

岐阜薬科大学博士（薬学）学位論文

Quality by Design の考え方に基づいた  
統計的手法による futibatinib の製法開発

令和4年（2022）

阿部 康則

## Table of Contents

公表論文 .....	3
略語表 .....	4
<b>第一章 序論 .....</b>	<b>5</b>
第一節 医薬品開発の国際的な規制 .....	5
第一項 International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use .....	5
第二項 Quality by Design .....	5
第二節 統計的手法による製法開発 .....	9
第一項 実験計画法 (DoE) .....	9
第二項 統計解析の重要性 .....	9
<b>第二章 研究の背景 .....</b>	<b>11</b>
第一節 Futibatinib の医薬品開発 .....	11
第一項 胆管癌 .....	11
第二項 FGFR のシグナル伝達 .....	11
第三項 Futibatinib .....	11
第四項 Futibatinib 開発の期待 .....	12
第二節 Futibatinib の製造方法の開発経緯 .....	12
第一項 不純物の制御 .....	12
第二項 Futibatinib の粒子径制御 .....	13
<b>第三章 Futibatinib 不純物のデザインスペース構築 .....</b>	<b>15</b>
第一節 不純物の CPP 特定 .....	15
第二節 不純物のデザインスペース構築 .....	38
<b>第四章 粒子径のデザインスペース開発 .....</b>	<b>65</b>
第一節 粒子径の CPP 特定 .....	65
第二節 粒子径のデザインスペース構築 .....	83
<b>第五章 結論 .....</b>	<b>87</b>
<b>謝辞 .....</b>	<b>88</b>
<b>実験の部 .....</b>	<b>89</b>
使用した原材料, 試薬, 機器 .....	89
第三章に関する実験 .....	90
第四章に関する実験 .....	98
<b>引用文献 .....</b>	<b>102</b>

## 公表論文

本学位論文は、下記の原著論文を基に作成された。

1. Yasunori Abe, Kosuke Emori., Application of a Statistical Approach to Process Development of Futibatiniib by Employing Quality-by-Design Principles. Part 1: Identification of Critical Process Parameters for Impurities *Org. Process Res. Dev.* **2022**, 26, 1, 43-55.
2. Yasunori Abe, Kosuke Emori., Application of a Statistical Approach to Process Development of Futibatiniib by Employing Quality-by-Design Principles. Part 2: Development of Design Space for Impurities Using the Response Surface Methodology *Org. Process Res. Dev.* **2022**, 26, 1, 56-71.
3. Yasunori Abe, Kosuke Emori., Application of a Statistical Approach to Process Development of Futibatiniib by Employing Quality-by-Design Principles. Part 3: Development of Design Space for Control of Particle Size Distribution *Org. Process Res. Dev.* **2022**, 26, 1, 72-81.

## 略語表

ASA	American Statistical Association
CPP	Critical Process Parameter
CQA	Critical Quality Attribute
DoE	Design of Experiment
DS	Design Space
US FDA	the United States Food and Drug Administration
FGFR	Fibroblast Growth Factor Receptor
FMEA	Failure Mode and Effect Analysis
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
LoF	Lack of Fit
ND	Not Detected
QbD	Quality by Design
QbT	Quality by Testing
OFAT	one-factor -at-a-time
OOS	out-of-specification
p-CPP	potential critical process parameter
PSD	Particle Size Distribution
RPN	Risk Priority Number

## 第一章 序論

### 第一節 医薬品開発の国際的な規制

#### 第一項 International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use

医薬品を安心して使用するためには品質，有効性，そして安全性が担保される必要がある。<sup>1)</sup> 新医薬品は非臨床試験と臨床試験を経て規制当局により承認される。新医薬品の有効性と安全性，並びに臨床試験が適切であったことを明示するため，治験薬と新医薬品の一貫性に加えて，治験薬と新医薬品の同等性を保証することが要求される。<sup>2)</sup> 薬害の歴史や原因からも医薬品の品質，有効性そして安全性を確保するという考え方は世界共通の認識である。<sup>3)</sup> 1970年代までに日本，米国そして欧州では新医薬品を政府の責任の下で承認するため，関連法令が各国で急速に整備されて新医薬品の品質，有効性と安全性を評価する体制が構築された。<sup>4)6)</sup> 品質，有効性そして安全性に関する承認申請の詳細な要件は各国で異なり，製薬会社は莫大なリソースを費やしてそれぞれの規制要件を満たすための異なる基準のデータを収集していたため，新医薬品を必要とする患者に迅速に提供することが困難であった。これを受けて，「技術指針と製品承認要件の調和を勧告することによる新医薬品研究開発試験の重複低減・排除」を目的として，1990年，日本，米国，そして欧州の医薬品規制当局と製薬業界団体が the International Conference on Harmonisation を発足させた。正式名称は International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use（以下，ICH）に変更されたが，現在 10 以上の国と地域が参画している。<sup>6)</sup> ICH では品質，有効性，安全性に加えて，複合領域（品質，安全性と有効性の複数領域）に関するガイドラインも発出し，規制調和に向けた調整が継続して検討されている。

#### 第二項 Quality by Design

医薬品の品質に関する ICH ガイドラインは，議論中のものを含めると 20 以上に及び（表 1-1）関連するニュースは社会的にも取り上げられている。2021年に Pfizer Inc.が開発した新型コロナウイルスワクチン「コミナティ筋注」の当初の保管温度は「-90～-60℃」とされていたが，後に「-90～-60℃で保管していたものを-25～-15℃に移してから最長 14 日間保存できる」と変更になり，<sup>7)</sup> 医療機関や保冷库製造業界に大きな影響を与えた。また，小林化工株式会社と日医工株式会社を受けた行政処分・業務停止命令<sup>8)</sup> は ICH Q7 ガイドラインに関連する法令違反であった。

いずれも医薬品を安心して恒常的に使用するためには重要な内容である。特に品質の問題は健康被害に加えて，製品回収や製造停止により継続的服用が必要な患者には致命的影響を与える場合もある。ICH Q8 発出前まで医薬品品質は，出荷毎に最終製品を破壊検査により確認する Quality by Testing（以下，QbT）の考え方で管理されてきた。<sup>9)</sup> 品質に問題がある製剤や原薬の出荷や流通を防ぐ目的としては QbT の考え方は有用である。しかし医薬品を一定の品質で恒常的に流通させるためには QbT のみでは不十分である。そのため Quality by Design（以下，QbD）の考え方に基づいた開発が目ざれている。

表 1-1 品質に関する ICH ガイドライン一覧

<p>Q1：安定性</p> <p>Q1A：安定性試験</p> <p>Q1B：光安定性試験</p> <p>Q1C：新投与経路医薬品等の安定性試験成績の取扱</p> <p>Q1D：原薬及び製剤の安定性試験へのブラケットティング法及びマトリキシング法の適用</p> <p>Q1E：安定性データの評価</p>
<p>Q2：分析バリデーション</p> <p>Q2A：分析法バリデーションに関するテキスト（実施項目）</p> <p>Q2B：分析法バリデーションに関するテキスト（実施方法）</p>
<p>Q3：不純物</p> <p>Q3A：新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物</p> <p>Q3B：新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物</p> <p>Q3C：医薬品の残留溶媒</p> <p>Q3D：医薬品の元素不純物</p> <p>Q3E：医薬品及び生物製剤の溶出物及び滲出物の評価と管理</p>
<p>Q4：薬局方</p> <p>Q4A：薬局方調和</p> <p>Q4B：薬局方テキストを ICH 地域において相互利用するための評価及び勧告</p>
<p>Q5：生物薬品（バイオテクノロジー応用製品／生物起源由来製品）の品質</p> <p>Q5A：ヒト又は動物細胞株を用いて製造される生物薬品のウイルス安全性評価</p> <p>Q5B：組換え DNA 技術を応用したタンパク質生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析</p> <p>Q5C：生物薬品の安定性試験</p> <p>Q5D：生物薬品製造用細胞基剤の由来，調製及び特性解析</p> <p>Q5E：生物薬品の製造工程の変更にとまなう同等性及び同質性評価</p>
<p>Q6：規格及び試験方法</p> <p>Q6A：新医薬品の規格及び試験方法の設定</p> <p>Q6B：生物薬品の規格及び試験方法の設定</p>
<p>Q7：GMP（医薬品の製造管理および品質管理に関する基準），原薬 GMP のガイドライン</p>
<p>Q8：製剤開発</p>
<p>Q9：品質リスクマネジメント</p>
<p>Q10：品質システム</p>
<p>Q11：原薬の開発と製造</p>
<p>Q12：医薬品のライフサイクルマネジメント</p>
<p>Q13：連続生産（議論中）</p>
<p>Q14：分析法の開発（議論中）</p>
<p>M7：潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中変異原性不純物の評価及び管理</p>

ICH ガイドライン：<https://www.ich.org/page/ich-guidelines> (Accessed February 18, 2023)

ICH Q8 では、QbD は「事前の目標設定に始まり、製品及び工程の理解並びに工程管理に重点を置き、立証された科学及び品質リスクマネジメントに基づく体系的な開発手法」であると定義している。<sup>10)</sup> これに加えて、「製剤開発の目的は、適正な品質の製品を設計することと、意図した機能を持つ製品を一貫して供給できる製造工程を設計することである。(中略) 品質は製品になってから検証するものではなく、製品設計過程で製品に組み込まれているべきとの認識は重要である」とも記述されている。QbD アプローチによる医薬品開発は、頑健な製法開発であり不適合品率を大幅に低下して安定供給する手法である。従って、QbD アプローチの適応が推奨された ICH Q8 により、製薬企業では品質・安定供給性の信頼向上、規制当局では品質問題に対応するリソースの削減、患者・医師・薬剤師は安心して医薬品を使用できる等の改善が期待される。<sup>11)</sup> QbD の考え方に基づいた新しい医薬品の品質保証に関しては、ICH Q8 が起点となり Q9, Q10, Q11 ガイドラインが順次発出された。

古典的な従来型と QbD アプローチによる医薬品開発手法の比較を表 1-2<sup>10)</sup>に示す。従来型では、製造工程パラメータ変動による重要品質特性（以下、CQA : Critical Quality Attribute）への影響は、主に治験薬製造バッチ等の限られた製造工程履歴と一変量実験に基づいた知見のみであった。<sup>12)</sup> しかし QbD アプローチでは、製造工程パラメータ変動の CQA 影響がより綿密に理解できるため、CQA への影響が大きい重要工程パラメータ（以下、CPP : Critical Process Parameter）を特定できる。さらに、統計的手法である実験計画法で製法検討すれば、製品品質を保証できる入力変数と工程パラメータの変動領域、すなわちデザインスペース（以下、DS : Design Space）の構築により深い工程理解が可能となる。QbD の考えに基づいた製法開発は恒常的に品質の高い医薬品を流通させることとなり、規制当局や製薬企業にとって大きなメリットがある。<sup>13)-15)</sup>

表 1-2 最小限の手法とより進んだ QbD 手法 (ICH Q8 付録 1)

側面	最小限の手法	より進んだ QbD 手法
総合的な製剤開発	<ul style="list-style-type: none"> <li>・主に経験的</li> <li>・変量を一つずつ検討する開発研究が多い</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体系的で、物質特性及び工程パラメータの機械的理解を製剤の CQA に関連づける</li> <li>・製品及び工程を理解するための多変量実験</li> <li>・デザインスペースの設定</li> <li>・PAT ツールの利用</li> </ul>
製造工程	<ul style="list-style-type: none"> <li>・工程的</li> <li>・主に初回の実生産スケールバッチに基づくバリデーション</li> <li>・最適化及び再現性に焦点</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・デザインスペース内で調整可能</li> <li>・バリデーション及び理想的には継続的工程確認に向けてのライフサイクルを通じた取り組み</li> <li>・管理戦略及び頑健性に焦点</li> <li>・統計学的な工程管理方法の利用</li> </ul>
工程管理	<ul style="list-style-type: none"> <li>・主に継続か中止かを判断するための工程内試験</li> <li>・オフライン分析</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・適切なフィードフォワード及びフィードバック管理を伴う PAT ツールの利用</li> <li>・承認後の継続的改善努力を裏付けるための工程操作の解析及び傾向づけ</li> </ul>
製品規格	<ul style="list-style-type: none"> <li>・管理するための基本的手法</li> <li>・申請時に得られているバッチデータに基づく</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・総合的な品質管理戦略の一部</li> <li>・関連する指示データに基づいた目的とする製品性能に基づく</li> </ul>
管理戦略	<ul style="list-style-type: none"> <li>・主に中間体（中間製品）試験及び最終製品試験で製剤の品質を管理</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・製品及び工程の十分な理解を目指すリスクに基づいた管理戦略によって保証される製剤の品質</li> <li>・リアルタイムリリース試験又は最終製品試験の減少の可能性を伴う品質管理の上流への移行</li> </ul>
ライフサイクル管理	<ul style="list-style-type: none"> <li>・対症的（すなわち問題解決と是正措置）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・予防措置</li> <li>・継続的改善の促進</li> </ul>

QbD: Quality by Design, CQA: Critical Quality Attribute, PAT: Process Analytical Technology



## 第二節 統計的手法による製法開発

### 第一項 実験計画法 (DoE)

医薬品の製造工程には多くのパラメータが存在し、パラメータを変動させた実験により医薬品の品質特性とパラメータの関係を解明する。実験計画は多様であり、実験計画法（以下、DoE : Design of Experiments）は「どの要因が影響を与えるのか」「要因をどのような値に設定すれば結果が良くなるのか、悪くなるのか」などを解析するための統計的手法の総称である。<sup>16)</sup> 統計的手法である DoE による製法検討で製造工程がより深く理解できるため、品質の高い医薬品を安定して生産する製法を開発できる。しかし、変量を一つずつ検討する従来型製法開発と異なり、DoE で得られる結果のアウトプットには統計解析が重要であり、頑健な製法であることを証明するためには統計学の知識が必須となる。

### 第二項 統計解析の重要性

統計解析の判断に使用される p 値は統計学界で議論が重ねられてきた話題の一つである(表 1.3)。「統計的に有意差がないから 2 つのデータには差がない」という結論の導き方は、科学的考察や判断のために使用することは適切でないという声明が、800 名を超える科学者の署名とともに 2019 年の Nature 誌に掲載された。<sup>17)</sup> 2016 年にはアメリカ統計学会 (ASA : American Statistical Association) から「統計的有意性と p 値に関する声明」が発出されている。<sup>18)</sup> ASA の声明では p 値はデータと統計モデルの当てはまりを示す指標の 1 つであり、調査している仮説が適切な確率やデータの偶然誤差のみで得られる確率を示されているわけではないことが示されている。統計的有意性は影響の大きさや結果の重要性の指標ではないので、科学的結論は統計的有意性のみには依存するべきではないことも説明されている。ASA 声明は統計解析の結果から適正な科学的考察を得るには、すべての統計解析に関する透明性が重要であることが強調されている。統計的有意性を適切に示した上で、科学的な有意性を考察することが求められる。

表 1.3 統計解析に関する議論

声明	記述要約
Nature <sup>a)</sup>	「統計的有意」は誤解の温床。「やめるべき考え方」について 800 人を超える研究者の署名。791 の科学論文のうち、有意差なしを効果なしとして示しているものは 51% である。実験デザインに起因する要因の検討なしに、p 値のみを根拠として効果の有無を判定している事例を警告。
ASA <sup>b)</sup>	公表された多くの科学的結論は、基礎となる「統計的有意性」について、誤用と誤解がまかり通っている。科学的結論、ビジネスあるいは政策における判断は有意水準のみを基準とすべきではない。適正な考察のためには、すべての統計解析に関する透明性が必要である

a) Amrhein, V.; Greenland, S.; McShane, B., Scientists rise up against statistical significance, *Nature*, **2019**, 567, 305-307.

b) Wasserstein, R. L.; Lazar, N. A., The ASA Statement on p-Values: Context, Process, and Purpose, *The American Statistician*, **2016**, 70, 129-133.

加えて、US FDA (the United States Food and Drug Administration) は QbD アプローチで開発された医薬品の承認申請書には、すべての DoE データと有意性を示す議論を含めることを要求している。<sup>15)</sup> 製造方法には QbD アプローチによる研究開発が求められており、品質の高い医薬品が安定生産できる製造方法であること証明するためには、すべての統計解析を含む科学的考察が必須である。

このような背景から著者は QbD の考えに基づいて、安定生産可能なことを統計学と科学的見地から証明可能な医薬品の製法開発検討に長年従事してきた。

## 第二章 研究の背景

### 第一節 Futibatinib の医薬品開発

#### 第一項 胆管癌

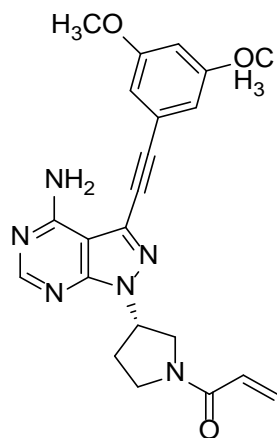
米国では毎年約 8,000 人が胆管癌（肝内，肝外含む）に罹患している。<sup>19)</sup> 若年層にも発症例はあるが，主として高齢者が多い．米国で肝内胆管癌の診断を受ける人の平均年齢は 70 歳，肝外胆管癌は 72 歳である。<sup>20)</sup> 米国国立がん研究所の監視・疫学・遠隔成績 (Surveillance Epidemiology and End Results) データベースでは胆管がんを限局性，局所性，遠隔性の 3 つの段階に分類しており，肝内胆管癌の 5 年生存率は 9% である．日本における胆管・胆のう癌罹患数は 1 年に約 2.2 万人で死亡数約 1.8 万人であり，胆管癌のうち肝内胆管癌は約 10～15% で希少癌の一つである。<sup>21)</sup> 胆管癌の主たる治療法は外科的手術であり，完全摘出が難しい場合や手術で切除した組織の端にがん細胞が認められる場合は放射線治療と化学療法を考慮する．ステージⅢとステージⅣは手術で癌を完全に除去することは難しく，標準治療選択肢は放射線治療，緩和治療，肝臓移植，手術，化学療法，画像下治療に限られている。<sup>22)</sup>

#### 第二項 FGFR のシグナル伝達

線維芽細胞増殖因子受容体 (FGFR : Fibroblast Growth Factor Receptor) のシグナル伝達経路は臓器，器官，血管及び骨格の正常な発達に重要な役割を果たす．一方，多くの悪性腫瘍で活性型 FGFR 遺伝子の異常が報告されており，多くが癌化の主原因と考えられている。<sup>23)-25)</sup> さらに肺癌，胃癌，乳癌，胆管癌や血液がんでは FGFR の遺伝学的な変化や過剰発現が認められている。<sup>26)-34)</sup> FGFR 遺伝子異常を特徴とする癌患者の多くは，進行（切除不能または転移性）癌の徴候が持続的に発現し，最終的にあらゆる治療法に耐性を示して治癒不能となる．従って，FGFR 遺伝子異常を伴う進行癌の新規治療法が求められている．

#### 第三項 Futibatinib

Futibatinib (1) <sup>35)-37)</sup> は経口で投与できる FGFR1-4 の不可逆的で選択的な阻害剤である (図 2.1)．化学療法などの治療歴がある胆管癌患者を含む FGFR1-4 遺伝子異常進行固形癌の治療薬として，大鵬薬品工業株式会社より開発されている．Futibatinib (1) は FGFR1-4 の ATP 結合部位に結合して，FGFR を媒介するシグナル伝達経路を阻害する．結果として，FGFR1-4 遺伝子異常を持つ腫瘍細胞の増殖を抑制して細胞死を促進する．



Futibatinib 1

図 2.1 Futibatinib の化学構造

#### 第四項 Futibatinib 開発の期待

2018年、futibatinib (1) は胆管癌の治療薬として US FDA よりオーファンドラッグ（希少疾病用医薬品）指定を受け、2021年にはブレイクスルーセラピー（画期的治療薬）に指定されている。<sup>38)</sup> ブレイクスルーセラピーは、重篤あるいは命にかかわる疾患に対する治療薬の開発や審査の迅速化を目的とした指定制度である。局所また転移性胆管がんは、1次治療後の標準治療が確立されていない<sup>20)</sup>ため予後不良となりやすい疾患であり、<sup>22)</sup> futibatinib (1) の胆管癌治療薬としての開発が期待されていた。Futibatinib (1) が医薬品として承認されるためには品質の高い原薬を安定して供給できる製造方法の確立が必須である。

### 第二節 Futibatinib の製造方法の開発経緯

#### 第一項 不純物の制御

治験用 futibatinib (1) の製法検討によりシリカゲルカラムクロマトグラフィー精製と塩素系溶媒の使用を回避した製法が見出された(図 2.2)。<sup>37)</sup> この製法はメシル酸塩 2, 水酸化ナトリウム水溶液, アセトニトリルを混合した後, アシル化試薬である 3-クロロプロピオン酸クロリド (3) を滴下して中間体 4 を形成する (Step A)。後処理することなく, 水酸化ナトリウム水溶液を加えて β-脱離反応により futibatinib (1) へ変換し, 結晶化して crude futibatinib (1) を得る (Step B)。最後に活性炭を使用したエタノール/水系の再結晶による精製を経て futibatinib (1) が製造される。スケールアップの課題は解決されていたが, 製造工程パラメータ変動の不純物 (図 2.3) 影響は不明であり, futibatinib (1) を安定生産可能な製法であることは証明されていなかった。

そこで著者は QbD の考えに基づいて DoE を含む統計的手法を用いて futibatinib (1) の不純物の CPP 特定と生成モデルを解明することで DS を構築することとした。DS を構築することで高品質な futibatinib (1) を安定生産可能な製造方法であることを証明可能であるため, 本研究を実施することとした。

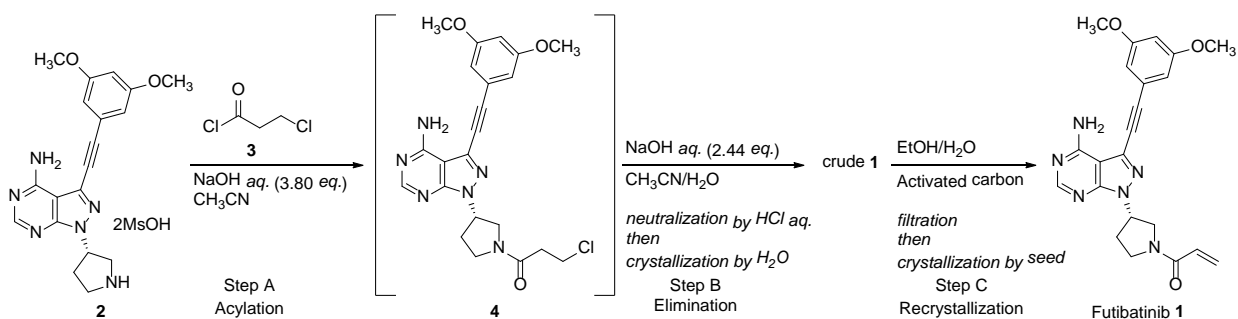


図 2.2 開発された futibatinib 合成方法

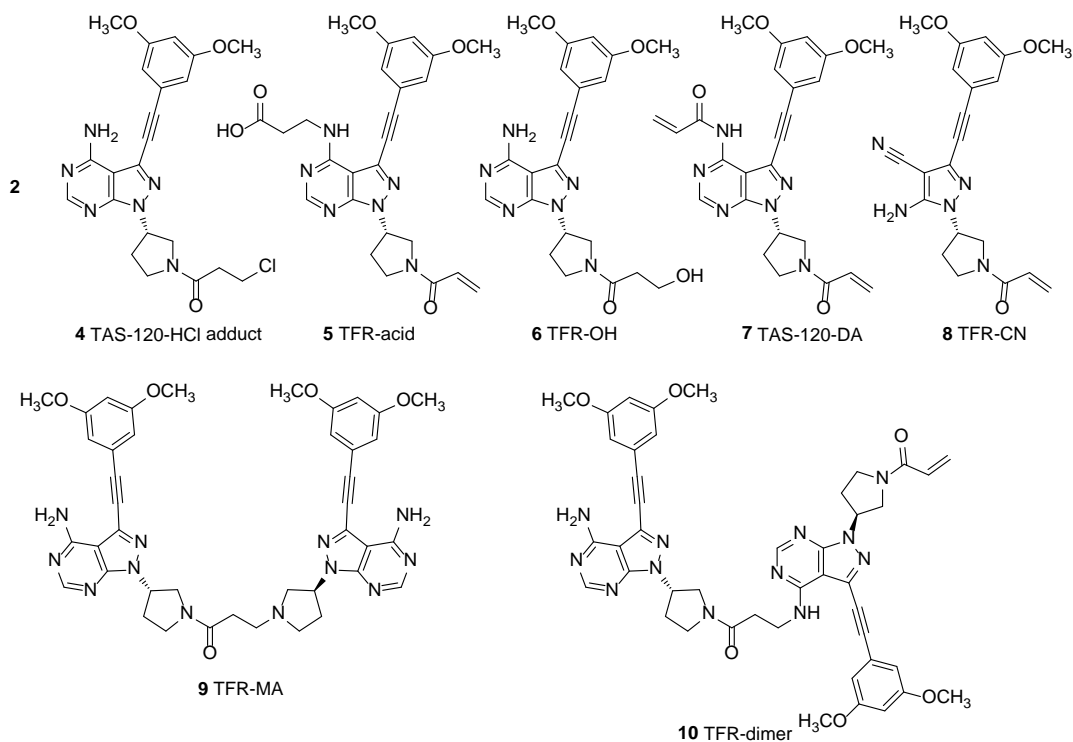


図 2.3 Futibatinib の潜在的な不純物

## 第二項 Futibatinib の粒子径制御

一般的に製剤中の原薬の溶解度や溶出速度は有効性や安全性に影響を与える。溶解度や溶出速度は原薬の粒子径や結晶多形等の物理的特性によって変化する場合が多く、さらに原薬特性は製剤化工程の流動性、混合性、成形性等の製造性に影響を与える可能性がある。<sup>10)</sup> 難溶性原薬の粒子径は製剤の溶解性や吸収性に大きく影響するため、難溶性の原薬は溶解性の高い原薬よりも厳密な粒子径の制御が要求される。つまり、原薬の製造方法の粒子径の CPP を特定し、商用生産時に CPP を制御することが重要である。

Futibatinib (1) はバイオ医薬品分類システム (BCS)<sup>39)</sup> に基づいた Class II (高浸透, 難溶性) の針状結晶化合物である。消化管の吸収性は原薬の溶解性に依存するため、futibatinib (1) の粒度分布 (PSD : Particle Size Distribution) は CQA の 1 つである。難溶性の原薬は粒子径を小さくすることに

より溶出性が改善される事例が多いため、一般的に原薬の粒子径は制御が容易な粉砕機による粉砕工程によって制御される。しかしながら、futibatinib (1) は開発初期に粉砕検討されておらず、ピボタル試験で使用された原薬は未粉砕品であった。粉砕機を使用して futibatinib (1) の粒子径を制御する場合、粉砕条件の研究開発が必要となる。さらに粉砕機を使用した粉砕工程を導入した製法を商用製法とする場合、粉砕工程を経た futibatinib (1) とピボタル試験で使用された未粉砕の futibatinib (1) の溶出性や吸収性の同等性と一貫性を示すための追加の臨床試験に数年を要することとなる。Futibatinib (1) は US FDA からブレイクスルーセラピーに指定されており、迅速承認されるためには粉砕機を用いた粉砕工程を追加することなく、晶析工程と乾燥工程で所望の粒子径の futibatinib (1) を製造可能な方法を見出し、安定生産可能であることを証明する必要があった。

そこで著者は futibatinib (1) の粒子径を結晶化工程または乾燥工程で制御可能であることを証明することを目的として、QbD の考え方に基づいて DoE を含む統計的手法を用いて粒子径の CPP 特定と DS を構築することとした。

## 第三章 Futibatinib 不純物のデザインスペース構築

### 第一節 不純物の CPP 特定

Futibatinib (1) は表 3-1 に示す製造手順と暫定的な工程管理水準に従って合成される。不純物生成に影響を及ぼす可能性のある重要パラメータ (以下 p-CPP, potential critical process parameter) を絞り込むため、ICH Q9<sup>40)</sup> に従って Failure Mode and Effect Analysis (以下, FMEA)<sup>41)</sup> を用いて futibatinib (1) の製造方法の初期リスクアセスメント、リスクランキングとリスクフィルタリングを実施した。FMEA の重大性、確率、検出性の積として算出される Risk Priority Number (以下, RPN)<sup>42)</sup> の定義を表 3-2 と表 3-3 に示す。High と分類されたパラメータは、CQA 管理のためさらなる調査が必要であり、low と negligible に分類されるリスクは十分許容できると定義した。Moderate は現在の知見に基づいて許容できるリスクと考えられるが、必要に応じて検討すべき分類とした。これらの定義に従って、過去の知見を含めて futibatinib (1) 製法の FMEA を実施した (表 3-4)。Operation No.7 のアシル化剤 (3) の当量、Operation No.1 と No.2 のアセトニトリルと水の量、Operation No.1~No.16 の攪拌速度、crude futibatinib (1) を再結晶する時の貧溶媒 (水) の量、Operation No.20 の乾燥温度と乾燥時間は、初期の製法検討段階で一変量実験 (以下 OFAT, one-factor-at-a-time)<sup>43)</sup> で検討されており、不純物に影響を与えないことが判明していた。そのため、重大性 (S) は低くスコアリングした。Operation No.12 の  $\beta$ -脱離反応時の反応時間変動も OFAT で開発初期に検討されており、不純物 6 と 10 が ICH Q3A の安全性試験の閾値である 0.15% を大きく超えて変動することが判明していたため 5 とスコアリングして CPP と分類した。同様に pH も不純物 9 の変動に寄与する CPP であることが確認されていたため 5 とスコアリングした。Operation No.4 の NaOH 量は 2 の中和とアシル化のための弱塩基性条件調整に使用されるため、この変動は不純物の生成に重大な影響はなく中程度の影響と判断して 3 とスコアリングした。潜在的な不純物は pH が高い条件下で生成することが推定されるため、アシル化反応のための強塩基性条件調整に使用される Operation No.9 の NaOH 量のスコアは 5 とした。原材料類の希釈や洗浄操作に使用する溶媒量は不純物影響が小さいと考え、Operation No.5, No.10 及び No.19 の水の量並びに Operation No.7 のアセトニトリル量のスコアは低くした。アレニウスの式からもわかる通り、不純物の反応速度は温度と時間の影響を強く受ける潜在的なリスクが高い。そこで検討されていない Operation No.6~No.8, No.9~No.10, No.11~No.12, No.13~No.14, No.16~No.17 の温度と Operation No.7, No.8, No.14, No.15 の時間のパラメータは 5 とスコアリングした。その結果、Step A の試薬・溶媒の仕込量や攪拌速度はリスクの低いパラメータとなった。RPN が 15 以上、すなわちリスクランクが high または moderate となったプロセスパラメータは、internal temp\_1, drop time\_1, stirring time\_1, NaOH, internal temp\_4, stirring time\_3, internal temp\_5, drop time\_2, internal temp\_6 であり、これらを p-CPP として抽出した。また、RPN が 15 未満であっても重大性 (S) が 5 とスコアリングしたプロセスパラメータは、厚生労働省と ICH の見解<sup>44)</sup> 「品質特性のクリティカリティは主に危害の重大性に基づくものであり、リスクマネジメントの結果によって変わるものではない」に従って p-CPP と分類した。

表 3-1 Steps A and B の製造手順

Step	Operation No.	Operation	Tentative Control Range		Material
			Temperature	Time	
A	1	Input of materials	- <i>b</i>	- <i>b</i>	CH <sub>3</sub> CN
	2	Input of materials	- <i>b</i>	- <i>b</i>	H <sub>2</sub> O
	3	Input of materials	- <i>b</i>	- <i>b</i>	<b>2</b>
	4	Input of materials	- <i>b</i>	- <i>b</i>	NaOH <i>aq.</i>
	5	Rinse of input tank <sup><i>a</i></sup>	- <i>b</i>	- <i>b</i>	H <sub>2</sub> O
	6	Temperature control	20 to 30 °C	- <i>b</i>	- <i>b</i>
	7	Dropwise addition of <b>3</b> /CH <sub>3</sub> CN solution	20 to 30 °C	NMT <sup><i>c</i></sup> 10 min	<b>3</b> , CH <sub>3</sub> CN
	8	Reaction (acylation)	20 to 30 °C	1.5 h	- <i>b</i>
B	9	Input of material	20 to 30 °C	- <i>b</i>	NaOH <i>aq.</i>
	10	Rinse of input tank <sup><i>a</i></sup>	20 to 30 °C	- <i>b</i>	H <sub>2</sub> O
	11	Temperature control for reaction	25 to 35 °C	- <i>b</i>	- <i>b</i>
	12	Reaction (elimination)	25 to 35 °C	3 h	- <i>b</i>
	13	Neutralization	25 to 35 °C	- <i>b</i>	6M HCl <sup><i>f</i></sup>
	14	Stirring (solution)	25 to 35 °C	16 h <sup><i>d</i></sup>	- <i>b</i>
	15	Material input (crystallization)	25 to 35 °C	NLT <sup><i>e</i></sup> 2 h	H <sub>2</sub> O
	16	Temperature control	20 to 30 °C	- <i>b</i>	- <i>b</i>
	17	Stirring slurry	20 to 30 °C	1 h	- <i>b</i>
	18	Filtration	- <i>b</i>	- <i>b</i>	- <i>b</i>
	19	Rinse of tank	- <i>b</i>	- <i>b</i>	H <sub>2</sub> O
	20	Agitating drying (crude futibatini <b>b</b> )	NMT <sup><i>c</i></sup> 60 °C	4 h	- <i>b</i>

*a*: rinsing solution charged to the reaction mixture, *b*: not applicable, *c*: not more than, *d*: overnight stirring owing to the operational restrictions of commercial production, *e*: not less than, *f*: tentative control range of pH is 5 to 7



表 3-2 リスクスコアの定義

Score	Severity (S)	Probability (P)	Detectability (D)
1	Predicted to have negligible impact on quality.	Since control is very easy and the operation range can be sufficiently controlled, the occurrence of deviation is very rare.	A parameter can be monitored continuously in the process and is controlled in the manufacturing process.
2	Predicted to cause minor impact on quality.	Since control is easy and the operation range can be controlled, deviation occurs rarely.	A parameter can be monitored discontinuously in the process and is controlled in the manufacturing process.
3	Predicted to cause moderate impact on quality.	Since control is moderate, deviation occurs at moderate frequency.	A parameter can be monitored continuously in the process but is not controlled in the manufacturing process.
4	Predicted to cause significant impact on quality.	Since control is difficult, deviation occurs often.	A parameter can be monitored discontinuously in the process but is not controlled in the manufacturing process.
5	Predicted to cause critical impact on quality or unknown.	Since control is very difficult, deviation occurs frequently.	A parameter cannot be monitored in the process.

表 3-3 FMEA のリスクランクと RPN の定義

RPN	Definition	Risk Rank
RPN < 10	Risk is sufficiently acceptable. There is almost no risk.	Negligible
10 ≤ RPN < 15	Risk is broadly acceptable. No further investigation is needed.	Low
15 ≤ RPN < 20	Risk is acceptable based on batch process history. Further investigation may be needed to reduce the risk.	Moderate
20 ≤ RPN	Risk is unacceptable. Further investigation is needed to reduce the risk.	High

表 3-4 製法検討情報と考察に基づいた FMEA

Step	Operation No.	Process Parameter	Abbreviation	Score			RPN	Risk Rank	Impact	Impurities Affected
				S	P	D				
A	1	Amount of CH <sub>3</sub> CN	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	2	Amount of H <sub>2</sub> O	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	4	Amount of NaOH aq.	- <sup>a</sup>	3	1	2	6	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	1 to 16	Stirring speed	- <sup>a</sup>	2	1	1	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	5	Amount of purified H <sub>2</sub> O (rinse of first NaOH charge)	- <sup>a</sup>	1	1	2	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	6 to 8	Temperature	internal temp_1	5	3	1	15	Moderate	p-CPP	unknown
	7	Dropping time	drop time_1	5	3	1	15	Moderate	p-CPP	unknown
	7	Amount of <b>3</b>	- <sup>a</sup>	2	2	2	8	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	7	Amount of CH <sub>3</sub> CN	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	8	Reaction time (acylation)	stirring time_1	5	3	1	15	Moderate	p-CPP	unknown
9 to 10	Temperature	internal temp_2	5	2	1	10	Low	p-CPP	unknown	
9	Amount of NaOH aq.	NaOH	5	2	2	20	High	p-CPP	unknown	
10	Amount of H <sub>2</sub> O (rinse of second NaOH charge)	- <sup>a</sup>	1	1	2	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
11 to 12	Temperature	internal temp_3	5	2	1	10	Low	p-CPP	unknown	
12	Reaction time (elimination)	stirring time_2	5	2	1	10	Low	CPP	<b>6, 10</b>	
13 to 14	Temperature	internal temp_4	5	3	1	15	Moderate	p-CPP	unknown	
13	pH adjustment	pH	5	1	2	10	Low	CPP	<b>9</b>	
14	Stirring time	stirring time_3	5	3	1	15	Moderate	p-CPP	unknown	
15	Temperature	internal temp_5	5	2	1	10	Low	p-CPP	unknown	
15	Drop time	drop time_2	5	3	1	15	Moderate	p-CPP	unknown	
15	Amount of H <sub>2</sub> O (anti-solvent)	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
16 to 17	Temperature	internal temp_6	5	2	1	10	Low	p-CPP	unknown	
19	Amount of H <sub>2</sub> O (cake wash)	- <sup>a</sup>	1	1	1	1	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
20	Drying temperature	- <sup>a</sup>	2	3	1	6	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
20	Drying time	- <sup>a</sup>	2	3	1	6	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	

a: not applicable

次に CPP を特定するための実験を計画した。この実験の目的は CPP の特定であるため、交互作用を特定できる実験計画を選択する必要はない。しかし、主効果を特定するため resolution III の実験計画は避け、resolution IV 以上の計画を採用すべきであると考え、resolution と p-CPP 数を考慮して  $L_{12}$  直交表を用いた Plackett-Burman 計画<sup>45)</sup> を選択した。Plackett-Burman 計画では 2 因子間交互作用の平方和は直交表の各列に等しく出現する。したがって、主効果の特定を目的とした実験では、2 因子交互作用が存在しても大きな影響は受けないが、2 因子交互作用列  $X_iX_j$  がすべての主効果列  $X_k$  ( $k \neq i$  または  $j$ ) となるため、2 因子間交互作用が大きい場合に、誤差平方和が大きくなり検出力が低下する。実験計画と統計解析には統計解析ソフトウェアである SAS Institute, Inc. の JMP® 13.2.0 を使用した。Plackett-Burman 計画による本実験計画の詳細を表 3-5 に示す。純粹誤差と曲線効果を確認するために中心となる 2 回を含む合計 14 回の実験から構成されている。各パラメータの検討水準は、治験用原薬製造時の暫定的な管理幅の外側に設定した。実験の順番は無作為化し、それぞれ step A, B, そして C の実験を実施して futibatinib (1) を得た。Crude futibatinib (1) と futibatinib (1) の不純物量を高速液体クロマトグラフィー（以下 HPLC, High Performance Liquid Chromatography）解析の面積百分率法により評価した。

表 3-5 不純物 CPP のスクリーニング DoE

Design of Experiment			Plackett–Burman: $L_{12}$		
Resolution			III		
Number of Factors			11		
Number of Center Points			2		
Number of Experimental Runs			14 (Including Center Points)		
Operation No.	Process Parameter		Levels		
			-1	0	+1
6 to 8	internal temp_1	(°C)	17.5	25	32.5
7	drop time_1	(min)	5	10	15
8	stirring time_1	(h)	1	1.5	2
9 to 10	internal temp_2	(°C)	17.5	25	32.5
9	NaOH	(eq.)	2.28	2.44	2.6
11 to 12	internal temp_3	(°C)	22.5	30	37.5
13 to 14	internal temp_4	(°C)	22.5	30	37.5
14	stirring time_3	(h)	13	16	19
15	internal temp_5	(°C)	22.5	30	37.5
15	drop time_2	(h)	1	2	3
16 to 17	internal temp_6	(°C)	17.5	25	32.5

Futibatinib (1) 不純物の生成比を確認した結果、ICH Q3A の構造決定閾値である 0.10%<sup>46)</sup>を超える不純物は 6, 9 そして 10 の 3 つであった（表 3-6）。その他の不純物は最大でも 0.06%であった。CPP 特定の基準は ICH Q11 Q&A に ICH Q3A の構造決定の閾値と定義されているため、解析と評価は不純物 6, 9, そして 10 に焦点を当てた。Futibatinib (1) 中の不純物 6, 9 そして 10 の生成比は極めて微量か未検出（以下、ND : Not Detected）であった。データの偏りが大きいと分散分析や回帰分析等のデータを適切に解析できなくなるリスクがある。そこで、エッジデータが少ない crude futibatinib (1) 中の不純物 6, 9 そして 10 の組成比変化を追跡した（表 3-7）。

表 3-6 スクリーニング DoE 実験により取得した futibatinib (1) 中の不純物組成比

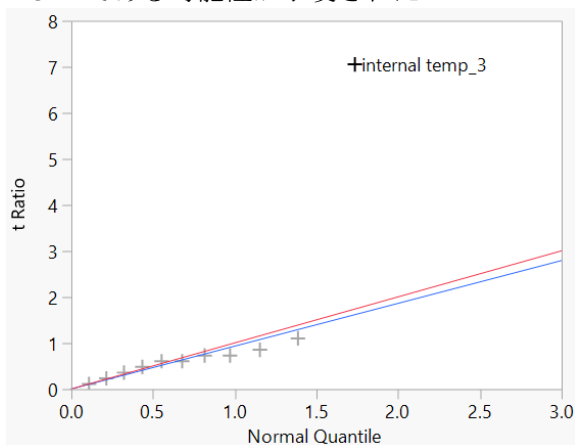
No.	Level <sup>a</sup>	4	5	6	7	8	9	10
1	+----+--+-++	ND	0.02	0.02	ND	ND	ND	ND
2	++----+--+-++	ND	0.03	0.07	ND	0.03	ND	0.09
3	--+---+--+++-	0.05	0.04	0.10	ND	0.02	ND	0.20
4	+++++++	ND	0.03	0.13	ND	0.02	0.20	0.15
5	-++++--+-++	ND	0.03	0.01	ND	ND	ND	ND
6	-+---+--++--	ND	0.03	0.02	ND	0.03	ND	ND
7	0000000000	0.06	0.03	0.03	ND	0.03	ND	0.04
8	---+---+--+++	0.04	0.02	0.02	ND	0.01	ND	ND
9	+++---+--+-	ND	0.03	0.02	ND	0.02	0.04	ND
10	+---++--+-	ND	0.03	0.01	ND	0.02	0.06	ND
11	0000000000	0.06	0.03	0.04	ND	0.03	ND	0.04
12	---+---+--++	0.02	0.04	0.08	ND	0.04	ND	0.23
13	-+---+--+-	ND	0.04	0.09	ND	0.03	ND	0.08
14	+---+--++--	ND	0.03	0.09	ND	0.04	ND	0.11

<sup>a</sup>: From left to right: Internal Temp\_1, Drop Time\_1, Stirring Time\_1 (acylation), Internal Temp\_2, NaOH (elimination), Internal Temp\_3 (elimination), Internal Temp\_4 (pH adjustment), Stirring Time\_3, Internal Temp\_5, Drop Time\_2, Internal Temp\_6 (stir-out).

表 3-7 Crude futibatinib と futibatinib (1, 再結晶後) の不純物 6, 9 と 10 の組成比

No.	6 (%)		9 (%)		10 (%)	
	Crude (1)	1	Crude (1)	1	Crude (1)	1
1	0.03	0.02	0.07	ND	0.04	ND
2	0.20	0.07	0.09	ND	0.38	0.09
3	0.18	0.10	0.03	ND	0.68	0.20
4	0.30	0.13	0.82	0.20	0.66	0.15
5	0.02	0.01	ND	ND	0.03	ND
6	0.04	0.02	ND	ND	0.08	ND
7	0.07	0.03	ND	ND	0.12	0.04
8	0.03	0.02	ND	ND	0.05	ND
9	0.04	0.02	0.22	0.04	0.05	ND
10	0.02	0.01	0.29	0.06	0.06	ND
11	0.08	0.04	0.06	ND	0.18	0.04
12	0.20	0.08	0.05	ND	0.96	0.23
13	0.21	0.09	ND	ND	0.34	0.08
14	0.23	0.09	0.11	ND	0.46	0.11

最初に不純物 6 のデータを解析した。半正規プロット（図 3-4）と分散分析（表 3-8）の結果から internal temp\_3 が不純物 6 の CPP である可能性が示唆された。



The slope of the blue line equals Lenth's pseudo standard error.

The slope of the red line is 1. The plots are "+".

図 3-4 不純物 6 の Half normal プロット（変数変換なし）

表 3-8 不純物 6 の分散分析（変数変換なし，プーリング前）

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.11770000	11	0.010700	4.9357	0.1804
internal temp_3	0.10830000	1	0.108300	49.9572	0.0194
internal temp_4	0.00270000	1	0.002700	1.2455	0.3805
internal temp_1	0.00163333	1	0.001633	0.7534	0.4769
stirring time_1	0.00120000	1	0.001200	0.5535	0.5344
internal temp_2	0.00120000	1	0.001200	0.5535	0.5344
NaOH	0.00083333	1	0.000833	0.3844	0.5985
stirring time_3	0.00083333	1	0.000833	0.3844	0.5985
drop time_2	0.00053333	1	0.000533	0.2460	0.6690
internal temp_6	0.00030000	1	0.000300	0.1384	0.7456
internal temp_5	0.00013333	1	0.000133	0.0615	0.8273
drop time_1	0.00003333	1	0.000033	0.0154	0.9127
Residual	0.00433571	2	0.002168	-	-
Lack of fit	0.00428571	1	0.004286	85.7143	0.0685
Pure error	0.00005000	1	0.000050	-	-
Corrected total	0.12203571	13	-	-	-
<b>Summary of fit</b>					

$R^2 = 0.964$ , Adjusted  $R^2 = 0.769$ , Root mean square error = 0.04656

しかし、誤差自由度が 2 と小さいため第二種の過誤を考慮する必要がある。さらに科学的有意性を検証する場合、p 値のみで議論することは適切ではないため、統計診断と有機化学視点による考察を含めて判断する。不純物変動の影響が小さい工程パラメータを誤差と見なすプーリングにより誤差分散を小さくすることで検出力を向上し、CPP かどうかをあらためて評価する。ただし、プーリン

グによる第一種の過誤に留意すべきであり、これは本章第二節で検証する。この DoE はスクリーニング目的のため、有意水準を 0.05 としてプーリングした (表 3-9)。

表 3-9 不純物 6 の分散分析 (変数変換なし, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.10830000	1	0.108300	94.6147	< 0.0001
internal temp_3	0.10830000	1	0.108300	94.6147	< 0.0001
Residual	0.01373571	12	0.001145	-	-
Lack of fit	0.00428571	1	0.004286	4.9887	0.0472
Pure error	0.00945000	1	0.000859	-	-
Corrected total	0.12203571	13	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.887$ , Adjusted  $R^2 = 0.878$ , Root mean square error = 0.03383

その結果、自由度調整済み  $R^2$  は 0.878 であり、internal temp\_3 だけが有意であった。あてはまりの悪さ (以下 LOF, Lack of Fit) 検定の結果は有意であった。

LOF 検定の解説

LOF 検定は予測モデル残差と純粋誤差の F 検定であるため、モデルの適合度を確認するための絶対的指標ではない。純粋誤差が小さくなると LOF が有意になりやすいため、LOF 検定の p 値のみでモデルのあてはまりを考慮することは適切ではない。例えば、図 3-5 の左の例では Y1 モデルの LOF の p 値は < 0.0001 と有意水準 5% で有意であり、グラフからもモデルのあてはまりが悪いことがわかるため曲線効果である二次係数を考慮することが明らかである。中央の例では、Y2 モデルの LOF の p 値は 0.0624 と有意水準 5% で有意ではないが、モデルのあてはまりが良いとは言えず、グラフからも二次係数を考慮することが好ましい。右の例では、Y3 モデルの LOF の p 値は 0.0054 と有意水準 5% で有意だが、モデルのあてはまりが悪いと判断することは適切ではなく、二次係数も考慮する必要はない。この例では純粋誤差が小さく相対的に F 値が大きくなったため LOF 検定が有意となった。LOF 検定はモデルのあてはまりの悪さを示す良い統計指標であるが、LOF の p 値のみではなく常に残差プロット等の他の統計指標を含めた包括的な統計診断が重要である。

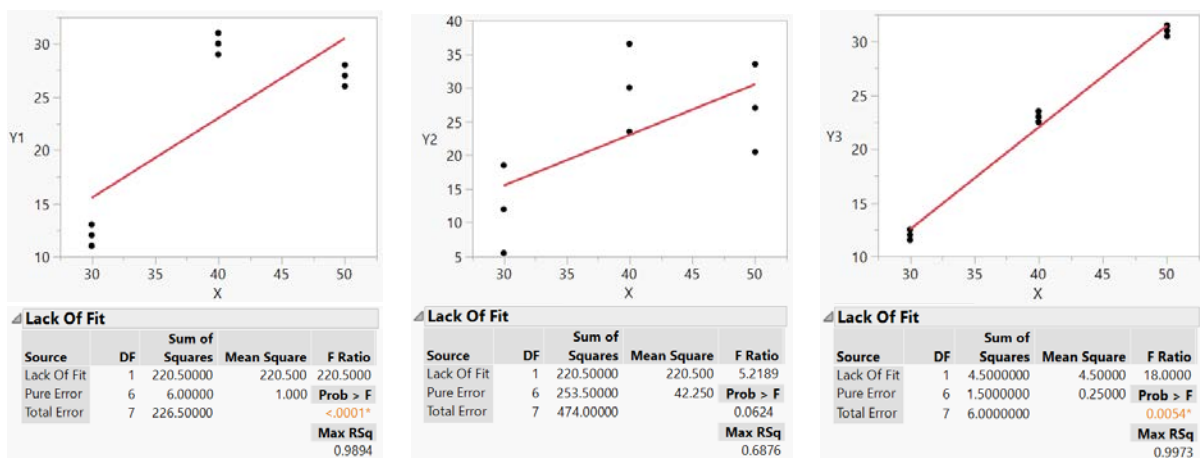


図 3-5 LOF 検定の事例

純粹本実験の純粹誤差は小さい値ではないが、残差プロット、予測値と実測値のプロットにおいて曲線傾向が確認されたことから（図 3-6、図 3-7）、モデルのあてはまりが悪いことが示唆された。データを変数変換して解析すればより適切に CPP を抽出できる可能性があるため、さらなる統計解析を実施した。

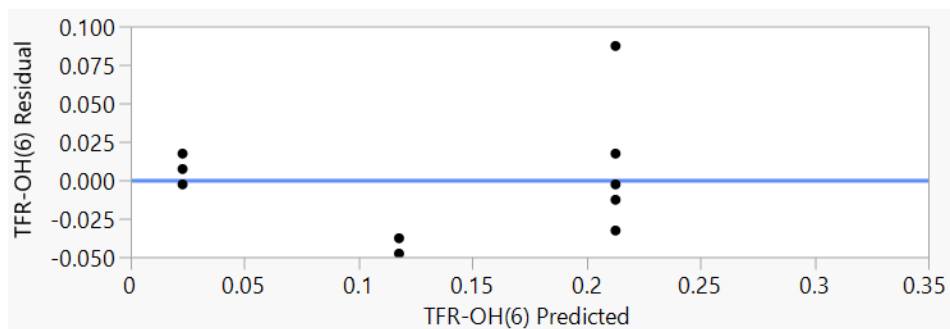


図 3-6 不純物 6 の残差プロット（変数変換なし，プーリング後）

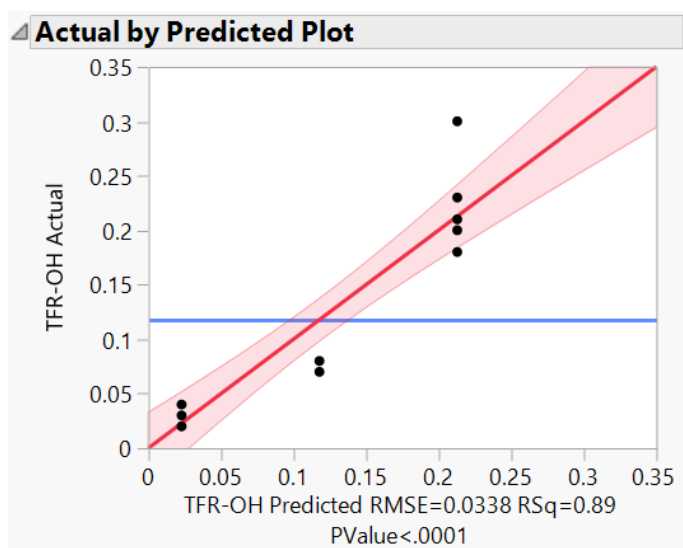


図 3-7 不純物 6 の予測値と実測値のプロット（変数変換なし，プーリング後）

不純物 6 のデータを自然対数変換後に解析した半正規プロットと分散分析の結果でも internal temp\_3 が生成に最も寄与していることがわかった（図 3-8，表 3-10）。

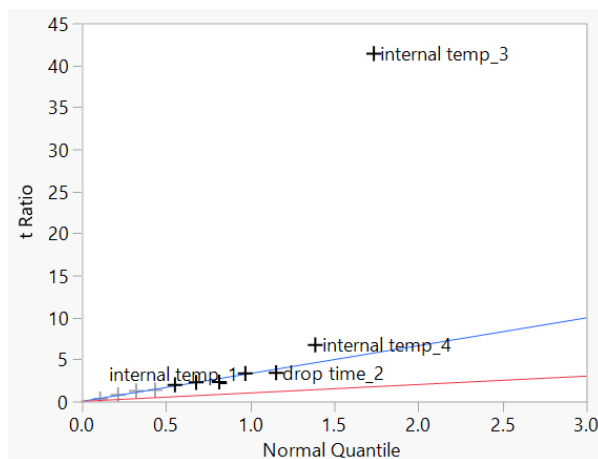


図 3-8 不純物 6 の Half-normal plot (自然対数変換, プーリング前)

表 3-10 不純物 6 の分散分析 (自然対数変換, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	12.857535	11	1.16887	164.4858	0.0061
internal temp_3	12.214838	1	12.21484	1718.902	0.0006
internal temp_4	0.329376	1	0.32938	46.3506	0.0209
drop time_2	0.086711	1	0.08671	12.2021	0.0731
internal temp_2	0.082538	1	0.08254	11.6150	0.0764
drop time_1	0.040761	1	0.04076	5.7360	0.1389
stirring time_1	0.039321	1	0.03932	5.5334	0.1430
internal temp_1	0.030180	1	0.03018	4.2470	0.1755
NaOH	0.014690	1	0.01469	2.0672	0.2871
stirring time_3	0.012745	1	0.01275	1.7935	0.3124
internal temp_6	0.005338	1	0.00534	0.7512	0.4775
internal temp_5	0.001037	1	0.00104	0.1459	0.7392
Residual	0.014212	2	0.00711	-	-
Lack of fit	0.005297	1	0.00530	0.5942	0.5819
Pure error	0.008915	1	0.00892	-	-
Corrected total	12.871747	13	-	-	-
<b>Summary of fit</b>					

$R^2 = 0.999$ , Adjusted  $R^2 = 0.993$ , Root mean square error = 0.08430

さらにプーリング後の分散分析で有意となった因子は internal temp\_3 と internal temp\_4 であった (表 3-11). LOF 検定は有意水準 5% で有意とならず, 自由度調整済み  $R^2$  は 0.970 であった. 残差プロットや予測値と実測値のプロットからも曲線傾向が確認されなかったため, あてはまりが良いモデルであることが示唆されていた (図 3-9, 図 3-10). 以上の結果から, 自然対数変換後の解析モデルが適切であると結論付けた. Internal temp\_4 も統計的に有意であったが, ICH Q3A の安全性確認の閾値である 0.15% を超える変動は確認されなかったため, 不純物 6 の生成と残留への影響が小さく CPP ではないと判断した (図 3-11).



表 3-11 不純物 6 の分散分析 (自然対数変換, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	12.544214	2	6.27211	210.6449	< 0.0001
internal temp_3	12.214838	1	12.21484	410.2280	< 0.0001
internal temp_4	0.329376	1	0.32938	11.0619	0.0068
Residual	0.327533	11	0.02978	-	-
Lack of fit	0.056583	2	0.02829	0.9398	0.4259
Pure error	0.270950	9	0.03011	-	-
Corrected total	12.871747	13	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.975$ , Adjusted  $R^2 = 0.970$ , Root mean square error = 0.17256

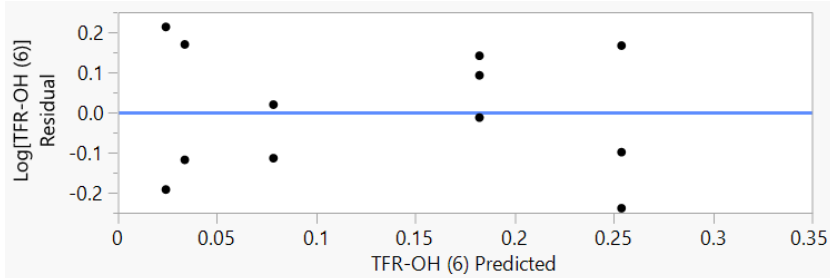


図 3-9 不純物 6 の残差プロット (自然対数変換, プーリング後)

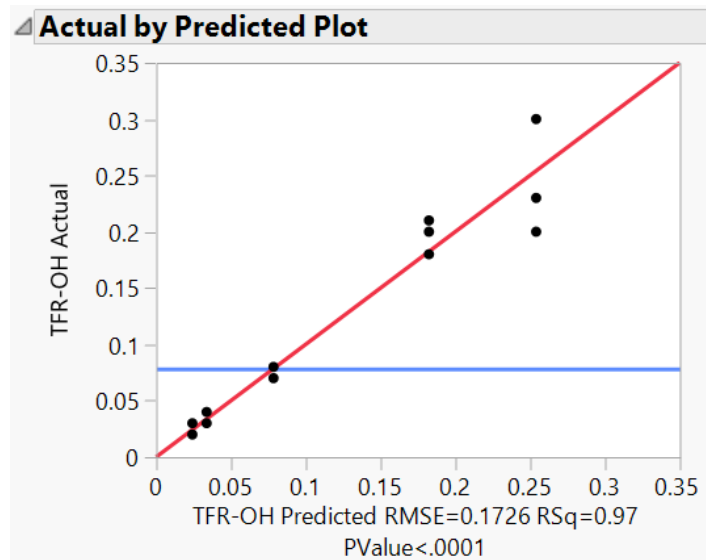


図 3-10 不純物 6 の予測値と実測値のプロット (自然対数変換, プーリング後)

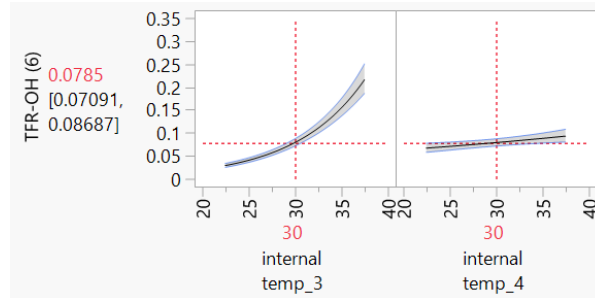


図 3-11 不純物 6 の予測プロファイル（自然対数変換，プーリング後）

ここで，futibatinib (1) は水酸化ナトリウム水溶液中で合成されるため，不純物 6 の生成機構は水酸化物イオンの 1,4-付加反応であると考えた（図 3-12）．internal temp\_3 は step B の  $\beta$  脱離反応の反応温度であるため，不純物 6 の CPP は internal temp\_3 として妥当である．

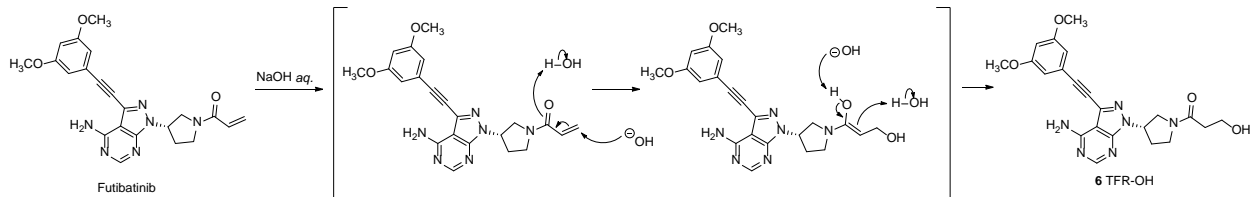


図 3-12 不純物 6 の生成機構

次に不純物 9 のデータを解析した．半正規プロット（図 3-13）から生成に寄与するパラメータは internal temp\_1, drop time\_1 と NaOH であると判明したが，分散分析で有意となるパラメータはなかった（表 3-12）．検出力の向上のため，有意水準 0.05 でプーリングしてさらに解析した．

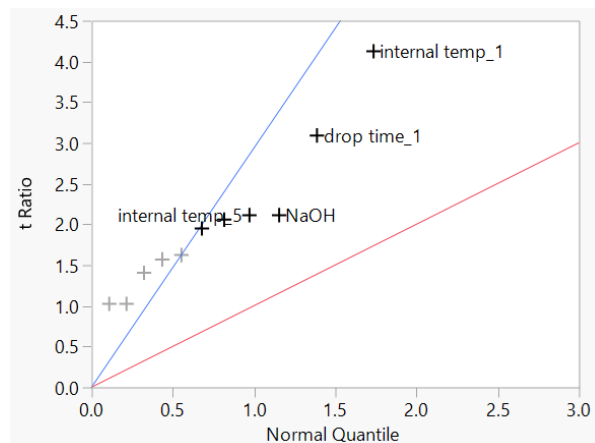


図 3-13 不純物 9 の Half normal プロット（変数変換なし，プーリング前）

表 3-12 不純物 9 の分散分析 (変数変換なし, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.59820000	11	0.054382	4.8247	0.1841
internal temp_1	0.19253333	1	0.192533	17.0815	0.0539
drop time_1	0.10830000	1	0.108300	9.6084	0.0902
NaOH	0.05070000	1	0.050700	4.4981	0.1680
internal temp_5	0.05070000	1	0.050700	4.4981	0.1680
stirring time_1	0.04813333	1	0.048133	4.2704	0.1747
internal temp_4	0.04320000	1	0.043200	3.8327	0.1894
drop time_2	0.03000000	1	0.030000	2.6616	0.2444
internal temp_2	0.02803333	1	0.028033	2.4871	0.2555
internal temp_3	0.02253333	1	0.022533	1.9992	0.2930
stirring time_3	0.01203333	1	0.012033	1.0676	0.4101
internal temp_6	0.01203333	1	0.012033	1.0676	0.4101
Residual	0.02254286	2	0.022543	-	-
Lack of fit	0.02074286	1	0.020743	11.5238	0.1824
Pure error	0.00180000	1	0.001800	-	-
Corrected total	0.62074286	13	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.964$ , Adjusted  $R^2 = 0.764$ , Root mean square error = 0.10617

プーリング後の分散分析で有意となったパラメータは internal temp\_1 のみであった(表 3-13). LOF 検定は有意ではなかったが自由度調整済み  $R^2$  は 0.253 と小さい値を示した. また, 本実験の純粹誤差が小さくないことに加え, 残差プロットと予測値と実測値のプロットから曲線傾向が確認されたことから(図 3-14, 図 3-15), 本モデルはあてはまりが悪いことが示唆された. そこで, データを自然対数変換後に統計解析した.

表 3-13 不純物 9 の分散分析 (変数変換なし, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.19253333	1	0.192533	5.3955	0.0386
internal temp_1	0.19253333	1	0.192533	5.3955	0.0386
Residual	0.42820952	12	0.035684	-	-
Lack of fit	0.02074286	1	0.020743	0.5600	0.4700
Pure error	0.40746667	11	0.037042	-	-
Corrected total	0.62074286	13	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.310$ , Adjusted  $R^2 = 0.253$ , Root mean square error = 0.18890

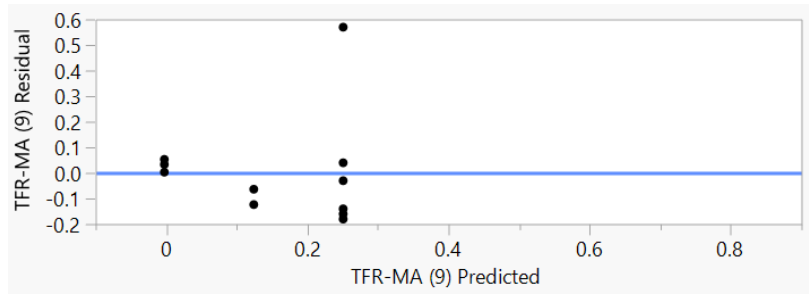


図 3-14 不純物 9 の残差プロット（変数変換なし，プーリング後）

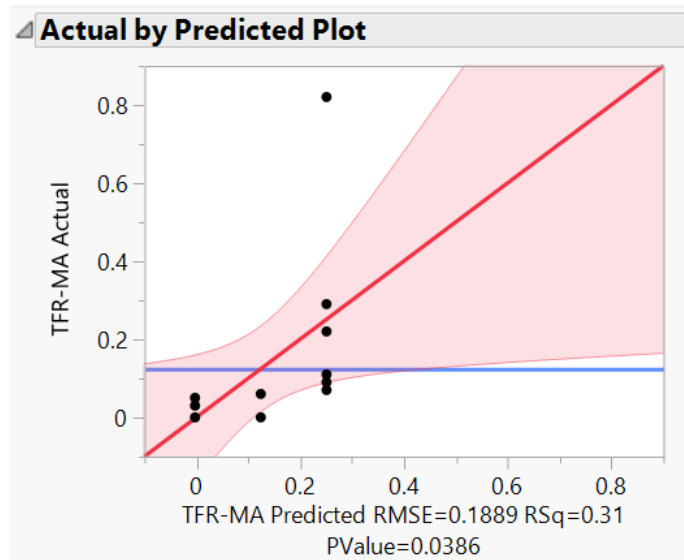


図 3-15 不純物 9 の予測値と実測値のプロット（変数変換なし，プーリング後）

Crude futibatinib (1) 中の不純物 9 のデータを自然対数後に解析した．半正規プロットと分散分析から internal temp\_1 が生成に最も寄与していることが判明した（図 3-16，表 3-14）．

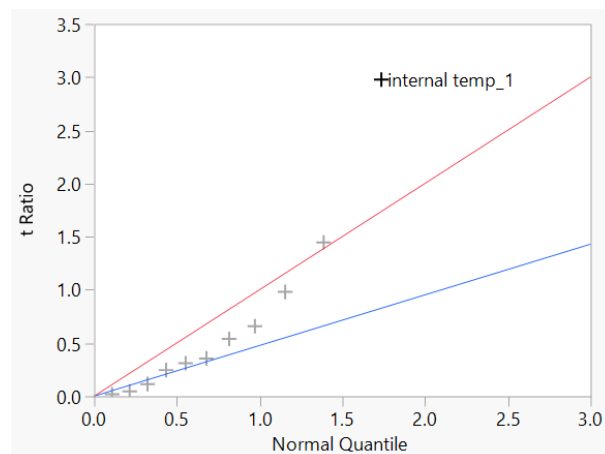


図 3-16 不純物 9 の Half-normal プロット（自然対数変換，プーリング前）

表 3-14 不純物 9 の分散分析 (自然対数変換, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	69.773762	11	6.34307	1.1851	0.5439
internal temp_1	47.634210	1	47.63421	8.8996	0.0964
drop time_1	11.285462	1	11.28546	2.1085	0.2836
internal temp_3	5.215078	1	5.21508	0.9743	0.4277
internal temp_2	2.366818	1	2.36682	0.4422	0.5745
stirring time_1	1.595407	1	1.59541	0.2981	0.6399
internal temp_4	0.698926	1	0.69893	0.1306	0.7524
NaOH	0.539578	1	0.53958	0.1008	0.7809
internal temp_5	0.341910	1	0.34191	0.0639	0.8241
drop time_2	0.078478	1	0.07848	0.0147	0.9147
stirring time_3	0.014412	1	0.01441	0.0027	0.9633
internal temp_6	0.003483	1	0.00348	0.0007	0.9820
Residual	10.704757	2	5.35238	-	-
Lack of fit	2.322929	1	2.32293	0.2771	0.6915
Pure error	8.381829	1	8.38183	-	-
Corrected total	80.478519	13	-	-	-
Summary of fit					

$R^2 = 0.867$ , Adjusted  $R^2 = 0.135$ , Root mean square error = 2.31352

次に有意水準 5% でプーリングして有意となった因子は internal temp\_1 と drop time\_1 であった (表 3-15)。LOF 検定は有意とならなかったが、自由度調整済み  $R^2$  は 0.683 で大きくなかった。残差プロット、予測値と実測値のプロットから、本モデルはあてはまりが悪い傾向が確認されたが変数変換なしのモデルよりは改善された (図 3-17, 図 3-18)。これらの統計診断から自然対数変換後の解析モデルの方が適切であると結論付けた。

表 3-15 不純物 9 の分散分析 (自然対数変換, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	58.919672	2	29.4598	15.0313	0.0007
internal temp_1	47.634210	1	47.6342	24.3045	0.0004
drop time_1	11.285462	1	11.2855	5.7582	0.0353
Residual	21.558847	11	1.9599	-	-
Lack of fit	3.067535	2	1.5338	0.7465	0.5012
Pure error	18.491312	9	2.0546	-	-
Corrected total	80.478519	13	-	-	-
Summary of fit					

$R^2 = 0.732$ , Adjusted  $R^2 = 0.683$ , Root mean square error = 1.39996

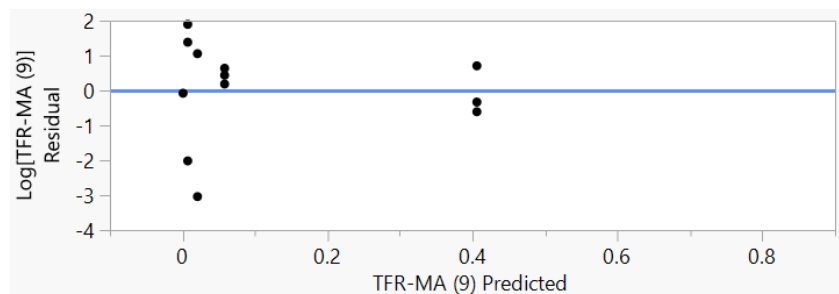


図 3-17 不純物 9 の残差プロット（自然対数変換，プーリング後）

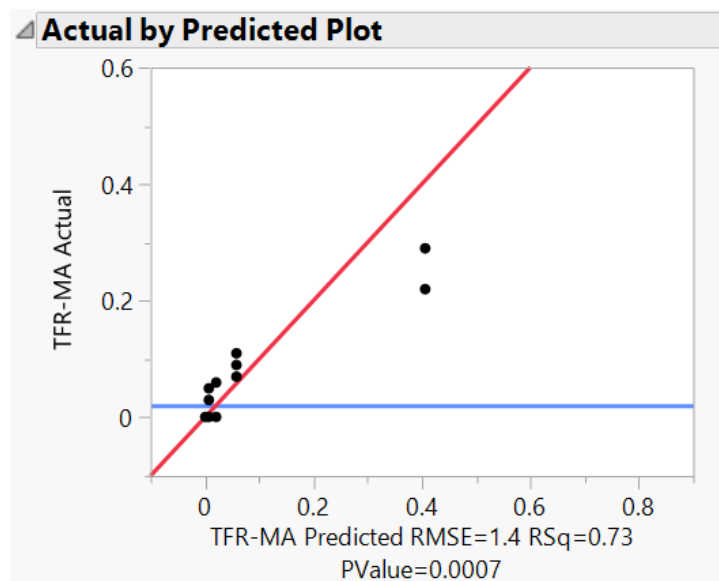


図 3-18 不純物 9 の予測値と実測値のプロット（自然対数変換，プーリング後）

自由度調整済み  $R^2$  の値が高くないことに加え，予測プロファイル（図 3-19）の推定誤差が大きいことを考慮すると，不純物 9 の生成と残留モデルには二因子間交互作用が存在すると考えられる．不純物 9 の生成経路は 2 つあると考察した（図 3-20）．Path A は原料 2 と中間体 4 の  $S_N2$  反応で生成する経路であり，Path B は原料 2 が futibatinib (1) に 1,4 付加反応して生成する経路である．不純物 9 の生成がアシル化の反応温度である `internal temp_1` に依存する点は妥当である．さらに中間体 4 はアシル化剤 3 の滴下直後に生成するため，アシル化剤 3 の滴下時間である `drop time_1` が長いほど原料 2，中間体 4，そして futibatinib (1) と系中で接触する機会が増える．統計解析結果と不純物 9 の生成機構から `internal temp_1` と `drop time_1` が CPP であると判断した．二因子間交互作用の存在が示唆されたが，Plackett-Burman 計画により取得したデータの統計解析では交互作用の存在を証明できないことが課題であり，その対応は第二節で述べる．

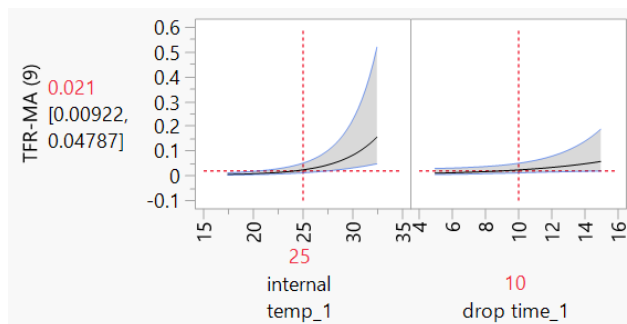
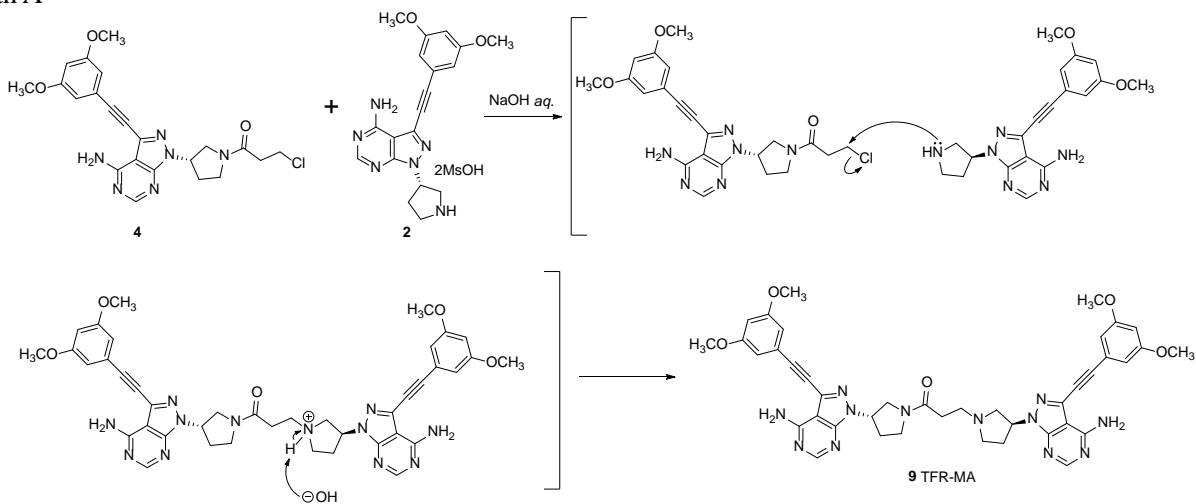


図 3-19 不純物 9 の予測プロフィール (自然対数変換, プーリング後)

Path A



Path B

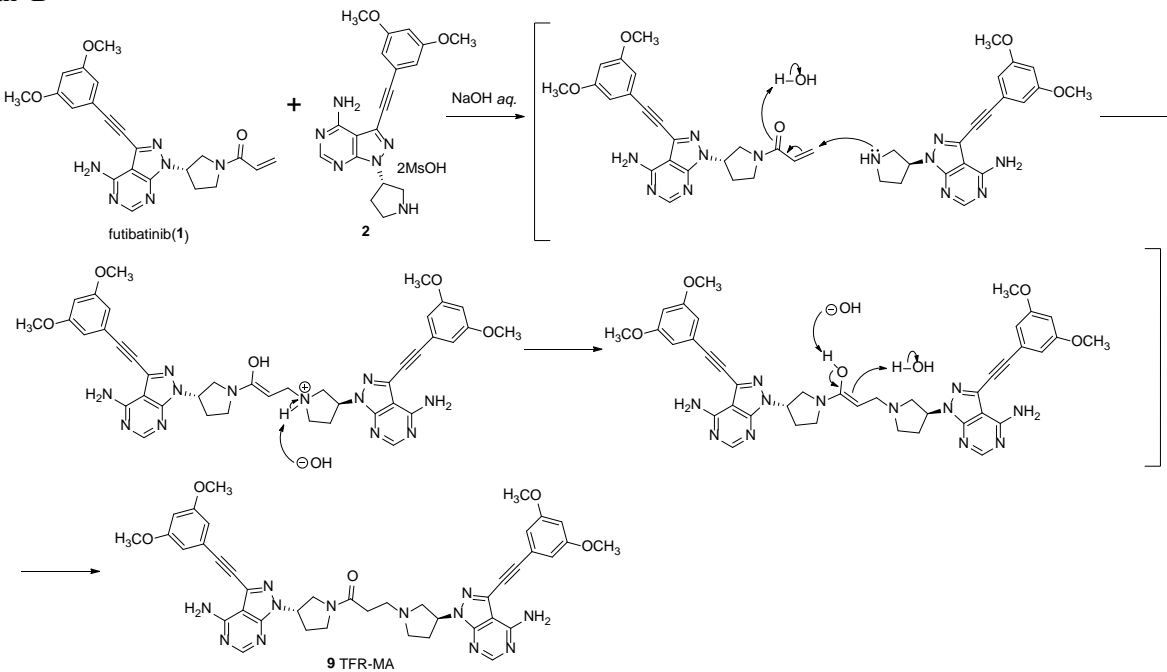


図 3-20 不純物 9 の生成機構

次に不純物 **10** のデータを解析した。半正規プロット (図 3-21) から不純物 **10** に寄与するパラメータは **internal temp\_3** と判明し、分散分析の結果 (表 3-16) も有意なパラメータは **internal temp\_3** であることが示された。検出力を向上するため有意とならなかった因子をプーリングしてさらに解析した。

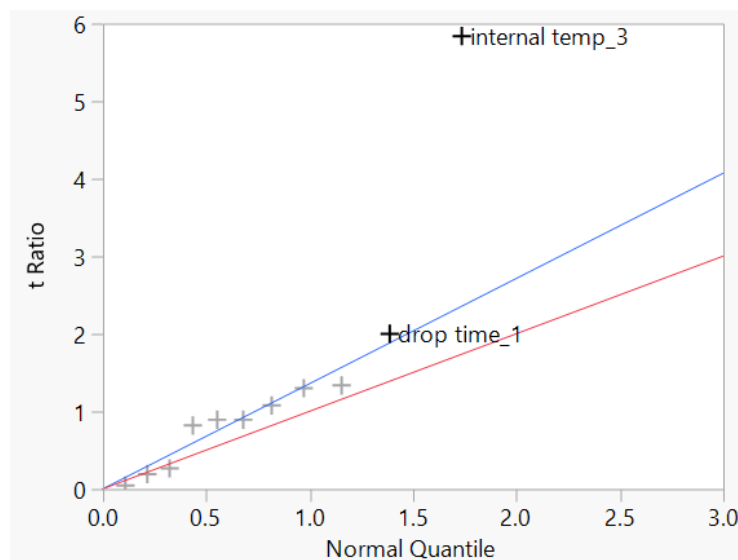


図 3-21 不純物 **10** の Half normal プロット (変数変換なし, プーリング前)

表 3-16 不純物 **10** の分散分析 (変数変換なし, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	1.1116917	11	0.101063	4.1297	0.2110
internal temp_3	0.8374083	1	0.837408	34.2190	0.0280
drop time_1	0.0990083	1	0.099008	4.0458	0.1820
internal temp_4	0.0444083	1	0.044408	1.8147	0.3103
internal temp_2	0.0420083	1	0.042008	1.7166	0.3204
stirring time_1	0.0290083	1	0.029008	1.1854	0.3900
internal temp_1	0.0200083	1	0.020008	0.8176	0.4613
NaOH	0.0200083	1	0.020008	0.8176	0.4613
internal temp_6	0.0168750	1	0.016875	0.6896	0.4937
drop time_2	0.0018750	1	0.001875	0.0766	0.8079
stirring time_3	0.0010083	1	0.001008	0.0412	0.8579
internal temp_5	0.0000750	1	0.000075	0.0031	0.9609
Residual	0.0489440	2	0.024472	-	-
Lack of fit	0.0471441	1	0.047144	26.1911	0.1228
Pure error	0.0018000	1	0.001800	-	-
Corrected total	1.1606357	13	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.958$ , Adjusted  $R^2 = 0.726$ , Root mean square error = 0.15644

有意水準 5% で有意となった因子は **internal temp\_3** と **drop time\_1** であった (表 3-17)。自由度調整済み  $R^2$  は 0.772 で小さくはなかったが LOF 検定は有意となった。また、純粋誤差は小さい値ではなく、残差プロット、予測値と実測値のプロットの結果から曲線傾向が確認されたため (図 3-22, 図 3-



23), 本解析のモデルはあてはまりが悪いことが強く示唆された。そこで、データを自然対数変換後に統計解析した。

表 3-17 不純物 10 の分散分析 (変数変換なし, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.9364167	2	0.468208	22.9699	0.0001
internal temp_3	0.8374083	1	0.837408	41.0826	< 0.0001
drop time_1	0.0990083	1	0.099008	4.8573	0.0497
Residual	0.2242190	11	0.020384	-	-
Lack of fit	0.1573524	2	0.078676	10.5895	0.0043
Pure error	0.0668667	9	0.007430	-	-
Corrected total	1.1606357	13	-	-	-

Summary of fit  
 $R^2 = 0.807$ , Adjusted  $R^2 = 0.772$ , Root mean square error = 0.14277

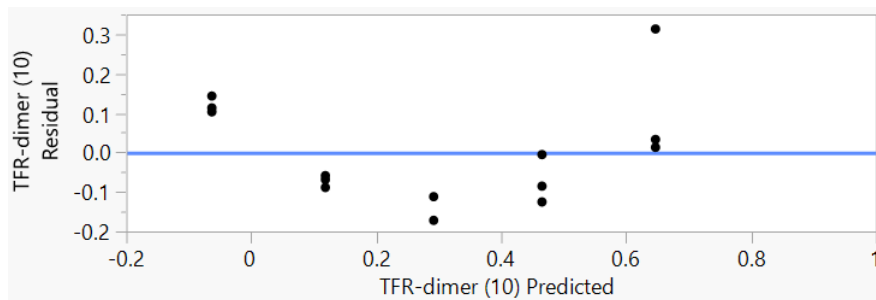


図 3-22 不純物 10 の残差プロット (変数変換なし, プーリング後)

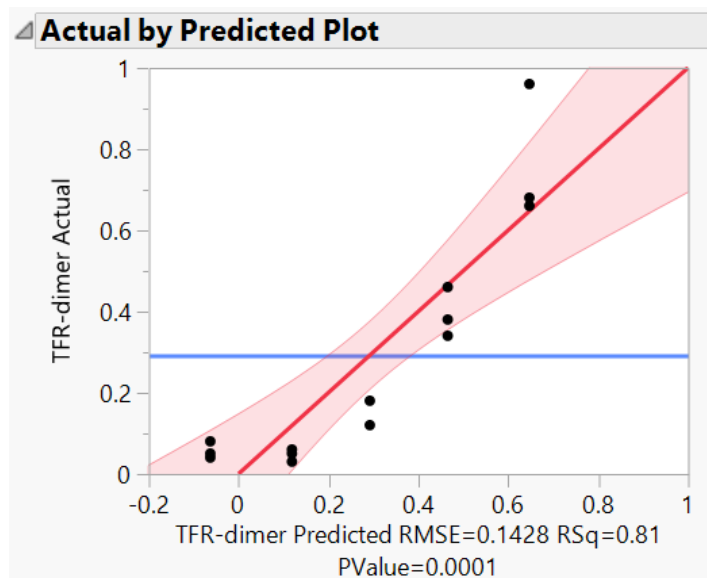


図 3-23 不純物 10 の予測値と実測値のプロット (変数変換なし, プーリング後)

半正規プロット（図 3-24）と分散分析（表 3-18）の結果から internal temp\_3 が不純物 10 の生成に最も寄与していることが判明した。

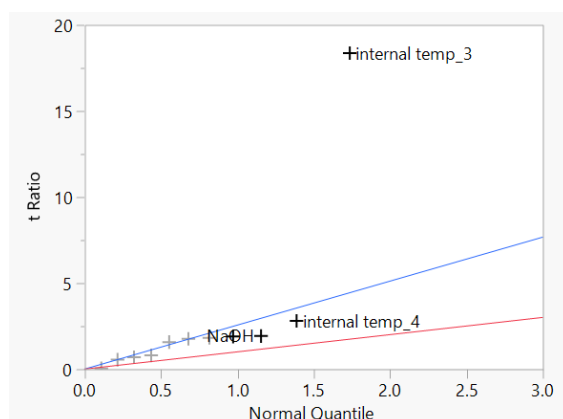


図 3-24 不純物 10 の Half Normal プロット（自然対数変換，プーリング前）

表 3-18 不純物 10 の分散分析（自然対数変換，プーリング前）

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	18.609944	11	1.69181	33.1749	0.0296
internal temp_3	17.258683	1	17.25868	338.4267	0.0029
internal temp_4	0.411011	1	0.41101	8.0595	0.1049
NaOH	0.196259	1	0.19626	3.8485	0.1888
internal temp_5	0.190939	1	0.19094	3.7441	0.1926
stirring time_1	0.175728	1	0.17573	3.4459	0.2045
drop time_1	0.164633	1	0.16463	3.2283	0.2142
internal temp_2	0.132068	1	0.13207	2.5897	0.2488
internal temp_1	0.035679	1	0.03568	0.6996	0.4909
internal temp_6	0.027000	1	0.02700	0.5295	0.5425
drop time_2	0.017610	1	0.01761	0.3453	0.6163
stirring time_3	0.000333	1	0.00033	0.0065	0.9429
Residual	0.101994	2	0.05100	-	-
Lack of fit	0.019793	1	0.01979	0.2408	0.7096
Pure error	0.082201	1	0.08220	-	-
Corrected total	18.711938	13	-	-	-
<b>Summary of fit</b>					

$R^2 = 0.995$ , Adjusted  $R^2 = 0.965$ , Root mean square error = 0.22583

プーリングして有意となった因子は internal temp\_3 のみであった（表 3-19）。また、LOF 検定は有意とならず、自由度調整済み  $R^2$  は 0.916 であった。さらに残差プロット、予測値と実測値のプロットからも曲線傾向は確認されなかったため、あてはまりが良いモデルであることが示唆された（図 3-25, 図 3-26）。以上の結果から自然対数変数変換後の解析モデルが適切と結論付けた。

表 3-19 不純物 10 の分散分析 (自然対数変換, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	17.258683	1	17.2587	142.5106	< 0.0001
internal temp_3	17.258683	1	17.2587	142.5106	< 0.0001
Residual	1.453255	12	0.1211	-	-
Lack of fit	0.019793	1	0.0198	0.1519	0.7042
Pure error	1.433462	11	0.1303	-	-
Corrected total	18.711938	13	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.922$ , Adjusted  $R^2 = 0.916$ , Root mean square error = 0.34800

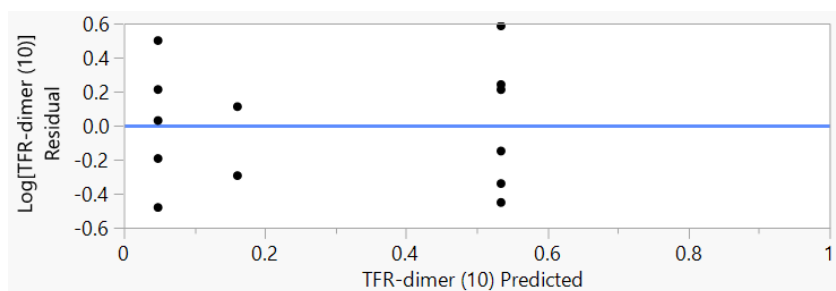


図 3-25 不純物 10 の残差プロット (自然対数変換, プーリング後)

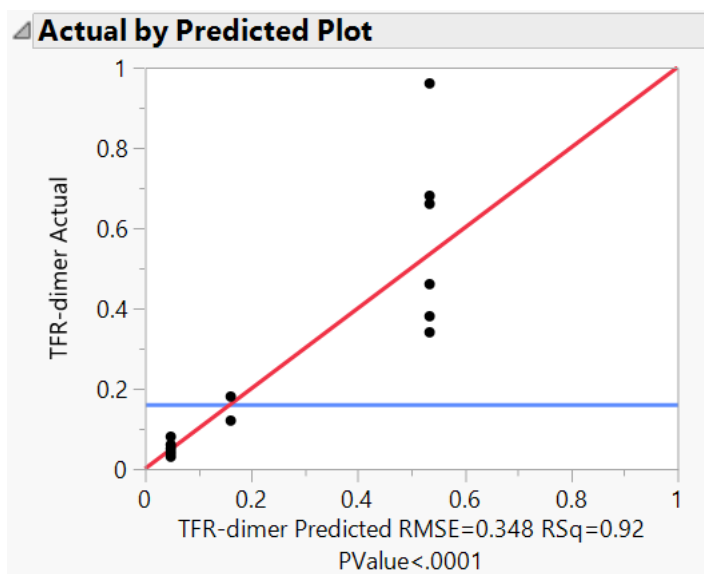


図 3-26 不純物 10 の予測値と実測値のプロット (自然対数変換, プーリング後)

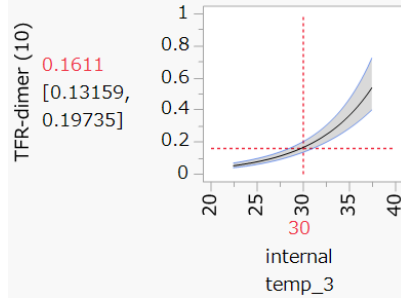


図 3-27 不純物 10 の予測プロファイル（自然対数変換，プーリング後）

Futibatinib (1) の合成は水酸化ナトリウム水溶液中で実施するため，不純物 10 は futibatinib (1) のアミノ基が別の futibatinib (1) 分子に 1,4 付加反応して生成したと考えた (図 3-28)．internal temp\_3 は step B の  $\beta$  脱離反応時不純物 10 の生成に最も寄与するパラメータとして妥当である．

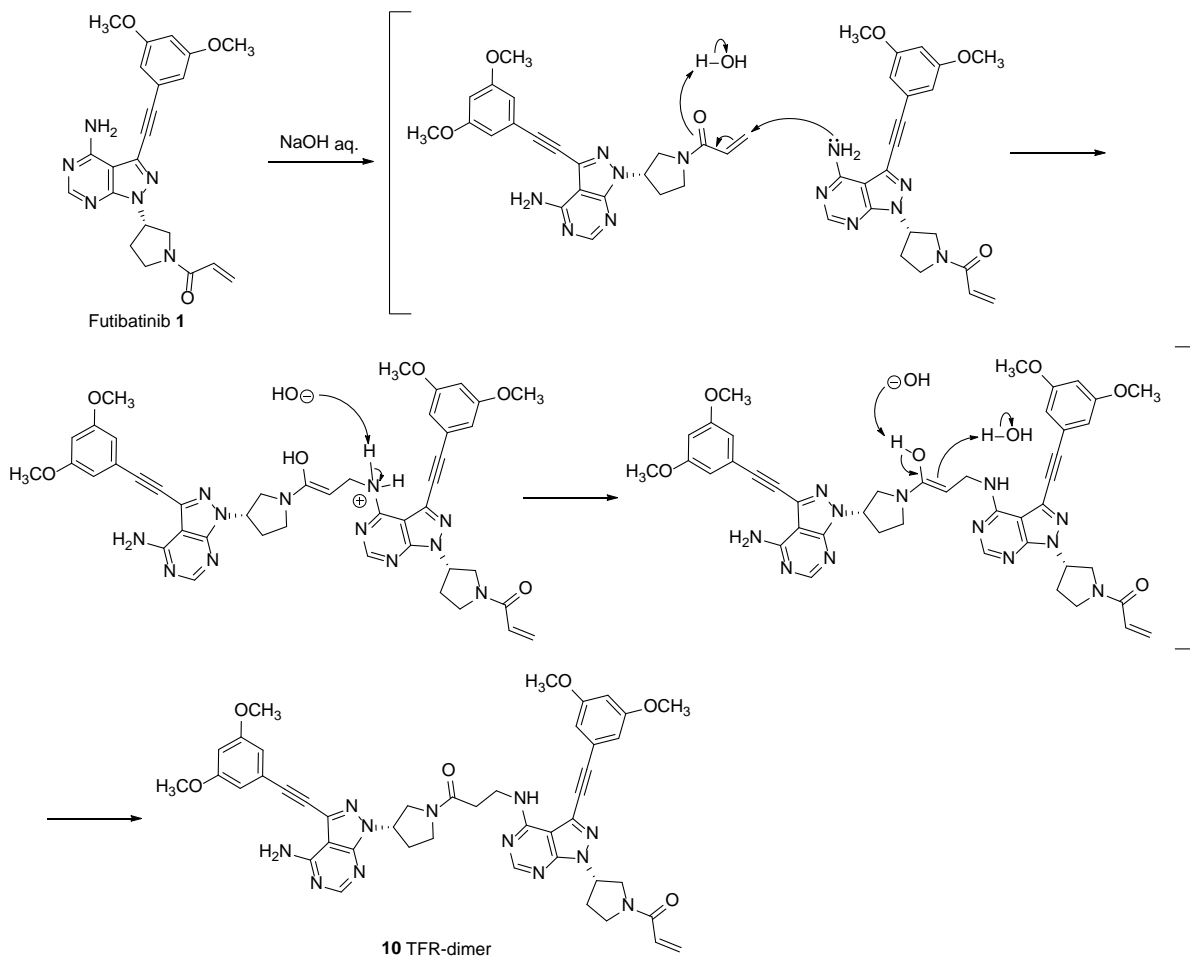


図 3-28 不純物 (10) の生成機構

CPP 特定のための DoE に基づいたスクリーニング実験と p 値などの統計解析の結果から，製造現場でのパラメータの変動性を考慮して再度 FMEA を実施したところ (表 3-20)，既知の 2 つの CPP (stirring time\_2, pH) に加えて 3 つの CPP (internal temp\_1, drop time\_1, internal temp\_3) が明らかになった．

表 3-20 スクリーニング実験結果に基づいた FMEA

Step	Operation No.	Process Parameter	Abbreviation	Score			RPN	Risk Rank	Impact	Impurities Affected
				S	P	D				
A	1	Amount of CH <sub>3</sub> CN	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	2	Amount of H <sub>2</sub> O	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	4	Amount of NaOH <i>aq.</i>	- <sup>a</sup>	3	1	2	6	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	1 to 16	Stirring speed	- <sup>a</sup>	2	1	1	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	5	Amount of purified H <sub>2</sub> O (rinse of first NaOH charge)	- <sup>a</sup>	1	1	2	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	6 to 8	Temperature (acylation)	internal temp_1	5	3	1	15	Moderate	CPP	<b>9</b>
	7	Dropping time (addition of <b>3</b> )	drop time_1	5	3	1	15	Moderate	CPP	<b>9</b>
	7	Amount of <b>3</b>	- <sup>a</sup>	2	2	2	8	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	7	Amount of CH <sub>3</sub> CN	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	8	Reaction time (acylation)	stirring time_1	1	3	1	3	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
B	9 to 10	Temperature	internal temp_2	1	2	1	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	9	Amount of NaOH <i>aq.</i>	NaOH	1	2	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	10	Amount of H <sub>2</sub> O (rinse of second NaOH charge)	- <sup>a</sup>	1	1	2	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	11 to 12	Temperature (elimination)	internal temp_3	5	2	1	10	Low	CPP	<b>6, 10</b>
	12	Reaction time (elimination)	stirring time_2	5	2	1	10	Low	CPP	<b>6, 10</b>
	13 to 14	Temperature	internal temp_4	1	3	1	3	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	13	pH adjustment	pH	5	1	2	10	Low	CPP	<b>9</b>
	14	Stirring time	stirring time_3	1	3	1	3	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	15	Temperature	internal temp_5	1	2	1	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	15	Drop time	drop time_2	1	3	1	3	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	15	Amount of H <sub>2</sub> O (anti-solvent)	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	16 to 17	Temperature	internal temp_6	1	2	1	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	19	Amount of H <sub>2</sub> O (cake wash)	- <sup>a</sup>	1	1	1	1	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	20	Drying temperature	- <sup>a</sup>	2	3	1	6	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	20	Drying time	- <sup>a</sup>	2	3	1	6	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: not applicable

## 第二節 不純物のデザインスペース構築

本節では応答曲面法による不純物のモデル構築，そして DS の構築を述べる．正確な予測モデルを構築するためにはそれぞれの CPP の一次項だけではなく，二因子間交互作用も解析可能な実験計画が必要となる．加えて，futibatinib (1) の不純物モデルは曲線性が確認されているため，二次項も解析できる実験計画が好ましい．3水準の完全実施要因計画はこれらの項をすべて解析可能であるが，futibatinib (1) の CPP は5つあるため，実験数は243 ( $3^5$ ) にもなり効率が悪い．Box-Behenken 計画は上記モデルを推定できるが実験数は40であり効率的ではなく，推定精度も高くない．そこで，より効率が良く推定精度の高い中心複合計画を選択した．中心複合計画は回転可能な計画と面中心複合計画に大別される．回転可能な中心複合計画では精度の高い予測モデルが得られるが，軸点の実験水準が計画基準を超える．本実験で回転可能な中心複合計画を選択した場合，溶解工程の結晶析出等の物理化学的变化により，いくつかの実験結果が欠測値扱いとなることが懸念される．面中心複合計画は2次係数の推定精度は回転可能な計画に劣るものの，一次項，二次項そして二因子間交互作用項を含んだモデルの解析が可能である．さらに面中心複合計画の実験数は26であるため実験計画の効率性も担保できる．本実験の目的は予測モデルの構築であるため中心実験数を4回とした(表 3-21)．

表 3-21 不純物の DS 構築のための応答曲面計画

Design of Experiments		Face-Centered Composite Design		
Number of Factors		5		
Factorial Portion		$2^{5-1}$		
Resolution of Cube Points		V		
Number of Center Points		4		
Number of Experimental Runs		30 (Including Center Points)		
D, G, and A Efficiency		D:39 G:67 A:23		
Step	Process Parameter	Levels		
		-1	0	+1
6 to 8	internal temp_1 (°C)	17.5	25.0	32.5
7	drop time_1 (min)	5	10	15
11 to 12	internal temp_3 (°C)	22.5	30	37.5
12	stirring time_2 (h)	2.50	5.25	8.00
13	pH	4.5	6.0	7.5

無作為化した実験を行い合成した futibatinib (1) を HPLC 解析により評価した (表 3-22). 4 回の中心実験の不純物量は良く再現されており, 純粋誤差が小さいことが示唆された. 純粋誤差が小さいほど LOF 検定は有意になりやすいため, 他の統計解析を含めた包括的な統計診断が必要である.

表 3-22 面中心複合計画により取得した futibatinib 中の不純物 6, 9 と 10 の組成比

No.	Level <sup>a</sup>	6 (%)	9 (%)	10 (%)
1	0 0 0 0 A <sup>b</sup>	0.03	0.07	0.04
2	- + + - -	0.06	ND <sup>c</sup>	0.06
3	A <sup>b</sup> 0 0 0 0	0.04	0.05	0.05
4	- - - - -	ND <sup>c</sup>	ND <sup>c</sup>	0.02
5	0 a <sup>b</sup> 0 0 0	0.04	ND <sup>c</sup>	0.06
6	+ + - - -	0.01	0.04	0.00
7	0 0 a <sup>b</sup> 0 0	0.01	ND <sup>c</sup>	0.01
8	0 0 0 0 0	0.04	ND <sup>c</sup>	0.06
9	0 A <sup>b</sup> 0 0 0	0.03	0.04	0.05
10	+ - - + -	0.02	ND <sup>c</sup>	0.03
11	- + - - +	ND <sup>c</sup>	ND <sup>c</sup>	ND <sup>c</sup>
12	- + + + +	0.14	0.04	0.34
13	+ - + + +	0.14	0.09	0.38
14	0 0 0 0 a <sup>b</sup>	0.04	ND <sup>c</sup>	0.05
15	- - + - +	0.05	ND <sup>c</sup>	0.07
16	a <sup>b</sup> 0 0 0 0	0.05	ND <sup>c</sup>	0.06
17	- - + + -	0.13	ND <sup>c</sup>	0.38
18	0 0 0 a <sup>b</sup> 0	0.02	ND <sup>c</sup>	0.02
19	+ + + + -	0.15	0.05	0.35
20	+ - + - -	0.06	0.00	0.08
21	+ - - - +	ND <sup>c</sup>	0.07	ND <sup>c</sup>
22	0 0 A <sup>b</sup> 0 0	0.11	ND <sup>c</sup>	0.26
23	+ + + - +	0.05	0.47	0.07
24	+ + - + +	0.03	0.60	0.08
25	0 0 0 0 0	0.03	ND <sup>c</sup>	0.04
26	0 0 0 0 0	0.03	ND <sup>c</sup>	0.04
27	- + - + -	0.02	ND <sup>c</sup>	0.03
28	- - - + +	0.02	ND <sup>c</sup>	0.06
29	0 0 0 0 0	0.05	ND <sup>c</sup>	0.05
30	0 0 0 A <sup>b</sup> 0	0.05	ND <sup>c</sup>	0.10

a: From left to right: internal temp\_1, drop time\_1, internal temp\_3 (elimination), stirring time\_2 (elimination), pH. b: A and a are axial point experiments. c: Not detected

最初に不純物 6 のデータを統計解析した. 半正規プロット (図 3-29) と分散分析 (表 3-23) から不純物 6 の生成に大きく寄与しているパラメータは internal temp\_3, stirring time\_2, そしてそれらの二因子間交互作用であることが判明した.

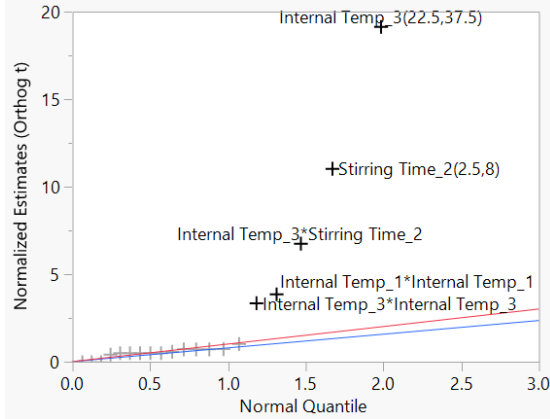


図 3-29 不純物 6 の Half Normal プロット (変数変換なし, プーリング前)

表 3-23 不純物 6 の分散分析 (変数変換なし, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.05218786	20	0.002609	28.3353	< 0.0001
Internal Temp_3	0.03380000	1	0.033800	367.0325	< 0.0001
Stirring Time_2	0.01125000	1	0.011250	122.1632	< 0.0001
Internal Temp_3*Stirring Time_2	0.00422500	1	0.004225	45.8791	< 0.0001
Internal Temp_3*Internal Temp_3	0.00112031	1	0.001120	12.1654	0.0069
Stirring Time_2*pH	0.00010000	1	0.000100	1.0859	0.3246
Internal Temp_1*Internal Temp_1	0.00009926	1	0.000099	1.0779	0.3263
Internal Temp_1	0.00005000	1	0.000050	0.5429	0.4800
Drop Time_1	0.00005000	1	0.000050	0.5429	0.4800
pH	0.00005000	1	0.000050	0.5429	0.4800
Drop Time_1*Drop Time_1	0.00003259	1	0.000033	0.3539	0.5665
Stirring Time_2*Stirring Time_2	0.00003259	1	0.000033	0.3539	0.5665
pH*pH	0.00003259	1	0.000033	0.3539	0.5665
Drop Time_1*pH	0.00002500	1	0.000025	0.2715	0.6149
Drop Time_1*Stirring Time_2	0.00002500	1	0.000025	0.2715	0.6149
Internal Temp_1*pH	0.00002500	1	0.000025	0.2715	0.6149
Internal Temp_1*Stirring Time_2	0.00002500	1	0.000025	0.2715	0.6149
Internal Temp_3*pH	0.00002500	1	0.000025	0.2715	0.6149
Internal Temp_1*Drop Time_1	1.2*10 <sup>-35</sup>	1	1.2*10 <sup>-35</sup>	0.0000	1.0000
Drop Time_1*Internal Temp_3	1.2*10 <sup>-35</sup>	1	1.2*10 <sup>-35</sup>	0.0000	1.0000
Internal Temp_1*Internal Temp_3	3.0*10 <sup>-36</sup>	1	3.0*10 <sup>-36</sup>	0.0000	1.0000
Residual	0.00082881	9	0.000092	-	-
Lack of Fit	0.00055381	6	0.000092	1.0069	0.5427
Pure Error	0.00027500	3	0.000092	-	-
Corrected Total	0.05301667	29	-	-	-
Summary of Fit					

$R^2 = 0.984$ , Adjusted  $R^2 = 0.950$ , Root mean square error = 0.00960



続いてプーリングしてデータを統計解析した。本実験の目的は予測モデル構築であるためプーリング基準は p 値 0.20 としたが、3 つの主効果と 2 つの二因子交互作用が有意であった (表 3-24)。LOF 検定は有意ではなく、自由度調整済みの  $R^2$  値も 0.970 と大な値を示した。残差プロット (図 3-30)、予測値と実測値のプロット (図 3-31) そして予測プロファイル (図 3-32) の結果からあてはまりの悪い傾向は認められず、変数変換の必要性は認められなかった。しかし、スクリーニング実験の統計解析で自然対数変換が適切であったことを踏まえ、同様にデータを変数変換して統計解析を追加検討した。

表 3-24 不純物 6 の分散分析 (変数変換なし, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.05177222	6	0.008629	159.4769	< 0.0001
Internal Temp_3	0.03380000	1	0.033800	624.6964	< 0.0001
Stirring Time_2	0.01125000	1	0.011250	207.9241	< 0.0001
Internal Temp_3*Stirring Time_2	0.00422500	1	0.004225	78.0871	< 0.0001
Internal Temp_3*Internal Temp_3	0.00234722	1	0.002347	43.3817	< 0.0001
Stirring Time_2*pH	0.00010000	1	0.000100	1.8482	0.1872
pH	0.00005000	1	0.000050	0.9241	0.3464
Residual	0.00124444	23	0.000054	-	-
Lack of Fit	0.00045694	8	0.000057	1.0880	0.4218
Pure Error	0.00078750	15	0.000052	-	-
Corrected Total	0.05301667	29	-	-	-

Summary of Fit  
 $R^2 = 0.977$ , Adjusted  $R^2 = 0.970$ , Root mean square error = 0.00736

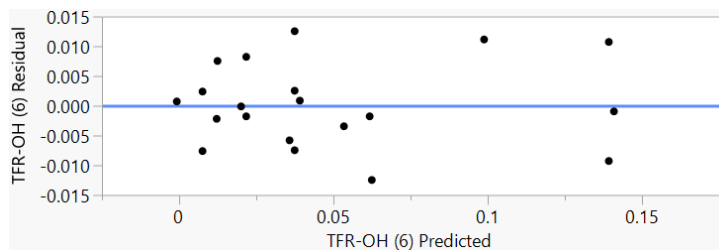


図 3-30 不純物 6 の残差プロット (変数変換なし, プーリング後)

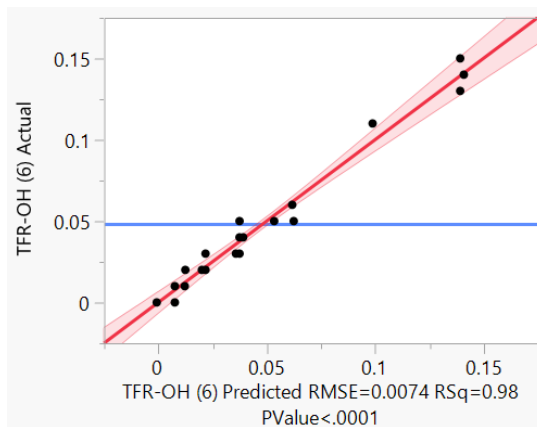


図 3-31 不純物 6 の予測値と実測値のプロット (変数変換なし, プーリング後)

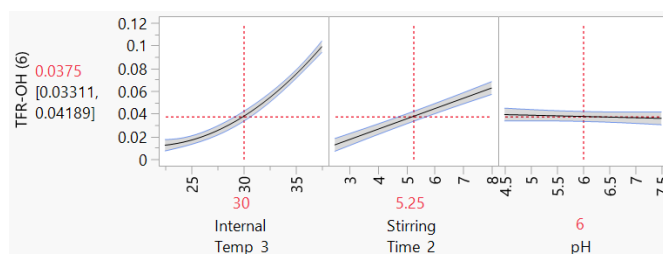


図 3-32 不純物 6 の予測プロファイル (変数変換なし, プーリング後)

しかし, 半正規プロット (図 3-33) と分散分析 (表 3-25) から不純物 6 の生成に寄与するパラメータは, 変数変換なしで解析した結果と同様であった。

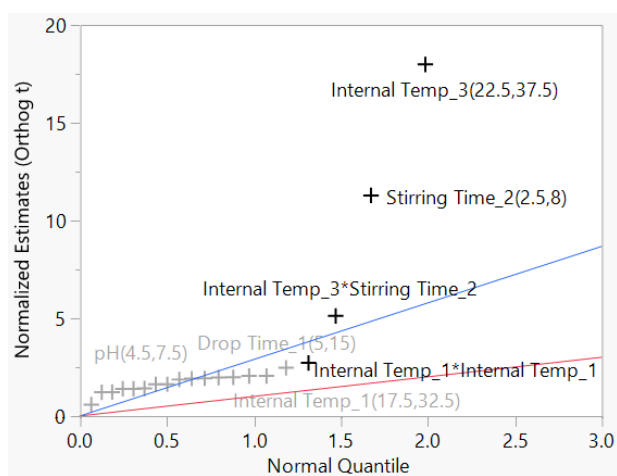


図 3-33 不純物 6 の Half normal プロット (自然対数変換, プーリング前)

表 3-25 不純物 6 の分散分析 (自然対数変換, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	50.625036	20	2.53125	26.8173	< 0.0001
Internal Temp_3	30.631240	1	30.63124	324.5219	< 0.0001
Stirring Time_2	12.088148	1	12.08815	128.0676	< 0.0001
Internal Temp_3*Stirring Time_2	2.509919	1	2.50992	26.5913	0.0006
Stirring Time_2*pH	0.592057	1	0.59206	6.2725	0.0336
Internal Temp_1*Internal Temp_3	0.411185	1	0.41119	4.3563	0.0665
Drop Time_1*Internal Temp_3	0.411185	1	0.41119	4.3563	0.0665
Internal Temp_1	0.383690	1	0.38369	4.0650	0.0746
Drop Time_1	0.365076	1	0.36508	3.8678	0.0808
pH	0.359645	1	0.35965	3.8103	0.0827
Internal Temp_1*Drop Time_1	0.341726	1	0.34173	3.6204	0.0895
Internal Temp_1*pH	0.260156	1	0.26016	2.7562	0.1312
Drop Time_1*pH	0.260156	1	0.26016	2.7562	0.1312
Internal Temp_1*Stirring Time_2	0.192286	1	0.19229	2.0372	0.1873
Drop Time_1*Stirring Time_2	0.192286	1	0.19229	2.0372	0.1873
Internal Temp_3*pH	0.147762	1	0.14776	1.5655	0.2424
Stirring Time_2*Stirring Time_2	0.111333	1	0.11133	1.1795	0.3057
Internal Temp_3*Internal Temp_3	0.067071	1	0.06707	0.7106	0.4211
Internal Temp_1*Internal Temp_1	0.043885	1	0.04388	0.4649	0.5125
pH*pH	0.036404	1	0.03640	0.3857	0.5500
Drop Time_1*Drop Time_1	0.036404	1	0.03640	0.3857	0.5500
Residual	0.849499	9	0.09439	-	-
Lack of Fit	0.665199	6	0.11087	1.8047	0.3359
Pure Error	0.184300	3	0.06143	-	-
Corrected Total	51.474536	29	-	-	-

Summary of Fit

$R^2 = 0.983$ , Adjusted  $R^2 = 0.947$ , Root mean square error = 0.30723

有意水準 0.20 にてプーリングした結果, LOF 検定は有意とならず自由度調整済み  $R^2$  も 0.955 と大きな値を示した (表 3-26). 残差プロット (図 3-34) ではわずかにあてはまりの悪さが確認されたが, 予測値と実測値のプロット (図 3-35) から曲線傾向は認められなかった. 予測プロファイル (図 3-36) の 95%信頼区間は変数変換なしの結果と比較してやや広くなった. 変数変換の有無に依存することなく統計診断結果は良好であった. よりシンプルなモデルで応答予測できる変数変換を行わないモデルを採用した.

表 3-26 不純物 6 の分散分析 (自然対数変換, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	50.519900	17	2.97176	37.3557	< 0.0001
Internal Temp_3	30.631240	1	30.63124	385.0420	< 0.0001
Stirring Time_2	12.088148	1	12.08815	151.9509	< 0.0001
Internal Temp_3*Stirring Time_2	2.509919	1	2.50992	31.5503	0.0001
Stirring Time_2*pH	0.592057	1	0.59206	7.4423	0.0183
Internal Temp_1*Internal Temp_3	0.411185	1	0.41119	5.1687	0.0422
Drop Time_1*Internal Temp_3	0.411185	1	0.41119	5.1687	0.0422
Internal Temp_1	0.383690	1	0.38369	4.8231	0.0485
Drop Time_1	0.365076	1	0.36508	4.5891	0.0534
pH	0.359645	1	0.35965	4.5208	0.0549
Internal Temp_1*Drop Time_1	0.341726	1	0.34173	4.2956	0.0604
Internal Temp_1*pH	0.260156	1	0.26016	3.2702	0.0957
Drop Time_1*pH	0.260156	1	0.26016	3.2702	0.0957
Stirring Time_2*Stirring Time_2	0.230983	1	0.23098	2.9035	0.1141
Internal Temp_1*Stirring Time_2	0.192286	1	0.19229	2.4171	0.1460
Drop Time_1*Stirring Time_2	0.192286	1	0.19229	2.4171	0.1460
Internal Temp_3*Internal Temp_3	0.153792	1	0.15379	1.9332	0.1897
Internal Temp_3*pH	0.147762	1	0.14776	1.8574	0.1980
Residual	0.954636	12	0.07955	-	-
Lack of Fit	0.770336	9	0.08559	1.3933	0.4340
Pure Error	0.184300	3	0.06143	-	-
Corrected Total	51.474536	29	-	-	-

Summary of Fit

$R^2 = 0.981$ , Adjusted  $R^2 = 0.955$ , Root mean square error = 0.28205

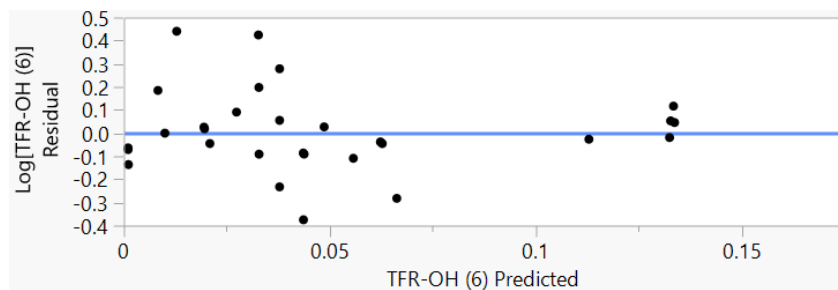


図 3-34 不純物 6 の残差プロット (自然対数変換, プーリング後)

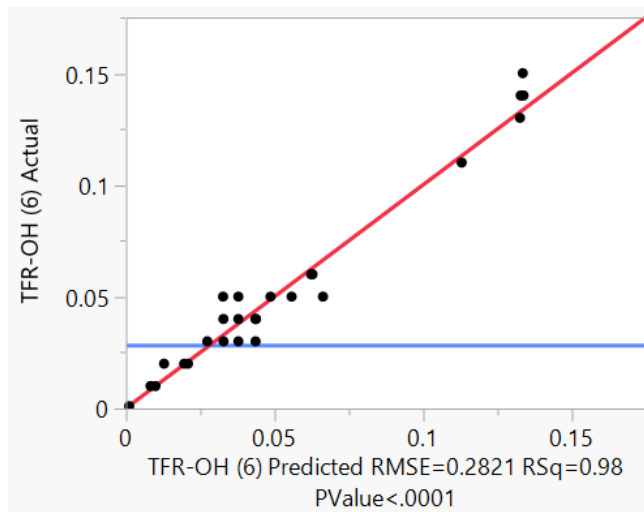


図 3-35 不純物 6 の実測値と予測値のプロット（自然対数変換，プーリング後）

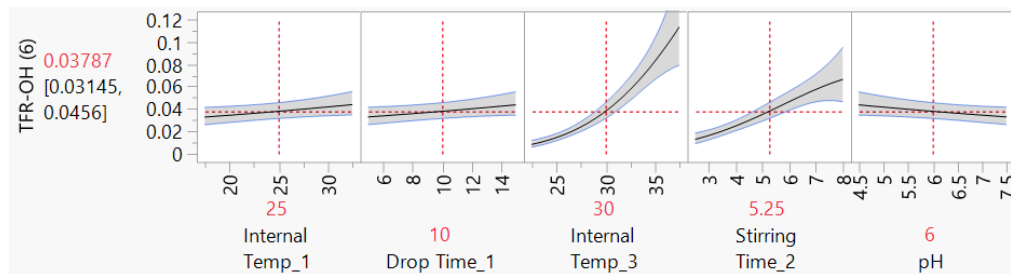


図 3-36 不純物 6 の予測プロファイル（自然対数変換，プーリング後）

internal temp<sub>3</sub> はβ脱離反応が進行するための反応温度であり，不純物 6 の生成にも影響を与える可能性は高い．加熱反応時間が長くなると不純物 6 が増加することも当然予測されるため，stirring time<sub>2</sub> が不純物副生に寄与するという解析結果も妥当である．internal temp<sub>3</sub> と stirring time<sub>2</sub> の二因子間交互作用が有意である結果（図 3-37）も正当化される．したがって不純物 6 の CPP は Internal Temp<sub>3</sub> と stirring time<sub>2</sub> であると結論した．本統計解析により不純物 6 の予測モデルを数式 1 として構築した．

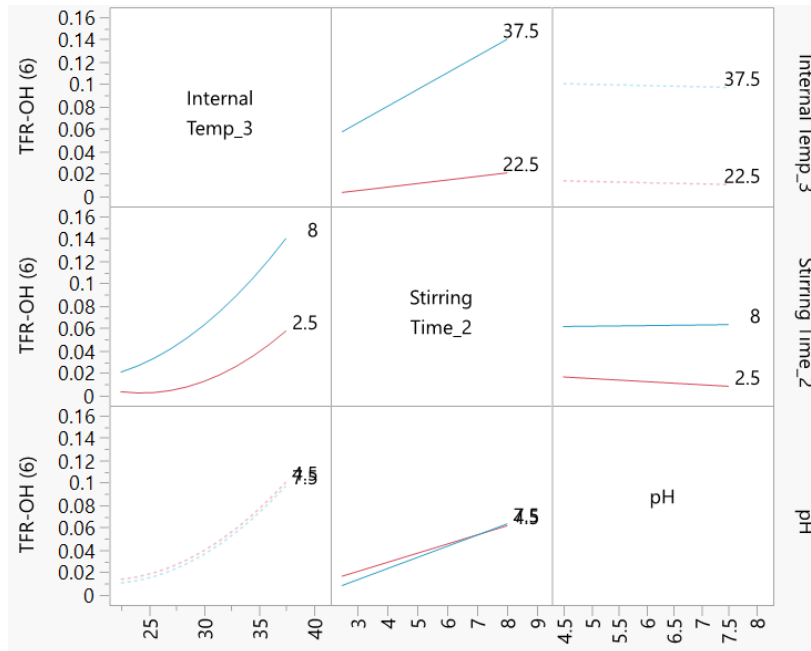


図 3-37 不純物 6 の二因子間交互作用 (変数変換なし, プーリング後)

$$\text{Amount of 6 (\%)} = 0.0375 + 0.0433\{(\text{internal temp}_3 - 30)/7.5\} + 0.0250\{(\text{stirring time}_2 - 5.25)/2.75\} - 0.0017\{(\text{pH} - 6)/1.5\} + 0.0163\{(\text{internal temp}_3 - 30)/7.5\}\{(\text{stirring time}_2 - 5.25)/2.75\} + 0.0025\{(\text{stirring time}_2 - 5.25)/2.75\}\{(\text{pH} - 6)/1.5\} + 0.0181\{(\text{internal temp}_3 - 30)/7.5\}^2$$

数式 1 不純物 6 の予測モデル

次に不純物 9 のデータを解析した. 半正規プロット (図 3-38) と分散分析 (表 3-27) から不純物 9 の生成に寄与しているパラメータは internal temp\_1, drop time\_1, pH とそれらの二因子間交互作用であった.

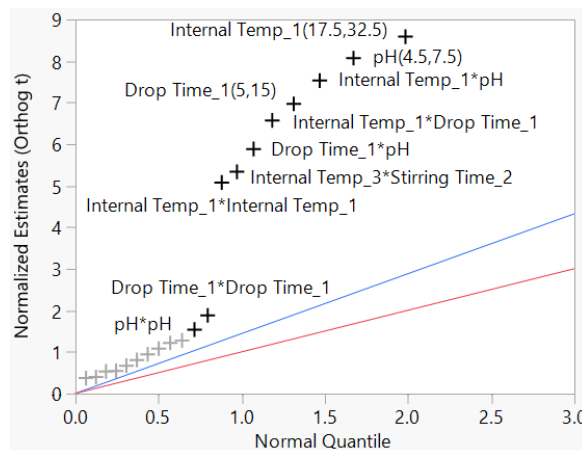


図 3-38 不純物 9 の Half normal プロット (変数変換なし, プーリング前)

表 3-27 不純物 9 の分散分析 (変数変換なし, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.51963286	20	0.025982	19.5615	< 0.0001
Internal Temp_1	0.09827222	1	0.098272	73.9890	< 0.0001
pH	0.08680556	1	0.086806	65.3557	< 0.0001
Internal Temp_1*pH	0.07562500	1	0.075625	56.9379	< 0.0001
Drop Time_1	0.06480000	1	0.064800	48.7878	< 0.0001
Internal Temp_1*Drop Time_1	0.05760000	1	0.057600	43.3669	0.0001
Drop Time_1*pH	0.04622500	1	0.046225	34.8027	0.0002
Internal Temp_3*Stirring Time_2	0.03802500	1	0.038025	28.6289	0.0005
pH*pH	0.00320847	1	0.003209	2.4157	0.1545
Stirring Time_2	0.00222222	1	0.002222	1.6731	0.2281
Stirring Time_2*pH	0.00202500	1	0.002025	1.5246	0.2482
Internal Temp_1*Internal Temp_1	0.00167865	1	0.001679	1.2638	0.2900
Drop Time_1*Stirring Time_2	0.00160000	1	0.001600	1.2046	0.3009
Internal Temp_1*Internal Temp_3	0.00122500	1	0.001225	0.9223	0.3620
Drop Time_1*Drop Time_1	0.00109794	1	0.001098	0.8266	0.3869
Internal Temp_1*Stirring Time_2	0.00090000	1	0.000900	0.6776	0.4317
Drop Time_1*Internal Temp_3	0.00062500	1	0.000625	0.4706	0.5100
Internal Temp_3*pH	0.00040000	1	0.000400	0.3012	0.5965
Internal Temp_3	0.00020000	1	0.000200	0.1506	0.7070
Internal Temp_3*Internal Temp_3	0.00000321	1	0.000003	0.0024	0.9619
Stirring Time_2*Stirring Time_2	0.00000321	1	0.000003	0.0024	0.9619
Residual	0.01195381	9	0.001328	-	-
Lack of Fit	0.01195381	6	0.001992	incalculable	incalculable
Pure Error	0	3	0	-	-
Corrected Total	0.53158667	29	-	-	-

Summary of Fit

$R^2 = 0.978$ , Adjusted  $R^2 = 0.926$ , Root mean square error = 0.03644

プーリング後の解析結果から 5 つの主効果, 因子間交互作用そして二次項が有意となった (表 3-28). 純粋誤差の平方和が 0 であったため, LOF 検定はできなかったが自由度調整済  $R^2$  は 0.942 と高い値を示した. 予測値, 実測値のプロット (図 3-39) そして残差プロット (図 3-40) からは曲線傾向が確認され, さらに予測プロファイル (図 3-41) には 0 を下回る予測値が認められたため, 変数変換の必要性が示唆された.

表 3-28 不純物 9 の分散分析 (変数変換なし, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.51352323	12	0.042794	40.2742	< 0.0001
Internal Temp_1	0.09827222	1	0.098272	92.4867	< 0.0001
pH	0.08680556	1	0.086806	81.6951	< 0.0001
Internal Temp_1*pH	0.07562500	1	0.075625	71.1728	< 0.0001
Drop Time_1	0.06480000	1	0.064800	60.9851	< 0.0001
Internal Temp_1*Drop Time_1	0.05760000	1	0.057600	54.2089	< 0.0001
Drop Time_1*pH	0.04622500	1	0.046225	43.5036	< 0.0001
Internal Temp_3*Stirring Time_2	0.03802500	1	0.038025	35.7864	< 0.0001
pH*pH	0.00727823	1	0.007278	6.8497	0.0180
Internal Temp_1*Internal Temp_1	0.00445600	1	0.004456	4.1937	0.0563
Stirring Time_2	0.00222222	1	0.002222	2.0914	0.1663
Stirring Time_2*pH	0.00202500	1	0.002025	1.9058	0.1853
Internal Temp_3	0.00020000	1	0.000200	0.1882	0.6699
Residual	0.01806344	17	0.001063	-	-
Lack of Fit	0.01806344	14	0.001290	Incalculable	incalculable
Pure Error	0	3	0	-	-
Corrected Total	0.53158667	29	-	-	-

Summary of Fit

$R^2 = 0.966$ , Adjusted  $R^2 = 0.942$ , Root mean square error = 0.03260

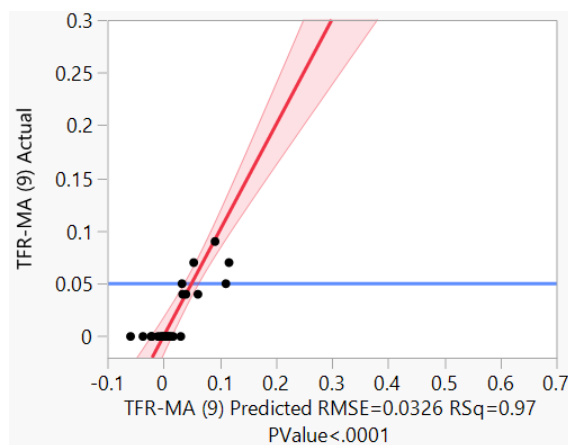


図 3-39 不純物 9 の実測値と予測値のプロット (変数変換なし, プーリング後)



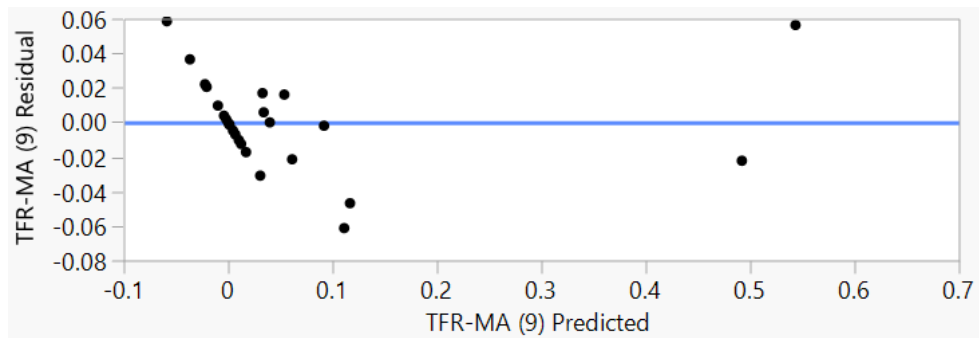


図 3-40 不純物 9 の残差プロット (変数変換なし, プーリング後)

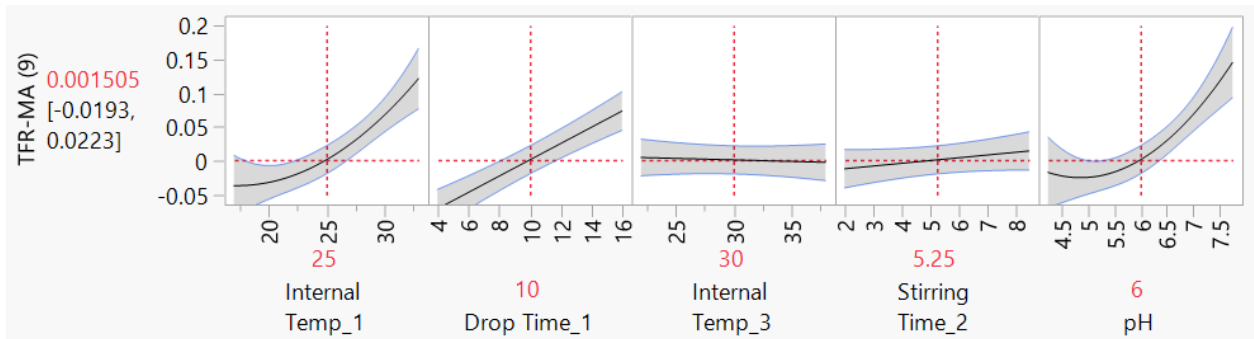


図 3-41 不純物 9 の予測プロファイル (変数変換なし, プーリング後)

自然変数変換後の半正規プロット (図 3-42) と分散分析 (表 3-29) から, 不純物 9 に大きな影響を及ぼすパラメータは変数変換しない場合と同様であった. 続いて有意水準 0.20 で因子をプーリングした.

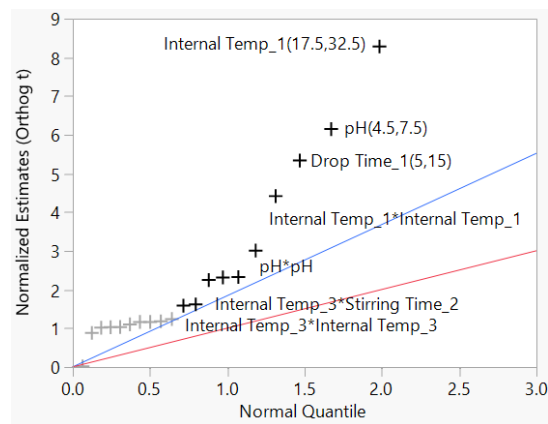


図 3-42 不純物 9 の Half normal プロット (自然対数変換, プーリング前)

表 3-29 不純物 9 の分散分析（自然対数変換，プーリング前）transformation)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	134.57359	20	6.72868	9.8304	0.0007
Internal Temp_1	47.116203	1	47.11620	68.8353	< 0.0001
pH	26.002721	1	26.00272	37.9892	0.0002
Drop Time_1	19.593839	1	19.59384	28.6260	0.0005
Internal Temp_1*pH	6.260236	1	6.26024	9.1460	0.0144
pH*pH	3.749626	1	3.74963	5.4781	0.0440
Internal Temp_1*Drop Time_1	3.718515	1	3.71851	5.4326	0.0447
Internal Temp_3*Stirring Time_2	3.504781	1	3.50478	5.1204	0.0499
Internal Temp_1*Internal Temp_1	2.798039	1	2.79804	4.0878	0.0739
Drop Time_1*Drop Time_1	2.243638	1	2.24364	3.2779	0.1037
Internal Temp_3*Internal Temp_3	1.939732	1	1.93973	2.8339	0.1266
Stirring Time_2*Stirring Time_2	1.939732	1	1.93973	2.8339	0.1266
Stirring Time_2	1.079242	1	1.07924	1.5767	0.2409
Stirring Time_2*pH	0.980718	1	0.98072	1.4328	0.2619
Drop Time_1*Stirring Time_2	0.953018	1	0.95302	1.3923	0.2683
Internal Temp_3	0.853315	1	0.85331	1.2467	0.2931
Internal Temp_3*pH	0.753794	1	0.75379	1.1013	0.3213
Internal Temp_1*Internal Temp_3	0.747628	1	0.74763	1.0923	0.3232
Drop Time_1*Internal Temp_3	0.729534	1	0.72953	1.0658	0.3288
Internal Temp_1*Stirring Time_2	0.551390	1	0.55139	0.8056	0.3928
Drop Time_1*pH	0.000765	1	0.00077	0.0011	0.9741
Residual	6.1602937	9	0.68448	-	-
Lack of Fit	6.1602937	6	1.02672	Incalculable	incalculable
Pure Error	0	3	0	-	-
Corrected Total	140.73388	29	-	-	-

Summary of Fit

$R^2 = 0.956$ , Adjusted  $R^2 = 0.859$ , Root mean square error = 0.82733

プーリング後の分散分析（表 3-30）の結果，変数変換しない場合と同様に，5 つの主効果，それらの因子間交互作用と二次項が有意であった．自由度調整済  $R^2$  は 0.860 であり変数変換なしの結果と比較して低かったが，予測値と実測値のプロット（図 3-43）と残差プロット（図 3-44）から曲線傾向は確認されなかった．また，予測プロファイル（図 3-45）から internal temp\_1, drop time\_1 そして pH のパラメータが高くなると不純物 9 が有意に増加する傾向が確認された．本実験（表 3-22）の No.23 と No.24 の不純物 9 は他のデータと比較すると値が大きかったためこのような解析結果になったと考えている．これらの統計診断のみで予測モデルを選択することは困難であるので，さらに詳細な解析を実施した．

表 3-30 不純物 9 の分散分析 (自然対数変換, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	129.85674	13	9.98898	14.6935	< 0.0001
Internal Temp_1	47.116203	1	47.11620	69.3067	< 0.0001
pH	26.002721	1	26.00272	38.2493	< 0.0001
Drop Time_1	19.593839	1	19.59384	28.8220	< 0.0001
Internal Temp_1*pH	6.260236	1	6.26024	9.2086	0.0079
pH*pH	3.749626	1	3.74963	5.5156	0.0320
Internal Temp_1*Drop Time_1	3.718515	1	3.71851	5.4698	0.0327
Internal Temp_3*Stirring Time_2	3.504781	1	3.50478	5.1554	0.0373
Internal Temp_1*Internal Temp_1	2.798039	1	2.79804	4.1158	0.0595
Drop Time_1*Drop Time_1	2.243638	1	2.24364	3.3003	0.0880
Stirring Time_2*Stirring Time_2	1.939732	1	1.93973	2.8533	0.1106
Internal Temp_3*Internal Temp_3	1.939732	1	1.93973	2.8533	0.1106
Stirring Time_2	1.079242	1	1.07924	1.5875	0.2257
Internal Temp_3	0.853315	1	0.85331	1.2552	0.2791
Residual	10.877141	16	0.67982	-	-
Lack of Fit	10.877141	13	0.83670	Incalculable	incalculable
Pure Error	0	3	0	-	-
Corrected Total	140.73388	29	-	-	-

Summary of Fit  
 $R^2 = 0.923$ , Adjusted  $R^2 = 0.860$ , Root mean square error = 0.82451

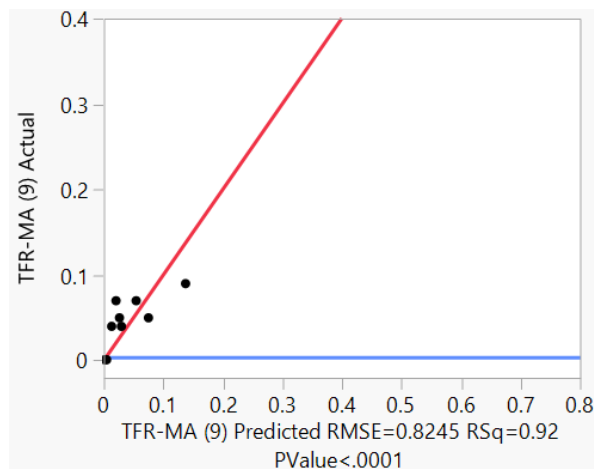


図 3-43 不純物 9 の実測値と予測値のプロット (自然対数変換, プーリング後)

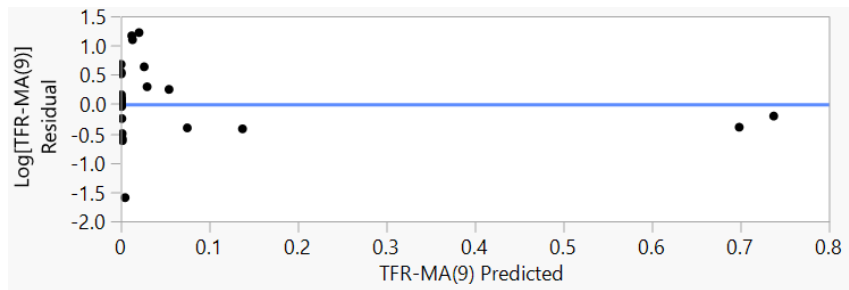


図 3-44 不純物 9 の残差プロット (自然対数変換, プーリング後)

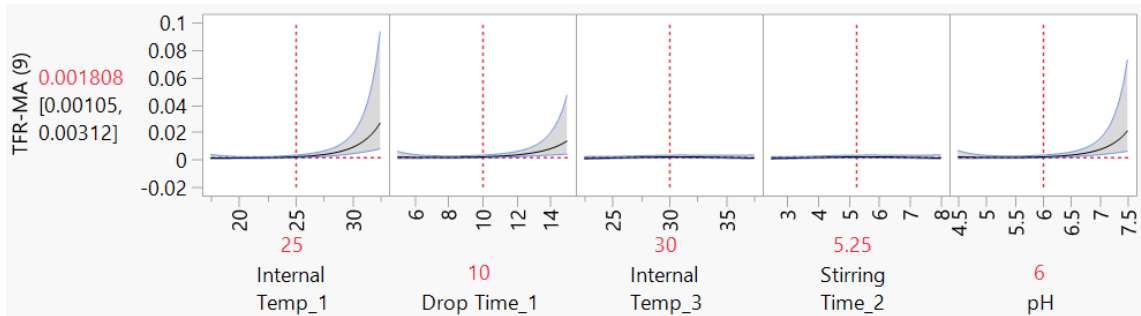
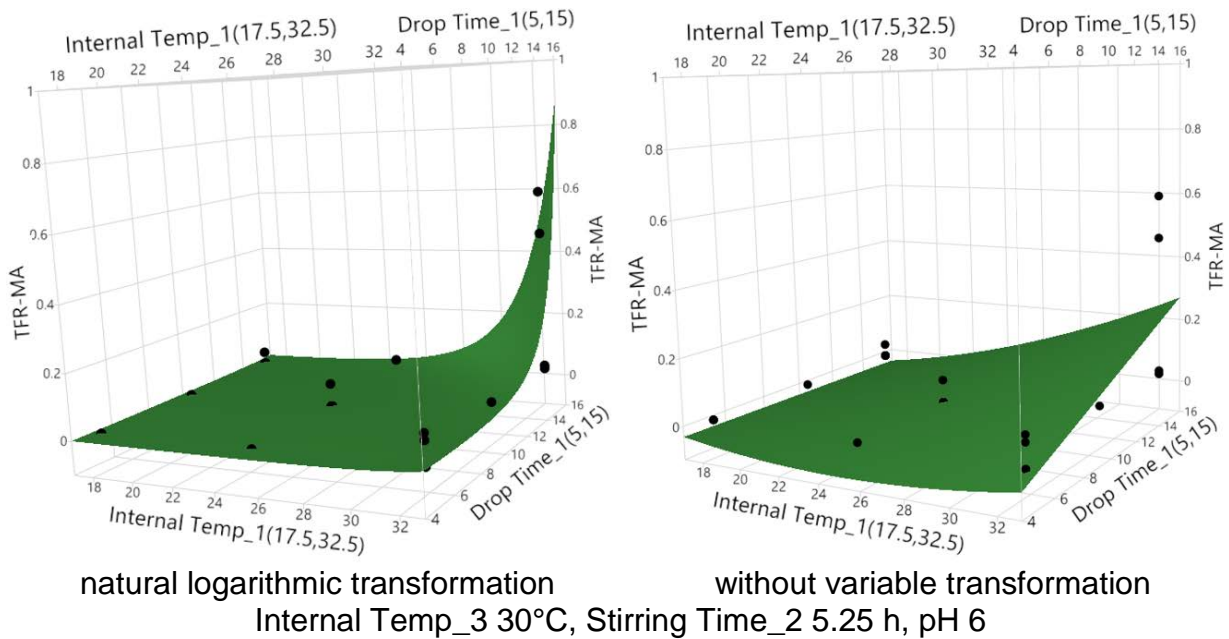


図 3-45 不純物 9 の予測プロフィール (自然対数変換, プーリング後)

不純物 9 の生成に寄与する internal temp\_1 と drop time\_1 に着目して, それぞれの予測プロフィールと DoE の実験結果を比較した (図 3-46). 予測プロフィールと実測値の解離は自然対数変換後の予測プロフィールの方が小さく適切であることが示唆された.



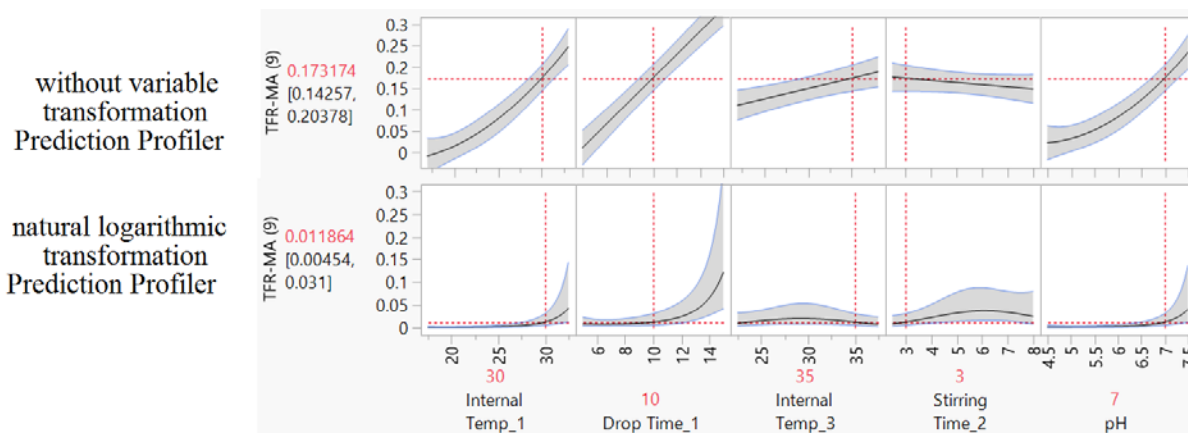
natural logarithmic transformation

without variable transformation

Internal Temp\_3 30°C, Stirring Time\_2 5.25 h, pH 6

図 3-46 不純物 9 の予測曲面プロフィール

さらに、製造管理範囲内で不純物 **9** が多く生成される反応条件 (internal temp\_1 : 30°C, droptime\_1 : 10 min, internal temp\_3 : 35°C, stirring time2 : 3 時間, pH : 7) で実験を 3 回の繰り返し、予測プロファイル間の整合性を確認した。それぞれのモデルから不純物 **9** の 95%信頼区間を算出したところ、変数変換なしのモデルは 0.14-0.20%、自然対数変換モデルは 0.00-0.03%であった (図 3-47)。3 回の実験で得られた futibatinib (**1**) 中の不純物 **9** を HPLC で評価した結果、0.05%、0.06%、0.04%となった。したがって自然対数変換後のモデルが当てはまりの良いモデルであることがわかった。



Condition of Prediction and Experiment : Internal Temp\_1 30°C, Drop Time\_1 10 min, Internal Temp\_3 35°C, Stirring Time\_2 3 h, pH 7

Experimental Results Repeated 3 times : 0.05%, 0.06%, 0.04%, Avg.0.05%

図 3-47 不純物 **9** の予測モデル検証

予測モデルの二因子間交互作用プロファイル(図 3-48)から Step A の 3-chloropropionyl chloride (**3**) 滴下時の内温である internal temp\_1, 滴下時間 drop time\_1, そして Step B の結晶化前の pH それぞれの二因子間交互作用が大きいことがわかる。温度依存的に **9** の生成が増大し、**3** の滴下時間が長くなるに伴い原料 **2** の残存時間が延びるので、中間体 **4** または futibatinib (**1**) と接触する機会が増えるため、予測モデルの二因子間交互作用と整合している。internal temp\_1 と drop time\_1 の二因子間交互作用は、第一節の不純物 **9** の自由度調整済み  $R^2$  が比較的低い値を示した (0.683) 原因である。さらに不純物 **9** は酸性側の pH で塩を形成して除去されやすく、塩基性側の pH では遊離体で存在するため除去されにくいことが Step B で pH が反応に影響を及ぼす理由であることが明らかになった。

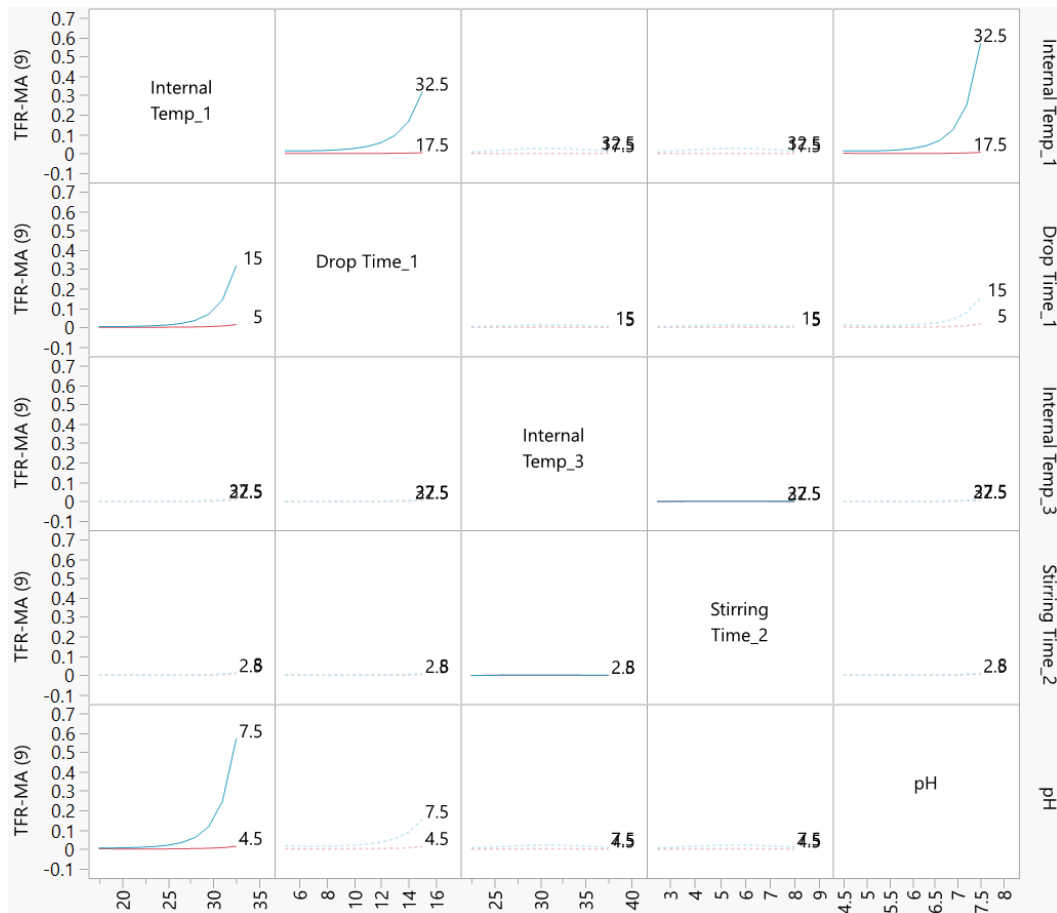


図 3-48 不純物 9 の二因子間交互作用（自然対数変換，プーリング後）

以上不純物 9 の CPP は internal temp\_1, drop time\_1 そして pH であると結論した．本統計解析により不純物 9 の予測モデルを数式 2 として構築した．

$$\begin{aligned} \text{Amount of 9(\%)} = & \text{Exp} [ -6.3153 + 1.6179\{(\text{internal temp}_1 - 25)/7.5\} + 1.0433\{(\text{drop time}_1 - 10)/5\} + \\ & 0.2177\{(\text{internal temp}_3 - 30)/7.5\} + 0.2449\{(\text{stirring time}_2 - 5.25)/2.75\} + 1.2019\{(\text{pH} - 6)/1.5\} + \\ & 0.4821\{(\text{internal temp}_1 - 25)/7.5\}\{(\text{drop time}_1 - 10)/5\} + 0.4680\{(\text{internal temp}_3 - 30)/7.5\}\{(\text{stirring} \\ & \text{time}_2 - 5.25)/2.75\} + 0.6255\{(\text{internal temp}_1 - 25)/7.5\}\{(\text{pH} - 6)/1.5\} + 1.0673\{(\text{internal temp}_1 - 25)/7.5\}^2 \\ & + 0.9558\{(\text{drop time}_1 - 10)/5\}^2 - 0.8887\{(\text{internal temp}_3 - 30)/7.5\}^2 - 0.8887\{(\text{stirring time}_2 - \\ & 5.25)/2.75\}^2 + 1.2356\{(\text{pH} - 6)/1.5\}^2] \end{aligned}$$

数式 2 不純物 9 の予測モデル

次に不純物 10 のデータを解析した．半正規プロット（図 3-49）と分散分析（表 3-31）から不純物 10 に大きく寄与するパラメータは internal temp\_3, stirring time\_2, そしてそれらの二因子間交互作用であることが判明した．

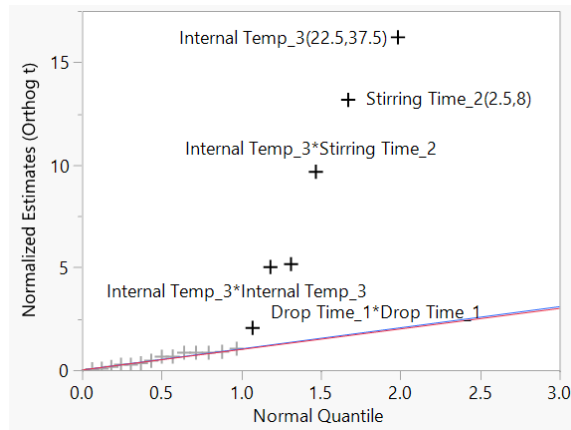


図 3-49 不純物 10 の Half normal プロット (変数変換なし, プーリング前)

表 3-31 不純物 10 の分散分析 (変数変換なし, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.38788004	20	0.019394	29.7524	< 0.0001
Internal Temp_3	0.17208889	1	0.172089	264.0018	< 0.0001
Stirring Time_2	0.11360556	1	0.113606	174.2824	< 0.0001
Internal Temp_3*Stirring Time_2	0.06125625	1	0.061256	93.9733	< 0.0001
Internal Temp_3*Internal Temp_3	0.01524573	1	0.015246	23.3885	0.0009
Internal Temp_1*Drop Time_1	0.00075625	1	0.000756	1.1602	0.3095
Drop Time_1	0.00055556	1	0.000556	0.8523	0.3800
Stirring Time_2*pH	0.00050625	1	0.000506	0.7766	0.4011
Drop Time_1*Internal Temp_3	0.00050625	1	0.000506	0.7766	0.4011
Internal Temp_1*pH	0.00050625	1	0.000506	0.7766	0.4011
pH*pH	0.00030888	1	0.000309	0.4739	0.5086
Internal Temp_3*pH	0.00030625	1	0.000306	0.4698	0.5103
Drop Time_1*pH	0.00015625	1	0.000156	0.2397	0.6361
pH	0.00008889	1	0.000089	0.1364	0.7205
Internal Temp_1*Internal Temp_3	0.00005625	1	0.000056	0.0863	0.7756
Internal Temp_1*Stirring Time_2	0.00005625	1	0.000056	0.0863	0.7756
Stirring Time_2*Stirring Time_2	0.00003520	1	0.000035	0.0540	0.8214
Internal Temp_1	0.00002222	1	0.000022	0.0341	0.8576
Drop Time_1*Stirring Time_2	0.00000625	1	0.000006	0.0096	0.9241
Drop Time_1*Drop Time_1	0.00000362	1	0.000004	0.0056	0.9422
Internal Temp_1*Internal Temp_1	0.00000362	1	0.000004	0.0056	0.9422
Residual	0.00586663	9	0.000652	-	-
Lack of Fit	0.00559163	6	0.000932	10.1666	0.0419
Pure Error	0.00027500	3	0.000092	-	-
Corrected Total	0.39374667	29	-	-	-

Summary of Fit

$R^2 = 0.985$ , Adjusted  $R^2 = 0.952$ , Root mean square error = 0.02553

プーリング後の解析では 4 つの主効果とそれらの二因子間交互作用そして二次項が有意であった (表 3-32)。LOF 検定は有意であったが、自由度調整済み  $R^2$  の値は 0.972 と大きくなった。予測値と実測値のプロット (図 3-50) から曲線傾向等は確認されなかったが、残差プロット (図 3-51) はわずかに曲線傾向を示した。予測プロファイル (図 3-52) の stirring time\_2 は 2 時間以下の予測値が 0 以下となるモデルであった。以上の結果を踏まえて自然変数変換後のデータを解析した。

表 3-32 不純物 10 の分散分析 (変数変換なし, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	0.38526472	7	0.055038	142.7541	< 0.0001
Internal Temp_3	0.17208889	1	0.172089	446.3547	< 0.0001
Stirring Time_2	0.11360556	1	0.113606	294.6638	< 0.0001
Internal Temp_3*Stirring Time_2	0.06125625	1	0.061256	158.8831	< 0.0001
Internal Temp_3*Internal Temp_3	0.03698000	1	0.036980	95.9167	< 0.0001
Internal Temp_1*Drop Time_1	0.00075625	1	0.000756	1.9615	0.1753
Drop Time_1	0.00055556	1	0.000556	1.4410	0.2427
Internal Temp_1	0.00002222	1	0.000022	0.0576	0.8125
Residual	0.00848194	22	0.000386	-	-
Lack of Fit	0.00814861	17	0.000479	7.1900	0.0193
Pure Error	0.00033333	5	0.000067	-	-
Corrected Total	0.39374667	29	-	-	-

Summary of Fit  
 $R^2 = 0.978$ , Adjusted  $R^2 = 0.972$ , Root mean square error = 0.01964



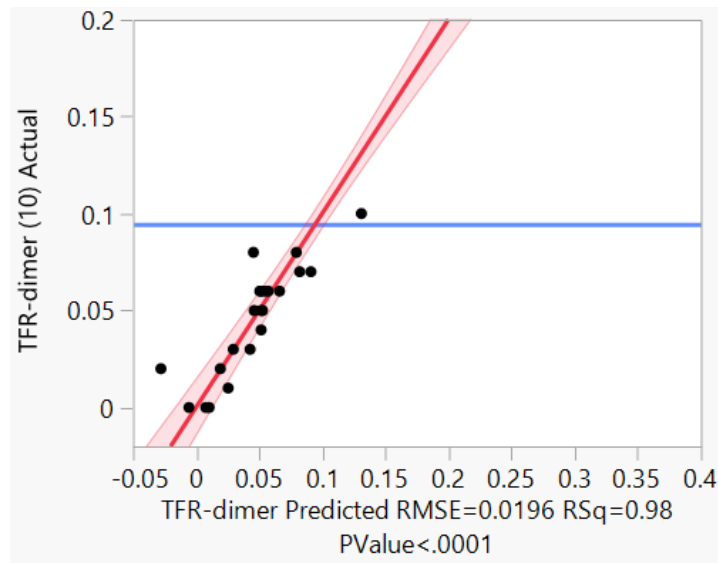


図 3-50 不純物 10 の実測値と予測値のプロット（変数変換なし，プーリング後）

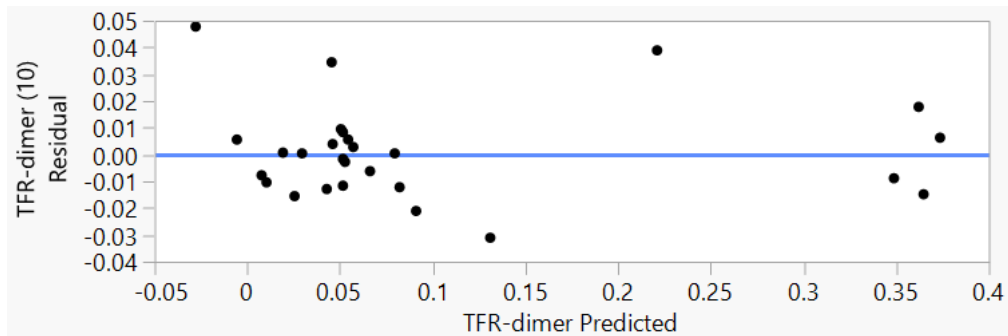


図 3-51 不純物 10 の残差プロット（変数変換なし，プーリング後）

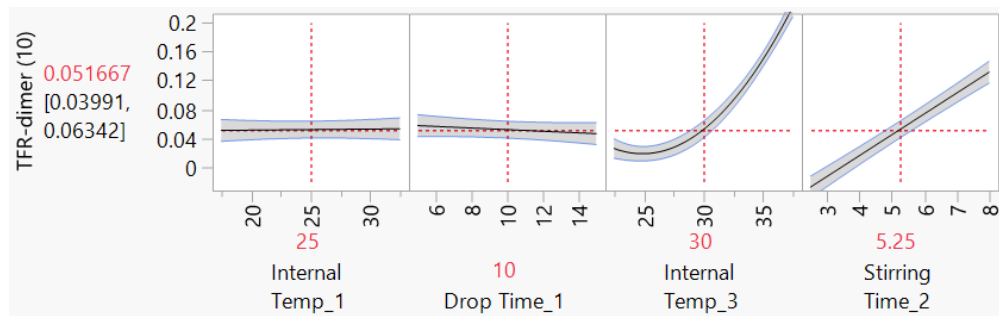


図 3-52 不純物 10 の予測プロファイル（変数変換なし，プーリング後）

半正規プロット（図 3-53）と分散分析（表 3-33）から，不純物 10 に大きな影響を与えるパラメータは変数変換しても internal temp\_3 と stirring time\_2 であり変化は認められなかったが，二因子間相互作用の影響は小さくなった。

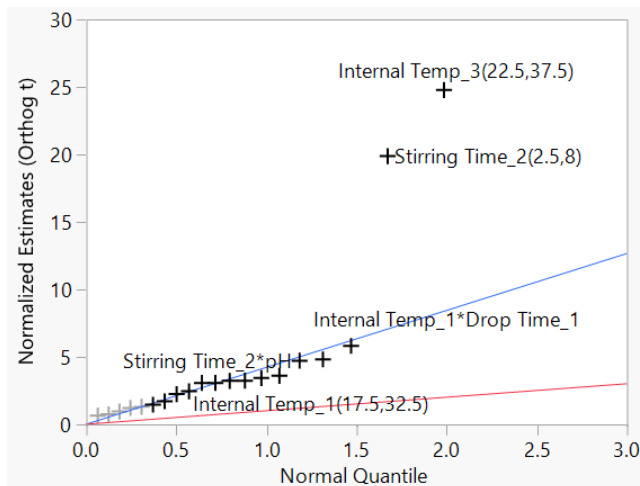


図 3-53 不純物 10 の Half normal プロット (自然対数変換, プーリング前)

表 3-33 不純物 10 の分散分析 (自然対数変換, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	69.488572	20	3.47443	59.1169	< 0.0001
Internal Temp_3	36.193546	1	36.19355	615.8276	< 0.0001
Stirring Time_2	23.316098	1	23.31610	396.7198	< 0.0001
Internal Temp_3*Stirring Time_2	2.022919	1	2.02292	34.4197	0.0002
Internal Temp_1*Drop Time_1	1.391996	1	1.39200	23.6846	0.0009
Stirring Time_2*pH	1.334084	1	1.33408	22.6992	0.0010
Drop Time_1*pH	0.784158	1	0.78416	13.3423	0.0053
Drop Time_1*Stirring Time_2	0.713025	1	0.71303	12.1320	0.0069
Internal Temp_1*pH	0.635686	1	0.63569	10.8161	0.0094
Drop Time_1	0.631507	1	0.63151	10.7450	0.0096
Internal Temp_1*Stirring Time_2	0.571808	1	0.57181	9.7292	0.0123
Internal Temp_1*Internal Temp_3	0.571808	1	0.57181	9.7292	0.0123
Internal Temp_1	0.367997	1	0.36800	6.2614	0.0337
Drop Time_1*Internal Temp_3	0.309944	1	0.30994	5.2736	0.0473
pH	0.134036	1	0.13404	2.2806	0.1653
Internal Temp_3*pH	0.107812	1	0.10781	1.8344	0.2086
pH*pH	0.059030	1	0.05903	1.0044	0.3424
Stirring Time_2*Stirring Time_2	0.059030	1	0.05903	1.0044	0.3424
Drop Time_1*Drop Time_1	0.005589	1	0.00559	0.0951	0.7648
Internal Temp_1*Internal Temp_1	0.005589	1	0.00559	0.0951	0.7648
Internal Temp_3*Internal Temp_3	0.001397	1	0.00140	0.0238	0.8809
Residual	0.528950	9	0.05877	-	-
Lack of Fit	0.413542	6	0.06892	1.7917	0.3382
Pure Error	0.115408	3	0.03847	-	-
Corrected Total	70.017522	29	-	-	-

Summary of Fit

$R^2 = 0.992$ , Adjusted  $R^2 = 0.976$ , Root mean square error = 0.24243

プーリングして解析した結果、LOF 検定は有意でなく自由度調整済み  $R^2$  も 0.981 と大きな値を示した (表 3-34)。予測値と実測値のプロット (図 3-54) では 1 点外れ値が認められたが、残差プロット (図 3-55) では懸念される傾向は確認されなかった。予測プロファイル (図 3-56) の 95% 信頼区間も広くなかったため、自然対数変換後の予測モデルが適切と結論した。

表 3-34 不純物 10 の分散分析 (自然対数変換, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	69.420201	16	4.33876	94.4283	< 0.0001
Internal Temp_3	36.193546	1	36.19355	787.7117	< 0.0001
Stirring Time_2	23.316098	1	23.31610	507.4486	< 0.0001
Internal Temp_3*Stirring Time_2	2.022919	1	2.02292	44.0265	< 0.0001
Internal Temp_1*Drop Time_1	1.391996	1	1.39200	30.2952	0.0001
Stirring Time_2*pH	1.334084	1	1.33408	29.0348	0.0001
Drop Time_1*pH	0.784158	1	0.78416	17.0663	0.0012
Drop Time_1*Stirring Time_2	0.713025	1	0.71303	15.5182	0.0017
Internal Temp_1*pH	0.635686	1	0.63569	13.8350	0.0026
Drop Time_1	0.631507	1	0.63151	13.7440	0.0026
Internal Temp_1*Stirring Time_2	0.571808	1	0.57181	12.4448	0.0037
Internal Temp_1*Internal Temp_3	0.571808	1	0.57181	12.4448	0.0037
Internal Temp_1	0.367997	1	0.36800	8.0090	0.0142
pH*pH	0.333777	1	0.33378	7.2643	0.0184
Drop Time_1*Internal Temp_3	0.309944	1	0.30994	6.7456	0.0221
pH	0.134036	1	0.13404	2.9171	0.1114
Internal Temp_3*pH	0.107812	1	0.10781	2.3464	0.1495
Residual	0.597320	13	0.04595	-	-
Lack of Fit	0.48191239	10	0.04819	1.2527	0.4775
Pure Error	0.115408	3	0.03847	-	-
Corrected Total	70.017522	29	-	-	-
<b>Summary of Fit</b>					
$R^2 = 0.991$ , Adjusted $R^2 = 0.981$ , Root mean square error = 0.21435					

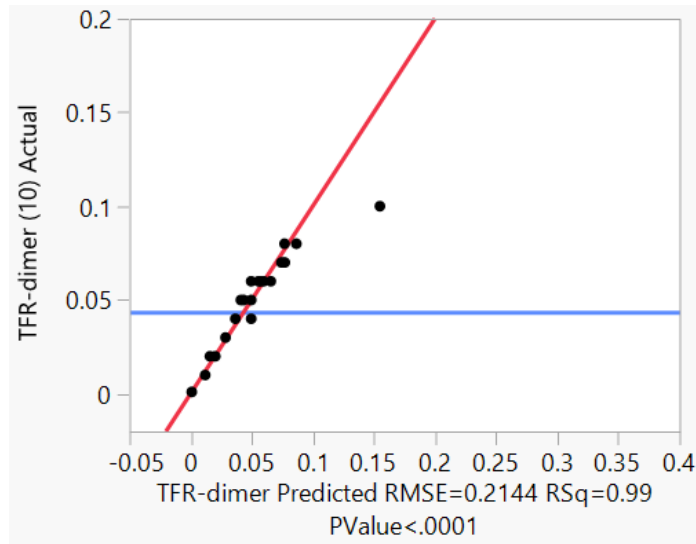


図 3-54 不純物 10 の実測値と予測値のプロット（自然対数変換，プーリング後）

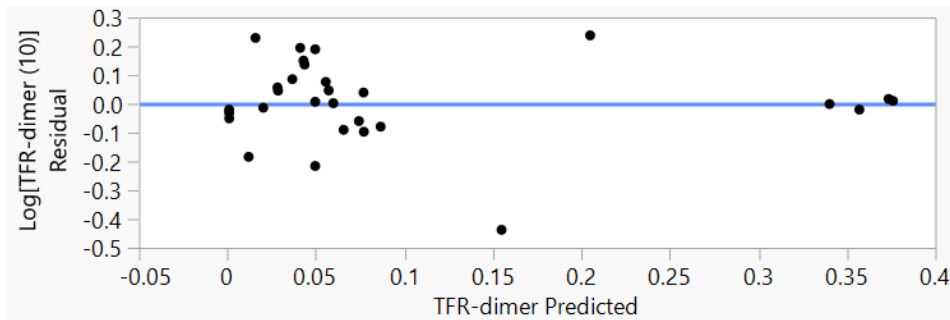


図 3-55 不純物 10 の残差プロット（自然対数変換，プーリング後）

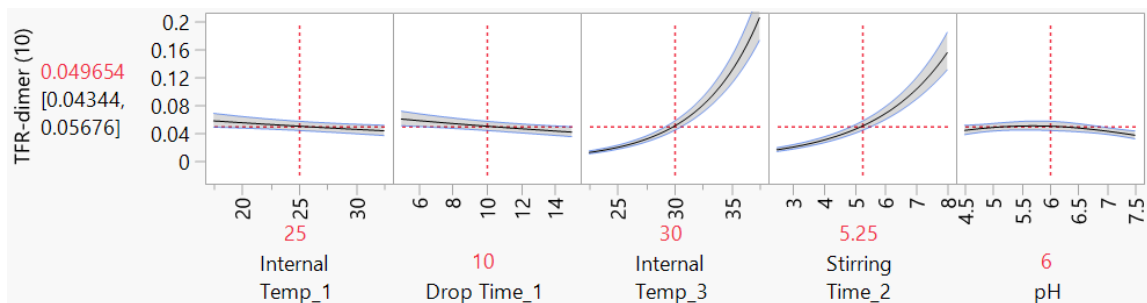


図 3-56 不純物 10 の予測プロファイル（自然対数変換，プーリング後）

二因子間交互作用プロファイル（図 3-57）から，Step B の $\beta$ -脱離反応時の内温である internal temp\_3 と反応時間 stirring time\_2 の二因子間交互作用が大きいことがわかり，不純物 10 の反応機構を支持する結果が得られた。

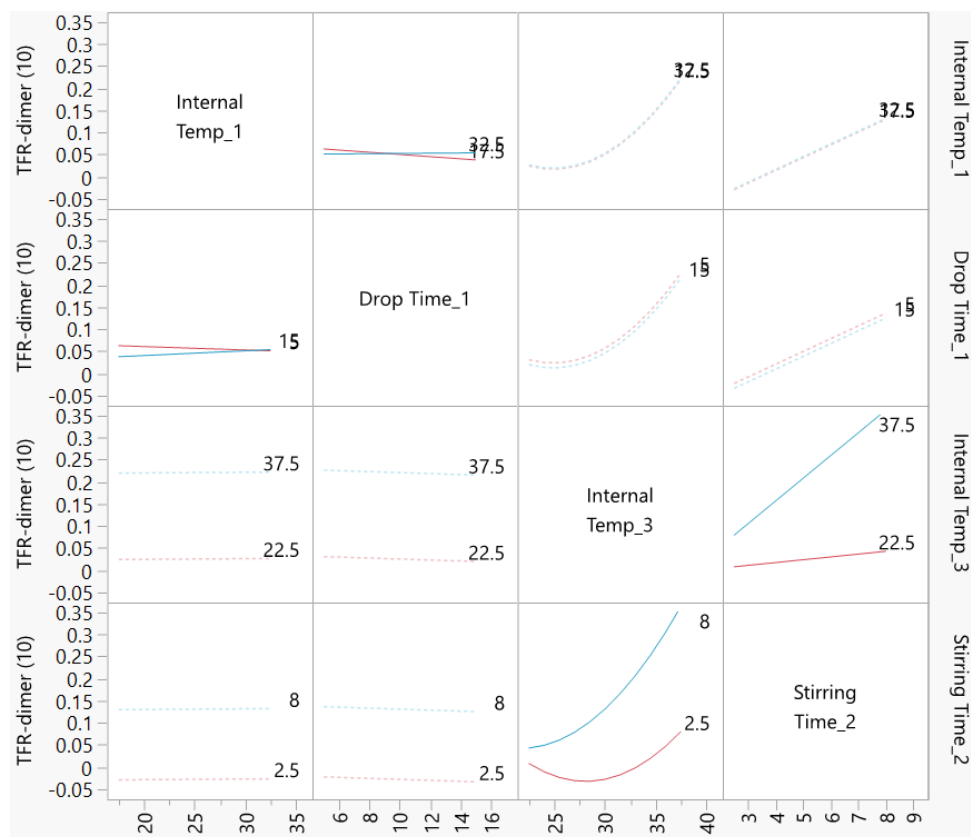


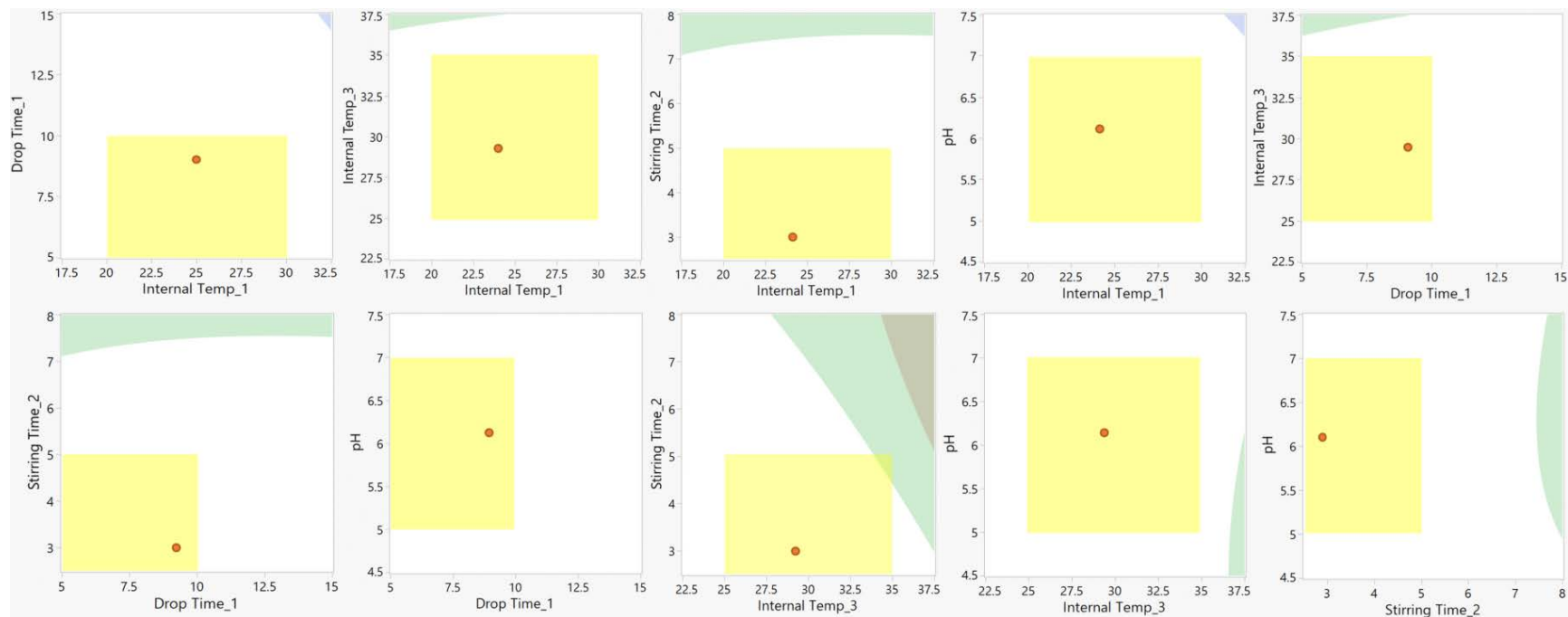
図 3-57 不純物 10 の二因子間交互作用（自然対数変換，プーリング後）

本統計解析により不純物 10 の予測モデルを数式 3 として構築した。

$$\begin{aligned} \text{Amount of 10 (\%)} = & \text{Exp} [-3.0027 - 0.1430\{(\text{internal temp}_1 - 25)/7.5\} - 0.1873\{(\text{drop time}_1 \\ & - 10)/5\} + 1.4180\{(\text{internal temp}_3 - 30)/7.5\} + 1.1381\{(\text{stirring time}_2 - 5.25)/2.75\} - \\ & 0.0863\{(\text{pH} - 6)/1.5\} + 0.2950\{(\text{internal temp}_1 - 25)/7.5\}\{(\text{drop time}_1 - 10)/5\} + \\ & 0.1890\{(\text{internal temp}_1 - 25)/7.5\}\{(\text{internal temp}_3 - 30)/7.5\} + 0.1392\{(\text{drop time}_1 - \\ & 10)/5\}\{(\text{internal temp}_3 - 30)/7.5\} + 0.1890\{(\text{internal temp}_1 - 25)/7.5\}\{(\text{stirring time}_2 - \\ & 5.25)/2.75\} + 0.2111\{(\text{drop time}_1 - 10)/5\}\{(\text{stirring time}_2 - 5.25)/2.75\} - 0.3556\{(\text{internal} \\ & \text{temp}_3 - 30)/7.5\}\{(\text{stirring time}_2 - 5.25)/2.75\} + 0.1993\{(\text{internal temp}_1 - 25)/7.5\}\{(\text{pH} - \\ & 6)/1.5\} + 0.2214\{(\text{drop time}_1 - 10)/5\}\{(\text{pH} - 6)/1.5\} + 0.0821\{(\text{internal temp}_3 - 30)/7.5\}\{(\text{pH} \\ & - 6)/1.5\} + 0.2888\{(\text{stirring time}_2 - 5.25)/2.75\}\{(\text{pH} - 6)/1.5\} - 0.2153\{(\text{pH} - 6)/1.5\}^2] \end{aligned}$$

### 数式 3 不純物 10 の予測モデル

不純物 6, 9 そして 10 の重回帰予測モデルから DS を構築した。それぞれの予測モデルは有意水準 0.20 でプーリングされたモデルのため、モデルを合わせた DS 構築のためにすべてのパラメータを含むモデルを使用した (図 3-58)。その結果、futibatatinib (1) 製造では不純物 6, 9 そして 10 はプロセスパラメータの管理目標値と管理範囲で十分に制御できることが明らかとなった。しかし不純物 10 は、internal temp\_3 を 35 °C, stirring time\_2 を 5 時間で製造すると、0.10% (許容値) を超えて残留する可能性が示唆された。



White Zone	All responses met the predefined criteria.
Red Zone	TFR-OH (6) response failed to meet the predefined criteria
Blue Zone	TFR-MA (9) response failed to meet the predefined criteria
Green Zone	TFR-dimer (10) response failed to meet the predefined criteria
Yellow Zone	Control range of the parameters
Red Point ●	Operation target value of the parameters

図 3-58 不純物 6, 9, 10 のデザインスペース

そこで、不純物 **10** の副生が最大となるパラメータを組み合わせることで残留を算出した (図 3-59)。その結果、**10** は 0.10%~0.14% となり、0.10% (許容値) を超える可能性が示唆された。**10** の予測副生割合を検証するためにこのパラメータを組み合わせることで実際に実験した。その結果、**10** は許容値を上回る 0.12% 副生した。しかし Performance Qualification と Process Validation の合計 4 バッチでは、これらのパラメータは商用生産設備で十分に制御されており、CPP が最悪の反応条件となる可能性は低い。さらに、**10** は Step C の再結晶工程を再度行えば十分除去できる。したがって、internal temp\_3 と stirring time\_2 の管理範囲の厳格化は不要と判断した。

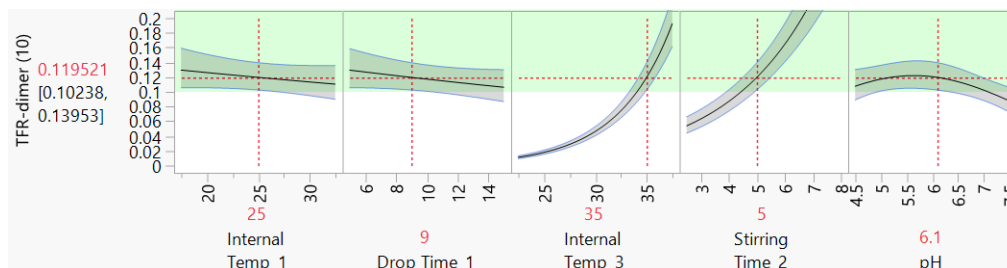


図 3-59 不純物 **10** が最大となるパラメータの組み合わせと予測値

以上の結果に基づいて再度 FMEA を実施したところ (表 3-35)、CPP は不純物の生成と残留の変動に寄与するが、DS から安定生産可能であることが示されたので、表 3-2 の定義から CPP の重大性スコアを 4 と再評価した。以上、すべてのリスクランクは Negligible または Low となった。本章の結果から、futibatinib (**1**) の品質に影響を与える可能性のある不純物の詳細なリスクを明らかにした。Futibatinib (**1**) 中の不純物は製造パラメータの管理内で十分に制御でき、高品質 futibatinib (**1**) の安定商用生産が可能であることを証明した。

表 3-35 面中心複合計画の実験と統計解析により更新された FMEA

Step	Operation No.	Process Parameter	Abbreviation	Score			RPN	Risk Rank	Impact	Impurities Affected
				S	P	D				
A	1	Amount of CH <sub>3</sub> CN	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	2	Amount of H <sub>2</sub> O	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	4	Amount of NaOH aq.	- <sup>a</sup>	3	1	2	6	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	1 to 16	Stirring speed	- <sup>a</sup>	2	1	1	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	5	Amount of purified H <sub>2</sub> O (rinse of first NaOH charge)	- <sup>a</sup>	1	1	2	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	6 to 8	Temperature (acylation)	internal temp_1	4	3	1	12	Low	CPP	<b>9</b>
	7	Dropping time (addition of <b>3</b> )	drop time_1	4	3	1	12	Low	CPP	<b>9</b>
	7	Amount of <b>3</b>	- <sup>a</sup>	2	2	2	8	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	7	Amount of CH <sub>3</sub> CN	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
	8	Reaction time (acylation)	stirring time_1	1	3	1	3	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>
9 to 10	Temperature	internal temp_2	1	2	1	2	Negligible	non-CPP	-	
9	Amount of NaOH aq.	NaOH	1	2	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
10	Amount of H <sub>2</sub> O (rinse of second NaOH charge)	- <sup>a</sup>	1	1	2	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
11 to 12	Temperature (elimination)	internal temp_3	4	2	1	8	Negligible	CPP	<b>6, 10</b>	
12	Reaction time (elimination)	stirring time_2	4	2	1	8	Negligible	CPP	<b>6, 10</b>	
13 to 14	Temperature	internal temp_4	1	3	1	3	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
13	pH adjustment	pH	4	1	2	8	Negligible	CPP	<b>9</b>	
14	Stirring time	stirring time_3	1	3	1	3	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
15	Temperature	internal temp_5	1	2	1	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
15	Drop time	drop time_2	1	3	1	3	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
15	Amount of H <sub>2</sub> O (anti-solvent)	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
16 to 17	Temperature	internal temp_6	1	2	1	2	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
19	Amount of H <sub>2</sub> O (cake wash)	- <sup>a</sup>	1	1	1	1	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
20	Drying temperature	- <sup>a</sup>	2	3	1	6	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	
20	Drying time	- <sup>a</sup>	2	3	1	6	Negligible	non-CPP	- <sup>a</sup>	

<sup>a</sup>: not applicable



## 第四章 粒子径のデザインスペース開発

### 第一節 粒子径の CPP 特定

Futibatinib の結晶化工程と乾燥工程（図 4-1）の手順と暫定的な工程管理水準を表 4-1 に示す。Futibatinib (1) の Step C の再結晶工程は，crude futibatinib (1) をエタノールと精製水に溶解させた後，活性炭を加えて攪拌する。次に活性炭，異物，塵埃等の不溶物の除去後，ろ液に種晶を投入して結晶化させる。結晶を熟成させた後ろ過乾燥機でろ取し，湿晶をエタノールで洗浄する。減圧下で静置乾燥した後，攪拌しながら乾燥して futibatinib (1) を得る。製造手順から抽出された工程パラメータについて，表 3-2 と表 3-3 の定義に従って FMEA を用いて初期のリスクアセスメントを行った。冷却速度は粒子径に影響せず，攪拌乾燥工程は粒子径に影響することが初期研究により判明している。その他の工程パラメータの粒子径への影響は検討されておらず，粒子径変動に寄与する可能性があるため重大性は 5 とスコアリングした（表 4-2）。RPN が 15 を超える工程パラメータは存在しなかったが，工程パラメータの RPN が 15 未満であっても重大性のスコアが 5 のパラメータは p-CPP である。Ethanol rate, Total volume, Agitation speed\_1, Temp\_1, Amount of seed, Particle size of seed, Agitation speed\_2, Aging temp\_1, Aging time\_1, Aging time\_2, Agitation speed of the dryer, そして Agitated dry time が futibatinib (1) の粒子径の p-CPP として特定された。

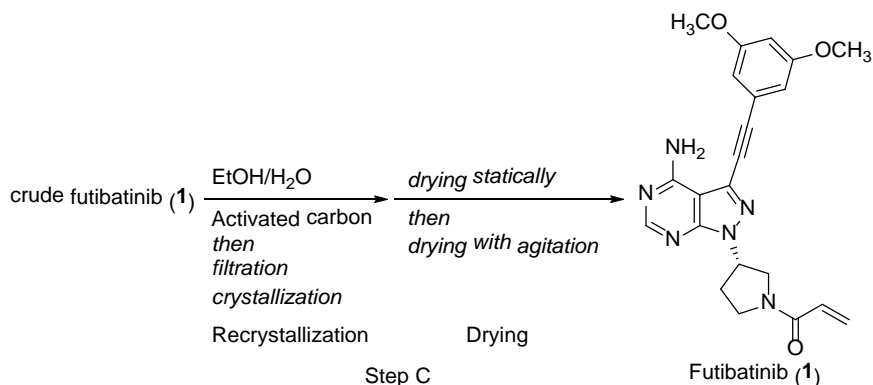


図 4-1 Futibatinib (1) の結晶化工程及び乾燥工程

表 4-1 Step C の製造手順

Step	Operation	Tentative Control Range			Material
		Temperature (°C)	Time (h)	Agitation Speed (rpm) <sup>d</sup>	
1	Input of materials	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	-	Ethanol (w/w)
2	Input of materials	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	-	Purified water (w/w)
3	Input of materials	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	-	crude <b>1</b> (standard)
4	Heating	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	(73 to 77)	- <sup>a</sup>
5	Checking dissolution	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	(73 to 77)	- <sup>a</sup>
6	Input of materials	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	(73 to 77)	Ethanol (w/w)
7	Input of materials	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	(73 to 77)	Purified water (w/w)
8	Input of materials	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	(73 to 77)	Activated carbon (w/w)
9	Aging	70 to 78	1	(73 to 77)	- <sup>a</sup>
10	Filtration	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	-	- <sup>a</sup>
11	Washing of cake	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	-	Ethanol (w/w)
12	Washing of cake	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	-	Purified water (w/w)
13	Temperature control	35 to 45	- <sup>a</sup>	(77 to 83)	- <sup>a</sup>
14	Input of seed crystals	35 to 45	- <sup>a</sup>	(77 to 83)	Seed crystal (wt%)
15	Temperature control	20 to 30	- <sup>a</sup>	(77 to 83)	- <sup>a</sup>
16	Agitation of slurry	20 to 30	NLT <sup>c</sup> 12	(77 to 83)	- <sup>a</sup>
17	Temperature control	20 to 30	- <sup>a</sup>	(77 to 83)	- <sup>a</sup>
18	Agitation of slurry	0 to 10	3	(77 to 83)	- <sup>a</sup>
19	Filtration	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	(77 to 83)	- <sup>a</sup>
20	Washing of cake	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	(77 to 83)	Ethanol (w/w)
21	Static drying	NMT <sup>b</sup> 60	(10)	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>
22	Agitated drying	NMT <sup>b</sup> 60	(1)	(8 to 12)	- <sup>a</sup>

*a*: Not applicable, *b*: Not more than., *c*: Not less than., *d*: Values in parentheses show that the targets were set after trial manufacture of the commercial product. These values may differ from those in laboratory experiments.

表 4-2 製法検討情報と考察に基づいた FMEA

Step	Process Parameter	Abbreviation	Score			RPN	Risk Rank	Impact
			S	P	D			
1 to 12	Ethanol content rate	Ethanol rate	5	1	2	10	Low	p-CPP
1 to 12	Total volume of solvent	Total volume	5	1	2	10	Low	p-CPP
4 to 14	Agitation speed	Agitation speed_1	5	1	1	5	Negligible	p-CPP
14	Seed input temperature	Temp_1	5	2	1	10	Low	p-CPP
14	Amount of seed	- <sup>a</sup>	5	1	2	10	Low	p-CPP
14	Particle size of seed	- <sup>a</sup>	5	1	2	10	Low	p-CPP
15	Cooling rate	Cooling rate_1	2	3	1	6	Negligible	non-CPP
15 to 18	Agitation speed	Agitation speed_2	5	1	1	5	Negligible	p-CPP
16	Aging temperature	Aging temp_1	5	2	1	10	Low	p-CPP
16	Aging time	Aging time_1	5	1	1	5	Negligible	p-CPP
17	Cooling rate	Cooling rate_2	2	3	1	6	Negligible	non-CPP
18	Aging temperature	Aging temp_2	5	2	1	10	Low	p-CPP
18	Aging time	Aging time_2	5	1	1	5	Negligible	p-CPP
22	Agitation speed of dryer	- <sup>a</sup>	5	1	2	10	Low	p-CPP
22	Agitated drying time	- <sup>a</sup>	5	1	2	10	Low	p-CPP

<sup>a</sup>: Not applicable

次に、結晶化工程の CPP 特定を目的とした実験を計画した。再結晶化工程は懸濁液、すなわち不均一系であるため物理化学的な設備とスケールへの依存性を考慮する必要がある。そのため商用生産の設備とスケールで検討することが好ましい。しかし、商用生産スケールでの OFAT や DoE の検討では、高価な中間体を大量に使用するとともに、長期間の検討となるため現実的ではない。そこで、ラボスケールで DoE による実験検討し、統計解析結果から設備やスケール依存の工程パラメータが粒子径に影響を与えることが示唆された場合にのみ、商用設備で CPP の検証をすることとした。

本実験の目的は CPP の特定であるため resolution IV 以上の計画を候補とした。p-CPP 数が 11 のため、第三章と同様に  $L_{12}$  直交表の Plackett-Burman 計画を選択した。本実験計画は純粋誤差と曲線効果を確認するための、中心実験 4 回を含む合計 16 回の実験で構成されている (表 4-3)。実験は Step C の結晶化工程の後、静置乾燥して futibatinib (1) を取得する。種晶の粒子径は連続変数として設定することが困難であるため、質的因子として設定した。攪拌速度以外の工程パラメータは管理範囲の外側の水準とした。攪拌速度は、攪拌翼の種類、攪拌翼の直径、バッフル、温度計等が商業生産施設と相似形の実験装置がなかったため、層流が発生する最小の攪拌速度と溶液や懸濁液が激しく飛散しない最大の攪拌速度の範囲で水準を設定した。特性値は PSD の D50 と D90 とし、それぞれの実験で得られた結晶を 3 回 PSD 測定し、中央値を統計解析することとした。本スクリーニングの実験計画を無作為化してそれぞれデータを取得した (表 4-4)。

表 4-3 晶析工程の粒子径 CPP スクリーニング DoE

Design of Experiment			Plackett-Burman: $L_{12}$		
Resolution			III		
Number of Factors			11		
Number of Center Points			4		
Number of Experimental Runs			16 (Including Center Points)		
Step	Process Parameter		Levels		
			-1	0	+1
1 to 12	Ethanol rate	(%)	75	80	85
1 to 12	Total volume	(%)	90	100	110
4 to 14	Agitation speed_1	(rpm)	70	205	340
14	Temp_1	(°C)	30	40	50
14	Amount of seed	(w/w)	0.15	0.225	0.3
14	Particle size of seed	<sup>a</sup>	Small	Middle	Large
15 to 18	Agitation speed_2	(rpm)	70	205	340
16	Aging time_1	(h)	12	18	24
16	Aging temp_1	(°C)	15	25	35
18	Aging time_2	(h)	0	12	24
18	Aging temp_2	(°C)	-5	5	15

<sup>a</sup>: Not applicable. It is set for a categorical factor. References for D50 are: Small, 24  $\mu\text{m}$ ; Middle, 51  $\mu\text{m}$ ; and Large, 252  $\mu\text{m}$ .

表 4-4 スクリーニング DoE 実験により取得した futibatinib の PSD

No.	Level <sup>a</sup>	Particle Size Distribution <sup>b</sup> (μm)	
		D50	D90
1	+++++	37.60	153.7
2	--+-++	19.81	97.88
3	-+++--	42.51	164.8
4	-+-++-	83.95	233.8
5	-+--+-	46.35	169.7
6	000000	33.93	150.7
7	000000	33.38	153.6
8	+--++-	42.13	203.2
9	+---+-	35.00	154.5
10	--+---	62.10	258.9
11	+++--+	26.73	137.1
12	000000	30.20	134.4
13	000000	31.40	141.6
14	---+--	38.21	163.3
15	++----	75.73	327.6
16	+---+-	35.41	142.3

*a*: From left to right: Ethanol rate, Total volume, Agitation speed\_1, Temp\_1, Amount of seed, Particle size of seed, Agitation speed\_2, Aging time\_1, Aging temp\_1, Aging time\_2, Aging temp\_2, *b*: PSDs are measured three times, and the medians are shown.

D50の結果を統計解析した結果、半正規プロット(図 4-2)に有意なパラメータは認められなかった。分散分析の結果(表 4-5) p 値が 0.05 以下であったパラメータは Agitation Speed\_2, Seed PSD, Agitation Speed\_1, Total Volume, Aging Temp\_1, Aging Temp\_2, Ethanol Rate, Aging Time\_1, そして Aging Temp\_2 であった。続いて、有意水準 0.05 で有意とならなかった因子をプーリングした。

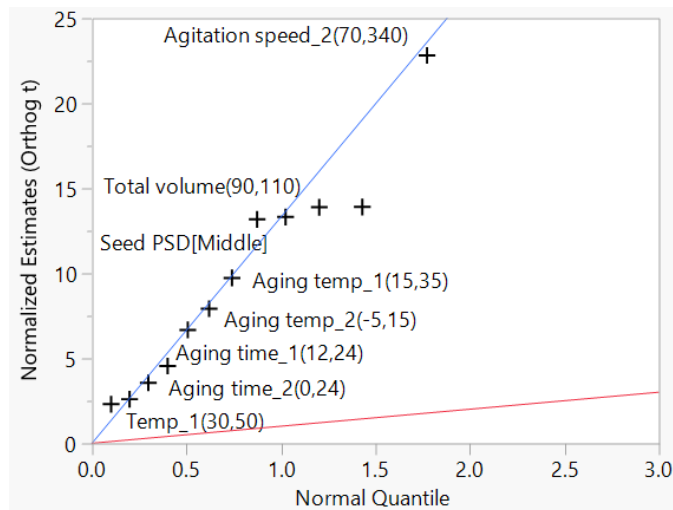


図 4-2 Futibatinib D50 の Half-normal プロット (変数変換なし)

表 4-5 Futibatinib D50 の分散分析 (変数変換なし, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	4554.0810	12	379.507	126.1899	0.0010
Agitation Speed_2	1571.1697	1	1571.170	522.4302	0.0002
Seed PSD	1108.7524	2	554.376	184.3358	0.0007
Agitation Speed_1	584.7844	1	584.784	194.4469	0.0008
Total Volume	536.1370	1	536.137	178.2711	0.0009
Aging Temp_1	287.2387	1	287.239	95.5098	0.0023
Aging Temp_2	190.4830	1	190.483	63.3376	0.0041
Ethanol Rate	135.5424	1	135.542	45.0693	0.0067
Aging Time_1	63.4340	1	63.434	21.0925	0.0194
Aging Time_2	39.0602	1	39.060	12.9879	0.0367
Seed Amount	20.9352	1	20.935	6.9612	0.0778
Temp_1	16.5440	1	16.544	5.5011	0.1007
Residual	9.0223	3	3.007	-	-
Corrected Total	4563.1033	15	-	-	-

Summary of Fit  
 $R^2 = 0.998$ , Adjusted  $R^2 = 0.990$ , Root Mean Square Error = 1.734

プーリング後の分散分析の結果 (表 4-6), 有意となった工程パラメータは7つあり, D50 に最も影響するパラメータは Agitation speed\_2 であることがわかった. 自由度調整済み  $R^2$  は 0.930 と大きかったが, LOF 検定結果は有意であり, さらに残差プロットは曲線傾向を否定できない結果であったためデータを自然対数変換して統計解析した.

表 4-6 Futibatiniib D50 の分散分析 (変数変換なし, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	4414.1076	8	551.763	25.9225	0.0002
Agitation speed_2	1571.1697	1	1571.170	73.8155	< 0.0001
Seed PSD	1108.7524	2	554.376	26.0453	0.0006
Agitation speed_1	584.7844	1	584.784	27.4739	0.0012
Total volume	536.1370	1	536.137	25.1884	0.0015
Aging temp_1	287.2387	1	287.239	13.4948	0.0079
Aging temp_2	190.4830	1	190.483	8.9491	0.0202
Ethanol rate	135.5424	1	135.542	6.3679	0.0396
Residual	148.99571	7	21.285	-	-
Lack of fit	139.97343	4	34.9934	11.6357	0.0359
Pure error	9.02228	3	3.0074	-	-
Corrected total	4563.1033	15	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.967$ , Adjusted  $R^2 = 0.930$ , Root mean square error = 4.614

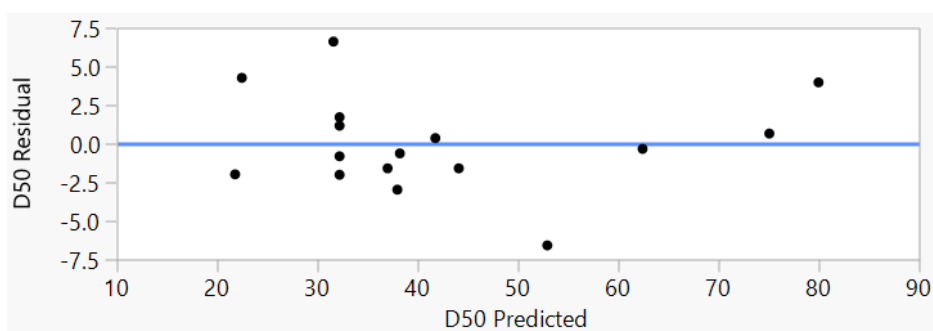


図 4-3 Futibatiniib D50 の残差プロット (変数変換なし, プーリング後)

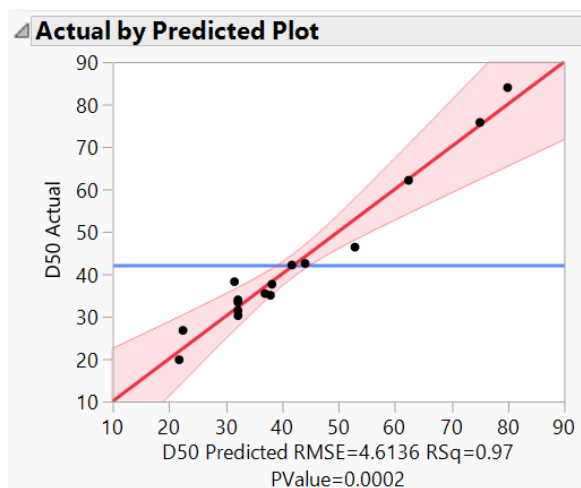


図 4-4 Futibatiniib D50 の予測値と実測値のプロット (変数変換なし, プーリング後)

変数変換後の半正規プロット（図 4-5）と分散分析（表 4-7）の結果は概ね変数変換を行わない結果と同様で、Agitation speed\_2 が最も寄与するパラメータであった。続いて有意水準 0.05 で有意とならない因子をプーリングして統計解析した。

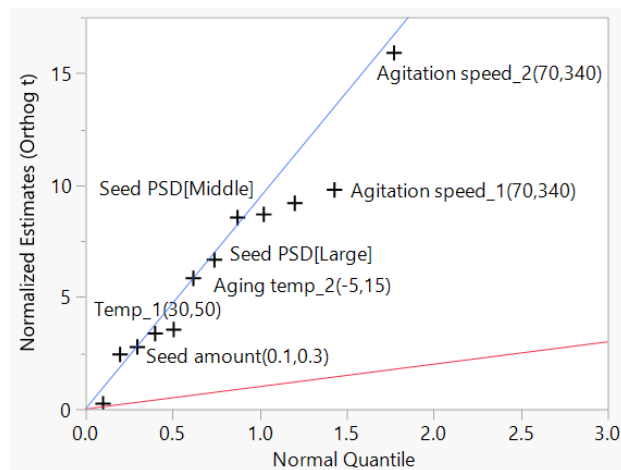


図 4-5 Futibatinib D50 の Half-normal プロット（自然対数変換）

表 4-7 Futibatinib D50 の分散分析（自然対数変換，プーリング前）

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	2.0579329	12	0.171494	58.6055	0.0032
Agitation Speed_2	0.7433642	1	0.743364	254.0331	0.0005
Agitation Speed_1	0.2823891	1	0.282389	96.5021	0.0022
Aging Temp_1	0.2490413	1	0.249041	85.1060	0.0027
Total Volume	0.2227727	1	0.222773	76.1291	0.0032
Seed PSD	0.3468775	2	0.173439	59.2700	0.0039
Aging Temp_2	0.1008663	1	0.100866	34.4695	0.0099
Ethanol Rate	0.0375363	1	0.037536	12.8274	0.0372
Temp_1	0.0339579	1	0.033958	11.6046	0.0423
Seed Amount	0.0230385	1	0.023039	7.8730	0.0675
Aging Time_2	0.0178739	1	0.017874	6.1081	0.0899
Aging Time_1	0.0002153	1	0.000215	0.0736	0.8038
Residual	0.0087787	3	0.002926	-	-
Corrected Total	2.0667117	15	-	-	-
<b>Summary of Fit</b>					

$R^2 = 0.996$ , Adjusted  $R^2 = 0.979$ , Root Mean Square Error = 0.054

その結果、10 の工程パラメータが有意となり、自由度調整済み  $R^2$  は 0.984、LOF 検定結果は有意とはならなかった。残差プロット（図 4-6）、予測値と実測値のプロット（図 4-7）から当てはまりの悪さは認められなかった。以上の結果から自然対数変数変換して解析されたモデルが適切であると結論付けた。



表 4-8 Futibatinib D50 の分散分析 (自然対数変換, プーリング後)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	2.0577176	11	0.187065	83.1953	0.0003
Agitation speed_2	0.7433642	1	0.7433642	330.6036	< 0.0001
Agitation speed_1	0.2823891	1	0.2823891	125.5896	0.0004
Aging temp_1	0.2490413	1	0.2490413	110.7585	0.0005
Total volume	0.2227727	1	0.2227727	99.0759	0.0006
Seed PSD	0.3468775	2	0.1734388	77.1351	0.0006
Aging temp_2	0.1008663	1	0.1008663	44.8592	0.0026
Ethanol rate	0.0375363	1	0.0375363	16.6939	0.0150
Temp_1	0.0339579	1	0.0339579	15.1024	0.0177
Seed amount	0.0230385	1	0.0230385	10.2461	0.0329
Aging time_2	0.0178739	1	0.0178739	7.9492	0.0479
Residual	0.0089940	4	0.002249	-	-
Lack of fit	0.0002153	1	0.000215	0.0736	0.8038
Pure error	0.0087788	3	0.002926	-	-
Corrected total	2.0667117	15	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.996$ , Adjusted  $R^2 = 0.984$ , Root mean square error = 0.0474

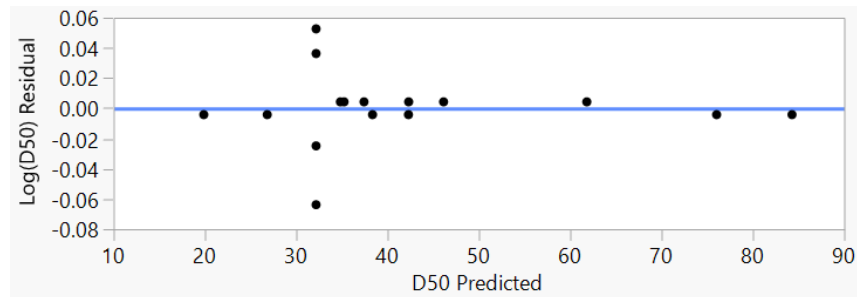


図 4-6 Futibatinib D50 の残差プロット (自然対数変換, プーリング後)

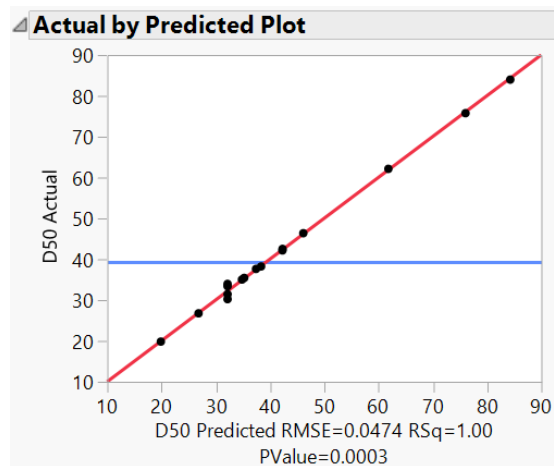


図 4-7 Futibatinib D50 の予測値と実測値のプロット (自然対数変換, プーリング後)

本解析モデル（晶析工程後，攪拌乾燥前）の D50 の予測プロファイルを図 4-8 に示す．分散分析の結果，起晶後の攪拌速度である Agitation speed\_2 の F 値は 330 と大きい値を示し，統計的に有意な差が認められたが，D50 変動への寄与は他のパラメータと比較して顕著な差は認められなかった．種晶添加時の攪拌速度である Agitation speed\_1 は速いと futibatinib (1) の D50 は小さくなる傾向があった．Futibatinib (1) は針状結晶であるため，攪拌速度が速い方が種結晶は破碎されやすく，一次核が増加することで D50 が小さくなった可能性がある．起晶後の攪拌速度である Agitation speed\_2 は針状結晶が破碎されるため，速い方が D50 は小さくなると考えられる．

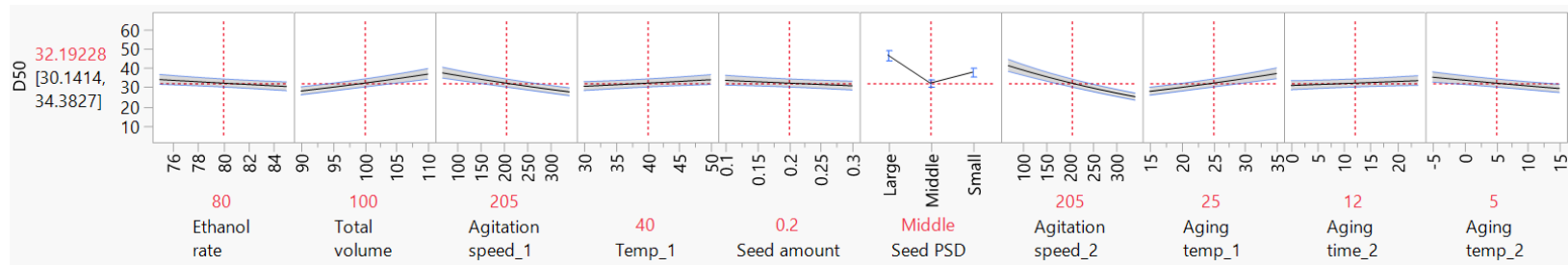


図 4-8 Futibatinib D50 の予測プロファイル (自然対数変換, プーリング後)

D90 を統計解析した結果、D50 と同様に半正規プロット (図 4-9) からは明確に有意なパラメータは認められなかった。ANOVA 結果 (表 4-9) において p 値が 0.05 以下であったパラメータは Agitation Speed\_2, Aging Temp\_1, Seed PSD, Seed Amount, Agitation speed\_1, Total Volume, そして Aging Time\_1 であった。続いて、有意水準 0.05 で有意とならない因子をプーリングした。

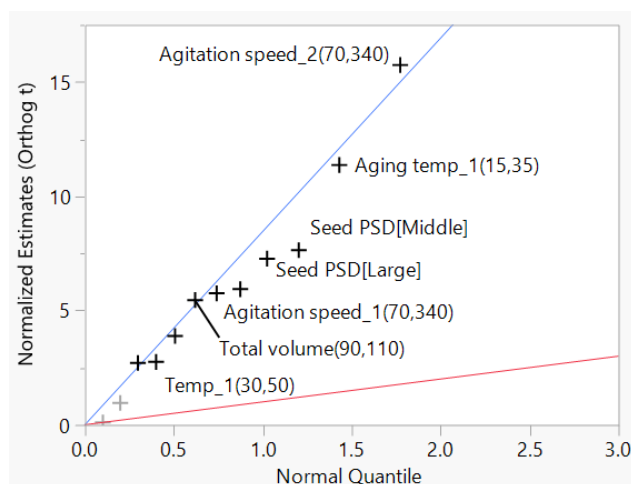


図 4-9 Futibatinib D90 の Half-normal プロット (変数変換なし)

表 4-9 Futibatinib D90 の分散分析 (変数変換なし, プーリング前)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	47746.394	12	3978.87	51.8200	0.0038
Agitation Speed_2	19105.716	1	19105.72	248.8290	0.0006
Aging Temp_1	9977.487	1	9977.49	129.9448	0.0014
Seed PSD	8613.228	2	4306.61	56.0885	0.0042
Seed Amount	2736.724	1	2736.72	35.6425	0.0094
Agitation Speed_1	2570.199	1	2570.20	33.4738	0.0103
Total Volume	2313.519	1	2313.52	30.1308	0.0119
Aging Time_1	1179.687	1	1179.69	15.3640	0.0295
Temp_1	596.148	1	596.15	7.7641	0.0686
Aging Temp_2	577.131	1	577.13	7.5164	0.0712
Ethanol Rate	75.100	1	75.10	0.9781	0.3956
Aging Time_2	1.456	1	1.46	0.0190	0.8992
Residual	230.348	3	76.78	-	-
Corrected Total	47976.742	15	-	-	-

Summary of Fit

$R^2 = 0.995$ , Adjusted  $R^2 = 0.976$ , Root Mean Square Error = 8.763

プーリング後の分散分析の結果 (表 4-10), 有意となった工程パラメータは 9 つあり, 最も寄与するパラメータは D50 と同様に Agitation speed\_2 であった。自由度調整済み  $R^2$  は 0.981 と大きく, LOF 検定結果も有意ではなかった。さらに残差プロット (図 4-10), 予測値と実測値のプロット (図 4-11) からも曲線傾向は確認されなかった。以上の結果から D90 では変数変換による追加の統計解析は不要と判断した。本解析モデル (晶析工程後, 攪拌乾燥前) の D90 の予測プロファイルを図 4-12

に示す。D50 と同様に、起晶析後の攪拌速度である Agitation speed\_2 は針状結晶が破碎されるため速いと小さくなるはずである。本実験と統計解析により晶析工程における D50 と D90 の変動傾向を明らかにした。

表 4-10 Futibatinib D90 の分散分析（変数変換なし，プーリング後）

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	47669.838	10	4766.98	77.6626	< 0.0001
Agitation speed_2	19105.716	1	19105.72	311.2658	< 0.0001
Aging temp_1	9977.487	1	9977.49	162.5508	< 0.0001
Seed PSD	8613.228	2	4306.61	70.1623	0.0002
Seed amount	2736.724	1	2736.72	44.5861	0.0011
Agitation speed_1	2570.199	1	2570.20	41.8731	0.0013
Total volume	2313.519	1	2313.52	37.6913	0.0017
Aging time_1	1179.687	1	1179.69	19.2192	0.0071
Temp_1	596.148	1	596.15	9.7123	0.0264
Aging temp_2	577.131	1	577.13	9.4025	0.0279
Residual	306.904	5	61.38	-	-
Lack of fit	76.556	2	38.2780	0.4985	0.6502
Pure error	230.348	3	76.7825	-	-
Corrected total	47976.742	15	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.994$ , Adjusted  $R^2 = 0.981$ , Root mean square error = 7.8346

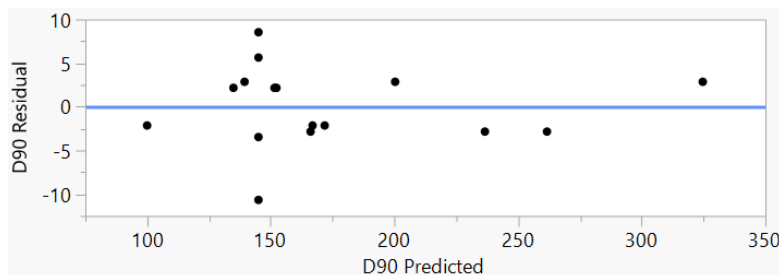


図 4-10 Futibatinib D90 の残差プロット（変数変換なし，プーリング後）

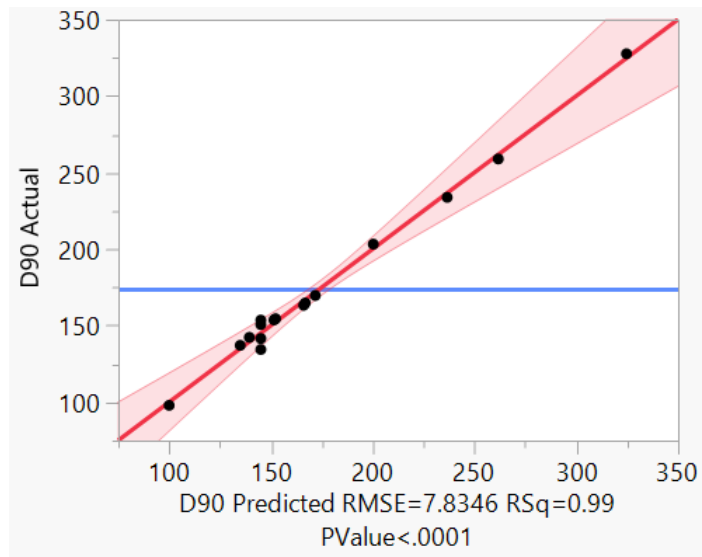


図 4-11 Futibatinib D90 の予測値と実測値のプロット（変数変換なし，プーリング後）

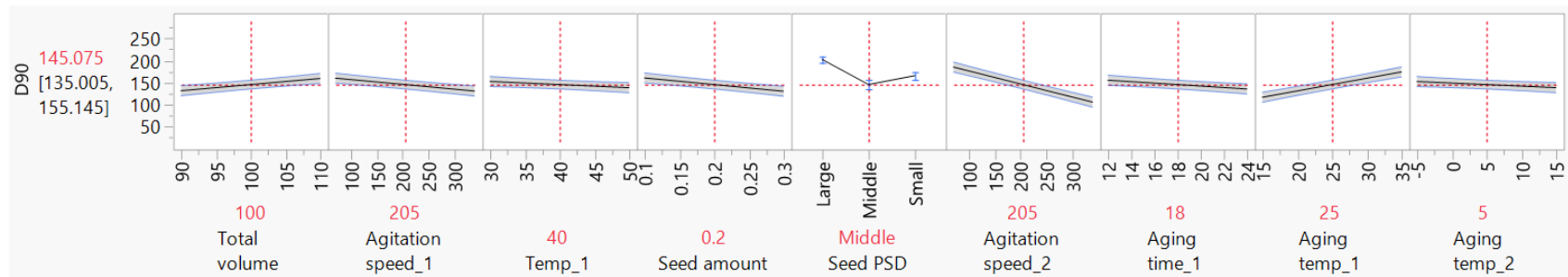


図 4-12 Futibatinib D90 の予測プロフィール (変数変換なし, プーリング後)

晶析工程の粒子径変動が明らかになったため、futibatinib (1) の粒子径変動に寄与する工程が晶析工程と攪拌乾燥工程のいずれかを特定するため futibatinib (1) 粒子径への寄与を比較検討した。パイロットプラントスケールで3バッチの製造を行い、結晶化工程後の futibatinib (1) と攪拌乾燥工程後の futibatinib (1) の D50 と D90 を測定した (表 4-11)。結晶化工程の予測プロファイル (図 4-8, 図 4-12) と攪拌乾燥工程後の D50 と D90 の変動を比較したところ、攪拌乾燥工程の futibatinib (1) 粒子径変動寄与の方が大きかったため、CPP を含むのは攪拌乾燥工程となる。しかし、再結晶化工程で粒子径に影響を与える Agitation speed\_1 と Agitation speed\_2 は製造設備やスケールに依存する工程パラメータであり、詳細な影響の程度は商用設備を用いて検証する必要がある。

表 4-11 パイロットプラントスケールにおける攪拌乾燥工程の PSD 変動

Pilot Scale Batch	Crystallization Process		Agitated Drying Process	
	D50	D90	D50	D90
No. 1	28.3	139.5	8.6	39.5
No. 2	20.5	102.2	9.2	51.4
No. 3	18.6	93.2	8.0	34.5
Acceptance Criteria			5 to 20	NMT 63

攪拌の影響を確認するため futibatinib (1) の商用生産設備・商用スケールで試作製造した。攪拌速度の設定は攪拌が行き渡り、溶液と懸濁液が飛散しないように設定した。流動性が起晶前後に大きく変動したため Agitation speed\_1 と Agitation speed\_2 は異なる水準とした。1st バッチは低水準、2nd バッチは高水準の攪拌速度で検討したところ、Agitation speed\_1 と Agitation speed\_2 の変動は D50 と D90 にほとんど寄与しないことが確認された (表 4-12)。スクリーニング DoE、商用製造設備とスケールの検討結果から粒子径の CPP を含む工程は攪拌乾燥工程であることを特定した。

表 4-12 商用生産設備及びスケールでの試作製造結果

Trial Manufacturing at Commercial Scale	Agitation Speed (rpm)		PSD ( $\mu\text{m}$ )	
	_1	_2	D50	D90
1 <sup>st</sup>	73	77	18.0	100
2 <sup>nd</sup>	77	83	16.5	102

攪拌乾燥の工程パラメータであるろ過乾燥機の攪拌速度と攪拌乾燥時間 (表 4-2) の影響を確認するため、乾燥工程パラメータを変動して2回試作製造した。乾燥攪拌速度の水準と攪拌乾燥時間のサンプリングポイント、D50 と D90 の測定結果を表 4-13 に示す。攪拌速度と攪拌乾燥時間を説明因子、D50 と D90 を応答として重回帰分析した。



表 4-13 商業生産スケールでの攪拌乾燥工程の PSD 変動

Trial Manufacturing at Commercial Scale	Agitation Speed of Dryer (rpm)	Agitated Drying Time	PSD ( $\mu\text{m}$ )	
			D50	D90
1 <sup>st</sup>	8	Initial	17.96	100.2
		10 min	13.62	71.86
		30 min	11.26	56.65
		60 min	9.619	46.67
		120 min	8.108	36.87
		180 min	7.197	32.03
		240 min	6.725	28.85
2 <sup>nd</sup>	12	Initial	16.50	102.1
		10 min	12.32	60.59
		30 min	8.941	44.00
		60 min	8.197	35.43
		120 min	7.281	31.84
		180 min	6.962	27.62
		240 min	6.715	25.82

重回帰分析の分散分析（表 4-14, 表 4-15）から、攪拌乾燥時間の一次項と二次項の F 値により D50 と D90 の CPP は攪拌乾燥時間であることが判明した。攪拌乾燥時間が futibatinib (1) 粒子径に与える影響は走査電子顕微鏡の画像でも観察された(図 4-13)。針状結晶である futibatinib (1) が攪拌乾燥工程で時間依存的に破碎され、粒子径が短くなっていることが確認された。

表 4-14 Futibatinib D50 の分散分析（攪拌乾燥工程，試作製造）

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	1.4485154	3	0.482838	216.41	< 0.0001
ln(Agitated drying time)	1.0550029	1	1.055003	472.85	< 0.0001
{ln(Agitated drying time)} <sup>2</sup>	0.3220834	1	0.322083	144.36	< 0.0001
ln(Agitation speed of dryer)	0.0368599	1	0.036860	16.52	0.0023
Residual	0.0223113	10	0.002231	-	-
Corrected total	1.4708267	13	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.985$ , Adjusted  $R^2 = 0.980$ , Root mean square error = 0.0472

表 4-15 Futibatinib D90 の分散分析（攪拌乾燥工程，試作製造）

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	p-Value
Model	2.7219217	3	0.907307	306.14	< 0.0001
ln(Agitated drying time)	1.9611602	1	1.961160	661.73	< 0.0001
{ln(Agitated drying time)} <sup>2</sup>	0.5921246	1	0.592125	199.79	< 0.0001
ln(Agitation speed of dryer)	0.0842969	1	0.084297	28.44	0.0003
Residual	0.0296370	10	0.002964	-	-
Corrected total	2.7515587	13	-	-	-

Summary of fit

$R^2 = 0.989$ , Adjusted  $R^2 = 0.986$ , Root mean square error = 0.0544

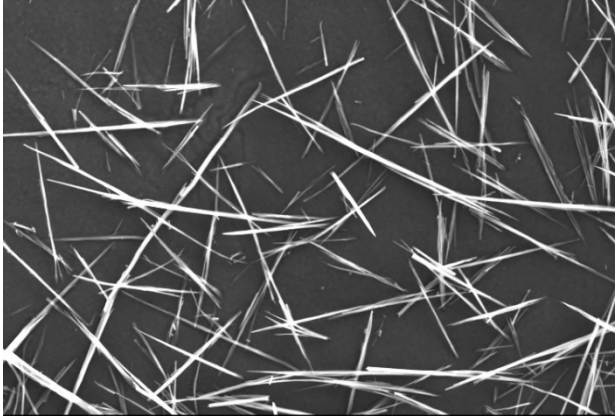

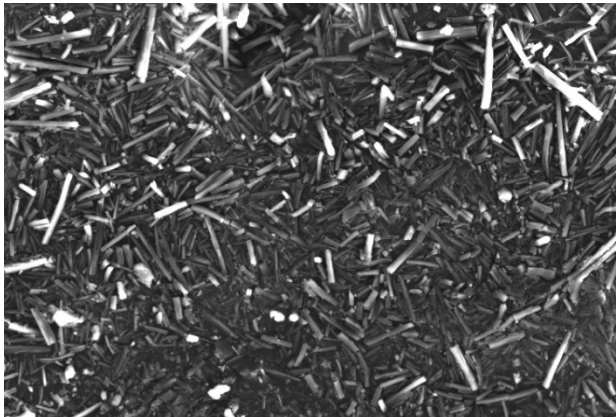
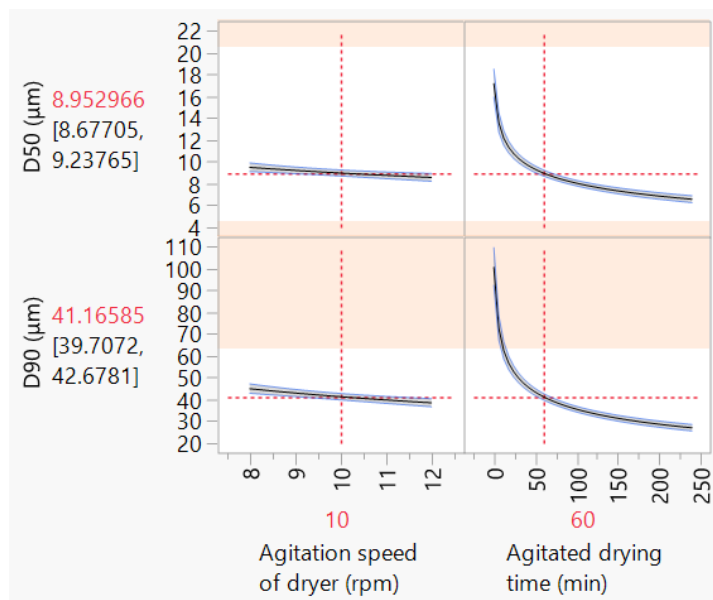
Agitated Drying Time	Magnification Ratio	Graphics of Scanning Electron Microscope
0 min (Before agitating)	300	 <p>SEI 16kV WD10mm SS55 x300 50 μm 0 Jun 29, 2020 TAS120-190204-S1</p>
60 min	500	 <p>SEI 16kV WD10mm SS55 x500 50 μm 0 Jun 29, 2020 TAS120-190204-S11</p>
120 min	500	 <p>SEI 16kV WD10mm SS55 x500 50 μm 0 Jun 29, 2020 TAS120-190204-S14</p>

図 4-13 攪拌乾燥工程での粒子径変動

## 第二節 粒子径のデザインスペース構築

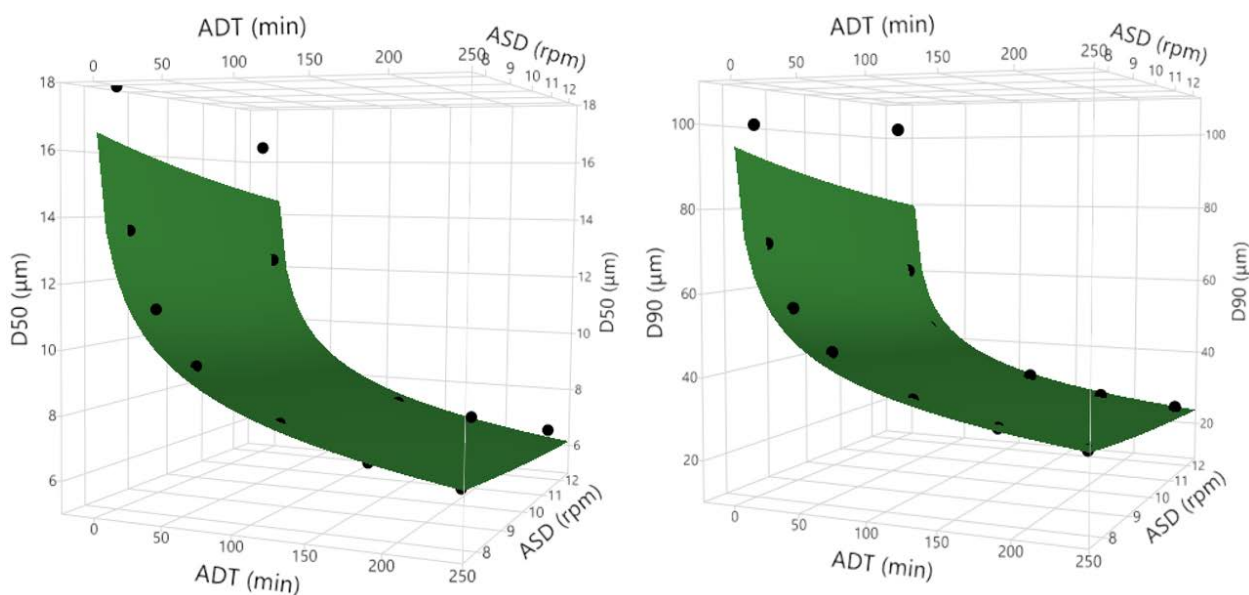
2回の試作製造における D50 と D90 のデータ (表 4-13), 分散分析 (表 4-14, 表 4-15) から算出した予測プロファイルと応答曲面を図 4-14, 図 4-15 に示す. 変動は大きくないが, 攪拌乾燥速度が速いとより針状結晶が破碎され易く粒子径は小さくなる傾向が認められた. また, 攪拌乾燥時間と粒子破碎の傾向は, 開始から 60 分間の破碎が顕著で, 60 分以降は比較的緩やかであった. これは結晶のアスペクト比が大きい程破碎されやすい事に起因すると考えられる.



White Zone All responses met the predefined criteria.

Orange Zone Response failed to meet the predefined criteria.

図 4-14 攪拌乾燥工程における futibatinib PSD の予測プロファイル



ADT (Agitated Drying Time), ASD (Agitation Speed of Dryer)

図 4-15 攪拌乾燥工程における futibatinib PSD の予測曲面プロファイル

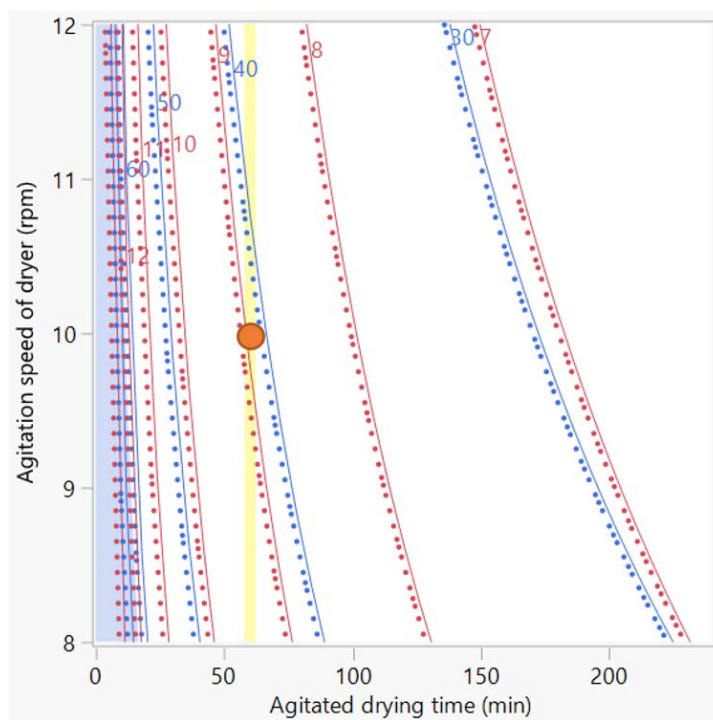
D50 と D90 の重回帰モデルは数式 4 と数式 5 である。D50 の規格は 5 μm 以上 20 μm 以下、D90 は 63 μm 以下であり、これらのモデルから DS を構築した (図 4-17)。

$$D50 (\mu\text{m}) = \exp[ 3.4257 - 0.2531\ln(\text{Agitation speed of dryer}) - 0.1100\ln(\text{Agitated drying time}) - 0.0120\{\ln(\text{Agitated drying time})\}^2]$$

数式 4 D50 の予測モデル

$$D90 (\mu\text{m}) = \exp[ 5.4849 - 0.3828\ln(\text{Agitation speed of dryer}) - 0.1500\ln(\text{Agitated drying time}) - 0.0162\{\ln(\text{Agitated drying time})\}^2]$$

数式 5 D90 の予測モデル

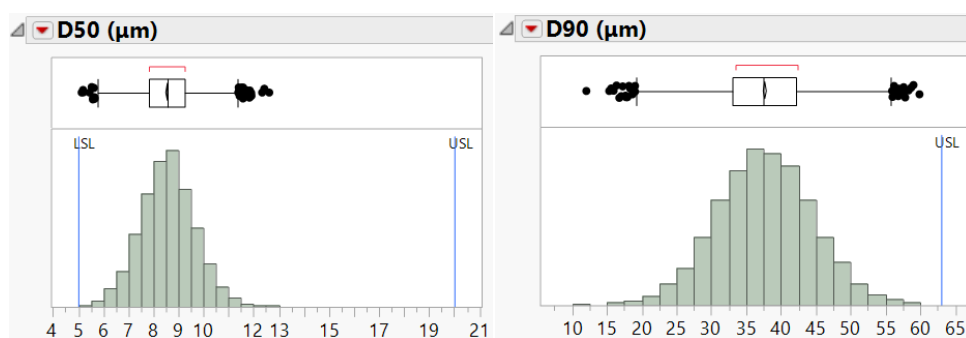


White Zone	All responses meet the predefined criteria (DS)
Red Zone	D50 response fails to meet the predefined criteria (not shown in the figure)
Blue Zone	D90 response fails to meet the predefined criteria
Yellow Zone	Control range of the parameters
Red Point ●	Actual values of the parameters for commercial facilities (control target value)

図 4-16 Futibatinib の PSD のデザインスペース

白色領域は D50 と D90 が同時に規格に適合する領域で、デザインスペースである。商用製造の工程パラメータは粒子径への影響度の小さい攪拌乾燥速度の管理幅を 8~12 rpm、管理目標値を 10 rpm、影響の大きい攪拌乾燥時間は 60 分と設定した。Futibatinib (1) は針状結晶であるが粒子径の試験方法はレーザー回析法を採用している。レーザー回析法は結晶の形状が球形であること

を前提とした測定原理であるため、針状の futibatinib (1) の結晶測定結果はややばらついており分析誤差を考慮する必要がある。そこで、乾燥機の攪拌乾燥速度と攪拌乾燥時間の管理値から futibatinib (1) の D50 と D90 が規格外（以下、OOS : out-of-specification）となるリスクを評価した。Futibatinib (1) の PSD 試験法による分析法バリデーションから算出した併行精度と、室内再現精度における D50 と D90 の標準偏差は 0.5  $\mu\text{m}$  と 2.7  $\mu\text{m}$  である。これらの分析誤差と試作製造から算出された原材料の計量誤差、工程パラメータ等の製造工程の偶然誤差から、商用生産における PSD の OOS 発生確率をモンテカルロ法で算出した（図 4-17）。その結果、管理目標値で製造した場合は PSD の OOS リスクが低いことがわかった。ただし PSD の分析誤差が大きいので、複数回測定して平均値を算出するなどの改善の余地がある。



Agitated drying time is 60 min. Agitation speed of dryer is 10 rpm.

PSD	$d_{50}$	$d_{90}$
Probability of OOS (%)	< 0.00	< 0.00
Acceptance criterion ( $\mu\text{m}$ )	5 to 20	NMT 63

図 4-17 モンテカルロ法による D50 と D90 の OOS リスク

D50 と D90 の CPP 特定と、デザインスペース構築の結果を基に再度 FMEA を実施した（表 4-16）。ほとんどの製造工程パラメータは futibatinib (1) の粒子径に重大な影響を与えることなく、安定生産が可能である。攪拌乾燥時間に依存した粒子径変動が大きいため、重大性スコアを 5 とした。リスクランキングの結果はすべて Negligible または Low となり、futibatinib (1) 原薬の粒子径に影響を与えるリスクが明らかになった。本章の統計的アプローチにより、粉砕機を使用しない製造方法で futibatinib (1) の粒子径が十分に管理できることを示し、安定した商用生産が可能であることを証明した。

表 4-16 DoE 実験とデザインスペース構築結果から更新された FMEA

Step	Process Parameter	Abbreviation	Score			RPN	Risk Rank	Impact
			S	P	D			
1 to 12	Ethanol content rate	Ethanol Rate	2	1	2	4	Negligible	non-CPP
1 to 12	Total volume of solvent	Total Volume	3	1	2	6	Negligible	non-CPP
4 to 9	Agitation speed	Agitation Speed_1	3	1	1	3	Negligible	non-CPP
14	Seed input temperature	Temp_1	2	2	1	4	Negligible	non-CPP
14	Amount of seed	- <sup>a</sup>	2	1	2	4	Negligible	non-CPP
14	Particle size of seed	- <sup>a</sup>	3	1	2	6	Negligible	non-CPP
15	Cooling rate	Cooling Rate_1	2	3	1	6	Negligible	non-CPP
13 to 18	Agitation speed	Agitation Speed_2	3	1	1	3	Negligible	non-CPP
16	Aging temperature	Aging Temp_1	3	2	1	6	Negligible	non-CPP
16	Aging time	Aging Time_1	2	1	1	2	Negligible	non-CPP
17	Cooling rate	Cooling Rate_2	2	3	1	6	Negligible	non-CPP
18	Aging temperature	Aging Temp_2	2	2	1	4	Negligible	non-CPP
18	Aging time	Aging Time_2	2	1	1	2	Negligible	non-CPP
22	Agitation speed of dryer	- <sup>a</sup>	3	1	1	4	Negligible	non-CPP
22	Agitated drying time	- <sup>a</sup>	5	1	1	5	Negligible	CPP

<sup>a</sup>: Not applicable

## 第五章 結論

著者は QbD の考え方に基づいた統計的手法により、futibatinib (1) 原薬を高い品質で安定生産できることを証明した。本研究で解明された成果を以下に要約する。

1.  $L_{12}$  の Plackett-Burman 計画で取得したデータの統計解析により futibatinib (1) 不純物の CPP を特定した。
  - ・ Step A の 3-chloropropionyl chloride (3) 滴下温度, 滴下時間
  - ・ Step B の  $\beta$  脱離反応時の反応温度
2. 面中心複合計画で取得したデータの統計解析により, 不純物 6, 9, そして 10 の予測モデルを解明した。
3. 不純物の DS を構築して商用生産において不純物を安定制御できることを証明した。
4.  $L_{12}$  の Plackett-Burman 計画で取得したデータの統計解析と Pilot Plant Scale 製造結果から futibatinib (1) の粒子径 CPP は晶析工程ではなく, 攪拌乾燥工程にあることを特定した。
5. 商用生産スケールの試作製造結果の解析により, 粒子径の CPP は攪拌乾燥時間であることを特定した。
6. 商用生産スケールの試作製造結果の解析により PSD の予測モデルを解明した。
7. DS を構築して商用生産において粒子径を安定して制御できることを証明した。

## 謝辞

本研究に際して、終始御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました岐阜薬科大学 創薬化学大講座 薬品化学研究室 佐治木弘尚 教授に深甚なる謝意を表します。

本研究の推進にあたり有益な御助言、御討論並びに御激励をいただきました岐阜薬科大学 創薬化学大講座 薬品化学研究室 井川貴詞 准教授に深く感謝いたします。

本研究の推進にあたり有益な御助言、御討論並びに御激励をいただきました岐阜薬科大学 創薬化学大講座 薬品化学研究室 山田強 講師に深く感謝いたします。

本研究の推進にあたり煩雑な事務手続きを引き受けてくださり、また有益な御助言、御激励をいただきました岐阜薬科大学 創薬化学大講座 薬品化学研究室 森重千絵 事務員に深く感謝いたします。

本研究の遂行にあたり、御討論、御助言をいただきました岐阜薬科大学 創薬化学大講座 薬品化学研究室の諸氏に感謝いたします。

様々な御指導と御協力をいただき、また、博士号取得の機会をいただいた大鵬薬品工業株式会社 製薬技術本部 副本部長 福岡正哲 博士、研究本部 化学研究所 田中由起 所長に深く感謝いたします。

本研究の実験に際してご協力いただきました大鵬薬品工業株式会社 製薬技術本部 埼玉工場 治験原薬製造課 江森皓亮 氏に深く感謝いたします。

最後に、これまで長年私を明るく励まし続けてくれた妻 いずみ、長女 しずく、長男 寿人に心から感謝します。



## 実験の部

### 使用した原材料, 試薬, 機器

合成実験：原材料, 試薬

原料 **2** : in-house

アセトニトリル：旭化成株式会社

精製水：in-house (Sartorius AG 製超純水製造装置 Arium® Pro UV から採水)

25%水酸化ナトリウム水溶液：富士フイルム和光純薬株式会社

アシル化剤 **3**：東京化成工業株式会社

6M 塩酸：富士フイルム和光純薬株式会社

エタノール：富士フイルム和光純薬株式会社

活性炭 (Norit CN1)：Cabot Corporation

メンブランフィルター (47mm, 0.2 μm, PTFE)：アドバンテック東洋株式会社

ろ紙 (No.5B)：アドバンテック東洋株式会社

種晶：in-house

合成実験：機器

pH メーター：東亜ディーケーケー株式会社, 型式：HM-30P

電子天秤：ザルトリウス・ジャパン株式会社, 型式：CPA224S

合成反応装置：柴田科学株式会社, Chemist Plaza, 型式：Chemi 200

攪拌装置：IKA ジャパン株式会社, 型式：

温度計：株式会社テスター, 型式：

滴下ポンプ：株式会社 ケー・エヌ・エフ・ジャパン, 型式：SIMDOS 02 FEM 1.02 FT. 18S

セパラブルフィルターろ過器：柴田科学株式会社, SPC フィルターホルダー 47 SUS

桐山ロート (φ40)：有限会社桐山製作所

真空検体乾燥機：ETTAS AVO-200NS

真空ポンプ：株式会社 ケー・エヌ・エフ・ジャパン, 型式：SIMDOS EYELA UT-1000

HPLC 測定：試薬, 溶媒

アセトニトリル：Sigma-Aldrich, Inc.

精製水：in-house (Sartorius AG 製超純水製造装置 Arium® Pro UV から採水)

リン酸二水素ナトリウム：富士フイルム和光純薬株式会社

2M 水酸化ナトリウム水溶液：富士フイルム和光純薬株式会社

HPLC 測定：機器

アジレント・テクノロジー株式会社：Infinity

1260 Infinity 1260 HiP Degasser, 1260 Bin Pump VL, 1290 Thermostat, 1260 ALS, 1260

TCC, 1260 DAD VL

カラム：InertSustain C18, ジーエルサイエンス株式会社

ガードカラム：ゴーストトラップ DS (7.6 mm I.D.×30 mm L), 株式会社島津ジーエルシー

#### PSD 測定：試薬

精製水：in-house (Sartorius AG 製超純水製造装置 Arium® Pro UV から採水)

基準粒子：ベックマンコールター株式会社, COULTER LS Control G15

#### PSD 測定：機器

電子天秤：ザルトリウス・ジャパン株式会社, 型式：ME235S

粒度分布測定装置：ベックマンコールター株式会社, 型式：LS 13 320

超音波洗浄器：株式会社エスエヌディ, 型式：US-1 (80 W, 38 kHz)

#### 粒子径画像：機器

走査電子顕微鏡：日本電子株式会社, 型式：JSM-6010 PLUS/LA

#### 統計解析ソフトウェア

SAS Institute Inc., JMP® 13.2.0 (64 ビット)

### 第三章に関する実験

#### Step A/Step B の実験 (中心実験, No.7)

200 mL セパラブルフラスコに化合物 **2** (4.00 g), アセトニトリル (42.0 mL), 精製水 (19.4 mL) を投入した後, 240 rpm で攪拌した. 80 Torr で 3 分間減圧した後, 窒素で置換し, 25%水酸化ナトリウム水溶液 (4.37 g) を投入した (管理値: 内温 20.0~30.0 °C). 精製水 (2.16 mL) で水酸化ナトリウム水溶液を量り取った容器を洗い込み, 温度調整して内温を 25.0°C (internal temp\_1) とし, アセトニトリル (8.0 mL) に溶解した化合物 **3** (1.00 g) を 10 分間 (drop time\_1) かけて滴加した. 同温度で 1 時間 30 分 (stirring time\_1) 攪拌し, 温度調整して内温を 25.0 °C (internal temp\_2) で 25%水酸化ナトリウム水溶液 (2.81 g) (NaOH) を滴加した. 精製水 (1.40 mL) で水酸化ナトリウム水溶液を量り取った容器を洗い込み, 温度調整して内温 30.0°C (internal temp\_3) で 5 時間 15 分 (stirring time\_2) 攪拌した. 内温 30.0 °C (internal temp\_4) とし, 6M HCl aq. を滴加して pH を 6.00 (pH) に調整した後, 16 時間 (stirring time\_3) 攪拌した. 内温を 30.0 °C (internal temp\_5) に調整した後, 精製水 (133.6 mL) を 2 時間 (drop time\_2) かけて滴加した. 温度調整して内温 25.0 °C (internal temp\_6) で 1 時間攪拌し, 析出物を桐山ロート (φ40) とろ紙 (No.5B) でろ取, 精製水 (20.0 mL) でセパラブルフラスコを洗い込んで湿潤結晶を洗浄した. 外温設定 60 °C, 20 kPa 以下で乾燥減量 0.5% 以下になるまで減圧下乾燥して, 2.56 g の crude futibatinib (**1**) を得た. (化合物 **2** 基準, 収率 85.1%).

#### Step C の実験 (中心実験, No.7)

200 mL セパラブルフラスコに crude futibatinib **1** (2.00 g), エタノール (41.6 mL), 精製水 (10.4 mL) を投入して 340 rpm で攪拌した. 加温して内温 71 °C で溶解を確認した. 活性炭 (400 mg) を投入して 1 時間攪拌した. 懸濁液をセパラブルフィルターろ過器 (47 mm), メンブレンフィルター (47mm, 0.2 μm, PTFE), そして予め 80°C に加熱した受器としてセパラブルフラスコを用いてろ過し, エタノール (3.2 mL) と精製水 (0.8 mL) の混液でセパラブルフ

ラスコを洗い込んだ。母液を加温して溶解確認した後、 $-20\text{ }^{\circ}\text{C/h}$  の速度で冷却して内温  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  で種晶 ( $4.0\text{ mg}$ ) を投入し、同温度で1時間攪拌した。 $-20\text{ }^{\circ}\text{C/h}$  の速度で冷却して内温を  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  とし14時間攪拌した。 $-20\text{ }^{\circ}\text{C/h}$  の速度で冷却して内温を  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  とし、同温度で3時間攪拌した。析出晶を桐山ロート ( $\phi 40$ ) とろ紙 (No.5B) でろ取し、エタノール ( $10\text{ mL}$ ) でセパラブルフラスコを洗い込み湿潤結晶を洗浄した。外温設定  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  で  $10\text{ kPa}$  以下で乾燥減量  $0.5\%$  以下になるまで乾燥し、futibatini**1** を  $1.44\text{ g}$  得た。(crude futibatini**1** 基準, 収率  $72.0\%$ )。

## HPLC 測定方法

### ・ 試料溶液

crude futibatini**1** または futibatini**1** を約  $20\text{ mg}$  精密に量り、水/アセトニトリル混液 ( $1:1$ ) を加えて溶かし、正確に  $100\text{ mL}$  として試料溶液とする。溶けにくい場合は超音波照射する。

### ・ 試液調製

$10\text{ mmol/L}$  リン酸塩緩衝液 (pH6.6) : リン酸二水素カリウム  $2.72\text{ g}$  を水  $1800\text{ mL}$  に溶かし、 $0.2\text{ mol/L}$  水酸化ナトリウム液を加えて pH 6.6 に調整する。水で  $2000\text{ mL}$  まで希釈する。

$10\text{ mmol/L}$  リン酸塩緩衝液 (pH 6.6) /アセトニトリル混液 ( $3:1$ ) :  $10\text{ mmol/L}$  リン酸塩緩衝液 (pH 6.6)  $1500\text{ mL}$  にアセトニトリル  $500\text{ mL}$  を加えて混和し、移動相ろ過用フィルターを用いてろ過する。超音波照射を5分間行う。

水/アセトニトリル混液 ( $1:1$ ) : 精製水  $500\text{ mL}$  とアセトニトリル  $500\text{ mL}$  を加えて混和する。

アセトニトリル/水混液 ( $4:1$ ) : アセトニトリル  $800\text{ mL}$  と精製水  $200\text{ mL}$  を加えて混和する。

### ・ 測定条件

検出器 : 紫外吸光光度計 (測定波長 :  $220\text{ nm}$ )

カラム : 内径  $4.6\text{ mm}$ , 長さ  $15\text{ cm}$  のステンレス管に,  $3\text{ }\mu\text{m}$  の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する (InertSustain C18, ジーエルサイエンス株式会社)。

カラム温度 :  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  付近の一定温度

移動相

移動相 A :  $10\text{ mmol/L}$  リン酸塩緩衝液 (pH 6.6) /アセトニトリル混液 ( $3:1$ )

移動相 B : アセトニトリル

移動相の送液 : 移動相 A と B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御する。

注入後からの時間 (分)	移動相 A (%)	移動相 B (%)
0~10	100→90	0→10
10~30	90→80	10→20
30~40	80→30	20→70
40~45	30	70
45~45.1	30→100	70→0
45.1~55	100	0

注入量：5  $\mu$ L

流量：毎分 1.0 mL

面積測定範囲：45 分間

ゴーストトラップ DS (7.6 mm I.D.×30 mm L) を使用

オートサンプラー温度：5 °C 付近の一定温度

リンス液：アセトニトリル／水混液 (4 : 1)

第一節：無作為化した  $L_{12}$  Plackett-Burman 計画

No.	internal temp_1	internal temp_2	drop time_1	stirring time_1	NaOH	internal temp_3	internal temp_4	stirring time_3	internal temp_5	drop time_2	internal temp_6
1	32.5	17.5	5	1	2.6	22.5	22.5	19	22.5	3	32.5
2	32.5	32.5	5	1	2.28	37.5	22.5	13	37.5	1	32.5
3	17.5	17.5	15	1	2.28	37.5	22.5	19	37.5	3	17.5
4	32.5	32.5	15	2	2.6	37.5	37.5	19	37.5	3	32.5
5	17.5	32.5	15	2	2.28	22.5	22.5	19	22.5	1	32.5
6	17.5	32.5	5	1	2.6	22.5	37.5	19	37.5	1	17.5
7	25	25	10	1.5	2.44	30	30	16	30	2	25
8	17.5	17.5	5	2	2.28	22.5	37.5	13	37.5	3	32.5
9	32.5	32.5	15	1	2.28	22.5	37.5	13	22.5	3	17.5
10	32.5	17.5	15	2	2.6	22.5	22.5	13	37.5	1	17.5
11	25	25	10	1.5	2.44	30	30	16	30	2	25
12	17.5	17.5	15	1	2.6	37.5	37.5	13	22.5	1	32.5
13	17.5	32.5	5	2	2.6	37.5	22.5	13	22.5	3	17.5
14	32.5	17.5	5	2	2.28	37.5	37.5	19	22.5	1	17.5
	°C	°C	Min	h	eq.	°C	°C	h	°C	h	°C

第一節：L<sub>12</sub> Plackett-Burman 計画実験で取得した crude futibatinib (1) の不純物 (%) と収率 (%)

No.	Level <sup>a</sup>	4	5	6	7	8	9	10	収率
1	+----+--+-++	ND	0.07	0.03	0.03	0.02	0.07	0.04	85.8
2	++----+--+-++	ND	0.09	0.20	0.07	0.07	0.09	0.38	81.5
3	---+--+-+++-	0.02	0.11	0.18	0.07	0.08	0.03	0.68	85.5
4	+++++++	ND	0.14	0.30	0.05	0.10	0.82	0.66	88.5
5	-+++--+-++-	ND	0.10	0.02	0.05	0.02	ND	0.03	86.1
6	-+--+-+++-	0.03	0.15	0.04	0.07	0.08	ND	0.08	88.1
7	0000000000	0.10	0.10	0.07	0.06	0.06	ND	0.12	85.1
8	---+--+-+++	0.20	0.10	0.03	0.05	0.03	ND	0.05	85.1
9	+++--+-++-	0.03	0.09	0.04	0.04	0.04	0.22	0.05	86.5
10	+--++--+-++-	0.03	0.11	0.02	0.08	0.05	0.29	0.06	85.5
11	0000000000	0.14	0.12	0.08	0.08	0.08	0.06	0.18	84.8
12	---+--+-++-	0.05	0.19	0.20	0.11	0.15	0.05	0.96	83.5
13	-+-++--+-++-	ND	0.17	0.21	0.11	0.09	ND	0.34	84.1
14	+--+-+++-	ND	0.12	0.23	0.08	0.15	0.11	0.46	85.8

<sup>a</sup>: From left to right: Internal Temp\_1, Drop Time\_1, Stirring Time\_1 (acylation), Internal Temp\_2, NaOH (elimination), Internal Temp\_3 (elimination), Internal Temp\_4 (pH adjustment), Stirring Time\_3, Internal Temp\_5, Drop Time\_2, Internal Temp\_6 (stir-out). <sup>b</sup>: Not detected

第一節：L<sub>12</sub> Plackett-Burman 計画実験で取得した futibatinib (1) 中の不純物 (%) と収率 (%)

No.	Level <sup>a</sup>	4	5	6	7	8	9	10	収率
1	+----+---+--+	ND <sup>b</sup>	0.02	0.02	ND	ND	ND	ND	76.1
2	++----+---+--+	ND	0.03	0.07	ND	0.03	ND	0.09	73.5
3	---+---+---+--+	0.05	0.04	0.10	ND	0.02	ND	0.20	61.0
4	+++++++	ND	0.03	0.13	ND	0.02	0.20	0.15	67.0
5	-+++---+---+--+	ND	0.03	0.01	ND	ND	ND	ND	74.5
6	-+---+---+---+--+	ND	0.03	0.02	ND	0.03	ND	ND	78.1
7	000000000000	0.06	0.03	0.03	ND	0.03	ND	0.04	72.0
8	---+---+---+---+--+	0.04	0.02	0.02	ND	0.01	ND	ND	69.7
9	+++---+---+---+--+	ND	0.03	0.02	ND	0.02	0.04	ND	68.5
10	+---+---+---+---+--+	ND	0.03	0.01	ND	0.02	0.06	ND	77.2
11	000000000000	0.06	0.03	0.04	ND	0.03	ND	0.04	75.0
12	---+---+---+---+---+--+	0.02	0.04	0.08	ND	0.04	ND	0.23	73.5
13	-+---+---+---+---+--+	ND	0.04	0.09	ND	0.03	ND	0.08	79.7
14	+---+---+---+---+---+--+	ND	0.03	0.09	ND	0.04	ND	0.11	75.5

<sup>a</sup>: From left to right: Internal Temp\_1, Drop Time\_1, Stirring Time\_1 (acylation), Internal Temp\_2, NaOH (elimination), Internal Temp\_3 (elimination), Internal Temp\_4 (pH adjustment), Stirring Time\_3, Internal Temp\_5, Drop Time\_2, Internal Temp\_6 (stir-out). <sup>b</sup>: Not detected

第二節：無作為化した面中心複合計画

No.	internal Temp_1	drop Time_1	internal Temp_3	stirring Time_2	pH
1	25	10	30	5.25	7.5
2	17.5	15	37.5	2.5	4.5
3	32.5	10	30	5.25	6
4	17.5	5	22.5	2.5	4.5
5	25	5	30	5.25	6
6	32.5	15	22.5	2.5	4.5
7	25	10	22.5	5.25	6
8	25	10	30	5.25	6
9	25	15	30	5.25	6
10	32.5	5	22.5	8	4.5
11	17.5	15	22.5	2.5	7.5
12	17.5	15	37.5	8	7.5
13	32.5	5	37.5	8	7.5
14	25	10	30	5.25	4.5
15	17.5	5	37.5	2.5	7.5
16	17.5	10	30	5.25	6
17	17.5	5	37.5	8	4.5
18	25	10	30	2.5	6
19	32.5	15	37.5	8	4.5
20	32.5	5	37.5	2.5	4.5
21	32.5	5	22.5	2.5	7.5
22	25	10	37.5	5.25	6
23	32.5	15	37.5	2.5	7.5
24	32.5	15	22.5	8	7.5
25	25	10	30	5.25	6
26	25	10	30	5.25	6
27	17.5	15	22.5	8	4.5
28	17.5	5	22.5	8	7.5
29	25	10	30	5.25	6
30	25	10	30	8	6
	°C	min	°C	h	-



第二節：面中心複合計画実験で取得した crude futibatib (1) 中の不純物 (%) と収率 (%)

No.	Level <sup>a</sup>	6	9	10	収率
1	0 0 0 0 A <sup>b</sup>	0.08	0.19	0.14	85.8
2	- + + - -	0.14	0.05	0.24	85.8
3	A 0 0 0 0	0.08	0.16	0.19	86.1
4	- - - - -	0.02	ND	0.04	86.8
5	0 a <sup>b</sup> 0 0 0	0.08	ND	0.21	85.8
6	+ + - - -	0.02	0.17	0.05	85.5
7	0 0 a 0 0	0.03	0.07	0.08	84.5
8	0 0 0 0 0	0.08	0.06	0.21	86.1
9	0 A 0 0 0	0.09	0.18	0.19	83.8
10	+ - - + -	0.04	0.05	0.11	86.5
11	- + - - +	0.02	0.10	0.04	87.1
12	- + + + +	0.30	0.17	1.88	83.8
13	+ - + + +	0.31	0.26	1.84	83.8
14	0 0 0 0 a	0.07	0.04	0.16	84.5
15	- - + - +	0.11	0.07	0.27	83.8
16	a 0 0 0 0	0.07	ND	0.14	85.1
17	- - + + -	0.29	0.03	1.65	82.5
18	0 0 0 a 0	0.04	0.04	0.07	86.5
19	+ + + + -	0.31	0.23	1.45	79.5
20	+ - + - -	0.13	0.06	0.25	83.8
21	+ - - - +	0.02	0.22	0.05	86.1
22	0 0 A 0 0	0.22	0.05	1.08	83.1
23	+ + + - +	0.11	1.10	0.23	84.8
24	+ + - + +	0.04	1.45	0.30	86.1
25	0 0 0 0 0	0.08	0.06	0.16	82.1
26	0 0 0 0 0	0.07	0.03	0.16	85.8
27	- + - + -	0.04	ND	0.09	85.8
28	- - - + +	0.04	0.07	0.22	88.5
29	0 0 0 0 0	0.09	0.05	0.19	86.8
30	0 0 0 A 0	0.12	0.05	0.40	83.5

<sup>a</sup>: From left to right: internal temp\_1, drop time\_1, internal temp\_3 (elimination), stirring time\_2 (elimination), pH. <sup>b</sup>: A and a are axial point experiments. <sup>c</sup>: Not detected

第二節：面中心複合計画実験で取得した futibatinib (1) 中の不純物 (%) と収率 (%)

No.	Level <sup>a</sup>	6	9	10	収率
1	0 0 0 0 A <sup>b</sup>	0.03	0.07	0.04	76.3
2	- + + - -	0.06	ND <sup>c</sup>	0.06	71.0
3	A 0 0 0 0	0.04	0.05	0.05	69.7
4	- - - - -	ND	ND	0.02	78.1
5	0 a <sup>b</sup> 0 0 0	0.04	ND	0.06	75.5
6	+ + - - -	0.01	0.04	0.00	70.9
7	0 0 a 0 0	0.01	ND	0.01	77.5
8	0 0 0 0 0	0.04	ND	0.06	75.5
9	0 A 0 0 0	0.03	0.04	0.05	78.5
10	+ - - + -	0.02	ND	0.03	75.0
11	- + - - +	ND	ND	ND	73.4
12	- + + + +	0.14	0.04	0.34	73.5
13	+ - + + +	0.14	0.09	0.38	69.0
14	0 0 0 0 a	0.04	ND	0.05	74.7
15	- - + - +	0.05	ND	0.07	70.4
16	a 0 0 0 0	0.05	ND	0.06	66.7
17	- - + + -	0.13	ND	0.38	72.6
18	0 0 0 a 0	0.02	ND	0.02	71.5
19	+ + + + -	0.15	0.05	0.35	72.5
20	+ - + - -	0.06	0.00	0.08	73.5
21	+ - - - +	ND	0.07	ND	77.0
22	0 0 A 0 0	0.11	ND	0.26	63.1
23	+ + + - +	0.05	0.47	0.07	71.2
24	+ + - + +	0.03	0.60	0.08	71.0
25	0 0 0 0 0	0.03	ND	0.04	74.1
26	0 0 0 0 0	0.03	ND	0.04	73.7
27	- + - + -	0.02	ND	0.03	74.0
28	- - - + +	0.02	ND	0.06	74.5
29	0 0 0 0 0	0.05	ND	0.05	64.4
30	0 0 0 A 0	0.05	ND	0.10	75.5

a: From left to right: internal temp\_1, drop time\_1, internal temp\_3 (elimination), stirring time\_2 (elimination), pH. b: A and a are axial point experiments. c: Not detected

#### 第四章に関する実験

L<sub>12</sub> Plackett-Burman 計画：Step C（乾燥方法：静置乾燥）

200 mL セパラブルフラスコに crude futibatinib 1 (2.00 g), エタノール (41.6 mL), 精製水 (10.4 mL) [(Ethanol rate), (Total volume)] を投入して 205 rpm で攪拌した (Agitation speed\_1). 加温して内温 71 °C で溶解を確認した. 活性炭 (400 mg) を投入して 1 時間攪拌後, 懸濁液をセパラブルフィルターろ過器 (47 mm), メンブレンフィルター (47mm, 0.2 μm, PTFE) と予め 80 °C に加温したセパラブルフラスコを用いてろ過し, エタノール (3.2 mL) と精製水 (0.8 mL) の混液でセパラブルフラスコを洗い込んだ. 母液を加温して溶解確認した後, -20 °C/h で冷却して内温 40 °C (Temp\_1) で種晶 (4.0 mg) [(Amount of seed) (Particle size of seed)] を投入した. 必要に応じて攪拌速度 (Agitation speed\_2) を変更し, -20 °C/h (Cooling rate\_1) の速度で冷却して内温 25 °C (Aging temp\_1) とし 14 時間 (Aging time\_1) 攪拌した. -20 °C/h (Cooling rate\_2) で冷却して内温 5 °C (Aging temp\_2) とし, 同温度で 3 時間 (Aging time\_2) 攪拌した.

析出晶を桐山ロート（φ40），ろ紙（No.5B）でろ取し，エタノール（10 mL）でセパラブルフラスコを洗い込み湿潤結晶を洗浄した．外温設定 60 °Cで 10 kPa 以下で乾燥減量 0.5%以下になるまで乾燥し，futibatinib **1** を 1.53 g 得た．（crude futibatinib **1** 基準，収率 76%）．

商用生産スケール：Step C（乾燥方法：攪拌乾燥）

crude futibatinib **1**（10.1 kg），エタノール（141 kg），精製水（44.5 kg）を製造装置へ投入して攪拌した．加温して溶解確認後，活性炭（2.00 kg）を投入して 1 時間攪拌した．活性炭ろ過器でろ過し，エタノール（12.8 kg）と精製水（4.00 kg）の混液で製造装置を洗浄し，洗い込んだ．母液を加温して溶解確認した後，冷却して内温 40 °Cで種晶（0.02 kg）を投入し，同温度で 30 分間攪拌した．冷却して内温 25 °Cとし 14 時間攪拌した後，さらに冷却して内温 5 °Cとし 3 時間攪拌した．攪拌ろ過乾燥機でろ取し，エタノール（37.9 kg）で製造装置を洗い込み湿潤結晶を洗浄した．外温設定 60 °Cで 14 時間静置乾燥した後，4 時間攪拌乾燥して futibatinib **1** を 8.1 kg 得た．（crude futibatinib **1** 基準，収率 80%）．

レーザー回折・散乱法による粒子径測定法

試料溶液：futibatinib（**1**）約 20 mg をとり，精製水 20 mL に分散させる．

試験条件

測定法：湿式

分散媒：精製水

分散媒屈折率：1.333

サンプル屈折率実数部：1.6

サンプル屈折率虚数部：0

測定回数：3 回

ポンプスピード：20%（100%=20 L/min）

第一節：無作為化した  $L_{12}$  Plackett-Burman 計画

No.	Level <sup>a</sup>	Ethanol rate	Total volume	Agitation speed_1	Temp_1	Amount of seed	Particle size of seed <sup>b</sup>	Agitation speed_2	Aging time_1	Aging temp_1	Aging time_2	Aging temp_2
1	+++++	85	110	340	50	0.3	Large	340	24	35	24	15
2	-+---+	75	90	340	30	0.3	Large	340	12	15	0	15
3	-+++--+	75	110	340	50	0.15	Small	70	24	15	0	15
4	-+---+	75	110	70	50	0.3	Large	70	12	15	24	-5
5	-+---+	75	110	70	30	0.3	Small	340	24	35	0	-5
6	0	80	100	205	40	0.225	Middle	205	18	25	12	5
7	0	80	100	205	40	0.225	Middle	205	18	25	12	5
8	+---+	85	90	340	50	0.3	Small	70	12	35	0	-5
9	+---+	85	90	70	30	0.3	Small	70	24	15	24	15
10	-+---+	75	90	340	30	0.15	Large	70	24	35	24	-5
11	+++--+	85	110	340	30	0.15	Small	340	12	15	24	-5
12	0	80	100	205	40	0.225	Middle	205	18	25	12	5
13	0	80	100	205	40	0.225	Middle	205	18	25	12	5
14	---+	75	90	70	50	0.15	Small	340	12	35	24	15
15	++---+	85	110	70	30	0.15	Large	70	12	35	0	15
16	+---+	85	90	70	50	0.15	Large	340	24	15	0	-5
		%	%	rpm	°C	w/w	-	Rpm	h	°C	h	°C

<sup>a</sup> : From left to right : Ethanol Rate, Total Volume, Agitating Speed\_1, Temp\_1, Amount of seed, Particle size of seed, Agitating Speed\_2, Aging Time\_1, Aging Temp\_1, Aging Time\_2, Aging Temp\_2, <sup>b</sup> : PSD were measured 3 times, and the medians are shown.a: References for D50 are: Small, 24 μm; Middle, 51 μm; and Large, 252 μm.

第一節：L<sub>12</sub> Plackett-Burman 計画実験で取得した futibatinib (1) 中の PSD (μm) と収率 (%)

No.	Level <sup>a</sup>	Particle Size Distribution <sup>b</sup>						収率 (%)
		D50(μm)			D90(μm)			
		n = 1	n = 2	n = 3	n = 1	n = 2	n = 3	
1	+++++	35.32	37.60	41.77	167.0	153.7	152.3	87.5
2	--+--++--	14.75	19.81	23.53	104.8	97.88	85.60	78.0
3	-+++--+-	36.53	42.51	43.92	173.7	164.8	159.8	85.3
4	-+--++--	80.17	83.95	91.16	270.5	233.8	209.8	81.3
5	-+--+-++	44.85	46.35	49.17	175.4	169.7	164.7	80.7
6	0000000000	30.01	33.93	35.85	156.1	150.7	133.9	90.1
7	0000000000	32.56	33.38	38.81	162.3	153.6	147.5	89.9
8	+--+--+-	35.97	42.13	55.69	226.8	203.2	190.3	84.2
9	+---+--+-	33.31	35.00	33.10	155.4	154.5	151.7	90.5
10	--+--+-++	48.88	62.10	62.97	261.8	258.9	219.9	89.2
11	+++--+-+-	26.29	26.73	27.27	138.1	137.1	133.4	91.4
12	0000000000	29.65	30.20	31.80	144.9	134.4	129.1	90.7
13	0000000000	31.24	31.40	32.83	146.7	141.6	134.9	90.3
14	---+--+-++	35.53	38.21	104.1	174.3	163.3	150.8	89.3
15	++--+-+-	54.79	75.73	77.89	344.1	327.6	252.4	73.5
16	+--+-++--	31.84	35.41	38.86	143.5	142.3	138.4	89.6

*a* : From left to right : Ethanol Rate, Total Volume, Agitating Speed\_1, Temp\_1, Amount of seed, Particle size of seed, Agitating Speed\_2, Aging Time\_1, Aging Temp\_1, Aging Time\_2, Aging Temp\_2

*b* : PSD was measured 3 times, and the medians are shown.

## 引用文献

- 1) 医薬品，医療機器等の品質，有効性及び安全性の確保等に関する法律，法令番号：昭和 35 年法律第 145 号
- 2) 厚生労働省医薬食品局長通知．治験薬の製造管理，品質管理等に関する基準（治験薬 GMP），薬食発第 0709002 号，平成 20 年 7 月 9 日
- 3) 片平洸彦，「薬害の歴史」からみた薬害防止策の基本とその具体策（第一報），社会医学研究．26(2)，2009 年．
- 4) 黒川達夫，ICH の歴史 ICH の形成にたどるわが国医薬品の国際展開，薬史学雑誌，49(2)，165-170. 2014 年．
- 5) 佐藤元，医薬品の研究開発にかかる規制：倫理，ガイドライン，法令の基礎，保健医療科学，64(4)，382-391. 2015 年．
- 6) International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, About ICH History, Accessed February 18, 2023. <https://www.ich.org/page/history>
- 7) ファイザー株式会社，使用上の注意改訂のお知らせ ウイルスワクチン類生物学的製剤基準 コロナウイルス修飾ウリジン RNA ワクチン（SARS-CoV-2） コミナティ筋注，2021 年 3 月． Accessed February 18, 2023. <https://www.pfizer.co.jp/pfizer/company/press/2021/2021-03-01>
- 8) 第 5 回医薬品等行政評価・監視委員会，後発医薬品等の製造管理及び品質管理について，令和 3 年 9 月 16 日， Accessed February 18, <https://www.mhlw.go.jp/content/10601000/000833073.pdf>
- 9) 宮嶋勝春，製剤処方・プロセスの最適化検討フォーカスグループ設立趣旨及び紹介，薬剤学，75(6)，338-340. 2015 年．
- 10) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知，製剤開発に関するガイドライン（ICH Q8），薬食審査発第 0628 第 1 号，平成 22 年 6 月 28 日
- 11) 香取典子，Quality by Design による医薬品製造と品質保証の進化，ファルマシア，53(5)，411-414. 2017 年．
- 12) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知，原薬の開発と製造（化学薬品及びバイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）ガイドラインについて，薬食審査発第 0710 第 9 号，平成 26 年 7 月 10 日
- 13) 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業，サクラミル原薬 S2 モック，平成 23 年度厚生労働科学研究補助金分担研究報告書付属資料． Accessed February 18, 2023. <https://www.nihs.go.jp/drug/section3/H23SakuramillMockJ.pdf>
- 14) 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業，「医薬品の新規開発と製造変更における品質管理手法に関する研究」，サクラ開花錠承認申請書モック，2017 年 2 月． Accessed February 18, 2023. <https://www.nihs.go.jp/drug/section3/SakuraBAFMock.pdf>
- 15) U.S. Food and Drug Administration, Quality by Design for ANDAs: An Example for Immediate-Release Dosage Forms, April 2012. Accessed February 18, 2023. <https://www.pharmaexcipients.com/wp-content/uploads/attachments/QbD+IR+Final+April+2012-508-Final2.pdf?t=1507526901>
- 16) 実験計画法-方法編-, 発行所：株式会社日科技連出版社，著者：山田秀，2004 年

- 17) Amrhein, V.; Greenland, S.; McShane, B., Scientists rise up against statistical significance, *Nature*, **2019**, 567, 305-307.
- 18) Wasserstein, R. L.; Lazar, N. A., The ASA Statement on p-Values: Context, Process, and Purpose, *The American Statistician*, **2016**, 70, 129-133.
- 19) Key Statistics for Bile Duct Cancer. *American Cancer Society*. Accessed February 18, 2023. <https://www.cancer.org/cancer/bile-duct-cancer/about/key-statistics.html#references>
- 20) The Cholangiocarcinoma Foundation. Treatment Options. Accessed February 18, <https://cholangiocarcinoma.org/the-disease/treatment-options>
- 21) がん診療連携拠点病院等院内がん登録 2018 年全国集計報告書, Accessed February 18, [https://ganjoho.jp/public/qa\\_links/report/hosp\\_c/pdf/2018\\_report.pdf](https://ganjoho.jp/public/qa_links/report/hosp_c/pdf/2018_report.pdf)
- 22) Banales, J. et al. Cholangiocarcinoma 2020: the next horizon in mechanism and management. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **2020**, 17(9):557-588.
- 23) Eswarakumar VP, Lax I, Schlessinger J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2005**, 16(2):139-149.
- 24) Fukumoto S. Actions and mode of actions of FGF19 subfamily members. *Endocr J.* **2008**, 55(1):23-31.
- 25) Brooks AN, Kilgour E, Smith PD. Molecular pathways: fibroblast growth factor signaling: a new therapeutic opportunity in cancer. *Clin Cancer Res.* **2012**, 18(7):1855-1862.
- 26) Turner N, Grose R. Fibroblast growth factor signaling: from development to cancer. *Nat Rev Cancer.* **2010**, 10(2):116-129.
- 27) ESMO2017 (BLU-554) *Annals of Oncology* (2017) 28 (suppl\_5): v122-v141 *Oncotarget*. 2016 Aug 2; 7(31):49091.
- 28) Kaibori M. Increased FGF19 copy number is frequently detected in hepatocellular carcinoma with a complete response after sorafenib treatment. *Oncotarget.* **2016**, 7(31):49091-49098.
- 29) Ahn SM. Genomic portrait of resectable hepatocellular carcinomas: implications of RB1 and FGF19 aberrations for patient stratification. *Hepatology.* **2014**, 60(6):1972-1982.
- 30) Javle M. Biliary cancer: utility of next-generation sequencing for clinical management. *Cancer.* **2016**, 122(24):3838-3847.
- 31) Arai Y. et al. Fibroblast growth factor receptor 2 tyrosine kinase fusions define a unique molecular subtype of cholangiocarcinoma. *Hepatology.* **2014**, 59(4):1427-1434.
- 32) Singh D. et al. Transforming fusions of FGFR and TACC genes in human glioblastoma. *Science.* **2012**, 337(6099):1231-1235.
- 33) Di Stefano AL. et al. Detection, characterization, and inhibition of FGFR-TACC fusions in IDH wild-type glioma. *Clin Cancer Res.* **2015**, 21(14):3307-3317.
- 34) Parker BC. Et al. The tumorigenic FGFR3-TACC3 gene fusion escapes miR-99a regulation in glioblastoma. *J Clin Invest.* **2013**, 123(2):855-865.
- 35) WHO Drug Inf. Recommended INN: List 81 **2019**, 33, 74-75.
- 36) Sagara, T.; Ito, S.; Otsuki, S.; Sootome, H. 3,5-Disubstituted alkynylbenzene compound and salt thereof. Patent WO2013109909, 2013.
- 37) Kondo, M. Method for producing dimethoxybenzene compound. Patent WO2020096042A1, 2020.

- 38) FDA grants breakthrough therapy designation for Taiho Oncology's futibatinib for treatment of advanced cholangiocarcinoma. News release. Taiho Oncology, Inc. April 1, 2021. Accessed February 18, 2023. <https://bit.ly/31ArpyM>
- 39) 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長, Biopharmaceutics Classification System (BCS) に基づくバイオウェーバーガイドラインについて, 薬生薬審発 1225 第 13 号, 令和 2 年 12 月 25 日
- 40) 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長, 厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長, 品質リスクマネジメントに関するガイドライン, 薬食審査発第 0901004 号, 薬食監麻発第 0901005 号, 平成 18 年 9 月 1 日
- 41) McDermott, R. E.; Mikulak, R. J.; Beauregard, M. R. *The Basics of FMEA*, 2nd ed.; Taylor & Francis: New York, 2009. Accessed February 18, 2023. <http://www.npd-solutions.com/fmea.html>
- 42) Mohammed, A. Q.; Sunkari, P. K.; Srinivas, P.; Roy, A. K. Quality by Design in Action 1: Controlling Critical Quality Attributes of an Active Pharmaceutical Ingredient. *Org. Process Res. Dev.* **2015**, *19*(23), 1634–1644.
- 43) Box, G. E. P.; Hunter, J. S.; Hunter, W. G. *Statistics for Experimenters*; Wiley: New York, United States, 1978.
- 44) 厚生労働省医薬食品局審査管理課, 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課, ICH 品質に関するガイドライン実施作業部会留意事項「ICH によって承認された ICH Q8/Q9/Q10 の実施に関する指針」の改定について, 事務連絡 平成 25 年 2 月 1 日
- 45) Plackett, R. L.; Burman, J. P. The Design of Optimum Multifactorial Experiments. *Biometrika.* **1946**, *33*(4), 305–325.
- 46) ICH Q3A Impurities in New Drug Substances, Accessed February 18, 2023. <https://www.pmda.go.jp/files/000156230.pdf>