

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19590045

研究課題名（和文）製剤設計最適化のためのインシリコ予測技術の開発

研究課題名（英文）Development of in silico prediction technique for pharmaceutical design and optimization

研究代表者

高山 幸三 (TAKAYAMA KOZO)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：00130758

研究成果の概要（和文）：

薄板スプライン補間を組み込んだ非線形応答曲面法 RSM-S を開発し、長期徐放マトリックス製剤の処方設計最適化に適用した。またブートストラップ法 (BS) による最適解の信頼区間の推定を試みた。その結果、主薬を長期にわたり一定速度で放出する製剤の調製条件を最適化することができた。また BS により推定された最適解の信頼区間は実測値とよく一致した。以上より製剤設計における RSM-S および BS の有用性が示された。

研究成果の概要（英文）：

A nonlinear response surface method incorporating thin-plate spline interpolation (RSM-S) was developed and applied to the designing a sustained release matrix tablet formulation. A bootstrap (BS) resampling method was employed to estimate confidence intervals of the optimal solution. As a result, the matrix tablet formulation with a constant release rate of the active ingredient for a long period was successfully optimized using RSM-S and the confidence interval of the optimal solution was adequately evaluated using BS.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：製剤設計、最適化、スプライン、ブートストラップ

1. 研究開始当初の背景

製剤設計には多くの設計変数が複雑に関与する。また有効性や安全性に関わる複数の製剤特性を同時に満たす最適解の推定が求められる。しかしながら複雑系の最適化問題では、一因子型の実験を繰り返しても最適解を推定することは困難である。これは設計変数間の交互作用が無視できないことや製剤

特性に対して設計変数が非線形な影響を及ぼす場合が多いことによると考えられる。従来、交互作用を同定するために実験計画法や応答曲面法が活用されてきた。しかし、その解析手段の本質は分散分析と重回帰分析であり、これらの手法で実用に耐える最適解を高精度に推定し得るとは言い難い。実際製剤の最適化問題を解決するためには、設計変数

と製剤特性間の因果関係を高精度に近似可能な新たな方法論の開発が重要である。また製剤特性の要求スペックを満たすデザインスペースを正しく設定するという観点から、最適解の信頼区間を正しく推定する手法の開発が必要である。本研究開始当時より、実際製剤の設計最適化に適用可能な設計支援システムの開発が強く望まれてきた。

2. 研究の目的

製剤設計支援システムにおける最も重要なプロセスは設計変数と製剤特性間の相関モデルの同定である。本研究では観測データに誤差が含まれる場合にも真の因果関係を高精度に近似可能な手法として多次元薄板スプライン補間の活用を試みた。多次元薄板スプライン補間は重調和スプラインによる曲面推定と線形多項式による薄板推定の和として得られる多次元データの曲面補間技術である。本研究では重調和スプライン補間と線形多項式による薄板推定の寄与を自動推定可能な汎用性に富むソフトウェアの開発を試みた。従来の RSM は線形手法であり、一般的な統計量を用いて最適解の信頼区間を推定することができる。一方、多次元薄板スプラインのような非線形手法では、最適解の点推定は可能ではあるものの、信頼性評価の方法は未開発であり、現状では最適解の信頼性を客観的に評価することができない。そこで本研究では標本最抽出法を駆使した全く新規な非線形最適解の信頼区間推定法の確立を試みた。

上記により開発した最適設計支援システムの有用性を検証するために、ジルチアゼム塩酸塩 (DTZ) を長期にわたり徐放するマトリックス型製剤の設計を行った。モデル薬物として選択した DTZ は水に易溶性であり、またカチオン性薬物であるため、溶出液の pH によって放出挙動が大きく変化する。本研究では製剤化が困難な事例として、DTZ 長期徐放マトリックス製剤を選択し、最適設計支援システム及び最適解評価法の有用性を評価した。

3. 研究の方法

設計変数と製剤特性間の関数関係を高精度に近似するために多次元薄板スプライン補間 (TPS) を活用し、TPS の組み込まれた非線形応答曲面法 RSM-S を開発した。TPS では重調和スプラインによる曲面補間と線形多項式による薄板推定の和が用いられるが、両者の重みを自動推定するために、汎化交差検証法 (GCV) を導入した。GCV を用いることで、実験データの曲面補間が全自動化されるため、客観性に優れる応答曲面を得ることができる。最適解の信頼区間推定には、標本最抽出法よりブートストラップ (BS) 法を採用し

た。BS は標本の復元抽出を多数回行うことで、信頼区間を推定する方歩であり、ノンパラメトリック手法に分類される。本研究では、BS 法で得られた最適解の密度分布に着目し、パーセンタイル法を適用して、最適解の信頼区間を推定する手法を考案した。

モデル製剤としてジルチアゼム塩酸塩

(DTZ) を含有する経口徐放性マトリックス製剤を調製した。マトリックスの構成成分には、アニオン性及びカチオン性デキストラン誘導体 (DS 及び EA) を用いた。DS と EA を適当な割合で混合し圧縮成型した錠剤を水中に投じるとポリオンコンプレックスを形成して不溶化する。さらに優れたゲル化能を有するヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) を加えることで、DS と EA が形成する網目構造内に浸入した水分により HPMC がゲル化して DTZ の長期徐放化を達成する。DTZ はカチオン性の薬物であり、アニオン性の DS と化学的な相互作用により結合することが考えられる。また放出液として用いる酸性の第 1 液 (pH 1.2) と中性の第 2 液 (pH 6.8) 中では、ポリオンコンプレックスの形成量や HPMC のゲル化能、DTZ のイオン化度が大きく変化する。したがって、通常の実験方法で、放出液の pH に依らず安定で長期にわたり DTZ を一定の速度で放出する製剤を設計することは困難である。本研究では、DS、EA 及び HPC の配合量を設計変数とし、第 1 液及び第 2 液中での DTZ の放出挙動を製剤特性とする最適化検討を RSM-S を用いて実施した。また、得られた最適解の信頼区間を BS により推定した。

4. 研究成果

一例として、RSM-S により作成した第 1 液及び第 2 液中 24 時間後の DTZ 放出率を応答曲面として図 1 及び図 2 に示す。

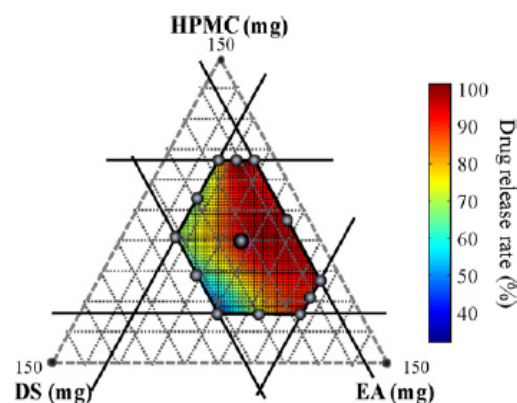


図 1. 第 1 液中 24 時間後の DTZ 放出率に及ぼすマトリックス構成成分の影響 (DS、EA 及び HPMC を成分とする応答曲面図)

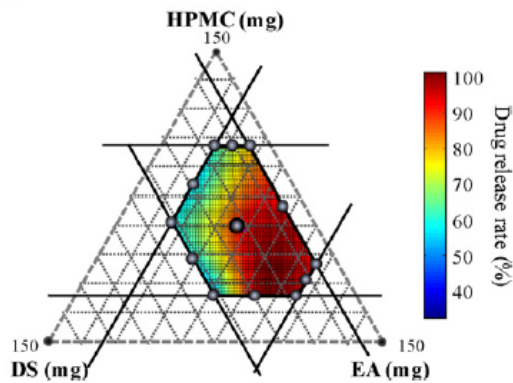


図2. 第2液中24時間後のDTZ放出率に及ぼすマトリックス構成成分の影響 (DS、EA及びHPMCを成分とする応答曲面図)

第1液と第2液での応答曲面は比較的良好一致し、3成分マトリックス錠剤からのDTZの放出は、放出液のpHの影響をほとんど受けないことが示唆された。またDSの多い処方ではDTZの放出が遅延し、DTZの放出をアニオン性デキストラン誘導体が抑制することが示された。

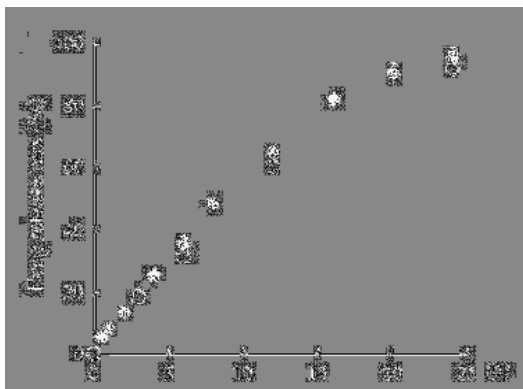


図3. 第1液中における最適処方からのDTZの放出挙動 (●; 実験値、○; 推定値)

RSM-Sの最適化機能を適用することによって、24時間にわたり一定の放出を示し、第1液と第2液での放出挙動が一致する処方を探した。その結果、最適処方としてDTZ=100.0 mgに対し、DS=38.1 mg、EA=62.1 mg、HPMC=49.8 mgが推定された。またBSを適用することにより最適解集合のヒストグラムを作成した。尖度と歪度を求めJarque-Bera検定によって正規性の検定を行った。その結果、いずれの設計変数も非線形予測を反映して正規分布からは大きく乖離し、パラメトリックな区間推定を行うことは不可能であった。このような場合にはノンパラメトリックな手法により最適解の区間推定を行う必要がある。本研究ではパーセントイル法を適用し95%信頼区

間を推定した。その結果、 $32.5 \leq DS \leq 43.8$ 、 $56.9 \leq EA \leq 68.0$ 、 $43.6 \leq HPMC \leq 56.5$ が得られた。

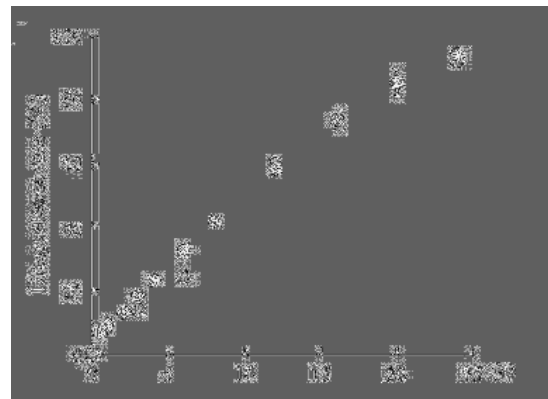


図4. 第2液中における最適処方からのDTZの放出挙動 (●; 実験値、○; 推定値)

図3及び図4に最適処方からのDTZの放出挙動を示す。第1液中及び第2液中におけるDTZの放出量の実測値は推定値と高度に一致している。また、図3と図4の放出曲線は互によく類似しており、DTZの放出性はpHの影響をほとんど受けないことが示された。

以上より、本研究で開発されたRSM-Sは他の多くの製剤設計に有効利用することができるものと考えられる。またBS法を活用することによって客観性に優れた最適解の信頼区間の推定が可能である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計23件)

- ① Y. Obata, Y. Ashitaka, S. Kikuchi, K. Takayama, A statistical approach to the development of a transdermal delivery system for ondansetron, *Int. J. Pharm.*, 399, 87-93 (2010), 査読有
- ② A. Yasuda, Y. Onuki, S. Kikuchi, K. Takayama, Self-organizing map analysis using multivariate data from theophylline powders predicted by a thin-plate spline interpolation, *J. Pharm. Sci.*, 99, 4535-4542 (2010), 査読有
- ③ K. Takagaki, H. Arai, K. Takayama, Creation of a tablet database containing several active ingredients and prediction of their pharmaceutical characteristics based on ensemble artificial neural networks, *J. Pharm. Sci.*, 99, 4201-4214 (2010), 査読有
- ④ Y. Onuki, S. Kikuchi, A. Yasuda, K.

- Takayama, Role of individual test samples in optimal solutions in pharmaceuticals predicted using a nonlinear response surface method, *Int. J. Pharm.*, 396, 75-82 (2010), 査読有
- ⑤ Y. Onuki, K. Takayama, Phase behavior in a ternary lipid membrane estimated using a nonlinear response surface method and Kohonen's self-organizing map, *J. Col. Int. Sci.*, 343, 628-633 (2010), 査読有
- ⑥ S. Kikuchi, K. Takayama, Multivariate statistical approach to optimizing sustained-release tablet formulations containing diltiazem hydrochloride as a model highly water-soluble drug, *Int. J. Pharm.*, 386, 149-155 (2010), 査読有
- ⑦ H. Arai, T. Suzuki, C. Kaseda, K. Takayama, Effect of an experimental design for evaluating the nonlinear optimal formulation of theophylline tablets using a bootstrap resampling technique, *Chem. Pharm. Bull.*, 57, 572-579 (2009), 査読有
- ⑧ S. Kikuchi, K. Takayama, Reliability assessment for the optimal formulations of pharmaceutical products predicted by a nonlinear response surface method, *Int. J. Pharm.*, 374, 5-11 (2009), 査読有
- ⑨ Y. Onuki, M. Nishikawa, M. Morishita, K. Takayama, Development of photo-cross-linked polyacrylic acid hydrogel as an adhesive for dermatological patches: Involvement of formulation factors in physical properties and pharmacological effects, *Int. J. Pharm.*, 349, 47-52 (2008), 査読有
- ⑩ Y. Onuki, K. Ohyama, C. Kaseda, H. Arai, T. Suzuki, K. Takayama, Evaluation of the reliability of nonlinear optimal solutions in pharmaceuticals using a bootstrap resampling technique in combination with Kohonen's self-organizing maps, *J. Pharm. Sci.*, 97, 331-339 (2008), 査読有
- ⑪ H. Arai, T. Suzuki, C. Kaseda, K. Takayama, Bootstrap re-sampling technique to evaluate the optimal formulation of theophylline tablets predicted by nonlinear response surface method incorporating multivariate spline interpolation, *Chem. Pharm. Bull.*, 55, 586-593 (2007), 査読有
- の最適化、日本薬学会第 130 年会、2010 年、3 月 28 日、岡山
- ② 安田昭仁、大貫義則、高山幸三、自己組織化マップとベイジアンネットワークを利用したテオフィリン錠剤処方 の潜在構造モデリング、日本薬学会第 130 年会、2010 年、3 月 28 日、岡山
- ③ 高垣恵介、荒井宏明、高山幸三、アンサンブルニューラルネットワークによる錠剤処方 の特性予測:データベースの拡充と新規アルゴリズムの導入、日本薬学会第 130 年会、2010 年、3 月 28 日、岡山
- ④ 川合翔太、菊地伸吾、高山幸三、錠剤処方 データベースの構築と一般回帰ニューラルネットワークによる特性予測、日本薬剤学会第 25 年会、2010 年 5 月 12 日、徳島
- ⑤ 菊地伸吾、大貫義則、高山幸三、ジルチアゼム塩酸塩放出制御型製剤における設計変数-内在因子-製剤特性の構造分析、日本薬剤学会第 25 年会、2010 年 5 月 12 日、徳島
- ⑥ 林祥弘、菊地伸吾、高山幸三、ベイジアンネットワークを用いた固体分散体の設計変数と製剤特性間のモデル化、日本薬剤学会第 25 年会、2010 年 5 月 12 日、徳島
- ⑦ 大貫義則、菊地伸吾、安田昭仁、高山幸三、ブートストラップ法と Kohonen の自己組織化マップを併用した非線形同時最適解の信頼性評価方法:同時最適解における個々の実験点の寄与、日本薬剤学会第 25 年会、2010 年 5 月 12 日、徳島
- ⑧ K. Takayama, Novel statistical approach in pharmaceutical formulation development, 2010 FIP Pharmaceutical Sciences World Congress (PSWC), November 14, 2010, New Orleans, U. S. A.
- ⑨ S. Kikuchi, K. Takayama, A novel statistical method to setup the design space for the optimal formulations of pharmaceutical products, The 2nd Joint Symposium on Future Prospect of Pharmaceutical Sciences 2009, October 29, 2009, Tokyo, Japan.
- ⑩ H. Arai, T. Suzuki, H. Nakagami, C. Kaseda, K. Takayama, Effect of an experimental design for evaluating the nonlinear optimal formulation of theophylline tablets using a bootstrap resampling technique, 2009 AAPS Annual Meeting and Exposition, November 8, 2009, Los Angeles, U. S. A.
- ⑪ 高垣恵介、荒井宏明、高山幸三、錠剤処方 データベースの構築とアンサンブルニューラルネットワークによる特性予測、日本薬学会第 129 年会、2009 年 3 月 26 日、京都
- ⑫ 安田昭仁、大貫義則、荒井宏明、高山幸三、

[学会発表] (計 39 件)

- ① 高山幸三、計量薬学的手法による製剤処方

薄板スプライン補間と自己組織化マップを利用した固形製剤処方の特徴クラスタリング、日本薬学会第129年会、2009年3月26日、京都

- ⑬ 菊地伸吾、高山幸三、ジルチアゼム塩酸塩長期徐放システムの最適設計、日本薬剤学会第24年会、2009年5月21日、静岡
- ⑭ 菊地伸吾、高山幸三、モンテカルロシミュレーションによる製剤処方非線形最適解の信頼性評価、日本薬学会第128年会、2008年3月26日、横浜
- ⑮ 大貫義則、高山幸三、脂質ラフトの形成機構解明を目的とした脂質二重膜モデルの膜物性評価、日本薬学会第128年会、2008年3月26日、横浜
- ⑯ K. Takayama, Computer-aided design and optimization for pharmaceutical formulations, The 3rd Annual Pharmaceutical Sciences World Congress, April 22, 2007, Amsterdam, The Netherlands

[図書] (計3件)

- ① 宮嶋勝春、高山幸三、技術情報協会、造粒・打錠プロセスにおける適正操作とトラブル対策ノウハウ集 第7章 実験計画法による製剤の処方設計・最適化、2010年、347頁(217-249)
- ② 小幡誉子、高山幸三、情報機構、最新・経皮吸収～開発の基礎から申請のポイントまで～ 第2章 経皮吸収型製剤の製剤設計、2008年、296頁(40-64)
- ③ 高山幸三、エルゼビア・ジャパン、基礎から学ぶ製剤化のサイエンス 第1章 物質の溶解、2008年、335頁(1-21)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高山 幸三 (TAKAYAMA KOZO)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：00130758