新しい迅速X線回折装置による結晶構造解析の発展

東京工業大学理学部 植草秀裕

Hidehiro UEKUSA : Recent Development of X-ray Crystal Structure Analysis by a New Diffractometer for Rapid Data Collection

Recently we designed and made a new no-screen Weissenberg camera type diffractometer for rapid data collection to determine the structures of reaction intermediates. The new features of the diffractometer are a κ -type goniometer, two imaging plates for recording and reading the intensity data, and spiral motion reading mechanism. The crystal mounted on a goniometer is aligned automatically and the three-dimensional intensity data were collected within two hours. Using this new diffractometer, we determined the structure of a syn-tricyclooctane derivative. The structure has not been analyzed with the four-circle diffractometer because the molecule easily reacts under X-ray irradiation.

1. はじめに

単結晶X線結晶構造解析の分野では、1960年代に4軸型自動回折装置が出現して以来、結晶構造解析された結晶の数は加速度的に増加している。現在では1年間に1万件を越える結晶構造が新しくデータベースに追加されている。¹⁾ これは第1に4軸型自動回折装置が普及したこと、第2に直接法の開発を始めとした解析技術が進歩したこと、第3に解析に使用するグラフィック・コンピュータが高速化したことによるものである。それまでの写真法から4軸型自動回折装置へ移行したことにより、測定精度が大きく向上し、さらに自動制御で操作が容易なため、専門家でなくても使えるようになった。

しかし一方で、4軸型自動回折装置の欠点も考慮しなければならない。第1は測定時間が比較的長くなるということであり、第2は結晶性が良く、回折斑点の形がシャープでないと測定が困難なことである。第1点の測定時間については、それまでの写真法に比較すれば圧倒的に速いといえるが、最近では、1つの結晶の全データを収集するのに必要な2~7日という測定時間が長すぎるという場合がでてきた。例えば、現在知られている結晶相反応では数時間以内に反応が終了してしまう場合がいくつも見いだされており、²⁾ また測定中すぐに結晶が劣下してしまう不安定な結晶も多い。その他にも、温度変化や圧力変化させてデータを測定する場合には、実験条件を一定に保つためになるべく速く測定する必要がある。さらにもっと実用的な問題もある。現在ではデータ測定が

終わると、1時間以内に構造解析が終わるものも多いことを考えると、それより測定時間が2桁長いというのはなかなかアンバランスに思える。また、分析手段としての結晶構造解析を考えたとき、数時間で三次元の分子構造まで求めることができれば物質の研究を大いに加速することができるであろう。第2点については、測定したい結晶の結晶性が悪くて回折斑点が割れていたり、双晶などで回折斑点が近接して存在する場合などは、4軸型自動回折装置が自動的に測定不能と判定してしまう。もし現状では見捨てられてしまうような結晶でも、なんとかそれなりの精度で解析できれば、種々の分野での構造研究に道が開かれるであろう。

以上のような、4軸型回折装置の欠点を克服する測定装置としては、0次元のカウンタを使う方法では限界があり、2次元の検出器を用いた新しいカメラ法の測定装置が必要であると考えられる。そこで、(1) 通常の回転対陰極型のX線発生装置を使い、(2) 2時間以内に三次元の回折強度を自動的に測定でき、(3) 解析精度は4軸型回折装置と同程度以上で、(4) 結晶性が悪い場合にも対応できる測定装置、を目標にして、低分子結晶での利用を考えた新しい迅速X線回折装置を製作した。

2. 迅速X線回折装置の製作

2.1 イメージング・プレート (IP) の採用

4軸型回折装置が0次元のシンチレーション・カウンタを使って回折強度を1点ずつ測定するのに対して、2次元のイメージング・プレート (IP) は1度に数百の回折

斑点を測定できる。IPについてはすでに本誌で解説されているが、非常に高感度でダイナミックレンジが広いという特性を持つ。これまで使われてきたX線フィルムと比較すれば感度が1桁高く、ノイズレベルが2桁低く、分解能は100 μm 以下と小さい。さらに他の2次元検出器と違って容易に大型のものが利用でき、曲げて使うことができるという長所もある³⁾。このため、すでに蛋白質などの生体高分子結晶解析用などに、平板のIPを使った回折装置が数社から市販されている。

2.2 ワイセンベルグ型の回折装置

低分子の結晶では回折角の大きい反射まで強く観測されるが、高角の反射まで記録するためには平板のIPは適切ではない。平板に対しては高角の反射がかなり斜めに入射してくるために、記録される反射の大きさが延びて、強度が薄く記録されてしまい、読みとり・積分が難しくなるからである。そこでIPをシリンダー型にすれば、湾曲している方向については角度による条件は同じになる。しかし湾曲していない方向については同様な問題が残る。また、結晶からIPまでの距離はシリンダーの半径で固定されるので、平板型IPカメラで行うように単位胞の大きい結晶に対しては結晶とIPの距離を広げる、というようなことはできない。しかし湾曲していない方向については、ワイセンベルグカメラで層線をとるときのように、 μ 角をつけることにより高角の反射をとることを考えた。低分子の結晶からの回折線は、 $\text{MoK}\alpha$ 線を使うと 2θ が 60° くらいまで記録できるので、この角度をカバーすることを目安として装置の大きさを設計した。カメラ半径(結晶からIPまでの距離)を大きくすると回折強度が弱くなり、小さくすると単位胞の大きい結晶からの反射が分離できないので、単位胞の最大長を約60 Å程度と考えて半径143 mmとした。そして、IPの大きさを湾曲方向に300 mm、水平方向に330 mmとした結果、湾曲方向に $\pm 60^\circ$ の回折角の反射を記録でき、水平方向には -45° から $+55^\circ$ までを記録できるようになった。

迅速測定の立場から言えば、1枚のIPにできるだけ多くの反射を記録することが望ましい。そこで結晶の回転軸と結晶の軸を合わせて(軸を立てて)おいて、結晶を回転させるのと同期してIPが水平に動くという、ワイセンベルグ機構を採用した。層線と層線の間に反射を効率良く記録するため、振動角度と水平運動の速度比(カップリング・コンスタント)を可変にしている。この比率と結晶の格子定数、対称性から1枚の写真(IP)に対して結晶を何度回転できるか、全体で何枚の写真が必要かが決まる。

2.3 自動軸立てと連続測定の機構

迅速に測定を進める上では、自動的に軸立てが行なえることが必要である。そこで κ 軸を持つ3軸の κ 型ゴニオメータを作り、その上に結晶をマウントする機構とし

た。最初に結晶を振動回転させた振動写真を取り、この中に記録された反射を使って格子定数と結晶の方位マトリックスを決定し、自動的に軸立てが行われる。原理的には結晶の3つの軸すべてを立てることが可能であるが、ゴニオメータの影が入ったり、ゴニオメータの角度限界があるため、3軸すべてについて測定を行うことには問題が残る。

IPを利用する場合には、X線の露光、読みとり、消去という3ステップが必要になるので、迅速に測定するためには複数枚のIPを使い連続操作を行うことになる。X線源が回転対陰極であれば、1枚のIPの露光中にもう1枚のデータを読みとると時間的にも釣り合うので、装置の前面でX線を露光し、裏面でレーザを照射して光電管で読みとる方式を採用した。これにより装置が占める面積を少なくすることをねらった。なお消去の時間は1分以内であるので露光時間(約10分)と比べると問題にならないといえる。ただしIPの入れ替えと消去のための場所の設定は難しく、空間的には多少空きができています。

2.4 2 θ アームと温度可変装置

上で述べた κ 型3軸ゴニオメータにシンチレーションカウンターのついた 2θ アームを組み合わせることにより、通常の4軸として使用することもできるようにした。自動的に4軸型、ワイセンベルグ型と変換できる方式も考えたが、装置の大きさ、安定性と精度の点から、必要時に 2θ アームを取り付ける方式となった。この 2θ アームは反射位置の精密化を行ったり、格子定数の精密化を行うというIPを補完する目的で利用できる。さらに温度可変装置が標準で取り付けられている。吹き付け型低温装置を使った測定では結晶に霜がつくことが最大の問題であるが、2時間程度でデータ測定ができるので、霜などの心配はない。

2.5 制御ソフトウェア

通常の測定で出会うような良好な結晶なら、軸立てから三次元の反射強度を自動測定するソフトウェアは完成している。しかし2次元の検出器の長所を生かせば、結晶性が悪くて回折斑点が割れていたり、双晶からの複数の回折斑点があったとしても回折斑点の「形」を見て、測定することは原理的に可能であると考えられる。このためのソフトウェアについてはこれから開発する必要がある、現在そのための準備を進めている。

2.6 新しい装置の実際

この仕様を満足する装置のダイアグラムを図1に示す。装置の前面中央部に18 kWの回転対陰極型のX線発生装置(モノクロメータはグラフィイト)を置いている。このX線発生装置は定盤の上で可動であり、 μ 角を 15° 取るように回転できる。結晶を載せる κ 型ゴニオメータがX線発生装置の左にあるので、結晶の取り付けは右から顕微鏡を使って行う。回折強度記録用の 120° のシリン

図1 迅速測定装置のダイアグラム。

図2 迅速測定装置の全景。

ダー型IPは2枚背中合わせで移動用の台に乗っている。この台の上でIPは並進運動を行い、またIPの入れ替えもこの上で上下方向に回転する。装置中央で露光したIPは、装置左側にある空間でIP入れ替えのため回転し、そのままの位置で読みとりの終わったIPが消去される。消去後IPを載せた台が露光位置(=読みとり位置)まで移動し、次の露光および読みとりを行う。読みとりは装置の裏面で、回転しながら並進する(螺旋運動)読みとり装置をつかって行う。読みとりに使用するレーザ光発生装置は、装置の背面にある。2θアームをとりつけるときは、IPを回転・消去位置に格納し、装置右側に格納してある2θアームを結晶の位置に移動することになる。温度可変装置は空間の空いている装置の右下の方からとりつける。

この設計図に合わせて製作され、現在筆者の研究室で稼働している装置の全景を図2に示す。中央の台の上に小型の回転対陰極型のX線発生装置が見える。その陰にκ型のゴニオメータがある。肝心のIPは黒い遮光部の裏に隠れている。左側の箱型の中にIP消去・回転部分がある。

2.7 類似の装置との比較

IPを使ったワイセンベルグ型カメラとしては、つぎのようなものがある。

高エネルギー物理学研究所で坂部らによって開発された高分子用ワイセンベルグカメラはIPを用いたワイセンベルグカメラの原型であり、現在も活躍している。⁴⁾ X線源が放射光であるので、露光時間は極端に短く、その場でデータを読むよりは、多数のIPを用意しておいて交換しながら順次測定し、後で読みとり装置でまとめて読みとる方が効率的である。そのため読みとり部を別に備える装置である。

実験室で使えるものとしては、X線源に回転対陰極発生装置を用い、低分子の迅速測定を意図した最初の装置が理化学研究所の岩崎、神谷らによって開発された。⁵⁾ この装置の特徴は多数の層線スクリーン(マルチレイヤー・スクリーン)があることである。このスクリーンを使ってバックグラウンドを減らすことができる上、等価な反射の一方をスクリーンで隠すことにより1枚のIPに記録できる独立な反射数を増やすことができるという長所がある。今回開発した装置はこの装置をお手本として、長所と短所を比較検討した上で設計したものである。

最近、電気通信大学の岩崎らによってもIPワイセンベルグ・カメラが新たに開発された。この装置については本特集で述べられているのでそちらを参考にしてほしい。基本的な設計方針は筆者らと同じようである。⁶⁾

3. 測定の実際

迅速測定装置がどのくらいの能力を持っているか調べるために、4軸型回折計と同じ結晶を用いて測定と解析を行った。

まず、4軸型回折計の標準結晶として使っているシチジン($C_9H_{13}O_5N_3$)結晶の測定について結晶学的データを表1に、分子構造図を図3に示した。2θが55°までの1211個のデータを使って精密化を行ったところR因子が4.1%であり、4軸型回折計と同程度以上の結果となった。結合距離角度、温度因子なども大きな違いはなかった。

測定手順を簡単に述べると、まず、小さな振動角(3から6°程度)で振動写真を1枚とり、およそその結晶の方位と格子定数を決定する(露光時間10分)。これを基にして、κ型ゴニオメータを使って自動的に結晶の軸を立てる。格子定数と結晶の対称性から必要な振動角の合計と、1枚のIP当たりの振動角が決まるので撮影する写真の枚数が計算できる。この結晶は斜方晶系なので、独立な空間を測定するために必要な振動角の合計は約90°(1/4空間)である(2θが45°までの等価反射も測定する)。また立てた軸(c軸)が約5 Åと短いため、1枚のIPにつき振動角を20°取ることができる。そのためワイセンベルグ写真は4枚撮影すればよい(全振動角80°)。振動角の範囲を少し重ねて、実際の振動角は20.5°とした。IP1枚の露光時間を20分として測定時間は80分であった。X線源は回転対陰極型X線発生装置(MoKα線、

表1 シチジンの結晶学的データ.

cytidine	
分子式	C ₉ H ₁₃ O ₅ N ₃
空間群	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
a (Å)	13.992 (1)
b	14.770 (2)
c	5.115 (1)
V (Å ³)	1057.1 (1)
Z	4
2θ max (°)	55
R _{merge}	0.029
completeness	0.918
No. obs. (Fo > 3σ Fo)	1211
R	0.0412

図3 シチジンの分子構造.

出力 50 kV・200 mA, グラファイト・モノクロメータ) を使っている.

この結晶では4軸型回折計でも一晩でデータ収集が終わるが, IPカメラでは独立空間の約2倍の領域のデータを集めていることを考えれば, 速度的にはかなりの開きがある. ただし, 迅速測定ということであるので1つの軸周りでのみ測定を行い, 測定できた独立反射数は理論値の92% (completeness) であった. これは, ワイセンベルグ写真法では立てた軸方向の逆格子点が回折球と交わらないと言う原理的な問題があるためである. このような不完全なデータであることにより, 得られた分子構造に何らかの影響があるはずであるが, この測定からは特に認められなかった. しかし, 立てた軸方向 (00l) の反射が測定されないため, 消滅則からの空間群の決定が難しいという問題があった. これは, 違う軸を立てて測定を行い全領域のデータを取れば解決できる.

次に, コバルト錯体についてのデータを表2に示す. シチジンと同様にR因子は4.5%と4軸よりも少し良い値になっており, 得られた分子構造も4軸型回折計のものと特に違いはなかった. 空間群が同じなので, 測定方法・領域はシチジンと同じである. 立てた軸 (c軸) の長さから計算すると1枚のIPにつき, 10°ほど結晶の振動角をとれるがb軸の長さが27 Åと長いため, 反射が込み合っている領域では振動角を5°とし, 振動角・並進の比 (カップリング・コンスタント) を通常の2倍 (2

表2 コバルト錯体 (b-cyanoethyl-phenylalanol-cobaloxime) の結晶学的データ.

β-cyanoethyl-phenylalanol-cobaloxime	
分子式	CoC ₂₀ H ₂₉ O ₅ N ₆
空間群	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
a (Å)	9.371 (3)
b	27.155 (6)
c	9.163 (3)
V (Å ³)	2332 (1)
Z	4
2θ max (°)	55
R _{merge}	0.033
completeness	0.918
No. obs. (Fo > 3σ Fo)	2584
R	0.0454

図4 syn-tricyclo[4.2.0.0^{2,5}]octane 誘導体の環開裂反応スキーム.

mm/deg) にして反射が重なるのを防いだ. 結晶の全振動角 80° を 10 枚の IP で記録し, 露光時間を 1 枚 10 分としたので測定時間は 100 分であった.

これらは, 結晶としては良好なもので, 条件がよい場合の典型例であるが, 迅速に測定して測定時間が1桁以上短いにもかかわらず, 解析結果は4軸型回折計のものと同程度以上であることがわかる. 測定時間 (露光時間) を長くすれば, 弱い反射 (特に高角の反射) を精度よく記録できるので解析精度を上げることができるが, 一部の強い反射では読みとり強度が飽和してしまう可能性もある.

4. 迅速測定による不安定な構造の解析

4.1 X線による4員環開裂反応

森らは, 図4 (1) のように中央部に3つの4員環をもつ syn- Tricyclo [4.2.0.0^{2,5}] octane 誘導体を合成し, 単結晶を得てX線結晶構造解析を試みた. しかし, X線回折測定中に数時間で標準反射の強度が減少し, 得られたデータを解析したところ, 得られた分子構造は (2) のように, 中央部の4員環が開裂して8員環になった, cis, cis-1,5- cyclooctadiene であったことから, X線照射による固相反応である報告している. そこで, 迅速測定によって

図5 syn-tricyclo[4.2.0.0^{2.5}]octane 誘導体の格子定数変化 (c 軸)。

表3 syn-tricyclo[4.2.0.0^{2.5}]octane 誘導体の結晶学的データ。

syn-Tricyclo [4.2.0.0 ^{2.5}] octane誘導体	
分子式	C ₄₀ H ₄₄ O ₁₀ /1.5C ₆ H ₁₂
空間群	P2 ₁ /n
a (Å)	15.967 (3)
b	10.551 (3)
c	26.234 (9)
β (°)	95.70 (2)
V (Å ³)	4397 (2)
Z	4
2θ max (°)	50
R _{merge}	0.063
completeness	0.825
No. obs. (Fo > 3σ Fo)	5021
R	0.092

分子の初期構造をとらえ、反応の進行を追跡することを目的として、一連の実験を行った。

まず、結晶を結晶溶媒（シクロヘキサン）とともにキャピラリーに封じ、4軸回折計を用いて格子定数の変化を連続的に測定した。このとき、装置は完全に遮光して結晶には光が当たらないようにした。また、吹き付け型低温装置により、結晶の温度を243 Kに保った。このようにして、光、熱、結晶溶媒脱離という条件を除いて測定を行った結果、図5に示すように格子定数が変化することがわかった。これにより、結晶相反応がX線照射により進行することがわかった。

次に、分子の初期構造をとるために、迅速測定装置により測定を行った。測定時間が短いため、溶媒脱離は無視できると考え結晶はキャピラリーに封じないまま、常温で測定を行った。結晶学的データを表3に示す。測定手順は前に述べたとおりであるが、この結晶では立てた軸（結晶の伸長方向）が単斜晶系のb軸方向であるので、振動角の合計を約180°にする必要がある（等価反射も測定する）。今回は迅速に測定するために全振動角を140°（completeness : 82.5 %）とした。1枚のIPにつき振

図6 syn-tricyclo[4.2.0.0^{2.5}]octane 誘導体の分子構造。

図7 4員環構造と8員環構造（分子中央部のみ示す）。

動角10°、露光時間10分で14枚撮影した。したがって、結晶の方位決定から全データを集め終わるまでに150分であった。一方4軸型回折計では測定に3日かかっている。数十分の一の時間で測定できたことになる。2θが50°までのデータを処理した結果、R=0.092（5021反射、|F_o| > 3σ(|F_o|)）という結果になった。含まれる結晶溶媒（シクロヘキサン）が乱れているためにR因子はやや大きめである。分子構造図を図6に示す。分子中央部は初期構造である4員環として観測でき、4本の結合距離もおおよそ1.54 Åとなった。ただし、ごくわずかではあるが、反応後の8員環のものと思われる電子のピークが4員環の外側に現れた。これらのピークの高さはノイズレベルに近く、占有率が数%以下であったので精密化には入っていない。

引き続き同じ条件で140分ごとに連続してデータセットを集め、結晶相反応の進行を追跡した。データセット2以降の解析では、分子の中央部分の4員環の外側に8員環に由来するピークが残ったので、この部分は4員環と8員環の乱れた構造として解析を行った。図7に示すように、4員環では4本の炭素-炭素結合距離はどれも1.54 Å程度となったが、8員環では開裂した部分の距離は2.77

表4 4員環構造と8員環構造の占有率の変化.

	初期構造	データ2	データ3	データ4
4員環構造	>90	80	73	65
8員環構造	<10	20	27	35

図8 syn-tricyclo[4.2.0.0^{2,5}]octane 誘導体の結晶構造図 (b軸投影)。

Åと長くなり、残りの2本は二重結合であるので1.33 Åと短くなった。分子のほかの部分には大きな変化はみられなかった。初期構造も含め4セットのデータを解析したところ、初期構造である4員環構造の占有率は表4に示すように徐々に減少し、8員環構造の占有率が大きくなってゆく過程が明らかになった。

また、結晶構造図(図8)をみると、2つの分子がb軸に平行なチャンネルをつくっていて、そのなかに、結晶溶媒であるシクロヘキサン(影付きの原子)が入るという特徴のある構造であることがわかる。このように、分子構造が変化する部分に動きの大きい結晶溶媒が接しているために、単結晶状態を保ったまま開裂反応が進行すると考えられる。

一方、条件は同じではないが、4軸型回折計を使った測定では最初の1つのデータセットを得るのに3日ほどかかっており、解析の結果は4員環構造が67%の乱れた構造であった。つまり、4軸型回折計での測定では初期構造が得られず、また結晶相反応の進行を観察することもできないことを意味しており、この研究は迅速測定の利点がよく生かされた例である。

5. これからの発展と課題

以上、新しく開発された迅速測定装置の概要と、それを使った研究について述べてきた。この装置は4軸型回折計と同程度の測定精度を持ち、測定時間が一桁縮まるため、これらの特徴を生かして上に述べたような反応速度の速い反応の解析だけでなく、不安定な結晶、条件の良くない結晶、特殊条件下での測定などに大いに利用さ

れ、新しい結晶化学が開けるものと考えている。例えば、常温で液体であるような物質を低温装置で結晶化して解析するような方法も検討している。

一方、この装置は開発されて間もないため、これからの課題として残っている問題もある。例えば、4軸では自動的に行われる結晶の吸収補正の測定を、この装置でどのように行うかなどは現在検討中である。また、読みとり装置一体型の迅速測定装置では、露光時間よりもむしろIPの読みとり時間で測定時間が決まっている。将来、より強い光源を利用できるようになり、露光時間が極端に短くなった場合や、秒オーダー以下の早い反応をリアルタイムで追跡するにはこのままの方式では対応できない可能性がある。より速度の速い反応を追跡できる迅速測定装置には、例えばガス・チェンバー型のようなリアルタイム性のある検出器が求められるであろう。

本稿の迅速測定装置の設計と迅速測定の研究は、東京工業大学の大橋裕二教授との共同研究であり、4節の4員環-8員環開裂反応の研究は九州大学の竹下斉教授、森章助教授らとの共同研究である。貴重な議論をしていただきましたこれらの方々に深く感謝いたします。また、迅速測定装置の作成に尽力くださった理学電機株式会社の方々に感謝いたします。

文 献

- 1) F. H. Allen, J.E. Davies, J.J. Galloy, O. Johnson, O. Kennard, C.F. Macrae, E.M. Mitchell, G.F. Mitchell, J.M. Smith and D.G. Watson : *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **31**, 187-204 (1991) .
- 2) Y. Ohashi, A. Uchida and A. Sekine : "Reactivity in Molecular Crystal", Y. Ohashi, (ed) . Kodansha & VCH (1993) .
- 3) 高橋健治, 宮原諄二 : 日本結晶学会誌 **35**, 256-262 (1993) .
- 4) N. Sakabe : *J. Appl. Cryst.* **16**, 542-578 (1983) .
- 5) 神谷信夫, 岩崎準 : 「分子性結晶の反応」, リアライズ社, pp.51-60 (1992) .
- 6) 安井正憲 : 日本結晶学会誌 **37**, 69-75 (1995) .
- 7) A. Mori, N. Kato, H. Takeshita, Y. Kurihara and M. Ito : *J. Chem. Soc. Commun.* **1994**, 869-870.

プロフィール

植草秀裕

東京工業大学 理学部化学科, 〒152 東京都目黒区大岡山2-12-1

Dept. of Chemistry, Tokyo Institute of Tech., Okayama, Meguroku, Tokyo 152 Japan

TEL. 03-5734-2223 FAX. 03-3720-6206

e-mail. uekusa@chem.titech.ac.jp

最終学歴: 1992年 慶応義塾大学大学院 理工学研究科 博士課程

専門分野: X線結晶化学

現在の研究テーマ: 迅速X線解析