

上下運動透析膜法を用いた Rifampicin 坐剤の放出試験

**Dissolution test for rifampicin suppository by reciprocating dialysis tube method
with tapping.**

手 嶋 大 輔 ・ 池 本 茜
岩 田 理 紗 ・ 藤 原 奈 美
関 裕佳里 ・ 杉 山 哲 大
近 藤 祥 代 ・ 毎 熊 隆 誉

上下運動透析膜法を用いた Rifampicin 坐剤の放出試験

Dissolution test for rifampicin suppository by reciprocating dialysis tube
method with tapping.

手嶋大輔 (就実大学薬学部薬学科)・池本 茜 (就実大学薬学部薬学科)

TESHIMA Daisuke

IKEMOTO Akane

岩田理紗 (就実大学薬学部薬学科)・藤原奈美 (就実大学薬学部薬学科)

IWATA Risa

FUJIWARA Nami

関 裕佳里 (津山中央病院 薬剤部)・杉山哲大 (津山中央病院 薬剤部)

SEKI Yukari

SUGIYAMA Tetsuhiro

近藤祥代 (社会医療法人石川記念会 HITO 病院)

KONDO Sachiyo

毎熊隆誉 (就実大学薬学部薬学科)

MAIGUMA takayoshi

1. 緒言

坐剤は、経口投与ができない高齢者や小児、および嚥下障害、胃腸障害、意識障害等のある患者に対して、局所から全身の治療として幅広く応用できる。また、坐剤基剤の適切な配合により、内服薬よりも吸収性に優れた坐剤を調製することも可能である。

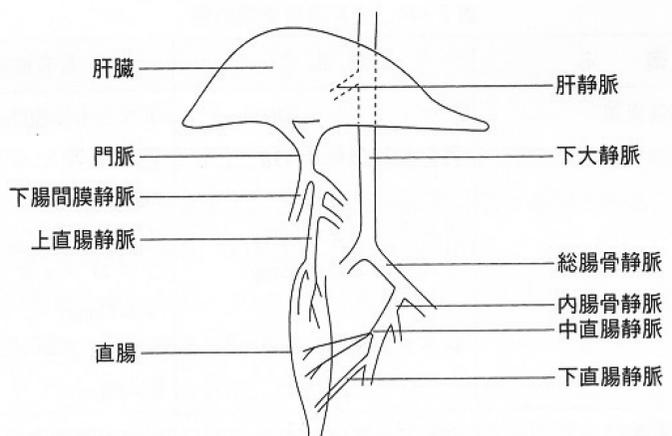
直腸下部から吸収された薬物は、肝臓を経ずに下大静脈から全身循環に至るため、肝初回通過効果を受けない投与経路として利用価値がある。直腸上部から吸収された薬物は、内服時のような胃酸や消化酵素の影響を受けることなく、下腸間膜静脈から門脈を経て肝臓に至るので、肝臓への新たな薬物送達経路としての応用も考えられる (図1)。しかし、異物を入れるというイメージから我が国では欧米諸国に比べ使用頻度が少ない。

現在、解熱鎮痛消炎剤、催眠鎮静剤、がん性疼痛用薬、抗痙攣薬、抗悪性腫瘍剤、抗生剤および喘息治療薬などの全身作用を目的とした坐剤が市販されているが、使用可能な医薬品は限られており、内服薬の代替投与製剤として積極的な検討はなされていないのが現状である。

Rifampicin は放線菌 *Streptomyces mediterranei* から発見された半合成抗生物質であり、抗結核薬の中で最も活性が高く、その治療においてイソニアジドと共に主軸となる薬物である。しかしながら、その副作用として胃腸障害があるために内服できないことがあるため、

院内製剤として Rifampicin カプセルから坐剤への剤形変更で対応してきた¹⁾。しかしながら、その製剤の品質に関する検討が十分に行われないうまま使用されてきたのが現状である。

坐剤放出能をみる試験器には様々なタイプのものがあるが、その中でも上下運動透析膜法は、薬物溶出過程を直腸内と類似の状態を蠕動運動を再現させることを可能とし、さらに生体環境に近似した方法である^{2,3)}。そこで今回、上下運動透析膜法に準拠した坐剤溶出試験器を用いて坐剤からの Rifampicin 放出に対する基剤の影響について検討を行った。



(出典： 村西昌三編「坐薬」, 南山堂)

図1 直腸の静脈血行模型図

2. 方法

2-1. HPLC 法を用いた Rifampicin 濃度の測定

本研究は、滝らの報告に従って行った⁴⁾。

2-1-1. 試薬及び材料

Rifampicin (和光純薬工業株式会社 大阪)

Papaverine Hydrochloride (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) : 内標準物質

2-1-2. 使用機器

ポンプ : LC-10AD (SHIMADZU 京都)

カラムオープン : CTO-10AS (SHIMADZU 京都)

カラム : TSK gel ODS-80Tm (4.6 mm ID × 15.0 cm 東ソー株式会社 東京)

オートインジェクタ : SIL-10AD (SHIMADZU 京都)

検出器 : SPD-10A (SHIMADZU 京都)

データ処置 : Chromatopac C-R8A (SHIMADZU 京都)

2-1-3. 移動相の調製

40 mM phosphate buffer (pH 6.7)/Acetonitrile/Methanol (520 : 390 : 90, v/v)

移動相は調製後に超音波で15分間脱気した。

2-1-4. 標準溶液（検量線）の作成

Rifampicin を移動相で溶解し Rifampicin 溶解液（1 mg/mL）とした。また Papaverine も同様に移動相で溶解し Papaverine 溶解液（1 mg/mL）とした。Rifampicin 溶解液 100 μ L を移動相 900 μ L で希釈し（100 μ g/mL）、さらに移動相で希釈を進めて Rifampicin として 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 および 20.0 μ g/mL の溶液を調製した。これらの溶液を Papaverine 溶解液（1 mg/mL）と 1 : 1 で混合し、Rifampicin として 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 および 10.0 μ g/mL の標準溶液（Papaverine として 500 μ g/mL）を調製した。これらの標準溶液は HPLC 法のキャリブレーションに使用した。

2-1-5. 試料溶液の調製

各試料採取時間において、ベッセルから放出液 5 mL 取り、その液 500 μ L と Papaverine 溶解液（1 mg/mL）500 μ L を混合した。その 10 μ L を HPLC に注入した。

2-1-6. 測定条件

移動相：40 mM phosphate buffer (pH 6.7)/Acetonitrile/Methanol (520 : 390 : 90, v/v)

流量：1.1 mL/min

検出波長：340 nm UV

注入量：10 μ L

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

2-2. Rifampicin 坐剤の調製と抽出

2-2-1. 試薬及び材料

Rifampicin (和光純薬工業株式会社 大阪)

ホスコ H5 (ウイテプゾール H5 丸石製薬株式会社)

ホスコ H15 (ウイテプゾール H15 丸石製薬株式会社)

ホスコ E75 (ウイテプゾール E75 丸石製薬株式会社)

MASSA ESTARINUM 299 (ME 299, ミツバ貿易株式会社より提供)

2-2-2. Rifampicin 坐剤の調製

Rifampicin を精密に量り、各種坐剤基剤に溶解させ、プラスチック製坐剤型枠に精密に

分注した。Rifampicin 坐剤の調製手順を Chart 1に示す。

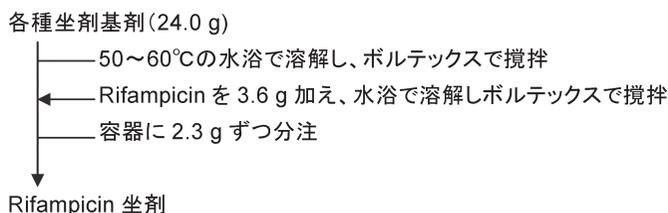
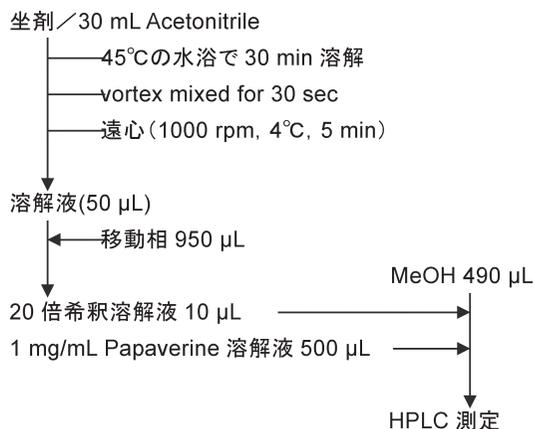


Chart 1 Rifampicin 坐剤 (300 mg) の調製手順

2-2-3. Rifampicin の抽出と定量

作製した Rifampicin 坐剤中の Rifampicin を定量した。坐剤の処理方法は Chart 2に示す。



2-3. 坐剤放出試験

2-3-1. 使用機器および材料

理研式坐剤溶出試験器：HZ-11D (宮本理研工業株式会社)

透析セロハンチューブ7510-57 (宮本理研工業株式会社, 25Å)；ポアサイズ小

透析セロハンチューブ FED 132544 (フナコシ株式会社, 70Å)；ポアサイズ大

DRYING OVEN：DO-450A (AS ONE)

Chart 2 坐剤からの Rifampicin の抽出と測定方法

2-3-2. 放出液の調製

50 mM phosphate buffer (pH 7.4)

放出液は調製後に超音波で15分間脱気した。

2-3-3. 透析チューブの前処理

透析チューブを24 cmに切り、ミリQ水に浸し、130°Cで1時間 DRYING OVEN で加温した。

2-3-4. 試験条件

UP AND DOWN：30回 / 分

試験温度：37℃

試料採取時間（分）：試験開始後10、20、30、40、50、60、90、120、180、240、300、360
及び1380分後に放出液 5 mL を採取

試料測定：HPLC 法

2-4. 統計処理

すべてのデータは平均値±標準偏差で示し、群間の比較には Student's t-test、二元配置分散分析（two-way ANOVA）及びその後の多重比較では Dunnett's test を用いた。統計解析には SPSS software ver. 22.0J（IBM SPSS, Chicago, IL, USA）を用いた。危険率が5%未満の場合に統計学的に有意な差があると判定した。

3. 結果

3-1. HPLC 法による Rifampicin の分離検出及び測定精度

Rifampicin 標準溶液（Rifampicin として10 µg/mL）のクロマトグラムを図2に示す。Rifampicin は約7分、Papaverine は約6.5分と互いに分離し、他に共雑物のないピークが得られた。Rifampicin 標準溶液（Rifampicin として0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 および10.0 µg/mL）を用いた際の検量線を図3に示す。内部標準物質とのピーク面積比による検量線の相関係数は良好な直線性を示した（ $r = 0.999914$ ）。

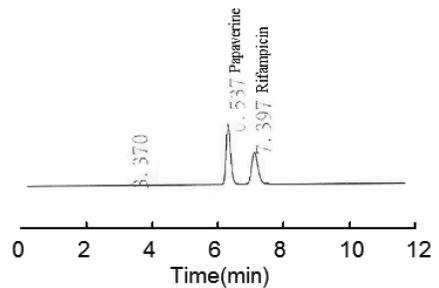


図2 HPLCにて測定したRifampicin標準液（10µg/mL）のクロマトグラム

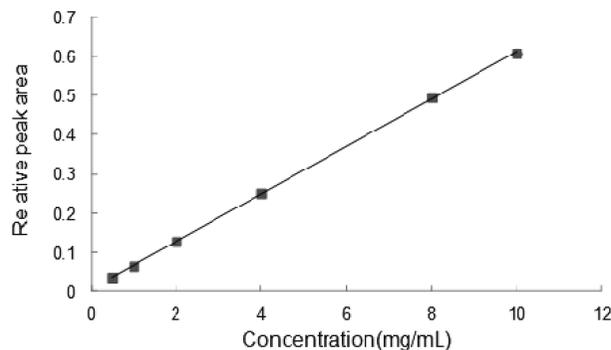


図3 Rifampicin の検量線
 $y = 0.0606x + 0.0065$ $r = 0.999914$

Rifampicin の濃度 3.0、6.0、9.0 µg/mL における定量濃度と回収率の日間変動を表1に示す。全ての濃度における定量濃度の日間変動係数は3.70%以下であった。

表1 Rifampicin 測定精度 (日間変動)

濃度 (µg/mL)	定量濃度 (µg/mL)	回収率 (%)
3.0	3.0 ± 0.04 (1.39)	101.2 ± 1.40
6.0	6.0 ± 0.22 (3.70)	99.9 ± 3.70
9.0	8.9 ± 0.23 (2.52)	99.4 ± 2.51

Values are mean ± SD (n=5), values in parentheses are coefficients of variation (%)

3-2. 坐剤からの Rifampicin 放出に対する基剤の影響

各種基剤を用いて作成した坐剤の放出挙動を図4に示す。院内製剤として使用されてきた

基剤はウイテプゾール H15 と E75等量混合物であり、この坐剤の放出率は時間の経過とともに頭打ちとなり、24時間後も22%程度で留まった。今回作成した各種基剤単独での23時間後の放出率は、H5で102%、H15で104%、E75で4%、およびME299で76%であり、

今回単独の基剤で作成した坐剤の放出率は、その全てにおいて H15と E75の等量混合物の放出率と統計学的に有意な差が認められた (H5: $p = 0.006$, H15: $p = 0.007$, E75: $p = 0.004$, ME299: $p = 0.005$)。また、試験開始後4時間までに Rifampicin は2-25%程度しか放出されていないことが明らかとなった。

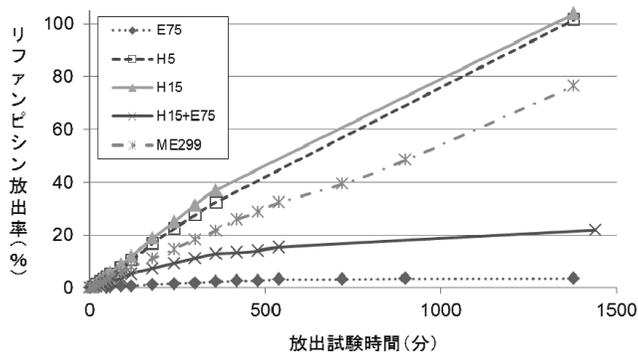


図4 上下運動透析膜法を用いた Rifampicin 坐剤の放出挙動 (n=3-4)

3-3. 坐剤からの Rifampicin 放出に対する透析チューブの影響

H15で調製した Rifampicin 坐剤を用いてポアサイズの異なる透析チューブを用いて、Rifampicin の放出挙動を比較した (図5)。今回用いた透析膜のポアサイズに関わらず、類似した放出挙動が確認された。ポアサイズの大小では、有意な差は認められなかった ($p = 0.699$)。

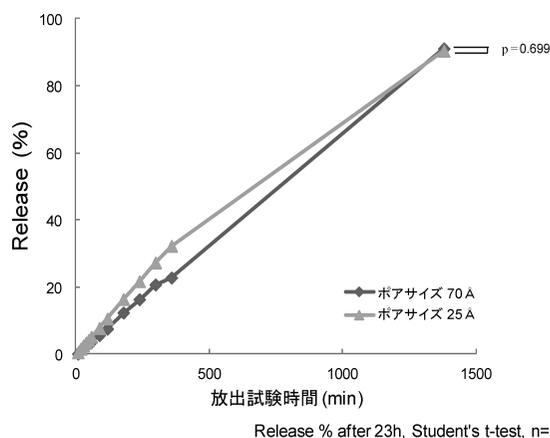


図5 Rifampicin 放出に対する透析膜のポアサイズの影響 (n=3)

4. 考察

今回の放出試験の結果、院内製剤として使用されてきた H15と E75を等量混合した基剤を用いた際、坐剤が体内に滞留していると考えられる放出後4時間において、Rifampicin は 9%程度しか放出されていないことが明らかとなり、24時間後においても22%程度に留まった。PK/PD 理論によれば、Rifampicin の抗菌効果は、早期に結核菌を殺菌するためには血中濃度時間曲線下面積 (AUC) を高めることが重要であり⁵⁾、また、最大血中濃度 (Cmax) は耐性化を抑制する決定因子であると報告されている⁶⁾。したがって、結核治療を成功させるためにも、院内製剤として使用されている H15と E75を等量混合した基剤に対してさらに改良する必要がある。

今回用いた基剤として、Rifampicin の放出性が比較的高かったものとして H5、H15、および ME299が挙げられる。その一方で E75を用いた坐剤は Rifampicin 放出率が著しく低下した。この原因として基剤の融点が影響していると考えられる。H5の融点は34.0~36.0℃、H15は33.5~35.5℃、ME 299は33.5~35.5℃、および E75は37~39℃である。本研究における試験温度は37℃であり、融点が37~39℃の E75は溶解しにくい。つまり、H5や H15の方が H15と E75の等量混合よりも放出率が高いのは、融点の高い E75を含んでいないためであると考えられる。既に、辰巳らによって、プレドニン坐剤の放出制御の点からも、融点の低い E75の混合割合の増加に伴って融解時間が遅延することが報告されている³⁾。今回の検討によって、坐剤投与による薬物吸収に基剤が大きく影響していることが明らかとなった。また、各基剤の水酸基価についても比較してみたところ、E75が max.15、ME 299は max.2、および H5が max.5であり、比較的に水酸基価の低い基剤の放出率が高くなるという結果が得られた。このことから基剤の脂溶性が高くなるにつれて放出率も高くなる考えられる。

今回用いた全ての基剤において、試験開始後4時間までに Rifampicin は2~25%程度しか放出されていないことが明らかとなり、坐剤からの薬物放出に透析チューブの穴 (ポア) により、放出制御を受けている可能性が考えられた。そこで、ポアサイズが25Åと70Åの透析チューブを用いて放出試験を行った。その結果、ポアサイズによる放出挙動の変化はほとんど認められなかった。分子量が822.94と大きい Rifampicin についてはポアサイズの変更では、放出制御を解消できないことが示唆された。

以上、本検討により、坐剤からの Rifampicin 放出には基剤が影響していることが明らかとなり、上下運動透析膜法において、Rifampicin 坐剤の放出挙動は十分に確認出来ない可能性が示唆された。今後は、今回検討出来なかった脂溶性基剤のウイテプゾール W35や S55、または水溶性基剤のマクロゴール400、1500、4000、6000を用いて調製した坐剤からの Rifampicin 放出挙動を検討することや、透析膜を用いない坐剤の放出試験での検討が必要と思われる。

5. 参考文献

- 1) 病院薬局製剤、第5版、日本病院薬剤師会編
- 2) Itoh et al., *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 64 (3) 393-398 (2006)
- 3) 辰見ら、*薬学雑誌* 128 (4), 641-648 (2008)
- 4) 滝ら、*日病薬誌* 43 (6), 809-812 (2007)
- 5) Diacon AH et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 51, 2994-2996 (2007)
- 6) Gumbo T et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 51, 3781-3788 (2007)