

Reflex Plus による結晶構造解析

アクセルリス株式会社 森里嗣生

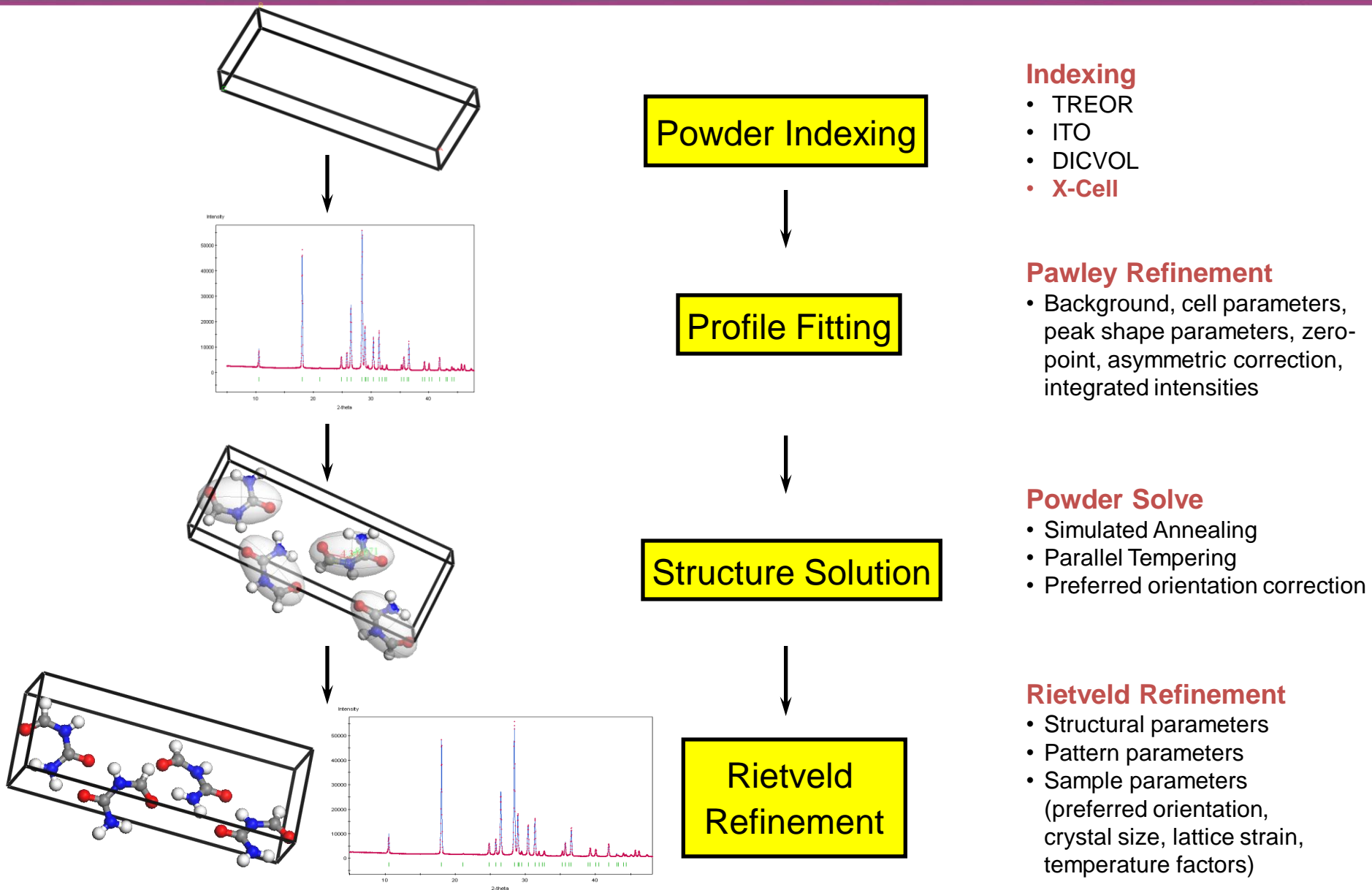
粉末X線から結晶構造解析

要約

結晶構造を解く最も望ましい方法は単結晶X線回折データから解析する方法です。しかし、単結晶を必要な大きさと純度まで成長させる事が非常に難しい場合や不可能な場合があります。単結晶に比べると粉末サンプルの方が容易に得られる場合があります。質の高い粉末X線データが得られれば、結晶構造を解析する事ができます。

- 粉末X線回折パターンから格子定数と結晶系を決定するIndexing ツール。
- Modified Pawley法を使い格子定数、ピークプロファイル(ピーク形状関数)とバックグラウンドパラメータを調整します。同時に、正しい空間群を特定するための作業にもなります。
- Powder Solveは実空間法(Direct Space Method)とモンテカルロ手法を使い、ユニットセル内の分子構造と位置を検索します。実験のパターンと計算で得られたパターンを比較し、最も一致したパターンを作る結晶構造を求めます。
- Rietveld 法を使い、最後にもう一度実験データと計算結果の一致を改善させます。

粉末X線から結晶構造解析のワークフロー: Reflex Plus の基礎



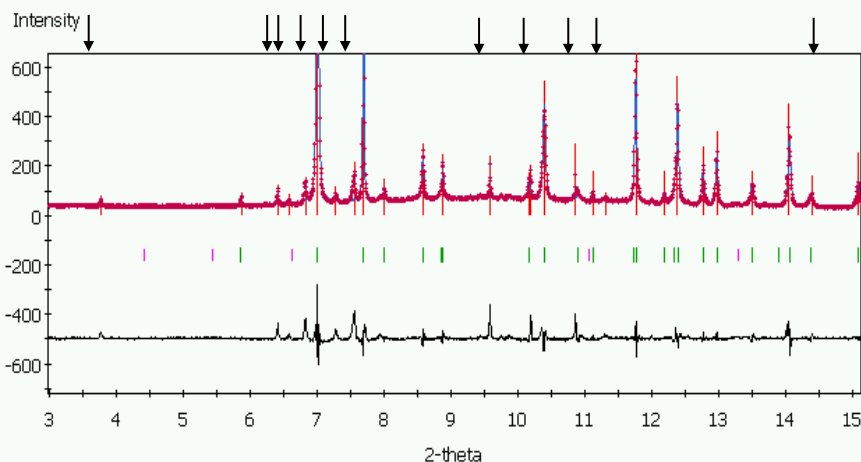
X-Cell: 新しいIndexingツール

- **Completeness (完全性)** – 効率の良い二分法アルゴリズムを使い完全なリストを作成します
- **Tolerance (許容誤差)** – このアルゴリズムは以下の誤差を許容します
 - impurity peaks (不純物): **explicit impurity tolerance levels** で不純物からくるピークの最大本数を特定します
 - peak positioning errors (e.g. preferred orientation)
 - zero-point shift: build-in zero-shift search
 - Extreme geometry (**long and flat** unit cells): **1D(row)** と **2D (zones)** のIndexingを事前に行い、その後に**3D (unit cell)** でのIndexingを可能にしました

Bicyclo-3,7-dione

- シンクロトロン放射光, 波長: 0.6506 Å,
FWHM: 0.02-0.04°
- 低角側から31本のピークがX-CellによるIndexingに
用いられた
- Impurity levels 0 - 7, triclinic 以外のブラベ格子を
計算する

- 結果:
 - Tetragonal, $P4_12_12$ or $P4_32_12$
 - $a=b=6.85\text{\AA}$, $c=16.85\text{\AA}$
 - 6 impurity peaks among first 10 peaks (60%)
 - 11 impurity peaks among 31 observed peaks (39%)
- All high intensity peaks belong to proposed cell
- Indexing result confirmed by structure solution



bicyclo37dione\bicyclo37dione_real_res_best.xgd

	rel. FOM	FOM	2theta div	volume	system	s.g.	stab	impurities	exp	outside	calc
1	4.373	9986	0.001155	791.284	tetragonal	$P4_12_12$	8	12	31	4	28
2	3.523	16622	0.000340	284.564	monoclinic	P21	3	17	31	9	28
3	3.515	14344	0.000271	1581.642	orthorhombic	C222	3	16	31	19	50
4	3.139	6199	0.001233	1582.569	tetragonal	$P4/nbm$	10	11	31	12	45
5	3.074	14505	0.000352	356.540	monoclinic	P21	3	17	31	11	31
6	3.056	6979	0.001157	1582.572	tetragonal	$P4cc$	8	12	31	14	40
7	2.925	11934	0.000256	567.992	monoclinic	Pc	3	16	31	22	51

Summary

Polymorph II of (E)-2-(4,6-Difluoroindan-1-ylidene)acetamide

— 特に難しいIndexing —

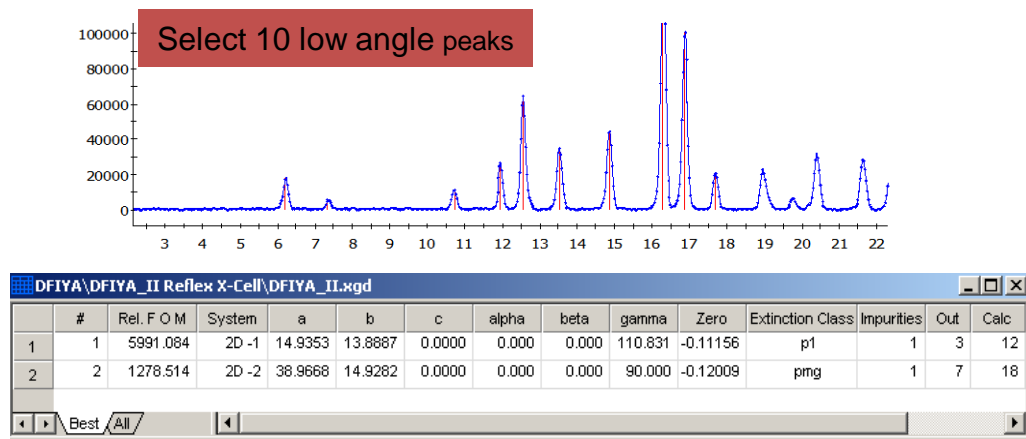
- **Flat cell:** 全ての低角ピークが一つの晶帯に属するため、選択したピークから正しいユニットセルを一つに決めることが困難な場合があります
- 強い配向 (**preferred orientation**) があると支配的な晶帯からの反射が強調され、残りの格子ベクトルを決定するピーク強度が減少します
- **Multi-step procedure** was applied.
- Data kindly provided by P. G. Varlashkin, M. Sacchetti and J. Zhu from GlaxoSmithKline, RTP, NC.

Polymorph II of (E)-2-(4,6-Difluorindan-1-ylidene)acetamide

— 特に難しいIndexing —

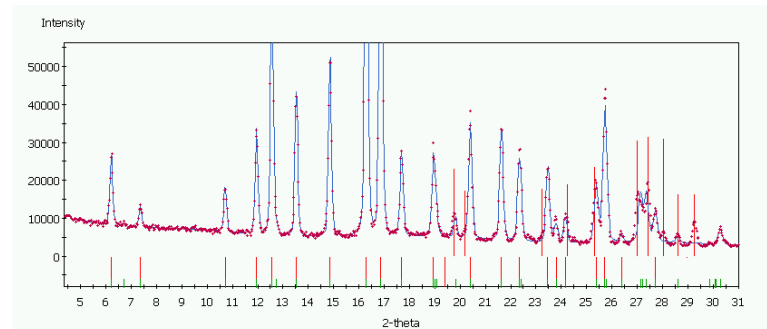
Step 1: Indexing of the Dominant Zone (2D Search)

- Pick a small number of low angle peaks and index zone (2D)



Step 2: Pawley Refinement of the Dominant Zone

- Determine the zone parameters and the zero-point shift accurately
- Identify peaks that define the remaining cell parameters.



Step 3: Indexing of the Unit Cell (3D Search)

- Use zone parameters and zero point shift found by Pawley refinement
- Indexing unit cell (3D)
- Identify correct solution by Pawley refinement of all proposed cells

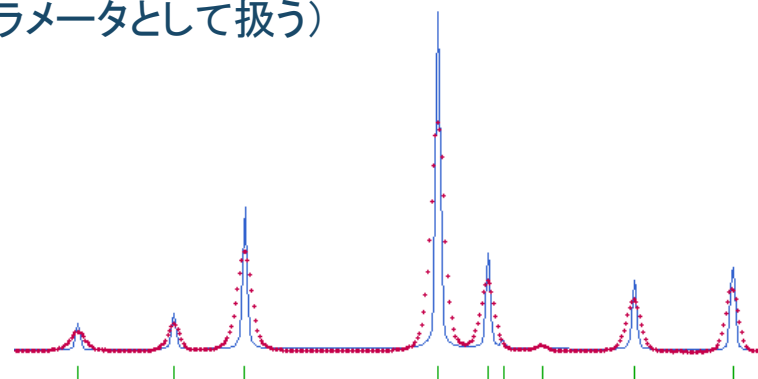
DFIYA\DFIYA_II-3D Reflex X-Cell\DFIYA_II-3D.xgd

#	Rel. F O M	F O M	Peaks Found	System	a	b	c	alpha	beta	gamma	Volume	Zero	Extinction Class
1	4.315	2467	31 of 33	Triclinic	15.0661	13.8967	4.9459	87.105	97.506	10.998	958.47	-0.11072	P1
2	4.045	2313	31 of 33	Triclinic	15.0453	13.8992	5.1716	86.910	96.878	11.016	1002.21	-0.11072	P1
3	3.743	2140	31 of 33	Triclinic	14.9774	13.9341	5.4373	84.905	94.208	11.063	1053.68	-0.11072	P1
4	3.663	2094	31 of 33	Triclinic	15.0676	13.8790	4.6233	90.154	97.550	10.598	895.94	-0.11072	P1
5	3.610	2064	31 of 33	Triclinic	15.0147	13.9272	6.6575	94.769	95.833	10.104	1290.16	-0.11072	P1

correct cell

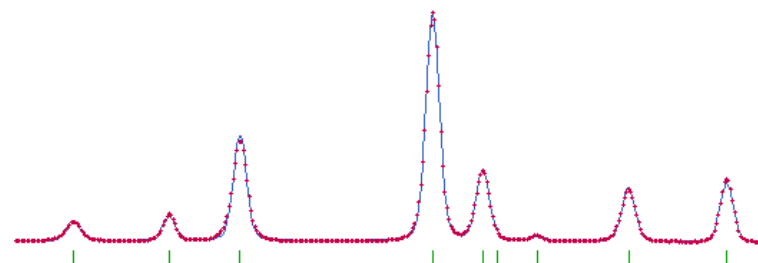
シミュレーションで理想的なピーク強度が与えられた際に実験の粉末X線回折パターンとの類似度の最適化 (R_{wp} の最小化) を次のパラメータを最適化することで実行する:

- 実験のパターンにおける全ピーク強度 (全て独立なパラメータとして扱う)
- 格子定数
- バックグラウンドとゼロ点位置
- ピーク形状のパラメータ
 - ピークプロファイル関数の選択
 - 非対称関数の選択

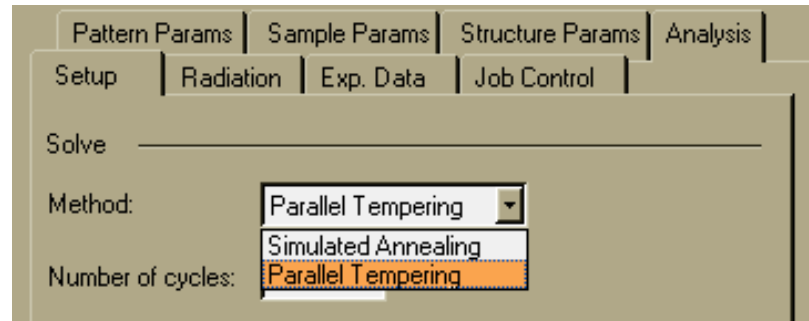


$$R_{wp} = \left[\frac{\sum_i w_i |I_{\text{exp}}(\theta_i) - I_{\text{cal}}(\theta_i)|^2}{\sum_i w_i |I_{\text{exp}}(\theta_i)|^2} \right]^{1/2}$$

$$w_i = \frac{1}{I_{\text{exp}}(\theta_i)}$$



Simulated Annealing or Parallel Tempering



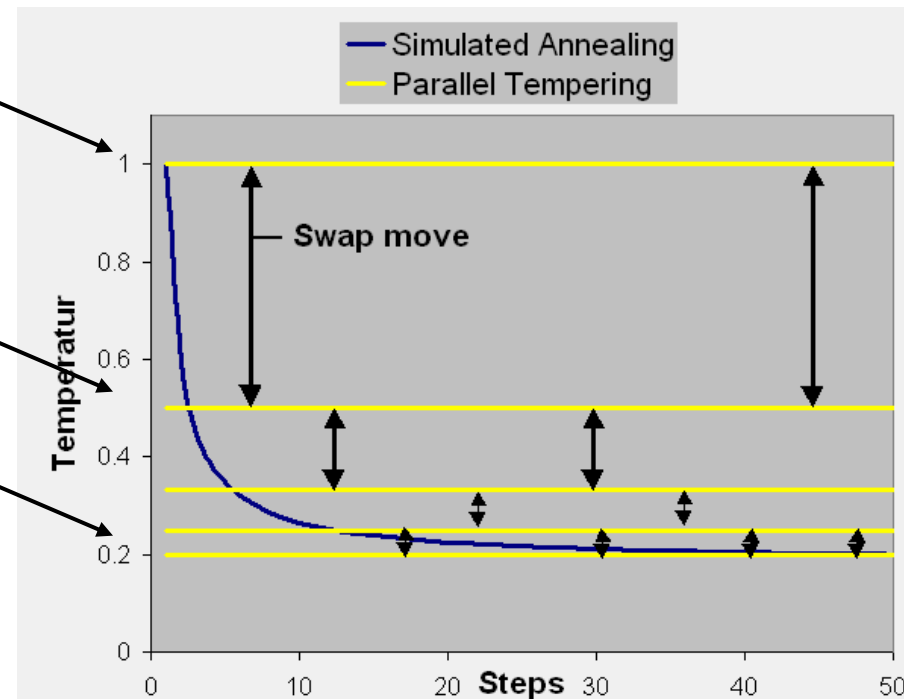
$$p = \text{Exp} \left(\frac{-\Delta R_{wp}}{T} \right)$$

ΔR_{wp} が負: Accept
 ΔR_{wp} が正: 確率pに従う

高温領域:
グローバルサーチ

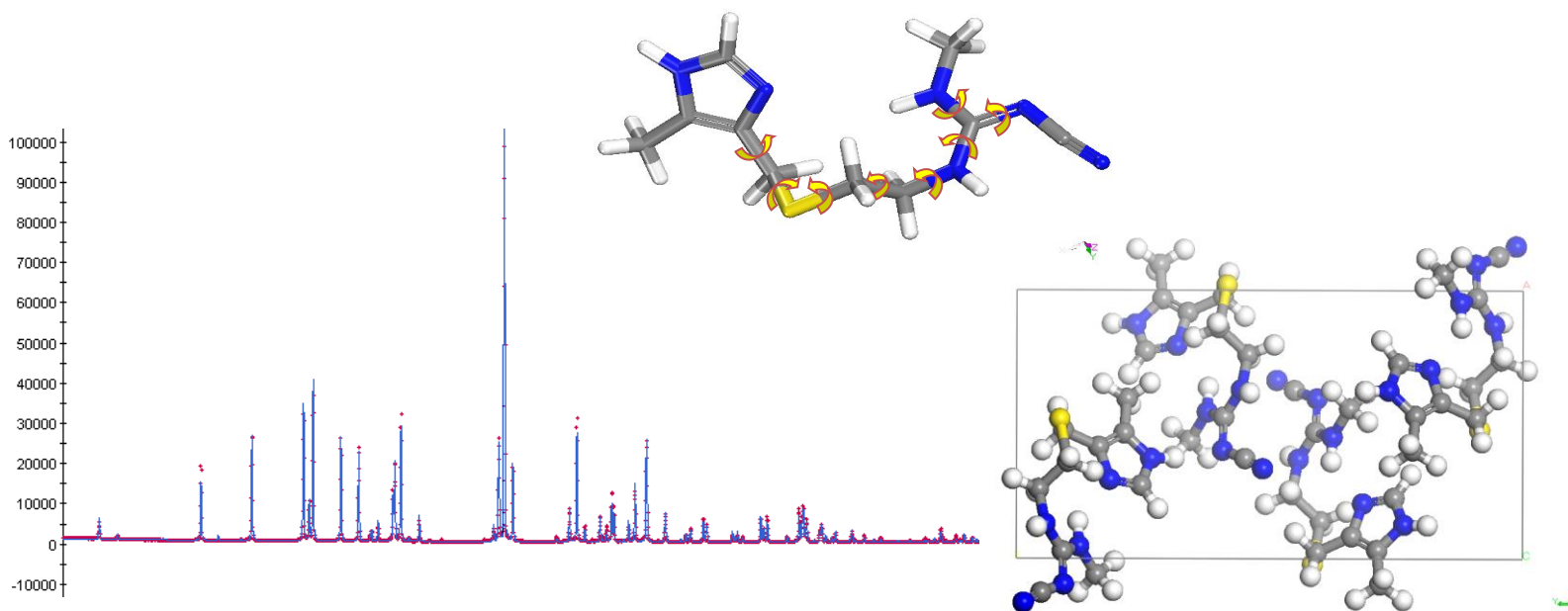
中温領域:
低いRwpを持つ構造を
より低い温度領域の
サーチへ移動

低温領域:
最適構造を見つける
ためのローカルサーチ



Applications: Cimetidine

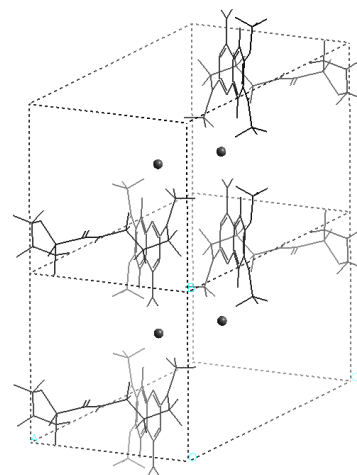
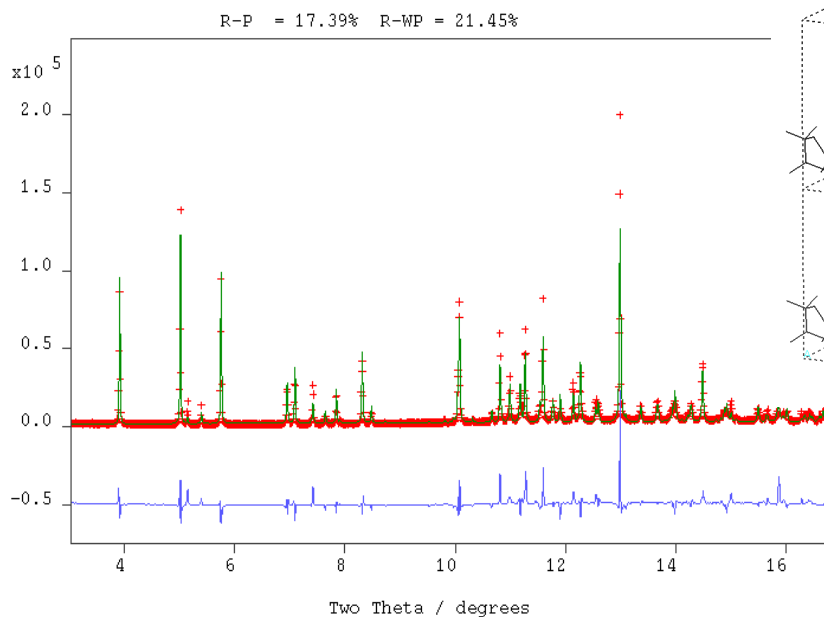
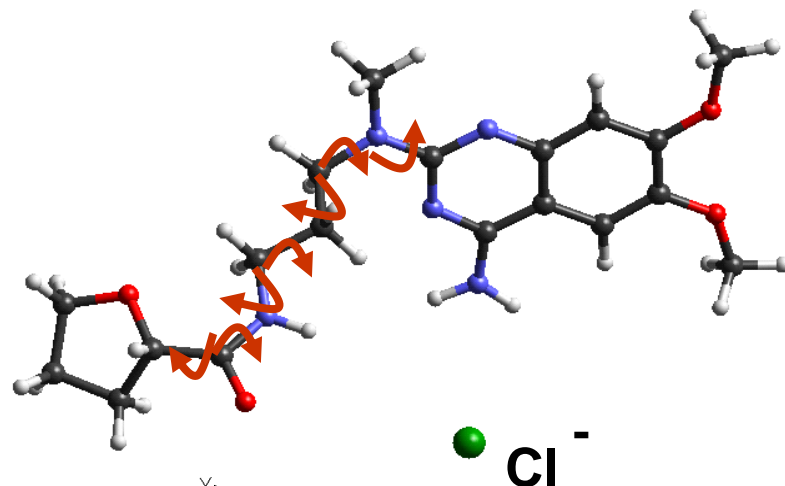
- 14 degrees of freedom: 8 torsional, 3 translational, 3 rotational
- 2,000,000 (2百万) search steps



R.J. Cernik, A.K. Cheetham, C.K. Prout, D.J. Watkin, A.P. Wilkinson & B.T.M. Willis, *J. Appl. Cryst.*, **24**:222-226 (1991)

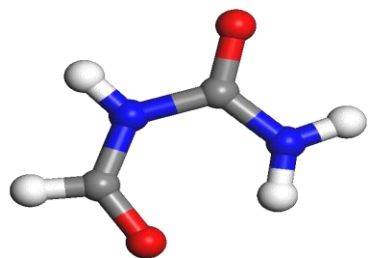
Applications: Alfuzosine

- Alpha blocker
- HCl salt
- 16 degrees of freedom
- 100,000,000 (1億)
Search steps

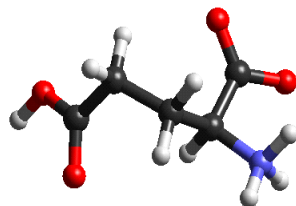


Experimental data kindly
provided by Dr. P.
Ochsenbein (Synthelabo,
France)

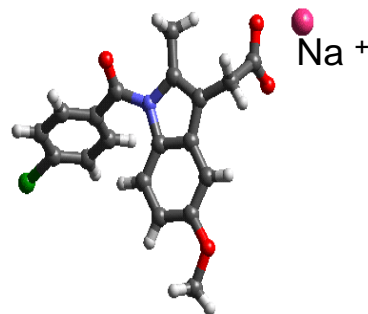
Other Validation Work - Organic Compounds



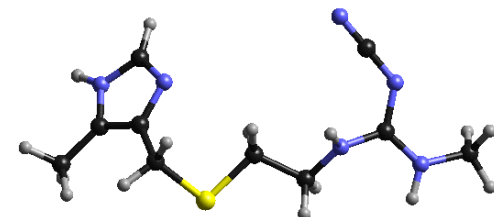
Formylurea (7)



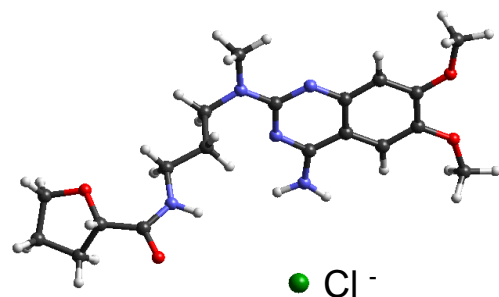
L-Glutamic acid (10)



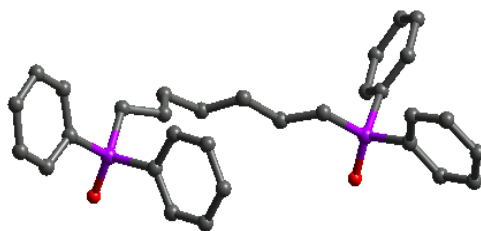
Sodium Indomethacin (10)



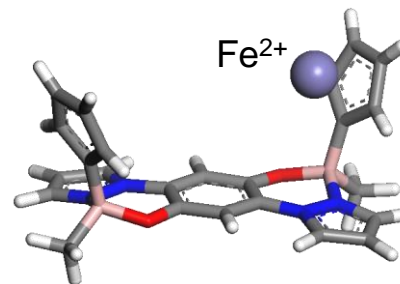
Cimetidine (14)



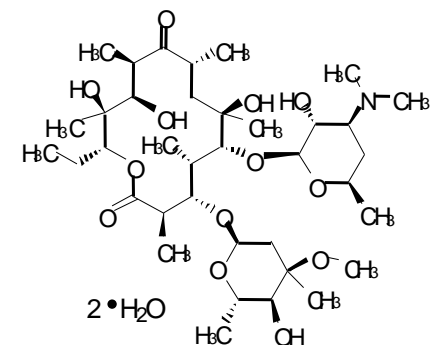
Alfuzosine (16)



Ph₂P(O)-(CH₂)₇-P(O)Ph₂ (18)



Redox-active macrocycle (24)



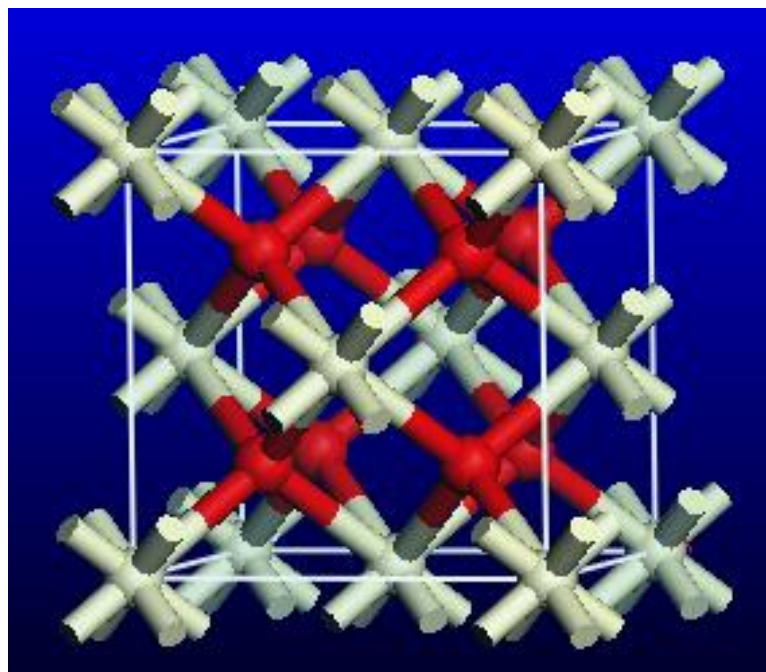
Erythromycin A dihydrate

- **Internal:** G. E. Engel, S. Wilke, O. König, K. D. M. Harris and F. J.J. Leusen, *J. Appl. Crystallogr.*, **32**, 1169-1179 (1999)
- **External:** G. A. Stephenson, *J. Pharm. Sci.*, **89**, 958-966 (2000)
- **Many solved structures have to remain confidential**

無機化合物

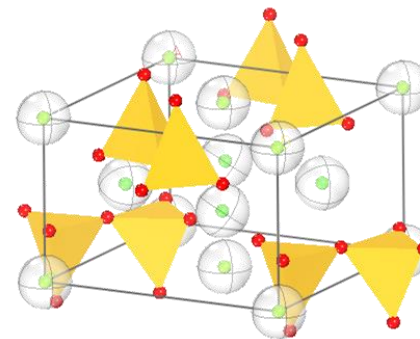
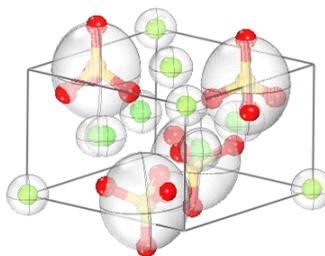
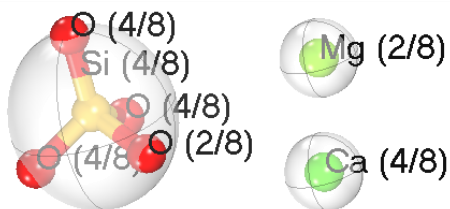
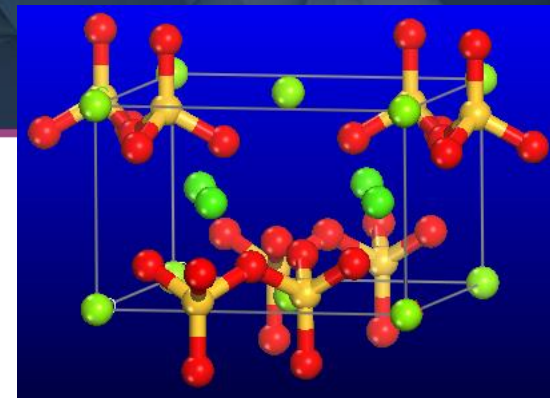
■ 有機化合物との違い:

- 結合情報を使い自由度を下げる事ができない.
- 散乱強度の強い元素が多いためサーチの手助けになる
- 原子が Special position に存在する事が多い



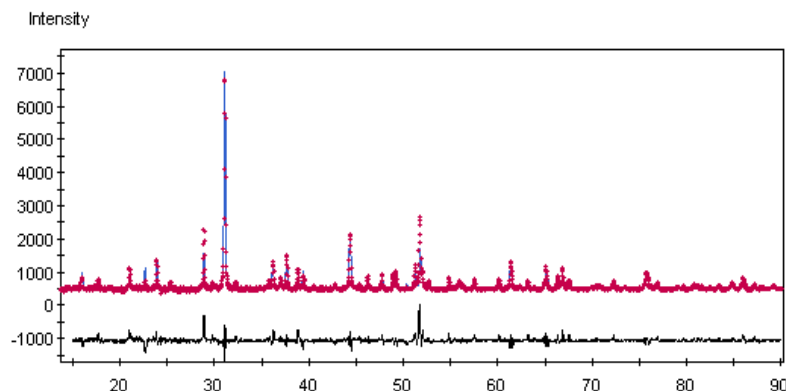
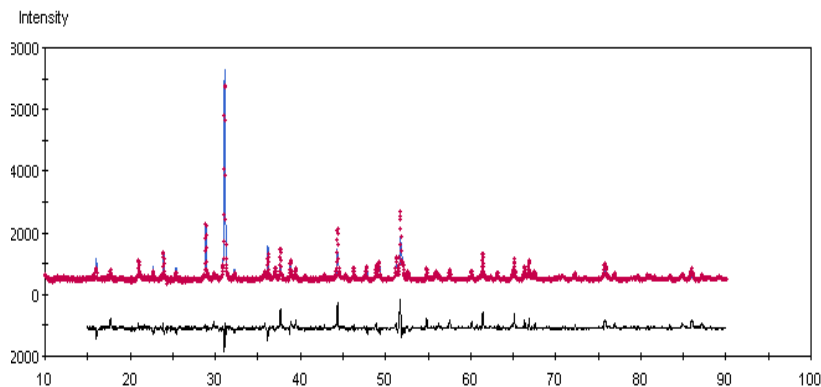
MgCa₂Si₂O₇ (akermanite)

- Space group: P -4 2₁ m
 - f (8), e (4), d (4), c (2), b (2), a(2)
- Cell contents: Mg₂Ca₄Si₄O₁₄

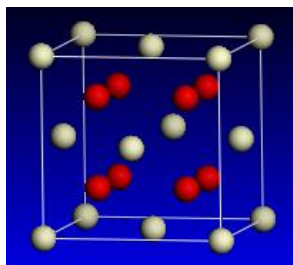


PowderSolve: Rwp = 10.76% Rwp(w/o bck) = 39.22% Rp = 7.08%

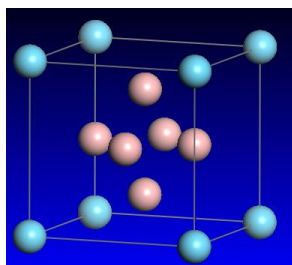
Rietveld Refinement: Rwp = 9.88% Rwp(w/o bck) = 36.79% Rp = 6.63%



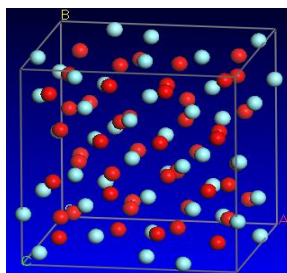
無機化合物の計算事例



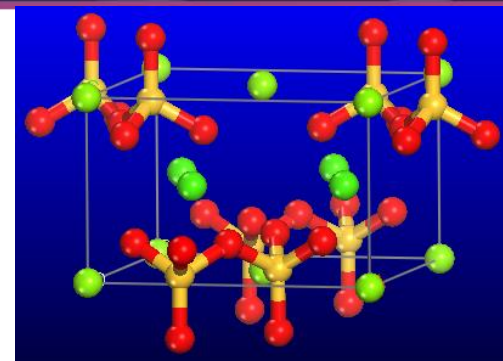
CeO_2



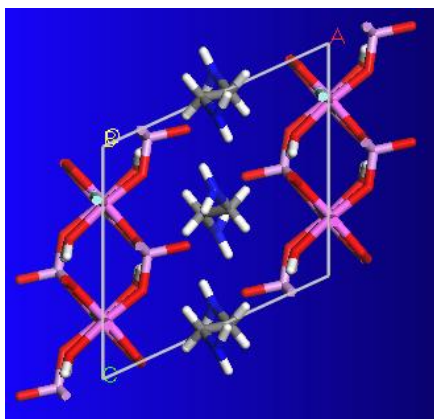
LaB_6



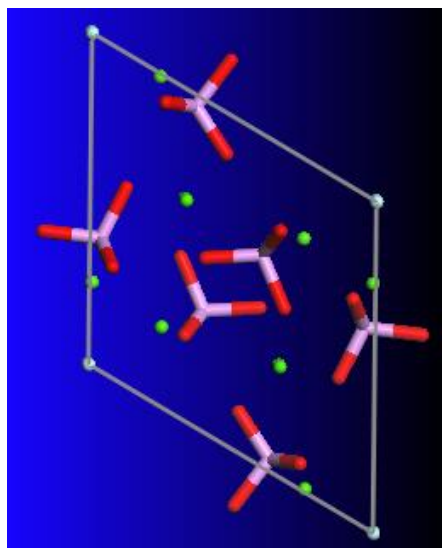
Y_2O_3



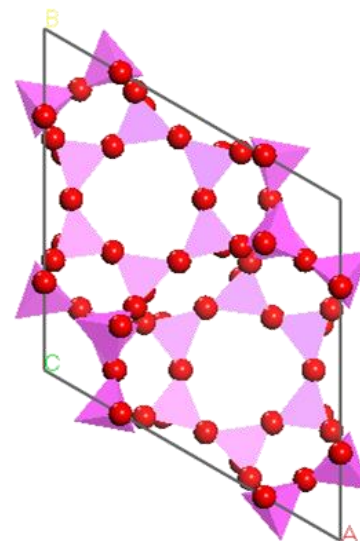
akermanite



KOK-282 (layered aluminophosphate)



$\text{CaF}_2 \cdot 3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (fin31)



SAPO-56 (zeolite)

Data kindly provided by Dr. Peter Ramming (University of Innsbruck), Dr. Robert Broach (UOP, Illinois),
And Dr. Karl Petter Lillerud (University of Oslo).

Preferred orientation

- プレート状や針状の結晶 ⇒ 配向 (preferred orientation)
- 強く配向していなくても結晶構造解析の妨げになる可能性がある
- 解決策: March-Dollase 法などを使い修正を行う
- 計算事例:

(E)-2-(4,6-Difluoroindan-1-ylidene) acetamide (DFYA) Form IIの構造解析

(Data kindly provided by P. Varlashkin, M. Sacchetti and J. Zhu from GlaxoSmithKline)

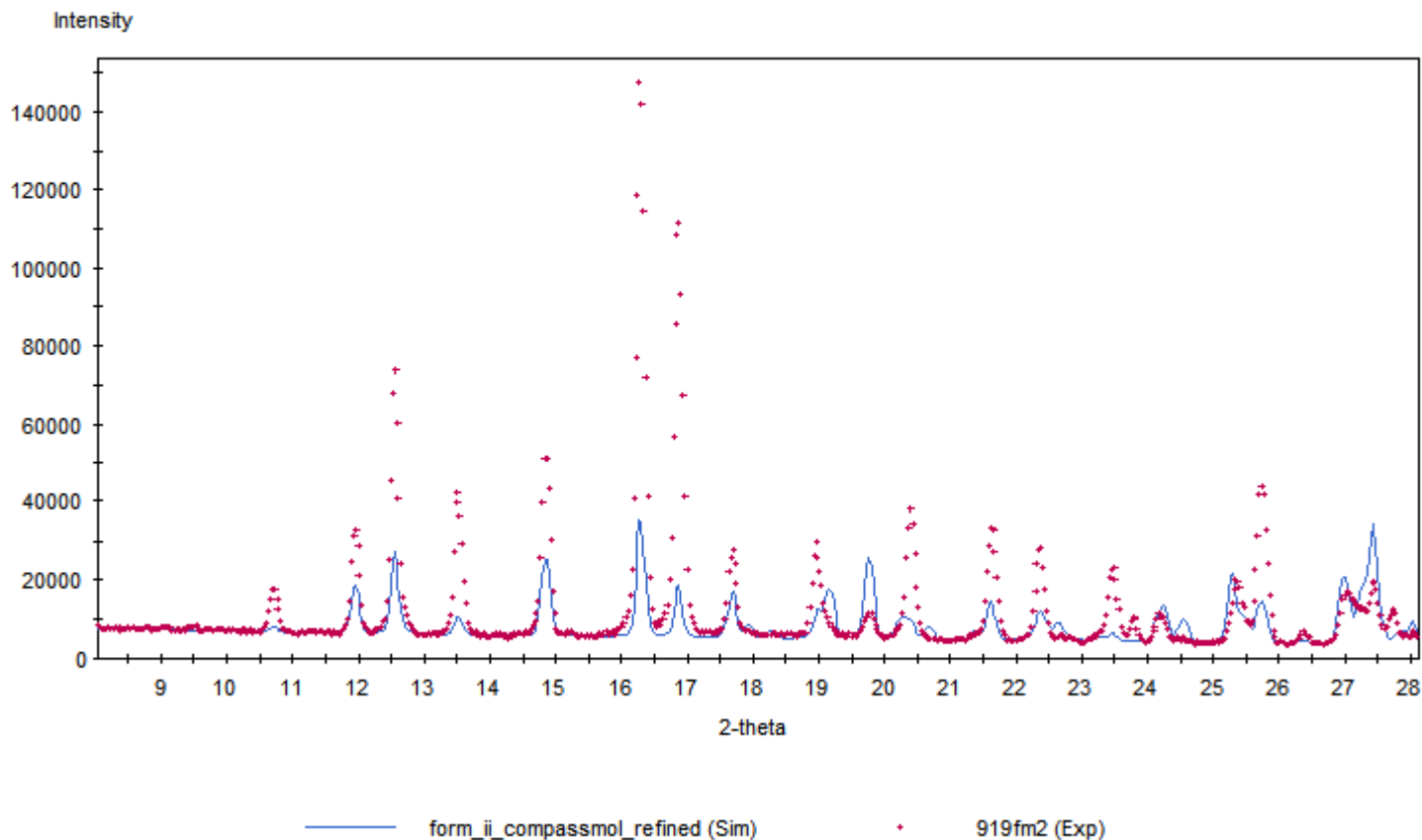
4-nitrophenylhexylurethane (NPHU)の構造解析

(Data kindly provided by Ute Kolb)

Preferred orientation - Example I

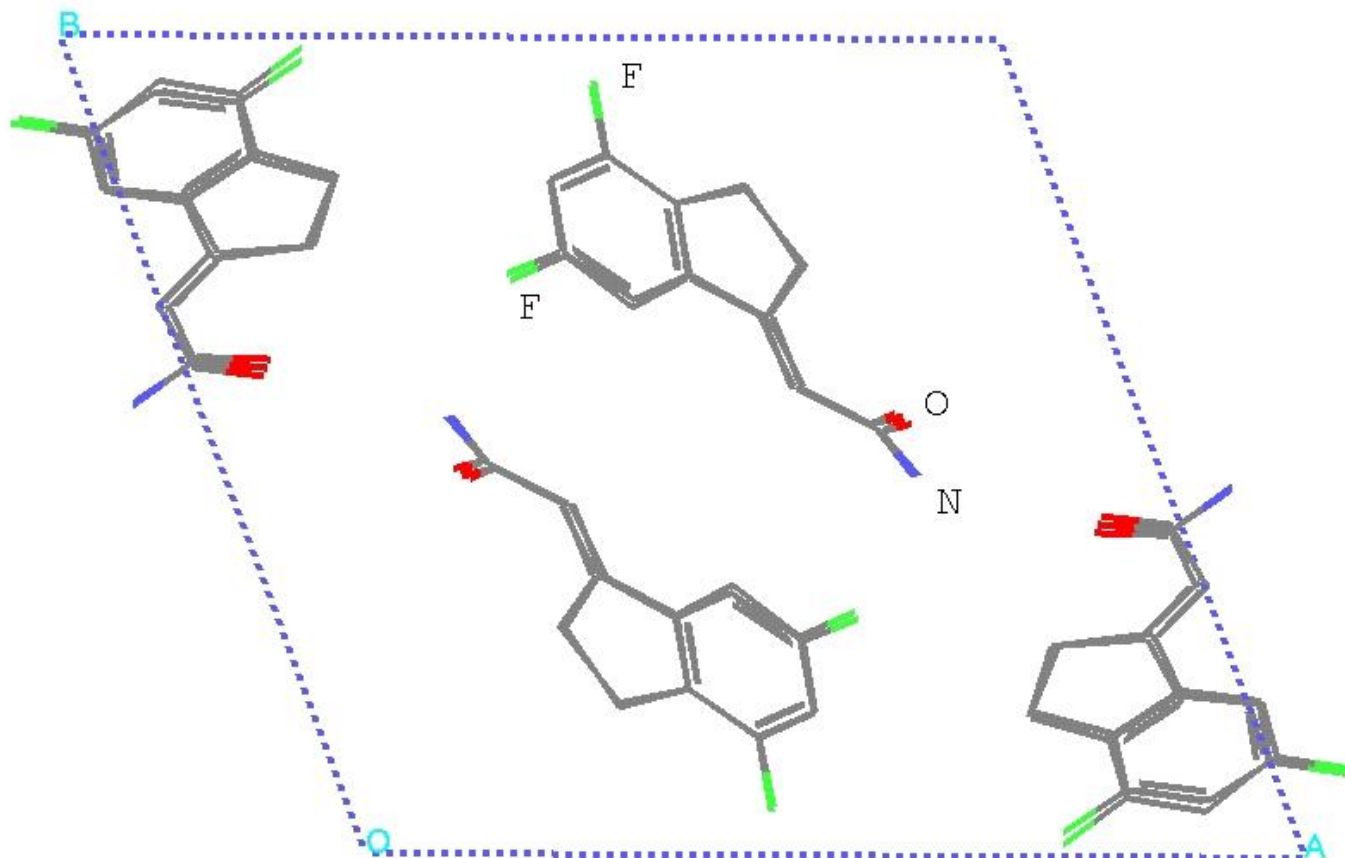
- Form II of (E)-2-(4,6-Difluoroindan-1-ylidene) acetamide:
Experimental pattern with PO versus simulated pattern without PO

Rietveld Refinement: Rwp = 47.94% Rwp(w/o bck) = 76.25% Rp = 38.01%



Preferred orientation - Example I

- Form II of (E)-2-(4,6-Difluoroinдан-1-ylidene) acetamide:
Single crystal structure versus structure solution with Reflex Plus in the presence of strong preferred orientation.



Preferred orientation - Example I

- 2 molecules per asymmetric unit, P-1
- Structure found using March-Dollase preferred orientation correction.

— Total DOF = 17

— **Rwp=11.55%**

— PFO (-0.72,0.32,0.60)

— R0=2.68

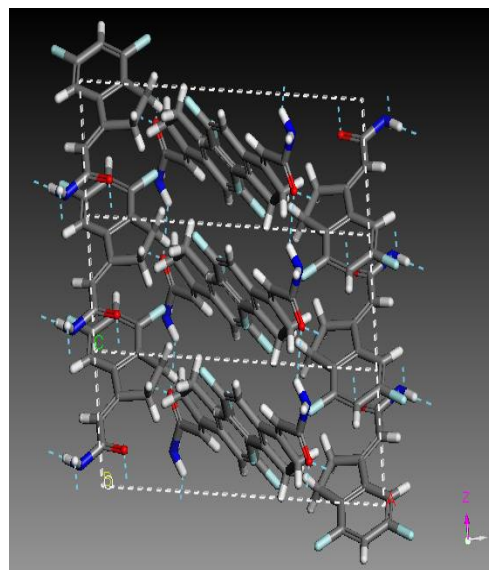
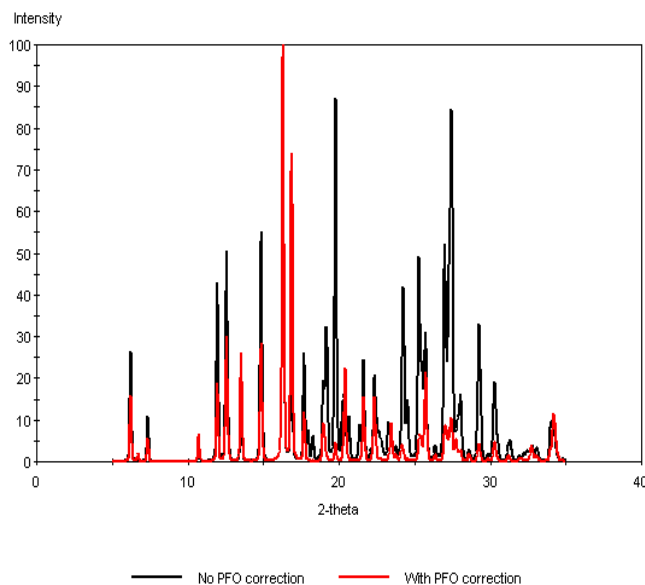
$$P_K = [R_0^2 \cos^2 \alpha + \frac{\sin^2 \alpha}{R_0}]^{-3/2}$$

K: Bragg反射面
 α : K方向と配向方向のなす角度
 R_0 : 定数

$$R_{wp} = \left[\frac{\sum_i w_i |I_{\text{exp}}(\theta_i) - I_{\text{cal}}(\theta_i)|^2}{\sum_i w_i |I_{\text{exp}}(\theta_i)|^2} \right]^{1/2}$$

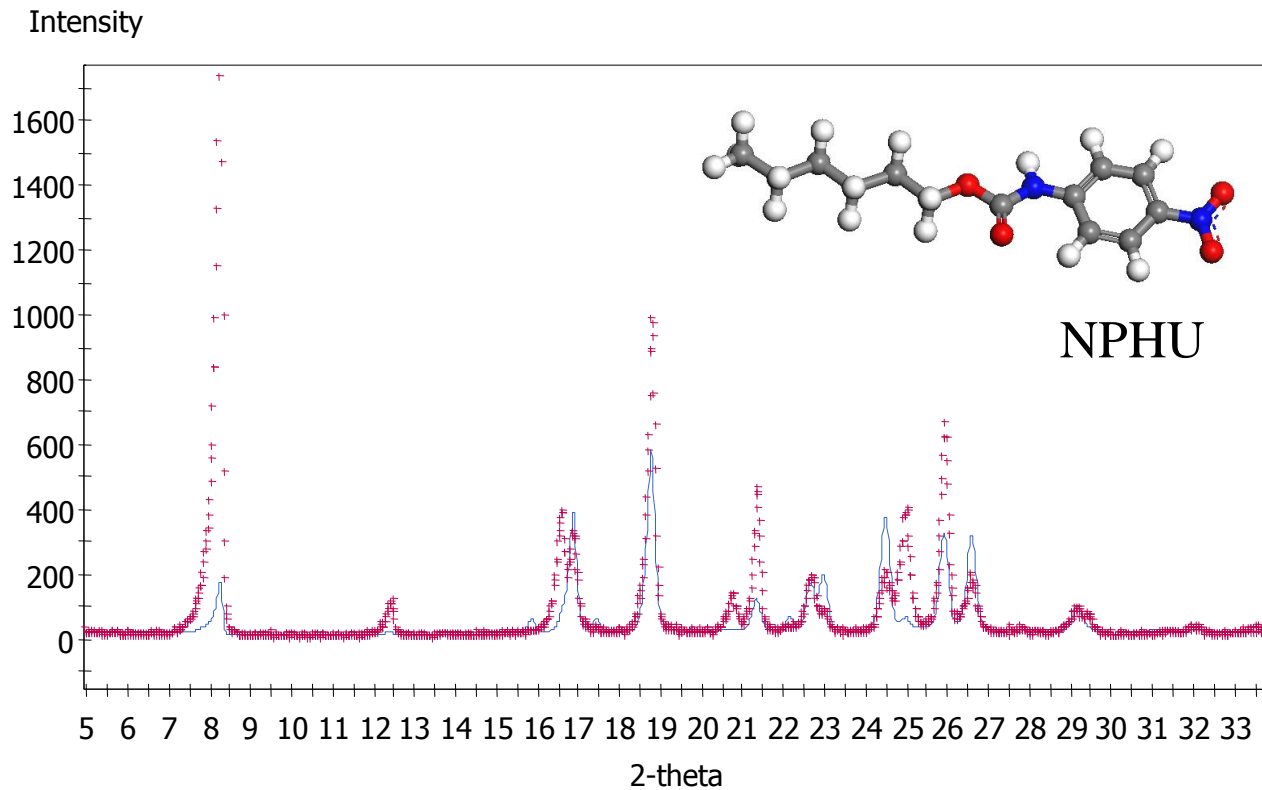
$$w_i = \frac{1}{I_{\text{exp}}(\theta_i)}$$

- Preferred orientation vector consistent with needle grow along c-direction.



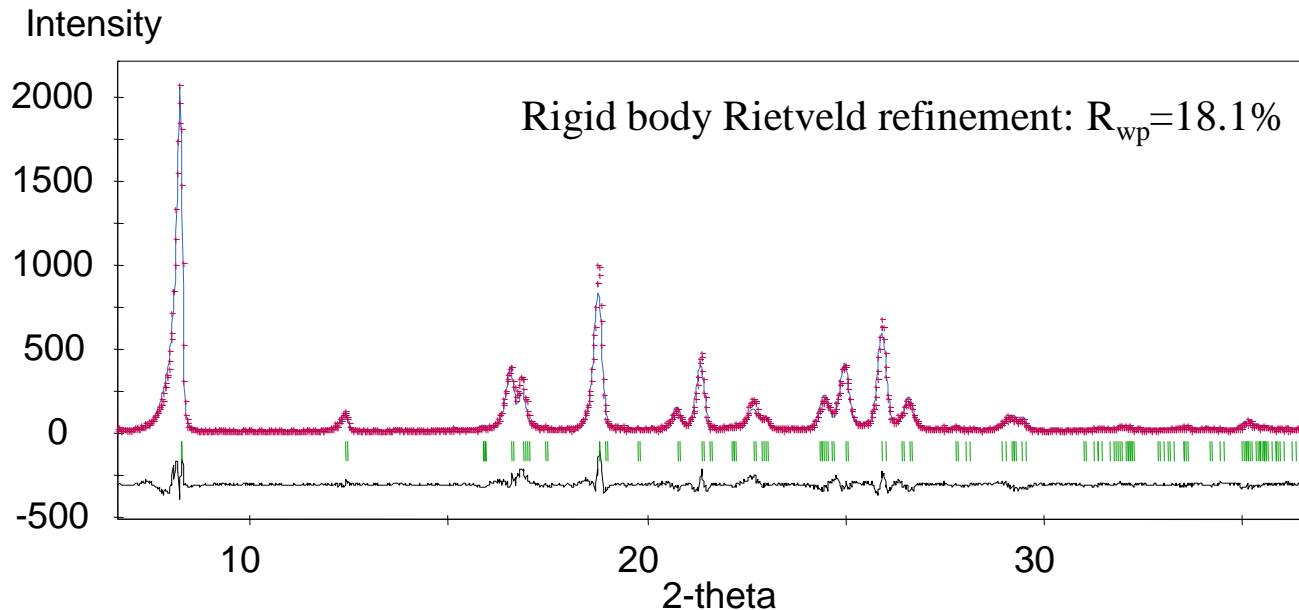
Preferred orientation - Example II

- Strong preferred orientation / low information content

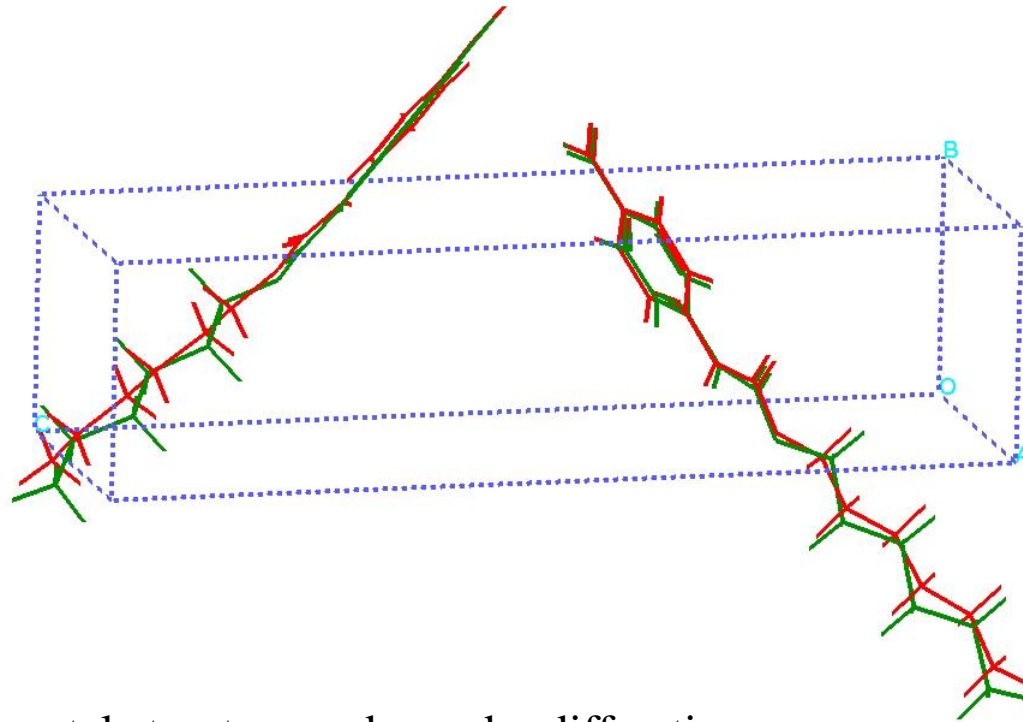


Preferred orientation - Example II

- Structure solution with March-Dollase correction
- 8 + 3 + 3 degrees of freedom
- Intensity ratios changed by a factor of up to 300 ($R_0=0.28$)
- Success rate in structure solution about 100 times smaller than expected.



Rigid body Rietveld refinement versus single crystal structure



Single crystal structure and powder diffraction
data kindly provided by Ute Kolb

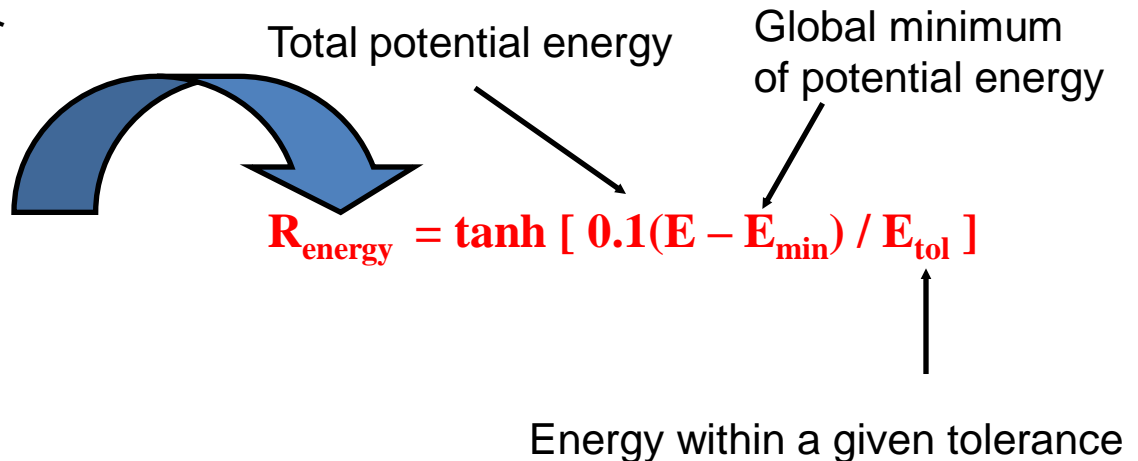
Close Contact Penalty

良い結晶構造は原子間距離も最適である

解析した構造は、粉末X線のデータと一致すると同時にエネルギー的にも安定している必要がある

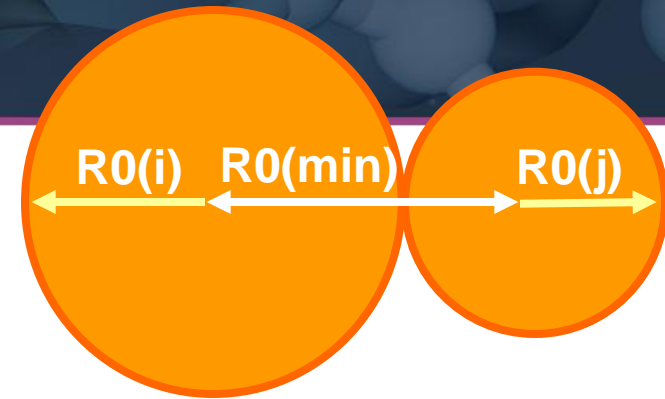
Close Contact Penaltyを使った場合
 R_{WP} を最適化すると同時に
エネルギーも最適化します(R_{comb}):

$$R_{comb} = (1 - w) R_{wp} + w R_{energy}$$



Close Contact in Reflex Plus

Close contact if $R_{ij} < R0(\min)_{ij}$



$$R0(\min) = c * [R0(i) + R0(j)]$$

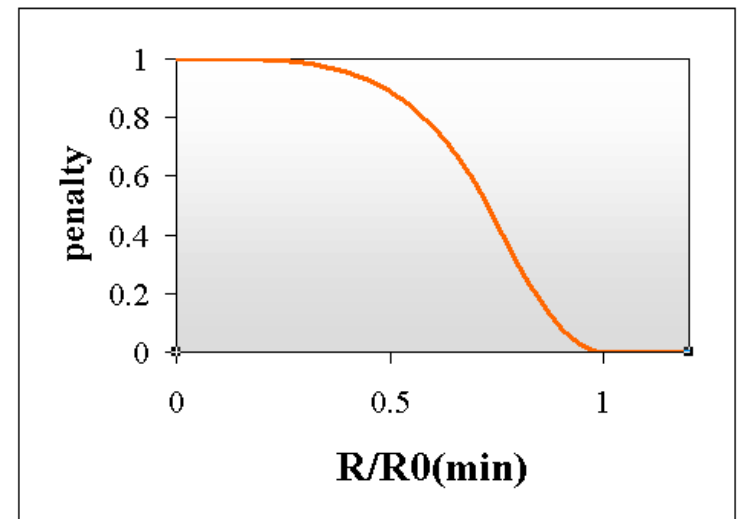
$R0(\min)$: smallest allowed distance between i and j

c: user-definable scaling factor (0.8)

Energy penalty for each close contact

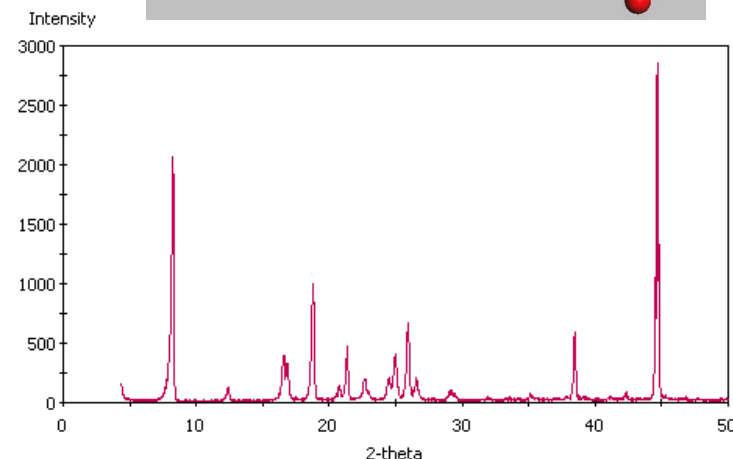
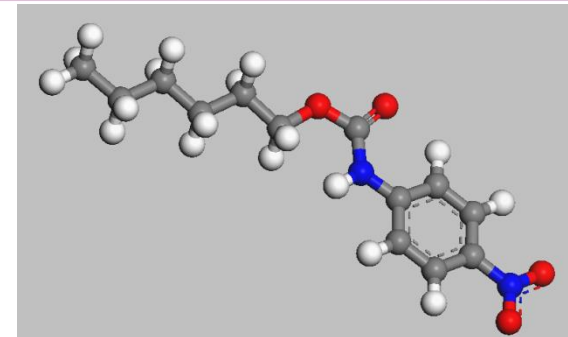
$E(r) = \sum(\text{close contact penalties})$

$E(r) = 0$ **R(Energy)=0** if no close contacts exist



Structure Solution - 4-nitrophenylhexylurethane

- Low quality powder pattern
- strong preferred orientation contribution
- Flexible molecule (14 structural DOF)
- Elongated lattice: 5.6, 5.8, **21.5**, $\beta=97^\circ$ (P21)
- We thank Dr Ute Kolb (University of Mainz) for the experimental data.



Indexing results with X-Cell

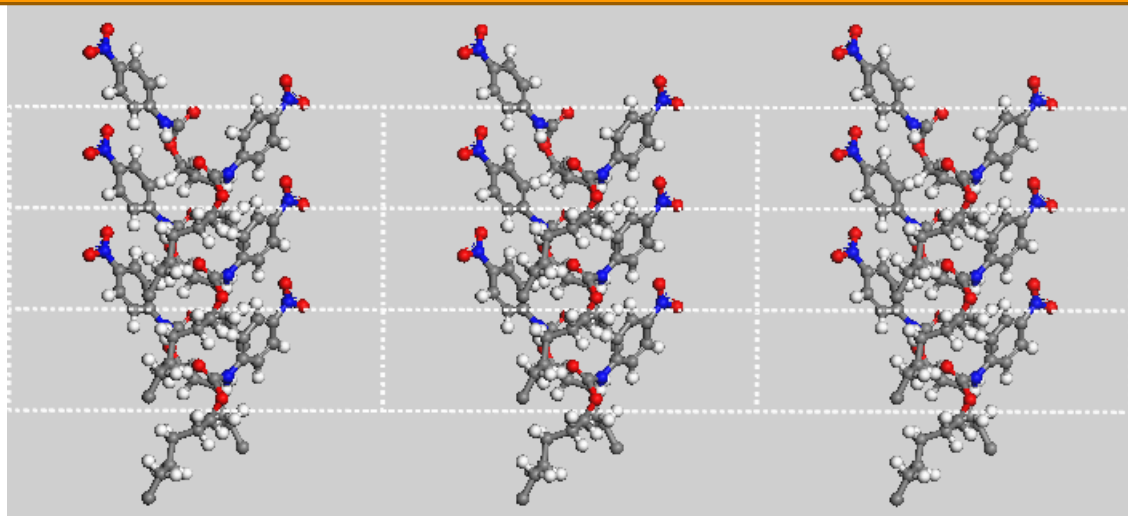
NPHU Reflex X-Cell\NPHU Reflex X-Cell\NPHU.xgd														
	#	Rel. F O M	F O M	Peaks Found	System	a	b	c	alpha	beta	gamma	Volume	Zero	Extinction Class
1	1	1.018	916	15 of 15	Monoclinic	21.5193	5.7644	5.6242	90.000	96.960	90.000	692.52	-0.01105	P21
2	2	1.017	915	15 of 15	Monoclinic	21.5766	5.7661	5.6239	90.000	98.048	90.000	692.81	-0.00903	P21
3	3	0.808	727	15 of 15	Monoclinic	5.6568	42.7034	5.7735	90.000	90.854	90.000	1394.51	-0.02180	C2/c
4	4	0.733	659	15 of 15	Monoclinic	5.6719	42.8784	5.7605	90.000	90.654	90.000	1400.86	0.03751	C2

Best

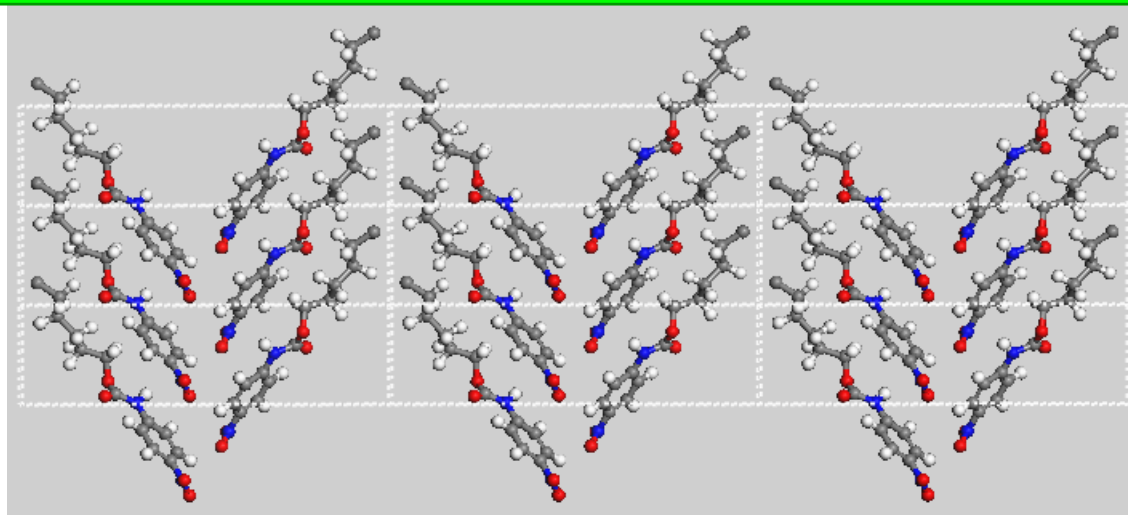
All

Structure Solution - 4-nitrophenylhexylurethane

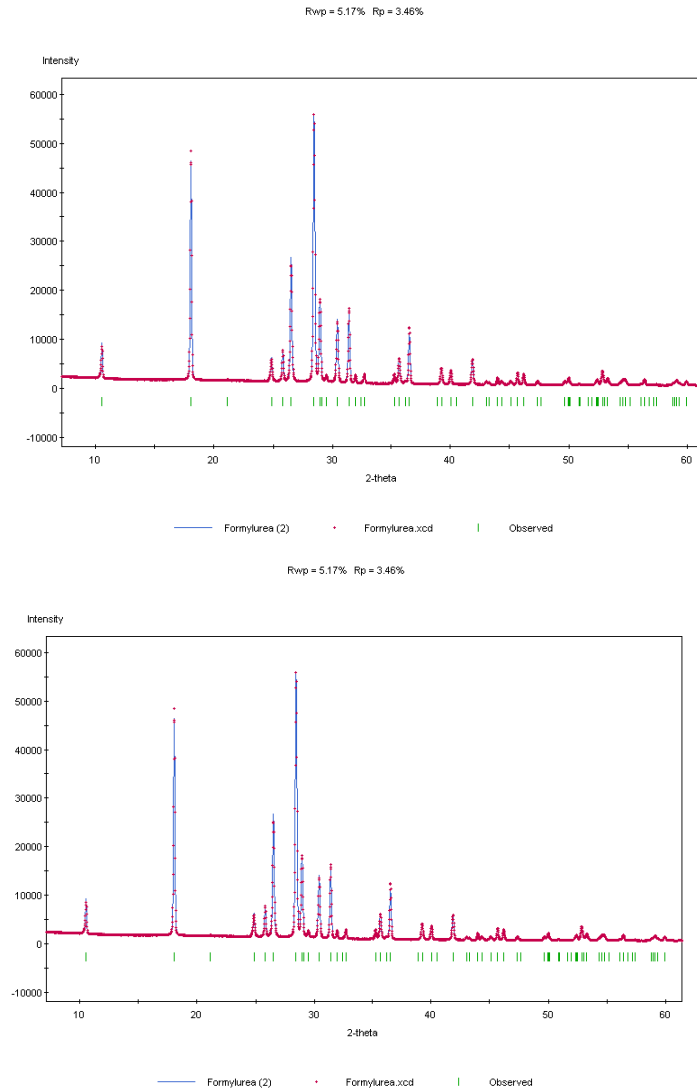
Best solution conventional Powder Solve Rwp = 20.24%, correct solution not found.



Best solution Powder Solve with close contact penalty Rwp = 17.60% R(E) = 0.02



量子力学計算(DFT)と結晶構造解析



Structure solution

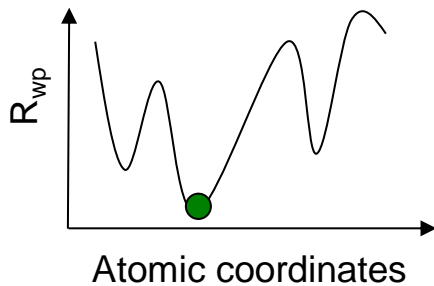
**Optimization of
atomic coordinates
by DFT calculations
(fixed lattice)**

**Rietveld refinement
with fixed atomic
coordinates**

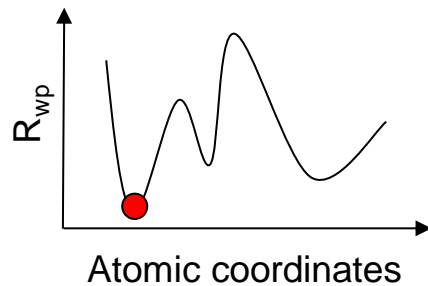
Verification

DFT計算を使ったマルチステップ法

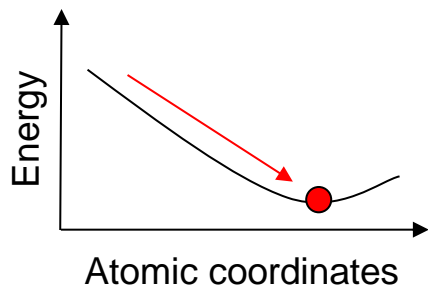
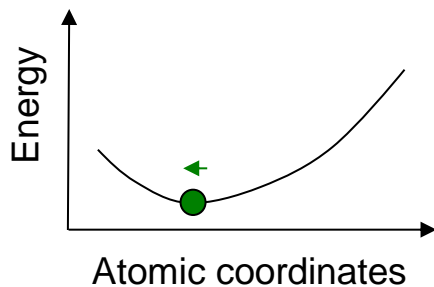
Correct structure



Incorrect structure



Structure solution



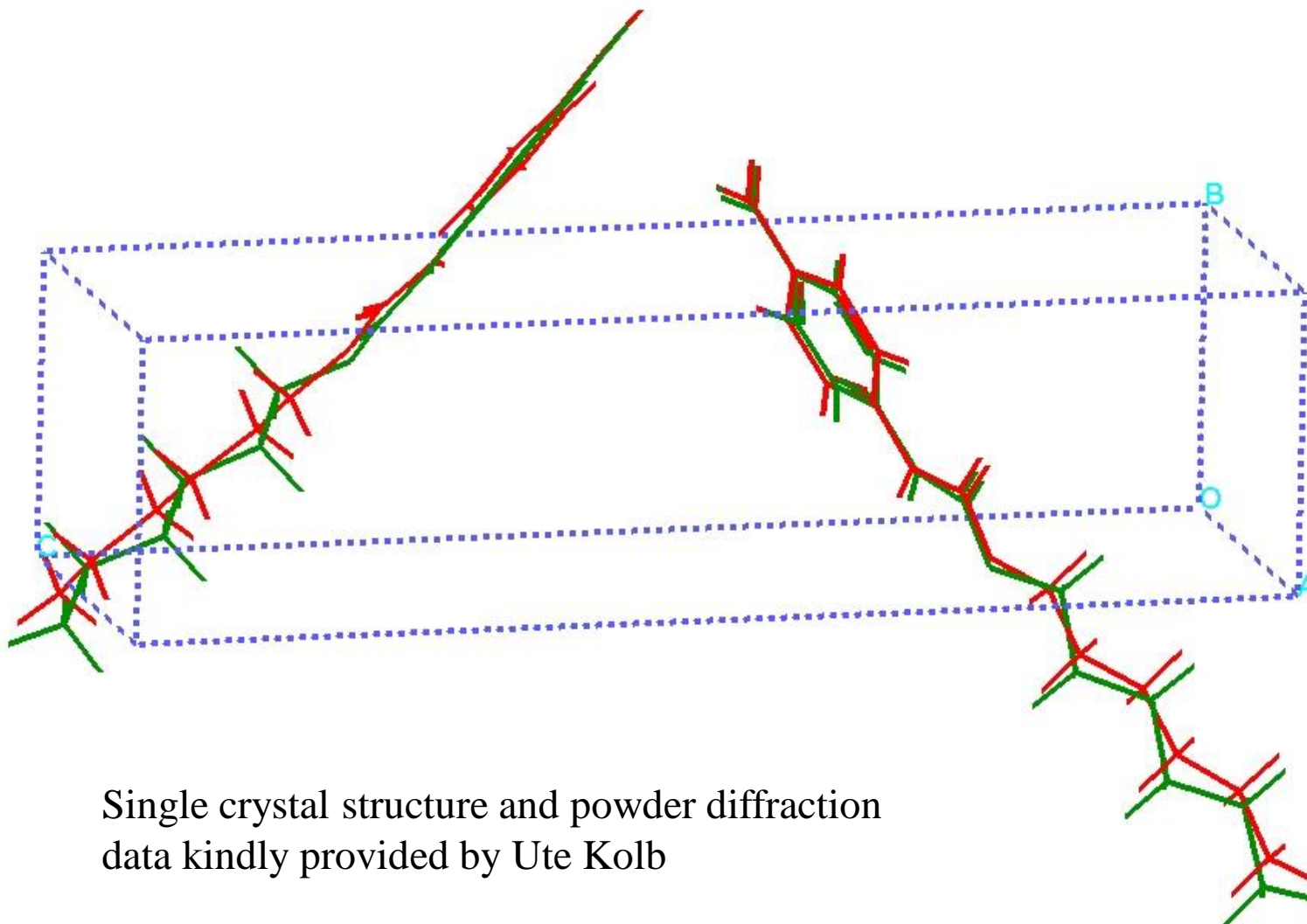
DFT Optimisation

Low R_{wp}

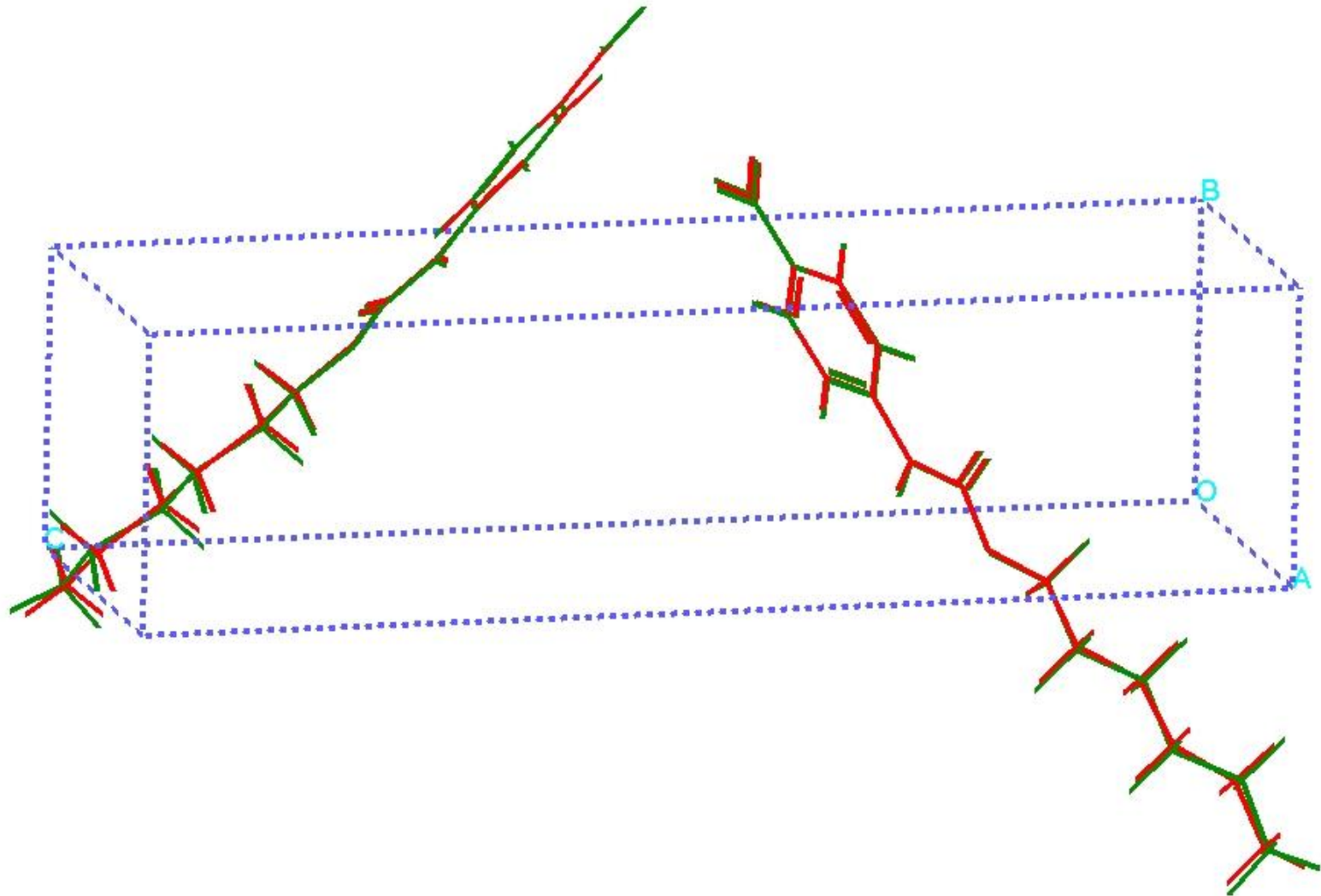
High R_{wp}

Rietveld refinement

Rigid body Rietveld refinement versus single crystal structure



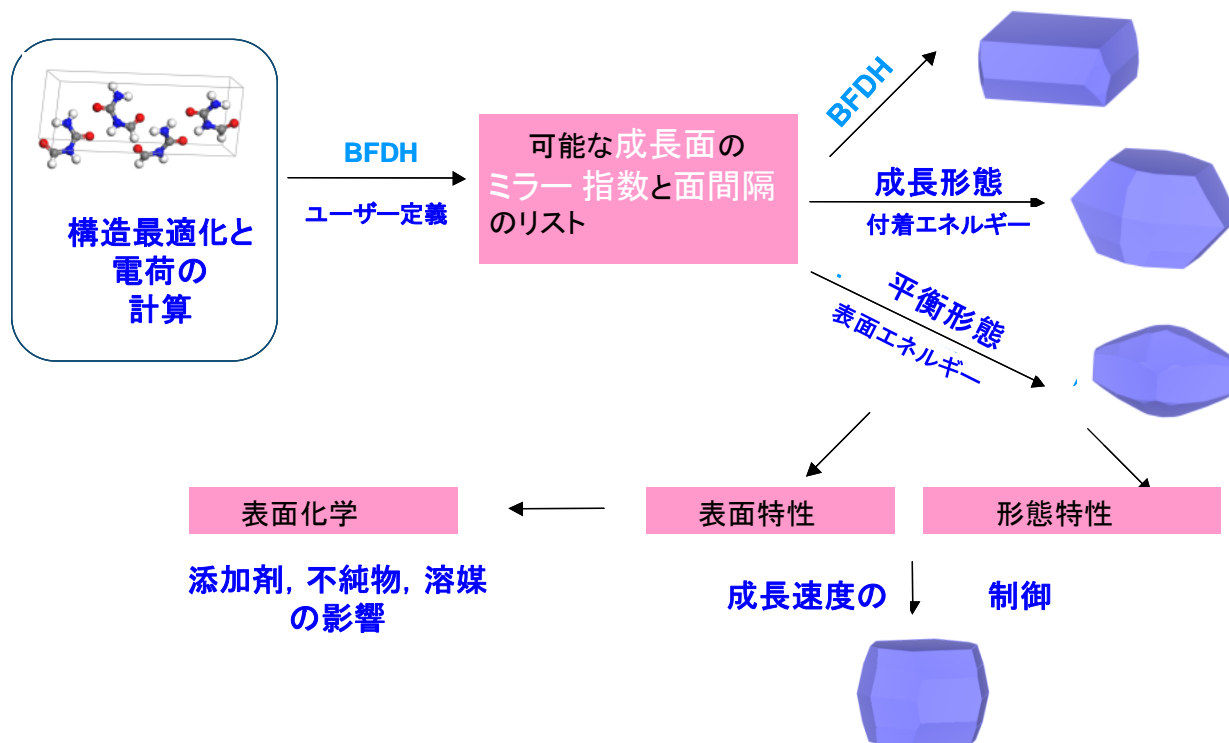
DFT crystal structure optimization versus single crystal structure



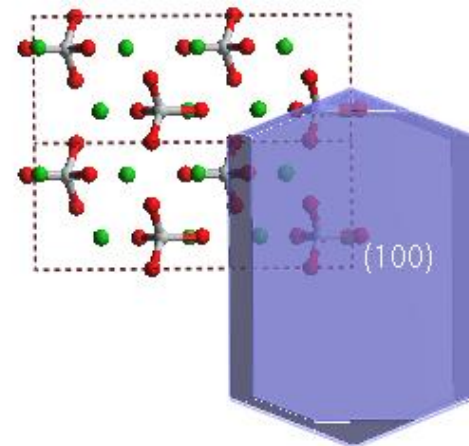
MS Morphologyのご紹介

結晶形態予測 - ワークフロー

- 結晶形態・形と大きさの影響：
 - 薬剤の溶解速度と生物学的受容性
 - 結晶性製品の取り扱い, 包装, 貯蔵
 - 製造工程でのスラリー操作, 凝集, 濾過
 - 粉砕, Milling, 研削, 細分化, 篩分
 - 密度, 風合いの最適化
- 結晶構造と形態間の関連解明は, 結晶の原子構造から晶癖を計算科学的に予測することを可能にし, テーラーメイド添加剤の開発, 溶媒や不純物の影響の制御への洞察力をもたらします



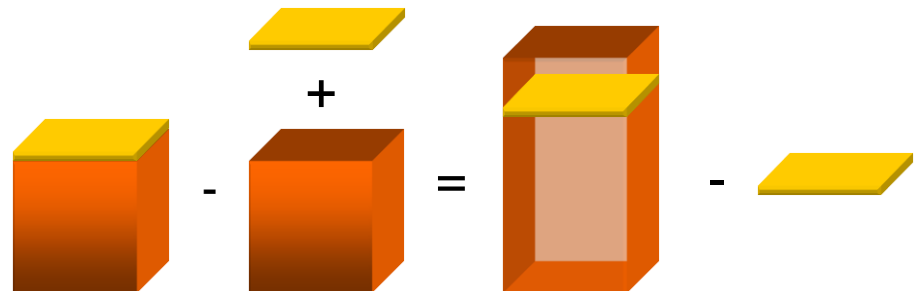
- Donnay Harker 則を満たす可能な成長面のリストを生成します:
 - 格子定数と対称操作のみに基づいています
- Bravais Friedel 則に従ってCenter-to-face distances が決められます:
 - 格子面間隔 d_{hkl} の逆数に比例
 - 各面の中での相対的な成長速度との関連を示唆
- この方法は系のエネルギーや原子・分子の種類や配置を考慮しない近似的なものです



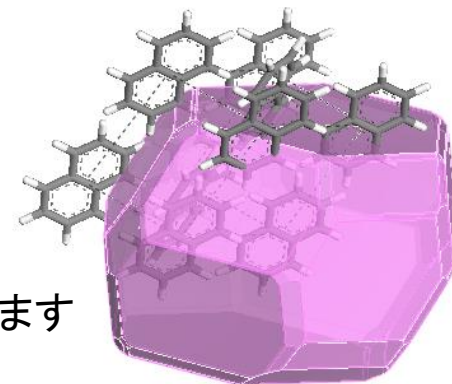
Morphology アルゴリズム II: Growth Morphology

- **Attachment Energy**を計算します。Attachment Energyは結晶成長面に面を一層加えることで得られるエネルギー利得です
 - BFDH法あるいは別に作成された結晶面リストを用います
 - クーロン相互作用について2次元のEwald和が用いられます
- 相対的な成長速度の差から結晶形態が予測されます
 - 各成長面ではAttachment energyに比例したcenter-to-plane distance が割り当てられます
 - 最も低いAttachment energyを持った面は最も成長が遅いため、結晶形態においてはとても重要になります
- Attachment energyモデルでは表面での構造緩和が起こらず、完全にバルクの構造のまま表面が切り出されることを仮定しています
- 結晶粒が大きい場合に適しています

$$E_{att} = E_{latt} - E_{slice}$$

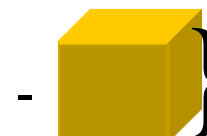


- 絶対零度における全表面エネルギーを最小化する結晶形態を予測します
 - BFDH法あるいは別に作成された結晶面リストを用います
 - クーロン相互作用について2次元のEwald和が用いられます
 - 計算精度と速度に対してユーザーが調整できるオプションがあります
- Attachment energyモデルでは表面での構造緩和が起こらず、完全にバルクの構造のまま表面が切り出されることを仮定しています
- 一般的に他の方法より多くの面を発生させます
- 結晶核生成時のような非常に小さい結晶粒の場合に適しています



$$E_{surf} = \frac{1}{2} \lim_{M \rightarrow \infty} [E_{latt}(M) - E_{slice}(M)] / A_{hkl}$$

$\frac{1}{2}$



M-layers

- **弾性** (可逆変形の容易さ)
- **脆性** (欠陥, e.g. クラックへの感度)
- **引っ張り強度** (引っ張り破壊への抵抗力)
- **延展性** (‘可塑性’) (イールディングによる応力の緩和能力)

結晶固体の異方性は同定・分析を益々難しく、重要なものにしています。

- 結晶の**劈開特性**は材料の加工時に重要な事項
 - 細分化をもたらす方法, 例えば粉碎や圧錠, はスリップ面に沿った材料の破壊を優先的に引き起こす。
 - 結晶性粉末では総表面積の増加のみならず, 異なった結晶面の露出度を変化させ, スリップ面の露出が増加する。
 - 粒子の形態も変化を受ける事があり, その結果粉体の流動特性に影響する。
- **晶癖と劈開の予測**
 - 最も可能性の高い劈開層は最も弱く表面に結合した分子面。すなわち, **最小のAttachment energy**を持つ**スライス**面。

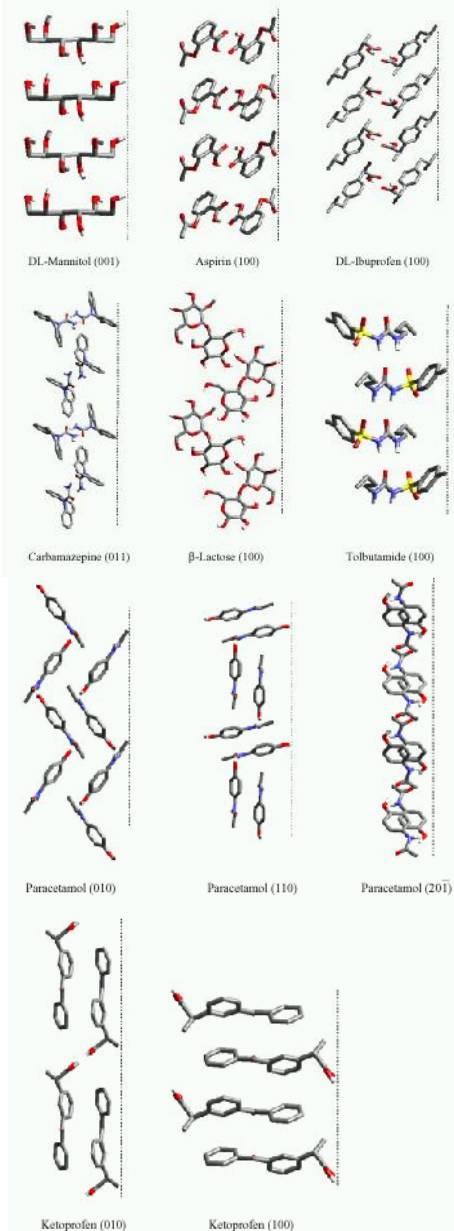
$$E_{\text{att}} = E_{\text{latt}} - E_{\text{slice}}$$

薬物と医薬賦形剤の結晶劈開

ATTACHMENT AND LATTICE ENERGIES

Energies in kJ mol^{-1} . The most probable cleavage planes are labelled C.

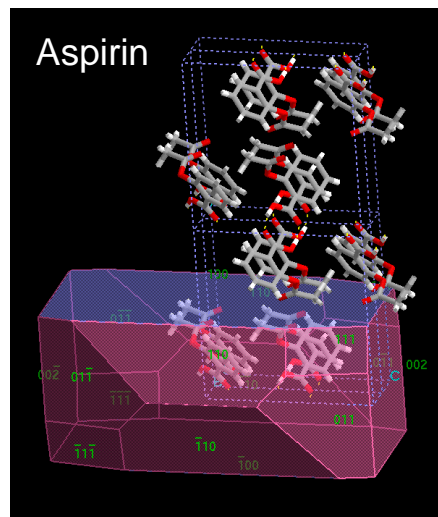
h k l	DREIDING unoptimised	DREIDING optimised	COMPASS Unoptimised	COMPASS optimised
DL-Mannitol (Pna2₁)				
0 0 1	-80 C	-93 C	-73 C	-83 C
1 0 0	-120	-133	-86	-87
Lattice energy	-329	-368	-234	-242
Aspirin (P2₁/c)				
1 0 0	-21 C*	-23 C	-22 C	-26 C
0 0 1	-43	-45	-45	-46
Lattice energy	-150	-154	-123	-125
Paracetamol form I (P2₁/a)				
0 1 0	-56 C	-55 C**	-63	-63
1 1 0	-67	-72	-56 C	-58 C
2 0 $\bar{1}$	-68	-74	-57 C	-57 C
Lattice energy	-160	-172	-139	-140
DL-Ibuprofen (P2₁/c)				
1 0 0	-20 C	-20 C	-19 C	-20 C
0 0 1	-66	-66	-61	-63
Lattice energy	-152	-154	-117	-121
DL-Ketoprofen (P 1)				
0 1 0	-51 C	-53 C	-54	-55
1 $\bar{1}$ 0	-55	-59	-58	-59
0 0 1	-61	-63	-68	-65
1 0 0	-72	-78	-44 C	-51 C
Lattice energy	-178	-189	-153	-155
Carbamazepine form III (P2₁/c)				
0 1 1	-61 C	-66 C	-65 C	-68 C
0 0 1	-66	-72	-72	-78
Lattice energy	-159	-168	-149	-154
β-Lactose (P2₁)				
1 0 0	-109 C	-150 C	-101 C	-133 C
1 1 0	-148	-201	-122	-143
Lattice energy	-344	-469	-285	-328
Tolbutamide (Pna2₁)				
1 0 0	-37 C	-36 C	-32 C	-33 C
1 1 0	-68	-74	-59	-64
Lattice energy	-213	-224	-162	-166



* Winchell (1954) The optical properties of organic compounds, 2nd ed.

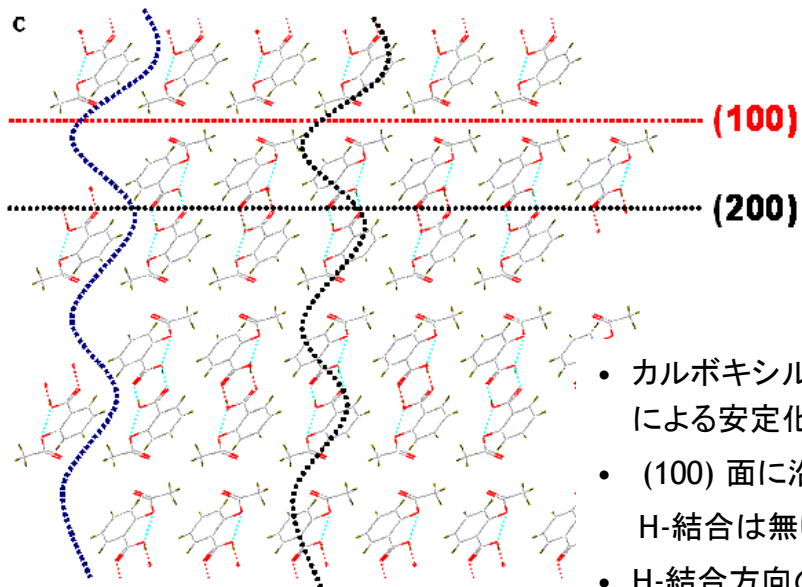
** Duncan-Hewitt et al. *Pharm. Res.* 1994, 11, 616

Morphology: 付着エネルギー

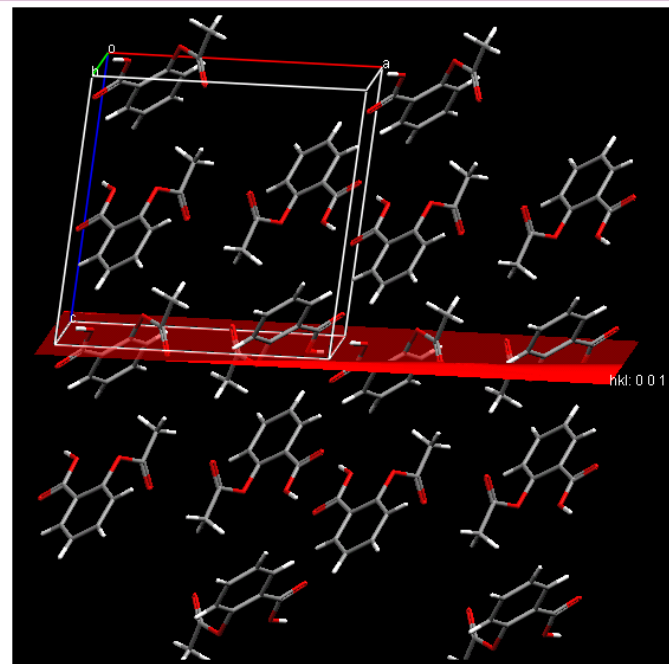


(002)

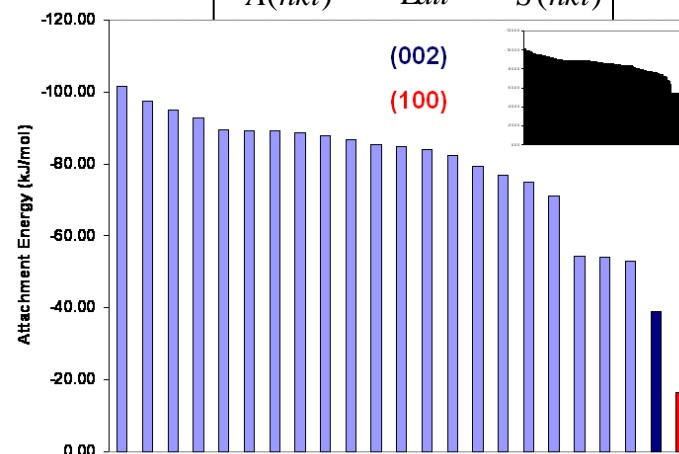
(001)



- カルボキシル間のH-結合(青)による安定化
- (100) 面に沿った分子間にはH-結合は無い
- H-結合方向の切断はエネルギー的に”コストがかかる”






$$E_{A(hkl)} = E_{Latt} - E_{S(hkl)}$$

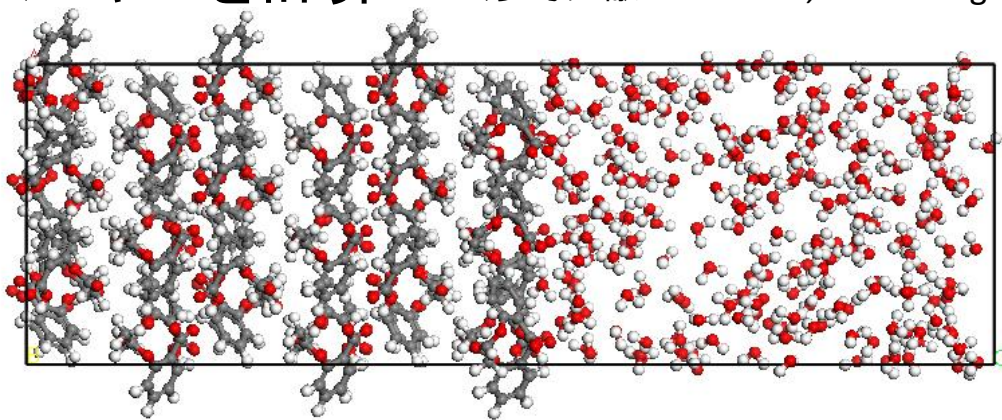


各面の溶媒との相互作用

- DMol3 COSMO により、溶媒効果を入れてAttachment エネルギーを再評価 (MaterialsScript)

	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
	Surface	Eatt(Total)	Eatt(vdW)	Eatt(Electrostatic)	Eatt(H-bond)	Distance	Total facet area	% Total facet area	DMol3 vacuum Eatt	DMol3 COSMO Eatt for solvent 78.54
1	 Surface (1 0 0)	-24.08781712	-9.41233957	-4.67547754	0.00000000	24.08781712	2.211354e+004	51.63996128	17.28914091	8.95330512
2	 Surface (0 0 2)	-42.78205304	-39.93408986	-2.84796318	0.00000000	42.78205304	1.121068e+004	26.17940138	31.71244608	16.54554219
3	 Surface (1 0 2)	-60.06735584	-48.20840918	-11.85894665	0.00000000	60.06735584				

- Amorphous CellとForciteにより溶媒分子と結晶表面の相互作用エネルギーを計算 (参考文献: T. Li *et al.*, Chem. Eng. Sci., 61, (2006) 5159-5169)



Aspirin結晶 (100)面
と水との界面モデル

- Material Studio Collection による自動化 (Morphology は今月)
(例) Morphology計算 -> 各表面構造モデル作成 -> 溶媒/結晶の界面モデル作成 -> Forcite MD