カラゲニン足蹠浮腫モデルを用いた 各種ケトプロフェンテープ剤の抗炎症効果比較

松元一明^{*1}, 河野倫也¹, 杉山哲也¹, 坂本靖宜¹, 島田亜由美¹
黒田裕子¹, 寺島朝子^{1,a}, 前澤佳代子^{1,b}, 木津純子¹
慶應義塾大学薬学部実務薬学講座¹

Effects of Ketoprofen Tape Products on Carrageenan Induced Paw Edema

Kazuaki Matsumoto^{*1}, Tomoya Kohno¹, Tetsuya Sugiyama¹, Yasutaka Sakamoto¹, Ayumi Shimada¹,
Yuko Kuroda¹, Tomoko Terajima^{1,a}, Kayoko Maezawa^{1,b} and Junko Kizu¹
Department of Practical Pharmacy, Keio University Faculty of Pharmacy¹

〔 Received July 10, 2014
Accepted September 18, 2014 〕

Differences in the anti-inflammatory effects induced by brand-name and generic ketoprofen tapes have not yet been examined. The aim of the present study was to investigate the anti-inflammatory effects of 9 ketoprofen tapes on rat carrageenan-induced paw edema and also determine the amount of ketoprofen released from these tapes.

The suppression of carrageenan-induced paw edema more than 3 hours after the tapes had been applied was significantly stronger with the 4 ketoprofen tapes tested than with the control. The brand-name product released the highest amount of ketoprofen 3 hours after the tapes had been applied. The amount of ketoprofen released from the brand-name product was higher than that by 4 out of the 8 generic products tested. Furthermore, a correlation was found between anti-inflammatory effects and the amount of ketoprofen released 3 hours after applying the ketoprofen tapes ($r = 0.552$).

Thus, the biological equivalents of generic products should be considered because the anti-inflammatory effects and amount of ketoprofen released differed between the brand-name and generic ketoprofen tapes.

Key words — ketoprofen tape, generic products, carrageenan, anti-inflammatory effect,
amount of ketoprofen released

緒 言

非ステロイド性抗炎症薬 (non-steroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs) は炎症性疼痛治療において幅広く使用されている薬剤である。しかし、NSAIDs を経口剤等で全身適応した場合、消化管障害、腎障害など副作用が問題となる場合がある。¹⁾ そこで、これら全身性の副作用を軽減し、炎症局所に薬物を直接到達させる目的で NSAIDs の経皮吸収剤が開発されてきた。なかでもケトプロフェンテープ剤は腰痛症 (筋・筋膜性腰痛症、

変形性脊椎症、椎間板症、腰椎捻挫)、変形性関節症、肩関節周囲炎、腱・腱鞘炎、腱周囲炎、上腕骨上顆炎 (テニス肘等)、筋肉痛、外傷後の腫脹・疼痛の鎮痛・消炎、関節リウマチにおける関節局所の鎮痛に適応を有しており、臨床の現場で最も汎用されている薬剤の1つである。

近年、医療用医薬品の後発医薬品の使用促進の流れを受け、多くの製薬会社からケトプロフェンテープ剤が販売されている。これら後発医薬品は2003年に「局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドライン」²⁾が、

* 〒105-8512 東京都港区芝公園1-5-30

a 現)山梨大学医学部附属病院薬剤部

b 現)国際医療福祉大学薬学部

2006 年「局所皮膚適用製剤の剤形追加のための生物学的同等性試験ガイドライン」³⁾が示され、生物学的同等性試験が行われるようになってきたが、それ以前に販売開始となった製剤は再評価されていない。さらに、複数の製剤の生物学的同等性を同一条件下で比較した報告はない。

そこで本研究では、薬物の臨床効果と相関性が高いことから抗炎症薬の薬効評価に汎用され、代表的な急性炎症モデルであるラットカラゲニン足蹠浮腫モデルを用いて、各ケトプロフェンテープ剤の抗炎症効果を比較検討した。さらに、「局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドライン」²⁾に従い、各ケトプロフェンテープ剤について残存量試験を行った。

方 法

1. 対象

ケトプロフェンテープ剤は、先発医薬品のモーラス[®]テープ 20 mg (久光製薬(株), 佐賀)を製剤 A として、後発医薬品のケトプロフェンテープ 20 mg「テイコク」(帝國製薬(株), 東京), ケトプロフェンテープ 20 mg「東光」(東光薬品工業(株), 東京), ケトプロフェンテープ 20 mg「日医工」(日医工(株), 富山), タッチロン[®]テープ 20 (救急薬品工業(株), 富山), パテル[®]テープ 20 (株)大石膏盛堂, 佐賀), フレストル[®]テープ 20 (東和薬品(株), 大阪), レイナノン[®]テープ 20 mg (シオノケミカル(株), 東京), ロマール[®]テープ 20 (株)ビオメディクス, 東京)を製剤 B から製剤 I にランダムに振り分けて用いた。製造番号は表 1 に示す。

2. カラゲニン足蹠浮腫による抗炎症作用の比較

4 週齢の Wistar 系雄性ラットを三協ラボサービス(株) (東京) から購入し、1 週間以上の馴化後使用した。ラットカラゲニン足蹠浮腫モデルは Winter ら⁴⁾の方法に準じて作成した。まず、ラットの左後肢足容積を足容積測定装置 (TK-101P, 日本ユニコム(株), 東京)にて測定した。その後、1%カラゲニン (SIGMA-ALDRICH Corporation, St. Louis) 生理食塩液を、左後肢足蹠に 0.1 mL 皮下投与し、直後に、一定の大きさに裁断したケトプ

表 1 本試験で用いたケトプロフェンテープ剤の製造番号

商品名	製造番号
モーラス [®] テープ 20 mg	MC11T
ケトプロフェンテープ 20 mg「テイコク」	7227
ケトプロフェンテープ 20 mg「東光」	B251P
ケトプロフェンテープ 20 mg「日医工」	2T14
タッチロン [®] テープ 20	2Y13
パテル [®] テープ 20	201210
フレストル [®] テープ 20	A037
レイナノン [®] テープ 20 mg	AY01
ロマール [®] テープ 20	2T16

ロフェンテープ剤 (2.5 cm × 2.5 cm) を貼付し、サージカルテープで固定した。カラゲニン投与すなわちケトプロフェンテープ剤貼付 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 時間後に足容積を測定し、次式により浮腫率を算出した。コントロールはカラゲニン投与後、テープ剤を貼付しないものを用いた。コントロール群、製剤 A から製剤 I の各群において、すべて n=6 で実験を行った。

$$\text{浮腫率}(\%) = (\text{各測定時間における足容積} - \text{カラゲニン投与前の足容積}) / \text{カラゲニン投与前の足容積} \times 100$$

さらに、Microsoft Excel 2010 上で、横軸に経過時間、縦軸に浮腫率をプロットして、浮腫率・時間曲線下面積 (AUC_{0.5h}) を台形法により算出した。

3. テープ剤含有ケトプロフェン量の測定方法

テープ剤からケトプロフェンを抽出するために、ケトプロフェンテープ剤を細かく切断し、10 mL のメタノールに入れ、温浴中 (60℃) で 2 時間振とうした。⁵⁾ 1 分間氷冷した後、0.5 μm のフィルターを通し、得られた濾液中のケトプロフェン濃度を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定した。HPLC の条件は、カラム TSK-GEL ODS-80TM (4.6 mm × 210 mm), カラム温度 40℃, UV 波長 254 nm, 流速 1 mL/min, 注入量 20 μL, 移動相メタノール: アセトニトリル: 0.1%酢酸 = 40: 40: 20 で行った。^{5,6)}

4. ケトプロフェンテープ剤からの消失量の算出

ケトプロフェンテープ剤 20 mg (7.0 cm × 10 cm) およびそこから裁断したケトプロフェンテープ剤 (2.5 cm × 2.5 cm) の重さを測定し、ケト

プロフェンテープ剤 (2.5 cm × 2.5 cm) の含有量を次式により求めた。

含有量(mg) = ケトプロフェンテープ剤 (2.5 cm × 2.5 cm) の重さ / ケトプロフェンテープ剤 20 mg (7.0 cm × 10 cm) の重さ × 20 mg
 ケトプロフェンテープ剤 (2.5 cm × 2.5 cm) の含有量として、製剤 A (n = 6) は 1.80 ± 0.03 mg, 製剤 B (n = 6) は 1.84 ± 0.03 mg, 製剤 C (n = 6) は 1.77 ± 0.02 mg, 製剤 D (n = 6) は 1.82 ± 0.04 mg, 製剤 E (n = 6) は 1.82 ± 0.04 mg, 製剤 F (n = 6) は 1.78 ± 0.01 mg, 製剤 G (n = 6) は 1.77 ± 0.02 mg, 製剤 H (n = 6) は 1.77 ± 0.04 mg, 製剤 I (n = 6) は 1.81 ± 0.03 mg であった。

ラットカラゲニン足蹠浮腫モデルにおいて、ケトプロフェンテープ剤貼付 3 時間後に、テープ剤を剥がし、そのテープ剤に残存しているケトプロフェンを前述の方法で抽出し、HPLC で測定した。消失量は含有量と残存量の差により求めた。^{7,8)}

5. 統計解析

各テープ剤のラットカラゲニン足蹠浮腫抑制作用における統計的有意性は Dunnett 法により、テープ剤からの消失量における統計的有意性は Turkey 法により、確認し、 $P < 0.05$ を統計的に有意と判断した。解析ソフトは SPSS software (日本 IBM 株、東京) を用いた。

本研究は慶應義塾動物実験委員会の承認を得ている (承認番号: 11049-(0))。

結 果

1. カラゲニン足蹠浮腫による抗炎症作用の比較

カラゲニンによる足蹠浮腫は 3 時間後にピークに達し、浮腫率 $44.0 \pm 2.3\%$ になった (図 1d)。ケトプロフェンテープ剤貼付 2 時間後まで、コントロール群と比べ、浮腫抑制効果に有意な差は認められなかったが (図 1a, b, c), 製剤 A および製剤 B は貼付 3, 4, 5 時間後に、製剤 C は貼付 3, 5 時間後に、製剤 D は貼付 3 時間後に有意に浮腫抑制効果を示した (図 1d, e, f)。次に、コントロールおよび製剤 A から製剤 I の AUC_{0-5h} を算出し、製剤間における浮腫抑制効果を比較検討した。そ

の結果、コントロール群 ($173.2 \pm 14.6\% \cdot h$) に比べ、製剤 A ($121.9 \pm 21.8\% \cdot h$) および製剤 B ($130.3 \pm 11.6\% \cdot h$) の AUC_{0-5h} は有意に低値を示した (図 2)。一方、製剤 C から製剤 I は、低下傾向は示したが、有意差は認められなかった。

2. ケトプロフェンテープ剤からの消失量の算出

ケトプロフェンテープ剤貼付 3 時間後におけるテープ剤に残存したケトプロフェン量を HPLC を用いて測定した。残存量として、製剤 A は 1.23 ± 0.14 mg, 製剤 B は 1.53 ± 0.20 mg, 製剤 C は 1.34 ± 0.22 mg, 製剤 D は 1.47 ± 0.15 mg, 製剤 E は 1.61 ± 0.10 mg, 製剤 F は 1.55 ± 0.11 mg, 製剤 G は 1.54 ± 0.09 mg, 製剤 H は 1.36 ± 0.13 mg, 製剤 I は 1.58 ± 0.07 mg であった。次に、ケトプロフェンテープ剤貼付 3 時間後におけるテープ剤からのケトプロフェン消失量を含有量から残存量を引くことにより求めた。製剤 A の消失量 (0.57 ± 0.15 mg) は、製剤 E (0.21 ± 0.09 mg), F (0.22 ± 0.11 mg), G (0.24 ± 0.08 mg), I (0.23 ± 0.08 mg) に比べ有意に高値を示した (図 3)。さらに、ケトプロフェンテープ剤貼付 3 時間後におけるケトプロフェン消失量と浮腫抑制効果の相関関係を調べた。図 4 に示すように消失量が多いほど、浮腫率は小さくなっており、相関係数は 0.552 と相関関係が認められた。

考 察

医療費削減を目的として後発医薬品の使用の促進が急速に進められている。しかし、皮膚外用薬の評価は 2003 年のガイドライン²⁾ がでるまで行われておらず、さらに、ケトプロフェンテープ剤において、同一条件下で抗炎症効果を評価した報告はない。我々はラットカラゲニン足蹠浮腫モデルを用いて、ケトプロフェンテープ剤の先発医薬品および後発医薬品、合計 9 製剤の抗炎症効果を比較した。その結果、コントロールに対して、有意に抗炎症効果を示した製剤は 4 製剤であり (図 1), 製剤間で効果に差があることが判明した (図 2)。

大谷らはケトプロフェンテープ剤の先発医薬品と後発医薬品 (3 剤) を用いて、一定時間後のラットにおける累積皮膚透過量並びにヒトにおけるケ

図1 ラットカラゲニン足蹠浮腫に対する各ケトプロフェンテープ剤の0.5 (a), 1 (b), 2 (c), 3 (d), 4 (e), 5 (f) 時間後における抗炎症効果比較 (n=6)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (Dunnett 法).

図2 ラットカラゲニン足蹠浮腫に対する各ケトプロフェンテープ剤の浮腫率・時間曲線下面積 (AUC_{0-5h}) 比較 (n=6)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (Dunnett 法).

図3 各ケトプロフェンテープ剤からの貼付3時間後における消失量比較 (n=6)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (Turkey 法).

トプロフェンのテープ剤への残存率を調査した。その結果、先発医薬品は後発医薬品の3剤中2剤より有意に皮膚透過性に優れ、残存率はすべての後発医薬品より有意に低く、先発医薬品は後発医薬品に比べてテープ剤からの消失量が多いことを示

した。⁶⁾ 我々の結果においても後発医薬品の8剤中4剤は先発医薬品より有意に低い消失量を示した(図3)。従って、先発医薬品並びに後発医薬品では添加物等が異なることから、テープ剤からの消失量に差がでたと考えられる。さらに、

図4 ケトプロフェンテープ剤貼付3時間後における抗炎症効果とテープ剤からの消失量との相関

我々はテープ剤からの消失量と抗炎症効果に相関があることを示した(図4)。谷田らはケトプロフェン含有テープ剤はロキソプロフェンナトリウム含有テープ剤よりラット急性疼痛および慢性炎症いずれのモデルにおいても有意に抑制することを示し、ケトプロフェン含有テープ剤はロキソプロフェンナトリウム含有テープ剤と比較して皮膚透過性に優れており、皮膚を介して適用直下の疾患部位へ薬物が高濃度に移行することにより、強い抗炎症・鎮痛効果を発揮すると考察した。⁹⁾ さらに、ラット摘出皮膚を用いた *in vitro* 試験において、フルルビプロフェンの皮膚透過性はケトプロフェンと同程度であり、インドメタシンより優れていることが報告されており、¹⁰⁾ ラット関節炎モデルに対するこれら3剤の抗炎症効果の違いは製剤間の経皮吸収の違いによるものと推察された。¹⁰⁾ 従って、テープ剤からの消失量と薬理効果は相関すると考えられる。

以上より、ラットカラゲニン足蹠浮腫モデルにおいて、ケトプロフェンテープ剤の先発医薬品および後発医薬品の製剤間で、抗炎症効果に差があり、さらに、テープ剤からの消失量が製剤毎に異なることが確認された。従って、貼付剤の後発医薬品の採用に際しては、貼付剤からの消失量を先発医薬品と比較し、さらに、薬効評価のデータも検討すべきである。

利益相反

開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) Harirforoosh S, Asghar W, Jamali F, Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications, *J Pharm Pharm Sci*, 2013, **16**, 821-847.
- 2) 2003年7月7日, 薬食審査発第0707001号, 局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドラインについて(厚生労働省医薬食品局審査管理課長)
- 3) 2006年11月24日, 薬食審査発第1124001号, 局所皮膚適用製剤の剤形追加のための生物学的同等性試験ガイドラインについて(厚生労働省医薬食品局審査管理課長)
- 4) Winter CA, Risley EA, Nuss GW, Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs, *Proc Soc Exp Biol Med*, 1962, **111**, 544-547.
- 5) Choi YG, Lee JH, Bae IH, Ah YC, Ki HM, Bae JH, Park YH, Lee KC, Lim KM, Titanium dioxide inclusion in backing reduce the photoallergenicity of ketoprofen transdermal patch, *Arch Toxicol*, 2011, **85**, 219-226.
- 6) 大谷道輝, 松元美香, 並木路広, 山村喜一, 杉浦宗敏, 内野克喜, 先発および後発医薬品のケトプロフェン貼付剤の生物学的同等性の評価, *薬剤学*, 2011, **71**, 120-125.
- 7) 川村尚久, 斉藤 隆, 斉藤英男, 奥村 豊, 高橋実, 北原武治, 山内仁史, ジクロフェナクナトリウムテープ15 mg「NP」および30 mg「NP」の製剤特性, *医学と薬学*, 2009, **62**, 717-727.
- 8) Hatanaka T, Inuma M, Sugibayashi K, Morimoto Y, Prediction of skin permeability of drugs. I. Comparison with artificial membrane, *Chem Pharm Bull*, 1990, **38**, 3452-3459.
- 9) 谷田宣文, 櫻田 忍, ケトプロフェン含有テープ剤およびロキソプロフェンナトリウム含有テープ剤の経皮吸収性と抗炎症・鎮痛作用, *薬理と治療*, 2008, **36**, 1123-1129.
- 10) 安永幸弘, 石川初代, 今吉朋憲, 小松弘嗣, ラットアジュバント関節炎に対するフルルビプロフェン含有プラスター剤(ヤクバン®), ケトプロフェン含有プラスター剤およびインドメタシン含有プラスター剤の鎮痛, 抗炎症作用, *薬理と治療*, 2000, **28**, 867-871.