β -シクロデキストリン誘導体による光照射時のクロロプロマジン接触性皮膚炎の軽減とその機構解明

石田 和久, 星野 輝彦, 入江 徹美, 上釜 兼人

熊本大学薬学部・製剤学研究室 〒862 熊本市大江本町5-1

Key words : chlorpromazine, cyclodextrin, phototoxic contact dermatitis, inclusion complex, guinea pig

Alleviation of Chlorpromazine-Photosensitized Contact Dermatitis by β -Cyclodextrin Derivatives and Their Possible Mechanisms

Kazuhiisa ISHIDA, Teruhiko HOSHINO, Tetsumi IRIE and Kaneto UEKAMA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University,

5-1 Oe-honmachi, Kumamoto 862, Japan

Summary

β -Cyclodextrin (β -CyD), heptakis (2,6-di-O-methyl)- β -CyD (DM- β -CyD) and 2-hydroxypropyl- β -CyD (HP- β -CyD, substitution degree 4.3) were found to alleviate the phototoxic contact dermatitis induced by chlorpromazine hydrochloride (CPZ), a typical antipsychotic agent, in dorsal skin of guinea pigs. The inhibitory effect of CyDs was in the following order DM- β -CyD > β -CyD > HP- β -CyD, depending on the magnitude of the stability constants of CPZ-CyD complexes. The percutaneous absorption of CPZ was inhibited particularly by DM- β -CyD. The photoreaction pathway of CPZ in the skin was changed by CyDs, i.e. less toxic promazine was predominantly produced in the presence of CyDs (DM- β -CyD $\geq$ β -CyD > HP- β -CyD).

The results indicate that the alleviative effects of CyDs may be attributable to the reduction of percutaneous absorption of CPZ and the alternation in phototoxic reaction pathway of CPZ through inclusion complexation.

緒 言

代表的なフェノチアジン系薬物である塩酸クロルプロマジン (CPZ) は、精神病や神経症の病状改善に優れた効果を発揮することから、現在精神科領域で広く使用されている。しかしながら、CPZ は服薬患者だけでなく薬物に直接接する機会のある製造業者、医療従事者、研究者などにも比較的高い頻度で光感作性皮膚障害を惹き起こすことが知られており、臨床使用上および労働衛生上その安全性が問題となる¹⁾。このようなタイプの皮膚反応には、現在有効な予防策や本質的な治療法がなく、製剤加工上の工夫による毒性の軽減に期待が寄せられている。

環状オリゴ糖であるシクロデキストリン (CyD) は多方面で応用され、中でも薬剤学、製剤学領域においては、医薬品の安定化、溶解性の調節、バイオアベイラビリティの向上、局所刺激性の軽減などに広く利用されている^{2,3,4)}。最近では、天然 CyD の物性を改良し機能性を高めるため、種々の誘導体や共重合体の研究開発が活発に行われている⁵⁾。例えば、 β -CyD の 2, 6 位の水酸基をメチル化した heptakis (2,6-di-O-methyl)- β -cyclodextrin (DM- β -CyD) および主に 6 位の水酸基をヒドロキシプロピル化した 2-hydroxypropyl- β -CyD (HP- β -CyD) は、 β -CyD に比べて優れた物性や包接能を有することから製剤への有効利用が期待されている^{6,7,8)}。そこで、本研究では 3 種の CyD (β -CyD, DM- β -CyD および HP- β -CyD) との複合体形成による CPZ の接触性光毒作用の軽減を目的として検討を行い、さらにその軽減機構について考察を加えた。

実験材料および実験方法

1. 試 料

CPZ は吉富製薬⁹⁾より、塩酸プロマジン (PZ) は塩野義製薬¹⁰⁾より恵与されたものを使用した。 β -CyD は日本食品化工¹¹⁾製のものを、DM- β -CyD は東進ケミカル¹²⁾製のものを、それぞれ水から再結晶して使用した。HP- β -CyD [置換度 (D.S.) 4.3] は東進ケミカル¹²⁾製のものを使用した。溶媒としての水はイオン交換精製水を 2 回蒸留して用いた。他の試薬および溶媒はすべて市販

特級品を用いた。

2. 安定度定数

CPZ と CyD との複合体形成の安定度定数は、CyD 添加による薬物の UV 吸収スペクトル変化を利用して Scott の式⁹⁾により算出した。なお、測定には島津製作所¹³⁾製 UV-160 形を用い、測定波長 250 nm で定量した。

3. クロルプロマジンの皮膚への適用

実験にはモルモット (雌性ハートレー系, 350-400 g) の背部皮膚を電気カミソリで除毛後、24 時間経過した皮膚を使用した。モルモットを固定後、背部皮膚 4 か所に濾紙 (1×1 cm²) を 2 枚重ねにして置き、CPZ (5×10⁻²M) および CyD (5×10⁻²M) 混液を 50 μ l ずつ滴下し、その上をアルミ箔 (1.2×1.2 cm²) で覆い、さらにニチバン¹⁴⁾ (日本薬局方絆創膏) で密封固定した。一定時間後、水を含んだ紙片を用いて貼布した皮膚面を軽く拭き¹⁰⁾、付着している CPZ を除去した。これらの操作は、CPZ の光分解を避けるためすべて暗室で行った。

4. 光照射条件

光源として UV-A 領域 (>315 nm) に中心波長をもつ東芝¹⁵⁾製医療用紫外線ランプ (FL 20 S-BLB 型) を用い、ガラスフィルターを通して短波長側を遮光した。照度は 2.7 mW/cm² (365nm) で 63 分間光照射した。

5. 皮膚反応の評価

光照射により惹起される皮膚反応について、特に色素沈着の程度を次のような基準で評価した。

変化なし	0
ごく軽度の色素沈着	1
明らかな色素沈着	2
中～強度の色素沈着	3

また、投与部位の組織切片は、常法¹¹⁾に従いヘマトキシリン-エオジン重染色後、顕微鏡下で病理組織学的に検討した。

6. 濾紙中薬物濃度

CPZ を貼布後、貼布した濾紙、皮膚表面、アルミ箔に付着した CPZ を拭き取った紙片に 0.1N 水酸化ナトリウム水溶液 1 ml、水 2 ml およびエーテル 5 ml を加え、30 分間振盪した。遠心分離後 (800×g, 5 min)、エーテル層 4 ml を採取し、内部標準物質 (フタル酸ジノニル) を添加後、ガ

スクロマトグラフィー (GC) により CPZ を定量した。

GC 測定条件：検出器は島津製作所製 FID-6 型水素炎イオン化検出器を用い、ガラスカラム (3 i.d. × 600 mm) の充填剤には 1% SE-52 on 60~80 mesh Gas-chrom Q (ガスクロ工業製) を使用した。注入温度 280°C, カラム温度 265~270°C, キャリヤガス (窒素) 圧力 1 kg/cm² で操作した。

7. 皮膚中 CPZ または CyDs 濃度の測定

モルモット背部皮膚に試料を貼布後、よく拭き取ってから殺し、貼布部位の皮膚を 1 × 1 cm² の区画で切り取り、細かく刻んだ。なお、角質は Washitake らの方法¹²⁾ に準じてスコッチテープ® (3 M M-18) で20回剝離することにより採取した。CPZ の場合、被験皮膚またはテープを 2 ml の水中に入れ、50°C で2時間振盪した。CPZ および PZ の抽出操作並びに定量法は前記と同様に行った。β-CyD の場合、被験皮膚またはテープを 3 ml の水中に入れ、50°C で2時間振盪した。遠心分離後 (800 × g, 5 min), 上清 1 ml 採取し内部標準物質 (γ-CyD) を添加後、蒸発乾固した。残渣にピリジン 0.2 ml およびイソシアン酸フェニル 0.4 ml を加え、暗所において50°C で1時間振盪することにより UV ラベル化した¹³⁾。反応液の溶媒を留去後、残渣をメタノールに溶かし、液体クロマトグラフィー (HPLC) により定量した。DM-β-CyD の場合、被験皮膚またはテープを 3 ml の水中に入れ、内部標準物質 (DM-γ-CyD) を加え、50°C で2時間振盪した。遠心分離後 (800 × g, 5 min), 水系メンブランフィルター (東洋濾紙製 DISMIC-25 cs) で濾過し、濾液を蒸発乾固後、下記の HPLC の移動相に溶かし定量した。

β-CyD の測定条件：ポンプは日立製 655 型液体クロマトグラフ、検出器はアトール製 SF-1204 型波長可変 UV モニターを用い、測定波長 230 nm, 流速 1.0 ml/min で操作した。カラムはエルマ光学製 ERC-ODS-1161 (6 i.d. × 100 mm) を用い、移動相にはアセトニトリル-水 (98:2 v/v) 混液を使用した。

DM-β-CyD の測定条件：ポンプは日立製 L-6000 型液体クロマトグラフ、検出器は昭和電工

製 shodex RI SE-51 示差屈折計を用い、流速 1.0 ml/min で操作した。カラムは山村化学製 R-ODS-5 (4.6 i.d. × 250 mm) を、移動相にはアセトニトリル-水 (55:45 v/v) 混液を使用した。

8. *In vitro* 膜透過実験

隔膜として雌性ヘアレスマウス (HRS/J 系, 8~10週齢) の背部皮膚 (厚さ 0.07 cm)¹⁴⁾ を用い、垂直型拡散セル (透過面積 0.85 cm²) にクリップで固定した。ドナーセルには CPZ および CyD 濃度がそれぞれ 5×10^{-2} M, 3.75×10^{-2} M の生理食塩水溶液 (0.5 ml) を入れ、レセプターセルには生理食塩水 (9 ml) を入れ、シンク条件が保たれるようにレセプターセル側をマグネッスターラーで攪拌した。なお、実験は25°C, 遮光条件下で行った。経時的にレセプターセルから試料溶液 1 ml を採取し、内部標準物質 (プロトリプチリン) を添加し蒸発乾固後、下記の HPLC の移動相に溶かし定量した。なお、被検液採取後は同温同容量の生理食塩水を加えてレセプターセル内の溶液量を一定に保った。

HPLC 測定条件：ポンプは日立製 635 A 型液体クロマトグラフ、検出器は日立製 638-41 A 型波長可変 UV モニターを用い、測定波長 250 nm, 流速 2.0 ml/min で操作した。カラムはガスクロ工業製 Partisil-10 ODS (4.6 i.d. × 250 mm) を、移動相にはアセトニトリル-50 mM 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 4.3) (7:3 v/v) 混液を使用した。

9. 光分解産物の定量

CPZ をモルモット背部皮膚に貼布後照射し、生成する PZ を¹⁵⁾、前記の CPZ の定量法と同様に GC により定量した。

10. ESR スペクトルの測定

モルモット皮膚に CPZ を貼布後、貼布部位の皮膚を摘出し、外科用メスで脂肪を取り除いた。減圧乾燥器 (25°C, 0 mmHg) で24時間乾燥し、水分を留去した皮膚を 50.0 mg の大きさに切り取り、石英セルに入れ、角質層側から5分間照射した。光源には NUM 用クセノン照射装置 (ユニオン光学製) を使用した。ESR スペクトルは電子スピン共鳴装置 (日本電子製, JES-FE 型) を使用し、室温で測定した。

ESR 測定条件: 磁場 3350 ± 50 G, マイクロ波周波数 9.38 GHz, 磁場掃引時間 6 min, 磁場変調周波数 100 KHz, 磁場変調幅 0.8 G, 増幅比 7.9×1000 , 応答時間 0.3 sec.

結果と考察

1. CPZ の光接触性皮膚反応に及ぼす各種 CyD の影響

CPZ の接触性光毒作用の臨床症状は、接触した部位における灰色の色素沈着、発赤、浮腫、かゆみなどの炎症反応を特徴としている^{16,17}。Fig. 1 および 2 は、モルモット背部皮膚に CPZ, またはその CyD 複合体を含む濾紙を貼布後、光照射により惹起される皮膚反応を、肉眼的および病理

Fig. 1. Macrographs of the Skin Showing on Immediate Reaction Induced by CPZ (5×10^{-2} M) in the Absence and Presence of CyDs (5×10^{-2} M) after Photoirradiation of Dorsal Skin of Guinea Pigs

Fig. 3. Effects of CyDs (5×10^{-2} M) on Photo-toxic Irritating Reactions Induced by CPZ (5×10^{-2} M) after Application to Dorsal Skin of Guinea Pigs

○ : CPZ, ● : CPZ+β-CyD, ■ : CPZ+DM-β-CyD, ▲ : CPZ+HP-β-CyD.

Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 5 guinea pigs.

組織学的に観察した結果を示す。

Fig. 3 は貼布時間を变化した時の皮膚反応を肉眼的に評価した結果を示す。なお、CPZ の光接触性皮膚反応は、光照射直後が最も強いことから、すべて光照射直後に評価を行った。Fig. 1 に示すように、CPZ 単独では貼布部位の皮膚に主として灰色の色素沈着が観察された。これらの皮膚反応を顕微鏡下で観察すると、表皮において過角化が著明であり、部分的に顆粒層の肥大化も認められた。また、真皮では特にその上層において浮腫、

Fig. 2. Micrographs of the Skin Showing on Immediate Reaction Induced by CPZ (5×10^{-2} M) in the Absence and Presence of CyDs (5×10^{-2} M) after Photoirradiation of Dorsal Skin of Guinea Pigs

Fig. 4. Elimination (A) and Absorption (B) Profiles of CPZ from Filter Paper Containing CPZ or Its CyD Complexes (equivalent to 888 μg CPZ) after Application to Dorsal Skin of Guinea Pigs

○ : CPZ, ● : CPZ + β -CyD, ■ : CPZ + DM- β -CyD, ▲ : CPZ + HP- β -CyD.

Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 5 guinea pigs.

a) $p < 0.05$ versus (○).

b) The percent in ordinate indicates the ratio to total amount of CPZ.

Table I. Effects of CyDs on the Distribution of CPZ in Dorsal Skin of Guinea Pigs

System	In stratum corneum ^{a)} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$, A)	Under stratum corneum ^{b)} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$, B)	Total amount ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$, A+B)	A/A+B (%)
CPZ alone	101.8 $\pm$ 5.3	95.1 $\pm$ 12.2	196.9 $\pm$ 16.8	52.0 $\pm$ 2.4
with β -CyD	39.4 $\pm$ 3.2	33.8 $\pm$ 3.7	73.2 $\pm$ 6.8	53.7 $\pm$ 0.9
with DM- β -CyD	56.5 $\pm$ 10.3*	22.2 $\pm$ 1.7	78.8 $\pm$ 10.2	70.4 $\pm$ 4.2**
with HP- β -CyD	30.0 $\pm$ 6.5	35.3 $\pm$ 4.2	65.3 $\pm$ 8.9	44.8 $\pm$ 5.5

a) Amount stripped with Scotch® tape (3M M-18) twenty times successively.

b) Amount in stripped skin.

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 guinea pigs.

* $p < 0.05$ versus B.

** $p < 0.05$ versus CPZ alone.

血管拡張およびリンパ球などの炎症性細胞浸潤が認められた (Fig. 2 A). なお, 本実験条件下では CPZ 自身による接触性皮膚反応はほとんど認められないこと, また CPZ の光接触性皮膚反応は, 貼付時間 (Fig. 3) および光照射時間の経過とともに増大することなどから, CPZ の接触性光毒作用には, 薬物の経皮吸収および皮膚中光分解反応が関与することが示唆された. 一方, 各種 CyD 存在下における CPZ の接触性光毒作用は, 肉眼的ならびに病理組織学的にも顕著に抑制され, その抑制効果は複合体の安定度定数の大きさに応じ

て, DM- β -CyD (8800 M^{-1}) $>$ β -CyD (8300 M^{-1}) $>$ HP- β -CyD (4400 M^{-1}) の順であった.

2. CPZ の経皮吸収に及ぼす各種 CyD の影響

CPZ の光接触性皮膚反応の強度は, 皮膚中に存在する薬物の量やその分布部位などにより変化するものと考えられる. たとえば, 比較的高濃度の CPZ が角質層以下の表皮および真皮に分布し光照射されると, 重篤な皮膚反応を惹起することが知られている¹⁸⁾.

Fig. 4 は, CPZ または CyD 混液を含む濾紙をモルモット背部皮膚に貼布後, CPZ の濾紙中残

Table II. Distribution of CyDs in Dorsal Skin of Guinea Pigs

System	Total amount ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	In stratum corneum ^{a)} (%)	Under stratum corneum ^{b)} (%)
CPZ+ β -CyD	35.2 $\pm$ 0.8	64.5 $\pm$ 2.5	35.5 $\pm$ 3.0
CPZ+DM- β -CyD	24.3 $\pm$ 3.3*	48.9 $\pm$ 5.4*	51.1 $\pm$ 5.4*

a) Amount stripped with Scotch tape® (3M M-18) twenty times successively.

b) Amount in stripped skin.

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 guinea pigs.

* $p < 0.05$ versus β -CyD.

存率および皮膚中量の経時変化を示す。

濾紙からの CPZ の消失量および皮膚中存量は, CyD 存在下で著しく抑制されることから, CPZ の光接触性皮膚反応に対する CyD の抑制効果の一因として, 複合体形成による CPZ の経皮吸収性の低下が考えられる。しかし, その効果は 3 種の CyD 間ではほとんど差が認められないことから, CPZ の経皮吸収性の低下に加えて他の因子も複雑に関与していることが推察される。

Table I は, CPZ および CyD 混液を含む濾紙を 3 時間貼布後, 皮膚中に存在する CPZ の角質層およびそれ以下の組織への分布を示す。CPZ 単独の場合, 角質層およびそれ以下の組織中ほぼ同じ割合で存在するのに対して, DM- β -CyD 存在下では, 角質層以下の組織よりも角質層に高濃度に分布し, CPZ の皮膚深部への浸透抑制が認められた。

Table II は, CPZ の CyD 複合体溶液を含む濾紙を 3 時間貼布後, 皮膚中に存在する CyD 量およびその分布を示す。 β -CyD および DM- β -CyD 自身の皮膚中濃度は CPZ に比べて少なく, またその分布は β -CyD が角質層に高濃度に存在するのに対して, DM- β -CyD では角質層およびそれ以下の組織中にも同じ割合で存在した。なお, HP- β -CyD 系では HPLC による微量定量法が確立していないため, 皮膚中 HP- β -CyD 濃度の測定は困難であった。

以上の知見より, 3 種の CyD の中で特に DM- β -CyD は, 複合体形成により CPZ の皮膚への移行並びに皮膚深部への浸透を抑制し, その結果, 光接触性皮膚反応を軽減するものと考えられる。

3. CPZ の *in vitro* 膜透過性に及ぼす CyD の影響

次に, 各種 CyD との複合体形成による CPZ の皮膚透過抑制機構を明らかにするため, ヘアレスマウスの摘出背部皮膚を用いて検討を行った。

Fig. 5 は, 垂直型拡散セルのドナーセルに一定濃度の CPZ, またはその CyD 混液を用いた場合の CPZ の膜透過挙動を示す。CPZ の累積透過量は CyD 添加により低下し, その効果は安定度定数の大きさによく対応して, DM- β -CyD $>$ β -CyD $>$ HP- β -CyD の順であった。

Table III は, Fig. 5 の結果を Okamoto ら¹⁹⁾の方法にしたがって解析して得られた CPZ の膜透過パラメータを示す。Table III に示すように,

Fig. 5. Effects of CyDs (3.75×10^{-2} M) on CPZ (5.0×10^{-2} M) Permeation through Hairless Mice Skin

○: CPZ, ●: CPZ+ β -CyD, ■: CPZ+DM- β -CyD, ▲: CPZ+HP- β -CyD.

Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 3 mice.

Table III. Parameters for Percutaneous Penetration of CPZ^{a)} with and without CyDs^{b)}

System	D ^{c)} ($\times 10^5$ cm ² /h)	K ^{d)} ($\times 10^2$)	P ^{e)} ($\times 10^5$ cm/h)	LTr ^{f)} (h)
CPZ alone	6.8 $\pm$ 0.7	11.1 $\pm$ 0.3	10.7 $\pm$ 1.3	12.4 $\pm$ 1.2
with β -CyD	6.6 $\pm$ 0.1	7.4 $\pm$ 1.2	7.0 $\pm$ 1.1	12.3 $\pm$ 0.2
with DM- β -CyD	7.2 $\pm$ 1.4	6.5 $\pm$ 1.1	6.6 $\pm$ 0.6	11.4 $\pm$ 1.3
with HP- β -CyD	7.5 $\pm$ 1.9	8.3 $\pm$ 1.2	8.9 $\pm$ 0.4	10.9 $\pm$ 1.4

a) Concentration of CPZ was 5.0×10^{-2} M.b) Concentration of CyDs was 3.75×10^{-2} M.

c) Diffusion parameter. d) Partition parameter. e) Permeability constant. f) Lag time.

Table IV. Effects of CyDs^{a)} on the Photodecomposition of CPZ^{b)} in Dorsal Skin of Guinea Pigs

System	Non-irradiation		Irradiation	
	Amount of CPZ in skin (μ g/cm ²)	Amount of CPZ in skin (μ g/cm ²)	CPZ decomposed (%)	Promazine ^{c)} formed (%)
CPZ alone	135.2 $\pm$ 17.4	16.8 $\pm$ 5.2	87.4 $\pm$ 1.5	16.0 $\pm$ 1.1
with β -CyD	41.0 $\pm$ 3.6	2.3 $\pm$ 0.3	94.4 $\pm$ 0.8	28.8 $\pm$ 2.8*
with DM- β -CyD	46.6 $\pm$ 10.5	4.4 $\pm$ 0.0	90.4 $\pm$ 0.5	33.6 $\pm$ 1.2*
with HP- β -CyD	43.8 $\pm$ 5.3	2.9 $\pm$ 0.4	93.4 $\pm$ 1.0	17.6 $\pm$ 2.7

a) Concentration of CyDs was 5.0×10^{-2} M.b) Concentration of CPZ was 5.0×10^{-2} M.

c) Based on the reacted CPZ after photoirradiation for 63 min at 25°C.

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 guinea pigs.* $p < 0.05$ versus CPZ alone.

CPZ の拡散係数ならびに lag time は, CyD 包接によりほとんど影響を受けなかった. 一方, 透過係数は分配係数の大きさに対応して, 各 CyD 包接により減少した (相関係数 $r=0.971$). 以上の結果から, CyD 複合体化にともなう CPZ の膜透過の抑制は, 主に膜に対する CPZ の親和性の低下に起因するものと考えられる.

4. 皮膚中における CPZ の光分解反応に及ぼす CyD の影響

CPZ の光毒作用は, 光照射により生成するフリーラジカルなどの反応中間体, スルフォキサイド, 重合体などの分解産物が生体成分に損傷を与えることにより発現することが報告されている^{20,21)}. そこで, モルモット皮膚中に存在する CPZ の光照射により生成される光分解産物および反応中間体であるカチオンラジカル (CPZ⁺) の生成に及ぼす CyD の影響を検討した.

Table IV は, 皮膚中における CPZ の光分解反応に及ぼす CyD の影響を示す. 3種の CyD

は, いずれも CPZ の光分解率にはほとんど影響を与えないのに対して, 光反応性には変化を与え, CPZ の脱クロル体であり, 分解産物の中で比較的低毒性の PZ を多く生成した. またその割合は, 複合体の安定度定数の大きさとよく対応し, DM- β -CyD > β -CyD > HP- β -CyD の順であった. なお, CPZ の皮膚代謝において PZ は生成されないことが知られているため^{22,23)}, 皮膚中に観察された PZ は, CPZ の光分解により産生したものと考えられる. また水溶液中における CPZ の光分解反応においても同様な脱クロル反応が観察されることから¹⁵⁾, 皮膚中における CPZ の光反応性の変化は, CyD との複合体形成により PZ が優先的に生成する経路が主であると考えられる.

Fig. 6 は, CPZ およびその CyD 混液を含む濾紙を 3 時間貼布した皮膚を摘出後, 減圧乾燥し, 室温で 5 分間光照射して得られたクロルプロマジンカチオンラジカル (CPZ⁺) の電子スピン共

Fig. 6. ESR Spectra of Radical produced from CPZ (5.0×10^{-2} M) in the Absence and Presence of CyDs (5.0×10^{-2} M) after Application to Dorsal Skin of Guinea Pigs

(A): CPZ alone, (B): CPZ+ β -CyD, (C): CPZ+DM- β -CyD, (D): CPZ+HP- β -CyD.

鳴 (ESR) スペクトルを示す。

本測定条件下では、CPZ⁺ はブロードなスペクトルを示し、微細構造は観察されなかった。また、他の光分解産物や皮膚成分由来のラジカル²⁴⁾は認められなかった。Table V は、CPZ⁺ の ESR スペクトルの特性パラメータを示す。CyD 存在下において CPZ⁺ の共鳴位置 (g 値) や線幅に顕著な変化は認められなかったが、一方、シグナル強度は小さくなり (CPZ alone > HP- β -CyD > β -CyD > DM- β -CyD)、CPZ⁺ 生成の減少がみられた。これらの結果は、CyD が CPZ⁺ を経由して生じる毒性の強いスルフォキサイドや重合体の生成を抑制することを示唆する。

以上の知見より、CyD 複合体形成による CPZ の光接触性皮膚反応の抑制効果は、皮膚表面または皮膚中での CPZ の光分解反応性の変化に伴い、

Table V. ESR Parameters of the Radical Produced from CPZ^{a)} with and without CyDs^{b)} in Dorsal Skin of Guinea Pigs, Photoirradiation for 5 min at 20°C

System	I ^{c)} (arbitrary unit)	g-value	ΔH_{pp} ^{d)} (gauss)
CPZ alone	1.00	2.006	8.4
with β -CyD	0.42	2.005	8.3
with DM- β -CyD	0.38	2.005	8.6
with HP- β -CyD	0.88	2.005	8.4

a) Concentration of CPZ was 5.0×10^{-2} M.

b) Concentration of CyDs was 5.0×10^{-2} M.

c) Peak-to-peak height of the first derivative curve.

d) Peak-to-peak width of the first derivative curve.

毒性の強い光分解産物の生成が抑制されることもその一因となっているものと推察される。

結 論

本研究で得られた知見は、以下の 1)~4) のように総括される。

1) CPZ およびその CyD 混液を含む濾紙をモルモット皮膚に貼布後、光照射により惹起される皮膚反応を、肉眼的および病理組織学的に観察した結果、CyD 存在下で顕著な抑制が認められ、その度合は複合体の安定度定数の大きさに対応して、DM- β -CyD (8800 M^{-1}) > β -CyD (8300 M^{-1}) > HP- β -CyD (4400 M^{-1}) の順であった。

2) CPZ の経皮吸収量は CyD 添加により低下したが、その効果は 3 種の CyD 間ではほとんど差が認められなかった。皮膚中に存在する CPZ の分布状態を観察すると、薬物単独では角質層およびそれ以下の組織中にほぼ同じ割合で存在した。一方、DM- β -CyD 存在下では CPZ は角質層に高濃度に分布し、皮膚深部への浸透の抑制がみられた。

3) ヘアレスマウスの摘出背部皮膚を用いた CPZ の膜透過性に対する CyD の影響を比較すると、DM- β -CyD > β -CyD > HP- β -CyD の順に抑制効果を示し、この現象は CyD との複合体形成による CPZ の膜親和性の低下に起因するものと推察された。

4) 皮膚表面または皮膚中において、CyD は

CPZ の光分解反応に影響を与え、反応過程で生じる CPZ⁺ の生成を抑制するとともに、CPZ の脱クロル体である低毒性の PZ を高収率に生成し、その効果は光毒性の軽減効果と同様に DM-β-CyD > β-CyD > HP-β-CyD の順であった。

以上のように、3種の CyD の中で特に DM-β-CyD は、CPZ の光接触性皮膚反応を顕著に抑制することが確かめられた。この光毒性軽減効果は、DM-β-CyD が CPZ の皮膚への移行を抑制し、さらに、薬物の皮膚中分布や皮膚中での光反応性を変化させることによるものと推察された。これらの知見は、CPZ の光接触性皮膚反応の軽減

を企図する際に DM-β-CyD の有効利用を示唆するものであり、また皮膚科領域における薬物の安全性と有効性を確保する上で有用な基礎資料になるものと考えられる。

謝 辞

本研究にあたり、有益なる御指導と御助言を賜った熊本大学薬学部平山文俊博士、また、病理組織学的検討において有益なる御助言と御鞭撻を頂いた熊本大学病院皮膚科小野友道博士に感謝致します。さらに本研究に協力された平木恵氏に感謝致します。

文 献

- 1) 野村 茂：職業性皮膚障害とその対策，労研出版（1974）。
- 2) Saenger, W. : Cyclodextrin inclusion compounds in research and industry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **19** : 344-362 (1980).
- 3) 上釜兼人：シクロデキストリン Complex の製剤への応用。薬学雑誌，**101** (10) : 857-873 (1981)。
- 4) Hoshino, T., Ishida, K., Irie, T., Hirayama, F. and Uekama, K. : Alleviation in protriptyline-photosensitized skin irritation by di-O-methyl-β-cyclodextrin complexation. *Int. J. Pharm.*, **38** : 265-267 (1987)。
- 5) Uekama, K. and Otagiri, M. : Cyclodextrins in drug carrier systems, CRC Clinical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems. Vol. 3, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1987, pp.1-40.
- 6) Uekama, K. : Pharmaceutical applications of methylated cyclodextrins. *Pharm. Int.*, **6** : 61-65 (1985)。
- 7) Pitha, J., Milecki, J., Fales, H., Pannell, L. and Uekama, K. : Hydroxypropyl-β-cyclodextrin : preparation and characterization ; effects on solubility of drugs. *Int. J. Pharm.*, **29** : 73-82 (1986)。
- 8) Szejtli, J. : Dimethyl-β-cyclodextrin as parenteral drug carrier. *J. Incl. Phenom.*, **1** : 135-150 (1983)。
- 9) Scott, R.L. : Some comments on the Benesi-Hildebrand equation. *Rec. Trav. Chim.*, **75** : 787-789 (1956)。
- 10) 後藤 茂：生物薬剤学実験マニュアル，p.122，清至書院（1985）。
- 11) 三友善夫，高山昇二郎：臨床検査講座12病理学，医歯薬出版（1982）。
- 12) Washitake, M., Yajima, T., Anmo, T., Arita, T. and Hori, R. : Studies on percutaneous absorption of drugs. III. percutaneous absorption of drugs through damaged skin. *Chem. Pharm. Bull.*, **21** : 2444-2451 (1973)。
- 13) Koizumi, K., Kubota, Y., Okada, Y., Utamura, T. : Microanalyses of β-cyclodextrin in plasma by highperformance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **341** : 31-41 (1985)。
- 14) Bronaugh, R.L., Stewart, R.F. and Congdon, E.R. : Methods for in vitro percutaneous absorption studies II. animal models for human skin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **62** : 481-488 (1982)。
- 15) Uekama, K., Irie, T. and Hirayama, F. : Participation of cyclodextrin inclusion catalysis in photolysis of chlorpromazine to give promazine in aqueous solution. *Chem. Lett.*, **1978** : 1109-1112.
- 16) Epstein, S. : Chlorpromazine photosensitivity. *Arch. Derm.*, **98** : 354-363 (1968)。
- 17) 佐藤吉昭編：光線過敏症，p.67，金原出版（1983）。
- 18) Urbach, F. : The biologic effects of ultraviolet radiation with emphasis on the skin, Pergamon Press, Oxford (1969)。

- 19) Okamoto, H., Komatsu, H., Hashida, M. and Sezaki, H. : Effects of β -cyclodextrin and di-O-methyl- β -cyclodextrin on the percutaneous absorption of butylparaben, indomethacin and sulfanilic acid. *Int. J. Pharm.*, **30** : 35-45 (1986).
- 20) Kochevar, I.E. : Phototoxicity mechanisms : chlorpromazine photosensitized damage to DNA and cell membranes. *J. Invest. Dermatol.*, **76** : 59-64 (1981).
- 21) Testylier, G., Daveloose, D., Leterrier, F., Buchmann, O. and Shimoni, M. : Photochemical binding of phenothiazines on biological membrane proteins. *Photochem. Photobiol.*, **39** : 273-276 (1984).
- 22) Beckett, A.H., Beaven, M.A. and Robinson, A.E. : Metabolism of chlorpromazine in humans. *Biochem. Pharmacol.*, **12** : 779-794 (1963).
- 23) 中島 啓 : 向精神薬の吸収・代謝・排泄, 月刊薬事, **17** : 1171-1179 (1975).
- 24) 小西良平, 杵山正康, 三嶋祐治, 熊野修治 : 表皮のフリーラジカル, 西日皮膚, **46** : 1093-1099 (1984).