

○関口 翔平¹・野地本 和孝¹・高木 昭史¹・倉持 隆則¹・武内 博幸¹・平森 基起¹・

渡辺 新²・藤堂 浩明²・杉林 堅次²

(¹株式会社ローマン工業横浜研究所研究開発部・²城西大学薬学部)



Introduction

医薬部外品の開発において、有効成分の皮膚透過性や皮膚中濃度の測定は、非常に重要であり、抽出ヒト皮膚を用いた *in vitro* 透過試験が実施されている。

抽出ヒト皮膚は、高価であるため頻りに使用することが難しい。また、物質の皮膚透過性は、部位差、性差、年齢差などの影響を受け得るため、バラツキの少ないデータをとることが非常に難しい。

ヒト皮膚と近似した3次元培養ヒト皮膚モデルが抽出ヒト皮膚の代替膜の1つとして挙げられている。しかしながら、多くの報告は、水性基剤からの薬物の透過性評価が主であり、乳液やクリームなど油性基剤からの透過性評価についての報告はほとんどない。

Purpose

本研究では、3次元培養ヒト皮膚モデルおよび抽出ヒト皮膚を用いて、有効成分および剤形の異なる医薬部外品の *in vitro* 透過試験を実施した。

それぞれの透過試験で得られた有効成分の透過パラメータを比較することで、3次元培養ヒト皮膚モデルが抽出ヒト皮膚の代替膜として使用できるかを検討した。

Methods

モデル有効成分(医薬部外品)

有効成分	構造式	分子量	CLogP*1	剤形
トラネキサム酸 (TXA)		157	-2.0	化粧水 or 乳液 or クリーム
コウジ酸 (KA)		142	-0.9	
ニコチン酸アミド (NA)		122	-0.4	
4-ブチルレゾルシノール (BR)		166	2.4	

*1 PubChemより参照。

In vitro 透過試験法

<試験条件>

	3次元培養ヒト皮膚モデル (LSE-high)	抽出ヒト皮膚*2
由来	男性, 新生児, 包皮	白人女性*3, 38歳~53歳, 腹部
皮膚表面温度	32 °C	
適用量	100 or 200 µL	500 µL
有効透過面積	0.79 cm ²	1.77 cm ²
レシーバー溶液	pH7.4 PBS or 40% PEG	
透過試験時間	2 or 12 h	26 h
濃度測定	HPLC or LC/MS	

*2 抽出ヒト皮膚を用いた *in vitro* 透過試験は、城西大学にて実施し、得られた透過係数のみを記載した。

*3 ダーマトーム処理後の皮膚を使用(皮膚厚: 430~470 µm)。

<LSE-highの拡散セルへのセット方法*4>



*4 詳細なセット方法は、展示ブースでビデオを上映しますので、是非お立ち寄りください。

評価法

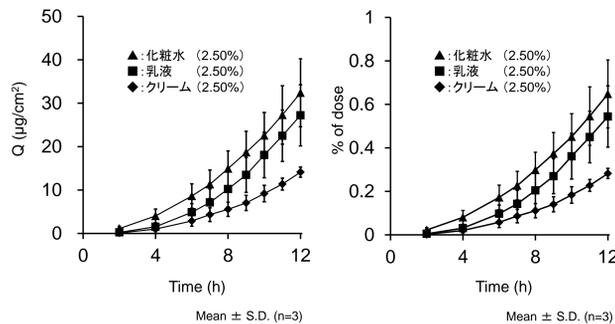
LSE-highまたは抽出ヒト皮膚を介した各有効成分の、種々剤形からの Lag time, 透過速度 (Flux), 累積透過量 (Q) および透過係数 (P) を算出し、比較した。

●LSE-highを介した有効成分のFluxは、製剤適用後に得られた透過プロファイルの0.5~2時間目 (KA, NA, BR), 10~12時間目 (TXA) の連続3点により算出した。一方、抽出ヒト皮膚では、製剤適用後6時間目以降の連続3点を用いて算出した。

●Pは、Fluxを製剤中有効成分の濃度で除して算出した。

Results-1 (LSE-high)

① トラネキサム酸 (TXA)

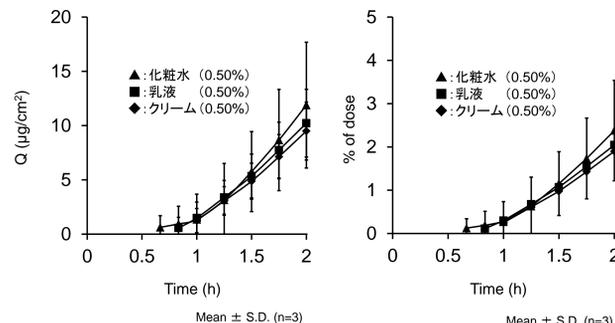


	Lag time (h)	Flux (µg/cm ² /h)	Q _{12h} (µg/cm ²) (CV%)	P (cm ² /s)
化粧水	5.31 ± 0.30	4.92 ± 1.25	32.4 ± 7.82 (24.1%)	5.39 × 10 ⁻⁸ ± 1.53 × 10 ⁻⁸
乳液	6.07 ± 0.54	4.57 ± 1.00	27.2 ± 7.05 (25.9%)	5.08 × 10 ⁻⁸ ± 1.11 × 10 ⁻⁸
クリーム	6.05 ± 1.47	2.47 ± 0.39	14.1 ± 1.17 (8.3%)	2.69 × 10 ⁻⁸ ± 4.99 × 10 ⁻⁹

●Flux, Q_{12h}およびPは、クリーム<乳液<化粧水の順となり、剤形による違いを認めた。

●3剤形のQ_{12h}のCV%は、8.3%~25.9%であり、化粧水, 乳液のバラツキが大きかった。

② コウジ酸 (KA)

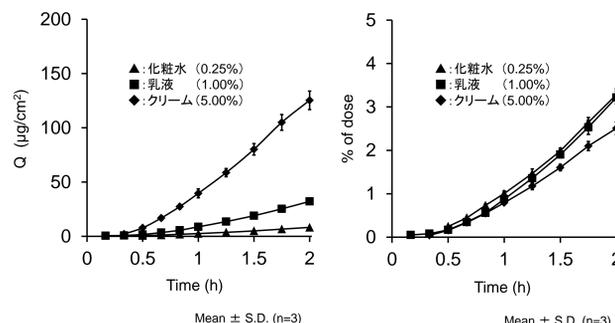


	Lag time (h)	Flux (µg/cm ² /h)	Q _{2h} (µg/cm ²) (CV%)	P (cm ² /s)
化粧水	1.06 ± 0.13	12.3 ± 4.27	11.9 ± 5.76 (48.3%)	6.83 × 10 ⁻⁷ ± 2.37 × 10 ⁻⁷
乳液	0.97 ± 0.08	9.74 ± 2.18	10.2 ± 3.12 (30.5%)	5.41 × 10 ⁻⁷ ± 1.21 × 10 ⁻⁷
クリーム	0.98 ± 0.08	9.24 ± 2.04	9.54 ± 2.70 (28.3%)	5.13 × 10 ⁻⁷ ± 1.13 × 10 ⁻⁷

●Flux, Q_{2h}およびPは、3剤形ともに同程度であった。

●3剤形のQ_{2h}のCV%は、28.3%~48.3%であり、化粧水のバラツキが最も大きかった。

③ ニコチン酸アミド (NA)



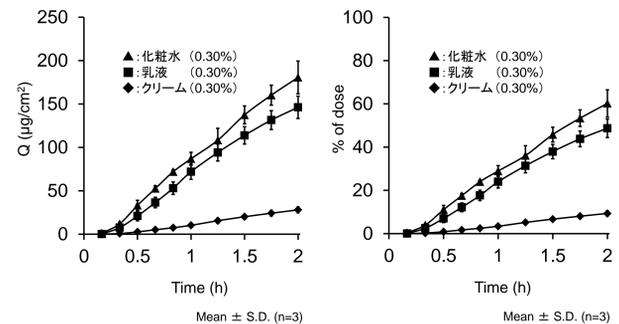
	Lag time (h)	Flux (µg/cm ² /h)	Q _{2h} (µg/cm ²) (CV%)	P (cm ² /s)
化粧水	0.47 ± 0.04	6.48 ± 1.14	8.21 ± 0.37 (4.5%)	7.20 × 10 ⁻⁷ ± 1.27 × 10 ⁻⁷
乳液	0.82 ± 0.08	26.3 ± 1.50	32.2 ± 1.49 (4.6%)	7.32 × 10 ⁻⁷ ± 4.16 × 10 ⁻⁸
クリーム	0.56 ± 0.03	90.4 ± 6.61	125 ± 8.53 (6.8%)	5.03 × 10 ⁻⁷ ± 3.67 × 10 ⁻⁸

●Flux, Q_{2h}は、剤形による違いを認めたが、Pでは認められなかった。

●3剤形のQ_{2h}のCV%は、4.5%~6.8%であった。

●FluxおよびQ_{2h}は、剤形によらず製剤中NA含有量にほぼ比例していた。

④ 4-ブチルレゾルシノール (BR)



	Lag time (h)	Flux (µg/cm ² /h)	Q _{2h} (µg/cm ²) (CV%)	P (cm ² /s)
化粧水	0.25 ± 0.02	116 ± 16.6	181 ± 18.8 (10.4%)	1.08 × 10 ⁻⁵ ± 1.54 × 10 ⁻⁶
乳液	0.26 ± 0.06	107 ± 13.6	146 ± 12.8 (8.8%)	9.87 × 10 ⁻⁶ ± 1.26 × 10 ⁻⁶
クリーム	0.29 ± 0.08	15.8 ± 1.72	28.0 ± 4.09 (14.6%)	1.47 × 10 ⁻⁶ ± 1.60 × 10 ⁻⁷

●Flux, Q_{2h}およびPは、クリーム < 乳液 < 化粧水の順となり、剤形による違いを認めた。

●3剤形のQ_{2h}のCV%は、8.8%~14.6%であった。

小括-1

●NAの結果より、LSE-highは、有効成分の含有量違いによる透過性の違いを評価できた。

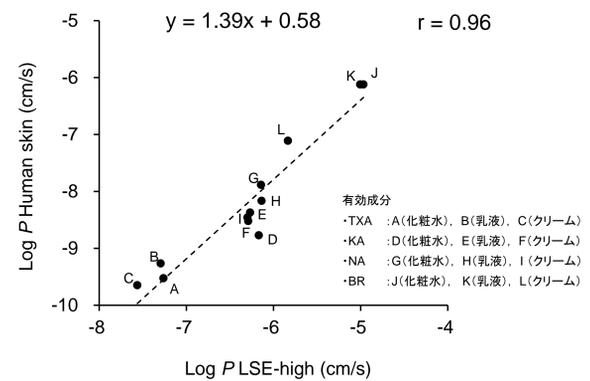
●TXA, BRの結果より、LSE-highは、剤形違いによる透過性の違いを評価できた。

●モデル有効成分4化合物の結果より、LSE-highは、有効成分の物性違いによる透過性の違いを評価できた。

●累積透過量のCV%より、LSE-highを用いた試験精度は、水溶性成分 (TXA, KA) ではバラツキが大きく(8.3%~48.3%)、両親媒性および脂溶性成分 (NA, BR) ではバラツキが小さかった(4.6%~14.6%)。

●LSE-highの試験精度は、抽出ヒト皮膚より高かった^{1, 2)}。

Results-2 (LSE-high vs 抽出ヒト皮膚)



小括-2

●LSE-highを介した有効成分の透過性評価は、抽出ヒト皮膚を用いた場合よりも短時間で可能であった。

●LSE-highを介した有効成分の透過係数は、抽出ヒト皮膚より高かった。

●LSE-highと抽出ヒト皮膚を介した有効成分の透過係数に、高い相関性が認められた。

Conclusion

●3次元培養ヒト皮膚モデルは、剤形違いや有効成分の物性違いによる透過性の違いを評価できると考えられた。

●3次元培養ヒト皮膚モデルを用いた透過試験は、抽出ヒト皮膚よりも短時間で高精度に評価できると考えられた。

●3次元培養ヒト皮膚モデルは、剤形や有効成分の物性が異なる場合でも、抽出ヒト皮膚と高い相関性を示した。

●以上より、3次元培養ヒト皮膚モデルは、抽出ヒト皮膚の代替膜として使用出来ることが示唆された。

Reference

- 1) Takeuchi H, et al., *Biol. Pharm. Bull.*, **34**, 555-561 (2011).
- 2) Takeuchi H, et al., *Exp. Anim.*, **60**, 373-384 (2011).