

## 有機溶媒含有による膜透過への影響

フィジオマキナ株式会社 白濱茜

## 【目的】

生体内における膜透過予測システムの1つである  $\mu$ FLUX システムでは、ドナーチャンバーに測定対象物を投入し、人工膜で区切られたドナーチャンバー及びアクセプターチャンバーの濃度変化を確認することで、膜透過率を測定することができる。一般的に製剤化した際の1用量を900 mL

(溶出試験) や200~250 mL (生体内模倣容量) に溶解させる濃度を基準とし、ドナー容量に合わせて投入量を調整する。このとき、低用量の製剤の場合はドナーチャンバーへの投入量が少なくなるため、有機溶媒に溶解させた Stock Solution を添加して測定を行うこともある。

本アプリケーションノートでは、ドナーチャンバーにおける有機溶媒含有による膜透過への影響確認結果をまとめた。

## 【試験手順】

有機溶媒にはメタノールを使用し、ドナーチャンバー中のメタノール含有率が0, 1, 2, 5%となるよう試験を行った (各n=3)。

## 1. メタノール含有率0%

- (1) 約100  $\mu$ g/mLとなるよう、カルバマゼピンを試験液 (FaSSIF) に溶かし、均質な検体を調製した。
- (2) メンブランにGITを25  $\mu$ L滴下し、ガラスペアを組み立て、両チャンバーにクロススターラーバーを入れた。
- (3) GIT滴下から5分以内にアクセプタ

ーチャンバーへASB 20 mLを分注した。

- (4) 各チャンネルに対応する光路長のチップを表1のとおりに取り付け、プローブを対応する溶液に浸し、気泡を取り除いて100%Tを取得した。
- (5) 表1の条件で試験を開始し、各奇数ポジションの回転開始時に手順(1)で調製した均質な検体20 mLを分注した。

表1 測定条件

	ドナー (奇数 Ch)	アクセプター (偶数 Ch)
光路長	2 mm	5 mm
回転速度	250 rpm	
回転開始 インターバル	10 秒	
測定間隔	30 spectra $\times$ 10 second 50 spectra $\times$ 30 second 210 spectra $\times$ 1 minute (計 240 minute)	

## 2. メタノール含有率1, 2, 5%

- (1) 約10 mg/mLとなるよう、カルバマゼピンをメタノールに溶かし、Stock Solutionを調製した。
- (2) 表2に従い各メタノール含有率における試料溶液を調製した。
- (3) メンブランにGITを25  $\mu$ L滴下し、ガラスペアを組み立て、両チャンバーにクロススターラーバーを入れた。

- (4) GIT 滴下から 5 分以内にアクセプターチャンバーへ ASB 20 mL を分注した。
- (5) 表 2 に従い、メタノール含有率に応じた試験液をドナーチャンバーへ分注した。
- (6) 各チャンネルに対応する光路長のチップを表 1 のとおりに取り付け、プローブを対応する溶液に浸し、気泡を取り除いて 100%T を取得した。
- (7) 表 1 の条件で試験を開始し、各奇数ポジションの回転開始時に表 2 に従い、メタノール含有率に応じた試料溶液を添加した。

表 2 ドナーチャンバーへの試料溶液及び試験液の添加・分注量

メタノール含有率	試料溶液 (混合比)	添加・分注量	
	Stock Solution : メタノール	試料溶液	試験液
1%	1 : 0	200 $\mu$ L	19.8 mL
2%	1 : 1	400 $\mu$ L	19.6 mL
5%	1 : 4	1000 $\mu$ L	19 mL

## 【結果】

各メタノール含有率におけるドナー溶液 (2 分時点) 及びアクセプター溶液 (240 分時点) の二次微分スペクトルを図 1 及び 2 に示す。

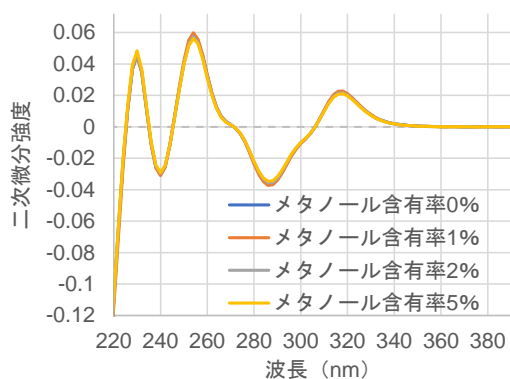


図 1 ドナー溶液の二次微分スペクトル

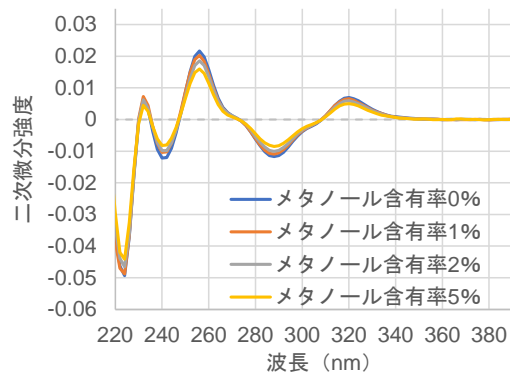


図 2 アクセプター溶液の二次微分スペクトル

いずれの溶液においても、メタノール含有率の違いによるスペクトルの違いは見られず、解析に用いた波長範囲である 312~322 nm 内の極大も、メタノール含有率に関わらず同一の値 (ドナー溶液 : 318 nm, アクセプター溶液 : 320 nm) を示した。

アクセプターチャンバーにおける時間-膜透過率プロファイルを図 3 に 240 分時点での膜透過率の値を表 3 に示す。

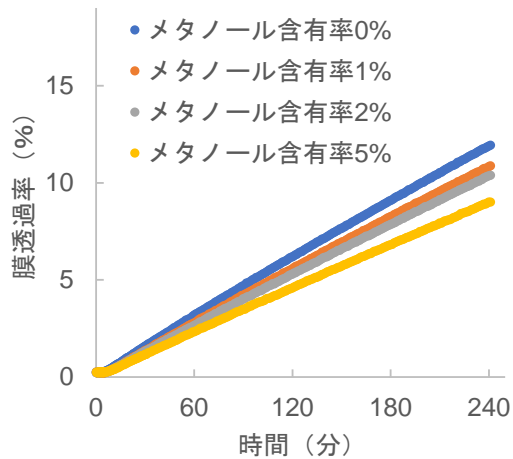


図3 時間-膜透過率プロファイル

表3 240分時点の膜透過率

メタノール含有率	膜透過率
0%	11.89%
1%	10.85%
2%	10.35%
5%	9.01%

メタノール含有率の増加に伴い、膜透過率が下がる傾向が見られた。

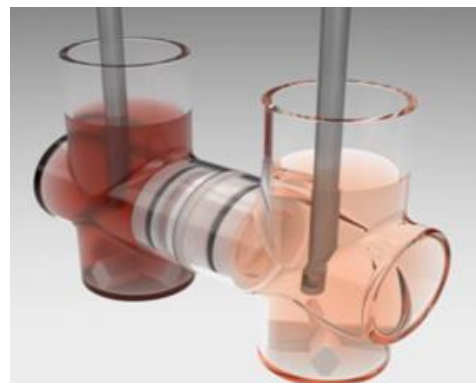
### 【結論】

今回実施したメタノール含有率5%まででは、カルバマゼピンのスペクトルに変化は見られなかった。しかしながら、ドナー溶液中の溶媒有無により、膜透過への影響は見られ、含有率が高くなるほどに影響が大きくなることが確認された。このことから、ドナーチャンバーにおける試料濃度を変化させる場合は、添加溶液の濃度を調整し、添加量を一律にして試験を行うことが望ましい。

なお、今回の試験において、透過量としての変化量は小さく、試料によって影響の程度が異なると考えられる。測定試料に応じて溶媒の含有率上限を確認することを推奨する。



Mini-Bath + Rainbow



$\mu$ FLUX のガラスチャンバー

- GIT : GIT-0 Lipid Solution P/N 110669
- ASB : Acceptor Sink Buffer P/N 110139 (250mL), 121041 (1L)