S1-08

新規グリセリド誘導体による経皮吸収促進効果と機構に関する研究

大阪大学薬学部

○久保一義、東條伸輝、余蔚、小比賀聡、今西武、真弓忠範

TRANSDERMAL PENETRATION-ENHANCING EFFECT AND ITS
MECHANISM OF NOVEL TRIGLYCERIDES HAVING QUATERNARY
AMMONIUM GROUP

Kazuyoshi KUBO, Nobuteru TOJYO, Wei YU, Satoshi OBIKA, Takeshi
IMANISHI and Tadanori MAYUMI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, Suita, Osaka 565

【目的】 医薬品の多くは弱電解質であり、生理的pH条件下において、その一部または大部分がイオン化して存在するため皮膚透過性は一般に低い。この場合、薬物と反対符号の電荷を持つイオン種（カウンターイオン）とイオン対を形成させることにより、薬物の皮膚移行性を促進し皮膚透過性を改善することができる¹⁾。

脂溶性のイオン対を利用する経皮吸収促進の方法は、目的とする薬物に応じて最も有効なカウンターイオンの選択が可能であり、吸収部位に一定量のイオン対を適用できるため、促進効果を定量的に評価できる利点を有する。

しかしこの方法では、目的とする薬物と共にカウンターイオンも皮膚に分配するため、その皮膚刺激性や毒性などの副作用を考慮しなければならない。

我々は、有効で安全性の高いカウンターイオンを開発するため、角質層脂質や皮脂の構成成分であるトリグリセリドに着目し、近年、経皮吸収促進剤開発の手法として注目されている”soft” ドラッグアプローチ²⁾を応用して、四級アンモニウム構造を有する生体分解性グリセリド誘導体（以下YKS）を合成した。モデル酸性薬物として、サリチル酸およびクロモグリク酸を用いYKSとのイオン対形成によるラット皮膚透過促進、吸収促進剤適用とイオン対の組み合わせによる皮膚透過促進効果、YKSの皮膚刺激性について検討した。

【方法】 1)使用薬物 YKSは、グリセロールアセトニドを出発原料としてRCOClでアシル化したジアシルモノクロアセチルグリセロールを経由して合成した $R=C_2H_5\sim C_7H_{15}$ の化合物を使用した。（Scheme 1）

2)in vitro皮膚透過実験 a) Wistar系雄性ラット（5-6週令）の腹部を除毛後、摘出皮膚を32°Cに保ったフランツ型拡散セル（有効面積1.73cm²）に挟み、真皮側（レセプター側）に生理食塩水10.5 ml、角質層側（ドナー側）に1/30 M酢酸緩衝液(pH 5.0)に溶解した酸性薬物(0.8 mM)1 mlを加えた。YKSとのイオン対の影響をみる場合は、酸性薬物に対し2.5-10倍量のYKSを溶解した溶液1 mlを加えた。レセプター溶液はマグネチックスターラーで攪拌

し透過実験を行った。

レセプター側から経時的にサンプリングし、定量はHPLCで行った。サンプリングによる減少分は新しい生理食塩水で補った。

b) 吸収促進剤による前処置の実験では、ラット腹部摘出皮膚をフラ

ンツ型拡散セルに装着後、吸収促進剤のエタノール溶液0.1 mlを加え24時間前処置を行った。その後、ドナー側をエタノールで洗浄し吸収促進剤を除いた後、a)と同様の方法で薬物溶液またはイオン対溶液を適用して透過実験を行った。

3) YKSの皮膚刺激性 試料溶液は3.0%及び5.2%YKS21エタノール溶液、溶媒対照物質としてエタノール、対照物質として1.0%及び3.0%Azoneエタノール溶液を用いた。前日に除毛したウサギの背部皮膚に、動物用パッチテスト用絆創膏(直径2.5 cmのリン布)に投与試料0.25 mlを均一に湿らせ適用した。試料投与後の皮膚の観察は、Draizeらの方法³⁾およびその変法⁴⁾に準拠して行った。

【結果と考察】1) YKSの構造と安定性 合成したグリセリド誘導体、YKS12-YKS21は、生理的pHで常にイオン型として存在する四級アンモニウム構造と、脂溶性を調節するためのアルキル鎖及び生体分解性のエステル結合を分子中に含む(Scheme 1)。YKSは、pH4-pH7、32°Cにおいて一次速度的に分解し、pH7.0における半減期は約4.5時間、弱酸性側では分解は抑制され、24時間以上にわたって安定であった。またこの分解は、アンモニウム残基のついたエステル部位の加水分解であることをNMR測定により確認している。これらの結果から、以後の実験はYKSが安定な弱酸性条件下で行った。

皮膚表面はpH4.2-5.6であり、生きた表皮以下の層ではpH7.4付近であることから、YKSは経皮吸収促進のターゲット組織である角質層では安定に作用を発現し、皮膚深部への拡散にともない代謝酵素の作用も加わり分解していく可能性が示唆された。

2) モデル酸性薬物の油水分配係数におよぼすYKSの影響 使用した一価アニオンのサリチル酸、二価アニオンのクロモグリク酸は、ともにYKSとイオン対を形成しオクタノールへの分配が促進された。YKSのアルキル鎖長の増加に伴い、顕著なみかけの油水分配係数(APC)の増加が見られた。

3) In vitro皮膚透過性におよぼすYKSの影響 サリチル酸(0.5 mM)のin vitro皮膚透過性は、YKS添加により有意に促進され、透過速度、透過係数はコントロールと比較してYKS17(5 mM)で約2.5倍、YKS19(5 mM)で約8倍増加した。ラグタイムは、コントロールと比較して有意差はないかまたは遅延することから、透過速度、透過係数の増加はYKSとサリチル酸のイオン対形成による皮膚/基剤間分配係数の増加に起因するものと考えた。このことは、YKS19(5 mM)とイオン対を形成しないカチオン性薬物プロプラノロール(1 mM)に対して、

Scheme 1 Chemical structures of YKS

その促進効果は低く、透過速度及びラグタイムに有意差は認められなかったことから確認された。クロモグリク酸(0.8 mM)のラット皮膚透過性は、YKS21 (2 mM)添加により有意に促進されサリチル酸の場合と同様にYKS21がカウンターイオンとして有用であることが示された (Fig. 1)。

4)YKSの吸収促進剤としての有用性

クロモグリク酸のin vitro皮膚透過性は、YKS21の濃度依存的に促進され、3.0%YKS21前処置では、無処置コントロール(NP)及びエタノール前処置(EP)と比較して、それぞれ約6倍、約2倍の促進効果が認められた。無処置(NP)及びエタノール前処置(EP)と比較して、ラグタイムが顕著に短縮されていることから、この促進効果は、YKS21前処置による皮膚の拡散性改善に起因するものと考えられた (Fig. 2)。YKSとイオン対を形成しないプロプラノロールに対しても、3.0%YKS21前処置により同様な促進効果が認められた。これらのことから、YKS21はカウンターイオンとしてだけでなく、経皮吸収促進剤としても有用であることが示唆された。

5)経皮吸収促進剤適用とイオン対形成の組み合わせによる経皮吸収促進 YKSをカウンターイオンとして用いた場合、イオン対形成により皮膚への分配性が改善されたこと、またYKSの前処置により皮膚の拡散性が改善されたことから、その作用機構が異なることを明らかにした。次に、これらの組み合わせによる透過促進効果について検討した。3%YKS前処置後、ドナーセルにクロモグリク酸(0.8 mM)とYKS21(2 mM)を加えて (以下、イオン対を適用したと表現する) in vitro皮膚透過実験を行った結果、無処置皮膚にイオン対を適用した場合、又は3%YKS21前処置後クロモグリク酸のみで適用した場合に比較して有意に透過

Counter ion	$J(\times 10^{-9} \text{ mol/h/cm}^2)$	$Kp(\times 10^{-3} \text{ cm/h})$	LT(h)
Control	0.130 ± 0.019	0.163 ± 0.024	5.57 ± 0.88
YKS21	$0.622 \pm 0.157^{**}$	$4.44 \pm 1.12^{**}$	$8.99 \pm 1.61^{*}$

Fig. 1 Effect of YKS21 on penetration of cromoglicic acid through rat skin at 32°C

Enhancer	$J(\times 10^{-9} \text{ mol/h/cm}^2)$	$Kp(\times 10^{-3} \text{ cm/h})$	LT(h)
NP	0.227 ± 0.060	0.284 ± 0.075	6.71 ± 0.50
EP	0.717 ± 0.133	0.896 ± 0.166	5.46 ± 0.47
0.5%YKS21	0.840 ± 0.104	1.05 ± 0.13	$3.09 \pm 0.32^{***}$
1.0%YKS21	$1.22 \pm 0.00^{**}$	$1.53 \pm 0.02^{**}$	$2.03 \pm 0.61^{**}$
3.0%YKS21	$1.42 \pm 0.34^{*}$	$1.78 \pm 0.42^{*}$	$1.03 \pm 0.95^{**}$

Fig. 2 Effect of pretreatment on penetration of cromoglicic acid through rat skin at 32°C

性が改善された(Fig. 3)。イオン対形成のみ、および経皮吸収促進剤のみの場合と比較して両者の組み合わせは有用であり、より強い透過促進が期待できることが分かった。ちなみに、3% YKS21前処置後イオン対を適用した場合、1% Azoneに近い促進効果が得られた。また、前処置時間について検討した結果、Azoneは、最大効果の発現に24時間を要するのに対し、YKS21の場合、2時間以内の前処置で十分であることが明らかになった。短時間での効果発現は実用化の面でも有利であると考えられる。

6) YKSの皮膚刺激性 一次刺激指数から、YKS21は皮膚刺激性が弱く、Azoneと比較して3-5倍安全であることが判明した。これは24時間投与後の判定結果であるが、YKS21は2時間以内で最大の効果を発現することから、Azoneと比較して、さらに刺激性を軽減できると考えられる。また、YKS21は紅斑と浮腫の回復性においても優れていた。

Enhancer	$J(\times 10^{-2} \text{ mol/h/cm}^2)$	$Kp(\times 10^{-3} \text{ cm/h})$	LT(h)
NP	0.622 ± 0.157	4.44 ± 1.12	8.99 ± 1.61
EP	$1.57 \pm 0.18^{**}$	$11.2 \pm 1.3^{**}$	$5.50 \pm 0.73^{*}$
3.0% YKS21	$4.31 \pm 0.50^{**}$	$30.8 \pm 3.6^{**}$	$1.86 \pm 0.14^{**}$

Fig. 3 Combination effect of pretreatment and ion-pair formation on penetration of cromoglicate through rat skin at 32°C

【ABSTRACT】 Novel biodegradable triglycerides having quaternary ammonium group (YKS) were synthesized as counter ions for ion-pair complexation with anionic drugs and evaluated for their transdermal penetration enhancing effects. Permeation of salicylate or cromoglicate, model anionic drugs, through the rat skin were measured in modified Franz-type diffusion cells. The steady-state flux, the permeability coefficient and the diffusion coefficient were calculated. The permeability of these anionic drugs were enhanced by an ion-pair mechanism in the presence of the YKS. Significant increases in the permeability parameters were observed after pretreatment with YKS. It was shown that YKS21 itself was an excellent penetration enhancer as well as an effective counter ion for ion-pair transport. The exact mechanisms of the increased permeability by pretreatment with YKS remain to be elucidated. When ion-pair complex of cromoglicate with YKS21 was applied in the donor compartment after pretreatment with 3% YKS21 for 24 hours, it was found that this ion-pair complex with the pretreatment was several times more effective than cromoglicate applied alone with the pretreatment or than ion-pair complex without the pretreatment. Judging from the primary irritation indices, YKS21 was 3 to 5 safer than Azone.

【REFERENCES】

- 1) R. Neubert, *Pharm. Res.*, 6, 743-747 (1989).
Chul-Soon Young, et al., *Int. J. Pharmaceut.*, 45, 59-64 (1988).
T. Ogiso, et al., *J. Pharm. Sci.*, 79, 1065-1071 (1990).
- 2) W. J. Lambert, et al., *Int. J. Pharm.*, 95, 181-192 (1993).
- 3) J. H. Draize, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 82, 377-390 (1944).
- 4) 池田良雄ら、*医薬品研究*, 1, 23-27 (1970).
青柳繁、*実験動物技術*, 23, 5-10 (1988).