

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：84502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460057

研究課題名(和文)放射光X線による医薬品共結晶体の物性予測制御法の研究

研究課題名(英文) Investigation of property prediction for pharmaceutical co-crystals using synchrotron radiation based X-ray study

研究代表者

杉本 邦久 (Sugimoto, Kunihisa)

公益財団法人高輝度光科学研究センター・利用研究促進部門・研究員

研究者番号：00512807

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：Caffeine-Oxalic acid及びCaffeine-Malonic acidの共結晶体の精密構造解析により、Malonic acidにより構築されるCaffeine共結晶体は、Oxalic acidにより構築されるCaffeine共結晶体に比べて弱い水素結合により構築されていることが定量的に分かった。本研究による共結晶体の物理量の可視化法は、熱・湿度安定性や溶解性を制御している分子間相互作用を定量的に解析することができる。これらは、医薬品共結晶体の迅速な安定性予測や効率的な分子設計が可能であり、今後、新規医薬品の物性を制御する標準的な技術として発展することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Co-crystals of caffeine-oxalic acid and caffeine-malonic acid were synthesized as single crystal. Synchrotron radiation X-ray diffraction experiment (SR-XRD) performed at single crystal analysis beamline BL02B1/SPring-8. The charge density distribution and electrostatic potential map of co-crystals were successfully visualized by charge density study using high-resolution X-ray diffraction data. We elucidate the hydrogen bonding in co-crystal of caffeine-oxalic acid quantitatively stronger than that of caffeine-malonic acid. To directly visualize of intermolecular interaction by charge density study using SR-XRD does not only push the investigation of efficient way of design for pharmaceutical complex, but also contribute to development of functional materials.

研究分野：構造物性

キーワード：共結晶体 放射光 精密構造解析 物性予測

1. 研究開始当初の背景

一般的な医薬品の溶解性や安定性を制御するための技術として、医薬品原末に添加剤を混合する方法が盛んに用いられている。体内に投与された医薬品は、病巣や標的部位まで必要な量が最適な速度で運搬される必要があるが、医薬品の構造や組成に応じて製剤を設計していく。しかしながら、界面活性剤を主とする添加剤は、可溶化作用が消化管に対して障害を引き起こすことが懸念されており、多量の添加は避けることが望ましいと考えられている。また、体内中で溶解しにくい医薬品の場合、ナノ粒子化することによって体液との接触面積を増加させ、体液中への溶解速度を増加させることも医薬品の物性を制御する1つの手段として用いられている。しかしながら、この手法は、医薬品の種類に依存することがあり、ナノ粒子化することで必ずしも溶解性が向上しない。医薬品の粒子サイズによる物性制御は、ナノ粒子の粒径サイズに大きく依存するため、適した粒径サイズを探索し、かつ均一なナノ粒子サイズの医薬品の調剤を行わなければならない。したがって、よく効き、しかも副作用の少ない医薬品を製造するためには、精度の高い粒度分布の制御が必要となってくる。もし、最適な粒子サイズを誤ると、溶解速度の制御が出来ずに、体内に吸収される医薬品の量が必要以上に多くなり副作用を引き起こす場合がある。また、最近では、化学修飾により溶解性や安定性を向上させるため、親和性の良い分子を修飾したシクロデキストリンなどの籠状化合物で医薬品原末をカプセル化することにより生体内利用率を向上させる研究も行われている。この手法は、カプセル化する有機分子の合成に高度な技術が必要であったり、ある種の医薬品原末には有効であっても、別の医薬品原末には対応できなかったりなどの課題を持っている。

2. 研究の目的

近年、これらと異なる創薬技術として、医薬品原末の共結晶体化が注目されている。共結晶体とは、2種類以上の有機分子が静電的な相互作用によって構築される結晶体である。この共結晶化技術を用いることにより、医薬品原末は安定性を保持するだけでなく、溶解性や熱・湿度安定性などの物性をコントロールすることが可能である。新しい創薬技術として注目される共結晶体構築による医薬品の物性制御は、主となる医薬品の効能を発揮する分子の構造を変更すること無く、組み合わせる分子のみを最適化することにより物性を制御できる利点がある。しかしながら、共結晶体の作成は、無限の組み合わせから結晶化条件を探索する手法が行われており、仮に共結晶体の結晶化が成功しても、正確に溶解性や熱・湿度安定性を予測制御するには至っていない。本研究では、X線精密構造解析による結晶内分子の電子密度分布、電

荷密度分布、静電ポテンシャルなどから分子の結合性、極性を明らかにし、且つ医薬品共結晶体の物性を制御している分子間相互作用を数値化することによって、物性を予測制御する方法論を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

共結晶体内分子の電子密度分布解析を基盤とした医薬品の物性予測制御法の構築のため、系統的な共結晶体群を対象として本研究を遂行した。安定性などの物性が既知のCaffeine (図1) とカルボン酸基を水素結合部位として持つ有機化合物により構築したCaffeine共結晶体を合成した後、熱分析によって安定性などの物性を検討した。

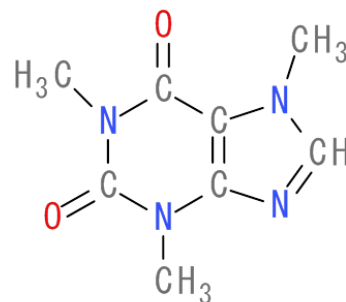


図1 Caffeineの分子構造図
水素結合部位を持つ有機分子と共結晶体を構築できる

さらに、これらの共結晶体は、大型放射光施設 SPring-8 を用いた X 線精密構造解析を行った。実験的に直接観察した電子密度分布、静電ポテンシャル分布、電荷密度分布から分子内の結合性、電子分極及び分子の極性、分子間相互作用の定量化を行った。これらのCaffeine共結晶体群の定量的な知見に基づき分子間相互作用を数値化し、共結晶体内分子の電子密度分布解析を基盤とした医薬品の物性予測法の確立を試みた。物性可視化の方法論として、大型放射光施設 SPring-8 を用いた精密構造解析による電子密度分布を実験的に直接観察する。X線回折は、物質の電子密度分布からの弾性散乱を解析する手法であり、原理的には電子密度分布の形で電子状態を観測できる。つまり、結晶格子内の原子位置では表すことのできない、結合電子などを電子密度分布レベルで構造解析することを意味し、原子の結合形態などを明らかにすることによって、より有用な情報を抽出できる。近年、価電子の分布と温度因子の影響を分離して解析できる多極子展開法や情報理論の回折データへの適用による手法(マキシマムエントロピー法: MEM)により、低分子の電子密度分布を HOMO、LUMO などのレベルで解析することが可能となった。空間的に広がった分子軌道の電子密度を観測するためには6桁のダイナミックレンジと統計精度が必要であるが、これまでに計測基盤を構築した回折装置が、このような精密構造解析を可能にした。

一方、静電場解析は、この電子密度分布と Ewald 法により求めた核電荷密度を組み合わせることにより、実験的に結晶中の静電ポテンシャル分布を示すことができる。従って、精密構造解析で得られた電子密度から電荷や電荷移動量などを見積もり、反応などのメカニズム解析を理解することも可能である。申請者は、Bader らによる Atoms in Molecules 法に基づいたトポロジカル解析のプログラムを作成し、これまで研究を遂行してきた。大型放射光施設 SPring-8 を用いた精密構造解析から得られた静電ポテンシャル分布にトポロジカル解析を適用することにより、分子を構成する各原子の電荷密度分布を定量化することが可能になった。

4. 研究成果

本研究では、安定性や溶解性などの物性がよく知られている Caffeine を用いることにより、共結晶医薬品の安定性の予測を検討した。Caffeine は、湿度に依存して不安定性を示し、アルキル鎖の長さが異なるジカルボン酸基を有する分子と共結晶体を構築することが可能である。本合成では、Caffeine と 8 種のジカルボン酸化合物 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ (Oxalic acid ($n = 0$), Malonic acid ($n = 1$), Maleic acid ($n = 2$), Glutaric acid ($n = 3$), Adipic acid ($n = 4$), Pimelic acid ($n = 5$), Suberic acid ($n = 6$), Azelaic acid ($n = 7$)) との共結晶体の合成に成功した。これらの共結晶体群については、粉末 X 線回折プロファイルから単体の Caffeine あるいはジカルボン酸化合物で無いことを確認している。それぞれ得られた粉末結晶について TG/DTA による熱分析測定を行った結果、共結晶体の崩壊に伴う吸熱ピークは、アルキル鎖が長くなるにつれて低温側にシフトし、共結晶体の安定性が失われていくことが明らかになった。この結果は、分子技術により設計した共結晶体により物性制御を可能であることを示唆している。

一方、Caffeine-Oxalic acid 及び Caffeine-Malonic acid の共結晶体の単結晶をそれぞれ合成し、SPring-8 の単結晶構造解析ビームライン BL02B1 で超高分解 X 線回折データを観測した。これらのデータは、精密構造解析により電子密度分布を可視化し、さらに、静電ポテンシャルの可視化にも成功した。図 2 に Caffeine と Oxalic acid により構築した共結晶体の精密構造解析から明らかになった電子密度分布及び静電ポテンシャルを示す。図 2 の右図は、等電子密度面上に静電ポテンシャルの電位を色づけにより可視化した図である。静電ポテンシャルの可視化により、Caffeine 分子と Oxalic acid の電荷の様子が明確に描画されている。

Caffeine-Oxalic acid の共結晶体は、分子パッキングの図より、Caffeine 分子内のイミダゾール環の窒素と Oxalic acid のカルボン酸の水素が水素結合を形成することにより

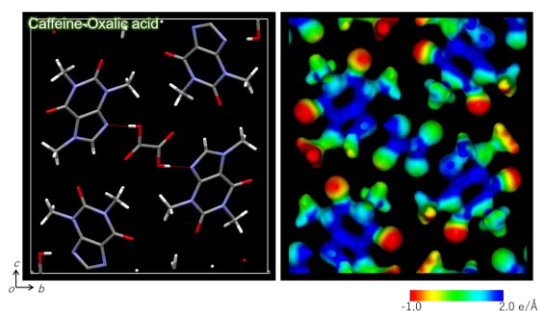


図 2 Caffeine-Oxalic acid 共結晶体の分子パッキング図 (左図) および等電子密度 ($0.8 \text{ e}/\text{\AA}^3$) 面上に静電ポテンシャルをマッピングした図 (右図)

構築されている ($\text{N}\cdots\text{H}-\text{O} = 1.81 \text{ \AA}$)。一方、電子密度分布解析では、等電子密度面に色づけされたカルボン酸部位を見ると電子は局在化しており、この水素結合は、比較的強い静電相互作用であることが分かる。また、図 3 には、Malonic acid と Caffeine により合成し、共結晶体の精密構造解析から明らかになった電子密度分布及び静電ポテンシャルを示した。Caffeine-Malonic acid の共結晶体も同様に、Caffeine 分子内のイミダゾール環の窒素と Malonic acid のカルボン酸の水素が水素結合を形成することにより構築されている ($\text{N}\cdots\text{H}-\text{O} = 1.83 \text{ \AA}$)。これらの水素結合距離には、有意な差がないために原子間の距離だけでは判断しにくい。

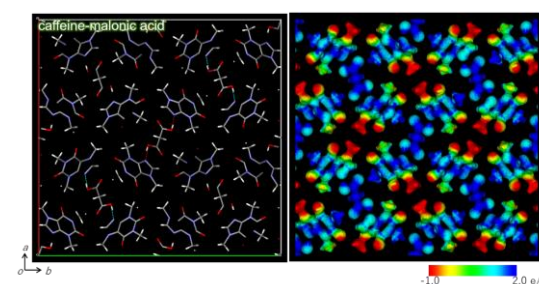


図 3 Caffeine-Malonic acid 共結晶体の分子パッキング図 (左図) および等電子密度 ($0.8 \text{ e}/\text{\AA}^3$) 面上に静電ポテンシャルをマッピングした図 (右図)

しかしながら、電子密度分布解析では、それぞれのカルボン酸部位を比較すると、Malonic acid のカルボン酸部位の電子が Oxalic acid に比べて局在化していないことがわかる。従って、Malonic acid により構築される Caffeine 共結晶体は、Oxalic acid により構築される Caffeine 共結晶体に比べて弱い水素結合により構築されていることが示唆される。このような知見は、医薬品共結晶体の溶解度などの物性に深く寄与していると考えられる。今後、精密 X 線構造解析を用いた電子密度分布の定量化により医薬品共結晶体の物性予測への応用が期待できる。

本研究で確立した共結晶体の物性可視化法は、熱・湿度安定性や溶解性などを制御している分子間相互作用を定量的に解析することが可能となる。さらに、確立した方法論から医薬品共結晶体の迅速な安定性予測や

効率的な分子設計が可能であり、今後、新規医薬品の物性を制御する標準的な技術として発展することが見込まれる。また、結晶中の分子間相互作用を精密構造解析によって可視化、且つ数値化することは、これまで定性的に議論されてきた物質群の物性を定量的に説明できることを意味する。したがって、X線回折法を用いた電子密度分布を基盤とする物性可視化法の構築は、医薬品共結晶だけでなく他の機能性物質群の構造と物性との相関関係の解明、物性制御および予測を行う技術としても、さらに波及していくことが予想される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① K. Sugimoto, S. Kawaguchi, M. Takemoto, Structural characterization of caffeine-oxalic acid co-crystals from the powder diffraction pattern at the SPring-8 BL02B2 beamline, *Powder Diff.*, 査読有, published online: 10 April 2017, DOI:10.1017/S088571561700032X.
- ② M. Sist, E. M. J. Hedegaard, S. Christensen, N. Bindzus, K. F. F. Fischer, H. Kasai, K. Sugimoto, B. B. Iversen, Carrier concentration dependence of structural disorder in thermoelectric Sn_{1-x}Te , *IUCrJ*, 査読有, 2, 377-388, 2016, DOI:10.1107/S2052252516012707.
- ③ V. R. Hathwar, M. Sist, M. R. V. Jorgensen, A. H. Mamakhel, X. Wang, C. M. Hoffmann, K. Sugimoto, J. Overgaard, B. Iversen, Quantitative analysis of intermolecular interactions in orthorhombic rubrene, *IUCrJ*, 査読有, 2, 563-574, 2015, DOI:10.1107/S205225251501213.
- ④ M. Woinska, D. Jayatilaka, M. A. Spackman, A. J. Edwards, P. M. Dominiak, K. Wozniak, E. Nishibori, K. Sugimoto, S. Grabowsky, Hirshfeld atom refinement for modelling strong hydrogenbonds, *Acta Cryst.*, 査読有, A70, 483-498, 2014, DOI:10.1107/S2053273314012443.

[学会発表] (計 9 件)

- ① K. Sugimoto, Controlled Self-Assembly of a 2-D Sheet Coordination Polymer and Monomer Containing Eight-Membered Cu_4I_4 Ring Crown Motif, The 14th Conference of the Asian Crystallographic Association, 4-7 December 2016, Hanoi, Vietnam.
- ② 杉本邦久, 八員環 Cu_4I_4 クラウンモチーフを有する金属錯体の結晶構造, 日本

結晶学会年会, 2016年11月17日~18日, 茨城県立県民文化センター(茨城県水戸市).

- ③ 杉本邦久, 先端放射光で物質の成り立ちを探究する, 第6回CSJ化学フェスタ2016, 2016年11月14日~16日
- ④ K. Sugimoto, Structural characterization of co-crystal caffeine with dicarboxylic acid from powder diffraction, 15th European Powder Diffraction Conference, 12-15 June 2016, Bari, Italy.
- ⑤ K. Sugimoto, Crystal engineering of cocrystals: air-stable cyclohexasulfur as cocrystal, The Collaborative Conference on Crystal Growth (Invited), 14-17, December, 2015, Hong Kong, Chania.
- ⑥ 杉本邦久, 先端放射光 SPring-8 で物質機能の起源を解き明かす, 第5回CSJ化学フェスタ2015, 2015年10月13日~2015年10月15日, タワーホール船堀(東京都江戸川区).
- ⑦ K. Sugimoto, Direct Visualization of Energy-transferred Excited State in Eu Complex, XXIII Congress and General Assembly, International Union of Crystallography, 5-12 August 2014.
- ⑧ 杉本邦久, 放射光X線による構造解析の現状と将来, 日本結晶学会年会(招待講演), 2014年11月1日~3日, 東京大学本郷キャンパス(東京都文京区).
- ⑨ K. Sugimoto, Direct Visualization of Energy-transferred Excited State in Europium Complex with a Single Helical Ligand, International Union of Materials Research Societies, International Conference in Asia, 2014年8月24日~28日, 福岡大学七隈キャンパス(福岡県福岡市).

[その他]

ホームページ等

<http://rud.spring8.or.jp/member/0006544.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉本 邦久 (SUGIMOTO, Kunihisa)

高輝度光科学研究センター・利用研究促進部門・研究員

研究者番号: 00512807