

院内製剤ウリナスタチン膣坐剤の物理薬剤学的特性

佐竹 清,^{*,a,b} 中島孝則,^b 岩田政則,^c 藤掛佳男,^a 木村正幸^bPhysicopharmaceutical Characteristics of Ulinastatin Vaginal Suppositories
Prepared in HospitalKiyoshi SATAKE,^{*,a,b} Takanori NAKAJIMA,^b Masanori IWATA,^c
Yoshio FUJIKAKE,^a and Masayuki KIMURA^b

^aDepartment of Pharmacy, Saitama Red Cross Hospital, Kamiochiai 8-3-33, Cyuo-ku, Saitama 338-8553, Japan, ^bClinical Pharmacy Educational Center, Nihon Pharmaceutical University, Komuro 10281, Ina-machi, Kita-adachi-gun, Saitama 362-0806, Japan, and ^cDepartment of Clinical Pharmaceutics, Yokohama College of Pharmacy, Matano-cho 601, Totsuka-ku, Yokohama 245-0066, Japan

(Received May 20, 2011; Accepted August 2, 2011; Published online August 9, 2011)

We studied a locally applied vaginal preparation (vaginal suppositories) of ulinastatin (urinary trypsin inhibitor, UTI), designed to threatened premature delivery and maintain pregnancy. Witepsol S55 was chosen as the basic component of the vaginal suppositories based on the physical pharmaceutical characteristics of three kinds of hard fats. The average particle size of the UTI aqueous injection was approximately 70% as compared with that of the UTI lyophilized product, used as the base material for the preparation of UTI vaginal suppositories. We compared the physical pharmaceutical properties of UTI vaginal suppositories with water contents of 2.5%, 5.0%, and 7.5%, respectively. Preparation strength negatively correlated with the water content. The coefficient of viscosity positively correlated with the water content of the preparation. UTI vaginal suppositories with a water content of 5.0% had the highest average drug release rate on moment analysis. A comprehensive evaluation of the properties of UTI vaginal suppositories, including high strength due to disintegration resistance, the coefficient of viscosity and its influence on local retention, and drug release and its influence on the duration of effect, indicated that a 5.0% UTI aqueous solution for injection combined with Witepsol S55 as the base was the optimal formulation for the hospital preparation of vaginal suppositories.

Key words—ulinastatin; vaginal suppository; hospital preparation; threatened premature delivery; physicopharmaceutical characteristic

緒 言

ウリナスタチン (urinary trypsin inhibitor; UTI) は、ヒト尿中から抽出、精製された糖タンパク質であり、白血球エラスターゼやトリプシンなど種々の酵素に阻害作用を持ち、急性膵炎、慢性再発性膵炎の急性増悪期、急性循環不全の適応で臨床使用されている。¹⁾ 産科領域における UTI の局所投与は、エラスターゼやサイトカイン活性の阻害により頸管炎や絨毛膜羊膜炎に対し抗炎症作用を示すことから、UTI 膣坐剤が切迫早産の治療に使用されている。^{2,3)} この UTI 膣坐剤には市販品がないことから、院内

製剤として溶融法により調製されており、主薬原料として注射用凍結乾燥製剤 (凍結乾燥製剤)、又は水性注射液製剤 (水性注射剤) が用いられている。^{4,5)} 凍結乾燥製剤を用いる製法は、あらかじめ乳鉢で微粉化した薬剤を加温した坐剤基剤に加え混和後成形するが、本方法は調製過程において微粉化した薬剤が吸湿して凝塊 (二次粒子) を形成し易く、基剤中での均一な分散は困難との指摘があり、水性注射剤を用いる製法が提案されている。⁵⁾ しかしながら、この水性注射剤を用いて調製された UTI 膣坐剤についての物理薬剤学的検討はなされていない。そこで本研究では、UTI 水性注射剤と主薬原料として種々のハードファット (ウイテプゾール) 基剤を用いた UTI 膣坐剤を調製し、種々の物理薬剤学的特性値から最適な基剤タイプを選択するとと

^aさいたま赤十字病院薬剤部, ^b日本薬科大学臨床薬学教育センター, ^c横浜薬科大学臨床薬剤学研究室

*e-mail: srcph@jcom.home.ne.jp

もに、薬物放出特性から院内製剤として最適な処方を検討した。

方 法

1. 試薬 主薬であるウリナスタチン (UTI) は、ミラクリッド注射液 5 万単位 (持田製薬) (以下、ウリナスタチン注射液と略す) を使用した。膣坐剤の基剤としてウイテプゾール H15, -W35, -S55 (Sasol Germany GmbH) を使用した。トリプシンはウシ膵臓製生化学用 (和光純薬) を、*N*- α -ベンゾイル-L-アルギニン-4-ニトロアニリド塩酸塩 (L-BAPA) はペプチド研究所製のものを使用した。その他の試薬は特級品又は純度 99% 以上のものを用いた。

2. UTI 膣坐剤の調製 UTI 膣坐剤 (Table 1) は溶融法により調製した。あらかじめ膣坐剤基剤を約 50°C で融解し、45°C まで放冷後マグネチックスターラーで攪拌しながら少量ずつウリナスタチン注射液を混和した。混和物をプラスチック製坐剤コンテナに注入し、室温にて放冷固化させた後、4°C、遮光下で 24 時間以上保存した。

3. UTI 膣坐剤の評価

3-1. 粒子の分散状態 粒子の分散状態は、顕微鏡法グリーン径で行った。基剤はウイテプゾール W35 を使用し、⁴⁾ OLYMPUS DP12 において試料板として血球計算板を使用し、100 倍の倍率でランダムに 200 個の粒子径を測定した。

3-2. 強度 膣坐剤の破断応力はレオメータ RT-3005D (レオテック) にて測定した。融解した膣坐剤を注射筒 (ツベルクリン用 1 ml, テルモ) に吸引して室温で固化させることにより、円筒形 (ϕ 4.5 mm \times 60 mm) の試料を調製した。試料を折れ芯 JIS 用 No. 37 (支持台距離 40 mm) に設置し、歯型押棒 B No. 13 にて毎分 60 cm の速度で加圧した時の破断応力を測定した。測定は 20 回行い、その平均値を強度とした。

Table 1. Formula of Ulinastatin Vaginal Suppositories

Formula	Ulinastatin	%	Witepsol S55 (g)
A	5000 units (0.1 ml)	2.5	3.90
B	5000 units (0.1 ml)	5.0	1.90
C	5000 units (0.1 ml)	7.5	1.23

Vaginal suppositories were prepared with the fusion method.

3-3. 粘度 膣坐剤の粘度は Visconic ED 型粘度計 (東京計器) を用いて測定した。膣坐剤を 37.0 \pm 0.5°C にて溶融した試料 1.2 ml について測定を行い、5 試料の平均値を粘度とした。

3-4. 熱力学的パラメータ 膣坐剤の熱力学的パラメータは示差走査熱量計 DSC8230 (Rigaku) を用いて測定した。測定にはアルミパンの試料皿を使用し、測定条件は、基準サンプル: 酸化アルミニウム粉末, 試料量: 約 2 mg, 昇温速度: 3°C/min, 測定温度: 20–120°C にて実施した。測定は 5 回行い、平均値を求めた。

3-5. 薬物放出性 膣坐剤の薬物放出性は、坐剤放出試験器 (村西式, 富山産業) を用いて測定した。測定条件は、セル内回転軸: 25 rpm, 坐剤投入相と放出相間に設置したメンブランフィルター: White SSWP (ϕ 47 mm, 孔径 3.0 μ m, MILLIPORE), 試験液: 精製水 200 ml (37.5 \pm 0.5°C) を用いた。試験液は試験開始後 6 時間にわたり経時的に 2 ml を採取するとともに、同量の精製水を補充した。

4. ウリナスタチンの定量 坐剤放出試験液中のウリナスタチン量は、第十五改正日本薬局方ウリナスタチン定量法に準じて測定した (Fig. 1).⁶⁾ 呈色した試料液の 405 nm における吸光度を UV240 形分光光度計 (島津製作所) にて測定し、あらかじめ作成した検量線からウリナスタチン量を求めた。

5. 数値計算 各種パラメータの算出は、山岡ら⁷⁾ のプログラムを応用して行った。有意差検定は、student-*t* 検定で行った。

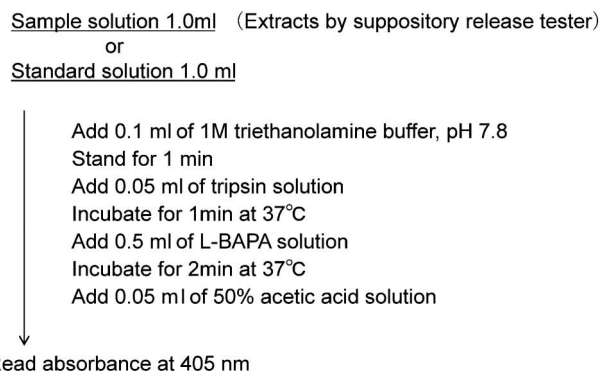


Fig. 1. Analytical Method for Ulinastatin Vaginal Suppositories

結 果

1. 粒度分布 UTI 膾坐剤の主薬原料として使用した、ミラクリッド注射液 5 万単位(水性注射剤)及びミラクリッド 5 万単位(凍結乾燥製剤)の製剤中の分散状態を Fig. 2, 及び粒子径のヒストグラムを Fig. 3 に示す. 水性注射剤及び凍結乾燥製剤の平均粒子径は $28.4 \pm 21.6 \mu\text{m}$ 及び $38.7 \pm 50.7 \mu\text{m}$ となり, 分散粒子間に有意な差 ($p < 0.01$) が観察された.

2. 基剤の特性値 膾坐剤基剤の物理薬剤学的特性値を Table 2 に示す. 基剤の強度は, $0.193 - 0.313 \text{ kg}$ となり, ウイテプゾール S55 の強度は, ウイテプゾール H15 の約 1.2 倍, ウイテプゾール W35 の約 2.0 倍となった. 基剤の粘度は, $29.9 - 113.9 \text{ cP}$ となり, ウイテプゾール S55 の粘度は, ウイテプゾール H15 の約 3.8 倍, ウイテプゾール W35 の約 2.0 倍となった. 基剤のピーク温度に関しては, 3 種類の基剤間で有意な差は認められなかった. 基剤の融解熱量は, $112.5 - 136.5 \text{ J/g}$ とな

り, ウイテプゾール H15 の融解熱量は, ウイテプゾール W35 及び, ウイテプゾール S55 の約 1.2 倍となった.

3. UTI 膾坐剤の処方と特性値

3-1. 水分配合率と強度 ウリナスタチン注射液を原料とした UTI 膾坐剤の強度を Fig. 4 に示す. 処方 A, 処方 B 及び処方 C の強度 (Y2) は, $0.312 \pm 0.031 \text{ kg}$, $0.207 \pm 0.019 \text{ kg}$, $0.174 \pm 0.025 \text{ kg}$ ($Y2 = 0.369 - 0.0276X$, $R = 0.917$) であり, 水分配合率が増えると強度は低下する負の相関が認められ, 水分配合率が最も低い 2.5% が最も高い値を示した.

3-2. 水分配合率と粘度 ウリナスタチン注射液を原料とした UTI 膾坐剤の粘度を Fig. 5 に示す. 処方 A, 処方 B 及び処方 C の粘度 (Y3) は, $49.7 \pm 1.5 \text{ cP}$, $62.6 \pm 4.6 \text{ cP}$, $95.9 \pm 14.9 \text{ cP}$ ($Y3 = 23.20 + 9.24X$, $R = 0.939$) であり, 水分配合率が増えると粘度は高くなる正の相関が認められ, 7.5% が最も高い値を示した.

3-3. 水分配合率と熱力学的パラメータ ウリナスタチン注射液を原料とした UTI 膾坐剤のピー

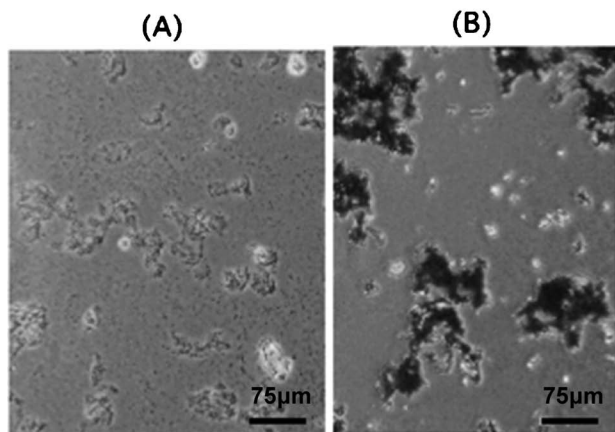


Fig. 2. Microscopic View of Dispersed Particles in Ulinastatin Vaginal Suppositories
A: Aqueous injection, B: Lyophilized injection.

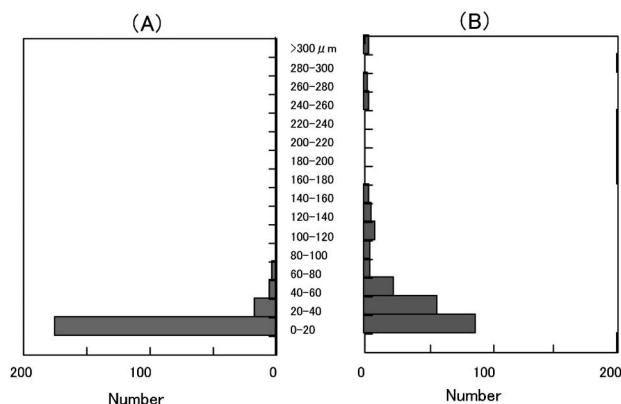


Fig. 3. Histogram of Dispersed Particles in Ulinastatin Vaginal Suppositories
A: Aqueous injection, B: Lyophilized injection.

Table 2. Characteristics of Witepsol H15, Witepsol W35 and Witepsol S55 as a Base

	Strength ^a (kg)	Viscosity ^b (cP)	Peak temp. (°C)	Heat of fusion (J/g)
Witepsol H15	0.263 ± 0.060	29.9 ± 0.6	34.8 ± 0.4	136.5 ± 13.0
Witepsol W35	0.193 ± 0.068	56.3 ± 2.2	36.1 ± 0.4	112.5 ± 7.50
Witepsol S55	0.313 ± 0.057	113.9 ± 13.1	33.5 ± 0.2	115.1 ± 14.9

^a Sample size: $\phi 4.5 \text{ mm} \times 40 \text{ mm}$, Press speed: 60 cm/min . ^b Sample temperature: 37.0°C . Each datum represents mean \pm S.D.

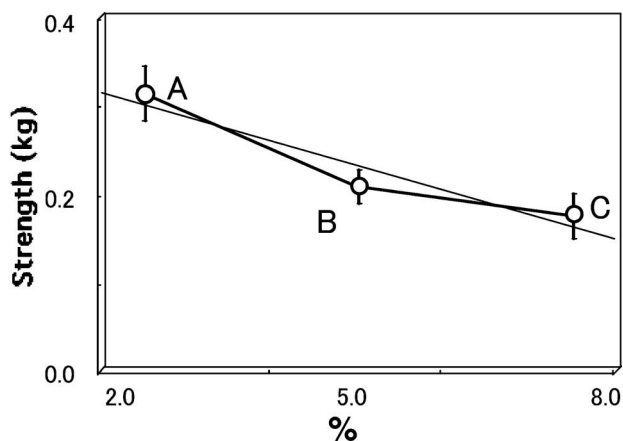


Fig. 4. Relation between Strength and Percent of Ulinastatin in Suppositories

Each point represents the mean \pm S.D., $n=20$.

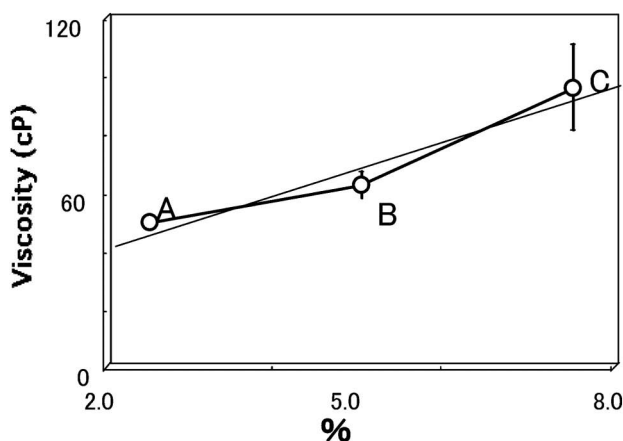


Fig. 5. Relation between Viscosity and Percent of Ulinastatin in Suppositories

Each points represents the mean \pm S.D., $n=5$.

ク温度及び融解熱量を Fig. 6 に示す。処方 A, 処方 B 及び処方 C のピーク温度 (Y4) は, 33.8 ± 0.3 °C, 28.7 ± 0.2 °C, 28.9 ± 0.1 °C となり, 2.5% 配合率である処方 A が最も高い値を示した。融解熱量 (Y5) は, 135.3 ± 12.4 J/g, 121.2 ± 9.3 J/g, 120.0 ± 9.6 J/g となり, 2.5% 配合率である処方 A が最も高い値を示した。

4. UTI 膣坐剤からの薬物放出性に対する水分配合率の影響 UTI 膣坐剤からの経時的な薬物放出パターンを Fig. 7 に示す。時間の経過とともに膣坐剤からは UTI が放出された。2.5%, 5.0% 及び 7.5% 含有膣坐剤からの 6 時間後の UTI 濃度は, 1.85 ± 0.41 $\mu\text{g/ml}$, 13.19 ± 2.17 $\mu\text{g/ml}$ 及び 17.60 ± 1.10 $\mu\text{g/ml}$ となった。

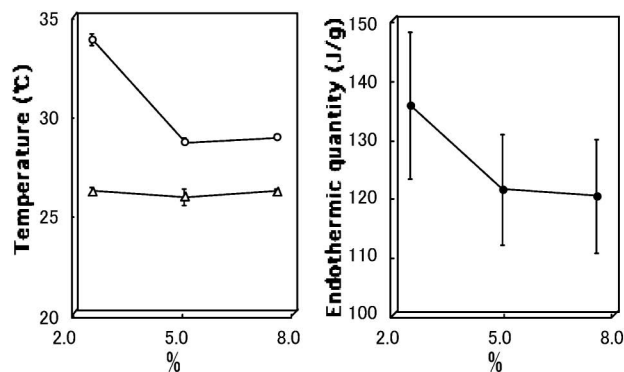


Fig. 6. Relation between Thermodynamic Parameters and Percent of Ulinastatin in Suppositories

○: Peak temperature, △: Melting point, ●: Heat of fusion. Each points represents the mean \pm S.D., $n=5$.

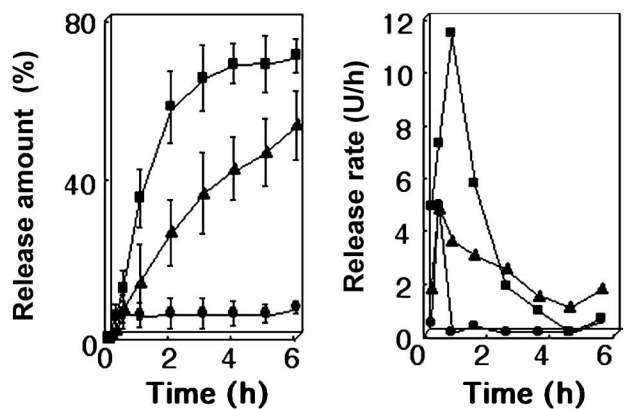


Fig. 7. Time Course Changes in Release Amount and Rate of Ulinastatin from Suppositories

●: Formula A, ▲: Formula B, ■: Formula C. Each points represents the mean \pm S.D., $n=6$.

モーメント解析で得られた 2.5%, 5.0% 及び 7.5% UTI 膣坐剤の薬物放出速度-時間曲線下面積 (ADT) の平均値は, 1.91 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$, 12.5 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$, 17.5 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ となった。また, 薬物平均放出速度 (MDT) は, 5.0% 配合率が 2.16 時間となり, 他の製剤に比べて高い値を示した。

ウリナスタチン注射液の添加率及び UIT 膣坐剤の各特性値間の単相関行列を Table 3 に示す。膣坐剤中の水分配合率は, 膣坐剤の特性値との間に相関性が観察された。

考 察

凍結乾燥製剤を用いた膣坐剤中の UTI 分散粒子は, 二次凝集体を形成し, 平均粒子径は 38.7 ± 50.7 μm となり, 水性注射剤を使用して調製したときの

Table 3. Simple Correlation Matrix among Characteristics

	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6
Ulinastatin % (Y1)	1.000	0.917	0.939	0.719	0.808	0.961
Strength (Y2)		1.000	0.734	0.931	0.974	0.991
Viscosity (Y3)			1.000	0.478	0.582	0.813
Peak Temp. (Y4)				1.000	0.989	0.876
Heat of fusion (Y5)					1.000	0.936
ADT (Y6)						1.000

28.4 ± 21.6 μm に比べて約 1.4 倍となった。水性注射剤を原料とする臍坐剤の UTI 粒子の変動係数は 0.76 となり、凍結乾燥製剤を原料とする臍坐剤の 1.31 より小さい値となることから、水性注射剤を原料とする臍坐剤の方が均一な粒子を有する製剤であると言える。上村ら⁹⁾は、従来の凍結乾燥製剤を粉碎・混合する製法が調製時のバイアルや器具への付着することを報告した。筆者らの検討結果は、水性注射剤と基剤を直接混合した UTI 臍坐剤が優れた製剤が得られることを裏付けるものと言える。UTI 臍坐剤の基剤として、ウイテプゾール H15、-W35、-S55 の 3 種類について物理薬剤学的特性値を比較検討した (Table 2)。強度に関しては、坐剤コンテナからの取り出し易さ、手による挿入性などの利便性を考慮したものである。また、粘度に関しては、UTI 臍坐剤の使用法が 1 日 1 回ということから、粘膜付着性による局所滞留性を期待する指標とした。ウイテプゾール S55 が強度や粘度が高い値であったことから、UTI 臍坐剤の基剤として 3 種類の基剤の中では最も優れていると判断した。熱力学的パラメータであるピーク温度や融解熱量は、投与部位である臍内における融解性を示す指標であり、ピーク温度は 3 種の基剤間でウイテプゾール H15、-W35、-S55 それぞれに有意差があった ($p < 0.005$)。融解熱量は、ウイテプゾール H15 と -W35 の間と、ウイテプゾール H15 と -S55 の間に有意差があったが ($p < 0.05$)、ウイテプゾール W35 と -S55 の間に有意差はなかった。従来、UTI 臍坐剤の基剤としてウイテプゾール W35 が用いられてきた。⁴⁾ 筆者らは、基剤中への分散性や基剤の特性値の測定結果から界面活性剤を含有するウイテプゾール S55 が水性注射剤の混合に適した基剤であると判断した。また、調製過程において、ウイテプゾールと水性注射剤との間で二層の分離は観察されな

ったことから、水分の除去工程は実施する必要がないと判断した。

臍坐剤中の主薬原料量をウリナスタチン注射液 (1 アンプル) に固定し、水分配合率の特性値への影響について検討した。製剤中の水分配合率 2.5%、5.0% 及び 7.5% の臍坐剤を調製し、強度、粘度、熱力学的パラメータ及び薬物放出性について検討した。製剤中の水分配合率は、臍坐剤の特性値に対して相関性が観察された (Table 3)。強度に関しては、水分配合率が増すと強度は低下することが判明した。これは、油相であるウイテプゾール S55 に対する水相である UTI 水溶液配合率が増すにしたがい、二相間の接触が増加して崩壊性が増したためと推察される。また、水分配合率が高くなると粘度は増加した。これは、油相である分散媒間の空隙部が増大したことにより水相の分散粒子の摩擦抵抗が増大したためと考える。薬物放出性に関して、異なる水分配合率の臍坐剤間で薬物放出総量に差がみられた。放出液中への薬物放出速度は、試験開始直後に高い値を示し、その後低下する傾向を示した (Fig. 7)。モーメント解析より得られた 2.5%、5.0%、7.5% 臍坐剤の薬物放出速度-時間曲線下面積 (ADT) は、1.91 μg·h/ml、12.5 μg·h/ml、17.5 μg·h/ml であった。5.0% 臍坐剤は徐放性を示し、平均放出速度 (MDT) は 7.5% 臍坐剤の約 1.7 倍となった。臍坐剤中の水分配合率と粘度、ADT の間には正の相関性があり、重相関係数は、0.939 及び 0.961 であった。また、強度、ピーク温度、融解熱量との間には負の相関性を示し、重相関係数は 0.917、0.719、0.808 であった。以上の結果を考慮すると、2.5% 臍坐剤は、強度は高いものの薬物放出性においては放出速度が低く、他の臍坐剤と比較して投与部位における薬物濃度が問題となると思われる。また、7.5% 臍坐剤は、粘度は高いものの強度が低く、急激で一過性の薬物放出性が認められた。5.0% 臍坐剤は、強度も粘度も他の水分配合率の中間に位置するが、薬物放出性において 7.5% 臍坐剤よりも徐放性が認められる。産婦人科領域における臍坐剤の特性を考慮したとき、崩壊性が低く、局所滞留性に優れ、徐放性を有するものが求められる。⁸⁻¹⁰⁾ 院内製剤としての使用目的や使用法を考慮し総合的に判断すると、UTI 臍坐剤の基剤にはウイテプゾール S55、水分配合率 5.0% が最適である

と考える。

謝辞 本研究にあたり、ご指導並びにご協力頂いた、さいたま赤十字病院薬剤部諸氏に深謝いたします。

REFERENCES

- 1) Kanayama N., Maradny E. E., Halim A., Maehara K., Kajiwara Y., Terao T., *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, **60**, 181–186 (1995).
- 2) Adachi T., *Acta Obstet. Gynaecol. Jpn.*, **58**, N-161–167 (2006).
- 3) Kanayama N., Khatun S., Terao T., *Trophoblast Res.*, **13**, 415–425 (1999).
- 4) Japanese Society of Hospital Pharmacists “Byoin Yakkyoku Seizai, 5th Edition,” YAKUJI NIPPO LIMITED, 2003, p. 206.
- 5) Kamimura M., Ueda A., Kurita H., Owada

- K., Ishikawa M., Watanabe M., Fujiwara A., Yamamoto M., Kashiwagi M., Miwa N., Minami S., Iwasaki T., Nabeta I., Kuromi M., Ukishima Y., Misaki Y., *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, **33**, 775–780 (2007).
- 6) “The Japanese Pharmacopoeia, Fifteenth Edition,” Hirokawa Publishing Co., Tokyo, 2006, pp. 901–905.
- 7) Yamaoka K., “Maikonniyoru Yakubutsu Tainai Dotai Kaisekiho,” Nankodo Co., Ltd., 1984, pp. 145–184.
- 8) Masuda H., Sumiyoshi Y., Shiojima Y., Suda T., Kikyo T., Iwata M., Fujiyama N., Machida Y., Nagai T., *Cancer*, **48**, 1899–1906 (1981).
- 9) Iwata M., Machida Y., Masuda H., Nagai T., *Drug Des. Deliv.*, **1**, 253–260 (1987).
- 10) Iwata M., Shirotake S., Hirahara F., Minaguchi K., Machida Y., Nagai T., *Yakuzai-gaku*, **53**, 148–154 (1993).