

現世および新第三系堆積物中の遊離態並びに 結合態マレイミド類の GC/MS による解析*

野本信也**・木越英夫**

(2005年6月20日受付, 2005年8月31日受理)

1. はじめに

マレイミド類 (ベンゾマレイミド類, 即ちフタルイミド類を含む。) の分析例は多くは無いが, これまでに堆積岩や現世の海洋堆積物から見出されている。分析されたマレイミド類のうち代表的なものは2-エチル-3-メチルマレイミドであり, これはクロロフィルの生体内代謝産物もしくはポルフィリン環の開環した代謝産物が光または空気酸化を受けて生じた生成物と考えられている (Kozono *et al.*, 2002)。この他にバクテリオクロロフィルに由来するマレイミド類の分析例 (Grice *et al.*, 1996, 1997) やクロロフィル由来のマレイミド類の側鎖が地層中で化学変化を受けたものの分析例 (Shimoyama *et al.*, 2001; Kozono *et al.*, 2001; Pancost *et al.*, 2002) が報告されている。以上のように堆積物からマレイミド類として抽出されるものをここでは遊離態マレイミド類と呼ぶ。一方, 原油から分離したポルフィリン画分または溶媒洗浄後の堆積岩をクロム酸などで酸化することにより得られるマレイミド類を結合態マレイミド類と呼ぶ (Martin *et al.*, 1980; Barwise and Whitehead, 1980; Furlong and Carpenter, 1988; Shimoyama *et al.*, 2001; Kozono *et al.*, 2001, 2002; Pancost *et al.*, 2002)。その酸化物の前駆体は, 地層ポルフィリンあるいは不溶性有機物に取り込まれたポルフィリンまたはその断片に含まれるピロール部分であると考えられ

る。これらの前駆体を酸化することにより単純な構造のマレイミド類に誘導して分析することができる。マレイミド類はトリアルキルシリル誘導体としてあるいは誘導化することなくガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) により同定される。本報では, 東京湾の現世堆積物から抽出した遊離態2-エチル-3-メチルマレイミドの GC/MS 解析結果 (Kozono *et al.*, 2002) と山形県新庄盆地の新第三系堆積岩から得られた結合態マレイミド類の分析結果 (Kozono *et al.*, 2001) を報告する。

2. 試料

2.1. 現世堆積物試料

東京湾の多摩川河口沖合い5 kmの地点で1986年に採取された100 cmのコア試料から深度の異なる16試料 (泥質堆積物) を用いて分析した (Kozono *et al.*, 2002)。

2.2. 新第三系堆積岩試料

山形県新庄盆地の大芦沢川沿いに露頭する中渡層 (凝灰質砂岩), 野口層 (凝灰質砂岩, 鮮新世) および古口層 (黒色泥岩), 草薙層 (ケイ質頁岩, 中新世) から1980年に採取された新第三系堆積岩試料より層準の異なる18試料を分析に用いた (Kozono *et al.*, 2001)。

*GC/MS analysis of malemides in present sediments and of those produced by chromic acid oxidation of Neogene sedimentary rocks

** 筑波大学・化学系, 〒305-8571 茨城県つくば市天王台1-1-1

Shinya Nomoto, Hideo Kigoshi: Department of Chemistry, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305-8571, Japan

3. 分析方法

3.1. 現世堆積物試料からの遊離態 2-エチル-3-メチルマレイミドの抽出・分離

凍結乾燥した粉末試料 (0.4 g) を遠沈管 (10 ml) に取り *n*-ヘキサン, *n*-ヘキサン/塩化メチレン混合溶媒 (7:3 v/v), 塩化メチレン, 塩化メチレン/メタノール混合溶媒 (4:1 v/v), メタノールを各 2 ml 使用し, 各々 30 分間順次, 超音波抽出した。抽出操作は各溶媒系で 6 回繰り返した。抽出液は溶媒系ごとに合わせて濃縮した後, シリカゲルカラム (10 mm I.D. × 175 mm) により *n*-ヘキサン, 塩化メチレン, 塩化メチレン/アセトン混合溶媒 (9:1 v/v), メタノールの各 12 ml を溶出液として 4 つの画分に分画した。溶出液は常圧で窒素気流を吹き付けて 50 μ l にまで濃縮して GC/MS 分析に供した。抽出物中の 2-エチル-3-メチルマレイミドの同定は, GC/MS 分析における合成標品の保持時間と MS スペクトルとの比較により行なった。その定量についても, このマレイミドの分子イオンフラグメントグラムにおけるピーク面積を合成標品のそれと比較して行なうことができる。

3.2. 新第三系堆積岩試料からの遊離態と結合態マレイミド類の抽出・分離

堆積岩の粉末試料 (1.0 g) を遠沈管 (10 ml) に取り超音波照射下で塩化メチレン/アセトン混合溶媒 (9:1 v/v) を 3 ml 使用し 30 分間抽出した。抽出操作は 4 回繰り返した。

堆積岩試料中に含まれる遊離態マレイミド類の分析のためには, 抽出液を合わせて濃縮した後, シリカゲルカラム (10 mm I.D. × 175 mm) により *n*-ヘキサン, 塩化メチレン, 塩化メチレン/アセトン混合溶媒 (9:1 v/v) の各 12 ml を溶出液として 3 つの画分に分画する。遊離態マレイミド類はこの最終画分中に存在する。

溶媒抽出後の堆積岩試料を減圧下で乾燥した後, 50 ml 遠沈管にとり -5°C から 0°C に冷却した 25% 硫酸 (v/v) 10 ml に懸濁し, これに同温の 10% 三酸化クロム水溶液 (w/v) 10 ml を加えた。この懸濁液を 0°C 以下で 2 時間次いで室温で 2 時間攪拌した。遠心分離後, 上澄み液を 50 ml 遠

沈管に移して 5 ml のベンゼンで 5 回抽出した。抽出液を合わせて無水硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤を除去した抽出液に常圧で窒素気流を吹き付けて 50 μ l にまで濃縮して GC/MS で結合態マレイミド類を分析した。

3.3. GC/MS 分析

GC/MS 測定には Hewlett Packard 社製 G1800A GCD システムを使用した。ガスクロマトグラフィーには FFAP FS-WCOT 化学結合型キャピラリーカラム (0.25 mm I.D. × 60 m, 膜厚 0.25 μ m) を用いて, オープン温度を 50°C で 2 分保持し, 50°C から 150°C まで毎分 10°C , 150°C から 230°C まで毎分 3°C で昇温し, 230°C で 50 分保持して分析を行なった。質量分析計は, イオン化電圧を 70 eV に設定し, 全イオンスキャンモード (*m/z* 45-425) で測定した。

3.4. マレイミド類標準物質の合成

2-メチルマレイミド, 2,3-ジメチルマレイミド, 3,4,5,6-テトラヒドロフタルイミド, 4-メチルフタルイミド

これらのマレイミド類は対応するマレイン酸無水物から, Muir and Neuberger (1949) のイミド化法に従い, 尿素と共に加熱して合成した。即ち, 無水 2-メチルマレイン酸 (無水シトラコン酸), 無水 2,3-ジメチルマレイン酸, 無水 3,4,5,6-テトラヒドロフタル酸, 無水 4-メチルフタル酸のそれぞれ 1.0 g を尿素 2.0 g と共に試験管中で 140°C に 1 時間加熱した。室温付近まで放冷後, 反応混合物を水に溶かしクロロホルムで抽出した。抽出液を硫酸マグネシウムで乾燥し濃縮した後, シリカゲルカラムに吸着させベンゼン-酢酸エチルで溶出して目的のマレイミド類を得た。収率を最大化するための条件検討は行っていない。生成物の物性データは次のとおりであった。

2-メチルマレイミド:

収率 37%, 融点 $104-6^{\circ}\text{C}$ (エーテルから再結晶)。 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.09 (3H, s, CH_3), 6.36 (1H, s, =CH), 8.12 (1H, s, NH)。元素分析, Found: C, 53.84; H, 4.53; N, 12.32. Calcd. for $\text{C}_5\text{H}_5\text{O}_2\text{N}$: C, 54.05; H, 4.54; N,

12.61.

2,3-ジメチルマレイミド:

収率52%, 融点119-20°C (エーテルから再結晶)。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.97 (6H, s, CH₃×2), 7.80 (1H, s, NH)。元素分析, Found: C, 57.63; H, 5.64; N, 11.27. Calcd. for C₆H₇O₂N: C, 57.59; H, 5.64; N, 11.20.

3,4,5,6-テトラヒドロフタルイミド:

収率55%, 融点173-4°C (エーテルから再結晶)。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.76 (4H, broad s, 4- and 5-CH₂), 2.34 (4H, broad s, 3- and 6-CH₂), 7.28 (1H, s, NH)。元素分析, Found: C, 63.59; H, 6.08; N, 9.23. Calcd. for C₈H₉O₂N: C, 63.56; H, 6.00; N, 9.27.

4-メチルフタルイミド:

収率77%, 融点197-8°C (エタノールから再結晶)。¹H NMR (CDCl₃) δ 2.54 (3H, s, CH₃), 7.54 (1H, d, *J*=7.8Hz, aromatic H), 7.68 (1H, s, aromatic H), 7.76 (1H, d, *J*=7.8Hz, aromatic H), 8.12 (1H, s, NH)。元素分析, Found: C, 67.08; H, 4.35; N, 8.90. Calcd. for C₉H₇O₂N: C, 67.07; H, 4.38; N, 8.69.

2-エチル-3-メチルマレイミド

1-エトキシカルボニルプロパン-1-ホスホン酸ジエチル (10 g, 40 mmol) のジメトキシエタン (DME) 溶液 (100 ml) に水素化ナトリウム (0.95 g, 40 mmol) の DME 懸濁液 (100 ml) を室温で加え30分間攪拌した後, ピルビン酸エチル (4.6g, 40 mmol) を加えて1昼夜攪拌した。反応混合物に酢酸を数滴加えてしばらく攪拌した後, エーテル (300 ml) を加えて酸・アルカリ洗いし, エーテル層を硫酸マグネシウムで乾燥した。エーテルを留去して2-エチル-3-メチルマレイン酸ジエチル (4.8 g, 56%) を無色油状物として得た。薄層クロマトグラフィーの *R_f* 値 (エーテル/ヘキサン, 2:1): 0.6。 ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.08 (3H, t, *J*=7.5Hz, 2-CH₂CH₃), 1.30, 1.32 (total 6H, t×2, *J*=6.5Hz, O-CH₂CH₃), 1.96 (3H, s, 3-CH₃), 2.38 (2H, q, *J*=7.5Hz, 2-CH₂CH₃), 4.20, 4.22 (total 4H, q×2, *J*=6.5Hz, O-CH₂CH₃)。この生成物は NMR スペクトルから判断してごく少量の2-エチル-3-メチル

マレイン酸ジエチルを含んでいたが, 精製せずこのまま次の反応に用いた。

上述の生成物 (2.1 g, 10 mmol) のエタノール溶液 (5 ml) に 2M NaOH 水溶液 (5 ml) を加えて40°Cで3時間攪拌した。反応混合物を 2M HCl で酸性にして数時間放置後, 遊離した油状物をエーテルで抽出した。エーテルを留去して得た油状物を尿素 (2.0 g) と共に100°Cで1時間加熱した。反応混合物をクロロホルムで抽出した後, シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ベンゼン/酢酸エチル) で精製し, 2-エチル-3-メチルマレイミドを得た (0.59g, 43%) (Kozono *et al.*, 2002)。融点67-8°C (エーテルから再結晶)。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.15 (3H, t, *J*=7.6Hz, 2-CH₂CH₃), 1.98 (3H, s, 3-CH₃), 2.42 (2H, q, *J*=7.6Hz, 2-CH₂CH₃), 8.30 (1H, s, NH)。元素分析, Found: C, 60.46; H, 6.55; N, 9.97. Calcd. for C₇H₉O₂N: C, 60.42; H, 6.52; N, 10.07.

3-メチルフタルイミド

この化合物は対応するフタル酸無水物 (Avocado Research Chemicals 製) が入手可能な場合, 上述の方法により合成できる。入手不可能な場合のために以下に述べるワンポット合成法を確立した (Nomoto *et al.*, 2001a)。

ヘミメリテン (1,2,3-トリメチルベンゼン, 10 g, 83mmol) の四塩化炭素溶液 (50 ml) へ還流下に臭素 (27 g, 166 mmol) を滴下した。生成物の GC/MS 分析の結果から判断して, 1,2位のメチル基の臭素化物と1,3位の臭素化物が約7:1で生成していた。反応混合物は精製することなく, 溶媒を留去しさらにベンゼン (50 ml) を加えて濃縮する操作を5回繰り返すことで副生した臭化水素を除いた。油状残渣に7M HNO₃ (300 ml) を加えて激しく攪拌しつつ5時間加熱還流した。硝酸を留去後, まず水 (100 ml) を加えて濃縮する操作を5回, 次いでベンゼン (50 ml) を用いて同様の操作を行なった。油状残渣に無水酢酸 (50 ml) を加えて1時間加熱還流した。反応液を濃縮乾固した後, ベンゼン (50 ml) を用いて溶解・乾固の操作を5回行なった。この残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ベンゼン/酢酸エ

チル) で生成すると無水3-メチルフタル酸(融点115°C)が得られる。上述の濃縮残渣に尿素(10g)を加えて140°Cで2時間加熱した。放冷後、反応混合物からクロロホルム(200ml)で生成物を抽出して、シリカゲルカラム(3cm I.D.×50cm)に吸着させクロロホルム-メタノール(19:1)で溶出した。薄層クロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール(19:1))で R_f 値0.9のスポットを与える生成物を含むフラクションを集め、同じサイズのカラムに再度吸着させ、ベンゼン/酢酸エチル(19:1)で溶出して、目的の

3-メチルフタルイミドを得た(525mg, 3.9%)。融点193-5°C(エタノールから再結晶)。 ^1H NMR(CDCl_3) δ 2.75(3H, s, CH_3), 7.68(1H, d, $J=7.7$ Hz, aromatic H), 7.79(1H, t, $J=7.7$ Hz, aromatic H), 7.86(1H, d, $J=7.7$ Hz, aromatic H), 8.25(1H, s, NH)。元素分析, Found: C, 66.62; H, 4.36; N, 8.57. Calcd. for $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$: C, 67.07; H, 4.38; N, 8.69。

以上のマレイミド類標準物質のマススペクトルをFig. 1に示した。

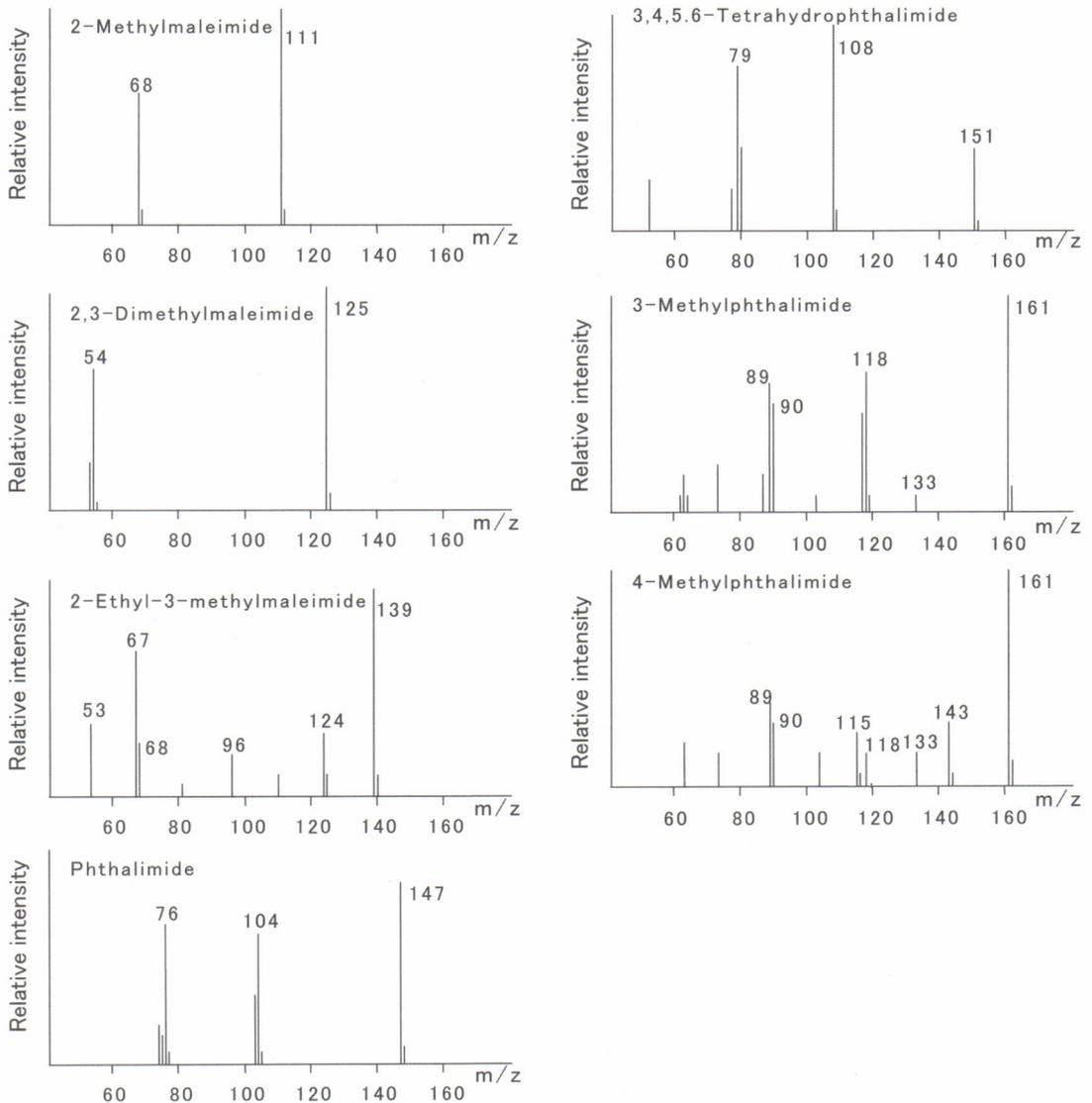


Fig. 1. Mass spectra of authentic maleimides.

4. 結果および考察

4.1. 現世堆積物試料中の遊離態 2-エチル-3-メチルマレイミドの分析

東京湾堆積物試料中の遊離態 2-エチル-3-メチルマレイミドは、塩化メチレン/メタノール混合溶媒による抽出物の塩化メチレン/アセトン混合溶媒画分から検出された。この画分のガスクロマトグラム（全イオンクロマトグラムと 2-エチル-3-メチルマレイミド分子イオンに相当する m/z 139 のフラグメントグラム）を Fig. 2 に示した。このフラグメントグラム上のピークの保持時間は、合成したマレイミド標品ピークの保持時間と一致した。また、各々のピークを与える物質の質量スペクトルも良い一致を示した。これらの結果から 2-エチル-3-メチルマレイミドを同定した (Kozono *et al.*, 2002)。このマレイミドの同定レベルは次節において他のマレイミド類と合わせて述べる。東京湾堆積物試料からこの他のマレイミド類は見られなかった。また 16 試料の分析結果からこのマレイミド濃度の深度分布を求めたところ、クロロフィル類（クロロフィル *a*、フェオフィチン *a*、ピロフェオフォルビド *a*、ピロフェオフィチン *a*）の合計濃度の深度分布と傾向が良く一致すること、両者の濃度は同程度であることが明らかになった (Kozono *et al.*, 2002)。

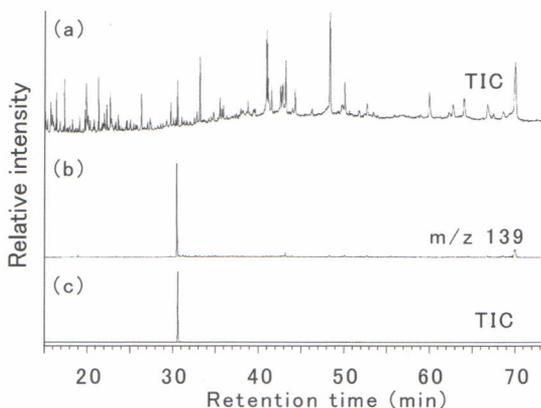


Fig. 2. Total ion chromatogram (a) and mass fragmentogram (b) of the extract of Tokyo Bay sediment and total ion chromatogram of authentic 2-ethyl-3-methylmaleimide (c).

4.2. 新第三系堆積岩試料中の遊離態および結合態マレイミド類の分析

新庄新第三系堆積岩試料の抽出性成分に含まれる遊離態マレイミド類はカラムクロマトグラフィーによる分画の後に GC/MS 分析した。一方、可溶性成分を除いた堆積岩試料をクロム酸酸化後ベンゼン抽出して得た抽出物は、分画を行なうことなく GC/MS で結合態マレイミド類の分析を行なった。草薙層上部の試料から得たクロム酸酸化抽出物のガスクロマトグラム（全イオンクロマトグラムとマレイミド類の分子イオンのフラグメントグラム）を Fig. 3 に示した。この試料からは、結合態マレイミド類として、2-メチルマレイミド、2,3-ジメチルマレイミド、2-エチル-3-メチルマレイミド、3,4,5,6-テトラヒドロフタルイミド、フタルイミド、3-メチルフタルイミド、4-メチルフタルイミドが検出され、これらを定量した (Kozono *et al.*, 2001)。このマレイミド類の MS 特性と同定レベルなどを Table 1 に示した。

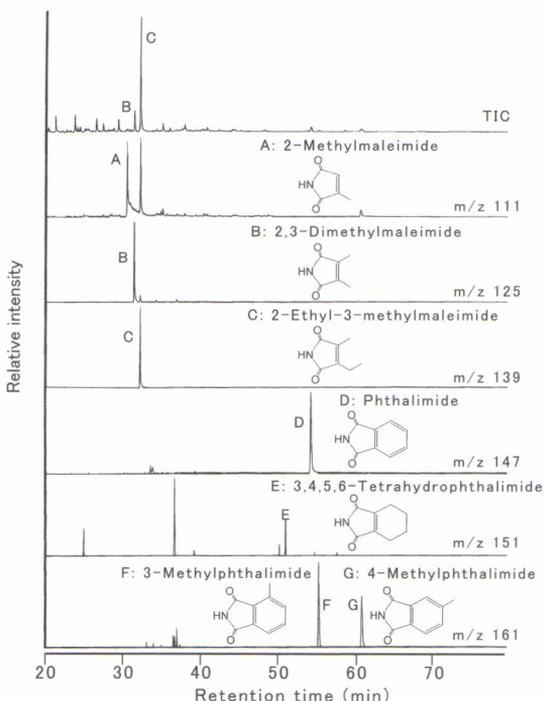


Fig. 3. Total ion chromatogram and mass fragmentograms of bound maleimides in the upper Kusanagi Formation of the Shinjo sediments.

Table 1. Identification of maleimides found in extracts of Tokyo Bay sediments and in oxidative extracts of Neogene sediments

Compound*	Formula	Diagnostic fragment ion** (m/z)									Level of identification***
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	
2-Methylmaleimide	C ₅ H ₇ O ₂ N	<u>111</u>				68					4
2,3-Dimethylmaleimide	C ₆ H ₇ O ₂ N	<u>125</u>						54			4
2-Ethyl-3-methylmaleimide	C ₇ H ₉ O ₂ N	<u>139</u>	124			96		68	67	53	4
3,4,5,6-Tetrahydrophthalimide	C ₈ H ₉ O ₂ N	<u>151</u>				<u>108</u>		80	79		4
Phthalimide	C ₈ H ₅ O ₂ N	<u>147</u>				<u>104</u>		76			4
3-Methylphthalimide	C ₉ H ₇ O ₂ N	<u>161</u>		143	133	118	115	90	89		4
4-Methylphthalimide	C ₉ H ₇ O ₂ N	<u>161</u>			133	118		90	89		4
Fragmentation		M ⁺	-CH ₃	-H ₂ O	-CO	-CONH	-H ₂ O -CO	-CONHCO	-CONHCO -H	-CONHCO -CH ₃	

* In Tokyo Bay sediments only 2-ethyl-3-methylmaleimide was found and all the compounds were found in Neogene sediments.

** Base peaks are underlined.

*** Identification was done by coincidence in mass spectrum and GC retention time with those of authentic standard.

上述のマレイミド類において、3,4,5,6-テトラヒドロフタルイミド以外は分子イオンピークが基準ピークである。各分子のフラグメンテーションの特徴として、マレイミド環の分解が主に観測される。即ち、[M-CONH]⁺ (フラグメント e) と [M-CONHCO]⁺ (フラグメント g) は殆どのマレイミド類に見られる。3,4,5,6-テトラヒドロフタルイミドでは [M-CONH]⁺ が基準ピークである。2-エチル-3-メチルマレイミドのみについて、側鎖エチル基からの脱メチル体のフラグメント b が見られ、さらに [M-CH₃-CONHCO]⁺ (フラグメント i) も現れる。3-メチルマレイミドと4-メチルマレイミドのマススペクトルによる識別は [M-H₂O]⁺ (フラグメント c) の有無が基準である。このフラグメントと [M-H₂O-CO]⁺ (フラグメント f) は前者にのみ現われる。

この研究における新第三系堆積岩18試料の分析により、遊離態および結合態マレイミド類の濃度の深度分布が始めて得られ、クロロフィル分子の持つポルフィリンの側鎖構造が地層中で起こす化学変化の一端が明らかにされた。即ち、本試料は上位層から下位層にかけてビトリナイト反射率が0.4から0.8へと推移する程度の熱履歴を有するものであるが、この範囲において結合態マレイミド類は遊離態に比してよく保存されていること、深度と共にマレイミドとメチルマレイミドが増加すること、側鎖エチル基の脱メチル化は熱履歴

とよい相関を示すことなどの化学現象が見出された。結合態マレイミド類はそれが含まれる層準に固有の物質である可能性が高いので、これらの分析はクロロフィル分子の続成変化の解明に有効であると思われる。

現世堆積物から得られた遊離態2-エチル-3-メチルマレイミドはクロロフィル分子のB環に由来する生体代謝産物が保存されたものと思われる。堆積岩から抽出される遊離態および結合態マレイミド類の内、2-エチル-3-メチルマレイミドのみは、クロロフィル分子のB環の側鎖構造を留めた化合物であるが、クロロフィルのA環側鎖ビニル基の水素添加およびC環側鎖エステル部分の脱炭酸を経る経路でも生成し得る続成変化産物との区別はできない。2-メチルマレイミドと2,3-ジメチルマレイミドの側鎖を持つピロール環は天然のクロロフィルには存在しないことから、クロロフィル由来の続成変化産物と見られる。特に2,3-ジメチルマレイミドは、クロロフィルB環の2-エチル-3-メチルピロールが地層中で脱メチル化して生じた構造に由来する物質として、地層有機物の熟成度の評価への利用が期待できる (Nomoto *et al.*, 2001b)。マレイミドと3-および4-メチルマレイミドについては、原油から分離されたポルフィリン画分のクロム酸化で得られたものは、明らかに地層ベンゾポルフィリンに由来すると見なされる (Barwise and White-

head, 1980; Nomoto *et al.*, 2002)。一方、堆積岩を直接クロム酸化化して得たフタルイミドとそのメチル体の起源物質をクロロフィル由来の地層ベンゾポルフィリンと断定するに足る証拠を得ることは今後の課題である。

本報告では、標準物質が化学合成などの手段により入手可能なマレイミド類の堆積岩からの抽出、同定、定量の手法を記述した。上述したように、本報で述べたマレイミド類のほか、地層中からはバクテリアクロロフィル由来のマレイミド類 (2-メチル-3-イソプロピル-, 2-メチル-3-イソブチル-, 2-メチル-3-ネオペンチルマレイミド) や側鎖が化学変化を受けたマレイミド類 (2-メチル-3-プロピル-, 2-メチル-3-ブチル-, 2-メチル-3-ペンチル-, 2,3-ジエチルマレイミド) などと考えられる物質も見出されているが、これらの分析については文献を挙げるに留める (Grice *et al.*, 1996, 1997; Shimoyama *et al.*, 2001; Kozono *et al.*, 2001; Pancost *et al.*, 2002)。今後、ここに挙げたマレイミド類の標準物質の合成法を確立し、堆積岩試料中に存在するそれらを明確に同定した上で別途報告することとしたい。

引用文献

- Barwise, A. J. G. and Whitehead, E. V. (1980) Separation and structure of petroporphyrins. *Advances in Organic Geochemistry 1979* (Maxwell, J. R. and Douglas, A. G. eds.), 181-192, Pergamon press, Oxford.
- Furlong, E. T. and Carpenter, R. (1988) Pigment preservation and remineralization in oxic coastal marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **52**, 87-99.
- Grice, K., Gibbison, R., Atkinson, J. E., Schwark, L., Eckardt, C. B. and Maxwell, J. R. (1996) Maleimides (1H-pyrrole-2,5-diones) as molecular indicators of anoxygenic photosynthesis in ancient water columns. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **60**, 3931-3924.
- Grice, K., Schaeffer, P., Schwark, L. and Maxwell, J. R. (1997) Changes in palaeoenvironmental conditions during deposition of the Permian Kupferschiefer (Lower Rhine Basin, northwest Germany) inferred from molecular and isotopic compositions of biomarker components. *Org. Geochem.*, **26**, 677-690.
- Kozono, M., Nomoto, S., Mita, H. and Shimoyama, A. (2001) Detection of maleimides and their characteristics in Neogene sediments of the Shinjo basin, Japan. *Geochem. J.*, **35**, 225-236.
- Kozono, M., Nomoto, S., Mita, H., Ishiwatari, R. and Shimoyama, A. (2002) 2-Ethyl-3-methylmaleimide in Tokyo bay sediments providing the first evidence for its formation from chlorophylls in the present photic and oxygenic zone. *Biosci., Biotech., and Biochem.*, **66**, 1844-1847.
- Martin, J., Quirke, E., Shaw, G. J., Soper, P. D. and Maxwell, J. R. (1980) Petroporphyrin-II. The presence of porphyrins with extended alkyl substituents. *Tetrahedron*, **36**, 3261-3267.
- Muir, H. M. and Neuberger, A. (1949) The biogenesis of porphyrins. *Biochem. J.*, **45**, 163-170.
- Nomoto, S., Kozono, M., Mita, H. and Shimoyama, A. (2001a) Structural elucidation of an oxidation product of sedimentary porphyrins by one-pot synthesis of 3-methylphthalimide. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **74**, 1975-1976.
- Nomoto, S., Kozono, M., Mita, H. and Shimoyama, A. (2001b) A new maturity indicator of sedimentary organic matter based on thermal fission of allylic bond in porphyrins. *Chem. Lett.*, **2001**, 1174-1175.
- Nomoto, S., Kozono, M. and Shimoyama, A. (2002) The first experimental simulation of thermal transformation of chlorophylls into benzoporphyrins in sediments. *Chem. Lett.*, **2002**, 470-471.
- Pancost, R. D., Crawford, N. and Maxwell, J. R. (2002) Molecular evidence for basin-scale photic zone euxinia in the Permian Zechstein Sea. *Chem. Geol.*, **188**, 217-227.

Shimoyama, A., Kozono, M., Mita, H. and
Nomoto, S. (2001) Maleimides in the
Cretaceous/Tertiary boundary sediments at
Kawaruppu, Hokkaido, Japan. *Geochem. J.*,
35, 365-375.