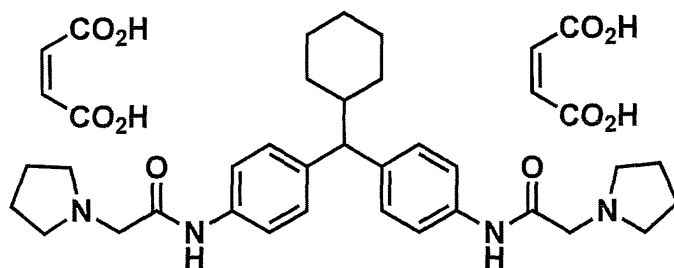


1. 物理的・化学的性質ならびに規格及び試験法に関する資料  
(積水メディカル株式会社)

1. P092・2 マレイン酸塩



化学名：N,N'-[(Cyclohexylmethylene)di-4,1-phenylene]bis[2-(1-pyrrolidinyl)acetamide]Dimaleate

示性式： $C_{31}H_{42}N_4O_2 \cdot 2C_4H_4O_4$

分子量：734.84

物理的及び化学的性質：本品は、白色から微黄色の粉末である。メタノールにやや溶けやすく、水及びエタノール(99.5%)に溶けにくい。

本品を乾燥したものは定量するとき、P092・2 マレイン酸塩( $C_{31}H_{42}N_4O_2 \cdot 2C_4H_4O_4$ )98～102%を含む。

2. 原薬の規格および試験方法

本試験方法は、別に規定するもののほか、日本薬局方一般試験法を準用するものとする。

2-1. 性状

本品は、白色から微黄色の結晶性の粉末である。

本品は、メタノールにやや溶けやすく、水及びエタノール(99.5)に溶けにくい。

本品は、吸湿性が強い。

2-2. 確認試験

(1)本品を乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法の臭化カリウム錠剤法による試験を行い、本品のスペクトルと本品の参照スペクトルを比較するとき、両者のスペクトルは同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

(2)本品 0.10g をメタノール 3mL に溶かし、試料溶液とする。マレイン酸 105.3mg に水 5mL を加えて溶かし、さらに水で正確に 10mL とし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフィーにより試験を行う。試料溶液及び標準溶液 5 $\mu$ L ずつを、薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを用いて調製した薄層板の原点にスポットする。次にジエチルエーテル/メタノール/酢酸(100)/水混液(70:20:7:3)を展開溶媒として約 12cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線(主波長 254nm)を照射するとき、試料溶液から得た 2 個のスポットのうち 1 個のスポットは標準溶液から得たスポットと同程度の濃さであり、それらの Rf 値は等しい。

2-3. pH

本品 1.0g に水 100mL を加えて、70℃の温水中で溶かした後、室温まで冷却した液の pH は 3.5～5.0 である。

## 2-4. 純度試験

### (1) 溶状

本品 1.0g に水 20mL を加え、70°Cの温水中で溶かすとき、液は無色から微黄色澄明である。

### (2) 塩化物

本品 1.0g に水 30mL 及び希硝酸 6mL を加えて溶かし、水を加えて 50mL とする。これを検液とし、試験を行う。比較液は、0.01mol/L 塩酸 0.28mL に希硝酸 6mL 及び水を加えて 50mL とする(0.01%以下)。

### (3) 重金属

本品 1.0g をとり、第 3 法により操作し、試験を行う。比較液には、鉛標準液 2.0mL を加える(20ppm 以下)。

### (4) 砒素

本品 1.0g をとり、第 3 法により検液を調製し、試験を行う(2ppm 以下)。

### (5) 類縁物質

本品 0.01g を精密に量り、試料溶解液を加えて正確に 10mL とし、試料溶液とする。この液 1mL を正確に量り、試料溶解液を加えて正確に 100mL とする。この液 2mL を正確に量り試料溶解液を加えて正確に 20mL とし、標準溶液とする。試料溶液、標準溶液、ブランク溶液(試料溶解液)につき 5 $\mu$ L ずつを正確にとり、次の HPLC 条件で液体クロマトグラフィー法により試験を行う。試料溶液のピーク面積を自動積分法により類縁物質を算出する。ただしブランク溶液から得られたピーク並びに P092 のピークを除外し、それ以外の各々のピーク面積を算出するとき、各々のピーク面積は 0.15% 以下であり、また、類縁物質の合計は 1% 以下である。

#### 【HPLC条件】

検出器: 紫外吸光度計(測定波長: 254nm)

カラム: GLサイエンス Inertsil ODS-2 ( $\phi$  4.6mm  $\times$  250mm, 5 $\mu$ m) 又は、これと同等の性能を有するカラム

カラム温度: 40°C 付近の一定温度

移動相 A: 水 1000mL にトリフルオロ酢酸 2mL を加える。

移動相 B: アセトニトリル 1000mL にトリフルオロ酢酸 2mL を加える。

移動相条件: 移動相 A: 移動相 B を 80:20 から開始し、20 分の直線グラジエント法で 40:60 にし、その後 30 分間保つ。

流量: 1.0mL/min (P092 の保持時間は 14~17 分)

面積測定範囲: 約 4 分から 50 分(マレイン酸のピークは除外)

試料溶解液: 移動相 A/移動相 B の混合液(1:1)

#### システム適合性

再現性の確認: 標準溶液を 6 回繰返し測定における相対標準偏差は 2% 以下。また、標準溶液の P092 ピークの理論段数及びシンメトリー係数は 2000 段以上及び 2.0 以下である。

### (6) 残留溶媒

本品 0.5g を精密に量り、ジメチルホルムアミドを加えて溶かし、正確に 5mL とし試料溶液とする。

#### 標準溶液の調製

エタノール、テトラヒドロフラン、トルエン、ジクロロメタン、シクロペンチルメチルエーテル、酢酸エチル、ジイソプロピルエーテルの基準物質を約 0.1g を精密に量り、ジメチルホルムアミドを加えて溶かし、正確に 10mL とする。この液 1mL を正確に量り、ジメチルホルムアミドを加えて正確に 100mL とし、標準溶液とする。(1000ppm 相当)

試料溶液及び標準溶液につき次の条件でガスクロマトグラフィー法により試験を行い、各々の溶媒のピーク面積より次の式により溶媒量を求めるとき、エタノールは 5000ppm 以下、テトラヒドロフラン 720ppm 以下、トルエン 890ppm 以下、ジクロロメタン 600ppm 以下、シクロペンチルメチルエーテル 5000ppm 以下、酢酸エチル 5000ppm 以下、ジイソプロピルエーテル 5000ppm 以下である。

## 【分析条件】

装置：ヘッドスペースガスクロマトグラフィー(シマス GC-2010、TurboMatrix40)  
カラム：Fused Silica,  $\phi$  0.32×60m, 6%cyanopropylphenyl and 94%methylpolysiloxane  
例：DB-624(J&W)又は同等品

オートサンプラ (Turbo Matrix HS)

ヘッドスペースモード：コンスタント 注入モード：時間 注入時間：0.05min  
オープン温度：100℃ ニードル温度：110℃ トランスファー温度：120℃  
バイアルベンディング：ON 保持時間：30min 加圧時間：0.5min  
引き抜き時間：0.5min GC サイクル時間：36min  
HS キャリアガス圧力：270kPa

試料気化室(HSSPL)

注入モード：スプリット 気化室温度：200℃ キャリアガス：He  
制御モード：圧力 圧力：131.6kPa 全流量：10.5mL/min  
カラム流量：2.5mL/min 線速度：32.1cm/sec パージ流量：3.0mL/min  
スプリット比：2.0 高圧注入：OFF キャリアガスセーブ：OFF  
スプリット比保持：OFF

カラムオープン

カラム温度：40℃ 平衡時間：2.0min  
カラム温度プログラム：40℃で5分間その後 12℃/min で 100℃まで昇温  
100℃で0.1分間. その後、35℃/min で 250℃まで昇温、250℃で6分間保持する。  
(合計時間 20.39min)

検出器

検出器温度：260℃ メイクアップガス：N2/Air  
メイクアップ流量：45mL/min  
H2 流量：40mL/min Air流量：400mL/min

残留溶媒(ppm) = 各基準物質の量(g) × At/As × 1/Wt × 1/a × 1000000

At：試料溶液の溶媒ピーク面積  
As：標準溶液の各溶媒ピークの面積  
Wt：本品の秤量値  
a：標準溶液の希釈倍率(100)  
1000000：ppm への換算係数

システム適合性

再現性の確認

標準溶液を6回繰返し測定における各ピーク面積の相対標準偏差は5%以下。

検出の確認

標準溶液 1mL 正確にとり、ジメチルホルムアミドを加えて正確に 10mLとし、検出確認溶液し測定するとき各ピークを認める。

(7) エンドトキシン

本品 0.1g をとり、エンドトキシン試験用水約 10mL を加え、70℃温浴槽で加温して溶かす。この液 0.1mL をとり、エンドトキシン試験用水で全量 4mL としたものを試料溶液とし、ライセート試薬を用い、ゲル化法によって試験を行う。(エンドトキシン 0.5EU/mg 以下)。

2-5. 水分

本品約 0.1g を精密に量り, 水分測定法(カールフィッシャー法)により試験を行う。(10%以下).

2-6. 強熱残分

0.1%以下(1.0g).

2-7. 定量法

本品を乾燥し, その約 0.5g を精密に量り, 酢酸(100)25mL を正確に加えて溶かした後, アセトニトリル 25mL を正確に加えてよくかき混ぜる. この試料を用いて 0.1mol 過塩素酸/酢酸溶液で電位差滴定を行う. 同様の方法で空試験を行い補正する.

0.1mol/L 過塩素酸 1mL=36.742mg  $C_{31}H_{42}N_4O_2 \cdot 2C_4H_4O_4$

2-8. 微生物試験

(1)細菌数

微生物限度試験法で試験を行う. ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地を用い, 35~40°C で 3~5 日間培養する. (50 個以下/g).

(2)真菌数

微生物限度試験法で試験を行う. サブロー・ブドウ糖カンテン培地を用い, 20~25°C で 5~7 日間培養する. (10 個以下/g).

(3)大腸菌

微生物限度試験法により試験を行う.(陰性).

P092・2 マレイン酸塩  
4. GMP 製造結果報告

## 【概要】

nonGMP 製造を実施した結果、小スケールと同等の品質、収量が得られたことから、作業標準書並びに製造ロット指図記録書を作成し、GMP 製造(300g×2 バッチ)を実施した。その結果、以下の表に示す結果であった。

製造ロット番号	収量	総収率	純度	製品ロット番号
15001	519.2g	32.3%	99.9%	001WCM
15002	518.4g	31.7%	99.8%	002WCM

なお、製造ロット番号は小分け包装を行った後、製品ロット番号に変更になります。

これらのロットについては、それぞれ100g×3本(300g)を小分け包装し、製品化した。安定性評価サンプルとして4g×22本、5g×4本、1g×4本を準備した。

## 1. GMP 製造

シクロヘキサンカルボキシアルデヒド 250g スケールで、nonGMP を実施した結果、小スケールとほぼ同等の品質が得られたことから、別紙のように作業標準書および製造ロット指図記録書を作成し P092・2 マレイン酸塩 300g×2 ロットの GMP の製造を実施した。

### 1-1. Lot15001

#### 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 pH を 1 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 CDA370.4g を得た。

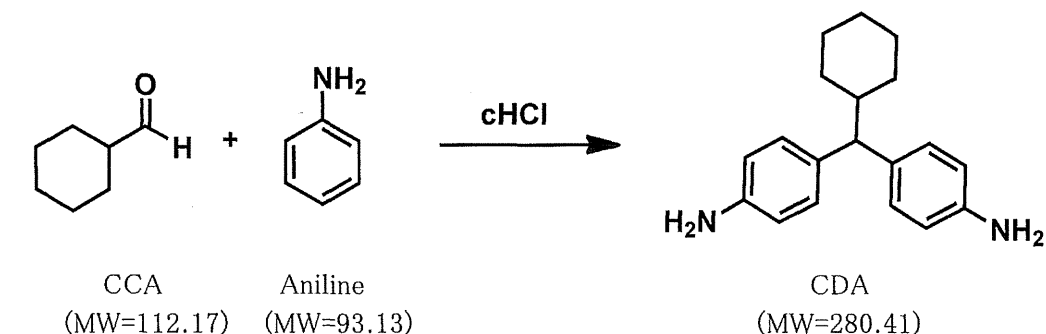


図1: 第一工程合成ルート

予め設定した管理項目を表-1 に結果のまとめを表-2 に示す。

表 1: 第一工程 管理項目結果まとめ

項目	基準	nonGMP KS14001	GMP 15001
反応温度	75~85℃	78.2~79.7℃	75℃~81.1℃
反応時間	18~24hr	22hr	23hr
冷却温度	50℃以下	44.1℃	49.1℃
留去温度	60~140℃	135℃	140℃
アニリン残存	HPLC エリア 0.1%以下	0.02%	0.03%,0.05%
pH 調整	0.8~1.2	1.06	1.05
内温	30℃以下	22.8℃	23.5℃
pH 調整	2.8~3.2	3.1	3.1
内温	30℃以下	20.5℃	22.1℃
晶析後 pH	10.0~12.5	11.24	11.03
攪拌時間	1hr 以上	1hr	1hr
攪拌時間	1hr 以上	1hr	1hr
水分	1.2%以下	0.5%	0.3%

表-1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 2: 第一工程結果まとめ

項目	東京化成 LotFA5QJ	25g 実験	100g 実験	Non-GMP LotKS14001	GMP Lot15001
仕込み原料	350g	25g	100g	250g	250g
反応温度、時間	140℃、5hr	80℃、終夜	80℃、20hr	80℃、21.5hr	80℃、23hr
収量	426g	38.98g	151.9g	388.2g	370g
収率	48.7%	62.4%	61.3%	62.1%	59.2%
HPLC 純度	—	64.70%	78.2%	84.7%	84.9%
晶析状態	—	良好	良好	良好	良好

表-2 に示したように Lot15001 は、収率 59.2%と LotKS14001 より若干低いものの、HPLC 純度は 84.9%と良好な結果であった。小スケール、nonGMP 時と大きな違いはなく、第一工程については安定しているものと考えられる。

②第二工程

CDA370g にジクロロメタン 3996mL とトリエチルアミン 315g 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 351g 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 残存が規定内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 535.5g 得た。粗 CPCA535g 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 6954mL 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 429.5g を得た。

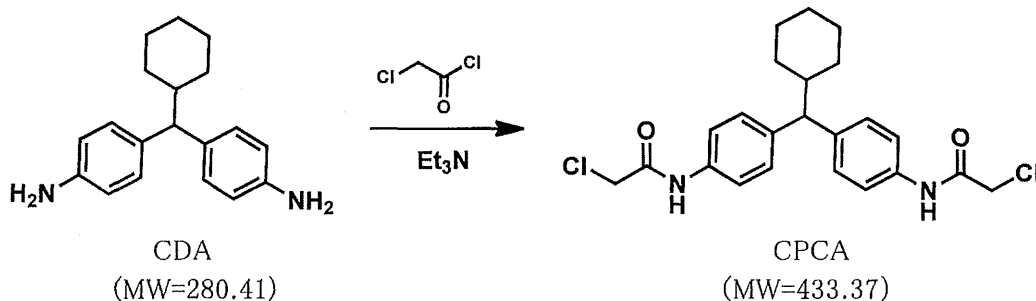


図 2: 第二工程合成ルート

予め設定した管理項目を表-3 に結果のまとめを表-4 に示す。

表 3: 第二工程 管理項目結果まとめ

工程	項目	基準	nonGMP	GMP 15001
クロロアセチル化反応	反応温度	10℃以下	10℃以下	-2.9~5.4℃
	CDA 残存量	HPLC エリア 1%以下	N.D.	0.02%
ジクロロメタン洗浄-1	攪拌時間	10 分以上	13 分	25 分
ジクロロメタン洗浄-2	攪拌時間	10 分以上	20 分	14 分
ジクロロメタン洗浄-3	攪拌時間	10 分以上	15 分	20 分
再結晶	晶析温度	10℃以下	0.4~8.0℃	0.4~9.7℃
	晶析時間	2hr 以上	2hr	2hr
乾燥	乾燥減量	1%/hr 以下	0.7%/hr	0.09%/hr

表-3 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 5: 第三工程 管理項目結果まとめ

工程	項目	基準	nonGMP	GMP 15001
ピロリジン付加反応	反応温度	1~30℃	21.2~25.6℃	21.2~25.7℃
	HPLC r.r.t.1.20 付近 imp	1%以下	N.D.	0.02%
再結晶	晶析温度	10℃以下	0.7~8.3℃	0.7~9.6℃
	晶析時間	2hr 以上	2hr	2hr
濾過-2	HPLC r.r.t.1.26 付近 imp	0.1%以下	0.11%	0.003%
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℃	0.9~9.1℃
	晶析時間	2hr 以上	2.5hr	3hr
濾過-3	HPLC r.r.t.1.16 付近 imp	0.1%以下	0.17%	0.14%
エタノール再結晶-2	晶析温度	10℃以下	0.4~7.7℃	0.4~7.8℃
	晶析時間	2hr 以上	2hr	2hr
濾過-3	HPLC r.r.t.1.16 付近 imp	0.1%以下	0.07%	0.06%
乾燥-2	乾燥減量	1%/hr 以下	0.24%	0.00%

表-5 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 0.14%(HPLC area%)と基準を超えていたため、2 回目の再結晶を実施し、0.06%(0.1%以下)とした。

表 6: 第三工程結果まとめ

項目	東京化成 LotFA5QJ	25g 実験	100g 実験	Non-GMP LotKS14001	GMP Lot15001
仕込み原料	515g	10.0g	153g	450g	429g
反応時間	18hr	22hr	109hr	20.5hr	21.5hr
粗体収量	580g	11.44g	173.29g	519.2g	496.5g
粗体収率	96.8%	98.6%	97.6%	99.5%	99.8%
粗体 HPLC 純度	-	98.60%	98.4%	98.7%	98.5%
精製1収量	-	11.56g	143.9g	521.5g	491.8g
精製1収率	-	99.7%	81.2%	99.9%	98.9%
精製品1HPLC 純度	-	99%	98.8%	99.3%	99.5%
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%	99.6%
精製3収量	-	-	115.8g	425.4g	408.0g
精製3収率	-	-	65.4%	81.5%	82.1%
精製品3HPLC 純度	-	-	99.4%	99.6%	99.7%

表-6 に示したように Lot15001 は、収率 82.1%、HPLC 純度 99.7%と良好な結果であった。100g スケールにおいて認められた反応遅延は、LotKS14001、Lot15001 で確認されず、原料の分割添加時間と添加後の反応温度をコントロールする対策が効果的であったと判断する。Imp4 の area%については 0.003%と目標の 0.10%以下にすることができた。THF/IPE 溶液による再結晶を 1 回で目標を達成できたことから当初予定していた回数を増やす(2 回実施)必要はなかった。以上の結果から、第三工程についても安定的に製造が行えるものと考ええる。



表 8: 第四工程 精製 工程管理項目 まとめ

工程	項目	基準	nonGMP	GMP 15001
溶解	溶解温度	70~80℃	77.9℃	77.4℃
晶析	晶析温度	10℃以下	0.3~10℃	0.5~10℃
	晶析時間	2hr 以上	2.4hr	2hr
乾燥	残留溶媒エタノール	3500ppm 以下	2219ppm	50ppm

表-8 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-9 に示す。

表 9: 第四工程 製造結果まとめ

項目	東京化成 LotFA5QJ	25g 実験	100g 実験	Non-GMP LotKS14001	GMP Lot15001
仕込み原料	450g	8.00g	60g	400g	400g
反応時間	4hr	4hr	5hr	4hr	4hr
粗体収量	719g	12.49g	91.7g	624.7g	602.3g
粗体収率	109%	107%	104.6%	106.7%	103.0%
粗体 HPLC 純度	—	99.40%	99.5%	99.7%	99.8%
精製収量	584g	10.77g	4.22g	506.5g	519.2g
精製後収率	88.9%	92.1%	88.3%	86.6%	88.7%
精製品 HPLC 純度	99.6%	99.5%	99.6%	99.7%	99.9%
Total yield	25.5%	33.9%	26.6%	33.2%	32.3%

表-9 に示したように、精製後収率は 88.7% で LotKS14001 とほぼ同等、HPLC 純度は 99.9% と若干良い結果となった。第一工程から Total 収率は 32.3% と小スケールおよび nonGMP とほぼ同じで、安定的に製造が行えるものと判断した。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、LotKS14001 と同様、精晶に若干の黄色着色が認められた。

## ①第一工程

シクロヘキシルカルボキシアレデヒド(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 pH を 1 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 pH を 3 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、ろ過により活性炭を除き活性炭処理液を得た。pH を 12 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 CDA369g を得た。

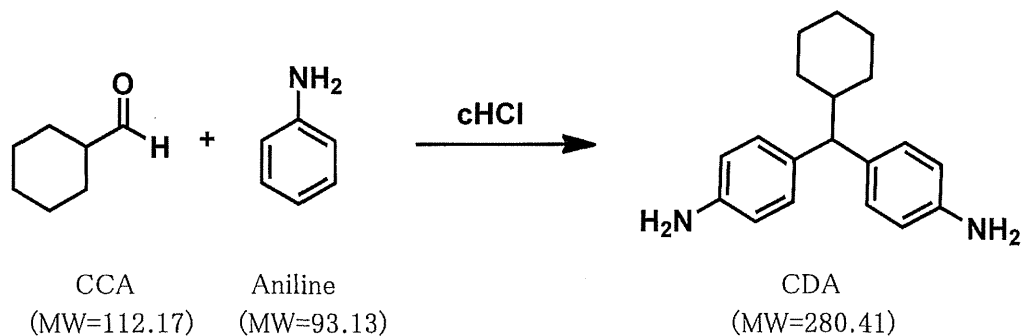


図 6: 第一工程合成ルート

予め設定した管理項目を表-10 に結果のまとめを表-11 に示す。

表 10: 第一工程 管理項目結果まとめ

工程	項目	基準	nonGMP KS14001	GMP 15001	GMP 15002
アニリン付加反応	反応温度	75~85℃	78.2~79.7℃	75℃~81.1℃	75.1℃~83.2℃
	反応時間	18~24hr	22hr	23hr	22hr
	冷却温度	50℃以下	44.1℃	49.1℃	49.2℃
アニリン留去	留去温度	60~140℃	135℃	140℃	140℃
	アニリン残存	HPLC エリア 0.1%以下	0.02%	0.03%,0.05%	0.02%,0.04%
トルエン洗浄-1	pH 調整	0.8~1.2	1.06	1.05	1.06
	内温	30℃以下	22.8℃	23.5℃	24.6℃
トルエン洗浄-2	pH 調整	2.8~3.2	3.1	3.1	3.09
	内温	30℃以下	20.5℃	22.1℃	24.6℃
中和晶析	晶析後 pH	10.0~12.5	11.24	11.03	11
	攪拌時間	1hr 以上	1hr	1hr	1hr
水スラリー	攪拌時間	1hr 以上	1hr	1hr	1hr
乾燥	水分	1.2%以下	0.5%	0.3%	0.3%

表-10 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 11: 第一工程結果まとめ

項目	東京化成 LotFA5QJ	Non-GMP LotKS14001	GMP Lot15001	GMP Lot15002
仕込み原料	350g	250g	250g	250g
反応温度、時間	140℃、5hr	80℃、21.5hr	80℃、23hr	80℃、22hr
収量	426g	388.2g	370g	369.4g
収率	48.7%	62.1%	59.2%	59.1%
HPLC 純度	—	84.7%	84.9%	83.7%
晶析状態	—	良好	良好	良好

表-11 に示したように Lot15002 は、収率 59.1%と Lot15001 とほぼ同じ収率であったが、HPLC 純度は 83.7%と若干低い結果あった。nonGMP を合わせて同スケールで 3 ロット行ったが、大きな違いはなく、第一工程については安定的に製造できるものと考えられる。

②第二工程

CDA369g にジクロロメタン 3985mL とトリエチルアミン 314g 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 351g 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 534g 得た。粗 CPCA534g 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 6936mL 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 428g を得た。

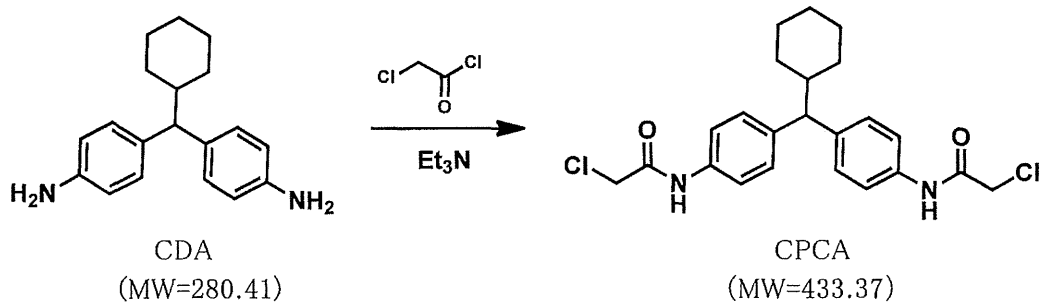


図 7: 第二工程合成ルート

予め設定した管理項目を表-12 に結果のまとめを表-13 に示す。

表 12: 第二工程 管理項目結果まとめ

工程	項目	基準	nonGMP	GMP 15001	GMP 15002
クロロアセチル化反応	反応温度	10℃以下	10℃以下	-2.9~5.4℃	-2.2~5.1℃
	CDA 残存量	HPLC エリア 1%以下	N.D.	0.02%	0.01%
ジクロロメタン洗浄-1	攪拌時間	10 分以上	13 分	25 分	11 分
ジクロロメタン洗浄-2	攪拌時間	10 分以上	20 分	14 分	12 分
ジクロロメタン洗浄-3	攪拌時間	10 分以上	15 分	20 分	11 分
再結晶	晶析温度	10℃以下	0.4~8.0℃	0.4~9.7℃	0.4~9.2℃
	晶析時間	2hr 以上	2hr	2hr	2hr
乾燥	乾燥減量	1%/hr 以下	0.7%/hr	0.09%/hr	0.0%/hr

表-12 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 13: 第二工程結果まとめ

項目	東京化成 LotFA5QJ	Non-GMP LotKS14001	GMP Lot15001	GMP Lot15002
仕込み原料	426g	385g	370g	369g
反応時間	3hr	0.5hr	0.5hr	0.5hr
粗体収量	625g	554.9g	535.5g	534.2g
粗体収率	94.9%	93.3%	93.6%	93.7%
粗体 HPLC 純度	—	98.4%	98.1%	98.2%
精製収量	515g	450.8g	429.0g	428.4g
精製後収率	78.2%	75.8%	75.0%	75.2%
精製晶 HPLC 純度	—	98.7%	99.5%	99.5%

表-13 に示したように Lot15002 は、収率 75.2%、HPLC 純度 99.5%と良好な結果であった。収率、純度とも LotKS14001 および Lot15002 とほぼ同等の結果であり、第二工程についても安定的に製造ができているものと考えられる。

### ③第三工程

ピロリジン 310g に CPCA428g 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 477g 得た。次に粗 P092 477g 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 3338mL 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 481g 得た。得られた P092 再結晶体 481g に無水エタノールを 2861mL 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 398g 得た。

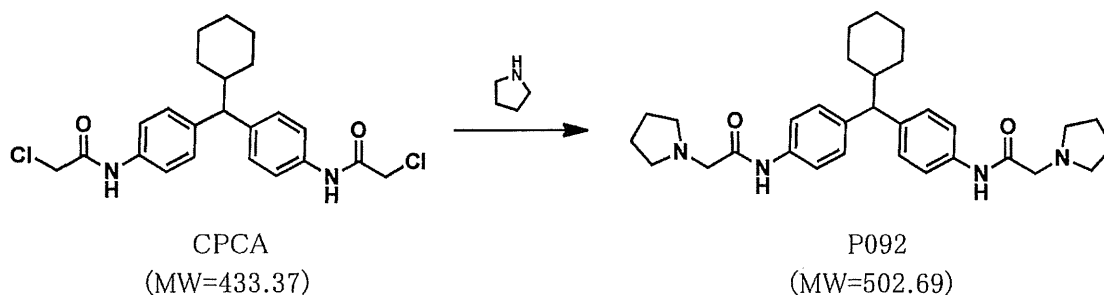


図 8: 第三工程合成ルート

予め設定した管理項目を表-14 に結果のまとめを表-15 に示す。

表 14: 第三工程 管理項目結果まとめ

工程	項目	基準	nonGMP	GMP 15001	GMP 15002
ピロリジン付加反応	反応温度	1~30℃	21.2~25.6℃	21.2~25.7℃	14.7~24.8℃
	HPLC r.r.t.1.20 付近 imp	1%以下	N.D.	0.02%	0.01%
再結晶	晶析温度	10℃以下	0.7~8.3℃	0.7~9.6℃	0.9~9.8℃
	晶析時間	2hr 以上	2hr	2hr	2hr
濾過-2	HPLC r.r.t.1.26 付近 imp	0.1%以下	0.11%	0.003%	0.004%
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℃	0.9~9.1℃	0.3~9.4℃
	晶析時間	2hr 以上	2.5hr	3hr	3.4hr
濾過-3	HPLC r.r.t.1.16 付近 imp	0.1%以下	0.17%	0.14%	0.17%
エタノール再結晶-2	晶析温度	10℃以下	0.4~7.7℃	0.4~7.8℃	0.3~9.6℃
	晶析時間	2hr 以上	2hr	2hr	2hr
濾過-3	HPLC r.r.t.1.16 付近 imp	0.1%以下	0.07%	0.06%	0.07%
乾燥-2	乾燥減量	1%/hr 以下	0.24%	0.00%	0.00%

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。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%(0.1%以下)とした。

表 15: 第三工程結果まとめ

項目	東京化成 LotFA5QJ	Non-GMP LotKS14001	GMP Lot15001	GMP Lot15002
仕込み原料	515g	450g	429g	428g
反応時間	18hr	20.5hr	21.5hr	22hr
粗体収量	580g	519.2g	496.5g	477.0g
粗体収率	96.8%	99.5%	99.8%	96.0%
粗体 HPLC 純度	-	98.7%	98.5%	98.9%
精製1収量	-	521.5g	491.8g	481.1g
精製1収率	-	99.9%	98.9%	96.9%
精製晶1HPLC 純度	-	99.3%	99.5%	99.5%
精製2収量	450g	440.5g	-	-
精製2収率	75.3%	84.4%	-	-
精製晶2HPLC 純度	-	99.3%	99.6%	99.5%
精製3収量	-	425.4g	408.0g	397.8g
精製3収率	-	81.5%	82.1%	80.2%
精製晶3HPLC 純度	-	99.6%	99.7%	99.7%

表-15 に示したように Lot15002 は、収率 80.2%、HPLC 純度 99.7%と良好な結果であった。100g スケールにおいて認められた反応遅延は、Lot15002 でも確認されず、対策が適切であったと判断する。Imp4 の area% については 0.004%と Lot15001 と同様に目標の 0.10%以下にすることができた。LotKS14001、Lot15001、Lot15002 と同スケールでの製造結果がほぼ同じであったことから、第三工程についても安定的に製造が行えるものと考えられる。



#### ④第四工程 粗体

P092 398g をテトラヒドロフラン 7960mL に溶解後、活性炭 39.8g を添加し、室温で 30 分攪拌した後、活性炭をろ過により除去し、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 202g 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 604g を得た。

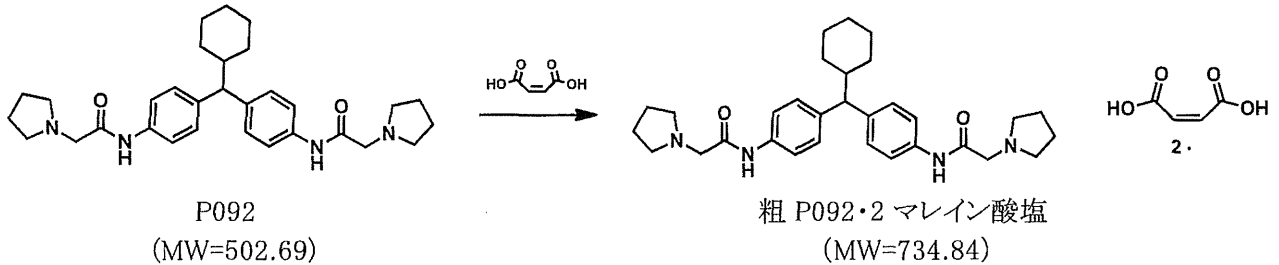


図 9: 第四工程 粗体 合成ルート

予め設定した管理項目を表-16 に示す。

表 16: 第四工程 粗体工程 管理項目結果まとめ

工程	項目	基準	nonGMP	GMP 15001	GMP 15002
マレイン酸塩化反応	添加温度	10℃以下	1.8~4.1℃	1.6~3.8℃	2.0~4.0℃
	反応温度	20~30℃	20~30℃	21.3~24.5℃	20.1~24.5℃
	反応時間	4hr 以上	4hr	4hr	4hr
乾燥	乾燥減量	1%/hr 以下	0.18%	0.02%	0.05%

表-16 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 604g 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 0.2 μm 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 518g 得た。

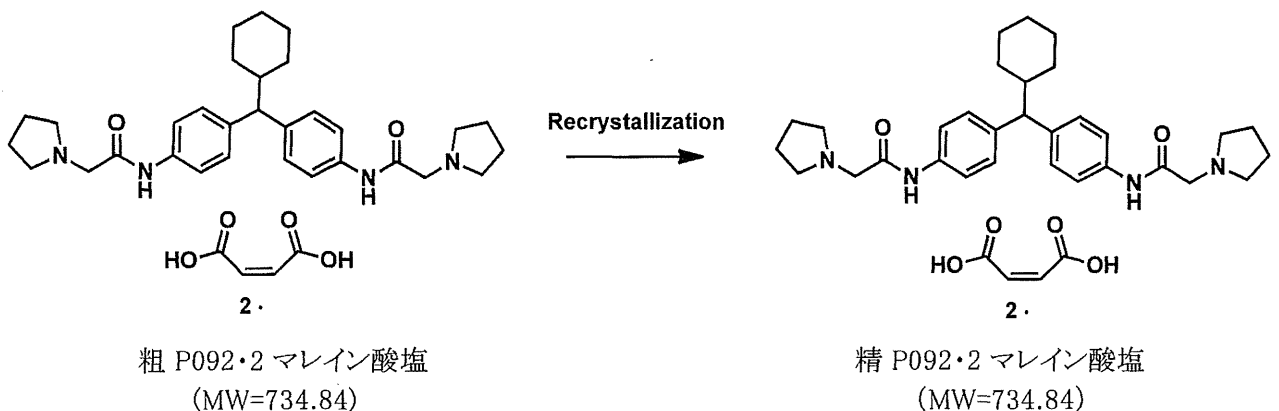


図 10: 第四工程 精製 合成ルート

予め設定した管理項目を表-17 に示す。

表 17: 第四工程 精製 工程管理項目 まとめ

工程	項目	基準	nonGMP	GMP 15001	GMP 15002
溶解	溶解温度	70~80℃	77.9℃	77.4℃	77.4℃
晶析	晶析温度	10℃以下	0.3~10℃	0.5~10℃	0.8~10℃
	晶析時間	2hr 以上	2.4hr	2hr	2.5hr
乾燥	残留溶媒エタノール	3500ppm 以下	2219ppm	50ppm	499ppm

表-17 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-18 に示す。

表 18: 第四工程 製造結果まとめ

項目	東京化成 LotFA5QJ	Non-GMP LotKS14001	GMP Lot15001	GMP Lot15002
仕込み原料	450g	400g	400g	398g
反応時間	4hr	4hr	4hr	4hr
粗体収量	719g	624.7g	602.3g	604.1g
粗体収率	109%	106.7%	103.0%	103.7%
粗体 HPLC 純度	—	99.7%	99.8%	99.8%
精製収量	584g	506.5g	519.2g	517.9g
精製後収率	88.9%	86.6%	88.7%	89.1%
精製品 HPLC 純度	99.6%	99.7%	99.9%	99.8%
Total yield	25.5%	33.2%	32.3%	31.7%

表-18 に示したように、精製後収率は 89.1%、HPLC 純度は 99.8%と Lot15001 とほぼ同じ結果となった。第一工程から Total 収率は 31.7%と LotKS14001、Lot15001 とほぼ同じであり、安定的に製造が行えているものと判断した。結晶の着色については、Lot15002 と同様、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、LotKS14001、Lot15001 と同様、精晶に若干の黄色着色が認められた。

### 3. 試験結果

品質管理課による Lot15001、Lot15002 の試験結果を LotKS14001 の結果とともに表-19 に示した。

表 19: Lot15001、Lot15002 試験結果まとめ

試験項目		規格案	nonGMP LotKS14001	Lot15001	Lot15002	
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	わずかに黄色の結晶性粉末	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	適	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	適	適	
pH		3.5~5.0	pH4.0	pH3.9	pH3.9	
純度試験	溶状	無色又は微黄色澄明	微黄色澄明	微黄色澄明	微黄色澄明	
	塩化物	0.01%以下	0.01%以下	0.01%以下	0.01%以下	
	重金属	20ppm 以下	20ppm 以下	20ppm 以下	20ppm 以下	
	砒素	2ppm 以下	2ppm 以下	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%)	1%以下(最大不純物 0.09%、総不純物 0.2%)	1%以下(最大不純物 0.09%、総不純物 0.2%)	
	残留溶媒	・エタノール	5000ppm 以下	5000ppm 以下 (2066ppm)	5000ppm 以下 (28ppm)	5000ppm 以下 (355ppm)
		・THF	720ppm 以下	720ppm 以下 (153ppm)	720ppm 以下 (19ppm)	720ppm 以下 (15ppm)
		・トルエン	890ppm 以下	890ppm 以下 (0ppm)	890ppm 以下 (0ppm)	890ppm 以下 (0ppm)
		・ジクロロメタン	600ppm 以下	600ppm 以下 (0ppm)	600ppm 以下 (0ppm)	600ppm 以下 (0ppm)
		・CPME	5000ppm 以下	5000ppm 以下 (0ppm)	5000ppm 以下 (0ppm)	5000ppm 以下 (0ppm)
・酢酸エチル		5000ppm 以下	5000ppm 以下 (0ppm)	5000ppm 以下 (0ppm)	5000ppm 以下 (0ppm)	
・IPE		5000ppm 以下	5000ppm 以下 (0ppm)	5000ppm 以下 (0ppm)	5000ppm 以下 (0ppm)	
エンドトキシン	0.5EU/mg 以下	0.5EU/mg 以下	0.5EU/mg 以下	0.5EU/mg 以下		
水分		10%以下	10%以下 (0.3%)	10%以下 (0.4%)	10%以下 (0.4%)	
強熱残分		0.1%以下	0.1%以下(0.01%)	0.1%以下(0.03%)	0.1%以下(0.04%)	
定量(非水滴定)		98%~102%	99.6%	99.3%	99.4%	
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 10 ヶ/g 以下 大腸菌群 陰性	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 10 ヶ/g 以下 大腸菌群 陰性	
判定			合格	合格	合格	

表-19 に示したように Lot15001、Lot15002 ともにすべての試験項目で規格を満足した。

品質に問題がないことが確認できたため、Lot15001 を製品 Lot001WCM として、Lot15002 を製品 Lot002WCM として、100g ずつ 3 本に分けて小分け包装を行った。

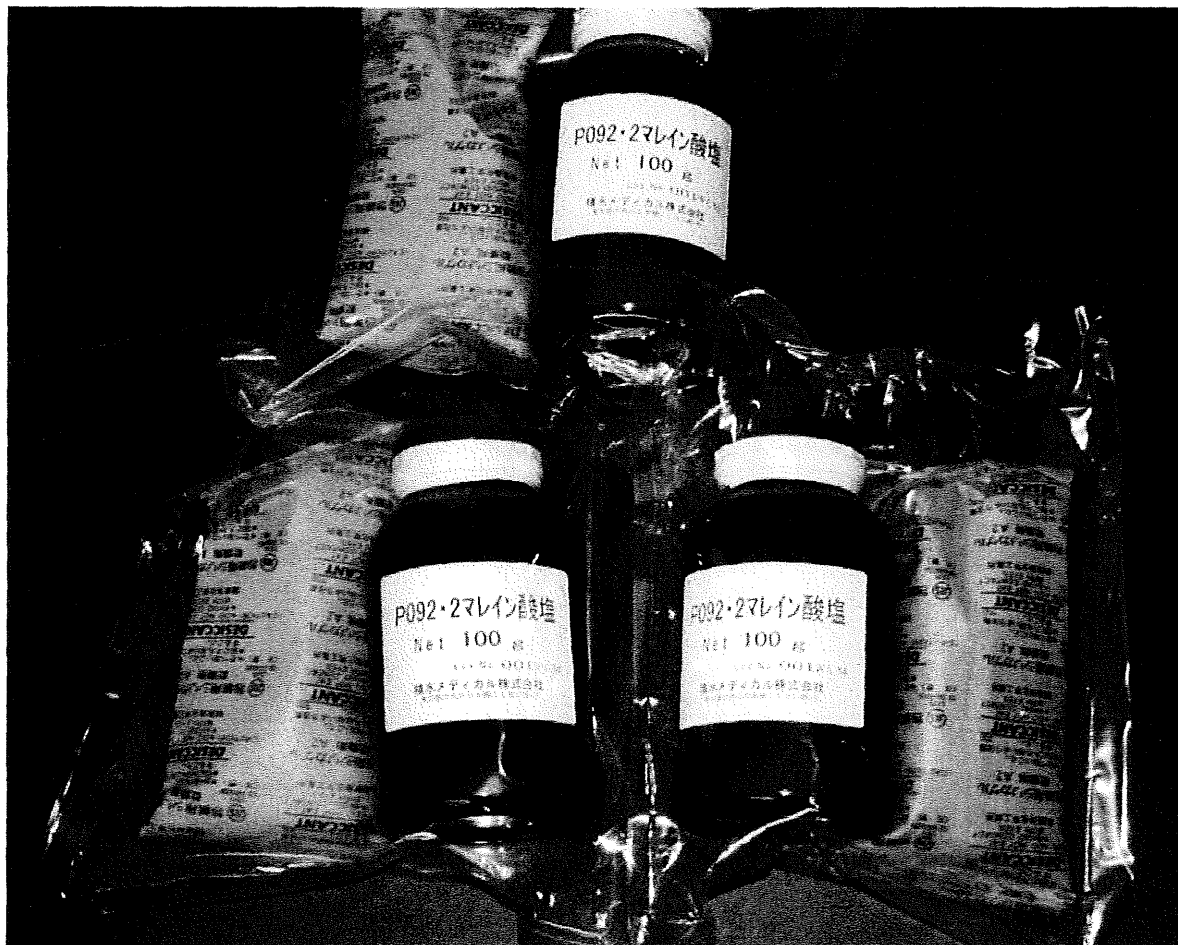


図 11:P092・2 マレイン酸塩 Lot001WCM(Lot15001)の小分け包装