(Jpn. J. Hosp. Pharm.)
一般論文
25(2) 131 - 137 (1999)

フロースルーセル法によるグリベンクラミド錠の薬物放出特性

岩田政則^{†1,2}, 高橋由里^{†1}, 武内啓貴^{†1}, 川原恵美^{†1}, 高山幸三^{†2}, 城武昇一^{†1}

横浜市立大学医学部附属病院薬剤部^{†1}

星薬科大学薬剤学教室^{†2}

Dissolution Profiles of Glibenclamide Tablet Using Flow-Through-Cell Method

MASANORI IWATA^{†1,2}, YURI TAKAHASHI^{†1}, HIROTAKA TAKEUCHI^{†1},

EMI KAWAHARA^{†1}, KOZO TAKAYAMA^{†2} and SHOICHI SHIROTAKE^{†1}

Department of Pharmacy, Yokohama City University Hospital^{†1}

Department of Pharmaceutics, Hoshi University^{†2}

(Received September 10, 1998)
(Accepted December 24, 1998)

Operating conditions affecting the dissolution characteristics of glibenclamide were investigated with the flow-through-cell method (the third method of dissolution test in JP XIII). The partition coefficient of glibenclamide between octanol and phosphate buffer (pH 7.4) was observed to be 24.2, thus suggesting the lipophilic nature of glibenclamide. The flow indicator on the apparatus in the flow-through-cell method did not reflect the real flow rate of the dissolution media.

The dissolution-time curve (ADT) value increased in line with the decrease in the bead's diameter when the flow rate of the indicator was slow (8 ml/min). On the other hand, the ADT value was hardly affected by the bead's diameter when the flow rate was fast (24 ml/min), however, a wide deviation in the ADT values was seen during such conditions. The operating condition of flow rate and bead's diameter was optimized based on the response surface method. As a result, a flow rate of 14 ml/min and a bead diameter of 0.5 mm were estimated as the optimal conditions to obtain the largest ADT and the smallest deviation in the ADT. When using the flow-through-cell method, the operating condition should be optimized based on the nature of pharmaceuticals under test.

Key words — flow-through-cell method, glibenclamide, tablets, dissolution test, operating condition

緒 言

従来、薬物溶出試験を行うにあたり、日本薬局

方溶出試験第1法(回転バスケット法)および第2法(パドル法)が汎用されてきた。しかし、これらは、易溶性薬物を含有する固形製剤の溶出試験として有用なものであるが、難溶性薬物を含有する製剤の試験法としては適していない。これは、試験液の最大使用可能容量が約1000mlであることから、薬物の放出が試験液に対する溶解度

^{†1} 横浜市金沢区福浦3-9; 3-9, Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama, Kanagawa, 236-0004 Japan

^{†2} 品川区荏原2-4-41; 2-4-41, Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo, 142-8501 Japan

に依存することに起因する。この問題を解決するために、器具の改良や添加剤などの報告が多くの研究者によってなされてきた¹⁻³⁾。第十二改正日本薬局方（日局）第一追補より、新たに加わった溶出試験第3法（フロースルーセル法）^{4,5)}は、試験液を限りなく供給できることから、難溶性薬物含有製剤の溶出性評価に有利であるとされる。しかし、現薬局方では適用となる製剤はなく、わが国において使用経験が少ないのが現状である。

グリベンクラミド⁶⁾は、経口糖尿病用薬として汎用される薬物であるが、難溶性であることや錠剤として長期にわたり投与され、薬物の吸収・効果に影響を与える薬物溶出性の把握が重要とされる。本研究では、溶出試験としてのフロースルーセル法の有用性と市販のグリベンクラミド錠をモデルとしたときの薬物溶出特性から、試験の最適条件について検討した。

実験の部

1. 試薬類

主薬であるグリベンクラミドは、シグマ社製のもを、また市販のグリベンクラミド錠としてダオニール®錠（日本ヘキストルセル社）2.5mgを使用した。その他の試薬類は、特級品を使用し

た。

2. グリベンクラミドの特性

ネスラー管に日局 pH 7.4リン酸緩衝液(100ml)と過量のグリベンクラミドを入れ、 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で48時間にわたり攪拌した後上澄み液を採取して1500rpmで5分間遠心分離した。さらに、上澄み液をメンブランフィルター（ $0.22 \mu\text{m}$ ）でろ過して得たものを試料とした。試料中のグリベンクラミド量は、島津社製 UV2200を用いて228nmにおける吸光度を測定した後、検量線法により算出した。測定にあたり、試料数は5個とした。

グリベンクラミド原末の油水分配率を求めるために、水相にグリベンクラミドを溶解した日局 pH7.4リン酸緩衝液と有機相にオクタノールを選択した。水相および有機相をそれぞれ20mlずつとり、 $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ の恒温槽で24時間振とうした。オクタノールはあらかじめ水相を飽和させたものを使用した。試験開始時および試験終了後の水相中のグリベンクラミド濃度を前述の方法に従い測定して、みかけの油水分配係数を求めた。測定にあたり、試料数は3個として平均値を求めた。

3. 溶出試験

1) 日局第3法（フロースルーセル法）

Fig. 1. System of Flow-Through-Cell Method

A; Test fluid, B; Piston pump, C; Stroke change device (dial),
D; Coupling, E; Cylinder, F; Cell, G; Auto sampler, H; Sample tube,
I; Drainage

試験装置の概念図を Fig. 1 に示す。溶出試験システムは、富山産業社製溶出試験器 DISSOTEST-100を使用して、セル部には、DISSOTEST CE-1、ポンプ部はSOTAX CY1-50 (SOTAX 社、スイス)、サンプラー部はミニサンプラーワン (OTAX 社、スイス)、恒温槽は恒温槽マグスターバス (富山産業社)、セル部は標準セル (直径12 mm)、ビーズ重量は直径1 mm のビーズをセルの円錐部に設置したときの重量である7.10g とした。

① ピストンポンプの特性

本システムで使用したピストンポンプについて評価した。ダイヤル表示流速値を5—50ml/minとして5 ml/min ごとに設定して、ポンプを作動させた。試験開始30分後の液量を測定して、実際の流速を算出した。また、低流速域である10, 15, 20 ml/min (表示流速値) において液量が50ml, 100 ml, 150ml および200ml に達するまでの時間を測定した。測定は3回行い、平均値を求めた。

② 薬物溶出に与えるビーズ径および流速の影響

セル内に添加するガラスビーズの直径を 0.4, 2.0, 4.0mm および表示流速を 8, 16, 24ml/min を同時に変化させた複合2次中心球形実験計画⁷⁾ (Table 1) を作成した。前述の方法に従い、グリベンクラミド錠の溶出試験を実施した。測定は5回行い、その平均値を求めた。

2) 溶出されたグリベンクラミド濃度の測定

経時的に得られた試験液中のグリベンクラミド濃度を前述の方法 (UV 法) により測定し、溶出量を算出した。

4. 数値計算

各種パラメータの算出は、PC-9801FA (日本電気社) を用いて、山岡ら⁸⁾ のプログラムを利用して行った。

結果および考察

1. グリベンクラミドの特性

グリベンクラミドの pH7.4リン酸緩衝液に対する飽和溶解度は、 $5.13 \pm 0.31 \mu\text{g/ml}$ であった。したがって、本試験液900ml を用いて日局溶出試験第1法、第2法を行ったときのグリベンクラミドの溶解量は4.88mg であることが推察される。また、pH7.4リン酸緩衝液を水相、オクタノールを有機相としたときのみかけの油/水分係数は、 24.2 ± 4.8 であった。以上の結果より、グリベンクラミドが水に難溶性であること、一般に溶解速度が固体の溶解度の影響を受けること⁹⁾ などから、薬物の試験液への溶解速度への影響が予想された。

2. 溶出試験

1) ピストンポンプの特性

フローズルーセル法におけるポンプ流速ダイヤル値とポンプ運転開始30分後における排出液量より算出した流速の実測値の関係を、Fig. 2 に示す。また、低流速域において排出液量が200ml に

Table 1. Experimental Design and Actual Values of Two Factors (X1, X2)

Condition	X1 (bead diameter, mm)		X2 (flow rate, ml/min)	
A	$-\sqrt{2}$	(0.4)	$-\sqrt{2}$	(8)
B	-0.157	(2.0)	$-\sqrt{2}$	(8)
C	$\sqrt{2}$	(4.0)	$-\sqrt{2}$	(8)
D	$-\sqrt{2}$	(0.4)	0	(16)
E	-0.157	(2.0)	0	(16)
F	$\sqrt{2}$	(4.0)	0	(16)
G	$-\sqrt{2}$	(0.4)	$\sqrt{2}$	(24)
H	-0.157	(2.0)	$\sqrt{2}$	(24)
I	$\sqrt{2}$	(4.0)	$\sqrt{2}$	(24)

Fig. 2. Relationship between Scale of Dial (X) and Experimental Flow Rate (ml/min)

$$Y = 4.3433 + 0.83890 \cdot X \quad (r^2 = 1.000)$$

Fig. 3. Flow Profiles of Test Fluid on Device for Flow-Through-Cell Method (JP X III)

○ ; 10 ml/min, △ ; 15 ml/min, □ ; 20 ml/min

Fig. 4. Effect of Beads Diameter to Dissolution on Various Flow Rate Using Flow-Through-Cell Method

○ ; 0.4 mm, △ ; 2.0 mm, □ ; 4.0 mm

なるまでの排出液量の変化を Fig. 3 に示す。表示流速値 (X) で実測値 (Y) を一次回帰式で予測したところ、 $Y = 4.34 + 0.839 \cdot X$ ($r^2 = 1.000$) であった。式の傾きが1.0でなかったこと、Y切片が原点を通過しなかったことにより、ダイヤルの表示値が必ずしも実測値を表さずにあくまで参考値として取り扱う必要がある。しかし、本試験では換算の煩雑性を考慮してダイヤル表示値をみか

けの流速値としてこれを使用して議論を行った。一方、みかけの流速値(ダイヤル表示流速値)を低速としたときの経時的な排出挙動は、いずれの条件においても直線性を示したことから、試験中の排出量のばらつきは少ないといえる。

2) 溶出試験

フロースルーセル法において、流速およびガラスビーズ径を変化させたときの薬物溶出挙動を

Fig. 5. Effect of Beads Diameter to Dissolution Rate on Various Flow Rate Using Flow-Through-Cell Method
○; 0.4 mm, △; 2.0 mm, □; 4.0 mm

Table 2. Experimental Design and Observed Values in Seven Responsive Variables

Condition	ADT (mg·h)	MDT (h)	C.V. (ADT) (%)	C.V. (MDT) (%)	T 16% (h)	T 50% (h)	T 84% (h)
A	1.69	1.60	9.5	6.3	0.61	1.56	4.31
B	1.41	1.65	12.8	7.3	0.85	2.92	10.13
C	1.13	2.01	23.9	6.5	1.29	5.21	21.48
D	1.96	1.43	9.2	7.0	0.54	1.47	4.04
E	1.65	1.51	8.5	9.3	0.64	2.04	6.58
F	1.84	1.39	8.9	7.9	0.44	1.53	4.81
G	1.49	1.17	12.1	7.7	0.39	1.94	9.95
H	1.57	1.18	12.1	13.6	0.32	1.72	10.64
I	1.50	1.28	13.3	14.8	0.56	2.15	8.35

Fig. 4 に、また薬物放出速度の変化を Fig. 5 に示す。流速が 8 ml/min のとき薬物放出量はビーズ径が小さいほど大きな値を示し、溶出速度の変化は緩やかであった。

流速が 16 ml/min では、ビーズ径との間に大きな差は見られずほぼ同様な放出挙動を示した。一方、流速が 24 ml/min と速い条件ではビーズ径の影響は見られなかったが、ばらつきは大きくなり一定の値を示さなかった。試験開始初期の薬物溶出速度を比較したとき、いずれのビーズ径における 24 ml/min の 30 分値も、8 ml/min の約 2 倍となり時間の経過とともに急激に低下した。

各試験条件における薬物溶出パラメータの

ADT (4 時間)、モーメント解析で得られた平均溶出時間 (MDT) とその変動係数および Wagner の対数正規分布モデル¹⁰⁾ より得られた 16% 溶出時間 (T16%), 50% 溶出時間 (T50%) および 84% 溶出時間 (T84%) を Table 2 に示す。ADT および MDT をみると、条件 C (4.0 mm, 8 mm/min) すなわち本実験領域において大きいビーズと遅い流速で薬物溶出量が小さく、緩やかに溶出した。また、条件 C では ADT の変動係数が 23.9% と大きく溶出性に関してばらつきが顕著であった。ADT の値が大きい条件では、D, F, E の順であり、いずれも流速が 16 ml/min であった。これより、本実験領域内に、薬物溶出性に関して最適

な流速条件の存在が推察された。

各試験条件で得られた ADT およびその変動係数を従属変数 (Y1, Y2), ビーズ径および流速を説明変数 (X1, X2) として 2 次多項式を基本とした因子選択型重回帰分析を実施してその予測を試みた。

得られた最適予測式と三次元図を Table 3, Fig. 6 に示す。その結果, それぞれの特性値 (Y1, Y2) は, X1 および X2 の影響を受けるこ

とが示された。ADT (Y1) の最適予測式の相関係数は 0.9117 であり, 各変数の係数も有意 ($p < 0.05$) であった。一方, 変動係数 (Y2) の最適予測式の相関係数が 0.8600 であったことからその予測性はやや低下するものといえる。各最適予測式の信頼性を確認するために, ビーズ径を 1.0 mm, みかけの流速を 8 ml/min, 16 ml/min, 24 ml/min としてグリベンクラミド錠の溶出試験を実施した。ADT およびその変動係数に関して, 予測

Table 3. Optimum Regression Equation for ADT and C.V. (ADT)
Determined by Multiple Regression Analysis

	X1	X2	X1 ²	X2 ²	X1X2	Const.	R
ADT	-0.0771	—	—	-0.1759	0.0686	1.8126	0.9117
C.V. (ADT)	1.7547	—	—	2.6591	-1.6302	8.7252	0.8600

ADT ; Area under the dissolution time curve from 0 to 4 hours

C.V. (ADT) ; Coefficient of variation of obtained ADT

Table 4. Comparisons between Predicted and Experimental Values
under the Condition by the Flow- Through- Cell Method

Condition Bead/Flow rate	ADT		C.V. (ADT)	
	Predicted	Experimental	Predicted	Experimental
1.0mm/ 8ml/min	1.82	1.87±0.24*	10.2	12.8
1.0mm/16ml/min	1.89	1.96±0.35	17.1	17.9
1.0mm/24ml/min	1.44	1.45±0.22	14.6	15.2

* ; mean±S.D. (N=6).

Fig. 6. Three Dimensional Diagram of Optimum Regression Equation for
ADT and C.V of ADT

Y1 ; ADT, Y2 ; C.V. of ADT, X1 ; bead diameter, X2 ; flow rate

Table 5. Optimum Condition on Dissolution Test of GC Tablet by the Flow-Through-Cell Method

	Coded point	Actual value
X1	-1.390	0.46mm
X2	-0.262	14ml/min

値および実測値を Table 4 に示す。本結果より、予測値と実測値は同様な値を示したことから、本手法の有用性が確認された。

ADT (Y1) および変動係数 (Y2) の最適予測式を用いて本実験域内におけるビーズ径と流速の最適実験条件を探索^{11,12)} した。最適化にあたり、探索条件を ADT が最大値、変動係数が最小値を理想値となるように設定した。得られた最適実験条件を Table 5 に示す。以上の結果より、グリベンクラミド錠の溶出試験にあたり、ビーズ径は約0.5mm、流速は約14ml/min で行うことが望ましいといえる。

フロースルーセル法は、グリベンクラミド錠のような難溶性薬物を含有する製剤の溶出試験に有用な方法であること、その試験に際して ADT が大きく、ばらつきが小さい最適条件が存在することが明らかとなった。日本薬局方では、ガラス球 (ビーズ径) は 1 mm で、定められた流量 (流速)

で行うことが規定されている。しかし、医薬品各条での対象となる医薬品・製剤がないことから、製剤ごとに最適条件を得た上で溶出試験を実施すべきであると考ええる。

引用文献

- 1) Y. Machida, T. Tokumura, S. Komuro, Y. Tsushima, K. Tatsuishi, M. Kayano, T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2637-2641 (1986).
- 2) T. Tokumura, Y. Tsushima, K. Tatsuishi, M. Kayano, Y. Machida, T. Nagai, *YAKUZAI-GAKU*, **47**, 100-104 (1987).
- 3) J.T. Carstensen 編, 永井恒司訳, “医薬品の溶出”, 地人書館, 東京, 1978, pp. 66-84.
- 4) 日本薬局方解説書編集委員会編, “第十三改正日本薬局方解説書”, 廣川書店, 東京, 1998, pp.182-185.
- 5) 日本公定書協会編, “日本薬局方技術情報1996,” 薬業時報社, 東京, 1996, pp.182-185.
- 6) 角井かず代, 医薬ジャーナル, **31**, 1097-1102 (1995).
- 7) 朝尾正, 安藤貞一, 楠正, 中村恒夫, “最新実験計画法”, 日科技連, 東京, 1973, pp.331-341.
- 8) 山岡清, “マイコンによる薬物体内動態解析法”, 南江堂, 東京, 1984, pp.145-184.
- 9) 南原利夫監修, “物理薬剤学”, ミクス, 東京, 1998, pp.43-49.
- 10) J.Wagner, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 1253-1257 (1969).
- 11) K.Takayama, H.Obata, T.Nagai, *Int.J.Pharm.*, **61**, 225-234 (1990).
- 12) K.Takayama, H.Okabe, Y.Obata, T.Nagai, *Int. J. Pharm.*, **74**, 115-126 (1990).