

1. 分析法目標プロファイル(ATP : Analytical Target Profile)

本分析法は、XYZ 製剤中の類縁物質を、ICH Q3B の報告の必要な閾値である 0.1% から規格値 0.2% を含む範囲において定量できる性能を有する。本分析法は 0.1% から 0.2% の類縁物質を測定するとき、95% の信頼性をもって、測定値が 80% の確率で真値の  $\pm 0.02\%$  に含まれる真度及び精度を有している。

上記 ATP の考え方については、別紙にて解説をする。なお、上記で示している数値は事例として示すものであり、これを推奨するものではない。

上記の ATP を満たすため、分析法は以下の性能クライテリア(Performance criteria)を満たすことが要求される。

**特異性** 製剤添加剤成分の影響を受けず、目的とする不純物を特異的に測定することができ、十分な識別能を有する。

**感度** 定量限界 (S/N 比 10 以上) は 0.1% 以下である。

**範囲** 0.1% から 0.2% を含む範囲において、95% の信頼性をもって、報告値が 80% の確率で真値の  $\pm 0.02\%$  である。本範囲において許容される真度及び精度の関係を図 1 に示す。

その他要求事項

**直線性** 0.05 ~ 1.0% の範囲において直線性を有する。回帰式の相関係数は 0.99 以上であり、原点を通過する直線である。

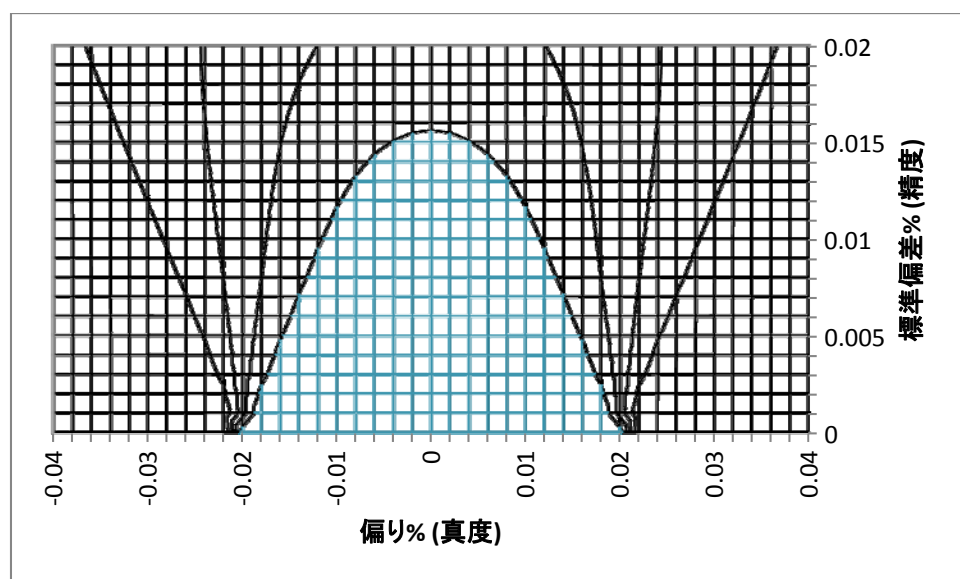


図 1 分析法の真度及び精度の性能クライテリア

分析法の真度(偏り)及び精度(標準偏差)は青色の領域に含まれなければならない

**補足説明**

その他の要求事項には、分析法の性能クライテリアとしては必須ではないが、分析法を開発するにあたり、開発者が設定する目標を組み入れることも可能である。今回のケースにおいては、直線性を規定した。一般的に、規定したATPを満たすために分析法が必ずしも直線性を有している必要はなく、多点検量線による定量も可能である中、本分析法では一点検量線法を目標としたことから、直線性をその他要求事項とした。

25

26

27

## 28 2. 分析法の開発

## 29 2.1 分析手法の選定

30 本化合物(XYZ)の物理化学的性質、製剤プロセスを考慮した不純物プロファイル、製剤処方情報、及びこれまでに得られている分析手法に関する知識及び経験に基づいて、分析性能及び使用性の観点から初期的な評価を行い、候補となる分析手法を選択した。

32

33

## 34 2.1.1 原薬の物理化学的性質

35 XYZの化学構造を Figure X に示す。本化合物の分子量は 300.00、融点は 180°C 付近の不揮  
36 発性の有機化合物である。水にはやや溶けにくく、メタノール及びアセトニトリルへの溶解度はそ  
37 れぞれ 30mg/mL 及び 100mg/mL である。紫外領域に吸収を有し、波長 254 nm に吸収の極大  
38 を示す。また、解離基 XXX に由来する pKa は 6.8 である。

39 本化合物の安定性については、固体状態において熱及び湿度ストレス条件下で安定であること  
40 が確認されており、25°C/60%RH、36 箇月及び 40°C/75%RH、6 箇月の保存において品質の変  
41 化は認められていない。

42

## 43 2.1.2 製剤の処方

44 本製剤の製剤処方は、下記に示すとおり、乳糖及びリン酸水素カルシウムを賦形剤とし、湿式造  
45 粒法を用いて製造されるフィルムコーティング錠である。

配合目的	規格	成分名	1錠(103mg)中
有効成分	別記規格	XYZ	30 mg
賦形剤	日局	リン酸水素カルシウム水和物	適量
賦形剤	日局	乳糖	10 mg
崩壊剤	日局	デンプングリコール酸ナトリウム	5 mg
滑沢剤	日局	ステアリン酸マグネシウム	2 mg
コーティング剤	日局	ヒプロメロース	2.4 mg
光沢化剤	日局	マクロゴール6000	0.3 mg
着色剤	日局	酸化チタン	0.3 mg
着色剤	薬添規	三二酸化鉄	微量

46

47

48 2.1.3 不純物の特性(対象不純物)

49 XYZの不純物 Imp 1、3、4、6 は原薬に由来する不純物であり、原薬の規格において0.2%以下  
 50 に管理されている。これらの不純物は、製剤の製造工程中や保存期間中に増加することはなく、  
 51 Imp 1 は約0.1%、Imp 3 は約0.1%、Imp 4 は約0.2%、Imp 6 は約0.1%が、恒常的に検出され  
 52 ている。Imp 2 及び5 に関しては、製剤製造の造粒工程において、XYZ 原薬と添加剤成分である  
 53 乳糖との反応により、Imp 2 は約0.2%、Imp 5 は約0.1%が恒常的に生成するが、製剤の保存期  
 54 間中に増加は認められていない。

55

56 2.1.4 分析手法の評価及び決定

57 分析手法に関する知識及び経験、XYZの物性、製剤処方及びXYZの不純物プロファイルに関す  
 58 る情報を基に、候補となる分析手法を選択し、分析性能及び使用性の観点から評価を行った。分  
 59 析性能としては、特異性、真度及び精度について、使用性としては、汎用性、操作性、運用時の  
 60 費用及び分析に要する時間について評価を実施した。その評価結果は下記に示すとおりであり、  
 61 分析性能及び使用性の共に高いHPLC-UV法を、本製剤の分析法として選択し、分析法の開発  
 62 を行うこととした。

63

64 分析性能に関する評価

	Specificity	Accuracy	Precision
HPLC-UV	M	H	H
HPLC-MS	H	H	M
UHPLC-UV	M	H	H
HPLC-MS	H	H	M
CE	M	H	M
TLC	L	M	L

65 H: 高い性能, M: 十分な性能, L: 十分とはいえない性能

66

67 使用性に関する評価

	Availability	Operability	Cost	Time
HPLC-UV	A	A	A	B
HPLC-MS	C	B	B	B
UHPLC-UV	C	B	B	A
UHPLC-MS	C	B	C	A
CE	C	B	B	B
TLC	A	A	A	A

68 A: 非常によい, B: 満足できる, C: 満足できない

69 2.2 分析法の設計

70 2.2.1 分析法の初期スクリーニング

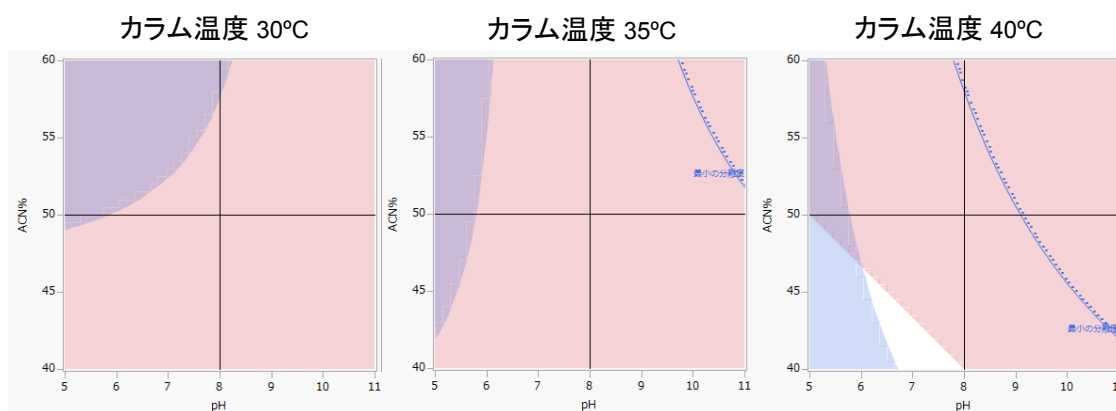
71 HPLC 分析において、ピーク保持及び分離に大きく影響を及ぼすことが知られているパラメータで  
72 ある、移動相の有機溶媒(アセトニトリル)比率、緩衝液 pH 及びカラム温度について、スクリーニ  
73 ング検討を行った。検出波長については、すでに得られている XYZ 原薬の UV スペクトル及び  
74 目的とする各不純物の UV スペクトルのデータより、220 nm を選択した。また、分析カラムとして  
75 は、AAA、BBB、CCC を用いて検討した。

76

77 3 因子 2 水準の完全実施要因計画を用いて実験を行い、ピーク数と最小の分離度に対する重回  
78 帰モデルを求めた。分析カラムについては、最も良好なピーク形状を示した AAA を選択した。  
79 カラム温度 30、35 及び 40°C における等高線図を図 2 示す。等高線図で赤色の領域は、ピーク  
80 数が 7 未満で目的とする全ての不純物 Imp 1 ~ 6 が互いに、あるいはその他の不純物と分離さ  
81 れていない領域を示し、青色の領域は、最も近接するピークの分離度が分離度 1.5 未満である領域  
82 を示している。回帰モデルから、移動相のアセトニトリル比率が 40% 付近、緩衝液 pH が 7 ~ 8 付  
83 近、カラム温度は 40°C 付近において、ピーク数が 7 以上、最も近接するピークの分離度が 1.5 以  
84 上になることが予測された(白色の領域)。

85

86



87

88

図 2 異なるカラム温度における等高線図 (カラム AAA)

89

90 以上の検討結果より、下記の HPLC 条件を候補条件とし、最適化を行うこととした。

91

92 HPLC 操作条件

93 検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長: 220 nm)

94 カラム: AAA (4.6 mmID × 150 mm, 粒子径 5 μm)

95 移動相: pH 8.0 のホウ酸塩緩衝液 / アセトニトリル混液 (60 : 40)

96 流速: XYZ の保持時間が約 15 分になるように調整する。

97 カラム温度: 40°C 付近の一定温度

98 なお、試料溶液の調製については、XYZ の溶解度、溶液中における安定性及びクロマトグラムへ  
99 の影響を検討した結果から、50% アセトニトリルを抽出溶媒として選択した。時々振り混ぜなが  
100 ら 10 分間超音波を照射して抽出した後、遠心分離することにより、濃度 1 mg/mL の試料溶液を  
101 調製することとした。  
102

#### 補足説明

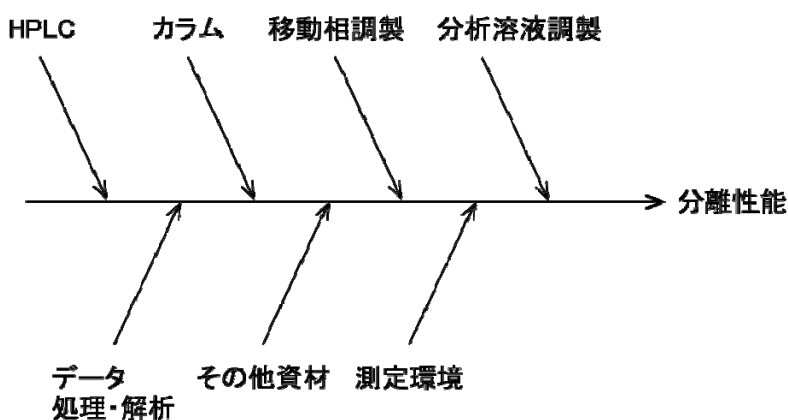
初期スクリーニング検討では、これまでの知見に基づいて、分析条件の大まかな設計を行うことを意図している。分析カラム、移動相の緩衝液 pH、塩濃度、有機溶媒の種類及び比率、グラジエント条件等について、従来のトライ&エラーや経験に基づいた検討に加え、実験計画法によるスクリーニング、市販のクロマトグラフィー分析法開発ソフトウェアを用いた検討も可能である。

初期スクリーニング検討を通じて得られる各要因(パラメータ)に関する知見は、一次リスクアセスメントを行う際に有用となる。本検討過程で、直接的に検討を行った要因の他にも、分析結果に影響を及ぼすその他の要因に関する知見が間接的に得られることがあり、これもリスクアセスメントに活用可能である。また、分析結果への影響のより大きい要因を抽出するためには、実験計画法を利用した分析法パラメータの評価が有用である。

103  
104  
105  
106  
107  
108  
109  
110  
111

### 2.2.2 一次リスクアセスメント

HPLC 分析による類縁物質測定法の性能は、その特異性、すなわち分離性能に大きく影響される。そこで、分離性能に影響すると考えられる要因を抽出し、特性要因図として図 3 に纏めた。各要因については、さらに詳細に要因の抽出を行い表 1 に示すように、それぞれの特性に基づいて分類を行った。アセスメントに際しては、分析法の初期スクリーニングを通じて得られた知見、分析手法に関する一般的な知識及び経験を利用した。



112  
113  
114

図 3 分離性能を特性とした要因分析(特性要因図)

115 表 1 分離性能を特性とした要因分析と要因の分類結果

要因	モード	NCX	Set point	Comment
<b>HPLC</b>				
検出器				
セルタイプ	ピーク形状	C	高耐圧セル	規定のセルを使用する
検出波長	レスポンス	C	220 nm	UVスペクトルを考慮し選択
サンプリング周期	ピーク面積、ピーク形状	C	10 Hz	ピーク半値幅から適切な値を設定
カラムオープン				
カラム温度	ピーク保持(分離)	X		DoEにより検討
送液ポンプ				
流量	ピーク保持時間	C	1.0 mL/min	カラムに対して適切な流量を設定
デッドボリューム	ピーク保持時間	N		対応を検討
インジェクター				
ニードル洗浄/リンス溶液	メモリ(ピーク面積)	C	規定された洗浄モード/50% MeCN	分析法検討時の結果より適切な条件を設定
試料注入量	ピーク面積	C	5 uL	分析法検討時の結果より適切な条件を設定
クーラー温度	溶液安定性	C	10°C	低温の方が分解を最小限に抑えられる。また、Acquity UPLCのサンプルクーラーの温度設定の下限が「室温-18°C」であることを考慮し、10°Cと設定。
<b>カラム</b>				
カラム				
カラムの種類	ピーク保持、ピーク形状	C	カラムAAA	試験方法に規定
バッチ間差	ピーク保持、ピーク形状	N		対応を検討
カラム劣化	ピーク保持、ピーク形状	N		対応を検討
サイズ	ピーク保持	C	4.6 mm x 150 mm	試験方法に規定
粒径	ピーク形状	C	5 um	試験方法に規定
<b>移動相調製</b>				
移動相の組成				
緩衝液の塩の種類	ピーク保持(分離)	C	ホウ酸塩	目的のpHに適切な緩衝液の塩として、検討時の結果より条件を設定
緩衝液の濃度	ピーク保持(分離)	C	10mM	分析法検討時の結果より適切な条件を設定
緩衝液のpH	ピーク保持(分離)	X		DoEにより検討
有機溶媒の種類	ピーク保持(分離)、カラム圧	C	アセトニトリル	カラム圧の低減を目的とし、選択
有機溶媒の比率	ピーク保持(分離)	X		DoEにより検討
移動相の脱気	送液、ノイズ	C	超音波5分	送液不良、気泡由来のスパイクピークを回避するため
緩衝液の調製				
試薬の秤量操作	緩衝液濃度の正確性	N		対応を検討
pHの調製操作	pHの正確性	N		対応を検討
溶液、溶媒の計量				
計量操作	溶液濃度の正確性	N		対応を検討
試薬・有機溶媒				
水	ベースライン、システムピーク	C	Milli Q水を使用	水由来の妨害ピークを避けるため
グレード	ベースライン、妨害ピーク	N		対応を検討
メーカー	ベースライン、妨害ピーク	N		対応を検討
劣化	ベースライン、妨害ピーク	N		対応を検討
<b>分析溶液調製</b>				
分析溶液の組成				
試料濃度	ピーク面積、SN比	C	1mg/mL	十分なSN比を確保するため
抽出液の組成	ピーク形状	X	水/MeCN(1:1)	移動相有機溶媒組成との関係について検討する
試料の秤量				
試料の秤量操作	溶液濃度の正確性	N		対応を検討
溶液、溶媒の計量				
計量操作	溶液濃度の正確性	N		対応を検討
<b>データ処理・解析</b>				
積分				
積分操作	ピーク面積のバラツキ	N		対応を検討
<b>その他資材</b>				
バイアル				
材質	試料の分解、吸着、妨害ピーク	C	不活性ガラスバイアル	吸着、妨害ピークを抑えるため
<b>測定環境</b>				
室内温湿度	ピーク面積のバラツキ	C	設定温度	空調された測定室で操作
光	ピーク面積の変化	C	通常蛍光灯	室内光で安定、UVカットライトは不要

116

117

118

119 各要因は、適切に管理することによって分離性能への影響を抑えることができる要因として要因  
 120 C(Controllable)、管理することが難しいため、分離性能への影響を低減するために対策を施す  
 121 必要がある要因は要因 N(Noise)、分離性能への影響を実験的に検証する必要がある要因につ  
 122 いては、要因 X(experimental)に分類した。 要因 Nに分類された要因については、分析法設定  
 123 後、欠陥モード影響解析(FMEA)を行うことにより、分析結果への影響を低減するための対策を  
 124 検討した(2.2.4 項)。 また、要因 Xに分類された要因については、次の 2.2.3 項において実験的  
 125 な評価を行うことにより、その影響について検証するとともに至適な領域について確認した。

**補足説明**

一次リスクアセスメントでは、初期スクリーニング段階における分析法の検討をを通じて得られる知見に基づいて、分析法の性能(本モックでは分離性能としている)に影響を及ぼしうる要因を特定し、その特性に応じて要因の分類を行う。ここで挙げる要因は、初期スクリーニングにおいて直接的に検討したパラメータに限定されるわけではなく、これまでに蓄積されている化合物に関する情報や、選択した分析手法に関する一般的知識や経験に基づいて抽出することもできる。この段階において、多くの要因が特定されることになるが、要因を CNX に分類することによって適切な対応が可能となり、実験的な検証を削減することも可能となる。

本モックの要因分析表では、試験法の設計及び運用の両観点において、潜在的な要因を例示している。しかしながら、分析条件の開発段階における特性要因分析では、設計の観点で検討を要する要因のみを取り扱い、運用の観点での特性要因分析は、分析法が最適化された後に別に実施することが適切な場合もある。また、分析結果のバラツキを特性として要因分析を実施することが望ましい場合もある。

なお、天秤や pH メーター、ガラス器具等の機器・器具の精度といった要因については、分析法を運用する段階において要因 N になると考えられる。本モックにおいては、信頼性が保障されている体制の下、適切に校正がされている機器や器具が使用されていることを前提に、要因として抽出をしなかった。実際に分析法を運用するにあたっては、技術移転等において要因として考慮することが適切な場合がある。

127

128

129 なお、分析溶液調製に由来する分析結果のバラツキを特性とした要因の影響については、別に  
130 詳細なアセスメントを行った(本報告書は、HPLC 条件の開発について重点を置いているため、分  
131 析溶液調製に関して詳細は述べない。分析溶液調製に関するアセスメントは、独立して行うこと  
132 も HPLC 条件開発の部分と同時に行うこともできる)。

## 133 2.2.3 実験的評価

134 一次リスクアセスメントにおいて要因 X に分類された要因につき、分離性能に及ぼす影響を実験  
135 的に評価した。

136

## 137 2.2.3.1 HPLC 操作条件

138 初期スクリーニング及び一次リスクアセスメントの結果より、要因 X に分類された、移動相の緩衝  
139 液 pH、カラム温度及び移動相のアセトニトリル比率は、XYZ 製剤中の不純物ピークの保持、分  
140 離挙動に大きく影響することが明らかとなった。

141

142 そこで、移動相の緩衝液 pH、カラム温度及び移動相のアセトニトリル比率について、最適な水準  
143 を検証するために、Box-Behnken 計画を用いた実験を行った。初期スクリーニングの結果設定  
144 された HPLC 操作条件を基点として、実験計画を策定した。実験のデザインと得られた結果を  
145 表 2 に、応答曲面の等高線図を図 4 に示した。図 4 の応答局面は、カラム温度 36 ~ 42°C にお  
146 ける、移動相の緩衝液 pH 及びアセトニトリル比率の変動に対するピーク数及び最小の分離度  
147 の変化を示している。赤色の領域は、ピーク数が 7 未満で目的とする Imp 1 から 6 が互いに、  
148 もしくはその他の不純物と分離されていないことを示している。カラム温度 36 ~ 42°C の範囲では、  
149 任意の点で最小の分離度が 1.5 以上であった。白色の領域は、目的とする Imp 1 から 6 が分離  
150 されているとともに、互いの分離度が 1.5 以上である領域を示しており、求める分離性能を満た  
151 すパラメータ領域と考えられた。これらの結果より、カラム温度 38 ~ 40°C、移動相の緩衝液 pH  
152 7.0 ~ 9.0、アセトニトリル比率 40 ~ 50% の範囲においては、任意の条件において目的とするピ  
153 ークの分離が得られることが示された。

154

155



156 表 2 最適化実験の条件と結果の一覧

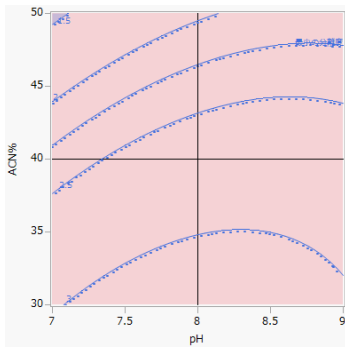
実験 No.	pH	カラム温度	アセトニトリル%	ピーク数	最小の分離度
1	7	35	40	6	3.32
2	7	45	40	6	1.77
3	9	35	40	6	3.40
4	9	45	40	6	1.39
5	8	35	30	6	3.45
6	8	35	50	7	0.60
7	8	45	30	4	3.52
8	8	45	50	5	2.58
9	7	40	30	7	1.46
10	9	40	30	7	1.70
11	7	40	50	7	2.09
12	9	40	50	7	2.92
13	8	40	40	7	2.36
14	8	40	40	7	2.35
15	8	40	40	7	2.40

157

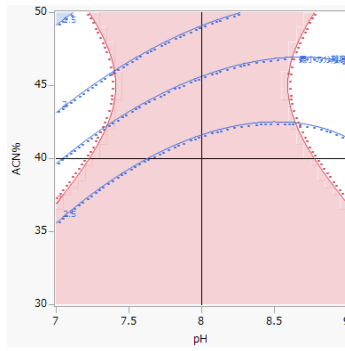
158

159

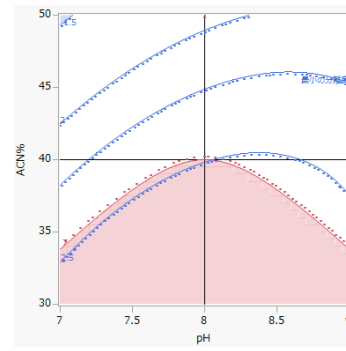
36°C



37°C



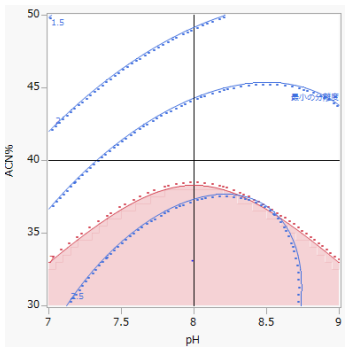
38°C



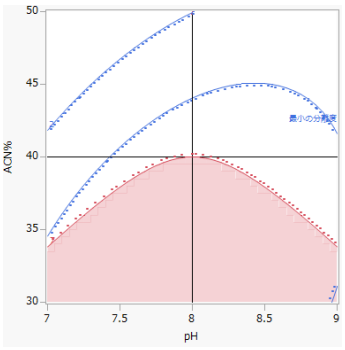
160

161

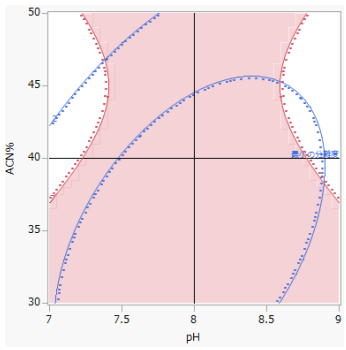
39°C



40°C



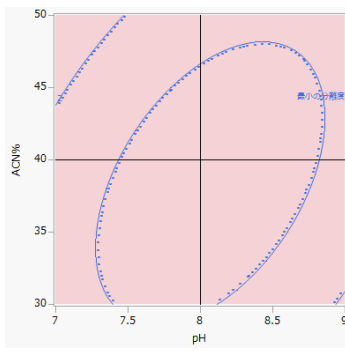
41°C



162

163

42°C



164

165

166 図 4 各カラム温度における移動相の緩衝液 pH とアセトニトリル比率の変動に対するピーク数  
 167 及び最小の分離度の変化

168

169 以上の結果より、良好な分離性能を示した白色の領域が最も大きいカラム温度 39°C の条件の  
170 中で、そのほぼ中央に位置する、すなわち高い頑健性を示す条件である、移動相の緩衝液 pH  
171 が 8.0 及びアセトニトリル比率が 45%の条件を、最適な条件として選択した。その HPLC 操作条  
172 件を以下に示す。また、その条件で得られたクロマトグラムを図 5 に示す。

173

#### 174 HPLC 操作条件

175 検出器: 紫外吸光度計 (測定波長: 220 nm)

176 カラム: AAA (4.6 mmID × 150 mm、粒子径 5 μm)

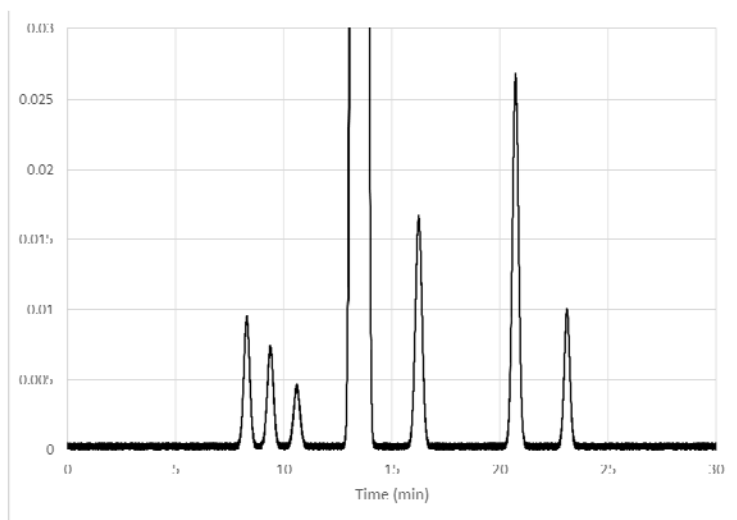
177 移動相: pH 8.0 のホウ酸塩緩衝液, pH 9.0 / アセトニトリル混液 (55 : 45)

178 流速: 1.0 mL/min の一定流量

179 カラム温度: 39°C 付近の一定温度

180 試料注入量 5 uL

181



182

183 図 5 最適化された条件で得られたクロマトグラム

184

185

#### 186 2.2.3.2 試料調製

187 一次リスクアセスメントにおいて要因 X に分類された要因のうち、抽出液組成が本分析法の分離  
188 性能に影響することが示唆された。そこで、XYZ の溶解度を考慮し、抽出液として 40、50 及び  
189 60% アセトニトリルを選択し、ピークの保持、形状及び分離への影響を確認した。その結果、  
190 50% アセトニトリルを選択することで、良好なピーク分離を維持したまま、1 mg/mL 濃度の試料  
191 溶液を調製できることが確認された。

192

補足説明

本報告書においては、試料溶液調製に関わるアセスメント及び実験的な評価に際し、抽出液の組成のみを取り上げたが、実際の分析法開発においては他の要因についての考察が必要な場合もある。

193

194

195

196 2.2.4 二次リスクアセスメント

197 最適化された分析法を対象に、一次リスクアセスメントにより要因 N に分類された要因について

198 FMEAを行った。リスク優先度を決定するにあたり、Risk Priority Number は、下記のように定義

199 した。

200

201 *Risk Priority Number (RPN) = S × O × D*

低 (RPN 1 - 35)	十分に許容可能なリスクレベルであり、通常更なるリスクを低減することは必要されない
中 (RPN 36 - 59)	許容可能なリスクレベルであるが、さらにリスクを低減するための対策が望まれる
高 (RPN 60以上)	許容することが出来ないリスクレベルであり、リスクを低減する対策が必要とされる

202

203

204 FMEA の結果及びリスク優先度のランクが中以上の要因 N について、そのリスクの低減を図っ

205 た結果を表 3 に示す。潜在的なリスクがあるとされた要因については、システム適合性の設定、

206 もしくは SOP による規定により、リスクの低減を図った。

207 表3 FMEAの結果

プロセス・因子	エラーモード	対策前								対策	対策後					
		影響度		可能性		検出度		リスク優先度			影響度 スコア	可能性 スコア	検出度 スコア	リスク優先度		
		エラーの影響	スコア	エラーの原因	スコア	検出方法	スコア	RPN	ランク					RPN	ランク	
<b>HPLC</b>																
送液ポンプ																
デッドボリューム	ピーク保持	分離、理論段数	5	システム構成違い	3		4	60	中	SST(保持時間、理論段数)	5	3	1	15	低	
<b>カラム</b>																
カラム																
バッチ間差	ピーク保持、ピーク形状	分離、理論段数	5	製造のバラツキ	3		4	60	中	SST(分離度、理論段数)	5	3	1	15	低	
カラム劣化	ピーク保持、ピーク形状	分離、理論段数	5	マテリアルの寿命	3		4	60	中	SST(分離度、理論段数)	5	3	1	15	低	
<b>移動相調製</b>																
緩衝液の調製																
試薬の秤量操作	ピーク保持、ピーク形状	分離、理論段数	5	人的操作ミス	3		4	60	中	SST(分離度、理論段数)	5	2	1	10	低	
pHの調整操作	ピーク保持、ピーク形状	分離、理論段数	3	人的操作ミス	3		4	36	中	SST(分離度、理論段数)	3	2	1	6	低	
溶液、溶媒の計量																
計量操作	ピーク保持、ピーク形状	分離、理論段数	3	人的操作ミス	3		4	36	中	SST(分離度、理論段数)	3	2	1	6	低	
試薬・有機溶媒																
グレード	妨害ピーク	クロマトグラム	7	品質のバラツキ	3		4	84	高	ブラン克蘭	7	3	1	21	低	
メーカー	妨害ピーク	クロマトグラム	7	メーカー違い	3		4	84	高	メーカー指定	7	1	1	7	低	
劣化	妨害ピーク	クロマトグラム	7	品質のバラツキ	2	有効期間内で使用	1	14	低							
<b>分析溶液調製</b>																
試料の秤量																
試料の秤量操作	ピーク面積	ピーク面積	5	人的操作ミス	3	調製記録	2	30	低	教育	5	2	2	20	低	
溶液、溶媒の計量																
計量操作	溶液濃度の正確性	ピーク面積	5	人的操作ミス	3	調製記録	2	30	低	教育	5	2	2	20	低	
<b>データ処理・解析</b>																
データ解析																
積分操作	ピーク面積のバラツキ	ピーク面積	7	人的ミス(熟練度)	3	クロマトグラム	3	63	高	SOPで規定	7	1	1	7	低	

208

Severity

8	High impact	大きな影響がある	結果に重大な影響があり、間違った判断をもたらす
5	Moderate impact	影響がある	結果に相当な影響がある
3	Low impact	軽微な影響がある	結果に軽微な影響があるが、限定的である
1	Very low impact	ほとんど影響がない	結果にほとんど影響しない

Occurrence

4	Frequent	しばしば発生する	定期的に発生することが予想される (10/100)
3	Occasional	ときどき発生する	低い頻度で発生することが予想される (5/100)
2	Rare	まれに発生する	稀に発生すると予想される (1/100)
1	Unlikely	ほとんど発生しない	発生しない、もしくはほとんど発生しないレベル

Detectability

4	Likely not detected	ほとんど検出できない	検出する方法、システムがなく、検知することもできない
2	Regularly detected	通常検出できる	容易に検知することができる
1	Always detected	常に検出できる	検出する方法、システムがある

209

210 3. 分析法の性能の検証

211 ATP に基づき 1.項で設定された性能クライテリアを判定基準とし、ICH Q2 分析法バリデーショ  
212 ンガイドラインに従って分析法の性能を検証した。その結果、設定した分析法は、性能クライテリ  
213 アに基づく判定基準を満たし、その性能が確認された。

214

215 本報告書のなかでは、分析法バリデーションの結果についての詳細な記述は省略する。

216

217

217 3.1 特異性

218 強制劣化試料、不純物の標品を用い、分析法開発時に作りこまれた分離性能について確証的  
219 な検証を行うことにより、分析法の特異性を確認した。

220

221 3.2 真度

222 不純物の標品を試料に添加し、その添加回収率から分析法の真度を評価した。 添加レベルは、  
223 報告の必要な閾値である 0.1%から規格値 0.2%を含む範囲で 3 濃度とした。

224

225 3.2 精度（併行精度及び室内再現性）

226 不純物の標品を試料に添加し、その添加回収率から分析法の精度を評価した。 添加レベルは、  
227 報告の必要な閾値である 0.1%から規格値 0.2%を含む範囲とした。

228

229 3.3 直線性

230 報告の必要な閾値である 0.1%から規格値 0.2%を含む範囲において直線性を検証した。得られ  
231 た結果につき、直線回帰分析を行い直線性を評価した。

232

233 3.4 感度

234 本分析法の定量限界を検証するため、0.05%の量に相当する原薬 XYZ の 0.5 µg/mL 溶液を調  
235 製し、得られるクロマトグラムの signal to noise (S/N) 比を求めることにより、感度を評価した。

236

237 3.5 範囲

238 真度、精度及び直線性の結果より、本分析法は 0.05 ~ 0.25%の範囲において、測定値は 80%  
239 の確率で真値の  $\pm 0.02\%$  となることが明らかとなったことから、ATP を満たすことが検証され  
240 た。

241

242 3.6 頑健性

243 本分析法の分離性能については、2.2.3 項で示した通り、目的とする各不純物が分離される領  
244 域が明らかとなっている。下記に示す範囲においては、任意のパラメータの組み合わせにおいて

245 も、目的とする各不純物が分離されることが示されており、パラメータの変更が測定値に影響を  
246 与えない頑健な領域であることが検証されている。また、真度及び精度の結果から、本分析法  
247 の測定値のばらつきは、許容できるレベルまで低減されていることが検証されている。  
248

	標準操作値	下限値	上限値
移動相の緩衝液 pH	8.0	7.0	9.0
カラム温度(°C)	39	38	40
移動相のアセトニトリル比率(%)	45	40	50

249

250

### 251 3.7 分析溶液の安定性

252 試料溶液及び標準溶液の安定性について検証した。

253

254

## 255 4. 管理戦略

256 本分析法は、HPLC の操作条件に関し、2.2.3 項で示した最適化による結果から、検証された領  
257 域においては、そのパラメータの変動は分離性能に影響を与えないことが実験的に明らかとなっ  
258 ている。従って、本分析法は分析法設定の段階で要因 X に起因するリスクを低減済みであり、  
259 3.6 項に示した範囲は、分析結果に影響を与えない頑健な領域 Method Operable Design  
260 Region (MODR:試験方法操作許容領域)であることが示されている。

261

262 さらに、設定された分析法に対するリスクアセスメントの結果、2.2.4 項に示すとおり、送液ポンプ、  
263 カラム、溶液の調製操作に潜在的なリスクが確認された。そのため、システム適合性として、ピ  
264 ーク分離度、理論段数、シンメトリー係数、繰り返し再現性の確認およびその他のパラメーターと  
265 して検出の確認と参照試料の確認を組み込み、管理することとした。これにより、これらの要因  
266 に由来するリスクを低減することができ、日常の試験時に、本分析法が期待される性能を維持し  
267 ていることを確認することが可能である。

268

### 269 システム適合性

270 ・システムの性能（特異性）:

271 Imp 1 と Imp 4 を含むシステム適合性溶液 10 µL について分析するとき、Imp 1 と Imp 4 の  
272 分離度は 1.5 以上である。また、Imp 1 の理論段数は 15000 以上であり、そのシンメトリー係数  
273 は 1.2 以内である。

274 ・システムの再現性（精度）:

275 Imp 1 と Imp 4 を含むシステム適合性溶液 10 µL について分析を 6 回繰り返すとき、Imp 1  
276 と Imp 4 のピーク面積の相対標準偏差は 10% 以下である。

277 ・検出の確認（直線性, 定量限界）  
278 1.0%の XYZ 溶液から得られる XYZ のピーク面積に対する 0.05%の XYZ 溶液から得られる  
279 XYZ のピーク面積の比は 3 ~ 7%の範囲に含まれる。

280 ・参照試料の確認  
281 各不純物を含む参照試料(Lot xxx)を用いて、試料溶液の調製方法に従って試料溶液を用い  
282 て調製するとき、その量は Imp 1 は約 0.1%、Imp 3 は約 0.1%、Imp 4 は約 0.2%、Imp 6 は約  
283 0.1%である。

284  
285 システム適合性溶液は、Imp 1 と Imp 4 を含む試料から調製された溶液である。

286

#### 補足説明

蓄積されるシステム適合性のデータ(分離度や繰り返し再現性等)を定期的にレビューすることにより、運用時における分析法の性能を検証することができる。また、システム適合性の一部として、管理の対象となる不純物を含む基準となる試料の測定を組み込むことも、分析法が意図された性能を保持していることを確認することに有用である。

定期的にレビューした結果や OOS や OOT の情報を利用し、適切にシステム適合性の要件を見直すことは、ATP で規定した分析法の性能を保つことに繋がる。また、必要に応じ、分析法の変更を行うための根拠となる。

287

288

#### 補足説明

実験計画法等を用いて要因の影響を検証することにより、MODR: 試験方法操作許容領域を設定することが可能であり、ATP のコンセプトを適用することにより、承認後の分析条件の変更に関して、規制上の柔軟性が付与されることが期待される。

289

290

## 291 5 結論

292 XYZ 製剤の類縁物質試験法として HPLC-UV 法による分析法を開発した。開発した分析法につ  
293 き、特異性、真度及び精度、感度及び範囲について評価したところ、ATP から規定される性能ク  
294 ライテリアを満たしていることが検証された。さらには、分析法の直線性について評価した結果、  
295 直線回帰式は原点を通る直線であることが明らかとなった。以上の結果から、本分析法は ATP  
296 に規定された性能を有していることが検証された。また、開発を通じて得られた知見を基に、運  
297 用時においても意図した分析法の性能を保証することができる管理戦略を設定した。

298

299



300 解説 1: 確率を基にする真度精度の ATP の設定について

## 301 1 はじめに

302 Analytical Quality by Design (AQbD)では、分析法の開発を始めるにあたり、分析法が備え  
303 るべき性能である Analytical Target Profile (ATP) を設定している。報告書では、例として純度  
304 試験 類縁物質に対して以下のような ATP を適用した。

305

306 本分析法は、XYZ 製剤中の類縁物質を、ICH Q3B の報告の必要な閾値から規格値の 120%  
307 の範囲で主薬(XYZ)に対する割合として定量することを目標に開発した。本分析法は、0.05%  
308 から 0.20%の類縁物質につき、95%の信頼性をもって、報告値が 80%の確率で真値の  $\pm$   
309 0.02%に含まれる性能を有していなければならない。

310

311 上記の ATP には「報告値が、80%の確率で真値の  $\pm 0.02\%$ に含まれ」や「報告値が、95%の  
312 確率で真値の  $\pm 0.10\%$ に含まれ」といった表現が含まれている。これらは、従来の分析法バリデ  
313 ーションにおける真度及び精度に相当する記述である。

314

## 315 2 統計モデルと分析法の性能の表現

316 分析結果  $x$  と真値  $x^*$  との関係を、次式のモデルで仮定する。

317

$$318 \text{ 式 1 } x = x^* + \delta + \varepsilon, \varepsilon \sim N(0, \sigma^2)$$

319

320 ここで、 $\delta$  は分析法に固有の偏りを表し、分析法の真度にあたる。また、 $\varepsilon$  は誤差である。ここ  
321 でいう誤差は、単に併行精度(偶然誤差)だけを意味するのではなく、分析法が、そのライフサイ  
322 クルを通じておかれる環境に応じて室間再現性や室内再現性と解釈される。ここでは、 $\varepsilon$  は平均  
323 値 0、標準偏差  $\sigma$  の正規分布に従う確率変数であると仮定している。また、式 1 から、分析結果  
324  $x$  は平均値  $x^* + \delta$ 、標準偏差  $\sigma$  の正規分布に従う確率変数といえる。

325

$$326 \text{ 式 2 } x \sim N(x^* + \delta, \sigma^2)$$

327

328 例として、図 1 に含量の真値  $x^* = 100\%$  の試料を、 $\delta = 0\%$ 、 $\sigma = 3\%$  の定量法で分析したときの  
329 分析結果の分布を示した。図 1 より、分析結果がどのように分布するかがわかる。また、図 1  
330 からは、長い目で見たときに、分析結果がどの程度の範囲に、どの程度の割合(確率)で含まれ  
331 るかも読み取ることができる。

332

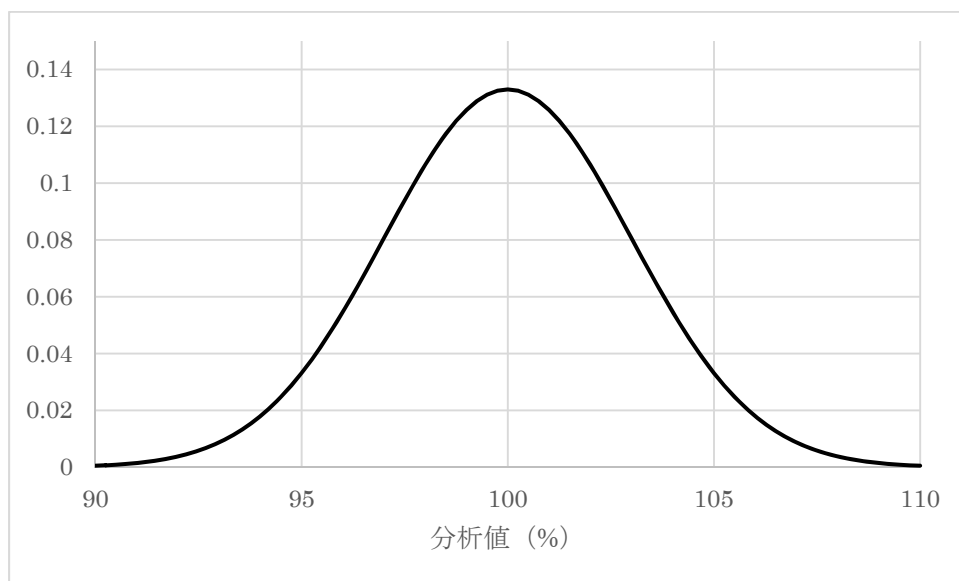
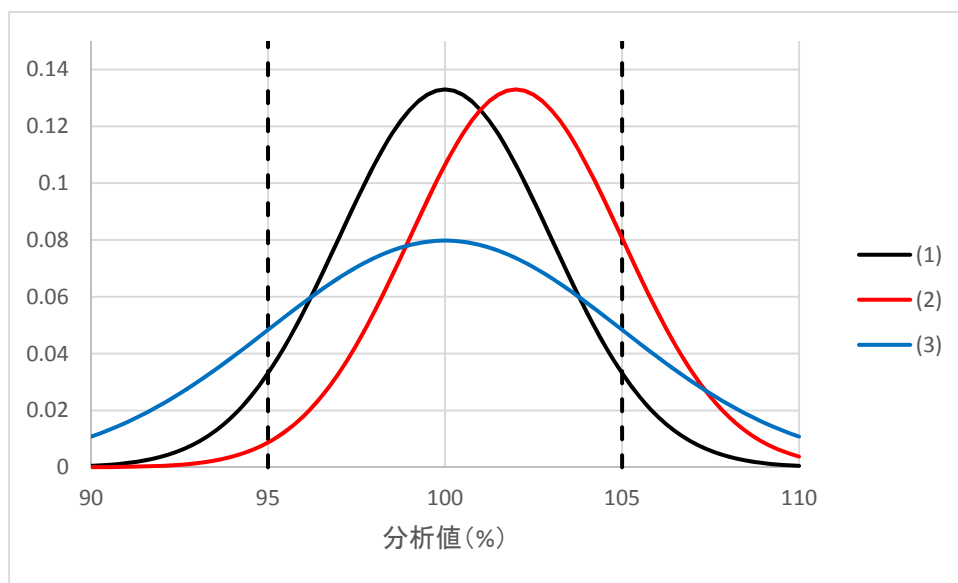


図 1  $x^* = 100\%$ の試料を、 $\delta = 0\%$ 、 $\sigma = 3\%$ の定量法で分析したときの分析結果の分布

式 1 または式 2 のような性能を備えた分析法の分析結果  $x$  が、任意の下限  $LL$  及び上限  $UL$  から構成される区間に含まれる確率  $P$  は、次式のように与えられる。

$$\text{式 3 } P = \int_{LL}^{UL} N(x^* + \delta, \sigma^2) dx$$

式 3 を利用すれば、任意の  $\delta$ 、 $\sigma$  の組み合わせに対応する性能の分析法の分析結果が、任意の区間に含まれる確率を求められる。例えば、ある定量法について、その性能が  $\delta = 0\%$ 、 $\sigma = 3\%$  で表されるとき、その分析結果が真値  $\pm 5\%$  の区間に含まれる確率は約 90.4% であることを計算できる。同様に、分析法の性能が、 $\delta = 2\%$ 、 $\sigma = 3\%$  または、 $\delta = 0\%$ 、 $\sigma = 5\%$  であるとき、その分析結果が真値  $\pm 5\%$  の区間に含まれる確率は、それぞれ約 83.2% または約 68.3% となる。図 2 には、真値  $x^* = 100\%$  の試料を分析したときの分析結果の分布、真値  $\pm 5\%$  の区間とその区間に含まれる確率の関係を示した。x 軸、分析値の分布を表す実線の曲線及び 2 本の点線で囲まれた領域の面積が求めたい確率に等しい。



349

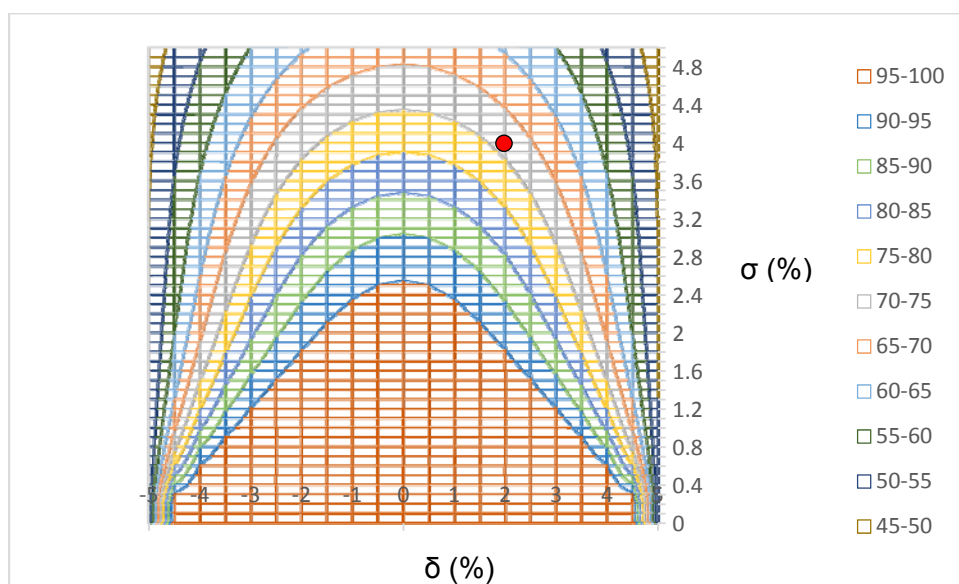
350 図 2 (1)  $\delta = 0\%$ 、 $\sigma = 3\%$ 、(2)  $\delta = 2\%$ 、 $\sigma = 3\%$ または、(3)  $\delta = 0\%$ 、 $\sigma = 5\%$ をもつ分析値の  
351 分布、区間と確率の関係  
352

353

354 同様にして、様々な $\delta$ 、 $\sigma$ の組み合わせに対して、分析結果が真値  $\pm 5\%$ の区間に含まれる確率  
355 を評価し、その結果を等高線プロットすると図 3が得られる。図 3を利用すれば、分析法の性能  
356 を視覚的に表現することができる。たとえば、ある分析法の真の性能が、 $\delta = 2\%$ 、 $\sigma = 4\%$ である  
357 場合、この分析法の性能は、図 3の赤いシンボルのようにプロットされ、「分析結果が真値  $\pm$   
5%の区間に含まれる確率は 70 ~ 75%である」ということがわかる。

358

359



360

361

362

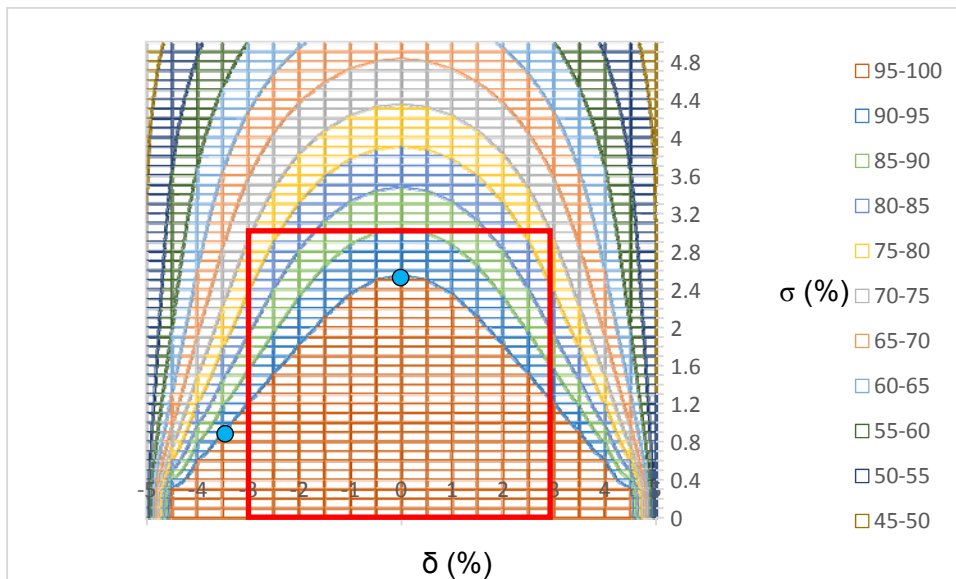
図 3 定量法の真度、精度と分析法の性能の関係

363 3 従来の分析法バリデーションの判定基準との比較

364 従来の分析法バリデーションの判定基準は、真度と精度を別個に規定している。例えば、判定  
365 基準として「真度として真値  $\pm 3.0\%$ 以内かつ精度として  $3.0\%$ 以下の標準偏差」を設定する。こ  
366 の判定基準を図 3 に重ね書きすると、図 4 の赤い実線で囲まれた領域になる。この領域内の  
367 真度及び精度の組み合わせをもつ分析法はすべて分析法バリデーションの判定基準に適合す  
368 ると判定されるが、分析値が  $95 \sim 105\%$ の区間に含まれる確率は、 $75 \sim 100\%$ と非常に広い範  
369 囲で変化することがわかる。また、図 4 の青いシンボルは、いずれもその分析値が  $95 \sim 105\%$   
370 に含まれる確率が  $95\%$ である分析法に対応しているが、従来の分析法バリデーション基準に基  
371 づけば、一方は適合、他方は不適合と判定される。

372 以上のように、報告書に記載された統計モデルに基づく ATP の設定は、従来よりも合理的に  
373 分析法の性能を規定できるものと考えられる。

374



375

376

377

図 4 従来の分析法バリデーション基準との比較

378 4 真度及び精度の区間推定と ATP

379 これまでの議論において、分析法の本当の真度及び精度が既知であるとして考察を進めてき  
380 た。しかしながら、通常は分析法の真の性能は不明であり、分析法バリデーションなど限られた  
381 実験から得られる推定値をもとにして分析法の性能を評価している。

382 具体的に、小標本から分析法の真度及び精度を推定する場合について解説する。添加回収  
383 実験などにより分析法の真度を評価し、 $x_1, x_2, \dots, x_n$ なるデータが得られたとする。分析法の  
384 真の真度はこれら $x_1, x_2, \dots, x_n$ なるデータを生み出す母集団の平均値、すなわち母平均 $\mu$ であ  
385 るが、有限回の実験から $\mu$ を知ることはできない。従って、有限回の実験の結果より構成される  
386 標本から $\mu$ を推定しなければいけない。

387 データ $x_1, x_2, \dots, x_n$ の平均(標本平均)は以下の式で与えられる。

388

389 **式 4**  $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$

390

391  $\bar{x}$ は母平均 $\mu$ の不偏推定量であり、真度を評価する指標となるが、ある実験により得られた値  
392 の一つにすぎない。ある実験において ATP に適う $\bar{x}$ が得られても、別の実験では異なる $\bar{x}$ が得ら  
393 れる。つまり、単に不偏推定値に基づいて分析法の性能を評価した場合には、実験の不確かさ  
394 が考慮されていないことになる。

395 そこで、区間推定によって $\bar{x}$ の信頼区間を考慮して評価する必要がある。

396

397 信頼区間とは、着目するパラメータの値を、実験データに基づいて区間の形式で推定したもの  
398 であり、信頼区間がパラメータの真値を含む確率を信頼水準または信頼度という。たとえば、あ  
399 る分析法の真度を実験的に評価し、信頼水準 95%の信頼区間(95%信頼区間)を求めた場合に  
400 は推定される区間の 95%には、分析法の真の真度(真度の真値)を含んでいることを表してい  
401 る。

402 平均値の推定のための自由度が $n$ のとき、標準偏差未知の母平均 $\mu$ の $P\%$ 信頼区間は以下の  
403 式より求められる。

404

405 **式 5**  $\bar{x} - t\left(n - 1, \frac{100 - P}{100}\right) \frac{s}{\sqrt{n}} \leq \mu \leq \bar{x} + t\left(n - 1, \frac{100 - P}{100}\right) \frac{s}{\sqrt{n}}$

406

407 ここで、 $t\left(n - 1, \frac{100 - P}{100}\right)$ は自由度 $n - 1$ の $t$ 分布の両側 $100 - P\%$ 分位点のうちの正の値を表す。  
408 標本標準偏差  $s$  は標準偏差の不偏推定量であり、次式で与えられる。

409

410 **式 6**  $s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\mu - x_i)^2}{n - 1}}$

411

412 真度と同様の理由で、精度の信頼区間を評価する必要がある。標本標準偏差  $s$  の推定のた  
413 めの自由度が $n - 1$ のとき、母標準偏差  $\sigma$  の  $P\%$ 信頼区間は、

414

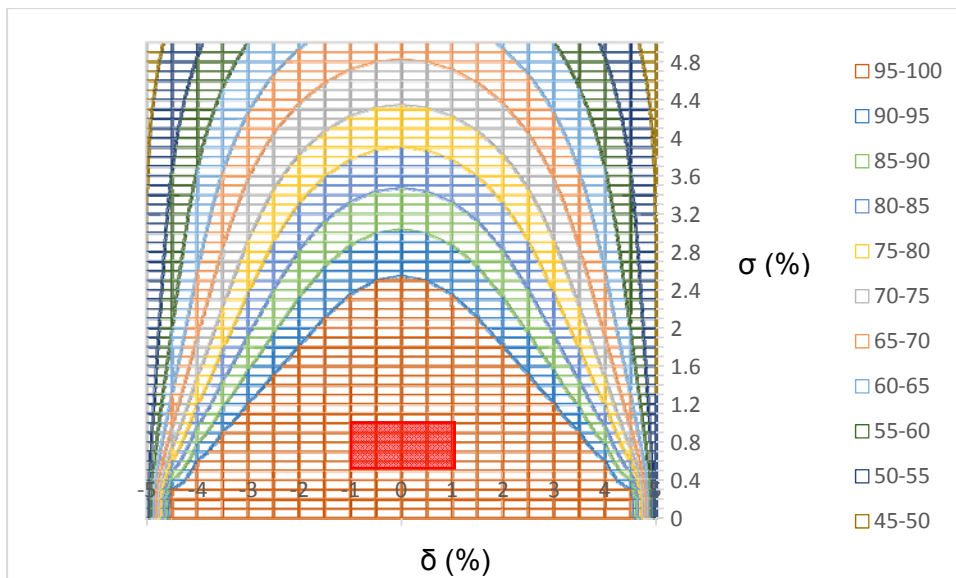
415 **式 7**  $\sqrt{(n - 1) \frac{s^2}{\chi^2(n - 1, (100 - P)/200)}} \leq \sigma \leq \sqrt{(n - 1) \frac{s^2}{\chi^2(n - 1, 1 - (100 - P)/200)}}$

416

417 ここで、 $\chi^2(n - 1, (100 - P)/200)$ は自由度 $n - 1$ の $\chi^2$ 分布の $(100 - P)/200\%$ 分位点を、  
418  $\chi^2(n - 1, 1 - (100 - P)/200)$ は自由度 $n - 1$ の $\chi^2$ 分布の $1 - (100 - P)/200\%$ 分位点をそれぞ  
419 れ表す。

420 1回の分析法バリデーションの結果から、式 5 及び式 7 から真度及び精度の信頼区間の組  
 421 み合わせで構成される平面が得られる。例えば、真度の 95%信頼区間が偏りとして-1.0 ~  
 422 +1.0%、精度の 95%信頼区間が標準偏差として 0.50 ~ 1.0%と推定されたとすると、これら信  
 423 頼区間で構成される平面は図 5 の赤い網掛けの領域のようになる。繰り返し分析法バリデーシ  
 424 ョンを行い、信頼区間から構成される平面を作成するとき、それらの約 90% ( $0.95^2 = 0.9025$ ) は  
 425 分析法の真の真度及び精度を共に含むことになる。従って、1回の分析法バリデーションから作  
 426 成される平面の全領域がATPの規定する領域に含まれるとき、その分析法はATPに適うもので  
 427 あると判断してもよいと考えられる。

428 そのため、真度及び精度についてそれぞれの  $100 \times \sqrt{\frac{P}{100}}$  %信頼区間を推定し、ATPに適う性  
 429 能を有しているか評価する必要がある。これにより、分析法バリデーションで作成される平面の  
 430 P%が真度と精度両方の真値を含むことになる。  
 431



432  
 433  
 434

図 5 定量法の真度、精度と分析法の性能の関係

435 解説 2: CNX による要因の分類について

436 特性要因図によってリストされた要因について、それぞれの要因の特性に応じて、適切に管理す  
437 ることが可能な要因 C、管理することが難しく分析結果に影響を及ぼす要因 N、分析結果への  
438 影響度について実験的な検証が必要な要因 X に分類し、適切な対応を行うことによって、バラ  
439 ツキの少ない再現性のある分析結果を得ることを目的とした手法。N や X に分類された要因は、  
440 適切な対応や検証をすることによって、要因 C と同様に適切に管理する、もしくは、その影響を  
441 低く抑えることにより、再現性ある分析結果をもたらすことにつながる。

442

#### 443 要因 C (Controllable or Constant)

444 適切に管理されている、もしくは管理することにより分析結果への影響を抑えることができる要因。  
445 固定値を設定する等、適切な管理を行うことによってバラツキのない再現性のある結果をもたら  
446 すことができる。

447

#### 448 要因 N (Not controllable or Noise)

449 管理することが難しい、もしくは固定値を設定して管理したとしても分析結果に対しての影響が大  
450 きいため、その影響を低減するための対策を施すことが求められる要因。対策を施すことによ  
451 って、分析結果のバラツキを抑え、再現性を保つことが期待される。適切に管理するためには  
452 多くの労力や費用を要することもある。

453

#### 454 要因 X (eXperimental)

455 分析結果の影響の度合いについて不明、もしくはさらなる実験的な検証が必要な要因。検証結  
456 果に基づいて適切な固定値、もしくは範囲を設定することにより、分析結果のバラツキを抑え、再  
457 現性を保つことが期待される。要因の実験的な検証をするためには、実験計画法等を用いて  
458 複数の要因との交互作用についても検証することが推奨される。

459