

パップ剤の製剤評価法に関する研究

～化学物質の経皮吸収試験の考え方
を盛り込んだ製剤評価法の開発～

甲第32号

島村 剛史

パップ剤の製剤評価法に関する研究

～化学物質の経皮吸収試験の考え方
を盛り込んだ製剤評価法の開発～

島村 剛史

目次

総論の部

緒言	・・・	1
第1編 人工汗を用いたパップ剤の品質評価	・・・	5
第1章 パップ剤の放出試験法の構築	・・・	6
第1節 パップ剤の膨潤機構とその抑制方法	・・・	7
第2節 放出液の選択方法	・・・	10
第3節 装着デバイスと放出液量の設定	・・・	12
第2章 人工汗を用いたパップ剤の薬物放出性評価	・・・	14
第1節 インドメタシン製剤の放出試験	・・・	15
第2節 ケトプロフェン製剤の放出試験	・・・	17
第3節 フルルビプロフェン製剤の放出試験	・・・	19
第3章 本編の小括ならびに考察	・・・	21
第2編 人工膜を介したパップ剤からの薬物透過性評価	・・・	23
第1章 ヒト皮膚の透過性を模倣した人工膜の開発	・・・	24
第1節 高分子の調製と物性評価	・・・	25
第2節 人工膜の調製と物性評価	・・・	27
第3節 人工膜の薬物透過性の評価	・・・	30
第2章 高分子人工膜を介したパップ剤の薬物透過性評価	・・・	35
第3章 本編の小括ならびに考察	・・・	38
結論	・・・	40
謝辞	・・・	42

実験の部

第1編 実験の部 . . . 43

第2編 実験の部 . . . 46

引用文献 . . . 50

総論の部

緒言

医薬品の製剤試験は、同一製剤の品質管理および先発医薬品に対する後発医薬品の同等性評価を行うために極めて重要である。この製剤試験には、溶出試験、崩壊試験、粘着性試験など数多くの種類が規定されており、それぞれの医薬品について適切な試験法が適応されている。加えて、これらの試験法による評価が、有効な医薬品の品質と適正な医薬品の供給を保証している。錠剤やカプセル剤などの内用固形製剤では、消化管での薬物吸収過程が律速段階となる状況を想定して、吸収部位に到達する薬物量を溶出試験で評価しており¹⁾、その結果が医療用医薬品品質情報集（日本版オレンジブック）に記載され、製剤の有用性について保証している。

一方、皮膚を介して薬物が吸収される皮膚外用剤では、角質層の透過が律速段階であるため、経皮吸収試験によってその品質および同等性が評価されてきた。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」（厚生労働省）が施行され²⁾、皮膚外用剤の評価法として用いられている。しかし、この方法は、ヒトボランティアに一定時間適用後、適用部位の角質層を粘着性のテープで数回、剥離し、角質層中薬物量を求め、その濃度勾配によって経皮吸収量を算出するものであり、精密ではあるものの、臨床試験に該当し、さらに、ヒトに対する侵襲性も少なからず有しているため、内用剤の溶出試験に匹敵する、より簡便で汎用性に富む皮膚外用剤のための製剤評価法の開発が期待されている。

上記のガイドラインに対し、経済開発協力機構（Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD）は、化粧品や農薬などに使用されている化学物質の安全性評価の観点から、*in vitro* 経皮吸収

Confidence level high

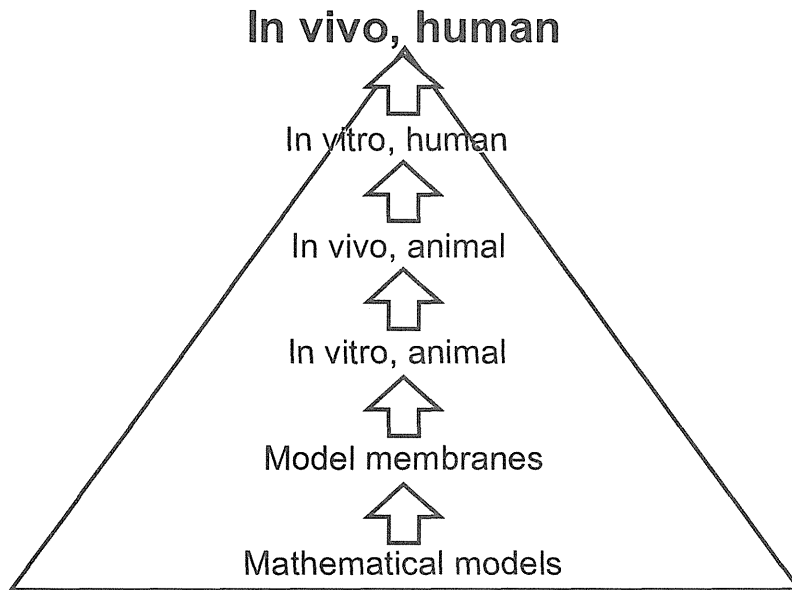


Fig. 1. Physiological hierarchy of methods for measuring percutaneous absorption.

試験ガイドラインを制定し、世界で標準的な試験法として認知されている³⁾。OECD は環境保健安全プログラムを定め、動物愛護の精神を考慮に入れた上での化学物質の試験および評価方法の確立を目指しており、さらに環境保護および国際調和についても考慮した試験法を提案している⁴⁾。ここに取り入れられている思想は、医薬品試験においても重要視されるべきであり、今後の製剤試験は動物愛護、環境保護を組み込み、かつ汎用性の高い方法で行うことが望ましい。この考えに加えて、具体的な経皮吸収評価法を階層化し、最も安価で安全な数学的モデルから、高価でリスクは高いものの、信頼性の高いヒト in vivo 試験の利用について検討されており⁵⁾、その結果を踏まえて、OECD ではヒト皮膚の利用を推奨している (Fig. 1)。しかし、我が国では、倫理的側面および供給面からこのようなヒト皮膚の利用は困難であり、その代わりとして動物皮膚を使用しているのが現

状である⁶⁾。このような状況の中で、皮膚外用剤の品質評価すなわち生物学的有用性に強く結び付く製剤評価法の確立を目的として、モデル製剤にパップ剤を選択し、検討を始めた。

パップ剤は経皮薬物送達システム(Transdermal Drug Delivery System, TDDS)であり、薬物送達システム(Drug Delivery System, DDS)の一つとして位置付けられている。すなわち、薬物の有効性と安全性さらには信頼性に関して高い保証を与えるために、薬物の放出や体内動態を制御し、薬物投与の最適化を目的とした製剤である^{7~10)}。DDSの中でも、TDDSは皮膚を投与経路として薬物を体内に送達するため、肝臓での初回通過効果を回避でき、消化管での副作用が少なく、必要に応じて容易に投与を中止できるといった利点がある^{11, 12)}。さらに、全身循環系に吸収されることなく皮膚の病巣部位へ直接薬物を送達し、皮膚内に留まることで薬効を示すこともできるため、経口投与と比べて効率的であり、有効性および安全性の面で注目されてきた^{13~16)}。

パップ剤は世界的に見て、外国に例のない日本特有の製剤であり、江戸時代の湿布薬から日本が育ててきた製剤である¹⁷⁾。このような背景から、パップ剤は日本文化の一部をなすものであると考えられ、その有用性から世界に向けて進出、拡大中である¹⁷⁾。近年、パップ剤は消炎鎮痛薬として、広く医療現場で使用される皮膚外用剤に成長した¹⁸⁾。本来、持続性の皮膚外用剤はその製剤自体が薬物の放出量を制御し、薬物吸収量をコントロールしていなければならないが、ほとんどの皮膚外用剤は角質層の透過が律速段階となり、薬物吸収量がコントロールされているため、経皮吸収試験では同一製剤のロット間の変動や、製造工程の変更による製剤の微妙な品質の変化は感知できない。それ故、同一製剤内の品質評価には放出試験が適している^{19, 20)}。放出試験は皮膚への分配・透過過程を含まず、媒質中の薬物の拡散、すなわちパップ基剤中の薬物拡散性で評価するため、簡便性や再現性を有しているが、品質や機能を評価する十分な方法は未だ確立されていない^{21~23)}。

これまでの報告においては、パップ基剤の高吸水性によって膨潤するため、パップ剤の品質評価には放出液として有機溶媒が用いられてきた²⁴⁾。

著者は、パップ剤をヒトに適用したとき、膨潤がほとんど起きないことをヒントに、汗の組成を出発点とした人工汗 (Artificial Sweat, AS) によって、膨潤回避が可能であると考え、AS を用いた放出試験法の開発とそれを用いた製剤評価を行い、試験法の有用性を検討した。

一方、パップ剤を含む皮膚外用剤からの薬物移行は皮膚と薬物の物性および基剤の相互作用に依存している^{25,26)}。そのため、パップ剤の生物学的有用性を評価できる最も単純な方法は経皮吸収試験と考えられており、一般に広く行われてきている¹⁶⁾。経皮吸収の律速段階は、皮膚最外層に存在する厚さ 10~20 μm の角質層であり、薬物透過に関して高いバリア能を示す^{27~30)}。その角質層の薬物透過性を模倣できる人工膜は、動物愛護の観点から現行の動物皮膚を用いた経皮吸収試験に代わる方法として理想的である^{31~33)}。加えて、均一性、再現性、経済性といった利点があることから、人工膜の開発は望まれている³⁴⁾。

そこで、著者は有機溶媒を使用しないこと、動物皮膚を用いないこと、および汎用性の高い試験機器を用いることを条件とした皮膚外用剤の製剤評価法に関する検討の中で、第 1 編で人工汗を用いたパップ剤の品質評価および第 2 編で人工膜を介したパップ剤からの薬物透過性を評価し、これらの検討結果を以下の 2 編に分けて論述するとともに、今後の製剤評価法への利用について考察する。

第1編 人工汗を用いたパップ剤の品質評価

パップ剤は、皮膚外用剤の中でも外国に例のない日本特有の製剤であり、国際的な試験法が構築されていないこと、および他の皮膚外用剤と比較して、基剤の膨潤により試験法の構築が難しいことを考慮し、選択した。非ステロイド性消炎鎮痛薬（Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs）を含有するパップ剤は繁用されている局所皮膚適用製剤であり、NSAIDs の投与剤形としてはすでに皮膚外用剤が経口剤の使用量を上回っている³⁵⁾。そこで、モデル製剤として、市販されているインドメタシン（IM）、ケトプロフェン（KP）およびフルルピプロフェン（FP）を含有する先発医薬品 9 種類および後発医薬品 10 種類を選択し、薬物放出性および膨潤性から製剤の品質を評価することとした。

上記の局所皮膚適用製剤のガイドラインには、「原則として、先発医薬品の 3 ロットについて、in vitro 放出試験を行い、中間の放出性を示すロットの製剤を標準製剤とする」と記載され、その標準製剤で生物学的同等性試験を行うことが定められていることから、放出試験は製剤試験として必須である^{36,37)}。放出試験は製剤から角質層への分配およびその透過過程を含まない、薬物の放出性のみを評価する方法である。水を用いて放出試験を行うと、パップ剤は強く膨潤し、放出面積の変化および製剤内での薬物拡散性の上昇によって、正確な製剤評価が困難となるため、これまで膨潤を抑制する目的で放出液としては有機溶媒が使用されてきた³⁸⁾。しかし、有機溶媒は環境汚染の原因となるため、水を改良した放出液を用いて試験を行うこととした。また、OECD ガイドラインでも組み込まれている International Conference on Harmonization (ICH) の国際調和の観点も念頭におき、試験装置は The United States Pharmacopeia 29 (USP 29) に収載されている溶出試験装置 7 種のうち、JP 14 の溶出試験装置と同一規格であり、国内で普及している装置 5 (Puddle over Disk) を使用し、放出試験法の確立を目指した³⁹⁾。

第1章 パップ剤の放出試験法の構築⁴⁰⁾

パップ剤は、通例、医薬品の粉末と精油成分を含むもので、泥状に製するか、または布状に展延形成して製した湿布に用いる外用剤である⁴¹⁾。パップ剤の基剤は大部分が水溶性高分子で構成され、それらが複雑に絡み合い、架橋を形成し、形態を保持している⁴²⁾。試験法構築に際し、放出液は水を基本とすることにしたが、パップ剤は水との接触により極めて強く膨潤する (Fig. 2)。そのため、放出液に水を用いて試験を行うと、パップ剤の膨潤に伴う放出面積の増加および製剤中の薬物拡散性の上昇によって放出プロフィールが変化し、結果の解析を難しくすることが予想される。また、装着デバイス内へ水が浸入することにより、パップ剤の放出面 (貼付面) 以外からの薬物放出が生じ、さらには放出液へ主薬成分が多量に放出される場合では、正確な薬物放出性を評価することができない⁴³⁾。パップ剤の放出試験を国際的なガイドラインに沿った形で確立するためには、以下の3つの課題を解決することが必要であり、

- ① 吸水による基剤の膨潤
- ② 貼付面以外 (バック側および側面) からの薬物放出
- ③ 薬物放出におけるシンク条件の確保

これらを解決することで、パップ剤の放出試験法が確立できると考えた。

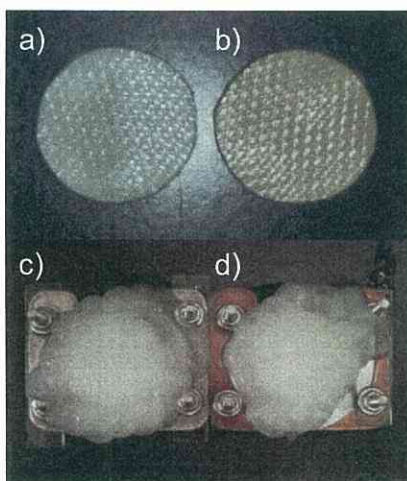


Fig. 2. Photographs of cataplasms before (a) and b)) and after (c) and d)) immersion to water.

第1節 パップ剤の膨潤機構とその抑制方法

NSAIDs 含有パップ剤は 1/3~1/4 の水を含み、ポリアクリル酸ナトリウム含有水溶性高分子を主な基剤とした保水性の高い製剤である。水に曝す前は高分子の長い鎖が互いに絡み合い、ところどころで架橋した三次元網目構造をとることで、全体として密につまっております。高分子中のカルボン酸ナトリウムは塩の形で安定に存在している。このイオン性基は水に曝すと、溶けようと広がり、イオン解離する。その結果、高分子鎖に結合しているカルボキシル基からナトリウムイオンが離れ、カルボキシルイオンどうしの静電的な反発が生じ、高分子鎖の網目は広がる。この広がった網目内に多くの水が取り込まれ、保持されることとなる (Fig. 3)。これらの網目構造内には、多くの正および負のイオンが存在するため、高浸透圧状態となり、系外の水はより多く網目中に浸入する。吸水した高分子では、水との親和力および浸透圧などの高分子内に水を取り込もうとする吸水力と、高分子の三次元網目構造に基づくゴム弾性力などの吸水作用を止めようとする力が働き、両者が均衡したところで安定する (Fig. 4) ⁴⁴⁾。

著者は、パップ剤をヒトに適用したとき、膨潤がほとんど生じないことをヒントに、汗の組成を出発点とした AS によって、膨潤回避が可能であると考えた。また、パップ剤の基剤として用いられているポリアクリル酸ナトリウムは、多価金属イオンで膨潤抑制効果が報告されていることから、カチオンを含んだ AS による膨潤抑制法を検討した ⁴⁴⁾。すなわち、AS はヒト汗成分のうち、主要なカチオンを組み合わせ、それぞれの濃度および pH を汗の中央値になるように設定した (AS(3), Table 1, 2) ⁴⁵⁾。

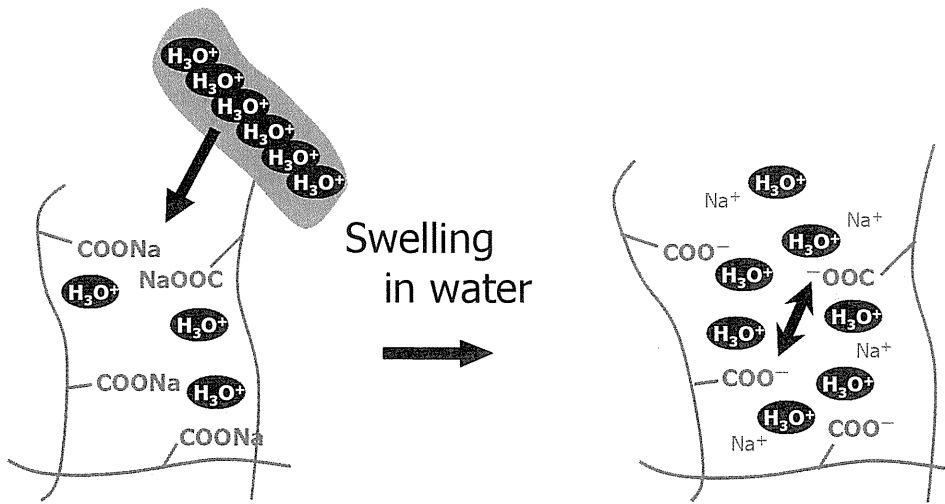


Fig. 3. Swelling of cataplasms in water.

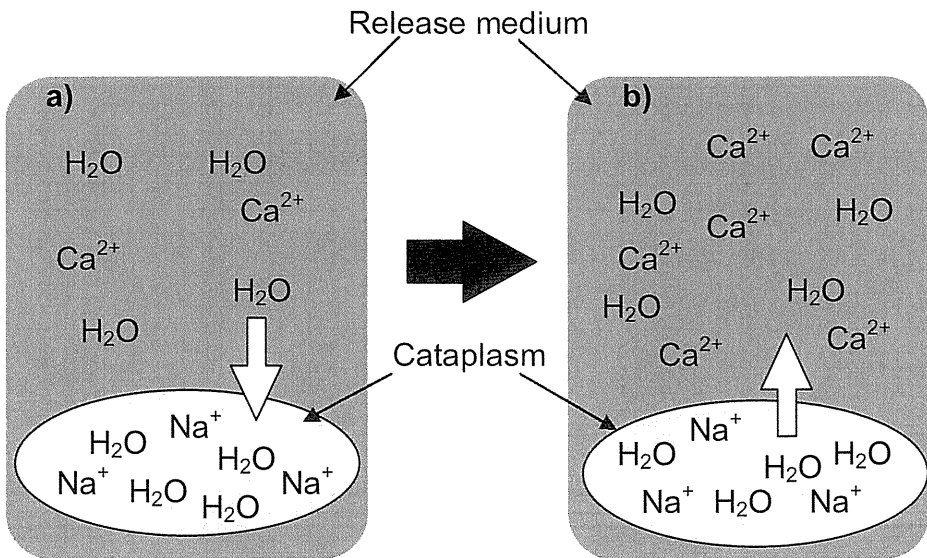


Fig. 4. Relationship between osmotic pressure in cataplasms and release medium.

- a): lower osmotic pressure in release medium
- b): higher osmotic pressure in release medium

Table 1. Composition of human sweat.

Cation	Content (meq/ml)	Anion	Content (meq/ml)
Na	9.7~94.1	Cl	0~65.1
Ca	0.2~6	P	0.003~0.014
K	4.3~10.7	S	0.022~0.231
Mg	0.03~4	Br	0.002~0.006
Fe	0.022~0.068	F	0.011~0.095
Cu	0.002	I	0.043~0.096
Mn	0.001~0.003		etc.
Zn	0.016~0.052		

pH of human skin surface 4.5~6.3

Table 2. Compositions of artificial sweat.

	AS(3)	AS(60)	AS(120)	AS(240)
NaCl	2.92	5.49	5.49	5.49
CaCl ₂	0.166 (3)	3.32 (60)	6.64(120)	13.28(240)
MgSO ₄	0.12	0.24	0.24	0.24
KH ₂ PO ₄	1.02	1.36	1.36	1.36
pH	5.4	4.5	4.5	4.5

unit : g/l

Numbers in parentheses indicate milliequivalents of calcium ion.

第2節 放出液の選択方法

AS(3)を放出液として使用した結果、ある程度の膨潤抑制効果は示したが、正確なパップ剤からの薬物放出を評価するには不十分であった。さらに、いくつかの製剤においては、その抑制作用が弱く、基剤中のイオンの反発は高分子の架橋および添加物などにより開発メーカー間で異なるため、パップ剤の製造工程あるいは同一製剤のロット間によって、膨潤速度および程度に差が生じる (Fig. 5)。そこで、ナトリウム、マグネシウム、カリウムを汗成分の上限値、および pH は下限値に設定し、水溶性高分子の膨潤に対して、最も高い抑制効果をもつカルシウムイオン濃度を製剤ごとに膨潤が抑えられるまで上昇させ、完全な膨潤抑制を試みた (Table 2)。膨潤は、イオン性基によって引き起こされるため、浸透圧、塩濃度および pH の変化によりその吸水性が変化する。放出液の金属イオン濃度を必要以上に高くすると、膨潤を抑制するだけでなく、パップ剤から水が放出されるとともに、溶解している薬物も放出される。そのため、膨潤を抑制でき、薬物放出に影響を及ぼさない放出液が必要であると考え、浸漬前と 12 時間浸漬後のパップ剤重量を測定し、重量変化率 (式 (1)) が 0.9~1.0 の間となるものを試験に用いる放出液 (AS(S)) とすることにした (Table 3)。

$$\text{The weight variation rate} = \frac{\text{The weight after the test}}{\text{The weight before the test}} \dots (1)$$

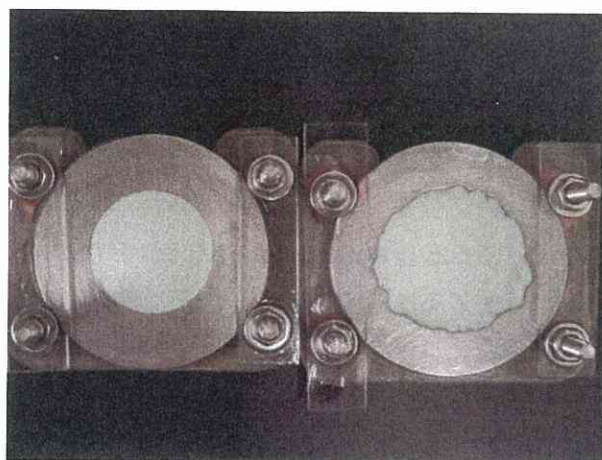


Fig. 5. Photographs of cataplasms immersed in AS(3).
Left: product C Right: product D

Table 3. Artificial sweat used as release medium.

Release medium	Indomethacin				Ketoprofen					Flurbiprofen									
	Brand name				Generic				Brand name		Generic			Brand name		Generic			
	A	B	C	D	I	II	III	IV	E	F	V	VI	VII	VIII	IX	G	H	I	X
AS(3)	3.51	3.02	2.68	4.69	3.60	3.26	3.50	3.55	3.90	3.18	C	3.57	3.19	C	C	C	5.78	5.74	3.43
AS(30)	2.25	1.34	1.40	—	1.25	1.24	1.13	1.34	1.44	1.13	1.52	1.42	0.97	—	1.34	1.62	1.18	—	1.63
AS(35)	—	—	—	—	0.99	0.93	0.99	0.99	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
AS(40)	1.26	0.98	1.11	—	—	—	—	—	1.05	0.95	1.33	0.93	—	—	—	0.95	1.35	—	1.16
AS(45)	—	—	—	—	—	—	—	—	0.96	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
AS(50)	1.02	—	1.01	—	—	—	—	—	—	—	1.13	—	—	—	—	—	1.23	—	0.93
AS(60)	0.96	—	0.90	1.32	—	—	—	—	—	—	0.94	—	—	1.05	1.19	—	1.11	—	—
AS(70)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.93	—	—	—	—	—
AS(80)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.97	1.20	—
AS(120)	—	—	—	1.16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.02	—	—	1.07	—
AS(140)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.98	—	—	—	—
AS(150)	—	—	—	1.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
AS(170)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.99	—
AS(240)	—	—	—	1.00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

C: collapse

n=1

第 3 節 装着デバイスと放出液量の設定

製剤を評価するための試験法はいかなる条件下でも同様の結果が得られなければならない⁴⁶⁾。すなわち、試験の簡便性、操作性、データの再現性、試験精度を考慮する必要がある。パップ剤からの薬物吸収は皮膚に貼付された面のみから生じるものであるが、放出試験液中に装着デバイスと共に沈めた場合、装着デバイスの密封性が不十分であると、バック側あるいは側面から薬物が放出される。そのため、パップ剤の放出試験法には装着デバイスの性能が非常に重要である。今回、USP の disk assembly を参考に、放出面以外での水分出納を生じないステンレス製の装着デバイスを作製した（ホルダー、Fig. 6）。これは円形のステンレス板の上にシリコン O-リングを乗せ、その内径に収まるようにパップ剤をマウントし、さらにステンレス O-リングでパップ剤を固定する方式である。ステンレス O-リングの内径はパップ剤の直径よりも 4 mm 短く、パップ剤の外周 2 mm が O-リングで押さえられる。次にこれらをアクリル板および金具を用いて固定した。このホルダーは放出面以外からの水分出納が無く、パップ剤の放出試験に理想的な装着デバイスであると思われる。

また、USP 29 の Release Test の項には「皮膚外用剤中の薬物全量が放出されたときの放出液中薬物濃度が溶解度の 1/3 以下になるように放出液量を設定する」と記載されている^{39, 43)}。そのため、AS(S)に対する薬物溶解度を測定し、それぞれの AS(S)中の薬物溶解度の 1/3 以下になっているかを検討した（Table 4）。放出液を 700 ml としたとき、KP および FP 製剤ではこの条件をクリアしていたが、IM 製剤は 1/3 どころか、薬物全放出量が溶解度を上回っていたため、放出面積が前述のホルダーの約 1/18 となる小ホルダーを使用することで試験薬物量を減らし、さらに、放出液量を装置の上限である 1000 ml とした（Fig. 6）。

これらの条件により、すべての製剤について OECD および USP の条件に適合する放出試験法を確立した。なお、試験に適用したパップ剤中薬物量は適用前の製剤における単位重量あたりの薬物量が明らかであることから、重量を測定し、比例計算で求めた。

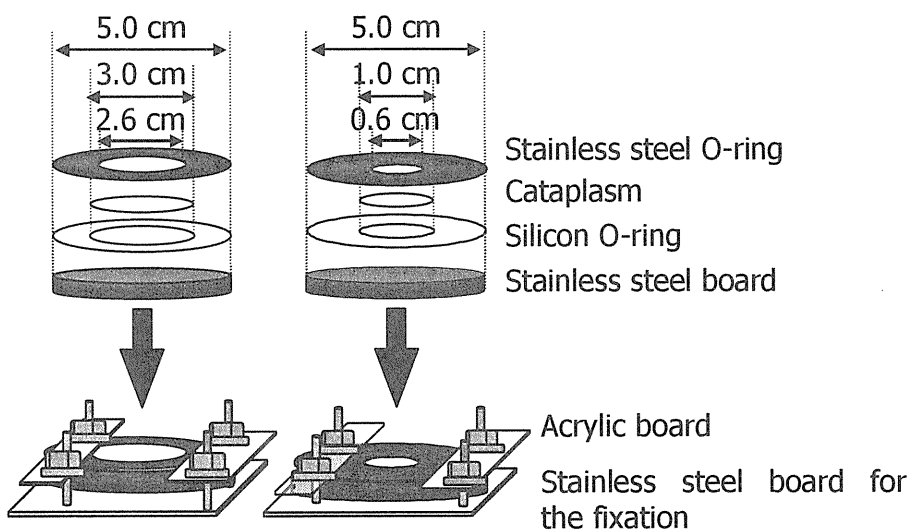


Fig. 6. Schematic diagram of holder assemblies designed for the cataplasms.

Left and right panels indicate large and small release area assemblies.

Table 4. The solubility and drug concentration in release medium.

Drug	Release medium	Solubility, Soly. (μ g/ml)	Drug concentration*, Cd (μ g/ml)	Cd/Soly.
Holder				
IM	AS(35)	3.09 ± 0.02	5.08 ± 0.11	1.64
	AS(240)	1.57 ± 0.14		3.24
KP	AS(30)	154.34 ± 1.82	2.17 ± 0.06	0.01
	AS(140)	155.61 ± 2.45		0.01
FP	AS(40)	27.33 ± 0.24	3.03 ± 0.14	0.11
	AS(170)	30.55 ± 0.36		0.10
Small holder				
IM	AS(35)	3.09 ± 0.02	0.55 ± 0.03	0.17
	AS(240)	1.57 ± 0.14		0.35

Solubility was determined at 32°C.

*: Estimated concentration of drugs in each release medium (700 ml) assuming complete drug release from the cataplastm.

第2章 人工汗を用いたパップ剤の薬物放出性評価⁴⁷⁾

試験装置は USP 29 に収載されている Puddle over Disk, 放出液およびパップ剤装着デバイスは, USP に記載されている条件を満たす量の各製剤に適した AS(S)およびホルダーを用いて放出試験を行った (Fig. 7). 先発医薬品と後発医薬品の品質評価はそれぞれの主薬成分別の製剤について検討し, 評価方法としては, USP を参考に 12 時間の放出率で最も高い値を示した先発医薬品の 95% 信頼区間 (t-検定) の上限値と最も低い値を示した先発医薬品の 95% 信頼区間の下限値の範囲に入るとき, 先発医薬品と後発医薬品の放出率に有意な差はないと判定した⁴⁸⁾.

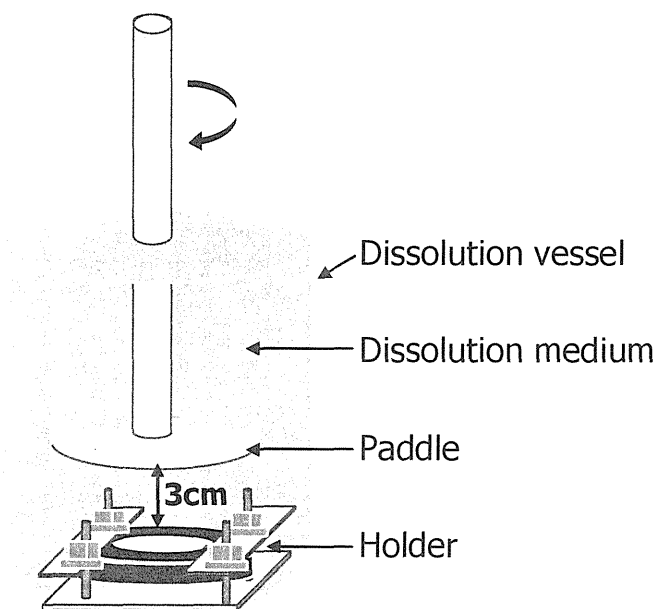


Fig. 7. Schematic diagram of Paddle over Disk for the cataplasms.

第1節 インドメタシン製剤の放出試験

IM 製剤の放出試験は USP の放出試験の条件をクリアするために、小ホールダーおよび放出液量 1000 ml を使用した。放出液はそれぞれ、製剤 A, C では AS(60), B では AS(40), E では AS(240), I, II, III, IV では AS(35) が重量変化率から AS(S) となり、これらを用いて 12 時間の放出試験を行った。先発医薬品 A~D の薬物放出率は 7.5 (D) ~14.6 (A) % であった (Fig. 8)。また、同様に I~IV の後発医薬品では 9.9 (IV) ~14.3 (I) % を示した (Fig. 9)。各先発医薬品で放出性が異なるため、上限と下限に幅は見られるが、後発医薬品の放出率はいずれも先発医薬品の 95% 信頼区間の上限値 (A) と下限値 (D) の放出プロファイルの範囲内に含まれ、有意な差は認められなかった (Fig. 10)。この結果から、後発医薬品は先発医薬品と変わらない放出性を示し、品質が保証された。

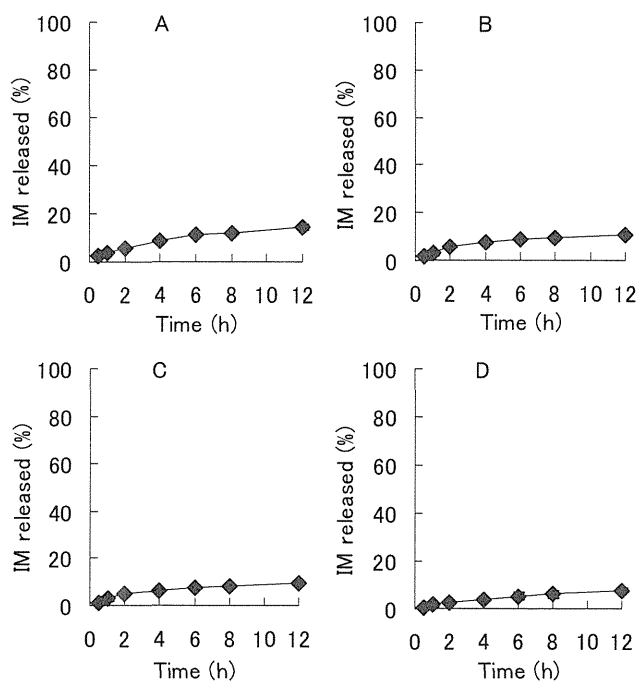


Fig. 8. Release profiles of indomethacin from cataplasms of brand name products.

Each value represents the mean \pm S.D. (n=3).

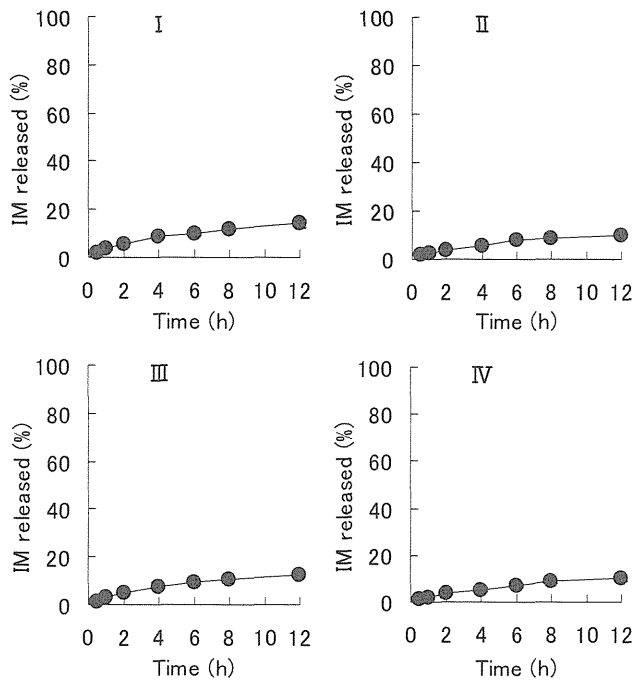


Fig. 9. Release profiles of indomethacin from cataplasms of generic products.

Each value represents the mean \pm S.D. (n=3).

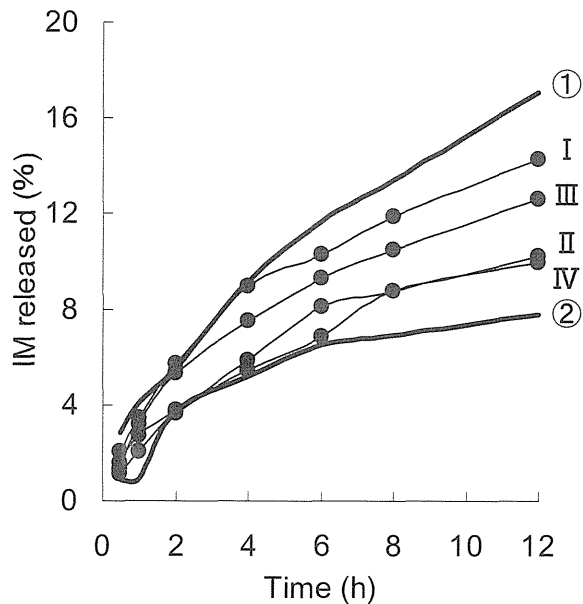


Fig. 10. Comparison of release profiles between indomethacin-containing cataplasms of brand name and generic products.

① : upper limit of 95% confidence interval in brand name products (A)

② : lower limit of 95% confidence interval in brand name products (D)

第2節 ケトプロフェン製剤の放出試験

KP 製剤の放出試験は放出液量 700 ml およびホルダーを使用し、放出液はそれぞれ、製剤 E では AS(45), F では AS(40), V では AS(60), VI では AS(40), VII では AS(30), VIII では AS(70), IX では AS(140)が重量変化率から AS(S)となり、これらを用いて放出試験を行った。12 時間後の先発医薬品の放出率は 75.0 (E) および 77.3 (F) %であった (Fig. 11)。また、同様に V~IX の後発医薬品では 79.7 (VII) ~101.2 (VIII) %を示した (Fig. 12)。先発医薬品で高い放出率を示した製剤 F での 95%信頼区間の上限値と、低い製剤 E での下限値を算出し、後発医薬品の品質について先発医薬品と比較した (Fig. 13)。後発医薬品の 12 時間放出率は、5 種類のうち 4 種類 (V, VI, VIII, IX) が上限値と下限値の放出プロファイルの範囲内に含まれず、有意差があった。そのため、先発医薬品と同等の性質を保有しているとは考えられず、後発医薬品の基剤処方が先発医薬品とは異なり、薬物を放出しやすい構造となっていることが予想される。これらの放出率の違いは、薬物の皮膚透過、すなわち薬物吸収量に影響することが示唆されるため、後発医薬品への切り替えには注意が必要である。

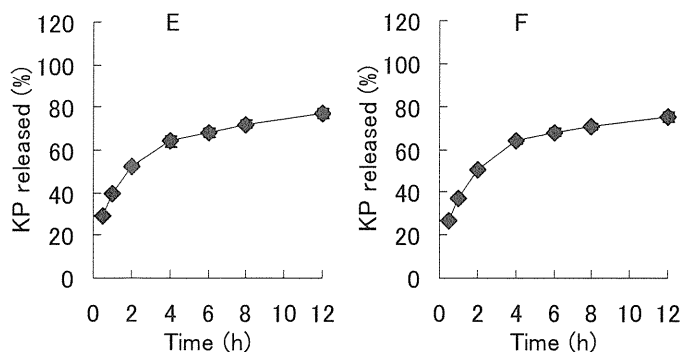


Fig. 11. Release profiles of ketoprofen from cataplasms of brand name products.

Each value represents the mean \pm S.D. (n=3).

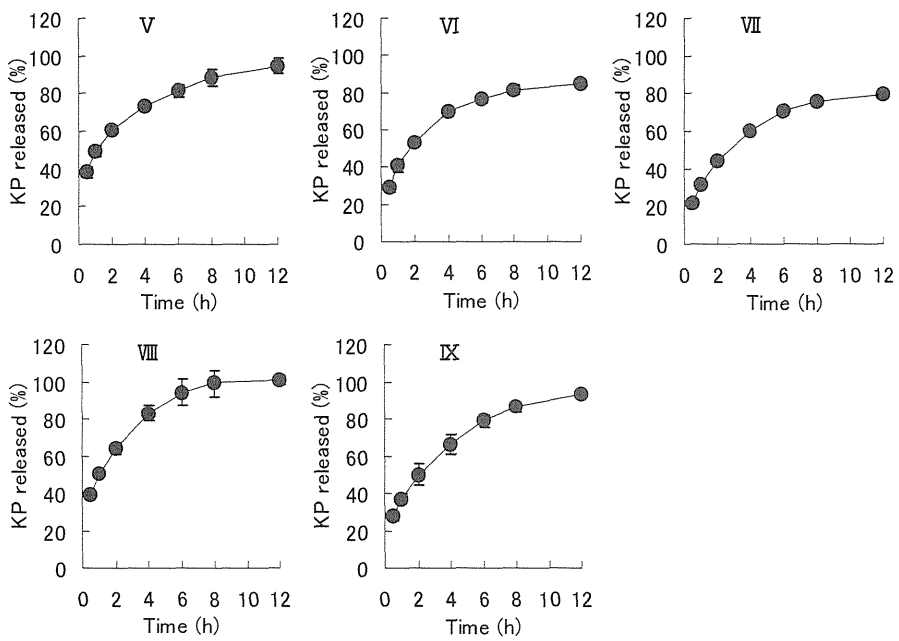


Fig. 12. Release profiles of ketoprofen from cataplasms of generic products.

Each value represents the mean \pm S.D. (n=3).

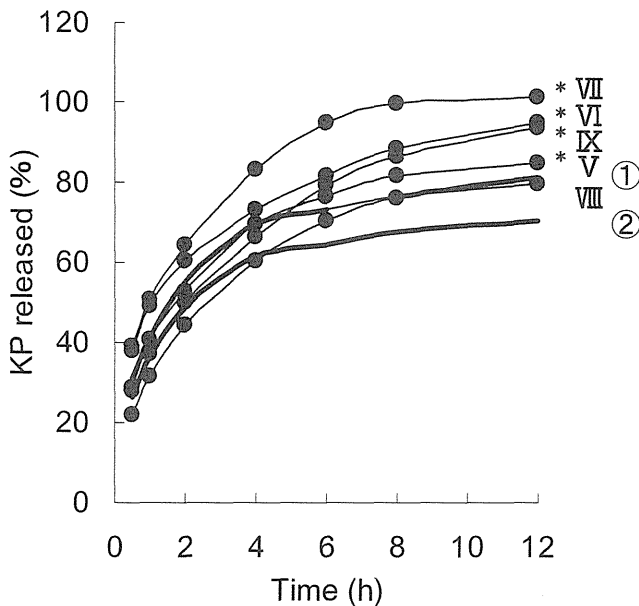


Fig. 13. Comparison of release profiles between ketoprofen-containing cataplasms of brand name and generic products.

① : upper limit of 95% confidence interval in brand name products (E)

② : lower limit of 95% confidence interval in brand name products (F)

* : $p < 0.05$

第3節 フルルビプロフェン製剤の放出試験

FP 製剤の放出試験は放出液量 700 ml およびホルダーを使用し、放出液はそれぞれ、製剤 G では AS(40), H では AS(80), I では AS(170), X では AS(50)が重量変化率から AS(S)となり、これらを用いて放出試験を行った。12 時間後の先発医薬品の放出率は 36.0 (I) ~60.4 (G) %を示した (Fig. 14)。また、同様に後発医薬品 X では 61.3%を示した (Fig. 15)。先発医薬品で高い放出率を示した製剤 G での 95%信頼区間の上限値と、低い製剤 I での下限値を算出し、後発医薬品の品質について先発医薬品と比較した (Fig. 16)。後発医薬品の放出率は、上限値と重なり、有意差はなかった。この結果から、後発医薬品は先発医薬品と変わらない放出性を示し、品質は確保されていることが確認された。

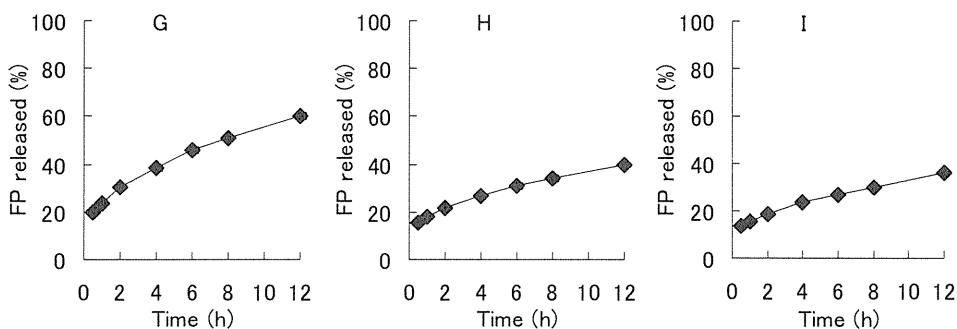


Fig. 14. Release profiles of flurbiprofen from cataplasms of brand name products.

Each value represents the mean \pm S.D. (n=3).

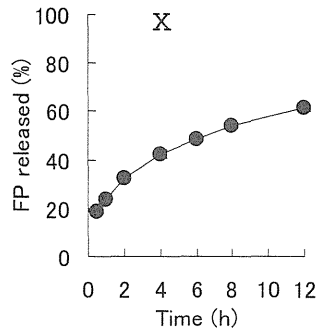


Fig. 15. Release profiles of flurbiprofen from cataplasms of brand name products.

Each value represents the mean \pm S.D. (n=3).

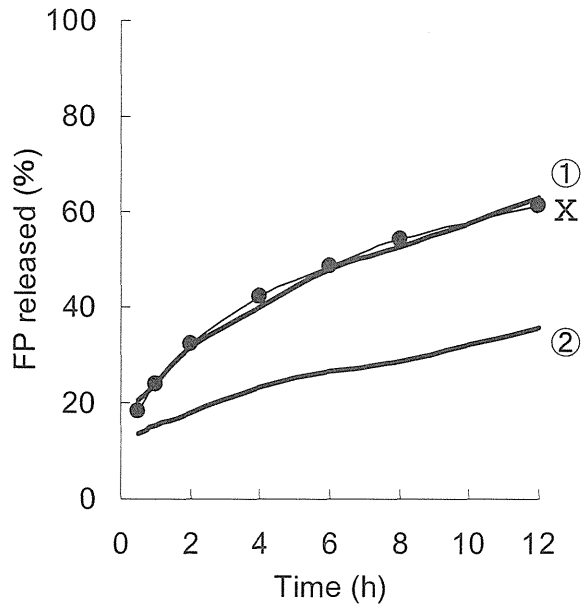


Fig. 16. Comparison of release profiles between flurbiprofen-containing cataplasms of brand name and generic products.

① : upper limit of 95% confidence interval in brand name products (G)

② : lower limit of 95% confidence interval in brand name products (I)

第3章 本編の小括ならびに考察

パップ剤の放出試験法の構築を目指した目的は、同一製剤のロット間あるいは同一成分の製剤間での薬物放出性を正確に評価するためであり、さらに、製造および品質管理について、有用な情報を得られるためである。しかし、パップ剤の放出試験では、膨潤や装着デバイスといった試験条件による問題点が、正確な製剤評価を難しくしていた。パップ剤はアクリル酸ナトリウムを含有している水溶性高分子を基剤としており、水に曝すと吸水し、強く膨潤する。そこで、ヒトの汗をヒントにしたASを調製し、放出液として使用することで、膨潤を抑制できることを明らかにした。しかし、放出試験では完全に膨潤を抑制しなければ、放出面積が変化し、また、パップ剤中の薬物拡散性が変化してしまうことから、本来の放出試験の目的である製剤中の拡散性を正確に評価することができない。そこで、パップ剤をヒトに貼付したとき、重量が貼付前と同等あるいは減少すること、およびパップ剤中と放出液の浸透圧差による水の放出と共に、薬物が放出されることを考慮し、0.9~1.0の重量変化率を示すASを製剤ごとにAS(S)と定め、試験に用いる放出液とした⁴⁹⁾。これにより、膨潤が引き起こすパップ剤表面積の増加および拡散性の上昇といった要因を改善した。さらに、装着デバイスはホルダーを作製し、主としてIM製剤では小ホルダーを用い、放出液量を1000 mlとすることで、パップ剤の薬物放出を正確に評価できることが示された。

ASを用いた本試験法は、製剤の組成やパップ基剤の架橋方法あるいは製造工程が異なった時、その違いを膨潤性および放出性の違いから敏感に感知することができ、品質評価法としての価値が極めて高い有用な方法であることが明らかとなった。例えば、同一製剤であっても、基剤の処方に変化すれば、パップ剤の膨潤性が変わり、AS(S)の変更が必要であるが、異なる製剤でも、基剤の処方が類似していれば、AS(S)もほとんど変わらないことが予想される。さらに、放出試験の結果から、AS(S)と放出性に差がなければ、それらは極めて類似性が高い性質をもつ製剤と考えられ、後発医薬品の選択、使用促進には必須な情報である放出性について、有用

な情報を与えるものと考えられる。本試験法は、環境保護、国際調和の点で、OECD の考え方を反映しており、品質評価法として、将来の利用が期待される試験法である。

第2編 人工膜を介したパップ剤からの薬物透過性評価

医薬品、化粧品、農薬、化学物質等の安全性評価のための *in vitro* 経皮吸収試験は、主に各ガイドラインに示された動物皮膚によって行われてきた。しかし、近年の世界的な動物愛護の流れにより、動物の保護および管理を考慮したガイドラインへ移行しつつある。OECD ガイドラインではこれらを踏まえ、ヒトの摘出皮膚を使用することを推奨している。また、欧州の European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) および我が国の Japanese Society of Alternative to Animal Experiments (JSAAE) は、動物を用いない方法に置き換えること (Replacement)、動物使用数の削減 (Reduction)、そして動物使用に伴う苦痛の削減 (Refinement) の 3R を基本理念とし、実験動物の代替法を考慮したあらゆる試験法の構築を目指している^{50, 51)}。

そこで、動物代替およびヒト代替素材の導入を透過試験法について試みることとした。ヒト皮膚には、細孔理論で説明される汗腺、毛包などの aqueous pathway と溶解拡散理論で説明される lipid pathway の少なくとも2つの経路が存在している^{52, 53)}。そのため、著者は、ヒト皮膚代替人工膜の調製に際し、親水性および脂溶性の両ドメインを有する不均一な膜の調製を目的として、親水性と脂溶性化合物を結合させた数種の高分子化合物を合成し、それらを用いて人工膜を調製した^{54~56)}。この膜を用いて、各種薬物の透過性を測定することで、ヒト皮膚代替物としての有用性を検討し、製剤試験への利用について評価した。

第1章 ヒト皮膚の透過性を模倣した人工膜の開発

ヒト皮膚の物質透過の主なバリアは皮膚最外層の角質層であり、その物質透過性を予測する方法は数多く報告されている^{57~61}。Pottsらはオクタノール/水分配係数と分子サイズを用いて、ヒト皮膚透過係数の予測式を組み立て、皮膚のバリア能を簡単な方法で特徴付けた^{62, 63}。Barryは細孔理論で説明される aqueous pathway と溶解拡散理論で説明される lipid pathway の少なくとも2つの経路が存在していると報告している¹⁵。Hatanakaらは各薬物を用いた皮膚透過実験の結果から親水性と脂溶性経路が存在する parallel permeation pathway model で皮膚モデルを構築し、基剤と皮膚の分配係数を薬物の水とオクタノールの溶解度比から求め、2相性を示す皮膚透過係数予測法を確立した^{64~66}。さらに、Alvarez-Romanらは、皮膚中の親水性および脂溶性ドメインの存在を解剖学的に報告している⁶⁷。

このような予測法を利用して、これまでヒト皮膚透過性を模倣する人工膜の調製に関する検討結果が数多く報告されており、人工膜による代替が可能となった時には、現行の動物皮膚を用いた物質皮膚透過試験に代わる理想的方法と成り得る。しかし、ヒト皮膚の物質透過性を十分に反映する人工膜は未だ報告されていない。皮膚透過性を模倣する人工膜調製の最も困難な点は、ヒト皮膚の複雑な構造的不均一性にあることが知られている⁶⁸。例えば、ヒト皮膚は汗腺、毛包などの aqueous な構造を有し、これらを介した水溶性物質の透過が認められている^{69~71}。

著者はこれまでに報告されてきた定性的な皮膚中の親水性ドメイン (aqueous な構造を形成している領域) と脂溶性ドメイン (脂質化合物が存在する領域) の存在という考えを取り入れ、不均一な一枚膜でのヒト皮膚代替人工膜の調製を検討した。その前段として、製膜後に両ドメインを形成すると考えられる高分子化合物の合成を検討した。高分子人工膜を調製することで、均一性、再現性、簡便性、安定供給、経済性といった利点があり、今後の展開が広がるものと期待される。

第 1 節 高分子の調製と物性評価

親水性領域をもつアゾ系高分子ラジカル重合開始剤 VPE-0601, 脂溶性領域となる 2 種類のアクリレート系モノマー, 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) を用いて, 混合比の異なる 3 種類の高分子を合成した (Fig. 17, Table 5). MMA と GMA は蒸留法, VPE-0601 はクロロホルムに溶解した後, 再結晶によって精製した. Table 5 の混合比で試験管に量り取り, トルエン中で凍結融解を数回繰り返す, 80°C で攪拌しながらラジカル重合を進行させ, 24 時間後, 反応液を大量のメタノールあるいはヘキサンに投じ, 精製した. この精製工程により, 分子量の小さなポリマーおよび反応しなかった開始剤とモノマーは取り除かれる. 生成した高分子は開始剤の両端にモノマーがランダムに並ぶランダム共重合体の構造を示すと考えられる (Fig. 18).

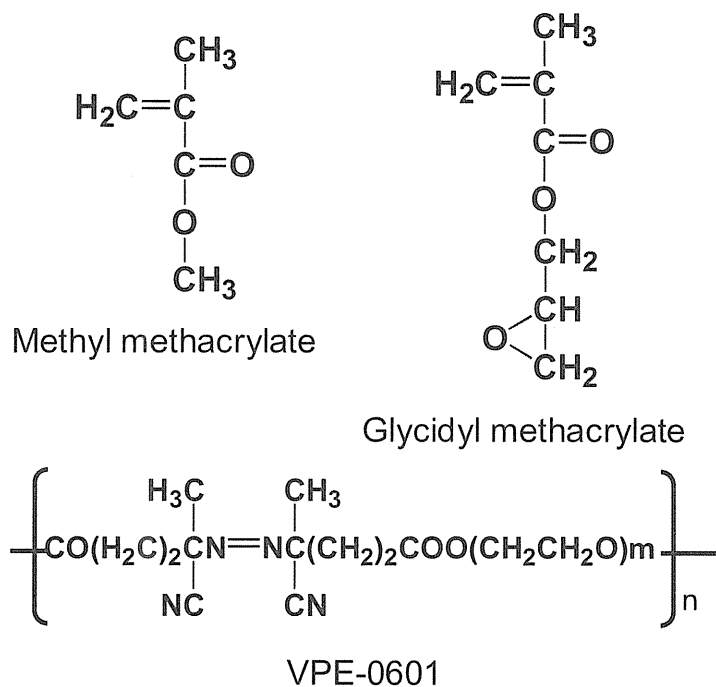


Fig. 17. Structures of monomer and initiator.
VPE-0601: molecular weight of polyoxyethylene chain; c.a. 6000

精製した VPE-0601 および調製した高分子の平均分子量を gel permeation chromatography (GPC) によって求めた (Table 6). VPE-0601 を減らすことで、一度に生成されるラジカル量が減るために、一つの開始剤に結合するモノマー数が増加し、平均分子量が大きくなった。同様に、親水性領域をもつ開始剤を減らすことで、精製した高分子中の親水性領域が減少し、モノマーが構成する脂溶性領域の増大が予想される。なお、これらの高分子合成の再現性は平均分子量によって確認し、VPE-0601 および合成高分子は平均分子量の多分散度が 2.0 を超えないことを確認して使用した。

Table 5. Feed ratio of monomer and initiator in polymer.

	MMA	GMA	VPE-0601
M65	65	5	30
M75	75	5	20
M85	85	5	10

Weight ratio (%)

Table 6. Molecular weight of initiator and the prepared polymer.

	Mn	Mw	Mw/Mn
VPE-0601	30k	46k	1.54
M65	48k	92k	1.92
M75	67k	120k	1.78
M85	103k	184k	1.79

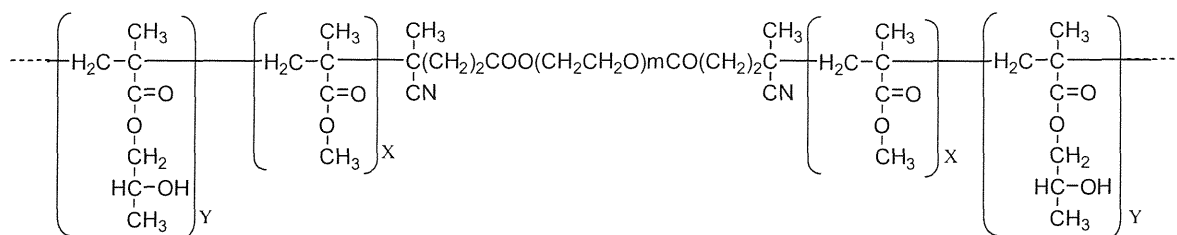


Fig. 18. Structure of the prepared polymer.

第2節 人工膜の調製と物性評価

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、完全に溶けるまで、室温で攪拌した。その後、ガラス板上にシリコン処理したポリエチレンテレフタレート (PET) フィルムを敷き、その上に高分子溶液を垂らし、アプリケーターによって延伸した。均一な膜を得るために、室温で 1 時間乾燥させた後に、100℃の乾燥機内で 1 時間乾燥させ、デシケーター内で使用するまで保存した (Fig. 19)。

高分子は Fig. 18 に示すように、モノマーの炭素がランダムに結合しているため、それらが親水性および脂溶性基同士で集合し、aqueous pathway および lipid pathway を形成していると予想される。人工膜内にその aqueous pathway, すなわち親水性ドメインが存在すれば、吸水することが予想されるため、24 時間までの膨潤を評価した (Fig. 20)。M65 膜では、pH7.4 1/30 M リン酸緩衝液 (PBS) に曝すと約 25% 膨潤し、エタノールに沈めると、透明な膜はフィルム形状を保てず、白く濁り、バイアル壁面から剥がすことは不可能であった。M75 膜では、PBS に曝すと約 5% 程度の膨潤が認められ、エタノールで約 25% の膨潤が観察された。PBS 中での M85 膜は、膨潤による重量変化は認められず、エタノールで

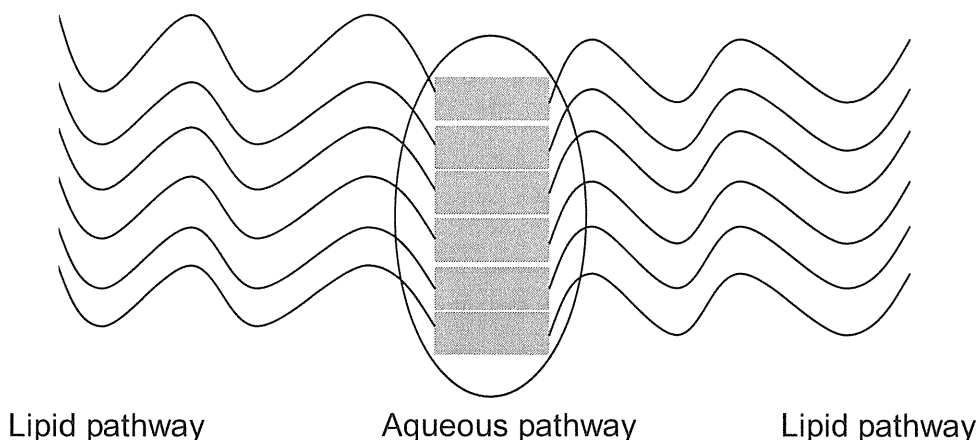


Fig. 19. Structure of artificial membrane.

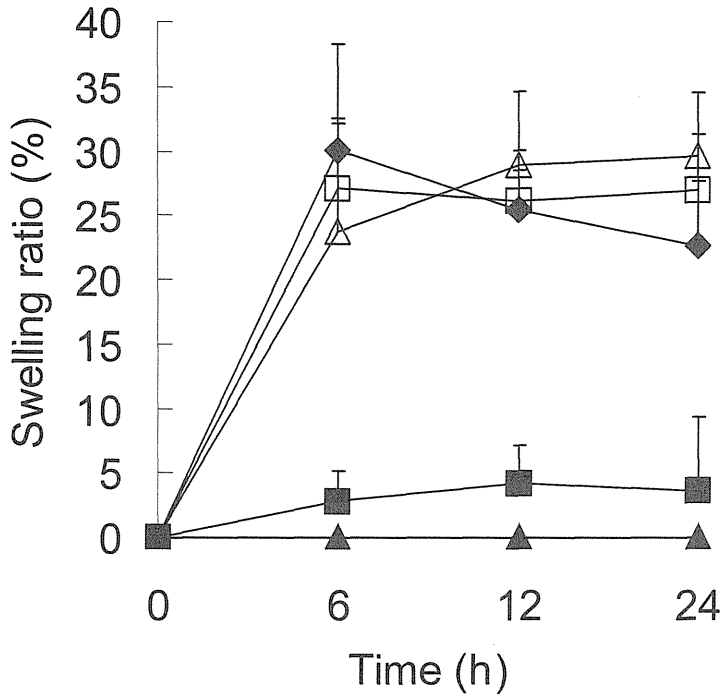


Fig. 20 Swelling ratio of artificial membranes in PBS and ethanol.
 ◆: M65 membrane in PBS ■: M75 membrane in PBS ▲: M85 membrane in PBS
 □: M75 membrane in ethanol △: M85 membrane in ethanol

は M75 膜とほぼ同等な約 25%の膨潤性を示した。これらの結果は、M65 膜が最も親水性であることを示しており、高分子合成時の混合比から予想される親水性ドメインの大きさ (M65>M75>M85) と一致している。

3 種類の高分子から調製した人工膜の主成分はメチルメタクリレートであるため、脂質成分が相構造を有していることが考えられる。そのため、温度による相変化の観察を目的とし、TG-DTA で評価した。しかし、3 種類とも 200℃付近から分解反応が始まること以外は、目立った変化はなく、相変化によるピークも認められなかった (Fig. 21)。また、薬物透過に関係すると思われる膜内の層構造の変化を観察するために、広角 X 線回折 (WAXD) を用いて評価した。その結果、層構造に関する M65 および M75 膜のハローにおいても、ほとんど変化はなかったが、M85 では 2 種類の結晶性の構造周期が認められた (Fig. 22) ^{72, 73}。

熱による人工膜の変化は存在せず，X線回折での層構造はM85膜のみで観察された．人工膜の正確な物性を評価するためには，他の機器による更なる検討およびこれらを組み合わせた評価が必要であると思われた．

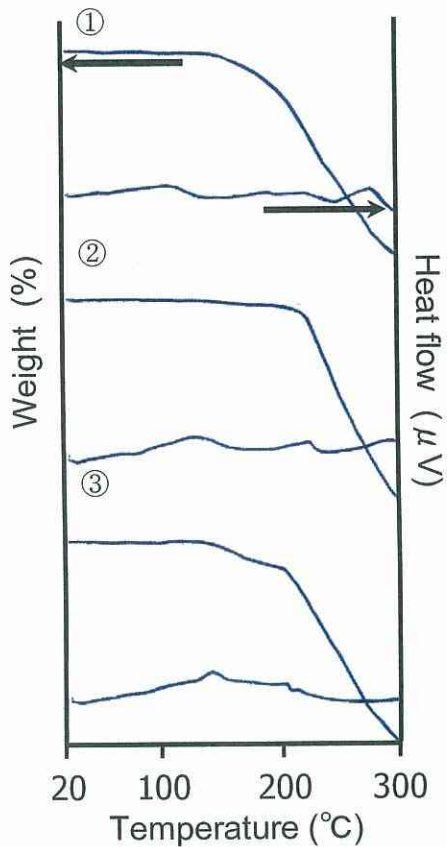


Fig. 21. TG-DTA curves of the prepared polymer membrane.

①: M65, ②: M75, ③: M85

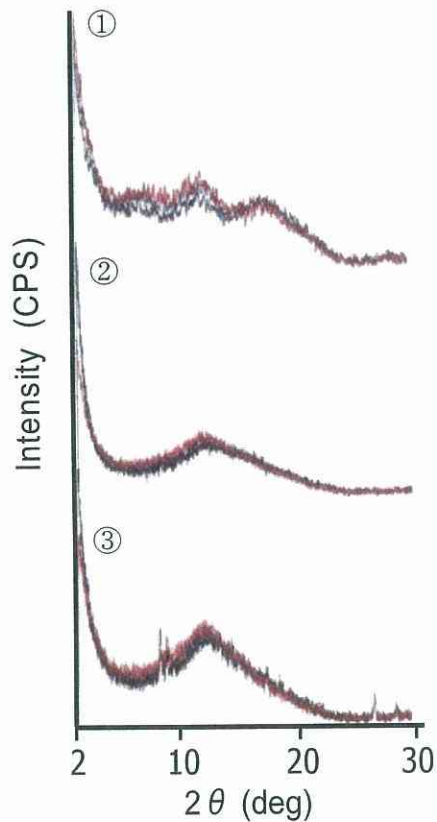


Fig. 22. WAXD curves of the prepared polymer membrane.

①: M65, ②: M75, ③: M85

第3節 人工膜の薬物透過性の評価

水溶性から脂溶性の広範囲にわたる 10 種類の薬物 (マンニトール (MT), カフェイン (CF), インドメタシン (IM), 硝酸イソソルビド (ISDN), ケトプロフェン (KP), メチルパラベン (MP), フルルビプロフェン (FP), エチルパラベン (EP), プロピルパラベン (PP), ブチルパラベン (BP)) をモデル薬物とし (Fig. 23, Table 7), ヒト皮膚および 3 種類の高分子人工膜を用いて透過試験を行った (Fig. 24).

人工膜の評価は, ヒト皮膚の透過係数との類似性から行うこととしたため, ヒト皮膚を用いた透過試験を行い, 求めた各薬物の透過係数を薬物の分配係数に対してプロットした (Fig. 25). 薬物脂溶性の増加に伴って, 透過係数の増大が認められ, 以前より報告されている結果と良く類似して

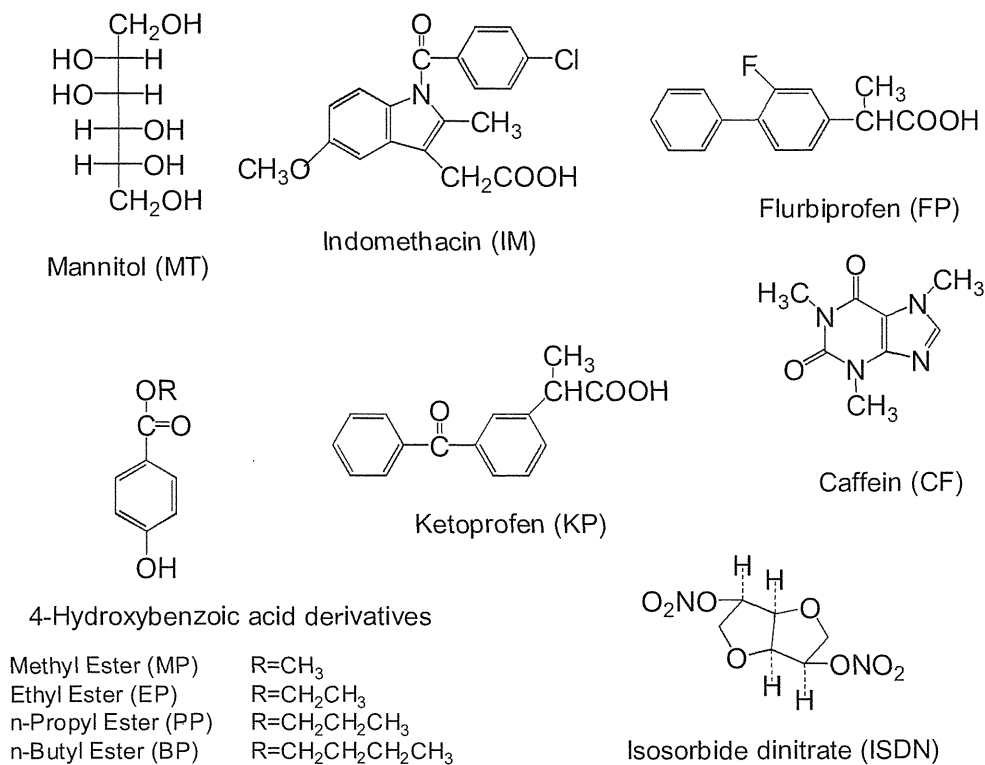


Fig. 23. Structures of drugs used in this experiment.

Table 7. Physicochemical properties of drugs used in this experiment.

	MW	Solubility (mg/ml) ^{*1}	log K _{OW} ^{*2}
MT	182.2	— ^{*3}	-3.10 ^{*4}
CF	194.2	26.0	-0.84
IM	357.8	1.63	1.08
ISDN	236.1	0.866	1.13
KP	254.3	5.99	1.33
MP	152.2	3.24	1.62
FP	244.3	4.47	1.69
EP	166.2	1.38	2.10
PP	180.2	0.467	2.71
BP	194.2	0.304	3.18

* 1 : solubility in PBS (32°C)

* 2 : logarithm of the octanol/PBS solubility ratio (32°C)

* 3 : not determined

* 4 : logarithm of the octanol/water partition coefficient (30°C)⁷⁴⁾

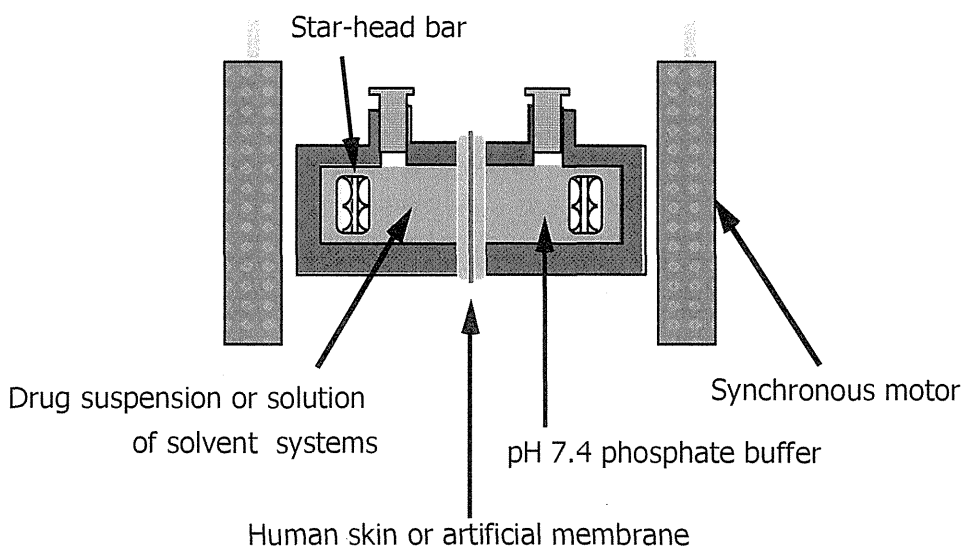


Fig. 24 Schematic diagram of 2-chamber diffusion cell.

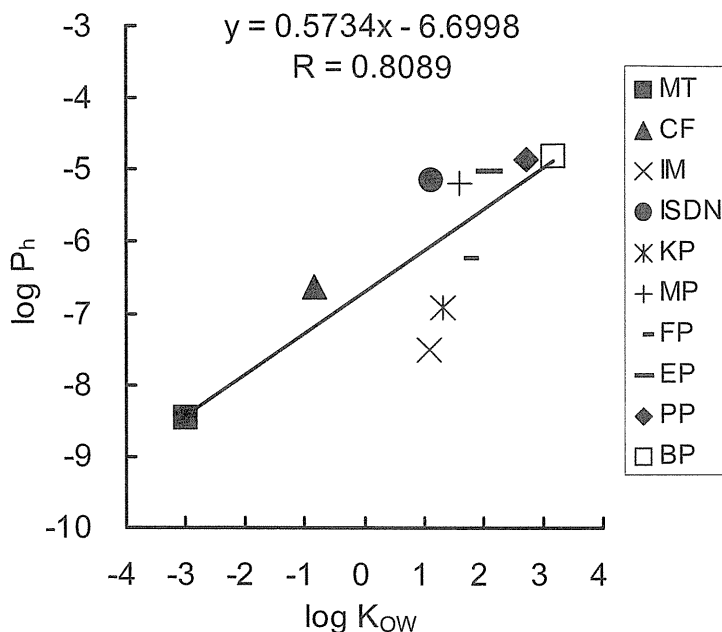


Fig. 25. Relationship between the permeability coefficient and log K_{OW} in human skin.

Each value represents the mean ± S.D. (n=3-4).

いた。3種類の高分子人工膜を用いた透過試験から得られた透過係数 (P_{M65} , P_{M75} , P_{M85}) の対数值と分配係数 log K_{ow} の関係を示す (Fig. 26)。M65膜の薬物透過係数はすべてが $3.2 \times 10^{-5} \sim 8.3 \times 10^{-4}$ (cm/s) の範囲にあり、薬物脂溶性の増加による透過性の大きな増大は認められないため、膜中の親水性ドメインの寄与が大きく、分配過程の影響が小さな膜であることが考えられた。M85膜においては、脂溶性の低い薬物の透過はほとんど認められず、親水性ドメインの形成が十分でないものと推測され、薬物の物性の違いによって透過性に大きな影響を与えることが示された。M75膜ではヒト皮膚透過性と同様に、脂溶性薬物の透過係数は薬物の分配係数に依存し、水溶性薬物でもある程度一定の透過性を示すため、目的としている親水性および脂溶性の両ドメインの存在が示唆された。

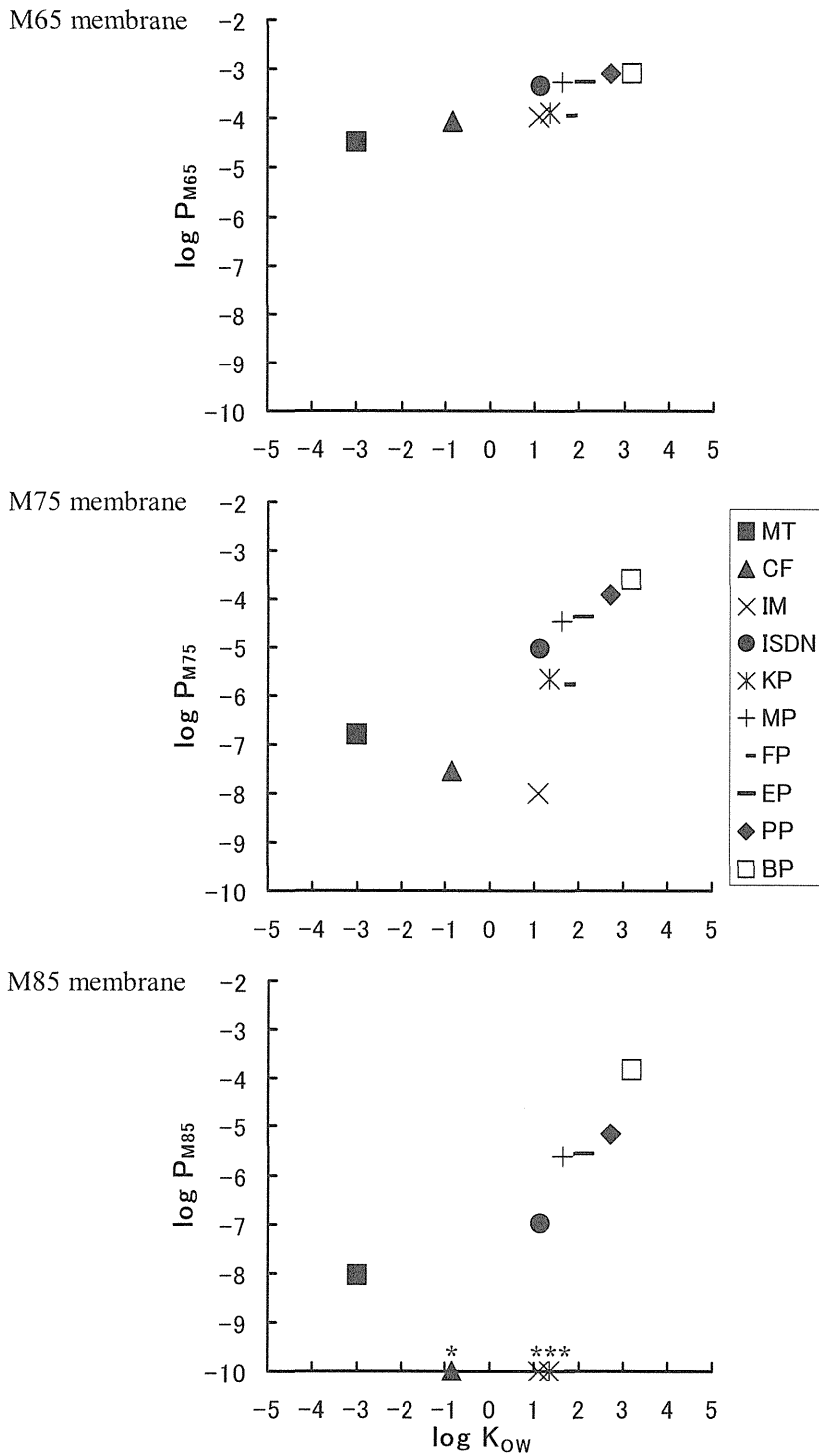


Fig. 26. Relationship between permeability coefficient (P_M) and log K_{OW} in artificial membranes.

Each value represents the mean \pm S.D. (n=3-5).

* : not detected.

今回調製した高分子人工膜がヒト皮膚の薬物透過性を模倣する人工膜となっているかを評価するために、ヒト皮膚の透過係数 (P_h) の対数値と3種類の高分子人工膜を用いた透過試験から得られた透過係数 (P_{M65} , P_{M75} , P_{M85}) の対数値をプロットした (Fig. 27). M65膜では、相関性は高いものの、回帰係数は小さいため、人工膜での少しの誤差が経皮吸収性の予測に大きく影響することが考えられ、予測系としては利用しにくい. M75膜では、ヒト皮膚と良好な相関性を示し、傾きがほぼ1となり、また、ヒト皮膚で他の薬物から外れた IM, KP, FP の値が同じように人工膜でも再現され、解剖学的にも証明されている2相性を示すことから、ヒト皮膚代替人工膜としての有用なツールとなる可能性が示唆された. M85は透過係数の求められない薬物があるため、相関性は評価できないが、ヒト皮膚透過性の低い薬物は透過せず、膜の構造が薬物透過性に大きく関与していることが示唆された.

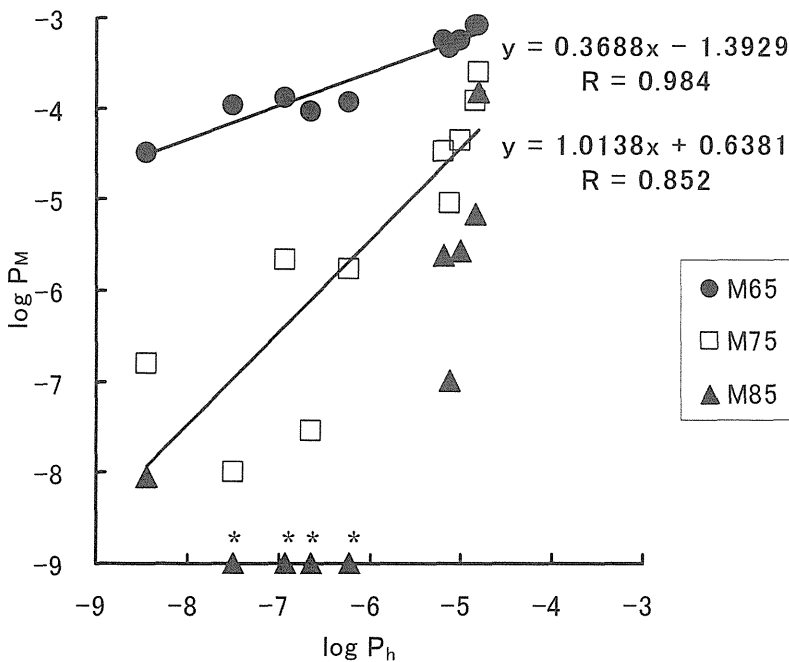


Fig. 27. Relationship of drug permeability through artificial membrane and human skin.

*: not detected

第2章 高分子人工膜を介したパップ剤の薬物透過性評価

製剤を評価するためには、ヒト in vivo での試験が本来最も適しているが、実用性、簡便性だけでなく、倫理性、安全性および経済性などの多くの問題から困難である。そのため、内用剤の溶出試験に匹敵する簡便な方法による皮膚外用剤の評価法、すなわち in vivo での経皮吸収量を予測できる in vitro 透過試験法の構築が望まれている。第1章で検討したヒト皮膚代替人工膜を利用する皮膚外用剤の透過試験は、in vivo 経皮吸収性の予測、さらには動物愛護の観点から優れた試験法となる可能性を秘めている。そこで、前編で確立した放出試験を基に、透過膜には第1章の M75 膜を使用し、パップ剤からの in vivo 経皮吸収性を予測できる透過試験法の確立を目指した。試験製剤は放出試験に用いた 19 製剤のうち、各主薬成分の製剤中 3 種類ずつを選び (A, C, E, F, G, I, I, VII, X), それぞれの AS(S)を receiver 溶液とし、人工膜を介した製剤からの薬物透過性を評価した (Fig. 28)。また、ヒト皮膚を介した製剤からの薬物透過性は、これまで明らかにされていないため、ヒト皮膚を用いた透過試験を主薬成分ごとに 1 製剤ずつ行った。

その結果、IM 製剤 (A) のヒト皮膚を介した透過試験では、約 1% (Ah), KP 製剤 (E) では約 5.6% (Eh), FP 製剤 (G) では約 0.6% (Gh) の薬物が 12 時間後の receiver 溶液から検出された。一方、人工膜を透過膜とした IM 製剤では 3 種類とも薬物を検出することはできず、KP 製剤 3 種類では適用したパップ剤中薬物量に対して 12.7(E), 15.7(F), 6.5(VII)%, および FP 製剤 3 種類では 2.6 (G), 1.0 (I), 0.3 (X) % の薬物が透過した。

IM 製剤では、ヒト皮膚を用いた透過試験結果が約 1% であるため、人工膜とヒト皮膚はほぼ同等な IM 透過性を示すと考えられ、さらに、インタビューフォームを参考にすると、製剤 A の単回貼付実験において、健康成人の背部に 384 mg 含有のパップ剤を投与し (製品では 1 枚 70 mg 含有)、14.9 ng/ml の最高血中濃度を得たという結果が記載されていることから、パップ剤は局所適用製剤であるため血中濃度で評価する製剤ではない。

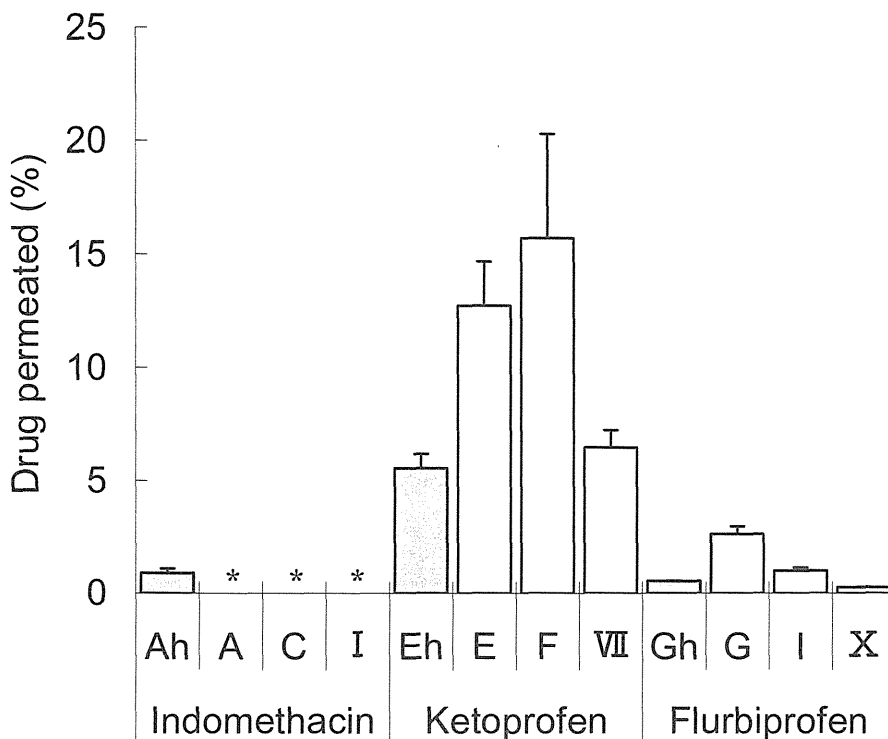


Fig. 28. Drug permeation through the M75 membrane from cataplasms at 12 h.

Ah, Eh, Gh: drug permeation through human skin from each product.

Each value represents the mean \pm S.D. (n=3-4).

*: not detected

が、IM の皮膚透過は非常に困難であり、今回の結果と一致するものと考えられる⁷⁵⁾。KP 含有の製剤 E では、1 枚 (KP ; 30 mg) を単回貼付したヒトでの臨床試験結果で、投与 12 時間までの経皮吸収率が $13.3 \pm 1.2\%$ と記載されている⁷⁶⁾。本研究では人工膜を介した薬物透過率が 12.7% を示しており、かなりの精度でパップ剤を評価できる可能性が示唆された。FP 製剤 G では、1 枚 (約 40 mg) の貼付で約 $10 \mu\text{g/ml}$ (6 時間) が皮膚を透過している⁷⁷⁾。今回の試験法では FP を約 0.4 mg 含む大ききで透過試験を行っているため、単純に計算すると $0.1 \mu\text{g/ml}$ が皮膚を透過することになる。今回の人工膜を介した透過試験 6 時間後の receiver 溶液中 FP 濃度は G 製剤で約 $0.3 \mu\text{g/ml}$ であったため、今回の結果は妥当な値と考えられる。

ヒト皮膚を用いた製剤 A, E, G の透過試験結果は、それぞれ約 1%、約 5.6%および約 0.6%であり、人工膜では検出できず、12.7%および 2.6%であることから、経皮吸収量の予測はある程度可能であると思われた。前章の懸濁液を donor とした透過試験で、M75 膜の透過係数はヒト皮膚と比較して、IM 製剤で低く、KP および FP では高かった。製剤からの人工膜を介した透過試験は、これらの結果と同様の傾向を示しているため、パップ剤からの薬物皮膚透過性を予測できる可能性が示唆された。

一方、先発医薬品と後発医薬品の比較において、ガイドラインでは±20%まで認められている²⁾。KP 製剤では、先発医薬品である製剤 E の透過率の 20%が 2.54%であることから、10.16~15.24%、製剤 F で同様に計算すると 12.56~18.84%という範囲が得られ、後発医薬品として認められる範囲は 10.16~18.84%となる。しかし、後発医薬品である製剤 VI の人工膜透過率は 6.5%であるため含まれず、ガイドラインの条件を用いると、適当な後発医薬品と判定することはできない。同様に、FP 製剤でも先発医薬品の±20%は 0.80~3.12%となり、製剤 X の人工膜透過率は 0.3%であるため、ガイドラインに従う後発医薬品として認められない。市販パップ剤には種々添加物が含まれており、実際のヒト皮膚透過率は人工膜の絶対値によって評価することはできないが、この試験法では後発医薬品が先発医薬品と生物学的に同等でないという結果となり、目的部位への薬物の送達が十分でないことが予想された。しかし、人工膜と基剤との相互作用により透過性が変化し、皮膚を介した透過性においては先発医薬品と同等である可能性も考えられなくはないため、今後、人工膜とパップ基剤の相互作用について、より詳細な検討が必要であるかもしれない。

今回の結果では、先発医薬品の人工膜を介した薬物透過率がヒト皮膚と類似していたことから、近い将来、人工膜を用いた試験法が皮膚外用剤の製剤評価法として利用できる可能性を示しているものと考えられる。

第3章 本編の小括ならびに考察

医薬品の製剤試験は、生体由来のものから人工的な材料の使用へと移り変わってきており、さらに環境保護、国際調和といった観点も重要視されている。著者が調製した高分子人工膜はこれらを満足しつつ、ヒト皮膚と類似する透過性を示した。特に、M75膜では一般的に薬物の皮膚透過で得られる薬物脂溶性の増加による透過係数の増大が認められ、ヒト皮膚と同様に親水性および脂溶性経路の存在が示唆され、さらにヒト皮膚で異常に低い透過性を示した薬物が、人工膜においても同様の挙動を示したため、透過性だけでなく類似したドメイン構造をもつことが示唆された。この膜をパップ剤経皮吸収試験に使用したところ、先発医薬品に関しては、ヒトでの経皮吸収率とほぼ同等な値を示し、代替膜として利用できる可能性を示した。

これまで、ヒト皮膚透過性を模倣する人工膜の開発は多くの研究者によって試みられている⁷⁸⁻⁸²⁾。Feldsteinらは、heterogeneousなポリジメチルシロキサン-ポリカーボネートブロック共重合体 Carbosil 膜を調製し、皮膚と共通の分配拡散メカニズムで、定量的に評価できると報告している³³⁾。しかし、この膜は外国で透析膜として承認されていることから推察されるように、aqueous pathwayの寄与が大きく、水溶性薬物の透過係数が高い値を示し、また、TDDSマトリックスからのそれぞれの薬物の透過係数はヒト皮膚と比較して約1~50倍と幅広く、薬物透過の予測には精度および感度に問題があった。Hatanakaらはポリジメチルシロキサン膜とポリヒドロキシメタクリレート (pHEAMA) 膜を重ね、膜厚とpHEAMA膜中の細孔を調節することでヒト皮膚透過予測曲線と一致する人工膜の調製し、YamaguchiらはpHEAMA/ポリジメチルシロキサンメタクリレート (pDMSpMA) グラフト共重合膜を用いて2相性を示す人工膜を調製している^{32,83)}。しかし、前者は2枚の膜を重ねる複合膜であり、その重ねる工程による人工膜の再現性が問題となり、ルーチンな試験に用いることは難しい。後者はヒト皮膚の100倍の透過性を示し、かなり脆く、取り扱いの容易な膜の開発を今後の課題としている。そこで、今回調製した

heterogeneous な 1 枚膜である高分子人工膜は、ヒト皮膚と同等の透過性を示すことはもちろん、異なるロットの高分子から調製した人工膜においても薬物透過係数に再現性が認められ、さらに、簡単には破れず、適度な強度をもつため、取り扱いが容易であるといった点で、以前の人工膜と比較して有用である。

人工膜の利点は動物愛護、国際調和、低コスト、安定供給、簡便性、再現性といったことが挙げられるが、薬物透過性とこれらの利点をすべて持ち合わせている人工膜の調製は困難であった。今回調製した人工膜は、薬物透過性だけでなく、簡便性、再現性など、人工膜の利点をすべてクリアした初めての人工膜である。医薬品の製剤評価は大規模な試験となるため、この人工膜の開発はこれまでの動物あるいはヒト皮膚を用いてきた *in vitro* 経皮吸収試験の代替法として、かなり有望な試験法となる可能性が考えられる。

結論

医薬品は疾病の診断、治療または予防に使用され、このような効果が認められないものは承認されない。また、抗がん剤に代表されるように、多少のリスクが許容されるヒトの生命に関わる重要な物質である。一方、化粧品、農薬などの化学物質はメリットに対するリスクが、医薬品に比べて非常に大きな問題であると考えられ、有害性の評価方法について多くの検討がなされている。化学物質について、OECDは環境保健安全プログラムを定め、動物愛護の精神を考慮に入れた上で化学物質の試験および評価方法の確立を目指し、さらに環境保護および国際調和についても考慮したあらゆる試験法の構築を試みており、その中の一つに、*in vitro* 経皮吸収試験法がある。著者は、このような考え方を医薬品試験に取り入れることが、これからの製剤評価法として重要であると考えた。

そこで、医療現場で繁用されている皮膚外用剤であるパップ剤について、これらを盛り込んだ製剤評価法の検討を行った。パップ剤は水溶性高分子を基剤としているため、水に曝すと膨潤し、正確な薬物放出性を評価することはできない。その解決策として、以前から有機溶媒が用いられていたが、これは環境保護の観点からガイドラインの基本的考え方に反する。そのため、著者は水を基本とした放出液でパップ剤からの薬物放出性を評価する方法を検討し、ASを用いた放出試験法を確立した。この方法は、製剤の組成やパップ基剤の架橋方法あるいは製造工程が異なることによる、種々放出液に対する膨潤性および放出性の違いを敏感に感知することができる。すなわち、基剤の処方類似していれば、AS(S)もほとんど変わらないことが予想され、さらに、パップ剤からの薬物放出率に差がなければ、それらは極めて高い類似性をもつ製剤と評価できる。

一方、パップ剤のような皮膚外用剤の生物学的同等性を評価するためには経皮吸収試験がある。これらの試験法は主に各ガイドラインに示された動物皮膚によって行われてきたが、近年の世界的な動物愛護の流れにより、動物の保護および管理を考慮したガイドラインへ移行しつつあり、ヒト皮

膚の使用を推奨している。しかし、我が国においてはヒト摘出皮膚を用いた実験系は倫理的側面および供給面の問題から、動物皮膚を用いざるを得ない。そのため、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」（厚生労働省）が施行され、製剤の評価に用いられている。しかし、この方法は、精密ではあるものの、臨床試験に該当し、さらに、ヒトに対する侵襲性も懸念されるため、それらの課題を解決した皮膚外用剤の製剤試験として、内用剤の溶出試験に匹敵する、より簡便で汎用性に富む試験法の開発が期待されている。そこで、皮膚の薬物透過性を模倣することのできる人工膜を調製し、このヒト皮膚代替人工膜を用いたパップ剤製剤試験について検討した。今回、調製した人工膜のうち、M75膜ではヒト皮膚の物質透過性を予測できる可能性が示唆され、再現性の良い、大規模な製剤試験を行う上で、かなり有望な *in vitro* 経皮吸収試験法となる可能性が考えられた。

本研究は、パップ剤の製剤評価法に人工汗および高分子人工膜を使用することで、皮膚外用剤の同等性試験に簡便な方法を導入し、汎用性が高く、新しい試験方法と成り得る可能性を明らかとした。さらに、今後の医薬品試験における課題である動物愛護、環境保護、国際調和といった問題をクリアし、低コスト、簡便性、安定供給、再現性といった点で優れた試験法となる。以上のことから、本試験法はパップ剤の製剤評価法だけでなく、これからの製剤試験に新しい方向性を提案できるものと考えている。

謝辞

本研究に際し、城西大学薬学部 病院薬剤学講座教授 森本 雍憲 先生には、素晴らしい研究テーマを与えていただくとともに、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜り衷心より深甚なる謝意を表します。

城西大学薬学部 医薬品情報学講座教授 小林 大介 先生には研究の細部にわたり、終始御指導並びに御助言を賜り、深謝の意を表します。

富山大学工学部教授 北野 博巳 先生には、高分子合成に関して御指導、御協力を賜り厚く感謝の意を表します。

また、本研究遂行にあたり、御理解および御協力を賜り、市販のパップ剤を供与していただいた各製薬企業に深く感謝致します。

さらに、ディスカッション等を通して有益な御助言を賜りました城西大学薬学部 薬品物理化学講座教授 山田 紘一 先生、薬剤学講座教授 従二 和彦 先生、臨床薬物動態学講座教授 杉林 堅次 先生、薬物治療学講座助教授 夏目 秀視 先生、病院薬剤学講座助教授 大井 一弥 先生、助手 上田 秀雄 先生、臨床医学講座助手 中山 光治 先生、城西大学大学院薬学研究科助手 沼尻 幸彦 先生、城西大学薬学部助手 佃 慶一 先生に深謝の意を表します。

最後に、本研究に終始御協力いただきました病院薬剤学講座の諸氏に深く感謝致します。

実験の部

第1編 実験の部

1. 試薬

IM および KP は和光純薬工業株式会社（大阪）より購入した。FP は大協薬品工業株式会社（富山）から供与された。その他の溶媒および試薬は市販の特級あるいは高速液体クロマトグラフ用を用いた。なお、これらは精製せずにそのまま用いた。

2. 試験製剤

薬価基準収載の NSAIDs 含有パップ剤を用いた。インドメタシン (IM) 製剤 8 種（先発医薬品：A, B, C, D, 後発医薬品：I, II, III, IV）、ケトプロフェン (KP) 製剤 7 種（先発医薬品：E, F, 後発医薬品：V, VI, VII, VIII, IX）、フルルビプロフェン (FP) 製剤 4 種（先発医薬品：G, H, I, 後発医薬品：X）の合計 19 製剤を評価した。先発医薬品 (A~I) は外用製剤協議会を通じて、各々の製薬企業から供与され、後発医薬品 (I~X) は各製薬企業より購入した。

3. 人工汗の調製

ヒト汗に含まれる陽イオンおよび陰イオンの主要な成分からなる塩を用い、それらを組み合わせて調製した。AS(3)の陽イオン濃度と pH はヒト汗の中央値とした。一方、AS(3)以外は、Ca²⁺濃度の増加によりパップ剤の膨潤抑制を目的として調製する AS であり、Ca²⁺以外の濃度はヒト汗の上限値、pH は下限値である。なお、Ca²⁺濃度（ミリ当量数：meq/l）を AS に続くカッコ内に示した。

4. 溶解度の測定方法

過剰量の薬物を AS(S)に加え、32℃の恒温槽中で 12 時間インキュベートし、懸濁液を Ultrafree®-MC 遠心ろ過ユニット (0.2 μm) (Milipore Corporation, MA, USA) に 500 μl 入れ、13400 rpm で 1 分間遠心分離した後、必要なものはアセトニトリルで適当に希釈し、HPLC で定量した。なお、48 時間まで、その溶解度が変化しないことを確認した。

5. パップ剤の重量変化率の測定

放出試験を行うにあたり、膨潤の程度および膨潤を抑制できる放出液を検討するために、パップ剤の重量変化率を測定した。すべての製剤で、直径 3 cm のパップ剤の重量を測定後、放出試験（次項参照）と同様の装置を用いて AS 中に浸漬した。試験開始から 12 時間後、パップ剤を取り出し、表面の水分を軽く拭き取り、重量を測定し、試験前の重量で割ることにより重量変化率を算出した。膨潤抑制に要する Ca²⁺濃度は、製剤ごとに異なることが予想されることから、重量変化率が 0.9~1 になり、Ca²⁺濃度のできるだけ低い AS を AS(S)とし、放出試験に用いた。

6. 放出試験

放出試験装置は USP 29 に準拠し、JP 14 の溶出試験装置と同一規格であり、国内で普及している装置 5 (Paddle over Disk, JP 14 では第 2 法に相当する) を使用した。放出試験装置に 1000 ml 容量のベッセルを装着し、外套の恒温槽に水を満たし、試験期間中 32℃を保った。前提として、溶解律速を回避するために USP に記載されている「薬物全量が放出されたときの放出液中薬物濃度が溶解度の 1/3 以下になる」ことを確認した後、試験を行った。ベッセルに脱気した放出液 700 ml または 1000 ml を入れた。パップ剤を直径 3 cm (KP および FP 製剤) あるいは 1 cm (IM 製剤) の円形に切り、ライナーを丁寧にはがした後、ホルダーの底板の上にシリコーン O-リングを重ね、その内側に貼付面を上にして収まるように乗せ、上板を被せて固定した。なお、このホルダーは、放出面以外の水分出納を防ぐことができる。IM 製剤は、溶解律速を回避するために、放出面積

を小さくしたホルダーを選択した。パップ剤をマウントしたホルダーをベッセルの中央に沈め、放出面から 3 cm 上方にパドルの回転翼の先端面が位置するようにセットした。パドルは 100 rpm で回転させ、試験開始 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 時間後に放出液 500 μ l を採取し、採取した後は同容量の新鮮な放出液を補充し、容量を一定に保った。

7. 定量

IM, KP および FP はすべて 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, クロマトパック: C-R5A, カラムオープン: CTO-6A, 株式会社島津製作所, 京都) を使用した。カラムは Inertsil C18 (4.6 \times 250 mm, 5 μ m, ジーエルサイエンス株式会社, 東京) を用い、いずれの製剤も温度 60 $^{\circ}$ 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 μ g/ml BP で定量した。

8. 検定

放出試験におけるパップ剤の先発および後発医薬品での放出率の比較に際しては t-検定を用いた。

第2編 実験の部

1. 試薬

VPE-0601 は和光純薬工業株式会社（大阪）より供与され、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）は東京化成工業株式会社（東京）より購入した。カフェイン（CF）、インドメタシン（IM）、ケトプロフェン（KP）は和光純薬工業株式会社（大阪）より、メチルパラベン（MP）、フルルピプロフェン（FP）、エチルパラベン（EP）、プロピルパラベン（PP）、ブチルパラベン（BP）は東京化成工業株式会社（東京）よりそれぞれ購入した。硝酸イソソルビド（ISDN）は東光薬品工業株式会社から供与された。 $[^3\text{H}]$ -mannitol (MT, 20 Ci/mmol) は American Radiolabeled Chemicals, Inc. (St. Louis, MO, USA) から購入した。その他の溶媒および試薬は市販の特級あるいは高速液体クロマトグラフ用を用いた。なお、VPE-0601, MMA および GMA 以外は精製せずにそのまま用いた。

2. 高分子の合成

VPE-0601:MMA:GMA は重量比で量り取り、強化硬質全自動共栓試験管に入れ、液体窒素に沈めて凍結させ、試験管内の脱気、窒素ガスの充填、脱気をしてから融解した。この工程を数回繰り返す、水浴を 80℃ に設定して重合を開始した。24 時間後、反応液を貧溶媒のメタノールあるいはヘキサンに投じ、結晶化させ、吸引ろ過により採取した。一晚、減圧下、デシケーター内で乾燥させ、使用するまで常圧のデシケーター内で保管した。高分子の再現性の評価をするために、以下の GPC system（検出器:RI-101, カラム:K-804L（昭和電工株式会社, 東京）, ポンプ:LC-9A（株式会社島津製作所, 京都）, インテグレータ:クロマトコーダー21（システムインスルメンツ, 東京）, カラムオープン:U-620 type 30 コントローラー（スガイケミー株式会社, 和歌山））を用いて、数平均分子量 (M_n) と重量平均分子量 (M_w) を測定した。

3. 高分子人工膜の調製

高分子を 0.1 g/ml クロロホルム溶液となるように溶解させ、室温、13400 rpm で遠心分離した。上清を平らなガラス板上の PET フィルムに垂らし、Casting 法を用いて約 10 μm に製膜した。室温で 1 時間乾燥後、100 $^{\circ}\text{C}$ で 1 時間乾燥させ、デシケーター内で使用するまで保存した。

4. 高分子人工膜の構造解析

製膜した人工膜を約 1.5 \times 1.5 cm の大きさに切り、その重量を測定し、dry weight とした。次にその膜を PBS あるいはエタノールに入れ、一定時間ごとに取り出し、膜表面の水分を軽く拭き取って重量を測定し、これを swelling weight とした。膨潤度 (swelling ratio) は次に示す式 (2) に従って計算した。

$$\text{Swelling ratio} = \frac{\text{Swelling weight} - \text{Dry weight}}{\text{Dry weight}} \times 100 \quad \dots(2)$$

次に、TG-DTA (株式会社リガク、東京) を用いて熱分析を行った。昇温速度 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 、雰囲気 air 200 ml/min、試料量 2.5 mg の条件で、25 $^{\circ}\text{C}$ ~400 $^{\circ}\text{C}$ まで測定した。

さらに、試料水平型多目的 X 線回折装置 RINT-Ultima III (株式会社リガク、東京) により、膜構造を以下の条件で観察した (X 線源: Cu-K α ; 40 kV-50 mA (ノーマルフォーカス)、クロスビームオプティクス: 多層膜ミラーによる平行ビーム、入射側光学系 1: 5.0 $^{\circ}$ ソーラーズリット、入射側光学系 2: 可変スリット、アタッチメント: 試料中低温装置、受光側光学系 1: 可変スリット、受光側光学系 2: 0.114 $^{\circ}$ ソーラーズリット、検出器: シンチレーションカウンタ)。

5. 分配係数の測定

オクタノールと PBS 中の薬物溶解度を第 1 編と同様に測定した。薬物のオクタノール/PBS 分配係数を双方の溶解度比から計算した。

6. ヒト皮膚の調製

特定非営利活動法人エイチ・イー・ビー研究機構（東京）より購入したヒト皮膚を使用するまで冷凍保存し，使用直前に室温で解凍後，真皮側をハサミでスライスし，厚みを 750 μm に調整した．セルにマウントした後，真皮側だけに PBS を適用し，一晚スターラーで攪拌洗浄して，実験に使用した．パラベン類に関しては，エステル分解を防ぐために，この前処理過程に 0.1%フルオロリン酸ジイソプロピル（和光純薬工業株式会社，大阪）を含む PBS を用いた^{84, 85}．

7. 高分子人工膜を介した薬物透過試験

高分子人工膜を 2 - チャンバー横型拡散セルに挟み（有効透過面積；0.95 cm^2 ），donor 側に薬物の懸濁あるいは溶解（MT）させた PBS を，receiver 側には PBS のみを入れ，32°C で透過実験を行った．Receiver 溶液から適宜，試料を採取し，HPLC で定量した．なお，パップ剤の透過試験では donor 側のセルを直径 1.3 cm のパップ剤に置き換え，AS(S)を receiver 溶液とし，上記の方法で行った．

8. 定量

第 1 編と同じ HPLC システムを使用し，流速 1 ml/min（CF，ISDN，MP，FP，EP，EP，PP，BP）で測定した．その他の定量条件は Table 8 に示した．ただし，MT はトリチウムラベルしているため，receiver 溶液から 0.5 ml をサンプリングし，ACSII Scintillation Cocktail (Amersham International, Buckinghamshire, UK)を加え，液体シンチレーションカウンターLSC-5000（アロカ株式会社，東京）で測定した．

Table 8. HPLC conditions of the drug assay.

Drug	Mobile phase	Detection (nm)	Internal standard
CF	0.1% Phosphoric Acid: Acetonitrile (90:10)	254	-*
IM	0.1% Phosphoric Acid: Acetonitrile (60:40)	230	BP
ISDN	0.1% Phosphoric Acid: Acetonitrile (50:50)	220	BP
KP	0.1% Phosphoric Acid: Acetonitrile (60:40)	230	BP
MP	0.1% Phosphoric Acid: Acetonitrile (50:50)	254	BP
FP	0.1% Phosphoric Acid: Acetonitrile (60:40)	230	EP
EP	0.1% Phosphoric Acid: Acetonitrile (50:50)	254	BP
PP	0.1% Phosphoric Acid: Acetonitrile (50:50)	254	BP
BP	0.1% Phosphoric Acid: Acetonitrile (50:50)	254	EP

* : absolute calibration method

引用文献

- 1) Kukura J., Arratia P.E., Szalai E.S., Muzzio F.J., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **29**, 231-239 (2003).
- 2) 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試験ガイドライン,” 2003.
- 3) OECD, “Test Guideline 428: Skin Absorption: In Vitro Method,” OECD, Paris, 2004.
- 4) OECD, “OECD Environmental Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 28: Guidance Document for the Conduct of Skin Absorption Studies,” OECD, Paris, 2004.
- 5) Howes D., Guy R., Hadgraft J., Heylings J., Hoeck U., Kemper F., Maibach H., Marty JP., Merk H., Parra J., Rekkas D., Rondelli I., Schaefer H., Tauber U., Verbiese N., *ATLA*, **24**, 81-106 (1996).
- 6) El-Kattan A., Asbill C., Haidar S., Transdermal testing: practical aspects and methods, *PSTT*, **3**, 426-430 (2000).
- 7) 中野真汎, 森本雍憲, 杉林堅次, “ドラッグデリバリーシステム,” 南山堂, 東京, 1982.
- 8) 橋田充, 高倉喜信, “生体内薬物送達学,” 産業図書, 東京, 1995.
- 9) Guy R.H., *Pharm. Res.*, **13**, 1765-1769 (1996).
- 10) 水島裕, “DDS の進歩 1995-96,” 中山書店, 東京, 1995.
- 11) 高橋俊雄, 橋田充, “今日の DDS,” 医薬ジャーナル社, 大阪, 1999.
- 12) 田端泰彦, “ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法,” メディカル ドゥ, 大阪, 2003.
- 13) Singh P., Roberts M.S., *J. Pharm. Sci.*, **83**, 774-782 (1994).
- 14) Singh P., Roberts M.S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **279**, 908-917 (1996).
- 15) Barry B.W., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **14**, 101-114 (2001).
- 16) Kalia Y.N., Guy R.H., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **48**, 159-172 (2001).

- 17) 大野雅久, “パップ剤,” 薬事日報社, 東京, 2003.
- 18) 早川律子, “第2回経皮吸収型製剤シンポジウム: 経皮吸収製剤のヒト皮膚における安全性,” ライフサイエンス出版(株), 東京, pp. 103-106, 1987.
- 19) Shah V.P., Tymes N.W., Yamamoto L.A., Skelly J.P., *Int. J. Pharm.*, **32**, 243-250 (1986).
- 20) Shah V.P., Tymes N.W., Skelly J.P., *J. Control. Release*, **7**, 79-86 (1988).
- 21) Yamaguchi Y., Sato H., Sugibayashi K., Morimoto Y., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **22**, 569-577 (1996).
- 22) 山口幸也, 佐藤宏, 原田真由美, 夏目秀視, 杉林堅次, 森本雍憲, 内山充, 薬剤学, **54**, 253-260 (1994).
- 23) Tymes N., Shah V., Skelly J., *J. Pharm. Sci.*, **79**, 601-602 (1990).
- 24) 高安敏幸, 柴田茂子, 町田良治, 南部直樹, 永井恒司, “第1回経皮吸収型製剤シンポジウム: 水溶性高分子マトリックスからのプロプラノロールの溶出と経皮吸収,” ライフサイエンス出版(株), 東京, pp. 54, 1985.
- 25) Loth H., *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, **11**, 155-164 (1989).
- 26) Singh P., Roberts M.S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **268**, 144-151 (1994).
- 27) Friend D.R., *J. Control. Release*, **18**, 235-248 (1992).
- 28) Scheuplein R.J., Blank I.H., Brauner G.J., Macfarlane D.J., *J. Invest. Dermatol.*, **52**, 63-69 (1969).
- 29) Anderson B.D., Higuchi W.I., Raykar P.V., *Pharm. Res.*, **5**, 566-573 (1988).
- 30) Hadgraft J., *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, **14**, 72-81 (2001).
- 31) Hadgraft J., *Int. J. Pharm.*, **224**, 1-18 (2001).
- 32) Hatanaka T., Inuma M., Sugibayashi K., Morimoto Y., *Int. J. Pharm.*, **79**, 21-28 (1992).
- 33) Feldstein M.M., Raigorodskii I.M., Iordanskii A.L., Hadgraft J., *J. Control. Release*, **52**, 25-40 (1998).
- 34) Houk J., Guy R., *Chem. Rev.*, **88**, 456-471 (1988).
- 35) 株式会社総合企画センター大阪, “2001年世界の抗炎症剤市場,” 株式

- 会社総合企画センター大阪, 大阪, 2001.
- 36) Hadgraft J., Lewis D., Beutner D., Wolff H.M., *Int. J. Pharm.*, **73**, 125-130 (1991).
- 37) Shah V.P., Elkins J.S., Williams R.L., *Pharm Dev Technol.*, **4**, 377-385 (1999).
- 38) Higuchi T., *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **11**, 70-82 (1960).
- 39) USP, "U. S. Pharmacopoeia 29: Drug Release," U. S. Pharmacopoeial Convention, Inc., Rockville, MD, 2006.
- 40) Shimamura T., Tairabune T., Kogo T., Ueda H., Numajiri S., Kobayashi D., Morimoto Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 167-171 (2004).
- 41) 第14改正日本薬局方解説書, 廣川書店, 東京, 2001.
- 42) 戸嶋直樹, 遠藤剛, 山本隆一, "機能高分子材料の化学," 日本化学会編, 朝倉書店, 東京, 1996.
- 43) Guy R.H., Hadgraft J., *Int. J. Pharm.*, **60**, R1-R3 (1990).
- 44) 増田房義, "高吸水性ポリマー," 高分子学会編, 共立出版, 東京, 1987.
- 45) 日本生化学会編, "生体物質の諸性質・生体の組成," 東京化学同人, 東京, 1979.
- 46) Shah V.P., Elkins J., Shaw S., Hanson R., *Pharm. Dev. Tech.*, **8**, 97-102 (2003).
- 47) 平船寛彦, 島村剛史, 上田秀雄, 沼尻幸彦, 小林大介, 森本雍憲, *医療薬学*, **30**, 723-729 (2004).
- 48) Shah V.P., Elkins J., Shaw S., Hanson R., *Pharm. Dev. Technol.*, **8**, 97-102 (2003).
- 49) 宇佐美英治, 水野政義, 井上清孝, 宮下正弘, 瀬山義幸, 山下三郎, *薬史学雑誌*, **29**, 59-64 (1993).
- 50) Worth A.P., Ball M., *ATLA*, **30**, 15-21 (2002).
- 51) Louhimies S., *ATLA*, **30**, 217-219 (2002).
- 52) Bouwstra J.A., Honeywell-Nguyen P.L., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**, S41-S55 (2002).
- 53) Frasch H.F., Barbero A.M., *J. Pharm. Sci.*, **92**, 2196-2207 (2003).

- 54) Nakagawa T., Sugisaki Y., *Membrane*, **16**, 204-211 (1991).
- 55) Kalia Y.N., Pirot F., Guy R.H., *Biophys. J.*, **71**, 2692-2700 (1996).
- 56) Bouwstra J.A., Honeywell-Nguyen P.L., Gooris G.S., Ponec M., *Prog. Lipid Res.*, **42**, 1-36 (2003).
- 57) Guy R.H., Hadgraft J., *Int. J. Pharm.*, **24**, 267-274 (1985).
- 58) Kobayashi D., Matsuzawa T., Sugibayashi K., Morimoto Y., Kimura M., *Pharm. Res.*, **11**, 96-103 (1994).
- 59) Geinoz S., Rey S., Boss G., Bunge A.L., Guy R.H., Carrupt P., Reist M., Testa B., *Pharm. Res.*, **19**, 1622-1629 (2002).
- 60) Mitragotri S., *J. Control. Release*, **86**, 69-92 (2003).
- 61) Hadgraft J., Lane M.E., *Int. J. Pharm.*, **305**, 2-12 (2005).
- 62) Potts R.O., Guy R.H., *Pharm. Res.*, **9**, 663-669 (1992).
- 63) Fu X.C., Wang G.P., Wang Y.F., Liang W.Q., Yu Q.S., Chow M.S.S., *Pharmazie*, **59**, 282-285 (2004).
- 64) Hatanaka T., Inuma M., Sugibayashi K., Morimoto Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 3452-3459 (1990).
- 65) Morimoto Y., Hatanaka T., Sugibayashi K., Omiya H., *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 634-639 (1992).
- 66) Hatanaka T., Manabe E., Sugibayashi K., Morimoto Y., *Pharm. Res.*, **11**, 654-658 (1994).
- 67) Alvarez-Roman R., Naik A., Kalia Y.N., Fessi H., Guy R.H., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **58**, 301-316 (2004).
- 68) Turner N.G., Guy R.H., *J. Invest. Dermatol.*, **3**, 136-142 (1998).
- 69) Garrett E.R., Chemburkar P.B., *J. Pharm. Sci.*, **57**, 949-959 (1968).
- 70) Okumura M., Sugibayashi K., Ogawa K., Morimoto Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 1404-1406 (1989).
- 71) Grams Y.Y., Bouwstra J.A., *J. Control. Release*, **83**, 253-262 (2002).
- 72) Bouwstra J.A., Gooris G.S., van der Spek J.A., Lavrijsen S., Bras W., *Biochim. Biophys. Acta*, **1212**, 183-192 (1994).
- 73) Tian Y., Watanabe K., Kong X., Abe J., Iyoda T., *Macromolecules*, **35**,

- 3739-3747 (2002).
- 74) Guy R.H., Hadgraft J. ed., "Transdermal drug delivery," Marcel Dekker, New York, 2003.
- 75) インタビューフォーム, カトレップ, 帝国製薬株式会社, 2005.
- 76) インタビューフォーム, モーラス, 久光製薬株式会社, 1999.
- 77) インタビューフォーム, アドフィード, リードケミカル株式会社, 2005.
- 78) Hadgraft J., Ridout G., *Int. J. Pharm.*, **39**, 149-156 (1987).
- 79) Hadgraft J., Ridout G., *Int. J. Pharm.*, **42**, 97-104 (1988).
- 80) Illel B., Schaefer H., Wepierre J., Doucet O., *J. Pharm. Sci.*, **80**, 424-427 (1991).
- 81) Stamatialis D.F., Rolevink H.H.M., Koops G.H., *J. Pharm. Sci.*, **92**, 1037-1039 (2003).
- 82) Khan G.M., Frum Y., Sarheed O., Eccleston G.M., Meidan V.M., *Int. J. Pharm.*, **303**, 81-87 (2005).
- 83) Yamaguchi Y., Usami T., Natsume H., Aoyagi T., Nagase Y., Sugibayashi K., Morimoto Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 537-541 (1997).
- 84) Bando H., Mohri S., Yamashita F., Takakura Y., Hashida M., *J. Pharm. Sci.*, **86**, 759-761 (1997).
- 85) Kitagawa S., Li H., Sato S., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 1354-1357 (1997).

