

粉末回折法によるアミノ酸およびオリゴペプチドの
環境変化に伴う構造変化の解析Powder diffraction structure analysis of humidity and temperature dependent structure
transition of amino acids and oligopeptides清谷多美子^{1*}, 菅原洋子²¹昭和薬科大学、〒194-8543 町田市東玉川学園 3-3165²北里大学理学部 〒252-0373 相模原市南区北里 1-15-1

1 はじめに

温度や湿度条件などの環境変化に伴う医薬品（特に水和物）の結晶構造の変化は、薬効に影響を及ぼす可能性が高いことが知られている。また、品質保持の観点からも、医薬品の製造、流通から投薬、服薬に至るまでの各段階での構造変化の有無と、その特性を明らかにすることは重要である。

医薬品は、主として有機物であり、合成物、天然物、アミノ酸、ペプチドなどが挙げられる。アミノ酸は生物の生命を維持するために不可欠な物質であり、ヒトの体を構成する膨大なタンパク質はわずか20種類のアミノ酸が構成単位である。2個以上のアミノ酸がペプチド結合により繋がってできた物質であるオリゴペプチドは、生理活性を持つものが多く、医薬品や甘味料、食品添加物などとして広く用いられている。

脱水による構造転移においては、一般的に単結晶性が劣化するため、粉末結晶構造解析に期待が持たれる。本研究は、アミノ酸およびオリゴペプチドの水和物結晶を対象に、粉末回折法により脱水と状態の構造決定法を確立することを目指している。その第一歩として、アミノ酸2個から構成されるジペプチドであるグリシル-L-チロシン（以降、Gly-Tyr）の水和物を対象とした実験を行った。

Gly-Tyr は、水-メタノール混合溶液から二水和物が得られ、その結晶構造が報告されていたが[1]、我々は水溶液から新たに三水和物を得て、単結晶構造解析により構造決定を行った[2]。また、この三水和物結晶は、24℃、相対湿度0%で一水和物に変化し、更に、相対湿度0%下で昇温すると50℃で無水物に転移することを明らかにした。

このような背景の元に、Gly-Tyr 三水和物の脱水により得られる一水和物および無水物について、BL4B2の多連装粉末回折計およびSPring-8/BL15XU

（物質・材料研究機構 高輝度放射光ステーション）の高分解能粉末回折装置（東日本大震災優先枠課題）を用いて粉末回折強度測定を行い、両結晶について粉末結晶構造解析に成功した。

2 実験および解析

Gly-Tyr 一水和物はPF/BL4B2の多連装粉末回折計を用いて、無水物についてはSPring-8/BL15XU（物質・材料研究機構 高輝度放射光ステーション）の高分解能粉末回折装置を用いて粉末X線回折強度測定を行った。両測定とも、あらかじめ脱水処理を施した試料をガラスキャピラリーに封入し、配向の影響を軽減するために回転試料台を用いて、 ω 軸を回転しながら透過法により測定を行った。

粉末結晶構造解析プログラムとしては、DASH（Cambridge Crystallographic Data Center）およびPDXL（株）リガクを用いた。三水和物の結晶構造解析より得られているGly-Tyrの分子構造を用いて、実空間法により一水和物および無水物の構造モデルを得て、リートベルト法により構造精密化を行った。現時点での一水和物の R_{wp} は0.061、 R_e は0.031、 S は1.93、 χ^2 は3.72、無水物の R_{wp} は0.035、 R_e は0.001、 S は35.60、 χ^2 は1267である。Gly-Tyr一水和物および無水物のリートベルト解析の結果をそれぞれ図1および図2に示す。

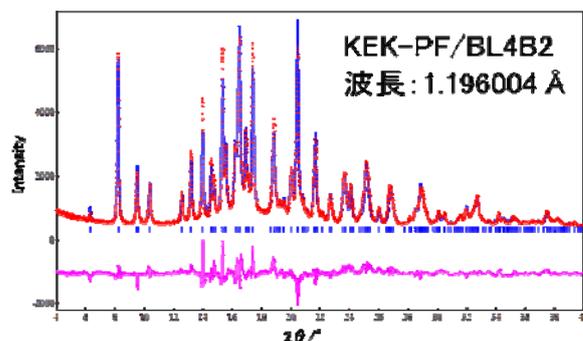


図1: Gly-Tyr 一水和物のリートベルト解析結果

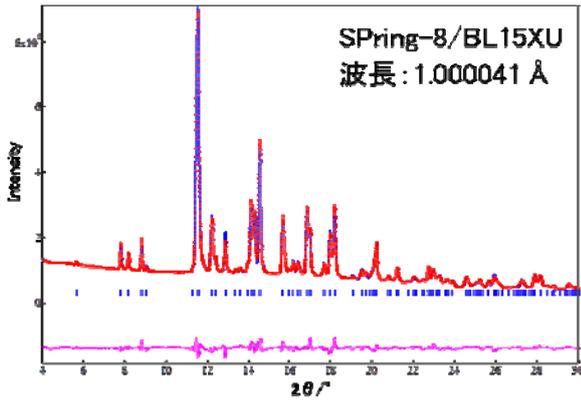


図 2 : Gly-Tyr 無水物のリートベルト解析結果

3 結果および考察

粉末 X 線回折データを用いて決定した Gly-Tyr 一水和物および無水物の結晶学的パラメータを三水和物と対比させて表 1 に示す。三水和物から一水和物への変化では、*a* および *b* 軸がそれぞれ約 10%縮み、*c* 軸には僅かではあるが伸長がみられた。一方、一水和物から無水物への変化では、空間群が $P2_12_12_1$ から $P2_12_12_1$ 変化し、*a* 軸は約 10%、*b* 軸は 3%縮んでいるのに対して、*c* 軸には 7%の伸長がみられた。

表 1 : Gly-Tyr 三水和物の構造変化に伴う結晶学的パラメータの変化

	三水和物	一水和物	無水物
解析方法	単結晶法	粉末法	粉末法
測定温度	298K	298K	300K
晶系	斜方晶系	斜方晶系	斜方晶系
空間群	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$
<i>a</i> /Å	18.598 (3)	16.787	14.688
<i>b</i> /Å	15.728 (2)	14.447	14.012
<i>c</i> /Å	4.814 (1)	4.925	5.289

Gly-Tyr 三水和物の脱水に伴う構造変化を図 3 に示す。三水和物から一水和物への脱水に伴い、結晶水領域 (青枠内) が減少するとともに、*c* 軸投影図における Gly-Tyr 分子の主鎖(NH₃CaCONHCaCOO) (赤紫楕円内) の傾きが変わっており、これが、*a* および *b* 軸長の縮小と関連している。一水和物から無水物に移行する際には、主鎖の傾きはあまり変化していないが、水分子が抜けるとともに、Gly-Tyr 分子が *c* 軸に沿ってスライドしており、空間群の変化と、*c* 軸長の伸長をもたらすことが明らかになった。

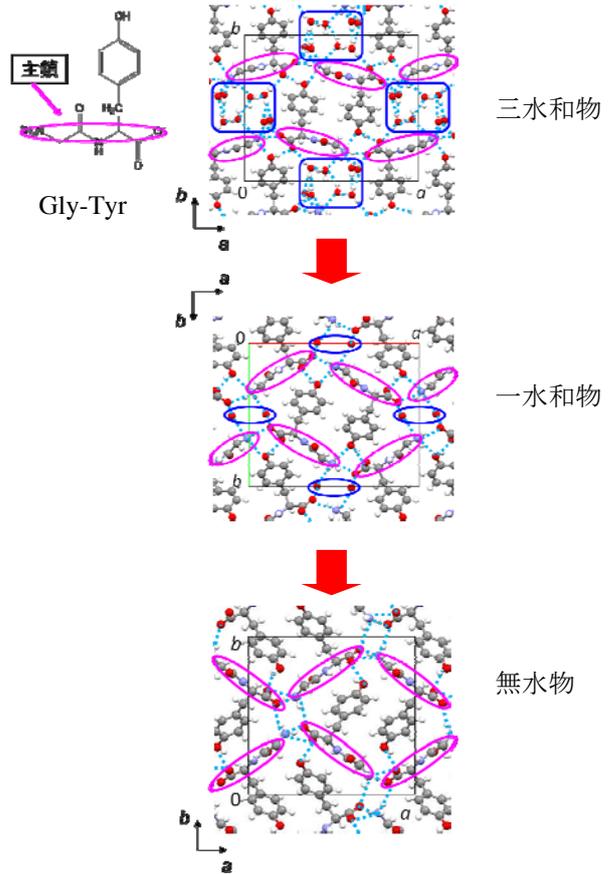


図 3 : Gly-Tyr 三水和物の脱水に伴う構造変化 (*c* 軸投影図)

4 まとめ

放射光測定データを用いることにより、ジペプチド水和物について乾燥および加温により生じる脱水和物の粉末結晶構造解析に成功し、この様な系における粉末結晶構造解析法の有用性を立証するとともに、構造転移の概要を明らかにすることができた。

謝辞

本実験の一部は、東日本大震災優先枠課題として、SPring-8 の物質・材料研究機構 高輝度放射光ステーション (BL15XU) で実施しました。実験の実施にあたり、多大なるご支援を賜りましたステーションのスタッフである坂田修身博士、田中雅彦博士、松下能孝博士、勝矢良雄博士に深く感謝いたします。

参考文献

- [1] M.Cotrait, J.-P.Bideau, *Acta Cryst.*, **B30**, 1024 (1974).
- [2] T. Kiyotani, et al., *CrSJ Annual Meeting 2011*, **2011**, OB-II-02.

* kiyotani@ac.shoyaku.ac.jp

注 : 2011 年 東日本大震災優先枠により実施