抗炎症薬ビフェニル酢酸の直腸投与における薬物担体としての
水溶性 β -シクロデキストリン誘導体の有効利用

有馬英俊,^a 近藤 隆,^a 入江徹美,^a 平山文俊,^a
上釜兼人,^{*,a} 宮地建明,^b 井上義敬^b

熊本大学薬学部,^a 日本レダリー株式会社製薬製剤研究所^b

Use of Water-Soluble β -Cyclodextrin Derivatives as Carriers of
Anti-inflammatory Drug Biphenylacetic Acid
in Rectal Delivery

Hidetoshi ARIMA,^a Takashi KONDO,^a Tetsumi IRIE^a
Fumitoshi HIRAYAMA,^a Kaneto UEKAMA,^{*,a}
Tatsuaki MIYAJI,^b and Yoshinori INOUE^b

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University,^a 5-1,
Oe-honmachi, Kumamoto 862, Japan and Chemical &
Formulation Research Laboratories, Lederle (Japan)
Ltd.,^b 1-6-34, Kashiwa-cho, Shiki-shi,
Saitama 353, Japan

(Received July 16, 1991)

To improve the rectal delivery of an anti-inflammatory drug, biphenylacetic acid (BPAA), the use of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CyD) and heptakis(2,6-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin (DM- β -CyD) was investigated. Inclusion complex formations of BPAA with both β -CyDs in a molar ratio of 1:1 in water were ascertained, and their stability constants were determined. The dissolution of BPAA in water and the release of BPAA from an oleaginous suppository (Witepsol H-5) were significantly increased by β -CyDs, depending on the magnitude of the stability constants of the water-soluble complexes. However, the serum levels of BPAA after rectal administration of the suppositories containing BPAA or its β -CyDs complexes in rats increased in the order of BPAA alone $\ll$ DM- β -CyD $\leq$ HP- β -CyD complex. The *in situ* recirculation study revealed that the greater the stability constant of the complex, the lesser was the absorption of BPAA from the rectal lumen of rats under the solution state. Both *in vivo* and *in situ* studies demonstrated that rather high amount of HP- β -CyD (about 20% of dose) was absorbable from the rat's rectum, compared with DM- β -CyD (less than 5% of dose), suggesting the possibility of the permeation of BPAA through the rectal membrane in the form of HP- β -CyD complex. Furthermore, DM- β -CyD and HP- β -CyD significantly reduced the irritation of the rectal mucosa caused by BPAA after the administration of the suppositories to rats. The above data suggest that water-soluble β -CyD derivatives are useful in the rectal formulation of BPAA, improving the bioavailability and local irritancy.

Keywords—biphenylacetic acid; β -cyclodextrin derivative; inclusion complex; drug release; suppository; rectal bioavailability; local irritancy

環状オリゴ糖である β -シクロデキストリン (β -CyD) との包接複合体形成を利用して、坐剤からの薬物放出性の改善や直腸投与時のバイオアベイラビリティの向上に関する研究が近年活発に行われている.¹⁻³⁾ 一方、溶解性や機能性を高めた β -CyD 誘導体 (β -CyDs) を用いて、難水溶性薬物の直腸吸収性の改善やホスト分子自体の吸収挙動に関する検討例は少ない.⁴⁾ そこで本研究では、代表的な水溶性誘導体である 2-hydroxypropyl- β -CyD (HP- β -CyD)^{5,6)} 及び heptakis(2,6-di-*O*-methyl)- β -CyD (DM- β -CyD)^{7,8)} の坐剤用薬物担体としての有用性を明らかにするため、種々の検討を行った。モデル薬物としては、既に報告した非ステロイド系酸性抗炎症薬ビ

フェニル酢酸 (BPAA)^{9,10)} を用いて、水溶液中及び固体状態における β -CyDs との複合体形成、複合体の溶解挙動、坐剤からの薬物放出挙動、ラット直腸における *in situ* 及び *in vivo* 吸収に及ぼす β -CyDs の影響を詳細に検討した。なお、坐剤基剤として低刺激性で使用性にも優れる油脂性基剤 Witepsol H-5 を用いた。さらに、安全性確保の観点から、坐剤投与後の BPAA の直腸粘膜刺激性に及ぼす β -CyDs の影響についても検討を加えた。

実 験 の 部

試料及び溶媒 BPAA は日本レダリー (株) 製の原末を篩過 (<100 メッシュ) して使用した。 β -CyD 及び HP- β -CyD (2-hydroxypropyl 基の平均置換度: 5.8¹¹⁾) は日本食品化工 (株) 製、DM- α -CyD 及び DM- β -CyD は東進ケミカル (株) 製のものを使用した。なお、 β -CyD 及び DM- β -CyD はそれぞれ水及びメタノールから再結晶して用いた。Witepsol H-5 はミツバ貿易 (株) から恵与されたものを用いた。他の試薬及び溶媒類はすべて市販特級品を用いた。

β -CyDs の溶解度測定 過剰量の β -CyDs を共栓付き試験管に採取し、水又はエタノール-水混合溶液を加え、種々の温度で 2 週間振盪した。遠心分離 (500×g) 後、上澄を綿栓付きピペットで濾取し、濾液の比旋光度を日本分光 (株) 製 DIP-360 型旋光度計を用いて測定し、 β -CyDs の溶解度を算出した。

溶解度相図 一定過剰量の BPAA を共栓付き試験管に秤取し、種々の濃度の β -CyDs 溶液を加えて密栓し、所定の温度 (15—45°C) で 2 週間振盪した。溶解平衡に達した各飽和溶液を綿栓付きピペットで濾取し、水で適当に希釈後、波長 253 nm で島津製作所 (株) 製 UV-160 により BPAA を定量した。 β -CyDs 濃度に対して BPAA 濃度をプロットした溶解度相図の初期直線部分における勾配 (slope) と切片 (intercept) の値を用いて (1) 式¹²⁾からモル比 1:1 複合体の安定度定数 K_c (M⁻¹) を算出した。

$$K_c = \text{slope} / \text{intercept} (1 - \text{slope}) \quad (1)$$

連続変化法 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH=7.0) 中、 β -CyDs 添加に伴う BPAA の蛍光強度変化を日立 (株) 製 650-60 型蛍光分光光度計を用いて測定し、連続変化法プロット¹³⁾を作成して水溶液中における複合体の組成比を決定した。

固体複合体の調製 既報¹⁴⁾の混練法に準じて、メノウ乳鉢中にモル比 1:1 相当の BPAA と β -CyDs 粉末を秤取し、水を適量加えながらペースト状になるまで研和した。得られた練合塊は室温で約 2 日間減圧乾燥後、篩過した粉末 (<100 メッシュ) を以下の実験に用いた。なお、固体状態における複合体形成は前報^{9,10,14)}と同様に粉末 X 線回折法により確認した。

溶解速度の測定 37°C の循環水を通じたジャケットビーカーに脱気した精製水 100 ml を入れ、BPAA 又はその β -CyDs 複合体粉末 (BPAA として 40 mg) を加え、91 rpm で攪拌した。経時的に綿栓付きピペットで試料溶液 0.5 ml を採取し、遠心分離 (3000×g, 5 min, 37°C) 後、上澄を水で適当に希釈し、波長 253 nm で BPAA を紫外線吸収 (UV) 定量した。

坐剤放出試験 富山産業 (株) 製 TMS-103 型坐剤放出試験器を使用した。BPAA として 2 w/w% を含有する坐剤 (1 g) を用いて、村西らの方法¹⁵⁾に準じて、前報⁹⁾と同様に測定した。

In Vivo 直腸粘膜吸収実験 Wistar 系雄性ラット (体重 170—220 g) を 1 日間絶食後使用した。各種試料 (BPAA として 10 mg/kg 相当量) を含有する直径 3 mm、長さ約 10 mm (重量約 100 mg) の坐剤を溶解法により調製し、エーテル麻酔下、肛門より 2—3 cm の直腸部へ投与した。なお、坐剤の漏出を防ぐため、投与後アロンアルファ®でラットの肛門を閉じ、実験中は飼料及び水を自由に摂取させた。エーテル麻酔下、頸静脈より採血し (0.6 ml)、前報⁹⁾と同様な方法で血清中 BPAA 濃度を定量した。 β -CyDs の尿中排泄量は以下の方法で測定した。DM- β -CyD: 尿 2 ml に内部標準物質 DM- α -CyD を添加後、クロロホルム 4 ml を加え振盪した。遠心分離 (3000×g, 10 min) 後、有機相を 3 ml 採取し、遠心エバポレーターを用いて減圧下で溶媒留去後、残渣を移動相と同一成分の溶媒に溶解し、後述の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 条件で定量した。HP- β -CyD: 尿 2.0 ml に内部標準物質 (β -CyD) を加え、上記 DM- β -CyD の場合と同様に限外濾過後、Sep-pak C₁₈®を用いて前処理し、遠心エバポレーターを用いて減圧下で溶媒留去した。残渣は移動相と同一成分の溶媒に溶解し、下記 HPLC 条件で定量した。DM- β -CyD の定量: ポンプ; 日立 (株) 製 L-6000 型液体クロマトグラフ, 検出器; 昭和電気 (株) 製 Shodex RI SE-51 型示差屈折計, カラム; 山村化学研究所 (株) 製 R-ODS-5 (4.6 i.d.×250 mm), 移動相; 水-アセトニトリル (9:11 v/v%), 流速; 1.0 ml/min. HP- β -CyD の定量: ポンプ, 検出器及びカラムは DM- β -CyD の場合と同一のものを使用, 移動相; 水-メタノール (21:4 v/v%), 流速; 1.0 ml/min. なお、データ処理には日立 (株) 製 D-2000 型クロマトデータ処理装置を用いた。

In Situ 直腸連続灌流実験 西畑らの方法¹⁷⁾に準じて、Wistar 系雄性ラット (170—220 g) を 1 日間絶食後使用した。ラットは麻酔下、固定台に背位に固定後、腹部を正中線に沿って開腹し、小骨盤の 1—2 cm 上部から肛門までの直腸を使用した。直腸上部にガラスカニューレを挿入し、縫合糸で固定後、37°C の生理食塩水 30 ml で管腔内を 2 回洗浄後、直腸下部にガラスカニューレを挿入し、縫合糸で固定後、灌流液 10 ml を流速 1 ml/min で灌流した。なお、容積補正は灌流液量の直接測定又はマーカーにフェノールレッドを用いて、その濃度測定により行った。ラットは体温降下を防ぐため、ヒータで保温した。灌流液中の BPAA 及び β -CyDs 濃度は前述の方法で定量した。タンパク質の定量は Lowry の方法¹⁸⁾に準じて以下の操作で測定した。経時的に採取した灌流液 0.5 ml に 2% 炭酸ナトリウム含有 0.1 N 水酸化ナトリウム水溶液、4% 酒石酸ナトリウム水溶液及び 2% 硫酸銅水溶液をそれぞれ 100 : 1 : 1 で混合した溶液 5 ml を添加、攪拌後、室温で 10 分間放置した。これに水で 2 倍希釈した Folin 試薬 0.5 ml を加えてインキュベート (37°C, 40 min) し、波長 750 nm で吸光度測定した。総脂質の定量：灌流 2 時間後に採取した灌流液中の総脂質量は臨床検査試験法¹⁹⁾に準じて測定した。組織学的検討：灌流 2 時間後における直腸粘膜の組織学的観察は前報⁹⁾と同様に行った。電子顕微鏡観察用試料は三友らの方法²⁰⁾に従い調製し、走査型電子顕微鏡 (日立 (株) 製 S-510 型) により測定した。

直腸粘膜刺激性試験 BPAA として 4 w/w% を含有する坐剤 (約 100, 200, 及び 400 mg) を調製し、Wistar 系雄性ラット (170—220 g) に投与した (BPAA として 20, 40, 及び 80 mg/kg 相当量)。対照群には基剤 (Witepsol H-5, 125 mg) のみを投与した。坐剤投与後のラットには飼料及び水を自由に摂取させた。投与 5 時間後に瀉血致死させ、肛門より 1.5—3.5 cm の直腸を摘出し、前述の方法で組織学的な観察を行った。刺激性は佐藤らの判定基準²¹⁾に準じて評価した。

結 果 と 考 察

β -CyDs の溶解挙動

3 種の β -CyDs の水への溶解度の温度依存性を Fig. 1 に示す。 β -CyD に比べて、DM- β -CyD は低温側での溶解度が大で、HP- β -CyD は温度に依存しない高い溶解度を示した。Fig. 2 は水-エタノール混合液への β -CyDs の溶解挙動を示す。エタノール濃度の増加に伴い、 β -CyD 及び DM- β -CyD の溶解度は減少するのに対して、HP- β -CyD は溶媒の極性の影響を受け難いことが観察された。このように、水溶性誘導体である DM- β -CyD と HP- β -CyD の溶解挙動に大きな相違が認められた。DM- β -CyD は高温側で溶解度が低下することから、注射剤や点眼剤の滅菌処理、軟膏や坐剤の溶融法による調製には不都合であると思われる。一方、HP- β -CyD の溶解度は温度や溶媒の極性変化にも影響を受け難く、安全性の面でも優れた薬物担体である。²²⁾

BPAA と β -CyDs との複合体形成

BPAA と β -CyDs との水溶液中における相互作用は溶解度法及び連続変化法により検討した。Fig. 3 は BPAA- β -CyDs 系の 37°C における溶解度相図を示す。前報⁹⁾において β -CyD 系は Higuchi ら¹²⁾の分類による B_s 形相図を示し、そのプラトー領域の長さ及び下降曲線部分から単離した固体複合体の組成分析に基づいて、 β -CyD は BPAA とモル比 1 : 1 で複合体を形成することが明らかにされている。一方、今回検討した DM- β -CyD 及び HP- β -CyD 系の相図はいずれも A_L 形を示し、高水溶性の複合体形成が示唆された。DM- β -CyD 系

Fig. 1. Solubilities of β -CyDs in Water as a Function of Temperature

○, β -CyD; □, DM- β -CyD; △, HP- β -CyD.

Fig. 2. Solubilities of β -CyDs in Water-Ethanol System at 25°C

○, β -CyD; □, DM- β -CyD; △, HP- β -CyD.

Fig. 3. Phase Solubility Diagrams of BPAA- β -CyDs Systems in Water at 37°C

□, DM- β -CyD; △, HP- β -CyD.

Fig. 4. Continuous Variation Plots for Interaction of BPAA with β -CyDs in Phosphate Buffer (pH 7.0, $\mu=0.2$) at 25°C

□, DM- β -CyD; △, HP- β -CyD.

TABLE I. Apparent Stability Constants (K_c) and Thermodynamic Parameters for Complexation of BPAA with β -CyDs in Water

	K_c (M^{-1})				ΔG (298 K) (kJoule·mol $^{-1}$)	ΔH (kJoule·mol $^{-1}$)	ΔS (298 K) (joule·K $^{-1}$ ·mol $^{-1}$)
	15°C	25°C	37°C	45°C			
DM- β -CyD	5640	4710	4920	3740	-20.95	-8.51	41.74
HP- β -CyD	2100	1780	1790	1650	-18.54	-5.25	44.60

では温度上昇に伴い複合体が析出し、45°Cで単離した固体複合体のモル比は1:1であった。HP- β -CyD系では4—60°Cにおいても複合体の析出は見られなかったが、Fig. 4に示すBPAAの蛍光強度変化を指標とした連続変化法プロットから、両 β -CyDsはいずれもBPAAとモル比1:1で複合体を形成することが示唆された。そこで、溶解度相図の初期直線部分の勾配と切片の値から算出したモル比1:1の安定度定数(K_c , M^{-1})と熱力学的パラメータをTable Iに示す。 K_c 値のvan't Hoffプロットは15—45°Cにおいて直線性を示し、いずれの温度においてもHP- β -CyD<DM- β -CyDの順に増大した。エンタルピー変化(ΔH)は負、エントロピー変化(ΔS)は正の値を示すことから、複合体形成にはファンデルワールス力や疎水結合などが関与しているものと推定される。^{23,24)}なお、固体状態における相互作用は、混練法で調製した複合体及び物理的混合物について粉末X線回折法により検討し、既に報告した。¹⁰⁾

複合体形成に伴うBPAAの溶解及び坐剤基剤からの放出挙動

BPAA及びその β -CyDs複合体の水への溶解挙動を粉末法により測定した結果をFig. 5に示す。BPAAの溶解速度は複合体の安定度定数の大きさと対応して、HP- β -CyD<DM- β -CyDの順に増大することから、溶解度やぬれなどの改善に起因するものと推定される。Fig. 6は基剤からのBPAAの放出に及ぼす β -CyDsの影響を示す。薬物放出速度は複合体の溶解挙動を反映してHP- β -CyD<DM- β -CyDの順に増大した。通常、基剤からの薬物放出には拡散や沈降などの因子が関与するものと考えられている。^{25,26)}今回調製したBPAA単独及びその β -CyDs複合体はいずれも基剤中に懸濁状態で存在するため、基剤中を沈降しながら界面に移行し、基剤/水界面における薬物の溶解過程が放出の律速段階になるものと推察される。

BPAAのin Vivo直腸粘膜吸収に及ぼす β -CyDsの影響

前述のin vitroにおける溶解及び坐剤放出試験の結果から、複合体形成によりBPAAの直腸吸収性の増大が予想されるため、BPAA単独又は β -CyDs複合体を含有する坐剤をラット直腸投与における薬物のin vivo吸収挙動を検討した。坐剤投与後のBPAAの血清中濃度時間推移をFig. 7に、その速度論的パラメータをTable IIに示す。薬物単独に比べて、HP- β -CyD及びDM- β -CyD複合体化による顕著な吸収増大が観察された。そこで、

Fig. 5. Dissolution Profiles of BPAA or Its β -CyDs Complexes in Water at 37°C, Measured by Dispersed Amount Method

●, BPAA alone; □, DM- β -CyD complex; △, HP- β -CyD complex.

β -CyDs 単独を含有する坐剤をラット直腸投与後 24 h における β -CyDs の尿中排泄量を測定すると、DM- β -CyD は投与量の数%, HP- β -CyD は約 20% が尿中に観察された。最近の報告によると、 β -CyDs は静脈内投与により速やかに血中から消失し、投与後 6 h 以内にほとんどが未変化体のまま尿中へ排泄されることが知られている。^{27,28)} したがって、今回観察された尿中排泄量は各 β -CyDs の直腸粘膜から血中への移行量を反映しているものと推定され、特に HP- β -CyD の場合は複合体の形でも直腸から吸収される可能性を示唆している。

BPAA の *in Situ* 直腸粘膜吸収に及ぼす β -CyDs の影響

前述の *in vivo* 直腸吸収実験において、 β -CyDs による BPAA の吸収増大効果は *in vitro* 放出挙動から予想したものとは異なり、HP- β -CyD 系で大きな吸収促進が観察された。そこで、その原因を解明するため、坐剤からの放出過程及び基剤成分の影響を

Fig. 6. Release Profiles of BPAA from Oleaginous Suppositories Containing BPAA or Its β -CyDs Complexes in Saline at 37°C

●, BPAA alone; □, DM- β -CyD complex; △, HP- β -CyD complex.

Fig. 7. Serum Levels of BPAA Following Rectal Administration of Oleaginous Suppositories Containing BPAA or Its β -CyDs Complexes (Equivalent to 10 mg BPAA/kg) to Rats

●, BPAA alone; □, DM- β -CyD complex; △, HP- β -CyD complex.

Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 5 rats. a) $p < 0.05$, compared to BPAA alone.

TABLE II. Pharmacokinetic Parameters Following Rectal Administration of Oleaginous Suppositories Containing BPAA or Its β -CyDs Complexes (Equivalent to 10 mg BPAA/kg) to Rats^{a)}

System	$T_{\max}^{b)}$ (h)	$C_{\max}^{c)}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$\text{MRT}^{d)}$ (h)	$\text{AUC}^{e)}$ ($\text{h} \cdot \mu\text{g/ml}$)	$F^{f)}$ (%)
BPAA alone	0.7 ± 0.1	75.1 ± 0.9	3.6 ± 0.4	266.7 ± 14.5	52.5 ± 2.9
DM- β -CyD complex	0.6 ± 0.1	133.2 ± 14.4	3.1 ± 0.5	438.2 ± 30.2	87.5 ± 5.1
HP- β -CyD complex	0.8 ± 0.1	133.2 ± 9.1	3.1 ± 0.2	471.3 ± 18.1	92.8 ± 3.6

a) Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 5 rats. b) The time required to reach the maximum serum BPAA level. c) The maximum serum BPAA level. d) The mean residence time of BPAA in serum. e) The area under the serum BPAA level-time curve up to 24 h post-administration. f) The bioavailability compared with the AUC value of BPAA administered intravenously.

受けない条件下での直腸粘膜透過性に及ぼす β -CyDs の影響を *in situ* 連続灌流法により検討した。Fig. 8 に示すように、BPAA は擬一次速度に従い灌流液から消失し、半減期 ($t_{1/2}$) は 1.95 h であった。一方、 β -CyDs 存在下での半減期は複合体の安定度定数の大きさに対応して HP- β -CyD (4.7 h) < DM- β -CyD (6.2 h) の順に BPAA の吸収は抑制された。その際、灌流液中には直腸粘膜から膜タンパクの漏出が観察された。Fig. 9 から明らかなように、タンパク漏出量は HP- β -CyD < DM- β -CyD の順に増大したが、非イオン性界面活性剤である Triton-X-100 の影響よりも小さかった。また、灌流液中には脂質類の漏出も見られ、 β -CyDs の影響はタンパク漏出の場合と同様な傾向が観察された。たとえば、80 mM β -CyDs 溶液を 3 h 灌流した場合、コレステロールの漏出量は DM- β -CyD で 0.82 ± 0.34 mg/ml, HP- β -CyD で 0.04 ± 0.02 mg/ml であった (対照群: 0.05 ± 0.01 mg/ml)。また、リン脂質の漏出量は DM- β -CyD で 36.7 ± 10.3 μ g/ml, HP- β -CyD で 4.9 ± 1.8 μ g/ml であった (対照群: 1.4 ± 1.4 μ g/ml)。なお、灌流開始 2 h 後における直腸粘膜の光学顕微鏡及び走査型電子顕微鏡による観察では、連続灌流条件下での検討のため、対照群においても粘膜固有層に浮腫や一部軽度の粘膜表層の剥離がみられた。対照群と β -CyDs 添加群間での顕著な組織学的変化は見られず、Triton X-100 の場合よりも影響は小さかった。そこで、BPAA の直腸粘膜吸収に及ぼす β -CyDs の前処理の影響を調べると、HP- β -CyD < DM- β -CyD の順に BPAA の吸収は抑制された (Fig. 10)。

これらの知見から、 β -CyDs 存在下、溶液状態における BPAA の吸収抑制現象には複合体形成に伴う粘膜透過性の低下や β -CyDs 自身の粘膜への直接作用などが関与しているものと推察される。

興味深い現象として、Fig. 11 に示すように、DM- β -CyD は灌流液からの消失はほとんど見られなかったが、HP- β -CyD は灌流開始 2 h 後で約 20% の消失が認められた。この事実は HP- β -CyD 系における BPAA が複合体の形で吸収される可能性を示唆するものであり、前述の *in vivo* 実験結果ともよく符合している。このように、*in situ* 灌流実験から β -CyDs 複合体化は BPAA の粘膜透過性には不利に働き、坐剤基剤からの薬物放出性の改善には有利に働くことが確かめられたが、相対的に後者が前者を凌駕したことにより *in vivo* 坐剤投与において BPAA の吸収増大として観察されたものと考えら

Fig. 9. Release Profiles of Proteins from Rat Rectum Perfused with β -CyDs and Triton X-100 (20 mM) in Isotonic Phosphate Buffer (pH 7.4) at 37°C

●, buffer alone; □, DM- β -CyD; △, HP- β -CyD; ■, Triton X-100.
Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 3–6 rats.

Fig. 8. Disappearances of BPAA (0.06 mM) from Rat Rectum in the Presence and Absence of β -CyDs (20 mM) in Isotonic Phosphate Buffer (pH 7.4) at 37°C

●, BPAA alone; □, with DM- β -CyD; △, with HP- β -CyD.
Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 4 rats.
a) $p < 0.05$, compared to BPAA alone.

Fig. 10. Effects of Pretreatment with β -CyDs (20 mM) on Disappearance of BPAA (0.06 mM) from Rat Rectum in Isotonic Phosphate Buffer (pH 7.4) at 37°C

●, BPAA alone; □, with DM- β -CyD; △, with HP- β -CyD.
Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 4 rats.
a) $p < 0.05$, compared to BPAA alone.

Fig. 11. Disappearances of β -CyDs (20 mM) from Rat Rectum in Isotonic Phosphate Buffer (pH 7.4) at 37°C

□, DM- β -CyD; △, HP- β -CyD.
Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 3–6 rats.

Fig. 12. Irritation Effects of Suppositories Containing BPAA or Its β -CyDs Complexes on Rectal Mucosa in Rats 5 h Following Rectal Administration

□, BPAA alone; ▨, DM- β -CyD complex; ■, HP- β -CyD complex.
Each result represents the mean $\pm$ S.E. of 5 rats.
a) $p < 0.05$, compared to BPAA alone.

れる。ここで、*in vitro* 放出性や *in situ* 吸収性のデータ (Fig. 6, 8) から予測されるよりも、*in vivo* 条件下で薬物の速やかな吸収がみられる要因として、各系の実験条件の相違に加えて薬物吸収への基剤成分の影響などが複雑に関与しているものと推察される。

直腸粘膜刺激性の軽減

酸性非ステロイド系抗炎症薬による消化管粘膜傷害は長期投与において大きな問題となるため、これまでに β -CyD を用いてインドメタシン、フルルビプロフェン、ピロキシカムの胃粘膜刺激性を軽減する試みが行われている。²⁰⁻³¹⁾ そこで、本研究においては BPAA 含有坐剤を直腸投与後の粘膜刺激性に及ぼす β -CyD 誘導体の影響を検討した。Fig. 12 は BPAA 及びその β -CyDs 複合体を含む坐剤をラット直腸に投与後 5 h における粘膜刺激性を評価した結果を示す。図には示していないが、 β -CyDs のみを含有する坐剤を投与した群の刺激指数は基剤のみを投与した対照群と同程度であった。対照群に比較して、薬物投与群の刺激指数は投与量の増加に伴い有意に増大した。一方、DM- β -CyD 及び HP- β -CyD 複合体投与群では投与量に依存しないほぼ一定した刺激指数が得られ、BPAA 80 mg/kg 投与群において薬物単独に対して有意に刺激性の軽減が認められた。このように水溶性 β -CyDs による粘膜刺激性の軽減効果は、包接に伴う BPAA の粘膜への親和性の低下や坐剤の溶融温度や展延性の変化による直腸管腔中における坐剤の広がり状態の違いなどに起因するものと考えられる。

総 括

Witepsol H-5 基剤を用いて BPAA 坐剤を調製しラットの直腸に投与すると、BPAA の吸収は β -CyDs との複合体形成により顕著に増大し、BPAA 由来の直腸粘膜刺激性も有意に軽減された。一方、*in situ* 灌流実験からは溶液中における複合体の存在比率が大きいほど BPAA の粘膜透過性は低下することが確認されたが、その負の効果は水溶性複合体化による油脂性基剤からの BPAA の放出増大効果によって凌駕され、高いバイオアベイラビリティが得られるものと推定された。特に、HP- β -CyD 系では複合体も直腸粘膜から吸収される可能性が示唆された。このように、BPAA の坐剤設計において、バイオアベイラビリティに優れる水溶性 β -CyDs 複合体の利用は、投与量の減少、局所刺激性の低減などの面からも有用であり、DM- β -CyD よりも安全性に優れる HP- β -CyD は直腸からの薬物送達用担体として有効利用が期待される。

謝辞 本研究にあたり実験の一部に協力された永松有子嬢に感謝致します。

引用文献及び注

- 1) R. Iwaoku, K. Arimori, M. Nakano, K. Uekama, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 1416 (1982).

- 2) L. Szenté, I. Apostol, A. Gerlóczy, J. Szejtli, *Pharmazie*, **40**, 416 (1985).
- 3) 今里 雄, 中村康彦, 高橋照孝, 森 正昭, 北村健三, 牧田浩和, 薬剂学, **50**, 382 (1990).
- 4) M. Kikuchi, F. Hirayama, K. Uekama, *Int. J. Pharm.*, **38**, 191 (1987).
- 5) J. Pitha, S. M. Harman, M. E. Michel, *J. Pharm. Sci.*, **75**, 165 (1986).
- 6) B. W. Müller, U. Brauns, *Int. J. Pharm.*, **26**, 77 (1985).
- 7) J. Szejtli, *J. Incl. Phenom.*, **1**, 135 (1983).
- 8) K. Uekama, T. Irie, "Cyclodextrins and Their Industrial Uses," ed. by D. Duchêne, Editions de Santé, Paris, 1987, pp. 393—439.
- 9) 上釜兼人, 前田照利, 有馬英俊, 入江徹美, 平山文俊, 薬誌, **106**, 1126 (1986).
- 10) H. Arima, H. Adachi, T. Irie, K. Uekama, *Drug Invest.*, **2**, 155 (1990).
- 11) A. Yoshida, H. Arima, K. Uekama, J. Pitha, *Int. J. Pharm.*, **46**, 217 (1988).
- 12) T. Higuchi, K. A. Connors, *Adv. Anal. Chem. Instr.*, **4**, 117 (1965).
- 13) P. Job, *Ann. Chim.*, **9**, 113 (1928).
- 14) 鶴岡道雄, 橋本 強, 瀬尾 量, 一政清一, 上野 幸, 藤永稔夫, 小田切優樹, 上釜兼人, 薬誌, **101**, 360 (1981).
- 15) 村西昌三, 大久保洋子, 瀬崎 仁, 薬剂学, **39**, 1 (1979).
- 16) K. Koizumi, Y. Kubota, Y. Okada, T. Utamura, *J. Chromatogr.*, **341**, 31 (1985).
- 17) T. Nishihata, K. Kotera, Y. Nakano, M. Yamazaki, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3807 (1987).
- 18) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
- 19) 金井 泉, 金井正光 (編), "臨床検査法要提," 金原出版, 東京, 1978.
- 20) 三友善夫, "病理組織のための電子顕微鏡試料作製法," 金芳堂, 東京, 1973.
- 21) 佐藤修二, 堀口佳哉, 伊藤和敏, 町田良治, 永井恒司, 薬剂学, **48**, 99 (1988).
- 22) M. E. Brewster, K. S. Estes, N. Bodor, *Int. J. Pharm.*, **59**, 231 (1990).
- 23) K. Uekama, T. Imai, T. Maeda, T. Irie, F. Hirayama, M. Otagiri, *J. Pharm. Sci.*, **74**, 841 (1985).
- 24) M. L. Bender, M. Komiyama, "Cyclodextrin Chemistry," Springer-Verlag, Berlin, 1978.
- 25) 村西昌三, "坐剤; 製剤から臨床応用まで," 南山堂, 東京, 1985.
- 26) A. J. M. Schoonen, F. Moolenaar, T. Huizinga, *Int. J. Pharm.*, **4**, 141 (1979).
- 27) I. Szatmari, Z. Vargay, "Proceedings of the Fourth International Symposium on Cyclodextrins," ed. by O. Huber, J. Szejtli, Kluwer Academic Publishers, 1988, pp. 407—413.
- 28) H. W. Frijlink, J. Visser, N. R. Hefting, R. Oosting, D. K. F. Meijer, C. F. Lerk, *Pharm. Res.*, **7**, 1248 (1990).
- 29) N. Nambu, K. Kikuchi, T. Kikuchi, Y. Takahashi, H. Ueda, T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3609 (1978).
- 30) 今井輝子, 前田照利, 小田切優樹, 上釜兼人, 薬物動態, **2**, 657 (1987).
- 31) L. Santucci, S. Fiorucci, L. Patoia, F. Farroni, A. Sicilia, S. Chiucchiu, L. Bufalino, A. Morelli, *Drug Invest.*, **2** (suppl. 4), 56 (1990).