

院内製剤リファンピシン坐剤の直腸吸収改善を 目的とした製剤学的検討

芝田信人^{*1}, 福島恵造¹, 広地克典¹, 角井義昌²,
宮地修平³, 吉川由佳子¹, 高田寛治¹

京都薬科大学薬物動態学教室¹, 大阪薬科大学付属薬局²
独立行政法人国立病院機構・兵庫青野原病院薬剤科³

In Vitro and *In Vivo* Pharmaceutical Study on Rifampicin Suppositories to Improve Rectal Absorption of Rifampicin

Nobuhito Shibata^{*1}, Keizo Hukushima¹, Katsunori Hirochi¹, Yoshimasa Kakui²,
Syuhei Miyaji³, Yukako Yoshikawa¹ and Kanji Takada¹

Department of Pharmacokinetics, Kyoto Pharmaceutical University¹
Pharmacy, Osaka University of Pharmaceutical Sciences²
Department of Pharmacy, Hyogo Aonohara Hospital³

[Received March 8, 2004]
[Accepted July 13, 2004]

With the aim of improving the *in vivo* pharmacokinetic profile after rectal administration of the standard rifampicin (RFP) suppository, a new type of suppository containing a solid dispersion of RFP was prepared and evaluated *in vitro* and *in vivo* in rats. The RFP solid dispersion was prepared by mixing RFP powder with polyethylene glycol (PEG) #3000 or #6000 in a weight ratio of 1:3 to make an amorphous condition. Based on an *in vitro* release study on RFP, Witepsol H-32 was selected as the suppository base instead of Witepsol H-15 that is used for the standard suppository. Further, with the Witepsol H-32 suppository, the *in vitro* release profile of RFP for a solid dispersion in PEG #3000 (H-32/SD 30) was superior to that for a dispersion in PEG #6000 (H-32/SD 60). The area under the concentration vs. time curve (AUC) of RFP from the H-32/SD 30 suppository after rectal administration was 2.8-fold that from the standard suppository. Addition of the absorption enhancers sodium deoxycholate, sodium ursodeoxycholate and gall powder to the H-32/SD 30 suppository increased the AUC of RFP after rectal administration 1.2-fold, 1.5-fold and 1.6-fold, respectively. Moreover, the AUC for the H-32/SD 30 suppository including gall powder was 80% of the AUC in the case of orally administering the same dose of RFP to rats. The results of this study showed that our new type of RFP suppository containing an RFP solid dispersion was effective in improving RFP dissolution and bioavailability after rectal administration.

Key words — rifampicin, solid dispersion, amorphous, improving bioavailability, suppository, rectal administration

緒 言

結核は世界各国で未だに深刻な疾患として存在し続けている。特に発展途上国においては罹病率および死亡率が高く、深刻な問題となっている。その患者数は、世界中で1億人以上であり、年々9～10万人ずつ増加していると報告されている^{1,2)}。わが国においても、多剤耐性

結核菌の発現、高齢者の増加という背景から1997年には38年ぶりに新規発生結核患者が増加に転じ、1999年には結核緊急事態宣言が出されるに至っている^{3,4)}。高齢者患者の増加率が高く、新規患者の半数以上を占めており、今後ますますの高齢化の進行による感染の拡大に危機感を募らせている現状である⁵⁾。Rifampicin(RFP)はansamycin系の半合成抗生物質であり、結核治療の主軸となる薬物である⁶⁻⁸⁾。RFPの小腸からの吸収は良好で

¹ 京都市山科区御陵中内町5-5, Misasagi, Nakauchi-cho, Yamashina-ku, Kyoto-shi, 607-8414 Japan

² 大阪府高槻市北園町11-14, Kitazono-cho, Takatsuki-shi, Osaka, 569-0802 Japan

³ 兵庫県小野市南青野, Minamiaono, Ono-shi, Hyogo, 675-1350 Japan

あり、服用後2時間以内に最高血漿中濃度に到達し、組織および髄液への移行も良好である^{9,10)}。しかし、通例1日1回450mg(3カプセル)を1カ月以上にわたり経口投与する必要があるため、服用困難を訴える患者も少なくない。特に嚥下困難な高齢者においてはコンプライアンスの維持が課題となる。また、RFPは肝薬物代謝酵素を誘導することが知られており^{11,12)}、代謝亢進による薬効の低下や、長期投与による胃腸障害などの副作用も問題となる。これらの問題点を軽減するために臨床では院内製剤としてRFP坐剤が使用されているが、現行のRFP坐剤は、内服用のRFPカプセルの中味を溶融法でWitepsol H-15に混ぜ込んで調製されているだけであり、直腸投与後のRFPの吸収が極めて低いことが報告されている¹³⁾。そこで、院内製剤RFP坐剤の直腸吸収改善を目的とした固体分散体化法による製剤学的検討を行った。

方 法

1. 材料

RFPは第一製薬(株)のリファジンカプセル中の顆粒を乳鉢で粉碎して使用した。Deoxycholic acid sodium salt (DCA)およびflufenamic acidは和光純薬工業(株)より購入した。Ursodeoxycholic acid sodium salt (UDCA)、胆汁エキス末(Gall Powder, GP)、ポリエチレングリコール(PEG) #3000および#6000はナカライテスク(株)より購入し、Witepsol H-15、H-32、およびS-55はミツバ貿易(株)より恵与されたものを用いた。その他の試薬はすべて市販特級品を使用した。Sprague Dawley (SD)系雄性ラット(300~350g)は日本SLCより購入した。ゼロ号ゼラチンカプセルは、吉田商店より購入した。外科用接着剤、アロンアルファAは、三共(株)より購入した。その他の試薬には、市販の特級品を用いた。

2. RFP 固体分散体の調製

固体分散体は、PEG #3000(Mw: 2700~3300)もしくはPEG #6000(Mw: 7400~10200)を固体媒として用

い、有機溶媒法¹⁴⁾により調製した。エタノール10mLにPEG #3000あるいはPEG #6000を1g加えて加熱(60℃)溶解して40℃に冷却後、あらかじめRFP 0.33gをエタノール50mLに溶解させた溶液に混合し、塩化メチレン10mLを加え超音波処理により、RFPを完全に溶解させた。得られたRFP溶液を、ロータリーエバポレーターを用いて約40℃で溶媒除去した後、48時間室温暗所で乾燥させた。残渣を分取粉碎して200号ふるいで篩過した後、74μm以下のものを回収し、それぞれRFPの固体分散体、SD30およびSD60とした。なお、これらの固体分散体40mgは10mgのRFPを含有する。

3. RFP 坐剤の調製

RFP坐剤の調製はすべて溶融法にて行った。本研究で検討した坐薬の処方一覧をTable 1に示す。RFP粉末10mgを約40℃で加温溶融したWitepsol H-15、H-32もしくはS-55(0.68g, 0.7mL)に均一に分散させ、ラット用坐薬を形成するために内径6mmのポリプロピレン製の市販ストローに流し込んで固化成型し、それぞれの製剤を処方A、処方Bおよび処方Cとした。なお、処方Aを現行の院内製剤に匹敵するものとして、本研究における基準製剤とした。また、PEG #3000あるいはPEG #6000で作成したRFPの固体分散体(それぞれSD30, SD60)40mgを、約40℃で加温溶融したWitepsol H-32(0.68g, 0.7mL)に均一に分散させ、内径6mmのポリプロピレン製ストローに流し込んで固化成型し、それぞれ処方Dおよび処方Eとした。さらに、溶融したWitepsol H-32に固体分散体(SD30)40mgおよび吸収促進剤としてDCA, UDCAあるいはGPを20mg添加して固化成型し、それぞれ処方F, 処方G, 処方Hとした。調製した各坐剤は、実験まで4℃で暗所保存した。また、Table 1に示した各坐剤は一個当たり10mgのRFPを含有し、*in vivo*での投与量は10mg/ratとした。溶出試験用カプセル製剤は、RFP粉末10mg、固体分散体(SD30もしくはSD60)40mgをゼロ号カプセルに封入して調製した。経口投与製剤は、蒸留水0.5mLにRFP粉末10mgを懸濁して調製した。

Table 1. Rifampicin Suppository Formulation Tested.

Formulation	Witepsol (0.68 g)	PEG (30 mg)	RFP (mg)	Morph of RFP	Absorption enhancer (mg)			Mark
					DCA	UDCA	GP	
A ^{a)}	H-15	-	10	PD ^{b)}	-	-	-	H15/PD
B	H-32	-	10	PD ^{b)}	-	-	-	H32/PD
C	S-55	-	10	PD ^{b)}	-	-	-	S55/PD
D	H-32	#3000	10	SD30 ^{c)}	-	-	-	H32/SD30
E	H-32	#6000	10	SD60 ^{c)}	-	-	-	H32/SD60
F	H-32	#3000	10	SD30 ^{c)}	20	-	-	H32/SD30/DCA
G	H-32	#3000	10	SD30 ^{c)}	-	20	-	H32/SD30/UDCA
H	H-32	#3000	10	SD30 ^{c)}	-	-	20	H32/SD30/GP

a) Standard suppository b) 10 mg of RFP powder. c) Solid dispersion prepared by PEG #3000 (SD30) or #6000 (SD60) containing 10 mg RFP. Each suppository contains 10 mg of RFP.

4. *In vitro* 溶出試験

坐剤からのRFPの溶出試験は、富山産業(株)製溶出試験器NTR-6100APを用いて、回転バスケット法で行った。Witepsolの溶出液中への分散の防止や坐薬の物理的破損を回避する目的として、半透膜(チューブ状、サイズ、18/32三光純薬(株))に試験製剤およびpH7.4リン酸緩衝液5 mLを入れ密封したものをバスケット中に入れた。また、RFPの固体分散体あるいは原末の溶質試験では、それぞれを0号カプセルに充填し、坐薬と同様な方法で溶出試験を行った。溶出液はpH7.4リン酸緩衝液を使用し、液量は1000mL、温度 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、回転数100 rpm、試験時間は12時間とした。各製剤の溶出試験は1ロット($n=6$)で行い、サンプルは試験開始後15、30分および1、2、3、4、5、6、7、8、10、12時間後に溶出相より3 mLを採取し、同温度に保ったpH7.4リン酸緩衝液の同容量を溶出相に補充した。試料液中の340 nmにおける吸光度から、RFPの溶出量を求めた。

5. *In vivo* ラット吸収実験

坐剤の直腸投与は、SD系雄性ラット(体重300-350g)を24時間絶食した後、エーテル麻酔下で坐剤を肛門より挿入し、肛門出口を外科用アロンアルファAで接着し坐剤の漏出を防いだ。投与後1、2、4、6、8、10、12、24時間に非拘束下、頸静脈よりヘパリン添加注射器にて採血(約0.25mL)を行い、ただちに14,000rpmで3分間遠心分離して血漿を得た。経口製剤の投与は、SD系雄性ラット(体重300-350g)を24時間絶食した後、エーテル麻酔下でゾンデを用いて行った。投与後1、2、4、6、8、10、12、24時間に非拘束下頸静脈より採血(約0.25 mL)を行い、ただちに14,000rpmで3分間遠心分離して血漿を得た。血漿は血漿中RFP濃度を測定するまで -20°C で冷凍保存した。

6. X線結晶構造回折

RFPの固体分散体、SD30およびSD60の結晶構造回折は理学電気(株)製X線回折装置RINT2500VHFを用いて行った。X線原にCu/K- α_1 (40kV, 50mA)を使用し、試料をガラスプレートに圧着させた後、 $2\theta/\theta$ 軸を走査軸として $3 \sim 50^\circ$ の範囲を連続走査した。

7. 血漿中RFP濃度の測定

血漿100 μL に内部標準物質として2 μg のflufenamic acidを含む2%ZnSO₄/50%メタノール溶液150 μL を添加して15秒間混和後、14,000rpmで3分間遠心分離し、上清を分取した。得られた上清に、ジエチルエーテル1 mLを添加後、15秒間混和攪拌した。その後14,000rpmで3分間遠心分離し、 -80°C で水層を凍結させて有機層を分取した。分取した有機層を、 50°C で蒸発乾固した後、

HPLC移動相200 μL で再溶解し、その100 μL をHPLCに注入した。定量分析に使用したHPLCシステムの条件は、以下の通りである。分離カラムはChemcosorb 7 C 8 (ケムコ(株)、粒子径7 μm , 25cm $\times$ 4.6mm I.D.)を用い、検出器およびポンプはSPD-10AおよびLC-10AS(株島津製作所)を使用した。移動相としてCH₃CN:リン酸緩衝液(pH7.4)(50:50, v/v)を用い、移動相の流速は1.0 mL/minとした。カラム温度は $50 \pm 0.1^\circ\text{C}$ とした。RFPおよび内部標準物質の検出は波長340nmで行い、得られたクロマトグラムからRFPの内部標準物質に対するピーク面積比を求めた。RFPおよび内部標準物質の分離は良好で、保持時間はそれぞれ6.0分および3.8分であった。クロマトグラム上には、血漿成分に由来する妨害ピークは認められなかった。検量線は0.5~20 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲において相関係数0.999以上の良好な直線性を示した。本法による検出感度は0.25 $\mu\text{g/mL}$ であった。

8. 薬物速度論的解析

In vitro 溶出試験における12時間までのRFPの溶出量—時間曲線から、山岡らのモーメント解析法¹⁵⁾を用いて平均溶出量(AD)、平均溶出時間(MDT)および平均溶出時間の分散(VDT)を算出した。また、*In vivo* 投与実験における血漿中RFP薬物濃度—時間曲線から、ノンコンパートメント薬物動態解析用ソフトウェア、WinHARMONY¹⁶⁾を用いて、無限大時間まで外挿した血漿中濃度—時間曲線下面積(AUC_{0- ∞})、平均血中滞留時間(MRT)および生体内半減期($T_{1/2}$)を算出した。

9. 統計処理

すべての値は平均 $\pm$ 標準誤差(S.E.)により示した。*In vitro* 溶出試験および坐剤の*in vivo* 直腸投与実験における各パラメータの有意差検定は、一元配置分散分析(one-factor ANOVA)および多重比較検定(Fisher's PLSD)を用いて行い、いずれも危険率5%以下で有意差ありと判定した。なお、*In vitro* 溶出試験ではTable 1に示した処方(A, B, C, D, E, F, G, H)の溶出結果に対してANOVAを行い、多重比較した結果をTable 2, 4, 5, 7に分割して示した。また、*in vivo* 直腸投与実験ではTable 1に示した処方(A, B, D, E, F, G, H)および経口投与により得られた体内動態パラメータに対してANOVAを行い、多重比較した結果をTable 3, 6, 8に分割して示した。

結 果

1. PEGによるRFP固体分散体の結晶構造

PEGを固体媒として作成したRFP固体分散体のX線

Table 2. Dissolution Parameters Obtained by Moment Analysis from Conventional Suppositories using Different Kinds of Witepsol.

Formulation ^{a)}	Mark	AD ^{b)} (mg)	MDT ^{c)} (h)	VDT ^{d)} (h ²)	Relative % of AD ^{e)}
A	H15/PD	3.8±0.4	4.5±0.1	9.9±0.2	100.0
B	H32/PD	6.2±0.1**	5.3±0.1	12.2±0.4	162.1
C	S55/PD	2.1±0.1*	4.9±0.1	13.9±0.4	55.6

a) Refer to Table 1. b) Cumulative amount of RFP over 12 h. c) Mean dissolution time. d) Variance of dissolution time. e) Relative percentage of AD was obtained by comparison with the mean of formulation A. Each value represents the mean±S.E. of 6 experiments. **), p<0.05 against the formulation A; *), p<0.01 against the formulation A.

Table 3. Pharmacokinetic Parameters of RFP after Rectal Administration of Conventional Suppositories by Witepsol (H-15, H-32).

Formulation ^{a)}	Mark	C _{max} (μg/mL)	T _{1/2} (h)	AUC _{0-∞} (μg h/mL)	MRT (h ²)	Relative % of AUC ^{b)}
A	H15/PD	4.7±1.9	4.2±0.5	50.8±22.8	9.6±0.6	100.0
B	H32/PD	6.4±1.2*	7.2±2.7**	85.6±26.7**	14.2±4.1**	168.6

a) Refer to Table 1. b) Relative percentage of AUC was obtained by comparison with that of the mean of formulation A. Each value represents the mean±S.E. of 4 rats. *), p<0.05 against the formulation A; **), p<0.01 against the formulation A.

Table 4. Dissolution Parameters Obtained by Moment Analysis for Dissolution Data of RFP Solid Dispersion.

Formulation ^{a)}	Mark	AD (mg)	MDT (h)	VDT (h ²)	Relative % of AD ^{c)}
Control	PD ^{b)}	4.4±0.5	5.2±0.3	11.5±0.7	100.0
D	H32/SD30	6.6±0.4**	4.8±0.3	10.8±0.6	150.1
E	H32/SD60	6.1±0.6**	4.9±0.3	10.9±0.7	138.7

a) Refer to Table 1. b) 10 mg of RFP powder. c) Relative percentage of AD was obtained by comparison with the mean of control. Each value represents the mean±S.E. of 6 experiments. **), p<0.01 against the control.

Table 5. Dissolution Parameters Obtained by Moment Analysis for Dissolution Data of RFP from Witepsol H-32 Suppository Including Solid Dispersion.

Formulation ^{a)}	Mark	AD (mg)	MDT (h)	VDT (h ²)	Relative % of AD ^{b)}
B	H32/PD	6.2±0.1	5.3±0.3	12.2±0.4	100.0
D	H32/SD30	7.7±0.4	3.7±0.0	7.9±0.2	123.9
E	H32/SD60	6.7±0.1	4.3±0.2	9.6±0.6	108.2

a) Refer to Table 1. b) Relative percentage of AD was obtained by comparison with the mean of formulation B. Each value represents the mean±S.E. of 6 experiments.

Table 6. Pharmacokinetic Parameters of RFP after Rectal Administration of Suppositories Including Solid Dispersion by Witepsol (H-15, H-32).

Formulation ^{a)}	Mark	C _{max} (μg/mL)	T _{1/2} (h)	AUC _{0-∞} (μg h/mL)	MRT (h ²)	Relative % of AUC ^{b)}
B	H-32/PD	6.4±1.2	7.2±2.7	85.6±26.7	14.2±4.1	100.0
D	H-32/SD30	9.5±0.7*	4.8±1.8**	142.5±17.4*	11.6±2.7	166.5
E	H-32/SD60	3.8±0.9	8.1±2.5	72.3±10.4	14.3±2.3	84.5

a) Refer to Table 1. b) Relative percentage of AUC was obtained by comparison with that of the mean of formulation A. Each value represents the mean±S.E. of 4 rats. *), p<0.05 against the formulation B; **), p<0.05 against the formulation B.

Table 7. Dissolution Parameters Obtained by Moment Analysis for Dissolution Data of RFP from Witepsol H-32 Suppository Including Solid Dispersion and Absorption Enhancer.

Formulation ^{a)}	Mark	AD (mg)	MDT (h)	VDT (h ²)	Relative % of AD ^{b)}
D	H32/SD30	7.7±0.4	3.7±0.0	7.9±0.2	100.0
F	H32/SD30/DCA	7.2±0.2	3.7±0.1	8.1±0.2	101.4
G	H32/SD30/UDCA	7.4±0.5	4.5±0.3	9.2±0.5	104.2
H	H32/SD30/GP	9.1±1.3*	3.5±0.1	8.1±0.4	128.2

a) Refer to Table 1. b) Relative percentage of AD was obtained by comparison with the mean of formulation D. Each value represents the mean±S.E. of 6 experiments. *), p<0.05 against the formulation D.

Table 8. Pharmacokinetic Parameters of RFP after Rectal Administration of Suppositories Including Solid Dispersion by Witepsol (H-15, H-32).

Formulation ^{a)}	Mark	C _{max} (μg/mL)	T _{1/2} (h)	AUC _{0-∞} (μg h/mL)	MRT (h ²)	Relative % of AUC ^{c)}
Control	PD oral ^{b)}	26.3±0.6**	4.1±0.4	274.8±12.7**	8.3±0.2	540.9
A	H-15/PD	4.7±1.9	4.2±0.5	50.8±22.8	9.6±0.6	100.0
D	H-32/SD30	9.5±0.7**	4.8±1.8	142.5±17.4**	11.6±2.7*	280.5
F	H-32/SD30/DCA	15.5±1.6**	4.0±0.4	170.4±13.9**	8.21±0.1	335.4
G	H-32/SD30/UDCA	16.3±2.9**	6.3±2.1*	211.2±3.4**	11.8±2.7**	415.7
H	H-32/SD30/GP	17.3±2.7**	5.1±0.4	223.6±20.7**	9.5±0.5	440.2

a) Refer to Table 1. b) 10 mg of RFP was administered orally. c) Relative percentage of AUC was obtained by comparison with that of the mean of formulation A. Each value represents the mean±S.E. of 4 rats. *), p<0.05, **), p<0.01 against the formulation A.

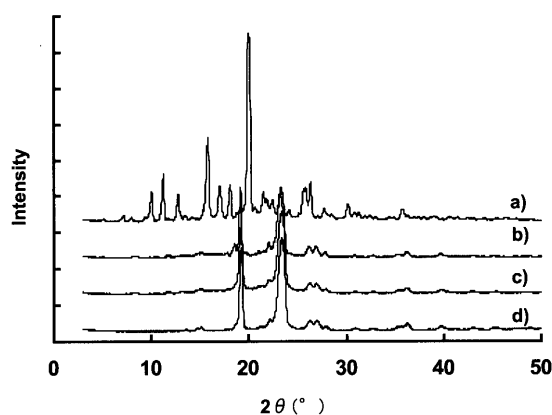
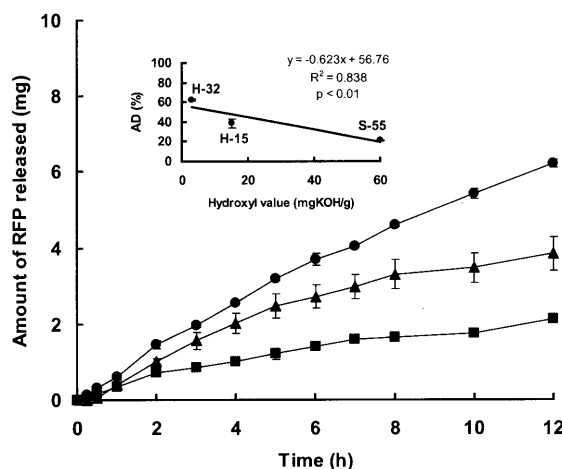


Fig. 1. X-ray Structure Diffraction for Solid Dispersion of RFP using Polyethylene Glycol.

a) RFP powder, b) solid dispersion of RFP using PEG# 3000, c) solid dispersion of RFP using PEG# 6000, d) PEG# 6000.

構造回折による走査結果を Fig. 1 に示す。RFP 原本について走査した場合、10～30°の範囲にかけて強度の強いピークが確認された (Fig. 1 a)。一方、PEG# 3000あるいは PEG# 6000 で作成した固体分散体では、RFP に由来するピークが消失し (Fig. 1 b, c)、おもに PEG に由来するピーク (Fig. 1 d) のみが認められた。以上の結果から、RFP は PEG を固体分散媒として固体分散体化することにより、その結晶構造がアモルファス (非結晶) 状態になっていることが確認された。

Fig. 2. *In Vitro* Release Profiles of RFP from Suppositories using Different Kinds of Witepsol as Suppository Base.

Key: ▲, H-15 PD(A); ●, H-32/PD(B); ■, S-55/PD(C). Corresponding formulation is listed in Table 1. Inset figure shows a relationship between hydroxyl value and AD%. Each point represents the mean±S.E. of 6 experiments.

2. 坐剤基剤の選択

Witepsol H-15, H-32 および S-55 の 3 種類の坐剤基剤からの RFP の溶出挙動を Fig. 2 に示す。Table 2 には、モーメント解析法により求めた溶解パラメータを示す。

坐剤基剤として Witepsol H-32を使用した処方 B の12時間までの RFP の溶出量(AD)は $6.2 \pm 0.1 \text{ mg}$ であり, 処方 A の基準製剤に対して1.6倍の有意な増加($p < 0.01$)を示した. 逆に, 坐剤基剤として S-55を使用した場合には溶出量は基準製剤に較べて低下し, 試験開始後12時間までの累積溶出量は, $S-55 < H-15 < H-32$ の序列であった. さらに, 各坐剤の水酸基価(文献値)¹⁷⁾と12時間における累積溶出量の百分率(AD%)との関係を調べたところ, 両者の間に有意な負の相関性($Y = -0.623X + 56.76$, $R^2 = 0.838$, $p < 0.01$)が認められた. 次に, 処方 A (基準製剤)および処方 B の製剤をラットの直腸内に投与したときの血漿中 RFP 濃度—時間推移を Fig. 3 に示す. また, 得られた RFP の体内動態パラメータを Table 3 に示す. 基準製剤での最高血漿中 RFP 濃度, $C_{\max}$ は $4.7 \pm 1.9 \mu\text{g/mL}$ であったのに対し, Witepsol H-32を基剤とした処方 B のそれは $6.4 \pm 1.2 \mu\text{g/mL}$ となり基準製剤と比較して1.4倍に増加した. $C_{\max}$ 到達後, 血漿中 RFP 濃度は両処方とも緩やかに下降し, 24時間ではほぼ血漿中から消失した. 処方 A および処方 B における RFP の AUC_{0-24} は, それぞれ $50.8 \pm 22.8 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ および $85.6 \pm 26.7 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ であり, 処方 B の AUC_{0-24} は基準製剤に対して1.7倍の増加を示した. 以上の結果, RFP 坐剤の基剤には *in vitro* 溶出性が優れ, 現行の Witepsol H-15を選んだ場合よりも AUC_{0-24} が高くなる Witepsol H-32を選択した.

3. 固体分散体における固体媒の効果

RFP 粉末(PD), SD30およびSD60の各々を封入したゼラチンカプセルからの RFP 溶出挙動を Fig. 4 に, また, そこから得られた溶解パラメータを Table 4 に示す. RFP の溶出性は $PD < SD60 < SD30$ の序列で増大した. SD

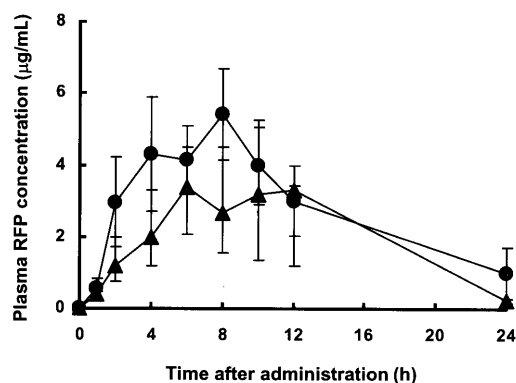


Fig. 3. Plasma RFP Concentration vs. Time Profiles after Rectal Administration of Suppositories using Different Kinds of Witepsol as Suppository Base.
Key: $\blacktriangle$, H-15/PD(A); $\bullet$, H-32/PD(B).
Corresponding formulation is listed in Table 1. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 4 rats.

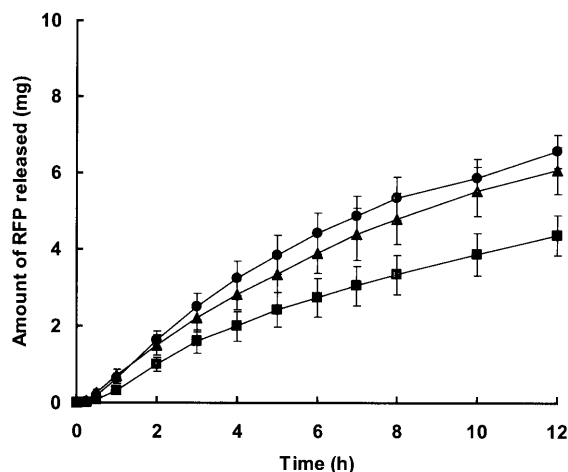


Fig. 4. *In Vitro* Release Profiles of RFP from Solid Dispersion.
PEG solid dispersion of RFP (SD) or its powder (PD) was encapsulated in #0 capsules.
Key: $\blacksquare$, PD; $\bullet$, SD 30; $\blacktriangle$, SD 60; . Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 6 experiments.

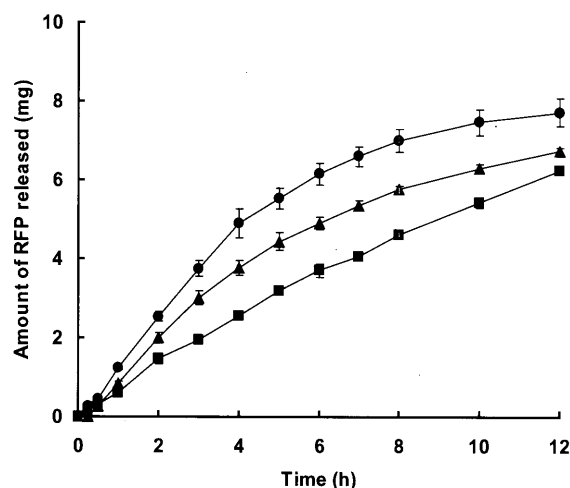


Fig. 5. *In Vitro* Release Profiles of RFP from Witepsol H-32 Suppositories Containing SD 30, SD 60, or RFP Powder.
Key: $\blacksquare$, H-32/PD(B); $\bullet$, H-32/SD 30(D); $\blacktriangle$, H-32/SD 60(E). Corresponding formulation is listed in Table 1. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 6 experiments.

30およびSD60のADはそれぞれ $6.6 \pm 0.4 \text{ mg}$ および $6.1 \pm 0.6 \text{ mg}$ であり, PDのADに対して, それぞれ1.5倍および約1.4倍という有意な増加($p < 0.01$)を示した. この結果から, RFPをPEG#3000あるいはPEG#6000を用いて固体分散化することにより, pH7.4での溶出相への溶出性が上昇することが認められた. 次に, Witepsol H-32を基剤として用い, SD30, SD60およびRFP粉末を含有する坐剤, すなわち処方 B, 処方 D および処方 E について, 各坐剤からの RFP 溶出挙動を Fig. 5 に, 溶解

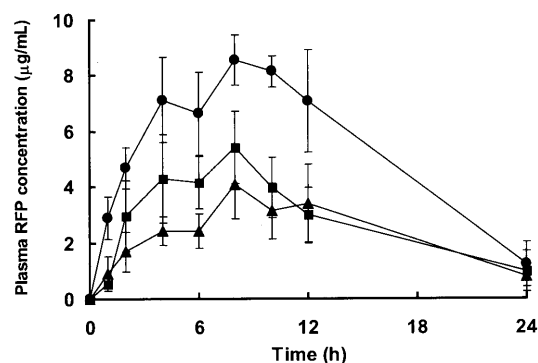


Fig. 6. Plasma RFP Concentration vs. Time Profiles after Rectal Administration of Witepsol H-32 Suppositories Containing Solid Dispersion. Key: ■, H 32/PD(B); ●, H 32/SD 30(D); ▲, H 32/SD 60(E). Corresponding formulation is listed in Table 1. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 6 rats.

パラメータを Table 5 に示す。処方 B, D および E の AD はそれぞれ 6.2 ± 0.1 , 7.7 ± 0.4 および 6.7 ± 0.1 mg であり, RFP の溶出性は処方 B < 処方 E < 処方 D の序列で増大した。以上の結果から, PEG を用いて RFP を固体分散化し, 溶出性の良い基剤と組み合わせることにより, RFP の溶出性が向上することが明らかとなった。

さらに, 処方 B, D および E をラットの直腸に投与したときの血漿中 RFP 濃度—時間推移を Fig. 6 に示す。また, それらの体内動態パラメータを Table 6 に示す。PEG # 3000 による RFP 固体分散体を含む処方 D の C_{max} は $9.5 \pm 0.7 \mu\text{g/mL}$ となり, 固体分散体を含まない処方 B のそれと比較して 1.6 倍に増加した。しかし, 処方 E においては, C_{max} は $3.8 \pm 0.9 \mu\text{g/mL}$ となり, 処方 B のそれと比べて逆に低い値を示した。いずれも C_{max} 到達後, 血漿中薬物濃度は緩やかに下降し, 24 時間でほぼ血漿中から消失した。処方 B, 処方 D および処方 E の $AUC_{0-\infty}$ は, それぞれ 85.6 ± 26.7 , 142.5 ± 17.4 および $72.3 \pm 10.4 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ であり, 処方 D および処方 E の $AUC_{0-\infty}$ は処方 B と比較してそれぞれ 1.7 倍および 0.9 倍であった。すなわち, PEG # 3000 を固体媒として RFP を固体分散体化し, それを坐剤基剤(Witepsol H-32)に含ませることによる直腸吸収改善における有用性が示された。

4. 胆汁酸系吸収促進剤添加の影響

PEG # 3000 の RFP 固体分散体を含む Witepsol H-32 で製した処方 D の $AUC_{0-\infty}$ をさらに向上させる目的として, DCA, UDCA および GP なる胆汁酸成分を吸収促進剤として添加し, それぞれ処方 F, G, H として検討した。各坐剤からの RFP の溶出挙動を Fig. 7 に示す。Table 7 には, *in vitro* 溶出における溶解パラメータを示

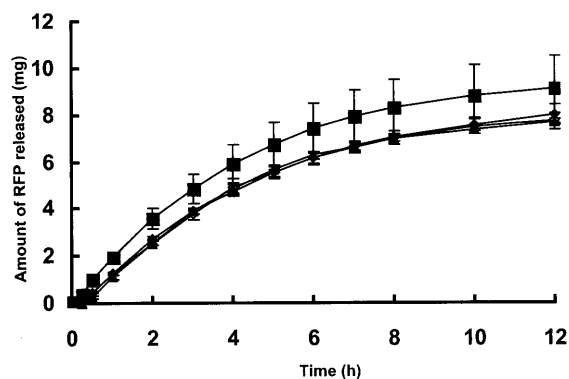


Fig. 7. *In Vitro* Release Profiles of RFP from Witepsol H-32 Suppositories Containing SD 30, SD 60 or RFP Powder with or without Absorption Enhancer. Key: ◇, H 32/SD 30(D); ◆, H 32/SD 30/DCA(F); ▲, H 32/SD 30/UDCA(G); ■, H 32/SD 30/GP(H). Corresponding formulation is listed in Table 1. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 4 experiments.

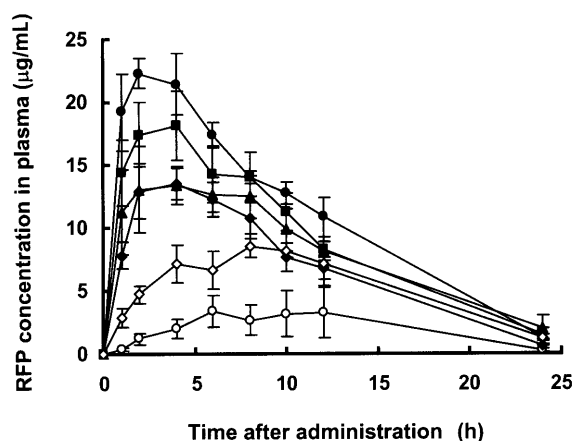


Fig. 8. Plasma RFP Concentration vs. Time Profiles after Rectal Administration of Witepsol H-32 Suppositories Containing Solid Dispersion of RFP with Absorption Enhancers. Key: ●, 10 mg of oral administration; ○, H-15/PD(A); ◇, H-32/SD 30(D); ◆, H-32/SD 30/DCA(F); ▲, H-32/SD 30/UDCA(G); ■, H-32/SD 30/GP(H). Corresponding formulation is listed in Table 1. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 4 to 6 rats.

す。吸収促進剤を加えない処方 D に較べて, 処方 F, G, H の AD はそれぞれ 7.2 ± 0.2 , 7.4 ± 0.5 および 9.1 ± 1.3 mg となり, 特に GP を添加した場合には, AD% が約 30% 増加した。さらに, 処方 A (基準製剤), 処方 D (吸収促進剤非添加) および処方 F, G, H (吸収促進剤添加) をラットの直腸に投与した際の血漿中 RFP 濃度—時間推移を Fig. 8 に示す。ここでは同時に同量の RFP を経口投与したときの血漿中 RFP 濃度—時間推移を示す。Table 8 にはこれら製剤投与時の体内動態パラメータを

示す。処方 A の $C_{\max}$ および AUC は $4.7 \pm 1.9 \mu\text{g/mL}$ および $50.8 \pm 22.8 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ であったが、RFP を固体分散化した処方 D のそれらは $9.5 \pm 0.7 \mu\text{g/mL}$ および $142.5 \pm 17.4 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ と有意に上昇した。吸収促進剤 20mg を処方 D に添加した処方 F, G, H では $C_{\max}$ がさらに増加し、DCA, UDCA および GP を添加した場合の AUC の増加率は基準製剤に比べてそれぞれ 3.4, 4.2, 4.4 倍となった。以上の結果から、RFP 固体分散体を含む坐剤に吸収促進剤として胆汁酸系吸収促進剤を添加することで、固体分散体のみを使用する場合よりも、RFP の直腸投与後のバイオアベイラビリティがさらに向上することが判明した。また、Table 8 に示すように、胆汁酸系吸収促進剤添加製剤の AUC は、同量の RFP を経口投与した場合の AUC に対して、約 6 割～8 割を占めた。

考 察

現在、院内製剤として使用されている RFP 坐剤は、RFP 内服用カプセルの内容物を Witepsol H-15 に混和して調製した製剤であり¹³⁾、比較的高齢の嚥下困難となった結核病患者の治療に使用されている。しかし、この RFP 坐剤による血漿中 RFP 濃度は、経口投与時に比べて極めて低いので、治療効果を向上させるべく、坐剤処方の改良が切望されている。以上のような背景を踏まえ、臨床使用可能な改良型 RFP 坐剤の設計を行い、*in vitro* およびラット *in vivo* で検討を行った。製剤設計においては院内製剤を模倣するため、リファジン内服用カプセルを用いて坐薬を調製した。この内服用カプセルには界面活性添加剤としてラウリル硫酸ナトリウムが含まれているが、これによる *in vivo* 直腸吸収への影響はそれぞれの対象に対する比較試験において相殺されているものと考えられる。さらに、臨床での RFP 坐薬の投与は 24 時間間隔で行われるので、*in vivo* での採血は 24 時間までとしたが、 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ に対する $AUC_{0 \rightarrow 24}$ の比はいずれも 0.95 以上であり、投与後 24 時間のデータは十分に消失相にあると判断した。

一般に、坐剤を成型するための基剤は薬物の溶出性をコントロールする第一の要因であると考えられる。そこでまず、現行の RFP 坐剤に使用されている Witepsol H-15 以外に溶出性の良い坐剤基剤を探索した。Fig. 2 で示したように病院内で使用可能な坐剤基剤 3 種類について *in vitro* 溶出試験を行ったところ、Witepsol H-32 で製した坐剤からの RFP の溶出性が最も優れていた。この原因として、各々の基剤の物理学的性質における相違が考えられた。これらの相違点を文献より精査したところ、顕著な相違点は水酸基価にあり、S-55, H-15, および H-32 の水酸基価は、それぞれ 50～65, ～15, および～

3 であった¹⁷⁾。また、これら水酸基価と AD% との間には有意な負の相関性が存在することが明らかとなった (Fig. 2)。基剤中に多量に含まれる遊離水酸基は負の電荷を帯びており、抗生物質、生化学的製剤および酵素などの坐薬を製剤する際には遊離水酸基が触媒的に反応して加水分解を起こし、力価の減少をもたらすことが知られている¹⁷⁾。さらに RFP の脂溶性は比較的高く、遊離水酸基が多くなるほど基剤中での RFP の溶解度が減少する可能性がある。したがって、水酸基価の値が小さい Witepsol を選択する方が、それらの RFP に対する物理化学的相互作用が少なくなるものと考えられた。今回の検討では Witepsol H-32 の水酸基価が検討した基剤のうち最も小さかったので、RFP との物理的・化学的相互作用が少なくなり、RFP の *in vitro* 溶出性や、*in vivo* 直腸吸収動態が Witepsol H-15 を使用した場合よりも改善されたものと考えられた (Fig. 2, 3)。

一方、固体分散法は難吸収性薬物の消化管吸収を改善する製剤手法として、さまざまな薬物の経口内服薬への応用が報告されている¹⁸⁻²⁰⁾。固体分散体が薬物の吸収性を改善する機構についてはさまざまな説があるが、薬物の結晶質から非結晶質への転移 (アモルファス化) とアモルファス状態の保持が有力な要因とされている²¹⁻²³⁾。また、本研究で固体媒として使用した PEG は、アモルファス化した薬物が水中で結晶へと転移するのを抑制するのに有用とされており^{24, 25)}、これを RFP の固体分散媒として応用することによりアモルファス化された RFP の固体分散体を作成することができた (Fig. 1)。Fig. 4 で示したように、固体分散体からの RFP の溶出性は RFP 粉末からの溶出性よりも優れており、PEG による固体分散化により RFP の溶解性が改善されているものと考えられた。また、Fig. 5 で示したように、RFP の固体分散体を含む Witepsol H-32 坐剤からの RFP の溶出性は単に RFP 粉末を混合した Witepsol H-32 坐剤からの溶出性よりも優れており、坐剤基剤に含有された状態においても固体分散体からの RFP の溶出性が改善されているものと考えられた。さらに、Fig. 6 で示したように、PEG #3000 で作成した Witepsol H-32 固体分散体坐剤からの血漿中 RFP 濃度が、従来の院内製剤である Witepsol H-15 を基剤とする RFP 坐剤よりも改善され、*in vivo* においても固体分散体からの RFP の溶出性改善効果が確認された。しかし、PEG #6000 で製した固体分散体からの *in vitro* 溶出性は、PEG #3000 で製したそれよりも悪くなり (Fig. 5)、*in vivo* 直腸吸収においても RFP の血漿中濃度が固体分散体を含む Witepsol H-32 坐剤よりも低くなった (Fig. 6)。このことは、PEG 分子量を高くすることで、逆に溶解性を低下させているものと考えられた。したがって、RFP の固体分散体化には至適な溶出性を与える PEG の分子量が存在するものと考えら

れるが、この点については今後の検討課題である。

水酸基価の低い坐剤基剤、Witepsol H-32を選択し、PEG#3000によるRFPの固体分散体を含有させることで、直腸投与後のRFPの $AUC_{0-\infty}$ が、従来の院内製剤に比べて2.8倍増加した(Fig. 8, Table 8)。しかし、経口投与時と比較すると、直腸投与後の血漿中RFP濃度の立ち上がりが不十分と考えられた。そこで、固体分散体含有坐剤に胆汁酸系吸収促進剤を添加することによる、直腸投与直後の吸収改善を試みた。まず、吸収促進剤を含むあるいは含まない固体分散体含有坐剤をWitepsol H-32を用いて作成し、それらからのRFPの*in vitro*放出性を検討した。Fig. 7に示したように、DCAあるいはUDCAを加えたときのRFP放出性はそれらを添加しない場合とほとんど変わらなかった。一方、GPを添加することによりRFPの放出性が約30%程度上昇した。*In vitro*放出試験ではセルロース半透膜に対する透過性を見ているので、実際の生体膜とは異なっており、DCAあるいはUDCAにはRFPのセルロース半透膜に対する透過性を亢進させる効果がないものと考えられた。さらに、GPには複数の胆汁酸成分が含まれており、GP中にはRFPのセルロース半透膜に対する透過性を亢進させる成分が存在するものと考えられた。したがって、この*In vitro*放出試験の結果から、GPが最も*in vivo*におけるRFPの直腸吸収改善効果をもたらすものと推察された。Fig. 8で示したように、胆汁酸系吸収促進剤を含む固体分散体含有坐薬(処方F, G, H)投与後の血漿中RFP濃度はそれらを含まない固体分散体含有坐薬(処方D)に比べAUCが1.2~1.6倍に上昇し、特に投与後6時間までの吸収相での血漿中濃度の増加が顕著であった。また、基準製剤(処方A)のAUCと比較すると胆汁酸系吸収促進剤を添加した坐剤のAUCは3.3~4.4倍に増加し、特にGPを含む固体分散体含有坐剤(処方H)のAUCは同量のRFPを経口投与した場合のAUCの約80%にまで到達した。このような胆汁酸系吸収促進剤によるRFPの吸収促進効果は、それが親水層と疎水層が交互に繰り返された二重層を形成することにより、RFPを層間へ包接することで直腸粘膜への融合性を高め、直腸吸収を改善しているものと考えられた^{26, 27)}。以上の結果、胆汁酸系吸収促進剤の添加は投与後初期におけるRFPの吸収改善に有効であり、胆汁酸系吸収促進剤や固体分散体の配合比の組み合わせを変えることで、RFP坐剤投時の血中濃度推移を制御できるものと考えられた。

本研究は、現行の院内製剤であるRFP坐剤からのRFPの直腸吸収改善を目指した基礎検討であるが、RFPの直腸吸収はRFP自体をPEGにより固体分散体化し、胆汁酸系吸収促進剤を添加することで、顕著に改善されることがラット*in vivo*で明らかとなった。しかし、ヒトにおけるRFPの一日当たりの服薬量、450mgを考慮し

た場合、固体分散体としてその4倍の1800mgを投与することになる。今回の検討では坐薬を形成するためにWitepsolを使用した。この量を含む一個の坐薬を作ることには大きさや強度的な問題から不適切であり、固体分散体として臨床使用を考える場合には、剤形や投与形態を考える必要がある。その解決策の一つとして、レクタルカプセルを用いて固体分散体および吸収促進剤の混合物そのものを投与する形態を現在考慮中である。また、胆汁酸を吸収促進剤として使用したが、直腸粘膜領域における障害性の有無を確認することも今後の課題と考えている。

本研究では、現行の院内製剤であるRFP坐剤の直腸吸収改善を目的として、RFPの固体分散体を含有する坐剤の設計を行い、*in vitro*およびラット*in vivo*で評価した。坐剤基剤にはWitepsol H-32を使用し、PEG#3000でRFPを固体分散体化して坐剤基剤中に含有させることにより、直腸投与後のRFP坐剤のAUCがWitepsol H-15にRFP原末を混合して製した現行の坐剤よりも2.8倍上昇した。さらに胆汁酸系吸収促進剤を加えることで、直腸投与後早期の血漿中RFP濃度上昇が確認され、同用量の経口投与に対する相対的BAを60~80%にまで改善することができた。今後、さらなる検討を加えることにより、ヒトに使用し得るリファンピシン坐剤の設計が可能であり、経口投与に代わる投与形態として、結核病患者の治療成績の向上に寄与できるものと期待される。

引用文献

- 1) S.J. Kim, Current problems of drug-resistant tuberculosis and its control, *Kekkaku*, **77**, 735-740 (2002).
- 2) S. Narayanan, S. Das, R. Garg, L. Hari, V.B. Rao, T.R. Frieden, P.R. Narayanan, Molecular epidemiology of tuberculosis in a rural area of high prevalence in South India: implications for disease control and prevention, *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 4785-8 (2002).
- 3) Y. Sasaki, A study of case findings in pulmonary tuberculosis patients, *Kekkaku*, **77**, 621-625 (2002).
- 4) M. Tsuji, T. Yamashita, Cooperation between public health centers and hospitals in tuberculosis control-how should clinical nurses and public health nurses work together?, *Kekkaku*, **75**, 675-679 (2000).
- 5) T. Kitao, S. Ozawa, K. Kobayashi, Study on the pulmonary tuberculosis in the elderly, *Kekkaku*, **66**, 413-419 (1991).
- 6) N. Maggi, R. Pallanza, P. Sensi, New derivatives of rifamycin SV, *Antimicrobial Agents Chemother.*, **5**, 765-769 (1965).
- 7) P. Sensi, N. Maggi, S. Furesz, G. Maffii, Chemical modifications and biological properties of rifamycins, *Antimicrobial Agents Chemother.*, **6**, 699-714 (1966).
- 8) N. Maggi, C.R. Pasqualucci, R. Ballotta, P. Sensi, Ri-

- fampicin: a new orally active rifamycin, *Chemotherapy*, **11**, 285–292 (1966).
- 9) G. Acocella, Clinical pharmacokinetics of rifampicin, *Clin. Pharmacokinet.*, **3**, 108–127 (1978).
 - 10) S. Furesz, R. Scotti, R. Pallanza, E. Mapelli, Rifampicin: a new rifamycin 3. Absorption, distribution, and elimination in man, *Arzneimittel forschung*, **17**, 534–537 (1967).
 - 11) M.T. Kenny, B. Strates, Metabolism and pharmacokinetics of the antibiotic rifampin, *Drug Metab. Rev.*, **12**, 159–218 (1981).
 - 12) K. Venkatesan, Pharmacokinetic drug interactions with rifampicin, *Clin. Pharmacokinet.*, **22**, 47–65 (1992).
 - 13) R. Suzuki, Y. Nakajima, N. Yagi, H. Kenmotsu, H. Sekikawa, S. Miyazaki, K. Mino, S. Ohwada, F. Kishi, N. Hayashi, M. Takada, Enhancement of rectal absorption of rifampicin by sodium para-aminosalicylate dihydrate in human subjects, *Yakugaku Zasshi*, **114**, 894–900 (1994).
 - 14) S. Prabhu, D.R. Brocks, G.V. Betageri, Enhancement of dissolution of ethopropazine using solid dispersions prepared with phospholipid and/or polyethylene glycol, *Drug dev. Ind. Pharm.*, **27**, 413–418 (2001).
 - 15) 山岡清, 谷川原祐介, “マイコンによる薬物速度論入門”, 南江堂, 東京, 1983, pp.113–40.
 - 16) Y. Yoshikawa, K. Kato, H. Sone, K. Takada, Development and evaluation of noncompartmental Pharmacokinetic analysis program “WinHARMONY” using Visual BASIC language having a function of an automatic recognition of terminal elimination phase of plasma drug concentration vs. time profile, *Jpn. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **29**, 475–487 (1998).
 - 17) 江頭誠治監修, “WITEPSOL(第2版)”, ミツバ貿易, 東京, 1985, p.43.
 - 18) H. Sekikawa, J. Fujiwara, T. Naganuma, M. Nakano, T. Arita, Dissolution behaviors and gastrointestinal absorption of phenytoin in phenytoin-polyvinylpyrrolidone coprecipitate, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3033–3039 (1978).
 - 19) I. Sugimoto, K. Sasaki, A. Kuchiki, T. Ishihara, H. Nakagawa, Stability and bioavailability of nifedipine in fine granules, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4479–4488 (1982).
 - 20) N. Ohnishi, T. Yokoyama, T. Umeda, Y. Kiyohara, T. Kuroda, Y. Kita, K. Kuroda, Preparation of sustained-release granules of nifedipine using a solid dispersion system and pharmacokinetic study after oral administration to rabbits, *Yakugaku Zasshi*, **106**, 1131–1136 (1986).
 - 21) O.I. Corrigan, Mechanisms of dissolution of fast release solid dispersions, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **11**, 697–724 (1985).
 - 22) D.Q.M. Craig, Polyethylene glycols and drug release, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **16**, 2501–2526 (1990).
 - 23) T. Yamaguchi, M. Nishimura, R. Okamoto, T. Takeuchi, and K. Yamamoto, Glass formation of 4'-O-(4-methoxyphenyl)acetyltylosin and physicochemical stability of the amorphous solid, *Int. J. Pharm.*, **85**, 87–96 (1992).
 - 24) A. Hasegawa, R. Kawamura, H. Nakagawa, I. Sugimoto, Dissolution mechanism of solid dispersions of nifedipine with enteric coating agents, *Yakugaku Zasshi*, **105**, 586–592 (1985).
 - 25) T. Yamaguchi, M. Nishimura, H. Iguchi, R. Okamoto, T. Takeuchi, K. Yamamoto, Improvement of pharmaceutical properties of 4'-O-(4-methoxyphenyl)acetyltylosin using solid dispersion with carboxymethylcellulose, *Yakuzaigaku*, **53**, 221–228 (1993).
 - 26) K. Kato, Y. Aoki, M. Sugahara, N. Tohnai, K. Sada, M. Miyata, Interpretation of enantioresolution in nordeoxycholic acid channels based on the four-location model, *Chirality*, **15**, 53–59 (2003).
 - 27) D.D. MacNicol, F. Toda, R. Bishop, Comprehensive Supramolecular Chemistry, *J.M. Lehn, Pergamon Press*, **6**, 147 (1996).