

セファロチンおよびゲンタマイシンの直腸吸収に及ぼす非イオン性界面活性剤の影響

戸谷 治雅・陸 寿一・加藤 敬香
 沢井製薬研究所生物研究室

杉 本 治 良
 関西医科大学薬理学教室

山 崎 勝・鎌 田 皎
 大阪大学薬学部薬剂学教室

(昭和 57 年 12 月 20 日受付)

Cephalothin (CET) と Gentamicin (GM) の直腸における吸収を血漿中濃度を指標として、雑犬、ビーグル犬、家兎、ラット、ヒトについて検討した。CET, GM とともに単独で直腸へ投与したときの血中への移行はわずかであり、有効な血中濃度を得ることはできなかった。これらの抗生物質は界面活性剤を膜作用物質として併用投与することにより顕著な血中濃度の増加がみられた。しかし、この界面活性剤による吸収促進効果は使用する実験動物により大きな差がみられ、いずれの抗生物質においても家兎>ラット>ビーグル犬 \geq 雑犬であった。

これらのことから、実験動物を用いて界面活性剤による直腸吸収促進効果について検討する場合、実験動物の選定と結果に対する解釈について慎重に行なわなければならないことが示唆された。

抗生物質の投与形態としては注射剤あるいは経口剤が広く使用されている。注射投与は医療機関においてのみ可能である。しかし、重大な薬害として医療問題となっている大腿四頭筋拘縮症が多くは筋肉注射に起因しているといわれ¹⁾、特に小児に対する筋肉注射は厳密な注意が必要である。また乳幼児や嚥下困難な患者には、経口投与は困難である。また一部の患者では抗生物質の経口投与により、腸管内の細菌叢を乱すことによる下痢などの副作用が報告されている。

近年、これらの注射剤や経口剤に対して、家庭においても容易に使用でき、また乳幼児などに対しても比較的簡便に投与することができることなどから、直腸投与製剤としての坐剤が注目されている。抗生物質の坐剤については、注射によるしか投与することのできない抗生物質を中心として、吸収促進剤の添加などの研究が行なわれている。これらの直腸吸収の基礎的研究では、マウス、ラット、家兎、イヌなどの実験動物が用いられている²⁻⁵⁾。しかし、経験的に水溶性薬物に対する界面活性剤の直腸吸収促進効果には、動物の種差があることがよく知られており、坐剤のスクリーニングにどの実験動物を用いるのが最も適切であるかは判然としていない。

今回われわれは、抗生物質坐剤の基礎的研究として、CET, GM に対する直腸吸収について、比較的安全性の

高いとされる非イオン系界面活性剤⁶⁾を吸収促進剤とし、各種実験動物を用い、動物種差について比較検討したので報告する。

I. 実験材料ならびに方法

1. 試薬

抗生物質は Cephalothin sodium (CET, 塩野義製薬), Gentamicin sulfate (GM, 塩野義製薬)。

界面活性剤は polyoxyethylene (23) cetyl ether⁷⁾(日光ケミカル), Saponin (和光純薬)。

基剤は Witepsol H-15 (ダイナマイトノーベル社)を用いた。

2. 坐剤の調製

CET と GM は 200 mesh 篩過したもの (0.074 mm) を用い、投与量は体重当り CET 20 mg/kg, GM 10 mg/kg とした。界面活性剤は坐剤総重量に対し、重量パーセントで表わした。坐剤総重量はラット、家兎、イヌ、ヒトにそれぞれ約 50 mg, 500 mg, 1 g, 1.5 g となるように調整した。

3. 投与、採血

SD 系ラット (250~270 g), 白色雄性家兎 (2.5~2.7 kg), 雑犬 (9~10 kg), ビーグル犬 (9~10 kg) を使用し、実験に際し 24 時間絶食, 自由摂水とした。ヒトについては実験前 15 時間絶食, 自由摂水とした。実験に

参加したボランティアは、22~28歳、52~64kgの健康成人男子6名であり、実験前にいずれも肝機能、腎機能には異常のないことを確認しておいた。

実験に際してラットについてのみ、ペントバルビタール(40 mg/kg i.p.)麻酔下坐剤を投与し、接着剤(フロンアルファ、東亜合成化学工業社)で肛門部をふさぎ、坐剤の肛門部からの漏出を防いだ。麻酔による体温降下を防ぐため実験中白熱球照射を続け、直腸部における体温が38°C付近に保たれるようにした。家兎については坐剤投与後、クリップで肛門部をとめ、坐剤の漏出を防ぎ、実験中も随時漏出がないことを確認した。経口投与に際しては精製水に抗生物質を必要量溶解し、経口ゾンデで胃内へ投与した。

採血はラット、家兎、イヌ、ヒトそれぞれ鎖骨下静脈、耳静脈、頸静脈、前腕部静脈から経時的に採血した。

4. 定量

血漿中の抗生物質の定量は検定菌として、CET, GMともに *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を用い、微生物定量法によった。

II. 結果

ビーグル犬に GM, CET をそれぞれ 10, 20 mg/kg 筋注、経口、直腸投与したときの時間-血中濃度を Fig. 1

に示す。グラフからわかるように筋肉注射に比べ、経口、直腸投与ではほとんど吸収がみられなかった。同様にラット、家兎についても GM, CET 単独の経口、直腸投与では有効な血中濃度は得られなかった。これは GM, CET ともに水溶性が非常に高く、消化管や直腸において吸収がみられなかったものと考ええる。Fig. 2 は非イオン性界面活性剤である POE(23) cetyl ether を基剤中に 1% (w/w) 配合し、直腸投与した結果である。グラフから顕著な吸収の増加がみられることがわかる。このことは添加した界面活性剤が直腸粘膜に作用し、膜の透過性が変化したものと考えられる。ラット、家兎においても同様の効果が認められた。

Table 1 に結果をまとめる。ここでは次式に従って筋肉注射に対する血中濃度-時間曲線下面積の比より Bio-availability (F_{rel}) を算出した。

$$F_{rel}(\%) = \frac{[AUC]_{0 \text{ i.v.}}^{\infty}}{[AUC]_{0 \text{ i.m.}}^{\infty}} \times 100$$

ここでは、 $[AUC]_{0}^{\infty} = [AUC]_{0}^3 + [AUC]_{3}^{\infty}$

$$[AUC]_{3}^{\infty} = \frac{(C_p)_3}{K_e}$$

((C_p)₃ は 3 時間後の血漿中 GM 濃度、 K_e は消失速度定数を示す)

Fig. 2 Plasma concentration of GM and CET after rectal administration of suppositories containing POE (23) cetyl ether 1 (w/w) % in dog. Each value is the mean \pm S. E. M. for 6 dogs.

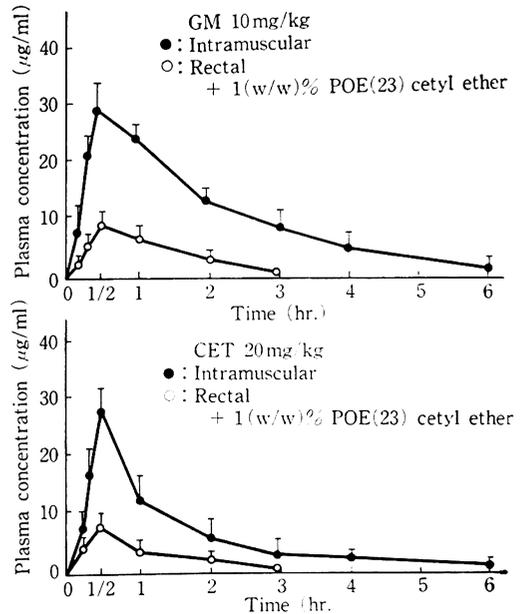
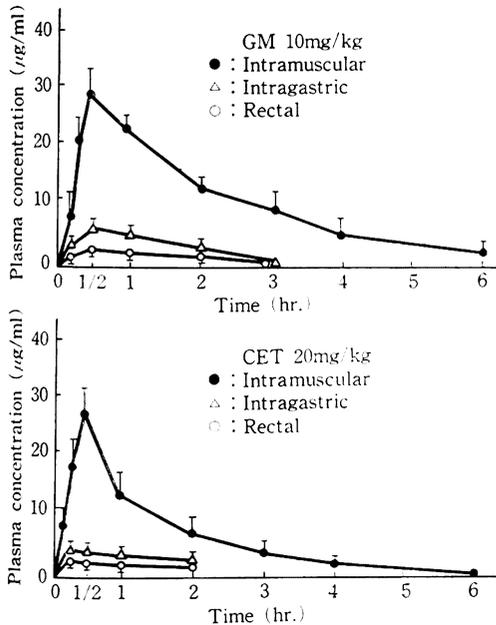


Table 1 Bioavailability of GM by various route of administration

	Bioavailability (%)			
	Mongrel dog	Beagle dog	Rabbit	Rat
Intramuscular administration	100	100	100	100
Intragastric administration	8.2±3.1	8.0±1.5	4.3±2.6	3.6±1.1
Rectal administration none	3.8±1.4	3.0±1.0	5.1±1.5	3.6±1.1
+1 (w/w)% POE (23) cetyl ether	20.0±4.8	22.0±4.3	53.4±8.2	32.4±6.1

Table 2 Bioavailability of CET by various route of administration

	Bioavailability (%)			
	Mongrel dog	Beagle dog	Rabbit	Rat
Intramuscular administration	100	100	100	100
Intragastric administration	5.8±0.6	8.1±1.2	3.8±1.0	4.5±0.6
Rectal administration none	2.5±0.6	3.0±0.8	4.8±2.6	2.5±0.8
+1 (w/w)% POE (23) cetyl ether	24.1±6.1	28.8±6.0	48.0±4.5	33.0±4.2

Fig. 3 Effect of POE (23) cetyl ether concentration on the bioavailability of antibiotics in various animal species. Each value is the mean ± S. E. M. for 3~6 animals

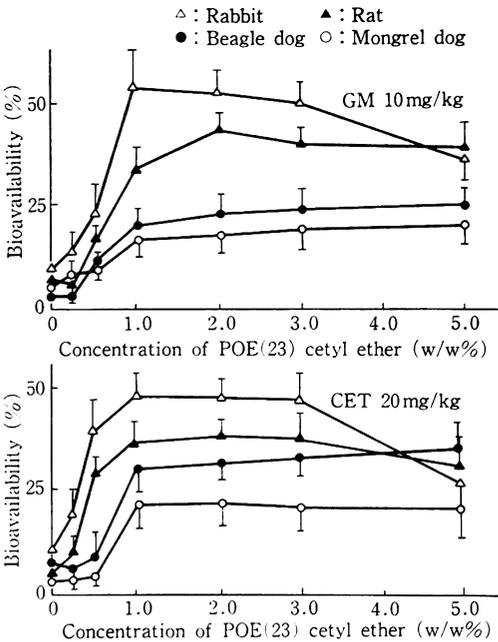
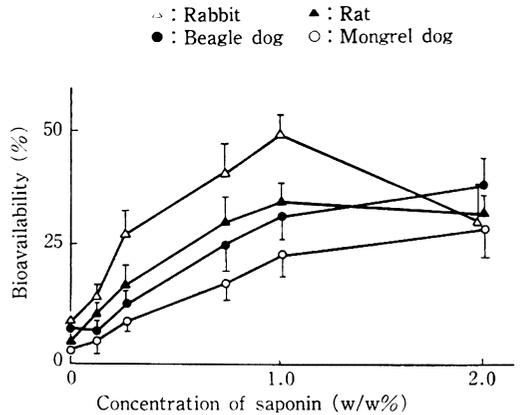


Fig. 4 Effect of saponin concentration on the bioavailability of CET in various animal species. Each value is the mean ± S. E. M. for 3~6 animals

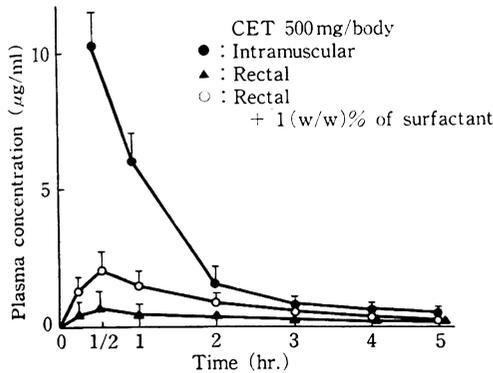


Bioavailability が各動物で界面活性剤の濃度を変化させた場合どのように変化するかを検討したのが Fig. 3 である。これによると、ラット、家兎では界面活性剤の添加濃度が 0.1% でも既に吸収促進効果が認められたが、ビーグル犬、雑犬では 0.3% まで吸収増加が認められなかった。いずれの動物でも 1.0~1.5% 以上の濃度では吸収促進作用は飽和することがわかった。また家兎では 5.0% では逆に吸収量の有意な減少が認められた。

同様にサポニンを吸収促進剤としたときの結果を Fig. 4 に示す。POE(23) cetyl ether に比較していずれの動物種でも低い濃度において吸収促進がみられるが、

Table 1 から 1% POE (23) cetyl ether 添加による直腸からの GM の吸収に対する促進効果については、家兎>ラット>ビーグル犬≧雑犬、の順であり、CET についても Table 2 に示したようにほぼ同じ順位で吸収が促進されていることがわかった。

Fig. 5 Plasma concentration of CET after intramuscular and rectal administration in man. Each value is the mean \pm S. E. M. for 4~6 men



今回検討したサポニンの濃度の範囲では全体的に POE(23) cetyl ether と同じような形の濃度-Bioavailability 曲線が得られた。このことは POE(23) cetyl ether とサポニンが直腸上皮粘膜にあたる変化がよく似たものであることに起因するかもしれない。

これまで示した結果より、直腸吸収促進剤として界面活性剤は動物によりかなり異なった吸収促進効果を有し、実験動物の選択が重要であることが明らかとなった。

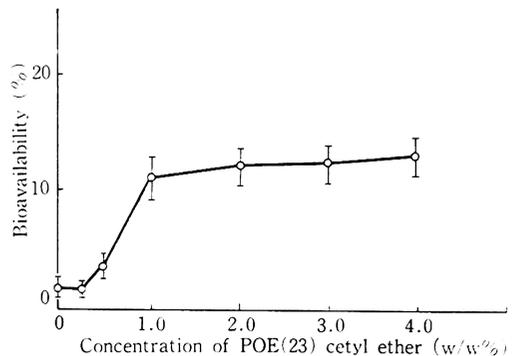
最後に健康成人男子に対し、CET の直腸吸収を POE(23) cetyl ether を吸収促進剤として検討した。Fig. 5, Fig. 6 に血中濃度-時間曲線、界面活性剤濃度-Bioavailability 曲線を示す。Fig. 3 のイヌの結果と比較すると Bioavailability においては約 1/2 であるが、よく似たグラフの形状を示しており、 t_{max} についてもイヌに近い値を得た。

III. 考 察

今回の実験では直腸投与において、単独では吸収されない抗生物質について界面活性剤を添加し、ラット、家兎、イヌに対して投与したときの Bioavailability について検討した。その結果、GM, CET に対する非イオン系界面活性剤の直腸吸収促進効果は用いる実験動物によりかなり異なり、ある特定の動物の結果だけでは、他の動物あるいは臨床時に用いた場合の吸収促進効果について予測困難であることがわかった。

今回用いた界面活性剤に対しては、CET, GM ともに Bioavailability は家兎>ラット>イヌの順であった。特に家兎は他動物と様相を異にし、わずかな界面活性剤の添加により Bioavailability が著しく増大し、界面活性剤の添加量が多い場合は逆に減少することがみられた。

Fig. 6 Dose-Bioavailability relationship by rectal administration of CET with POE (23) cetyl ether in man. Each value is the mean \pm S. E. M. for 4~6 men



このような種差の生じる理由については現在のところ判然としないが、界面活性剤が作用した直腸粘膜の動物による抵抗性の違い⁷⁾ であると考えられる。鎌田ら⁹⁾ はエナミン誘導体など一連の吸収促進効果をもつ化合物の吸収促進機構として、tight junction 部に作用し、Ca²⁺ をキレートすることによる細胞間隙の拡がりを提唱している。エナミン誘導体においても、水溶性抗生物質の直腸吸収促進効果に動物間の種差が認められている。界面活性剤の作用機構がエナミン誘導体と同じとは考えにくい、細胞間隙に対する作用が考えられ、この場合、動物による吸収促進効果の違いは、細胞間隙の拡がりにくさの差と説明する。

一方、近藤ら⁹⁾ により、界面活性剤の赤血球溶血性が詳しく報告されているが、同一の界面活性剤に対しても赤血球の溶血性に種差がみられる。彼らはこの現象の要因の一つとして膜における脂質、タンパク質の構成の違いをあげている。この観点から現在著者らは実験動物の直腸上皮細胞膜の脂質構成の分析をすすめている。HAUSER ら¹⁰⁾ によってラット、家兎などの小腸上皮粘膜の脂質構成の違いが示されており、このことから直腸における上皮粘膜の脂質、タンパク質の構成の違いも当然予想される。先の近藤らの報告と合わせると、膜組成の違いが今回示した種差に起因しているのかもしれない。

今回の結果ではイヌにおける吸収促進効果がヒトと比べた場合、Bioavailability において 1.5~2 倍と大きい、界面活性剤添加濃度-Bioavailability の関係はヒトとよく似た形状を示しており、今回検討した中では直腸吸収のスクリーニング動物としてイヌが最も適切であると考えられる。さらにつけ加えると、ここではデータを示さなかったが、イヌを実験動物として用いた場合であって

も、幼若犬と成犬ではかなり吸収促進効果に違いがみられた。したがって、今後臨床において抗生物質坐剤を使う場合、乳幼児と老人において吸収量に差がでてくることも予想されるので、対象とする患者の年齢なども考慮に入れ、スクリーニング動物は慎重に選ぶ必要がある。

文 献

- 1) 森谷光夫：既往注射内容の明確な大腿四頭筋硬縮症。臨床整形外科 12：447～453, 1977
- 2) TOITOU, E.; M. DONBROW & E. AZAY: New hydrophilic vehicle enabling rectal and vaginal absorption of insulin, heparin, phenolred and gentamicin. *J. Pharm. Pharmacol.* 30: 662～663, 1978
- 3) RUBINSTEIN, A.; E. RUBINSTEIN, E. TOITOU & M. DONBROW: Increase of the intestinal absorption of gentamicin and amikacin by a non-ionic surfactant. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 19: 696～699, 1981
- 4) MURANISHI, S.; N. MURANISHI & H. SEZAKI: Improvement of absolute bioavailability of normally poorly absorbed drugs. Inducement of the intestinal absorption of streptomycin and gentamicin by lipid-bile salt mixed micelles in rat and rabbit. *Int. J. Pharm.* 2: 101～111, 1979
- 5) MURAKAMI, T.; N. YATA, H. TAMAUCHI, J. NAKAI, M. YAMAZAKI & A. KAMADA: Studies in absorption promoters for rectal delivery preparatrous I. Promoting efficacy of enamine derivatives of amino acids for the rectal absorption of β -lactam antibiotics in rabbit. *Chem. Pharm. Bull.* 29: 1998～2004, 1981
- 6) ELWORTHY, P. H. & I. TREON: Physiological activity of non* ionic surfactants. In *Nonionic Surfactants*, Vol. ed. Schick, M. J. 923～970, 1967
- 7) 伊藤義彦：坐剤の直腸粘膜刺激性検定法の確立に関する基礎的研究。東邦医会誌 27 (2): 52～73, 1980
- 8) KAMADA, A.; T. NISHIHATA, S. KIM, M. YAMAMOTO & N. YATA: Study of enamine divatives of phenylglycine as adjuvants for the rectal absorption of insulin. *Chem. Pharm. Bull.* 29: 2012～2019, 1981
- 9) KONDO, T. & M. TOMIZAWA: Mechanism of hemolysis by cationic surface-active agents. *J. Pharm. Sci.* 58: 1378～1383, 1969
- 10) HAUSER, H.; K. HOWELL, R. M. C. DAWSON & D. E. BOWYER: Rabbit small intestinal brush border membrane preparation and lipid composition. *Biochim. Biophys. Acta* 602: 567～577, 1980

STUDY ON THE RECTAL ABSORPTION OF ANTIBIOTICS

HARUMASA TOYA and JUICHI RIKU

Research Laboratory, Sawai Pharmaceutical Co., Ltd.,

HARUYOSHI SUGIMOTO

Department of Pharmacology, Kansai Medical University

MASARU YAMAZAKI and AKIRA KAMATA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

In this report, the enhancing effects of non-ionic surfactants on the rectal absorption of GM and CET in various experimental animal species were studied.

The absorption enhancing effects were observed in all animal species by the coadministration of non-ionic surfactant. However, efficacy for the enhancement differed among animal species.

Surfactants strongly enhanced the rectal absorption of GM and CET in rabbits. The enhancing effect on dogs was only one half of that on rabbits. From these results, the order of the enhancing efficacy of surfactants on the rectal absorption is considered as follows:

rabbit > rat > beagle dog \geq mongrel dog > man

It is concluded that dogs are the most appropriate experimental animal among animals studied for the study of rectal absorption of water soluble antibiotics.