

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：84407

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K19719

研究課題名（和文）規制・乱用薬物を対象とした標準品を必要としない簡便な絶対構造解析法の開発

研究課題名（英文）Development of the simple method to elucidate the absolute configurations of NPS without reference standards.

研究代表者

土井 崇広（Doi, Takahiro）

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・衛生化学部・主幹研究員

研究者番号：90516767

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究計画では、単結晶構造解析における低分子化合物の結晶化を一般化し、方法論として確立することを目的として研究を実施した。モデルとして合成カチノン・合成カンナビノイドの2種類の乱用薬物群を設定し、様々な溶媒系での検討から候補溶媒を選定した。合成カチノンではモデル化合物で最適化した方法を、類似化合物で検証したところ良好な結晶は得られなかった。合成カンナビノイドのうちインドール/またはインダゾールカルボキサミド型では候補化合物で最適化した3溶媒系で、10種類あまりの化合物でおおむね良好な結晶が得られたことから、第一選択として用いることで結晶化条件の検討を省力化できると期待された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

単結晶X線構造解析法は、未知化合物の構造を直接決定できる有力な手法でありながら、結晶化の難しさから汎用化が進んでいない。本研究では特定の化合物群に対してではあるものの、わずか3溶媒条件での試料調製で結晶化できる可能性を示した。本研究では対象を乱用薬物に絞っているが、特定の化学・生物学的特性をもった化合物群は数多く存在しており、まだまだ検討対象が期待できる。本研究の成果は単結晶X線構造解析という手法の汎用化という観点において導入ともいえる萌芽的研究であり、今後の発展により大きな意義を持つものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this project is to generalize the crystallization procedure for single crystal x-ray diffraction of low molecular weight compounds, and to establish the methodology for crystallization process. Two groups of drugs of abuse, synthetic cathinones and synthetic cannabinoids, were set up as models, and candidate solvents were selected from studies in various solvent systems. For synthetic cathinones, the conditions optimized for the model compound were not adequate for the crystallization of the similar compounds. For the indole/indazole-carboxamides type synthetic cannabinoids, three solvent systems optimized for a model compound were successful to the other ten compounds. Using these three solvent systems as the first choice was expected to simplify the investigation of crystallization conditions.

研究分野：分析化学

キーワード：単結晶X線構造解析 結晶化 乱用薬物 合成カンナビノイド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

法医学の研究室や科学捜査研究所等では、検出が疑われる薬物の標準品を分析し、試料と標準品の結果を比較して規制・乱用薬物を同定している。近年、規制薬物数が急増したため、標準品を入手できない物質が増加している。申請者らは合成することで対応しているが、有機合成の知識・技術が必要であり、殆どの分析機関では対応できないのが現状であった。

申請者らの研究室では、新規乱用薬物の合成・薬理活性評価の研究を行っており、光学異性体識別のために単結晶 X 線構造解析装置を使用している。単結晶 X 線構造解析法は、測定結果を元に計算により結晶の構造が直接特定できるのが特徴である。

本法の欠点は、単結晶の調製が難しいことであり、その困難さから日常分析での使用は敬遠されている。しかし、本研究の対象である規制・乱用薬物は特定の化合物群により構成されており、群ごとに結晶性が類似している。単結晶 X 線構造解析で障壁となる結晶化の行程を化合物群毎に一般化できれば、標準品を用いない構造解析法が確立できると考えた。

2. 研究の目的

社会問題となった危険ドラッグ対策の一環として、近年指定薬物制度が導入された。制度導入前には 100 種にも満たなかった規制薬物の種類が、2017 年 9 月時点では約 2500 種類に達するなど格段に増加している。

通常、化合物の同定は、試料溶液と検出が疑われた化合物の標準品を複数の分析機器で分析し、結果の同一性を確認することで実施される。近年規制が急激に拡大しているため、規制物質であっても標準品を市販品として入手できないものが多く存在している。

申請者らは標準品を用いることなく化合物の構造決定が可能な「単結晶 X 線構造解析法」に着目した。本研究は単結晶 X 線構造解析法の難所である「単結晶試料の調製」を対象化合物群ごとにプロトコール化することで、標準品を必要としない乱用・規制薬物の構造決定法を構築することを目的としている。

3. 研究の方法

結晶条件の検討

溶媒として親水性の大きく異なる 10 種類の溶媒 (水・メタノール・アセトニトリル・アセトン・酢酸エチル・ジクロロメタン・トルエン・ニトロベンゼン・ヘキサン・ジエチルエーテル) を用い、モデル化合物 2 種類 (カチノン系化合物・合成カンナビノイド系化合物) の溶解性を検証した。検証したすべての溶液で濃厚溶液を調製し、溶媒蒸発法による結晶化を試みた。

次に単溶媒で結晶化が確認できた富溶媒と当該溶媒より揮発しにくい貧溶媒を選定し、混合溶媒系を用いて溶媒蒸発法による結晶化を試みた。

単結晶の確認には偏光板を設置した実体顕微鏡 (SZX-7、オリンパス製) を用い、単結晶が採取できた結晶化試料は測定に供した。

測定

単結晶 X 線構造解析には Cu 線源を備えた SuperNova/AtlasS2 diffractometer または Synergy-S/Hypix Arc 100° diffractometer (いずれもリガク製) を用い、100 K 冷却下で測定した。

4. 研究成果

カチノン系化合物

カチノン系のモデル化合物には -PVT 塩酸塩を用いた。10 種類の溶媒（水・メタノール・アセトニトリル・アセトン・酢酸エチル・ジクロロメタン・トルエン・ニトロベンゼン・ヘキサン・ジエチルエーテル）について溶解性を検証した。水・メタノール・アセトニトリル・ジクロロメタンで良好な溶解性が見られたものの、その他の溶媒では殆ど溶解しなかった。水・メタノール・アセトニトリル・ジクロロメタンについてはスリット付バイアル中で飽和溶液を調製し、室温で放置・自然蒸発させて結晶の調製を試みた。1 週間後に検鏡したところ、ジクロロメタン溶液で最も良好な結晶性が確認できた。結晶性は良好であったが、複数の結晶が融合した性状のものが多数確認された。X 線構造解析に用いる単結晶の調製には、緩やかに結晶を生成させることが好ましいとされるが、ジクロロメタンは揮発性が高いため結晶も速やかに生成しているもの考えられた。

次に、-PVT 塩酸塩をジクロロメタンで溶解させたものに、揮発しにくく、溶解しない溶媒を添加した混合溶媒を用いて溶液を調製し、ジクロロメタンのみを揮発させることで結晶の生成を試みた。1 週間室温で放置したところ、検討した溶媒のうちニトロベンゼンを加えて調製したもので最も良好な結晶性が確認された。ビーム幅をはるかに超える巨大結晶が生成したため、結晶をサージカルナイフで切断し単結晶 X 線構造解析に供したところ、15 分の測定で構造の導出が可能であった。

類似化合物として、-PVT および -PBT のチオフェン臭素化体を用いて同じ条件で結晶化を試みたが、いずれの条件でも良好な結晶化は確認できなかった。

合成カンナビノイド系化合物

溶媒 10 種類（水、メタノール、アセトニトリル、アセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル、トルエン、ニトロベンゼン、n-ヘキサン、ジエチルエーテル）での溶解性を調べたところ、インドールカルボキサミド型合成カンナビノイドのうち、特定の部分構造を持つものにおいては、水・ヘキサンのみ不溶で、他の溶媒では 5%以上の濃度で溶解性が確認された。溶解した溶媒を用いて、溶媒蒸発法での結晶化を試みたところ、化合物によって若干の違いはあるものの、メタノール・アセトニトリル・ジエチルエーテルで結晶の生成が確認できた。得られた結晶が微小で結晶構造解析が可能なサイズではなかったため、不溶性溶媒（貧溶媒）との混合溶媒系で、さらなる条件検討を行ったところ、n-ヘキサン/ジエチルエーテルの混合溶媒系で良好な結晶が得られた。インドールカルボキサミド型合成カンナビノイド系化合物のモデル化合物を用い、n-ヘキサン/ジエチルエーテル混合溶媒で条件検討を行ったところ、n-ヘキサン:ジエチルエーテル=1:1 を溶媒とした 2.5%溶液で結晶が得られた。多結晶が多く観察されたため、化合物濃度を下げたところ、0.25%溶液で最も良好な単結晶が得られた。本条件でインドール/インダゾールカルボキサミド型合成カンナビノイド 10 種を用いて検証したところ、ジエチルエーテルで溶解するものではインドール/インダゾールを問わず単結晶が得られ、いずれも構造解析が可能であった。

溶媒蒸発法で n-ヘキサン/ジエチルエーテル混合溶液を溶媒として用いた場合に結晶化できなかったカルボキサミド型合成カンナビノイド系化合物について、他の条件での結晶化について検討を実施した。水/アセトン・水/メタノール等の混液で結晶を生じるケースが確認できたが、結晶サイズが小さく構造解析に至らなかった。単結晶 X 線構造解析装置の更新により、年度後半に検出器が CCD からハイブリッド光子計数型検出器に変更された。以前に構造解析できなかった結晶について、新規装置で測定を試みたところ絶対構造も含めて構造解析が可能であった。

単一の方法で類似化合物を一斉に結晶化できる方法の構築には至らなかったが、効率よくカルボキサミド型合成カンナビノイドを結晶化できる条件として、n-ヘキサン/ジエチルエーテル、水/アセトン、水/メタノールの3種類の混合溶媒系を見出すことができた。確実に結晶化できるとは言えないものの、第1選択の条件として上述の3混合溶媒系を用いることで、当該化合物群の単結晶調製について省力化が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	武田 章弘 (Takeda Akihiro) (00622755)	地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・衛生化学部・ 研究員 (84407)	
研究分担者	前畑 佳納子 (Maehata Kanako) (40827292)	地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・衛生化学部・ 研究員 (84407)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関