

博士学位論文

薬物の皮膚移行挙動に及ぼす
油系基剤の影響に関する研究

平成 28 年度
昭和薬科大学大学院 薬学研究科
薬学専攻 博士課程
薬剤学研究室

飯野 隼人

目次

	頁
序論.....	1
理論.....	4
本論.....	10
第 I 章 ウフェナマートの皮膚移行に関する 基礎的検討.....	11
第 1 節 Infinite 系におけるウフェナマートの皮膚移行...	12
1.1 製剤中薬物濃度の皮膚移行に与える影響	
1.2 油系製剤と水系製剤の比較	
1.3 短い時間での皮膚移行量	
第 2 節 実適用条件におけるウフェナマートの皮膚移行..	20
第 3 節 小括.....	22
第 II 章 薬物の皮膚移行に及ぼす油系基剤の影響....	23
第 1 節 4 種類の油系基剤からのウフェナマートの 皮膚移行.....	26
第 2 節 4 種類の油系基剤からの皮膚中薬物濃度分布の 挙動と解析.....	28
2.1 皮膚中薬物濃度分布の挙動	
2.2 皮膚中薬物濃度分布の解析	

第 3 節	小括.....	42
第 III 章	異なる皮膚状態における薬物の皮膚移行に 及ぼす油系基剤の影響	43
第 1 節	角質層除去皮膚におけるウフェナマートの 皮膚移行.....	44
第 2 節	脱脂皮膚におけるウフェナマートの皮膚移行 ...	46
2.1	脱脂皮膚におけるウフェナマートの皮膚移行	
2.2	脱脂皮膚における皮膚中薬物濃度分布の挙動	
2.3	脱脂皮膚における皮膚中薬物濃度分布の解析	
第 3 節	小括.....	60
	総括.....	61
	謝辞.....	64
	実験の部.....	66
	第 I 章の実験.....	66
	第 II 章の実験.....	70
	第 III 章の実験.....	73
	引用文献.....	74
	略語および記号一覧.....	80

外部発表..... 82

序 論

皮膚の構造は最外層から、表皮、真皮、皮下組織に分けられ、さらに表皮は、角質層と生きた表皮に分けられる (Fig. 1)。最外層の角質層は、細胞間をセラミドやコレステロールなどの脂質が埋めた構造で親油性であり、外的な刺激からの保護や生体内の水分保持など生体のバリアとして機能している¹⁾。一方、生きた表皮と真皮は水分を多く保持した状態で親水性である²⁾。疾患の際、皮膚に適用される医薬品は、通常、薬物と基剤を組み合わせて用いられる。

皮膚適用製剤の使用目的には2種類がある。皮膚局所や局所皮下組織における炎症や発疹などの疾患に対して治療を施す局所製剤と、毛細血管を介して全身循環血中へ薬物を移行させ全身作用を期待する経皮吸収型製剤である³⁾。さらに皮膚適用製剤の剤形は、軟膏剤やゲル剤、貼付剤など7種類に細分化される⁴⁾。それらの剤形の中で皮膚疾患の際に多く使用されている剤形は軟膏剤とクリーム剤である。軟膏剤やクリーム剤の組成には有効成分となる薬物の他に、基剤や増粘剤、保存剤などの添加物が配合されている。それらの中でも基剤は、製剤を形づくるため処方中の配合割合が大きい。軟膏剤は油脂性軟膏が多く、基剤には油系基剤が使用され、クリーム剤は油相と水相からなり数種類の油系基剤で構成された油相が必ず用いられる。このように油系基剤が使用される理由は、①皮膚への刺激性が低いこと、②皮膚保護性が良いこと、③乾燥性・湿潤性疾

患の両者に推奨できること、④親油性薬物を安定的に配合できることなどの多くの利点にある⁵⁾。

製剤から薬物の皮膚への移行は、基剤から角質層への分配によってはじまるといわれており^{6,7)}、薬物の基剤中の状態や基剤と皮膚との分配に関する検討は、皮膚適用製剤の薬物吸収を理解する上で重要となる⁸⁾。これまでに基剤から薬物の逃避傾向が高い基剤を選択し薬物の吸収性を高める検討や、吸収促進作用のある物質を混合し薬物の吸収を促すといった検討が多くされてきた⁹⁻¹⁴⁾。しかし、一般的に使用されている油系基剤が薬物の皮膚移行に対してどのような影響を与えているのかの詳細な報告はない。臨床で広く用いられている油系基剤の薬物皮膚移行への影響を明らかにすることは、より効果的な製剤設計への応用に繋がると考えた。

そこで本研究では、モデル薬物として親油性薬物のウフェナマート (Fig. 2)¹⁵⁾ を用い、薬物の皮膚移行挙動に及ぼす油系基剤の影響を明らかにすることを目的に検討を行った。

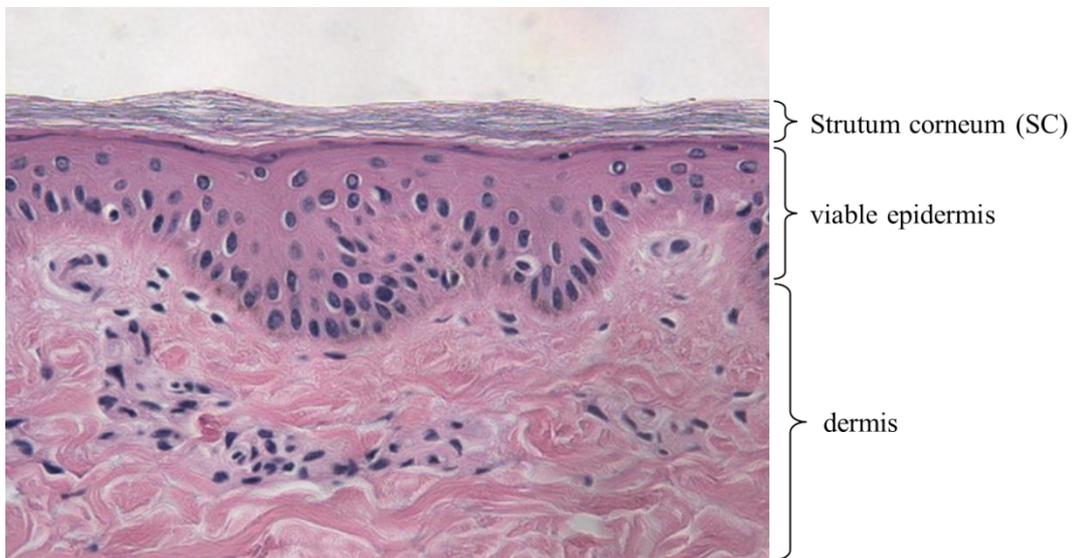
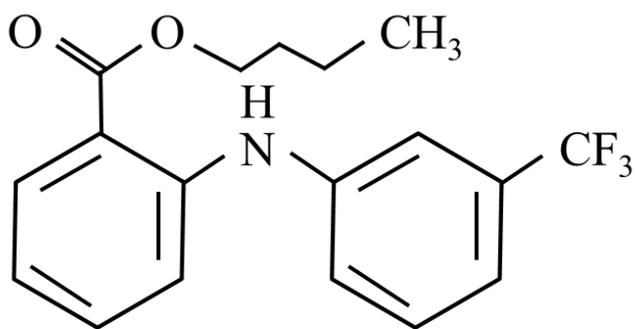


Fig. 1 Structure of the skin ($\times 400$)



MW : 337.34, $\log P$: 6.7

Fig. 2 Chemical structure of ufenamate

理 論

経皮吸収方向に対する薬物濃度の挙動を模式図として Fig. 3 に示す。模式図は基剤中（ドナー相中）に多量もしくは過剰の薬物が配合され、薬物濃度が常に一定とみなせる infinite 系（無限用量系）^{16,17)} の挙動を示している。図中は左から、基剤、皮膚、レセプター相を示しており、 L は皮膚の厚さである。レセプター相中の薬物濃度が十分に低い場合、真皮側の薬物濃度は 0 とみなすことができ、これをシンク条件（ $C=0$ ）という。

基剤中の薬物濃度（ C_v ）が一定の場合、基剤と皮膚間の分配係数が K であるとき、皮膚の表面濃度は $K \cdot C_v$ となる。薬物が基剤に溶解していれば皮膚中濃度の $K \cdot C_v$ は基剤中の薬物濃度に比例する。皮膚に薬物を適用後、時間（ t ）が t_1 、 t_2 と経過するに伴って皮膚中薬物濃度は定常状態に近づく。製剤中の薬物濃度が定常状態に達すると、皮膚中の薬物濃度勾配が一定となり、直線的な濃度勾配を示す。定常状態時の単位面積あたりの皮膚透過速度（ J 、flux）は、Fick の第 1 法則より式（1）で表される。

$$J = D \cdot K \cdot C_v / L \quad (1)$$

式（1）中の D は薬物の皮膚中の拡散係数を表している。一般に皮膚透過しやすい薬物の物理化学的性質は、分子量が 500 Da 以下でオクタノール／水分配係数の対数值（ $\log P$ ）が 1 か

ら 3 の範囲であることが知られている¹⁸⁻²⁰⁾。これは、 D は分子
 量が小さいほど大きくなり、 K が P と 相 関 す る た め で あ る 。 さ
 ら に 単 位 面 積 当 た り の 皮 膚 中 の 薬 物 量 (Q_{skin}) は、式 (2) で
 表 さ れ る 。

$$Q_{skin} = K \cdot C_v \cdot L / 2 \quad (2)$$

したがって、基剤が同一である場合、基剤中の薬物濃度 (C_v)
 が 2 分 の 1 の と き に は Q_{skin} も 2 分 の 1 と なる 。

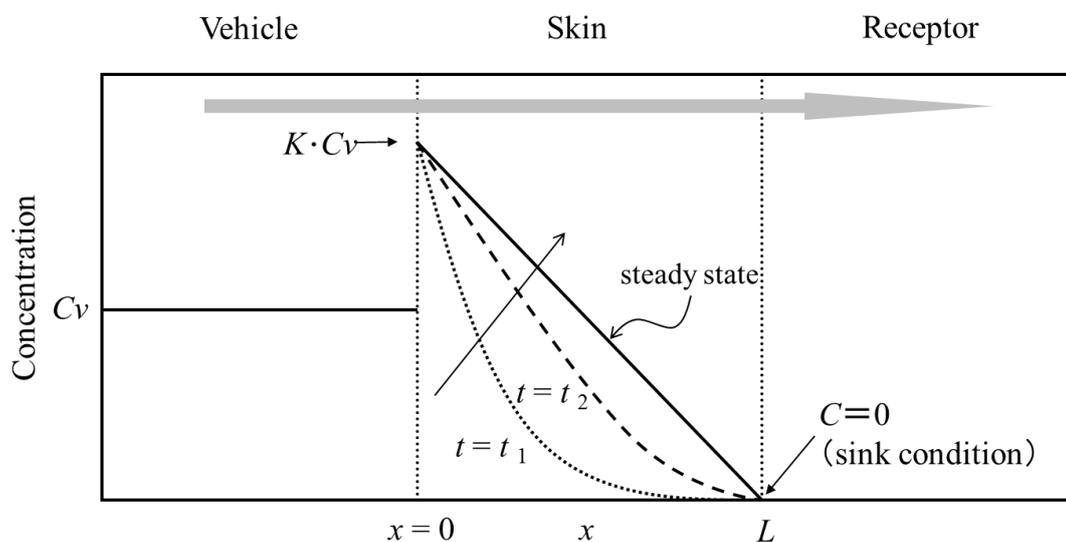


Fig. 3 Concentration-distance profile of drugs in the skin by
 infinite system

基剤や薬物が皮膚バリアに影響を与えない、また、ほとんど影響を与えない場合、一つの系の中の薬物はその薬物自身の熱力学的活動度(活動度、 α)に比例することが知られている²¹⁻²³⁾。

基剤中で薬物が飽和しているとき ($\alpha = 1$)、皮膚中の薬物も飽和状態 ($\alpha = 1$) となるため、皮膚中薬物濃度は最大となる。このとき式 (1) における $K \cdot C_v$ が最大となり、flux も最大となる。例えば、同じ濃度で基剤中に薬物を添加した場合には、その薬物濃度が溶解度以上で懸濁状態の基剤において皮膚透過速度が最大となる。Fig. 4 に同一薬物を異なる基剤 (A、B、C) に配合した場合の薬物添加濃度と活動度の関係を示した。

ここで例として示した基剤中の薬物の溶解度は $A < B < C$ であり、基剤と薬物の親和性も $A < B < C$ となる。破線で示した基剤中の C_v が一定の場合、活動度が $C < B < A$ となる。したがって式 (1) の K も $C < B < A$ となり、同一濃度において薬物の溶解度が低い基剤を用いた製剤では、皮膚透過速度が増大する。基剤中に薬物を溶解度以上に溶解する過飽和状態が保てれば、皮膚中の薬物濃度は同様に過飽和状態となり、皮膚透過を高めることとなる。

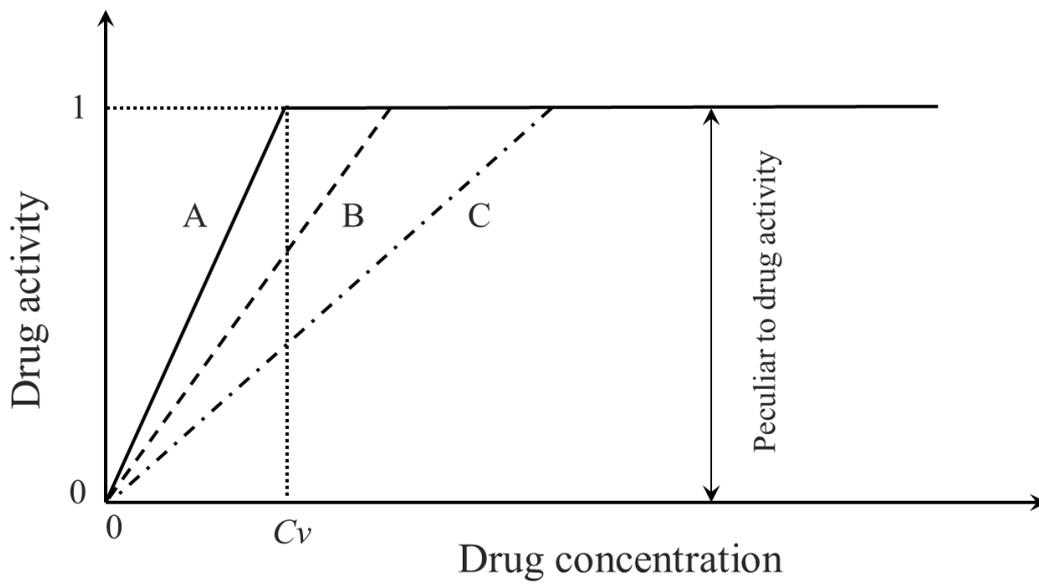


Fig. 4 Relationship between drug activity and the drug concentration in vehicle

一方、臨床において実際に製剤を皮膚に塗布する場合、皮膚適用製剤の使用量は手のひら二枚分の面積を塗布できる 1 FTU (フィンガーチップユニット、約 0.5 g)²⁴⁾ が目安とされている。1 FTU における塗布量は 1 cm² あたり数 mg 程度と限られた量となり、適用されている時間も短い。実適用量における薬物投与量は OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) のガイドラインにおいても、ヒトの暴露と同等になるよう規定されている²⁵⁾。したがって、製剤中の薬物量が有限となり、皮膚移行に伴い製剤中薬物濃度が変化する可能性があり infinite 系では説明できない。臨床適用における経皮吸収方向に対する薬物濃度の挙動を模式図として Fig. 5 に示した。

臨床適用量の基剤中の C_v は、時間が t_1 、 t_2 と経過するに伴い C_{t_1} 、 C_{t_2} と変化し、 $K \cdot C_v$ も変化する。基剤中の薬物濃度は減少するだけでなく、基剤が蒸発するような成分を含む製剤であれば C_v が高くなることも考えられる。したがって、臨床適用における皮膚移行性は infinite 系より変化する要因が多く、より複雑な薬物の移行挙動を示すこととなる。

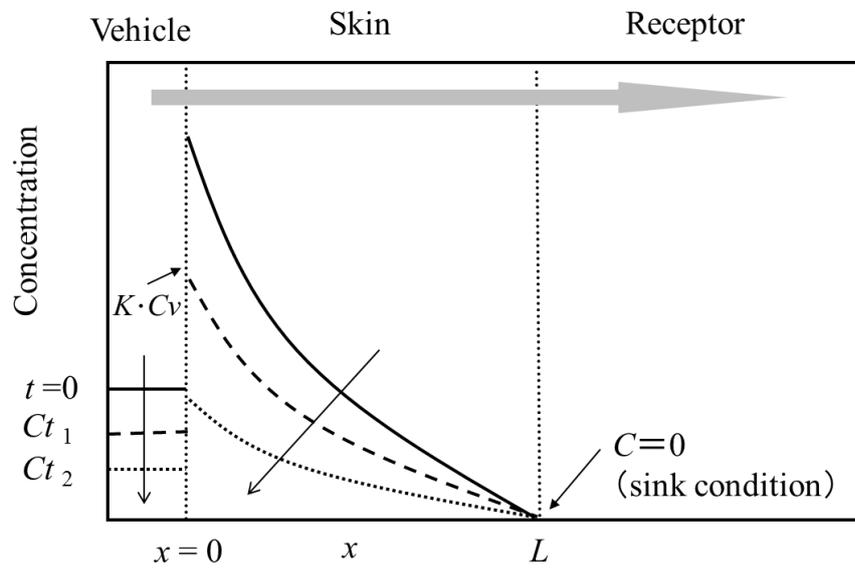


Fig. 5 Concentration-distance profile of drugs in the skin by practical dose

本 論

第 I 章 ウフェナマートの皮膚移行に関する基礎的検討

皮膚疾患の臨床で用いられる薬物には、グリチルレチン酸（抗炎症薬、 $\log P=5.5$ ）やトコフェロール酢酸エステル（血液循環改善薬、 $\log P=10.7$ ）といった親油性の高い薬物も存在する²⁶⁻²⁸）。親油性の高い薬物は油系基剤に自由に溶解でき、高濃度で製剤中に存在できるため、皮膚中濃度分布の評価が可能となる。そこで本研究のモデル薬物には、局所適用の非ステロイド性抗炎症薬として皮膚疾患治療に広く用いられているウフェナマート²⁹⁻³⁶）を選択することとした。

多くの皮膚移行性試験の方法は、製剤適用量が多く、試験中に製剤の薬物濃度が変化しない infinite 系の条件で検討されている。しかし、ウフェナマートの皮膚移行性は従来から検討されている infinite 系においても未だ十分に検討されていない。そこで第 1 節では、ウフェナマートの基本的な皮膚移行性について、ヒト皮膚に構造が近いとされている Yucatan micropig（YMP）皮膚^{37,38}）を用い、infinite 系の条件で製剤中の異なる薬物濃度での検討、異なる製剤での検討、適用時間の検討を行った。

一方、臨床において製剤を皮膚に塗布する場合には、薬物が infinite 系と異なる皮膚移行を示す可能性が考えられ、infinite 系だけでは十分な検討といえない。そこで第 2 節では、実適用条件におけるウフェナマートの皮膚移行の検討を行った。

第1節 Infinite系におけるウフェナマーの皮膚移行

第1節では定常状態時におけるウフェナマーの基本的な皮膚移行を検討するため、infinite系で試験を行なった。

基剤には、油系基剤として流動パラフィン(LP)を、水系基剤として水を選択した。油系基剤として用いたLPは、医薬品の基剤として広く用いられる炭化水素からなる代表的な液状油である。ウフェナマーは親油性薬物であるため、LPとは相溶性が高く自由に混じり合う。一方、ウフェナマーの水への溶解度は0.1%以下とほとんど溶けない。したがって、5%添加において水系基剤中のウフェナマーは飽和状態である。

実験に用いた製剤の処方をTable 1に示す。ウフェナマーの配合濃度は油系製剤で5%または10%とした。水系製剤では、ウフェナマーを界面活性剤(TO、ポリソルベート80)3%を用いて乳濁させた水中油型エマルジョンとした。このときの各製剤の活動度 α は、5%油系製剤が $\alpha = 0.05$ 、10%油系製剤が $\alpha = 0.10$ 、水系製剤が $\alpha = 1.0$ となる。

皮膚移行性試験における皮膚中の薬物移行量は、角質層と表皮、真皮に分けて比較した。なお第I章での角質層の移行量は、皮膚表面に残存した製剤の影響を排除するため、テープストリッピングで剥離した角質層の1、2層目を除き³⁹⁾、3層目から10層目の合計で評価した。

Table 1 Formulation of ufenamate used in this study

	(w/w %)		
	Oil system		Water system (O/W emulsion)
ufenamate	5	10	5
liquid paraffin (LP)	95	90	—
polysorbate 80 (TO)	—	—	3
water	—	—	92

1.1 製剤中薬物濃度の皮膚移行に与える影響

製剤中の薬物濃度 (C_v) の影響をウフェナマート 5 % と 10 % の油系製剤を用いて検討した。皮膚移行量を Fig. 6 に示す。ウフェナマート 5 % 油系製剤からの角質層と表皮、真皮の各移行量は、2.1、1.7、1.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。一方、ウフェナマート 10 % 油系製剤からの移行量は、4.2、3.7、3.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であり、5 % の製剤と比較すると、角質層で 2.0 倍、表皮で 2.2 倍、真皮で 2.1 倍であった。

C_v を 2 倍とした製剤では、皮膚各部位におけるウフェナマートの移行量もほぼ 2 倍となり、式 (2) の理論に従うことが示された。なお、レセプター相ではいずれの製剤でもウフェナマートが検出されなかった。

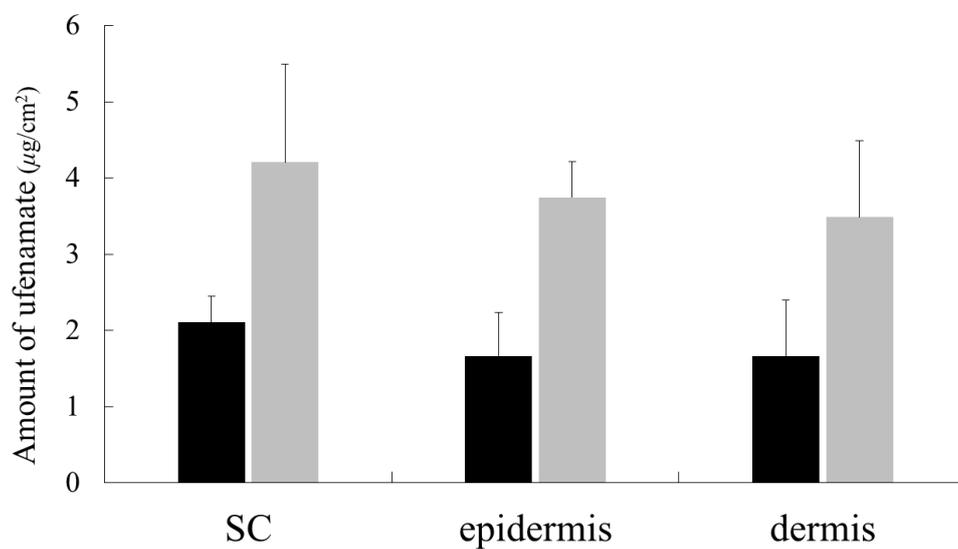


Fig. 6 Effect of concentration of ufenamate in vehicle on penetration amount in skin

Ufenamate was applied to intact skin for 48 h with infinite system in oil system : ■, ufenamate 5 %; ■, ufenamate 10 %

The data show mean \pm SD of at least 4 experiments.

1.2 油系製剤と水系製剤の比較

ウフェナマート濃度を 5 % と固定し、油系と水系製剤で皮膚移行性試験を行なった。各製剤からの皮膚中移行量を Fig. 7 に示す。水系製剤からのウフェナマート移行量は、角質層と表皮、真皮で 24.2、9.3、13.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であり、油系製剤に比べて各々約 10 倍に増大した。

水系製剤中のウフェナマートは飽和状態であり、活動度が 1 となる。水系製剤からの移行量が油系製剤より高いのは、活動度が高い状態、すなわち基剤からの逃避傾向が大きいために皮膚表面へ薬物が分配しやすい状態であるためだと考えられる。しかし、油系製剤の活動度は 0.05 であるため、移行量が 20 倍になると考えられるが、実際は 10 倍程度であり、活動度のみでは説明できない他の要因の影響が示唆された。

一方、レセプター相へのウフェナマートの透過は、いずれの製剤でも認められなかった。界面活性剤を加えたレセプター相には、ドナー相中のウフェナマートが十分溶解することを確認している。高原らは、*in vivo* 実験においてラット背部の健常皮膚に 48 時間適用したとき、ウフェナマートが血中に検出されなかったことを報告している³⁶⁾。親油性の高い薬物のウフェナマートは、親水性の生きた表皮や真皮が薬物の透過壁となり、レセプター相に薬物が透過しなかったと考える。

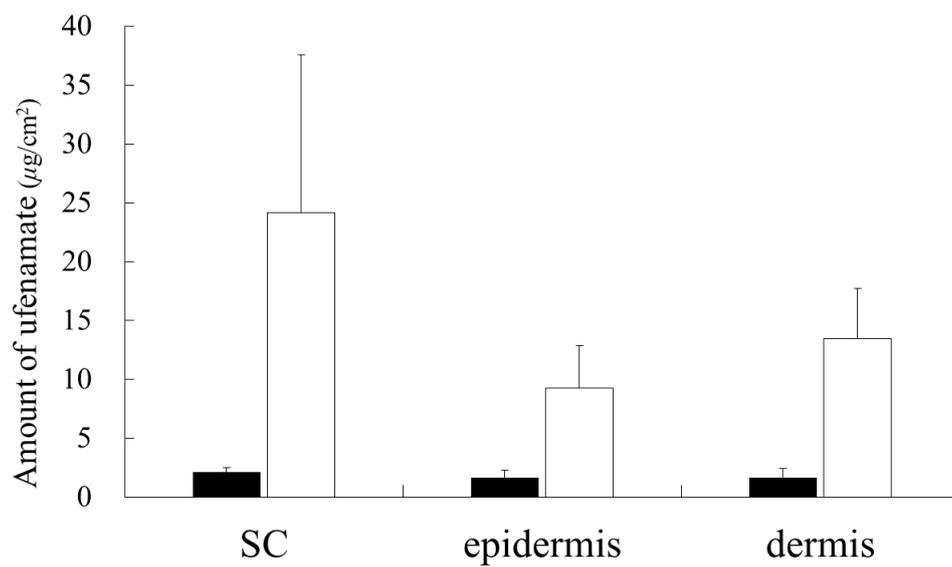


Fig. 7 Penetration amount of ufenamate into intact skin with different vehicle by infinite system at 48 h

■, oil system; □, water system

The data show mean \pm SD of at least 4 experiments.

1.3 短い時間での皮膚移行量

通常、定常状態は flux が一定になるところを示すが、ウフェナマートの場合にはレセプター相中への移行が認められなかったため、flux による定常状態の確認が行なえない。定常状態では皮膚中量（濃度）が一定となるため、適用時間を変え、適用 4 時間で皮膚移行量を測定した（Fig. 8）。

油系製剤からの角質層と表皮、真皮へのウフェナマート移行量は、1.5、1.4、0.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であり、適用 48 時間の移行量と比較すると真皮で低い傾向だが、角質層と表皮、真皮で適用時間による有意差は認められなかった。また、水系製剤からの角質層と表皮、真皮へのウフェナマート移行量は、23.9、6.5、1.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であり、真皮では適用 48 時間に比べて有意に低かったが、角質層および表皮における移行量に差はなかった。

適用 4 時間では真皮のウフェナマート移行量が低い傾向にあるため、定常状態に達しているとはいえないが、角質層と表皮では適用 48 時間と 4 時間に差がないため、角質層と表皮は適用 4 時間ですでに定常状態に達していることが示された。

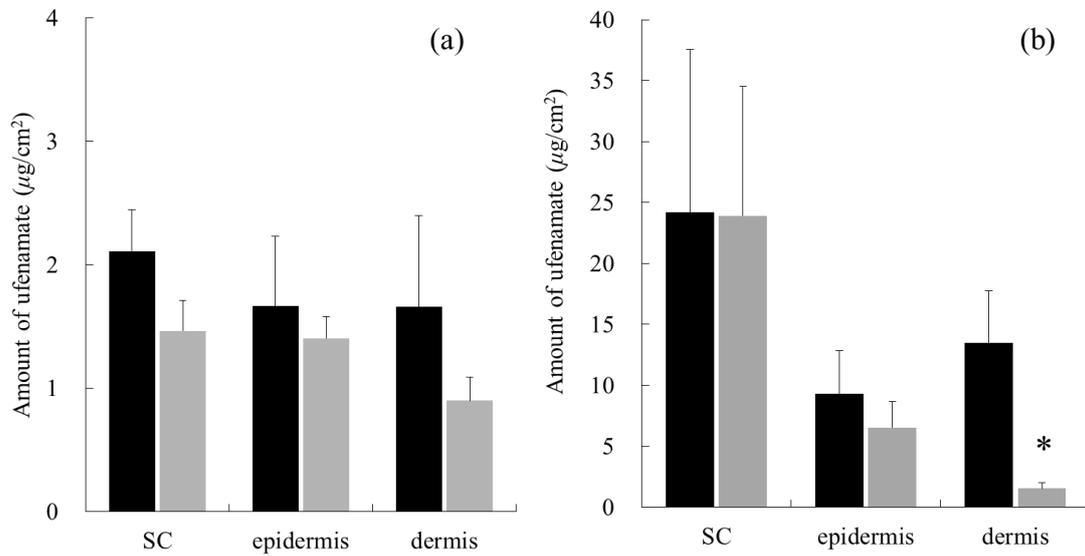


Fig. 8 Effect of application period on penetration of ufenamate into intact skin with oil system (a) and water system (b) by infinite system

■, 48 h ; ■, 4 h.

The data show mean \pm SD of at least 4 experiments.

* Significantly different ($p < 0.05$) from same vehicle of infinite 48 h.

第 2 節 実適用条件におけるウフェナマートの皮膚移行

第 1 節では infinite 系で試験を行なったが、臨床で実際に製剤を塗布する場合には、定常状態時と異なる皮膚移行を示す可能性が考えられる。そこで第 2 節では、臨床を想定したウフェナマートの皮膚移行について検討した。試験製剤として第 1 節で用いた製剤と同一のウフェナマート 5 % の油系と水系製剤を用いた。

実適用量 (2 mg/cm^2) で適用 4 時間後のウフェナマート移行量を、適用 4 時間の infinite 系 (適用量 2 g/cm^2) の結果と合わせて Fig. 9 に示す。油系製剤からの角質層と表皮のウフェナマート移行量は、 1.6 、 $0.9 \mu\text{g/cm}^2$ であり、水系製剤からの移行量は、 25.1 、 $4.3 \mu\text{g/cm}^2$ であった。また、適用量の異なる infinite 系と実適用量の結果を比較すると有意な差は認められなかった。

適用した薬物量 ($100 \mu\text{g}$) に対して皮膚中へ移行したウフェナマートの割合は、油系製剤では 2.8 % であり、基剤中の濃度に変化が無いとみなすことができる。また、水系製剤では 29.7 % が皮膚中に移行しているが、基剤へのウフェナマートの溶解度は低いため、飽和状態が保たれていると考えられる。したがって、実適用条件においても基剤中のウフェナマートの活動度の低下はなく、infinite 系と同様の皮膚移行を示していると考えられる。

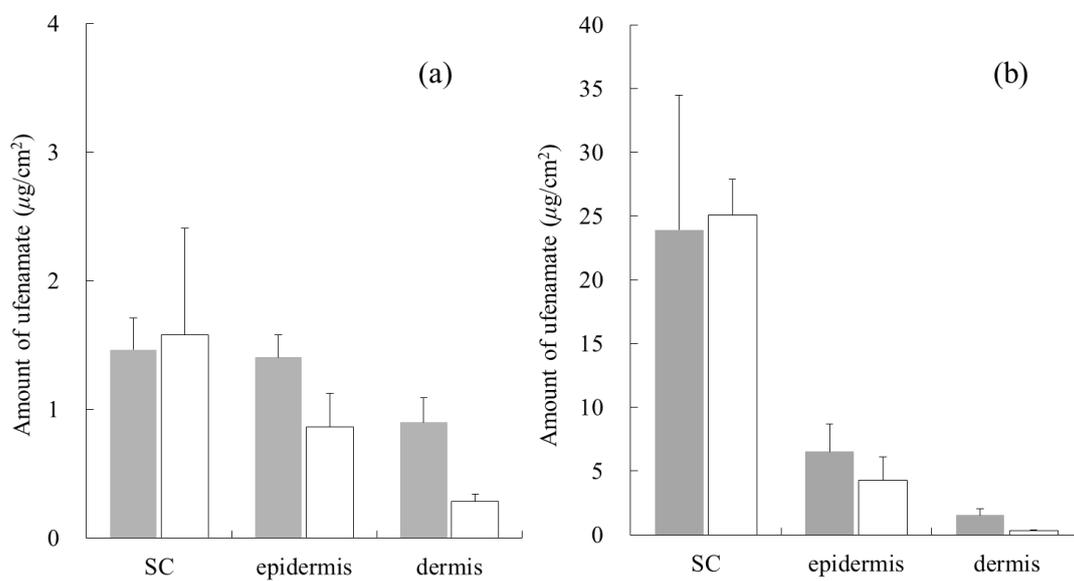


Fig. 9 Effect of application amount on penetration of ufenamate into intact skin with oil system (a) and water system (b) by application at 4 h

■ , infinite ; □ , practical dose.

The data show mean \pm SD of at least 4 experiments.

第 3 節 小括

ウフェナマートの基本的な皮膚移行について油系製剤と水系製剤で検討した。レセプター相へのウフェナマートの透過は infinite 系でもみられなかった。ウフェナマートは高親油性薬物であり、親水性の真皮を透過しにくい可能性が考えられた。

ウフェナマートの皮膚移行量は製剤中薬物濃度 (C_v) に比例し、理論と一致した。また、油系製剤より水系製剤で高いウフェナマート移行量を示した。ウフェナマートは水に溶解しないため、水系製剤の製剤中の活動度が最大 ($\alpha = 1$) となる。一方、自由に混合する油系製剤では、活動度が低い状態 ($\alpha = 0.05$) となる。基剤から薬物の逃避傾向が高い水系製剤では、ウフェナマートの基剤から皮膚への分配係数 (K) が高くなり、油系製剤より移行量が高くなったと考える。しかし、活動度から推定すると、水系製剤は油系製剤の 20 倍になると考えられるが、実験結果は 10 倍程度と理論からずれがみられた。以上のことから、ウフェナマートはほぼ理論に従った皮膚移行を示すことが明らかとなり、皮膚移行に関する情報が少ないウフェナマートの infinite 系での基礎的な知見を得ることができた。

また、実適用条件においては、角質層と表皮で infinite 系の結果と差が認められず、角質層と表皮中のウフェナマートは適用 4 時間で定常状態に達していることが示された。これらの結果から、以後の検討では、定常状態に達している角質層と表皮を中心に評価することとした。

第Ⅱ章 薬物の皮膚移行に及ぼす油系基剤の影響

第Ⅰ章で基剤に LP と水を用いた基本的なウフェナマーの皮膚移行を検討した結果、角質層と表皮においてウフェナマーの移行は、適用量 2 mg/cm^2 、適用 4 時間ですでに定常状態に達していることが明らかとなった。そこで第Ⅱ章以降では、実適用条件を用いて角質層と表皮を中心に検討した。

皮膚適用製剤に使用される基剤は、親油性基剤と親水性基剤の大きく 2 種類に分類される (Table 2)。例えば水溶性軟膏にはマクロゴール (ポリエチレングリコール) が用いられ、油脂性軟膏には白色ワセリンや流動パラフィンなどの炭化水素油が主に用いられる。また、クリーム製剤は水系基剤からなる水相と、複数の油系基剤からなる油相を界面活性剤によって乳化している。

皮膚適用製剤に油系基剤が用いられる理由には、皮膚疾患治療における患部への刺激の低さや、親油性薬物の安定的な配合など、疾患治療や製剤開発にとっての有用性が挙げられる。しかし、油系基剤の種類は多く、中には基剤自身の分子量や $\log P$ から皮膚移行する可能性が考えられる基剤も存在する。

そこで第Ⅱ章では、異なる物理化学的性質をもつ 4 種類の油系基剤を用いて、ウフェナマーの皮膚移行に及ぼす油系基剤の影響を皮膚中の移行量と濃度分布から解析した。

Table 2 Classification of ingredient of skin application formulation

classification	types	examples
lipophilic vehicle	Fats	olive oil, soybean oil, rape seed oil, beef tallow, lard, etc
	waxes	beeswax, carnauba wax, lanolin, etc
	Hydrocarbons	white petrolatum, paraffin, liquid paraffin, hydrocarbon gel, microcrystalline wax, etc
	fatty acids	stearic acid, oleic acid, isostearic acid, behenic acid, etc
	fatty acid esters	isopropyl myristate, cetyl ethylhexanoate, caprylic/capric triglyceride, octyldodecyl myristate, etc
	higher alcohols	behenyl alcohol, cetyl alcohol, stearyl alcohol, etc
hydrophilic vehicle	water	
	macrogol	
	water soluble polymer	Carboxyvinyl polymer, xanthan gum, sodium polyacrylate, etc

油系基剤の選択では、まず第 I 章で用いた LP を選択した。次に、LP と同じ炭化水素の油で基剤として最も汎用されている、白色ワセリン (WP) を選択した。WP は LP と同じ炭化水素の油だが、LP のような液状ではなく半固形状となる。次に、LP と同じ液状の油で、医薬部外品や化粧品の基剤として用いられる、脂肪酸エステルステアリン酸イソセチル (ICS) を選択した。最後に、ICS より分子量が小さく、粘度と $\log P$ の値が低いミリスチン酸イソプロピル (IPM) を選択した。Table 3 にはこれらの物理化学的性質を示した。4 種類の油系基剤の粘度は、大きい順に $WP \gg LP \geq ICS > IPM$ となる。

なお、第 II 章では皮膚中の薬物濃度分布を詳細に把握するため、角質層は 1 層目から評価することとした。

Table 3 Characteristics of the vehicles and ufenamate used in this study

	Abbr.	Type of oil	molecular weight	$\log P$	Viscosity (mPa·s)	Surface tension (mN/m)
White petrolatum	WP	hydrocarbon	—	—	3.4×10^8	not determined
Liquid paraffin	LP	hydrocarbon	—	—	67	29.6
Isocetyl stearate	ICS	ester	508.9	16	25	30.7
Isopropyl myristate	IPM	ester	270.4	7.3	4.5	28.3
Ufenamate	—	—	337.3	6.7	70	32.7

第 1 節 4 種類の油系基剤からのウフェナマー トの皮膚移行

健全皮膚に実適用条件で適用した 4 種類の油系基剤からのウフェナマー移行量を Fig. 10 に示す。同じ炭化水素の油の WP 基剤と LP 基剤では、角質層へのウフェナマー移行量は WP 基剤で $1.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、LP 基剤で $4.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であり、LP 基剤で 4 倍高い移行量を示した。ICS 基剤からの角質層における移行量は、LP 基剤からの移行量とほぼ同じ $4.4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。また、IPM 基剤からの角質層における移行量は $8.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ と、他の基剤よりも有意に高かった。

表皮でのウフェナマー移行量は、WP 基剤 ($0.4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) に比べ、3 種類の液状油系基剤 (LP、ICS、IPM) で約 2 倍高かった ($0.9, 0.7, 1.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)。また、真皮への移行量は WP 基剤に比べ、ICS 基剤と IPM 基剤からの移行量が有意に高かった。同じ油系基剤であっても種類によって皮膚中へのウフェナマー移行量が異なった。

いずれの基剤もウフェナマーと自由に混合でき、基剤中の活動度 α は 0.05 となるため、基剤と角質層間の分配係数が等しいと考えられる。また、角質層と表皮のウフェナマーの分配係数は理論上、基剤に関係なく等しくなる。しかし、基剤と角質層、または角質層と表皮間の移行量の比が基剤によって異なり、式 (2) で示される理論のみでは説明できない結果となった。

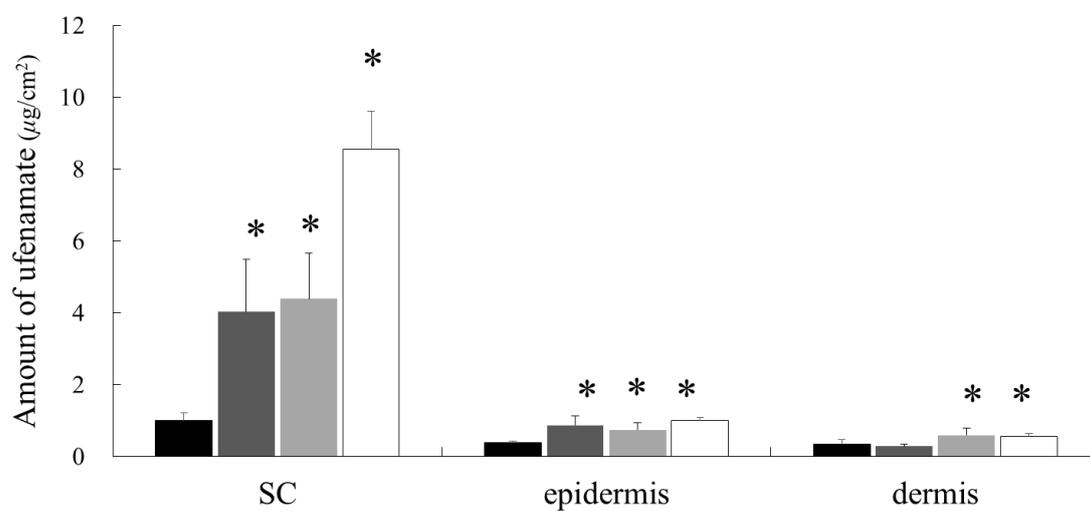


Fig. 10 Amount of ufenamate in the skin at 4 h after application with various vehicles

■ , WP; ■ , LP; ■ , ICS; □ , IPM.

The ufenamate concentration in vehicle was fixed at 5 %.

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 4–5 experiments.

* Significantly different ($p < 0.05$) from WP

第 2 節 4 種類の油系基剤からの皮膚中薬物濃度分布の挙動と解析

第 1 節では皮膚中の薬物移行量で評価したが、局所疾患の治療において薬物の薬効は皮膚中の薬物濃度に関係するため、皮膚中濃度の評価が重要となる。そこで第 2 節では、2.1 において 4 種の油系基剤を用いた際の皮膚深さに対するウフェナマーの皮膚中濃度を評価した。2.2 では、基剤により薬物濃度の挙動に違いを引き起こす要因について解析を行なった。

一般にヒトの角質層 1 層の厚さは $1\ \mu\text{m}$ 程度とされている⁴⁰⁾。YMP 皮膚の側腹部の皮膚切片を染色し顕微鏡で観察したところ、角質層 1 層の厚さはヒトと同じく約 $1\ \mu\text{m}$ であった。YMP 皮膚の角質層は約 20 層あり、角質層全体の厚さを顕微鏡で確認したところ約 $20\ \mu\text{m}$ と一致した。また、表皮の厚さは、生きた表皮が $20\ \mu\text{m}$ であり、本検討で角質層を 10 層剥離しているため残りの角質層 10 層の厚さ $10\ \mu\text{m}$ を加え、表皮の厚さを $30\ \mu\text{m}$ とした。なお、真皮は定常状態に達していないため解析しなかった。

皮膚中のウフェナマー濃度は角質層および表皮の想定体積 ($1\times 10^{-4}\ \text{cm}^3$ 、 $3\times 10^{-3}\ \text{cm}^3$) でウフェナマー移行量を除いて求めた。

2.1 皮膚中薬物濃度分布の挙動

角質層 1 層目から表皮まで皮膚深さに対し、ウフェナマート皮膚中濃度をプロットし、Fig. 11 に示す。すべての基剤において角質層におけるウフェナマートの濃度勾配は直線ではなく、非線形を示し、特にその挙動は液状油系基剤（LP、ICS、IPM）で顕著であった。

定常状態時には濃度勾配が一定となることが知られている（Fig. 3）。しかし、4 種類の油系基剤からのウフェナマートの皮膚中濃度分布は Fick の式に従わなかった。

非定常状態における薬物の濃度勾配は理論に示したように線形とならない（Fig. 5）。そこで、非定常状態であるために非線形となったのかを調べるため、第 I 章で検討した infinite 系の条件である適用量が多く（ 2 g/cm^2 ）、適用時間が長い（48 時間）ウフェナマートの薬物濃度分布を LP 基剤同士で比較した。実適用条件の結果と共に Fig. 12 に示す。適用 48 時間においても、ほぼ同様の皮膚中濃度分布を示した。

したがって、Fig. 11 (a) に示された結果は、適用量と適用時間に関係なく非線形となり、定常状態に達していないためではないと考えられる。

Fig. 11 (a) に示された皮膚移行の挙動について、皮膚表面の角質層の浅い部位では濃度変化が大きく、角質層の深い部位から表皮では濃度変化が小さく直線性が見られた。そこでウフェナマート濃度を対数としたグラフを作成した [Fig. 11 (b)]。濃度変化の大きい角質層 1 層目から 6 層目までが直線となり、

6層目と7層目の間に変曲点が見られた。

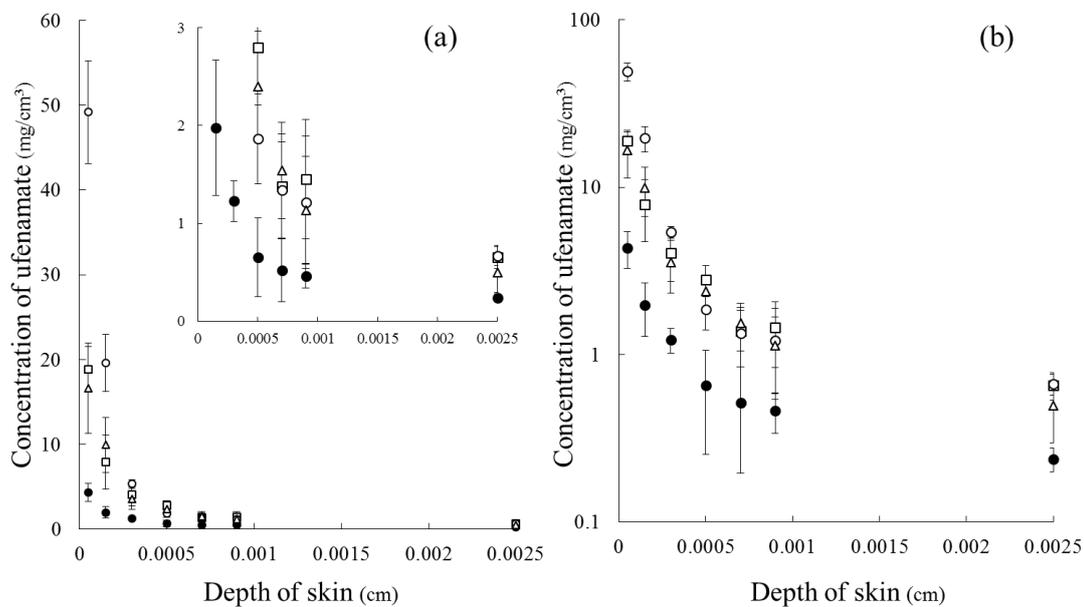


Fig. 11 Ufenamate distribution in intact skin at 4 h after application in various vehicles

Concentrations of ufenamate were presented as a linear (a) and logarithmic (b) scale.

●, WP; □, LP; △, ICS; ○, IPM.

Data are shown as the mean \pm S.D. of 4-5 experiments.

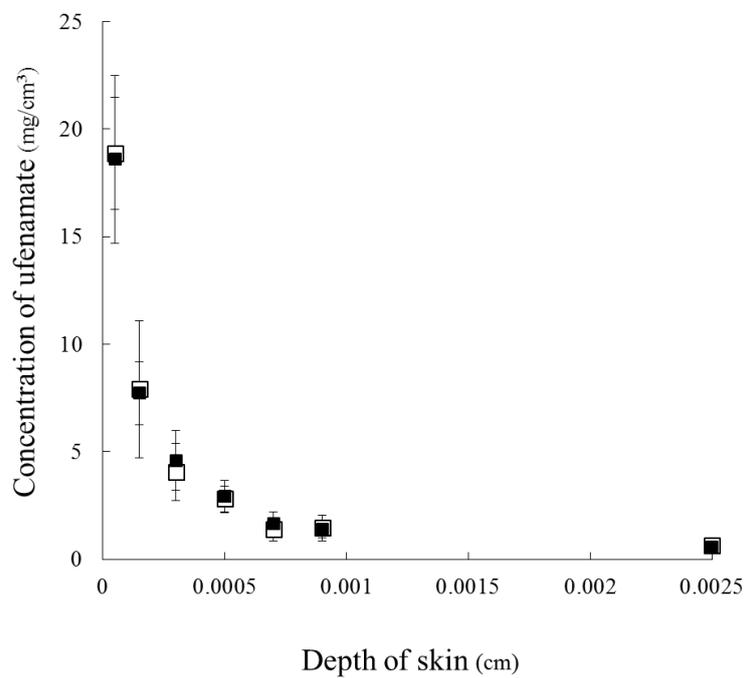


Fig. 12 Ufenamate distribution in intact skin at 4 h or 48 h after application in LP vehicle

□ , 4 h (practical dose) ; ■ , 48 h (infinite) .

Data are shown as the mean \pm S.D. of 4–5 experiments.

ここで基剤と薬物との関係を確認するため、ウフェナマートのみを皮膚に適用し皮膚中の濃度分布を評価した。結果を Fig. 13 に示す。なお、角質層 1 層目のウフェナマート濃度は、薬物そのものを適用したため 23 g/cm^3 と非常に高い値となった。これは、適用後、薬物がふき取れず残存した可能性が考えられたため、ここでは角質層 1 層目の値を除外した。

ウフェナマートのみを適用した場合も、皮膚中濃度分布は非線形の濃度勾配を示した。ウフェナマートのみの薬物濃度はウフェナマート 5 % 油系製剤の 20 倍の薬物量となる。ウフェナマートは粘度が $70 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ と LP の粘度 ($67 \text{ mPa} \cdot \text{s}$) に近い液体である (Table 3)。液状の薬物であるウフェナマート自身は、液状油系基剤と共に適用した時と同じような挙動を示す可能性が考えられる。角質層の浅い部位における WP 基剤の薬物濃度は液状油系基剤ほど高い濃度ではないが、非線形の挙動を示した。WP 基剤からの薬物濃度分布が非線形となるのは、ウフェナマート自身の皮膚中での挙動が関与している可能性が考えられた。

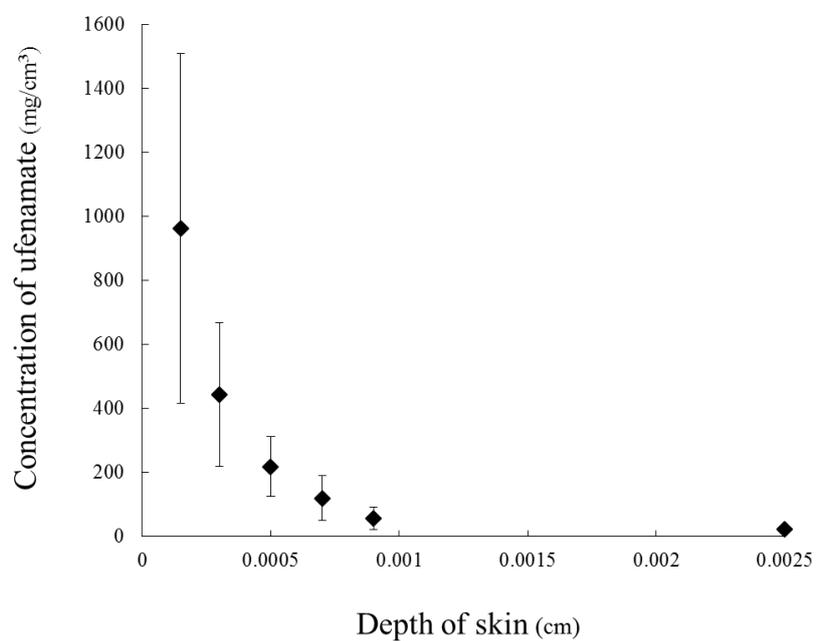


Fig. 13 Ufenamate distribution in intact skin at 4 h after application of ufenamate itself

Data are shown as the mean \pm S.D. of 4–5 experiments.

2.2 皮膚中薬物濃度分布の解析

2.1 において角質層 1 層目から 6 層目のウフェナマート濃度は対数に対して直線となるため、皮膚中濃度に対する 1 次式を示すことが明らかとなった。そこで、油系基剤からの薬物の濃度勾配が非線形となる要因を解析するため、挙動の異なる部分を 2 相に分けて検討した。

薬物の濃度分布の変曲点は角質層の 6 層目と 7 層目にあるため、1 層目から 6 層目までを第 1 相 (1st phase) とし、7 層目から表皮までを第 2 相 (2nd phase) として解析を試みた。1 次式となる 1st phase のウフェナマートの皮膚中濃度 (C) は、皮膚深さ方向の距離を x とすると式 (3) で表される。このときの C_0 は、皮膚表面 ($x = 0$) における推定ウフェナマート濃度であり、 k は濃度勾配係数である。

$$C = C_0 e^{-kx} \quad (3)$$

直線 (0 次式) となる 2nd phase のウフェナマートの皮膚中濃度 (C) は、式 (4) で表される。この時の C_0' は、角質層深部から推定した皮膚表面 ($x = 0$) における推定ウフェナマート濃度であり、 k' は濃度勾配である。

$$C = C_0' - k'x \quad (4)$$

皮膚深さ方向におけるウフェナマートの皮膚中濃度分布か

ら式 (3)、式 (4) における各々の基剤の C_0 、 C_0' および k 、 k' を算出し、1st phase の結果を Table 4 に、2nd phase の結果を Table 5 に示す。

1st phase の式 (3) における皮膚中濃度 (C) と皮膚距離 (x) の相関係数 (r) の絶対値は全て 0.9 以上となり、高い相関が認められた (Table 4)。

WP 基剤の C_0 は 5.1 mg/cm^3 であるのに対し、液状の油系基剤からの C_0 は LP 基剤で 16.8 mg/cm^3 、ICS 基剤で 17.9 mg/cm^3 、IPM 基剤で 66.1 mg/cm^3 となり、WP 基剤より有意に高かった。また、液状油系基剤での比較では、IPM 基剤の C_0 値が他の液状油系基剤の C_0 値よりも有意に高かった。 C_0 値の大小関係は、 $\text{WP} < \text{LP} = \text{ICS} < \text{IPM}$ となった。一方、 k 値では、WP 基剤と LP 基剤、ICS 基剤で有意差がなかったが、IPM 基剤の k 値 ($7.8 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$) は、WP 基剤と他の液状油系基剤 (LP、ICS) より有意に高かった。 k 値の大小関係は、 $\text{WP} \doteq \text{LP} \doteq \text{ICS} < \text{IPM}$ となった。

Table 4 Skin surface concentration (C_0) and concentration gradient constant (k) calculated from strips 1–6 of the SC according to equation (3)

	C_0 (mg/cm ³)	k ($\times 10^3$ cm ⁻¹)	r
WP	5.1 \pm 2.0	4.2 \pm 1.6	- 0.95
LP	16.8 \pm 4.6 ^{a)}	4.4 \pm 0.8	- 0.95
ICS	17.9 \pm 6.7 ^{a)}	4.2 \pm 0.4	- 0.97
IPM	66.1 \pm 13.1 ^{a) b)}	7.8 \pm 0.7 ^{a) b)}	- 0.99

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 3–5 experiments.

Significantly different ($p < 0.05$) from a) WP, b) LP and ICS.

Correlation coefficient (r) is calculated from the average concentration.

2nd phase の式 (4) における相関係数 (r) の絶対値はいずれも 0.9 以上であり高い相関が認められ、Fick の式に従い濃度勾配は一定となった (Table 5)。

C_0' は 2nd phase の境界面の濃度と近似した値を示す。WP 基剤の C_0' は 0.7 mg/cm^3 であり、液状油系基剤の C_0' 値の約 2 分の 1 であった。また、3 種類の液状油系基剤の C_0' 値の間には、有意差が認められなかった。2nd phase における k' は C_0' と比例関係を示した (Fig. 14)。

皮膚表面近くの 1st phase におけるウフェナマートの分布では、Fick の式を用いて説明することができなかったが、深い角質層の領域での濃度分布は、通常 of 皮膚透過理論に従うことが明らかとなった。久保らは、角質層中の構造は上部、中間部、下部で異なることを報告している⁴¹⁾。角質層上部の構造には、いくつかの多孔性を有し、中間部や下部とは化合物を貫通する構造が異なる。液状油系基剤を用いた際、薬物濃度分布が角質層の浅い部位で高濃度を示している原因のひとつには、この角質層の構造による可能性が考えられる。

Table 5 Skin surface concentration (C_0') and concentration gradient (k') calculated from the strip 7 of the SC to the epidermis according to equation (4)

	C_0' (mg/cm ³)	k' ($\times 10^3$ mg/cm ³ /cm)	r
WP	0.7 ± 0.1	0.19 ± 0.05	- 0.93
LP	1.5 ± 0.8	0.37 ± 0.28	- 0.98
ICS	1.7 ± 0.7^a	0.48 ± 0.26	- 0.96
IPM	1.8 ± 0.7^a	0.47 ± 0.28	- 0.99

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 3–5 experiments.

a) Significantly different ($p < 0.05$) from WP

Correlation coefficient (r) is calculated from the average concentration.

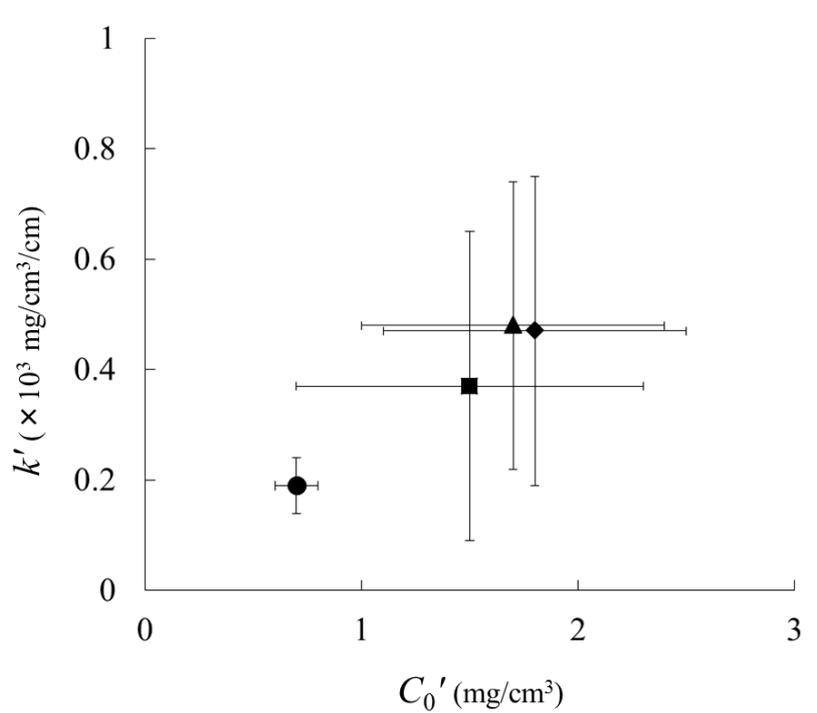


Fig. 14 Relationship between C_0' and k' in intact skin

● , WP; ■ , LP; ▲ , ICS; ◆ , IPM.

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 3–5 experiments.

ここまでの検討でウフェナマートの皮膚中濃度が基剤の種類によって異なることが示された。これは基剤が皮膚に対して、何らかの影響を及ぼしている可能性が高いことを示している。そこで、ウフェナマートの皮膚中濃度が最も高い IPM 基剤について薬物同様に、基剤自身の皮膚移行量を測定した。IPM 自身の皮膚中移行量と濃度挙動を Fig. 15 に示す。角質層への IPM 自身の移行量は、ウフェナマート移行量の約 20 倍の $184 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。IPM は分子量が 270.45、 $\log P$ が 7.3 の物質であり、一般的に皮膚中へ移行可能な物理化学的性質である。結果は示さないが、IPM と同じ脂肪酸エステルの ICS 基剤自身も IPM より移行量が低いものの、皮膚中への移行が認められた。

この IPM 基剤自身の皮膚移行量は、角質層体積の約 10 %⁴²⁾ にあたる。皮膚中の薬物の濃度分布の挙動が直線を示さなかった理由のひとつとして、多量の IPM の皮膚移行によって $1 \mu\text{m}$ とした角質層 1 層の厚さが異なった可能性が考えられた。しかし、角質層 3 層目から 6 層目もウフェナマート濃度は非線形を示しており、角質層の膨潤では説明ができない。ポリマーフィルム膜中の水の拡散係数は、水の濃度に依存することが報告されている⁴³⁾。IPM 基剤における 1st phase のウフェナマートの移行挙動も同じように皮膚中薬物濃度に依存し、非線形を示した可能性が考えられる。

ウフェナマートと IPM の皮膚中移行量の比は、角質層 1 層目および 2 層目で 0.055 及び 0.048 であり、製剤中の薬物と基剤の比 (0.05) とほぼ同じであった。しかし、3 層目および 4 層目の比は低くなり、それぞれ 0.039 と 0.030 であった。この結

果は、ウフェナマートが基剤と共に製剤のまま角質層 1 層目および 2 層目に浸透したことを示している。

したがって、ウフェナマートと IPM の 1st phase における非線形の濃度勾配には、高濃度の液状油系基剤の皮膚移行に伴い、基剤が移行ルートである角質細胞間脂質の構造へ影響を与えていることが推察され、物質の拡散性が高められることによって C_0 値が上昇すると考えられ、つまり基剤自身の皮膚移行が角質層の薬物移行の挙動に大きく影響していることが示された。

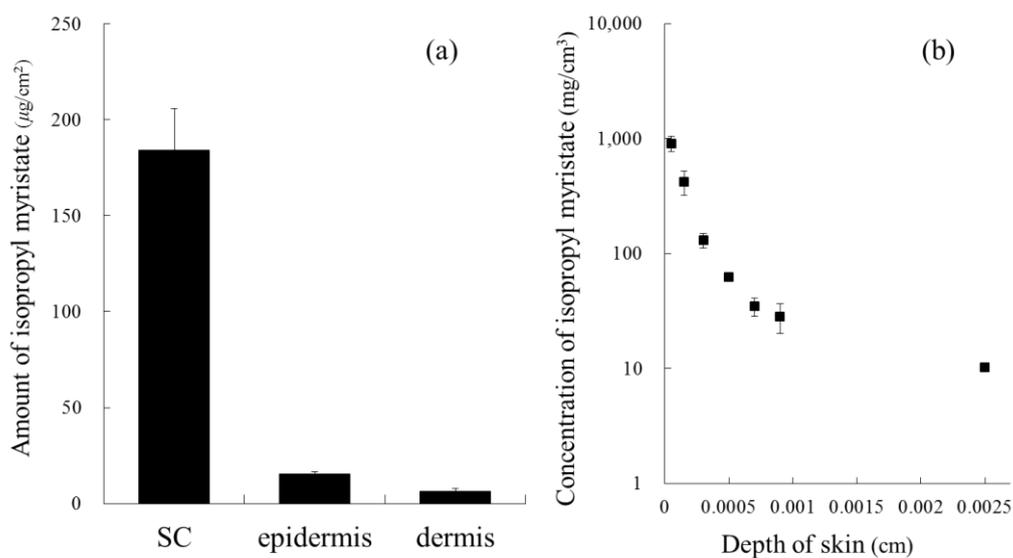


Fig. 15 Penetration amount of IPM (a) and distribution in intact skin (b)

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 3–5 experiments.

第 3 節 小括

ウフェナマートの皮膚中移行量は 4 種類の油系基剤で異なり、WP 基剤からの移行量よりも液状油系基剤で高い結果となった。皮膚中濃度分布は全ての基剤で角質層の濃度勾配が非線形を示し、Fick の式に従わなかった。

油系基剤からの薬物濃度分布が非線形となる要因を解析するため、薬物濃度分布の変曲点から、1 層目から 6 層目までを 1st phase とし、7 層目から表皮までを 2nd phase として 2 相に分け解析したところ、1st phase において液状油系基剤 (LP、ICS、IPM) を用いた製剤の C_0 値が、WP 基剤より有意に高い値を示した。また、基剤である IPM 自身も皮膚中への移行が認められた。IPM 自身の皮膚中の濃度分布は薬物同様に非線形を示し、液状油である基剤自身の皮膚移行がウフェナマートの皮膚移行に大きく影響を与えていることが示唆された。

一方、角質層 7 層目より深い 2nd Phase では Fick の式に従い、一定の濃度勾配を示した。

したがって、油系基剤を用いた際の薬物の皮膚移行の挙動は、特に液状油系基剤を用いた場合に、基剤自身の皮膚移行に起因し角質層上部の薬物濃度が高まることで、線形の濃度勾配ではなく非線形を示すことが明らかとなった。

第Ⅲ章 異なる皮膚状態における薬物の皮膚移行に及ぼす油系基剤の影響

全身作用を目的とした製剤を皮膚に適用する場合、皮膚損傷面への製剤の使用は薬物の経皮吸収が健常皮膚の場合と異なる可能性があるため推奨されない⁴⁴⁾。

しかし、局所作用の皮膚適用製剤の場合には、多くが炎症部位などの損傷部分に適用するため、薬物の皮膚移行を考える際には適用部位の皮膚状態を考慮する必要がある。例えば、アトピー性皮膚炎やドライスキンなど角質細胞間脂質量が減少した皮膚や角質層の損傷した状態が想定される^{45,46)}。

健常でない皮膚に製剤を適用したときに、薬物や基剤との関係が変化し、薬物の皮膚移行に影響を及ぼすことも十分に考えられる^{47,48)}。水溶性薬物では、角質層除去皮膚によって薬物透過が増大するという報告があるが⁴⁹⁾、ウフェナマートのような親油性の高い薬物に関する報告はない。

そこで第Ⅲ章では、損傷皮膚モデルとして角質層除去皮膚 (stripped skin) と脱脂皮膚 (delipidized skin) の2種類を用い、薬物の皮膚移行に及ぼす油系基剤の影響について検討した。

第 1 節 角質層除去皮膚におけるウフェナマートの皮膚移行

角質層除去皮膚は、皮膚のバリア機能を担う角質層を物理的に除去した皮膚である。角質層除去皮膚の最外層は生きた表皮となり、バリア機能が低いため薬物の皮膚透過性が高いと考えられる。また、塗布表面が親水性となるため、基剤との親和性が健常皮膚とは異なることも予想される。

角質層除去皮膚におけるウフェナマートの皮膚移行を 4 種類の油系基剤で検討した。健常皮膚の結果と合わせて Fig. 16 に示す。角質層除去皮膚の表皮へのウフェナマートの皮膚中移行量は、健常皮膚と比較すると WP 基剤で約 2.3 倍 ($1.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)、LP 基剤で約 13 倍 ($5.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)、ICS 基剤で約 12 倍 ($3.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)、IPM 基剤で約 28 倍 ($4.8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) となり、いずれの基剤の場合も有意に高い値を示した。

基剤間で比較すると、3 種類の液状油系基剤からの表皮への移行量は、WP 基剤と比較して有意に高く、健常皮膚と同じ傾向を示した。真皮では LP 基剤の場合を除いて移行量が増加しなかった。LP 基剤の真皮への移行量の増加の理由は明らかでないが、他の基剤で表皮への移行量が増加したのは、角質層がないために生きた表皮へのウフェナマートの流入速度が高くなったためだと考える。しかし、高い親油性のウフェナマートは、親水性の真皮が薬物の透過壁となり、真皮への移行量は増大しなかった。

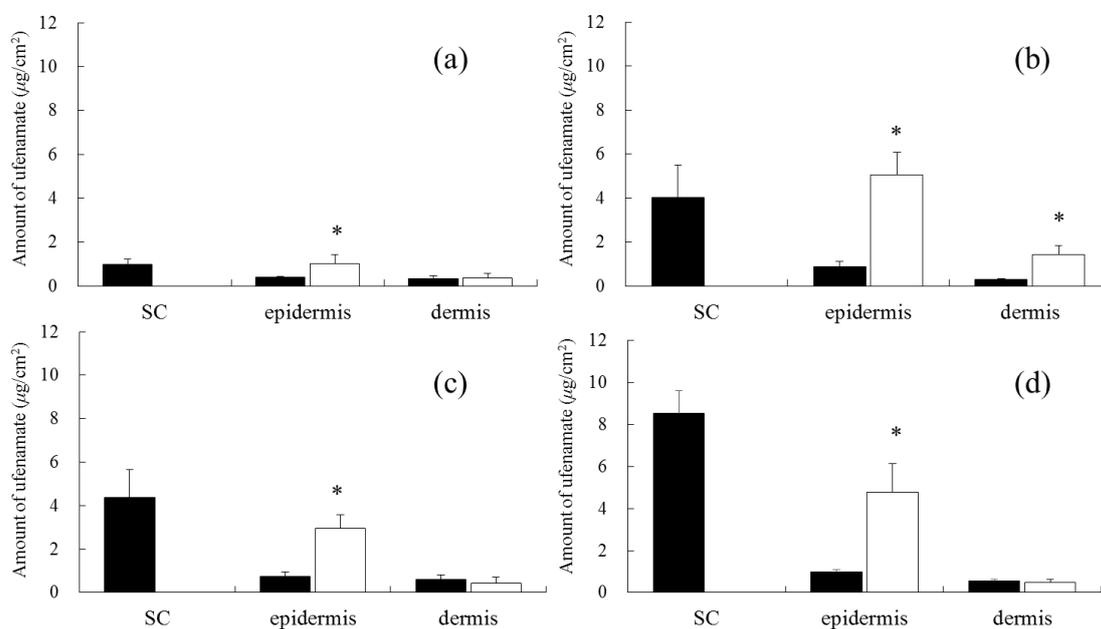


Fig. 16 Effect of stripping of SC on penetration of ufenamate from various vehicles

(a) WP, (b) LP, (c) ICS, (d) IPM

■, intact skin; □, stripped skin

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 3–5 experiments.

* Significantly different ($p < 0.05$) from intact skin with the same vehicle

第 2 節 脱脂皮膚におけるウフェナマーの皮膚移行

生体のバリア機能を担う角質層を物理的に除去した皮膚では、表皮へのウフェナマー移行量が増大することが明らかとなった。しかし、実際の皮膚疾患では、角質層そのものは存在するが、アトピー性皮膚炎やドライスキンなどといった角質細胞間脂質の量が減少している皮膚状態も想定される。

そこで第 2 節では、YMP 皮膚の表面にアセトン／エーテル（1 / 1）混液を 40 分間適用し、角質細胞間脂質を除去した脱脂皮膚⁵⁰⁾での検討を行った。

2.1 では、脱脂皮膚におけるウフェナマーの皮膚移行量を健常皮膚と比較し評価した。2.2 では、脱脂皮膚におけるウフェナマーの皮膚中の濃度分布を評価した。また 2.3 では、基剤の種類による皮膚中薬物濃度の挙動の違いについて、基剤が影響する要因の解析を行なった。

2.1 脱脂皮膚におけるウフェナマートの皮膚移行

脱脂皮膚における各油系基剤からのウフェナマート移行量を健常皮膚の移行量と合わせて Fig. 17 に示す。脱脂皮膚における WP 基剤からのウフェナマートの皮膚中移行量は、健常皮膚の移行量と比べ有意差が認められなかった。LP 基剤からの移行量は健常皮膚と比べ有意差がないものの、低下傾向を示した。

一方、ICS 基剤と IPM 基剤からの移行量は、角質層と表皮、真皮の各部位で健常皮膚の移行量より有意に減少した。特に角質層の移行量の減少は大きく、ICS 基剤では約 $1/2$ ($2.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)、IPM 基剤では約 $1/3$ ($2.7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) に減少した。基剤間を比較すると、いずれの皮膚部位においても有意な差は認められなかった。

脱脂皮膚への親水性薬物の透過は健常皮膚に比べて高いことが報告されているが^{48,51}、ウフェナマートでは逆の傾向が確認された。ウフェナマートのような親油性薬物は、角質細胞間脂質を通り皮膚移行が進むと考えられる。WP 基剤では皮膚状態によらずウフェナマートの皮膚中移行量に変化はない。これは薬物移行のはじめの段階で、薬物が基剤から皮膚へ分配し薬物のみが皮膚移行しているためだと考えられる。

一方、基剤が薬物と共に移行している液状油系基剤を用いた場合には、基剤自身との親和性の高い角質細胞間脂質がないことから、親油性の薬物と基剤の皮膚移行がしにくくなり、角質層中の移行量が健常皮膚に比べ低下した可能性が考えられた。

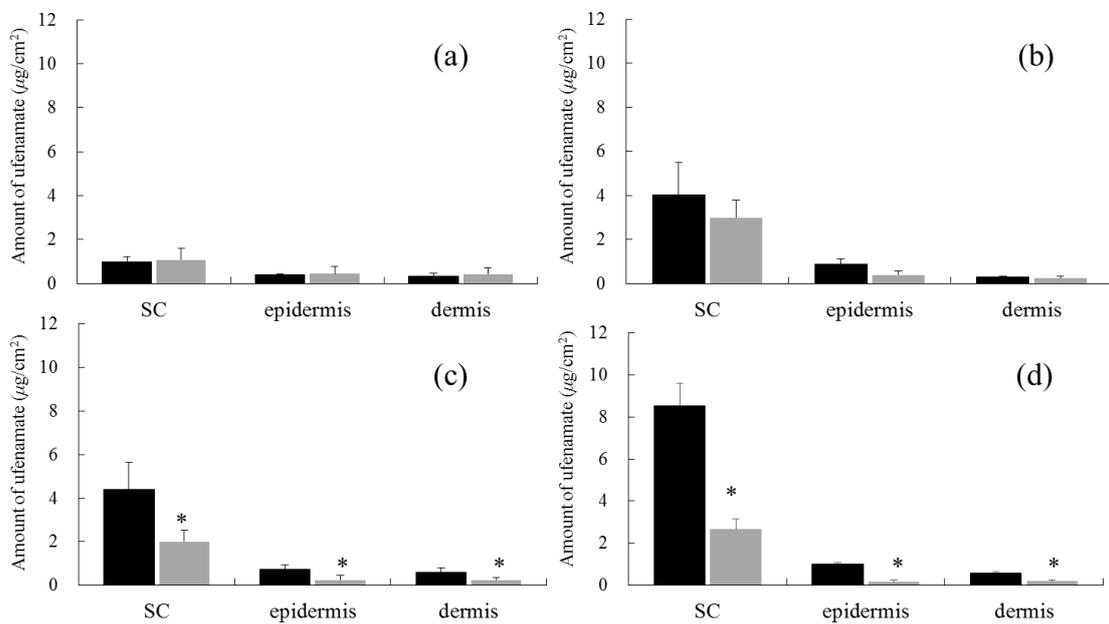


Fig. 17 Effect of delipidization of SC on penetration of ufenamate from various vehicles

(a) WP, (b) LP, (c) ICS, (d) IPM

■, intact skin; ■, delipidized skin

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 3–5 experiments.

* Significantly different ($p < 0.05$) from intact skin with the same vehicle

2.2 脱脂皮膚における皮膚中薬物濃度分布の挙動

脱脂皮膚における皮膚中のウフェナマート濃度分布を評価した。第Ⅱ章の健常皮膚での検討と同じく、角質層および表皮のウフェナマート濃度を皮膚表面からの深さ方向の距離 (x) に対して評価した (Fig. 18)。

健常皮膚の結果 (Fig. 11) と同様に、すべての基剤において角質層における濃度勾配は非線形を示し、Fick の式に従わなかった [Fig. 18 (a)]。

ウフェナマート濃度を対数とすると、濃度変化の大きい角質層の浅い部位では直線が得られ、健常皮膚と同様の挙動が確認された [Fig. 18 (b)]。

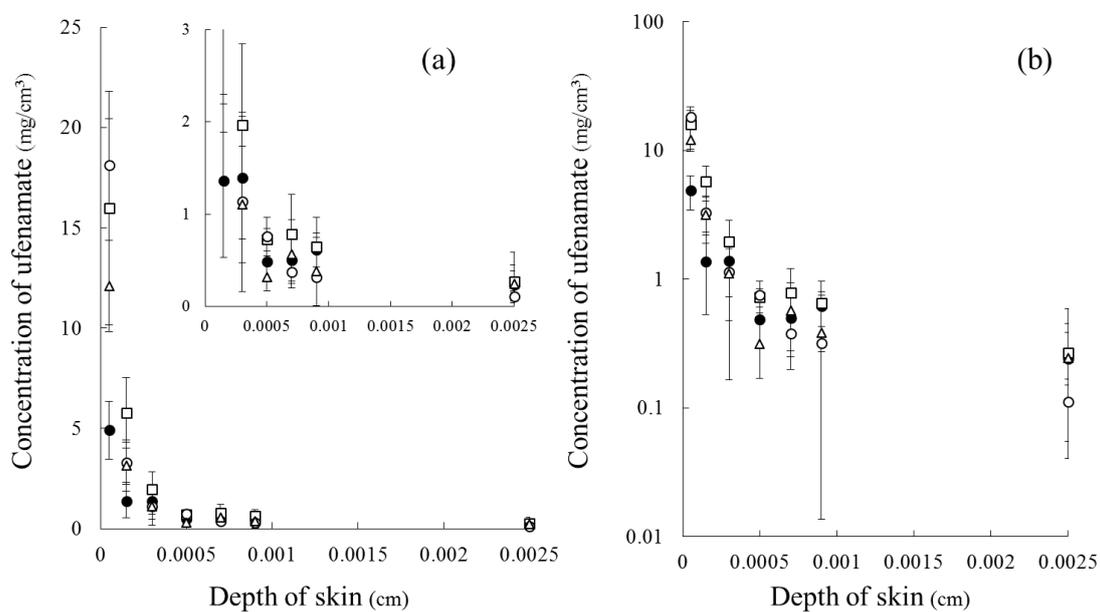


Fig. 18 Ufenamate distribution in delipidized skin at 4 h after application in various vehicles

Concentrations of ufenamate were presented as a linear (a) and logarithmic (b) scale

●, WP; □, LP; △, ICS; ○, IPM.

Data are shown as the mean \pm S.D. of 4–5 experiments.

2.3 脱脂皮膚における皮膚中薬物濃度分布の解析

2.2 において脱脂皮膚でのウフェナマートの皮膚中濃度分布は、健常皮膚と同様の非線形を示した。そこで第Ⅱ章での解析と同様に、各々の基剤の C_0 、 C_0' および k 、 k' を算出し、基剤が影響する要因の解析を行った。1st phase の結果を Table 6、2nd phase の結果を Table 7 に示す。1st phase の式 (3) における皮膚中濃度 (C) と皮膚距離 (x) の相関係数 (r) の絶対値は、いずれも 0.9 以上と高い相関が認められた (Table 6)。脱脂皮膚も健常皮膚と同様に 1st phase の濃度勾配は、皮膚中の薬物濃度に依存した。

皮膚表面濃度の C_0 は WP 基剤で 4.4 mg/cm^3 であったのに対し、LP 基剤で 17.9 mg/cm^3 、ICS 基剤で 13.4 mg/cm^3 、IPM 基剤で 13.6 mg/cm^3 となり、液状油系基剤は WP 基剤より有意に高い C_0 値を示した。しかし、IPM 基剤の C_0 は 13.6 mg/cm^3 と健常皮膚の 66.1 mg/cm^3 よりも明らかに低い値を示した。 C_0 値の大小関係は、 $WP < LP = ICS = IPM$ であった。

健常皮膚の結果における LP 基剤および ICS 基剤の k 値は、WP 基剤と比べ差がなかったが、脱脂皮膚では LP 基剤および ICS 基剤の k 値は IPM 基剤と同等であり、WP に比べ有意に高い値を示した。 k 値の大小関係は、 $WP < LP \doteq ICS \doteq IPM$ となった。

Table 6 Skin surface concentration (C_0) and concentration gradient constant (k) calculated from strips 1–6 of the SC after application on delipidized skin according to equation (3)

	C_0 (mg/cm ³)	k ($\times 10^3$ cm ⁻¹)	r
WP	4.4 \pm 2.0	4.4 \pm 0.6	- 0.92
LP	17.9 \pm 5.2 ^{a)}	6.7 \pm 0.8 ^{a)b)}	- 0.99
ICS	13.4 \pm 3.4 ^{a)}	8.0 \pm 1.1 ^{a)b)}	- 0.98
IPM	13.6 \pm 3.0 ^{a)b)}	6.8 \pm 0.6 ^{a)}	- 0.91

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 3–5 experiments.

Significantly different ($p < 0.05$) from *a*) WP, *b*) intact skin (Table 4).

Correlation coefficient (r) is calculated from the average concentration.

次に、2nd phase の式 (4) における相関係数 (r) の絶対値は、ICS 基剤で 0.87 とやや低いが、高い相関が認められた (Table 7)。2nd phase の濃度勾配は一定であり、健常皮膚と同様に Fick の式に従うといえる。

IPM 基剤の C_0' は 0.46 mg/cm^3 と、健常皮膚の 1.8 mg/cm^3 より有意に低い値となった。一方、WP 基剤と LP 基剤、ICS 基剤の C_0' 値は、健常皮膚との間で有意差が認められなかった。 k' 値は基剤に関わらず同等であり、Table 5 に示した健常皮膚と比較し有意差が認められなかった。2nd phase における k' と C_0' は健常皮膚と同様に比例関係を示した (Fig. 19)。

Table 7 Skin surface concentration (C_0') and concentration gradient (k') calculated from the strip 7 of the SC after application on delipidized skin to the epidermis according to equation (4)

	C_0' (mg/cm ³)	k' ($\times 10^3$ mg/cm ³ /cm)	r
WP	0.73 \pm 0.35	0.22 \pm 0.13	- 0.92
LP	1.17 \pm 0.53	0.38 \pm 0.17	- 0.98
ICS	0.58 \pm 0.29	0.21 \pm 0.12	- 0.87
IPM	0.46 \pm 0.12 ^{b)}	0.14 \pm 0.05	- 0.99

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 3–5 experiments.

b) Significantly different ($p < 0.05$) from intact skin (Table 5).

Correlation coefficient (r) is calculated from the average concentration.

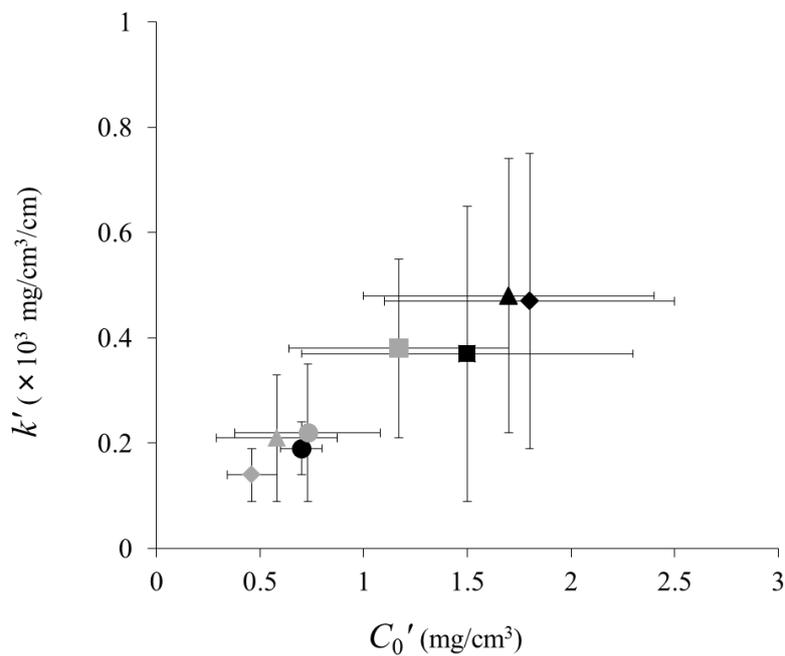


Fig. 19 Relationship between C_0' and k' of intact skin and delipidized skin

Intact skin : ● , WP; ■ , LP; ▲ , ICS; ◆ , IPM.

Delipidized skin : ● , WP; ■ , LP; ▲ , ICS; ◆ , IPM.

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 3–5 experiments.

脱脂皮膚の角質層の IPM 自身の移行量は、健常皮膚の移行量の約 $1/3$ ($63 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) であった [Fig. 20 (a)]。この減少率はウフェナマートの皮膚移行量の減少率 ($8.5 \rightarrow 2.7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) とほぼ一致していた。IPM 自身の皮膚中の濃度分布は、ウフェナマートと同じく皮膚中濃度に依存した非線形を示した [Fig. 20 (b)]。そこで、ウフェナマート同様に IPM 自身の皮膚中の濃度分布を式 (3)、式 (4) を用いて解析した。結果を Table 8、Table 9 に示す。

健常皮膚と脱脂皮膚の IPM 自身の C_0 は、それぞれ $1055 \text{ mg}/\text{cm}^3$ 、 $357 \text{ mg}/\text{cm}^3$ 、 C_0' は $42 \text{ mg}/\text{cm}^3$ 、 $14 \text{ mg}/\text{cm}^3$ であり、いずれも健常皮膚に比べ脱脂皮膚で有意に低かった。また、健常皮膚と脱脂皮膚の IPM 自身の k は、それぞれ $5.7 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ 、 $6.5 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ であり有意差は認められなかった。これらの現象は IPM 基剤からのウフェナマートの皮膚移行の傾向と一致していた。

また、角質層 1 層目におけるウフェナマートと IPM の移行量の比は、健常皮膚と変わらず 0.048 であった。しかし、2 層目の比は脱脂皮膚で低い値 (0.032) を示した。健常皮膚と異なり脱脂皮膚の角質層の浅い部位で比率が異なるのは、ウフェナマートと IPM が適用した製剤の形で皮膚中に移行しているのではなく、薬物と基剤が各々皮膚表面で分配し皮膚移行しているためだと考えられた。

以上のことから、脱脂皮膚では液状油系基剤が皮膚移行しにくいいため、基剤による薬物移行の増大は認められないことが示された。

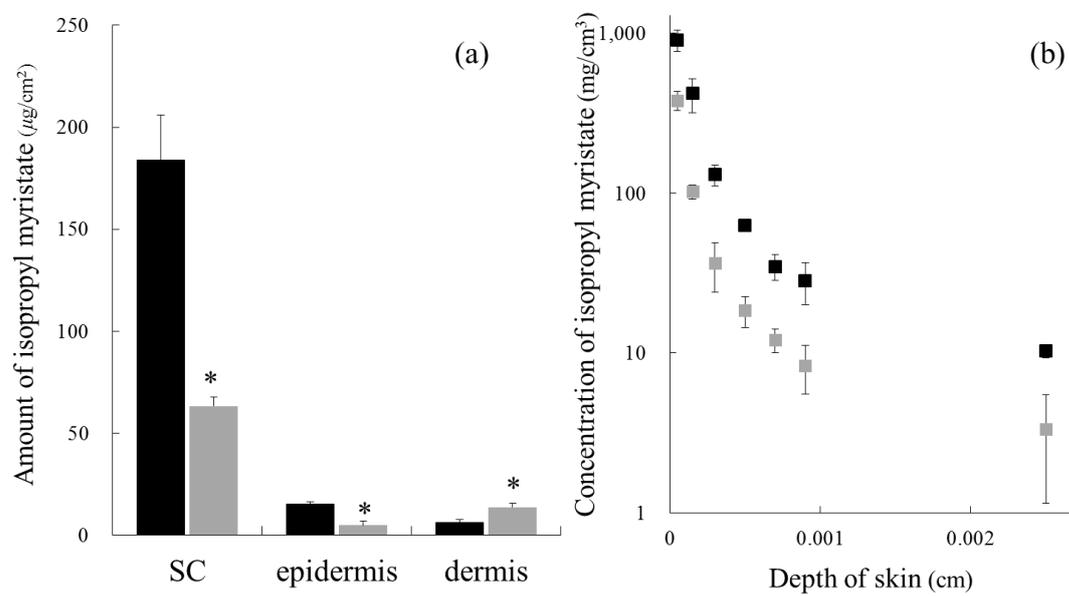


Fig. 20 Effect of delipidization of SC on the penetration amount (a) and distribution (b) of IPM in skin

■, intact skin; ■, delipidized skin

Data are expressed as the mean \pm S.D. of 3–5 experiments.

* Significantly different ($p < 0.05$) from intact skin with the same vehicle

Table 8 Skin surface concentration (C_0) and concentration gradient constant (k) of IPM calculated from strips 1–6 of the SC according to equation (3)

	C_0 (mg/cm ³)	k ($\times 10^3$ cm ⁻¹)	r
Intact skin	1055 \pm 231	5.70 \pm 0.54	- 0.98
Delipidized skin	357 \pm 17.7 ^{a)}	6.50 \pm 0.66	- 0.96

The data show mean \pm S.D. of 3 or 4 or 5 experiments.

a) Significantly different ($p < 0.05$) from intact skin.

Correlation coefficient (r) is calculated from the average concentration.

Table 9 Skin surface concentration (C_0') and concentration gradient (k') of IPM calculated from the strip 7 of the SC to the epidermis according to equation (4)

	C_0' (mg/cm ³)	k' ($\times 10^3$ mg/cm ³ /cm)	r
Intact skin	42.0 \pm 8.9	13.0 \pm 3.7	- 0.95
Delipidized skin	14.0 \pm 1.4 ^{a)}	4.2 \pm 0.81 ^{a)}	- 0.91

The data show mean \pm S.D. of 3 or 4 or 5 experiments.

a) Significantly different ($p < 0.05$) from intact skin.

Correlation coefficient (r) is calculated from the average concentration.

第 3 節 小括

角質層除去皮膚では、健常皮膚に比較しいずれの基剤からも生きた表皮のウフェナマートの移行量が有意に増加した。物質の皮膚浸透の障壁となる角質層が除去された皮膚の場合には、基剤に関わらずウフェナマートの表皮への移行量が増大した。

一方、脱脂皮膚では WP 基剤からのウフェナマート移行量は、健常皮膚と同等であった。LP 基剤からの移行量は低い傾向を示したが、健常皮膚と有意差は認められなかった。しかし、ICS 基剤と IPM 基剤からの皮膚中移行量は大幅に減少した。脱脂皮膚中の濃度分布は健常皮膚と同様に非線形の挙動を示した。

1st phase における液状油系基剤の C_0 値と k 値は、WP 基剤より有意に高かった。また、健常皮膚と比較すると IPM 基剤からの C_0 値は有意に低い値を示した。したがって、脱脂皮膚におけるウフェナマートの皮膚移行への基剤の影響は、特に角質層の上部の 1 層目から 6 層目で健常皮膚と異なっていることが示された。

健常皮膚で最も高かった IPM 基剤のウフェナマートの移行量は、脱脂皮膚では WP 基剤と同等まで低下し、また、IPM 自身の移行量も低下していた。以上のことから、液状油系基剤は皮膚状態によって親油性物質の移行ルートである角質細胞間脂質に対して影響を与えられない状態では、薬物移行に影響を及ぼさないことが示唆された。

総 括

本研究では、基剤として4種類の代表的な油系基剤を選択し、モデル薬物にウフェナマートを用いて皮膚中への移行量と濃度分布から、薬物の皮膚移行に及ぼす油系基剤の影響について検討した。

ウフェナマートは infinite 系でも皮膚移行について詳しく検討されていないため、はじめに油系と水系の製剤を用いてウフェナマートの基本的な皮膚移行を明らかにした上で、4種類の油系基剤の検討を行った。4種類の油系基剤からの皮膚中の薬物濃度の挙動をまとめた概略図を Fig. 21 に示す。

健常皮膚を用いてウフェナマートを適用したとき、薬物濃度は角質層の浅い部位で高くなり、理論と異なる非線形を示した。この挙動は WP 基剤よりも液状油系基剤で顕著であった。皮膚中の薬物濃度は1次式として表されることから、薬物自身の皮膚移行に伴う角質層のバリア機能の変化が示唆された。また、液状油系基剤を用いた場合には、基剤自身の皮膚移行が薬物濃度を上昇させる影響が考えられる。

一方、皮膚疾患を想定した脱脂皮膚を用いた検討では、健常皮膚と同様に薬物濃度は非線形を示した。しかし、液状油系基剤からの皮膚中移行量は健常皮膚に比べ低かった。このとき、基剤自身の移行量も薬物と同様に低く、基剤自身が皮膚移行しにくくなることで、健常皮膚でみられた液状油系基剤による薬物皮膚移行の増大作用は小さくなると考えられる。

薬物の皮膚移行のはじめの段階は基剤から皮膚への分配であり、これまで基剤は皮膚表面に留まると仮定され薬物皮膚移行が検討されてきた。しかし、油系基剤の種類は多く、油系基剤自身の皮膚移行によって薬物の皮膚移行が理論から逸脱する可能性があることを本研究で明らかにした。

同一薬物であっても液状油系基剤を用いて皮膚表面で液状となるような製剤設計をすることで、油系基剤自身の皮膚移行に起因する、より効果的な皮膚適用製剤の開発が期待できる。本研究における結果は、薬物の皮膚移行に対する油系基剤の影響について新たな知見を与えるものであり、今後、新たな皮膚適用製剤の処方設計に貢献するものと考えられる。

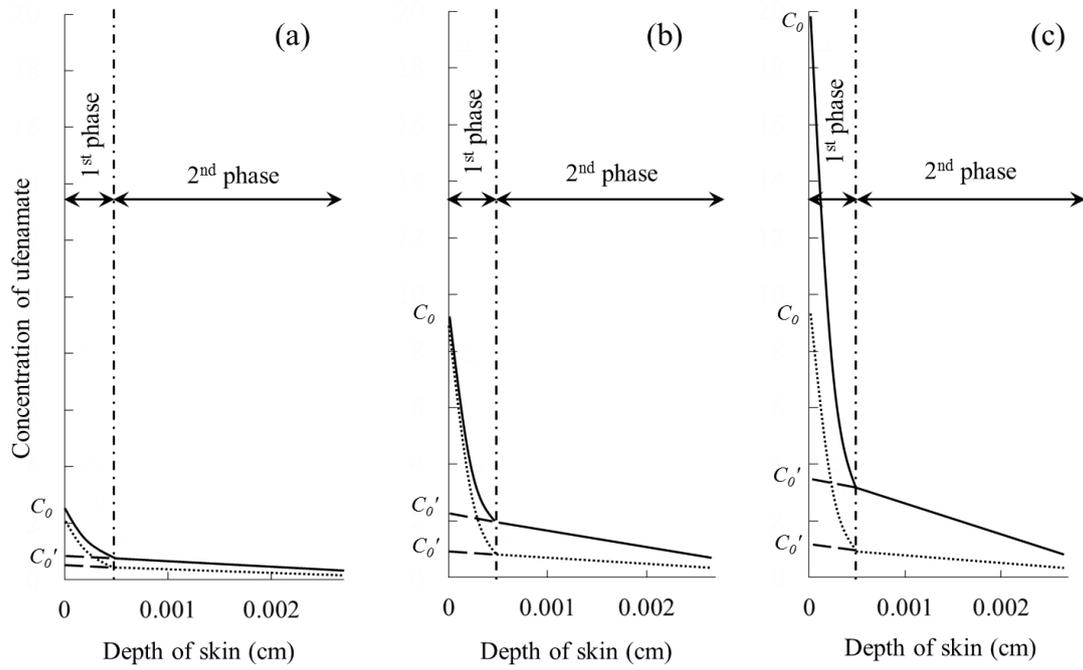


Fig. 21 Schematic of skin penetration behavior of ufenamate from WP (a) and LP, ICS (b) and IPM (c)

— Intact skin Delipidized skin

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始懇切なご指導ご鞭撻賜りました、昭和薬科大学 薬剤学研究室 教授 宇都口直樹 先生、同研究室 講師 小泉直也 先生、同研究室 特任助教 野村鉄也 先生に謹んで感謝の意を表します。また、修士課程から長年にわたりご指導ご鞭撻賜りました、昭和薬科大学 名誉教授、東北医科薬科大学 臨床薬剤学研究室 特任教授 渡邊善照 先生、日本大学 薬学部 薬品物理化学研究室 教授 藤井まき子 先生に謹んで感謝の意を表します。

本学位論文の主査としてご審査賜りました、昭和薬科大学 薬品物理化学研究室 教授 秋澤宏行 先生、副査としてご審査賜りました同大学 臨床薬学教育研究センター 臨床化学分析教育 千葉研究室 教授 千葉良子 先生、同大学 臨床薬学教育研究センター 実践薬学部門 教授 廣原正宜 先生に深く感謝いたします。

また、本研究の遂行にあたり、長年にわたって研究の機会を与えてくださりました、ユースキン製薬株式会社 野渡和義 代表取締役社長、齊藤和之 常務取締役、塩谷育男 取締役、柿澤昌治 顧問、川又一郎 顧問、ならびに同社 研究開発部の皆様方に深く御礼申し上げます。

さらに、本研究にあたり実験の一部をご協力いただきました日本大学 薬学部 薬品物理化学研究室 准教授 橋崎 要 先生、また、昭和薬科大学 薬剤学研究室 藤野真奈美 氏、小原静香

氏、吉良 瞳 氏、ならびに同研究室の皆様方に厚く御礼申し上げます。

最後に、長年にわたる博士課程への挑戦に対して理解を示し、最後まで励まし応援してくれた家族の皆に心から感謝いたします。

実験の部

第 I 章の実験

1. 実験材料

薬物のウフェナマート（日本薬局方外規格）は、塩野フィネス（大阪）から入手した。基剤の LP（和光 1 級）は、和光純薬工業（大阪）から入手した。乳化剤の TO（NIKKOL TO-10MV、日本薬局方）は、日光ケミカルズ（東京）から入手した。その他の試薬は、市販品の特級または高速液体クロマトグラフィー（HPLC）用を用いた。

2. 製剤の調製

油系製剤は、LP にウフェナマートを 5 % または 10 % 溶解させた。水系製剤は、処方量の TO にあらかじめウフェナマートを混和した油相と、精製水（水相）を各々 80 °C に加熱した後、油相に水相を加え攪拌した。試料をクイックホモミキサー（LR-1、みづほ工業、大阪）で予備乳化（3,000 rpm, 3 min）後、マイクロフルイダイザー（M-110-EH、みづほ工業、大阪）にて高圧乳化を行った（10,000 psi、チャンバー通過回数 10 回）。各製剤は事前に室温で 1 週間静置し、分離がないことを確認した。

3. 皮膚移行性試験

3-1 Yucatan micropig 摘出皮膚の前処理

5 ヶ月齢の雌の YMP から摘出後、直ちに $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ で凍結保存された背部の摘出皮膚（YMP スキンセット、日本チャールズリバー、神奈川）を用いた^{37,38)}。YMP 皮膚を使用直前に室温で約 15 分間放置し自然解凍した後、手術用ハサミを用いて皮下脂肪を取り除いた。さらに、やすり（アラカンスタンダード AK-STD、TJM デザイン、東京）で真皮に付着している皮下脂肪を、真皮が傷つかないように取り除いた。この皮膚を約 2 cm 四方に切り取り適用皮膚とした。

3-2 Infinite 系皮膚移行性試験

改良 Franz 型拡散セル（有効面積： 1.1 cm^2 ）を用い、レセプター相には、TO 5 %を加えた pH 7.1 の等張リン酸緩衝液(PBS) 約 17 mL を用いた。このレセプター相に満たした溶液は、ウフェナマートが十分溶解しシンク条件を保てることを事前に確認した。レセプター相は $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ に保ち、スターヘッド型マグネチックスターラーにより攪拌（600 rpm）した。YMP 皮膚の表皮側をドナーセル側に接するように拡散セルに取り付けた後、試料液 2 g を適用部位 1.1 cm^2 に適用した。試料液の蒸発を防ぐためドナーセル上部をボールで閉塞した。試験開始から 48 時間後まで経時的にレセプター相を採取し、同量のレセプター相を補充した。採取したレセプター相中のウフェナマートは HPLC にて定量分析した。

皮膚移行性試験終了後、ドナー相を取り除き皮膚表面の試料液をキムワイプ®（日本製紙クレシア）で拭き取った。試料液

を適用した部分の皮膚を切り取り、粘着テープ（Scotch®313、3M、東京）を角質層に貼り付け、角質層を剥がすストリッピングを10回行った。粘着テープはメタノールに浸しウフェナマートを溶出させ、HPLCにて定量分析した。なお角質層は、剥離1枚目及び2枚目は各層を、剥離3枚目から10枚目は2つの隣接する4組の組み合わせ（剥離3、4枚目、5、6枚目、7、8枚目、9、10枚目）から抽出し各々測定した。11枚目以降の角質層はテープストリッピングによって1層ずつ角質層が剥がれにくくなることや、HPLCによる検出下限を下回ることから測定しなかった。

テープストリッピングを終えた皮膚は、約90℃の水の中に浸し熱したスパーテルの間に挟んで加温し、表皮と真皮に剥離した⁵²⁾。表皮、真皮のそれぞれにメタノールを加え、手術用ハサミで細かく切断した。その後、真皮はホモジナイザー（ヒスコトロン NS-50型、マイクロテック・ニチオン、千葉）により氷冷下で粉碎した。遠心分離機（KUBOTA 5100、久保田製作所、東京）により遠心分離（3,000 rpm、10 min）を行い、得られた上清をメンブランフィルター（DISMIC-25cs Cellulose Acetate、表皮：膜孔 0.45 μm、真皮：膜孔 0.20 μm、アドバンテック東洋、東京）でろ過した。ろ液中のウフェナマートをHPLCにて定量分析した。

3-3 実適用量の皮膚移行性試験

YMP皮膚に製剤2 mgを適用部位1.1 cm²へ適用した。改良Franz型拡散セル（有効面積：1.1 cm²）に表皮側がドナーセル

側になるように取り付け、4 時間適用した。皮膚移行性試験終了後、皮膚表面の試料液を拭き取ったキムワイプ®中の薬物も抽出し試験検体とした。以後、infinite 系皮膚移行性試験と同様の操作を行い、ウフェナマートを HPLC にて定量分析した。ウフェナマートの回収率が塗布量の 75 %以上のデータを結果として採用した。

4. HPLC を用いたウフェナマート測定条件

HPLC には LC-10Avp システム（島津製作所、京都）、カラムに Wakosil-II 5C18HG（4.6×150 mm、和光純薬工業、大阪）を用い、カラム温度は室温にて測定した。移動相はメタノール：水 = 90：10（ニードル洗浄液は、メタノール：テトラヒドロフラン = 50：50）、流速は 1.0 mL/min とし、試料注入量は 20 μ L とした。検出器は紫外分光光度計 SPD-10Avp（島津製作所、京都）を用い、波長 285 nm で測定した。ピーク面積法により検量線を作成しウフェナマート濃度を求め、その値と試料溶液からウフェナマート量を算出した。

5. 統計学的評価

統計学的評価は一元配置分散分析を使用し、有意差が認められるとき Fisher の Protected Least Significant Difference 検定を用いて $p < 0.05$ を統計学的に有意差ありとした。

第 II 章の実験

実験材料および実験方法は、第 I 章の方法に準じて行なった。以下に第 I 章と異なる点について記載する。

1. 実験材料

基剤の WP（日本薬局方）はマイラン製薬（東京）から、IPM（エキセパール IPM、医薬品添加物規格）は花王（東京）から、ICS（ICS-R、医薬部外品添加物規格）は高級アルコール工業（千葉）から入手した。

2. 表面張力測定条件

各油系基剤の表面張力はウィルヘルミー型表面張力計（CBVP-Z 型、協和界面科学、埼玉）を用いて測定した。白金製測定プレートを用い 25 °C 恒温下で測定した。

3. 粘度測定条件

各油系基剤の粘度は粘度粘弾性測定装置（HAAKE RheoStress 600、サーモフィッシャーサイエンティフィック、神奈川）を用いて測定した。25 °C 恒温下でダブルコーンプレートセンサ（直径 60 mm、コーン角 1 °）、または溝平行平板センサ（直径 20 mm、ギャップ 1 mm）を用いて測定した。

4. 製剤の調製

WP 製剤は WP を約 60 °C に加熱し、液状となった WP にウフ

エナマート 5 % を溶解させ、室温まで冷却しながら攪拌混合した。液状油系基剤 (LP、IPM、ICS) を用いた製剤は、各々の液状油系基剤にウフェナマート 5 % を溶解させた。

5. ウフェナマートの皮膚深さ方向距離のデータ処理

皮膚におけるウフェナマートの濃度は、YMP 皮膚切片の顕微鏡像から求め、角質層 1 層を 1×10^{-4} cm、表皮を 3×10^{-3} cm とし、計算した。皮膚中濃度のプロットは、検体の中心距離とし、例えば角質層 1 層目は 0.5×10^{-4} cm、角質層 2 層目は 1.5×10^{-4} cm、角質層 3、4 層目は 3×10^{-4} cm とした。

6. ガスクロマトグラフィーを用いた IPM 測定条件

ガスクロマトグラフィー (GC) には GC-2014 システム (島津製作所、京都)、カラムに ZB-1HT (長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μ m、フェノメネックス、米国) を用い測定した。キャリアガスにはヘリウムを用い、流速 1.43 mL/min で 70 °C から 230 °C (9 分保持) まで 30 °C/min で昇温させた。試料注入量は 2 μ L (スプリットレス) とし、試料気化室の温度は 230 °C とした。検出器には水素炎イオン化型検出器を用い、250 °C に保った。ピーク面積法により検量線を作成し IPM 濃度から IPM 量を算出した。テープストリッピングに用いた粘着剤の影響は夾雑ピークとならないことを事前に確認した。IPM の回収率が塗布量の 75 % 以上のデータを結果として採用した。

7. IPM の皮膚深さ方向距離のデータ処理

皮膚における IPM の濃度は、ウフェナマートの場合と同様に角質層 1 層を 1×10^{-4} cm、表皮を 3×10^{-3} cm として計算した。

第Ⅲ章の実験

実験材料および実験方法は、第Ⅰ章、第Ⅱ章の方法に準じて行なった。以下に第Ⅰ章、第Ⅱ章と異なる点について記載する。

1. 損傷皮膚モデルの作製

1-1 角質層除去皮膚の作製

SKICON-200（ヤヨイ、東京）を用いて、高周波伝導度が 1000 μS 以上になるまで粘着テープ（Scotch®、3M、東京）を表皮に貼り付け、角質層を剥がすストリッピングを約 50 回行った。

1-2 脱脂皮膚の作製

改良 Franz 型拡散セルに健常皮膚を装着後、ドナーセルを取り付けアセトン：エーテル（1：1）混液 2 mL を 40 分間適用した⁵⁰⁾。適用後、アセトン・エーテル混液をパスツールピペットで取り除き、皮膚をセルから取り外し、皮膚表面を乾燥させた。

引用文献

- 1) Shimizu H.. Epidermis, *Textbook of modern dermatology*, 2nd Edition. Nakayama Shoten, Japan, 2014, pp.3-5.
- 2) 飯塚 一, 大塚藤男, 宮地良樹 (編著). NEW 皮膚科学 改訂第2版, 南江堂, 2004, pp.1-13.
- 3) 永井恒司, 中垣正幸, 米谷芳枝 (編著). ハイブリッド薬剤学, 丸善, 1998, pp.186-188.
- 4) 第十七改正日本薬局方解説書 製剤総則, 廣川書店, 2016, A-142-151.
- 5) 岡田弘晃, 中村康彦 (監修). 非経口投与製剤の製剤設計と製造法 下巻, じほう, 2014, pp.145-162.
- 6) 渡辺善照, 芳賀信 (編著). 標準薬剤学 改訂第3版, 南江堂, 2012, pp.8-9.
- 7) 瀬崎仁 (監修). 医薬品の開発 第13巻 薬物送達法, 廣川書店, 1989, pp.87-133.
- 8) Smith EW., Surber C., Tassopoulos T., Maibach HI.. Topical Dermatological Vehicles, *Topical absorption of dermatological products*. (Bronaugh RL, Maibach HI. eds.) Taylor & Francis, U.K., 2002, pp.473-479.
- 9) Shima K., Matusaka C., Hirose M., Noguchi T., Yamahira Y.. Biopharmaceutical characteristics of indomethacin gel ointment. *Chem.Pharm.Bull.*, **29**, 2338-2344 (1981).
- 10) Kamide R., Yokoi K., Yaginuma T.. Percutaneous absorption of

- indomethacin: Comparison of two indomethacin cream products with different vehicle. *Therap.Res.*, **10**, 363-367 (1989).
- 11) Smith EW., Surber C., Tassopoulos T., Maibach HI.. Topical Dermatological Vehicles. *Topical Absorption of Dermatological Products*. (Bronaugh RL, Maibach HI. eds.) Taylor & Francis., U.K., 2002, pp.457-464.
- 12) Surber C., Smith EW.. The mystical effects of dermatological vehicles. *Dermatology*, **210**, 157-168 (2005).
- 13) Nakamura H., Hayashi T., Sugibayashi K., Morimoto Y.. Skin penetration-enhancing effect and its mechanism of lactic acid-ethanol-isopropyl myristate system. *Xenobio. Metabol. and Dispos.*, **8**, 695-698 (1993).
- 14) Fujii M., Yamanouchi S., Nagakura K., Takeda Y., Matsumoto M.. Enhancement effect of menthoxypropandiol and menthol on the penetration of indomethacin through Yucatan micropig skin in vitro. *Drug Delivery Syst.*, **12**, 127-131 (1997).
- 15) 日本薬局方外医薬品規格, じほう, 2002, p.129.
- 16) 杉林堅次. 化学物質の経皮吸収速度, *Cosme Tech Japan*, **1**, 327 (2011).
- 17) 杉林堅次. 無限用量系 (infinite dose system) と有限用量系 (finite dose system) , *Cosme Tech Japan*, **1**, 555 (2011).
- 18) Bos JD., Meinardi MM.. The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Exp. Dermatol.*, **9**, 165-169 (2000).
- 19) Zhang Q., Grice JE., Li P., Jepps OG., Wang GE., Roberts MS..

- Skin solubility determines maximum transepidermal flux for similar size molecules. *Pharm. Res.*, **26**, 1974-1985 (2009).
- 20) Surber C., Wilhelm K., Maibach H.. In vitro and in vivo percutaneous absorption of structurally related phenol and steroid analogs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **39**, 244-248 (1993).
- 21) Sugibayashi K.. For Our Continued Youth and Health: Science and Technology for Enhanced Skin Penetration of Cosmetic Ingredients to Obtain the High Effects of Cosmetics. *Soc.Cosmet.Chem.Japan*, **41**, 241-245 (2007).
- 22) Higuchi T.. Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointments. *J. Soc. Cosmetic Chemists*, **11**, 85-97 (1960).
- 23) Coldman MF., Poulsen BJ., Higuchi T.. Enhancement of percutaneous absorption by the use of volatile: nonvolatile systems as vehicles. *J.Pharm.Sci.*, **58**, 1098-1102 (1969).
- 24) Finlay AY., Edwards PH., Harding KG.. “Fingertip unit” in dermatology. *Lancet*, **II**, 155 (1989).
- 25) OECD guideline for the testing of chemicals. Test No.428 : Skin Absorption : In Vitro Method. ; April 13 (2012).
- 26) SciFinder, <https://scifinder.cas.org/scifinder>
- 27) 日本薬局方外医薬品規格, じほう, 2002, p.267.
- 28) 第十七改正日本薬局方解説書 医薬品各条 化学医薬品, 廣川書店, 2016, C-3372.
- 29) 水島 裕 (編著) . 今日の治療薬, 南江堂, 2015, p.1042.
- 30) 中島恵美, 伊東明彦(編著). 今日の OTC 薬 改訂第 3 版, 南

江堂, 2015, pp.348-351.

- 31) Kubo H., Ohkuma N., Ohkawara A.. Clinical Effect of HF-264 Ointment on Atopic Dermatitis. *Nishinohon J. Dermatol.*, **43**, 261-263 (1981).
- 32) Kazama T., Ishibashi Y., Satomi I., Iwai M.. Clinical Evaluation of HF-264 Ointment. *Nishinohon J. Dermatol.*, **43**, 264-267 (1981).
- 33) Uchiyama M., Murakami J.. Clinical Experience of HF-264 Ointment. *Nishinohon J. Dermatol.*, **43**, 268-273 (1981).
- 34) Iju M., Takashima I., Kubota K.. Clinical Effect of HF-264 Ointment on Atopic Dermatitis and Napkin Dermatitis. *Nishinohon J. Dermatol.*, **43**, 256-260 (1981).
- 35) Sasaki R., Nakajima M., Takeuchi J.. Clinical Study of Efficacy and Safety of 5% Ufenamate Ointment and Cream For Eczematous Skin Changes (Miliaria and Diaper rash) in Infants and Children. *J. Pediat. Dermatol.*, **16**, 47-52 (1997).
- 36) Takahara Y., Ohoshita M., Aratani T., Kudo S., Nishide K., Ito Y.. Studies on the metabolism of Butyl-2-[[3-(trifluoromethyl)phenyl]amino]benzoate (HF-264) (4) percutaneous absorption in rats after dermal application. *Pharmacometrics*. **24**, 691-695 (1982).
- 37) Lavker RM., Dong G., Zheng PS., Murphy GF.. Hairless micropig skin. A novel model for studies of cutaneous biology. *Am. J. Pathol.*, **138**, 687-697 (1991).
- 38) Fujii M., Yamanouchi S., Hori N., Iwanaga N., Kawaguchi N.,

- Matsumoto M.. Evaluation of Yucatan micropig skin for use as an in vitro model for skin permeation study. *Biol. Pharm. Bull.*, **20**, 249-254 (1997).
- 39) EFSA, Guidance on Dermal Absorption, *EFSA Journal*, **10**, 2665 (2012).
- 40) 武田克之, 原田昭太郎, 安藤正典 (監修). 化粧品の有用性評価技術の進歩と将来展望, 薬事日報社, 2001, pp.82-101.
- 41) Kubo A., Ishizaki I., Kubo A., Kawasaki H., Nagao K., Ohashi Y., Amagai M.. The stratum corneum comprises three layers with distinct metal-ion barrier properties. *Sci. Rep.*, **3**, 1-11 (2013).
- 42) Johnson ME., Blankschtein D., Langer R.. Evaluation of solute permeation through the stratum corneum: lateral bilayer diffusion as the primary transport mechanism. *J. Pharm. Sci.*, **86**, 1162-1172 (1997).
- 43) Yamamoto S.. Diffusion coefficients as mass transfer properties and water ad/desorption (drying). *Japan J. Food Eng.*, **11**, 73-83 (2010).
- 44) 大谷道輝 (監修). “ぬり薬の蘊蓄 vol.3 皮膚の状態と経皮吸収性について.” , マルホ : [〈 https://www.maruho.co.jp/medical/academic/infostore/vol03/01.html〉](https://www.maruho.co.jp/medical/academic/infostore/vol03/01.html) , cited 20 February, 2017.
- 45) 山本昇壯, 河野陽一 (監修). アトピー性皮膚炎治療ガイドライン 2006, 協和企画, 2006, pp.1-60.
- 46) 宮地良樹, 長沼雅子 (編著). 化粧品・外用薬研究者のための皮膚科学, 文光堂, 2005, pp.122-137.

- 47) Bekersky I., Fitzsimmons W., Tanase A., Maher RM., Hodosh E., Lawrence I.. Nonclinical and early clinical development of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis. *J. Am. Acad. Dermatol.*, **44**, 17-27 (2001).
- 48) Kikuchi K., Tagami H.. Comparison of the effects of daily applications between topical corticosteroid and tacrolimus ointments on normal skin: evaluation with noninvasive methods. *Dermatology.*, **205**, 378-382 (2002).
- 49) Gujjar M., Banga AK.. Vehicle influence on permeation through intact and compromised skin. *Int. J. Pharm.*, **472**, 362-368 (2014).
- 50) Imokawa G., Akasaki S., Hattori M., Yoshizuka N.. Selective recovery of deranged water-holding properties by stratum corneum lipids. *J Invest Dermatol.*, **87**, 758-761 (1986).
- 51) Inoue K., Ogawa K., Suzuki Y., Okada J., Kusai A., Ikeda M., Nishimura K.. The skin permeation mechanism of ketotifen: evaluation of permeation pathways and barrier components in the stratum corneum. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **26**, 45-53 (2000).
- 52) Kligman AM., Christophers E.. Preparation of isolated sheets of human stratum corneum. *Arch. Dermatol.*, **88**, 702-705 (1963).

略語および記号一覧

1. 略号（基剤）

ICS	ステアリン酸イソセチル
IPM	ミリスチン酸イソプロピル
LP	流動パラフィン
WP	白色ワセリン

2. 略号（その他）

GC	ガスクロマトグラフィー
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
MW	分子量
<i>P</i>	オクタノール／水分配係数
O/W	水中油型エマルション
PBS	等張リン酸緩衝液
SC	角質層
TO	ポリソルベート 80 (NIKKOL TO-10MV)
YMP	ユカタンマイクロピグ

3. 記号

C	皮膚中濃度
C_v	基剤中の薬物濃度
C_0	皮膚表面における推定薬物濃度または 推定基剤濃度 (1st phase)
C_0'	角質層深部から推定した皮膚表面における 推定薬物濃度または推定基剤濃度 (2nd phase)
D	皮膚中の薬物の拡散係数
J	定常状態時の単位面積あたりの皮膚透過速度
K	基剤と皮膚間の分配係数
k	濃度勾配係数 (1st phase)
k'	濃度勾配 (2nd phase)
L	皮膚の厚さ
Q_{skin}	単位面積当たりの皮膚中の薬物量
r	相関係数
t	塗布後の時間
x	皮膚の深さ方向の距離
α	熱力学的活動度 (活動度)

外部発表

1. **Iino H.**, Fujii M., Fujino M., Koizumi N., Watanabe Y.. Penetration of ufenamate into intact, stripped, or delipidized skin using different vehicles. *Biol. Pharm. Bull.*, **38**, 1645–1648 (2015).
2. **Iino H.**, Fujii M., Fujino M., Kohara S., Hashizaki K., Kira H., Koizumi N., Watanabe Y., Utoguchi N.. Influence of Characteristics of Oily Vehicle on Skin Penetration of Ufenamate. *Biol. Pharm. Bull.*, **40**, 220–226 (2017).