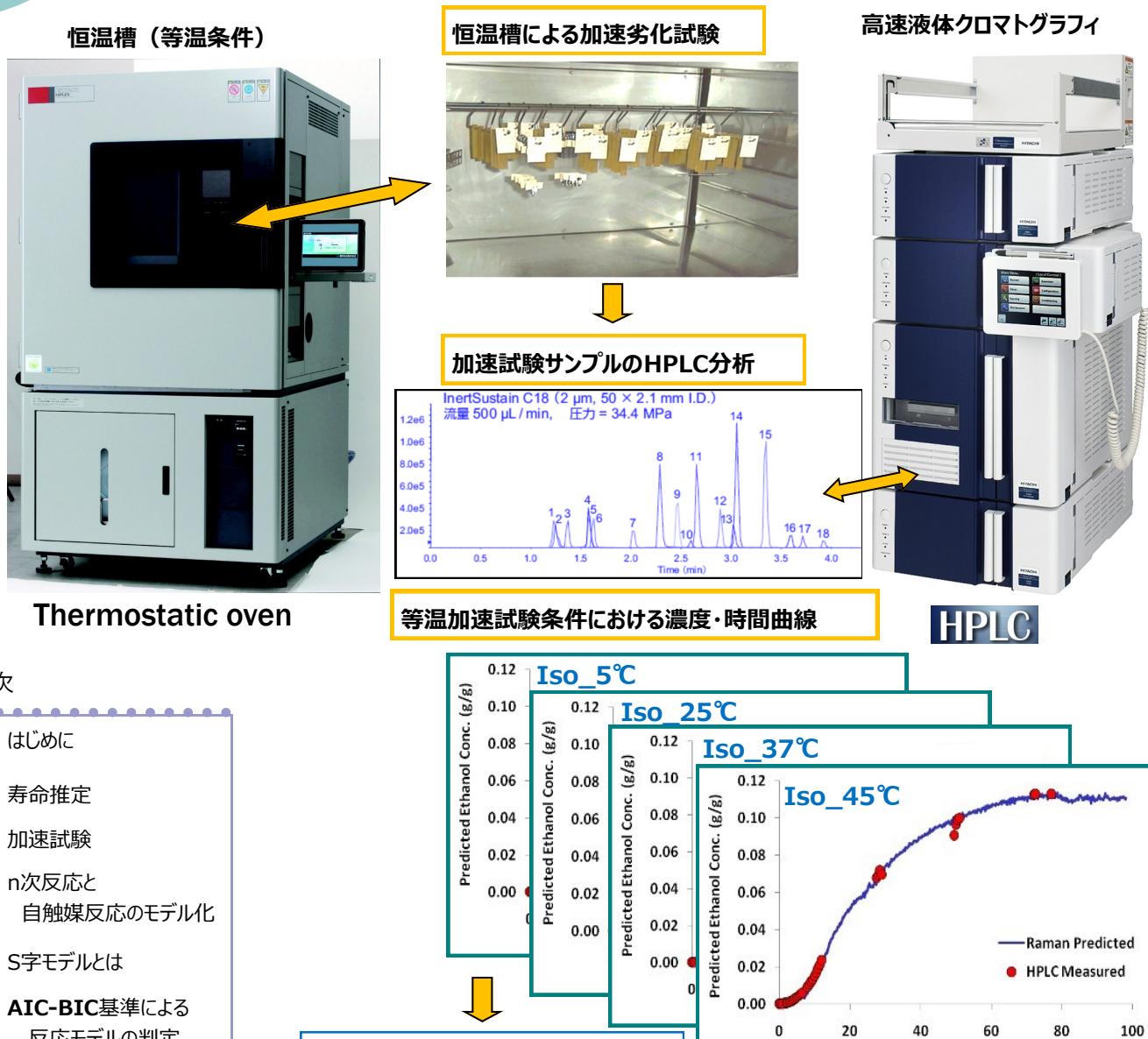


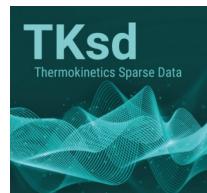
## Advanced Kinetic Modelling による寿命推定

1 : はじめに AKTS/TKsd はポリマー材料、高エネルギー物質・医薬品などの測定サンプルを恒温槽に収納し、加速試験を実施します。加速試験データは測定サンプルに含まれる特定物質の残存濃度や、引張り試験による破断強度データなどのさまざまな加速試験データがあります。これらの限定された、数少ない実測データを使って、反応モデル式を探査し、さまざまな温度・時間スケールで寿命推定することができます。今回、機能強化されたTKsd\_V7は、先進的動力学モデリング(Advanced Kinetic Modelling)ツールとして整合性のある反応モデル式を選定します。さらに得られたモデル式と実測データから、妥当性のある予測バンドを算出することにより、堅牢な寿命予測を可能としています。



## 目次

- 1 : はじめに
- 2 : 寿命推定
- 3 : 加速試験
- 4 : n次反応と  
自触媒反応のモデル化
- 5 : S字モデルとは
- 6 : AIC-BIC基準による  
反応モデルの判定
- 7 : ブートストラップ法による  
予測バンド95%の計算
- 8 : 寿命推定の7ステップ
- 9 : 寿命曲線の予測バンド
- 10 : TKsd\_テクニカル・ノート



加速試験による数少ない実測データから、数年あるいは10年先の寿命や劣化を正しく予測するためには？ TKsdソフトウェアが役に立ちます。  
なおTKsd ソフトウェアは Ver.6.04以前とVersion7.0以降で機能・仕様に大きな違いがあります。

## 2 : 寿命推定

医薬品の医薬製剤は数年間におよぶ長期保存安定性が要求されます。また武器弾薬類も長期間貯蔵されるため、推進薬や火薬では安全管理の上で寿命評価が必要となります。いずれも室温環境や気候温度条件下で10年あるいは数10年先の寿命評価が要求されます。

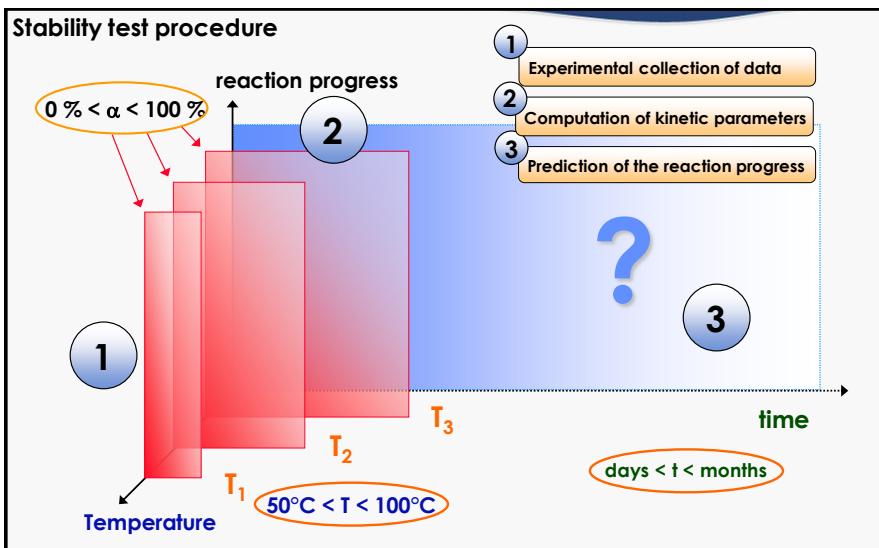


Fig-01 : 加速試験による劣化試験データの解析評価手順

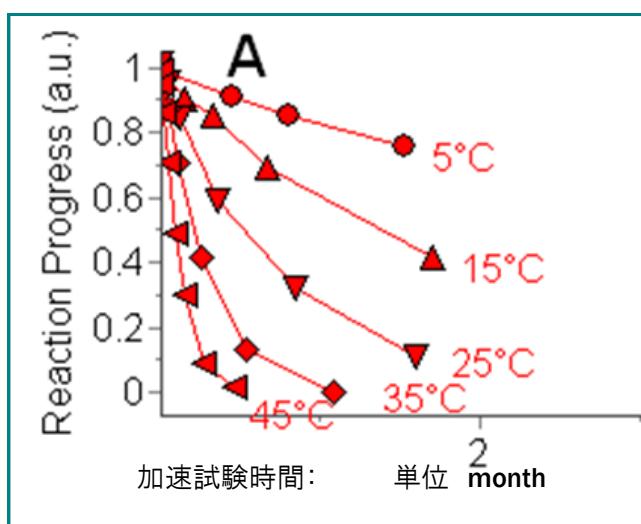


Fig-02: n次式の劣化反応プロセスの例

## Tips



医薬品分野では、小分子から生物由来製剤まで、製品形態やリスクに応じて寿命推定のニーズが極めて高くなります。とくに以下の領域で安定性評価・寿命予測が不可欠です。

小分子注射液は、pH依存性の加水分解や酸化反応が進行しやすく、とくにバイアルやプレフィルドシリンジの容器閉鎖系統(CCIT)影響を評価することが必要です。  
凍結乾燥品は再構成後の安定性も含める必要があります。

- バイオ医薬品は、一次構造はもちろん二次・三次・四次構造の維持が必須です。タンパク凝集や吸着による免疫原性リスクを避けるため、凍結乾燥／液状いずれも高次構造解析 (DSC, CD, SEC-MALS等) を施し、実時間保存データで寿命モデルを構築します。
- 液体注射用バイオ剤では、低温保管 ( $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ ) 下での長期保存が一般的です。輸送時の一過性温度上昇 (コールドチェーン逸脱) 時のシミュレーションや、サブビジブル粒子の増加予測が寿命推定に直結します。

## 3 : 加速試験

寿命推定手順は、Fig-01のように

①異なる等温条件  $50\sim 100^{\circ}\text{C}$  の範囲で、 $T_1, T_2, T_3$  における加速試験を行います。

②時間経過に伴う濃度変化データにより劣化プロセスの反応速度が得られます。このデータを使って、Kinetic/パラメータを算出します。



Fig-02は $5^{\circ}\text{C}\sim 45^{\circ}\text{C}$ まで $10^{\circ}\text{C}$ ステップの5段階で加速試験を行い、試料検体中の化学物質Aの濃度データをHPLCにより得て等温加速条件ごとにプロットしたものです。それぞれの温度で収集された濃度データは、各等水準で5~6点を越えない“数少ない”データ点数です。

劣化反応プロセスのモデル式とは？

Fig-02で示した劣化プロセスはn次式反応モデルです。もちろん曲線を見ただけで反応式が判断できる訳ではありません。寿命予測する場合、予め反応モデルが判明していることは少なく、ある反応モデルを仮定し、測定データにフィットする反応近似式を求めるのが普通です。反応近似式は得られるのですが、ベースとなる反応式はあくまで“経験的”に仮定されたものです。

#### 4 : n次反応と自触媒反応のモデル化

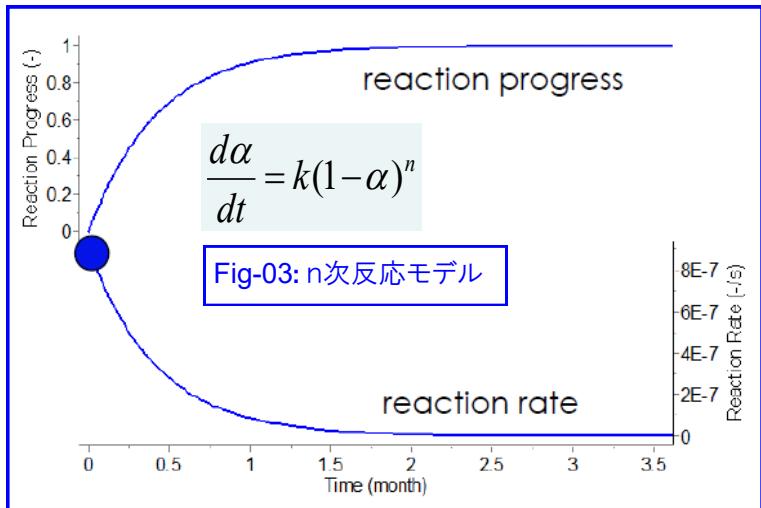


Fig-03

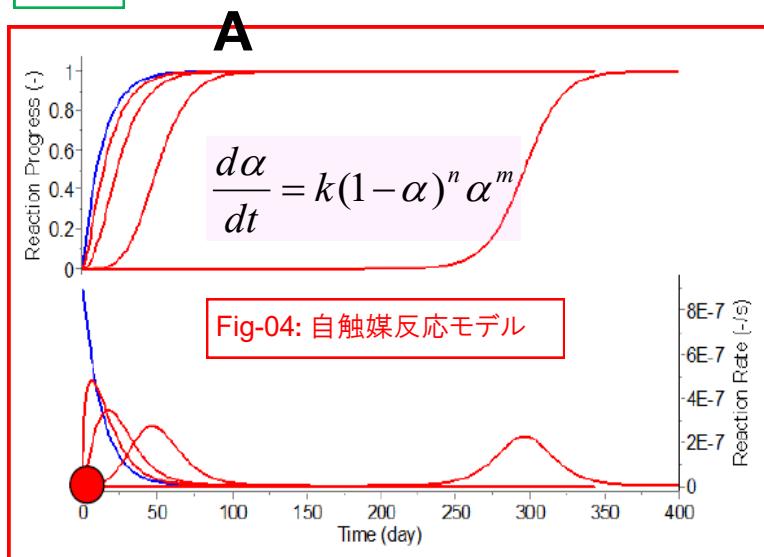


Fig-04

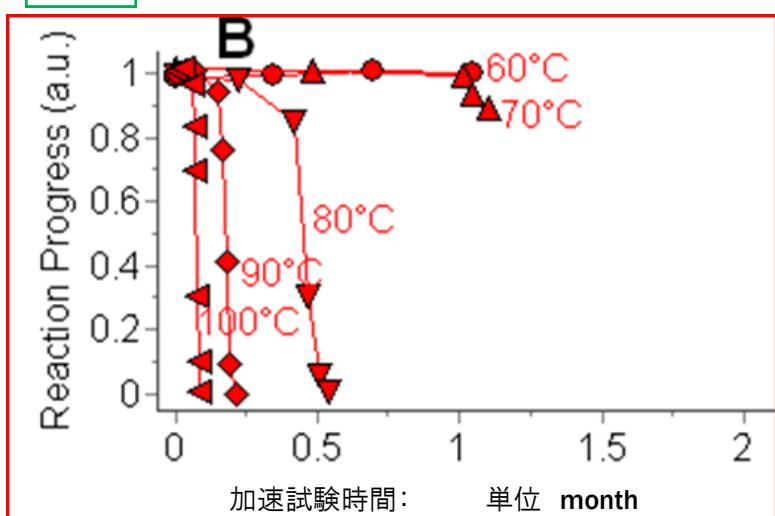


Fig-05

### 物質Bの加速試験データ。

劣化プロセス反応が自触媒反応と推定される測定例  
S字モデルのn,mがそれぞれ1に相当する反応式です。

一般に劣化分解の反応モデルは0次またはn次反応および自触媒反応モデルが想定されます。

**Fig-03** の上図は  $n$  次の反応率曲線、下図は自触媒反応速度曲線です。 $n$  次反応は反応初期が最も反応速度が大きく、その後指数関数的に減衰します。一方、自触媒反応は反応速度が最大になるまでにある誘導時間を持ち、温度が低ければ低いほど誘導時間は長くなります。

化学物質の室温付近における分解反応はn次反応であるか自触媒反応のいずれかという単純なものではありません。

一方、劣化プロセスの対象物質の濃度データは、Fig-02の例のように反応率曲線上にある非連続的なわずか数点～10点の測定データに限定されるのが普通です。

そのため劣化プロセス反応の単純な反応モデルを想定して、測定データをカーブフィッティングして、寿命予測することが一般的でした。

しかし信頼性のある寿命推定をするには、いくつかの想定される反応モデルを設定して、どの反応モデルが正しいのか？を判断する必要があります。

Fig-04に示すように加速試験温度条件による“ある化学物質A”の濃度変化を示すHPLCデータが得られました。

等温条件によるある時間  $t$  における熱劣化の反応率  $\alpha$  は下記の式で与えられます。

$$t_\alpha = \int_{\alpha_{st}}^{\alpha} \frac{d\alpha}{A \cdot \exp\left(-\frac{E}{R} \cdot \frac{1}{T}\right) f(\alpha)}$$

ここで  $f(a)$  は 劣化プロセスの反応式です。  
測定データAの劣化プロセスの反応モデルはどのような  
反応式を想定すれば良いのでしょうか？

AKTSはSモデルアプローチを採用しました。

この  $f(a)$  を  $C(1-\alpha)^n \alpha^m$

とし、 $n, m$  の値を設定することにより Fig-07のようなさまざまな反応式についてモデルフィッティングすることが可能になります。

S字(Sigmoid)状の反応率曲線とは, Fig-03,04の自触媒特性を持つ反応率曲線と云えます。

## 5: S字モデルとは

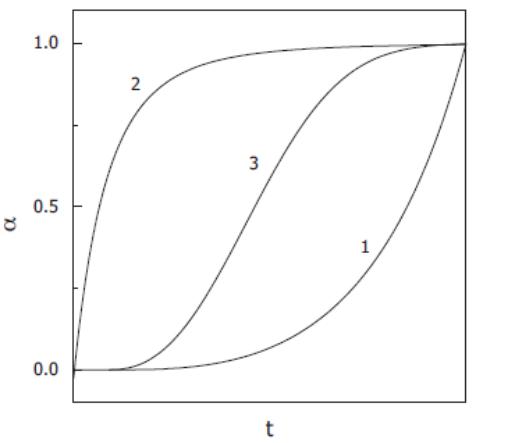
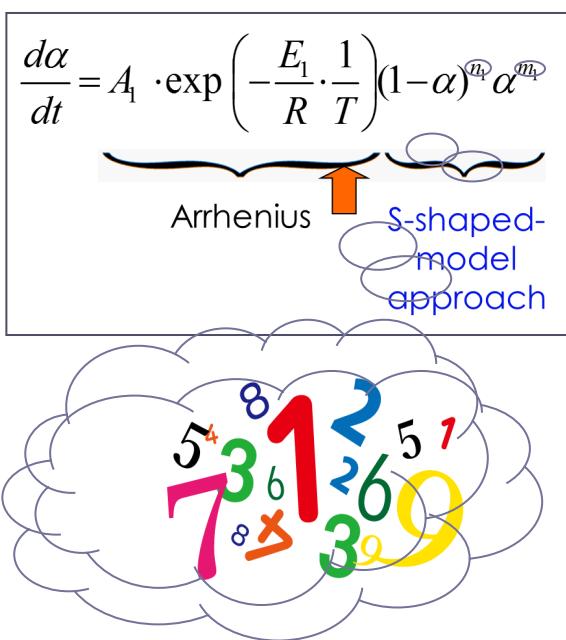


Fig-06: 加速・減速・S字型の反応進行



S字形状モデルとは

Review ; ICTAC Kinetics Committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data の Fig. 1 より引用

時間に対する反応プロファイルの特性は ① ② ③のタイプがあります。

- ① Accelerating, (加速型) 反応速度が時間とともに増加する反応
- ② Decelerating, (減速型) 反応速度が時間とともに減少する反応
- ③ Sigmoidal models (S字形のモデル) ①と②の特性を持つ反応

この加速型と減速型の特長を併せ持つSigmoid状(S字型)の反応をAKTS社ではS字状モデルと呼称し、この反応式を  $f(\alpha)$  とします。

$$f(\alpha) = C(1-\alpha)^n \alpha^m$$

S字モデルはさまざまなn,mの組合せを設定することにより、Fig-07に示すさまざまな反応式を表現することができます。

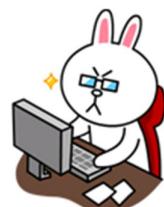
さまざまな基本モデル式を着せ替え人形に例えると、基本モデル式ごとにn,mの数字を着せ替えて、数100通りのモデル式について予測値と実測値を計算します。フィッティングする度合いをRSS(残差平方和および変動パラメータの大小を含めたAIC-BIC基準の指標を使って、妥当性のあるモデル式をスコア評点して、確度の高いスコア順にモデル式を表示してくれます。

さまざまな基本モデル式に対して、さまざまなn,mの数値を組合せながら計算するので、膨大な計算量となりますが、現代のパソコンの計算能力をもってすれば、可能です。

なおAIC-BICとは、統計手法の赤池情報量規準とベイジアン情報量規準を指しています。(AIC-BIC Criteria)と呼称されています。

$$(1-\alpha)^n \alpha^m$$

	Typical reaction model: $f(\alpha)$	More universal model: $f(\alpha)$ $n \quad m \quad c \text{ in } (A' = A \cdot c)$		
PT: Prout Tompkins	$(1-\alpha)^n \alpha^m$	$n$	$m$	$1$
Fn: nth order	$(1-\alpha)^n$	$n$	$0$	$1$
F1: first order	$(1-\alpha)$	$1$	$0$	$1$
F2: second order	$(1-\alpha)^2$	$2$	$0$	$1$
F3: third order	$(1-\alpha)^3$	$3$	$0$	$1$
P1: power law	$\alpha^0$	$0$	$0$	$1$
P2: power law	$2 \alpha^{(1/2)}$	$0$	$1/2$	$2$
P3: power law	$3 \alpha^{(2/3)}$	$0$	$2/3$	$3$
P4: power law	$4 \alpha^{(3/4)}$	$0$	$3/4$	$4$
Pn: power law	$n \alpha^{(1-1/n)}$	$0$	$1-1/n$	$n$
An: Avrami-Erofeev	$n (1-\alpha) [-\ln(1-\alpha)]^{(1-1/n)}$	$0.806$	$0.515$	$2.079$
A2: Avrami-Erofeev	$2 (1-\alpha) [-\ln(1-\alpha)]^{(1/2)}$	$0.748$	$0.693$	$3.192$
A3: Avrami-Erofeev	$3 (1-\alpha) [-\ln(1-\alpha)]^{(2/3)}$	$1-1/n$	$0$	$n$
Rn: n contracting	$n (1-\alpha)^{(1-1/n)}$	$1/2$	$0$	$2$
R2: contracting cylinder	$2 (1-\alpha)^{(1/2)}$	$2/3$	$0$	$3$
R3: contracting sphere	$3 (1-\alpha)^{(2/3)}$	$0.425$	$-1.008$	$0.973$
D2: 2-dimensional diffusion	$[-\ln(1-\alpha)]^{1/2}$	$0.951$	$-1.004$	$4.431$
D3: 3-dimensional diffusion	$1.5 [-1-(1-\alpha)^{(1/3)}]^{1/2} (1-\alpha)^{(2/3)}$			



S次式アプローチの回帰計算は膨大なモデル式が対象です。

Table\_01 : n,mの数値で表現されるS次式アプローチの基本モデル

## 6 : AICとBIC基準によるモデル式の判定とは ステージ1~5で判定します。

### ステージ 1. データ点数の定義

- 観測した実験データの総数  $n$  を明確にします。

### ステージ 2. フィッティングパラメータ数の定義

- 最適化で推定する自由パラメータの数  $k$  を数えます。既知定数は含めません。

### ステージ 3. 初期値設定と非線形回帰による最適化

- 各パラメータに対して初期推定値を与えます。
- 適切な最適化アルゴリズムを用いてパラメータを更新しながら収束条件を満たすまで反復

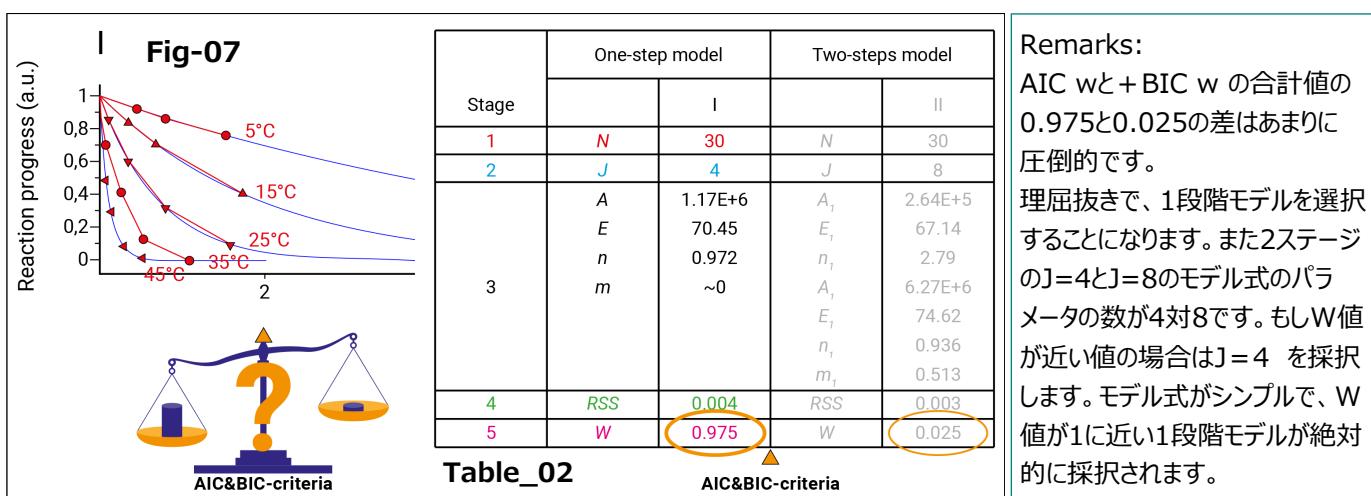
### ステージ 4. 残差二乗和 (RSS) の計算

- 各実験データ点とモデル曲線の垂直距離を二乗し、合計します：

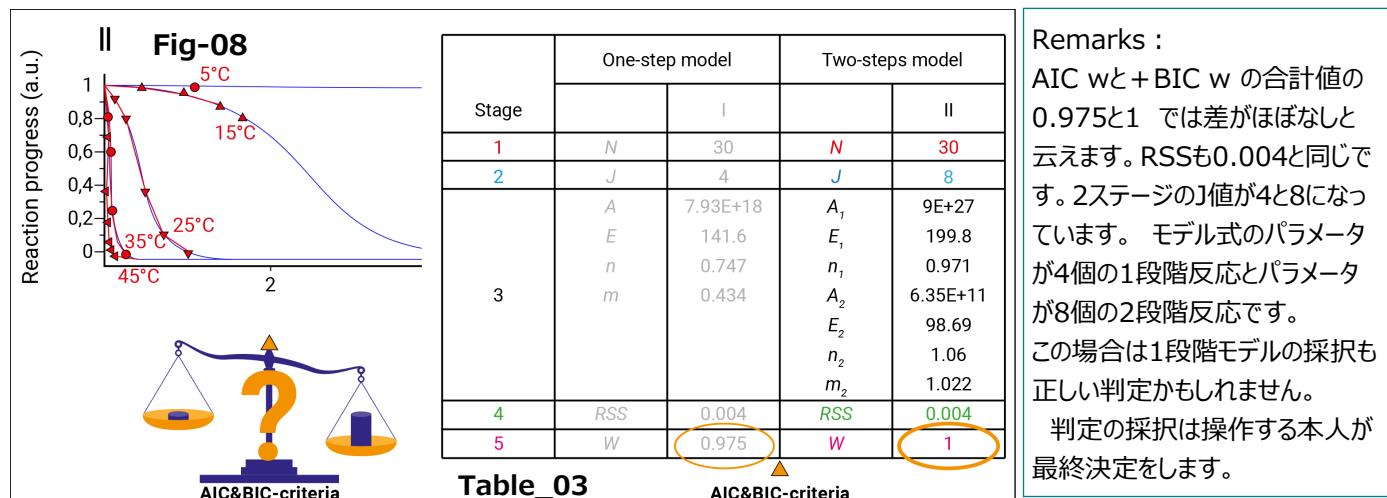
### ステージ 5. AIC/BICの算出と重み(w)の計算 AIC:予測性能重視、罰則は $2k$ BIC:真モデル仮定、罰則は $k/\ln n$

- $k$  : 自由パラメータ数  $n$  : データ点数
- $w_{\text{index}}$ が大きいほど、「最良モデルである相対的な確率」が高いと解釈されます。

下図Fig\_08とFig\_09について One-step-model とTwo-steps-model について比較して評点して見てください。



Fig\_08に示した実測データ点をTK-sdソフトウェアで解析したところ、Table\_02に示すAICおよびBIC規準の結果から、1段階モデルによる動力学フィットが最適であることを示しています。（1段階モデルと2段階モデルのW値に顕著な差がある点に注目）



Fig\_08に示したデータのKinetic解析と、Table\_03に示したAICおよびBIC基準の評価結果から、本実験データ点群はパラメータ  $w$ の値が1となる2段階モデルによって、1段階モデルよりわずかにフィットしています。

加速試験データのように不連続なデータ収集の場合、データポイントの数は一般に制限されており、さらに、実験エラーが含まれている可能性があります。これらの制限を考慮すると、より複雑なモデルでは、より小さなRSSを達成するためには、モデル式のパラメータ数を増やすことで柔軟性を高める必要があります。ただし、実測データ点が限られている場合、過剰適合のリスクがあるため、モデルの複雑性とデータ量のバランスを慎重に検討する必要があります。

## 7 : Boot strap法による信頼区間計算

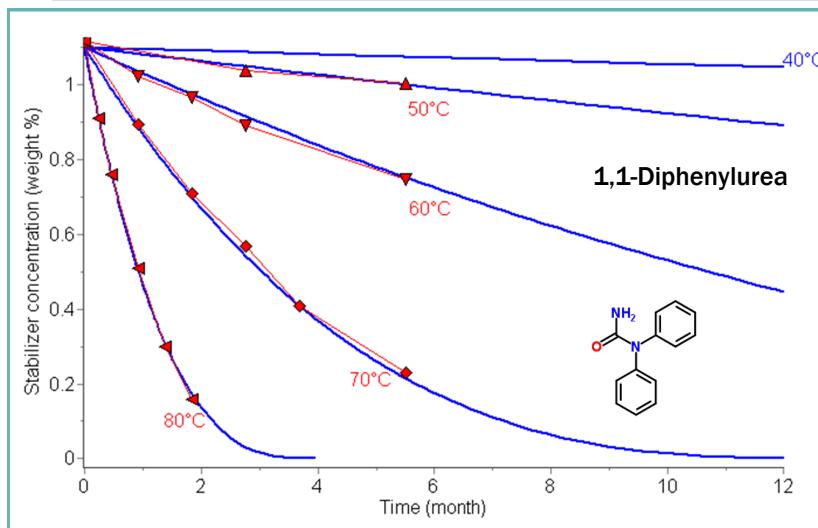


Fig-09の赤色印は単一ベースの推進薬に含まれる安定化剤1,1-Diphenylureaについて、40°Cから80°Cまでの加速試験による残存濃度データです。168日間で得られた20個の実験データからAIC-BIC基準により反応モデルを判定しました。



		Model 式1	Model式2
1	N	20	20
2	J	4	8
3	A1 E n1 M1 A2 E n2 M2 Y Y_ini	1.39E+11 119.6 0.661 0 1.33E+14 132.7 1.822 2.983 1.1 0	9.02E+10 111.7 2.186 1.33E+14 132.7 1.822 2.983 1.111 0
4	RSS	0.004	0.001
5	w	0.852	0.148

Table-04: AIC-BIC規準によるモデル式の判定

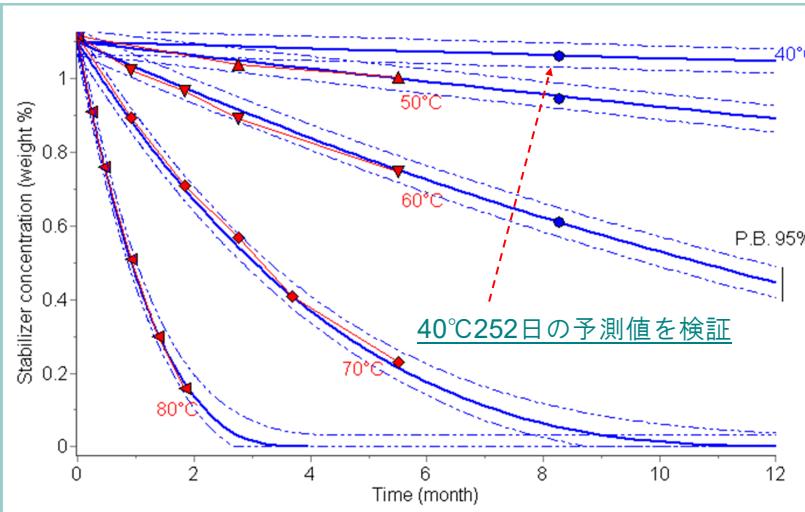


Table-04は、モデル式1とモデル式2を比較しています。予測誤差を示すRSS値はともに0.004, 0.001と大きな差はありません。回帰母数wは**0.852**と**0.148**であり、モデル式はモデル式1であると判定されます。

ちなみにモデル式のパラメータは活性化エネルギー $\Delta E$ は119.6 kJ/mol、前指数因子A = 1.39E+11、反応次数 n1 = 0.661 m1 = 0 m = 0は自触媒反応の特性/無を示します。このモデル式にて寿命推定曲線 Fig\_10が作成されます。

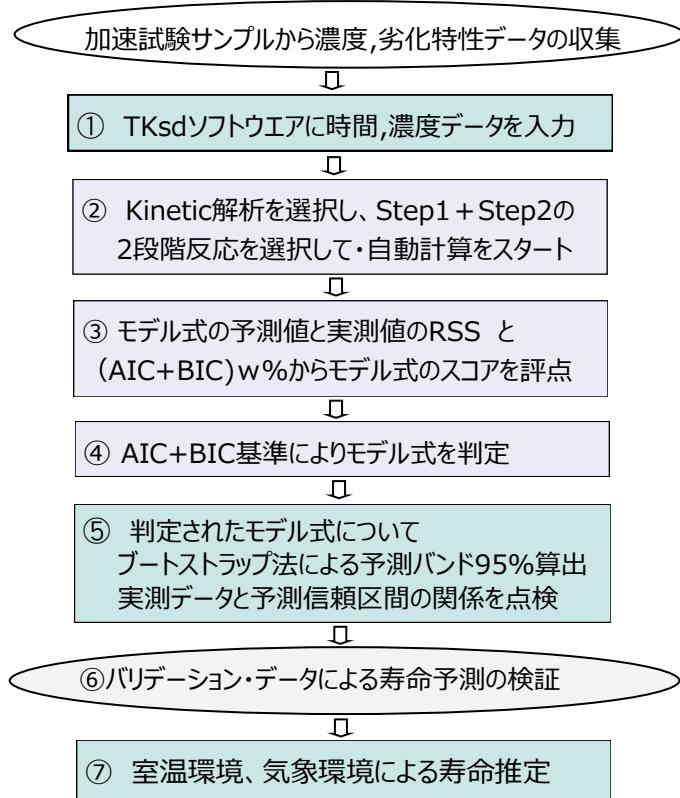
この寿命推定曲線が正しいのかを検証するために加速試験252日後における40, 50, 60°Cの測定データを推定曲線上にプロットしています。寿命推定曲線が検証されると、40°C 加速条件における5~10年の長期間後の残存濃度曲線を検討することができます。推定曲線には誤差がありますが、予測バンド95%をブートストラップで計算し、予測範囲がどうなっているかを計算します。

予測バンド (Prediction Band) とはAIC-BIC法でFitting計算で得られたモデル式に基づき、新たに観測される個々のデータ点がある確率で収まる範囲を指します。

- PB95%のカバー率の解説は
- モデル前提(正規性、等分散性、独立性)が成立している限り、各新規の実測値が予測バンド内に入る確率は95%です。
  - ただし、偶然や外れ値で外れる約5%のケースも存在します。

この予測区間は、モデルの平均応答を推定する際の不確実性だけでなく、個々の観測値に伴うランダムなバラツキも考慮しているため、信頼区間よりも幅が広くなります。

## 8：寿命推定計算の7ステップ



従来の寿命推定法などにか違うの？

AKTS/TKsd・Version7はとくにバイオ医薬品・ワクチンなどの分野からのニーズに対応すべく、とくに⑤の計算機能が強化されています。この結果、客觀性・妥當性のある堅牢な寿命予測が可能になっています。

数少ない加速試験のHPLCデータから5,10年先の寿命を高精度で予測するには、下記5点の必要条件があります。

A:初期濃度および終点濃度が特定できればモデル式探索精度が向上(Fitting計算のパラメータが2点減少します。)

B:高温加速領域で広範囲の濃度変化幅が得られること。(室温付近、あるいは低温の加速試験データの濃度変化範囲は少ないのが普通です。)

C:加速試験の等温条件が最低3水準以上あること。温度水準の数が多いほど予測精度が向上します。

D:測定データが複数個ある場合は、平均化せずに単独データとして取り扱うこと。

E:検証用の実測データとして寿命推定したい温度環境での加速試験の実測値を採取すること

## 9：寿命曲線の予測バンド

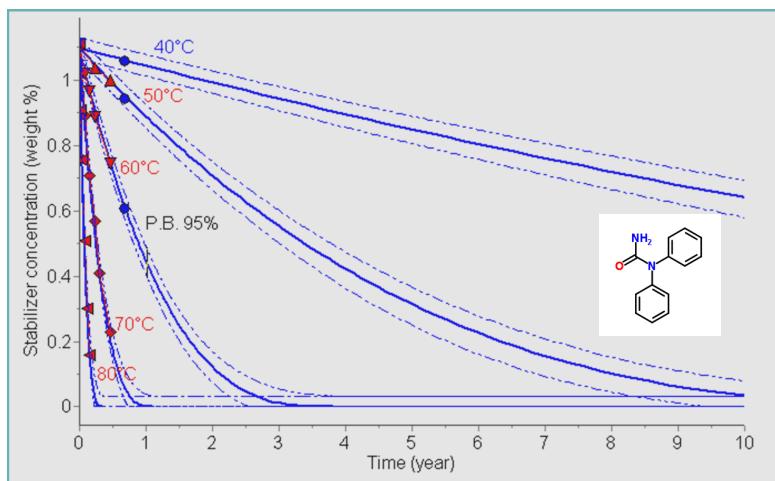


Fig-10で示した推進薬1,1-Diphenylureaの残存濃度シミュレーションは12カ月間スケールです。青色のデータ●の3点は242日間後の加速試験による検証データです。この検証用データ3点は予測バンド95%の予測範囲内に収まっています。

青色破線でマークされた予測バンド(PB95%)は、ブートストラップ法によって決定されました。

Fig-11の予測時間スケールは10年間ですPB95%曲線は予測期間が長くなればなるほど、安定剤濃度の幅が拡大します。事例の実測データのように測定精度が良ければ、10年後に実測したデータの95%が予測バンドに収まるることを示しています。

Fig-11:推進薬・安定剤1,1-Diphenylureaの濃度曲線(予測バンド95%)

TKsd\_7ではBootstrap機能が強化されています。

Bootstrapは観測データから再標本化(resampling)を繰り返し行うことで、統計量の分布や不確実性を評価する非パラメトリック手法です。とくに加速試験データのようにサンプル数が限られる場合に有効です。

Bootstrapにより算出した95%予測バンドと検証データの間に妥當性があればモデル式の有効性が確認できます。逆にブートストラップにより堅牢な予測バンド95%に対しても、検証データが区間外になることもあります。このような場合、モデル式の仮定、ブートストラップ手法の適用条件が適切でないという判断材料を与えてくれます。

数少ない実測データでブートストラップが便利な機能であることを体験されることを期待しています。





STP PHARMA PRATIQUES | n°04 - JULY/AUGUST 2020 によればAKMを使用している著者は以下のように述べています。

モデル式による保管条件のシミュレーションにより、この実験的ワクチンの熱感受性の評価が可能となり、適切な保存条件として冷蔵室を使用することが正当化されました。これらのモデル式は、反応の進行をフィッティングするために適用される現象論的数学モデルを示しているに過ぎません。AKMによる動的モデルは、任意の時間・温度条件下で製品の劣化度を予測でき、劣化メカニズムの詳細情報を必要としないという点を強調すべきです。

従来、製品劣化を予測するには化学/物理プロセスの詳細な知見（酸化反応速度式や拡散係数など）が必要でした。しかし、AKM動的モデルは次の理由で劣化メカニズムの情報を前提としません。

- 実測データをもとに経験的にパラメータ推定を行うため、事前知識が少くとも定量化が可能です。
- 反応経路や中間生成物などを仮定せず、観測される実測データにより劣化現象そのものをモデル化しています。

TKsd\_7が市場開発中の応用分野はバイオ医薬品やバイオワクチンなどの生物医薬品です。加速試験の温度環境も5°C付近となり、実測データの濃度変化も非常に緩慢になります。この結果、実測値から得られたモデル式は、環境温度5°Cにおける予測バンド95%の幅が広くなるので、加速データ試験にはデータ採取の戦略も必要になります。ブートストラップ処理により、堅牢な寿命推定曲線を得て、より高精度な予測バンドとする方針も垣間見えてくると思います。

TKsd\_7を使いこなすには、このリーフレットの内容は基礎編であり、実測データでTKsd\_7を操作して、予測バンド95%を得るところからスタートすることになります。

応用事例としてTKsd\_7・テクニカル・ノートを発行します。これらのPDFファイルは当社のWebsiteからダウンロードできます。

TKsd\_7\_No.1 : STP PHARMA PRATIQUES | n°04 の和文版

TKsd\_7・ユーザーが投稿したレポートを和訳しています。

バイオ医薬品関連の応用事例として興味深い記事です。

TKsd\_7\_No.2 : 実測値の数, 加速試験期間と予測バンド95%の区間の関係

Bootstrap計算による堅牢な予測バンド95%精度を向上させ、

かつ検証用データが予測バンド95%の区間にに入るようにするための戦略とは？



このリーフレットは、先進的動力学モデリングのTKsdソフトウェアがどのような原理で寿命推定をしているか？について説明しています。

お客様が課題とする測定サンプルを寿命推定したら、どのような結果になるか？

お客様から加速試験の実測データを提供していただければ、AKMの**TKsd\_7**による保存時間シミュレーションを行い、解析結果を報告することができます。

どのような実測データが必要になるか？についてはinfo@palmetrics.co.jpまで、メールでお問い合わせください。