

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-500532

(P2005-500532A)

(43) 公表日 平成17年1月6日(2005.1.6)

(51) Int.Cl.⁷

GO 1 N 33/15

GO 1 N 21/76

F I

GO 1 N 33/15

GO 1 N 21/76

テーマコード (参考)

2 GO 5 4

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 69 頁)

(21) 出願番号	特願2003-521340 (P2003-521340)	(71) 出願人	504056059 アナライザ, インコーポレーテッド アメリカ合衆国 オハイオ 44140, ベイ ビレッジ, グレン パーク ド ライブ 408
(86) (22) 出願日	平成14年8月16日 (2002.8.16)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(85) 翻訳文提出日	平成16年2月13日 (2004.2.13)	(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/026019	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(87) 国際公開番号	W02003/016883	(72) 発明者	チャイト, アーノン アメリカ合衆国 オハイオ 44140, ベイ ビレッジ, グレン パーク ド ライブ 408
(87) 国際公開日	平成15年2月27日 (2003.2.27)		
(31) 優先権主張番号	60/313,196		
(32) 優先日	平成13年8月16日 (2001.8.16)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 溶解度を測定するための方法

(57) 【要約】

選択した溶媒における化合物の溶解度を決定する方法であって、既知濃度の化合物を有する標準の決定または使用を必要としない方法が提供される。1つの局面では、この方法は、混合物を調製する工程（ここで、化合物の全ては、提供される溶媒中に溶解されない）、この溶媒から未溶解の化合物を分離する工程、およびこの溶媒に溶解した化合物の量の直接的決定を包含し得る。使用に適した方法としては、多数の化合物または溶媒が並行して試験される方法を包含する。これらの方法に適したデバイスもまた、本開示により提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

選択した溶媒における化合物の溶解度を決定するための方法であって、該方法は、以下の工程：

- a) ある量の化合物と、ある容量の該選択した溶媒との混合物を調製する工程；
 - b) 化合物と溶媒の該混合物をインキュベートし、それにより、該化合物が、該溶媒に溶解して、該化合物の溶液を形成し得る、工程；
 - c) 該混合物から未溶解の化合物を取り除き、それにより、ある量の該化合物の溶液を提供する工程；
 - d) (c) から得られた該化合物の溶液の選択した成分の量を決定する工程であって、ここで、該決定は、既知濃度の該化合物を含む 1 つ以上の溶液の物理的特性と、該化合物の溶液の物理的特性との比較を包含しない、工程；および
 - e) 所定の量の該化合物の溶液に存在する該化合物の量を決定することにより、該選択した溶媒中の該化合物の該溶解度を計算する工程、
- を包含する、方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法であって、ここで、(a) に存在する前記化合物の量が、前記選択した溶媒中に溶解され得る該化合物の量よりも多い、方法。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の方法であって、ここで、(a) に存在する前記選択した溶媒の量は、前記化合物の量を溶解するのに不十分である、方法。

【請求項 4】

前記化合物と前記溶媒の前記混合物をインキュベートする工程が、該溶媒中に溶解した該化合物の量が、特定のパーセンテージの平衡溶解度の値に等しい値に近づくまで続けられる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記特定のパーセンテージの平衡溶解度の値が、5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、75 %、80 %、85 %、90 %、93 %、95 %、96 %、97 %、98 %、および 99 % からなる値の群より選択される、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記化合物と前記溶媒との前記混合物をインキュベートする工程が、熱力学的に平衡化した相分離が生じるまで続けられ、ここで、相は、溶媒に溶解した化合物および少なくとも 1 つの他の相を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記溶媒中に溶解した化合物を含む前記相に存在する前記化合物の量が、特定のパーセンテージの前記平衡溶解度の値に等しい量に等しい、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記特定のパーセンテージの平衡溶解度の値が、5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、75 %、80 %、85 %、90 %、93 %、95 %、96 %、97 %、98 %、および 99 % からなる値の群より選択される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

請求項 1 に記載の方法であって、ここで、(c) から得られた前記化合物の溶液の選択した成分の量を決定する工程が、該化合物に存在する特定の元素の量を決定する工程からなる、方法。

【請求項 10】

前記化合物に存在する前記特定の元素の量を決定する工程が、ユニバーサル等モル化学ルミネセンス窒素検出器、等モル化学ルミネセンス硫黄検出器、および総有機炭素検出器からなる群より選択される検出器の使用により達成される、請求項 9 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 1】

前記方法は、選択した容量の前記溶液中に溶解された前記化合物に存在する、所定の化学元素の総含有量を測定する工程を包含する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記方法が、選択した容量の前記溶液中の前記化合物および前記溶媒に存在する、所定の化学元素の総含有量を測定する工程を包含する、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記方法は、前記化合物の溶液に存在する 1 を超える所定の化学元素の総含有量を測定する工程を包含する、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

少なくとも 1 つの化学元素が、前記化合物の溶液に溶解した該化合物中に存在し、そして少なくとも 1 つの化学元素が、前記選択した溶媒に存在する、請求項 1 3 に記載の方法。

10

【請求項 1 5】

少なくとも 1 つの化学元素の量が、特定の容量の溶液中で決定され、そしてここで、該容量は、分析的に決定される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記容量が、容量測定を用いて分析的に決定される、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記容量が、該溶液中に存在する元素の量の決定により決定される、請求項 1 5 に記載の方法。

20

【請求項 1 8】

前記選択した溶媒における前記化合物の溶解度を決定する工程が、溶液中の選択した化学元素の総含有量を、該化合物中の該元素のモル含有量由来の該選択した化合物の濃度へと変換する工程を包含する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記選択した溶媒における前記化合物の溶解度を決定する工程が、前記化学元素の含有量と、該化合物の溶液の所定の容量中の該元素含有化合物の量との間の検出器特異的なユニバーサルな量的関係の使用を包含する、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記化合物の溶液の所定の容量は、容量測定により決定される、請求項 1 9 に記載の方法。

30

【請求項 2 1】

前記化合物の溶液の所定の容量は、該溶液の特定の成分の量を決定することにより決定される、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記溶液の特定の成分が、前記溶媒に存在する元素である、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記溶液の特定の成分が、前記溶媒および前記化合物の両方に存在する成分である、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記選択した溶媒が、水性溶媒である、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 2 5】

前記選択した溶媒が、非水性溶媒である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記選択した溶媒が、非水性溶媒と水性溶媒との混合物である、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記選択した溶媒が、あるパーセンテージの DMSO を含む、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記 DMSO のパーセンテージが、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%

50

、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、1.2%、1.4%、1.6%、1.8%、2.0%、2.4%、2.8%、3.2%、3.6%、4.0%、4.5%、5%、7%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、70%、80%、90%、または100%からなる群より選択される、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

前記化合物は、質量の1単位あたり既知量の特定の元素を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項30】

前記特定の元素が、イオウ、炭素、窒素、水素、リンおよび酸素からなる群より選択される、請求項29に記載の方法。

10

【請求項31】

請求項1に記載の方法であって、ここで、a)が、前記量の前記化合物と、ある容量の第1の溶媒を接触させて、第1の混合物を形成する工程、およびある量の該第1の混合物と、ある容量のさらなる溶媒とを接触させる工程を包含する、方法。

【請求項32】

前記第1の溶媒が、有機溶媒を含む、請求項31に記載の方法。

【請求項33】

前記有機溶媒が、DMSOである、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

前記化合物が、前記第1の混合物中に溶解される、請求項31に記載の方法。

20

【請求項35】

前記第1の混合物中に溶解した前記化合物が、さらなる溶媒と接触した場合に、溶液から生じる、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

前記第1の溶媒の少なくとも一部が除去される、請求項31に記載の方法。

【請求項37】

前記第1の溶媒が、エバポレーションによるか、または真空の適用により、除去される、請求項36に記載の方法。

【請求項38】

有機化合物、無機化合物および有機金属化合物を含む、化学化合物の溶解度を決定するために記載の方法であって、該方法は、以下の工程：

30

a) 固定した容量の選抜きの溶媒を用いて、未知の過剰量の化合物サンプルの混合物を調製する工程；

b) 熱力学的に平衡化した相分離が生じるまで、該混合物のサンプルを維持する工程；

c) 該熱力学的に平衡化した混合物から、飽和溶液のアリコートを取り除く工程；

d) 固定した容量の該溶液中の所定の化学元素の総含有量を測定することにより、工程(c)から得られた溶液中の該化合物の濃度を分析する工程；ならびに

e) 該溶液中の所定の化学元素の総含有量を、該化合物中の化学元素のモル含有量および該元素の含有量と、固定された溶液容量中の該元素含有化合物の量との間の検出器特異的なユニバーサルな量的関係から、試験化合物の濃度へと変換する工程、

40

を包含する、方法。

【請求項39】

混合物の調製のための前記溶媒が、水性または有機性の性質の溶媒であり、そして既知量の前記化合物が、既知量の窒素またはイオウを含む、請求項38に記載の方法。

【請求項40】

前記選択した溶媒が、塩および／または緩衝塩の添加剤を含む、請求項38に記載の方法。

【請求項41】

前記選択した溶媒のpHが、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0、13.0、および14.0からなる

50

群より選択される pH 値に対して、pH 単位の半以下の pH を有する、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記化合物が、乾燥化合物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 43】

乾燥化合物の総重量が、1 グラムを超えない、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 44】

選抜きの前記溶媒の固定された容量が、混合物中で 5.0 mL を超えない、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 45】

請求項 38 に記載の方法であって、ここで、熱力学的に平衡化した相分離が生じるまで、上記混合物のサンプルを維持する工程が、振盪、混合、ボルテックス、超音波処理、温度処理、またはプロセスを促進するための任意の他の外部からの処理の下で実施される、方法。

10

【請求項 46】

前記熱力学的に平衡化した混合物から未溶解の残渣を除去する工程が、遠心分離、ろ過、または他の手順により行われる、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 47】

炭素、イオウ、または窒素のような、前記所定の化学元素の総含有量が、固定された容量の化合物溶液中で測定される、請求項 38 に記載の方法。

20

【請求項 48】

前固定された容量の化合物溶液中の所定の化学元素の総含有量が、該化合物の濃度へと変換される、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 49】

1 つ以上の選択した溶媒における 1 つ以上の化合物の溶解度を決定するための方法であって、該方法は、化合物と溶媒の 2 つ以上の混合物を調製する工程、および各々、請求項 1 ～ 48 のいずれか 1 項に従って、溶解度を決定する工程を包含する、方法。

【請求項 50】

前記 2 つ以上の混合物が、マルチウェル容器中に含まれる、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

前記マルチウェル容器が、マイクロタイタープレートである、請求項 50 に記載の方法。

30

【請求項 52】

前記マルチウェル容器が、少なくとも 4 個のウェルを有する、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 53】

前記マルチウェル容器が、少なくとも 8 個のウェルを有する、請求項 52 に記載の方法。

【請求項 54】

前記マルチウェル容器が、少なくとも 16 個のウェルを有する、請求項 53 に記載の方法。

【請求項 55】

前記マルチウェル容器が、少なくとも 32 個のウェルを有する、請求項 54 に記載の方法。

40

【請求項 56】

前記マルチウェル容器が、少なくとも 48 個のウェルを有する、請求項 55 に記載の方法。

【請求項 57】

前記マルチウェル容器が、少なくとも 64 個のウェルを有する、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 58】

前記マルチウェル容器が、少なくとも 80 個のウェルを有する、請求項 57 に記載の方法。

50

【請求項 59】

前記マルチウェル容器が、少なくとも96個のウェルを有する、請求項58に記載の方法。

【請求項 60】

選択した溶媒における化合物の溶解度を決定するための装置であって、該装置は、以下：

- a) ある量の化合物と、ある容量の選択した溶媒とを合わせて、それにより、容器中で混合物を形成する、混合デバイス；
 - b) 必要に応じて、所定の期間の間、所定の条件で、該混合物を維持する、インキュベーションデバイス；
 - c) 該混合物から未溶解の化合物を除去して、それにより、ある量の該化合物の溶液を提供する、分離デバイス；および
 - d) 該化合物の溶液中の選択した成分の量を検出する、検出器、
- を備える、装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、2001年8月16日に出願された米国仮出願番号60/313,196（この出願は、その全体が本明細書中に参考として援用される）に対する優先権を主張する。

【0002】

（発明の分野）

一般に、開示される本発明は、選択された（selected）かまたは選択された（chosen）溶媒における、化合物の混和性、溶解度、または他の類似の特性の決定または評価を可能にする方法に関する。より具体的には、本発明は、部分的には、有機化合物、無機化合物、および有機金属化合物、特に、製薬および農薬の研究および開発に関連する化合物の溶解度の測定を容易にするための方法に関する。

【背景技術】

【0003】

（背景）

化合物の化学的処方物に関連する技術分野（例えば、製薬および農薬の研究および開発の分野であるがこれらに限定されない）において、新たに開発された薬物候補の一般的安定性を、完全な開発を開始する前に評価することが、ほとんど常に必要である。このような化合物の一般的安定性、または製薬開発の分野においては、薬物能力（drug-ability）の、このような評価は、代表的に、種々の溶媒におけるこの化合物の溶解度、および種々のpH値における溶解度プロファイルの研究を包含する。しかし、非常に多数の化合物についてこのような研究を実施することは、問題であり得、そして資源集中的であり得る。特に、薬物発見プロセスの初期段階において、溶解度の測定は、広範な種々の化合物について一般的に実施される。さらに、これらの化合物の多くは、より多量での製造の困難性、または全てであるが最小サイズのサンプルの取り扱いのいずれかに起因してか、あるいは単純に、より多量の化合物の製造または取り扱いの費用が実現可能でないことに起因して、制限された量でのみ入手可能である。

【0004】

しかし、溶解度研究を単に回避することもまた、製品開発のための実現可能な選択肢ではない。なぜなら、適切な溶解度プロファイルを有さない、その他の点では適切な候補化合物の選択は、有意な問題を引き起こし得るからである。実際に、不溶性または難溶性の化合物は、しばしば、薬物に開発することが困難である。有意な動機付けがあっても、低溶解度の薬物の開発は、その他の点ではより適切な特性を有する化合物についてより時間を浪費し、そして高価である。

【0005】

従来、選択された溶媒と共に、化合物を少なくとも24時間、またはもはやその化合物が溶解しなくなるまで、攪拌または振盪し、次いで濾過し、そして溶解した化合物の濃度を

適切な分析アッセイにより決定することによって、「平衡」溶解度が決定されてきた。これらの分析アッセイは、較正されなければならない、これは、少なくとも数種の、様々な既知の濃度の化合物の溶液（標準溶液）の調製、および測定可能な分析物信号と化合物濃度との間の定量的関係を確立することを包含するプロセスである。このアプローチは、近年の薬物発見設定において、不適切である。スループット（所定の量の時間で、または所定の量の供給源（例えば、機械、人員、サンプルなど）を使用して決定され得る未知のサンプル数）は、非常に多数の潜在的なリード化合物を分析するために必要とされる要件を満たすために十分には高くない。例えば、サンプルおよび／または標準の質量の決定は、何百も（または何千も）の固体サンプルをミリグラム未満の量で秤量するプロセスであるので、所望されるハイスループットを維持するために非常に制限的なチェックポイントをそのプロセスにおいて提示する。 10

【0006】

従って、化合物のハイスループットの分析のための、認識された障害を軽減するために、当業者は、化合物の溶解度を決定するための改善された方法を開発することを求めている。これらの方法の1つは、ジメチルスルホキシド（DMSO）中の化合物の一定量の溶液を添加した後に、水性媒体の濁り度を、レーザー比濁分析を使用することによって測定することに基づく（BevanおよびLloyd, 「A high-throughput screening method for the determination of aqueous drug solubility using laser nephelometry in microtiter plates」Anal. Chem. 72, 1781-1787 (2000)）。しかし、この方法は、DMSOなしで純粋な水性媒体中での化合物の溶解度を測定することを可能にしない点で、制限される。文献中に示唆される別の方法は、化合物の飽和溶液についての蒸気圧降下を測定することに基づく（Parikhら, 「Rapid solubility determination using vapor-phase osmometry」J. Biomol. Screen. 4, 315-318 (1999)）。しかし、この方法は、純粋な水へのかなり良好な溶解度を有する非イオン性化合物の溶解度を測定するための使用に限定される。さらに、この方法は、難溶性の化合物に対して使用され得ず、そして緩衝液または塩溶液中でのイオン性化合物の溶液に対するその使用は、疑問の余地があると考えられる（Parikhら, 「Rapid solubility determination using vapor-phase osmometry」J. Biomol. Screen. 4, 315-318 (1999)）。 20 30

【0007】

さらなる方法（例えば、pIon Inc. から入手可能なもの）は、目的の化合物のDMSO溶液を所定の水性溶媒と混合し、この混合物を一定時間インキュベートし、形成した沈澱物を濾過によって除去し、そして化合物濃度をその化合物に特異的な極大波長においてその濾液の吸光度を測定することによりアッセイすることによって、実験サンプルを生成することに基づく。しかし、これらのアッセイと、これらのさらなる方法において使用するための化合物の濃度を決定するためのアッセイ、またはさらなる方法において使用するための吸光度を決定するためのアッセイとの間の差異は、困難を生じる。例えば、濃度アッセイ（溶解度を決定するために使用されるアッセイと類似するが、インキュベーションおよび濾過を包含しない）が、化合物の同じDMSO溶液と同じ水性溶媒との別個に調製された混合物中で実施されるが、混合物中で、より高い比のDMSO対水性溶媒を使用する。適切な条件下で、より高いDMSO／水性溶媒比は、化合物が溶液から沈澱しないような比である。相応して、吸光度の測定は、所定の量の化合物についての吸光度を示すように実施される。この測定は、全ての化合物が可溶化されるか、またはこれらの測定のセットが参照点として使用される場合、測定吸光度値と化合物の量との間の関係が作成される。この関係を決定する際に、本質的に、標準曲線（当該分野において公知であるような、使用されるDMSO／水性溶媒比範囲にわたる吸光度対濃度の線形性）が仮定される。標準曲線と、インキュベーションおよび濾過に続いて実験サンプルから決定された測 40 50

定値との比較が使用されて、実験サンプル中の化合物の濃度が計算／決定される。

【0008】

一般に、p I o nから入手可能なものに類似の手順は、いくつかの状況下でのこれらの実用的な適用を制限する、さらなる不利な点を有する。具体的には、上で概説されるような技術は、研究中の化合物の、D M S O中またはD M S O含有溶媒中での初濃度を決定することが可能であることを必要とする。さらに、この方法は、吸光度測定によって検出され得るように、発色団基を有する化合物に限定される。化合物がD M S Oもしくは類似の溶媒中でのこれらの初濃度が決定されることに耐えられる必要がない手順、または化合物が容易に検出可能な基もしくは通常使用される発色団基を有する化合物を必要としない手順が、化合物の溶解度を試験するための技術の有意な進歩である。

10

【0009】

本発明は、目的の溶媒中への目的の化合物の溶解度を決定するための、新たな方法を提供する。特定の実施形態において、本発明は、有機化合物、無機化合物、および有機金属化合物、特に、製薬の研究および開発に関連する化合物の、有機溶媒を含むかまたは含まない水性媒体中への溶解度の測定を可能にする方法を包含する。さらに、提供される方法は、化合物のイオン化状態によって、または媒体中の無機塩および／もしくは緩衝塩の存在によって、必ずしも制限されない。さらに、提供される方法は、ハイスループットの自動化測定に適合可能である。本発明のこれらおよび他の目的は、以下の詳細な説明の観点から、明らかになる。

【発明の開示】

20

【課題を解決するための手段】

【0010】

(発明の要旨)

本発明の目的に従って、本明細書中で実施され、そして広範に記載されるように、本発明は、1つの局面において、選択された溶媒中での化合物の溶解度を測定するプロセスに関し、このプロセスは、以下の工程を包含する：ある量の化合物と、ある容量の選択された溶媒との混合物を調製する工程；この化合物および溶媒の混合物をインキュベートする工程であって、これによって、化合物がこの溶媒に溶解して、この化合物の溶液を形成し得る、工程；溶解していない化合物をこの混合物から除去する工程であって、これによって、ある量のこの化合物の溶液を提供する工程；混合物から溶解していない化合物を除去することにより生じる、化合物の溶液の選択された成分の量を決定する工程であって、ここで、この決定は、既知の濃度の化合物を含有する1種以上の溶液の物理的特性と、この化合物の溶液の物理的特性とを比較する工程を包含しない、工程；ならびに決定された量の化合物の溶液中に存在する化合物の量を決定することによって、選択された溶媒中の化合物の溶解度を計算する工程。

30

【0011】

第2の局面において、本発明は、本発明は、化合物（有機化合物、無機化合物および有機金属化合物が挙げられる）の溶解度を決定するための方法に関する。この方法は、以下の工程を包含し得る：未知の過剰量の化合物サンプルと、一定容量の選択された溶媒との混合物を調製する工程；上記混合物のサンプルを、熱力学的に平衡化した相分離が起こるまで維持する工程；この熱力学的に平衡化した混合物から、飽和溶液のアリコートを取り出す工程；一定容量の溶液中の所定の元素の全含有量を測定することによって、この飽和溶液から取り出されたアリコートにおける溶液中の化合物の濃度を分析する工程；ならびに化合物中のその元素のモル含有量、およびこの元素の含有量と一定溶液容量中の元素含有化合物の量との間の検出器特異的なユニバーサルな量的関係から、溶液中の所定の元素の全含有量を試験された化合物の濃度に変換する工程。

40

【0012】

第3の局面において、本発明は、1つ以上の選択された溶媒中の、1つ以上の化合物の溶解度を決定するための方法に関する。この方法は、化合物と溶媒との2つ以上の混合物を調製する工程、ならびに本発明の第1および第2の局面によるいずれかの方法に従って、

50

各々の溶解度を決定する工程を包含し得る。

【0013】

第4の局面において、本発明は、選択された溶媒中での化合物の溶解度を決定するための装置に関する。この装置は、以下を備え得る：混合デバイスであって、ある量の化合物とある容量の選択された溶媒とを合わせ、これによって、容器中に混合物を形成する、混合デバイス；インキュベーションデバイスであって、この混合物を、必要に応じて、決定された時間にわたって決定された条件に維持する、インキュベーションデバイス；分離デバイスであって、溶解していない化合物を混合物から除去し、これによって、ある量の化合物の溶液を提供する、分離デバイス；ならびに検出器であって、化合物の溶液中の選択された成分の量を検出する、検出器。この装置は、本発明の第1、第2、または第3の局面によるいずれかの方法に適合され得る。 10

【0014】

特定の実施形態において、本発明は、有機化合物、無機化合物、および有機金属化合物（特に、製薬、化粧品、および農薬の研究および開発に関連する化合物）の、有機溶媒を含まない水性媒体中での溶解度を、その化合物のイオン化状態にも、その媒体中の無機塩および／または緩衝塩の存在にも制限されずに測定する、ハイスループットの自動化測定に適合可能なプロセスに関する。特定の実施形態において、使用される方法は、未知重量の化合物を、選択された溶媒中に、振盪、超音波処理、または他の手段によって分散させること、溶解していない化合物を、濾過、遠心分離、または他の手段によって除去すること、ならびに溶解した化合物分子中に存在する成分の総量を測定することに基づき得る。検出および測定される成分としては、特定の部分、基、または元素（例えば、窒素、炭素、または硫黄）が挙げられ得るが、これらに限定されない。 20

【0015】

（発明の詳細な説明）

本発明の化合物、組成物、物品、デバイス、および／または方法を開示および記載する前に、本発明が、特定の方法にも、特定の溶液にも、特定のデバイスにも限定されず、よって当然のことながら変動し得ることが理解されるべきである。本明細書中で使用される用語が、特定の実施形態を記載する目的に過ぎず、限定することを意図しないこともまた、理解されるべきである。本明細書および特許請求の範囲全体を通じて、多くの用語が言及され、これらの用語は、以下の意味を有することが規定されることとする。 30

【0016】

本明細書中および添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「a」、「an」、「the」は、文脈において明らかにそうでないことが示されない限り、複数の指示を含む。従って、例えば、「溶媒」との言及は、溶媒の混合物などを含む。

【0017】

範囲は、本明細書中で、「ほぼ（約）」特定の1つの値から、および／または「ほぼ（約）」別の特定の値までとして表され得る。このような範囲が表される場合、別の実施形態は、その1つの特定の値から、および／または他の特定の値までを含む。同様に、接頭語「約」によって値が近似値として表される場合、その特定の値は、別の実施形態を形成することが理解される。各範囲の端点が、他方の端点に関して、かつ他方の端点とは独立して有意であることがさらに理解される。 40

【0018】

「任意の」または「必要に応じて」は、引き続いて記載される事象または状況が、起こっても起こらなくてもよく、その記載が、上記事象または状況が生じた場合および上記事象または状況が生じなかった場合を含むことを意味する。

【0019】

特定の状況において、溶媒媒体中の化合物の溶解度は、飽和状態での溶媒中の化合物濃度として規定され得る。他の状況では、選択された溶媒中の化合物の溶解度は、溶液と接触した化合物のその量が大きな制限要因でない特定の状況（例えば、固体の化合物が、溶媒に添加され、固体化合物が所定の時間後に溶解しないままである場合）下での、溶液中の 50

化合物の濃度として規定され得る。別の状況において、化合物の溶解度は、特定の条件下で、すなわち、特定の手順に従った後に、化合物が、所定の濃度にて溶液中に残ったままであることの決定を意味し得る。化合物の溶解度がこの状況において使用される場合、化合物の決定された溶解度は、その化合物の溶解度の限界（すなわち、化合物が、所定の濃度にて少なくとも可溶性でなければならない）に関するが、溶液中にその化合物をより高濃度にすることが可能であり得る。このような決定の使用は、当業者により認識される、特定の溶媒中に溶解する能力またはプロトコルまたはプロセスの開発におけるガイドラインとして使用されるべき特定の溶媒を含有する溶液中に残ったままである能力に関して、化合物の特徴の適切な特徴付けを提供し得る。

【0020】

10

化合物の溶解度の測定は、化合物の飽和溶液の調製および溶液中に存在する化合物の量の測定を含む、多くの工程を包含する。標準的な方法の使用において；飽和溶液の調製は、容器中の乾燥化合物の所定の量を秤量し、溶媒の一定量または一定容量を添加すること、溶媒中に化合物を分散させること、その化合物の溶解しなかった画分を除去すること、および残りの溶液中の溶解した化合物の量を測定することを必要とする。

【0021】

通常実施されるように、飽和溶液の調製（特に、化合物の秤量および一定量の溶媒の添加）、および溶解しなかった化合物を除去した後に残った溶液中に存在する、溶解した化合物の量を測定することに、時間および人手の大部分が要される。部分的に、このことは、化合物の分散が、振盪、超音波処理、混合などによって、複数セットのサンプルについて並行して行われ得、そして溶解しなかった化合物の除去が、濾過、遠心分離などによって、複数セットのサンプルについて並行して行われ得るという事実起因する。

20

【0022】

なお小数の化合物の溶解度をアッセイする場合、標準的な方法は、しばしば、数百の固体サンプルの秤量（一般には、ミリグラム未満の量で）を要し得る。さらに、溶解しなかった化合物の除去後の残りの溶液中の、溶解した化合物の量を測定する工程は、一般に化合物に特有の分析アッセイの使用を要する。アッセイが化合物に特有である場合は常に、研究される各化合物について別々のアッセイの開発が必要であり得る。広範なアッセイ開発のためのこの要件は、資産の過大な出費を生じ得る。

【0023】

30

1つの局面において、本発明は、選択された溶媒中の化合物の溶解度を測定する方法に関し、この方法は、その化合物の飽和溶液を調製する工程（ここで、この飽和溶液は、ある量の化合物と、ある容量の選択された溶媒とを合わせるにより調製され、この選択された溶媒の容量は、その化合物を完全に溶解するには適切ではない）、および得られた溶液の所定の量に溶解した化合物の量を測定する工程を包含する。この方法は、以下の工程を包含し得る：ある量の化合物と、ある容量の溶媒とを合わせる工程；合わせた化合物および溶媒を、必要に応じてその容量中の化合物の分散するように作用させながら、ある時間の間インキュベートする工程；その溶媒中に溶解した化合物の得られた溶液の少なくとも一部から、溶解しなかった化合物を除去する工程；およびある量の溶媒中に溶解したその化合物の量を決定する工程。

40

【0024】

溶解度が試験される化合物は、固体、液体もしくは気体の形態、またはこれらの形態の組み合わせであり得る。例えば、別の溶媒中の化合物のスラリーが、化合物の溶解度が試験される溶媒に添加され得る。

【0025】

提供される化合物の量は、試験される物質により課される必須の要件に従って変動し得る。例えば、所定の溶媒中で非常に高い溶解度の化合物を試験する場合、提供される溶媒の容量に対して提供される物質の量は、所定の溶媒中で非常に低い溶解度の化合物が試験される場合に必要な量より、必然的に多い。従って、使用される化合物の量は、1 pg、2 pg、5 pg、10 pg、30 pg、100 pg、250 pg、500 pgもしくは10

50

00 pg、1 ng、2 ng、5 ng、10 ng、30 ng、100 ng、250 ng、500 ng もしくは 1000 ng、1 μ g、2 μ g、5 μ g、10 μ g、30 μ g、100 μ g、250 μ g、500 μ g しくは 1000 μ g、または 1 mg、2 mg、5 mg、10 mg、30 mg、100 mg、250 mg、500 mg しくは 1000 mg より多くあり得るか、あるいは 1 pg、2 pg、5 pg、10 pg、30 pg、100 pg、250 pg、500 pg しくは 1000 pg、1 ng、2 ng、5 ng、10 ng、30 ng、100 ng、250 ng、500 ng しくは 1000 ng、1 μ g、2 μ g、5 μ g、10 μ g、30 μ g、100 μ g、250 μ g、500 μ g しくは 1000 μ g、または 1 mg、2 mg、5 mg、10 mg、30 mg、100 mg、250 mg、500 mg しくは 1000 mg 未満であり得る。従って、使用される溶媒の容量は、1 nl 10、2 nl、5 nl、10 nl、30 nl、100 nl、250 nl、500 nl しくは 1000 nl、1 μ l、2 μ l、5 μ l、10 μ l、30 μ l、100 μ l、250 μ l、500 μ l しくは 1000 μ l、または 1 ml、2 ml、5 ml、10 ml、30 ml、100 ml、250 ml、500 ml しくは 1000 ml より多くあり得るか、あるいは 1 nl、2 nl、5 nl、10 nl、30 nl、100 nl、250 nl、500 nl しくは 1000 nl、1 μ l、2 μ l、5 μ l、10 μ l、30 μ l、100 μ l、250 μ l、500 μ l しくは 1000 μ l、または 1 ml、2 ml、5 ml、10 ml、30 ml、100 ml、250 ml、500 ml しくは 1000 ml 未満であり得る。当業者によって認識されるように、溶媒は、1 以上の化合物の組み合わせであり得る（すなわち、溶媒は、溶液であり得る）。 20

【0026】

サンプルを溶解／懸濁するプロセスまたは工程は、1 工程または 1 を超える工程であり得る。例えば、サンプルは、より少量の溶媒中に懸濁され得、次いで、より大量の第 2 の溶媒に提供され得る（例えば、スラリーとしてまたは攪拌した懸濁液として）。あるいは、その化合物は、第 1 の溶媒中に溶解され得、次いで、第 2 の溶媒に提供され得る（第 2 の溶媒中でその化合物は、完全に可溶性でなくてもよい）。例えば、ある量の化合物は、少量の有機溶媒中に溶解され得、次いで、ある容量の水性溶媒に添加され得る。その際に、その化合物の少なくとも一部が溶液から出現する。例えば、有機溶媒が、その後の測定の間溶液中に残ったままであると、溶解度は、中間の動力学または見かけの溶解度（これは、「平衡状態の」溶解度に対応してもしなくてもよい）になり得る。これらの測定値は 30、それらの見かけの溶解度を順位付けまたはランク付けするために、化合物のハイスループット比較のために使用され得る。化合物が懸濁または溶解され、次いでさらなる溶媒に添加されるいくつかの実施形態において、第 1 の溶媒は、任意のさらなる溶媒の添加により形成される溶液から除去され得る揮発性溶媒であり得る。このような実施形態において、第 1 の揮発性溶媒の除去は、その第 1 の溶媒中に懸濁または溶解された化合物の少なくとも一部を、溶液から出現させ得る。インキュベーションの最後に残っている溶媒中に残った化合物の量の測定は、そのためにその残った溶媒中の化合物の溶解度の測定を可能にする。

【0027】

ある容量の溶媒の少なくとも一部全体に化合物を分散させることは、攪拌、振動、超音波 40 処理によって、ならびに当業者に公知の機械的攪拌の他の形態によって容易にされ得る。分散をもたらすかまたは分散を増大させるためのこのような取り組みは、所望のインキュベーション全体を通して連続的であり得るかまたは断続的であり得る。

【0028】

化合物と溶媒との混合物のインキュベーションは、使用される特定の化合物および溶媒について適切な時間の間にわたって、溶解性に影響を及ぼす他の条件下（例えば、温度および圧力が挙げられるが、これらに限定されない）で行われ得る。インキュベーションは、-25℃、-15℃、-10℃、-5℃、-2℃、0℃、2℃、5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃、50℃、60℃、80℃または 100℃を超えるか、あるいは -25℃、-15℃、-10℃、-5℃、-2℃、0℃、2℃、5℃、 50

10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃、40℃、60℃、80℃、または100℃未満の温度であり得る。インキュベーションは、0.1気圧、0.2気圧、0.3気圧、0.4気圧、0.5気圧、0.6気圧、0.7気圧、0.8気圧、0.9気圧、1.0気圧、1.1気圧、1.2気圧、1.3気圧、1.4気圧、1.5気圧、1.6気圧、1.8気圧、2.0気圧、3気圧、または5気圧より大きいか、あるいは0.1気圧、0.2気圧、0.3気圧、0.4気圧、0.5気圧、0.6気圧、0.7気圧、0.8気圧、0.9気圧、1.0気圧、1.1気圧、1.2気圧、1.3気圧、1.4気圧、1.5気圧、1.6気圧、1.8気圧、2.0気圧、3気圧、または5気圧未満であり得る。

【0029】

インキュベーション後、その容量の溶媒および溶解した化合物から、溶解しなかった化合物が除去され得る。溶解しなかった化合物を除去するために使用され得る方法としては、機械的捕捉に依存した方法（例えば、濾過）、および溶解した化合物／溶液および溶解しなかった化合物の特性の差異に依存した方法（例えば、遠心分離または沈澱）が挙げられる。

10

【0030】

従って、本発明の特定の局面に従って、飽和溶液を調製するためにある量の化合物およびある容量の溶媒を提供する手順は、単純化され、最も時間と労働力を浪費する部分、すなわち、サンプル秤量プロセスを要しない。代わりに、有る量の化合物を分配するために使用される手順は、容器に入れられるある量の化合物（これは、提供される容量の溶媒により溶液中へ入れられ得る量の化合物より多い）を移すことを含む必要があることのみである。結果的に、サンプルの量は、当業者により決定され得るような特定の値を超えるように緩く規定される必要があるのみである。試行錯誤の過程が、ある量の化合物が化合物を溶解するインキュベーションの後に溶解しないままであることを決定することによって、使用される化合物の量が適切であるか、または溶媒の容量が多すぎないことを決定するために使用され得る。特定の実施形態において、本発明は、少量のサンプル（例えば、約0.01mg、0.02mg、0.05mg、0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.5mg、または1.0mgのうちの1つ、あるいはスパチュラで乾燥サンプルのはっきりとした量からなる量）の使用を可能にする。少量の化合物を分配する手順は、例えば、所定の時間に固定したスパチュラを振動させる設定下などでの乾燥粉末分配のように、自動化され得る。

20

30

【0031】

溶液中の溶解した化合物の存在の検出もまた、本発明によって提供される。利用される検出方法は、容易に自動化される方法であり得る。本発明の特定の局面に従って、この検出手順は、その化合物を含む溶媒の一部に存在する、化合物の分子に存在する化学元素（例えば、炭素、窒素、硫黄など）の総含有量を測定することからなり得る。例えば、糖の水溶液中に存在する炭素量の検出は、ある容量中に存在する糖の濃度を決定するために使用され得る。特定の実施形態において、この決定は、一定量の化合物溶液中の元素の量を測定することを包含する。選択された元素の測定は、ユニバーサルな等モル濃度化学発光窒素検出器、等モル量化学発光硫黄検出器、または総有機物炭素検出器により行われ得る。特定の実施形態において、検出される元素は、溶媒単独中には存在しない、化合物中に存在する元素であり得る。例えば、糖の水溶液中に存在する糖の量を決定する方法の使用における炭素の検出。他の特定の実施形態において、検出される元素は、元素および溶媒の両方に存在する元素であり得、特定の容量の溶媒中に存在する元素量の決定は、溶液中に溶解した化合物の量を決定するために使用され得、それにより、その化合物の溶解度の決定が可能になる。あるいは、他の実施形態において、1を超える元素量の測定が測定され得、ここで元素の比が、溶液中に溶解した化合物の量を示す。

40

【0032】

あるいは、他の実施形態において、化合物に存在する元素の量および溶媒に存在する第2の元素の量が、その溶媒の量に対する、所定のアリコート中に存在する化合物の相対量を

50

決定するために使用され得る。本発明のこれらの実施形態において、測定される溶液の容量の測定は、必ずしも、測定されるサンプル中に存在する元素量の決定とは独立して測定される必要はない。

【0033】

化合物の溶液中に存在する選択された構成要素の量の検出、測定または決定は、既知の濃度を有する溶液から決定された値と比較することを包含し得る。あるいは、この化合物の溶液の選択された構成要素の量の検出、測定または決定は、化合物の既知の濃度を含む溶液の物理的特性と、その化合物の溶液の物理的特性との比較を排除することができ、すなわち、この方法は、既知の量または既知の濃度の化合物（その濃度が決定されている）から構成される標準物質を使用せずに、行われ得る。

10

【0034】

本発明の他の実施形態において、装置は、以下を含む；容器内で、ある量の化合物をある容量の溶媒と混合し、混合物を形成し得る混合デバイス；所定の条件で、必要に応じて所定の時間、混合物を維持し得るインキュベーションデバイス；混合物から溶解していない化合物を除去し、ある量の化合物溶液を提供する分離デバイス；および化合物の溶液中の選択された成分の量を検出し得る検出器。本発明の方法を実施するために適合されたデバイスの他の特定の実施形態は、本明細書中に開示される方法を実施し得ると当業者に認識される実施形態である。デバイスのこれらの特定の実施形態は、本発明の方法に従うサンプルの自動化された操作および処理に適合された実施形態を含む。

【実施例】

20

【0035】

（実験）

以下の実施例は、本明細書中に記載される化合物、組成物、物体、デバイスおよび／または方法を作製および評価する方法の完全な開示および記載を当業者に提供するために示され、そして本発明の単なる例示であることが意図され、そして発明者らが、自分達の発明とみなすものの範囲を制限することは意図されない。

【0036】

数（例えば、量、温度など）に関して正確さを確実にするように努力がなされているが、いくつかの誤差および変動は、考慮されるべきである。他に示されない限り、部分は、重量部であり、温度は、℃または周囲温度であり、そして圧力は、大気圧であるかまたはその付近である。

30

【0037】

（実施例1）

（固定容量のカフェイン溶液中の総窒素含量を測定することによる種々の濃度のカフェイン溶液の濃度測定）

カフェインを、Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, USA) から購入し、そしてさらなる精製をせずに使用した。水中のカフェインの溶液を、0.9~83.37 mg/ml の名目上の濃度で調製した。5つのこれらの溶液は、溶解されない残渣を有し、これらの溶液を0.45 μm フィルターを通して濾過した。これらの溶液を、5 μl 容量の分析用ループを装備した化学発光窒素検出器 (model 8060, Antek Instruments) に三連で注入した。得られた結果を、図1に示す。

40

【0038】

調製した溶液についての名目上の濃度値に対する試験したカフェイン溶液についての濃度を、図1にプロットする。図1中に与えられたデータは、固定容量の溶液中の総窒素含量を測定することによって決定された絶対的な濃度が、化合物の濃度についての正しい値を提供することを明らかに示している。

【0039】

（実施例2）

（本発明に従う手順による異なる化合物の溶解性の測定）

50

アロプリノール、ベンドロフルメチアジド、ブタンベン (butamben)、クロファジミン、ヒドロフルメチアジド、ニフェジピン、ニトロフルラントイン (nitroflurantinoin)、ニトロフルラゾン (nitroflurazone)、パーフェナジン、フェナセチン、トラザミドおよびスルファニルアミドを、Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, USA) から購入し、そしてさながら精製をせずに使用した。これらの化合物の各々の約 10 mg 量を、0.5 ml の水と混合し、そして室温で 24 時間振盪した。各溶液中の溶解しなかった残渣を、0.45 μm フィルターで濾過することによって除去し、そしてこの溶液を、5 μl 容量の分析用ループを装備した化学発光窒素検出器 (model 8060, Antek Instruments) に三連で注入した。

10

【0040】

各化合物溶液について測定した窒素含量を、濃度単位に変換し、そして試験した化合物についての対応する文献の溶解度データに対する、得られた実験的溶解度値を、図 2 にプロットする。図 2 に示したプロットは、以下の直線の関係によって説明される：

$$S_{exp} = 0.036 (\pm 0.018) + 1.005 (\pm 0.018) * S_{lit},$$

$$N = 12; r^2 = 0.9993; s = 0.0596,$$

ここで、 S_{exp} は、記載される手順によって実験的に測定される化合物の溶解度であり； S_{lit} は、文献において報告された化合物の溶解度であり； N は、化合物の数であり； r は、相関係数であり、 s は、概算の標準誤差である。

【0041】

図 2 において与えられるデータは、本発明の手順によって得られた溶解度値と、1 μg/ml ～ 約 10 mg/ml までの範囲に亘る溶解度を有する異なる化合物に関する文献データとの間に良好な相関があることを明らかに示す。

20

【0042】

上記の実施例により例示された結果は、本発明に従う手順が、広範な種々の化合物についての溶解度の高スループット測定を容易にすることを立証する。

【0043】

(実施例 3)

(2 つの異なるアッセイプロトコルを使用した本発明に従う手順による、水中のいくつかの異なる化合物の溶解度の測定)

30

ブタンベン、ベンドロフルメチアジドおよびフェニルブタゾンを、Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, USA) から購入し、そしてさながら精製をせずに使用した。これらの化合物の各々の約 20 mg 量を、10.0 ml の水と混合し、そして室温で 24 時間振盪した。各溶液中の溶解しなかった残渣を、0.45 μm フィルターで濾過することによって除去した。濾過した溶液を、2 つの部分に分けた。各溶液の 1 つの部分を、5 μl 容量の分析用ループを装備した化学発光窒素検出器 (model 8060, Antek Instruments) に三連で注入した。各濾過した溶液のもう一方の部分を、総有機炭素分析器 (model TOC-5000, Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, USA) を用いてアッセイした。飽和溶液の窒素含量および炭素含量の両方の分析によって得られた結果を図 3 に示す。図 3 に示す結果は、2 つのアッセイによって得られたデータの間に良好な相関があることを示す。

40

【0044】

この実施例の結果は、化合物の飽和溶液中の元素含量のアッセイが、測定される特定の元素含量から独立して、化合物濃度（すなわち、化合物の溶解度）の測定を可能にすることを立証する。

【0045】

(実施例 4)

(2 つの異なるアッセイプロトコルを使用した本発明に従う手順による、緩衝液中のいくつかの異なる化合物の溶解度の測定)

50

アロプリノール、ベンドロフルメチアジド、ブタンベン、クロファジミン、ニトロフルザゾン、テオフィリン、ニフェジピン、ペルフェナジン、フェナチン、トリメトプリムおよびカフェインは、Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, USA) から購入し、さらに精製することなしに用いた。これらの化合物の、各々、約 20 mg 量を、適切な量の酢酸、リン酸、ホウ酸、および NaOH からなる 0.01 M ユニバーサル緩衝液中 (pH 7.4) の 0.15 M NaCl (10.0 ml) で混合し、室温で 24 時間振盪した。各々の溶液中の不溶性の残渣を、0.45 μm のフィルターを通した濾過によって除去した。濾液の一部を、5 μl 容量の分析ループを備えた化学発光窒素検出器 (モデル 8060、Antek Instruments) に、三連で注入した。各濾液の他の一部を、総有機炭素分析器 (モデル TOC-5000, Shimadzu Scientific Instrument, Columbia, MD, USA) でアッセイした。飽和溶液の窒素含有量および炭素含有量の両方を分析することによって得た結果を、図 4 に示した。図 4 に示した結果は、2 つのアッセイによって得られたデータの間に、適切な直線的相関があることを示す。

【0046】

この実験結果は、化合物の飽和溶液中のエレメント含有量のアッセイが、測定した特定のエレメントの含有量から独立して、化合物の濃度 (すなわち、化合物の溶解性) の測定を可能にすることを示す。

【0047】

(実施例 5)

(本発明に従う手順によって DMSO 中に溶解させた、異なる化合物の溶解性の測定)
アロプリノール、ベンドロフルメチアジド、ブタンベン、クロファジミン、ニトロフルザゾン、テオフィリン、ニフェジピン、ペルフェナジン、フェナチン、スルファニルアミド、およびトリメトプリムは、Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, USA) から購入し、さらに精製することなしに用いた。5.0 mg/ml の濃度の DMSO 中の各化合物のストック溶液を調製した。0.15 M NaCl を含む一定量 (450 μl) の 0.01 M ユニバーサル緩衝液中 (pH 7.4) を、各化合物の DMSO ストック溶液 (9.2 μl) と混合した。この混合物を、室温で 24 時間振盪した。各溶液中の不溶性の残渣を、0.45 μm のフィルターを通した濾過によって除去し、そしてこの溶液を、5 μl 容量の分析ループを備えた化学発光窒素検出器 (モデル 8060、Antek Instruments) に、三連で注入した。

【0048】

各化合物溶液について測定した窒素含有量を、濃度単位に転換し、そして得られた「DMSO 溶解度」実験値を、実施例 2 に記載した手順を用いて、同じ緩衝液中の同じ化合物について得られた対応するデータに対して、図 5 にプロットした。図 5 に示すデータは、1 μg/ml ~ 約 10 mg/ml の範囲にわたり、この手順によって得られた「DMSO 溶解度」値と、本発明に従う手順によって得られた乾燥化合物を用いて得られた「DMSO 溶解度」値との間に、適切な相関があることを明示した。このデータ間の相関は、以下のような直線的な関係で表され得：

$$S_{ex\ p}^{D\ M\ S\ O} = -0.10 (\pm 0.15) + 1.524 (\pm 0.054) * S_{ex\ p} \quad 40$$

$$N = 11; r^2 = 0.9887; s = 0.4244$$

ここで $S_{ex\ p}^{D\ M\ S\ O}$ は、記載した手順によって実験的に測定された化合物溶解度であり； $S_{ex\ p}$ — DMSO 存在下で測定された化合物の溶解度；N は、化合物の数であり；r — 相関係数；s — 推定の標準誤差である。

【0049】

上記の相関は、一般に、DMSO 存在下で実験した化合物の溶解度が、DMSO なしでの同じ化合物の溶解度を上回ることを明示する。しかし、観察される直線的相関は、 $S_{ex\ p}^{D\ M\ S\ O}$ 値から $S_{ex\ p}$ 値への、測定された溶解度値の再計算に用いてもよいし、また調べた一連の化合物の溶解度の順位付けに用いてもよい。

【0050】

この実施例は、所定の水溶液における化合物の溶解度を推定するために、有機溶媒（例えば、DMSO）中に溶解した化合物に対する、本発明に従う手順の使用の可能性を例証する。

【0051】

（実施例6）

（本発明に従う手順による、異なる化合物の溶解度の順位付け）

アロプリノール、ベンドロフルメチアジド、ブタンベン、クロファジミン、ニトロフルザゾン、テオフィリン、ニフェジピン、ペルフェナジン、フェナチン、トリメトプリムおよびカフェインは、Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, USA) から購入し、さらに精製することなしに用いた。5.0 mg/ml の濃度の、メタノール中の各化合物のストック溶液を調製した。0.15 M NaCl を含む一定量 (450 μl) の 0.01 M ユニバーサル緩衝液中 (pH 7.4) を、各化合物のメタノールストック溶液 (9.2 μl) と混合した。この混合物を、室温で24時間振盪した。各溶液中の不溶性の残渣を、0.45 μm のフィルターを通した濾過によって除去し、そしてこの溶液を、5 μl 容量の分析ループを備えた化学発光窒素検出器（モデル8060、Antek Instruments）に、三連で注入した。

10

【0052】

各化合物溶液について測定した窒素含有量を、濃度単位に転換し、そして得られた「メタノール溶解度」実験値を、実施例2に記載した手順を用いて、同じ緩衝液中の同じ化合物について得られた対応するデータに対して、図6にプロットした。図6に示すデータは、1 μg/ml ～ 約20 mg/ml の範囲にわたり、この手順によって得られた「メタノール溶解度」値と、本発明に従う手順によって得られた乾燥化合物を用いて得られた「DMSO溶解度」値との間に、適切な相関があることを明示した。このデータ間の相関は、以下のような直線的な関係で表され得：

20

$$S_{e x p}^{M e t O H} = 0.055 (\pm 0.047) + 1.015 (\pm 0.008) * S_e$$

$$N = 10 ; r^2 = 0.9994 ; s = 0.1335$$

ここで $S_{e x p}^{M e t O H}$ は、記載した手順によって実験的に測定された化合物溶解度であり； S_e は、2%メタノール存在下で測定された化合物の溶解度；Nは、化合物の数であり；r — 相関係数；s — 推定の標準誤差である。

30

【0053】

上記の相関は、一般に、メタノール存在下で実験した化合物の溶解度は、メタノールなしでの同じ化合物の溶解度を上回ることを明示する。しかし、観察される直線的相関は、 $S_{e x p}^{M e t O H}$ 値から S_e 値への、測定された溶解度値の再計算に用いてもよいし、また調べた一連の化合物の溶解度の順位付けに用いてもよい。

【0054】

この実施例は、所定の水溶液における化合物の溶解度を推定するために、有機溶媒（例えば、メタノール）中に溶解した化合物に対する、本発明に従う手順の使用の可能性を例証する。

【0055】

上記の実施例によって例証された結果は、本発明に従う手順が、広範な化合物の溶解性のハイスループットな測定を容易にすることを実証する。

40

【0056】

この出願を通して、種々の刊行物を参照とする。本発明に関連する技術水準をより完全に説明するために、これらの刊行物の開示全体を、本明細書中で参考として本申請に援用する。

【0057】

本発明の範囲または精神から逸脱することなく、本発明において種々の改変および変形がなされ得ることは、当業者に明らかである。本明細書中で開示された発明の明細書および実施を考慮して、本発明の他の実施例が、当業者に明らかである。明細書および実施例は

50

、実施例としてのみ考慮され、発明の真の範囲および精神は、上記の特許請求の範囲によって示されることを意図する。

【図面の簡単な説明】

【0058】

以下は、図面の簡単な説明であり、これは、本明細書の一部を形成し、そして本発明の選択された局面の説明の目的で提供される。図面は、本明細書中に組み込まれ、そして説明と一緒に、本発明の特定の局面の原理を説明する役に立つ。

【図1】図1は、溶液の全窒素含有量によって測定された、溶液中のカフェインの濃度と、調製されたカフェイン溶液についての見かけの濃度値との間の関係を示す。

【図2】図2は、本発明によって得られた溶解度値と文献の溶解度データとの間の関係を示す。 10

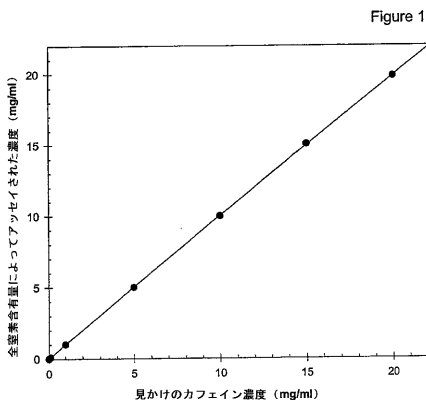
【図3】図3は、本発明による、水中の飽和溶液の全窒素含有量によって測定された場合と、水中の飽和溶液の全炭素含有量によって測定された場合との間の、異なる化合物について得られた溶解度データの関係を表す。

【図4】図4は、本発明による、pH 7.4の緩衝液中の飽和溶液の全窒素含有量によって測定された場合と、pH 7.4の緩衝液中の飽和溶液の全炭素含有量によって測定された場合との間の、異なる化合物について得られた溶解度データの関係を表す。

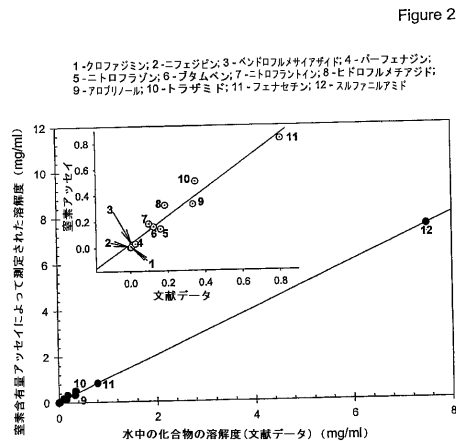
【図5】図5は、本発明による、飽和溶液の全窒素含有量によって測定された場合の、異なる化合物について得られた2% DMSOの存在下での溶解度データと、DMSOを含まない同じ化合物の溶解度との間の関係を示す。 20

【図6】図6は、本発明による、飽和溶液の全窒素含有量によって測定された場合の、異なる化合物について得られた2% メタノールの存在下での溶解度データと、DMSOを含まない同じ化合物の溶解度との間の関係を示す。

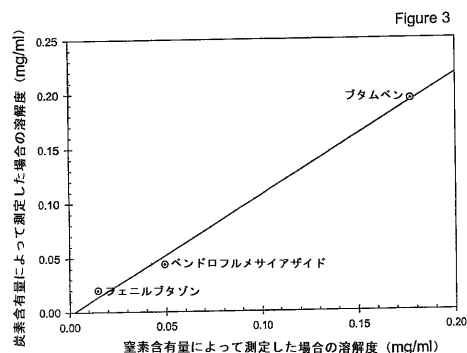
【図1】



【図2】

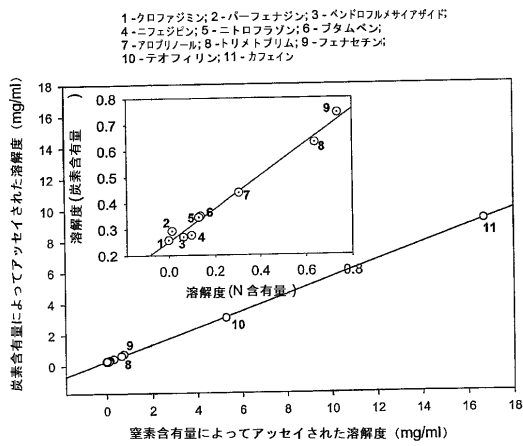


【図3】



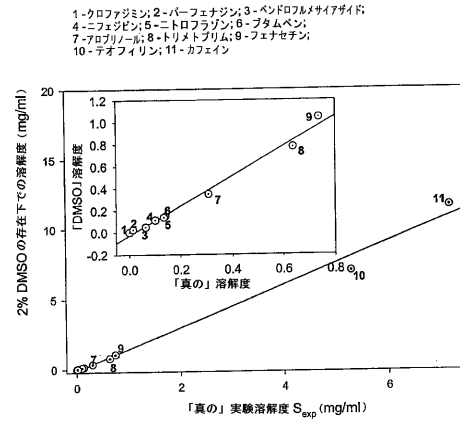
【図 4】

Figure 4



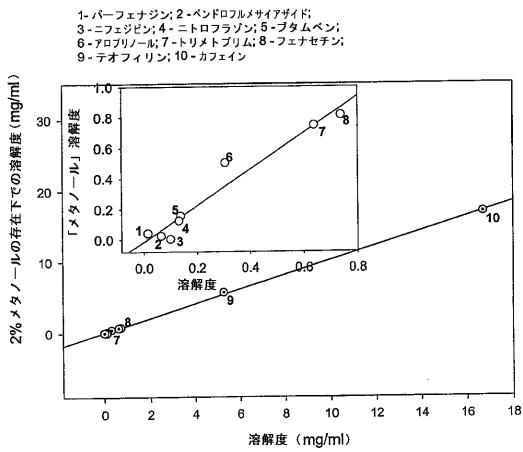
【図 5】

Figure 5



【図 6】

Figure 6



【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
27 February 2003 (27.02.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/016883 A1

- (51) International Patent Classification: G01N 21/76
- (21) International Application Number: PCT/US02/26019
- (22) International Filing Date: 16 August 2002 (16.08.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/313,196 16 August 2001 (16.08.2001) US
- (63) Related by continuation (CON) or continuation-in-part (CIP) to earlier application:
US 60/313,196 (CIP)
Filed on 16 August 2001 (16.08.2001)
- (71) Applicant (for all designated States except US): ANAL-
IZA, INC. [US/US], 408 Glen Park Drive, Bay Village,
OH 44140 (US).
- (72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants (for US only): CHAIT, Arnon
[US/US], 408 Glen Park Drive, Bay Village, OH 44140
(US). ZASLAVSKY, Boris, Y. [US/US], 34200 Conny
View Lane, Solon, OH 44139 (US).
- (74) Agents: DERRICK, Wesley, B. et al.; Needle & Rosen-
berg, P.C., 127 Peachtree Street, N.E., Atlanta, GA 30308-
1811 (US).
- (81) Designated States (national): AT, AG, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).
- Published:
with international search report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 03/016883 A1

(54) Title: A METHOD OF MEASURING SOLUBILITY

(57) Abstract: A method of determining the solubility of a compound in a selected solvent is provided that does not require determination of, or use of, standards having known concentrations of the compound. In one aspect, the method can include preparation of a mixture where not all of a compound is dissolved in the provided solvent, separating undissolved compound from the solvent, and direct determination of the amount of the compound dissolved in the solvent. Methods adapted for use include those where a multiplicity of compounds or solvents are tested in parallel. Devices adapted for these methods are also provided by the present disclosure.

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5

METHOD FOR MEASURING SOLUBILITY

This application claims priority to U.S. Provisional Application Serial No. 60/313,196, filed August 16, 2001, which application is herein incorporated by reference in its entirety.

10

FIELD OF THE INVENTION

In general, the disclosed invention is directed to methods allowing determination or estimates of the miscibility, solubility or other similar properties of compounds in selected or chosen solvents. More particularly, the invention relates in part to methods for facilitating measurements of the solubility of organic, inorganic and organo-metallic compounds, particularly of compounds related to pharmaceutical and agrochemical research and development.

BACKGROUND

In technical fields relating to chemical formulation of compounds, such as, but not limited to the fields of pharmaceutical and agrochemical research and development, it is almost always necessary to evaluate the general suitability of a newly developed drug candidate prior to launching into full development. Such an evaluation of the general suitability or, in the field of pharmaceutical development, drug-ability of such chemical compounds typically includes solubility studies of the compound in various

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 solvents as well as solubility profiles at various pH values.
However, carrying out such studies for a great many compounds can
be problematic and resource-intensive. At the earlier stages of
the drug discovery process, in particular, the solubility
measurements are generally performed for a large variety of
10 compounds. Furthermore, many of these compounds are only available
in limited quantities, either due to difficulties in manufacturing
larger quantities, handling all but the smallest sized samples, or
simply because the cost of producing or handling larger quantities
of the compounds is not feasible.

15 However, simply bypassing the solubility studies is also not
a viable option for product development as selection of an
otherwise suitable candidate compound that does not have a suitable
solubility profile can cause significant problems. Indeed,
insoluble or poorly soluble compounds often prove difficult to
20 develop into drugs. Even with significant motivation, the
development of low-solubility drugs is more time-consuming and
expensive than for a compound with otherwise more suitable
properties.

Traditionally, "equilibrium" solubility has been determined
25 by agitating or shaking the compound with the solvent of choice for
at least 24 hours or until no more of the compound will dissolve,
then filtering, and determining the concentration of dissolved
compound by a suitable analytical assay. These analytical assays
had to be calibrated, a process which includes preparation of at
30 least several solutions of the known varied concentrations of the

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 compound (standard solutions), and establishing a quantitative
relationship between a measurable analytical signal and the
compound concentration. This approach is inappropriate in a modern
drug discovery setting. The throughput, number of unknown samples
that can be determined in a given amount of time or using a given
10 quantity of resources, such as machines, personnel, samples, and
the like, is not high enough to meet the required demand to analyze
a great number of potential lead compounds. For example,
determination of the mass of samples and/or standards presents too
restrictive a checkpoint in the process for maintaining the high
15 throughput desired as the process of weighing hundreds (or
thousands) of solid samples in submilligram quantities.

Therefore, to alleviate the perceived hindrances to high
throughput analysis of compounds, those of skill in the art have
sought to develop improved methods for determining solubility of
20 compounds. One of these methods is based on measuring turbidity of
an aqueous media after adding a fixed amount of solution of a
compound in dimethyl sulfoxide (DMSO) by using laser nephelometry
(Bevan & Lloyd, "A high-throughput screening method for the
determination of aqueous drug solubility using laser nephelometry
25 in microtiter plates," *Anal.Chem.* 72, 1781-1787 (2000)). However,
this method is limited in that it does not allow one to measure
solubility of compounds in pure aqueous media without DMSO.
Another method suggested in the literature is based on measuring
the vapor pressure depression for a solution of the compound at
30 saturation (Parikh et al., "Rapid solubility determination using
vapor-phase osmometry," *J. Biomol. Screen.* 4, 315-318 (1999)).

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 However, this method is limited to use for measuring the solubility
of nonionic compounds with rather good solubility in pure water.
Furthermore, it cannot be used for poorly soluble compounds, and
its use for solutions of ionic compounds in buffer or salt
solutions is considered questionable (Parikh et al., "Rapid
10 solubility determination using vapor-phase osmometry," *J. Biomol.*
Screen. 4, 315-318 (1999)).

Additional methods, such as those available from pIon Inc.,
are based on producing experimental samples by mixing DMSO solution
of a compound of interest with a given aqueous solvent, incubation
15 of the mixture for a fixed period of time, removing the precipitant
formed by filtration, and assaying the compound concentration by
measuring the optical absorbance of the filtrate at the maximum
wavelength specific for the compound. However, differences between
these assays and those to determine the concentration of compounds
20 to use or to determine the optical absorbance values to use in
these additional methods give rise to difficulties. For example, a
concentration assay (similar to those used to determine solubility,
but without incubation and filtration) is performed in a separately
prepared mixture of the same DMSO solution of the compound with the
25 same aqueous solvent but using a higher ratio of DMSO to aqueous
solvent in the mixture. Under suitable conditions, the higher
DMSO/aqueous solvent ratio is such that the compound is not
precipitated out of solution. Correspondingly, the measurement of
absorbance is taken to indicate the absorbance for a given quantity
30 of the compound. This measurement when all the compound is
solubilized, or rather, sets of these measurements are used as

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 reference points to generate a relationship between the measured
absorbance value and the quantity of compound. In determine the
relationship, essentially a standard curve as is known in the art,
the linearity of the optical absorbance vs. concentration over the
used DMSO/aqueous solvent ratio range is assumed. Comparison of
10 the standard curve and the measured value determined from the
experimental sample, following incubation and filtration, is used
to calculate/determine the concentration of the compound in the
experimental sample.

In general, procedures like those available prior have
15 additional disadvantages which limit their practical application
under some circumstances. In particular, the technique as outlined
above requires that it be possible to determine the initial
concentration of a compound under study in DMSO or in a DMSO-
containing solvent. Further, this method is limited to compounds
20 with chromophoric groups, such that they can be detected by
absorbance measurements. Procedures that do not require that the
compounds to be amenable to their initial concentration being
determined in DMSO or a similar solvent or that do not require that
the compounds have easily detectable or commonly used chromophoric
25 groups would be a significant advancement of the technology to test
the solubility of compounds.

The present invention provides new methods for determining
the solubility of compounds of interest in solvents of interest.
In specific embodiments, this includes methods that allow
30 measurement of the solubility of organic, inorganic and organo-

WO 03/016883

PCT/US02/26019

- 5 metallic compounds, particularly of compounds related to pharmaceutical research and development, in aqueous media with or without organic solvent. Further, the provided method is not necessarily limited by the ionization state of the compound or by the presence of inorganic salts and/or buffer salts in the media.
- 10 Further, the provided methods are adaptable for high-throughput automated measurements. These and other objectives of the invention will become apparent in view of the detailed description below.

SUMMARY OF THE INVENTION

- 15 In accordance with the purpose(s) of this invention, as embodied and broadly described herein, this invention, in one aspect, relates to a process of measuring the solubility of a compound in a selected solvent, comprising the steps of: preparing a mixture of a quantity of the
- 20 compound with a volume of the selected solvent; incubating the mixture of compound and solvent, whereby compound can dissolve in the solvent to form a solution of the compound; removing undissolved compound from the mixture, thereby providing a quantity of the solution of the
- 25 compound; determining the amount of a selected constituent of the solution of the compound resulting from removing undissolved compound from the mixture, wherein the determination does not include a comparison of physical properties of one or more solutions containing known
- 30 concentrations of the compound and physical properties of

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 the solution of the compound; and calculating the solubility of the compound in the selected solvent by determining the amount of the compound present in a determined quantity of the solution of the compound.

10 In a second aspect, the present invention relates to a method for determining the solubility of chemical compounds, including organic, inorganic and organo-metallic compounds. The method can include: preparing a mixture of unknown excess amount of compound sample with a fixed volume of a solvent of choice; maintaining a sample
15 of the aforementioned mixture until thermodynamically equilibrated phase separation occurs; withdrawing aliquots of the saturated solution from the thermodynamically equilibrated mixture; analyzing the concentration of the compound in the solution in aliquots withdrawn from the
20 saturated solution by measuring the overall content of a given chemical element in a fixed volume of the solution; and converting the overall content of a given chemical element in the solution into the concentration of the tested compound from the molar content of the chemical
25 element in the compound, and the detector-specific universal quantitative relationship between the element content and quantity of the element-containing compound in a fixed solution volume.

In a third aspect, the present invention relates to a
30 method for determining the solubility of one or more

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 compounds in one or more selected solvents. The method
can include preparing two or more mixtures of compound and
solvent and determining the solubility of each according
to any method according to the first and second aspects of
the invention.

10 In a fourth aspect, the present invention relates to
an apparatus for determining the solubility of a compound
in a selected solvent. The apparatus can include: a
mixing device that combines a quantity of a compound with
a volume of a selected solvent, thereby forming a mixture
15 in a container; an incubating device that maintains the
mixture at determined conditions for, optionally, a
determined period of time; a separating device that
removes undissolved compound from the mixture, thereby
providing a quantity of a solution of the compound; and a
20 detector that detects the amount of a selected constituent
in the solution of the compound. The apparatus can be
adapted to any method according to the first, second or
third aspects of the invention.

In certain embodiments, the present invention is
25 directed to a process of measuring solubility of organic,
inorganic and organo-metallic compounds, particularly of
compounds related to pharmaceutical, cosmetic, and
agrochemical research and development, in aqueous media
without organic solvent not limited by ionization state of
30 the compound or the presence of inorganic salts and/or
buffer salts in the media and adaptable for a high-

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 throughput automated measurements. In certain
embodiments, the method used can be based on dispersing an
unknown-weight quantity of a compound in a solvent of
choice by shaking, sonication, or other means, removing
the non-dissolved compound by filtration, centrifugation,
10 or other means, and measuring total amount of a
constituent present in the dissolved compound molecule.
Constituents detected and measured can include, but are
not limited to, particular moieties, groups, or chemical
elements, such as nitrogen, carbon, or sulfur.

15 **BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS**

The following is a brief description of drawings,
which form a portion of the specification, and are
presented for the purpose of illustrating selected aspects
of the invention. The drawings are incorporated in the
20 specification and together with the description serve to
explain the principles of certain aspects of the
invention.

FIGURE 1 illustrates the relationship between the
concentration of caffeine in solution measured by the
25 total nitrogen content of the solution and the nominal
concentration values for the prepared caffeine solutions.

FIGURE 2 illustrates the relationship between the
solubility values obtained according to the present
invention and the literature solubility data.

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 FIGURE 3 illustrates the relationship between the
solubility data obtained for different compounds according
to the present invention as measured by the total nitrogen
content of the saturated solution in water and as measured
by the total carbon content of the saturated solution in
10 water.

FIGURE 4 illustrates the relationship between the
solubility data obtained for different compounds according
to the present invention as measured by the total nitrogen
content of the saturated solution in buffer at pH 7.4 and
15 as measured by the total carbon content of the saturated
solution in buffer at pH 7.4.

FIGURE 5 illustrates the relationship between the
solubility data in the presence of 2% DMSO obtained for
different compounds according to the present invention as
20 measured by the total nitrogen content of the saturated
solution and the solubility of the same compounds without
DMSO.

FIGURE 6 illustrates the relationship between the
solubility data in the presence of 2% methanol obtained
25 for different compounds according to the present invention
as measured by the total nitrogen content of the saturated
solution and the solubility of the same compounds without
DMSO.

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

Before the present compounds, compositions, articles, devices, and/or methods are disclosed and described, it is to be understood that this invention is not limited to specific methods, specific solutions, or to particular devices, as such may, of course, vary. It is also to be understood that the terminology used herein is for the purpose of describing particular embodiments only and is not intended to be limiting. Throughout the specification and claims, reference will be made to a number of terms which shall be defined to have the following meanings:

As used in the specification and the appended claims, the singular forms "a," "an" and "the" include plural referents unless the context clearly dictates otherwise. Thus, for example, reference to "solvent" includes mixtures of solvents, and the like.

Ranges may be expressed herein as from "about" one particular value, and/or to "about" another particular value. When such a range is expressed, another embodiment includes- from the one particular value and/or to the other particular value. Similarly, when values are expressed as approximations, by use of the antecedent "about," it will be understood that the particular value forms another embodiment. It will be further understood that the endpoints of each of the ranges are significant

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 both in relation to the other endpoint, and independently
of the other endpoint.

“Optional” or “optionally” means that the
subsequently described event or circumstance may or may
not occur, and that the description includes instances
10 where said event or circumstance occurs and instances
where it does not.

In certain contexts, solubility of a compound in a
solvent media is defined as the compound concentration in
the solvent at saturation. In other contexts, solubility
15 of a compound in a selected solvent can be defined as the
compound concentration in solution under specified
conditions wherein the quantity of the compound in contact
with the solution is not a significantly limiting factor
(for instance, where a solid compound is added to a
20 solvent and solid compound remains undissolved after a
specified period of time). In another context, solubility
of a compound can mean determination that under specified
conditions, or that after following a specified procedure,
the compound remains in solution at the specified
25 concentration. If solubility of the compound is used in
this context, the determined solubility of the compound
relates to a limit of the compound's solubility, namely,
that the compound must at least be soluble at the
determined concentration, although it can be possible to
30 have higher concentrations of the compound in solution.
Use of such determinations can provide adequate

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 characterization of a compound's characteristics in regard
to its ability to dissolve in a particular solvent or to
remain in solution with a particular solvent to be used as
guidelines in developing protocols or processes as will be
recognized by those of skill in the art.

10 The measurement of the solubility of a compound
includes a number of steps, including the preparation of a
saturated solution of the compound and measuring the
quantity of the compound present in the solution. In the
use of standard methods; the preparation of a saturated
15 solution requires weighing out a given quantity of dry
compound into a vessel and adding a fixed amount or volume
of a solvent, dispersion of the compound in the solvent,
removing the non-dissolved fraction of the compound, and
measuring the quantity of the dissolved compound in the
20 remaining solution.

As normally practiced, preparation of the saturated
solution (particularly, weighing out the compound and
adding a fixed amount of solvent) and measuring the
quantity of dissolved compound present in solution
25 remaining after removing nondissolved compound require
most of the time and manpower. In part, this is due to
the fact that the dispersion of compound can be performed
in parallel for a multiple set of samples by shaking,
sonication, mixing, and the like and that removing
30 nondissolved compound can be performed in parallel for a

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 multiple set of samples by filtration, centrifugation, and
the like.

When assaying the solubility of even a small number
of compounds, standard methods can often require weighing
of hundreds of solid samples, generally in sub-milligram
10 quantities. Further, the step of measuring the quantity
of dissolved compound in the remaining solution following
removal of nondissolved compound generally requires the
use of an analytical assay that is commonly compound-
specific. Whenever the assay is compound specific,
15 separate assay development for each compound to be studied
can be required. This requirement for extensive assay
development can cause excessive expenditure of resources.

In one aspect, the present invention relates to the
method of measuring the solubility of a compound in a
20 selected solvent that includes the steps of preparing a
saturated solution of the compound, wherein the saturated
solution is prepared by combining a quantity of compound
with a volume of the selected solvent, wherein the volume
of selected solvent is not adequate to fully solubilize
25 the compound and measuring the amount of compound
solubilized in a given quantity of the resulting solution.
The method can include the steps of: combining a quantity
of the compound with a volume of solvent; incubating a
volume of the combined compound and solvent for a period
30 of time, optionally with action to disperse the compound
in the volume; removing undissolved compound from at least

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 a portion of the resulting solution of dissolved compound
in the solvent; and determining the quantity of compound
dissolved in a quantity of solvent.

The compound whose solubility is tested can be in
solid, liquid or gaseous form, or a combination of these
10 forms. For example, a slurry of a compound in another
solvent can be provided to a solvent for which the
solubility of the compound is to be tested.

The amounts of compound provided can vary in
accordance with the necessary requirements imposed by the
15 materials tested. For example, when testing compounds of
very high solubility in a given solvent, the quantity of
material provided relative to the volume of solvent
provided will necessarily be greater than is needed when
compounds of very low solubility in a given solvent are
20 tested. Thus, quantities of compounds used can be greater
than 1, 2, 5, 10, 30, 100, 250, 500 or 1000 pico-, nano-,
micro- or milli-grams or less than 1, 2, 5, 10, 30, 100,
250, 500 or 1000 pico-, nano-, micro- or milli-grams.
Thus, volumes of solvent used can be greater than 1, 2, 5,
25 10, 30, 100, 250, 500 or 1000 nano-, micro- or milli-
liters or less than 1, 2, 5, 10, 30, 100, 250, 500 or 1000
nano-, micro- or milli-liters. As recognized by those of
skill in the art, solvents can be a combination of one or
more compounds (i.e., a solvent can be a solution).

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 The process or step of dissolving / suspending sample
can be one step or it can be more than one step. For
example, the sample can be suspended in a smaller volume
of a solvent and then provided to a larger volume of a
second solvent (for example, as a slurry or as an agitated
10 suspension). Alternatively, the compound can be dissolved
in a first solvent and then provided to a second solvent
in which the compound may not be fully soluble. For
example, a quantity of a compound can be dissolved in a
small volume of organic solvent and then added to a volume
15 of an aqueous solvent whereupon at least a portion of the
compound comes out of solution. For example, if the
organic solvent remains in the solution during the
subsequent measurement, the solubility can be taken to
mean kinetic or apparent solubility which may or may not
20 correspond to "equilibrium" solubility. These
measurements can be used for high throughput comparison of
compound to order or to rank their apparent solubility.
In some embodiments wherein the compound is suspended or
dissolved and then added to a further solvent, the first
25 solvent can be a volatile solvent that can removed from a
solution formed by addition of any further solvent. In
such embodiments, the removal of the first volatile
solvent can cause at least a portion of the compound
suspended or dissolved in the first solvent to come out of
30 solution. Measurement of the amount of compound remaining
in the solvent remaining at the end of incubation can

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 thereby allow measurement of the solubility of the
compound in the remaining solvent.

Dispersion of compound throughout at least a portion
of a volume of solvent can be facilitated by stirring,
shaking, sonication, as well as by other forms of
10 mechanical agitation as are known to those of skill in the
art. Such efforts to effect or increase dispersion can be
continuous throughout the desired incubation or can be
intermittent.

Incubation of mixtures of compound and solvent can be
15 conducted for lengths of time that are appropriate for the
particular compounds and solvents used, as well as other
conditions which impact solubility, such as, but not
limited to temperature and pressure. Incubation can be at
temperatures greater than -25, -15, -10, -5, -2, 0, 2, 5,
20 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 80 or 100°C or less
than -25, -15, -10, -5, -2, 0, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30,
35, 40, 40, 60, 80, or 100°C. Incubation can be at
pressures greater than 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7,
0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.8, 2.0, 3,
25 or 5 atmospheres or at pressures less than 0.1, 0.2, 0.3,
0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4,
1.5, 1.6, 1.8, 2.0, 3, or 5 atmospheres.

Following incubation, removal of undissolved compound
from the volume of solvent and dissolved compound can be
30 removed. Methods that can be used to remove undissolved
17

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 compound include those relying on mechanical entrapment, such as filtration, and those relying on differences in the properties of the dissolved compound/solution and undissolved compound, such as centrifugation or sedimentation.

10 Thus, according to certain aspects of the invention, the procedure of providing a quantity of compound and a volume of solvent for preparing a saturated solution is simplified and does not require the most time- and labor-consuming part, namely, the process of weighing samples.

15 Instead, the procedure used for distributing a quantity of compound need only include transfer of a quantity of the compound that into a vessel that is greater than the amount of compound that can be brought into solution by the provided volume of solvent. Consequently, the amount

20 of the sample need only be defined loosely as exceeding a specified value as can be determined by one of skill in the art. A trial and error process can be used to determine that the amount of compound used is adequate or that the volume of solvent is not too great by determining

25 that a quantity of compound remains undissolved following incubation to dissolve the compound. In certain embodiments, the present invention allows use of small quantities of a sample, such as one of approximately 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, or 1.0 mg, or as one that

30 consists of but a visible quantity of a dry sample on a spatula. The procedure to dispense small quantities of compound can be automated, for example, as dry powder

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 dispensing in a given amount of time under fixed spatula
vibration settings and the like.

Detection of the presence of dissolved compound in a solution is also provided by the present invention. The method of detection utilized can be a method that is easily automated. According to certain aspects of the present invention, the detection procedure can consist of measuring total content of a chemical element present in a portion of solvent containing the compound that is present in the molecule of the compound (such as carbon, nitrogen, sulfur, etc.). For example, detection of the amount of carbon present in an aqueous solution of sugar can be used to determine the concentration of sugar present in a volume of sugar. In specific embodiments, the determination will include measurement of the amount of an element in a fixed volume of a compound solution. The measurement of the selected element can be performed with a universal equimolar chemiluminescent nitrogen detector, equimolar chemiluminescent sulfur detector, or total organic carbon detector. In specific embodiments, the element detected can be an element present in the compound that is not present in the solvent alone. For example, the detection of carbon in the use of the method to determine the amount of sugar present in an aqueous solution of sugar. In other specific embodiments, the element detected can be an element present in both the element and the solvent and the determination of the amount of the element present in a specific volume of

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 solution can be used to determine the quantity of the
compound dissolved in the solution, thereby allowing
determination of the solubility of the compound.
Alternatively, in other embodiments, the measurement of
the amounts of more than one element can be measured,
10 wherein the ratio of the elements indicates the amount of
compound dissolved in the solution.

Alternatively, in other embodiments, the amount of an
element present in the compound and the amount of a second
element present in the solvent can be used to determine
15 the relative amount of compound present in a given aliquot
relative to the amount of solvent. In these embodiments
of the invention, the measurement of the volume of
solution measured need not be measured in any manner
independent of determining the amount of elements present
20 in the measured sample.

Detection, measurement or determining the amount of
selected constituent present in a solution of the compound
can include comparison with values determined from
solutions having a known concentration. Alternatively,
25 the detection, measurement or determining the amount of a
selected constituent of a solution of a compound can
exclude comparison of physical properties of solutions
containing known concentrations of the compound and
physical properties of the solution of the compound,
30 namely, the method can be conducted without the use of
standards composed of known amounts or known

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 concentrations of the compound whose concentration is
being determined.

10 In other embodiments of the invention, an apparatus
which includes; a mixing device that can combine a
quantity of compound with a volume of solvent to form a
mixture in a container; an incubating device that can
maintain the mixture at determined conditions for,
optionally, a determined time; a separating device that
can remove undissolved compound from the mixture to
provide a quantity of the solution of the compound; and a
15 detector that can detect the amount of a selected
constituent in the solution of the compound. Other
particular embodiments of devices adapted to conducting
the methods of the invention are those that are recognized
by those of skill in the art as being capable of
20 conducting the presently disclosed methods. These
particular embodiments of devices include those adapted
for automated handling and treatment of samples according
to the methods of the present invention.

Experimental

25 The following examples are put forth so as to provide
those of ordinary skill in the art with a complete
disclosure and description of how the compounds,
compositions, articles, devices and/or methods claimed
herein are made and evaluated, and are intended to be
30 purely exemplary of the invention and are not intended to

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 limit the scope of what the inventors regard as their
invention.

Efforts have been made to ensure accuracy with
respect to numbers (e.g., amounts, temperature, etc.), but
some errors and deviations should be accounted for.
10 Unless indicated otherwise, parts are parts by weight,
temperature is in °C or is at ambient temperature, and
pressure is at or near atmospheric.

Example 1. Measuring concentration of solutions of
caffeine of varied concentrations by measuring total
15 nitrogen content in a fixed volume of the caffeine
solution.

Caffeine was purchased from Sigma Chemical Company
(St. Louis, MO, USA) and used without further
purification. Solutions of caffeine in water were
20 prepared at the nominal concentrations from 0.9 up to
83.37 mg/ml. Five of these solutions had undissolved
residue and were filtered through 0.45 µ filter. These
solutions were injected in triplicate into
chemiluminescent nitrogen detector (model 8060, Antek
25 Instruments) equipped with an analytical loop of 5 µl
volume. The results obtained are presented in Figure 1.

The concentrations for the examined caffeine
solutions are plotted in Figure 1 versus the nominal
concentration values for the prepared solutions. The data
30 given in Fig. 1 indicate clearly that the absolute

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 concentrations determined by measuring total nitrogen
content in a fixed volume of solution provides the right
values for concentrations of the compound.

Example 2. Measuring solubility of different
compounds by the procedure according to the present
10 invention.

Allopurinol, bendroflumethiazide, butamben,
clofazimine, hydroflumethiazide, nifedipine,
nitroflurantoin, nitroflurazone, perphenazine, phenacetin,
tolazamide, and sulfanilamide were purchased from Sigma
15 Chemical Company (St. Louis, MO, USA) and used without
further purification. About 10 mg quantities of each of
these compounds were mixed with 0.5 ml of water, and
shaken for 24 hrs. at room temperature. Undissolved
residue in each solution was removed by filtration through
20 0.45 μ filter, and the solutions were injected in
triplicate into chemiluminescent nitrogen detector (model
8060, Antek Instruments) equipped with an analytical loop
of 5 μ l volume.

The measured nitrogen content for each compound
25 solution was transformed into concentration units, and the
resulting experimental solubility values are plotted in
Figure 2 versus corresponding literature solubility data
for the compounds examined. The plot presented in Fig. 2
may be described by a linear relationship as:

30

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5
$$S_{exp} = 0.036(\pm 0.018) + 1.005(\pm 0.008) * S_{lit},$$

$$N = 12; r^2 = 0.9993; s = 0.0596,$$

where S_{exp} is the compound solubility measured experimentally by the procedure described; S_{lit} - solubility of the compound reported in the literature; N
10 is the number of compounds; r - correlation coefficient, s - standard error of estimate.

The data given in Fig. 2 indicate clearly that there is a good correlation between the solubility values obtained by the procedure according the present invention
15 and the literature data for different compound with solubility over the range from 1 µg/ml up to ca.10 mg/ml.

The results illustrated by the above examples demonstrate that the procedures according to the present invention facilitate high-throughput measurements of
20 solubility for a wide variety of compounds.

Example 3. Measuring solubility of several different compounds in water by the procedure according to the present invention using two different assay protocols.

25 Butamben, bendroflumethiazide, and phenylbutazone were purchased from Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, USA) and used without further purification. About 20 mg quantities of each of these compounds were mixed with 10.0 ml of water, and shaken for 24 hrs. at room temperature.

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 Undissolved residue in each solution was removed by
filtration through 0.45 μ filter. The filtered solutions
were separated into two parts. One part of each solution
was injected in triplicate into chemiluminescent nitrogen
detector (model 8060, Antek Instruments) equipped with an
10 analytical loop of 5 μ l volume. The other part of each
filtered solution was assayed with total organic carbon
analyzer (model TOC-5000, Shimadzu Scientific Instruments,
Columbia, MD, USA). Results obtained by analysis of both
nitrogen content and carbon content of the saturated
15 solutions are presented in Figure 3. The results
presented in Fig.3 indicate that there is a good
correlation between the data obtained by the two assays.

The results of this example illustrate that the
assaying of an element content in the saturated solutions
20 of compounds allows one to measure the compound
concentrations, i.e. solubility of compounds, independent
of the particular element content measured.

Example 4. Measuring solubility of several different
compounds in buffer by the procedure according to the
25 present invention using two different assay protocols.

Allopurinol, bendroflumethiazide, butamben,
clofazimine, nitroflurazone, theophylline, nifedipine,
perphenazine, phenacetin, trimethoprim, and caffeine were
purchased from Sigma Chemical Company St. Louis, MO, USA)
30 and used without further purification. About 20 mg

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 quantities of each of these compounds were mixed with 10.0
ml of 0.15M NaCl in 0.01M universal buffer, pH 7.4
composed of appropriate quantities of acetic acid,
phosphoric acid, boric acid, and NaOH, and shaken for 24
hrs. at room temperature. Undissolved residue in each
10 solution was removed by filtration through 0.45 μ filter.
Parts of the filtered solutions were injected in
triplicate into chemiluminescent nitrogen detector (model
8060, Antek Instruments) equipped with an analytical loop
of 5 μ l volume. The other part of each filtered solution
15 was assayed with total organic carbon analyzer (model TOC-
5000, Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, USA).
Results obtained by analysis of both nitrogen content and
carbon content of the saturated solutions are presented in
Figure 4. The results presented in Fig.4 indicate that
20 there is a good linear correlation between the data
obtained by the two assays.

The results of this example illustrate that the
assaying of an element content in the saturated solutions
of compounds allows one to measure the compound
25 concentrations, i.e. solubility of compounds, independent
of the particular element content measured.

Example 5. Measuring solubility of different compounds
dissolved in DMSO by the procedure according to the
present invention.

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 Allopurinol, bendroflumethiazide, butamben,
clofazimine, nitroflurazone, theophylline, nifedipine,
perphenazine, phenacetin, sulfanilamide, and trimethoprim
were purchased from Sigma Chemical Company (St. Louis, MO,
USA) and used without further purification. Stock
10 solutions of each compound in DMSO with the concentration
of 5.0 mg/ml were prepared. The fixed volume of 450 μ l of
0.01M universal buffer containing 0.15M NaCl, pH 7.4 was
mixed with 9.2 μ l of stock DMSO solution of each compound.
The mixtures were shaken for 24 hrs. at room temperature.
15 Undissolved residue in each solution was removed by
filtration through 0.45 μ filter, and the solutions were
injected in triplicate into chemiluminescent nitrogen
detector (model 8060, Antek Instruments) equipped with an
analytical loop of 5 μ l volume.

20 The measured nitrogen content for each compound
solution was transformed into concentration units, and the
resulting experimental "DMSO solubility" values are
plotted in Figure 5 versus corresponding data obtained for
the same compounds in the same buffer using the procedure
25 described in Example 2. The data given in Fig. 5 indicate
clearly that there is a good correlation between the "DMSO
solubility" values obtained by the procedure and those
obtained with dry compounds obtained by the procedure
according to the present invention over the range from 1
30 μ g/ml up to ca.10 mg/ml. The correlation between the data
may be described by a linear relationship as:

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5
$$S_{\text{exp}}^{\text{DMSO}} = -0.10 (\pm 0.15) + 1.524 (\pm 0.054) * S_{\text{exp}}$$

$$N = 11; r^2 = 0.9887; s = 0.4244,$$

where S_{exp} is the compound solubility measured experimentally by the procedure described; $S_{\text{exp}}^{\text{DMSO}}$ - solubility of the compound measured in the presence of DMSO; N is the number of compounds; r - correlation coefficient, s - standard error of estimate.

10

The above correlation indicates clearly that the solubility of compounds examined in the presence of DMSO generally exceeds that of the same compounds without DMSO.

15 However, the linear relationship observed can be used to re-calculate the measured solubility values from $S_{\text{exp}}^{\text{DMSO}}$ into S_{exp} values, or used for ranking the solubility of a studied series of compounds.

This example illustrates the possibility to use the procedures according to the present invention for compounds dissolved in an organic solvent, such as DMSO, for estimating the compound solubility in a given aqueous solution.

20

Example 6. Ranking solubility of different compounds by the procedure according to the present invention.

25

Allopurinol, bendroflumethiazide, butamben, clofazimine, nitroflurazone, theophylline, nifedipine, perphenazine, phenacetin, trimethoprim, and caffeine were purchased from Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, USA)

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 and used without further purification. Stock solutions of
 each compound in methanol with the concentration of 5.0
 mg/ml were prepared. The fixed volume of 450 μ l of 0.01M
 universal buffer containing 0.15M NaCl, pH 7.4 was mixed
 with 9.2 μ l of stock methanol solution of each compound.
 10 The mixtures were shaken for 24 hrs. at room temperature.
 Undissolved residue in each solution was removed by
 filtration through 0.45 μ filter, and the solutions were
 injected in triplicate into chemiluminescent nitrogen
 detector (model 8060, Antek Instruments) equipped with an
 15 analytical loop of 5 μ l volume.

The measured nitrogen content for each compound
 solution was transformed into concentration units, and the
 resulting experimental "methanol solubility" values are
 plotted in Figure 6 versus corresponding data obtained for
 20 the same compounds in the same buffer using the procedure
 described in Example 2. The data given in Fig. 6 indicate
 clearly that there is a good correlation between the
 "methanol solubility" values obtained by the procedure and
 those obtained with dry compounds obtained by the
 25 procedure according to the present invention over the
 range from 1 μ g/ml up to ca.20 mg/ml. The correlation
 between the data may be described by a linear relationship
 as:

$$S_{\text{exp}}^{\text{MeOH}} = 0.055(\pm 0.047) + 1.015(\pm 0.008) * S_{\text{exp}}$$

30 $N = 10; r^2 = 0.9994; s = 0.1335,$
 29

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 where S_{exp} is the compound solubility measured
experimentally by the procedure described; $S_{\text{exp}}^{\text{MeOH}}$ -
solubility of the compound measured in the presence of 2%
methanol; N is the number of compounds; r - correlation
coefficient, s - standard error of estimate.

10 The above correlation indicates clearly that the
solubility of compounds examined in the presence of
methanol generally exceeds that of the same compounds
without methanol. However, the linear relationship
observed can be used to re-calculate the measured
15 solubility values from $S_{\text{exp}}^{\text{MeOH}}$ into S_{exp} values, or can be
used for ranking the solubility of a studied series of
compounds.

This example illustrates the possibility to use the
procedures according to the present invention for
20 compounds dissolved in an organic solvent, such as
methanol, for estimating the compound solubility in a
given aqueous solution.

The results illustrated by the above examples
demonstrate that the procedures according to the present
25 invention facilitate high-throughput measurements of
solubility for a wide variety of compounds.

Throughout this application, various publications are
referenced. The disclosures of these publications in
their entireties are hereby incorporated by reference into

WO 03/016883

PCT/US02/26019

5 this application in order to more fully describe the state
of the art to which this invention pertains.

It will be apparent to those skilled in the art that
various modifications and variations can be made in the
present invention without departing from the scope or
10 spirit of the invention. Other embodiments of the
invention will be apparent to those skilled in the art
from consideration of the specification and practice of
the invention disclosed herein. It is intended that the
specification and examples be considered as exemplary
15 only, with a true scope and spirit of the invention being
indicated by the following claims.

WO 03/016883

PCT/US02/26019

Claims:

1. A method for determining the solubility of a compound in a selected solvent, comprising the steps of:
 - a) preparing a mixture of a quantity of the compound with a volume of the selected solvent;
 - b) incubating the mixture of compound and solvent, whereby compound can dissolve in the solvent to form a solution of the compound;
 - c) removing undissolved compound from the mixture, thereby providing a quantity of the solution of the compound;
 - d) determining the amount of a selected constituent of the solution of the compound resulting from (c), wherein the determination does not include a comparison of physical properties of one or more solutions containing known concentrations of the compound and physical properties of the solution of the compound; and
 - e) calculating the solubility of the compound in the selected solvent by determining the amount of the compound present in a determined quantity of the solution of the compound.
2. The method of claim 1, wherein the quantity of the compound present in (a) is in excess of the amount of the compound that can be dissolved in the selected solvent.

3. The method of claim 1, wherein the amount of the selected solvent present in (a) is insufficient to dissolve the amount of the compound.
4. The method of claim 1, wherein the step of incubating the mixture of the compound and the solvent is continued until the amount of compound dissolved in the solvent approaches a value equal to a specified percentage of the equilibrium solubility value.
5. The method of claim 4, wherein the specified percentage of the equilibrium solubility value is selected from the group of values consisting of 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98%, and 99%.
6. The method of claim 1, wherein the step of incubating the mixture of the compound and the solvent is continued until thermodynamically equilibrated phase separation occurs, wherein a phase includes compound dissolved in solvent and at least one other phase.
7. The method of claim 6, wherein the amount of the compound present in the phase including compound dissolved in the solvent equals an amount equal to a specified percentage of the equilibrium solubility value.
8. The method of claim 7, wherein the specified percentage of the equilibrium solubility value is selected from the group of values consisting of 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%,

40%, 45%, 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98%, and 99%.

9. The method of claim 1, wherein determining the amount of a selected constituent of the solution of the compound resulting from(c) consists of determining the amount of a specified element present in the compound.
10. The method of claim 9, wherein determining the amount of the specified element present in the compound is accomplished by use of a detector selected from the group consisting of a universal equimolar chemiluminescent nitrogen detector, equimolar chemiluminescent sulfur detector, and a total organic carbon detector.
11. The method of claim 1, wherein the method comprises measuring the overall content of a given chemical element present in the compound dissolved in a selected volume of the solution.
12. The method of claim 11, wherein the method comprises measuring the overall content of a given chemical element present in the compound and in the solvent in a selected volume of the solution.
13. The method of claim 11, wherein the method comprises measuring the overall content of more than one given chemical element present in the solution of the compound.
14. The method of claim 13, wherein at least one chemical element is present in the compound dissolved in the

WO 03/016883

PCT/US02/26019

solution of the compound and at least one chemical element is present in the selected solvent.

15. The method of claim 1, wherein the amount of at least one chemical element is determined in a specified volume of solution and wherein the volume is analytically determined.
16. The method of claim 15, wherein the volume is analytically determined using volumetric measurements.
17. The method of claim 15, wherein the volume is determined by determination of the amount of an element present in the solution.
18. The method of claim 1, wherein determining the solubility of the compound in the selected solvent comprises converting the overall content of a selected chemical element in solution into the concentration of the selected compound from the molar content of the element in the compound.
19. The method of claim 18, wherein determining the solubility of the compound in the selected solvent comprises use of a detector-specific universal quantitative relationship between the chemical element content and quantity of the element-containing compound in a determined volume of solution of the compound.
20. The method of claim 19, wherein the determined volume of solution of the compound is determined by volumetric measurement.

WO 03/016883

PCT/US02/26019

21. The method of claim 19, wherein the determined volume of solution of the compound is determined by determining the quantity of a specified component of the solution.
22. The method of claim 21, wherein the specified component of the solution is an element present in the solvent.
23. The method of claim 21, wherein the specified component of the solution is a component present in both the solvent and the compound.
24. The method of claim 1, wherein the selected solvent is an aqueous solvent.
25. The method of claim 1, wherein the selected solvent is a nonaqueous solvent.
26. The method of claim 25, wherein the selected solvent is a mixture of a nonaqueous and an aqueous solvent.
27. The method of claim 26, wherein the selected solvent comprises a percentage of DMSO.
28. The method of claim 27, wherein the percentage of DMSO is selected from the group consisting of 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0, 2.4, 2.8, 3.2, 3.6, 4.0, 4.5, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90 or 100%.
29. The method of claim 1, wherein the compound contains a known quantity of a specified element per unit of mass.

WO 03/016883

PCT/US02/26019

30. The method of claim 29, wherein the specified element is selected from the group consisting of sulfur, carbon, nitrogen, hydrogen, phosphorus and oxygen.
31. The method of claim 1, wherein a) includes contacting the quantity of the compound with a volume of a first solvent to form a first mixture and contacting a quantity of the first mixture with a volume of a further solvent.
32. The method of claim 31, wherein the first solvent comprises an organic solvent.
33. The method of claim 32, wherein the organic solvent is DMSO.
34. The method of claim 31, wherein the compound is dissolved in the first mixture.
35. The method of claim 34, wherein the compound dissolved in the first mixture comes out of solution when contacted with further solvent.
36. The method of claim 31, wherein at least a portion of the first solvent is removed.
37. The method of claim 36, wherein the first solvent is removed by evaporation or by application of vacuum.
38. A method for determining the solubility of chemical compounds, including organic, inorganic and organo-metallic compounds, comprising the steps of:

- a) preparing a mixture of unknown excess amount of compound sample with a fixed volume of a solvent of choice;
 - b) maintaining a sample of the aforementioned mixture until thermodynamically equilibrated phase separation occurs;
 - c) withdrawing aliquots of the saturated solution from the thermodynamically equilibrated mixture;
 - d) analyzing the concentration of the compound in the solution resulting from step (c) by measuring the overall content of a given chemical element in a fixed volume of the solution; and
 - e) converting the overall content of a given chemical element in the solution into the concentration of the tested compound from the molar content of the chemical element in the compound, and the detector-specific universal quantitative relationship between the element content and quantity of the element-containing compound in a fixed solution volume.
39. The method of claim 38, wherein the solvent for the preparation of mixture is of aqueous or organic nature and a known quantity of the compound contains a known amount of nitrogen or sulfur.

40. The method of claim 38, wherein the selected solvent comprises salt and/or buffer salt additives.
41. The method of claim 40, wherein the pH of the selected solvent has a pH within one-half a pH unit of a pH value selected from the group consisting of 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0, 12.0, 13.0, and 14.0.
42. The method of claim 1, wherein the compound is a dry compound.
43. The method of claim 42, wherein the total weight of the dry compound does not exceed 1 gram.
44. The method of claim 42, wherein the fixed volume of the solvent of choice does not exceed 5.0 mL in the mixture.
45. The method of Claim 38, wherein the maintaining a sample of the aforementioned mixture until thermodynamically equilibrated phase separation occurs is performed under shaking, mixing, vortexing, ultrasound treatment, temperature treatment, or any other external treatment for facilitating the process.
46. The method of Claim 38, wherein the removing the undissolved residue from the thermodynamically equilibrated mixture is performed by centrifugation, filtration, or other procedure.
47. The method of Claim 38, wherein the overall content of a given chemical element, such as carbon, sulfur, or

WO 03/016883

PCT/US02/26019

nitrogen, is measured in a fixed volume of a compound solution.

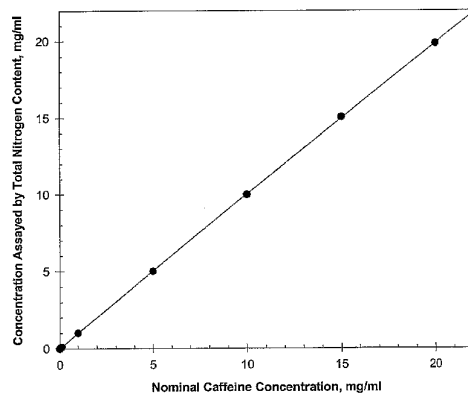
48. The method of Claim 47, wherein the overall content of a given chemical element in a fixed volume of a compound solution is transformed into concentration of the compound.
49. A method for determining the solubility of one or more compounds in one or more selected solvents, comprising preparing two or more mixtures of compound and solvent and determining the solubility of each according to any of claims 1-48.
50. The method of claim 49, wherein the two or more mixtures are contained in a multi-well container.
51. The method of 50, wherein the multi-well container is a microtiter plate.
52. The method of claim 51, wherein the multi-well container has at least 4 wells.
53. The method of claim 52, wherein the multi-well container has at least 8 wells.
54. The method of claim 53, wherein the multi-well container has at least 16 wells.
55. The method of claim 54, wherein the multi-well container has at least 32 wells.

WO 03/016883

PCT/US02/26019

56. The method of claim 55, wherein the multi-well container has at least 48 wells.
57. The method of claim 56, wherein the multi-well container has at least 64 wells.
58. The method of claim 57, wherein the multi-well container has at least 80 wells.
59. The method of claim 58, wherein the multi-well container has at least 96 wells.
60. An apparatus for determining the solubility of a compound in a selected solvent, comprising:
- a) a mixing device that combines a quantity of a compound with a volume of a selected solvent, thereby forming a mixture in a container;
 - b) an incubating device that maintains the mixture at determined conditions for, optionally, a determined period of time;
 - c) a separating device that removes undissolved compound from the mixture, thereby providing a quantity of a solution of the compound; and
 - d) a detector that detects the amount of a selected constituent in the solution of the compound.

Figure 1



WO 03/016883

2/6

PCT/US02/26019

Figure 2

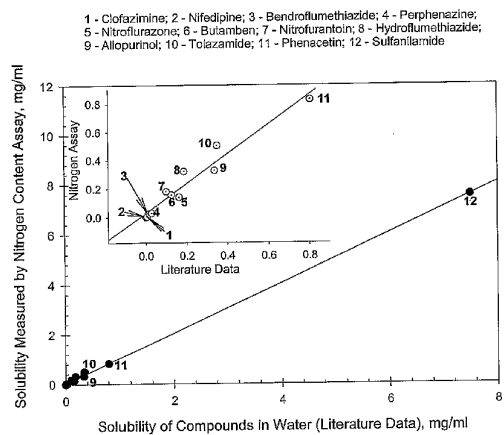


Figure 3

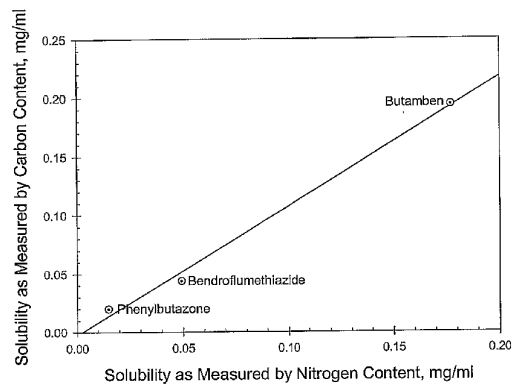


Figure 4

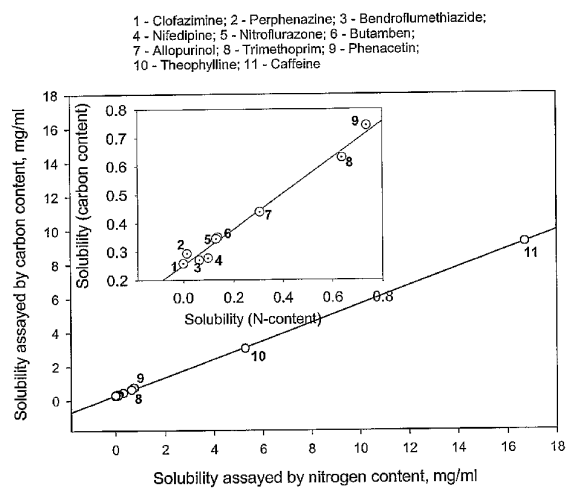


Figure 5

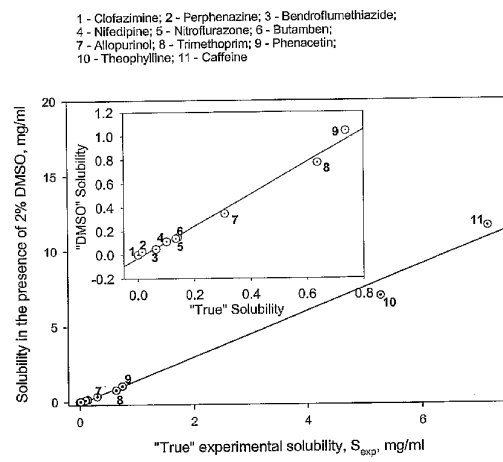
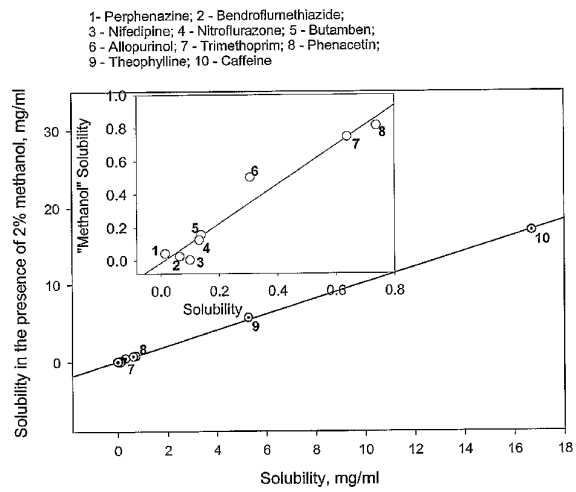


Figure 6



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/26019
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : G01N 21/76 US CL : 436/106, 114, 119, 123, 146, 172; 422/52, 78 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 436/106, 114, 119, 123, 146, 172; 422/52, 78 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Chemical Abstract No. 105-60254, CAS Online, Columbus, Ohio, TAKEANO et al., Solubility measurement of liquid organic compounds in water, Nippon Kagaku Kaishi, 1985, Vol. 11, pages 2116-2119. See entire abstract.	1-24, 29-30, 38, 45-49, 60
X	BEVAN et al. A high-throughput screening method for the determination of aqueous drug solubility using laser nephelometry in microtiter plates. Analytical Chemistry, April 15, 2000, Vol. 72, No. 8, pages 1781-1787, especially page 1781, column 2, and page 1787, column 2.	1-3, 24-28, 31-37, 42-44, 49-60
A	US 5,008,204 A (STEHLLING) 16 April 1991 (16.04.1991), see column 2, lines 37-68 and column 3, lines 19-21.	1-60
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"I"
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"X"
"L"	document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 18 September 2002 (18.09.2002)		Date of mailing of the international search report 03 OCT 2002
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer Jan M. Ludlow Telephone No. (703) 308-0661

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/26019

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:

EAST, CAS Online. search terms: measur? or detect? or determin? or test?; solubilit?; tce or "total organic carbon"; chemilumines?; nitrogen or sulfur or sulphur

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW, ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES, FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,N O,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ザスラフスキー, ボリス ワイ.

アメリカ合衆国 オハイオ 44139, ソロン, カントリー ビュー レイン 34200
Fターム(参考) 2G054 AB10 BB02 BB10 EA01 JA01