難溶性薬物グリセオフルビンの溶出試験と家兎血中濃度測定

菅原和信,^{a)} 石川 修, 長岡英世, 板垣末広, 豊口禎子
山形大学医学部附属病院薬剤部*

Dissolution Rates and Blood Concentration of Griseofulvin in Rabbits

KAZUNOBU SUGAWARA,^{a)} SHU ISHIKAWA, HIDEYO NAGAOKA,
SUEHIRO ITAGAKI, and TEIKO TOYOGUCHI

Department of Pharmacy, Yamagata University Hospital*

(Received December 16, 1983)

Weight variation test, disintegration test, and dissolution test were made as quality tests for 6 different preparations of griseofulvin. In the dissolution test, water/ethanol (1:2, v/v) mixture and double-layer solution of water/n-octanol (1:1), water/benzene (1:1) or water/ethyl acetate (1:1) were used as dissolution mediums. The absorption of griseofulvin was studied by measuring the blood concentration in rabbits.

The dissolution rates and the parameters of the blood levels were different among the preparations. However, the correlation was observed between the results of the dissolution test using the water/n-octanol solution as dissolution medium and the AUC-time curve calculated from the blood concentration in rabbits.

Keywords—griseofulvin; dissolution test; double-layer system; rabbit; blood plasma concentration

グリセオフルビン (以下GFと略す) は白癬菌治療薬の経口剤として使用し得る唯一の薬物であり, その有用性は臨床に欠かせないものである。しかし難溶性薬物のため消化管からの吸収が悪く, 吸収量の増大には物理化学的な製剤因子の工夫改良による溶解速度の充進が望まれる。¹⁾ 難溶性の薬物では消化管内で溶解速度が律速段階となっているからであり,²⁾ 市販GF錠の溶出試験を行うことは, 各製品間のバイオアベイラビリティの比較検討に役立つものと思われる。

難溶性薬物の溶出試験を行うにあたり, 従来の方法では大量の水とそれに伴う大型容器が必要であった。しかし不便を生じることから溶出溶媒を変えることによって, 第十改正日本薬局方のパドル法で行うことができるように検討した。その結果, 溶出液として水とエタノールの混液, 並びに水と難溶性の有機溶媒を加えた2層液を用いることにより可能となった。³⁾

本研究は市販GF錠6銘柄を用い, 溶出試験による溶出率を比較するとともに, 家兎血中濃度を測定し, バイオアベイラビリティの差を比較検討した。

実験の部

1. 被験試料

使用した試料は Table 1 に示した6銘柄製品でいずれもGF 125mgを含有している。

2. 重量偏差試験

日局十に従い試料各20錠をとり秤量した。

3. 崩壊試験

日局十に従い崩壊度試験器 (富山産業T-2H型) を用いて行った。

4. 溶出試験

a) 水・エタノール混液による溶出試験

日局十溶出試験法 (パドル法) を用いて行った。GF 1錠を蒸留水 600 ml の入った試験器に入れ, 100 rpm で10分間攪拌し, エタノール 300ml を加え 100rpm で攪拌し, 一定時間毎試料 2 ml を採取した。なお試料採取時はメスピペットの先端にファイナルフィルターF

* 山形市蔵王飯田字西の前; Nishinomae, Zao-Ida, Yamagata-shi, 990-23 Japan

^{a)} 現: 弘前大学病院薬剤部

Table 1. Results of Weight Variation Test and Disintegration Test of Griseofulvin Preparations

Test Compound	Lot No.	Weight Variation (n=20)		Disintegration Test (n=6)	
		Mean $\pm$ S.D. (mg)	C.V. (%)	Propriety	Disintegration Time
A	0043A	150.14 $\pm$ 1.33	0.89	yes	56 sec
B	STS2	179.87 $\pm$ 1.68	0.93	yes	24 sec
C	8104aK	152.28 $\pm$ 1.16	0.76	yes	1 min 24 sec
D	HU134Y	150.96 $\pm$ 0.91	0.60	yes	12 min 24 sec
E	OZ-02	238.10 $\pm$ 1.73	0.73	yes	9 min 30 sec
F	3650	150.93 $\pm$ 2.97	1.97	yes	1 min 24 sec

C.V. : coefficient of variation

216 (石川製作所) を取り付けて行った。

試料採取の都度溶出液を同量直ちに補充した。定量は分光光度計 (日立 201 型) にて吸光度波長 330nm で測定し、各製品について 6 回くり返し行い平均を求めた。

b) 2 層溶媒による溶出試験

日局十溶出試験法に準じて行った。溶出液は蒸留水に n-オクタノール、酢酸エチルまたはベンゼンを加えた 3 種類とした。あらかじめ GF 1 錠を蒸留水 200ml の入った試験器に入れ、100rpm で 10 分間攪拌し、錠剤の崩壊を行った後、上記有機溶媒 200ml を加え、100rpm で攪拌した。試料採取は溶出液の 2 層分離のため 2 分間静置した後、上層の有機溶媒層から a) と同様にファイナルフィルターを通して行った。ただし、n-オクタノールにおいては溶媒粘性が高いため、良好な混和状態を得るように 200rpm とした。定量は a) 法と同じく分光光度計にて、吸光度波長は n-オクタノールの場合 293nm、酢酸エチルの場合 290nm、ベンゼンの場合 291nm で行った。

5. 溶解度試験

水とエタノールの混液および水と n-オクタノールの 2 層液の溶出液における GF の溶解度を求めた。すなわち溶出試験器を用いフラスコに溶出液 100ml を取り GF 原末を加え $38 \pm 1^\circ\text{C}$ で 200rpm、10 分間攪拌し、各溶出液における溶解度を求めた。

6. 家兎血中濃度測定

体重 2.5~3.5kg の雄性家兎を一群 3~6 羽とし、薬物投与 24 時間前から絶食した。被験試料は粉碎し水を加

え懸濁し、50mg/kg になるように胃ゾンデにて経口投与した。投与 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 24 時間後に約 1.5 ml を耳静脈から採血し、3000rpm で 10 分間遠心後、血清を分離した。GF の定量は Bedford らの改良方法^{4,6}を用いて行った。すなわち血清 0.5ml に 1% エタノール 1 ml とエチルエーテル 5 ml を加え 90 秒間攪拌後、2000 rpm で 3 分間遠心し、エーテル層を分離、蒸発乾固し、2% エタノール 5 ml を加え、励起波長 298nm、蛍光波長 435nm で蛍光光度計 (日立 204-S 型) にて測定した。

実験結果

1. 重量偏差試験および崩壊試験

各製品の重量偏差試験および崩壊試験の結果を Table 1 に示した。重量偏差試験で、6 製品のうち 4 製品は 150~153mg の範囲にあり、1 製品が約 180mg と重く、1 製品は 238mg であった。各製品とも変動係数は 2% 以下の範囲であった。崩壊試験においては、製品 D、E の崩壊時間が他製品に比べ長かったが、適否はすべて適であった。

2. 溶出試験

a) 水・エタノール混液による溶出試験

溶出率曲線を Fig. 1 に示した。各製品とも水のみではほとんど溶出せず、エタノールを加えると溶出率が急速に増加し、製品 D が最も早く、製品 C は溶出率が悪く 70 分後でも約 60% の溶出率であった。その他の製品はほ

Fig. 1. Dissolution Profiles of Griseofulvin Preparations in Ethanol/Water (1:2)

Fig. 2. Dissolution Profiles of Griseofulvin Preparations in n-Octanol/Water (1:1)

ば同じ溶出曲線を描いた。

b) 2層溶媒による溶出試験

各溶媒による溶出率曲線を Fig. 2~4 に示した。水・n-オクタノール 2層液では水・エタノール混液と同様に製品Dの溶出率が最もよく、製品Cが最も悪く、溶出順位はB製品を除き同じであった。水・酢酸エチルおよび水・ベンゼン 2層液においては製品Cを除きほぼ同じ溶出率であった。C製品は水・エタノール混液および3種類の2層溶出液すべてにおいて溶出速度および溶出率は最も悪かった。

3. 溶解度試験

水・エタノール混液での溶解度は 0.11mg/ml であり、水・n-オクタノールでの溶解度は 1.42mg/ml であった。

4. 家兎血中濃度測定

実験結果を Fig. 5 に、薬物動態値を Table 2 に示した。最高血中濃度に達する時間は製品C, D, Eが4~5時間と比較的早いのにに対し、製品A, B, Fは6~7時間と差がみられた。最高血中濃度値は製品B, C, Eで 4 µg/ml 以下と低かったのにに対し、A, D, Fでは 4 µg/ml 以上であった。半減期はBが14時間と最も長く、

Fig. 3. Dissolution Profiles of Griseofulvin Preparations in Ethyl Acetate/Water (1:1)

Fig. 4. Dissolution Profiles of Griseofulvin Preparations in Benzene/Water (1:1)

Fig. 5. Changes of Plasma Griseofulvin Concentrations after Oral Administration of Griseofulvin Preparations (50mg/kg) in Rabbits

次いでD, Eの約10時間であり, 最も短いCで5時間であった。AUC_{0-∞}(血中濃度-時間曲線下面積)は製品Fが最も高く, 製品Cが最も低く, 製品A, B, D, Eはほぼ同じ値であった。また, 投与後の時間毎の血中濃度値をAUCで比較するために, 時間毎の値を求めFig. 6に示した。

これらの結果から製品D, Eは吸収が早く持続性があり, Cは吸収が早いが持続性がなく, A, Fは吸収が緩徐であり, Bは吸収が遅く持続性があることがわかった。このように製品間における血中動態に差が認められた。GFとしての吸収後の代謝, 排泄には大きな相違は

ないと思われ, これら投与後の血中動態の違いは吸収の差によるものと考えられる。

考 察

市販GF錠6製品について, 溶出試験および家兎血中濃度測定を行った。崩壊試験と溶出試験との結果を比較した場合, 崩壊の遅い製品Dが溶出挙動が早くあらわれていたが, 溶出挙動の悪い製品Cは平均的な崩壊時間をとっていた。このように崩壊試験結果と溶出試験結果との間には相関性を見ることができなかった。

溶出液による溶解度と溶出性を比較した場合, 水・n-

Fig. 6. Time-AUC Curve of Griseofulvin Preparations

Table 2. Pharmacokinetic Parameters of Griseofulvin in Rabbits

Test Compound	n	C _{max} ^{a)} (µg/ml)	T _{max} ^{b)} (hr)	T _{1/2} ^{c)} (hr)	AUC _{0-∞} ^{d)} (µg·hr/ml)
A	4	4.2	7	7.7	55.3
B	3	2.9	6	14.0	62.9
C	5	3.4	4	5.0	36.6
D	6	4.1	4	9.7	57.4
E	6	3.8	5	10.3	67.3
F	4	4.3	7	8.3	83.5

a) Peak plasma concentration

b) Time reached to peak plasma level

c) Biological half-life of elimination phase

d) Area under plasma concentration curve at 0 - ∞ hrs

オクタノール混液に比べ溶解度の低い水・エタノール混液の方が溶出挙動および溶出率がよくあらわれていたことは、溶出溶媒である水・エタノールの完全混和と水・n-オクタノールでの不完全混和の違い、および製品賦形剤の溶媒中での溶解度差が錠剤の崩壊分散性に与える影響によるものと考えられる。

次に各溶出液による溶出試験と家兎血中濃度を比較した場合、求めた各パラメーター数値から直接比較するこ

とは困難であったため、AUC—時間曲線を取った。溶出曲線勾配より見られる溶出挙動を消化管からの吸収速度として、また溶出曲線がプラトーに達したときを最大溶出率として評価した場合、溶出挙動および溶出率の悪い製品Cにおいて AUC_{0→9} 値と AUC_{0→∞} 値が低かったため、溶出試験、血中濃度両者に一致をみることができた。また水・エタノール混液と水・n-オクタノール2層液による溶出試験で、溶出順位の違いがあった製品Bに

Fig. 7. Theoretical Time-Concentration Curve (A) and Time-AUC Curve (B)

において、 $AUC_{0 \rightarrow 9}$ 値が低いにもかかわらず、 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 値が他の製品と同様にほぼ平均的な値を示した。このことは AUC—時間曲線の推移と n-オクタノール層での溶出曲線の推移が類似していることが関与しているものと考えられる。これから判断すると、今後の難溶性薬物の溶出試験を行う際に n-オクタノール層を使用することも一方法となろう。また製品 A, D, E, F の $AUC_{0 \rightarrow 9}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 値をみた場合もほぼ同じ値であり、各溶出試験とはほぼ一致するものと思われる。

ところで GF が標的組織である角質表皮層へ到達するまでには相当の時間を要し、⁶⁾ かつ白癬菌に対する組織内有効濃度^{5,7)} とその維持時間が必要となることを考慮すれば、GF 錠が生体側により効果的なバイオアベイラビリティを発揮するには、安全域内での有効血中濃度により早く達し、その濃度をより長く維持できる製剤であることが望まれる。これを Fig. 7 A で示すと血中濃度曲線の立ち上がりが速やかに有効血中濃度に達し、そのまま長時間維持できる状態（直線(1)）が理想的であり、その AUC を AUC—時間曲線に置き換えると Fig. 7 B の直線(1)になる。薬物の有効血中濃度が定まっていれば、推移時間による AUC 値の増加量の比が一定(a)となることから直線 $S = aT$ として描かれる。消化管からの吸収が緩徐で有効血中濃度に達する時間が遅い場合、AUC—時間関係の直線(2)は血中濃度に達した時間から勾配 a の直線(1)と平行な直線を描くことになる。

今回の実験のように GF の有効血中濃度が未知で、実際には角質内有効濃度を必要とする場合、AUC—時間曲線から製剤評価を仮定すると次の 2 点が必要条件になろう。第 1 点は GF が難吸収性であることから、ある時間内により高い AUC 値を得るという吸収速度の問題であ

り、第 2 点はその AUC の増加曲線がより直線的であることである。これは製剤中の GF 量を加減することによって血中濃度を有効濃度にコントロールしやすくなるからである。

以上の点から $AUC_{0 \rightarrow 9}$ 値をみると、製品 A, D, E, F がほぼ同じであり、Fig. 6 において原点から $AUC_{0 \rightarrow 9}$ 値付近に直線を引いた時、近似曲線をみせた製品 D, E がすぐれていると考えられる。これは他の製品に比べて血中濃度の立ち上がり、すなわち吸収が早かった結果と考えられる。

今回は家兎を用いた実験であるが、臨床においても製剤改良による吸収量の増大が治療効果を上げたとの報告があり、^{8,9)} 今後さらに理想的な AUC—時間曲線を満たし、一層治療効果を高める製品が作られることを期待したい。

文 献

- 1) R. Atkinson, C. Bedford, K.T. Child, E.G. Tomich: *Nature*, **193**, 588 (1962).
- 2) B. Katchen, S. Symchowicz: *J. Pharm. Sci.*, **56**, 1108 (1967).
- 3) N. Khalafalla: *Pharmazie*, **35**, 555 (1980).
- 4) C. Bedford, K.J. Child, E.G. Tomich: *Nature*, **184**, 364 (1959).
- 5) 嶋崎 匡: *真菌誌*, **6**, 115 (1965).
- 6) 高野正彦, 木村修三, 石浜 毅: *薬局*, **32**, 141. (1981).
- 7) 伊藤文利ほか: *最新医学*, **18**, 2914 (1963).
- 8) 三浦祐晶, 嶋崎匡, 岩田美恵子: *皮膚科紀要*, **58**, 158 (1963).
- 9) M. Kraml, J. Bubuc, R. Guadry: *Antibiot. Chemotherapy*, **12**, 232 (1962).