

皮膚生理機能賦活物質の経皮吸収に対する評価解析理論の確立

京都大学薬学部

瀬崎 仁・山下 富義・橋田 充

For the rational design of formulation of substances which affect physiological function of skin, it is important to establish analytical methods for their percutaneous absorption. A physiological skin diffusion model considering the first stratum corneum layer with polar and nonpolar routes and the second viable epidermis plus dermis layer combined with blood vessel compartment was constructed, and the corresponding Laplace transformed equations for percutaneous penetration in the finite dose system were derived from the Fick's diffusion law. By employing the numerical inversion of these image equations to the real time course by the fast inverse Laplace transform (FILT) algorithm, percutaneous penetration of drugs was theoretically discussed in connection with their lipophilicities. In addition, the mechanisms of action of penetration enhancer, which has been the most promising in the methodology for the enhancement of percutaneous absorption of impermeable drugs, were analyzed. Based on these analytical results, the fundamental directions for the use of an enhancer in formulations of various drugs was systematized.

1. 緒言

近年、皮膚生理機能の賦活を目的とした各種薬物(化粧品素材)の開発が活発に進められているが、これらを科学的合理性に基づいて実用化するためには、その皮膚透過性を客観的に評価し制御するための方法論の確立が重要である。しかしながら、現在一般に用いられている薬物皮膚透過の評価解析法は、Fickの第二式に基づく時間次元の解析解の誘導に大きな制限があるために薬物適用を懸濁条件下(infinite dosing)に固定し、かつ皮膚を均一な一枚膜とみなしたモデルで解析するか、皮膚を二枚膜とみなした場合はグラフ法で解析するしか方法がなく、実際のin vivoにおける皮膚透過現象の評価、解析、予測とは大きな隔たりを残している。これらの結果として、吸収促進の機構解明も進んでおらず、吸収改善法の開発も試行錯誤的アプローチの段階にとどまっているのが現

実である。

本研究では、以上のような現状認識の上に立って、薬物や化粧品素材の皮膚透過現象を物質拡散を基本として統一的に解析することを目的とし、高速ラプラス逆変換アルゴリズムを利用することによって、皮膚の解剖学的特性に基づいた複合的な拡散モデルと実験結果として得られる透過データとの統合を行った。具体的には、先ずin vitroおよびin vivo系に対応する皮膚透過モデルの考案およびラプラス次元での解析解の誘導を行い、その後実験で得られた透過データの解析から皮膚の特性データを抽出し、透過促進法の機構解明とそれに基づく合理設計を試みた。

2. モデルの構築と薬物皮膚透過のシミュレーション

薬物の経皮吸収パターンを精度良く予測できる

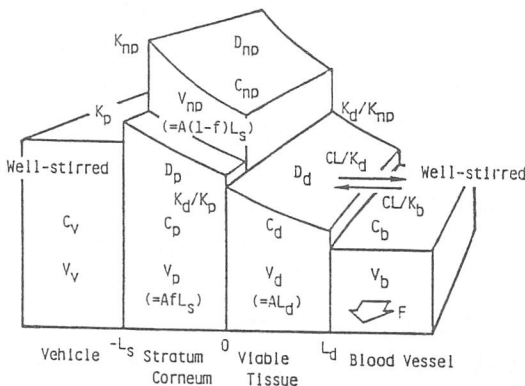
Establishment of the Analytical Method for Percutaneous Absorption of Substances Which Affect Physiological Function of Skin

Hitoshi Sezaki, Fumiyoshi Yamashita and Mitsuru Hashida

手段を開発するためには、皮膚の生理学および解剖学的な構造を踏まえた上で、薬物の経皮吸収機構を *in vitro* から *in vivo* までを包括的に説明できる経皮吸収モデルを構築しなければならない。そこで、先ず薬物経皮吸収に関するこれまでの知見をもとに生理学的皮膚拡散モデルを構築し、モデルに基づいた解析解の誘導を行った。

2.1 生理学的皮膚拡散モデルの構築および理論式の誘導

薬物の皮膚透過経路としては、大きく角質層を透過する経路と毛穴等を透過する経付属器官経路の二つに分けられている。Scheuplainらは一連の *alkanol* を用いて *in vitro* 皮膚透過実験を行い、親水性の高い *alkanol* では透過係数が炭素数の増加によらず一定であるのに対し、ある程度の炭素数を有する *alkanol* では炭素数の増加に伴い透過係数が増大することを報告している¹⁾。角質層を透過した薬物は、さらに生きた表皮および真皮上部を透過後脈管系に入り全身系へ運ばれるが、非常に親油性の高い薬物では、角質層に対する親和性が高く相対的にこれらの層が律速過程となることが知られている²⁾。



D: Diffusion Coefficient A: Effective Area
 K: Partition Coefficient f: Area Fraction
 C: Concentration CL: Clearance
 V: Volume F: Blood Flow
 L: Diffusion Length

Fig.1 Physiological Skin Diffusion Model

そこで我々は、これらの研究結果を説明可能なモデルとして、皮膚に投与された薬物が角質層の極性および非極性経路を拡散し、さらに連続する過程として、生きた表皮および真皮の拡散、血管壁透過、血流による運び去りを受けると仮定した皮膚拡散モデルを構築した(Fig.1)。

薬物は *finite* 系で投与され、基剤中および血管コンパートメント中で *well-stirred* 状態にあると仮定した場合、各層において以下に示す Fick の式、初期条件および境界条件は次のように表すことができる。

Fick の式 :

$$\frac{\partial C_v}{\partial t} = D_p \left(\frac{\partial^2 C_p}{\partial x^2} \right) \quad \frac{\partial C_{np}}{\partial t} = D_{np} \left(\frac{\partial^2 C_{np}}{\partial x^2} \right) \quad \frac{\partial C_d}{\partial t} = D_d \left(\frac{\partial^2 C_d}{\partial x^2} \right)$$

初期条件 :

$$C_v = C_0 \quad C_p = C_{np} = C_d = C_b = 0$$

境界条件 :

$$x = -l_s,$$

$$V_d \left(\frac{dC_b}{dt} \right) = \left(\frac{CL}{K_d} \right) C_d - \left(\frac{CL}{K_b} \right) C_b - FC_b$$

$$-D_d \left(\frac{\partial C_d}{\partial x} \right) = \left(\frac{CL}{K_d} \right) C_d - \left(\frac{CL}{K_b} \right) C_b$$

$$x = 0$$

$$D_p A_f \left(\frac{\partial C_p}{\partial x} \right) + D_{np} A(1-f) \left(\frac{\partial C_{np}}{\partial x} \right) = D_d A \left(\frac{\partial C_d}{\partial x} \right)$$

$$C_d = \left(\frac{K_d}{K_p} \right) C_p = \left(\frac{K_d}{K_{np}} \right) C_{np}$$

$$x = l_d$$

$$V_d \left(\frac{dC_v}{dt} \right) = D_p A_f \left(\frac{\partial C_p}{\partial x} \right) + D_{np} A(1-f) \left(\frac{\partial C_{np}}{\partial x} \right)$$

$$C_p = K_p C_v \quad C_{np} = K_{np} C_v$$

また、吸収速度 dQ/dt 、基剤中残存量 X_v 、各層での薬物量 (M_p 、 M_{np} 、 M_d 、 M_b) は次のように表され、

$$\frac{dQ}{dt} = FC_b$$

$$X_v = C_v V_v$$

$$M_p = \int_{-l_s}^0 C_p A_f dx \quad M_{np} = \int_{-l_s}^0 C_{np} A(1-f) dx \quad M_d = \int_0^{l_d} C_d A dx$$

$$X_b = C_b V_b$$

これらの式をラプラス変換し、ラプラス次元での累積吸収量(Q), 基剤中残存量(X_v), 皮膚中薬物量(M), 末梢血管内薬物量(X_b)の式が誘導される。

$$\begin{aligned} \bar{Q} &= WZ_d X_0 (Z_{np} \sinh \alpha_p + Z_p \sinh \alpha_{np}) / (V_b f + F) / s / k(s) \\ \bar{X}_v &= V_v (Z_{np} \sinh \alpha_p \cosh \alpha_{np} + Z_p \cosh \alpha_p \sinh \alpha_{np}) (W \sinh \alpha_d + Z_d \cosh \alpha_d) \\ &\quad + Z_d \sinh \alpha_p \sinh \alpha_{np} (Z_d \sinh \alpha_d + W \cosh \alpha_d) / s / k(s) \\ \bar{M} &= \bar{M}_p + \bar{M}_{np} + \bar{M}_d \\ \bar{M}_p &= Z_p X_0 \{ [Z_{np} \sinh \alpha_p \sinh \alpha_{np} + Z_{np} (\cosh \alpha_p - 1) (\cosh \alpha_{np} + 1)] (W \sinh \alpha_d + Z_d \cosh \alpha_d) \\ &\quad + Z_d \sinh \alpha_{np} (\cosh \alpha_p - 1) (Z_d \sinh \alpha_d + W \cosh \alpha_d) \} / s / k(s) \\ \bar{M}_{np} &= Z_{np} X_0 \{ [Z_{np} \sinh \alpha_p \sinh \alpha_{np} + Z_p (\cosh \alpha_p + 1) (\cosh \alpha_{np} - 1)] (W \sinh \alpha_d + Z_d \cosh \alpha_d) \\ &\quad + Z_d \sinh \alpha_p (\cosh \alpha_{np} - 1) (Z_d \sinh \alpha_d + W \cosh \alpha_d) \} / s / k(s) \\ \bar{M}_d &= Z_d X_0 (Z_{np} \sinh \alpha_p + Z_p \sinh \alpha_{np}) (Z_d \sinh \alpha_d + W \cosh \alpha_d) / s / k(s) \\ \bar{X}_b &= WZ_d V_b X_0 (Z_{np} \sinh \alpha_p + Z_p \sinh \alpha_{np}) / (V_b f + F) / s / k(s) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} k(s) &= V_v \{ (Z_{np} \sinh \alpha_p \cosh \alpha_{np} + Z_p \cosh \alpha_p \sinh \alpha_{np}) (W \sinh \alpha_d + Z_d \cosh \alpha_d) \\ &\quad + Z_d \sinh \alpha_p \sinh \alpha_{np} (Z_d \sinh \alpha_d + W \cosh \alpha_d) \} \\ &\quad + Z_p \{ [Z_{np} \sinh \alpha_p \sinh \alpha_{np} + Z_{np} (\cosh \alpha_p - 1) (\cosh \alpha_{np} + 1)] (W \sinh \alpha_d + Z_d \cosh \alpha_d) \\ &\quad + Z_d \sinh \alpha_{np} (\cosh \alpha_p - 1) (Z_d \sinh \alpha_d + W \cosh \alpha_d) \} \\ &\quad + Z_{np} \{ [Z_{np} \sinh \alpha_p \sinh \alpha_{np} + Z_p (\cosh \alpha_p + 1) (\cosh \alpha_{np} - 1)] (W \sinh \alpha_d + Z_d \cosh \alpha_d) \\ &\quad + Z_d \sinh \alpha_p (\cosh \alpha_{np} - 1) (Z_d \sinh \alpha_d + W \cosh \alpha_d) \} \end{aligned}$$

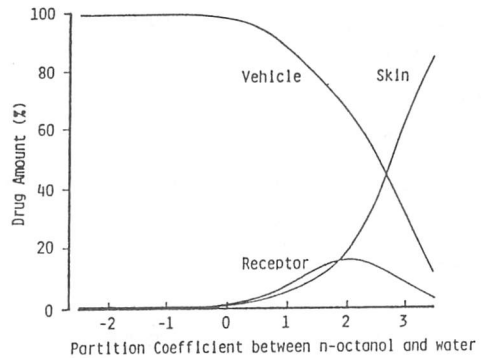
$$\begin{aligned} \alpha_p &= L_v \sqrt{s/D_p} & \alpha_{np} &= L_{np} \sqrt{s/D_{np}} & \alpha_d &= L_d \sqrt{s/D_d} \\ Z_p &= K_p V_p / \alpha_p & Z_{np} &= K_{np} V_{np} / \alpha_{np} & Z_d &= K_d V_d / \alpha_d \end{aligned}$$

一方、in vitro系では血流による全身系への移行過程はなく、実験は基本的にレシーバ側でsink conditionが成立した形で行われる。したがって、上の式で血管壁透過クリアランスCLおよび血流Fが無限に大きいことを仮定することにより、in vitro実験系に対応した解析式を誘導することができる。

2.2 高速ラプラス逆変換(FILT)アルゴリズムを利用した薬物皮膚透過および経皮吸収促進のシミュレーション

先に示したようなラプラス次元の式を解析的に逆変換することは困難であるが、これらの式を数値的に逆変換する方法として高速ラプラス逆変換(FILT)が細野によって考案された^{3, 4)}。そこで、このアルゴリズムを利用し薬物の経皮吸収動態および経皮吸収促進のシミュレーションを行った。

薬物の経皮吸収は物理化学的な視点より拡散過程と分配過程からなるが、基本的には前者が薬物



Constants: $D_p = 3.2 \times 10^{-6} (\text{cm}^2/\text{hr})$, $D_{np} = 3.2 \times 10^{-6} (\text{cm}^2/\text{hr})$, $D_d = 3.2 \times 10^{-6} (\text{cm}^2/\text{hr})$, $A = 3.14 (\text{cm}^2)$, $L_s = 0.0025 (\text{cm})$, $L_d = 0.08 (\text{cm})$, $f = 0.001$, $V_v = 1.0 (\text{ml})$, $\delta_p = \delta_d = \delta_v = \delta_w = 23.4 ((\text{cal}/\text{cm}^3)^{1/2})$, $\delta_{np} = 9.5 ((\text{cal}/\text{cm}^3)^{1/2})$, $\delta_{\text{oct}} = 10.3 ((\text{cal}/\text{cm}^3)^{1/2})$

Fig.2 The Amounts of Drug Appearing in Receptor, Remaining in Vehicle, and Accumulating in Skin at 24 hr after the Start of Diffusion as a Function of Partition Coefficient between n-Octanol and Water

の分子体積に依存するのに対して、後者は薬物の親油性によって決定されると思われることができる。薬物の皮膚への分配係数は、薬物、基剤、および皮膚の溶解度パラメータを用いて次のように表すことができる⁵⁾。

$$\log K_i = \{ (\delta_x - \delta_v)^2 - (\delta_x - \delta_i)^2 \} v_x / 2.303RT \quad (i = p, np, d)$$

K: Partition Coefficient δ : Solubility Parameter v: Molar Volume
R: Gas Constant T: Absolute Temperature i: Skin x: Drug v: Vehicle

この理論を用いることによって薬物の octanol / 水間分配係数と皮膚基剤間分配係数を関連づけることも可能である。そこで、式に基づいて in vitro系を仮定し、薬物の octanol / 水間分配係数と水を基剤としたときの24hr後の皮膚透過量、基剤中薬物量、皮膚中薬物量の関係をシミュレーションした(Fig.2)。薬物の皮膚透過はある分配係数をもつ薬物での最大となったのに対し、皮膚中薬物量は分配係数の増加にしたがって増加し、基剤中薬物量は一様に減少することが示された。これは、薬物の親油性の増大に伴い皮膚に対する分配が増加するため皮膚透過が増大するが、ある点を越えると角質層以下の層の透過が律速となり、さらに基剤中濃度の過度の減少に示されるように薬物の皮膚中での活動度勾配が小さくなる結果、

皮膚透過が減少することを意味している。

以上のシミュレーションで示されるように、この生理学的皮膚拡散モデルでは異なる親油性を有する薬物の皮膚透過を統一的に説明できるため、経皮吸収促進の機構解明においても有用であると考えられる。一般に、吸収促進効果は対象とする薬物の物理化学的性質に応じて異なることが知られているが^{6, 7)}、これは吸収促進剤の作用部位と薬物の皮膚透過経路の関連によると考えることができる。また、吸収促進機構としては、薬物の皮膚中での移動度を促進する拡散性の増大、および皮膚中での薬物の濃度勾配を大きくすることによって皮膚透過を促進する皮膚への分配性の増大の二つの機構が考えられる。そこで、先のシミュレーションをもとに角質層の各透過経路での拡散性および分配性を増大させた場合について、薬物

親油性と促進効果との関係をシミュレーションにより検討した(Fig.3)。

吸収促進効果は、吸収促進剤の作用部位が薬物透過の律速過程と一致したときに最大の効果が得られると考えられる。したがって、Fig.3に示されるように吸収促進剤が角質層非極性経路に作用する場合にはベル型の関係が得られ、極性経路に作用する場合には親水性の高い薬物ほど促進されることになる。一方、吸収促進剤の作用機構によって促進効果が異なり、特に皮膚中薬物量に関しては、拡散を増加させた場合はほとんど変化がみられないのに対し、分配を増加させた場合は顕著に増大する結果となる。我々はこれまでに、Azone, 1-geranylazacycloheptan-2-one (GACH), 1-farnesylazacycloheptan-2-one (FACH)において5種類の薬物を対象に皮膚透過

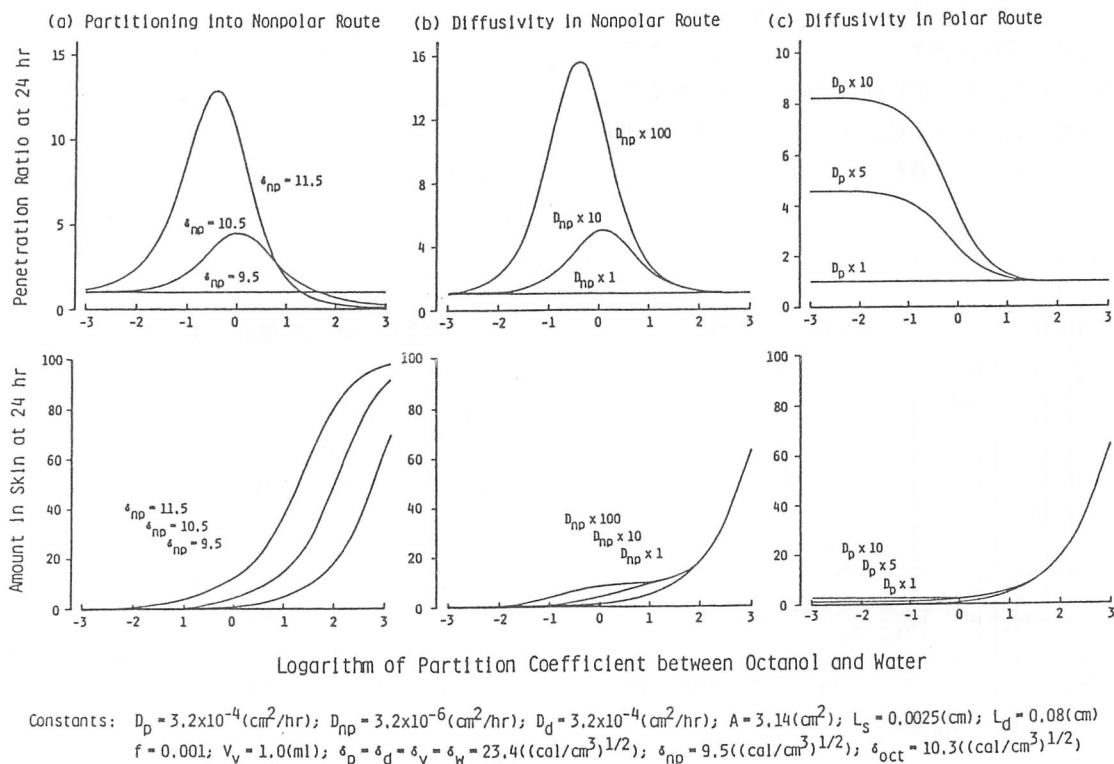


Fig.3 Effect of Each Parameter on Penetration Ratio(A) and Drug Amount in Skin(B) at 24 hr against Logarithm of Partition Coefficient between n-Octanol and water

実験を行った結果、分配係数1付近の薬物で促進効果が最も大きく、またこれら促進剤が各薬物の皮膚中薬物量を顕著に増大させることを報告しているが⁹⁾、今回のモデルに基づき、これら吸収促進剤が薬物の非極性経路への分配を増加させると仮定することで、各薬物に対する皮膚透過促進が説明できることが明らかとなった。

3. 経皮吸収促進剤の作用機構解析

各種吸収促進法を利用した経皮投与製剤の開発においては、薬物の本体の皮膚透過性と薬物治療に要求される薬物送達速度を考慮した上でその適用条件を設定することが必要である。しかしながら、これらの製剤設計は試行錯誤的に行われているのが現状であり、基本的な設計指針となる吸収促進に関する定量的な解釈が要求されている。そこで、経皮吸収促進法として現在最も注目されている経皮吸収促進剤を例として *in vitro* 皮膚透過実験を行い、種々の物理化学的性質を有する薬物の経皮吸収に及ぼす吸収促進剤の用量依存的効果について理論的な考察を行った。

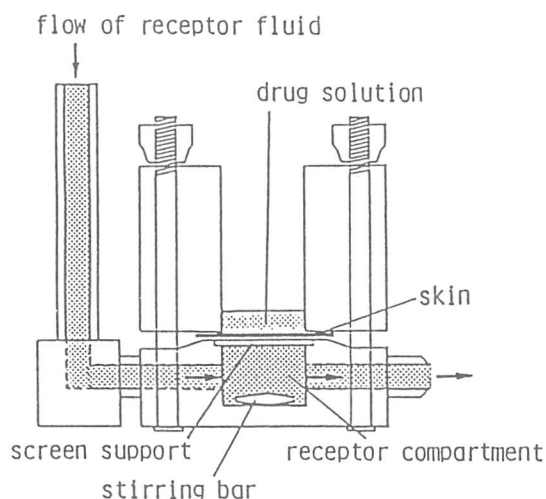


Fig.4 Flow-through Type Diffusion Cell

3.1 *in vitro* 皮膚透過実験の方法

吸収促進剤の薬物皮膚透過に及ぼす影響としては、基剤中での薬物との相互作用および皮膚に対する直接作用が考えられる。本研究では、吸収促進剤の皮膚に対する影響のみを解析する目的で、吸収促進剤の前処理条件下 *in vitro* 皮膚透過実験を行った。また、モデル解析をより単純化するため、flow-through型拡散セル(Fig.4)を使用し、レシーバ側でsink conditionが成立した形で透過実験を行った。透過実験は以下に示す方法で行った。モルモット背部より摘出した皮膚をセルに装着し、ドナー側を種々の濃度の促進剤のエタノール溶液0.2mlで24hr前処理したのち、残存するエタノールをドライヤーで除去し、1あるいは2 mMの薬物の水溶液1mlを投与した。また、tape strippingを15回行うことにより角質層を除去した皮膚を用いて、24hr生理食塩水で前処理後薬物の生理食塩水溶液1mlを投与して同様の実験を行った。レシーバ側は常に生理食塩水を灌流し、薬液投与後灌流液中に出現する薬物量を経時的に測定した。また、実験終了時には、ドナー中および皮膚中に残存する薬物量も併せて測定した。薬物の定量は、液体シンチレーションカウンターを用いて行った。

3.2 対象薬物と吸収促進効果の関係

吸収促進剤には、これまでの研究で⁹⁾優れた促進効果を有し皮膚刺激性の低いことを報告している 1-geranylazacycloheptan-2-one(GACH)を選び、対象薬物には異なった親油性を有する mannitol(MT), cytosine β -D-arabinofuranoside(ARA-C), acyclovir(AC), 5-fluorouracil (5-FU), 6-mercaptopurine(6-MP), hydrocortisone(HC), butylparaben(BP)を用いて *in vitro* 皮膚透過実験を行った。これらの薬物のオクタノール/水間分配係数を測定した結果、それぞれ0.00155, 0.00939, 0.0304, 0.144, 0.654, 7.42, 371であった。

Fig.5は、各薬物についてGACHの各種適用

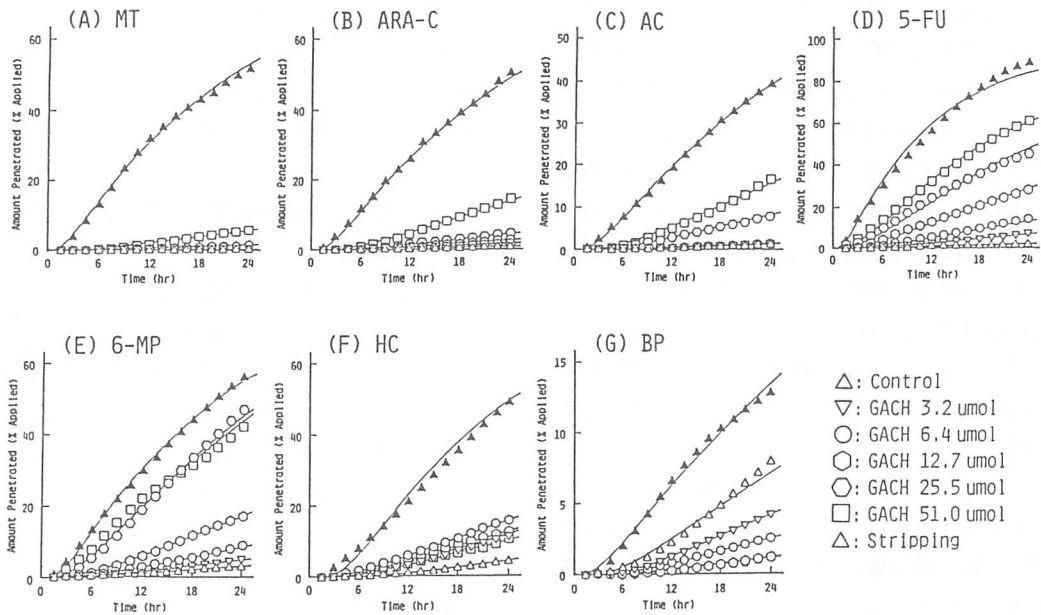


Fig.5 Percutaneous Penetration of MT(A), ARA-C(B), AC(C), 5-FU(D), 6-MP(E), HC(F), and BP (G) through Intact Guinea Pig Skin Preloaded with Ethanolic Solution of Different Doses of GACH or through Tape-Stripped Skin

Table 1 Amounts of Drugs Recovered at the End of 24 hr Diffusion Experiment with Different Doses of GACH

Drug	Preloading dose of GACH (μmol)	Recovery (%)				Drug	Preloading dose of GACH (μmol)	Recovery (%)			
		Donor	Skin	Receptor	Total			Donor	Skin	Receptor	Total
MT	0	95.72±0.25	1.05±0.16	0.53±0.04	97.30±0.13	6-MP	0	91.24±3.86	6.69±2.07	2.96±1.63	100.88±3.66
	3.2	93.30±1.57	1.73±0.11	0.60±0.12	95.64±1.54		3.2	84.21±3.99	11.43±3.14	5.03±1.27	100.65±1.90
	6.4	93.14±0.77	1.99±0.64	1.44±0.15	96.66±0.52		6.4	77.61±5.72	15.36±6.21	8.54±2.35	101.49±2.46
	12.7	93.24±0.86	1.83±0.37	0.98±0.04	96.05±0.93		12.7	63.79±5.08	17.32±7.23	17.05±3.45	98.15±4.68
	25.5	92.78±4.57	2.39±0.16	1.86±1.35	97.03±3.39		25.5	34.82±3.92	23.67±9.04	47.27±5.31	105.75±2.22
	51.0	71.06±12.57	4.50±2.46	6.16±1.76	83.60±13.10		51.0	37.04±4.59	16.35±1.50	42.53±6.54	95.92±0.92
	stripping	27.62±13.86	4.50±2.46	62.36±10.44	84.47±8.70		stripping	23.88±8.38	8.27±4.78	56.56±11.73	88.71±2.95
ara-C	0	92.67±0.69	2.69±1.02	0.91±0.13	96.37±1.49	HC	0	66.27±7.44	24.25±5.07	4.31±2.85	94.83±3.37
	3.2	90.14±3.44	2.81±0.60	1.65±0.80	94.60±2.25		3.2	60.62±4.38	30.46±3.74	11.64±1.03	92.72±3.01
	6.4	91.13±2.77	3.81±0.68	1.96±0.65	96.91±2.93		6.4	45.18±6.97	34.10±5.91	15.49±2.50	94.77±2.40
	12.7	90.52±2.22	5.47±2.14	2.87±0.74	98.86±0.76		12.7	49.98±4.09	32.23±5.16	12.43±0.75	94.63±2.96
	25.5	86.81±3.07	4.93±0.54	4.60±0.56	96.34±2.71		25.5	41.92±5.44	47.25±2.88	11.94±4.06	101.10±1.49
	51.0	71.35±1.44	10.50±1.77	14.66±1.98	96.51±2.19		51.0	32.78±7.18	67.16±11.59	10.24±1.50	100.18±5.90
	stripping	33.84±10.38	7.35±3.82	60.35±14.25	91.55±1.37		stripping	23.54±4.18	13.22±1.24	48.82±0.95	85.57±4.05
AC	0	96.17±0.83	3.27±0.14	1.19±0.31	100.62±0.66	BP	0	8.10±1.33	29.90±3.55	7.99±1.72	45.99±1.12
	3.2	92.22±0.73	4.34±2.39	1.22±0.31	97.79±1.97		3.2	9.52±1.02	55.84±3.28	4.23±1.64	69.59±2.28
	6.4	96.18±4.62	5.01±0.49	1.61±0.40	102.79±4.88		6.4	8.59±0.84	65.29±6.38	2.55±0.79	76.43±6.44
	12.7	92.37±5.14	6.28±0.48	1.49±0.38	100.13±4.86		12.7	8.41±0.53	68.48±4.14	1.21±0.52	78.09±3.66
	25.5	85.10±1.79	8.17±1.92	8.24±2.75	101.50±2.00		25.5	12.23±1.72	75.39±12.17	1.21±0.06	88.83±13.78
	51.0	66.23±10.64	15.88±3.83	16.89±5.15	99.01±2.21		51.0	10.33±2.33	79.66±3.18	0	89.99±0.78
	stripping	41.01±12.17	10.91±0.97	39.73±13.74	91.66±1.37		stripping	6.39±1.92	33.72±9.16	12.76±3.81	51.87±6.48
5-FU	0	97.66±2.71	3.09±1.01	2.09±1.50	102.84±1.68						
	3.2	77.95±1.04	6.84±3.72	6.99±2.80	91.79±0.97						
	6.4	74.86±2.65	7.53±0.52	13.65±2.50	96.04±1.35						
	12.7	57.31±6.53	10.03±1.81	28.07±6.80	95.41±0.85						
	25.5	45.72±4.94	9.65±1.86	44.98±6.77	100.24±1.24						
	51.0	24.98±4.04	4.75±0.78	60.90±7.13	90.63±4.41						
	stripping	4.77±3.16	2.14±0.79	89.38±3.82	95.76±0.54						

The recoveries at 24 hr are expressed as mean±S.D.

条件下 *in vitro* 皮膚透過実験により得られた累積透過量-時間曲線を示している。いずれの薬物においても tape-stripping により角質層を除去した皮膚での透過が最も大きく、コントロールに比べラゲタイムも顕著に短いことから、薬物の皮膚透過において角質層が強力なバリアーとして機能していることが明らかとなった。一方、GACH は基本的に用量依存的な薬物透過促進を示したが、幾分親油性の高い HC に対しては $6.4 \mu\text{mol}$ で最大の効果を示し、非常に親油性の高い BP に対しては適用量の増加に伴い皮膚透過を減少させることが明らかとなった。このように透過パターンに対する GACH の影響が薬物間で異なったのに対し、Table 1 に示されるように GACH はすべての薬物に対し用量依存的に実験終了時の皮膚中薬物量を増大させることが明らかとなった。GACH 前処理による皮膚透過促進効果を、薬物のオクタノール/水間分配係数に対しプロットを行った結果、促進効果についてはベル型の関係が得られた (Fig.6)。一方、皮膚中薬物量は薬物の親油性が高いほど大きく、GACH 適用により顕著に

増大することが示された。これらの結果から、先のシミュレーションとの対応により GACH が用量依存的に薬物の皮膚への分配性を増加させることによって皮膚透過を促進することが示唆された。

3.3 生理学的皮膚拡散モデルに基づく促進機構の解析

GACH の皮膚透過促進機構をより厳密に解明し、*in vitro* での経皮吸収動態を精密に予測することを目的として、先に述べた生理学的皮膚拡散モデルに基づいた解析を行い、GACH 適用時の経皮吸収動態を拡散と分配のパラメータに還元した。ここで、各経路における皮膚透過パラメータを評価するために次のような2つの仮定をおいた。高投与量の GACH で tape-stripping を行った皮膚を前処理した場合においても各薬物において透過促進が見られなかったため、GACH は角質層以下の層には影響を与えず、各薬物の角質層以下の層での皮膚透過パラメータは tape-stripping を行った皮膚での透過曲線を一枚膜皮膚モデルの解析により得られたパラメータに近似でき

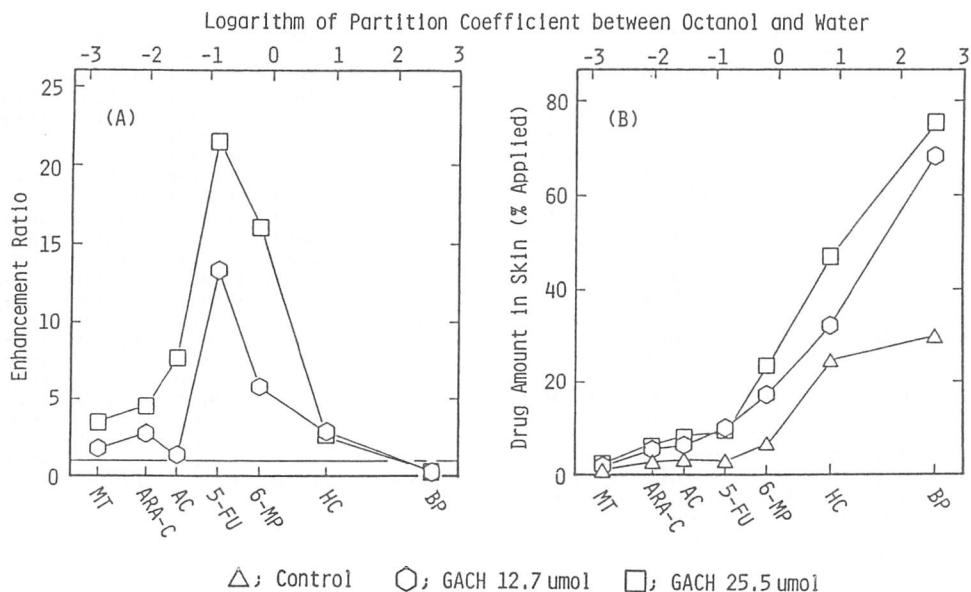


Fig.6 Relationship between Drug Lipophilicities and Enhancement Ratios(A) and Drug Amounts in Skin (B) at 24 hr at the Pretreatment of GACH

Table 2 Diffusion and Partition Parameters in Each Domain at the Pretreatment with Different Doses of GACH

Drug	Preloading dose of GACH (μmol)	Polar route		Nonpolar route		Viable tissue		Drug	Preloading dose of GACH (μmol)	Polar route		Nonpolar route		Viable tissue	
		D_p' (hr^{-1})	K_p' ($\times 10^6 \text{cm}^3$)	D_{np}' (hr^{-1})	K_{np}' (cm^3)	D_d' (hr^{-1})	K_d' (cm^3)			D_p' (hr^{-1})	K_p' ($\times 10^6 \text{cm}^3$)	D_{np}' (hr^{-1})	K_{np}' (cm^3)	D_d' (hr^{-1})	K_d' (cm^3)
MT	0	39.9	7.27	---	---	0.0812	0.693	6-MP	0	39.9	7.27	6.72	0.000145	0.0596	1.04
	3.2	49.5	6.99	---	---	0.0812	0.693		3.2	49.5	6.99	4.74	0.000501	0.0596	1.04
	6.4	42.1	19.8	---	---	0.0812	0.693		6.4	42.1	19.8	3.69	0.00123	0.0596	1.04
	12.7	41.8	13.0	---	---	0.0812	0.693		12.7	41.8	13.0	2.28	0.00604	0.0596	1.04
	25.5	49.6	22.3	---	---	0.0812	0.693		25.5	49.6	22.3	1.60	0.0469	0.0596	1.04
	51.0	48.5	90.4	---	---	0.0812	0.693		51.0	48.5	90.4	3.16	0.0270	0.0596	1.04
	stripping	---	---	---	---	0.0812	0.693		stripping	---	---	---	---	---	0.0596
ARA-C	0	39.9	7.27	3.52	0.000102	0.0605	0.763	HC	0	39.9	7.27	3.16	0.00157	0.0275	3.19
	3.2	49.5	6.99	3.63	0.000205	0.0605	0.763		3.2	49.5	6.99	3.25	0.00500	0.0275	3.19
	6.4	42.1	19.8	2.94	0.000166	0.0605	0.763		6.4	42.1	19.6	3.68	6.76	0.0275	3.19
	12.7	41.8	13.0	4.87	0.000280	0.0605	0.763		12.7	41.8	13.0	1.27	9.02	0.0275	3.19
	25.5	49.6	22.3	5.55	0.000376	0.0605	0.763		25.5	49.6	22.3	0.408	10.6	0.0275	3.19
	51.0	48.5	90.4	1.93	0.00393	0.0605	0.763		51.0	48.5	90.4	0.468	12.9	0.0275	3.19
	stripping	---	---	---	---	0.0605	0.763		stripping	---	---	---	---	---	0.0275
AC	0	39.9	7.27	5.19	0.0000910	0.0565	0.565	BP	0	39.9	7.27	0.191	0.238	0.0566	0.279
	3.2	49.5	6.99	1.34	0.000296	0.0565	0.565		3.2	49.5	6.99	0.0580	2.86	0.0566	0.279
	6.4	42.1	19.6	1.08	0.0000766	0.0565	0.565		6.4	42.1	19.6	0.0498	6.58	0.0566	0.279
	12.7	41.8	13.0	2.38	0.000164	0.0565	0.565		12.7	41.8	13.0	0.0276	13.0	0.0566	0.279
	25.5	49.6	22.3	1.56	0.00345	0.0565	0.565		25.5	49.6	22.3	0.0502	19.8	0.0566	0.279
	51.0	48.5	90.4	2.39	0.00450	0.0565	0.565		stripping	---	---	---	---	0.0566	0.279
	stripping	---	---	---	---	0.0565	0.565								
5-FU	0	39.9	7.27	4.43	0.000183	0.0860	1.80								
	3.2	49.5	6.99	4.30	0.000896	0.0860	1.80								
	6.4	42.1	19.6	5.60	0.00136	0.0860	1.80								
	12.7	41.8	13.0	6.25	0.00352	0.0860	1.80								
	25.5	49.6	22.3	5.88	0.00774	0.0860	1.80								
	51.0	48.5	90.4	5.78	0.0176	0.0860	1.80								
	stripping	---	---	---	---	0.0860	1.80								

る。また、水を基剤とした場合親水性の高い薬物では親油性の程度に依らず一定の皮膚透過を示すことを考慮して、非常に親水性の高いmannitolは角質層極性経路のみを透過すると仮定し、他の薬物における極性経路での皮膚透過パラメータはmannitolのパラメータを代用できると仮定した。

以上の仮定のもとで、実験の結果得られた累積透過量-時間曲線をラプラス次元の解析式に高速ラプラス逆変換アルゴリズムを利用した非線形最小二乗法プログラムMULTI(FILT)を用いて当てはめ、各層での拡散および分配パラメータを算出した(Table 2)。また、解析の結果得られたパラメータを用いて実験終了時における基剤中残存量および皮膚中薬物量をシミュレーションし、実測値との比較を行った。

基剤中残存量：

$$\begin{aligned} (\text{Estimated}) &= 1.022 * (\text{Observed}) \\ (r &= 0.983, n = 49) \end{aligned}$$

皮膚中薬物量：

$$\begin{aligned} (\text{Estimated}) &= 1.072 * (\text{Observed}) \\ (r &= 0.901, n = 49) \end{aligned}$$

基剤中残存量および皮膚中薬物量のいずれにおいても計算値は実測値と良く一致した。この結果より、本モデルに基づく解析は種々の薬物の皮膚透過を正確に表すことができるため極めて有用な方法と考えられる。

GACHの角質層極性経路への影響は小さく、分配パラメータを最大約10倍増加させたが、拡散パラメータはほとんど変化させなかった。一方、GACHはその前処理量に依存して非極性経路に対する分配パラメータを顕著に増加させた。このようにGACHは薬物の角質層非極性経路への分配を増加させることが解析的にも明らかとなり、シミュレーションにより予測された結果と一致した。しかしながら、GACHによる非極性経路への分配パラメータの増加の程度は薬物間で異なったため、さらにこれらの関係についてより詳細な検討を行った。

本実験では促進剤は前処理により投与したので基剤中での薬物と促進剤との相互作用は無視でき、薬物の皮膚への分配の変化は促進剤による

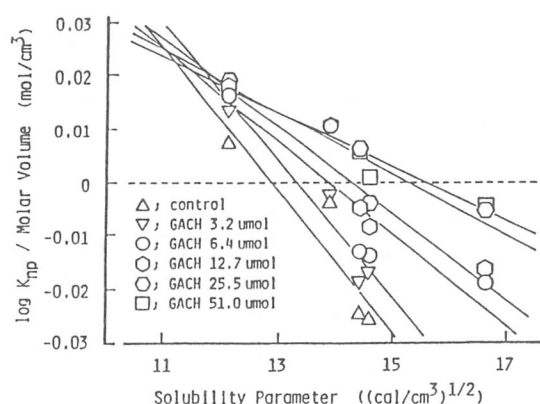


Fig.7 Relationship between solubility Parameters of Drugs and Logarithms of Partition Coefficients between Nonpolar Route and Vehicle Divided by their Molar Volume

皮膚の溶媒の性質の変化として考えられる。そこで、正則溶液理論に基づいて以下に示す式を誘導し、皮膚および基剤の溶解度パラメータを算出した。

$$(\log K_{np})/v_x = \{(\delta_x - \delta_v)^2 - (\delta_x - \delta_{np})^2\} / 2.303RT$$

理論式に基づいて、X軸に薬物の溶解度パラメータを、Y軸に解析により求められた角質層非極性経路に対する分配係数を薬物のモル体積で除した値をプロットした(Fig.7)。ここで、薬物の溶解度パラメータおよびモル体積はFedorsの方法に従って計算し¹⁰⁾、また角質層非極性経路の体積は0.015cm³と仮定した。各GACH処理群において良好な直線関係を示し、本解析の妥当性が証明された。GACHの適用量の増加に伴い、回帰直線の傾きは小さくなり、X切片は大きくなる傾向がみられた。この傾きおよびX切片から基剤および角質層非極性経路の溶解度パラメータを計算した。基剤の溶解度パラメータはGACHの適用量に依らず 17.3 ± 0.3 (cal/cm³)^{1/2}と一定であり、GACHは前処理下では基剤の性質を変化させないこと、および基剤中での薬物とGACHの相互作用が無視できることが明らかとなった。一方、非極性経路の溶解度パラメータはGACHを0, 3.2, 6.4, 12.7, 25.5, 51.0 μmol適用した場

合それぞれ8.1, 8.8, 10.8, 11.4, 13.2, 13.7 (cal/cm³)^{1/2}とGACHの適用量に応じて顕著に増加し、GACHの非極性経路への浸透によりその経路がより極性の高いほうへ移動していることが明らかとなった。また、GACHの溶解度パラメータは9.25 (cal/cm³)^{1/2}であり、GACHの高投与量を適用したときに非極性経路の溶解度パラメータがこの値より大きくなることは単純な混合溶媒の理論では説明不可能である。GACHと構造の類似しているAzoneが脂質膜の水和を増加させることが報告されており¹¹⁾、GACHもまた同様なメカニズムにより非極性経路の水和を促進し極性を増加させていると推測される。

このようにGACHは用量依存的に角質層非極性経路の溶解度パラメータを増加させることによって、薬物の皮膚への分配を増加させ皮膚透過を促進することがモデル解析により明らかとなった。以上の解析により、薬物の分子構造と皮膚透過あるいは吸収促進剤による効果までを統一的に議論し、シミュレーションすることが可能となった。

4. 結論

以上、FILTアルゴリズムの利用により複雑なモデルに対しても皮膚透過現象を時間推移として取り扱うことが可能であり、皮膚の解剖学および生理学的な構造を経皮吸収モデルに組み込むことによって、種々の薬物に対して薬物の分子構造をもとに皮膚透過現象および吸収促進までを理論的に説明することが可能となった。今回、GACHを一例として皮膚透過モデルに基づいた吸収促進の機構解析を行った結果、この促進剤は薬物の角質層非極性経路への薬物分配を増加させることによって皮膚透過を促進することが明らかとなったが、正則溶液理論を適用しさらに詳細な物理化学的検討を加えた結果、GACHは非極性経路の溶解度パラメータを増大させ、薬物の分配を増大していることが示された。このように、吸

収促進剤適用時における皮膚固有のパラメータの
みを抽出することで、種々の薬物に対してその皮
膚透過を再構築することが可能になった。

references

- 1) R. J. Scheuplein et al, *Physiol., Rev.*, 51:702-747(1971)
- 2) R. H. Guy et al, *Pharm. Res.*, 5:737-758(1988)
- 3) T. Hosono, *Radio Sci.*, 16:1015-1019(1981)
- 4) Y. Yano et al, *Chem Pharm. Bull.*, 37:1035-1038(1989)
- 5) K. B. Sloan et al, *J. Invest. Dermatol.*, 87:244-252(1986)
- 6) R. B. Stoughton, *Arch Dermatol.*, 118:474-477(1982)
- 7) B. W. Barry et al, *J. Pharm. Pharmacol.*, 39:535-546(1987)
- 8) H. Okamoto et al, *J. Pharm. Sci.*, 80:39-45(1991)
- 9) H. Okamoto et al, *J. Pharm. Sci.*, 77:418-424(1988)
- 10) R. F. Fedors, *Polymer Eng. Sci.*, 14:147-154(1974)
- 11) A. J. I. Ward et al, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 14:1155-1166(1988)