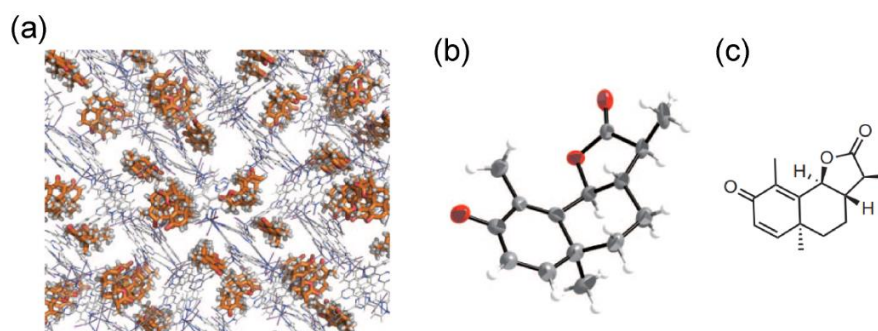


Fig. 16 (a) 結晶スポンジ骨格内 santonin, (b) 得られた立体構造, (c) 既知の構造式

また、オレンジの皮の抽出物を HPLC により分取し、mg 量得た後、直接 CS へ添加することで、それらがフラボン誘導体であると構造決定している¹³³ (Fig. 17)。

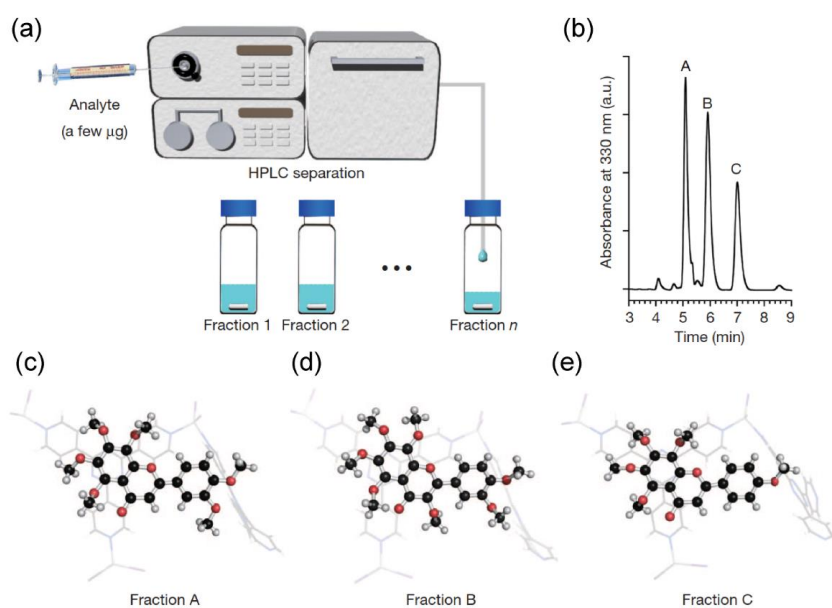


Fig. 17 (a) HPLC によるオレンジの皮抽出物の分離手順, (b) 保持時間と着目した分取 A, B, C, (c)-(e) 分取 A, B, C を結晶スポンジに取り込み、決定した構造

さらに、海藻抽出物である miyakosyne A の立体構造同定を試みた¹³³。しかし、後の NMR 法による構造同定から $14S$ ではなく $14R$ であると決定されたことから、CS 法の適用限界が示された。(Fig. 18)。

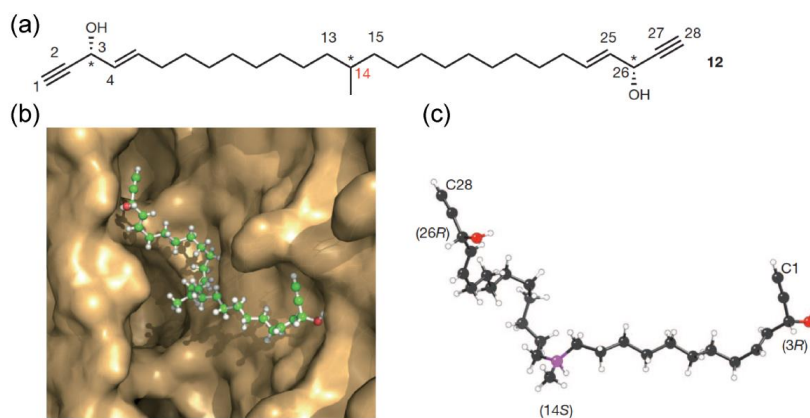


Fig. 18 (a) Miyakosyne A の決定された立体構造式, (b) 細孔内での様子, (c) 同定された幾何構造モデル

CS の細孔の様子を Fig. 19 に示す. 開口部のサイズは一番近接した原子間距離をもとに算出すると, 101 面から見た方向では $14 \times 9 \text{ \AA}^2$, b 軸方向から見たサイズは $9 \times 7 \text{ \AA}^2$ である. また, そのチャネルの長さは単位格子あたり, それぞれ, 40 \AA および 14 \AA であった. Miyakosyne A の長さは直鎖状態で約 35 \AA である. ただし, 細孔内は結晶学的対称操作によって関連付けられているため, 非対称単位で観測される分子の長さは先に述べた長さより短くなる. 以上から, 細孔の周期的長さよりも長い分子の適用が難しいことを示している.

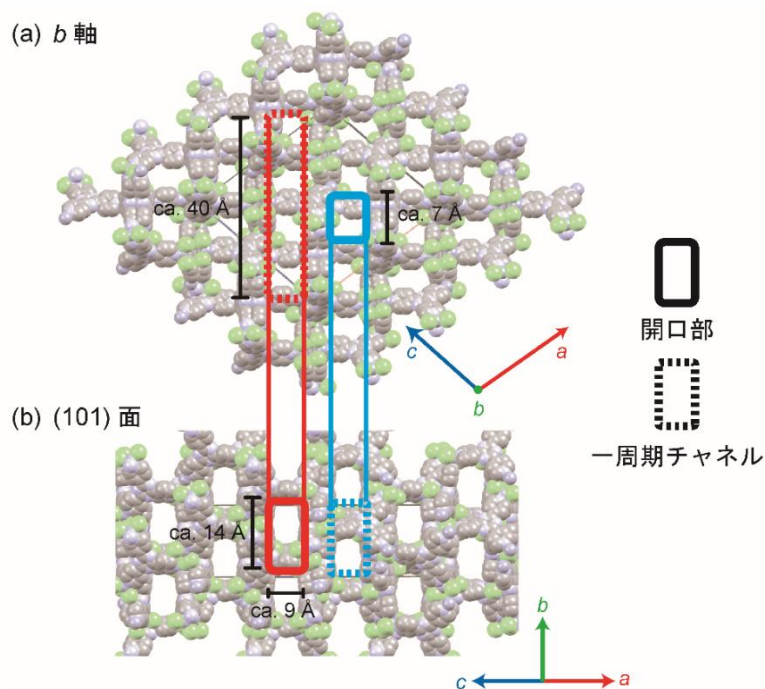


Fig. 19 結晶スポンジの細孔開口部とチャネル方向, (a) b 軸方向図, (b) (101) 面図

この報告をはじめとして様々なゲストについて CS 法が適用された。

CS が微量試料に適用できる点を利用して、反応性の高い化合物である ozonide を検出した例があげられる。事前に -78°C 条件下で 2 時間 *n*-pentane 中 styrene へ ozone を通じてオゾン酸化した溶液 5 μL を、CS の入った 20 μL cyclohexane へ加え、取り込みを行ったところ、ozonide 構造を同定することができた。このような反応性の高い物質は、通常希釈することで安定に取り扱う。そのため、高濃度で効率よく構造解析ができないが、CS 法であれば、ナノ細孔内に配置することで、濃縮しながらもゲストの反応を抑制できる点が有利である (Fig. 20) ¹³⁹。

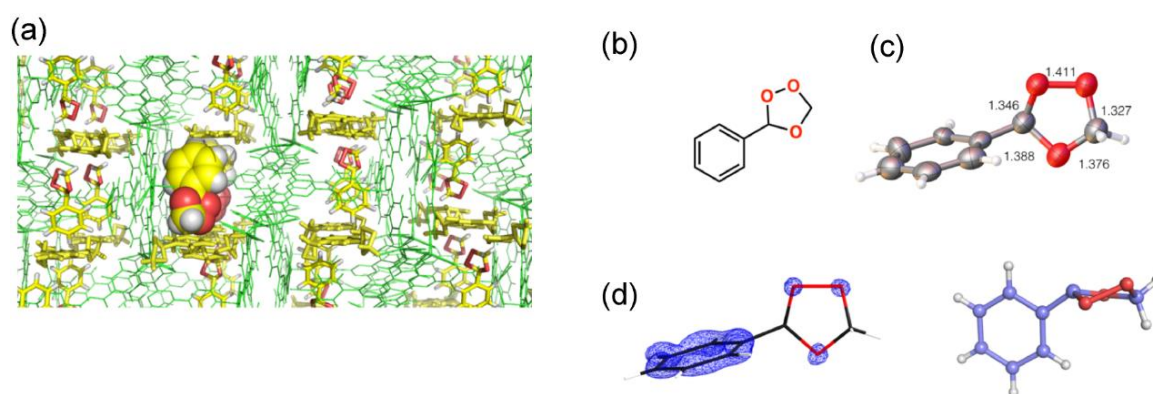


Fig. 20 (a) 結晶スポンジ内 ozonide, (b) 構造式, (c) ORTEP 像, (d) 電子密度図の重ねあわせと ball-and-stick 像

次いで、これまでに構造が明らかになっていない生合成で得られるテルペン系化合物 *astellifadiene* について、CS 法と種々の分析手法を組み合わせた分子構造解析が行われた。各種一次元および二次元 NMR 法 (^1H - ^1H COSY, HMBC, NOESY) により、相対配置は $2S^*$, $3S^*$, $7R^*$, $11R^*$, $14R^*$, $15S^*$, $18S^*$ であると決定された。一方、CS 法のみでは元素組成を含めて未知構造体を決定することは一般的にできない。そこで、二次元 NMR から元素組成および骨格や側鎖の情報を得ることで、CS 内で観測される電子密度に最適な構造を探索した。当てはめられた立体構造は 7 つの chiral 炭素が $2S$, $3S$, $7R$, $11R$, $14R$, $15S$, $18S$ であると結晶学的に決定することができた¹⁴⁰ (Fig. 21)。

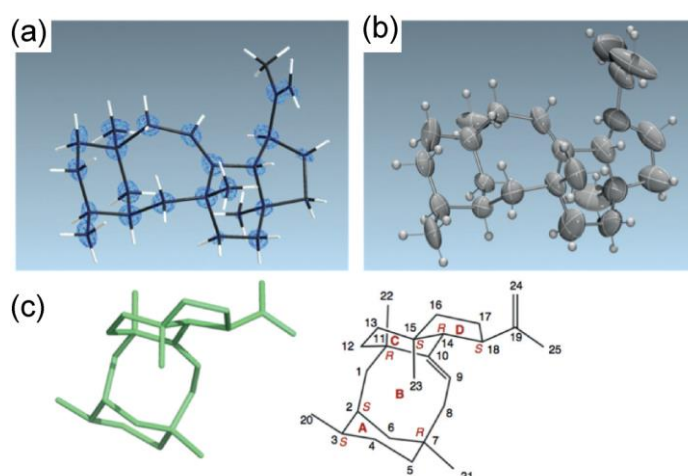


Fig. 21 (a) *Astellifadiene* の結晶スポンジ法により決められた電子密度図と幾何構造を重ね合わせた図, (b) ORTEP 図, (c) Stick 像による立体構造表記

同様に紅藻の生合成で得られるセスキテルペン類の構造同定を行うにあたり、最も多い量として 1 mg 以下で得られたセスキテルペン類三種について、構造解析を検討した。試料を含んだ dichloromethane 溶液 5 μL (1 mg/1 mL) を CS が入った cyclohexane 45 μL へ加え、50 $^{\circ}\text{C}$ にて 1 日静置し、4 $^{\circ}\text{C}$ にて 5 日静置した。初期構造決定および構造精密化を行うと、炭素 12 個に相当する電子密度が明瞭に観測された。特に結晶構造解析時に適用する束縛条件なしに、電子密度がはっきりと帰属できる状態で観測された点は、“観測事実”であると強調できる。同時に NMR 測定 (^{13}C NMR, DEPT, ^1H - ^1H COSY, HMBC) で得られた情報から分子の部分構造に関する情報を収集し、単結晶 X 線構造解析のパーツとして当てはめることで分子の立体構造を得ることに成功した。得られ

た分子は prespatane であることが示された。この立体構造解析に基づき、生合成系における環化メカニズムについても検討されている¹⁴¹ (Fig. 22)。

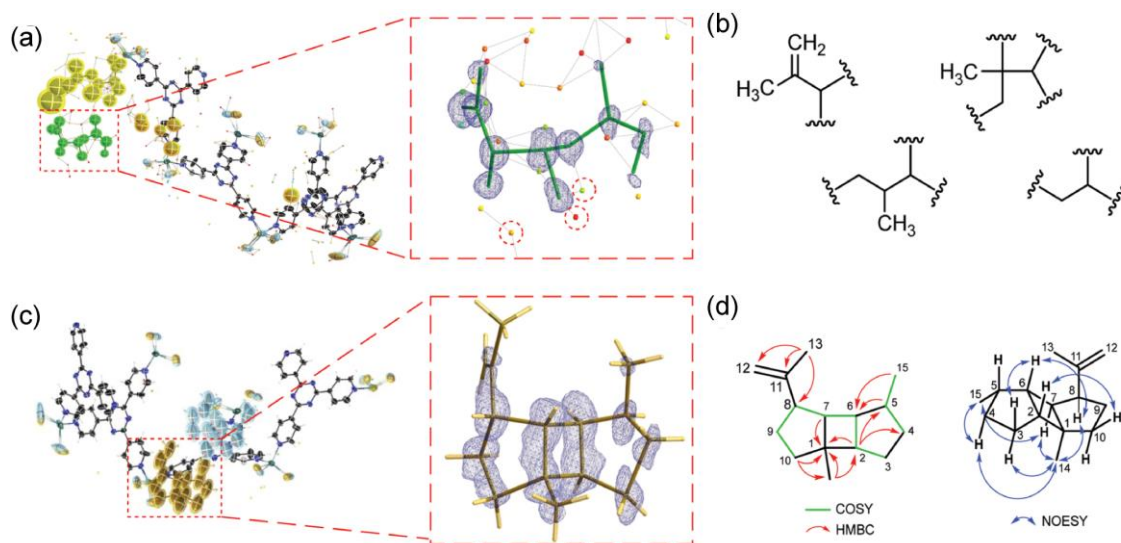


Fig. 22 (a) 結晶スポンジ内でのセスキテルペンの電子密度図, (b) 一次元 NMR から得られる部分構造, (c) 先の情報で組み合わせて立てた結晶スポンジ構造解析結果, (d) 二次元 NMR による立体構造決定

さらに CS が配位化合物であるため、ゲストが求核性を有する場合、CS 骨格を壊してしまうことが多々ある。そこで、藤田らは、これまでに主に行ってきた CS へのゲストの取り込み条件である 50°C にて 2 日間について、N 原子のような求核性のある原子を含む分子の場合、ゲストの量を 5 μg から 2 μg へと減らし、4°C 条件へと変化させることで CS への損傷を減らせると報告した。この方法により caffeine の構造解析に成功した。他にも nifedipine や nicotine といったものを含め、20 種近い構造同定に成功している¹⁴² (Fig. 23)。

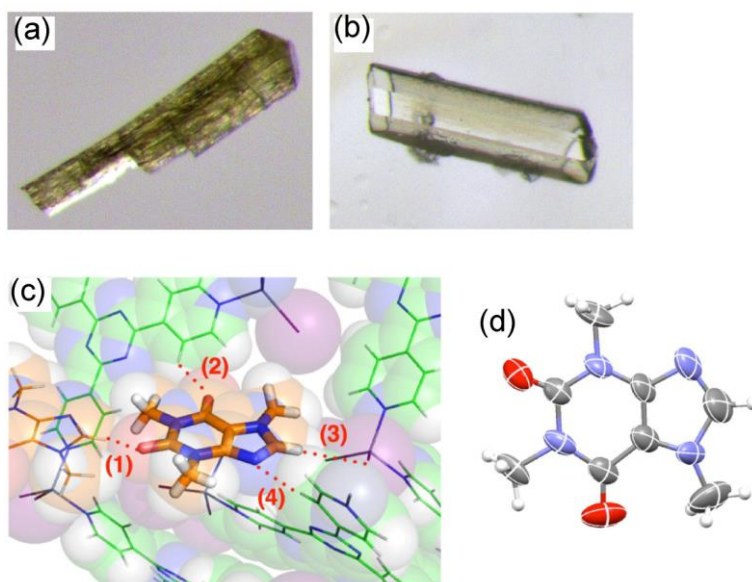


Fig. 23 (a) 取り込み条件の違いによる結晶スポンジ損傷の様子, 50°Cにて2日間, (b) 4°Cにて2日間, (c) 結晶スポンジ内 caffeine の多点間相互作用の様子, (d) 構造解析結果

また川幡らはサリチル酸メチルを CS 内へ包接し，細孔内において水酸基およびエステル部位が縦方向に水素結合ネットワークを形成している様子を明らかにした．常温常圧でナノ空間において，液状薬物が特徴的なスタック構造をしている様子を明らかにした¹⁴³ (Fig. 24)．

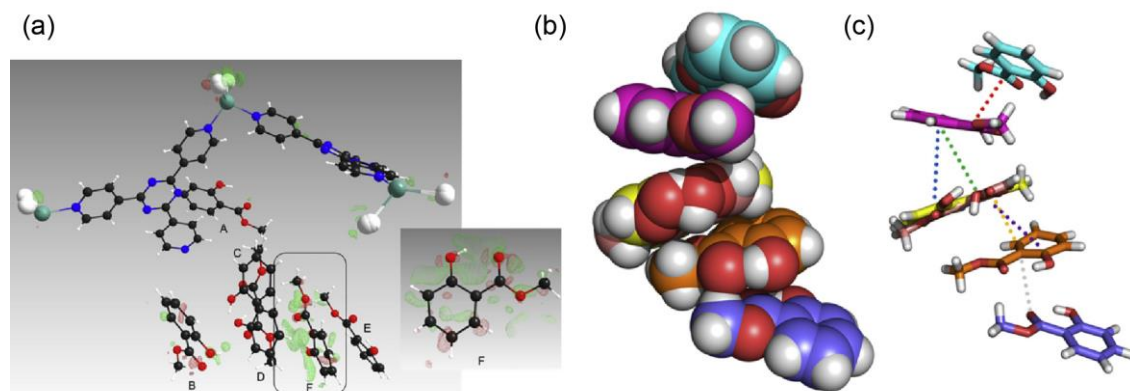


Fig. 24 (a) サリチル酸メチルを含む結晶スポンジ構造解析結果および ball and stick 表示，(b) Space filling モデルによるサリチル酸メチルのスタック構造，(c) 縦方向水素結合ネットワークの様子

このように CS 法は様々な分子に適用できる例が示されてきた．特に微量試料の分子構造解析手法として価値を高めている．しかしながら，単結晶 X 線構造解析法は原理的に原子種を識別できない．そのため，別途試料を NMR 法や GC-MS 法へ適用して情報を組み合わせることなしには，未知化合物の同定はできないといえる．

1-4. 結晶スポンジ-レーザー脱離イオン化質量分析

当研究室から、CS の結晶性ナノ空間に着目し、細孔内に包接されたゲストについて、立体構造解析のみならずレーザー脱離イオン化法による質量分析が適用可能であることが報告されている¹⁴⁴。CS には芳香族化合物が容易に取り込まれることから、無置換体を含め、4,4'位に methyl 基と塩素を持つ三種の stilbene 誘導体について、CS 内へ包接を行い、単結晶 X 線構造解析を試みた後、LDI-MS による IMS を行った。その結果、塩素化合物について、単結晶 X 線構造解析から細孔内で stilbene が CS 骨格に含まれる TPT の triazine 骨格と π - π 相互作用の距離に存在していることや、互いにスタックした二量体構造をとっていることが明らかとなった (Fig. 25)。また、定量 ^1H NMR による結晶抽出物から TPT と stilbene の量論比を求めるといずれも 1 前後と整数値に近い値であった。

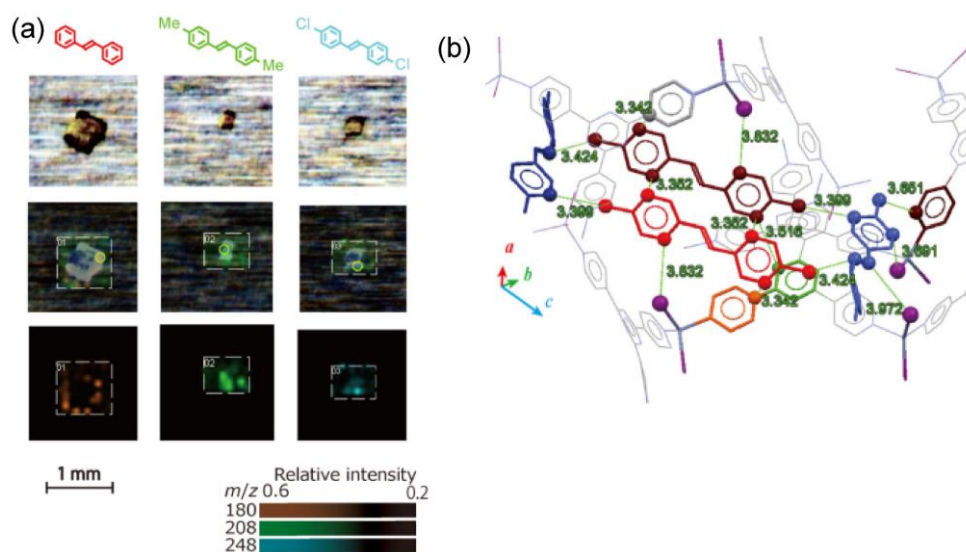


Fig. 25 (a) CS 内へ包接された stilbene の光学写真とそれぞれの IMS, (b) 塩素化合物の細孔内での相対配置

さらに質量分析の結果から、CS 存在下において、分析種の分子イオンが得られることがわかった。特に分析種のイオンのみならず、CS 骨格分子 TPT のプロトン付加体も観測されたことから、CS がマトリクス機能を有していると考えられた。いままでの

MALDI 法における試料調製は『the sample is mixed with an organic matrix compound; in a convenient solvent to achieve a molar ratio of analyte to matrix of approximately 1:5000』と教科書で示されていたが、試料（分析種）とマトリクスは相互作用のある分子-分子の状態をつくることが大切であることを実験的に明らかにしたといえる。これらを結晶スポンジ-レーザー脱離イオン化質量分析法（CS-LDI-MS）と呼ぶ。

本論文では、CS-LDI-MS 法が単一結晶を用いて異なる二つの分析手法が適用でき微量分析構造解析への応用が期待されることから、CS 法を活用し、次の点について検討を行った。はじめに、CS 法自体が持つ問題として、ゲストの取り込みには形やサイズといった制約がある。藤田らは一定の方法論を示したが、細孔内への分子の移動には統計的振る舞いがあるため、実験的には多数の結晶から最適なものを選び出す必要がある。CS 法のもつそれらの問題のため、任意の分子を用いて CS-LDI-MS 法の特徴を調べることはできなかった。

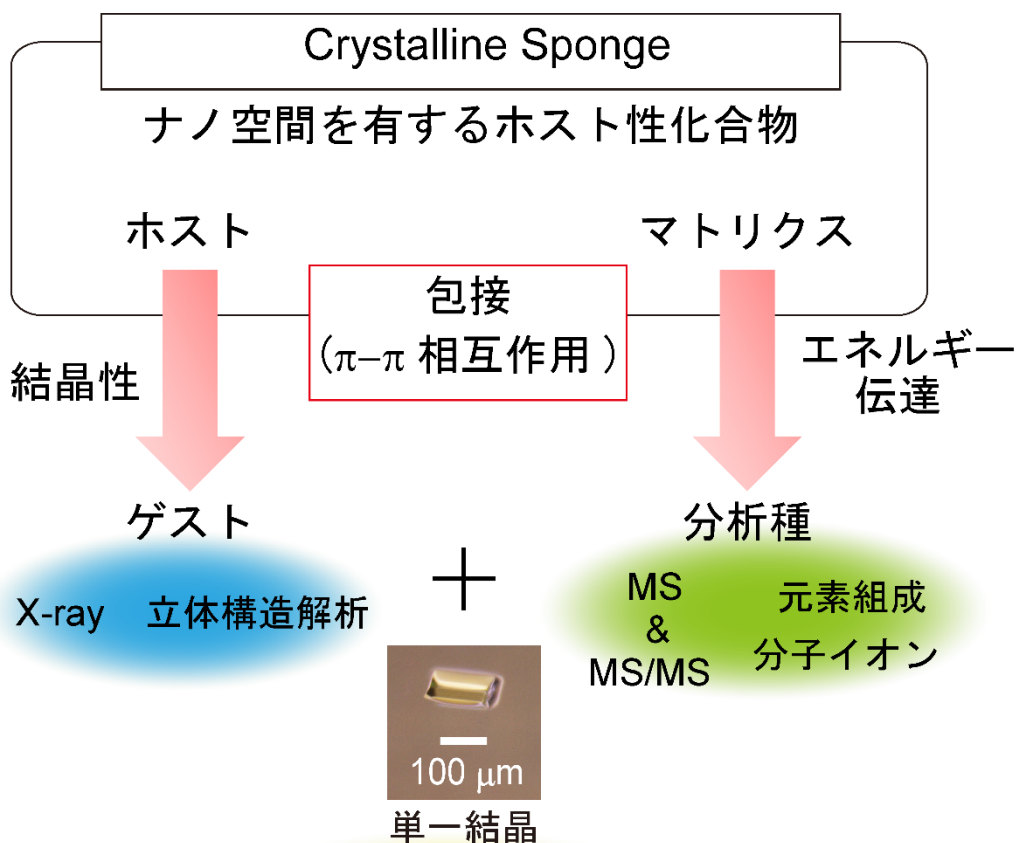
このような条件下で、第二章では、CS-LDI-MS 法の適用範囲を検討すべく、細孔の周期的長さに収まる分子として、末端に芳香環をもつ直鎖状 ene 化合物の取り込みの検討を行った。これにより CS 内へ取り込むことのできるゲストの鎖長を検討し、これらの LDI-MS によるイオン化挙動を調べた。

第三章では、CS-LDI-MS 法が単一結晶に適用できる微量分析である点に着目し、単結晶 X 線構造解析と質量分析法において、どちらの検出感度が優れているか検討を行った。単結晶 X 線構造解析では、重原子のように電子密度が大きいものは細孔内での存在割合を調べられると考え、CS 内へ取り込み濃度を変化させ、構造解析と質量分析の両方による検出を試みた。

第四章では、catechol 誘導体である 1,3-benzodioxole 骨格を持つ化合物の取り込みに成功したので、CS-LDI-MS 法によるイオン化を行った。また、LDI-MS から分子構造情報が得られるか検討を行った。

第五章では、CS 内へ単環状化合物が電子的要因なしに取り込まれることを発見した。それらの取り込み状態を単結晶 X 線構造解析から評価し、その後、CS-LDI-MS 法を適用した。得られたイオン種から CS-LDI-MS 法の特徴をまとめる。

第六章では、目的分析種自身の MS 情報を得る方法として、MS/MS を適用した。これにより単一結晶のわずかな領域から得たイオンの情報が組成式だけでなく、分子構造情報であることを示す (Fig. 26)。



Crystalline Sponge Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry
異なる二つの分析手法の相乗効果
微量構造解析が可能

Fig. 26 結晶スポンジ-レーザー脱離イオン化法 (CS-LDI-MS)

第二章 末端に芳香環をもつ直鎖状 ene 化合物の 取り込みとレーザー脱離イオン化

2-1. はじめに

著者は CS 細孔の周期的長さに収まる分子として、末端に芳香環をもつ直鎖状 ene 化合物の CS 内取り込みを行った。単結晶 X 線構造解析により非共有結合や π - π 相互作用によってゲストが取り込まれることを明らかにし、レーザー脱離イオン化による IMS によりそれらがイオン化されるか調べた (Fig. 27)。

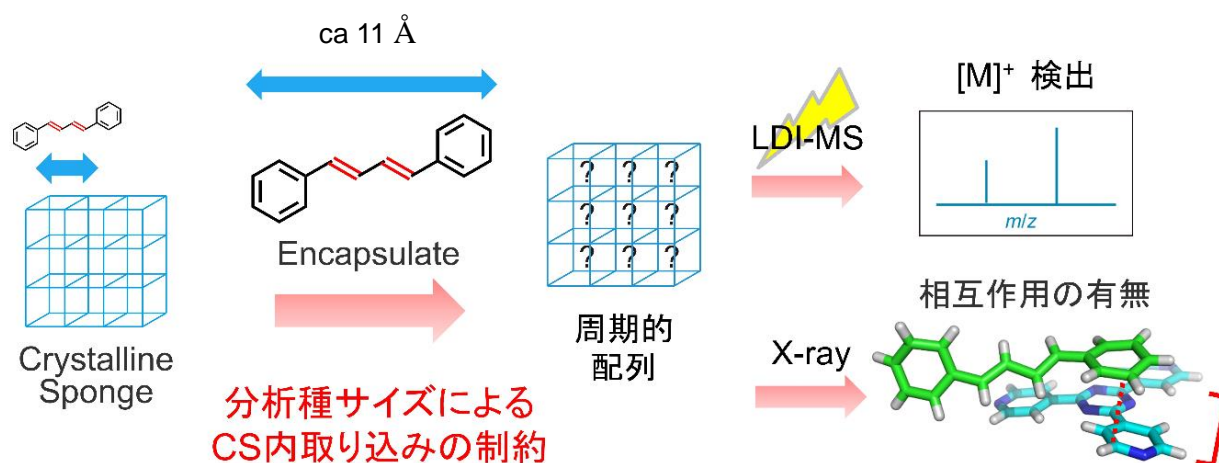


Fig. 27 直鎖状 ene 化合物の CS 内取り込みと複合構造解析

2-2. 直鎖状 ene 化合物の結晶スポンジ取り込み

ゲスト分子として Table 1 に示す化合物 (**1-3**) を選定した. 具体的には(*E*)-1,2-diphenylethene (以下 *trans*-stilbene), (*1E, 3E*)-1,4-diphenyl-1,3-butadiene, 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene について取り込みを検討した.

trans-Stilbene (**1**) の結晶スポンジへの取り込み

trans-Stilbene (18.3 μmol) 3.30 mg に cyclohexane 1.0 mL を加え, *trans*-stilbene 18.3 mM 溶液を調製した. CS (X = I) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, *trans*-stilbene 18.3 mM 溶液を入れ 7 日間静置した.

(*1E, 3E*)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene (**2**) の結晶スポンジへの取り込み

(*1E, 3E*)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene (16.5 μmol) 3.41 mg に cyclohexane 1.0 mL を加え, (*1E, 3E*)-1,4-diphenyl-1,3-butadiene 16.5 mM 溶液を調製した. CS (X = I) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, (*1E, 3E*)-1,4-diphenyl-1,3-butadiene 16.5 mM 溶液を入れ 7 日間静置した.

1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene (**3**) の結晶スポンジへの取り込み

1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene (15.7 μmol) 3.66 mg に cyclohexane 5.0 mL を加え, *trans*-stilbene 3.15 mM 溶液を調製した. CS (X = I) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene 3.15 mM 溶液を入れ 7 日間静置した.

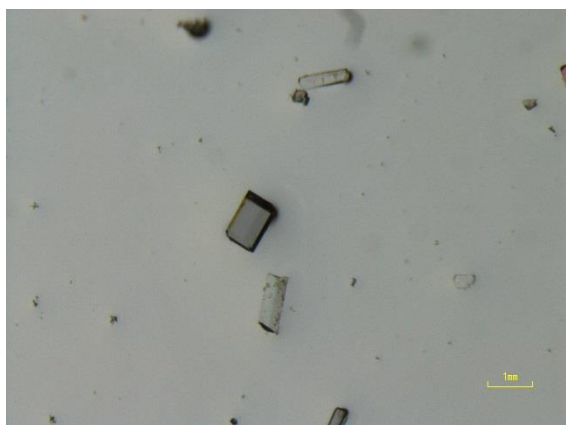
Table 1 取り込みゲストの構造式, 分子量, および常温常圧下における状態

ゲスト名	構造式	組成式	分子量 [g/mol]	性状
<i>trans</i> -Stilbene (<i>E</i>)-1,2-Diphenylethene)	<p style="text-align: center;">ca. 8 Å</p> <p style="text-align: center;">1</p>	C ₁₄ H ₁₂	180.25	固体 m.p. 122-124°C ¹⁴⁵
(1 <i>E</i> , 3 <i>E</i>)-1,4-Diphenyl- 1,3-butadiene	<p style="text-align: center;">ca. 10 Å</p> <p style="text-align: center;">2</p>	C ₁₆ H ₁₄	206.28	固体 m.p. 144°C ¹⁴⁶
1,6-Diphenyl-1,3,5- hexatriene	<p style="text-align: center;">ca. 13 Å</p> <p style="text-align: center;">3</p>	C ₁₈ H ₁₆	232.32	固体 m.p. 199°C ¹⁴⁷

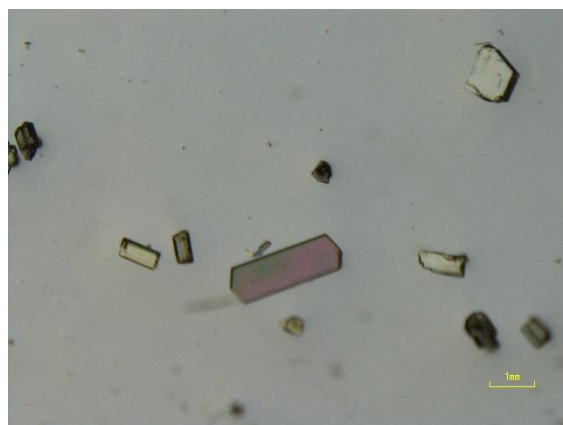
2-3. 直鎖状 ene 化合物包接結晶スポンジの色の経時変化

細孔内に cyclohexane を包接した CS は光学的に無色透明に近い。ゲスト溶液に CS を浸漬させた際の結晶の色変化を追った (Fig. 28~30)。ゲスト溶液に CS を浸す前を 0 day (before) , 浸した直後を 0 day (after) とし, 1 日目 (1 day), 3 日目 (3 day), 7 日目 (7 day) の写真を示す。すべての場合において, 取り込み開始時から結晶の色は淡黄色へと変化する。時間経過とともに淡黄色が定性的に濃くなる。結晶性が保たれているものもあり, 単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選ぶことが可能であった。また, さらなる詳細を調べるため, 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトルを調べた。

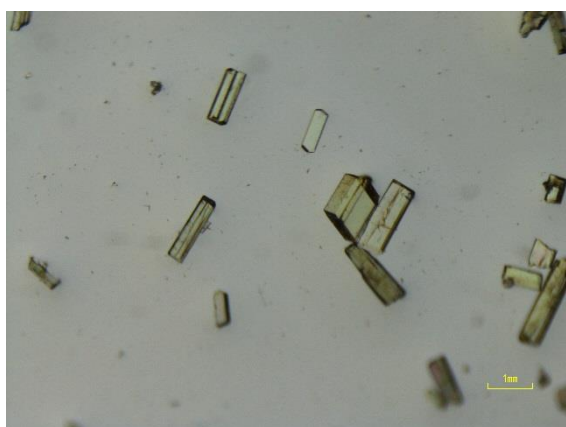
0 day (before)



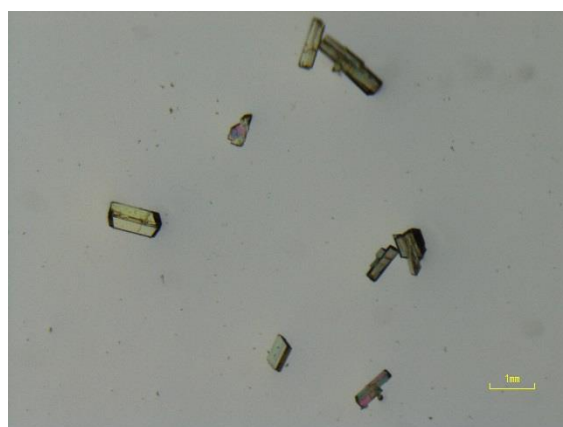
0 day (after)



1 day



3 day



7 day

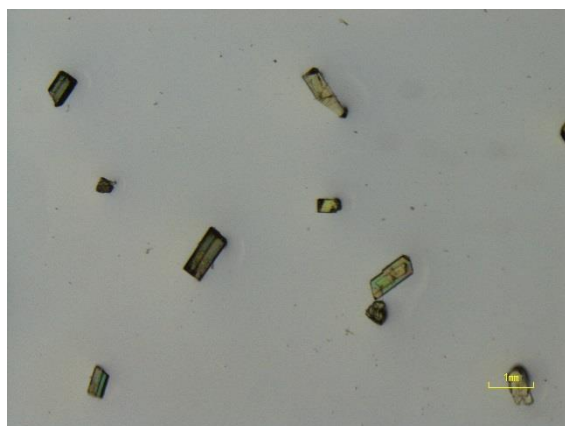
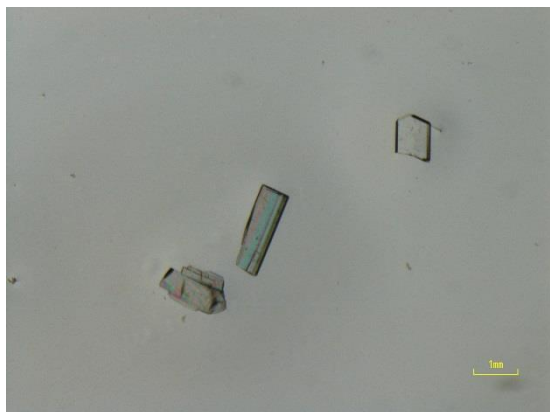
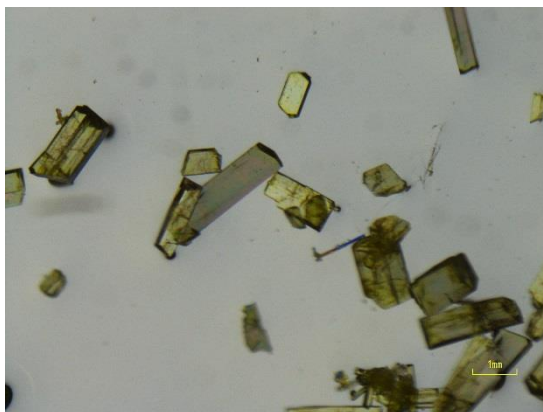


Fig. 28 *trans*-Stilbene (1) の CS 取り込み色の経時変化

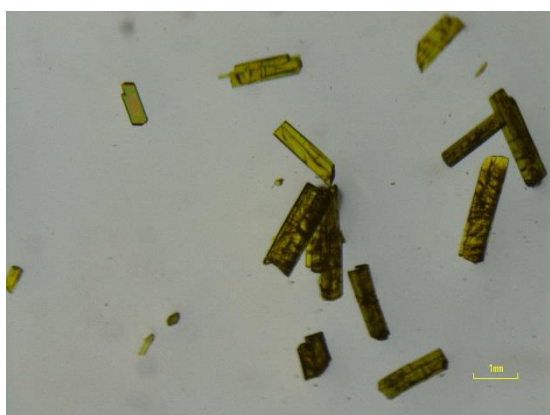
0 day (before)



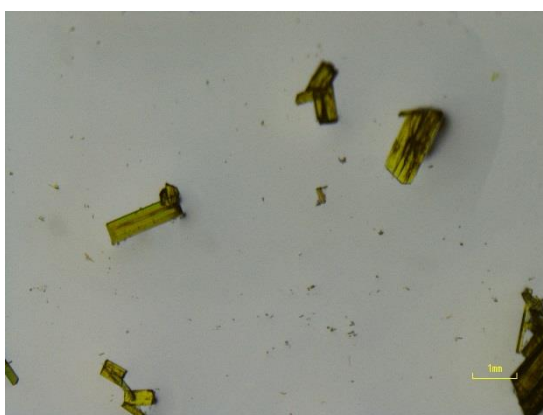
0 day (after)



1 day



3 day



7 day

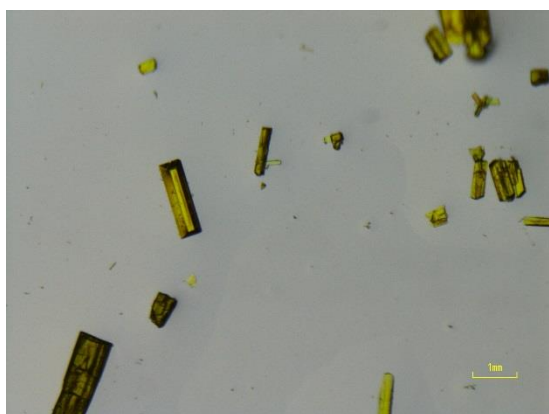
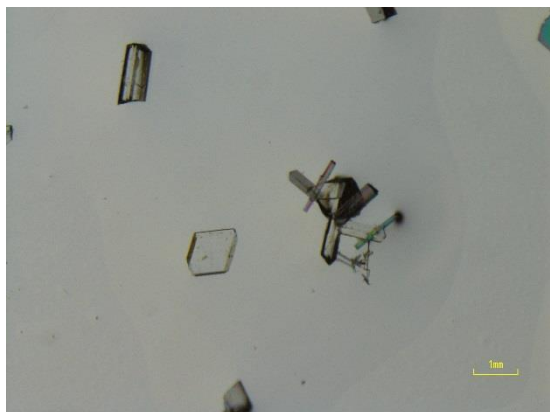
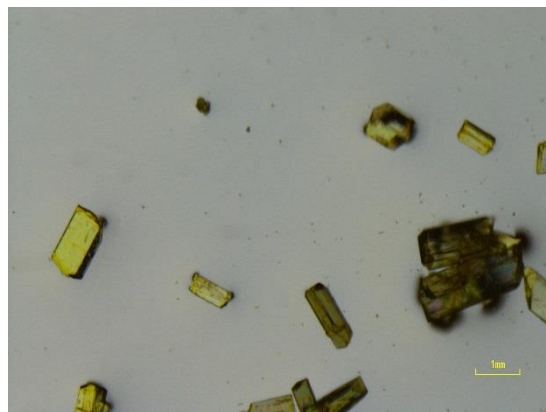


Fig. 29 (1*E*, 3*E*)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene (2) のCS 取り込み色の経時変化

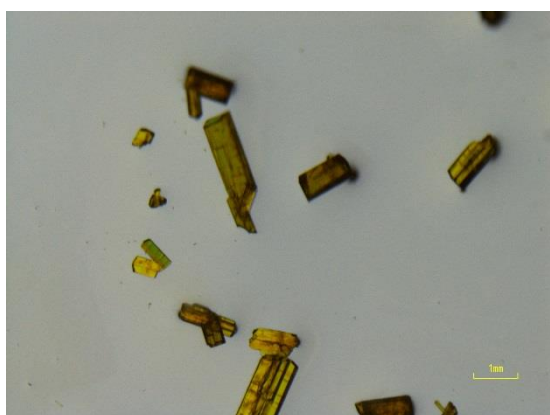
0 day (before)



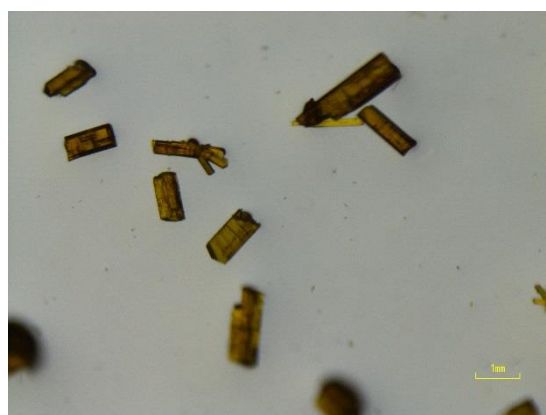
0 day (after)



1 day



3 day



7 day

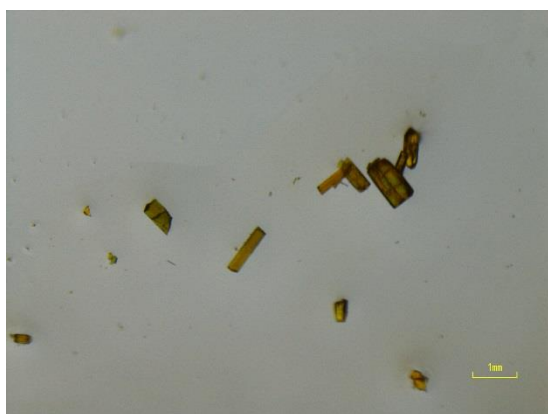


Fig. 30 1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene (3) の CS 取り込み色の経時変化

2-4. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル

ゲストを包接した CS の固体拡散反射吸収スペクトルを Fig. 31 に示す. また, 比較としてゲスト取り込み前の cyclohexane が包接された CS についてもあわせて示す.

すべての直鎖状 ene 化合物において, 300~500 nm 付近に吸収帯が観測された. これは cyclohexane 包接 CS ではみられない新しい吸収帯である. この結果から, すべての直鎖状 ene 化合物において, π - π 相互作用の存在が示唆された.

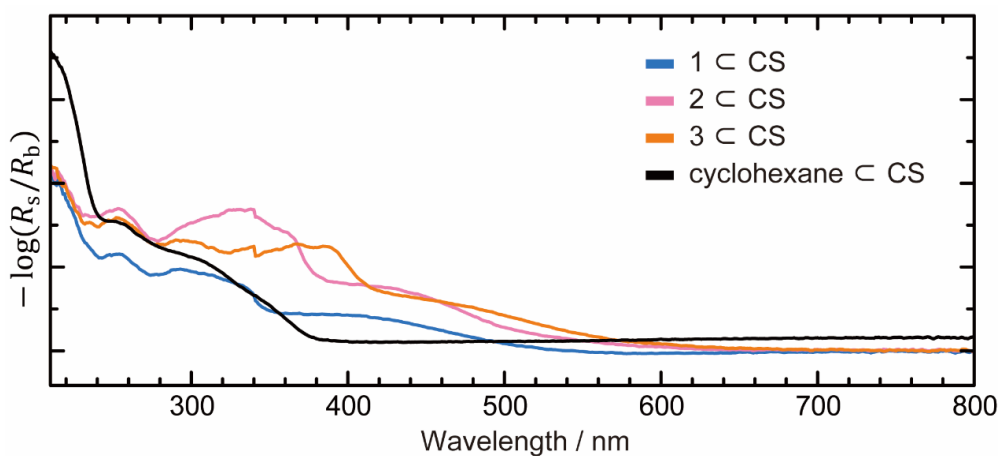


Fig. 31 ゲスト包接 CS の固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル, $[(\text{ZnCl}_2)_3(\text{TPT})_2 \cdot x(\text{G})]_n$

R_s を試料の反射強度, R_b を標準材料の反射強度とし, 縦軸は $-\log R_s/R_b$ とした.

2-5. 直鎖状 ene 化合物包接結晶スポンジの単結晶 X 線構造解析

取り込みを行った後、単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選び、回折測定および単結晶 X 線構造解析を行った。Table 2 に結晶学的パラメーターおよび解析精度を示す。その結果から、 $X \subset CS$ ($X = 1-3$) について、細孔内におけるゲストの存在を明らかにした。それぞれの構造解析結果の詳細について述べる。

1 \subset CS

細孔内に独立した *trans*-stilbene 分子が 4 種 (A-D) 決定された。存在確率 30% での異方性温度因子を Fig. 32~33 に示す。それぞれの占有率は A, B, C, D の順に、100%, 63%, 63%, 37% であった。つまり B と D は disorder していた。C に対しては cyclohexane 分子 I が disorder のため、同じ空間を占めており、その占有率は 37% であった。A, B, D に比べて C は温度因子が広がっている。ここで CS 内の *trans*-stilbene 分子は異性化するため、二重結合周りで回転した *cis* 体として観測された。この CS 内の stilbene 異性化反応は小原らが報告している¹⁴⁸。また Fig. 34 に示すように、B は CS 骨格に含まれる TPT の triazine 骨格上で π - π 相互作用の距離 (C7B-C35A, 3.373 Å, C9B-C34A, 3.373 Å, C10B-C45A, 3.398 Å) にあった。同様に C および D も π - π 相互作用の距離 (C14C-C10A, 3.355 Å, C2D-C11A, 3.374 Å, C5D-C21A, 3.372 Å) にあった。ただし、異性化分子が存在することで激しい disorder を示したため、一部溶媒分子は構造精密化できていない。

2 \subset CS

細孔内に独立した (1*E*, 3*E*)-1,4-diphenyl-1,3-butadiene 分子が 4 種 (A-D) 決定された (Fig. 35~36)。それぞれの占有率は A, B, C, D の順に、100%, 46%, 46%, 27% であった。B に対しては cyclohexane 分子 G および H が disorder のため、同じ空間を占めており、その占有率はどちらも 54% であった。また、D は対称心上に存在していた (Fig. 36)。そのうち Fig. 37 に示すように、B は CS 骨格に含まれる TPT の triazine 骨

格上で π - π 相互作用の距離 (C1B-C11A, 3.370 Å, C2B-C21A, 3.381 Å) にあった. 同様に D も π - π 相互作用の距離 (C12D-C17A, 3.303Å, C13D-C18A, 3.347 Å) にあった.

3cCS

細孔内に独立した 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene 分子が 4 種 (A-D) 決定された (Fig. 38). それぞれの占有率は A, B は 62%, C, D は 38% ずつであった. A と B に対して E が disorder のため, 同じ空間を占めていた. D は cyclohexane 分子 N が disorder のため, 同じ空間を占めており, その占有率は 54% であった (Fig. 39). そのうち Fig. 40 に示すように, D は CS 骨格に含まれる TPT の triazine 骨格上で π - π 相互作用の距離 (C18B-C95A, 3.362 Å) にあった.

Table 2 2 *trans*-Stilbene (1), (1*E*, 3*E*)-1,4-diphenyl-1,3-butadiene (2), 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene

(3)の結晶学的パラメーターおよび解析精度

Guest and CS	1cCS	2cCS	3cCS
Formula	C ₁₃₄ H ₄₈ I ₁₂ N ₂₄ Zn _{6.0}	C ₇₄ H ₆₄ I _{6.0} N _{12.0} Zn _{3.0}	C ₁₃₉ H ₁₄₁ I _{12.0} N _{24.0} Zn _{6.0}
Crystal system	<i>Triclinic</i>	<i>Monoclinic</i>	<i>Triclinic</i>
Space group	<i>P</i> $\bar{1}$	<i>C2/c</i>	<i>P</i> $\bar{1}$
<i>a</i> (Å)	14.8267(7)	33.102(2)	14.7981(11)
<i>b</i> (Å)	18.8829(9)	14.7825(7)	18.8869(19)
<i>c</i> (Å)	31.9248(15)	31.7437(16)	31.528(3)
β (°)	101.558(2)	90	101.407(6)
<i>V</i> (Å³)	90.598(2)	102.143(3)	91.114(5)
θ range (°)	2.664-69.766	4.144-69.672	3.218-69.750
<i>Z</i>	4	8	4
Density (g/cm³)	1.611	1.714	1.686
Temperature (K)	100	100	100
μ (mm⁻¹)	19.372	19.466	19.594
<i>F</i> (000)	3680	7996	3913
index ranges	-17 ≤ <i>h</i> ≤ 18	-41 ≤ <i>h</i> ≤ 39	-17 ≤ <i>h</i> ≤ 18
<i>h, k, l</i>	-22 ≤ <i>k</i> ≤ 22	-17 ≤ <i>k</i> ≤ 17	-22 ≤ <i>k</i> ≤ 22
	-37 ≤ <i>l</i> ≤ 38	-37 ≤ <i>l</i> ≤ 38	-38 ≤ <i>l</i> ≤ 38
Crystal size (mm³)	0.12×0.09×0.07	0.15×0.09×0.08	0.08×0.06×0.03
Total reflections	76865	80153	77725
Unique reflections	27618	14322	27265
<i>R</i>_{int}	0.0626	0.035	0.0512
Completeness	0.929	0.959	0.929
data	27618	14322	27265
restrains	900	726	1172
parameters	1844	1155	2049
GoF (%)	1.483	1.434	1.022
<i>R</i>₁/<i>wR</i>₂(<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>))	0.0784/0.2277	0.0477/0.1670	0.0805/0.1710
<i>R</i>₁/<i>wR</i>₂	0.1090/0.2452	0.0440/0.1624	0.0628/0.1596

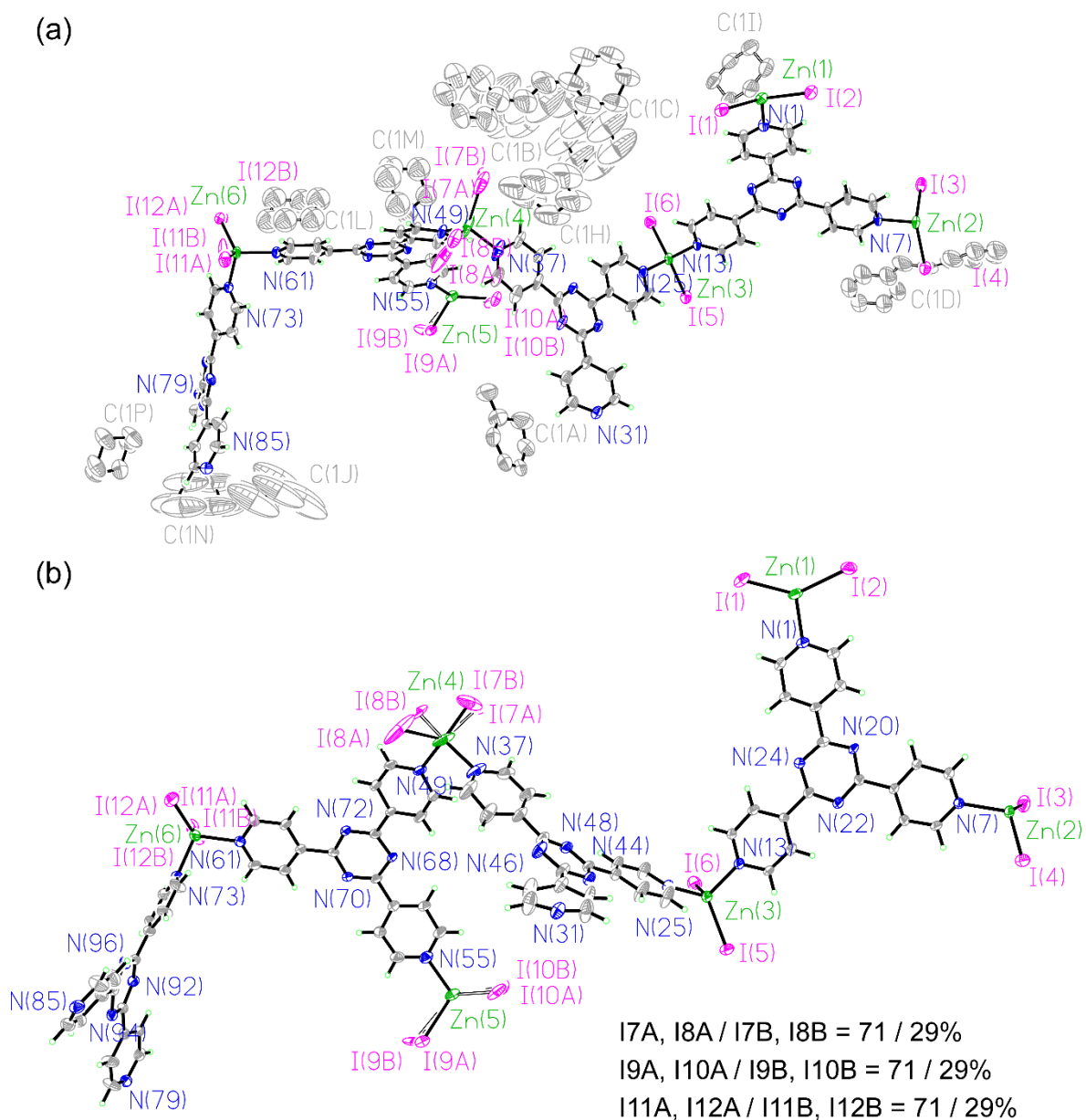
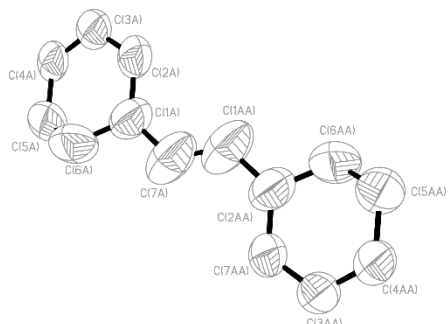


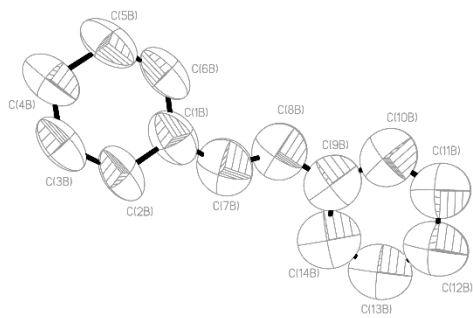
Fig. 32 *trans*-Stilbene (1) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

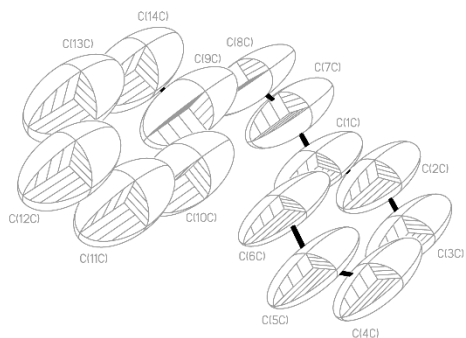
(c)



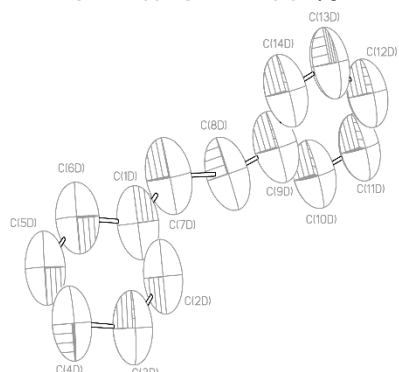
C1A to C7A 100 %



C1B to C14B 63 %

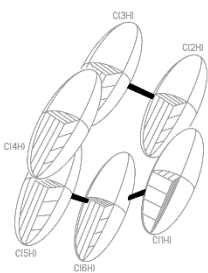


C1C to C14C 63 %

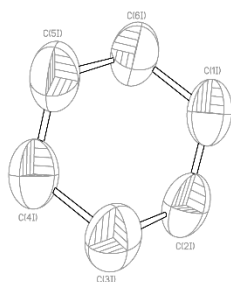


C1D to C14D 37 %

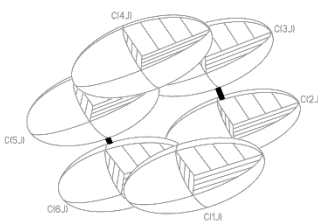
(d)



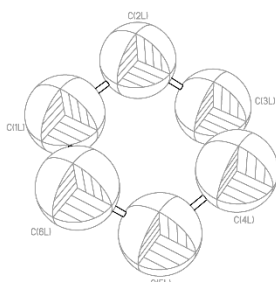
C1H to C6H 100 %



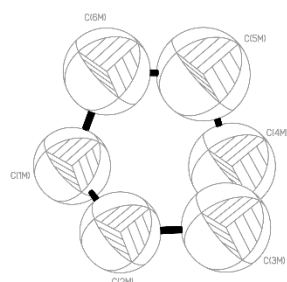
C1I to C6I 37 %



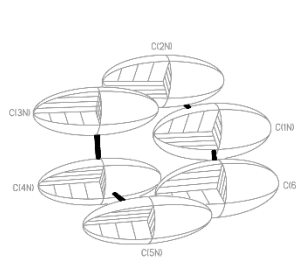
C1J to C6J 100 %



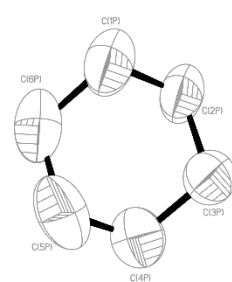
C1L to C6L 50 %



C1M to C6M 63 %



C1N to C6N 100 %



C1P to C6P 100 %

Fig. 33 *trans*-Stilbene (1) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(c) *trans*-Stilbene 分子 (A, B, C, D) (d) Cyclohexane (H, I, J, L, M, N, P)

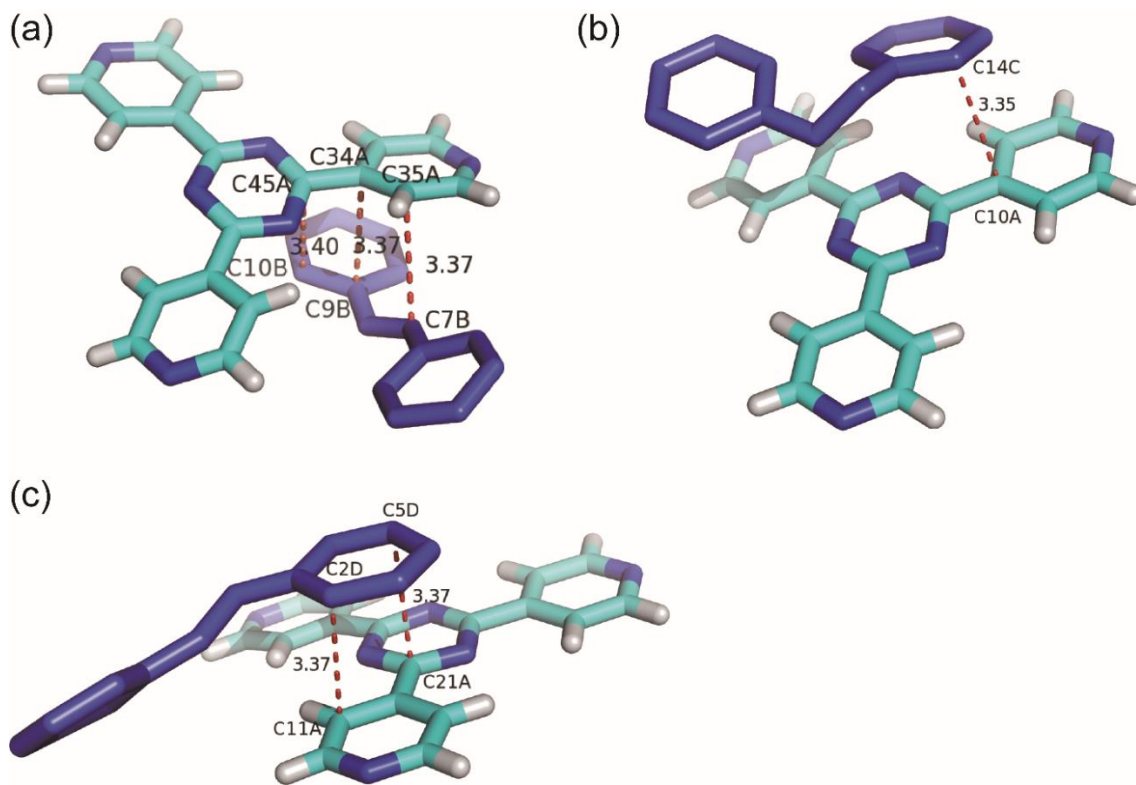


Fig. 34 *trans*-Stilbene (1) と CS 骨格間の π - π 相互作用, (a) 1B, (b) 1C, (c)1D

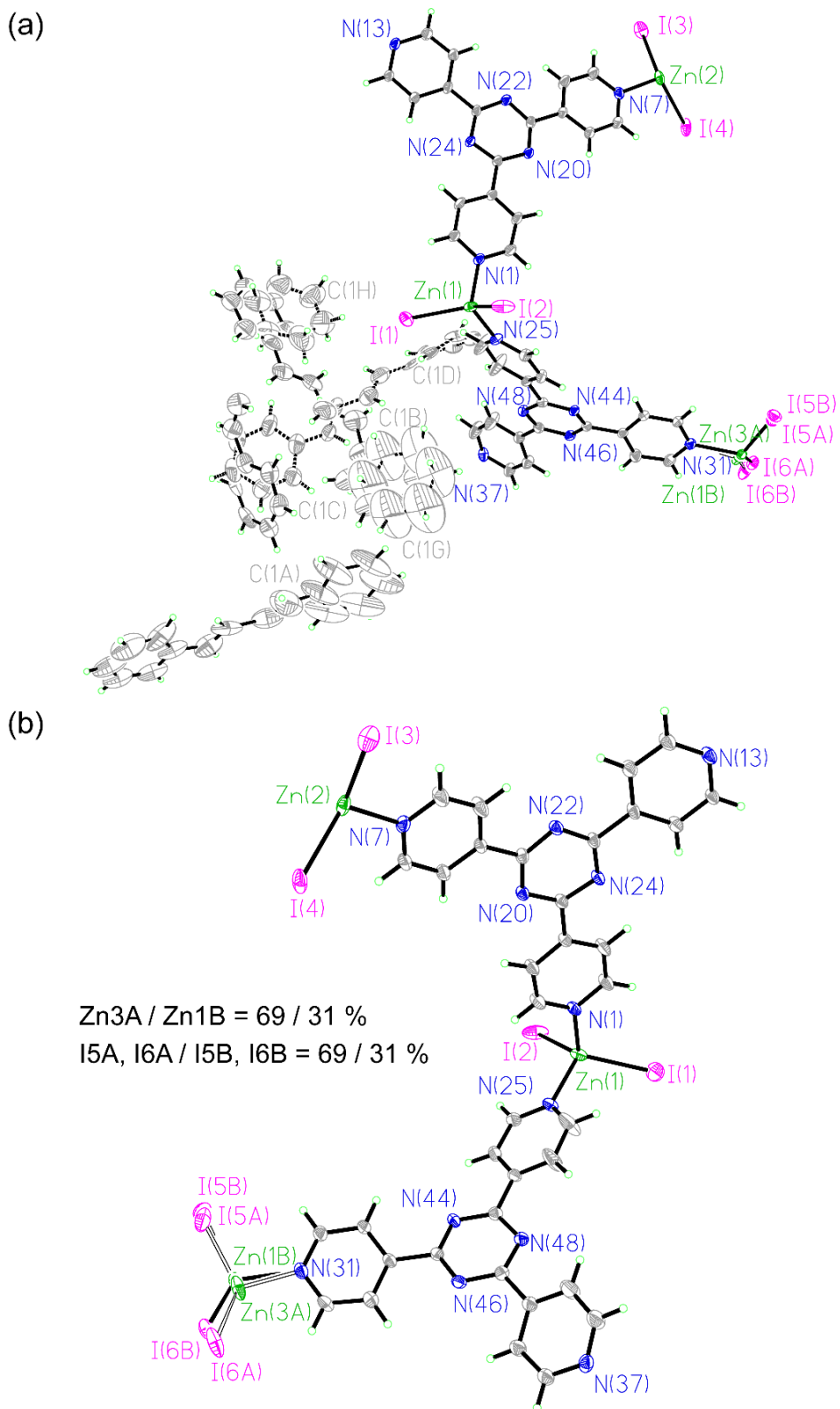
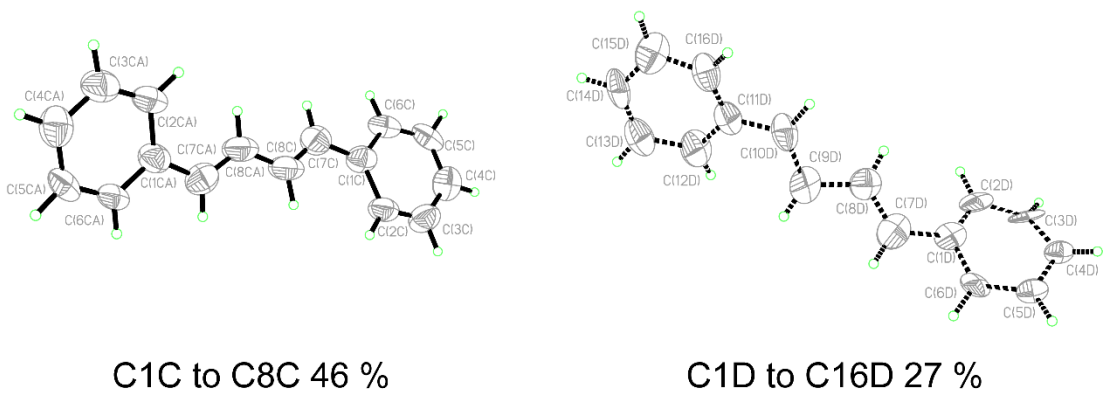
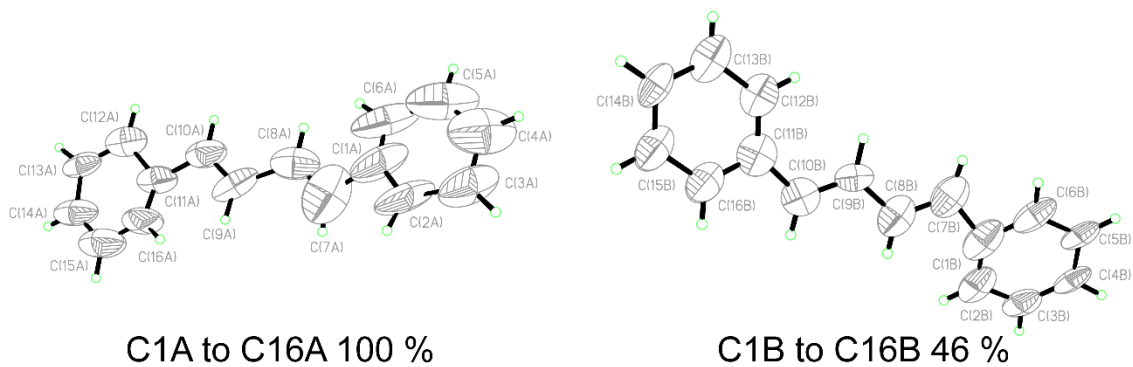


Fig. 35 (1*E*, 3*E*)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene (2) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

(c)



(d)

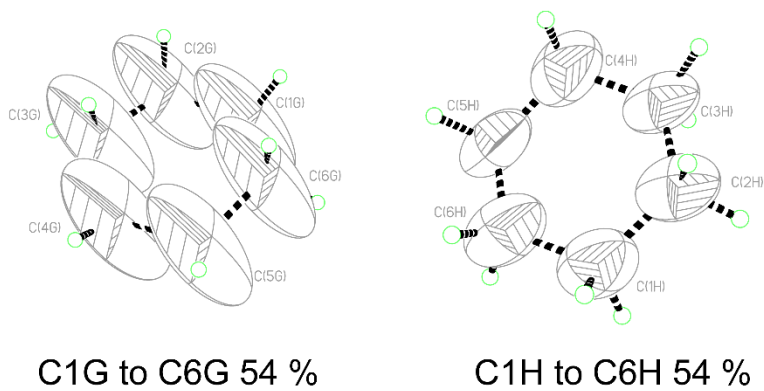


Fig. 36 (1*E*, 3*E*)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene (**2**) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(c) (1*E*, 3*E*)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene 分子 (A, B, C, D) (d) Cyclohexane (G, H)

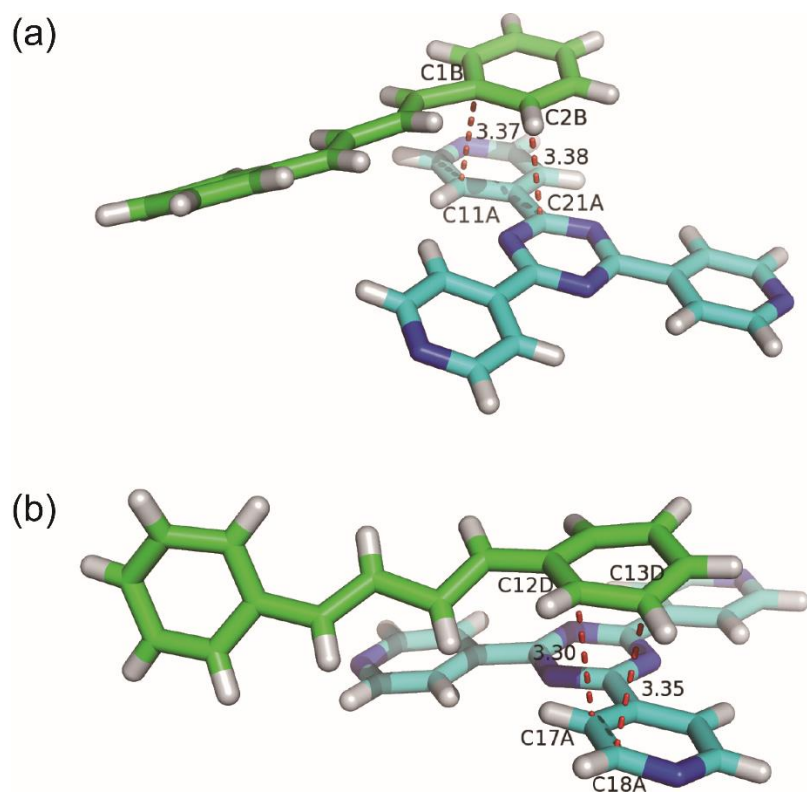


Fig. 37 (1*E*, 3*E*)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene (**2**) と CS 骨格間の π - π 相互作用, (a) B, (b) D

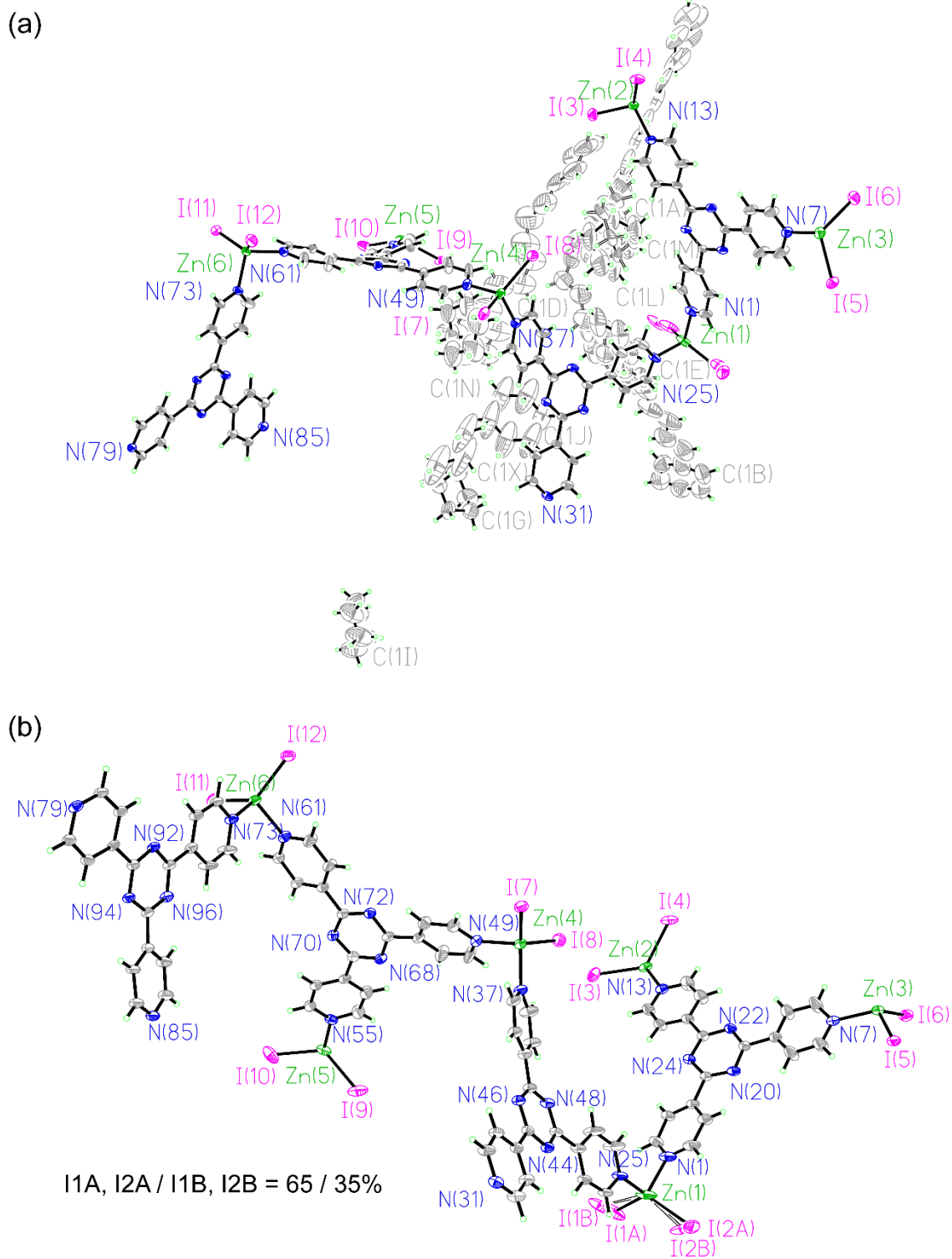


Fig. 38 1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene (**3**) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

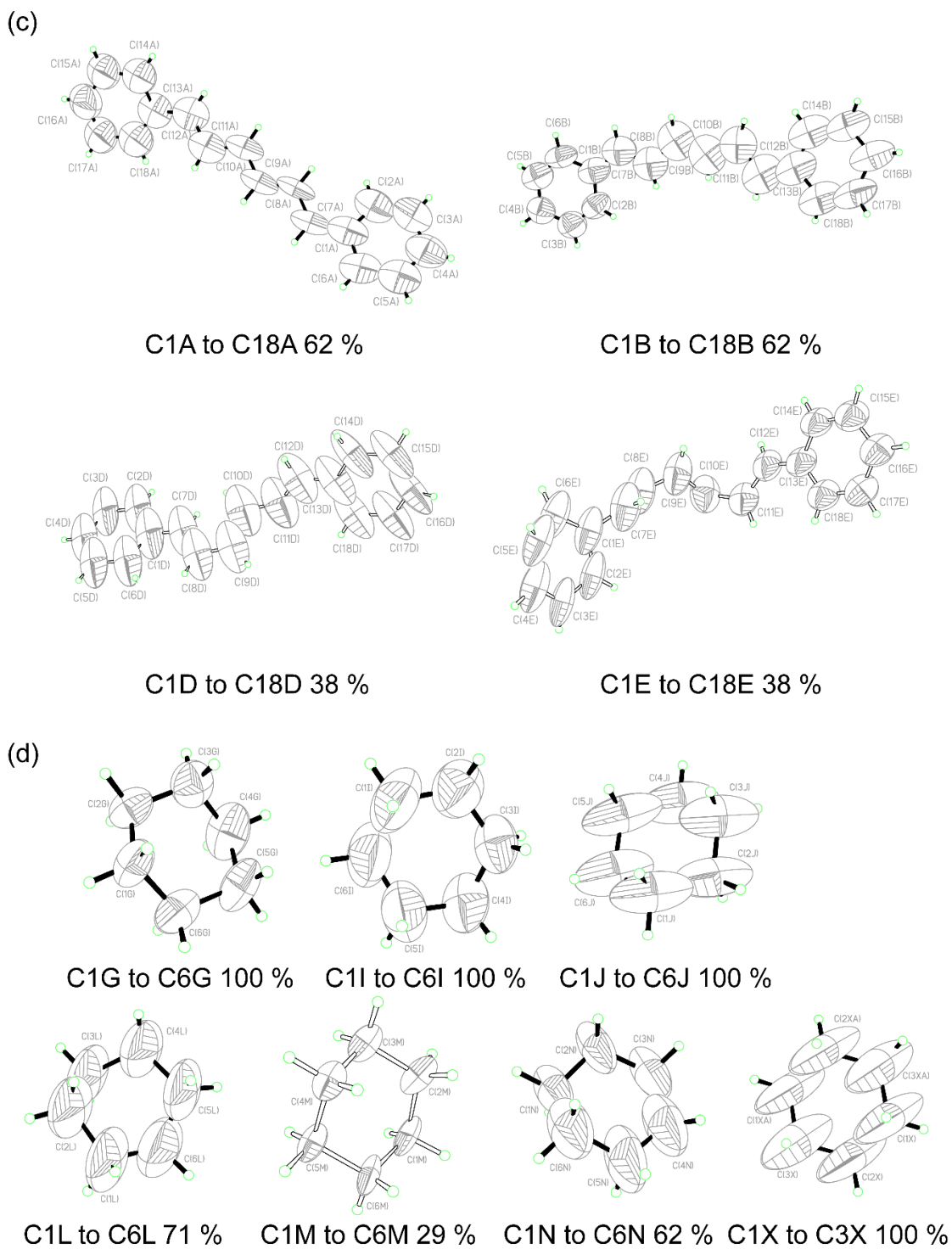


Fig. 39 1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene (**3**) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(c) 1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene 分子 (A, B, C, D) (d) Cyclohexane (G, I, J, L, M, N, X)

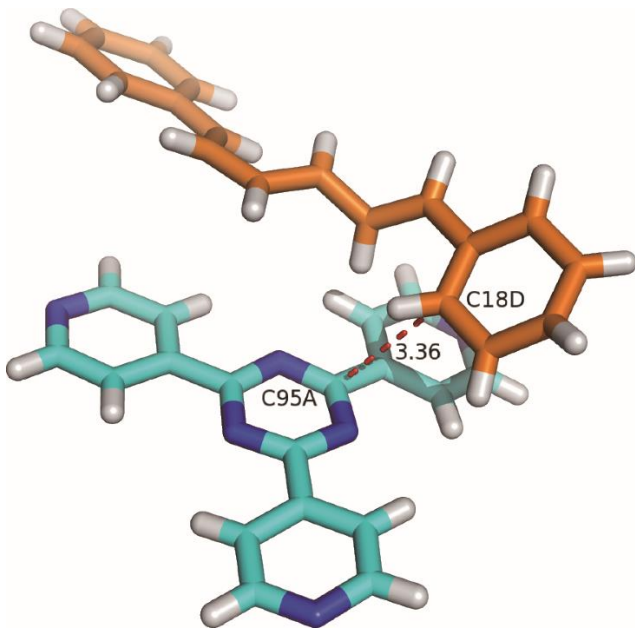


Fig. 40 1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene (**3**) と CS 骨格間の π - π 相互作用

2-6. 直鎖状 ene 化合物包接結晶スポンジの CS-LDI-MS

単結晶 X線解析後, 同一の結晶についてレーザー脱離イオン化による IMS を行った. 結晶の光学写真領域において CS 骨格に含まれる TPT のプロトン付加体 ($[TPT+H]^+$) が m/z 313 に, 金属との配位が保たれた $[TPT+ZnI]^+$ イオンが m/z 503 に共通して観測された. 以下, m/z 313 のイオンピーク強度の相対値として分析種イオンの IMS を調べた. また, 結晶存在下の MS スペクトルを平均化したスペクトルを 1 次元 MS スペクトル (以下 1D MS スペクトル) とした. また, 比較として従来の 2,5-dihydroxybenzoic acid (以下 DHB) マトリクスを用いた MALDI 法を各分析種に適用した. それぞれの MS の結果について詳細を述べる.

1cCS の光学写真, IMS の結果および 1D MS スペクトルを Fig. 41 (a)~(d) に示す. 一番大きいベースピークとして $[TPT+H]^+$ イオンピークが m/z 313.0 で観測された. また m/z 503 は $[TPT+ZnI]^+$ イオンが観測された. これらは CS 骨格がマトリクスとしてレーザーエネルギーを吸収しているためであると考えられた. また, *trans-stilbene* の分子イオンピークである m/z 180.1 のイオンピークも観測された.

2cCS では (1*E*, 3*E*)-1,4-diphenyl-1,3-butadiene の分子イオンピークである m/z 206.1 が観測された (Fig. 42). **3cCS** においても 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene の分子イオンピークである m/z 232.1 観測された (Fig. 43). また, **2cCS** および **3cCS** においても CS 骨格に由来するイオンピークが観測された.

一方, MALDI 法では各分子イオンに対応する m/z を破線で示している (Fig. 44, 左). *trans-stilbene* では分子イオンにおける m/z 180 ではなく 2H 脱離した m/z 178 にてイオンを確認した. これは光による閉環反応が起こっているためである¹⁴⁹ (Fig. 45). また, 各直鎖状 ene 化合物と DHB との物性の違いからターゲットプレートの円周状にホットスポットがある場合と, 全体にまばらにある場合とがあった. このように試料作製プロセスはホットスポットの分布に強く影響するが, CS 法では影響を受けていないことがわかった.

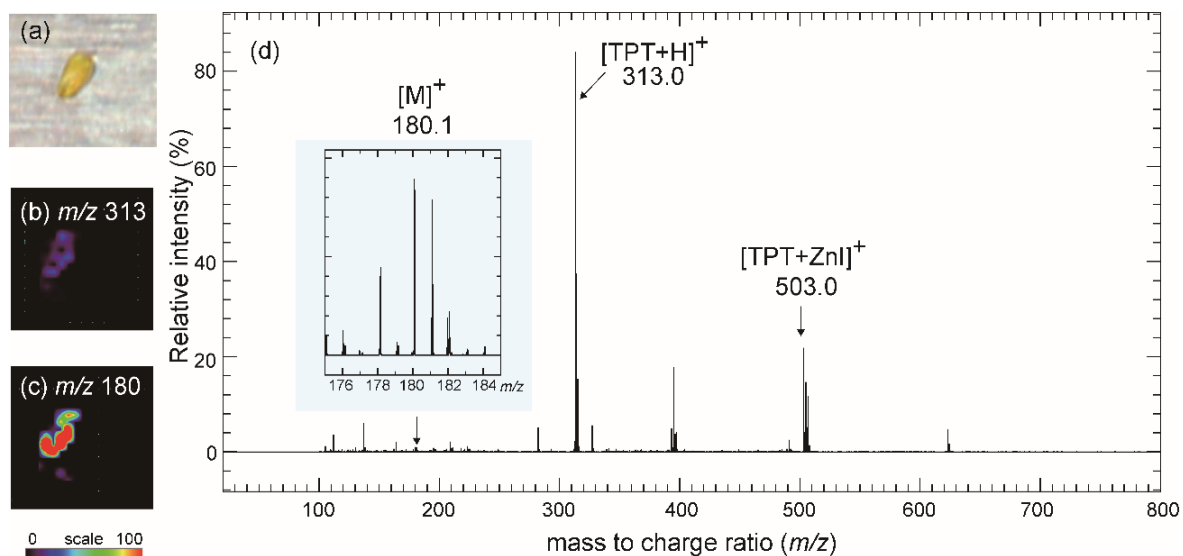


Fig. 41 *trans*-Stilbene (**1**) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT のプロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 180 の *trans*-stilbene のイオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

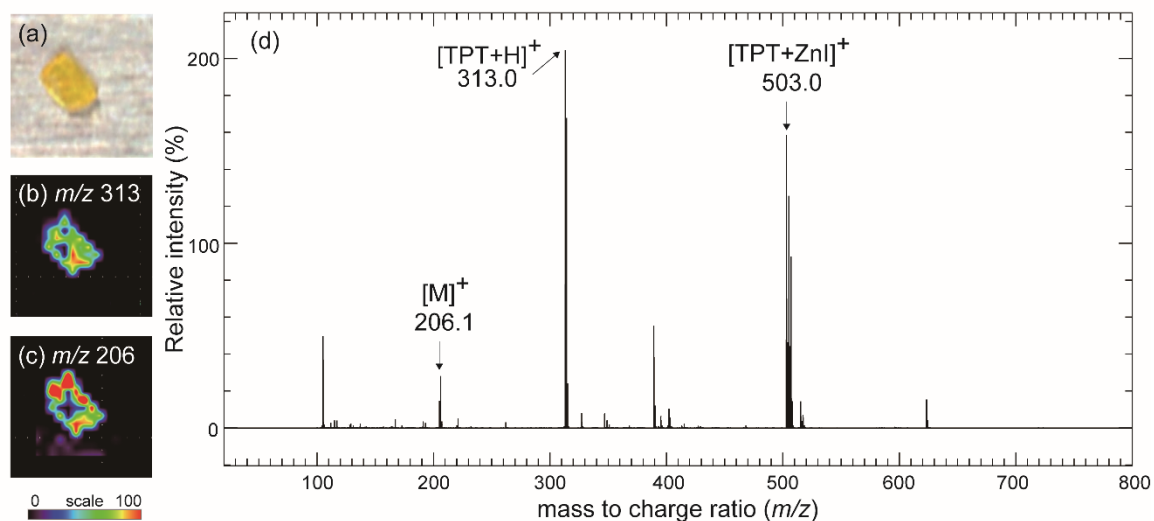


Fig. 42 (1*E*, 3*E*)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene (**2**) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT のプロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 206 の (1*E*, 3*E*)-1,4-diphenyl-1,3-butadiene のイオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

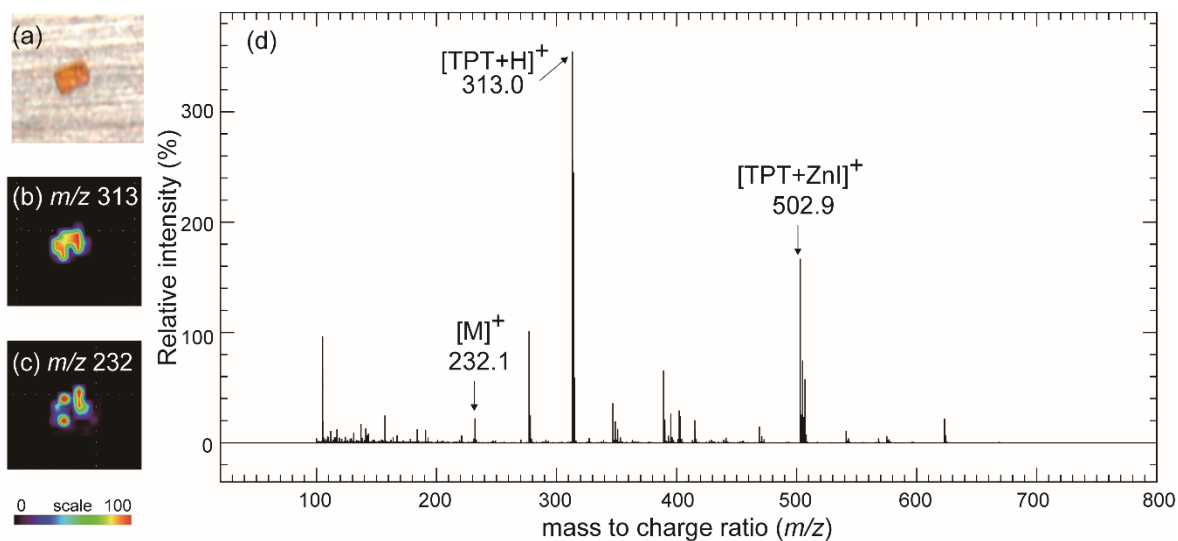


Fig. 43 1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene (3) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT のプロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 232 の 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene のイオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

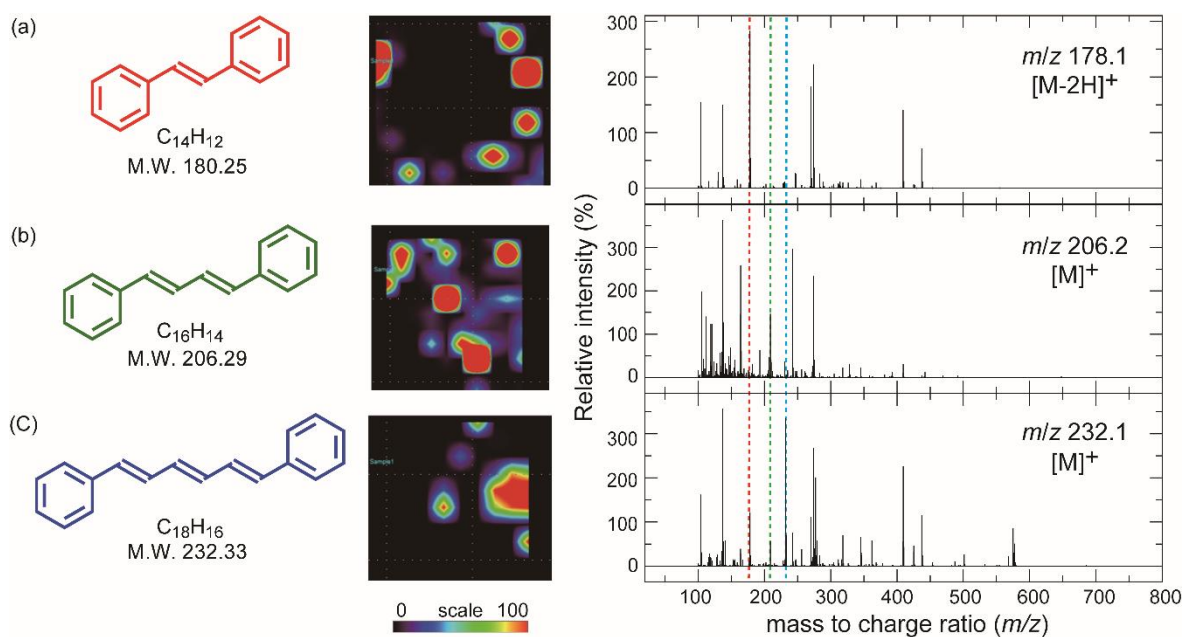


Fig. 44 DHB マトリクスを用いた従来の MALDI (a) *trans*-Stilbene の化学構造, m/z 178 の *trans*-stilbene のイオンピークイメージング, IMS に基づく平均 1D MS スペクトル (化学構造と破線の色は対応している), (b) (1*E*, 3*E*)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene, (c) 1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene

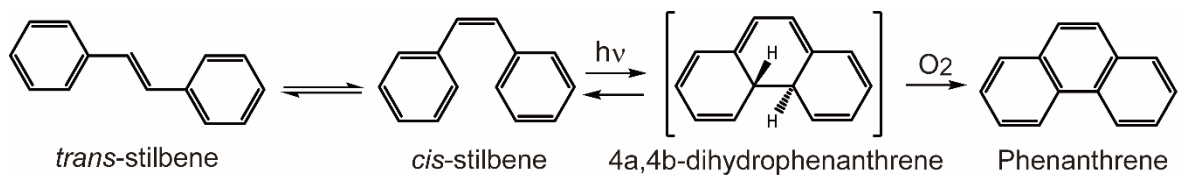


Fig. 45 Stilbene の閉環反応機構

2-7. 結晶スポンジ抽出ゲストの ^1H NMR

CSに取り込まれたゲスト量を決定するために、結晶集団（バルク）を用いた抽出実験により、CS骨格に含まれるTPTに対するゲスト比を求めた。それらのNMRスペクトルをFig. 46~48に示す。また、Table 3中にそれぞれのTPTに対する割合を示す。具体例として、Fig. 46の*trans*-stilbeneのNMRスペクトルでは、TPTのpyridyl基に由来する H_α と H_β が8.9および8.5 ppmにそれぞれ観測されていた。同時に、7.1 ppm付近に*trans*-stilbeneの二重結合に結合したHシグナルが観測された。これらのHの積分比を分子数の比へと直すと*trans*-stilbene/TPT = 1.1/1と求まる。他のゲストは(1*E*, 3*E*)-1,4-diphenyl-1,3-butadiene, 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatrieneの順に、TPT1分子に対して1.4, 0.9分子であった。

Table 3 CS抽出ゲストのguest/TPT比

CS	1<CS	2<CS	3<CS
NMR (guest/TPT ratio)	1.1	1.4	0.9

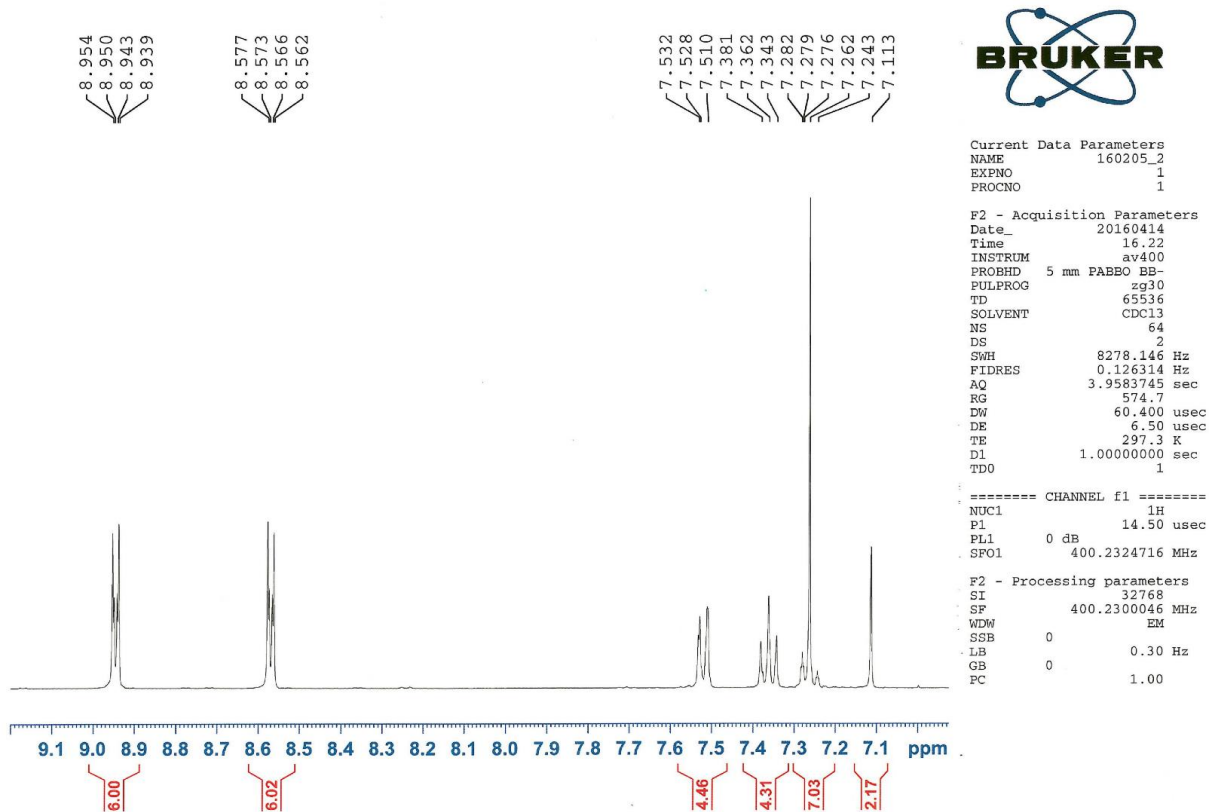


Fig. 46 抽出実験で得た *trans*-stilbene (1) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)

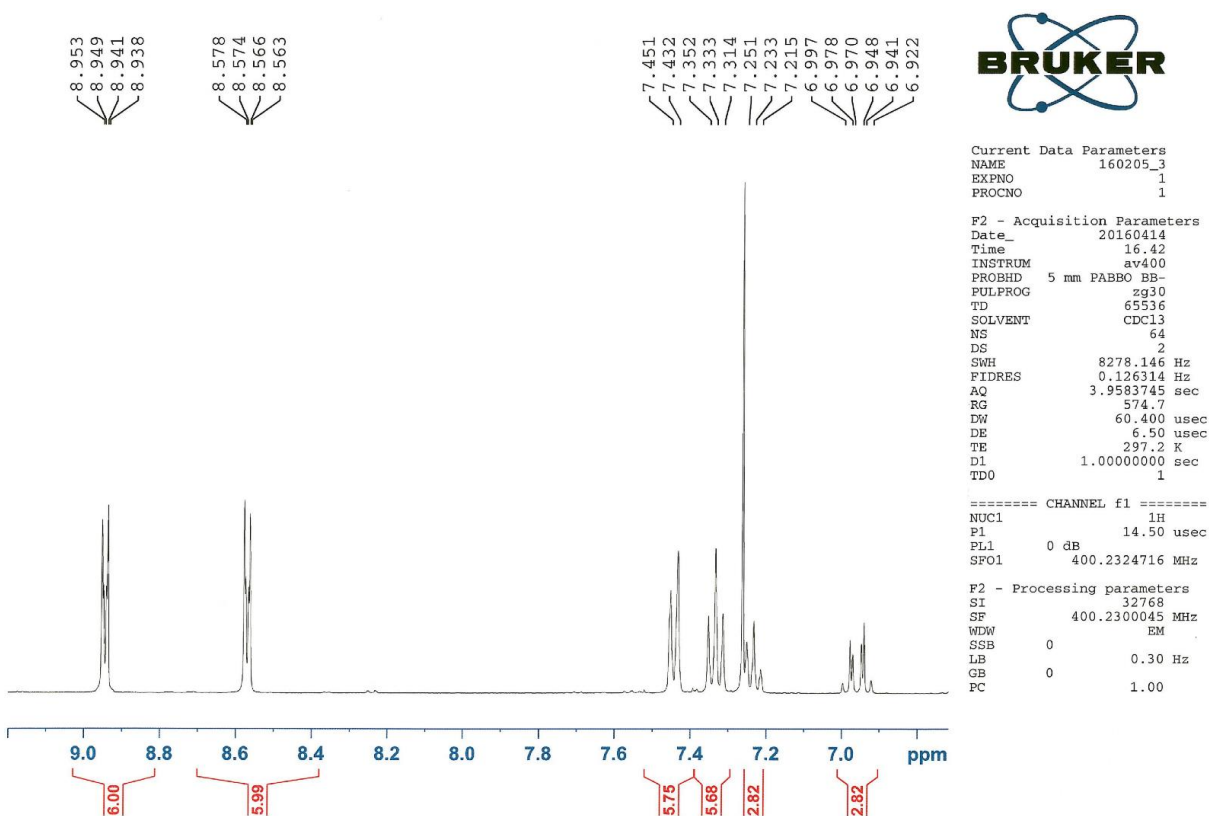
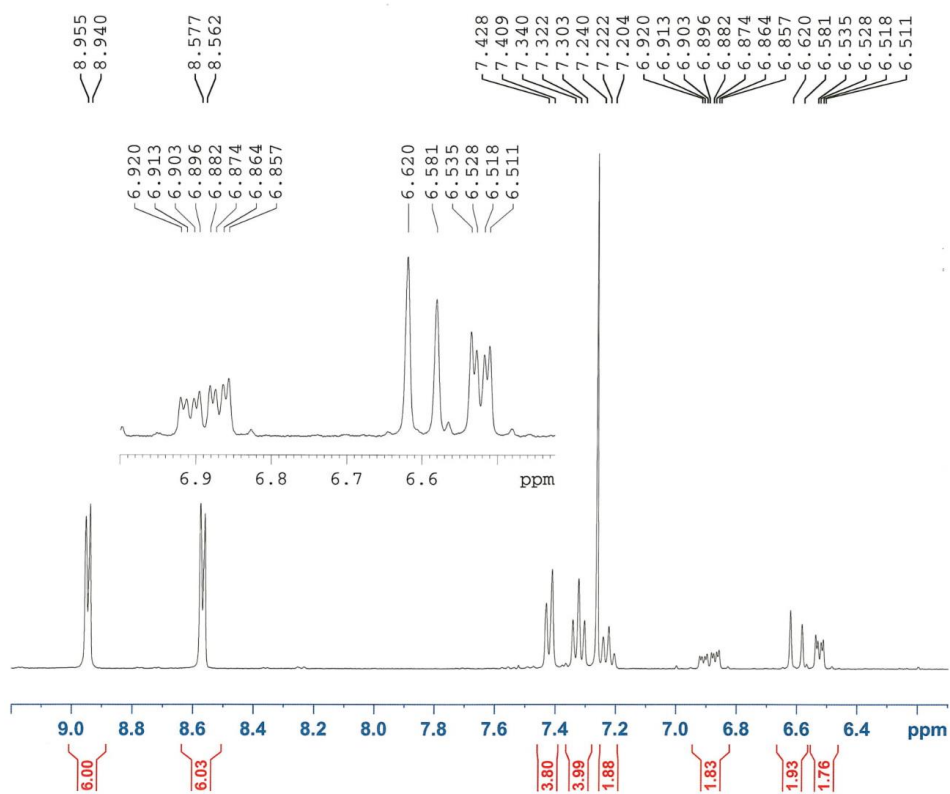


Fig. 47 抽出実験で得た (1*E*, 3*E*)-1,4-diphenyl-1,3-butadiene (2) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)



```

Current Data Parameters
NAME      160205_5_2
EXPNO    1
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20160415
Time     16.10
INSTRUM av400
PROBHD   5 mm PABBO BB-
PULPROG  zg30
TD        65536
SOLVENT  CDCl3
NS        64
DS        2
SWH       8278.146 Hz
FIDRES    0.126314 Hz
AQ        3.9583745 sec
RG        574.7
DW        60.400 usec
DE        6.50 usec
TE        297.3 K
D1        1.00000000 sec
TD0       1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1      1H
P1        14.00 usec
PL1       0 dB
SFO1      400.2324716 MHz

F2 - Processing parameters
SI        32768
SF        400.2300048 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        0.30 Hz
GB        0
PC        1.00

```

Fig. 48 抽出実験で得た 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene (3) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)

2-8. まとめ

末端に芳香環を有する異なる鎖長の直鎖状 ene 化合物の CS 内取り込みを行った。単結晶 X 線構造解析ならびに抽出物の $^1\text{H NMR}$ により、CS 内へ 8~13 Å 程度の長さの直鎖状 ene 化合物が取り込まれることが確かめられた。化合物 (1-3) のいずれの場合においても、CS 骨格に含まれる TPT の triazine 骨格と 3.4 Å 以下の距離にあったことから、 π - π 相互作用の関与が示唆された。この単結晶を用いた LDI-MS から分子イオンが得られたこと、また全結晶領域のみにイオンが観測されたことからホットスポットの探索の必要性がなくなったといえる。さらに、1DMS スペクトルから CS もイオン化していることがわかり、CS がマトリクスとしての機能を有していることがわかった。

第三章 単結晶 X 線構造解析と 質量分析の検出下限比較

3-1. はじめに

CS-LDI-MS 法は、単結晶 X 線構造解析法と質量分析法の二つの分析が単一結晶へ同時に適用できる方法である。特に単一結晶に含まれるゲストの量は数 μg 程度と微量である。そこで本章では単結晶 X 線構造解析と質量分析それぞれの検出限界を評価することを目的とした。単結晶 X 線構造解析ではナノ空間における分子構造が観測される。これは結晶中の平均構造である。ナノ空間において CS 内へ包接された分子の配向 A と配向 B がともに存在する場合、二つの重ね合わせとして観測される。これを **disorder** と呼ぶ。たとえば、50%ずつ配向 A と配向 B が存在する際の割合を占有率 (%) という。一般に目的ゲストの占有率が低くなると構造解析が困難となる (Fig. 49)。そこで、単結晶 X 線構造解析は電子密度に依存していることに着目し、重原子を導入することによって検出感度を上げることとした。重原子を持つ化合物を CS 内に取り込み、単結晶 X 線構造解析によるゲスト量の評価を行い、CS-LDI-MS 法によるイオンピーク強度との検出下限の比較を試みた (Fig. 50)。

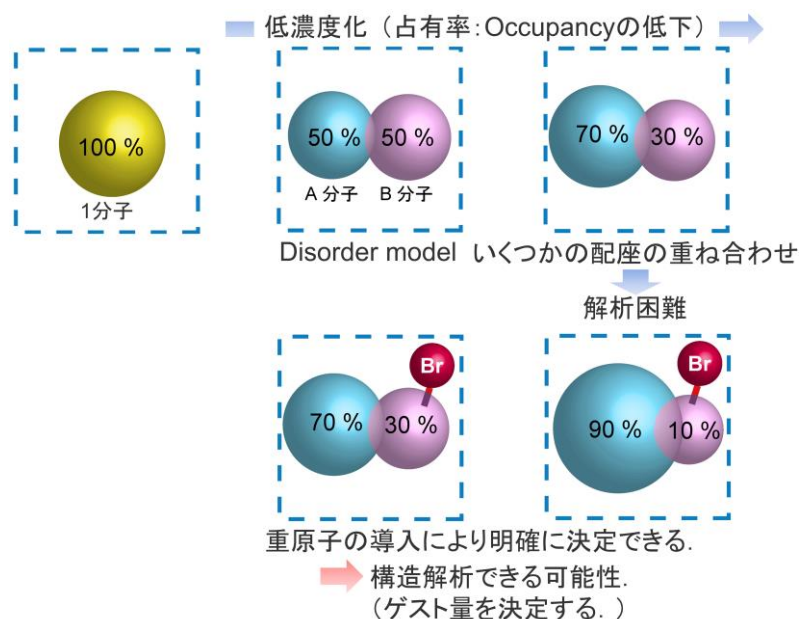
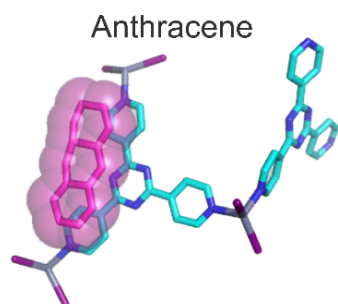


Fig. 49 単結晶 X 線構造解析における disorder と解決策

既知取り込み化合物



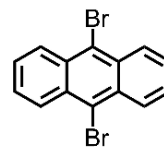
O. Ohmori et. al.,
J. Am. Chem. Soc., 2004, **126**, 16292-93.

X-ray: 結晶内ゲスト量

⇕ 単一結晶で
分析可能

MS: イオンピーク

9,10-BrAN



2つの分析手法でどれくらいの量を，検出
できるか比較する

Fig. 50 9,10-Dibromoanthracene の CS 内取り込みと複合構造解析

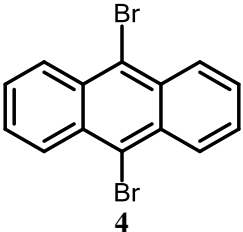
3-2. 9,10-Dibromoanthracene の結晶スポンジ取り込み

CS 内には既に anthracene が取り込まれることが報告されている¹³⁵. ゲスト分子として anthracene に Br を二分子導入した 9,10-dibromoanthracene (9,10-BrAN)を選定した (Table 4).

9,10-BrAN (4) の結晶スポンジへの取り込み

9,10-BrAN (2.73 μmol) 0.92 mg に cyclohexane 1.0 mL を加え, 2.7×10^{-3} M 9,10-BrAN cyclohexane 溶液を調製した. CS (X = Cl) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, 2.7×10^{-3} M 9,10-BrAN 溶液を加えた. 7 日間静置して 9,10-BrAN の取り込みを行った. 同様に, 2.7×10^{-6} M および 2.7×10^{-9} M へ希釈した 9,10-BrAN cyclohexane 溶液の取り込みを行った. 濃度の異なる三種類の 9,10-BrAN の cyclohexane 溶液 1 mL を加えて 7 日間静置させた.

Table 4 取り込みゲストの構造式, 分子量, および常温常圧下における状態

ゲスト名	構造式	組成式	分子量 [g/mol]	性状
9,10-Dibromoanthracene		$\text{C}_{14}\text{H}_8\text{Br}_2$	336.03	固体 m.p. 225-226°C ¹⁵⁰

3-3. 9,10-Dibromoanthracene 包接結晶スポンジの色の経時変化

細孔内に cyclohexane を包接した CS は光学的に無色透明に近い。ゲスト溶液に CS を浸漬させた際の結晶色変化を追った (Fig. 51)。ゲスト溶液に CS を浸した直後を 0 day とし、比較として 7 日目 (7 day) の写真を示す。2.7×10⁻³ M 9,10-BrAN は取り込み開始時から結晶の色は淡黄色へと変化する。時間経過とともに淡黄色が定性的に濃くなる。一方、2.7×10⁻⁶ M および 2.7×10⁻⁹ M では取り込み直後から 7 日後まで無色透明のままであった。すべての場合において、結晶性が保たれているものもあり、単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選ぶことが可能であった。

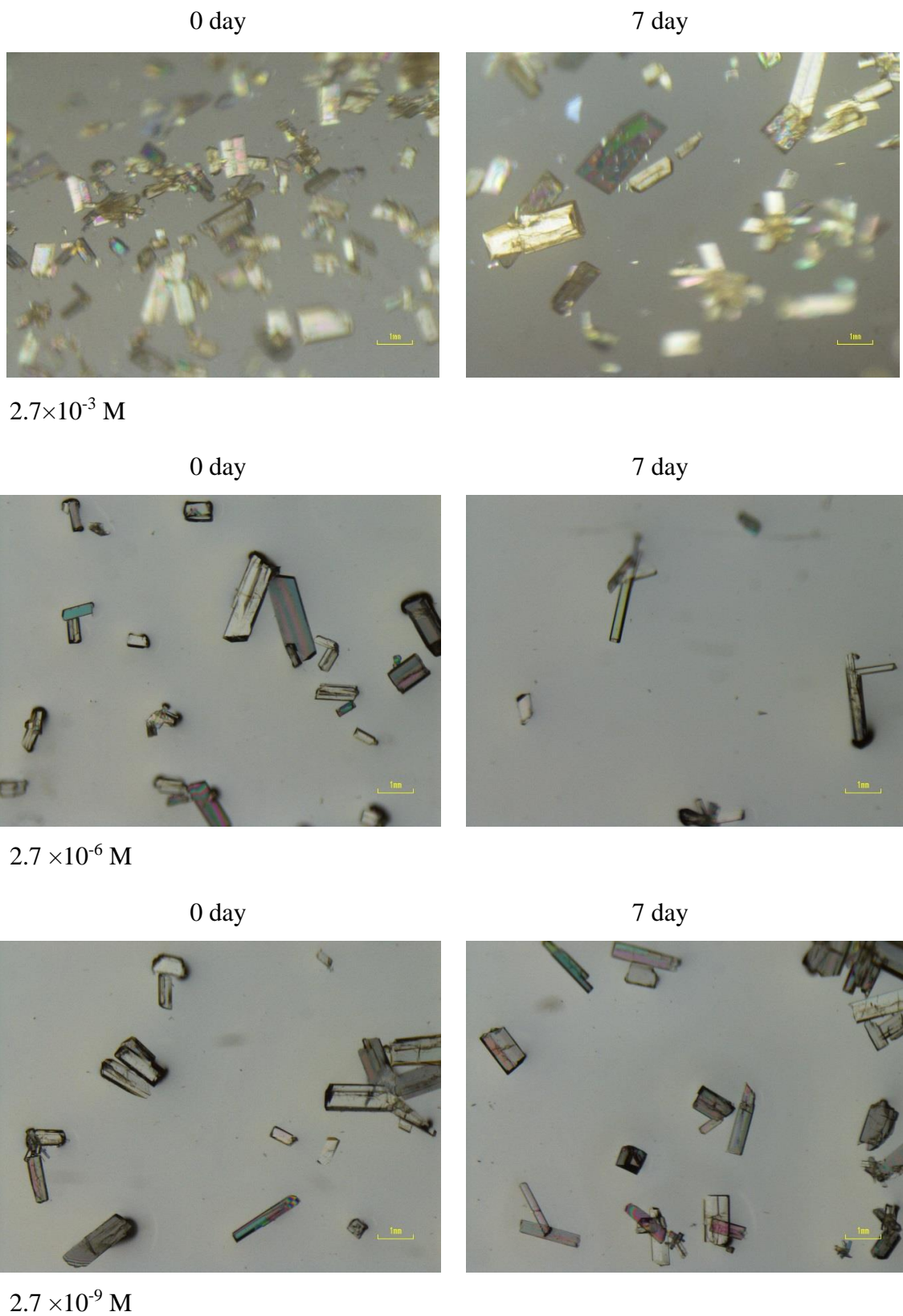


Fig. 51 9,10-BrAN ($2.7 \times 10^{-3} \text{ M}$, $2.7 \times 10^{-6} \text{ M}$, $2.7 \times 10^{-9} \text{ M}$) のCS 取り込み色の経時変化

3-4. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル

ゲストを包接した CS の固体拡散反射吸収スペクトルを Fig. 52 に示す. また, 比較としてゲスト取り込み前の cyclohexane が包接された CS についてもあわせて示す.

2.7×10^{-6} M および 2.7×10^{-9} M 9,10-BrAN を用いた CS では 370 nm から短波長側へかけて緩やかに吸収が存在する. この吸収帯は cyclohexane を包接した CS でも同様にみられることから, 2.7×10^{-6} M および 2.7×10^{-9} M 9,10-BrAN はナノ細孔内で骨格と静電的相互作用がないと考えられる. 一方, 2.7×10^{-3} M では 340~500 nm 付近に吸収が観測された. これは CS との π - π 相互作用を有しているためと考えられる.

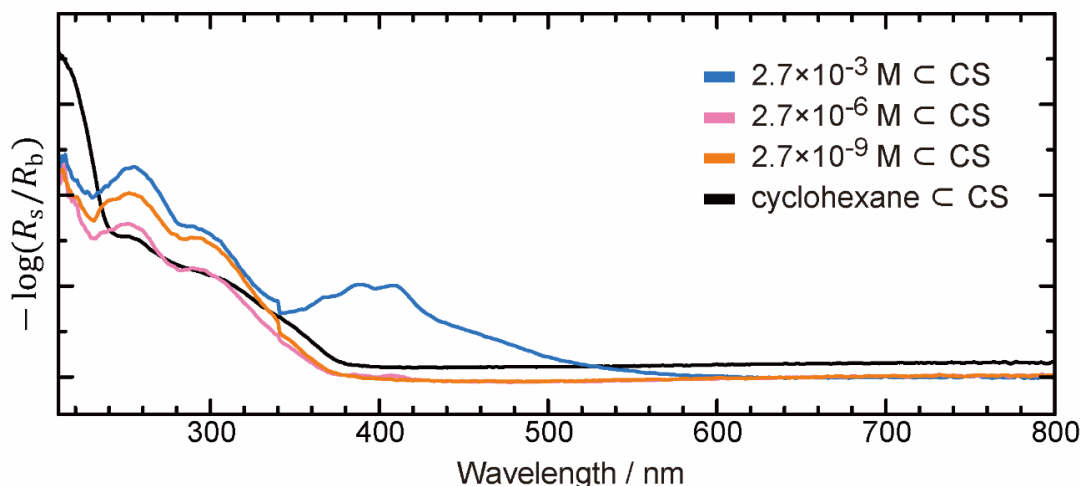


Fig. 52 ゲスト包接 CS の固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル, $[(ZnCl_2)_3(TPT)_2 \cdot x(G)]_n$

R_s を試料の反射強度, R_b を標準材料の反射強度とし, 縦軸は $-\log R_s/R_b$ とした.

3-5. 9,10-Dibromoanthracene 包接結晶スポンジの単結晶 X 線構造解析

取り込みを行った後、単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選び、回折測定および単結晶 X 線構造解析を行った。その結果から、すべての場合について、細孔内におけるゲストの精度の高い構造解析結果は得られなかった。それぞれの構造解析結果の詳細を述べる。

濃度 2.7×10^{-3} M 溶液取り込みの場合、細孔内に重原子 Br に由来するとみられる電子密度ピークが 4 つ観測された。それらを、anthracene 骨格を互いに disorder 状態としてモデル化した (Fig. 53)。しかしながら、さらに別の領域にある大きな 2 つの電子密度ピークが存在したので、Br 原子を帰属して構造解析を続けたが、モデル構造を安定に精密化できなかった。

濃度 2.7×10^{-6} M 溶液取り込みの場合、その電子密度にやや大きなピークがあった。これを重原子 Br として帰属し、構造解析を行ったが、モデル構造を安定に精密化できなかったため図として示すことができない。

濃度 2.7×10^{-9} M 取り込みの場合、cyclohexane モデルを当てはめて構造解析を行った。細孔内に重原子 Br に由来すると考えられる電子密度は見当たらなかった (Fig. 54)。

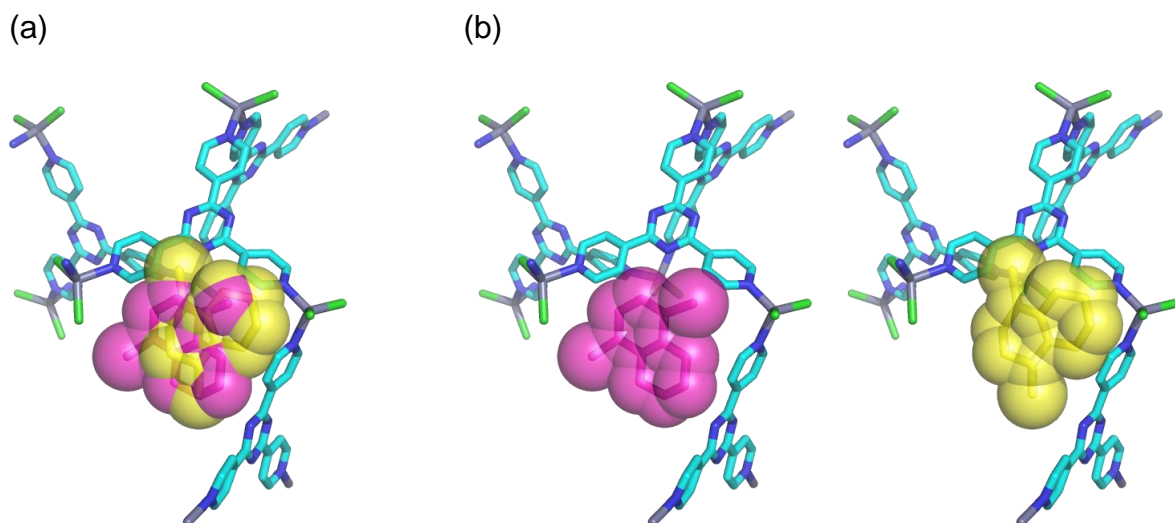


Fig. 53 濃度 2.7×10^{-3} M 溶液から得た CS の構造解析結果, (a) Disorder モデルの重ねあわせ図, (b) それぞれに分けたモデル, ただし, 一方の芳香環はモデル化できていない

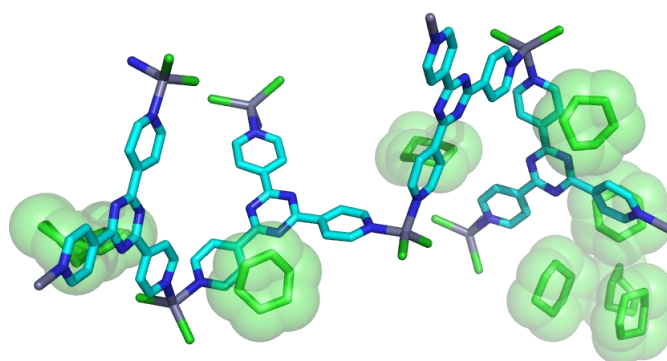


Fig. 54 濃度 2.7×10^{-9} M 溶液から得た CS の構造解析結果, cyclohexane のみモデル化できた

3-6. 9,10-Dibromoanthracene 包接結晶スポンジの CS-LDI-MS

単結晶 X 線構造解析後，同一の結晶を用いて IMS を行った (Fig. 55)．同位体パターンに着目したところ， m/z 270 は，二つの臭素を含むイオンであることからイオン化過程において一部の脱離反応を経た分析種由来ピークであると考えられた．このイオンに着目して検出下限を評価した．CS 骨格分子 TPT のプロトン付加体 ($[TPT+H]^+$) のイオンピーク強度に対する相対強度として， m/z 270 イオンピーク強度を調べたところ，濃度 2.7×10^{-6} M 溶液より低い条件ではほとんど観測されないことがわかった．一方，単結晶 X 線構造解析の結果から，濃度 2.7×10^{-6} M 溶液の条件で結晶中に分析種の重原子 Br 由来の電子密度がわずかながら観測されている．一般に質量分析法は検出限界が fmol オーダーであるので， 2.7×10^{-6} M の数 μ L の試料からもイオン検出が可能であると考えられる．以上のことから，CS-LDI-MS 法において，結晶内に分析種が密に充填されることがイオンを効率よく生成するために必要な条件であることがわかった．そのため，CS-LDI-MS 法では，単結晶 X 線構造解析と質量分析のどちらか一方から優先的に分析できるわけではないといえる．

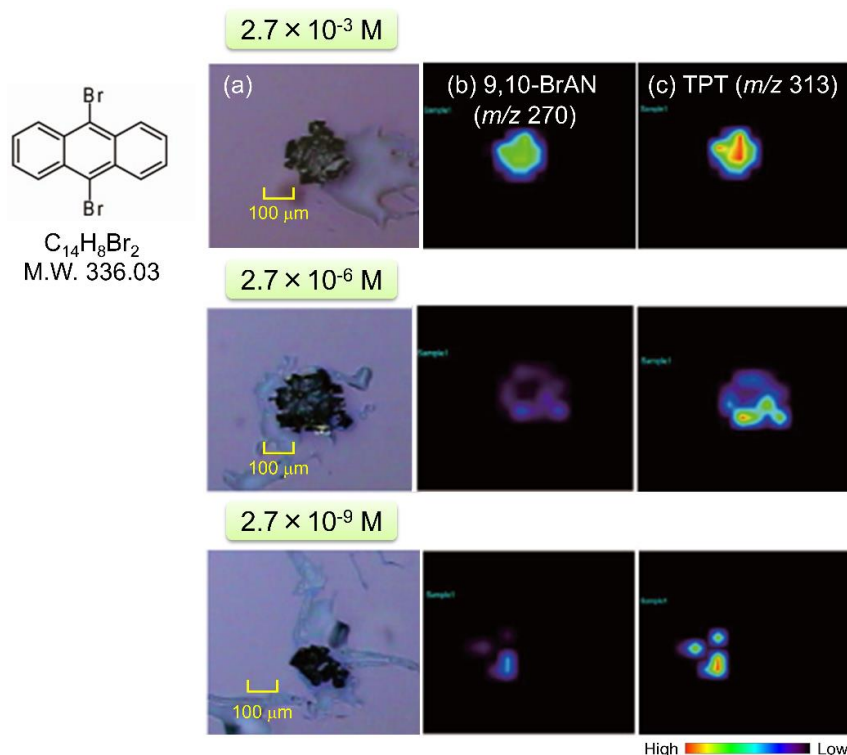


Fig. 55 9,10-BrAN (2.7×10^{-3} M, 2.7×10^{-6} M, 2.7×10^{-9} M) 包接 CS の CS-LDI-MS

3-7. 結晶スポンジ抽出ゲストの ^1H NMR

CS に取り込まれたゲスト量を決定するために、結晶集団（バルク）を用いた抽出実験により、骨格中に含まれる TPT に対するゲスト比を求めた。それらの NMR スペクトルを Fig. 56 に示す。また、Table 5 中にそれぞれの TPT に対する割合を示す。9,10-BrAN の NMR スペクトルでは、TPT の pyridyl 基に由来する H_α と H_β が 8.9, 8.5 ppm にそれぞれ観測されており、同時に、7.6 ppm 付近に 9,10-BrAN の H シグナルが観測されている。これらの H の積分比を分子数の比へと直すと、9,10-BrAN/TPT = 0.8/1 と求まる。2.7 $\times 10^{-6}$ M 以下では検出できなかった。

Table 5 CS抽出ゲストのguest/TPT比

CS	2.7 $\times 10^{-3}$ M \subset CS	2.7 $\times 10^{-6}$ M \subset CS	2.7 $\times 10^{-9}$ M \subset CS
NMR (guest/TPT ratio)	0.8	—	—

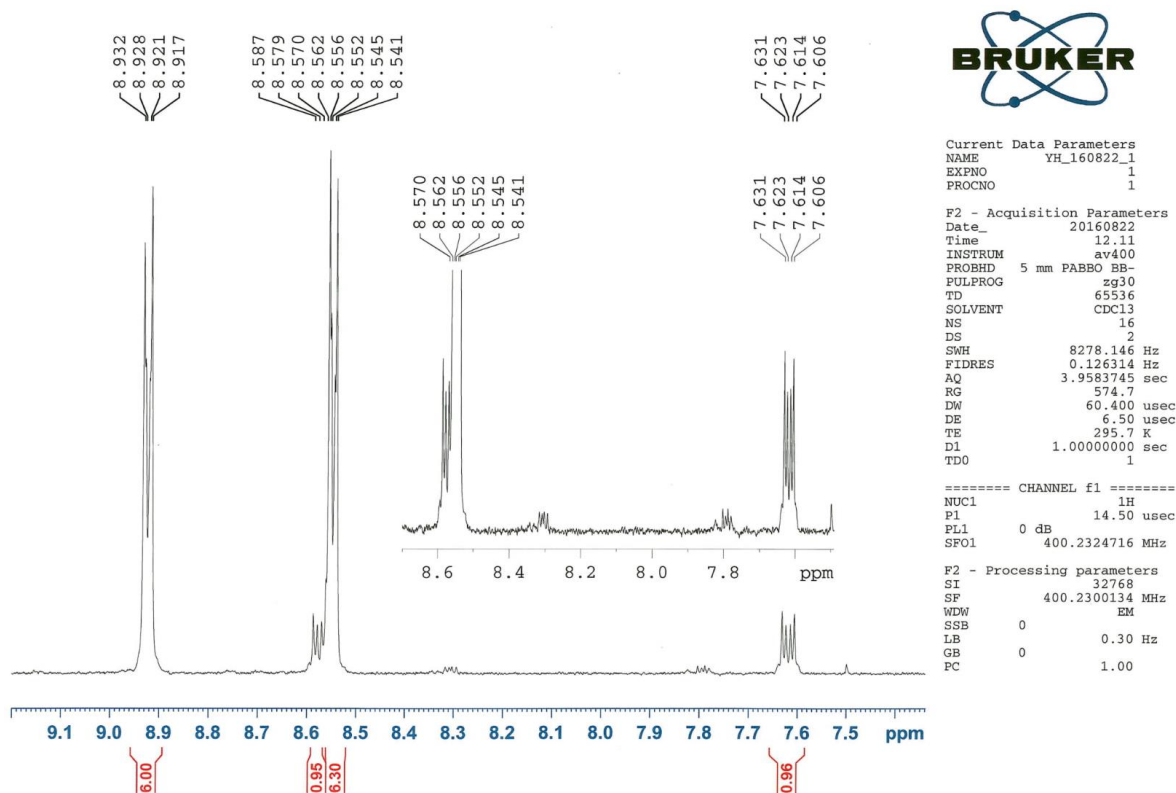


Fig. 56 抽出実験で得た 9,10-BrAN 2.7 $\times 10^{-3}$ M ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)

3-8. まとめ

CS 内へ濃度の異なる 9,10-BrAN を取り込ませ、単結晶 X 線構造解析を行った。取り込み量は結晶抽出物の ^1H NMR を用いて TPT 比にて算出すると、濃度 2.7×10^{-3} M 条件においては 0.8 となった。濃度 2.7×10^{-6} M および 2.7×10^{-9} M 条件では検出できなかった。高濃度 2.7×10^{-3} M 条件では、重原子 Br に基づく電子密度が確認され、三分子 anthracene 骨格を含む構造モデルを当てはめたが、disorder により構造精密化はできなかった。濃度 2.7×10^{-6} M 条件では、わずかに重原子 Br の電子密度が観測されたが、構造モデルを当てはめることはできなかった。濃度 2.7×10^{-9} M 条件では、溶媒のみ観測された。また、IMS による分子イオン検出を試みたところ、 m/z 270 に脱離反応を経た分析種が観測された。同時に、CS 骨格分子 TPT のプロトン付加体のイオンピークも観測された。このイオンピーク強度に対する分析種の相対強度を調べたところ、 2.7×10^{-6} M 以下では、ほとんど観測されなかった。以上から CS 内へ密に包接された場合にのみ、単結晶 X 線構造解析と質量分析の両方で分子情報が得られ、どちらか一方から優先的に分析できるわけではないことが示された。

第四章 1,3-Benzodioxole 誘導体の分析

4-1. はじめに

CS 法を用いて特定の母骨格に着目して系統的に調べられた例はない。そこで catechol 誘導体の 1,3-benzodioxole 骨格に着目し、その誘導体の CS 内への取り込みを試みた。得られた単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選び、構造解析を行った後、同一の単結晶の LDI-MS 測定を行った。本章は質量分析で検出される分子イオンおよびそのフラグメントイオンから分子構造情報が判別可能か検討した。

4-2. 1,3-Benzodioxole 誘導体の結晶スポンジ取り込み

ゲスト分子として Table 6 に示す化合物 (5-8) を選定した。具体的には 5-allyl-1,3-benzodioxole (以下 safrole), 4-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-butanone (以下 piperonyl acetone), (1,3-benzodioxol-5-yl)acetone (以下 piperonyl methyl ketone), 1,3-benzodioxole-5-carbonitrile (以下 piperonylonitrile) について取り込みを検討した。

Safrole (5) の結晶スポンジへの取り込み

Cyclohexane 1.0 mL に safrole (11 nmol) 1.62 μ L を加え、11 mM safrole cyclohexane 溶液を調製した。CS (X = I) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き、11 mM safrole 溶液 1.0 mL を加えた。7 日間静置して safrole の結晶取り込みを行った。

Piperonyl acetone (6) の結晶スポンジへの取り込み

Cyclohexane 1.0 mL に piperonyl acetone (20.0 μ mol) 3.85 mg を加え、20.0 mM piperonyl acetone cyclohexane 溶液を調製した。CS (X = Cl) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き、20.0 mM piperonyl acetone 溶液を加えた。7 日間静置して piperonyl acetone の取り込みを行った。

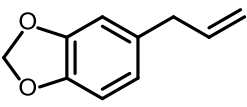
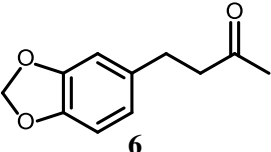
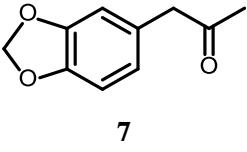
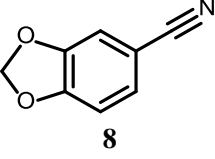
Piperonyl methyl ketone (7) の結晶スポンジへの取り込み

Cyclohexane 1.0 mL に piperonyl methyl ketone (20.0 μmol) 2.98 μL を加え, piperonyl methyl ketone 20.0 mM 溶液を調製した. CS (X = Cl) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, piperonyl methyl ketone 溶液を加えた. 7 日間静置して piperonyl methyl ketone の取り込みを行った.

Piperonylonitrile (8) の結晶スポンジへの取り込み

Cyclohexane 1.0 mL に piperonylonitrile (10.0 μmol) 1.47 mg を加え, piperonylonitrile 10.0 mM 溶液を調製した. CS (X = Cl) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, piperonylonitrile 10.0 mM 溶液を加えた. 7 日間静置したことにより piperonylonitrile の取り込みを行った.

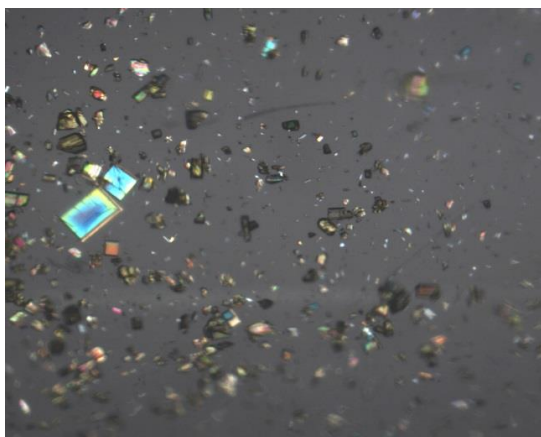
Table 6 取り込みゲストの構造式, 分子量, および常温常圧下における状態

ゲスト名	構造式	組成式	分子量 [g/mol]	性状
Safrole	 5	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2$	162.19	液体 m.p. 11°C
Piperonyl acetone	 6	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_3$	192.21	固体 m.p. 55°C ¹⁵¹
Piperonyl methyl ketone	 7	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_3$	178.19	液体 m.p. 54°C ¹⁵²
Piperonylonitrile	 8	$\text{C}_8\text{H}_5\text{NO}_2$	147.13	固体 m.p. 91-94°C ¹⁵³

4-3. 1,3-Benzodioxole 誘導体包接結晶スポンジの色の経時変化

細孔内に cyclohexane を包接した CS は光学的に無色透明に近い。分析種溶液に CS を浸漬させた際の結晶色変化を追った (Fig. 57~60)。ゲスト溶液に CS を浸す前を 0 day (before) , 浸した直後を 0 day (after) とし, 7 日目までの写真を示す。safrole (5), piperonyl methyl ketone (6), piperonyl acetone (7) といった電子供与基を持つ化合物は取り込み開始時から結晶の色は淡黄色へと変化する。時間経過とともに淡黄色が定性的に濃くなった。また, 取り込みから 7 日後においては大きな結晶の表面にヒビが現れる傾向にあった。一方, 電子求引基である cyano 基をもつ piperonylonitrile (8) では取り込み直後から 7 日後まで無色透明のままであった。すべての場合において結晶性が保たれているものもあり, 単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選ぶことが可能であった。また, さらなる詳細を調べるため, 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトルを調べた。

0 day (after)



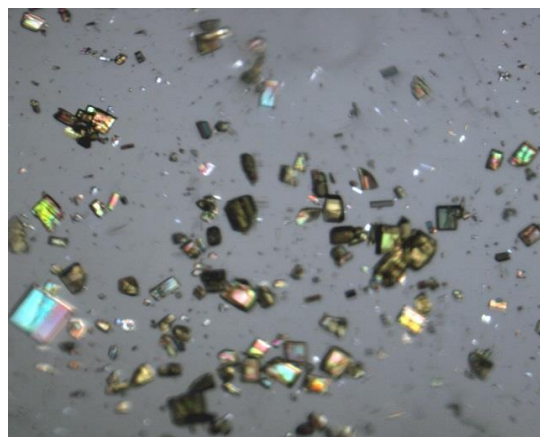
1 day



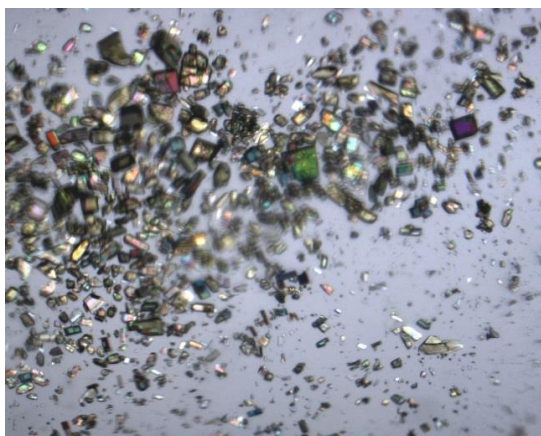
2 day



3 day



4 day

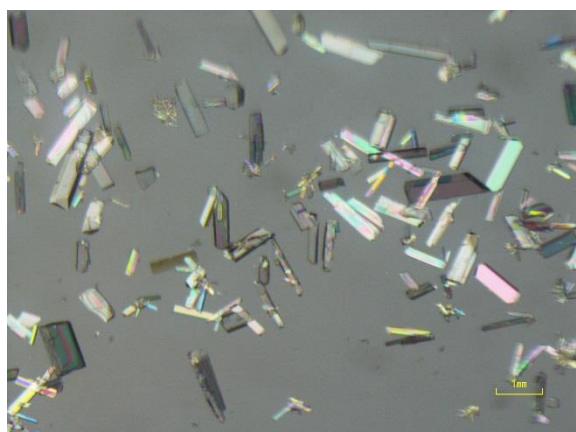


7 day

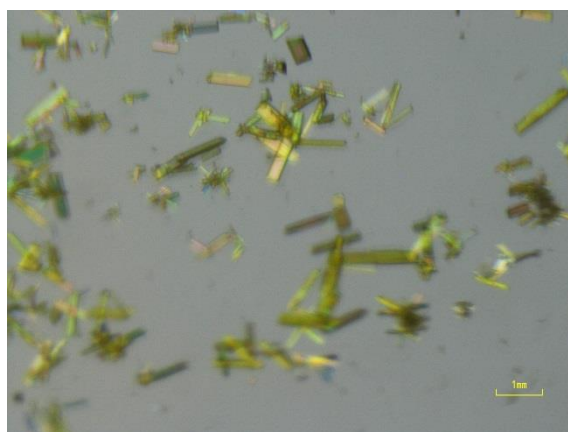


Fig. 57 Safrole (5) のCS 取り込み色の経時変化

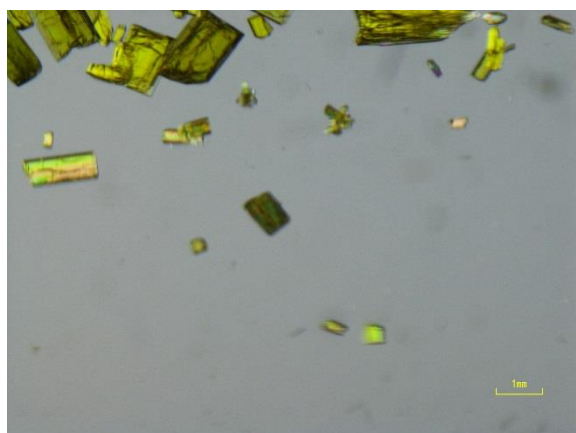
0 day (before)



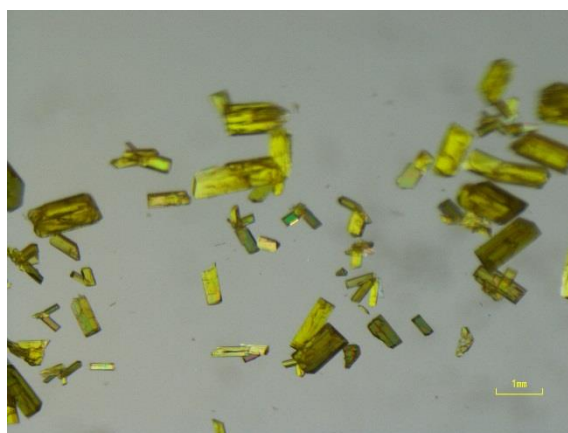
0 day (after)



1 day



4 day



7 day

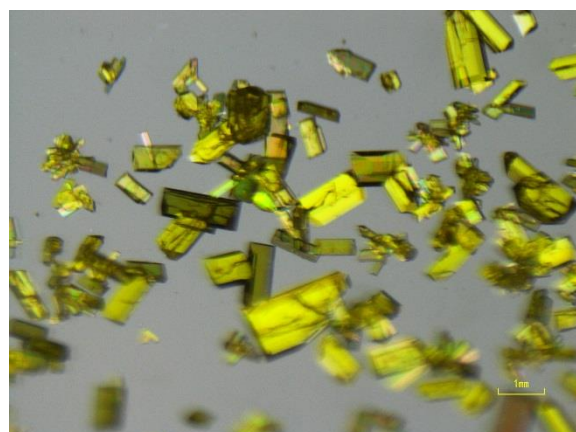
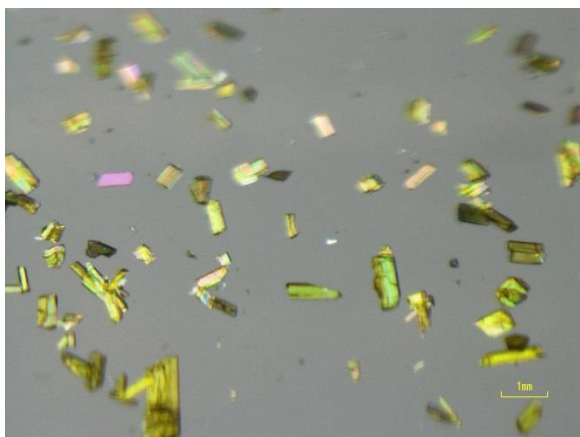
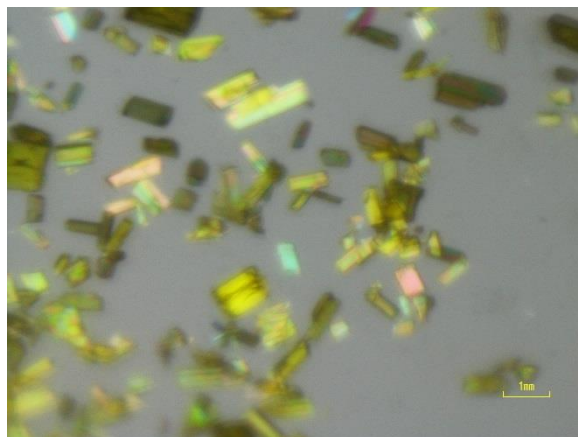


Fig. 58 Piperonyl acetone (6) の CS 取り込み色の経時変化

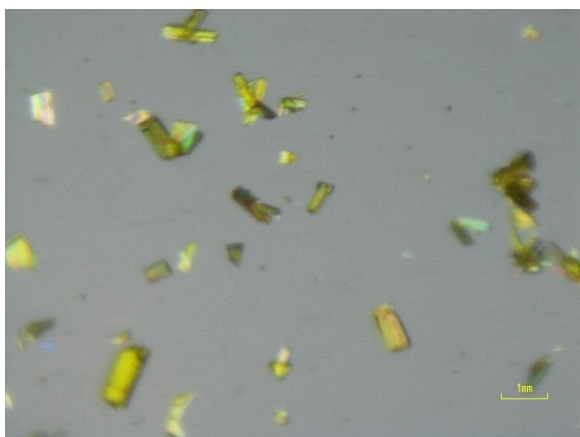
0 day (after)



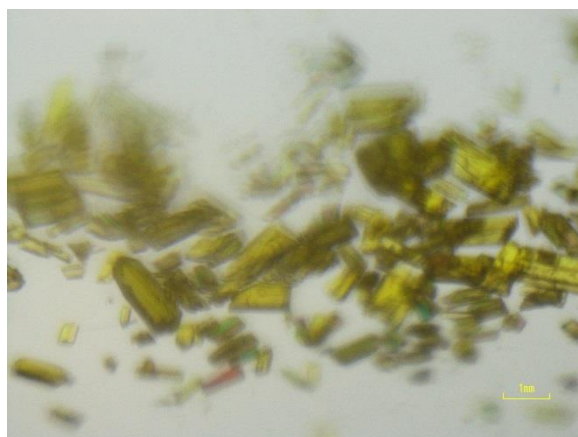
1 day



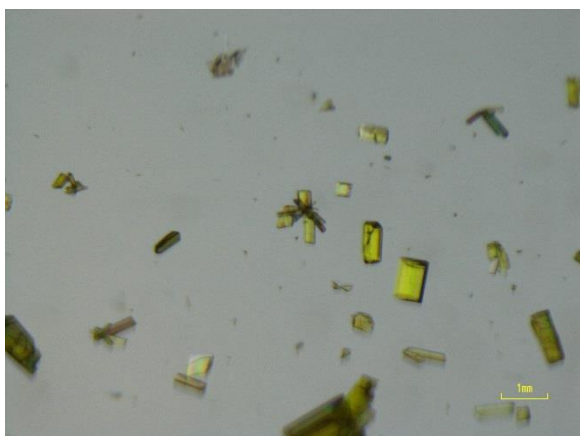
2 day



4 day



6 day



7 day

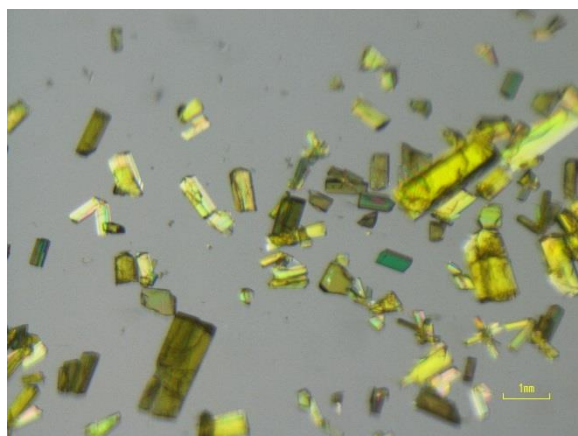
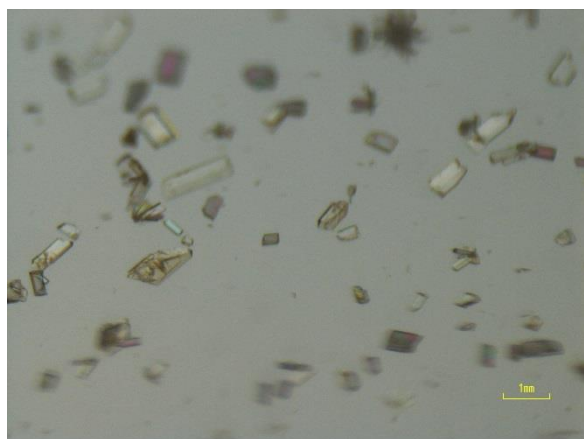
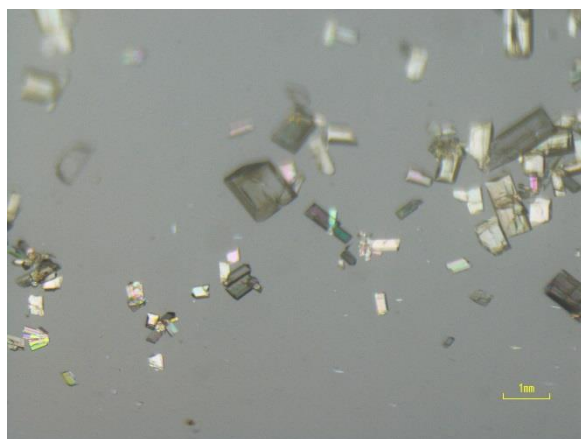


Fig. 59 Piperonyl methyl ketone (7) の CS 取り込み色の経時変化

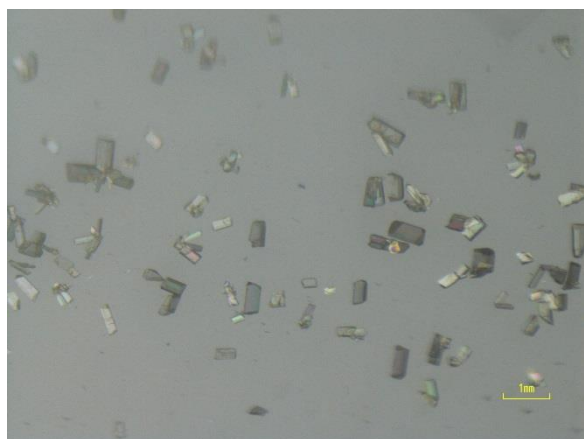
0 day (after)



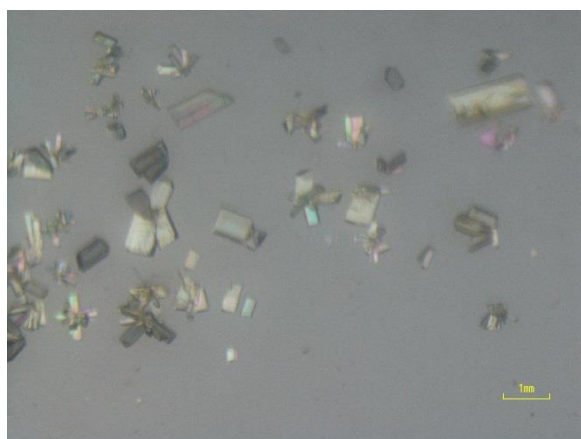
1 day



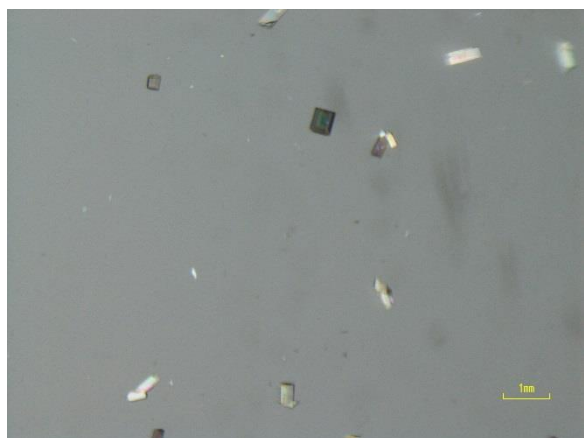
2 day



4 day



6 day



7 day

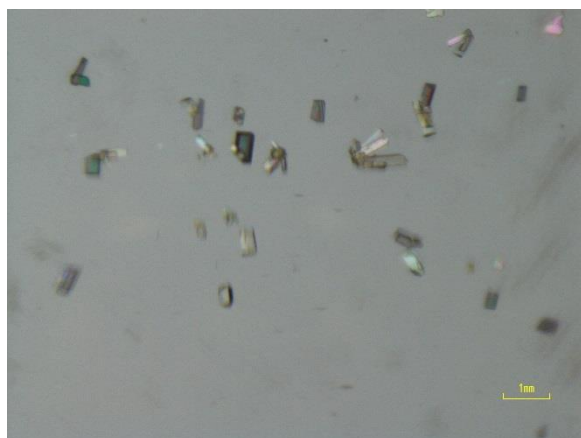


Fig. 60 Piperonylnitrile (8) のCS 取り込み色の経時変化

4-4. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル

ゲストを包接した CS の固体拡散反射吸収スペクトルを Fig. 61 に示す. また, 比較としてゲスト取り込み前の cyclohexane を包接した CS についてもあわせて示す. Piperonylnitrile (**8**)を除くすべての 1,3-benzodioxole 類において, 450~500 nm 付近に幅広い吸収帯が観測された. これは cyclohexane 包接 CS ではみられない新しい吸収帯である. この吸収帯は幅広いが電子的な効果を反映しており, 400 nm 近傍で, cyano 基ではより短波長側, アルキル alkyl 鎖では 400 nm 近傍から長波長側に最大吸収波長があった.

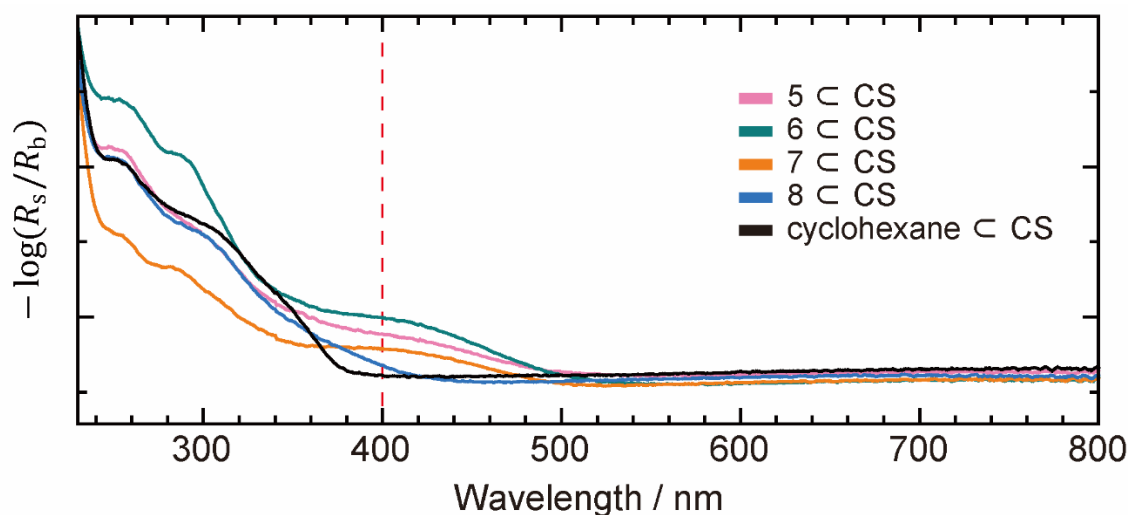


Fig. 61 ゲスト包接 CS の固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル, $[(\text{ZnCl}_2)_3(\text{TPT})_2 \cdot x(\text{G})]_n$

R_s を試料の反射強度, R_b を標準材料の反射強度とし, 縦軸は $-\log R_s/R_b$ とした.

4-5. 1,3-Benzodioxole 誘導体包接結晶スポンジの単結晶 X 線構造解析

取り込みを行った後、単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選び、回折測定および単結晶 X 線構造解析を行った。Table 7 に結晶学的パラメーターおよび解析精度を示す。その結果から、XcCS (X =5-8) について、細孔内におけるゲストの存在を明らかにした。いずれの場合においても、CS 骨格の温度因子は、包接された分子の温度因子に比べて極めて小さく、その結晶性を示している。一方、包接分子はゲスト骨格と弱い相互作用により細孔にとどまっているため、温度因子も比較的大きい。それぞれの構造解析結果の詳細について述べる。

5cCS

細孔内に独立した safrole 分子が 4 種 (A-D) 決定された (Fig. 62)。A と B および C は disorder のため、同じ空間を占めており、その占有率はそれぞれ 25%, 50%, 50%であった。また、存在確率 30%での異方性温度因子を Fig. 63 に示す。温度因子の広がりから A および D は比較的構造の揺らぎが少ないのに対して、B および C は温度因子の広がりが大きい。D は骨格のヨウ素と halogen- π 相互作用の距離 (C3D-I4B<3.82 Å) にある (Fig. 64 (a) 左)。また、A は B と近接しているが、A が対称心上に存在している。また、B は温度因子が比較的大きいため、その相互作用は判別できない。

6cCS

細孔内に独立した piperonyl acetone 分子が 5 種 (A-E) 決定された。存在確率 30%での異方性温度因子を Fig. 65~66 に示す。A, B, D に対して、C, E が disorder のため、同じ空間内を占めており、その占有率はそれぞれ 54%と 46%であった。また、D は対称心上に存在していたので自身と重なっており、その占有率は 27%であった。ゲストと TPT の相互作用状態を Fig. 67~68 に示す。B は TPT 上に 3.349 Å (C8B-C23) の距離にあり、骨格と π - π 相互作用の距離に存在した。その triazine 中心とゲストの芳香環中心間の距離は 3.424 Å だった (Fig. 67 (a))。また A は CH-halogen 相互作用の距離 (C1A-

C14, 3.554 Å) にあった (Fig. 67 (b)).

7cCS

細孔内に独立した piperonyl methyl ketone 分子が 4 種 (A-D) 決定された. 存在確率 30%での異方性温度因子を Fig. 69~70 に示す. すべての分子が占有率 100%で存在した. C は, CH-halogen 相互作用と CH-O 相互作用の距離 (C1C-C13, 3.772 Å, O5C-C14, 3.503 Å) にあった (Fig. 71 (a)). B は, CS に含まれる pyridyl 基 (O5B-C17, C18, 3.138, 3.197 Å) やハロゲン (C9B-C14, 3.742 Å) と相互作用していた (Fig. 71 (b)). また, B と C (C10B-O13C, 3.181 Å, O13B-C1C, 3.225 Å) は相互作用していた. D は, CH-O 相互作用の距離 (O13D-C3, 3.431 Å) にあった (Fig. 71 (c)). また, A は対称心まわりに存在し, 自分自身の炭素同士が相互作用する距離 (C11A-C12A, 3.250 Å) にいた. これらの相互作用や二量体化による密なパッキングは, 細孔内へ piperonyl methyl ketone が捕捉される駆動力および細孔内に安定にとどまる理由となっていると考えられる.

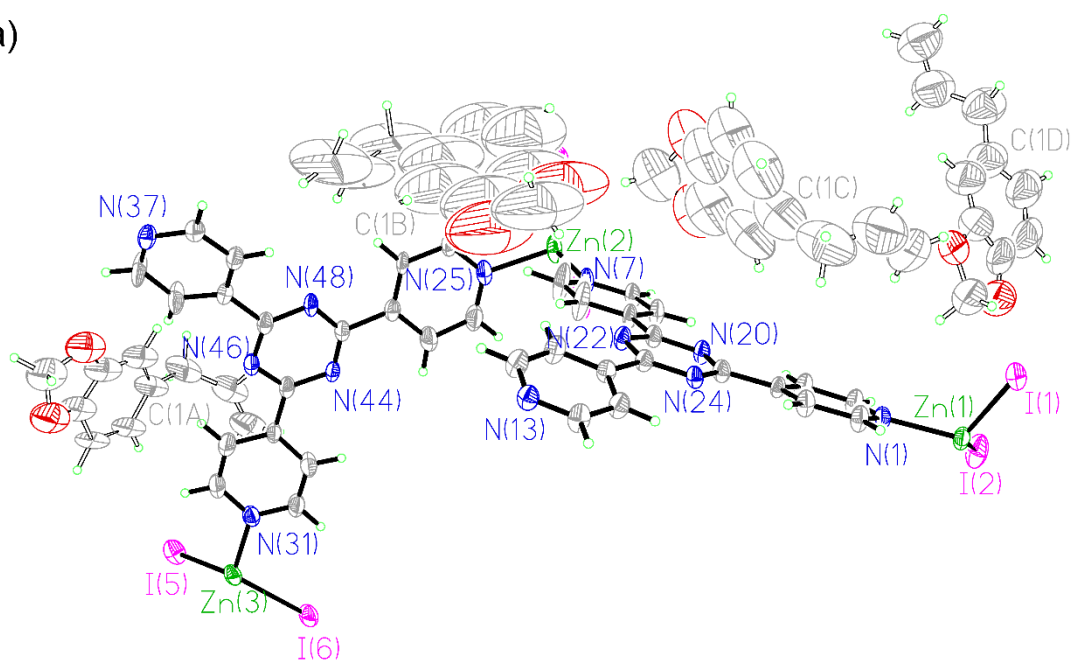
8cCS

細孔内に独立した piperonylonitrile 分子が 5 種 (A-E) 決定された. 存在確率 30%での異方性温度因子を Fig. 72~73 に示す. A と E, C と D が disorder のため, 同じ空間を占めており, その占有率はそれぞれ 53%と 47%, 46%と 27%であった. また, D と B は対称心上に存在していたので自身と重なっており, その占有率は 27%と 50%であった. A はハロゲンと近接した距離 (C6A-Cl6, 3.647 Å) に存在した. B はハロゲンや pyridyl 基と近接した距離 (C9B-Cl6, 3.612 Å, C1B-Cl6, 3.568 Å, N11B-C26, 3.253 Å) に存在し, C および E もハロゲンと近接している距離 (C1C-Cl2, 3.541 Å, C9C-Cl1, 3.510 Å, C9E-Cl6, 3.866 Å) にあった (Fig. 74). これらは piperonylonitrile が細孔に包接される駆動力および細孔内に安定にとどまる理由となっていると考えられる.

Table 7 Safrole (5), piperonyl acetone (6), piperonyl methyl ketone (7), piperonylonitrile (8)の結晶学的パラメーターおよび解析精度

Guest and CS	5cCS	6cCS	7cCS	8cCS
Formula	C ₅₃ H ₄₁ I _{6.0} N ₁₂ O _{3.5} Zn _{3.0}	C ₆₅ H ₅₈ Cl _{6.0} N ₁₂ O _{6.8} Zn _{3.0}	C ₇₆ H ₆₄ Cl ₆ N ₁₂ O ₁₂ Zn ₃	C ₅₇ H ₄₁ Cl _{6.0} N ₁₄ O _{4.5} Zn _{3.0}
Crystal system	<i>Monoclinic</i>	<i>Monoclinic</i>	<i>Monoclinic</i>	<i>Monoclinic</i>
Space group	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>
a (Å)	35.0630(15)	33.0803(15)	33.1389(13)	33.0732(15)
b (Å)	14.7661(5)	14.4234(6)	14.5129(4)	14.4606(5)
c (Å)	31.2601(12)	32.0307(13)	32.1744(11)	31.2748(12)
β (°)	101.654(4)	102.207(3)	102.912(3)	101.909(3)
V (Å³)	15851.1(11)	14937.3(11)	15082.7(9)	14635.5(10)
θ range (°)	4.888-65.495	3.355-69.323	2.736-65.342	3.347-65.347
Z	8	8	8	8
Density (g/cm³)	1.563	1.351	1.538	1.277
Temperature (K)	100	100	100	100
μ (mm⁻¹)	19.735	3.551	3.655	3.569
F (000)	7054	6207	7136	5688
index ranges	-41 ≤ h ≤ 41	-39 ≤ h ≤ 39	-38 ≤ h ≤ 38	-37 ≤ h ≤ 38
h, k, l	-17 ≤ k ≤ 17	-16 ≤ k ≤ 16	-16 ≤ k ≤ 17	-17 ≤ k ≤ 16
	-36 ≤ l ≤ 36	-36 ≤ l ≤ 37	-37 ≤ l ≤ 37	-36 ≤ l ≤ 36
Crystal size (mm³)	0.07×0.05×0.03	0.13×0.09×0.03	0.10×0.04×0.02	0.14×0.08×0.03
Total reflections	78506	74079	73402	70935
Unique reflections	13111	13602	12714	12444
R_{int}	0.0709	0.0251	0.0608	0.0327
Completeness	0.959	0.986	0.983	0.992
data	13111	13602	12714	12444
restrains	548	860	410	700
parameters	966	1199	982	1095
GoF (%)	1.022	1.033	1.030	1.013
R₁/wR₂(I > 2σ(I))	0.0574/0.1546	0.0744/0.2442	0.0750/0.2230	0.0601/0.1958
R₁/wR₂	0.1018/0.1803	0.0843/0.2629	0.1041/0.2505	0.0723/0.2119
CCDC	1586123	1586124	1586121	1586122

(a)



(b)

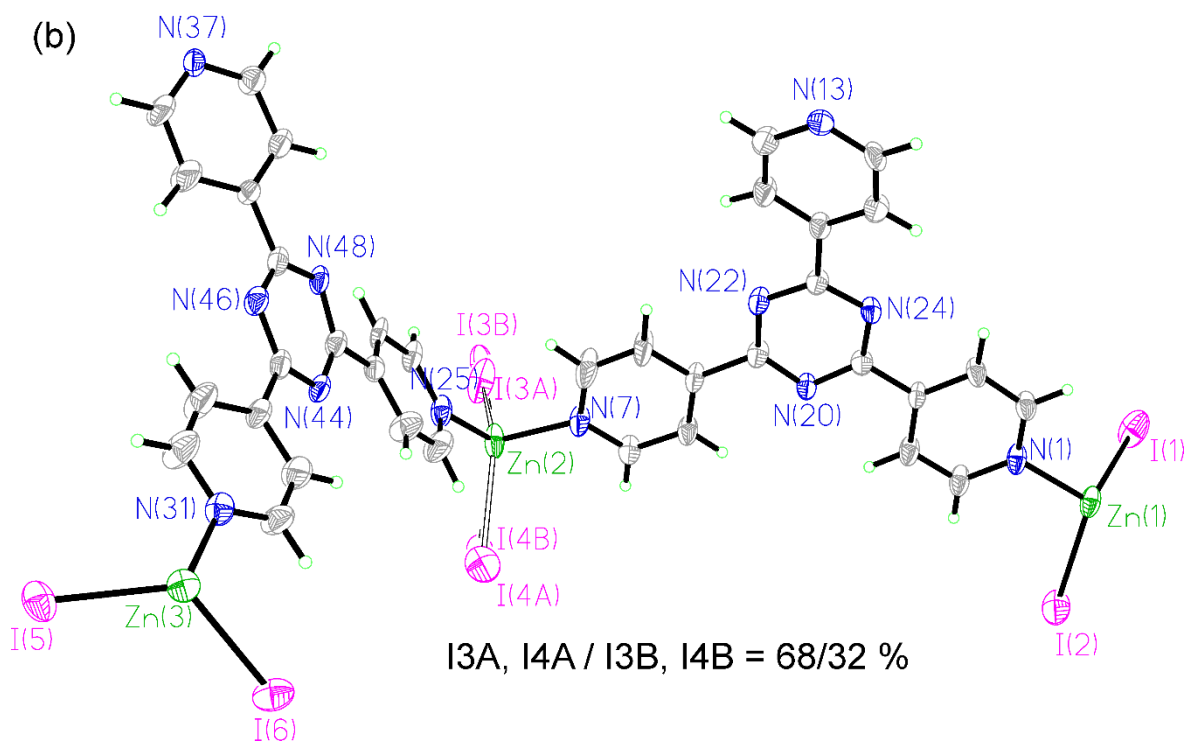
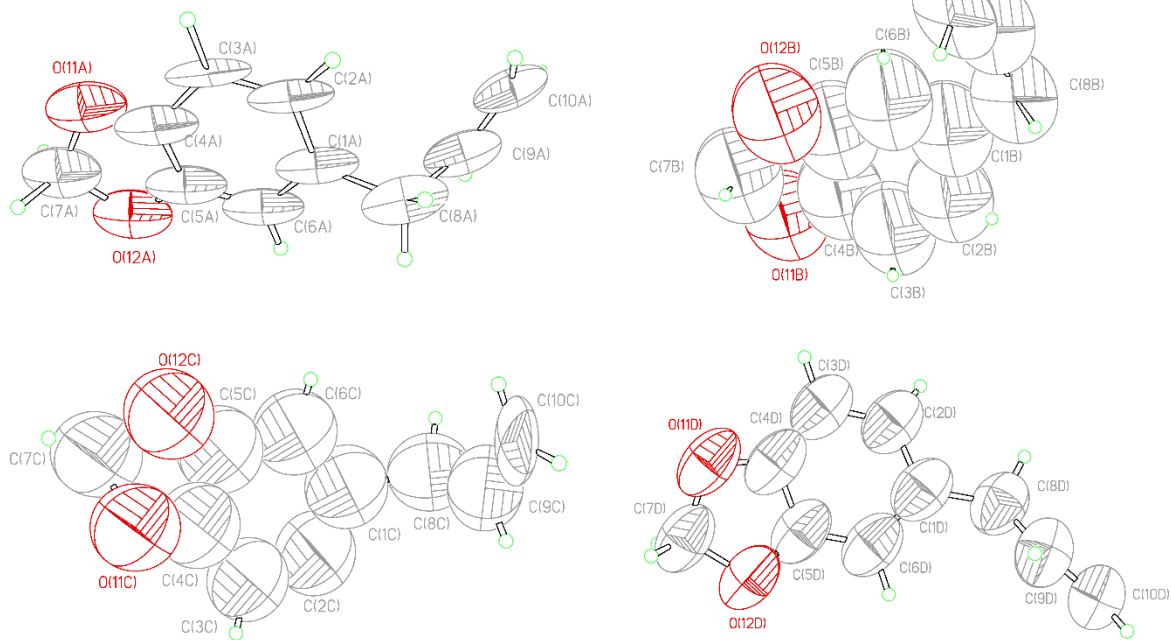


Fig. 62 Safrole (5) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

(c)



C1A to O12A 25 %

C1B to O12B 50 %

C1C to O12C 50 %

C1D to O12D 50 %

Fig. 63 Safrole (5) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(c) Safrole 分子 (A, B, C, D)

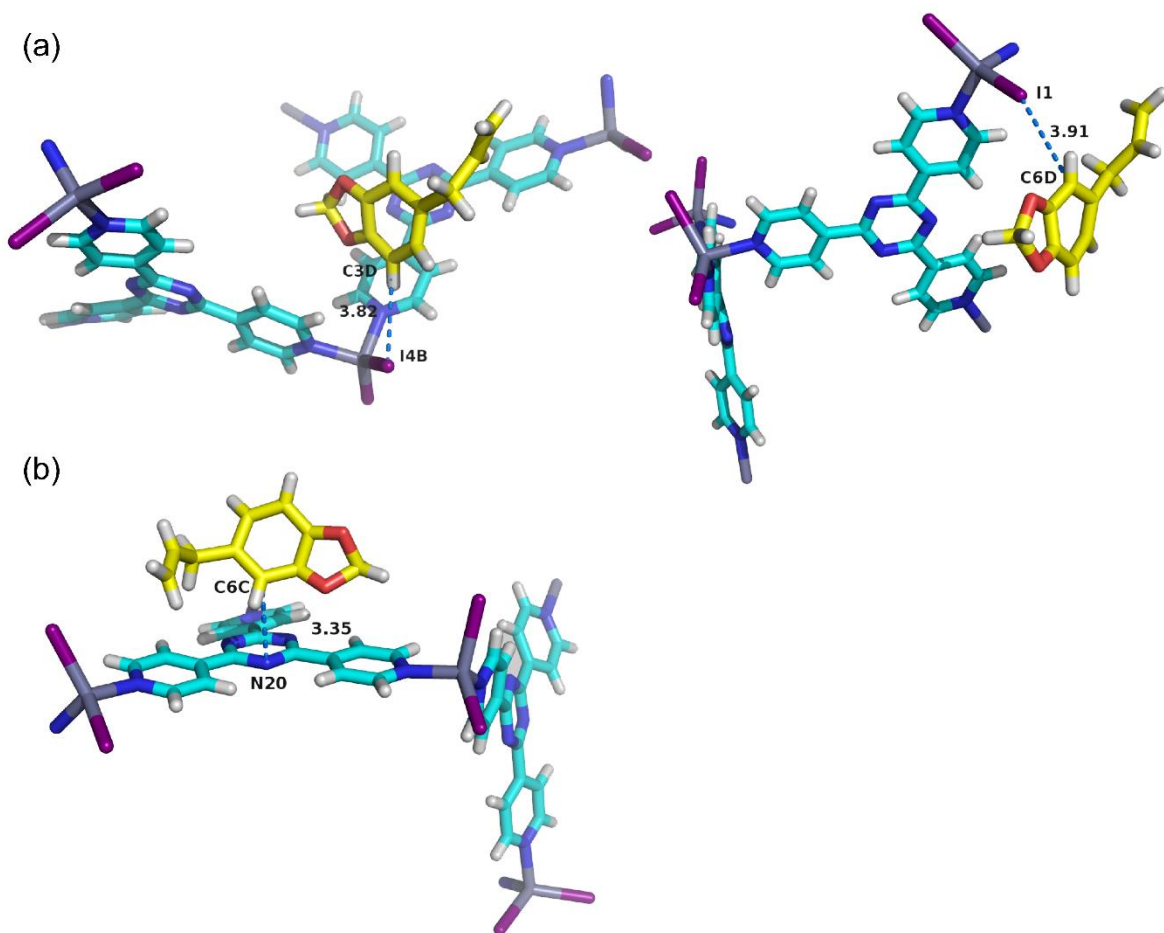


Fig. 64 Safrole (5) の構造解析

(a) D 分子の CH と ZnI_2 の I 原子間の CH-halogen 相互作用, (b) 1,3-benzodioxole 骨格の CH と triazine 環の CH- π 相互作用

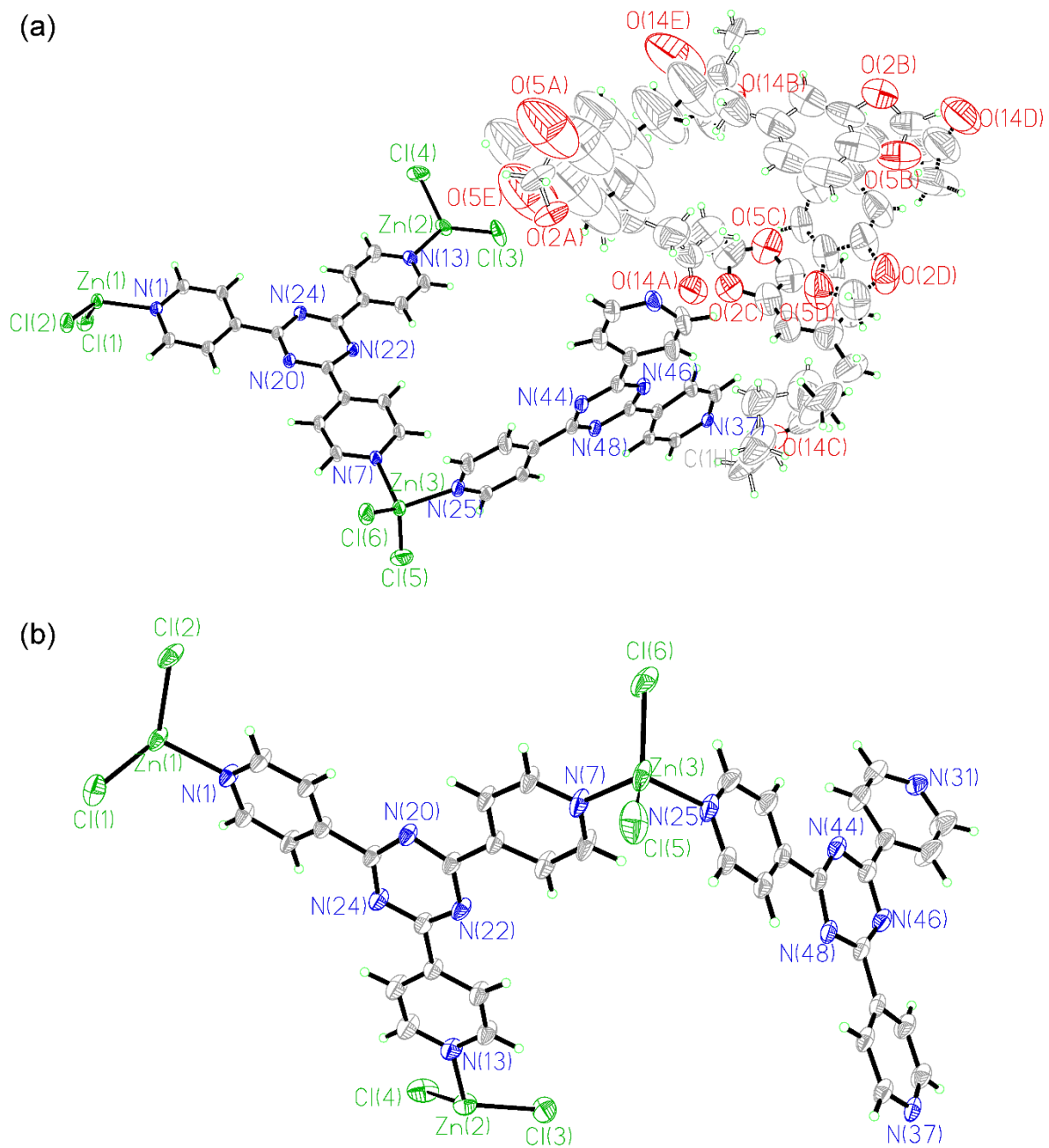


Fig. 65 Piperonyl acetone (6) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

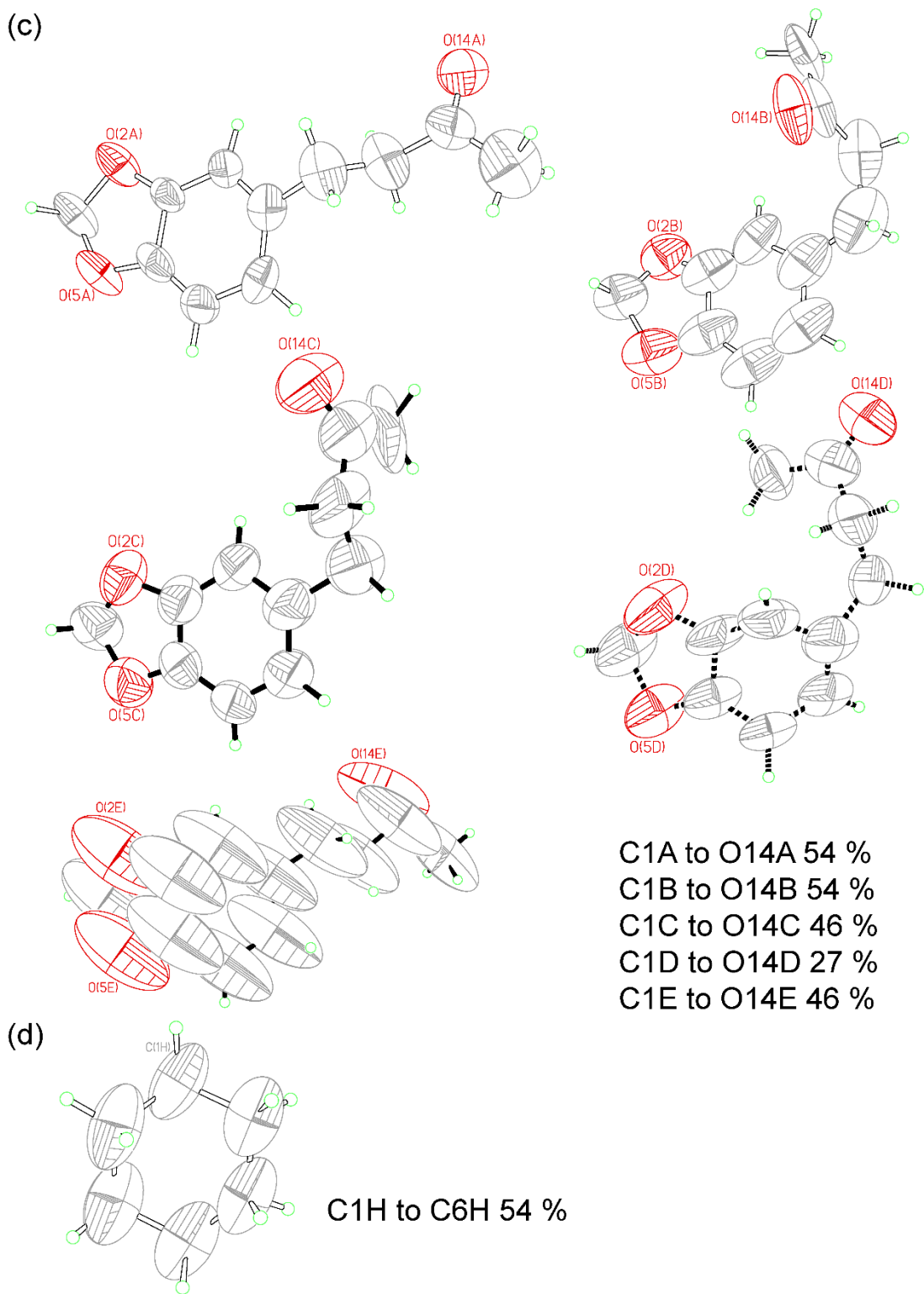


Fig. 66 Piperonyl acetone (6) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(c) Piperonyl acetone 分子 (A, B, C, D, E) (d) Cyclohexane

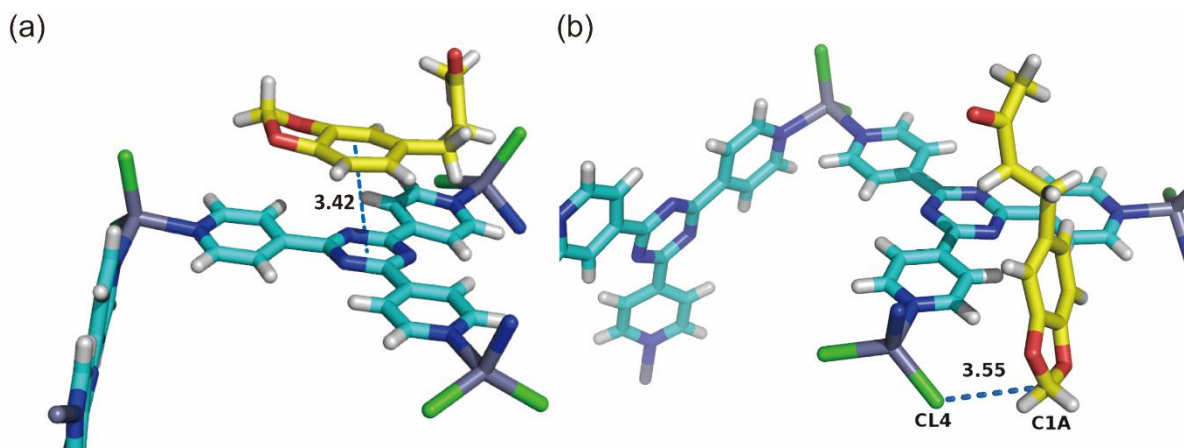


Fig. 67 Piperonyl acetone (6) と CS 骨格間の(a) π - π 相互作用, (b) CH-halogen 相互作用を示す結晶構造

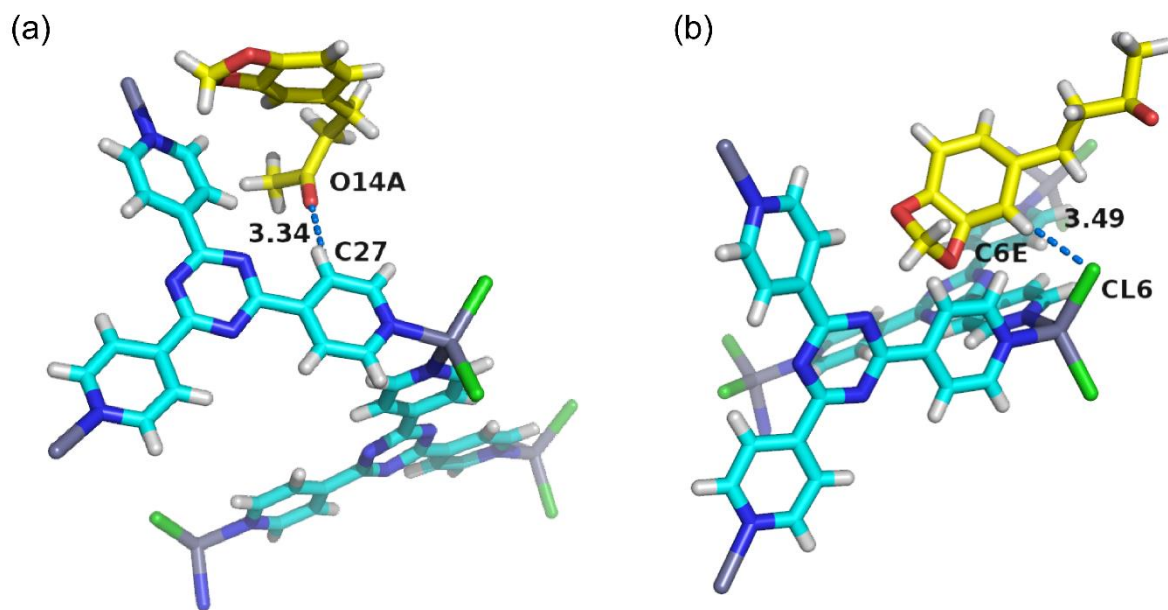


Fig. 68 Piperonyl acetone (6) の構造解析

(a) B 分子と TPT 間の CH-O 相互作用

(b) E 分子と ZnCl₂ の Cl 間の CH-halogen 相互作用

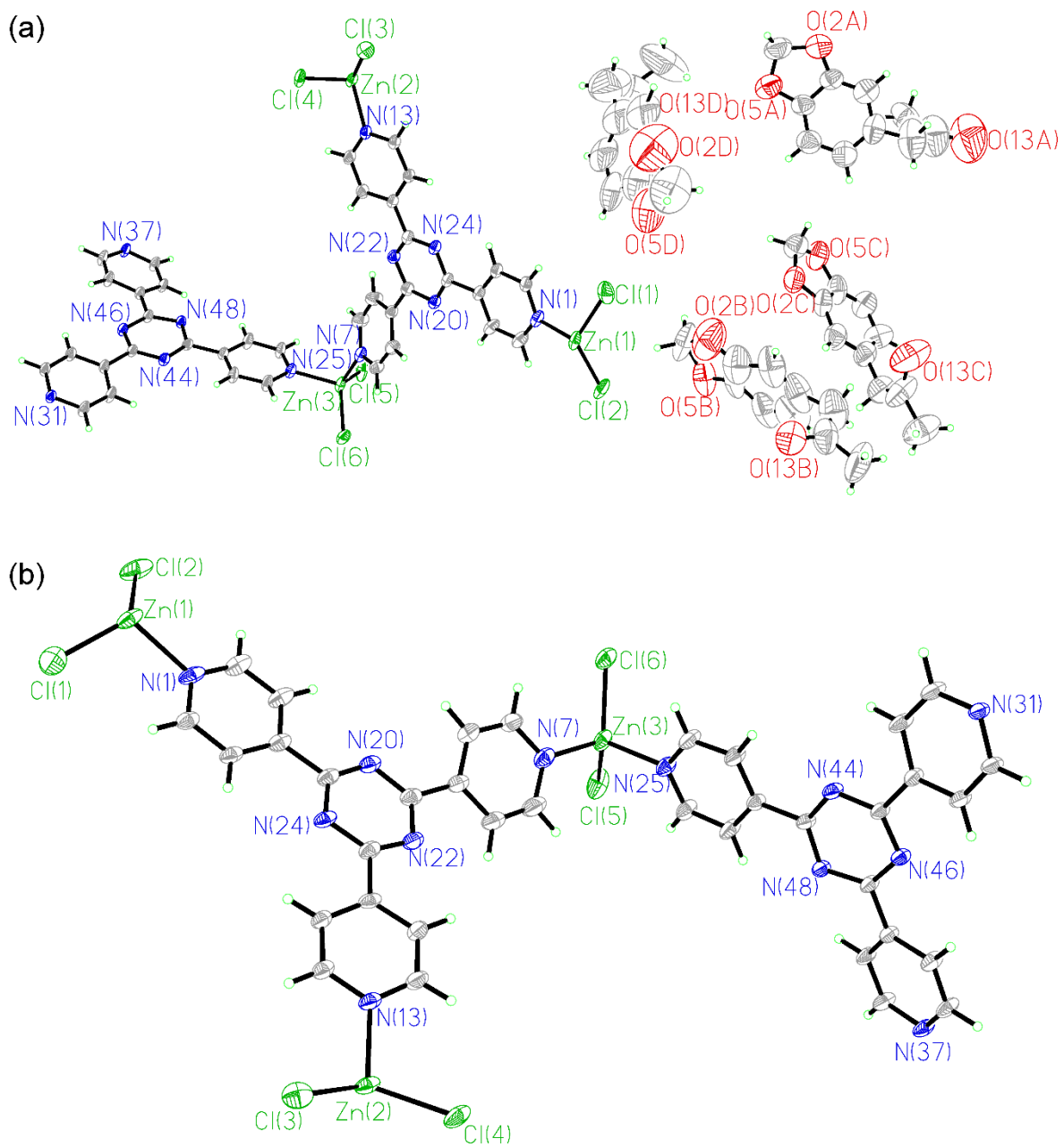
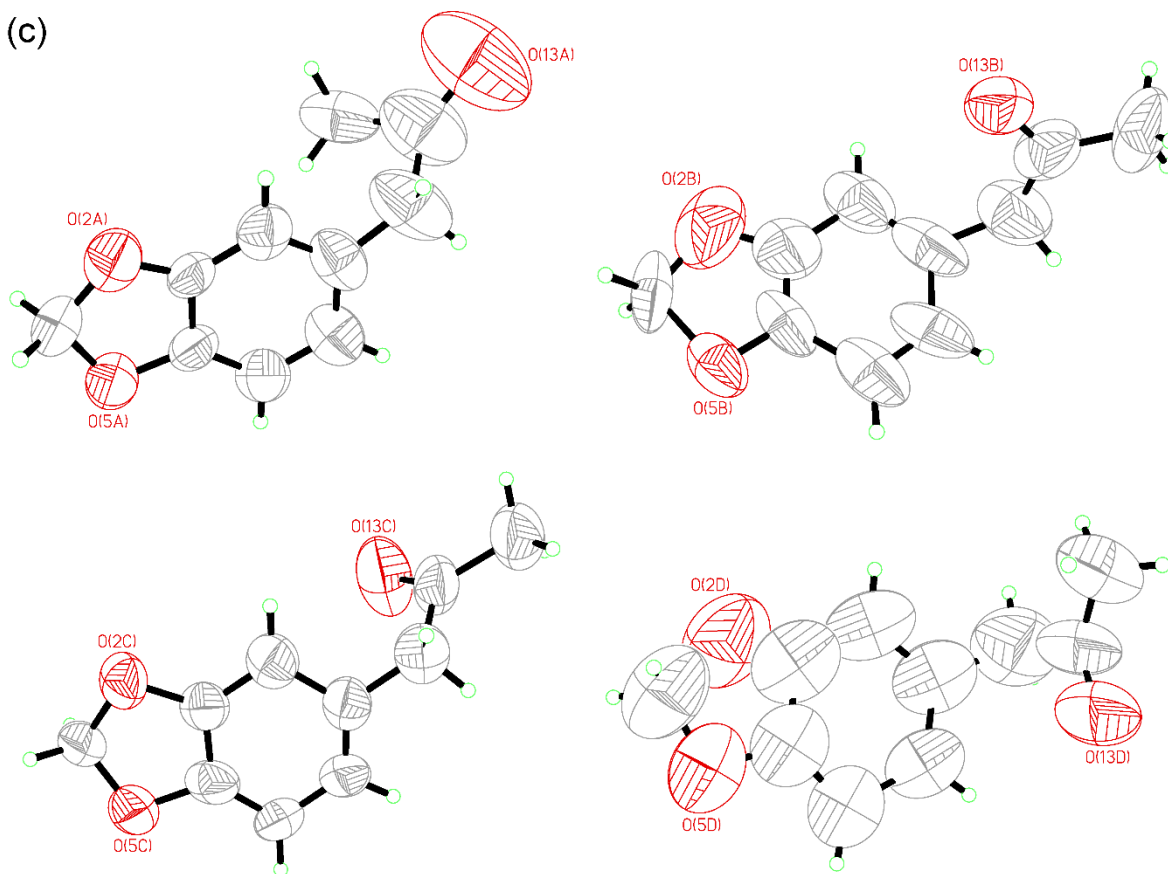


Fig. 69 Piperonyl methyl ketone (7) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

(c)



C1A to O13A 100 %
C1B to O13B 100 %
C1C to O13C 100 %
C1D to O13D 100 %

Fig. 70 Piperonyl methyl ketone (7) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(c) Piperonyl methyl ketone 分子 (A, B, C, D)

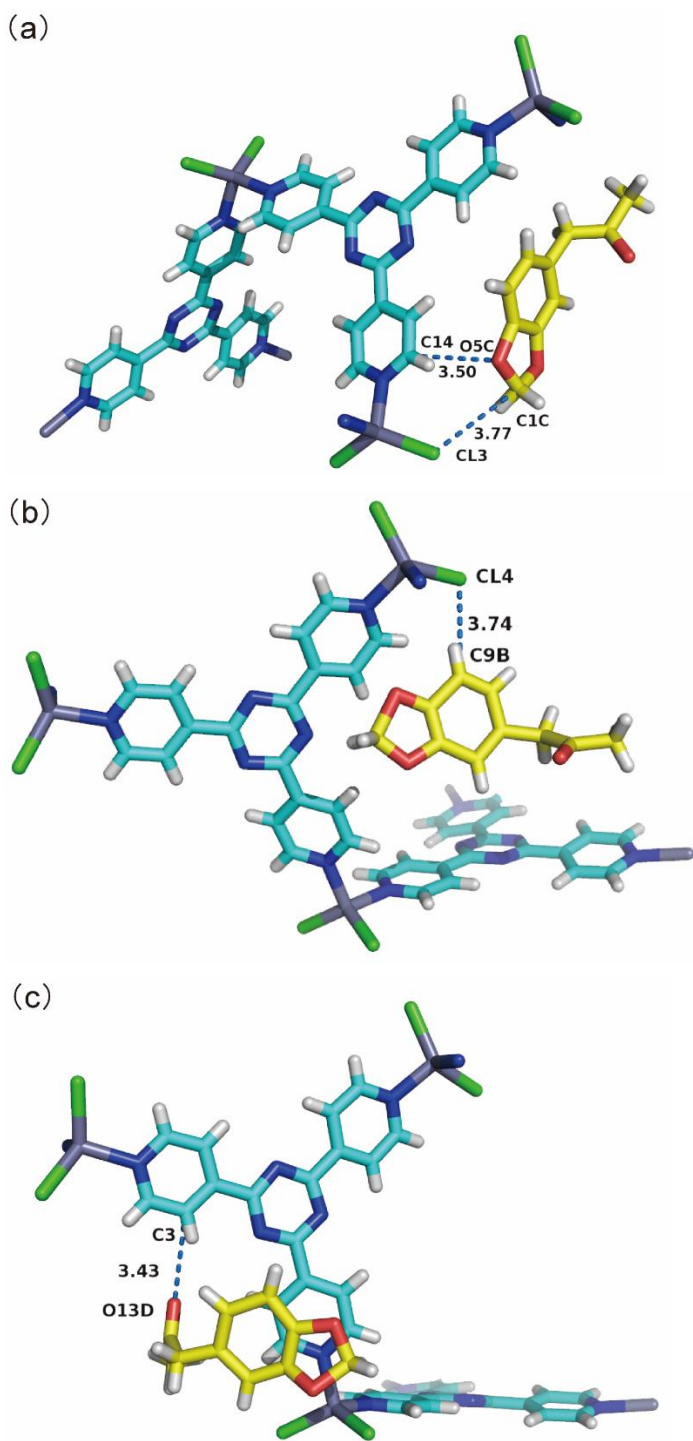


Fig. 71 Piperonyl methyl ketone (7) と CS 骨格間の(a), (c) CH-O 相互作用, (a), (b) CH-halogen 相互作用を示す結晶構造

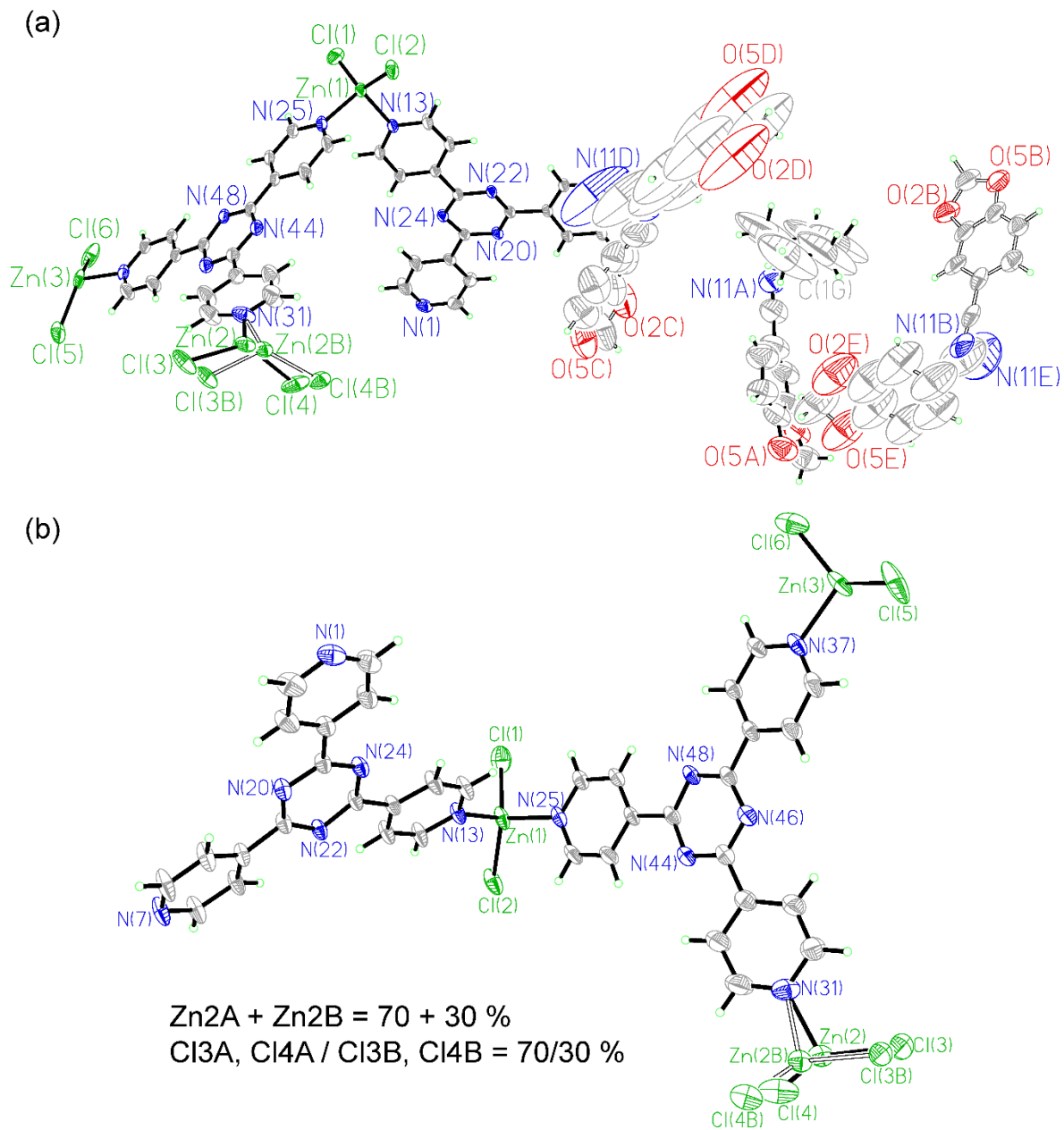


Fig. 72 Piperonylnitrile (8) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

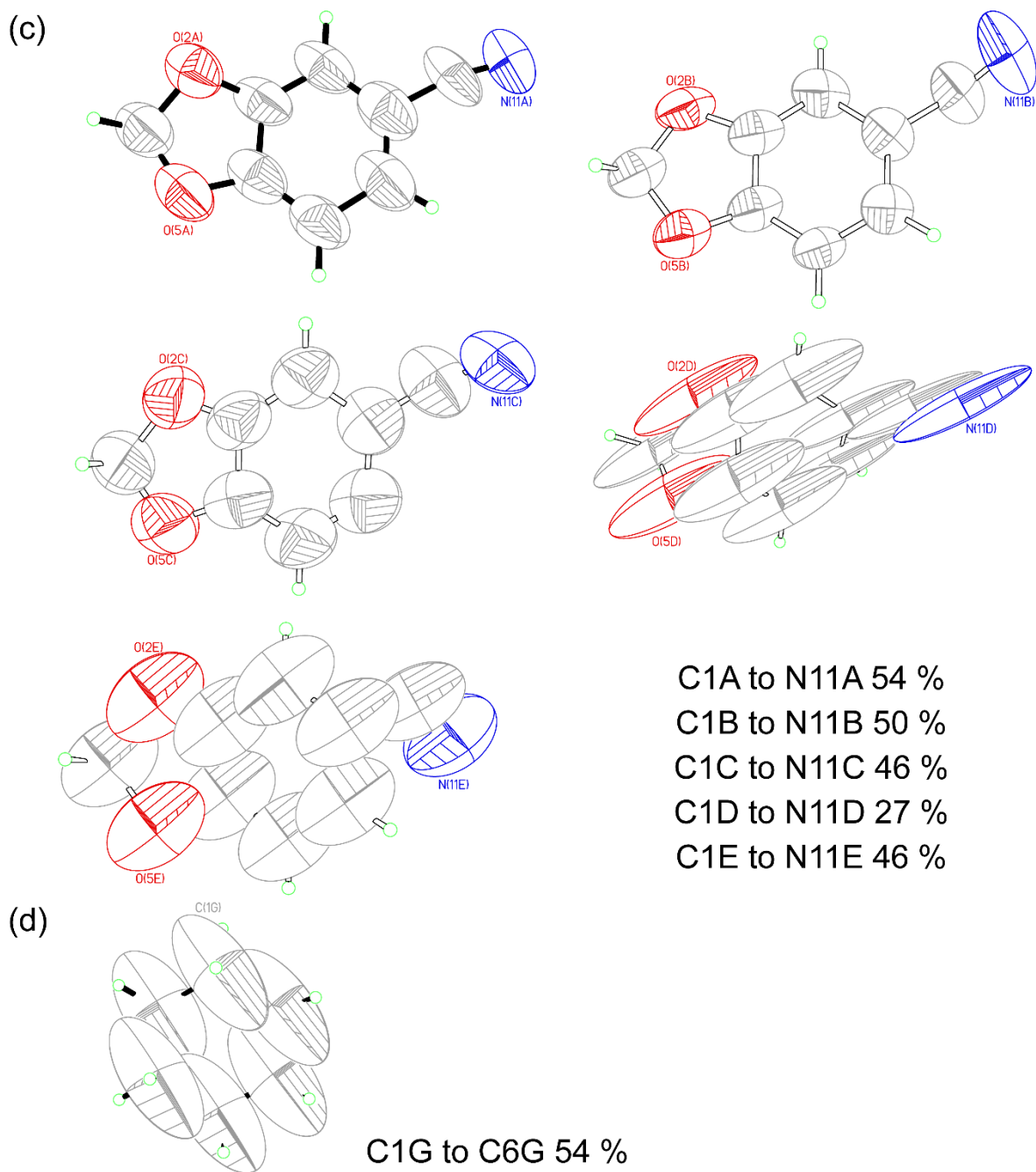
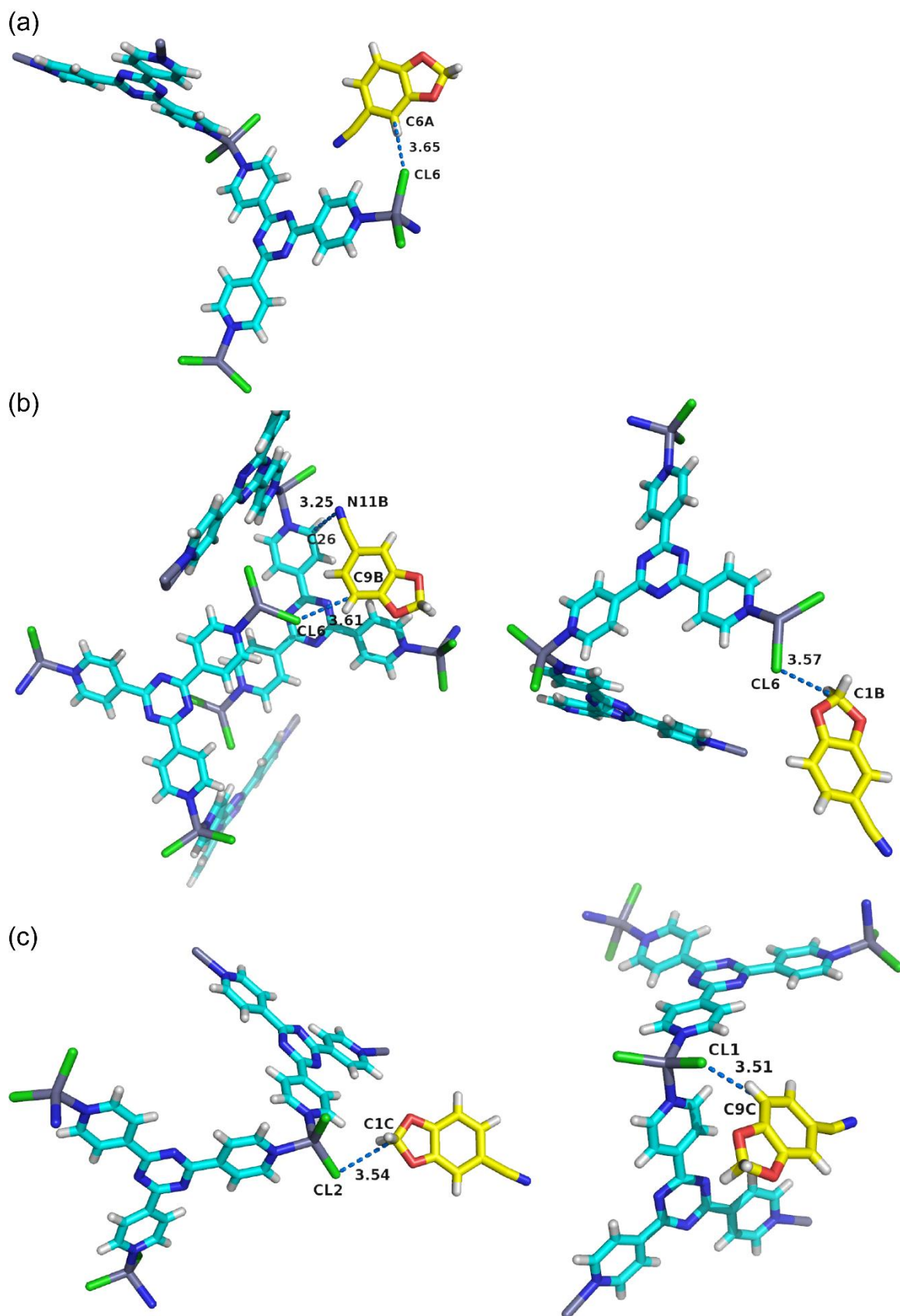


Fig. 73 Piperonylnitrile (8) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(c) Piperonylnitrile 分子 (A, B, C, D, E) (d) Cyclohexane



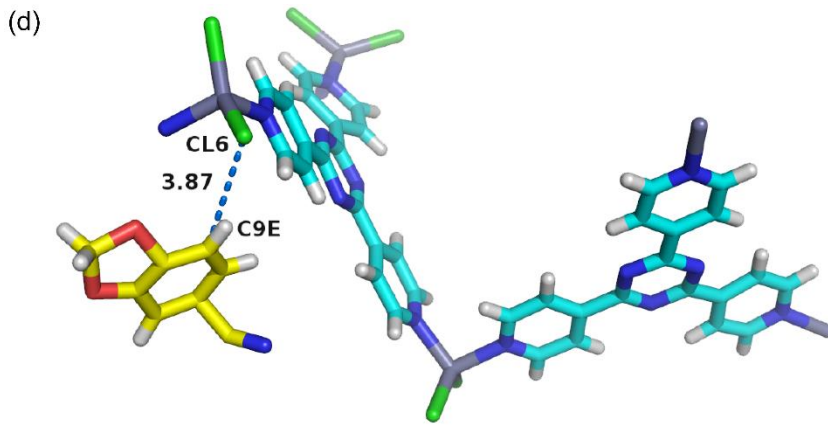


Fig. 74 Piperonylnitrile (**8**)の構造解析

(a) A 分子と ZnCl_2 の Cl 原子間の CH-halogen 相互作用

(b) B 分子と ZnCl_2 の Cl 原子間の CH-halogen 相互作用, B分子と triazine の窒素原子間の π - π 相互作用

(c) C 分子と ZnCl_2 の Cl 原子間の CH-halogen 相互作用

(d) E 分子と ZnCl_2 の Cl 原子間の CH-Halogen 相互作用

4-6. 1,3-Benzodioxole 誘導体包接結晶スポンジの CS-LDI-MS

単結晶 X線解析後, 同一の結晶についてレーザー脱離イオン化による IMS を行った. すべての場合で共通して, 光学写真の全結晶領域において CS 骨格に含まれる TPT のプロトン付加体 ($[TPT+H]^+$) が m/z 313 に観測された. 以下, このイオンピーク強度を基準として, 分析種イオンの IMS を調べた. また, 結晶存在下の MS スペクトルを平均化したスペクトルを 1D MS スペクトルとした. それぞれの MS の結果について詳細を述べる.

5cCS

5cCS の光学写真および IMS 結果を Fig. 75 (a), (b), (c) に示す. $[TPT+H]^+$ イオンピークが m/z 313.0 で観測された. また, safrole の分子イオンピークである m/z 162.7 のイオンピーク分布を調べたところ, ほとんど弱く観測されなかった. 一方, そのヒドリド脱離した m/z 161.0 の強度が強く観測された. その IMS を Fig. 75 (c)に示す. $[TPT+H]^+$ イオンピークに比べて, safrole 由来のイオンピーク強度は小さいが, イオン化していることがわかる. また, Fig. 75 (d) に示すように 1,3-benzodioxole 骨格に由来する m/z 108 のイオンピークが比較的大きく観測された.

6cCS

6cCS の光学写真およびこの単一結晶を用いた IMS 結果を Fig. 76 (a), (b), (c) に示す. $[TPT+H]^+$ イオンピークが m/z 313.0 で観測された. また, piperonyl acetone の分子イオンピークに対応する m/z 192.1 のイオンピーク分布は観測されなかった. 一方, そのヒドリド脱離した m/z 191.0 $[M-H]^+$ のイオンピーク分布は他のイオンピークと比べ, 大きい強度で観測された. また, Fig. 76 (d) に示すように 1,3-benzodioxole 骨格に由来する m/z 108.0 におけるイオンピークも比較的明瞭に観測された.

7cCS

7cCS の光学写真およびこの結晶を用いた IMS 結果を Fig. 77 (a), (b), (c) に示す. [TPT+H]⁺イオンピークが m/z 313.0 で観測された. 一方, pipepronyl methyl ketone 分子イオンピークに対応する m/z 178.1 のイオンピーク強度は観測されなかった. そのイオンピークから 18 u 大きい m/z 196.0 のイオンピークは水付加体[M+H₂O]⁺であると考えられる. TPT のプロトン付加体ピークに比べて, pipepronyl methyl ketone 由来のイオンピーク強度は低い, イオン化していることがわかる. また, Fig. 77 (d) に示すように 1,3-benzodioxole 骨格に由来する m/z 108 におけるイオンピークが比較的明瞭に観測された.

8cCS

8cCS の光学写真およびこの単一結晶を用いた IMS 結果を Fig. 78 (a), (b), (c), (d) に示す. CS の構成成分である [TPT+H]⁺イオンピークが m/z 313.0 で観測された. また, piepronylonitrile の分子イオンピークに対応する m/z 147.0 のイオンピーク分布はほとんど観測されなかった. 一方, その methylene 脱離した m/z 133.0 [M-CH₂]⁺のイオンピークが存在していることから, フラグメンテーションを起こしているものと考えられる. また, 1,3-benzodioxole 骨格に由来する m/z 108.0 におけるイオンピークも比較的明瞭に観測された.

以上より, 1,3-benzodioxole 誘導体の IMS および 1D MS スペクトルの結果から, 5cCS, 6cCS ではヒドリド脱離した擬分子イオンが観測された. これまでに FAB 測定において 1,3-dioxolane についてヒドリド脱離によるイオン化が報告されており, イオン化法は異なるが同一のイオン化反応を起こしているものと考えられる^{154,155}. 7cCS, 8cCS ではゲストのプロトン付加体または脱離分子イオンを観測できなかった. やや複雑な擬分子イオンやフラグメントイオンとして検出されたものと考えられる. 重要な点として, 共通の骨格 (1,3-benzodioxole 骨格) を持つ分子から同一のイオンピーク, ここでは m/z 108 のイオンが比較的明瞭に観測されたことから分子構造情報を明らかに出来る可能性を示した.

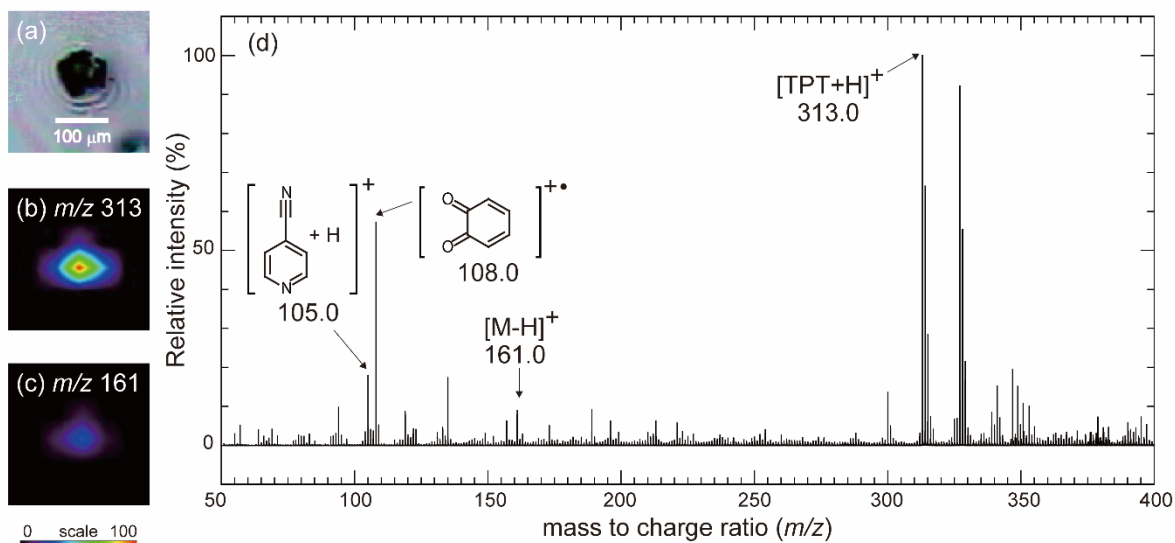


Fig. 75 Safrole (5) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真 (b) m/z 313 TPT プロトン付加体イオンピークイメーキング, (c) m/z 161 の水素脱離した safrole のイオンピークイメーキング, (d) m/z 108 の 1,3-benzodioxole 骨格のイオンピークイメーキング, (e) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

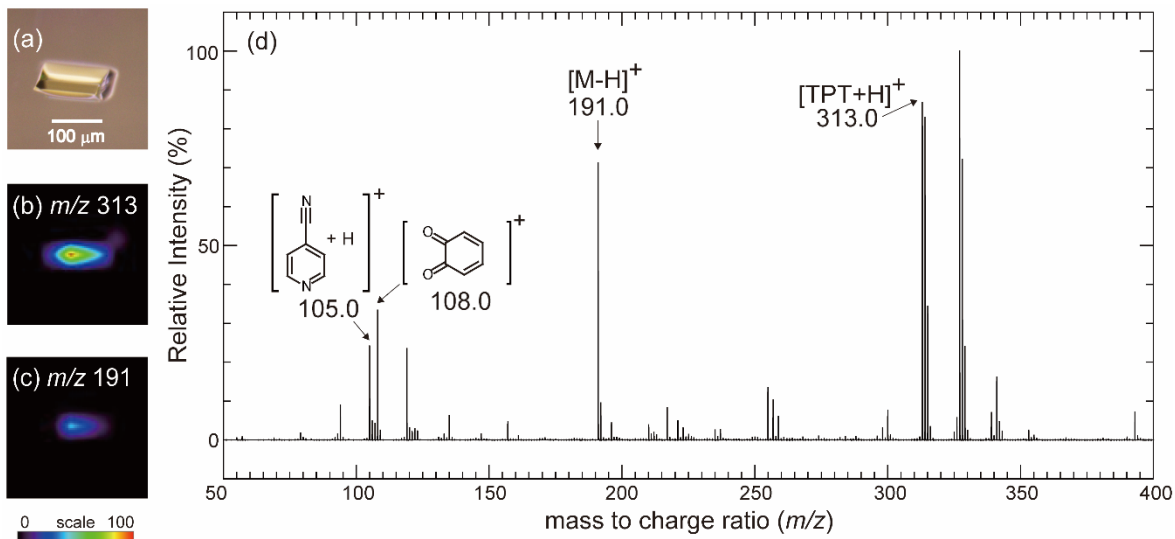


Fig. 76 Piperonyl acetone (6) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT プロトン付加体イオンピークイメーキング, (c) m/z 191 の水素脱離した piperonyl acetone のイオンピークイメーキング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

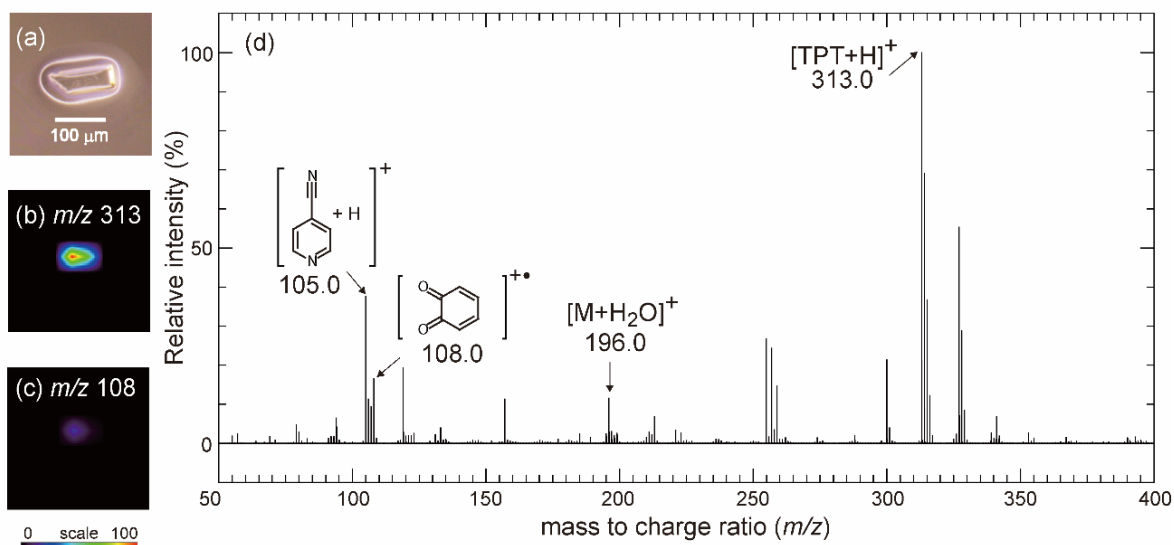


Fig. 77 Piperonyl methyl ketone (**7**) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT プロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 108 の 1,3-benzodioxole 骨格のイオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

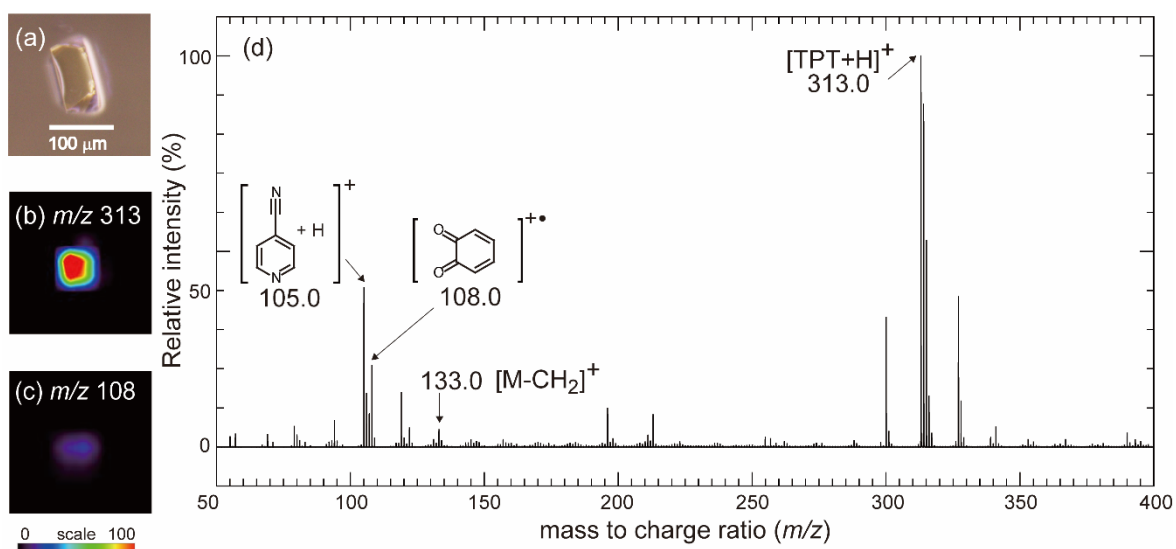


Fig. 78 Piperonylnitrile (**8**) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT プロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 108 の 1,3-benzodioxole 骨格のイオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

4-7. 結晶スポンジ抽出ゲストの ^1H NMR

CSに取り込まれたゲスト量を決定するために、結晶集団（バルク）を用いた抽出実験により、骨格中に含まれる TPT に対するゲスト比を求めた。それらの NMR スペクトルを Fig. 79~82 に示す。また、Table 8 中にそれぞれの TPT に対する割合を示す。具体例として、Fig. 79 の Safrole (**5**) の NMR スペクトルでは、TPT の pyridyl 基に由来する H_α と H_β が 8.9, 8.5 ppm にそれぞれ観測されており、同時に、6.6 ppm 付近に 1,3-benzodioxole 骨格の H シグナルが観測されている。これらの H の積分比を分子数の比へと直すと、safrole/TPT=0.3/1 と求まる。他のゲストは piperonyl acetone (**6**), piperonyl methyl ketone (**7**), piperonylonitrile (**8**) の順に TPT1 分子に対して 1.4, 1.7, 1.8 分子であった。

Table 8 CS抽出ゲストのguest/TPT比

CS	5<CS	6<CS	7<CS	8<CS
NMR (guest/TPT ratio)	0.3	1.4	1.7	1.8

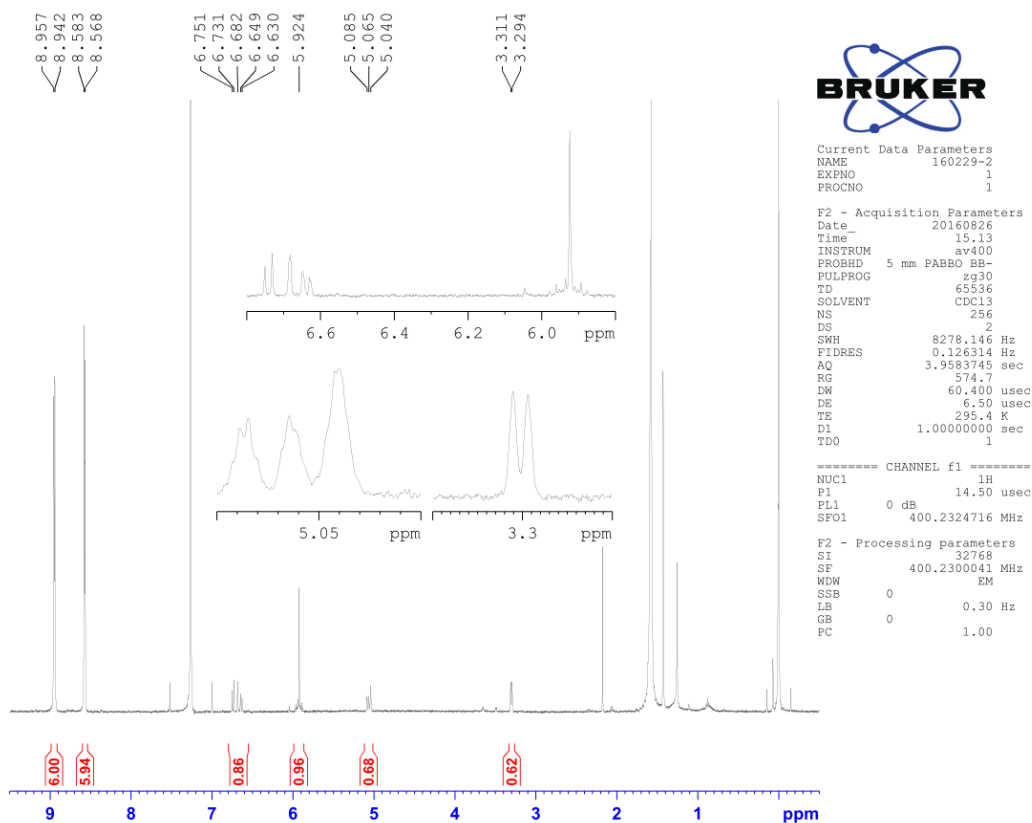


Fig. 79 抽出実験で得た safrole (5) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)

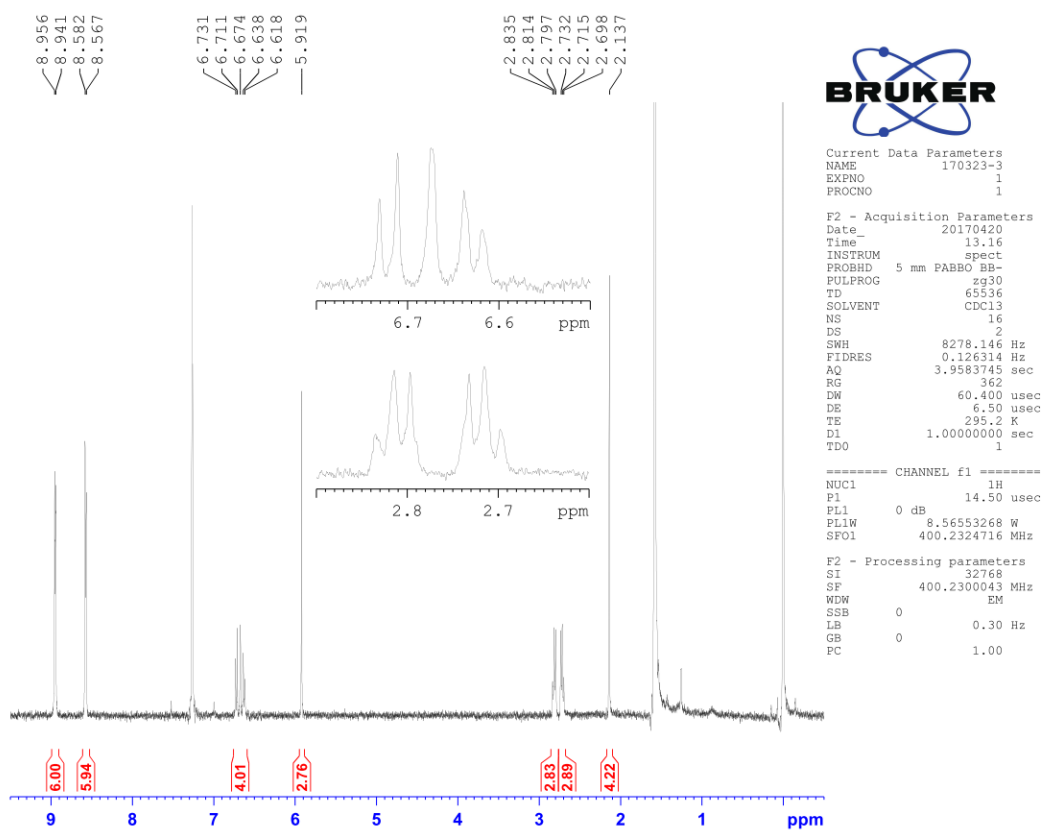


Fig. 80 抽出実験で得た piperonyl acetone (6) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)

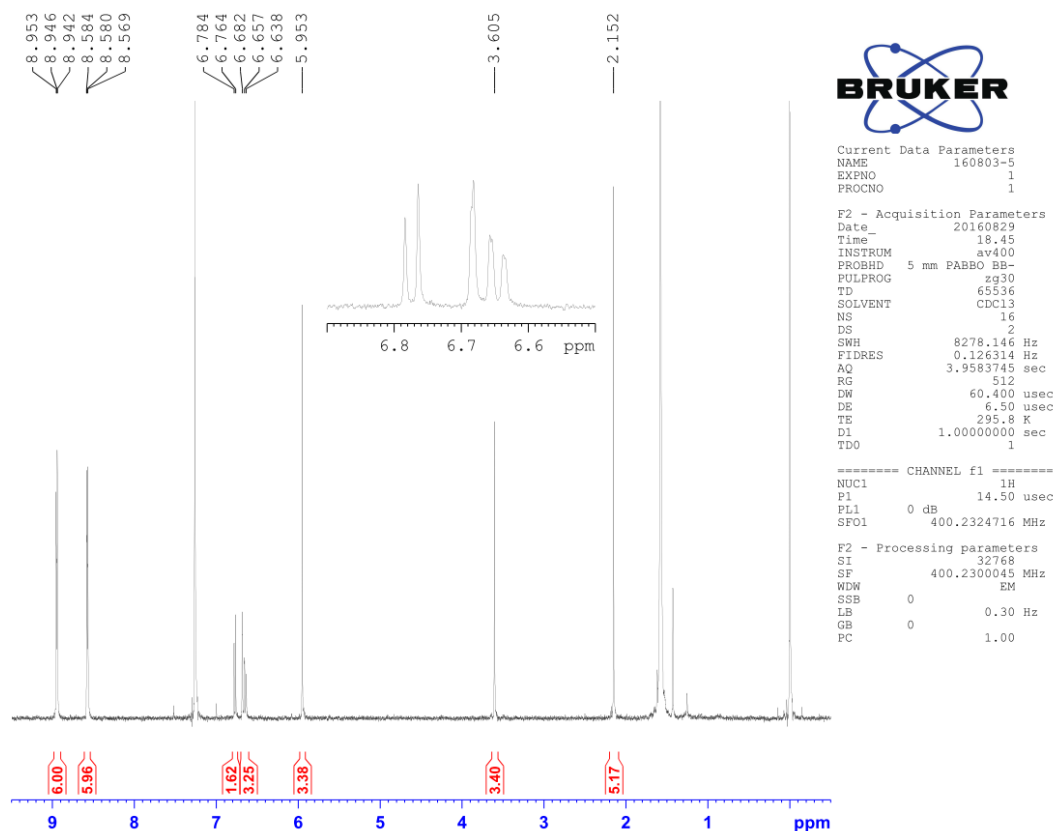


Fig. 81 抽出実験で得た piperonyl methyl ketone (7) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)

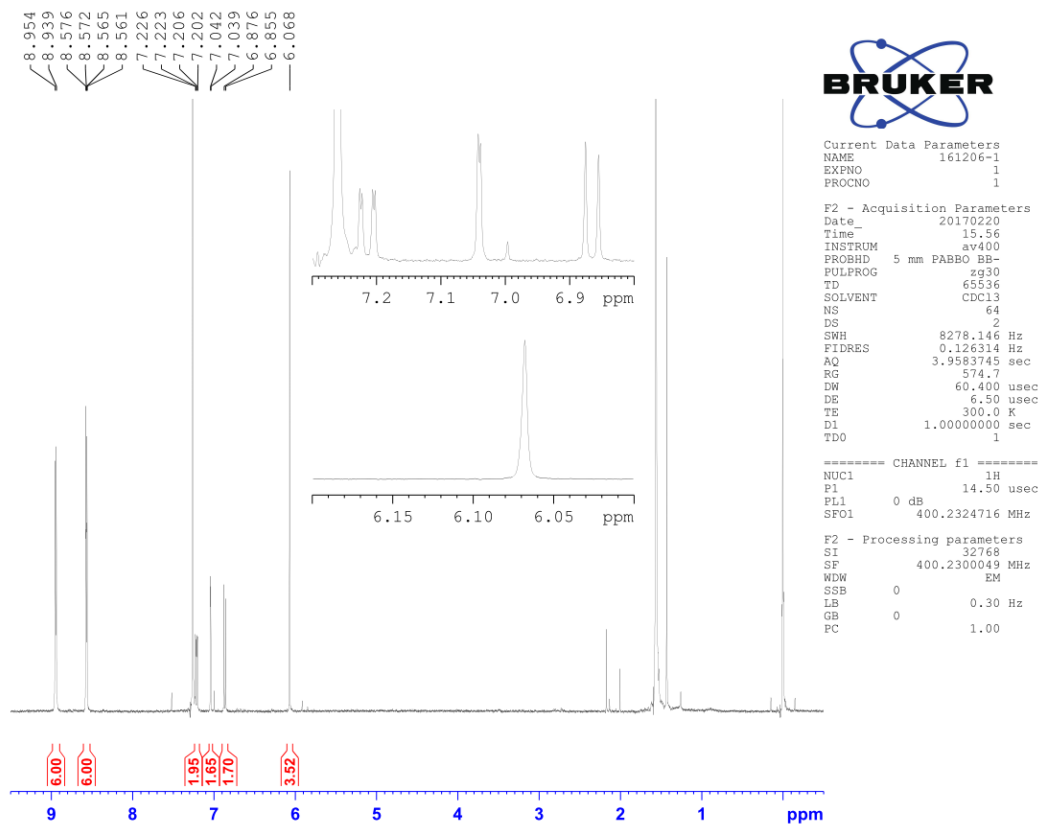


Fig. 82 抽出実験で得た piperonylonitrile (8) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)

4-8. まとめ

CS 内へ四種の 1,3-benzodioxole 誘導体を取り込ませることに成功した。その量は抽出物の $^1\text{H NMR}$ を用いて TPT に対する比を算出すると, safrole, piperonyl methyl ketone, piperonyl acetone, piperonylonitrile の順に 0.3, 1.4, 1.7, 1.8 となった。また結晶構造解析から求めたゲスト量は, 先と同じ順に, 1, 2, 2.5, 2.5 となった。抽出実験による NMR 積分比は結晶構造解析で求めた値より小さかった。結晶構造解析から求めた値は束縛条件や熱温度因子の半径とも相関するので, その誤差は大きい。また, 抽出過程での結晶への吸着や結晶ごとの取り込まれ方の違いのためであると考えられる。さらに, その構造解析の結果から 1,3-benzodioxole 骨格が CS 構成分子 TPT と π - π や CH- π 相互作用していることを確認した。また, 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトルからも CS 骨格とゲスト間の電子的な相互作用を示す吸収が観測された。IMS による分子イオン検出を試みたところ, safrole 包接結晶では弱いながらもヒドリド脱離体が検出された。その他については, piperonyl methyl ketone では分子イオンピークは H_2O の付加体, piperonyl acetone ではヒドリド脱離体, piperonylonitrile では methylene 脱離体としてそれぞれ観測された。また, m/z 108 におけるイオンピークはすべてにおいて観測されている。このイオンピークは, 1,3-benzodioxole 骨格の methylene 脱離したイオンピークであり, この骨格構造をもつ分子の特徴的なピークであることがわかった。一般に MALDI 法では, このような低質量数領域はマトリクスの妨害ピークが生じるため, 分析種のフラグメンテーションを議論することが難しい。一方, CS-LDI-MS ではイオン化場を提供する CS 骨格分子 TPT はほぼ分子イオンピークとフラグメント生成物である 4-cyanopyridine のプロトン付加体を与えることから, レーザーエネルギーが配位結合の解離およびゲストのイオン化へのエネルギーへと変換されていると考えられる。MALDI 法では低質量数領域にマトリクス由来の夾雑ピークが多数生じるが, 本手法では, そのようなピークがほとんどないため, 分析種フラグメントイオンを検出することができた。本章では, CS 内へ四つの異なる 1,3-benzodioxole 誘導体を取り込み, 単結晶 X 線構造解析, 次いで質量分析を行った。CS 内へは今回用いたすべての 1,3-benzodioxole

誘導体を取り込まれた。取り込まれたゲストの構造解析，固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトルから CS 内におけるゲスト分子の位置のみならず，相互作用の有無を明らかにした。CS 骨格分子やハロゲンと 1,3-benzodioxole 骨格は弱い相互作用を多点で生じていることがわかった。次に IMS によって分析種の分子イオン検出を行ったところ，piperonyl acetone においては比較的明瞭なイオンピークが観測された。他の分析種では，小分子の付加体および脱離体として観測された。同時に m/z 108 にて 1,3-benzodioxole 骨格に共通で生じるイオンの存在を明らかにした。

第五章 大環状化合物の分析

5-1. はじめに

本章では芳香族化合物の取り込みだけでなく *cyclohexane* のような環状炭化水素の CS 内取り込みも起こりうることから、より大きな単環化合物について取り込まれるか検討を行ったところ、静電的相互作用がない場合においても取り込まれることを見出した。これまでと同様に単結晶 X 線構造解析により CS 内での分子の包接状態を確かめ、次いで同一の結晶を用いて LDI-MS を行った。それらの包接状態とイオン化の相関について調べた。

5-2. 大環状化合物の結晶スポンジ取り込み

ゲスト分子として Table 9 に示す化合物 (9-11) を選定した。具体的には 5 員環をもつ 1,2,3,4,5-pentamethylcyclopentadiene (以下 Cp*H), 11 員環をもつ (2*E*,6*E*,10*E*)-2,6,9,9-tetramethylcycloundeca-2,6,10-triene-1-one (以下 zerumbone), 15 員環をもつ (*RS*)-3-methylcyclopentadecanone (以下 muscone) について取り込みを検討した。

Cp*H (9) の結晶スポンジへの取り込み

CS (X = I) の入った試験管から *cyclohexane* 溶媒を取り除き, Cp*H (0.87 g/mL) 1 mL に結晶を浸し, 7 日間静置して Cp*H の取り込みを行った。

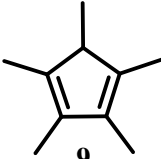
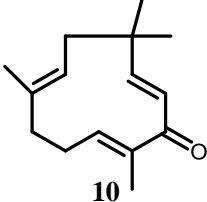
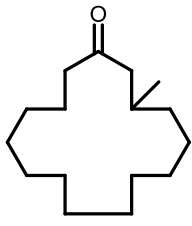
Zerumbone (10-I, 10-II) の結晶スポンジへの取り込み

Cyclohexane 1.0 mL に zerumbone (5.0 μ mol) 1.1 mg を加え, 5.0 mM zerumbone *cyclohexane* 溶液を調製した。CS (X = Cl) の入った試験管から *cyclohexane* 溶媒を取り除き, zerumbone *cyclohexane* 溶液 1.0 mL を加えた。7 日間静置して zerumbone の取り込みを行った。

Muscone (**11-I**, **11-II**, **11-III**) の結晶スポンジへの取り込み

Cyclohexane 1.0 mL に muscone (20 μmol , 0.92 g/mL) 5.2 μL を加え, 20.0 mM muscone cyclohexane 溶液を調製した. CS (X = Cl) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, 20.0 mM muscone cyclohexane 溶液 1.0 mL を加えた. 7 日間静置して muscone の取り込みを行った.

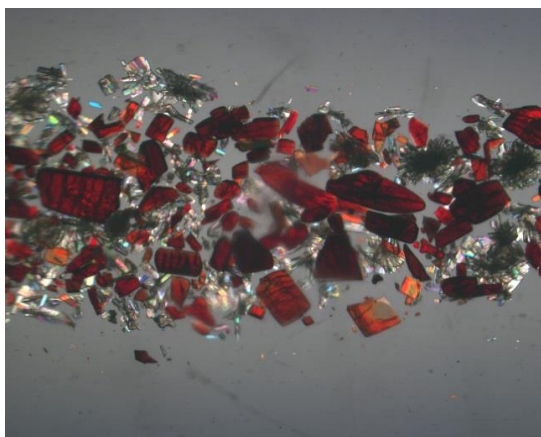
Table 9 取り込みゲストの構造式, 分子量, および常温常圧下における状態

ゲスト名	構造式	組成式	分子量 [g/mol]	性状
Cp*H (5 員環)	 9	C ₁₀ H ₁₆	136.24	液体 m.p. —
Zerumbone (11 員環)	 10	C ₁₅ H ₂₂ O	218.33	固体 m.p. 64.5°C ¹⁵⁶
Muscone (15 員環)	 11	C ₁₆ H ₃₀ O	238.42	液体 m.p. -15°C ¹⁵⁷

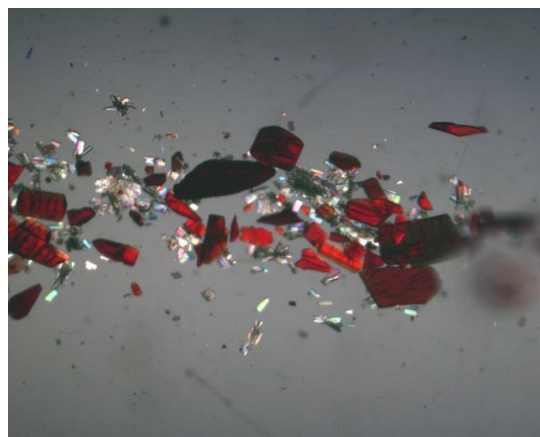
5-3. 大環状化合物包接結晶スポンジの色の経時変化

細孔内に cyclohexane を包接した CS は光学的に無色透明に近い。ゲスト溶液に CS を浸漬させた際の結晶色変化を追った (Fig. 83~88)。ゲスト溶液に CS を浸す前を 0 day (before) , 浸した直後を 0 day (after) とし, 7 日目までの写真を示す。Cp*H (9) 取り込み溶液において, CS は浸漬後すぐに透明赤色を示した。一週間経つと, その色味はやや強くなると同時にヒビが結晶に見受けられるものが多数あった (Fig. 83)。それ以外について, ゲスト溶液浸漬後すぐに色変化を示すことはなかった。Zerumbone (10) や muscone (11) の環状化合物ゲスト溶液では一週間で明確な色変化はみられなかった。結晶表面や内部へのヒビも現れず, 結晶性が保たれていた。さらに詳細を調べるため固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル変化を調べた。

0 day (after)



1 day



4 day



5 day



6 day



7 day

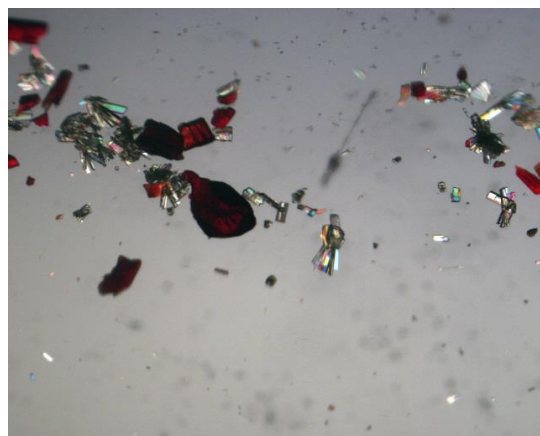
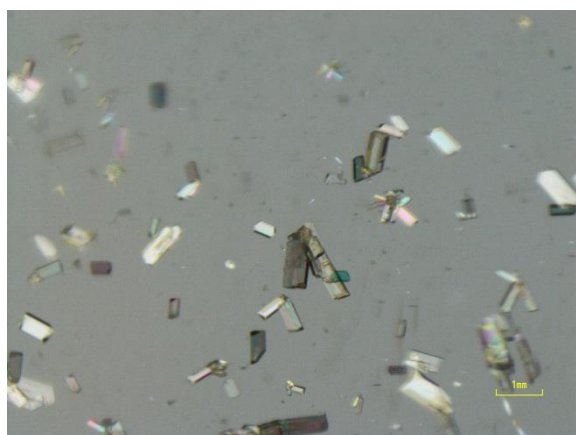
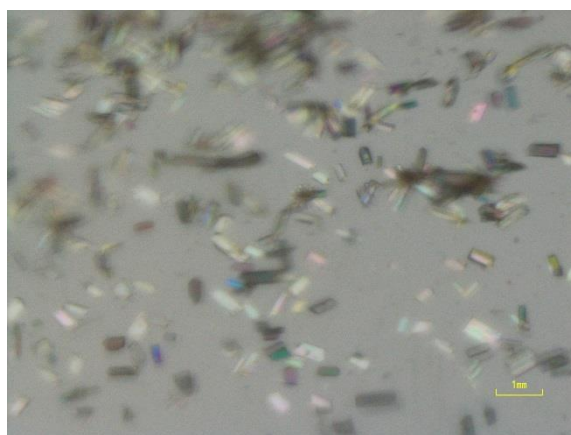


Fig. 83 Cp*H (9) の CS 取り込み色の経時変化

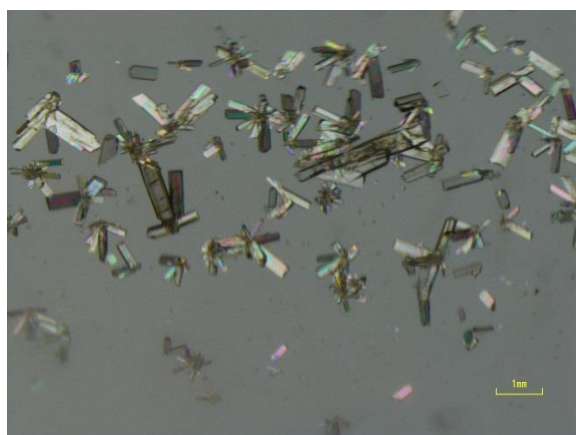
0 day (after)



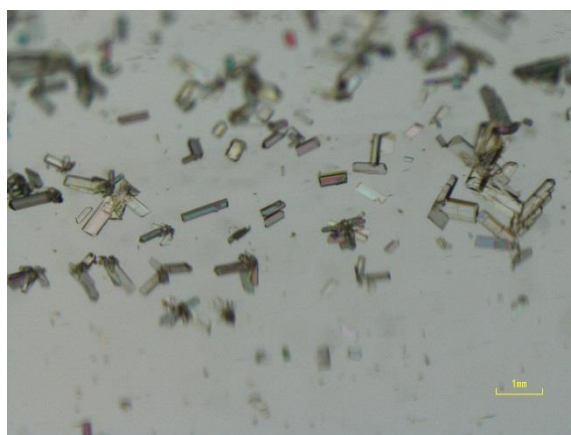
1 day



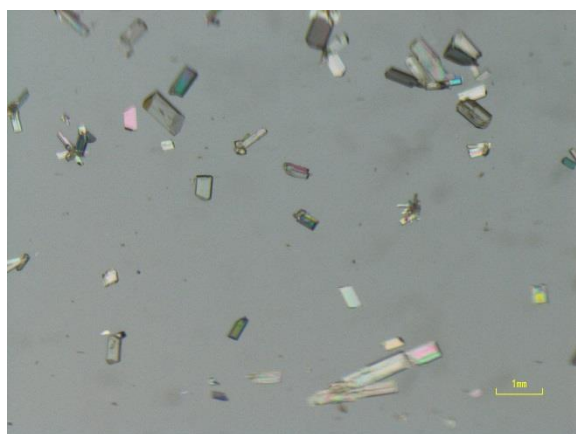
2 day



3 day



4 day



7 day

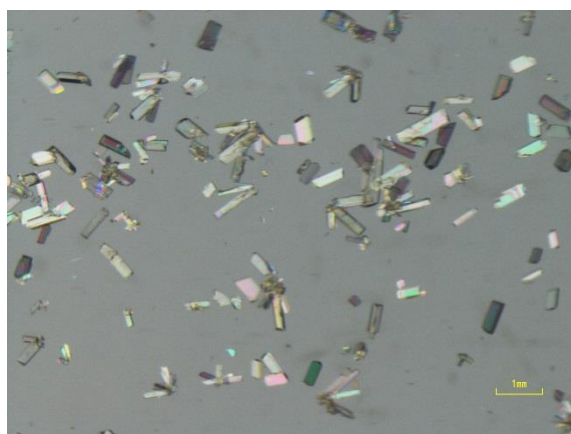
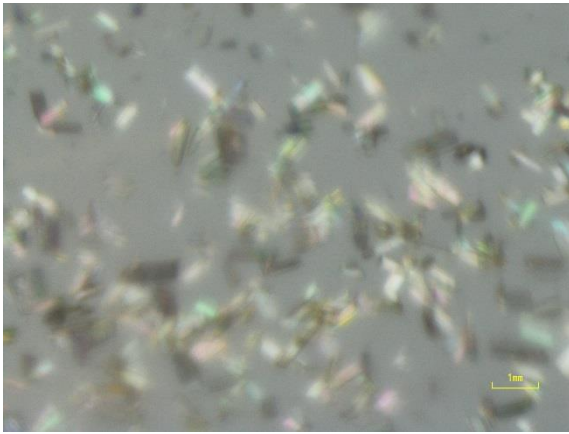
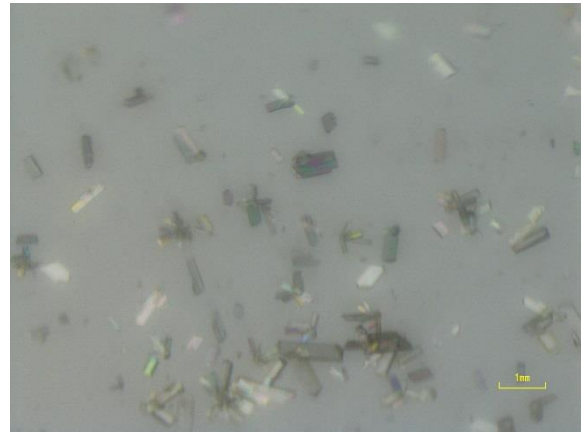


Fig. 84 Zerumbone (10-I) の CS 取り込み色の経時変化

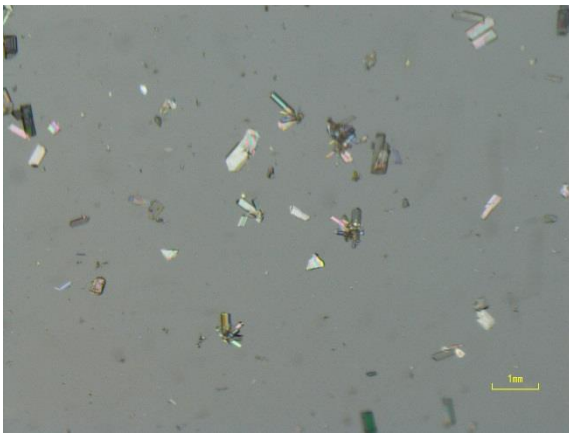
0 day (after)



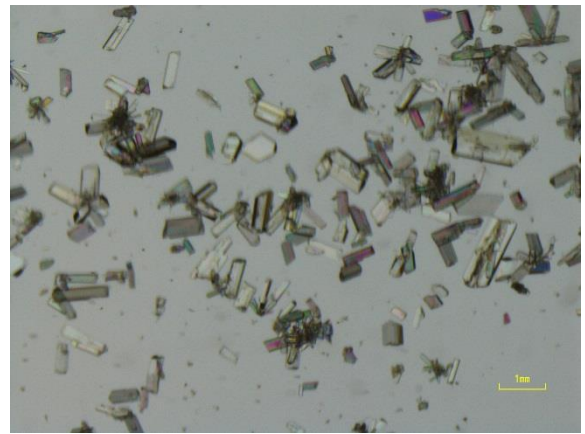
1 day



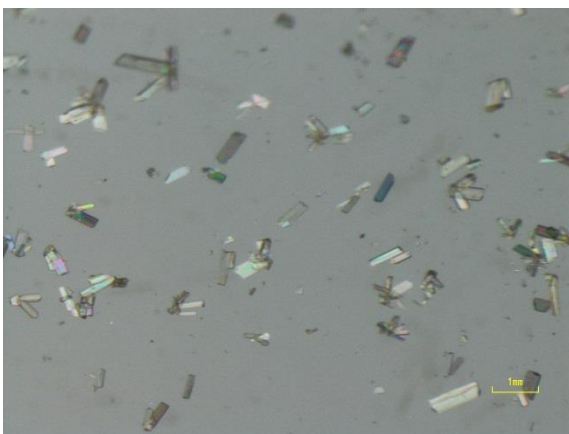
2 day



3 day



4 day



7 day

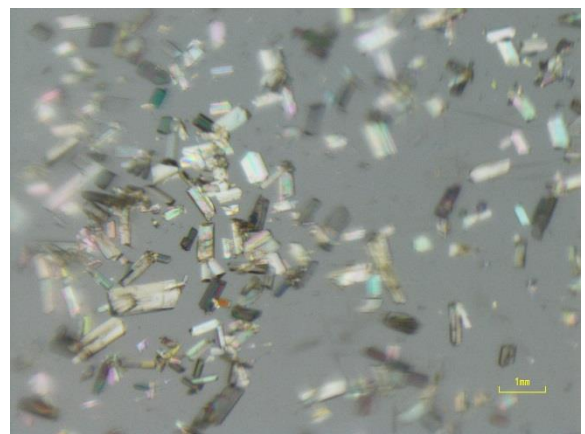
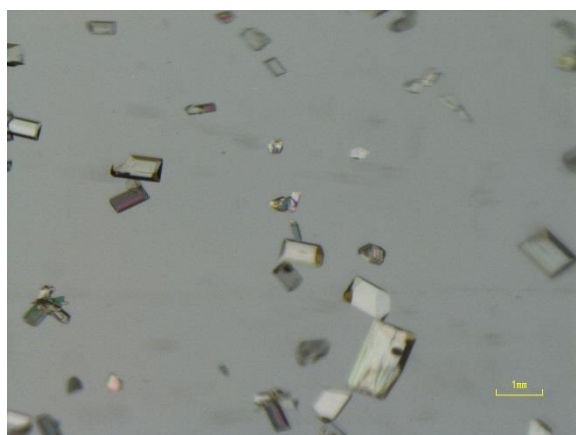
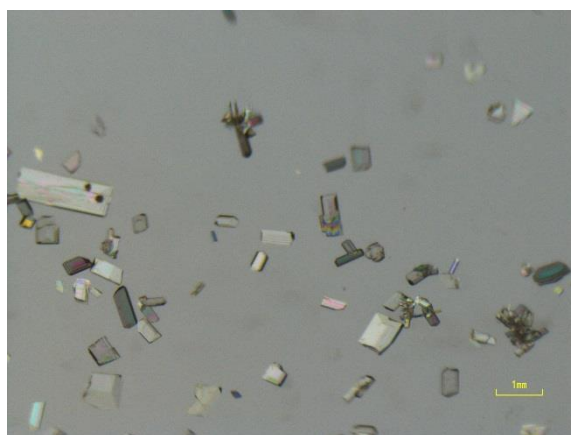


Fig. 85 Zerumbone (10-II) の CS 取り込み色の経時変化

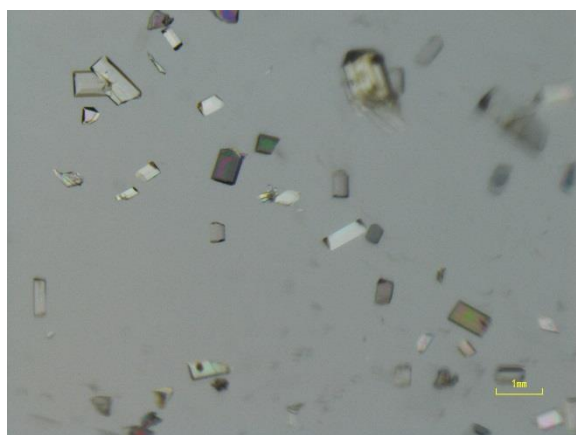
0 day (before)



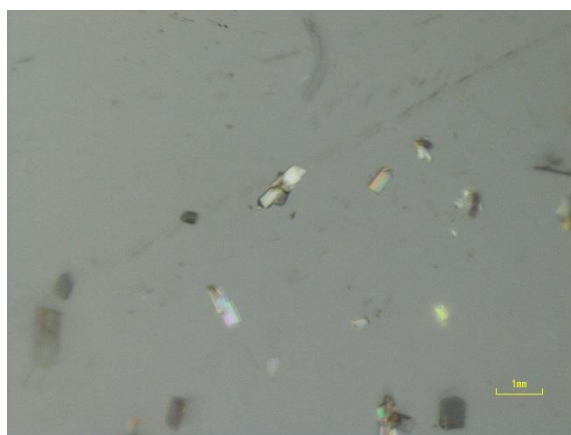
0 day (after)



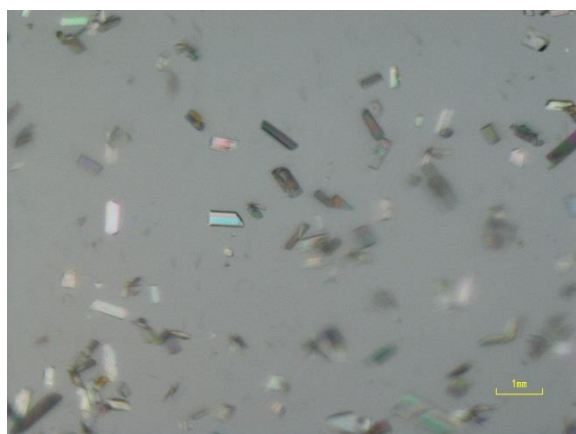
1 day



4 day



5 day



7 day

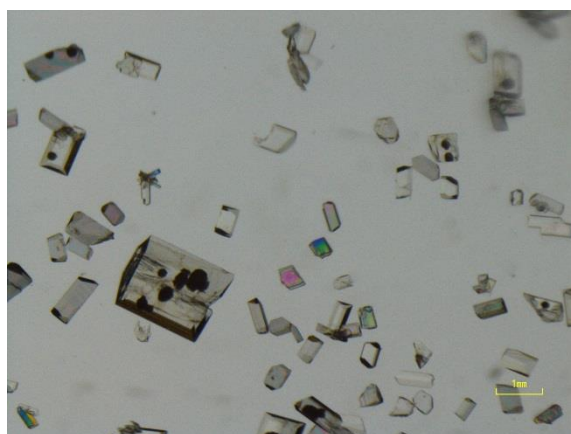
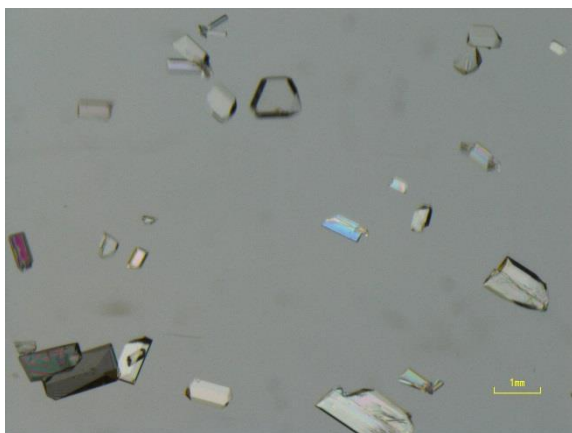
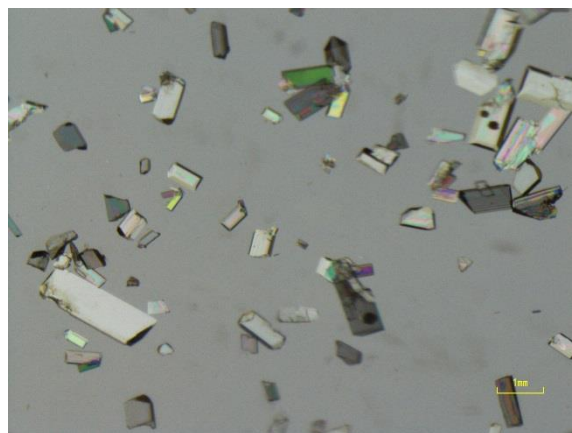


Fig. 86 Muscone (11-I) の CS 取り込み色の経時変化

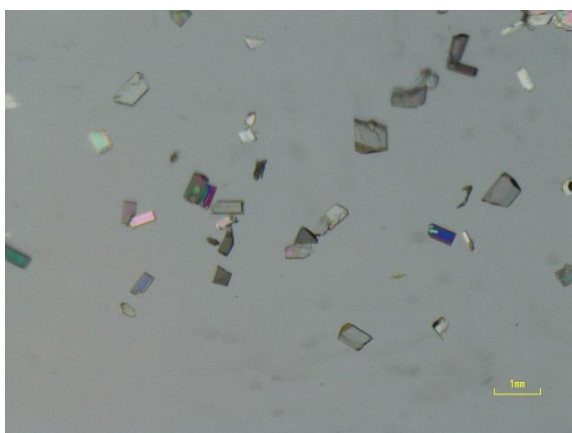
0 day (before)



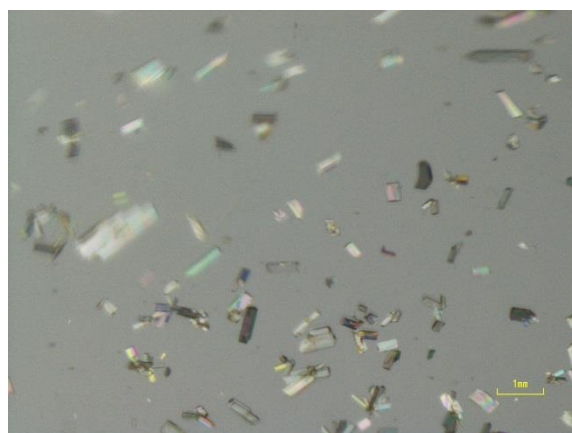
0 day (after)



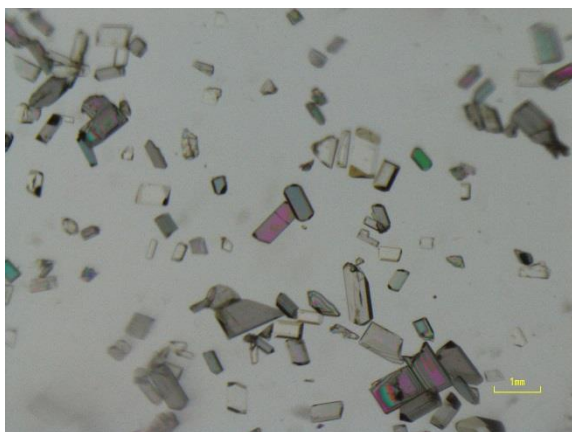
1 day



4 day



5 day



7 day

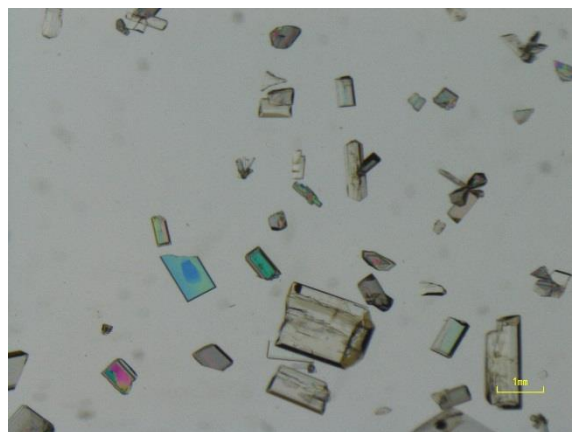
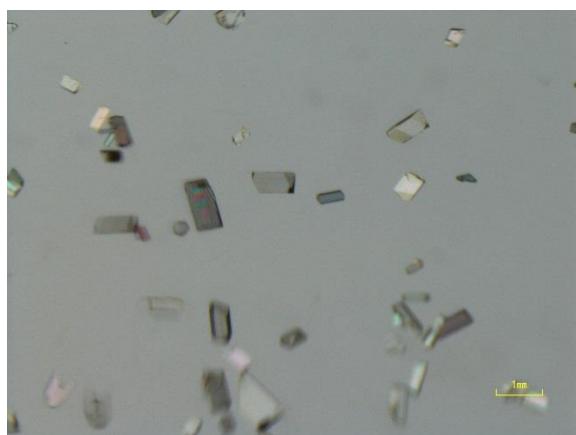
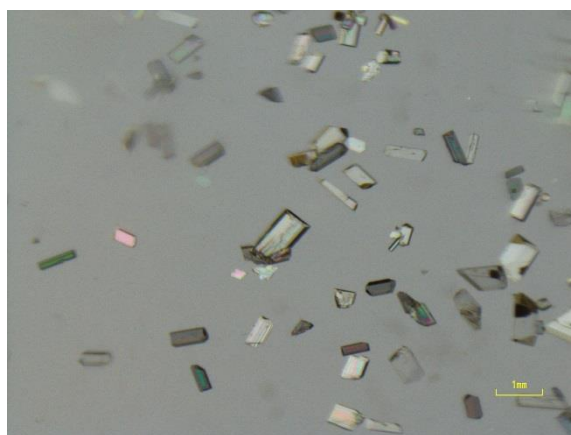


Fig. 87 Muscone (11-II) の CS 取り込み色の経時変化

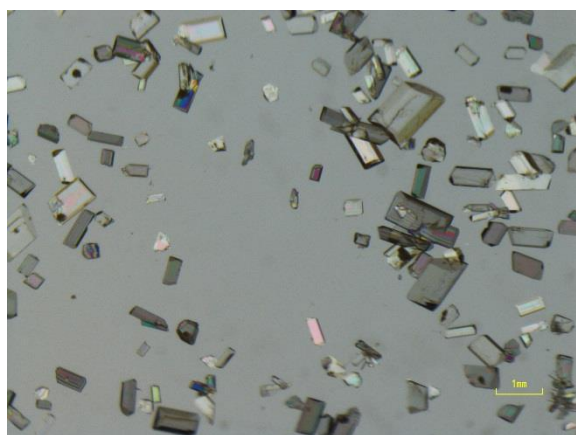
0 day (before)



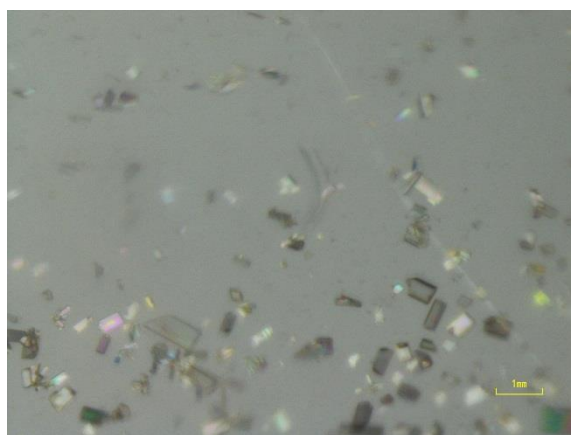
0 day (after)



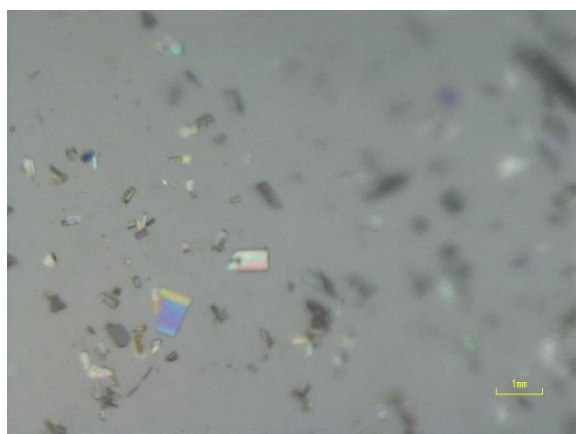
1 day



4 day



5 day



7 day

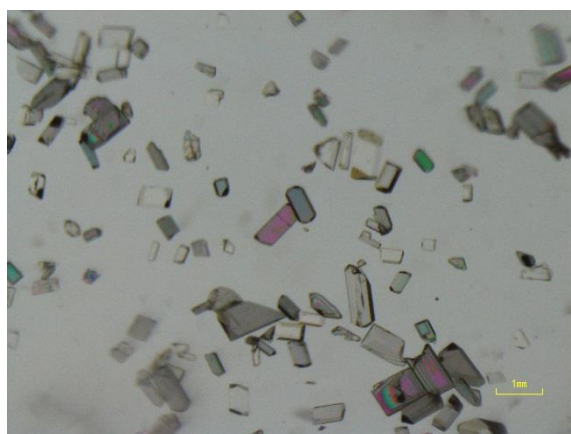


Fig. 88 Muscone (11-III) の CS 取り込み色の経時変化

5-4. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル

ゲストを包接した CS の固体拡散反射吸収スペクトルを Fig. 89 に示す. また, 比較としてゲスト取り込み前の cyclohexane が包接された CS についてもあわせて示す. 大環状である zerumbone (11 員環) と muscone (15 員環) を用いた CS では 370 nm から短波長側へかけて緩やかに吸収が存在する. この吸収帯は cyclohexane を包接した CS でも同様にみられることから, zerumbone および muscone はナノ細孔内で骨格と静電的相互作用がないと考えられる. Cp*H では 500~600 nm 付近の長波長領域に吸収が観測された. これは 5 員環 diene という電子的に豊富な特徴を有するため, CS との π - π 相互作用を有しているためと考えられる.

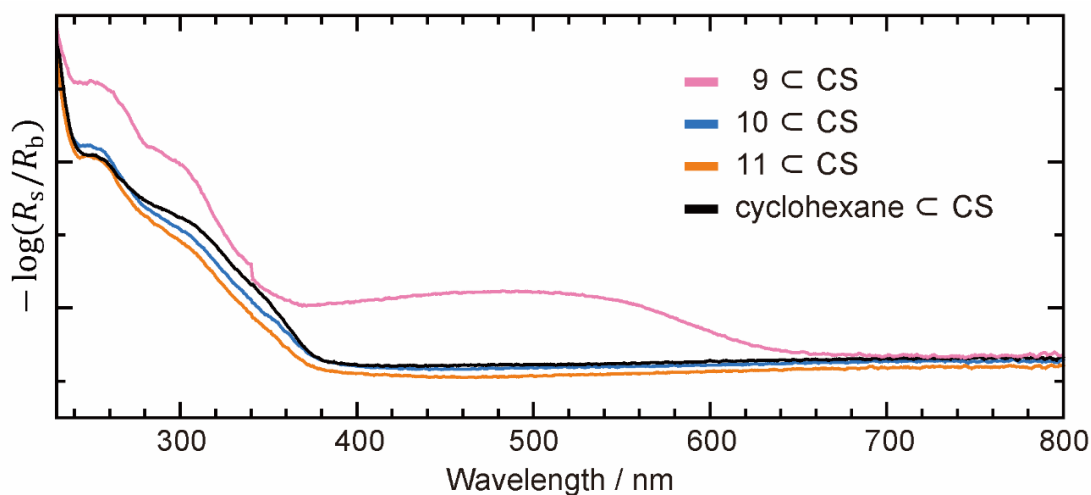


Fig. 89 ゲスト包接 CS の固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル, $[(\text{ZnCl}_2)_3(\text{TPT})_2 \cdot x(\text{G})]_n$

R_s を試料の反射強度, R_b を標準材料の反射強度とし, 縦軸は $-\log R_s/R_b$ とした.

5-5. 大環状化合物包接結晶スポンジの単結晶 X 線構造解析

取り込みを行った後、単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選び、回折測定および単結晶 X 線構造解析を行った。Table 10~11 に結晶学的パラメーターおよび解析精度を示す。その結果から、XcCS (X = 9, 10-I, 10-II, 11-I, 11-II, 11-III) について、細孔内におけるゲストの存在を明らかにした。それぞれの構造解析結果の詳細について示す

9cCS

細孔内に独立分子として 5 分子 (A, B, D, E, F) および対称中心近傍に 0.5 分子 (G) 存在した。B と F, D と E 分子は disorder のため互いに同じ空間を占めており、その占有率はそれぞれ 68% と 32%, 69% と 31% となった。また、存在確率 30% での異方性温度因子を Fig. 90~91 に示す。細孔内に存在する Cp*H 分子は disorder していたが、後述するように CS 骨格と相互作用を有するため比較的明確にモデル構造を分けて解析できた。B, F と D, E を Fig. 92 (a) に示す。そのうちの一つである B は CS 骨格に含まれる TPT の triazine と π - π 相互作用 (C7B-C21 3.392 Å) していた (Fig. 92 (b))。また F は pyridyl 基と methyl 基が CH- π 相互作用 (C6F-C3, 3.38 Å) していた。A, D, E, F および G について、CS 骨格分子との有意な相互作用距離にあるものは観察されなかった。

10-IcCS, 10-IIcCS

Zerumbone に関しては二つの CS の単結晶 X 線構造解析を行った。

10-IcCS について、細孔内に独立分子として 1 つの zerumbone 分子と 5.5 分子 (G, H, I, J, L, K) の cyclohexane 分子が存在した。zerumbone 分子は対称心上にあり、且つ、cyclohexane J 分子と disorder していた (Fig. 95 (b))。そのため、zerumbone 分子の占有率は 34% であり、cyclohexane J 分子は 42% となった。また、存在確率 30% での異方性温度因子を Fig. 93~94 に示す。Fig. 95 (c) に示すように、CH- π , halogen- π などの非共有結合の存在や、ゲストと骨格との相互作用はみられなかった。一方、ゲストは TPT

で囲まれた狭い空間にとどまっていた。

もう一方の **10-IIcCS** について、細孔内に独立分子として 1 つの **zerumbone** 分子と 7.5 分子の **cyclohexane** 分子が存在した。**zerumbone** 分子は対称心上にあり自身とかさなっていた。さらに、**zerumbone** 分子は **cyclohexane** 分子 M と disorder しており、その占有率は 50% ずつとなった。また、存在確率 30% での異方性温度因子を Fig. 96~97 に示す。この二つの構造精密化の際にはいくつかの束縛条件を適用した。例えば、**DFIX**、**SIME** および **DELU** をゲスト分子に適用した。これらの束縛条件は、細孔内のゲストの物理的自由度は維持される (Fig. 98)。そのような条件下で、環の離れた炭素同士が互いに衝突することなく環を閉じるように、**TPT** 分子が形成する空間に収まっている様子がわかった。

11-IcCS, 11-IIcCS, 11-IIIcCS

Muscone に関しては三つの **CS** の単結晶 X 線構造解析を行った。

11-IcCS の存在確率 30% での異方性温度因子を Fig. 99~100 に示す。**11-IcCS** では細孔内に独立分子として一つの **muscone** 分子と三つ **cyclohexane** 分子 (G, H, I) が存在した。**muscone** 分子は、Fig. 101 (a) に示すように対称心上で disorder していた。そのため、**muscone** 分子の占有率は 50% であった。**Cp*H** および **zerumbone** と比較して、**muscone** は 15 員環に飽和結合を有さず、置換基が少ないため、自由度が他のゲストよりも相対的に高い。細孔内に存在する **muscone** 分子の温度因子は **CS** のそれと比べて若干大きく、**methylene** 鎖の正確な位置を決定することは困難であった。Fig. 101 (b) に示すように、**muscone** が細孔内に取り込まれた位置は **zerumbone** の場合と異なった。しかしながら、**zerumbone** と同様に、**CS** 骨格分子である **TPT** によって囲まれた空間のうち特に狭いところへ、**muscone** が挟まるように観測されており、形状が認識されているといえる。

また、**11-IIcCS**、**11-IIIcCS** について、同様に空間で収まっている様子が確かめられたが **zerumbone** よりもさらに自由度が高い **muscone** では同じ空間における環の収まりかたはすべて異なっていた (Fig. 102~105)。

Table 10 Cp*H (9), zerumbone (10-I, 10-II) の結晶学的パラメーターおよび解析精度

Guest and CS	9cCS	10-IcCS	10-IIcCS
Formula	C ₇₁ H ₈₀ I _{6.0} N ₁₂ Zn _{3.0}	C ₆₀ H ₆₈ Cl _{6.0} N ₁₂ O _{0.30} Zn _{3.0}	C ₆₈ H ₈₃ Cl _{6.0} N ₁₂ O _{0.50} Zn _{3.0}
Crystal system	<i>Monoclinic</i>	<i>Monoclinic</i>	<i>Monoclinic</i>
Space group	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>
<i>a</i> (Å)	33.7917(17)	32.7222(18)	32.7082(17)
<i>b</i> (Å)	15.1571(6)	14.4377(7)	14.4816(6)
<i>c</i> (Å)	31.8176(14)	30.3158(15)	30.4226(13)
β (°)	101.239(4)	99.520(4)	99.836(3)
<i>V</i> (Å³)	15983.9(13)	14124.9(13)	14198.4(11)
θ range (°)	3.206-69.925	3.572-65.374	3.561-69.493
<i>Z</i>	8	8	8
Density (g/cm³)	1.711	1.342	1.384
Temperature (K)	100	100	100
μ (mm⁻¹)	19.599	3.64	3.643
<i>F</i> (000)	7984	5913	6144
index ranges	-40 ≤ <i>h</i> ≤ 40	-38 ≤ <i>h</i> ≤ 38	-35 ≤ <i>h</i> ≤ 35
<i>h, k, l</i>	-18 ≤ <i>k</i> ≤ 18	-14 ≤ <i>k</i> ≤ 15	-17 ≤ <i>k</i> ≤ 17
	-38 ≤ <i>l</i> ≤ 38	-35 ≤ <i>l</i> ≤ 35	-36 ≤ <i>l</i> ≤ 36
Crystal size (mm³)	0.31×0.19×0.11	0.11×0.09×0.04	0.15×0.11×0.08
Total reflections	77594	63472	68442
Unique reflections	14472	11606	12601
<i>R</i>_{int}	0.0407	0.0742	0.0477
Completeness	0.973	0.958	0.961
data	14472	11606	12061
restrains	609	474	617
parameters	1035	956	1094
GoF (%)	1.833	1.065	0.643
<i>R</i>₁/<i>wR</i>₂(<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>))	0.0659/0.2272	0.0747/0.2212	0.0605/0.1678
<i>R</i>₁/<i>wR</i>₂	0.0772/0.2396	0.0931/0.2513	0.0713/0.1908
CCDC	1870099	1870095	1870096

Table 11 Muscone (11-I, 11-II, 11-III) の結晶学的パラメーターおよび解析精度

Guest and CS	11-I \subset CS	11-II \subset CS	11-III \subset CS
Formula	C ₆₂ H ₇₅ Cl _{6.0} N ₁₂ O _{0.50} Zn _{3.0}	C ₆₂ H ₇₄ Cl ₆ N ₁₂ O _{0.05} Zn _{3.0}	C ₆₂ H ₇₅ Cl ₆ N ₁₂ O _{0.50} Zn _{3.0}
Crystal system	<i>Monoclinic</i>	<i>Monoclinic</i>	<i>Monoclinic</i>
Space group	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>
<i>a</i> (Å)	31.6267(17)	31.6612(17)	31.6354(15)
<i>b</i> (Å)	14.3909(6)	14.3589(6)	14.3676(5)
<i>c</i> (Å)	30.9716(13)	30.9517(13)	30.9363(12)
β (°)	98.107(3)	97.985(3)	97.991(3)
<i>V</i> (Å³)	13955.4(11)	13934.8(11)	13924.8(10)
θ range (°)	3.752-65.358	2.883-65.288	2.82165.313
<i>Z</i>	8	8	8
Density (g/cm³)	1.338	1.339	1.340
Temperature (K)	100	100	100
μ (mm⁻¹)	3.678	3.683	3.686
<i>F</i> (000)	5816	5808	5812
index ranges	-37 $\leq h \leq$ 35	-37 $\leq h \leq$ 37	-37 $\leq h \leq$ 37
<i>h, k, l</i>	-16 $\leq k \leq$ 16	-16 $\leq k \leq$ 15	-16 $\leq k \leq$ 16
	-36 $\leq l \leq$ 35	-35 $\leq l \leq$ 36	-35 $\leq l \leq$ 36
Crystal size (mm³)	0.21 \times 0.11 \times 0.06	0.25 \times 0.14 \times 0.10	0.14 \times 0.07 \times 0.03
Total reflections	65048	62661	66495
Unique reflections	11808	11733	11819
<i>R</i>_{int}	0.0378	0.0454	0.0442
Completeness	0.984	0.981	0.989
data	11808	11733	11819
restrains	354	354	329
parameters	830	830	829
GoF (%)	1.666	1.042	1.012
<i>R</i>₁/<i>wR</i>₂ (<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>))	0.0550/0.193	0.0555/0.155	0.0510/0.146
<i>R</i>₁/<i>wR</i>₂	0.0609/0.201	0.0615/0.163	0.0611/0.155
CCDC	1870097	1870094	1870098

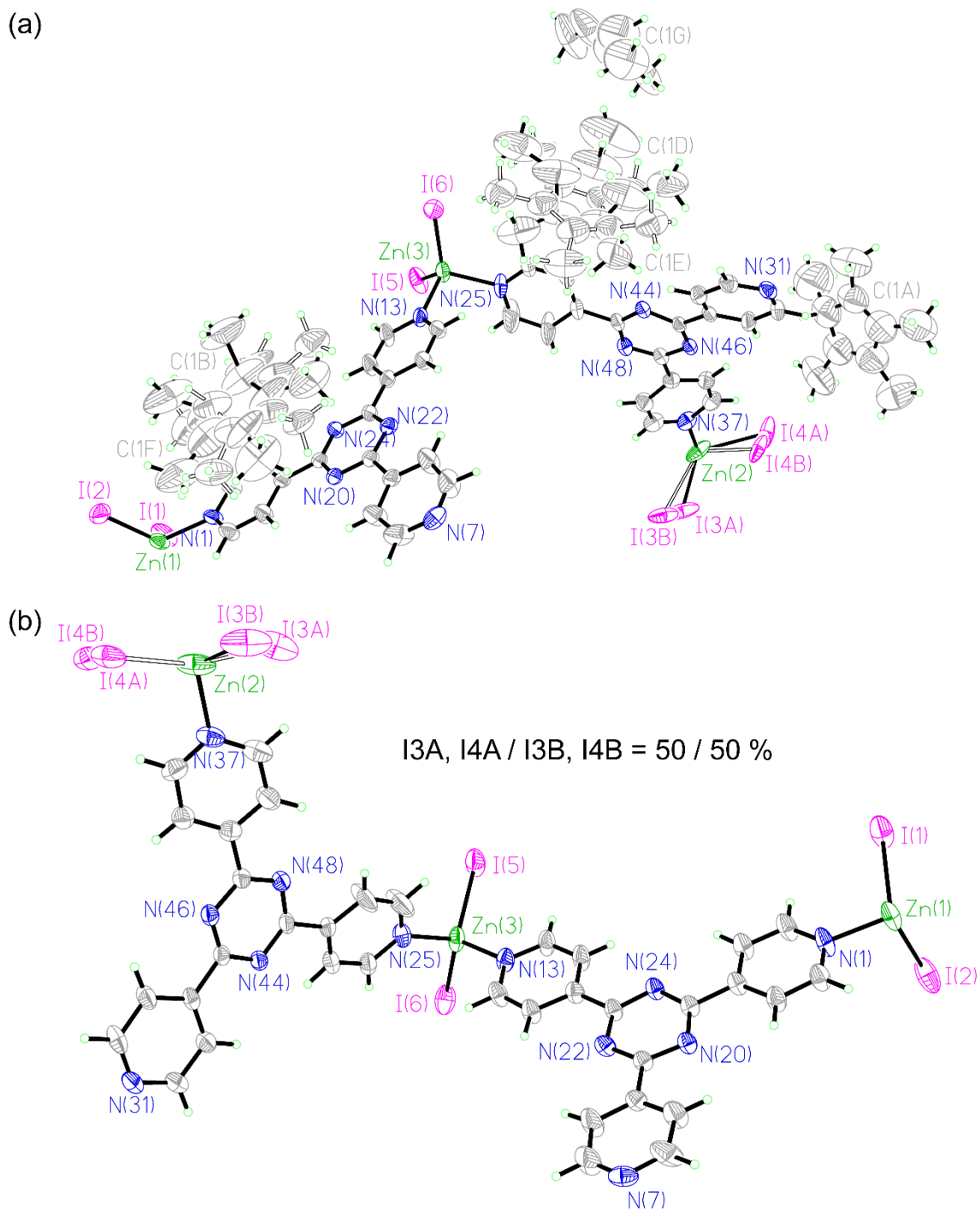


Fig. 90 Cp*H (9) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

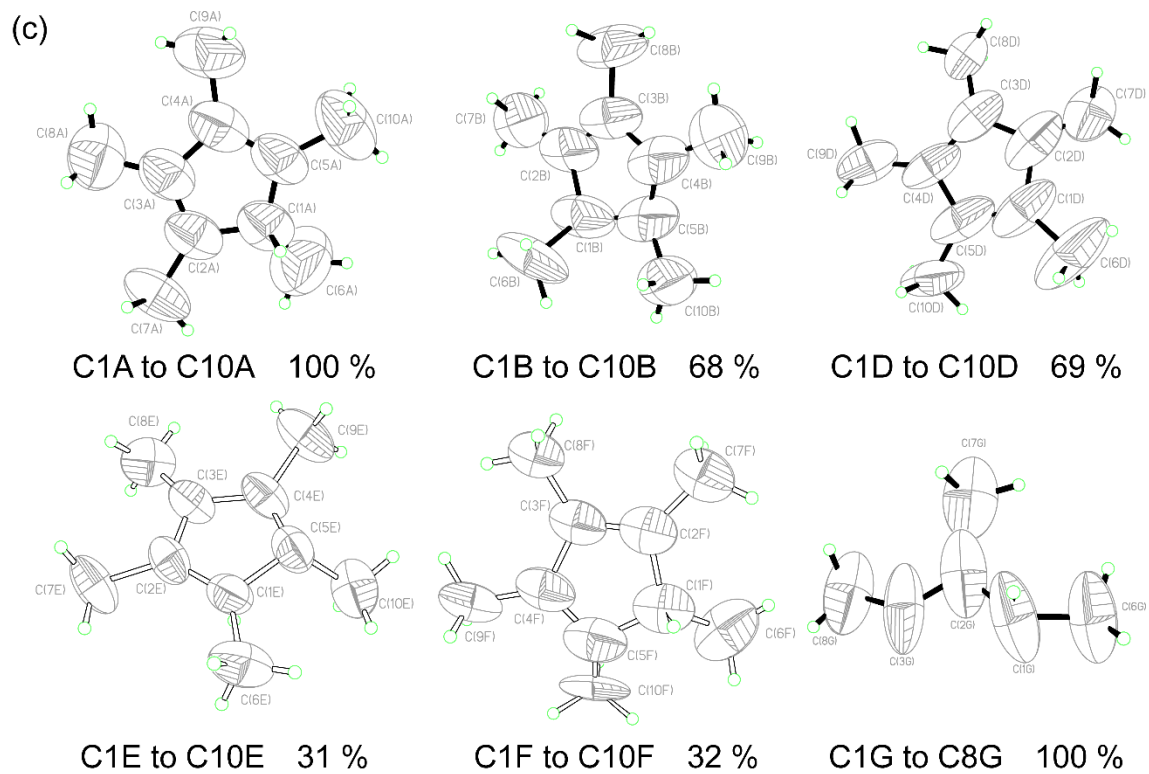


Fig. 91 Cp*H (9) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(c) Cp*H 分子 (A, B, C, D, E, F, G)

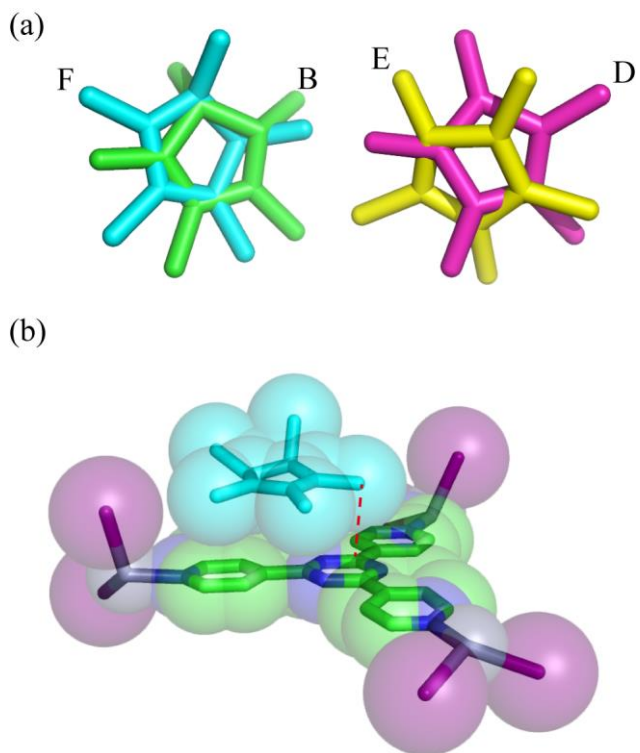


Fig. 92 Cp*H (9) の構造解析

(a) Disorder したゲスト分子 (B, F と D, E) (b) F 分子と CS 骨格間の π - π 相互作用

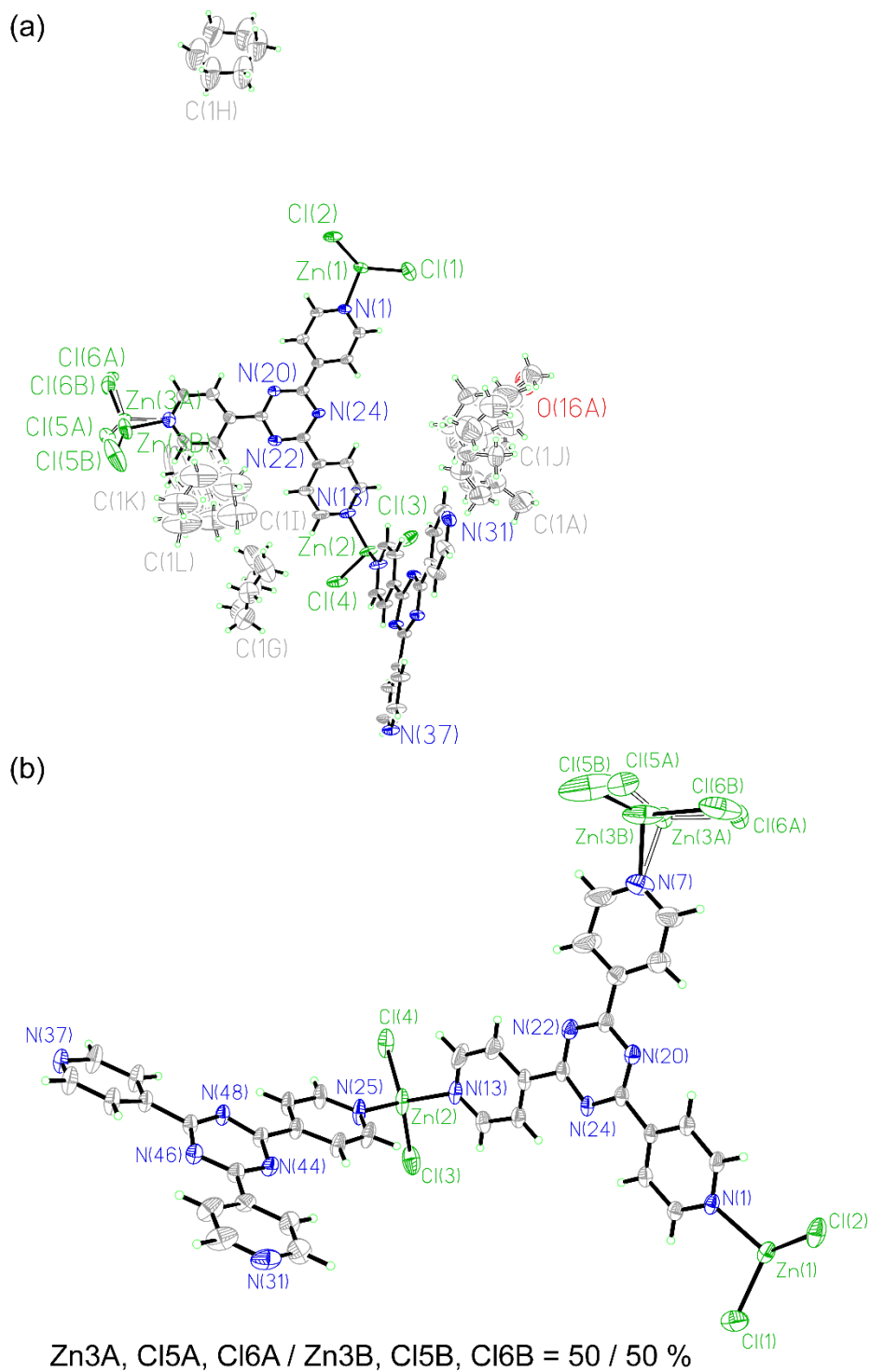


Fig. 93 Zerumbone (10-I) の ORTEP 図 (存在確率 30% 表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

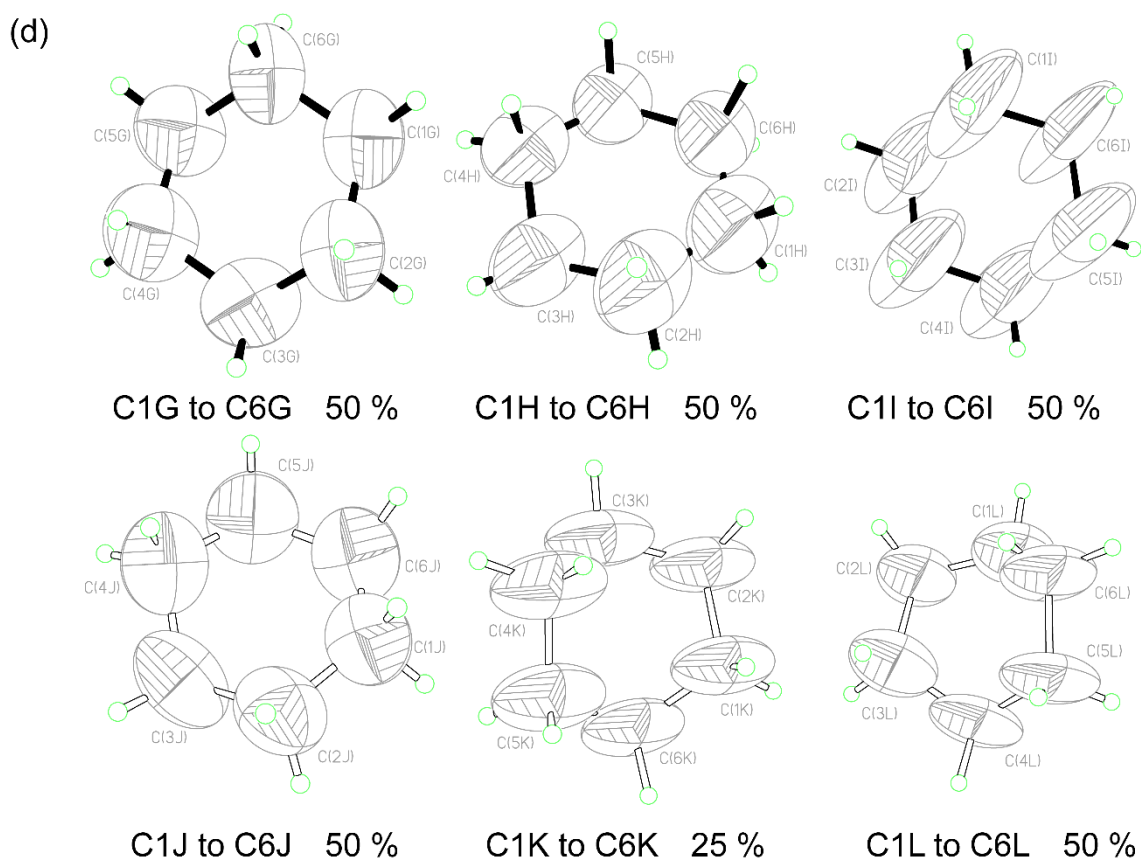
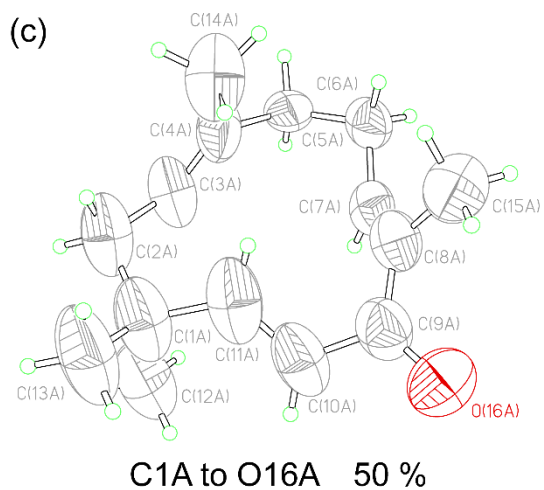


Fig. 94 Zerumbone (10-I) の ORTEP 図 (存在確率 30% 表示)

(c) Zerumbone (10-I) 分子 (d) Cyclohexane (G, H, I, J, K, L)

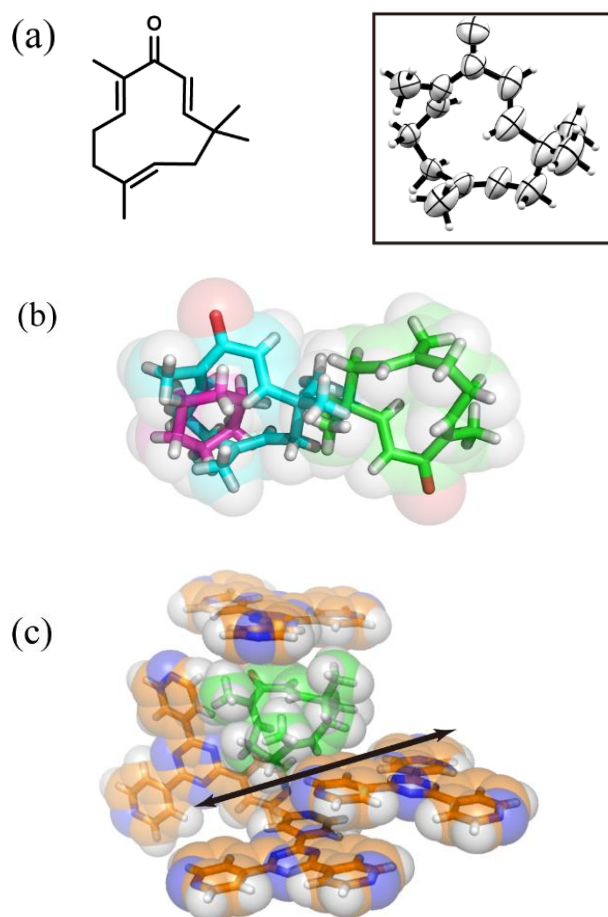


Fig. 95 (a) Zerumbone (**10-I**) の化学構造と ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(b) 対称心上にある zerumbone (**10-I**) 分子, cyclohexane J 分子と disorder

(c) Zerumbone (**10-I**) 分子が TPT に囲まれている様子 (矢印は開口部を示す)

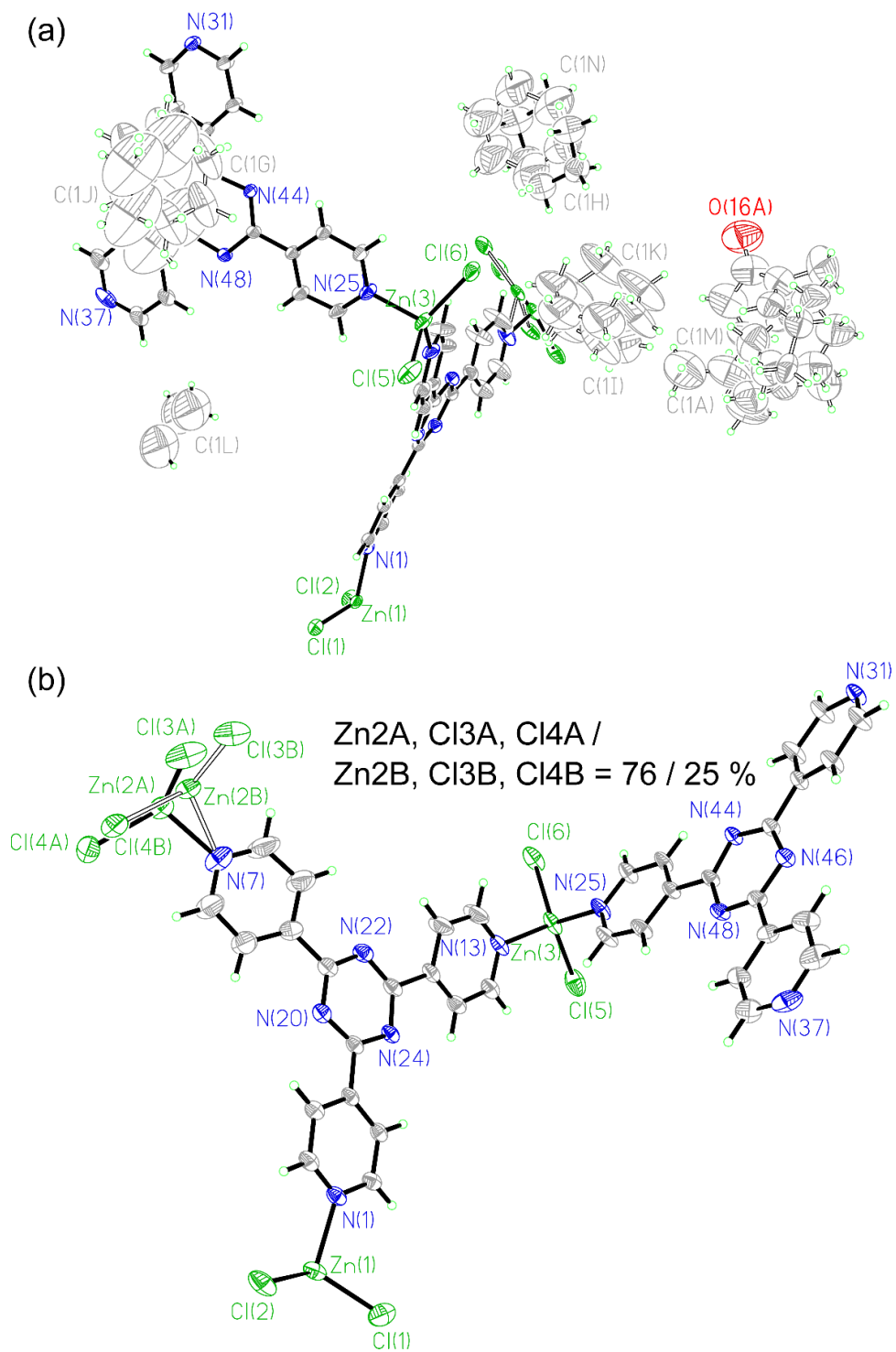
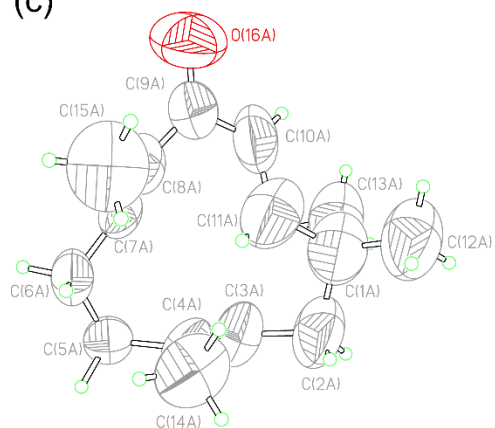


Fig. 96 Zerumbone (10-II) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

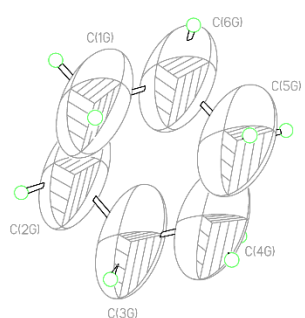
(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

(c)

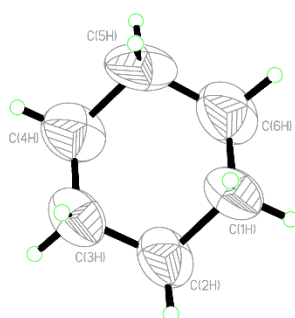


C1A to O16A 50 %

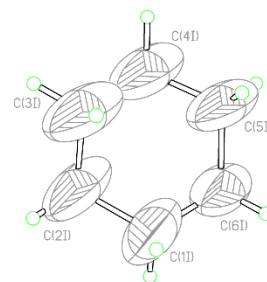
(d)



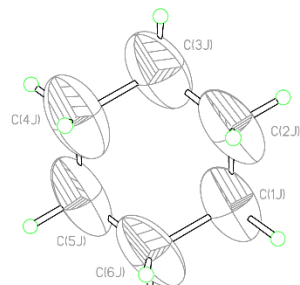
C1G to C6G 50 %



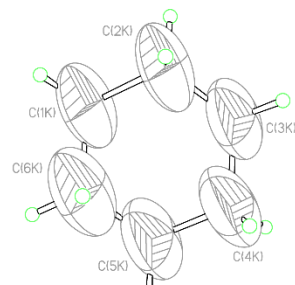
C1H to C6H 50 %



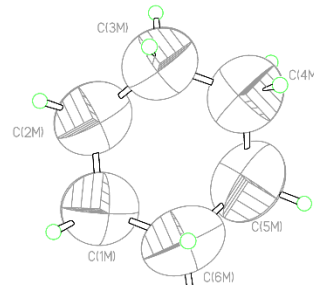
C1I to C6I 50 %



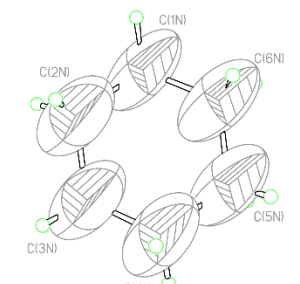
C1J to C6J 50 %



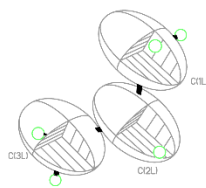
C1K to C6K 50 %



C1M to C6M 50 %



C1N to C6N 50 %



C1L to C3L 100 %

Fig. 97 Zerumbone (10-II) の ORTEP 図 (存在確率 30% 表示)

(c) Zerumbone (10-II) 分子 (d) Cyclohexane (G, H, I, J, K, M, N, L)

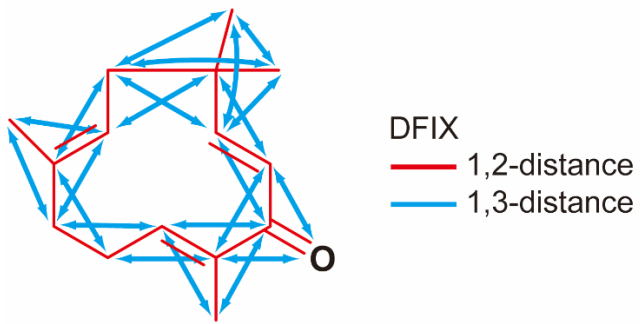


Fig. 98 Zerumbone の束縛条件

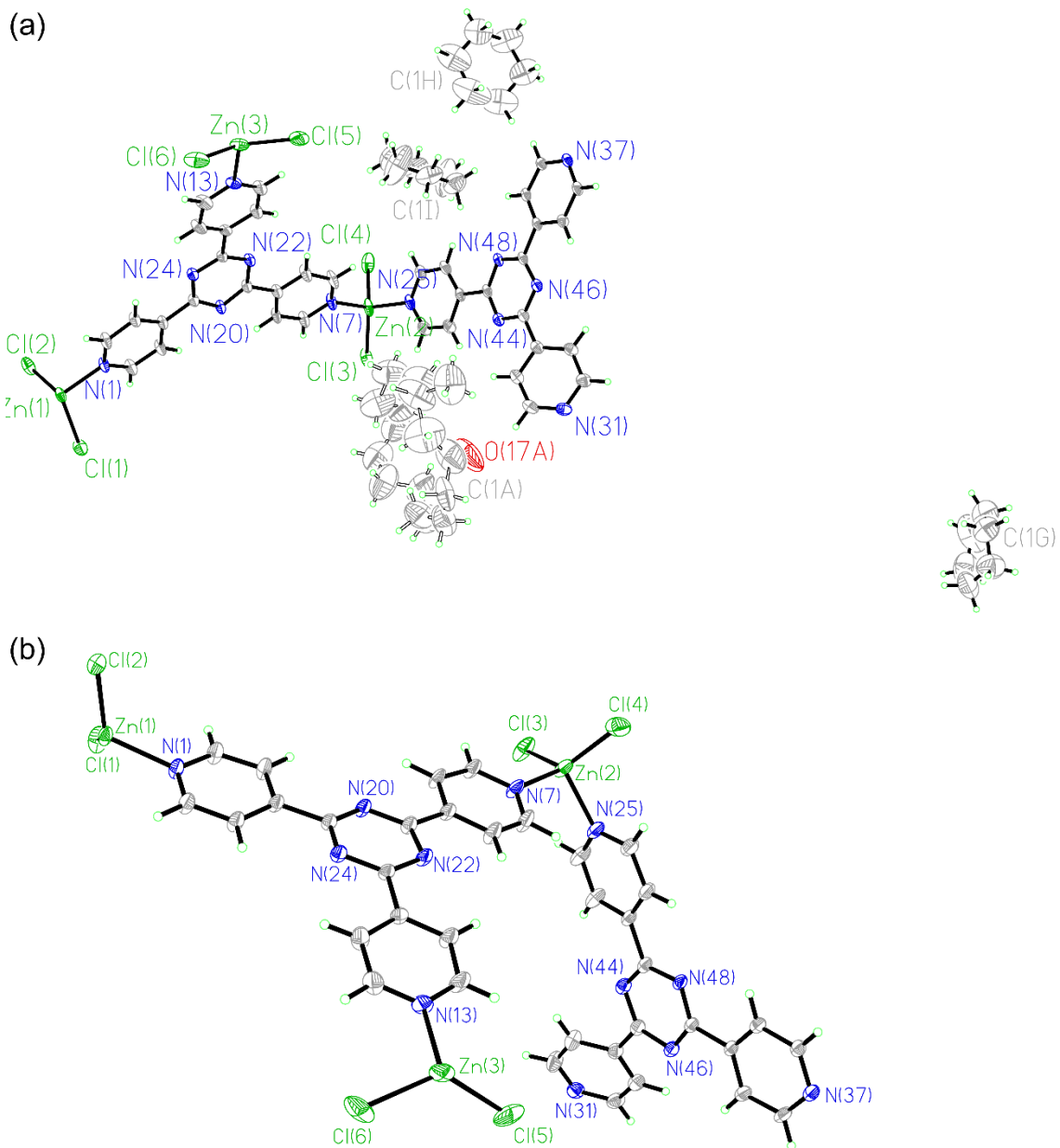


Fig. 99 Muscone (11-I) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

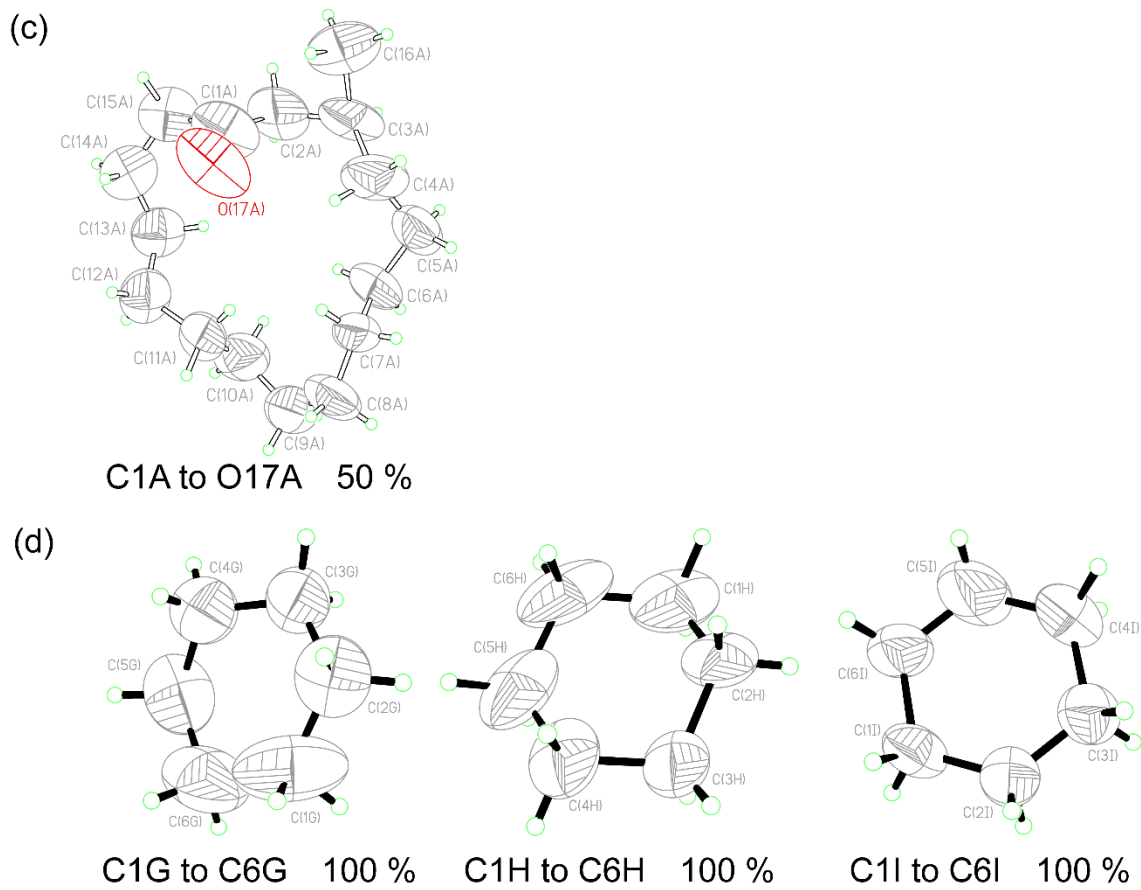


Fig. 100 Muscone (**11-I**) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(c) Muscone (**11-I**) 分子 (d) Cyclohexane (G, H, I)

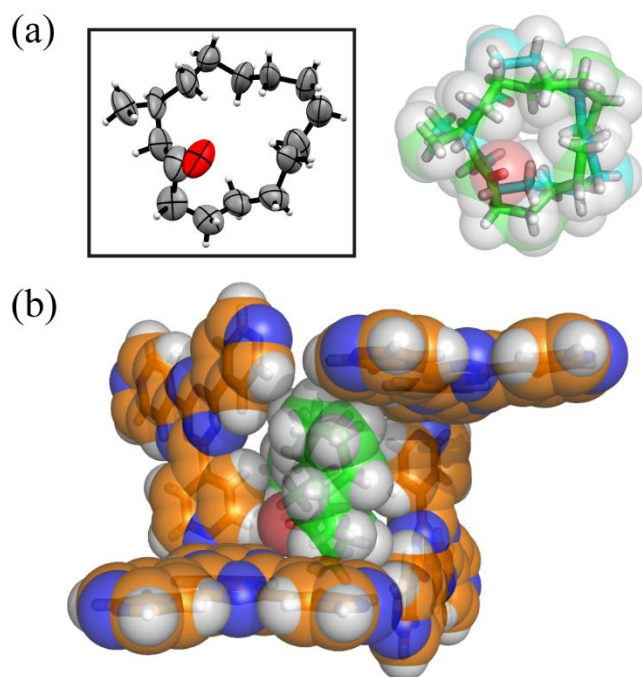


Fig. 101 (a) Muscone (**11-I**) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示) (左), 緑色と青色で示された対称心上の muscone の disorder モデル (右), (b) 開口部で muscone 分子が TPT に囲まれている様子

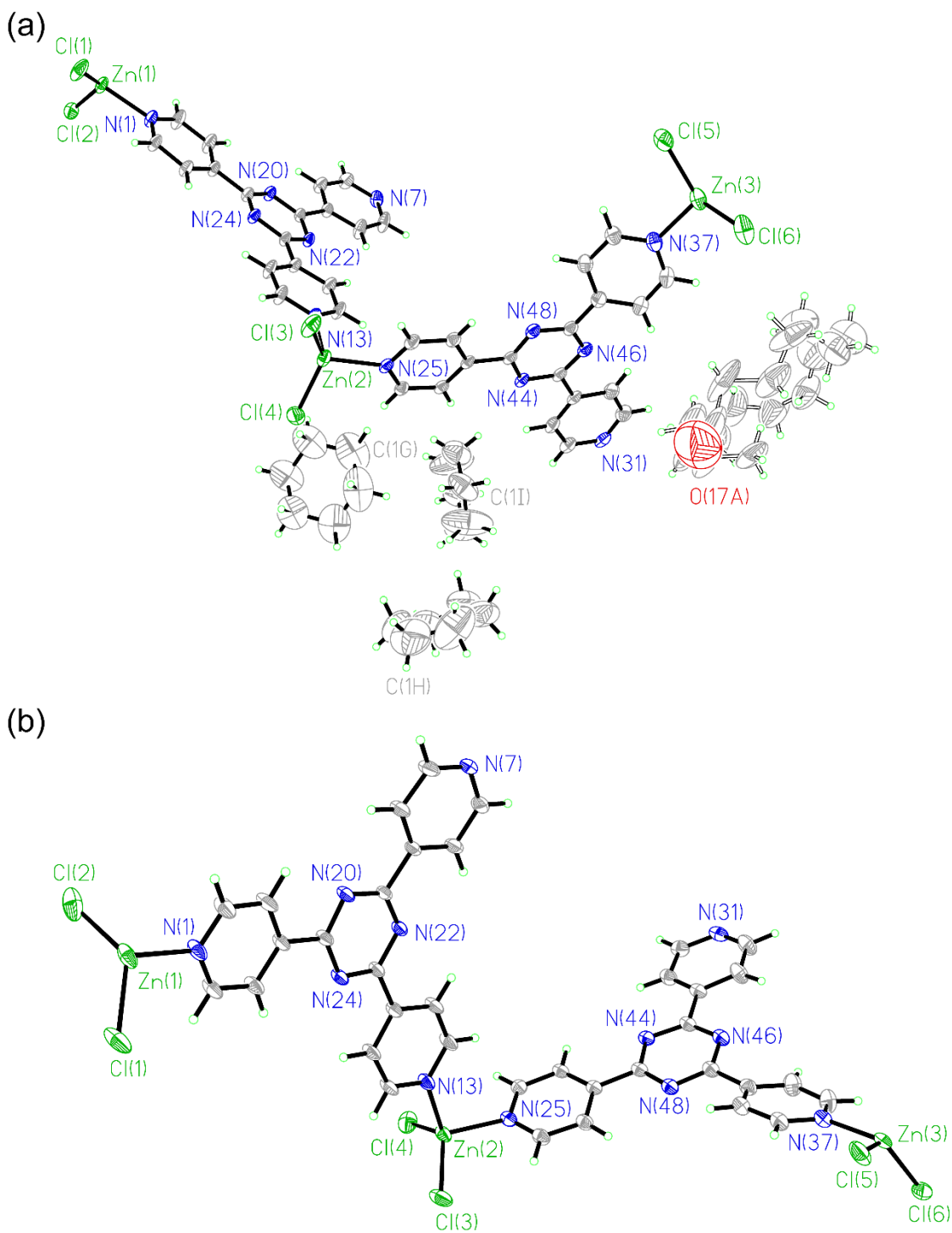


Fig. 102 Muscone (11-II) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

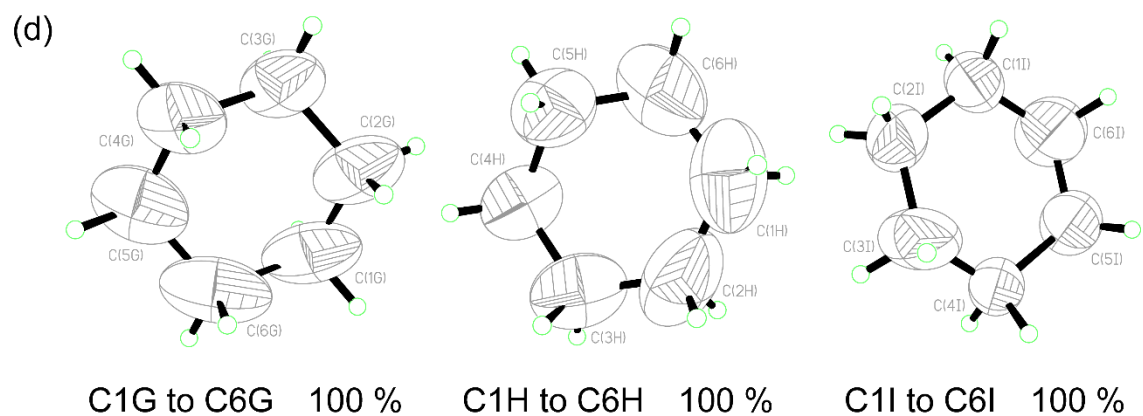
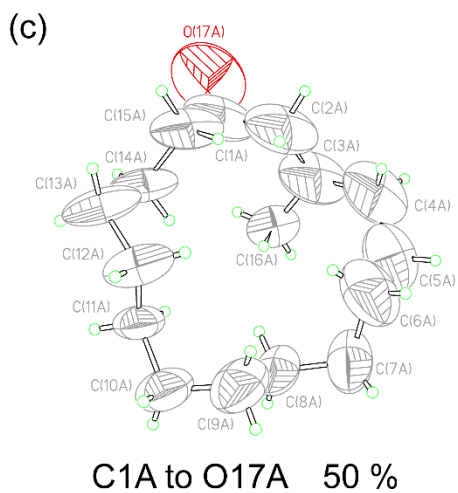
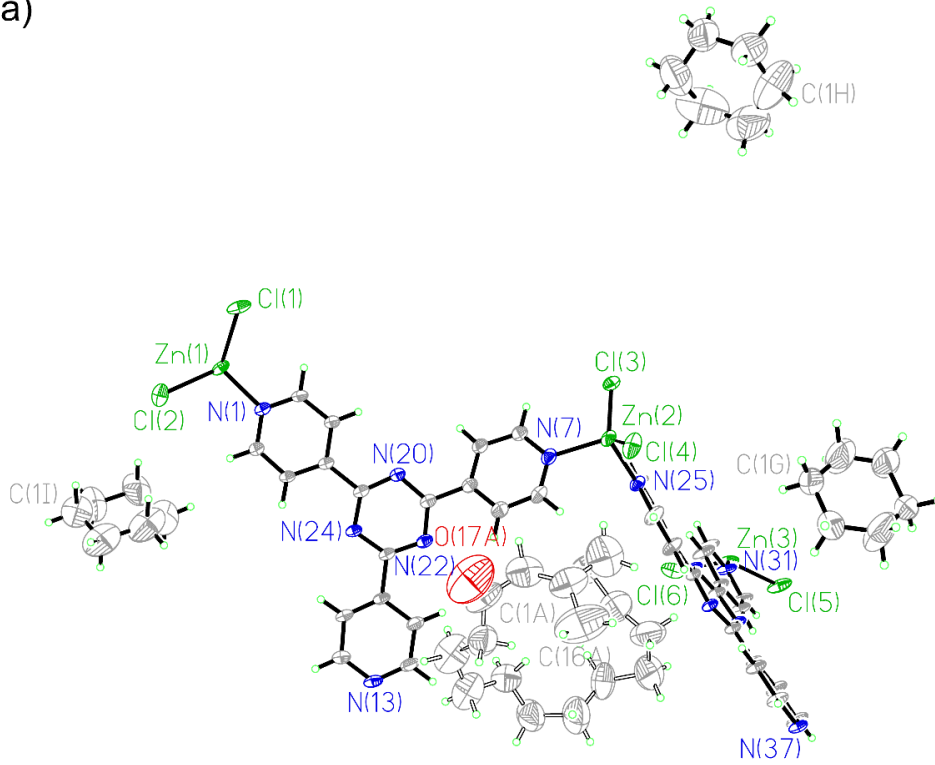


Fig. 103 Muscone (11-II) の ORTEP 図 (存在確率 30% 表示)

(c) Muscone (11-II) 分子 (d) Cyclohexane (G, H, I)

(a)



(b)

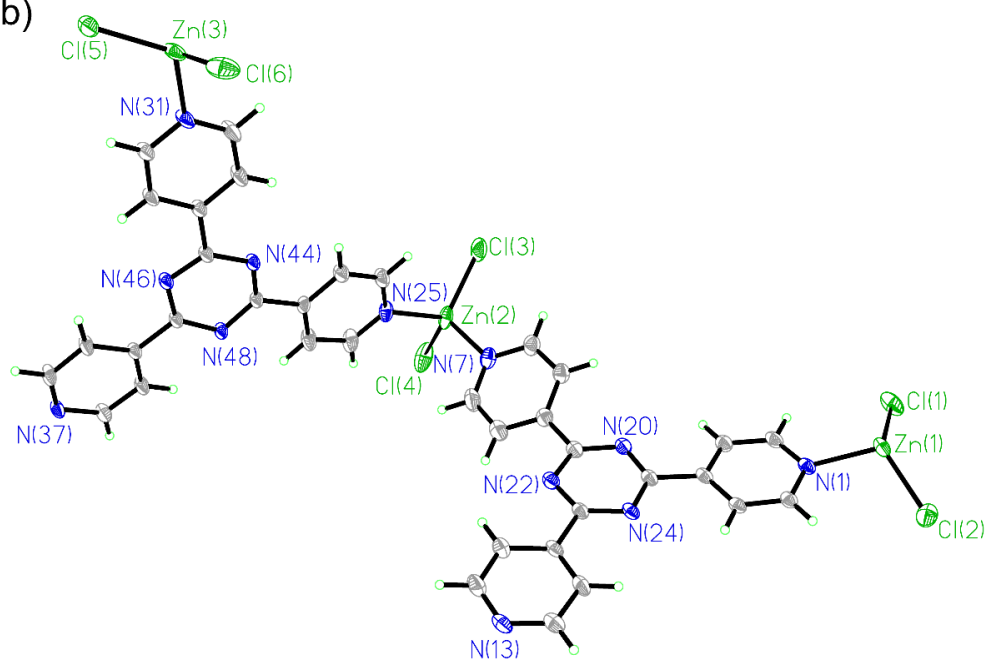
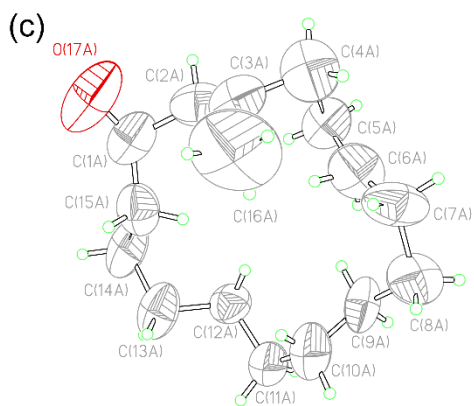


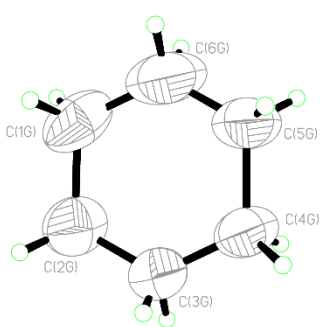
Fig. 104 Muscone (11-III) の ORTEP 図 (存在確率 30% 表示)

(a) 独立分子像 (b) CS 骨格

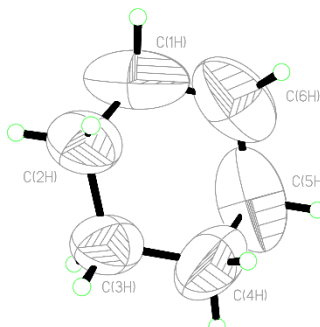


C1A to O17A 50 %

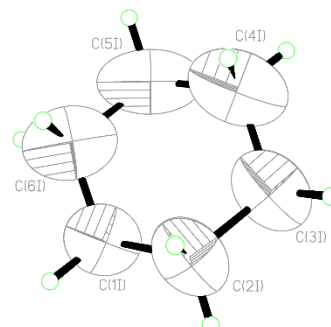
(d)



C1G to C6G 100 %



C1H to C6H 100 %



C1I to C6I 100 %

Fig. 105 Muscone (11-III) の ORTEP 図 (存在確率 30%表示)

(c) Muscone (11-III) 分子 (d) Cyclohexane (G, H, I)

5-6. 大環状化合物包接結晶スポンジの CS-LDI-MS

単結晶 X線解析後, 同一の結晶についてレーザー脱離イオン化による IMS を行った. 共通して観測されたこととして, 結晶の光学写真領域において CS 骨格に含まれる TPT のプロトン付加体 ($[TPT+H]^+$) が m/z 313 に観測された. 以下, このイオンピーク強度を基準として, 分析種イオンの IMS を調べた. また, 結晶存在下の MS スペクトルを平均化したスペクトルを 1D MS スペクトルとした. それぞれの MS の結果について詳細を述べる.

9cCS

9cCS の光学写真およびこの結晶を用いた IMS 結果を Fig. 106 (a), (b), (c) に示す. $[TPT+H]^+$ イオンピークが m/z 313.0 で観測された. また, Cp*H のプロトン付加体イオンピーク m/z 137.1 のイオンピーク分布を調べたところ, イオンピーク分布が光学写真における結晶存在領域と対応していた. ところで, Cp*H は常温常圧でも容易に揮発する. このような揮発性物質は, 一般に, 直接注入システムを用いて GC/MS または EI/MS によって検出される. しかし, 直接 EI/MS では, 全質量スペクトルをスキャンするには揮発性を考慮した特定の技術が必要である. 一方, 本手法は CS 法という部分を除けば, ゲストを CS に包接するだけで従来の手順でイオン化できることを示した.

10-IcCS, 10-IIcCS

10-IcCS, 10-IIcCS は二つを順に示す. まず, 一つ目の 10-IcCS について, 光学写真およびこの結晶を用いた IMS 結果を Fig. 107 (a), (b), (c) に示す. $[TPT+H]^+$ イオンピークが m/z 313.0 で観測された. 一方, zerumbone の分子イオンピークである m/z 218.3 のイオンピーク分布を Fig. 107 (c) に示す. 結晶存在領域においても zerumbone に対応する分子イオンピークは観測されなかった.

同様にもう一つの 10-IIcCS の結晶について光学写真や IMS の結果は Fig. 108 に示す. この結晶について調べたところ, 全体にわたってイオンピーク分布パターンが類似

しており、zerumbone の分子イオンピークは観測されなかった。1D MS スペクトルから二番目に強く観測された m/z 105.0 イオンピークは TPT のフラグメントイオンである 4-cyanopyridine のプロトン付加体であった。このフラグメントイオンは 10-I \subset CS, 10-II \subset CS の両方で観測されていることから CS 骨格がレーザー光を吸収している過程までは共通現象として考えられる。その後の分析種のイオン化について差がみられたことから CS 骨格との相互作用の有無がエネルギー伝達に影響しているものと考えられる。

11-I \subset CS, 11-II \subset CS, 11-III \subset CS

11-I \subset CS, 11-II \subset CS, 11-III \subset CS は三つを順に示す。11-I \subset CS の光学写真および IMS を行った結果を Fig. 109 (a), (b), (c) に示す。[TPT+H]⁺イオンピークが m/z 313.0 で観測された。一方、muscone の分子イオンピークである m/z 238.2 のイオンピーク分布を Fig. 109 (c) に示す。muscone に対応する分子イオンピークは観測されなかった。他にも同様の結果が得られた (Fig. 110~111)。

先の zerumbone と同様に m/z 105 に TPT のフラグメントイオンが観測されたことから相互作用のない包接状態のため、エネルギー伝達によってイオン化されないものと考えられる。特に muscone は細孔内の同一空間にて様々な取り込み形態を示している。以上より、単結晶 X 線構造解析とレーザー脱離イオン化質量分析の結果から、これまで見ることのできなかつた分析種とマトリクスが互いに近接するが相互作用を持たない場合におけるイオン化において、エネルギーを渡す役割を果たさないことを明らかとした。

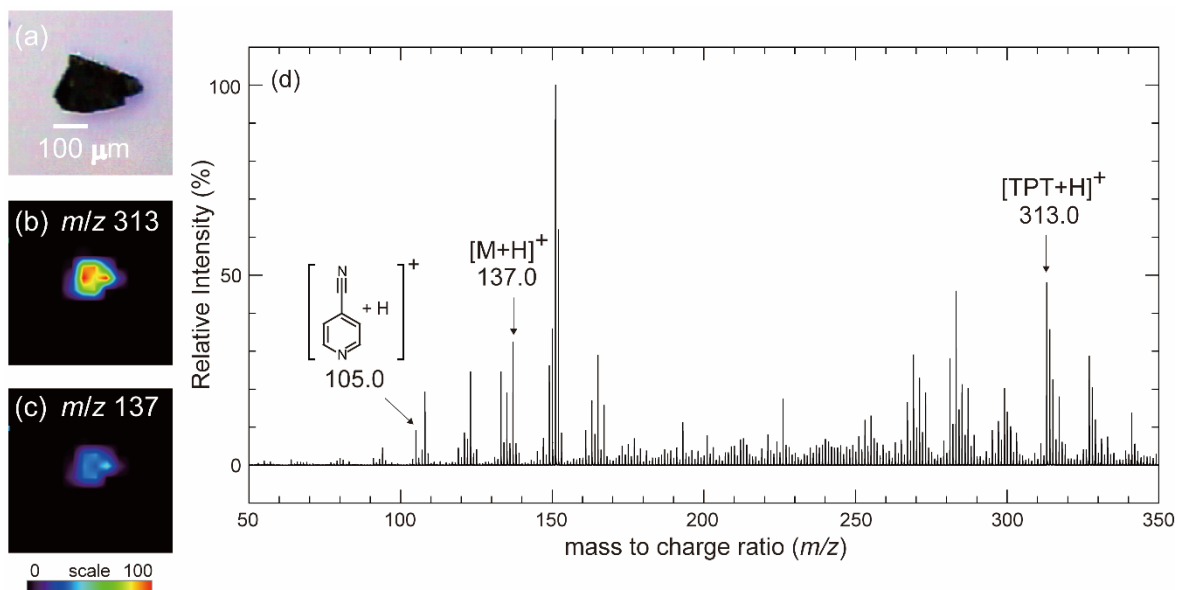


Fig. 106 Cp*H (9) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT プロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 137 Cp*H プロトン付加体分子イオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

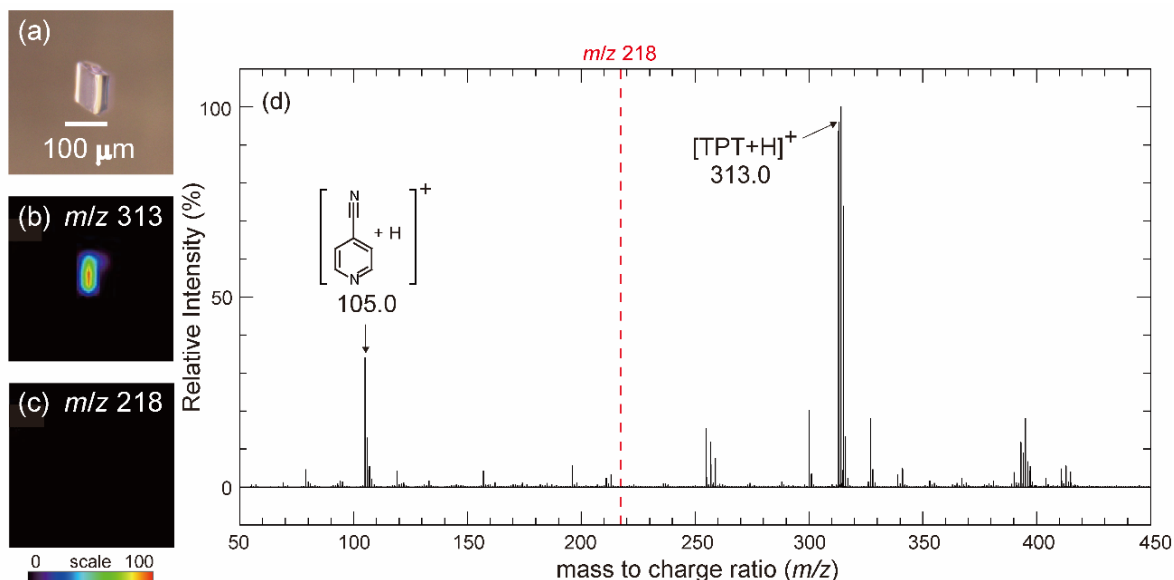


Fig. 107 Zerumbone (10-I) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT プロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 218 zerumbone 分子イオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

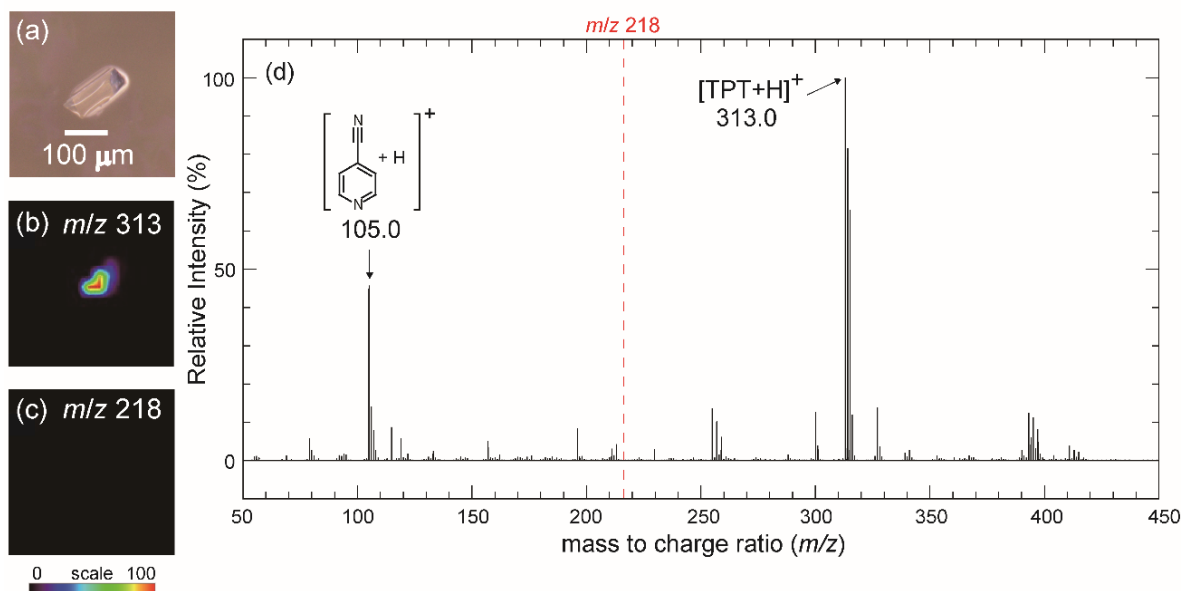


Fig. 108 Zerumbone (10-II) CS 包接の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT プロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 218 zerumbone 分子イオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

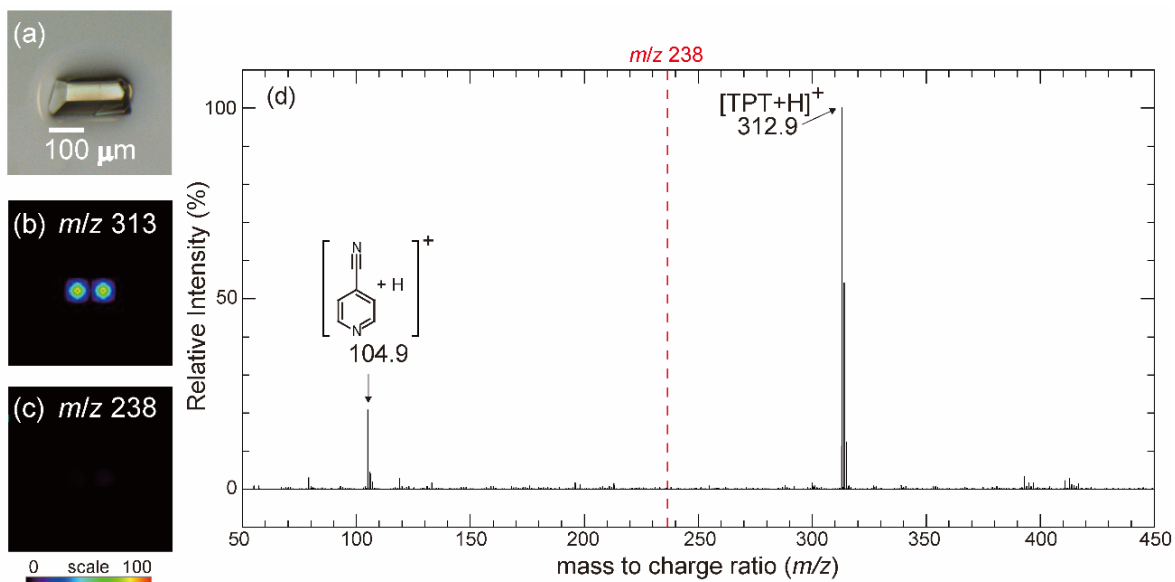


Fig. 109 Muscone (**11-I**) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT プロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 238 muscone 分子イオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

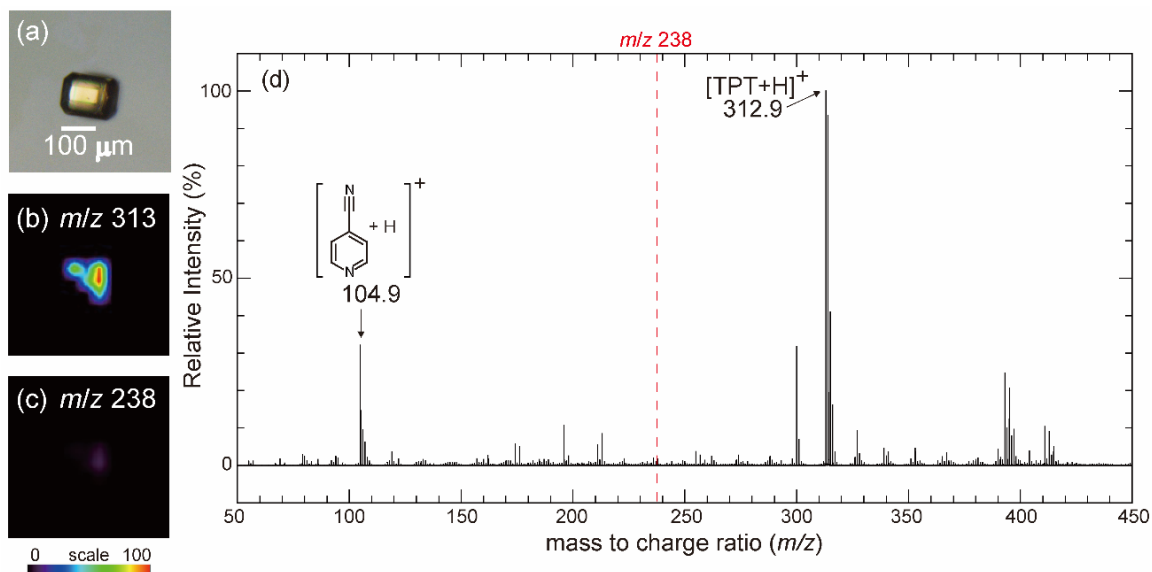


Fig. 110 Muscone (**11-II**) CS 包接の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT プロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 238 muscone 分子イオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

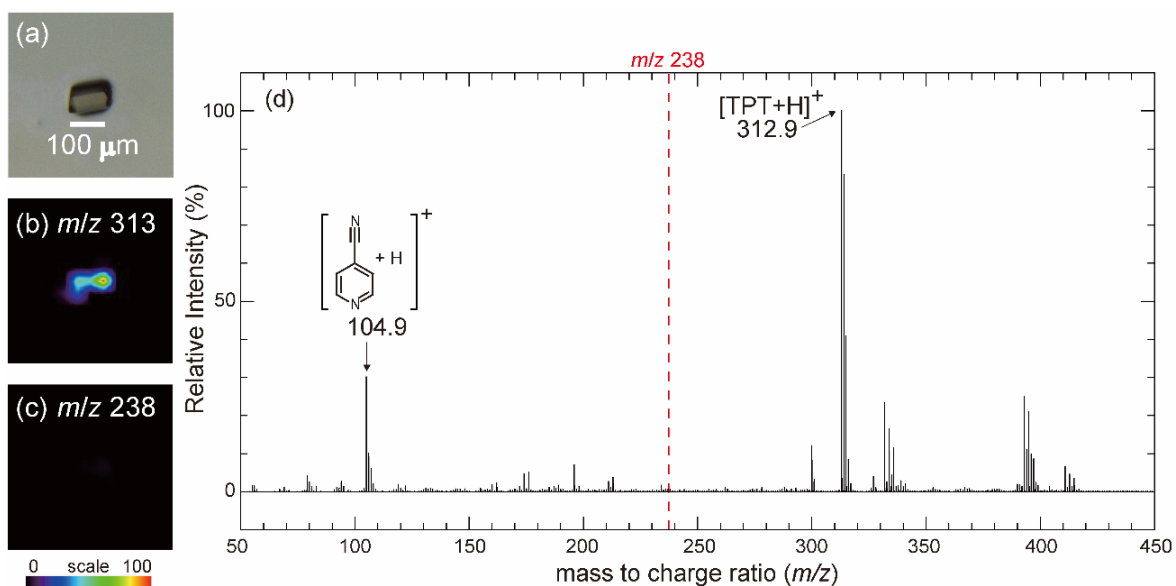


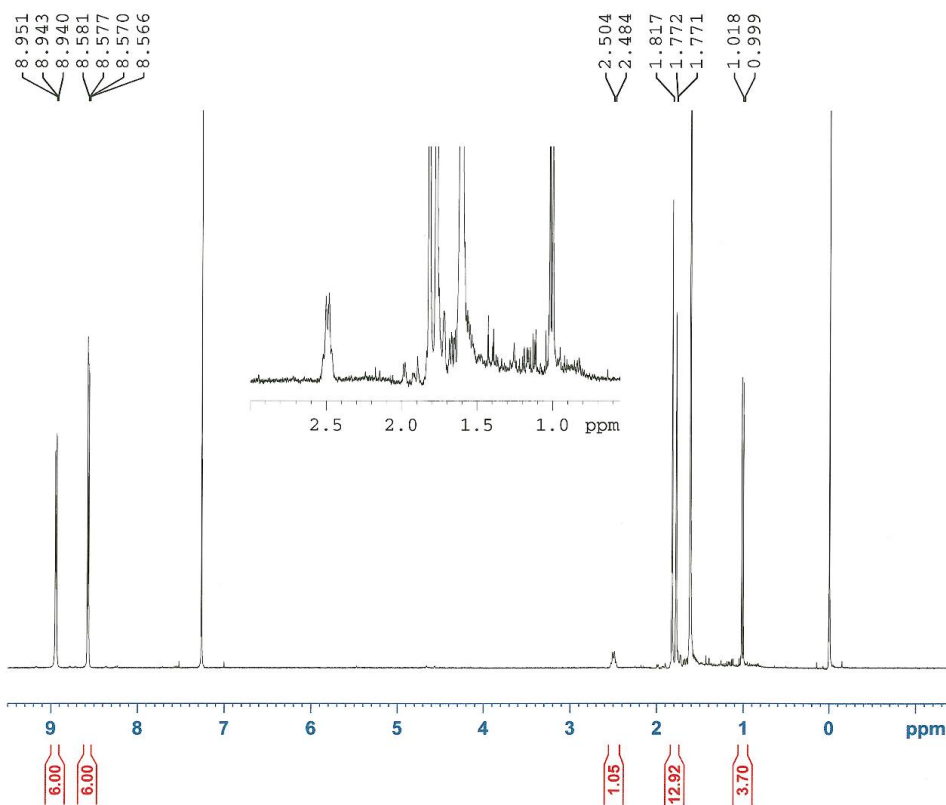
Fig. 111 Muscone (11-III) 包接 CS の LDI-MS, (a) 光学写真, (b) m/z 313 TPT プロトン付加体イオンピークイメージング, (c) m/z 238 muscone 分子イオンピークイメージング, (d) IMS に基づく平均 1D MS スペクトル

5-7. 結晶スポンジ抽出ゲストの ^1H NMR

CS に取り込まれたゲスト量を決定するために、結晶集団（バルク）を用いた抽出実験により、骨格中に含まれる TPT に対するゲスト比を求めた。それらの NMR スペクトルを Fig. 112~117 に示す。また、Table 12 にそれぞれの TPT に対する割合を示す。具体例として、Fig. 113 の zerumbone (**10-I**) の NMR スペクトルでは、TPT の pyridyl 基に由来する H_α と H_β が 8.9, 8.5 ppm にそれぞれ観測されており、同時に、6.0 ppm 付近に二重結合に結合した H のシグナルが観測されている。これらの H の積分比を分子数の比へと直すと、zerumbone/TPT = 0.3/1 と求まる。他のゲストでは muscone (**11-I**, **11-II**, **11-III**) を用いた場合も同程度取り込まれていた。Cp*H (**9**) では、Cp*H/TPT = 1.1/1 と求まった。

Table 12 CS抽出ゲストのguest/TPT比

CS	9 \subset CS	10-I \subset CS	10-II \subset CS	11-I \subset CS	11-II \subset CS	11-III \subset CS
NMR (guest/TPT ratio)	1.1	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3



```

Current Data Parameters
NAME      YH_170707_3
EXPNO    1
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20170714
Time     11.16
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm PABBO BB-
PULPROG  zg30
TD       65536
SOLVENT  CDCl3
NS       64
DS       2
SWH      8278.146 Hz
FIDRES   0.126314 Hz
AQ       3.9583745 sec
RG       362
DW       60.400 usec
DE       6.50 usec
TE       296.0 K
D1       1.00000000 sec
TDO      1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1     1H
P1       14.50 usec
PL1      0 dB
PL1W     8.5653268 W
SFO1     400.2324716 MHz

F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       400.2300040 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       0.30 Hz
GB       0
PC       1.00
  
```

Fig. 112 抽出実験で得た Cp*H (9) ¹H NMR (CDCl₃, 300 K, 400 MHz)

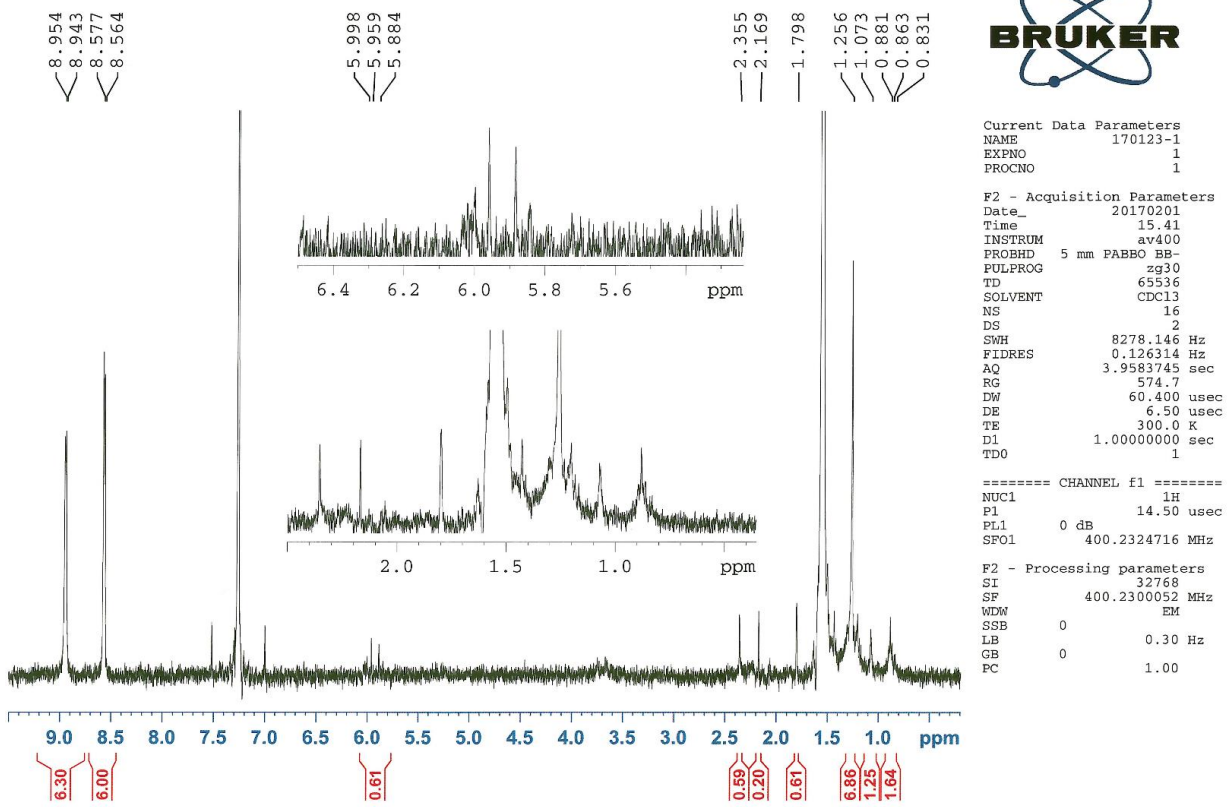


Fig. 113 抽出実験で得た zerumbone (10-I) ¹H NMR (CDCl₃, 300 K, 400 MHz)

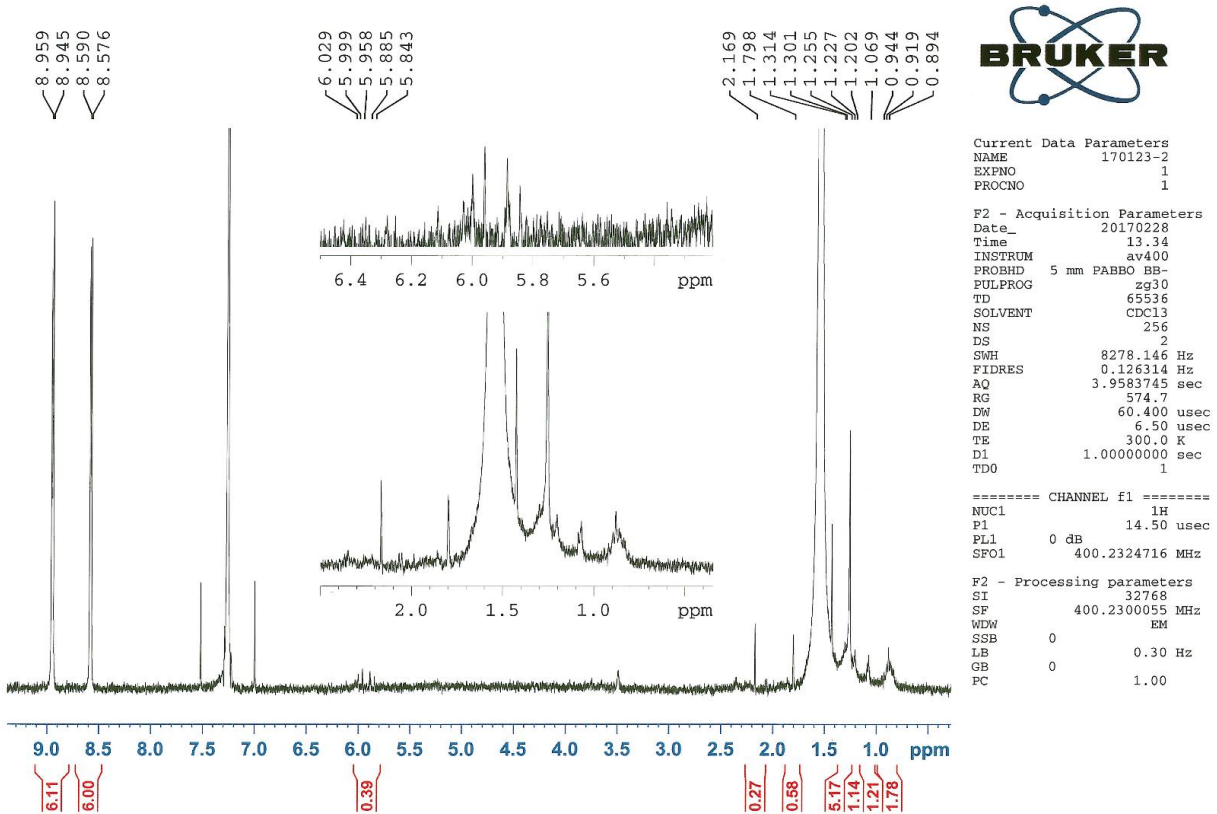
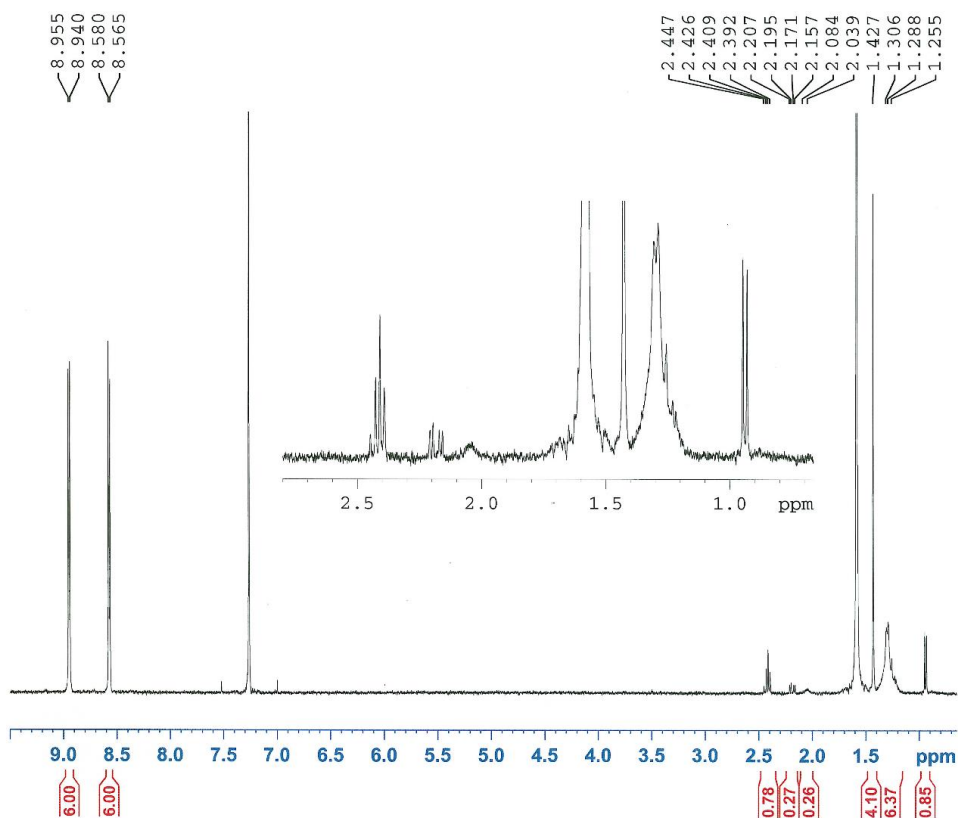


Fig. 114 抽出実験で得た zerumbone (10-II) ¹H NMR (CDCl₃, 300 K, 400 MHz)



```

Current Data Parameters
NAME      171130-1_muscone
EXPNO     1
PROCNO    1

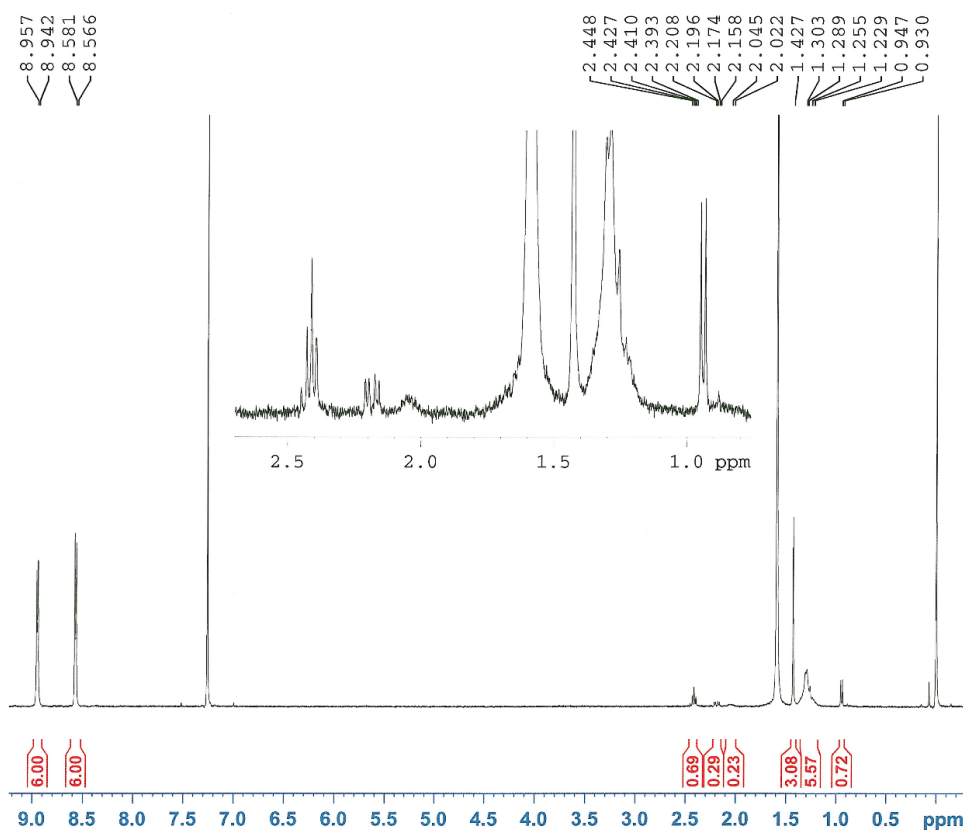
F2 - Acquisition Parameters
Date_     20180111
Time      16.17
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm Multinucl
PULPROG   zg30
TD         65536
SOLVENT   CDCl3
NS         16
DS         2
SWH        8278.146 Hz
FIDRES     0.126314 Hz
AQ         3.9583745 sec
RG         812.7
DM         60.400 usec
DE         6.50 usec
TE         673.2 K
D1         1.0000000 sec
TD0        1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1      1H
P1        15.00 usec
PL1       0.50 dB
PL1W      7.29823112 W
SF01      400.1324710 MHz

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         400.1300086 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.30 Hz
GB         0
PC         1.00

```

Fig. 115 抽出実験で得た muscone (11-I) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)



```

Current Data Parameters
NAME      YH_180109_2
EXPNO     1
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20180219
Time      14.45
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm PABBO BB-
PULPROG   zg30
TD         65536
SOLVENT   CDCl3
NS         16
DS         2
SWH        8278.146 Hz
FIDRES     0.126314 Hz
AQ         3.9583745 sec
RG         362
DM         60.400 usec
DE         6.50 usec
TE         296.0 K
D1         1.0000000 sec
TD0        1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1      1H
P1        14.50 usec
PL1       0 dB
PL1W      8.56553268 W
SF01      400.2324716 MHz

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         400.2300043 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.30 Hz
GB         0
PC         1.00

```

Fig. 116 抽出実験で得た muscone (11-II) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)

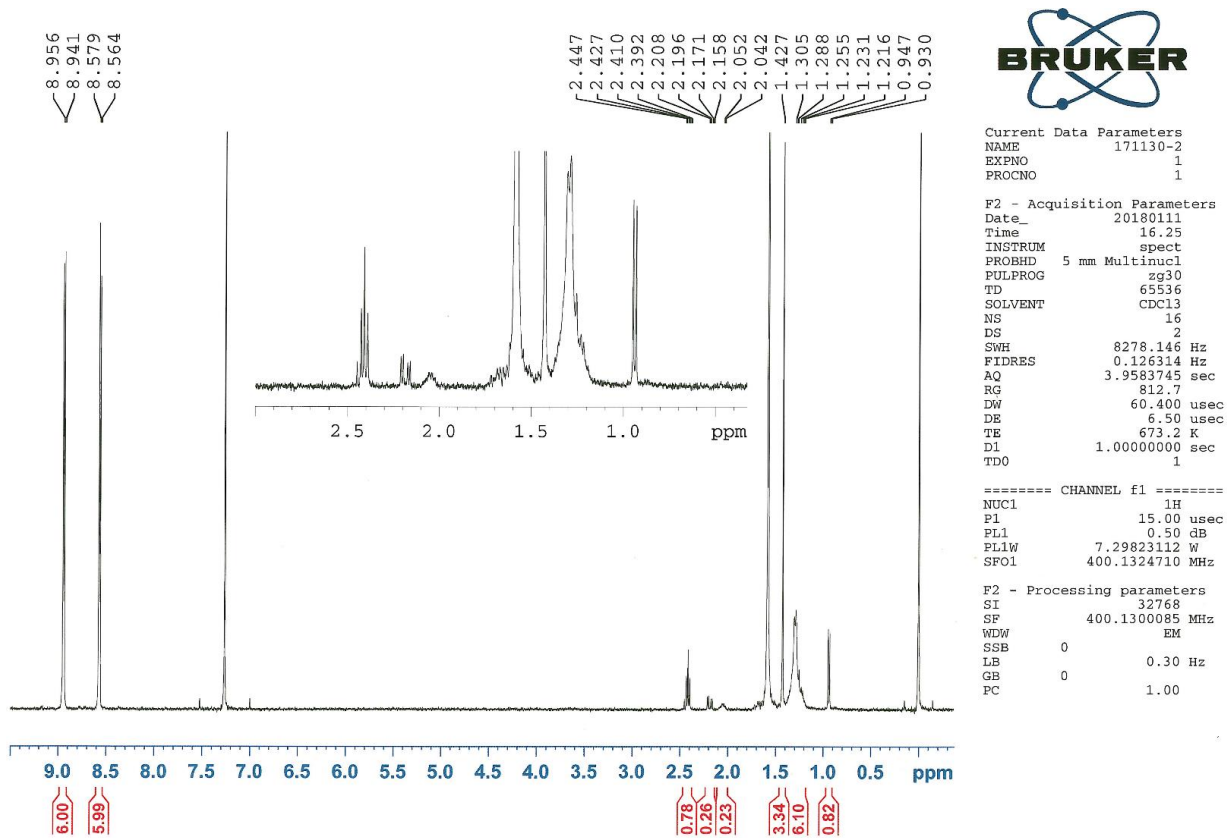


Fig. 117 抽出実験で得た muscone(11-III) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 K, 400 MHz)

5-8. まとめ

CS 内へ三つの単環状化合物 Cp*H, zerumbone, muscone を取り込ませることに成功した。そのうち Cp*H と muscone は液体試料であるため試料自身は実験室条件下で結晶化することが出来ないが, CS 内へ取り込むことで単結晶 X 線構造解析が適用できた。一方, 結晶抽出物について ^1H NMR を用いてゲスト/TPT 比を算出すると, zerumbone, muscone とともに 0.3 であり, 近い値となった。結晶構造解析から求めた包接ゲストの量は zerumbone と muscone では 0.25 となった。一方, 結晶構造解析から求めた占有率は熱温度因子とも相関するので, その誤差は大きい。それらを考慮すると, 抽出実験による NMR 積分比と結晶構造解析で求めた値はある程度一致しているといえる。また, その構造解析の結果から相互作用の有無を確認することができた。Cp*H については CS 骨格分子 TPT との π - π 相互作用や CH- π 相互作用が存在した。一方, zerumbone や muscone については細孔内部の狭い空間にて立体的に収縮した状態で収まっている様子がわかった。一方で, π - π 相互作用や CH- π 相互作用などの弱い相互作用は観測されなかった。固体の拡散反射 UV-vis 吸収スペクトルからもこれらのゲストが CS 骨格と相互作用をしていることを示す吸収帯は観測されなかった。さらに IMS からは, Cp*H ではそのプロトン付加体が観測されたが, 一方, 大環状の化合物群では分子イオンピークは検出されなかった。しかしながら, CS 骨格分子 TPT のプロトン付加体ならびにフラグメントイオンである 4-cyanopyridine のプロトン付加体はすべての場合で観測された。このことから CS 骨格のマトリクス機能としてレーザー光を吸収するところまでは共通して起きているものと考えられる。以上から, π - π 相互作用は CS-LDI-MS 法においてイオン化に重要な寄与があることを示唆している。特にゲストとマトリクス分子が分子レベルで互いに近接した条件下でイオン化挙動をはじめて評価できたことは, CS-LDI-MS 法の結晶学的アプローチが非常に役立っている。

本章では大環状化合物を用いて CS 骨格とゲストの相互作用とイオン化との関連を明確に議論することができた。CS 法によって種々の単環状化合物の取り込みとそのレーザー脱離イオン化および, 単結晶 X 線構造解析を行った。CS 内へは Cp*H, zerumbone,

muscone が取り込まれた。取り込まれたゲストの構造解析と固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトルから CS 内におけるゲストの位置と、相互作用の有無を検討した。Cp*H は骨格と π - π 相互作用などの弱い相互作用を多点で生じていることがわかった。一方, zerumbone と muscone は細孔内部の狭い空間に環を収縮して収まっている様子はみられたが, CS 骨格との相互作用はみられなかった。次に IMS によってゲストの分子イオンピーク検出を行ったところ, Cp*H においてプロトン付加体イオンが観測された。他のゲストでは, 分析種由来イオンピークは観測されなかった。一方, すべての場合で CS 骨格分子の TPT のプロトン付加体イオンおよびそのフラグメントイオンである 4-cyanopyridine のプロトン付加体イオンが観察された。つまり, マトリクス機能を持つ CS 骨格にてレーザー光吸収が起きているが, 相互作用の有無によってそのエネルギーが分析種へ伝わるかどうか決まっているものと考えられる。

以上より環状化合物の取り込みは環の 15 員環程度までであれば静電的相互作用がなくても取り込まれることがわかった。また, 単結晶 X 線構造解析によってその存在を確かめられるが, LDI-MS 時にはレーザーエネルギーを伝えるための相互作用がない場合, イオン化しないとわかった。これは今後, MALDI イオン化機構の解明の一助を担うと考える。

第六章 複素環化合物の分析にタンデム質量分析を導入した手法 (CS-LDI-MS/MS)

6-1. はじめに

本章では、生成した目的ゲストの分子イオンへ衝突誘起解離 (Collision Induced Dissociation, CID) を行うことにより、フラグメンテーションによる分子構造情報を得ることを目的とした。CS 内へ取り込んだ分子は複素環化合物である indole 誘導体を選び、MS/MS 測定を行った。CS 内取り込み後、単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選び構造解析を行った後、同一の単結晶の LDI-MS 測定と MS/MS 測定を行った。これにより分子イオンだけでなく、分子構造情報が得られるか検討した (Fig. 118)。

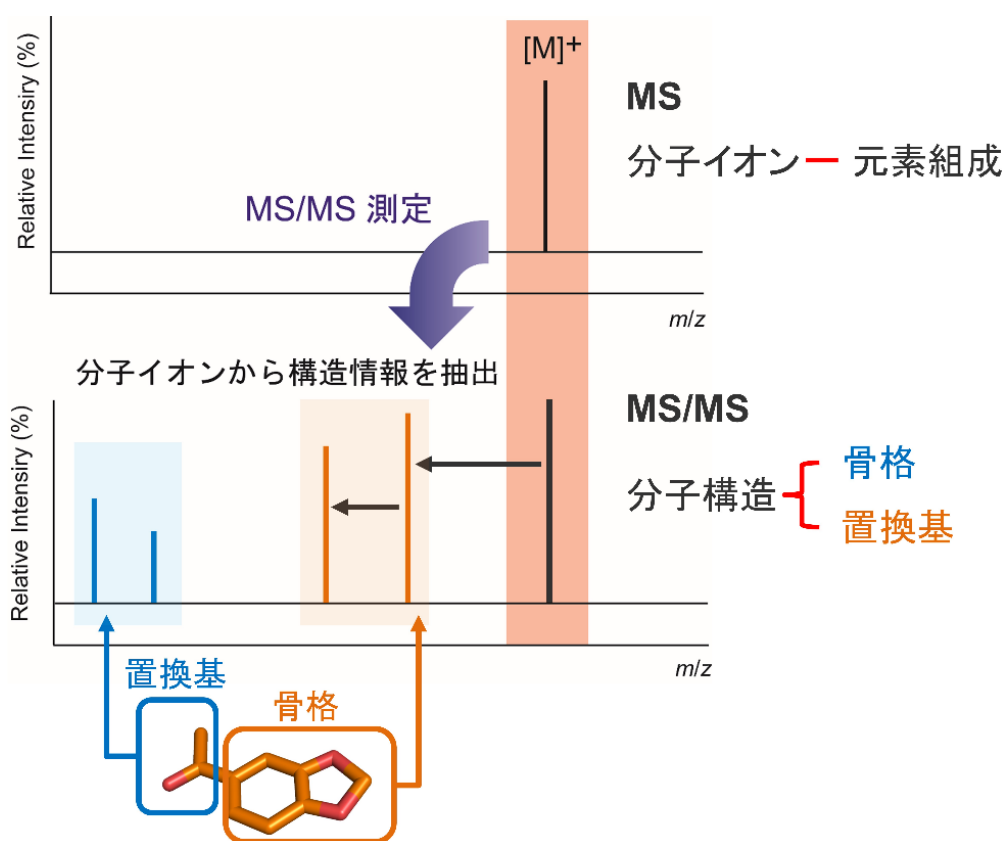


Fig. 118 CS-LDI-MS による MS/MS 測定

6-2. Indole 誘導体の結晶スポンジ取り込み

ゲスト分子として Table 13 に示す化合物 (**12-15**) を選定した。

1,2-Dimethylindole (**12**) の結晶スポンジへの取り込み

Cyclohexane 1.0 mL に 1,2-dimethylindole (10 μ mol) 1.45 mg を加え, 10.0 mM 1,2-dimethylindole cyclohexane 溶液を調製した。CS (X = Cl) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, 10.0 mM 1,2-dimethylindole 溶液 1.0 mL を加えた。7 日間静置して 1,2-dimethylindole の結晶取り込みを行った。

2,5-Dimethylindole (**13**) の結晶スポンジへの取り込み

Cyclohexane 1.0 mL に 2,5-dimethylindole (10 μ mol) 1.44 mg を加え, 10.0 mM 2,5-dimethylindole cyclohexane 溶液を調製した。CS (X = Cl) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, 10.0 mM 2,5-dimethylindole 溶液を加えた。7 日間静置して 2,5-dimethylindole の取り込みを行った。

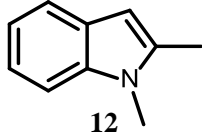
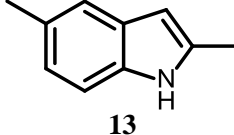
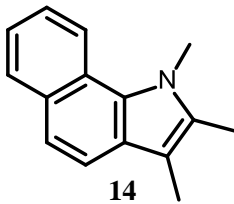
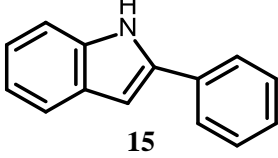
1,2,3-Trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole (**14**) の結晶スポンジへの取り込み

Acetonitrile 1.0 mL に 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole (10.0 μ mol) 2.09 mg を加え, 10.0 mM 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole cyclohexane 溶液を調製した。CS (X = Cl) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole 溶液を加えた。7 日間静置して 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole の取り込みを行った。

2-Phenylindole (**15**)の結晶スポンジへの取り込み

Ethyl acetate 1.0 mL に 2-phenylindole (10.0 μ mol) 1.93 mg を加え, 2-phenylindole 10.0 mM 溶液を調製した。CS (X = Cl) の入った試験管から cyclohexane 溶媒を取り除き, 2-phenylindole 10.0 mM 溶液を加えた。7 日間静置したことにより 2-phenylindole の取り込みを行った。

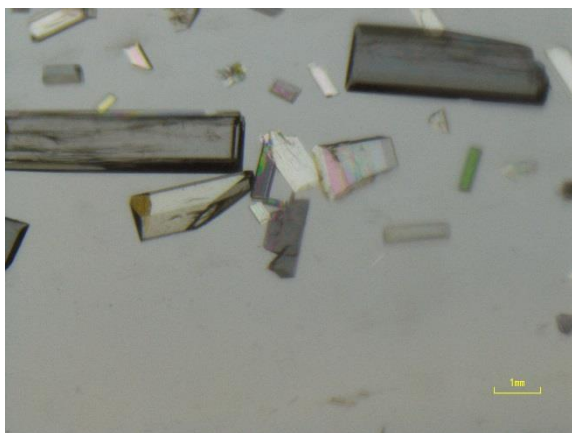
Table 13 取り込みゲストの構造式, 分子量, および常温常圧下における状態

ゲスト名	構造式	組成式	分子量 [g/mol]	性状
1,2-Dimethylindole	 12	C ₁₀ H ₁₁ N	145.21	固体 m.p. 54°C ¹⁵⁸
2,5-Dimethylindole	 13	C ₁₀ H ₁₁ N	145.21	固体 m.p. 114-115°C ¹⁵⁹
1,2,3-Trimethyl-3 <i>H</i> -benzo[<i>e</i>]indole	 14	C ₁₅ H ₁₅ N	209.29	固体 m.p. —
2-Phenylindole	 15	C ₁₄ H ₁₁ N	193.25	固体 m.p. 191-193°C ¹⁶⁰

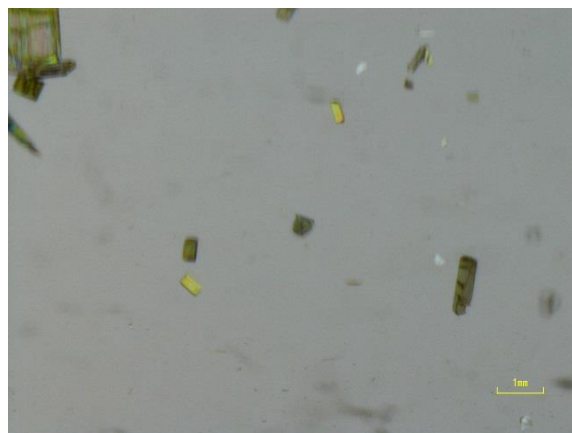
6-3. Indole 誘導体包接結晶スポンジの経時色変化

細孔内に cyclohexane を包接した CS は光学的に無色透明に近い。ゲスト溶液に CS を浸漬させた際の結晶色変化を追った (Fig. 119~122)。ゲスト溶液に CS を浸す前を 0 day (before), 浸した後を 0 day (after) とし, 1 日目, 3 日目, 7 日目の写真を示す。1,2-Dimethylindole (**12**), 2,5-dimethylindole (**13**), 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole (**14**), 2-phenylindole (**15**) すべての場合で, 取り込み開始時から結晶の色は淡黄色へと変化する。経時変化とともに単黄色が定性的に濃くなった。また, 取り込みから 7 日後においては大きな結晶の表面にヒビが現れる傾向にあった。しかし, 結晶性が保たれているものもあり, 単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選ぶことが可能であった。また, さらなる詳細を調べるため, 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトルを調べた。

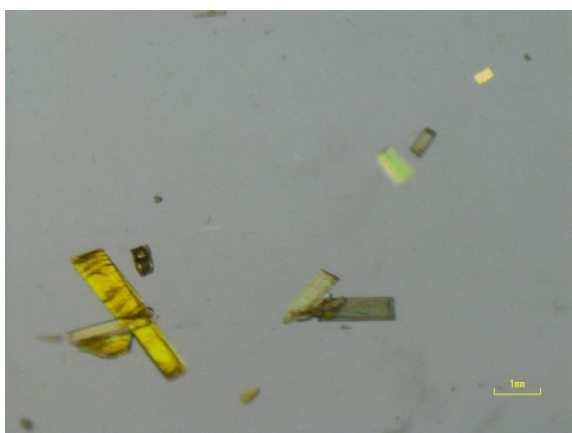
0 day (before)



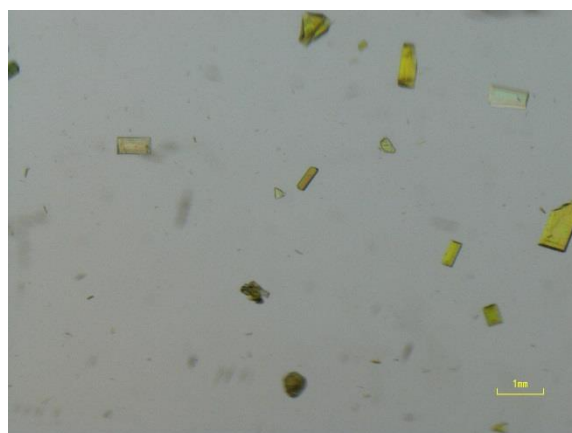
0 day (after)



1 day



3 day



7 day

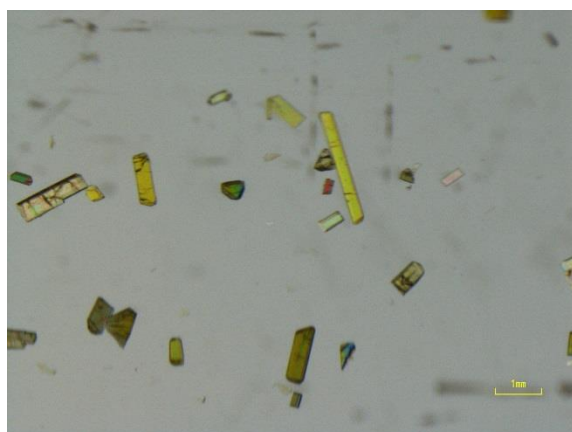
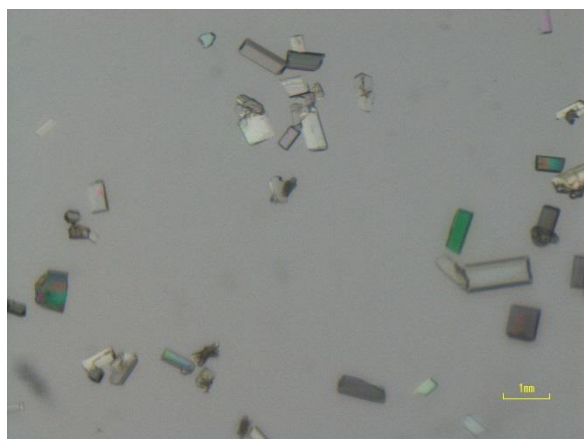
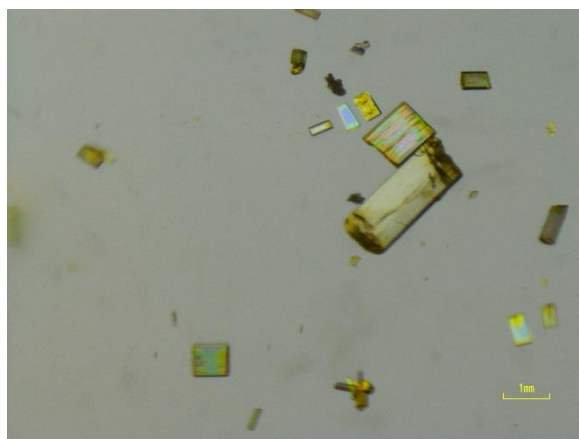


Fig. 119 1,2-Dimethylindole (12) の CS 取り込み色の経時変化

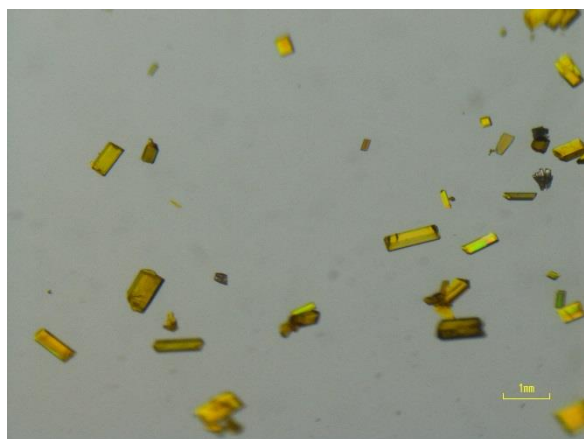
0 day (before)



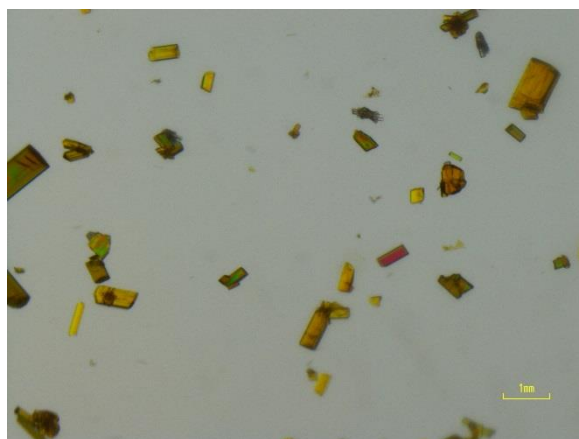
0 day (after)



1 day



3 day



7 day

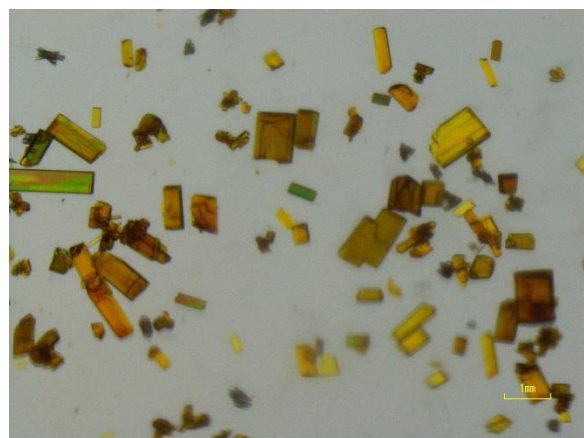
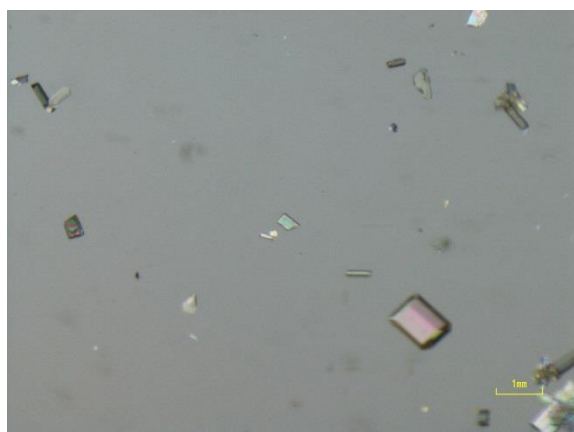
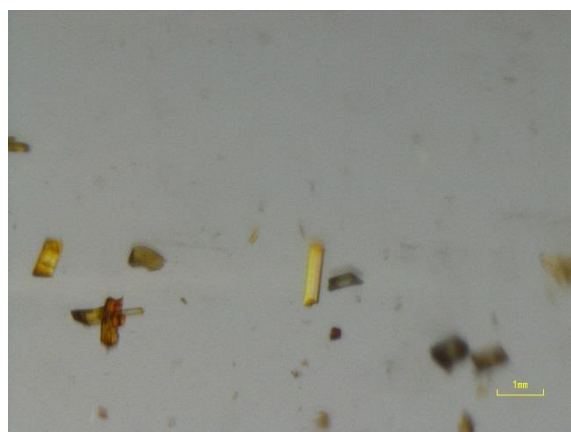


Fig. 120 2,5-Dimethylindole (**13**) の CS 取り込み色の経時変化

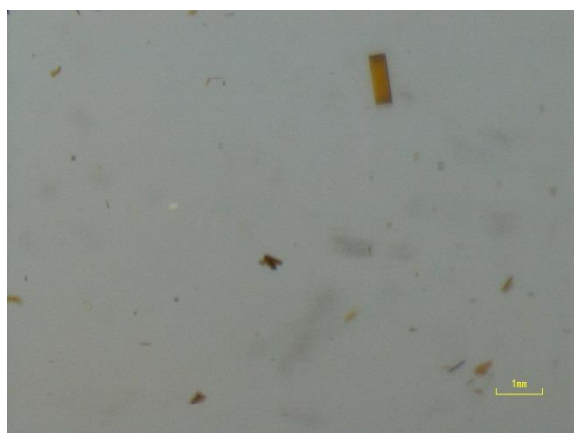
0 day (before)



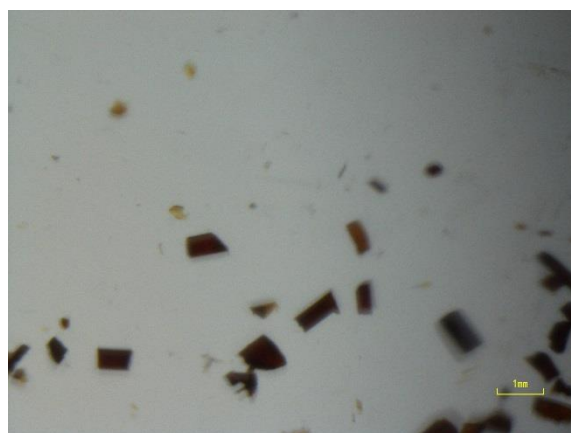
0 day (after)



1 day



3 day



7 day

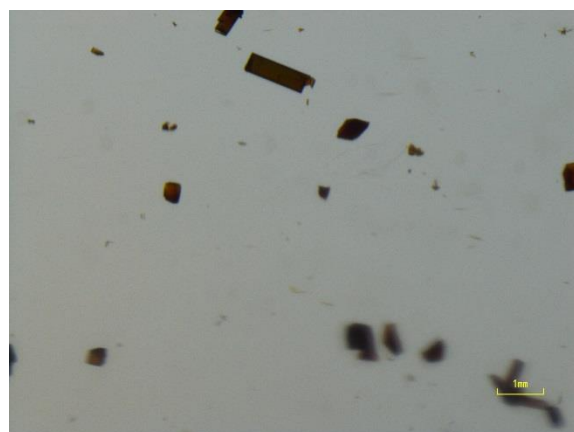
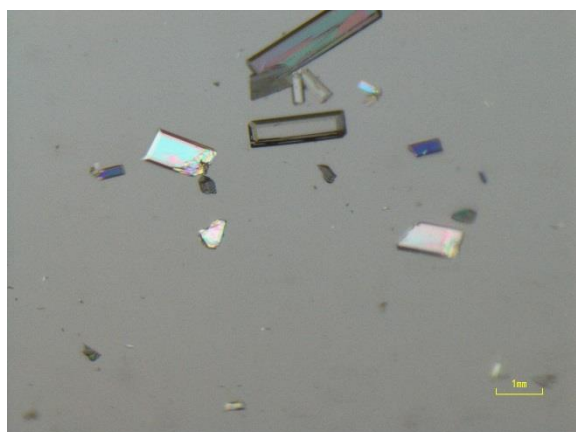
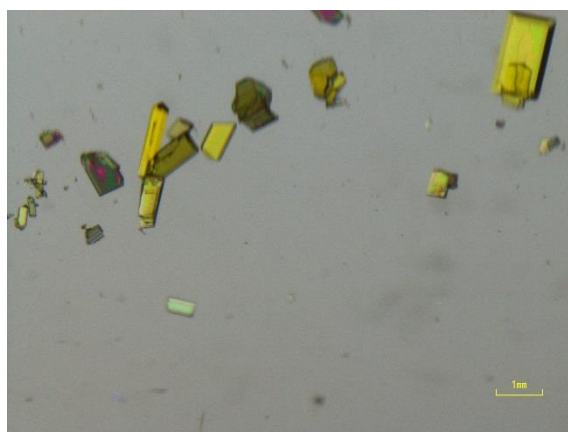


Fig. 121 1,2,3-Trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole (**14**) のCS 取り込み色の経時変化

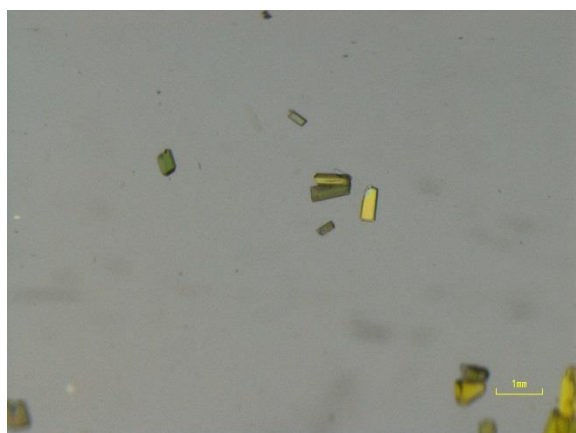
0 day (before)



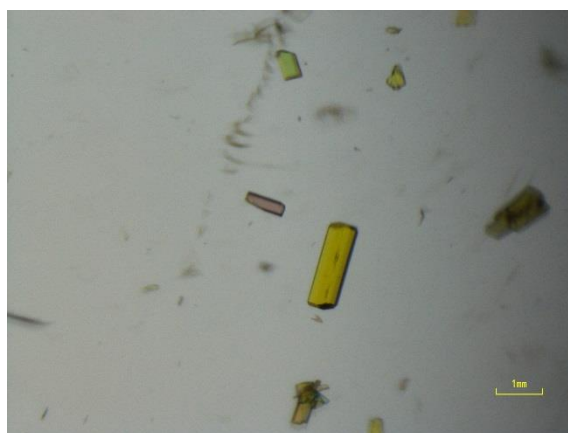
0 day (after)



1 day



3 day



7 day

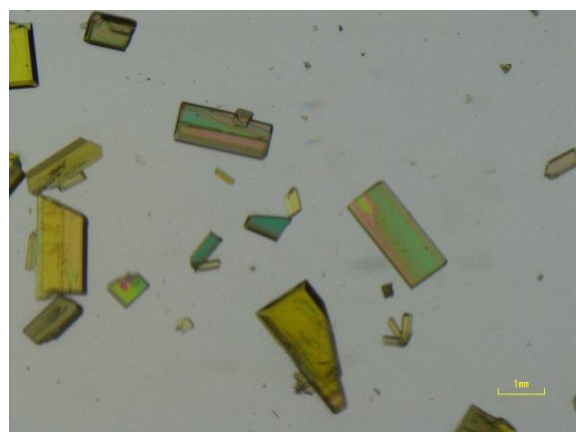


Fig. 122 2-Phenylindole (15) の CS 取り込み色の経時変化

6-4. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル

Indole 誘導体を包接した CS の固体拡散反射吸収スペクトルを Fig. 123 に示す. また, 比較としてゲスト取り込み前の cyclohexane を包接した CS についてもあわせて示す.

すべての場合において, 400~600 nm 付近に cyclohexane を包接した CS ではみられない幅広い吸収帯を観測し, π - π 相互作用の存在が示唆された.

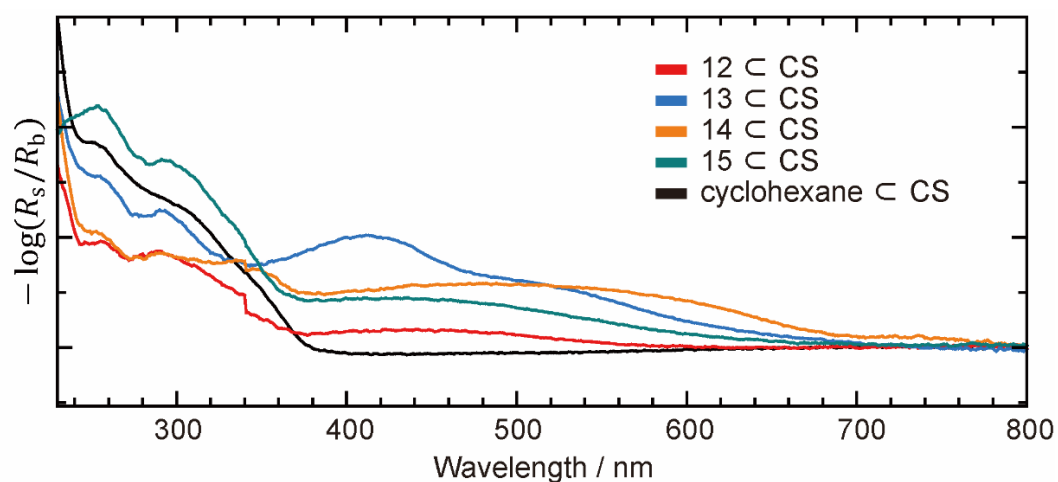


Fig. 123 Indole 誘導体包接 CS の固体拡散吸収スペクトル, $[(ZnCl_2)_3(TPT)_2 \cdot x(G)]_n$

R_s を試料の反射強度, R_b を標準材料の反射強度とし, 縦軸は $-\log R_s/R_b$ とした.

6-5. Indole 誘導体包接結晶スポンジの単結晶 X 線構造解析

取り込みを行った後、単結晶 X 線構造解析に適する結晶を選び、回折測定を行った後、単結晶 X 線構造解析を行った。Table 14 に結晶学的パラメーターおよび解析精度を示す。その結果から、X_cCS (X=**12-15**) について、細孔内におけるゲストの存在を明らかにした。それぞれの構造解析結果の詳細について示す。

12_cCS

細孔内に独立した 1,2-dimethylindole 分子が 3 種 (**A-C**) 決定された (Fig. 124)。

A と cyclohexane **G** は disorder のため、同じ空間を占めており、その占有率はそれぞれ 38%, 62%であった。**B** は 100%であった。また、**C** は対称心上に存在していたので、その占有率は 50%であった。

13_cCS

細孔内に独立した 2,5-dimethylindole 分子が 2 種 (**A, B**) 決定された (Fig. 125)。**B** は対称心上に存在していたので、その占有率は 50%であった。**A** は対称心上に存在しておりかつ溶媒である cyclohexane **H** と disorder のため、同じ空間を占めており、占有率は 25%であった。

14_cCS

細孔内に独立した 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole 分子が 3 種 (**A, B, D**) 決定された (Fig. 126)。**A** と **D** は同じ空間を占めており、その占有率はそれぞれ 70%, 30%であった。**B** の占有率は 100%であった。

15cCS

細孔内に独立した 2-phenylindole 分子が 2 種 (**A**, **B**) 決定された (Fig. 127). **A** は対称心上に存在していたので, その占有率は 51.5%であった. **B** は cyclohexane I と disorder のため同じ空間を占めており, その占有率はそれぞれ 57%, 43%であった.

すべてのゲストにおいて構造精密化には至らなかったため, 異方性温度因子を示すことができない. しかし, 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole (**14**) では CS 骨格と π - π 相互作用している様子が確認された (Fig. 126).

Table 14 1,2-Dimethylindole (**12**), 2,5-dimethylindole (**13**), 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole (**14**), 2-phenylindole (**15**)の結晶学的パラメーターおよび解析精度

Guest and CS	12 cCS	13 cCS	14 cCS	15 cCS
Formula	C _{59.94} H ₂₄ Cl ₆ N _{13.88} Zn ₃	C _{58.48} H ₂₄ Cl ₆ N _{13.76} Zn ₃	C ₇₅ H ₂₄ Cl ₆ N ₁₄ Zn ₃	C _{55.64} H ₂₄ Cl ₆ N _{13.08} Zn ₃
Crystal system	<i>Monoclinic</i>	<i>Monoclinic</i>	<i>Monoclinic</i>	<i>Monoclinic</i>
Space group	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>	<i>C2/c</i>
<i>a</i> (Å)	32.5670(15)	32.9750(17)	33.1210(17)	33.2366(19)
<i>b</i> (Å)	14.5805(5)	14.4620(6)	14.4991(6)	14.4440(7)
<i>c</i> (Å)	30.7009(12)	31.0371(13)	31.5350(13)	31.5260(17)
β (°)	101.131(3)	101.747(4)	102.452(3)	102.631(5)
<i>V</i> (Å³)	14303.9(10)	14491.1(12)	14787.7(12)	14768.4(14)
θ range (°)	3.531-65.299	3.348-65.273	2.732-53.633	2.725-65.532
<i>Z</i>	8	8	8	8
Density (g/cm³)	1.250	1.205	1.374	1.188
Temperature (K)	100	100	100	100
μ (mm⁻¹)	3.585	3.522	3.543	3.482
<i>F</i> (000)	5378	5250	6112	5276
index ranges	-38 ≤ <i>h</i> ≤ 38	-38 ≤ <i>h</i> ≤ 38	-34 ≤ <i>h</i> ≤ 34	-39 ≤ <i>h</i> ≤ 39
<i>h, k, l</i>	-17 ≤ <i>k</i> ≤ 17	-15 ≤ <i>k</i> ≤ 15	-15 ≤ <i>k</i> ≤ 15	-15 ≤ <i>k</i> ≤ 15
	-36 ≤ <i>l</i> ≤ 35	-36 ≤ <i>l</i> ≤ 36	-32 ≤ <i>l</i> ≤ 32	-37 ≤ <i>l</i> ≤ 37
Crystal size (mm³)	0.21×0.09×0.05	0.32×0.07×0.06	0.18×0.11×0.07	0.12×0.08×0.05
Total reflections	68990	69593	59903	68523
Unique reflections	12072	12006	8779	12311
<i>R</i>_{int}	0.0286	0.0281	0.0582	0.0780
Completeness	0.986	0.968	0.995	0.967
data	12072	12006	8779	12311
restrains	166	135	256	157
parameters	691	675	755	703
GoF (%)	2.309	2.869	3.878	2.741
<i>R</i>₁/<i>wR</i>₂ (<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>))	0.0795/0.2698	0.1111/0.3428	0.1392/0.4291	0.1480/0.4223
<i>R</i>₁/<i>wR</i>₂	0.0859/0.2742	0.1009/0.3302	0.1295/0.4158	0.1954/0.4338

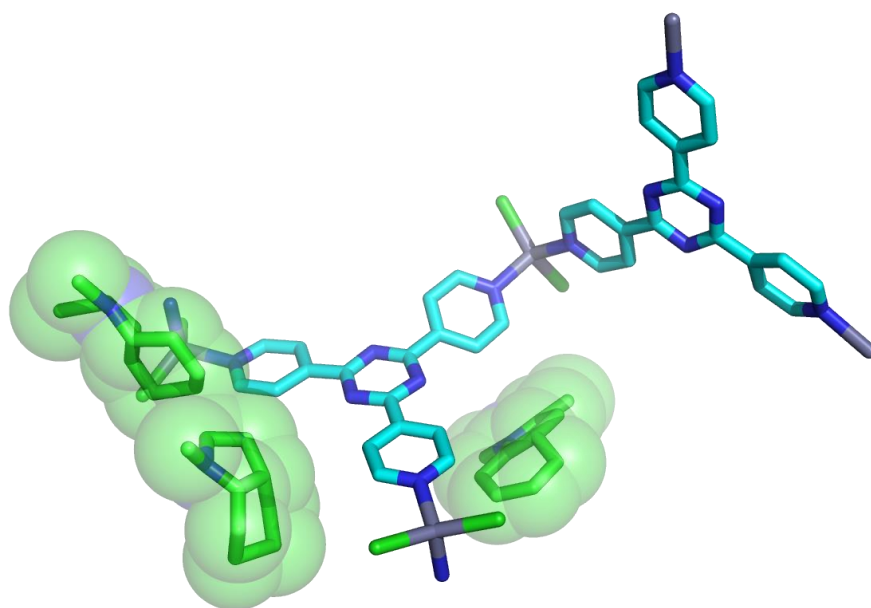


Fig. 124 1,2-Dimethylindole (**12**) の CS 細孔内での様子

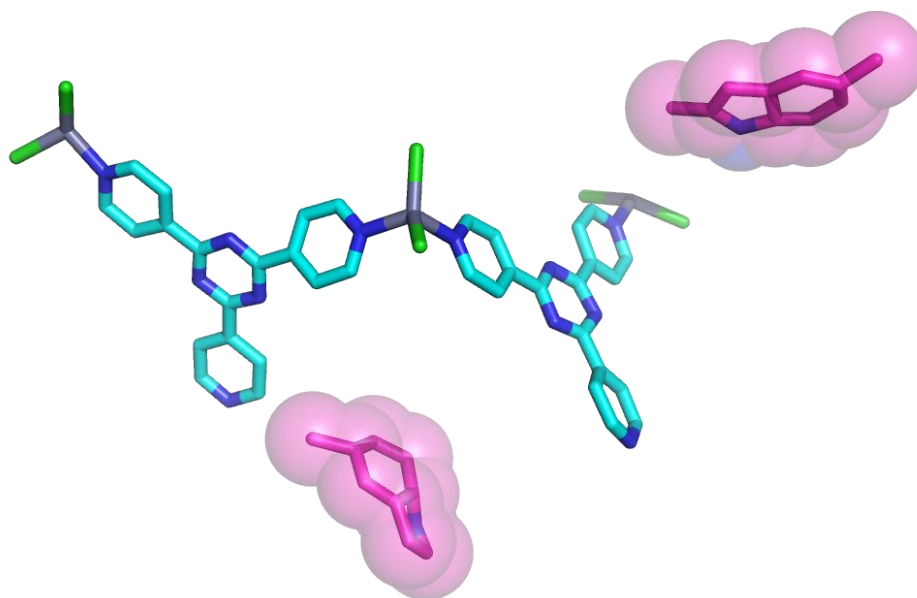


Fig. 125 2,5-Dimethylindole (**13**) の CS 細孔内での様子

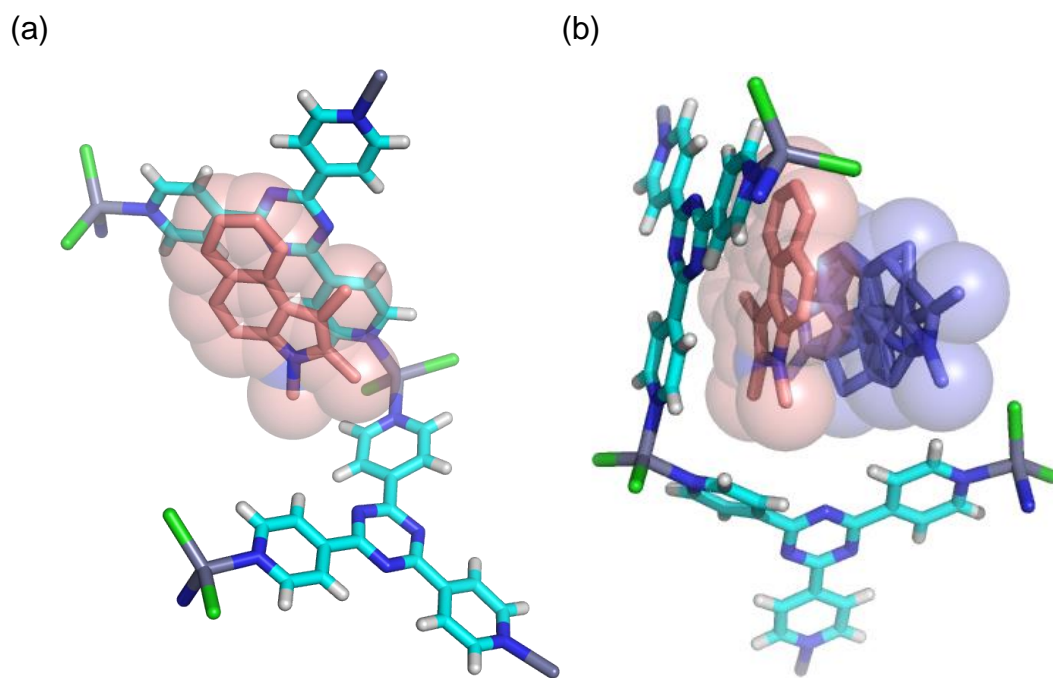


Fig. 126 (a) 1,2,3-Trimethyl-3H-benzo[e]indole (**14**), (b) ゲスト同士の disorder

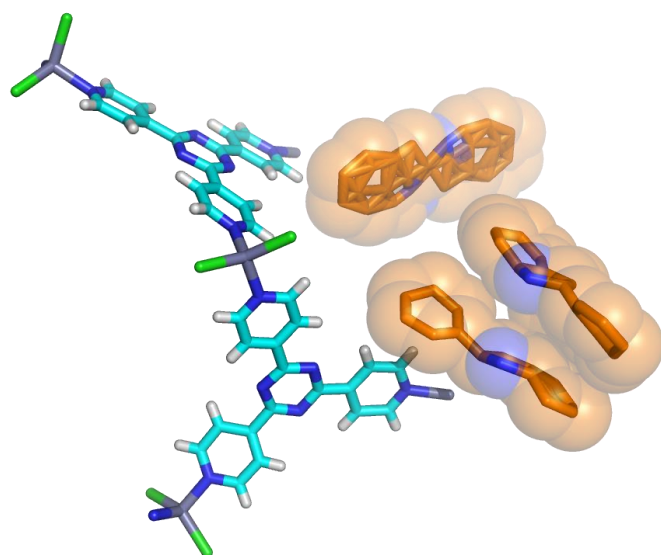


Fig. 127 2-Phenylindole (**15**) の CS 細孔内での様子

6-6. Indole 誘導体包接結晶スポンジの CS-LDI-MS/MS

単結晶 X 線解析後，同一の結晶について，正イオンモード， spiral-ToF 型質量分析計を用いて LDI-MS を行った．また，結晶存在下の MS スペクトルを平均化したスペクトルを 1D MS スペクトルとした．

次に，MS/MS 測定では，1 つ目の質量分離部 (MS1) でゲストの分子イオンを選択した．続くコリジョンセルで He ガスと衝突させフラグメンテーションを起こし，そこで生じたフラグメントイオンを 2 つ目の質量分離部 (MS2) で分離し検出した．それぞれの MS の結果について詳細を述べる．

12cCS

12cCS の 1D MS スペクトルを Fig. 128 (a) に示す．1,2-dimethylindole の分子イオン (m/z 144.0) をプリカーサーとした MS/MS の結果を Fig. 128 (b) に示す．CS 骨格に含まれる TPT のプロトン付加体 ([TPT+H]⁺) イオンピークが m/z 313.0 で観測された．また， m/z 105.0 イオンピークは TPT のフラグメントイオンである 4-cyanopyridine のプロトン付加体であった．また，図中の丸で示すイオンは indole 誘導体に特徴的なパターンであった．低質量側からオレンジ (m/z 74) と青 (m/z 117) 丸で示す．

13cCS

13cCS の 1D MS スペクトルを Fig. 129 (a) に示す．2,5-dimethylindole の分子イオン (m/z 144.0) をプリカーサーとした MS/MS の結果を Fig. 129 (b) に示す．[TPT+H]⁺ イオンピークが m/z 313.0 で観測された．また， m/z 105.0 イオンピークは TPT のフラグメントイオンである 4-cyanopyridine のプロトン付加体であった．indole 骨格の methyl 基が脱離している様子が確認された．また，図中の丸で示すイオンは indole 誘導体に特徴的なパターンであった．低質量側から緑 (m/z 39)，オレンジ (m/z 75)，赤 (m/z 89) 丸で示す．

14cCS

14cCS の 1D MS スペクトルを Fig. 130 (a) に示す. 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole の分子イオン (m/z 209.1) をプリカーサーとした MS/MS の結果を Fig. 130 (b) に示す. indole 骨格の methyl 基が脱離している様子が確認された. また, 図中の丸で示すイオンは indole 誘導体に特徴的なパターンであった. 低質量側からオレンジ (m/z 74), 赤 (m/z 89) 丸で示す. 1D MS スペクトルでは, 分子イオンが非常に効率よくイオン化されており, フラグメントがほとんど観測されないため, 元素組成の情報のみしか得られない. すなわち, MS/MS 測定を行うことにより methyl 基の脱離といった側鎖の置換基の情報が得られたといえる.

15cCS

15cCS の 1D MS スペクトルを Fig. 131 (a) に示す. 2-phenylindole の分子イオン (m/z 193.0) をプリカーサーとした MS/MS の結果を Fig. 131 (b) に示す. 14cCS と同様に, 1D MS スペクトルでは, 分子イオンが非常に効率よくイオン化されており, フラグメントがほとんど観測されないため, 元素組成の情報のみしか得られない. MS/MS 測定を行うことにより methyl 基の脱離といった側鎖の置換基の情報が得られたといえる. また, 図中の丸で示すイオンは indole 誘導体に特徴的なパターンであった. 低質量側から緑 (m/z 39), オレンジ (m/z 74), 赤 (m/z 89), 青 (m/z 117) 丸で示す.

すべての indole 誘導体の MS/MS の結果から, indole 誘導体に特徴的なピークパターンが観測できたことからパターン解析の可能性を示唆した.

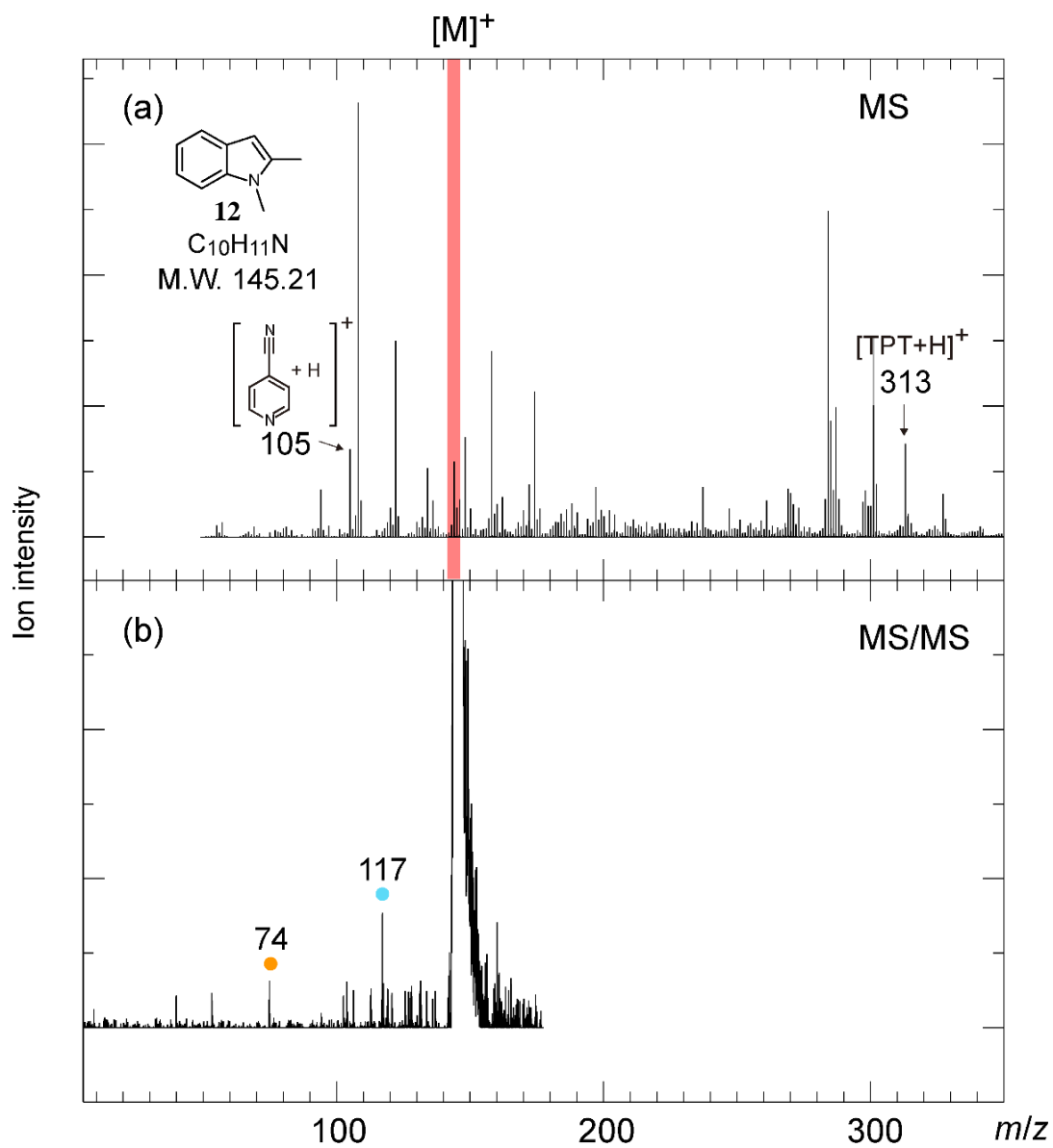


Fig. 128 1,2-Dimethylindole (**12**) の CS-LDI-MS, (a)1D MS スペクトル, (b)MS/MS スペクトル

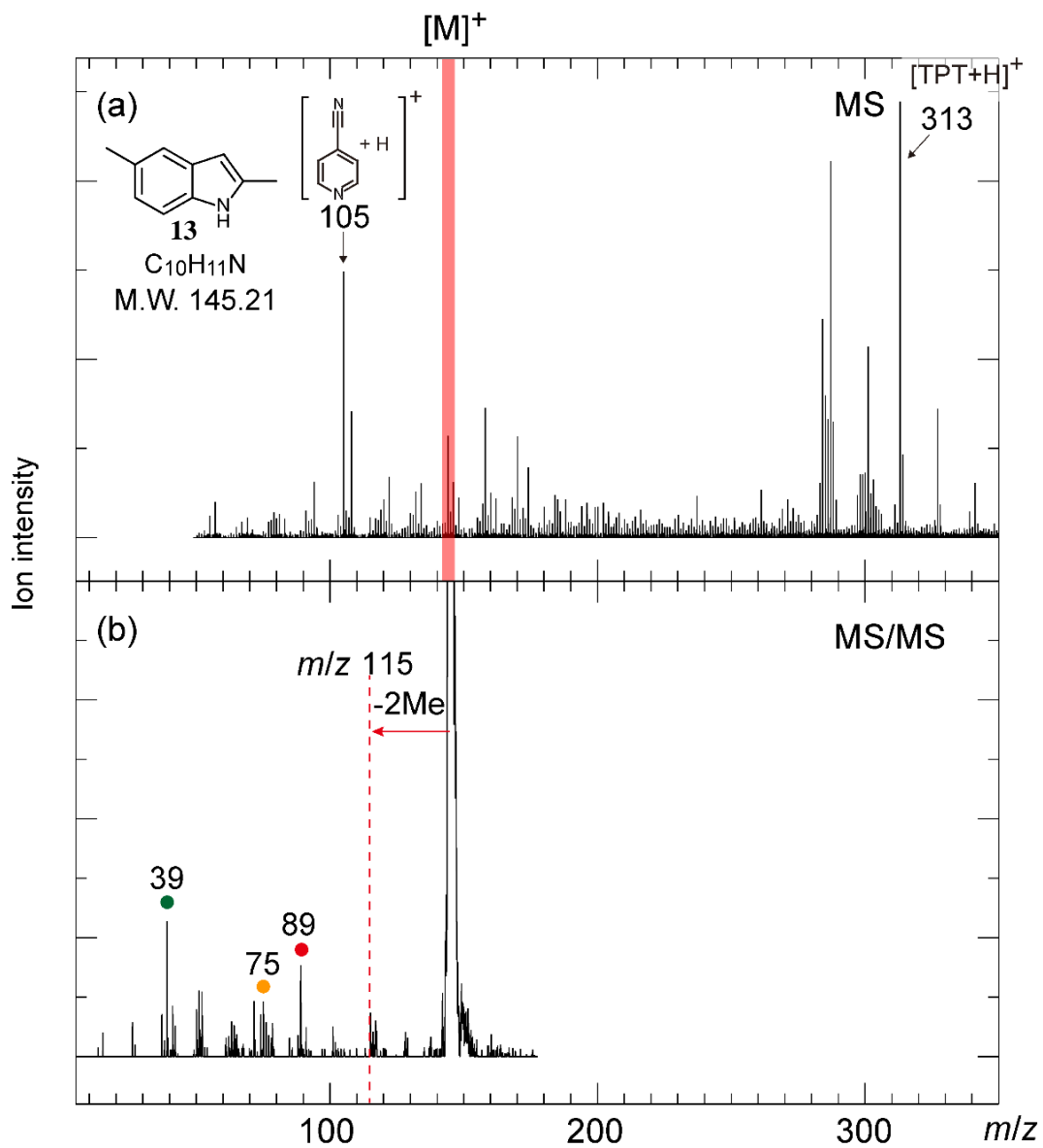


Fig. 129 2,5-Dimethylindole (13) の CS-LDI-MS, (a)1D MS スペクトル, (b)MS/MS スペクトル

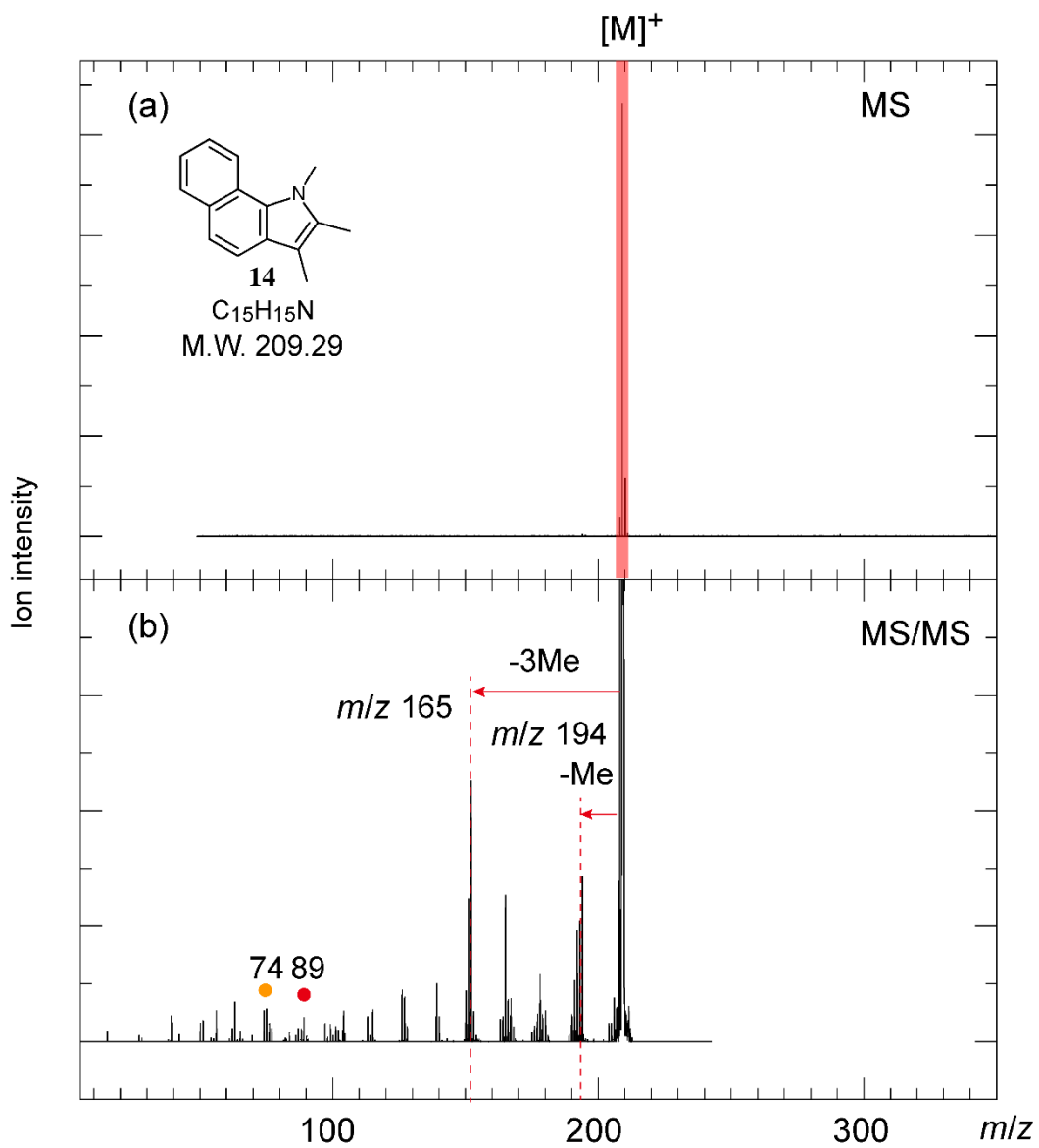


Fig. 130 1,2,3-Trimethyl-3H-benzo[e]indole (**14**) の CS-LDI-MS, (a)1D MS スペクトル, (b)MS/MS スペクトル

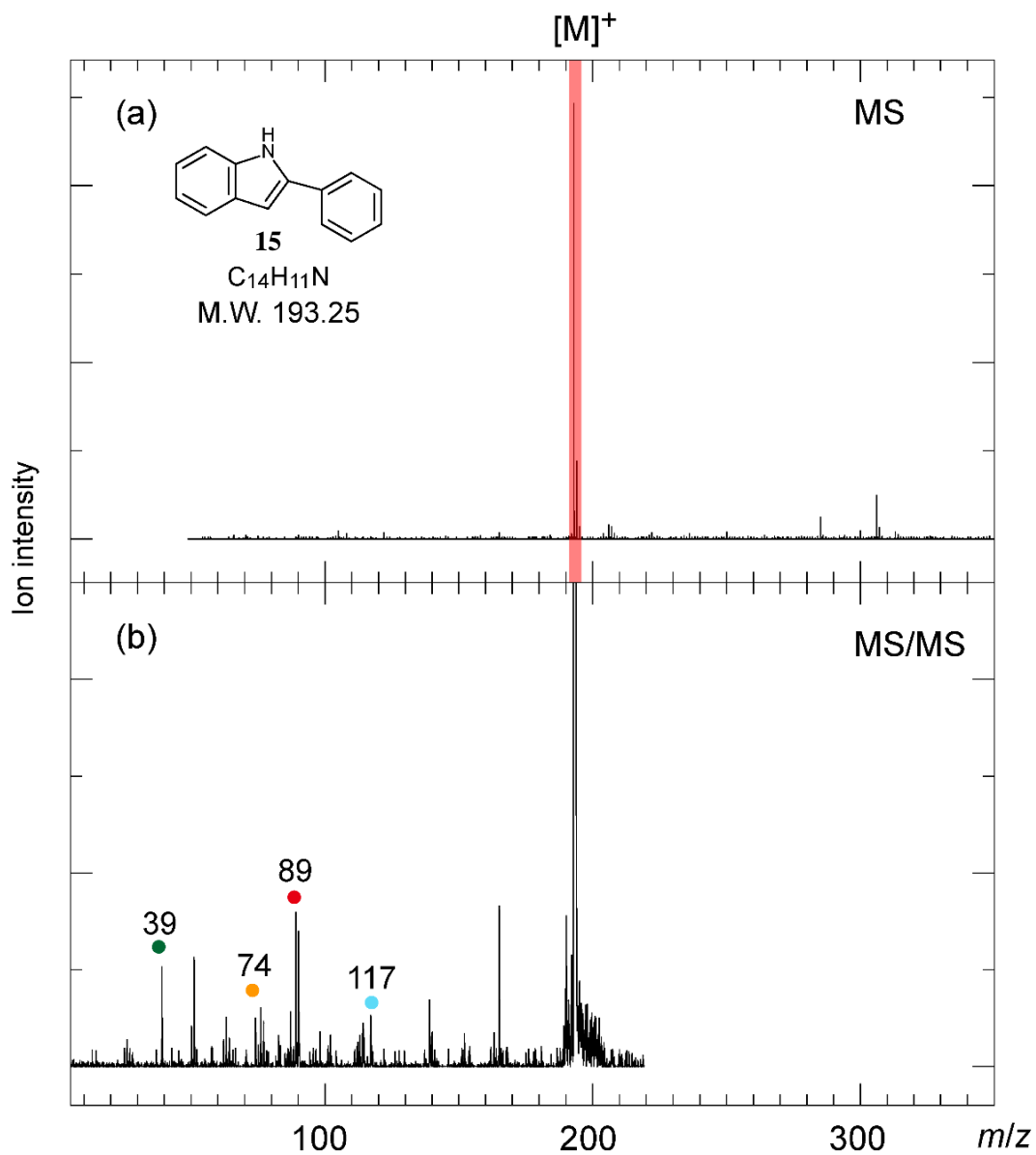


Fig. 131 2-Phenylindole (**15**) の CS-LDI-MS, (a)1D MS スペクトル, (b)MS/MS スペクトル

6-7. 結晶スポンジ抽出ゲストの ^1H NMR

CS に取り込まれたゲスト量を決定するために、結晶集団（バルク）を用いた抽出実験により、骨格中に含まれる TPT に対するゲスト比を求めた。それらの NMR スペクトルを Fig. 132~134 に示す。また、Table 15 中にそれぞれの TPT に対する割合を示す。具体例として、Fig. 132 の 1,2-dimethylindole (**12**) の NMR スペクトルでは、TPT の pyridyl 基に由来する H_α と H_β が 8.9, 8.5 ppm にそれぞれ観測されており、同時に、6.2~7.5 ppm 付近に 1,2-dimethylindole の H シグナルが観測されている。これらの H の積分比を分子数の比へと直すと、1,2-dimethylindole/TPT = 0.4/1 と求まる。他のゲストは 2,5-dimethylindole (**13**), 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole (**14**) の順に TPT1 分子に対して、0.7, 0.7 分子であった。2-Phenylindole (**15**) は CS 構成成分 TPT と複合体を形成していると考えられ、ゲストを抽出することはできなかった。

Table 15 CS抽出ゲストのguest/TPT比

CS	12<CS	13<CS	14<CS	15<CS
NMR (guest/TPT ratio)	0.4	0.7	0.7	—

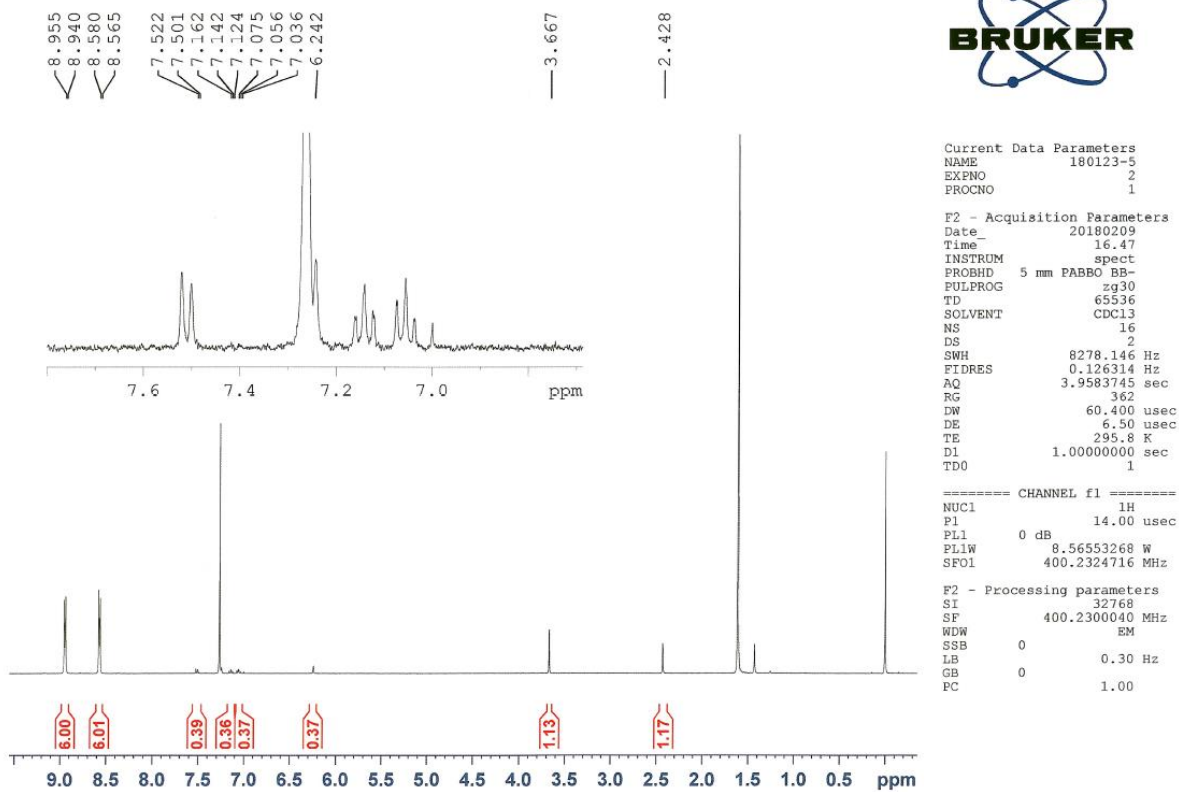


Fig. 132 抽出実験で得た 1,2-dimethylindole (12) ¹H NMR (CDCl₃, 300 K, 400 MHz)

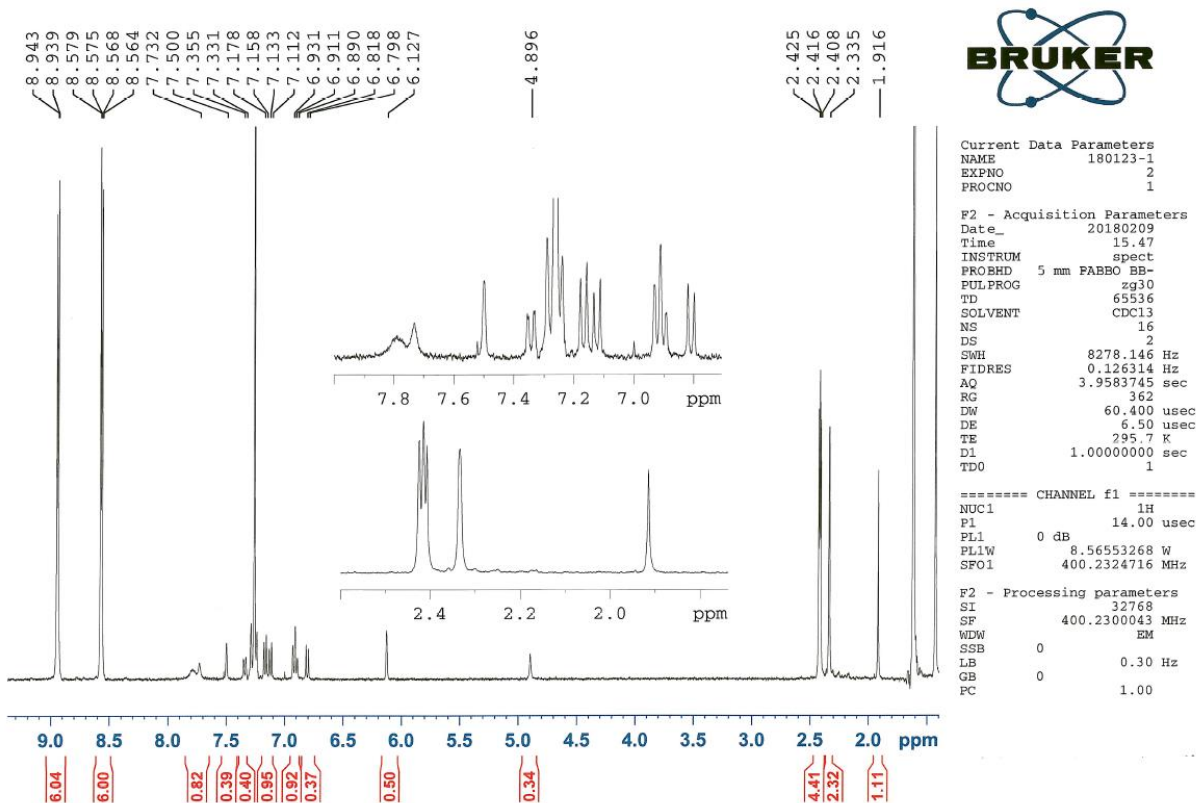
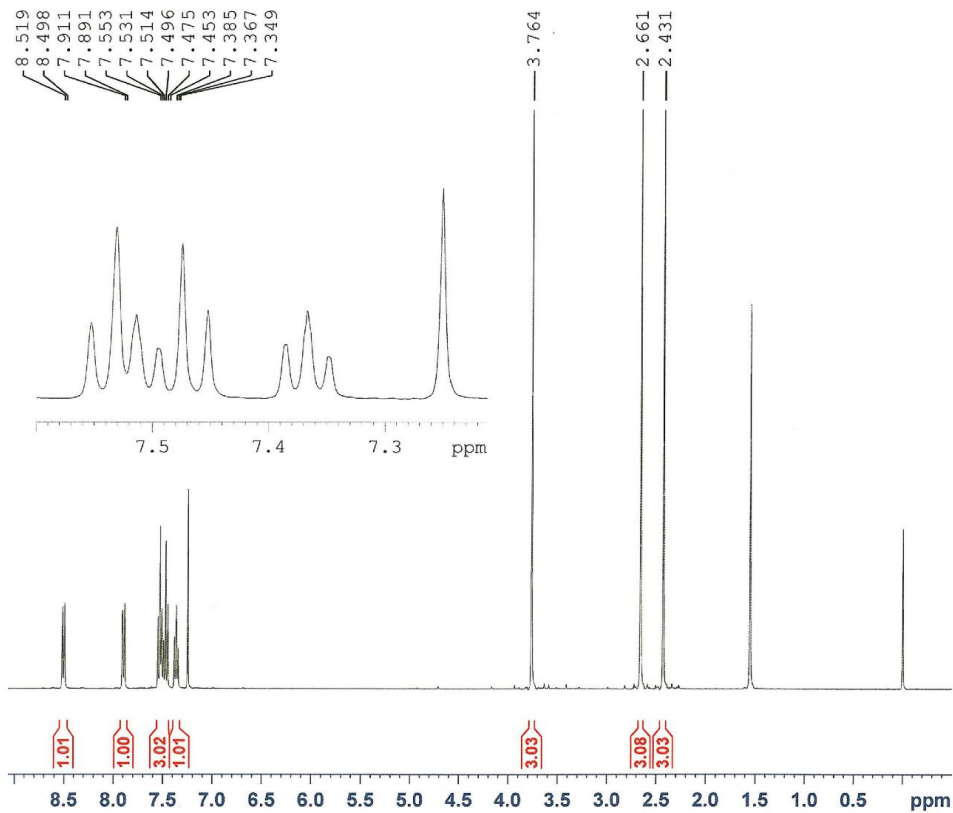


Fig. 133 抽出実験で得た 2,5-dimethylindole (13) ¹H NMR (CDCl₃, 300 K, 400 MHz)



```

Current Data Parameters
NAME      SK180801_1
EXPNO     1
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20180801
Time      9.51
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm PABBO BB-
PULPROG   zg30
TD         65536
SOLVENT   CDCl3
NS         16
DS         2
SWH        8278.146 Hz
FIDRES     0.126314 Hz
AQ         3.9583745 sec
RG         362
DW         60.400 usec
DE         6.50 usec
TE         295.3 K
D1         1.00000000 sec
TDO        1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1      1H
P1        14.50 usec
PL1       0 dB
PL1W      8.56553268 W
SF01      400.2324716 MHz

F2 - Processing parameters
SI        32768
SF        400.2300094 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        0.30 Hz
GB        0
PC        1.00

```

Fig. 134 抽出実験で得た 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole (**14**) ¹H NMR (CDCl₃, 300 K, 400 MHz)

6-8. まとめ

X線構造解析からゲストがCS内に取り込まれていることを確かめた後、LDI-MSによるMS/MS測定を行ったところ、indole誘導体について置換基(methyl基)の脱離が、その数に応じて確認された。また、置換基の導入位置によって開裂するパターンが異なっていたが、indole骨格に特徴的なフラグメンテーションが確認された。分子イオンからは分析種の元素組成がわかり、フラグメンテーションからは分子の骨格および側鎖情報が判別できることが示唆された。ところで、単結晶X線構造解析では、電子による回折斑点の強度情報をフーリエ変換により初期構造へと変換するために、直接、元素組成の情報は得られない。質量分析で観測される分子イオンから元素組成が得られる。さらにMS/MSは分子の骨格や側鎖情報が得られる。これらの情報を組み合わせることで、未知分子の構造解析が可能であると考えられる。

CS-LDI-MS法は、 π - π 相互作用を有する包接分子のレーザー脱離イオン化を達成することができた。既存法に比べて、分子の性状によらず、 π - π 相互作用を持つ分子であればイオン化できるが、そのイオン生成物は本手法固有のものである。よって、簡便に構造解析をするためには種々の構造について、分子イオンおよびそのMS/MSパターンをデータベース化することが必要であると考えられる。

以上より、CS-LDI-MS法においてindole誘導体の分子イオン検出、続く、MS/MS測定を行ったところ、分子の骨格構造や側鎖情報が得られることがわかった。これらは未知物質の元素組成を明らかにし、部分構造を明らかにできることから単一結晶の構造解析と組み合わせることで微量の有機分子構造解析が可能であるものとする。

第七章 総括

本論文では、CS 法がゲストの立体構造解析法としてだけではなくイオン化場として利用できる点、そして相互作用を分子レベルで明らかにできる結晶性ナノ空間であることに着目し、レーザー脱離イオン化法によってイオン化するために必要な条件を分子レベルで確かめた。IMS により結晶存在下でのイオン検出、1D MS スペクトルからゲストの分子イオンならびにフラグメンテーションについての知見を得た。さらに MS/MS によって分析種のみからのフラグメンテーションについて分子構造解析が可能かを検討した。これにより、分子の骨格や側鎖情報が得られることが明らかとなった。

第二章では、CS 法自体が持つゲストの取り込みの制約について検討するため、CS 内へ末端に芳香環を有する異なる鎖長の直鎖状 ene 化合物を取り込み、単結晶 X 線構造解析、次いでレーザー脱離イオン化質量分析を行った。その結果、結晶の細孔鎖長より短い場合、すべてのゲストが CS 骨格と π - π 相互作用しているとわかった。また、LDI-MS から分析種の分子イオンを与えたこと、また結晶領域のみにイオンが観測されたことからホットスポット領域が可視化されたといえる。同時に、CS 骨格もイオン化しており、マトリクスとしての機能を有していることがわかった。

第三章では、CS-LDI-MS 法が微量分析である点に着目し、単結晶 X 線構造解析と質量分析の検出感度を比較するため、CS 内へ取り込み濃度の異なる 9,10-BrAN を取り込み、単結晶 X 線構造解析、次いでレーザー脱離イオン化質量分析を行った。その結果、高濃度 2.7×10^{-3} M 条件では、重原子 Br に基づく電子密度が確認され、構造モデルを当てはめたが、disorder により構造精密化はできなかった。濃度 2.7×10^{-6} M 条件では、わずかに重原子 Br の電子密度が観測されたが、構造モデルを当てはめることはできなかった。濃度 2.7×10^{-9} M 条件では、溶媒のみ観測された。また、LDI-MS による分子イオン検出を試みたところ分析種と同時に CS 骨格のイオンピークも観測された。このイオンピーク強度に対する分析種の相対強度を調べたところ、 2.7×10^{-6} M 以下では、ほとんど観測されなかった。以上から CS 内へゲストが密に包接された場合にのみ、単結晶 X

線構造解析と質量分析, 両方で分子情報が得られ, どちらか一方から優先的に分析できるわけではないことが示された.

第四章は, CS 法を用いて特定の母骨格に着目して系統的に調べられた例がないことから, CS 内へ4つの異なる 1,3-benzodioxole 誘導体を取り込み, 単結晶 X 線構造解析, 次いでレーザー脱離イオン化質量分析を行った. その結果, CS 内へはすべてのゲストが取り込まれ, CS 内におけるゲスト分子の位置のみならず, 相互作用の有無を明らかにした. CS 骨格やハロゲンと 1,3-benzodioxole 骨格は π - π 相互作用などの弱い相互作用を多点で生じていることがわかった. 次に LDI-MS によってゲストの分子イオン検出を行ったところ, piperonyl acetone においては比較的明瞭なイオンピークが観測された. 他のゲストでは, 小分子の付加体および脱離体として観測された. 同時に m/z 108 にて 1,3-benzodioxole 骨格に共通で生じるイオンの存在を明らかにした. CS-LDI-MS 法では低質量数領域においてマトリクス機能を持つ CS 骨格の影響を受けず, ゲスト由来のイオンピークを観測した.

第五章では, CS 内へ芳香族化合物の取り込みだけでなく cyclohexane のような環状炭化水素の取り込みも起こりうることから, CS 内へ種々の単環状化合物を取り込み, 単結晶 X 線構造解析, 次いでレーザー脱離イオン化質量分析を行った. その結果, CS 内へはすべてのゲストが取り込まれた. CS 内におけるゲストの位置と相互作用の有無を明らかにした. ゲストのうち, Cp*H は骨格と π - π 相互作用などの弱い相互作用を多点で生じていることがわかった. 一方, zerumbone と muscone は細孔内部の狭い空間に環を収縮して収まっている様子はみられたが, CS 骨格との相互作用はみられなかった. 次に LDI-MS によってゲストの分子イオンピーク検出を行ったところ, Cp*H においてプロトン付加体イオンが観測された. その他は分析種由来イオンピークは観測されなかった. 一方, すべての場合で CS 骨格およびそのフラグメントイオンが観測された. つまり, マトリクス機能を持つ CS 骨格にてレーザー光吸収が起きており, 相互作用のない場合, そのエネルギーは分析種へ伝わらなかった. 以上より環状化合物の取り込みは環の 15 員環程度まで, 静電的相互作用がなくても取り込まれることがわかった. また, 単結晶 X 線構造解析によってその存在を確かめられるが, LDI-MS 時においてはレ

レーザーエネルギーを伝えるための相互作用がない場合、イオン化しないとわかった。

第六章では、ゲストの分子イオンピークが得られる場合、CIDにより意図的にフラグメンテーションを起こすことで分子構造情報を得られることから、CS内へindole誘導体を取り込み、単結晶 X線構造解析、次いでレーザー脱離イオン化質量分析によるMS/MSを行った。その結果、分析種からmethyl基が脱離しているイオンピークや、分析種の骨格に由来するフラグメントイオンピークパターンを検出することができた。すべての分析種において、そのフラグメントイオンピークパターンが類似したことからパターン分析の可能性が示唆された。

以上から、CS-LDI-MS法は単一結晶へ単結晶 X線構造解析と質量分析という異なる二種類の分析法を適用できることがわかった。その条件として、細孔内への十分な取り込みが必要であった。また質量分析から得られる分子イオンは、分析種の分子構造情報、すなわち側鎖や骨格構造を与えることがわかった。同時に質量分析は、分子イオンからゲストの元素組成が明らかとなる。このことは、単結晶 X線構造解析では得られない情報であり、未知化合物の解析に役立つ。さらに、フラグメンテーションの分子構造情報は、X線構造解析において分子パーツをモデルとして当てはめることができるものと考えられる。本手法は、このような未知分子 単一結晶の構造解析法として、天然抽出物や微量試料の解析へ適用できることが期待される。

実験の部

試料・装置

取り込みによる CS の経時光学色変化の写真撮影に用いた光学顕微鏡は Nikon の SMZ18, 倍率 40 倍である. ただし, 縮尺は試験管を通した CS 像を得ているため示さない. 固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトルデータは JASCO UV/vis V-560 spectrophotometer にて測定した. 試料の希釈に用いた BaSO₄ Puratronic 99.998%(metals basis)はアルファ・エイサー社 (サーモフィッシャーサイエンティフィック) から購入し, 使用した. 単結晶 X 線構造解析は D8 VENTURE URTRA (Bruker) を用いた. 線源は回転陰極管 CuK α 線を用い, ω - ϕ scans にて反射測定をした. 直接法 (SHELX-2014) により初期位相決定を行い, F^2 フルマトリクス最小二乗法 (SHELX-2014) により構造精密化を行った. 水素原子は計算値で固定して, riding model を用いて精密化を行った. CS-LDI-MS およびイメージング質量分析は JEOL 社の Spiral-TOF JMS-S3000 を用いて行った. 測定条件 1 spectrum あたり 10 Hz, 5 shot, レーザー波長は 349 nm (Nd:YLF 349 nm Newport), laser power は 56% (30 μ J), 空間分解能は 40 μ m, 50 μ m, サンプルプレートは ITO ガラス (サイズ 75 \times 25 \times 0.7 mm², 膜厚 3300 Å, ジオマテック社製) を用い, 正イオンモードで行った. MS/MS の測定条件は, 100 Hz, Laser Intensity 64% で行った. NMR データは Bruker Avance 400 (400 MHz, 300 K) にて測定し, 内部標準として TMS (CDCl₃) を 0 ppm とし, 化学シフト値を補正した.

Zinc iodide, zinc chloride, chloroform-*d*₁, silica Gel 60 (spherical) NH₂ は関東化学 (Kanto Chemical Co., Inc.) から購入した. 2,4,6-Tris(4-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPT), *trans*-stilbene, 9,10-dibromoanthracene, piperonyl acetone, piperonyl methyl ketone, piperonylonitrile, Cp*H, muscone, 1,2-dimethylindole, 2,5-dimethylindole, 1,2,3-trimethyl-3*H*-benzo[*e*]indole, 2-phenylindole は東京化成工業 (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (TCI)) から購入した. Nitrobenzene, methanol, chloroform, cyclohexane, HCl は和光純薬工業 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) から購入した. また, 濃 HCl から 1 N HCl を調製した.

(1*E*, 3*E*)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene, 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene, safrole, zerumbone は Sigma-Aldrich から購入した. TPT はカラムクロマトグラフィーで精製したものを使用し, TPT を除くすべての試薬と溶媒は精製せずに使用した.

結晶スポンジの合成

$[(\text{ZnI}_2)_3(\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_6)_2]\cdot\text{G}$ (G はゲストを表す)

ZnI_2 (574.5 mg, 1.8 mmol) を 300 mL のナス型フラスコに入れ, 60.0 mL の methanol へ溶解させ, 30.0 mM ZnI_2 methanol 溶液を得た. TPT (324.3 mg, 1.0 mmol) を 500 mL のナス型フラスコに入れ, 260.0 mL の nitrobenzene/methanol 混合溶液 ($v/v = 4/1$) へ溶解させ, 3.85 mM TPT nitrobenzene/methanol 溶液を得た. 試験管 1 本に TPT 溶液 5.0 mL を下層, ZnI_2 溶液 1.0 mL を上層にそれぞれ 30 mL のガラスシリンジ, 5 mL のガスタイトシリンジを用いて入れた. 同様にして 計 50 本調製し, 室温にアルミホイルで遮光して静置した. 液液拡散法により 7 日後にブロック状の単結晶 (薄黄色) を得た. 得られた結晶をろ取した後, 別の試験管に入れ, 5 mL 駒込ピペットを用いて, 2.0 mL cyclohexane 溶媒を入れた. その後, 1 日毎に 5 日間新しい cyclohexane 溶媒 2.0 mL と溶媒交換を行った.

$[(\text{ZnCl}_2)_3(\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_6)_2]\cdot\text{G}$ (G はゲストを表す)

ZnCl_2 (245.376 mg, 1.8 mmol) を 300 mL のナス型フラスコに入れ, 60.0 mL の methanol へ溶解させ, 30.0 mM ZnCl_2 methanol 溶液を得た. TPT (324.83 mg, 1.0 mmol) を 500 mL のナス型フラスコに入れ, 260.0 mL の chloroform へ溶解させ, 3.85 mM TPT chloroform 溶液を得た. 試験管 1 本に TPT 溶液 5.0 mL を下層, ZnCl_2 溶液 1.0 mL を上層にそれぞれ 30 mL のガラスシリンジ, 5 mL のガスタイトシリンジを用いて入れた. 同様にして 計 50 本調製し, インキュベーター (25°C, SIB-35CP,SANSYO) 内にアルミホイルで遮光して静置した. 液液拡散法により 2 日後にブロック状の単結晶 (無色透明) を得た. 得られた結晶を, パスツールピペットを用いて試験管壁面から底へそぎ落とした. その後, 細孔内溶媒分子を chloroform から cyclohexane へ置換するために結晶化溶液をパスツールピペットで取り除き, 2.0 mL chloroform/cyclohexane 混合溶液を 5 mL の駒込ピペットを用いて試験管に入れた. その後, 1 日毎に 5 日間 chloroform/cyclohexane 混合溶液 ($v/v = n/5 - n, n = 1-5, n$ は日数) と溶媒交換を行った.

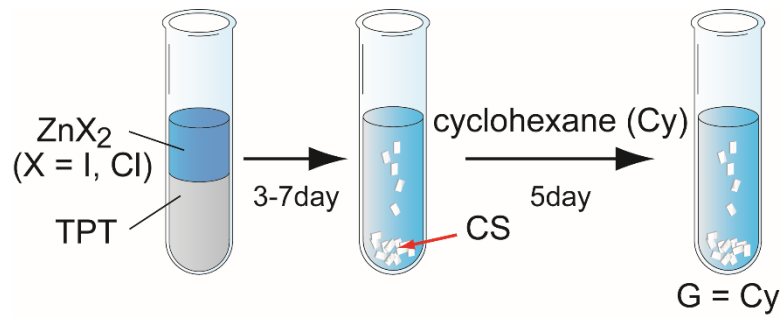


Fig. 1 液液拡散法による結晶化

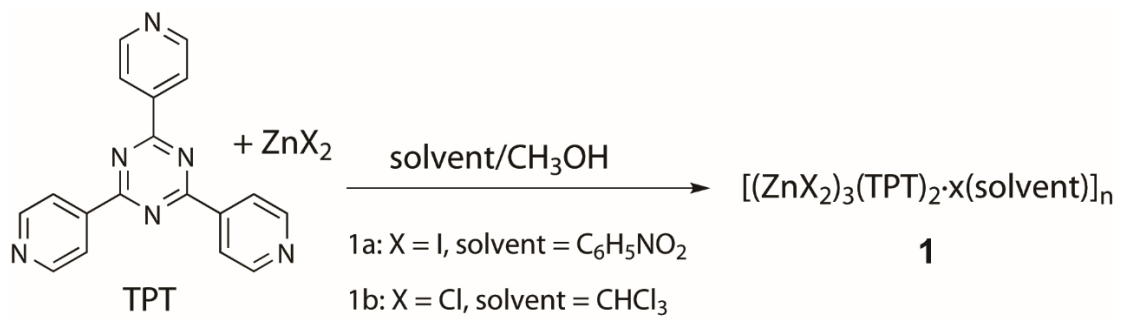


Fig. 2 結晶スポンジ反応式

結晶スポンジ内ゲストの TPT 骨格分子に対する物質質量比

単結晶 X 線構造解析に用いた試験管内に残っているすべてのゲスト包接 CS をろ取り、マイクロチューブへ入れた。そのマイクロチューブへ 1 N HCl 100 μ L を加え、超音波により結晶を壊した。次に NaHCO₃ 飽和水溶液を入れ、万能試験紙により pH が 10 であることを確認し、CDCl₃ 850 μ L を加え、有機層を抽出した。有機層を Na₂SO₄ の入ったパスツールピペットに通したのち、¹H NMR 法を行った。

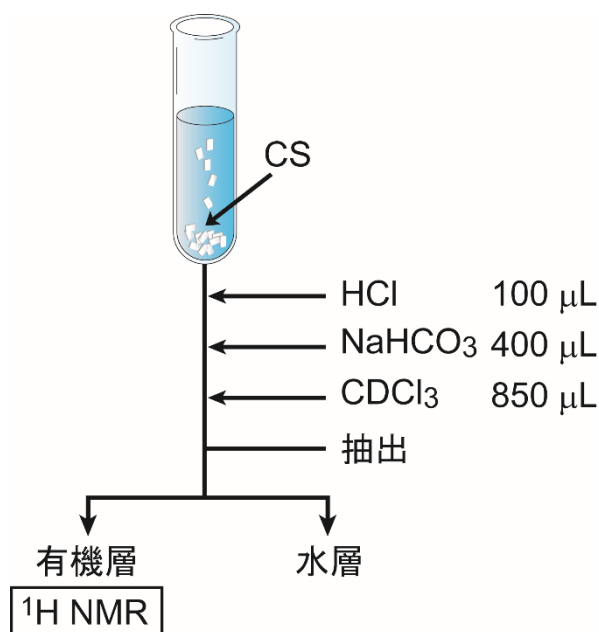


Fig. 3 結晶スポンジ内に包接されたゲストの抽出手順

固体拡散反射 UV-vis 吸収スペクトル

単結晶 X 線構造解析に用いなかったゲスト包接 CS (X=Cl) をろ取りし、秤量した。その結晶 1mg に対して BaSO₄ 30 mg を秤量し、めのう乳鉢に入れ混合した。混合した固体試料を微量粉末セル（試料部φ 5 mm）に入れ、固体拡散反射 UV-vis 測定を行った。

Table 1 第二章における直鎖状 ene 化合物包接結晶と BaSO₄ の秤量

Sample name	結晶(mg)	BaSO ₄ (mg)
Cyclohexane	0.19	30
<i>trans</i> -Stilbene	1.26	38
(1 <i>E</i> , 3 <i>E</i>)-1,4-Diphenyl-1,3-butadiene	1.60	49
1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene	1.05	32

Table 2 第三章における 9,10-dibromoanthracene 包接結晶と BaSO₄ の秤量

Sample name	結晶(mg)	BaSO ₄ (mg)
Cyclohexane	0.19	30
2.7×10 ⁻³ M 9,10-dibromoanthracene	1.24	38
2.7×10 ⁻⁶ M 9,10-dibromoanthracene	1.40	42
2.7×10 ⁻⁹ M 9,10-dibromoanthracene	1.02	30

Table 3 第四章における 1,3-benzodioxole 誘導体包接結晶と BaSO₄ の秤量

Sample name	結晶(mg)	BaSO ₄ (mg)
Cyclohexane	0.19	30
Safrole	1.48	30
Piperonyl acetone	1.46	30
Piperonyl methyl ketone	3.82	120
Piperonylonitrile	1.87	60

Table 4 第五章における大環状化合物包接結晶と BaSO₄ の秤量

Sample name	結晶(mg)	BaSO ₄ (mg)
Cyclohexane	0.190	30
Cp*H	1.60	30
Zerumbone	2.67	60
Muscone	2.36	60

Table 5 第六章における indole 誘導体と BaSO₄ の秤量

Sample name	結晶(mg)	BaSO ₄ (mg)
Cyclohexane	0.190	30
1,2-Dimethylindole	3.84	116
2,5-Dimethylindole	3.83	115
1,2,3-Trimethyl-3 <i>H</i> -benzo[<i>e</i>]indole	2.35	71
2-Phenylindole	1.67	51

引用文献

- 1 K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida and T. Matsuo, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 1988, **2**, 151–153.
- 2 M. Karas, U. Bahr and U. Gießmann, *Mass Spectrom. Rev.*, 1991, **10**, 335–357.
- 3 M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr and F. Hillenkamp, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.*, 1987, **78**, 53–68.
- 4 M. W. F. Nielen, *Mass Spectrom. Rev.*, 1999, **18**, 309–344.
- 5 S. D. Hanton, *Chem. Rev. (Washington, D. C.)*, 2001, **101**, 527–569.
- 6 C. Burger, B. S. Hsiao and B. Chu, *Annu. Rev. Mater. Res.*, 2006, **36**, 333–368.
- 7 R. Zenobi and R. Knochenmuss, *Mass Spectrom. Rev.*, 1999, **17**, 337–366.
- 8 M. Karas and R. Krueger, *Chem. Rev. (Washington, DC, United States)*, 2003, **103**, 427–439.
- 9 M. Merchant and S. R. Weinberger, *Electrophoresis*, 2000, **21**, 1164–1177.
- 10 J. M. Daniel, S. D. Friess, S. Rajagopalan, S. Wendt and R. Zenobi, *Int. J. Mass Spectrom.*, 2002, **216**, 1–27.
- 11 A. J. R. Heck and R. H. H. van den Heuvel, *Mass Spectrom. Rev.*, 2004, **23**, 368–389.
- 12 K. A. Schug and W. Lindner, *Chem. Rev. (Washington, DC, United States)*, 2005, **105**, 67–113.
- 13 J. Szpunar, *Anal. (Cambridge, United Kingdom)*, 2005, **130**, 442–465.
- 14 R. Arakawa and H. Kawasaki, *Anal. Sci.*, 2010, **26**, 1229–1240.
- 15 H. N. Abdelhamid and H. Wu, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2016, **408**, 4485–4502.
- 16 N. H. Finkel, B. G. Prevo, O. D. Velez and L. He, *Anal. Chem.*, 2005, **77**, 1088–1095.
- 17 M. Dupré, Y. Coffinier, R. Boukherroub, S. Cantel, J. Martinez and C. Enjalbal, *J. Proteomics*, 2012, **75**, 1973–1990.
- 18 G. Piret, H. Drobecq, Y. Coffinier, O. Melnyk and R. Boukherroub, *Langmuir*, 2010, **26**, 1354–1361.
- 19 Y. Chen and A. Vertes, *Anal. Chem.*, 2006, **78**, 5835–5844.

- 20 E. P. Go, J. V. Apon, G. Luo, A. Saghatelian, R. H. Daniels, V. Sahi, R. Dubrow, B. F. Cravatt, A. Vertes and G. Siuzdak, *Anal. Chem.*, 2005, **77**, 1641–1646.
- 21 R. D. Lowe, E. J. Szili, P. Kirkbride, H. Thissen, G. Siuzdak and N. H. Voelcker, *Anal. Chem.*, 2010, **82**, 4201–4208.
- 22 H. Kawasaki, T. Yao, T. Suganuma, K. Okumura, Y. Iwaki, T. Yonezawa, T. Kikuchi and R. Arakawa, *Chem. Eur. J.*, 2010, **16**, 10832–10843.
- 23 H. Nasser Abdelhamid, B.-S. Wu and H.-F. Wu, *Talanta*, 2014, **126**, 27–37.
- 24 M. L. Bhaisare, H. N. Abdelhamid, B.-S. Wu and H.-F. Wu, *J. Mater. Chem. B*, 2014, **2**, 4671–4683.
- 25 J. D. Cuiffi, D. J. Hayes, S. J. Fonash, K. N. Brown and A. D. Jones, *Anal. Chem.*, 2001, **73**, 1292–1295.
- 26 S. Alimpiev, A. Grechnikov, J. Sunner, V. Karavanskii, Y. Simanovsky, S. Zhabin and S. Nikiforov, *J. Chem. Phys.*, 2008, **128**, 014711.
- 27 M. Yang and T. Fujino, *Chem. Phys. Lett.*, 2013, **576**, 61–64.
- 28 F. Wang, Y. Guan, S. Zhang and Y. Xia, *J. Chromatogr. A*, 2012, **1246**, 76–83.
- 29 J. Suzuki and T. Fujino, *Anal. Sci.*, 2012, **28**, 901–904.
- 30 T. Asano, J. Suzuki, K. Hashimoto and T. Fujino, *Anal. Sci.*, 2013, **29**, 1035–1039.
- 31 Y. Wang, W. Chen, J. Wu, Y. Guo and X. Xia, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2007, **18**, 1387–1395.
- 32 R. Yamamoto and T. Fujino, *Chem. Phys. Lett.*, 2012, **543**, 76–81.
- 33 Y. Komori, H. Shima, T. Fujino, J. N. Kondo, K. Hashimoto and T. Korenaga, *J. Phys. Chem. C*, 2010, **114**, 1593–1600.
- 34 J. Suzuki, A. Sato, R. Yamamoto, T. Asano, T. Shimosato, H. Shima, J. N. Kondo, K. Yamashita, K. Hashimoto and T. Fujino, *Chem. Phys. Lett.*, 2012, **546**, 159–163.
- 35 C. Pan, M. Ye, Y. Liu, S. Feng, X. Jiang, G. Han, J. Zhu and H. Zou, *J. Proteome Res.*, 2006, **5**, 3114–3124.
- 36 Y. Zhang, X. Yu, X. Wang, W. Shan, P. Yang and Y. Tang, *Chem. Commun.*, 2004,

- 2882–2883.
- 37 H. Zou, Q. Zhang, Z. Guo, B. Guo, Q. Zhang and X. Chen, *Angew. Chem, Int. Ed.*, 2002, **41**, 646–648.
- 38 J. R. Krone, R. W. Nelson, D. Dogruel, P. Williams and R. Granzow, *Anal. Biochem.*, 1997, **244**, 124–132.
- 39 T. Natsume, H. Nakayama, T. Isobe, *Trends. Biotechnol.*, 2001, **19**, 28-33.
- 40 D. Nedelkov and R. W. Nelson, in *New and Emerging Proteomic Techniques*, Humana Press, New Jersey, 2006, vol. 328, pp. 131–140.
- 41 D. Nedelkov, K. A. Tubbs and R. W. Nelson, *Electrophoresis*, 2006, **27**, 3671–3675.
- 42 J. Su, T. W. Rajapaksha, M. E. Peter and M. Mrksich, *Anal. Chem.*, 2006, **78**, 4945–4951.
- 43 D. Nedelkov, *Anal. Chem. (Washington, DC, United States)*, 2007, **79**, 5987–5990.
- 44 S. M. Patrie and M. Mrksich, *Anal. Chem. (Washington, DC, United States)*, 2007, **79**, 5878–5887.
- 45 J. R. Lee, J. Lee, S. K. Kim, K. P. Kim, H. S. Park and W.-S. Yeo, *Angew. Chem, Int. Ed.*, 2008, **47**, 9518–9521.
- 46 B. Mattei, J. Borch and P. Roepstorff., *Anal. Chem.*, 2008, **76**, 18 A-25 A.
- 47 M. Mrksich, *ACS Nano*, 2008, **2**, 7–18.
- 48 M. W. F. Nielen, D. Hooijerink, W. Haasnoot, O. Jansson, G. R. Marchesini and J. Buijs, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 1159–1168.
- 49 G. Treitz, T. M. A. Gronewold, E. Quandt and M. Zabe-Kuehn, *Biosens. Bioelectron.*, 2008, **23**, 1496–1502.
- 50 F. Lopez, C. Pichereaux, O. Burlet-Schiltz, L. Pradayrol, B. Monsarrat and J. P. Estève, *Proteomics*, 2003, **3**, 402–412.
- 51 N. F. C. Visser and A. J. R. Heck, *Expert Rev. Proteomics*, 2008, **5**, 425–433.
- 52 G. R. Marchesini, H. Hooijerink, W. Haasnoot, M. W. F. Nielen, J. Buijs, K. Campbell, C. T. Elliott and M. W. F. Nielen, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2009, **28**, 792–803.

- 53 R. W. Nelson, D. Nedelkov and K. A. Tubbs *Electrophoresis.*, 2000, **21**, 1155-1163.
- 54 D. Nedelkov, *Methods Mol. Biol. (Totowa, NJ, United States)*, 2010, **627**, 261–268.
- 55 N. J. de Mol, *Methods Mol. Biol. (New York, NY, United States)*, 2012, **800**, 33–53.
- 56 S. Forest, J. Breault-Turcot, P. Chaurand and J. F. Masson, *Anal. Chem.*, 2016, **88**, 2072–2079.
- 57 D. Nedelkov and R. W. Nelson, *J. Mol. Recognit.*, 2003, **16**, 15–19.
- 58 D. Nedelkov and R. W. Nelson, *Trends Biotechnol.*, 2003, **21**, 301–305.
- 59 I. M. Gavin, A. Kukhtin, D. Glesne, D. Schabacker and D. P. Chandler, *Biotechniques*, 2005, **39**, 99–107.
- 60 J. Grote, N. Dankbar, E. Gedig and S. Koenig, *Anal. Chem.*, 2005, **77**, 1157–1162.
- 61 J. Piehler, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2005, **15**, 4–14.
- 62 H. Seok, M. Hong, Y.-J. Kim, M. Han, D. Lee, J. Lee, J. Yoo and H. Kim, *Anal. Biochem.*, 2005, **337**, 294–307.
- 63 G. Grasso, M. Fragai, E. Rizzarelli, G. Spoto and K. J. Yeo, *J. Mass Spectrom.*, 2006, **41**, 1561–1569.
- 64 N. Y. Ha, S. H. Kim, T. G. Lee and S. Y. Han, *Langmuir*, 2011, **27**, 10098–10105.
- 65 Y.-H. Cheng, Y. Zhang, S.-L. Chau, S. K.-M. Lai, H.-W. Tang and K.-M. Ng, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2016, **8**, 29668–29675.
- 66 S. Forest, J. Breault-Turcot, P. Chaurand, J.-F. Masson and J.-F. Masson, *Anal. Chem.*, 2016, **88**, 2072–2079.
- 67 C. J. McKee, H. B. Hines and R. G. Ulrich, *Anal. Biochem.*, 2013, **442**, 62–67.
- 68 H.-W. Tang, W. Lu, C.-M. Che and K.-M. Ng, *Anal. Chem.*, 2010, **82**, 1589–1593.
- 69 Y.-H. Cheng, Y. Zhang, S.-L. Chau, S. K.-M. Lai, H.-W. Tang and K.-M. Ng, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2016, **8**, 29668–29675.
- 70 J. Musso, W. Buchmann, F. Gonnet, N. Jarroux, S. Bellon, C. Frydman, D.-L. Brunet and R. Daniel, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2015, **407**, 1285–1294.
- 71 W. Wang, M. Li, Z. Wei, Z. Wang, X. Bu, W. Lai, S. Yang, H. Gong, H. Zheng, Y.

- Wang, Y. Liu, Q. Li, Q. Fang and Z. Hu, *Anal. Chem. (Washington, DC, United States)*, 2014, **86**, 3703–3707.
- 72 C. J. McKee, H. B. Hines and R. G. Ulrich, *Anal. Biochem.*, 2013, **442**, 62–67.
- 73 Y. E. Kim, S. Y. Yi, C.-S. Lee, Y. Jung and B. H. Chung, *Anal. (Cambridge, United Kingdom)*, 2012, **137**, 386–392.
- 74 E. T. Castellana, R. C. Gamez, M. E. Gomez and D. H. Russell, *Langmuir*, 2010, **26**, 6066–6070.
- 75 P. R. Sajanlal and T. Pradeep, *Langmuir*, 2010, **26**, 456–465.
- 76 R. Zhou and F. Basile, *Anal. Chem.*, 2017, **89**, 8704–8712.
- 77 L. Huang, J. Wan, X. Wei, Y. Liu, J. Huang, X. Sun, R. Zhang, D. D. Gurav, V. Vedarethinam, Y. Li, R. Chen and K. Qian, *Nat. Commun.*, 2017, **8**, 220.
- 78 L. Kang, Y. Guo, P. Miao, M. Sun, B. Song, P. Xu and X. Liu, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2019, **2019**, 23–28.
- 79 S. Wu, L. Qian, L. Huang, X. Sun, H. Su, D. D. Gurav and M. Jiang, *Nano-Micro Lett.*, 2018, **10**, 1–9.
- 80 X. Sun, L. Huang, R. Zhang, W. Xu, J. Huang, D. D. Gurav, V. Vedarethinam, R. Chen, J. Lou, Q. Wang, J. Wan and K. Qian, *ACS Cent. Sci.*, 2018, **4**, 223–229.
- 81 Y. Li, X. Cao, L. Zhan, J. Xue, J. Wang, C. Xiong and Z. Nie, *Chem. Commun.*, 2018, **54**, 10905–10908.
- 82 H.-W. Tang, W. Lu, C.-M. Che and K.-M. Ng, *Anal. Chem. (Washington, DC, United States)*, 2010, **82**, 1589–1593.
- 83 S.-W. Choi, H.-S. Kim, W.-S. Kang, J.-H. Kim, Y.-J. Cho and J.-H. Kim, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2008, **8**, 4569–4573.
- 84 J. A. McLean, K. A. Stumpo and D. H. Russell, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 5304–5305.
- 85 M.-T. Wang, M.-H. Liu, C. R. C. Wang and S. Y. Chang, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2009, **20**, 1925–1932.

- 86 K. Shrivasa, S. K. Kailasa and H.-F. Wu, *Proteomics*, 2009, **9**, 2656–2667.
- 87 C.-T. Chen, W.-Y. Chen, P.-J. Tsai, K.-Y. Chien, J.-S. Yu and Y.-C. Chen, *J. Proteome Res.*, 2007, **6**, 316–325.
- 88 S. K. Kailasa and H.-F. Wu, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2010, **396**, 1115–1125.
- 89 P. Lorkiewicz and M. C. Yappert, *Anal. Chem.*, 2009, **81**, 6596–6603.
- 90 Y. Li, Y. Liu, J. Tang, H. Lin, N. Yao, X. Shen, C. Deng, P. Yang and X. Zhang, *J. Chromatogr. A*, 2007, **1172**, 57–71.
- 91 Y. Li, T. Leng, H. Lin, C. Deng, X. Xu, N. Yao, P. Yang and X. Zhang, *J. Proteome Res.*, 2007, **6**, 4498–4510.
- 92 D. Qi, J. Lu, C. Deng and X. Zhang, *J. Chromatogr. A*, 2009, **1216**, 5533–5539.
- 93 L. A. Shastri, S. K. Kailasa and H.-F. Wu, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2009, **23**, 2247–2252.
- 94 H.-Y. Lin, W.-Y. Chen and Y.-C. Chen, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009, **394**, 2129–2136.
- 95 Y. Li, H. Lin, C. Deng, P. Yang and X. Zhang, *Proteomics*, 2008, **8**, 238–249.
- 96 C.-T. Chen and Y.-C. Chen, *J. Mass Spectrom.*, 2008, **43**, 538–541.
- 97 T. Watanabe, H. Kawasaki, T. Yonezawa and R. Arakawa, *J. Mass Spectrom.*, 2008, **43**, 1063–1071.
- 98 J.-C. Liu, P.-J. Tsai, Y. C. Lee and Y.-C. Chen, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 5425–5432.
- 99 P.-C. Lin, M.-C. Tseng, A.-K. Su, Y.-J. Chen and C.-C. Lin, *Anal. Chem.*, 2007, **79**, 3401–3408.
- 100 B. N. Y. Vanderpuije, G. Han, V. M. Rotello and R. W. Vachet, *Anal. Chem.*, 2006, **78**, 5491–5496.
- 101 Y. Zhang, X. Wang, W. Shan, B. Wu, H. Fan, X. Yu, Y. Tang and P. Yang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 615–617.
- 102 H. Kawasaki, T. Yonezawa, T. Watanabe and R. Arakawa, *J. Phys. Chem. C*, 2007, **111**, 16278–16283.
- 103 K. Shrivasa and H.-F. Wu, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2008, **22**, 2863–2872.

- 104 J. Chen, A. Zuehlke, B. Deng, H. Peng, X. Hou and H. Zhang, *Anal. Chem.*, 2017, **89**, 12888–12895.
- 105 T. Yonezawa, H. Kawasaki, A. Tarui, T. Watanabe, R. Arakawa, T. Shimada and F. Mafune, *Anal. Sci.*, 2009, **25**, 339–346.
- 106 W.-J. Chen, P.-J. Tsai and Y.-C. Chen, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 9612–9621.
- 107 S. K. Kailasa, V. N. Mehta and H.-F. Wu, *RSC Adv.*, 2014, **4**, 16188–16205.
- 108 T.-C. Chiu, L.-C. Chang, C.-K. Chiang and H.-T. Chang, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2008, **19**, 1343–1346.
- 109 H. Kawasaki, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, 2013, **61**, 1–11.
- 110 Y.-F. Huang and H.-T. Chang, *Anal. Chem.*, 2007, **79**, 4852–4859.
- 111 J. Sekuła, J. Nizioł, W. Rode and T. Ruman, *Analyst*, 2015, **140**, 6195–6209.
- 112 C.-T. Chen and Y.-C. Chen, *Anal. Chem.*, 2005, **77**, 5912–5919.
- 113 H. Kawasaki, T. Akira, T. Watanabe, K. Nozaki, T. Yonezawa and R. Arakawa, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009, **395**, 1423–1431.
- 114 C.-Y. Lo, W.-Y. Chen, C.-T. Chen and Y.-C. Chen, *J. Proteome Res.*, 2007, **6**, 887–893.
- 115 K.-H. Lee, C.-K. Chiang, Z.-H. Lin and H.-T. Chang, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2007, **21**, 2023–2030.
- 116 S. K. Kailasa and H.-F. Wu, *Analyst*, 2010, **135**, 1115–1123.
- 117 M.-L. Niklew, U. Hochkirch, A. Melikyan, T. Moritz, S. Kurzawski, H. Schlüter, I. Ebner and M. W. Linscheid, *Anal. Chem.*, 2010, **82**, 1047–1053.
- 118 R. Zhai, Y. Yuan, F. Jiao, F. Hao, X. Fang, Y. Zhang and X. Qian, *Anal. Chim. Acta*, 2017, **994**, 19–28.
- 119 X. Yang, Z. Lin, X. Yan and Z. Cai, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 23790–23793.
- 120 Y. Wang, J. Wang, M. Gao and X. Zhang, *Proteomics*, 2017, **17**, 1700005.
- 121 Y.-H. Shih, C.-H. Chien, B. Singco, C.-L. Hsu, C.-H. Lin and H.-Y. Huang, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 4929.
- 122 G. Han, Q. Zeng, Z. Jiang, T. Xing, C. Huang and Y. Li, *Talanta*, 2017, **164**, 355–361.

- 123 X. Zou, Q. Yao, A. B. Gómez, J. Su, V. Pascanu, Y. Yun, H. Zheng, H. Chen, L. Liu, H. N. Abdelhamid and B. Martín-Matute, *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Adv.*, 2016, **72**, s136–s136.
- 124 Y.-H. Shih, C.-H. Chien, B. Singco, C.-L. Hsu, C.-H. Lin and H.-Y. Huang, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 4929–4931.
- 125 Y.-W. Zhang, Z. Li, Q. Zhao, Y.-L. Zhou, H.-W. Liu and X.-X. Zhang, *Chem. Commun.*, 2014, **50**, 11504–11506.
- 126 C.-P. Fu, S. Lirio, W.-L. Liu, C.-H. Lin and H.-Y. Huang, *Anal. Chim. Acta*, 2015, **888**, 103–109.
- 127 Y. Xie, C. Deng and Y. Li, *J. Chromatogr. A*, 2017, **1508**, 1–6.
- 128 W. Zhang, Z. Yan, J. Gao, P. Tong, W. Liu and L. Zhang, *J. Chromatogr. A*, 2015, **1400**, 10–18.
- 129 H.-L. Liu, Y.-J. Chang, T. Fan and Z.-Y. Gu, *Chem. Commun.*, 2016, **52**, 12984–12987.
- 130 Z. Lin, W. Bian, J. Zheng and Z. Cai, *Chem. Commun.*, 2015, **51**, 8785–8788.
- 131 L. Chen, J. Ou, H. Wang, Z. Liu, M. Ye and H. Zou, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2016, **8**, 20292–20300.
- 132 J.-P. Wei, H. Wang, T. Luo, Z.-J. Zhou, Y.-F. Huang and B. Qiao, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2017, **409**, 1895–1904.
- 133 Y. Inokuma, S. Yoshioka, J. Ariyoshi, T. Arai, Y. Hitora, K. Takada, S. Matsunaga, K. Rissanen and M. Fujita, *Nature*, 2013, **495**, 461–466.
- 134 K. Biradha and M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 3392–3395.
- 135 O. Ohmori, M. Kawano and M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 16292–16293.
- 136 T. Haneda, M. Kawano, T. Kojima and M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 6643–6645.
- 137 O. Ohmori, M. Kawano and M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 1962–1964.
- 138 T. Kawamichi, T. Kodama, M. Kawano and M. Fujita, *Angew. Chem, Int. Ed.*, 2008, **47**, 8030–8032.

- 139 S. Yoshioka, Y. Inokuma, V. Duplan, R. Dubey and M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, **138**, 10140–10142.
- 140 Y. Matsuda, T. Mitsuhashi, S. Lee, M. Hoshino, T. Mori, M. Okada, H. Zhang, F. Hayashi, M. Fujita and I. Abe, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, **55**, 5785–5788.
- 141 R. D. Kersten, S. Lee, D. Fujita, T. Pluskal, S. Kram, J. E. Smith, T. Iwai, J. P. Noel, M. Fujita and J.-K. Weng, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 16838–16844.
- 142 F. Sakurai, A. Khutia, T. Kikuchi and M. Fujita, *Chem. Eur. J.*, 2017, **23**, 15035–15040.
- 143 M. Kawahata, S. Komagawa, K. Ohara, M. Fujita and K. Yamaguchi, *Tetrahedron Lett.*, 2016, **57**, 4633–4636.
- 144 K. Ohara, A. Nakai and K. Yamaguchi, *Eur. J. Mass Spectrom.*, 2015, **21**, 413–421.
- 145 J. McNulty and P. Das, *European J. Org. Chem.*, 2009, **2009**, 4031–4035.
- 146 Y. Tsukahara, H. Kinoshita, K. Inomata and H. Kotake, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1984, **57**, 3013–3014.
- 147 M. S. Kharasch, W. Nudenberg and E. K. Fields, *J. Am. Chem. Soc.*, 1944, **66**, 1276–1279.
- 148 K. Ohara, Y. Inokuma and M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2010, **49**, 5507–5509.
- 149 F. B. Mallory, C. S. Wood and J. T. Gordon, *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, **86**, 3094–3102.
- 150 G. Wittig, H. Härle, E. Knauss and K. Niethammer, *Chem. Ber.*, 1960, **93**, 951–962.
- 151 A. Kaufmann and R. Radosević, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 1916, **49**, 675–683.
- 152 L. Ackermann and V. P. Mehta, *Chem. Eur. J.*, 2012, **18**, 10230–10233.
- 153 V. Dichiarante, M. Fagnoni and A. Albinì, *Chem. Commun.*, 2006, 3001–3003.
- 154 M. Takayama, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, 1996, **44**, 501–530.
- 155 G. J. C. Paul, S. Bourg and M. J. Bertrand, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 1993, **4**, 493–503.
- 156 N. Nakatani, A. Jitoe, T. Masuda and S. Yonemori, *Agric. Biol. Chem.*, 2011, **55**, 455–460.

- 157 G. Bernardinelli and R. Gerdil, *Helv. Chim. Acta.*, 1982, **65**, 1310-1317.
- 158 A. Shafiee and S. Sattari, *Synthesis (Stuttg.)*, 1981, **1981**, 389–390.
- 159 J. Thesing and G. Semler, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 1964, **680**, 52–59.
- 160 E. Tyrrell, L. Whiteman and N. Williams, *Synthesis (Stuttg.)*, 2009, 829–835.

発表論文

- 1 Y. Hayashi, K. Ohara, R. Taki, T. Saeki, K. Yamaguchi Combined analysis of 1,3-benzodioxoles by crystalline sponge X-ray crystallography and laser desorption ionization mass spectrometry *Analyst*, 2018, **143**, 1475-1481.
- 2 Y. Hayashi, K. Ohara, K. Yamaguchi Laser desorption ionization mass spectrometry by using crystalline sponge method *J Mass Spectrom. Soc. Jpn*, 2019, **67**, 1, 1-9.

謝辞

本論文に関し、終始懇切丁寧な御指導、ご鞭撻を賜りました、本学解析化学講座 教授、山口健太郎先生に心から御礼申し上げます。本研究の直接の指導者として、研究では基本的な操作からデータの解析方法まで、本論文をまとめるにあたっては論文の構成・執筆に至るまで、時に応じて厳しく熱心な御指導、御助言を下さいました、本学中央機器室 専任講師、小原一朗先生に深く感謝致します。本論文を査読していただき、有益なる御助言と御教示賜りました本学薬化学講座 教授、藤島利江先生、薬物動態学講座 教授、加藤善久先生、生薬・天然物化学講座 教授、代田修先生ならびに東邦大学薬学部 教授、東屋功先生に心より感謝いたします。本研究を進めるにあたり、分析機器を用いた測定におきまして、得られたデータの解釈に貴重な御助言を頂きました、昭和薬科大学 准教授、川幡正俊先生に感謝致します。また最適な実験環境を提供して下さいました、本学解析化学講座 准教授、富永昌英先生に感謝致します。さらに、基礎的な知識や実験操作、学会発表について多く御助言、御指導頂きました大阪大学薬学部助教、駒川晋輔先生に感謝致します。本研究にご協力いただきました9期生 佐伯知美さん、瀧莉花さん、ならびに学生諸氏に心より感謝いたします。本研究を行うにあたり、様々な便宜を図っていただきました本学解析化学講座の皆様心より感謝致します。

最後に、十年間という長い大学・大学院生活を送るにあたり、精神的な面で支えてくれるとともに、常に温かい励ましをくれた母、伯父に感謝致します。また、生活の面で支えてくれた祖母、父、兄、息抜きに付き合ってくれた友人諸氏に感謝致します。

以上、この場を借りて御礼申し上げます。

2019年 早春