

## 院内製剤塩化レボカルニチン懸濁液の最適な調製法について

田中裕章,<sup>\*,a,b</sup> 朝倉正登,<sup>a</sup> 土居智明,<sup>a</sup> 福岡憲泰,<sup>a</sup> 玉井栄治,<sup>b</sup>  
宮田 茂,<sup>b</sup> 松下 治,<sup>b</sup> 岡部昭延,<sup>b</sup> 根ヶ山 清,<sup>c</sup> 芳地 一<sup>a</sup>

## Optimum Preparation of Levocarnitine Chloride Solution in the Hospital Pharmacy

Hiroaki TANAKA,<sup>\*,a,b</sup> Masato ASAKURA,<sup>a</sup> Chiaki DOI,<sup>a</sup> Noriyasu FUKUOKA,<sup>a</sup>  
Eiji TAMAI,<sup>b</sup> Shigeru MIYATA,<sup>b</sup> Osamu MATSUSHITA,<sup>b</sup> Akinobu OKABE,<sup>b</sup>  
Kiyoshi NEGAYAMA,<sup>c</sup> and Hitoshi HOUCHI<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departments of Pharmacy, and <sup>c</sup>Clinical Laboratory, Kagawa University Hospital and <sup>b</sup>Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kagawa University, 1750-1 Ikenobe, Miki-cho, Kita-gun, Kagawa 761-0793, Japan

(Received January 19, 2006; Accepted June 9, 2006; Published online June 20, 2006)

Levocarnitine chloride is used for the therapeutic purpose of levocarnitine deficiency. For infants, however, levocarnitine chloride tablets must be crushed to avoid difficulties associated with swallowing, and also to administer an appropriately low dosage. Since the tablet is extremely hygroscopic and sour, it is dissolved in water containing simple syrup after crushing. In this study we investigated the stability of the drug after dissolution to optimize its preparation for clinical use. It was shown to be stable for at least 90 days after preparation, and microbes did not grow in 1—10% (w/v) solutions (pH 2.0—2.5) regardless of the presence or absence of simple syrup. Furthermore, the autoclaved levocarnitine chloride solution was as stable as the non-autoclaved one. In conclusion, the method employed in our hospital for the preparation of levocarnitine chloride for infants is appropriate and is recommended as a standard medicine supply method among different facilities.

**Key words**—levocarnitine chloride; levocarnitine deficiency; preparation; infants; optimum preparation

## 緒 言

希少疾病であるレボカルニチン欠乏症は哺乳開始後に進行性の代謝性アシドーシス、ケトーシスを呈し、嘔吐、筋緊張低下、意識障害などの症状が出現し、死の転帰をとる先天的な疾患である。<sup>1-3)</sup> レボカルニチンは微生物から動植物及びヒトに亘る広範囲の生物体に存在し、脂肪酸の酸化過程において、長鎖脂肪酸がミトコンドリア内に取り込まれる際のキャリアーとして重要な働きをしており、生体にとって有害なプロピオニル基を毒性の弱いプロピオニルカルニチンとして尿中へ排泄させるとともに、ミトコンドリア機能を賦活させる。<sup>2-7)</sup> また生理学的には *l*-体が有用であり、*d*-体は活性を示さないとされている。<sup>1,5-7)</sup>

市販されている塩化レボカルニチン錠の適応は、

プロピオン酸血症、メチルマロン酸血症におけるレボカルニチン欠乏の改善である。一方で上記の作用を期待し、適応外使用で、持続性低血圧を呈する透析患者の血圧改善や、<sup>8)</sup> 虚血性心疾患に対する病巣拡大防止にも用いられている。<sup>9,10)</sup>

小児への塩化レボカルニチン錠の投薬は、嚥下が困難なことや1回服用量の問題等により粉碎化、あるいは水に溶かして投薬することを余儀なくされている。<sup>11)</sup> しかし、その成分による吸湿性や酸味が問題になることから、<sup>12,13)</sup> 現在、香川大学医学部附属病院（以下、本院）では単シロップ入り懸濁液として調製している。ところが、平成14年度の診療報酬改定以降、薬剤の長期投与制限が原則廃止となり、これら院内製剤も成分の安定性について不明な点が多いにも係わらず、投与日数が長期になってきている。

そこで本稿では、長期保存における塩化レボカルニチン錠の溶解後の安定性並びにその懸濁液の微生物による汚染を試験し、院内製剤としての塩化レボ

<sup>a</sup>香川大学医学部附属病院薬剤部、<sup>c</sup>同検査部、<sup>b</sup>香川大学医学部分子微生物学

\*e-mail: tanahiro@med.kagawa-u.ac.jp

カルニチン懸濁液の最適な調製法の検討を行った結果を示す。

## 方 法

**1. 患者背景** 本院で、処方オーダーリングが開始された1997年から2004年までの8年間で、塩化レボカルニチン懸濁液が投与された患者数、性別、年齢、懸濁液の濃度、投与日数をデータベースより検索し、調査した。

**2. 材料及び塩化レボカルニチン懸濁液の調製** 塩化レボカルニチン製剤は大塚製薬㈱のエルカルチン錠100® (Lot No. 4I84CB1) を用い、容量分析用水酸化ナトリウム (NaOH) は和光純薬工業社製、塩化レボカルニチン純品はシグマ社製を購入した。塩化レボカルニチン製剤は、乳鉢で粉碎後単シロップ及び精製水を加え塩化レボカルニチン及び単シロップの最終濃度がそれぞれ1, 3, 5, 10% (w/v) 及び40% (v/v) になるように調製した (塩化レボカルニチン-40%単シロップ懸濁液)。さらに、対象として塩化レボカルニチン-40%単シロップ懸濁液をNaOHでpH 7.0に調製したサンプル (中和塩化レボカルニチン-40%単シロップ懸濁液) 及び単シロップを加えないサンプル (塩化レボカルニチン懸濁液) も作製した。作製したサンプルは、冷暗所で保存した。

**3. 塩化レボカルニチンの定量** 定量は0.1 N NaOHによる中和滴定により行った (0.1 N NaOH 1 ml は19.766 mgの塩化レボカルニチンに相当する)。それぞれの滴定は3回ずつ行った。純品を用いた理論値を100%とし、調製直後を0日として30日、60日、90日後の残存率を測定した。

**4. 無菌試験及び菌の同定** 塩化レボカルニチン懸濁液の無菌試験は、第14改正日本薬局方一般試験法の無菌試験法に従い行った。調製したサンプルは、冷暗所若しくは室温で保存し、0, 14, 28日後に無菌試験を行った。塩化レボカルニチン懸濁液1 mlをソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地に接種し、14日間培養後、微生物により発生する二酸化炭素の有無をBACTECR 9050を用いて検出し、サンプル中に微生物が混入していたかどうかを判定した。本試験は、懸濁液の調製の段階から2度行い再現性を確かめた。菌の同定は当院検査部に依頼した。

**5. 高圧蒸気滅菌時の塩化レボカルニチンの安定性** 塩化レボカルニチンの安定性は、その残存率、吸光スペクトル及び比旋光度を調べることにより行った。10%塩化レボカルニチン懸濁液及び115°Cで30分間、高圧蒸気滅菌した10%塩化レボカルニチン懸濁液をサンプルとし、30日、60日、90日後 (冷暗所保存) に残存率及び吸光スペクトルの測定を行った。塩化レボカルニチンの残存率は、方法3と同様の方法で測定した。吸光度スペクトル (200—600 nm) の測定は、懸濁液を15000 rpmで5分間遠心後、上清を孔径0.22 µmのメンブランフィルター (MILLIPORE製Millex-GS) で濾過したあとに行った。旋光度の測定は、塩化レボカルニチン純品を1% (w/v) となるように精製水に溶解し、調製直後の溶液と115°Cで30分間、高圧蒸気滅菌した溶液の比旋光度を、第14改正日本薬局方一般試験法の旋光度測定法に従い、JASCO P-1030 Polarimeterを用いて測定した。精製水をブランクとして10回ずつ測定し、それぞれの平均値を示した。対照として、同濃度のラセミ体 (シグマ社製) の比旋光度も測定した。

## 結 果

**1. 患者背景** 1997—2004年の間に本院で塩化レボカルニチン懸濁液が投与された患者数は9人 (男: 4人, 女: 5人; 年齢: 0—14歳) であり、懸濁液の濃度は1—11% (w/v)、最大投与日数は30日であった。

**2. 塩化レボカルニチンの溶解後の安定性** Figure 1に塩化レボカルニチン錠の溶解後の安定性

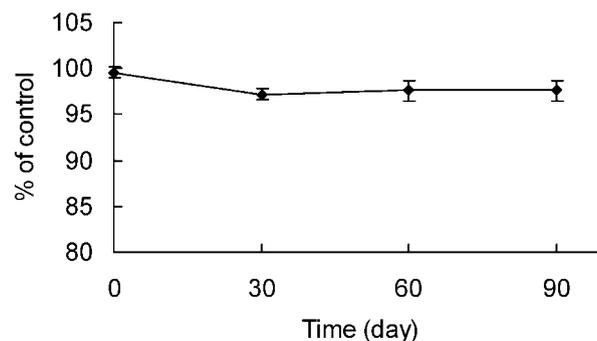


Fig. 1. Stability of Levocarnitine Chloride after Dissolution (mean ± S.D.,  $n=3$ )

A 10% (w/v) solution, which had been preserved at 4°C in the dark, was used.

を示す。塩化レボカルニチン錠は粉碎後、水に溶解しても含量の低下はほとんど認められず、90日後の残存率は  $97.6 \pm 1.1\%$  (Mean  $\pm$  S.D.,  $n=3$ ) であった。

**3. 調製法, 保存条件の違いによる微生物汚染の状況** 調製法の違いや保存温度により、塩化レボカルニチン懸濁液中の微生物の生存に違いが出るかを試験した結果を Table 1 に示す。10%塩化レボカルニチン-40%単シロップ懸濁液(A), Aの酸味をマスクするため pH 7.0 に中和した中和 10%塩化レボカルニチン-40%単シロップ懸濁液(B), 単シロップを添加していない 10%塩化レボカルニチン懸濁液(C)を用いて比較した。調製直後ではすべての条件で無菌試験陽性となった(サンプル中に微生物が混入していた)。しかし 14 日後, 28 日後では A,

C については微生物の生存は認められなかった。このとき A, C の pH は 2.0—2.5 であり, 保存期間により変化しなかった。これとは逆に B についてはすべてのサンプルが無菌試験陽性となった。さらに, B では室温保存で 4 週間後には肉眼的に懸濁液中に浮遊物が観察された。Figure 2 に発育が観察された微生物をグラム染色したときの顕微鏡写真を示す。形態学的な観察により, 酵母様の真菌とグラム陽性桿菌と推測された。菌の同定を試みたところ, 酵母様の真菌は *Rhodotorula* spp. であり, グラム陽性桿菌は *Corynebacterium* であると同定された。

**4. 濃度の違いによる微生物汚染の状況** 塩化レボカルニチンの濃度の違いによる微生物の生存状況を調べた。本院で投与経験のある最低の濃度である 1% (w/v) まで濃度を下げても, 微生物の生存は確認されなかった(90日後)。同様の操作を行った水のみ, 単シロップのみでは微生物の生存が確認された(Table 2)。この微生物を同定したところ,

Table 1. Comparison of Microbial Contamination between Various Preparations

Preserved condition	Room temperature	4°C in the dark
Immediately after preparation	A. : +	A. : +
	B. : +	B. : +
	C. : +	C. : +
2 weeks later	A. : -	A. : -
	B. : +	B. : +
	C. : -	C. : -
4 weeks later	A. : -	A. : -
	B. : +	B. : +
	C. : -	C. : -

A. 10% (w/v) levocarnitine chloride solution (with 40% (v/v) simple syrup), B. 10% (w/v) levocarnitine chloride solution (neutralized pH 7.0), C. 10% (w/v) levocarnitine chloride solution (no syrup). +: microbes observed, -: not observed.

Table 2. Comparison of Microbial Contamination between Various Concentrations

	With 40% (v/v) simple syrup	No syrup
10% (w/v) solution	-	-
5% (w/v) solution	-	-
3% (w/v) solution	-	-
1% (w/v) solution	-	-
Water*	+	+

+: microbes observed, -: not observed. These solutions, which had been preserved at 4°C in the dark for 30 days, were used. \* This water was treated with similar operation. And we confirmed that water and the tablet which we used were germfree.

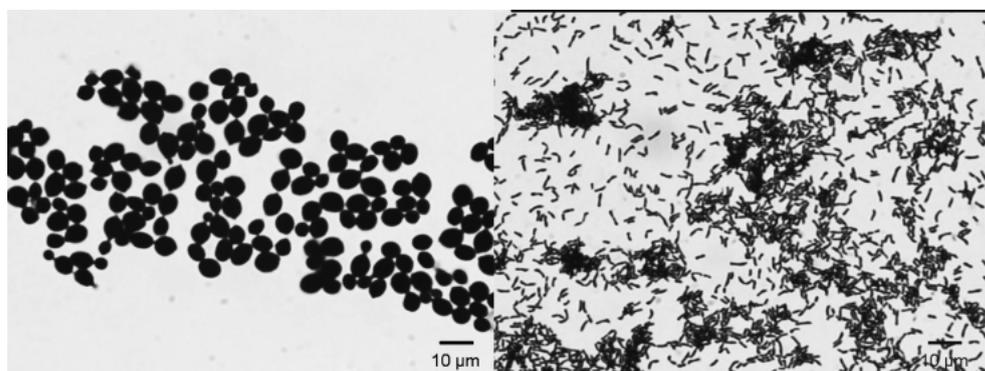


Fig. 2. Photos under a Microscope with a Magnification of 1000

Left and right panels are *Rhodotorula* spp., *Corynebacterium*, respectively. The pictures show microbes detected in 10% (w/v) levocarnitine chloride solution (pH 7.0), which had been preserved at 4°C in the dark for 4 weeks.

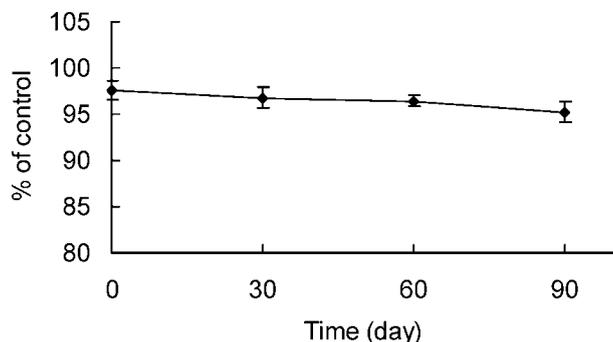


Fig. 3. Stability of Levocarnitine Chloride Solution after Autoclaving (mean  $\pm$  S.D.,  $n=3$ )

A 10% (w/v) solution, which had been preserved at 4°C in the dark after autoclaving, was used. The solution immediately after autoclaving was used as time zero solution.

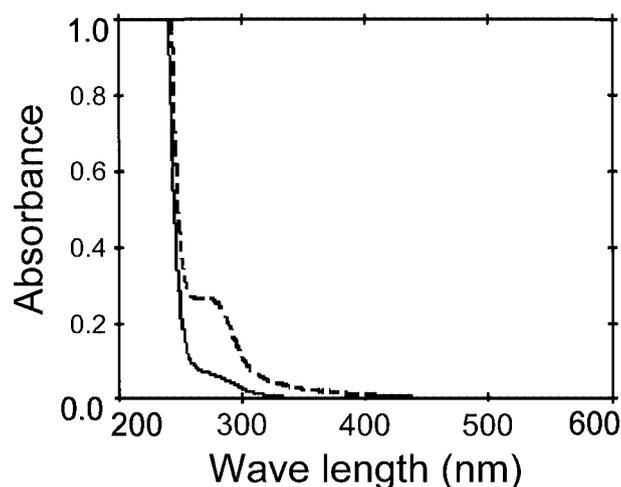


Fig. 4. The Absorbance Spectra (200—600 nm) of Levocarnitine Chloride Solution before and after Autoclaving

A 10% (w/v) solution, which had been preserved at 4°C in the dark after autoclaving, was used. —: solution before autoclaving, and - - - : solution after autoclaving.

Table 3. Comparison of Specific Rotatory Power  $[\alpha]_D$  between Various Preparations

	$[\alpha]_D$
Levocarnitine chloride solution (immediately after preparation)	$[\alpha]_D^{21.3} = -28.73$
Levocarnitine chloride solution (immediately after autoclaving)	$[\alpha]_D^{22.7} = -29.40$
Levocarnitine chloride solution (preserved at 4°C in the dark for 90 days)	$[\alpha]_D^{23.6} = -29.19$
( <i>d</i> · <i>l</i> )-Carnitine chloride solution (immediately after preparation)	$[\alpha]_D^{23.9} = -0.77$

These solutions, which had been dissolved by water to 1% (w/v), were used.

Fig. 2 と同様の結果が得られた。また、錠剤をクリーンベンチ内で取り出し、粉碎せずに直接精製水に懸濁したものについては微生物の混入は認められなかった。

**5. 高圧蒸気滅菌時の塩化レボカルニチンの安定性** Figure 3 は塩化レボカルニチン懸濁液を高圧蒸気滅菌したあとの安定性を示す。塩化レボカルニチンの高圧蒸気滅菌後の残存率は、90 日後で  $95.2 \pm 1.1\%$  (Mean  $\pm$  S.D.,  $n=3$ ) であった。しかし吸光度スペクトルを測定した結果、260—280 nm 付近に新たなピークが確認された (Fig. 4)。一方、この懸濁液を濾紙で濾過後に高圧蒸気滅菌したもの、あるいはレボカルニチン純品の水溶液を同様に高圧蒸気滅菌したものについては、このピークは観察されず、未滅菌のものと同様のスペクトルを示した (データは示していない)。さらに比旋光度を測定することにより、塩化レボカルニチンが高圧蒸気滅菌及び長期保存により *d*-体へ変化していないことを

確認した (Table 3)。

## 考 察

本研究において、塩化レボカルニチン懸濁液は、90 日間薬効成分の安定性及び微生物汚染に関して問題がないことが確認された。しかし、クリーンベンチ外で本懸濁液の調製を行った場合では、調製直後に *Rhodotorula* spp. や *Corynebacterium* の混入が認められた。これら検出された微生物は環境中の微生物であり、*Rhodotorula* spp. は空気、土壌、食品に広く分布し、<sup>14)</sup> *Corynebacterium* は皮膚、及び粘膜上の常在菌である。<sup>15)</sup> さらに、クリーンベンチ内で調製した場合、これらの微生物が検出されなかったことより、微生物汚染がもともと錠剤に由来するのではなく、製剤の調製時における混入が原因であると考えられる。一方、14 日以降では、これらの微生物の生存は確認されなかった。これは、懸濁液の pH が酸性であることにより微生物が死滅した

と考えられる。しかし、微生物汚染の可能性については、1%以下の懸濁液の投与時や低温や酸に強い微生物の混入が考えられる場合には完全に否定できない。したがって、クリーンベンチ内で調製を行うか、調製後濾過滅菌を行うことが望ましい。しかし、大量の錠剤を粉碎し懸濁する過程を、すべてクリーンベンチ内で行うのは効率が悪く全体の調剤業務に支障が生じる。また、濾過滅菌では目詰まり等の問題を抱えている。そこでわれわれは、懸濁液を調製後に高圧蒸気滅菌を行う方法を試験した。塩化レボカルニチンは、高圧蒸気滅菌を行っても安定であったが、塩化レボカルニチン懸濁液では錠剤中の様々な不溶性物質が変化していることが推測された。これら高圧蒸気滅菌によって生成される不純物は、懸濁後に濾紙による濾過を行うことで生成されないことが確認された。これらの結果より、塩化レボカルニチン懸濁液の最適な調製法は、錠剤を破砕後、精製水に懸濁し濾紙による濾過を行い成分以外の不溶性物質を除いてから、高圧蒸気滅菌するのが好ましいとわれわれは結論付けた。このとき、塩化レボカルニチンは水に極めて溶解易いという性質上、濾紙に吸着される水分量だけ含量は低下することになるが、臨床上問題となるような含量の低下は認められなかった。病態が慢性的であることを考慮すると、次の来院日に合わせて、あらかじめ調製しておくことも可能であろう。

今回のわれわれの報告は院内製剤の最適な調製法を検討し、長期投与を可能とした点で新規性がある。この報告により、施設による薬剤の調製法の違いをなくし、統一された投与方法が確立できるのではないかと考えている。また、希少疾病に限らずその他医薬品の他剤形の開発は、薬剤師や医師の立場から製薬メーカーに期待しているところであるが、本研究がその一助となれることを願っている。

**謝辞** 本研究において、比旋光度の測定に多大なる御協力をいただいた徳島文理大学香川薬学部飯原なおみ先生、片桐幸助先生に深く御礼を申し上げます。

## REFERENCES

1) Fujisawa S., Shimatani K., Yamada H.,

- Hironaka Y., *Folia Pharmacol. Jpn.*, **93**, 305–314 (1989).
- 2) Aoki S., Nishida M., Naya Y., Takeda Y., Yamamoto S., Matsumoto I., Inoue Y., *Syounikagakkai Zasshi*, **94**, 295–300 (1990).
- 3) Orii T., Suzuki Y., Sukegawa K., Shimozawa N., Tomatsu S., Fukao T., *Shounikarinsyou*, **45**, 2645–2656 (1992).
- 4) Sugiyama S., Matsuda I., Wada Y., Narisawa K., Yamamoto T., Uemura K., Ito T., Kido-uchi K., Kobayashi M., *Nihon Syounikagakkai Zasshi*, **93**, 1818–1819 (1989).
- 5) Yamada H., Yutaka H., Takao H., *Yakugaku Zasshi*, **110**, 225–234 (1990).
- 6) Kawai S., Mizushima Y., *Sougourinsyou*, **42**, 3204–3206 (1993).
- 7) Yokoyama Y., Kiyono Y., *Yakkyoku*, **46**, 981–984 (1995).
- 8) Fujita Y., Shinzato T., Takai I., Kobayakawa H., Ozawa Y., Maeda K., *Jinkouzouki*, **17**, 132–135 (1988).
- 9) Sotobata I., Noda S., Hayashi H., Yokota M., Tsuzuki M., Tsuzuki J., Goto J., Inagaki H., Ito A., Hirayama H., Kondo T., Kato K., Nakashima M., *Jpn. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **20**, 607–618 (1989).
- 10) Yoshitoshi Y., Yamazaki N., Iimura O., Nitan H., Kuramoto K., Osada H., Mizuno Y., Sotobata I., Toshima H., Nakashima M., *Jpn. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **20**, 687–707 (1989).
- 11) Yoshida M., Hirakawa M., Tsutsumi C., Tateishi M., Nakajima K., Okabe M., Sueyasu M., Yoshikawa M., Nakao Y., Itoh Y., Oishi R., *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, **29**, 189–195 (2003).
- 12) Miyake S., Maruyama A., Ashihara A., *Yakkyoku*, **51**, 60–66 (2000).
- 13) Uno M., *Osakafu Zasshi*, **52**, 49–55 (2001).
- 14) Miyaji M., Nishimura K., “A Dictionary of Medical Mycology,” 1993, p. 226.
- 15) Okada J., Nakamura R., Shitara M., Miyaji M., Ito T., Yamane M., Nagasawa M., Okuwaki Y., Watanabe K., “Microbiology/Clinical Microbiology,” 1997, p. 189.