

[ノ - ト]

皮膚適用製剤の製剤試験法に利用可能なヒト皮膚代替膜としての 高分子人工膜の評価

木村聡一郎^a, 宮崎 香織^a, 三木涼太郎^a, 島村 剛史^a, 沼尻 幸彦^a, 関 俊暢^a,
従二 和彦^a, 北野 博巳^b, 上田 秀雄^a, 森本 雍憲^{*, a, c}
城西大学薬学部^a, 富山大学大学院理工学研究部^b, TTS技術研究所^c

Evaluation of an Artificial Polymer Membrane as a Human Skin Alternative Membrane Available for Formulation Tests of Transdermal Products

SOICHIRO KIMURA^a, KAORI MIYAZAKI^a, RYOTARO MIKI^a, TAKESHI SHIMAMURA^a, SACHIHIKO NUMAJIRI^a,
TOSHINOBU SEKI^a, KAZUHIKO JUNI^a, HIROMI KITANO^b, HIDEO UEDA^a and YASUNORI MORIMOTO^{*, a, c}

^a Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, 1-1 Keyakidai, Sakado, Saitama 350-0295, Japan,

^b Department of Applied Chemistry, Graduate School of Science and Engineering, University of Toyama, 3190
Gofuku, Toyama 930-8555, Japan,

^c Research Institute of TTS Technology, 1-1 Keyakidai, Sakado, Saitama 350-0295, Japan

(Received 4 November 2010; Accepted 24 January 2011)

Summary: An artificial polymer membrane consisting of polyethyleneglycol and methyl methacrylate units was prepared as a better alternative to predict the skin permeability of drugs in our previous report. The aim of this study was to determine whether the membrane is useful to evaluate skin permeability of drugs to transdermal products. Three tape formulations, three cataplasms, two cream formulations and two gel formulations containing ketoprofen (KP) were used as the model products and KP flux from each product across the membrane (J_M) was compared with the flux across human skin (J_S). In the formulations except for the gel formulations, J_M strongly correlated with J_S , although J_M were slightly higher than J_S . The effects of ethanol, as a typical pharmaceutical excipient in gel formulations, on swelling of the membrane and the KP permeability were examined to account for the discrepancy in the gel formulations. The increase in ethanol content led to the increases in the membrane swelling and the following enhanced KP permeability. Although further modification might be required for tolerability to pharmaceutical excipients such as alcohols formulation testing using well-modified artificial membranes will be useful to assess the quality and the bioequivalence of transdermal products in the future.

Keywords: artificial polymer membrane; *in vitro* permeation study; transdermal product; formulation test

先発医薬品に対する後発医薬品の生物学的同等性
や同一製剤間の品質の評価を目的とした医薬品の製
剤試験は、医薬品の有効性・安全性や品質を保証す
る極めて重要な情報を提供する。我が国では、2003

年に「局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物
学的同等性試験ガイドライン」が施行され、角層内
や角層下での作用を期待する製剤の生物学的同等性
評価においては、被験者を対象とした皮膚薬物動態
学的試験や薬物動態学的試験が適用される¹⁾。しか
し、開発段階初期のように試験の安全面を担保する
情報が乏しい段階においては、被験者を危険に曝す
可能性のある試験を実施することは困難である。そ

*〒350-0295 坂戸市けやき台 1-1
城西大学薬学部
TEL: 049-271-7685, FAX: 049-286-4477
E-mail: morimoto@josai.ac.jp

のため、研究・開発の早期段階において、製剤の有効性を簡便に評価できる試験法は非常に有用である。一方、製剤の品質評価を目的として *in vitro* 放出試験や動物皮膚を用いた *in vitro* 透過試験が広く行われている。これらの試験は必ずしも製剤の効果を保証するものではないが、特に *in vitro* 透過試験はヒト皮膚透過性に類似した膜を用いることにより、透過した薬物量に基づいて早期段階の生物学的同等性の推定や品質評価に利用できると考えられる。

薬物の皮膚透過性を評価するためにヒト皮膚または動物皮膚が試験に供される。ヒト皮膚の入手は倫理面などの観点から困難であること、また動物皮膚を用いた場合には個体間変動によるデータのばらつき、さらにはヒト皮膚透過性へのスケールアップなどを考慮しなければならない²⁻⁴⁾。加えて、動物皮膚の使用は動物福祉の観点から避けるべきであり⁵⁾、欧州連合 (EU) においては 2009 年より実験動物を用いて試験した化粧品および化粧品原料の販売に対する広域禁止令⁶⁾が施行され、今後世界的に医薬品の試験における実験動物の使用に対する規制も厳しくなると予想される。そのため、皮膚適用製剤の製剤試験において、ヒト皮膚や動物皮膚に替わる人工膜を利用した試験法の構築が望まれる。

以前の検討で、我々は皮膚に親油性と親水性の 2 つの透過経路が存在すると仮定し⁷⁻⁹⁾、ヒト皮膚代替人工膜の開発を検討してきた⁹⁻¹¹⁾。親油性モノマーとしてメチルメタクリレート (MMA) およびグリシジルメタクリレート (GMA)、親水性ポリマーとしてポリエチレングリコール鎖を含有する重合開始剤 (VPE-0601) を用い、MMA : GMA : VPE-0601 の仕込み比を 75 : 5 : 20 として合成した高分子から調製した人工膜を用いたところ、極性の異なる 9 種の化合物の水溶液からの透過性がヒト皮膚透過性と類似することを示した¹⁰⁾。このような高分子人工膜の皮膚適用製剤の試験への利用は、試験実施を容易にするばかりでなく、試験の精度を高めることも期待できる。

本検討では、先に報告した高分子人工膜を介した皮膚適用製剤からの薬物皮膚透過性を評価し、製剤試験に対する高分子人工膜の有用性と問題点を考察した。モデル製剤として、ケトプロフェン (KP) を含有するテープ剤 (3 種)、パップ剤 (3 種)、クリーム剤 (2 種)、およびゲル剤 (2 種) を選択し、各

種皮膚適用製剤からのヒト皮膚および高分子人工膜を介した薬物の透過速度を比較した。

実験の部

1. 試料

VPE-0601, MMA, GMA および KP (MW; 254.3) は和光純薬工業株式会社 (大阪) より購入した。KP を 2% 含有するテープ剤 A, B (Ta-A, Ta-B) および 2.86% 含有するテープ剤 C (Ta-C), 0.3% 含有するパップ剤 A, B, C (Ca-A, Ca-B, Ca-C), 3% 含有するクリーム剤 A, B (Cr-A, Cr-B), および 3% 含有するゲル剤 A, B (Ge-A, Ge-B) は、それぞれ各製薬会社から購入した。ヒト皮膚は特定非営利活動法人エイチ・エー・ビー研究機構 (東京) より購入した。その他の溶媒および試薬は市販の特級品を用いた。

2. 高分子人工膜の調製法

高分子合成および高分子人工膜の調製は前報と同様に行った¹⁰⁾。すなわち、共栓試験管に VPE-0601, MMA および GMA をそれぞれ 2.25 g, 6.75 g および 0.45 g ずつ量りとり、トルエン 30 mL と適量のクロロホルムを加えて溶解した。溶解後、強化硬質全自動共栓試験管を三方活栓で密閉して酸素ラジカルの発生の原因となる酵素を除去するために凍結融解を 3 回繰り返した。その後、80°C の水浴中で攪拌しながら 24 時間インキュベートして反応を完了させた。反応終了後、貧溶媒である約 500 mL のメタノールに反応物を少しずつ滴下して合成高分子の沈殿物を得た。得られた合成高分子をろ取した後、一晩かけて減圧乾燥した。合成した高分子を 0.1 g/mL となるようにクロロホルムに溶解し、室温、13,400 rpm で 5 分間遠心分離した。上澄み液約 800 μ L をガラス板に敷いたポリエチレンテレフタレートフィルム上に滴下し、キャスト法によって約 10 μ m の厚さに製膜した。室温で 1 時間乾燥した後、さらに 100°C で 1 時間乾燥し、調製した高分子人工膜は実験に使用するまでデシケーター内で保存した。

3. ヒト皮膚の調製

ヒト皮膚は使用するまで -80°C で保存し、使用前に室温で解凍した。真皮側からハサミでカットし、厚みを約 600 μ m に調整した。その後、縦型拡散セル¹²⁾ (有効透過面積; 0.95 cm²) にマウントし、真

皮側チャンバー内を pH 7.4 リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で満たして、一晚攪拌洗浄後に実験に用いた。

4. 製剤からの薬物透過試験

高分子人工膜あるいは真皮側を一晚洗浄したヒト皮膚を縦型拡散セルにマウントし、上部の角層側チャンバーの設置に際し各製剤を適用した。すなわち、パップ剤およびテープ剤は直径 1.3 cm に切り取った製剤を膜上に適用した後に上部チャンバーを設置し、クリーム剤およびゲル剤の場合では上部チャンバー設置後に 1.2 g を膜上 0.95 cm² に適用した。真皮側チャンバー内を PBS (2.6 mL) で満たして攪拌し、拡散セル内の温度は 32°C に保った。経時的に真皮側溶液 (0.25 mL) を採取し、同量の 32°C の新鮮な PBS を真皮側チャンバーに加えた。採取したサンプル中の KP 濃度を HPLC により定量した。透過した薬物の累積量を時間に対してプロットし、累積透過量-時間プロファイルの直線部分より定常状態 flux (J) を得た。

5. エタノール/PBS 混合液における人工膜膨潤試験, KP 溶解度測定および KP 透過試験

膨潤試験では、PBS あるいはエタノール/PBS 混合液 (5, 10 および 30%) 中にあらかじめ重量を測定した高分子人工膜 (1 cm×1 cm) を浸し、32°C の水浴中で 24 時間インキュベートした。その後、高分子人工膜表面に付着している液体を拭き取り、重量を測定した。各種溶媒でインキュベート後に増加した重量の割合を膨潤率として求めた。

溶解度測定では、エタノール/PBS 混合液中に KP を過剰に加え、懸濁させた状態で 32°C の水浴中で 12 時間攪拌した。懸濁液は、遠心ろ過ユニット Ultrafree-MC (0.2 μm) (Milipore Co., MA, USA) を用いてろ過した。ろ液を適切に希釈した後、その濃度を HPLC により測定し、希釈倍率を乗ずることにより溶解度を求めた。

透過試験では、人工膜を 2-チャンバー横型拡散セル¹³⁾ (有効透過面積; 0.95 cm²) にマウントし、PBS あるいはエタノール/PBS 混合液 (5, 10 および 30%) で調製した KP 懸濁液をドナー側に適用した。薬物透過性に対する溶媒牽引効果の影響を除くためにドナー液と同じ組成の混合溶媒をレシーバー側に用いた。スターヘッド型攪拌子を入れてマグネティックスターラーにて攪拌した。実験中の拡散セ

ル内の温度は 32°C に保った。経時的にレシーバー溶液を採取し、同量のレシーバー液を加えて容量を保った。採取したサンプルを適宜希釈して HPLC にて KP 濃度を測定した。前述のように J を求め、ドナー溶液における透過物質の飽和溶解度で J を除すことにより標準化し、みかけの透過係数 (P) を得た。

6. KP の定量

KP の定量は HPLC (送液ユニット: LC-10AS, 検出器: SPD-10A, システムコントローラー: SCL-6B, オートインジェクター: SIL-6B, 株式会社島津製作所, 京都) を用いて行った。カラムは Inertisil C18 (4.6×2.5 mm, 5 μm, ジーエルサイエンス株式会社, 東京) を使用し、温度 40°C, 流速 1.5 mL/min, 波長 230 nm, 移動相 0.1% リン酸: アセトニトリル = 60:40, 内部標準物質 5 μg/mL エチルパラベンを用いて定量した。

7. 統計解析

各実験データは平均値±標準偏差で示し、2 群間および多群間の比較はそれぞれ Student *t*-test および Tukey test により検定した。なお、統計学的有意差は $p < 0.05$ とした。

結果および考察

テープ剤, パップ剤, クリーム剤, およびゲル剤における個々の製剤からの高分子人工膜およびヒト皮膚を介した KP の J 値 (J_M and J_S), およびその平均値の比 (J_M/J_S 比) を Table I に示す。

テープ剤では、3 製剤すべてにおいて J_M の方が J_S に比べて高い傾向を示したが、 J_M/J_S 比は 1.21~2.71 であった。また、Ta-A および Ta-B における J_S は Ta-C の場合に比べて有意に高い透過性を示したが ($p < 0.05$), J_M においては統計学的に有意な差は認められなかった。 J_M および J_S のランクオーダーは、いずれも Ta-A>Ta-B>Ta-C で一致していた (Table I)。

パップ剤においてもテープ剤と同様に、個々の製剤において J_M は J_S よりも高値を示し、 J_M/J_S 比は 2.33~3.76 だった。 J_M と J_S のランクオーダーは、テープ剤の場合と一致し (Ca-A>Ca-B>Ca-C), さらに Ca-A の J_M は Ca-B および Ca-C の場合に比べて有意に大きく ($p < 0.05$), この結果は J_S で認められた関係性と一致していた (Table I)。

TABLE I. Ketoprofen Flux and Flux Ratio from Each Formulation through the Artificial Polymer Membrane and Excised Human Skin.

		J_M ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$)	J_S ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$)	J_M/J_S
Tapes	Ta-A	7.49 ± 2.28	$6.21 \pm 1.12^\#$	1.21
	Ta-B	6.56 ± 0.93	$5.06 \pm 0.86^\#$	1.30
	Ta-C	4.50 ± 2.56	1.66 ± 0.46	2.71
Cataplasms	Ca-A	$2.68 \pm 0.66^{*,\dagger}$	$1.15 \pm 0.43^\S$	2.33
	Ca-B	1.07 ± 0.61	0.38 ± 0.13	2.82
	Ca-C	0.981 ± 0.557	0.261 ± 0.099	3.76
Creams	Cr-A	$6.92 \pm 1.45^*$	3.86 ± 0.70	1.79
	Cr-B	5.58 ± 2.23	3.58 ± 1.27	1.56
Gels	Ge-A	$84.03 \pm 21.57^*$	18.24 ± 6.13	4.61
	Ge-B	$140.2 \pm 55.4^*$	12.54 ± 6.16	11.2

Data represent mean \pm S.D. ($n=3-4$). * $p < 0.05$ versus J_S obtained from same product, $^\# p < 0.05$ versus J_S obtained from Ta-C, $^\S p < 0.05$ versus J_S obtained from Ca-B and Ca-C, respectively, $^\dagger p < 0.05$ versus J_M obtained from Ca-B and Ca-C, respectively.

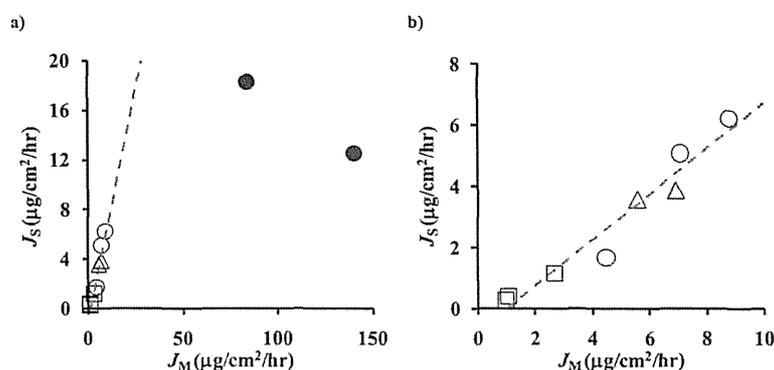


Fig. 1. Relationship between J_M and J_S in Four Formulations Including Gel Formulation (a), and in Tape, Cataplasm, and Cream Formulations (b).

Open circles, tape formulations; open squares, cataplasms; open triangles, cream formulations; solid circles, gel formulation; dotted lines, regression lines without data from gel formulation ($y = 0.744x - 0.731$, $r = 0.973$, $p < 0.01$).

また、クリーム剤においても J_M は J_S より高く、 J_M/J_S 比は 1.56~1.79 とテープ剤やパップ剤で得られた比よりも低い値を示した (Table I)。

一方、ゲル剤では Ge-A および Ge-B の両者において J_M が J_S よりも有意に大きく、 J_M/J_S 比 (4.61~11.2) は他の 3 剤形に比べて著しく大きかった。また、 J_M と J_S の間のランクオーダーも一致しなかった (Table I)。

Fig. 1a は、4 剤形全ての製剤の J_M に対する J_S のプロットを示している。ゲル製剤 2 剤形の J_M および J_S は他の剤形の結果と比較して高く (Table I)、これらのプロットは他の剤形で得られたプロットから明らかに外れていた。そのため、ゲル基剤成分が

ヒト皮膚および高分子人工膜における KP 透過に影響を及ぼしていると考えられた。ゲル剤を除く 3 剤形 8 剤形の J_M と J_S の間における相関性を検討した結果、有意な相関 ($r = 0.973$, $p < 0.01$) が認められた (Fig. 1b)。このことから、本研究の高分子人工膜を透過試験に用いることによってテープ剤、パップ剤、およびクリーム剤からの薬物のヒト皮膚透過性を予測できる可能性が示唆された。一方、ゲル剤 2 剤形の結果は Fig. 1a の点線で示す回帰直線から大きく右側に外れていたことから、ヒト皮膚に比べて高分子人工膜において、KP 透過に対するゲル基剤成分の影響を受けやすいものと考えられた。

一般的にクリーム剤やゲル剤などの半固形製剤

は、基剤の特性を活かすことで経皮吸収性を高めている¹⁴⁾。クリーム剤のような乳剤性基剤は、主薬の配合性や使用感が良いことに加えて、経皮吸収促進作用も期待できる非イオン性界面活性剤をはじめとする様々な添加剤が含まれている¹⁵⁾。これら添加剤は膜に対して何らかの作用を及ぼし、その影響は膜の種類によって異なると考えられる。本研究において、Cr-AおよびCr-Bを適用した時の J_M と J_S が近似していたことは、各クリーム剤の高分子人工膜に対する作用がヒト皮膚に対する影響とほぼ等しかったと考えることができ、この高分子人工膜はクリーム剤の薬物吸収の予測にも利用可能であると思われた。一方、ゲル剤は、水とよく混和するアルコール類やグリコール類の溶剤に親水性高分子を加えて半固形状にした製剤であり、主薬の溶解性や吸収性を高めるために高濃度のアルコールが配合されていることもある¹⁶⁾。このアルコール類やグリコール類が、ゲル剤における J_M と J_S が一致しなかった原因と考えられたため、高分子人工膜の膨潤およびKPの透過性に対するエタノールの影響を検討した。溶媒中のエタノール含量が異なる時の高分子人工膜の膨潤およびKPの透過性をFig. 2に示す。膨潤率およびKPの P 値は、溶媒中のエタノール含量の増加に伴って増大し、エタノール含量30%の条件下ではエタノール含量の低い他の3条件に比べて有意に増大した(Fig. 2a, b)。また、KPの P 値は膜の膨潤率に依存して増大した(Fig. 2C)。Ge-Aは35%のエタノールを含有するとされ、Fig. 2Cの関係からその J_M の増大はゲル基剤中に含まれるアルコール成分による膨潤に起因するものと考えられた。一方、ヒト皮膚でもゲル基剤中に含まれるエタノールが皮膚のバリア能を低下させて経皮吸収促進効果をもたらすと考えられ¹⁷⁾、ゲル剤の J_M が J_S よりも高かった一因としてヒト皮膚に比べて高分子人工膜においてKP透過に対するエタノールの影響を受けやすいものと考えられた。しかし、今回試験したゲル剤には、エタノールの他に多種の溶剤や添加剤が用いられており、 J_M と J_S の低い相関の原因についてはさらなる検討が必要である。

半固形製剤は多くの添加剤を含有しているため、薬物透過性に対するそれら添加剤の影響が高分子人工膜とヒト皮膚でどの様に異なるかを十分検討することは重要である。Yamaguchiらは以前に poly

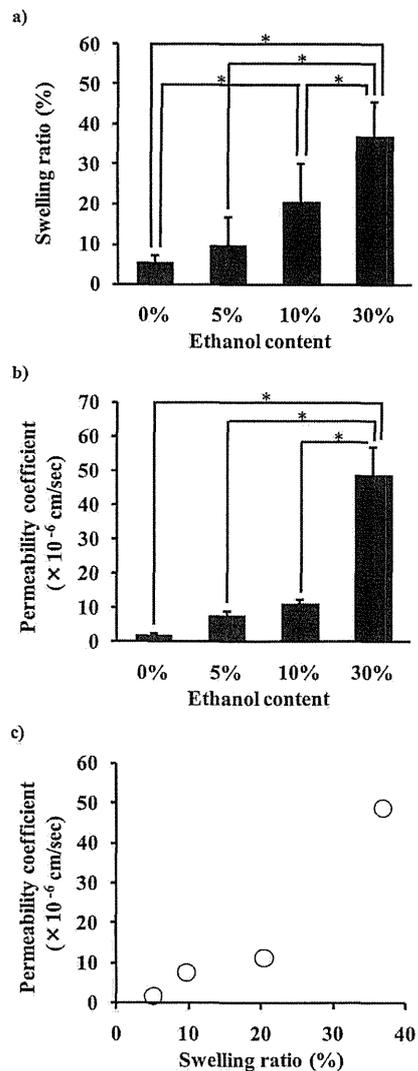


Fig. 2. Effect of Ethanol Content on Swelling Characteristic (a) and Ketoprofen Permeability (b) of Alternative Artificial Membrane and Relationship between Swelling Characteristic and Ketoprofen Permeability (c).

Data represent mean \pm S.D. ($n=3-9$). Asterisk indicates statistically significant difference at $p < 0.05$.

2-hydroxymethacrylate/polydimethyl siloxane poly-methacrylate 共重合体膜を介したインドメタシンのクリーム剤およびゲル剤からの透過性が、ヒト皮膚よりも約100倍高いことを報告しており、膜に対する添加剤の作用の違いが関係していることが示唆されている¹¹⁾。このように市販の製剤からの薬物透過性を高分子人工膜で評価するためには、添加剤の影響が少ないもしくはそれがヒト皮膚と同等である高分子人工膜を用いて検討する必要がある。本検討において用いた高分子人工膜では、クリーム剤およびゲル剤の J_M/J_S 比はそれぞれ1.56~1.79および

4.61~11.2であり、クリーム剤のデータに対する一貫性はテープ剤およびパップ剤同様高いが、ゲル剤に対しては低いと考えられる。

また、ゲル剤のみならず、他の剤形においてもエタノールのようにヒト皮膚および高分子人工膜に対して作用の異なる添加剤を含む場合には同様の問題を生じる可能性が考えられる。そういった製剤からの透過性評価に対しても適用できる高分子人工膜を調製するためには、今後、耐溶媒性などについてさらなる改良を加える必要があり、それによって、ヒト皮膚代替物として *in vitro* 試験法に適用できる有望な高分子人工膜になり得ると思われる。

結 論

前報において、9種の薬物についてヒト皮膚と同等の薬物透過性を示した高分子人工膜を用いて、各種製剤からのヒト皮膚透過性を予測するための *in vitro* 透過試験法への利用の可能性について検討した。その結果、テープ剤、パップ剤およびクリーム剤では J_M と J_S のランクオーダーが一致し、さらに J_M と J_S の間に良好な相関が認められた。一方、ゲル剤に多く含有されるアルコールのような製剤添加剤がヒト皮膚透過性との相関性に影響することが明らかとなった。そのことから、用いた高分子人工膜は、ヒト皮膚での薬物皮膚透過性に対する影響が少ないもしくはそれが高分子人工膜と同等な添加剤を含んでいる場合には、製剤からの薬物透過性評価に利用できることが示唆された。今後、種々添加剤の高分子人工膜に対する影響を検討し、高分子人工膜を改良することにより、皮膚適用製剤の *in vitro* 透過試験に利用可能な皮膚代替膜として提案できることが期待できる。

引 用 文 献

- 1) 薬食審査発第0707001号, “局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性ガイドライン”(2003).
- 2) M. J. Bartek, J. A. LaBudde, H. I. Maibach, Skin permeability *in vivo*: Comparison in rat, rabbit, pig and man, *J. Invest. Dermatol.*, **58**, 114–123 (1972).
- 3) V. M. Meidan, C. S. Roper, Inter-and intra-indi-

vidual variability in human skin barrier function: A large scale retrospective study, *Toxicol. In Vitro*, **22**, 1062–1069 (2008).

- 4) F. K. Akomeah, G. P. Martin, M. B. Brown, Variability in human skin permeability *in vitro*: Comparing penetrants with different physicochemical properties, *J. Pharm. Sci.*, **96**, 824–834 (2007).
- 5) W. M. S. Russell, The development of the three Rs concept, *Altern. Lab. Anim.*, **23**, 298–304 (1995).
- 6) European Commission, Directive 2003/15/EC of The European Parliament and of the Council of 27 February 2003, amending Council Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the member states relating to cosmetic products, *Official J. Eur. Union*, L 66, 26 (2003).
- 7) Y. Morimoto, T. Hatanaka, K. Sugibayashi, H. Omiya, Prediction of skin permeability of drugs: Comparison of human and hairless rat skin, *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 634–639 (1992).
- 8) T. Hatanaka, E. Manabe, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, An application of the hydrodynamic pore theory to percutaneous absorption of drugs, *Pharm. Res.*, **11**, 654–658 (1994).
- 9) T. Hatanaka, M. Inuma, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, Prediction of skin permeability of drugs. I. Comparison with artificial membrane, *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 3452–3459 (1990).
- 10) R. Miki, S. Kimura, H. Ueda, T. Shimamura, S. Numajiri, T. Seki, K. Juni, H. Kitano, Y. Morimoto, Suitability of synthetic copolymer membranes as a human skin alternative for *in vitro* skin permeation testing, *AATEX*, **15**, 14–27 (2010).
- 11) Y. Yamaguchi, T. Usami, H. Natsume, T. Aoyagi, Y. Nagase, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 537–541 (1997).
- 12) K. Sugibayashi, H. Todo, T. Oshizaka, Y. Owada, Mathematical model to predict skin concentration of drugs: Toward utilization of silicone membrane to predict skin concentration of drugs as an animal testing alternative, *Pharm. Res.*, **27**, 134–142 (2010).
- 13) M. Okumura, K. Sugibayashi, K. Ogawa, Y. Morimoto, Skin permeability of water-soluble drugs, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 1404–1406 (1989).
- 14) 山本将文, 主な基剤とその特徴, *薬局*, **53**, 2664–2672 (2002).
- 15) 片山雅英, 添加物の基礎知識, *薬局*, **53**, 2721–2731 (2002).
- 16) 齋藤 泉, 外用剤と添加物, *医薬ジャーナル*, **36**, 2785–2790 (2000).
- 17) A. H. Ghanem, H. Mahmoud, W. I. Higuchi, P. Liu, W. R. Good, The effects of ethanol on the transport of lipophilic and polar permeants across hairless mouse skin: Methods/validation of a novel approach, *Int. J. Pharm.*, **78**, 137–156 (1992).