機構論に基づく吸収促進剤適用の最適化の試み

山下富義・小山靖夫・坂東博人・高倉喜信・橋田 充*

Optimization of penetration enhancement based on action mechanism and site of enhancers

In this investigation, we classified the site and mechanism of action of three penetration enhancers based on a two-layer diffusion model with the polar and nonpolar routes in the stratum corneum. 1-geranylazacycloheptan-2-one (GACH) increases the drug partitioning between the nonpolar route and aqueous vehicle, while d-limonene increases drug diffusivity in the nonpolar route. Oleic acid increases both partitioning and diffusivity of drugs in the nonpolar route. The simulation based on the analytical results revealed that the enhancement ratio has a bell-shaped relationship against the lipophilicities of drugs when an enhancer increases the diffusivity or partitioning of drugs in the nonpolar route. It was also shown that the amount of a drug in the skin increases with an increase in drug partitioning, while it does not change so much with an increase in drug diffusivity. Further, a simulation revealed the effect of an enhancer on skin penetration of drugs is dependent on polarity of vehicles in the finite dose system.

Fumiyoshi Yamashita・Yasuo Koyama・
Hiroto Bando・Yoshinobu Takakura・
Mitsuru Hashida*

key words : percutaneous absorption,
penetration enhancer, diffusion model,
Laplace transforms, FILT

経皮吸収製剤の開発においては、皮膚に本来備わる透過障壁としての機能を克服あるいはコントロールすることが必要であり、その手段として経皮吸収促進剤の利用が注目を集めている。一般に吸収促進剤の効果は、促進剤の種類や適用量のみならず対象とする薬物によって異なることが知られており^{1,2)}、吸収促進剤を利用した経皮投与製剤の合理的設計においては吸収促進効果に対する総合的な理解が必要である。

薬物の経皮吸収現象は基本的に受動拡散過程であるため、薬物皮膚透過機構の解析には Fick の拡散式を用いたアプローチがきわめて有力な手段となる。こうした考えに基づき、筆者らはこれまで皮膚拡散モデルに基づき薬物の経皮吸収動態あるいは吸収促進剤の作用機構の解析を系統的に行ってきた²⁻⁶⁾。

一般に、皮膚には複数の薬物透過経路が存在すると考えられ、どの経路を透過するかは対象薬物の物性によって異なると考えられるので、薬物透過および吸収促進現象を総合的に理解するためには全体像を包括的に説明しうる薬物透過経路を組み込んだモデルを確立する必要がある。すでに、筆者らは角質層に極性および非極性経路を考慮した皮膚二枚膜モデルを構築し、このモデルにおいて種々の薬物に対する吸収促進現象を合理的に説明できることを明らかにしている⁶⁾。一例として、Azone⁷⁾の構造類似体であり高い促進効果と低い刺激性を有する 1-geranylazacycloheptan-2-one (GACH) に対してその促進機構を解析した結果、GACH は薬物の角質層 nonpolar route への分配性を増大させることにより薬物皮膚透過を促進することを明らかにした⁶⁾。

本研究では、異なったタイプの化学構造を有する吸収促進剤として、単環モノテルペンである d-リモネンおよび不飽和脂肪酸のオレイン酸を選び、物理化学的性質の異なる薬物 3 種に対してモルモット皮膚を用いた透過実験を行い、対象薬物の透過経路と促進剤の作用点および作用様式の違いとして各種促進剤の作用機構を整理した。さらにこれらの解析結果に基づいて、対象薬物の物理化学的特性を考慮した吸収促進剤の薬物の組み合わせの処方最適化において必要な基礎情報を整理した。

* Department of Basic Pharmaceutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University 京都大学薬学部薬剤学教室

実験方法

(1) 吸収促進剤とモデル薬物

d-リモネンは和光純薬(株)から購入した。オレイン酸(NISSAN EXTRA OLEIC 99)は日本油脂(株)から供与された。マンニトール(MT), 6-メルカプトプリン(6-MP)はナカライテスク(株)から、ブチルパラベン(BP)は東京化成(株)から購入した。 ^{14}C -MT および ^{14}C -BP は第一化学薬品(株)から、 ^{14}C -6-MP は Commissariat A L' Energie Atomique 社から購入した。それぞれの薬物に関して 37°C におけるオクタノール/水間分配係数を測定したところ、0.00155, 0.654, 371であった。

(2) *in vitro* 皮膚透過実験

in vitro 皮膚透過実験はすでに報告した方法⁶⁾に従って行った。まずモルモットの背部より摘出した皮膚をフロースルー型拡散セル⁸⁾に装着し、角質層側を種々の濃度に調製した各種吸収促進剤のエタノール溶液で前処理した。24 hr 後皮膚表面に残存するエタノールをドライナーで留去したのち、18 kBq の放射標識体を含む 1 mM に調製した各薬物の水溶液を 1 ml 投与した。レセプター側は 6 ml/h の速度で常に生理食塩水を灌流し、流出する液を経時的にサンプリングした。実験終了時には、ドナー側および皮膚中に残存する薬物量も併せて測定した。

角質層表面をセロハンテープで 15 回ストリッピングした皮膚(stripped skin)に対し、24 時間生理食塩水溶液で前処理後、同様の透過実験を行った。

薬物の定量は液体シンチレーション法により行った。ただし、皮膚サンプルに関しては Soluene-350 で溶解後測定を行った。

(3) モデル解析とシミュレーション

極性経路と非極性経路を組み込んだ角質層と、生きた表皮層と真皮層の 2 層を考えた 2 枚膜拡散モデルを構築して、Fick の拡散式を解き、ラプラス次元での累積透過量、基剤中残存量、皮膚中薬物量の式を誘導した⁶⁾。すでに報告した方法⁶⁾に従って、これらの式を、高速ラプラス逆変換アルゴリズム(FILT)を利用した非線形最小二乗法プログラム MULTI(FILT)^{9,10)}を用いて累積皮膚透過曲線に当てはめ、各層における分配および拡散

に関するパラメータを算出した。

薬物の皮膚透過、および皮膚中量のシミュレーションには、FILT アルゴリズムを利用したシミュレーション用プログラム FILTS⁹⁾を用いた。このシミュレーションでは、薬物の皮膚への分配係数を線形自由エネルギー相関の考えに基づいて、オクタノール/水間分配係数と関係付け⁶⁾、薬物皮膚透過およびその吸収促進現象について薬物の親油性と関連させて議論した。ただし、角質層極性経路および角質層以下の層に関しては水で満たされた経路であると考えられるため¹¹⁾、水を基剤とした場合はすべての薬物に分配係数を 1 と仮定した。一方、各経路での拡散パラメータは薬物と親油性と無関係であると考えられるため、すべての薬物で同じと仮定した。

薬物の皮膚透過、あるいは吸収促進に及ぼす基剤の影響について検討したシミュレーションでは、油性基剤にはオクタノールよりも極性の低い溶剤を想定し、オレイルアルコールに対するパラメータを用いた¹²⁾。ここでは、基剤の極性により基剤と各透過経路との間の分配性のみが変化すると仮定し、薬物の油性基剤からの分配パラメータは、水を基剤とした場合の分配パラメータをオレイルアルコール/水間分配係数とオクタノール/水間分配係数との関係式¹²⁾で除すことにより計算した。

結果と考察

(1) *in vitro* 皮膚透過実験における d-リモネンおよびオレイン酸の吸収促進効果

d-リモネンあるいはオレイン酸で前処理した皮膚における 6-MP の透過曲線を図 1 に示した。d-リモネンに関しては 6-MP の皮膚透過に対する促進効果には閾値がみられ、高投与量条件においてのみ促進効果が認められた。実験終了時の透過量は stripped skin での透過量にくらべて約 40%であった。

一方、オレイン酸では前処理量依存的に効果が増大し、62.7 μmol オレイン酸で前処理を行った場合は、stripped skin での透過のおよそ 70%近い薬物量がレセプター側に回収された。親油性の高い BP の皮膚透過に対しては、d-リモネンが投与量依存的な透過促進を示したのに対し、オレイン酸はほとんど促進効果を示さなかった(図 2)。

図1 異なる量のd-リモネン(a)あるいはオレイン酸(b)で前処理したモルモット皮膚における6-メルカプトブリンの透過

図2 異なる量のd-リモネン(a)あるいはオレイン酸(b)で前処理したモルモット皮膚におけるブチルパラベン透過

(2) 極性および非極性経路を考慮した2枚膜皮膚拡散モデルに基づく解析

吸収促進剤の作用機構としては、物理化学的な見地より薬物の皮膚への分配の増大および皮膚中での拡散の増大が考えられる。そこで吸収促進剤適用時における薬物透過パターンを皮膚拡散モデルに基づいて解析し、各経路における薬物の皮膚透過パラメータのレベルでの吸収促進剤の作用機構解明を試みた(表1)。この表には以前に解析を

行ったGACHの結果⁹⁾も併せて示した。極性経路における分配および拡散パラメータは、親水性が高く極性経路をのみ透過すると考えられるMTの皮膚透過パターンの解析より評価したが、いずれの促進剤においてもこれらのパラメータをそれほど大きくは変化させなかった。これに対し、d-リモネンおよびオレイン酸は、主として薬物の非極性経路での拡散パラメータを増大させることが明らかとなった。

表 1 各吸収促進剤適用時における薬物皮膚透過パラメータ

吸収促進剤 (μmol)	マンニトール		6-メルカプトプリン		ブチルパラベン	
	D_p/L_s^2 (hr^{-1})	$K_p V_p$ ($\times 10^6 \text{ cm}^3$)	D_{np}/L_s^2 (hr^{-1})	$K_{np} V_{np}$ ($\times 10^4 \text{ cm}^3$)	D_{np}/L_s^2 (hr^{-1})	$K_{np} V_{np}$ ($\times 10 \text{ cm}^3$)
コントロール	39.9	7.27	3.46	4.79	0.194	2.02
d-リモネン						
96	39.0	3.65	6.41	4.79	0.169	1.44
144	42.0	33.3	3.59	2.76	0.256	1.09
192	40.4	25.0	41.0	4.46	0.257	0.859
288	41.7	31.5	45.9	4.74	0.806	0.587
384	46.6	37.6	53.6	5.45		
オレイン酸						
7.8	35.8	3.86	3.50	9.99	0.179	2.17
15.7	37.9	3.50	4.13	13.2	0.243	2.25
31.4	42.5	8.41	10.9	15.9	0.245	1.96
62.7	46.0	3.78	25.1	27.2	1.47	2.29
GACH						
3.2	49.5	6.99	3.46	7.59	0.0683	13.3
6.4	42.1	19.6	3.42	13.9	0.0661	26.8
12.7	41.1	13.0	2.85	42.0	0.0340	51.3
25.5	49.6	22.3	3.53	366	0.0913	79.1
51.0	48.5	90.4	4.19	431		

角質層以下の層における皮膚透過パラメータは、マンニトールに対しては $D_d/L_d^2=0.0812(\text{hr}^{-1})$, $K_d V_d=0.693(\text{cm}^3)$, 6-メルカプトプリンに対しては $D_d/L_d^2=0.0596(\text{hr}^{-1})$, $K_d V_d=1.04(\text{cm}^3)$, ブチルパラベンに対しては $D_d/L_d^2=0.0371(\text{hr}^{-1})$, $K_d V_d=1.53(\text{cm}^3)$ であった。

図 3 吸収促進剤適用による角質層非極性経路における皮膚透過パラメータの変化

表 2 各種吸収促進剤の作用機構のまとめ

吸収促進剤 (必要適用量)	d-リモネン (200 μmol)	オレイン酸 (30 μmol)	GACH (15 μmol)
作用部位 と機構			
非極性経路における 薬物拡散性の増大	$\uparrow\uparrow$	$\uparrow$	変化なし
非極性経路に対する 薬物分配性の増大	変化なし	$\uparrow$	$\uparrow\uparrow$

表 3 シミュレーションに用いたパラメータ

V_v	1 ml
D_p/L_s^2	40 hr^{-1}
D_{np}/L_s^2	1.5 hr^{-1}
D_d/L_d^2	0.06 hr^{-1}
$K_p V_p$	0.000015 cm^3
$K_d V_d$	0.7 cm^3
$\log K_{np} V_{np} = \alpha \cdot \log PC_{ocu/w} + \beta (\alpha = 1.3, \beta = -3.0)$	
$\log PC_{o/w} = 1.00 \cdot \log PC_{ocu/w} - 0.575$	

$V_v, D/L^2, KV$ はそれぞれ基剤の体積, 拡散パラメータおよび分配パラメータをあらわす。

$PC_{o/w}$ および $PC_{ocu/w}$ はそれぞれ油性基剤と水, オクタノールと水との間の分配係数をあらわす。

下付け文字 p, np, d は極性経路, 非極性経路および角質層以下の層をあらわす。

図 4 水性基剤を用いた系で非極性経路での薬物拡散を増大する吸収促進剤を作用させた場合の対象薬物の親油性と吸収促進比 (a) および皮膚中薬物量 (b) との関係
促進比は 24 時間後の累積透過量のコントロール値に対する比をあらわし, 皮膚中薬物量は 24 時間後の値をあらわす。

図 3 には, 吸収促進剤の種類および適用量と非極性経路への作用との関係を整理した。d-リモネンは高投与量域で拡散パラメータを増加させるのに対し, オレイン酸は比較的低投与量で投与量依存的に拡散パラメータを増加させることが示された。

これに対し, GACH は非常に低投与量で用量依存的に分配パラメータを大きく増大させた。また, オレイン酸においても若干分配パラメータを増加させることが示された。以上, 皮膚拡散モデルに基づく解析により, 3 種類の経皮吸収促進剤の作

用機構の差違をパラメータレベルで明らかにすることができた (表 2)。

(3) 薬物透過量と皮膚中残存薬物量のシミュレーション

物理化学を基本とする本モデルに基づく解析法は, 薬物と促進剤の最適組み合わせ処方や, 未知条件下における吸収促進効果の予測に非常に有用である。そこで, 薬物の経皮吸収に及ぼす吸収促進剤の効果を, 薬物や基剤の物性と関連づけてシミュレーションにより検討した。吸収促進剤はその物性によって異なった部位に分布し促進作用を

図5 水性基剤を用いた系で非極性経路に対する薬物分配を増大させる吸収促進剤を作用させた場合の対象薬物の親油性と吸収促進比(a)および皮膚中薬物量(b)との関係
促進比は24時間後の累積透過量のコントロール値に対する比をあらわし、皮膚中薬物量は24時間後の値をあらわす。

示すと考えられるが、一般に用いられる吸収促進剤の多くは非常に親油性が高いため、本シミュレーションでは、促進剤は角質層非極性経路にのみ作用すると仮定した。

図4は、薬物を水溶液の形で投与した場合(finite 条件)を想定し、吸収促進剤が非極性経路における薬物の拡散パラメータを増加させると仮定した場合のシミュレーション結果であり、aは24時間後の累積透過量のコントロール値に対する促進比を、bは24時間後の皮膚中薬物残存量を示している。促進比と対象薬物の親油性との間にはベル型の関係が得られ、分配係数の対数値が0付近を中心として-1から1程度の親油性を有する薬物に対してもっとも大きな促進効果が得られることが示された(図4a)。またこのタイプの吸収促進剤は、透過促進が認められた分配係数-1から1付近の薬物に対し皮膚中薬物量を若干増加させるが、基本的には皮膚中薬物量をそれほど大きく変化させないことがわかる(図4b)。

図5は、吸収促進剤が角質層非極性経路に作用し、その溶媒としての性質、極性を変化させることにより薬物の分配を増加させる場合のシミュレーションを行った結果を示している。図中の α および β は、線形自由エネルギー相関の考えに基づいたパラメータであり、薬物の水性基剤系での

非極性経路に対する分配パラメータとオクタノール/水間分配係数を両対数プロットした場合の傾きおよび切片をあらわす。 α が小さく、 β が大きくなるほど皮膚の極性が高くなり¹²⁾、薬物の基剤からの分配が増大すると考えることができる。角質層の非極性経路の性質が変化し、その部位への薬物の分配が増大した場合も促進比と薬物の親油性の間にはベル型の関係が認められるが、拡散を増大させ促進剤とは異なり、皮膚中薬物量も同時に顕著に増大することが示されている。また、角質層からそれ以下の層への移行性が低い親油性薬物において、促進比が1より小さくなることも示されている。これは、皮膚の極性を変化させ、薬物の分配を増加させる促進剤が、親油性の高い薬物の皮膚透過を逆に抑制することを示すものであるが、この事実を局所での滞留性を高め全身への移行を抑制すると捉えることも可能であり、この場合には局所作用を期待した薬物治療にも応用可能と考えられる。

さらに、吸収促進剤の効果を総合的に議論するためには、対象薬物の物性のみならず基剤の物性とも関連づけて検討する必要がある。薬物を懸濁液として投与した場合(infinite 条件)には理論的に薬物透過速度はすべての基剤で等しくなるので¹³⁾、促進剤の適用による皮膚の状態変化が、基剤

図6 水性基剤(a)あるいは油性基剤(b)を用い非極経路での薬物拡散を増大する吸収促進剤を作用させた場合の促進効果と薬物の親油性との関係

吸収促進剤が薬物の拡散係数を30倍増大すると仮定し、促進比は皮膚透過に要する平均通過時間のコントロール値に対する逆比として定義した。図中の V_v は基剤の体積をあらわす。

に関係なく一様に起こる場合には、理論上吸収促進の程度は基剤の種類によらないことになる。そこで、基剤の影響があらわれる系として、水性基剤あるいは油性基剤を用い薬物を溶液として投与した場合(finite 条件)における吸収促進剤の効果のシミュレーションを行った(図6)。

本シミュレーションでは、吸収促進剤は角質層非極性経路における薬物の拡散性を増大させると仮定した。図より明らかなように、finite 条件下では、infinite 条件での吸収促進現象とは異なり、吸収促進剤が皮膚状態を基剤によらず一様に変化させた場合においても、みかけの透過促進効果は基剤により異なることが示された。この結果は、製剤設計を行う上で投与条件(infinite, finite 系)や基剤の種類が吸収促進効果に与える影響についても配慮が必要なことを示唆している。また、薬物の親油性と吸収促進効果との関係に関しては基剤の種類によらずよく似たベル型の関係が認められることから、ある基剤条件において促進効果が得られない薬物に対しては、基剤を変更しても促進剤による促進効果に関しては大きな増強は期待できないことが示されている。したがって、こうした場合には作用機構あるいは部位の異なる吸収促進剤を選択するか、または薬物を化学修飾し適度な物性を付与すること(プロドラッグ修飾)がより

有効なアプローチとなりうることが示唆された。

以上、吸収促進効果に及ぼす基剤の影響について基本的な検討を行ったが、実際には基剤の種類によって吸収促進剤の皮膚移行性も異なることが予想され、これを考慮して吸収促進現象を予測することが必要である。また、エタノールやプロピレングリコールのような極性溶媒との組み合わせでは吸収促進剤適用により基剤自身の皮膚浸透が促進され薬物吸収促進に対して相乗効果を示すことも知られており^{1,14-17)}、吸収促進剤を組み込んだ製剤からの薬物吸収を予測し合理的な製剤設計を行うためには、さらに多くの吸収を支配する因子について考慮することが必要である。

以上のように、本研究で用いた皮膚拡散モデルに基づく解析では、薬物や基剤の物性、さらに吸収促進剤の作用部位および機構に基づいて、種々の投与条件下での薬物の皮膚透過を理論的に予測することが可能であり、経皮吸収製剤の開発において有益な知見を与えるものと思われる。

文 献

- 1) Barry, B. W., Bennett, S. L.: J. Pharm. Pharmacol. 39: 535-546, 1987.
- 2) Okamoto, H., Hashida, M., Sezaki, H.: J. Pharm. Sci. 80: 39-45, 1991.
- 3) Okamoto, H., Hashida, M., Sezaki, H.: J. Pharm.

- Sci. 77 : 418-424, 1988.
- 4) Hashida, M., Okamoto, H., Sezaki, H. : J. Pharmacobio-Dyn. 11 : 636-644, 1988.
 - 5) Okamoto, H., Yamashita, F., Saito, K., Hashida, M. : Pharm. Res. 6 : 931-937, 1989.
 - 6) Yamashita, F., Yoshioka, T., Koyama, Y., Okamoto, H., Sezaki, H., Hashida, M. : Biol. Pharm. Bull. 1993, (in press).
 - 7) Stoughton, R. B., McClure, W. O. : Drug Dev. Ind. Pharm. 9 : 725-744, 1983.
 - 8) Okamoto, H., Komatsu, H., Hashida, M., Sezaki, H. : Int. J. Pharm. 30 : 35-45, 1986.
 - 9) 山岡 清, 矢野義孝 : 生物薬剤学—最近の進歩. (伊賀立二, 奥村勝彦・編), 薬業時報社, 1989, p 156-185.
 - 10) Yano, Y., Yamaoka, K., Tanaka, H. : Chem. Pharm. Bull. 37 : 1035-1038, 1989.
 - 11) Ackermann, C. R., Flynn, G. L. Smith, W. M. : Int. J. Pharm. 36 : 67-71, 1987.
 - 12) Leo, A., Hansch, C. : J. Org. Chem. 36 : 1539-1544, 1971.
 - 13) Higuchi, T. : J. Soc. Cosmet. Chem. 11 : 85-97, 1960.
 - 14) Okamoto, H., Muta, K., Hashida, M., Sezaki, H. : Pharm. Res. 7 : 64-68, 1990.
 - 15) Barry, B. W. : J. Control. Rel. 6 : 85-97, 1987.
 - 16) Hori, M., Maibach, H. I., Guy, R. H. : J. Pharm. Sci. 81 : 330-333, 1992.
 - 17) Kikuchi, K., Takayama, K., Nagai, T. : Chem. Pharm. Bull. 40 : 3108-3109, 1992.