薬物の皮膚透過促進とコントロールドリリース

城西大学 薬学部*

杉林堅次*

Skin-penetration enhancement and controlled release of drugs

Use of technologies on the skin-penetration enhancement is very important to apply many therapeutic drugs to transdermal drug delivery systems (TDDS). In addition, controlled release ability is also needed in the TDDS fabrication to have predetermined bioavailability and absorption rate of drugs. In this review, I introduce about 4 decades-history on TDDS and overall research on the chemical penetration-enhancers and physical means like iontophoresis and microneedles to increase skin permeation of drugs. Use of such penetration-enhancement methods leads to develop new TDDS having real controlled release ability of drugs. I also introduce new concept on the TDDS with internet of things (IoT). Such new TDDS IoT may be responsible for the center of the pharmaceutical formulations in the near future.

経皮吸収型製剤(TDDS)を多くの薬物に応用するためには、皮膚透過促進技術の利用が必須となる。一方で、最終的な医薬品とするためには、バイオアベイラビリティや吸収速度をあらかじめ予測した値にするため、コントロールドリリースの機能も必要となる。本稿では、TDDSのこの40年の開発研究から、経皮吸収促進剤の利用研究やイオントフォレシスやマイクロニードルなどの物理的吸収促進法の研究までについて紹介する。また、これら吸収促進法との併用により、ようやく本来の意味のコントロールドリリース能を持ち、高いバイオアベイラビリティを有するTDDSの開発が可能になりつつあること、さらにはモノのインターネット(IoT)の概念を導入したTDDSについて述べ、これら新規なTDDS(TDDS-IoT)が医薬品製剤の中心を担う可能性について論述する。

Kenji Sugibayashi*

Keywords: TDDS, controlled release, iontophoresis, microneedle, IoT

1. はじめに

皮膚に適用した薬物が皮膚バリアーを透過し全身循環系に吸収され薬効を発揮する、いわゆる経皮吸収型製剤(Transdermal Drug Delivery System, TDDS)(Transdermal Therapeutic System, TTSと示されることもある)が開発されてから、もう少して40年が経とうとしている。すなわち、1980年に前後してスコポラミンやニトログリセリンを含有したTDDSが開発・市販され、この時期には、今後

の医薬品の多くはTDDS化されるとも言われていた¹⁾。たしかに、フェンタニルTDDSをはじめ商業的に成功を収めた製品がその後に出てきたものの、製剤としてのTDDSは経口剤や注射剤を凌駕するほどの位置には到達しなかった。これはひとえに、皮膚の持つ強固な物質透過バリアーに起因していた。なお、参考のため、現在までにわが国で開発・市販されたTDDSを表1にまとめて示しておく。

2. 徐放性製剤としてのTDDS

一方で、TDDSからの薬物の経皮吸収速度の遅

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University

表1 市販の TDDS

分 類	薬剤名	適用など
硝酸薬	ニトログリセリン	狭心症、急性心不全
	硝酸イソソルビド	狭心症、心筋梗塞
女性ホルモン	エストラジオール、エストラジオール・酢酸ノルエチステロン	更年期障害にともなう諸症状
麻薬	フェンタニル、ブプレノルフィン	激しい疼痛や各種がん性疼痛の鎮痛
禁煙補助剤	ニコチン	禁煙が必要な患者が医師の指導下に行う禁煙の補助
β 刺激剤	ツロブテロール	気管支喘息、急性・慢性気管支炎、肺気腫
過活動膀胱治療剤	オキシブチニン塩酸塩	過活動膀胱における尿意切迫感 頻尿および切迫性尿失禁
認知症薬	リバスチグミン	アルツハイマー型認知症
ドパミン作動性パーキンソン病治療剤 レストレスレッグス症候群治療剤	ロチゴチン	パーキンソン病 中等度から高度の特発性レストレスレッグス症候群
β_1 遮断薬	ビソプロロール	本態性高血圧症(軽症～中等症)

*わが国で市販されているもののみを示す。

さゆえ、徐放性(sustained release)を有する製剤として TDDS が認知されることにもなった。ニトログリセリンの舌下錠が狭心症の発作に利用されるのに対し、その TDDS が狭心症の発作予防に使われるのがその端的な例である。これら初期に開発された TDDS には、膜透過制御機能かマトリックス拡散制御機能が付与されていると説明された。徐放性経口製剤の研究が盛んになる時期と一致していたため、このような説明により TDDS の研究が欧米だけでなくわが国でも極めて活発に行われることになった。図1にこの時期によく出された経口剤、注射剤、および TDDS 適用後の典型的な血中濃度-時間曲線を示す。TDDS の薬物吸収速度が極めて小さいことが理解できよう。

しかし、その後の研究からも明らかなように、TDDS からの薬物の徐放能の多くは皮膚バリアー能に依存している。言い換えれば、TDDS では製剤律速ではなく、むしろ皮膚透過律速になっている。皮膚バリアー能は腹部や背部といった皮膚部位によって異なるので、TDDS からの薬物吸収速度は適用する皮膚部位によっても異なる。また、アトピー性疾患を有している患者では、皮膚に疾患がない患者に比べ吸収速度が低い可能性がある。さらに最近、消化管疾患を持つ場合には、皮膚バリアー能

が低下するとの基礎研究が発表された²⁻⁵⁾。このような場合の経皮吸収性の変動については、医療従事者が十分な説明や指導をすることによって、防いだり対処したりすることができる。しかし、患者や介護者も気づかない小さな傷がある部分に TDDS を適用する場合も考えられ、このような場合では医療従事者も予想できない血中濃度や薬理効果のバラツキが懸念される。

TDDS からの薬物吸収速度のバラツキを防ぐには、TDDS からの薬物放出速度を制御することが有効である。すなわち、前述した膜透過制御機能やマトリックス拡散制御機能の増強である。例え

図1 経口剤、注射剤、および TDDS 適用後の典型的な血中濃度-時間曲線

ば、TDDS からの放出にかかわる移動抵抗を皮膚透過の予測移動抵抗と同じ(抵抗比を50:50に設定する)とすれば、皮膚バリアー能が予測値の1/2になったとしても、血中濃度は1.33(=100/75)倍にしかない。こうした製剤は制御放出(controlled release、コントロールドリリース)能を有しているといえる。しかし、この40年間のTDDS研究では放出速度を抑える研究はほとんど注目されなかった。これは、皮膚バリアー能が高いために、TDDSを適用しても得られる血中濃度が低く、TDDSにコントロールドリリース能を持たせれば、血中濃度はさらに低くなるためであった。

3. 経皮吸収促進剤の研究

上述した理由から、1980年代のTDDSの研究は経皮吸収促進剤に関するものが多かった。筆者が米国留学中から扱ったAzone(ラウロカプラム)は経皮吸収促進剤の代表例であろう。Azoneは極めて低濃度で多くの薬物の経皮吸収性を促進し、また、角層のバリアー能にのみ選択的に作用するなど大変有用であると思われたが^{6~13)}、皮膚刺激性を表すとして認可が得られなかった。後でわかったことで

あるが、FDAに提出されたAzone製剤にはワセリンが含有されていた。当時、筆者らの研究室では、Azoneの皮膚刺激性を抑えて吸収促進効果を得るためには、Azoneの角層下の生きた表皮への移行を制御することが重要であることがわかっていった。ワセリンはAzoneの生きた表皮への浸透性を高めるため、筆者らはAzoneを水に分散・乳化させるか、水性ゲルに封入することを推奨していた。大学に身を置いていたものの、製薬会社等の申請時の研究資料作成の重要性を感じたできごとであった。

経皮吸収促進剤の研究はAzoneが最初ではない。それまでもdimethyl sulfoxide(DMSO)などを用いた研究がなされていたが、前述したように1980年以降にはDMSOやAzone以外にも多くの経皮吸収促進剤の研究がなされた。表2に現在までに研究されたおもな経皮吸収促進剤をまとめて示す。本表に示したものの多くは、すでにTDDSや外用剤に含有され実用化されている。また、図2¹⁴⁾にこれら経皮吸収促進剤の作用メカニズムについてまとめて示す。種々分析機器を用いた研究から、多くの経皮吸収促進剤は皮膚透過の最大のバリアーである角層中の角層細胞間脂質ドメインに作用し、脂質のゆらぎなどを起こしていることが明らかになった。

表2 代表的な経皮吸収促進剤

グループ	経皮吸収促進剤
低級アルコール類	エタノール、イソプロパノール
多価アルコール類	プロピレングリコール、エチレングリコール、ブチレングリコール、グリセリン、Transcutol
脂肪酸	オレイン酸、カプリン酸
エステル類	酢酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、アジピン酸ジエチル、モノオレイン酸グリセリン
α -ヒドロキシ酸	乳酸、グリコール酸
界面活性剤	ショ糖オレイン酸エステル、ショ糖ラウリン酸エステル、ポリオシキエチレン-2-オレイルエーテル
テルペン類、テルペノイド	α -リモネン、 ι -メントール、ハッカ油
Azoneとその類似物質	Azone、ピロチオデカン
尿素とその誘導体	尿素、1,3-ジフェニル尿素、環状尿素誘導体
サリチル酸類	サリチル酸
チオグリコール酸類	チオグリコール酸カルシウム
ピロリドン類	N-メチル-2-ピロリドン、ピロリドンカルボン酸
スルホキシド類	ジメチルスルホキシド、デシルメチルスルホキシド
アルキル-N,N-2置換アミノ酢酸類	dodecyl-N,N-dimethyl aminoacetate、dodecyl-2-methyl-2-(N,N-dimethyl aminoacetate)
シクロデキストリン類	β -シクロデキストリン、ジメチル- β -シクロデキストリン

図2 種々経皮吸収促進剤の作用メカニズム

(Barry, Nature Biotech 22:165-7, 2004から引用)

4. 経皮吸収促進剤の封入と TDDS のコントロールリリース能の付与

TDDS にコントロールリリース能を持たせる研究が進んでいないのは、皮膚透過性が低いことが原因であることはすでに述べた。筆者らは、経皮吸収促進剤の研究を推し進めるなかで、経皮吸収促進剤を含有した TDDS にコントロールリリース能を持たせることの可能性とその有用性について気づき、これを「well-designed TDDS」と名づけた¹⁵⁾。すなわち、皮膚バリア能を経皮吸収促進剤で低下させ、その分を TDDS の薬物移動抵抗で補うという考え方である。図3にその原理について示す。吸収促進効果がまだ十分ではないので、sustained absorption 能ではなくコントロールリリース能を持つ TDDS の実用化は進んでいない。しかし、後にも述べる物理的経皮吸収促進法の進歩が、近い将来コントロールリリース能を持つ TDDS を可能とするだろう。

5. 物理的経皮吸収促進法の進歩

わが国における経皮吸収促進剤の研究は1990年代になっても盛んに行われていたが、筆者らは、Okabe らの iontophoresis (IP) の研究¹⁶⁾を見て、経皮吸収促進剤の研究に一区切りをつけ、外部エネルギーを用いたいわゆる物理的経皮吸収促進法の研究を手がけることにした。なお、IP は極めて古くから研究されていたもので、1世紀以上も前(1900年)に研究論文が見られる¹⁷⁾。表3におもな物理的経皮吸収促進法をまとめて示す。

物理的経皮吸収促進法のなかでは、やはり IP の研究論文数が多い。IP の原理を図4に示す。IP では皮膚上に陽極リザーバーと陰極リザーバーを離して貼付する。皮膚透過を促進するおもな駆動力は electrorepulsion (電気反発力)であるので、例えば図4に示したように、アニオン性薬物なら陰極に封入する。アニオン性薬物はイオンを運びづらい角層表面への移動を避けるので、結果として陰極リザ

図3 Well-designed TDDS の概念図

杉林堅次: Ther Res 8:185, 1988. から引用

表3 代表的な物理的経皮吸収促進法

方法	原理	外部エネルギー	備考
Iontophoresis (IP)	Electrorepulsion Electroosmosis	低電圧電気エネルギー	Sumatriptan や Lidocaine の IP 製品が実用化されている
Electroporation (EP)	脂質膜に微小孔を作成	長短時間の高電圧電気エネルギー	IP/EP 併用美容機器が実用化されている
Thermalporation	角層バリアーに微小孔を作成	熱エネルギー	
Sonophoresis (SP)	Cavitation、microstreaming など	超音波エネルギー	吸収促進効果にバラツキが見られる
Microneedle (MN) array patch	MN により角層バリアーに微小孔を作成		美容用 MN が実用化されている
Needleless syringe	jet stream によるキャリア効果	バネ、高圧ヘリウムガスに基づく Jet flow	自己注射用としてすでに一部実用化されている
Micro (nano) -pump		ポンプ

図4 Iontophoresis の原理

バー下の角層を経て全身循環系に吸収されることになる。なお、この時体内からおもに Na^+ が陰極リザーバーに回収される。また、同時に対極の陽極リザーバーから Na^+ などが吸収され、逆に体内から陽極リザーバーに Cl^- などが回収されることになる。なお、IP では付加的な駆動力 electroosmosis (電気浸透流) も生じる。Electroosmosis によって陽極から陰極に向けて水が流れる。したがって、イオン化していない薬物でも陽極に封入しておけば、この水の浸透流にしたがって経皮吸収が促進される。

ここで重要なことは、IP の2つの駆動力である electrorepulsion と electroosmosis は共に電流に比例するので、定電流IP負荷時の薬物の経皮吸収速度は予測値に近く、体内濃度のバラツキも小さいという特長があることである。したがって、IP は極めて精度の高いコントロールドリリースを可能とする TDDS に応用することが可能である。わが国での IP の実用例はないが、米国ではリドカインやスマトリプタンを含有した IP 機能付き TDDS が開発されている。

マイクロニードル(MN)アレーパッチは、ここ数年間でもっとも盛んに研究されている物理的経皮吸

収促進法である。マイクロファブリケーション技術の進歩によって、solid型のMNだけでなく、中空型のMNが、それも種々素材を利用して調製することができるようになった¹⁸⁾。物理的に角層バリアーに孔を開けることによって、薬物の経皮吸収性を促進する。孔の調製法を簡便かつ均一にするためアプリケータの研究も進んでいる¹⁹⁾。角層バリアーに孔を開けることから高分子量の物質も経皮吸収させることができる。現在、経皮ワクチンの実用化に向けて盛んに研究されている^{20~22)}。MN と通常の注射との違いはもちろんそのサイズにあるが、通常の注射では注射針で皮膚に孔を開けその後注射筒でポンプすることによって薬物を投与するのに対し、MN システムのほとんどはポンプ機能がついていない。Sustained release を可能としても制御放出(コントロールドリリース)できないことがMNの欠点であろう。

筆者らは、最近、IP と表3に示したIP以外の方法の併用によって、さらなる吸収促進や安定的な吸収促進を成し遂げている^{23~26)}。すなわち、MN、エレクトロポレーション、またはソノホレシスで前処理を施し、角層に微小な孔を形成させた後に、IP

処理を施そうというものである。MN などの前処理によって皮膚バリアー能が下がるため、IP に必要な電流を流すための電圧を著しく下げることが可能となる。前述したように IP による electroosmosis は注射のポンプ機能の代替になり、コントロールドリリリースを可能とするため、その応用範囲は極めて広いものと期待される。

6. 高いバイオアベイラビリティを示す TDDS の必要性

TDDS 適用後の薬物のバイオアベイラビリティ (BA) は、点眼剤ほどではないにしても経口剤などに比べて極めて低い。BA の低さは血中濃度のバラツキの原因にもなる。そのため、TDDS では切れ味のするどい薬物や血中濃度のコントロールが必要な薬物には応用できないでいた。MN 研究でワクチンが使われるのは、吸収量のバラツキをある程度無視できるためでもある。経口剤に代替できるような TDDS とするためには、量的 BA を 80 % 以上にするような TDDS 化が望まれる。そのためには、まずマトリックスまたはテープ型 TDDS では膏体厚を現状の 1/10 の 10 μm 程度にすることが望まれる。膏体厚を薄くするためには、薬物溶解能を大きくした膏体が必要になり、また、膏体の皮膚接着性の安定性の確保が望まれてこよう。さらに、経皮吸収促進剤を十分量含有できる TDDS 膏体にする必要もある。加えて、物理的吸収促進法を併用することも、高い BA を有する TDDS にするために大変有効であろう。物理的吸収促進法では機器を併用する。医薬品か医療機器かというレギュレーションの問題も考えていかなければならない。BA を 80 % 以上とし、かつコントロールドリリリース能を持つ TDDS にすることができれば、TDDS の利用価値は飛躍的に上がる。

7. モノのインターネットと TDDS の併用

ここ数年の新薬開発状況や医薬品売上の推移を見ていると、生物学的医薬品の比率が大きく上がっていることが理解できる。ただ、これら生物学的医薬

品のほとんどは注射剤となっている。注射剤は一部の自己注射剤を除けば医療従事者によって投与されるため、頻繁な医療機関への受診が必要となる。一方で、経口剤のよさは、軽微な疾患であれば働きながらも薬物治療できることにある。現在、欧米や日本などの先進国では過度な少子高齢社会となり、労働力の確保が喫緊の課題となっている。海外に目を向けても、少子化は経済力の増加とともに顕著になる傾向にある。したがって、生物学的医薬品であろうとも患者または介護者が適用できるような剤形にする必要がある。

最近、モノのインターネット (Internet of things, IoT) が医療にも利用され始めている。IoT は、さまざまな「物」がインターネットに接続され、情報交換することにより相互に制御する仕組みである。現在までに医療に用いられている IoT には、おもに以下の4種類がある。

- 1つは Nike の Fuel Band のようなヘルスマニタリング装置である。Bluetooth で PC や携帯電話と情報交換する。
- 2つ目は体表面に設置するインスリンポンプで、これもインターネットで情報交換する。
- 3つ目はペースメーカーなどの体内埋め込み型装置で、Bluetooth などで情報交換する。
- 4つ目は病院や家庭での心電図モニターなどで、WiFi などで情報交換される。

このように医療の IoT は近年に大きな進展が見られるものの、医薬品では IoT 化が進んでいない。そこで、本稿では、「医薬品 IoT」を提言したい。

前述したように IP を用いた TDDS を Bluetooth などで情報交換することによって、コントロールドリリリースを可能とする TDDS IoT が可能になる。図5に例としてマイクロポンプを利用した TDDS IoT を示す。TDDS IoT は患者の皮膚上か皮膚上と一部皮内にセットされ、1, 2カ月おきに病院(または薬局)で数種の薬物が TDDS IoT にロードされる。投与レジメンはあらかじめセットすることも可能であるが、PC を経由して Bluetooth で用量、投与時間などを変更できる。このマイクロポンプシステム

図5 将来の TDDS IoT

は、IP や他の物理的吸収促進法に置き換えることもできよう。もちろん、このような TDDS IoT を実現するためには、装置の生体適合性を評価する必要がある、あらかじめ設定したようにコントロールドリリリースさせることも必要である。コンピュータの誤作動や個人情報漏えいの問題などもある。人命にかかわる製品であるので、TDDS IoT の研究は領域を超えて広範になされなくてはならない。

8. おわりに

コントロールドリリリースは単なる徐放性

(sustained release)ではなく、あらかじめ設定された(予測された)sustained release でなくてはならない。言い換えれば、薬物の吸収速度のバラツキをなくし、設定された(予測された)体内濃度-時間挙動を得る必要がある。前世紀末から始まった低分子有機合成薬物を用いた新薬創生の困難さは、生物学的医薬品や DDS の利用で少し息をつけるようになったかもしれないが、これから始まる IoT の考え方を利用することにより、従来型低分子薬物だけでなく生物学的医薬品についても極めて高いコントロールドリリリース能を持つ TDDS にすることが可能である。医薬品開発の新しい幕開けが期待できる。

文献

- 1) 杉林堅次: 経皮吸収型製剤の現状と将来. ファルマシア 49: 367, 2013.
- 2) Yokoyama S, Hiramoto K, Koyama M, et al.: Chronic liver injury in mice promotes impairment of skin barrier function via tumor necrosis factor- α . Cutan Ocul Toxicol Sep 11: 1-10, 2015.
- 3) Yokoyama S, Hiramoto K, Koyama M, et al.: Impaired skin barrier function in mice with colon carcinoma induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate. Biol Pharm Bull 38: 947-50, 2015.
- 4) Yokoyama S, Hiramoto K, Koyama M, et al.: Impairment of skin barrier function via cholinergic signal transduction in a dextran sulfate sodium-induced colitis mouse model. Exp Dermatol 24: 779-84, 2015.
- 5) Yokoyama S, Hiramoto K, Koyama M, et al.: Skin disruption is associated with indomethacin-induced small intestinal injury in mice. Exp Dermatol 23: 659-63, 2014.
- 6) Spruance SL, McKeough M, Sugibayashi K, et al.: Effect of Azone and propylene glycol on penetration of trifluorothymidine through skin and efficacy of different topical formulations against cutaneous herpes simplex virus infections in guinea pigs. Antimicrobial Agents Chemother 26: 819-23, 1984.
- 7) Sugibayashi K, Hosoya K, Morimoto Y, et al.: Effect of the absorption enhancer, Azone, on the transport of 5-fluorouracil across hairless rat skin. J Pharm Pharmacol 37: 578-80, 1985.
- 8) Shannon WM, Westbrook L, Higuchi WI, Sugibayashi K, et al.: Influence of 1-dodecylazacycloheptan-2-one (Azone) on the topical therapy of cutaneous herpes simplex virus type 1 infection in the hairless mouse with 2',3'-di-O-acetyl 9- β -D-arabinofuranosyladenine and with 5'-O-valeryl 9- β -D-arabinofuranosyladenine. J Pharm Sci 74: 1157-61, 1985.

- 9) Morimoto Y, Sugibayashi K, Hosoya K, et al.: Penetration enhancing effect of Azone on the transport of 5-fluorouracil across the hairless rat skin. *Int J Pharmaceut* 32: 31-8, 1986.
- 10) Hosoya K, Shudo N, Sugibayashi K, et al.: Effect of Azone on the percutaneous absorption from gels in hairless rats. *Chem Pharm Bull* 35: 726-33, 1987.
- 11) Adachi Y, Hosoya K, Sugibayashi K, et al.: Duration and reversibility of the penetration enhancing effect of Azone. *Chem Pharm Bull* 36: 3702-5, 1988.
- 12) Sugibayashi K, Sakanoue C, Morimoto Y: Utility of topical formulations of morphine hydrochloride containing Azone and N-methyl-2-pyrrolidone. *Selective Cancer Ther* 5: 119-28, 1989.
- 13) Sugibayashi K, Nakayama S, Seki T, et al.: Mechanism of skin permeation-enhancing effect by Laurocapram. *J Pharm Sci* 81: 58-64, 1992.
- 14) Barry BW: Breaching the skin's barrier to drugs. *Nature Biotech* 22: 165-7, 2004.
- 15) 杉林堅次: *Ther Res* 8: 185-200, 1988.
- 16) Okabe K, Yamaguchi H, Kawai K: New iontophoretic transdermal administration of the beta-blocker metoprolol. *J Control Rel* 4: 79-85, 1986.
- 17) Leduc S: Introduction of medical substances into the depth of tissues by electric current. *Ann d'electrobiol* 3: 545-60, 1900.
- 18) Indermun S, Luttge R, Choonara YE, et al.: Current advances in the fabrication of microneedles for transdermal delivery. *J Control Release* 185: 130-8, 2014.
- 19) Singh TR, Dunne NJ, Cunningham E, et al.: Review of patents on microneedle applicators. *Recent Pat Drug Deliv Formul* 5: 11-23, 2011.
- 20) Hirobe S, Azukizawa H, Hanafusa T, et al.: Clinical study and stability assessment of a novel transcutaneous influenza vaccination using a dissolving microneedle patch. *Biomaterials* 57: 50-8, 2015.
- 21) Matsuo K, Okamoto H, Kawai Y, et al.: Vaccine efficacy of transcutaneous immunization with amyloid β using a dissolving microneedle array in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol* 266:1-11, 2015.
- 22) Marshall S, Sahm LJ, Moore AC: Microneedle technology for immunisation: Perception, acceptability and suitability for paediatric use. *Vaccine* 34: 723-34, 2016.
- 23) Sugibayashi K, Kagino M, Numajiri S, et al.: Synergistic effect of iontophoresis and pretreatment of jet injector on the in vitro skin permeation of dichlofenac and angiotensin II. *J Pharm Pharmacol* 52: 1179-86, 2000.
- 24) Tokumoto S, Mori K, Higo N, Sugibayashi K: Effect of electroporation on the iontophoretic permselectivity of hairless mouse skin. *J Control Release* 105: 296-304, 2005.
- 25) Wu XM, Todo H, Sugibayashi K: Enhancement of skin permeation of high molecular compounds by a combination of microneedle pretreatment and iontophoresis. *J Control Release* 118: 189-95, 2007.
- 26) Tokumoto S, Higo N, Todo H, Sugibayashi K: Effect of combination of low-frequency sonophoresis or electroporation with iontophoresis on the mannitol flux or electroosmosis through excised skin. *Biol Pharm Bull* in press, 2016.