

3月納品分のP092(140g)の製法について

先日、お伺いした際にお渡ししましたサンプル①～④のX線結晶回折結果、DSCのチャートを基に、最終的な精製方法をノーベルファーマ様と協議を行いました。

サンプル概要

昨年12月、今年1月に納品しましたクロロアセチルクロリドを第2工程に用いた製法を製法3とします。

サンプル①：製法3(lot. J2FN0)をIPA変性エタノールで再結晶

サンプル②：製法3(lot. J2FN0)を無水エタノールで再結晶

サンプル③：処理方法変更実験により得たものをIPA変性エタノールで再結晶

サンプル④：処理方法変更実験により得たものを無水エタノールで再結晶

検討事項

1. X線結晶回折結果について

サンプル①～④は、納品した製法3と結晶化度(結晶となっている割合)が多くなっているが、完全に結晶化しているとは言えない。ただし、含まれている結晶の結晶形はピークパターンから一致していると言える。

2. DSC結果について

サンプル①、②については、PMDAから指摘のあった転位ピークは消えている。サンプル③、④については、サンプル①、②に比べると融点が高温度側にずれていることから、含量は良くなっていると判断して良いだろう(実際、LC含量も①、②よりわずかに高い)。しかしながら、融点ピークの直前にある「肩ピーク」をどのように判断してよいか?知見がない。

検討結果

これらの結果、及びメリット、リスクを考慮し、「サンプル①の製法：3(lot. J2FN0)をIPA変性エタノールで再結晶」を選択しました。

サンプル③、④に関しては、DSCの「肩ピーク」の判断がつかず、PMDAに悪い解釈をされる可能性もありうるので、除外としました。

メリット

- 1) 結晶化度が製法3よりもより良いことで、安定性は良いであろうと推測できる。結晶化度が高い方が良い。現在、製法3の安定性試験を実施しているが、もし不安定であった場合、サンプル①の製法で製造したものの安定性試験を実施できる(製法3の安定性試験結果のタイミングにもよるが)。
- 2) 製法3に精製工程を追加しているだけであるので、毒性試験への影響は少ないと考えられる。
- 3) 製法3よりも製造がやり易くなる。無水エタノールよりもIPA変性エタノールの方が安価。

リスク：リスクとして、メリットの裏返しとなってしまうところがあります。

1) 安定性の問題が浮上する可能性が十分にある。

・製法3の安定性試験にて不安定と判断された場合、再度、サンプル①の製法にて安定性試験を行う必要がある。

・サンプル①の製法においても、完全な結晶でないため、製法3よりも安定性は良いと推測できるが、化学的な分解等により不純物が増える、または新たな不純物が生成する可能性がある。

・結晶が完全でないため、本品の結晶形、結晶化度が経時変化し、含量は一定の高純度を維持していたとしても、当初と比較して、溶液への溶解性や生体内への吸収が影響を受ける可能性がある。

2) 毒性試験の再試験の可能性はある。

上述の1)を受けて、これまで行った毒性試験の一部をやり直す必要がある。

3) 精製工程を加えることで製造工程が増えることになる。

2. 製造検討

岐阜大学大学院
連合創薬医療情報研究科 御中
桑田 一夫 教授

分析結果報告書

P092・ニマレイン酸塩

2014年 3月 19日

積水メディカル株式会社
医療事業部門 医薬事業部
岩手研究開発センター

検討担当者

宮田 毅

検討責任者

市東 利明

1. 目的

本分析は、プリオン病治療薬 P092 ニマレイン酸塩の治験に向けた準備の一環として、岐阜大学より支給されたサンプル(前臨床用に調製されたもの)を用い、これまでに仮設定された試験項目を追試し、今後の製品規格設定のための予備分析を実施することを目的とする。

2. 試料

貴大学提供品(Lot No. 不明) 800 mg

計 1 検体

3. 試験項目および規格

試験項目	試験方法	規格(案)	結果
融点	日局一般試験法 融点測定法	172~177°C	125~160°C
赤外吸収スペクトル	日局一般試験法 赤外吸収スペクトル測定法	標準スペクトルに一致する	スペクトル測定のみ
核磁気共鳴スペクトル	日局一般試験法 核磁気共鳴スペクトル法	標準スペクトルに一致する	スペクトル測定のみ
純度	日局一般試験法 液体クロマトグラフィー	本品のピーク面積が、保持時間 4 分から 35 分の間に得られたピーク面積の 99%以上	99.6%
粉末 X 線回折測定	日局一般試験法 粉末 X 線回折測定法	規格を決定しない	スペクトル測定のみ

4. 試験方法

4-1. 融点

4-1-1. 測定装置

融点測定器 Buchi 社 B-545 型

4-1-2. 試験方法

日本薬局方一般試験法 融点測定法の第1法に準拠し、測定する。

4-1-3. 結果

125°Cより部分的な溶解が始まるものの、160°Cまで完溶しなかった。

示差熱分析の結果(チャート 1) 144°Cにピークが見られることから、結晶成分と非晶質成分が混在していると推測する。

4-2. 赤外吸収スペクトル

4-2-1. 測定装置および使用した試薬

フーリエ変換赤外分光光度計 HORIBA FT-720 型
臭化カリウム: キシダ化学 赤外スペクトル測定用

4-2-2. 測定方法

日本薬局方一般試験法 赤外吸収スペクトル測定法の臭化カリウム錠剤法に従い測定する。

4-2-3. 結果

測定スペクトル (チャート 2) を参照

4-3. 核磁気共鳴スペクトル

4-3-1. 測定装置および使用した試薬

高分解能核磁気共鳴装置 日本電子 JNM-ECX400P 型
重クロロホルム: ISOTEC 社製
重メタノール : ACROS 社製
重 DMSO : ACROS 社製

4-3-2. 試料溶液の調製

測定試料 10mg に TMS 入り重クロロホルム 0.5mL を加えたが、完溶しなかった。よって、測定試料 10mg を重メタノールもしくは、重 DMSO 0.5 mL に溶解し、TMS を少量入れ、NMR 測定用チューブに封入した。

4-3-3. 結果

測定スペクトル (チャート 3~4) 参照

4-4. 純度(HPLC 測定)

4-4-1. 測定装置および使用した試薬

高速液体クロマトグラフ装置 Prominence 島津製作所製
アセトニトリル : 関東化学 高速液体クロマトグラフ用
トリフルオロ酢酸 : 和光純薬 高速液体クロマトグラフ用

4-4-2. 分析条件

検出器: 紫外吸光光度計 (254 nm)
カラム: GL-Sciences 社製 Inertsil ODS-2 4.6φ×250mm, 5μm
カラム温度: 40°C 付近の一定温度
移動相: ミリ Q 水 1000mL にトリフルオロ酢酸 2 mL を加え振り混ぜたものを"移動相 B"とする。
アセトニトリル: 移動相 B を 20 : 80 から開始して、20 分間の直線グラジエント法で 60 : 40 に

し、その後 30 分間この条件を保つ。

流速 : 1.0 mL/min

試料溶液注入量 : 5 μ L

分析用試料調製

アセトニトリル 1 容量と、移動相 B1 容量を振り混ぜ、試料溶解液とする。分析試料約 5 mg を量り、試料溶解液に溶かし、20mL にする。

4-4-3. 結果

システム適合性

回数	Area	平均	標準偏差	相対標準偏差	判定	判定基準
1	3229528	3225756	4259.512	0.13	適	相対標準偏差が 2.0%以下である
2	3218748					
3	3229922					
4	3227970					
5	3223884					
6	3224485					

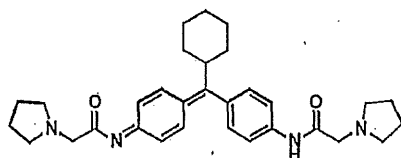
項目	結果	判定基準	判定
理論段数	142586	2000 段以上	適
シンメトリー係数	1.1	2.0 以下	適

分析結果 (チャート 5~8)

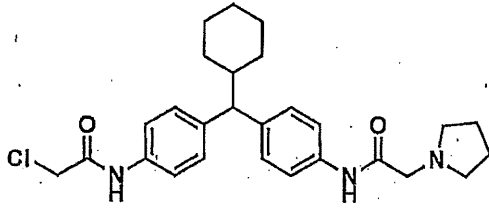
測定回数	P092	Imp. 1 (RRT=0.92)	Imp. 2 (RRT=1.28)	Imp. 3 (RRT=1.30)	Imp. 4 (RRT=1.50)
1	99.6%	0.10%	0.05%	0.17%	0.07%
2	99.6%	0.10%	0.06%	0.16%	0.08%
3	99.6%	0.10%	0.04%	0.17%	0.07%
平均	99.6%	0.10%	0.05%	0.17%	0.07%

Imp.1 および Imp.3 に関して、LC-MS にて分析した結果(チャート 9~11)、以下の構造と推定する。
Imp. 2 および Imp.4 は質量データが得られなかった。

Imp. 1 推定構造 分子量 500 (P092 酸化体)



Imp. 3 推定構造 分子量:468 (一置換体)



4-5. 粉末 X 線回折測定

4-5-1. 測定装置

リガク社 X 線回折装置 MiniFlex II

4-5-2. 試験方法

試料を乳鉢に採り、乳棒ですり潰し、専用のディスクに敷き詰める。試料を敷き詰めたディスクを装置にセットし、分析を行う。

4-5-3. 結果

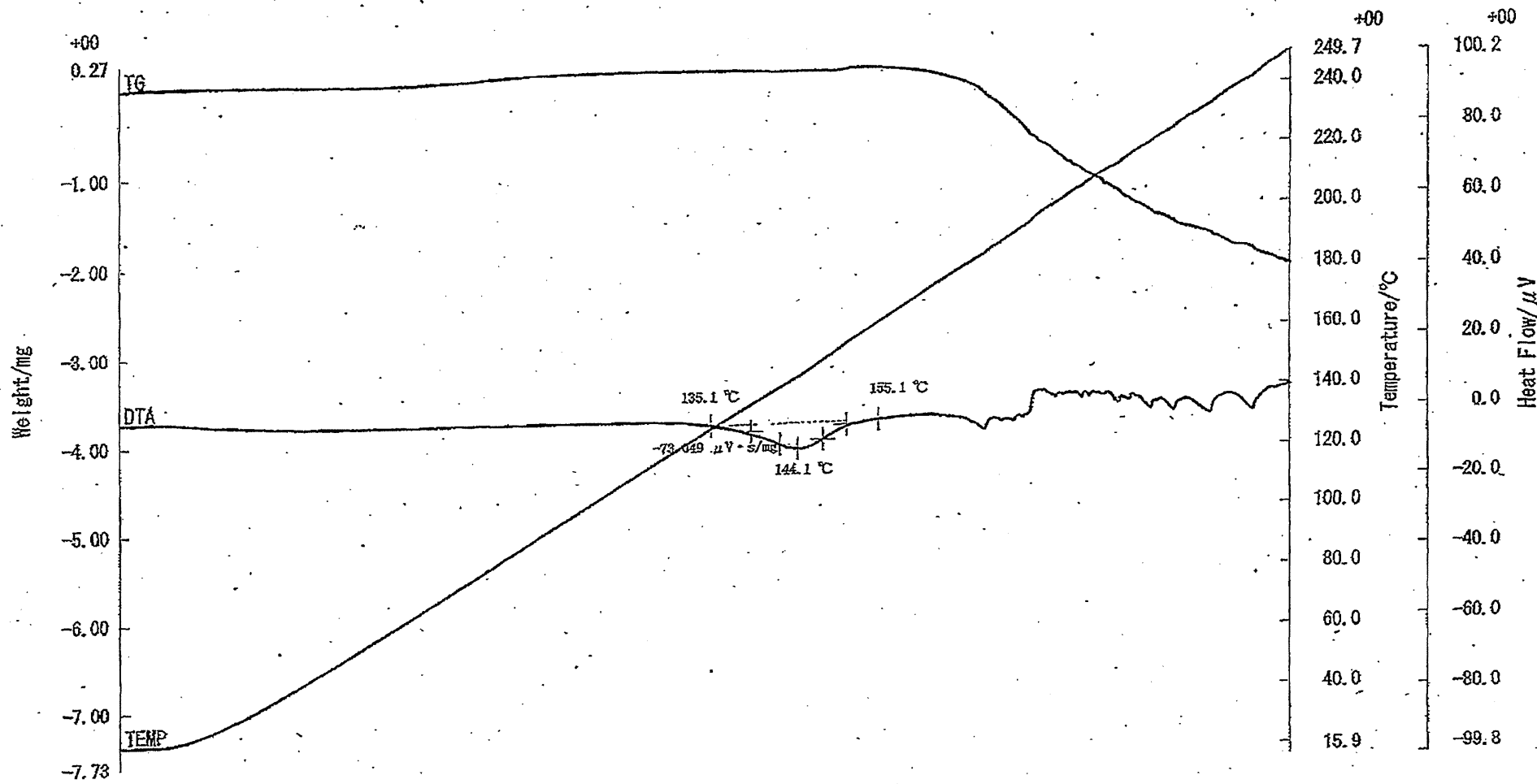
測定スペクトル (チャート 12) 参照

以上

P092・ニマレイン酸塩 添付資料

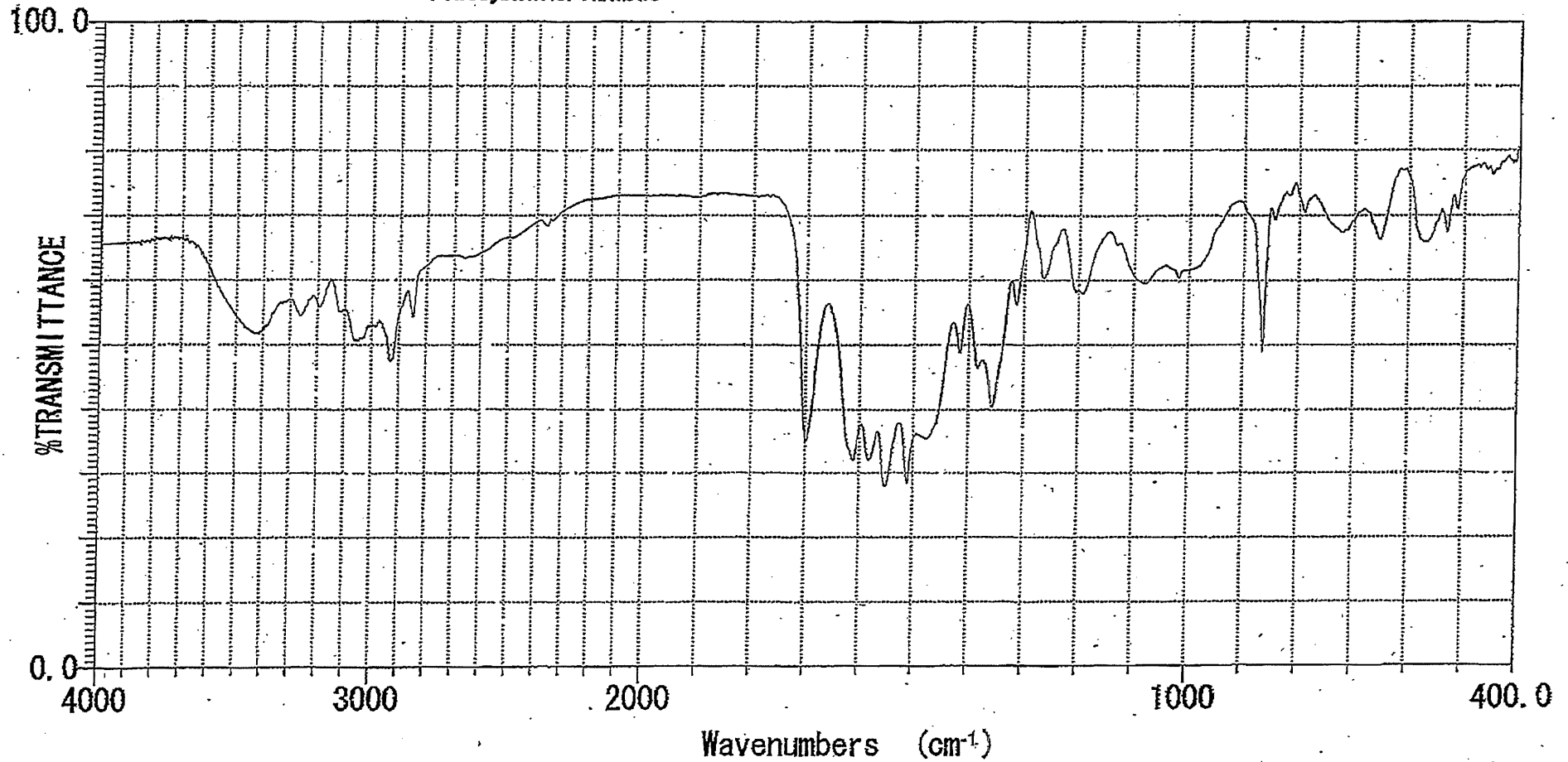
チャート 1	示差熱分析測定チャート
チャート 2	赤外吸収スペクトル測定チャート
チャート 3～4	核磁気共鳴スペクトル測定チャート
チャート 5～8	HPLC 測定チャート
チャート 9～11	LC-MS 測定チャート
チャート 12	粉末 X 線回折測定チャート

チャート1 示差熱分析測定チャート



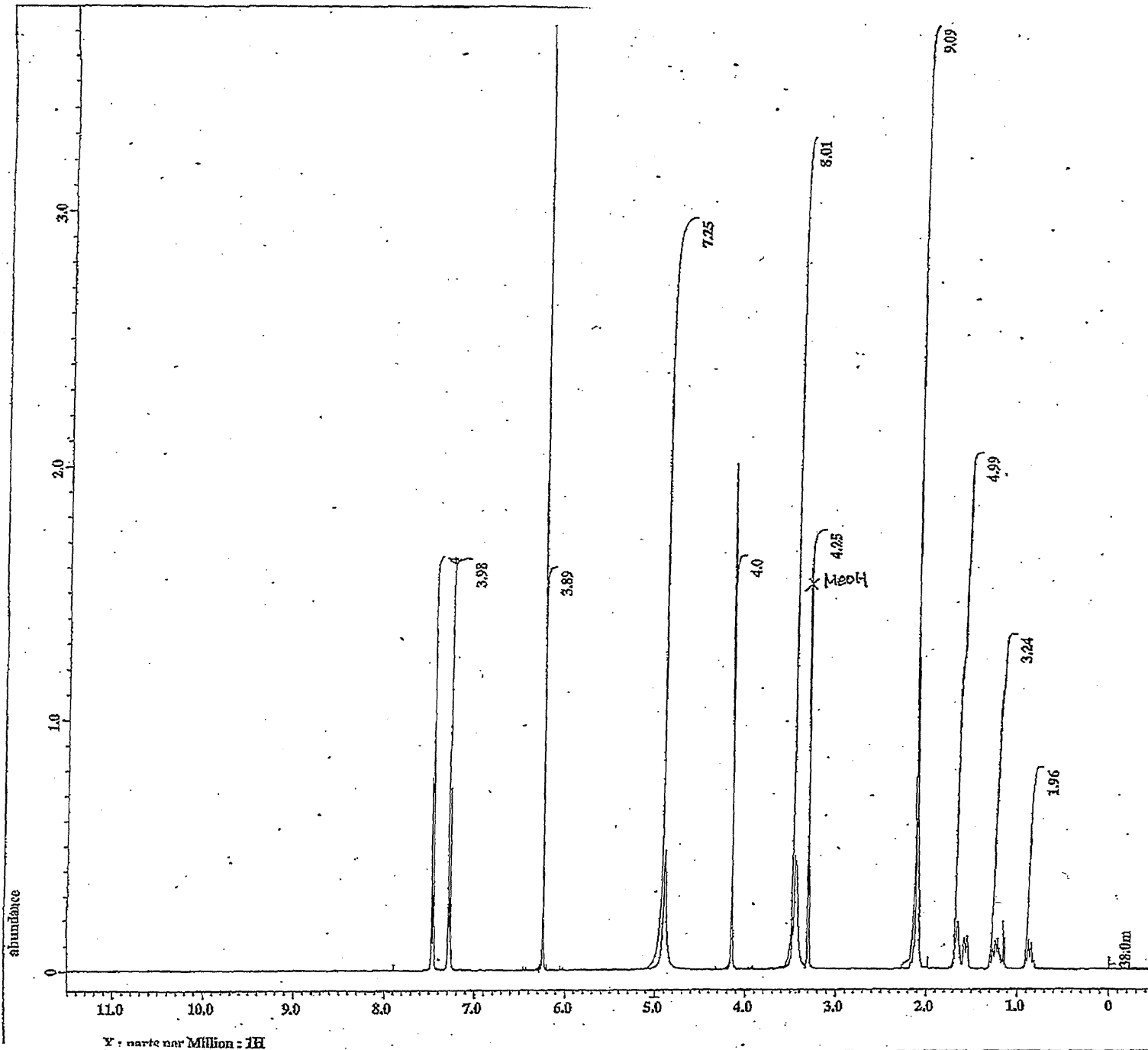
パート2 赤外吸収スペクトル測定レポート

HORIBA FT-IR for Windows(TM) Ver.4.07
FTIR system for Windows



ファイル名 : 140306a
 タイトル : P092 綾大物アム
 測定日時 : 2014年03月06日 15時01分55秒
 測定分解能 : 4 cm⁻¹
 スキャン回数 : 10 回
 測定ゲイン : 1
 コメント :

発行	ファイル名	タイトル
発行 6	140306a	P092 綾大物アム



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

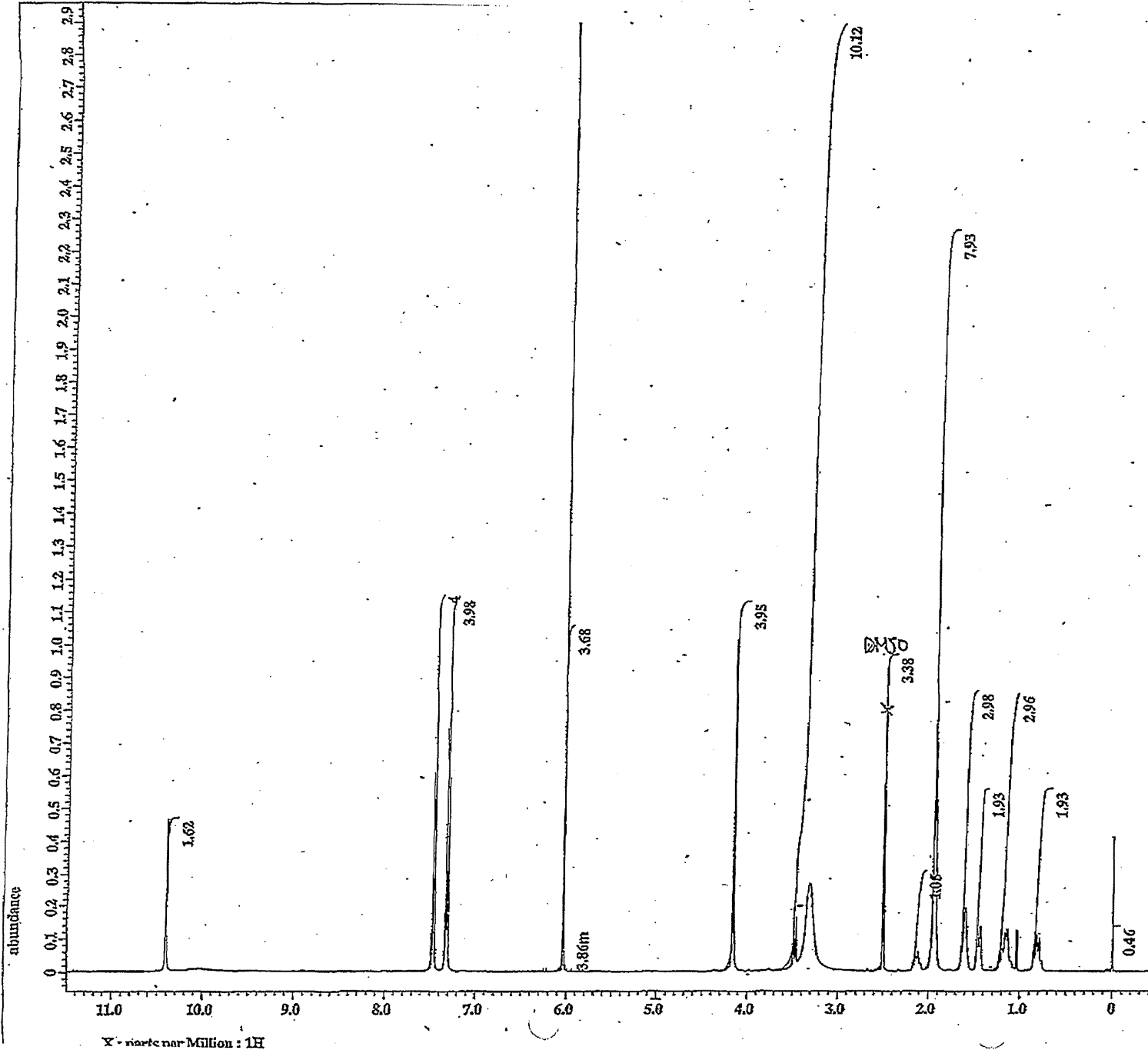
P092 MeOH-H

Filename = 140310 D4 MeOH-3.jdf
 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 17:02:33
 Current_time = 13-MAR-2014 17:02:52

Comment = single_pulse
 Data_format = ID COMPLEX
 Dim_size = 13107
 Dim_title = LF
 Dim_units = [ppm]
 Dimensions = X
 Site = KCC 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 = 16394
 X_prescans = 1
 X_resolution = 0.45794685 [Hz]
 X_sweep = 7.5030012 [kHz]
 Err_domain = 1H
 Err_freq = 399.78219838 [MHz]
 Err_offset = 5 [ppm]
 Err_domain = 1H
 Err_freq = 399.78219838 [MHz]
 Err_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]
 Err_mode = Off
 Err_mode = Off
 Dante_present = FALSE
 Initial_wait = 1 [s]
 Recvr_gain = 38
 Relaxation_delay = 5 [s]
 Repetition_time = 7.18365952 [s]
 Temp_get = 20.2 [dC]



PROCESSING PARAMETERS
 dc_balance : 0 : FALSE
 skew : 0.2[Hz] : 0.0[Hz]
 trapezoid3 : 0[%] : 80[%] : 100[%]
 zerofill : 1
 list : 1 : ERUZ : ERUZ
 machinephase
 ppm

Derived from: P092 DMSO d6-1.jdx

P092 DMSO-D6

Filename = P092 DMSO d6-3.jdx
 Author = delta
 Experiment = single_pulse.ex2
 Sample_id = S9568925
 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 = ZCX 400P
 Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_strength = 9.389766[M] (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_swap = 7.5030012[kHz]
 Inx_domain = 1H
 Inx_freq = 399.78219838[MHz]
 Inx_offset = 5[ppm]
 Inr_domain = 1H
 Inr_freq = 399.78219838[MHz]
 Inr_offset = 5[ppm]
 Clipped = FALSE
 Mod_return = 1
 Scans = 16
 Total_scans = 16

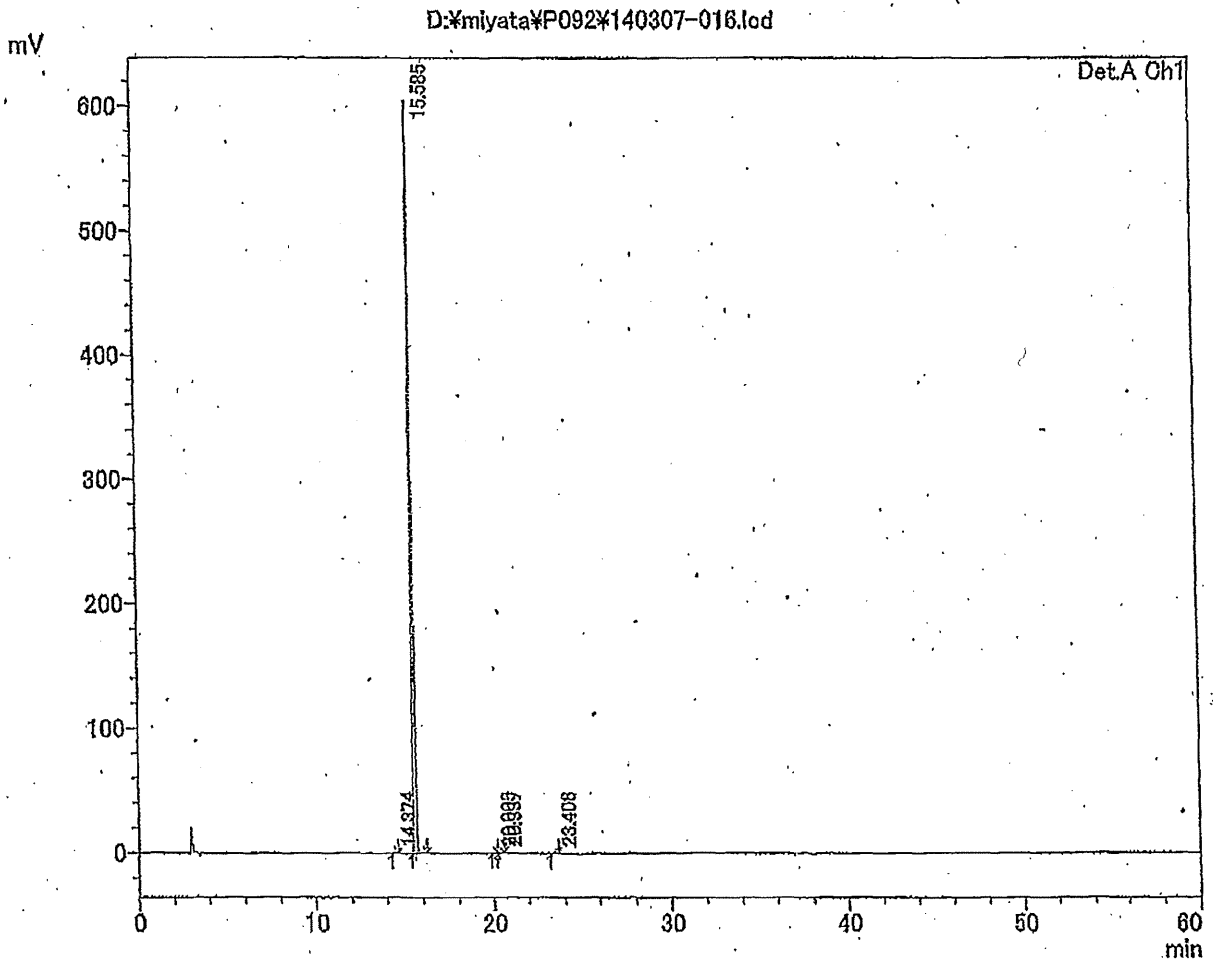
X_90_width = 12.6[us]
 X_acq_time = 2.18365952[s]
 X_angle = 45[deg]
 X_atn = 3[dB]
 X_pulse = 6.3[us]
 Inr_mode = OFF
 Inr_mode = OFF
 Dantec_prewat = FALSE
 Initial_wait = 1[s]
 Recvz_gain = 38
 Relaxation_delay = 5[s]
 Repetition_time = 7.18365952[s]
 Temp_get = 19.8[degC]

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.lod
 メソッドファイル : P092.lom
 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).lor
 分析日時 : 2014/03/07 23:31:00
 解析日時 : 2014/03/13 15:36:01

<クロマトグラム>



<ピークレポート>

検出器A Ch1 254nm

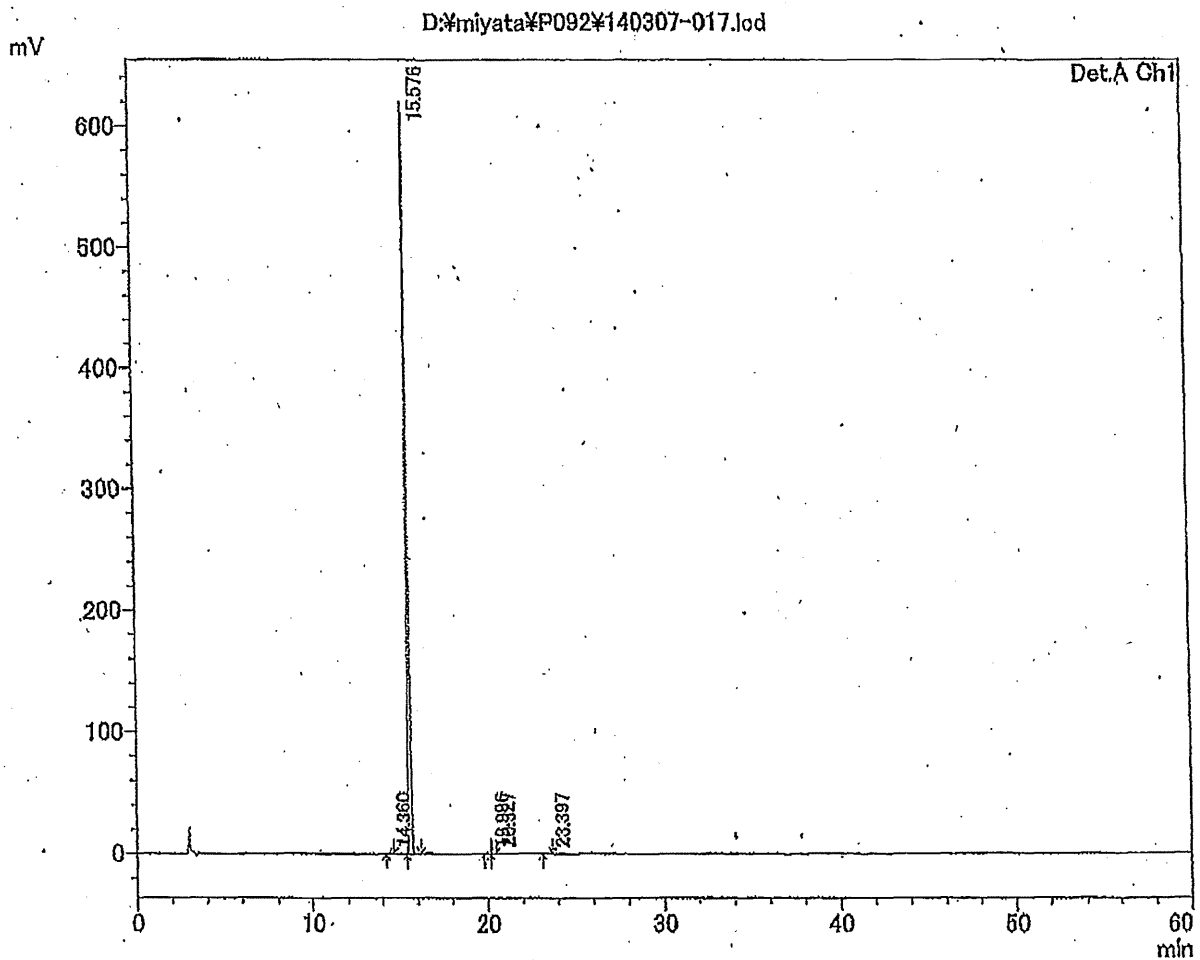
ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	高さ%	マーク
1	14.374	3633	555	0.097	0.094	← Imp. 1
2	15.585	3723403	587768	99.614	99.860	← P092
3	20.003	1748	249	0.047	0.042	← Imp. 2
4	20.337	6424	897	0.172	0.152	← Imp. 3
5	23.408	2617	301	0.070	0.051	← Imp. 4
合計		3737826	589770	100.000	100.000	

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
 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).lor
 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

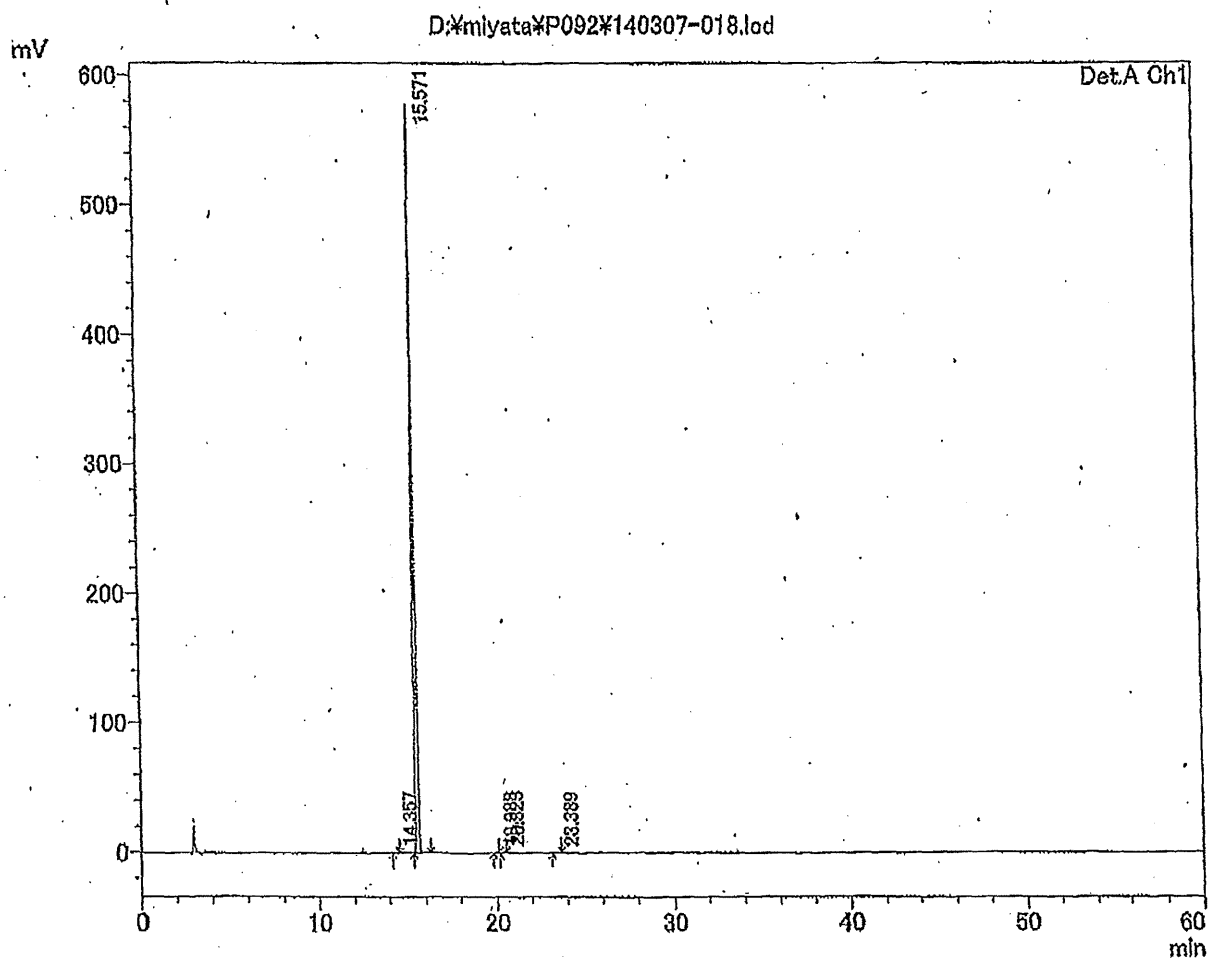
ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	高さ%	マーク
1	14.360	3948	572	0.102	0.097	← Imp. 1
2	15.576	3847435	588031	99.600	99.644	← P092
3	19.996	2196	274	0.057	0.046	← Imp. 2
4	20.327	6324	924	0.164	0.157	← Imp. 3
5	23.397	3002	329	0.078	0.056	← Imp. 4
合計		3862904	590130	100.000	100.000	

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=8
 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.lod
 メソッドファイル : P092.lom
 バッチファイル : P092.lob
 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).lor
 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>



1 Det.A Ch1/254nm

<ピークレポート>

検出器A Ch1 254nm

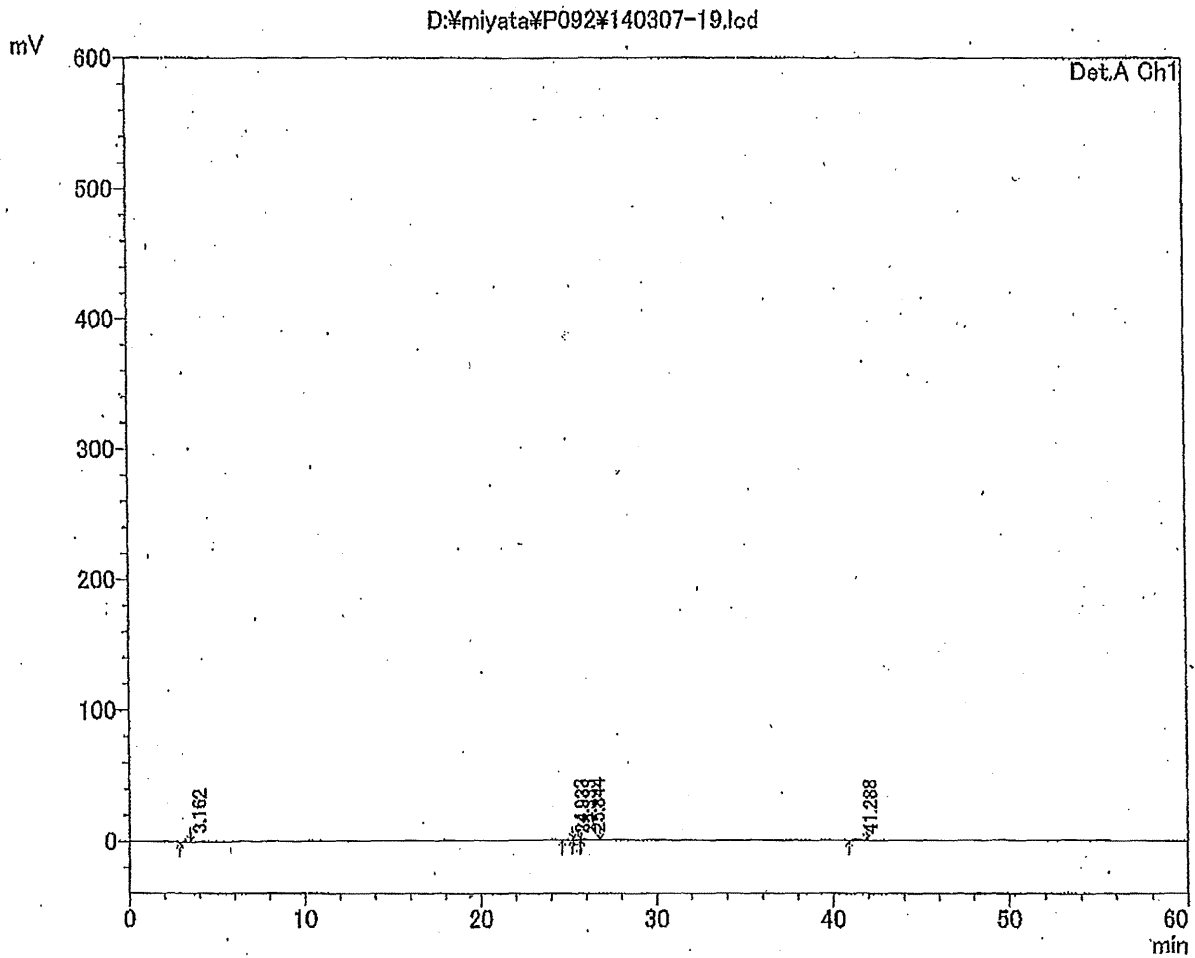
ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	高さ%	マーク
1	14.357	3530	540	0.098	0.101	←Imp. 1
2	15.571	3578448	534253	99.617	99.633	←P092
3	19.988	1469	232	0.041	0.043	←Imp. 2
4	20.323	6082	895	0.169	0.167	←Imp. 3
5	23.389	2665	299	0.074	0.066	←Imp. 4
合計		3592194	536219	100.000	100.000	

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).lor
 分析日時 : 2014/03/08 2:32:49
 解析日時 : 2014/03/18 11:04:41

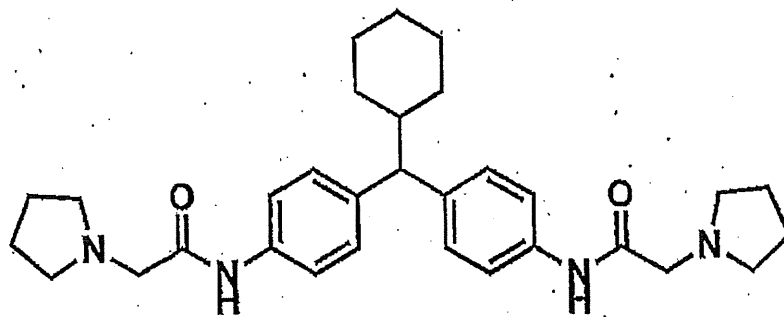
<クロマトグラム>



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	6446	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	

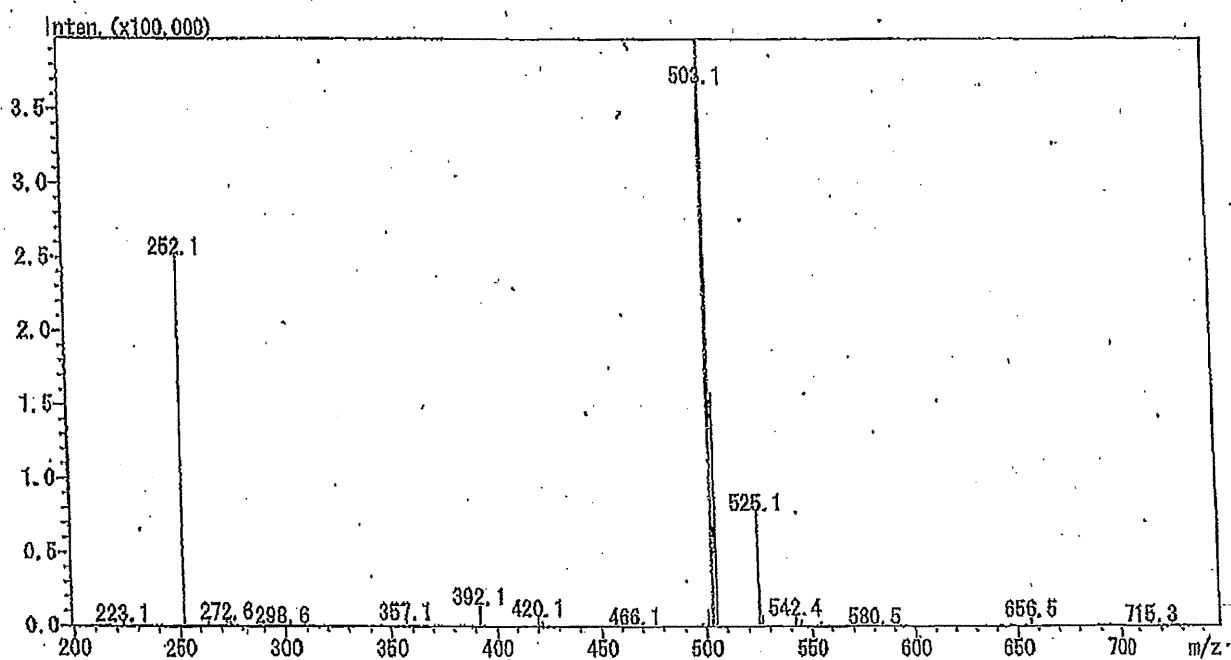


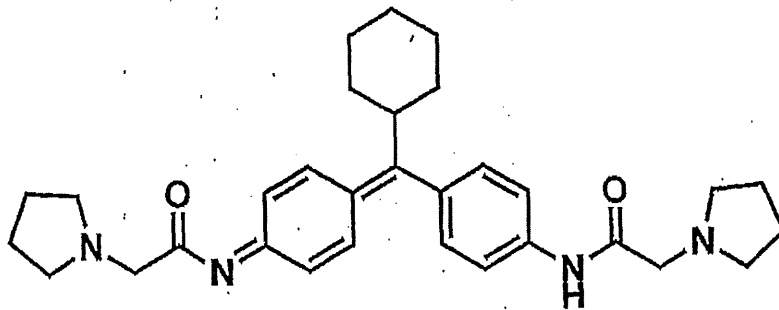
Chemical Formula: $C_{31}H_{42}N_4O_2$

Exact Mass: 502.33

Molecular Weight: 502.69

チャート9 LC-MS測定チャート (P092)



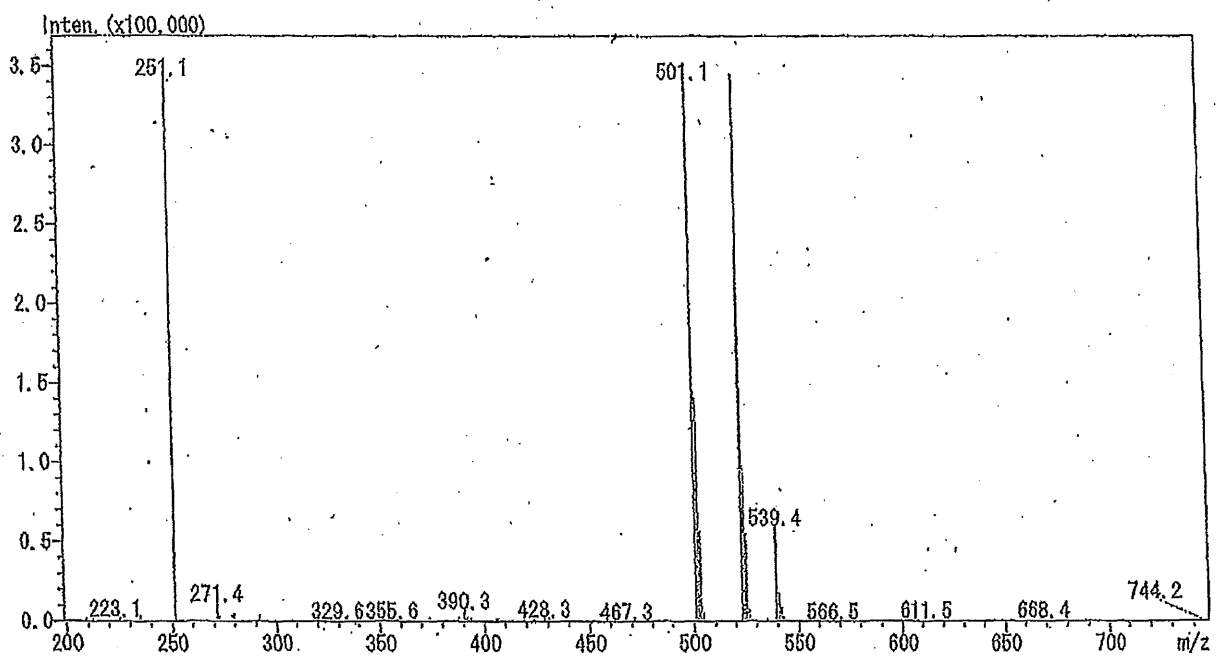


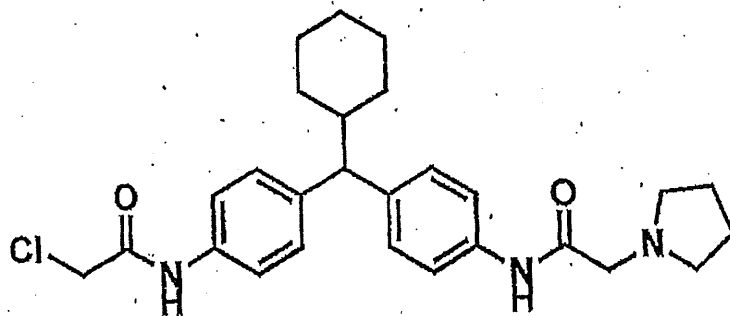
Chemical Formula: $C_{31}H_{40}N_4O_2$

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: $C_{27}H_{34}ClN_3O_2$
Exact Mass: 467.23
Molecular Weight: 468.03

チャート 1 1 LC-MS測定チャート (Imp. 3)

