(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2008 年2 月21 日 (21.02.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/020584 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 31/496 (2006.01) *A61K 47/26* (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01) *A61K 47/34* (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01) *A61K 47/40* (2006.01)
A61K 47/12 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 47/18 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/065830

(22) 国際出願日: 2007 年8 月13 日 (13.08.2007)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2006-221314 2006 年8 月14 日 (14.08.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): エーザイ・アール・アンド・ディー・マネジメント株式会社 (Eisai R & D Management Co., Ltd.) [JP/JP]; 〒1128088 東京都文京区小石川四丁目６番１０号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 小内 克己 (ONAI, Katsumi) [JP/JP]; 〒5016195 岐阜県各務原市川島竹早町１番地 エーザイ株式会社 川島工園内 Gifu (JP). 横山 誠 (YOKOYAMA, Makoto) [JP/JP]; 〒5016195 岐阜県各務原市川島竹早町１番地 エーザイ株式会社 川島工園内 Gifu (JP).

(74) 代理人: 稲葉 良幸, 外(INABA, Yoshiyuki et al.); 〒1066123 東京都港区六本木６－１０－１ 六本木ヒルズ森タワー２３階 ＴＭＩ 総合法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

(54) **Title:** STABLE LYOPHILIZED PREPARATION

(54) 発明の名称: 安定な凍結乾燥製剤

(57) **Abstract:** Disclosed is a lyophilized preparation comprising (8E,12E,14E)-7-((4-cycloheptylpiperazin-1-yl)carbonyl)oxy-3,6,16,21-tetrahydroxy-6,10,12,16,20-pentamethyl-18,19- epoxytricosa-8,12,14-trien-11-olide, which has excellent long-term stability and excellent solubility upon dissolved in water. Specifically disclosed is a lyophilized preparation comprising 1) (8E,12E,14E)-7-((4-cycloheptylpiperazin-1- yl)carbonyl)oxy-3,6,16,21-tetrahydroxy-6,10,12,16,20- pentamethyl-18,19-epoxytricosa-8,12,14-trien-11-olide or a pharmacologically acceptable salt thereof, 2) a pH-adjusting agent for adjusting the pH value of the preparation to 5 to 8, and 3) at least one excipient selected from a sugar and a sugar alcohol.

(57) 要約: 本発明は、（８Ｅ，１２Ｅ，１４Ｅ）－７－（（４－シクロヘプチルピペラジン－１－イル）カルボニル）オキシ－３，６，１６，２１－テトラヒドロキシ－６，１０，１２，１６，２０－ペンタメチル－１８，１９－エポキシトリコサ－８，１２，１４－トリエン－１１－オリドを含む、経時的な安定性と復水調整時の溶解性に優れた凍結乾燥製剤を提供する。本発明は、１）（８Ｅ，１２Ｅ，１４Ｅ）－７－（（４－シクロヘプチルピペラジン－１－イル）カルボニル）オキシ－３，６，１６，２１－テトラヒドロキシ－６，１０，１２，１６，２０－ペンタメチル－１８，１９－エポキシトリコサ－８，１２，１４－トリエン－１１－オリド又はその薬理学的に許容され得る塩、２）製剤中のpHを５～８に調整するpH調整剤、及び３）糖類及び糖アルコールから選択される１種以上の賦形剤を含有する凍結乾燥製剤を開示する。

WO 2008/020584 A1

明 細 書

安定な凍結乾燥製剤

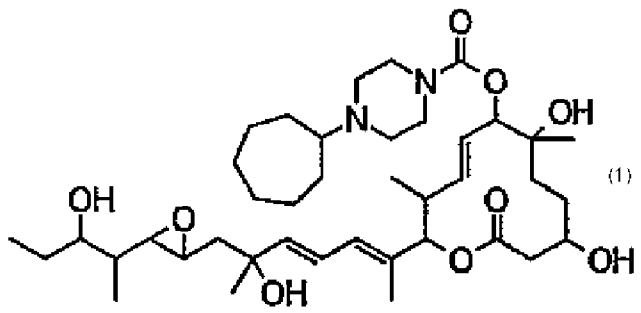
技術分野

[0001] 本発明は、抗腫瘍作用を有する12員環マクロライド系化合物を含有する安定な凍結乾燥製剤に関する。

背景技術

[0002] (8E, 12E, 14E)－7－((4－シクロヘプチルピペラジン－1－イル)カルボニル)オキシ－3, 6, 16, 21－テトラヒドロキシ－6, 10, 12, 16, 20－ペンタメチル－18, 19－エポキシトリコサ－8, 12, 14－トリエン－11－オリドである、式(1)で表される12員環マクロライド系化合物は、

[0003] [化1]



[0004] 微生物発酵により見出された化合物を化学修飾して得られた化合物である(例えば、特許文献1参照)。この化合物は、in vitroにおいて、低酸素状態でのVEGF (Vascular Endothelial Growth Factor:血管内皮細胞増殖因子)産生の抑制を介して、癌による血管新生を抑制し、in vivoにおいて、固形腫瘍細胞の増殖を抑制する作用を有していることが知られている。

[0005] 上記式(1)で示される化合物を有効成分として、実際の医薬品として開発するには、各種の剤形として製剤化する必要がある。製剤化では、有効成分の性質に応じて、固体や液体などとして製剤化される。

特許文献1:国際公開公報 WO03／099813号

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明において、式(1)で示される化合物の製剤化を検討したところ、注射用製剤の製剤化においては、有効成分である式(1)で示される化合物が、溶液中での安定性が十分でなく、水性注射剤としての開発は難易度が高いということが判明した。一方で、式(1)で示される化合物は、結晶質の粉末状態では良好な安定性を有しているため、粉末充填製剤としての製剤化を検討したが、式(1)で示される化合物の結晶の溶解速度が遅いため、用時溶解して調剤するには長時間を要する等の問題点があることも判明した。

[0007] 上記事情に鑑み、本発明の目的は、経時的な安定性に優れ、且つ復水時の溶解性に優れた、式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩を含む凍結乾燥製剤を提供することである。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者は、上記の点を解決すべく鋭意研究した結果、式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩を、特定のpH調整剤と特定の賦形剤と共に凍結乾燥することにより、経時的な安定性に優れ、且つ復水時の溶解性に優れた凍結乾燥製剤が得られることを見出した。特に、凍結乾燥製剤において、非晶質粉体として存在する賦形剤を用いた場合、凍結乾燥製剤として安定化効果が大きい凍結乾燥製剤が得られることを見出した。また、pH調整剤として、特にクエン酸およびその塩を用いた場合、凍結乾燥製剤としての安定化効果が大きいことを見出した。さらにグリシン、シクロデキストリン類、ポリエチレングリコールを、前記製剤の安定化剤として加えると、より一層安定性が向上することを見出した。加えて、抗酸化剤の配合や容器としてのバイアル瓶のヘッドスペースの窒素置換が安定化に寄与することを見出し、本発明を完成するに至った。

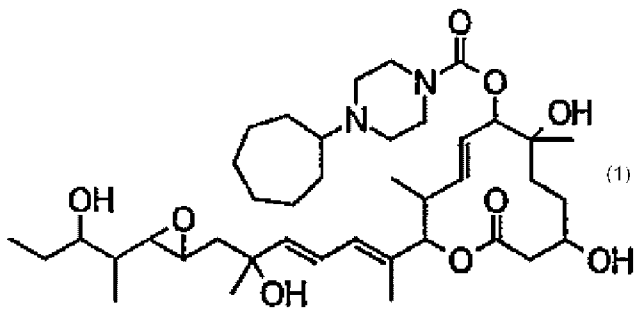
[0009] 即ち、以下に示す構成により、本発明の初期の目的を達成できることを見出し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明の第1の態様によれば、

1) 下記式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩と、

2) 製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤と、

3）糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤と、

[0010] [化2]



(1)

[0011] を含有する凍結乾燥製剤を提供する。ただし、pH調整剤がリン酸もしくはその塩である場合は、賦形剤がマンニトールである場合を除く。

[0012] また、本発明の第2の態様によれば、

容器と、前述の本発明に係る凍結乾燥製剤と、を含む物品であって、前記凍結乾燥製剤が充填された前記容器のヘッドスペースが、窒素置換されている物品を提供する。

[0013] なお、本発明で用いる用語「物品」とは、本発明に係る凍結乾燥製剤を含む容器をいい、容器の具体例としては、凍結乾燥製剤が充填されるバイアル瓶などを挙げることができる。また、本発明では、pH調整剤を水又は水性溶媒（たとえば、水とアルコールの混合物）に溶解させたものをpH調整液と呼ぶ場合がある。

発明の効果

[0014] 本発明によれば、(8E, 12E, 14E)－7－((4－シクロヘプチルピペラジン－1－イル)カルボニル)オキシ－3, 6, 16, 21－テトラヒドロキシ－6, 10, 12, 16, 20－ペンタメチル－18, 19－エポキシトリコサ－8, 12, 14－トリエン－11－オリドを含む、経時的な安定性と復水時の溶解性に優れた凍結乾燥製剤が提供される。

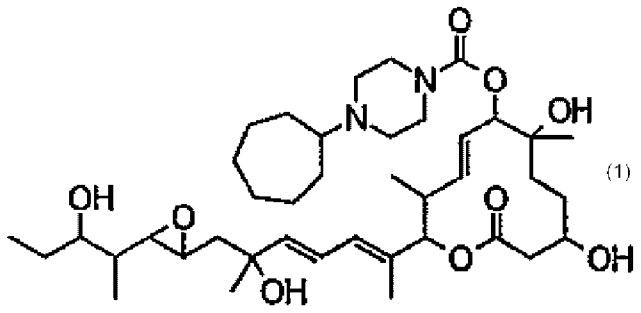
発明を実施するための最良の形態

[0015] 以下の実施形態は、本発明を説明するための例示であり、本発明をこの実施形態にのみ限定する趣旨ではない。本発明は、その要旨を逸脱しない限り、さまざまな形態で実施することができる。

[0016] （式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩）

本発明で用いる式（1）で示される化合物（（8E，12E，14E）－7－（（4－シクロヘプチルピペラジン－1－イル）カルボニル）オキシ－3，6，16，21－テトラヒドロキシ－6，10，12，16，20－ペンタメチル－18，19－エポキシトリコサ－8，12，14－トリエン－11－オリド）は、国際公開公報　WO03／099813号に記載された方法により合成することができ、そのまま使用してもよいし、その薬理学的に許容され得る塩として使用してもよい。

[0017] [化3]



[0018] 本発明で用いる用語「薬理学的に許容され得る塩」とは、特に限定されないが、通常、酸との塩、例えば、塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、臭化水素酸塩、トルエンスルホン酸塩等が挙げられる。

[0019] 本発明に係る凍結乾燥製剤（以下、単に「本凍結乾燥製剤」という。）は、式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩を活性成分として含有するものであり、式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩の1バイアル中の含有量は、通常は0．1～100mg、好ましくは0．2～75mgであり、より好ましくは0．4～50mgであり、さらに好ましくは0．5～30mgである。

[0020] （製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤）

本凍結乾燥製剤中のpHを調整するpH調整剤は、凍結乾燥に供する水溶液のpHを5～8に調整するものであり、好ましくはpH5．4～7．6、より好ましくは5．8～7．2である。製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤は、医薬製剤において一般的に使

用されているものであれば、特に限定されないが、例えば、クエン酸もしくはその塩(クエン酸ナトリウム等)、酒石酸もしくはその塩(酒石酸ナトリウム等)、リン酸もしくはその塩(リン酸2水素ナトリウム、リン酸1水素ナトリウム等)、炭酸もしくはその塩(炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム等)、乳酸もしくはその塩(乳酸ナトリウム等)、酢酸もしくはその塩(酢酸ナトリウム等)、メグルミン、水酸化ナトリウム等を挙げることができる。好ましくは、クエン酸もしくはその塩(クエン酸ナトリウム等)、酒石酸もしくはその塩(酒石酸ナトリウム等)、リン酸もしくはその塩(リン酸2水素ナトリウム、リン酸1水素ナトリウム等)であり、より好ましくは、クエン酸もしくはその塩(クエン酸ナトリウム等)であり、いずれも水酸化ナトリウムや塩酸等の水溶液を用いて、製剤中のpHを5～8に調整してもよい。なお、前述にように、pH調整剤における塩は、ナトリウム塩を例示したが、本発明で用いるpH調整剤はこれに限定されるものではなく、カリウム塩等をも含む。

[0021] pH調整剤の配合量は、特に限定されないが、通常、式(1)で示される化合物1重量部に対して、0．1～300重量部であり、好ましくは0．2～200重量部であり、より好ましくは0．3～100重量部であり、さらに好ましくは0．3～50重量部である。

[0022] (糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤)

本凍結乾燥製剤に用いられる賦形剤は、糖類及び糖アルコール類から選択される少なくとも1種類以上の賦形剤である。糖類としては、特に限定されないが、例えば、単糖類としては、グルコース、フルクトース等を、二糖類としては、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース等を挙げることができる。糖アルコールとしては、例えば、マンニトール、エリスリトール、イノシトール、ソルビトール等を挙げることができる。

[0023] 糖類及び糖アルコールのうち、とりわけ、凍結乾燥製剤において非晶質粉体として存在する賦形剤が、式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩の経時的な安定化効果が大きいため望ましい。具体的には、単糖類としては、グルコース、フルクトース等を、二糖類としては、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース等を、糖アルコールとしては、イノシトール、ソルビトール等を挙げることができ、好ましくはスクロースである。

[0024] 本凍結乾燥製剤において、賦形剤が糖類及び糖アルコールから選択される2種以上の賦形剤を含有する場合には、賦形剤の総重量に対して、凍結乾燥製剤におい

て非晶質粉体として存在する賦形剤を、少なくとも40重量%以上、好ましくは50重量%以上、より好ましくは60%以上を含有させることが望ましい。

[0025] また、本凍結乾燥製剤中の糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤の量は、式(1)で示される化合物1重量部に対して、2～1500重量部であり、好ましくは4～1000重量部であり、より好ましくは6～500重量部、さらに好ましくは10～300重量部である。

[0026] 本凍結乾燥製剤は、1)式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩、2)製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤、及び3)糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤の他に、さらに、シクロデキストリン類、グリシン及びポリエチレングリコールから選択される1種以上の安定化剤を、さらに含有する。

[0027] 本発明に用いる安定化剤のシクロデキストリン類は、特に限定されないが、例えば、α－シクロデキストリン，β－シクロデキストリン，γ－シクロデキストリン、部分メチル化β－シクロデキストリン、ジメチル－β－シクロデキストリン、グリコシル－β－シクロデキストリン、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、スルホブチルエーテル－β－シクロデキストリンを挙げることができ、好ましくはβ－シクロデキストリン，γ－シクロデキストリン、部分メチル化β－シクロデキストリン、ジメチル－β－シクロデキストリン、グリコシル－β－シクロデキストリン、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、スルホブチルエーテル－β－シクロデキストリンであり、より好ましくはβ－シクロデキストリン，ジメチル－β－シクロデキストリン、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、スルホブチルエーテル－β－シクロデキストリンであり、さらに好ましくはヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリンである。

[0028] 本発明に用いる安定化剤のポリエチレングリコールは、特定の分子量のものに限定されないが、例えば、ポリエチレングリコール200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、1300、1400、1450、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2100、2200、2300、2400、2500、2600、2700、2800、2900、3000、3250、3350、3500、3750、4000、4250、4500、4750、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000等を挙げることができる。ポリエチレングリコールは、その分子量の大小にかかわらず、式(1)で示される化合物に対する極めて優

れた安定化効果を有しているが、注射剤における使用例では、低分子量のポリエチレングリコールが多いこと及び凍結乾燥技術の特性として高分子量添加剤ほど凍結乾燥しやすいこと等を考慮に入れた場合、好ましくはポリエチレングリコール700、800、900、1000、800、1000等であり、より好ましくは、ポリエチレングリコール600である。

[0029] 安定化剤の配合量は、特に限定されないが、通常、式(1)で示される化合物1重量部に対して、0．2～500重量部であり、好ましくは0．4～400重量部であり、より好ましくは0．6～300重量部であり、さらに好ましくは、1～100重量部である。

[0030] 本凍結乾燥製剤は、さらに抗酸化剤を含む。本発明では、1)式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩、2)製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤、及び3)糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤の他に、抗酸化剤を含有させた凍結乾燥製剤である。式(1)で示される化合物の酸化体が微量に生成する場合があるため、抗酸化剤の添加により、この酸化体の生成を抑制するものである。

[0031] 抗酸化剤としては、医薬製剤において通常使用されるものであれば、特に限定されないが、例えば、Ｌ－システイン塩酸塩、亜硝酸ナトリウム、アスコルビン酸、クエン酸、トコフェノール、酢酸トコフェノール、ジブチルヒドロキシトルエン、亜硫酸水素ナトリウム、アルファチオグリセリン、チオグリコール酸ナトリウム等を挙げることができる。

[0032] 本凍結乾燥製剤は、さらに、界面活性剤、浸透圧調整剤、防腐剤等を添加してもよい。界面活性剤としては、ポリソルベート、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール、ポリエチレン硬化ヒマシ油、セスキオレイン酸ソルビタンなどを、浸透圧調整剤としては、ブドウ糖、キシリトール、ソルビトールなどを、防腐剤としては、安息香酸、アスコルビン酸などを挙げることができるが、これらに限定されるわけではない。

[0033] また、本凍結乾燥製剤は、1)式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩、2)製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤、及び3)糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤を含有し、さらに、シクロデキストリン類、グリシン及びポリエチレングリコールから選択される1種以上の安定化剤、抗酸化剤等を添加し、充填されたバイアル瓶のヘッドスペースが、窒素置換されている凍結乾燥製剤

である。

[0034] 本凍結乾燥製剤は、凍結乾燥工程の乾燥時間及び乾燥温度を調節することにより、その製造初期水分量をコントロールすることが可能である。本凍結乾燥製剤の製造初期水分量は、通常2．0％以下であり、好ましくは1．7％以下、より好ましくは1．5％以下である。

[0035] 本凍結乾燥製剤は、製剤中における式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩の経時的な安定性及び復水時の溶解性に、極めて優れるという特性を有している。本凍結乾燥製剤は、1)式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩、2)製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤、及び3)糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤と共に凍結乾燥することにより、経時的な安定性に優れ、且つ復水時の溶解性に優れた凍結乾燥製剤を得られる。特に、当該凍結乾燥製剤において、非晶質粉体として存在する賦形剤を用いた場合、また、特にpH調整剤としてクエン酸およびその塩を用いた場合、安定化効果が大きいという特性も有する。さらに、シクロデキストリン類、グリシン、又はポリエチレングリコールを安定化剤として添加することにより、一層安定性が向上する。また、抗酸化剤の配合や、本凍結乾燥製剤を充填したバイアル瓶のヘッドスペースの窒素置換が、凍結乾燥製剤の安定性向上に寄与する。

[0036] 本凍結乾燥製剤は、たとえば、以下の方法により、製造することができる。具体的には、1)式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩、2)製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤、及び3)糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤、さらに必要に応じて、安定化剤、抗酸化剤等を、水又は適当な水性溶媒(たとえば、水とアルコールの混合物)に溶かした溶液を、所望によりメンブレンフィルタなどを用いて濾過滅菌を行う。次いで、無菌溶液をバイアル瓶、トレーなどに分注し、通常の凍結乾燥をすることによって固体粉末状としたものが好ましい。

[0037] 前述のように製造された本凍結乾燥製剤においては、式(1)で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩の経時的な分解が抑制され、安定性と復水時の溶解性に優れた特性を有する。

[0038] 前述の溶液を調製する場合、公知の方法にしたがって、式(1)で示される化合物

又はその薬理学的に許容され得る塩、賦形剤及びpH調整剤を、水又は水性溶媒（たとえば、水とアルコールの混合物）に溶解すればよい（溶解させた溶液を、以下「水性溶液」という）。溶解させる順序は、成分の種類には特に依存することなく、任意に溶解させることができるが、式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩は、低pH領域で溶解性に優れるため、pH調整剤を用いて、式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩の分解が抑制される低pH（5～7）の調整液を調製し、式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩を溶解した後、所定のpHに調整することが望ましい。また、式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩が水溶液中で分解するのを防ぐために、製造中の溶液温度を低温に保って製造してもよい。水性液中の式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩の濃度は、通常、0．1mg/mL～10mg/mLであり、好ましくは0．5mg/mL～5mg/mLであり、より好ましくは0．5mg/mL～2mg/mLである。

[0039] また、水性溶液中の賦形剤の濃度は、通常、10mg/mL～200mg/mLであり、好ましくは20mg/mL～175mg/mLであり、より好ましくは30mg/mL～150mg/mLである。

[0040] また、凍結乾燥に供する水性溶液のpHは5～8であり、好ましくはpH5．4～7．6、より好ましくは5．8～7．2である。前述のpH調整剤を適宜添加することにより、所望のpHに調整可能である。

[0041] このように調製された水性溶液を、好ましくは共晶点及びガラス転移点以下で予備凍結した後、乾燥庫内を真空に保持しながら、棚温を徐々に1次乾燥温度まで昇温し、同温度で1次乾燥を実行する。1次乾燥終了後、さらに棚温を2次乾燥温度に到達するまで昇温し、同温度で2次乾燥を行う。

[0042] 具体的な凍結乾燥製剤の製造方法として、1）式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩、2）製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤、及び3）糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤、さらに必要に応じて、安定化剤、抗酸化剤等とを含有する水性溶液を、滅菌後、所定量をバイアル瓶に分注する。約－60℃～－20℃の条件で予備凍結を行い、次いで、約－20℃～20℃で減圧下に1次乾燥を行い、約10～40℃で減圧下に二次乾燥して凍結乾燥する。そして、必要に応じて、バイアル瓶のヘッドスペースを窒素ガスで置換し、打栓して凍結乾燥

製剤を得る。なお、予備凍結時には、賦形剤の結晶化が起こらないように、共晶点及びガラス転移点以上の温度にならないような低温に維持する必要がある。共晶点及びガラス転移点は賦形剤を構成する成分の混合割合により異なるが、通常、糖類及び糖アルコールを含む場合、例えば、スクロース及び／又は乳糖を含む場合は、予備凍結の温度条件は、通常、－40℃以下の温度で実行することが好ましい。

[0043] このようにして得られる本凍結乾燥製剤は、賦形剤が非晶質粉体として存在するため、長期間に渡る経時的安定性を保つことができる。

[0044] また、本凍結乾燥製剤は、良好な復水性を有する。即ち、任意の適当な溶液（再溶解液）の添加によって極めて容易に再溶解し、凍結乾燥前の溶液を再構築することができる。かかる再溶解液としては、用時注射用蒸留水、生理食塩水、その他一般的輸液（たとえば、ブドウ糖、アミノ酸輸液など）が挙げられる。

[0045] 本凍結乾燥製剤を再溶解させた溶液は、静脈注射剤、皮下注射剤、筋肉注射剤、点滴注射剤などの注射剤又は点眼剤として、非経口投与することができる。この注射用蒸留水、生理的食塩液、又は輸液で溶解した液は十分に安定である。復水・希釈時における式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩の濃度は、通常、0．001mg/mL～10mg/mLであり、好ましくは、0．005mg/mL～5mg/mLである。

実施例

[0046] 以下に示す本発明の実施例及び対照例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、これらは例示的なものであり、本発明は以下の実施例等に制限されるものではない。当業者は、以下に示す実施例に様々な変更を加えて本発明を実施することができ、かかる変更は本願特許請求の範囲に包含される。

[0047] 以下の実施例記載の添加物は、日本薬局方IV、医薬品添加物規格2005（薬添規）、日本薬局方外医薬品規格（局外規）2005、USP/NF XXIII等の公定書に適合したもの、又は試薬を使用した。

[0048] 製造例1（pH調整剤の種類、糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤の種類、並びにその量の検討）

（参考例1及び実施例1～6）

参考例1と、本発明の実施例1～6の凍結乾燥製剤は、式(1)で示される化合物に配合する、製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤、及び糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤の種類、並びに添加量を変化させて、以下の方法により製造した。

注射用蒸留水に、所定量のクエン酸1水和物若しくはリン酸を溶解し、水酸化ナトリウム溶液を用いて、pHを調整しながら、マンニトール、スクロース又はラクトースの所定量の賦形剤を溶解して、糖類又は糖アルコールを含有する50mM又は100mMのpH調整液(pH6)50mLを調製した。

次に、これらの溶液6mLに6mgの式(1)で示される化合物を溶解(1mg/mL)した後、フィルターろ過(0.22μmフィルター)した溶液を1mLずつバイアルに小分けして凍結乾燥した。凍結乾燥したバイアルはそのヘッドスペースを窒素置換してゴム栓で打栓した後、アルミキャップで巻き締め、参考例1と実施例1～6(表1)として、本凍結乾燥製剤を得た。なお、1バイアルに充填された製剤中のpH調整剤の量は、リン酸4．9mg(参考例1、実施例1、2)又はクエン酸1水和物10．5mg(実施例3～5)が50mMに相当し、クエン酸1水和物21．0mg(実施例6)が100mMに相当した。

[0049] なお、対照例として、対照例1及び2を製造した。対照例1は、式(1)で示される化合物を1mgを秤取して、その粉体のままバイアルに充填し、そのヘッドスペースを窒素置換してゴム栓で打栓した後、アルミキャップで巻き締めた粉末充填製剤した。対照例2は、マンニトール、スクロース又はラクトースの所定量の賦形剤を添加することなく、それ以外は実施例3～5と同様の方法で製造した、式(1)で示される化合物と製剤中のpHを約6に調整するpH調整剤とを含む凍結乾燥製剤である。

[0050] また、製造した製剤の物性値の評価を行った。評価項目は、製造直後の復水時の物性及び、40℃相対湿度75％下で2週間保存後の式(1)で示される化合物由来の不純物増加量であった。

製造直後の復水時の物性の評価は、1バイアル中に充填された凍結乾燥製剤に、1mlの注射用蒸留水及び生理食塩水を添加して復水し、杉森C法にて、復水性を評価した。杉森C法とは、製薬工場　p574、Vol.6　No.6.1986記載の方法であって、用時溶解注射剤の復水性を評価する一手法である。

[0051] 同時に、復水した製剤の溶液pHの評価を行なった。

40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量の評価は、製造直後の製剤中の不純物量と40℃相対湿度75%下で2週間保存した製剤の不純物量を、各々、高速液体クロマトグラフィーにて評価を行い、製造直後の製剤中の不純物量と比較して増加した量(%)として示した。代表的なHPLC条件を下記に示した。

[0052] カラム:L-column ODS (4.6 x 150mm, 5um、(財)化学物質評価研究機構)

カラム温度:40℃

検出器:UV/PDA(検出波長 241nm)

移動相A:アセトニトリル/精製水/リン酸二水素カリウム/過塩素酸ナトリウム(500mL/4500mL/1.0g/35g)

移動相B:アセトニトリル/精製水/過塩素酸ナトリウム(4500mL/500mL/35g)

流速:1mL/min

サンプル溶解液:20%アセトニトリル

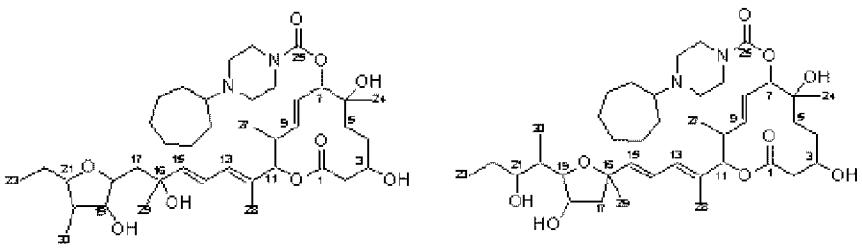
サンプルクーラー:5℃

注入量:10uL(0.2mg/mL)

グラジエントプログラム:B28%(0min)－B28%(15min)－B100%(20min)－B28%(25.01min)－B28%(33min)

[0053] なお、不純物増加量としては、不純物の総量の増加量(%)と式(1)で示される化合物の分解による主不純物Aの増加量の両者で示した。主不純物Aは、式(2)で示される2化合物のうちいずれか1種又はその両者の混合物と推定されている。

[0054] [化4]



式(2)

[0055] 参考例1及び実施例2～6の凍結乾燥製剤処方及び物性を表1に示す。

[0056] [表1]

	製剤処方(1バイアル)			復水時の物性		40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量(%)	
	式(1)で示される化合物	pH調整剤[1)]	賦形剤	復水性(秒)	pH	不純物Aの増加量(%)	不純物の総量の増加量(%)
参考例 1	1mg	リン酸: 4.9mg	マンニトール: 50mg	5秒以内	6.11	3.10	4.90
実施例 1	1mg	リン酸: 4.9mg	スクロース: 100mg	5秒以内	6.21	0.99	1.06
実施例 2	1mg	リン酸: 4.9mg	ラクトース: 100mg	5秒以内	6.11	0.82	1.30
実施例 3	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	マンニトール: 50mg	10秒以内	6.11	0.53	1.36
実施例 4	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	5秒以内	6.21	0.45	0.61
実施例 5	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	ラクトース: 100mg	5秒以内	6.10	0.47	1.11
実施例 6	1mg	クエン酸1水和物: 21.0mg	スクロース: 100mg	5秒以内	6.08	0.38	0.87
対照例 1	1mg	−	−	溶解せず	−	0	0.11
対照例 2	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	−	5秒以内	6.10	0.59	1.44

1):水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを調整した。

[0057] 製造例2(非晶質粉体として存在する糖類の種類の検討)

(実施例7～8)

本発明の実施例7～8の凍結乾燥製剤は、式(1)で示される化合物に配合する、糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤として、凍結乾燥製剤において非晶質粉体として存在する糖類の種類を変化させて、以下の方法により製造した。

注射用蒸留水に、所定量のクエン酸1水和物を溶解し、水酸化ナトリウム溶液を用いて、pHを調整しながら、スクロース、トレハロース、又はマルトースの所定量の賦形剤を溶解して、糖類を含有する50mMのpH調整液(pH6)50mLを調製した。次に、これらの溶液6mLに6mgの式(1)で示される化合物を溶解(1mg/mL)した後、フィルターろ過(0.22μmフィルター)した溶液を1mLずつバイアルに小分けして凍結乾燥した。凍結乾燥したバイアルはそのヘッドスペースを窒素置換してゴム栓で打栓した後、アルミキャップで巻き締め、実施例4、7、8(表2)として、本凍結乾燥製剤を得た。なお、1バイアルに充填された製剤中のpH調整剤の量は、クエン酸1水和物10．5mg(実施例4、7、8)であり、スクロース、トレハロース、又はマルトースの賦形剤の量は、100mgであった。

また、製造した製剤の物性値は、製造例1記載の方法により、同様の評価を行った。実施例4、7、8の凍結乾燥製剤処方及び物性値を、表2に示す。

[0058] [表2]

	製剤処方(1バイアル)			復水時の物性		40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量(%)	
	式(1)で示される化合物	pH調整剤[1)]	賦形剤	復水性(秒)	pH	不純物Aの増加量(%)	不純物の総量の増加量(%)
実施例 4	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	5秒以内	6.21	0.45	0.61
実施例 7	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	トレハロース: 100mg	5秒以内	6.07	0.55	0.92
実施例 8	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	マルトース: 100mg	5秒以内	6.12	0.52	0.88

1):水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを調整した。

[0059] 製造例3(安定化剤の種類、ポリエチレングリコールの種類(分子量)及び添加量の検討)

(実施例9～16)

本発明の実施例9～16の凍結乾燥製剤は、1)式(1)で示される化合物、2)製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤(クエン酸1水和物を使用)、及び3)糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤(スクロースを使用)を含む凍結乾燥製剤に、配合する安定化剤として、その種類及び添加量を変化させて、以下の方法により製造した。

注射用蒸留水に、所定量のクエン酸1水和物を溶解し、水酸化ナトリウム溶液を用いて、pHを調整しながら、一定量のスクロースと安定化剤を溶解して、スクロースと安定化剤を含有する50mMのpH調整液(pH6)50mLを調製した。

次に、これらの溶液6mLに6mgの式(1)で示される化合物を溶解(1mg/mL)した後、フィルターろ過(0.22μmフィルター)した溶液を1mLずつバイアルに小分けして凍結乾燥した。凍結乾燥したバイアルはそのヘッドスペースを窒素置換してゴム栓で打栓した後、アルミキャップで巻き締め、実施例9～11(表3)、実施例12～14(表4)及び実施例15～16(表5)として、本凍結乾燥製剤を得た。

[0060] なお、1バイアルに充填された製剤中のpH調整剤の量は、クエン酸1水和物10．5mg(実施例9～16)であり、スクロースの賦形剤の量は、100mgであった。安定化剤は、実施例9～11では、各々、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、グリシン、ポリエチレングリコール4000を1バイアルの凍結乾燥製剤中に10mgを含有させた。実施例12～14では、安定化剤としてポリエチレングリコールの種類(分子量)を変化させ、各々、ポリエチレングリコール400、ポリエチレングリコール600、ポリエチレングリコール4000を1バイアルの凍結乾燥製剤中に10mgを含有させた。実施例15、13、16では、安定化剤としてポリエチレングリコール600の添加量を変化させ、1バイアルの凍結乾燥製剤中に、各々、5mg、10mg、20mgを含有させた。

[0061] また、製造した製剤の物性値は、製造例1記載の方法により、同様の評価を行った。実施例9～11、実施例12～14、実施例15～16の凍結乾燥製剤処方及び物性値を、各々、表3、表4及び表5に示す。

[0062] [表3]

	製剤処方(1バイアル)				復水時の物性		40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量(%)	
	式(1)で示される化合物	pH調整剤[1)]	賦形剤	安定化剤	復水性(秒)	pH	不純物Aの増加量(%)	不純物の総量の増加量(%)
実施例 4	1mg	クエン酸1水和物:10.5mg	スクロース:100mg	-	5秒以内	6.12	0.45	0.61
実施例 9	1mg	クエン酸1水和物:10.5mg	スクロース:100mg	ヒドロキシプロピルβ-CD:10mg	5秒以内	6.04	0.39	0.50
実施例 10	1mg	クエン酸1水和物:10.5mg	スクロース:100mg	グリシン:10mg	5秒以内	6.10	0.30	0.52
実施例 11	1mg	クエン酸1水和物:10.5mg	スクロース:100mg	PEG4000:10mg	5秒以内	6.14	0.23	0.45

1):水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを調整した。

[0063] [表4]

	製剤処方(1バイアル)				復水時の物性		40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量(%)	
	式(1)で示される化合物	pH調整剤[1)]	賦形剤	安定化剤	復水性(秒)	pH	不純物Aの増加量(%)	不純物の総量の増加量(%)
実施例 4	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	-	5秒以内	6.12	0.45	0.61
実施例 12	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG400: 10mg	5秒以内	6.05	0.19	0.56
実施例 13	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 10mg	5秒以内	6.07	0.11	0.35
実施例 14	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG4000: 10mg	5秒以内	6.10	0.26	0.38

1):水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを調整した。

[0064] [表5]

	製剤処方(1バイアル)				復水時の物性		40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量(%)	
	式(1)で示される化合物	pH調整剤[1)]	賦形剤	安定化剤	復水性(秒)	pH	不純物Aの増加量(%)	不純物の総量の増加量(%)
実施例 4	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	-	5秒以内	6.12	0.45	0.61
実施例 15	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 5mg	5秒以内	6.04	0.35	0.62
実施例 13	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 10mg	5秒以内	6.05	0.11	0.35
実施例 16	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	5秒以内	6.10	0.06	0.20

1):水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを調整した。

[0065] 製造例4

(pH調整剤添加による製剤中のpHの検討)

(実施例17～21)

本発明の実施例17～21の凍結乾燥製剤は、配合するpH調整剤により、製剤中のpHを変化させて、以下の方法により製造した。

注射用蒸留水に、所定量のクエン酸1水和物を溶解し、水酸化ナトリウム溶液を用いて、pHを調整しながら、一定量のスクロースとポリエチレングリコール600(安定化剤)を溶解して、スクロースと安定化剤を含有する50mMの種々のpH調整剤(pH5．5、5．7、5．9、6．1、6．3)を50mL調製した。次に、これらの溶液6mLに6mgの式(1)で示される化合物を溶解(1mg/mL)した後、フィルターろ過(0.22μmフィルター)した溶液を1mLずつバイアルに小分けして凍結乾燥した。凍結乾燥したバイアルはそのヘッドスペースを窒素置換してゴム栓で打栓した後、アルミキャップで巻き締め、実施例17～21(表6)として、本凍結乾燥製剤を得た。なお、1バイアルに充填された製剤中のpH調整剤の量は、クエン酸1水和物10．5mg(実施例18～22)であり、スクロースの賦形剤の量は100mgであり、安定化剤のポリエチレングリコール600の量は20mgであった。また、製造した製剤の物性値は、製造例1記載の方法により、同様の評価を行った。

[0066] 実施例17～21の凍結乾燥製剤処方及び物性値を、表6に示す。

[0067] [表6]

	製剤処方(1バイアル)				復水時の物性		40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量(%)	
	式(1)で示される化合物	pH調整剤[1)]	賦形剤	安定化剤	復水性(秒)	pH	不純物Aの増加量(%)	不純物の総量の増加量(%)
実施例 17	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	5秒以内	5.55	0.23	0.86
実施例 18	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	5秒以内	5.80	0.13	0.48
実施例 19	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	5秒以内	6.02	0.10	0.36
実施例 20	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	5秒以内	6.23	0.08	0.27
実施例 21	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	5秒以内	6.44	0.06	0.21

1): 水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを調整した。

[0068] また、pH調整剤添加による製剤中のpHが、式(1)で示される化合物の溶解度に及ぼす影響の検討を行なった。

注射用蒸留水に、0．525gのクエン酸1水和物を溶解し、水酸化ナトリウム溶液を用いて、pHを調整しながら、5gのスクロースと1gポリエチレングリコール600(安定化剤)を溶解して、スクロースと安定化剤を含有する50mMの種々のpH調整液(pH5．6、5．8、6．0、6．2、6．4、6．6)を50mL調製した。調製したpH調整液3mLを約9mgの式(1)で示される化合物を秤取した5mLのバイアルに投入し、スターラー攪拌しながら5℃で1時間保存した。その後、この溶液(懸濁液を含む)をフィルターろ過(0.22μmフィルター)し、初期流出液1mLを廃棄した後に得られた溶液について、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて式(1)で示される化合物の濃度を測定し、式(1)で示される化合物の溶解度とした。また、その溶液のpHも同時に測定した。その結果を、表7に示した。

[0069] [表7]

pH	溶解度[μg/ml]
	式(1)で示される化合物
pH 5．79	>2435
pH 5．99	>2311
pH 6．20	>2265
pH 6．51	>2717
pH 6．81	2571
pH 7．04	1798

[0070] 製造例5(バイアル瓶のヘッドスペースの窒素置換の検討)

(実施例22～23)

本発明の実施例22～23の凍結乾燥製剤は、バイアル瓶のヘッドスペースの窒素置換の有無を変化させて、以下の方法により製造した。

約140mLの注射用蒸留水にクエン酸1水和物を2．1g溶解し、水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを5．6に調整した。この溶液を2～10℃に冷却しながら、20gのスクロース、4gのポリエチレングリコール600、200mgの式(1)で示される化合物を溶解した。この溶液を水酸化ナトリウム溶液にてpH6．1に調整した後、注射用蒸留水にて全量を200mLとした。次に、これらの溶液をフィルターろ過(0.22μmフィルター)し、その溶液を1mLずつバイアルに小分けして凍結乾燥した。

凍結乾燥したバイアルは、そのヘッドスペースを窒素置換する処理を施したものと通常の空気で置き換える処理を施したものを2種類に分け、ゴム栓で打栓した後、アルミキャップで巻き締め、各々、実施例22及び実施例23(表8)として、本凍結乾燥製剤を得た。なお、1バイアルに充填された製剤中のpH調整剤の量は、クエン酸1水和物10．5mgであり、スクロースの賦形剤の量は100mgであり、安定化剤のポリエチレングリコール600の量は20mgであった。

[0071] また、製造した製剤の物性値の評価を行った。評価項目は、製造直後の初期水分の含量及び、40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量であった。初期水分の含量は、日本薬局方IV記載のカールフィッシャー水分計(三菱化学株式会社)を用いて評価を行った。

[0072] 実施例22～23の凍結乾燥製剤処方及び物性値を、表8に示す。

[0073] [表8]

	製剤処方(1バイアル)					製造初期水分(%)	40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量(%)	
	式(1)で示される化合物	pH調整剤[1)]	賦形剤	安定化剤	窒素置換		不純物Aの増加量(%)	不純物の総量の増加量(%)
実施例 22	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	あり	0.41	0.07	0.24
実施例 23	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	無し	0.48	0.07	0.55

1):水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを調整した。

[0074] 製造例6(抗酸化剤の添加の検討)

(実施例24～27)

本発明の実施例24～27の凍結乾燥製剤は、抗酸化剤の添加量を変化させて、以下の方法により製造した。

1)式(1)で示される化合物1mg、2)製剤中のpHを6．1に調整するpH調整剤10．5mg(50mMのクエン酸1水和物を使用)、3)糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤100mg(スクロースを使用)、及び4)安定化剤20mg(ポリエチレングリコール600)からなる処方に、抗酸化剤を添加し、式(1)で示される化合物の安定性に与える影響について検討を行った。なお、抗酸化剤としてはL－システイン塩酸塩1水和物を用い、製剤中の添加量は、0mg(添加せず)、0．01mg、0．05mg、0．10mgの4水準とした。

即ち、注射用蒸留水に、0．525gのクエン酸1水和物を溶解し、水酸化ナトリウム溶液を用いて、pHを調整しながら、さらに5gのスクロースと1gのポリエチレングリコール600及び各々所定量(0g、0．005g、0．0025g、0．0005g)のL－システィン塩酸塩1水和物を溶解して、スクロース、ポリエチレングリコール600、L－システィン塩酸塩1水和物を含有する50mMのpH調整液(pH6．1)50mLを調製した。次に、これらの溶液6mLに6mgの式(1)で示される化合物を溶解(1mg/mL)した後、フィルターろ過(0．22μmフィルター)した溶液を1mLずつバイアルに小分けして凍結乾燥した。凍結乾燥したバイアルはそのヘッドスペースを窒素置換してゴム栓で打栓した後、アルミキャップで巻き締め、実施例25～28(表9)として、本凍結乾燥製剤を得た。

[0075] また、製造した製剤の物性値の評価を行った。評価項目は、40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量である。なお、不純物増加量としては、製造直後の初期の不純物の総量との増加量(%)と式(1)で示される化合物の酸化分解による酸化体の量に比して、増加した不純物の総量と式(1)で示される化合物の酸化分解による増加した酸化体の量の両者で示した。

[0076] 実施例24～27の凍結乾燥製剤処方及び物性値を、表9に示す。

[0077] [表9]

	製剤処方(1バイアル)					製造初期酸化体の量(%)	40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量(%)	
	式(1)で示される化合物	pH調整剤[1)]	賦形剤	安定化剤	抗酸化剤		酸化体の増加量(%)	不純物の総量の増加量(%)
実施例 24	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	—	0.12	0.13	0.32
実施例 25	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	L−システイン塩酸塩1水和物:0.01mg	0.08	0.01	0.18
実施例 26	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	L−システイン塩酸塩1水和物:0.05mg	0.06	−0.01	0.18
実施例 27	1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	L−システイン塩酸塩1水和物:0.10mg	0.05	−0.01	0.18

1):水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを調整した。

[0078] 製造例7(凍結乾燥製剤の水分量の検討)

凍結乾燥製剤中の水分量が、式(1)で示される化合物の安定性に与える影響について検討した。まず、実施例20で窒素置換して製造したバイアル(pH6.23)を開封し、調湿下で重量変化をモニタリングしながら吸湿させた後、それぞれの水分値をカールフィッシャー水分計にて測定し、各々の製剤の製造初期水分量(%)とした(0.48%、0.66%、1.20%、1.64%、2.19%の5水準)。これらについて、再びゴム栓を打栓し巻き締めして、各初期水分量を有する試料とした。これらの試料について、40℃相対湿度75%下で2週間保存し、不純物の増加量の評価を行った。

凍結乾燥製剤処方及び物性値を、表10に示す。

[0079] [表10]

製剤処方(1バイアル)					製造初期水分(%)	40℃相対湿度75%下で2週間保存後の不純物増加量(%)	
式(1)で示される化合物	pH調整剤[1)]	賦形剤	安定化剤	窒素置換		不純物Aの増加量(%)	不純物の総量の増加量(%)
1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	無し	0.48	0.07	0.55
1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	無し	0.66	0.06	0.53
1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	無し	1.20	0.05	0.47
1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	無し	1.64	0.05	0.64
1mg	クエン酸1水和物: 10.5mg	スクロース: 100mg	PEG600: 20mg	無し	2.19	0.06	0.87

1):水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを調整した。

[0080] 製造初期水分値が1．5%を超えると分解が加速する傾向が認められた。

[0081] 発明の効果

本発明によれば、式(1)で示される化合物を含む、経時的な安定性に優れ、且つ復水時の溶解性に優れた凍結乾燥製剤を製造することが可能である。

1．pH調整剤及び糖類、糖アルコール等の賦形剤と、式(1)で示される化合物を含む凍結乾燥製剤の安定性及び復水性に及ぼす効果(製造例1、製造例2)

表1に示した製造例1で対照例とした製剤において、粉末充填製剤(対照例1)では、結晶である式(1)で示される化合物は安定ではあるが、復水性が著しく悪く溶解しなかった。また、対照例2の式(1)で示される化合物と製剤中のpHを6に調整するpH調整剤とを含む凍結乾燥製剤凍結乾燥製剤においては、注射剤に供するに十分な復水性は得られたが、主分解物である不純物A及び不純物の総量の増加が認められた。

一方、本発明の製造例1の実施例1～6に係る製剤は、1)式(1)で示される化合物、2)製剤中のpHを6に調整するpH調整剤、及び3)糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤を含む凍結乾燥製剤であり、マンニトール以外の賦形剤を配合することにより、対照例2に比べて主分解物である不純物A及び不純物の総量の増加が抑制され、安定性の向上が認められ、復水性も良好であった。

その安定化効果は、マンニトールを配合した製剤(参考例1、実施例3)を除き、非晶質粉体として存在する糖類(賦形剤)で著しく優れており、特にスクロースを賦形剤として使用した場合に最も優れていた(実施例4)。また、pH調整剤としては、クエン酸1水和物(10．5mg:実施例5、21．0mg:実施例6)を用いた場合、特に高い分解抑制効果があり、特に主分解物である不純物Aの生成が著しく抑制された。

また、表2に示した本発明の製造例2の実施例7～8に係る製剤は、スクロースと同様に凍結乾燥製剤において非晶質粉体として存在する糖類であるトレハロース、マルトースを各々配合した凍結乾燥製剤であるが、いずれも、実施例4と同様に主分解物である不純物A及び不純物の総量の増加が抑制され、安定性が向上した。

クエン酸1水和物等の製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤、糖類、糖アルコール等の賦形剤、とりわけ非晶質粉体として存在する糖類が、式(1)で示される化合

物を含む凍結乾燥製剤の安定性及び復水性を向上させることは、明らかである。

[0082] 2. さらに、安定化剤を添加した凍結乾燥製剤の安定性及び復水性に及ぼす効果(製造例3)

本発明の製造例3の実施例9～16に係る製剤は、1)式(1)で示される化合物、2)製剤中のpHを5～8に調整するpH調整剤(クエン酸1水和物を使用)、及び3)糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤(スクロースを使用)を含む凍結乾燥製剤に、配合する安定化剤として、その種類及び添加量を変化させた製剤であった。

表3に示すように、安定化剤として、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン(実施例9)、グリシン(実施例10)、ポリエチレングリコール(実施例11)等の添加において、安定化効果が確認された。特にポリエチレングリコール4000(分子量3350)の添加(実施例11)により、主分解物である不純物Aの生成の著しい抑制が認められ、復水性も良好であった。また、安定化効果が最も優れていたポリエチレングリコールに関して、その種類(分子量400、600、4000)と安定化効果の関係について検討した(実施例12～14)。その結果、いずれの分子量のポリエチレングリコールの添加においても、式(1)で示される化合物の分解を抑制した(表4)。特にポリエチレングリコール600は、安定化効果が優れていた。

さらに、ポリエチレングリコール600に関して、その添加量と安定化効果の関係について検討したが、表5に示すように、ポリエチレングリコール600(分子量600)が、添加量依存的に式(1)で示される化合物の分解を抑制し、特に主分解物である不純物Aの生成抑制が認められた。

本凍結乾燥製剤中の安定化剤の添加により、特に、ポリエチレングリコール等の添加により、添加量依存的に凍結乾燥製剤の安定性を向上させ、かつ良好な復水性を確保できることが判明した。

[0083] 3. pH調整剤添加による製剤中のpHによる、式(1)で示される化合物の安定性(製造例4)及び溶解性に及ぼす効果

本発明の製造例4の実施例17～21に係る製剤は、表6に示すように、式(1)で示される化合物を含有する凍結乾燥製剤中のpHを、pH調整剤のクエン酸1水和物を用

いて、各々、pH5．5、5．7、5．9、6．1、6．3に調整した製剤であった。pH5．5以上においては、pHが高くなるほど、式(1)で示される化合物の分解が抑制され安定化が認められた。

また、pH調整剤添加による製剤中のpHが、式(1)で示される化合物の溶解度に及ぼす影響の検討を行なった。その結果、表8に示すように、pH5．79～7．04において、低いpH領域では溶解度が高いが、高いpH領域では溶解度が著しく低下した。式(1)で示される化合物のpKaは約7．9であり、pH8付近までの溶解度減少は著しく、注射剤として使用できるpH領域は溶解度の面からも制限を受けるため、十分な溶解度を確保する必要がある。

本凍結乾燥製剤中のpH調整剤による製剤中のpH(5～8)が、式(1)で示される化合物の安定性及び溶解性に影響を及ぼすため、安定性及び溶解性のバランスにより製剤中のpHを調整することにより、凍結乾燥製剤の安定性を向上させ、かつ良好な復水性を確保できることが判明した。

[0084] 4．バイアル瓶のヘッドスペースの窒素置換の有無による、式(1)で示される化合物の安定性に与える効果(製造例5)

式(1)で示される化合物の凍結乾燥製剤に関して、バイアル瓶のヘッドスペースの窒素置換の有無が、製剤中の式(1)で示される化合物の安定性に与える影響について検討した。その結果、表8に示すように、製造初期の水分値がほぼ同一であっても、窒素置換をした場合(実施例22)は、窒素置換をしなかった場合(実施例23)と比べて、著しく分解が抑制された。

本凍結乾燥製剤を充填したバイアル瓶のヘッドスペースの窒素置換を行うことにより、凍結乾燥製剤の安定性を向上させ、かつ良好な復水性を確保できることが判明した。

[0085] 5．抗酸化剤の添加による、式(1)で示される化合物の安定性に与える効果(製造例6)

表9に示すように、安定化剤を配合した、式(1)で示される化合物の凍結乾燥製剤には、製造直後の時点で酸化体が生成しており、それが安定性試験中に増加することが認められた。特にポリエチレングリコールを含有する系では、製造初期の酸化体

量の増加及びそれに伴う不純物の総量の増加が認められた(実施例24)。一方、抗酸化剤としてL－システイン塩酸塩1水和物を添加した系では、微量の添加により、酸化体量の増加及びそれに伴う不純物の総量の増加が抑制された(実施例25～27)。

本凍結乾燥製剤は、特に、安定化剤を配合した場合には、抗酸化剤の微量の添加により、凍結乾燥製剤の安定性を向上できることが判明した。

[0086] 6．凍結乾燥製剤中の水分量による、式(1)で示される化合物の安定性に与える影響

表10に示す結果から、本凍結乾燥製剤は、凍結乾燥製剤中の水分量が多くなるほど、式(1)で示される化合物の安定性を低下するため、特に、製剤中の水分量を少なくとも2．0重量%以下に保つことが必要であり、好ましくは1．5重量%以下とすることにより、凍結乾燥製剤の安定性の向上を図ることができることが判明した。

産業上の利用可能性

[0087] 本発明によれば、(8E, 12E, 14E)－7－((4－シクロヘプチルピペラジン－1－イル)カルボニル)オキシ－3, 6, 16, 21－テトラヒドロキシ－6, 10, 12, 16, 20－ペンタメチル－18, 19－エポキシトリコサ－8, 12, 14－トリエン－11－オリドを含む、経時的な安定性と復水時の溶解性に優れた凍結乾燥製剤が提供される。

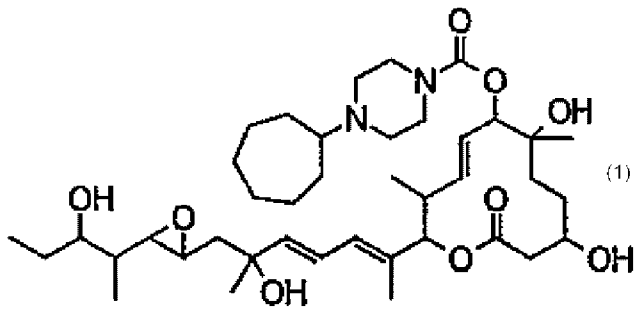
請求の範囲

[1] 1）下記式（1）で示される化合物又はその薬理学的に許容され得る塩と、

2）pHを5～8に調整するpH調整剤と、

3）糖類及び糖アルコールから選択される1種以上の賦形剤と、

[化1]



(1)

を含有する凍結乾燥製剤。

[2] 前記賦形剤が、前記凍結乾燥製剤において非晶質粉体として存在する、請求項1記載の凍結乾燥製剤。

[3] 前記賦形剤が、スクロースである、請求項1又は2記載の凍結乾燥製剤。

[4] 前記pH調整剤が、クエン酸又はその塩である、請求項1～3の何れか1項記載の凍結乾燥製剤。

[5] 前記pH調整剤の配合量が、式（1）で示される化合物1重量部に対して0．1～300重量部である、請求項1～4の何れか1項記載の凍結乾燥製剤。

[6] シクロデキストリン類、グリシン及びポリエチレングリコールから選択される1種以上の安定化剤をさらに含む、請求項1～5の何れか1項記載の凍結乾燥製剤。

[7] 前記安定化剤の配合量が、式（1）で示される化合物1重量部に対して0．2～500重量部である、請求項6項記載の凍結乾燥製剤。

[8] 抗酸化剤をさらに含む、請求項6又は7記載の凍結乾燥製剤。

[9] 前記凍結乾燥製剤における製剤中の水分量が、2．0重量％以下である、請求項1～8の何れか1項記載の凍結乾燥製剤。

[10] 前記凍結乾燥製剤が、注射用製剤である、請求項1～9の何れか1項記載の凍結

乾燥製剤。

[11] 容器と、

請求項1～10の何れか1項記載の凍結乾燥製剤と、を含む物品であって、

前記凍結乾燥製剤が充填された前記容器のヘッドスペースが、窒素置換されている物品。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/065830

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61K31/496(2006.01)i, *A61K9/19*(2006.01)i, *A61K47/10*(2006.01)i, *A61K47/12*(2006.01)i, *A61K47/18*(2006.01)i, *A61K47/26*(2006.01)i, *A61K47/34*(2006.01)i, *A61K47/40*(2006.01)i, *A61P35/00*(2006.01)i
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)
A61K31/00-31/80, A61K9/00-72, A61K47/00-47/48, A61P35/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2007 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
REGISTRY(STN), CAPLUS(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2003/099813 A1 (Eisai Co., Ltd.), 04 December, 2003 (04.12.03), Claims 1 to 49; page 84, lines 23 to 25; example 45; pharmaceutical preparation example 5 & EP 1508570 A1 & US 2006/009439 A1	1-11
Y	JP 45-002754 B (The Upjohn Co.), 29 January, 1970 (29.01.70), Claim 1; examples 1 to 4; page 1, right column & GB 1153092 A & FR 1552798 A	1-11
Y	WO 2004/098614 A1 (Eisai Co., Ltd.), 18 November, 2004 (18.11.04), Full text & EP 1621202 A1 & US 2006/247203 A1	1-11

☒ 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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"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
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
12 October, 2007 (12.10.07)	30 October, 2007 (30.10.07)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/065830

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 10-502616 A (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 10 March, 1998 (10.03.98), Full text & WO 95/29178 A1 & EP 757688 A1 & US 5977109 A	1-11
Y	WO 2006/075690 A1 (Ono Pharmaceutical Co., Ltd.), 20 July, 2006 (20.07.06), Full text (Family: none)	1-11
Y	JP 54-103844 A (Ono Pharmaceutical Co., Ltd.), 15 August, 1979 (15.08.79), Full text (Family: none)	1-11
Y	WO 2005/073223 A1 (Eisai Co., Ltd.), 11 August, 2005 (11.08.05), Example 7 & EP 1710244 A1	1-11

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００７／０６５８３０

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　A61K31/496(2006.01)i, A61K9/19(2006.01)i, A61K47/10(2006.01)i, A61K47/12(2006.01)i, A61K47/18(2006.01)i, A61K47/26(2006.01)i, A61K47/34(2006.01)i, A61K47/40(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　A61K31/00-31/80, A61K9/00-72, A61K47/00-47/48, A61P35/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２００７年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２００７年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２００７年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

REGISTRY(STN), CAPLUS(STN)

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
Y	WO 2003/099813 A1 (エーザイ株式会社) 2003.12.04, 請求項１－４９，第８４頁２３－２５行，実施例４５，製剤化例５ & EP 1508570 A1 & US 2006/009439 A1	1-11
Y	JP 45-002754 B (ゼ・アップジョン・コムパニー), 1970.01.29, 請求項１，実施例１－４，第１頁右欄 & GB 1153092 A & FR 1552798 A	1-11

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 １２．１０．２００７	国際調査報告の発送日 ３０．１０．２００７
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ） 郵便番号１００－８９１５ 東京都千代田区霞が関三丁目４番３号	特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｐ　３８４３ 高岡　裕美 電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４９２

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
Y	WO 2004/098614 A1 (エーザイ株式会社) 2004.11.18, 全文 & EP 1621202 A1 & US 2006/247203 A1	1-11
Y	JP 10-502616 A (協和発酵工業株式会社) 1998.03.10, 全文 & WO 95/29178 A1 & EP 757688 A1 & US 5977109 A	1-11
Y	WO 2006/075690 A1 (小野薬品工業株式会社) 2006.07.20, 全文 (ファミリーなし)	1-11
Y	JP 54-103844 A (小野薬品工業株式会社) 1979.08.15, 全文 (ファミリーなし)	1-11
Y	WO 2005/073223 A1 (エーザイ株式会社) 2005.08.11, 実施例７ & EP 1710244 A1	1-11