[Jpn. J. Hosp. Pharm.]
一般論文
21(4) 269 - 275 (1995)

プロゲステロン含有ウイテプゾール・エチレン-酢酸ビニル 共重合体混合系坐剤の処方最適化

岩田政則*†^{1,2}, 高山幸三†¹, 町田良治†³, 城武昇一†², 平原史樹†⁴,
水口弘司†¹, 永井恒司†¹
星薬科大学薬剤学教室†¹, 横浜市立大学医学部附属病院薬剤部†²
星薬科大学医療薬学研究室†³, 横浜市立大学産婦人科学教室†⁴

Formulation Optimization of Progesterone Suppository Using Mixtures of Witepsol and Ethylene-Vinyl Acetate Copolymer as a Base

Masanori Iwata*†^{1,2}, Kozo Takayama†¹, Yoshiharu Machida†³,
Shoichi Shirotake†², Fumiki Hirahara†⁴, Kouji Minaguchi†⁴,
and Tsuneji Nagai†¹

Department of Pharmaceutics, Hoshi University†¹
Yokohama City University Hospital, Department of Pharmacy†²
Clinical Pharmacy Laboratory, Hoshi University†³
Department of Obstetrics and Gynecology, Yokohama City University, School of Medicine†⁴

(Received October 5, 1994)
(Accepted March 1, 1995)

For the purpose of replacement therapy using progesterone, the mixed suppository consisting of Witepsol and ethylene-vinyl acetate copolymer (EVA) was investigated using a computer optimization technique. Witepsol-W35, EVA40Y and EVA250 were employed as the suppository base. Nine formulations were prepared according to a composite experimental design for two factors; the rate of Witepsol-W35 (X1) and the rate of EVA250 in the EVA phase (X2). Characteristics such as the penetration (Y1), the strength (Y2), DSC peak temperature (Y3), heat of fusion (Y4), the amount dissolved (ADT, Y5) and mean dissolution time (MDT, Y6) were measured. As absorption parameters of progesterone, AUC (Y7) and MRT (Y8) were estimated after vaginal administration of suppositories in rabbits.

After application of multiple regression analysis for each of the characteristics, optimum regression equations were obtained. The best formulation to maximize AUC was sought under the restriction of experimental region. Experimental results obtained for the optimum formulation agreed well with the predictions.

When the mixed suppository which contained 100mg progesterone was administered to voluntary patients, the efficient blood level was maintained for 24 hours.

These results suggested that the progesterone-mixed suppository was quite useful for the treatment of the luteal phase defect.

Keywords—progesterone, suppository, ethylene-vinyl acetate copolymer, formulation optimization, vaginal administration

緒 言

黄体機能不全を伴う不妊症、不育症の治療や人工受精、体外受精など産科領域において、黄体補充療法は重要な役割を果たしている¹⁾。しかし、一般にプロゲステロンは筋肉注射によって投与されるため、患者による自己投与が不可能であり、連日にわたる投与時の疼痛は耐え難いものである。著者らは、これらの問題点の解決法としてプロゲステロンを主薬とし、エチレン-酢酸ビニル共重合体 (EVA) とウイテプゾールを用いた徐放性坐剤の開発を行ってきた^{2,3)}。さらに、EVA とウイテプゾール W35 の融解混合物を基剤とした坐剤が徐放性を示し、EVA の種類、混合率を変えることによりその特性値も制御可能であることを報告した⁴⁾。

本研究においては、高山ら^{5,6)}の製剤処方最適化法を応用して EVA40Y, EVA250 およびウイテプゾール W35 を基剤としたプロゲステロン混合坐剤の最適処方の探索を試みた。

実 験 の 部

1. 試薬

主薬のプロゲステロンは、和光純薬社の生化学用を用いた。坐剤の基剤であるウイテプゾール W35 はダイナミットノーベル社製、EVA40Y および EVA250 は三井・デュボンポリケミカル社製のものをを用いた。その他の試薬類は特級品を使用した。

2. 坐剤の調製

プロゲステロン混合型坐剤の調製は前報⁴⁾にしたがい、熔融法により調製した。坐剤の重量は 1.4 g とし、プロゲステロンを 50mg および 100mg 配合した。坐剤中のプロゲステロン量は、前報³⁾にしたがい UV 法により求めた。

3. 複合実験計画法

二要因からなる複合実験計画法に基づき、9 種

Table 1. Composite Experimental Design for Two Factors Used to Prepare the Mixed Suppositories

Formula.	X1	X2	Witepsol (%)	EVA250 (%)	EVA40Y (%)
A	0	$\sqrt{2}$	80.0	20.0	0.0
B	1	1	90.6	8.0	1.4
C	$\sqrt{2}$	0	95.0	2.5	2.5
D	1	-1	90.6	1.4	8.0
E	0	$-\sqrt{2}$	80.0	0.0	20.0
F	-1	-1	69.4	4.5	26.1
G	$-\sqrt{2}$	0	65.0	17.5	17.5
H	-1	1	69.4	26.1	4.5
I	0	0	80.0	10.0	10.0

の坐剤処方を設定した (Table 1)。要因 X1 は、坐剤中のウイテプゾール含有率であり、その変動は 65% から 95% とした。また、要因 X2 は、EVA 相中の EVA250 の含有率としてその変動は 0% から 20% とした。

4. 特性値の測定

1) 針入度 坐剤を 40°C に放置した後、直径 30mm の円盤を用いて毎分 60mm で加圧したときの応力を測定した。測定にはレオテック社製レオメーター RT-3005D を用いた。測定は 3 回行い、その平均値を求めた。

2) 強度 強度ガラス製の型を用いて直径 11.5 mm、厚さ 2.5mm の円盤状試料を作成した。測定には前述のレオメーターで、直径 5mm の球状部品 (No. 4) を用いて毎分 6mm で加圧したときの破断応力を求めた。測定は 3 回行い、その平均値を求めた。

3) 熱的挙動 各坐剤について熱力学的パラメータである吸熱ピーク温度および吸熱量を測定した。測定にあたり、試料量は約 10mg とし、理学電気社 THREMOFLEX-DSC8230 を用いて行った。測定は 5 回行い、その平均値を求めた。

4) 薬物放出性 放出試験器として、著者らが考案したビーズ回転セル法⁷⁾を用いた。測定にあたり、試験液は 1% ラウリル硫酸ナトリウム添加生理食塩液 900ml (37.0±0.5°) とし、セルの回転数は、毎分 25 回転、ガラスビーズ 40 個、ナイロンビーズ 40 個、内液量 5ml で行った。試料の採取量は 5ml として、採取後ただちに同温同量の試験液を補充した。試料中のプロゲステロン量は、248nm における吸光度を測定し、あらかじめ作成

†^{1,3} 東京都品川区荏原 2-4-41; 2-4-41, Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo, 142 Japan

†^{2,4} 神奈川県横浜市金沢区福浦 3-9; 3-9, Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama, 236 Japan

した検量線により求めた。

5) ウサギ腔内への投与 体重約 2.5kg前後の日本白色ウサギ(雌)の腔腔に坐剤(プロゲステロン 50mg 含有)を投与した後、外科用接着剤で腔口を塞いだ。経時的に血液を採取し、その血漿を試料とした。血漿中プロゲステロン量は、前報³⁾にしたがいラジオイムノアッセイ法(第一ラジオアイソトープ社)により求めた。各坐剤について1群3羽で行いその平均値を求めた。

5. 篤志志願患者への適用

黄体機能不全と診断され、すでに従来のプロゲステロン坐剤による黄体補充療法¹⁾を受けている篤志志願患者5名に対して最適処方²⁾のプロゲステロン混合坐剤を適用した。患者のうち2名にプロゲステロン 50mg 含有坐剤を、また3名に 100mg 含有坐剤を、1日1回1個腔内に適用した。本剤の適用に先立ち、患者に対して基剤の変更等について十分に説明を行った後、同意を得、またその離脱については患者の意志に従った。坐剤の適用後24時間にわたり血液の提供をうけた。

6. 数値計算

坐剤の放出試験およびウサギを用いた投与実験における各種パラメータの算出は、PC-9801FAを用いて山岡らのプログラム⁸⁾を利用して行った。また、複合実験計画法、重回帰分析ならびに最適処方の探索は、高山らの方法⁵⁾に従った。

結果および考察

1. 坐剤の主薬含有率

各坐剤中のプロゲステロン含有率はいずれも99%以上であり、前報⁴⁾と同様な結果であった。したがって、本研究で調製した坐剤の使用に問題はないと判断した。

2. 坐剤の特性値

坐剤の特性値の結果を Table 2 に示す。針入度での最高値は処方 I の 5066.7 ± 47.1 g, 最低値は処方 D の 5.7 ± 0.1 g であり、約 700 倍の差がみられた。そこで本研究を進めるにあたり針入度を対数に変換した (Y1)。強度 (Y2) の最高値は処方 H の 3.47kg, 最低値は処方 B の 0.87kg であり、約 4 倍の差がみられた。吸熱ピーク温度 (Y3) では、各処方が 35.0°C から 36.6°C でありほぼ同様な値を示した。また、吸熱量 (Y4) は、1.92 kJ/g から 3.48kJ/g となり、約 1.8 倍の差がみられた。坐剤の *in vitro* 放出試験の結果を Fig. 1 に示す。台形法で得られた測定開始後24時間までの薬物放出時間曲線下面積 (ADT, Y5) は、最大値と最小値の差が約 9 倍となった。本研究において、坐剤処方を変化させることにより薬物放出量は異なる挙動を示すことが明らかになった。徐放性の指標となる測定時間における平均放出時間 (MDT, Y6) は 6.6 時間から 11.5 時間であった。ウサギの腔に坐剤を投与した際に得られたプロゲステロンの血中濃度の経時的变化を Fig. 2 に示

Table 2. Characteristics of Mixed Suppository

Form.	Y1 (log g)	Y2 (kg)	Y3 ($^{\circ}\text{C}$)	Y4 (kJ/g)	Y5 ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	Y6 (h)	Y7 (ng·h/ml)	Y8 (h)
A	3.69	3.22	35.0	2.40	25.8	10.6	546	5.34
B	2.72	0.87	35.4	2.64	21.9	11.3	2017	6.37
C	1.12	0.97	35.9	2.51	67.2	10.6	2288	2.97
D	0.76	1.08	35.1	3.48	37.8	11.5	2616	9.50
E	0.97	1.60	35.5	3.16	31.5	11.0	1036	3.15
F	2.11	1.69	35.3	2.27	8.4	8.9	645	2.57
G	3.69	2.41	35.8	1.97	7.7	6.6	469	4.17
H	2.51	3.47	36.6	2.51	7.2	8.4	44	8.97
I	3.71	2.56	36.2	3.01	10.0	9.9	1317	4.68

Y1: Penetration, Y2: Strength, Y3: Peak temp., Y4: Heat of Fusion,
Y5: ADT, Y6: MDT, Y7: AUC, Y8: MRT

Fig. 1. Release Profiles of Progesterone from Mixed Suppositories

—○— : A, —△— : B, —□— : C,
—●— : D, —▲— : E, —■— : F,
--○-- : G, --△-- : H, --□-- : I

す。台形法で得られた測定開始後5時間までの薬物血中濃度時間曲線下面積 (AUC, Y7) では処方間に約60倍の差がみられた。一方、平均滞留時間 (MRT, Y8) では、処方間に約3.7倍の差がみられた。以上の結果より、X1 および X2 を変化させることにより、混合坐剤の各特性値が変化することが示された。

3. 坐剤特性値の予測

各特性値について重回帰分析を実施し、X1 および X2 を説明変数とする2元2次多項式による予測を試みた。Table 3 に得られた予測式を示

Fig. 2. Plasma Concentration Profiles of Progesterone after Vaginal Administration of Mixed Suppositories to Rabbits

—○— : A, —△— : B, —□— : C,
—●— : D, —▲— : E, —■— : F,
--○-- : G, --△-- : H, --□-- : I

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of three rabbits.

す。吸熱ピーク温度 (Y3) および MRT (Y7) については式の信頼性は低いものの、その他の各特性値の予測はある程度可能であった。各特性値を視覚的に捉えるためにこれらを3次元図であらわした (Fig. 3 Fig. 4)。針入度 (Y1) は本実験域内において、その最高値が中心部付近に存在した。強度 (Y2) は X1 が小さく、X2 が大きいほど、つまりウイテプゾール含量が少なく、EVA 相

Table 3. Regression Equation for Each Characteristic and Statistical Parameter

$$Y_n = aX_1 + bX_2 + cX_1^2 + dX_2^2 + eX_1X_2 + f$$

Coefficient	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8
a (X1)	-0.59621	-0.65587	-	1.10337	15.41020	1.38337	783.102	-
b (X2)	0.77714	0.48266	-	-0.88022	-	-0.15206	-236.684	-
c (X1 ²)	-0.73710	-0.41220	-	-1.22001	-	-0.58256	-	-
d (X2 ²)	-0.77236	-	-0.35919	-	-	0.53277	-227.767	-
e (X1X2)	0.39075	-0.49750	-	-1.12750	-	-	-	-2.38250
f	3.70521	2.35190	35.69370	12.22100	23.60780	9.90987	1402.420	5.30222
R	0.94226	0.97016	0.53262	0.95053	0.79646	0.9943	0.95510	0.66450

Y1: Penetration, Y2: Strength, Y3: Peak temp. Y4: Heat of fusion, Y5: ADT, Y6: MDT, Y7: AUC, Y8: MRT

R: Multiple correlation coefficient

Fig. 3. Three Dimensional Diagrams for Penetration(Y1), Strength(Y2), Peak Temp.(Y3) and Heat of Fusion(Y4) as a Function of X1 and X2

中の EVA250 含有率が高いほど増加する傾向を示した。熱的挙動において、吸熱量 (Y3) は X1 の影響はわずかにみられたが、X2 の中心部で最高となる傾向がみられた。ADT (Y5) は、X1 のみの一次関数となり X1 と正の相関を示した。MDT (Y6) は、ADT と同様な傾向であったが、わずかに X2 の関与がみられた。AUC (Y7) は、ADT と同様な傾向を示し、わずかに X2 の影響がみられるものの主として X1 の影響を受けることが明らかとなった。本実験において、*in vitro* 薬物放出性と *in vivo* 薬物吸収性の相関性が示され、さらに X1 および X2 を変化させることにより、ある程度吸収性の制御が可能であると考え。

薬物吸収量の指標である AUC について要因選択型重回帰分析を実施し、今回選択した特性値による予測を試みた。その結果、以下に示す回帰式が得られ、坐剤の物性の組み合わせによって *in vivo* 吸収性を定量的に予測することが可能である

と思われた。

$$\text{AUC} = 323.29 \cdot Y1 - 663.39 \cdot Y2 + 216.03 \cdot Y4 + 19.059 \cdot Y5 - 1083.03 \quad (R^2 = 0.911)$$

4. 最適処方探索

本実験域内において、AUC が最大となるプロ

Table 4. Optimum Formulation of Mixed Suppository

X1 = 1.39	Witepsol W35	85.9%
X2 = -0.23	EVA 40Y	8.7%
	EVA 250	5.4%

Table 5. Characteristics of the Optimum Formulation

Characteristic	Predicted	Experimental
Penetration (Y1, log g)	1.10	1.69 ± 0.19
Strength (Y2, kg)	0.692	0.770 ± 0.070
Peak temp (Y3, °C)	35.9	36.0 ± 0.1
Heat of fusion (Y4, kJ/g)	2.86	2.72 ± 0.16
ADT (Y5, μg · h/ml)	45.0	38.3 ± 4.95
MDT (Y6, h)	10.8	9.77 ± 0.48

Each experimental value represents the mean ± S.D. (n=3).

Fig. 4. Three Dimensional Diagrams for ADT(Y5) MDT(Y6), AUC(Y7) and MRT(Y8) as a Function of X1 and X2

ゲステロン混合坐剤の最適処方探索を行った。

Table 4にその座標と対応する処方を示す。また、Table 5に得られた最適処方の各特性値の予測値と実測値を示す。予測値と実測値はよく一致し、本研究におけるプロゲステロン混合坐剤の処方最適化が達成された。

5. 臨床応用

最適処方として選択されたプロゲステロン混合坐剤 (50mg, 100mg) を調製して、篤志志願患者に連日適用した。Fig. 5 に適用後 24 時間の血中プロゲステロン値の時間推移を示す。症例数が少ないため統計的な解析は不可能であるが、主薬を 50mg および 100mg 含有するいずれの坐剤も徐放性を示し、24 時間後においても初期の値を維持した。しかし、50mg 含有坐剤の血漿中濃度は、当初目的とする 10ng/ml 以下であることから、黄体補充療法にはプロゲステロンを 100mg 配合

Fig. 5. Plasma Concentration of Progesterone after Administration of Mixed Suppository to Voluntary Patients
 —●—: 50mg(A), —▲—: 50mg(B),
 —○—: 100mg(A), —△—: 100mg(B),
 —□—: 100mg(C)

する必要性が示唆された。また、前報³⁾では、坐剤による黄体補充療法が従来の注射剤投与(筋注)の場合と同等の血中プロゲステロン量を維持するためには、約2倍の投与量が必要であったことから、今後、バイオアベイラビリティを考慮した検討が必要と考える。

引用文献

- 1) 加藤宏一, 牧村紀子, “産婦人科薬物療法”, 図書印刷社, 東京, 1994, pp.124-127.
- 2) Chorng-Chih Huang, Masanori Iwata, Kozo Takayama, Yoshiharu Machida and Tsuneji Nagai, *Chin. Pharm. J.*, **44**, 161-169 (1992).
- 3) 岩田政則, 城武昇一, 平原史樹, 水口弘司, 町田良治, 永井恒司, 薬剤学, **53**, 148-154 (1994).
- 4) 岩田政則, 城武昇一, 高山幸三, 町田良治, 平原史樹, 水口弘司, 永井恒司, 病院薬学, **20**, 515-521 (1994).
- 5) Kozo Takayama and Tsuneji Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 160-167 (1989).
- 6) Kozo Takayama and Tsuneji Nagai, *Int. J. Pharm.*, **74**, 115-126 (1991).
- 7) 岩田政則, 町田良治, 城武昇一, 高山幸三, 永井恒司, 病院薬学, **20**, 273-278 (1994).
- 8) 山岡 清, “マイコンによる薬物体内動態解析法”, 南江堂, 東京, 1984, pp.145-184.