薬物の経皮吸収測定法に関する検討

中 村 紘 一* 中 野 重 行*

(受付：1995 年 4 月 19 日)

A Method for the Estimation of Percutaneous Drug Absorption in Man

Koichi NAKAMURA* and Shigeyuki NAKANO*

* Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Oita Medical University
Hasama-machi, Oita 879-55, Japan

The percutaneous absorption rate of the topical formulation of a drug (PAR) has been calculated and expressed in percentage using the amount of the drug applied (Da) and the amount of the drug collected (Dc) as in the following equation :

$$\text{apparent PAR} = (Da - Dc) / Da$$

where Dc is measured by swabbing the drug remaining on the skin after a certain period of time has passed following application. One problem is that after swabbing, still a slight trace of the drug remains on the skin, even when it is carefully swabbed, this trace might cause an erroneous estimation of PAR, especially for drugs with a low PAR. To improve the accuracy in the estimation of PAR, we introduced the idea of "collection rate at time 0" into the above equation as follows :

$$\text{collection rate at time 0} = Dc \text{ at time 0} / Da$$

$$\text{corrected PAR} = (Da - Dc / \text{mean collection rate at time 0}) / Da$$

"Collection rate at time 0" indicates the technical efficacy of swabbing the drug applied to the skin. With the above equations, we calculated the corrected PAR for 5 g of 1 % omoconazole nitrate cream applied in a single dose to the skin of the subject's back over 24 hours in 9 healthy male volunteers. Three of the 9 volunteers served as the subjects for the calculation of "collection rate at time 0". The mean corrected PAR ($\pm$ SD) for 1 % omoconazole nitrate cream was found to be 13.6 ($\pm$ 6.3)%. The difference between the corrected and apparent PAR ranged from 2.5 to 3.0 %. If this expanded equation is employed, it would make a large difference in the estimation of PAR of the topical formulation of a drug with a low PAR or a drug poorly absorbed by a particular individual. With the "collection rate at time 0" incorporated into the calculation of PAR, even a simple calculation method using swabbing will provide more precise and useful information for pharmacokinetic studies of the topical formulation of a drug.

Key words : percutaneous drug absorption, calculation method, man,
omoconazole nitrate

* 大分医科大学医学部臨床薬理学 〒 875-55 大分県大分郡挾間町医大ヶ丘 1-1

結 論

軟膏やクリーム剤に使用されている薬物の経皮吸収率の算出には、塗布薬物量と回収薬物量の差から次の式で計算し、得られた値を百分率で表示する方法がよく使われている^{1,2)}。

$$\text{経皮吸収率} = \frac{\text{塗布薬物量} - \text{回収薬物量}}{\text{塗布薬物量}}$$

回収薬物量は、塗布してから一定の時間後に皮膚表面の薬剤を拭きとって求める。この方法では、「拭きとる」操作を行っても薬剤が皮膚表面に残る可能性があり、この残存する薬剤によって経皮吸収率の算出に誤差を生じる。

そこで、塗布した直後に「拭きとる」操作によって薬剤を回収して平均0時間回収率を別に求め、経皮吸収率を求める際の回収薬物量をこれで補正して、誤差を少なくする算出方法を検討した。

方 法

文書で同意を得た、平均年齢26歳、平均体重60.9 kgの健康男性9名を対象とした。抗真菌剤の1% omoconazole nitrate クリーム5 gを背部の皮膚、20 cm×25 cmに均一になるように塗布し、塗布部をガーゼで覆った。ガーゼは絆創膏で固定した。3名の被験者では塗布後直ちにガーゼを除き、微温湯で湿した別のガーゼで塗布部を均等に5回拭きとって皮膚表面の薬剤を回収し、0時間回収率を算出した。6名の被験者では24時間塗布部をガーゼで覆った状態を保った。薬剤適用中の衣服はTシャツまたは同類のものを着用させた。塗布24時間後に0時間回収率を算出した3名の被験者と同様の操作により薬剤を回収した。薬剤の回収は操作に熟練した同一人が行った。Omoconazole nitrateは塗布部を覆ったガーゼおよび薬剤の回収に用いたガーゼを一緒にして抽出し、HPLCによって測定した。HPLCによる回収率は99.8%である。0時間回収率、薬物のみかけの経皮吸収率、および平均0時間回収率で補正した経皮吸収率を次の式で算出し、得られた値を百分率で表示した。

$$\begin{aligned} 0 \text{ 時間回収率} &= \frac{0 \text{ 時間回収薬物量}}{\text{塗布薬物量}} \\ \text{みかけの経皮吸収率} &= \frac{\text{塗布薬物量} - \text{回収薬物量}}{\text{塗布薬物量}} \\ \text{補正した経皮吸収率} &= \frac{\text{塗布薬物量} - \text{回収薬物量} / \text{平均0時間回収率}}{\text{塗布薬物量}} \end{aligned}$$

結 果

それぞれの吸収率と0時間回収率としてTab.1の結果を得た。みかけの経皮吸収率と補正した経皮吸収率との差は2.5～3.0%であった。

Tab. 1 0時間回収率と経皮吸収率

0時間回収率	みかけの吸収率	補正した吸収率
96.8±0.6%	16.4±6.1%	13.6±6.3%
平均±標準偏差		

考 察

ヒトで経皮吸収を測定するのに、簡便な方法として「残差法」が使われている^{1,2)}。皮膚表面に適用(塗布)した薬物量と一定時間経過した後に残っている薬物量との差を「経皮吸収量」とする方法である。この方法では、薬物の回収が不適切であると吸収量の計算に誤差を生じる²⁾。このため、薬物をできるだけ多く正確に回収する工夫がされている。それらのうち、放射性同位元素でラベルした被験薬物を皮膚表面に適用し、一定時間経過した後にエーテル、アセトン、石鹼水、水などで洗浄して回収する方法、皮膚の角質層を採取して薬物を回収する方法はヒトでも使われている^{2~4)}。これらの工夫は、経皮吸収を詳細に検討する場合には適しているが、軟膏剤、クリーム剤など外用剤中の薬物の経皮吸収を測定するには問題点が多い。とくに、第1相臨床試験のように健康人を対象として検討する場合には不向きといえる。

適用直後に薬物を回収して0時間回収率を求め、適用後一定時間が経過した時点の回収率をこれで補正すると測定誤差を小さくできる。この方法は簡単であるためか、経皮吸収率の計算方法と

Tab. 2 文献に報告されている抗真菌剤の回収率および経皮吸収率¹⁻⁵⁾

抗真菌剤	回収材料	薬物回収率* ¹ (平均±標準偏差) (%)	みかけの 経皮吸収率* ² (%)	推測された 経皮吸収率* ³ (%)	差* ⁴ (%)
A	脱脂綿	80.5± 5.7	19.5	10~15	4.5~9.5
B	へら, 脱脂綿	77.9± 2.6	22.1	20	2.1
C	脱脂綿	85.1± 4.2* ⁵	14.9	10	4.9
D	へら, 脱脂綿	87.5±14.7	12.5	12.4	0.1
E	へら, 脱脂綿	72.7± 2.6	27.3	20~25	2.3~7.3

いずれも単回大量塗布後に「拭きとる」操作によって回収薬物量を求めた。

*¹ 回収薬物量/塗布薬物量によって計算した。

*² 薬物回収率の平均値から計算した。

*³ 各報告者が考察の中で「技術的な問題」, 「誤差」を考慮したうえで推測した値。

*⁴ 「みかけの経皮吸収率」と「推測された経皮吸収率」との差。

*⁵ 原著では標準誤差で報告している。

して報告した論文は見当たらず, わずかに研究方法の一部として記されているだけである⁴⁻⁶⁾。補正前後の経皮吸収率の差の検討についても報告にはまとめられていない。

本研究の結果は, 皮膚に塗布した薬剤を「拭きとる」操作によって回収しても皮膚表面に残り, この残った薬剤により経皮吸収率の算出に誤差が生じることを示している。経皮吸収率は塗布薬物量と回収薬物量から算出した値であるから, 角質層内に貯留している薬物量, 皮膚表面に残存している薬物量, 測定の過程で失われる薬物量などの総和を含んだ値といえる。つまり「経皮吸収」されていない薬物量も含んで計算し, その結果得られた値を「経皮吸収」率としている。本研究で用いた HPLC による回収率は 99.8%と高く, 回収薬物量はこの回収率で補正していない。

従来の報告では, 皮膚表面に残る薬物量や測定の過程で失われる薬物量を考慮せずに, 軟膏やクリーム剤に使用されている薬物の経皮吸収率を算出している⁷⁻¹¹⁾。報告されている他の抗真菌剤の経皮吸収率を Tab. 2 にまとめた。表中の「みかけの経皮吸収率」は, いずれも皮膚表面に残る薬物量で補正していない経皮吸収率で, その値は 12.5~27.3%程度である。「推測された経皮吸収率」は, 各報告者が報告の考察の中で経皮吸収率として推測した値を示している。薬剤を回収する

際の「拭きとる」操作の「技術的な問題」や「誤差」を考慮した推測値である。回収率から算出した値よりも低く推測しており, 「みかけの経皮吸収率」との差は 0.1~9.5%である。経皮吸収率を推測するにあたって, 各報告者が考察の中で述べている部分またはその要旨を各抗真菌剤ごとに Tab. 3 にまとめた。皮膚表面に薬剤が残っている可能性を懸念しているが, いずれの報告者も残存薬物量を測定してはいない。抗真菌剤以外の薬剤でも 0 時間回収率を全く考慮せずに, 残差を単純に「経皮吸収量」としている報告が散見される^{12,13)}。

「みかけの経皮吸収率」と平均 0 時間回収率で「補正した経皮吸収率」の差は, 次の式で表される。

みかけの経皮吸収率-補正した経皮吸収率=

$$\frac{\text{回収薬物量}}{\text{塗布薬物量}} \times \left(\frac{1}{\text{平均 0 時間回収率}} - 1 \right)$$

したがって, 一定の精度や熟練度で薬剤が塗布, 回収され, 塗布薬物量と 0 時間回収率の値のばらつきが小さい場合には, 回収薬物量が大きいと「みかけの経皮吸収率」と「補正した経皮吸収率」の差は大きくなる。すなわち, 経皮吸収率が小さい薬物や吸収量が少ない被験者では, 吸収率を算出する際に皮膚表面に残る薬物量の影響を受ける。

「0 時間回収率」は薬剤を回収する人の熟練度を

Tab. 3 各報告者の経皮吸収率に関する考察

抗真菌剤	経皮吸収率に関する考察
A	塗布部位から薬剤を回収する際の技術的な問題を考慮すると、経皮吸収率は約10～15%であると推察される。
B	薬剤を回収する際の技術的な問題等を考慮しても、塗布量の約20%は皮膚中へ移行したものと推察される。
C	単回投与試験の回収率は85.1%、反復投与試験第1日目の回収率は93.1%で、この差は回収方法を変更したためである。7日間の反復投与によっても回収率に大きな変化はなく、その平均は90.7%であった。したがって経皮吸収率は約10%と考えられた。
D	回収率の低い1例を計算に加えると平均回収率は87.6% (除くと93.4%) であり、塗布量の約12.4%は皮膚へ移行したと推察された。
E	多少の未回収部分の誤差を考慮しても、約20～25%は吸収された可能性がある。

示す指標でもある。「拭きとる」操作のばらつきは操作の日内変動というべきもので、今回、同一人によって回収して得た0時間回収率の変動係数は0.6%であった。0時間回収率を求める際の被験者数は回収率の推定の精度に関係する。0時間回収率は当然個々の薬剤によって異なるから、薬剤ごとに求めて補正する。

薬剤を適用する部位の面積が小さい場合には、被験者ごとに0時間回収率を求める適用部位を設けて補正する。軟膏剤やクリーム剤を広い面積に大量に塗布して、経皮吸収や毒性について検討する場合には、別の被験者で平均0時間回収率を求めて補正する。別の被験者で求めるのは、0時間回収率を求めるための塗布部位と経皮吸収を検討するための塗布部位を隣接して別に設けるのが難しいためと、0時間回収率を求めるのに塗布した薬剤が皮膚表面に残存し、その後の経皮吸収の測定に影響するのを避けるためである。

皮膚表面に塗布した薬剤を回収するには三つの方法がある。湿った脱脂綿で拭きとる、へらで擦りとったのち湿った脱脂綿で拭きとる、そして著者らが用いた湿ったガーゼで拭きとる方法である。抗真菌剤Cの報告者は、湿った脱脂綿を用いる方法からゴム製のへらと湿った脱脂綿を併用する方法に変えたところ、回収率が85.1%から93.1%に改善したと述べている。へらで擦りとる方法では回収の際、角質層の上層を剥離している可能性があるから、回収率が高くなったとも考えられる。ガーゼで拭きとる方法でも回収の際、角

質層の上層を剥離している可能性がある。一方、脱脂綿で拭きとる方法では水で湿した脱脂綿の繊維の間隙が密であるため、拭きとった薬剤ですぐに間隙が埋まり、拭きとる操作を繰り返しても塗布面から薬剤が十分に回収されないのではないかと推測される。これに対してガーゼの繊維は間隙が粗なので、拭きとった薬剤で間隙がすぐ埋まることはないであろう。

「拭きとる」操作によって経皮吸収率を算出する方法は簡便で、第1相臨床試験のようなヒトを対象にした試験にも用いることができるから、皮膚表面に残存する薬物量を考慮した算出方法の工夫を行えば、より正確な経皮吸収率の算出に役立つ方法である。

結 論

経皮吸収率の算出に際して、皮膚表面に残存する薬物量を考慮すると従来の方法より正確な情報を得ることができる。

文 献

- 1) Nogami, H., Hasegawa, J. and Hanano, M.: Studies on ointments: A new simplified determination method for percutaneous absorption of ointments. *Pharm. Bull.*, **4**: 347-352 (1956).
- 2) Shah, V. P., Flynn, G. L., Guy, R. H. et al.: In vivo percutaneous penetration/absorption. *Int. J. Pharm.*, **74**: 1-8 (1991).
- 3) Bucks, D. A. W., McMaster, J. R., Maibach, H. I. et al.: Bioavailability of topically administered

- steroids : A "mass balance" technique. J. Invest. Dermatol., **91** (1) : 29-33 (1988).
- 4) Yano, T., Nakagawa, A., Tuji, M. et al. : Skin permeability of various non-steroidal anti-inflammatory drugs in man. Life Sci., **39** (12) : 1043-1050 (1986).
 - 5) 塚本幸恵, 宇津園子, 土屋雅勇ほか : ヒトにおける簡易経皮吸収測定法の考案—2%アスピリン軟膏への適用—. 病院薬学, **17** : 198-203 (1991).
 - 6) 夏木令子, 曾根知道, 松尾理枝ほか : インドメタシンの経皮吸収における基剤の影響 (第1回経皮吸収型製剤シンポジウム ポスターセッション抄録). Ther. Res., **3** : 50 (1985).
 - 7) 伊藤正俊, 大西明弘 : 健康な成人男子に対する抗真菌剤 M-732 (Liranaftate) クリームの単回および反復大量塗布試験. 薬理と治療, **20** : 4501-4508 (1992).
 - 8) 伊藤正俊, 宇治康明 : 健康成人に対する抗真菌剤 KP-363 (Butenafine Hydrochloride) クリームの単回および反復大量塗布試験. 基礎と臨床, **24** : 3239-3246 (1990).
 - 9) 大西明弘, 安田耕太郎, 竹田秀一ほか : 外用抗真菌薬 TJN-318 クリームの安全性並びに薬物動態に関する検討. 臨床医薬, **8** : 799-811 (1992).
 - 10) 小林孝志, 西川武二 : 健康人に対する抗真菌薬 Ketoconazole クリームの単回塗布試験. 薬理と治療, **19** : 1857-1861 (1991).
 - 11) 須貝哲郎, 山田秀雄, 菅野浩一ほか : 抗真菌剤 710674-S のヒトにおける体内動態の検討. 基礎と臨床, **18** : 6533-6543 (1984).
 - 12) 横田秀雄, 北村正孝, 佐々木富男 : L-740 の生体内動態および安全性に関する検討. 基礎と臨床, **26** : 4711-4722 (1992).
 - 13) 星野伸夫, 芝田信人, ト部頼人ほか : リドカインとテトラカインの共融混合物を用いた局所麻酔軟膏の調製. 薬剤学, **51** : 158-165 (1991).