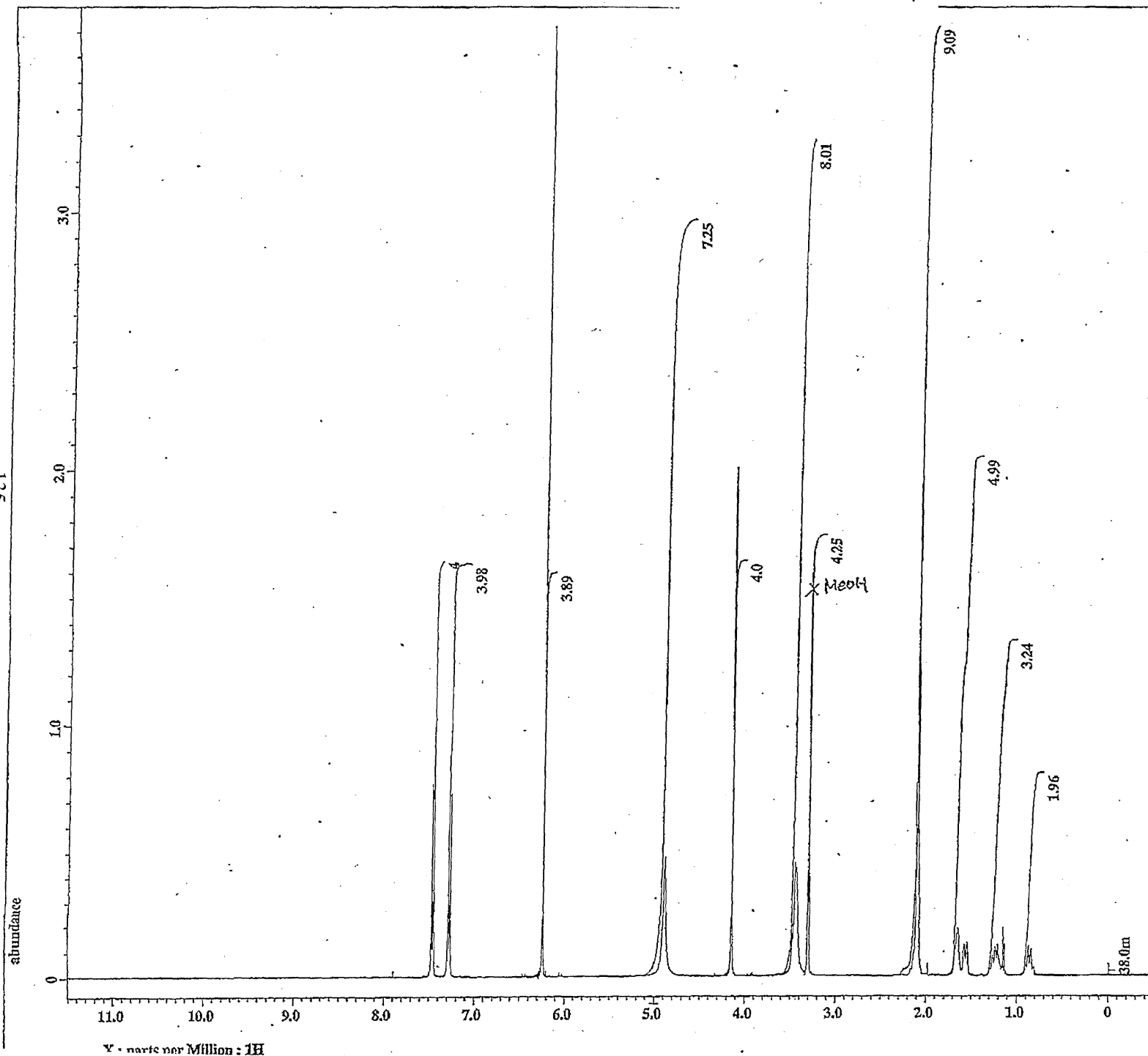


チャート3 核磁気共鳴スペクトル測定チャート (MeOH-D4)

- 135 -



----- PROCESSING PARAMETERS -----
 dc_balance : 0 : FALSE
 secp : 0.2[Hz] : 0.0[s]
 trapezoid3 : 0[%] : 80[%] : 100[%]
 zerofill : 1
 fft : 1 : TRUE : TRUE
 machinephase
 ppm
 Derived from: 140310 D4 MeOH-1.jdz

P092 MeOH-D4

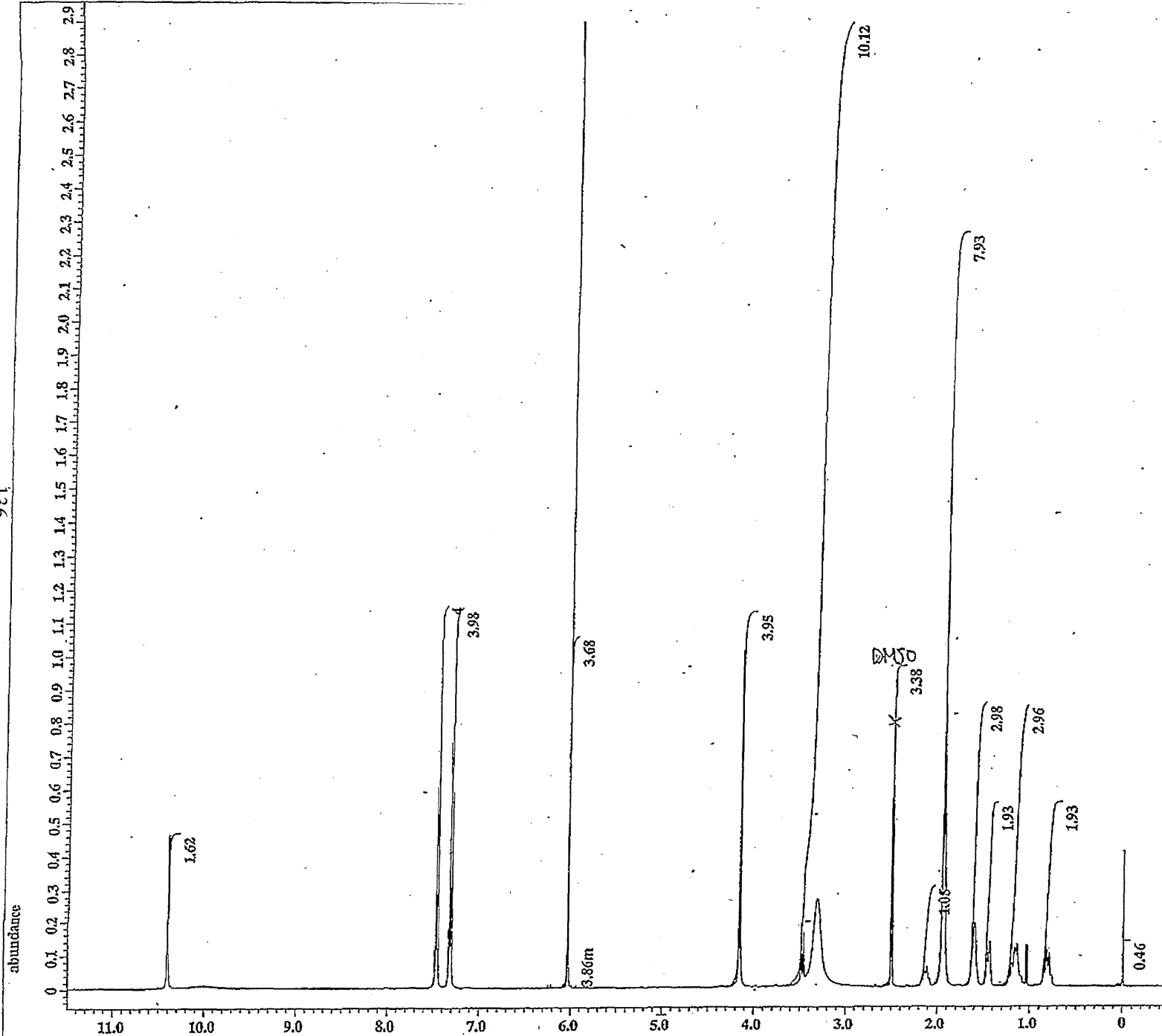
Filename = 140310 D4 MeOH-3.jdz
 Author = delta
 Experiment = single_pulse.ex2
 Sample_id = S#628680
 Solvent = METHANOL-D3
 Creation_time = 10-MAR-2014 16:47:43
 Revision_time = 13-MAR-2014 17:02:35
 Current_time = 13-MAR-2014 17:02:52

Comment = single_pulse
 Data_format = 1D COMPLEX
 Dim_size = 13107
 Dim_title = 1H
 Dim_units = [ppm]
 Dimensions = X
 Site = EOX 400P
 Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_strength = 9.389766[T] (400[MHz])
 X_acq_duration = 2.18365952[s]
 X_domain = 1H
 X_freq = 399.78219838[MHz]
 X_offset = 5[ppm]
 X_points = 16384
 X_prescans = 1
 X_resolution = 0.45794685[Hz]
 X_sweep = 7.5030012[kHz]
 Ixx_domain = 1H
 Ixx_freq = 399.78219838[MHz]
 Ixx_offset = 5[ppm]
 Tri_domain = 1H
 Tri_freq = 399.78219838[MHz]
 Tri_offset = 5[ppm]
 Clipped = FALSE
 Mod_return = 1
 Scans = 16
 Total_scans = 16

X_90_width = 12.6[us]
 X_acq_time = 2.18365952[s]
 X_angle = 45[deg]
 X_atn = 3[dB]
 X_pulse = 6.3[us]
 Ixx_mode = Off
 Tri_mode = Off
 Dante_preset = FALSE
 Initial_wait = 1[s]
 Recvr_gain = 38
 Relaxation_delay = 5[s]
 Repetition_time = 7.18365952[s]
 Temp_gat = 20.2[degC]

Y - parts per Million : 1H



----- PROCESSING PARAMETERS -----
 dc_balance : 0 : FALSE
 secp : 0.2 [Hz] : 0.0 [s]
 trapezoid3 : 0 [%] : 80 [%] : 100 [%]
 zerofill : 1
 fft : 1 : TRUE : TRUE
 machinephase :
 ppm
 Derived from: P092 DMSO d6-1.jdf

P092 DMSO-D6

Filename = P092 DMSO d6-3.jdf
 Author = delta
 Experiment = single_pulse.ex2
 Sample_id = S#568925
 Solvent = DMSO-D6
 Creation_time = 7-MAR-2014 15:08:03
 Revision_time = 13-MAR-2014 16:57:55
 Current_time = 13-MAR-2014 16:58:36

Comment = single_pulse
 Data_format = 1D COMPLEX
 Dim_size = 13107
 Dim_title = 1H
 Dim_units = [ppm]
 Dimensions = X
 Site = ECX 400P
 Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_strength = 9.389766 [T] (400 [MHz])
 X_acq_duration = 2.18365952 [s]
 X_domain = 1H
 X_freq = 399.78219838 [MHz]
 X_offset = 5 [ppm]
 X_points = 16384
 X_prescans = 1
 X_resolution = 0.45794685 [Hz]
 X_sweep = 7.5030012 [kHz]
 Irr_domain = 1H
 Irr_freq = 399.78219838 [MHz]
 Irr_offset = 5 [ppm]
 Tri_domain = 1H
 Tri_freq = 399.78219838 [MHz]
 Tri_offset = 5 [ppm]
 Clipped = FALSE
 Mod_return = 1
 Scans = 16
 Total_scans = 16

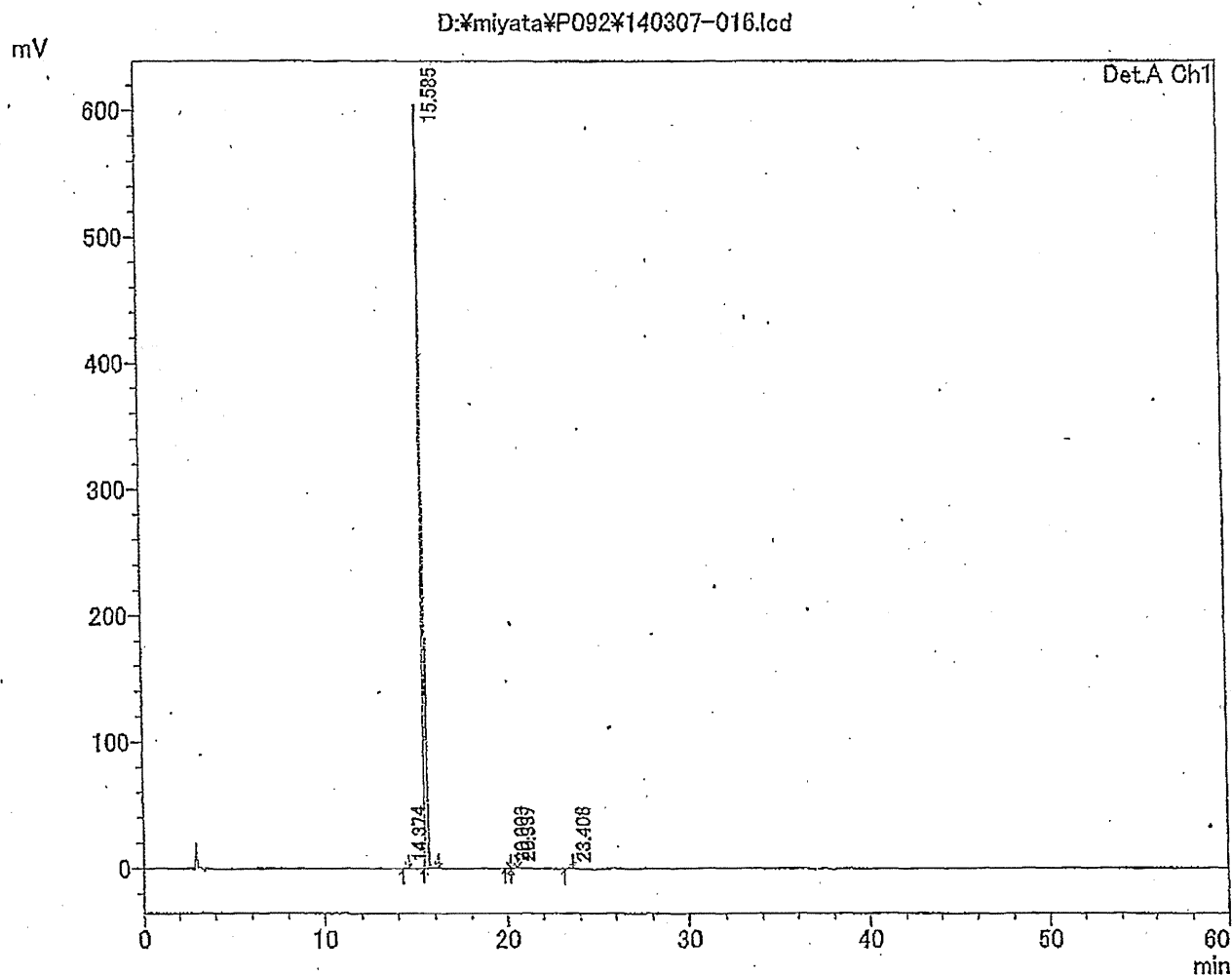
X_90_width = 12.6 [us]
 X_acq_time = 2.18365952 [s]
 X_angle = 45 [deg]
 X_atn = 3 [dB]
 X_pulse = 6.3 [us]
 Irr_mode = Off
 Tri_mode = Off
 Dante_presat = FALSE
 Initial_wait = 1 [s]
 Recvr_gain = 38
 Relaxation_delay = 5 [s]
 Repetition_time = 7.18365952 [s]
 Temp_get = 19.8 [dC]

チャート5 HPLC測定チャート (n=1)

==== Shimadzu LCsolution 分析レポート ====

分析者 : System Administrator
 サンプル名 : P092 n=1
 サンプルID :
 バイアル番号 : 86
 注入量 : 5 uL
 データファイル : 140307-016.lcd
 メソッドファイル : P092.lcm
 バッチファイル : P092.lcb
 レポートファイル : クロマトピークレポート(縦並びDetA-Ch1_Ch2).lcr
 分析日時 : 2014/03/07 23:31:00
 解析日時 : 2014/03/13 15:35:01

<クロマトグラム>



<ピークレポート>

検出器A Ch1 254nm

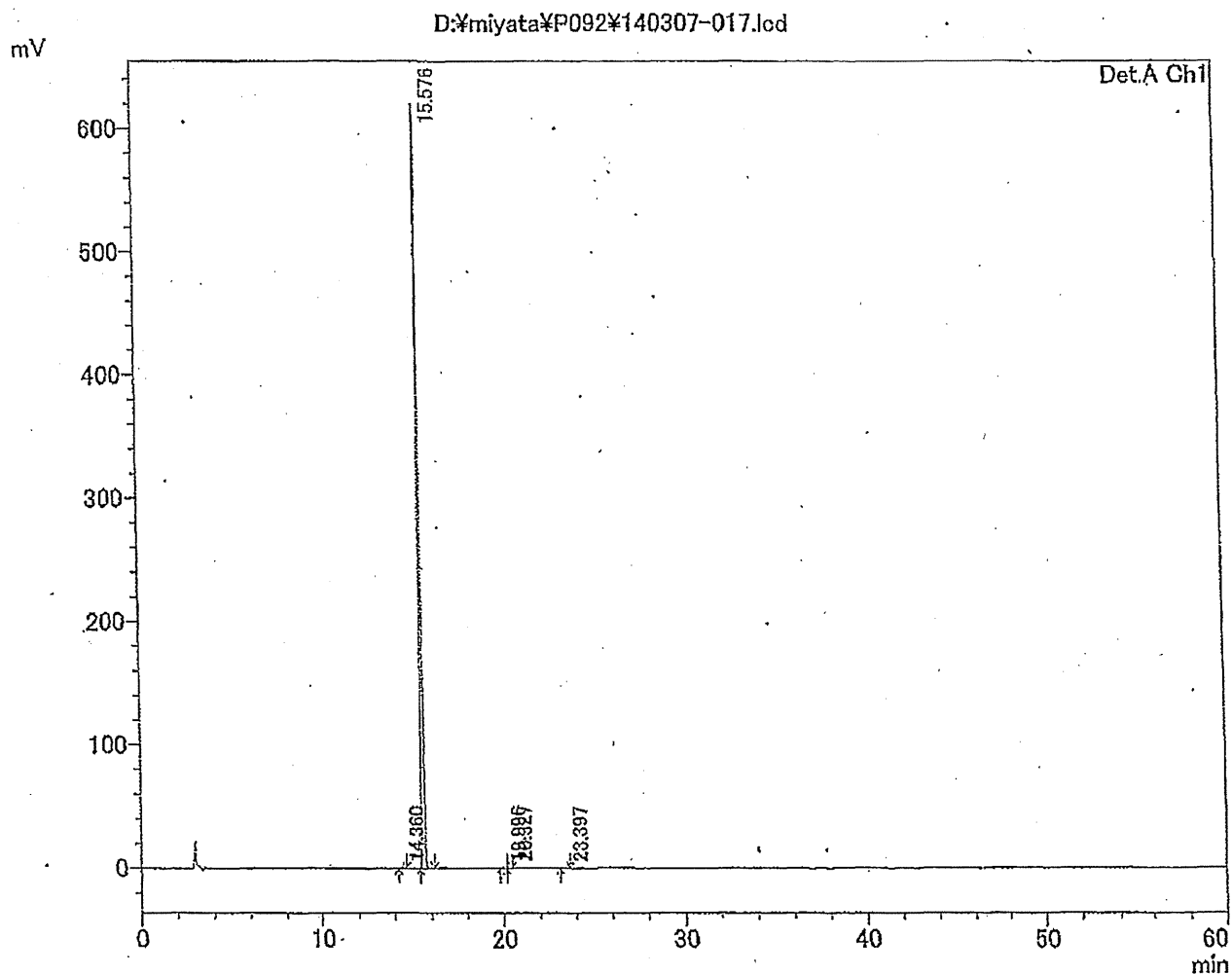
ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	高さ%	マーク
1	14.374	3633	555	0.097	0.094	← Imp. 1
2	15.585	3723403	587768	99.614	99.660	← P092
3	20.003	1748	249	0.047	0.042	← Imp. 2
4	20.337	6424	897	0.172	0.152	← Imp. 3
5	23.408	2617	301	0.070	0.051	← Imp. 4
合計		3737826	589770	100.000	100.000	

チャート 6 HPLC測定チャート (n=2)

==== Shimadzu LCsolution 分析レポート ====

分析者 : System Administrator
 サンプル名 : P092 n=2
 サンプルID :
 バイアル番号 : 87
 注入量 : 5 uL
 データファイル : 140307-017.lcd
 メソッドファイル : P092.lcm
 パッチファイル : P092.lcb
 レポートファイル : クロマトピークレポート(縦並びDetA-Ch1_Ch2).lcr
 分析日時 : 2014/03/08 0:31:35
 解析日時 : 2014/03/13 15:42:58

<クロマトグラム>



<ピークレポート>

検出器A Ch1 254nm

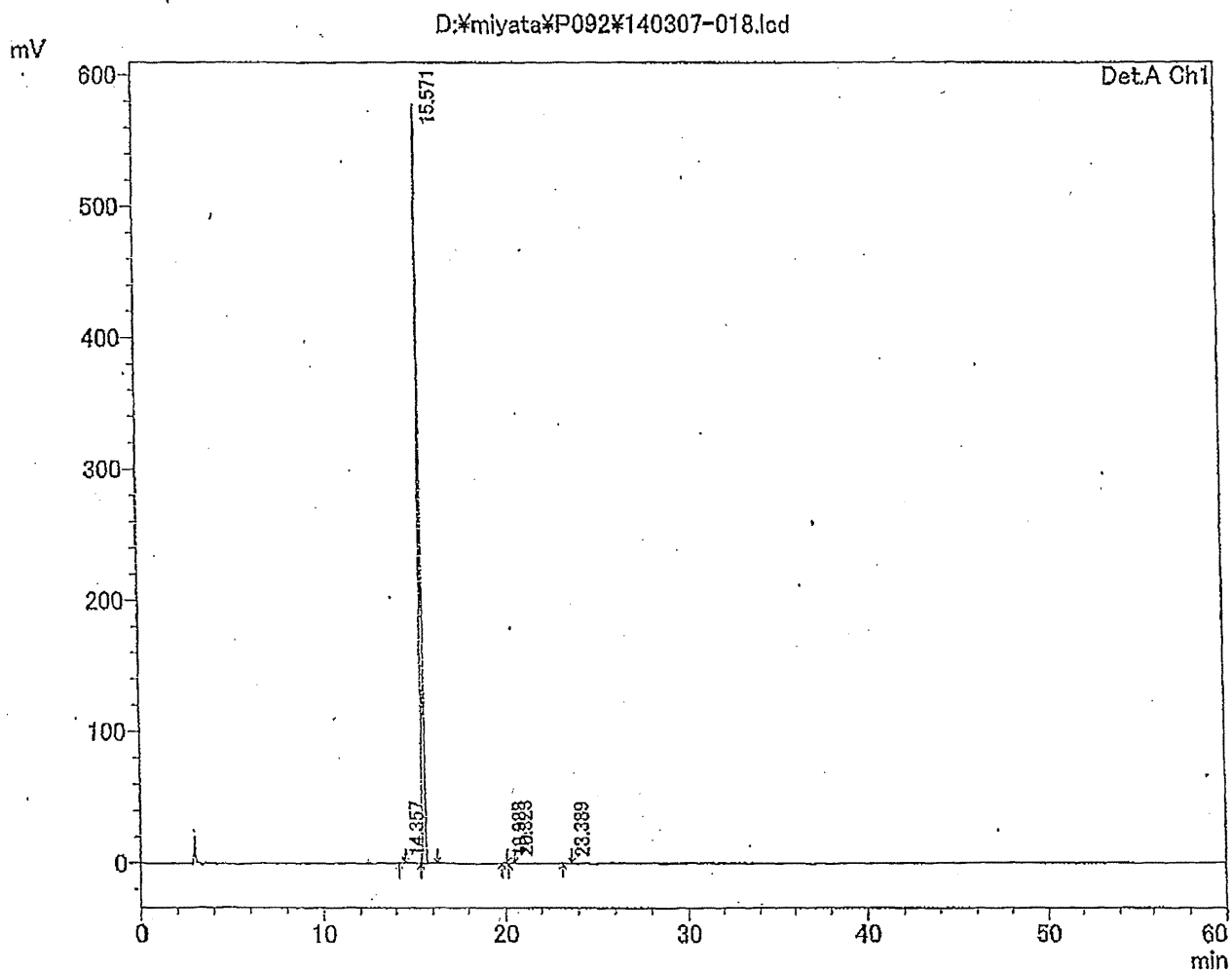
ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	高さ%	マーク
1	14.360	3948	572	0.102	0.097	← Imp. 1
2	15.576	3847435	588031	99.600	99.644	← P092
3	19.996	2196	274	0.057	0.046	← Imp. 2
4	20.327	6324	924	0.164	0.157	← Imp. 3
5	23.397	3002	329	0.078	0.056	← Imp. 4
合計		3862904	590130	100.000	100.000	

チャート7 HPLC測定チャート (n=3)

==== Shimadzu LCsolution 分析レポート ====

分析者 : System Administrator
 サンプル名 : P092 n=3
 サンプルID :
 バイアル番号 : 88
 注入量 : 5 uL
 データファイル : 140307-018.lcd
 メソッドファイル : P092.lcm
 バッチファイル : P092.lcb
 レポートファイル : クロマトピークレポート(縦並びDetA-Ch1_Ch2).lcr
 分析日時 : 2014/03/08 1:32:12
 解析日時 : 2014/03/13 15:44:43

<クロマトグラム>



<ピークレポート>

検出器A Ch1 254nm

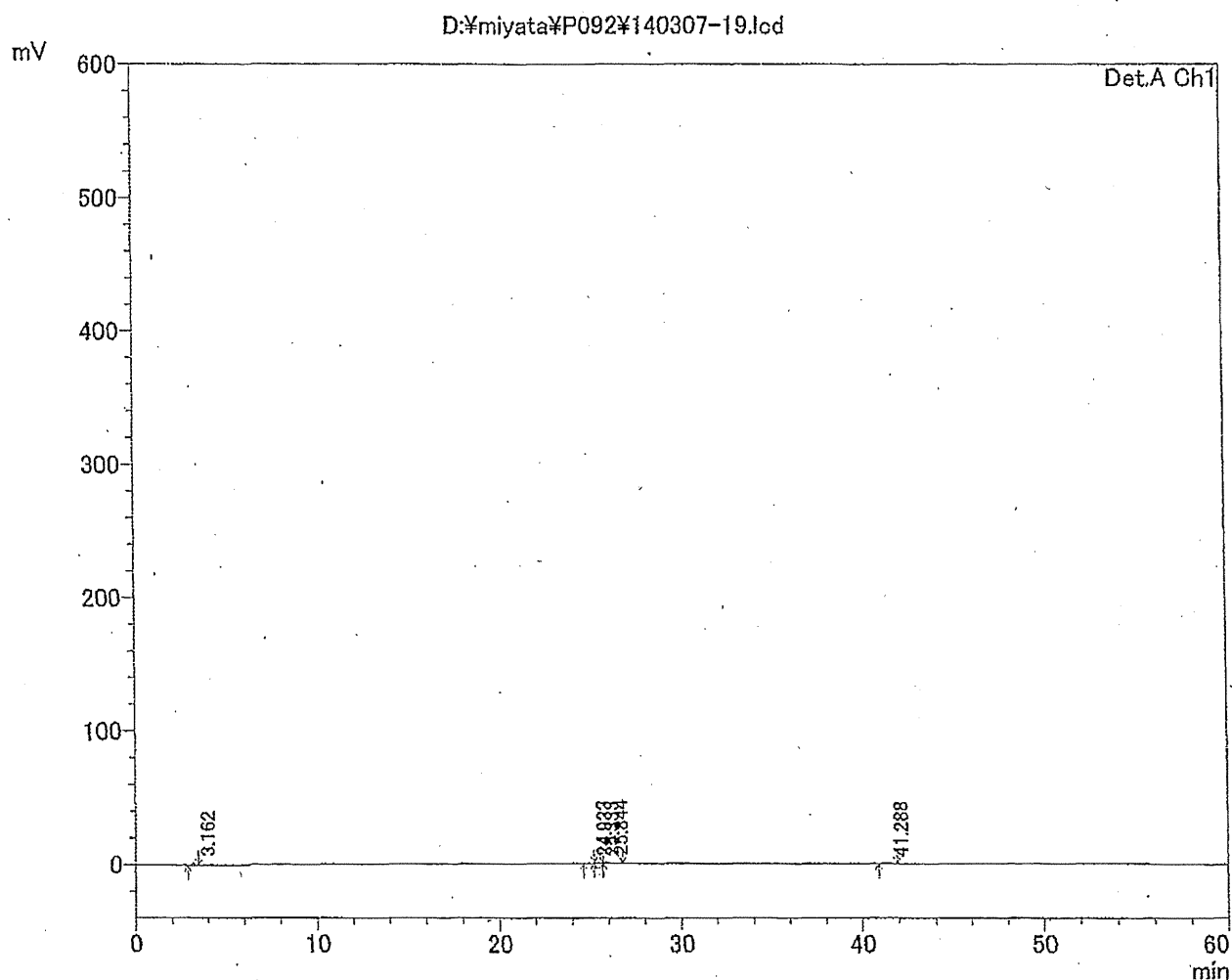
ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	高さ%	マーク
1	14.357	3530	540	0.098	0.101	← Imp. 1
2	15.571	3578448	534253	99.617	99.633	← P092
3	19.988	1469	232	0.041	0.043	← Imp. 2
4	20.323	6082	895	0.169	0.167	← Imp. 3
5	23.389	2665	299	0.074	0.056	← Imp. 4
合計		3592194	536219	100.000	100.000	

チャート 8 HPLC測定チャート (バックグラウンド)

==== Shimadzu LCsolution 分析レポート ====

分析者 : System Administrator
 サンプル名 : Blank
 サンプルID :
 バイアル番号 : 89
 注入量 : 5 uL
 データファイル : 140307-19.lcd
 メソッドファイル : P092.lcm
 バッチファイル : P092.lcb
 レポートファイル : クロマトピークレポート(縦並びDetA-Ch1_Ch2).lcr
 分析日時 : 2014/03/08 2:32:49
 解析日時 : 2014/03/18 11:04:41

<クロマトグラム>

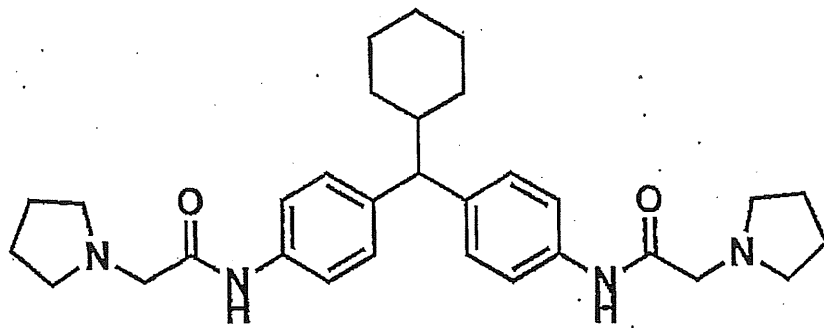


1 Det.A Ch1/254nm

<ピークレポート>

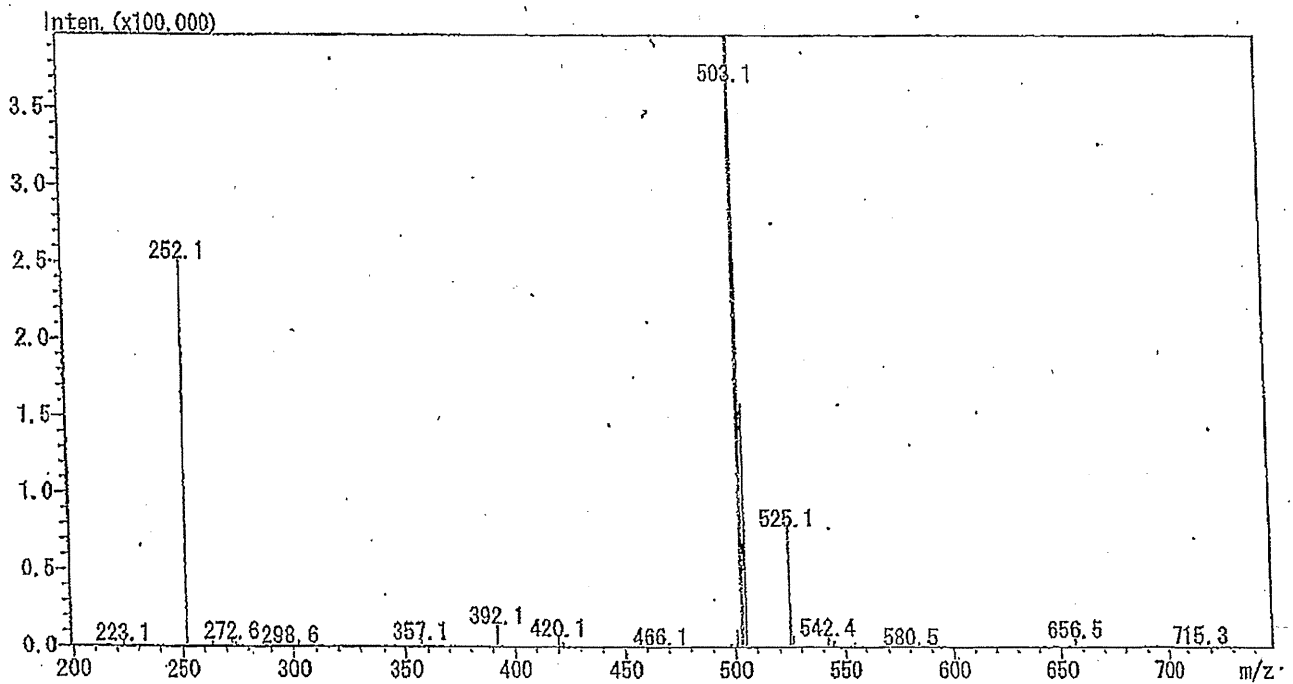
検出器A Ch1 254nm

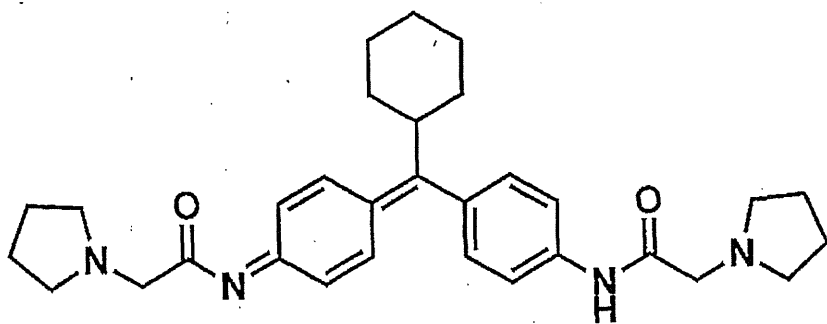
ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	高さ%	マーク
1	3.162	22446	1894	40.179	50.740	
2	24.933	3939	176	7.050	4.718	
3	25.333	6445	253	11.537	6.763	V
4	25.844	16094	1146	28.808	30.702	V
5	41.288	6941	264	12.425	7.078	
合計		55865	3734	100.000	100.000	



Chemical Formula: $C_{31}H_{42}N_4O_2$
Exact Mass: 502.33
Molecular Weight: 502.69

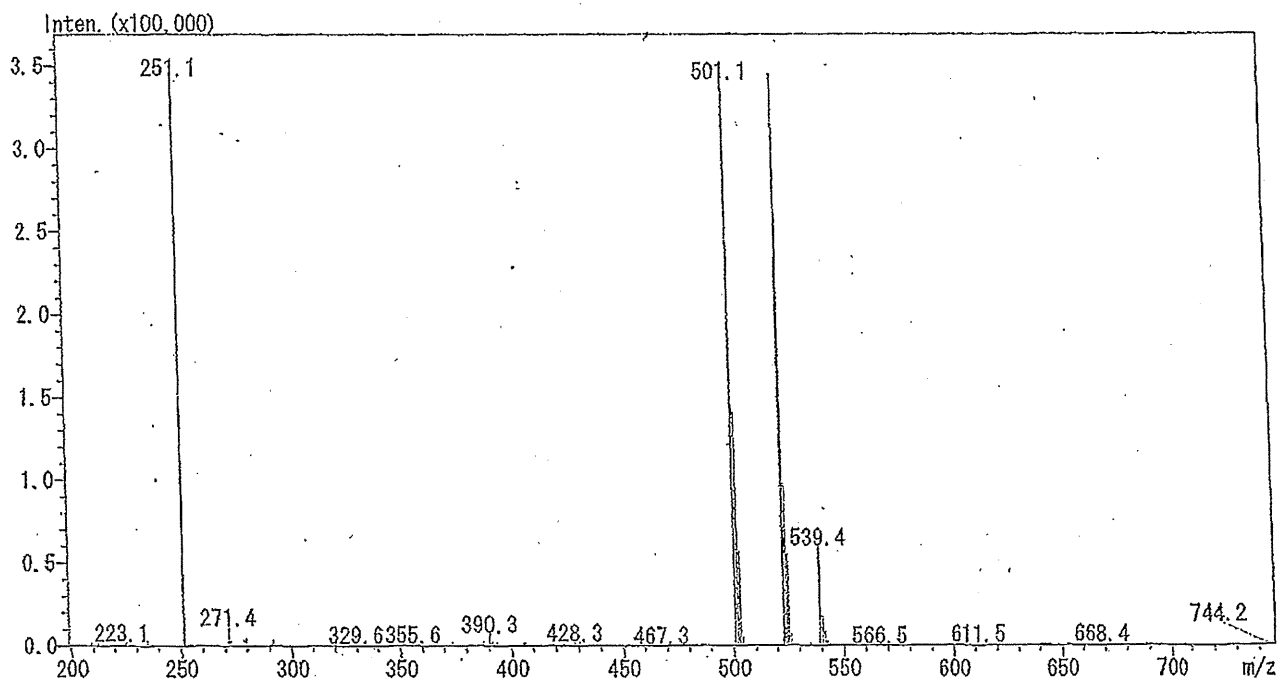
チャート9 LC-MS測定チャート (P092)

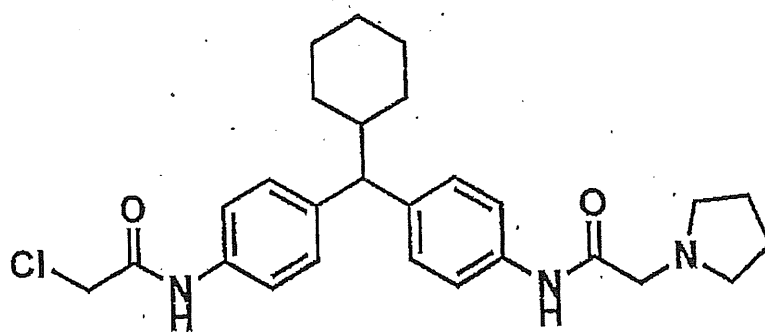




Chemical Formula: $C_{31}H_{40}N_4O_2$
Exact Mass: 500.32
Molecular Weight: 500.67

チャート 10 LC-MS測定チャート (Imp. 1)





Chemical Formula: C₂₇H₃₄ClN₃O₂
Exact Mass: 467.23
Molecular Weight: 468.03

チャート 1 1 LC-MS測定チャート (Imp. 3)

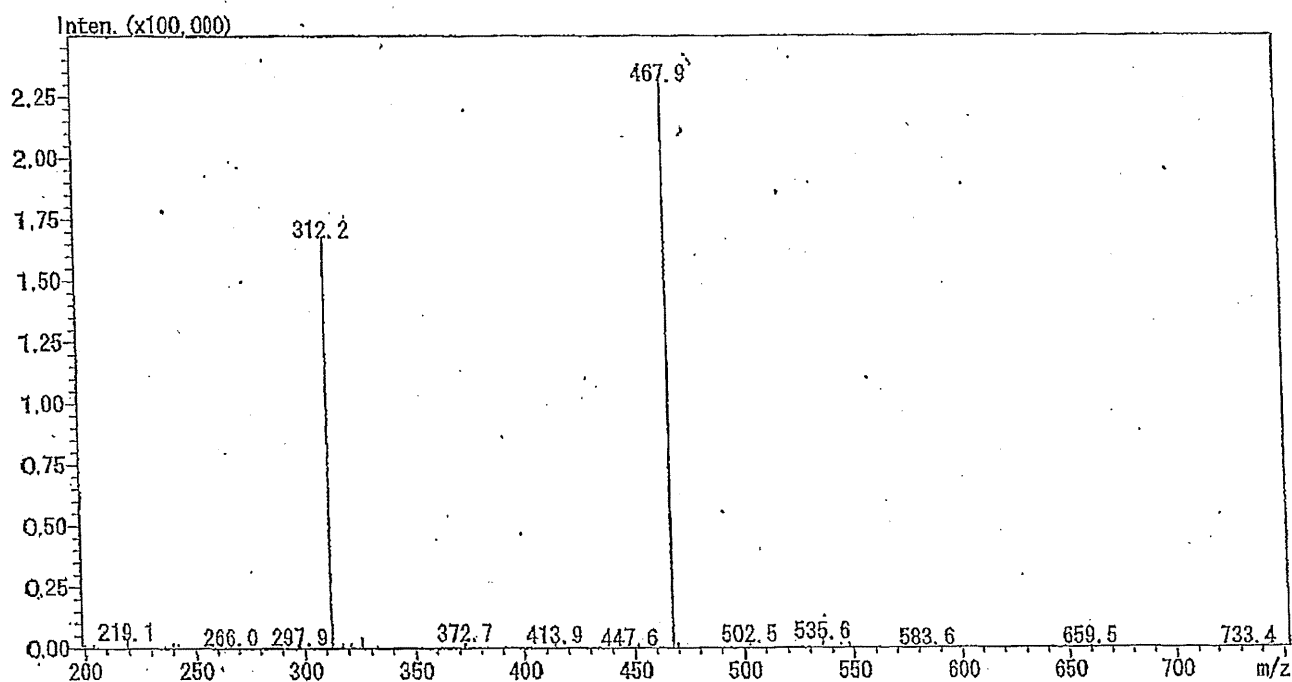
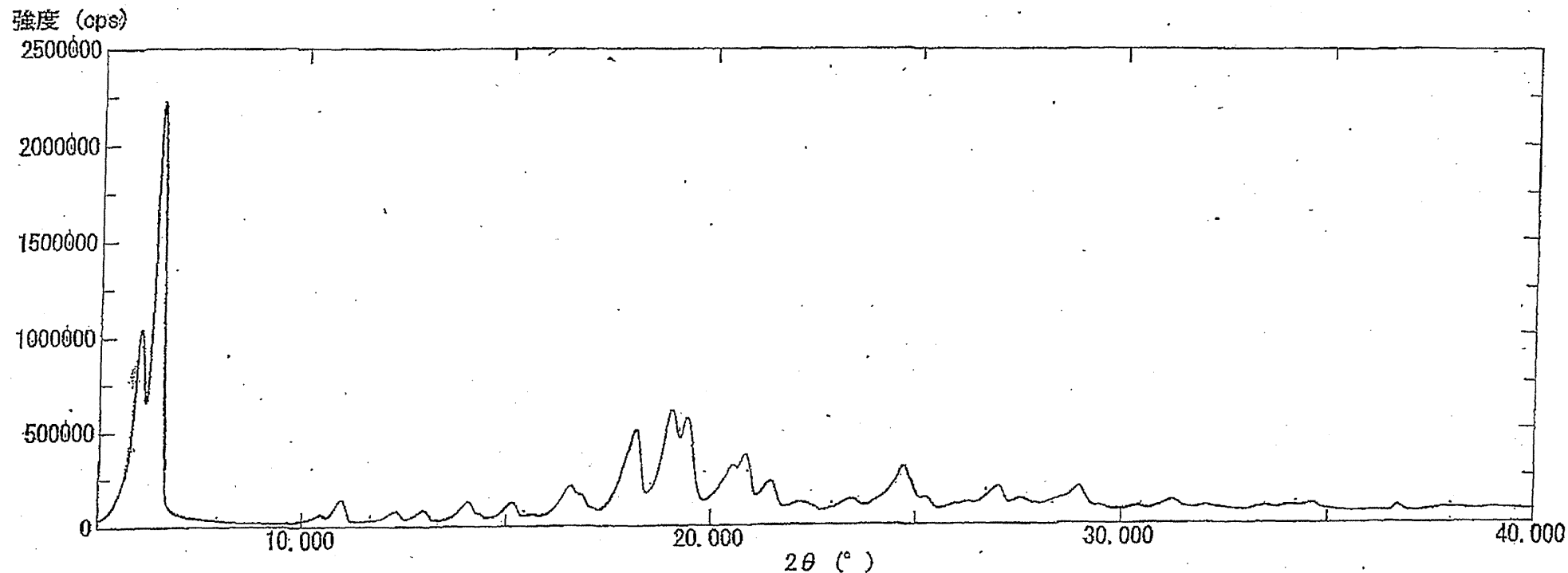


チャート 1 2 粉末X線回折測定チャート

生データ

サンプル名	: 標準品 (P092)	ファイル	: 標準品-3-1419-1.raw	コメント	: P092
測定者	: Administrator	測定日	: 10-March-14 14:20:53		
X線	: Cu / 30 kV / 15 mA				
ゴニオメータ	: MiniFlex II (D/teX) ゴニオメータ				
アタッチメント	: ミニフレックス 6 サンプルステージ				
試料番号	: 3				
試料回転	: 制御なし				
フィルタ	: 不使用	発散スリット	: 1.25°		
インデントモノメータ	: 不使用	散乱スリット	: 1.25°		
カウンタモノメータ	: 不使用	受光スリット	: 0.15mm		
カウンタ	: D/teX Ultra				
走査モード	: 連続	スキャンスピード	: 2.000 ° /min.	サンプル幅	: 0.020 °
走査軸	: 2θ/θ	走査範囲	: 5.000 ~ 40.000 °	θオフセット	: 0 °
積算回数	: 1				



4. 製剤検討

製剤設計検討報告書

文 書 番 号	P092-001
対 象 品 目	P092
実 施 項 目	P092 初期検討 ① 水への溶解性の確認 ② 溶解度の pH 依存性の確認 ③ クエン酸ナトリウムを用いた溶解検討
実 施 部 門	株式会社富士薬品 富山第二工場 技術開発部
実 施 責 任 者	氷見長夫
実 施 担 当 者	畠山精介 渡邊 剛
実 施 期 間	2014年03月07日 ~ 2014年03月12日
備 考	

作 成 者	2014/03/24	畠山精介
実 施 担 当 者	2014/03/24	畠山精介
実 施 担 当 者	2014/03/24	渡邊 剛
実 施 責 任 者	2014/03/24	氷見長夫
技 術 部 門 責 任 者	2014/03/24	野上俊宏

1. 目的

P092 を含む注射剤は、岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科 桑田一夫教授より株式会社富士薬品富山第二工場へ新たに製造委託を受ける治験薬である。本製剤は、主薬である P092 を 1 g/バイアル含む注射剤としてデザインされている。

本報告書では、P092 の製剤化の可能性について検討した結果を報告する。

2. 対象品目

P092 (N,N'-((シクロヘキシルメチレン)ジ^o-4,,1-フェニル)ビス(2-(1-ヒ^oロリジン)アセトアミド)ニマレイン酸塩)

3. 実施担当

島山精介 渡邊 剛

4. 実施期間

2014 年 03 月 07 日～2014 年 03 月 12 日

5. 使用機器・器具

機器	型式	メーカー
pH メーター		
複合電極	9618-10D	(株)堀場製作所
指示計	F-71	(株)堀場製作所
上皿電子天秤	HTR-220	メトラー・トレド(株)
	FZ200iWP	A&D(株)

6. 使用原薬

2014.03.04 に岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科 桑田一夫教授より受領した P092 (N,N'-((シクロヘキシルメチレン)ジ^o-4,,1-フェニル)ビス(2-(1-ヒ^oロリジン)アセトアミド)ニマレイン酸塩)を使用した。

7. 使用試薬及び試液

試薬, 試液	メーカー	規格	Lot
1mol/L 水酸化ナトリウム	和光純薬工業(株)	日本薬局方	PDF3935
1mol/L 塩酸	和光純薬工業(株)	日本薬局方	PDL4455
注射用水	(株)富士薬品	日本薬局方	140307, 140312
クエン酸ナトリウム	小堺製薬工業(株)	日本薬局方	SI-02

8. 検討の概要

No.	検討項目	検討概要
①	水への溶解性の確認	P092の水への溶解度は0.2 g/mL以下であることが明らかとなった。
②	溶解度のpH依存性の確認	P092の溶解度のpH依存性を確認した。その結果、P092はpH1.8以下及びpH5.6から6.8の間であれば溶解できることが確認できた。
③	クエン酸ナトリウムを用いた溶解検討	①及び②の結果を踏まえ、P092のpH6.0での製剤化の可能性を検討した。pH6.0に調整したクエン酸ナトリウム水溶液にP092を投入したところ、pHが4.9まで低下してしまい、溶解できなかった。しかしながら、pHを5.4にまで上昇させると溶解できることが確認できた。

9. 検討結果

① 水への溶解性の確認

1) 目的

P092 の物性評価として、水への溶解性を確認した。なお、1g/5mL/バイアルでの製剤化を想定し、2.0 から 0.2 g/mL までの溶解性を確認した。

2) 実施方法

2 g の P092 に注射用水を 1 mL ずつ添加し、溶解状態を目視にて確認した。注射用水は全量 10 mL まで添加した。

3) 結果

P092 の水への溶解度を確認した。注射用水 1 mL 及び 2 mL 添加時点では、P092 の嵩に対して注射用水量が足りずに溶液状態とすることができなかった。3 mL 添加以降は溶液状態となったが、10 mL 添加後も白濁した状態であった（表-1 及び図-1）。

以上より、P092 を注射用水に投入するだけでは溶解できないことが明らかとなった。

表-1 P092 の水への溶解性

P092 濃度 (g/mL)	2	1	0.67	0.5	0.4	0.33	0.29	0.25	0.22	0.2
観察結果	溶媒量 不足	溶媒量 不足	白濁	白濁	白濁	白濁	白濁	白濁	白濁	白濁

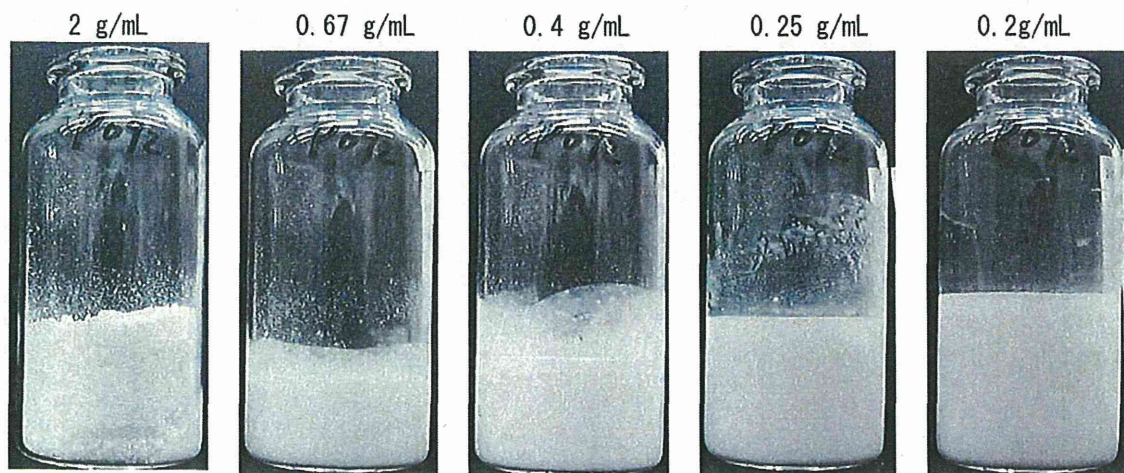


図-1 P092 の水への溶解性

② 溶解度の pH 依存性の確認

1) 目的

①の結果より、P092の水への溶解度が低い(0.2 g/mL未満)ことが明らかとなった。
今回の検討では、P092の溶解度のpH依存性を確認した。

2) 実施方法

①の検討にて調製した0.2 g/mL P092を二等分し、一方には1 mol/L 塩酸溶液を添加し、目視による溶解状況の確認及びpHを確認した。また、もう一方には1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を添加し、目視による溶解状況の確認及びpHを確認した。

3) 結果

3-1) 酸性側での溶解確認

0.2 g/mL P092水溶液のpHは3.7であり、水へは不溶であった。この溶液に1 mol/L 塩酸を添加し、酸性側での溶解性を確認したところ、pH1.8以下であれば溶解できることが確認された(図-2及び4)。

3-2) アルカリ性側での溶解確認

一方、1 mol/L 水酸化ナトリウムを添加し、アルカリ性側での溶解性を確認したところ、pH5.6から6.8の間であれば微黄色澄明な液となり、溶解できることが確認できた。しかしながら、pH6.8以上となると再び析出が起こってしまうことが明らかとなった(図-3及び4)。

なお、pH8.3以上となるとさらに析出が激しくなり、粘性が増し攪拌子による攪拌ができなくなってしまう為、この時点で溶解性確認は中止とした。

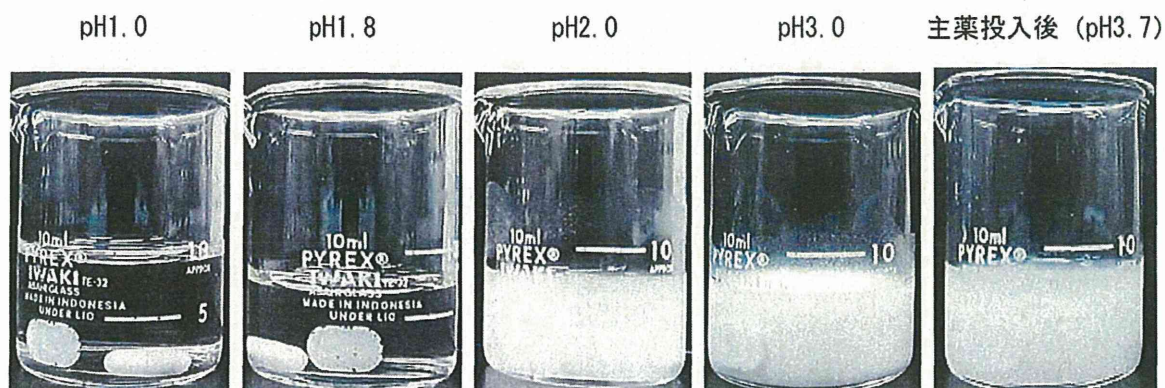


図-2 P092の溶解度のpH依存性の確認(酸性側)

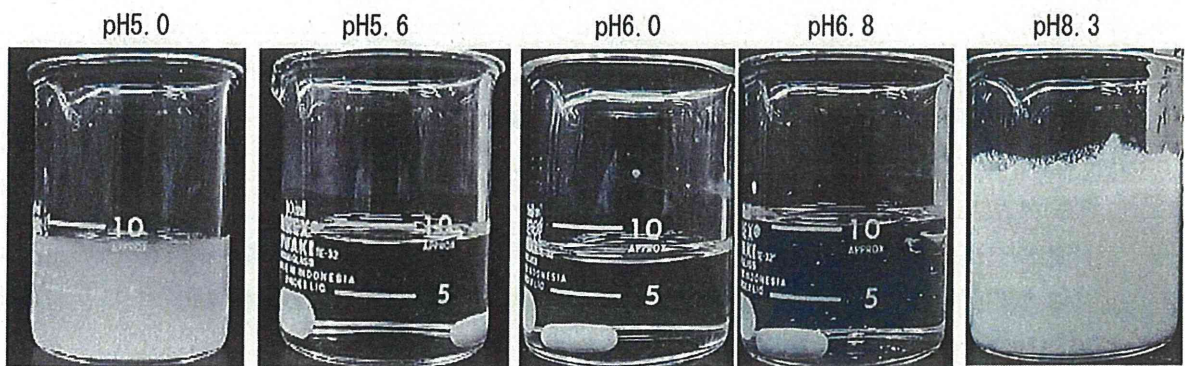


図-3 P092の溶解度のpH依存性の確認(アルカリ性側)

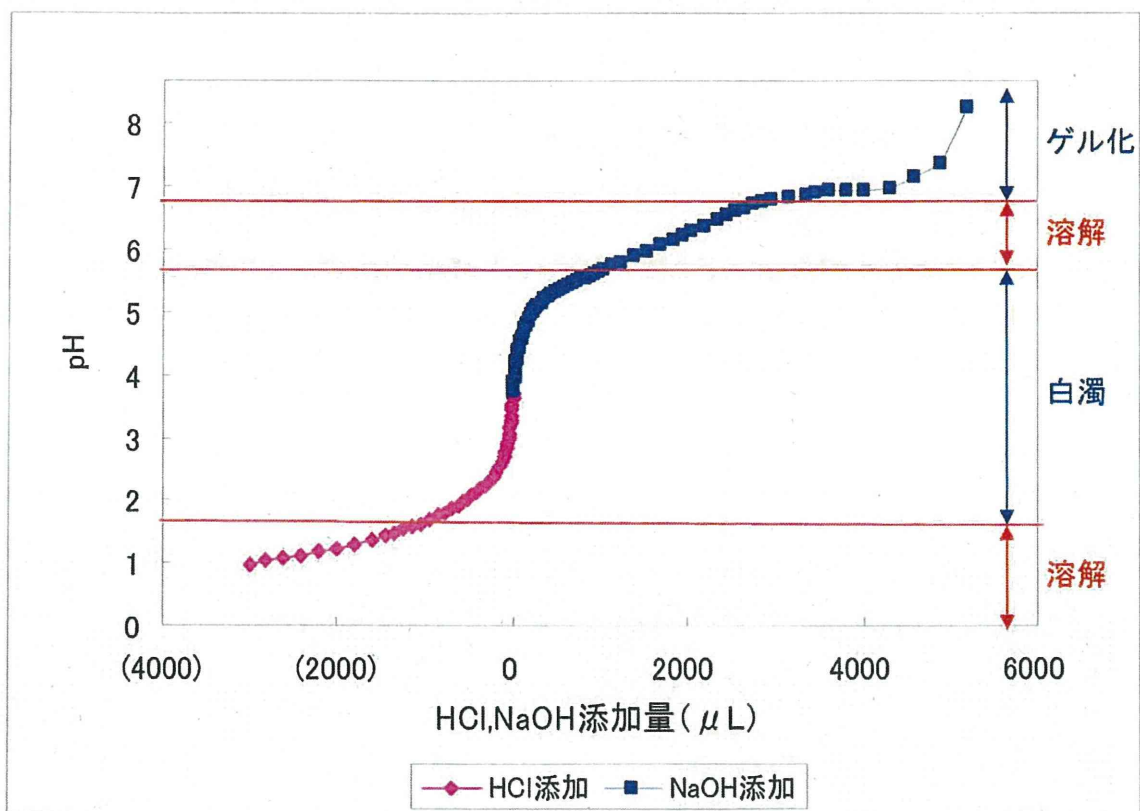


図-4 P092の溶解度のpH依存性の確認

③ クエン酸ナトリウムを用いた溶解検討

1) 目的

②の結果より、P092はpH6付近では溶解するが、pH6.8以上では再析出することがわかった。今回の検討では、pH6付近に緩衝能を持つ添加剤としてクエン酸ナトリウムを選定し、P092の溶解性を確認した。

2) 実施方法

P092 0.2gにpH6.0に調整した20 mg/mL クエン酸ナトリウム水溶液1 mLを投入し、目視にて溶解性を確認した。その後、1mol/Lの水酸化ナトリウム溶液を添加し、アルカリ性側での溶解性を目視にて確認した。

3) 結果

P092のpH6.0に調整した20 mg/mL クエン酸ナトリウム水溶液への溶解性を確認したが、白濁が起こってしまい溶解させることができなかった(図-5)。この溶液のpHを測定してみたところpHは4.9にまで低下していた。これは、P092のカウンターイオンであるマレイン酸の影響によりpHが低下し、P092が析出してしまったと考えられる。

このように、pH6.0に調整した20 mg/mL クエン酸ナトリウム水溶液にて溶解させることはできなかったが、水酸化ナトリウムにてpHを上昇させていったところ、pH5.4でこの析出物を溶解できることが確認できた(図-5)。

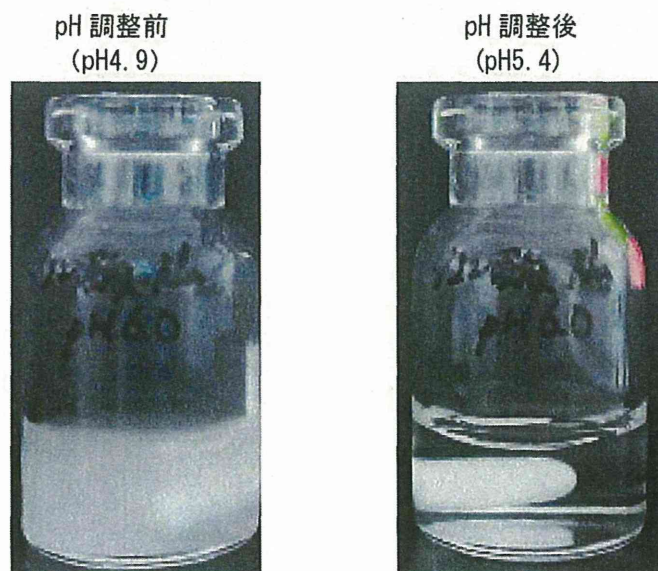


図-5 クエン酸ナトリウムを用いた溶解検討

10. 考察

今回の検討では、P092を1g/バイアル含む注射剤の製剤化の可能性について検討した。

まず、P092の水への溶解性を確認したが、水への溶解度は0.2g/mL未満であることが明らかとなった。そこで、溶解度のpH依存溶解性を確認したところ、pH1.8以下及びpH5.6から6.8の間であれば溶解できることが確認できた。

以上の結果を踏まえ、pH6.0での製剤化の可能性について検討を進めた。添加剤としてpH6付近に緩衝能を持つクエン酸ナトリウムを選定して溶解を試みた。しかしながら、P092投入前のpHを6.0に調整してしまうとP092のカウンターイオンであるマレイン酸の影響によりpHが低下し、P092が析出してしまう結果となった。しかしながら、pHを5.4にまで上昇させればこの析出物を溶解できることが確認された。

今回の検討から、想定できる処方を表-2に示す。しかしながら、製剤の安定性などを踏まえた最適化は今後必要であると考えられる。

表-2 P092 想定処方

成分	1バイアルあたり
P092	1g
クエン酸ナトリウム	100mg
水酸化ナトリウム	適量 (pH6.0)
塩酸	適量 (pH6.0)
注射用水	15mL

11. 参考文献

第十六改正日本薬局方

医薬品添加物辞典 2007 薬事日報社

GMP 準拠有機合成施設