



Title	吸収促進剤併用時の直腸からの Gentamicin 吸収に関する研究
Author(s)	松本, 宜明
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3052240
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

吸収促進剤併用時の直腸からの Gentamicin吸収に関する研究

松 本 宜 明

吸収促進剤併用時の直腸からの Gentamicin吸収に関する研究

松 本 宜 明

目次

緒論	1
本論	
第Ⅰ章 中空坐剤の製剤特性（ propranolol を用いた例）	3
第1節 中空坐剤と通常型坐剤からの propranolol 放出の比較	3
第2節 中空坐剤と通常型坐剤投与後の血漿中 propranolol 濃度の比較	6
第3節 直腸投与と経口投与における propranolol bioavailability の比較	9
第4節 小括および考察	12
第Ⅱ章 吸収促進剤併用時の製剤特性（添加形態および放出方向）の違いによる gentamicin 直腸吸収の変化	14
第1節 サリチル酸ナトリウムまたはオクタン酸ナトリウム 併用坐剤による gentamicin 直腸吸収の増大	14
第2節 サリチル酸ナトリウムまたはオクタン酸ナトリウムの坐剤への粉末充填と水溶液充填の比較	16
第3節 サリチル酸ナトリウムまたはオクタン酸ナトリウムの坐剤からの放出方向の影響	18
第4節 小括および考察	23
第Ⅲ章 Gentamicin 直腸吸収に及ぼす吸収促進剤の坐剤添加部位の影響	25
第1節 Glyceryl-1-monooctanoate 併用時の gentamicin 量および添加方法の異なる場合の直腸吸収	26
第2節 Glyceryl-1-monooctanoate の中空部充填と基剤部混和	

における gentamicin 吸収量の比較	29
第3節 Glyceryl-1-monooctanoate 配合量の異なる基剤に	
における水分吸収量	31
第4節 Gentamicin 初期吸収に及ぼす glyceryl-1-monooctanoate	
またはオクタン酸ナトリウムの添加部位の影響	33
第5節 小括および考察	36
第IV章 吸収促進剤前投与時の gentamicin 直腸吸収の変動	38
第1節 吸収促進剤投与後 6 時間の吸収促進効果	38
第2節 吸収促進効果持続時間の比較	40
第3節 小括および考察	44
第V章 総括および結論	
総括	46
結論	47
謝辞	48
参考文献	49

一般に難吸収性医薬品の消化管吸収を改善するには、薬物の物理化学的性質、製剤方法等の薬物側の要因を変更する方法、または薬物の粘膜の透過性、代謝等の生体側の要因を変化させる方法が検討されている。吸収促進剤の併用は粘膜の透過性を変化させ薬物の透過速度、透過量を大きくする方法として数多く報告されている¹⁻⁵⁾。吸収促進剤の研究は、新しい吸収促進剤の開発、作用機構の解明、および吸収促進剤を併用した有効な製剤の開発に分れている。新しい吸収促進剤の開発は物理化学的性質、構造、官能基の系統的検討により^{6,7)}、また、吸収促進機構の解明は粘膜透過経路として細胞内経路と細胞間経路に分けて研究されている。細胞内経路において吸収促進剤の膜脂質部⁸⁾、膜蛋白部⁹⁾または膜中チオール量¹⁰⁾への影響が検討され、細胞間経路では水の吸収¹¹⁾、膜水路¹²⁾への影響の研究が個々に行われているが、一貫した吸収促進機構の解明はなされていない。これらの基礎的研究は吸収促進剤自身の効果を知るうえでは非常に有用と考えられるが、実際に吸収促進剤を製剤に併用する場合、その物理化学的性質を考慮し製剤的要因を含めた製剤設計が必要となる。これまで併用しても安全性が高く吸収促進作用が認められる添加物や薬物¹³⁾を用いて難吸収性医薬品の吸収の改善が行われているが、今なお多くの難吸収性医薬品の有効かつ安全な製剤の開発が待ち望まれている。

一方、吸収促進剤の研究は口腔内¹⁴⁾、鼻腔内¹⁵⁾、小腸内^{16,17)}、直腸内¹⁸⁾などの粘膜を経由する投与経路において研究されている。その中で特に直腸における吸収促進剤の併用は、直腸の粘膜面積が小腸に比べ小さいため吸収促進効果が大きく表れることが多く、また小腸に比べ消化酵素活性が低いなどの利点があり近年盛んに研究されている。また実際に医療用として直腸投与製剤¹⁹⁾は増加の傾向にある。

そこで、本研究では難吸収性医薬品の直腸投与製剤開発における吸収促進剤の併用方法を研究するために、剤形として Fig. 1 に示す中空坐剤²⁰⁻²⁵⁾

を用いウサギ直腸内へ投与し検討を行った。

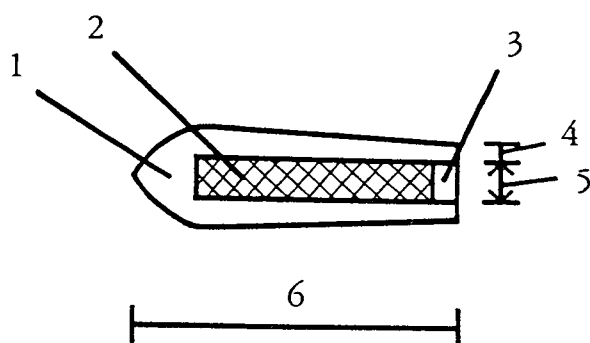


Fig. 1 Schematic Illustration of Hollow Type Suppository

Numbers, 1: oleaginous base material (Witepsol H-15);
2: drug (powder or aqueous solution); 3: prug (Witepsol H-15);
4: thickness of wall (about 2 mm); 5: inner diameter (about 5 mm); 6: length (30-40 mm)

Weight of hollow type suppository is about 2 g and its inner volume is 0.5 cm³. The dimensions of 4 and 5 and the inner volume can be varied.

第 I 章 中空坐剤の製剤特性（propranolol を用いた例）

基剤中に医薬品を添加する従来の坐剤（通常型坐剤）は、主薬と基剤との相互作用による主薬の安定性低下²⁶⁾、調製時の薬物の均一分散、混和性²⁷⁾、薬物の基剤からの放出性²⁸⁾、すなわち薬物の一部分が基剤に留り放出されない等の問題が生じる場合がある。そこでこれらの問題点を回避できる剤形として医薬品と基剤とが分離され、医薬品のみからなる中空部を持つ中空坐剤（Fig. 1）がある。また、通常型坐剤に薬物を水溶液で添加する場合、界面活性剤等の使用が必要となるが、中空坐剤は水溶液のまま充填することも容易である。さらに macrogol 300^{29, 30)}等の溶媒を用いて主薬を充填することができる。そこで本章では propranolol（PPL）を用い中空坐剤と通常型坐剤の *in vitro* における放出の比較を行ない、また *in vivo* での中空坐剤と経口投与の *bioavailability* を比較し、中空坐剤の製剤特性について検討を行なった。

第 1 節 中空坐剤と通常型坐剤からの propranolol 放出の比較

実験方法

1 試料

PPL は塩酸塩を用い ICI 社から、坐剤基剤（Witepsol H-15（H-15））は Hüls Troisdorf 社から供与を受けた。他の試薬はすべて特級品を用いた。

2 坐剤の調製

中空坐剤は Fig. 2 に示す中空坐剤成形用アダプターを装着した紡錘型の金属製坐剤成形器（成形器）を用い、約 45℃ で融解した H-15 を成形器に注入し、中空部を形成しながら室温で冷却固化した。中空部に 200 号篩過した PPL 塩酸塩微末または生理食塩液にとかした PPL（PPL 水溶液）

を充填し、尾部を H-15 を用いて栓をし調製した (Table 1)。

通常型坐剤は、融解した H-15 に P P L 塩酸塩微末を均一に分散させ坐剤成形器に注入し、室温で冷却固化し調製した (Table 1)。

3 放出試験

坐剤からの放出試験は富山産業製放出試験器 (TMS-103 型) を用い、村西ら³¹⁾の方法により行なった。すなわち 500 ml のリン酸塩緩衝液 (pH 7.4 PBS)³²⁾を放出相液とし、内筒の金属網上に直接坐剤を置き、37 °C 100 rpmで放出相液を攪拌した。一定時間毎に 2 ml の PBS を採取し、試料を自記分光光度計 (UV-240型, 島津製作所) により 290 nm の吸光度を測定し、P P Lを定量した。

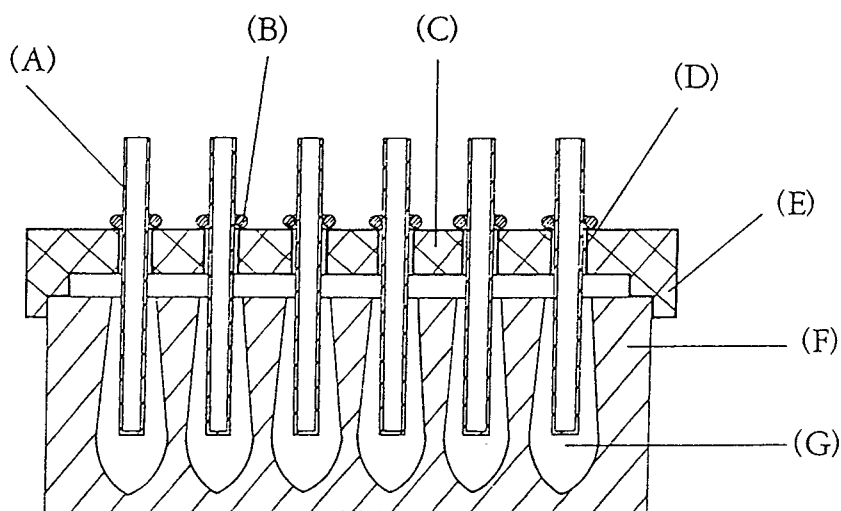


Fig. 2 A Cross-Sectional Diagram of the Mold for Preparing Hollow Type Suppositories

Apparatus consists of (1) adapter (A, B, C) and (2) mold (F).
Keys; (A), stainless steel pipe is withdrawn by thermal treatment; (B), rubber O ring; (C), mounting plate; (D), piercing pipe hole; (E), mounting plate holder; (F), suppository mold (metallic); (G), hollow place for construction of suppository (shapes: torpedo, cylindrical etc.).

Table 1 PPL Suppository Preparations

Suppository ^{a)}	Form of added	Dose ^{b)} (mg/kg)	Number
Conventional ^{c)}	—	3	I
Hollow	Solution ^{d)}	3	II
	Fine powder ^{e)}	1	III-a
		3	III-b
		10	III-c

a) Base: Witepsol H-15. b) PPL dose was calculated as the base.

c) PPL content as the base was 4 mg/g, and 0.75 g of body weight was administered. d) PPL HCl was dissolved in isotonic (0.9 %) NaCl solution (20 mg as the base/ml), and then 150 μ l of this solution per kg of body weight was added to each cavity.

e) PPL HCl was passed through No. 200 sieve.

実験成績

基剤に P P L 10 mg を分散させた通常型坐剤 (I) と P P L 10 mg を中空部に粉末または水溶液で充填した中空坐剤 (II、III) の in vitro での放出試験の結果を Fig. 3 に示す。

中空坐剤を用いた場合、約 7 分の lag time の後放出が始り 15 分後で約 100 % の放出を認めた。一方、通常型坐剤からの放出は中空坐剤に比べ著しく遅く、90 分においても 80 % 程度であった。

P P L を粉末または水溶液を充填した中空坐剤からの放出曲線には差は認められなかった。

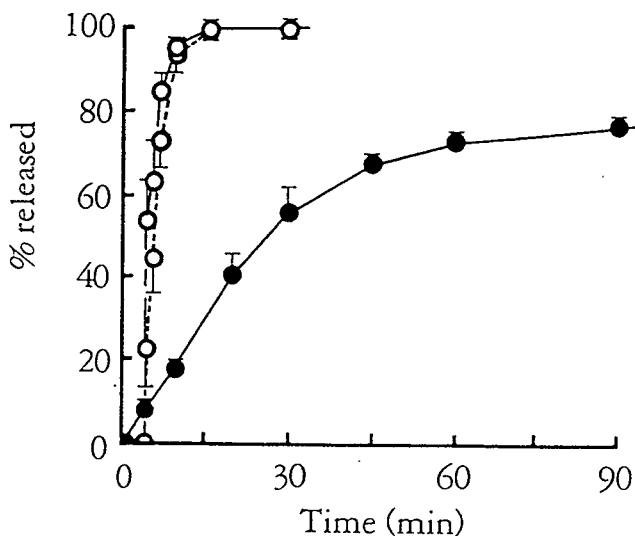


Fig. 3 Dissolution Percentages of PPL from Suppositories in Phosphate Buffer Solution (pH 7.4) at 37 °C

All points represent the mean \pm S.E. (vertical bar) of five experiments.

Each suppository contained 10 mg of PPL

Suppository (see Table 1): —●—, I; ---○---, II;
—○—, III-b

第2節 中空坐剤と通常型坐剤投与後の血漿中 propranolol 濃度の比較

実験方法

1 試料

第1節と同様な試料を用いた。

2 実験動物

日本白色種雄性ウサギ (体重 2.6-3.2 kg) を用いた。

3 坐剤の調製および投与方法

坐剤の調製は第1節の方法と同様に行なった。投与方法はウサギを実験前一夜絶食させた後、腹位に固定した。坐剤を肛門内に挿入後、肛門口をクリップではさみ坐剤の漏出を防いだ。坐剤の投与は10日間以上の休薬期間を置いた。投与前および投与後一定時間毎に耳静脈から約 2 ml 採血した。採血後直ちに 3000 rpm で15分間遠心分離し、得られた血漿を測定まで -20°C で保存した。

4 血漿中 P P L 濃度測定

血漿中 P P L 濃度の測定は Drummer ら³³⁾の方法に準じた。すなわち、血漿 1 ml に内部標準物質として labetalol を 200 μg 加え、炭酸ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウムおよびエーテルを加え振盪した。遠心分離後エーテル層をとり、窒素気流下でエーテル留去後、メタノールおよびリン酸塩緩衝液を加え、残渣を溶解した試料を HPLC (LC-3A 島津製作所) に注入した。カラムは Zorbax ODS (4.6 mm \times 25 cm Dupont, USA) を用い、移動相 (pH 3.4 メタノール、リン酸塩緩衝液 (1 : 1)) の流速を 1.0 ml/min とし、検出器を蛍光スペクトルモニター (RF-540型、島津製作所)、測定波長 (Ex: 310 nm, Em: 380 nm)、データー処理装置 (クロマトパック C-R1 A、島津製作所) により測定した。

5 薬物速度論的解析

最高血漿中濃度 (C_{\max})、 C_{\max} に到達するのに要する時間 (t_{\max})、および血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC)³⁴⁾ は、投与後の P P L 血漿中濃度-時間曲線から求めた。 $AUC_{0-\infty}$ は、台形則に従い測定値から計算し、無限時間への外挿部の面積を加えて算出した。 kel は血漿中濃度-時間曲線の末端の勾配から求めた。平均滞留時間 (MRT) は山岡ら³⁵⁾の方法により求めた。

統計学的解析は、分散分析後、Dunnett's 法を適用し $p < 0.05$ を統計学的に有意とした。

実験成績

P P L 粉末を基剤に添加した通常型坐剤 (I) または P P L 粉末または水溶液を中空部に充填した中空坐剤 (II、III-b) をウサギ直腸内へ投与し、投与後の血漿中 P P L 濃度を Fig. 4 に示す。それらの bioavailability parameter を Table 2 に示す。

中空坐剤 (水溶液または粉末充填) 投与後の血漿中 P P L 濃度—時間曲線のプロファイルは通常型坐剤の場合と異なった。中空坐剤投与後の血漿中 P P L 濃度は急速に増大し、通常型坐剤の 7 - 60 分における血漿中 P P L 濃度は、水溶液または粉末を充填した中空坐剤に比べ有意に低い値 ($p < 0.05$) を示した。通常型坐剤の C_{max} (139 ± 21 ng/ml) は中空坐剤粉末充填 (759 ± 160 ng/ml) に比べ有意に低く約 1/6 であった。また通常型坐剤の $AUC_{0-\infty}$ (273 ± 54 h·ng/ml) は中空坐剤粉末充填 (459 ± 21 h·ng/ml) の約 1/2 と有意に低い値を示した。

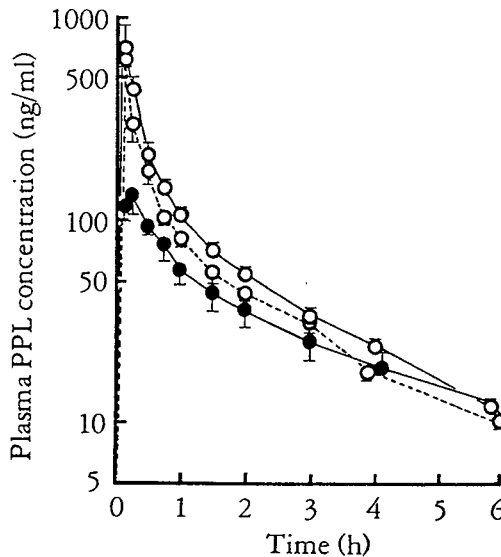


Fig. 4 Semi Logarithmic Plots of Plasma Concentrations of PPL against Time in Rabbits after Rectal Administration of Suppositories at the Dose of 3 mg/kg

Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of five rabbits.

Suppository (see Table 1): —●—, I; ---○---, II;
—○— III-b

Table 2 Bioavailability Parameters of PPL in Rabbits after Rectal Administration of Suppositories

Suppository ^{a)}	C _{max} (ng/ml)	t _{max} (min)	k _{el} (h ⁻¹)	A U C _{0-∞} (h·ng/ml)	MRT (h)
I	139±21	18±3	0.27±0.02	273±54	3.13±0.26
II	585±73 ^{b)}	7±0 ^{c)}	0.37±0.03 ^{b)}	367±41	1.83±0.10 ^{c)}
III-b	759±160 ^{e)}	9±2 ^{e)}	0.37±0.03 ^{d)}	459±21 ^{d)}	1.85±0.11 ^{e)}

Each value represents the mean±S.E. (vertical bar) of five rabbits.

a) Suppository, see Table I. PPL dose: 3 mg/kg.

Statistically significant differences: b) p<0.05, c) p<0.01 in II vs. I; d) p<0.05, e) p<0.01 in III-b vs. I

第3節 直腸投与と経口投与における propranolol bioavailability の比較

実験方法

1 試料

第1節と同様な試料を用いた。

2 実験動物

第2節と同様の動物を用いた。

3 坐剤の調製および投与方法

坐剤の調製は第1節と同様に行なった。坐剤の投与は第2節と同様に行なった。経口投与はPPLの投与量を1, 3 または 10 mg/kgとし、生理食塩

液 (20 ml) に溶解し、腹位に固定したウサギにシリコンゴム製の経口用ゾンデを用いて投与を行なった。採血および休薬期間は第2節と同様に行なった。

4 血漿中 P P L 濃度測定

第2節と同様に行なった。

5 薬物速度論的解析

第2節と同様に行なった。

実験成績

P P L 直腸投与後または経口投与後の血漿中 P P L 濃度一時間曲線を Fig. 5 に示す。それらの bioavailability parameter を Table 3 に示す。

中空坐剤 (Ⅲ-a, Ⅲ-b または Ⅲ-c (Table 2)) 投与後の血漿中 P P L 濃度は急速に増大した (t_{\max} 9-15 min)。3 mg/kg または 10 mg/kg の中空坐剤投与後の C_{\max} および $AUC_{0-\infty}$ は経口投与 (3 または 10 mg/kg) に比べ有意に ($p < 0.01$) 大きな値を示した (AUC ratio (rectal/oral): 3 mg/kg, 57; 10 mg/kg, 33)。中空坐剤投与後の $AUC/dose$ は投与量を 1 から 10 mg/kg と増大しても差は認められなかった。また、1 mg/kg の経口投与では血漿中 P P L 濃度は測定限界以下 (1 ng/ml) であった。

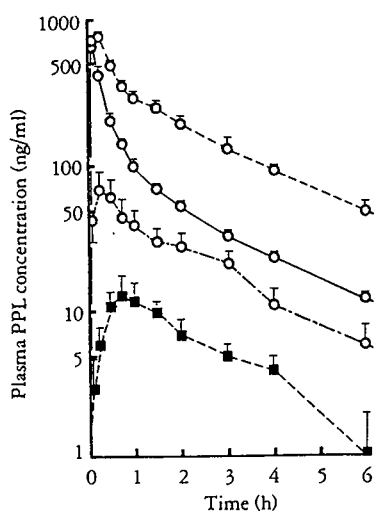


Fig. 5 Semi Logarithmic Plots of Plasma Concentrations of PPL against Time in Rabbits after Rectal or Oral Administration

Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of five rabbits.

Suppository (see Table 1): ---○---, III-a (PPL dose, 1 mg/kg); —○—, III-b (3 mg/kg); ---○---, III-c (10 mg/kg); ---■---, p.o. (10 mg/kg).

Table 3 Bioavailability Parameters of PPL after Rectal or Oral Administration

Administration	Dose (mg/kg)	C_{max} (ng/ml)	t_{max} (min)	$AUC_{0-\infty}$ (h·ng/ml)	$AUC_{0-\infty}/dose$ (h·kg/ml $\times 10^{-6}$)
Rectal ^{a)}	III-a 1	90 ± 17	15 ± 1	153 ± 39	153 ± 39
	III-b 3	795 ± 160	9 ± 2	459 ± 21	153 ± 7
	III-c 10	1020 ± 256	12 ± 2	1271 ± 192	127 ± 19
Oral ^{b)}	1	N.D. ^{c)}	N.D.	N.D.	N.D.
	3	$4 \pm 2^d)$	49 ± 19	$8 \pm 5^d)$	$3 \pm 2^d)$
	10	$15 \pm 3^e)$	$45 \pm 5^e)$	$39 \pm 11^e)$	$4 \pm 1^e)$

Each value represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of five rabbits.

a) Suppository, see Table I. b) PPL in isotonic NaCl solution.

c) Not determined. Statistically significant differences: d) $p < 0.01$ in oral (3mg/kg) vs. III-b; e) $p < 0.01$ in oral (10 mg/kg) vs. III-c.

第4節 小括および考察

In vitroでの放出試験において、中空坐剤は15分以内にほぼ完全な放出が認められたことから、中空坐剤は基剤側壁部の一部が融解すれば直ちに放出が始り、薬物のほぼ完全な放出を可能とする剤形と考えられる。

薬物の吸収は投与部位における薬物溶解量、薬物濃度に依存することが知られている。中空坐剤は通常型坐剤に比べP P Lを高い濃度で局所に投与できる剤型と考えられ、さらに水溶液または粉末添加した中空坐剤は通常型坐剤に比べ著しく放出が速いことから、水溶液または粉末で添加した中空坐剤投与後のP P Lの bioavailability は通常型坐剤に比べ有意に高い値を示したと考えられる。中空坐剤の水溶液と粉末添加では投与部位での局所濃度が異なることが予想される。しかし、in vitroでの放出試験において水溶液と粉末添加の放出曲線に差が認められなかった。これは用いたP P Lが塩酸塩であり、水に高い溶解性を示したためと考えられる。これらのことから水溶液または粉末を添加した中空坐剤の bioavailability に差が認められなかったと考えられる。通常型坐剤投与後のM R Tが中空坐剤の場合に比べ有意に長いことは、通常型坐剤の放出が遅いことに関係しているものと考えられる。

一方、P P Lは肝臓において初回通過効果を大きく受ける薬物として知られている³⁶⁻³⁸⁾。直腸投与は一般に初回通過効果を回避できる投与経路と考えられ、De Boer ら³⁹⁾は直腸投与がP P Lの初回通過効果を回避できる投与経路と報告している。さらに、De Leede ら⁴⁰⁾ Iwamoto ら⁴¹⁾によると、特に直腸下部から吸収された場合に大きくP P Lの初回通過効果が回避されることをラットにおいて報告している。坐剤投与後融解した基剤の移動については、直腸上部へ拡散することがラット⁴²⁾またはヒト^{43, 44)}の直腸において報告されている。同様な現象がウサギでも生じると考えられる。通常型坐剤に比べ水溶液または粉末で充填した中空坐剤において高いA U C_{0-∞}が得られたことは、P P Lの放出が速いため直腸上部へ拡散するP P Lの量が

より少なく、結果として初回通過効果をより回避したものと考えられる。

P P L 中空坐剤は経口投与に比べ初回通過効果を回避し著しく高い血漿中 P P L 濃度が得られ、さらに通常型坐剤に比較し高い bioavailability が得られる製剤であることが示唆された。

これらのことから中空坐剤は、主薬の放出に与える基剤の相違による影響を考慮することなく直腸粘膜面に投与できる剤形と考えられる。従って中空坐剤は、難吸収性薬物の gentamicin (G M) の吸収改善におよぼす吸収促進剤の影響を、吸収促進剤の物理化学的性質を考慮し添加形態、併用方法を評価する上で有用な剤形と考えられるため、第Ⅱ章以後に述べる吸収促進剤の効果に及ぼす製剤学的要因の検討を中空坐剤を用いて行った。

第Ⅱ章 吸収促進剤併用時の製剤特性（添加形態および放出方向）の違いによる gentamicin 直腸吸収の変化

難吸収性薬物の直腸吸収を改善する方法として吸収促進剤の併用が数多く試みられている⁴⁵⁻⁵¹⁾。吸収促進剤を併用する場合、吸収促進剤の物理化学的性質により坐剤への併用は制限される。すなわち油性基剤に親水性の薬物または吸収促進剤を溶解もしくは均一分散させることは通常難しい。そこで中空坐剤を用いて、水溶性の吸収促進剤および水溶性の難吸収性薬物 gentamicin (GM) を基剤と分離した状態で、吸収促進剤の添加形態（粉末または水溶液）による吸収促進効果を比較した。さらに中空坐剤からの放出方向を限定した場合の影響を検討した。

第1節 サリチル酸ナトリウムまたはオクタン酸ナトリウム 併用坐剤による gentamicin 直腸吸収の増大

実験方法

1 試料

GM（硫酸塩、Sigma Chemical Co., St.Louis, MO, USA）、サリチル酸ナトリウム（SA、関東化学）、オクタン酸ナトリウム（C₈、和光純薬工業）を購入し用いた。坐剤基剤（Witepsol H-15）は第1章第1節と同じ基剤を用いた。

2 実験動物

日本白色種雄性ウサギ（体重 3.0-3.5 kg）を用いた。

3 坐剤の調製および投与方法

坐剤の調製は第1章1節と同様に行なった。中空部にGM 60 mg（力価）およびSA（90 mg）またはC₈（90 mg）を充填した。坐剤の投与方法は第1章2節と同様に行なった。静脈内投与（20 mg/ 300 μ l 生理食塩溶液）は耳静脈より行ない、採血はもう一方の耳静脈より行なった。

4 血漿中GM濃度測定

血漿中GM濃度測定はEnzyme immunoassay (substrate labeled-fluorescent-immunoassay (SLFIA法)^{52, 53}) kit (Ames TDA[®], Ames Division Miles Laboratories, Inc., Elkhart, IN, U.S.A.) を用いた。

5 薬物動態解析

第1章第2節と同様に行なった。Extent of bioavailability (EBA) は以下の式により算出した。

$$EBA(\%) = (AUC_{rect}/AUC_{iv}) \times (D_{iv}/D_{rect}) \times 100$$

D : GM投与量

実験成績

GM 60 mg とSAまたはC₈ 90 mg を粉末で中空部に充填し、ウサギ直腸内投与後の血漿中GM濃度-時間曲線を Fig. 6 に示す。なお静脈内投与後の血漿中GM濃度-時間曲線についても Fig. 6 に併記した。

GM 20 mg 静脈内投与後の血漿中GM濃度-時間曲線プロファイルは2相性の消失過程を示し k_{el} は 0.61 h^{-1} を示した。静脈内投与後の $AUC_{0-\infty}$ は $29.9 \pm 2.0\text{ h} \cdot \mu\text{g/ml}$ であった。

GMのみを直腸内に投与しても、血漿中GM濃度は測定限界濃度($1\text{ }\mu\text{g/ml}$)以下で、ほとんど吸収されなかった。しかし、SAまたはC₈をGMと併用投与するとGM吸収量は著しく増大した (Fig. 6)。すなわち、SAを併用した場合、GMの C_{max} は $30.0 \pm 2.5\text{ }\mu\text{g/ml}$ 、 AUC_{0-4} は $61.0 \pm 7.6\text{ h} \cdot \mu\text{g/ml}$ 、EBAは58%を示した。C₈を併用した場合、 C_{max} は $32.0 \pm 4.5\text{ }\mu\text{g/ml}$ 、 AUC_{0-4} は $61.7 \pm 16.0\text{ h} \cdot \mu\text{g/ml}$ 、EBAは59%を示した。これら吸収促進剤併用時の血漿中GM濃度はヒトにおける治療域に比べ高い値を示したことから、以後の吸収促進剤の併用量は30 mg で実験を行なうこととした。

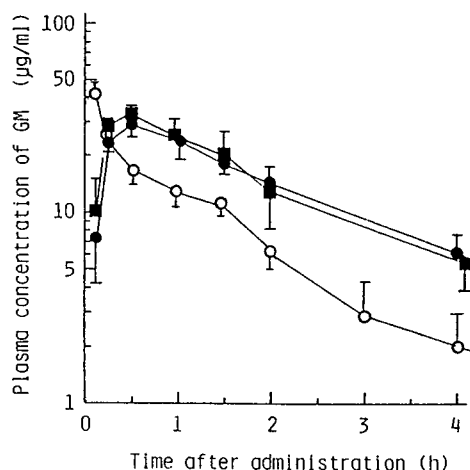


Fig. 6 Plasma GM Concentration-time Curves Following Intravenous Injection (20 mg, Open Symbols) or Rectal Administration of Hollow Type Suppositories Containing Powdered GM (60 mg) and 90 mg of SA (●) or Ca (■) in Rabbits

Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of four rabbits.

第2節 サリチル酸ナトリウムまたはオクタン酸ナトリウムの坐剤への粉末充填と水溶液充填の比較

実験方法

1 試料

第1節と同様な試料を用いた。

2 実験動物

第1節と同様な動物を用いた。

3 坐剤の調製および投与方法

坐剤の調製は第1章2節と同様に行ない、中空部への添加形態を粉末または水溶液とした (Table 4)。投与方法は第1章1節と同じ方法で行なった。

4 血漿中GM濃度測定

第1節と同様な方法により測定した。

5 薬物動態解析

第1節と同様に行なった。

実験成績

GM (60 mg) および水溶性吸収促進剤の SA または C_8 の添加形態を粉末および水溶液として各々 30 mg を中空部に充填した坐剤投与後の血漿中 GM 濃度—時間曲線を Fig. 7 に示す。それぞれの AUC_{0-4} を Fig. 10 (A, B) に示す。水溶液を中空部に充填する場合、溶液量を 200, 400 または 600 μ l と変えると、吸収促進剤濃度を 15, 7.5 または 5 % と変えることができる (Table 4)。SA の場合、血漿中 GM 濃度は粉末充填が最も高く (C_{max} , $15.3 \pm 1.7 \mu$ g/ml; AUC , 27.0 ± 3.9 h \cdot μ g/ml)、水溶液では添加濃度が低くなるに従い GM 吸収量は有意に低下を認めた。5 % 水溶液の AUC_{0-4} (3 h \cdot μ g/ml) は粉末に比べ約 1/10 の値を示した。一方、 C_8 では粉末、15 %、または 7.5 % の GM 吸収量に比べ、5 % 添加の血漿中 GM 濃度は低い傾向を示した。しかし、SA と異なり 5 % の C_{max} $14.8 \pm 4.5 \mu$ g/ml、 AUC_{0-4} 25.4 ± 8.7 h \cdot μ g/ml は粉末の C_{max} $21.3 \pm 2.9 \mu$ g/ml、 AUC_{0-4} 40.2 ± 5.3 h \cdot μ g/ml と比較し有意差は認められなかった。

Table 4 Form and Amount of Drug Added in the Hollow Type Suppository

Form	GM (mg)	SA or C_8 (mg)	Concn. of drug (% (w/v))		Volume ^{a)} (μ l)
			GM	SA or C_8	
Powder	60	30	—	—	
	60	30	30	15	200
Solution ^{b)}	60	30	15	7.5	400
	60	30	10	5	600

a) The volume of solution added in suppository

b) GM and SA were dissolved in distilled water. GM and C_8 were dissolved in 0.5 N NaOH.

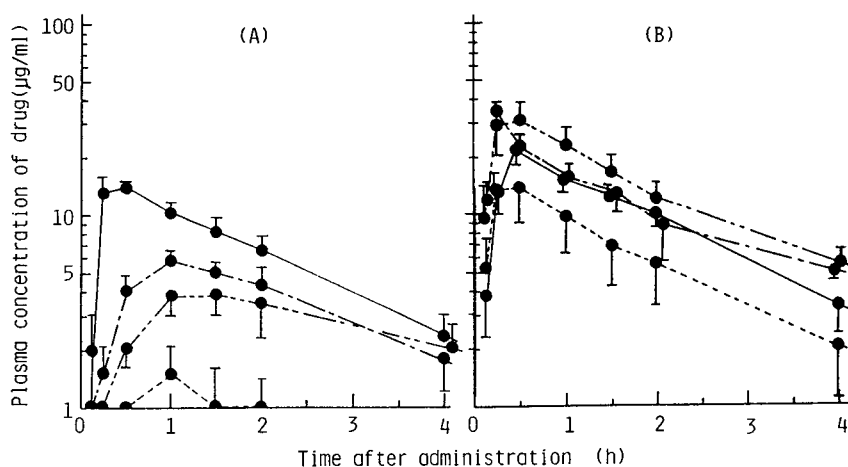


Fig. 7 Plasma Levels of GM in Rabbits Following Rectal Administration of Hollow Type Suppositories Containing GM (60 mg) and SA (A) or C₈ (B) in Powdered Form or Solution Form

Form of drug in suppository:——, powder;---, solution (15 % w/v);····, solution (7.5 % w/v);-·-·-, solution (5 % w/v).

Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of four rabbits.

第3節 サリチル酸ナトリウムまたはオクタン酸ナトリウムの坐剤からの放出方向の影響

S AまたはC₈の粉末および水溶液併用におけるGM吸収の変動の原因の一つとして、直腸内での吸収促進剤およびGMの拡散が異なることが予想される。そこで、S AまたはC₈の直腸内における拡散の影響を検討するために、後部方向のみに放出が可能な放出限定型中空坐剤を用いウサギ直腸内に投与し吸収促進効果を中空坐剤と比較した。

実験方法

1 試料

第1節と同様な試料を用いた。

2 実験動物

第1節と同様な動物を用いた。

3 坐剤の調製および投与方法

粉末を充填する放出限定型中空坐剤 (Fig. 8 IV-a) は、50 °Cで融解した H-42 を成形器に注入し、あらかじめ坐剤前部 (先端から約 30 mm) を冷却固化した。次にアダプターを装着し加温融解した H-15 を注入し、中空部を形成しながら冷却固化 (40 °C空気恒温槽に 30分放置後、室温で約 2時間冷却) した。水溶液を充填する放出限定型中空坐剤 (Fig. 8 IV-b) は、アダプターを装着し50 °C融解した H-42 をあらかじめ坐剤前部 (先端から約 30 mm) に注入し冷却固化した。次に加温融解した H-15 を注入し、同様に調製した。中空部へのGMおよびSAまたはC₈の添加方法は Table 4 に準じた。

4 血漿中GM濃度測定

第1節と同様に行なった。

5 薬物動態解析

第1節と同様に行なった。

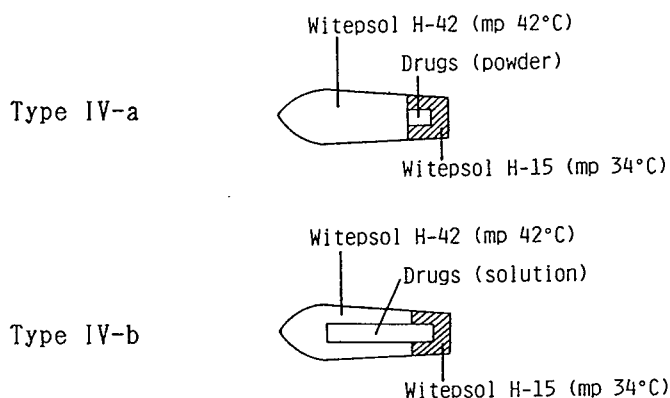


Fig. 8 Schematic Illustration of the Type IV Suppositories

実験成績

放出限定型中空坐剤 (Fig. 8 IV) は、坐剤の頭部を直腸温度より融点の高い基剤 Witepsol H-42 (mp 42 °C) により成形し、尾部を直腸温度より融点の低い基剤 Witepsol H-15 (mp 32 °C) を用いて調製した。従って投与後は直腸内で融解しない基剤より後部方向のみに薬物を放出する剤形と考えられる。

S A または C₈ を 30 mg 併用した G M 60 mg を放出限定型中空坐剤 IV に粉末または水溶液で充填し、投与後の血漿中 G M 濃度一時間曲線を Fig. 9 に示す。放出限定型中空坐剤に比較し中空坐剤投与後の血漿中 G M 濃度一時間曲線を Fig. 9 に併記した。またそれらの A U C₀₋₄ を Fig. 10 に示す。

G M および S A または C₈ を後部方向に限定し放出させた場合、S A はどの場合においても G M 吸収が高まった (Fig. 9, 10 (A))。さらに添加濃度が低いほど中空坐剤に添加した場合に比べ放出を後部方向のみに限定すると G M 吸収が高められた。5 % 放出限定型中空坐剤併用の A U C₀₋₄ ($15.3 \pm 4.1 \text{ h} \cdot \mu\text{g/ml}$) は、放出を限定しない中空坐剤の A U C₀₋₄ ($3.0 \pm 1.3 \text{ h} \cdot \mu\text{g/ml}$) に比べ有意に約 5 倍高くなることを認めた。C₈ では粉末、15 % および 7.5 % 併用の A U C₀₋₄ は放出を限定すると低くなる傾向を示し、5 % 併用のみに G M 吸収が高められた。なお、放出を限定すると水溶液添加では濃度にかかわらずほぼ一定の G M 吸収量となった (Fig. 10 (B))。

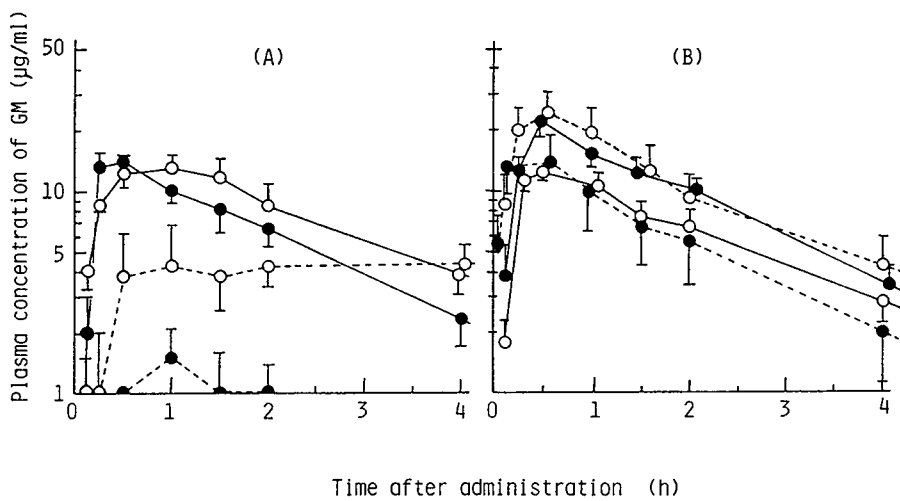


Fig. 9 Plasma Levels of GM in Rabbits Following Rectal Administration of Hollow Type Suppositories (shown as close circles) and Type IV Suppositories (shown as open circles)

Each suppository contained GM (60 mg) and 30 mg of either SA (A) or C₈ (B).

Form of drug in suppository: —, powder; ----, solution (10 % w/v of GM with 5 % of SA or C₈)

Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of four rabbits.

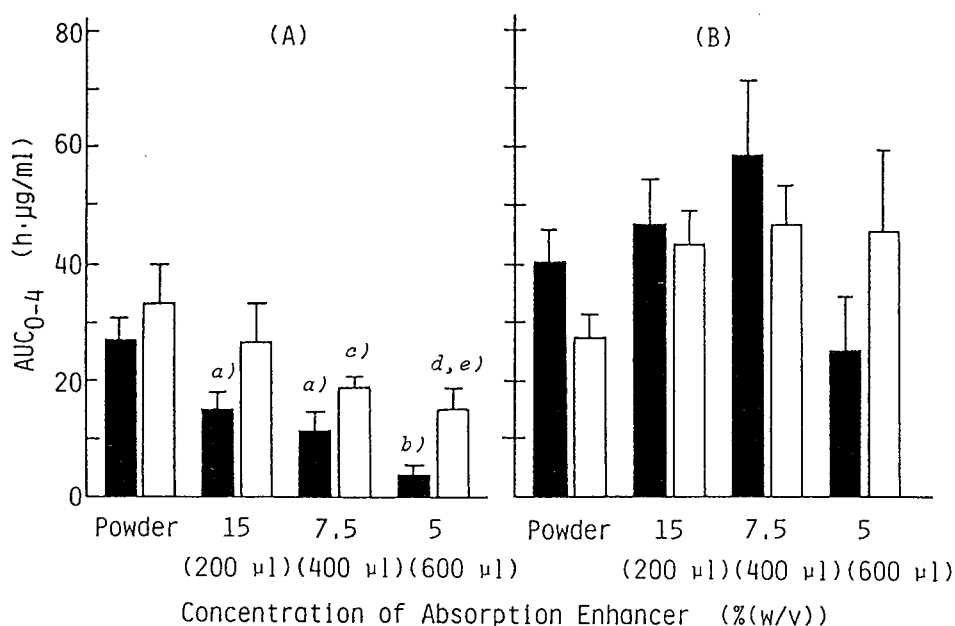


Fig. 10 AUC of GM Following Rectal Coadministration of GM (60 mg) and 30 mg of SA (A) or Cs (B) in Powdered or Solution Form using Hollow Type Suppositories (shown as closed columns) and Type IV Suppositories (shown as open columns)

In the case of solutions, the volume of the solution in the suppository is shown in parentheses.

Each value represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of four experiments.

Statistically significant differences: a) $p < 0.05$ vs. the powder with hollow type; b) $p < 0.01$ vs. the powder with type IV; c) $p < 0.05$ vs. the powder with type IV; d) $p < 0.01$ vs. the powder with type IV; e) $p < 0.05$ vs. the 5 % w/v solution with hollow type.

第4節 小括および考察

芳香族カルボン酸のナトリウム塩であるS Aと脂肪族カルボン酸のナトリウム塩であるC₈の吸収促進剤効果、坐剤への添加濃度および坐剤からの放出方向の影響について検討した。

吸収促進剤を併用せずに単独でGMを粉末または水溶液で直腸投与すると、いずれの場合でもGM吸収は認められず、Pechere ら⁵⁴⁾の報告と同様にGM単独では吸収されないことが確認された。しかし、S AまたはC₈を併用するとGMの吸収量は著しく増大することを認めた。また吸収促進剤の添加量は一定でもその濃度を変えると吸収促進効果は異なった。S Aの吸収促進効果は Nishihataら⁵⁵⁾の報告においても確認されている。

S Aは放出を後部方向の一部分に限定する剤形により、直腸内での拡散が少なく直腸粘膜面の濃度を高く維持できるためGM吸収量が増大したと考えられる。Insulinの吸収においてもこれらの結果と同様に、insulinとS Aを高濃度で投与した場合に高い吸収が得られていることが Liversidgeら^{56, 57)}により報告されている。また、Van Hoogdaemら⁵⁸⁾は、単位時間、単位面積当りに高濃度の cefoxitin を投与した場合に cefoxitin 吸収量の増大を認めている。

S Aの場合は放出方向を限定した粉末併用、C₈の場合は放出を限定しない7.5%水溶液併用においてGM吸収量が最大となり、これはS AとC₈の吸収促進機構の違い⁵⁹⁻⁶¹⁾によるためと見られる。従って、両者の有効な併用方法は異なることが明らかになった。

Suzukaら⁶²⁾は小腸粘膜面でのS Aの吸収促進効果はS A自体の吸収量によると報告しているが、本研究のS Aの吸収量はどの場合も高くほぼ等しい結果⁶³⁾であったことからS A自体の吸収量と吸収促進効果の相関性は小さいと考えられる。C₈自体の吸収については、直腸内投与後の血漿中C₈濃度が低い(C_{max}, 約4 μg/ml)ことが明らかとなっている⁶³⁾。

これらの結果からS AとC₈は粉末と水溶液との違い、すなわち添加濃度

の違いにより G M直腸吸収は異なることが明らかとなり、吸収促進剤併用の G M投与にはこれらの点を考慮する必要がある。

第Ⅲ章 Gentamicin 直腸吸収に及ぼす吸収促進剤の坐剤添加部位の影響

吸収促進剤を中空坐剤へ添加する場合、主薬と吸収促進剤を中空部に充填する方法の他に、主薬を中空部に吸収促進剤を基剤部へ混和する方法も可能である。

親油性の吸収促進剤である glyceryl-1-monooctanoate (MO) は水に難溶なため、水溶液とすることは困難である。しかし、脂肪酸モノグリセリドのMOは脂肪酸トリグリセリドからなる基剤と任意の割合で容易に混和できる。そこでGMを中空部に充填し、MOを基剤部に混和した中空坐剤 (Fig. 11, V) と、GMとMOをともに中空部に充填した中空坐剤とをそれぞれ調製し、GM吸収量の比較検討を行なった。



Fig. 11 Schematic Illustration of the Type V Suppositories Containing GM and MO

Amounts of GM are 6, 20 or 60 mg in the cavity and amounts of MO are 30, 90, 200, 300, 500 or 1000 mg in H-15 and MO alone (2000 mg)

第1節 Glyceryl-1-monooctanoate 併用時の gentamicin 量および 添加方法の異なる場合の直腸吸収

実験方法

1 試料

GMは第2章第1節と同じ試料を用いた。Glycerly-1-monooctanoate (MO) (Poemu M-100[®] (含量 91 %))は理研ビタミン(大阪)から供与を受けた試料を用いた。

2 実験動物

日本白色種雄性ウサギ(体重 2.8-3.3 kg)を用いた。

3 坐剤の調製および投与方法

中空坐剤 (Fig. 1) は第1章1節と同様に調製した。基剤部にMO (300 mg) 配合した中空坐剤 (Fig. 11, V) は、MOと基剤 (Witepsol H-15) を40℃で融解混和し中空坐剤の方法と同様に調製した。坐剤の投与方法は第1章第2節と同様に行なった。

4 血漿中GM濃度測定

第2章1節と同様に測定した。

5 薬物動態解析

第2章1節と同様に行なった。

実験成績

基剤部中にMO量を 300 mgと一定し中空部のGMを粉末で 60, 20または 6 mg と変化させた場合の血漿中GM濃度一時間曲線を Fig. 12 に示す。それらのパラメータを Table 5 に示す。

MO 300 mgを基剤に配合しGM 60 mgを投与した場合、GM吸収は増大した (C_{max} $31.3 \pm 10.0 \mu\text{g/ml}$, $AUC_{0-\infty}$ $85.1 \pm 25.4 \text{ h} \cdot \mu\text{g/ml}$)。GMを 60 mgから 6 mgと 1/10 に減じた場合においてもGM吸収は明らかに

認められた ($C_{\max} 3.5 \pm 0.3 \mu\text{g/ml}$)。KelはGM投与量を変化させても差は認められなかった。GMの投与量が 60, 20 または 6 mg の場合のEBAはそれぞれ $71 \pm 21 \%$, $97 \pm 24 \%$, $84 \pm 23 \%$ となり、GMの投与量を変えても差は認められなかった。

基剤部にMOを 300 mg混和し中空部に添加するGM (60 mg)の添加形態を粉末または水溶液とした場合の血漿中GM濃度—時間曲線を Fig. 13 に示す。

GM (60 mg) を粉末または水溶液としても基剤部にMO 300 mg含有する坐剤を用いると血漿中GM濃度—時間曲線はほぼ等しい曲線を示した。

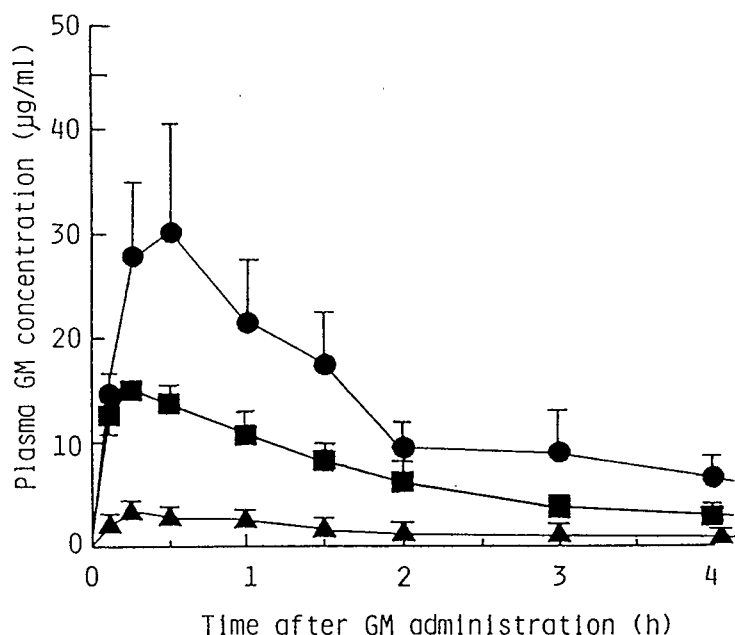


Fig. 12 Plasma Concentration of GM in Rabbits Following Rectal Administration of Type V Suppositories Containing 300 mg of MO in H-15 and Various Amounts of GM in the Cavity

Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of three rabbits.

Amount of GM (mg): ●, 60; ■, 20; ▲, 6.

Table 5 Pharmacokinetic Parameters of GM in Rabbits after Rectal Administration with MO

GM	C_{max} (μ g/ml)	t_{max} (min)	k_{el} (h^{-1})	$AUC_{0-\infty}$ ($h \cdot \mu$ g/ml)	EBA ^{a)} (%)
60	31.3 ± 10.0	20 ± 5	0.33 ± 0.09	85.1 ± 25.4	71 ± 21
20	15.3 ± 0.3	12 ± 3	0.40 ± 0.15	38.9 ± 9.7	97 ± 24
6	3.5 ± 0.3	12 ± 3	0.41 ± 0.09	10.1 ± 2.8	84 ± 23

a) $EBA (\%) = (AUC_{rect}/AUC_{iv}) \times (D_{iv}/D_{rect}) \times 100$, D is the dose of GM; the subscripts rect and iv refer to rectal and intravenous administration respectively. ($D_{iv} = 20$ mg, $AUC_{iv} = 39.9$ $h \cdot \mu$ g/ml)

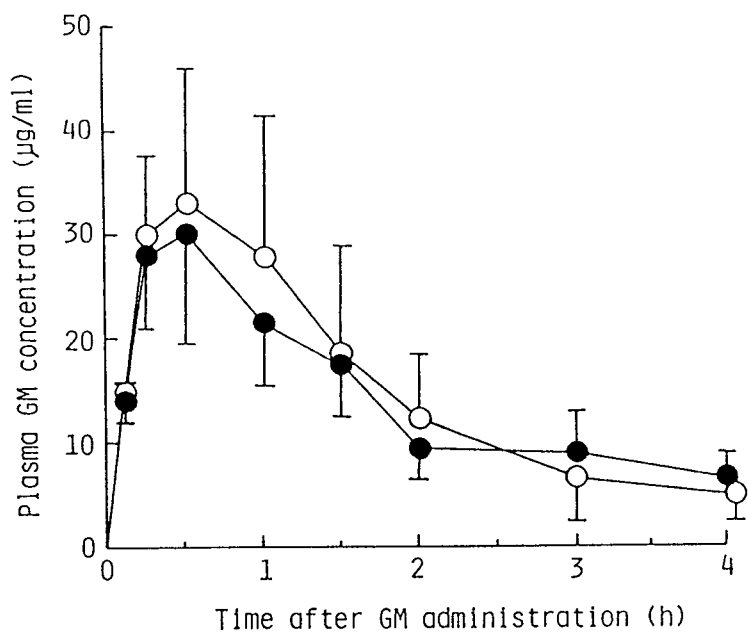


Fig. 13 Plasma Concentration of GM in Rabbits Following Rectal Administration of the Type V Suppositories Containing 300 mg of MO in H-15 and 60 mg of GM in Powdered Form or Aqueous Solution in the Cavity

Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of three rabbits.

Keys: ●, powder (60 mg); ○, solution (60 mg/400 μ l (pH 6.8)).

第2節 Glyceryl-1-monooctanoate の中空部充填と基剤部混和における gentamicin 吸収量の比較

実験方法

1 試料

第1節と同様な試料を用いた。

2 実験動物

第1節と同様なウサギを用いた。

3 坐剤の調製および投与方法

第1節と同様に調製し、基剤部へMOを混和する場合、MO量を 30 mg - 2000 mgとした。MOを中空部に充填する場合は中空部の容積から 30 mg - 300 mg までとした。投与方法は第1節と同様に行なった。

4 血漿中GM濃度測定

第1章第2節と同様に行なった。

5 薬物動態解析

第1節と同様に行なった。

実験成績

GM 60 mgを中空部に充填し基剤部に混和するMO量を変えた坐剤V、またはMOおよびGMをともに中空部に充填した中空坐剤投与後の血漿中GM濃度の推移を Fig. 14 に示す。またそれらのAUC_{0-∞}を Fig. 15 に示した。MOを基剤部に混和する場合は、50 % の配合量まで基剤と容易に混和し、製剤調製上の基剤としての性質を損なわないことが認められた。さらにMO 2000 mg すなわち基剤部をMOのみにした場合でも、固さは弱くなるものの、坐剤の形状に調製することが可能で取り扱いに注意すれば直腸挿入できる。

MOを中空部または基剤部いずれに添加しても明らかにGMの吸収が認められた。MO 30 mg併用の坐剤VのC_{max}は 12.3 ± 1.9 μg/ml、AUC_{0-∞}

は $33.6 \pm 9.0 \text{ h} \cdot \mu\text{g/ml}$ を示し、GMおよびMOをともに中空部に充填した坐剤投与後の C_{\max} は $10.7 \pm 2.8 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ は $38.1 \pm 10.8 \text{ h} \cdot \mu\text{g/ml}$ を示した。MO 300 mg併用した場合、坐剤Vの C_{\max} は $31.3 \pm 10.0 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ は $85.1 \pm 25.4 \text{ h} \cdot \mu\text{g/ml}$ を示し、GMおよびMOを中空部に充填した坐剤の C_{\max} は $42.0 \pm 7.0 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ は $81.9 \pm 10.4 \text{ h} \cdot \mu\text{g/ml}$ を示した。

MOの配合量を増すとGM吸収量は増大した。MOを基剤部または中空部のいずれに添加しても 200-300 mg の併用量でGM吸収は最大となった。また、30-200 mg の併用量では基剤部へ混和した時に比べ中空部充填の場合にGM吸収量が高くなる傾向を認めた (Fig. 15)。MOを基剤部に混和した場合、 t_{\max} は小さくなる傾向が認められた。MO併用量が 30 mg と低用量の時、MOを基剤部に混和した坐剤では中空部へ充填した坐剤に比べ初期のGM吸収が速くなることが認められた (Fig. 14)。ただし両坐剤を用いた時のGMの $AUC_{0-\infty}$ はほぼ等しい値を示した。

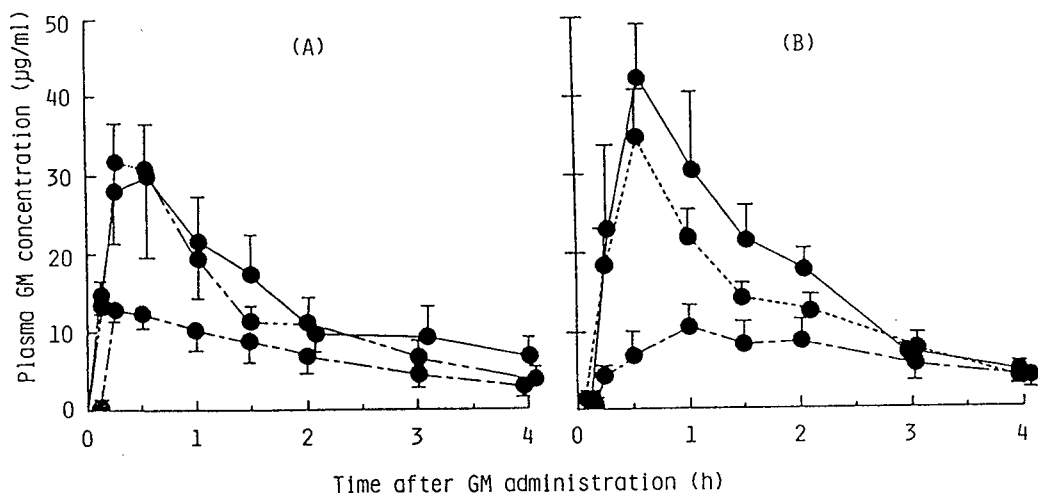


Fig. 14 Plasma Concentration of GM Following Rectal Administration of Suppositories Containing 60 mg of GM with MO
Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of three rabbits.

Suppository type: (A), type V; (B), hollow type.

Amount of MO (mg): ———, 30; - - - - -, 90; ———, 300; - - - - -, 2000

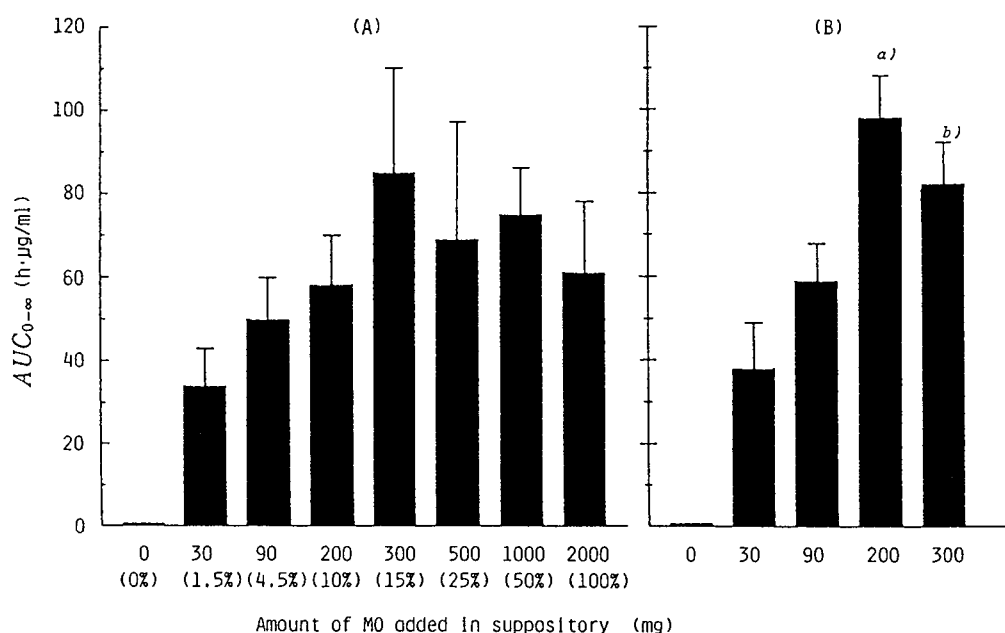


Fig. 15 AUC of GM in Rabbits Following Rectal Administration of GM (60 mg) and Various of MO

Suppository type: (A), type V; (B), hollow type.

Statistically significant differences: a) $p < 0.01$ in 200 mg vs. 30 mg; b) $p < 0.05$ in 300 mg vs. 30 mg.

The percentages shown in parentheses in Fig. 15 (A) present the concentration of MO in H-15 used to prepare type V.

Each value represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of three experiments.

第3節 Glyceryl-1-monooctanoate 配合量の異なる基剤における水分吸収量

MOは化学構造中に親水基を有するため、基剤 (Witepsol H-15) に比べ水に対する親和性が高い。従って、MOを含む基剤と直腸液との親和性が高いことが考えられる。そこで、基剤へのMO配合量の違いによる水分吸収量について検討を加えた。

実験方法

1 試料

第1節と同様な試料を用いた。

2 基剤の調製

基剤 (Witepsol H-15 (H-15)) に MO (0-100 %) を添加し 40 °C で混和した。

3 水分量の測定

加温液化 (約 37 °C) させた基剤 (所定量の MO を配合した H-15 または MO のみ) 約 2 g をガラス製ペトリ皿に入れた 4 ml の水面上 (約 37 °C) に積層した。30 分静置後、恒温水 (約 37 °C) を氷冷水に置き換えてペトリ皿を急速冷却し基剤を固化させた。固化した基剤の表面の水分をろ紙で除去したのち、粉碎し、これを水分測定の試料とした。水分量は、カールフィシャー法 (MK-AII 型、京都電子工業) により測定した。

実験成績

基剤中へ取り込まれた水分量を Fig. 16 に示す。30 分間に基剤中へ取り込まれた水の量は、MO 配合量が 20 % 以下の場合にはほとんど見られなかった (約 20 mg/g 以下)。しかし、H-15 中の MO 濃度が約 25% 越えたと取り込まれた水の量は著しく増大し、MO のみでは 200 mg/g 以上に水が存在した。

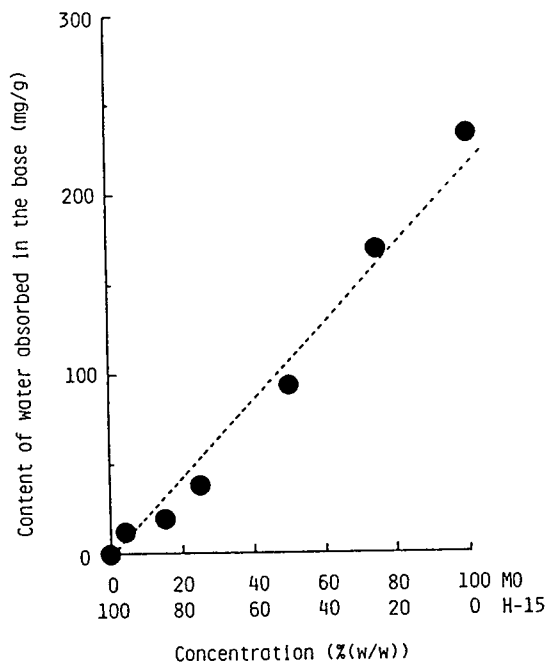


Fig. 16 Relationship between the MO Concentration in H-15 and the Content of Water Absorbed in H-15 Mixed with MO after Standing for 30 min on Water at 37 °C

Each point represents the mean of three experiments.

第4節 Gentamicin 初期吸収に及ぼす glyceryl-1-monooctanoate または オクタン酸ナトリウムの添加部位の影響

第2節においてMO (30 mg)を基剤部に混和するとGMの吸収が速まる
ことが認められた。このことについてC₈についても検討を加えた。C₈の微
粉末はナトリウム塩ではあるが基剤に混和することが可能である。

実験方法

1 試料

GM、MOは第1節と同様の試料を用い、C₈は第2章第1節と同じ試料
を用いた。

2 実験動物

第1節と同様な動物を用いた。

3 坐剤の調製および投与方法

基剤部にC₈またはMOを30 mg含有させ、GM 60 mgを中空部に充填し調製した。C₈を基剤に混和する場合、30分以上攪拌しC₈が基剤に均一に分散するように調製を行なった。投与方法は第1章第2節と同様に行なった。

4 血漿中GM濃度測定

第2章1節と同様に行なった。

実験成績

MO 30 mgを基剤部に混和し、中空部にGM 60 mg充填した中空坐剤、またはMO 30 mgおよびGM 60 mgをともに中空部に充填した坐剤投与後の血漿中GM濃度一時間曲線をFig. 17に示す。

C₈ 30 mgを基剤部に分散混和させ、GM 60 mgを中空部に添加した坐剤、またはGMおよびC₈を中空部に充填した坐剤投与後の血漿中GM濃度一時間曲線をFig. 18に示す。

MO 30 mgを基剤部に混和した坐剤は、中空部に充填した坐剤に比べ t_{max} は有意に小さい値を示した。また投与後15分における血漿中GM濃度は有意に高い値を示した。MOを基剤部に混和した坐剤は中空部に充填した坐剤に比べ初期のGM吸収が速くなることを認めた。

C₈ 30 mgを基剤部に混和した坐剤は、中空部に充填した坐剤に比べ t_{max} は有意に小さい値を示した。また投与後7分および15分における血漿中GM濃度は有意に高い値を示した。C₈を基剤部に混和した坐剤は中空部に充填した坐剤に比べ初期のGM吸収はMOの場合と同様に速くなることを認めた。MOおよびC₈を基剤部に混和した場合のGMのAUC₀₋₄ (MO、 27.4 ± 8.0 h $\cdot\mu$ g/ml; C₈、 38.4 ± 6.7 h $\cdot\mu$ g/ml) は中空部に充填した場合のAUC₀₋₄ (MO、 26.3 ± 7.3 h $\cdot\mu$ g/ml; C₈、 39.9 ± 5.0 h $\cdot\mu$ g/ml) と差は認められなかった。

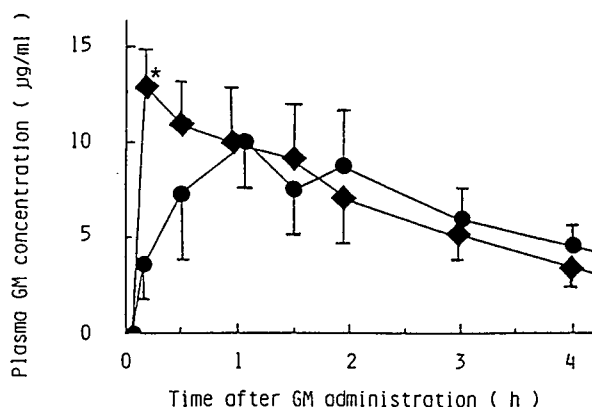


Fig. 17 Plasma Concentration of GM Following Rectal Administration of Hollow Type Suppository or Type V Suppository Containing GM and MO in Rabbits

Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of four rabbits. Suppository type: ●, hollow type; ◆, type V.

Dose: GM, 60 mg; MO, 30 mg. * $p < 0.05$ in type V vs. hollow type.

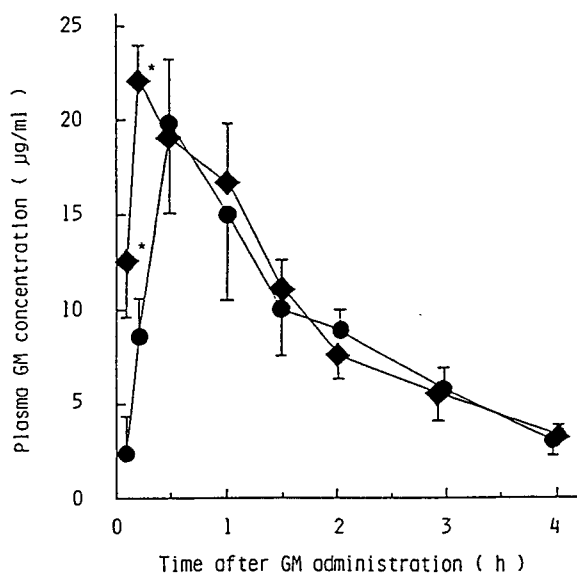


Fig. 18 Plasma Concentration of GM Following Rectal Administration of Hollow Type Suppository or Type V Suppository Containing GM and C₈ in Rabbits

Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of four rabbits. Suppository type: ●, hollow type; ◆, type V.

Dose: GM, 60 mg; C₈, 30 mg. * $p < 0.05$ in type V vs. hollow type.

第5節 小括および考察

親油性吸収促進剤MOの坐剤への有効な併用方法を検討した。

MOは市販の中鎖脂肪酸グリセリド混合物MGK[®]の構成成分であり、MGK[®]は難吸収性薬物の小腸、直腸からの吸収を改善し⁶⁴⁾、 β -lactam系抗生物質⁶⁵⁾、色素⁶⁶⁾の吸収を高めることが報告されている。またMGK[®]は経口、直腸投与において毒性が低いことが報告されている⁶⁷⁾。MOは親油性のため水溶液で投与することは困難であるため、MOを基剤部に混和し中空部充填の場合と比較した。

MO 300 mgを基剤部に混和した場合、GM 6 mgという少量投与においても血漿中GM濃度は認められ、明らかにGMは吸収された。このことはMOを併用しGMの投与量を変えることにより血漿中GM濃度の調節が可能となり、GMの治療がより有効に行なえる製剤の実用性が示唆された。

MOを基剤部に混和したため中空部へのGMの添加形態は、粉末または水溶液で充填し比較することが可能である。そこでGMを粉末または水溶液で中空部に充填し投与した場合、いずれの添加形態においてもGMの吸収量はほぼ等しいことから、GM添加形態の違いはGM吸収に影響を与えないと考えられる。

In vitroの実験において基剤中のMOの配合量が25%を越えると、基剤への水分の取込が急激に上昇してくることが認められた。従って、MO配合量が25%以上になるとGMが溶解した直腸液の一部が基剤中に取り込まれることが推測される。このことはMO量を増しても300 mg 併用時のAUC値を越える値が得られなかったことと関係しているものと思われる。Sekineら⁶⁸⁾は cefmetazole の吸収においてこれらのことと同様な傾向が認められていることを報告している。

基剤部にMO (30 mg-2000 mg)を混和した場合は、GM吸収量に有意差が認められなかったが、中空部にMO (30 mg-300 mg)を充填した場合は有意差が認められた。このことはMOを中空部に充填した場合は基剤部に混

和した場合に比べ基剤に保持されずMOが放出されるため、MOの併用量の違いによるGM吸収量の変化が明確に表れたと考えられる。

MO 30 mgを基剤部に混和した場合の初期の血漿中GM濃度の増大は、Csを用いた場合も著明に認められた。吸収促進剤を低用量（30 mg）で基剤部に混和すると、中空部にGMおよび吸収促進剤を充填した坐剤とGMの吸収量には差は認められないが、初期のGM吸収を速めることが可能と考えられる。基剤部に吸収促進剤を混和した坐剤は、投与後直腸粘膜面に接触した部分に吸収促進剤がGMに先立って放出され、GMが直腸粘膜面に放出される時にはすでに直腸粘膜面のバリアー機能が低下している。そのためGMおよび吸収促進剤が中空部より放出される場合に比べ初期のGM吸収が速くなったと考えられる。

製剤設計の一つの条件として吸収促進剤の併用量はできるだけ低用量が望ましい。低用量で併用する場合は吸収促進剤を基剤部に混和すると、中空部充填に比べ速効性が期待でき、直腸投与製剤における有用な添加方法と考えられる。

MOを基剤部に混和した坐剤はあらかじめ大量に予製することが可能で、中空部に粉末または水溶液の難吸収性薬物が容易に充填できる。また、MOの基剤部併用は中空部添加に比べ広い範囲でMO量を選択することが可能である。これらのことから基剤部に吸収促進剤を併用する製剤の有用性が示唆された。

第IV章 吸収促進剤前投与時の gentamicin 直腸吸収の変動

本章においてはこれまで用いてきた吸収促進剤の吸収促進効果持続時間の検討を行なった。このことは吸収促進剤による直腸粘膜のバリアー機能の低下についての時間的な情報を得ることができるとともに、その安全性を知る上で有用と考えられる。

これまでの検討方法はGMと吸収促進剤を同一の坐剤で投与したが、上記の目的のため吸収促進剤のみを充填した中空坐剤を投与し、一定時間後にGMのみを充填した別の中空坐剤を投与し、GM吸収量の変化から吸収促進剤の吸収促進効果持続時間（持続時間）を調べた。中空坐剤を用いた吸収促進剤の投与は、通常型坐剤で生じることがある吸収促進剤と難吸収性薬物の基剤からの放出挙動の差を少なくして吸収促進効果を検討できる利点を有している。

第1節 吸収促進剤投与後 6 時間の吸収促進効果

実験方法

1 試料

GM、SA、C₈は第2章第1節、MOは第3章第1節で用いたものと同じ試料を用いた。ヘキサ酸ナトリウム（C₆）（東京化成工業、東京）を用いた。

2 実験動物

日本白色種雄性ウサギ（体重 2.8-3.3 kg）を用いた。

3 坐剤の調製および投与方法

GM 60 mg のみを中空部に含む中空坐剤を調製した。吸収促進剤の併用量は低用量が望ましく、また吸収促進効果を比較する点からSA、C₈、C₆またはMOは併用量を 0.18 mmole（SA、31 mg；C₈、30 mg；C₆、25 mg；MO、39 mg）に一定し充填した中空坐剤を調製した。吸収促進剤を

まず第1章第2節の方法と同様に投与し、その投与6時間後にGM中空坐剤を投与し、耳静脈より採血を行なった。

4 血漿中GM濃度測定

第2章1節と同様に行なった。

実験成績

SA、C₈、C₆またはMOを用い、併用量を0.18 mmoleと一定し粉末充填坐剤で直腸内投与した。6時間後にGM 60 mgの投与を行い、GMおよび吸収促進剤を同一坐剤で同時投与し比較した。GM投与後の血漿中GM濃度-時間曲線をFig. 19に示す。

吸収促進剤投与後6時間経過してGM投与を行った場合、GM吸収は認められるが、その血漿中GM濃度は著しく低くなることを認めた。吸収促進剤投与6時間後に投与したGMのAUC₀₋₄ (SA、 15.6 ± 1.7 h $\cdot\mu$ g/ml; C₈、 11.3 ± 4.1 h $\cdot\mu$ g/ml; C₆、 4.9 ± 1.9 h $\cdot\mu$ g/ml; MO、 3.6 ± 0.9 h $\cdot\mu$ g/ml) は同時投与のAUC₀₋₄ (SA、 33.1 ± 6.0 h $\cdot\mu$ g/ml; C₈、 39.9 ± 5.0 h $\cdot\mu$ g/ml; C₆、 24.9 ± 2.8 h $\cdot\mu$ g/ml; MO、 26.3 ± 7.3 h $\cdot\mu$ g/ml) に比べ有意な低下(約1/2-1/5)を認めた。

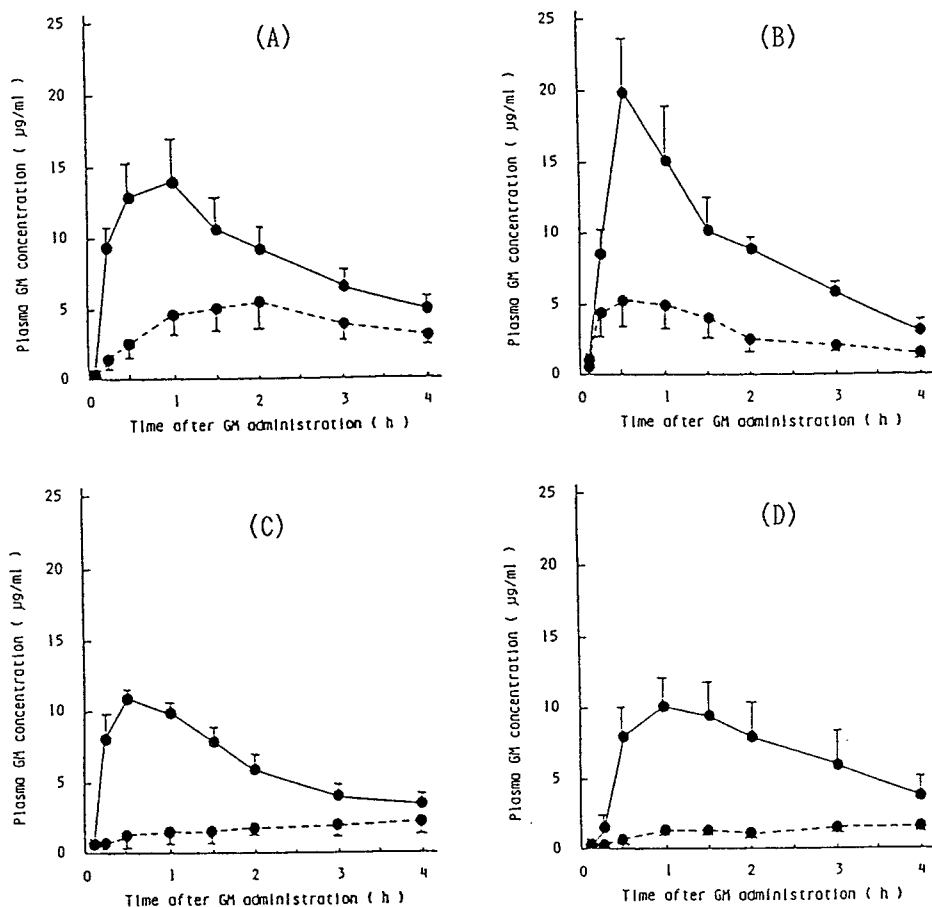


Fig. 19 Plasma Concentration of GM in Rabbits Following Rectal Administration of GM after Pretreatment of Absorption Enhancer

Pretreatment time (h): —, 0; ----, 6.

Dose: GM, 60 mg; absorption enhancer (0.18 m mole),

(A): SA, 31 mg; (B): C₈, 30 mg; (C): C₆, 25 mg; (D): MO, 39 mg

第2節 吸収促進効果持続時間の比較

実験方法

1 試料

GM、C₈、C₆およびMOは第1節と同様な試料を用いた。

2 実験動物

第1節と同様な動物を用いた。

3 坐剤の調製および投与方法

第1節と同様に坐剤を調製し、GMと吸収促進剤の投与間隔を0.3, 2, 6または24時間とした。吸収促進剤投与後のウサギの肛門をクリップで止める場合、最も長い場合でも10時間とした。GM投与後第1節と同様に採血を行なった。

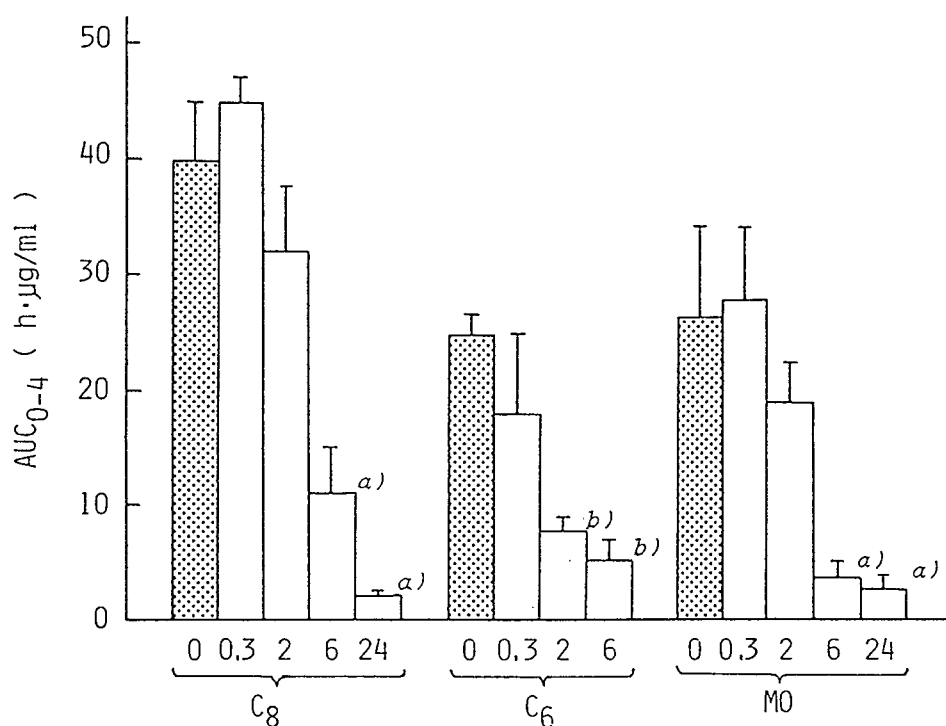
4 血漿中GM濃度測定

第1章2節と同様に測定を行なった。

実験成績

吸収促進剤 (C_8 、 C_6 およびMO、0.18 mmole) を投与し、一定時間 (20分、2、6または24時間) 後にGMを投与し、投与後の血漿中GM濃度から求めたAUC₀₋₄をFig. 20に示す。また投与後の血漿中GM濃度-時間曲線から求めた C_{max} 、 t_{max} をTable 6に示す。

あらかじめ吸収促進剤を投与した場合、GM吸収は認められるが、吸収促進剤投与後の時間が経過すると同時投与に比較しGM吸収量は低下することが認められた (Fig. 20)。同時投与におけるGM吸収量が最も高い C_8 においても、投与後24時間経過すると血漿中GM濃度は明らかに低下しGM吸収量は有意に減少した。脂肪酸塩の C_6 と C_8 を比べると、同時投与において吸収促進効果が弱かった C_6 は、 C_8 に比べGM吸収量は2時間投与後において有意に低下していることが判明した。また、同時投与において C_6 とほぼ等しいGM吸収量を示すMOは、 C_6 に比べ、2時間経過しても同時投与と同程度のGM吸収量を認めた。前投与20分における C_8 、 C_6 またはMO併用のGMの t_{max} は、同時投与に比べ小さい傾向を示した。



Time interval between rectal administration of
absorption enhancer and GM (h)

Fig. 20 AUC of GM Following Rectal Administration of GM
after Pretreatment or Simultaneous Administration of Absorption
Enhancer in Rabbits

Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bar) of four rabbits.

(▨), simultaneous administration; (□), pretreatment

Dose: GM, 60 mg; absorption enhancer 0.18 m mole

Statistically significant differences: a) $p < 0.01$ in 6 and 24 h
vs. 0 h; b) $p < 0.05$ in 2 and 6 h vs. 0 h.

Table 6 C_{max} and t_{max} of GM in Rabbits Obtained after Pretreatment of Absorption Enhancer

Pretreatment time (h)	C ₈		C ₆		M0	
	C _{max} (μ g/ml)	t _{max} (min)	C _{max} (μ g/ml)	t _{max} (min)	C _{max} (μ g/ml)	t _{max} (min)
0	21.5±3.1	30±0	12.3±0.7	30±0	10.8±2.6	60±12
0.33	17.8±2.4	23±4	7.0±2.7	26±4	11.0±2.3	24±6
2	13.0±1.2 ^{a)}	52±8	3.8±0.3 ^{a)}	157±45	8.3±1.4	38±8
6	5.8±1.9 ^{b)}	75±36	2.8±0.9 ^{b)}	82±4	2.0±0.7 ^{c)}	99±50
24	1.7±0.3 ^{d)}	110±10	—	—	1.3±0.3 ^{e)}	50±10

Statistically significant differences: a) p<0.05 in 2 h vs. 0 h; b) p<0.01 in 6 h vs. 0 h; c) p<0.05 in 6 h vs. 0 h; d) p<0.01 in 24 h vs. 0 h; e) p<0.05 in 24 h vs. 0 h.

第3節 小括および考察

吸収促進剤の吸収促進効果持続時間について芳香族カルボン酸塩のS A、脂肪族カルボン酸塩のC₈、C₈よりも炭素鎖の短いC₆またはC₈のモノグリセリドのMOを用い、併用量を0.18 mmoleと一定し粉末充填中空坐剤で直腸内投与し検討した。

あらかじめ吸収促進剤を投与しておいても、吸収促進効果は認められるが、その持続時間は吸収促進剤により異なった。しかし、これらの吸収促進剤による直腸粘膜のバリアー機能の低下は一定時間後回復すると考えられる。本研究では吸収促進剤投与後24時間経過すると、直腸粘膜のバリアー機能は回復していることを示している。佐藤ら⁶⁹⁾は、アスピリン坐剤において直腸上皮細胞損傷は24時間経過すると修復することを報告していることから、本研究で用いた吸収促進剤の直腸粘膜のバリアー機能が可逆的であることは、これら吸収促進剤の安全性を強く示唆するものであるが、本検討以外に今後繰り返し投与した場合などの評価も必要となろう。

脂肪酸または脂肪酸グリセリドの前投与における吸収促進効果持続時間について、Muranishiら⁵⁾はオレイン酸、Sekineら⁷⁰⁾らは中鎖脂肪酸のエマルジョンについて報告している。これらの吸収促進効果持続時間は短く約1時間以内に吸収促進効果が消失し、直腸粘膜のバリアー機能は1時間以内に回復しているものと見られる。しかし本研究で用いた、C₈またはMOの吸収促進効果は数時間持続している。この吸収促進効果持続時間の違いは直腸における吸収促進剤の濃度によると考えられる。すなわち吸収促進剤を粉末で投与しているため直腸粘膜面において高濃度に作用しているためと考えられる。

C₈直腸投与後の血漿中C₈濃度が低い⁶³⁾こと、中鎖脂肪酸グリセリドの吸収部位での加水分解、体内再合成⁷¹⁾、さらに吸収促進剤と坐剤基剤との分離が難しいことから吸収促進剤の直腸内における残存量の測定は行なえなかったが、McNeilら⁷²⁾、Pihlら⁷³⁾およびSekineら⁷⁰⁾によるとこれらの吸収促進剤は消化管下部においてほとんど吸収されないことが報告されている。

従って粉末で投与した吸収促進剤は直腸粘膜面に残存し、吸収促進効果の維持に大きな役割を果たすと考えられる。

第V章 総括および結論

難吸収性薬物の吸収を改善する製剤開発の一環として中空坐剤の特性を検討し、吸収促進剤によるGM吸収改善について添加濃度、添加方法を検討し以下の結果を得た。

中空坐剤から薬物は15分以内にはほぼ完全な放出が認められたことから、中空坐剤は基剤側壁部が融解すれば直ちに放出が始りほぼ完全な放出を可能とする剤形と考えられる。従って中空坐剤は基剤からの主薬放出の違いを考慮することなく直腸粘膜に投与できる剤形と考えられる。

難吸収性薬物のGMはSA、C₈、C₆またはMOの併用により明らかに吸収されることが明らかとなった。

水溶性吸収促進剤の併用方法を検討した結果、SAは直腸粘膜面での局所濃度を高めると吸収促進効果が大きくなり、さらに放出を後部方向に限定する剤型によりGM吸収が増大した。このことは吸収促進剤が拡散せず直腸粘膜面での濃度を高く維持できるためと考えられる。一方C₈ではSAのような傾向は認められなかったが、粉末と水溶液併用による違い、添加濃度による違いによりGM吸収は異なることが明らかとなった。また吸収促進剤の適した添加形態、添加濃度は吸収促進剤により異なり、吸収促進剤のより有効な製剤への添加方法を開発する場合、これらの点を考慮する必要がある。

親油性吸収促進剤の坐剤への有効な添加方法を検討した結果、MOのみを基剤部に混和してもGMの吸収は改善できた。またMOを低用量(30 mg)で基剤部に混和すると初期の血漿中GM濃度を高めることが可能と考えられ、吸収促進剤を基剤部へ混和する製剤の有用性が示唆された。なお、MOを基剤部に併用した坐剤はあらかじめ大量に予製することができ、中空部に粉末または水溶液の薬物が容易に添加でき、製剤調製の能率が高いことが示唆された。

本研究で用いた吸収促進剤の中で効果の最も大きいC₈においても、C₈投与後24時間経過すると直腸粘膜のバリアー機能は回復していると考えられる。用いた吸収促進剤の直腸粘膜のバリアー機能低下作用は可逆的と考えら

れ、GM吸収を改善する製剤の開発は可能と考えられる。

結 論

吸収促進剤を併用した中空坐剤は、難吸収性薬物の直腸吸収を改善し製剤化が期待できる。その場合、難吸収性薬物のみならず吸収促進剤が有する固有の促進効果とともに物理化学的性質、製剤学的特性に基づく製剤設計が必要である。

謝 辞

本研究遂行にあたり、御懇篤なる御指導御助言を賜りました恩師昭和薬科大学薬学部教授松本光雄先生に心から厚く御礼申し上げます。

本論文の作成に際し、終始御指導と御鞭撻を賜りました大阪大学薬学部教授真弓忠範先生に謹んで御礼申し上げます。

本研究に対して多大なる御助言、御協力を頂いた昭和薬科大学薬学部講師渡辺善照先生に深謝いたします。また御協力頂いた昭和薬科大学薬学部助教授竹内栄先生、同講師藤井まき子先生に感謝の意を表します。さらに共同研究者として本研究を支えて頂きました東嶋知彦修士、堀直秀修士、ならびに薬剤学研究室の学生諸氏に感謝いたします。

参考文献

- 1) T. Nishihata, J. H. Rytting and T. Higuchi, J. Pharm. Sci., 69, 744 (1980)
- 2) T. Nishihata, J. H. Rytting and T. Higuchi, J. Pharm. Sci., 70, 71 (1981)
- 3) J. A. Fix, P. S. Leppert, P. A. Porter and J. Alexander, J. Pharm. Pharmacol., 36, 286 (1984)
- 4) J. A. Fix, J. Controlled Release, 6, 151 (1987)
- 5) S. Muranishi, In "Topics in Pharmaceutical Sciences 1987", ed. D. D. Breimer and P. Speiser, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 445-455 (1987)
- 6) T. Nishihata, J. H. Rytting and T. Higuchi, J. Pharm. Sci., 71, 865 (1982)
- 7) K. Nishimura, Y. Nozaki, A. Yoshimi, S. Nakamura, M. Kitagawa, N. Kakeya and K. Kitao, Chem. Pharm. Bull., 33, 282 (1985)
- 8) S. Muranishi, Pharm. Res., 2, 108 (1985)
- 9) H. Kajii, T. Horie, M. Hayashi and S. Awazu, J. Pharm. Sci., 77, 390 (1988)
- 10) T. Nishihata, M. Miyake and A. Kamada, J. Pharmacobio-Dyn., 7, 607 (1984)
- 11) M. Shiga, M. Hayashi, T. Horie and S. Awazu, J. Pharm. Pharmacol. 39, 118 (1987)
- 12) M. Tomita, M. Shiga, M. Hayashi and S. Awazu, Pharm. Res., 5, 341 (1988)
- 13) H. Yaginuma, T. Nakata, H. Toya, T. Murakami, M. Yamazaki and A. Kamada, Chem. Pharm. Bull., 29, 2974 (1981)
- 14) Y. Nakada, N. Awata, C. Nakamichi and I. Sugimoto,

- J. Pharmacobio-Dyn., 11, 395 (1988)
- 15) C. Mcmartin, L. E. F. Hutchinson, R. Hyde and G. E. Peters,
J. Pharm. Sci., 76, 535 (1987)
- 16) T. Nishihata, H. Takahagi and T. Higuchi, J. Pharm. Pharmacol.
35, 124 (1983)
- 17) M. Sekine, H. Terashima, K. Sasahara, K. Nishimura, R. Okada
and S. Awazu, J. Pharmacobio-Dyn., 8, 286 (1985)
- 18) 矢田 登, Pharm. Tech. Japan, 4, 131-134, 282-286, 385-388,
515-521 (1988)
- 19) 日本病院薬剤師編 ” 病院薬局製剤 ” pp.190-197, 薬事報社 (1982)
- 20) 渡辺善照, 松本光雄, 薬学雑誌, 104, 479 (1984)
- 21) Y. Watanabe, Y. Tone, S. Nishihara and M. Matsumoto, J.
Pharmacobio-Dyn., 9, 953 (1986)
- 22) 渡辺善照, 横山万年, 松本宜明, 松本光雄, 薬剤学, 46, 271 (1986)
- 23) 松本宜明, 渡辺善照, 広田修, 松本光雄, 薬剤学, 48, 48 (1988)
- 24) 渡辺善照, 松本宜明, 河合友利江, 具 永順, 松本光雄, 48, 291
(1988)
- 25) Y. Matsumoto, Y. Watanabe, N. Hori, M. Matsumoto, F. Iizuka, N.
Hino, S. Tsuyuki, K. Morioka and T. Okura, Yakuzaigaku, 50, 53
(1990)
- 26) J. F. Brower, E. C. Juenge, D. P. Page and M. L. Dow, J. Pharm.
Sci., 69, 942 (1980)
- 27) M. Kata, Pharmazie, 23, 368 (1968)
- 28) 田部和久, 澤ノ井政美, 山崎勝, 鎌田皎, 薬剤学, 44, 115 (1984)
- 29) 渡辺善照, 横山万年, 山地道信, 田中富美子, 松本光雄, 薬学雑誌, 105,
278 (1985)
- 30) 渡辺善照, 利根義人, 鈴木真由美, 松本光雄, 薬学雑誌, 105, 284 (1985)
- 31) 村西昌三, 大久保洋子, 瀬崎 仁, 薬剤学, 39, 1 (1979)

- 32) T. Koizumi, T. Arita and K. Kakemi, Chem. Pharm. Bull., 12, 413 (1964)
- 33) O. H. Drummer, J. McNeil, E. Pritchard and W. J. Louis, J. Pharm. Sci., 70, 1030 (1981)
- 34) W. A. Ritshel, "Handbook of Basic Pharmacokinetics" Drug Intelligence Publication, Hamilton, pp. 235-243 (1976)
- 35) K. Yamaoka, T. Nakagawa and T. Uno, J. Pharmacokinet. Biopharm., 6, 547 (1978)
- 36) D. G. Shand, E. M. Nuckolls and J. A. Oates, Clin. Pharmacol. Ther., 11, 112 (1970)
- 37) J. W. Paterson, M. E. Conolly, C. T. Dollery, A. Hayes and R. G. Cooper, Pharmacol. Clin., 2, 127 (1970)
- 38) P. A. Routledge and D. G. Shand, Clin. Pharmacokinet., 4, 73 (1979)
- 39) A. G. de Boer, J. M. Gubbens-Stibbe and D. D. Breimer, J. Pharm. Pharmacol., 33, 50 (1981)
- 40) L. G. J. de Leede, A. G. de Bore, J. P. J. M. Havermans and D. D. Breimer, Pharm. Res., 164 (1984)
- 41) K. Iwamoto and J. Watanabe, Pharm. Res., 53 (1985)
- 42) J. J. Rutten-Kingma, J. Polderman and C. J. de Blaey, Int. J. Pharmaceut., 3, 39 (1979)
- 43) F. Moolenaar and A. J. M. Schoonen, Pharmacy Int., 1, 144 (1980)
- 44) M. Jay, R. M. Beihn, G. A. Digenis, F. H. Deland, L. Caldwell and A. R. Molodozeniec, J. Pharm. Pharmacol., 37, 266 (1985)
- 45) M. Sekine, K. Sasahara, T. Kojima, K. Hasegawa and R. Okada, Chem. Pharm. Bull., 32, 4189 (1984)
- 46) T. Nishihata, J. H. Rytting and T. Higuchi, J. Pharm. Sci., 71 869 (1982)

- 47) E. J. van Hoogdalem, M. A. Hardens, A. G. de Boer and D. D. Breimer, *Pharm. Res.*, 5, 453 (1988)
- 48) E. Touitou, M. Donbrow and E. Azaz, *J. Pharm. Pharmacol.*, 30, 662 (1978)
- 49) S. Muranishi, N. Muranushi and H. Sezaki, *Int. J. Pharmaceut.*, 2, 101 (1979)
- 50) Y. Watanabe, E. J. van Hoogdalem, A. G. de Boer and D. D. Breimer, *J. Pharm. Sci.*, 77, 847 (1988)
- 51) T. Nishihata, Y. Okamura, A. Kamada, T. Higuchi, T. Yagi, R. Kawamori and M. Shichiri, *J. Pharm. Pharmacol.*, 37, 22 (1985)
- 52) F. J. Burd, R. C. Wong, J. E. Feeney, R. J. Carrico and R. C. Boguslaski, *Clin. Chem.*, 23, 1402 (1977)
- 53) J. D. Place, S. G. Thompson, H. M. Clements, R. A. Ott and F.C. Jensen, *Antimicrobial Agents and Chemother.*, 24, 246 (1983)
- 54) J. C. Pechere and R. Dugal, *Clin. Pharmacokinet.*, 4, 170 (1979)
- 55) T. Nishihata, J. H. Rytting, T. Higuchi, L. J. Caldwell and S. J. Selk, *Int. J. Pharmaceut.*, 21, 239 (1984)
- 56) G. G. Liversidge, T. Nishihata, K. K. Engele and T. Higuchi, *Int. J. Pharmaceut.*, 23, 87 (1985)
- 57) G. G. Liversidge, T. Nishihata, K. K. Engele and T. Higuchi, *Int. J. Pharmaceut.*, 30, 247 (1986)
- 58) E. J. van Hoogdalem, H. J. M. van Kan, A. G. de Boer and D. D. Breimer, *J. Controlled Release*, 7, 53 (1988)
- 59) T. Nishihata, T. Higuchi and A. Kamada, *Life Sci.*, 34, 437 (1984)
- 60) H. Kajii, T. Horie, M. Hayashi and S. Awazu, *Life Sci.*, 37 523 (1985)
- 61) M. Shiga, M. Hayashi, T. Horie and S. Awazu, *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 2254 (1986)

- 62) T. Suzuka, T. Nishihata, M. Yamazaki and A. Kamada, Chem. Pharm. Bull., 33, 4600 (1985)
- 63) Y. Matsumoto, Y. Watanabe, T. Tojima, R. Murakosi, C. Murakami and M. Matsumoto, Drug Design and Delivery, 4, 247 (1989)
- 64) M. Yamashita and Y. Asano, Inphachem, 4, 22 (1983)
- 65) E. J. van Hoogdalem, A. M. Stijnen, A. G. de Boer and D. D. Breimer, J. Pharm. Pharmacol., 40, 329 (1988)
- 66) K. Higaki, I. Kishimoto, H. Komatsu, M. Hashida and H. Sezaki, J. Pharmacobio-Dyn., 36, 131 (1987)
- 67) M. Sekine, E. Maeda, K. Sasahara, R. Okada, K. Kimura, M. Fukami and S. Awazu, J. Pharmacobio-Dyn., 8, 633 (1985)
- 68) M. Sekine, K. Sasahara, T. Kojima, K. Hasegawa, R. Okada and S. Awazu, J. Pharmacobio-Dyn., 7, 856 (1984)
- 69) 佐藤修二, 堀口佳哉, 渡辺重信, 町田良治, 永井恒司, 薬剂学, 50, 94 (1990)
- 70) M. Sekine, K. Sasahara, R. Okada and S. Awazu, J. Pharmacobio-Dyn., 8, 645 (1985)
- 71) K. J. Isselbacher, Gastroenterology, 50, 78 (1966)
- 72) N. I. McNeil, J. H. Cummings and W. P. T. James, Gut, 20, 400 (1979)
- 73) B. G. Pihl, D. J. Glotzer and J. F. Patterson, J. Appl. Physiol 21, 1059 (1966)

