

表-1 に示したとおり、いずれのサンプルも X 線回折、示差熱及び IR に違いは認められなかった。また、

標品である LotS25PF-QJ 及び LotFA5QJ-QG のデータとも違いは認められなかった。

したがって、本条件では、結晶多形が生じる可能性はないものと考えられる。

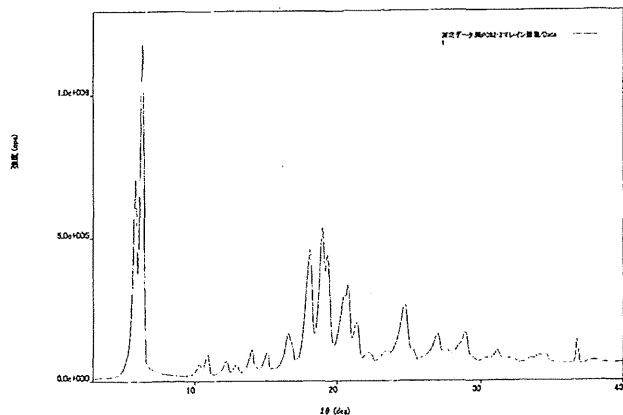


図 3:再現性評価 X 線回折チャート n=1

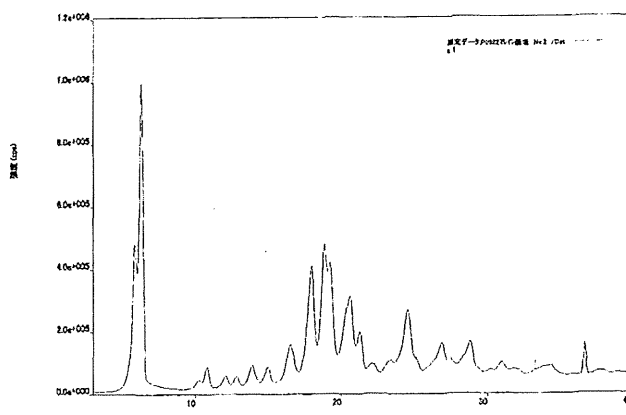


図 4:再現性評価 X 線回折チャート n=2

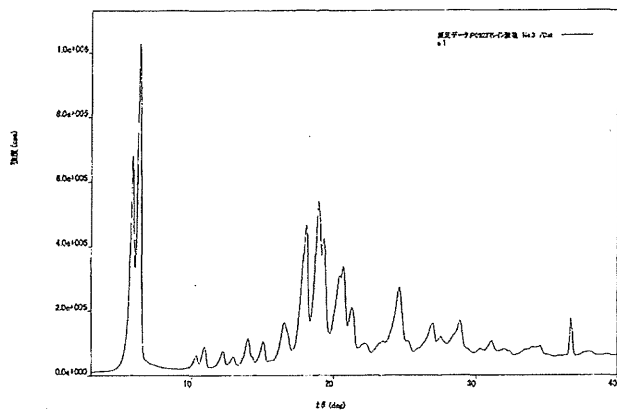


図 5:再現性評価 X 線回折チャート n=3

3 サンプルの X 線回折チャートを図-3,4,5 に示した。3 サンプルの X 線回折チャートに違いは認められなかった。

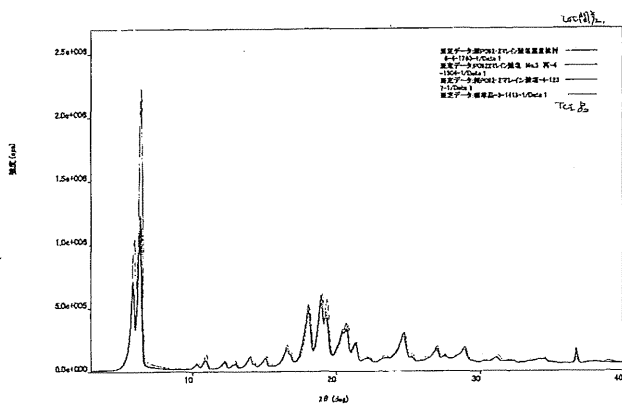


図 6:再現性評価 X 線回折チャート 重ね書き

各サンプルの X 線回折チャートを重ねた(図-6)。調製したサンプルはすべて同じスペクトルを示している。

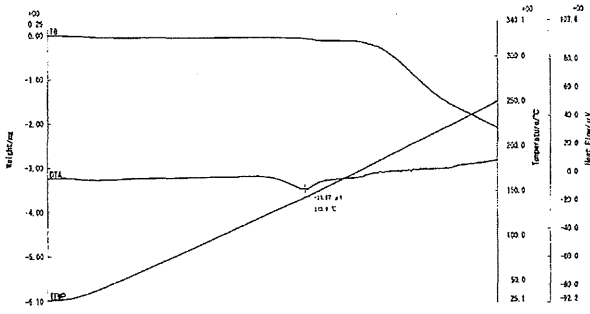


図 7:再現性評価 示差熱チャート n=1

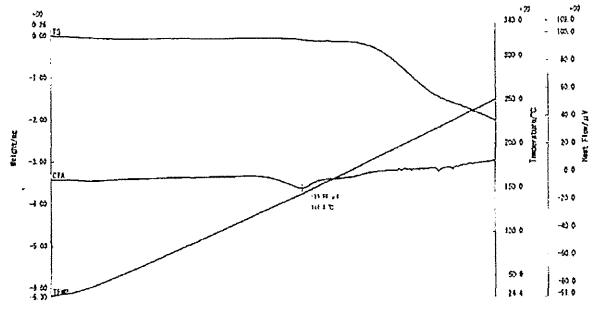


図 8:再現性評価 示差熱チャート n=2

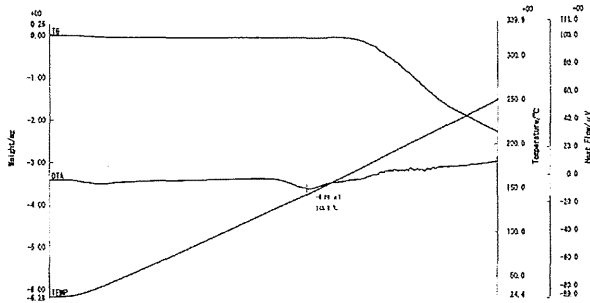


図 9:再現性評価 示差熱チャート n=3

3 サンプルの示差熱チャートを図-7,8,9に示した。3 サンプルの示差熱チャートに違いは認められず、結晶多形の存在は認められなかった。

2. 溶媒濃度影響

再結晶工程で、再現性を確認できたことから、再結晶に使用する溶媒濃度による影響について検討を行った。

①実験方法

粗 P092・2 マレイン酸塩(自社調製品:Lot20141008)3g を用い、エタノール:注射用水(30:1)溶液を 5.0v/w、5.5v/w、6.0v/w(標準条件)、6.5v/w、7.0v/w と条件を変え、それらを加熱(60-80℃)により溶解し、再結晶を実施した。得られたサンプルについて、X線回析、示差熱、IR の測定を行った。

②結果

その結果を表-2 に示した。

表-2 に示したように溶媒量 5.0v/w~7.0v/w の条件では得られたサンプルに X線回析、示差熱、IR で違いは認められなかった。また、標準品 LotS25PF-QJ 及び LotFA5QJ-QG とも同様の結果が得られた。したがって、添加溶媒量が変化した場合においても結晶多形が生じる可能性はないと考えられた。

表 2: 溶媒量の違い

No.	溶媒量	溶媒比 (EtOH:水)	収率	X線回析	示差熱 (吸熱温度)	IR	備考
1	5.0 v/w	30:1.0	85%	同等	144.2℃	同等	溶解に時間が掛かった
2	5.5 v/w	30:1.0	86%	同等	143.9℃	同等	
3	6.0 v/w	30:1.0	85%	同等	143.9℃	同等	標準条件
4	6.5 v/w	30:1.0	85%	同等	144.6℃	同等	
5	7.0 v/w	30:1.0	84%	同等	143.9℃	同等	

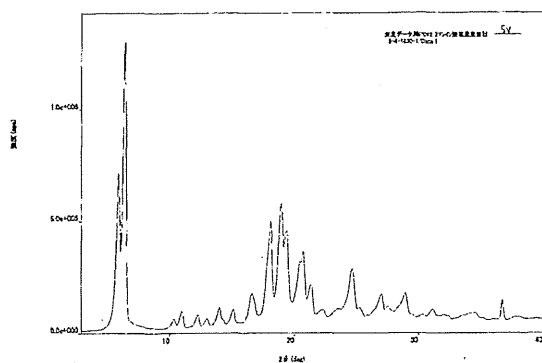


図 10: 溶媒量影響 5.0v/w X線回析チャート

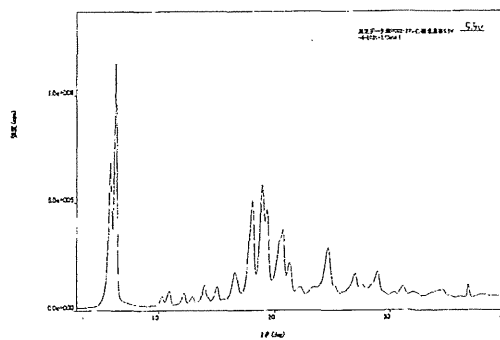


図 11: 溶媒量影響 5.5v/w X線回析チャート

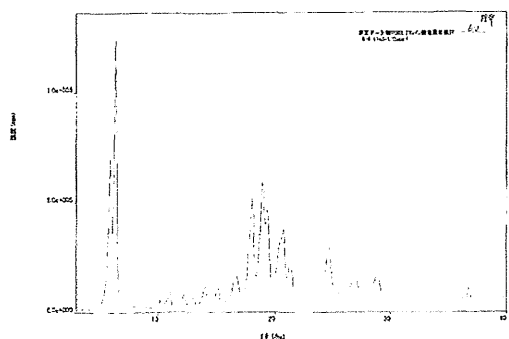


図 12: 溶媒量影響 6.0v/w X線回析チャート

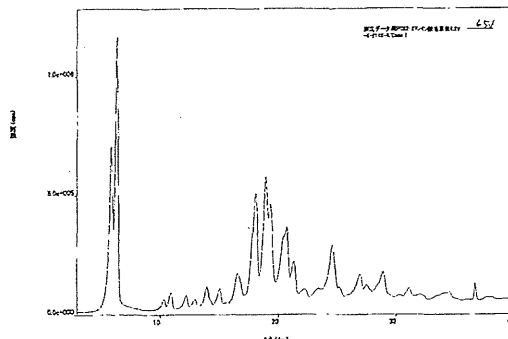


図 13: 溶媒量影響 6.5v/w X線回析チャート

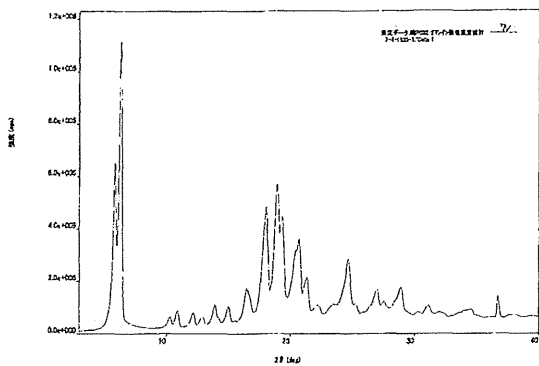


図 14: 溶媒量影響 7.0v/w X線回析チャート

各サンプルの X 線回析チャートを図-10,11,12,13,14 に示した。各サンプルの X 線回析チャートに違いは認められなかった。

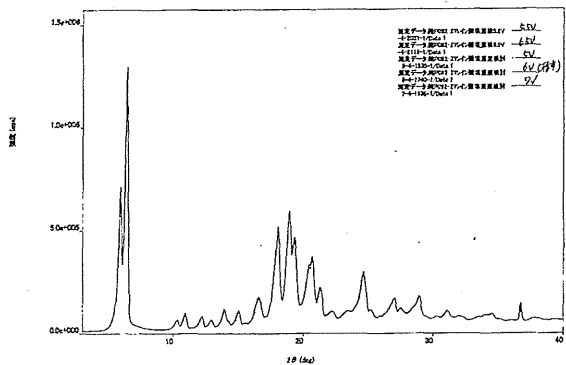


図 15: 溶媒量影響 X線回析チャート 重ね書き

各サンプルの X 線回析チャートを重ねた(図-15)。調製したサンプルはすべて同じスペクトルを示していた。

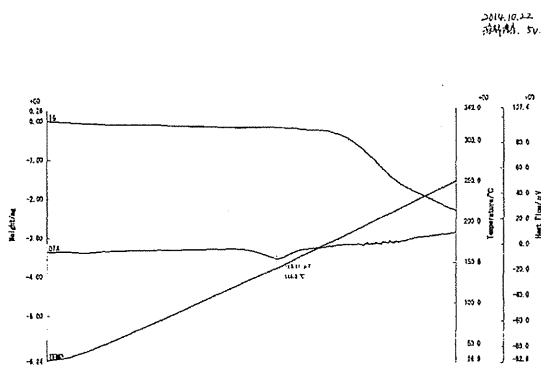


図 16: 溶媒量影響 5.0v/w 示差熱チャート

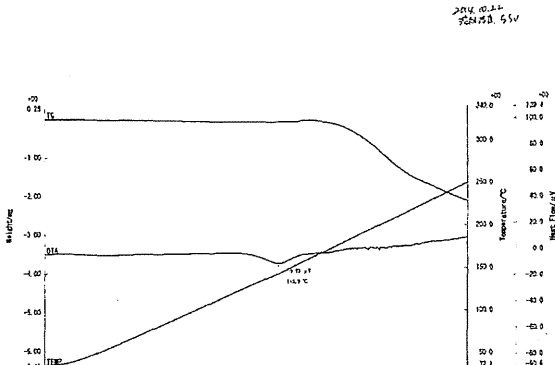


図 17: 溶媒量影響 5.5v/w 示差熱チャート

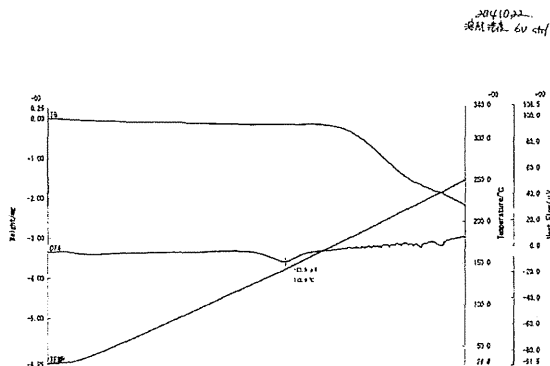


図 18: 溶媒量影響 6.0v/w 示差熱チャート

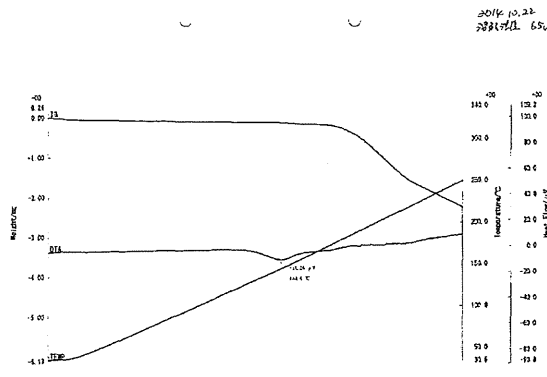
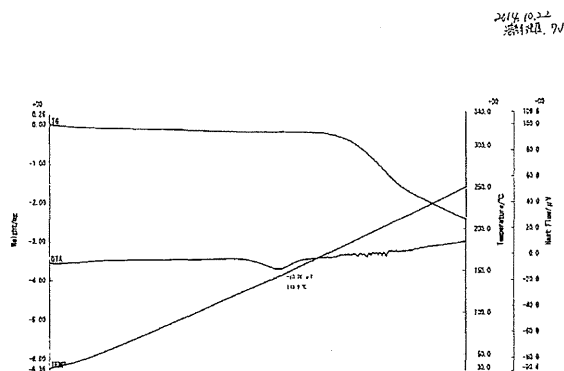


図 19: 溶媒量影響 6.5v/w 示差熱チャート



各サンプルの示差熱チャートを図-16,17,18,19,20 に示した。各サンプルの示差熱チャートに違いは認められなかった。結晶多形の存在を示すデータは認められなかった。

図 20: 溶媒量影響 7.0v/w 示差熱チャート

3. 溶媒組成影響

溶媒組成の違いによる結晶多系生成について検討を行った。

① 実験条件

粗 P092.2 マレイン酸塩(自社調製品: Lot20141008) 3g を用い、エタノール: 注射用水 30:0.5、30:0.75、30:1.0、30:1.5、30:2.0 と溶媒組成の異なるものを調整し、それぞれの溶媒を 6.0v/w 用いて、加熱(60-80°C)により溶解し、再結晶を実施した。得られたサンプルについて X 線回析、示差熱、IR の測定を行った。

② 結果

その結果を表-3 にまとめた。

表 3: 溶媒組成の違い

溶媒比 (EtOH:水)	晶析温度	収率	X 線回析	示差熱 (吸熱温度)	IR	備考
30:0.5	—	84%	同等	—	—	溶解せず
30:0.75	—	85%	同等	—	—	溶解せず
30:1.0	60°C	84%	同等	143.9°C	同等	標準条件
30:1.5	40°C	80%	同等	143.3°C	同等	
30:2.0	35°C	74%	同等	142.9°C	同等	

表-3に示したように溶媒組成の水比率が低い場合、すなわちエタノール: 注射用水比 30:0.5、30:0.75 の条件では、結晶は完溶しなかった。

エタノール: 注射用水比 30:1.0、30:1.5、30:2.0 のサンプルでは、X 線回析、示差熱、IR に違いは認められなかった。また、標準品 LotS25PF-QJ 及び LotFA5QJ-QG とも同様の結果が得られた。収率に関して、注射用水の比率が上がると低下した。P092.2 マレイン酸塩の溶解度が上がったためと考えられる。

以上のことから、溶媒中の注射用水比率を変化させても結晶多形が生じる可能性はないものと考えられた。

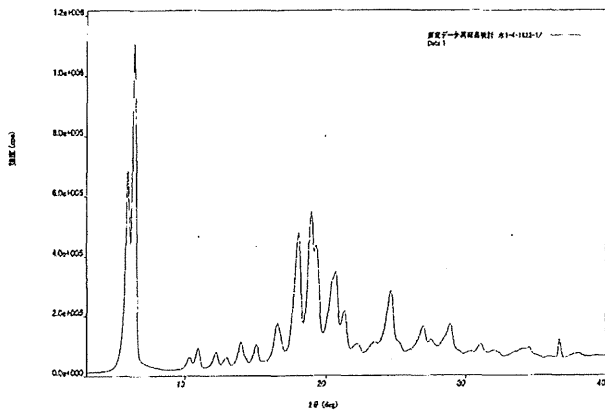


図 21: 溶媒比影響水比率 0.5X 線回析チャート

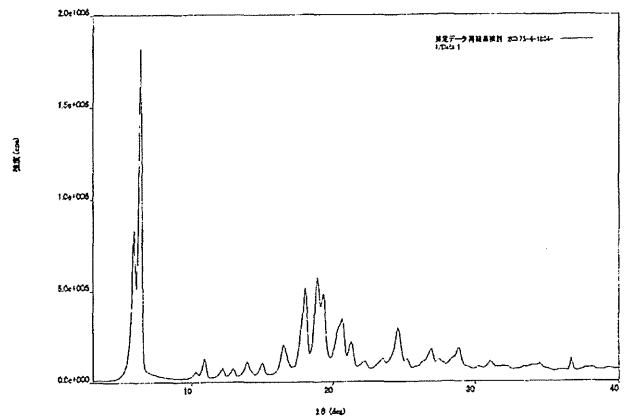


図 22: 溶媒比影響水比率 0.75 X 線回析チャート

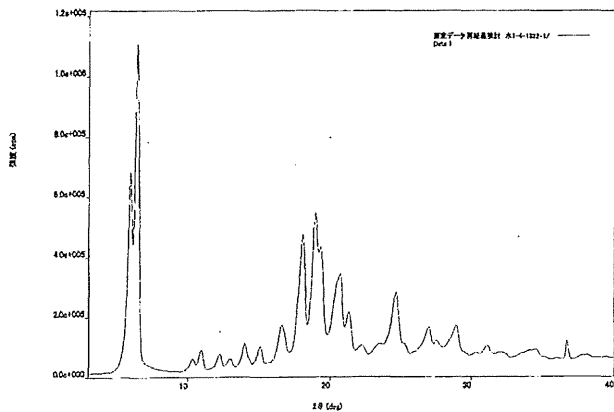


図 23: 溶媒比影響水比率 1.0X 線回析チャート

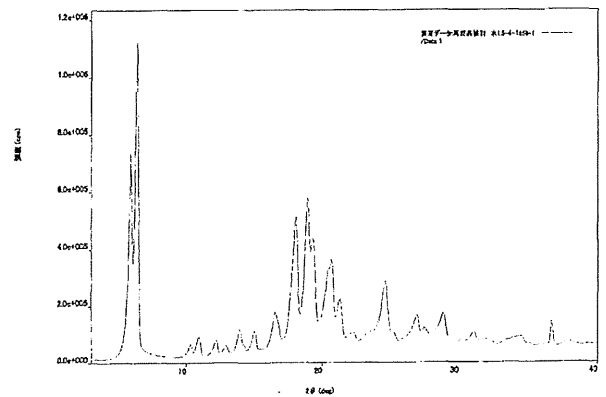


図 24: 溶媒比影響水比率 1.5 X 線回析チャート

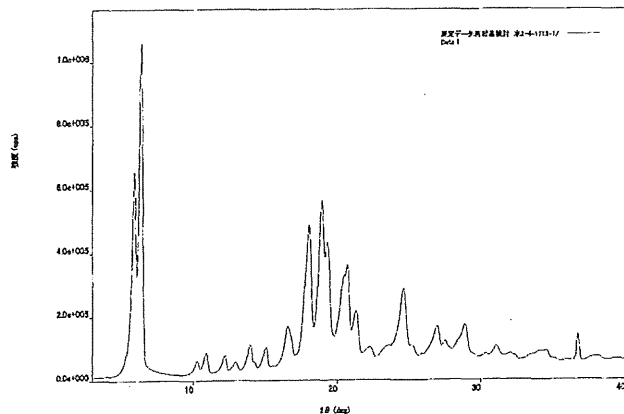


図 25: 溶媒比影響水比率 2.0 X 線回析チャート

各サンプルの X 線回析チャートを図-21,22,23,24,25 に示した。各サンプルの X 線回析チャートに違いは認められなかった。

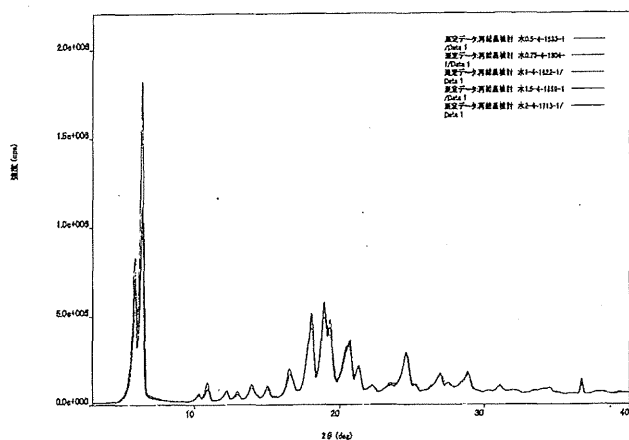


図 26: 溶媒比影響 X 線回析チャート 重ね書き

各サンプルの X 線回析チャートを重ねた(図-26)。調製したサンプルはすべて同じスペクトルを示している。

2014/10/23
 溶媒 水比率: 0.5

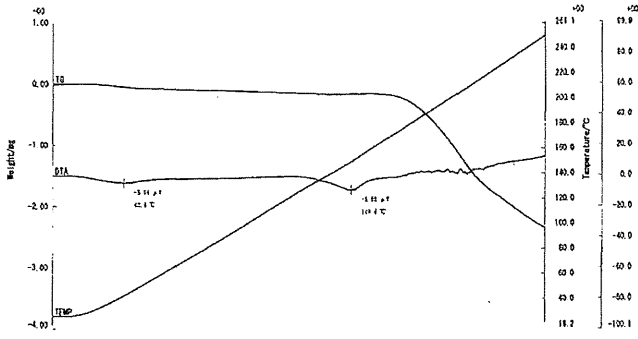


図 27: 溶媒比影響 水比率 0.5 示差熱チャート

2014/10/23
 溶媒 水比率: 0.75

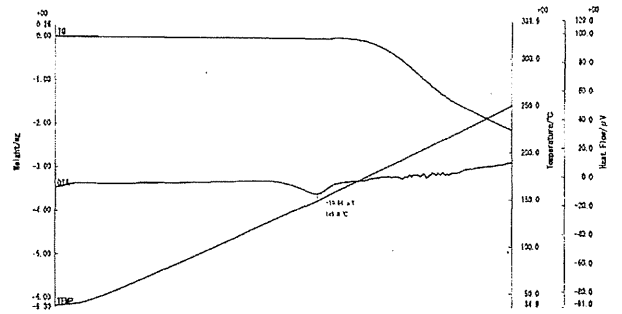


図 28: 溶媒比影響 水比率 0.75 示差熱チャート

2014/10/23
 溶媒 水比率: 1.0

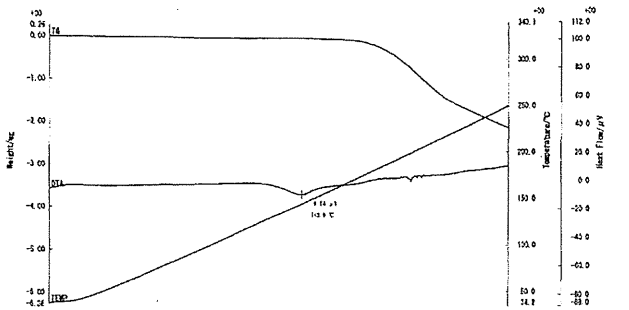


図 29: 溶媒比影響 水比率 1.0 示差熱チャート

2014/10/23
 溶媒 水比率: 1.5

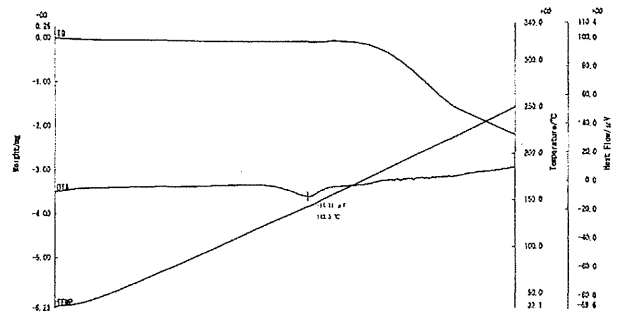


図 30: 溶媒比影響 水比率 1.5 示差熱チャート

2014/10/23
 溶媒 水比率: 2.0

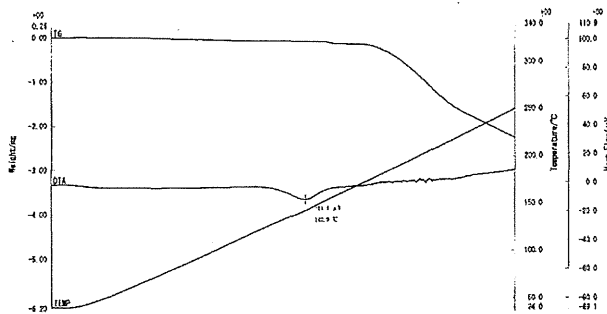


図 31: 溶媒比影響 水比率 2.0 示差熱チャート

各サンプルの示差熱チャートを図-27,28,29,30,31に示した。各サンプルの示差熱チャートに違いは認められず、結晶多形の存在を示す明確な証拠は認められなかった。

以上の結果から、再結晶工程において、条件が多少異なったとしても結晶多形が生じる可能性はないものと考えられる。

P092・2 マレイン酸塩

2. nonGMP 製造結果報告

【概要】

岐阜大学からの製造委託を受け、P092・2マレイン酸塩の製造検討を実施した。開示を受けた製法をトレースした結果、収率、純度ともほぼ同等であった。トレースの結果から、品質、収率に大きく影響を及ぼすと思われた第一工程の反応について検討を行った。

その結果、反応条件を

- ① 反応温度変更(140℃から80℃)
- ② トルエン洗浄回数増(3回から8回)
- ③ 晶析時のpHコントロール(pH12付近)

とすることで、操作性が改善し、収率が向上し、品質も良好となった。

この結果を受けて、スケールアップ検討としてシクロヘキサンカルボキシアルデヒド100gスケールの製造を実施した後、nonGMP製造を実施した。

nonGMP製造において、第三工程で得たP092の結晶に黄色の着色が認められたことから、活性炭による脱色効果を確認し、第四工程で実施した。しかしながら得られた結晶はわずかに黄色が認められた。

結晶の着色については、現製法では避けられず、規格の変更が妥当と考えた。

性状及び溶状規格の変更を実施し、試験を行った結果、すべての項目で規格内となった。収率33.2%、純度99.7%でP092・2マレイン酸塩が得られ、2014年12月に岐阜大学へ100g×2本、20g×4本、15g×1本、3g×1本、2g×1本、総量300gを納入した。

1. 製法トレース結果

岐阜大学より開示された P092・2 マレイン酸塩の合成ルートを図-1 に、資料を別紙-1 に示した。

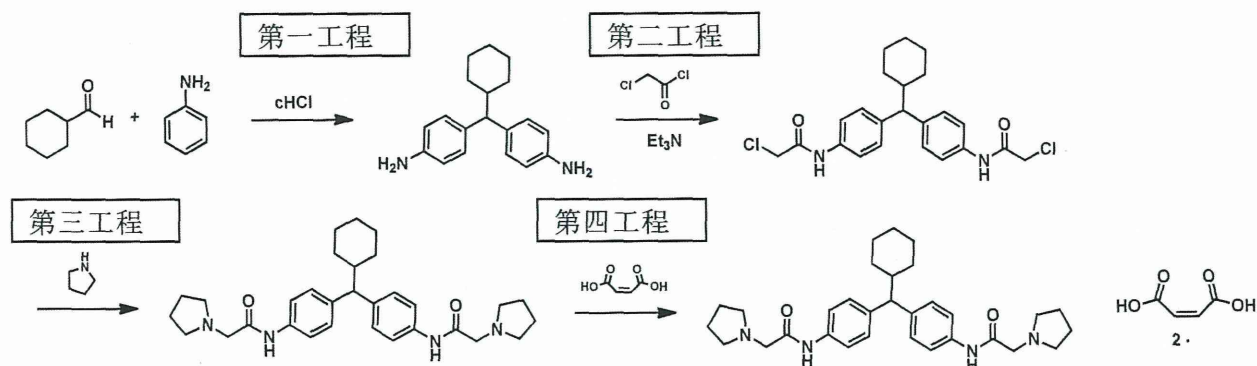


図 1:P092・2 マレイン酸塩合成ルート

シクロヘキサンカルボキシアルデヒド 5g スケールでトレースを実施した。その結果を表-1 に示した。

表 1:P092・2マレイン酸塩 トレース実験結果

	反応条件	項目	東京化成 実績	追試実験
第一工程	Aniline 3.97eq, cHCl 0.1eq,140℃,neat	仕込み原料	270g	5.0g
		反応時間	5hr	5hr
		収量	257g	11.36g
		収率	38.5%	90.9%
		HPLC 純度	—	18.3%
第二工程	Cl-Ac-Cl 2.2eq,Et3N 2.2eq,CH2Cl2 10v/w,氷冷	仕込み原料	257g	10.0g
		反応時間	18hr	2hr
		粗体収量	362g	13.88g
		粗体収率	91.2%	89.8%
		粗体 HPLC 純度	—	93.5%
		精製収量	283g	6.77g
		精製後収率	71.5%	43.8%
第三工程	Pyrrolidine 4.4eq,THF 10v/w,r.t	仕込み原料	283g	5.0g
		反応時間	19hr	6hr
		粗体収量	308g	5.47g
		粗体収率	94.0%	94.3%
		粗体 HPLC 純度	—	97.9%
		精製収量	274g	4.41g
		精製後収率	83.5%	76.0%
		精製晶 HPLC 純度	—	98.9%
第四工程	Maleic acid 2.2eq,THF 21v/w,r.t	仕込み原料	10g	4g
		反応時間	4hr	4hr
		粗体収量	15.7g	6.29g
		粗体収率	108%	107.6%
		粗体 HPLC 純度	—	98.6%
		精製収量	13.2g	5.32g
		精製後収率	91.2%	91.0%
		精製晶 HPLC 純度	—	99.1%
		Total yield	21.0%	27.5%

①第一工程

結晶化の際に固化する問題が生じ、収率は 90.9%と高いものの、不純物が多く含まれた褐色の粉末としてアニリン付加体を得た。

②第二工程

反応は良好であったが、東京化成と比較して収率が 43.1%と大幅に低下した。この原因は、第一工程の不純物持ち込みが大きいものとする。

③第三工程

反応では原料は直ぐに無くなるが、1置換体と思われるピークの消失に時間がかかり、完全に消失することができなかった。再結晶では、晶析時に攪拌が困難となったが、HPLC 純度 98.9%で P092(free 体)を得た。

④第四工程

精製工程(再結晶)時の晶析温度が高い(60°C付近)ため、最終濾過をする場合に結晶の析出が問題となる可能性があるが、作業自体は特に問題なかった。HPLC 純度は 99.1%と暫定規格の 99%以上という基準を満たすことができたが、低い結果であった。

トレース実験を行った結果を受け、それぞれの工程について、課題を表-2 にまとめた。

表 2:製法課題まとめ

工程	課題	品質への影響度
第一工程	<ul style="list-style-type: none"> ・スケールアップ時のアニリン留去(十分留去出来るか) ・結晶が固まりとなり、攪拌困難(操作性不良) ・pH調整に時間が掛かる ・HPLC 純度低い 	◎
第二工程	<ul style="list-style-type: none"> ・反応途中で液粘性が高くなり、一旦攪拌が困難となる ・再結晶時、攪拌困難。 ・1置換体が1%有り、Et3N、Cl-Ac-Clを追加しても変化しない ・収率低い 	△
第三工程	<ul style="list-style-type: none"> ・再結晶時、攪拌困難 ・1置換体の残存(最終品質に影響) 	○
第四工程	<ul style="list-style-type: none"> ・再結晶時の熱時濾過(温度高い: 70°C以上) ・残留溶媒(EtOH、酢酸エチル、THF) ・HPLC純度(area%で0.1%を超える不純物がある) ・若干の着色(黄色) 	◎

第一工程で安定な純度、収率が得られるプロセスを確立することが最重要課題と考え、第一工程の改善を実施することとした。

2. 製法検討

製法トレースの結果、第一工程で得られるアニリン付加体の純度が悪かった。その原因として、晶析過程で粘着物質の影響による結晶固化が生じ、不純物が除去しきれないものと考えられた。また、アニリン付加反応において、高反応温度(140℃還流)による高分子化された不純物生成も可能性として考えられた。このため、反応温度、晶析条件について検討を行った。また、第一工程の後処理について、東京化成より新たに晶析前にトルエン洗浄回数を増やすことで粘着物質が減らせるとの情報を得たため、その確認も行った。

①アニリン付加反応温度

アニリン付加反応において、反応条件が 140℃還流と高温であることから、不純物が多く発生する可能性が考えられた。一方、製造量を増やした場合、この条件では昇温、冷却など温度管理が難しい。このため、反応温度(設定温度)を 60℃、80℃、100℃、120℃、140℃と変えて反応行い、目的物及び不純物の生成量を把握した。

シクロヘキサンカルボキシアルデヒド 2g スケールでアニリン付加反応を温度に変えて実施し、反応開始から 1hr,3hr,5hr,7hr,9hr,21hr 後に反応液を HPLC で分析した(表-3、図-2)。

表 3:アニリン付加反応温度と生成物量の関係 (単位:HPLC area)

反応時間 (hr)	60℃	80℃	100℃	120℃	140℃
1	10486	64779	183905	210845	221111
3	45428	132252	214587	218766	219018
5	62784	166614	224162	222394	217179
7	84335	183130	220757	218650	222901
9	94138	192596	210227	215607	210838
21	143264	212233	—	211382	205883

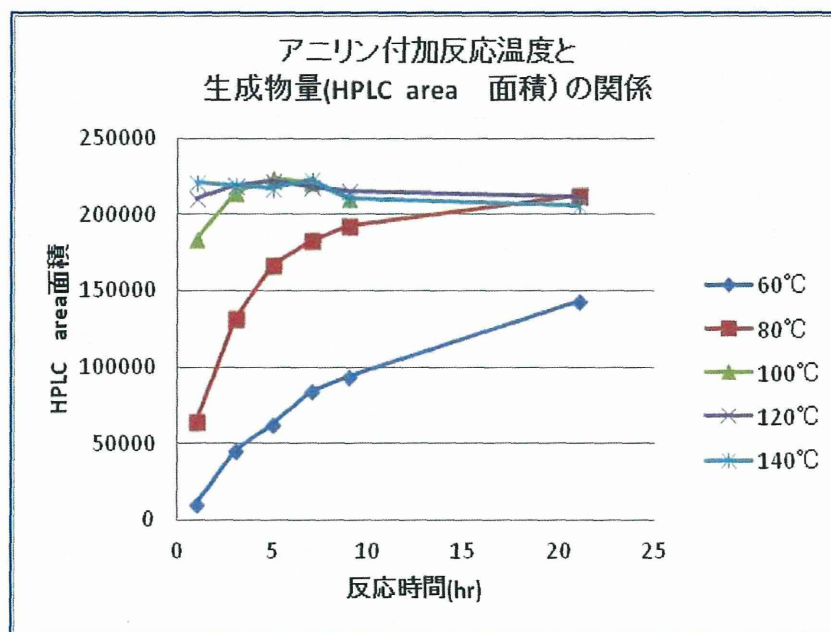


図 2:アニリン付加反応温度と生成物の関係

反応温度が高い方が目的物の生成速度は速く、反応温度 140℃、120℃では反応開始 1hr でほぼ生成量は頭打ちになる。反応温度 60℃では反応 21 時間後でも反応温度 140℃(設定値)の 7 割弱しか目的物生成されないが、反応温度 80℃では反応 21 時間でほぼ同じ生成量となった。

次に、目的物以外の不純物ピークも含めて経時変化を比較した(図-3,4,5,6,7)。

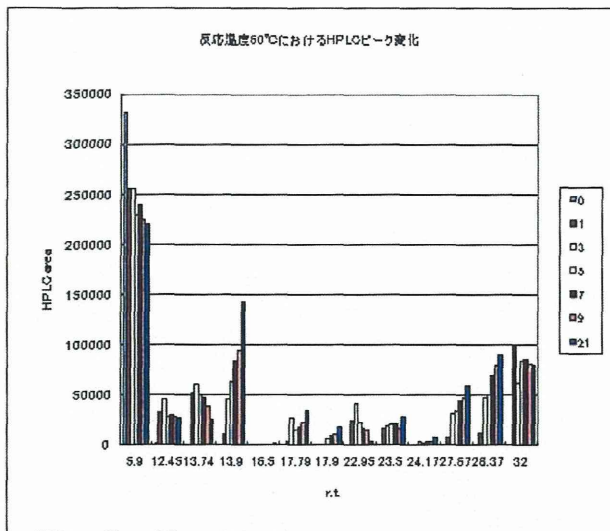


図 3: 反応温度 60°Cにおける HPLC ピーク

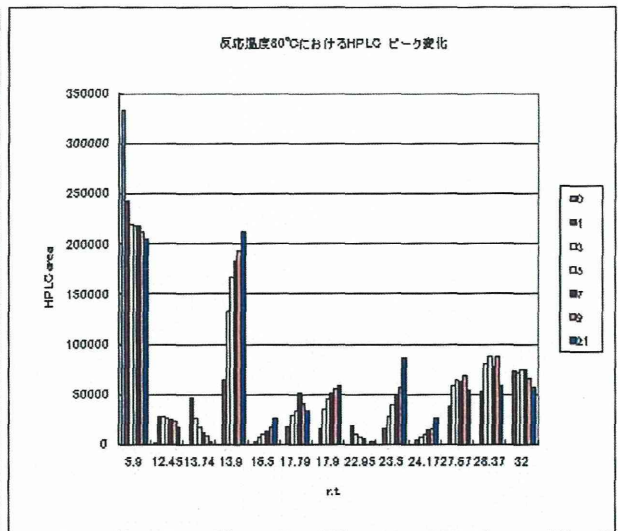


図 4: 反応温度 80°Cにおける HPLC ピーク

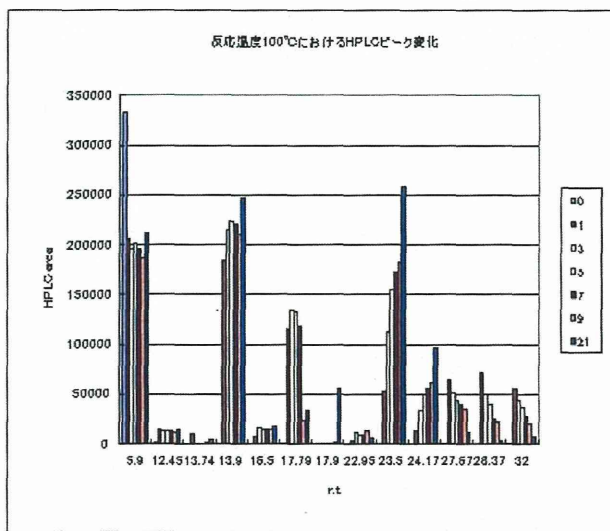


図 5: 反応温度 100°Cにおける HPLC ピーク

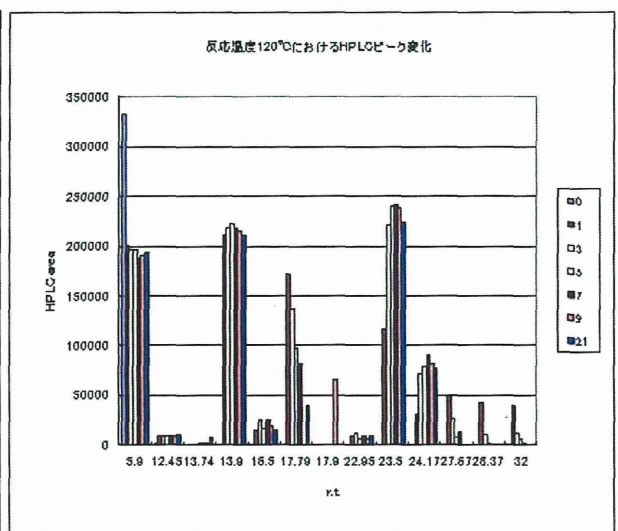


図 6: 反応温度 120°Cにおける HPLC ピーク

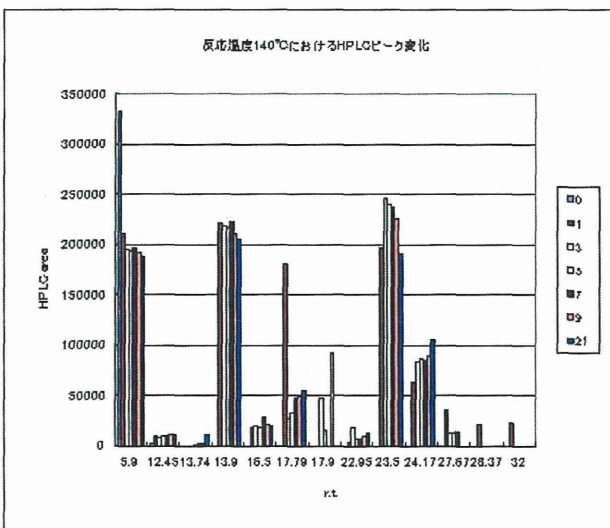


図 7: 反応温度 140°Cにおける HPLC ピーク

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。

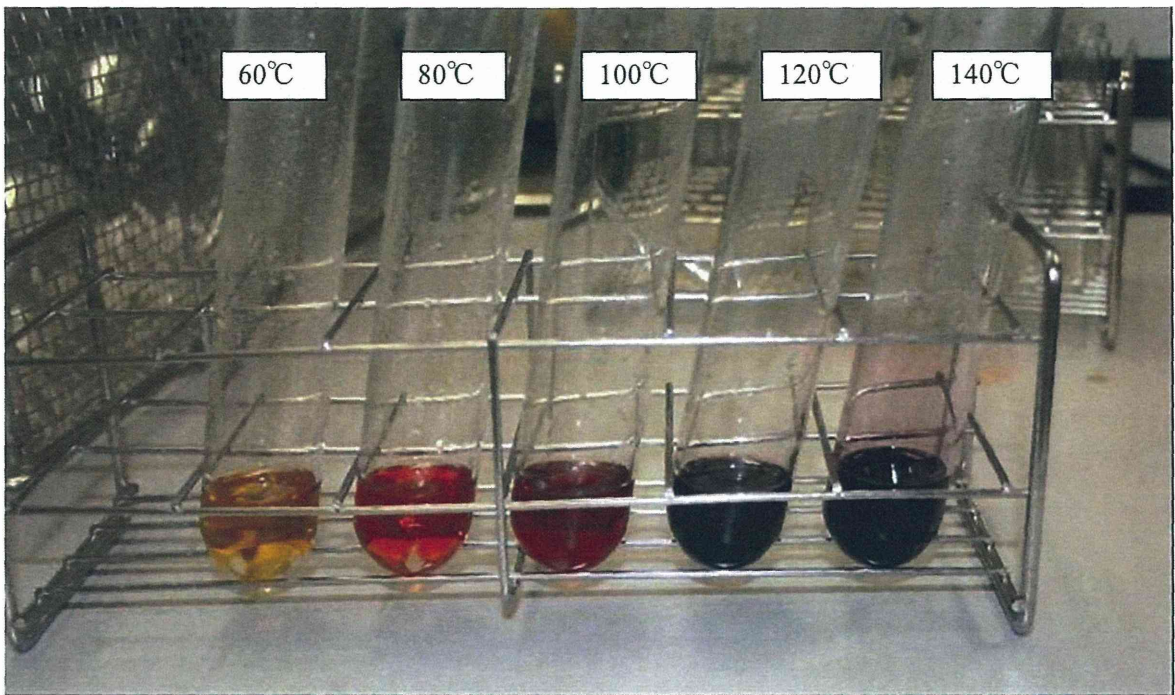


図 8:各反応温度反応 21 時間後の反応液比較

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。

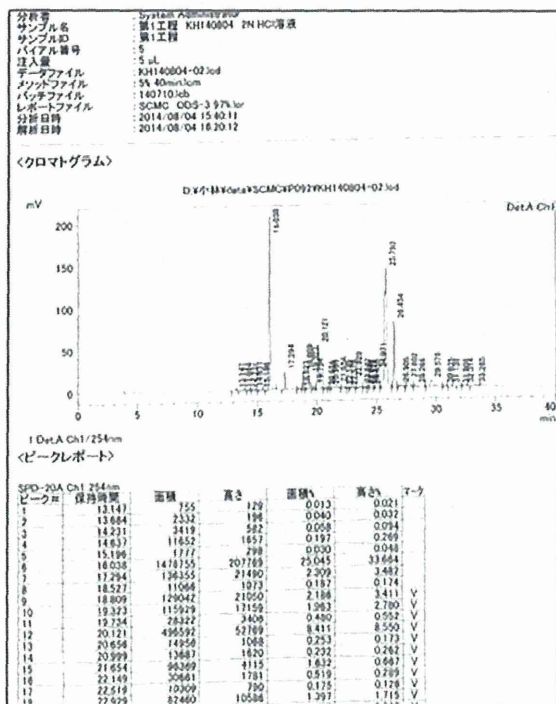


図 9:反応温度 140°Cトルエン洗浄前

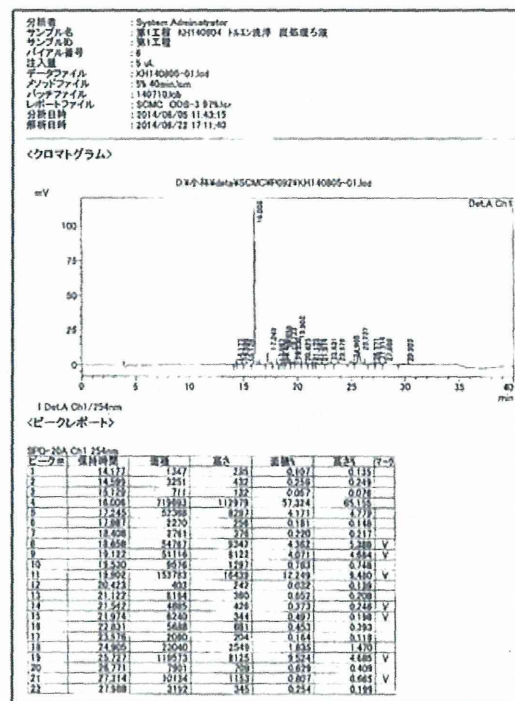


図 10:反応液 140°Cトルエン洗浄後

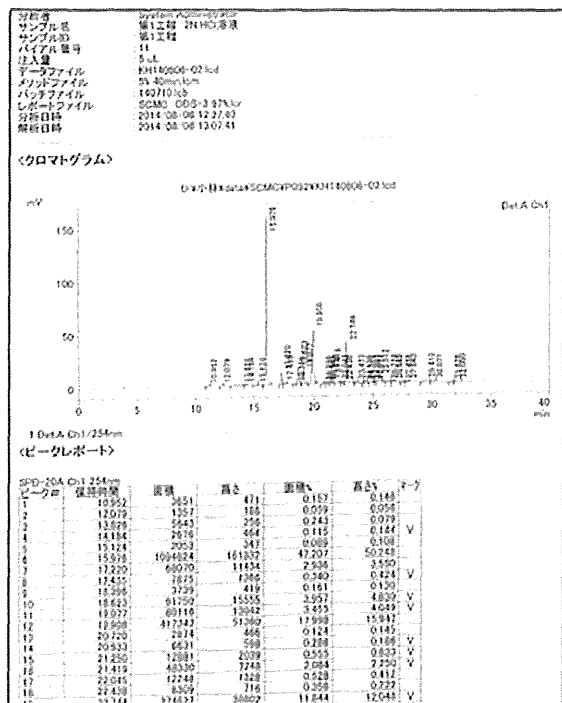


図 11: 反応温度 80°Cトルエン洗浄前

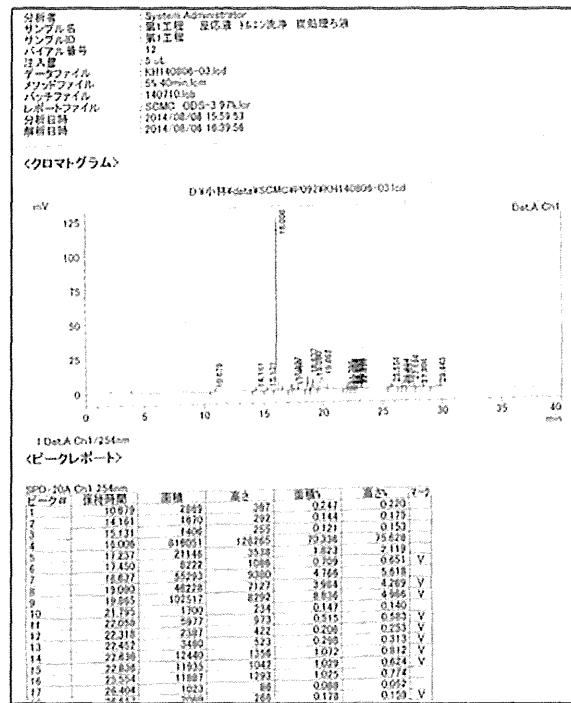


図 12: 反応温度 80°Cトルエン洗浄後

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。

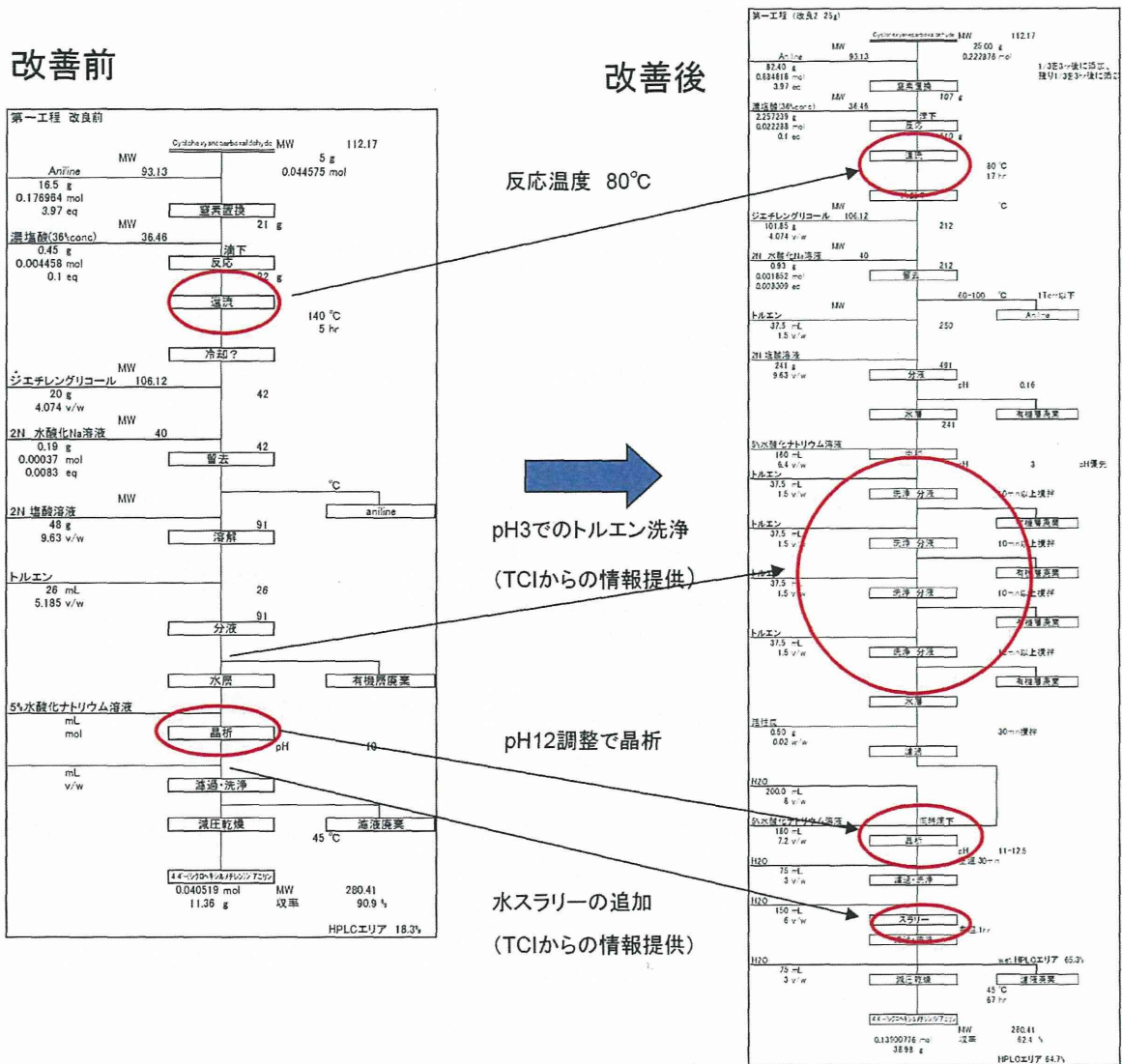


図 14: 第一工程改善前後作業フロー比較

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%
		精製品 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%
		精製品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%
		精製品2HPLC 純度	—	99.40%	99.2%
		精製3収量	—	—	115.8g
		精製3収率	—	—	65.4%
		精製品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%
		精製品 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。

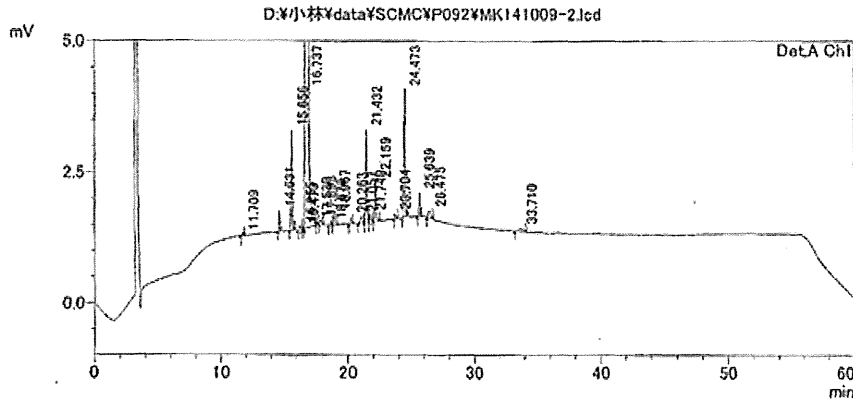


図 15:100g スケール調製品 HPLC チャート

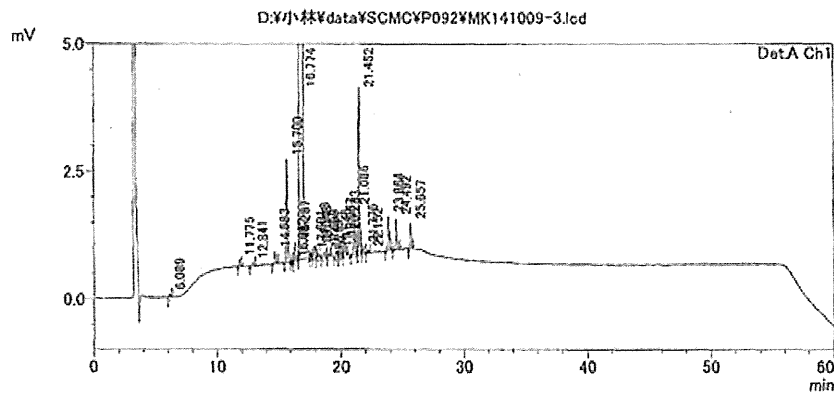


図 16:東京化成(LotS25PF-QJ)調製品 HPLC チャート

HPLC area 0.05%以上の類縁物質について表-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。

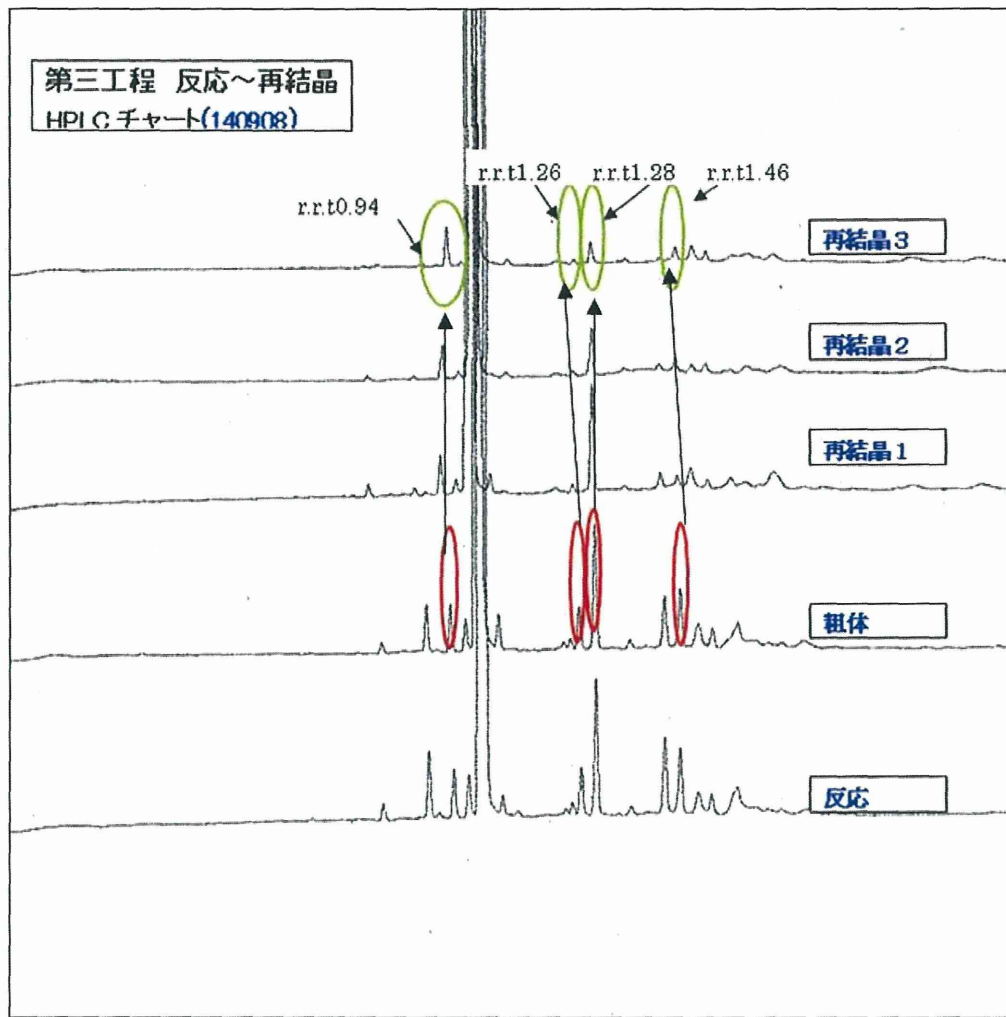


図 17:類縁物質推移

②類縁物質構造解析

LC/MSにより r.r.t.0.94(imp1)、1.28(imp3)、1.46(imp4)の構造解析を行った。なお、r.r.t.1.26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。