

學位論文要旨

薬学博士（論文） 1999年9月

種々チロシナーゼ阻害剤の美白作用と四物湯の外用による炎症抑制作用に関する化粧品化学的研究

佐久間 克也

医薬部外品及び化粧品の効能に関しては、前者では美白や炎症抑制作用等が、後者では保湿作用が標榜できるものの、これらを科学的に評価した研究はほとんどなく、今までのこれらの開発では安全性の検討を中心に進められてきた。そこで本研究では、医薬部外品及び化粧品原料の効能を科学的に評価することを目的とし、各種チロシナーゼ阻害剤の美白作用と四物湯の外用による炎症抑制作用について化粧品科学的に検討した。

第一章 種々チロシナーゼ阻害剤の美白作用に関する研究

メラニンチロシナーゼによって触媒される L-チロシンや L-ドーパの酸化反応によって生合成されるため、これらの反応を阻害して表皮角化細胞に存在するメラニン量を少なくさせることが肌の美白につながる。そこでまず、チロシナーゼ阻害作用をメラニン生合成抑制効果の指標として選び、既存の美白化剤である L-アスコルビン酸、リン酸 L-アスコルビルマグネシウム (VC-PMg)、アルブチン、コウジ酸、及びヒノキチオールについて試験した。その結果、VC-PMg 以外の原料は濃度依存的にチロシナーゼ阻害作用を示すことが確認された。また、これら美白化剤のチロシナーゼに対する阻害様式を調べたところ、ヒノキチオールやアルブチン等は競合阻害剤、コウジ酸は非競合阻害剤であったが、L-アスコルビン酸はこのいずれでもなかった。さらに、VC-PMg がチロシナーゼ阻害作用を示さなかった原因について検討したところ、VC-PMg は皮膚中の常在酵素である酸性ホスファターゼによって L-アスコルビン酸になりチロシナーゼ阻害作用を示すことがわかった。また、VC-PMg は酸やアルカリには安定であるが、化粧品等によく配合されるアルカリホスファターゼ (ALP) を含むプラセンタエキス (PE) には不安定であり、VC-PMg の製剤化では注意が必要であることも併せて明らかになった。

続いて、美白剤の構造とチロシナーゼ阻害作用の相関性を検討するため、美白化剤およびフェノール誘導体の酸化還元性をサイクリックボルタンメトリーから評価した。その結果、種々試料は4つのタイプに分けられ、チロシナーゼ阻害剤はボルタングラムによってある程度スクリーニングできることが明らかになった。

本章で述べた方法は美白化剤の評価に有用で、新規な美白化剤のスクリーニングにも応用できることが示唆された。

第二章 四物湯の外用による炎症抑制作用に関する研究

漢方方剤である四物湯はしもやけ・しみ及び乾燥性皮膚疾患患者の皮膚水分保持に有効で、皮膚科領域において内服で用いられている。四物湯が外用でも有用ならば、内用による全身的な副作用を抑えながら必要とする局所作用が得られる可能性がある。そこで、四物湯の外用による炎症抑制

作用について研究した。

まず、紫外線照射によって傷害を受けた Swiss 3T3 細胞に対する保護作用を検討した。その結果、四物湯を添加することにより生細胞数の減少抑制効果が認められた。また、四物湯の各構成生薬（当帰、芍薬、川きゅう、地黄）及び合成抗炎症薬（デキサメタゾン、グリチルリチン酸ジカリウム、アラントイン）添加群においても紫外線によって生ずる生細胞数の減少がほぼ用量依存的に抑制されたが、四物湯に及ばなかった。

次にモルモット紫外線紅斑並びにラットカラゲニン足浮腫抑制作用を指標にして四物湯及び構成生薬外用による急性炎症抑制作用を *in vivo* にて検討した。その結果、両急性炎症モデルに対する四物湯の効果は、各構成生薬群に比較して高かった。さらに、この四物湯による急性炎症抑制の作用機序は、紫外線照射を受けた Swiss 3T3 細胞液中へのプロスタグランジン E₂ 遊離が、四物湯及び構成生薬エキス添加で有意に抑制されることより証明された。

以上より、四物湯が外用で化粧品科学的な効果をもつことが明らかになった。本方法は漢方方剤の化粧品への応用の道を開いたものと考えられる。

本研究は、今まで科学的考察があまりなされていなかった医薬部外品や化粧品の有効性に関して、化粧品科学的に考察する上で重要な方法論と知見を与えるものであると考える。また、本研究で用いた方法論は医薬部外品や化粧品の効果に目を向けた科学的開発の有用性を示したものである。

薬学博士（論文） 1999年9月

水力学的細孔理論による薬物経皮吸収機構の解析

真鍋 栄一郎

現代社会は高齢化が進み、医療現場においても老人や重症患者に対して投与が容易で、簡便である製剤の開発が望まれている。そのような社会ニーズの中で経皮治療システム(TTS)は生まれ発展してきた。しかし、現在臨床応用されている TTS はニトログリセリン製剤をはじめとする極僅かであり、この社会ニーズを十分に満たしているとは言い難い。臨床応用された薬物のほとんどは、脂溶性が高い低分子量の薬物である。これは体外異物から生体を守るために存在する角質層によって、薬物が体内に吸収されることが制限されるからである。しかし、開発を諦めた薬物の中には有用性の高い薬物が多く存在する。このような薬物を TTS として製剤化するためには、皮膚を介した薬物吸収の改善、すなわち薬物の経皮吸収促進が不可欠であり、その効果および機構に関する研究は重要である。

そこで皮膚に脂溶性および水溶性の両透過ルートを仮定した parallel permeation pathway モデルに加え、低分子溶媒の皮膚中での移動に注目した水力学的細孔理論を用いて、薬物の皮膚透過について検討した。以下にこの手法を用いて得られた結果の要旨を示す。

まず、溶媒として水を用いて極性および分子サイズの異なる薬物の皮膚透過におよぼす水透過の影響について評価した。その結果、水溶性が高く（溶媒への溶解度が高く）、分子サイズの小さな薬物ほど水透過の影響を受け易いことが示唆され、経皮吸収過程においても、溶媒透過は薬物の吸収に影響を及ぼすことが明らかになった。

次に純水系に比較しさらに薬物の皮膚透過性に影響を与えると考えられるエタノール水混合液(20~100%)を適用溶媒として選択し、同法を用いて解析した。その結果、エタノール濃度の上昇にともない、脂溶性薬物である硝酸イソソルビドの皮膚透過が著しく促進された。これら結果から得られた水力学的パラメーターを解析し、エタノールの皮膚透過促進機構を推測すると、低濃度エタノールは角質間脂質の流動性増加、高濃度では新しい pore の形成が主であることがわかった。

(1) 水溶性が高く（溶媒への溶解度が高く）、分子サイズの小さな薬物ほど水透過の影響を受け易いことを明らかにし、経皮吸収過程においても、薬物の吸収に関して溶媒透過の影響を考慮する必要があることを明らかにした。

(2) 皮膚は水の吸収ルートの占有率が他の粘膜吸収部位と比較し極めて低く、このことが水溶性薬物の皮膚透過が低い原因の一つであることを明らかにした。

(3) エタノール - 水混合液を溶媒として用いた場合、低いエタノール濃度において脂質の流動化が顕著であり、脂溶性薬物の皮膚透過性に対し有用であることを明らかにした。一方、新しい pore の形成は比較的高いエタノール濃度において顕著であり、水溶性薬物の皮膚透過性に対し有用であることを明らかにした。

(4) イオントフォレーシスによる非電解質水溶性薬物に対する経皮吸収促進機構は、電気浸透により生じる溶媒牽引効果および皮膚バリアー構造の変化である事を明らかにした。

(5) 高電流イオントフォレーシスは非可逆的な細孔の増大をもたらし、高分子量薬物の製剤化に有

用であることを明らかにした。

(6) 経皮吸収促進剤であるラウリン酸は、角質層に存在する細孔には影響を与えずに、脂質の流動性を増加させることにより、脂溶性薬物の皮膚透過を特に促進することを明らかにした。

(7) 1-メントールは新たに細孔を形成することにより、水溶性薬物の皮膚透過を特に促進することを明らかにした。

(8) ミリスチン酸イソプロピルは脂質の流動性の増加および新たな細孔の形成により、脂溶性および水溶性の両薬物の皮膚透過を促進することを明らかにした。

(9) Azone は細孔にはほとんど影響を与えずに、脂質の流動性を強力に増加することにより、脂溶性および水溶性の両薬物の皮膚透過を促進することを明らかにした。

薬物皮膚透過時の溶媒の流れに着目することにより、薬物皮膚透過促進方法の作用機構を詳細に特徴づけることができ、さらにそれぞれの促進剤等の有用な適用方法に関する情報を得ることができた。本研究は今後の TTS 製剤開発に有用な知見を提供するものであると考えられる。