

● *In vitro* 皮膚透過性試験

TN526

In Vitro Skin Permeation Test

[概要]

経皮吸収型製剤の医薬品開発において、有効性や安全性の観点から皮膚透過性は重要な評価項目の1つです。当社では、フランツセル型より生体に近い条件で複数の製剤を同時に評価できる等の利点がある PermeGear 社のインラインセル自動経皮吸収試験システム ILC07 を使用して、*in vitro* の皮膚透過性試験を提供しています。

[背景]

徐放性経皮製剤をはじめとした経皮投与は、血中濃度を維持できる、小腸や肝臓における初回通過効果^{※1}を回避できるという大きな利点を有しています。また、経口薬の内服が困難な患者への投薬が容易となること、目視にて服用を確認できること、副作用が発現した際に投与の中断が簡単であること等、投薬管理の面からも近年注目されています。

※1 初回通過効果：摂取した薬物が全身を循環する血液に入る前に通る小腸や肝臓において代謝されること

Keywords: 経皮吸収試験、製剤評価、製剤間比較、処方開発、受託分析、LC-MS/MS 分析

[ILC07 による皮膚透過性試験の利点]

インラインセル自動経皮吸収試験システム ILC07 (PermeGear 社) の模式図を Fig.1 に示します。

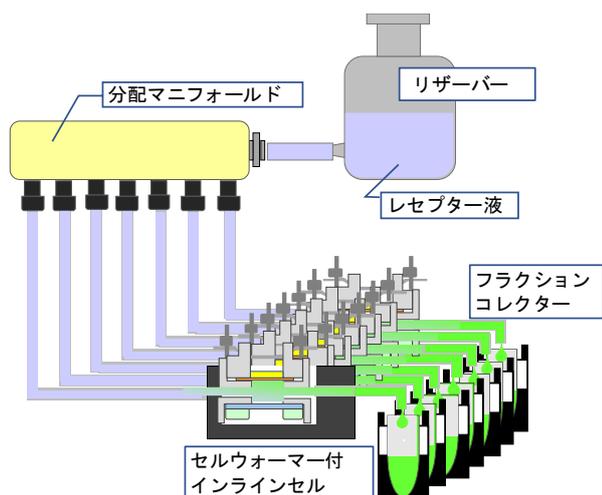


Fig. 1 システムの模式図

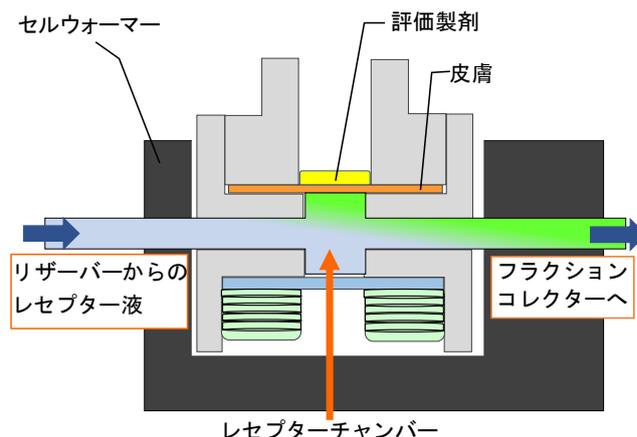


Fig. 2 インラインセル模式図

製剤を経皮投与した際、皮膚を透過した化合物は毛細血管から吸収され、全身を循環しながら患部へ到達します。

インラインセル自動経皮吸収試験システム ILC07 では、インラインセルに設置した皮膚に評価製剤を貼付または塗布することで皮膚を透過した化合物がレセプターチャンバー内へ溶出します。レセプター液が一定流量でインラインセル内のレセプターチャンバーに流されることでレセプター液が常に交換され、これが生

体の血流を模した構造になります。この構造によりチャンバー内の化合物濃度が低く保たれ、製剤側との濃度勾配が維持できることから、より生体内に近い条件で経皮吸収を *in vitro* で評価することができます。

レセプターチャンバーを通過したレセプター液は、フラクションコレクターに設置された試験管へ、あらかじめ設定した一定の時間間隔で集められます。またセルウォーマーにてインラインセルを加熱することで、皮膚表面温度を一定の温度に保つことができ、フロースルー型セルの構造と併せて、より生体内の条件に近づけて試験を実施することができます (Fig.2)。さらに本装置は7つの独立したインラインセルを備えていることから、最大7つの製剤まで同時に効率よく評価することができます。以下に当社の実施例をお示しします。

[事 例]

インラインセル自動吸収試験システム ILC07 にブタ皮膚をセットし、ボルタレン[®] (有効成分：ジクロフェナク) テープ 30 mg およびボルタレン[®]ゲル 1%を貼付または塗布後、所定の時間間隔で透過液を集めて LC-MS/MS にて測定し、透過液中の濃度を算出しました。なお本試験で用いた皮膚のバリア能は皮膚電気抵抗値にて確認しました。

[試験条件]

評価製剤：ボルタレン[®]テープ 30 mg、ボルタレン[®]ゲル 1%

使用皮膚：Micropig

使用皮膚の厚さ：400 μm

透過面積：0.385 cm^2

皮膚表面温度：30~32 $^{\circ}\text{C}$

レセプター液：0.1% Brij[®] O20 含有生理食塩水

流速：3 mL/時間

サンプリング間隔：0-1, 1-2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-12, 12-15, 15-18, 18-21, 21-24 時間 (計 11 ポイント, n=6)

採取した各透過液中濃度と採取時間より累積皮膚透過量 (Cumulative amount) を算出し、総サンプリング時間で割ることにより平均皮膚透過速度 (Permeability rate) を求めました。

各時点での累積透過量を時間に対してプロットした累積皮膚透過量-時間プロファイルを図3に示します。このプロットから4ポイント以上を含む傾きが最大となる直線を求め、得られた直線から以下のパラメータを求めました。

- ・ Lag time：得られた直線と時間軸の交点。皮膚透過速度が定常状態に達するまでの時間を表す。
- ・ Time range：得られた直線の傾きが最大となる時間。最大の皮膚透過量を示した時間を表す。
- ・ 決定係数 (R^2)：1に近いほど回帰直線に説明力がある (予測精度がよい) ことを意味する。

Fig.3 より、製剤間の皮膚透過量を比較できることが分かりました。また本評価系で得られたパラメータ (Table 1) は、参考文献 (Minipig skin¹⁾ および Human skin²⁾、フランツセル型で実施) のパラメータとよく一致しており、フランツセル型と同様にインラインセル型による評価においても *in vivo* でのヒト皮膚吸収の予測に有用であると考えます。また、インラインセル型はフランツセル型と比較して、高スルーットであり、さらに生体を模した構造であることから、より精度の高い予測が可能になると考えられます。

Comparison of pharmaceutical formulation

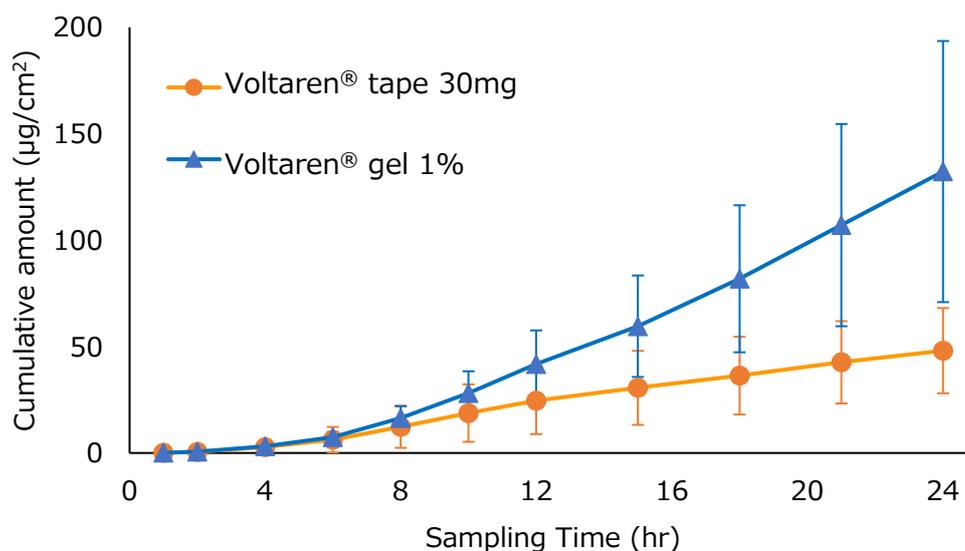


Fig.3 Cumulative amount of permeated drug across the excised micropig skin

Table 1 *In vitro* permeation parameters across the excised micropig skin, minipig skin and human skin.

Drug substance		Diclofenac	
Drug product		Voltaren® tape 30 mg	Voltaren® gel 1%
Permeability rate (µg/cm ² /h)	SCAS	2.0	5.5
	Minipig skin ¹⁾	1.9	16.5
	Human skin ²⁾	4.0	6.6
Time range (h)	SCAS	6-12	15-24
	Minipig skin ¹⁾	6-24	10-24
	Human skin ²⁾	4-24	10-24
Lag time (h)	SCAS	4.0	7.8
	Minipig skin ¹⁾	4.1	7.7
	Human skin ²⁾	3.5	8.1
Coefficient of determination (R ²)	SCAS	1.000	0.999
	Minipig skin ¹⁾	1.000	0.998
	Human skin ²⁾	0.998	0.991

[文 献]

- 1) S. Yamamoto, M. Karashima, N. Sano, C. Fukushi, K. Tohyama, Y. Arai, H. Hirabayashi, N. Amano: *Pharm Res*, **34**, 2415, (2017).
- 2) S. Yamamoto, M. Karashima, Y. Arai, K. Tohyama, N. Amano: *J Pharm Sci.*, **106**, 2787, (2017).