

と  $72243 \mu V \times sec$  (相対標準偏差 0.38%) であった。

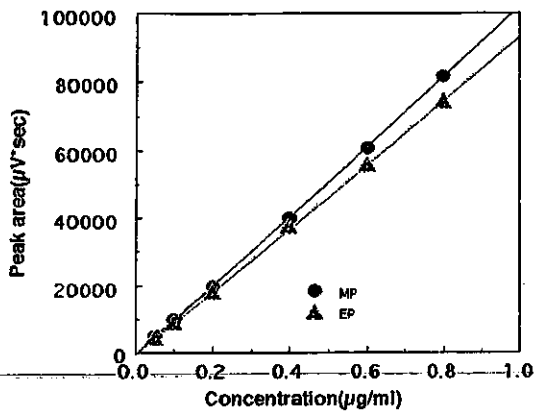


Fig. 1 Working Curve for MP and EP

## 2)化粧水中のパラベン類について

市販の化粧品 A は表示指定成分として、パラベン、ジブチルヒドロキシトルエン、エデト酸塩を含み、市販化粧品 B は、パラベン、プロピレングリコール、黄色 106 号、黄色 4 号、香料を含んでいた。化粧品には、防腐の目的でメチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、イソプロピルパラベンおよびブチルパラベンを総計として、1%まで添加することが認められている。そこで、化粧水中のパラベン類の同定と定量を行った。

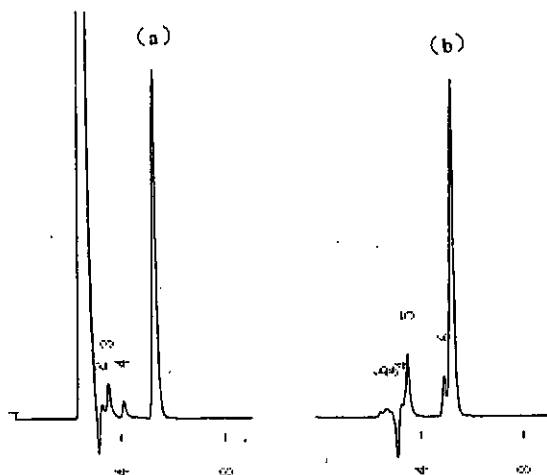


Fig. 2 HPLC Chromatograms for Lotion A and B

(a) Lotion A, (b) Lotion B

化粧水の一定量を正確に量り、水にて正確に 100 倍希釈し、その液  $20 \mu L$  を用いて HPLC 測定を行った。その結果を Fig.2 に示す。

今回用いた化粧水には、MP の存在が確認され、定量の結果、化粧水中に MP が 0.125%含まれていることが分かった。

## 3)MP の剥離皮膚透過について

MP 溶液 (0.5mg/mL) および MP 含有化粧水 1.0 mL を縦型の Franz 型拡散セルの donor 側に入れ、2~8 時間後に receptor 側に透過する MP 量を測定した。化粧水 A および B から得られた結果を Fig. 3 および 4 に示した。Table 1 に MP 溶液、化粧水 A あるいは B を用いたときの Flux および Lag time を示した。

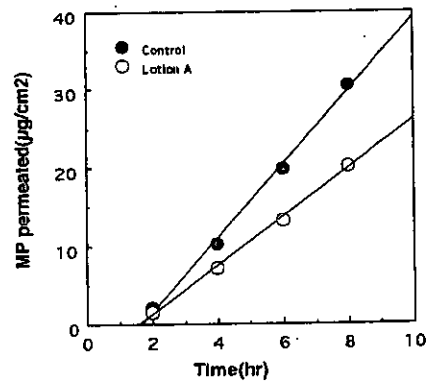


Fig.3 Permeation of Methylparaben after Treating with Lotion A

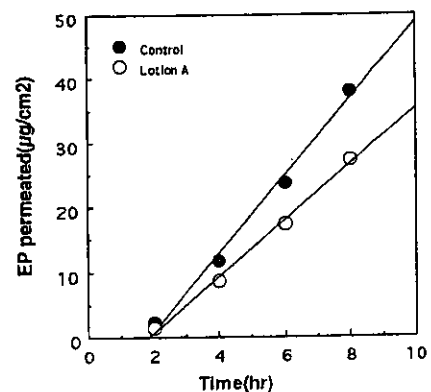


Fig.4 Permeation of Ethylparaben after Treating with Lotion A

#### 4) EP の剥離皮膚透過について

同様に、EP 溶液 (0.5mg/mL) および EP 含有化粧水 1.0mL を縦型の Franz 型拡散セルの donor 側に入れ、2~8 時間後に側に透過する EP 量を測定した。化粧水 A および B から得られた結果を Fig. 5 および 6 に示した Table 1 に EP 溶液、化粧水 A あるいは B を用いたときの Flux および Lag time を示した。control に対する Flux(%) は、それぞれ、71.9% および 17.3% であった。MP の場合と同様に化粧水の添加により、明らかに EP の皮膚透過が抑さえられることが分かった。

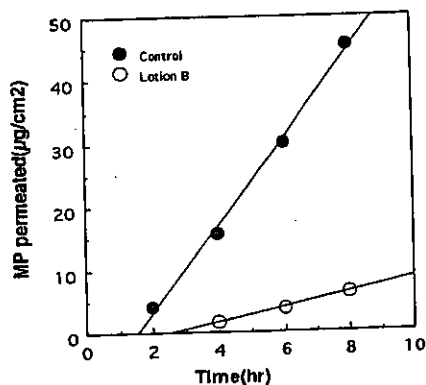


Fig. 5 Permeation of Methylparaben after Treating with Lotion B

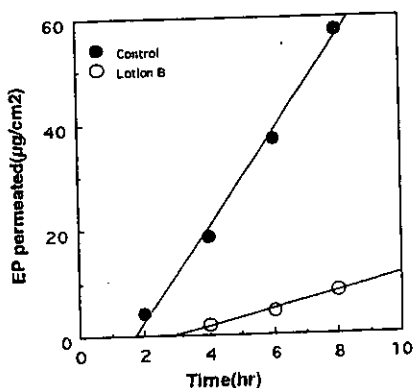


Fig. 6 Permeation of Ethylparaben after Treating with Lotion B

#### D. 考察

今回の実験条件を OECD ガイドライン (案) に基づいて Table 2 に示した。

3.Skin membrane の部分が OECD ガイドライン (案) では、ダーマトームで厚さ (200 - 400  $\mu$ m) に調製した split thickness skin を用い、原則的に、full thickness skin を実験に用いないとなっているが、今回は、full thickness skin を実験に用いた。4.Skin integrity は、OECD ガイドライン (案) では、浸透特性が既知の標準物質 (例えば、トリチウム水) の浸透性を測定して調べることができるとなっているが、放射性同位体を用いる実験であるため、実施しなかった。また、5.Skin metabolism は、モルモットの腹部剥離皮膚を使用前まで凍結保存し、使用時に解凍して用いたため、皮膚代謝の実験を行っていない。11.Terminal procedures は、実験終了後、皮膚中に残存する物質を測定する必要があり、今回の実験では実施しなかった。

これらの OECD ガイドライン (案) に記載された何項目かを満たさない方法での実験であるが、今回実施した in vitro 経皮吸収実験で一応の傾向を掴むことができた。即ち、donor 側に control として 20%PG 溶液に溶解した 0.5mg/mL の MP 溶液 1mL を用いた実験では、Fig. 3 および 4 から分かるように時間の経過と共に receptor 側に透過する MP の量は直線的に増加し、直線の勾配から得られて Flux は、それぞれ、4.74 および 5.98  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>/hr (Table 1) であった。vehicle を化粧水に交換すると control に対する Flux(%) は、それぞれ、65.7% および 16.5% に減少した。また、donor 側に control として 20%PG 溶液に溶解した 0.5mg/mL の EP 溶液 1mL を用いた実験では、Fig. 5 および 6 から分かるように、それぞれ、6.939 および 8.94  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>/hr であった。vehicle を化粧水に交換すると MP の場合と同じように、Flux(%) は、それぞれ、71.9% および 17.3% に減少した。Lag time は約 2 時間であり、化粧水 B を用いた場合、Lag time が増加する傾向が観察された。

今回の検討結果より、試験物質の donor 側の vehicle への溶解性を考慮することが、in vitro 経皮吸収試験を実施する場合の大きな要因であることが示唆された。

**Table 1 Flux and Lag Time of Methylparaben and Ethylparaben through the Guinea-pig Abdominal Skin**

	Methylparaben		Ethylparaben	
	Flux ( $\mu$ g/cm <sup>2</sup> /hr)	Lag time (hr)	Flux ( $\mu$ g/cm <sup>2</sup> /hr)	Lag time (hr)
Control	4.74 (12.1)	1.67 (6.3)	5.98 (14.1)	1.84 (5.4)
Lotion A	3.11	1.62	4.30	1.82
Control	6.94 (13.5)	1.58 (21.7)	8.94 (16.0)	1.75 (17.2)
Lotion B	1.14 (17.1)	2.61 (7.5)	1.55 (15.3)	2.92 (4.7)

experimental number: 3, ( ): Relative standard deviation (%)

**Table 2 Description of the Method**

1. Diffusion cell design	static vertical cell
2. Receptor fluid	20% propylenglycol
3. Skin membrane	guinea-pig excised abdominal skin, full thickness skin
4. Membrane integrity	no
5. Skin metabolism	no
6. Test substance	Methylparaben, Ethylparaben
7. Test preparation	Cosmetic lotion
8. Test preparation	0.5mg/mL of Methylparaben 1mL, 0.5mg/mL of Etylparaben 1mL
9. Temperature and humidity	32 °C (incubator)
10. Study time	2-8 hours
11. Terminal procedures	no
12. Sampling	200 $\mu$ L
13. Analysis	HPLC

In vitro 試験法を用いた化粧品の安全性評価及び  
その国際的ハーモナイゼーションに関する研究  
分担研究：化粧品における OECD in vitro 経皮吸収試験法  
ガイドライン（案）の予備的検討

研究分担者 森本 雍憲 城西大学薬学部 教授  
協力研究員 夏目 秀視 城西大学薬学部 講師

#### A. 研究目的

化粧品における OECD in vitro 経皮吸収試験法ガイドライン（案）の予備的検討として前年度までのデータに加え、新たにヘキシルパラベン、2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノンの結果も併せて提示する。また、試験に関するガイドライン（案）の問題点を明確にし、最終年度に向け、改善すべき点、必要とされるであろうデータなどを考察・検討を行う。

#### B. 研究方法

試験物質として、医薬品、化粧品等で抗菌剤として広く用いられている、安息香酸ナトリウム、4-ヒドロキシ安息香酸類（メチル、ブチル、ヘキシル）および適用面積が大きいと思われる紫外線吸収剤の 2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノンを用いた。

##### 1. In vitro 経皮吸収試験

###### －実験条件－

OECD ガイドラインに従って、使用した実験条件を Table 1 に示す。

###### －実験方法－

##### (1) Full thickness skin

雄性ヘアレスラットにウレタン生理食塩液（1 g/kg, 濃度 25 w/v %）を腹腔内投与し、麻酔した。ラットを固定台に背位固定した後、腹部より皮膚を摘出した。摘出した皮膚は、コルク台に固定し、真皮下の脂肪組織を丁寧に取り除いた後、2-チャンバ

一拡散セル（横型、容量：2.5 mL、有効透過面積：0.95 cm<sup>2</sup>）に挟んだ。拡散セルのドナー側には、試験溶液を、レシーバー側には、レセプター溶液を入れ透過実験を行った（レセプター溶液：溶解度の高い薬物は 1/30M リン酸緩衝液（pH 7.4）、低い薬物は 40 % ポリエチレングリコール 400 溶液）。試験溶液には、最大使用濃度である 10 mg/mL の溶液（溶解度の低い物質については懸濁液を用い、溶解度は薬物ごとに測定した）を用いた。試験温度は、皮膚温である 32 °C で行い終始この温度を保持した。サンプリングの際には、シンク条件を保つため採取した量と同量のレセプター溶液を加えた。定量は、サンプリングしたレセプター溶液をマイクロチューブに入れ、内部標準物質を含有したアセトニトリル溶液を同量加えよく振とうした。そのサンプル溶液中の薬物濃度を高速液体クロマトグラフシステムにより測定した。使用したシステムを以下および Table 2 に示す。

送液ユニット：LC-6A 又は LC-9A（島津製作所（株））

UV 検出器：SPD-6A（島津製作所（株））

レコーダー：C-R6A（島津製作所（株））

カラムオープン：CTO-6A（島津製作所（株））

システムコントローラー：SCL-6B（島津製作所（株））

オートインジェクター：SIL-6B（島津製作所（株））

カラム：Inertsil ODS-2（GL Sciences（株）、東京）

##### (2) Stripped skin

Full thickness skin の時と同様にヘアレスラットの腹部より摘出した皮膚を粘着テ

ープを用いて、計 20 回テープを剥ぎ角質層を剥離した。その後は、full thickness skin と同様に行った。

## 2. In vivo 単回静注投与試験

### —実験条件—

実験条件を Table 3 に示す。

### —実験方法—

雄性ヘアレスラットにウレタン生理食塩液 (1 g/kg, 濃度 25 w/v %) を腹腔内投与し、麻酔した。ラットを固定台に背位固定した後、左右頸静脈を露出させた。調製した試験溶液 (溶解度の高い物質はリン酸緩衝溶液、溶解度の低い物質は溶解補助液としてエタノールとプロピレングリコールを加えた水溶液: Table 4) を一方の頸静脈へ投与し、ヘパリンで前処理した注射筒を用いて対側の頸静脈より経時的に採血を行った。1 回の採血量は、0.25 mL とし、血液は 4 °C、13600 rpm で 5 分間冷却遠心分離 (微量高速冷却遠心機、MX-160、トミー精工株式会社 (東京)) し、血漿を得た。定量は、血漿サンプルに内部標準物質を含有させたアセトニトリル溶液を 3 倍量加えよく攪拌した。アセトニトリル溶液の添加により変性した血漿タンパク質を 4 °C、13600 rpm で 5 分間冷却遠心分離 (微量高速冷却遠心機、MX-160、トミー精工株式会社 (東京)) し、測定サンプルを得た。サンプル中の薬物濃度を高速液体クロマトグラフシステムにより測定した。使用したシステムは、in vitro 経皮吸収試験と同じシステムを使用した。さらに、データ解析は、実測データを線形 1-コンパートメントモデルあるいは、線形 2-コンパートメントモデルの数学的モデルにあてはめ、非線形最小二乗法 (algorithm: Damping Gauss Newton 法) プログラム (MULTI) により薬物動態学的パラメータを得た。

## 3. 血中濃度推移の予測

### —解析方法—

In vitro 経皮吸収試験法の結果と in vivo 静注単回投与試験の結果から算出された消失パラメータを用い、コンボリューション法により、薬物血中濃度推移 (full thickness skin, stripped skin) およびそのデータを基に 10%、20%、40%、80% 皮膚が損傷したときの血中濃度推移を予測し、シミュレーションした。

## 4. 代謝活性試験

雄性ヘアレスラットにウレタン生理食塩液 (1 g/kg, 濃度 25 w/v %) を腹腔内投与し、麻酔した。ラットを固定台に背位固定した後、腹部より皮膚 (有効透過面積: 0.95 cm<sup>2</sup>) を摘出した。摘出した皮膚は、細かく切り、ホモジネート用の試験管に入れ、レセプター溶液を 2 mL 加え、1200 rpm でホモジネート (ホモジナイザー、MDC-NR、東京理科器械株式会社 (東京)) した。その溶液を 3 mL のレセプター溶液で洗い、移し、そこへ試験溶液を 5 mL 加えインキュベーター (UNI THERMO SHAKER、NTS-2000、東京理科器械株式会社 (東京)) した。インキュベーターは、皮膚温である 32 °C で、透過試験を行った時間と同じ時間行った。サンプリングは、経時的に行い、4 °C、13600 rpm で 5 分間冷却遠心分離 (微量高速冷却遠心機、MX-160、トミー精工株式会社 (東京)) し、測定サンプルを得た。サンプル中の薬物濃度を高速液体クロマトグラフシステムにより測定した。使用したシステムは、in vitro 経皮吸収試験と同じシステムを使用した。代謝による薬物減少率は、インキュベーター 0 時間の時の量を 100 とした時の % で算出した。

## 5. 物質収支および浸透量の算出

暴露終了時にセルから皮膚を取り外し、使用したドナー溶液およびレセプター溶液をそれぞれ回収した。皮膚は、皮膚表面をドナーおよびレセプター溶液でよく洗い流し、この洗浄液と先に回収した各セル中溶

液と合わせた（回収液）。洗浄した皮膚は、その表面水分をキムワイプで軽く拭き取り、実験中に溶液で暴露されたエリア（0.95 cm<sup>2</sup>）とその他のセルのふちに挟まれたエリアとに切り分けた。次に、各部位の皮膚を細かく切り、ホモジネート用の試験管に入れ、内部標準物質を含有したアセトニトリル溶液を 2 mL 加え、1200 rpm でホモジネート（ホモジナイザー、MDC-NR、東京理科器械株式会社（東京））した。その溶液を 13600 rpm で 5 分間遠心分離（微量高速冷却遠心機、MX-160、トミー精工株式会社（東京））し、上清を採取した。回収液および上清サンプル中の薬物量を解析した。

## C. 研究結果

### 1. In vitro 経皮吸収試験

Figures 1～5 に各薬物のヘアレスラット摘出皮膚（full thickness skin）および安息香酸ナトリウム、4-ヒドロキシ安息香酸類に関しては、角質層剥離皮膚（stripped skin）を介した皮膚透過プロファイルを示した。また、Table 3 に透過パラメータを示した。どの薬物も数時間のラグタイムが見られ、ラグタイム後は、直線的な皮膚透過プロファイルを示した。Full thickness skin に比べ stripped skin の方が透過速度、透過量とも増加した。

### 2. In vivo 静注単回投与試験

Fig. 6 に各薬物をヘアレスラットに単回急速静注したときの血中濃度プロファイルを示す。また、非線形最小二乗法により得られた薬動学的パラメータを Table 5 に示す。いずれの薬物も消失が速く 1 時間後には、血中濃度が 0 に近づいた。4-ヒドロキシ安息香酸ブチルの体内消失は、時間に対しての対数値が直線的な減少を示したことから、線形 1-コンパートメントモデルで表されると考えられた。他の薬物は、投与

初期には速やかに消失し、その後、緩やかに消失する二相性の消失パターンを示したので、線形 2-コンパートメントモデルで表されると考えられた。

### 3. 血中濃度推移の予測

血中濃度推移のシミュレーション結果を Fig. 7～10 に示す。皮膚損傷が大きいほど吸収速度が大きく、高い血中濃度に達する結果となった。また、脂溶性が増すごとに、皮膚が損傷した場合の吸収の変化が小さくなるという傾向が見られた。

### 4. 代謝活性試験

今回は、ベンゾフェノンについて、代謝活性試験を行った。その結果を Table 6 に示す。実験誤差が見られたものの、代謝による薬物の減少は見られなかった。

### 5. 物質収支および浸透量の算出

透過物質の物質収支について、結果を Table 7 に示す。今回は、水溶性の高い安息香酸ナトリウムおよび脂溶性の高い 2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノンについて実験を行った。結果は、投与量、ドナー残存量、皮膚中残存量、レセプター回収量、総量、回収率を示した。水溶性薬物（安息香酸ナトリウム）は、総量が 17% と低く、この理由として、実験技術のため、または皮膚中で代謝されたために低い値となったのではないかと思われる。また、浸透量を算出すると約 11% で、透過しにくいと考えられる。一方、脂溶性に高い薬物（ベンゾフェノン）は、投与量に対する回収率が約 90% と高く、浸透量が、1% にも満たないことから、ほとんど透過されないと考えられた。

## D. 考察

今回は、前回までに報告した抗菌剤の安息香酸ナトリウム、メチルパラベン、ブチルパラベンに加え、新たに抗菌剤のヘキシルパラベン、および紫外線吸収剤である 2-

ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノンの経皮吸収性を OECD in vitro 経皮吸収試験法ガイドライン (案) に沿って評価し、化粧品や添加物等の試験法として有用であるかを評価した。

経皮吸収試験法ガイドライン (案) で問題となった点は、(1) 膜厚調製、(2) 放射標識体の使用、(3) Terminal procedures、(4) 皮膚の水和と cell viability である。

(1) は、ガイドラインでは、酵素的熱的又は、化学的に剥離した表皮、又はダーマトームで厚さ (200~400 µm) を調節した split thickness skin を調製する。原則的に full thickness skin の使用は認めないとある。しかし、高度な研究機関以外の実験室、一般的な医療施設などでは、膜厚を 200~400 µm に調製することは難しいと考えられる。また、ヒトでの結果を動物実験の結果から外挿、予測しなければならぬ日本では、特にマウスやラットなどの小動物を使用する場合の膜厚調製は、さらに難しいと考えられる。さらに、調整が可能である場合でも、膜厚調製時に損傷を与える可能性があるため、かなりの熟練した技術が必要であると思われる。

(2) の放射標識体を用いることは、代謝物等を測定、定量するのに非常に有効な方法であるが、放射活性物質を取り扱える施設は限られ、実験室や医療機関では、簡単に扱うことが困難である。また、確実に代謝部位に放射活性物質を標識する事も難しいと考えられる。

(3) Terminal procedures は、暴露終了時 (実験終了時) に皮膚中濃度を測定する時、暴露したエリアとセルのふちの部分に挟まれたエリアとに分け、さらに角質層、表皮および真皮に分けて分析すると記載されている。しかし、(1) にも記述したように、皮膚を薄く切り分けることは非常に困難である。また、角質層と表皮もしくはは

表皮と真皮を正確に分けなければ、試験物質の透過性の評価に大きな影響を与える可能性もある。

(4) の皮膚の水和と cell viability について、経皮吸収試験を行う場合、試験物質の代謝に関係する酵素活性がその実験系で十分維持できることを証明するデータの蓄積または提示を行い、さらに摘出皮膚の viability の定義を示す必要がある。もし、用いる摘出皮膚で代謝されるような試験物質の吸収実験を行う前に、代謝活性および viability をチェックすることになると、かなりの時間をそれに費やすことになるので、実験をスタートするときにはその保証には、疑問符がつくことになるであろう。一方、ガイドライン (案) 中の Test preparation application の項では、皮膚の水和を十分に行うこととなっている。この理由は、皮膚水和の程度により、連続的に変化する透過速度を一定にするためである。しかし、皮膚水和がどれくらいの期間で平衡に達するかを明らかにした報告がなく、過去の研究から、ガイドライン (案) では、24 時間以上もしくは適切な時間、水和させることになっている。24 時間以上水和させると皮膚代謝および cell viability に関する記述としては、大いに矛盾する。従って、試験物質によってどちらを優先するか、もしくは両方を満たすような新たな試験を設けることが必要である。

## E. 結論

1. 化粧品や添加物の経皮吸収性については、OECD in vitro 経皮吸収試験法ガイドライン (案) により評価できると考えられた。
2. 化粧品や添加物の安全性の評価のためには、より多くの物質の静注後の体内動態解析および静注による最大無作用量などのデータの蓄積も必要であると考えられた。
3. 化粧品や添加物の安全性の評価のため

には、皮内滞留性、蓄積性を簡便に類推できる評価法の検討および試験法のバリデーションの観点から、考察に挙げたような項目の改善、簡便化を図り、どのような施設においても行えるようにする必要があると考えられた。

4. 化粧品や添加物の安全性の評価のためには、損傷皮膚を用いた経皮吸収性の変化、および適用する処方による経皮吸収性の変化などの予測・検討を行っていく必要があると考えられた。

5. 代替法の観点から、*in vitro* 経皮吸収試験をできる限り削減するための評価スキームの検討および安全性を評価できるような他の代替法の検討が必要であると考えられた。

6. ガイドライン施行に向け、動物実験の結果から人での結果への外挿の検討が必要であると考えられた。



Table 1 OECDガイドラインによる実験条件

項目	条件	実施状況
Diffusion cell design	Cell design	横型static拡散セル
Skin membrane	膜起源	雄性ヘアレスラット
	部位	腹部
Membrane integrity (cell viability)	膜厚調製	膜厚調製できず
	浸透特性試験	実施せず
	TEWL試験	実施せず
Skin metabolism	代謝物の測定	実施せず
Test preparation	Solvent used	Phosphate buffer or 40% polyethylene glycol solution
Test preparation application	Skin hydration	実施せず
	Delivery system	使用しない
	放射標識体	使用しない
Temperature and humidity	Temperature	32°C(循環型恒温槽)
	Humidity	実施せず
Terminal procedures	回収液	分析した
	皮膚中濃度	分析した

Table 2 HPLC condition for the analysis of drugs used in this experiment

Drug	Mobile phase	Wave length (nm)	Internal standard
BA	acetonitrile: 1% phosphoric acid (45:55)	230	4-hydroxybenzoic acid ethyl ester
MP	acetonitrile: 1% phosphoric acid (30:70)	256	4-hydroxybenzoic acid propyl ester
BP	acetonitrile: 1% phosphoric acid (50:50)	256	4-hydroxybenzoic acid propyl ester
HP	acetonitrile: 1% phosphoric acid (75:25)	256	4-hydroxybenzoic acid amyl ester
MOB	acetonitrile: 1% phosphoric acid (75:25)	290	4-hydroxybenzoic acid amyl ester

Table 3 Drug sample used in i.v. bolus experiment

Drug	Solution	Dose	Solvent used
BA	50 mg/mL	50 mg/kg	isotonic phosphoric buffer solution (1/30M, pH7.4)
MP	10 mg/mL	10 mg/kg	ethanol propylene glycol aquos solution (ethanol:propylene glycol=10:30)
BP	10 mg/mL	10 mg/kg	ethanol propylene glycol aquos solution (ethanol:propylene glycol=10:30)
HP	10 mg/mL	10 mg/kg	ethanol propylene glycol aquos solution (ethanol:propylene glycol=20:50)
MOB	5 mg/mL	5 mg/kg	ethanol propylene glycol aquos solution (ethanol:propylene glycol=20:60)

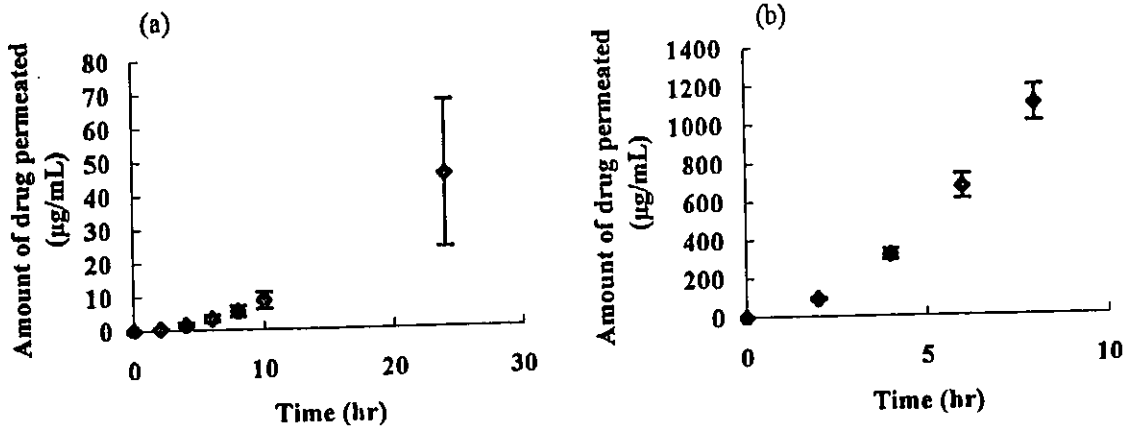


Fig. 1 Permeation profiles of sodium benzoate for full-thickness skin (a) and stripped skin (b) through the excised hairless rat skin

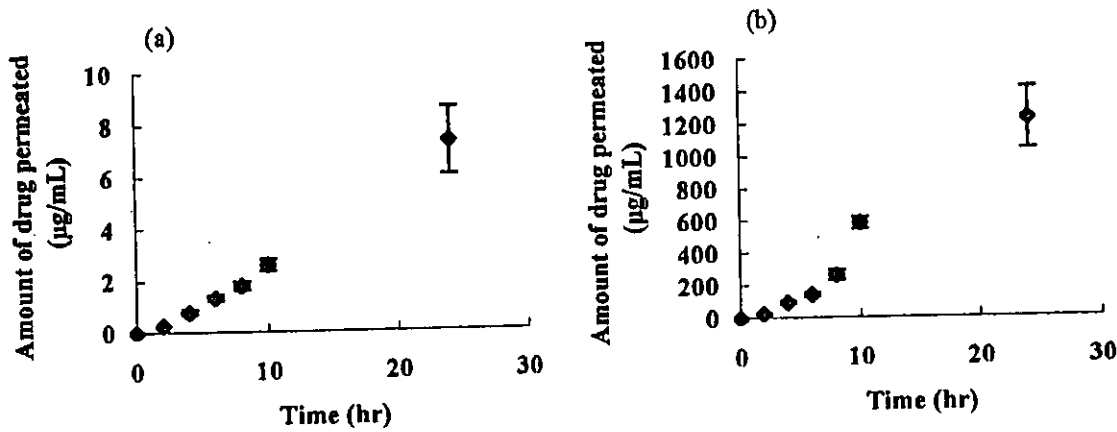


Fig. 2 Permeation profiles of 4-hydroxybenzoic acid methyl ester for full-thickness skin (a) and stripped skin (b) through the excised hairless rat skin

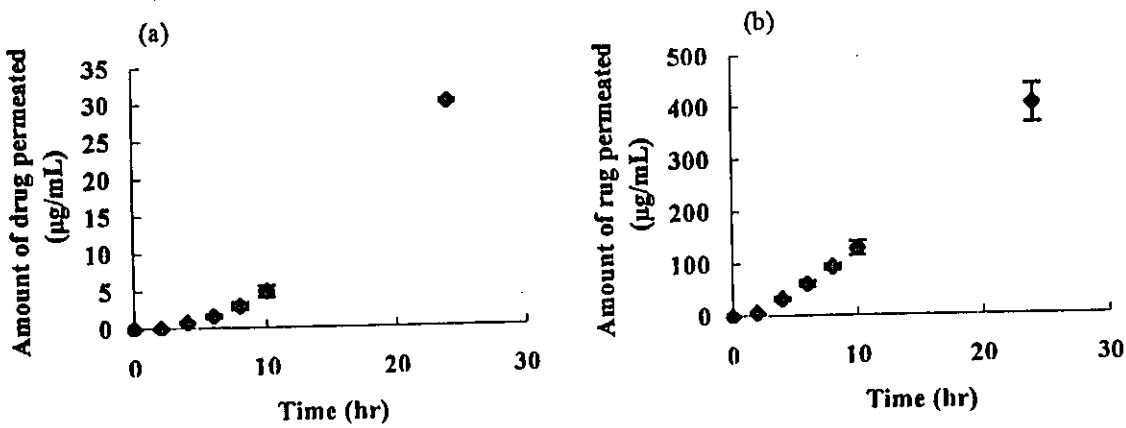


Fig. 3 Permeation profiles of 4-hydroxybenzoic acid butyl ester for full-thickness skin (a) and stripped skin (b) through the excised hairless rat skin

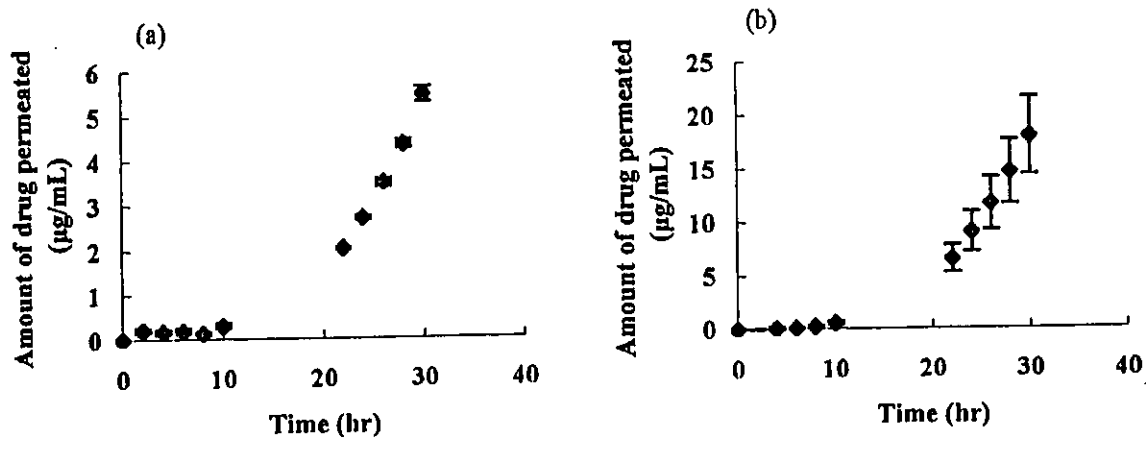


Fig. 4 Permeation profiles of 4-hydroxybenzoic acid hexyl ester for full-thickness skin (a) and stripped skin (b) through the excised hairless rat skin

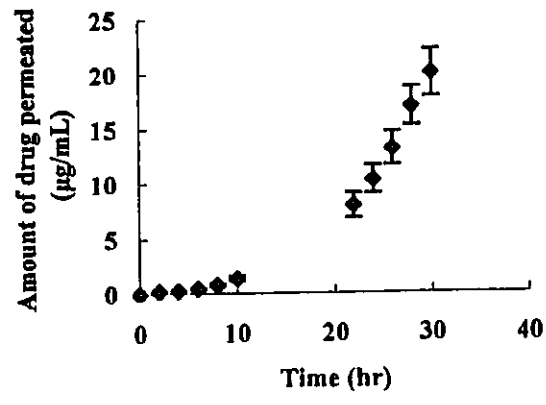


Fig. 5 Permeation profiles of 2-hydroxy-4-methoxy benzophenone for full-thickness skin through the excised hairless rat skin

Table 4 Diffusion parameters for permeations of sodium benzoate, 4-hydroxybenzoic acid methyl ester, butyl ester, hexyl ester and 2-hydroxy-4-methoxy benzophenone

Drug	Skin	Flux (ug/cm <sup>2</sup> /hr)	log P (cm/sec)
Sodium benzoate	fullthickness skin	2.1067	-7.2327
	stripped skin	83.2024	-5.6362
4-hydroxybenzoic acid methyl ester	fullthickness skin	0.3742	-7.5352
	stripped skin	103.7147	-5.0925
4-hydroxybenzoic acid butyl ester	fullthickness skin	1.3909	-7.413
	stripped skin	18.5596	-6.2877
4-hydroxybenzoic acid hexyl ester	fullthickness skin	0.4106	-8.378
	stripped skin	1.3456	-7.8997
2-hydroxy-4-methoxy benzophenone	fullthickness skin	1.51027	-6.0445
	stripped skin	—	—

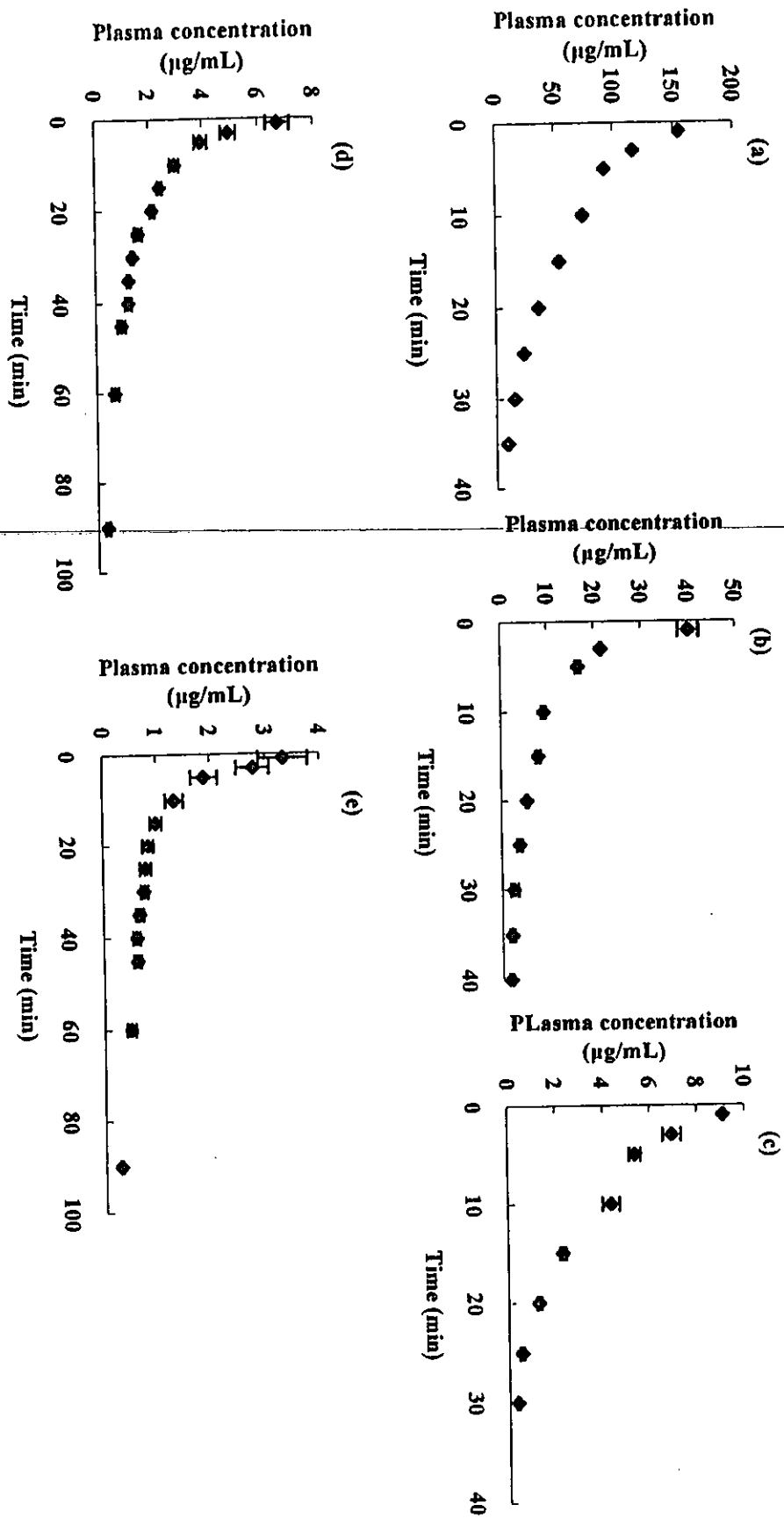


Fig. 6 Plasma concentration of sodium benzoate (a), 4-hydroxybenzoic acid methyl ester (b), 4-hydroxybenzoic acid butyl ester (c), 4-hydroxybenzoic acid hexyl ester (d), 2-hydroxy-4-methoxy benzophenone following i.v. bolus injection

Table 5 Pharmacokinetic parameters following i.v. bolus injection of sodium benzoate, 4-hydrobenzoic acid methyl ester, butyl ester, hexyl ester and 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone

	BA	MP	BP	HP	MOB
Dose (mg)	14.013	4.061	2.896	3.656	2.833
T <sub>1/2</sub> (min)	—	—	4.587	—	—
T <sub>1/2α</sub> (min)	7.293	0.928	—	2.315	3.412
T <sub>1/2β</sub> (min)	138.43	8.421	—	22.02	50.232
V <sub>ss</sub> (L)	0.107	0.108	0.304	0.391	0.717
AUC (μg · min/mL)	1426.27	124.13	62.979	144.18	92.999
MRT (min)	10.848	3.287	6.619	15.423	23.529
CL (mL/min)	9.825	32.712	45.983	25.358	31.46



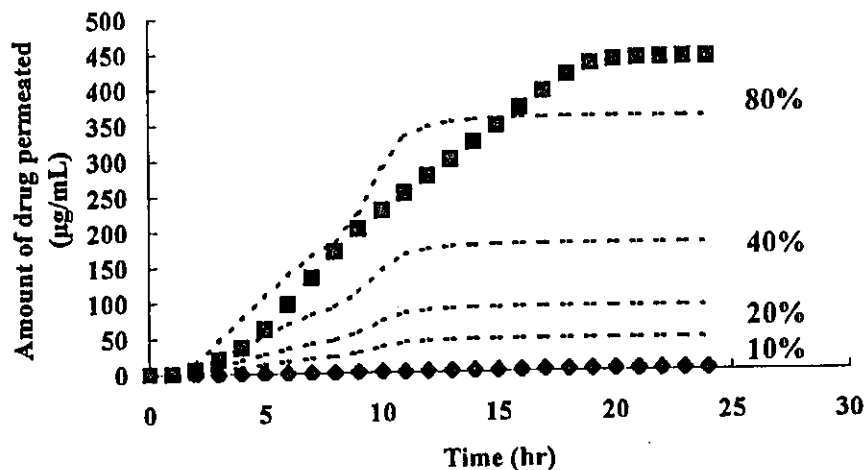


Fig. 7 Simulated plasma concentration of sodium benzoate for full-thickness skin, stripped skin and damaged skin (10, 20, 40, 80 %) after topical application by convolution method

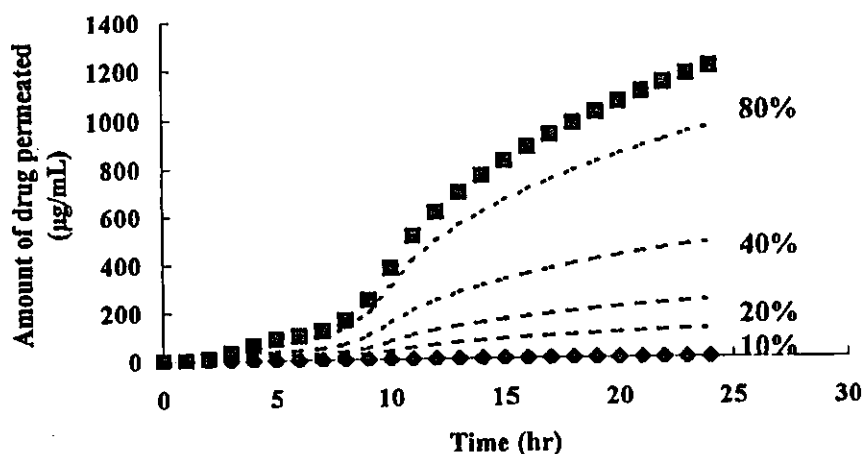


Fig. 8 Simulated plasma concentration of 4-hydroxybenzoic acid methyl ester for full-thickness skin, stripped skin and damaged skin (10, 20, 40, 80 %) after topical application by convolution method

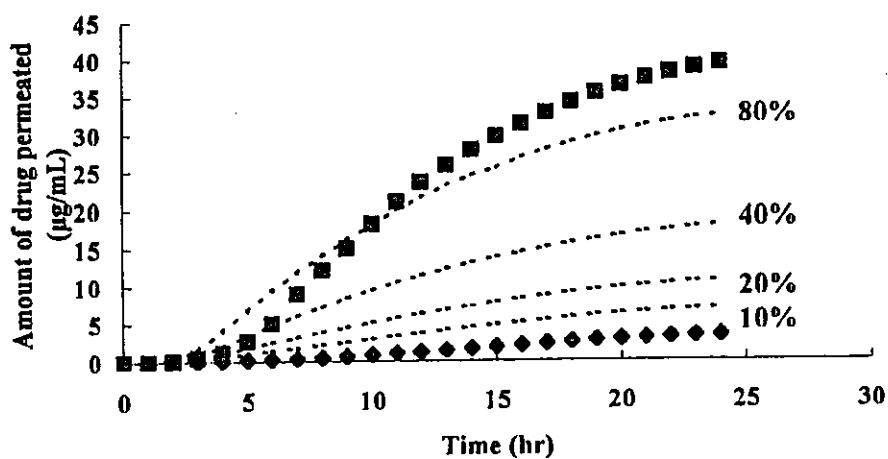


Fig. 9 Simulated plasma concentration of 4-hydroxybenzoic acid butyl ester for full-thickness skin, stripped skin and damaged skin (10, 20, 40, 80 %) after topical application by convolution method

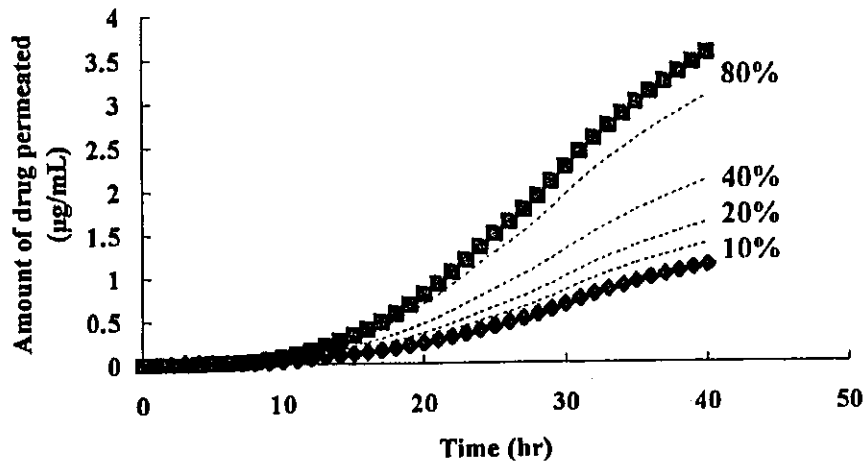


Fig. 10 Simulated plasma concentration of 4-hydroxybenzoic acid hexyl ester for full-thickness skin, stripped skin and damaged skin (10, 20, 40, 80 %) after topical application by convolution method

---

Table 6 ベンゾフェノンの皮膚ホモジネート中での安定性

時間 (hr)	残存量 (μg)	標準誤差	減少率 (%)
0	378.500	4.527	100.000
2	350.171	5.710	92.515
4	368.234	4.770	97.287
6	352.123	5.902	93.031
8	366.883	8.957	96.931
10	383.584	4.246	101.343
22	372.901	6.759	98.521
24	390.420	5.106	103.149
26	373.505	6.516	98.680
28	396.098	6.796	104.649
30	397.743	4.805	105.084

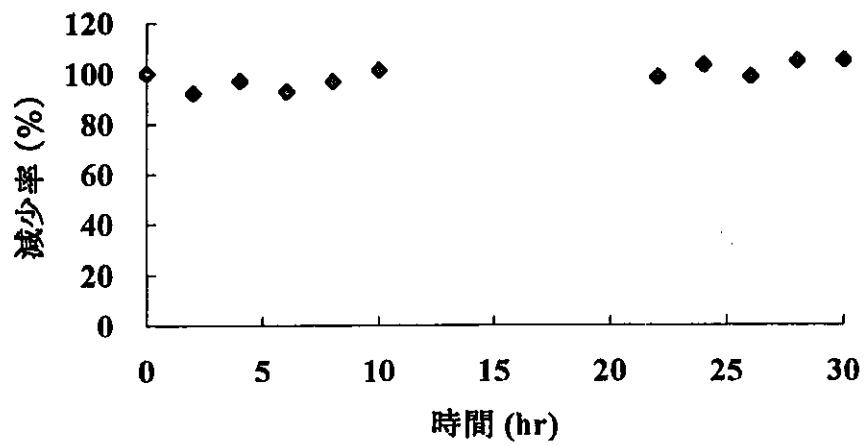


Table 7 The total recovery of drug

Drug	BA	MOB
Dose (mg)	25	50.2
Donor (mg) mean±SE	1.5425±0.0080	44.257±2.5505
Skin (mg) mean±SE	0.0319±0.0009	0.0701±0.047
Receptor (mg) mean±SE	2.7329±0.0564	0.0177±0.0042
Total (mg) mean±SE	4.3073±0.049	44.345±2.4993
Total Recovery (%)	17.2292	88.3091