イオントフォレシスによる経皮吸収に及ぼす 薬物の脂溶性および極性表面積の影響

田代芳一・佐味麻里・七辺省三・加藤泰己・早川栄治^{*1)}、伊藤邦雄^{*2)}

Effect of drug lipophilicity and polar surface area on iontophoretic transdermal absorption

Iontophoretic transdermal absorption of a series of β -blockers (atenolol, pindolol, metoprolol, acebutolol, oxprenolol, propranolol) was investigated by measuring the drug concentration in the skin. The objective of this study was to determine the effects of drug properties on the enhancement of drug concentration in the skin by iontophoretic delivery. Anodal iontophoresis of β -blocker was carried out by applying a constant direct current (0.5 mA/0.8 cm², 30 min) to the drug solution (1 mg/mL), placed on the abdominal skin of anesthetized rat, and the drug concentration in the skin was measured by HPLC analysis. The enhancement effect of iontophoresis, represented as a ratio of drug concentration in the skin after iontophoresis to that after passive diffusion (without current), was exponentially attenuated with an increase in drug lipophilicity (the logarithm of 1-octanol/water partition coefficient at pH 7.4). On the other hand, when plotted against polar surface area (PSA) of drug molecule, the iontophoretic enhancement was linearly increased with increasing the PSA. The latter result implied that the transdermal absorption of drug having a strong interaction with water molecule was raised by iontophoresis. As a result, this study demonstrated that the PSA might be a useful parameter for clarifying the mechanism of iontophoretic enhancement and for optimizing the molecular structure of drug candidate to the iontophoretic delivery.

Yoshikazu Tashiro · Mari Sami · Shozo Shichibe · Yasuki Kato ·
Eiji Hayakawa^{*1)}, Kunio Itoh^{*2)}

key words : iontophoresis, transdermal absorption, polar surface area, lipophilicity, β -blocker

近年、経皮吸収による薬物治療は局所への適用に限らず、全身治療への利用が注目されている¹⁾。全身治療を目的とする場合、① 薬物を皮膚に吸収させたあと、② 皮膚から皮膚血流に移行させて、さらに、③ 血液循環によって標的部位に到達させる必要がある。筆者らはこれまでに、皮膚血流における薬物濃度の測定法を開発し、薬物の脂溶性が高くなると皮膚血流への薬物移行性が低下することを明らかにした²⁻⁵⁾。

一方、局所治療を目的とする場合、皮膚血流に移行させずに、治療部位(皮膚、筋肉、関節など)の薬物濃度を増加させることが、治療効果を高めるうえ

で重要であると考えられる⁶⁻⁹⁾。そこで本研究では、経皮吸収促進法として、物理的吸収促進方法であるイオントフォレシスを用い、経皮吸収による皮膚内薬物濃度の増加に及ぼす薬物物性の影響について評価した。イオントフォレシスは、皮膚の離れた2点に正と負の電極を装着し、電流を通電することにより、薬物を皮膚内に移行させる方法である¹⁰⁾。

薬物物性は、脂溶性の指標として汎用されている1-octanol/水分配係数(Log P)を使用した。最近、薬物分子の極性表面積(polar surface area, PSA)と経口吸収性との相関が注目されている^{11,12)}。PSAは、薬物分子の酸素、窒素、および酸素・窒素に結合した水素原子の van der Waals 表面積の総和と定義され、薬物の水素結合能に関連する物性パラメーターである。しかし、PSA と経皮吸収性との相関については、これまでに明らかになっていない。

^{*1)} Drug Formulation Research Laboratories, Pharmaceutical Research Institute, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd., 1188 Shimotogari, Nagaizumi-cho, Sunto-gun, Shizuoka 411-8731, Japan 協和醗酵工業株式会社医薬総合研究所製剤研究所

^{*2)} Present address: Fuji Factory, Janssen-Kyowa Co., Ltd., 600-8 Minami-1-shiki, Nagaizumi-cho, Sunto-gun, Shizuoka 411-0932, Japan ヤンセン協和株式会社富士工場

図 1 Chemical structures of β -blockers

そこで、もう一つの物性パラメーターとして PSA を使用し、Log P と比較した。モデル薬物として、6 種類の β 遮断薬を使用した。使用した β 遮断薬の化学構造および物性値を図 1 および表 1 に示す¹²⁻¹⁴⁾。

材料と方法

(1) 材 料

β 遮断薬は、すべて SIGMA 社より購入した。その他の試薬は、特級品を使用した。ラット (sprague-dawley 系、8~9 週齢、オス) は、日本チャールスリバーより購入した。

(2) イオントフォレシスによる *in vivo* 経皮吸収実験

吸収実験はエーテル麻酔下で行った。電気バリカンを用いてラット腹部を剪毛し、薬液および緩衝液リザーバーを装着した。各リザーバーに、薬液および薬物を含まない緩衝液を入れ、白金電極を用いて、薬液側をプラス極、緩衝液側をマイナス極とし、直流電流 0.625 mA/cm^2 (一定) を通電した。イオントフォレシスによる長時間の通電は、皮膚の損傷を引き起こすことが知られている^{10,15)}。そこで、本研究では短時間の通電による治療を想定して、通電時間は 30 分に設定した。薬液は、 β 遮断薬を 50 mM リン酸

表 1 Physicochemical properties of β -blockers

β -blocker	M. W. Free base	pKa ^{a)}	Log P (37°C) ^{b)}		PSA ^{c)} [Å ²]
			Nonionic	Ionic (pH 7.4)	
Atenolol	266	9.55	2.04	-0.11	93.3
Pindolol	248	8.80	1.57	0.08	61.2
Metoprolol	267	9.70	2.49	0.20	57.2
Acebutolol	336	9.67	2.75	0.48	89.8
Oxprenolol	265	9.50	2.83	0.72	53.2
Propranolol	259	9.45	3.54	1.49	42.7

^{a)}ref. 13. ^{b)}ref. 14. ^{c)}ref. 12.

緩衝液 (pH 7.4) に溶解して調製した。薬物濃度は、1 mg/mL とした。

通電後、薬液を取り除き、リザーバー内を生理食塩水 (大塚製薬) を用いてすばやく洗浄した (1 mL $\times$ 5 回)。リザーバーをラット腹部から剥がし、吸収部位の皮膚 (0.8 cm²) を摘出した。摘出皮膚に生理食塩水/アセトニトリル混液 (1:1 v/v, 10 mL) を加えてホモジナイズし、遠心分離 (10000 rpm $\times$ 10 min, 4°C) により上清を回収した。上清中の薬物濃度の定量は、HPLC を用いて前報と同様に行った⁵⁾。

(3) 受動拡散による *in vivo* 経皮吸収実験

イオントフォレシスの対照実験として、電流の通電は行わずに吸収実験を実施した。薬液の組成および吸収部位は、イオントフォレシスと同じとした。

結 果

(1) 皮膚内薬物濃度と log P の関係

イオントフォレシスおよび受動拡散による経皮吸収を実施し、適用時間 30 分における皮膚内薬物濃度を比較した。皮膚内薬物濃度は、単位面積あたりの薬物量とした。

図 2 に、皮膚内薬物濃度を β 遮断薬の Log P (pH 7.4) に対してプロットした。受動拡散の場合、Log P が高くなると皮膚内濃度が増加した。またイオントフォレシスの場合も、ピンドロールを除いた β 遮断薬において、Log P が高くなると皮膚内濃度が増加した。ピンドロールは Log P が低いにもかかわらずイオントフォレシスにおける皮膚内濃度が高かった。

イオントフォレシスにおけるピンドロールの皮膚滞留性を調べるために、通電停止後に皮膚から薬液

図 2 Dependence of drug concentration in the skin after iontophoresis (●) and passive diffusion (○) on drug lipophilicity
 β -blocker: 1, atenolol: 2, pindolol: 3, metoprolol: 4, acebutolol: 5, oxprenolol: 6, propranolol
 Data represent the mean $\pm$ S.D. of 3 to 6 animals.

図 3 Residual percentage of pindolol concentration in the skin after terminating 30-min iontophoresis (n=3)

を取り除き、残留量を経時的に測定した。図 3 に示すように、皮膚内のピンドロールは速やかに消失した。

(2) 皮膚内薬物濃度と PSA の関係

図 4 に皮膚内濃度と β 遮断薬の極性表面積 (PSA) の関係を示す。PSA は Clark DE の計算値を使用した¹²⁾。受動拡散およびイオントフォレシスのいずれにおいても、PSA が増加すると β 遮断薬の皮膚内濃度が低下することがわかった。

(3) イオントフォレシスの吸収促進効果の比較

イオントフォレシスの吸収促進効果に及ぼす薬物物性の影響を調べた。吸収促進効果は、受動拡散に対するイオントフォレシスの皮膚内薬物濃度の増加として検討した。図 5 A および 5 B に、吸収促進効果を β 遮断薬の Log P および PSA に対してプロットした。

図 5 A において、Log P が増加するとイオントフォレシスの吸収促進効果が低下する傾向が認められた。アセプトロール以外の β 遮断薬について相関関係を調べたところ、次式によってあらわされることがわかった (E: enhancement)。

$$E = 11.482 e^{-1.426 \text{ Log } P} (r=0.931) \dots\dots (1)$$

$$= 11.482 P^{-1.426} \dots\dots\dots (2)$$

一方、PSA に対してプロットした場合 (図 5 B)。

PSA の増加に伴ってイオントフォレシスの吸収促進効果が増加することがわかった。回帰分析の結果、ピンドロール以外の β 遮断薬について次式であらわされる良好な直線関係が得られた。

$$E = 0.316 \text{ PSA} - 12.482 (r=0.984) \dots (3)$$

考 察

モデル薬物として使用した β 遮断薬は、極性部分の構造が同じであり、芳香環の構造が異なる化合物である。薬物物性の違いは芳香環に由来する。極性部分のアミノ基の pKa (表 1) から、吸収実験の薬液 pH (7.4) におけるイオン化率を Henderson-Hasselbalch の式¹⁶⁾にしたがって算出すると 96.2 から 99.5% の範囲であり、同程度とみなせることから、薬物の荷電の違いが経皮吸収性に及ぼす影響は無視できると考えられた。

イオントフォレシスによる皮膚内薬物濃度と Log P との関係より、ピンドロール以外の β 遮断薬は、Log P が高くなると皮膚内濃度が増加した (図 2)。これは、薬物の脂溶性の増加により皮膚表面の角質層への分配が増加したためである。一方、ピンドロールは脂溶性が低いにもかかわらず皮膚内濃度は高くなった。この理由は明らかになっていないが、電流の印加による角質層への分配の増加、角質層より深部の皮膚組織における薬物濃度の増加、または皮膚への結合が考えられる。薬物と皮膚 (主に角質層) との相互作用は、分配と結合によって説明されている。結合は分配にくらべて皮膚との相互作用が強い。

図4 Dependence of drug concentration in the skin after iontophoresis(●)and passive diffusion (○)on polar surface area

β -blocker : 1, atenolol : 2, pindolol : 3, metoprolol : 4, acebutolol : 5, oxprenolol : 6, propranolol
Data represent the mean + S. D. of 3 to 6 animals.

い状態をあらわし、結合によって薬物が角質層に滞留し、皮膚透過が遅延することが知られている(リザーバー効果)^{17,18)}。しかし、通電を停止すると皮膚内濃度は速やかに減少することから(図3)、ピンドロールの高い皮膚吸収性は結合のためではないことがわかった。

図4において、イオントフォレシスおよび受動拡散のいずれの場合も、PSAの増加に伴い皮膚内薬物濃度が低下することがわかった。PSAは、薬物の水素結合能に関連する物性パラメーターであることから、PSAが大きい薬物は水分子と水素結合を形成しやすいため、角質層への分配が低下したと考えられる。したがって、薬物の経皮吸収性をPSAによって説明できることが示唆された。

イオントフォレシスの吸収促進効果は、 β 遮断薬のLog Pが高くなると低下する傾向が認められた(図5A)。最近、Kontturiら^{19,20)}は薬物の皮膚透過経路をaqueous pathwayと角質層のlipid matrixを透過する経路に分け、イオントフォレシスはaqueous pathwayにおける薬物透過のみを促進すると仮定し、イオントフォレシスの透過促進効果と薬物の脂溶性の関係を理論的に解析した。その結果、親水性薬物では促進効果が高く、脂溶性薬物では低くなることが示された。本研究の結果は、データを詳

図5 Correlation of (A) drug lipophilicity and (B) polar surface area with iontophoretic enhancement effect

β -blocker : 1, atenolol : 2, pindolol : 3, metoprolol : 4, acebutolol : 5, oxprenolol : 6, propranolol
Iontophoretic enhancement effect was represented as a ratio of drug concentration in the skin after iontophoresis to that after passive diffusion.

細に見くらべると外れる薬物(アセプトロール)があるものの、Kontturiらの理論を支持するものであった。

これに対して、PSAを指標とした場合(図5B)、PSAが大きくなるとイオントフォレシスの吸収促進効果が増加し、ピンドロール以外の β 遮断薬について直線関係が得られた。PSAが大きい薬物は、水分子との相互作用が増加し、イオントフォレシスによるelectroosmosis(水の流れの増加)の効果を受けやすくなったためと推察される。また、ピンドロールのデータを含めて回帰分析を行った場合でも、次式のような比較的良好な相関が得られた。

$$E = 0.300 \text{ PSA} - 10.145 (r = 0.890) \dots (4)$$

また、前述したアセプトロールの結果は、PSAによって説明できることがわかった。すなわち、アセプトロールはPSAが大きいいため、イオントフォレ

シスによる吸収促進効果が高くなったと考えられる。これらのことから、PSA はイオントフォレシスの吸収促進効果を説明する薬物物性として有用であると考えられた。

イオントフォレシスの吸収促進効果が高い(受動拡散との差が大きい)ということは、経皮吸収の電氣的制御の可能性が高いことを意味している。そのためには、図 5 A および 5 B の結果から、Log P が低いまたは PSA が大きいことが薬物物性の必要条件であると考えられる。近年、薬物物性の予測が可能になってきていることから、本研究で示したように、薬物物性と吸収促進効果の関係を明らかにすることにより、イオントフォレシスに適した薬物の創製が可能になると期待される。

結 論

本研究の結果から、イオントフォレシスによる皮膚吸収性および吸収促進効果を予測するために、薬物の Log P だけではなく PSA も有用であることが示唆された。したがって、さらに多くの薬物について PSA と経皮吸収性の関係を明らかにする必要があると考えられた。

文 献

- 1) Cleary GW : Transdermal delivery systems : A medical rationale. Topical drug bioavailability, bioequivalence, and penetration. (Shah VP, Maibach HI) Plenum Press, New York, London, 1993, p 17-68.
- 2) Tashiro Y, Kato Y, Hayakawa E, Itoh K : Iontophoretic transdermal delivery of ketoprofen : Novel method for the evaluation of plasma drug concentration in cutaneous vein. *Biol Pharm Bull* 23 : 632-636, 2000.
- 3) Tashiro Y, Kato Y, Hayakawa E, Itoh K : Iontophoretic transdermal delivery of ketoprofen : Effect of iontophoresis on drug transfer from skin to cutaneous blood. *Biol Pharm Bull* 23 : 1486-1490, 2000.
- 4) Tashiro Y, Shichibe S, Kato Y, Hayakawa E, Itoh K : Effect of lipophilicity on *in vivo* iontophoretic delivery. I. NSAIDs. *Biol Pharm Bull* 24 : 278-283, 2001.
- 5) Tashiro Y, Sami M, Shichibe S, Kato Y, Hayakawa E, Itoh K : Effect of lipophilicity on *in vivo* iontophoretic delivery. II. β -blockers. *Biol Pharm Bull* 24 : 671-677, 2001.
- 6) McNeill SC, Potts RO, Francoeur ML : Local enhanced topical delivery (LETD) of drugs : does it truly exist? *Pharm Res* 9 : 1422-1427, 1992.
- 7) Singh P, Roberts MS : Dermal and underlying tissue pharmacokinetics of lidocaine after topical application. *J Pharm Sci* 83 : 774-782, 1994.
- 8) Singh P, Roberts MS : Local deep tissue penetration of compounds after dermal application : structure-tissue penetration relationships. *J Pharmacol Exper Ther* 279 : 908-917, 1996.
- 9) Yagi S, Nakayama K, Kurosaki Y, Higaki K, Kimura T : Factors determining drug residence in skin during transdermal absorption : studies on β -blocking agents. *Biol Pharm Bull* 21 : 1195-1201, 1998.
- 10) Banga AK, Bose S, Ghosh TK : Iontophoresis and electroporation : comparisons and contrast. *Int J Pharm* 179 : 1-19, 1999.
- 11) Palm K, Luthman K, Ungell A, Strandlund G, Artursson P : Correlation of drug absorption with molecular surface properties. *J Pharm Sci* 85 : 32-39, 1996.
- 12) Clark DE : Rapid calculation of polar molecular surface area and its application to the prediction of transport phenomena. 1. Prediction of intestinal absorption. *J Pharm Sci* 88 : 807-814, 1999.
- 13) Betageri GV, Rogers JA : Thermodynamics of partitioning of β -blockers in the *n*-octanol-buffer and liposome systems. *Int J Pharm* 36 : 165-173, 1987.
- 14) Betageri GV, Rogers JA : The liposome as a distribution model in QSAR studies. *Int J Pharm* 46 : 95-102, 1988.
- 15) Monteiro-Riviere NA : Altered epidermal morphology secondary to lidocaine iontophoresis : *In vivo* and *in vitro* studies in porcine skin. *Fundam Appl Toxicol* 15 : 174-185, 1990.
- 16) Martin AN : Buffered and isotonic solutions. *Physical Pharmacy* 4th edition. Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1993, p 169-189.
- 17) Tojo K, Chiang CC, Doshi U, Chien YW : Stratum corneum capacity affecting dynamics of transdermal drug delivery. *Drug Dev Ind Pharm* 14 : 561-572, 1988.
- 18) Wearley LL, Chien YW : Iontophoretic transdermal permeation of verapamil (III) : Effect of binding and concentration gradient on reversibility of skin permeation rate. *Int J Pharm* 59 : 87-94, 1990.
- 19) Kontturi K, Murtomäki L : Mechanistic model for transdermal transport including iontophoresis. *J Control Release* 41 : 177-185, 1996.
- 20) Hirvonen J, Murtomäki L, Kontturi K : Experimental verification of the mechanistic model for transdermal transport including iontophoresis. *J Control Release* 56 : 169-174, 1998.