



技術解説

## 定量的キラル認識マスペクトロメトリー

澤田 正 實\*

### Quantitative Chiral Recognition Mass Spectrometry

**Key Words :** Chiral Recognition, Mass Spectrometry, Host-Guest Complex, Isotope Labeling, Enantiomeric Excess

#### 1. 序 言

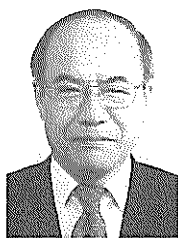
エナンチオ選択的分子間相互作用(キラル認識)は生体反応系における基本プロセスである。さまざまな生体反応の初期, 中, 後期過程などにおいて, 特定の分子が特定の分子を認識する機能が驚異的な効率で働いている。生体はエナンチオマー対の一方にのみ応答するか, あるいはエナンチオマーのそれぞれに異なった応答をする。このキラル認識メカニズムを有機化学的精密さで理解するため, 人工のモデル(ホスト)化合物が種々合成され, 認識機能発現のシステム探索に努力が傾注されてきた。たとえば, 光学活性クラウンエーテルやシクロデキストリンがゲストのエナンチオマーの一方と強く結合しうる典型的ホスト化合物として, 分子設計, 合成されてきた。著者らはこのキラル認識機能を迅速かつ簡便に検出しうる新しい方法論の開拓をめざして, マスペクトロメトリーを活用することに焦点を絞った。ここでは, われわれが開発した新方法論「エナンチオマー同位体標識ゲスト法」(EL-ゲスト法), および「エナンチオマー同位体標識ホスト法」(EL-ホスト法)を用いる定量的キラル認識マスペクトロメトリーを中心に, われわれの技法の基礎と応用の一端を紹介する。<sup>1)</sup>

#### 2. キラル認識のためのマスペクトロメトリー基本概念

よく知られているように, マスペクトロメトリー(MS)はアキラルな測定法であり, エナンチオマー(キラリティー)の判別はできない。エナンチオマー分子の認識, 識別を実現するためには新しい工夫, つまり第2の別の分子のキラルな環境と組み合わせた複合系での測定が必要となる。キラル認識のためのMSの基本原理は, 基準となる別のキラル化合物を新たに系内に加え, それとの分子間相互作用(ジアステレオメリック分子間相互作用)の差異をMSで検出することにある。もしその差異を検出できれば, エナンチオマー選択的分子間相互作用(キラル認識)が存在することになり, 従って一方の分子が他方の分子のエナンチオマーを大なり小なり認識しているといえる。

NMRの場合はケミカルシフトの差異(スペクトル上, 横の変化)を利用できるが, MSの場合はピーク強度の差異(スペクトル上, 縦の変化)しか利用できない。それ故, 上述の2種のジアステレオマーのピーク強度の大小は, スペクトル内の共通の基準となりうるピークに対しての相対比として定量数値化され, 比較されることがほとんどである(間接法)。そのため同一濃度条件下で, 注意深い連続測定が必要となり, 一般法と認められる簡便さは期待できない。

ホスト-ゲスト化学のこれまでの成果を基軸にしたキラル認識MSに着目すれば, ホスト-ゲストコンプレックスイオンの立体構造の安定性の差異と密接に関連づけることができる。われわれは, キラルクラウンエーテル(ホスト)とアミノ酸エステル塩(ゲスト)とのコンプレックス形成を最適システムとして選び出し, 同位体標識法を利用し, キラルホストが潜在的に保有しているキラルゲストに対する認



\* Masami SAWADA  
1941年8月生  
1966年大阪大学大学院理学研究科(有機化学専攻)修士課程修了  
現在, 大阪大学・産業科学研究所・材料解析センター, 助教授, 理学博士, 有機化学, 日本質量分析学会「学会賞」(2002)受賞  
TEL 06-6879-8525  
FAX 06-6879-8519  
E-Mail m-sawada@sanken.osaka-u.ac.jp

識能力の有無や程度や方向性を、簡単に検出する新しいMS方法論(直接法)(EL-ゲスト法)を開発した。

### 3. ELゲスト法の基礎と応用 —キラル認識能の決定法—<sup>2,3)</sup>

EL-ゲスト法はゲストのエナンチオマーの一方を重水素同位体標識して使用する(図1)。生成する一対のジアステレオメリックホスト-ゲストコンプレックスイオンのm/z値に無理やり差をつけて(スペクトル上、横の変化を付与して)、一枚のマススペクトル上で直接判読することを基礎としている。実験的には、一方のエナンチオマーの標識体と他方のエナンチオマーの非標識体とを1:1等モル混合して調整し、これをゲストとして目的のホストとコンプレックスさせ、FAB(高速原子衝撃イオン化)MS(m-ニトロベンジルアルコール(NBA)マトリックス使用)を用いて検出する。

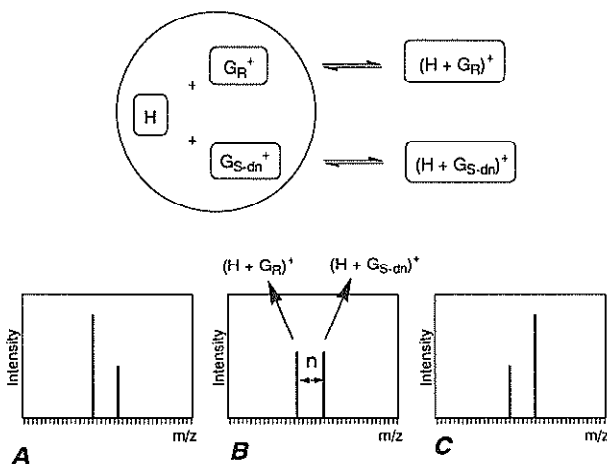


図1 EL-ゲスト法の基本概念とスペクトルパターン

われわれは、FABMS/ELゲスト法の基本性能を詳細に調べるために、ゲストにアミノ酸アルキルエステル塩を選び、混乱をさけるために、L-アミノ酸(従って、(S)-アミノ酸)のエステル部位を重水素同位体標識して統一的に用いた。つまり、 $G_R^+$ と $G_{S-dn}^+$ との1:1等モル混合物をゲストに使用した(nは重水素の数)。それ故、マトリックス(NBA)中では図1の3成分系(H,  $G_R^+$ ,  $G_{S-dn}^+$ )の競争平衡が成立してよい。n-質量単位差でマススペクトル上に同時に観測される一対のホスト-ゲストコンプレックスイオンのピーク強度の比は、キラル認識の有無や程度や

方向性を示す定量的尺度となり得る(式(1))。

$$I[H \cdot G_R]^+ / I[(H \cdot G_{S-dn})]^+ = I_R / I_{S-dn} = IRIS \quad (1)$$

- (i) IRIS>1.0ならば、ホストは(R)-エナンチオマーゲスト選択性あり(IRIS値が大きいほど、選択性が大きい)。
- (ii) IRIS=1.0ならば、ホストはゲストのエナンチオマー選択性なし。
- (iii) IRIS<1.0ならば、ホストは(S)-エナンチオマーゲスト選択性あり(IRIS値が小さいほど、選択性が大きい)。

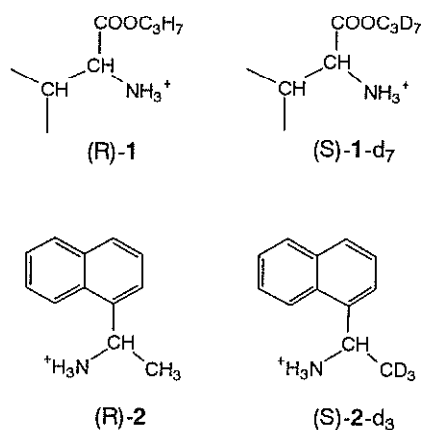


図2 代表的なEL-ゲスト対

実際にはたとえば、図2に示すようなアミノ酸エステル塩ゲストや単純なアルキルアミン塩ゲストを用い、種々のキラルクラウンエーテルホストなどのキラル認識能をFABMSで調べた。キラルホストとキラルゲストの立体的な組合せでIRIS値は0.2~5.0と敏感に変化することが判った。

得られるIRIS値の(i)定量的交差キラリティーの相関、(ii)標識重水素同位体効果の有無、(iii)[ホスト]<sub>0</sub>/[ゲスト]<sub>0</sub>の濃度比効果、(iv)クロロホルムやメタノールなどの溶液中の平衡定数の比、 $K_R/K_S$ 値、との相関(図3)、(v)熱力学量(- $\Delta\Delta G_{\text{enan}}$ 値)との相関:

$$RT \ln(IRIS) \leq -\Delta\Delta G_{\text{enan}} = RT \ln K_R/K_S \quad (2)$$

(vi)温度効果、および(vii)マトリックス効果、などを詳細に検討した結果、従来ほとんど期待されていなかったFABMSが、微量かつ迅速決定を最大の特徴として、定量的キラル認識能決定法として利用しうることが明らかになった。

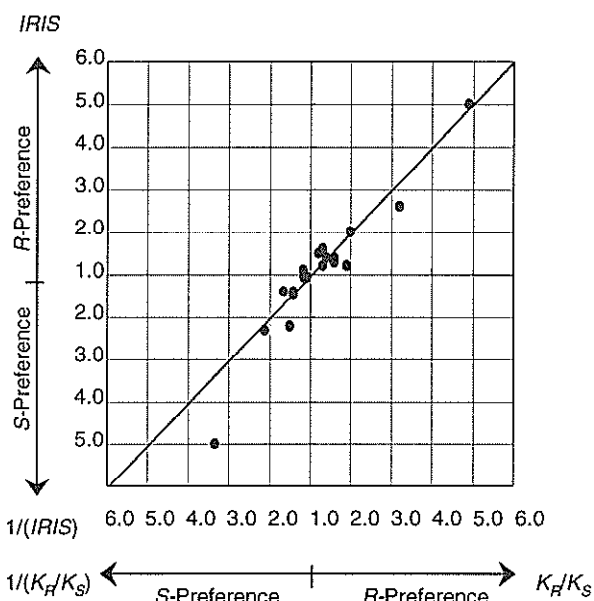


図3 IRIS値とKR/KS値との相関性

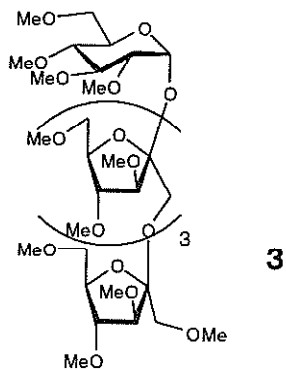


チャート. MeFruNysの構造式

EL-ゲスト法では、ゲストの標識/非標識エナンチオマー対が入手できれば、ホストのキラル認識能を、他の方法とは比べものにならないほど迅速かつ簡便に決定できるので、新しいホスト分子のキラル認識能のスクリーニングに適用できる。高性能ホスト分子の設計、創製には、合成→評価→合成→評価のステップを繰り返して、役立てることができる。そこで、応用として、約40種類のオリゴ糖類をキラルホストに選び、約10種類のアミノ酸エステル塩類をゲストに選び、それらの組み合わせにおけるキラル認識能のスクリーニングを実施した(約40×10=400サンプル)。その結果、完全メチル化フルクトニストース3(MeFruNys)の大きなキラル認識能を初めて見出すことに成功した(たとえば、ホスト3, ValOIPr<sup>+</sup>

(EL-ゲスト対)の組み合わせで、IRIS=0.18)。このオリゴ糖の高度な認識能については、今まで誰もその能力に気づいておらず、本法によって初めて潜在能力が明らかにされた。<sup>4,5)</sup>

#### 4. ELホスト法の基礎と応用 —エナンチオマー過剰度(ee)決定法—<sup>6)</sup>

EL-ホスト法は、ホストのエナンチオマーの一方を重水素同位体標識して、標識/非標識(1/1)のエナンチオマーホスト対を使用する。われわれはこのホスト対化合物としてキラルクラウンエーテルあるいはキラルポダンドを選び、MSによるee決定用のホスト対試薬(図4)<sup>7)</sup>として使用した。

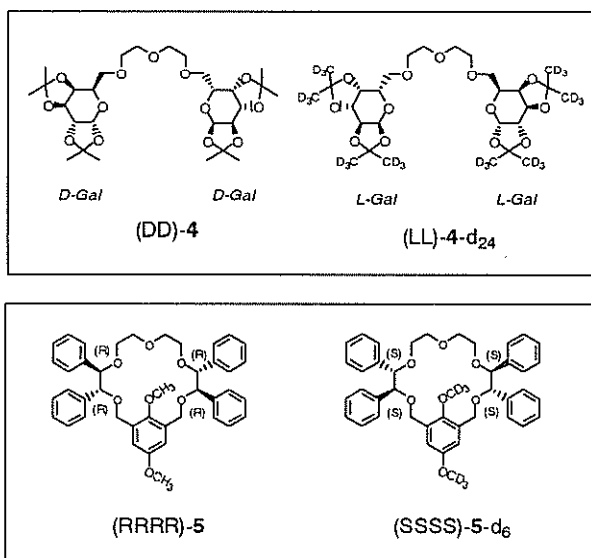


図4 代表的なEL-ホスト対

ホスト対試薬(たとえば、H<sub>R</sub>とH<sub>S-dn</sub>)とゲスト(G<sup>+</sup>)とのFABマススペクトルを測定すると(NBAマトリックス中)、nマス間隔において2本のジアステレオメリックホスト-ゲストコンプレックスイオンピークが観測できる(図5)。この2本のピーク強度比(IRIS値)が定量的指標となり(式(3))、ゲストのee値変化にもなって順次変化する。

$$I[(H_R \cdot G)^+] / I[(H_{S-dn} \cdot G)^+] = I_R / I_{S-dn} = IRIS \quad (3)$$

従って、このIRIS値とee値との相関関係が明らかになれば、ee未知ゲストの場合のee値をMSで決定できることになる。

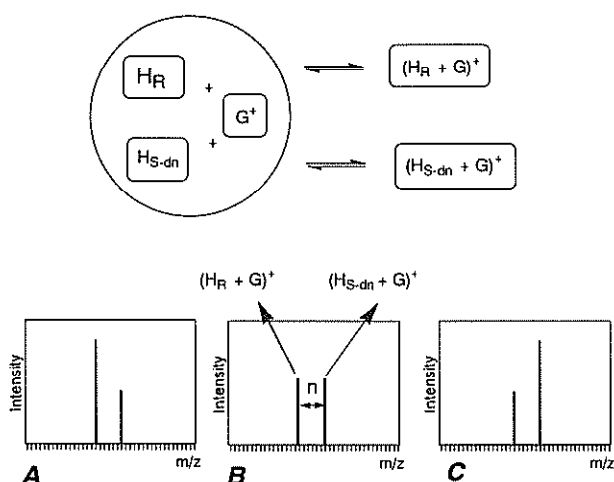


図5 EL-ホスト法の基本概念とスペクトルパターン

この相関関係を明らかにするために、溶液中の4成分系( $H_R$ ,  $H_{S-dn}$ ,  $G_R^+$ ,  $G_S^+$ )のホスト-ゲスト競争平衡条件下において、生成するホスト-ゲストコンプレックスイオン濃度についての詳細な検討を行った。その結果、ホスト-ゲストコンプレックスイオンの2つのピーク強度の差を、2つのピーク強度の和で割って定義したピーク強度過剰度(Ie)が、ゲストのee値と直線関係を示すことを明らかにした(たとえば、EL-ホスト対DD-4/LL-4-d<sub>24</sub>, ゲスト(R)-2, (S)-2の混合物の組み合わせで、 $R^2=0.9966$ ( $n=9$ )の直線相関性)。

$$Ie = (IRIS - 1) / (IRIS + 1) \quad (4)$$

これにより、 $ee(\%) = Ie / Ie_{100} \times 100$ の式を誘導でき、 $\pm 3\%$  ee以内の誤差範囲でee値を決定できるようになった：Ie<sub>100</sub>値は100% eeのエナンチオピュアーなゲストを利用したときのIe値。さらに、積算回数を増やしたり( $n=50$ )、二重ラベル法を用いることをすれば、場合によっては $\pm 1\%$  eeまで精度を上げることができた。

## 5. おわりに

これまで困難とされてきたマススペクトロメトリー

によるキラル認識能の決定やee値の決定が、同位体標識法とホスト-ゲストコンプレクセーションをうまく組み合わせることにより、初めて可能になり、MSの適用範囲は(1)キラル化合物の機能評価や(2)エナンチオマー混合物のキラル分析の分野に大きく広がった。上述のEL法のままのESIMS<sup>8)</sup>やMALDIMS<sup>9)</sup>への適用では、得られるIRIS値に大なり小なり圧縮効果が働くので、現在さらに新しい工夫のもとに難点が克服されつつあり、将来の発展に一層の期待が寄せられている。<sup>1, 10)</sup>

## References

- 1) M.Sawada, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, 50, 311 (2002).
- 2) M.Sawada, Y.Takai, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 117, 7726 (1995).
- 3) M.Sawada, *Mass Spectrom. Rev.*, 16, 73 (1997).
- 4) M.Shizuma, M.Sawada, et al., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2001, 592; *Annual Report of Osaka Univ. Academic Achievement 2000-2001*, Vol.2, 28 Graphics Selections, p.53.
- 5) M.Shizuma, M.Sawada, et al., *Carbohydr. Res.*, 335, 275 (2001).
- 6) M.Sawada, Y.Takai, et. al., *Eur. J. Mass Spectrom.*, 7, 447 (2001); *Annual Report of Osaka Univ. Academic Achievement 2001-2002*, Vol.3, 28 Graphics Selections, p.56.
- 7) M.Shizuma, M.Sawada, et. al., *J. Org. Chem.*, 67, 4795 (2002).
- 8) M.Sawada, Y.Takai, et al., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1998, 701.
- 9) M.Sawada, Y.Takai, et al., *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, 48, 141 (2000).
- 10) M.Sawada, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, 50, 233 (2002).