

A 100 éves röntgendiffrakció a gyógyszerkutatásban

BOMBICZ Petra* és KÁLMÁN Alajos

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Szerves Kémiai Intézet: Pusztaszeri út 59-67., 1025 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A klasszikus kristálytan után a modern krisztallográfia születését az 1912-ben Laue, Friedrich és Knipping által elvégzett első röntgendiffrakciós kísérlethez kötik. Az anyag szerkezetének atomi felbontású megismerése a tudománytörténet egyik legfontosabb felfedezése, mely forradalmasította a természettudományok minden ágát: fizikát, kémiát, biológiát, föld- és anyagtudományokat¹. Az anyag fizikai-kémiai, makroszkópikus tulajdonságának megértéséhez ismernünk kell a szerkezeti felépítését. 100 év elteltével a krisztallográfia még mindig a tudomány élvonalában van². Az ENSZ döntése értelmében 2014 a krisztallográfia éve lesz.

A cikkben a centenáriumi megemlékezés után példákat láthatunk a röntgendiffrakció gyógyszerkutatásban való alkalmazására elsősorban a kiralitás szerepéről és a polimorfia jelenségéről. Ez magában foglalja a szerkezet és tulajdonság összefüggéseit, a teljes és parciális izostrukturalitás témakörét, a másodlagos kölcsönhatások szerepét, kokristályok vizsgálatát és a kristályhabitus befolyásolását a szerkezet ismeretében.

2. A röntgendiffrakció száz éve

100 éve, 1912. március végén hajtotta végre Max von Laue, Walter Friedrich és Paul Knipping az első röntgendiffrakciós kísérletet. Az, hogy atomi szinten láthatóvá vált az anyagok szerkezete, forradalmi változást hozott a természettudományban, valamint új tudományágak születtek. A röntgendiffrakció módszerével vizsgálhatunk ásványokat, ionos szerkezeteket, szerves és szervetlen vegyületeket, fehérjéket és vírusokat. Miért éppen a röntgensugárzás tette ezt lehetővé? A röntgensugárzás egy viszonylag könnyen előállítható rövid hullámhosszú elektromágneses sugárzás, melynek hullámhossza összemérhető az atomi távolságokkal. Laboratóriumi méretekben hagyományos röntgensövet, forgóanódos röntgensövet, vagy az elmúlt években kifejlesztett mikroforrásokat használhatunk. Ezek alkalmazásával mára a röntgendiffrakció egyre inkább rutin módszerre válik. Nagyobb intenzitású és hullámhosszban hangolható röntgensugárzást kapunk szinkrotron forrásnál, melyben a relativisztikus sebességre gyorsított töltött részecskék által kibocsátott röntgensugárzást alkalmazzuk. A diffrakciós módszerek között kell megemlítenünk a neutrondiffrakció módszerét is. Míg a röntgensugarak az elektronfelhőn, addig a neutronok az atommagokon szóródnak, így pontos atomi hely meghatározást tesznek lehetővé még a hidrogén atom esetében is. Hátrány, hogy a kisebb intenzitású sugárzás miatt nagyobb kristályra van szükség, és a mérési idő is hosszabb, heteket vesz igénybe az atomreaktornál. A nagyműszer igény miatt a két utóbbi módszer még nem tekinthető rutin eljárásnak.

* Tel.: 1-438-4141 / 201; e-mail: bombicz.petra@ttk.mta.hu.

Röntgendiffrakcióval vizsgálhatunk porokat és egykristályokat. Pordiffrakció esetén elveszik az az információ, hogy a kristály melyik síkjáról származik az adott reflexió. Ezért szerkezetmeghatározás céljára az egykristálydiffrakció terjedt el. Azonban az egykristály röntgendiffrakciós szerkezetmeghatározás szűk keresztmetszete éppen az egykristály előállítása. Ha ez nem sikerül, a pordiffrakció módszeréhez fordulunk. A pordiffrakciót elterjedten alkalmazzák analitikai célokra, fázis és cella meghatározásra. Azonban kisebb vegyületek vagy nagyobb szimmetriával bíró molekulák szerkezete nagyfelbontású mérésből már meghatározható. A röntgendiffrakciós módszer előnye a kis anyagigény, 1-2 mg anyagból 1-2 ml oldószerrel már lehet kristályt növesztetni.

Az egykristály röntgendiffrakció alkalmas a molekula- és kristályszerkezet megismerésére. Megtudjuk, milyen a molekula kompozíciója, konstitúciója, konformációja és konfigurációja. A kristályszerkezetből megismerjük, hogyan épül fel a kristály molekulákból vagy ionokból, hogyan illeszkednek a szimmetriák által egymáshoz rendelt egységek és milyen intermolekuláris kölcsönhatások vannak a molekulák között. Mindezek célja, hogy kapcsolatot találjunk a szerkezet és a kristály fizikai és kémiai tulajdonságai között. Ennek megismerésével lehetővé válik megkívánt fizikai-kémiai tulajdonságú anyagok előállítása.

A krisztallográfia jelentőségét mutatja a krisztallográfiai munkákért odaítélt Nobel-díjak (1. táblázat). Néhányat kiemelve:

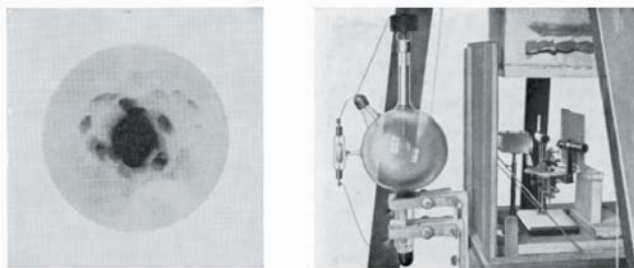
Az első Nobel-díjat Wilhelm Conrad Röntgen kapta 1901-ben a róla elnevezett sugárzás felfedezéséért. 1914-ben kapta Max von Laue a kitüntetést az első diffrakciós kísérlet elvégzéséért. Rá egy évre, 1915-ben William Henry és William Lawrence Bragg, apa és fia, kapta a Nobel-díjat az első szerkezetek megoldásáért. 1962-ben Max F. Perutz és John C. Kendrew munkáját a globuláris fehérjék kutatásáért kémiai Nobel-díjjal jutalmazták, míg Francis C. Crick, James D. Watson és Maurice Wilkins fiziológiai Nobel-díjat kapott a DNS helikális szerkezetének felismeréséért. 1964-ben Dorothy C. Hodgkint biológiailag fontos molekulák szerkezetmeghatározásáért jutalmazták, mint pl. a B₁₂ vitamin és a penicillinek. 1985-ben Herbert Hauptman és Jerome Karle kapta a krisztallográfiai fázisprobléma ún. direkt módszerrel történő megoldásáért a kitüntetést. Itt kell megemlítenünk, hogy Oszlányi Gábor és Sütő András charge flipping módszere, melyet 2005-ben publikáltak, egyre szélesebb körben kerül felhasználásra, nem utolsósorban problémás szerkezetek meghatározására. 2009-ben Venkatraman Ramakrishnan, Thomas A. Steitz és Ada E. Yonath riboszóma kutatásait jutalmazták. A tavalyi kémiai Nobel-díjat Daniel Shechtman kapta a kvázikristályok felfedezéséért.

1. Táblázat. A kriszallográfiához kötődő Nobel-díjak.

2012 Kémiai	R. J. Lefkowitz és B. K. Kobilka	<i>G-protein-kapcsolt receptorok felfedezéséért és működésük leírásáért</i>
2011 Kémiai	D. Shechtman	<i>Kvázikristályok felfedezéséért</i>
2010 Fizikai	A. Geim és K. Novoselov	<i>A grafént felfedező kísérletekért</i>
2009 Kémiai	V. Ramakrishnan, T. A. Steitz és A. E. Yonath	<i>Riboszómák szerkezetének és szerepének tanulmányozásáért</i>
2006 Kémiai	R. D. Kornberg	<i>Az eukarióta sejtekben zajló DNS-transzkripció molekuláris alapjainak kutatásáért</i>
2003 Kémiai	R. MacKinnon	<i>Kálium csatornák felépítésének és működésének tanulmányozásáért</i>
1997 Kémiai	P. D. Boyer, J. E. Walker és J. C. Skou	<i>Az ATP-szintetáz enzimmel katalizált ATP-szintézis vizsgálatáért</i>
1996 Kémiai	R. Curl, H. Kroto és R. Smalley	<i>Fullerének felfedezéséért</i>
1994 Fizikai	C. Shull és N. Brockhouse	<i>A neutron diffrakció felfedezéséért</i>
1992 Fizikai	G. Charpak	<i>A sokszálas proporcionális kamra kifejlesztéséért</i>
1991 Fizikai	P.-G. de Gennes	<i>A rendezettség jelenségek tanulmányozásáért, melyet általánosítva folyadékkristályok és polimerek tanulmányozására is használni lehet</i>
1988 Kémiai	J. Deisenhofer, R. Huber és H. Michel	<i>A fotoszintetikus reakció központ 3 dimenziós felépítésének meghatározásáért</i>
1985 Kémiai	H. Hauptman és J. Karle	<i>A kristályszerkezet meghatározáshoz használt direkt módszerek kifejlesztéséért</i>
1982 Kémiai	A. Klug	<i>A kriszallográfiai elektronmikroszkópia kifejlesztéséért és a biológiailag fontos nukleinsavfehérje-komplexek szerkezetének kutatásáért</i>
1976 Kémiai	W. N. Lipscomb	<i>A boránok szerkezetének kutatásáért</i>
1972 Kémiai	C. B. Anfinsen	<i>A ribonukleázok terén végzett kutatásaiért</i>
1964 Kémiai	D. Hodgkin	<i>Biokémiai anyagok szerkezetének kriszallográfiával történi vizsgálatáért, pl. B₁₂ vitamin</i>
1962 Orvosi	F. Crick, J. Watson és M. Wilkins	<i>DNS helikális szerkezetének felismeréséért</i>
1962 Kémiai	J. C. Kendrew és M. Perutz	<i>Globuláris fehérjék kutatásában elért eredményeikért</i>
1954 Kémiai	L. C. Pauling	<i>A kémiai kötés természetének kutatásáért, és a komplex vegyületek szerkezetmeghatározásában történő felhasználásáért</i>
1946 Kémiai	J. B. Sumner	<i>A felfedezésért, hogy az enzimek kristályosíthatók</i>
1937 Fizikai	C. J. Davison és G. Thompson	<i>Az elektronok kristályokon történő diffrakciójának felfedezéséért</i>
1936 Kémiai	P. J. W. Debye	<i>A molekulászerkezet vizsgálatáért a dipólusmomentum és gázokban lejátszódó röntgendiffrakció és elektrondiffrakció segítségével</i>
1929 Fizikai	L.-V. de Broglie	<i>Az elektron hullámtermészetének felfedezéséért</i>
1917 Fizikai	C. G. Barkla	<i>Az elemek karakterisztikus röntgensugárzásának felfedezéséért</i>
1915 Fizikai	W. H. Bragg és W. L. Bragg	<i>A kristályszerkezet röntgensugárással történő vizsgálatával kapcsolatos szolgálataiért</i>
1914 Fizikai	M. Von Laue	<i>A röntgensugárzás kristályokon történő diffrakciójának felfedezéséért</i>
1901 Fizikai	W. C. Röntgen	<i>A röntgensugárzás felfedezéséért</i>

A kriszallográfia azonban sokkal távolabbi múltra tekint vissza. 1669-ben ismerte fel Steno a lapszögek állandóságának törvényét, mely szerint a kristálylapok ill. a síknormálisok által bezárt szögek a kristály habitusától függetlenül azonos hőfokon és nyomáson állandók. 1781-ben publikálta Haüy abbé morfológiai vizsgálatait, a kristályok mechanikai, hőtani, optikai, elektromos tulajdonságairól. Felismerte, hogy a kristályok anizotróp hasadása során keletkező paralelepipedonok megőrzik a kiindulási kristály tulajdonságait. 1895-ben fedezte fel Röntgen az „X-sugárzást”. A röntgensugár abszorpció alapuló orvosi felhasználása gyorsan, széles körben elterjedt. Az első diffrakciós kísérlet 1912-ben egyidejűleg igazolta a sugárzás elektromágneses hullámtermészetét, és az anyag atomi rácsszerkezetét (1. ábra). Egy évre rá 1913-ban oldották

meg Braggék az első egyszerűbb kristályszerkezeteket. Ők dolgozták ki az ún. Bragg egyenletet ($n\lambda = 2d\sin\theta$), mely a diffrakció jelenségének zseniális, de bizonyos szempontból túlegyszerűsített leírása. A második világháború után robbanásszerű fejlődés következett be az egykristálydiffrakció területén az egyre gyorsabb számítógépek és az automatizált diffraktométereknek köszönhetően. A szerves kémiai kriszallográfia születését 1961-re, Kitajgorodszkij a témából kiadott könyvének³ megjelenésére datálják. Az 1970-es években a szerkezetek meghatározása - mérés és számítások - még hónapokat, éveket vett igénybe. Az 1980-as és az 1990-es években még hetekig tartott a szerkezetmeghatározás. Az 1990-es évek végén a térdetektorok megjelenésével és a gyors számítógépek alkalmazásával néhány órára, egy napra csökkent ez az idő.

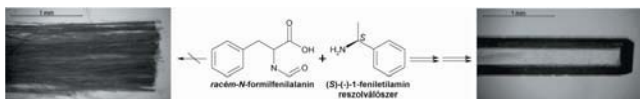


1. Ábra. Laue, Friedrich és Knipping által készített első diffrakciós felvétel rézgálic kristályról. A készülék fényképe.

3. Röntgendiffrakciós szerkezet meghatározás és kiralitás

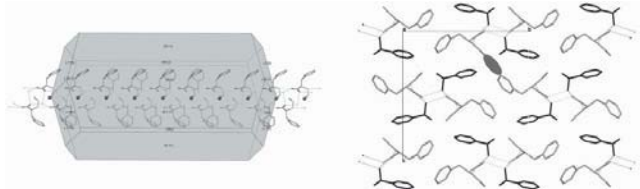
A nagy érzékenységű - szcintillációs, ccd és image plate - detektorok megjelenésével bebizonyosodott, hogy a Friedel törvény nem érvényes és lehetővé vált az oxigén vagy annál nagyobb rendszámú elemek anomális diszperziójának mérése, és ezáltal az abszolút konfiguráció meghatározása.

Enantiomerek elválasztásának egyik módszere a diasztereomer sóképzéssel végzett resolválás, melyben a racém vegyülettel rokon szerkezetű resolválószert alkalmaznak. Az *N*-formilfenilalanin (*S*)-1-feniletilamminnal történő resolválása során⁴ a királis megkülönböztetés a diasztereomer asszociátumok közötti stabilitás különbségen alapul (2. ábra). Ez a másodlagos kölcsönhatások eltérő térbeli elrendeződésére vezethető vissza.



2. Ábra. Diasztereomer sóképzéssel történő enantiomer elválasztás. Az (*S,R*) konfigurációjú nagyobb oldhatóságú diasztereomernél a kristálynövekedés radiális irányban gátolt, tús kristályok kötege keletkezik. Az (*S,S*) konfigurációjú kisebb oldhatóságú diasztereomer gyorsabban kristályosodik, és szép egykristály növekszik.

Az elválasztási eljárásban kinetikus kontroll érvényesül. A diasztereomer agglomerátum az erős másodlagos kölcsönhatásoknak köszönhetően gyorsan növekszik a kétfogású csavartengely irányában (3. ábra).

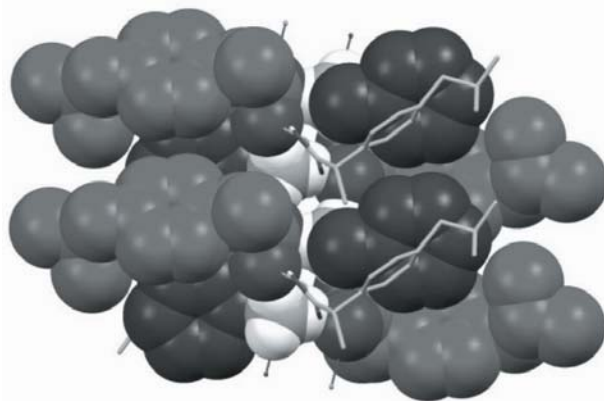


3. Ábra. Az (*S*)-(-)-1-feniletilammónium-*(S)*-(+)-*N*-formilfenil-alaninát só kristálya ($P2_12_12_1$): a kétfogású csavartengely iránya a.) a lap síkjában és b.) arra merőlegesen helyezkedik el.

Az oszlopon belül található az erős másodlagos kötésrendszer, míg kifelé állnak a molekula apoláros részei. Az (*S,S*) konfiguráció esetén az *N*-formilfenilalanin kettőskötésű oxigénje kifelé fordul az oszlop irányából, így lehetőség nyílik az oszlopok között egy gyenge, de jelenléte miatt lényeges C-H...O típusú hidrogénkötés kialakítására, mely elősegíti a kristálynövekedést radiális irányban. Az

(*S,R*) konfiguráció esetén az *N*-formilfenilalanin eltérő térbeli elrendeződése miatt a kettőskötésű oxigén nem fordul kifelé az oszlop irányából, másodlagos kölcsönhatás kialakulásának nincs meg a feltétele, a hidrofób oszlopok elrendeződése nehézkes, a kristálynövekedés radiális irányban gátolt.

Az ibuprofén (2-(4-izobutilfenil)-propionsav) egy nem-steroid gyulladáscsökkentő, fájdalom- és lázcsillapító hatású szer. Királis és akirális additívok hatását vizsgálták⁵ racém ibuprofén szétválasztására szuperkritikus extrakcióval. A (+)-*(R)*-feniletilamminnal történő resolválás során mind a (+)-*(R)*-feniletilamin-(-)-*(R)*-(2-(4-izobutilfenil)-propionát és a (+)-*(R)*-feniletilamin-(+)-*(S)*-(2-(4-izobutilfenil)-propionát hasonló felépítésű kristályt ad ($P2_12_12_1$). A kation és az anion aránya 1:1, a kétfogású csavartengely mentén elhelyezkedő molekulák oszlopokba rendeződnek, melyekben a másodlagos kötőerők rendszere azonos, akár az *R*, akár az *S* ibuprofén alkotja. Amennyiben a királis (+)-*(R)*-feniletilamin helyett a szerkezetileg rokon, de akirális benzilamint alkalmazunk, a keletkező racém termékben (*P*-1) az ibuprofén és a benzilamin sztöchiometriai aránya 2:1, egyaránt a szuperkritikus extrakcióval történő elválasztás eredményeként és az oldószerből növesztett egykristályban is. Az egykristály röntgendiffrakció módszerével sikerült bizonyítani, hogy a nem várt sztöchiometriai arány úgy alakul ki, hogy a keletkező só oszlopához két oldalról még egy-egy semleges ibuprofén kapcsolódik a kristályrácsban (4. ábra). Azaz egy ko-kristályon belül az ibuprofén semleges és ionos formája is megtalálható.



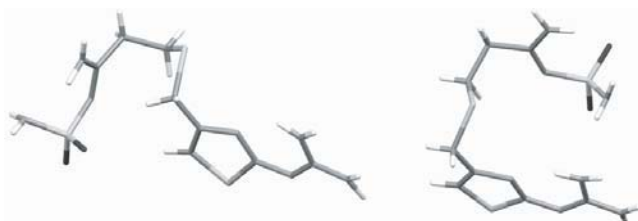
4. Ábra. A benzilamin-(2-(4-izobutilfenil)-propionát) és (2-(4-izobutilfenil)-propionsavból álló kokristály szerkezete. A semleges ibuprofént vonalas rajz mutatja, az anionos formát világosszürke térkitöltős modell ábrázolja.

4. Röntgendiffrakciós szerkezet meghatározás és polimorfia

A polimorfia jelensége és a molekula konformáció szorosan összefüggnek. A kristályban ható erők gyakran elegendően nagyok, hogy flexibilis molekulák intramolekuláris torziós szögeit befolyásolják, amely kiemeli a másodlagos gyenge kölcsönhatások szerepének fontosságát.

A cimetidint felváltó, annál 30-szor hatékonyabb famotidin polimorfia vizsgálatai a szer kifejlesztésétől napjainkig tartanak. A famotidin egy hisztamin H_2 -receptor antagonist, a gyomorsav termelést gátolja. 1981-ben hozta forgalomba

a japán Yamanouchi gyógyszergyár. Generikumát 2001-től gyártja a Richter Gedeon NyRT. A japán kutatók csak a nyitott *transz* konformációjú famotidin szerkezetét írták le. Magyar kutatók pár évvel később előállították és meghatározták a *cisz* forma szerkezetét⁶ (5. ábra) Az, hogy melyik forma kristályosodik, függ többek között a kiindulási koncentrációtól, az oldószertől, a hűtési sebességtől, a nukleációs hőmérséklettől és a beoltástól⁷. A 'B' formában található, alacsonyabb olvadáspontú, hajtű alakú *cisz* konformációjú metastabil termék a kinetikailag kedvezőbb. A nyitott *transz* konformációjú 'A' forma a termodinamikailag stabilabb⁸. Az 'A' formában lévő molekula nagyobb belső energiájú összehasonlítva az izolált monomer alacsonyabb belső energiájával, bár konformációjuk hasonló. A nagyobb belső energiát kompenzálják a kedvezőbb elektrosztatikus és polarizációs kölcsönhatási energiák, a nagyobb intermolekuláris kölcsönhatási energia.

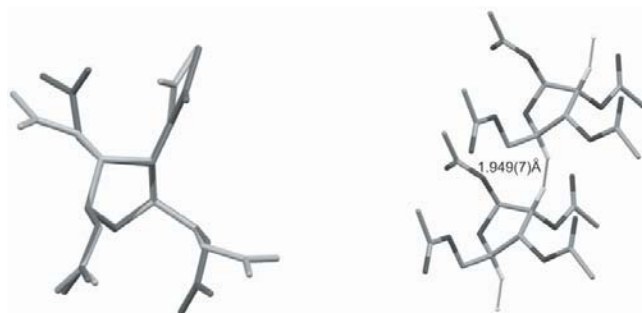


5. Ábra. A famotidin monotróp polimorfija. A famotidin két konformere: 'A' *transz* és 'B' *cisz* forma.

Szerkezeti szempontból érdekes esetek az eltűnő polimorfok, amikor a stabilabb forma megjelenése után a kevésbé stabil módosulat többet nem állítható elő. Ez azért zavaró, mert elveszítjük a kontrollt a megfelelő forma előállításának folyamata felett, sokkal kifinomultabb technikákat kell alkalmazni a megkívánt polimorf előállítására.

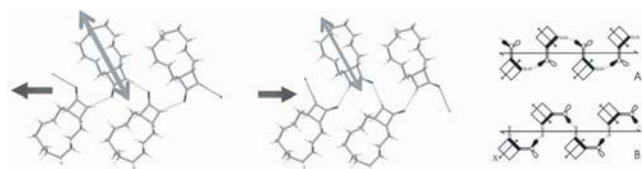
Az 1,2,3,5-tetra-O-acetil- β -D-ribofuranóz molekula esete klasszikus példája az eltűnő polimorfoknak. 1947-ben állították elő először. A rákövetkező években három kontinensen, Európában, Amerikában és Ausztráliában számoltak be arról, hogy ahol feltűnt a stabilabb módosulat, ott átalakult az instabil módosulat a stabilabbá, és többet nem tudták az instabilis formát előállítani (6. ábra). Magyarországon sikerült 1981-ben az instabilis módosulatot újra előállítani⁹. A szobahőmérsékletű röntgendiffrakciós mérés során tűnt fel, hogy rövid, tasztító intermolekuláris kölcsönhatás valószínűsíthető a szerkezetben. Ezért előbb alacsony hőmérsékletű (110K) röntgendiffrakciós mérést, majd 25 K-en neutrondiffrakciós mérést végeztünk a pontos hidrogén atomi pozíciók meghatározására¹⁰. A hűtés során fázisátalakulás nem következett be. Az instabilis formában rövid, 1,949(7) Å-ös hidrogén-hidrogén intermolekuláris távolságot találtunk a gyűrű hidrogének között (6. ábra), mely a stabilis formában nincs jelen. Ez a szerves kristályokban valaha talált legrövidebb intermolekuláris távolság mind a mai napig. A számolt intramolekuláris potenciális energia alapján az instabilis kristálymódosulatban megtalálható stabilabb geometriájú molekula a kisebb molekula térfogatú, mely egy nagyobb sűrűségű kristályrácsban szorosabban illeszkedve kristályosodik. Ennek ellenére mégis ez lesz az instabilis módosulat, a kristályban jelenlévő tasztító intermolekuláris hidrogén-hidrogén kölcsönhatás miatt.

A β -laktám gyűrű számos antibiotikum család központi magjának része (pl. penicillin), a baktériumok sejtfal



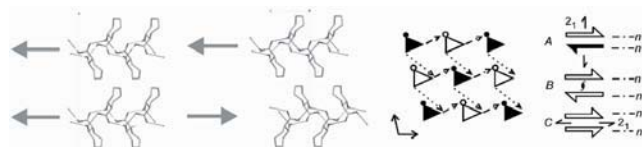
6. Ábra. Konformáció, intermolekuláris távolságok és kölcsönhatások, polimorfia: az 1,2,3,5-tetra-O-acetil- β -D-ribofuranóz módosulatai. A két módosulat konformációja. a.) A: instabil (világos szürke) *monoklin*, $P2_1$; B: stabil (sötét szürke) *rombos*, $P2_12_1$. b.) A tasztító H...H intermolekuláris kölcsönhatás az instabil formában.

bioszintézisének gátlásával hatnak. A *transz*-13-azabicyclo [10.2.0]tetradekán-14-on két polimorfja ismert¹¹ (7. ábra). Mindkét forma ugyanabban a tércsoportban kristályosodik, és cella paramétereik nagyon hasonlóak. Ennek ellenére nem izostrukturálisak, a két formában a hidrogénkötések iránya a homokirális láncokban eltérő. Ennek oka, hogy a molekula egy nem-kristallográfiai kétfogású tengely körül elfordul: a makrociklus konformációja közel azonos marad, azonban a nitrogén és az oxigén kvázi helyet cserél a β -laktám gyűrű átfordulásával, a másodlagos kötések elrendeződése a kétfogású csavartengelyhez képest átalakul. A metanolból kristályosított I-es formában az N-C=O...N' intermolekuláris torziós szög antiperiplanáris, míg az acetontól kristályosított II formában szünperiplanáris.



7. Ábra. A *transz*-13-azabicyclo[10.2.0]tetradekán-14-on két polimorfja: az I forma, a II forma és a kétfajta kristálybeli elrendeződés sematikus ábrázolása. A hidrogénkötések irányát nyíl mutatja.

Dipólus indukálta polimorfjára példa a *transz*-2-hidroxicikloheptánkarboxilsav esete¹². A két formában (8. ábra) a kristályszimmetriák egyformák, azzal a különbséggel az elrendeződésükben, hogy a b és c tengely megcserélődik ($Pna2_1$ és $Pn2_1a$). A cellaparaméterek

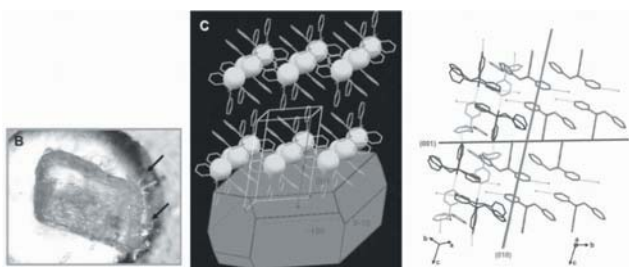


8. Ábra. A *transz*-2-hidroxicikloheptánkarboxilsav két polimorfja: az I forma, a II forma és a heterokirális rétegek lehetséges illeszkedési mintázatainak sematikus ábrázolása.

a mérési hibán belül azonosak. A különbség a szerkezetek között a molekuláris rétegek elrendeződésében van. Mindkét formában az ábrán felül bemutatott rétegben az O-H...O kötés iránya jobbról balra halad. Ehhez képest a következő réteg paralell elrendeződésű a dibutil-éter és n-hexán keverékből kristályosított I forma gyengébb minőségű egykristálya esetén, melynek szerkezetét

nehezebb volt megoldani, és kevésbé finomodott. A bután-2-on és n-hexán keverékből kristályosodott II formában az elsőt követő következő réteg antiparallel elrendeződésű. A dipólusok közvetlenül kioltódnak, a kristály jó minőségű, jól finomodik. Az I forma kristályára is teljesül a dipólus momentumok egyensúlya a teljes rács szintjén. Parallel elrendeződésű domének váltogatják egymást, a domének határán a II formának megfelelő antiparallel elrendeződés alakul ki.

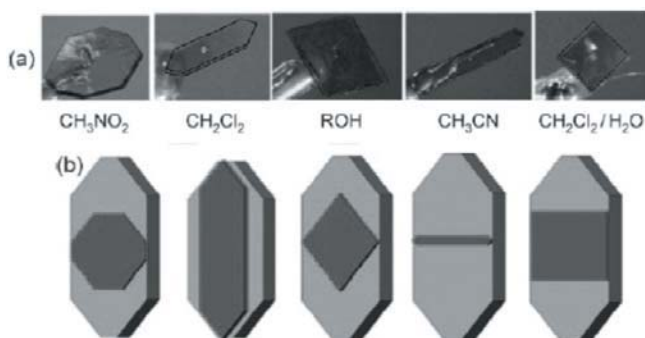
Minden szerkezet meghatározás célja, hogy kapcsolatot találjunk a szerkezet és a fizikai-kémiai tulajdonságok között. Erre jó példa a 4-(1-hidroxi-1,2-difeniletil)piridin sósavas sójának szublimációja¹³. A fűthető tárgyasztalú mikroszkópon a só szublimál, a szublimátum egykristály formájában az anyakristály bizonyos lapjain válik ki (9. ábra). A kiindulási és a szublimációval nyert egykristályokat megvizsgálva megállapítható volt, hogy a hidroklorid só a hő hatására elbomlik, tiszta 4-(1-hidroxi-1,2-difeniletil)piridin keletkezik. A só és a szerves molekula egykristálya parciálisan izostrukturális. A szublimátum az anyakristály azon lapjaira válik ki, ahol ez a részleges izostrukturális megvalósul, a kristályokban a piridinszármazék szerkezete a leginkább hasonló.



9. Ábra. A 4-(1-hidroxi-1,2-difeniletil)piridin HCl sójának szublimációja. A szublimátum, mely csak a szerves vegyületet tartalmazza, az anyakristály azon lapjaira válik ki, melyekkel parciális izostrukturális mutat.

5. Röntgendiffrakciós szerkezet meghatározás és kristály morfológia

A megkívánt gyógyszerhatóanyag birtokában a röntgendiffrakció a formuláláshoz is nyújthat segítséget a megfelelő morfológiájú kristály előállítására. A krisztallográfia I. alaptörvénye a lapszögek állandóságának törvénye (1669 Steno). Prof Alessia Bacchi és kutatócsoportja¹⁴ egy Ru komplex példáján mutatja be (10. ábra), hogy miként változik egy kristály habitusa



10. Ábra. Egy Ru komplex vegyület kristályai¹⁴, melyek szerkezete azonos, megjelenésük különböző a kristályosító oldószer függvényében.

annak függvényében, hogy milyen oldószerből kristályosították. A sematikus ábra világos szürke kristálya azt a kristályformát ábrázolja, amely akkor keletkezne, ha a kristály egyes lapjainak növekedési sebessége azonos lenne. A bennük feltüntetett sötétszürke kristály az egyes oldószerekből növekvő kristály alakját jelzi, mely megfelel a felettük lefényképezett kristályok formájának. A különböző oldószerek különböző mértékben befolyásolták az egyes lapok növekedési sebességét. A fényképeken látható kristályok mind kémiai, mind kristályszerkezet szempontjából azonosak, bár megjelenésük különböző.

6. Röntgendiffrakciós szerkezet meghatározás és az adatbankok

A röntgendiffrakció száz éve alatt meghatározott szerkezeteket adatbankokban gyűjtötték össze, az anyagi minőség szerint csoportosítva. A fémek és ötvözetek a CRYSTMET® adatbankban (www.tothcanada.com), a szeretlen szerkezeteket a karlsruhei Szeretlen Szerkezeti Adatbankban (www.fiz-informationsdienste.de/en/DB/icsd/), a szerves és fémorganikus vegyületek, komplexek a Cambridge-i Krisztallográfiai Adatbázisban (CSD) (www.ccdc.cam.ac.uk), a 24 egységnél nagyobb polipeptideket és poliszacharinok tartalmazó vegyületek a Protein Adatbankban (PDB) (www.rcsb.org/pdb/) az oligonukleotidok a Nukleinsav Adatbankban (NADB) (ndbserver.rutgers.edu/) található. A Cambridge-i Krisztallográfiai Adatbázis¹⁵ tartalmaz minden legalább egy szénatomot tartalmazó szerves és fémorganikus vegyületet, melynek szerkezetét röntgen vagy neutron diffrakcióval, egykristály vagy pordiffrakcióval határozták meg. Az adatbank ma már több mint félmillió szerkezetet tartalmaz. A Cambridge-i Szerkezeti Adatbázis leggyakoribb felhasználási területei:

- Főbb molekuláris dimenziók, fém koordinációs szféra geometriájának meghatározása.
- Modell koordináták szolgáltatása szerkezet validáláshoz, szerkezet finomításban használt megkötésekhez nyújt adatokat.
- Konformációs analízis és háromdimenziós farmakofor elrendeződések meghatározása.
- Hidrogén kötések és más nem-kötő kölcsönhatások előfordulásának, geometriájának vizsgálata.
- Szerkezeti korreláció és reakcióút analízis.
- Kristályépítészet (crystal engineering) és kristályszerkezet jóslás.
- Molekula modellezés és racionális gyógyszerhatóanyag tervezés, protein-ligandum kölcsönhatások tanulmányozása.

7. Összefoglalás

A kutatási irányok súlypontjai a röntgendiffrakció 100 éve alatt változtak. Az első hősi időkben az egyszerű sók és ásványok szerkezetének felderítése zajlott. A XX. század hatvanas éveit a kovalens molekulák szerkezeti megismerésének időszaka. A kismolekulás szerkezetkutatás egyik legfontosabb területe manapság az intermolekuláris kölcsönhatások megismerése. Jean-Marie Lehn mondta ki, aki szupramolekuláris kémiai kutatásaiért 1988-ban kapott

Nobel-díjat, hogy az anyag tulajdonsága egyrészt függ az alkotóelemek természetétől, másrészt a közöttük lévő kölcsönhatásoktól. Így a másodlagos kölcsönhatásoknak szerepük van a gyógyszerkémia területén a molekuláris felismerési folyamatokban és a biológiai makromolekulák aktivitásában. Láthattuk, hogy minden bemutatott példa szerkezetben mennyire meghatározó szerepe volt az intermolekuláris kölcsönhatásoknak.

Összefoglalva a röntgendiffrakció szerepét a gyógyszerkutatásban a bemutatott eseteken látható, hogy a molekula- és kristályszerkezet ismerete milyen sokrétű információval járul hozzá az új gyógyszerek kifejlesztéséhez, gyártásához. A röntgendiffrakció módszerével információt kaphatunk az anyag összetételéről, konformációjáról, kiralitásáról, izostrukturalitásáról vagy polimorfijáról, a másodlagos kölcsönhatások rendszeréről, az anyag szerkezete és fizikai-kémiai tulajdonságainak kapcsolatáról, a kristály morfológiájáról, s mindezek az ismeretek összegyűjtve teszik lehetővé a tudatos kristály tervezést (crystal engineering), s az egyre megbízhatóbbá váló kristályszerkezet „jóslást”. A röntgendiffrakció széles körben alkalmazható, mint a gyógyszerkutatás műszeres módszere, de meghatározó módszer a mineralógiában, metallográfiában, kémiában, szilárdtest fizikában, molekuláris biológiában, anyagtudományokban stb. egyaránt.

„Egy eredeti kreatív vívmány szinte sohasem hirtelen megvilágosodás eredménye, nincs fejünkben kigyulladó villanykörte, hanem hosszú évek kemény munkájának gyümölcse.”¹⁶ Laue, Friedrich és Knipping előtt sokan sokféle anyagot kitétek röntgen sugárzásnak, de mindenki figyelme a direkt sugárzás abszorpciójára korlátozódott. A kristály rácsszerkezete elméletének ismerete hozta az elképzelést, hogy megvizsgálják a direkt sugár környezetét, a gyenge diffraktált sugárzást. Ez a különbség a tudás vezérelt kutatás és a véletlen felfedezés között¹⁷.

A szerzők a cikket a legidősebb élő magyar krisztallográfusnak dedikálják. Sasvári Kálmán (1912-) születése alig két

hónappal előzte meg az első röntgendiffrakciós kísérlet elvégzését. Együttal tisztelettel emlékezünk Simon Kálmánra (1946-2012), aki a Chinoín Zrt gyárban megteremtette a röntgendiffrakciós szerkezetkutatást.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki az OTKA (100801) támogatásáért.

Hivatkozások

- Schwarzenbach, D.: *Acta Cryst.* **2012**, *A68*, 57-67.
- Schmahl, W.W.; Steurer, W.: *Acta Cryst.* **2012**, *A68*, 1-2.
- Kitaigorodskii, A.I.: *Organic Chemical Crystallography*. Consultant Bureau, New York. **1961**.
- Bereczki, L.; Pálovics, E.; Bombicz, P.; Pokol, G.; Fogassy, E.; Marthi, K.: *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 260–264.
- Molnár, P.; Bombicz, P.; Varga, C.; Bereczki, L.; Székely, E.; Pokol, G.; Fogassy, E.; Simándi, B.: *Chirality* **2009**, *21*, 628-636.
- Hegedűs, B.; Bod, P.; Harsányi, K.; Péter, I.; Kálmán, A.; Párkányi, L.: *J. Pharm. Biomed.*, **1989**, *7*, 563-569.
- Lu, J.; Wang, X.J.; Yang, X.; Ching, C.B.: *Crystal Growth and Design*, **2007**, *7*, 1590-1598.
- Ferenczy, G.G.; Párkányi, L.; Ángyán, J.G.; Kálmán, A.; Hegedűs, B.: *J. Mol. Struct.: THEOCHEM*, **2003**, *503*, 73-79.
- Czugler, M.; Kálmán, A.; Kovács, J.; Pintér, I.: *Acta Cryst.* **1981**, *B37*, 172-177.
- Bombicz, P.; Czugler, M.; Tellgren, R.; Kálmán, A.: *Angewandte Chemie* **2003**, *17*, 1957-1960.
- Fábián, L.; Kálmán, A.; Argay, G.; Bernáth G.; Gyarmati, Z.C.: *Chem. Commun.* **2004**, 2114-2115.
- Kálmán, A.; Fábián, L.; Argay, G.; Bernáth G.; Gyarmati, Z.C.: *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 34-35.
- Báthori, N.B.; Bombicz, P.; Bourne, S.A.; Venter, G.: *New Journal of Chemistry*, **2010**, *34*, 405-413 (címlap).
- Bacchi, A.; Cantoni, G.; Cremona, D.; Pelagatti, P.; Ugozzoli, F.: *Angewandte Chemie* **2011**, *50*, 3198-3201.
- Allen, F.H.: *Acta Cryst.* **2002**, *B58*, 380-388.
- Csikszentmihályi Mihály: *Kreativitás. A flow és a felfedezés avagy a találekönység pszichológiája*. Akadémiai Kiadó. **2008**.
- Schmahl, W.W.; Steurer, W.: *Acta Cryst.*, **2012**, *A68*, 1-2.

The 100 years old X-ray diffraction in the pharmaceutical sciences

Experiencing classical crystallography for hundreds of years, the birth of modern crystallography took place 100 years ago, when Max von Laue, Walter Friedrich and Paul Knipping carried out the experiment that showed that X-rays were diffracted by crystals. Knowledge of the structure of matter at atomic resolution has revolutionary consequences for all branches of natural sciences: physics, chemistry, biology, earth sciences and material science¹. In order to understand the physical-chemical properties, the macroscopic characteristics of matter we must know its structure. 100 years after the Laue experience crystallography is still at

the cutting edge of science². Declared by the United Nations 2014 will officially be the International Year of Crystallography „IYCr2014”.

After a reminiscence of the centenary of the discovery of X-ray diffraction the paper presents applications of X-ray diffraction in the pharmaceutical sciences primarily on the role of chirality and the appearance of polymorphism. It includes structure - property relationship, whole and partial isostructurality, intermolecular interactions, cocrystal formation, crystal engineering and the affect of crystal habit in the knowledge of the structure.