

《若手研究者紹介》



統計技術を駆使した製剤設計

林 祥 弘* Yoshihiro Hayashi

富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）製剤設計学講座

1. はじめに

「研究をしたいか」という問いを投げかけられたのは、私が学部3年の頃である。熱中していた部活を引退し、そろそろ進路を決めなければ…と悩んでいた時期でもある。「研究」という漠然としたイメージに惹かれ、大塚誠教授（武蔵野大学製剤学研究室）に「研究をしたい」ことを伝えた。私にとって幸運だったことは、製剤研究ができたことに加え、大塚先生がとにかく面倒見の良い先生だったことだ。研究面はもちろん、進路や国家試験の相談も頻繁にさせていただいた。当時はあまり気が回らなかったが、今思えばとてもご多忙だったのにもかかわらず、学生のために多くの時間を割いてくださっていたのだから、未だに頭が上がりません。

それからおよそ9年がたち、現在、私は富山大学製剤設計学講座に所属している。その間に、本稿では書ききれないほど、さまざまな方々に出会い、励まされ、刺激を受けながら製剤研究に携わることができた。大学院生の頃、指導教官だった高山幸三教授（星薬科大学薬剤学教室）からは、特に多くのことを学んだ。ご迷惑をおかけしたことは数えきれない。1つ例を挙げるなら、それは論文の出来事である。私が初めて執筆した英語論文を高山先生に提出した際、真っ黒に修正されて返って来た。申し訳な

く思う一方で嬉しかった。その原稿は今でも大切に保管してある。

博士課程では、SNPEE（薬剤学会学生主催シンポジウム）に関わることができた。全国の薬剤系研究室に所属する先輩・同期・後輩と一緒に仕事をした。全国の大学をより身近に感じるとともに、薬剤分野の広さや研究室の多様性を感じることができた。大学院卒業後は、小野薬品工業株式会社に1年間勤めた。会社には、バックグラウンドの異なる多種多様な人がおり、創薬における製剤の立ち位置や役割を多角的な視野から学べた。

現在の上司でもある大貫義則客員教授（富山大学製剤設計学講座）とは、大学院生の頃からお世話になっており、研究のことから結婚のことまで様々な相談をさせていただいた。研究に対する誠実でストイックな姿勢は、お手本そのものだ。例えば、発表時間の長いプレゼンテーションでも何度も練習を行うなど、綿密な準備を決して怠らない。大貫先生から学ぶべき点は本当に多く、全く底が見えない。

研究の1つの醍醐味は、日本中・世界中の人たちと繋がりを持てる点だ。研究をしていなければ、これほど多くの出会いは得られなかった。このような出会いがあったからこそ、「研究をしたい」という気持ちが続いたのだろう。

本稿では、私が大学院生の頃に担当していた研究テーマ、すなわち高山先生のご指導の下に行っていた内容の一部を紹介する。

2. 序 論

最適な製剤の製造条件は、配合する原薬の種類と量によって大きく変化する。そのため、医薬品候補

*2009年武蔵野大学薬学部卒業。2014年星薬科大学大学院博士課程修了。その後、小野薬品工業株式会社に1年間、製剤研究に従事した後、2015年より富山大学製剤設計学講座に客員助教として着任。研究テーマ：製剤設計。モットー：よく学び、よく遊べ。趣味：テニス、水泳、ゲーム、観光。連絡先：〒930-0194 富山市杉谷2630 E-mail: hayashi@pha.u-toyama.ac.jp

化合物が創出されるたびに、例えば錠剤であれば十分な強度、溶出性、含量均一性、製造性、保存安定性などの要求スペックを全て満たす製剤を、長期間安定に製造できる処方製法を決定する必要がある。設計変数と製剤の重要品質特性 (Critical Quality Attributes, CQA) の関係は複雑であるため、最適な製造条件を確立するためには多くの時間とコストを要する。

2004年、日米EU医薬品規制調和国際会議(ICH)により、次世代の製剤開発手法として製剤開発ガイドライン(Q8)が公表された。これにより、製剤品質に対して客観的かつ合理的な根拠を付与する、Quality by Design (QbD) が求められるようになった。QbDを実現させるためには、従来の経験的な判断だけでなく統計学的手法を適用することが必要である。CQAには多くの因子が複雑に関与するため、重回帰分析や2次多項式など従来の統計手法では設計変数と製剤特性の関係を十分に近似できず、実用に耐えられないことが多い。薄板スプライン補間を利用した非線形応答曲面法(Response Surface Method with Spline Interpolation, RSM-S)であれば、設計変数-製剤特性間の非線形性を、従来手法よりも高精度に近似できる。しかし、RSM-Sのような非線形手法では、デザインスペース(DS)境界の信頼性を評価する方法が確立されていないことや、予測がブラックボックス化して内部構造が不明瞭になることなどの問題がある。また、統計学に基づいた製剤設計システムは、実際の製剤設計に関する有益な情報を得られるものの、製造プロセスをメカニズムベースで理解するためには限界がある。そこで、これらの問題点の克服を目標とし、QbDに基づく製剤設計手法の開発を試みた。

3. RSM-S およびブートストラップ(BS)法の併用による非線形デザインスペース(DS)の信頼性評価¹⁾

QbDの達成には、デザインスペース(DS)の設定が重要となる。DSは『品質が保証されることが実証された原薬・添加剤の特性と工程パラメータの多次元的な組合せ・相互関係であり、このスペース内で操作することは変更とは見なされない』と定義されている。DSの設定には、RSMを適用する手法が提案されており、RSM-Sを適用することで、従来

よりも高精度なDSを設定できると考えられる。しかしながら、非線形DS境界の信頼性を客観的に評価する手法は確立されていない。一方で、RSM-Sにより推定された最適解および応答曲面の信頼性評価にBS法が有効であることが明らかになっている。そこで、本研究では、BSを適用し、RSM-Sにより予測された非線形DS境界の信頼性評価を試みた。

モデル製剤として標準処方を参考にインドメタシン製剤を直接圧縮法により作製した。設計変数としてラクトース(LAC)、コーンスターチ(CS)、結晶セルロース(MCC)を選択し、混合系実験計画に割り付け、計9処方からなる錠剤を作製した。製剤特性として硬度および30分後の溶出率を選択し、RSM-Sにより応答曲面を作製した。硬度は、MCCを多く配合した処方ですべて高い値を示した。加速試験後は全体的に硬度の上昇がみられたが、加速試験前と同様にMCCが多い処方でも高い値を示した。その一方で、30分後の溶出率(D₃₀)はMCCの多い処方ですべて低くなる傾向がみられた。加速試験後、いずれの処方でも溶出性は大きく低下した。加速試験後は、錠剤調製時と比較して大きく曲面が変化し、CS配合量の少ない処方でもD₃₀が低くなる傾向がみられた。また、実測値とモデルによる予測値のプロットより、いずれの場合においても重回帰分析よりRSM-Sの方が良好なモデルを示し、より高精度なDSを設定できることを確認した。

RSM-Sより得られた応答曲面を基に、錠剤調製時ならびに加速試験後に硬度が3 kgf以上かつ30分後の溶出率が70%以上の条件を満たす領域を本製剤のDSとし、硬度・溶出性・保存安定性を担保したDSを設定した。次に以下に示す手順で、BS法を用いてDS境界の信頼区間を算出した。まず、無作為に実験点の再抽出を行ったBSサンプルセットを500個作成した。次に、500個のBSサンプルセットにRSM-Sを適用し、それぞれのDS境界を算出し、境界の母集団を推定した。そして、その母集団の95%信頼区間をオリジナルDS境界の信頼区間とした。

Fig. 1に、算出したDSを示した。DS境界の信頼幅は境界の中心部分ほど小さく、末端に近づくにつれて大きくなる傾向がみられた。これは、実験領域の中心部分ほど応答曲面の信頼性が高いことに起因していると考えられる。各成分の許容範囲は、LAC:

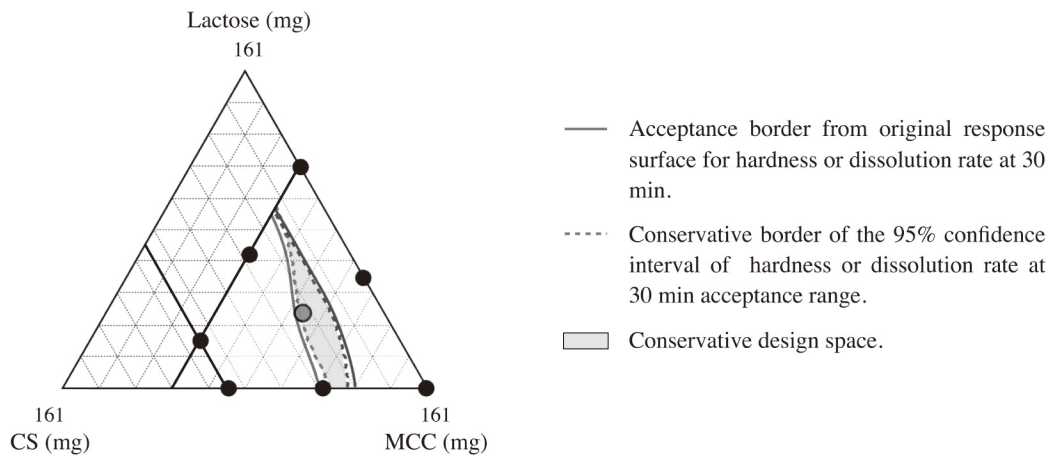


Fig. 1. Conservative design space comprising superimposed individual design spaces for hardness and dissolution rate at 30 min for the relevant 95% CIs (reused from reference 1).

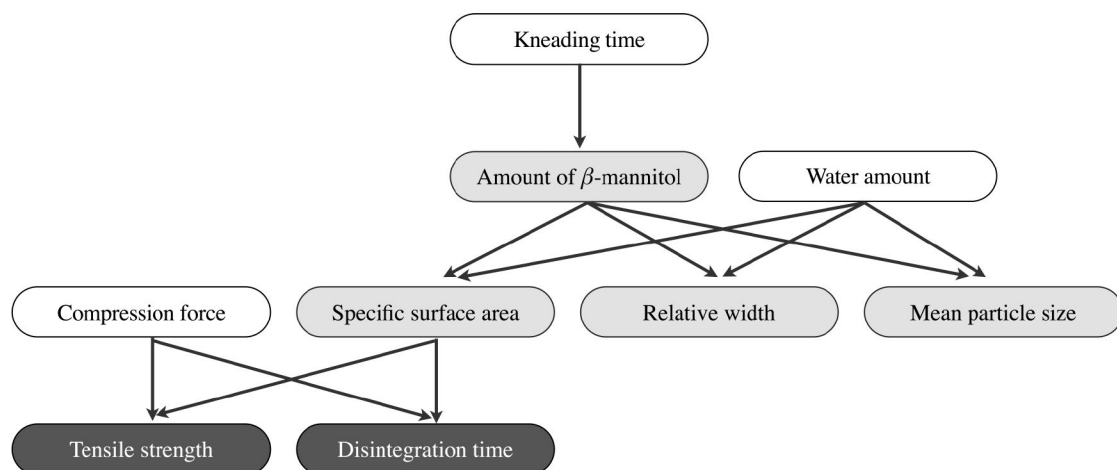


Fig. 2. Bayesian network model of the latent structure among process parameters, granule properties, and responses of tablets estimated using the K2 algorithm (reused from reference 2).

0–55%, CS : 14–26%, MCC : 36–77% となった。CS 配合量の許容幅は他の 2 変数と比較して半分以下になり、CS 配合量は錠剤特性に対して最も強く影響することが示された。

4. 口腔内崩壊錠における 設計変数-顆粒物性-錠剤特性の構造分析²⁾

QbD を達成する上で重要工程変数 (Critical Process Parameter, CPP) および重要物質特性 (Critical Material Attribute, CMA) を決定することが重要である。しかし、錠剤設計では多くの因子が複雑に関与するためこれらを明確にすることは困難である。そこで、ベイジアンネットワーク (BN) を用いて設計変数-顆粒物性-錠剤特性間の構造分析を試みた。BN モデルは因子間の因果関係を確率モデルとして

可視化する手法であり、様々な分野で応用されている。

湿式顆粒圧縮法によりマンニトールを含有する口腔内崩壊錠をモデル錠剤として作製した。また、中間品の品質物性として顆粒物性を、最終製品の品質物性として錠剤特性の測定を行った。設計変数として攪拌造粒における水分添加量および練合時間、ステアリン酸マグネシウム配合量、打力の 4 因子を選択した。これらを Box-Behnken 計画に割付け、27 種類の錠剤を作製した。顆粒物性として全マンニトールに対する β 型マンニトールの比率、比表面積、平均粒子径、粒度分布相対幅を、錠剤特性として硬度および崩壊時間を測定した。

Fig. 2 に、構築した BN モデルを示した。なお、モデルの統計量 (正答率, 精度, 再現率, *F*-measure)

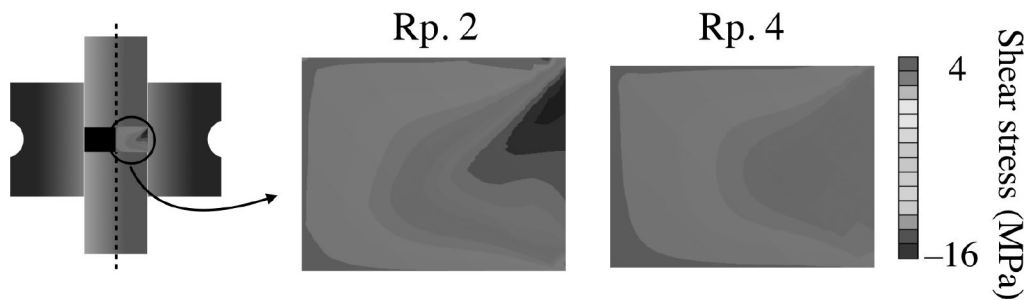


Fig. 3. Two-dimensional maps for the residual shear stress distribution of each tablet estimated using the FEM.

はいずれも優れた値を示し、良好なモデルが構築されたことを確認した。構築したモデルより、 δ -マンニトールの結晶転移により生成される β -マンニトール量は練合時間に大きな影響を受け、他の顆粒物性に影響を及ぼすことが明らかとなった。また、比表面積は β -マンニトール量に影響を受けるとともに、硬度及び崩壊時間に影響を及ぼすことが示唆された。

構築されたBNモデルから β -マンニトール量が重要な因子であることが推測されたため、次に、 β -マンニトール量とその他の因子の定量的な関係を評価するために確率推論を行った。すなわち、事前確率として β -マンニトール量が低く、打力が中程度である確率を100%として、他の因子の事後確率を求めた結果、練合時間、比表面積、引張強度、崩壊時間はいずれも低い値を示すことが示唆された。

以上より、BNを適用することで設計変数-顆粒物性-錠剤特性の構造を可視化し、さらに確率推論により因子間の定量的な評価もできることが示唆された。このように、BNは複雑な因果関係を可視化し重要な因子を抽出できるため、CQAと密接な関係にあるCPPおよびCMAを明確化する技術の1つとして有望である。

5. 有限要素法による錠剤内応力分布の推定³⁾

BNやRSM-Sなどの統計学的手法では、製剤の製造プロセスをメカニズムベースで理解する上で限界がある。そこで、実験による評価が困難な現象をコンピュータ上でシミュレーションする数値解析手法の1つである有限要素法(FEM)に着目した。近年、FEMにより打錠工程のシミュレーションを行うことで、錠剤内に残留する応力を推定し、得られた結果が実験値と良好に一致することが報告されている。本研究では、錠剤内応力分布をFEMにより

推定し、製剤特性に及ぼす影響を検討した。

ステアリン酸マグネシウムを1%含有し、LAC、CS、MCCの3成分の配合比が異なるモデル粉体を調製した。一面せん断試験および圧縮試験を行い、粉体の内部摩擦と塑性変形に関する物性を評価した。得られた結果を基にDrucker-Prager Cap(DPC)モデルを構築し、FEMシミュレーションによって、各処方錠剤内残留応力分布を推定した。一方で、実際に錠剤を製し、硬度および崩壊時間の測定を行った。FEMシミュレーションでは、実際の打錠工程と同様に、粉体の充填・加圧・抜圧の流れをシミュレートした。なお、解析時間を短縮させるために軸対称平面モデルとした。

FEMによる解析の結果、残留応力はいずれの処方でも似た傾向の分布を示した(Fig. 3)。すなわち、せん断応力は、錠剤の上枠と臼のエッジ部分から錠剤の内側方向に沿って大きな圧力が発生していることが確認できた。これらは、錠剤が圧縮された後、弾性回復により比較的抵抗の少ない錠剤の上面部分の体積が増加したことや、錠剤内部の摩擦や臼壁との摩擦に起因している。大きなせん断応力の発生により、打錠障害(キャッピング)が発生することが報告されており、応力を均一化することが重要となる。それぞれの処方を比較すると、3種の賦形剤を等量含有した処方(Rp. 2)が最も不均一な応力分布を示した一方で、MCCとLACを7:3の比率で配合した処方(Rp. 4)が最も均一な応力分布を示した。また、残留応力と製剤特性の関係を評価するために、残留応力の代表値を要因とする重回帰分析を行った。その結果、錠剤内応力分布と各錠剤特性の関係がモデル化され、錠剤内応力分布が各錠剤特性に密接に関連することが明らかとなった。

6. お わ り に

BNを導入することで、CPPおよびCMAを明確にできることを示した。また、RSM-SおよびBSを組み合わせることで、信頼性を考慮した非線形DSの設定する手法を示した。そして、FEMを活用することで製剤特性に及ぼす錠剤内応力分布の影響を説明できることを明らかにした。これらの知見は、ICH Q8の提唱する次世代の品質保証システムを実現する上で、有用な基盤情報になるものと考えられる。

現在、私はブースティングツリー (BT) と呼ばれる機械学習の1つを用いて、原薬の物理化学的性質から錠剤特性の予測を試みている。すなわち95種類の原薬物性と錠剤特性の測定を行い、BTにより相関モデルを構築した後、予測精度の検証を行っている。これにより、原薬物性が錠剤特性に及ぼす相対的な寄与度を明らかにするとともに、配合する原

薬の物性がわかれば、試作せずにその錠剤特性を精度よく予測できるシステムの構築を目指している。現在のところ、あまり良い結果は出ていないが、多くの研究がそうであるように、Trial and Errorを繰り返すことで必ず実現させたい。

引 用 文 献

- 1) Y. Hayashi, S. Kikuchi, Y. Onuki, K. Takayama, Reliability evaluation of nonlinear design space in pharmaceutical product development, *J. Pharm. Sci.*, **101**, 333–341 (2012).
- 2) Y. Hayashi, E. Oshima, J. Maeda, Y. Onuki, Y. Obata, K. Takayama, Latent structure analysis of the process variables and pharmaceutical responses of an orally disintegrating tablet, *Chem. Pharm. Bull.*, **60**, 1419–1425 (2012).
- 3) Y. Hayashi, T. Miura, T. Shimada, Y. Onuki, Y. Obata, K. Takayama, Prediction of tablet characteristics from residual stress distribution estimated by finite element method, *J. Pharm. Sci.*, **102**, 3678–3686 (2013).