

## エチドロン酸Ⅱナトリウムにおける構造解析 Structure Analysis of Etidronate Disodium

島倉 宏典<sup>a</sup>, 橋塚 貴彦<sup>b</sup>, 尾原 幸治<sup>c</sup>  
Hironori Shimakura<sup>a</sup>, Takahiko Hashidsuka<sup>b</sup>, Koji Ohara<sup>c</sup>

<sup>a</sup> 新潟薬科大学, <sup>b</sup> 大日本住友製薬(株), <sup>c</sup> (公財)高輝度光科学研究センター  
<sup>a</sup>NUPALS, <sup>b</sup> Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd., <sup>c</sup> JASRI

より安定なアモルファス製剤の開発を目的として、凍結乾燥法で作成したアモルファス状態のエチドロン酸Ⅱナトリウムの構造について、BL04B2のX線全散乱を用いて解析した。測定試料は石英キャピラリに封入し透過法で測定を行い、良質な全散乱データを取得した。本測定により、作成された試料が高波数領域に至るまでブラックピークのないアモルファスであること、全散乱データをフーリエ変換し得られたPDF解析より、2.0–3.0Åの領域と3.0–4.0Åの領域に分子間相互作用に相当する2つのピークが存在することが分かった。これらはそれぞれ、Mol-Na、Na-Na間相互作用と対応しており、水和物がアモルファス化することでMol-Na間の相互作用距離が長くなっている可能性が示唆された。

**キーワード：** アモルファス製剤、X線全散乱測定、PDF解析

### 背景と研究目的：

医薬品開発において難溶性薬剤の溶解度を向上させるため、結晶状態より一般に溶解度が高いアモルファス状態へ転移させる手法は広く利用されている。このような製剤のアモルファス化は、構造的に準安定状態であり、結晶状態に戻ろうとするため、医薬品としての利用にはアモルファス分子構造の安定性を支配している因子を解明する必要がある。しかし、アモルファスの分子配列には不規則性が含まれ、さらに分子種ごとに分子状態が異なるため、アモルファス固体の調整法や生成法を一義的に定義することは困難である。これらの状況において、分子性アモルファス製剤の分子構造の特徴の可視化は重要となる。

本研究はエチドロン酸Ⅱナトリウム(ダイドロネル)のアモルファス分子構造の構造研究である。医薬品はその構造の安定性や結晶転移による薬効の変化予防などの観点から安定な結晶形を原薬として使用してきた。しかし、エチドロン酸Ⅱナトリウムは現在アモルファス状態を原薬として販売されており、生成手法によりアモルファスの安定性や分子形に差が生じている。これらアモルファス製剤の安定性を評価する方法はその形状の医薬品の増加に伴い、従来の熱分析や長期安定性試験だけでなく、分子運動性に基づく物理的安定性の予測などが行われており[1]、多くのアモルファス製剤にも利用可能な手法の確立が求められている。本研究では実際に得られたアモルファス製剤の構造を直接測定し、実験結果に合う構造モデルの構築を行うため、湿度や温度などの外部の因子による結晶化可能性の予測を行う基礎的な知見になる。

### 実験：

測定粉末試料は、凍結乾燥法を利用することで作成し、作成した試料は外形2 mmの石英製キャピラリに詰め、トールシールによる封止を行った。

X線全散乱測定は高エネルギーX線ビームラインBL04B2を使用して実施し、測定にはSi湾曲分光結晶の220反射により61.4 keVに単色化された入射X線を使用した。試料からの散乱X線は、約8°おきに配置されたCdTeおよびGe検出器で測定し、測定した角度は0.3–48°であり、測定波数領域は0.2–25.5 Å<sup>-1</sup>であった。試料チャンバー内を真空排気することにより試料周りにおける空気散乱によるバックグラウンドを抑えた。高波数領域における十分な散乱強度を確保することを目的とし、入射X線の形状は2.0 (height) × 2.0 (width) mm<sup>2</sup>程度とした。測定は全て室温で行い、石英製キャピラリからのバックグラウンドを取り除くため、空のキャピラリの測定も行った。測定時間は十分な統計を得るために1試料あたり2時間40分とした。

**結果および考察：**

Figure1 はエチドロン酸(II) ナトリウム結晶、四水和物結晶の構造因子  $S(Q)$  を示したものである。無水物結晶、四水和物結晶はともに  $0.6\text{\AA}^{-1}$  付近に鋭い第一ピークが存在し、無水物ではその後  $1.0\text{\AA}^{-1}$  以降の領域にブラッグピークが観測された一方で、四水和物では  $0.8\text{\AA}^{-1}$  程度の位置にブラッグピークが観測された。

Figure2 に Barnett ら[2]によって報告された四水和物結晶構造をもとに作成した 3次元モデルを示す。水分子はエチドロン酸分子間に収容され、分子間の A 軸方向の距離が長くなっている様子がわかる。Figure3 にこの結晶構造から Avogadro を用いて計算した [3]X線回折と測定した X線回折との比較を示す。ピークの位置、強度ともに非常に類似しており、測定された結晶構造は Barnett らの構造モデルであることがわかる。無水物結晶では、分子間の水分子がなくなることにより、図の横方向に分子間距離が近接することで対応するブラッグピークの観測位置が高波数側にシフトされることが予想されるため、四水和物で観測された  $0.8\text{\AA}^{-1}$  のピークが高波数側にシフトしたと考えられる。

Figure4 に今回測定したエチドロン酸 II ナトリウム水和物のアモルファス試料の  $S(Q)$  を、Figure5 に  $S(Q)$  から計算した二体分布関数  $g(r)$  を示す。アモルファス試料からの散乱にはブラッグピークが観測されおらず、原子配列がランダムになった構造をとっていることが分かった。また、全二体分布関数では  $1.0\text{--}2.0\text{\AA}$  の位置に鋭いピークが観測され、 $2.0\text{--}3.0$ 、 $3.0\text{--}4.0\text{\AA}$  の領域に第二、第三ピークが観測された。

Figure6 にエチドロン酸 II ナトリウム無水物をランダムに配置した Molecular Dynamics (MD) 計算から得られた分子間の部分二体分布関数を示す。シミュレーションは GROMACS[4]を用いて

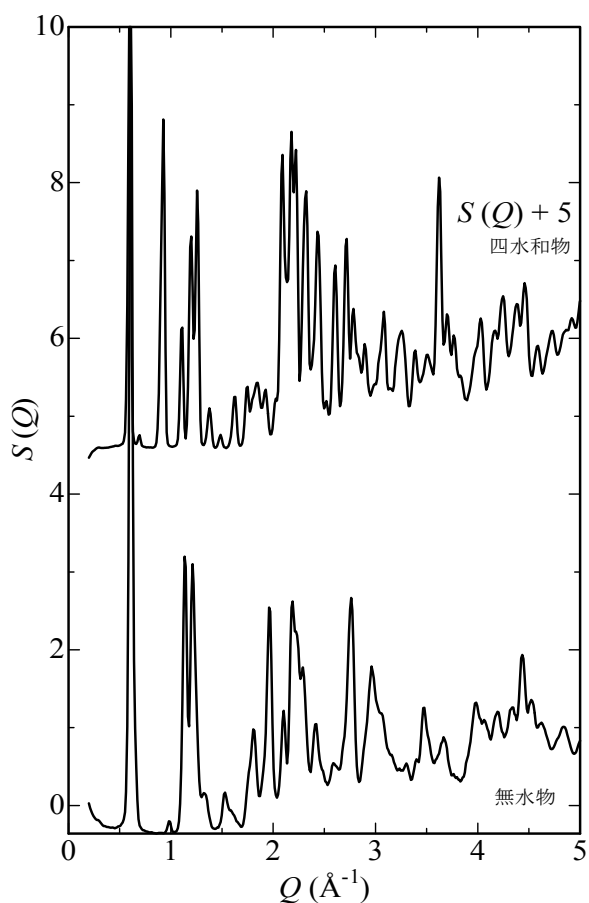


Fig.1 エチドロン酸ナトリウム無水物、四水和物結晶の構造因子  $S(Q)$ 。

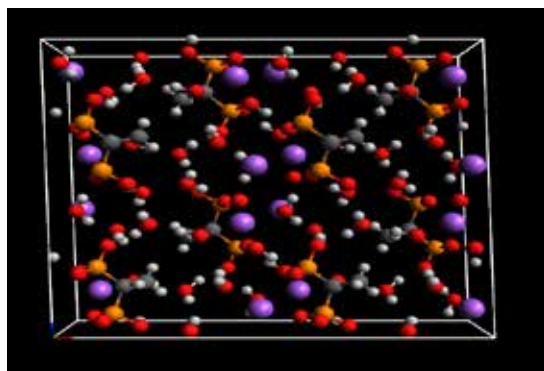


Fig.2 Barnett らによって報告された結晶構造の 3次元モデル[2]、白：H、灰：C、赤：O、紫：Na、橙：P

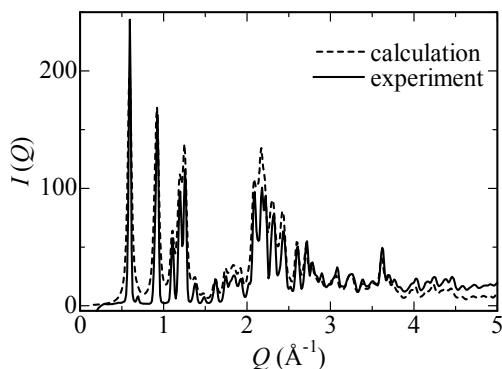


Fig.3 Barnett ら[2]によって報告された四水和物の結晶構造から計算した  $I(Q)$  と測定した結晶構造

行い、シミュレーションボックス内にエチドロン酸分子 100 個と Na 200 個を配置した。また、計算条件は NPT で行い、シミュレーション時間中の平均的な密度は  $1.7 \text{ (g/mm}^3\text{)}$  であった。

分子間相互作用は  $2.0 \text{ \AA}$  以上の距離から始まっており、エチドロン酸分子(Mol)-Na 間距離は  $2.0\text{--}4.0 \text{ \AA}$  程度の位置に 3 つのピークが観測され、Na-Na 間距離は  $3.5 \text{ \AA}$  程度の位置に第一ピークが観測された。MD により構築された構造モデルでは、Na は近接する分子の酸素の周辺に位置しており、その最近接距離は  $2.4 \text{ \AA}$  程度であった。また、Barnett らによる水和物の結晶構造においても最近接 O-Na 間距離は  $2.4 \text{ \AA}$  程度であった。

一方で、今回測定した水和物のアモルファスでは  $2.6 \text{ \AA}$  にピークを持っており、O-Na 間距離が水和物のアモルファス構造では若干長くなることが示唆された。

#### 今後の課題：

本課題の実施により、広い波数領域にわたって良好な S/N 比の構造因子を得ることに成功した。さらに全二体分布関数と MD 計算の結果から、エチドロン酸 II ナトリウムのアモルファス構造において近距離の領域に Na との相互作用が観測された。今後、実験結果に合う全構造を構築し、アモルファス化したときの分子間相互作用の特徴および、試料中に含まれる水が O-Na 間距離に与える影響について探求を行う。

#### 参考文献：

- [1] E. Yonemochi, *Cryobiology and Cryotechnology*, **51** (2005) 25
- [2] B. L. Barnett, L. C. Strickland, *Acta Crystallographica, Section 35* (1979) 1212
- [3] M. D. Hanwell et al., *Journal of Cheminformatics* **4** (2012) 17
- [4] D. Van Der Spoel, *Journal of Computational Chemistry*, **26** (2005) 1701

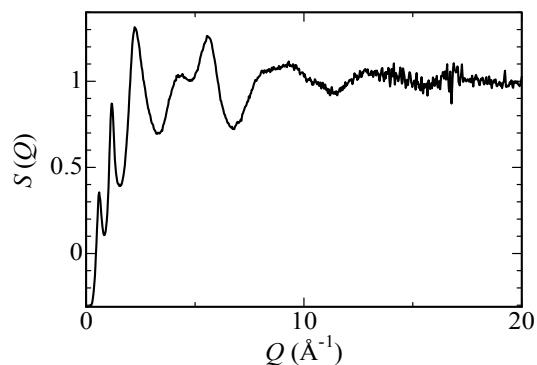


Fig. 4 今回測定したアモルファス試料の構造因子

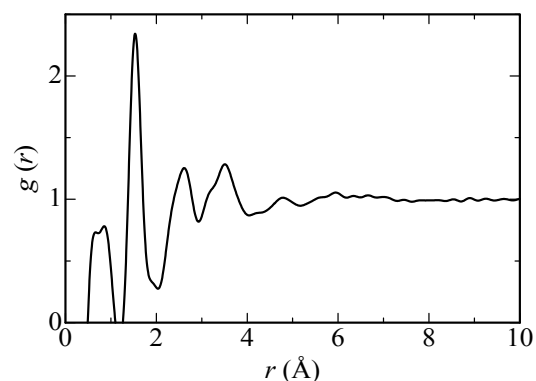


Fig. 5 構造因子のフーリエ変換により得られた二体分布関数  $g(r)$

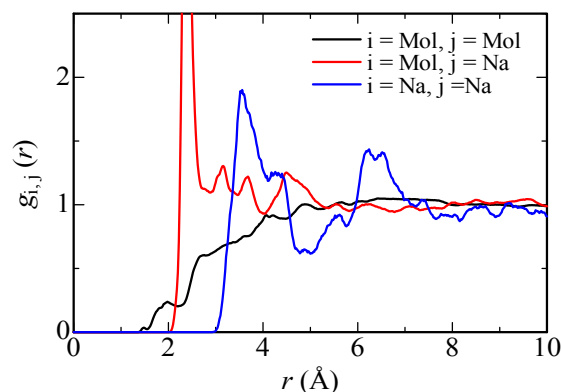


Fig. 6 エチドロン酸 II ナトリウムの MD 計算により得られた部分二体分布関数