Jpn. J. Hosp. Pharm.
19(6) 509-515 (1993)

活性炭を用いた制御徐放性注腸液の調製^{†1}

星野伸夫, 芝田信人, 蓑内徳蔵, 島川治巳, 山路 昭
滋賀医科大学医学部附属病院薬剤部^{†2}

Preparation of Controlled-Release System Using Activated Charcoal and Its Application to Enema^{†1}

NOBUO HOSHINO, NOBUHITO SHIBATA, TOKUZO MINOUCHI,
HARUMI SHIMAKAWA, and AKIRA YAMAJI
Hospital Pharmacy, Shiga University of Medical Science^{†2}

(Received May 12, 1993
(Accepted September 2, 1993))

We designed a preparation containing both a drug and an adsorbent as a controlled-release system and selected aminophylline as a model drug for use in this study.

The preparation consisted of two components: to adsorption equilibrium existing between the drug adsorbed onto an adsorbent and free drug, and diffusion of free drug into blood capillaries via the rectal mucosae. Because of the interlocking of the two components, a continuous supply of the drug via desorption corresponding to the elimination of the drug from the blood circulation was confirmed to be possible, which resulted in maintaining a constant plasma level over a long period following rectal administration.

The *in vitro* release study showed that an optimal adsorbent for the preparation was activated charcoal, especially JP XI grade, and that the most adequate form for rectal administration was by enema. In the *in vivo* rectal absorption study using rabbits, the preparation provided by an enema enhanced the mean residence time (MRT) of aminophylline by 1.7-fold in comparison with aminophylline solution, and indicated a constant plasma level of theophylline over 6 hours.

Keywords—controlled-release system; aminophylline; activated charcoal; theophylline; enema; release test; rotating cell method

近年, ドラッグデリバリーシステム (DDS) 開発の一環として, 徐放性を持つ製剤の研究が盛んに行われている¹⁻⁴⁾, 薬物治療上, 代謝, 排泄などによる薬物の減少分のみを補給し, 常に一定

の血中濃度を維持する「制御徐放 (controlled release)」の考えもある⁵⁾.

制御徐放機能を持つ DDS を開発するため, 薬物と吸着剤を含む直腸投与製剤に着目した. 急性あるいは慢性気管支喘息に対して汎用されるアミノフィリンをモデル薬物として選択して, アミノフィリン徐放制御製剤を調製し, *in vitro* および *in vivo* において基本的特性と直腸投与後の吸収動態を検討した.

^{†1} 本報を「院内製剤におけるドラッグデリバリーシステム開発に関する研究について」の第2報とする.

^{†2} 滋賀県大津市瀬田月輪町; Tsukinowa, Seta, Ohtsu-shi, 520-21 Japan

実験の部

1. 試薬

アミノフィリンはネオフィリン末(エーザイ㈱)を100メッシュのふるいで篩過した後使用した。活性炭は局方品(犬日の出製薬㈱), 試薬一級(ナカライテスク㈱, 未処理)およびシラサギP(武田薬品工業㈱)の三種類を使用した。ケイ酸マグネシウム, シリカゲル60(230-400mesh)はいずれも試薬特級(ナカライテスク㈱)を使用した。その他の試薬はすべて市販の試薬特級を用いた。

2. 各種吸着剤への吸着

アミノフィリンを生理食塩液に20~600 μ g/mlの濃度になるように溶解させ, このアミノフィリン溶液100mlに, 各種吸着剤10mgを添加し, 37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ Cで1時間インキュベートした。インキュベート後, 試料溶液をメンブランフィルター(pore size 0.45 μ m, type HA, ミリポア社)でろ過し, ろ液をUV-210A型分光光度計(島津製作所㈱製)で測定した。測定波長は272nmで行った。

3. 吸着剤からの脱着

アミノフィリンを生理食塩液に600 μ g/mlの濃度になるように溶解させ, このアミノフィリン溶液100mlに各種活性炭10mgを添加し, 37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ Cで1時間インキュベートした。インキュベート後, 試料溶液をメンブランフィルター(pore size 0.45 μ m, type HA, ミリポア社)でろ過し, 活性炭をフィルター上に捕捉した。その後, 生理食塩液を50ml/minの速度でフィルターを通過させた。フィルターを通過した生理食塩液を一定時間おきにサンプリングし, 2.と同様にアミノフィリン濃度を測定した。

4. 放出試験

PTSW型坐剤放出試験器(ジャパンマシナリー㈱製)を用い, インフュージョンポンプ(アトー株式会社㈱)にて一定速度(1ml/minおよび2ml/min)で試験液の置換を行った(Fig. 1)。セルの回転速度は25rpm, 37 $^{\circ}$ Cに加温した生理食塩液1000mlを試験液²⁾とし, 透析膜は円筒形透析膜(ミリポア社㈱, pore size 0.45 μ m)を

Fig. 1. Schematic Illustrations of Release Test Apparatus

1: sample, 2: sample holder, 3: membrane filter (0.45 μ m), 4: O-ring, 5: peristaltic roller pump, 6: motor, 7: test fluid (isotonic sodium chloride solution, 1000ml), 8: paddle (25rpm), 9: isotonic sodium chloride solution, 10: water bath (37 $^{\circ}$ C).

使用した。試料部に注腸液または坐剤を入れ, 坐剤の場合はさらに生理食塩液3mlを加え, 一定時間ごとに試験液1mlを採取し, 同一容量の生理食塩液を補給した。

5. 注腸液および坐剤の調製

放出試験に使用した注腸液は, アミノフィリン100mgを生理食塩液5mlに溶解し, 必要に応じ活性炭(局方品)100~300mgを懸濁させて調製した。坐剤は油性基剤としてウイテップゾールH-15(ホスコH₃-15, 丸石製薬), 親水性基剤としてポリエチレングリコール400/4000混合物(1/3, 以下PEGと略す)⁶⁾を用い, 市販のプラスチックコンテナを使って, それぞれの1.5mlにアミノフィリン100mgと活性炭(局方品)200mgを含むように溶融法で調製した。また, レクタルカプセルとして市販のゼラチンカプセル(局方品, 000号, 吉田商店㈱)にアミノフィリン100mgと活性炭(局方品)200mgを充填して調製した。

動物実験に用いた注腸液は, アミノフィリン4.2mg/kgおよび20mg/kgを生理食塩液0.5ml/

kg に溶解し、必要に応じ活性炭 (局方品) 40~80mg/kg を懸濁させて調製した。

6. 動物実験

雄性家兎 (ニュージーランドホワイト種, 体重 3~4kg) 3 匹を実験前 24 時間絶食させて用いた。家兎を腹位に固定後, 注射器の先端に逆流防止付ポリエチレンチューブを取りつけた注入器を用いて, 肛門から 3cm 挿入し, 予め調製した注腸液を直腸内に注入した。注入は常に 2 秒以内に行った。注入後肛門出口を外科用瞬間接着剤により封じて注腸液の漏出を防いだ。投与後一定時間毎に耳介静脈よりヘパリン添加にて採血し, 1000×g で 10 分遠心分離後血漿を得た。血漿中テオフィリン濃度は TDx (ダイナボット社) を用いて測定した。

7. 統計処理および薬物速度論的パラメータの推定

各測定値は 3 例の平均±標準誤差により示した。平均値の差の検定には分散分析を行った後, Fisher の t-検定を行った。血中薬物濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-24h}), 平均血中滞留時間 (MRT_{0-24h}) は山岡らのモーメント解析法⁷⁾により行った。

結果および考察

1. 吸着剤の選択

本製剤で用いる吸着剤は, できるだけ多量のアミノフィリンを吸着するとともに, その吸着は不可逆的なものではなく, 直腸内の遊離型アミノフィリンの減少に伴い, 吸着していたアミノフィリンをすみやかに脱着することが望まれる。ここでは, 一般的に高い吸着能を持つ活性炭, ケイ酸マグネシウムおよびシリカゲル⁸⁾を選び, それぞれの吸着性を検討した。活性炭については, 製品により吸着特性が異なることが知られているため⁹⁾, 市販の 3 種類の活性炭を対象に検討を行った。

3 種類の活性炭とケイ酸マグネシウムおよびシリカゲルについて検討した吸着等温線を Fig. 2 に示す。3 種類の活性炭では, アミノフィリンの濃度が上昇するのに従い, 吸着量もしだいに増加していった。局方品および試薬の活性炭では 300

Fig. 2. Adsorption Isotherm of Aminophylline onto Various Adsorbents in Isotonic Sodium Chloride Solution at 37°C

●, activated charcoal (JP XI grade);
▲, activated charcoal (reagent grade);
■, activated charcoal (Sirasagi P®);
△, silica gel 60; ○, magnesium silicate.

Each point represents mean±S.E. of three experiments.

µg/ml 以上の濃度で, 吸着量がほぼ一定になり吸着飽和現象が観察された。一方, ケイ酸マグネシウムおよびシリカゲルに対するアミノフィリンの吸着は, 3 種類の活性炭に比べてかなり小さかった。さらに, 3 種類の活性炭の吸着を Langmuir の吸着等温式¹⁰⁾に当てはめて解析を行った。

$$C/x/m = 1/ab + C/a$$

ここで C は平衡時の薬物濃度, a は飽和薬物吸着能 (mg 薬物/g), b は吸着過程における平衡定数を示す。x/m は活性炭量 (m) に吸着された薬物の量 (x) を示す。それぞれの活性炭のアミノフィリンの飽和吸着量と平衡定数は, 局方品では 370±14mg/g と 0.0889±0.0076ml/µg, 試薬では 324±14mg/g と 0.131±0.026ml/µg, またシラサギ P では 383±13mg/g と 0.0254±0.0022ml/µg となり, 飽和吸着量には有意差は認められなかったが, 平衡定数はシラサギ P が最も小さかった (p<0.05)。

本製剤で用いる吸着剤には、吸着したアミノフィリンを可逆的に脱着することも必要である。そこで、アミノフィリンの吸着能が高かった3種類の活性炭について脱着能を測定した。3種類の活性炭のアミノフィリン吸着量がほぼ等しくなる600 μ g/mlのアミノフィリン溶液に、それぞれの活性炭を懸濁させ、インキュベート後、フィルター上に活性炭を捕集し、50ml/minの流速で生理食塩液を通過させ、活性炭より脱着したアミノフィリンの量を測定し、その結果をFig. 3に示す。活性炭からのアミノフィリンの脱着は、20～35分で一定に達し、40分後における活性炭の脱着量は、局方品では255 $\pm$ 17mg/g、試薬では176 $\pm$ 16mg/g、シラサギPでは229 $\pm$ 19mg/gとなり、有意差は認められなかった。そこで、本製剤の吸着剤として、脱着量が最も大きい局方品の活性炭を採用した。

2. 剤形の選択

直腸投与に適した剤形には、注腸液と坐剤の2つがある。さらに坐剤の場合、基剤の種類により、油性基剤、親水性基剤およびレクタールカプセルの3つの形態が考えられる。そこで、これら4種類の剤形のうちに、本製剤に最も適合する剤形

Fig. 3. Desorption Profile of Aminophylline from Various Sources of Activated Charcoal

●, JP XI grade; ▲, reagent grade; ■, Sirasagi P®.

Each point represents mean $\pm$ S.E. of three experiments.

を選択するために、*in vitro*で放出試験⁶⁾を行った。

剤形を注腸液とした場合の放出試験の結果をFig. 4に示す。試験液の置換速度が1ml/minの場合、活性炭100mgでは試験液を一定の濃度に保つことはできないが、活性炭を200mgに増加させることにより、実験開始後1時間以降一定濃度(約26 μ g/ml)に保つことができた。さらに活性炭を300mgに増加させると、より低い濃度(約9 μ g/ml)で一定に保たれた(Fig. 4)。次に試験液の置換速度を速くした場合(2ml/min)、活性炭量100mgおよび200mgでは一定濃度を保つことはできなかったが、活性炭量を300mgに増加させると、実験開始後1.5時間以降一定濃度(約9 μ g/ml)に保たれた。また活性炭300mg

Fig. 4. *In Vitro* Release Patterns of Aminophylline from Enema Containing Various Amounts of Activated Charcoal by Release Test Apparatus under Two Different Rates of Displacement of Test Solution

Rate of Displacement: 1ml/min

○, none; △, 100mg; □, 200mg;

▽, 300mg

Rate of Displacement: 2ml/min

●, none; ▲, 100mg; ■, 200mg;

▼, 300mg

Each point represents mean $\pm$ S.E. of three experiments.

存在時に一定に保たれる濃度 (約 $9\mu\text{g/ml}$) は、置換速度を変えてもほとんど変化しなかった。これらの知見は、注腸液中に十分な量の活性炭が共存しないと、一定の薬物濃度が得られないことを示している。すなわち、活性炭量を増加させることにより試験液中の薬物濃度を減少させれば、薬物の排出速度は低下し、逆に活性炭からの脱着による供給能力は増大する。後者が前者を上回らないと本製剤は十分に機能しないと考えられる。

Weiss ら¹¹⁾によれば、横軸に時間の平方根を、縦軸に薬物の放出量をプロットした場合、その直線部分の傾きは、薬物の放出速度を意味する。活性炭を含まない場合、試料部内部のアミノフィリンはすべて遊離型であるため、直ちにフィルターを通過して、試験液中に拡散する。その際、試験液が連続的に希釈されるため、フィルターの内外で常に濃度勾配が生じ、ほぼ 100% のアミノフィリンが放出する。このときの放出速度は終了するまでほぼ一定を維持する (Fig. 5)。一方、活性炭が共存する場合、初期の速い放出過程の後に、遅い放出過程が現れる。初期の速い放出過程の速度は、活性炭の添加量が増えるほど低下することから、この放出は主に遊離型アミノフィリンによるものと考えられる。また、その後続く遅い放出は、活性炭上に吸着されたアミノフィリンが、徐々に脱着することによっておこるものと推察される。さらに、この遅い過程の放出速度は、放出 5 時間後まで一定を維持し、試験液の置換速度が増加することにより増大する傾向を示した。活性炭 300mg を添加した場合、試験液の置換速度が 1 ml/min から 2ml/min に増加しても、維持されるアミノフィリン濃度はほとんど変化しない。このときのアミノフィリンの放出速度を Fig. 5 の放出 1.5 時間以降 ($\sqrt{\text{Time}}$ では 9.5 以降) の直線の傾きより最小二乗法を用いて算出すると、置換速度 1ml/min では $0.34\text{mg/min}^{1/2}$ 、2ml/min では $0.56\text{mg/min}^{1/2}$ となり約 2 倍に増加している。このために置換速度が増加しても、維持される濃度は変化しないものと考えられる。したがって本製剤により、*in vitro* で 3 時間以上持続する一定のアミノフィリン濃度が得られた。

Fig. 5. Square Root Plots of Aminophylline Release from Enema Containing Various Amounts of Activated Charcoal by Release Test Apparatus under Two Different Rates of Displacement of Test Solution

Rate of Displacement : 1ml/min

○, none; △, 100mg; □, 200mg;

▽, 300mg

Rate of Displacement : 2ml/min

●, none; ▲, 100mg; ■, 200mg;

▼, 300mg

Each point represents mean $\pm$ S.E. of three experiments.

剤形を坐剤とした場合の放出試験結果を Fig. 6 に示す。活性炭はかさ高く、坐剤またはレクタールカプセルに 200mg 以上添加できないため、それぞれの剤形に活性炭を 200mg ずつ含有させ、注腸液において、1～5 時間にわたり一定のアミノフィリン濃度を保つ条件 (アミノフィリン 100mg, 活性炭 200mg, 置換速度 1ml/min) で検討を行った。Fig. 6 に見られるように、3 種類の坐剤のいずれでも一定のアミノフィリン濃度を保つことはできなかった。以上より、本製剤の投与剤形としては、活性炭の吸着能が基剤によって干渉を受けない注腸液とした。

3. 家兎直腸吸収実験

本製剤が *in vivo* においても一定の血中薬物濃

度を維持し得るかどうか調べるために、家兎における活性炭注腸液投与後の吸収動態を検討した。その結果を Fig. 7 に示す。アミノフィリン 20 mg/kg を活性炭を含まない水溶液として投与した場合、投与後20分に最高血中濃度 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に達し、その後は低下していき、投与後24時間では血中濃度は 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となった。一方、アミノフィリン 20mg/kg と活性炭 80mg/kg を含む注腸液を投与すると、投与後4時間まで血中濃度は徐

徐に増加し、その後は10時間まではほぼ一定濃度 (1.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を維持した。また、アミノフィリン 20mg/kg と活性炭 40mg/kg, およびアミノフィリン 20mg/kg と活性炭 60mg/kg を含む注腸液では両者の中間的な血中濃度推移を示した。

Table 1 にそれぞれの血中濃度推移より得られた血中濃度-時間曲線下面積 ($\text{AUC}_{0-24\text{h}}$) および持

Fig. 6. *In Vitro* Release Patterns of Aminophylline from Controlled-Release System Prepared as Enema (○), Suppositories of Witepsol H-15® (■) or PEG (●), and Rectal Capsule (▲)

Each point represents mean $\pm$ S.E. of three experiments.

Fig. 7. Plasma Concentration of Theophylline after Rectal Administration of Enema Containing 20mg/kg Aminophylline and Various Amounts of Activated Charcoal, or Enema Containing 4.2mg/kg Aminophylline (●)
○, none; □, 40mg/kg; △, 60mg/kg; ▽, 80mg/kg.

Each point represents mean $\pm$ S.E. of three animals.

Table 1. Pharmacokinetic Parameters of Aminophylline in Rabbits after Rectal Administration of Enemas

Doses of aminophylline and activated charcoal in enema	$\text{AUC}_{0-24\text{h}}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$)	$\text{MRT}_{0-24\text{h}}$ (h)
20mg/kg aminophylline	107.4 ± 18.1	6.1 ± 0.7
20mg/kg aminophylline and 40mg/kg activated charcoal	66.7 ± 17.8 * *	7.5 ± 1.3 *
20mg/kg aminophylline and 60mg/kg activated charcoal	43.9 ± 16.3	9.8 ± 1.2
20mg/kg aminophylline and 80mg/kg activated charcoal	22.4 ± 8.7	8.7 ± 0.9
4.2mg/kg aminophylline	17.3 ± 6.6	5.2 ± 0.3 * *

* $p < 0.05$, * * $p < 0.01$

続性の指標である平均滞留時間 (MRT_{0-24h}) を示す。活性炭の添加量が増加するに従い AUC_{0-24h} は著明に減少し、 MRT_{0-24h} は逆に増加する傾向がみられた。

アミノフィリンと活性炭の結合は可逆的なものではなく、活性炭と結合したまま、最終的に脱着しないアミノフィリンもかなり存在する (Fig. 3)。アミノフィリン 20mg/kg を単独で投与した際の AUC_{0-24h} が $107.4 \pm 18.1 \mu g \cdot h/ml$ であるのに対し、アミノフィリン 20mg/kg と活性炭 80mg/kg を含む注腸液では $22.4 \pm 8.7 \mu g \cdot h/ml$ と約5分の1に減少している。そこでアミノフィリン単独投与時の絶対的な投与量を、アミノフィリン 20mg/kg と活性炭 80mg/kg の同時投与時のそれとほぼ等しくするため、2つの AUC ($107.4 \mu g \cdot h/ml$ と $22.4 \mu g \cdot h/ml$) を比較することにより、アミノフィリン単独投与時の投与量を 20mg/kg から 4.2mg/kg に減少させ再投与を行った。その結果、両者の AUC_{0-24h} に有意な差は見られないが、 MRT_{0-24h} はアミノフィリン単独投与時に $5.2 \pm 0.3h$ であったのに対し、活性炭同時投与時では $8.7 \pm 0.9h$ と有意 ($p < 0.01$) に延長した。したがって、本直腸投与製剤は、*in vivo* においても *in vitro* と同様に、一定の血中濃度を長時間保ち得ることが認められた。

本製剤の最も大きな特徴は、薬物の血中濃度の減少に応じて減少分のみを補給することである。しかし、薬物と活性炭との不可逆的な吸着により、絶対的な投与量が減少すること、および直腸内の内容物により、活性炭の吸着性が影響される可能性があることなど、いくつかの点で改善の余

地が残されている。これらの問題点のうち、薬物と活性炭との不可逆的な吸着については、活性炭を脂肪酸で処理することにより吸着性が改善され、可逆的な吸着性が得られることが知られている¹²⁾。今後はこれらの点について、検討を加えていきたいと考えている。

引用文献

- 1) 今井一洋, 園部 尚, 医薬ジャーナル, 27, 1371-1376 (1991).
- 2) 菅原和信, 長岡英世, 大滝和幸, 石川 修, 羽田千賀夫, 小林健次郎, 薬剤学, 43, 43-49 (1983).
- 3) 田畑博文, 岩本洋子, 森本一洋, 森坂勝昭, 薬剤学, 47, 141-146 (1987).
- 4) S. Miyazaki, C. Yokouchi, T. Nakamura, N. Hashiguchi, W. Hou, M. Takada, *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 1801-1808 (1986).
- 5) 水島 裕, 医薬ジャーナル, 27, 1365-1369 (1991).
- 6) 石丸末明, 小島秀夫, 恒見 忍, 織部暁子, 大島明, 白倉 治, 後藤 茂, 薬剤学, 51, 222-229 (1991).
- 7) 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.113-140.
- 8) 石川正幸, 原 昭二, 古谷 力, 中沢泰男編, “薄層クロマトグラフィー基礎と応用”, 南山堂, 東京, 1977, p.7.
- 9) N. Nakano, S. Funada, Y. Honda, M. Nakano, *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 2084-2090 (1985).
- 10) 一番ヶ瀬尚編, “製剤学”, 広川書店, 東京, 1982, pp.63-65.
- 11) A. L. Weiss, B. J. Sciarrone, *J. Pharm. Sci.*, 58, 980-982 (1969).
- 12) E. S. Alm, *Acta Chem. Scand.*, 6, 1186 (1952).