

『就実論叢』第46号 抜刷

就実大学・就実短期大学 2017年2月28日 発行

溶出試験法を用いた院内製剤 Rifampicin 坐剤の 放出性に関する検討

Evaluation of releasing for rifampicin suppository by the dissolution test

毎 熊 隆 誉 ・ 間 野 結 貴
村 上 未 樹 ・ 藤 原 奈 美
関 裕佳里 ・ 杉 山 哲 大
近 藤 祥 代 ・ 手 嶋 大 輔

溶出試験法を用いた院内製剤 Rifampicin 坐剤の 放出性に関する検討

Evaluation of releasing for rifampicin suppository by the dissolution test

毎熊隆 誉 (就実大学薬学部薬学科) ・ 間野 結 貴 (就実大学薬学部薬学科)

MAIGUMA Takayoshi

MANO Yuki

村上 未 樹 (就実大学薬学部薬学科) ・ 藤原 奈 美 (就実大学薬学部薬学科)

MURAKAMI Miki

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

手嶋 大 輔 (就実大学薬学部薬学科)

TESHIMA Daisuke

1. 緒言

Rifampicin は放線菌 *Streptomyces mediterranei* から発見された半合成抗生物質であり、結核菌の RNA 合成を強力に阻害するため、増殖中の結核菌だけではなく、静止期の結核菌にも殺菌的な作用をもつ。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。Rifampicin は、通常成人には、1 回 450 mg (力価) の経口投与が行われているが、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。本邦では Rifampicin の注射剤が使用できないため、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 (図 1)²⁾、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で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^{3, 4)}。しかし、坐剤の基剤に着目し、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結果、上下運動透析膜法では、透析膜により Rifampicin の放出が制御され、その放出挙動が十分に確認出来ない可能性があった。そこで今回、内用の錠剤・カプセル剤の試験法である溶出試験器を用いて、試行的に坐剤の溶出試験を実施し、Rifampicin 放出に対する基剤の影響について検討を行った。

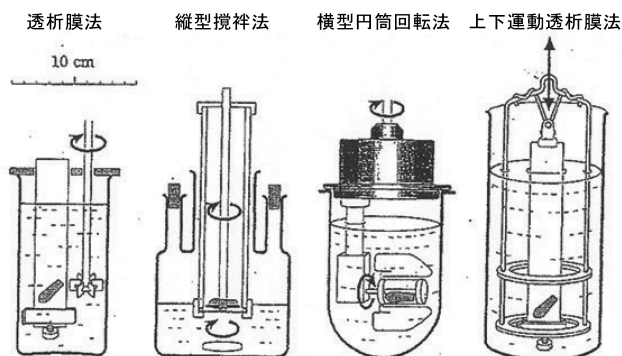


図1 各種坐剤の放出試験器²⁾

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⁵⁾。

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 を移動相で溶解し Papaverine 溶解液 (1 mg/mL) とした。Rifampicin 溶解液 100 μ L を移

動相 900 μL で希釈し(100 $\mu\text{g/mL}$)、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 $\mu\text{g/mL}$ 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 $\mu\text{g/mL}$ の標準溶液 (Papaverine として 500 $\mu\text{g/mL}$) 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 500 μL と Papaverine 溶解液 (1 mg/mL) 500 μL を混合した。その 10 μL 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 μL

カラム温度 : 40 $^{\circ}\text{C}$

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) (以下、H5)

ホスコ H15 (ウイテプゾール H15 丸石製薬株式会社) (以下、H15)

ホスコ E75 (ウイテプゾール E75 丸石製薬株式会社) (以下、E75)

ホスコ S55 (ウイテプゾール S55 丸石製薬株式会社) (以下、S55)

MASSA ESTARINUM 299 (ME 299, ミツバ貿易株式会社より提供) (以下、ME299)

2-2-2. Rifampicin 坐剤の調製

Rifampicin を精密に量り、坐剤基剤に溶解させ、容器に精密に分注した。Rifampicin 坐剤の作製手順を Chart 1に示す。

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。

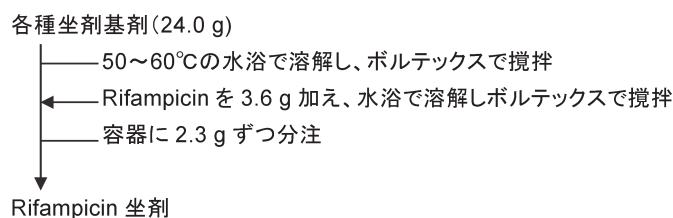


Chart 1 Rifampicin 坐剤 (300 mg) の調製手順

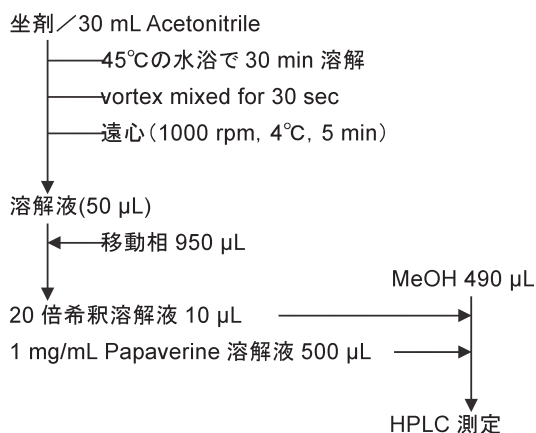


Chart 2 坐剤からの Rifampicin の抽出と測定方法

2-3. 坐剤放出試験

2-3-1. 試薬及び材料

調製した Rifampicin 坐剤

2-3-2. 使用機器

溶出試験器 NAT-6100A DISSOLUTION TESTER : (富山産業株式会社 大阪)

2-3-3. 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。

2-3-4. 測定条件

回転数 : 50、100、および 150 rpm

日本薬局方の回転バスケット法あるいはパドル法に従い実施した。

試験温度 : 37℃

試料採取時間（分）：試験開始後 1、5、10、20、30、40、50、60、90、120、および 180

分後に放出液 5 mL を採取

試料測定：HPLC 測定

3. 結果

3-1. 溶出試験器を用いた坐剤放出試験の条件

当研究室での以前の検討を踏まえて、放出率が最も高い H-15 および放出率が最も低い E-75 を用いて、50、100、および 150 rpm の条件下で 3 時間、それぞれ回転バスケット法およびパドル法により放出率を比較した。その結果、回転バスケット法、3 時間後において H-15 の放出率はそれぞれ、9.2% (50 rpm)、11.5% (100 rpm)、および 27.6% (150 rpm) となり、一方、パドル法においてはそれぞれ、87.4% (50 rpm)、90.1% (100 rpm)、および 117.1% (150 rpm) となった。回転バスケット法において E-75 の放出率はそれぞれ、0.6% (50 rpm)、0.7% (100 rpm)、および 0.7% (150 rpm) となり、一方、パドル法においてはそれぞれ、2.8% (50 rpm)、5.9% (100 rpm)、および 12.3% (150 rpm) となった（図 2）。

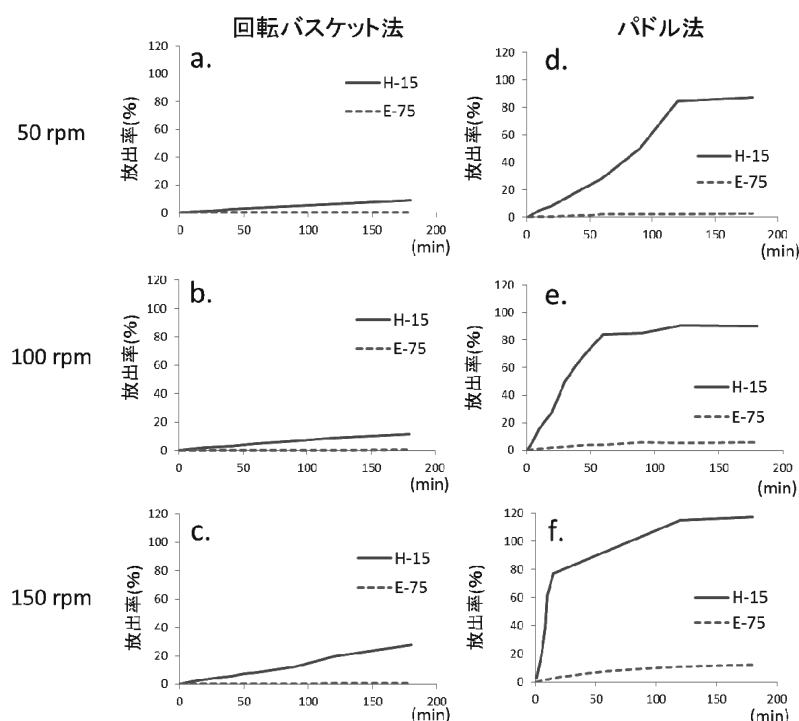


図 2 溶出試験法を用いた Rifampicin 坐剤の放出挙動

3-2. 溶出試験を用いた Rifampicin 坐剤からの成分放出に対する基剤の影響

坐剤基剤の違いによる Rifampicin の放出率を比較した (図3)。その結果、単一基剤で作成した坐剤の試験開始後3時間における放出率は、H-5において 88.1%、H15で 90.1%、E75で 5.3%、S55で 79.2%、および ME299で 72.7%であった。更に、坐剤基剤 H15と E75の等量混合基剤では 32.7%であった。2時間以降の放出率は H15および H5では約90%で頭打ちとなり、E75では時間の経過した際でも数%の放出率に留まった。一方、坐剤基剤 H15と E75の等量混合基剤、S55、及び ME299の使用によっては、坐薬から RFP は時間依存的に3時間後もさらなる上昇傾向が認められた (図3)。

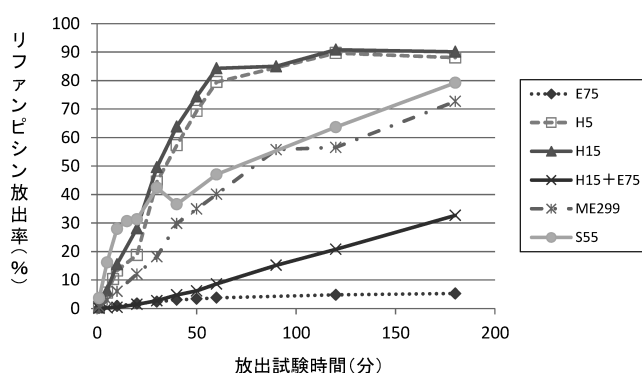


図3 溶出試験法を用いた Rifampicin 坐剤の成分放出に対する基剤の影響

4. 考察

Tanabe らの報告によると、50 rpm による回転バスケット法を用いてインドメタシン坐剤の溶出試験を行った結果、試験後 30～35分の間で溶出率が 100%となった⁶⁾。また、Shibata らは、100 rpm による回転バスケット法においてリファンピシン坐剤の溶出試験を行っている。その坐剤の Rifampicin 含有量は 10 mg と少量であり、12時間後の溶出率は 60%であった⁷⁾。今回、Rifampicin 含有量が 300 mg の坐剤を作成し回転バスケット法による溶出試験を実施したところ、50～150 rpm の回転数で Rifampicin 放出率は低値を示した (図2 a, b, c)。この理由として、Rifampicin 含有量が多いためにバスケットが目詰まりを起こし、薬物放出を妨害していたためと推察される。したがって、回転バスケット法および透析膜を用いた各種放出試験法よりも、パドル法による溶出試験が Rifampicin 坐剤の放出挙動をみるのにより適していると思われた。

日本薬局方の溶出試験における規格設定では、パドル法の回転数は 50 rpm を基本としており、今回 50 rpm で実施した際の Rifampicin 放出率は 2 時間後に最大となった。Rifampicin 経口カプセル剤の添付文書によると、健康成人に投与した場合の最高血中濃度到達時間は1.90時間とされており、それ以前に最大放出率を示す回転数 (rpm)、つまり50

rpm 以上の回転数が必要と思われる。溶出試験条件として、50 rpm 以上の回転数では 100 rpm を採用している場合が多く、本結果からも 100 rpm で試験を行うことは妥当と考えられる。

本検討によって、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。今回の結果から基剤による放出率は、E75< H15と E75の等量混合基剤< ME 299< S55< H5< H15の順に高くなることがわかった。各基剤の融点を調べたところ、E75は 37～39℃、H15は33.5～35.5℃、H5は34.0～36.0℃、ME 299は33.5～35.5℃、および S55は 33.5～35.5℃であった⁸⁾。したがって、放出率には基剤の融点に関与していると考えられる。

しかしながら、Rifampicin 坐剤を直腸投与した場合、内服薬と比べて吸収が極めて悪いことが報告され⁹⁾、Rifampicin 耐性化の観点¹⁰⁾からも吸収促進剤を併用する報告もなされている^{6, 11)}。

今後は、耐性化を抑止する目的でも Rifampicin 血中濃度を 1 µg/mL 以上を維持できるような製剤学的な検討が必要であり¹¹⁾、その際に、溶出試験法を用いた放出試験が有用となる可能性が示唆された。

5. 参考文献

- 1) 病院薬局製剤、第5版、日本病院薬剤師会編、薬事日報社、東京、2003、pp217
- 2) 山崎ら、医薬品研究、28巻、232 (1997)
- 3) Itoh et al., Eur. J. Pharm. Biopharm. 64 (3) 393-398 (2006)
- 4) 辰見ら、薬学雑誌 128 (4), 641-648 (2008)
- 5) 滝ら、日病薬誌 43 (6), 809-812 (2007)
- 6) Kazuhisa Tanabe et al. 病院薬学 Vol.8, No.4, 294-298 (1982)
- 7) Nobuhito Shibata et al. 医療薬学 Vol.30, No.9, 574-583 (2004)
- 8) ミツバ貿易株式会社社内資料
- 9) 田伏ら、結核、66, 266-267 (1991)
- 10) 橋本ら、日臨微生物誌、23, 1-11 (2013)
- 11) 滝ら、結核、83 (6), 451-456 (2008)