

図 3: 反応温度 60°Cにおける HPLC ピーク

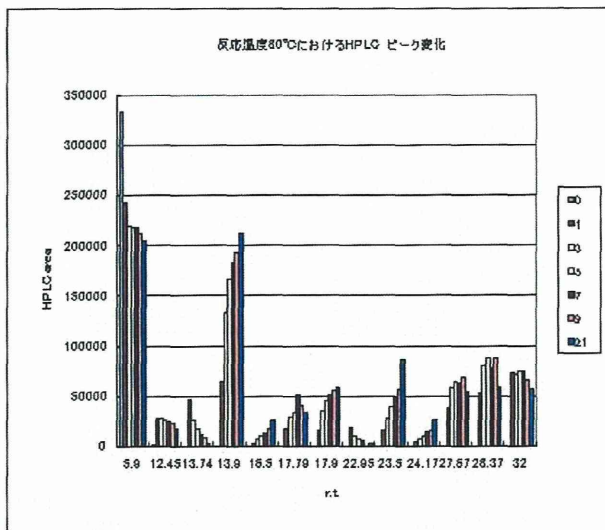


図 4: 反応温度 80°Cにおける HPLC ピーク

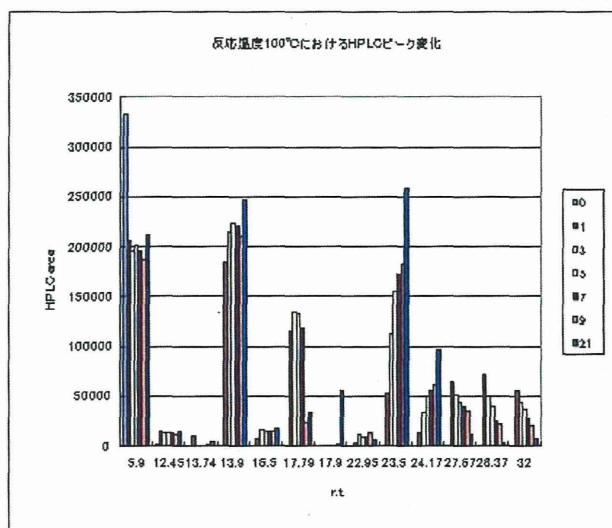


図 5: 反応温度 100°Cにおける HPLC ピーク

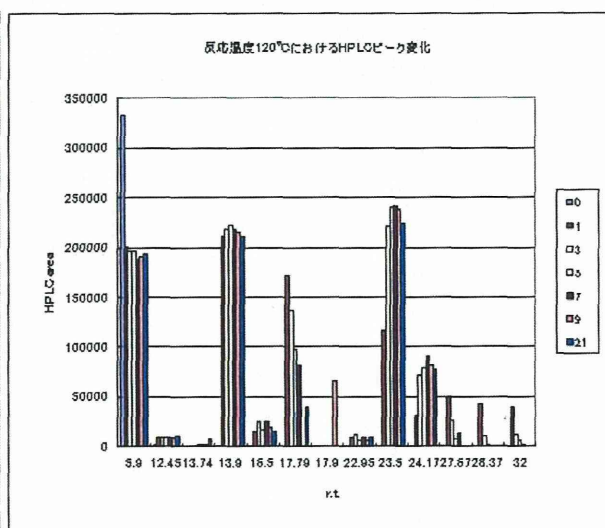


図 6: 反応温度 120°Cにおける HPLC ピーク

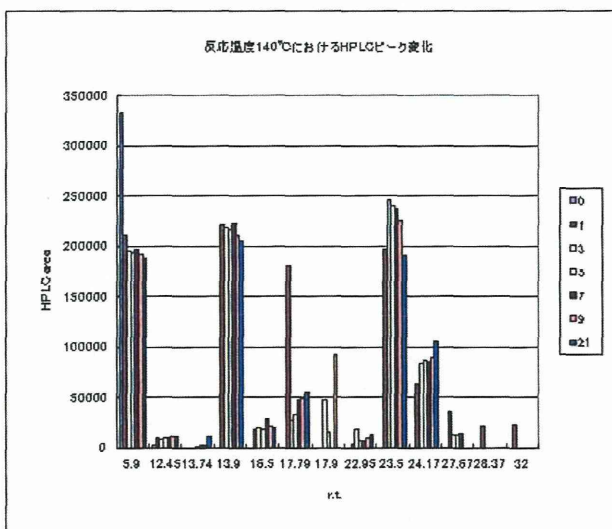


図 7: 反応温度 140°Cにおける HPLC ピーク

反応温度が高いと早くから目的物が生成されるが、HPLC 後半に溶出されてくる不純物が増加する傾向にあった。目的物の生成速度は遅いが、比較的不純物が少ない反応温度 80°Cが本反応温度としては適切と判断した。

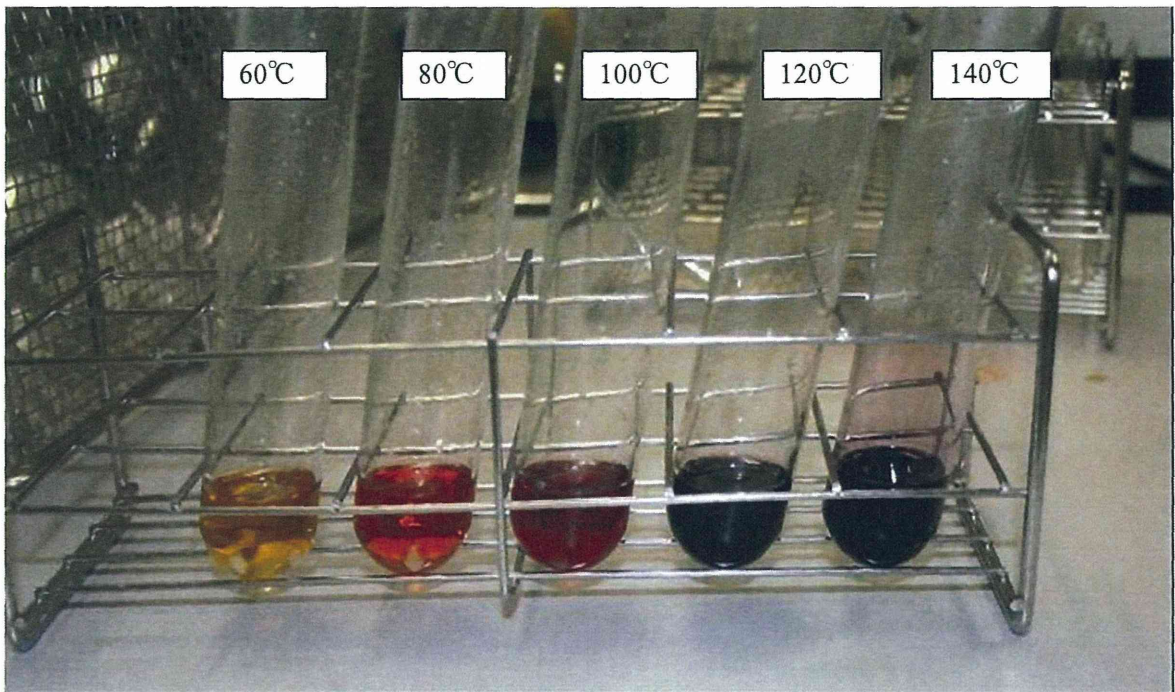


図 8:各反応温度反応 21 時間後の反応液比較

反応温度が高いほど反応液の着色が強くなる傾向が認められた。

アニリン付加反応液は、アニリン留去した後、トルエン洗浄で不純物(粘着物質)が除去される。反応温度によるトルエン洗浄の効果を確認した。

反応温度 140°Cと 80°Cで反応を行ったアニリン付加反応液をアニリン留去後、トルエン洗浄を行い、不純物量に差があるかHPLCで分析を行った。その結果を図-9,-10,11,12に示す。

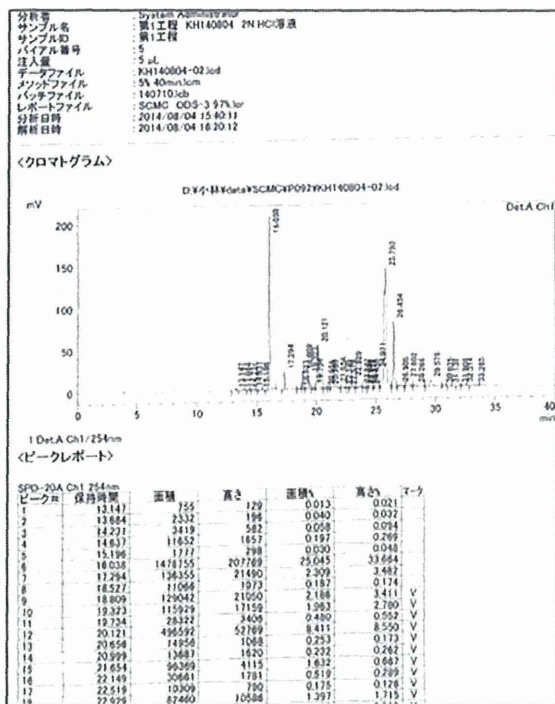


図 9:反応温度 140°Cトルエン洗浄前

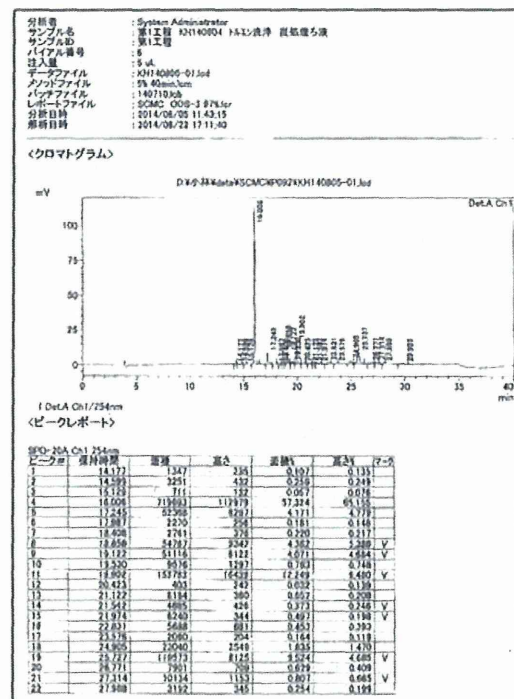


図 10:反応液 140°Cトルエン洗浄後

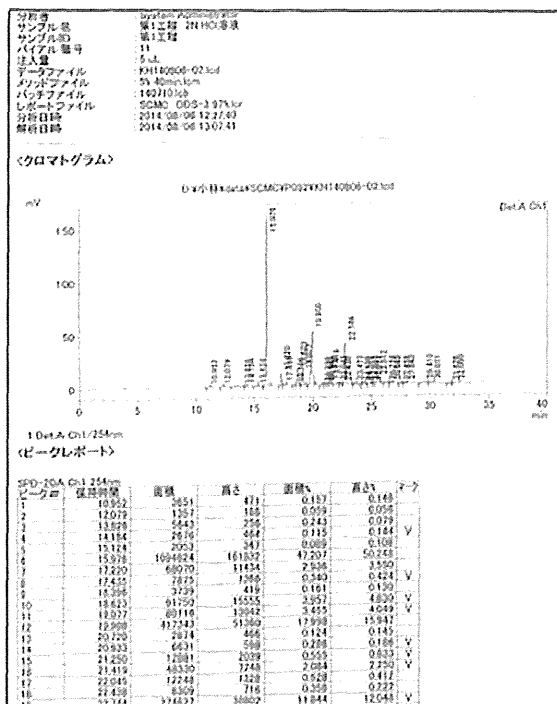


図 11: 反応温度 80°Cトルエン洗浄前

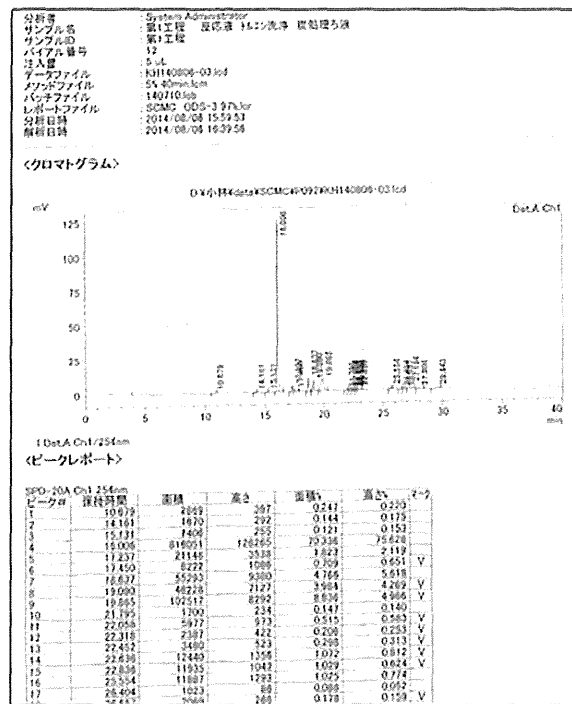


図 12: 反応温度 80°Cトルエン洗浄後

それぞれの条件について、HPLC area%を表-4 にまとめた。

表 4: 反応温度の違いによるトルエン洗浄前後の HPLC area%比較

反応温度	トルエン洗浄前	トルエン洗浄後
140°C	25.0%	57.3%
80°C	47.2%	70.3%

その結果、反応温度 80°Cの方が、トルエン洗浄前後でも目的物の HPLC area%が高く、純度向上に効果的だということが確認できた。

以上の結果から、アニリン付加反応温度を開示条件である 140°C還流から 80°Cへと変更した。

## ②晶析条件の検討

開示された資料には第一工程の晶析に関する詳細な情報がなかったため、炭処理後の溶液に 5%NaOH を添加しながら、中和晶析を行ったが、結晶が塊となってしまった。このため、東京化成から新たに晶析方法に関する情報を入手した結果、炭処理後の溶液を 5%NaOH 溶液で中和するのではなく、5%NaOH 溶液に本溶液を添加する方法で晶析していることが分かった。

入手した方法で中和晶析を実施したが、溶液の pH によって晶析された結晶の物性が大きく異なり、pH が高いと結晶が粒に、低いと粘性が上がり攪拌しにくい状態となった。そのため、中和晶析における適当な pH 域を探ったところ、pH を pH12 付近にコントロールすると結晶が細かくなり、且つ攪拌しやすいことが分かった。したがって、中和晶析時の pH を 12 付近にコントロールすることにした。

## ③トルエン洗浄

中和晶析時に粘着物質の影響で結晶が塊になってしまう状況であった。このため、中和晶析前にトルエン洗浄で粘着物質を除去する必要があるが、開示された情報では詳細な洗浄方法の記載がなかった。東京化成に確認をおこなったところ、トルエン洗浄回数を増やすことで対応可能との回答を得た。このため、トルエン洗浄回数を1から5回まで実施し、その影響を確認した。

その結果、今まで実施していた洗浄1回だと十分ではないことが確認できた(図-13)。トルエン層の色は、4回から変化がないことから、洗浄回数を4~5回とすることとした。



図 13:トルエン洗浄回数とトルエン層の状態

洗浄回数が増えるにしたがってトルエン層の色が黒色から褐色、琥珀色に変化する。4~5回でほぼ色の変化は認められず、洗浄回数は4~5回が妥当と判断した。

### 3. スケール Up 検討

トレース実験後、大きな課題が認められた第一工程検討を実施し、改善を行った。第一工程における改善前後の作業フローを図-14 に示す。改善後の効果を確認するため、出発原料であるシクロヘキサンカルボキシルアルデヒド 25g 及び 100gスケールで P092・2 マレイン酸塩の調製を行った。

調製した結果を図-14 に示す。

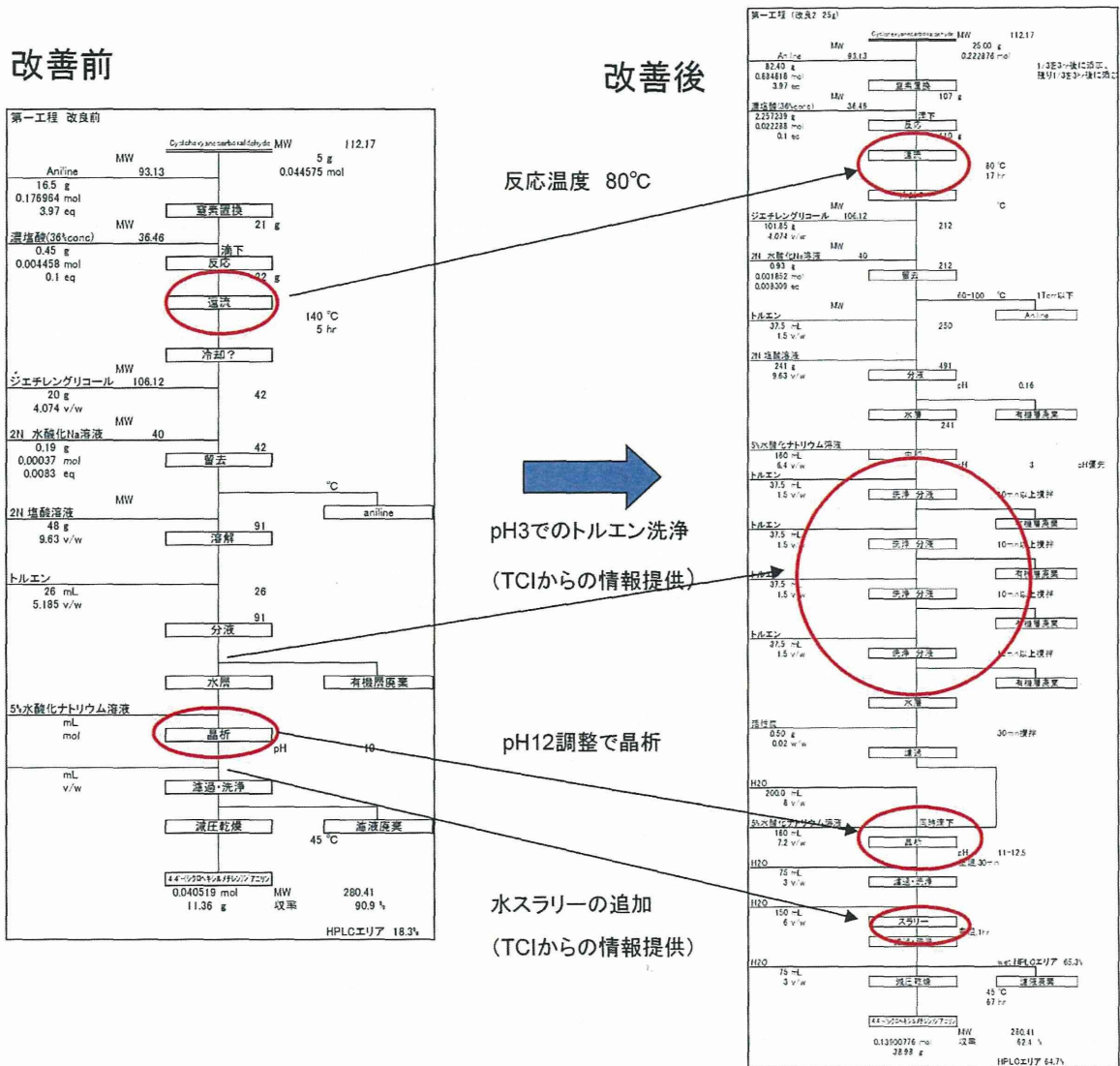


図 14: 第一工程改善前後作業フロー比較

表 5:スケールアップ結果

	反応条件	項目	東京化成 実績	25g 実験	100g 実験
第一工程	Aniline 3.97eq, cHCl 0.1eq,140°C,neat	仕込み原料	1170g	25g	100g
		反応温度、時間	140°C、5hr	80°C、終夜	80°C、20hr
		収量	426g	38.98g	151.9g
		収率	48.7%	62.4%	61.3%
		HPLC 純度	—	64.70%	78.2%
		晶析状態	—	良好	良好
第二工程	Cl-Ac-Cl 2.2eq,Et3N 2.2eq,CH2Cl2 10v/w,氷冷	仕込み原料	426g	10.0g	124.2g
		反応時間	3hr	1hr20min	2.5hr
		粗体収量	625g	16.94g	195.6g
		粗体収率	94.9%	109.6%	91.7%
		粗体 HPLC 純度	—	97.80%	98.5%
		精製収量	515g	10.99g	153.97g
		精製後収率	78.2%	71.1%	75.0%
		精製晶 HPLC 純度	—	99.30%	98.9%
第三工程	Pyrrolidine 4.4eq,THF 10v/w,r.t	仕込み原料	515g	10.0g	153g
		反応時間	18hr	22hr	109hr
		粗体収量	580g	11.44g	173.29g
		粗体収率	96.8%	98.6%	97.6%
		粗体 HPLC 純度	—	98.60%	98.4%
		精製1収量	—	11.56g	143.9g
		精製1収率	—	99.7%	81.2%
		精製晶 1HPLC 純度	—	99%	98.8%
		精製 2 収量	450g	9.62g	119.9g
		精製 2 収率	75.3%	82.90%	67.8%
		精製晶 2HPLC 純度	—	99.40%	99.2%
		精製 3 収量	—	—	115.8g
		精製 3 収率	—	—	65.4%
		精製晶 3HPLC 純度	—	—	99.4%
第四工程	Maleic acid 2.2eq,THF 21v/w,r.t	仕込み原料	450g	8.00g	60g
		反応時間	4hr	4hr	5hr
		粗体収量	719g	12.49g	91.7g
		粗体収率	109%	107%	104.6%
		粗体 HPLC 純度	—	99.40%	99.5%
		精製収量	584g	10.77g	4.22g
		精製後収率	88.9%	92.10%	88.3%
		精製晶 HPLC 純度	—	99.5%	99.6%
		Total yield	25.5%	33.9%	26.6%

シクロヘサンカルボキシアルデヒド 25g、100g スケールで P092・2 マレイン酸塩の調製を行った結果、第一工程での晶析は問題がなく、改善効果が確認でき、25g で純度 99.5%、100g で純度 99.6%とほぼ同じ純度で P092・2 マレイン酸塩を得ることができた。100g スケールで総収率が 25g スケール時より 8%ほど低下したが、第三工程での再結晶時に濾液にロスしたことが原因である。洗浄液を冷やすなどの対策で改善できるものと考えられる。以上の結果から製法を確立することができたと考える。

#### 4. HPLC 類縁物質確認

##### ①類縁物質比較

得られた P092・2 マレイン酸塩の HPLC 類縁物質について、標準品である東京化成品と比較した。

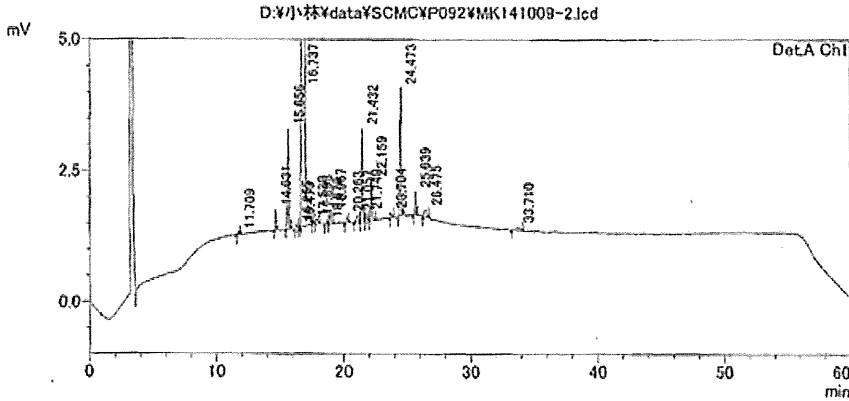


図 15:100g スケール調製品 HPLC チャート

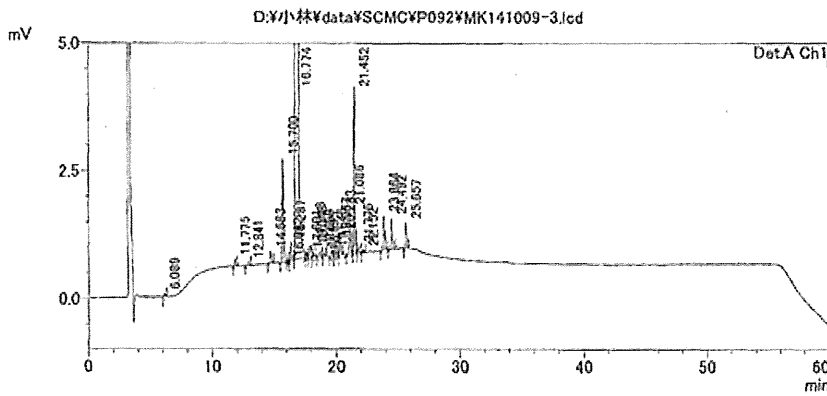


図 16:東京化成(LotS25PF-QJ)調製品 HPLC チャート

HPLC area 0.05%以上の類縁物資について表-6 にまとめた。SMD 調製品は、東京化成品と比較して異なる r.r.t の類縁物質は認められなかった。したがって、弊社調製品に関して、新規類縁物質は認められず、問題はないと判断した。

表 6:HPLC area0.05%以上の不純物比較

単位:area%

R.R.T	東京化成品	SMD 調製品
0.94(imp1)	0.097	0.085
1.26(imp2)	0.049	-(0.009)
1.28(imp3)	0.166	0.084
1.46(imp4)	-(0.032)	0.120

SMD 品の r.r.t 1.46 の類縁物質は、0.12%と規格内ではあるが、東京化成品と比較して大きい。この類縁物質は、第四工程の再結晶を繰り返しても減少せず、図-17 に示すように、第三工程の再結晶でのみ除去可能であることが分かっている。したがって、第三工程の工程管理項目に類縁物質の規格を設けることで対応可

と考えている。

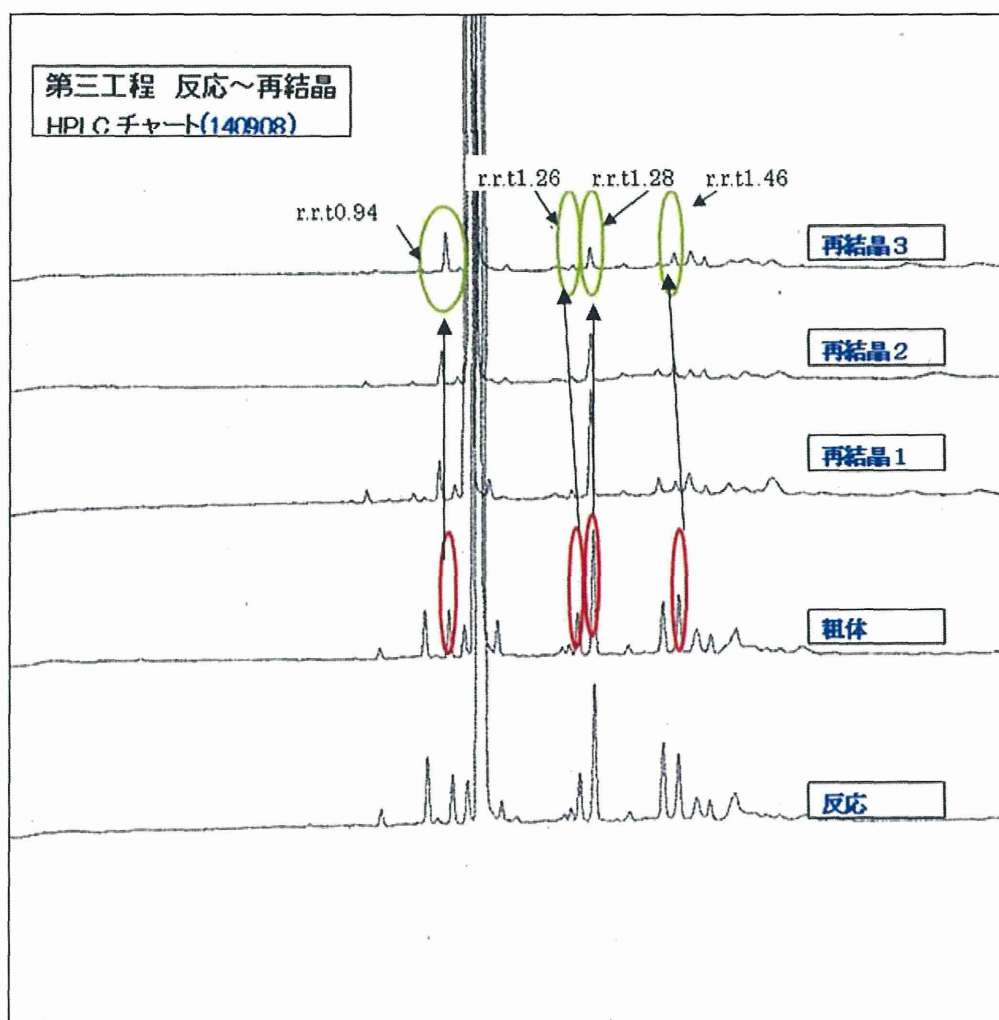


図 17:類縁物質推移

## ②類縁物質構造解析

LC/MSにより r.r.t0.94(imp1)、1.28(imp3)、1.46(imp4)の構造解析を行った。なお、r.r.t1.26の imp2 に関しては、HPLC area0.05%以下でコントロールされており、今後問題とならないと判断し、構造解析はおこなっていない。それぞれの imp の推定構造を図-18,19,20,21,22,23 に示す。



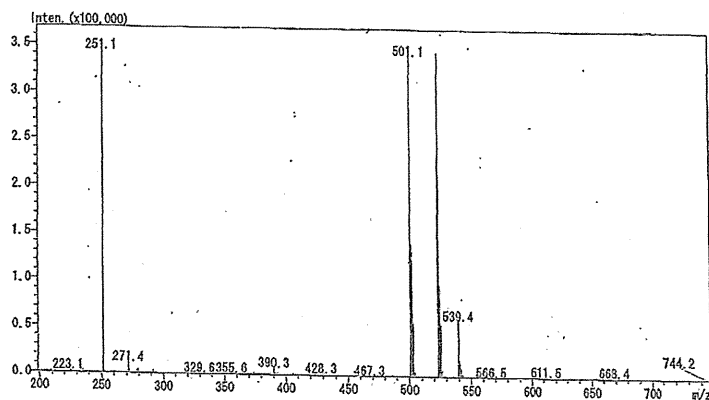


図 18: imp1 LC/M 分析チャート

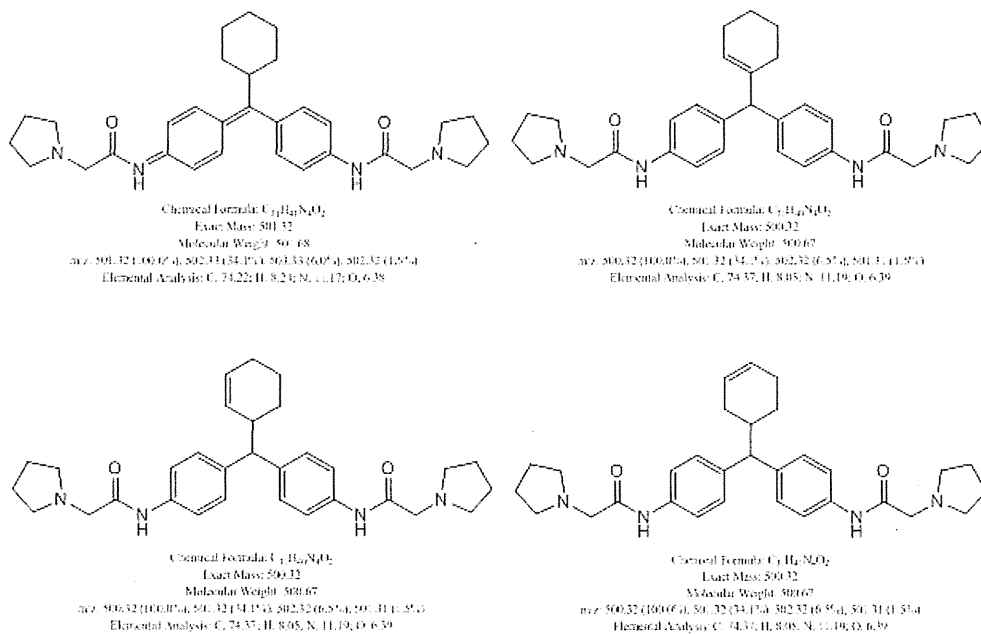


図 19: imp1 推定構造体

LC/MS 分析の結果、imp1 の構造は、P092 の一部に 2 重結合が存在したもので、図-19 の構造体が考えられる。

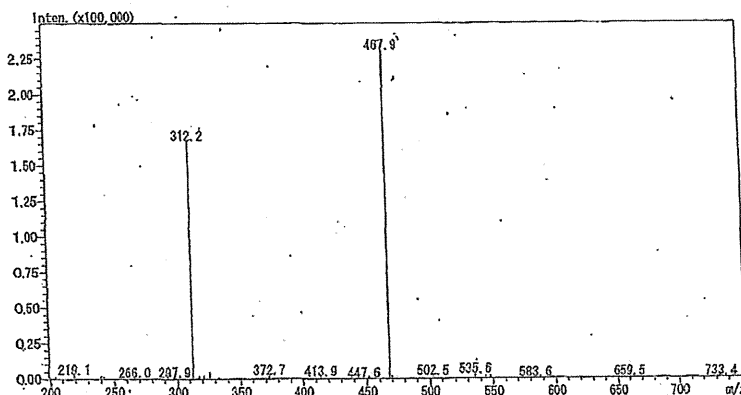
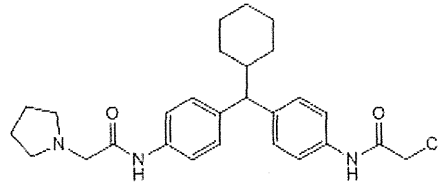


図 20: imp3 LC/MS 分析チャート



Chemical Formula:  $C_{27}H_{34}ClN_2O_2$

Exact Mass: 467.23

Molecular Weight: 468.03

m/z: 467.23 (100.0%), 469.23 (32.3%), 468.24 (29.7%), 470.23 (9.7%), 469.24 (4.7%), 471.24 (1.5%), 468.23 (1.1%)

Elemental Analysis: C, 69.29; H, 7.32; Cl, 7.57; N, 8.98; O, 6.84

図 21: imp3 推定構造体

LC/MS 分析の結果、imp3 の構造は、図-21 の構造体が考えられる。第三工程で発生する一置換体と思われる。

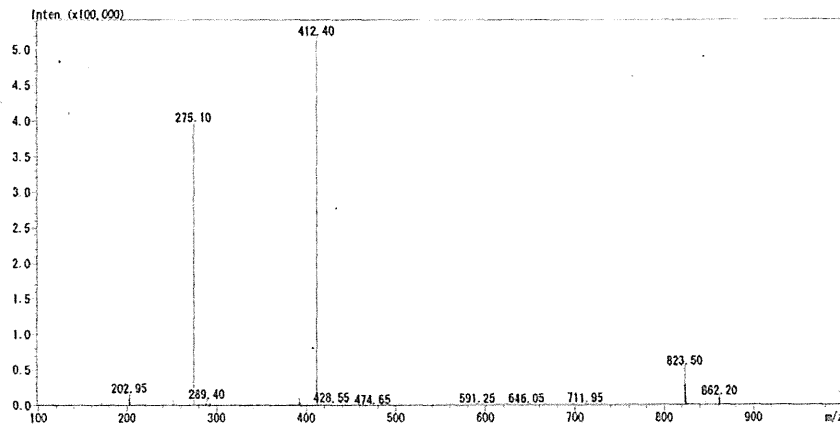
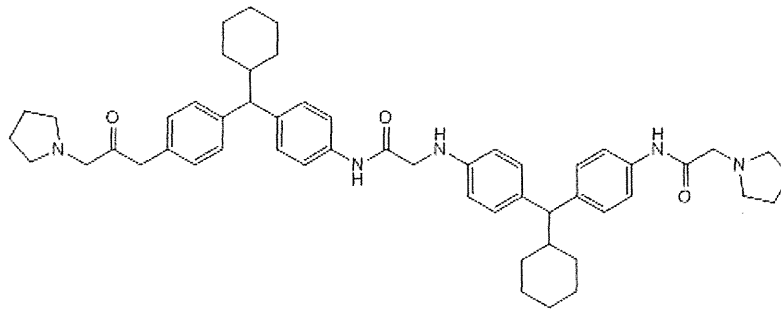


図 22: imp4 LC/MS 分析チャート



Chemical Formula:  $C_{33}H_{40}N_4O_4$

Exact Mass: 821.52

Molecular Weight: 822.13

m/z: 821.0000 (100.0%), 822.53 (98.2%), 823.51 (1.0%), 824.50 (1.0%), 825.51 (1.5%), 826.52 (1.1%)

Elemental Analysis: C, 77.43; H, 8.21; N, 8.52; O, 3.84

図 23: imp4推定構造体

LC/MS 分析の結果、imp4 の構造は、図-23 の構造体が考えられる。第二工程で発生する一置換体と二置換体(目的物)が結合したものが生成し、さらに第三工程でピロリジンが付加されたものと考えられる。

## 5. 第一工程トルエン洗浄方法再検討

シクロヘキサンカルボキシアルデヒド 100g スケールで行った第一工程において、トルエン洗浄前の pH 調整で、粘着物質が pH 電極に付着し、pH 調整が困難となった。(図-24)

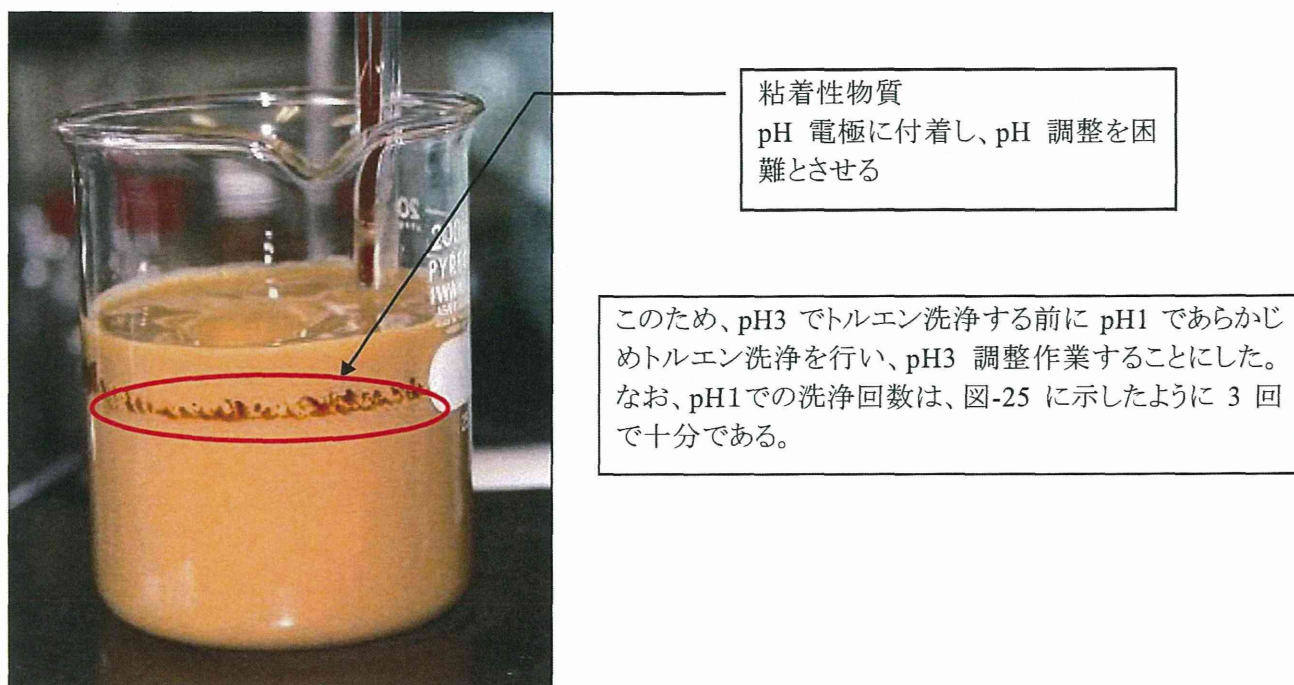


図 24: 第一工程 pH 調整

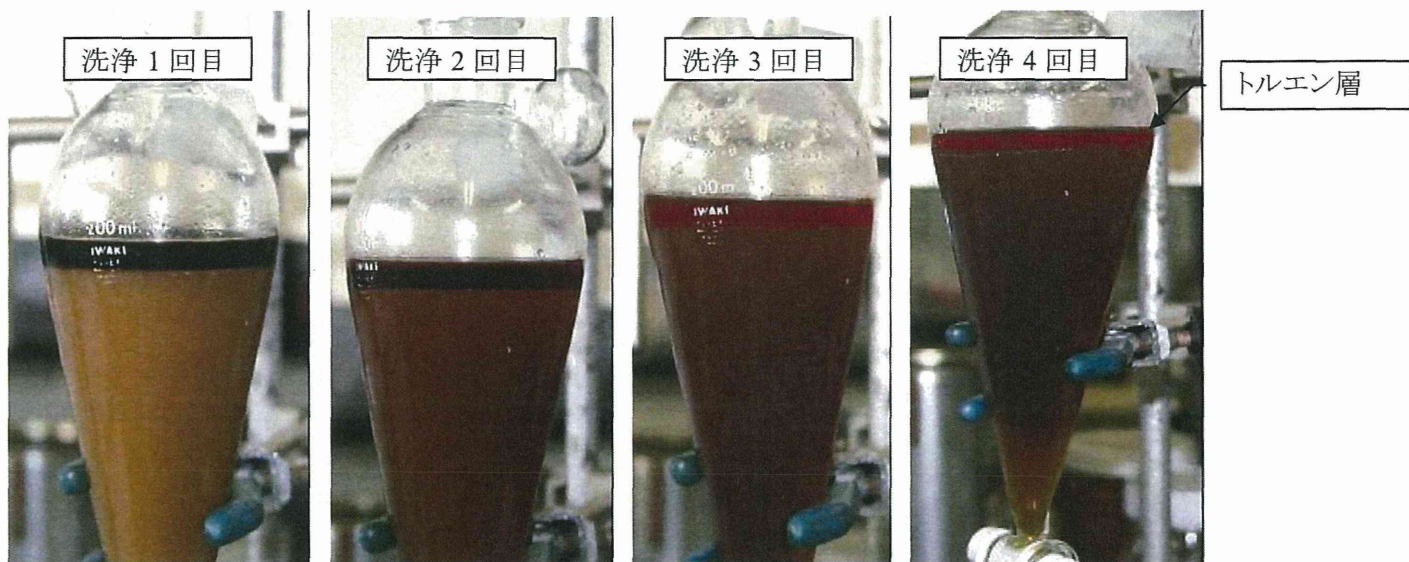


図 25: 第一工程 pH におけるトルエン洗浄回数と分液状況

洗浄回数 3 回目以降はトルエン層の色は変わらない。pH3 でもトルエン洗浄を実施することから、pH1 での洗浄回数は 3 回で十分であると判断した。したがって、nonGMP での第一工程におけるトルエン洗浄は、pH1 で 3 回、pH3 で 5 回の total 8 回洗浄とすることとした。

## 6. nonGMP 製造

シクロヘキサンカルボキシアルデヒド 25g、100g スケールで、ほぼ同等の品質が得られたことから、別紙のように製造フローを作成し、P092・2 マレイン酸塩 300g 納入に向けて nonGMP の製造を実施した。

### ①第一工程

シクロヘキシルカルボキシアルデヒド(以下 CCA)250g にアニリン 824g と濃塩酸(conc.36%)23g を添加して、窒素置換後、80℃に昇温してアニリン付加反応を行い、シクロヘキシルメチレンジアニリン(以下 CDA) 反応液を得た。反応後、5%水酸化ナトリウム溶液 9.3g とジエチレングリコール 1020g を添加し、減圧蒸留でアニリンを留去した。留去後、2N 塩酸溶液とトルエンを添加しアニリン留去物を溶解し、5%水酸化ナトリウムで pH1 に調整した後、水層を分液した。さらに 2 回トルエン添加、分液を繰り返した後、水層を 5%水酸化ナトリウム溶液で pH3 に調整し、分液した。水層にトルエンを加え、分液・洗浄をする操作をさらに 4 回行った後、トルエン洗浄した水層に活性炭を添加し、室温で 30 分攪拌し、濾過により活性炭を除き活性炭処理液を得た。pH12 にコントロールしながら活性炭処理液と 5%水酸化ナトリウム溶液を添加し中和晶析を行った。析出した結晶を濾取して、45℃で減圧乾燥後 CDA388.2g 得た。

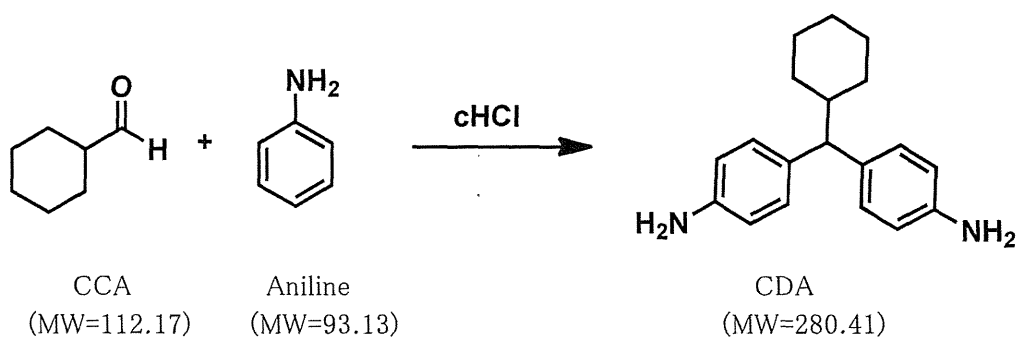


図 26: 第一工程合成ルート

予め設定した管理項目を表-7 に結果のまとめを表-8 に示す。

表 7: 第一工程 管理項目結果まとめ

工程	項目	基準	nonGMP KS14001
アニリン付加反応	反応温度	75~85℃	78.2~79.7℃
	反応時間	18~24hr	22hr
	冷却温度	50℃以下	44.1℃
アニリン留去	留去温度	60~140℃	135℃
	アニリン残存	HPLC エリア 0.1%以下	0.02%
トルエン洗浄-1	pH 調整	0.8~1.2	1.06
	内温	30℃以下	22.8℃
トルエン洗浄-2	pH 調整	2.8~3.2	3.1
	内温	30℃以下	20.5℃
中和晶析	晶析後 pH	10.0~12.5	11.24
	攪拌時間	1hr 以上	1hr
水スラリー	攪拌時間	1hr 以上	1hr
乾燥	水分	1.2%以下	0.5%

表-7 に示したように、予め設定した管理項目については、すべて基準内であった。

表 8: 第一工程結果まとめ

項目	東京化成 実績 LotFA5QJ	25g 実験	100g 実験	300g Non-GMP LotKS14001
仕込み原料	350g	25g	100g	250g
反応温度、時間	140℃、5hr	80℃、終夜	80℃、20hr	80℃、21.5hr
収量	426g	38.98g	151.9g	388.2g
収率	48.7%	62.4%	61.3%	62.1%
HPLC 純度	—	64.70%	78.2%	84.7%
晶析状態	—	良好	良好	良好

表-8 に示したように nonGMP 品は、収率 62.1%、HPLC 純度 84.7%と良好な結果であった。収率は、25g,100gスケールと同等、純度は25g、100gスケールより高い結果であった。第一工程については安定的に作業ができているものと考えられる。

## ②第二工程

CDA385g にジクロロメタン 4158mL とトリエチルアミン 328g を添加して、窒素置換した。窒素置換後、氷冷してクロロアセチルクロライド 366g 添加し、10℃以下でクロロアセチル化反応を行い、N'N-[(シクロヘキシルメチレン)ジ-4,1-フェニレン]ビス(2-クロロアセトアミド)反応液(以下 CPCA)反応液を得た。CDA 残存が規定ないであることを確認後、反応液を濾過洗浄して粗 CPCA 結晶 wet 体を得た。得られた wet 体をジクロロメタンで3回スラリー洗浄後、濾過、乾燥して粗 CPCA を555g 得た。粗 CPCA553g にテトラヒドロフラン/シクロペンチルメチルエーテル(2:1)溶液 7188mL を加え、攪拌しながら70~80℃に加温して溶解させた。溶解後、徐々に温度を下げて晶析させ、10℃以下で2時間以上攪拌した後、濾過、洗浄後、45℃で減圧乾燥させて CPCA 結晶 451g を得た。

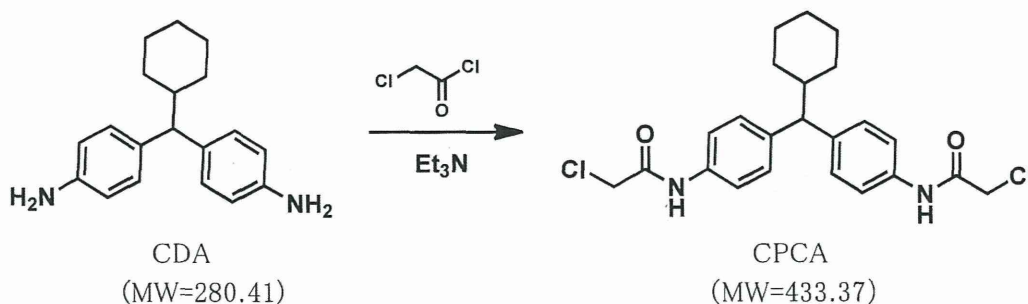


図 27: 第二工程合成ルート

予め設定した管理項目を表-9 に結果のまとめを表-10 に示す。

表 9: 第二工程 管理項目結果まとめ

工程	項目	基準	nonGMP
クロロアセチル化反応	反応温度	10℃以下	10℃以下
	CDA 残存量	HPLC エリア 1%以下	N.D.
ジクロロメタン洗浄-1	攪拌時間	10分以上	13分
ジクロロメタン洗浄-2	攪拌時間	10分以上	20分
ジクロロメタン洗浄-3	攪拌時間	10分以上	15分
再結晶	晶析温度	10℃以下	0.4~8.0℃
	晶析時間	2hr 以上	2hr
乾燥	乾燥減量	1%/hr 以下	0.7%/hr

表-9 に示したように、予め設定した管理項目については、すべて基準内であった。

表 10: 第二工程結果まとめ

項目	東京化成 実績 LotFA5QJ	25g 実験	100g 実験	300g Non-GMP LotKS14001
仕込み原料	426g	10.0g	124.2g	385g
反応時間	3hr	1hr20min	2.5hr	0.5hr
粗体収量	625g	16.94g	195.6g	554.9g
粗体収率	94.9%	109.6%	91.7%	93.3%
粗体 HPLC 純度	—	97.80%	98.5%	98.4%
精製収量	515g	10.99g	153.97g	450.8g
精製後収率	78.2%	71.1%	75.0%	75.8%
精製晶 HPLC 純度	—	99.30%	98.9%	98.7%

表-10 に示したように nonGMP 品は、収率 75.8%、HPLC 純度 98.7%と良好な結果であった。収率、純度ともに 25g、100g スケールとほぼ同等の結果であった。第二工程についても安定的に作業ができているものと考えられる。

### ③第三工程

ピロリジンに CPCA450g を分割添加し、室温で攪拌してピロリジン付加反応を行い、P092 反応液を得た。反応液をイオン交換水、飽和食塩水で順次洗浄後、有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、減圧濃縮により粗 P092 を 519g 得た。次に粗 P092 519g にテトラヒドロフラン/ジイソプロピルエーテル(2.5:1)溶液を 3603mL 加え、攪拌しながら 70~80℃に加温して溶解させた。溶解後、徐々に温度を下げて晶析させ、10℃以下で 2 時間以上攪拌した後、濾過、洗浄後、45℃で減圧乾燥させて P092 再結晶体を 522g 得た。得られた P092 再結晶体 522g に無水エタノールを 3114mL 加え 70~80℃加温して溶解させた後、徐々に温度を下げて晶析させ、10℃以下で 2 時間以上攪拌した。濾過、洗浄後、45℃減圧乾燥させて P092 を 425g 得た。

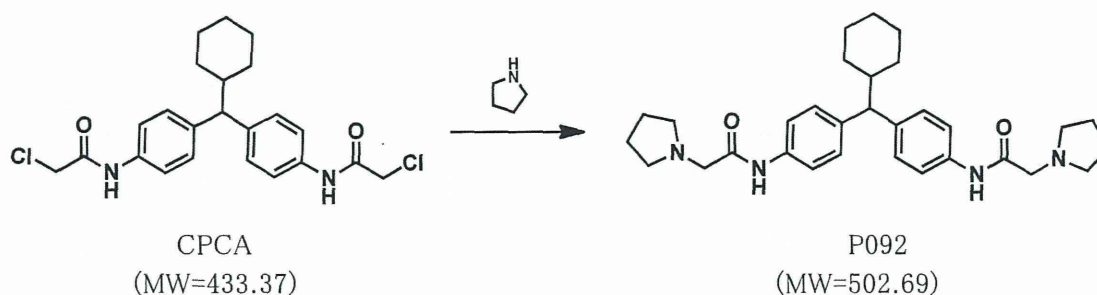


図 28: 第三工程合成ルート

予め設定した管理項目を表-11 に結果のまとめを表-12 に示す。

表 11: 第三工程 管理項目結果まとめ

工程	項目	基準	nonGMP
ピロリジン付加反応	反応温度	1~30℃	21.2~25.6℃
	HPLC r.r.t.1.20 付近 imp	1%以下	N.D.
再結晶	晶析温度	10℃以下	0.7~8.3℃
	晶析時間	2hr 以上	2hr
濾過-2	HPLC r.r.t.1.26 付近 imp	0.1%以下	0.11%
乾燥-1	乾燥減量	1%hr 以下	-
エタノール再結晶	晶析温度	10℃以下	0.9~9.9℃
	晶析時間	2hr 以上	2.5hr
濾過-3	HPLC r.r.t.1.16 付近 imp	0.1%以下	0.17%
エタノール再結晶-2	晶析温度	10℃以下	0.4~7.7℃
	晶析時間	2hr 以上	2hr
濾過-3	HPLC r.r.t.1.16 付近 imp	0.1%以下	0.07%
乾燥-2	乾燥減量	1%/hr 以下	0.24%

表-11 に示したように、予め設定した管理項目については、すべて基準内であった。なお、エタノール再結晶については、1 回目の処理で HPLC r.r.t.1.16 付近の imp が 0.17%(HPLC area%)と基準を超えていたため、2 回目の再結晶を実施し、0.07%以下とした。

表 12: 第三工程結果まとめ

項目	東京化成 実績 LotFA5QJ	25g 実験	100g 実験	300g Non-GMP LotKS14001
仕込み原料	515g	10.0g	153g	450g
反応時間	18hr	22hr	109hr	20.5hr
粗体収量	580g	11.44g	173.29g	519.2g
粗体収率	96.8%	98.6%	97.6%	99.5%
粗体 HPLC 純度	—	98.60%	98.4%	98.7%
精製1収量	—	11.56g	143.9g	521.5g
精製1収率	—	99.7%	81.2%	99.9%
精製品1HPLC 純度	—	99%	98.8%	99.3%
精製2収量	450g	9.62g	119.9g	440.5g
精製2収率	75.3%	82.90%	67.8%	84.4%
精製品2HPLC 純度	—	99.40%	99.2%	99.3%
精製3収量	—	—	115.8g	425.4g
精製3収率	—	—	65.4%	81.5%
精製品3HPLC 純度	—	—	99.4%	99.6%

表-12 に示したように nonGMP 品は、収率 81.5%、HPLC 純度 99.6%と良好な結果であった。100g スケールにおいて反応が遅延し、1 置換体の残存が確認されたが、原料の分割添加を 30 分と短時間でを行い、添加後の反応を 25℃の一定温度で行う事により 25g スケールと同様の反応速度で進行させることができた。1置換体以外の主な不純物は 100g スケールと同様の結果が得られているが、Imp4 の area%が 0.116 と目標の 0.10%以下より若干高くなった。GMP 製造時は THF/IPE 溶液による再結晶を 1 回増やす(2 回実施)ことで対応できるものと考えられた。以上の結果から、第三工程についても安定的に作業ができるものと考えられるが、結晶に黄色の着色が認められた。

#### ④着色対策

第三工程で得られた P092 の結晶に黄色の着色が認められたため、活性炭による脱色効果を確認した。

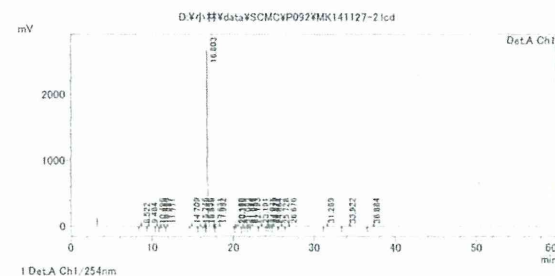
操作としては、第四工程のマレイン酸塩化前、THF 溶解後に実施するのがよいと考えた。P092 結晶 5g を THF に溶解させ、0.1%w/w の活性炭を添加、室温で 30 分攪拌後、濾過して活性炭を除去した。その結果を図-29 に示す。



図 29:活性炭処理前後の溶液比較

図-29 に示したように活性炭処理により溶液の着色が明らかに改善された。

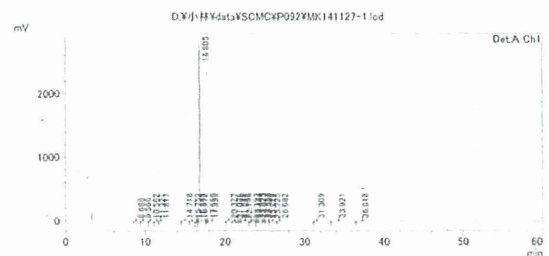
<クロマトグラム>



1 DetA Ch1: 254nm  
<ピークレポート>

SPD-20A Ch1: 254nm	ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	高さ%	ラベル
1	8.922	585	0.002	0.002	0.001	0.001	
2	9.484	694	29	0.001	0.001	0.001	
3	10.486	828	89	0.002	0.003	0.002	
4	10.950	146	0.001	0.001	0.001	0.001	
5	11.297	256	54	0.002	0.002	0.002	
6	11.771	487	79	0.002	0.003	0.002	
7	14.709	9455	1445	0.040	0.052	0.040	
8	15.746	21719	3264	0.082	0.118	0.082	
9	16.336	879	129	0.004	0.005	0.004	
10	16.576	195	43	0.001	0.002	0.001	
11	16.603	2327311	2756000	99.536	99.452	V	
12	17.031	1281	143	0.005	0.005	V	
13	17.952	3186	281	0.014	0.011	V	
14	20.169	154	99	0.003	0.004		
15	20.326	2049	263	0.009	0.010	V	
16	21.092	196	32	0.001	0.001	V	
17	21.544	12194	1721	0.052	0.062	V	
18	21.951	3337	443	0.014	0.016	V	
19	22.193	1271	159	0.005	0.006	V	
20	23.181	1401	152	0.006	0.005	V	
21	24.075	190	31	0.001	0.001	V	
22	24.379	600	103	0.002	0.004	V	
23	24.575	26643	3470	0.111	0.135	V	
24	24.964	678	76	0.002	0.003	V	
25	25.728	8757	1149	0.037	0.041	V	
26	26.076	2566	341	0.015	0.012	V	
27	31.289	854	68	0.004	0.002	V	
28	33.622	5001	195	0.021	0.007	V	
29	38.034	2718	114	0.012	0.004	V	
合計		23405812	2770159	100.000	100.000		

図 30:炭処理前 HPLC チャート



1 DetA Ch1: 254nm  
<ピークレポート>

SPD 20A Ch1: 254nm	ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	高さ%	ラベル
1	8.959	533	65	0.002	0.001	0.001	
2	9.669	329	47	0.001	0.002	0.001	
3	10.562	491	76	0.002	0.003	0.002	
4	11.321	453	62	0.002	0.002	0.002	
5	11.817	525	80	0.002	0.003	0.002	
6	14.718	7354	1125	0.031	0.040	0.031	
7	15.752	21847	3203	0.082	0.118	0.082	
8	16.342	1143	177	0.005	0.006	0.005	
9	16.572	240	45	0.001	0.002	0.001	
10	16.605	2362778	2782938	99.592	99.548	V	
11	17.050	2553	279	0.011	0.010	V	
12	17.953	4062	316	0.017	0.013	V	
13	20.327	2674	329	0.017	0.012	V	
14	21.085	482	53	0.002	0.002	V	
15	21.542	1575	203	0.007	0.007	V	
16	21.948	2053	267	0.009	0.010	V	
17	22.166	1703	160	0.007	0.007	V	
18	23.192	788	90	0.003	0.003	V	
19	23.444	728	53	0.003	0.002	V	
20	23.926	141	26	0.001	0.001	V	
21	24.077	466	71	0.002	0.001	V	
22	24.565	25807	3409	0.109	0.122	V	
23	24.889	802	67	0.003	0.002	V	
24	25.979	3646	515	0.016	0.018	V	
25	25.725	8101	1070	0.034	0.038	V	
26	26.632	2199	321	0.013	0.011	V	
27	31.909	507	50	0.002	0.002	V	
28	33.921	4698	182	0.020	0.007	V	
29	38.018	2236	84	0.009	0.003	V	
合計		23715007	2785509	100.000	100.000		

図 31:炭処理後 HPLC チャート

炭処理前後の HPLC チャートを図-30,-31 に示した。炭処理の影響で新たに増え類縁物質は認められず、imp2 の類縁物質が 0.052%から 0.007%と改善された。したがって、炭処理により HPLC 類縁物質が増えることはなく、工程を追加することは問題ないと判断した。



⑤第四工程 粗体

P092 400g をテトラヒドロフラン 8000mL に溶解後、活性炭 40g を添加し、室温で 30 分攪拌した後、活性炭を濾過により除去し、活性炭処理液を得た。活性炭処理液を氷冷した後、テトラヒドロフランに溶解したマレイン酸 203g を活性炭処理液に少しずつ滴下し、マレイン酸付加反応を行った。室温で 4 時間以上攪拌し、結晶を晶析させた後、濾過、洗浄後、結晶を 45℃で減圧乾燥させて粗 P092・2 マレイン酸塩 625g を得た。

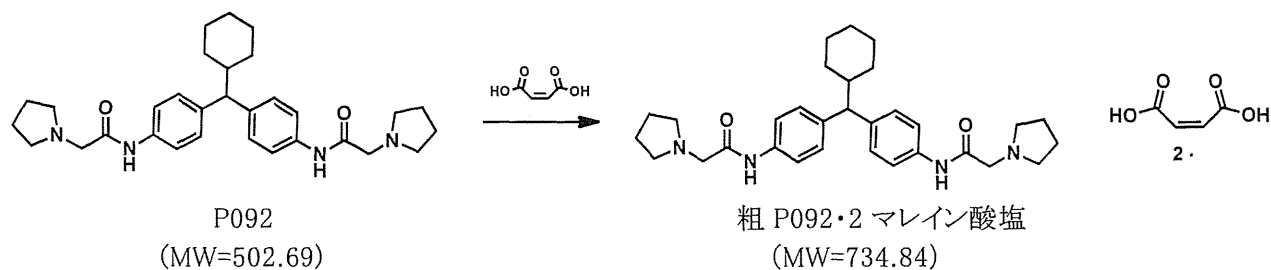


図 32: 第四工程 粗体 合成ルート

予め設定した管理項目を表-13 に示す。

表 13: 第四工程 粗体工程 管理項目結果まとめ

工程	項目	基準	nonGMP
マレイン酸塩化反応	添加温度	10℃以下	1.8~4.1℃
	反応温度	20~30℃	20~30℃
	反応時間	4hr 以上	4hr
乾燥	乾燥減量	1%/hr 以下	0.18%

表-13 に示したように、予め設定した管理項目については、すべて基準内であった。

⑥第四工程 精製

粗 P092・2 マレイン酸塩 625g に無水エタノール/水 (30:1) 溶液を加え、攪拌しながら 70~80℃に加温して溶解させた。溶解後、温度 75℃で溶液を 0.2μm フィルター濾過し、濾液を回収した。攪拌させながら徐々に温度を下げて晶析させ、10℃以下で 2 時間以上攪拌し、濾過、洗浄後、40℃-80℃で減圧乾燥させて精 P092・2 マレイン酸塩 507g 得た。

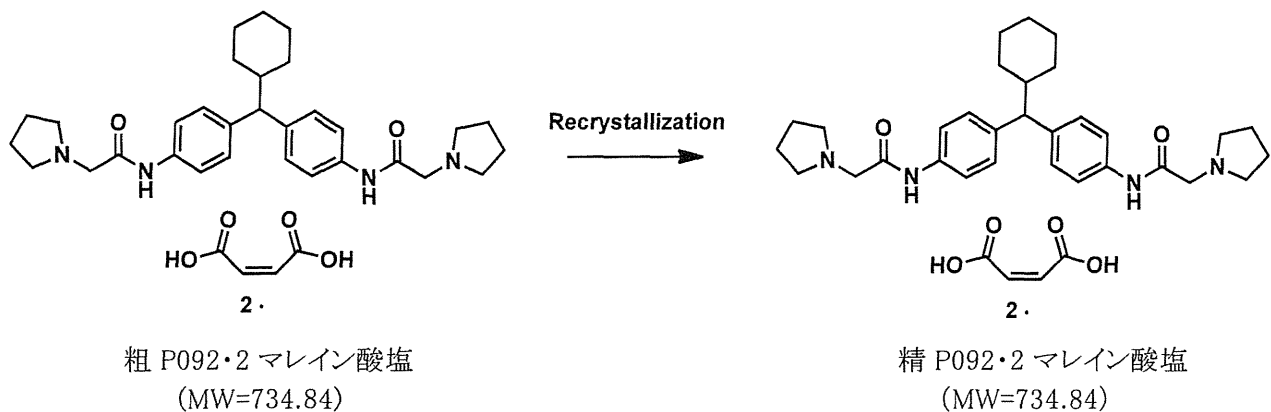


図 33: 第四工程 精製 合成ルート

予め設定した管理項目を表-14 に示す。

表 14: 第四工程 精製 工程管理項目 まとめ

工程	項目	基準	nonGMP
溶解	溶解温度	70～80℃	77.9℃
晶析	晶析温度	10℃以下	0.3～10℃
	晶析時間	2hr 以上	2.4hr
乾燥	残留溶媒エタノール	3500ppm 以下	2219ppm

表-14 に示したように、予め設定した管理項目については、すべて基準内であった。

第四工程 粗体、精製の製造結果を表-15 に示す。

表 15: 第四工程 製造結果まとめ

項目	東京化成 実績 LotFA5QJ	25g 実験	100g 実験	300g Non-GMP LotKS14001
仕込み原料	450g	8.00g	60g	400g
反応時間	4hr	4hr	5hr	4hr
粗体収量	719g	12.49g	91.7g	624.7g
粗体収率	109%	107%	104.6%	106.7%
粗体 HPLC 純度	—	99.40%	99.5%	99.7%
精製収量	584g	10.77g	4.22g	506.5g
精製後収率	88.9%	92.1%	88.3%	86.6%
精製晶 HPLC 純度	99.6%	99.5%	99.6%	99.7%
Total yield	25.5%	33.9%	26.6%	33.2%

表-15 に示したように、精製後収率は 86.6%と 100g スケールとほぼ同等、HPLC 純度は 99.7%と 25g、100g スケールより若干良い結果となった。第一工程から Total 収率は 33.2%と 25g スケールとほぼ同じで、小実験を追認した形となった。結晶の着色については、炭処理により粗体の着色は改善されたが、精製工程の加温溶解操作で着色が強くなった結果、精製に若干の黄色着色が認められた。

今回認められた結晶の着色に関しては、工程途中の熱虐待が原因と考えられるが、製法上回避することが難しい。また、現在長期安定性試験を実施している東京化成品にも経時的に着色が認められ、回避できない問題と思われる。したがって、現状に合わせた規格変更(性状: 白色～微黄色、溶状: 無色又は微黄色澄明)を行った。

## 7. 試験結果

設定した試験方法に準じて製造した P092・2 マレイン酸塩の品質を評価した。その結果を表 16 に示した。

表 16: nonGMP 品 LotKS1401 の試験結果

試験項目		規格	nonGMP LotKS1401
性状	外観	白色から微黄色の結晶性粉末	わずかに黄色の結晶性粉末
確認試験	IR	標準品のスペクトルと同一波数のところに同様の強度の吸収を認める	適
	マレイン酸定性 (TLC)	試料溶液から得られたスポットのうち一つは標準溶液のスポットと Rf 値及び濃さが同等	適
pH		3.5~5.0	pH4.0
純度試験	溶状	無色又は微黄色澄明	微黄色澄明
	塩化物	0.01%以下	0.01%以下
	重金属	20ppm 以下	20ppm 以下
	砒素	2ppm 以下	2ppm 以下
	類縁物質 (HPLC)	1%以下(個々の不純物 0.15%以下)	1%以下(最大不純物 0.11%、総不純物 0.3%)
	残留溶媒	<ul style="list-style-type: none"> <li>・エタノール 5000ppm 以下</li> <li>・THF 720ppm 以下</li> <li>・トルエン 890ppm 以下</li> <li>・ジクロロメタン 600ppm 以下</li> <li>・CPME 5000ppm 以下</li> <li>・酢酸エチル 5000ppm 以下</li> <li>・IPE 5000ppm 以下</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・エタノール 5000ppm 以下 (2066ppm)</li> <li>・THF 720ppm 以下 (153ppm)</li> <li>・トルエン 890ppm 以下 (0ppm)</li> <li>・ジクロロメタン 600ppm 以下 (0ppm)</li> <li>・CPME 5000ppm 以下 (0ppm)</li> <li>・酢酸エチル 5000ppm 以下 (0ppm)</li> <li>・IPE 5000ppm 以下 (0ppm)</li> </ul>
	エンドトキシン	0.5EU/mg 以下	0.5EU/mg 以下
水分		10%以下	10%以下 (0.3%)
強熱残分		0.1%以下	0.1%以下(0.01%)
定量(非水滴定)		98%~102%	99.6%
微生物試験		細菌 50 ヶ/g 以下 真菌 10 ヶ/g 以下 大腸菌群 陰性	細菌 50 ヶ/g 以下 真菌 11 ヶ/g 以下 大腸菌群 陰性

表-16 に示したように製造した P092・2 マレイン酸塩 LotKS1401 は、すべての項目で試験規格を満足した。

P092・2 マレイン酸塩

### 3. 規格検討結果報告