

確認試験、定量法、個別規格を設定しない不純物及び不純物合計は重要な物質特性として特定されなかった。

しかしながら、これらは CP-8 の現在の供給業者の管理及び新たな供給業者を評価する上で考慮を要する事項である。これらの試験は、開発の過程で評価できなかった潜在的な新たな起源自来の不純物を同定する機会を提供する。さらに、サクラミル原薬の試験方法は CP-8 から未知不純物が混入した場合に検出でき、未知不純物の混入を回避できる方法を設定した。

3)-2-1-3 CP-8 の低リスクの物質特性の管理項目

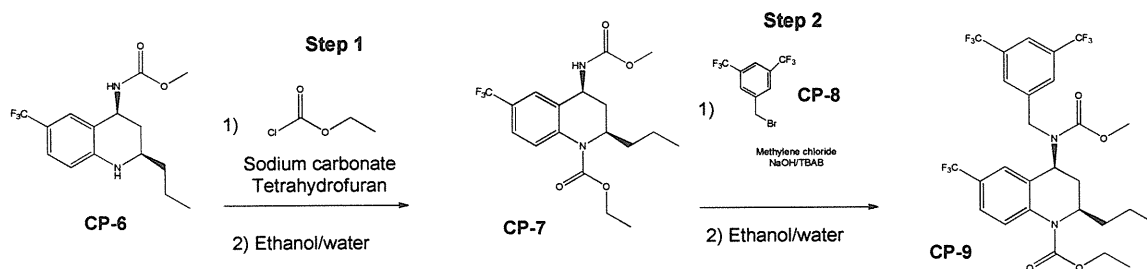
CP-8-OH 及び CP-8-CHO は重要な物質特性ではない。これらの不純物は、いずれも最終工程で反応せず、原薬の最終単離工程において十分に除去される。添加実験により、それぞれ 3% を添加しても、原薬において個別規格に設定しない 0.1% 以下に容易に除去できることが示された。

この重要でない試験は、CP-8 の購入規格及び製造所の品質システムにより維持する。

3)-3 商業用製造工程の選択の概要

CP-6 及び CP-8 を出発物質 (SM) に選択した。CP-6 を出発とするサクラミル原薬の製造工程は商業製造のためにバリデーションする予定である。

サクラミル原薬の商業用製造工程



4) 知識スペース及び管理戦略を開発するためのリスク評価

サクラミル原薬の商業用製造工程が一旦確立され、製造工程の入力物（原材料、出発物質、中間体等）と操作パラメータ（及び、それぞれの重要度の程度）及び原薬の重要品質特性（CQA）の機能的な関係の理解が進み、製造工程のデザインスペース及び管理戦略が最終的に明らかになる。

まず、リスク評価の過程において、潜在的な重要工程パラメータ（potential CPP）と製造スケールや装置への潜在的な依存性を特定し、原薬の品質に影響を及ぼす可能性を評価する（そのことは、それぞれの重要性の理解や、入力物や操作パラメータを高リスク（重要）、中程度リスク、低リスクとして決定することにつながる）。このリスク評価の過程において、各製造工程を個別に考察した。初めに、各工程の生成物の物質特性（MA）が原薬の重要品質特性（CQA）に影響を及ぼす可能性に関して考察した。原薬を単離する工程までは、原薬の製造工程に対して不純物の評価を厳密に行い、原薬を単離する工程では物理的特性も評価した。続いて、各工程における入力物（input）と操作パラメータに関し、当該ステップの重要な不純物特性に影響を及ぼす可能性について評価した。

この初期の体系的なリスク評価（structured risk assessment）では、製造工程の開発研究及びスケールアップ、化学と製造工程に関する反応機構論・速度論的な理解を通して得られた知識を活用した。製造工程の入力物（原材料、出発物質、中間体等）、操作パラメータ及びこれらに関連する可能性のある原薬の重要品質特性を特定したのちに、以下のことを目的に実験計画を作成し、優先順位をつけて実行した。その目的とは、（a）特定したパラメータが品質特性に影響を与えるか否かを明らかにし、（b）この影響の程度を決定し、規格に適合する原薬を製造することができるデザインスペース／立証された許容範囲（PAR）を特定することである。

4)-1 商業用製造工程の不純物（中間体及びジアステレオマーを含む）

サクラミル原薬の製造工程において混入する可能性のあるすべての不純物を次図のサクラミル原薬の不純物カスケードにまとめた。

CP-6に存在する0.1%を超えるすべての工程由来不純物を同定し、引き続き合成工程における不純物の除去データを基に適切な限度値を設定した。個別規格を設定しない個々の不純物は、CP-6において0.1%以下で管理されている。CP-6に由来する不純物は、原薬に含まれる主要な不純物の原因とはならない。CP-6及びサクラミル原薬が適切な不純物プロファイルを有することが、再現性のある製造工程と頑健な結晶化工程により常に達成されている。すべての中間体及びサクラミル原薬は、トリフルオロメチル官能基を有するために疎水性が高く、したがって結晶化により、前工程までの中間体や不純物は極めて効率的に除去されることが長い経験から示されており、CP-6及びサクラミル原薬の品質は製造工程の重要な変更又は軽微な変更の影響を

受けにくい。この効率的な除去は、製造工程に由来する不純物、ジアステレオマー、遺伝毒性不純物（中間体）及び出発物質に由来する不純物のすべてに対して有効である。

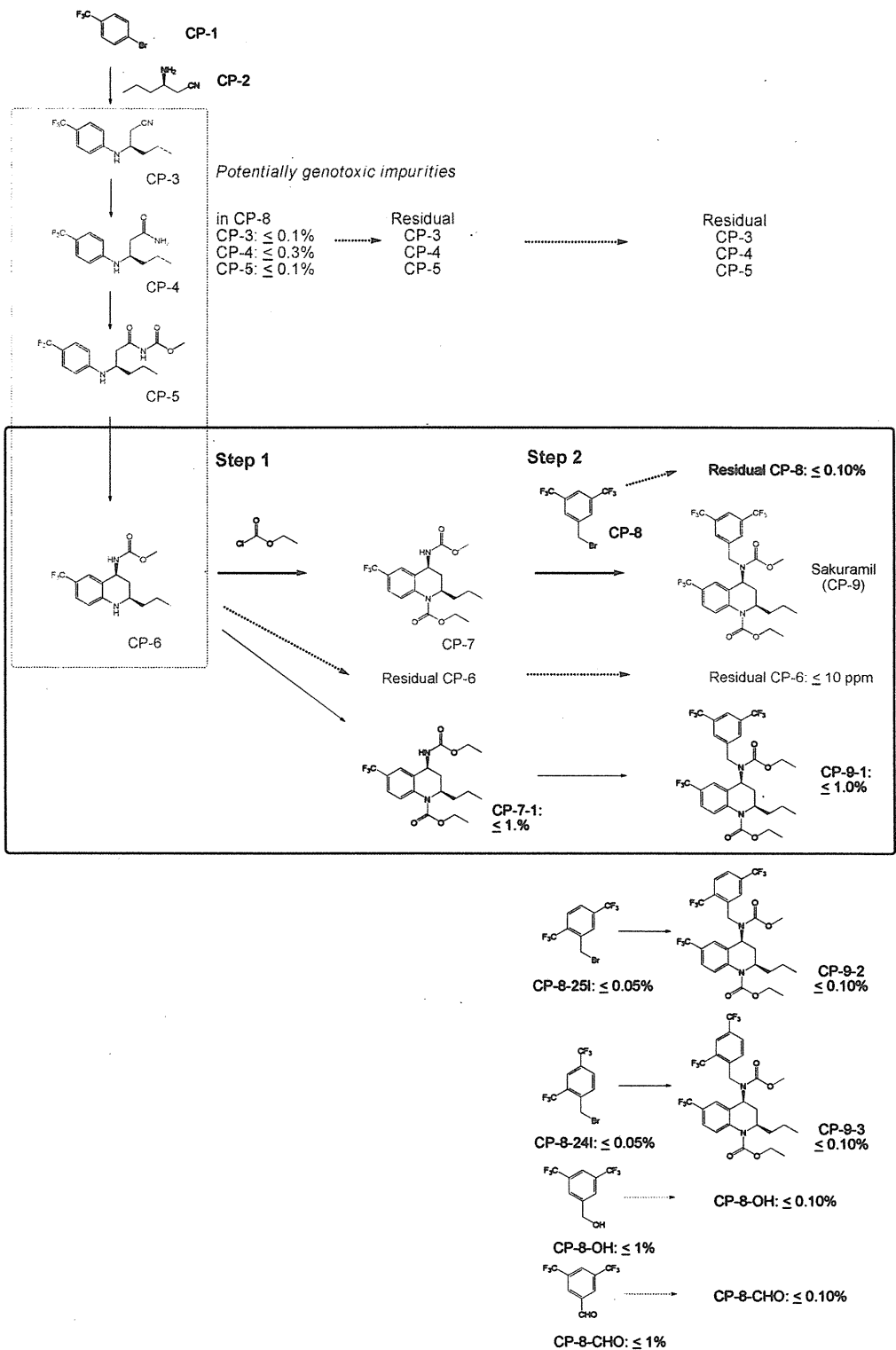
解説：

デザインスペースの開発や管理戦略の選択を補助するために、不純物カスケードをまとめた全体の不純物格子図（holistic impurity grid）を、商業用製造工程の前後を含めたすべての製造工程について図示することにより、出発物質及び中間体の物質特性の理解が確実となる。この格子図を開発中は維持する。この不純物格子図は、デザインスペースの境界と管理戦略の選択肢を確立するためのリスク評価や多変量実験段階の基盤となる。

個々の不純物の製造工程における挙動（運命及び除去）は、図及び裏づけとなるデータとともに要約する。個々の製造工程に由来する不純物の重要性は、それぞれの不純物と原薬の重要品質特性の間の機能的な関連が位置付けられ、理解されて初めて確立できる。不純物の挙動

（運命及び除去）の理解の程度も、また、この課題に対する重要性の最終評価及び管理戦略において、重要な役割を演ずる。原薬の製造工程において、不純物の追跡と知識は、原薬を製造する最終段階まですべての実験デザインの主な目的となる（最終ステップは物理的性質が実験計画の一部となる唯一のステップである）。この格子図は、原薬の製造工程の多変量デザインの際に選択される品質特性として機能する。

提案する商業用製造工程において生成する不純物とそれらの挙動は、原薬の製造工程を理解し、デザインスペースや管理戦略を決定するために実施する研究における主要な焦点である。



注：構造が変化しない場合は破線の矢印で、反応して構造が変化する場合は実線の矢印で示した。

Figure 2.3.S.2.6-9 サクラミル原薬の不純物カスケード

4)-2 サクラミル原薬の重要品質特性 (CQA) に対する製造工程の影響

サクラミル原薬の出発物質及び製造工程がサクラミル原薬の重要品質特性 (CQA) に影響する可能性をTable 2.3.S.2.6-4に示した。

Table 2.3.S.2.6-4 原薬CQAに対する出発物質及び製造工程の影響

重要品質特性 (CQA)	試験項目	CP-6 (出発物質)	CP-8 (出発物質)	Step 1	Step 2
確認試験	IR, chiral HPLC	No	No	No	Yes
含量	定量法	No	No	No	Yes
純度	類縁物質	No	Yes	Yes	Yes
	遺伝毒性不純物	Yes	No	Yes	Yes
	残留溶媒	Yes	No	Yes	Yes
	金属不純物	Yes	No	No	No
光学活性	立体異性体	Yes	No	No	No

4)-2-1 評価すべき物質特性 (MA) : 類縁物質

サクラミル原薬 CQA に影響を与える可能性が高い製造工程から混入する不純物を Figure 2.3.S.2.6-10 に示した。Step 1 ではサクラミル原薬の製造工程で唯一副生するエチル類縁体 CP-7-1 が生成し、Step 2 で反応して CP-9-1 に変換されて最終的にサクラミル原薬に残存する。CP-9-1 は Step 2 の再結晶 (工程) においてほとんど除去できないため、Step 1 で CP-7-1 の生成及び除去に影響を及ぼす工程パラメータを特定する必要がある。

Step 2 では未反応の出発物質 CP-8 がサクラミル原薬に残存するため、Step 2 で CP-8 の生成及び除去に影響を及ぼす工程パラメータを特定する必要がある。

なお、Step 1 で使用する出発物質 CP-6 は遺伝毒性不純物であるため、遺伝毒性不純物の項で議論する。

4)-2-2 評価すべき物質特性 (MA) : 遺伝毒性不純物

出発物質 CP-6 及び出発物質に混入する可能性のある CP-3、CP-4、CP-5 は遺伝毒性不純物であるため、これら不純物の除去に影響する工程パラメータについて調査する必要がある。

4)-2-3 評価すべき物質特性 (MA) : キラリティー (立体異性体)

1)-6 サクラミル原薬のキララル管理戦略のところでも前述したように、サクラミル原薬の製造工程ではラセミ化しないことが確認できている。キラリティーは CP-3 の供給業者の規格で管理さ

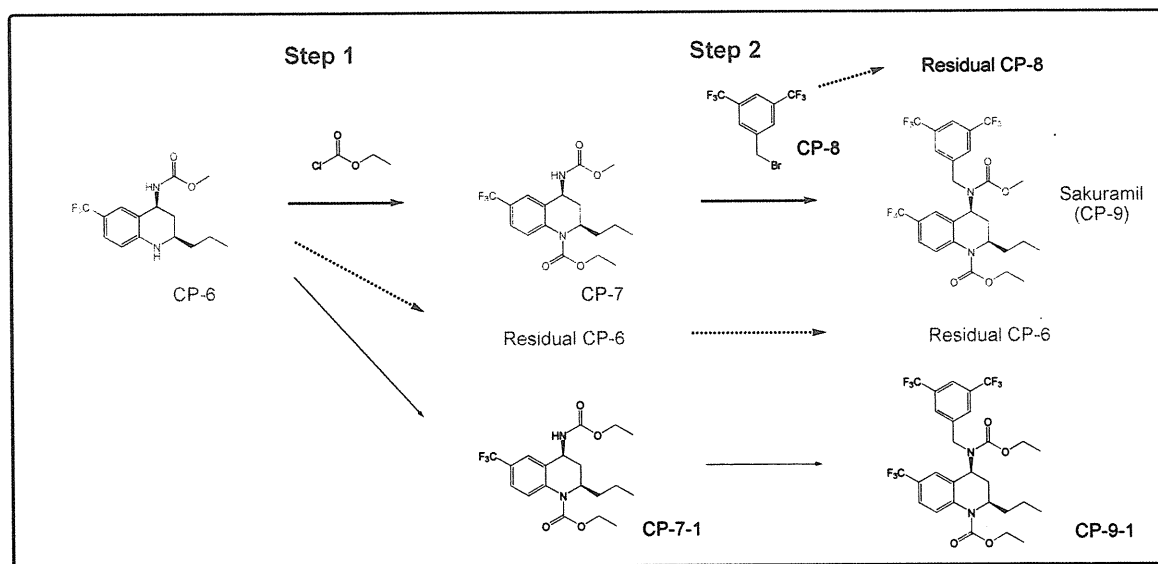
れており、製造工程及び中間体はキラリティーの管理に影響を与えないため、重要な物質特性ではない。

4)-2-4 評価すべき物質特性 (MA) : 残留溶媒

サクラミル原薬の Step 1 では Class 2 溶媒の THF 及び *n*-ヘキサンを使用するが、Step 1 及び Step 2 の結晶化 (工程) において 2 回の固液分離の操作があるため、開発段階においてこれらの溶媒が検出されたことはなかった。また、Step 2 の反応 (工程) では Class 2 溶媒のジクロロメタンを使用するが、反応終了後にジクロロメタンを留去した後、結晶化に供するように設計したため、ジクロロメタンも開発段階において検出されたことはなかった。このため、ジクロロメタンも重要な物質特性ではない。

4)-2-5 評価すべき物質特性 (MA) : 金属不純物

サクラミル原薬の製造工程では金属触媒等を使用していないが、出発物質 CP-6 の製造工程の初期に Pd を使用するため、出発物質に Pd の管理項目 / 管理値を設定した。金属はサクラミル原薬の製造工程で増加することがないため、Pd は重要な物質特性ではない。



注：構造が変化しない場合は破線の矢印で、反応して構造が変化する場合に実線の矢印で示した。

Figure 2.3.S.2.6-10 製造工程から混入する可能性のある不純物

5) 原薬の各ステップの単位操作のデザインスペース

サクラミル原薬の製造工程のデザインスペースを決定することを目的とし、サクラミル原薬の重要品質特性に対する製造工程の影響を、品質リスクマネジメントのプロセス及びツールを組み合わせることで研究した。サクラミル原薬の商業用製造方法のデザインスペースを、関連する重要品質特性及び重要なプロセス入力物（原材料）並びに工程パラメータから確立した。

以下の章（Step 1 から Step 2）は、各々のステップのリスクに基づく評価、実施した実験、結果の評価及び結果として生じる各々のステップのデザインスペースの評価、そして、製造工程の全体的なデザインスペースについての要約を提供する。

5)-1 サクラミル原薬のデザインスペースを設定するための焦点領域の多変量プロトコール、実験の概要及び結論

緒言

前記の製造工程の開発の経緯に記述したように、一旦、サクラミル原薬の商業的な製造方法が確立すると、原薬の重要品質特性と製造工程パラメータの機能的な相互関係のさらなる理解が確立され、最終的に製造工程のデザインスペースの設定につながる。

すべての製造工程パラメータ（物質特性、工程内管理等を含む）を特定し、原薬の品質に及ぼす影響を評価するために、最初にリスク評価のプロセスを実施した。これを行うために、製造工程の各段階を焦点領域に分割し、個々に評価した。Step 1 は焦点領域 # 1（FA1）から # 6（FA6）に分割し、Step 2 は焦点領域 # 1（FA1）から # 6（FA6）にそれぞれ分割した。評価した焦点領域を表 2.3.S.2.6-5 に示す。また、この初期のリスク評価は、因果関係マトリクス（Cause and Effect Matrix, C&E Matrix）の手法により実施した。その際に評価した製造工程パラメータの例を表 2.3.S.2.6-6 に示した。

まず、各段階の生成物（中間体）の物質特性について、サクラミル原薬 CQA に及ぼす影響の可能性について評価した。次に、各段階の工程パラメータについて、その段階の生成物（中間体）の重要な物質特性に及ぼす影響の可能性について評価した。評価点を計算し、高リスク、中程度のリスク、低リスクの三段階に分類した。この初期の体系的なリスク評価は、製造工程の開発研究及びスケールアップ、反応及び後処理方法に関する化学と反応機構論的な理解を通して得られた知識を活用した。

最優先に評価する物質特性は、当該工程で生成し、管理される不純物であった。

この初期の体系的なリスク評価では、製造工程の開発研究及びスケールアップ、化学と製造工程に関する反応機構論・反応速度論的な理解を通して得られた知識を活用した。

Table 2.3.S.2.6-5. サクラミル原薬製造工程のリスク評価における焦点領域

焦点領域	Step 1	Step 2
FA1	反応	反応
FA2	反応液ろ過	反応停止、分液、洗浄
FA3	反応停止、分液	蒸留
FA4	結晶化	ろ過
FA5	結晶ろ過	結晶化
FA6	乾燥	乾燥

Table 2.3.S.2.6-6 初期リスク評価で評価した製造工程パラメータの例

設備の組み立て
 原料の品質
 投入／作業順序
 原料投入時間／添加速度
 攪拌速度
 反応時間
 反応温度
 反応液のサンプリング
 水層のpH
 分液操作
 溶媒置換
 結晶化時の濃度
 結晶化の温度
 ろ過
 洗浄液の量
 乾燥温度
 真空度
 文書化された手順
 作業員及び試験者の教育訓練

製造工程のリスク評価の結果、不純物が生成しこれを管理する焦点領域がより深い工程の理解が必要であると特定された。この理解により、サクラミル原薬 CQA への影響を評価し、デザインスペースを構築するための基盤となる。工程パラメータと物質特性の関連を評価するために、これらの焦点領域ごとに実験計画を作成した。それらは、(a) 特定されたパラメータが品質特性に影響を及ぼすか否か、(b) この影響の程度を評価し、規格に適合するサクラミル原薬を製造できる立証された許容範囲 (PAR) を特定するために、優先順位付けして実行した。

サクラミル原薬の製造工程で特定した焦点領域を表 2.3.S.2.6-7 及び表 2.3.S.2.6-8 にまとめた。

Table 2.3.S.2.6-7 リスク評価によるサクラミル原薬の重要品質特性に影響を与える可能性

サクラミル原薬 重要品質特性	Step 1						Step 2						
	FA1	FA2	FA3	FA4	FA5	FA6	FA1	FA2	FA3	FA4	FA5	FA6	
	反応	反応液ろ過	反応停止、 分液	結晶化	結晶ろ過	乾燥	反応	反応停止、 分液、洗浄	蒸留	ろ過	結晶化	乾燥	
キラリティー	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	
個別規格を設定する 不純物													
CP-6	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Medium	Low	Low	Low	Medium	Low
CP-8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	High	Low	Low	Low	Medium	Low
CP-3	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
CP-4	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
CP-5	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
CP-7-1	High	Low	Low	Medium	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
不純物の合計	High	Low	Low	Medium	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Medium	Low

*High Low Medium は下記のように分類した。

- High risk : 製品の品質に影響を与える品質特性及びパラメータ
- Medium risk : 潜在的に製品の品質に影響を与える品質特性及びパラメータ
- Low risk : 製品の品質に影響を与えない品質特性及びパラメータ

Table 2.3.S.2.6-8 サクラミル原薬の製造工程で特定した焦点領域

- 1) Step 2 の反応
 - 2) Step 1 の反応
 - 3) Step 2 の結晶化
 - 4) Step 1 の結晶化
- 物質特性はリスク評価 (RA) と多変量実験計画の中に含まれる

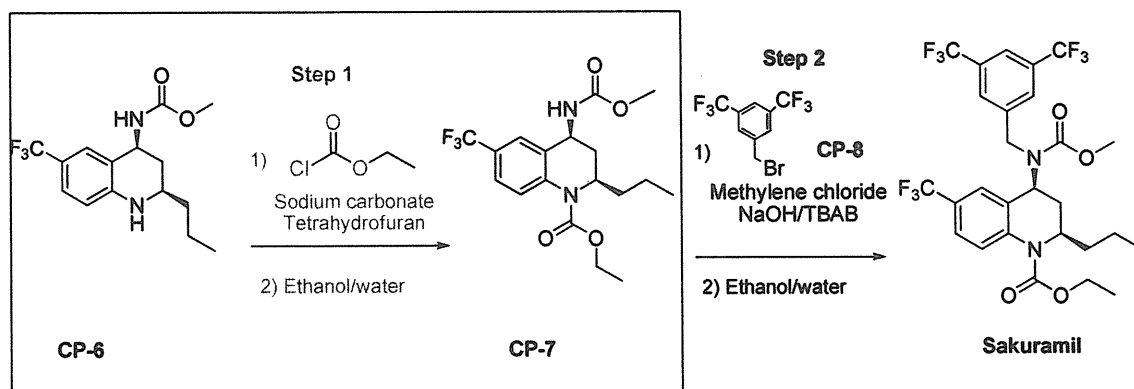
以下の章には、製造工程の各段階におけるリスク評価の概要を示す。ここでは計画し、実施した実験作業、重要度を基準としたその結果に関する初期のリスク評価を示し、これらの結果から製造工程のデザインスペース全体を確立した。

5)-1-1 Step 1

5)-1-1-1 Step 1 の反応の多変量デザイン

Step 1 において、CP-6 のアニリン官能基がクロロギ酸エチルと反応し、カルバミン酸誘導体である CP-7 を生成する。反応に続いて、過剰のクロロギ酸エチルを分解するために、反応混合液に水酸化ナトリウム水溶液を加えてクエンチし、そしてヘキサンを加える。ヘキサン相を分離した後、溶媒をエタノールに交換して、エタノール/水混液から結晶化する。

Step 1 の 2 つの焦点領域である反応工程と結晶化工程を調査した。



反応：

Step 1の反応の不純物品質特性、工程パラメータ及び範囲

唯一の不純物、エチル類縁体（CP-7-1）が、Step 1の製造工程で生成するCP-7のロット中に認められた。本ステップはサクラミル原薬の重要品質特性に潜在的に影響を与える可能性がある。この不純物は、カルバミン酸メチルの窒素がクロロギ酸エチルと反応し、カルバミン酸メチルがとれて生成する（又は、カルバミン酸メチルがとれ、そしてクロロギ酸エチルとアルキル化する）。Step 1はCP-7-1（エチル類縁体）が生成する工程であり、この不純物はStep 1及びサクラミル原薬を得るStep 2の結晶化（工程）でほとんど除去されず、全製造工程における唯一の不純物である。

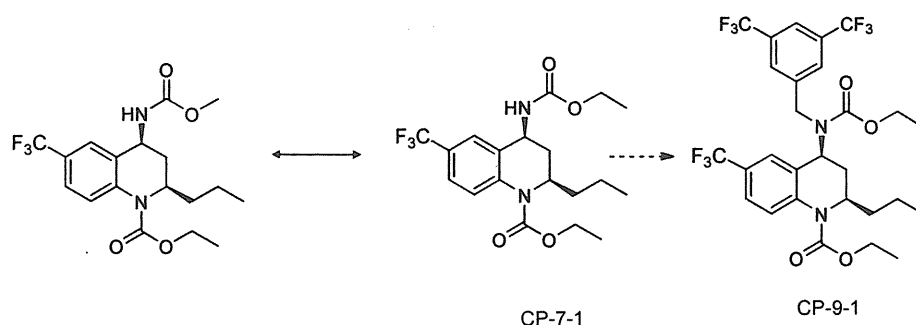


Figure 2.3.S.2.6-12 CP-7-1;エチル類縁体

さらに、実験計画の範囲を検討する間において (a) 新規不純物が生成していないか、そして (b) 微量な構造既知の不純物が標準的な製造工程における実績（0.1%未満）と同様にコントロールされているかを確認するために、「その他」の不純物の合計をモニターした。

リスク評価から、CP-7中のCP-7-1（及び「その他の」不純物の合計）のレベルに潜在的に影響する可能性があるパラメータを特定した。この評価から、クロロギ酸エチル及び塩基の化学量論を特定し、そしてTHFの容量がCP-7のこれらの品質特性に影響を与える最も高いリスクがある工程パラメータであることを確認した。実験を行うための戦略は、これらの品質特性をコントロールする工程パラメータの効果を決定し、製造工程の理解を深め、頑健なStep 1の製造工程のデザインスペースを確立するように計画した。

さらに、この検討では、この反応に使用可能な二種類の塩基を含めた。それはリン酸三ナトリウムと炭酸ナトリウムである。廃液処理の要求事項が十分に理解できていないために現時点ではどちらか一つを選択することに至っていないが、これらの塩基はいずれも反応に使用することが可能であると考えられた。これらは潜在的に重要でないパラメータであるが、同時に両者を比較検討することにより、両方の塩基の影響を確認した。

スケール及び装置の考慮（デザインスペースを確立するための多変量デザインを行う前に）

リン酸三ナトリウム又は炭酸ナトリウムの粒子径も攪拌速度のどちらも反応速度や製品の不純物プロファイルに観察できるような影響を及ぼさなかった。これはスケールアップにおける混合能力の低下が重大な懸念事項でないことを示す。クロロギ酸エチルをクエンチするときには二相系となり、攪拌効率には敏感であるものの、混合に関するスケールアップにおいて副生成物や安全性の潜在的な懸念はない。

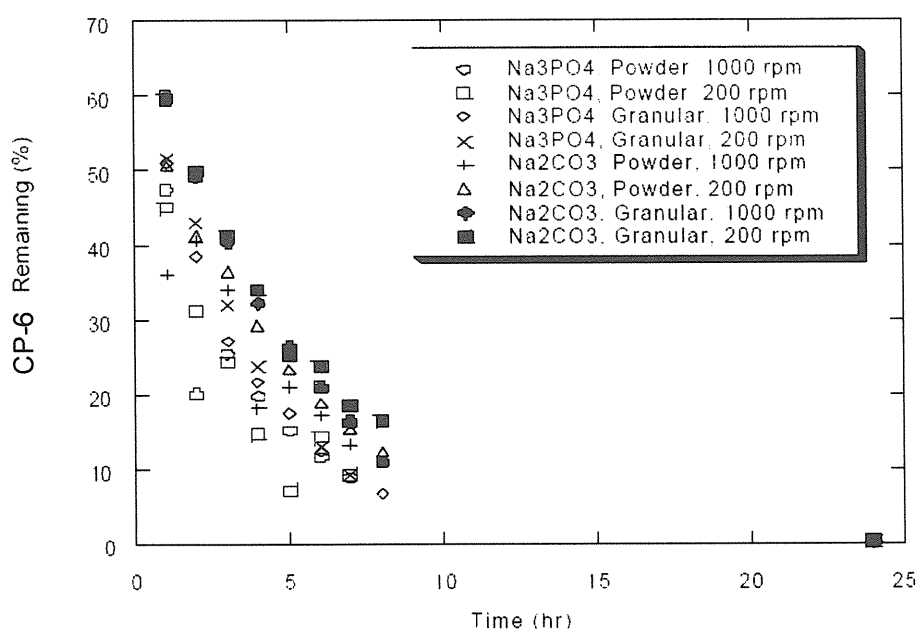


Figure 2.3.S.2.6-13 塩基の粒子径と攪拌速度が反応速度に及ぼす影響

開発の過程を通して観察されたスケール及び／又は設備の科学的知識に基づく制限はなかった。しかしながら、実験室に比べて製造における時間が長くなるのが品質特性に影響するかどうかを理解するために、苛酷条件の実験を追加する。さらに、提案する商業用設備とその限界の「ワーストケース」シナリオを想定して多変量実験を行う。

注：「ワーストケース」シナリオとは、実験室の検討において、加熱プロファイル及び冷却プロファイル等を商業用の製造施設において起こり得る最悪の状況をシミュレートして行うことをいう。例えば、設定した反応温度よりも10°C高い温度で反応させることや、設定した時間よりも長い時間をかけて反応すること、又は、試薬等について設定した仕込量よりも過剰に使用することなどにより、副生成物や分解物の増加の有無等を確認することをいう。

実験計画法 (DoE) により検討したパラメータと範囲：

実験計画法 (DoE) の中心複合計画を以下のように設計し、実施した。

Table 2.3.S.2.6-9 Step 1の反応工程の実験計画 (DoE)

パラメータ	低	中心	高	標準 操作範囲
クロロギ酸エチルの当量	2.0	4.75	7.5	2.5
リン酸三ナトリウム又は炭酸 ナトリウムの当量	0.75	2.375	4	1.1
反応液の濃度 (L/kg、CP-6に 対するTHFの量)	3.0	9.0	15	5.8

*注：よりよい製造工程の理解を得るために、エチル類縁体を生成するワーストケースとして、クロロギ酸エチル (ECF) 当量は異常に高い7.5当量を選んだ。ECFの7.5当量という高いレベルは、商業生産では使用しない。

エチル類縁体は製造工程からほとんど除去できないため、Step 1の単位操作のデザインスペースの境界を制限する物質特性 (MA) である。

サクラミル原薬のエチル類縁体の誘導体 CP-9-1 の許容基準は 1.0% である。Step 1 及び 2 の結晶化 (工程) において、それ以降のエチル類縁体の誘導体はほとんど除去されないため、Step 1 における反応及び結晶化 (工程) におけるエチル類縁体のための多変量実験の許容基準も 1.0% である。

エチル類縁体 CP-7-1 の結論

- リン酸三ナトリウムと炭酸ナトリウムを使用したすべての実験において、測定した CP-7-1 のレベルは 1.0% よりも有意に低かった (1.0% はサクラミル原薬に含まれる CP-7-1 に由来するエチル類縁体の誘導体 CP-9-1 の規格)。さらに、ワーストケースシナリオとして反応温度が 66°C で 36 時間反応した後の反応混合物で評価した CP-7-1 のレベルは同様に 1.0% よりも十分に低かった。サクラミル原薬の製造工程の Step 2 では CP-7-1 は増加せず、Step 1 及び Step 2 の結晶化 (工程) では、CP-7-1 及びそれ以降の誘導体の CP-9-1 はほとんど除去されない。したがって、Step 1 のために提案したデザインスペースは、サクラミル原薬に 1.0% の規格で設定した重要品質特性の CP-9-1 の規格限度の範囲内で、CP-7-1 の生成を十分に管理できる。
- パラメータの多変量実験及び／又は苛酷条件の実験において、管理値からの逸脱は認められず、不適合境界 (Edges of Failure (EoFs)) は観察されなかった。

以下に示すようにリン酸三ナトリウム及び／又は炭酸ナトリウムは重要工程パラメータではなかった。

- リン酸三ナトリウムのシリーズにおいて、エチル類縁体の生成に最も影響する要因は、塩基の量と濃度（THF の容量）である。塩基の量が少なく、そして、濃度が高い（THF の容量が少ない）場合は、不純物がより高いレベルになる。溶液中に認められたクロロギ酸エチル（ECF）の量は、エチル類縁体のレベルに統計学的に影響を及ぼさなかった。
- 炭酸ナトリウムのシリーズにおいて、クロロギ酸エチルと塩基の相互作用とともに、3つの要因がすべて重要であり、最も大きな役割を果たしている。一般的に、炭酸ナトリウムの量が少なく、高濃度で、クロロギ酸エチルの高いレベルは、エチル類縁体の量を増加させる。炭酸ナトリウムは、極端な状況下でエチル類縁体をより多く生成する傾向があった。しかしながら、ECF（クロロギ酸エチル）が 2.5 当量の標準的な条件では、反応はデザインスペースを通して極めてきれいに進行する。
- これらの反応は 6 時間未満で完全に終了するが、最も高いエチル類縁体の値（～0.3%）は 36 時間還流を行った場合に得られたことに留意する必要がある。それゆえ、スケール及び設備による（反応）時間の違いは、エチル類縁体の生成をコントロールするための要因でない。

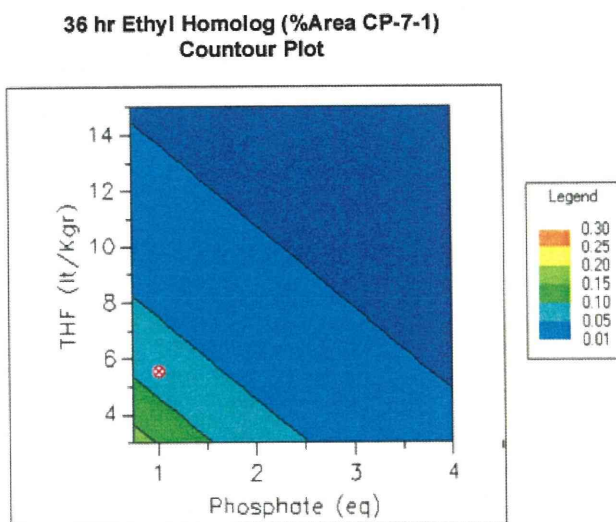


Figure 2.3.S.2.6-14

リン酸三ナトリウム : 36 時間におけるエチル類縁体の等高線図
(赤い点が標準的な条件)

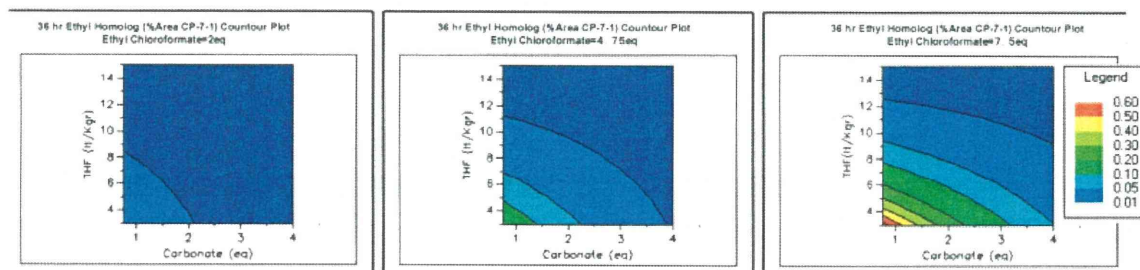


Figure 2.3.S.2.6-15 炭酸ナトリウム：36時間におけるエチル類縁体の等高線図

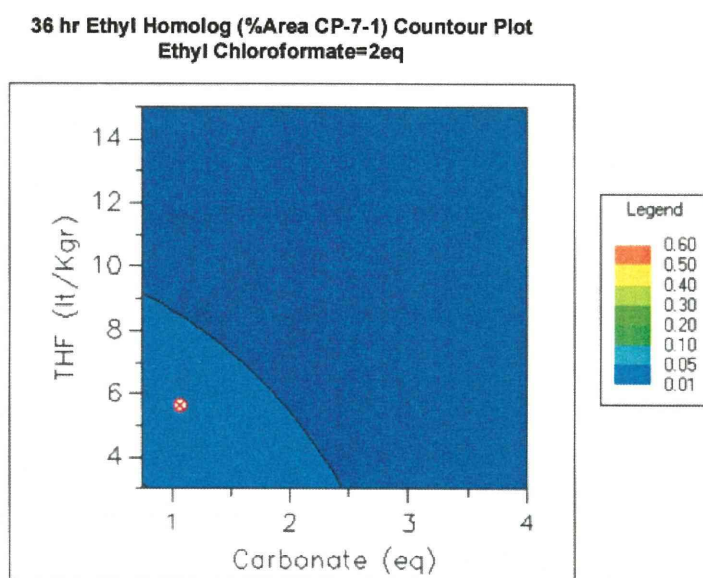


Figure 2.3.S.2.6-16 炭酸ナトリウム：標準的な条件での36時間における等高線図

「その他」の不純物に関する結論

- すべての実験において、HPLC 面積百分率での不純物合計は36時間後の反応混合物中で「その他」の不純物の合計は0.3~0.4%であった。スケールアップ及び開発のための実験において、CP-7及びサクラミル原薬の品質規格に対して、Step 1の結晶化（工程）により、これらの不純物が十分に除去できることを示した。
- 提案するデザインスペースにおいて新規不純物が観察されず、既存のピークは標準状態よりも低いレベルであった。

追加の観察事項：

- 両方の塩基の標準的な操作状況は、一般に、デザインスペースの中で「その他」の不純物が最も高いレベルになる。これは、標準的な後処理の条件がデザインスペースを通して、「その他」の不純物を十分に除去できなければならないことを示唆する。
- リン酸三ナトリウムの実験：分析結果によると、「その他」の不純物のレベルは濃度に強く依存する。一般的に、「その他」の不純物のレベルは、塩基が多く、クロロギ酸エチルのレベルが低くなると減少する。
- 炭酸ナトリウムの実験：一般的に、反応液の濃度が薄いと、よりきれいな（不純物が少ない）製品が得られる。
- 全体的に炭酸ナトリウムのシリーズは、リン酸三ナトリウムよりも反応がきれいであった。

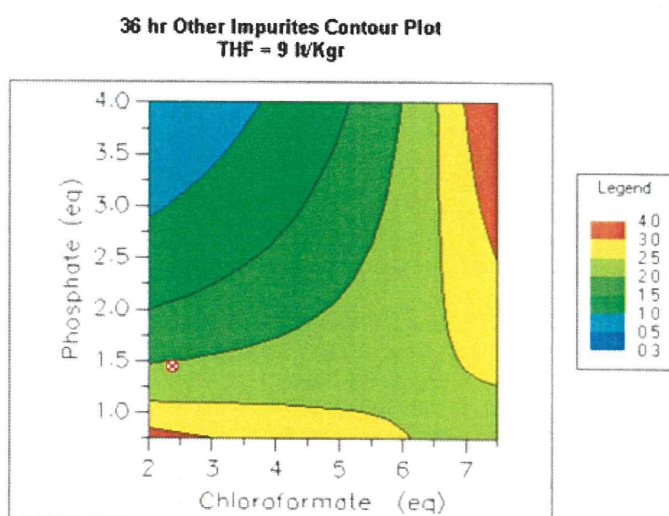


Figure 2.3.S.2.6-17 リン酸三ナトリウム：THFが9容量の場合の36時間後の「その他」の不純物の等高線図

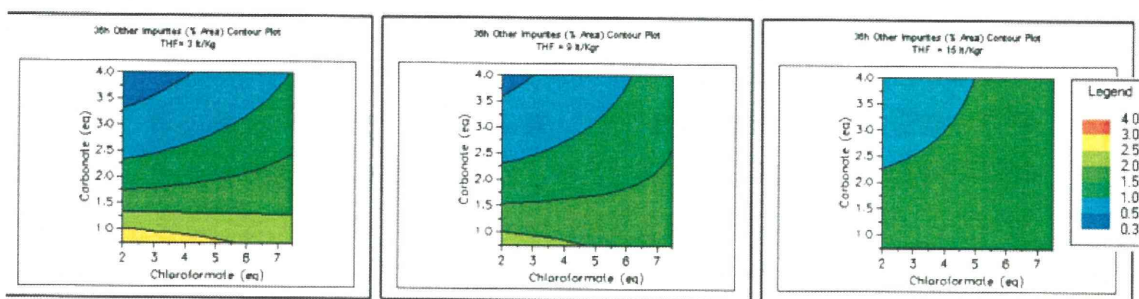


Figure 2.3.S.2.6-18 炭酸ナトリウム：36時間後の「その他」の不純物の等高線図

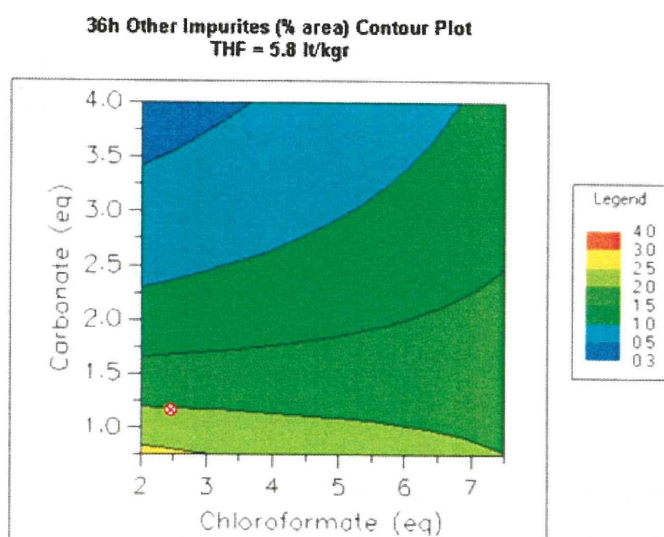


Figure 2.3.S.2.6-19 炭酸ナトリウム：THF が標準容量の場合の 36 時間後の「その他」の不純物の等高線図

5)-1-1-2 Step 1の結晶化（工程）の多変量デザイン

結晶化工程の実験計画法（DoE）のための、実験計画と分析的戦略によれば、CP-7の単離と試験が必要である。Step 1反応において定量値と不純物レベルに関して同様な測定可能な応答（結果）を集め適切に評価した。入力因子の変動を除外し、この特定の不純物（エチル類縁体CP-7-1）を除去する工程パラメータの影響を観察し、評価することをより単純にするために、通常とは異なる高いレベルのエチル類縁体を含む反応粗製物を選んだ。実験デザインのパラメータ及び範囲を下表に示す。範囲は、それまでに得られた知識、現実的な製造の実施可能性及び望ましいデザインスペースの柔軟性を考慮して選択した。

スケール及び装置に関する考察：実験室と実製造における所要時間が異なることにより品質特性に影響を与えるかどうかを理解するために、苛酷条件における実験を行った。さらに、多変量実験は、提案する商業用の設備とその限界の「ワーストケース」シナリオを想定して実施した。

Table 2.3.S.2.6-10 Step 1の結晶化の実験計画 (DoE)

パラメータ	低	標準	高
冷却速度 (°C/min)	0.15	0.36	0.5
最終温度	14	20	26
最終濃度 (L/kg、CP-6に対するエタノールの量)	4	7.22	10
添加 (滴下) 時間 (min)	15	30	60
水の量 (%w/w、エタノールに対する水の量)	10	30	50
攪拌速度 (rpm)	150	test	350
水添加後の保持時間 (hr)	2	test	4
THFの濃度 (%v/v)	1	test	6

結晶化 (工程) の実験データからのデザインスペースの境界をFigure 2.3.S.2.6-20および-21に示した。

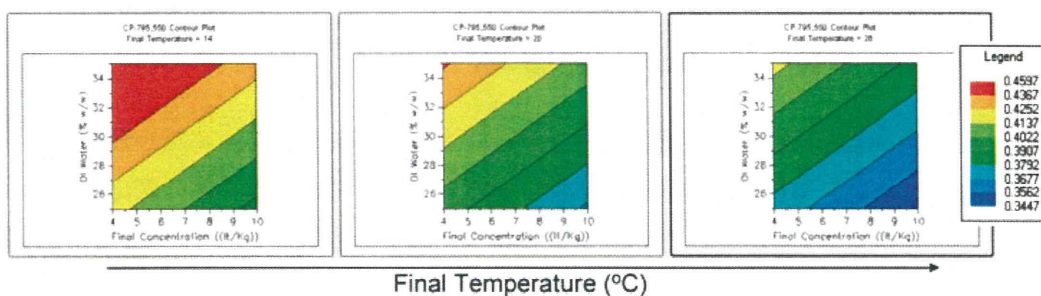


Figure 2.3.S.2.6-20 Step 1の結晶化工程におけるエチル類縁体のレベル

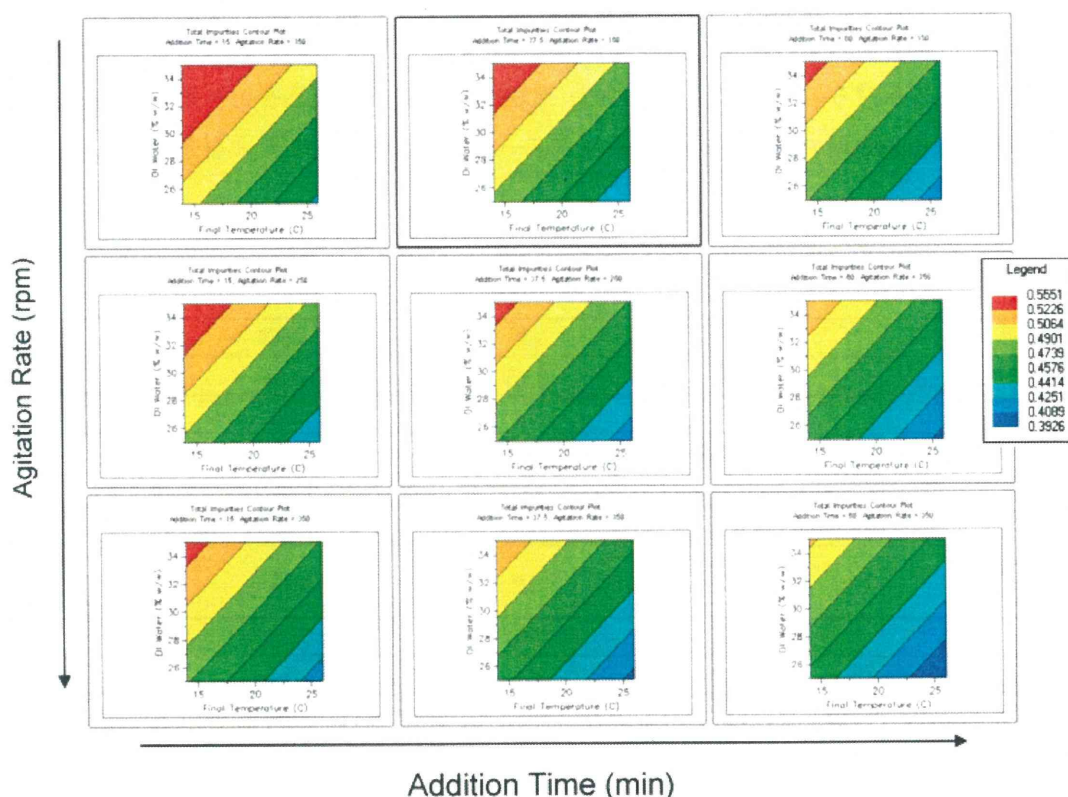


Figure 2.3.S.2.6-21 不純物の合計 (%)

結晶化（工程）における実験計画法（DoE）の結論

- 結晶化（工程）を通して提案するデザインスペースにおいて、エチル類縁体はほとんど除去されない。選択的な結晶化（工程）を行っても、エチル類縁体の変化は無かった。
- すべての実験において、単離した生成物の不純物の合計は、HPLCの面積百分率として0.3~0.5%の範囲であった。スケールアップ及び検討結果より、これらの不純物はStep 1の結晶化（工程）においてCP-7及びサクラミル原薬の品質規格よりも低いレベルに十分に除去できることを示した。
- 提案するデザインスペースの中で新規不純物が観察されなかったこと、及び、既存のピークは標準状態よりも低いレベルであったことが示されたことは重要である。

スケール及び装置：

- 単離する前の暴露時間を長引かせるように冷却速度を変動させた苛酷条件の実験において、不純物プロファイルからのいかなる逸脱もなかった。

5)-1-1-3 Step 1の反応工程及び結晶化工程（出発物質の特性を含む）の初期重要度
リスク評価：重要な特性又はパラメータの特定

Table 2.3.S.2.6-11にStep 1の反応工程及び結晶化工程の多変量解析の結果をまとめた。

Table 2.3.S.2.6-11 Step 1の多変量解析の結果のまとめ（抜粋）

パラメータ	デザインスペース	標準操作 範囲	特性又はパラメータの重要度とその 妥当性
クロロギ酸エチルの 量	CP-6に対して 2~7.5モル当量	2.5	重要でない：妥当性－ 通常では起こらないレベルの7.5当量 を用いてもCP-7-1（エチル類縁体） は0.3%未満であった。 この反応工程及び最終原薬の規格は 1%である。
炭酸ナトリウム又は リン酸三ナトリウム の当量	CP-6に対して 0.75~4モル当量	1.1	重要でない：妥当性－ 両者ともに品質に影響しない。 両者ともに反応速度に関係するが、 製造工程は塩基の違いに敏感でない
反応濃度（CP-6に対 するTHFの量）	CP-6に対して 3~15 liters/ kg	5.8	重要でない：妥当性－ CP-7-1（エチル類縁体）に対して両 レンジともにリスクは低い
反応温度	還流	N/A	重要でない：妥当性－ 反応速度に影響するが、品質には影 響しない
結晶化（工程）にお けるエタノールの量	CP-6に対して 4~10 liters/ kg	5.9	不純物合計に軽微な影響を及ぼす。 Step 2の重要度のリスク評価が必 要：全体的なデザインスペースとし て評価
結晶化（工程）にお ける水の量	エタノールに対する 水の量（濃度） 10%~50% wt/ wt	28%~32%	不純物合計と統計的、機能的に関連 する。Step 2の重要度のリスク評価 が必要：全体的なデザインスペース として評価
（結晶化（工程） の）最終温度	14~26 °C	20	不純物合計に軽微な影響を及ぼす。 Step 2の重要度のリスク評価が必 要：全体的なデザインスペースとし て評価
乾燥温度	50 °C以下	42.5 °C	重要でない：妥当性－ より高い温度及びより長い時間暴露 したが、分解はしなかった
スケール及び装置			重要でない：均質なスラリー系の反 応であり、スケール及び設備に依存 しない。暴露を長引かせた苛酷状態 の実験でも品質に影響しない