

早稲田大学大学院 先進理工学研究科

# 博士論文概要

## 論文題目

Determination of crystal structure  
and absolute configuration of  
thalidomide enantiomers

サリドマイド対掌体の結晶構造および  
絶対配置の決定

申請者

Toshiya Suzuki

鈴木 俊哉

生命医科学専攻 生物物性科学研究

2009年 12月

医薬品の成分物質がキラリティを有する場合、その受容体であるタンパク質はL-アミノ酸のみで構成されているため、対掌体間で薬理活性が異なる場合も多く、一方が有害な作用を示す場合もある。そのため、対掌体間の活性の差を正確に把握せずに、それらの等量混合物であるラセミ体を使用することは危険であり、1992年、アメリカ食品医薬品局（FDA）は、ラセミ医薬品の開発における有害性の評価についてガイドラインを発表した。2002年時点において世界で承認されている医薬品について、39%がキラル、23%がラセミ、38%がアキラルな医薬品と報告されており、キラル医薬品は年々増加している。

3'-(N-フタルイミド)グルタルイミド、以下、サリドマイド、はフタルイミド環とグルタルイミド環から成るキラル化合物である。サリドマイドは安全な鎮静・催眠薬として1957年に発売されたが、その催奇形性により悲劇的な薬害を引き起こし、1962年に市場から姿を消した。しかし、最近、ハンセン病や多発性骨髄腫など様々な難病への有効性が確認されたことにより再び強い関心を集め、現在、約20カ国で多発性骨髄腫の治療薬として承認されており、我が国においても2008年に再承認されている。しかし、キラル医薬品の開発が主流となった現在においても、サリドマイドはラセミ医薬品として販売されている。

サリドマイドの悲劇以降、その催奇形性のメカニズムについては血管新生阻害作用の影響やDNAの酸化による損傷が原因との説があるが、いまだ明確となっていない。1979年、Blaschkeらはサリドマイドの対掌体を分割し、R体およびS体をそれぞれ投与したところ、催奇形性はS体でのみ確認されたと報告し、今日のラセミ医薬品開発に対するガイドラインの端緒となったと言われている。しかし、サリドマイド分子は不斉炭素に結合している水素の高い酸性のためにキラル反転しやすく、特に生体内ではこのキラル反転が加速されるため、サリドマイドの対掌体間の薬理活性の差を実験的に確認することは困難であり、彼らの実験結果は疑問視されている。

サリドマイドの薬理活性の研究はこれまで多数報告されているが、サリドマイドについての物理化学的な研究はそれに比べ圧倒的に少ない。結晶構造は物質の基本的な情報であり、サリドマイドについては、1971年にAllenらによりラセミ体の結晶構造が報告されたが、その後約40年もの間、対掌体の結晶構造は報告されてこなかった。サリドマイド対掌体の結晶構造およびその絶対配置を決定することは、固体及び溶液状態での構造と薬理活性との関係を解明する上で不可欠なことである。また、サリドマイドの物理化学的性質をラセミ体と対掌体で比較すると、ラセミ体の方が対掌体より溶解度は低く、融点は高いことが知られている。この溶解度の違いにより、ラセミ体よりも一方の対掌体のみを投与した方がより生体への吸収が速く、生体利用効率が高いことが報告されている。しかし、このようなラセミ体と対掌体における性質の差異の起因についても詳細に議論されて

なかった。

このような背景のもと、本研究は、サリドマイドの結晶構造と物理化学的性質を関係付けて理解することを目的とし、対掌体の研究を進める際に難問題となるキラリ反転の現象による実験的障害を回避することによって、サリドマイド対掌体の結晶構造ならびに絶対配置を決定することとした。本論文は全5章で構成されている。以下に各章の概要を述べる。

第1章では、本研究の導入としてキラリティおよびサリドマイドについて概説し、本研究の位置づけと意義について明確にする。キラリティについては重要な用語の定義やキラリ医薬品に関する問題などに触れる。サリドマイドについては歴史的背景を概観し、さらにこれまでの重要な研究や最近の研究動向を取り上げ、現状の課題を整理する。サリドマイドは各国で再販売が進展しているが、サリドマイドに関する基本的な学術的知見が欠如していることは由々しきことであり、再び悲劇を起こさないためにも、それら知見を得ることが緊要となっていることを主張する。

第2章では、サリドマイド対掌体の単結晶育成に必要な知見となる、サリドマイド溶液のキラリ反転速度の評価について述べる。サリドマイドがキラリ反転する現象は、対掌体の単結晶を溶液から育成する際の大きな障害となる。キラリ反転により生じた鏡像異性体は反転前の鏡像異性体の不純物となって結晶中に取り込まれ、対掌体結晶としての質の低下をまねく。一方、それを避けるために、結晶成長速度を過剰に速くするとX線結晶構造解析に十分な大きさの良質な単結晶を得ることが困難となることを説明する。対掌体の単結晶の育成条件、とくに育成時間を決定するために、(S)-サリドマイドの円二色性の時間変化を測定することによりキラリ反転速度を求めた。

第3章では、サリドマイド対掌体の単結晶育成の手法と単結晶のX線構造解析の結果につき、(S)-サリドマイドの場合を取り上げて結晶構造および絶対配置の結果を詳細に述べる。絶対配置の決定により、(S)-サリドマイドの結晶中には結晶学的に独立な、すなわち立体配置の異なる二つの分子が存在していることが明らかとなった。この二つの分子の対応する原子間の結合長を比較すると、その差が有意な結合はフタルイミド環内の N1-C8, C6-C7 およびグルタルイミド環内の C9-C13, N2-C10 の4つのみであった。さらに、それら二つの(S)-サリドマイド分子は、それぞれのグルタイミド環において環状水素結合を形成し、ホモキラリ二量体を構成していることを見出した。

第4章では、(S)-サリドマイドとラセミ体である(RS)-サリドマイドの結晶構造の比較した結果について述べる。既述のAllenらによるラセミ体の結晶構造解析により、ラセミ体の結晶中では鏡像関係にある(R)-サリドマイドと(S)-サリドマイドが対となり、環状水素結合によりヘテロキラリ二量体を形成していることが

指摘されていた。一方、X線構造解析の技術的進歩を考慮すると、当時に比してより高精度な測定が期待できるため、本研究においてもサリドマイドのラセミ体の単結晶を育成し、X線構造解析を行うことは意義深い。本研究におけるラセミ体の結晶構造解析の結果は、Allenらの結果より低いR値を得ることに成功し、一桁高い精度で原子位置を決定することができた。このラセミ体の結果を、前章において得られた(S)-サリドマイドの構造解析と比較することにより、ラセミ体の結晶中でヘテロキラル二量体を形成する水素結合の長さは、(S)体のホモキラル二量体のそれに比べて短いことが明らかとなった。これは、ヘテロキラル二量体においては、対称性の要請により、二量体を構成するそれぞれの対掌体分子の双極子モーメントは打ち消しあい、その双極子モーメントは0になるのに対し、ホモキラル二量体においては、構成する2つの対掌体分子は非対称なので、それぞれの双極子モーメントは異なり、その双極子モーメントは0とはならないためであると考察した。さらに、ホモキラル二量体の非対称性により、ホモキラル二量体の分子間に働く斥力はヘテロキラル二量体のそれに比べ大きくなるとの仮説に基づいて、その分子間の結合エネルギーを密度汎関数法による量子化学計算を用いて評価したところ、そのエネルギーはヘテロキラル二量体の方がホモキラル二量体より低いことが明らかとなった。通常、水素結合の方がファンデルワールス力よりはるかに強いため、サリドマイドの結晶中において分子間に働く力は水素結合が支配的であると考えられる。これにより、ラセミ体と対掌体の溶解度や融点などの物理化学的性質の差異は、それぞれの結晶中におけるヘテロキラル二量体とホモキラル二量体の水素結合の強さの差が主たる起因となって現われてくることが示唆された。

第5章では、本研究全体の結論を述べる。まず、本研究において用いられた手法が、これまで難題とされていたキラル反転を示すキラル化合物の対掌体の結晶構造や絶対配置の決定に資すること、ならびに多様な薬理活性のため再び関心を集めているサリドマイドについて、その対掌体の結晶構造および絶対配置の決定に成功した意義についてまとめる。さらに、対掌体結晶におけるホモキラル二量体の構造とラセミ体結晶におけるヘテロキラル二量体の構造を比較することより、対掌体結晶とラセミ体結晶との溶解度や融点の差異とそれら二量体構造の差との関係を解明し、この特徴的な二量体構造に関する知見が、サリドマイドの薬理活性のメカニズムの理解において重要な手がかりとなる可能性について述べる。

## 早稲田大学 博士（理学） 学位申請 研究業績書

氏名 鈴木 俊哉 印

(2010年11月 現在)

種 類 別	題名、 発表・発行掲載誌名、 発表・発行年月、 連名者（申請者含む）
1. 論文 原著 ①	"Evaluation of stability difference between asymmetric homochiral dimer in (S)-thalidomide crystal and symmetric heterochiral dimer in (RS)-thalidomide crystal ", <i>Phase Transitions</i> , 83, (2010), pp. 223-234 <u>Toshiya Suzuki</u> , Masahito Tanaka, Motoo Shiro, Norio Shibata, Tetsuya Osaka, Toru Asahi.
2. 講演 国際会議	
1.	"Homochiral dimer in (S)-thalidomide crystal and heterochiral dimer in (RS)-thalidomide crystal", 22nd International Symposium on Chirality, Sapporo, Jul. (2010) <u>Toshiya Suzuki</u> , Masahito Tanaka, Motoo Shiro, Norio Shibata, Tetsuya Osaka, Toru Asahi.
2.	"Asymmetric homochiral dimer in (S)-thalidomide crystal and symmetric heterochiral dimer in (RS)-thalidomide crystal", The 4th Global COE International Symposium on 'Practical Chemical Wisdom', Tokyo, Jan. (2010) <u>Toshiya Suzuki</u> , Masahito Tanaka, Motoo Shiro, Norio Shibata, Tetsuya Osaka, Toru Asahi.
3.	"Evaluation of stability difference between enantiomeric and racemic thalidomide crystals with X-ray structural analysis and energy calculation", 7th Joint Symposium between Waseda University and the University of Bonn, Bonn, Jan. (2010) <u>Toshiya Suzuki</u> , Masahito Tanaka, Norio Shibata, Tetsuya Osaka, Toru Asahi.
4.	"Comparison of chiroptical properties between solid and solution states", 21st International Symposium on Chirality, Colorado, Jul. (2009) <u>Toshiya Suzuki</u> , Tetsuya Osaka, Toru Asahi.
5.	"Improvement of the Generalized High Accuracy Universal Polarimeter, G-HAUP", Waseda-Korea Universities' Joint Symposium on 'Practical Chemical Wisdom', Tokyo, Feb. (2009) <u>Toshiya Suzuki</u> , Toru Asahi.
6.	"General evaluation method of systematic errors in the Generalized High Accuracy Universal Polarimeter, G-HAUP", The 3rd Global COE International Symposium on 'Practical Chemical Wisdom', Tokyo, Jan. (2009) <u>Toshiya Suzuki</u> , Toru Asahi.

## 早稲田大学 博士（理学） 学位申請 研究業績書

種 類 別	題名、 発表・発行掲載誌名、 発表・発行年月、 連名者（申請者含む）
7.	“Novel evaluation method of systematic errors in the Generalized High Accuracy Universal Polarimeter, G-HAUP”, 20th International Symposium on Chirality, Geneva, Jul. (2008) <u>Toshiya Suzuki</u> , Toru Asahi.
8.	“Deposition of crystalline films of amino acid using a vacuum evaporation method”, 19th International Symposium on Chirality, San Diego, Jul. (2007) <u>Toshiya Suzuki</u> , Toru Asahi, Masahito Tanaka, Kuniaki Tatsuta, Tetsuya Osaka.
	その他 共著 6 件
国内会議	
1.	“Evaluation of dimer structures in enantiomeric and racemic thalidomide crystals”, Symposium on Molecular Chirality 2010, 札幌, 2010 年 7 月 <u>鈴木俊哉</u> , 田中真人, 城始勇, 柴田哲男, 逢坂哲彌, 朝日透.
2.	“サリドマイド結晶における分子の立体配置：対掌体結晶におけるホモキラル二量体とラセミ結晶におけるヘテロキラル二量体”, The Symposium on Chiral Science & Technology: Mesochemistry & Chemical Wisdom, 東京, 2009 年 9 月 <u>鈴木俊哉</u> , 柴田哲男, 田中真人, 逢坂哲彌, 朝日透.
3.	“一般型高精度万能旋光計による異方性固体物質のキラル光学特性の測定”, モレキュラー・キラリティー2009, 大阪, 2009 年 5 月 <u>鈴木俊哉</u> , 朝日透.
4.	“アミノ酸結晶性膜作製法の開発”, モレキュラー・キラリティー2007, 東京, 2007 年 5 月 <u>鈴木俊哉</u> , 田中真人, 朝日透, 竜田邦明, 逢坂哲彌.
5.	“アミノ酸結晶性膜の作製及びキラル光学的研究”, 第 54 回応用物理学関係連合講演会, 神奈川, 2007 年 3 月 <u>鈴木俊哉</u> , 籠宮功, 中村尚倫, 田中真人, 朝日透, 竜田邦明, 逢坂哲彌.
6.	“アミノ酸単結晶薄膜のキラル光学特性の評価”, 第 53 回応用物理学関係連合講演会, 東京, 2006 年 3 月 <u>鈴木俊哉</u> , 籠宮功, 中村尚倫, 田中真人, 朝日透, 竜田邦明, 逢坂哲彌.

## 早稲田大学 博士（理学） 学位申請 研究業績書

種 類 別	題名、 発表・発行掲載誌名、 発表・発行年月、 連名者（申請者含む）
研究会 1.  3. その他 (特許) 1.	<p data-bbox="288 405 1449 472">7. “アミノ酸薄膜のキラル光学的研究”, 第66回応用物理学会学術講演会, 徳島, 2005年9月 鈴木俊哉, 籠宮功, 中村尚倫, 田中真人, 朝日透, 竜田邦明, 逢坂哲彌.</p> <p data-bbox="1211 546 1449 580" style="text-align: right;">その他 共著 6件</p> <p data-bbox="288 656 1449 763">1. “G-HAUP を用いた有機/無機ハイブリッド層間化合物のキラル光学的研究”, 分子研研究会, 愛知, 2006年2月 朝日透, 中村尚倫, 田中真人, 籠宮功, <u>鈴木俊哉</u>.</p> <p data-bbox="288 911 1449 978">1. “蒸着装置、蒸着方法、光学素子及びキラルセンサ”, PCT/JP2006/317644, 朝日透, 逢坂哲彌, 田中真人, <u>鈴木俊哉</u>, 2006年9月.</p>