

2023年8月25日(金)

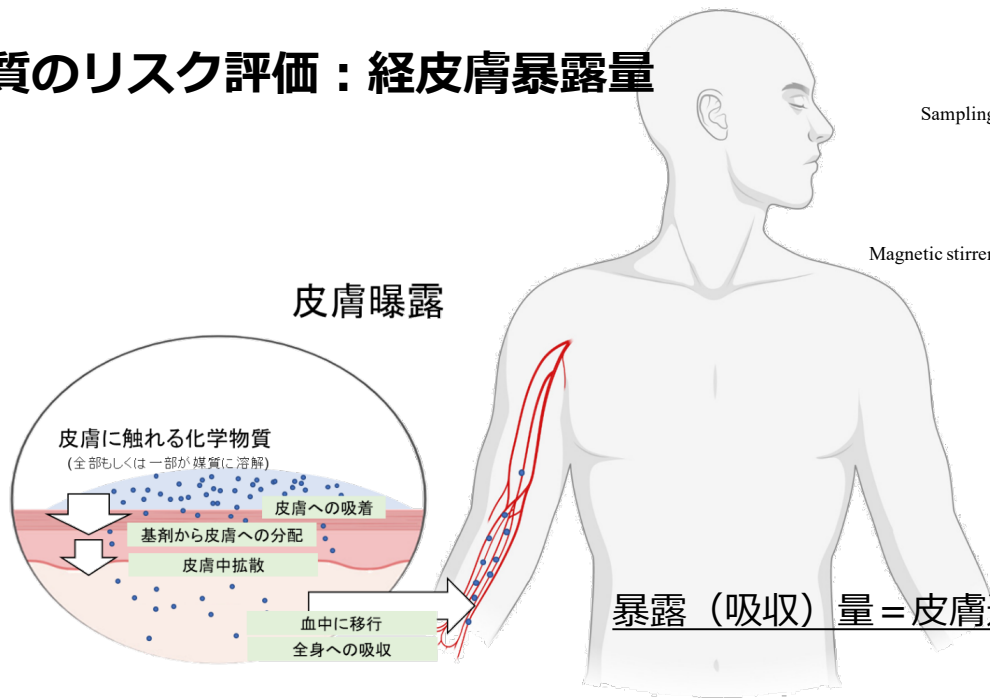
2層膜皮膚拡散モデルを用いた
化学物質の経皮暴露後の吸収性
*in silico*予測

城西大学 薬学部
薬粧品動態制御学講座
藤堂 浩明

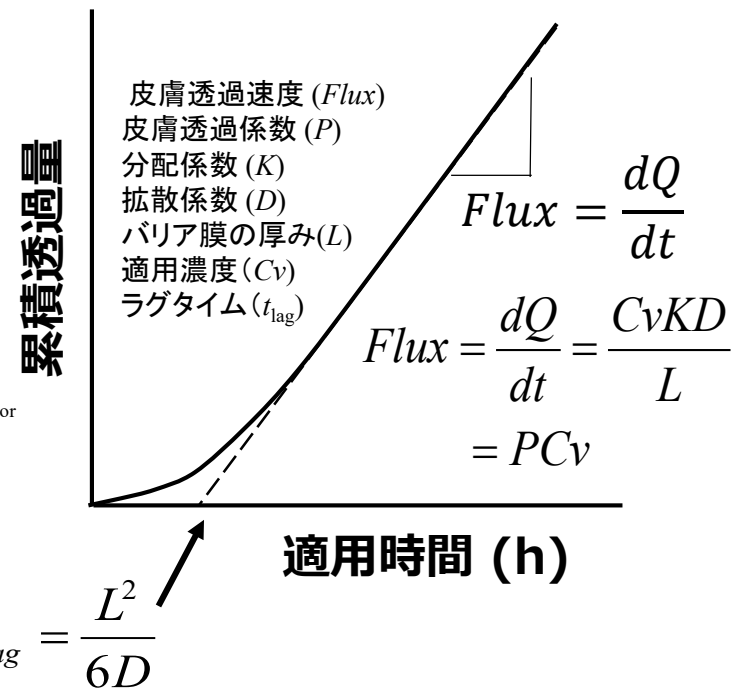
1. 現時点までの研究進捗
2. 現時点での問題点等
3. 想定する最終成果と、そこへ向けた進め方

1. 現時点までの研究進捗

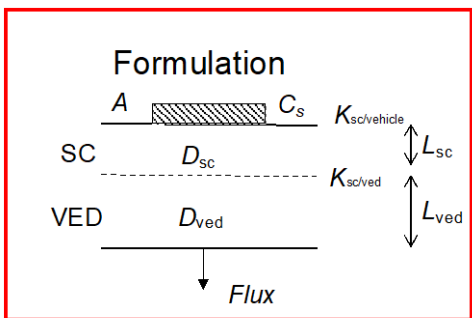
化学物質のリスク評価：経皮膚暴露量



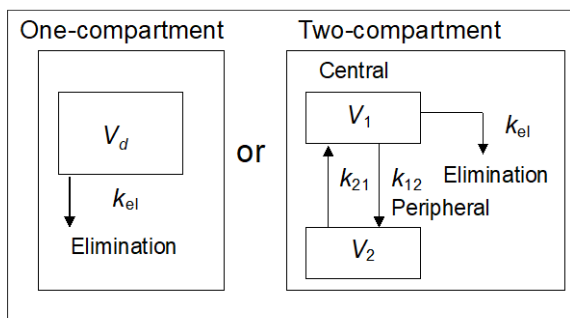
無限用量系 (物質濃度一定)



In vitro skin permeation parameters



Pharmacokinetic parameters



$$C_t = \frac{dQ/dt \cdot A}{V_d \cdot K_{el}} (1 - e^{-K_{el} \cdot t})$$

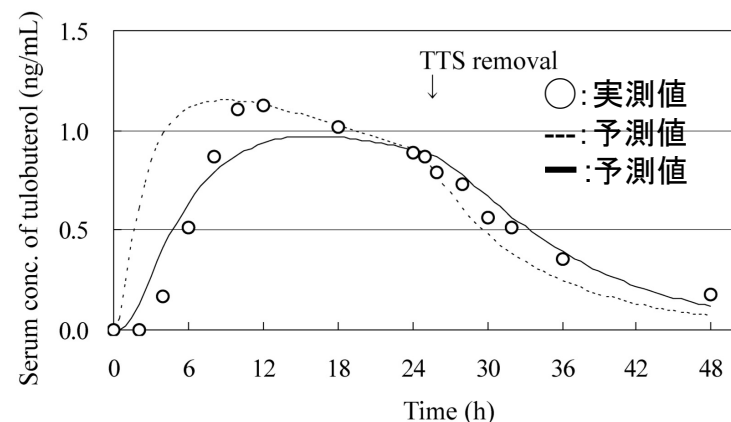
dQ/dt : 皮膚透過速度 (μg/cm²/h)

A : 暴露面積 (cm²)

K_{el} : 消失速度定数 (h⁻¹)

V_d : 分布容積 (mL)

Prediction of blood concentration-time profile



化学物質の物理化学的パラメータを用いた皮膚透過パラメータの予測式

Potts & Guy *1

$$\log P_{tot}(\text{cm/sec}) = -6.3 + 0.71 \times \log K_{o/w} - 0.0061 \times M.W.$$

P_{tot} : 物質の皮膚透過係数

Data range: $18 < M.W. < 765$, $-3 < \log K_{o/w} < 6$

*1 Potts & Guy., *Pharm. Res.*, **9**, 663-669 (1992).

Wang-Kasting-Nitsche (Wang 2007)

$$K_{sc/w} = 0.014(K_{o/w})^{0.81} + 0.782 + 1.381(K_{o/w})^{0.27} \text{ (fully hydrate)}$$

$K_{sc/w}$: stratum corneum partition coefficient

$$D_{sc} = \frac{(P_{sc/w})^{comp} h_{sc}}{K_{sc/w}}$$

$K_{o/w}$: octanol/water partition coefficient

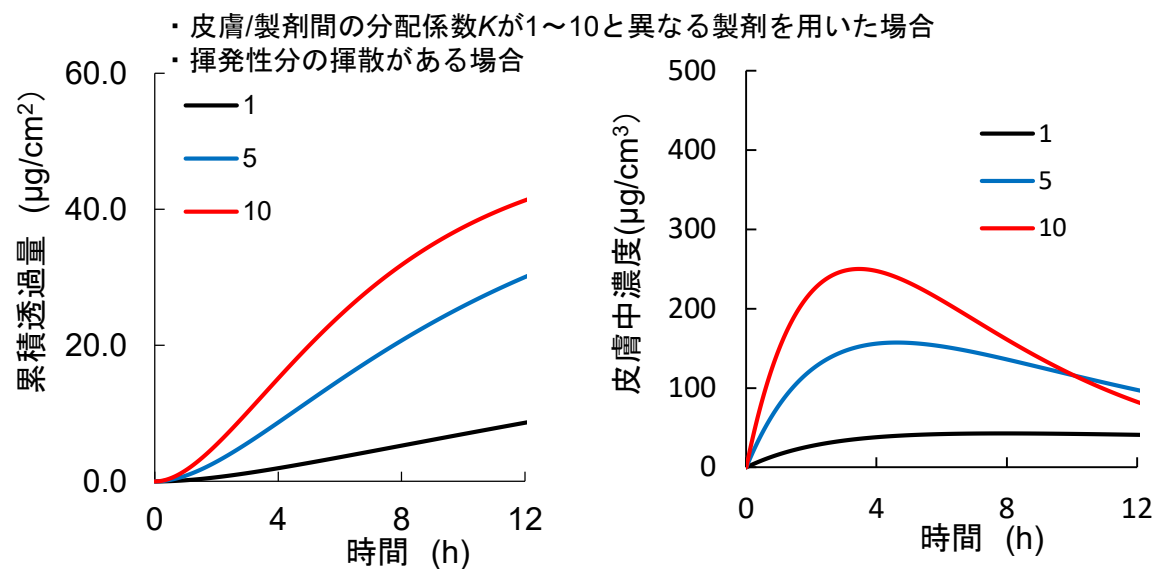
D_{sc} : stratum corneum diffusivity

h : thickness of the SC

$P_{sc/w}$: permeability coefficient

有限用量系（濃度変化あり）で適用した物質の皮膚透過量-時間プロファイル予測が可能

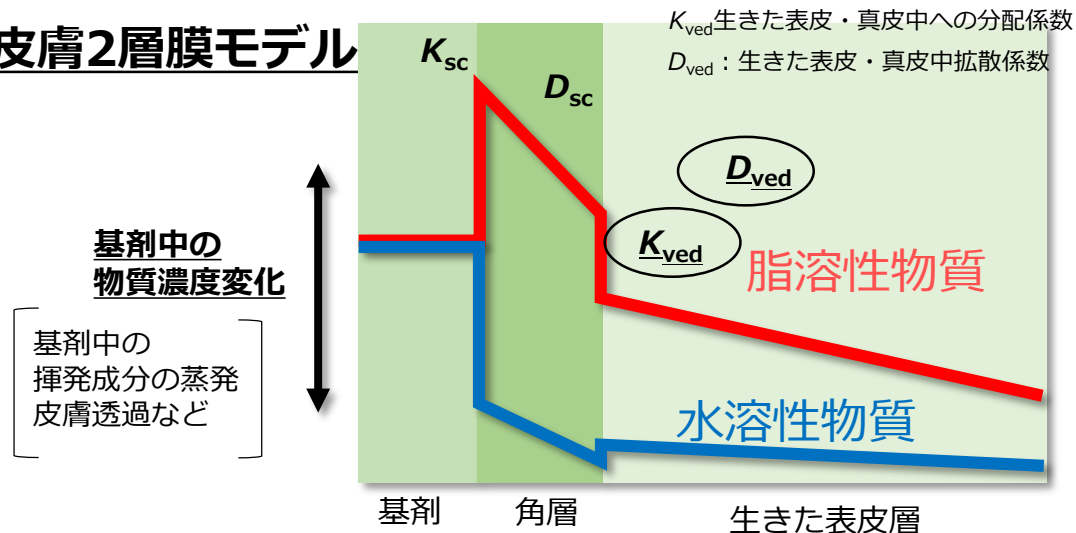
(皮膚透過パラメータ+適用物質の皮膚表面上での濃度変化)



藤井まき子., *日本化粧品学会誌*, **43**, 243-244 (2019)

暴露（吸収）量 = 皮膚透過量 + 皮膚中量

皮膚2層膜モデル



無料

アメリカ 疾病対策予防センター
CDC model
アメリカ合衆国環境保護庁
EPA Dermwin™
サリー大学
Surrey model

有料

Scientific Consilience
Dskin
Certara
SimCyp Simulator software
Simulations Plus
GastroPlus™

New Journal and we have not received input yet 19 (2021) 100177



Cosmetics Europe evaluation of 6 *in silico* skin penetration models

Sébastien Grégoire^{a,*}, Ian Sorrell^{b,1}, Daniela Lange^c, Abdulkarim Najjar^c, Andreas Schepky^c, Corie Ellison^d, John Troutman^d, Eric Fabian^e, Hélène Duplan^e, Camille Genies^f, Carine Jacques-Jamin^g, Martina Klaric^{h,2}, Nicola J. Hewitt^g

^a L'Oréal Research & Innovation, Ashley-Sana-Belis, France
^b Unilever, Sharnbrook, Bedfordshire, UK
^c Beiersdorf AG, Hamburg, Germany
^d The Procter & Gamble Company, Cincinnati, USA
^e BASF, Ludwigshafen, Germany
^f Pierre Fabre Dermo-Cosmétique, Toulouse, France
^g Cosmetics Europe, Brussels, Belgium

ARTICLE INFO

Keywords:
Dermal delivery
Modelling
In silico
Pharmacokinetic
Penetration

ABSTRACT

The ADME TF aims to develop *in silico* skin penetration models using *in vitro* human skin penetration data for 25 chemicals solubilized in water. Since there are widely differing opinions on different *in silico* models, we evaluated 3 open source (DermWin™, CDC and the University of Surrey models) and 3 commercial models (Dskin, SimCyp and TCAT). Simulation of cutaneous distribution used a finite dose exposure scenario. None of the models adequately predicted the amount of chemical that evaporated. This was important since the prediction of dermal delivery (DD) was improved when the evaporated amount was accounted for in the simulations. The ability to predict the amounts in skin layers varied between models, and the DD were generally over-predicted by 4 models and under-predicted by 1 model. Interestingly, measured partition and diffusion coefficients for the stratum corneum (SC) improved the DD prediction by one model from $R^2 = 0.23$ to $R^2 = 0.57$, while DD was predicted well by other models using QSAR values with higher $R^2 = 0.80$. The effect of ethanol on DD was indicated by 5 of the models used, although they all over-predicted the DD. In conclusion, our evaluation highlighted important differences in 6 models and identified required improvement of *in silico* models.

GastroPlus® Dermal model (TCAT)

GastroPlus(TM): 2,4-Dinitrochlorobenzene.mdb (C:\Users\Gastr.\Desktop\ガストロプラス#成田 伊吹#確認3#2,4Di..#)

File Edit Database Simulation Setup Controlled Release Tools Modules (Optional) Help

Compound: 2,4-Dinitrochlorobenzene

ver. 9.8.2000
 SI Trans Time (h) = 3.209 Mean Abs Time (h) = 1.603
 Longest Diss. Time (h) is @ pH 1.0 = 0.125 hours
 Max Abs Dose (S+) = 1.345E+3 mg Max Abs Dose (R) = 1.699E+3 mg

Effective Permeability

入カパラメーター
 SMILES記法による分子構造式
 分子量
 油水分配係数
 適用濃度
 適用容量
 飽和溶解度
 適用時間

Molecular Formula: C6H3ClN2O4
 Molecular Weight (g/mol): 202.55
 logP (neutral): 2.17 @pH: -1

pKa Table
 Enzyme Table
 Transporter Table

Vehicle

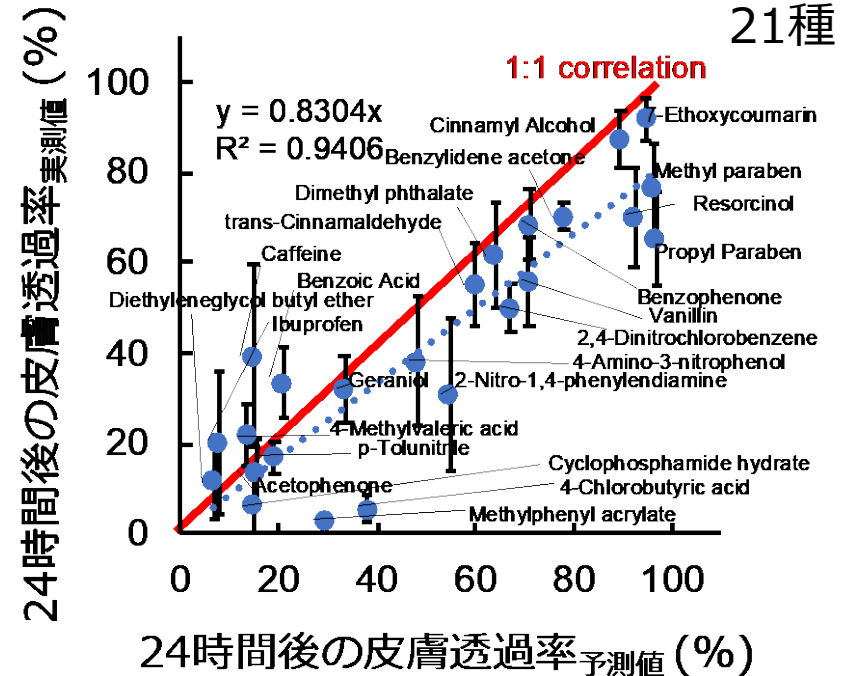
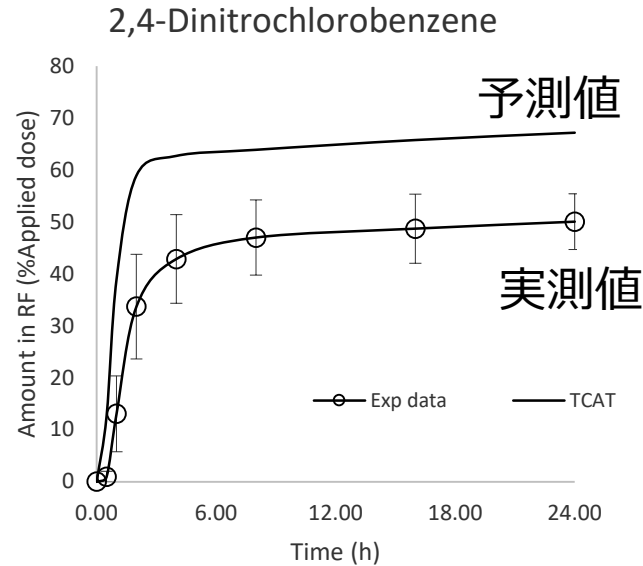
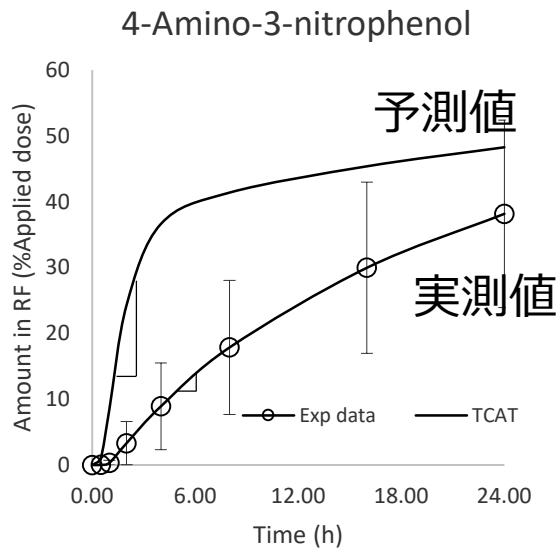
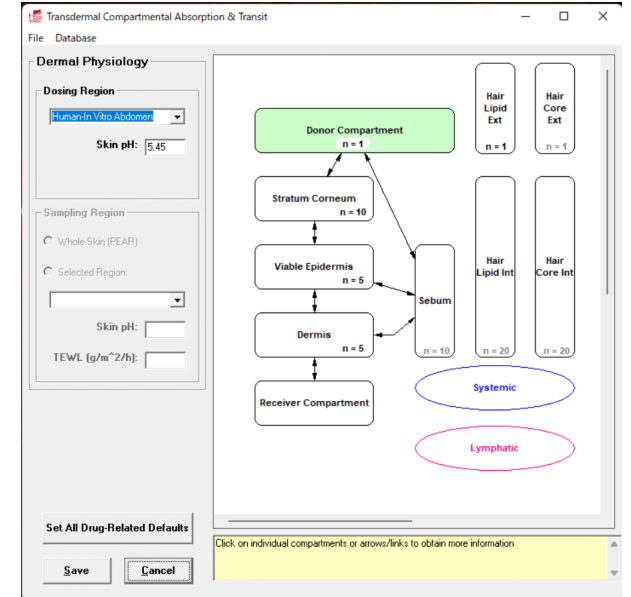
Database

Formulation

Solvent Evaporation Emulsion Sublayers

Dose (mg): 3.18E-3 Initial VH Thickness (um): 100
 Dose Volume (mL): 0.01 Initial VH Conc (mg/mL): 0.318
 Appl Surface Area (cm^2): 1 Initial Dose/ Unit SA (mg/sq cm): 3.18E-3
 Application Time (h): 0.04734
 API Diffusivity (cm^2/s): 1.13E-5 VH/water Partition Coefficient: 1

入カパラメーター：基剤の揮発速度
 K_{ved} :固定値



皮膚透過パラメータの予測

皮膚透過パラメータ

ヒト皮膚の角層中および生きた表皮・真皮中への物質の分配係数 (K) および拡散係数 (D) の実測値
CA. Ellison et al., *Toxicology in Vitro*, **69**, 104990-105050 (2020)より引用



物理化学的特性値の算出

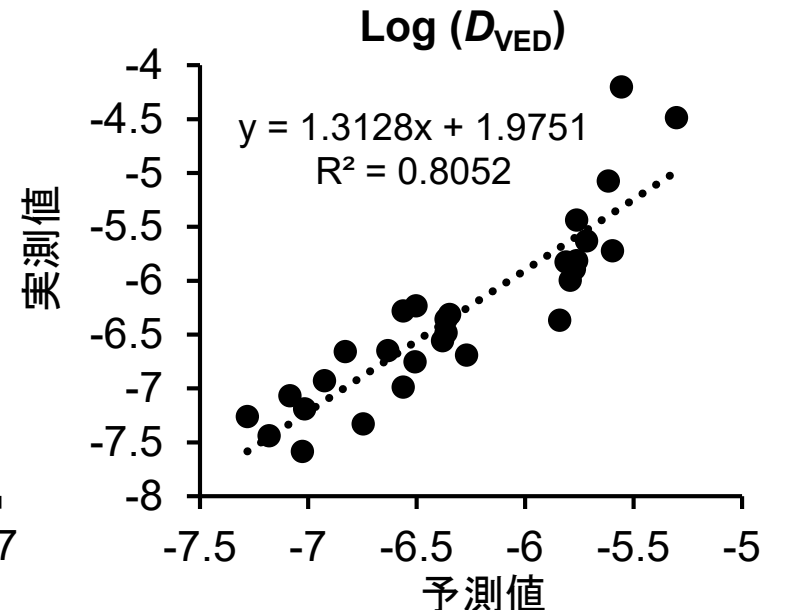
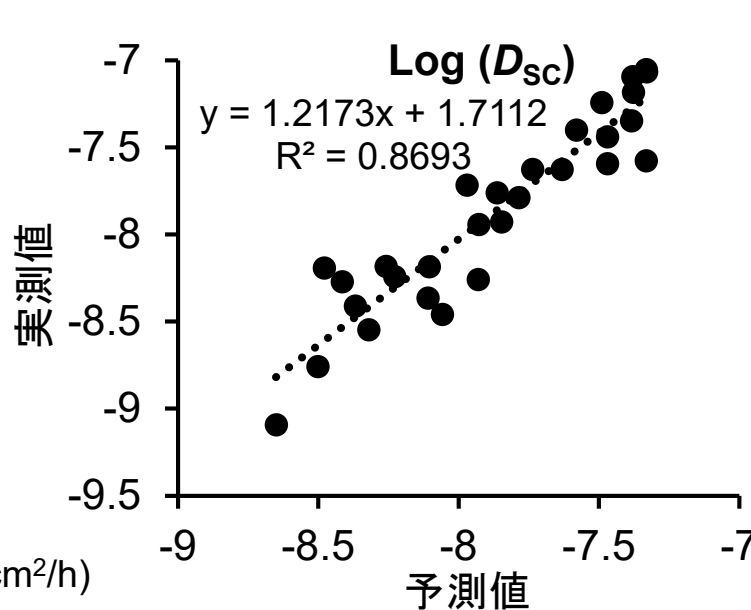
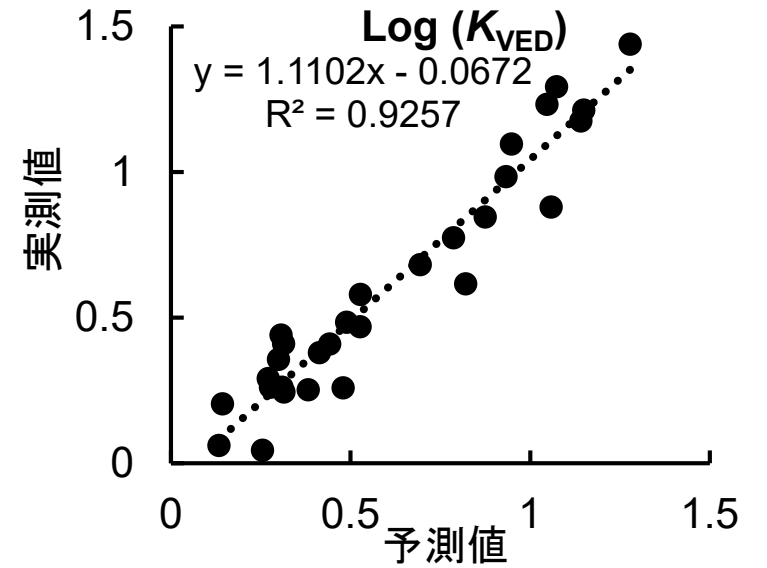
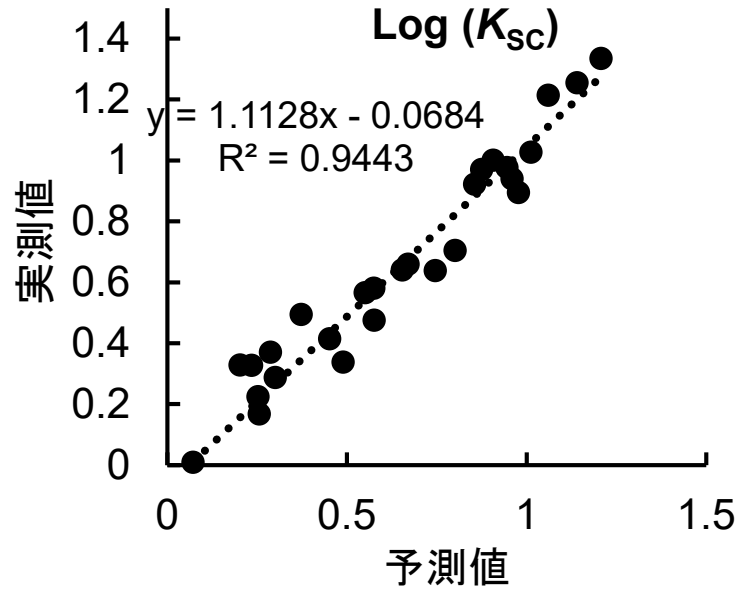
M.W.
logP
LUMO.eV
HOMO.eV
HOMO.LUMO.GAP
融点
双極子モーメント
生成熱
電子親和力
イオン化エネルギー
Absolute hardness
chemical potential
H.bond.donors
H.bond.acceptors

Compound	M.W.	logP	Compound	M.W.	logP
2,4'-Dichloroacetophenone	189.0	2.7	Cinnamyl alcohol	134.2	2.0
2,4-Dinitrochlorobenzene	202.5	2.2	Dimethyl phthalate	194.2	1.6
2-Acetylaminofluorene	223.3	3.3	Ethylumbelliferone	190.2	2.3
2-Ethylhexyl acrylate	184.3	3.8	Eugenol	164.2	2
3-Methyl-3H-imidazo[4,5-f]quinolin-2-amine	198.2	1.5	Geraniol	154.3	2.9
4-Bromophenyl Isocyanate	198.0	3.4	Hydrocortisone	362.5	1.6
4-Chloroaniline	127.6	1.9	Ibuprofen	206.3	4.0
4-Methylpentanoic acid	116.7	1.4	Isoeugenol	164.2	2.6
6-Methylcoumarin	160.2	1.8	Naphthalene	128.2	3.3
Benzoic acid	122.1	1.9	propyl 4-aminobenzoate	179.2	2.4
Benzophenone	182.2	3.4	p-Tolunitrile	117.2	2.4
Benzyl bromide	171.0	2.9	propylparaben	180.2	3
Benzylideneacetone	146.2	2.1	Salicylic acid	138.1	2.3
Cinnamaldehyde	132.2	1.9	Testosterone	288.4	3.3
Cinnamic acid	148.2	2.1	Tetramethyl thiuram disulfide	240.4	1.7
			Vanillin	152.2	1.1

JMP proによる解析 非線形回帰モデル 機械的学習法 ブーストラップ森

分子量、ClogP、LUMO、HOMOから
皮膚透過パラメータを予測

皮膚透過パラメーターの予測値と実測値の相関



K_{sc} :角層分配係数
 K_{ved} :生きた表皮・真皮分配係数
 D_{sc} :角層拡散係数
 D_{ved} :生きた表皮・真皮拡散係数

D_{sc} および D_{ved} の単位:(cm^2/h)

In vitro 皮膚透過試験

各試験物質の水への飽和溶解度の60%濃度で適用
精製水を用いて適用製剤を調製

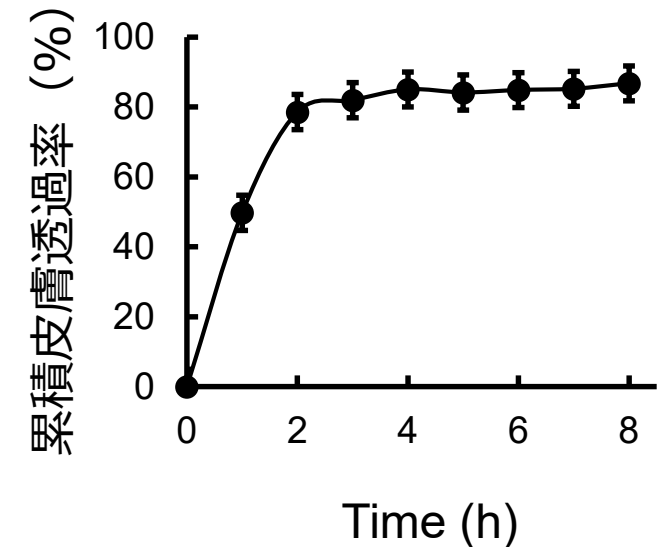
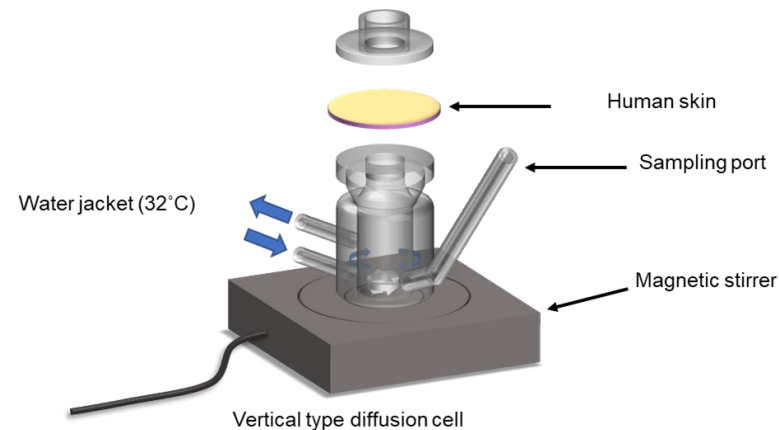
試験物質(14物質)

Chemical name	M.W.	*XLogP3
BA (Benzoic acid)	122	1.9
BR (4-Butylresorcinol)	166	2.4
CAF (Caffein)	194	-0.1
ISMN (Isosorbide mononitrate)	191	-0.4
ISDN (Isosorbide mononitrate)	236	1.3
AMP (Aminopyrine)	231	1.0
MP (Methylparaben)	152	2.0
EP(Ethylparaben)	166	2.5
PP (propylparaben)	180	3.0
BP (Butylparaben)	194	3.6
M-PABA (Methyl p-aminobenzoate)	151	1.4
E-PABA (Ethyl p-aminobenzoate)	165	1.9
P-PABA (Propyl p-aminobenzoate)	179	2.4
B-PABA (Butyl p-aminobenzoate)	193	2.9

*PubChemより

Membrane	Excised Human skin (Biopredic Internationalより購入)
Receiver	PBS (-)
Permeation area	1.77 cm ²
Temperature	32°C
Application period	8 h
Application volume	10 μL/cm²
Hydration time	1 h

有限用量系にて実施

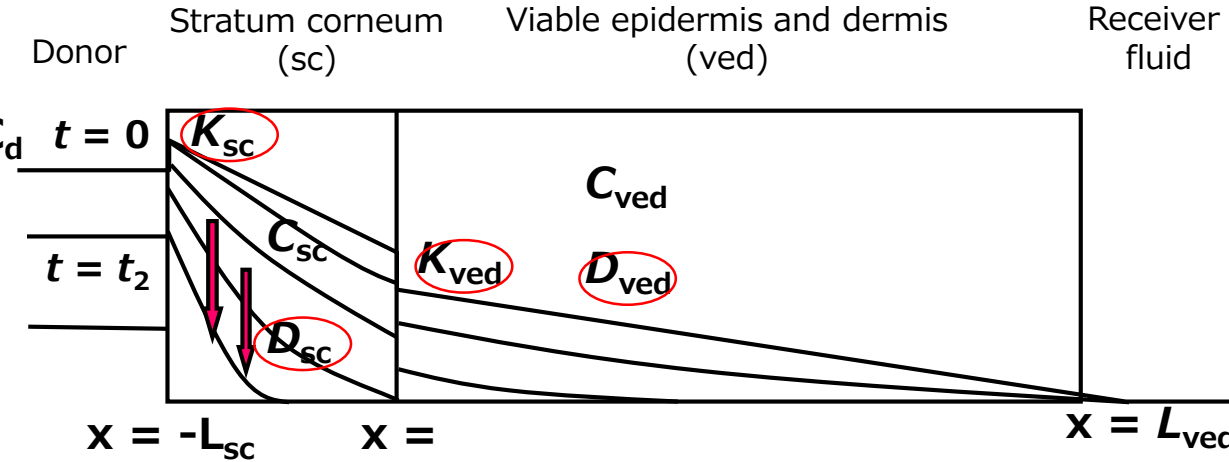


化学物質を有限用量系で適用したときの皮膚吸収量予測を可能とするモデルの構築

有限用量系 二層膜モデル

皮膚透過パラメータ

適用製剤容量 適用製剤濃度



皮膚の厚み (角層、生きた表皮・真皮)

layer model	FINITE	stratum corneum	viable epidermis and dermis	ved/sc	\$D_{ved}\$ (cm ² /h)
D (cm ² /h)	7E-07	0.009442118	0.101369700		578
K (sc,ved/donor)	2.7396	6.9959E-01	0.101369700		578
\$K_{ved}\$ (\$D_{ved}/D_{sc}\$)	0.018555	0.1675009	0.009039	saturn	960
\$t_d\$ (h)	0.000333333	2.800597333			
Vd (mL)	0.01				
A (cm ²)	1				

適用時間

evaporation rate (g/h)	0.0252
Volume	578
Conc.	0.01
0.00999416	577.7474316
0.00999748	577.5051229
0.00999798	577.2728644
0.00999716	577.040567
0.00999824	576.8083094
0.00999826	576.5760408
0.009994149	576.3417407
0.009992977	576.1044047
0.009991722	575.8620563
0.009990382	575.6197181
0.009898959	575.3773858
0.009897453	575.1350485
0.009895862	574.8927113
0.009894188	574.6503741
0.009892443	574.4080368
0.009900598	574.1656995
0.009978683	573.9233622
0.009976654	573.6810249
0.009974562	573.4386876
0.009972387	573.1963503
0.009970128	572.9540130
0.009967885	572.7116757
0.009965636	572.4693384
0.009963415	572.2270011
0.009961215	571.9846638
0.009959029	571.7423265
0.009956854	571.5000000
0.009954688	571.2576325
0.009952545	571.0152650
0.009950417	570.7728975
0.009948304	570.5305300
0.009946205	570.2881625
0.009944120	570.0457950
0.009942049	569.8034275
0.009940001	569.5610600
0.009937965	569.3186925
0.009935942	569.0763250
0.009933931	568.8339575
0.009931932	568.5915900

角層

生きた表皮・真皮

累積皮膚透過量

	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
0.0002522	0.0003783	0.0005044	0.0006305	0.0007566	0.0008827	0.0010088	0.0011349	0.0012610	0.0013870	0.0015130	0.0016390	0.0017650	0.0018910	0.0020170	0.0021430	0.0022690	0.0023950	0.0025210	0.0026470	0.0027730	0.0028990	0.0030250	0.0031510	0.0032770
0.0002522	0.0003783	0.0005044	0.0006305	0.0007566	0.0008827	0.0010088	0.0011349	0.0012610	0.0013870	0.0015130	0.0016390	0.0017650	0.0018910	0.0020170	0.0021430	0.0022690	0.0023950	0.0025210	0.0026470	0.0027730	0.0028990	0.0030250	0.0031510	0.0032770
0.0002522	0.0003783	0.0005044	0.0006305	0.0007566	0.0008827	0.0010088	0.0011349	0.0012610	0.0013870	0.0015130	0.0016390	0.0017650	0.0018910	0.0020170	0.0021430	0.0022690	0.0023950	0.0025210	0.0026470	0.0027730	0.0028990	0.0030250	0.0031510	0.0032770
0.0002522	0.0003783	0.0005044	0.0006305	0.0007566	0.0008827	0.0010088	0.0011349	0.0012610	0.0013870	0.0015130	0.0016390	0.0017650	0.0018910	0.0020170	0.0021430	0.0022690	0.0023950	0.0025210	0.0026470	0.0027730	0.0028990	0.0030250	0.0031510	0.0032770
0.0002522	0.0003783	0.0005044	0.0006305	0.0007566	0.0008827	0.0010088	0.0011349	0.0012610	0.0013870	0.0015130	0.0016390	0.0017650	0.0018910	0.0020170	0.0021430	0.0022690	0.0023950	0.0025210	0.0026470	0.0027730	0.0028990	0.0030250	0.0031510	0.0032770

角層中の各深度での物質濃度

生きた表皮・真皮中の各深度での物質濃度

蒸発速度算出: Kawamura and Mackay式

$$E = Ar \times K_M \times \{(M_W \times PV)/(R \times T)\}$$

E: 蒸発速度 (kg/s)、Ar: 液面面積 (m²)、K_M: 物質移動係数 (m/s)、M_W: 分子量 (g/mol)、P_V: 蒸気圧 (Pa)、R: 気体定数 (J/(kmol・K)、T: 気相の熱力学的温度 (K)

- 水の揮発に伴う適用物質の皮膚表面での濃度上昇
- 水基剤中の飽和溶解度
- 皮膚透過に伴う基剤中物質質量の減少
- 水が完全に揮発すると皮膚表面への物質の分配停止

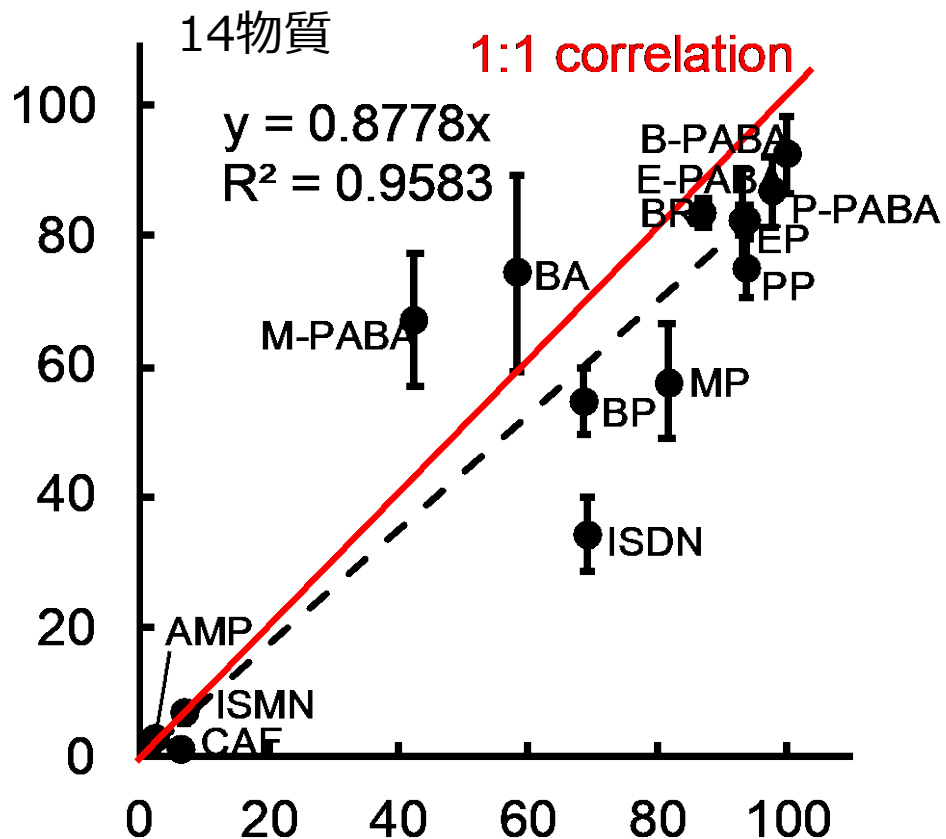
適用8時間後の皮膚透過率の実測値と予測値の相関

皮膚透過率の実測値と予測値の相関

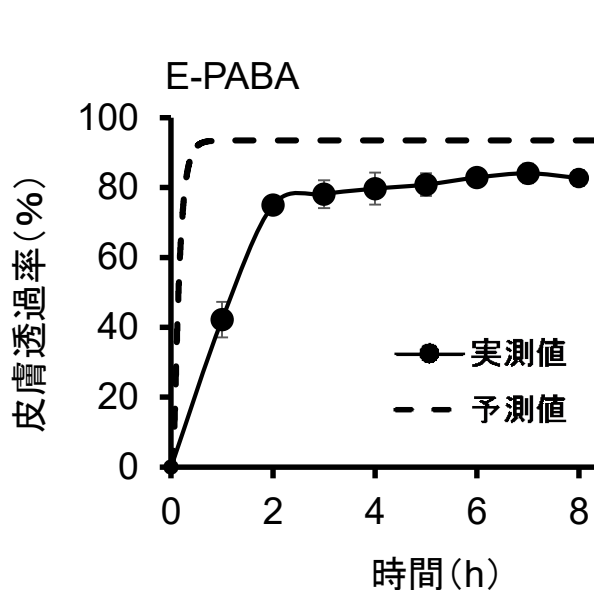
Compound	M.W.	XlogP3	LUMO (eV)	HOMO (eV)
E-PABA (Ethyl <i>p</i> -aminobenzoate)	165	1.86	-0.18	-8.77
BA (Benzoic acid)	122	1.9	-0.78	-10.19

	予測 K_{sc}	予測 D_{sc} (cm ² /h)	予測 K_{ved}	予測 D_{ved} (cm ² /h)
E-PABA	3.85	7.00×10^{-5}	2.62	1.51×10^{-3}
BA	1.30	6.09×10^{-5}	1.67	2.81×10^{-3}

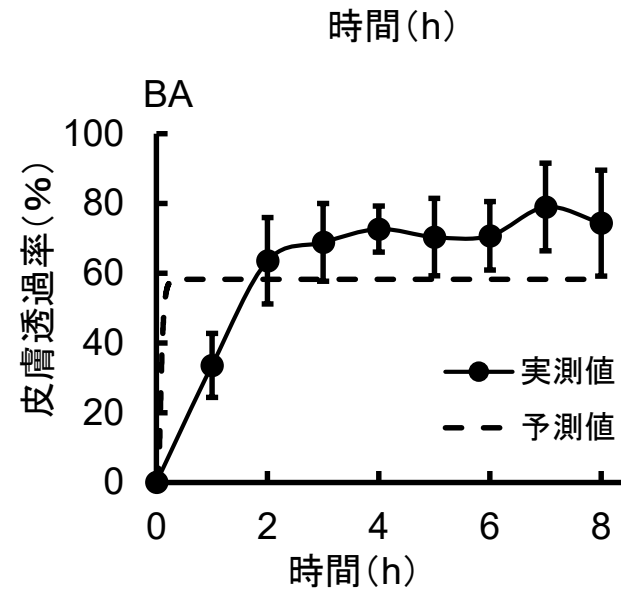
8時間後の皮膚透過率実測値 (%)



8時間後の皮膚透過率予測値 (%)



P-PABA	Flux (μg/cm ² /h)
実測値	2.30
予測値	23.7 × 10



BA	Flux (μg/cm ² /h)
実測値	5.4
予測値	6.3 × 10 × 12

2. 現時点での問題点等

累積皮膚透過率の予測は精度よく行えるものの、透過速度 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) に大きな乖離がある。

皮膚曝露後の血中濃度

$$C_t = \frac{dQ/dt \cdot A}{V_d \cdot K_{el}} (1 - e^{-K_{el} \cdot t})$$

dQ/dt : 皮膚透過速度 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)

A : 暴露面積

K_{el} : 消失速度定数 (h^{-1})

V_d : 分布容積 (mL)

改良点

蒸発速度算出: Kawamura and Mackay式

$$E = Ar \times K_M \times \{(M_W \times PV)/(R \times T)\}$$

E : 蒸発速度 (kg/s)、 Ar : 液面面積 (m^2)、 K_M : 物質移動係数 (m/s)、 M_W : 分子量 (g/mol)、 P_V : 蒸気圧 (Pa)、 R : 気体定数 ($\text{J}/(\text{kmol} \cdot \text{K})$)、 T : 気相の熱力学的温度 (K)

10 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ を適用しすると、約**5分**で蒸発する計算となる。

ヒト摘出皮膚

Flurbiprofen
水溶液適用
10 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$



Caffein
水溶液適用
10 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$



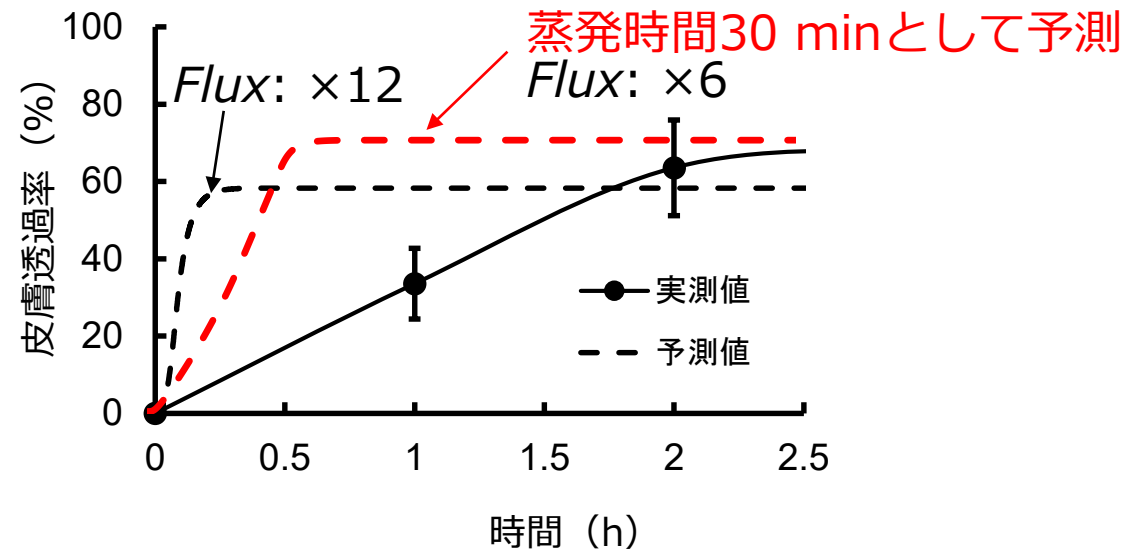
0 min

5 min

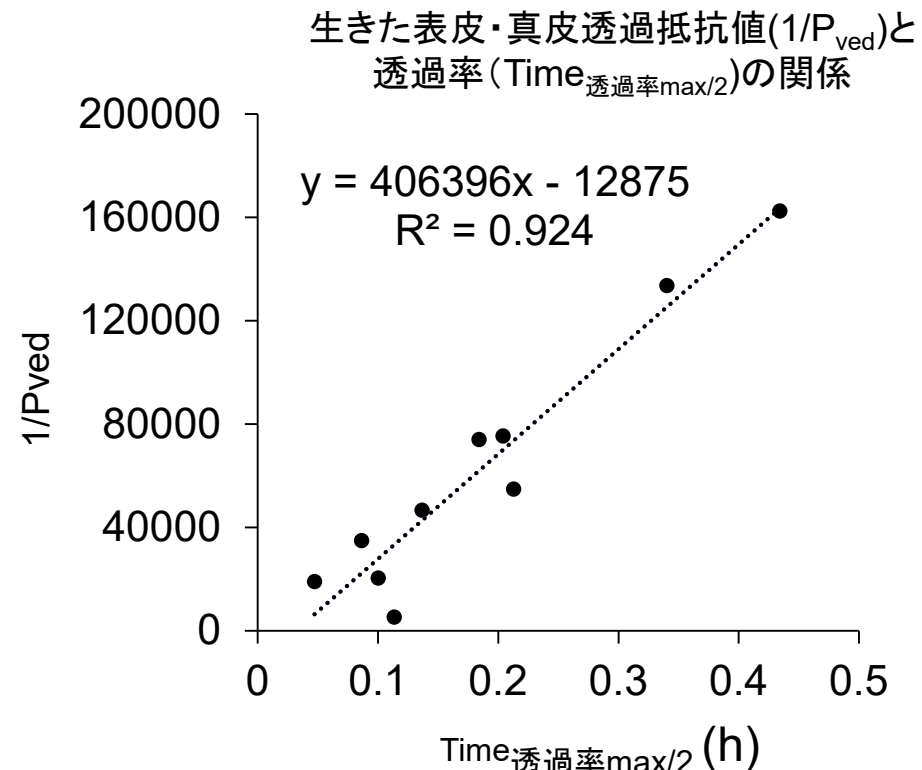
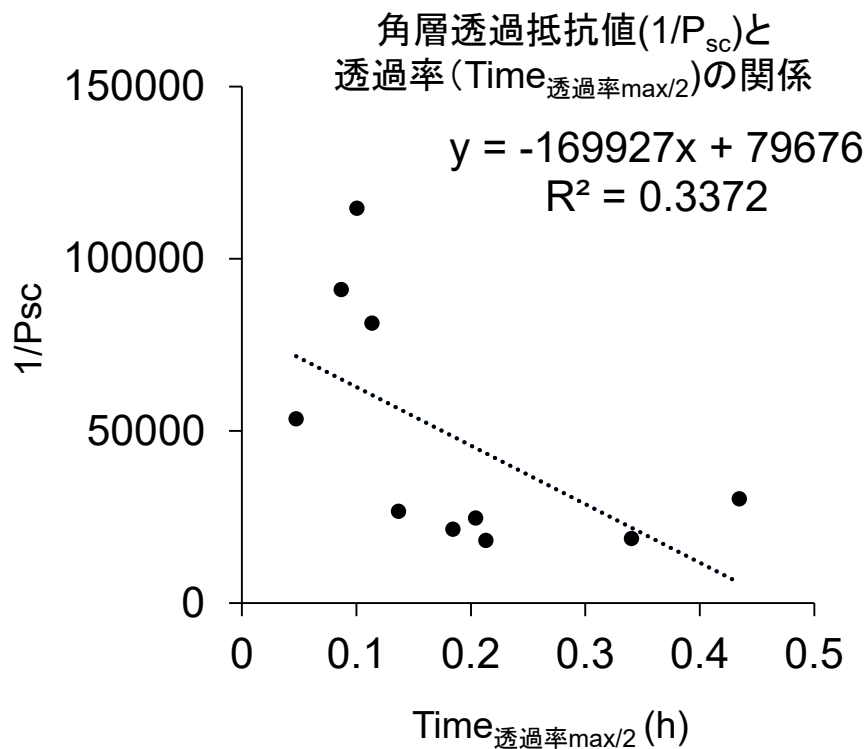
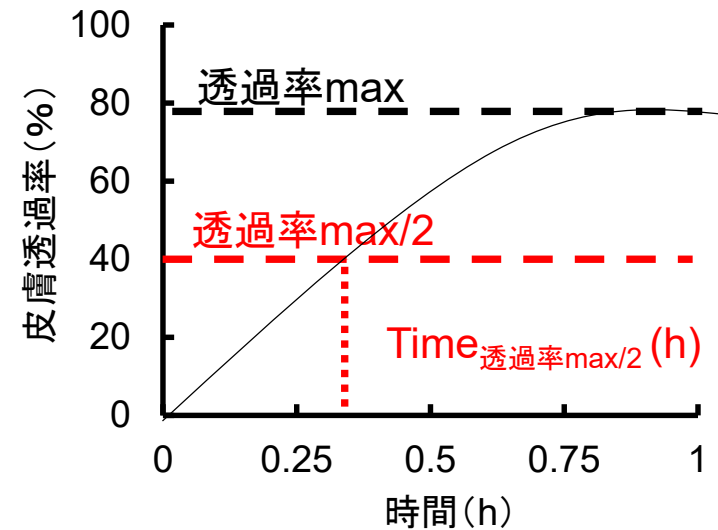
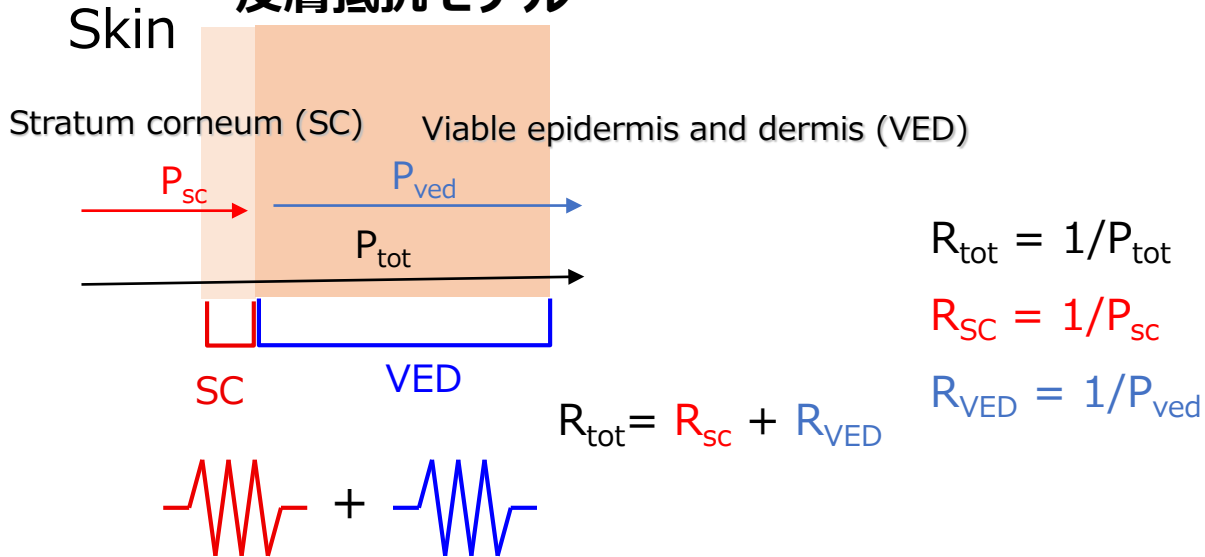
10 min

15 min

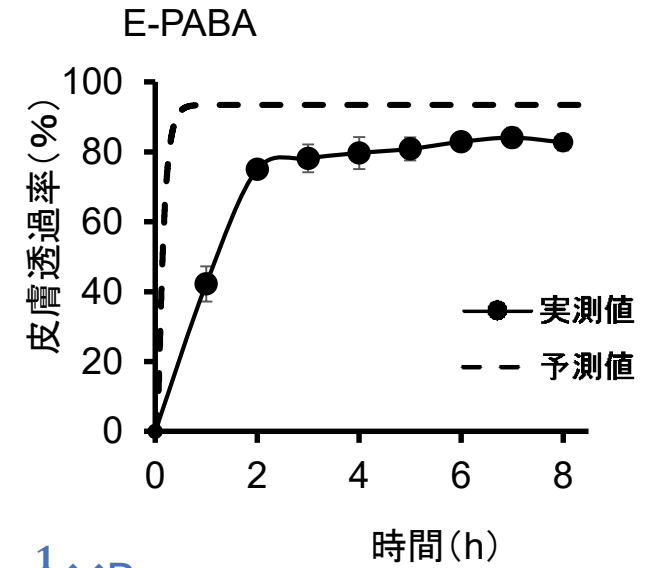
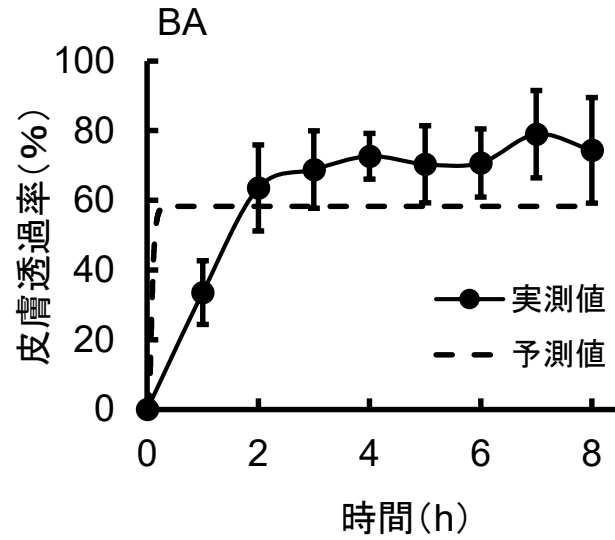
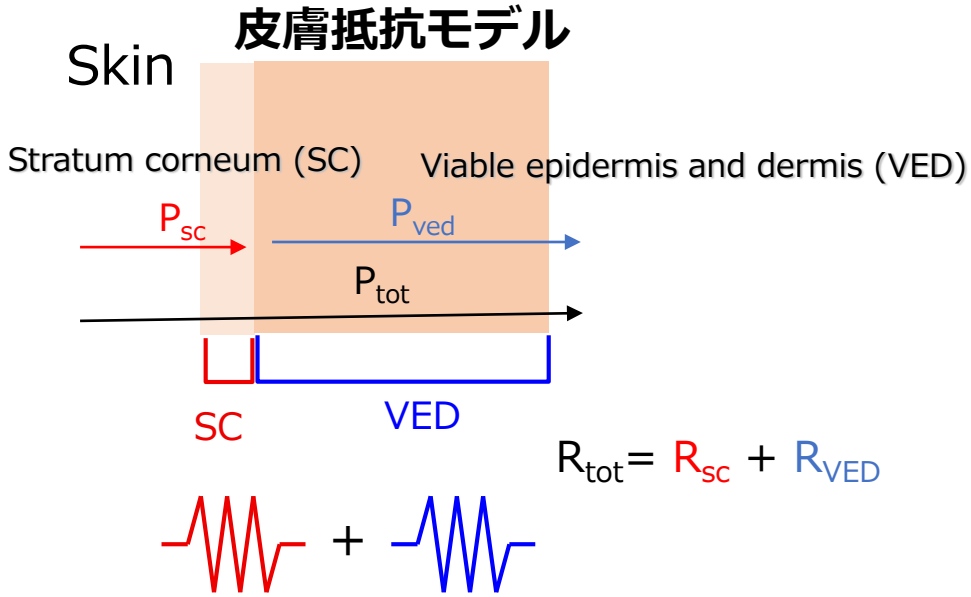
20 min



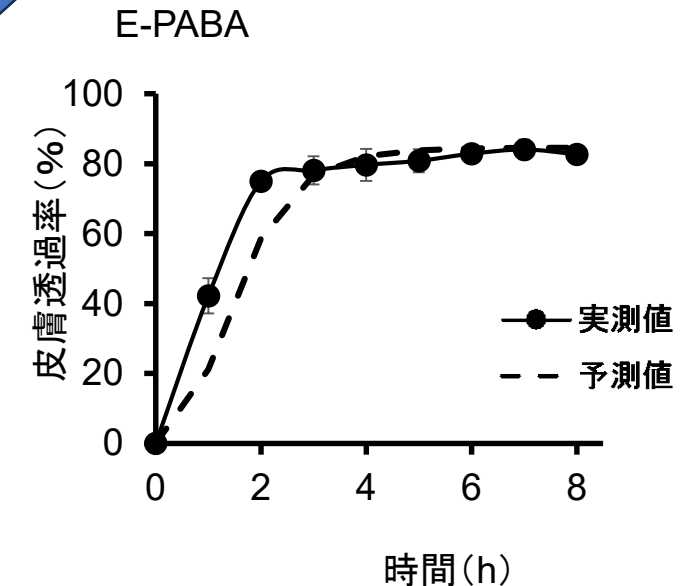
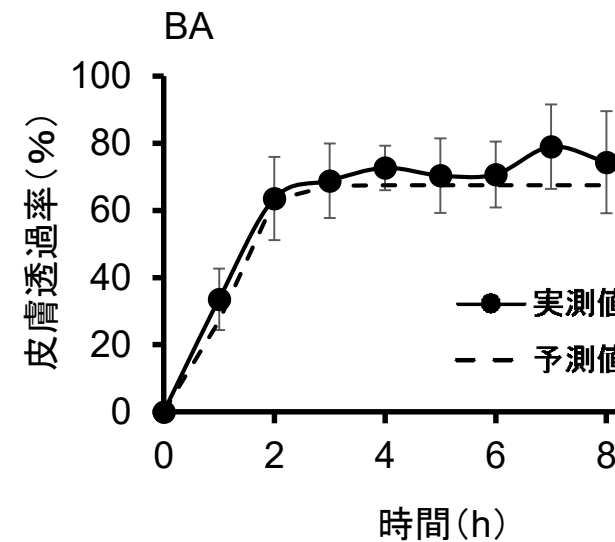
皮膚抵抗モデル



皮膚透過率の経時変化



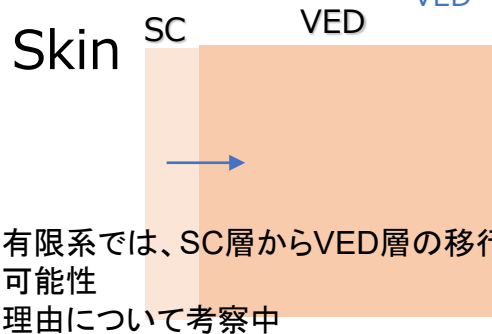
$$R'_{VED} = \frac{1}{10} \times P_{ved}$$



$$R_{tot} = 1/P_{tot}$$

$$R_{SC} = 1/P_{sc}$$

$$R'_{VED} = \frac{1}{10} \times P_{ved}$$



想定する最終成果と、そこへ向けた進め方

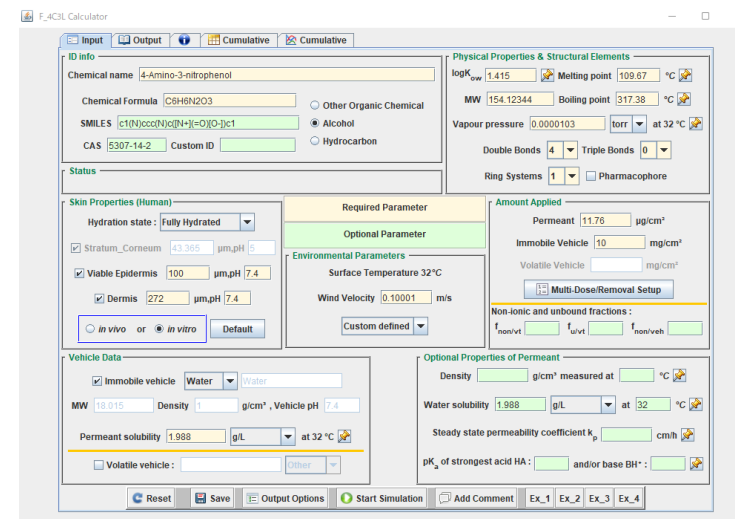
生きた表皮・真皮中拡散係数が角層除去皮膚を用いた *in vitro* 試験から得られた結果と比較して1/10となる可能性が示された。

→ 皮膚透過係数の乖離が大きい物質では、表皮・真皮中拡散係数を1/10とすることで、良好な予測が可能となった。現在その理由について種々試験にて確認中

現時点のモデルの公開

→ 簡便な利用を可能とするソフト化が必要

現在、アメリカ疾病予防管理センターやアメリカ環境保護庁の皮膚透過予測モデルのインターフェイスを参考に作成を相談中



アメリカ疾病予防管理センターからダウンロードできる
無料ソフトのインターフェイス