

博士（薬科学）学位論文

院内製剤  
「ウリナスタチン腔坐薬 1 万単位」  
の製剤学的検討

2018年3月

武蔵野大学大学院 薬科学研究科  
薬科学専攻

研究分野 製剤学  
指導教授 大塚 誠

学位申請者 岸野 亨

本論文は、以下の発表および原著論文に基づいたものである。

## 発表

- 1) 岸野亨, 齋藤健一, 井上嘉余子, 井上芳洋, 大塚邦子, 服部祐介, 大塚誠, 院内製剤「ウリナスタチン膣坐薬1万単位」の近赤外分光法を用いた製剤学的検討. 2016.3.26-29 日本薬学会第136年会 (横浜) .
- 2) Tohru Kishino, Kayoko Inoue, Yoshihiro Inoue, Kuniko Otsuka, Yusuke Hattori, Makoto Otsuka, Pharmaceutical Evaluation of Ulinastatin Vaginal Suppositories Containing 10000 Units by Near-Infrared Spectroscopy as a Hospital Preparation. 2016.11.13-17 AAPS ( Denver, Colorado ) .
- 3) 岸野亨, 井上芳洋, 井上嘉余子, 齋藤健一, 近藤正巳, 大塚邦子, 照喜名孝之, 服部祐介, 大塚誠, 近赤外分光法を用いた院内製剤「ウリナスタチン膣坐薬 1 万単位」の水分含量と硬度の予測. 2017.3.24-27 日本薬学会第137年会 (仙台) .

## 原著論文

- 1) T. Kishino, Y. Inoue, K. Inoue, K. Saito, M. Kondo, K. Otsuka, T. Terukina, Y. Hattori and M. Otsuka, Pharmaceutical evaluation of hospital-prepared ulinastatin-containing vaginal suppositories. Journal of Drug Delivery Science and Technology. Accepted (第1章)
- 2) T. Kishino, Y. Inoue, K. Inoue, K. Saito, M. Kondo, K. Otsuka, T. Terukina, Y. Hattori and M. Otsuka, Predictive evaluation of pharmaceutical properties of ulinastatin-containing vaginal suppositories as a hospital pharmaceuticals by near-infrared spectroscopy. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. Accepted (第2章)

# 目次

緒言	1
第1章 院内製剤「ウリナスタチン腔坐薬1万単位」の調製方法の検討	6
1. 序論	7
2. 方法	9
2-1. 試料および試薬	9
2-2. ウリナスタチン（UTI）腔坐薬の調製	11
1) 注射用凍結乾燥製剤を用いた腔坐薬調製方法（従来法）	11
2) 水性注射液を用いた腔坐薬の調製方法	13
2-3. 水分含量	15
1) カールフィッシャー（KF）法による水分含量測定	15
2) 乾燥減量（LOD）試験法による水分含量測定	17
2-4. 硬度測定	18
2-5. ウリナスタチンの定量	20
1) 標準液の調製	20
2) 基剤懸濁液の調製	20
3) 試料溶液の調製	20
4) 検量線の作成	20
5) 操作方法	20
2-6. 腔坐薬からのウリナスタチンの溶出試験	22
2-7. 統計解析	23
3. 結果	24
3-1. ウリナスタチン腔坐薬の調製とその形態変化	24
3-2. ウイテプゾール S-55 を用いた各種混合時間の腔坐薬中 水分含量	31

3-3.	脛坐薬の機械的強度	35
3-4.	脛坐薬中の水分含量と強度の関係	37
3-5.	脛坐薬の主薬含有量	42
3-6.	脛坐薬の溶出試験	44
4.	考察	46
5.	結論	49
第2章	院内製剤「ウリナスタチン脛坐薬1万単位」の近赤外分光法を用いた製剤学的検討	50
1.	序論	51
2.	方法	52
2-1.	試料および試薬	52
2-2.	UTI注射液を用いたUTI含有脛坐薬の調製	53
2-3.	乾燥減量試験法による調製された脛坐薬中の水分含量の測定	54
2-4.	硬度試験	55
2-5.	NIRスペクトル測定	56
1)	濃度の異なるUTI脛坐薬のNIRスペクトルの測定	56
2)	混合時間が異なるUTI脛坐薬のNIRスペクトルの測定	56
2-6.	NIRデータ処理	58
3.	結果	60
3-1.	院内製剤としての「ウリナスタチン脛坐薬1万単位」の製剤品質特性	60
3-2.	UTI脛坐薬のNIRスペクトルに及ぼす混合時間の影響	61



3-3.	UTI腔坐薬のNIRスペクトルに基づいて水分含量 (LOD) および硬度 (HT) を評価するためのキャリブレーションモデルの構築	63
3-4.	UTI腔坐薬のNIRスペクトルに基づいてLODおよびHTを評価するためのキャリブレーションモデルの科学的証拠	68
3-5.	UTI腔坐薬のLODおよびHTにおよぼす混合時間の影響	70
4.	考察および結論	72
4-1.	UTI腔坐薬のNIRスペクトルに基づいてLODおよびHTを予測するためのキャリブレーションモデルの構築	72
4-2.	院内製剤としてのUTI腔坐薬の重要な製剤品質特性	73
	統括	75
	謝辞	78
	引用文献	79

# 緒言

## 院内製剤について

ヒト遺伝子の解明やコンピュータ科学の発展を背景に，医薬品開発の進歩はめざましい。多様な疾病，病態をもつ様々な患者に最適な薬物療法を実施する為には，「医薬品，医療機器等の品質，有効性及び安全性の確保等に関する法律」（薬機法）による承認を取得して供給されている市販医薬品だけでは必ずしも十分ではない場合がある。これらの多様でかつ個別の医療ニーズに応えるために，主に病院薬剤部で供給される院内製剤は，薬剤師により調製され，高度・複雑化する医療に貢献してきた[1]。

院内製剤は，その使用目的に応じ

- ① 調剤の準備を目的とするもの
- ② 患者の治療・診断を目的とするもの
- ③ 医療に用いるが患者の治療・診断目的ではないもの

に大別でき，調剤の効率化のための予製を行うものから，全く新たな薬効や薬物送達能を持つ薬剤を調製するものまで多種多様である。このように，医療のニーズに対応すべく，院内製剤は医療法のもと，医療機関の責任の下で院内において調製・使用されているが，薬事関連法規や製造物責任法を考慮し，日本薬局方の製剤総則に準拠する等，調製に際しては有効性・安全性の確保および品質の保証等が求められている[2,3]。

院内製剤の調製と使用をきっかけとして，製薬企業の開発が始まり，薬機法による承認を取得し，市販医薬品となったものも数多く存在することは，薬物治療における院内製剤の必要性を示し

ているものである[1]。しかしながら、現在、使用されている全ての院内製剤が、現状の医薬品審査許可基準に照らして、十分な科学的根拠が公表されているとは限らない。また、近年は医薬品の製造・品質管理が重要視されてきていることから、院内製剤の品質管理の科学的合理性に関しても注目がされるようになっていく。製薬業界での製造中に製品の品質を監視および制御するために、リアルタイムリリースのコンセプトは米国食品医薬品局（FDA）によってプロセス分析技術（Process Analytical Technology：PAT）[4-6]として推奨されている。

PATとして、近赤外分光法（near-infrared spectroscopy: NIRS）が一般的に用いられている。近赤外（near-infrared: NIR）領域は、可視光領域と赤外領域には含まれた  $12500\text{ cm}^{-1}$  から  $4000\text{ cm}^{-1}$  の波数領域の光である。NIRSを使用すると、サンプルを破砕・溶解等の準備することなく、無傷のサンプルから効率的にデータを収集することができる[7]。その結果、多変量解析を含むNIRSは、製薬業界におけるPATの重要な分析技術となっている[8]。

少量生産である院内製剤は、個々の患者のニーズに対応した剤形を適時に提供でき利点がある反面、品質試験による労力や試験サンプリングによる製剤ロスなど不経済な側面があることから、個々の製剤の安定性や有効性に関する科学的根拠に基づく品質管理が不十分である場合がある。

また、日本病院薬剤師会では院内製剤を製造プロセスや使用目的に従い、以下のようにクラス分類している[1]。

クラスⅠ：①薬機法で承認された医薬品またはこれらを原料として調製した製剤を，治療・診断目的で薬機法の承認範囲（効能・効果，用法・用量）外で使用する場合であって人体への侵襲が大きいと考えられているもの

②試薬，生体成分（血清，血小板等）\*，薬機法で承認されていない成分またはこれらを原料として調製した製剤を治療・診断目的で使用する場合（\*患者本人の原料を加工して本人に適応する場合に限る）

クラスⅡ：①薬機法で承認された医薬品またはこれらを原料として調製した製剤を，治療・診断目的で薬機法の承認範囲（効能・効果，用法・用量）外で使用する場合であって人体への侵襲が比較的軽微なもの

②試薬や医薬品でないものを原料として調製した製剤のうち，ヒトを対象とするが，診断・治療目的でないもの

クラスⅢ：①薬機法で承認された医薬品を原料として調製した製剤を，治療を目的として薬機法の承認範囲（効能・効果，用法・用量）内で使用する場合

②試薬や医薬品でないものを原料として調製した製剤であるが，ヒトを対象としないもの

## ウリナスタチンおよび院内製剤「ウリナスタチン腔坐薬1万単位」について

ウリナスタチン（UTI）は、分子量約67,000の酸に安定な糖タンパク質で、147個のアミノ酸からなる1本鎖ポリペプチドであり、種々の酵素に対する阻害作用を有する [9]。トリプシンのみならず種々の膵酵素を阻害することにより急性膵炎ならびに慢性再発性膵炎の急性増悪期に対し臨床効果を有し、また酵素阻害作用のみならずライソゾーム膜の安定化作用、ライソゾーム酵素の遊離抑制作用および心筋抑制因子（MDF）の産生を抑制する作用を有し、ショック時の循環動態を改善することが認められ、急性膵炎（外傷性、術後およびERCP後の急性膵炎を含む）、慢性再発性膵炎の急性増悪期ならびに急性循環不全（出血性ショック、細菌性ショック、外傷性ショック、熱傷性ショック）の効能・効果にて医薬品製造承認を得て臨床に供されている [10]。

近年、UTIは羊水中に多く含まれる成分であり、子宮頸管周囲の炎症を抑え、また子宮収縮を抑制する作用もあることが報告されている [11-13]。日本では、切迫早産患者に投与することは適用外であるため（上記の日本病院薬剤師会「院内製剤のクラス分類」ではクラスⅡに分類される）、医療法のもと医療機関の責任下で院内製剤としてUTI腔坐薬を調製し、患者に投与する必要がある。

UTI腔坐薬は、従来、用時溶解注射剤（注射用凍結乾燥製剤）のUTIを坐薬基剤に適用して腔坐薬を調製してきたが [1]、凍結乾燥製剤を粉末化するとき、吸湿して凝塊を起こしやすく薬剤の含有量均一性の観点から問題があった。水性注射液からの調製方法は、上村ら [14] および佐竹ら [15] の報告がある。しかし、我々の調

製しているUTI腔坐薬（1万単位）と2つの論文[14, 15]のUTI腔坐薬（5千単位）は1個あたりのUTI含量が異なっている。また、佐竹ら[15]の論文中には溶融状態の坐薬基剤ウイテプゾールS-55とUTI注射液との混合時間および坐薬コンテナに充填された腔坐薬の重量などの調製条件を詳細には記載されておらず、加熱後の腔坐薬の水分含量を測定していないなど不明な点が多い。

そこで、より薬剤含有量が均一であることが期待できるUTI注射液からの腔坐薬調製法を再検討した。さらに、UTI腔坐薬の品質を管理すべく、迅速かつ非破壊的に測定が可能であるNIRSを利用した品質試験法も検討した。

# 第 1 章

院内製剤「ウリナスタチン腔坐薬 1 万単位」の調製方法の検討

## 1. 序論

医薬品開発の進歩はめざましい。多様な疾病，病態をもつ様々な患者に最適な薬物療法を実施する為には，薬機法による承認を取得して供給されている市販医薬品だけでは必ずしも十分ではない場合がある。これらの多様でかつ個別の医療ニーズに応えるために，主に病院薬剤部で供給される院内製剤は，薬剤師により調製され，高度・複雑化する医療に貢献してきた[1]。

院内製剤は医療法のもと，医療機関の責任の下で院内において調製・使用されているが，薬事関連法規や製造物責任法を考慮し，日本薬局方の製剤総則に準拠することが必要である。

院内製剤の調製には常に品質と安全性の確保が要求される。しかし，現在，使用されている全ての院内製剤が現状の医薬品審査許可基準に照らして，十分な科学的根拠が公表されているとは限らない。また，品質試験による労力や試験サンプリングによる製剤ロスなど不経済な側面があることから，個々の製剤の安定性や有効性に関する科学的根拠に基づく品質管理が不十分である場合がある[2,3]。

ウリナスタチン（UTI）は，分子量約67,000の酸に安定な糖タンパク質で，147個のアミノ酸からなる1本鎖ポリペプチドであり，膵臓から分泌されるトリプシンに作用して，亢進したトリプシンの自己消化を抑制する働きがあるため急性膵炎に用いられる[9]。しかし，近年，UTIは羊水中に多く含まれる成分であり，子宮頸管周囲の炎症を抑え，また子宮収縮を抑制する作用もあることが報告されている[11-13]。日本では，切迫早産患者に投与することは適用外であるため，医療法のもと医療機関の



責任下で院内製剤としてUTI腔坐薬を調製し、患者に投与する必要がある。

従来は、用時溶解注射剤（注射用凍結乾燥製剤）のUTIを微粉末化し坐薬基剤に適用してUTI腔坐薬を調製してきた [1]。しかし、微粉化の方法は乳鉢で粉末化[1]、ボルテックスミキサーにて粉末化する方法[13] およびミクロスパーテルなどで粉末化[16] などがあるが、どちらにしてもUTIは吸湿して凝塊を起こしやすく製剤の含有量均一性の観点から問題があった。

水性注射液からの調製方法は、上村ら[14]および佐竹ら[15]の報告がある。しかし、我々の調製しているUTI腔坐薬（1万単位）と2つの論文[14, 15]のUTI腔坐薬（5千単位）は1個あたりのUTI含量が異なっている。また、佐竹ら[15]は3種類のウイテプゾールから調製されたUTI腔坐薬について、それらの製剤品質特性を報告している。彼らは、ウイテプゾールS-55を基剤としたUTI腔坐薬の水分含量の影響を調べ、腔坐薬の機械的強度は水分含量と負の相関があり、粘度は製剤の水分含量と正の相関があることを示した。そして、彼らはウイテプゾールS-55とUTI注射液を5.0%含む腔坐薬が、UTI腔坐薬の溶出特性に基づく最適な製剤であると結論付けた。しかしながら、彼らの論文中には溶融状態のウイテプゾールS-55とUTI注射液の混合時間および坐薬コンテナに充填された腔坐薬重量などの調製条件を詳細には記載されておらず、加熱後の腔坐薬中水分含量を測定していないなど不明な点が多い。

そこで、より製剤含有量が均一であることが期待できるUTI注射液からの腔坐薬調製法を再検討した。

## 2. 方法

### 2-1. 試料および試薬

ウリナスタチン (UTI) は、水性注射液および注射用凍結乾燥製剤である持田製薬株式会社製のミラクリッド注射液 10 万単位 (2mL) およびミラクリッド (10 万単位) を用いた。坐薬基剤のウイテプゾールは、丸石製薬株式会社製のホスコ S-55 (S-55)、綿半トレーディング株式会社製薬研究所のウイテプゾール W-35 (W-35) を用いた (Table 1)。トリプシンは和光純薬工業株式会社のウシ膵臓由来、生化学用を用いた。N- $\alpha$ -ベンゾイル-L-アルギニン-4-ニトロアリニド塩酸塩 (L-BAPA) はペプチド研究所、その他試薬は全て特級品または純度 99% 以上のものを用いた。

Table 1

## Physico-chemical properties of Witepsol®

	W-35	S-55
Melting point (°C)	33.5-35.5	33.5-35.5
Freezing point (°C)	27-32	29-32
Acid value	<0.3	<1.0
Hydroxyl value	40-50	50-65
Iodine value	<3	<3
Saponification value	225-235	220-230
Non-saponification value	<0.3	<2.0
Characteristics	5-10% of stearic acid monoglyceride included.	2% of non-ionic surfactant (ethoxylated cetylstearyl alcohol) included.

## 2-2. ウリナスタチン（UTI）腔坐薬の調製

### 1) 注射用凍結乾燥製剤を用いた腔坐薬調製方法（従来法）

Fig. 1 に UTI 注射用凍結乾燥製剤を用いた腔坐薬の調製方法を示す。ウイテプゾール W-35 (133g) をホットスターラー上で加温融解する。超音波洗浄機に水をはり、50℃に加温する。融解した W-35 を超音波洗浄機内で 50℃ まで冷却させる (A)。ミラクリッド (注射用凍結乾燥製剤: 100 万単位 (10 万単位/バイアルを 10 バイアル)) をミクロスパーテルで細かく粉砕し (B, C), 50℃に加温した W-35 に攪拌しながら加え 5 時間かけて懸濁させる (C, D)。懸濁状態を均一に保ちながら電動マイクロピペットを用いて坐薬コンテナに 1.4mL ずつ分注する (E)。コンテナを一晩室温にて放冷して固化させる (F)。これをヒートシールしたものを坐薬製剤とし (G, H), 冷所に保存した。

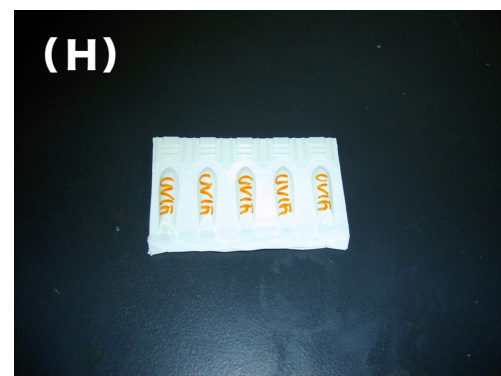
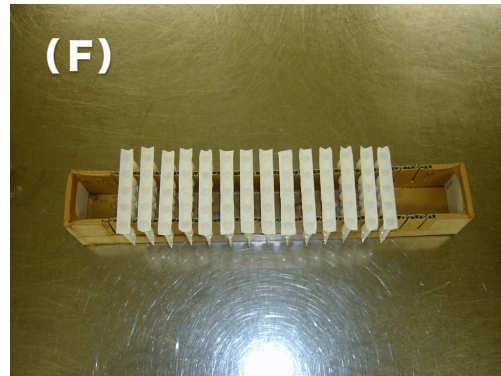
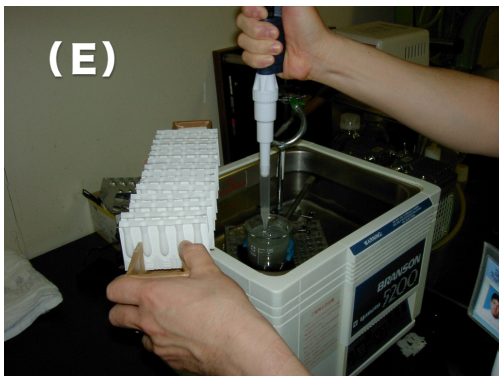
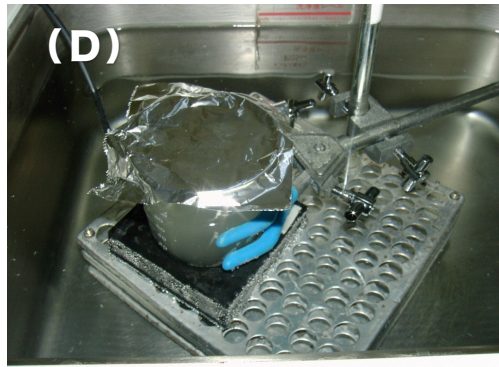
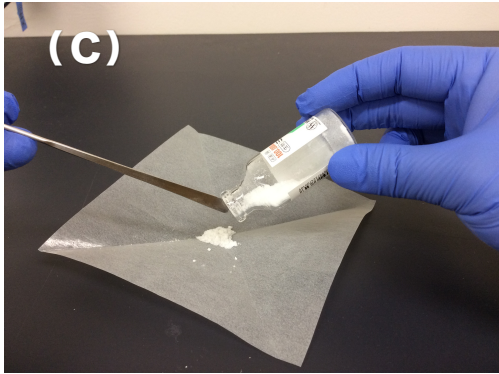
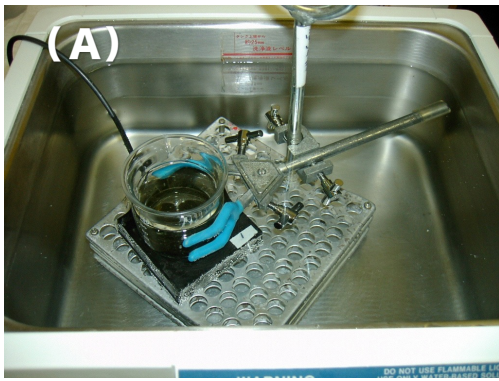


Fig. 1  
Preparation of vaginal suppository using lyophilized preparation.  
(A) to (H)

## 2) 水性注射液を用いた腔坐薬の調製法

ミラクリッド注射液 20 mL (100 万単位 (10 万単位/アンプル /2mL を 10 アンプル)) および坐薬基剤 133 g を用い, 1 個当たり 1 万単位の UTI を含有する腔坐薬 100 個を調製した。

すなわち, 基剤である W-35 あるいは S-55 を 133 g 計りとり 200 mL ビーカーに入れ, ホットスターラー上で加温融解する。融解した基剤を 50℃ に加温した超音波洗浄機内で冷却し, これに攪拌しながら UTI 注射液 20 mL を加えた。このとき液は白濁した。50℃ の超音波洗浄機内で, 0.5, 2.5, 5 時間混合し, 添加した UTI 注射液の水分を蒸発させた。この懸濁液を均一に保ちながら電動マイクロピペットを用いて坐薬コンテナに 1.4mL ずつ分注し, 一晚室温で放冷して固化した。これらをヒートシールしたものを腔坐薬製剤として冷所に保存し, Table 2 に示した ([坐薬基剤の略名]-[ウリナスタチンの剤形の略名]または[坐薬基剤の略名]-[ウリナスタチン製剤の剤形の略名]-[混合時間]) ように命名した。また, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 および 8.0 時間混合した S-55-I を調製した。

Table 2

Composition of different UTI-containing Witepsol® vaginal suppositories

Base	UTI formation	Mixing time (hours)		
		0.5	2.5	5.0
W-35	Freeze-dried powder (W-35-P)			W-35-P-5.0
W-35	Injection solution (W-35-I)	W-35-I-0.5	W-35-I-2.5	W-35-I-5.0
S-55	Injection solution (S-55-I)	S-55-I-0.5	S-55-I-2.5	S-55-I-5.0

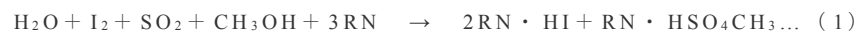
## 2-3. 水分含量

### 1) カールフィッシャー（KF）法による水分含量測定

得られた腔坐薬の水分含有率を測定するために、日本薬局方に収載されているカールフィッシャー（KF）法の電量滴定法を用いて行った。電量滴定法は、ヨウ化物イオンを混合した水分測定試液を用い、電解によりヨウ素を発生させる。ヨウ素が定量的に水と反応することに基づき、電解に要した電気量より、水分を測定する方法である[17]。

#### カールフィッシャー法の原理

水は塩基とアルコールの存在下でヨウ素、二酸化硫黄と反応する。



ヨウ化物イオンを含む電解液（陽極液）中で電解により、陽極にてヨウ化物イオンからヨウ素を生成させる。



(2) 式で発生したヨウ素が (1) 式に従って消費されると、検出電極でヨウ素が消費されたことを検出し、再び電解により (2) 式に従って陽極からヨウ素を発生させる。発生するヨウ素は『ファラデーの法則』に従って電気量に比例する。

(1) 式より、 $\text{H}_2\text{O}$  と  $\text{I}_2$  は 1 : 1 の反応であることから、水 1 モル (18g) は  $2 \times 96500$  クーロンに相当する。従って水 1 mg は 10.71 クーロンに相当する。



以上の原理に基づき、電解に要した電気量より、水分量の換算を行う。

装置は、微量水分測定装置 CA-100 型（三菱化学株式会社）用いて行った。

陰極液には、アクアミクロン<sup>®</sup>CXU、陽極液にはアクアミクロン<sup>®</sup>AX を使用した。

## 2) 乾燥減量 (LOD) 試験法による水分含量測定

検出感度が高い KF 法は正確に水分量を測定できるのに対し、操作工程が簡便であることから比較的院内での作業に導入しやすい乾燥減量 (LOD) 試験法[18]を用いて、得られた各種膣坐薬の水分含有率測定を行った。すなわち、得られた UTI 膣坐薬を、アルミホイルを敷いたホットプレート上に1個ずつ乗せて、105℃、で重量が一定になるまで加熱した(1時間)。加熱乾燥する前後に重量を測定し、その差を蒸発量とした。蒸発量を膣坐薬の重量で割り、水分含有率とした。

$$\text{水分含有率} = \text{蒸発量 (乾燥前重量 - 乾燥後重量)} \div \text{膣坐薬重量} \times 100$$

#### 2-4. 硬度測定

ロードセル式錠剤硬度計（PC-30 PORTABLE CHEKER，岡田精工株式会社）に，直径 5mm のプラスチック製円柱を 20mm の間隔に設置・固定し，自作 3 点折り曲げ試験アタッチメントを作成した。この装置を用いて，各種腔坐薬の破壊硬度測定を 5 個ずつ行った（Fig. 2）。

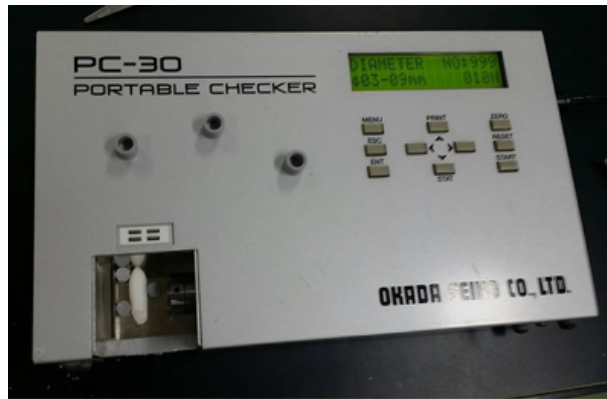


Fig. 2

Image of the hardness test procedure.

## 2-5. ウリナスタチンの定量

### 1) 標準溶液の調製

UTI 注射液に pH7.8 のトリエタノールアミン (TEA) 緩衝液を加えて希釈し 0~200 単位/mL の「標準溶液」を調製した。

### 2) 基剤懸濁液の調製

W-35 の 1.33g (坐薬 1 個分の重量に相当) に TEA 緩衝液 60mL を添加し、50℃の水浴中で 1 時間加温した。遠心分離機を用いて遠心分離後、水槽を分取し、孔径 0.22 $\mu$ m のメンブランフィルターで濾過した。得られた濾液を「基剤 (W-35) 懸濁液」とした。

S-55 の 1.33g に TEA 緩衝液 60mL を添加し 50℃の水浴中で 1 時間加温した。遠心分離機を用いて遠心分離後、水槽を分取し、孔径 0.22 $\mu$ m のメンブランフィルターで濾過した。得られた濾液を「基剤 (S-55) 懸濁液」とした。

### 3) 試料溶液の調製

坐薬 1 個に TEA 緩衝液 60mL 加え、50℃の水浴中で 1 時間加温した後、基剤懸濁液の調製と同様の操作を行い、得られた濾液を「試料溶液」とした。

### 4) 検量線の作成

試験管に「標準溶液」0.2mL を採り、「基剤懸濁液」0.2mL および TEA 緩衝液 3.0mL を加えて軽く振り混ぜ、以下、操作方法に従い、0~200 単位/mL の範囲で検量線を作成した。

### 5) 操作方法

第 17 改正日本薬局方のウリナスタチン定量法に準じ、基剤除去のため反応停止後にろ過操作を加えて測定した[9]。トリプシン試液および L-BAPA 試液を第 17 改正日本薬局方に準じて調製し

た。試験管に「試料溶液」0.2mLを採り，TEA緩衝液3.2mLを加えて20秒間ボルテックスミキサーを用いて混和後，37℃の恒温槽に入れ，これらに，あらかじめ氷冷したトリプシン試液0.4mLを加えて1分後，基質溶液であるL-BAPA試液を2mL加えた。さらに2分後，酢酸(100)(1→2)0.2mLを加えて反応を停止させた。その後孔径0.22 $\mu$ mのメンブランフィルターでろ過しその濾液を，水を対照とし，波長405nmにおける吸光度を分光光度計にて測定し，検量線から試料溶液のウリナスタチン濃度を求めた。

## 2-6. 膾坐薬からのウリナスタチンの溶出試験

日本薬局方承認済みの崩壊試験機（HZP-41D，宮本理研工業株式会社，大阪，日本）を用いて，3種類の膾坐薬（S-55-I-5.0，W-35-I-5.0，W-35-P-5.0）の溶出試験を行った。すなわち， $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ に保った精製水900mLを入れたビーカー内でバスケットに入れた坐薬を25回/分で自動的に上下に動かし膾坐薬からのUTI溶出を確認した。30分ごとにビーカー内の溶液を1.0mL採取し，濾過後，その0.2mLをとりUTIの濃度を上記のように測定した。また，採取した溶液と同量の精製水（1 mL）をビーカー内に補充した。

## 2-7. 統計解析

データは平均 ± 標準偏差 (Mean ± SD) で示した。各データの統計処理は、one-way analysis of variance (one-way ANOVA) を用いて分散分析を行った後、腔坐薬硬度は Tukey 法により統計学的処理を行った。有意水準を 5% として検定を行った。



また、混合時間に対する坐薬水分含有率の KF 法と LOD 試験法を独立したサンプルの t 検定を用いて、有意水準を  $p < 0.05$  に設定し比較した。



### 3. 結果

#### 3-1. ウリナスタチン膾坐薬の調製とその形態変化

W-35 と S-55 に UTI 注射液を混合した膾坐薬の外形形状の変化を Fig. 3 に示した。Fig. 3 の「Moisture content (%)」は坐薬コンテナに注入前のビーカー内の基剤と UTI 注射液の混合状態の水分含量を示した。W-35 は脂溶性基剤であるために 0.5, 2.5 時間の混合では注射液からの水分が基剤 (W-35) と分離して、膾坐薬容器下部に溜まり膾坐薬先端部が欠落した形態となった。しかし、5.0 時間混合では水分含量が低下し、円錐形の膾坐薬を調製することができた。すなわち、水分が蒸発して膾坐薬の含水量が 5.47% になると、膾坐薬の欠損部分が見られなくなった。一方、S-55 を用いた膾坐薬は 12% の水分含有率でも膾坐薬の形態を維持し、膾坐薬の部分欠損は認められなかった。これは、Table 1 に示したように S-55 が 2% の非イオン性界面活性剤 (ethoxylated cetylstearyl alcohol) を含むことから、UTI 注射液をミセル内に包含して油中水 (W/O) 型エマルションを形成し、水層が分離しなかったものと考えられる (Fig. 4)。

Mixingtime	0.5 hours	2.5 hours	5.0 hours
W-35			
Moisture content(%)	12.79	9.59	5.47




Mixingtime	0.5 hours	2.5 hours	5.0 hours
S-55			
Moisture content(%)	12.21	8.40	4.04

Fig. 3

Images of the appearance and moisture content of various vaginal suppositories.

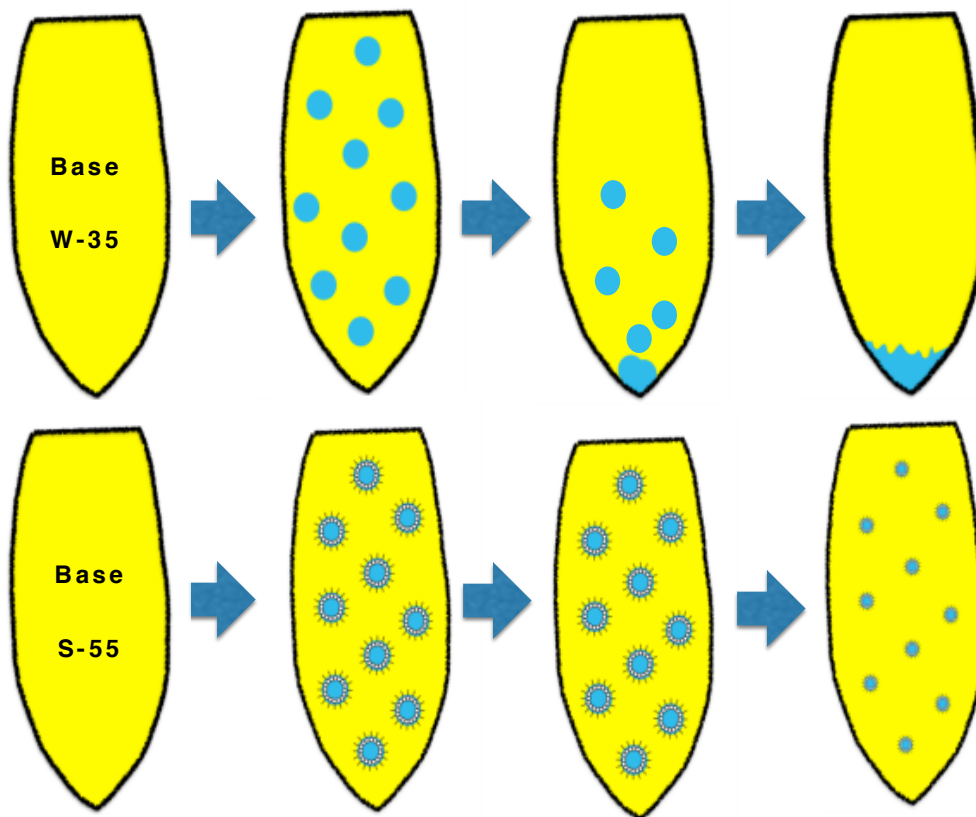


Fig. 4

Water distribution in vaginal suppository using base W-35 and S-55.

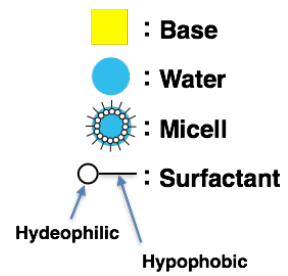


Fig. 5 に従来法で調製された UTI 膣坐薬 (W-35-P-5.0), S-55 と UTI 注射液から調製された膣坐薬断面図 (S-55-I) および凍結乾燥製剤 UTI 原末の電子顕微鏡の画像を示した。W-35-P-5.0 では断面に穴が見られなかった。S-55-I の断面図では混合時間 0.5 時間のときは、水分含有のため空隙が多く見られたが、混合時間が長くなるにつれ、空隙が減少し断面は滑らかになった。

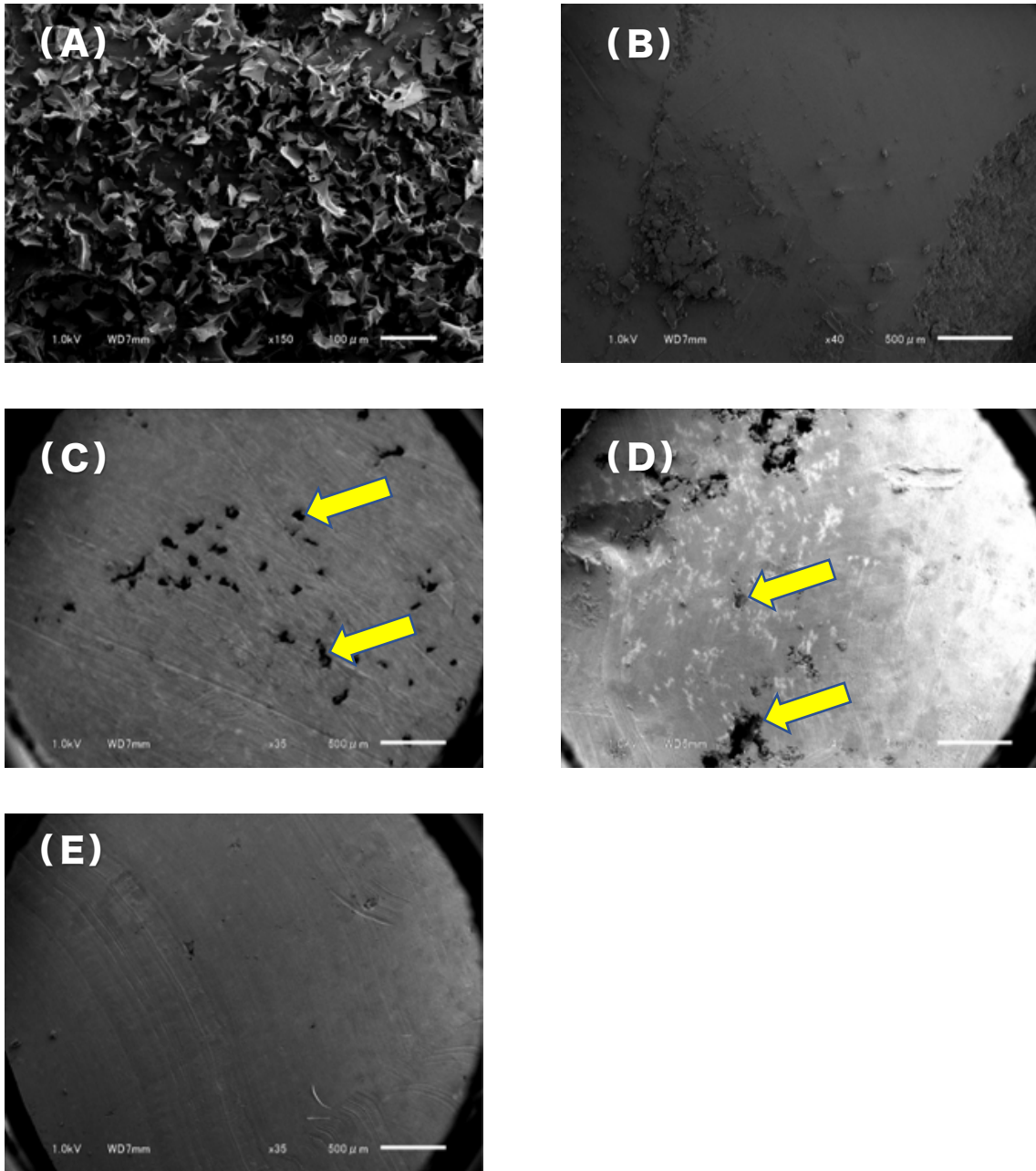


Fig. 5

Cross-section images of (A) bulk UTI, (B) W-35-P-5.0, (C) S-55-I-0.5, (D) S-55-I-2.5, (E) S-55-I-5.0 using scanning electron microscopy.

 : Pore

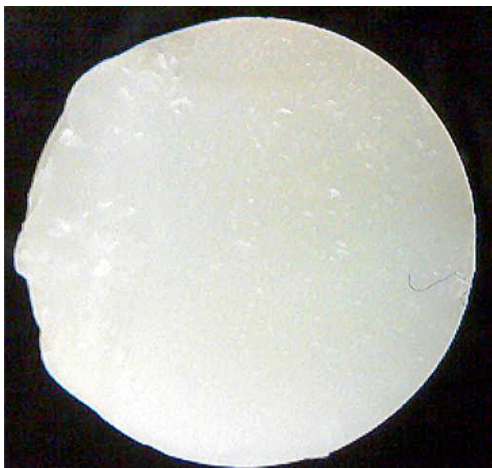
Fig. 6に S-55-Iの断面図を示した。混合時間 0.5 時間のときは、断面は粗雑だったが混合時間が長くなるにつれ、断面は滑らかになった。W-35 については、UTI 注射液が均一に混合しないため、これ以降の実験では、S-55-I についてのみ行った。



S-55-I-0.5



S-55-I-2.5



S-55-I-5.0

Fig. 6

Cross section of the vaginal suppository prepared from S-55 mixed for various times.

### 3-2. ウイテプゾール S-55 を用いた各種混合時間の腔坐薬中水分含量

UTI 注射液と基剤の混合時間により腔坐薬の水分含量が減少したことから、混合中の水分の蒸発について検証した。日本薬局方一般試験法であるカールフィッシャー（KF）法[17]と乾燥減量（LOD）試験法[18]を用いてそれぞれの混合時間で調製した腔坐薬の水分含量を測定した。S-55 と UTI 注射液から調製した腔坐薬（S-55-I）の KF 法と LOD 試験法による水分含量は、混合時間が 0.5, 2.5, 5 時間と増加すると減少した（Fig. 7）。しかし、S-55-I の水分含量は、KF 法と LOD 試験法の違いで有意な差は認められなかった（ $P < 0.05$ ）。Fig. 8 に示すように、KF 法と LOD 試験法による水分含量は強い相関（ $R^2 = 0.9919$ ,  $R^2$  : coefficient of determination）を示した。KF 法と LOD 試験法の結果が同等であることから、これ以降の実験は LOD 試験法のみを測定することとし、0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 および 8.0 時間混合した S-55-I を調製し、LOD 試験法による水分含量の変化を測定した（Fig. 9）。



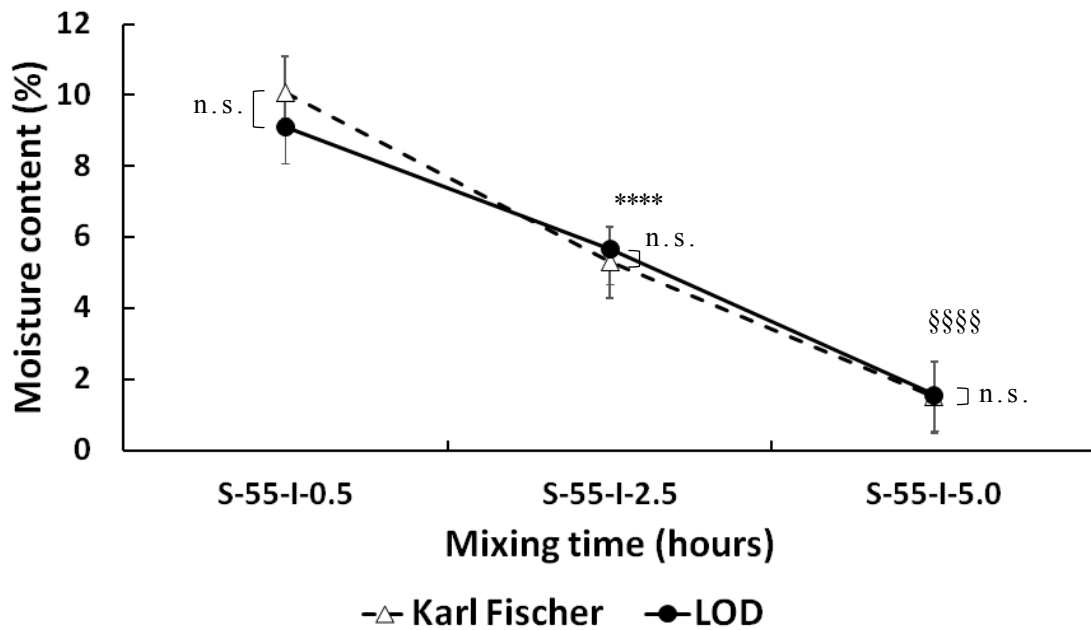


Fig. 7

Effect of mixing time on the moisture content of vaginal suppositories using S-55.

Values are the mean  $\pm$  S.D. (n=6) .

n.s. : not significant  $p < 0.05$  (t-test)

\*\*\*\* $P < 0.05$  vs S-55-I-0.5 LOD, \$\$\$ $P < 0.05$  vs S-55-I-2.5 LOD

(Tukey's test)

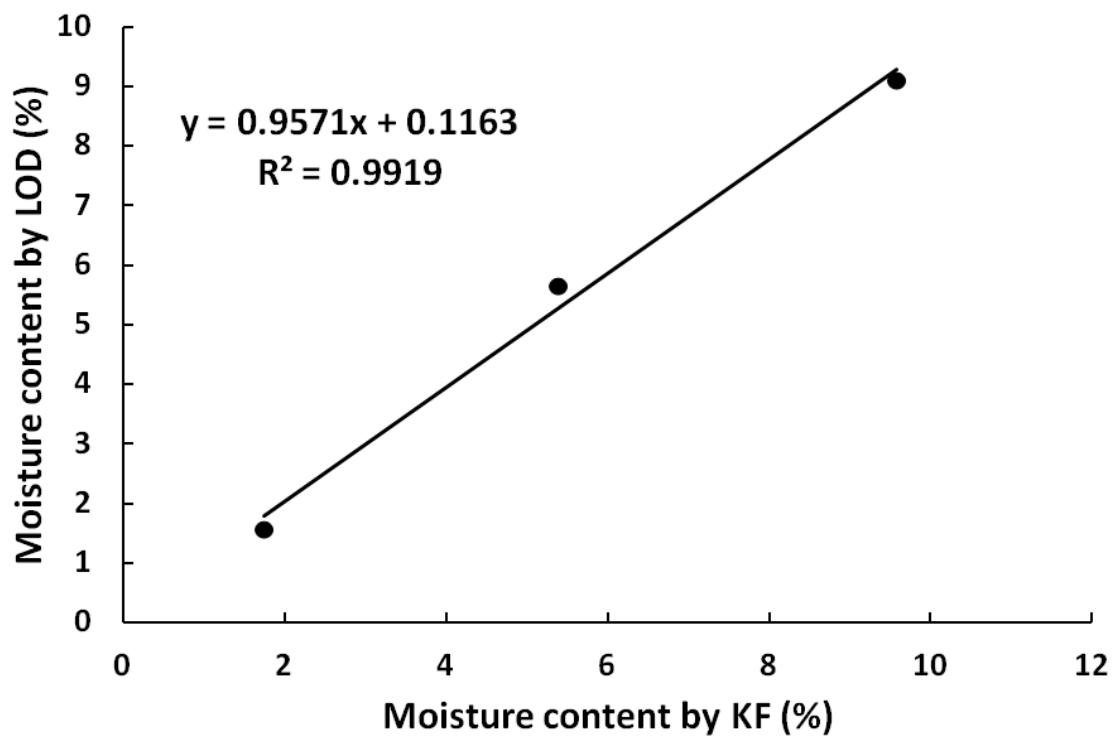


Fig. 8

The moisture content relationship between the KF Method and LOD Test (S-55-I) .

Values are the mean  $\pm$  S.D. (n=6) .

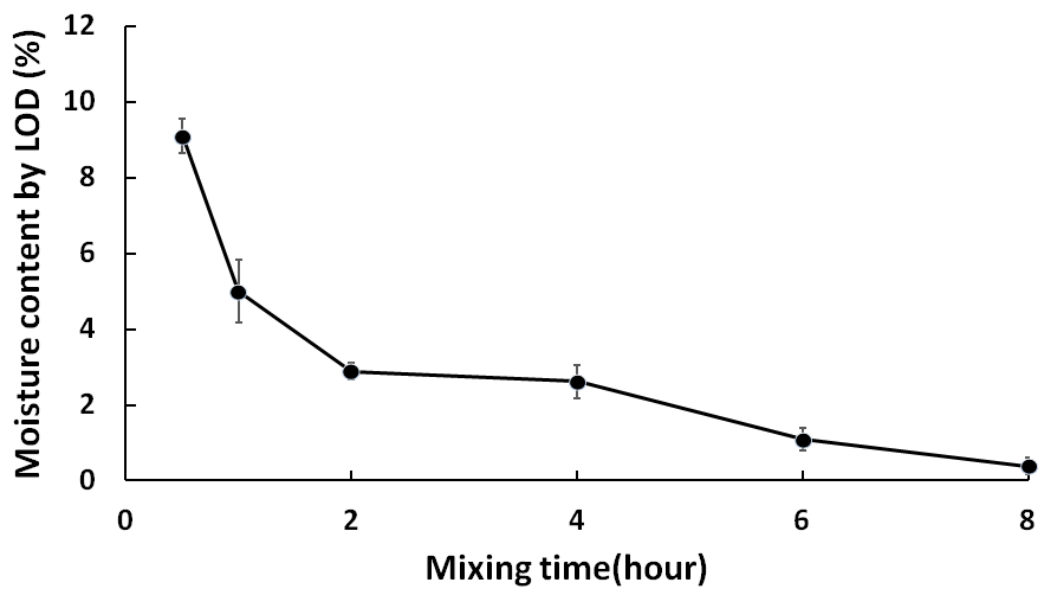


Fig. 9

Effect of mixing time on the moisture content of S-55-I by the LOD Test.

Values are the mean  $\pm$  S.D. (n=6) .

### 3-3. 腔坐薬の機械的強度

腔坐薬の機械的強度は、ロードセル式錠剤硬度計に自作の3点折り曲げセットを装着した硬度計を用い測定した。Fig. 10 に腔坐薬硬度と混合時間の関係を示した。腔坐薬硬度は、混合時間の延長に従い増加した。

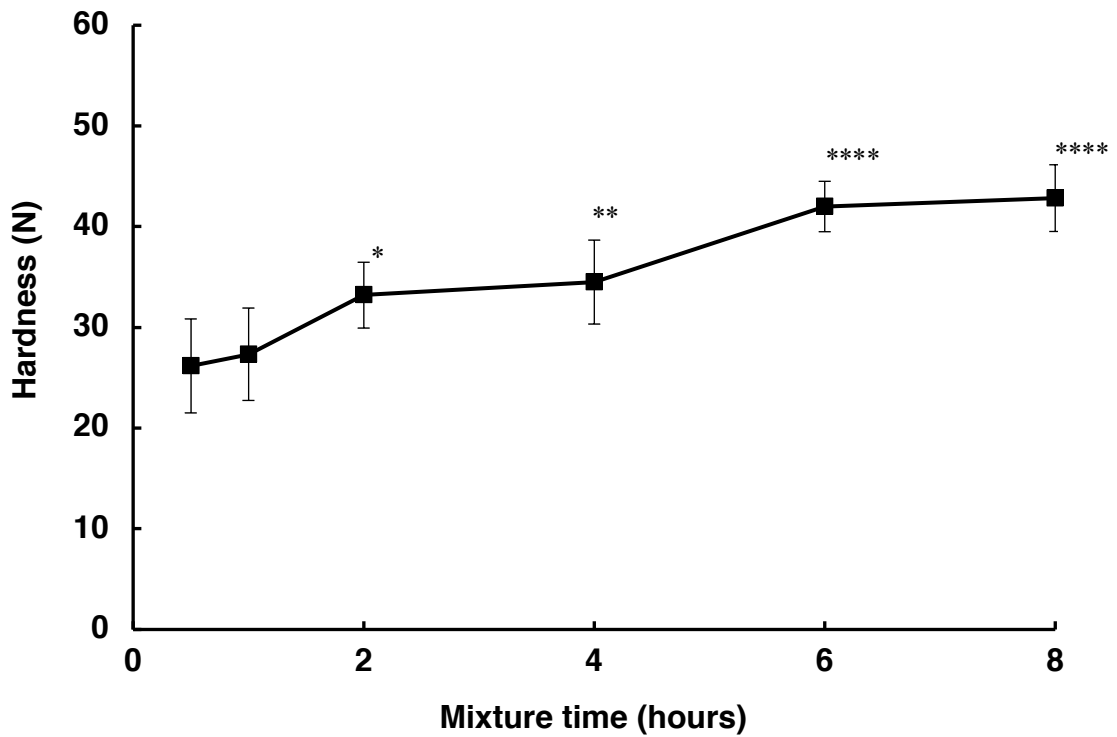


Fig. 10

Effect of mixing time on the hardness of S-55-I.

Values are the mean  $\pm$  S.D. (n=6) .

Significant differences \* $P < 0.05$  VS S-55-I-0.5, \*\* $P < 0.05$  VS S-55-I-0.5, \*\*\*\* $P < 0.05$  VS S-55-I-0.5 (Tukey's test)

### 3-4. 腔坐薬中の水分含量と硬度の関係

腔坐薬の硬度は水分含量が減少すると上昇し，水分含量が少ないほど高値であった。腔坐薬中で水分は，界面活性剤による効果でミセルを形成し，油中水滴型乳剤として存在していると示唆された。Fig. 5 に W-35-P-5.0 と S-55-I の断面図と，凍結乾燥製剤 UTI 原末の電子顕微鏡の画像を示した。W-35-P-5.0 では断面に穴が見られなかった。S-55-I の断面図において混合時間 0.5 時間では，水分含有のため空隙が多く見られたが，混合時間が長くなるにつれ，空隙が減少し断面は滑らかになった。

Fig. 5 の結果からも S-55-I は油脂性基剤の連続構造と水溶性成分の水滴構造（細孔構造）からなると思われる。このことから，腔坐薬中の水分量は，油脂性材料中の空隙率とみなすことができる（Fig. 11）。

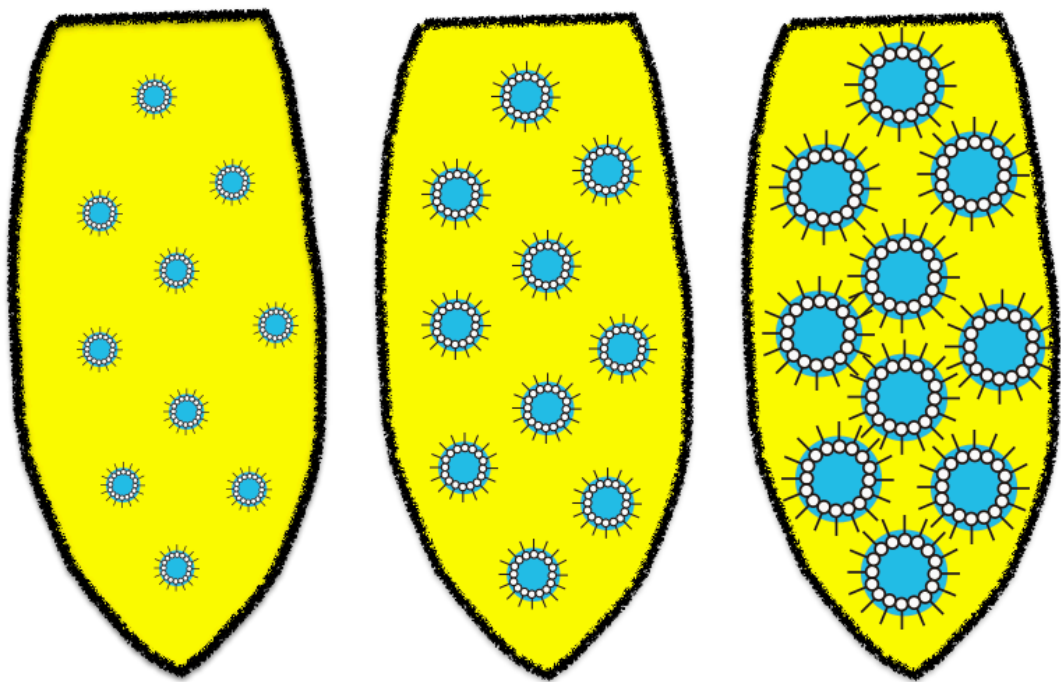
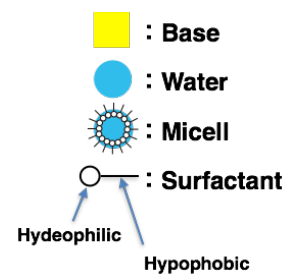


Fig. 11

Structure of the vaginal suppository.



細孔を持つ構造体の破壊強度については、多くの研究がなされており、細孔構造体の破壊強度は、その空隙率に依存していることが知られている。Balshin (1) らや Ryshkewitch (2) は、コンクリート構造体の空隙率とその破壊硬度の定量的な関係を理論的に報告している[19,20]。ここで、脛坐薬が細孔構造体としてコンクリート細孔構造体の破壊硬度の式に従うと仮定して、脛坐薬の機械的硬度と空隙率の関係を検討した。

$$\sigma = \sigma_0(1 - n)^m \quad (1)$$

$$\sigma = \sigma_0 e^{-mn} \quad (2)$$

脛坐薬の硬度と水分含有率を空隙率として modified Balshin (3) 式と modified Ryshkewitch (4) 式で当てはめ計算を行い得られたパラメーターを Table 3 に示した、どちらの式も当てはまったが、Balshin 式の方がより合っていた (Fig. 12, Table 3)。

$$\sigma = \sigma_0(1 - n)^m + \sigma_w \quad (3)$$

$$\sigma = \sigma_0 e^{-mn} + \sigma_w \quad (4)$$

$\sigma$  は引張強度 (Mechanical Strength),  $\sigma_0$  は空隙率 0 の時の引張強度,  $\sigma_w$  は水滴の引張強度,  $n$  は水分の体積分率,  $m$  は経験的な定数である。



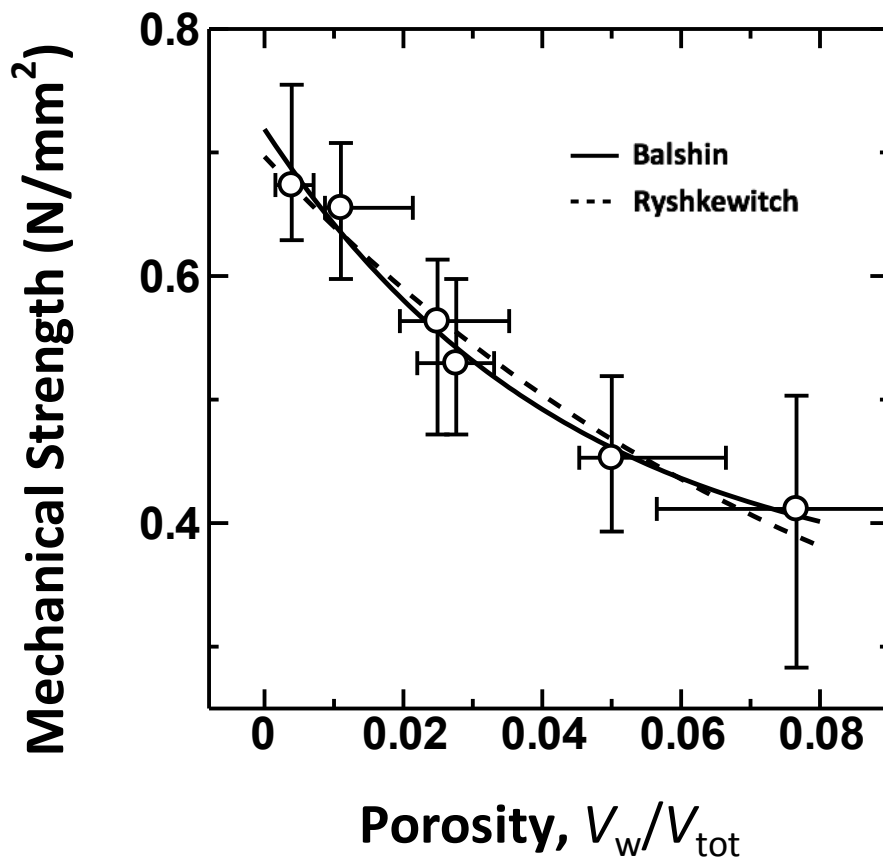


Fig. 12

Relationship between mechanical strength and porosity of S-55-I.

Values are the mean  $\pm$  S.D. (n=6) .

Table 3

Experimental data of parameters for the Balshin and Ryshkewitch models.

	$\sigma_0$ (N/mm <sup>2</sup> )	m	$\sigma_w$ (N/mm <sup>2</sup> )	R <sup>2</sup>
Balshin	0.3721	23.02	0.3468	0.9837
Ryshkewitch	0.5307	11.282	0.1660	0.9681

R<sup>2</sup> : coefficient of determination

### 3-5. 腔坐薬の主薬含有量

Table 4 に腔坐薬中の UTI 含有量の結果を示した。

W-35-P-5.0 の UTI 含量は平均 9530.6 単位と高いものの相対標準偏差 (RSD) は 25.0% と変動が大きい結果となった。

また、UTI 注射液から調製した腔坐薬は基剤として W-35, S-55 のいずれを用いた場合でも混合時間が長くなると RSD は小さくなり均一な製剤が調製できることが判明した。さらに S-55-I-5.0 では RSD が 1.4% となり、UTI 含量も 8434.6 単位と高い値であった。

Table 4

UTI content of the vaginal suppositories (n=6) .

	Mean (Unit/suppository)	S.D.	RSD
W-35-P-5.0	9530.6	2383.8	25.0
W-35-I-0.5	8180.4	393.3	4.8
W-35-I-2.5	8140.8	233.2	2.9
W-35-I-5.0	8034.1	218.5	2.7
S-55-I-0.5	8100.6	584.8	7.2
S-55-I-2.5	7260.2	163.8	2.3
S-55-I-5.0	8434.6	114.4	1.4

### 3-6. 膣坐薬の溶出試験

Fig. 13 に 3 種 UTI 膣坐薬からの UTI 溶出を示す。S-55-I-5.0 における 0.5 時間の UTI 溶出は、W-35 を使用した他の 2 つの坐薬より有意に低かった ( $P < 0.05$ )。0.5 時間の W-35-I-5.0 と W-35-P-5.0 からの UTI 溶出は、統計的に有意な差はなかった。また、1 時間の 3 種 UTI 膣坐薬からの UTI 溶出は同等であった。

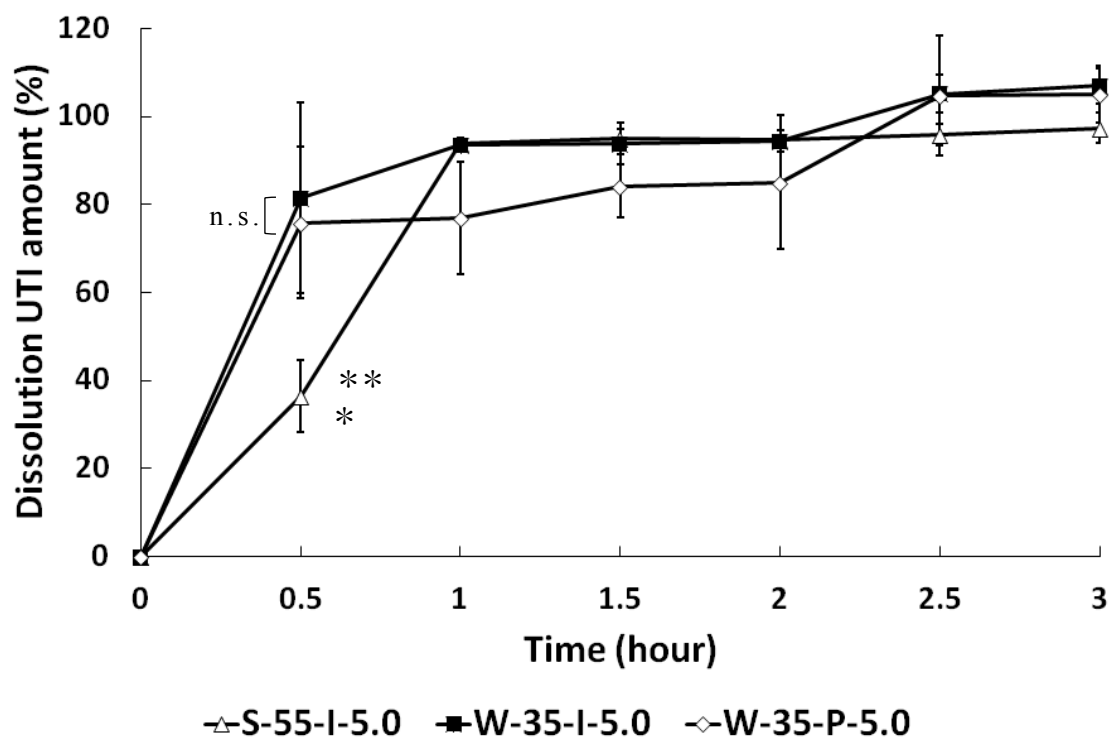


Fig. 13

Release profiles of UTI from vaginal suppositories.

Values are the mean  $\pm$  S.D. (n=4) .

n.s. : not significant (Tukey's test)

\*  $P < 0.05$  VS W-35-P-5.0, \*\* $P < 0.05$  VS W-35-I-5.0 (Tukey's test)

#### 4. 考察

従来法による注射用凍結乾燥製剤から調製される「UTI 膾坐薬 1 万単位」は、Table 4 に示したように、RSD 値が 25% であり、日本薬局方「製剤均一性試験法」[21] に適合しないことから、UTI の分布の均一性が期待できる UTI 注射液からの坐薬の調製法を検討した。

しかしながら、Fig. 3, 4 に示したように W-35 を基剤として用いた場合、水分層が分離して良好な膾坐薬を調製することができなかつた。水分層が分離したことから、膾坐薬の調製および主薬の均一性にも問題があることが想定された。

一方、S-55 から調製された膾坐薬は、水性成分である UTI 注射液と脂溶性成分が均一に混合され、良好な形成性を示した。この膾坐薬形成性の違いは、S-55 に非イオン性界面活性剤 (ethoxylated cetylstearyl alcohol) が含有されているため、油中水型エマルションが形成されていることに起因することが示唆された。

さらに、基剤と注射液の混合時間の増加に従い、水分含有量が減少し、膾坐薬の硬度が増加することが示された (Fig. 9, 10)。水溶性薬剤を含む水分層が均一に分散されたことから、Table 4 に示した UTI の相対標準偏差 (RSD) は、混合時間の増加に従い減少して、S-55-I-5.0 では、1.4% と UTI の相対標準偏差が 2% 以下となり、日本薬局方「製剤均一性試験法」適合する膾坐薬を調製することができた。

また、S-55-I は油脂性基剤に水滴が分散する細孔構造体を形成していることが示唆された。このため、調製方法による水分含量

の変動が腔坐薬の細孔構造を変化させて腔坐薬の機械的強度に影響を与えていることがわかる。

これら細孔構造とその破壊強度の関係は、建築用コンクリート構造体中の細孔構造とその破壊強度の関係として広く知られている。そこで、腔坐薬中の水分含量を細孔構造体の空隙率と置き換えて、いくつかの細孔構造とその破壊強度の関係式を当てはめ計算を行ったところ Fig. 12 と Table 3 に示したように、決定係数（coefficient of determination:  $R^2$ ）0.9681 と Balshin の式に従う結果となった。このことから腔坐薬の機械的強度が水分分散に基づく細孔構造に依存していること、また腔坐薬中の水分含量の変動により細孔構造が変化して腔坐薬の機械的強度が定量的に変化していることが証明された。

佐竹らは[15]、3種類のウイテプゾールから調製されたUTI腔坐薬について、それらの製剤品質特性を報告している。彼らは、ウイテプゾールS-55を基剤としたUTI腔坐薬の水分含量の影響を調べ、腔坐薬の機械的強度は水分含量と負の相関があり、粘度は製剤の水分含量と正の相関があることを示した。そして、彼らはウイテプゾールS-55とUTI注射液を5.0%の含む腔坐薬が、UTI腔坐薬の溶出特性に基づく最適な製剤であると結論付けた。しかしながら、彼らの論文中には熔融状態のS-55とUTI注射液との混合時間および坐薬コンテナに充填された腔坐薬の重量などの調製条件を詳細には記載されておらず、加熱後の腔坐薬の水分含量を測定していないなど不明な点が多い。また、彼らの溶出試験で2.5%のUTI注射液を含有する腔坐薬の6時間後のUTIの溶出率は総量の10%よりも有意に低く、これはUTIの回収率が10%未満である



ことを示唆している。UTIはヒト尿由来の糖タンパク質であるため、報告されている実験条件下においてUTIが熱などにより不活性化された可能性が考えられる。また、何らかの要因でUTIが消失あるいは溶出しなかった可能性も考えられる。

我々の研究では対照的に、1時間以内にS-55-I-5.0から $97.4\pm 3.4\%$ のUTIが放出された (Fig. 13)。他の膣坐薬 (W-35-I-5.0, W-35-P-5.0) からのUTI回収率も90%以上であった。Table 4に示すように、S-55-IおよびW-35-IのUTI含量は、50℃での調製中約15-20%減少したが、W-35-PのUTI含量はわずか5%の減少であり、膣坐薬調製において溶液中よりも固体状態でより安定であることが示唆された。UTIの熱安定性は、我々の調製時におけるUTI濃度が高いために改善されたかもしれない。UTI注射液を使用して膣坐薬を調製する本研究の方法は、薬物含有量をわずかに減少させたが、UTIの分布が極めて均一で再現性のある薬物濃度を有する膣坐薬を調製できる方法であると示唆される。

## 5. 結論

これらの結果から、院内製剤「ウリナスタチン腔坐薬 1 万単位」の調製法を従来法の UTI 注射用凍結乾燥製剤から UTI 注射液とウイテプゾール S-55 を使用する新規調製法に変更することにより、UTI 含量が均一な日本薬局方の求める「製剤均一性試験法」の水準で調製することを科学的に証明することができた。

本腔坐薬を調製する時の加熱温度、混合時間、攪拌速度および加熱時の容器の形状に基づく油性基剤の表面積によって水分蒸発速度が変化し、腔坐薬の機械的強度が変動することにより製剤品の品質に影響を与えることが示唆された。すなわち、UTI 注射液から調製される院内製剤「ウリナスタチン腔坐薬 1 万単位」の製剤品質均一化の為には、調製量、調製時の温度、混合時間および調製器具などの調製方法の統一化が必要であることが示唆された。また、調製された腔坐薬の水分含量は、腔坐薬自体の硬度、溶解性および含有される薬剤自体の安定性に影響を与える可能性があることが判明した。

## 第 2 章

院内製剤「ウリナスタチン腔坐薬 1 万単位」の近赤外分光法を用いた製剤学的検討

## 1. 序論

ウリナスタチン (UTI) 注射用凍結乾燥製剤と ウイテプゾール W-35 を混合して調製していた腔坐薬 (W-35-P-5.0) は, UTI の均一性が悪く, 新たに UTI 注射液およびウイテプゾール S-55 (S-55) から調製することにより UTI が均一の腔坐薬を調製することができた。S-55 には 2% の非イオン性界面活性剤 (ethoxylated cetylstearyl alcohol) が含まれているため, UTI 注射液と坐薬基剤が油中水型エマルジョンを形成したためと考える。調製された腔坐薬中の乾燥減量試験法による水分含量 (以後, 水分含量を乾燥減量の略「LOD」と表現する) は, 混合時間が増加するにつれて減少し, 腔坐薬の硬度 (HT) は混合時間が増加するにつれて増加した。

大塚らは近赤外分光法 (near-infrared spectroscopy: NIRS) を用いて, 坐薬中の主薬含有量をモニターする方法を報告した[22]。坐薬中に含有されているアセトアミノフェンのバイオアベイラビリティの変動を減少させる研究の一部として, 坐薬中のアセトアミノフェン含量および粒度を測定するために, NIRS とケモメトリックスを適用した[22]。これらの結果は, NIRS を用いることにより院内製剤としての坐薬の品質を非破壊的, 迅速かつ効率的に分析できる可能性を示唆している。そこで本研究では, 水分含量 (LOD) の変動により硬度 (HT) 等の製剤品質特性が変動する UTI 腔坐薬の品質評価に NIRS とケモメトリックスを適用した。

## 2. 方法

### 2-1. 試料および試薬

本研究では、UTIは市販のUTI注射液（ミラクリッド注射液 10万単位（2 mL）；持田製薬株式会社）を用いた。坐薬基剤のウイテプゾール S-55 は丸石製薬株式会社製のホスコ S-55 を用いた。トリプシンは和光純薬工業株式会社のウシ膵臓由来、生化学用を用いた。N- $\alpha$ -ベンゾイル-L-アルギニン-4-ニトロアリニド塩酸塩（L-BAPA）はペプチド研究所。その他試薬は全て特級品または純度 99% 以上のものを用いた。

## 2-2. UTI 注射液を用いた UTI 含有腔坐薬の調製

ウイテプゾール S-55 (S-55) を 133g, 200mL ビーカーに入れ, ホットスターラー上で加温融解する。融解した基剤を 50℃に加温した超音波洗浄機内で冷却し, これに攪拌しながら UTI 注射液 20mL を加えた。この時液は白濁した。50℃の超音波洗浄機内で加温しながら, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 4.0, 5.0, 6.0 および 8.0 時間攪拌し, 添加した注射液の水分を蒸発させた。この懸濁液を均一に保ちながら電動マイクロピペットを用いてコンテナに 1.4mL ずつ分注し室温まで冷却した。UTI 腔坐薬の平均重量は 1.33 であった。計 800 個の腔坐薬試料 (1 回 100 個調製し, 計 8 回の調製) を調製した。

### 2-3. 乾燥減量試験法による調製された膾坐薬中の水分含量の測定

膾坐薬の水分含量は、乾燥減量試験法[18]によって測定した。すなわち、膾坐薬 1 個をアルミホイルで覆われたホットプレート上に移し、重量が一定になるまで 105℃で乾燥させた（105℃，1 時間）。水分含有率は、各サンプルの重量に対する水分損失の重量の割合をパーセンテージとして測定した。

$$\text{水分含有率} = \text{蒸発量}（\text{乾燥前重量} - \text{乾燥後重量}） \div \text{膾坐薬重量} \times 100$$

#### 2-4. 硬度試験

ロードセル式錠剤硬度計（PC-30 PORTABLE CHEKER，岡田精工株式会社）に，直径 5mm のプラスチック製円柱を 20mm の間隔に設置・固定し，自作 3 点折り曲げ試験アタッチメントを作成した。この装置を用いて，各種腔坐薬の破壊硬度測定を 5 個ずつ行った（Fig. 2）。



## 2-5. NIR スペクトル測定

NIR スペクトルは、以下のように、NIR 分光計（MPA, Bruker Optics, Ettlingen, Germany）を用いた拡散反射率プローブを用いて収集した。

### 1) 濃度の異なる UTI 膣坐薬の NIR スペクトルの測定

ランダムに選択した合計 24 の膣坐薬試料（それぞれ 8 つの薬物濃度について 3 つの試料）をキャリブレーションモデルサンプルセットとした。さらに、ランダムに選択した別の 24 個の膣坐薬サンプルをバリデーションモデルサンプルセットとして使用した。膣坐薬サンプルの NIR スペクトルを、光ファイバープローブを使用してプラスチックコンテナの外側から測定し、 $4250\sim 8500\text{cm}^{-1}$  のスペクトル範囲に 1 サンプルあたり 32 回スキャンした。NIR スペクトルは、測定部位は膣坐薬の正面、右、左を表裏の両面 6 回測定した（Fig. 14）。

UTI が 1 万単位含有膣坐薬を測定したが、そのスペクトルは薬物を含まない試料のスペクトルと顕著に異なっていなかった。

### 2) 混合時間が異なる UTI 膣坐薬の NIR スペクトルの測定

ランダムに選択した合計 24 の膣坐薬試料（それぞれ 8 つの混合時間について 3 つの試料）をキャリブレーションモデルサンプルセットとした。さらに、ランダムに選択した別の 24 個の膣坐薬サンプルをバリデーションモデルサンプルセットとして使用した。膣坐薬サンプルの NIR スペクトルを、上記 1) と同様にプラスチックコンテナの外側から測定し、 $4250\sim 8500\text{cm}^{-1}$  のスペクトル範囲に 1 サンプルあたり 32 回スキャンした。NIR スペクトルは、6 方向から測定した（Fig. 14）。

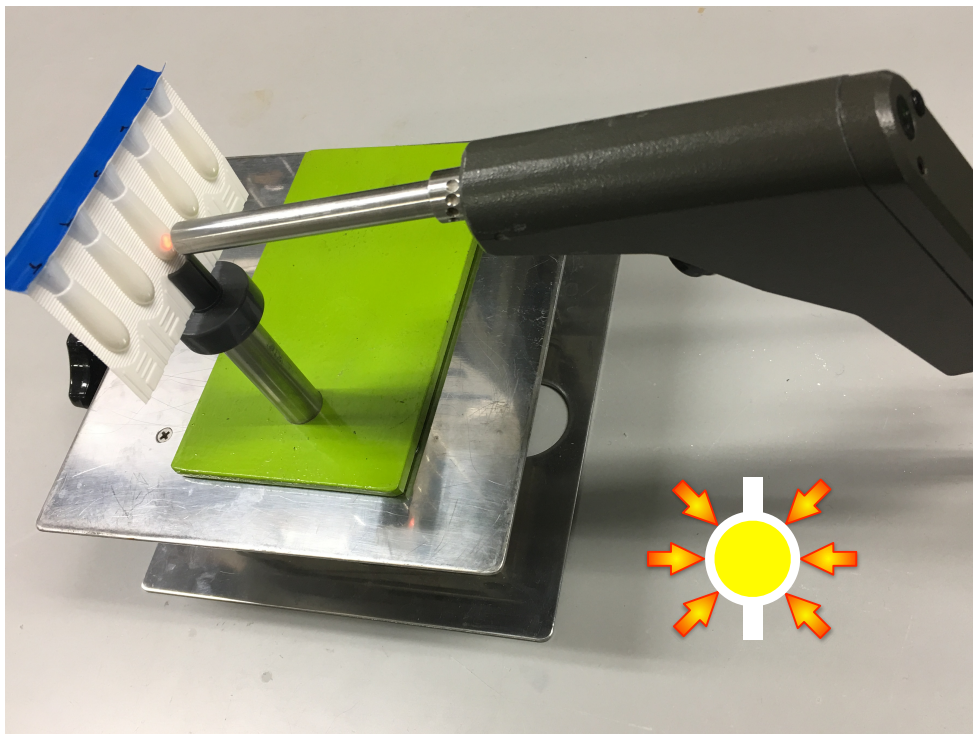
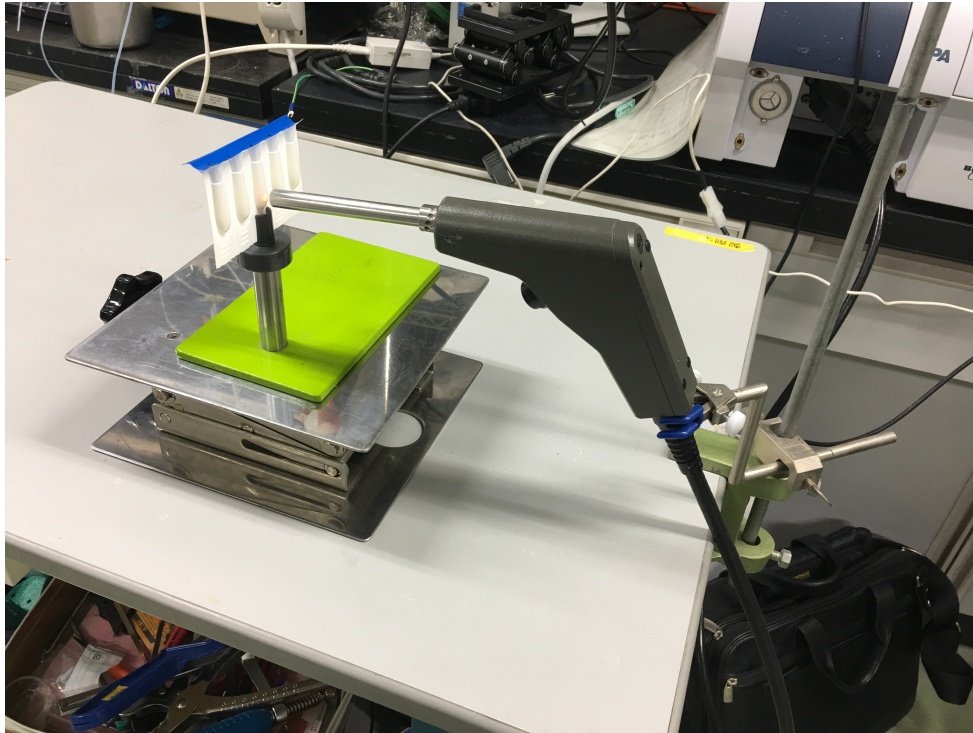


Fig.14

Image of near-infrared measurement.

## 2-6. NIR データ処理

合計288の腔坐薬サンプルスペクトルをNIRSで測定した。これらのスペクトルから、144の腔坐薬試料スペクトルを選択し、部分的最小二乗回帰 (Partial Least Squares Regression, PLS) によるキャリブレーションモデルを確立するために使用した。平滑化 (smoothing : SM), 面積正規化 (area normalization : NOR), 1次微分 (1st), 2次微分 (2nd), 乗法的散乱補正 (multiplicative scatter correction : MSC), および標準正規変量 (standard normal variate: SNV) を含むいくつかのスペクトル前処理方法[22-23]を行った。他の144個のスペクトルはキャリブレーションモデルを評価するための外部バリデーションセットとして使用した。PLS分析は、PirouetteソフトウェアVer. 4.5 (Infometrix Co., Woodville, WA, USA) を使用した。最良のキャリブレーションモデルは、PLSソフトウェアのleave-one-out法によりクロスバリデーションの標準誤差 (standard error of cross validation : SECV) を最小にするよう設定した。PLSにクロスバリデーションを適用し、検証サンプル  $\mathbf{x}_v$  の回帰モデルを  $k$  因子回帰ベクトル  $\beta_k$  [23-24] に基づき評価した。

$$\hat{y}_v = x_v \beta_v \quad (1)$$

予測残差は：

$$\hat{f} = y_v - \hat{y}_v \quad (2)$$

ここで、 $y_v$  は検証サンプルの従属変数の「真の」値とした。表記を単純にするために、 $\hat{\cdot}$ （ハット）なる記号は、推定値を示す。 $n_v$  個の妥当性検査サンプルの組について、 $y$  ブロックについて予測残差誤差和（PRESS）を計算することができる。

$$PRESS = f^T f \quad (3)$$

PRESS に関連するのは、標準誤差予測（SEP）であり、これはサンプル数を考慮に入れ、 $y$  変数と同じ単位を持つ[23-24]。モデル内の  $k$  因子の数に対して SEP を修正する必要がある。

$$SEP = \sqrt{\frac{PRESS}{n_v - k}} \quad (4)$$

### 3. 結果

#### 3-1. 院内製剤としての「ウリナスタチン膾坐薬1万単位」の製剤品質特性

UTI 膾坐薬の製剤品質特性の測定は、S-55-I を用いて実施した。S-55-I は、滑らかな外観を有していた。S-55 には 2% の非イオン性界面活性剤が含まれていたため、UTI 注射液は膾坐薬基剤中に油中水型エマルジョンを形成していると示唆された。調製された膾坐薬の LOD は、混合時間が増加するにつれて減少した。また、膾坐薬の HT は、混合時間が増加するにつれて増加した。第 1 章で報告したように、膾坐薬の LOD の減少により HT は高くなる結果となった[25]。

### 3-2. UTI腔坐薬のNIRスペクトルに及ぼす混合時間の影響

Fig. 15 に UTI 注射液と S-55 を 0~8 時間混合した後に調製した S-55-I から得られた NIR スペクトルを示す。5000-5230 および 6700-7200 $\text{cm}^{-1}$  のピークは、それぞれ混合時間の増加とともに減少した。5000-5230 および 6700-7200 $\text{cm}^{-1}$  におけるピークは [26], O-H の伸縮振動および O-H の自由水の伸張振動の最初の倍音がそれぞれミセル内にあるためであった。対照的に、4319, 5658, 5801 および 8202 $\text{cm}^{-1}$  のピークは、混合時間の増加と共に増加した。これらのピークは腔坐薬基剤に起因しており、4319, 5658, 5801 および 8202  $\text{cm}^{-1}$  のピークは [26],  $\text{CH}_2$  の伸張振動の最初の倍音,  $\text{CH}_3$  の第 1 倍音の伸縮振動, CH の変形, および  $\text{CH}_2$  の伸縮振動の第 2 倍音をそれぞれ示している。この NIR スペクトルの吸収変化は、混合時間の増加とともに腔坐薬中の水分含量が減少するという第 1 章の結果と一致した[25]。

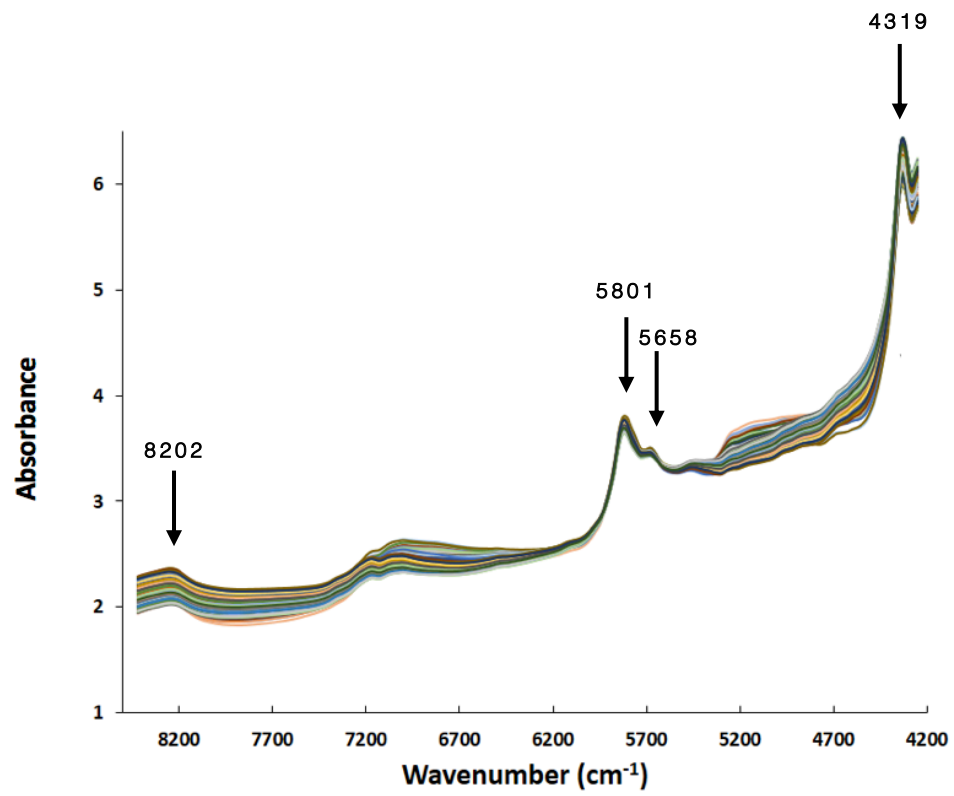


Fig. 15

NIR spectra of UTI vaginal suppositories with various LOD.

### 3-3. UTI坐薬のNIRスペクトルに基づいて水分含量 (LOD) および硬度 (HT) を評価するためのキャリブレーションモデルの構築

キャリブレーションデータセットの NIR スペクトルを様々な前処理機能を用いて処理した後, PLS の leave-one-out 法によって SECV を最小限に抑えるために, 膣坐薬の LOD および HT を予測するための最良のキャリブレーションモデルを決定した。LOD-c および HT-c を予測するためのキャリブレーションおよびクロスバリデーションによる累積パーセント分散 (cumulative percent variance : CPV), PRESS (PRESS Cal および PRESS Val), および r 値 (r-Cal および r-Val) の結果を Table 5 に示す。スペクトルに基づいて LOD-c および HT-c を予測する PLS キャリブレーションモデルが得られ, r-Cal および r-Val はそれぞれモデルの有効性を示した。

膣坐薬の LOD-e および HT-e を予測するために, キャリブレーションモデルを検証し, 外部 NIR スペクトルを各キャリブレーションモデルで評価した検証結果を Table 6 に示す。PLS キャリブレーションモデルのケモメトリックパラメータは, LOD-e および HT-e を予測する最良のキャリブレーションモデルが, SM+NOR 処理した NIR データに基づいていることを示している。

Fig. 16 には, SM+NOR による最良のキャリブレーションモデルにおける膣坐薬の予測された製剤品質特性 (LOD および HT) 間の関係を示す。キャリブレーションおよび外部バリデーションデータセットの予測および測定された LOD データのプロットは, Table 5, 6 に示すように,  $r\text{-Cal} = 0.9914$  および  $r\text{-Val} = 0.9477$  で,



傾きが 1 に近く直線を示した。キャリブレーションデータに基づく予測 LOD-c は，外部バリデーションデータに基づいた LOD-e と重畳した。HT の場合，キャリブレーションおよび外部バリデーションデータセットは，それぞれ  $r\text{-Cal} = 0.9631$  および  $r\text{-Val} = 0.9106$  の直線を示した。キャリブレーションデータに基づく予測された HT-e 値は，外部バリデーションデータに基づいた予測値とほぼ重複し，このキャリブレーションモデルの科学的妥当性を実証した。検証結果は，HT と LOD の PLS モデルが，それぞれ SM と NOR の組み合わせによって処理されたスペクトルに基づいて得られ，3 つの潜在変数 (latent variables : LVs) からなることを示した。

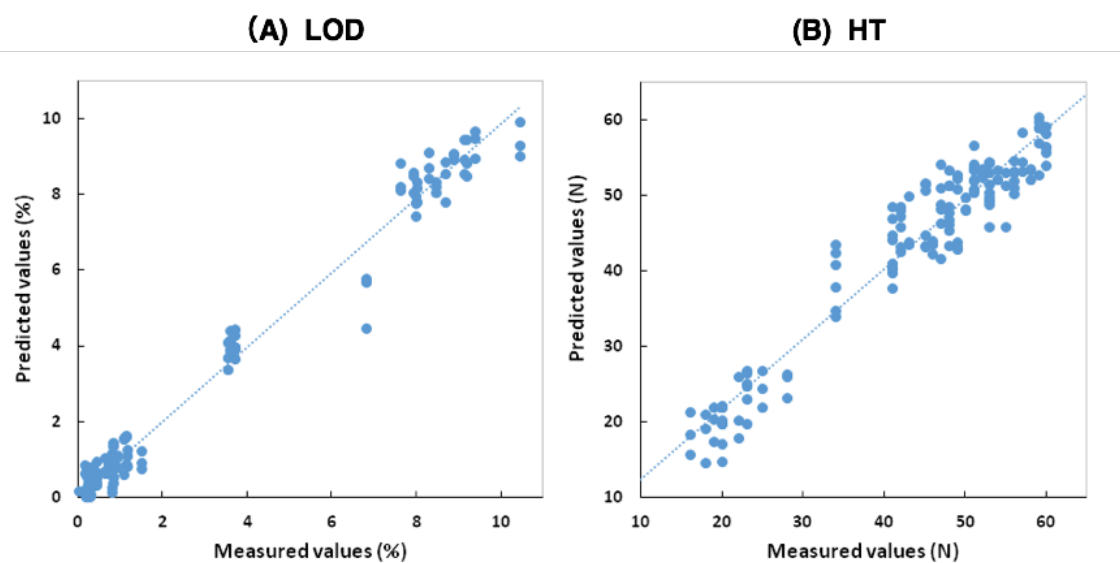


Fig. 16

Relationship between predicted and measured values of the pharmaceutical properties of UTI-containing vaginal suppositories by the best PLS calibration models.

Table 5.

Chemometric parameters of the PLS calibration models to predict  
 LOD and HT of the UTI-containing vaginal suppositories.

<b>LOD</b>	<b>LV</b>	<b>CV</b>	<b>SEV</b>	<b>Press Val</b>	<b>r Val</b>	<b>SEC</b>	<b>Press Cal</b>	<b>r Cal</b>
MSC+NOR	3	96.0	0.378	2.06E+01	0.994	0.369	1.91E+01	0.995
SM+1 st	4	88.5	0.322	1.49E+01	0.996	0.300	1.25E+01	0.996
SM+2 nd	2	50.2	0.314	1.42E+01	0.996	0.265	9.87E+00	0.997
SM+MSC	3	96.5	0.492	3.49E+01	0.990	0.480	3.22E+01	0.991
SM+NOR	3	94.3	0.500	3.60E+01	0.990	0.469	3.07E+01	0.991
SM+SNV	3	96.2	0.490	3.45E+01	0.990	0.476	3.18E+01	0.991

<b>HT</b>	<b>LV</b>	<b>CV</b>	<b>SEV</b>	<b>Press Val</b>	<b>r Val</b>	<b>SEC</b>	<b>Press Cal</b>	<b>r Cal</b>
MSC+NOR	3	95.3	2.938	1.24E+03	0.975	2.903	1.18E+03	0.977
SM+1 st	4	85.9	2.211	7.04E+02	0.986	2.038	5.77E+02	0.989
SM+2 nd	2	44.5	1.942	5.43E+02	0.989	1.810	4.62E+02	0.991
SM+MSC	3	95.8	3.614	1.88E+03	0.962	3.568	1.78E+03	0.964
SM+NOR	3	93.8	3.746	2.02E+03	0.960	3.626	1.84E+03	0.963
SM+SNV	3	95.4	3.692	1.96E+03	0.961	3.641	1.86E+03	0.963

Table 6. Validation result of the PLS calibration models to predict LOD and HT of the UTI-containing vaginal suppositories.

<b>LOD</b>	MSC+NOR	SM+1 st	SM+2 nd	SM+MSC	SM+NOR	SM+SNV
SEP	1.710	1.308	1.543	1.701	1.165	1.447
PRESS	4.21E+02	2.46E+02	3.43E+02	4.16E+02	1.95E+02	3.01E+02
r	0.9006	0.9304	0.9027	0.8986	0.9477	0.9235
Factors	3	4	2	3	3	3
Slope	1.005	0.911	0.886	0.986	0.965	0.980
Intercept	0.0755	0.3884	0.4291	0.1657	0.2827	0.2332
ModelESS	1.63E+01	1.70E-03	1.35E-04	5.60E-01	4.52E+01	1.84E+01

<b>HT</b>	MSC+NOR	SM+1 st	SM+2 nd	SM+MSC	SM+NOR	SM+SNV
SEP	9.035	7.655	7.471	7.920	5.913	6.747
PRESS	1.18E+04	8.44E+03	8.04E+02	9.03E+03	5.03E+03	6.55E+03
r	0.8592	0.8331	0.8330	0.8749	0.9106	0.8984
Factors	3	4	2	3	3	3
Slope	1.123	0.816	0.776	1.066	0.979	1.035
Intercept	-5.381	7.030	9.828	-2.250	0.859	-1.285
ModelESS	1.72E+01	1.71E-03	1.35E-04	5.91E-01	4.40E+01	1.98E+01

### 3-4. UTI膾坐薬のNIRスペクトルに基づいてLODおよびHTを 評価するためのキャリブレーションモデルの科学的証拠

Fig. 17 は、膾坐薬の LOD-c および HT-c を予測するために最も適合したキャリブレーションモデルについての回帰ベクトル (RVs) である。

LOD 予測に関連するモデルの RVs は、4516, 5033, 5241 $\text{cm}^{-1}$  の正の広いピーク [26] があり、それぞれ  $\text{CH}_2$  の非対称伸縮振動、OH の変形および OH の伸縮振動によるものであった。 $\text{CH}_2$  の伸縮振動、 $\text{HC} = \text{CH}$  の伸縮振動、 $\text{CH}_2$  の伸縮振動の第 2 の倍音により、それぞれ 4323, 4697, 8215 $\text{cm}^{-1}$  に負のピークが見られた。

対照的に、HT を予測するためのキャリブレーションモデルの回帰ベクトルは、4323, 4697, 8215 $\text{cm}^{-1}$  に正のピークを有し、4516, 5033, 5241 $\text{cm}^{-1}$  に負の幅広いピークを有した [26]。

HT の RVs は LOD の RVs とほぼ同じパターンを示したが、正と負のピークの上下は互いに逆であった。

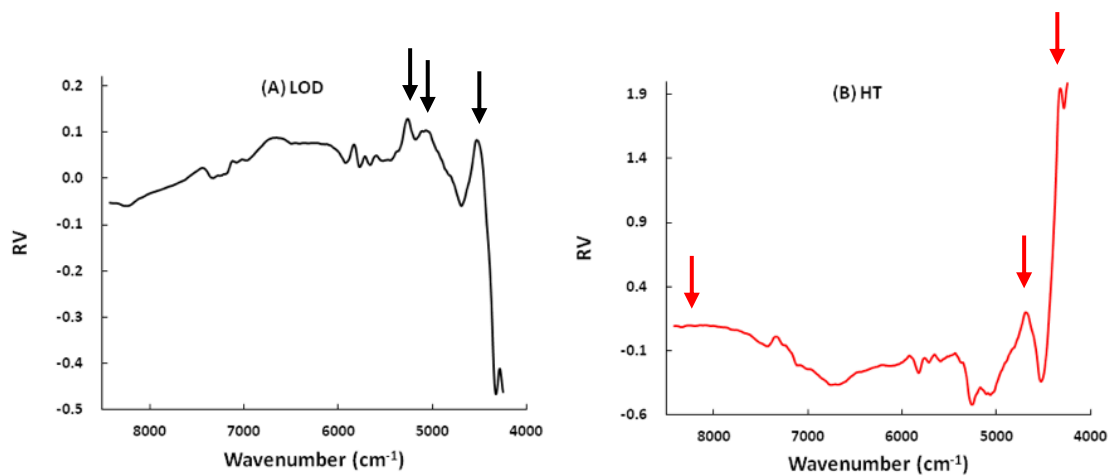


Fig. 17

Regression vector of the best PLS calibration models to predict the LOD and the HT.

### 3-5. UTI腔坐薬のLODおよびHTに及ぼす混合時間の影響

Fig. 18 に、フィットモデルからの UTI 腔坐薬における予測製剤品質特性（LOD と HT）の時間プロファイルを示す。予測 LOD（LOD-c と LOD-e）および予測 HT（HT-c と HT-e）は、クロスバリデーションデータおよび外部バリデーションデータセットに基づいてそれぞれ評価した。腔坐薬の予測 LOD-c および LOD-e は、混合時間の増加とともに減少し、測定された LOD 値は予測値と重なった。同様に、混合時間の増加とともに坐薬の予測 HT（HT-c および HT-e）も増加し、測定値は予測値と重なった。

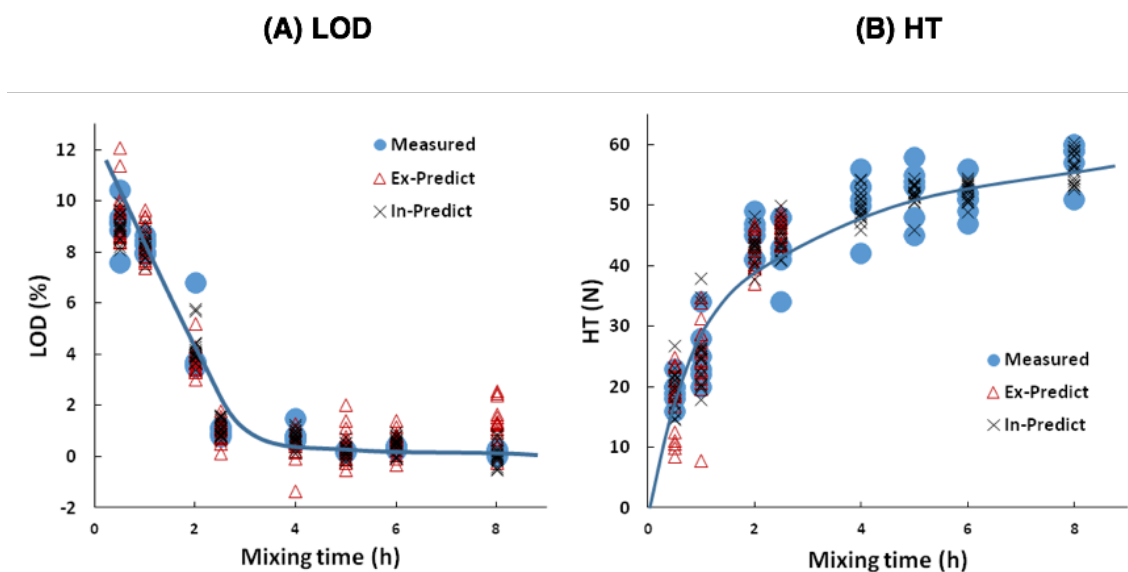


Fig.18

LOD and HT profiles of UTI-containing vaginal suppositories evaluated by the best PLS calibration models.

Ex-predict: Predicted data based on validation data by External method.

In-Predict: Predicted data based on calibration data by Cross-validation method.



## 4. 考察および結論

### 4-1. UTI腔坐薬のNIRスペクトルに基づいてLODおよびHTを予測するためのキャリブレーションモデルの構築

UTI 腔坐薬の製剤品質特性（LOD および HT）を予測するためのキャリブレーションモデルを確立するために、様々な混合時間で調製した UTI 腔坐薬の NIR スペクトルを非破壊的に測定した。腔坐薬の LOD-c および HT-c を予測するための最良のキャリブレーションモデルのケモメトリックパラメータを、PLS における leave-one-out 法（Table 5）によって SECV を最小にするように決定した。外部バリデーションデータセットに基づく PLS キャリブレーションモデルのケモメトリックパラメータ（Table 6）は、LOD-e および HT-e を予測するための最良のキャリブレーションモデル（Fig. 16）が SM および NOR で処理した NIR データに基づいて評価したことを示した。

## 4-2. 院内製剤としてのUTI腔坐薬の重要な製剤品質特性

科学的証拠に基づく製品の品質保証は、医薬品製造プロセスにおいて非常に重要である。しかし、院内製剤の品質を評価する報告はほとんどない[14]。本研究の第1章では、従来の方法で調製したUTI腔坐薬のUTI含量が大幅に変動したため、UTI腔坐薬の調製方法を、ウイテプゾール S-55 および UTI 注射液を使用する方法へ変更し、最終製剤品の品質を評価した。S-55 は非イオン性界面活性剤の ethoxylated cetylstearyl alcohol を含有しているため、UTI 注射液と基剤が油中水型エマルジョンを形成し、腔坐薬の成形性が著しく向上した。第1章での報告[25]のように、混合時間が長くなるにつれて、油中の水滴の大きさは水分の蒸発により減少し、細孔構造体としての腔坐薬の強度は、細孔（水分含量）の減少と共に増加した。次に、非破壊および非接触的に測定できる NIR を用いて、腔坐薬の製剤品質特性を調べた。LOD-c, LOD-e, および測定された LOD プロファイルは、混合時間を横軸にプロットすると良く相関し (Fig. 18) 混合時間が長くなるにつれて減少した。対照的に、HT-c, HT-e, および測定された HT は、混合時間が増加するにつれて増加した (Fig. 18)。

Fig. 16 に示すように、腔坐薬の LOD は製剤調製プロセスの重要な品質特性であり、最終調製物の製剤品質特性 (腔坐薬の HT) に影響することが示された。腔坐薬の LOD は、50°C での加熱時間の増加とともに減少したが、HT は増加した。よって、UTI 腔坐薬の強度は、その水分含量によって変化するため、LOD および HT の測定は、第1章で記載したごとく、製剤調製プロセス中の UTI

腔坐薬の品質を評価するために重要であることが示唆された。

また、坐薬の硬度の適正值は、Allen, Loyd V.らが、坐薬の硬度の最低値として、1.77-2.0 kgf (17.7-19.6N) が望ましいと指摘している[27]。今回調製した UTI 腔坐薬 (S-55-I-5.0) の硬度は何れも 17.7-19.6N を上回っており (Fig. 10)、臨床使用には十分な硬度を維持している。

## 総括

ウリナスタチン（UTI）注射用凍結乾燥製剤およびウイテプゾール W-35 から調製した W-35-I-5.0 の UTI 腔坐薬は UTI 含量の変動が大きく（RSD 25.0%），UTI 注射液およびウイテプゾール S-55 より調製した UTI 腔坐薬（S-55-I）は W-35-I-5.0 と比較し均一である事が判明した。

S-55-I は混合時間が増加すると水分含量は減少した。また，S-55-I の硬度は混合時間の増加により増加した。さらに，S-55-I が細孔構造体としてコンクリート細孔構造体の破壊硬度と空隙率の関係を検討した Balshin の式をあてはめることにより，水分含量から硬度の予測は可能であった。一方，NIRS を利用することにより，非破壊的に S-55-I の水分含量予測が可能であり，S-55-I の硬度の予測も可能となった。

S-55 と UTI 注射液 5 時間混合の腔坐薬（S-55-I-5.0）からの UTI 溶出は，0.5 時間では  $36.5 \pm 8.1\%$  の溶出であったが，1 時間の UTI 溶出は 90% 以上となり W-35-I-5.0 と同等であった。S-55-I は混合時間の違いおよび調製時の加熱および溶解に用いる容器の形状に基づく表面積によって水分量蒸発速度が左右される可能性があるため，UTI 腔坐薬の製剤品質の均一化には調製量，調製時の温度，時間および調製器具の統一化が必要であることが推測される。

今回の研究結果から，「UTI 腔坐薬 1 万単位」の調製方法は，基剤にはウイテプゾール S-55 を用い，溶解後超音波洗浄機内で  $50^{\circ}\text{C}$  に保ちながら UTI 注射液を加え混合後，坐薬コンテナに分注する方法へ変更することが妥当と判断される（S-55-I）。

次に、最適な混合時間（水分含量）の検討である。S-55-Iの水分含量は調製する器具および調製する場所の温度・湿度などの条件に左右されると推測されるが、病院内で調製する院内製剤において常時調製環境（温度・湿度など）を一定にすることは難しい。従って、常時均一で製剤品質が同一のS-55-Iを調製するためには水分含量は限りなく0にすることが理想であろう。今回の研究では、8時間の混合で水分含量は1%未満と理想に近くなる。しかし、勤務時間内に調製が終了することを考慮すると、混合時間は5~6時間が妥当であると考ええる。本研究において混合時間が5時間の場合、腔坐薬中のウリナスタチン含量の相対標準偏差は1.4%となることが判明している。この相対標準偏差1.4%は日本薬局方の「製剤均一性試験法」に適合する。また、5時間の混合によるS-55-Iの水分含量は2%未満となる。さらに、5時間混合によって調製されたS-55-I-5.0のUTI溶出は、1時間で $97.4 \pm 3.4\%$ とW-35-I-5.0と同等であった。よって、混合時間を5時間、水分含量は2%未満とすることにより、UTIの含量が均一で、腔坐薬の水分含量および強度も一定のUTI腔坐薬が調製できると考える。

今回の研究結果から、院内製剤「ウリナスタチン腔坐薬1万単位」の調製方法は、基剤にはウイテプゾールS-55を用い、溶解後超音波洗浄機内で50°Cに保ちながらウリナスタチン注射液を加え5時間混合後、坐薬コンテナに分注する方法に変更することが望ましいことが示唆された。さらに、調製後NIRSを用い全腔坐薬の検査を実施し、水分含量と硬度の予測をすることで、非破壊

的にウリナスタチン膣坐薬の品質を確認でき、調製後の品質を担保出来る体制が確立できたと考える。

以上により、本研究の目的である、院内製剤「ウリナスタチン膣坐薬 1 万単位」の調製方法および品質試験法が確立でき、均一な「ウリナスタチン膣坐薬 1 万単位」を臨床に提供できる体制が整えられ、切迫早産の治療に貢献できると考えられる。

## 謝辞

本稿を終えるにあたり，本研究に際して終始懇切丁寧なるご指導，ご鞭撻を賜りました武蔵野大学 大学院 薬科学研究科 教授 大塚 誠 先生，武蔵野大学 薬学研究所 服部 祐介 講師ならびに武蔵野大学 薬学部 助教 照喜名 孝之 先生に心より深く感謝いたします。

さらに，本論文作成にあたり，ご教授とご校閲をいただきました武蔵野大学 薬学部・大学院 薬科学研究科 臨床薬剤学研究室 臨床薬学センター センター長 教授 小野 秀樹 先生ならびに武蔵野大学 薬学部 臨床薬学センター 教授 三原 潔 先生に御礼申し上げます。

有益なご意見ならびに実験のご協力をいただきました埼玉医科大学総合医療センター薬剤部 井上 芳洋 先生，井上 嘉余子 先生，ならびに齋藤 健一 先生，埼玉医科大学病院の薬剤部，埼玉医科大学総合医療センター薬剤部ならびに関係諸氏に深く感謝いたします。

最後に，これまで温かく見守ってくれた家族ならびに両親に心より深く感謝いたします。

## 引用文献

1. Japanese Society of Hospital Pharmacists, Case Studies of Hospital Preparation-Guidelines of Hospital Preparation and Application, Yakuji Nippo Limited., Japan, 2013.
2. Minami T., 院内製剤の有効性・安全性, 品質の確保 pharmaceuticals monthly. 37, 2165—2171 (1995) .
3. Goto N., Masada M.,院内製剤の役割と問題点, ファルマシア, 40, 827—831 (2004) .
4. Regulatory Leeway Sought for Process Analytical Technology. The Gold Sheet, Vol. 36, Paulson, W., Ed.; Elsevier: Chevy Chase, MD (2002) .
5. U.S. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research “Process Analytical Technology (PAT) Initiative”. Home Page (<http://www.fda.gov/cder/OPS/PAT.htm>)
6. J. P. Higgins, S. M. Arrivo, G. Thureau, R. L. Green, W. Bowen, A. Lange, A.C. Templeton, D. L. Thomas and R. A. Reed, “Spectroscopic Approach for On-Line Monitoring of Particle Size during the Processing of Pharmaceutical Nanoparticles”, Anal. Chem., 75, 1777 (2003) .
7. H. W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawano and H. M. Heise, “Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications”, Wiley-VCH, Germany, Weinheim (2002) .
8. H. Martens and T. Naes, “Multivariate Calibration”, John Wiley & Sons, New York, (1989) .



9. “第17改正日本薬局方解説書”，日本薬局方解説書 編集委員会編，廣川書店，東京，2016，pp.C-762-768.
10. ウリナスタチン インタビューフォーム，持田製薬株式会社
11. Kanayama N., Maradny E. E., Halim A., Maehara K., Kajiwara Y., Terao T., *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 60, 181-186 (1995) .
12. Adachi T., *Acta Obstet. Gynaecol. Jpn.*, 58, N-161-167 (2006) .
13. Kanayama N., Chinarong L., Naruse H., Yamamoto N., Fujishiro S., Maehara K., Morita Y., Terao T., *Acta Obstet. Gynaecol. Jpn.*, 44, No44, pp. 477-482 (1992) .
14. 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).
15. K. Satake, T. Nakajima, M. Iwata, Y. Fujikake, M. Kimura, Physicopharmaceutical characteristics of ulinastatin vaginal suppositories prepared in a hospital, *Yakugaku Zasshi*. 131 (2011) 1639-1644. doi:10.1248/yakushi.131.1639.
16. 埼玉医科大学総合医療センター院内製剤マニュアル
17. “第17改正日本薬局方解説書”，日本薬局方解説書 編集委員会編，廣川書店，東京，2016，pp.B-257-267.

18. “第17改正日本薬局方解説書”，日本薬局方解説書 編集委員会編，廣川書店，東京，2016, pp.B-215-218.
19. M. Balshin, Relation of mechanical properties of powder metals and their porosity and the ultimate properties of porous metal-ceramic materials, in: Dokl Akad Nauk SSSR, 1949: pp. 831–834.
20. E. Ryshkewitch, Compression Strength of Porous Sintered Alumina and Zirconia, J. Am. Ceram. Soc. 36 (1953) 65–68. doi:10.1111/j.1151-2916.1953.tb12837.x.
21. “第17改正日本薬局方解説書”，日本薬局方解説書 編集委員会編，廣川書店，東京，2016, pp.B-604-613.
22. Otsuka K, Uchino T, Otsuka M. Non-destructive prediction of the drug content of an acetaminophen suppository by near-infrared spectroscopy and X-ray computed tomography. *Drug Dev Ind Pharm.*, 41 (1) 15–21 (2015) . doi:10.3109/03639045.2013.842581.
23. H. W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawano and H. M. Heise, “Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications”, Wiley-VCH, Germany, Weinheim (2002) .
24. H. Martens and T. Naes, “Multivariate Calibration”, John Wiley & Sons, New York, (1989) .
25. T. Kishino, Y. Inoue, K. Inoue, K. Saito, M. Kondo, K. Otsuka, T. Terukina, Y. Hattori and M. Otsuka, Pharmaceutical evaluation of hospital-prepared ulinastatin-containing vaginal suppositories. Accepted

26. M. Iwamoto, S. Kawano, J. Uozumi. Introduction of Near Infrared Spectroscopy, SachiSyobou Co, Tokyo, Japan (1994) .
27. Allen, Loyd V., Dennis B. Worthen, Bill Mink. “Suppositories”, Chap. 9 Pharmaceutical Press, London, 2008, pp. 146.