「Journal of Chemical Crystallography」誌に論文掲載

最新単結晶 X 線構造解析装置における自動構造解析
-自動構造解析のクオリティーから微結晶対応力まで-

タイトル：**"What is this?" a structure analysis tool for rapid and automated solution of small molecule structures**

概要

株式会社リガクの松本崇、山野昭人、佐藤孝、Rigaku Americas Corporation, Inc.の Joseph D. Ferrara、Rigaku Europe SE の Fraser J. White、Rigaku Polska sp. Z o.o の Mathias Meyer は、最新単結晶 X 線構造解析装置を用いた低分子結晶の自動構造解析ツール“What is this?”を用いた構造解析への新しいアプローチを提案しました。

有機化合物の分子構造は、医薬品、芳香化合物、農薬等の活性に非常に重要で、これまでほとんどの構造が単結晶 X 線構造解析（SC-XRD）の手法により決定されてきました。しかしながら一般的には、SC-XRD は良質でサイズの大きい結晶と専門知識を必要とし、良質な分子構造を得るまでに、かなりの時間を要する手法であると考えられています。
近年電子顕微鏡を用いた有機化合物の極微小結晶の電子線回折（MicroED）が大きな話題となっています。MicroED は、厚さが 0.5μm を超える結晶の測定が困難な上に、主に多重反射の影響により構造解析結果の品質が制限されます。
このように、従来の SC-XRD と MicroED の間には“ギャップ”が存在しています。そこで私たちは、最新の SC-XRD 用システムと、自動構造解析ツール“What is this?”（WIT）を組み合わせる事により、従来の SC-XRD と MicroED の間に存在していた“ギャップ”を埋め、化学分野での構造解析への要求を満たすことを提案いたしました。
本研究成果は、2020 年 10 月 24 日に Journal of Chemical Crystallography 誌にオンライン掲載されました。

論文の全文は、シュプリンガー・ネイチャーの“SharedIt”により、無料で読むことができます。ご興味のある方は、下記のリンクあるいは QR コードよりアクセスしてください。

https://rdcu.be/b87w6

【背景】
有機化合物の分子構造は、医薬品、芳香化合物、農薬の活性に非常に重要であり、これまでの長い年月に於いてこれらの業務に必要不可欠な構造は、主に単結晶 X 線構造解析（SC-XRD）の手法により決定されてきました。しかしながら、一般的に SC-XRD は、良好な構造解析結果は得られるが、サイズの大きな結晶及び化学組成や結晶学の専門知識が必要であり、さらに比較的長い時間を要すると考えられてきました（図 1a）。
最近、サイズの大きい結晶作成の困難さを回避するために、マイクロクリスタルからの構造決定を行う事に関心が高まっています。マイクロクリスタルの構造解析は電子線回折（MicroED）を用いる事で可能になるとされています。これは、電子線が X 線と比較して物質とより強く相互作用するためです。しかし、この強い相互作用のために、使用できる結晶のサイズに制限があり、厚みが 0.5μm を超える結晶は測定が困難です。このため、結晶を MicroED に適したサイズにするため、結晶を破砕するステップを要します（図 1b）。さらに、主に多重反射の影響のため、構造解析結果には、高い R_{int}、R_1 値及びモデルの不正確さという問題があります。このように、従来の SC-XRD と MicroED の間には大きなギャップが存在しています（図 1d）。
最新の SC-XRD システムでは、X 線発生機、光学系、ゴニオメーターの改良、及び直接 X 線フォトンカウンティング検出器（HyPix）の出現により測定速度が格段に向上した上に、測定と解析結果の正確性と精度も劇的に向上しています。さらに、自動構造解析ツール “What is this?”（WIT）は、化学組成や結晶学の専門知識を必要とせず、測定を行いながら構造解析を自動で行うという完全自動構造解析を可能としました（図 2）。WIT は構造解析に必要な最低限の 1Å の分解能に限定した、60%程度の Completeness のデータを収集する事で、構造が得られるまでの時間を大幅に短縮します。その結果 WIT は、分子構造を理解するのに十分な高い正確性を持つ構造を短時間で提供します（図 1c）。
最新の SC-XRD 用システムと WIT の組み合わせが、従来の SC-XRD と MicroED の間に存在していた“ギャップ”を埋め、化学分野での構造解析への要求を満たすことができるのかを検証した上で、本手法を新しい測定・解析の手法として提案しました（図 1e）。

【研究手法】
本研究グループは、市販鎮痛薬カプセルから取り出した形状、サイズの異なる 3 種類の結晶を、WIT を備えた最新の SC-XRD システムである XtaLAB Synergy-S、XtaLAB Synergy Custom で測定・自動構造解析を実施し、WIT、および従来方法による構造解析結果と MicroED の結果とを比較し評価しました。

【研究成果】
市販鎮痛薬カプセルから取り出したブロック状の結晶を、負荷わずか 50W の封入管システムである、XtaLAB Synergy-S の WIT モードで測定を行ったところ、人的な介在をすること

なくわずか 3 分で、アセチルサリチル酸である事がわかりました（図 3）。
次に、一般的に SC-XRD で必要とされている 50 μm よりもはるかに小さい 30 × 16 × 6 μm^3 の薄い板状結晶を試みました。驚いたことに、7 分 33 秒後には、アセトアミノフェンの結晶であることが明らかになっただけでなく、1Å 分解能で僅か 60.8%の Completeness にも関わらず、すべての水素原子を含む構造が現れていました（図 4）。
次に、MicroED に使用される結晶サイズとおおよそ同じサイズである、約 1 μm の結晶を XtaLAB Synergy Custom FR-X を用いて測定しました。この微粉末はわずか 3 × 2 × 1 μm^3 のサイズしかないにもかかわらず、約 30 分後には、67%の水素位置も含めたアセトアミノフェンの構造が明らかになりました（図 5）。結晶の三辺すべてが 3 μm 以下であることから、この微粉末結晶を“Sub-three 結晶”と名付けました。この測定では、Completeness はわずか 40.5%であったため、異方性温度因子での精密化はできませんでしたが、CheckCIF による評価では、Completeness に関するアラートのみでした。この Sub-three 結晶は、その後の本測定により、Alert A や B の警告が現れない良好な解析結果を得る事ができています。これらの結果より、従来の SC-XRD と MicroED の間に存在していた“ギャップ”の大部分が、埋まりつつあることがわかります（図 1e）。
WIT 及び本研究で測定した SC-XRD のアセトアミノフェンの結晶構造と MicroED から得られたアセトアミノフェンの結晶構造（CCDC number 1856579: MED1 と 1876043: MED2）の質を比較しました（図 6 及び 7）。その結果、SC-XRD の WIT 及び本測定の構造は、結晶のサイズに関わらず高い正確性と精度を持つ構造であることが示されました。一方 MicroED の構造は、正確性も精度も低い構造か、精度は高いが結合長が全体的に短い正確性の低い構造であることが明かとなりました。このことより、MicroED による構造解析結果の利用には、注意が必要であることが示されました。これらの結果より、SC-XRD と MicroED の構造は正確性及び精度が異なるカテゴリーの構造であるといえます。

【今後への期待】
本研究の結果より、WIT と最新の装置の組み合わせを用いる事で、従来の SC-XRD と MicroED の間に存在した結晶のサイズの“ギャップ”を埋め、さらに合成過程で得られた微小結晶からでも十分な正確性を持つ分子構造が短い時間で得る事ができるため、医薬品、芳香化合物、農薬等の開発の迅速化につながる事が期待されます。SC-XRD と MicroED の構造の質は大きく異なりますが、いずれも適切な管理と利用を行う事により、新時代における構造解析結果のより有用な利用促進を目的として、Cambridge Structural Database を 3 つのカテゴリー（A: 正確性及び精度の高い高品質な構造, B: カテゴリーA ほどの質の構造ではないが、十分な正確性を持つ構造, C:コネクティビティ情報のみを議論できる構造）に分類し、運用することを提案致します。
本論文は、CrysAlis^{pro}, AutoChem, “What is this?”の reference としてご利用頂けます。

【参考図】

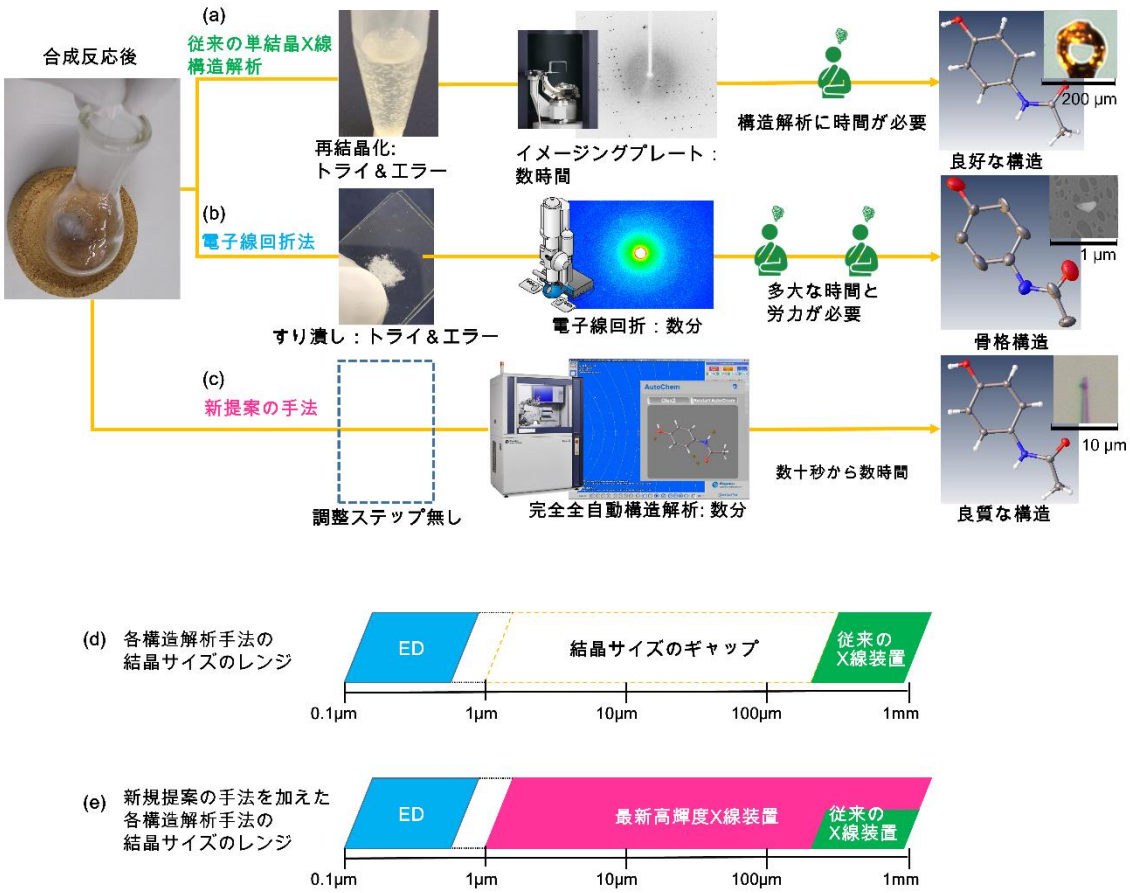

図 1.従来の単結晶 X 線構造解析、電子線解析と新しく提案している手法の模式図及び各手法における結晶サイズのレンジ図

図 2.自動構造解析ツール”What is this?”による、3 クリック自動構造解析手順

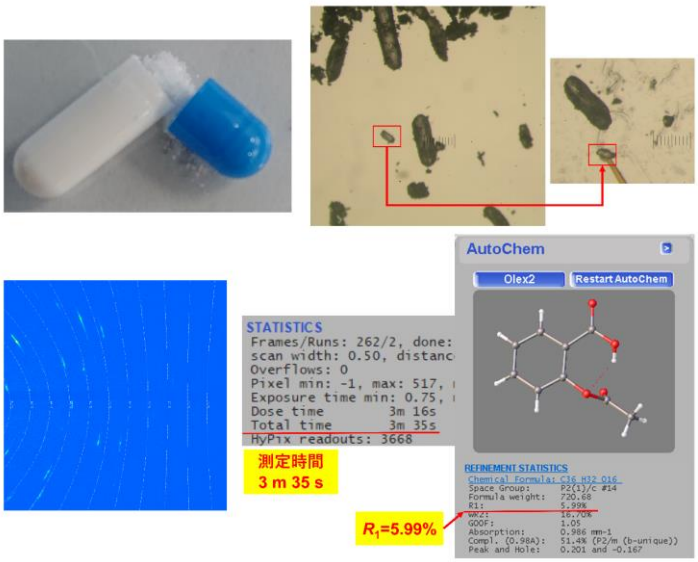

図 3.市販鎮痛薬カプセルから取り出したブロック状結晶の WIT 自動構造解析

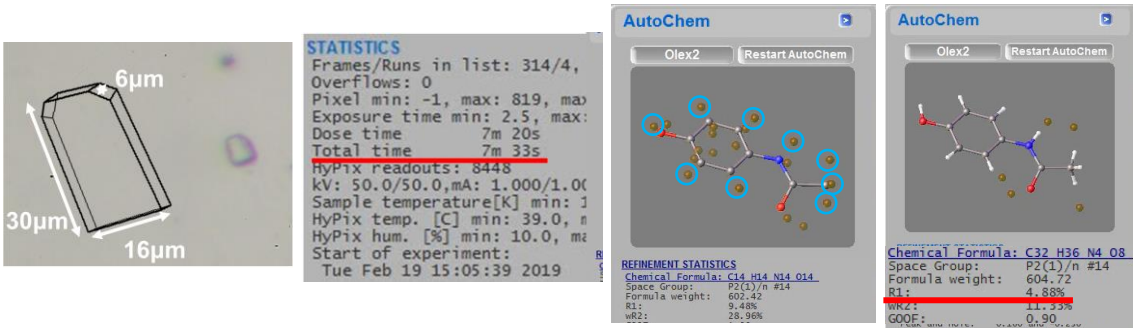

図 4.市販鎮痛薬カプセルから取り出した薄い板状結晶の WIT 自動構造解析

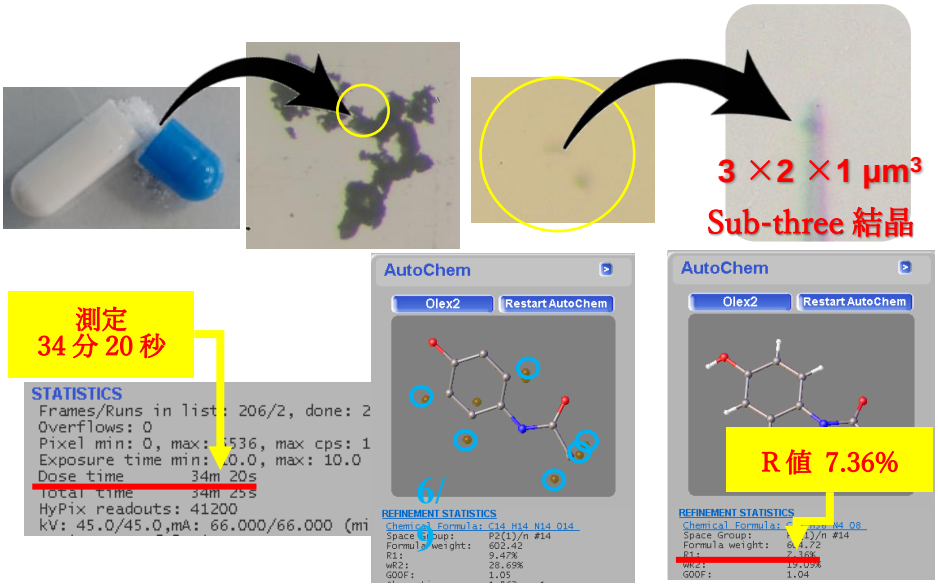

図 5.市販鎮痛薬カプセルから取り出した Sub-three 結晶の WIT 自動構造解析

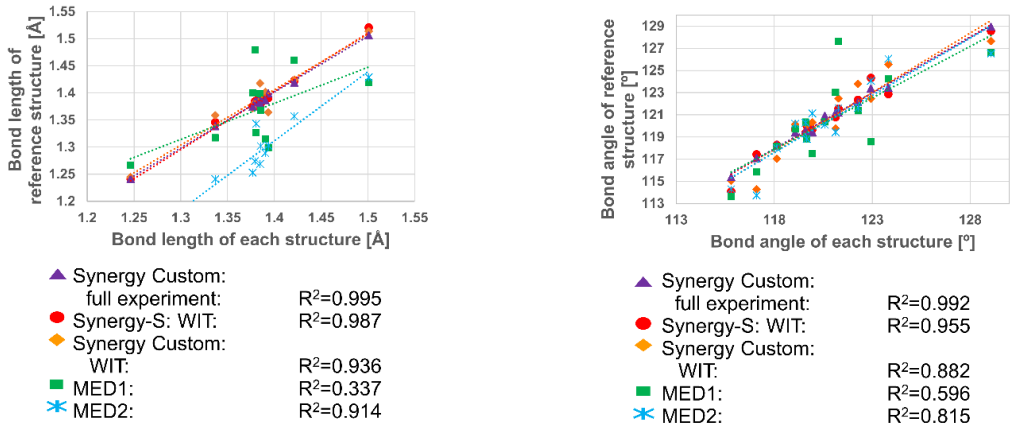

図 6.SC-XRD と ED の各構造の結合長と結合角度を用いた構造正確性の比較。

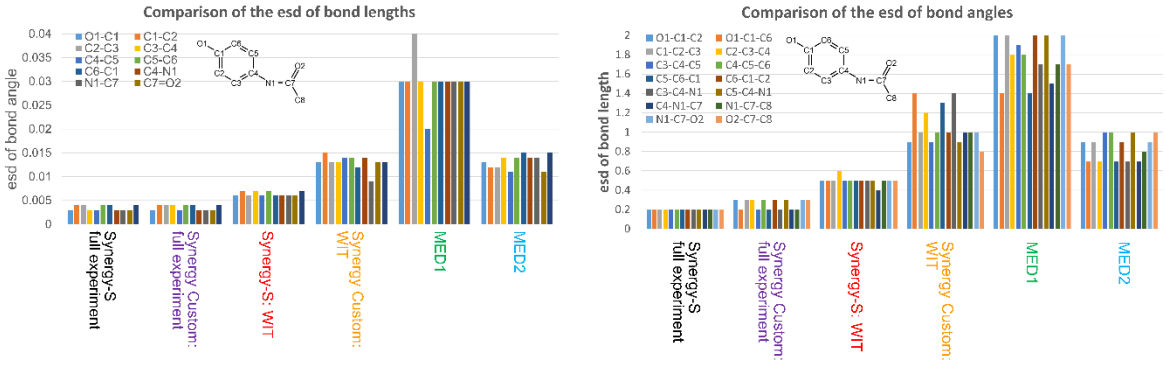

図 7. SC-XRD と ED の各構造の結合長と結合角度の標準偏差を用いた構造精度の比較。

【掲載論文情報】

題名　"What is this?" a structure analysis tool for rapid and automated solution of small molecule structures

著者名　Takashi Matsumoto, Akihito Yamano, Takashi Sato, Joseph D. Ferrara, Fraser J. White, Mathias Meyer

掲載誌　Journal of Chemical Crystallography
(DOI: https://doi.org/10.1007/s10870-020-00867-w)
(SharedIt https://rdcu.be/b87w6)

【お問い合わせ先】

株式会社リガク　広報宣伝課
E-mail: Info-gsm@rigaku.co.jp