

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6591586号
(P6591586)

(45) 発行日 令和1年10月16日(2019.10.16)

(24) 登録日 令和1年9月27日(2019.9.27)

(51) Int.Cl. F I
G 1 6 C 10/00 (2019.01) G 1 6 C 10/00

請求項の数 17 外国語出願 (全 17 頁)

| | | | |
|--------------------|-------------------------------|-----------|--|
| (21) 出願番号 | 特願2018-28649 (P2018-28649) | (73) 特許権者 | 512070816 タタ・コンサルタンシー・サーヴィシズ・ リミテッド インド・マハーラーシュトラ・40002 1・ムンバイ・ナリマン・ポイント・(番 地なし)・ナイマル・ビルディング・ナイ ンス・フロア |
| (22) 出願日 | 平成30年2月21日(2018.2.21) | (74) 代理人 | 100108453 弁理士 村山 靖彦 |
| (65) 公開番号 | 特開2018-152058 (P2018-152058A) | (74) 代理人 | 100110364 弁理士 実広 信哉 |
| (43) 公開日 | 平成30年9月27日(2018.9.27) | (74) 代理人 | 100133400 弁理士 阿部 達彦 |
| 審査請求日 | 平成30年4月4日(2018.4.4) | | |
| (31) 優先権主張番号 | 201721007631 | | |
| (32) 優先日 | 平成29年3月3日(2017.3.3) | | |
| (33) 優先権主張国・地域又は機関 | インド(IN) | | |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト皮膚における活性分子を *in silico* 試験するための方法およびシステム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒト皮膚のシミュレーションを使用して、活性分子を *in silico* 試験するための方法であって、

皮膚の上部層の構造体の皮膚モデルを第1の入力としてプロセッサに提供するステップと、

前記活性分子を第2の入力として前記プロセッサに提供するステップと、

前記皮膚モデルおよび前記活性分子の力場パラメータを第3の入力として前記プロセッサに提供するステップと、

前記第1の入力、前記第2の入力、および前記第3の入力を使用して、前記活性分子の存在下で、皮膚膜の角質層の層の分子モデルを前記プロセッサによって構築するステップと、

多分子動力学シミュレーションを使用して、前記活性分子の拡散度を前記プロセッサによって計算するステップと、

二重層法線に沿って前記拡散度を平均化するステップと、

前記角質層の層の輸送モデルを前記プロセッサによって構築するステップであって、前記輸送モデルが、前記活性分子の輸送機構を表す、ステップと、

平均拡散度を前記輸送モデルへの入力として提供するステップであって、前記平均拡散度は前記二重層法線に沿って前記平均化された拡散度である、ステップと、

前記輸送モデルを使用して、前記活性分子の放出プロファイルを前記プロセッサによ

10

20

て生成するステップと
を含む、方法。

【請求項 2】

前記活性分子の前記放出プロフィールを前記活性分子の実験放出プロフィールと比較するステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記活性分子が、医薬品、生体分子、タンパク質、ナノ粒子、化粧品、または溶媒のうちの少なくとも1つを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

前記皮膚膜の前記角質層の層の前記分子モデルが、セラミド、コレステロール、および遊離脂肪酸で構成されている、請求項1に記載の方法。

10

【請求項 5】

前記輸送モデルが、前記皮膚の前記角質層の層のれんがとモルタル幾何学的形状を用いて作成される、請求項1に記載の方法。

【請求項 6】

前記多分子動力学シミュレーションが、一定の温度および圧力の下で行われる、請求項1に記載の方法。

【請求項 7】

ヒト皮膚のシミュレーションを使用して、活性分子をin silico試験するためのシステムであって、

20

皮膚の上部層の構造体の皮膚モデルを第1の入力として提供するように構成された入力/出力インターフェースと、

活性分子を第2の入力として提供するための構造ライブラリと、

前記皮膚モデルおよび前記活性分子の力場パラメータを第3の入力として提供するための力場ライブラリと、

メモリと、

前記メモリと通信するプロセッサと

を備え、前記プロセッサが、前記入力/出力インターフェースから前記第1の入力、前記第2の入力、および前記第3の入力を受信するように構成され、前記プロセッサが、

前記第1の入力、前記第2の入力、および前記第3の入力を使用して、前記活性分子の存在下で、皮膚膜の角質層の層の分子モデルを構築するステップと、

30

多分子動力学シミュレーションを使用して、前記活性分子の拡散度を計算するステップと、

二重層法線に沿って前記拡散度を平均化するステップと、

前記角質層の輸送モデルを構築するステップであって、前記輸送モデルが、前記活性分子の輸送機構を表す、ステップと、

平均拡散度を前記輸送モデルへの入力として提供するステップであって、前記平均拡散度は前記二重層法線に沿って前記平均化された拡散度である、ステップと、

前記輸送モデルを使用して、前記活性分子の放出プロフィールを前記プロセッサによって生成するステップと

40

を行うようにさらに構成されている、

システム。

【請求項 8】

前記輸送モデルが、マクロ的モデルである、請求項7に記載のシステム。

【請求項 9】

前記活性分子が、医薬品、生体分子、タンパク質、ナノ粒子、化粧品、または溶媒のうちの少なくとも1つを含む、請求項7に記載のシステム。

【請求項 10】

前記皮膚膜の前記角質層の層の前記分子モデルが、セラミド、コレステロール、および遊離脂肪酸で構成されている、請求項7に記載のシステム。

50

【請求項 1 1】

前記輸送モデルが、前記皮膚の前記角質層の層のれんがとモルタル幾何学的形状を用いて作成される、請求項7に記載のシステム。

【請求項 1 2】

1つ以上の命令を含む、1つ以上の非一時的機械可読情報記憶媒体であって、前記命令が、1つまたは複数のハードウェアプロセッサによって実行されると、

皮膚の上部層の構造体の皮膚モデルを第1の入力としてプロセッサに提供するステップと、

活性分子を第2の入力として前記プロセッサに提供するステップと、

前記皮膚モデルおよび前記活性分子の力場パラメータを第3の入力として前記プロセッサに提供するステップと、

前記第1の入力、前記第2の入力、および前記第3の入力を使用して、前記活性分子の存在下で、皮膚膜の角質層の層の分子モデルを前記プロセッサによって構築するステップと、

多分子動力学シミュレーションを使用して、前記活性分子の拡散度を前記プロセッサによって計算するステップと、

二重層法線に沿って前記拡散度を平均化するステップと、

前記角質層の層の輸送モデルを前記プロセッサによって構築するステップであって、前記輸送モデルが、前記活性分子の輸送機構を表す、ステップと、

平均拡散度を前記輸送モデルへの入力として提供するステップであって、前記平均拡散度は前記二重層法線に沿って前記平均化された拡散度である、ステップと、

前記輸送モデルを使用して、前記活性分子の放出プロファイルを生ずるステップと

を含む動作を行う、

1つ以上の非一時的機械可読情報記憶媒体。

【請求項 1 3】

前記活性分子の前記放出プロファイルを前記活性分子の実験放出プロファイルと比較するステップをさらに含む、請求項12に記載の1つ以上の非一時的機械可読情報記憶媒体。

【請求項 1 4】

前記活性分子が、医薬品、生体分子、タンパク質、ナノ粒子、化粧品、または溶媒のうち少なくとも1つを含む、請求項12に記載の1つ以上の非一時的機械可読情報記憶媒体。

【請求項 1 5】

前記皮膚膜の前記角質層の層の前記分子モデルが、セラミド、コレステロール、および遊離脂肪酸で構成されている、請求項12に記載の1つ以上の非一時的機械可読情報記憶媒体。

【請求項 1 6】

前記輸送モデルが、前記皮膚の前記角質層の層のれんがとモルタル幾何学的形状を用いて作成される、請求項12に記載の1つ以上の非一時的機械可読情報記憶媒体。

【請求項 1 7】

前記多分子動力学シミュレーションが、一定の温度および圧力の下で行われる、請求項12に記載の1つ以上の非一時的機械可読情報記憶媒体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

優先権の主張

本特許出願は、2017年3月3日にインドにおいて出願されたインド明細書(表題:Method and System for in silico testing of actives on human skin)第201721007631号の優先権を主張する。

【0002】

本明細書における実施形態は、一般に、ヒト皮膚モデリングおよびシミュレーションの

10

20

30

40

50

分野に関し、より詳細には、分子動力学シミュレーションおよび計算流体力学を用いて、構築された(developed)皮膚モデルを介して活性のある分子を試験するための方法およびシステムに関する。

【背景技術】

【0003】

人体の中で最も大きい器官である皮膚は、人間を外来病原菌の攻撃から守り、多くの有害分子の浸透に対するバリアを提供し、組織の水和レベルを維持する。角質層(SC:Stratum Corneum)としても知られている皮膚の外層は、主に、これらのバリア特性を担っている。

【0004】

皮膚を介した医薬品の送達は、皮膚の表面積が広いので、好都合な投与経路を可能にし、通常、自己投与可能である。そのため、化学物質の皮膚摂取の正確な予測は、経皮医薬品送達および化粧品の局部塗布の両方に関係がある。皮膚における種輸送を支配する主な物理的特性は、拡散係数である。皮膚の第1の層である角質層は、浸透に対して、より大きい抵抗を示す。角質層を介した浸透の研究が必要である。角質層は、れんがとモルタルの様式でそれぞれ配置されている角質細胞(死んだタンパク質)と脂質のマトリックスから成る。角質層における分子の拡散係数の測定は、輸送機構を予測するために非常に重要である。皮膚を介した分子の輸送機構の研究は、新規分子/医薬品/化粧品を設計するために必要である。医薬品送達の視点では、構築された分子が皮膚層を通過するのは望ましいが、化粧品または皮膚ケア用途の場合における同じ視点では、皮膚の内側に入り込むのは望ましくない。

【0005】

薬剤と化粧品の両方における現在の業界標準は、皮膚において詳細なin vitro試験およびin vivo試験を行って、あらゆる新規分子を試験することである。これらは、明らかに莫大な支出を招き、それによって、規制当局(FDA)により最終的に承認される成功した候補が非常に少ないことにつながる。2Dのin vitro細胞培養研究は、3Dのin vivo皮膚環境に存在する多細胞間に生じる複雑な相互作用を正確に反映しない。齧歯類および他の小動物におけるin vivo研究は、解剖学的構造体の相違に起因して、ヒトの状況にはうまく置き換えられない。EpiSkin(登録商標)(L'Oreal, Paris)、およびEpiDerm(商標)(MatTek, Massachusetts)のようないくつかの商用のヒト皮膚の等価物があるが、これらには、高度に専門的な技能が求められ、非常に高価である。欧州連合(EU)規制(76/768/EEC、2003年2月)は、化粧品および薬剤成分の構築ならびに試験に、動物または動物由来物質を使用することを禁止している。2008年までに、FDAによって承認された経皮医薬品製剤がたった20であるという事実は、それらの構築に関連する困難さを実証している。

【0006】

新規医薬品/化粧品製剤の構築および試験に関わる時間ならびに費用を考慮すると、入り組んだin vivo/in vitro試験のうちのいくつかをin silico試験に置換することは必須である。コンピュータシミュレーションは、分子のバルク特性および輸送特性を再現する能力を用いて、分子的小およびマクロ的レベルでの重要な物理的洞察を生み出すやり方を示す。研究者は、医薬品/化粧品をそれらの浸透度に基づいてスクリーニングするように、実験の要因計画に焦点を当てている。これまで、シミュレーション作業のほとんどは、実際の皮膚組成とは程遠い純粋セラミド二重層のみに関わってきた。より初期のシミュレーション作業は、大部分が、MDシミュレーションにおけるサンプリングをより容易にする液晶相におけるリン脂質細胞膜に焦点を当てている。CFDシミュレーションのための臨界パラメータである拡散度は、一般に、フィッティングされたモデルから使用される。これらのモデルは、大部分が、皮膚を均質膜と見なして得られる。

【0007】

現行方式は、まず、浸透実験を行い、次いで、浸透データが、知られている均質モデルにフィッティングされる。フィッティングされた拡散係数は、それが角質層脂質の不均質性を考慮しないので、近似の拡散係数である。正確に拡散係数を計算するためには、皮膚

10

20

30

40

50

角質層の脂質は、実際的な組成と近似すべきである。さらには、計算された拡散係数は、計算流体力学技法を使用して、角質層を介した皮膚摂取/累積放出を予測するために使用され得る。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】欧州連合(EU)規制(76/768/EEC、2003年2月)

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0009】

10

以下は、実施形態の基本的な理解を提供するために、本開示のいくつかの実施形態の簡略化された概要を提示する。この概要は、実施形態の広範な概説ではない。実施形態の主要/重要な要素を識別し、実施形態の範囲を描出することは意図されていない。その唯一の目的は、以下に提示されるより詳細な説明のための前置きとして、いくつかの実施形態を簡略化された形で提示することである。

【0010】

前述に鑑みて、本明細書における一実施形態は、ヒト皮膚のシミュレーションを使用して、活性分子を *in silico* 試験するためのシステムを提供する。このシステムは、入力/出力インターフェース、構造ライブラリ、力場(force field)ライブラリ、メモリ、およびプロセッサを備える。入力/出力インターフェースは、皮膚の上部層の構造体の皮膚モデルを第1の入力として提供する。構造ライブラリは、活性分子を第2の入力として提供する。力場ライブラリは、皮膚モデルおよび活性分子の力場パラメータを第3の入力として提供する。プロセッサは、メモリと通信する。プロセッサは、入力/出力インターフェースから第1の入力、第2の入力、および第3の入力を受信するようにさらに構成されている。プロセッサは、第1の入力、第2の入力、および第3の入力を使用して、活性分子の存在下で、皮膚膜の角質層の層の分子モデルを構築するステップと、多分子動力学シミュレーションを使用して、活性分子の拡散度を計算するステップと、二重層法線に沿って拡散度を平均化するステップと、角質層の輸送モデルを構築するステップであって、輸送モデルが、活性分子の輸送機構を表す、ステップと、平均拡散度を輸送モデルへの入力として提供するステップと、輸送モデルを使用して、活性分子の放出プロファイルのプロセッサによって生成するステップとを行うようにさらに構成されている。

20

30

【0011】

別の実施形態は、ヒト皮膚のシミュレーションを使用して、活性分子を *in silico* 試験するための方法を提供する。最初に、皮膚の上部層の構造体の皮膚モデルが、第1の入力としてプロセッサに提供される。活性分子は、第2の入力としてプロセッサに提供される。また、皮膚モデルおよび活性分子の力場パラメータが、第3の入力としてプロセッサに提供される。次のステップにおいては、皮膚膜の角質層の層の分子モデルが、第1の入力、第2の入力、および第3の入力を使用して、活性分子の存在下で、プロセッサによって構築される。次のステップにおいては、活性分子の拡散度が、多分子動力学シミュレーションを使用して計算される。次のステップにおいては、二重層法線に沿って拡散度が平均化される。次のステップにおいては、角質層の輸送モデルが構築される。輸送モデルは、活性分子の輸送機構を表す。次いで、平均拡散度が、輸送モデルへの入力として提供される。そして、最終的に、活性分子の放出プロファイルが、輸送モデルを使用して、プロセッサによって生成される。

40

【0012】

さらなる別の実施形態は、1つ以上の命令を含む、1つ以上の非一時的機械可読情報記憶媒体を提供し、この命令は、1つまたは複数のハードウェアプロセッサによって実行されると、皮膚の上部層の構造体の皮膚モデルを第1の入力としてプロセッサに提供するステップ、さらには、活性分子を第2の入力としてプロセッサに提供するステップ、次いで、皮膚モデルおよび活性分子の力場パラメータを第3の入力としてプロセッサに提供するス

50

テップ、次いで、第1の入力、第2の入力、および第3の入力を使用して、活性分子の存在下で、皮膚膜の角質層の層の分子モデルを構築するステップ、さらには、多分子動力学シミュレーションを使用して、活性分子の拡散度を計算するステップ、次いで、二重層法線に沿って拡散度を平均化するステップ、さらには、角質層の輸送モデルを構築するステップであって、輸送モデルが、活性分子の輸送機構を表す、ステップ、さらには、平均拡散度を輸送モデルへの入力として提供するステップ、ならびに輸送モデルを使用して、活性分子の放出プロフィールを生成するステップを含む動作を行う。

【0013】

本明細書における実施形態は、図面を参照しつつ、以下の詳細な説明からより良く理解されよう。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】本開示の一実施形態による、ヒト皮膚のシミュレーションを使用して、活性分子をin silico試験するためのシステムのブロック図である。

【図2A】本開示の一実施形態による、ヒト皮膚のシミュレーションを使用して、活性分子をin silico試験することに関わるステップを示すフローチャートである。

【図2B】本開示の一実施形態による、ヒト皮膚のシミュレーションを使用して、活性分子をin silico試験することに関わるステップを示すフローチャートである。

【図3】本開示の一実施形態による、れんがとモルタルモデルを使用して生成された皮膚上部層角質層の幾何学的形状を示す図である。

【図4】本開示の一実施形態による、計算流体力学シミュレーションデータに使用される角質層の層にわたる初期の境界条件を示す図である。

【図5】本開示の一実施形態による、制約付き分子動力学シミュレーションから計算されたフェンタニル分子の局所拡散係数を示すグラフである。

【図6】本開示の一実施形態による、マルチスケールモデリングフレームワークプロトコルを使用して計算されたフェンタニルの累積質量放出プロフィールを示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0015】

本明細書における実施形態、ならびにその様々な特徴および利点は、添付の図面に示され、以下の説明に詳述されている限定的ではない実施形態を参照しつつ、より完全に説明される。本明細書に使用される例は、単に、本明細書における実施形態が実施され得るやり方の理解を促進すること、さらには、当業者が本明細書における実施形態を実施できるようにすることが意図される。したがって、諸例は、本明細書における実施形態の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。

【0016】

「備える(comprising)」、「有する(having)」、「包含する(containing)」、および「含む(including)」という単語、ならびにそれらの他の形態は、意味において等価であること、およびこれらの単語のうちのいずれか1つに続く項目が、そのような項目の網羅的列挙であることを意味するものでも、または列挙された項目のみに限定されることを意味するものでもないという点でオープンエンドであることが意図される。

【0017】

また、本明細書において使用されるとき、および添付の特許請求の範囲においては、「1つ(a)」、「1つ(an)」、および「その(the)」という単数形は、文脈上、明白に別段の指示がない限り、複数形の参照を含むことにも留意されなくてはならない。本明細書において説明されるものと類似の、または等価ないずれのシステムおよび方法も、本開示の実施形態の実施および試験に使用され得るが、好ましいシステムおよび方法が、次に説明される。

【0018】

次に、その特徴をすべて示す本開示のいくつかの実施形態について詳細に論じる。開示の実施形態は、単に、様々な形態において具現化され得る本開示の例示にすぎない。

10

20

30

40

50

【0019】

詳細な説明について記載する前に、以下の議論はすべて、特定の実装形態が記載されているに関わらず、限定ではなく、性質上、例示であることを注記する。

【0020】

次に、図面、より具体的には、同様の参照文字が図全体を通じて一貫して対応する特徴を示している図1を参照すると、好ましい実施形態が示され、これらの実施形態について、次の例示的なシステムおよび/または方法の文脈で説明する。

【0021】

本開示の文脈においては、「活性分子(activities)」または「活性のある分子(active molecules)」という表現は、試験のために使用される様々なタイプの分子を指す。活性分子、活性のある分子、医薬品という単語は、例示的な実施形態において使用されている試験分子を表すために、本明細書における以下の説明においては、互換的に使用され得ることを認識すべきである。

10

【0022】

本開示の一実施形態によれば、ヒト皮膚のシミュレーションを使用して、活性分子を *in silico* 試験するためのシステム100が、図1に示されている。本開示は、皮膚の上部保護層「角質層」のミクロ的およびマクロ的レベルモデルを提供する。本発明は、分子動力学シミュレーションおよび計算流体力学手法を用いて、構築された皮膚モデルを介する医薬品、粒子、および化粧品のような異なる活性分子の拡散および放出プロファイルを計算するためのマルチスケールモデリングフレームワークを提示する。このシステムは、皮膚の上部層角質層の分子モデルから成り、分子を浸透させる。システムはまた、角質層のマクロ的輸送モデルから成る。

20

【0023】

皮膚モデルは、3つの最も重要な角質層成分、すなわち、セラミド、コレステロール、および遊離脂肪酸で構成されている。分子モデルは、結合および非結合のパラメータを利用して、分子間の相互作用を記述する。拡散係数の計算には、制約付き分子動力学シミュレーションが使用される。二重層法線に沿ったこの平均化された拡散係数は、マクロ的モデルへの入力として使用される。さらには、マクロ的モデルは、計算流体力学技法を用いて解かれる。

【0024】

本開示の一実施形態によれば、システム100のブロック図が、図1に示されている。システム100は、入力/出力インターフェース102、メモリ104、およびメモリ104と通信するプロセッサ106を含む。メモリ104は、複数のアルゴリズムを記憶するように構成されている。プロセッサ106は、様々な機能を行うための複数のモジュールをさらに含む。複数のモジュールは、メモリ104に記憶されている複数のアルゴリズムにアクセスして、様々な機能を行う。システム100はまた、構造ライブラリ108および力場ライブラリ110も含む。

30

【0025】

I/Oインターフェース102は、種々のソフトウェアインターフェースおよびハードウェアインターフェース、たとえば、ウェブインターフェース、およびグラフィカルユーザインターフェースなどを含むことができ、ワイヤードのネットワーク、たとえばLAN、ケーブルなど、およびたとえばWLAN、セルラ、または通信衛星などのワイヤレスネットワークを含む、幅広い種々のネットワークN/Wおよびプロトコルタイプ内の多通信を容易にすることができる。一実施形態においては、I/Oインターフェースデバイスは、互いに、または別のサーバに、いくつかのデバイスを接続するための1つまたは複数のポートを含むことができる。入力/出力インターフェース102は、皮膚の上部層の構造体の皮膚モデルを第1の入力としてプロセッサ106に提供するように構成されている。

40

【0026】

本開示の一実施形態によれば、システム100はまた、構造ライブラリ108および力場ライブラリ110も含む。構造ライブラリ108は、医薬品、生体分子、タンパク質、化粧品、ナノ粒子、皮膚構成成分の溶媒などの異なるタイプの活性分子のデータベースである。構造ラ

50

イブラリ108は、第2の入力をプロセッサ106に提供するように構成されている。力場ライブラリ110は、GROMOS、OPLS、AMBER、CHARMM、COMPASSなどの様々なデータベースを含む。力場ライブラリ110は、第3の入力をプロセッサ106に提供するように構成されている。

【0027】

本開示の一例示的な実施形態によれば、プロセッサ106は、分子動力学シミュレーションモジュール112、および輸送モデルシミュレーションモジュール114をさらに含む。分子動力学シミュレーションモジュール112は、第1の入力、第2の入力、および第3の入力を使用して、活性分子の存在下で、皮膚膜の角質層の層の分子モデルを構築するように構成されている。多分子動力学シミュレーションは、一定の温度および圧力の下で行われる。一例では、シミュレーションは、生理的溫度310K、および標準大気条件1atmで行われる。シミュレーションはまた、任意の他の温度および圧力で行われてもよいが、一定に維持される必要がある。角質層の分子モデルは、皮膚脂質マトリックスならびに活性分子の浸透プロセスの分子レベル情報を提供する。一例では、システム100は、分子動力学シミュレーションのためにGROMOSデータベースを使用している。

【0028】

皮膚モデルは、3つの最も重要な角質層成分、すなわち、セラミド、コレステロール、および遊離脂肪酸で構成されている。分子動力学シミュレーションモジュール112によって構築された分子モデルは、結合および非結合のパラメータを利用して、分子間の相互作用を記述する。制約付きの多分子動力学シミュレーションが、活性のある分子の拡散係数または拡散度の計算に使用される。分子動力学シミュレーションモジュール112は、二重層法線に沿って拡散度を平均化するようにさらに構成されている。シミュレーションは、皮膚脂質マトリックスを通して活性分子の横方向およびz方向(二重層法線に沿う)拡散を提供する。

【0029】

本開示の一実施形態によれば、輸送モデルシミュレーションモジュール114は、角質層の輸送モデルを構築する。輸送モデルは、活性分子の輸送機構を表す。二重層法線に沿った平均化された拡散係数は、輸送モデルへの入力としてさらに使用される。一例では、有限要素法(FEM:finite element technique)が、輸送モデルを解くのに使用されている。しかし、任意の他の数値手法の使用が、十分に本開示の範囲内にあることを認識すべきである。輸送モデルは、活性分子の放出プロファイルを生成するようにさらに構成されている。活性分子の拡散度および放出プロファイルは、ヒト皮膚膜における活性分子の浸透特性を決定付ける。

【0030】

れんがとモルタルモデルは、角質細胞および脂質マトリックスをそれぞれ表すのに使用される。構造体は、角質細胞の幅、長さ、脂質領域の厚さ、角質細胞オフセット率、および角質細胞層の数のような幾何学的パラメータによって特徴付けられる。SCにわたる流束は、SCを介した浸透の皮膚摂取/累積放出を計算するために、時間に関して測定され、積分される。累積放出は、次の方程式によって与えられる。

【0031】

【数1】

$$Q(t) = \int_0^t \frac{\varepsilon}{\tau_{flux}} D_b \left(\frac{\partial C(y,t)}{\partial y} \right)_{y=0} dt$$

【0032】

演算に際しては、ヒト皮膚のシミュレーションを使用して、活性分子をin silico試験するためのフローチャート200が、図2に示されている。最初に、ステップ202においては、皮膚の上部層の構造体の皮膚モデルが、第1の入力としてプロセッサ106に提供される。第1の入力は、入力/出力インターフェース102を使用して提供される。ステップ204においては、活性のある分子が、第2の入力としてプロセッサ106に提供される。活性のある分子

10

20

30

40

50

は、構造ライブラリに記憶される。ステップ206においては、皮膚モデルおよび活性のある分子の力場パラメータが、第3の入力としてプロセッサ106に提供される。力場パラメータは、力場ライブラリ110に記憶される。力場パラメータは、分子動力学シミュレーションを実行する際に使用される結合と非結合の相互作用パラメータをともに包含する。それらは、調和、余弦と正弦との組合せ、指数関数のような異なる数学的形式を有し得る。

【0033】

次のステップ208においては、皮膚膜の角質層の層の分子モデルが、第1の入力、第2の入力、および第3の入力を使用して、活性分子の存在下で、プロセッサ106によって構築される。ステップ210においては、活性分子の拡散度が、多分子動力学シミュレーションを使用して計算される。ステップ212においては、二重層法線に沿った拡散度が、平均化される。ステップ214においては、角質層の輸送モデルが、プロセッサ106によって構築される。輸送モデルは、活性のある分子の輸送機構を表す。一実施形態においては、有限要素法(FEM)が、輸送モデルを解くのに使用されている。しかし、任意の他の数値手法の使用が、十分に本開示の範囲内にあることを認識すべきである。次のステップ216においては、平均拡散度は、輸送モデルへの入力として提供される。そして、最終的にステップ218においては、活性のある分子の放出プロファイルは、輸送モデルを使用して、プロセッサ106によって生成される。

【0034】

本開示の一実施形態によれば、システム100はまた、活性分子の放出プロファイルを活性分子の実験放出プロファイルと比較する、または検証するように構成されている。

【0035】

本開示の一実施形態によれば、ヒト皮膚のシミュレーションを使用して、活性分子を *in silico* 試験する方法は、次の実験成果の助けを得て検証された。本皮膚二重層モデルは、まず、実験データを用いて試験され、拡散度が、計算された。この拡散度は、実験データと比較され、輸送モデルシミュレーションにおいて入力として使用された。この仮想皮膚を介した医薬品分子の最終的累積放出プロファイルは、次のように、実験放出プロファイルと比較された。

【0036】

分子シミュレーション
力場

セラミドの力場パラメータは、Berger力場およびGROMOS87パラメータから取られた。Ryckaert-Bellemans二面角ポテンシャル(Ryckaert-Bellemans dihedral potential)は、遊離脂肪酸およびセラミドの炭化水素鎖に使用された。遊離脂肪酸およびコレステロールのパラメータは、GROMOSデータセットから取られた。単純点電荷(SPC:simple point charge)モデルは、水分子に使用された。

【0037】

シミュレーション設定

シミュレーションは、NVTおよびNPTアンサンブル(ensemble)において行われた。温度は、時定数5psを伴うNose-Hooverサーモスタット、ならびに脂質分子および水に別個に結合されるサーモスタットによって310Kに制御された。圧力は、時定数5ps、ならびに半等方性結合(XY方向およびZ方向が別個に結合される)による圧縮率 4.5×10^{-5} バールを伴うParrinello-Rahman圧調節器によって1バールに制御された。脂質および溶質分子中のすべての結合は、LINCSアルゴリズムを使用して制約され、一方、水には、SETTLEアルゴリズムが使用された。2fsの時間ステップが、すべてのシミュレーションに使用された。1.2nmのカットオフが、Vander Wallおよび静電相互作用に使用された。系はすべて、少なくとも約5ns間、平衡化された。制約付きシミュレーションの最後の25nsの実行は、制約力および他の特性の計算に使用された。

【0038】

等モル二重層構造体が、NPTアンサンブルにおいて約200ns間、平衡化された。等モル二重層は、52個のCER分子、52個のCHOL分子、52個のFFA分子、および5120個の水分子で構成

10

20

30

40

50

されている。系の反応座標は、膜法線 z であるように選択され、ただし、 $z=0\text{nm}$ は、二重層の質量中心(COM:center of mass)に対応する。系ごとに、4つの医薬品分子が、異なるXY平面および二重層のCOMから4.8のZ距離に手動で配置された。重複した水分子は、除去され、次いで、系は、エネルギー最小化された。次いで、各系は、溶質分子をそれらの位置に固定した状態に保つことによって、さらなる20ns間、NPTアンサンブルにおいて平衡化された。これらの平衡化構造体は、制約付きシミュレーションの初期構成設定の準備にさらに使用された。溶質は、二重層の中心に向かって、異なる速度により、ゆっくりと引っ張られた。この実行の時間ステップは、1fsに保たれた。脂質と溶質分子との質量中心(COM)間のZ距離が0.2nmだけ変化すると、構成設定が記憶された。各ウィンドウにおいては、医薬品分子が、異なるZおよびXY位置に制約された。合計25個のウィンドウが、上記手順を使用して生成された。これらのウィンドウは、上部リーフレットから二重層の中間まで、バルク水から全空間に及ぶ。同じウィンドウの中にある溶質間の相互作用を止めるために、最小z距離は、1.2nm(vdWおよびクーロンのカットオフ)として保たれた。

10

【0039】

記憶された等距離構成設定は、30ns間、さらに実行され、そのうちの最初の5nsシミュレーションが、平衡実行として破棄された。溶質のCOMと二重層のCOMとの間の距離は、z方向に制約される一方、溶質は、横方向に自由に移動することができた。構成設定は、1psごとに記憶され、制約力は、10fsごとに記憶された。各シミュレーションの最後の25ns実行は、拡散および平均力のポテンシャルを計算するために使用された。二重層が、対称であり、二重層の一方の面からの結果は、他方の面の結果の鏡像になることが仮定された。

20

【0040】

局所拡散係数

均質溶解度拡散モデルは、概して、膜を介した溶質の受動的浸透度の計算に使用される。このモデルによれば、まず、溶質は、膜の中に溶解し、次いで、膜内部を介して拡散し、最終的に、外側周囲媒体に再度、溶解する。このモデルの浸透度は、

【0041】

【数2】

$$P = \frac{KD}{d}$$

30

【0042】

によって与えられる。ただし、 p は、二重層にわたる分子の浸透度であり、 K は、水相から有機相への溶質分配関数であり、 D は、溶質の拡散係数であり、 d は、二重層の厚さである。このモデルは、何回も疑問を持たれている(challenged)。溶質大きさおよび組成が浸透度を何倍も変化させ、ならびに局所分配関数が溶質浸透度を支配することは、以前に示されている。分子動力学シミュレーションは、二重層法線 z に沿って $D(z)$ を計算する魅力的な方法を提供する。不均質溶解度拡散モデルが、拡散度を計算するように適合されている。

【0043】

Z方向に法線を有する対称二重層系における分子の拡散度は、

40

【0044】

【数3】

$$D(z) = \frac{(RT)^2}{\int_0^{\infty} \langle \Delta F(z,t) \Delta F(z,0) \rangle dt}$$

$$\Delta F(z,t) = F(z,t) - \langle F(z,t) \rangle$$

50

【 0 0 4 5 】

によって与えられ得る。

【 0 0 4 6 】

ただし、Rは、気体定数であり、Tは、温度であり、F(z、t)は、所与のzにおける溶質への制約力である。

【 0 0 4 7 】

計算流体力学

モデル

修正型Fickの第2の法則は、FEMフレームワークの中の境界条件により、SCの脂質領域において解かれる。

10

【 0 0 4 8 】

【数 4】

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \left(\frac{Db}{\tau_{flux} \tau_{volume}} \right) \nabla^2 C$$

【 0 0 4 9 】

ただし、C=浸透濃度、

Db=SCの脂質領域における浸透拡散係数、

τ_{flux} 、 τ_{volume} =脂質領域における平行および分岐した輸送または浸透を説明するための屈曲度係数、

20

t=時

である。

τ_{flux} 、 τ_{volume} は、SCの幾何学的パラメータから計算され、

【 0 0 5 0 】

【数 5】

$$\tau_{volume} = \frac{Nh + (N-1)g + (N-1)d}{Nh + (N-1)g}$$

$$\tau_{flux} = \frac{Nh + (N-1)g + (N-1) \frac{\omega}{(1+\omega)^2} d}{Nh + (N-1)g}$$

30

【 0 0 5 1 】

ただし、h=角質細胞幅、

d=角質細胞長さ、

g=脂質チャネル厚さ、

=角質細胞オフセット率、

N=SCの中の角質細胞層の数

である。

40

【 0 0 5 2 】

れんがとモルタルモデルは、概して、角質細胞および脂質マトリックスをそれぞれ表すのに使用される。構造体は、角質細胞の幅、長さ、脂質領域の厚さ、角質細胞オフセット率、および角質細胞層の数のような幾何学的パラメータによって特徴付けられる。SCにわたる流束は、SCを介した浸透の皮膚摂取/累積放出を計算するために、時間に関して測定され、積分される。累積放出は、次の方程式によって与えられる。

【 0 0 5 3 】

【数6】

$$Q(t) = \int_0^t \frac{\varepsilon}{\tau_{flux}} D_b \left(\frac{\partial C(y,t)}{\partial y} \right)_{y=0} dt$$

【0054】

シミュレーション設定

幾何学的パラメータは、本文献から得られる。h=0.8 μm、d=40 μm、g=0.075 μm、 $\mu=1$ 、N=15。これらのパラメータに基づいて、幾何学的形状は、図3に示されているように作成される。幾何学的形状には、三角形要素がメッシュ化されている。シミュレーションは、COMSOLマルチフィジックス(COMSOL multiphysics)において行われる。次の境界条件は、図4に示されているようにCFDシミュレーションに使用される。

10

入口(提供側)における濃度C(t, y=L)=C₀ mol/m³、

出口(受取側)における濃度C(t, y=0)=0 mol/m³、

SCの脂質領域における初期濃度C(t=0)=0 mol/m³、

SCの脂質領域の両側における周期的境界条件。

【0055】

系パラメータ

本明細書において研究された浸透度は、フェンタニルである。フェンタニルの濃度は、0.09 mol/m³である。パッチからSCへのフェンタニルの分配係数は、0.14である。フェンタニルの拡散度は、分子動力学シミュレーション(D_b=3.67×10⁻¹⁰ m²/s)から計算される。CFDシミュレーションは、100sの時間ステップにより70時間の時にわたって実行される。

20

【0056】

結果

- 二重層の均質拡散モデルとは異なり、拡散係数は、図5に示されているように、二重層深さ依存であることがわかった。

- バルク水における拡散係数は、図5に示されているように、二重層の内部と比較して、より高いことがわかった。これは、二重層の内部における自由体積がより少ないためである可能性があり得る。

- フェンタニルの医薬品についてのバルク水における拡散係数は、図5に示されているように(1.8±0.3)×10⁻⁶ cm²/sであることがわかった。

30

- 二重層内の拡散は、図5に示されているように、フェンタニル医薬品分子のバルク値と比較して、ほぼ1桁減少した。

- 二重層深さに沿って計算されたフェンタニル医薬品の平均拡散係数は、3.67×10⁻⁶ cm²/sであることがわかった。

- SC層を介した浸透性フェンタニルの皮膚摂取/累積放出は、図6に示されているように、報告された実験プロファイルと十分に一致していることがわかった。

- 構築されたマルチスケールモデリングフレームワークは、皮膚SCにおける任意の医薬品/化粧品/生体分子などのスクリーニング/試験に使用可能になる。

【0057】

本明細書は、当業者が、実施形態を作製および使用できるように、本明細書における主題について記載している。主題の実施形態の範囲は、特許請求の範囲によって規定され、当業者に想到される他の修正形態を含み得る。そのような他の修正形態は、それらが特許請求の範囲の文言とは異なる類似要素を有する場合、またはそれらが特許請求の範囲の文言とはごくわずかに異なっている等価要素を含む場合、特許請求の範囲内にあることが意図されている。

40

【0058】

しかしながら、保護の範囲が、そのようなプログラムに対して、およびメッセージを中に有するコンピュータ可読手段に加えて拡張され、そのようなコンピュータ可読記憶手段は、プログラムが、サーバ、もしくはモバイルデバイス、または任意の適切なプログラマブルデバイスにおいて動作するとき、方法の1つまたは複数のステップを実装するための

50

プログラムコード手段を包含することを理解されたい。ハードウェアデバイスは、たとえば、サーバ、もしくはパーソナルコンピュータなど、またはそれらの組合せのような任意の種類のコピュータを含む、プログラム可能な任意の種類デバイスとすることができる。デバイスはまた、たとえば、特定用途向け集積回路(ASIC)、フィールドプログラマブルゲートアレイ(FPGA)のようなハードウェア手段、あるいはハードウェアとソフトウェア手段の組合せ、たとえば、ASICおよびFPGA、または少なくとも1つのマイクロプロセッサおよびその中に位置するソフトウェアモジュールを含む少なくとも1つのメモリとすることが可能になる手段も含むことができる。したがって、手段は、ハードウェア手段とソフトウェア手段との両方を含むことができる。本明細書において説明される方法の実施形態は、ハードウェアおよびソフトウェアにおいて実装可能になる。デバイスはまた、ソフトウェア手段を含むことができる。代替として、実施形態は、たとえば、複数のCPUを使用して、異なるハードウェアデバイスにおいて実装され得る。

10

【0059】

本明細書における実施形態は、ハードウェア要素およびソフトウェア要素を含むことができる。ソフトウェアにおいて実装される実施形態は、限定はしないが、ファームウェア、常駐ソフトウェア、マイクロコードなどを含む。本明細書に説明される様々なモジュールによって行われる機能は、他のモジュール、または他のモジュールの組合せで実装され得る。この説明の目的として、コンピュータ使用可能またはコンピュータ可読媒体は、命令実行システム、装置、またはデバイスによって使用される、または命令実行システム、装置、またはデバイスとの関連で使用されるプログラムを含む、記憶する、通信する、伝搬する、または輸送することが可能な任意の装置とすることができる。

20

【0060】

媒体は、電子、磁気、光学、電磁、赤外線、または半導体システム(または装置もしくはデバイス)あるいは伝搬媒体とすることができる。コンピュータ可読媒体の例としては、半導体、または固体メモリ、磁気テープ、リムーバブルコンピュータディスク、ランダムアクセスメモリ(RAM)、読み取り専用メモリ(ROM)、剛性磁気ディスク、および光ディスクが挙げられる。光ディスクの現在の例としては、コンパクトディスク読み取り専用メモリ(CD-ROM)、コンパクトディスク読み取り/書き込み(CD-R/W)およびDVDが挙げられる。

【0061】

プログラムコードを記憶する、および/または実行するのに適しているデータ処理システムは、システムバスを通してメモリ要素に直接または間接的に結合される少なくとも1つのプロセッサを含むことになる。メモリ要素は、プログラムコード、大容量記憶装置、および実行中、大容量記憶装置からコードを読み出さなければならない回数を低減するために、少なくとも何らかのプログラムコードの一時的記憶を可能にするキャッシュメモリの実際の実行中に利用されるローカルメモリを含むことができる。

30

【0062】

入力/出力(I/O)デバイス(限定はしないが、キーボード、ディスプレイ、ポインティングデバイスなどを含む)は、システムに直接か、または介在するI/Oコントローラを通してかのいずれかで、結合され得る。ネットワークアダプタもまた、システムに結合して、介在する私設ネットワークまたは公衆ネットワークを通して、データ処理システムを他のデータ処理システム、またはリモートプリンタ、または記憶デバイスに結合できるようにし得る。モデム、ケーブルモデム、およびEthernetカードは、ネットワークアダプタの現在利用可能なタイプのほんの一部にすぎない。

40

【0063】

実施形態を実施するための代表的なハードウェア環境は、本明細書における実施形態による情報処理/コンピュータシステムのハードウェア構成設定を含み得る。本明細書におけるシステムは、少なくとも1つのプロセッサまたは中央処理装置(CPU)を含む。CPUは、システムバスを介してランダムアクセスメモリ(RAM)、読み取り専用メモリ(ROM)、および入力/出力(I/O)アダプタなどの様々なデバイスに相互接続される。I/Oアダプタは、ディスクユニットおよびテープドライブ、またはシステムが読み取ることができる他のプログ

50

ラム記憶デバイスなど、周辺機器に接続することができる。システムは、プログラム記憶デバイス上の本発明の命令を読み取り、これらの命令に従って、本明細書における実施形態の方法論を実行することができる。

【 0 0 6 4 】

システムは、キーボード、マウス、スピーカ、マイクロフォン、および/またはタッチスクリーンデバイス(図示せず)などの他のユーザインタフェースデバイスをバスに接続して、ユーザ入力を収集するユーザインタフェースアダプタをさらに含む。加えて、通信アダプタが、バスをデータ処理ネットワークに接続し、表示アダプタが、バスを表示デバイスに接続し、この表示デバイスは、たとえば、モニタ、プリンタ、または送信機などの出力デバイスとして具現化可能である。上記説明は、様々な実施形態を参照して提示されている。原理、趣旨、および範囲から意味的に逸脱することなく、説明された構造体および動作の方法における代替または変更が実施可能であることを本願が関連する当業者は認識するであろう。

10

【符号の説明】

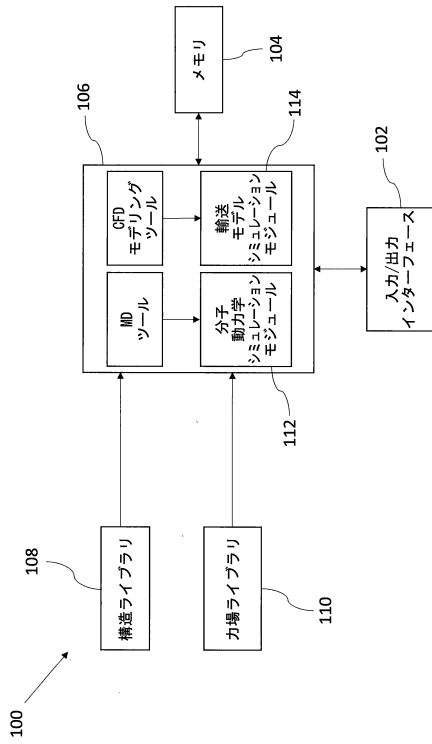
【 0 0 6 5 】

- 100 システム
- 102 入力/出力インターフェース
- 104 メモリ
- 106 プロセッサ
- 108 構造ライブラリ
- 110 力場ライブラリ
- 112 分子動力学シミュレーションモジュール
- 114 輸送モデルシミュレーションモジュール
- 200 フローチャート
- d 二重層の厚さ
- g 脂質チャネル厚さ
- h 角質細胞幅
- p 分子の浸透度
- t 時
- C 浸透濃度
- D 溶質の拡散係数、角質細胞長さ
- Db 脂質領域における浸透拡散係数
- F(z, t) 溶質への制約力
- N 角質細胞層の数
- K 溶質分配関数
- R 気体定数
- T 温度
- flux、 volume 屈曲度係数
- 角質細胞オフセット率

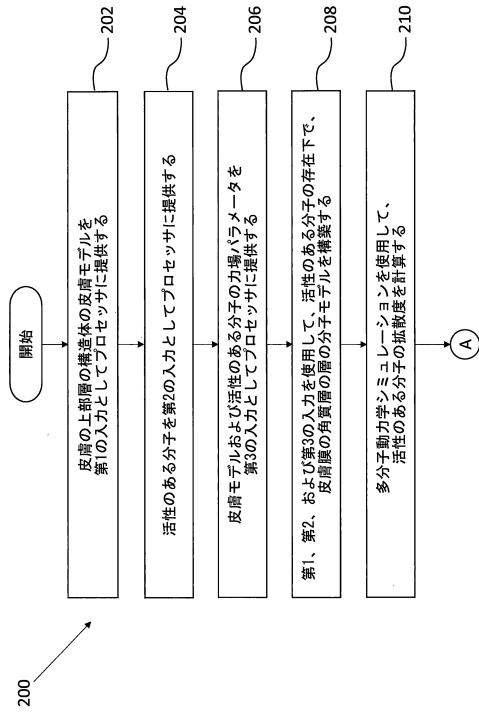
20

30

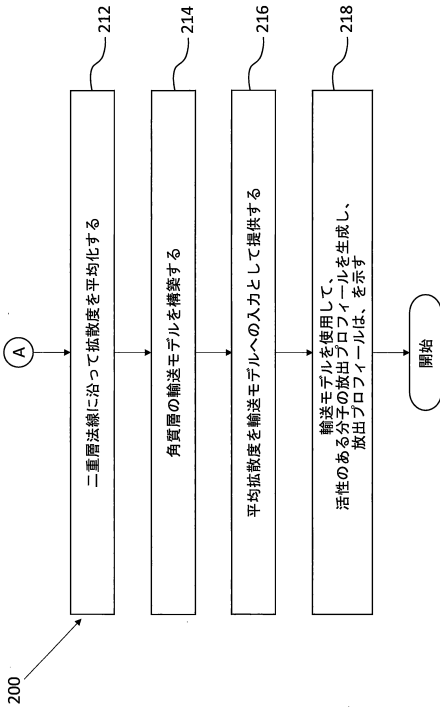
【 図 1 】



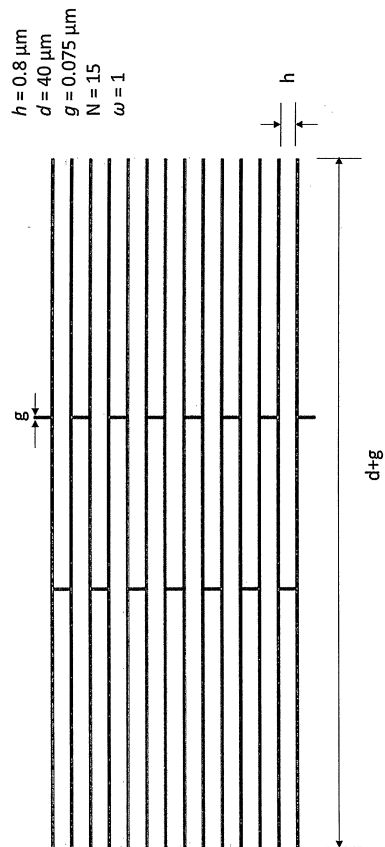
【 図 2 A 】



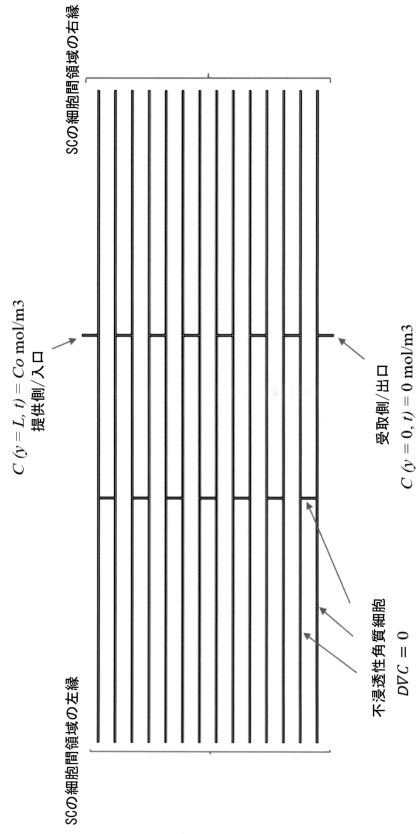
【 図 2 B 】



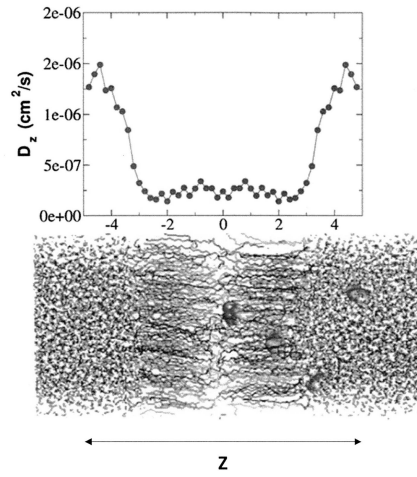
【 図 3 】



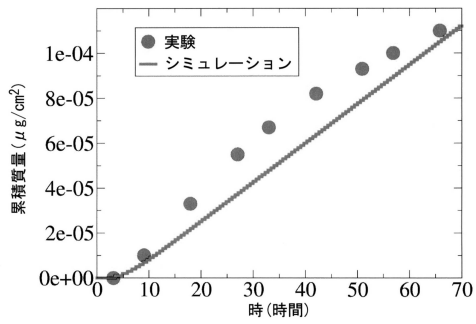
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



フロントページの続き

- (72)発明者 ラケシュ・グプタ
 インド・マハーラーシュトラ・４１１０１３・ブネー・ハダップザー・ハダップザー・インダストリアル・エステート・５４・タタ・リサーチ・ディヴェロップメント・アンド・デザイン・センター・タタ・コンサルタンシー・サーヴィシズ・リミテッド
- (72)発明者 キショア・ガジュラ
 インド・マハーラーシュトラ・４１１０１３・ブネー・ハダップザー・ハダップザー・インダストリアル・エステート・５４・タタ・リサーチ・ディヴェロップメント・アンド・デザイン・センター・タタ・コンサルタンシー・サーヴィシズ・リミテッド
- (72)発明者 バララム・スリダール・ドゥワダシ
 インド・マハーラーシュトラ・４１１０１３・ブネー・ハダップザー・ハダップザー・インダストリアル・エステート・５４・タタ・リサーチ・ディヴェロップメント・アンド・デザイン・センター・タタ・コンサルタンシー・サーヴィシズ・リミテッド
- (72)発明者 ビーナ・ライ
 インド・マハーラーシュトラ・４１１０１３・ブネー・ハダップザー・ハダップザー・インダストリアル・エステート・５４・タタ・リサーチ・ディヴェロップメント・アンド・デザイン・センター・タタ・コンサルタンシー・サーヴィシズ・リミテッド

審査官 山内 裕史

- (56)参考文献 特開平０８－０１６５５１（ＪＰ，Ａ）
 特表２０１７－５００３２２（ＪＰ，Ａ）
 国際公開第２０１５／１００１１８（ＷＯ，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，DB名)

| | | | |
|---------|-----------|---|-----------|
| G 0 6 Q | 1 0 / 0 0 | - | 9 9 / 0 0 |
| G 1 6 H | 1 0 / 0 0 | - | 8 0 / 0 0 |
| G 1 6 C | 1 0 / 0 0 | - | 9 9 / 0 0 |