

化粧品の安全性評価への適用を目指した
有限用量下の経皮吸収率を予測するモデルの構築

國田 凌輝

目次

略語	6
記号	7
緒言	8
第1章 有限用量下の経皮吸収率を予測可能な数理モデルの構築	13
第1節 実験方法	16
1. 実験材料	
2. <i>In vitro</i> 皮膚透過試験 (無限用量下)	
3. <i>In vitro</i> 皮膚透過試験 (有限用量下)	
4. 蒸発試験	
5. UHPLCによる定量	
6. 数理モデルによる経皮吸収率予測性の指標	
第2節 理論	21
1. 透過パラメーターの算出	
2. Fickの拡散第1法則を用いた経皮吸収率予測モデルの構築	
第3節 結果	26
1. 摘出皮膚を用いた透過パラメーターの算出	
2. 基剤が完全に蒸発するまでの時間の推定	
3. 摘出皮膚を用いた有限用量下の経皮吸収率の予測	
第4節 考察	30
第5節 小括	33

第2章 Strat-M[®]と数理モデルを組み合わせた

経皮吸収率予測性の評価	34
第1節 実験方法	36
1. 実験材料	
2. <i>In vitro</i> 皮膚透過試験 (無限用量下)	
3. <i>In vitro</i> 皮膚透過試験 (有限用量下)	
4. 蒸発試験	
5. UHPLCによる定量	
6. 数理モデルによる経皮吸収率予測性の指標	
第2節 理論	38
1. 透過パラメーターの算出	
2. Fickの拡散第1法則を用いた経皮吸収率予測モデルの構築	
第3節 結果	39
1. Strat-M [®] を用いた透過パラメーターの取得	
2. Strat-M [®] を用いた有限用量下の経皮吸収率の予測	
第4節 考察	43
第5節 小括	45

第3章 QSPRモデルと数理モデルを組み合わせた

経皮吸収率予測性の評価	46
第1節 実験方法	48
1. K_p データの収集	
2. $\text{Log } K_{ow}$ の予測	
3. 経皮吸収率データの収集	
4. QSPRモデルを用いた透過パラメーターの取得	
5. 数理モデルによる経皮吸収率予測性の指標	
第2節 理論	61
1. 有限用量下の経皮吸収率の予測	
第3節 結果	62
1. $\text{Log } K_{ow}$ の予測	
2. データセットの分布	
3. QSPRモデルを用いた K_p の予測	
4. msDAを予測するための回帰モデルの構築	
5. IMASを用いた msDA の予測	
第4節 考察	76
1. msDAを予測する回帰モデル	
2. IMASによる msDA の過大評価	
3. IMASによる msDA の過小評価	
第5節 小括	84

第4章 数学的アプローチを組み合わせた経皮吸収率予測方法

IMAS を活用した安全性評価の実践	85
第1節 実験方法	86
1. K_p データの収集	
2. $\text{Log } K_{ow}$ の予測	
3. 経皮吸収率データの収集	
4. QSPR モデルを用いた透過パラメーターの取得	
5. 数理モデルによる経皮吸収率予測性の指標	
6. 統計解析	
第2節 理論	87
1. Kroes モデルを用いた msDA の分類	
第3節 結果	88
1. Kroes モデルによる msDA の予測性評価	
2. IMAS と Kroes モデルによる msDA 予測性の比較	
3. IMAS を活用した全身毒性リスクの評価	
第4節 考察	99
第5節 小括	101
結言	102
引用文献	106
謝辞	112

略語

SCCS	Scientific committee on consumer safety
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
CPSR	Cosmetic product safety report
QSPR	Quantitative structure-permeability relationship
KA	Kojic acid
CAF	Caffeine
BA	Benzoic acid
MP	Methyl <i>p</i> -hydroxybenzoate
LID	Lidocaine
PHBA	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid
ISMN	Isosorbide 5-mononitrate
UHPLC	Ultra high performance liquid chromatography
SC	<i>Stratum corneum</i>
VED	Viable epidermis and dermis
SMILES	Simplified molecular input line entry system
ECHA	European Chemicals Agency
CIR	Cosmetic Ingredient Review

記号

$C \cdot C_v$	物質濃度
M	物質質量
K_p	透過係数
D	拡散係数
K	分配係数
DL^{-2}	拡散パラメーター
KL	分配パラメーター
J	単位面積あたりの膜を介した流速
$K_{o/w}$	n-オクタノール/水分配係数
L	膜の厚さ
T_{lag}	ラグタイム
MW	分子量
C_{wat}^{sat}	水への飽和溶解度
DA	経皮吸収率
mDA	経皮吸収率 (平均値)
SD	標準偏差
msDA	経皮吸収率 (平均値+標準偏差)

緒言

化学物質がもたらす毒性のリスクは、毒性強度とヒトへの曝露量を用いて示される。毒性には大きく分けて、皮膚や眼といった局所に影響する局所毒性と、肝臓や腎臓といった全身に影響する全身毒性がある。化粧品に配合された物質の全身毒性リスクの評価において、毒性強度は目的物質を対象とした動物試験から得られた無毒性量が該当する。ヒトへの曝露量については、化粧品の場合は主に経皮曝露が想定され、化粧品使用量と目的物質の配合濃度、並びに目的物質の経皮吸収率の積から算出できる¹⁾。皮膚は表皮、真皮、脂肪層から構成されており、さらに表皮は上から角層、顆粒層、有棘層、基底層に分かれている。皮膚表面に最も近い角層は細胞間脂質に富んでおり、生体外の異物から生体内を守るバリアとして機能している。経皮吸収とは、皮膚上の物質が角層を介して血管中に入ることを意味しており²⁾、化粧品の安全性評価において、経皮吸収量とは”角層より下に透過した量”として定義されている^{1,3)}。これは、角層に局在している物質は、ターンオーバーにより後に生体外に排出され、体内には吸収されないと考えられているためである。経皮吸収率は、皮膚上に塗布された物質質量に対する経皮吸収量のパーセント割合を表す。一般的に、無毒性量に対する経皮曝露量の比、いわゆる安全率が100を超える場合、化粧品に配合された物質の全身毒性リスクは小さいとみなされる¹⁾。

$$\text{経皮曝露量} = \text{化粧品の使用量} \times \text{配合濃度} \times \text{経皮吸収率}$$

$$\text{経皮吸収率} = \frac{\text{経皮吸収量}}{\text{皮膚上に塗布された物質質量}} \times 100$$

$$\text{安全率} = \frac{\text{無毒性量}}{\text{経皮曝露量}}$$

欧州で化粧品を販売する場合、化粧品が安全であることを説明する書類 CPSR を用意することが企業の責任とされている⁴⁾。Table 1 に CPSR で要求される情報について示す。CPSR

は 14 項目から構成されており、配合されている物質の毒性情報を始め、製品のヒト安全性データや防腐防黴の結果、包装容器の材料などについても示す必要がある。そのうち Part A-8 では、配合されている物質の中で、体内に吸収され得る全ての物質について、安全率の算出を介した全身毒性リスクに対する説明が求められている。CPSR の内容に不備がある場合、最悪その化粧品は販売差し止めになる可能性がある。

Table 1 Information required under CPSR

PART A	内訳
1	製品中の原料・物質組成
2	製品の物化性状・安定性
3	防腐防黴性
4	不純物および包装容器情報（溶出物含む）
5	想定される使用方法
6	製品の曝露量
7	各成分の曝露量
8	毒性情報とリスク評価
9	症例報告や市場実績
10	製品で実施した安全性試験、試用試験の結果
PART B	内訳
1	評価結論
2	注意事項や能書
3	どんな情報を基に結論が下されたか
4	安全性評価者としての資格証明

化粧品に配合予定の物質の中に、安全率が 100 を下回る物質がある場合、全身毒性リスクが小さいことを説明できていないため対応が必要になる。無毒性量については過去動物実験で得られた情報を活用することが多く、新しくデータを取得することは困難である。また、化粧品の使用量については、SCCS や化粧品工業会などの業界団体が、化粧品のカテゴリー毎に大規模調査を実施しており、経皮曝露量を算出する上で参考にすべき使用量の値を提

示している^{1,5)}。したがって、安全率を精査する場合、目的物質の配合濃度を下げる、もしくは経皮吸収率を考慮することが対応として挙げられる。仮に経皮吸収率を100%とみなして安全率を算出した場合、経皮吸収されにくい物質によっては、安全側に極端に偏った評価となり、配合可能な範囲を狭めかねない。したがって、目的物質に応じて経皮吸収率を精査することは、化粧品開発の自由度向上、並びにCPSRを介して海外ビジネスに大きく貢献すると言える。

OECDテストガイドラインには、経皮吸収率を評価するための試験法として、摘出皮膚を用いた*in vitro*皮膚透過試験(OECD TG428)が記載されている³⁾。リン酸緩衝液等をレセプター液としてフランツセルに充填し、摘出皮膚の真皮側がレセプター液に接するように装着する。次に、被験サンプルを皮膚表面に塗布し、24時間後、皮膚中やレセプター液中の目的物質を定量することで、経皮吸収率を評価できる。摘出皮膚について、ヒトの場合は美容整形や遺体由来の皮膚が利用されている。化粧品使用を想定して経皮吸収率を適切に評価するためには、ヒト摘出皮膚の利用が好ましい一方、供給安定性やコストが課題として挙げられる。OECDテストガイドラインでは、ヒト摘出皮膚の代わりとして、豚摘出皮膚の利用についても記載がある。豚摘出皮膚は、ヒト摘出皮膚に近い構造を持ち、物質の透過性も類似していることが報告されている⁶⁾。加えて、EU化粧品指令第7次改正の公布により2013年以降、動物愛護の観点から欧州を起点として、化粧品の安全性評価を目的とした動物実験が禁止されているが、豚摘出皮膚については、食用豚の廃棄部分を利用することで、動物実験に該当しないと法規上はされている。したがって、経皮吸収の研究に豚摘出皮膚を利用することは少なくない。一方、食用とは言え、豚摘出皮膚を利用することは動物実験と大きく変わらないと考える人も少なからず見受けられ、摘出皮膚を始めとする動物組織を用いない評価方法に注目が集まっている。

上記の背景を受け、摘出皮膚の代替として合成人工膜や培養ヒト皮膚モデルを始めとする皮膚代替膜の利用に関する研究が進んでいる。皮膚代替膜は、皮膚と類似の層構造を持つ

材である。これまで、ヒトや豚摘出皮膚を用いて得られた皮膚を介する透過係数 (Kp) と皮膚代替膜を用いて得られた Kp の間に良好な相関があることが報告されている⁷⁻⁹⁾。 Kp は、基剤中の物質濃度が一定である無限用量下にて、定常的に物質が皮膚を透過する条件で得られるパラメーターである。皮膚代替膜の利点として、摘出皮膚と比較して供給が安定しており、安価であることが挙げられる。また、摘出皮膚の場合、個体によって皮膚の厚みや角層の堅牢性が異なることから、試験結果が振れやすく、安定的な結果を獲得するためには試験数を多くする必要がある。一方、皮膚代替膜の場合、ロット間のブレが少なく、少ない試験数でも安定的な結果を取得しやすい。

皮膚透過は、物理化学的には物質の皮膚への分配と皮膚中の拡散運動から説明できる現象であり、それぞれ水/オクタノール分配係数 ($\text{Log } K_{ow}$) や分子量 (MW) のような物理化学的パラメーターが関係している¹⁰⁻¹¹⁾。この知見を基に Potts and Guy は、ヒト摘出皮膚を用いて得られた Kp が、下記の簡易な式である程度予測できることを示している¹⁰⁾。

$$\text{Log}_{10} Kp (\text{cm/h}) = -2.7 + 0.71 \times \text{Log } K_{ow} - 0.0061 \times MW$$

Potts and Guy の式を始めとして、構造情報や物理化学的パラメーターを変数として、 Kp を数学的に推定する定量構造透過相関 (QSPR) モデルの検討も近年盛んであり、試験を実施せずとも迅速に Kp を予測することが可能になりつつある¹²⁻¹⁵⁾。

現在まで、皮膚代替膜や QSPR モデルを用いた経皮吸収に関する研究は、 Kp に着目して主に進められてきた。一方、安全率を算出する上で必要とされる経皮吸収率は、化粧品の使用時を想定し、皮膚に対して少ない塗布量、いわゆる有限用量下で得られる値である。したがって、有限用量下で得られる経皮吸収率と無限用量下で得られる Kp では試験条件が異なるため、仮に Kp を全身毒性リスクの評価に適用することを考えた場合、経皮吸収率と Kp の関係性について考える必要がある。

過去 Kroes らは、 Kp を利用した経皮吸収率の推定方法を提案している。”皮膚透過速度が

高いほど経皮吸収率も高い”というコンセプトを基に、Potts and Guy の式を利用して、 $\text{Log } K_{o/w}$ と MW から得られた Kp と水への飽和溶解度 (C_{wat}^{sat}) の積から算出した最大皮膚透過速度 (J_{max}) に応じて、目的物質の経皮吸収率を 10%、40%、80% に 3 分類する方法である¹⁶⁾。つまり、 $\text{Log } K_{o/w}$ 、 MW 、 C_{wat}^{sat} の 3 つの物理化学的パラメーターから経皮吸収率を簡便に分類することが可能である。しかし、Kroes らの提案した方法は、有限用量と無限量における条件下の違いを反映していないことから、どのような物質に対して予測性が高いか、または低いかについては明確になっていなかった。

そこで本研究では、摘出皮膚を用いずに経皮吸収性を考慮した化粧品の安全性評価を可能にすることを旨とし、皮膚代替膜や QSPR モデルを用いて得られる Kp から経皮吸収率を評価する方法について検討した。本論文第 1 章では、摘出皮膚に有限用量下で塗布された化粧品中の物質が皮膚を透過する挙動についてまず考えた。その結果、基剤の蒸発による皮膚透過時間への影響に着目し、Fick の拡散第 1 法則に反映させることで、 Kp をパラメーターとして経皮吸収率を予測可能な数理モデルを新たに構築した。第 2 章では、第 1 章で構築した数理モデルと、摘出皮膚と同じ 3 層構造を有し、同程度の Kp を示すことが報告されている Strat-M[®] を組み合わせて経皮吸収率を予測した場合の予測性を評価した。第 3 章では、目的物質の構造情報や物理化学的パラメーターを変数として Kp を計算予測可能な QSPR モデルに着目した。一般的に利用可能な複数の QSPR モデルを対象に、 Kp を予測するための最適な方法についてまずは検討した。その後、検討したモデルと数理モデルを組み合わせて、経皮吸収率の予測性を評価した。第 4 章では、第 3 章の結果を踏まえ、QSPR モデルと数理モデルを組み合わせた経皮吸収率予測方法と Kroes らの方法から得られた経皮吸収率の予測結果を比較することで、各方法において予測性が高い、または低い物質の特徴について評価した。

以上、本論文では皮膚代替膜や QSPR モデルを用いることで、摘出皮膚を用いずに経皮吸収率を予測する方法を構築し、化粧品の安全性評価へ応用するための知見を得た。

第1章 有限用量下の経皮吸収率を予測可能な数理モデルの構築¹⁷⁾

膜を介した物質の拡散性について、Fick の拡散方程式で説明できることが一般的に知られている。Fick の拡散方程式には第1法則と第2法則があり、第1法則では定常状態拡散、すなわち、拡散する物質の濃度が時間によって変わらないと仮定し、拡散流束 (J) は濃度勾配 ($\frac{dC}{dx}$) に比例する。この時の比例定数が拡散係数 (D) であり、 x は距離を示す。

$$J = -D \frac{dC}{dx}$$

一方、第2法則は非定常状態拡散、すなわち、拡散する物質の濃度が時間に依存して変化するを示している。

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}$$

したがって、物質濃度 (C) は時間 (t) と距離 (x) で決定される。

サンプルの塗布量が多く ($\geq 500 \mu\text{L}/\text{cm}^2$)、基剤の蒸発を無視できる、つまり基剤中の物質濃度が一定である無限用量下では、定常状態時、皮膚中を拡散する物質の濃度に関して、ドナー側 ($x=0$) では KC_v 、レセプター液接触面 ($x=L$) ではレセプター液がシンク条件であることから 0 と仮定できる (Fig. 1)。ここで、 C_v は基剤中の物質濃度、 K は物質のサンプルから膜への分配係数、 L は膜の厚みを示す。

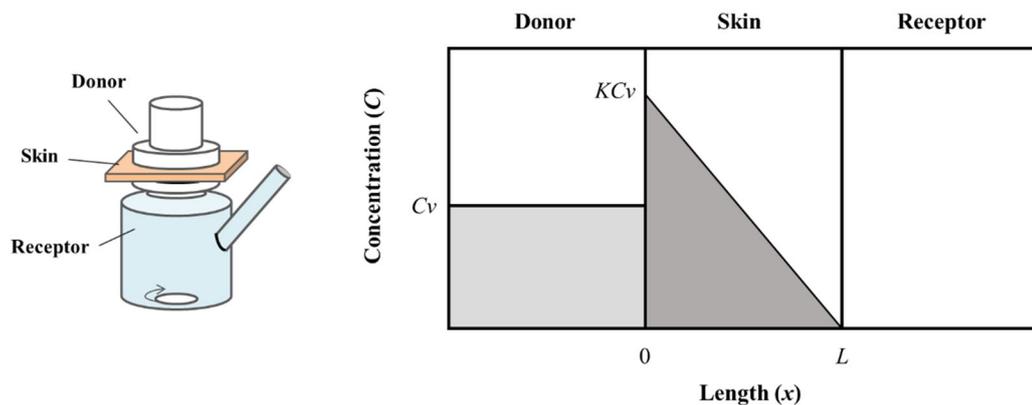


Fig. 1. Schematic diagram of concentration-distance profiles in *in vitro* dermal absorption tests under infinite dose conditions

Fick の拡散第 1 法則を $0 \leq x \leq L$ 、 $KC_v \leq C \leq 0$ で積分すると以下の式が得られる。

$$\int_0^L J dx = \int_{KC_v}^0 -Ddc$$

$$JL = KDC_v$$

$$J = \frac{KD}{L} C_v = KpC_v$$

ゆえに、無限用量下で *in vitro* 皮膚透過試験を実施することで、被験物質の Kp を取得することができる。一方、化粧品の安全性評価では、一般的に実使用時に沿った条件、すなわちサンプルの塗布量が少ない有限用量下であり ($\leq 10 \mu\text{L}/\text{cm}^2$)、基剤が蒸発して濃縮が起きる条件で、*in vitro* 皮膚透過試験が実施され、経皮吸収率が得られる。したがって、化粧品の安全性評価 (全身毒性リスクの評価) に Kp を適用する際には、 Kp および経皮吸収率を得る

ための試験条件の差異について考える必要がある。

先述の通り、無限用量下ではサンプルの塗布量が多いことから、基剤中の物質濃度は一定とされている。一方、有限用量下では時間が経つにつれて基剤が蒸発するため、基剤中で目的物質は濃縮し、数時間後には皮膚上に残存した物質は析出していると考えられる¹⁸⁾。この場合、サンプルから皮膚への分配が成立せず、皮膚透過は起き得ない。*In vitro* 皮膚透過試験にて経皮吸収率を評価する場合、サンプルを皮膚表面に塗布してから目的物質を回収するまで 24 時間あるが、蒸発の影響を踏まえると、実際に物質が皮膚を透過する時間は試験時間よりも短いと想定される。

上記の知見を踏まえ、 Kp を用いて経皮吸収率を正確に推定するためには、基剤の蒸発による透過時間に対する影響を考慮する必要があると考えた。そこで本章では、目的物質が皮膚を透過する時間、すなわち基剤が完全に蒸発する時間 (T_{eva}) を新たに Fick の拡散第 1 法則に組み込むことで、 Kp を用いて有限用量下の経皮吸収率を予測する数理モデルの確立を試みた。先述の通り、ヒト摘出皮膚を介した *in vitro* 皮膚透過試験から得られる Kp 値は、皮膚代替膜や QSPR モデルを用いても取得できるため、上記数理モデルを構築できれば、摘出皮膚を用いずとも経皮吸収率を推定できる可能性がある。ただし、今回新しく構築した数理モデルの妥当性を評価するため、本章では豚摘出皮膚を介した *in vitro* 皮膚透過試験により得られた Kp を数理モデルに適用して、経皮吸収率を予測した場合について評価した。

第1節 実験方法

1. 実験材料

Kojic acid (KA)、caffeine (CAF)、citric acid、sodium citrate は富士フィルム和光純薬株式会社 (大阪、日本)、benzoic acid (BA) は株式会社伏見製薬所 (香川、日本)、methyl *p*-hydroxybenzoate (MP) は Sharon Laboratories (Ashdod、Israel)、lidocaine (LID) は Combi-Blocks (San Diego、CA、USA)、isosorbide 5-mononitrate (ISMN) は東京化成工業株式会社 (東京、日本)、注射用水は光製薬株式会社 (東京、日本)、pH7.0 リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) は、Thermo Fisher Scientific (Waltham、MA、USA) から購入した。抽出用の試薬として、methanol (Analytical AR Grade) を、分析用の試薬として、acetonitrile (HPLC grade) と phosphoric acid は富士フィルム和光純薬から購入した。

KA、CAF、ISMN は 1%、MP は飽和溶解度になるように注射用水に溶解した。BA は PBS には 1%、pH 3.0 citrate buffe には飽和溶解度まで溶解した。LID は、1%になるように pH 5.0 citrate buffe に溶解した。Table 2 に、本試験において対象とした物質の物理化学的パラメーター (*MW*、*Log K_{o/w}*) とサンプル中の物質濃度 (*C_v*) をまとめた。

Table 2 Physicochemical properties of target chemicals

Permeants [Abbreviation]	Structure	<i>MW</i>	<i>Log K_{o/w}</i>	<i>C_v</i> (μg/mL)	Receptor fluid
Kojic acid [KA]		142.11	-0.9*	1.04 × 10 ⁴	PBS
Caffeine [CAF]		194.19	-0.09*	1.00 × 10 ⁴	PBS
Methyl <i>p</i> -hydroxybenzoate [MP]		152.15	2.0*	1.39 × 10 ³	PBS
Benzoic acid [BA (pH3.0)]		122.12	1.9*	1.83 × 10 ³	pH 3.0 citrate buffer
Benzoic acid [BA (pH7.0)]		121.12	-2.3 ¹⁹⁾	1.08 × 10 ⁴	PBS
Lidocaine [LID (pH5.0)]		234.34	-0.9 ²⁰⁾	9.56 × 10 ³	pH 5.0 citrate buffer
Isosorbide 5-mononitrate [ISMN]		191.13	-0.4*	1.10 × 10 ⁴	PBS

*Pubchem による予測値

2. *In vitro* 皮膚透過試験 (無限用量下)

-20°C保存していた豚耳 (東京芝浦臓器株式会社: 東京、日本) を自然解凍し、リングピンセット (日本フリッツメディコ株式会社: 千葉、日本) とフェザースカルペル (アズワン株式会社: 大阪、日本) を用いて、約 2 cm × 2 cm に皮膚を切り出した後、マイクロメーター (株式会社ミットヨ: 神奈川、日本) にて厚みを計測した。測定値が 1 mm 以下の皮膚を試験に用いた。フランツ型拡散セル (PermeGear: Hellertown, PA, USA) に摘出皮膚は真皮側がレセプター側になるように装着した。パスツールピペット (AGC テクノガラス株式会社: 静岡、日本) を用いて、PBS もしくは citrate buffe をサンプルに応じて拡散セルのレセプター側にそれぞれ満たした。インキュベーター (東京理化器械: 東京、日本) を温度 32 ± 1°C、湿度 50 ± 2% に設定し、拡散セルを 1 時間静置した後、皮膚健全性を確認するため Vapo メーター (Delfin technologies: Kuopio, Finland) を用いて、水分蒸散量を測定した。測定値が 15 g/cm²/h 以下の皮膚を試験に用いた²¹⁾。次に、サンプル 1 mL をピペットマン (Gilson: Middleton, WI, USA) を用いて皮膚に塗布し (適用面積: 1 cm²)、アルミホイル (MA アルミニウム株式会社: 東京、日本) で開口部に蓋をした。その後、インキュベーター内に静置した。サンプルを塗布してから 8 時間後まで、2 時間毎に、パスツールピペットを用いて、拡散セルから約 500 μL のレセプター液を採取し、15 mL チューブ (Corning: Corning, NY, USA) に回収した。回収したレセプター液中に含まれる目的物質を定量した。

3. *In vitro* 皮膚透過試験 (有限用量下)

-20°C保存していた豚耳を自然解凍し、リングピンセットとフェザースカルペルを用いて、約 2 cm × 2 cm の皮膚を切り出した後、皮膚の厚みを計測した。測定値が 1 mm 以下の皮膚を試験に用いた。サンプルに応じて、フランツ型拡散セルのレセプター側に PBS、pH 3.0 citrate buffe、pH 5.0 citrate buffe を満たし (8 mL)、切り出した皮膚を真皮側がレセプター側になるように拡散セルに装着した。インキュベーター (温度 32 ± 1°C、湿度 50 ± 2%) 内に 1

時間静置した後、皮膚健全性を確認するため Vapo メーターを用いて、水分蒸散量を測定した。サンプル 10 μL をマイクロマン (Gilson) にて皮膚に塗布し、インキュベーターに静置した。24 時間後、注射用水 4 mL で皮膚を洗浄した後に、乾いたコットン (アズワン株式会社) で皮膚表面を拭き、洗浄液およびコットンをスクリュ管瓶 (アズワン株式会社) に回収し、洗浄液「A」とした。次に、皮膚をフランツセルから外し、アルミホイルの上に置いた後、サンプル適用部位を角質チェッカー (Clinical and Derm LLC: Dallas, TX, USA) で 10 回テープストリッピングして、角層を除去した。ただし、10 回に達する前に表皮が剥がれた場合は、その時点でストリッピングを終了した。テープはスクリュ管瓶に回収し、20% (v/v) methanol をスクリュ管瓶に 4 mL 添加し、角層抽出液「B」とした。角層を除去した皮膚を外科剪刃 (日本フリッツメディコ株式会社) で細かく切り、スクリュ管瓶に回収し、20% (v/v) methanol をスクリュ管瓶に 4 mL 添加し、皮膚抽出液「C」とした。この時、注射用水で湿らせたコットンで、アルミホイル上の皮膚接触面や、皮膚を切った外科剪刃を拭き、その後、乾いたコットンでもう一度同様の部分を拭き、これらコットンも皮膚と同じスクリュ管瓶に回収した。レセプター液は 15 mL チューブにそのまま回収し、レセプター液「D」とした。A、B、C のスクリュ管瓶を超音波洗浄機 (アズワン株式会社) で 20 分間ソニケーションした。

4. 蒸発試験

フランツセルの上部に取り付けるドナーキャップの皮膚接触面に、パラフィルム (Pechiney Plastic Packaging, Chicago, IL, USA) を巻くことで底を作った後、ドナーキャップ全体の重量を測定した。次にドナーキャップ中のパラフィルム上にサンプル 10 μL を塗布した後、ドナーキャップをインキュベーター (温度 $32 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 2\%$) 内に静置した。15 分毎にインキュベーターからドナーキャップを取り出し、重量を測定した。15 分毎のドナーキャップの重量から、サンプルを塗布する前のドナーキャップの重量を引くこと

で、各時間におけるサンプル中の水分量を算出した。ドナーキャップの重量が変化しなくなった時間で、測定を終了した。

5. UHPLC による定量

無限用量下の透過試験で採取したレセプター液、並びに有限用量下の透過試験で得られた洗浄液「A」、角層抽出液「B」、皮膚抽出液「C」、レセプター液「D」をシリンジ (テルモ株式会社: 東京、日本) とフィルター (EMD Millipore) を用いてろ過することで分析用サンプルとした。各サンプルは、Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC, Nexera-i: 島津製作所、京都、日本) で分析した。MP と MP の代謝産物である *p*-hydroxy benzoic acid (PHBA) に関して、挿入量は、3 μ L とした。YMC-Triart C18 (2.1 mm \times 100 mm, 1.9 μ m) カラムは 40°C に維持した。流速は、0.15 mL/min とした。その他の物質に関して、挿入量は、LID、ISMN では 20 μ L、他物質では 10 μ L とした。YMC-Triart C18 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m) カラムは 40°C に維持した。流速は、1.0 mL/min とした。各物質の移動相、吸収波長の条件は以下の通りとした。0.1% phosphoric acid : acetonitrile = 85 : 15、255 nm (MP、PHBA)、0.1% phosphoric acid : acetonitrile = 80 : 20、260 nm (ANP)、0.1% phosphoric acid : acetonitrile = 95 : 5、270 nm (KA)、0.1% phosphoric acid : acetonitrile = 80 : 20、270 nm (CAF)、0.1% phosphoric acid : acetonitrile = 80 : 20、230 nm (BA)、0.1% phosphoric acid : acetonitrile = 70 : 30、220 nm (LID)、0.1% phosphoric acid : acetonitrile = 85 : 15、230 nm (ISMN)。

6. 数理モデルによる経皮吸収率予測性の指標

目的物質によっては、数理モデルから得られた経皮吸収率の予測値が実測値を下回ることがある。この場合、得られた予測値を用いて安全率を計算した際、目的物質の全身毒性リスクを低く見積もることに繋がる。一方、目的物質の経皮吸収率を数理モデルで予測する際に、どの物質の予測値が実測値を下回るかどうかを事前に判断することは困難な場合

がある。そこで、安全性評価の分野では、数理モデルを構築するために用いた物質の予測値が実測値に対し何倍の乖離を有するかを全体として見積もり、モデルの予測値を安全性評価に適用する際には、予測値にモデルの乖離度を加味した値を用いる手法が採用されている²²⁾。経皮吸収率の予測において、特に目標とすべき乖離度は定められていないが、仮に経皮吸収率の予測値が実測値に対して 10 倍の乖離があるモデルの場合、予測値が 10% 以上であれば全て 100%とみなして安全性評価に適用することになるため、モデルによる経皮吸収率の予測結果が、安全率の精査に対して有用である物質の範囲は低いと言える。そこで本研究では、実用面を考慮して、予測性の指標として予測値と実測値の乖離が 2 倍の範囲内に収まることを指標とした。

第2節 理論

1. 透過パラメーターの算出

皮膚を透過した物質の累積透過量のタイムコースから透過係数 (Kp)、拡散パラメーター ($\frac{D}{L^2}$)、分配パラメーター (KL)を算出した²¹⁾。

$$J = \frac{C_v K D}{L} = K p C_v \quad \text{Eq. (1)}$$

$$\frac{D}{L^2} = \frac{1}{6 T_{lag}} \quad \text{Eq. (2)}$$

$$KL = 6 T_{lag} K p \quad \text{Eq. (3)}$$

C_v はサンプル中の物質濃度、 D は拡散係数、 K は分配係数、 L は皮膚の厚さを示す。 T_{lag} はラグタイム (定常状態での透過速度が得られる時間) を示し、皮膚透過プロファイルにおいて、定常流速の x 軸切片から算出した。

2. Fick の拡散第 1 法則を用いた経皮吸収率予測モデルの構築

a. 基剤が完全に蒸発するまでに経皮吸収される物質質量 (M_1)

有限用量下における経皮吸収の全体像を Fig. 2 に示す。

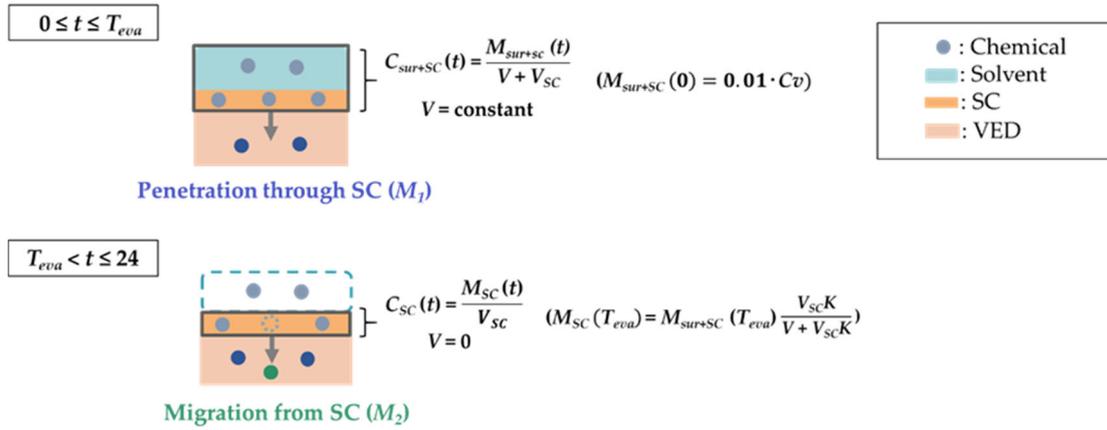


Fig. 2. Flow diagram for time course of the chemical amount ($M(t)$) and concentration ($C(t)$) under finite dose condition: $M_{sur+SC}(t)$ and $C_{sur+SC}(t)$ refer to the chemical amount and concentration at the skin surface and in the SC; $M_{SC}(t)$ and $C_{SC}(t)$ refer to the chemical amount and concentration in the SC; V , V_{SC} and K refer to solvent volume, SC volume and partition coefficient, respectively; t and T_{eva} refer to time after starting the permeation experiment and time when the solvent was completely evaporated solvent, respectively.

サンプルを皮膚表面に塗布した場合、時間の経過と共に基剤が蒸発する。Fick の拡散第 1 法則に基づき、サンプルを塗布してから ($t=0$)、サンプル中の基剤が完全に蒸発する時間 ($t = T_{eva}$) までの、時間 t での皮膚表面の物質質量 ($M_{sur}(t): 0 \leq t \leq T_{eva}$) は次の式で表される。

$$-\frac{dM_{sur}}{dt} = KpC_{sur}A \quad \text{Eq. (4)}$$

ここで、 t 、 C_{sur} 、 A はサンプルを塗布してからの時間、基剤中の物質濃度、サンプルの適用面積を表す。

先述の通り、経皮吸収量には角層中に存在する物質質量は含まれない。そこで、塗布した基

剤と角層を1つの compartment とみなし、この compartment 内の物質濃度 ($C_{sur+SC}(t)$) は均一と仮定することで、角層より下に透過する物質量の算出を試みた²³⁾。時間 t での上記 compartment 内の物質濃度 ($C_{sur+SC}(t); 0 \leq t \leq T_{eva}$) は、次の式で表される。

$$C_{sur+SC}(t) = \frac{M_{sur+SC}(t)}{V + V_{SC}} \quad \text{Eq. (5)}$$

ここで、 $M_{sur+SC}(t)$ 、 V と V_{SC} は、時間 t での基剤と角層中の物質質量 ($M_{sur+SC}(t)$)、基剤の体積並びに角層の体積を表す。Eqs. (4-5) より、時間 t での $M_{sur+SC}(t) (0 \leq t \leq T_{eva})$ は次の式で表される。

$$\begin{aligned} -\frac{dM_{sur+SC}}{dt} &= KpC_{sur+SC}A \\ -\frac{dM_{sur+SC}}{dt} &= Kp\frac{M_{sur+SC}}{V + V_{SC}}A \end{aligned} \quad \text{Eq. (6)}$$

実際は、蒸発の工程に従って基剤の体積は減少していく。言い換えれば、 V は時間に依存するパラメーターである。しかし、本論文では数式を簡略化するため、 V は T_{eva} に到達するまで一定と仮定した。

時間 T_{eva} での基剤および角層中の物質質量 ($M_{sur+SC}(T_{eva})$) は、Eq. (6) を積分することで取得できる。

$$\begin{aligned} \int_{M_{sur+SC}(0)}^{M_{sur+SC}(T_{eva})} -\frac{1}{M_{sur+SC}} dM_{sur+SC} &= \int_0^{T_{eva}} Kp\frac{A}{V + V_{SC}} dt \\ M_{sur+SC}(T_{eva}) &= M_{sur+SC}(0) \exp\left(-\frac{KpAT_{eva}}{V + V_{SC}}\right) \end{aligned} \quad \text{Eq. (7)}$$

ここで、 $M_{sur+SC}(0)$ は、塗布したサンプル中の物質質量を表す。サンプルを塗布してから ($t=0$)、サンプル中の基剤が完全に蒸発する時間 ($t=T_{eva}$) までに、角層を透過した物質質量 (M_I) は、 $M_{sur+SC}(0)$ と $M_{sur+SC}(T_{eva})$ の差によって表される。

$$M_I = M_{sur+SC}(0) - M_{sur+SC}(T_{eva}) = M_{sur+SC}(0) \left(1 - \exp\left(-\frac{KpAT_{eva}}{V + V_{SC}}\right)\right) \quad \text{Eq. (8)}$$

b. 基剤が完全に蒸発してから 24 時間後までに経皮吸収される物質質量 (M_2)

時間 T_{eva} では、皮膚表面上の物質は基剤の蒸発により析出すると想定される。この場合、皮膚表面からの物質の分配は起き得ない。一方、角層中に局在する物質は透過を続け、生きた表皮および真皮に移行すると想定される。そこで、 T_{eva} での角層中の物質質量 ($M_{SC}(T_{eva})$) は、 T_{eva} での基剤と角層中の物質質量 ($M_{sur+SC}(T_{eva})$) および Eq. (7)を用いて次式で表される。

$$M_{SC}(T_{eva}) = M_{sur+SC}(T_{eva}) \frac{V_{SC}K}{V + V_{SC}K}$$
$$M_{SC}(T_{eva}) = M_{sur+SC}(0) \exp\left(-\frac{KpAT_{eva}}{V + V_{SC}}\right) \frac{V_{SC}K}{V + V_{SC}K} \quad \text{Eq. (9)}$$

ここで、 K は物質の基剤と角層に対する分配係数を表す。Eq. (4)より、時間 t での角層中の物質質量 ($M_{SC}(t)$) ($T_{eva} < t \leq 24$) は次の式で表される。

$$-\frac{dM_{SC}}{dt} = Kp \frac{M_{SC}}{V_{SC}} A \quad \text{Eq. (10)}$$

サンプルを皮膚に適用してから 24 時間後 ($t=24$)の角層中の物質質量 ($M_{SC}(24)$) は、Eq. (10)を積分することで表される。

$$\int_{M_{SC}(T_{eva})}^{M_{SC}(24)} -\frac{1}{M_{SC}} dM_{SC} = \int_{T_{eva}}^{24} Kp \frac{A}{V_{SC}} dt$$
$$M_{SC}(24) = M_{SC}(T_{eva}) \exp\left(-\frac{KpA(24 - T_{eva})}{V_{sc}}\right) \quad \text{Eq. (11)}$$

基剤が完全に蒸発してから ($t = T_{eva}$)、24 時間後 ($t = 24$) までに、角層を透過した物質質量 (M_2) は、 $M_{SC}(T_{eva})$ と $M_{SC}(24)$ の差で表される。

$$M_2 = M_{SC}(T_{eva}) - M_{SC}(24) = M_{SC}(T_{eva}) \left(1 - \exp\left(-\frac{KpA(24 - T_{eva})}{V_{SC}}\right)\right)$$

Eq. (7) より、 M_2 は Eq. (12) で表すことができる。

$$M_2 = \frac{M_{sur+SC}(0)V_{SC}K}{V+V_{SC}K} \exp\left(-\frac{KpAT_{eva}}{V+V_{SC}}\right) \left(1 - \exp\left(-\frac{KpA(24-T_{eva})}{V_{SC}}\right)\right) \quad \text{Eq. (12)}$$

サンプルを皮膚に塗布してから 24 時間後 ($t=24$) までに角層を透過した物質質量、すなわち経皮吸収量は、Eq. (8) で示された M_1 と Eq. (12) で示された M_2 の和で表される。

$$M_1 + M_2 =$$

$$M_{sur+SC}(0) \left(1 - \exp\left(-\frac{KpAT_{eva}}{V+V_{SC}}\right)\right) + \frac{M_{sur+SC}(0)V_{SC}K}{V+V_{SC}K} \exp\left(-\frac{KpAT_{eva}}{V+V_{SC}}\right) \left(1 - \exp\left(-\frac{KpA(24-T_{eva})}{V_{SC}}\right)\right) \quad \text{Eq. (13)}$$

経皮吸収率 (DA) は、Eq. (13)を、塗布したサンプル中の物質質量 ($M_{sur+SC}(0)$)で除して 100 をかけた値であり、Eq. (14)で表される。

$$DA = \left(\left(1 - \exp\left(-\frac{KpAT_{eva}}{V+V_{SC}}\right)\right) + \frac{V_{SC}K}{V+V_{SC}K} \exp\left(-\frac{KpAT_{eva}}{V+V_{SC}}\right) \left(1 - \exp\left(-\frac{KpA(24-T_{eva})}{V_{SC}}\right)\right) \right) \times 100 \quad \text{Eq. (14)}$$

本研究では、摘出皮膚に塗布したサンプル量を $10 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ としたことから、塗布面積 (A) = $1.0 (\text{cm}^2)$ 、基剤の体積 (V) = $0.01 (\text{cm}^3)$ とした。また、角層の体積 (V_{sc}) = $0.002 (\text{cm}^3)$ とした²⁴⁾。加えて、第 1 章第 1 節で述べた各実験および Eqs. (1-3) によって Kp 、 K 、 T_{eva} について得た。これらの値を Eq. (14) に適用した。

第3節 結果

1. 摘出皮膚を用いた透過パラメーターの算出

Figure 3 は、kojic acid 水溶液を対象に、豚摘出皮膚を介した無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験で得られた kojic acid の透過プロファイルである。横軸に時間、縦軸に kojic acid の累積透過量を示している。サンプルを皮膚に塗布してから 2-8 時間までに測定されたデータは直線性を示した。そこで、上記 4 点のデータを用いて、第 1 章第 2 節に示した Eqs. (1-3) に従い、皮膚透過パラメーターを算出した。

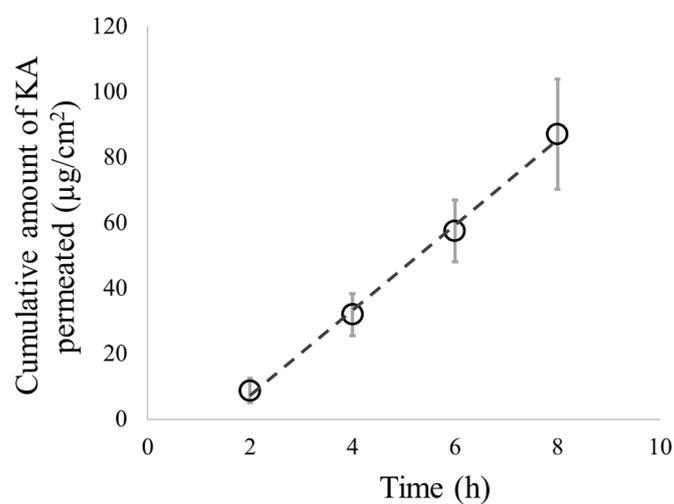


Fig. 3. Time course of the cumulative amount of KA permeated through excised porcine skin under infinite dose conditions: Dashed lines represent the regression line and each point represents the mean \pm standard error (S.E.) ($n = 3$).

Kojic acid 以外の評価対象についても、kojic acid と同様の方法で透過パラメーターを得た。

7 物質の透過パラメーターを Table 3 にまとめた。

Table 3 Permeation parameters of various permeants across the excised porcine skin under infinite dose conditions.

Permeants	<i>K_p</i> (cm/h)	<i>K</i>
KA	$(1.30 \pm 0.37) \times 10^{-3}$	$(1.08 \pm 0.15) \times 10^{-1}$
CAF	$(2.32 \pm 0.12) \times 10^{-3}$	$(1.36 \pm 0.62) \times 10^{-1}$
ISMN	$(1.15 \pm 0.32) \times 10^{-3}$	$(1.01 \pm 0.26) \times 10^{-1}$
LID (pH5.0)	$(1.44 \pm 0.69) \times 10^{-3}$	$(1.25 \pm 0.83) \times 10^{-1}$
BA (pH3.0)	$(2.27 \pm 0.07) \times 10^{-2}$	1.51 ± 0.09
BA (pH7.0)	$(2.11 \pm 2.10) \times 10^{-3}$	$(1.44 \pm 1.31) \times 10^{-1}$
MP	$(1.06 \pm 0.15) \times 10^{-2}$	$(7.08 \pm 2.90) \times 10^{-1}$

Permeation parameters were calculated based on 4 data points between 2 h and 8 h. Mean \pm standard error (S.E.) (n = 3–4)

2. 基剤が完全に蒸発するまでの時間の推定

サンプル中の水分が完全に蒸発する時間 (T_{eva}) を把握するため、7物質のサンプルに対して、パラフィルム上に塗布したサンプル中の水分量の経時変化を評価した。なお、今回構築した経皮吸収率を予測する数理モデルを、実際に安全性評価に適用する場面を想定した場合、経皮吸収率を予測する上で必要なパラメーターは、できる限りシンプルである方が数理モデルの利便性が向上すると考えた。そこで、本試験では T_{eva} を大まかに推定することとしたため例数を 1 とした。Figure 4 は、横軸が時間、縦軸がサンプル中の水分量を示す。全てのサンプルは類似のプロファイルを示し、サンプルを塗布してから 1.5 時間後には水分量の変化は認められなかった。本結果を踏まえ、以降、サンプルを皮膚に適用してから基剤が完全に蒸発するまでの時間 (T_{eva}) = 1.5 (h) とした。

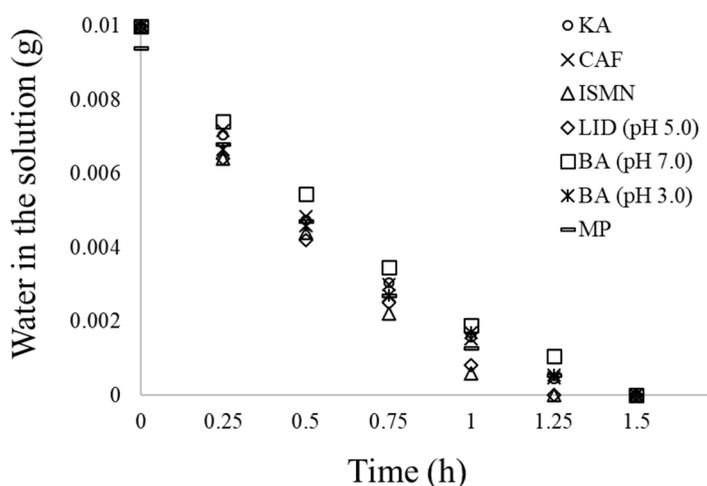


Fig. 4. Time course of water evaporation from each aqueous solution: Each point represents an observed value (n = 1).

3. 摘出皮膚を用いた有限用量下の経皮吸収率の予測

豚摘出皮膚を介した無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験より得られた Kp および K (Table 3) と蒸発試験より得られた $T_{eva} = 1.5$ h を Eq. (14) に代入することで、経皮吸収率を予測した。Figure 5 は、横軸が豚摘出皮膚を介した有限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験に沿って得られた経皮吸収率の実測データの平均値、縦軸が予測値を示す。各値を比較した結果、予測値と実測値の乖離は 2 倍程度に収まることを確認した。

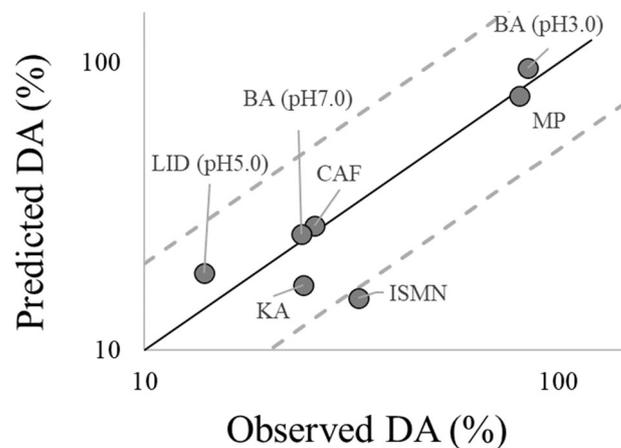


Fig. 5. Comparative analysis of predicted versus observed DA values using porcine skin: Each point represents the mean. The black line indicates the predictions with a 1-fold range, while the dashed lines indicate the predictions within a 2-fold range.

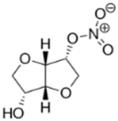
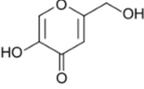
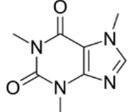
第4節 考察

本章では、 Kp をパラメーターとして有限用量下の経皮吸収率を予測可能な数理モデルの構築を目指し、有限用量下と無限用量下による試験条件の違いに注目した。有限用量下では、時間に依存して基剤が蒸発し、基剤中物質が濃縮していく。最終的には皮膚上に物質が析出することから、実際に物質が皮膚を透過する時間は、試験時間よりも短いと考えた。そこで、Fick の拡散第 1 法則に、蒸発により基剤から皮膚への物質の透過が終了するという仮定を考慮することで、経皮吸収率予測モデルを構築した。上記仮説は、基剤が水系であることを前提にしているが、化粧品には乳液やクリームなど多様多様な基剤があるため、乖離が見られる部分がある。Arce らは化粧水や乳液に配合された rhododenol について、豚摘出皮膚に対する透過量を比較し、乳液の方が化粧水よりも rhododenol の透過量が低いことを示している²⁵⁾。また、ヒドロキシ基を複数持つ glycerin、dipropylene glycol、sorbitol、1,3-butylene glycol は化粧品に一般的に配合されている物質だが、これらを基剤としたサンプル中の caffeine と rhododenol について、豚摘出皮膚に対する透過量を評価したところ、基剤の濃度が高まるほど、caffeine と rhododenol の透過量が低くなる傾向が観測されている²⁶⁾。この知見を踏まえると、乳液やクリームといった様々な物質が配合されている化粧品は、化粧水のような基剤が水系のものと比較して、経皮吸収率が低い可能性が考えられる。ただし、上記は皮膚透過量を対象にした試験であるため、厳密には皮膚中物質量が不明ではある。しかし、今回の数理モデルのように水基剤を想定して予測した経皮吸収率は、乳液を始めとする化粧品を対象に摘出皮膚を介した透過試験で得られる値と比較して、低く見積もることは少ない可能性が考えられた。また、本研究では、安全率ないし経皮曝露量の精査を目的に経皮吸収率に着目しているが、経皮曝露量は化粧品の使用量にも依存する値である。化粧品工業会は、大規模調査を基に化粧品カテゴリー毎の使用量について、化粧水は 2.99 g/日、乳液は 1.46 g/日、クリームは 0.84 g/日であることを報告している⁵⁾。したがって、水系の化粧水が

顔用化粧品の中でも使用量が多く、経皮曝露量の精査が必要な化粧品カテゴリーとなり得るため、水基剤を前提とした本章の知見は化粧品の安全性評価において有用と考えられた。

7 物質 ($121.12 \leq MW \leq 234.34$, $-2.3 \leq \text{Log } K_{o/w} \leq 2.0$) を対象に、豚摘出皮膚を用いた無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験より得られた透過パラメーターと今回構築した数理モデルを用いた場合の経皮吸収率の予測性について評価した結果、isosorbide 5-mononitrate が最も予測値と実測値に乖離が見られた。この理由について、isosorbide 5-mononitrate と $\text{Log } K_{o/w}$ が近い kojic acid や caffeine を踏まえて考察する。なお、buffer 中にイオンとして存在しており、buffer に対する溶解性が上記 3 物質と比較して高いと想定される lidocaine (pH5.0)、benzoic acid (pH7.0) については物理化学的性質が異なると考え、対象から除いた。先述の通り、有限用量下では基剤中の物質が高度に濃縮される点が無限用量下とは異なる。サンプル中では目的物質と基剤が相互作用しているが、濃縮されるにつれて、目的物質同士の相互作用が強くなり、最終的には析出すると考えられる。そこで、目的物質同士の相互作用の指標である融点に着目したところ、isosorbide 5-mononitrate の融点は 91°C であり、kojic acid や caffeine よりも低く、目的物質同士の相互作用が弱いことが示唆された (Table 4)。

Table 4 Summary of structures and physicochemical properties for 3 chemicals

Permeants	Structure	MW	Log $K_{o/w}$	Melting point ($^{\circ}\text{C}$)
Isosorbide 5-mononitrate		191.13	-0.4	91.0
Kojic acid		142.11	-0.9	153.5
Caffeine		194.19	-0.09	236.2

融点を踏まえると、isosorbide 5-mononitrate は kojic acid や caffeine と比較して、有限用量下で析出しにくく、試験中の皮膚を透過する時間が長かった可能性が考えられる。さらに Fick の拡散方程式が示すように、皮膚透過は濃度勾配を駆動力とすることから、有限用量下では基剤中の目的物質が濃縮していくことで、皮膚透過性が高くなると考えられる。したがって、kojic acid や caffeine と比較して、isosorbide 5-mononitrate は析出しにくいこと、および濃縮による濃度勾配増加に伴い皮膚透過性が増加したことから、有限用量下の経皮吸収率が高かったと考察した。

第5節 小括

本章では、Fick の拡散第1法則を基に、蒸発により基剤から皮膚への物質の透過が終了することを仮定することで、 Kp をパラメーターとして経皮吸収率を予測可能な数理モデルを新たに構築した。構築した数理モデルの妥当性を評価するため、7物質 ($121.12 \leq MW \leq 234.34$ 、 $-2.3 \leq \text{Log } K_{ow} \leq 2.0$) を対象に、豚摘出皮皮膚を介した無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験により得られたパラメーターを数理モデルに適用し、経皮吸収率の予測値を算出した。予測値と、豚摘出皮皮膚を介した有限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験から得られた経皮吸収率の平均値を比較した結果、予測値と実測値の乖離は2倍程度に収まることを確認した。したがって、今回新たに構築した数理モデルは、化粧品の安全性評価を目的とした、摘出皮膚を用いない経皮吸収率の予測方法の構築に向けて、有用な技術である可能性が示唆された。

第2章 Strat-M[®]と数理モデルを組み合わせた経皮吸収率予測性の評価¹⁷⁾

2013年以降、欧州では化粧品並びに化粧品原料の評価を対象とした動物実験が禁止された。*In vitro* 皮膚透過試験では、ヒトもしくは食用豚由来の摘出皮膚を利用するため、法規上は動物実験に該当しないが、世の中の潮流を受け、動物組織を用いない評価方法の構築に対する関心が高まっている。これまで、摘出皮膚の代替として、人工膜や三次元培養皮膚モデルを用いた経皮吸収評価に関する検討が世界的に実施されている^{7-9, 20, 26-29)}。三次元培養皮膚モデルのうち、EpiDermはヒト皮膚透過性に近いこと、TESTSKIN LSE-highはヒト皮膚と比較して、拡散パラメーターが10倍高いことが報告されている²⁷⁾。これら三次元培養ヒト皮膚モデルの皮膚透過性評価への有用性は示されているものの、培養細胞のため使用期限の問題を抱えている。

三次元培養皮膚モデルと比較して、人工膜は使用期限の課題も含め、取り扱いが簡便な材である。そのうち、Strat-M[®]は、皮膚を模造した人工膜であり、Fig. 6が示すように皮膚と同様に複数の層構造(角層に似せた人工合成脂質を含有した PES (Polyether sulfone) の層、生きた表皮および真皮に似せた PES とポリオレフィンの重層)から構成されている。ただし、毛包や汗腺といった付属器官については再現されていない。

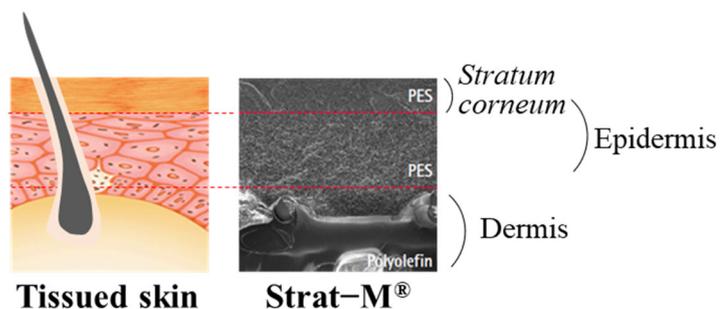


Fig. 6. Cross-sectional diagram of the tissued skin and Strat-M[®]

また、鈴木らは、ポリマーナノフィルムを利用した皮膚透過性を評価するための人工高分子膜について報告している²⁹⁾。上記ポリマーナノフィルムには皮膚の付属器官にあたる細孔が存在しており、Strat-M[®]とは異なる特徴を持つ人工膜と言える。

これまで、Strat-M[®]やポリマーナノフィルムを介した透過試験で得られた Kp と、ヒト摘出皮膚を介して得られた Kp を比較した場合、高い相関があることが報告されている^{20, 29)}。このように、Strat-M[®]やポリマーナノフィルムといった人工膜はヒト摘出皮膚に類似した物質透過特性を示すが、先述のように、あくまで無限用量下の定常状態透過速度から得られる Kp に基づいた知見であり、基剤の蒸発による影響は無視されていることに注意が必要である。上記を踏まえ、第1章では、蒸発により基剤から皮膚への物質の透過が終了することに着目し、 Kp をパラメーターとして有限用量下の経皮吸収率を予測可能な数理モデルを構築した。そこで、本章では第1章で用いた7物質 ($121.12 \leq MW \leq 234.34$, $-2.3 \leq \text{Log } K_{ow} \leq 2.0$) を対象に、人工膜を介した無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験から得られた Kp を構築した数理モデルに適用することで、経皮吸収率を予測した。本研究では人工膜の中でも、商業的に生産されており、コストが低く、またロット間の均一性も高いことから、ヒトや豚摘出皮膚では困難な多検体の同時解析に関する取り組みも報告されている Strat-M[®]に着目することにした²⁸⁾。

第1節 実験方法

1. 実験材料

化学物質や試薬については、第1章第1節に記載。Strat-M[®]は EMD Millipore (Burlington, MA, USA) から購入した。

2. *In vitro* 皮膚透過試験 (無限用量下)

生きた表皮および真皮に相当する層がレセプター液側になるようにフランツ型拡散セルに Strat-M[®]を装着した。パスツールピペットを用いて、塗布するサンプルに応じて、注射用水もしくはクエン酸バッファーを拡散セルのレセプター側にそれぞれ満たした。ピペットマンを用いて、各サンプル 1 mL を Strat-M[®]上に塗布した後 (適用面積: 1 cm²)、アルミホイルで開口部に蓋をした。その後、インキュベーター内 (温度 32 ± 1°C、湿度 50 ± 2%) に静置した。サンプルを塗布してから 8 時間後まで、2 時間毎に、パスツールピペットを用いて、拡散セルから約 500 μL のレセプター液を抜き取って、15 mL チューブに回収した。回収したレセプター液中に含まれる目的物質を UHPLC によって定量した。

3. *In vitro* 皮膚透過試験 (有限用量下)

第1章第1節に記載。

4. 蒸発試験

第1章第1節に記載。

5. UHPLC による定量

第1章第1節に記載。

6. 数理モデルによる経皮吸収率予測性の指標

第1章第1節に記載。

第2節 理論

1. 透過パラメーターの算出

第1章第2節に記載。なお、Strat-M[®]を用いた透過試験により得られた透過プロファイルを用いて Kp 、 K を算出する際は、Eqs. (1-3) の Strat-M[®]の厚み (L) = 0.03 (cm) とした。

2. Fick の拡散第1法則を用いた経皮吸収率予測モデルの構築

第1章第2節に記載。

第3節 結果

1. Strat-M[®]を用いた透過パラメーターの取得

Figure 7は、kojic acid 水溶液を対象に、Strat-M[®]を介した無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験で得られた kojic acid の透過プロファイルである。横軸に時間、縦軸に KA の累積透過量を示している。Strat-M[®]の場合は4-8時間までの3点で直線性を示したため、この3点から成る直線を利用して、Eqs. (1-3) に従って、透過パラメーターを取得した。

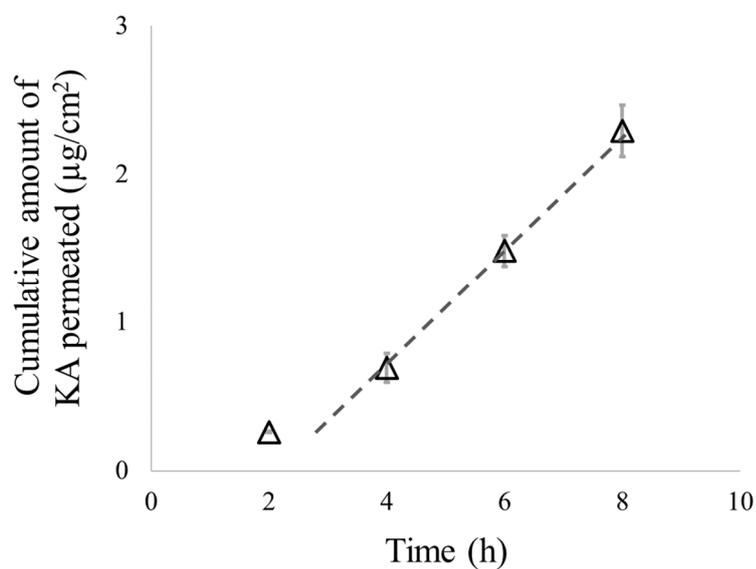


Fig. 7. Time course of the cumulative amount of KA permeated through Strat-M[®] under infinite dose conditions: The dashed line represents the regression line, and each point represents the mean \pm standard error (S.E.) ($n = 3$).

各目的物質について、kojic acid と同様の方法で透過プロファイルから得られたパラメーターについて Table 5 にまとめた。

Table 5 Permeation parameters of various permeants across the Strat-M[®] under infinite dose conditions

Permeants	K_p (cm/h)	K
KA	$(1.46 \pm 0.30) \times 10^{-4}$	$(5.77 \pm 2.32) \times 10^{-2}$
CAF	$(1.23 \pm 0.26) \times 10^{-3}$	$(4.22 \pm 0.91) \times 10^{-1}$
ISMN	$(1.49 \pm 0.48) \times 10^{-3}$	1.04 ± 0.37
LID (pH5.0)	$(4.72 \pm 2.43) \times 10^{-5}$	$(2.15 \pm 1.71) \times 10^{-2}$
BA (pH3.0)	$(1.01 \pm 0.03) \times 10^{-2}$	1.57 ± 0.20
BA (pH7.0)	$(2.51 \pm 0.25) \times 10^{-5}$	$(6.73 \pm 1.04) \times 10^{-3}$
MP	$(5.20 \pm 1.08) \times 10^{-3}$	3.08 ± 0.65

Permeation parameters were calculated based on 3 data points between 4 h and 8 h in Strat-M[®]. Mean \pm standard error (S.E.) (n = 3–4).

豚摘出皮膚もしくは Strat-M[®]を介した透過試験で得られたパラメーター (Kp , K) を比較するため、横軸を $\text{Log } K_{o/w}$ 、縦軸を Kp の対数值 (Fig. 8A) または K の対数值 (Fig. 8B) としてグラフに各データをプロットした。Strat-M[®]により得られた Kp , K については $\text{Log } K_{o/w}$ が高いほど、値が高くなる傾向が観測された。一方、豚摘出皮膚により得られたデータについては、 $\text{Log } K_{o/w}$ が 2 付近の物質は、 $\text{Log } K_{o/w} < 0$ に該当する物質と比較して、 Kp , K は高かった。一方、 $\text{Log } K_{o/w} < 0$ に該当する残りの 5 物質については、 Kp や K の値に大きな差が見られず、 $\text{Log } K_{o/w}$ と Kp または K の関係性は、豚摘出皮膚と Strat-M[®]では異なることが分かった。

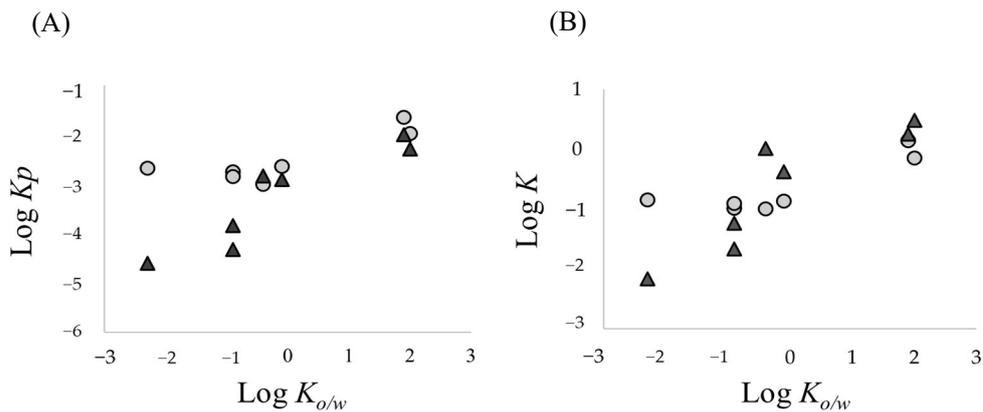


Fig. 8. Relationship between the $\text{Log } K_{o/w}$ and Kp (A) or K (B) of chemicals applied through porcine skin or Strat-M[®]: The grey circles (●) represent the data obtained using porcine skin and the black triangles (▲) represent the data obtained using Strat-M[®]; each point represents the mean ($n = 3-4$).

2. Strat-M[®]を用いた有限用量下の経皮吸収率の予測

Strat-M[®]を介した無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験より得られた Kp および K (Table 5) と蒸発試験より得られた $T_{eva} = 1.5$ h を Eq. (14) が示す数理モデルに適用することで、経皮吸収率を予測した。Figure 9 は、横軸が豚摘出皮膚を介した有限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験に沿って得られた実測データの平均値、縦軸が Strat-M[®]を用いて得られた経皮吸収率の予測値を示す。その結果、 $\text{Log } K_{o/w} < -0.4$ の kojic acid、lidocaine (pH5.0)、benzoic acid (pH7.0) については、経皮吸収率の予測値が実測値と比較して 2 倍以上低く見積もられていることが観測された (Fig. 9A)。一方、 $\text{Log } K_{o/w}$ が -0.4 以上の物質については、経皮吸収率の予測値と実測値の乖離は 2 倍以内に収まることを確認した (Fig. 9B)。

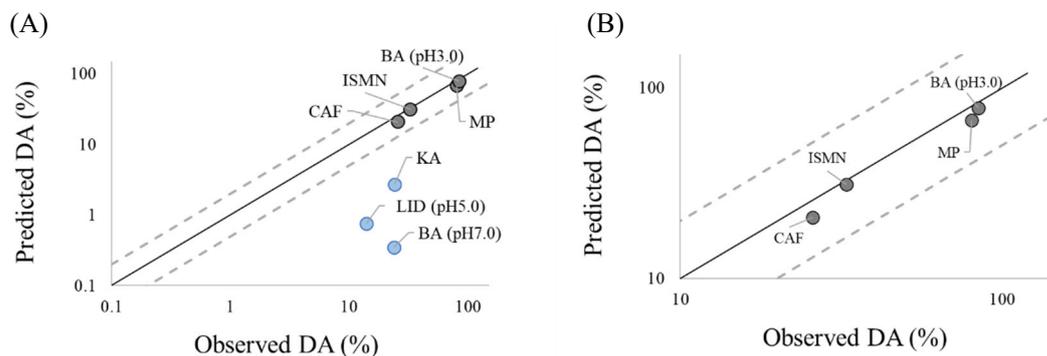


Fig. 9. Comparative analysis of predicted DA values using Strat-M[®] versus observed DA values using porcine skin: (A) 7 chemicals. (B) 4 chemicals with $\text{Log } K_{o/w} \geq -0.4$. The black plots represent the data with $\text{Log } K_{o/w} \geq -0.4$, while the blue plots represent the data with $\text{Log } K_{o/w} < -0.4$. Each point represents the mean. The black line indicates the predictions with a 1-fold range, while dashed lines indicate the predictions within a 2-fold range.

第4節 考察

Strat-M[®]と数理モデルを組み合わせた経皮吸収率予測性を評価するため、まず豚摘出皮膚または Strat-M[®]を用いた無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験から得られたパラメーターを比較した。その結果、 $\text{Log } K_{o/w} < -0.4$ の kojic acid、lidocaine (pH5.0)、benzoic acid (pH7.0) については、豚摘出皮膚と比較して Strat-M[®]で得られた K_p 、 K の値が小さいことが分かった。この結果は、 $\text{Log } K_{o/w} < -0.4$ の3物質は、豚摘出皮膚と比較して Strat-M[®]を透過しにくいことを示している。

先述の通り、摘出皮膚と Strat-M[®]は類似の層構造を持つ一方、Strat-M[®]には付属器官に該当する部分は再現されていない。物質の皮膚透過経路としては、細胞間経路、細胞内経路、そして毛包や汗腺といった付属器官の経路が知られている。ただし、付属器官は皮膚全体に占める割合が0.1%程度であり、透過経路としてはあまり寄与しないと考えられてきた³⁰⁾。しかし、親水性物質に関しては、脂質に富んだ角層へ分配されにくく、付属器官を介して皮膚を透過することが報告されている³¹⁾。また、親水性物質である sodium fluorescein ($\text{Log } K_{o/w}$: -0.615) の透過性について、Strat-M[®]と同様に付属器官を持たない三次元培養皮膚モデル (LSE-high) とラット摘出皮膚を比較した結果、LSE-highの方がラット摘出皮膚よりも、sodium fluoresceinの透過性が低い結果が示されている³²⁾。これらの知見から、Strat-M[®]には付属器官を持たないことから、 $\text{Log } K_{o/w} < -0.4$ の3物質は、豚摘出皮膚と比較して Strat-M[®]を透過しにくく、 K_p 、 K について低い値を示したと考察した。上記を要因として、 $\text{Log } K_{o/w} < -0.4$ の3物質については、Strat-M[®]で得られたパラメーターを数理モデルに適用して予測された経皮吸収率についても、実測値より低い値を示したと考えられた。ゆえに、 $\text{Log } K_{o/w} < -0.4$ ような親水性物質については、Strat-M[®]を介した透過試験で得られたパラメーターの値をそのまま数理モデルに適用して、経皮吸収率を予測することは現状適切ではないと考えられた。今後、親水性物質に関するデータを補充し、親水性物質における摘出皮膚または

Strat-M[®]を介した透過試験で得られる K_p について回帰モデルを構築することができれば、Strat-M[®]で得られたパラメーターを用いて経皮吸収率を予測可能と考える。

今回の結果から、 $\text{Log } K_{ow}$ が-0.4 以上の物質については、Strat-M[®]を介した透過試験で得られたパラメーターを数理モデルに適用して経皮吸収率を予測できる可能性が示唆された。Ethyl *p*-hydroxybenzoate (MW : 166.2、 $\text{Log } K_{ow}$: 2.5) や phenoxyethanol (MW : 138.2、 $\text{Log } K_{ow}$: 1.5) といった化粧品に配合されている防腐剤の中には、微生物の外側に位置する脂質膜を透過し内部に侵入することで防腐効果を発揮する物質がある。このような物質については、ある程度の親油性が求められることから、Strat-M[®]による評価が適切な物質の範囲に該当する可能性が考えられる。したがって、Strat-M[®]についても対象物質の物理化学的特徴を見極めることで、経皮吸収率の予測を介した化粧品の安全性評価への寄与が期待される。

第5節 小括

本章では、7物質 ($121.12 \leq MW \leq 234.34$ 、 $-2.3 \leq \text{Log } K_{o/w} \leq 2.0$) を対象に、Strat-M[®]を介した無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験により得られたパラメーターを数理モデルに適用し、有限用量下の経皮吸収率を予測した。その結果、 $\text{Log } K_{o/w} < -0.4$ の親水性が高い3物質については、経皮吸収率の予測値と実測値に大きな乖離が見られた。したがって、親水性物質 ($\text{Log } K_{o/w} < -0.4$) の経皮吸収率評価には現状 Strat-M[®]は向かないことが示唆された。一方、 $\text{Log } K_{o/w}$ が -0.4 以上の4物質については、経皮吸収率の予測値と実測値の乖離は2倍以内に収まることを確認できたことから、目的物質の物理化学的パラメーターを見極めることで、Strat-M[®]を用いて経皮吸収率を予測できる可能性が示唆された。摘出皮膚と比較して Strat-M[®]は供給安定性やコスト、ロット間の均一性において優れている。また、Strat-M[®]は摘出皮膚よりも取り扱いが簡便であることから、Strat-M[®]と数理モデルを組み合わせる経皮吸収率を予測する今回の方法は、摘出皮膚ではハードルが高い多検体の同時解析も可能であり、一定時間での処理能力の向上も見込まれる。

第3章 QSPR モデルと数理モデルを組み合わせた経皮吸収率予測性の評価³³⁾

第2章では、Strat-M[®]を用いた親水性物質 ($\text{Log } K_{ow} < -0.4$) の経皮吸収率の評価は現状困難であることが分かった。一方、ethanol や glycerin といったヒドロキシ基を含む親水性物質は化粧品に配合されることが多い。したがって、親水性物質も含めて、摘出皮膚を用いずに経皮吸収率を評価できる方法が必要である。

近年、構造情報や物理化学的パラメーターを変数として、数学的に K_p を予測する QSPR モデルの検討が進んでいる^{10, 12-15, 34-37)}。初期の QSPR モデルは Potts and Guy モデルを始めとして、少数の変数を用いた線形モデルが中心であった。しかし、数十年に渡る統計手法やケモインフォマティクスの発展により、多変数かつ多線形の高度な機械学習法を用いた QSPR モデルが近年複数報告されている。QSPR モデルを構築する上で、親水性物質もデータセットに含まれることから、QSPR モデルは Strat-M[®]が課題とする親水性物質の評価に有用かもしれない。

本章では、QSPR モデルと数理モデルを組み合わせた場合の経皮吸収率の予測性について評価した。先述の通り QSPR モデルはこれまで複数報告されているが、化粧品の安全性評価における実運用を考えた際に、予測性はもちろん一般的に利用可能かどうかも重要である。また、Potts and Guy モデルの変数である $\text{Log } K_{ow}$ については文献値がない物質も存在する。簡便性や迅速性を求める場合、*in silico* ツールによる $\text{Log } K_{ow}$ の予測が必要になるが、 $\text{Log } K_{ow}$ を予測する *in silico* ツールも複数ある。そこで、数理モデルを用いて経皮吸収率を予測する前に、 K_p や $\text{Log } K_{ow}$ について各モデルの予測値と実測値を比較することで、経皮吸収率を予測する数理モデルに適用するためのパラメーターの予測方法について検討した。検討された方法から得られたパラメーターと数理モデルを用いて経皮吸収率の予測を試みた。

また、前章までは、経皮吸収率の平均値 (mean DA: mDA) を対象に評価を実施してきた。一方 SCCS は、摘出皮膚を用いた *in vitro* 皮膚透過試験の結果を用いて安全率を算出する場合、試験データの平均値 (mDA) に標準偏差 (SD) を足した値 (msDA) を経皮吸収率として適用することを求めている¹⁾。これはヒトの皮膚には角層の厚みや堅牢性などに個体差があることから、経皮吸収率についてもヒトによって差異があると想定し、リスク評価ではより多くの人の条件をカバーできるようにするためである。第 1、2 章の結果から、QSPR モデルより得られた Kp を数理モデルに適用することで、mDA が予測できると考えられる。そこで、ヒトもしくは豚摘出皮膚を用いた有限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験より得られた mDA と msDA の文献データを解析することで、mDA から msDA を予測可能な回帰モデルを構築した。経皮吸収率 (msDA) を予測する流れとして、QSPR モデルから得られた Kp を数理モデルに適用して mDA を予測し、得られた mDA と回帰モデルを用いて msDA を予測することを試みた。

第1節 実験方法

1. Kp データの収集

ヒトもしくは豚摘出皮膚を介した無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験から得られる Kp に関して、本研究の試験データ並びに、文献値を収集した^{13,17,38-40}。同じ物質のデータが複数存在する場合は、平均値を評価に用いた。収集した 227 物質の Kp データについて Table 6 にまとめた。

Table 6 Dataset of K_p values and physicochemical properties for 227 chemicals

CAS	Permeants	MW	Log $K_{o/w}$			K_p (cm/h)		
			Pubchem	EPI Suite™	Observed	Potts and Guy	ChemTunes	Observed
100-02-7	4-Nitrophenol	139.11	1.90	1.91	1.91	0.0064	0.0080	0.0056
100-41-4	Ethylbenzene	106.17	3.10	3.03	3.15	0.071	0.78	1.20
100-51-6	Benzyl alcohol	108.14	1.10	1.08	1.10	0.0026	0.0093	0.011
106-41-2	4-Bromophenol	173.01	2.60	2.4	2.59	0.012	0.040	0.036
106-44-5	<i>p</i> -Cresol	108.14	1.90	2.06	1.94	0.0098	0.019	0.018
106-48-9	4-Chlorophenol	128.56	2.40	2.16	2.39	0.017	0.033	0.036
107085-84-7	Hydrocortisone hemipimelate	504.62	2.90	2.65	3.04	0.00019	0.0018	0.0018
107-14-2	Chloroacetonitrile	75.50	0.50	0.11	0.45	0.0016	0.017	0.099
107-92-6	Butyric acid	88.11	0.80	1.07	0.79	0.0021	0.0029	0.0012
107-98-2	1-Methoxy-2-propanol	90.12	-0.20	-0.49		0.00041	0.00081	0.0014
108-39-4	<i>m</i> -Cresol	108.14	2.0			0.011	0.024	0.015
108-95-2	Phenol	94.11	1.50	1.51	1.46	0.0062	0.0085	0.0082
109-86-4	2-Methoxyethanol	76.10	-0.80	-0.91	-0.77	0.00019	0.00074	0.0029
110-49-6	2-Methoxyethylacetate	118.13	0	0.10		0.00038	0.0016	0.0018
110-80-5	2-Ethoxyethanol	90.12	-0.30	-0.42	-0.32	0.00035	0.00086	0.00025
111-27-3	1-Hexanol	102.18	2.0	1.82	2.03	0.012	0.013	0.016
1116-54-7	N-Nitrosodiethanolamine	134.14	-1.50	-1.28		0.000026	0.0021	0.0000050
114593-85-0	Hydrocortisone succinamate	461.56	1.10			0.000018	0.000096	0.000026
114593-87-2	Hydrocortisone pimelamate	503.64	2.30			0.000073	0.0014	0.00088
114593-88-3	Hydrocortisone hydroxyhexanoate	476.61	2.60	2.86	2.79	0.00017	0.0014	0.00090
114611-36-8	Hydrocortisone methylpimelate	518.65	3.30			0.00030	0.0035	0.0054
119-34-6	4-Amino-2-nitrophenol	154.13	1.0	0.64	0.96	0.0012	0.0041	0.0028
119-36-8	Methyl salicylate	152.15	2.30	2.60	2.55	0.010	0.012	0.036
120-83-2	2,4-Dichlorophenol	163.00	3.10	2.80	3.06	0.032	0.049	0.060
122-99-6	2-Phenoxyethanol	138.17	1.20	1.10	1.16	0.0020	0.0021	0.0013
123-07-9	<i>p</i> -Ethylphenol	122.17	2.60	2.55	2.58	0.025	0.054	0.035
124-48-1	Chlorodibromomethane	208.28	2.60	1.70	2.16	0.0075	0.14	0.20
124-94-7	Triamcinolone	394.44	1.20	1.70	2.16	0.000056	0.00028	0.0000040
1319-77-3	4-Cresol	108.14	1.90			0.0098	0.019	0.018
1335-12-2	3-Phenyl-1-Propanol	136.19	1.90	2.06	1.88	0.0066	0.16	0.052
14199-15-6	Methyl 4-hydroxyphenylacetate	166.18	1.50	1.60		0.0022	0.0085	0.020
147-94-4	Cytarabine	243.22	-2.10	-2.46	-2.51	0.0000021	0.000074	0.0000050
156-38-7	4-Hydroxyphenylacetic acid	152.15	0.80	0.95	0.75	0.00087	0.0033	0.0025
1570-64-5	4-Chlorocresol	142.59	2.80	2.70	2.78	0.026	0.038	0.055

Table 6 Dataset of Kp values and physicochemical properties for 227 chemicals (continued)

16305-75-2	L-Alanyl-L-Tryptophan	275.31	-2.20	0.51		0.0000011	0.00015	0.000015
17194-82-0	4-Hydroxyphenylacetamide	151.17	0.10	0.07		0.00028	0.0042	0.00045
18979-50-5	4-Propoxyphenol	152.19	2.30	2.58	2.33	0.010	0.029	0.015
2152-44-5	Betamethasone 17-valerate	476.59	3.60	3.94	3.60	0.00089	0.0030	0.0011
25167-82-2	2,4,6-Trichlorophenol	197.45	3.50	3.45	3.84	0.038	0.045	0.059
29122-68-7	Atenolol	266.34	0.20	-0.03	0.16	0.000066	0.00095	0.00016
299-42-3	Ephedrine	165.24	0.90	0.68	0.89	0.00085	0.0039	0.0060
3018-12-0	Dichloroacetonitrile	109.94	1.30			0.0036	0.029	0.15
3252-43-5	Dibromoacetonitrile	198.85	1.70	0.47		0.0020	0.051	0.17
3593-96-2	Hydrocortisone hexanoate	460.61	4.20	4.32	4.48	0.0030	0.011	0.018
378-44-9	Betamethasone	392.47	1.90	1.72	1.83	0.00018	0.00019	0.00026
463-40-1	Linolenic acid	278.44	5.90	7.30	6.46	0.62	1.27	0.0037
4838-65-7	1-Hexyl-2-pyrrolidone	169.27	2.10	2.35	2.60	0.0057	0.0067	0.022
50-02-2	Dexamethasone	392.47	1.90	1.72	1.83	0.00018	0.00019	0.000064
51-21-8	5-Fluorouracil	130.08	-0.90	-0.81	-0.89	0.000074	0.00014	0.000072
512-69-6	Raffinose	504.44	-5.80			0.00000000013	0.00027	0.000015
51384-51-1	Metoprolol	267.37	1.90	1.69	1.88	0.0010	0.0020	0.00083
513-88-2	1,1-Dichloropropanone	126.97	1.30			0.0028	0.028	0.043
525-66-6	Propranolol	259.35	3.0	2.60	3.48	0.0070	3.60	0.0025
54-11-5	Nicotine	162.24	1.20	1.0	1.17	0.0015	0.013	0.0068
554-84-7	3-Nitrophenol	139.11	2.0	1.91	2.0	0.0074	0.0087	0.0056
55-63-0	Nitroglycerine	227.09	1.60	1.51	1.62	0.0011	0.0071	0.011
5589-96-8	Bromochloroacetic acid	173.39	1.30	0.61		0.0015	0.0020	0.0016
56030-54-7	Sufentanil	386.56	4.0	3.62	3.95	0.0061	0.016	0.0054
57-50-1	Sucrose	342.30	-3.70	-4.27	-3.70	0.000000039	0.0000079	0.000012
58-08-2	Caffeine	194.19	-0.1	0.16	-0.07	0.00011	0.00078	0.0023
58-55-9	Theophylline	180.17	0	-0.39	-0.02	0.00016	0.0014	0.00016
59277-89-3	Acyclovir	225.21	-1.90	-4.27		0.0000038	0.00017	0.00030
59-50-7	4-Chloro-3-methylphenol	142.59	3.10			0.043	0.044	0.045
59-92-7	Levodopa	197.19	-2.70	-2.24	-2.39	0.0000015	0.00039	0.000066
60-29-7	Ethyl ether	74.123	0.90	1.05	0.89	0.0031	0.013	0.016
623-05-2	4-hydroxybenzyl alcohol	124.14	0.20	0.60	0.25	0.00048	0.0076	0.0020
630-60-4	Ouabain	584.66	-1.70			0.000000034	0.0000012	0.0000020
631-64-1	Dibromoacetic acid	217.84	1.50	0.70		0.0011	0.0040	0.0026
64-17-5	Ethanol	46.069	-0.10	-0.14	-0.31	0.00089	0.0014	0.00095
64-19-7	Acetic acid	60.052	-0.20	0.70		0.00062	0.0012	0.0030
6452-71-7	Oxprenolol	265.35	2.10	1.83	2.10	0.0015	0.013	0.0015
66357-35-5	Ranitidine	314.41	0.30	0.29	0.27	0.000039	0.00045	0.000088
67-56-1	Methanol	32.04	-0.50	-0.63	-0.77	0.00056	0.0010	0.00078

Table 6 Dataset of *K_p* values and physicochemical properties for 227 chemicals (continued)

67-66-3	Chloroform	119.38	2.30	1.52	1.97	0.016	0.063	0.088
68-12-2	Dimethylformamide	73.10	-1.0	-0.93	-1.01	0.00014	0.015	0.0096
69-65-8	Mannitol	182.17	-3.10	0.70		0.00000097	0.000037	0.000046
71-23-8	1-Propanol	60.10	0.30	0.35	0.25	0.0014	0.0021	0.0013
71-36-3	1-Butanol	74.12	0.90	0.84	0.88	0.0031	0.0041	0.0052
75-25-2	Bromoform	252.73	2.80	1.79	2.40	0.0056	0.14	0.21
75-27-4	Bromodichloromethane	163.83	2.40	1.61	2.0	0.010	0.12	0.18
76-03-9	Trichloroacetic acid	163.39	1.30	1.44	1.33	0.0017	0.0026	0.0019
76-25-5	Triamcinolone acetonide	434.50	2.50	2.69	2.53	0.00027	0.00048	0.000020
767-00-0	4-Cyanophenol	119.12	1.60	1.61	1.60	0.0051	0.013	0.0067
76824-35-6	Famotidine	337.46	-0.60	-0.65	-0.64	0.0000065	0.00032	0.000016
76963-41-2	Nizatidine	331.47	1.60	-0.43		0.00026	0.00046	0.000038
78-93-3	2-Butanone	72.11	0.30	0.26	0.29	0.0012	0.0069	0.0045
79-08-3	Bromoacetic acid	138.95	0.40	0.43	0.41	0.00055	0.0022	0.0014
79-11-8	Chloroacetic acid	94.50	0.20	0.34	0.22	0.00073	0.0011	0.0011
79-43-6	Dichloroacetic acid	128.94	0.90	0.52	0.92	0.0014	0.0015	0.0019
83463-62-1	Bromochloroacetonitrile	154.39	1.50	0.38		0.0027	0.037	0.16
88-04-0	4-Chloro-3,5-Dimethylphenol	156.61	2.0			0.0058	0.038	0.067
91-64-5	Coumarin	146.15	1.40	1.51	1.39	0.0025	0.0069	0.0091
918-00-3	1,1,1-Trichloropropanone	161.42	1.80	1.12		0.0039	0.037	0.024
94-13-3	Propylparaben	180.20	3.0	2.98	3.04	0.021	0.033	0.014
95-48-7	o-cresol	108.14	2.0	2.06	1.95	0.011	0.016	0.016
95-57-8	2-Chlorophenol	128.56	2.10	2.16	2.15	0.01016	0.048	0.033
95-65-8	3,4-Xylenol	122.17	2.20	2.61	2.23	0.013	0.023	0.036
99-57-0	2-Amino-4-nitrophenol	154.13	1.50	0.99	1.26	0.0027	0.0044	0.00066
99-76-3	Methyl 4-Hydroxybenzoate	152.15	2.0	2.0	1.96	0.0062	0.015	0.015
111-42-2	Diethanolamine	105.14	-1.40	-1.71	-1.43	0.000046	0.00053	0.00028
501-30-4	Kojic acid	142.11	-0.90	-1.25	-0.64	0.000062	0.00032	0.0013
60-12-8	2-Phenylethanol	122.16	1.40	1.57	1.36	0.0035	0.17	0.00015
10061-01-5	cis-1,3-Dichloropropene	110.97	1.70	2.29	2.06	0.0068	0.0074	0.80
106-60-5	5-Aminolevulinic acid	131.13	-3.80	-4.40		0.00000063	0.000051	0.000070
1071-83-6	Glyphosate	169.07	-4.60	-4.47	-4.0	0.00000010	0.000022	0.00046
109-59-1	Ethylene glycol mono isopropyl ether	104.15	0.10	0	0.050	0.00054	0.00081	0.00044
114-26-1	Propoxur	209.25	1.50	1.90	1.52	0.0012	0.0023	0.0026
119-65-3	Isoquinoline	129.16	2.10	2.14	2.08	0.010	0.011	0.017
126-07-8	Griseofulvin	352.77	2.20	-0.31		0.00051	0.0010	0.0013
2203-97-6	Hydrocortisone hemisuccinate	462.54	1.80	2.10	2.11	0.000057	0.00010	0.00063
437-38-7	Fentanyl	336.48	4.0	3.89	4.05	0.012	0.013	0.0030
5131-60-2	4-Chloro-m-phenylenediamine	142.59	0.80	0.25	0.85	0.0010	0.0020	0.0021

Table 6 Dataset of K_p values and physicochemical properties for 227 chemicals (continued)

51803-78-2	Nimesulide	308.32	2.60	2.22	2.60	0.0018	0.0019	0.0010
5307-14-2	2-Nitro-p-phenylenediamine	153.14	0.50	-2.77		0.00053	0.00077	0.010
56-84-8	Aspartic acid	133.10	-2.80	-4.32	-3.89	0.0000032	0.000047	0.00011
56-87-1	Lysine	132.08	-3.0	-2.99	-3.05	0.0000023	0.000082	0.00033
57-13-6	Urea	60.06	-1.4	-1.56	-2.11	0.000087	0.00017	0.00019
60-80-0	Antipyrine	188.23	0.40	0.59	0.38	0.00027	0.00042	0.000066
62-53-3	Aniline	93.13	0.90	1.08	0.90	0.0023	0.0026	0.022
71-00-1	Histidine	155.16	-3.20	-3.22	-3.32	0.0000012	0.000073	0.000055
74103-06-3	Ketorolac	255.27	1.90	2.32		0.0012	0.0015	0.0057
90-89-1	Diethylcarbamazine	199.30	0.30	0.37		0.00020	0.00020	0.00013
109-52-4	Pentanoic acid	102.13	1.40	1.56	1.39	0.0047	0.0041	0.0024
111-70-6	1-Heptanol	116.20	2.70	2.31	2.62	0.032	0.023	0.032
111-87-5	1-Octanol	130.23	3.0	2.81	3.0	0.043	0.034	0.073
112-30-1	1-Decanol	158.29	4.60	3.79	4.57	0.40	0.040	0.076
135-19-3	2-Naphthol	144.17	2.70	2.69	2.70	0.022	0.018	0.045
141505-33-1	Levosimendan	280.29	2.30			0.0017	0.00099	0.0012
142-62-1	Hexanoic Acid	116.16	1.90	2.05	1.92	0.0087	0.0062	0.013
143-08-8	1-Nonanol	144.26	4.30	3.30	3.77	0.30	0.039	0.060
1638-22-8	4-Butylphenol	150.22	3.40	3.53	3.65	0.063	0.048	0.080
2807-30-9	Ethylene glycol mono n-propyl ether	104.15	0.50	0.080		0.0010	0.00096	0.0010
36322-90-4	Piroxicam	331.35	3.10	2.58	3.06	0.0030	0.00049	0.00015
50-06-6	Phenobarbital	232.24	1.50	1.33	1.47	0.00089	0.00071	0.00045
50-24-8	Prednisolone	360.45	1.60	1.40	1.62	0.00017	0.00017	0.000044
52-31-3	Cyclobarbitone	236.27	1.80	2.30	1.77	0.0014	0.00080	0.00081
57-42-1	Meperidine	247.34	2.50	3.03	2.72	0.0037	0.0024	0.0037
619-45-4	Methyl p-aminobenzoate	151.17	1.40	1.31	1.37	0.0024	0.0019	0.023
65141-46-0	Nicorandil	211.18	0.80	0.70		0.00038	0.00019	0.00022
65-85-0	enzoic acid	122.12	1.90	1.87	1.87	0.0080	0.0040	0.016
69-72-7	Salicylic Acid	138.12	2.30	2.24	2.26	0.012	0.0032	0.013
71-41-0	N-Pentanol	88.15	1.60	0.7		0.0079	0.0067	0.0060
7732-18-5	Water	18.02	-0.50	-1.38	-1.38	0.00068	0.00051	0.0011
88-06-2	2,4,6-Trichlorophenol	197.45	3.70			0.053	0.038	0.060
88-18-6	2-Tert-butylphenol	150.22	3.30	3.42	3.31	0.053	0.043	0.075
89-83-8	Thymol	150.22	3.30			0.053	0.034	0.051
94-09-7	Ethyl p-aminobenzoate	165.19	1.90	1.80	1.86	0.0044	0.0028	0.020
94-26-8	Butyl Paraben	194.23	3.60	3.47	3.57	0.047	0.036	0.055
100-42-5	Styrene	104.15	2.90	2.89	2.95	0.053	0.017	0.65
100-52-7	Benzaldehyde	106.12	1.50	1.71	1.48	0.0052	0.0052	0.058
100-66-3	Anisole	108.14	2.10	2.07	2.11	0.014	0.0055	0.074

Table 6 Dataset of K_p values and physicochemical properties for 227 chemicals (continued)

101-77-9	4,4'-Methylenedianiline	198.27	1.60	2.18	1.59	0.0017	0.0014	0.0023
106-50-3	<i>p</i> -phenylenediamine	108.14	-0.30	-0.39	-0.30	0.00027	0.00020	0.00024
108-46-3	Resorcinol	110.11	0.80	1.03	0.80	0.0016	0.00016	0.00054
108-73-6	Phloroglucinol	126.11	0.20	0.55	0.16	0.00047	0.000015	0.0031
108-88-3	Toluene	92.14	2.70	2.54	2.73	0.045	0.0059	1.01
111-14-8	Heptanoic acid	130.19	2.50	2.54	2.42	0.019	0.0083	0.020
111-76-2	Butoxyethanol	118.18	0.80	0.57	0.83	0.0014	0.0012	0.0019
111-90-0	2-(2-Ethoxyethoxy)ethanol	134.18	-0.50	-0.69	-0.54	0.00013	0.000097	0.00013
112-34-5	2-(2-Butoxyethoxy)ethanol	162.23	0.60	0.29	0.56	0.00055	0.000060	0.000036
112-80-1	Oleic acid	282.47	6.50	7.73	7.64	1.6	0.13	0.0013
120-80-9	Catechol	110.11	0.90	1.03	0.88	0.0019	0.00092	0.0031
1219-38-1	Octylparaben	250.34	5.40	5.43		0.40	0.0088	0.0093
123-31-9	Hydroquinone	110.11	0.60	1.03	0.59	0.0011	0.000044	0.0011
124-07-2	Octanoic Acid	144.21	3.00	3.03	3.05	0.036	0.0094	0.024
124-17-4	Diethylene glycol mono n-butyl ether acetate	204.27	1.10	1.30		0.00068	0.000090	0.00032
132-22-9	Chlorpheniramine	274.80	3.40	3.82	3.38	0.011	0.0014	0.0022
134-62-3	N,N-Diethyl-m-toluamide	191.27	2.0	2.26	2.18	0.0036	0.00016	0.0013
13588-28-8	Dipropyleneglycolmethylether	148.20	-0.10	-0.35		0.00021	0.00017	0.000081
137-58-6	Lidocaine	234.34	2.30	1.66	2.41	0.0032	0.00022	0.0030
145-13-1	Pregnenolone	316.49	4.20	3.89	4.22	0.022	0.00097	0.0015
152-58-9	Cortexolone	346.47	2.50	3.15	3.08	0.00092	0.00012	0.000075
15307-86-5	Diclofenac	296.15	4.40	4.02	4.51	0.041	0.0015	0.00068
15687-27-1	Ibuprofen	206.29	3.50	3.79	3.97	0.034	0.016	0.024
22071-15-4	Ketoprofen	254.29	3.10	3.0	3.12	0.0089	0.00016	0.0025
22204-53-1	Naproxen	230.26	3.30	3.10	3.18	0.017	0.0019	0.0029
23597-82-2	n-Hexyl nicotinate	207.27	3.60	3.10	3.51	0.039	0.0020	0.018
2687-94-7	1-Octyl-2-pyrrolidone	197.32	3.20			0.023	0.0053	0.053
302-17-0	Chloral hydrate	165.40	1.0	0.98	0.99	0.0010	0.00021	0.0039
333-41-5	Diazinon	304.35	3.80	3.86	3.81	0.014	0.0059	0.0086
34590-94-8	Dipropylene glycol mono methyl ether	148.20	0.70	-0.35		0.00078	0.00015	0.000081
387-79-1	Hydroxypregnenolone	332.48	3.10			0.0030	0.00080	0.00060
41340-25-4	Etodolac	287.36	2.80	3.93		0.0034	0.0012	0.0075
466-99-9	Hydromorphone	285.34	1.80	1.60		0.00069	0.000023	0.000015
50-22-6	Corticosterone	346.47	1.90	1.99	1.94	0.00034	0.00011	0.00030
50-23-7	Hydrocortisone	362.47	1.60	1.62	1.61	0.00017	0.000085	0.00023
50-27-1	Estriol	288.39	2.50	2.81	2.45	0.0021	0.000062	0.000040
50-28-2	Estradiol	272.39	4.00	3.94	4.01	0.030	0.0014	0.0036
50-78-2	Acetylsalicylic Acid	180.16	1.20	1.14	1.19	0.0011	0.00075	0.0072

Table 6 Dataset of Kp values and physicochemical properties for 227 chemicals (continued)

5104-49-4	Flurbiprofen	244.27	4.20	3.81	4.16	0.062	0.0022	0.017
51-34-3	Scopolamine	303.36	0.90	0.39	0.98	0.00012	0.000050	0.000050
513-85-9	2,3-Butanediol	90.12	-0.90	-0.36	-0.92	0.00013	0.000063	0.000045
51-55-8	Atropine	289.38	1.80	1.91	1.83	0.00065	0.00012	0.000076
52-39-1	Aldosterone	360.45	1.10	0.50		0.000076	0.000040	0.000030
52-86-8	Haloperidol	375.87	3.20	4.20	4.30	0.0019	0.000057	0.00034
53-06-5	Cortisone	360.45	1.50	1.81	1.47	0.00015	0.000060	0.00015
53-16-7	Estrone	270.37	3.10	3.43	3.13	0.0071	0.0037	0.0036
530-78-9	Flufenamic Acid	281.23	5.20	5.15	5.25	0.19	0.00096	0.0023
53-86-1	Indomethacin	357.79	4.30	4.23	4.27	0.015	0.00032	0.00022
56-38-2	Parathion	291.27	3.80	3.73	3.83	0.017	0.00026	0.00019
57-27-2	Morphine	285.34	0.80	0.72	0.89	0.00013	0.000014	0.0000090
57-43-2	Amylobarbitol	226.28	2.10	2.0	2.07	0.0026	0.00042	0.0023
57-44-3	Barbitol	184.20	0.60	0.6	0.65	0.00040	0.00017	0.00011
57-83-0	Progesterone	314.47	3.90	3.67	3.87	0.014	0.0043	0.0015
58-15-1	Aminopyrine	231.30	1.0	0.60	1.0	0.00040	0.00012	0.0010
58-22-0	Testosterone	288.43	3.30	3.27	3.32	0.0076	0.00022	0.0022
58-54-8	Ethacrynic Acid	303.14	3.80	3.69		0.014	0.00010	0.00015
59-67-6	Nicotinicacid	123.11	0.40	0.69	0.36	0.00068	0.000081	0.000024
598-56-1	Dimethylethylamine	73.14	0.70	0.53	0.70	0.0022	0.0016	0.0040
61379-44-0	3-Pyridinecarboxylic acid, 2-hydroxypropyl ester	181.19	0.70			0.00049	0.000027	0.000034
614-18-6	Ethyl nicotinate	151.17	1.30	1.13	1.32	0.0020	0.0014	0.0066
63659-18-7	Betaxolol	307.43	2.80	2.98	2.81	0.0026	0.00090	0.0018
64-85-7	Cortexone	330.47	2.90	3.12	2.88	0.0022	0.00069	0.00045
68-96-2	Hydroxyprogesterone	330.47	3.20	3.08	3.17	0.0036	0.00055	0.00060
6938-06-3	Butyl Nicotinate	179.22	2.30	2.11	2.27	0.0069	0.0020	0.017
71-43-2	Benzene	78.11	2.10	1.99	2.13	0.021	0.0088	0.14
72-69-5	Nortriptyline	263.38	4.50	4.74	4.51	0.077	0.0023	0.0013
75-50-3	Trimethylamine	59.11	0.30	0.04	0.16	0.0014	0.00093	0.00019
76-57-3	Codeine	299.37	1.10	1.28	1.19	0.00018	0.000032	0.000049
77-28-1	Butobarbitol	212.25	1.70	1.59	1.73	0.0016	0.00030	0.00019
87-66-1	Benzenetriol	126.11	0.50	0.97		0.00077	0.000032	0.00083
90-43-7	2-Phenylphenol	170.21	3.10	3.28	3.09	0.029	0.0025	0.016
93-60-7	Methyl nicotinate	137.14	0.80	0.64	0.83	0.0011	0.0011	0.0034
94-25-7	Butyl <i>p</i> -aminobenzoate	193.25	2.90	2.78	2.87	0.015	0.0037	0.088
94-44-0	benzyl nicotinate	213.24	2.40	2.35	2.40	0.0051	0.0042	0.016
95-54-5	<i>o</i> -phenylenediamine	108.14	0.10	0.16	0.15	0.00051	0.00036	0.00045
16051-77-7	Isosorbide 5-mononitrate	191.13	-0.40	-0.28	-0.40	0.000078	0.000022	0.0012

2. Log K_{ow} の予測

Log K_{ow} 予測モデルにおいて、変数として用いられる Molecular descriptor に着目した。Molecular descriptor とは分子の特性などの特徴量を数字に変換したものである。Log K_{ow} 予測モデルは複数存在するが、その中でも原子 (Atom) を基に予測するモデルと、特定の官能基や部分構造 (Fragment) を基に予測するモデルが有名である³⁹⁾。そこで、Open source かつ、Atom もしくは Fragment に基づいて Log K_{ow} を予測するモデルとして、Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) に収載されている XLogP3 と EPI SuiteTM (Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA) に収載されている KOWWINTMに着目した (Table 7)。Pubchem と EPI SuiteTM は、化学物質における物理化学的パラメーターのデータベースである。また、目的物質のデータがない場合には、構造情報から物理化学的パラメーターを予測した結果を出力する。Table 6 にまとめた K_p の文献値を持つ 227 物質を対象に、各モデルを用いて Log K_{ow} を予測した。XLogP3 による Log K_{ow} 予測値については、Pubchem にて目的物質の名前を検索することで出力された値を用いた。KOWWINTMによる Log K_{ow} 予測値については、目的物質の SMILES を EPI SuiteTM に入力することで出力された値を用いた。SMILES とは物質の構造を一定のルールに従って 1 行の文字列で表記する線形表記法の 1 つである。EPI SuiteTMを始め、構造情報から物理化学的パラメーターや毒性情報を予測する場合、基本的に SMILES を利用することが多い。目的物質の SMILES は、Pubchem にて物質名を検索することで出力される。各モデルで得られた Log K_{ow} 予測値については、 K_p の文献値を持つ 227 物質をまとめた Table 6 に示した。

Table 7 Prediction model for Log K_{ow}

<i>In silico</i> Tool	Model	Molecular descriptor
Pubchem	XLogP3 ⁴¹⁾	Atom-based
EPI Suite TM	KOWWIN TM ⁴²⁾	Fragment-based

3. 経皮吸収率データの収集

化粧品に配合されている物質を中心に、有限用量下で実施された *in vitro* 皮膚透過試験データを文献^{17-18,43-45)}とデータベース⁴⁶⁻⁵⁵⁾から収集した。ここで、サンプル塗布量が過剰な場合、経皮吸収量に対して皮膚に塗布した物質量は多くなり、結果経皮吸収率を低く見積もる恐れがある⁵⁶⁾。OECD ガイドラインでは、有限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験において、皮膚に適用するサンプル塗布量は 10 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 以下を推奨していることから³⁾、サンプル塗布量が 10 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ を超えていたデータに関しては、下記の式に従って値を補正した。

$$\text{Adjusted DA (\%)} = \text{raw DA (\%)} \times \frac{\text{Applied volume (\mu L/cm}^2\text{)}}{10 (\mu\text{L/cm}^2)}$$

収集した 54 物質の経皮吸収率の mDA、msDA データについて Table 8 にまとめた。

Table 8 Summary of observed DA data for 54 chemicals

CAS	Permeants	MW	Log $K_{o/w}$	C_{wat}^{sat} (mg/cm ³)	mDA (%)	msDA (%)
111-42-2	Diethanolamine	105.14	-1.43	1000	1.92	16.67
96-26-4	Dihydroxyacetone	90.08	-1.4	93.0	7.22	8.77
79-14-1	Glycolic acid	76.05	-1.1	1000	2.25	
997-55-7	N-Acetyl-L-aspartic acid	175.14	-1.1	675	5.00	
86404-04-8	3-O-ethyl-L-ascorbic acid	204.18	-1.07	1000	12.19	
102-71-6	Triethanolamine	149.19	-1.0	1000	9.83	
124-68-5	2-Amino-2-methylpropanol	89.14	-0.8	1000	13.20	
501-30-4	Kojic acid	142.11	-0.64	125	18.00	16.02*
16051-77-7	Isosorbide 5-mononitrate	191.13	-0.4	57.0	32.79	9.20*
98-92-0	Niacinamide	122.12	-0.37	500	28.80	
106-50-3	1,4-Phenylenediamine	108.14	-0.3	8.28	18.84	18.32
58-08-2	Caffeine	194.19	-0.07	17.50	25.00	28.61*
123-30-8	4-Aminophenol	109.13	0.04	0.76	10.05	28.51
68-11-1	Thioglycolic acid	92.12	0.09	1000	14.11	52.35
107-41-5	2-Methylpentane-2,4-diol	118.17	0.3	500	7.77	31.79
610-81-1	4-Amino-3-nitrophenol	154.12	0.41	1.99	41.94	60.15
2871-01-4	HC Red No.3	197.99	0.51	3.65	2.79	59.01
5307-14-2	2-Nitro-1,4-phenylenediamine	153.14	0.53	0.96	33.72	37.46
123-31-9	Hydroquinone	110.11	0.59	59.32	25.45	42.21
95-55-6	2-Aminophenol	109.13	0.62	2.00	49.21	46.18
108-46-3	Resorcinol	110.11	0.8	503.68	74.18	50.38
99-56-9	4-Nitro-1,2-Phenylenediamine	153.14	0.88	0.21	46.53	54.29
105-13-5	Anisyl alcohol	138.17	1.10	2.00	85.23	91.90
121-33-5	Vanillin	152.15	1.21	8.46	56.41	66.16
627-00-9	4-Chlorobutyric acid	122.55	1.32	82.19	11.97	15.70
76180-96-6	2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline	198.23	1.47	0.53	9.08	15.66
131-11-3	Dimethyl phthalate	194.19	1.6	3.18	62.02	73.65
31906-04-4	Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde	210.31	1.70	0.18	14.30	17.28
65-85-0	Benzoic acid	122.12	1.87	3.40	34.56	42.48
92-48-8	6-Methylcoumarin	160.17	1.91	0.49	93.95	97.19
104-54-1	Cinnamyl Alcohol	134.18	1.95	3.98	87.22	93.38
99-76-3	Methylparaben	152.15	1.96	2.34	77.15	86.87
122-57-6	Benzylidene acetone	146.19	2.07	2.13	72.38	75.41
140-10-3	Cinnamic acid	148.16	2.13	0.79	24.03	32.92
97-00-7	2,4-Dinitrochlorobenzene	202.55	2.17	0.41	62.56	74.59
31005-02-4	7-Ethoxycoumarin	190.20	2.3	0.78	91.92	96.92
69-72-7	Salicylic acid	138.12	2.3	2.24	34.48	37.04*

Table 8 Summary of observed DA data for 54 chemicals (continued)

1205-17-0	α -Methyl-1,3-benzodioxole-5-propionaldehyde	192.22	2.51	0.34	61.40	72.79
97-54-1	Isoeugenol	164.20	3.04	0.60	68.91	78.79
94-13-3	Propylparaben	180.20	3.04	0.50	75.66	81.63
84380-01-8	α -Arbutin	272.25	-0.7	151.0	0.27	0.40
6055-19-2	Cyclophosphamide monohydrate	261.09	0.63	8.09	10.17	21.17
80062-31-3	2-Nitro-5-glyceryl-methylamine	242.23	1.0	0.0014	2.98	5.38
50-23-7	Hydrocortisone	362.47	1.61	0.97	2.90	5.43
1419401-88-9	Methoxypropylamino Cyclohexenylidene Ethoxyethylcyanoac	322.40	1.70	0.36	1.63	2.65
137-26-8	Tetramethyl thiuram disulfide	240.43	1.73	0.12	4.43	7.14
53-96-3	2-Acetyl aminofluorene	223.27	3.12	0.0040	6.27	9.79
119-61-9	Benzophenone	182.22	3.18	0.14	68.51	76.17
118-58-1	Benzyl salicylate	228.24	3.20	0.0088	9.01	10.47
58-22-0	Testosterone	288.43	3.32	0.13	4.71	8.08
2493-02-9	4-Bromophenyl isocyanate	198.00	3.48	0.035	2.80	4.55
15687-27-1	Ibuprofen	206.28	3.97	0.41	22.21	38.65
3380-34-5	Triclosan	289.54	4.76	0.040	4.51	5.76
11103-57-4	Vitamin A	286.50	5.68	0.000017	4.30	6.00

*In *in vitro* dermal absorption testing, edible porcine skin tissues were used. Human skin tissues were used in the other studies.

4. QSPR モデルを用いた透過パラメーターの取得

一般的に利用可能な QSPR モデルとして、化学物質の安全性評価用に開発された *in silico* ツールに収載されているものを Table 9 にまとめた。Derek Nexus (Lhasa Limited, Leeds, UK; <http://www.lhasalimited.org/products/derek-nexus.htm>) と ChemTunes.ToxGPS (Molecular Networks GmbH, Nurnberg, Germany; <https://mn-am.com/products/chemtunestoxgps/>) は、目的物質の毒性データを検索することができるツールである。また目的物質の毒性データがない場合は、目的物質の構造情報や、類似構造を持つ物質の毒性情報を基に、目的物質の毒性を類推した結果を出力する。

Potts and Guy モデルと DermwinTM モデルは、*MW* と $\text{Log } K_{ow}$ を用いて *Kp* を予測しており、類似の解析方法である (Table 9)。したがって、双方のモデルから得られる結果も類似していると考えられたため、本検討に利用する QSPR モデルとして Potts and Guy モデルと ChemTunes モデルを選択した。Potts and Guy モデルによる *Kp* 予測については、比較的簡便な数式であるため今回は Derek Nexus は利用せず Excel を用いて対応した。ChemTunes モデルによる *Kp* については、Pubchem から得られた目的物質の SMILES を ChemTunes.ToxGPS に入力し、出力された値を予測値として利用した。

Table 9 QSPR models in *in silico* tools

<i>In silico</i> Tool	QSPR model	解析方法	特徴
Derek Nexus v.6.1.0	Potts and Guy ¹⁰⁾	$\text{Log}_{10}Kp = -2.7 + 0.71 \times \text{Log } K_{ow} - 0.0061 \times MW$	最も有名なモデル 親水性物質の予測性が低い
ChemTunes.ToxGPS version 4	ChemTunes ⁵⁷⁾	Support vector machine	SMILES を用いて予測 機械学習モデル
EPI Suite TM	Dermwin TM ¹¹⁾	$\text{Log}_{10}Kp = -2.8 + 0.66 \times \text{Log } K_{ow} - 0.0056 \times MW$	Potts and Guy と同一の解析 方法

角層と比較して生きた表皮および真皮は親水性が高いことから、親油性物質の透過性は低くなることが想定される。そこで、Cleek と Bunge は Kp を対象に下記式を用いることで、上記の影響を考慮できるとしている⁵⁸⁾。

$$Kp^{corr} = \frac{Kp}{1 + Kp \times \frac{\sqrt{MW}}{2.6}} \quad \text{Eq. (15)}$$

緒言でも述べた、 Kp を利用して経皮吸収率を分類する方法である Kroes モデルにおいても、Eq. (15) を利用して Kp を補正していたことから¹⁶⁾、本研究においても、QSPR モデルで予測された Kp を Eq. (15) に適用することにした。

分配係数 (K) については、先述の通り $\text{Log } K_{ow}$ が密接に関与する値であることが知られている¹⁰⁾。本研究では、Vecchia and Bunge が提案した下記モデルを用いて K を予測した⁵⁹⁾。

$$K = 0.7201 \times (K_{ow})^{0.4298} \quad \text{Eq. (16)}$$

5. 数理モデルによる経皮吸収率予測性の指標

第 1 章第 1 節に記載したように、本研究では数理モデルによる経皮吸収率の予測性について、予測値と文献値の乖離が 2 倍以内である場合、予測性は良好としている。そこで、文献値に対して予測値が 2 倍を上回る場合は過大評価、文献値に対して予測値が 2 倍を下回る場合は過小評価と定義した。

第2節 理論

1. 有限用量下の経皮吸収率の予測

第1章第3節より、豚摘出皮膚を用いた無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験より得られた透過パラメーターの平均値を、経皮吸収率を予測するための Eq. (14) に適用することで、豚摘出皮膚を用いた有限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験より得られる経皮吸収率の平均値がある程度予測できることが分かった。したがって、有限用量下の経皮吸収率の平均値 (mean DA: mDA) は、QSPR モデルを用いて予測された Kp を Kp^{corr} に補正する Eq. (15) を Eq. (14) に反映させた以下の式に従って予測できる。

$$mDA = \left(\left(1 - \exp\left(-\frac{Kp^{corr}AT_{eva}}{V+V_{sc}}\right) \right) + \frac{V_{sc}K}{V+V_{sc}K} \exp\left(-\frac{Kp^{corr}AT_{eva}}{V+V_{sc}}\right) \left(1 - \exp\left(-\frac{Kp^{corr}A(24-T_{eva})}{V_{sc}}\right) \right) \right) \times 100$$

Eq. (17)

第1章第2節で示したように、本研究では摘出皮膚に塗布されたサンプル量を $10 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ と想定し、塗布面積 (A) = $1.0 (\text{cm}^2)$ 、基剤の体積 (V) = $0.01 (\text{cm}^3)$ とした。また、角層の体積 (V_{sc}) = $0.002 (\text{cm}^3)$ とした²⁴⁾。加えて、第1章第3節の蒸発試験による結果を踏まえ、基剤が完全に蒸発する時間 (T_{eva}) = $1.5 (\text{h})$ とした。これら値と、QSPR モデルと Eq. (15) で得られた Kp^{corr} と、Eq. (16) より得られた分配係数 (K) を Eq. (17) に適用して mDA を予測した。

第3節 結果

1. $\text{Log } K_{o/w}$ の予測

K_p の文献値を持つ 227 物質のうち (Table 6)、179 物質は $\text{Log } K_{o/w}$ の文献値を持っていた。そこで、179 物質を対象に、Pubchem と EPI SuiteTM を用いて $\text{Log } K_{o/w}$ を予測した。Figure 10 は横軸に $\text{Log } K_{o/w}$ 文献値、縦軸に予測値を示す。どちらのモデルについても文献値に近い $\text{Log } K_{o/w}$ を予測できており、双方のモデルに大きな差はないことを確認した。そこで、本研究では $\text{Log } K_{o/w}$ の予測に SMILES を必要としない Pubchem を用いることにした。 K_p の文献値を持つ 227 物質のうち、 $\text{Log } K_{o/w}$ の文献値を持たない 48 物質について、Pubchem を用いて $\text{Log } K_{o/w}$ を予測した。

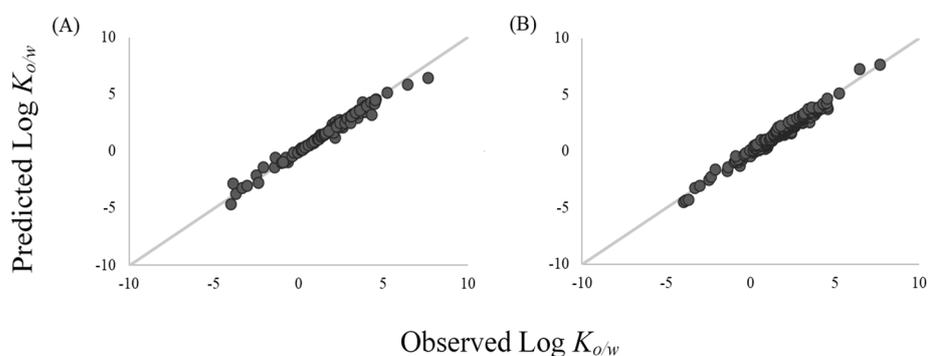


Fig. 10. Comparative analysis of $\text{Log } K_{o/w}$ for 179 chemicals: (A) Pubchem. (B) EPI SuiteTM. The black line indicates the predictions with a 1-fold range.

2. データセットの分布

K_p や経皮吸収率の予測性評価にあたり、データセットに含まれる物質の特徴を確認した。先述の通り、経皮吸収に大きく影響する物理化学的パラメーターとして、 MW と $\text{Log } K_{ow}$ が知られている¹⁰⁾。Figure. 11 は、横軸を $\text{Log } K_{ow}$ 、縦軸を MW として、Table 6 に示された K_p データを持つ 227 物質 (黒プロット) と Table 8 に示された経皮吸収データを持つ 54 物質 (橙プロット) をプロットしたものである。 MW と $\text{Log } K_{ow}$ に関する双方の分布 (chemical space) は重なっていたことから、今回のデータセットを用いて QSPR モデルによる K_p 予測方法を検討した後、QSPR モデル数理モデルを組み合わせた経皮吸収率の予測性を評価することについては問題ないと考えた。経皮吸収率データを持つ 54 物質に関して、 MW の範囲は 76.1 から 362.5、 $\text{Log } K_{ow}$ の範囲は -1.4 から 5.7 であった。

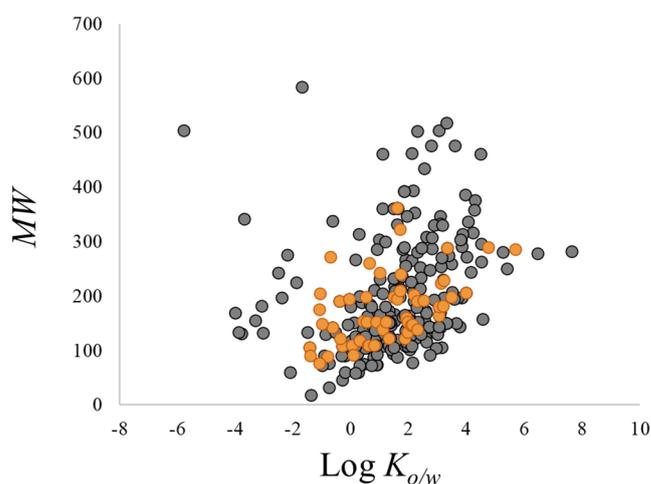


Fig. 11. Chemical space of MW and $\text{Log } K_{ow}$: (A) Overlap between 54 chemicals with DA values (orange plots) and 227 chemicals with K_p values (black plots).

3. QSPR モデルを用いた K_p の予測

K_p の文献値を持つ 227 物質を対象に、Potts and Guy モデルと ChemTunes モデルを用いて K_p を予測した。Figure 12A-B は、横軸に K_p 文献値、縦軸に予測値を示す。ChemTunes モデルと比較して、Potts and Guy モデルで得られた K_p の予測値と文献値の乖離は大きいことが分かった。Table 9 は、各 QSPR モデルにより得られた K_p 予測値が文献値を下回った物質について、文献値に対する予測値の比、すなわち過小評価度に応じた物質数を示している。各 QSPR モデルにより得られた K_p 予測値が文献値を下回った物質数は、Potts and Guy モデルで 136 個、ChemTunes モデルで 135 個であり、どちらもデータセットの半数以上を占めていた。

K_p をパラメーターとして経皮吸収率 (mDA) を予測する Eq. (17) が示すように、QSPR モデルより予測した K_p が文献値を大きく下回る場合、mDA、さらには全身毒性のリスクを低く見積もることに繋がる。そこで、QSPR モデルによる K_p 予測値が文献値を大きく下回ることを防ぐ 1 つの方法として、目的物質に対して、各 QSPR モデルで K_p を予測した後、双方の値のうち高い方を目的物質の予測値として採用する方法について考えた。以後、上記 K_p 予測方法については、バッテリーモデルと表記する。バッテリーモデルによる K_p 予測値と文献値を比較した結果、Potts and Guy モデル、ChemTunes モデル単体の結果と比較して、実線 (予測値 = 文献値) にプロットが集まっている様子が観測された (Fig. 12C)。

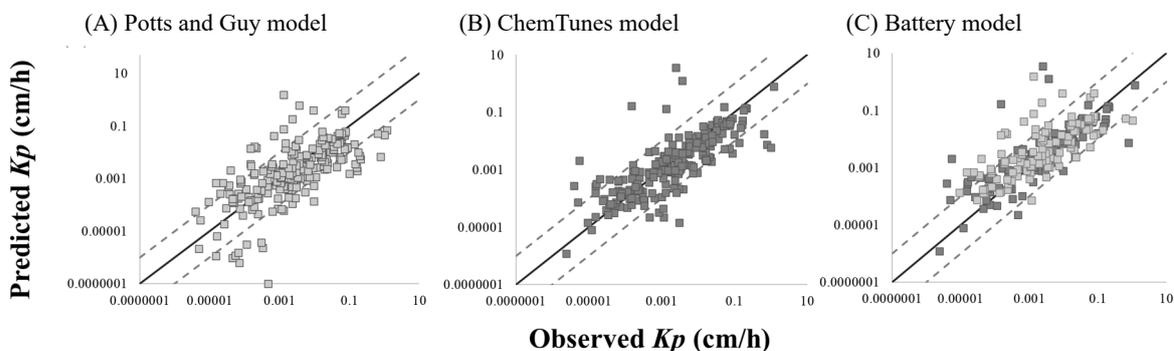


Fig. 12. Comparative analysis of K_p values between QSPR models and *in vitro* dermal absorption tests for 227 chemicals: (A) Potts and Guy model. (B) ChemTunes model. (C) Battery of two QSPR models in which the higher value from each QSPR model was applied. The grey and black squares represent data from the Potts and Guy model and the ChemTunes model, respectively. The black line indicates the predictions with a 1-fold range and the dashed lines indicate the predictions within a 10-fold range.

バッテリーモデルによる Kp 予測値が、文献値に対して低く見積もった物質数は 96、3 倍以上低く見積もった物質数は 30 でありデータセットの約 1 割に収まっていた (Table 9)。また Potts and Guy モデル、ChemTunes モデル単体による結果と比較しても、バッテリーモデルによって予測した Kp が文献値に対して低く見積もられる物質数は減少していることを確認した。

Table 9 The number of chemicals underestimated by at least 1-fold, 2-fold, 3-fold, 5-fold, or 10-fold.

Underestimation Factor	Potts and Guy model	ChemTunes model	Battery model
At least 1-fold	136	135	96
At least 2-fold	93	67	40
At least 3-fold	70	50	30
At least 5-fold	53	34	17
At least 10-fold	35	18	7

4. msDA を予測するための回帰モデルの構築

バッテリーモデルと数理モデルを用いて得られた経皮吸収率の平均値 (mDA) から mDA に標準偏差 (SD) を加味した値 (msDA) を予測するため、経皮吸収率データを持つ 54 物質のうち、SD データが示されている 48 物質について解析した。先述の通り、msDA は mDA と SD の和で表されることから、まず mDA と SD の関係性に着目した。統計学上、平均値が大きいほど SD も大きくなる傾向がある。そこで経皮吸収率のように 0-100% で示される値は、個々の生データ値の差が大きく、SD について議論する際は SD を平均値で除した値 (変動係数) を用いる方が好ましいと考えた。Figure 13A は x 軸が mDA、y 軸が $\frac{SD}{mDA}$ を示す。線形の関係ではないが、mDA が大きいほど、変動係数は小さくなる傾向が見られた。Figure 13A の y 軸は変更せず、x 軸に mDA の対数值 (Log mDA) をプロットした場合を Fig. 13B に示す。Log mDA と $\frac{SD}{mDA}$ にはある程度線形の関係性が観測された。最終的に msDA を予測することを考え、x 軸は Log mDA から変更せず、y 軸について $(\frac{SD}{mDA})$ に 1 を加えた $\frac{msDA}{mDA}$ ($\frac{mDA+SD}{mDA}$) に変更したプロットを Fig. 14 に示す。Figure 14 における、Log mDA と $\frac{msDA}{mDA}$ の関係性は以下の式で表される。

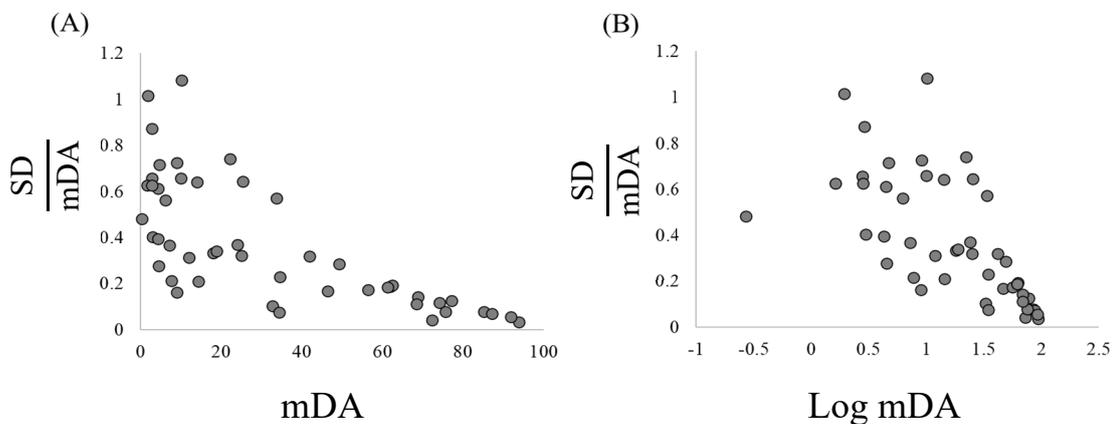


Fig. 13. Relationship between mDA and SD for 48 DA values: (A) mDA, (B) Log mDA.

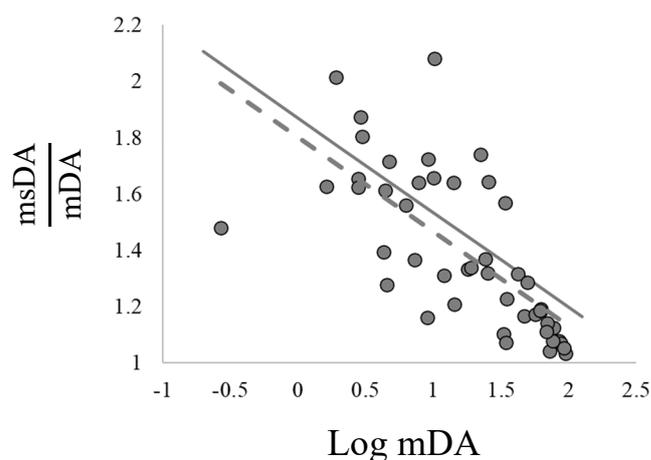


Fig. 14. Relationship between mDA and msDA for 48 DA values: Dashed line represents the regression line without considering standard error, whereas the black line represents the regression line considering the standard error value of the intercept.

$$\frac{msDA}{mDA} = -0.33584 \times \text{Log mDA} + 1.80218 \quad \text{Eq. (18)}$$

[n = 48, R² = 0.50, intercept standard error (SE) = 0.06758]

Figure 14 に示した 48 物質のうち、Eq. (18) が示す回帰モデル (破線) よりも上にプロットされている、つまり回帰モデルによる予測値よりも生データの方が大きい値を示す物質数は 18 であった。この物質数を減らすことは、回帰モデルを用いて msDA を予測した際に、文献値よりも msDA を低く見積もる可能性を減らすことに繋がる。そこで、回帰モデルの切片に着目した。Eq. (18) の切片の値 1.80218 は Log mDA が 0 (mDA が 1) の時の $\frac{msDA}{mDA}$ の平均値を示す。Eq. (18) の切片に対する分散の平方根 (標準偏差) は 0.06758 であり、推定された切片のばらつきを表す。この値を Eq. (18) に加味することで下記の式を得た。

$$\begin{aligned} \frac{msDA}{mDA} &= -0.33584 \times \text{Log [mDA]} + (1.80218 + 0.06758) \\ \frac{msDA}{mDA} &= -0.33584 \times \text{Log [mDA]} + 1.86976 \quad \text{Eq. (19)} \end{aligned}$$

Figure 14 に示した 48 物質のうち、Eq. (19) が示す回帰モデル (実線) よりも上にプロットされている物質数は 12 となり、Eq. (19) と比較して、回帰モデルによる予測値よりも生データの方が大きい値を示す物質数を減らすことができた。そこで、以下の検討では、回帰モデルを介して msDA を低く見積もる可能性を減らすため Eq. (19) を適用することにした。

Figure 15 に、数理モデル、バッテリーモデル (Potts and Guy モデル、ChemTunes モデルを用いて予測した Kp のうち、値が高い方を予測値とする採用する方法) 並びに回帰モデルを用いて、msDA を予測するための一連の流れを示す。

1. バッテリーモデルにより、 Kp を予測する。予測した Kp については表皮および真皮の親水性が透過性に与える影響を考慮した Eq. (15) を用いて、 Kp^{corr} に補正する。
2. $\log K_{ow}$ を基に K を予測する Eq. (16) を用いて、 K を予測する。
3. Kp^{corr} と K を Eq. (17) で示される数理モデルに適用して mDA を予測する。
4. mDA を Eq. (19) で示される回帰モデルに適用することで msDA を予測する。

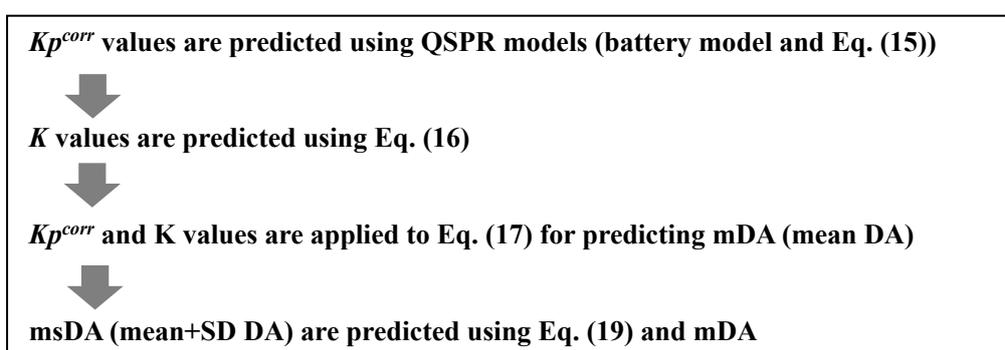


Fig. 15. Workflow for predicting msDA values using Integrating Mathematical Approaches (IMAS)

化粧品の安全性評価に適用可能な msDA を予測する一連の方法について、複数の数学的アプローチを組み合わせていることを踏まえ、Integrating Mathematical Approaches: IMAS と定義した。

5. IMAS を用いた msDA の予測

msDA を予測する方法 IMAS のフローを示した Fig. 15 に従い、バッテリーモデルと数理モデルを用いて得られた 54 物質の mDA を予測した。次に、得られた mDA を、msDA の回帰モデルを示す Eq. (19) に適用することで msDA を予測した。予測した mDA と msDA について Table 10 に示した。

ここで、経皮吸収率データを持つ 54 物質の内、mDA のみで、msDA の文献値が示されていない 6 物質については、mDA の文献値を Eq. (19) に適用することで、msDA とした。

Table 10 Summary of observed and calculated data obtained using IMAS for 54 chemicals

CAS	Permeants	MW	Log $K_{o/w}$	C_{wat}^{sat} (mg/cm ³)	Kp^{corr} (cm/h)	K (-)	mDA (%)		msDA (%)	
							IMAS	Observed	IMAS	Observed
111-42-2	Diethanolamine	105.14	-1.43	1000	0.00052	0.17	9.49	1.92	16.67	3.86
96-26-4	Dihydroxyacetone	90.08	-1.4	93.0	0.00019	0.18	5.40	7.22	8.77	9.87
79-14-1	Glycolic acid	76.05	-1.1	1000	0.00012	0.24	4.96	2.25	8.11	4.45 ^a
997-55-7	N-Acetyl-L-aspartic acid	175.14	-1.1	675	0.00020	0.24	6.43	5.00	10.28	8.99 ^a
86404-04-8	3-O-ethyl-L-ascorbic acid	204.18	-1.07	1000	0.00011	0.25	4.73	12.19	7.78	19.51 ^a
102-71-6	Triethanolamine	149.19	-1.0	1000	0.00018	0.27	6.49	9.83	10.36	16.20 ^a
124-68-5	2-Amino-2-methylpropanol	89.14	-0.8	1000	0.00015	0.33	6.86	13.20	10.89	20.89 ^a
501-30-4	Kojic acid	142.11	-0.64	125	0.00032	0.38	10.49	18.00	16.02	24.00 ^b
16051-77-7	Isosorbide 5-mononitrate	191.13	-0.4	57.0	0.00007	0.48	5.69	32.79	9.20	36.18 ^b
98-92-0	Niacinamide	122.12	-0.37	500	0.00020	0.50	10.30	28.80	15.76	40.59 ^a
106-50-3	1,4-Phenylenediamine	108.14	-0.3	8.28	0.00027	0.54	12.17	18.84	18.32	25.24
58-08-2	Caffeine	194.19	-0.07	17.50	0.00077	0.67	19.96	25.00	28.61	33.00
123-30-8	4-Aminophenol	109.13	0.04	0.76	0.00066	0.75	19.88	10.05	28.51	16.66
68-11-1	Thioglycolic acid	92.12	0.09	1000	0.00281	0.79	39.23	14.11	52.35	23.14
107-41-5	2-Methylpentane-2,4-diol	118.17	0.3	500	0.00062	0.97	22.45	7.77	31.79	12.75
610-81-1	4-Amino-3-nitrophenol	154.12	0.41	1.99	0.0033	1.08	45.85	41.94	60.15	55.28
2871-01-4	HC Red No.3	197.99	0.51	3.65	0.0031	1.19	44.88	2.79	59.01	4.62
5307-14-2	2-Nitro-1,4-phenylenediamine	153.14	0.53	0.96	0.00077	1.22	26.96	33.72	37.46	52.94
123-31-9	Hydroquinone	110.11	0.59	59.32	0.0011	1.29	30.82	25.45	42.21	41.85
95-55-6	2-Aminophenol	109.13	0.62	2.00	0.0015	1.33	34.08	49.21	46.18	63.29
108-46-3	Resorcinol	110.11	0.8	503.68	0.0016	1.59	37.58	74.18	50.38	82.97

Table 10 Summary of observed and calculated data obtained using IMAS for 54 chemicals (continued)

99-56-9	4-Nitro-1,2-Phenylenediamine	153.14	0.88	0.21	0.00097	1.72	34.13	46.53	46.24	54.29
105-13-5	Anisyl alcohol	138.17	1.10	2.00	0.0090	2.14	77.13	85.23	95.33	91.90
121-33-5	Vanillin	152.15	1.21	8.46	0.011	2.38	82.49	56.41	100	66.16
627-00-9	4-Chlorobutyric acid	122.55	1.32	82.19	0.0031	2.66	55.40	11.97	71.14	15.70
76180-96-6	2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline	198.23	1.47	0.53	0.0034	3.08	59.43	9.08	75.71	15.66
131-11-3	Dimethyl phthalate	194.19	1.6	3.18	0.012	3.51	86.76	62.02	100	73.65
31906-04-4	Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde	210.31	1.70	0.18	0.0027	3.87	59.89	14.30	76.23	17.28
65-85-0	Benzoic acid	122.12	1.87	3.40	0.0074	4.58	79.29	34.56	97.68	42.48
92-48-8	6-Methylcoumarin	160.17	1.91	0.49	0.0077	4.77	80.49	93.95	98.98	97.19
104-54-1	Cinnamyl Alcohol	134.18	1.95	3.98	0.026	4.96	97.94	87.22	100	93.38
99-76-3	Methylparaben	152.15	1.96	2.34	0.014	5.01	91.35	77.15	100	86.87
122-57-6	Benzylidene acetone	146.19	2.07	2.13	0.0073	5.59	81.02	72.38	99.56	75.41
140-10-3	Cinnamic acid	148.16	2.13	0.79	0.0078	5.93	82.75	24.03	100	32.92
97-00-7	2,4-Dinitrochlorobenzene	202.55	2.17	0.41	0.0039	6.17	72.64	62.56	90.42	74.59
31005-02-4	7-Ethoxycoumarin	190.20	2.3	0.78	0.0058	7.01	79.71	91.92	98.13	96.92
69-72-7	Salicylic acid	138.12	2.3	2.24	0.012	7.01	90.32	34.48	100	37.04 ^b
1205-17-0	α -Methyl-1,3-benzodioxole-5-propionaldehyde	192.22	2.51	0.34	0.0078	8.63	86.14	61.40	100	72.79
97-54-1	Isoeugenol	164.20	3.04	0.60	0.036	14.59	99.72	68.91	100	78.79
94-13-3	Propylparaben	180.20	3.04	0.50	0.028	14.59	99.23	75.66	100	81.63
84380-01-8	α -Arbutin	272.25	-0.7	151.0	0.00010	0.36	5.89	0.27	9.49	0.40
6055-19-2	Cyclophosphamide monohydrate	261.09	0.63	8.09	0.14	1.34	100	10.17	100	21.17
80062-31-3	2-Nitro-5-glyceryl-methylaniline	242.23	1.0	0.0014	0.0011	1.94	37.36	2.98	50.12	5.38
50-23-7	Hydrocortisone	362.47	1.61	0.97	0.00017	3.54	36.74	2.90	49.38	5.43

Table 10 Summary of observed and calculated data obtained using IMAS for 54 chemicals (continued)

1419401-88-9	Methoxypropylamino Cyclohexenylidene Ethoxyethylcyanoac	322.40	1.70	0.36	0.0016	3.87	53.68	1.63	69.18	2.65
137-26-8	Tetramethyl thiuram disulfide	240.43	1.73	0.12	0.0011	3.99	51.80	4.43	67.03	7.14
53-96-3	2-Acetyl aminofluorene	223.27	3.12	0.0040	0.013	15.79	95.36	6.27	100	9.79
119-61-9	Benzophenone	182.22	3.18	0.14	0.024	16.76	98.91	68.51	100	76.17
118-58-1	Benzyl salicylate	228.24	3.20	0.0088	0.014	17.09	96.02	9.01	100	10.47
58-22-0	Testosterone	288.43	3.32	0.13	0.0075	19.25	91.94	4.71	100	8.08
2493-02-9	4-Bromophenyl isocyanate	198.00	3.48	0.035	0.031	22.55	99.60	2.80	100	4.55
15687-27-1	Ibuprofen	206.28	3.97	0.41	0.052	36.62	99.98	22.21	100	38.65
3380-34-5	Triclosan	289.54	4.76	0.040	0.053	80.03	99.99	4.51	100	5.76
11103-57-4	Vitamin A	286.50	5.68	0.000017	0.11	198.91	100	4.30	100	6.00

a) Calculated values using Eq. (19)

b) In *in vitro* dermal absorption testing, edible porcine skin tissues were used. Human skin tissues were used in the other studies.

Figure 16 は、横軸に msDA 文献値、縦軸に IMAS による予測値を示している。54 物質のうち、IMAS による msDA 予測値が文献値と比較して 2 倍以内の乖離に収まる物質数は 26 物質 (黒プロット) であった。一方、IMAS による msDA 予測値が文献値と比較して 2 倍より高く見積もられる (過大評価)、または 2 倍より低く見積もられる (過小評価) 物質数は、それぞれ 24 物質 (黄プロット)、4 物質 (青プロット) であった。

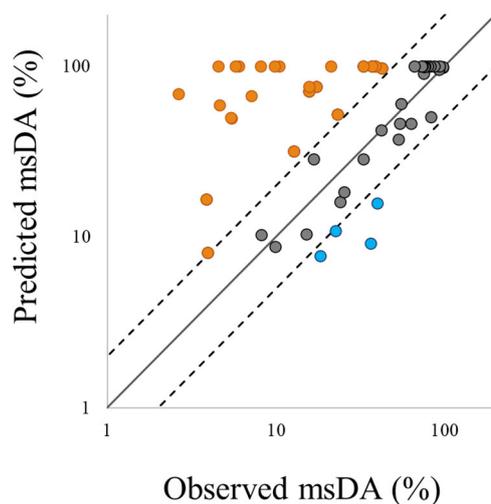


Fig. 16. Comparative analysis between predicted and observed msDA values for 54 chemicals: The black plots represent the data for which ratios of predicted to observed msDA values were within 2-fold. The orange plots represent the data for which predicted msDA values were more than twice the observed values. The blue plots represent the data for which the predicted msDA values were less than twice the observed values. The black line indicates the predictions with a 1-fold range and the dashed lines indicate the predictions within a 2-fold range.

IMAS による msDA 予測値において、文献値よりも過大評価されている物質の特徴を調べるため、msDA 予測値に対する文献値の比、すなわち過大評価度を、経皮吸収に大きく関わる MW 、 $\text{Log } K_{o/w}$ と比較した。Figure 17 は、x 軸が MW 、y 軸が $\text{Log } K_{o/w}$ 、z 軸が過大評価度を示しており、また黄線は $MW=220$ 、 $\text{Log } K_{o/w}=3.1$ を示す。 $MW \leq 220$ かつ、 $\text{Log } K_{o/w} \leq 3.1$ に該当する物質の msDA については、IMAS による過大評価度が少ない傾向が観測された。一方、 $MW > 220$ もしくは $\text{Log } K_{o/w} > 3.1$ の物質の msDA については、IMAS による過大評価度が大きい傾向が観測された。

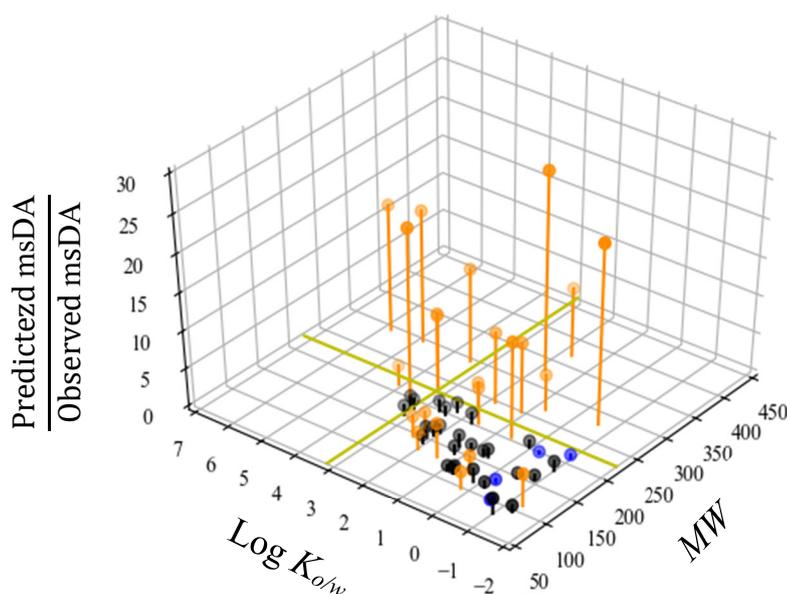


Fig. 17. Relationship between predictive performance of msDA values and physicochemical properties for 54 chemicals: The black plots and lines represent the data for which ratios of predicted to observed msDA values were with 2-fold. The orange plots and lines represent the data for which predicted msDA values were more than twice the observed values. The blue plots and lines represent the data for which the predicted msDA values were less than twice the observed values. The yellow lines indicate 220 for MW and 3.1 for $\text{Log } K_{o/w}$.

Table 11 は、IMAS を用いて得られた msDA 予測値に対する文献値の比、いわゆる乖離度に対する物質数を示している。経皮吸収率のデータを持つ 54 物質のうち、IMAS によって msDA が過大評価される傾向が少ない $MW \leq 220$ 、かつ $\text{Log } K_{ow} \leq 3.1$ に該当する 40 物質の msDA について、IMAS による予測値が文献値と比較して、乖離が 2 倍以内に収まる物質数は 26 物質 (65.0%) であった。一方、 $MW > 220$ もしくは $\text{Log } K_{ow} > 3.1$ の 14 物質の msDA について、IMAS による予測値が文献値と比較して、2 倍より高く見積もられている (過大評価されている) 物質数は 13 物質 (92.9%) であった。

Table 11 IMAS predictive performance for msDA of 54 chemicals

Predictive performance	54 chemicals	40 chemicals $MW \leq 220$ and $\text{Log } K_{ow} \leq 3.1$	14 chemicals $MW > 220$ or $\text{Log } K_{ow} > 3.1$
Overestimation ^a	23 (42.6%)	10 (28.6%)	13 (92.9%)
Good prediction ^b	27 (50.0%)	26 (65.0%)	1 (7.1%)
Underestimation ^c	4 (47.4%)	4 (10.0%)	0 (0%)

a) The predicted msDA values were more than twice the observed values.

b) The ratios of predicted to observed msDA values were within a 2-fold range.

c) The predicted msDA values were less than twice the observed values.

第4節 考察

1. msDA を予測する回帰モデル

前章までは経皮吸収率の平均値 (mDA) を対象に評価を進めてきた。一方、安全性評価では皮膚の個体差に伴う経皮吸収率のばらつきを考慮する必要があり、SCCS では試験データの平均値 (mDA) に標準偏差 (SD) を足した値 (msDA) を経皮吸収率として安全率の算出に適用することを求めている¹⁾。そこで、mDA と SD のデータを持つ 48 物質を対象に、msDA を予測する回帰モデルの構築を試みた。経皮吸収率は 0 から 100% まであり、数字の範囲はそれなりに大きい。SD は平均値と生データの差から求められるため、生データの値が大きい場合、SD も同様に大きくなる傾向にある。したがって、解析には SD を mDA で除した $\frac{SD}{mDA}$ (変動係数) を用いた。mDA と $\frac{SD}{mDA}$ の関係性を評価した結果、mDA が小さいほど、 $\frac{SD}{mDA}$ が大きくなる傾向が観測された。mDA が小さい物質の特徴としては親水性であることが挙げられる。第2章第4節で述べたように、親水性物質の透過経路としては細胞間経路、細胞内経路に加えて、毛包や汗腺といった付属器官の経路が知られている²⁹⁻³⁰⁾。摘出皮膚の個体差については、バリアとして機能する角層の厚みや堅牢性ももちろんだが、毛包の数も関係してくる。過去、lidocaine を対象に、豚摘出皮膚を介した透過性と毛包に着目した結果、イオン型の lidocaine (pH 5.0) の K_p は毛包が多いほど高い傾向が見られたが、分子型の lidocaine (pH 10.0) の K_p は毛包に依存せず変わらないことが報告されている⁶⁰⁾。この知見を踏まえると、親油性物質とは異なり、親水性物質の透過は角層に限らず毛包といった付属器官による影響も受けるため、摘出皮膚毎に得られるデータのばらつき (SD) が大きくなり、その結果 mDA と msDA の差も大きくなることが予想される。したがって、Eq. (19) で得られた msDA を予測するための回帰モデルは、特に親水性物質の msDA、さらには全身毒性リスクを低く見積もることを防ぐ上で重要と考えられた。

2. IMAS による msDA の過大評価

本章では、QSPR モデル、数理モデルおよび上記回帰モデルを組み合わせることで、msDA を予測する方法 IMAS を構築した。経皮吸収率データを持つ 54 物質 ($76.1 \leq MW \leq 362.5$ 、 $-1.4 \leq \text{Log } K_{o/w} \leq 5.7$) を対象に IMAS による msDA 予測性を評価した結果、MW が 220 を超えて、かつ $\text{Log } K_{o/w}$ が 3.1 を超える物質について、IMAS より得られた msDA の予測値は、文献値と比較して 2 倍より高く見積もられる (過大評価される) 傾向が観測された。この理由について、a. QSPR モデル、b. 数理モデルに分けてそれぞれ考察した。

a. QSPR モデルに関する考察

今回構築した数理モデルでは msDA を予測するために、 Kp および K がパラメーターとして必要である。そこで、まずバッテリーモデル (Potts and Guy モデルと ChemTunes モデルで Kp を予測した後、値が高い方を採用する方法) による Kp 予測性と MW や $\text{Log } K_{ow}$ の関係性について考察するため、 Kp 予測値に対する文献値の比、すなわち過大評価度を、 MW や $\text{Log } K_{ow}$ と比較した。ここで、バッテリーモデルによる Kp 予測性に関して評価する物質について、msDA の文献値を持つ物質と MW や $\text{Log } K_{ow}$ の範囲を揃えることで、msDA が過大評価された原因を考察しやすいと考えた。 Kp の文献値を持つ 227 物質のうち、msDA の文献値を持つ物質と同様に $76.1 \leq MW \leq 362.5$ 、 $-1.4 \leq \text{Log } K_{ow} \leq 5.7$ に該当する 185 物質を解析の対象とした。Figure 18 は、x 軸が MW 、y 軸が $\text{Log } K_{ow}$ 、z 軸が過大評価度を示しており、黒プロットが $MW \leq 220$ 、 $\text{Log } K_{ow} \leq 3.1$ に該当する物質、橙プロットが $MW > 220$ もしくは $\text{Log } K_{ow} > 3.1$ に該当する物質のデータである。Figure 17 で示した IMAS による msDA の過大評価度と MW や $\text{Log } K_{ow}$ の関係性に類似して、 $MW > 220$ もしくは $\text{Log } K_{ow} > 3.1$ に該当する物質の Kp について、バッテリーモデルによって過大評価されやすい傾向が観測された。

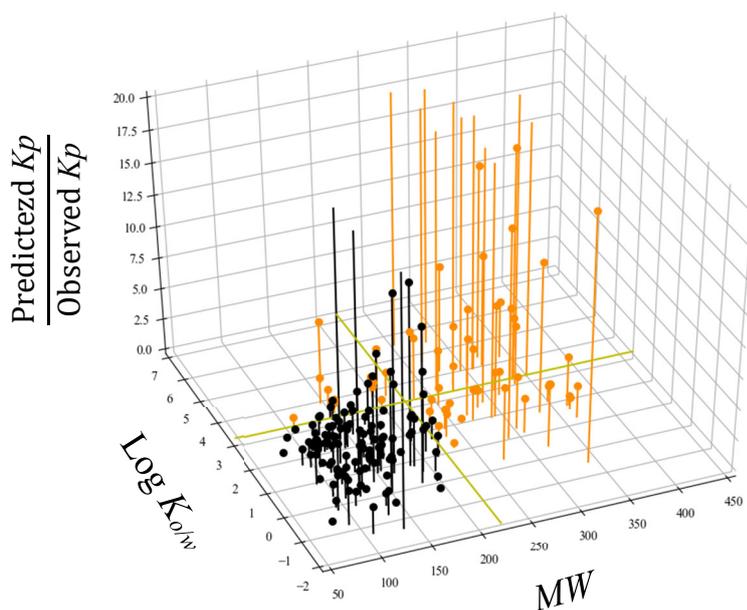


Fig. 18. Relationship between predictive performance of Kp values and physicochemical properties for 54 chemicals: The black plots and lines represent the data with $MW \leq 220$ and $\text{Log } K_{ow} \leq 3.1$, while the orange plots and lines represent the data with $MW > 220$ and $\text{Log } K_{ow} > 3.1$. The yellow lines indicate 220 for MW and 3.1 for $\text{Log } K_{ow}$. For the data with $\frac{\text{Predicted } Kp}{\text{Observed } Kp} > 20$, only lines are shown.

次に、 K に関して考察する。 K は K_p と比較して世の中にデータ自体が少なく、予測モデルについても検討があまり進んでいない。実際、Derek Nexus、ChemTunes、EpiSuite™についても K を予測するモデルは収載されていないため、 K に関して一般的に利用可能な予測モデルは少ない状況である。 K はサンプル(水)から皮膚(油)への分配性に関するパラメーターであることから、 $\text{Log } K_{o/w}$ と密接に関わることが知られている¹⁰⁾。そこで、本研究ではEq. (16)が示すように、 K を予測する上で $\text{Log } K_{o/w}$ が影響するモデルを利用した。Eq. (16)の K 予測性を評価するため、第1章第3節で示した豚摘出皮膚を用いた無限用量下の*in vitro*皮膚透過試験より得られた K とEq. (16)で予測された K を比較した(Table 12)。その結果、Eq. (16)は K について実測値よりも値を高く見積もる傾向にあることが分かった。また、 $\text{Log } K_{o/w}$ が3.1の物質を想定して、Eq. (16)で K を予測した場合、15.5となった。今回 $\text{Log } K_{o/w} > 3.1$ の物質について議論しているため、厳密にはEq. (16)の K 予測性を評価するために用いたTable 12に示されている物質の範囲からは外れる。しかし、methyl *p*-hydroxybenzoateについて、Eq. (16)で予測された K に対する実測値の比が7倍見られたことを踏まえると、 $\text{Log } K_{o/w}$ が3.1を超える物質の K について、Eq. (16)で予測した場合、予測値と実測値はさらに乖離する可能性が考えられた。

Table 12 Summary of observed K values across the excised porcine skin under infinite dose conditions and predicted K values using Eq. (16) for 7 chemicals.

Permeants	$\text{Log } K_{o/w}$	Observed K	Predicted K	Ratio (Pred/Obs)
BA (pH7.0)	-2.3 ¹⁹⁾	$(1.44 \pm 1.31) \times 10^{-1}$	7.3×10^{-2}	0.51
LID (pH5.0)	-0.9 ²⁰⁾	$(1.25 \pm 0.83) \times 10^{-1}$	2.96×10^{-1}	2.36
KA	-0.9*	$(1.08 \pm 0.15) \times 10^{-1}$	2.96×10^{-1}	2.74
ISMN	-0.4*	$(1.01 \pm 0.26) \times 10^{-1}$	4.85×10^{-1}	4.80
CAF	-0.09*	$(1.36 \pm 0.62) \times 10^{-1}$	6.59×10^{-1}	4.84
BA (pH3.0)	1.9*	1.51 ± 0.09	4.72	3.13
MP	2.0*	$(7.08 \pm 2.90) \times 10^{-1}$	5.21	7.36
	3.1		15.5	

*Pubchemによる予測値

b. 数理モデルに関する考察

まず MW の観点から考察する。緒言でも述べたように、 MW は皮膚中の拡散運動 (拡散係数: D) に関与することが知られている¹⁰⁾。また、拡散パラメーター ($\frac{D}{L^2}$) に関する Eq. (2) が示すように、定常状態での透過速度が得られる時間であるラグタイム (T_{lag}) は D に反比例している。したがって、 MW が大きいほど、 T_{lag} は大きくなり、定常状態に達するまでに時間がかかることを意味する。実際、Buist らの試験結果によると、propylparaben (MW : 180.2、 $\text{Log } K_{o/w}$: 3.04) の T_{lag} は 1.1 ± 0.3 (h)、Testosterone (MW : 288.4、 $\text{Log } K_{o/w}$: 3.3) の T_{lag} は 3.3 ± 0.3 (h)、Ethacrynic acid (MW : 303.1、 $\text{Log } K_{o/w}$: 3.69) の T_{lag} は 15.8 ± 7.6 (h) であることを報告しており²³⁾、 MW が大きいほど、 T_{lag} は大きくなる傾向が見られた。一方、今回 msDA を予測するために用いた K_p は T_{lag} に達した後の定常状態時の皮膚透過速度に関する値であり、 T_{lag} に達する前の透過速度よりも高い値を示している。ゆえに、 MW が大きいほど、有限用量下の摘出皮膚を介した透過試験において、実際に物質が皮膚を透過する速度と、 K_p から想定される透過速度に乖離が生じ、IMAS による msDA 予測値は文献値よりも過大評価する傾向にあったと考えた。

次に $\text{Log } K_{o/w}$ の観点から考察する。 $\text{Log } K_{o/w}$ が高い物質は、親油性が高く、親水性が低い傾向にある。生きた表皮および真皮は、脂質に富む角層と比較して親水性が高い。ゆえに、親油性が高い物質については、角層には分配されやすいが、角層に留まったまま、生きた表皮および真皮まで浸透しにくいと考えられる。ECHA は C_{wat}^{sat} が 0.1 mg/cm^3 以下の物質について、経皮吸収性が低い傾向にあることを報告しているが⁶¹⁾、これは角層と生きた表皮および真皮の親水性の違いが皮膚透過に及ぼす影響に関する上記の内容と合致している。今回、経皮吸収率のデータを持つ 54 物質のうち、 $\text{Log } K_{o/w} > 3.1$ に該当する物質数は 8 物質であった。この 8 物質のうち、2-acetyl aminofluorene ($\text{Log } K_{o/w}$: 3.12、 C_{wat}^{sat} : 0.004 mg/cm^3 、msDA: 6.79%)、testosterone ($\text{Log } K_{o/w}$: 3.32、 C_{wat}^{sat} : 0.13 mg/cm^3 、msDA: 8.08%)、benzyl salicylate ($\text{Log } K_{o/w}$: 3.20、 C_{wat}^{sat} : 0.0088 mg/cm^3 、msDA: 10.47%)、4-bromophenyl isocyanate ($\text{Log } K_{o/w}$: 3.48、 C_{wat}^{sat} : 0.035 mg/cm^3 、msDA: 4.55%)、triclosan ($\text{Log } K_{o/w}$: 4.76、 C_{wat}^{sat} : 0.040 mg/cm^3 、msDA: 5.76%) と vitamin A ($\text{Log } K_{o/w}$: 5.68、 C_{wat}^{sat} : 0.000017 mg/cm^3 、msDA: 6.00%) の 6 物質の C_{wat}^{sat} は 0.1 mg/cm^3 付近もしくは下回っていたが、msDA の文献値についても最大 10.47% といずれも低い値を示しており、ECHA の報告に合致していた。

一方、今回構築した数理モデルは、角層と生きた表皮および真皮を 1 つの膜と想定した、いわゆる 1 層膜モデルを利用している。1 層膜モデル、基剤から角層 (膜) への分配に関しては考慮されているが、角層から生きた表皮および真皮への物質の分配に関しての考慮はされていない。IMAS では、Cleek と Bunge が提案した Eq. (15) を用いることで、角層と比

較して生きた表皮および真皮は親水性であることに起因する Kp への影響を考慮はしていたが、 $\text{Log } K_{o/w} > 3.1$ に該当する物質の msDA について IMAS では過大評価している今回の結果を踏まえ、IMAS では、 C_{wat}^{sat} が低い物質は角層に留まるため、msDA が低くなるという現象を十分に反映できていなかったと考察した。

以上より、 $MW > 220$ または $\text{Log } K_{o/w} > 3.1$ に該当する物質の msDA について、IMAS では過大評価する傾向を示した要因として、①今回用いた QSPR モデルでは $MW > 220$ または $\text{Log } K_{o/w} > 3.1$ に該当する物質の Kp や K について、文献値と比較して過大評価する傾向にあること、②今回構築した数理モデルでは、 T_{lag} に達する前の透過速度、および角層から生きた表皮および真皮への物質の分配に対する考慮が不十分であることが挙げられた。

3. IMAS による msDA の過小評価

IMAS により得られた msDA の予測値が文献値と比較して 2 倍より低く見積もっていた (過小評価されていた) 物質は isosorbide 5-mononitrate (MW : 191.1、 $\text{Log } K_{o/w}$: -0.4)、niacinamide (MW : 122.1、 $\text{Log } K_{o/w}$: -0.37)、3-*O*-ethyl-L-ascorbic acid (MW : 204.2、 $\text{Log } K_{o/w}$: -1.1)、2-amino-2-methylpropanol (MW : 89.1、 $\text{Log } K_{o/w}$: -0.8) の 4 物質が観測された。これら物質の特徴として、 $\text{Log } K_{o/w} < 0$ に該当する物質であることが挙げられる。Eq. (16) による K の予測性を示した Table 12 の結果より、 $\text{Log } K_{o/w} < 0$ に該当する物質の K について、Eq. (16) で予測された値は摘出皮膚を介した透過試験で得られる値と比較して低く見積もられてはいないと想定された。

上記の知見より、IMAS により得られた msDA の予測値が文献値を下回った要因としては、バッテリーモデルによる K_p の予測性が関係していると考えられた。そこで、 $\text{Log } K_{o/w}$ が低い物質に対する、バッテリーモデルによる K_p 予測性について考察するため、 K_p の文献値を持つ 227 物質のうち、 $MW \leq 220$ 、かつ $\text{Log } K_{o/w} \leq 1$ の 66 物質に着目した。横軸が $\text{Log } K_{o/w}$ 、縦軸がバッテリーモデルによる K_p 予測値に対する文献値の比、すなわち乖離度として、上記 66 物質のデータをプロットした (Fig. 19)。その結果、 $MW \leq 220$ かつ $\text{Log } K_{o/w} < 0$ に該当する物質について、バッテリーモデルにより予測された K_p が文献値を下回る ($\text{Log} \frac{\text{Predicted } K_p}{\text{Observed } K_p} < 0$) 傾向は確認されなかった。

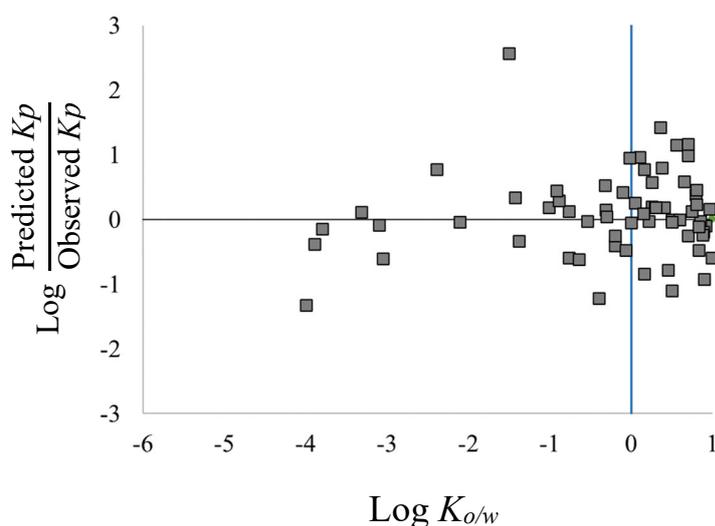
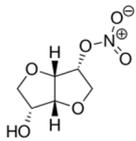
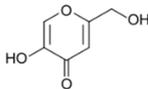
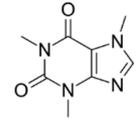
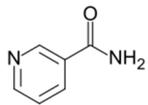
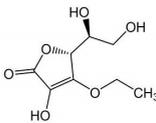


Fig. 19. Comparative analysis of $\text{Log } K_{o/w}$ and predictive performance of K_p values from battery of two QSPR models for 66 chemicals with $MW \leq 220$ and $\text{Log } K_{o/w} \leq 1$: The black line indicates the predictions with a 1-fold range. The blue line represents 0 for $\text{Log } K_{o/w}$.

上記の結果から、IMAS により得られた msDA の予測値が文献値と比較して過小評価された要因については、 $\text{Log } K_{o/w}$ 以外に眼を向ける必要があると考えた。IMAS により過小評価された isosorbide 5-mononitrate、niacinamide、3-O-ethyl-L-ascorbic acid の 3 物質については、酸素原子または窒素原子を含む環状構造を持つ特徴が挙げられる。第 1 章第 3 節にて、豚摘出皮膚を用いた無限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験より得られた K_p を持つ Isosorbide 5-mononitrate、並びに環状構造に酸素原子または窒素原子を含む kojic acid、caffeine について、バッテリーモデルにより予測された K_p 予測性を評価した。 K_p 予測値と実測値を比較した結果、isosorbide 5-mononitrate について、バッテリーモデルによる K_p 予測値は実測値に対して 16 倍低い結果を示していた。また環状構造に酸素原子または窒素原子を含む kojic acid および caffeine についても、バッテリーモデルによる K_p 予測値は文献値に対してそれぞれ 4.11 倍、2.99 倍低い結果を示していた (Table 13)。

Table 13 Summary of observed K_p values across the excised porcine skin under infinite dose conditions and predicted K_p values using battery model for 5 chemicals

Permeants	Structure	$\text{Log } K_{o/w}^*$	Observed K_p	Predicted K_p	Ratio (Obs/Pred)
Isosorbide 5-mononitrate		-0.4	$(1.15 \pm 0.32) \times 10^{-3}$	7.08×10^{-5}	16.24
Kojic acid		-0.9	$(1.30 \pm 0.37) \times 10^{-3}$	3.16×10^{-4}	4.11
Caffeine		-0.09	$(2.32 \pm 0.12) \times 10^{-3}$	7.76×10^{-4}	2.99
Niacinamide		-0.4		2.00×10^{-4}	
3-O-ethyl-L-ascorbic acid		-1.07		1.10×10^{-4}	

*Pubchem による予測値

環状構造でも代表的なベンゼン環を有するパラベン類は皮膚透過性が高いことが報告されている²⁰⁾。ベンゼン環は親油性物質であり、皮膚への分配性が高いことに加えて、環状構造に起因して同程度の分子量を有する鎖型構造の物質よりも分子半径が小さく、皮膚における拡散性も高いことが理由と考えられる^{10,62)}。そのため、環状構造を有する isosorbide 5-mononitrate、niacinamide、3-O-ethyl-L-ascorbic acid についても、ベンゼン環と同様に、同程度の分子量を有する鎖型構造と比較して分子半径が小さく、 $\text{Log } K_{ow} < 0$ に該当するような親水性物質の中では高い皮膚透過性が期待される。理由は定かではないが、今回用いた Potts and Guys モデルや ChemTunes モデルでは、 $\text{Log } K_{ow} < 0$ に該当し、かつ酸素原子または窒素原子を含む環状構造を持つ、isosorbide 5-mononitrate のような物質の K_p を文献値よりも低く見積もる傾向があるのかもしれない。

以上より、 $\text{Log } K_{ow} < 0$ に該当し、酸素原子または窒素原子を含む環状構造を持つような物質の msDA について、IMAS を用いて予測する際には、予測値は実測値に対して 2 倍より低く見積もられる可能性があることに注意する必要があると考えられた。

第5節 小括

本章では、QSPR モデルと数理モデルを用いて mDA を予測し、回帰モデルを用いて mDA から msDA を予測する方法 IMAS を構築した。化粧品に配合されている物質を中心に、経皮吸収率データを持つ 54 物質 ($76.1 \leq MW \leq 362.5$ 、 $-1.4 \leq \text{Log } K_{ow} \leq 5.7$) を対象にして、IMAS を用いて msDA を予測した。IMSA による msDA 予測値と文献値を比較した結果、 MW が 220、 $\text{Log } K_{ow}$ が 3.1 を超過する物質について、予測値は文献値と比較して 2 倍より高く見積もられる (過大評価される) 傾向が明らかとなった。一方、54 物質のうち、 $MW \leq 220$ 、 $\text{Log } K_{ow} \leq 3.1$ に該当する 40 物質については、IMAS による msDA の予測値と文献値の乖離が 2 倍以内に収まる物質数は 26 であり全体の 65% を占めていた。また、IMAS による msDA の予測値が文献値よりも低く見積もられた (過小評価された) 物質は 4 物質のみであり、特徴として $\text{Log } K_{ow} < 0$ かつ酸素原子または窒素原子を含む環状構造を持つ傾向が観測された。

本章の結果より、化粧品に配合され得る物質の msDA について、IMAS を用いて予測した場合、有限用量下の摘出皮膚を介した透過試験により得られる実測値と比較して、予測値が過小評価される可能性は少ないことが示唆された。また IMAS が過小評価する傾向にある物質の特徴も併せて把握することができた。したがって、評価物質の物理化学的特徴や構造を見極めることにより、IMAS が摘出皮膚を用いずに経皮吸収率を予測する方法として化粧品の安全性評価に有用であることが示唆された。

第4章 数学的アプローチを組み合わせた経皮吸収率予測方法 IMAS を活用した安全性評価の実践³³⁾

化粧品に配合される物質の全身毒性リスクを評価する上で、目的物質の経皮吸収に関する情報は有用である。摘出皮膚を用いた *in vitro* 皮膚透過試験により、目的物質の経皮吸収率を評価することができるが、ヒト摘出皮膚の調達や目的物質に対する分析技術の確立など、試験の実施には一定の労力やコストがかかる。

先述の通り、経皮吸収は物理化学的特徴と密接な関係があることが知られている¹⁰⁾。この知見に着目し、ECHA は目的物質の 1. MW が 500 を超えているかつ、2. $\text{Log } K_{ow}$ が -1 を下回る、もしくは 4 を上回る場合、経皮吸収率を 10% と見なすことができ、上記条件に該当しない物質は経皮吸収率を 100% とすることを提示している⁶¹⁾。

さらに、Kroes らは、“皮膚透過速度が高いほど経皮吸収率も高い”というコンセプトを基に、Potts and Guy モデルを利用して $\text{Log } K_{ow}$ と MW から得られた Kp と、水への飽和溶解度 (C_{wat}^{sat}) の積から算出した最大皮膚透過速度 (J_{max}) に応じて、目的物質の経皮吸収率を 10%、40%、80% に 3 分類する方法を提案している¹⁶⁾。つまり、 $\text{Log } K_{ow}$ 、 MW 、 C_{wat}^{sat} の 3 つの物理化学的パラメーターから経皮吸収率を簡便に分類することが可能である。ただし、Kroes モデルの前提条件として、(i) 物質は基剤中に飽和溶解度で存在する、(ii) 曝露期間中に物質の枯渇は起こらない、(iii) 化粧品中の物質は皮膚バリアの健全性に影響を与えない、(iv) 物質は曝露時間全体にわたって最大速度で皮膚を透過することが含まれており、化粧品の実使用における条件とは異なる部分が多い。これまで、香料を中心とした化粧品に配合され得る物質を対象に、Kroes モデルより得られた経皮吸収率の分類値と、ヒトまたは豚摘出皮膚を介した透過試験より得られた文献値を比較した結果、分類値は文献値を上回る傾向にあることが報告されている³⁹⁾。

第3章では、数理モデルや QSPR モデル、回帰モデルなど複数の数学的アプローチを組み合わせて経皮吸収率 (msDA) を予測する方法 IMAS を構築した。IMAS は有限用量下と無限用量下の条件の違いの 1 つである蒸発による物質の透過時間への影響に着目していることから、Kroes モデルとは異なるアプローチで msDA を予測する方法と言える。そこで、本章では IMAS と Kroes モデルの msDA 予測性を比較することで、各方法がどのような物質の評価に適しているか明確にすることを試みた。その情報を踏まえて、IMAS を活用した化粧品の安全性評価について、ケーススタディを作成した。

第1節 実験方法

1. K_p データの収集

第3章第1節に記載

2. $\text{Log } K_{ow}$ の予測

第3章第1節に記載

3. 経皮吸収率データの収集

第3章第1節に記載

4. QSPR モデルを用いた透過パラメーターの取得

第3章第1節に記載

5. 数理モデルによる経皮吸収率予測性の指標

第3章第1節に記載

6. 統計解析

2群の平均値の比較には Welch's $-t$ 検定を利用し、有意差は p 値が 0.05 以下とした。

第2節 理論

1. Kroes モデルを用いた msDA の分類

バッテリーモデルにより得られた Kp について、表皮および真皮の親水性が透過性に与える影響を考慮可能な Eq. (15) によって補正した Kp^{corr} に C_{wat}^{sat} をかけることで、 J_{max} を算出することができる¹⁶⁾。

$$J_{max} (\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}) = Kp^{corr} (\text{cm}/\text{h}) \times C_{wat}^{sat} (\mu\text{g}/\text{cm}^3) \quad \text{Eq. (20)}$$

J_{max} と msDA の関係は下記式で表される。

$$\text{msDA} = \begin{cases} 10\% (J_{max} \leq 1) \\ 40\% (1 < J_{max} \leq 10) \\ 80\% (J_{max} > 10) \end{cases} \quad \text{Eq. (21)}$$

第3節 結果

1. Kroes モデルによる msDA の予測性評価

経皮吸収率の文献値を持つ 54 物質 ($76.1 \leq MW \leq 362.5$ 、 $-1.4 \leq \text{Log } K_{ow} \leq 5.7$) に対して、Kroes モデルを用いて msDA を分類した結果を Table 14 に示す。Kroes モデルにより、3 物質は msDA = 10%、22 物質は msDA = 40%、29 物質は msDA = 80%に分類された。

Table 14 Summary of observed and calculated data obtained using IMAS and Kroes model for 54 chemicals

CAS	Permeants	MW	Observed data		Kp^{corr} (cm/h)	K (-)	J_{max} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	mDA (%)		msDA (%)		
			Log K_{ow}	C_{wat}^{sat} (mg/cm^3)				IMAS	Observed	IMAS	Kroes	Observed
111-42-2	Diethanolamine	105.14	-1.43	1000	0.00052	0.17	523.72	9.49	1.92	16.67	80	3.86
96-26-4	Dihydroxyacetone	90.08	-1.4	93.0	0.00019	0.18	18.00	5.40	7.22	8.77	80	9.87
79-14-1	Glycolic acid	76.05	-1.1	1000	0.00012	0.24	123.83	4.96	2.25	8.11	80	4.45 ^a
997-55-7	N-Acetyl-L-aspartic acid	175.14	-1.1	675	0.00020	0.24	132.09	6.43	5.00	10.28	80	8.99 ^a
86404-04-8	3-O-ethyl-L-ascorbic acid	204.18	-1.07	1000	0.00011	0.25	111.36	4.73	12.19	7.78	80	19.51 ^a
102-71-6	Triethanolamine	149.19	-1.0	1000	0.00018	0.27	177.27	6.49	9.83	10.36	80	16.20 ^a
124-68-5	2-Amino-2-methylpropanol	89.14	-0.8	1000	0.00015	0.33	154.17	6.86	13.20	10.89	80	20.89 ^a
501-30-4	Kojic acid	142.11	-0.64	125	0.00032	0.38	39.38	10.49	18.00	16.02	80	24.00 ^b
16051-77-7	Isosorbide 5-mononitrate	191.13	-0.4	57.0	0.00007	0.48	4.03	5.69	32.79	9.20	40	36.18 ^b
98-92-0	Niacinamide	122.12	-0.37	500	0.00020	0.50	97.94	10.30	28.80	15.76	80	40.59 ^a
106-50-3	1,4-Phenylenediamine	108.14	-0.3	8.28	0.00027	0.54	2.21	12.17	18.84	18.32	40	25.24
58-08-2	Caffeine	194.19	-0.07	17.50	0.00077	0.67	13.53	19.96	25.00	28.61	80	33.00 ^b
123-30-8	4-Aminophenol	109.13	0.04	0.76	0.00066	0.75	0.50	19.88	10.05	28.51	40	16.66
68-11-1	Thioglycolic acid	92.12	0.09	1000	0.00281	0.79	2814.90	39.23	14.11	52.35	80	23.14
107-41-5	2-Methylpentane-2,4-diol	118.17	0.3	500	0.00062	0.97	309.04	22.45	7.77	31.79	80	12.75
610-81-1	4-Amino-3-nitrophenol	154.12	0.41	1.99	0.0033	1.08	6.65	45.85	41.94	60.15	40	55.28
2871-01-4	HC Red No.3	197.99	0.51	3.65	0.0031	1.19	11.14	44.88	2.79	59.01	80	4.62
5307-14-2	2-Nitro-1,4-phenylenediamine	153.14	0.53	0.96	0.00077	1.22	0.74	26.96	33.72	37.46	40	52.94
123-31-9	Hydroquinone	110.11	0.59	59.32	0.0011	1.29	65.84	30.82	25.45	42.21	80	41.85
95-55-6	2-Aminophenol	109.13	0.62	2.00	0.0015	1.33	2.89	34.08	49.21	46.18	40	63.29
108-46-3	Resorcinol	110.11	0.8	503.68	0.0016	1.59	786.55	37.58	74.18	50.38	80	82.97

Table 14 Summary of observed and calculated data obtained using IMAS and Kroes model for 54 chemicals (continued)

99-56-9	4-Nitro-1,2-Phenylenediamine	153.14	0.88	0.21	0.00097	1.72	0.20	34.13	46.53	46.24	40	54.29
105-13-5	Anisyl alcohol	138.17	1.10	2.00	0.0090	2.14	17.91	77.13	85.23	95.33	80	91.90
121-33-5	Vanillin	152.15	1.21	8.46	0.011	2.38	91.51	82.49	56.41	100	80	66.16
627-00-9	4-Chlorobutyric acid	122.55	1.32	82.19	0.0031	2.66	250.49	55.40	11.97	71.14	80	15.70
76180-96-6	2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline	198.23	1.47	0.53	0.0034	3.08	1.79	59.43	9.08	75.71	40	15.66
131-11-3	Dimethyl phthalate	194.19	1.6	3.18	0.012	3.51	37.91	86.76	62.02	100	80	73.65
31906-04-4	Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde	210.31	1.70	0.18	0.0027	3.87	0.50	59.89	14.30	76.23	40	17.28
65-85-0	Benzoic acid	122.12	1.87	3.40	0.0074	4.58	25.14	79.29	34.56	97.68	80	42.48
92-48-8	6-Methylcoumarin	160.17	1.91	0.49	0.0077	4.77	3.78	80.49	93.95	98.98	40	97.19
104-54-1	Cinnamyl Alcohol	134.18	1.95	3.98	0.026	4.96	101.72	97.94	87.22	100	80	93.38
99-76-3	Methylparaben	152.15	1.96	2.34	0.014	5.01	32.83	91.35	77.15	100	80	86.87
122-57-6	Benzylidene acetone	146.19	2.07	2.13	0.0073	5.59	15.54	81.02	72.38	99.56	80	75.41
140-10-3	Cinnamic acid	148.16	2.13	0.79	0.0078	5.93	6.17	82.75	24.03	100	40	32.92
97-00-7	2,4-Dinitrochlorobenzene	202.55	2.17	0.41	0.0039	6.17	1.62	72.64	62.56	90.42	40	74.59
31005-02-4	7-Ethoxycoumarin	190.20	2.3	0.78	0.0058	7.01	4.48	79.71	91.92	98.13	40	96.92
69-72-7	Salicylic acid	138.12	2.3	2.24	0.012	7.01	26.13	90.32	34.48	100	80	37.04 ^b
1205-17-0	α -Methyl-1,3-benzodioxole-5-propionaldehyde	192.22	2.51	0.34	0.0078	8.63	2.65	86.14	61.40	100	40	72.79
97-54-1	Isoeugenol	164.20	3.04	0.60	0.036	14.59	21.72	99.72	68.91	100	80	78.79
94-13-3	Propylparaben	180.20	3.04	0.50	0.028	14.59	14.00	99.23	75.66	100	80	81.63
84380-01-8	α -Arbutin	272.25	-0.7	151.0	0.00010	0.36	15.80	5.89	0.27	9.49	80	0.40
6055-19-2	Cyclophosphamide monohydrate	261.09	0.63	8.09	0.14	1.34	1121	100	10.17	100	80	21.17
80062-31-3	2-Nitro-5-glyceryl-methylaniline	242.23	1.0	0.0014	0.0011	1.94	0.0016	37.36	2.98	50.12	10	5.38
50-23-7	Hydrocortisone	362.47	1.61	0.97	0.00017	3.54	0.17	36.74	2.90	49.38	40	5.43

Table 14 Summary of observed and calculated data obtained using IMAS and Kroes model for 54 chemicals (continued)

1419401-88-9	Methoxypropylamino Cyclohexenyldiene Ethoxyethylcyanoac	322.40	1.70	0.36	0.0016	3.87	0.56	53.68	1.63	69.18	40	2.65
137-26-8	Tetramethyl thiuram disulfide	240.43	1.73	0.12	0.0011	3.99	0.14	51.80	4.43	67.03	40	7.14
53-96-3	2-Acetyl aminofluorene	223.27	3.12	0.0040	0.013	15.79	0.053	95.36	6.27	100	10	9.79
119-61-9	Benzophenone	182.22	3.18	0.14	0.024	16.76	3.3	98.91	68.51	100	40	76.17
118-58-1	Benzyl salicylate	228.24	3.20	0.0088	0.014	17.09	0.12	96.02	9.01	100	40	10.47
58-22-0	Testosterone	288.43	3.32	0.13	0.0075	19.25	0.98	91.94	4.71	100	40	8.08
2493-02-9	4-Bromophenyl isocyanate	198.00	3.48	0.035	0.031	22.55	1.07	99.60	2.80	100	40	4.55
15687-27-1	Ibuprofen	206.28	3.97	0.41	0.052	36.62	21.23	99.98	22.21	100	80	38.65
3380-34-5	Triclosan	289.54	4.76	0.040	0.053	80.03	2.13	99.99	4.51	100	40	5.76
11103-57-4	Vitamin A	286.50	5.68	0.000017	0.11	198.91	0.0019	100	4.30	100	10	6.00

a) Calculated values using Eq. (19).

b) In *in vitro* dermal absorption testing, edible porcine skin tissues were used. Human skin tissues were used in the other studies.

2. Kroes モデルによる msDA 予測性に対する C_{wat}^{sat} の影響

次に、Kroes モデルの特徴に着目した。Eqs. (20-21) に基づくと、 J_{max} に対して C_{wat}^{sat} が影響するため、結果として msDA の分類値にも大きく影響することが想定される。そこで、 C_{wat}^{sat} と msDA の分類値の関係性を評価した。IMAS による msDA 予測値が文献値と比較して乖離が 2 倍以内に収まる傾向を持つ $MW \leq 220$ 、 $\text{Log } K_{o/w} \leq 3.1$ の 40 物質について、Kroes モデルを介して分類された msDA に基づき、各群の C_{wat}^{sat} を比較した。Figure 20 は、縦軸が C_{wat}^{sat} の対数値を示す。Kroes モデルにより msDA が 80% に分類された物質群の C_{wat}^{sat} の方が、40% に分類された物質群の C_{wat}^{sat} よりも有意に高いことが分かった。

Kroes モデルにより msDA が 40% に分類された物質のうち、最も高い C_{wat}^{sat} は isosorbide 5-mononitrate の 57.0 mg/cm^3 であった。msDA が 80% に分類された物質のうち、 C_{wat}^{sat} が 57.0 mg/cm^3 を超えた物質は 14 物質 (diethanolamine, kojic acid, thioglycolic acid, 2-methylpentane-2, 4-diol, hydroquinone, resorcinol, 4-chlorobutyric acid, 3-O-ethyl-L-ascorbic acid, niacinamide, dihydroxyacetone, triethanolamine, 2-amino-2-methylpropanol, glycolic acid, N-acetyl-L-aspartic acid) であった。

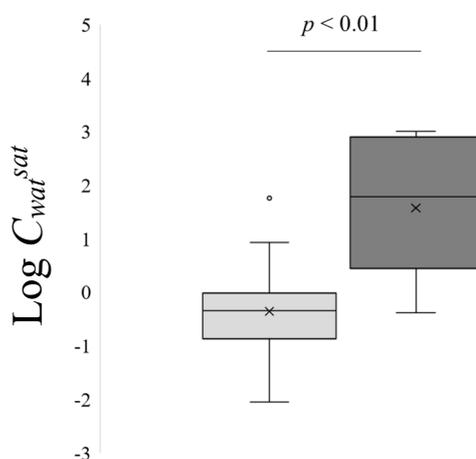


Fig. 20. Comparative analysis of C_{wat}^{sat} between the 40% and 80% groups determined using Kroes model for 40 chemicals with $MW \leq 220$ and $\text{Log } K_{o/w} \leq 3.1$: The grey boxplot represents data classified as 40% ($n = 14$), whereas the black boxplot represents data classified as 80% ($n = 26$). Box plot represents maximum, 75th percentile, median, 25th percentile, minimum value from top to bottom. P -value was calculated by Welch's t test.

3. IMAS と Kroes モデルによる msDA 予測性の比較

下記 4 グループの物質群について、IMAS と Kroes モデルによる msDA 予測性を比較した。
(a-d)の関係性について Fig. 21 に示す。

- (a) 経皮吸収率データを持つ 54 物質 ($76.1 \leq MW \leq 362.5$ 、 $-1.4 \leq \text{Log } K_{o/w} \leq 5.7$)
- (b) (a)のうち、IMAS による msDA 予測値が文献値と比較して乖離が 2 倍以内に収まる傾向を持つ、 $MW \leq 220$ かつ $\text{Log } K_{o/w} \leq 3.1$ に該当する 40 物質
- (c) (a)のうち、IMAS による msDA 予測値が文献値と比較して 2 倍より高く見積もられる傾向を持つ、 $MW > 220$ もしくは $\text{Log } K_{o/w} > 3.1$ に該当する 14 物質
- (d) (b)のうち、Kroes モデルにより得られた msDA が 80%に分類され、かつ C_{wat}^{sat} が 57.0 mg/cm^3 を超えている 14 物質

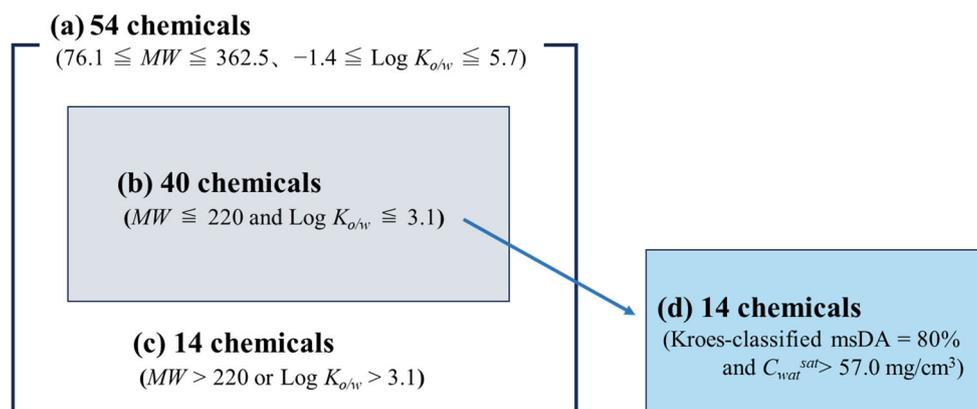


Fig. 21. Venn diagram regarding 54 chemicals with msDA data

Table 15 は、IMAS および Kroes モデルを用いて得られた msDA 予測値 (または分類値) に対する文献値の比、いわゆる乖離度に対する物質数を示している。さらに、IMAS と Kroes モデルの msDA 予測性について定量的に比較するため、縦軸を IMAS による msDA 予測値 (もしくは Kroes モデルによる分類値) に対する文献値の比、すなわち過大評価度とし、IMAS と Kroes モデルのデータを boxplot で示した (Fig. 22)。

(a) 経皮吸収率データを持つ 54 物質 ($76.1 \leq MW \leq 362.5$ 、 $-1.4 \leq \text{Log } K_{ow} \leq 5.7$)

IMAS による msDA 予測値 (もしくは Kroes モデルによる分類値) と文献値の乖離が 2 倍以内に収まった物質数は IMAS が 27 (50%)、Kroes モデルが 25 (46.3%) であった。双方の msDA 予測性に大きな差は観測されなかった (Fig. 22A)

(b) (a)のうち、IMAS による msDA 予測値が文献値と比較して乖離が 2 倍以内に収まる

傾向を持つ、 $MW \leq 220$ かつ $\text{Log } K_{ow} \leq 3.1$ に該当する 40 物質

IMAS による msDA 予測値 (もしくは Kroes モデルによる分類値) と文献値の乖離が 2 倍以内に収まった物質数は IMAS が 26 (65%)、21 (52.5%) であった。双方の msDA 予測性に大きな差は観測されなかった (Fig. 22B)

(c) (a)のうち、IMAS による msDA 予測値が文献値と比較して 2 倍より高く見積もられる

傾向を持つ、 $MW > 220$ もしくは $\text{Log } K_{ow} > 3.1$ に該当する 14 物質

IMAS による msDA 予測値 (もしくは Kroes モデルによる分類値) と文献値と文献値の乖離が 2 倍以内に収まった物質数は IMAS が 1 (7.1%)、4 (28.6%) であった。過大評価度については、IMAS の方が Kroes モデルと比較して高い傾向にあった (Fig. 22C)

(d) (b)のうち、Kroes モデルにより得られた msDA が 80%に分類され、

かつ C_{wat}^{sat} が 57.0 mg/cm^3 を超えている 14 物質

IMAS による msDA 予測値 (もしくは Kroes モデルによる分類値) と文献値の乖離が 2 倍以内に収まった物質数は IMAS が 7 (50%)、3 (21.4%) であった。過大評価度については、Kroes モデルの方が IMAS と比較して高い傾向にあった (Fig. 22D)。

Table 15 Predictive performance of msDA between IMAS and Kroes model for 54 chemicals

Predictive performance	(a) 54 chemicals All data		(b) 40 chemicals $MW \leq 220$ and $\text{Log } K_{ow} \leq 3.1$		(c) 14 chemicals $MW > 220$ or $\text{Log } K_{ow} > 3.1$		(d) 14 chemicals Kroes-classified msDA = 80% and $C_{wat}^{sat} > 57.0 \text{ mg/cm}^3$	
	IMAS	Kroes	IMAS	Kroes	IMAS	Kroes	IMAS	Kroes
Overestimation^a	23 (42.6%)	27 (50%)	10 (25.0%)	17 (42.5%)	13 (92.9%)	10 (71.4%)	4 (28.6%)	11 (78.6%)
Good prediction^b	27 (50.0%)	25 (46.3%)	26 (65.0%)	21 (52.5%)	1 (7.1%)	4 (28.6%)	7 (50.0%)	3 (21.4%)
Underestimation^c	4 (47.4%)	2 (3.7%)	4 (10.0%)	2 (5.0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (21.4%)	0 (0%)

a) The predicted msDA values were more than twice the observed values.

b) The ratios of predicted to observed msDA values were within a 2-fold range.

c) The predicted msDA values were less than twice the observed values.

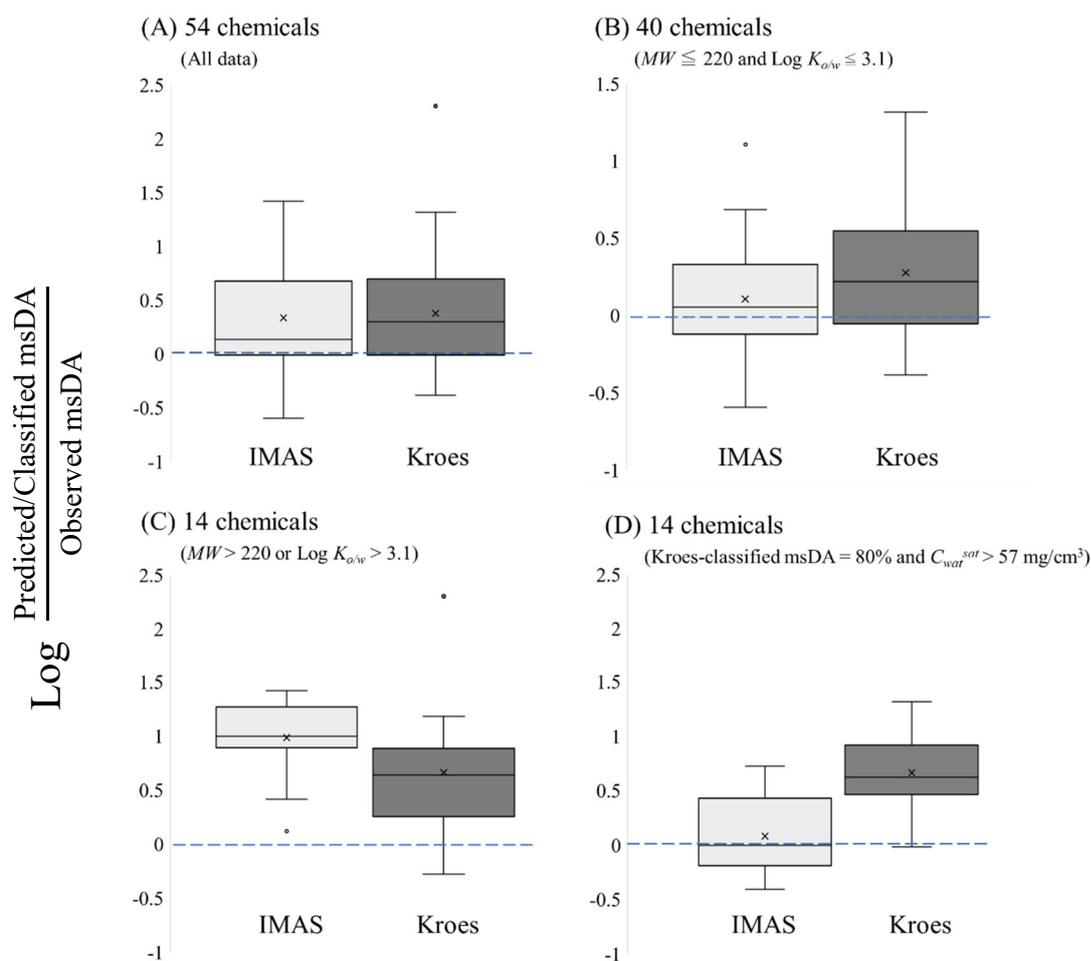


Fig. 22. Predictive performance of msDA between IMAS and Kroes model for 54 chemicals: (A) 54 chemicals, (B) 40 chemicals with $MW \leq 220$ and $\text{Log } K_{o/w} \leq 3.1$, (C) 14 chemicals with $MW > 220$ and $\text{Log } K_{o/w} > 3.1$, (D) 14 hydrophilic chemicals with $C_{\text{wat}}^{\text{sat}} > 57 \text{ mg/cm}^3$ for which msDA classified as 80% by Kroes model. The grey box plot indicates IMAS data, while the black box indicates Kroes model. The blue dashed lines represent $\log \frac{\text{Predicted/Classified msDA}}{\text{Observed msDA}} = 0$ ($\frac{\text{Predicted/Classified msDA}}{\text{Observed msDA}} = 1$). Box plot represents maximum, 75th percentile, median, 25th percentile, minimum value from top to bottom.

3. IMAS を活用した全身毒性リスクの評価

Body lotion に 1,3-propanediol を 5%配合した場合の全身毒性リスク評価について考える。1,3-propanediol は 2 価のアルコール (ジオール) である。ジオール類は溶剤や粘度低下剤としての機能を持ち、また保湿作用を有するものもあり、化粧品に広く配合されている⁶³⁾。ECHA より、1,3-propanediol の無毒性量は 1000 mg/kg/day と報告されている⁶⁴⁾。Body lotion の 1 日の使用量と、1,3-propanediol の腸管吸収率については、SCCS が提示している値を採用した¹⁾。また、ヒトの体重については、曝露評価にて推奨されている日本人女性の体重である 52.7 kg を採用した⁶⁵⁾。

Table 16 に 1,3-propanediol の MW 、 $\text{Log } K_{o/w}$ 、 C_{wat}^{sat} 並びに IMAS による msDA の予測値、Kroes モデルによる分類値を示した。Kroes モデルにより得られた分類値 80%を、経皮吸収率として安全率を算出した場合は 84 となり、本ケースにおける 1,3-propanediol の全身毒性リスクが低いとみなせる 100 を下回った。ここで、本章第 3 節の結果より、1,3-propanediol は C_{wat}^{sat} が 57 mg/cm^3 を超える物質であるため、Kroes モデルで得られた msDA の分類値は実測値と比較して 2 倍より高く見積もられる (過大評価される) 可能性が高いと考えられた。そこで、IMAS の結果を安全率の算出に適用することを考えた。第 1 章第 1 節に示したように、本研究では予測値と文献値の乖離が 2 倍程度に収まることを指標に、IMAS について評価してきた。したがって、IMAS の予測結果を経皮吸収率として安全率の算出に適用する場合は、IMAS による予測値と文献値の乖離を考慮して、IMAS により得られた msDA 予測値を 2 倍した値を、安全率の算出に用いることが好ましいと考えた²²⁾。IMAS から得られた 19.6% ($9.8\% \times 2$) を経皮吸収率として安全率を算出した結果、344 となり 100 を上回ることが分かった。したがって、本ケースにおける 1,3-propanediol の全身毒性リスクは低いことが IMAS を用いて説明することができた。

Table 16 Summary data of physicochemical properties and msDA for 1,3-propanediol.

Structure	MW	$\text{Log } K_{o/w}$	$C_{wat}^{sat} \text{ (mg/cm}^3\text{)}$	Predicted msDA (%)		
				Kroes	IMAS	IMAS $\times 2$
	76.09	-1.0	1000	80	9.8	19.6

- ・ Kroes モデルの予測結果を経皮吸収率として用いた場合

$$\text{安全率} = \frac{1000 \text{ mg/kg/day} \times 50 \%}{7840 \text{ mg/day} \times 5\% \times 80\%/52.7 \text{ kg}} = 84$$

- ・ IMAS の予測結果を経皮吸収率として用いた場合

$$\text{安全率} = \frac{1000 \text{ mg/kg/day} \times 50 \%}{7840 \text{ mg/day} \times 5\% \times 19.6\%/52.7 \text{ kg}} = 344$$

第4節 考察

本章では今回構築した IMAS と、 $\text{Log } K_{o/w}$ 、 MW 、 C_{wat}^{sat} の3つの物理化学的パラメーターから msDA を簡便に分類することができる Kroes モデルによる msDA 予測性を比較した。その結果、 $MW > 220$ または $\text{Log } K_{o/w} > 3.1$ を超える物質の msDA については、IMAS と比較して、Kroes モデルによる分類値の方が、摘出皮膚を介した透過試験で得られる実測値と乖離が少ない可能性が示唆された。また、Kroes モデルにより msDA が 80% に分類された物質のうち、 C_{wat}^{sat} が 57 mg/cm^3 を超えている物質の msDA については、Kroes モデルと比較して、IMAS による予測値の方が、摘出皮膚を介した透過試験で得られる実測値と乖離が少ない可能性が示唆された。

Kroes モデルによる計算式を示す Eqs. (20-21) に基づくと、 J_{max} に対して C_{wat}^{sat} が影響するため、結果として msDA の分類値にも大きく影響することが想定される。実際、 C_{wat}^{sat} と msDA の分類値の関係を評価した結果、Kroes モデルにより msDA が 80% に分類された物質群の C_{wat}^{sat} の方が、40% に分類された物質群の値よりも有意に高く、 C_{wat}^{sat} が msDA の分類に大きく影響することが示唆された。したがって、Kroes モデルでは、 C_{wat}^{sat} が高い親水性物質の msDA については分類値が高くなる傾向にあるが、角層が親油性であることを踏まえると、親水性物質の msDA は低くなる傾向にあるため乖離が生じる。一方、Kroes モデルでは、 C_{wat}^{sat} が低い親油性物質の msDA については分類値が低くなる傾向にあるが、角層と比較して生きた表皮および真皮は親水性が高く、親油性物質の透過性は低くなる傾向にあることから一致している。IMAS では、 C_{wat}^{sat} に関するパラメーターは含んでいないため、この点が Kroes モデルと IMAS の予測性の違いに寄与したと考えられる。

1,3-propanediol を対象としたケーススタディでは、データセット全体として IMAS による msDA 予測値と文献値の乖離が2倍程度に収まることを確認したため、IMAS による予測値を2倍した値を安全率の算出に用いた。一方、IMAS による msDA 予測値と摘出皮膚を介した透過試験で得られる実測値との乖離度、および目的物質の構造情報との関係がより明確になれば、IMAS による msDA 予測値を安全率の算出に適用する場合に乖離度として考慮すべき値を、目的物質に応じて設定できると考えられる。また、第3章第3節にて示した、IMAS では msDA を過小評価する傾向が見られた $\text{Log } K_{o/w} < 0$ 、かつ酸素原子または窒素原子を含む環状構造を持つ物質の msDA についても、予測値と実測値の乖離度が明確になれば、IMAS により得られた msDA 予測値に、適切な乖離度を考慮することで、安全率の算出に適用できると考えた。

1,3-propanediol を始め、1,3-butanediol ($MW: 90.12$ 、 $\text{Log } K_{o/w}: -0.4$)、glycerin ($MW: 92.1$ 、 $\text{Log } K_{o/w}: -1.8$) といったヒドロキシ基を複数含むポリオール類は、保湿剤や溶剤、防腐助剤として化粧品に汎用な物質である。また、1-amidino-L-proline ($MW: 157.2$ 、 $\text{Log } K_{o/w}: -0.4$) や allantoin ($MW: 158.1$ 、 $\text{Log } K_{o/w}: -2.2$) など化粧品の有効成分には親水性物質も多く見受けられることから、親水性物質の msDA を IMAS で予測できることは化粧品の安全性評価に大きく貢献すると考えられる。したがって、今後、特に親水性物質の経皮吸収率に関するデータセットを拡張し、IMAS による msDA の予測性についてさらなる評価が期待される。

第5節 小括

本章では、経皮吸収率データを持つ54物質 ($76.1 \leq MW \leq 362.5$ 、 $-1.4 \leq \text{Log } K_{ow} \leq 5.7$) を対象に、IMAS と Kroes モデルの msDA 予測性について評価した。その結果、Kroes モデルは親水性物質 ($C_{wat}^{sat} > 57.0 \text{ mg/cm}^3$) の msDA について、摘出皮膚を介した透過試験で得られる実測値と比較して高く見積もる傾向があることが分かった。また、上記物質について、IMAS は Kroes モデルと比較して、msDA の予測値と文献値の乖離が少なかったことから、親水性物質の msDA を予測する際には IMAS が適していると考えられた。

また、実際の化粧品を想定して、安全性評価に関するケーススタディ (body lotion に 1,3-propanediol を 5%配合) を作成したところ、IMAS より得られた経皮吸収率 (msDA) を用いて 1,3-propanediol の安全率を算出した結果、安全率は 100 を上回り、本ケースにおける 1,3-propanediol の全身毒性リスクが低いことを説明できた。IMAS は、特に親水性の有効成分や添加物について、摘出皮膚を用いずに経皮吸収率を予測可能な方法として、化粧品の安全性評価に有用である可能性が示唆された。

結言

欧州で化粧品を販売する際に必要な CPSR の中には、化粧品に配合された物質の全身毒性リスクについて説明する項目が含まれている。現在まで、日本では CPSR を要求されていないが、海外では欧州にとどまらず、中国や台湾でも CPSR が要求され始め、その範囲は拡大する一方である。したがって、全身毒性リスクの評価も含めて、CPSR 作成は海外ビジネスを手掛ける上で重要と言える。全身毒性リスク評価において、目的物質の経皮吸収率は極めて重要な情報である。摘出皮膚を用いた *in vitro* 皮膚透過試験により、経皮吸収率を評価することはできるが、ヒト摘出皮膚を用いた試験の実施には一定の労力やコストがかかること、また近年動物愛護の観点から、豚摘出皮膚と言った動物組織を用いない評価方法に注目が集まっている。これまで、摘出皮膚の代わりとして人工膜や3次元培養ヒト皮膚モデルを活用する研究や、QSPR モデルによる皮膚透過性予測に関する研究が進められてきた。しかしながら、これらの研究では主に無限量下で得られる透過係数 (Kp) を対象にしたものであり、有限用量下で得られる経皮吸収率に関する知見に乏しかった。そこで、本研究では、 Kp をパラメーターとして経皮吸収率を予測する方法を構築し、摘出皮膚を用いずに経皮吸収性を考慮した安全性評価の実施を目指した。

第1章 有限用量下の経皮吸収率を予測可能な数理モデルの構築

無限量下とは異なり、有限用量下では基剤の蒸発が目的物質の曝露時間に影響を与えることに着目し、Fick の拡散第1法則に組み込むことで、 Kp をパラメーターとして有限用量下の経皮吸収率を予測可能な数理モデルを構築した。構築した数理モデルの妥当性を評価するため、7物質 ($121.12 \leq MW \leq 234.34$ 、 $-2.3 \leq \text{Log } K_{ow} \leq 2.0$) を対象に、豚摘出皮膚を用いた無限量下の *in vitro* 皮膚透過試験で取得したパラメーターを数理モデルに適用して、予測値を算出した。この予測値を、豚摘出皮膚を用いた有限用量下の *in vitro* 皮膚透過試験で得られた実測値と比較した結果、予測値と実測値の乖離は2倍程度に収まることを確認した。したがって、新しく構築した数理モデルが経皮吸収率の予測に有用である可能性が示唆された。

第2章 Strat-M[®]と数理モデルを組み合わせた経皮吸収率予測性の評価

皮膚代替膜の1種である Strat-M[®]に着目し、7物質 ($121.12 \leq MW \leq 234.34$ 、 $-2.3 \leq \text{Log } K_{ow} \leq 2.0$) を対象に、Strat-M[®]もしくは豚摘出皮膚を介した透過試験で得られたパラメーター (Kp 、 K) を比較した結果、 $\text{Log } K_{ow} < -0.4$ の親水性物質は、豚摘出皮膚と比較して Strat-M[®]を透過しにくいことが分かった。したがって、 $\text{Log } K_{ow} < -0.4$ の親水性物質の経皮

吸収率予測において、Strat-M[®]は向かない可能性が示唆された。一方、 $\text{Log } K_{ow} \geq -0.4$ の物質について、Strat-M[®]を介した透過試験で得られたパラメーターを第1章で構築した数理モデルに適用して経皮吸収率を予測した結果、予測値と実測値の乖離は2倍程度に収まることを確認した。化粧品には防腐剤のようなある程度親油性が求められる物質も配合されていることから、目的物質の物理化学的特徴を把握することで、Strat-M[®]を用いて予測された経皮吸収率を安全性評価に適用できる可能性があると考えた。

第3章 QSPR モデルと数理モデルを組み合わせた経皮吸収率予測性の評価

Strat-M[®]では向かない親水性物質も含めて経皮吸収率を予測可能な方法を構築するため、目的物質の構造情報や物理化学的パラメーターを変数として K_p を計算予測可能な QSPR モデルに着目した。QSPR モデルのうち、一般的に利用が可能な Potts and Guy モデルと ChemTunes モデルを対象に、まず各モデルの K_p 予測性を評価した。その結果、どちらのモデルにおいても K_p の文献値に対して低い予測値を示す物質数は、データセットの半数以上を占めていた。今回構築した数理モデルの特性上、 K_p を低く見積もることは経皮吸収率を低く見積もることに繋がる可能性があった。そこで、1つの物質に対して、Potts and Guy モデルと ChemTunes モデルで K_p を予測した後、値が高い方を予測値として採用するバッテリーモデルを適用することで、文献値に対して予測値が低く見積もられる程度を抑えることができた。

化粧品の安全性評価において、皮膚の個体差に伴う経皮吸収率のばらつきを考慮し、摘出皮膚を介した透過試験で得られた経皮吸収率データの平均値 (mDA) に標準偏差 (SD) を加味した値 (msDA) を安全率の算出に利用することが求められている。そこで、mDA と SD のデータを持つ48物質を対象に、msDA を予測するための回帰モデルを構築した。解析の結果、mDA が低いほど SD に対する mDA の比 (変動係数) が大きいことが明らかになった。この知見は親水性物質のような mDA が低い物質については、mDA と msDA (mDA+SD) に差がある可能性を示唆しており、今回構築した回帰モデルを利用することは mDA が低い物質の経皮吸収率、さらには全身毒性リスクを低く見積もることを抑制することに繋がると考えられた。バッテリーモデルと数理モデルを用いて予測した mDA から回帰モデルを用いて msDA を予測する一連の方法を Integrating Mathematical Approaches: IMAS と定義した。

化粧品に配合されている物質を中心に、54物質 ($76.1 \leq MW \leq 362.5, -1.4 \leq \text{Log } K_{ow} \leq 5.7$) の経皮吸収率のデータを収集した。これら物質を対象に、IMAS による msDA の予測値と文献値を比較した結果、 $MW > 220$ または $\text{Log } K_{ow} > 3.1$ に該当する物質について、

IMAS による msDA の予測値は文献値と比較して 2 倍より高く見積もられる (過大評価される) 傾向にあることが分かった。一方、54 物質のうち、 $MW \leq 220$ 、 $\text{Log } K_{ow} \leq 3.1$ の 40 物質を対象に、IMAS による msDA の予測値と文献値を比較した結果、26 物質 (65%) が予測値と文献値の乖離が 2 倍以内に収まっていることを確認した。また、IMAS による msDA の予測値が文献値よりも低く見積もられた (過小評価された) 物質は 4 物質のみであり、特徴として $\text{Log } K_{ow} < 0$ 、かつ酸素原子または窒素原子を含む環状構造を持つ特徴が観測された。したがって、化粧品に配合され得る物質の msDA について、IMAS を用いて予測した場合、有限用量下の摘出皮膚を介した透過試験により得られる実測値と比較して、予測値が過小評価される可能性は少ないことが示唆された。また IMAS が過小評価する傾向にある物質の特徴も併せて把握することができた。評価物質の物理化学的特徴や構造を見極めることにより、IMAS が摘出皮膚を用いずに経皮吸収率を予測する方法として有用であることが示唆された。

第 4 章 数学的アプローチを組み合わせた経皮吸収率予測方法 IMAS を活用した安全性評価の実践

Kroes モデルの特徴として、 J_{max} に対して C_{wat}^{sat} が影響するため、結果として msDA の分類値にも大きく影響することが考えられた。そこで、経皮吸収率のデータを持ち、 $MW \leq 220$ 、 $\text{Log } K_{ow} \leq 3.1$ の 40 物質について、Kroes モデルを介して分類された msDA に基づき、各群の C_{wat}^{sat} を比較したところ、Kroes モデルにより msDA が 80% に分類された物質群の C_{wat}^{sat} の方が、40% に分類された物質群の値よりも有意に高いことが分かった。Kroes モデルにより msDA が 40% に分類された物質のうち、最も高い C_{wat}^{sat} は 57.0 mg/cm^3 であったことを踏まえ、Kroes モデルにより msDA が 80% に分類され、かつ $C_{wat}^{sat} > 57.0 \text{ mg/cm}^3$ を満たす 14 物質の msDA について、IMAS と Kroes モデルの予測性を評価した。その結果、Kroes モデルによる msDA の分類値は文献値と比較して、2 倍より高く見積もられる (過大評価される) 傾向が観測された。IMAS については、Kroes モデルと比較して、msDA の予測値と文献値の乖離が少なかったことから、親水性物質の msDA を予測する際には Kroes モデルよりも IMAS による評価が適切であることが示唆された。

最後に、安全性評価に関して、実際の化粧品を想定し、ケーススタディとして 1,3-propanediol を body lotion に配合する場合について考えた。1,3-propanediol を対象に Kroes モデルで得られた msDA 分類値を用いて安全率を算出した場合、安全率は 100 を上回り、本ケースにおける 1,3-propanediol の全身毒性リスクが低いことを説明できなかった。Kroes モデルは、 $C_{wat}^{sat} > 57.0 \text{ mg/cm}^3$ のような親水性物質の msDA について、摘出皮膚を介した透

過試験で得られる実測値よりも高く見積もる傾向があるため、1,3-propanediol に関しても同様の可能性を考えた。そこで、IMAS より得られた msDA 予測値の方が、実測値との乖離が少ないと判断し、IMAS の予測結果を用いて安全率を算出した結果、本ケースにおける 1,3-propanediol の全身毒性リスクが低いことを説明できた。これらの結果から、特に親水性物質の msDA 予測において IMAS は有用であり、摘出皮膚を用いずに経皮吸収性を考慮した安全性評価に貢献できると考えられた。

以上より、本研究では皮膚代替膜や QSPR モデルを用いて得られる Kp を数理モデルに適用することで、有限用量下の経皮吸収率 (msDA) を予測可能な方法 IMAS を新たに構築した。化粧品に含まれる親水性の有効成分や添加物を対象に、安全率の算出を介した全身毒性リスクの説明が必要な場合、IMAS は目的物質の msDA 予測を通じて安全性評価を支援し、さらに化粧品業界共通の課題である CPSR 作成に貢献できる可能性がある。また、新規物質を化粧品に配合する際に、IMAS で msDA を予測した値を用いて、安全率から許容できる配合濃度を逆算して見積もることも可能である。事前に配合濃度の当たり付けができることは、化粧品開発において有用な情報になり得る。今後、本研究の成果が化粧品業界にとって有用な知見になることが期待される。

引用文献

1. SCCS, (2023): Scientific committee on consumer safety. SCCS/1647/22, the SCCS's Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and Their Safety Evaluation; 12th revision; Scientific Committee on Consumer Safety: Brussels, Belgium, 2023.
2. 杉林 堅次, (2017): 経皮吸収の原理・その実際・今後の期待, オレオサイエンス, 17 (11), 549-558
3. OECD, (2004): Organization for Economic Cooperation and Development. In Guidance Notes on Dermal Absorption; Series on Testing and Assessment Number 156; OECD Press: Paris, France, 2004.
4. European Parliament, (2009): Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products.
<<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX%3A32009R1223>> (accessed 31 January 2025).
5. Yamaguchi, M., Araki, D., Kanamori, T., Okiyama, Y., Seto, H., Uda, M., Usami, M., Yamamoto, Y., Masunaga, T., Sasa, H., (2017): Actual consumption amount of personal care products reflecting Japanese cosmetic habits. *J. Toxicol. Sci.* 42 (6), 797-814.
6. Barbero, A.M., Frasc, H.F., (2005): Pig and guinea pig skin as surrogates for human in vitro penetration studies: A quantitative review. *Ann. Biomed. Eng.* 33 (9): 1281–1292.
7. Neupane, R., Boddu, S.H.S., Renukuntla, J., Babu, R.J., Tiwari, A.K., (2020): Alternatives to biological skin in permeation studies: Current trends and possibilities. *Pharmaceutics*, 12, 152.
8. Haq, A., Goodyear, B., Ameen, D., Joshi, V., Michniak-Kohn, B., (2018): Strat-M[®] synthetic membrane: Permeability comparison to human cadaver Skin. *Int. J. Pharm.*, 547, 432–437.
9. Simon, A., Amaro, M., Healy, A., Cabral, L., de Sousa, V., (2016): Comparative evaluation of rivastigmine permeation from a percutaneous system in the Franz cell using synthetic membranes and porcine ear skin with in vivo-in vitro correlation. *Int. J. Pharm.* 512, 234–241.
10. Potts, R.O., Guy, R.H., (1992): Predicting skin permeability. *Pharm. Res.*, 9 (5), 663–669.
11. Ates, G., Steinmetz, F.P., Doktorova, T.Y., Madden, J.C., Rogiers, V., (2016): Linking existing in vitro dermal absorption data to physicochemical properties: Contribution to the design of a weight-of-evidence approach for the safety evaluation of cosmetic ingredients with low dermal bioavailability. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 76, 74–78.
12. Alves, V.M., Muratov, E., Fourches, D., Strickland, J., Kleinstreuer, N., Andrade, C.H., Tropsha, A., (2015): Predicting chemically induced skin reactions. Part II: QSAR models of skin permeability and the relationships between skin permeability and skin sensitization. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 284 (2), 273–280.

13. Baba, H., Takahara, J., Mamitsuka, H., (2015): In silico predictions of human skin permeability using nonlinear quantitative structure–property relationship models. *Pharm. Res.*, 32 (7), 2360–2371.
14. Atobe, T., Mori, M., Yamashita, F., Hashida, M., Kouzuki, H., (2015): Artificial neural network analysis for predicting human percutaneous absorption taking account of vehicle properties. *J. Toxicol. Sci.*, 40 (2), 277–294.
15. Zeng, R., Deng, J., Dang, L., Yu, X., (2021): Correlation between the structure and skin permeability of compounds. *Sci. Rep.*, 11 (1), 10076.
16. Kroes, R., Renwick, A.G., Feron, V., Galli, C.L., Gibney, M., Greim, H., Guy, R.H., Lhuguenot, J.C., van de Sandt, J.J., (2007): Application of the threshold of toxicological concern (TTC) to the safety evaluation of cosmetic ingredients. *Food Chem. Toxicol.*, 45 (12), 2533–2562.
17. Kunita, R., Nishijima, T., Todo, H., Sugibayashi, K., Sakaguchi, H., (2022): A mathematical approach using Strat-M® to predict the percutaneous absorption of chemicals under finite dose conditions. *Pharmaceutics*, 14 (7), 1370.
18. Hewitt, N.J., Grégoire, S., Cubberley, R., Duplan, H., Eilstein, J., Ellison, C., Lester, C., Fabian, E., Fernandez, J., Génies, C., Jacques-Jamin, C., Klaric, M., Rothe, H., Sorrell, I., Lange, D., Schepky, A., (2020): Measurement of the penetration of 56 cosmetic relevant chemicals into and through human skin using a standardized protocol. *J. Appl. Toxicol.*, 40 (3), 403–415.
19. Grégoire, S., Ribaud, C., Benech, F., Meunier, J.R., Garrigues-Mazert, A., Guy, R.H., (2009): Prediction of chemical absorption into and through the skin from cosmetic and dermatological formulations. *Br. J. Dermatol.*, 160 (1), 80-91.
20. Uchida, T., Kadhum, W.R., Kanai, S., Todo, H., Oshizaka, T., Sugibayashi, K., (2015): Prediction of skin permeation by chemical compounds using the artificial membrane, Strat-M™. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 67, 113-118.
21. Gomaa, Y., Morrow, D.I., Garland, M.J., Donnelly, R.F., El-Khordagui, L.K., Meidan, V.M., (2010): Effects of microneedle length, density, insertion time and multiple applications on human skin barrier function: Assessments by transepidermal water loss. *Toxicol. Vitro*, 24, 1971–1978.
22. Terasaka, S., Hayashi, A., Nukada, Y., Yamane, M., (2022): Investigating the uncertainty of prediction accuracy for the application of physiologically based pharmacokinetic models to animal-free risk assessment of cosmetic ingredients. *Regul., Toxicol., Pharmacol.*, 135, 105262.
23. Buist, H.E., van Burgsteden, J.A., Freidig, A.P., Maas, W.J., van de Sandt, J.J., (2010): New in vitro dermal absorption database and the prediction of dermal absorption under finite conditions for risk assessment purposes. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 57 (2-3), 200–209.
24. Xiao, P., Imhof, R.E., (1997): Optothermal measurement of stratum corneum thickness and hydration-depth profile. *SPIE Proc.*, 276–286.

25. Arce, F.V. Jr., Asano, N., Yamashita, K., Oda, A., Uchida, T., Sano, T., Todo, H., Sugibayashi, K., (2019): Effect of layered application on the skin permeation of a cosmetic active component, rhododendrol. *J. Toxicol. Sci.*, 44 (1), 1-11.
26. Arce, F.J., Jr., Asano, N., See, G.L., Itakura, S., Todo, H., Sugibayashi, K., (2020): Usefulness of artificial membrane, Strat-M[®], in the assessment of drug permeation from complex vehicles in finite dose conditions. *Pharmaceutics*, 12, 173.
27. Kano, S., Todo, H., Sugie, K., Fujimoto, H., Nakada, K., Tokudome, Y., Hashimoto, F., Sugibayashi, K., (2010): Utilization of Reconstructed Cultured Human Skin Models as an Alternative Skin for Permeation Studies of Chemical Compounds. *AATEX*, 15 (2), 61–70.
28. Uchida, T., Nishioka, K., Motoki, A., Yakumaru, M., Sano, T., Todo, H., Sugibayashi, K., (2016): Effect of esters on the permeation of chemicals with different polarities through synthetic artificial membranes using a high throughput diffusion cell array. *Chem. Pharm. Bull.* 64, 1597–1606.
29. Suzuki, T., Sato, K., Seki, T., Seki, T., (2020): Study of Polymer Nanofilms Using for High-Throughput Screening in the Development of Transdermal Therapeutic System. *Chem. Pharm. Bull.*, 70 (12), 868–875.
30. Barry, B.W., (2001): Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 14, 101–114.
31. Ruela, A., Perissinato, A., de Sousa Lino, M., Mudrik, P., Pereira, G., (2016): Evaluation of skin absorption of drugs from topical and percutaneous formulations. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 52, 527–544.
32. Todo, H., Kimura, E., Yasuno, H., Tokudome, Y., Hashimoto, F., Ikarashi, Y., Sugibayashi, K., (2010): Permeation pathway of macromolecules and nanospheres through skin. *Biol. Pharm. Bull.*, 33, 1394–1399.
33. Kunita, R., Nishijima, T., Todo, H., Miyazawa, M., (2024): Integrating Mathematical Approaches (IMAS): Novel Methodology for Predicting Dermal Absorption Rates of Chemicals under Finite Dose Conditions. *J. Toxicol. Sci.* 49, 5, 219–230.
34. Riviere, J.E., Brooks, J.D., (2011): Predicting skin permeability from complex chemical mixtures: Dependency of quantitative structure permeation relationships on biology of skin model used. *Toxicol. Sci.*, 119, 224–232.
35. Karadzovska, D., Brooks, J., Monteiro-Riviere, N., Riviere, J. (2013): Predicting skin permeability from complex vehicles. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 65, 265–277.
36. Riviere, J.E., Brooks, J.D., Collard, W.T., Deng, J., de Rose, G., Mahabir, S.P., Merritt, D.A., Marchiondo, A.A., (2014): Prediction of formulation effects on dermal absorption of topically applied ectoparasiticides dosed in vitro on canine and porcine skin using a mixture-adjusted quantitative structure permeability relationship. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 37, 435–444.

37. Baba, H., Takahara, J., Yamashita, F., Hashida, M., (2015): Modeling and prediction of solvent effect on human skin permeability using support vector regression and random forest. *Pharm. Res.*, 32, 3604–3617.
38. Chen, L., Han, L., Lian, G., (2013): Recent advances in predicting skin permeability of hydrophilic solutes. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 65 (2), 295–305.
39. Shen, J., Kromidas, L., Schultz, T., Bhatia, S., (2014): An in silico skin absorption model for fragrance materials. *Food Chem. Toxicol.*, 74, 164-176.
40. Fini, A., Bassini, G., Monastero, A., Cavallari, C., (2012): Diclofenac salts, VIII. Effect of the counterions on the permeation through porcine membrane from aqueous saturated solutions. *Pharmaceutics*, 4 (3), 413–429.
41. Cheng, T., Zhao, Y., Li, X., Lin, F., Xu, Y., Zhang, X., Li, Y., Wang, R., Lai, L., (2007): Computation of octanol-water partition coefficients by guiding an additive model with knowledge. *J. Chem. Inf. Model.*, 47 (6), 2140–2148.
42. Meylan, W.M., Howard, P.H., (2000): Estimating log P with atom/fragments and water solubility with log P. *Perspect. Drug Discov. Des.*, 19 (1), 67–84.
43. Duracher, L., Visdal-Johnsen L, Mavon, A., (2015): In vitro and in vivo dermal absorption assessment of acetyl aspartic acid: a compartmental study. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 37 (Suppl. 1), 34–40.
44. Franz, T.J., (1975): Percutaneous absorption on the relevance of in vitro data. *J. Invest. Dermatol.*, 64 (3), 190–195.
45. Iliopoulos, F., Sil, B.C., Moore, D.J., Lucas, R.A., Lane, M.E., (2019): 3-*O*-ethyl-L-ascorbic acid: Characterisation and investigation of single solvent systems for delivery to the skin. *Int. J. Pharm. X.*, 1, 100025.
46. Cosmetic Ingredient Review, (1998): Final report on the safety assessment of glycolic acid, ammonium, calcium, potassium, and sodium glycolates, methyl, ethyl, propyl, and butyl glycolates, and lactic acid, ammonium, calcium, potassium, sodium, and TEA-lactates, methyl, ethyl, isopropyl, and butyl lactates, and lauryl, myristyl, and cetyl lactates. *Int. J. Toxicol.* 17 (Suppl. 1): 1–241. <<https://online.personalcarecouncil.org/ctfa-static/online/lists/cir-pdfs/pr34.pdf>> (accessed 19. Dec. 2023).
47. Cosmetic Ingredient Review, (2013): Safety Assessment of Triethanolamine and Triethanolamine-Containing Ingredients as Used in Cosmetics. *Int. J. Toxicol.* 32 (Suppl. 1): 59–83. <<https://online.personalcarecouncil.org/ctfa-static/online/lists/cir-pdfs/PRS594.pdf>> (accessed 19. Dec. 2023).
48. SCCS, (2023): Opinion on Benzyl Salicylate (CAS No. 118-58-1, EC No. 204-262-9). SCCS/1656/23. <https://health.ec.europa.eu/system/files/2023-11/sccs_o_277.pdf> (accessed 19. Dec. 2023).

49. SCCS, (2018): Opinion on Salicylic acid (CAS 69-72-7) Submission I. SCCS/1601/18.
<https://health.ec.europa.eu/system/files/2021-08/sccs_o_223_0.pdf> (accessed 19. Dec. 2023)
50. SCCS, (2022): Opinion on the safety of alpha-arbutin and beta-arbutin in cosmetic products. SCCS/1642/22. <https://health.ec.europa.eu/system/files/2023-02/sccs_o_264.pdf> (accessed 19. Dec. 2023).
51. SCCS, (2021): REVISION of the scientific Opinion (SCCS/1576/16) on vitamin A (Retinol, Retinyl Acetate, Retinyl Palmitate). SCCS/1639/21.
<https://health.ec.europa.eu/system/files/2023-08/sccs_o_261.pdf> (accessed 19. Dec. 2023)
52. SCCS, (2012): Opinion on 2-Nitro-5-glyceryl methylaniline. SCCS/1477/12.
<https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_108.pdf> (accessed 19. Dec. 2023).
53. SCCS, (2019): Opinion on Dihydroxyacetone - DHA (1,3-Dihydroxy-2-propanone) CAS No. 96-26-4. SCCS/1612/19. <https://health.ec.europa.eu/system/files/2021-11/sccs_o_234.pdf> (accessed 19. Dec. 2023).
54. SCCS, (2019): Opinion on Methoxypropylamino Cyclohexenylidene Ethoxyethylcyanoacetate (S87) Submission II. SCCS/1605/19. <https://health.ec.europa.eu/system/files/2021-08/sccs_o_227_0.pdf> (accessed 19. Dec. 2023).
55. SCCS, (2019): Opinion on Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde (HICC). SCCP/1456/11.
<https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_074.pdf> (accessed 19. Dec. 2023).
56. Buist, H.E., Schaafsma, G., van de Sandt, J.J., (2009): Relative absorption and dermal loading of chemical substances: Consequences for risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 54 (3), 221–228.
57. Yang, C., Rathman, J.F., Bienfait, B., Burbank, M., Detroyer, A., Enoch, S.J., Firman, J.W., Gutsell, S., Hewitt, N.J., Hobocienski, B., Kenna, G., Madden, J.C., Magdziarz, T., Maruszczyk, J., Mostrag-Szlichtyng, A., Krueger, C.T., Lester, C., Mahoney, C., Najjar, A., Ouedraogo, G., Przybylak, K.R., Ribeiro, J.V., Cronin, M.T.D., (2023): The role of a molecular informatics platform to support next generation risk assessment. *Comput. Toxicol.*, 26, 100272.
58. Cleek, R.L., Bunge, A.L., (1993): A new method for estimating dermal absorption from chemical exposure. 1. General approach. *Pharm. Res.*, 10 (4), 497–506.
59. Vecchia, B.E., Bunge, A.L., (2002): Partitioning of chemicals into skin: Results and predictions. Chapter 4 in *Transdermal Drug Delivery*, edited by Guy, R.H. and Hadgraft, J., Publisher Marcel Dekker.
60. Horita, D., Yoshimoto, M., Todo, H., Sugibayashi, K., (2014): Analysis of hair follicle penetration of lidocaine and fluorescein isothiocyanate-dextran 4 kDa using hair follicle-plugging method.

- Drug Dev. Ind. Pharm., 40, 345–351.
61. ECHA, (2017): Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment: Chapter R.7c: Endpoint Specific Guidance.
<https://echa.europa.eu/documents/10162/17224/information_requirements_r7c_en.pdf/e2e23a98-adb2-4573-b450-cc0dfa7988e5?t=1498476107907> (accessed 19. Dec. 2023).
 62. Verma, N., Gajula, K., Gupta, R., Rai, B., (2023): Multiscale modeling of molecule transport through skin's deeper layers. *Comput. Toxicol.*, 26, 100267.
 63. Scott, L.N., Fiume, M., Bergfeld, W.F., Belsito, D.V., Hill, R.A., Klaassen, C.D., Liebler, D.C., Marks, J.G., Jr., Shank, R.C., Slaga, T.J., Snyder, P.W., Heldreth, B., (2024): Safety Assessment of Alkane Diols as Used in Cosmetics. *Int. J. Toxicol.*, 43 (2_suppl), 70S-131S.
 64. ECHA: Propane-1,3-diol (CAS: 504-63-2).
< <https://www.echa.europa.eu/web/guest/registration-dossier/-/registered-dossier/2099/7/6/1>> (accessed 19. Dec. 2023)
 65. Japan Cosmetic Industry Association, (2022): Guidance for the safety Assessment of Cosmetics 2022. Japan Cosmetic Industry Association Technical document, No. 144.
 66. Hatanaka, T., Inuma, M., Sugibayashi, K., Morimoto, Y., (1990): Prediction of skin permeability of drugs. I. Comparison with artificial membrane. 8, 3452–3459.

謝辞

本研究を遂行し、まとめるにあたって、実に多くの方にお世話になりました。この場を借りて、感謝の意を述べさせて頂きたいと思います。

本研究の遂行並びに本論文の作成に際して、終始有益な御指導、御助言、ならびに激励を賜りました城西大学薬学研究科薬粧品動態制御学講座教授 藤堂浩明 先生に衷心より深甚なる謝意を表します。

本論文の審査における主査をお引き受けくださり、その審査の過程で御指導を賜りました城西大学薬学部薬学科教育支援室教授 沼尻幸彦 先生に衷心より深甚なる謝意を表します。また、本論文の審査における副査をお引き受けくださり、その審査の過程で御指導を賜りました城西大学薬学研究科病院薬剤学講座教授 上田秀雄 先生、城西大学薬学研究科薬剤作用解析学講座教授 大島新司 先生に衷心より深甚なる謝意を表します。

本研究の遂行にあたり、終始有益な御指導、御助言を賜りました花王株式会社安全性科学研究所 西島貴史 博士に心から感謝を申し上げます。投稿論文の執筆や学会発表、日頃の研究内容に渡って、手厚いご指導を頂きました。また、同研究所 坂口斉 博士、宮澤正明 博士、横田朋宏 博士には、日頃より多くの御助言や御支援を頂きました。深く感謝申し上げます。そして、同研究所 安保孝幸 博士には、研究の進め方や悩みについて親身になって相談に乗って頂き、様々な御助言をいただきました。深くお礼申し上げます。

また、研究を進めるにあたり、ご支援、ご協力をいただきながら、ここにお名前を記すことが出来なかった多くの方々に心より感謝申し上げます。

最後に、本論文をまとめるにあたり、これまで私を温かく見守ってくれた両親と弟に心から謝意を記します。