

# 医薬品原薬製造への応用を目指した有機 化合物の晶析現象と操作に関する研究

岩手大学大学院 工学研究科 博士後期課程

フロンティア物質機能工学専攻

フロンティア化学系

結晶工学研究室

佐藤 弘康

2015年9月

## 目次

第 1 章 緒論	1
1.1. 結晶	2
1.2. 晶析	4
1.3. 医薬品の製造	7
1.4. 原薬の固体状態の特性の重要性	8
1.5. 原薬製造における晶析	10
1.6. 本研究の目的	13
1.7. 本論文の構成	14
1.8. 参考文献	15
第 2 章 残留溶媒量及び粒子径分布コントロールを両立する Orantinib 原薬晶析プロセスの実験計画法による最適化	17
2.1. はじめに	18
2.2. 実験	24
2.2.1. 原料, 試薬, 溶媒	24
2.2.2. DoE 及び統計解析	24
2.2.3. Orantinib 原薬の調製	24
2.2.4. 分析装置及び条件	24
2.3. 結果と考察	27
2.3.1. プロセスパラメータのスクリーニング実験	27
2.3.2. プロセスパラメータの最適化実験	33
2.3.3. 検証実験	44
2.4. まとめ	50
2.5. 参考文献	51
第 3 章 L-アスパラギン酸の晶析における D-, 及び L-アスパラギン の影響	53
3.1. はじめに	54
3.2. 実験	59
3.2.1. 原料, 試薬, 溶媒	59
3.2.2. L-Asp の晶析	59
3.2.3. 分析装置及び条件	59
3.3. 結果と考察	61
3.3.1. L-Asn 及び D-Asn が L-Asp 晶析に及ぼす影響	61

3.3.2. L-Asn 存在下での L-Asp 晶析で得られる結晶の経時変化	64
3.4. まとめ	66
3.5. 参考文献	67
<b>第4章 テーラーメード添加物 L-, 又は D-アスパラギン存在下における DL-アスパラギン酸ラセミ化合物の晶析での光学分割</b>	69
4.1. はじめに	70
4.2. 実験	73
4.2.1. 原料, 試薬, 溶媒	73
4.2.2. DL-Asp の晶析	73
4.2.3. DL-Asp から遊離した L-Asp (又は D-Asp) の晶析	73
4.2.4. 分析装置及び条件	74
4.3. 結果と考察	76
4.3.1. L-Asn が DL-Asp 晶析に及ぼす影響	76
4.3.2. DL-Asp ラセミ化合物の光学分割	79
4.4. まとめ	84
4.5. 参考文献	85
<b>第5章 L-アスパラギン存在下における L-アスパラギン酸の 面選択的結晶成長挙動</b>	87
5.1. はじめに	88
5.2. 理論と実験	90
5.2.1. 添加物存在下における結晶成長速度理論	90
5.2.2. 原料, 試薬, 溶媒	91
5.2.3. L-Asp 結晶成長速度の測定	91
5.2.4. pH 測定及び pH 制御下における L-Asp 結晶形状の観察	92
5.2.3. 分析装置及び条件	93
5.3. 結果と考察	94
5.3.1. L-Asp 結晶の各軸方向への結晶成長速度 (静置系)	94
5.3.2. L-Asn が L-Asp 結晶成長に及ぼす作用メカニズム	97
5.3.3. L-Asp 結晶の各軸方向への結晶成長速度 (攪拌系)	99
5.3.4. pH 制御下における L-Asp 結晶成長への L-Asn の影響	101
5.4. まとめ	105
5.5. 参考文献	106
<b>第6章 総括</b>	108

原著論文	111
学会発表	112
謝辞	113

# 第 1 章

## 緒論

## 1.1. 結晶

結晶とは原子（分子）が 3 次元に拡張する周期的な繰り返しパターンで配置された■体である。全ての結晶は固体であるが、全ての固体が結晶ではない。非結晶性の固体はアモルファス（非晶質）と呼ばれる。結晶は 7 種の結晶系（立方、正方、斜方、菱面、六方、単斜、三斜）と 4 種の単位格子 [単純 (P)、体心 (I)、面心 (F)、底心 (C)] を組み合わせた 14 種の Bravais 格子に分類できる<sup>1)</sup>。

結晶の外形は、結晶を構成する物質によって異なり、その結晶に特有のものであることから晶癖と呼ばれている (Figure 1-1)。晶癖は結晶の内部構造を反映したものではあるが、それのみでは決まらない。温度、過飽和度、不純物（添加物）の有無、溶媒の種類などの成長条件によっても変化する。このように晶癖が結晶内部構造を反映していると同時に外部条件によっても変化するのには、晶癖が各結晶面の成長速度の相対的違いによって決まるからである<sup>2)</sup>。晶癖を変化させる要因の中でも、添加物効果については多数の報告例がある<sup>3), 4), 5)</sup>。

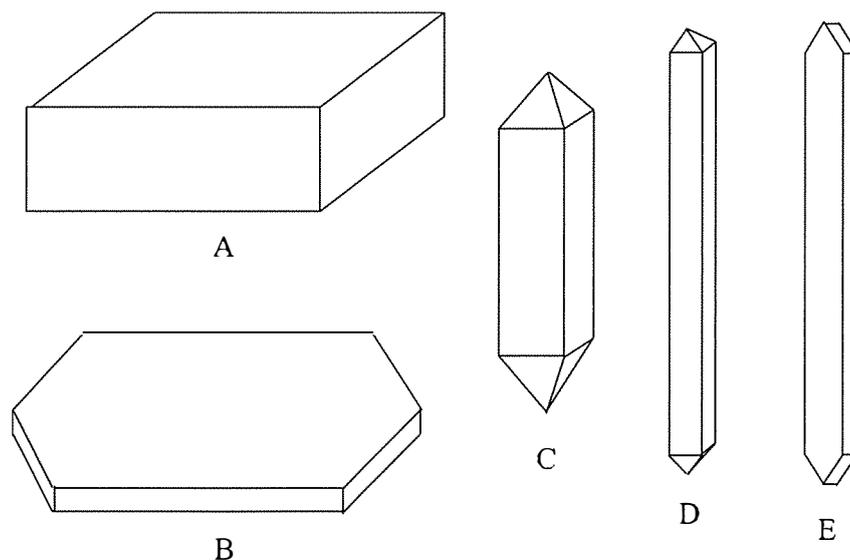


Figure 1-1. Difference habits of crystals. A: tabular, B: platy, C: prismatic, D: acicular, E: bladed.

(出典 : Haleblian, J. K. *J. Pharm. Sci.*, 1975, 64, 1269–1288. <sup>6)</sup>)

同一物質で結晶構造が異なる場合において、互いに結晶構造の異なるものを結晶多形 (polymorph) と呼び、それらの結晶構造は互いに多形の関係にあるという。結晶多形は同一物質の結晶構造が異なる結晶の出現によるもので、これらの結晶の出現するさまを結晶多形現象と称する。医薬品は複雑な化学構造をもっているために、固体の医薬原薬の 70% が結晶多形を示すといわれている<sup>7)</sup>。

結晶多形は、分子式、分子量、平面構造は 1 分子については全て同一で、同一化合物であるが、結晶データだけが異なる。

また、結晶中に化学量論的な一定の結合比で溶媒分子を含んだ溶媒との複合体結晶は、溶媒和物又は疑似多形と呼ばれ、特に水による複合体は水和物と呼ばれる。非化学量論的な複合体は、channel, layer, cage (clathrate) に分類される (Figure 1-2)。

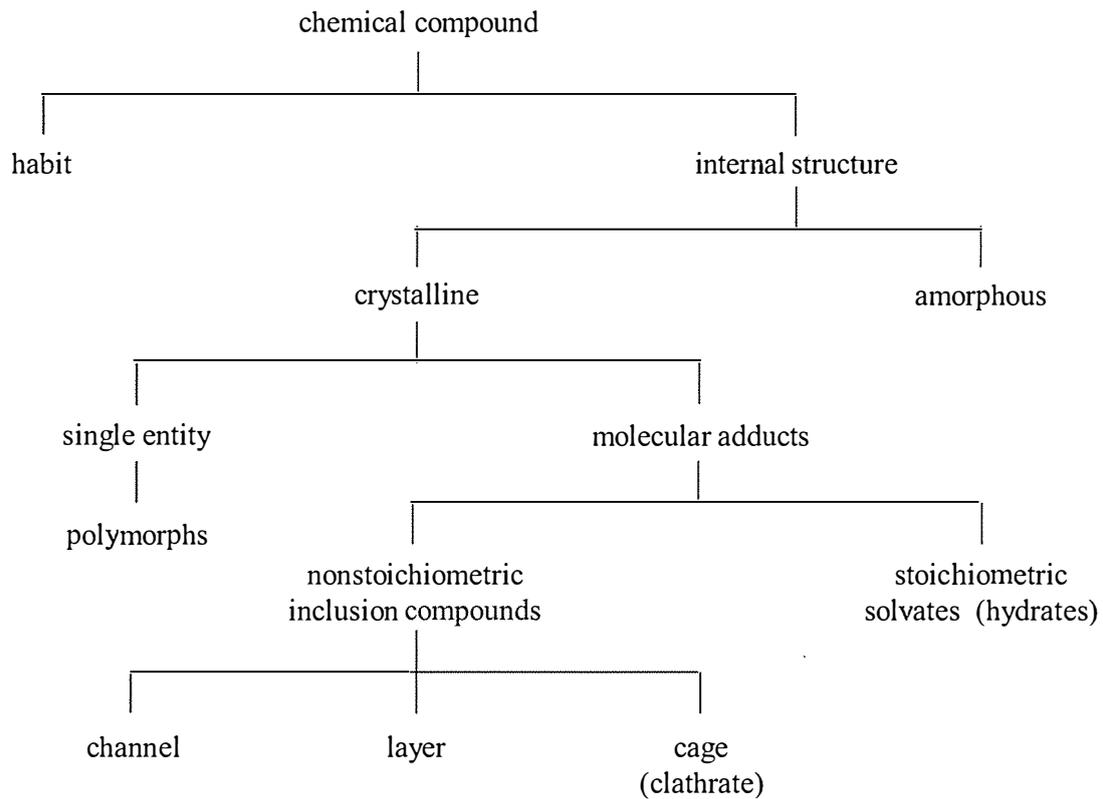


Figure 1-2. Outline differentiating habit and crystal chemistry of a chemical compound.

(出典 : Haleblan, J. K. *J. Pharm. Sci.*, **1975**, 64, 1269–1288. <sup>6)</sup>)

## 1.2. 晶析

晶析（結晶化）は、核発生と結晶成長の2段階からなる。核発生は、1次核発生と2次核発生に分けられる。1次核発生は、溶液の濃度のゆらぎによって起こる。一方、2次核発生は、溶液中にすでに存在する結晶によって誘発される核発生である。1次核発生には2種類の機構がある。溶液中に混入した微粒子などの異物あるいは器壁などによって誘発される不均質核発生と、それら異物とは全く無関係に起こる均質核発生である。異物あるいは器壁の影響を完全に除くのは事実上不可能であるため、現実の1次核発生はほとんど不均質核発生である。しかし、以下に示す均質核発生の理論は核発生の基礎となるため重要である。

均質核発生において、過飽和溶液中で熱的ゆらぎによって形成された溶質微小粒子（半径  $r$  の球とする）1個の持つ全自由エネルギーは、溶液に対して  $\Delta G$  だけ大きい [式 (1-1).]

$$\Delta G = \frac{4\pi r^3}{3} \Delta G_v + 4\pi r^2 \gamma \quad (1-1)$$

ここに、 $\Delta G_v$  は結晶単位体積あたりの結晶・溶質間の自由エネルギー差であり、 $\gamma$  はクラスタの表面エネルギーである。過飽和溶液中で熱的ゆらぎによって溶質微小粒子が形成されたとしても、それが半径  $r_c$ （臨界半径）以下の寸法であれば、この粒子はエネルギー的に安定な方向すなわち粒子径減少の方向に戻ってしまう。一方、偶然ゆらぎが大きくて半径  $r_c$  以上になった粒子は、さらに粒径を増加させることで安定化して結晶となる。これが一次核化である。つまり、核発生速度は粒子サイズが Figure 1-3 の山を越える頻度である<sup>2), 8)</sup>。

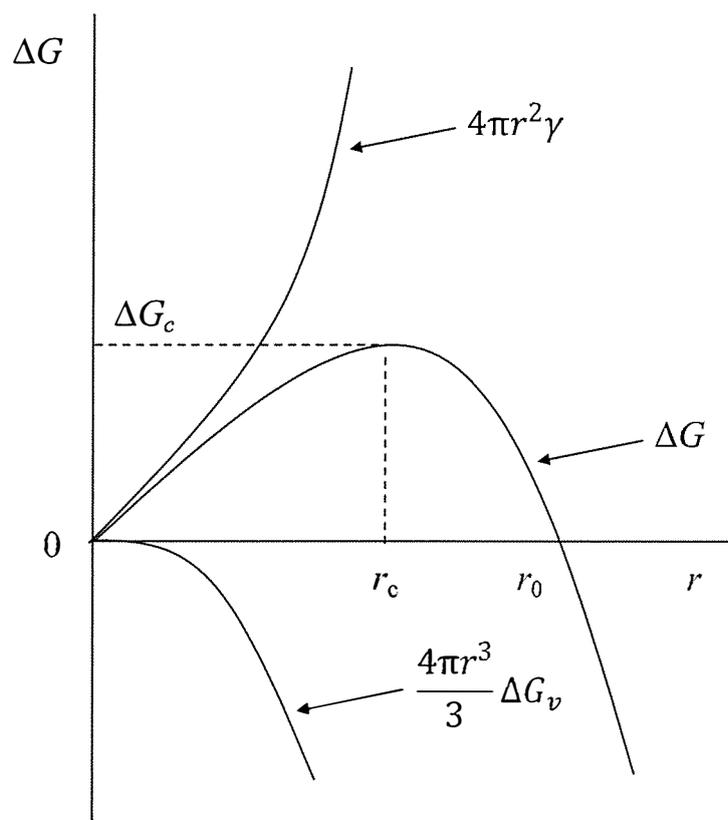


Figure 1-3. Free energy changes associated with nucleation.

(出典：松岡正邦 結晶化学, 株式会社培風館<sup>8)</sup>)

次に、結晶成長とは、結晶化成分が結晶格子に組み込まれてゆく現象である。Figure 1-4 に成長時の結晶表面のモデルを示す。表面の平滑な地帯（テラス）にたどり着いた分子は結晶表面と 1 つの結合を持ち、表面を動き回る自由度は残っている。しかし、結晶格子の段差（ステップ）にたどり着くと、2 つの結合を持つようになるため、その動きはステップに沿ったものに限定されてしまい、ほぼ結晶化が終了したことになる。さらに、ステップの折れ曲がったところ（キンク）では自由度が全くなくなり、結晶格子にきっちりと組み込まれる。このように、結晶が成長するためには結晶表面にステップ又はキンクが存在することが不可欠な条件である<sup>8)</sup>。

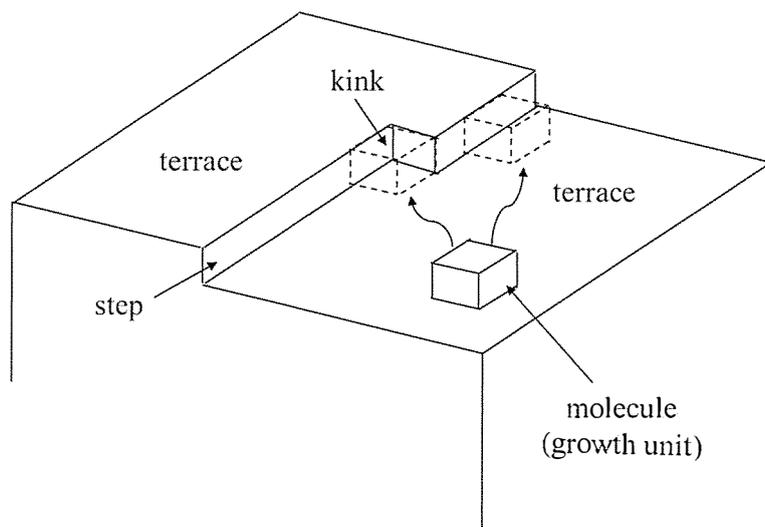


Figure 1-4. Crystal surface model of growth.

(出典：松岡正邦 結晶化学, 株式会社培風館<sup>8)</sup>)

今日では、晶析技術は、医療や農業に深く係わり合いのある医薬品や食品、またコンピュータをはじめとする電子機器に使われている半導体や液晶などの機能性素材などのさまざまな結晶■体材料の開発技術として広範囲に技術の用途も広がり、近年その重要性への認識が高まってきている。

### 1.3. 医薬品の製造

Figure 1-5 に示すように、医薬品（製剤）は、原料から原薬（API, Active Pharmaceutical Ingredient）を合成し、原薬を製剤化することで製造される。原薬とは、医薬品の有効成分のことであり、主に結晶である。医薬品は原薬をそのまま医療に使うことはなく、薬剤の物理的性状や化学的性質を修飾して薬剤が生体内で十分に効果を発現するように、原薬に賦形剤などの様々な添加物を加え、特別な形状に加工して目的に適合した形態に調製してから使用する。このような技術が製剤化であり、製剤の種類としては、錠剤、カプセル剤、注射剤などがある。また、臨床試験で用いられる製剤のことは治験薬と呼ばれ、その原薬は治験原薬と呼ばれる。商品化後には商品名がつき、これと区別するため、成分そのものにも名前がついている。例えば、高脂血症治療薬（HMG-CoA 還元酵素阻害剤）（錠剤）のリピトールは商品名であり、成分名はアトルバスタチン（6水和物）となる<sup>9)</sup>。

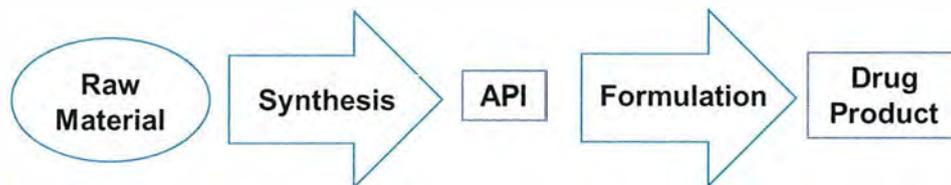


Figure 1-5. Manufacturing of drugs.

医薬品（原薬及び製剤）は、製造管理及び品質管理の基準（GMP, Good Manufacturing Practice）に従い厳重な注意を払って製造される。また、近年、医薬品製造に関するレギュレーションとして International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) により、Quality by Design の概念<sup>10), 11), 12), 13)</sup> が導入され、製造工程をこれまで以上に深く理解し、製品の品質を作り込んでいくことが求められている。

#### 1.4. 原薬の固体状態の特性の重要性

医薬品の多くは錠剤として製剤化されている。錠剤は迅速にかつ経済的に造ることができるだけでなく、患者に受け入れやすいという利点もある。また、多くの化合物は、溶液中ではすぐに分解してしまうが、■体では安定性が高くなる<sup>14)</sup>。錠剤等の固形製剤では原薬が■体状態で投与されるため、原薬の固体状態の特性（晶癖、粒子径、結晶多形等）の違いによって医薬品としての溶解性（溶解度、溶解速度）が変化し、その結果、薬物放出速度やバイオアベイラビリティに影響を与えることが知られている。また、これらの特性値の変化は流動性、混合性、充填性、形成性などの製剤特性やプロセスの自動化、粉体のハンドリング操作、粉塵爆発などの生産の安全性にも影響を与えることになる<sup>15)</sup>。例えば、針状結晶なら、立方体結晶とは、全く異なった挙動を示すことが考えられる。従って、一定した晶癖や粒子径は再現性の良い製剤化には不可欠である。

吉野らは、オクトチアミンの精製晶析に関する研究において、原薬単独の溶出速度は粒子径に関係なく一定であるが、錠剤とした場合溶出速度が粒子径によって変化することを報告している<sup>16)</sup>。また、同一の結晶であっても結晶■によってぬれ性、溶出速度が異なることや<sup>17), 18)</sup>、晶癖の違いが打錠工程に影響を及ぼすことも報告されている<sup>19)</sup>。さらに、アスピリンは晶癖の違いによりバイオアベイラビリティに影響を及ぼすことが報告されている<sup>20)</sup>。

医薬品の結晶多形が問題となった事例としては、Abbott 社の Ritonavir の例が有名である。Ritonavir は 1996 年に AIDS 治療薬として製品化されたが、1998 年に半■型カプセル製剤の溶出試験が不適となり、その原■が従来の結晶形である I 形とは異なる II 形（安定形）の生成に基づくことが判明した<sup>21)</sup>。このため、出荷が中止になり、製剤化検討及び臨床試験が再度行われた。これらが、患者及び会社に与えた影響ははかり知れない。現在では、創薬段階で結晶多形をスクリーニングして開発結晶形候補を選択することが一般的である<sup>22), 23), 24)</sup>。

また、結晶多形の違いによる溶解度の変化がバイオアベイラビリティに影響を与えた例として、抗生物質のパルミチン酸クロラムフェニコールの多形に関する報告が挙げられる。パルミチン酸クロラムフェニコールは少なくとも 3 つの多形の存在が知られており、準安定形（B 形）の溶解度は安定形（A 形）の溶解度より 3.6 倍高く、小児用シロップの懸濁剤として投与されるとき、B 形が使用される。A 形と B 形の間には溶解度の差が報告されているため、A 形を使用したり、B 形から A 形への転移が起こる場合、期待した薬効が得られないことがあった。実際、Aguilar らは、この 2 つの結晶多形を種々の比率で混合し、投与後の血中濃度を調べている<sup>25)</sup>。その結果、A 形のみでの投与は最も低い■中濃度を示し、B 形の比率の増加に伴って血中濃度は高くなった。

以上のように原薬の固体状態の特性（晶癖，粒子径，結晶多形等）は，製剤化，安定性，バイオアベイラビリティ等に影響を及ぼすため，医薬品を製造する上で常に留意しておかなければならない。

## 1.5. 原薬製造における晶析

原薬製造は、原料から化学合成やバイオ合成によりいくつかの合成中間体を經由して、粗原薬へと導き、粗原薬を晶析で精製して最終原薬を得る方法が一般的である (Figure 1-6)。最終の晶析工程は、原薬の品質 (晶癖、粒子径、結晶多形、結晶純度等) を決める最重要工程である。一方、合成中間体は単離する場合としない場合があるが、単離する場合は晶析で分離することが一般的である<sup>26)</sup>。合成においては未反応の原料や試薬、副生成物などの不純物が発生するため、原薬品質を一定にするためには、通常、中間体の段階でも晶析で純度を高めが必要になる。場合によっては、精製目的で結晶化する中間体をあえて經由することもある。つまり、原薬製造において、晶析は原薬の品質をコントロールする極めて重要な操作である。

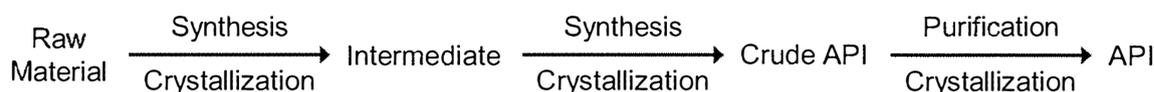


Figure 1-6. Typical manufacturing process of API.

原薬製造の晶析は通常バッチ操作で行われる。バッチ晶析では、粒子径分布を狭い範囲に収めること、また効果的に制御を行うことにより、多くのものが混ざりあった混合物の中から、効果的に望みの分子を結晶化させることが可能である<sup>14)</sup>。

しかし、原薬製造において、晶析はスケールアップが難しい工程であり、トラブルが頻繁に発生する。Figure 1-7は、武田薬品工業株式会社が報告している同社における医薬品原薬製造のトラブル事例を単位操作毎に集計したグラフである<sup>27)</sup>。晶析操作に関するトラブルが最も多く起こっており (32%)、次いで反応 (20%)、ろ過 (20%)、乾燥 (14%) となっている。晶析トラブルの内容としては結晶多形に関する問題が最も多い (33%)。また、ろ過操作におけるトラブルとしてろ過時間、また乾燥操作におけるトラブルとして粉体固着の問題が最も高い頻度となっているが、それらは結晶の粒子径に密接に関係しており、晶析工程の改良により解消できることが多々ある。

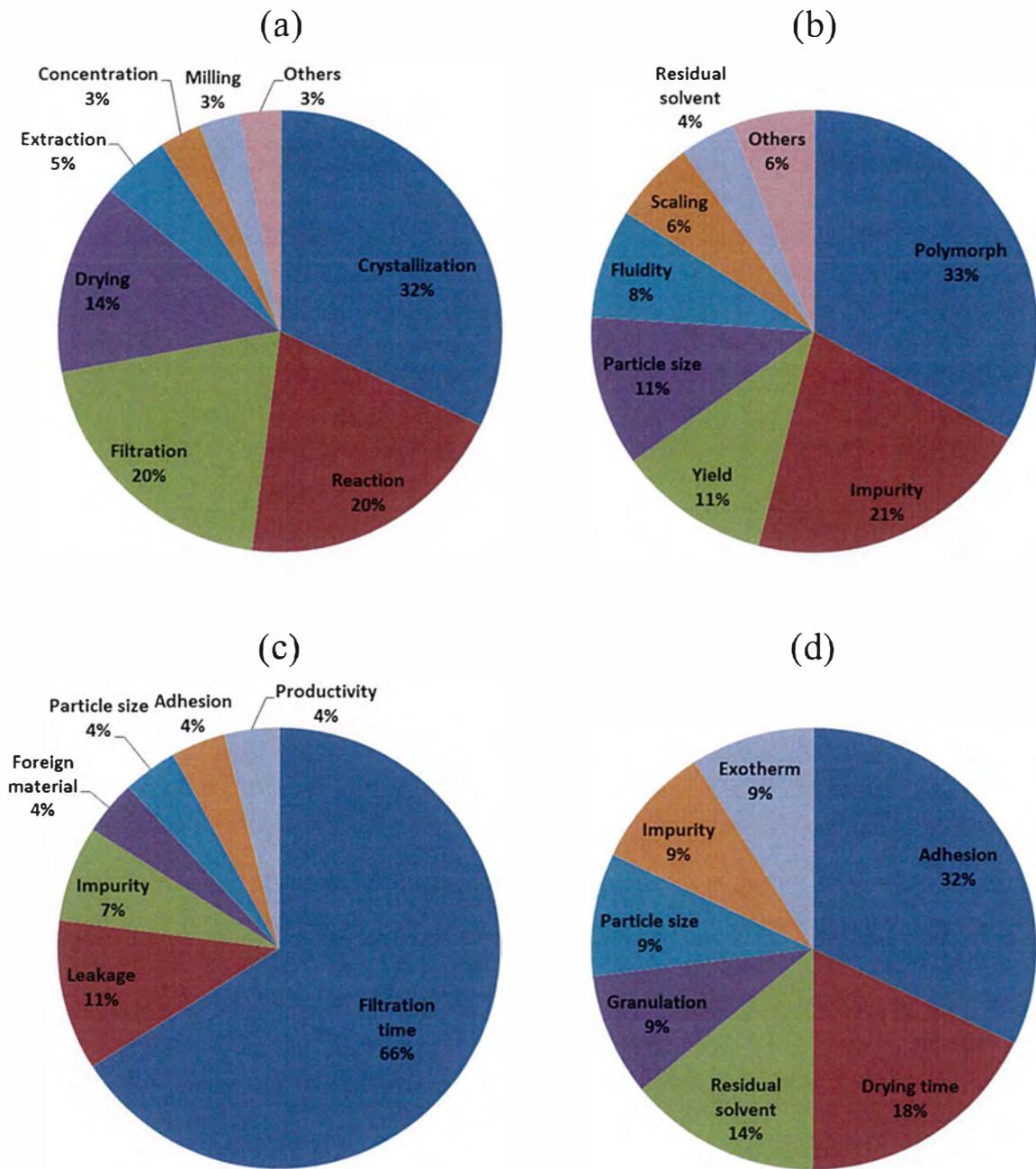


Figure 1-7. (a) Frequency of troubles in API manufacturing, (b) Troubles in crystallization operation, (c) Troubles in filtration operation, (d) Troubles in drying operation, provided by Takeda Pharmaceutical Company Limited.

(出典：高須賀正博 “医薬品分野における晶析” 最近の化学工学 64 晶析工学は、どこまで進歩したか、化学工学 編、株式会社三恵社、2015、98-109. 27)

晶析のコントロールは難しくこれまでは経験則に頼るところが多かったが、近年、Focused Beam Reflectance Measurement (FBRM) に代表される Process Analysis Technology (PAT) が進歩し、in-situ で晶析の様子を観察できるようになり、実際の晶析で起こっている現象を捉えることができるようになった<sup>28), 29)</sup>。さらに、クリスタルエンジニアリング、即ち結晶を設計する概念が提唱されている<sup>30), 31)</sup>。

## 1.6. 本研究の目的

上述したように、原薬の固体状態の特性（晶癖、粒子径、結晶多形等）は、製剤化、安定性、バイオアベイラビリティ等に影響を及ぼすため、医薬品製造においては非常に重要であり、それらは通常原薬の晶析工程で決まる。また、原薬製造工程において、晶析操作のトラブルは多く、また晶析に起■するろ過や乾燥のトラブルも多い。従って、結晶を設計し晶析をコントロールすることは、原薬製造において極めて重要な課題であると言える。

そこで本研究では、医薬品原薬製造への応用を目指し、Orantinib 原薬及びアスパラギン酸（Asp）を用いて、晶析現象と操作に関して検討を行った。

## 1.7. 本論文の構成

本論文は第 1 章の緒論に引き続き、第 2 章では Orantinb 原薬を用いた晶析のプロセスパラメータ管理による粒子径分布及び残留溶媒コントロールに関する研究について述べる。第 3 章では、L-Asp 晶析における不純物 [L-, 又は D-アスパラギン (Asn)] の影響について述べる。第 4 章では、第 3 章の結果を応用した L-, 又は D-Asn 存在下における DL-Asp の晶析による光学分割に関する研究について述べる。第 5 章では、第 3 章の結果を基礎的に研究し、L-Asn が L-Asp 結晶成長に及ぼす影響の速度論的研究について述べる。最後に、第 6 章に総括を述べる。

## 1.8. 参考文献

- 1) Myerson, A. S.; Ginde, R. “Crystal, Crystal Growth, and Nucleation” *Handbook of Industrial Crystallization Second Edition*, Myerson, A. S., Ed., Butterworth Heinemann, Oxford, **2001**, 33–65.
- 2) 久保田徳昭, 松岡正邦 分かり易い晶析操作, 分離技術会, 東京都, **2003**.
- 3) 北村光孝 多形現象のメカニズムと多形制御, 株式会社アイシーピー, 東京都, **2010**.
- 4) Meenan, P. A.; Anderson, S. R.; Klug, D. L. “The Influence of Impurities and Solvents on Crystallization” *Handbook of Industrial Crystallization Second Edition*, Myerson, A. S., Ed., Butterworth Heinemann, Oxford, **2001**, 67–100.
- 5) Ferreira, C.; Rocha, F. A.; Damas, A. M.; Martins, P. M. “Running away from Thermodynamics To Promote or Inhibit Crystal Growth” *Cryst. Growth Des.* **2012**, *12*, 40-43.
- 6) Haleblan, J. K. “Characterization of habits and crystalline modification of solids and their pharmaceutical applications” *J. Pharm. Sci.*, **1975**, *64*, 1269–1288.
- 7) 芦澤一英 結晶多形現象・評価と晶析の科学, SSCI 研究所, 東京都, **2012**.
- 8) 松岡正邦 結晶工学, 株式会社培風館, 東京都, **2002**.
- 9) 日本プロセス化学会 実践プロセス化学, 株式会社化学同人, 京都府, **2013**.
- 10) *ICH Q8 Pharmaceutical Development (R2)*.
- 11) *ICH Q9 Quality Risk Management*.
- 12) *ICH Q10 Pharmaceutical Quality System*.
- 13) *ICH Q11 Development and Manufacture of Drug Substances*.
- 14) Anderson, N. G. (著), 上木達生, 酒井未緒, 沼田豊治, 村瀬徳晃, 村田好徳 (訳) プロセス化学 医薬品合成から製造まで, 丸善株式会社, 東京都, **2008**.
- 15) 矢澤久豊, 百永眞士, 植村俊信 “原薬製造における晶析操作と製剤特性” *Pharm. Tech. Japan*, **1997**, *13*, 1145–1156.
- 16) 吉野寿高, 百永眞士, 篠崎勝彦, 矢澤久豊 “オクトチアミンの精製晶析に関する研究” *化学工学論文集*, **1997**, *23*, 906–913.
- 17) Prasad, K. V. R.; Ristic, R. I.; Sheen, D. B.; Sherwood, J. N. “Dissolution kinetics of paracetamol single crystals” *Int. J. Pharm.* **2002**, *238*, 29–41.
- 18) Suzuki, T.; Kumeda, I.; Teshima, K.; Oishi, S. “Specific surface free energies of strontium chlorapatite single crystal determined by contact angles of liquid droplets” *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *421*, 343–347.
- 19) Martino, P. D.; Beccerica, M.; Joiris, E.; Palmieri, G. F.; Gayot, A.; Martelli, S. “Influence of crystal habit on the compression and densification mechanism of

- ibuprofen” *J. Cryst. Growth*, **2002**, *243*, 345–355.
- 20) Watanabe, A.; Yamaoka, Y.; Takada, K. “Crystal Habits and Dissolution Behavior of Aspirin” *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, *30*, 2958–2963.
- 21) Bauer, J.; Spanton S.; Henry, R.; Quick, J.; Dziki, W.; Porter, W.; Morri, J. “Ritonavir: An Extraordinary Example of Conformational Polymorphism” *Pharm. Res.*, **2001**, *18*, 859–866.
- 22) 高田則幸 “創薬段階における原薬 Form スクリーニングと選択” *Pharm Stage*, **2007**, *6*, 20–25.
- 23) 大嶋寛 “結晶多形・疑多形の析出挙動と制御” *Pharm Stage*, **2007**, *6*, 48–53.
- 24) 山野光久 “医薬品プロセス研究における結晶多形現象への取り組み” *有機合成化学協会誌*, **2007**, *65*, 907–913.
- 25) Aguiar, A. J.; Kre, J. Jr.; Kinkel, A. W.; Samyn, J. C. “Effect of polymorphism on the absorption of chloramphenicol from chloramphenicol palmitate” *J. Pharm. Sci.*, **1967**, *56*, 847–853.
- 26) 上田恭義 “L-リジン誘導体の合成過程における晶析分離プロセスの研究” *ファインケミカル*, **2007**, *36*, 25–34.
- 27) 高須賀正博 “医薬品分野における晶析” *最近の化学工学 64 晶析工学は、どこまで進歩したか*, *化学工学 編*, 株式会社三恵社, 愛知県, **2015**, 98–109.
- 28) 高井浩希 “晶析化学はどこまで進歩したか?” *最近の化学工学 64 晶析工学は、どこまで進歩したか*, *化学工学 編*, 株式会社三恵社, 愛知県, **2015**, 152–164.
- 29) Simon, L. L.; Pataki, H. Marosi, G.; Meemken, F.; Hungerbühler, K.; Baiker, A.; Tummala, S.; Glennon, B.; Kuentz, M.; Steele, G.; Kramer, H. J. M.; Rydzak, J. W.; Chen, Z.; Morris, J.; Kjell, F.; Singh, R.; Gani, R.; Gernaey, K. V.; Louhi-Kultanen, M.; O’Reilly, J.; Sandler, N.; Antikainen, O.; Yliruusi, J.; Frohberg, P.; Ulrich, J.; Braatz, R. D.; Leyssens, T.; Stosch, M. Oliveira, R.; Tan, R. B. H.; Wu, H.; Khan, M.; O’Grady, D.; Pandey, A.; Westra, R.; Delle-Case, E.; Pape, D.; Angelosante, D.; Maret, Y.; Steiger, O.; Lenner, M.; Abbou-Oucherif, K.; Nagy, Z. K.; Litster, J. D.; Kamaraju, V. K.; Chiuq, M. “Assessment of Recent Process Analytical Technology (PAT) Trends: A Multiauthor Review” *Org. Process Res. Dev.* **2015**, *19*, 3–62.
- 30) 寺田勝英 “クリスタルエンジニアリング 新たな創薬設計への応用” *ファルマシア*, **2011**, *47*, 995.
- 31) 高田則幸, 滝山博志, 中上博秋, 山元恵司, 池田幸弘, “医薬品研究におけるクリスタルエンジニアリングの重要性” *ファルマシア*, **2011**, *47*, 1005–1011.

## 第 2 章

# 残留溶媒量及び粒子径分布コントロールを両立する Orantinib 原薬晶析プロセスの実験計画法による最適化

## 2.1. はじめに

Orantinib (TSU-68) (Figure 2-1) <sup>1)</sup> は血小板由来増殖因子受容体 (PDGFR), 血管内皮増殖因子受容体 (VEGFR) -2 のチロシンキナーゼを阻害する血管新生阻害薬であり, 肝動脈化学塞栓療法を施行する肝細胞がん患者を対象とした第 II 相臨床試験が実施された <sup>2)</sup>.

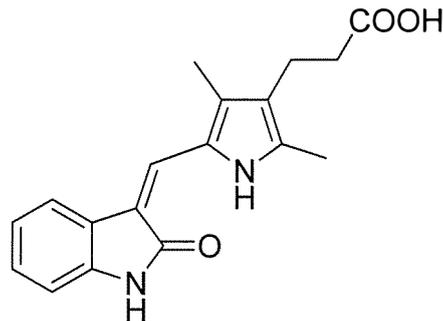


Figure 2-1. Chemical structure of orantinib.

Orantinib 原薬は化学合成により製造され <sup>3)</sup>, 上記臨床試験用の原薬は Orantinib カリウム塩をイソプロパノール (IPA) /水混合溶媒中, 塩酸で中和して晶析させることで最終原薬としている (Figure 2-2).

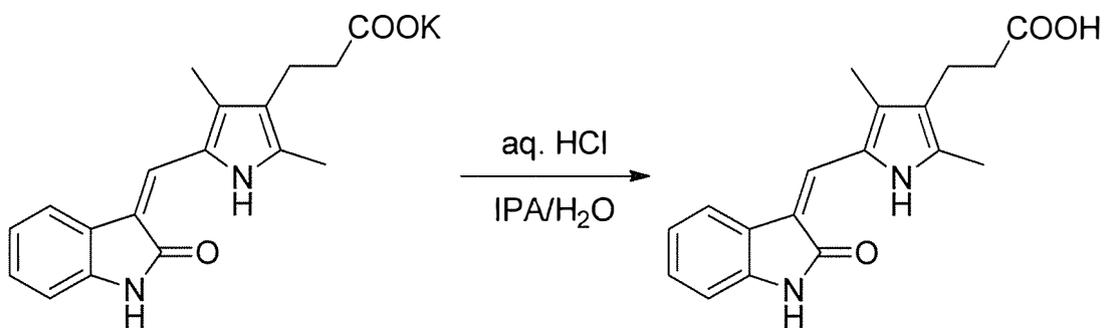


Figure 2-2. Synthesis scheme of orantinib from orantinib potassium salt.

しかし当時の製法では, 原薬中の残留 IPA 量がバラツキやすく, ICH guideline Q3C (R5) <sup>4)</sup> のオプション 1 限度値 (5000 ppm) を超えることがしばしばあり, 問題となっていた. また, Orantinib は固形製剤として開発され, 固形製剤において原薬の粒子径分布は製剤の溶出性, 溶解性, 又はバイオアベイラビリティ, 製造適性, 安定性, 含量均一性, 性状へ影響を及ぼす可能性があり, Figure 2-3 に示すようにそれらの何れかに影響を及ぼす場合は適切な判定基準を設定して管理することが ICH guideline Q6A <sup>5)</sup> で求められている.

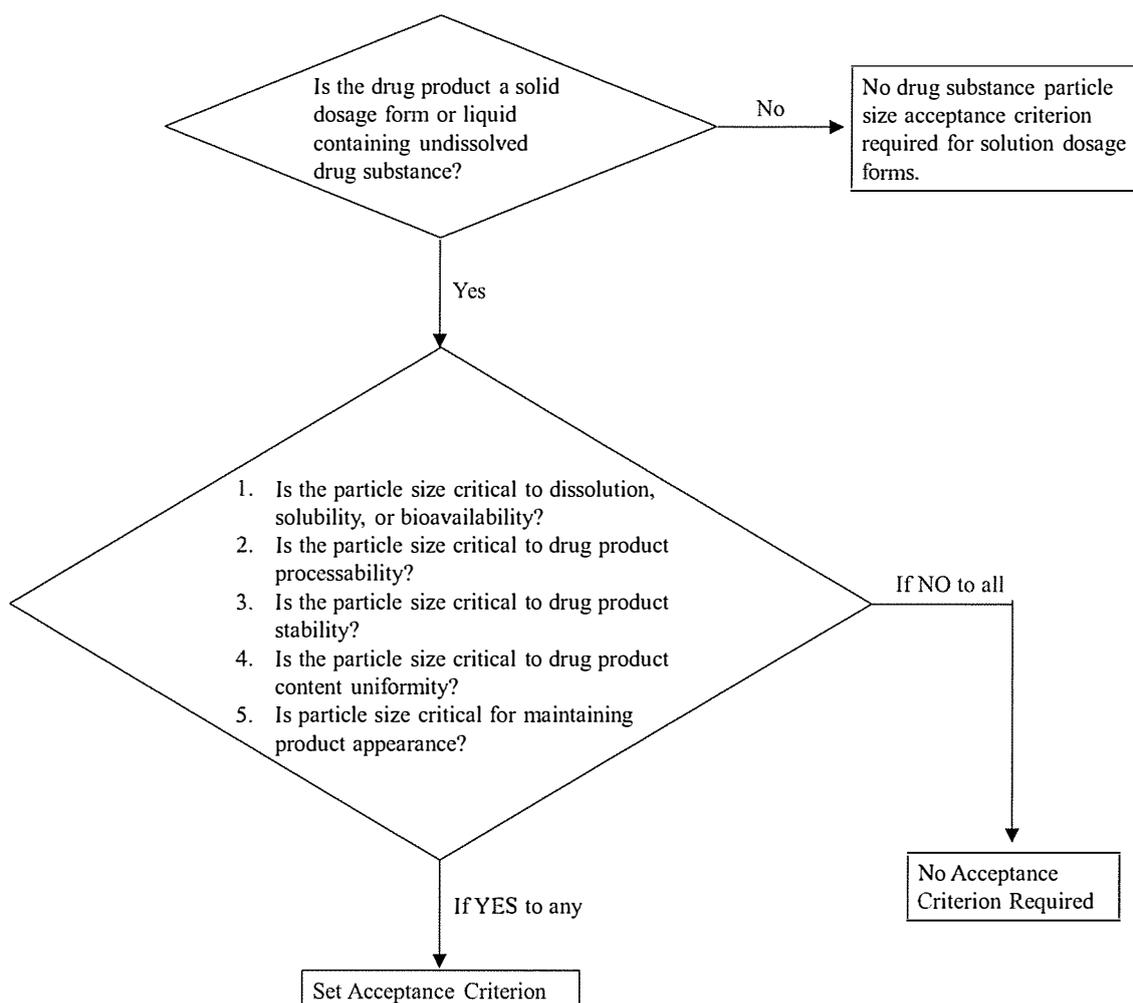


Figure 2-3. Decision tree for setting acceptance criteria for drug substance particle size distribution.

(出典：ICH guideline Q6A<sup>5)</sup>)

原薬の粒子径が薬剤のバイオアベイラビリティに影響を与えた事例として、粒子径の異なるフェナセチンをボランティアに経口投与したときの血中の薬物動態を調査した結果が報告されている<sup>6),7)</sup>。それによれば、粒子径<75 μm の原薬を使用して調製した投与検体が最も高い血中濃度と曲線下面積 (AUC, Area Under the Curve) を示し、最も粒子径の大きな>250 μm の原薬を用いて調製した投与検体は最も低い血中濃度と AUC が示されている。そして、中間の粒子径 150–180 μm の原薬を用いて調製した投与検体は中間の血中濃度と AUC を示し、粒子径が大きくなることによりバイオアベイラビリティが低下することが示されている。

また、原薬の粒子径の違いが製剤の溶出性に影響を与えた事例が、Nakata らによって報告されている<sup>6),8)</sup>。粒子径の異なる難溶性薬物について、プロトタイ

ブ製剤を試作して溶出試験を実施したところ、粒径 4.3  $\mu\text{m}$  から 12.3  $\mu\text{m}$  の僅かな範囲のメジアン径の違いが溶出速度に影響することが示された。このように、微妙な粒子径の違いが製剤中の薬物の溶出性や経口吸収性に影響を及ぼすことがあるため、とりわけ難溶性薬物の粒子径の管理は十分に留意する必要がある。

Orantinib は Biopharmaceutics Classification System (BCS) のクラス II 薬物（低溶解性、高膜透過性）に分類される。BCS とは、溶解性と膜透過性の観点から、原薬を Figure 2-4 に示す 4 種のカテゴリーに分類し、経口投与後の消化管吸収における律速過程を推定する理論で、1995 年にミシガン大学の Amidon らにより提唱された<sup>9)</sup>。米国をはじめ多くの国において、速放性製剤の後発品申請、市販後一変申請の Bioavailability/Bioequivalence ガイドラインに導入され、Biowaiver（生物学的同等性試験の免除）の規定に用いられている<sup>10)</sup>。

	High Solubility	Low Solubility
High Permeability	Class I	Class II
Low Permeability	Class III	Class IV

Figure 2-4. BCS category.

BCS クラス II 薬物は製剤からの薬物の溶出が消化管吸収の律速過程となる。溶出は、通常原薬の粒子径を小さくすれば表面積が増加するため、速くなる。一方で、原薬の微粒子化による表面積の増加によって、製剤中の原薬の化学的な反応性が高まって不安定化を引き起こす場合や、酸性領域で不安定な薬物は、胃液中の酸性下において分解が促進され、結果的にはバイオアベイラビリティの低下を招く場合も考えられる。従って、Orantinib 原薬の粒子径分布が大きく異なった場合バイオアベイラビリティへ影響を及ぼすと推測されることから、常に一定の粒子径分布の原薬を製造することが要求されていた。粒子径を小さくし粒子径分布を整える方法として、粉碎を実施することが一般的に行われている。しかし、Orantinib は有色の化合物であるため粉碎機及び粉砕機を設置した部屋が着色し洗浄が困難という製造管理上の問題があったため、粉碎を行わず晶析で所望の粒子径分布の原薬を製造することが求められていた。このような背景から、Orantinib 原薬の残留 IPA 量及び粒子径分布の両方をコントロールして安定した品質の原薬が得られる頑健な晶析プロセスを構築する必要があった。

Orantinib 原薬の晶析方法は、酸塩基反応による中和晶析、即ち反応晶析である。反応晶析では一般に反応により化合物が変化しそれに伴い溶解度が急激に変化するため、冷却晶析等に比べて粒子径分布をコントロールすることは困難である。残留溶媒は化合物の性質によって様々であるため一般的化が難しく、

また、PAT<sup>11)</sup>を用いたインラインモニタリングでも懸濁状態の結晶の残留溶媒を測定することは困難なため、結晶として取り出して評価するしか方法が無かった。このようにプロセスを一般的な理論に当てはめることが難しく、インプットとアウトプットでしか評価できない場合は、プロセスパラメータを管理することでアウトプットの品質を担保することが求められる。しかし、全てのプロセスパラメータ、さらにそれぞれの相互作用も評価するためには通常の方法では膨大な実験数が必要なる。このような場合、実験計画法 (DoE, Design of Experiment)<sup>12), 13), 14), 15)</sup> は非常に有用なツールとなる。DoEは、効率のよい実験方法をデザインし、結果を適切に解析することを目的とする統計学の応用分野で、R.A.フィッシャーが1910年代に農学試験から着想して発展させた。現在では、医学、工学、マーケティングや社会調査など幅広い分野で応用されている。

DoEを用いた実験では、変数の組み合わせを統計的に選ぶことにより個々の効果を分離することが可能となり、設定パラメータ (因子) を回帰的に評価することができる。また、出力パラメータ (応答) の平均目標値を達成するため、変動を最小限に抑え因子を最適化することに重点をおく。Figure 2-5に示すように、応答とそれに影響を及ぼしている因子の関係を、物理・化学の理論式ではなく、実験データに基づき統計モデル (数式) 化することでその関係を推測することができる。モデル式は、通常、単純な線形式 (重回帰式) で表される。式 (2-1) に、2次モデル (応答曲面モデル) の重回帰式の例を示す。

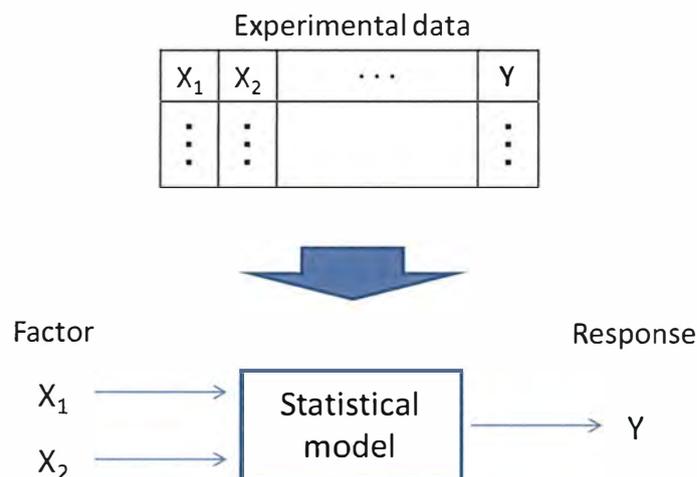


Figure 2-5. Concept of DoE.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 * X_1 + \beta_2 * X_2 + \beta_3 * X_1 * X_2 + \beta_4 * X_1^2 + \beta_5 * X_2^2 + \varepsilon \quad (2-1)$$

ここで、 $Y$  は応答、 $X_1, X_2$  は因子、 $\beta_0$  は定数項、 $\beta_2-\beta_5$  は係数、 $\varepsilon$  は誤差を表す。

DoE に基づかない実験、例えば Figure 2-6 (a) に示すような 1 回 1 因子実験 (他の因子の設定を固定し、1 つの因子の値だけを変えて応答の変化を見る方法) には、以下の問題点が挙げられる。

- 実験の効率が悪く、しばしば最適点を見逃す。
- 実験領域が限定的である。
- 交互作用が評価できない。
- 交絡が発生する (因子の効果が重複し、どの因子の効果であるか区別できない)。
- 多重共線性が発生する (因子間に強い相関があるとき、正確な評価ができない)。

対して、Figure 2-6 (b) に示す DoE に基づく実験 (2 因子 3 水準の完全実施要因計画) では、これらの問題点を回避できる。

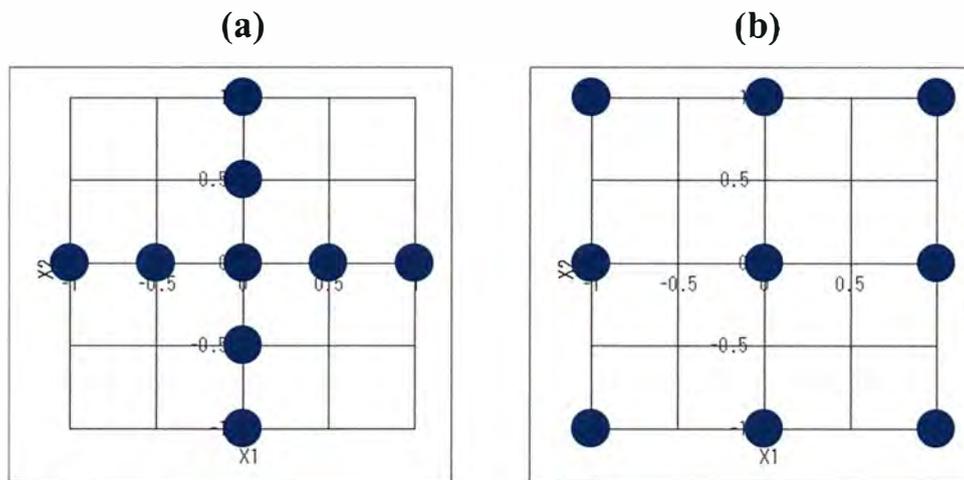


Figure 2-6. (a) One factor at a time design. (b)  $3^2$  Full factorial design.

また、DoE を用いることで、実験数を減らすことができる。Figure 2-7 には、3 因子 2 水準での実験点の配置を示す。Figure 2-7 (a) は完全実施要因計画、Figure 2-7 (b) は一部実施要因計画 ( $2^{3-1}$ , Resolution III) を表している。一部実施要因計画は完全実施要因計画から数学的なルールに基づき実験点を間引いた計画になる。Figure 2-7 (b) の一部実施要因計画では、完全実施要因計画に比べて実験数が半分になっているが、評価できるのは個々の因子の主効果のみで、交互作用は評価できない。

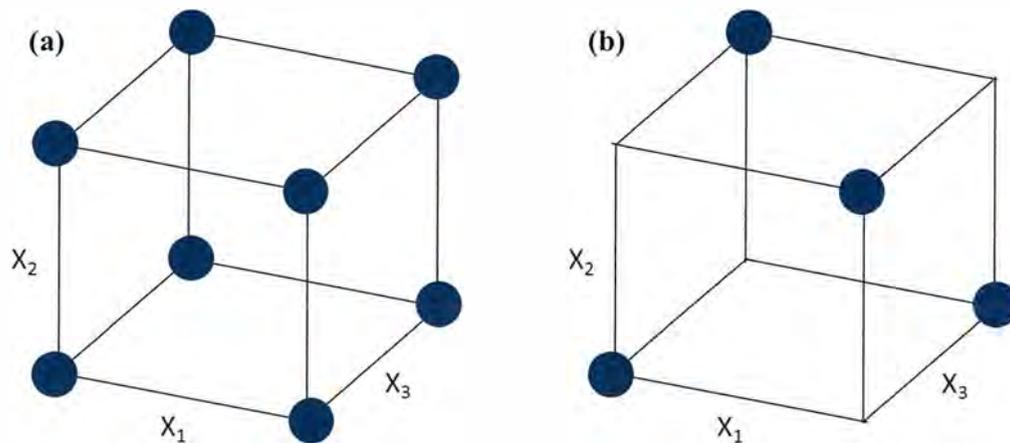


Figure 2-7. (a)  $2^3$  Full factorial design. (b)  $2^{3-1}$  Fractional factorial design.

医薬品製造においては，近年，Quality by Design の概念<sup>16), 17), 18), 19)</sup> が導入されたことにより，製造工程をこれまで以上に深く理解し，製品の品質を作り込んでいくことが求められており，原薬製造プロセス開発においても DoE を用いた最適化の報告が増加している<sup>20), 21), 22)</sup>．その応用範囲は様々で，種々の化学反応，晶析，分析法開発など多岐にわたる．本研究では，DoE を用いて残留溶媒及び粒子径分布のコントロールを目指した Orantinib 原薬晶析プロセスの最適化を計画した．

## 2.2. 実験

### 2.2.1. 原料, 試薬, 溶媒

実験に使用した原料, 試薬, 溶媒を以下に示す.

- ・ Orantinib カリウム塩: 大鵬薬品工業株式会社,  $\geq 99.0\%$
- ・ 塩酸: 和光純薬工業株式会社, 35.0–37.0%, 所定の濃度に希釈して使用
- ・ IPA: 和光純薬工業株式会社,  $\geq 99.7\%$
- ・ 水: 大鵬薬品工業株式会社, 精製水

### 2.2.2. DoE 及び統計解析

DoE による実験計画の作成及び実験データの統計解析には, 統計解析ソフトウェア JMP (Version 7.0.1) を使用した<sup>23), 24)</sup>. プロセスパラメータのスクリーニングでは JMP の DoE 機能 (カスタム計画) を使用して 1 次モデルの実験計画を作成した. 実験データは, ステップワイズ法で統計的に有意ではないプロセスパラメータを除外した後, 最小二乗法によりモデルの当てはめを行い統計解析した. プロセスパラメータの最適化では JMP の DoE 機能 (拡張計画) を使用して, スクリーニングで得られたデータに実験点を追加し, 2 次モデル (応答曲面モデル) の実験計画を作成した. 実験データは, 最小二乗法によりモデルの当てはめを行い統計解析した.

### 2.2.3. Orantinib 原薬の調製

温度センサー (TNA-120, タスコジャパン株式会社) を装着した 300 mL 褐色丸底フラスコ (Orantinib 溶液は曝光下で不安定であるため) に Orantinib カリウム塩 (6, 8, or 10 g) 及び IPA/水を加え, オイルバスを用いて晶析と同温度で加熱溶解した. 2 重のろ紙 (pore size 4  $\mu\text{m}$ ) で吸引ろ過してろ液を別の 300 mL 褐色丸底フラスコに受け, 温度センサー, pH センサー (Seven Go, メトラー・トレド株式会社), 半月形攪拌翼を装着した. オイルバスを用いて温度を一定に維持し, モーターを用いて一定速度で攪拌しながら, チューブポンプを用いて塩酸をほぼ一定速度で溶液表面に滴下し, pH を調整した. 塩酸滴下終了後, 同温度及び同攪拌速度で追加攪拌を行い, 析出した結晶を 2 重のろ紙 (pore size 4  $\mu\text{m}$ ) で吸引ろ過し, 50 vol % IPA/水, 次いで IPA でかけ洗いした. 湿結晶を 50°C で減圧乾燥し Orantinib 原薬を得た.

### 2.2.4. 分析装置及び条件

#### (1) 残留 IPA 量

Orantinib 原薬の残留 IPA 量はヘッドスペースガスクロマトグラフィー (HS-GC) を用いて分析した. 装置及び条件を以下に示す.

- 装置：7890, G1888 (アジレント・テクノロジー株式会社)
- 検出器：水素炎イオン化検出器 (FID)
- カラム：内径 0.53 mm, 長さ 30 m のフューズドシリカ管の内面にガスクロマトグラフィー用 5% Diphenyl-95% Dimethylpolysiloxane を厚さ 5  $\mu\text{m}$  に被覆する.
- カラム温度：40°C を 6 分間保持し, その後毎分 5°C で 100°C まで昇温し, 次に毎分 20°C で 200°C まで昇温する.
- 注入口温度：150°C 付近の一定温度
- 検出器温度：250°C 付近の一定温度
- キャリヤーガス：ヘリウム
- 流量：5 mL/min (constant flow)
- スプリット流量：5 mL/min
- スプリット比：1:1
- 水素流量：40 mL/min
- 空気流量：450 mL/min
- 測定時間：23 分
- バイアル内平衡温度：100°C 付近の一定温度
- ニードル温度：105°C 付近の一定温度
- 注入ライン温度：110°C 付近の一定温度
- バイアル内平衡時間：30 分
- GC サイクル時間：35 分
- 試料溶液：Orantinib 原薬 200 mg in DMSO 2 mL
- 注入量：1 mL

## (2) 粒子径分布

Orantinib 原薬の粒子径分布はレーザー回折/散乱式粒子径分布測定装置 (湿式循環式) を用いて分析した。装置及び条件を以下に示す。

- 装置：LA-950 (株式会社堀場製作所)
- 分散媒：0.01% Triton X-100 を含む薄めた McIlvaine 緩衝液 (pH 4.0)
- 循環速度：2
- 攪拌速度：1
- 超音波強度：7
- 超音波照射時間：10 min
- 粒子径基準：体積
- 屈折率：1.600-0.000i in water (1.333)

## (3) 結晶形状

Orantinib 原薬の結晶形状は走査型電子顕微鏡を用いて分析した。装置及び条

件を以下に示す.

- 装置：VE-7800 (株式会社 KEYENCE)
- 加速電圧：2 kV
- 作動距離 (WD)：10 mm
- 蒸発物質：なし

#### (4) 結晶形

Orantinib 原薬の結晶形の確認は Powder X-ray diffraction (PXRD) を用いて行った。装置及び条件を以下に示す。

- 装置：X'Pert PRO MPD (スペクトリス株式会社 パナリティカル事業部)
- 線源：CuK $\alpha$
- 電圧：40 kV
- 電流：30 mA
- スキャンスピード：0.2°/min
- 測定範囲：2 $\theta$  = 5–40°

#### (5) 不純物

Orantinib 原薬の不純物は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて分析した。装置及び条件を以下に示す。

- 装置：1100 (アジレント・テクノロジー株式会社)
- 検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：254 nm)
- カラム：内径 4.6 mm, 長さ 15 cm のステンレス管に, 5  $\mu$ 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。
- カラム温度：50°C 付近の一定温度
- 移動相：30 mM クエン酸緩衝液 (pH 4.7) /MeCN/MeOH/=60/24/16 (v/v/v)
- 試料溶液：1 mg/mL in MeCN/MeOH/0.01 N HCl=2/2/1 (v/v/v)
- 注入量：10  $\mu$ L
- 流量:Orantinib の保持時間が約 20 分になるように調整する(約 1.0 mL/min)。
- 測定時間：60 分

## 2.3. 結果と考察

### 2.3.1. プロセスパラメータのスクリーニング実験

Orantinib 原薬の残留 IPA 量は乾燥工程及び結晶洗浄工程では一定以上減少しないことがわかっていたため、晶析時に結晶中の残留 IPA 量が決まっていると考えられた。また、Table 2-1 に示すように、同じ製法で製造しているに関わらず、結晶中の残留 IPA 量及び粒子径分布は、バッチ間でバラツキが認められていた。本研究では、残留 IPA 量を低減し、過去のバッチと同等の粒子径分布 ( $D_{10}$ : 1.7–4.1  $\mu\text{m}$ ,  $D_{50}$ : 2.6–7.1  $\mu\text{m}$ ,  $D_{90}$ : 3.8–12.2  $\mu\text{m}$ ) の Orantinib 原薬が安定して得られる頑健な晶析プロセスの開発を目的とした。

Table 2-1. Residual IPA quantity and particle size of orantinib API batches.

Batch	Residual IPA quantity (ppm)	Particle size ( $\mu\text{m}$ )		
		$D_{10}$	$D_{50}$	$D_{90}$
1	3778	2.4	3.6	5.1
2	7249	2.1	3.1	4.4
3	6878	1.7	2.6	3.8
4	4670	3.4	5.6	8.6
5	3659	4.1	7.1	12.2
6	3979	3.4	5.3	7.8
7	3606	3.6	5.7	8.6
8	3570	3.5	6.2	10.7
9	3242	3.4	6.2	9.9

そこで、晶析操作において、品質に影響を及ぼすと考えられる 8 個のプロセスパラメータを全て抽出し（溶媒量、溶媒組成、温度、攪拌速度、塩酸濃度、塩酸滴下時間、最終 pH、追加攪拌時間）、スクリーニング実験を行い残留 IPA 量及び粒子径分布に影響を及ぼすプロセスパラメータを探索することとした。まず、8 個のプロセスパラメータについて、Table 2-2 に示すように初期条件（当時の製造条件）を中心に低水準側と高水準側に実験範囲を設定した（溶媒量：16.4, 21.4, 26.4 v/w, 溶媒組成：31, 41, 51 vol % IPA/水, 温度：40, 50, 60  $^{\circ}\text{C}$ , 攪拌速度：80, 160, 240 rpm, 塩酸濃度：7, 12, 17%, 塩酸滴下時間：1, 2, 3 h, 最終 pH：1, 3, 5, 追加攪拌時間：0.25, 1, 1.75）。

Table 2-2. Range of screening experiment.

Process parameters	Lower level	Initial condition	Higher level
Solvent quantity (v/w)	16.4	21.4	26.4
Solvent ratio (vol % IPA/H <sub>2</sub> O)	31	41	51
Temperature (°C)	40	50	60
Agitation speed (rpm)	80	160	240
HCl concentration (%)	7	12	17
Duration of HCl addition (h)	1	2	3
Final pH	1	3	5
Additional agitation duration (h)	0.25	1	1.75

そして、JMP の DoE 機能（カスタム計画）を使用して、中心点 2 実験を加えた 18 実験の実験計画を作成した（Table 2-11, Entry 1-18）。本研究では、全ての交互作用を推定するには膨大な実験数（64 実験）が必要であったため、各プロセスパラメータの主効果の推定を必須とし、可能な場合のみ交互作用も推定できる計画（16 実験）を採用した（ $2^{8-4}$  一部実施要■計画, Resolution IV）。

作成した実験計画に基づき Orantinib 原薬を調製し分析（残留 IPA 量, 粒子径分布）を行った結果、通り、得られた Orantinib 原薬の残留 IPA 量と粒子径分布は実験条件によって顕著な差が認められ、残留 IPA 量は 3023-9307 ppm, 粒子径分布は  $D_{10}$ : 1.5-6.2  $\mu\text{m}$ ,  $D_{50}$ : 2.4-9.5  $\mu\text{m}$ ,  $D_{90}$ : 3.5-14.0  $\mu\text{m}$  であった（Table 2-11, Entry 1-18）。

Orantinib 原薬の粒子径分布はレーザ回折/散乱式粒子径分布測定装置（湿式循環式）を用いて分析した。レーザ回折/散乱法は、粉体粒子とレーザ光との相互作用が粒子の大きさに依存することを利用して粒子径を測定する方法である。 $D_{10}$ ,  $D_{50}$ ,  $D_{90}$  は、それぞれ 10%体積累積径, 50%体積累積径, 90%体積累積径を示す。大変便利な方法であるが、通常取り扱う粒子は真球ではないため球相当径として表され、絶対値を求めることが難しいため、顕微鏡による画像解析の測定結果との相関を確認する必要がある<sup>6)</sup>。

そこで、得られた Orantinib 原薬の中で粒子径が最も小さな結晶（Table 2-11, Entry 2,  $D_{10}$ : 1.5  $\mu\text{m}$ ,  $D_{50}$ : 2.4  $\mu\text{m}$ ,  $D_{90}$ : 3.5  $\mu\text{m}$ ）と最も大きな結晶（Table 2-11, Entry 17,  $D_{10}$ : 6.2  $\mu\text{m}$ ,  $D_{50}$ : 9.5  $\mu\text{m}$ ,  $D_{90}$ : 14.0  $\mu\text{m}$ ）の結晶形状を電子顕微鏡で観察した結果、Figure 2-8 に示すように明らかに結晶の大きさに違いが認められた。従って、Orantinib 原薬は針状結晶であるが、レーザ回折/散乱法での粒子径分布測定データは実際の結晶の大きさを示す指標になることが確認できた。

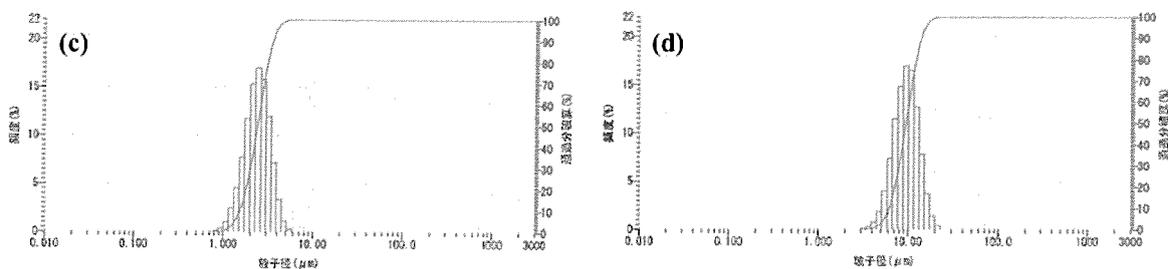
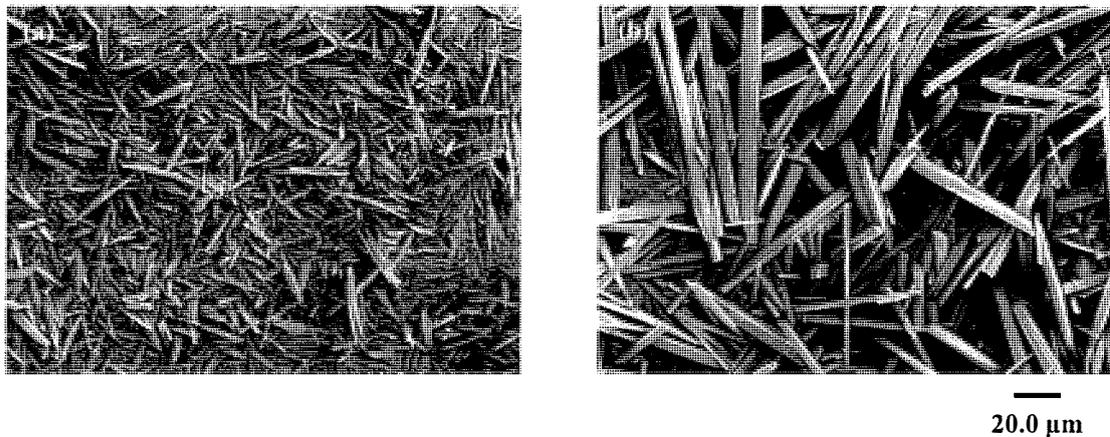


Figure 2-8. (a) (b) Electron microscope images and (c) (d) particle size distribution charts of orantinib API obtained under different conditions. (a) (c) Table 2-11, Entry 2,  $D_{10}$ : 1.5  $\mu\text{m}$ ,  $D_{50}$ : 2.4  $\mu\text{m}$ ,  $D_{90}$ : 3.5  $\mu\text{m}$ . (b) (d) Table 2-11, Entry 17,  $D_{10}$ : 6.2  $\mu\text{m}$ ,  $D_{50}$ : 9.5  $\mu\text{m}$ ,  $D_{90}$ : 14.0  $\mu\text{m}$ .

また、本研究で得られた Orantinib 原薬の PXRD 測定の結果は、全て同じ回折パターンを示した。このことから、溶媒和物は形成しておらず、残留 IPA は結晶成長中に結晶に閉じ込められたものと考えられる。

また、スクリーニング実験 (Table 2-11, Entry 1-18) で得られた Orantinib 原薬の不純物、及び収率 (92.2-97.7%) には顕著な差は認められなかった。

Figure 2-9 に残留 IPA 量測定 (HS-GC) の代表的なチャートを、Figure 2-10 に PXRD 測定の代表的なチャートを、それぞれ示す。

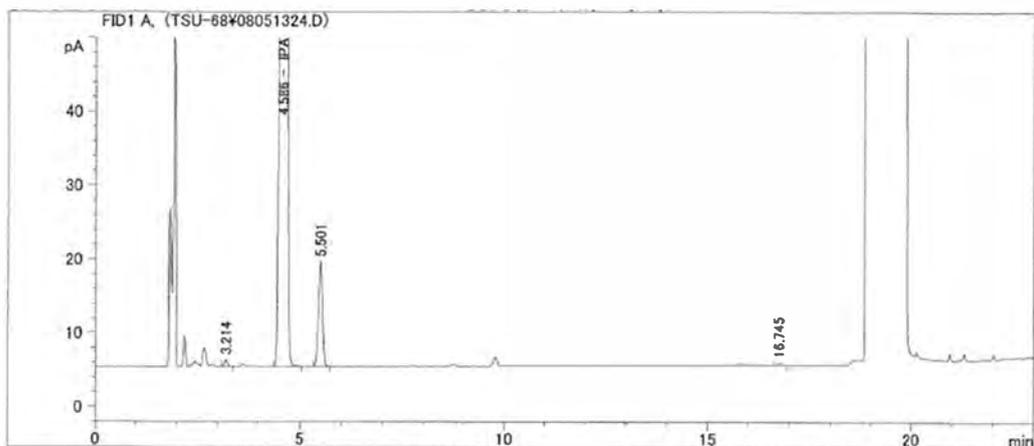


Figure 2-9. HS-GC chart of orantinib API (Table 2-11, Entry 2).

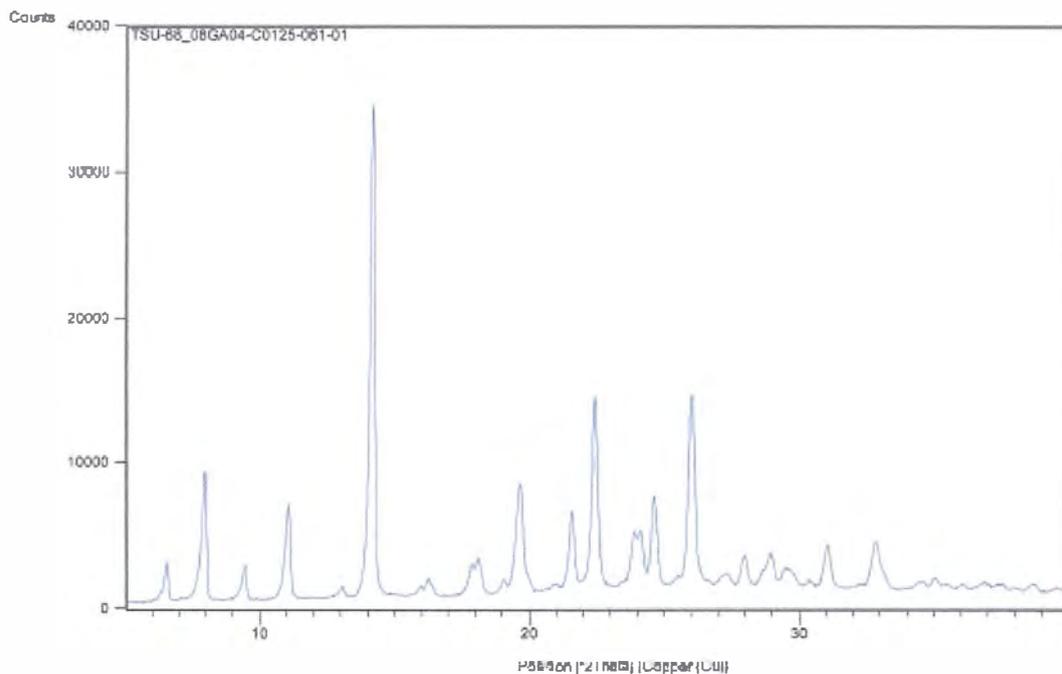


Figure 2-10. PXRD chart of orantinib API (Table 2-11, Entry 2).

残留 IPA 量データ (Table 2-11, Entry 1-18) を統計解析した結果を Figure 2-11 に示す. Figure 2-11 (a) のヒストグラムの大きさがプロセスパラメータの強さを示しており, 温度が残留 IPA 量に対して最も強い影響を及ぼすことが判明した. 次いで, 溶媒量, 攪拌速度, 塩酸滴下時間, 溶媒組成の順に残留 IPA 量に対しての影響が強いが, 温度は溶媒量の約 2 倍の効果があることが示された. また, Figure 2-11 (b) の線グラフは各プロセスパラメータが残留 IPA 量に及ぼす影響の傾向を示している. 即ち, 温度が高くなる, 溶媒量が増加する, 攪拌が速くな

る、塩酸滴下時間が長くなる、又は溶媒の IPA 比率が高くなると、残留 IPA 量が減少する傾向がある。これらのパラメータの増加は急激な過飽和状態を緩和し、その結果、核発生及び制御されていない結晶成長に比べて結晶成長速度が増加し、残留 IPA の結晶中の閉じ込めが低下したと推測される。

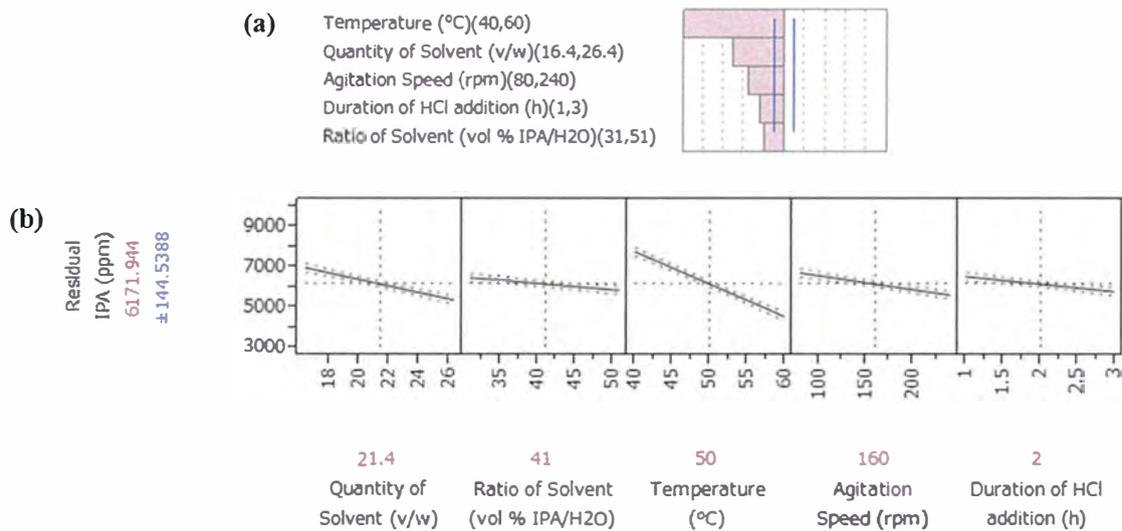


Figure 2-11. Results of statistical analysis of data from screening of process parameters for the quantity of residual IPA. (a) Strength of each process parameter with respect to the quantity of residual IPA (blue lines show 95% confidence intervals). (b) Trends in the effect of each process parameter on the quantity of residual IPA (predicted values are shown to the left of the graph for when the process parameters are set to the values shown below the graph, and blue dotted lines show 95% confidence intervals).

次に、粒子径  $D_{50}$  データ (Table 2-11, Entry 1-18) を統計解析した結果を Figure 2-12 に示す。Figure 2-12 (a) のヒストグラムから、粒子径  $D_{50}$  に対しては、溶媒組成及び温度が同程度に強い影響を及ぼし、次いで塩酸滴下時間も影響を及ぼすことが判明した。また、Figure 2-12 (b) の線グラフから、溶媒の IPA 比率が高くなる、温度が高くなる、又は塩酸滴下時間が長くなると、粒子径  $D_{50}$  が大きくなる傾向が示された。これらのパラメータの増加は急激な過飽和状態を緩和し、その結果、核発生に比べて結晶成長速度が増加し、大きな結晶が得られたと推測される。

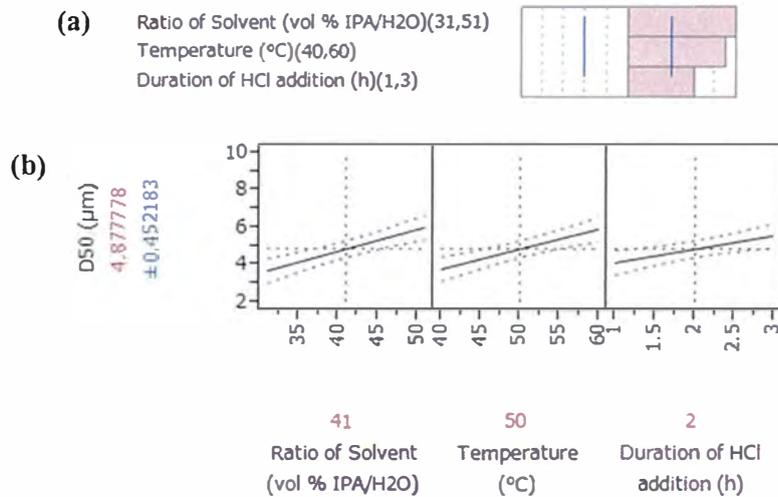


Figure 2-12. Results of statistical analysis of data from screening of process parameters for particle size D<sub>50</sub>. (a) Strength of each process parameter with respect to particle size D<sub>50</sub> (blue lines show 95% confidence intervals). (b) Trends in the effect of each process parameter on particle size D<sub>50</sub> (predicted values are shown to the left of the graph for when the process parameters are set to the values shown below the graph, and blue dotted lines show 95% confidence intervals).

Table 2-3 に上記統計解析の分散分析表を示す。残留 IPA 量，粒子形 D<sub>50</sub> ともに P 値は< 0.0001 であり，統計モデルは高い精度を有していることが確認できた。

Table 2-3. Analysis of variance tables of screening experiment (Entries 1–18) calculated by using JMP. (a) Quantity of residual IPA. (b) Particle size D<sub>50</sub>.

(a)		Sum of		
Source	DF	Squares	Mean Square	F Ratio
Model	5	61218222	12243644	154.5643
Error	12	950567	79213.912	Prob > F
C. Total	17	62168789		<.0001*

(b)		Sum of		
Source	DF	Squares	Mean Square	F Ratio
Model	3	48.990000	16.3300	20.4105
Error	14	11.201111	0.8001	Prob > F
C. Total	17	60.191111		<.0001*

なお，粒子形 D<sub>10</sub>，D<sub>90</sub> の統計解析も D<sub>50</sub> と同様の結果を与えたため，本稿では D<sub>50</sub> を用いて議論する。以上の結果から，残留 IPA 量又は粒子径分布に影響を及ぼすクリティカルプロセスパラメータは，温度と溶媒組成であることがわかった。一方，塩酸濃度，最終 pH，及び追加攪拌時間は，残留 IPA 量及び粒子径

分布に影響を与えない（統計的に有意ではない）ことがわかったため、プロセスパラメータの最適化実験では除外することとした。スクリーニング実験から導いたプロセスパラメータの強さを Table 2-4 に示す。

Table 2-4. Strength of process parameters derived from screening experiment.

Process parameters	Strength <sup>a</sup>		Remarks
	Residual IPA quantity	Particle size distribution	
Solvent quantity (v/w)	3	0	-
Solvent ratio (vol % IPA/H <sub>2</sub> O)	1	5	Critical
Temperature (°C)	5	5	Critical
Agitation speed (rpm)	2	0	-
HCl concentration (%)	0	0	No effect
Duration of HCl addition (h)	1	3	-
Final pH	0	0	No effect
Additional agitation duration (h)	0	0	No effect

<sup>a</sup> (weak) 0 → 1 → 2 → 3 → 4 → 5 (strong)

### 2.3.2. プロセスパラメータの最適化実験

スクリーニングにおいて絞り込んだプロセスパラメータ（溶媒量、溶媒組成、温度、攪拌速度、塩酸滴下時間）について最適の条件を探索するため、応答曲面を作成することとした。その際に、残留 IPA 量は少なくすることを、粒子径分布はこれまでに製造された Orantinib 原薬（Table 2-1）と同等のもの（D<sub>10</sub>: 1.7–4.1 μm, D<sub>50</sub>: 2.6–7.1 μm, D<sub>90</sub>: 3.8–12.2 μm）を得られるようにすることをそれぞれ目標とした。また、Figure 2-13 に示すように、スクリーニング実験で得られた Orantinib 原薬の残留 IPA 量と粒子径 D<sub>50</sub> の相関（ $r = -0.55858$ ）は強くはなかったため、残留 IPA 量と粒子径分布をそれぞれコントロールできると考えた。

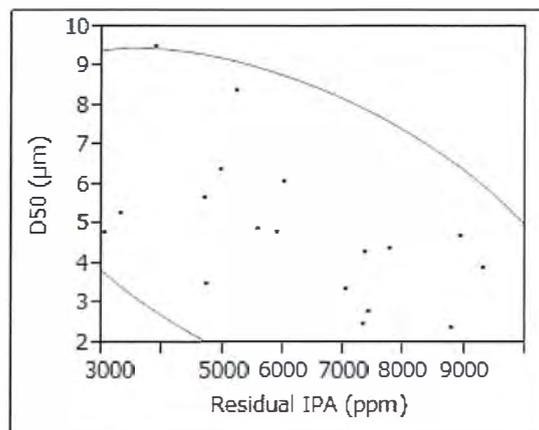


Figure 2-13. Correlation between residual IPA quantity and particle size  $D_{50}$  (red circle shows 95% density ellipse).

残留 IPA 量を低減し、かつ所望の粒度分布の Orantinib 原薬が得られるように、最適化実験では実験範囲を拡張した (Table 2-5)。温度：粒子径は温度が高くなると大きくなる傾向があるが、残留 IPA 量の減少を優先し、高水準側に拡張した (40–80°C)。溶媒組成：粒子径を小さくするため (温度が高くなると粒子径が大きくなる傾向があるため)、低水準側に拡張した (11–51 vol % IPA/水)。溶媒量：残留 IPA 量を少なくするため、高水準側に拡張した (16.4–36.4 v/w)。塩酸滴下時間：粒子形を小さくするため (温度が高くなると粒子径が大きくなる傾向があるため)、低水準側に拡張した (0.25–3 h)。攪拌速度：スクリーニング実験で顕著な効果が見られなかったため、高水準側、低水準側ともに拡張した (40–280 rpm)。そして、JMP の DoE 機能 (拡張計画) を使用して、スクリーニング実験 (18 実験) に 15 実験を追加して (Table 2-11, Entry 19–33)、最適化実験 (応答曲面モデル) の実験計画を作成した。

Table 2-5. Range of optimization experiment.

Process parameters	Initial condition	Screening experiment	Optimization experiment
Solvent quantity (v/w)	21.4	16.4–26.4	16.4–36.4
Solvent ratio (vol % IPA/H <sub>2</sub> O)	41	31–51	11–51
Temperature (°C)	50	40–60	40–80
Agitation speed (rpm)	160	80–240	40–280
Duration of HCl addition (h)	2	1–3	0.25–3

作成した実験計画に基づき Orantinib 原薬を調製し分析（残留 IPA 量，粒子径分布）を行った結果，得られた Orantinib 原薬の残留 IPA 量と粒子径分布はスクリーニング実験に比べてより顕著な差が認められ，残留 IPA 量は 413–7659 ppm，粒子径分布は  $D_{10}$ : 0.7–7.1  $\mu\text{m}$ ， $D_{50}$ : 1.0–11.2  $\mu\text{m}$ ， $D_{90}$ : 1.8–17.1  $\mu\text{m}$  であった（Table 2-11, Entry 19–33）.

残留 IPA 量及び粒子径  $D_{50}$  に対するプロセスパラメータの交互作用プロファイルを図 2-14，図 2-15 にそれぞれ示す．2 本の曲線が平行であれば交互作用はなく，2 本の曲線が平行でなければ交互作用あることを表している．溶媒組成と温度は，残留 IPA 量及び粒子径  $D_{50}$  の両方に対して交互作用が認められ，溶媒の IPA 比率が高いとき温度の影響がより大きいことがわかった．即ち，溶媒の IPA 比率が高いとき，温度の影響で，残留 IPA 及び粒子径  $D_{50}$  がバラツキやすことが示された．従って，一般的に製造において厳密な温度コントロールは困難であるため，溶媒の IPA 比率は高くない方が好ましいと考えられる．

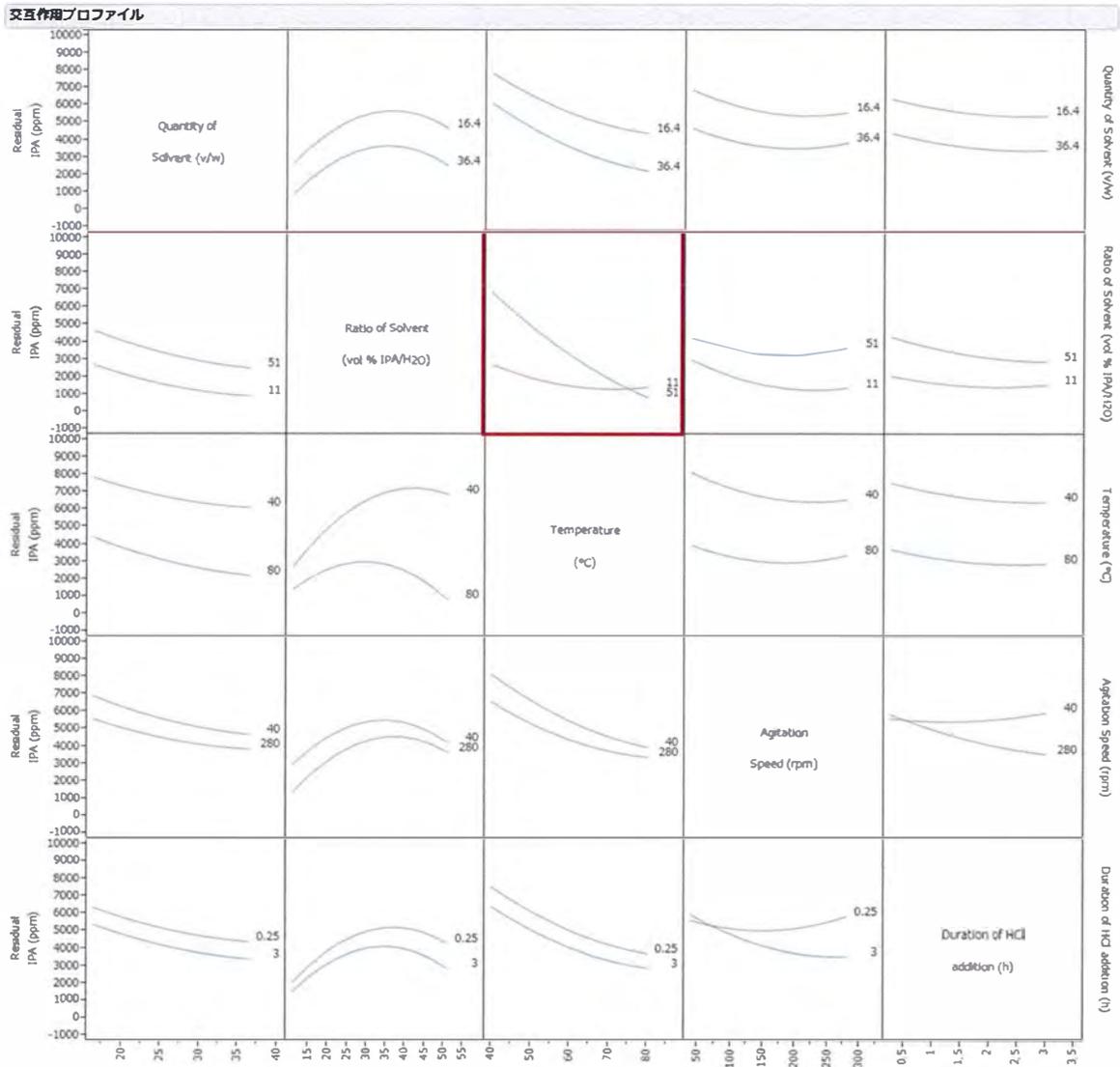


Figure 2-14. Interaction profile of process parameters for residual IPA quantity (red box shows the interaction between solvent ratio and temperature).

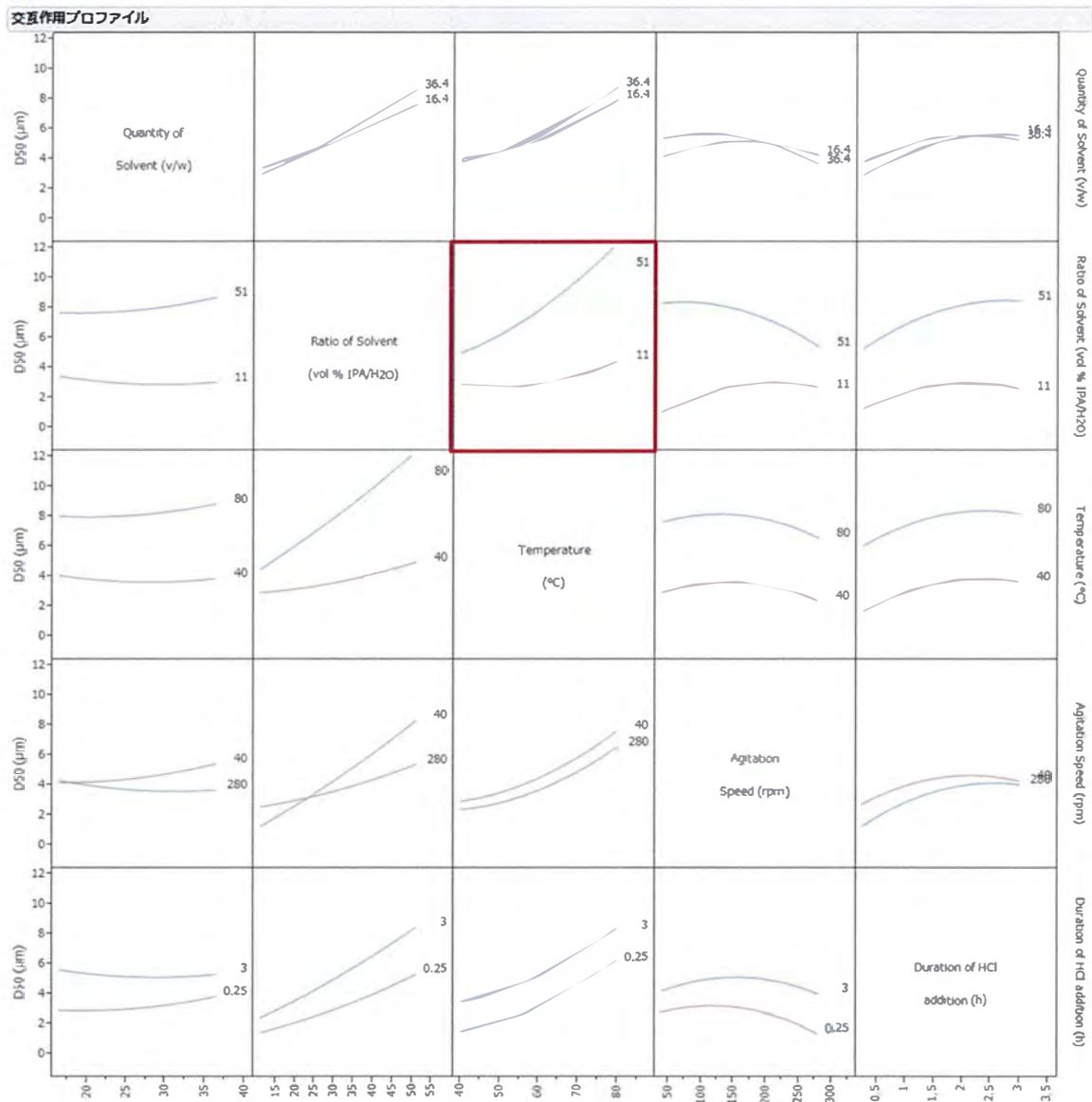
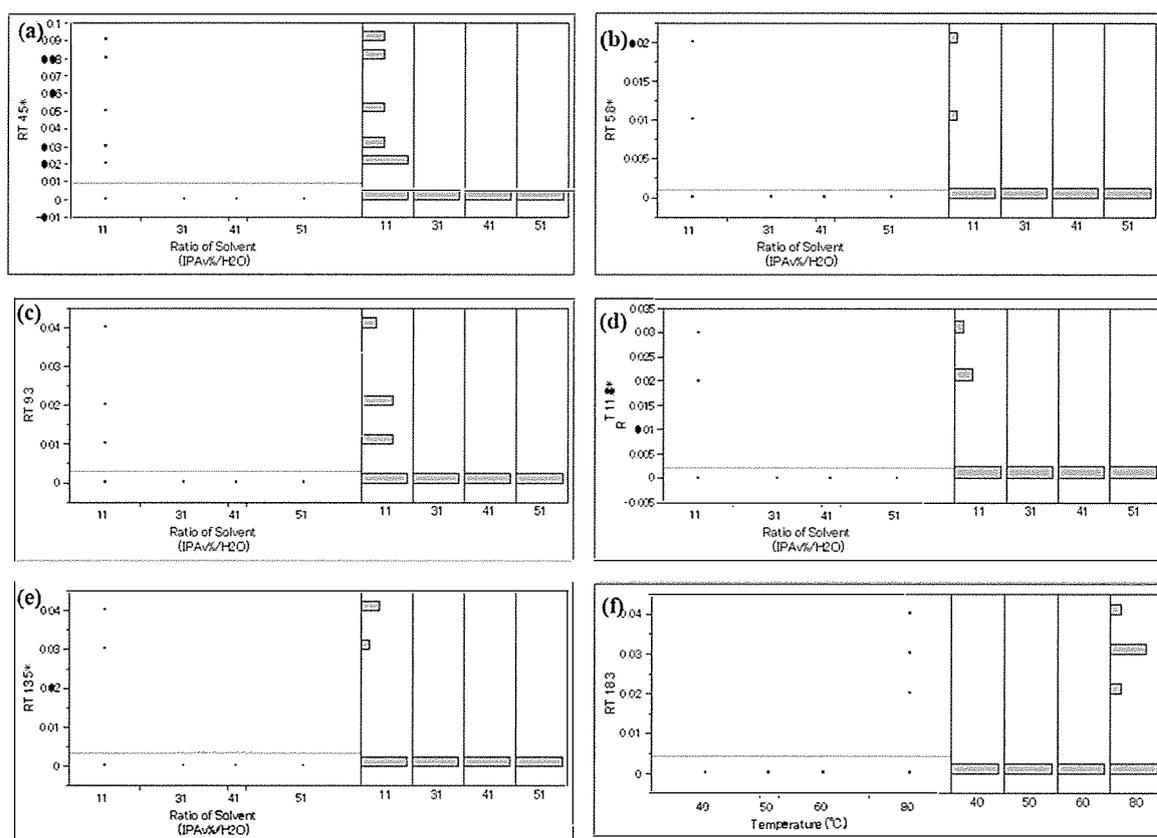


Figure 2-15. Interaction profile of process parameters for particle size  $D_{50}$  (red box shows the interaction between solvent ratio and temperature).

一方、得られた Orantinib 原薬の不純物測定結果において、Figure 2-16 に示すように、溶媒組成が 11 vol % IPA/水の時、又温度が 80℃のときにのみ特定の不純物を検出した(溶媒組成が 11 vol % IPA/水の時、不純物 RT 4.5: 0.00–0.09%, 不純物 RT 5.8: 0.00–0.02%, 不純物 RT 9.3: 0.00–0.04%, 不純物 RT 11.8: 0.00–0.03%, 不純物 RT 13.5: 0.00–0.04%; 温度が 80℃の時、不純物 RT 18.3: 0.00–0.04%)。特に、不純物 RT 4.5, RT 5.8, RT 11.8, RT 13.5 は、これまでのバッチには認められない新規不純物であり安全性が担保されていないため慎重に扱う必要があった。医薬品の品質において不純物の管理は非常に重要であり、ICH

guideline Q3A (R2)<sup>25)</sup>において、1日最大投与量が2g以下の場合、0.05%以上の不純物は規制当局へ報告する必要があり、0.10%以上の不純物は構造決定が必要であり、0.15%以上になると安全性の確認が必要と定められている。また、毒性の強い不純物についてはさらに厳しい管理が求められている<sup>26)</sup>。この結果を踏まえて、最適条件を導き出すにあたり、溶媒組成の下限を21 vol % IPA/水、温度の上限を70℃とする制約を設定した。



\* New impurity

Figure 2-16. (a)–(e) Relationship between solvent ratio and impurities. (f) Relationship between temperature and impurities.

加えて、攪拌速度は、製造設備とラボの晶析槽が非相似形であるため式(2-2)を用いて製造設備で実施可能な攪拌速度からラボでの攪拌速度を計算し、上限を200 rpmとする制約を設定した。百永らは、式(2-2)で示される浮遊攪拌動力比(Z)が、非相似形のスケールアップにも有効なスケールアップ因子であることを見出し、医薬品原薬の製造プロセスへの実用化を報告している<sup>27),28)</sup>。式(2-2)を用いるとスケールアップ前後の槽径と翼径から、スケールアップしたときに同等の浮遊攪拌動力比(Z)を与える攪拌速度を求めることができる。

$$Z = \sqrt{\frac{(\rho_s - \rho_l) g}{\rho_l} \frac{D D_p^{1/6}}{N_p^{1/3} N d^{5/3}}} \quad (2-2)$$

$Z$ : power consumption ratio of agitation [-]

$\rho_s$ : density of solid [kg/m<sup>3</sup>]

$\rho_l$ : density of liquid [kg/m<sup>3</sup>]

$g$ : gravity acceleration [m/s<sup>2</sup>]

$D$ : vessel diameter [m]

$\overline{D}_p$ : representative particle diameter [m]

$N_p$ : power number [-]

$N$ : rotational speed of impeller [s<sup>-1</sup>]

$d$ : impeller diameter [m]

また、最適化のための追加実験 (Table 2-11, Entry 19-33) で得られた Orantinib 原薬の収率は 85.2-96.6%であった。

上述のプロセスパラメータの制約の下で、スクリーニング実験 (18 実験) と最適化での追加実験 (15 実験) の計 33 実験のデータを使用して JMP で統計モデル (応答曲面モデル) を作成し、Figure 2-17 に示す予測プロファイルと満足度から残留 IPA 量と粒子径  $D_{50}$  の両方の目標を満足する最適条件を計算により導いた (溶媒量: 36v/w, 溶媒組成: 22 vol % IPA/水, 温度: 67°C, 攪拌速度: 200 rpm, 塩酸滴下時間: 2h)。導かれた最適条件での予測値は、残留 IPA 量: 2223±1210 ppm, 粒子径  $D_{10}$ : 3.2±0.8 μm,  $D_{50}$ : 4.9±1.2 μm,  $D_{90}$ : 7.4±2.0 μm であった。Figure 2-18 に、クリティカルプロセスパラメータである温度と溶媒組成に関する残留 IPA 量及び粒子径  $D_{50}$  の等高線プロファイル (デザインスペース) を示す。デザインスペースの境界は予測値の誤差を考慮して、より厳しく設定した (残留 IPA 量: < 3000 ppm,  $D_{50}$ : 4-6 μm)。導かれた最適条件はデザインスペースのおよそ中心に位置しており、残留 IPA 量と粒子径  $D_{50}$  の両方が目標の範囲に収まる条件 (空間) があることが確認できた。

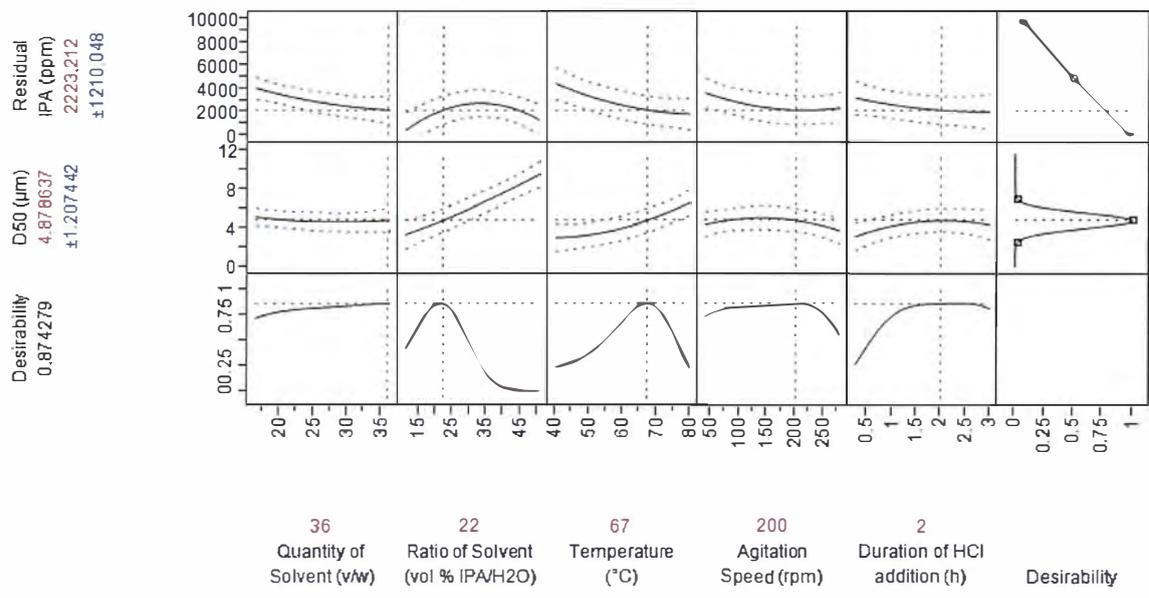


Figure 2-17. Predicted profiles and desirability for optimal conditions derived from process parameter optimization experiments (response surface models). Predicted values are shown to the left of the graph for when the process parameters are set to the numerical values shown below the graph, and the blue dotted lines show 95% confidence intervals.

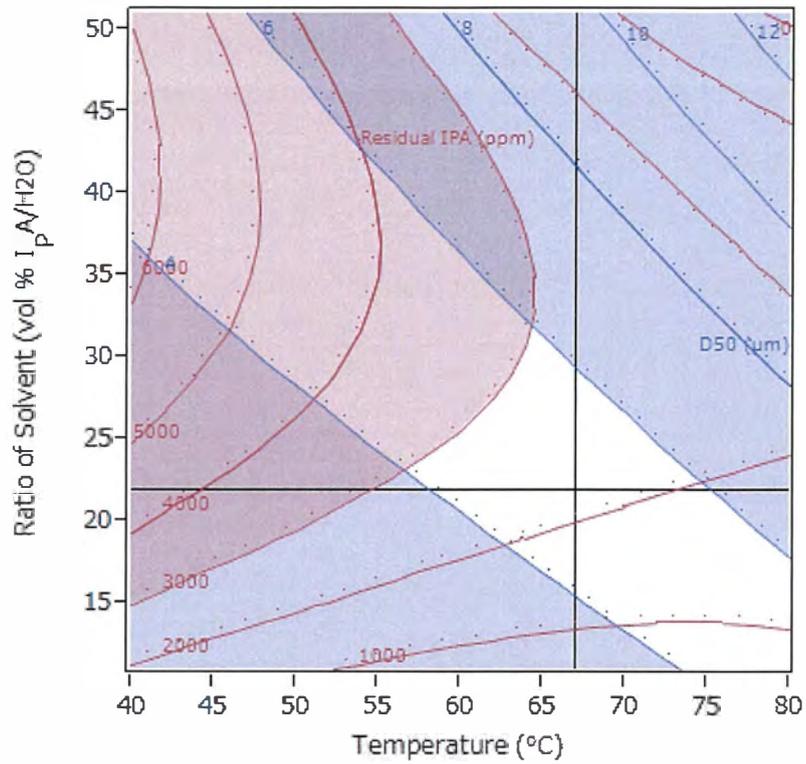


Figure 2-18. Contour line profile for quantity of residual IPA and particle size  $D_{50}$  in relation to temperature and solvent ratio (design space is shown in white; quantity of residual IPA: <3000 ppm;  $D_{50}$ : 4–6  $\mu\text{m}$ ).

作成した統計モデルについて，残留 IPA 量の予測式を式 (2-3) に，粒子径  $D_{50}$  の予測式を式 (2-4) に，それぞれ示す。

Residual IPA quantity (ppm) =

$$\begin{aligned}
 &4238.31412636276 \\
 &-980.59618898773 \\
 &+ \left( \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right) \\
 &889.757669456992 \\
 &+ \left( \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right) \\
 &-1839.9416970691 \\
 &+ \left( \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right) \\
 &-536.67336980731 \\
 &+ \left( \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right) \\
 &-489.67143197098 \\
 &+ \left( \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right) \\
 &\left( \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right) \\
 &* 320.655631050537 \\
 &\left( \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right) \\
 &* -94.724408756721 \\
 &\left( \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right) \\
 &* -1868.2228438888 \\
 &\left( \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right) \\
 &* -112.4905775253 \\
 &\left( \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right) \\
 &* -1189.6183577751 \\
 &\left( \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right) \\
 &* 584.97101919055 \\
 &\left( \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right) \\
 &* 115.764086685094 \\
 &\left( \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right) \\
 &* 259.853579048794 \\
 &\left( \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right) \\
 &* 247.590674601587 \\
 &\left( \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right) \\
 &* 692.986339370198 \\
 &\left( \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right) \\
 &* -0.3856747450167 \\
 &\left( \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right) \\
 &* -229.24082189026 \\
 &\left( \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right) \\
 &* 75.4525929325193 \\
 &\left( \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right) \\
 &* -658.28558241481 \\
 &\left( \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right) \\
 &+ \left( \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right) \\
 &* 327.877751088118
 \end{aligned}$$

(2-3)

Particle size D<sub>50</sub> (μm) =

$$\begin{aligned}
 &5.05261409287829 \\
 &0.15265619494034 \\
 &+ \left[ \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right] \\
 &2.48000860533755 \\
 &+ \left[ \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right] \\
 &2.23594525090083 \\
 &+ \left[ \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right] \\
 &-0.4052726371513 \\
 &+ \left[ \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right] \\
 &1.03952649741621 \\
 &+ \left[ \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right] \\
 &\left[ \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right] \\
 &\quad *0.32974158636405 \\
 &\left[ \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right] \\
 &\quad *0.35188036350503 \\
 &\left[ \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right] \\
 &\quad *0.30944000884334 \\
 &\left[ \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right] \\
 &\quad *0.2615014848818 \\
 &\left[ \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right] \\
 &\quad *1.45706611728392 \\
 &\left[ \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right] \\
 &\quad *0.80254808120018 \\
 &\left[ \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right] \\
 &\quad * -0.4697986126551 \\
 &\left[ \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right] \\
 &\quad * -1.0541505656698 \\
 &\left[ \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right] \\
 &\quad * -0.1290242658134 \\
 &\left[ \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right] \\
 &\quad * -1.0011684496624 \\
 &\left[ \frac{\text{Quantity of solvent (v/w)} - 26.4}{10} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right] \\
 &\quad * -0.3031164856054 \\
 &\left[ \frac{\text{Ratio of solvent (vol \% IPA/H}_2\text{O)} - 31}{20} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right] \\
 &\quad *0.54237772835101 \\
 &\left[ \frac{\text{Temperature (}^\circ\text{C)} - 60}{20} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right] \\
 &\quad *0.03553345215193 \\
 &\left[ \frac{\text{Agitation speed (rpm)} - 160}{120} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right] \\
 &\quad *0.30068264252136 \\
 &\left[ \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right] \\
 &+ \left[ \frac{\text{Duration of HCl addition (h)} - 1.625}{1.375} \right] \\
 &\quad * -0.9820138742456
 \end{aligned}$$

(2-4)

Table 2-6 に上記統計解析の分散分析表を示す. 残留 IPA 量, 粒子形 D<sub>50</sub> ともに P 値は < 0.0001 であり, 統計モデルは高い精度を有していることが確認できた.

Table 2-6. Analysis of variance tables of optimization experiment (response surface model) (Entries 1–33) calculated by using JMP. (a) Quantity of residual IPA. (b) Particle size  $D_{50}$ .

(a)	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
	Model	20	182214533	9110727	14.0642
	Error	12	7773558	647796	Prob > F
	C. Total	32	189988091		<.0001*

(b)	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
	Model	20	264.17868	13.2089	20.4787
	Error	12	7.74011	0.6450	Prob > F
	C. Total	32	271.91879		<.0001*

### 2.3.3. 検証実験

計算により導いた最適条件で検証実験 1 を実施したところ、Table 2-7 に示すように残留 IPA 量は予測値通り (2138 ppm) であったが、粒子径が予測値より小さい ( $D_{10}$ : 1.6  $\mu\text{m}$ ,  $D_{50}$ : 2.7  $\mu\text{m}$ ,  $D_{90}$ : 4.2  $\mu\text{m}$ ) 結果となった (Table 2-11, Entry 34).

Table 2-7. Predicted values vs. experimental values of verification experiment 1.

		Predicted values	Experimental values <sup>a</sup>
Residual IPA quantity (ppm)		2223±1210	2138
Particle size ( $\mu\text{m}$ )	$D_{10}$	3.2±0.8	1.6
	$D_{50}$	4.9±1.2	2.7
	$D_{90}$	7.4±2.0	4.2

<sup>a</sup> Table 2-11, Entry 34

そこで、当該実験データを追加して統計モデルを改良し、再度最適条件 (溶媒量: 36v/w, 溶媒組成: 25 vol % IPA/水, 温度: 70°C, 攪拌速度: 200 rpm, 塩酸滴下時間: 2 h) 及び予測値 (残留 IPA 量: 2319±933 ppm, 粒子径  $D_{10}$ : 3.3±0.8  $\mu\text{m}$ ,  $D_{50}$ : 5.0±1.1  $\mu\text{m}$ ,  $D_{90}$ : 7.5±1.8  $\mu\text{m}$ ) を導き、検証実験 2 を実施した。その結果、Table 2-8 に示すように残留 IPA 量, 粒子径分布ともに予測値通りであり、再現性も認められた (Table 2-11, Entry 35, 残留 IPA 量: 2622 ppm, 粒子径  $D_{10}$ : 3.5  $\mu\text{m}$ ,  $D_{50}$ : 5.6  $\mu\text{m}$ ,  $D_{90}$ : 8.6  $\mu\text{m}$ ; Entry 36, 残留 IPA 量: 2297 ppm, 粒子径  $D_{10}$ : 3.4  $\mu\text{m}$ ,  $D_{50}$ : 6.0  $\mu\text{m}$ ,  $D_{90}$ : 9.7  $\mu\text{m}$ ).

Table 2-8. Predicted values vs. experimental values of verification experiment 2.

		Predicted values	Experimental values <sup>a</sup>	
Residual IPA quantity (ppm)		2319±933	2622	2297
Particle size (μm)	D <sub>10</sub>	3.3±0.8	3.5	3.4
	D <sub>50</sub>	5.0±1.1	5.6	6.0
	D <sub>90</sub>	7.5±1.8	8.6	9.7

<sup>a</sup> Table 2-11, Entry 35, 36

従って、Table 2-9 に示すように、残留 IPA 量と粒子径分布の両方の目標を満足できるように、プロセスパラメータを最適化することができた。また、検証実験 1 及び 2 (Table 2-11, Entry 34–36) で得られた Orantinib 原薬の不純物は従来の原薬と同等であり、収率は 94.7–95.2%であった。

Table 2-9. Process parameters and experimental results of initial condition vs. optimal condition.

		Initial condition <sup>a</sup>		Optimal condition <sup>b</sup>		
Process parameters	Solvent quantity (v/w)	21.4		36		
	Solvent ratio (vol % IPA/H <sub>2</sub> O)	41		25		
	Temperature (°C)	50		70		
	Agitation speed (rpm)	160		200		
	HCl concentration (%)	12		12		
	Duration of HCl addition (h)	2		2		
	Final pH	3		3		
	Additional agitation duration (h)	1		1		
Experimental results	Residual IPA quantity (ppm)	6010	5563	2622	2297	
	Particle size (μm)	D <sub>10</sub>	4.1	3.4	3.5	3.4
		D <sub>50</sub>	6.1	4.9	5.6	6.0
		D <sub>90</sub>	8.7	6.9	8.6	9.7

<sup>a</sup> Table 2-11, Entry 9, 10<sup>b</sup> Table 2-11, Entry 35, 36

さらに最適化した製法を基に、商業製造を見越して、溶媒量低減（25 v/w）、温度変更（55℃）、塩酸濃度変更（20%）などの若干の改良を加え、ラボ及びパイロットプラント設備でのスケールアップ実験を実施し、目標とする残留 IPA 量及び粒子径分布の Orantinib 原薬を得ることができた（Table 2-10）。従って、スケールアップにも耐えうる頑健なプロセスを構築することができたと言える。

Table 2-10. Results of lab. vs. pilot plant experiments.

		Lab. (approx. 8 g <sup>a</sup> )	Pilot plant (approx. 3 kg <sup>a</sup> )
Residual IPA quantity (ppm)		3677	3366
Particle size (µm)	D <sub>10</sub>	2.4	2.6
	D <sub>50</sub>	4.7	5.5
	D <sub>90</sub>	8.0	10.0

<sup>a</sup> Yield of orantinib API.

Table 2-11. Experimental conditions and results. Process parameter screening experiments (Entries 1–18), additional optimization experiments (creation of response surface models) (Entries 19–33), and verification experiments (Entries 34–36).

Entry	Solvent quantity (v/w)	Solvent ratio (vol % IPA/H <sub>2</sub> O)	Temp. (°C)	Agitation speed (rpm)	HCl conc. (%)	Duration of HCl addition (h)	Final pH	Additional agitation duration (h)
1	16.4	31	40	80	17	3	1	0.25
2	16.4	31	40	240	17	1	5	1.75
3	16.4	31	60	80	7	1	1	1.75
4	16.4	31	60	240	7	3	5	0.25
5	16.4	51	40	80	7	1	5	0.25
6	16.4	51	40	240	7	3	1	1.75
7	16.4	51	60	80	17	3	5	1.75
8	16.4	51	60	240	17	1	1	0.25
9	21.4	41	50	160	12	2	3	1
10	21.4	41	50	160	12	2	3	1
11	26.4	31	40	80	7	3	5	1.75
12	26.4	31	40	240	7	1	1	0.25
13	26.4	31	60	80	17	1	5	0.25
14	26.4	31	60	240	17	3	1	1.75
15	26.4	51	40	80	17	1	1	1.75
16	26.4	51	40	240	17	3	5	0.25
17	26.4	51	60	80	7	3	1	0.25
18	26.4	51	60	240	7	1	5	1.75
19	36.4	11	40	280	12	3	3	1
20	26.4	11	60	160	12	1.625	3	1
21	36.4	51	40	160	12	0.25	3	1
22	36.4	11	80	40	12	3	3	1
23	16.4	11	80	40	12	1.625	3	1
24	16.4	31	80	160	12	0.25	3	1
25	16.4	11	80	280	12	3	3	1
26	26.4	51	80	40	12	0.25	3	1
27	36.4	11	80	280	12	0.25	3	1
28	16.4	11	40	160	12	0.25	3	1
29	36.4	11	40	40	12	0.25	3	1
30	36.4	51	80	280	12	3	3	1
31	36.4	51	60	40	12	1.625	3	1
32	36.4	31	80	160	12	1.625	3	1
33	16.4	51	80	160	12	1.625	3	1
34	36	22	67	200	12	2	3	1
35	36	25	70	200	12	2	3	1
36	36	25	70	200	12	2	3	1

Table 2-11. Experimental conditions and results. Process parameter screening experiments (Entries 1–18), additional optimization experiments (creation of response surface models) (Entries 19–33), and verification experiments (Entries 34–36)  
(continued).

Entry	Residual IPA quantity (ppm)	Particle size ( $\mu\text{m}$ )			Yield (%)
		D <sub>10</sub>	D <sub>50</sub>	D <sub>90</sub>	
1	9307	2.3	3.9	5.9	96.8
2	8767	1.5	2.4	3.5	97.4
3	7025	2.2	3.4	5.0	97.5
4	4696	3.7	5.7	8.4	92.4
5	8921	2.8	4.7	7.2	95.6
6	7347	2.9	4.3	6.0	96.4
7	5229	5.5	8.4	12.4	92.8
8	4959	4.3	6.4	9.2	95.2
9	6010	4.1	6.1	8.7	96.2
10	5563	3.4	4.9	6.9	95.3
11	7403	1.6	2.8	4.5	97.7
12	7317	1.5	2.5	4.0	97.3
13	4734	2.3	3.5	5.0	95.5
14	3023	3.2	4.8	6.8	96.3
15	7755	2.8	4.4	6.5	95.7
16	5879	3.3	4.8	6.8	95.4
17	3868	6.2	9.5	14.0	93.9
18	3292	3.7	5.3	7.5	92.2
19	1134	0.9	1.6	4.6	96.2
20	3072	1.4	2.4	3.8	95.1
21	7659	1.8	3.0	4.7	94.6
22	2847	1.5	2.4	3.7	95.9
23	3570	1.8	3.2	5.1	95.7
24	5563	3.6	5.6	8.5	96.4
25	2169	2.5	4.9	8.4	96.6
26	2018	7.1	10.8	15.9	88.3
27	2127	1.2	2.2	3.9	96.0
28	3555	1.0	2.1	6.9	94.8
29	3850	0.7	1.0	1.8	92.1
30	413	6.9	10.6	15.5	85.2
31	3370	6.1	9.4	14.0	91.9
32	1310	6.5	9.9	14.8	93.8
33	2380	7.1	11.2	17.1	92.8
34	2138	1.6	2.7	4.2	95.1
35	2622	3.5	5.6	8.6	94.7
36	2297	3.4	6.0	9.7	95.2

Table 2-11. Experimental conditions and results. Process parameter screening experiments (Entries 1–18), additional optimization experiments (creation of response surface models) (Entries 19–33), and verification experiments (Entries 34–36)  
(continued).

Entry	Impurities (%) / RT (Retention Time)												
	2.2	2.7	3.2	4.5	5.3	5.8	7.7	9.3	10.6	11.8	13.5	15.2	18.3
1	0.05	0.00	0.05	0.00	0.13	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.04	0.00	0.05	0.00	0.08	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.02	0.00	0.03	0.00	0.08	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.00	0.00	0.02	0.00	0.09	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
5	0.02	0.00	0.03	0.00	0.08	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
6	0.01	0.00	0.03	0.00	0.09	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
7	0.00	0.00	0.02	0.00	0.09	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
8	0.00	0.00	0.01	0.00	0.09	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
9	0.00	0.00	0.02	0.00	0.09	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
10	0.03	0.01	0.02	0.00	0.08	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00
11	0.03	0.00	0.04	0.00	0.09	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
12	0.02	0.00	0.04	0.00	0.12	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
13	0.00	0.00	0.02	0.00	0.09	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
14	0.00	0.00	0.01	0.00	0.09	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
15	0.00	0.00	0.02	0.00	0.09	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
16	0.00	0.00	0.02	0.00	0.09	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
17	0.00	0.00	0.01	0.00	0.10	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
19	0.00	0.01	0.03	0.00	0.18	0.00	0.08	0.01	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00
20	0.06	0.03	0.03	0.09	0.10	0.00	0.11	0.00	0.04	0.02	0.03	0.00	0.00
21	0.02	0.00	0.02	0.00	0.06	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
22	0.02	0.02	0.02	0.03	0.17	0.00	0.07	0.01	0.07	0.00	0.04	0.00	0.03
23	0.06	0.00	0.04	0.05	0.17	0.00	0.04	0.04	0.13	0.00	0.00	0.02	0.02
24	0.02	0.00	0.02	0.00	0.12	0.00	0.02	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.03
25	0.03	0.02	0.02	0.08	0.16	0.02	0.09	0.02	0.09	0.00	0.04	0.02	0.03
26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
27	0.00	0.00	0.01	0.00	0.20	0.00	0.02	0.00	0.04	0.00	0.00	0.02	0.04
28	0.09	0.02	0.08	0.02	0.18	0.01	0.03	0.02	0.07	0.03	0.00	0.00	0.00
29	0.05	0.00	0.05	0.02	0.10	0.00	0.03	0.00	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00
30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
31	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
32	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.02	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00
33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
34	0.00	0.00	0.01	0.00	0.22	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
35	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.02	0.00	0.03	0.00	0.00	0.02	0.02
36	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.02	0.00	0.04	0.00	0.00	0.01	0.02

## 2.4. まとめ

Orantinib 原薬の晶析方法は酸塩基反応による中和晶析であるため粒子径分布のコントロールは一般的に難しく、また残留溶媒は化合物の性質によって様々であるため一般的な理論に当てはめることが難しいと考えられた。本研究では、DoE を使用して全 36 実験で、Orantinib 原薬晶析のプロセスパラメータのスクリーニング、最適化、及び検証実験を行い、粒子径分布及び残留 IPA 量のコントロールを両立できるプロセスを見出した。

まず、プロセスパラメータのスクリーニングを実施し、各プロセスパラメータの残留 IPA 量及び粒子径への影響の強さと傾向を明らかにした。その結果、温度が粒子径及び残留 IPA 量の両方に強い影響を及ぼし、温度が高くなると、粒子径が大きくなる傾向があり、残留 IPA 量が減少する傾向があることが判明した。さらに、粒子径に関しては、溶媒組成の影響も強く、溶媒の IPA 比率が高くなると、粒子径が大きくなる傾向があることが判明し、温度と溶媒組成がクリティカルプロセスパラメータであることがわかった。

次に、プロセスパラメータの最適化を実施し、応答曲面モデルを作成して、残留 IPA 量及び粒子径分布のコントロールを両立できる最適条件を計算により導き、温度と溶媒組成に関するデザインスペースを構築した。

最後に、計算により導いた最適条件で検証実験を実施し、■標とする残留 IPA 量及び粒子径分布の Orantinib 原薬が得られることを実証した。

## 2.5. 参考文献

- 1) WHO Drug Information, **2010**, 24(2), *p-INN: List 103*, 157.
- 2) Inaba, Y.; Kanai, F.; Aramaki, T.; Yamamoto, T.; Tanaka, T.; Yamakado, K.; Kaneko, S.; Kudo, M.; Imanaka, K. Kora, S.; Nishida, N.; Kawai, N.; Seki, H.; Matsui, O.; Arioka, H.; Arai, Y. “A randomised phase II study of TSU-68 in patients with hepatocellular carcinoma treated by transarterial chemoembolisation” *Eur. J. Cancer*, **2013**, 49, 2832-2840.
- 3) Sun, L.; Tran, N.; Liang, C.; Tang, F.; Rice, A.; Schreck, R.; Waltz, K.; Shawver, L. K.; McMahon, G.; Tang, C. “Design, Synthesis, and Evaluations of Substituted 3-[(3- or 4-Carboxyethylpyrrol-2-yl)methylidene]indolin-2-ones as Inhibitors of VEGF, FGF, and PDGF Receptor Tyrosine Kinases” *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 5120–5130.
- 4) *ICH Q3C Impurities: Guideline for Residual Solvents (R5)*.
- 5) *ICH Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances*.
- 6) 芦澤一英, 大塚誠 “医薬品粉体の粒子径評価について” *Pharm Stage*, **2008**, 8, 104–110.
- 7) Prescott, L. F.; Steel, R. F.; Ferrier, W. R. “The effects of particle size on the absorption of phenacetin in man. A correlation between plasma concentration of phenacetin and effects on the central nervous system.” *Clin. Pharmacol.*, **1970**, 11, 496–504.
- 8) 中田宏, 森田豊 “後発医薬品の「品質」生物学的同等性の観点から” *Pharm. Tech. Japan*, **2002**, 18, 1597–1604.
- 9) Amidon, G. L.; Lennernas, H.; Shah, V. P.; Crison, J. R. “A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of *in Vitro* Drug Product Dissolution and *in Vivo* Bioavailability” *Pharm. Res.* **1995**, 12, 413–420.
- 10) Food and Drug Administration. *Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System*. Food and Drug Administration, Rockville, MD, 2000.
- 11) Simon, L. L.; Pataki, H. Marosi, G.; Meemken, F.; Hungerbühler, K.; Baiker, A.; Tummala, S.; Glennon, B.; Kuentz, M.; Steele, G.; Kramer, H. J. M.; Rydzak, J. W.; Chen, Z.; Morris, J.; Kjell, F.; Singh, R.; Gani, R.; Gernaey, K. V.; Louhi-Kultanen, M.; O’Reilly, J.; Sandler, N.; Antikainen, O.; Yliruusi, J.; Frohberg, P.; Ulrich, J.; Braatz, R. D.; Leyssens, T.; Stosch, M. Oliveira, R.; Tan, R. B. H.; Wu, H.; Khan, M.; O’Grady, D.; Pandey, A.; Westra, R.; Delle-Case, E.; Pape, D.; Angelosante, D.;

- Maret, Y.; Steiger, O.; Lenner, M.; Abbou-Oucherif, K.; Nagy, Z. K.; Litster, J. D.; Kamaraju, V. K.; Chiuq, M. “Assessment of Recent Process Analytical Technology (PAT) Trends: A Multiauthor Review” *Org. Process Res. Dev.* **2015**, *19*, 3–62.
- 12) 大村平 *実験計画と分散分析のはなし*, 株式会社日科技連, 東京都, **1984**.
  - 13) 中村義作 *よくわかる実験計画法*, 株式会社近代科学社, 東京都, **1997**.
  - 14) 佐川良寿 “統計解析の基礎と応用 (1) 実験計画法①” *Pharm. Tech. Japan*, **2009**, *25*, 1055–1068.
  - 15) 佐川良寿 “統計解析の基礎と応用 (2) 実験計画法①” *Pharm. Tech. Japan*, **2009**, *25*, 1331–1345.
  - 16) *ICH Q8 Pharmaceutical Development (R2)*.
  - 17) *ICH Q9 Quality Risk Management*.
  - 18) *ICH Q10 Pharmaceutical Quality System*.
  - 19) *ICH Q11 Development and Manufacture of Drug Substances*.
  - 20) Weissman S. A.; Anderson, N. G. “Design of Experiments (DoE) and Process Optimization. A Review of Recent Publications” *Org. Process Res. Dev.* **2014**, DOI: 10.1021/op500169m.
  - 21) 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.* **2014**, DOI: 10.1021/op500295a.
  - 22) Mohammed, A. Q.; Sunkari, P. K.; Mohammed, A. B.; Srinivas, P.; Roy, A. K. “Quality by Design in Action 2: Controlling Critical Material Attributes during the Synthesis of an Active Pharmaceutical Ingredient” *Org. Process Res. Dev.* **2014**, DOI: 10.1021/op500297g.
  - 23) 新村秀一 *JMP 活用統計学とっておき勉強法*, 株式会社講談社, 東京都, **2004**.
  - 24) 田久浩志, 林俊寛, 小島隆矢 *JMP による統計解析入門 第2版*, 株式会社オーム社, 東京都, **2006**.
  - 25) *ICH Q3A Impurities in New Drug Substances (R2)*.
  - 26) *ICH M7 Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk*.
  - 27) 百永眞士, 日比文夫, 矢澤久豊 “フェノキシ酢酸化合物の晶析における粒径分布に対する攪拌効果” *化学工学論文集* **1984**, *10*, 192–197.
  - 28) 百永眞士, 大西賢, 矢澤久豊 “多形を持つセファゾリンナトリウムの選択晶析における媒晶剤効果とスケールアップ” *化学工学論文集* **1992**, *18*, 553–561.