ウロキナーゼの配合変化に関する研究^{*1}

村瀬勢津子, 遠山啓子, 関 京子, 加賀谷肇, 朝長文弥^{*2}, 中川輝昭^{*2a}

北里大学病院薬剤部^{*2}

Study on Compatibility of Urokinase with Other Drugs^{*1}

SETSUKE MURASE, KEIKO TOYAMA, KYOKO SEKI, HAZIME KAGAYA,

FUMIYA TOMONAGA^{*2}, and TERUAKI NAKAGAWA^{*2a}

Pharmacy, Kitasato University Hospital^{*2}

(Received October 21, 1981)

Compatibility tests on Urokinase (UK) with 39 kinds of drugs prescribed in combination with UK in our hospital were performed in terms of visible change, pH and residual potency of UK as determined by fibrin-plate method after the mixture. The results may be summarized as follows:

- 1) Mixture of UK and Calicicol or Persantin showed precipitation immediately after mixing, while mixture of UK and Keflin, K. C. L., Penbritin or Celtol showed a decrease in potency 0—3 hours after mixing. Therefore, these mixtures are incompatible.
- 2) Mixture of UK and Solita T₃, Pydoxal, Vitamedin, Vitaneurin, MDS or Novoheparin showed a decrease in potency 6 hours after mixing. Hence these mixtures should be made carefully.

Keywords—urokinase; mixture; fibrin-plate method; residual potency; infusion; antibiotic; anti-neoplastic; vitamin

はじめに

ウロキナーゼ (以下 UK と略す) は血栓や塞栓症の治療に血栓溶解剤として, また抗悪性腫瘍剤との併用療法など, その使用量は近年増加しつつある。それに伴い UK と他剤との混合使用も多くなっているが, 配合変化に関する報告は今なお十分とはいえない。そこで著者らは UK と39種の注射剤との配合変化について検討し, 多少の知見を得たので報告する。

実験の部

1. 実験材料および方法

過去1年間の当院における注射箋をチェックしてみると (Fig. 1), UK は補液をベースに抗生物質製剤 (以下抗生剤), 抗悪性腫瘍剤およびビタミン剤などが混合さ

れており, 特に2~5種の混注が多かった。そこで今回, これらの注射剤と1:1の混合について検討した。

UK は6,000 unit (ミドリ十字) を用い, 配合剤として補液類はグルノン (以下 GL), 低分子デキストラン (以下 DX), フィシザルツ (以下 PZ), ハルトマン D, ラクテック, フィジオゾール3号, ソリタ T₃ (以下 ST₃)

Fig. 1. Frequency of Use of Mixtures in Kitasato Hospital Pharmacy (1977)

^{*1} 第9回日本薬剤師会関東学術大会 (横浜, 1979年) で発表。

^{*2} 相模原市北里1丁目15-1; 15-1, 1-chome, Kitasato, Sagami-hara-shi, 228 Japan

^{*2a} 現: 富山医科薬科大学病院薬剤部

Table 1. Summary of Materials Investigated in Additive Combination Tested

	Brand name	Amounts	Appearance	pH
Urokinase	Urokinase	6000unit/5ml	colorless	7.0
Infusions	Glunon	500ml(5%)	colorless	4.4
	Dextran(low mol)	500ml	colorless	3.4
	Physisalz	500ml	colorless	5.6
	Hartmann D	500ml	colorless	4.4
	Lactec	500ml	colorless	6.4
	Physiosol 3	500ml	colorless	4.3
	Solita T3	500ml	colorless	5.1
	Peri-Solita	1000ml	colorless	5.9
Antibiotics	Gentacin	40mg/1ml	colorless	5.4
	Gripenin	1g/20ml	colorless	6.5
	Lilacillin	1g/10ml	colorless	5.5
	Penbritin	1g/20ml	pale yellow	9.0
	Celtol	1g/10ml	pale yellow	4.6
	Keflin	1g/5ml	pale yellow	5.4
Anti-neoplastic agents	Cylocide	40mg/2ml	colorless	8.7
	Endoxan	100mg/5ml**	colorless	6.7
	Esquinon	1mg/5ml	orange	7.4
	5-Fu	250mg/5ml	colorless	8.5
	Mitomycin S	2mg/10ml	blue violet	6.1
	Oncovin	1mg/10ml	colorless	5.0
Vitamins	Ascorutin	500mg/2ml	colorless	6.7
	Flavitan	20mg/2ml	orangish yellow	5.6
	Metabolin G	10mg/1ml	colorless	3.1
	Nutrased	20mg/2ml	colorless	3.6
	Pydoxal	10mg/1ml	pale yellow	6.2
	Pantol	250mg/1ml	colorless	5.8
	Vitamedin	1vial/20ml	pink	4.6
	Vitaneurin	1vial/20ml*	brown	3.4
The other	Adona	25mg/5ml	orange	5.7
	Aspara K	10ml(10%)	colorless	7.0
	Calcicol	425mg/5ml	colorless	6.4
	K.C.L.	20ml(15%)	yellow	5.6
	MDS	300mg/5ml	pale yellow	5.8
	Neophyllin	250mg/10ml	colorless	9.0
	Nicholin	250mg/2ml	colorless	7.3
	Novo Heparin	5000unit/5ml	colorless	6.5
	Persantin	10mg/2ml	yellow	2.8
	Primperan	10mg/2ml	colorless	3.3
	Tathion	600mg/10ml	colorless	5.9

* and ** shows that powder for injection dissolved with 20% glucose and sterile water for injection. Another powder for injection dissolved with isotonic sodium chloride solution respectively.

およびペリソリタ (以下 PST) の 8 種, 抗生剤はゲンタシン (以下 GM), グリベニン (以下 CBPC), リラシリン, ペンブリチン (以下 ABPC), セルトール (以下 CEC) およびケフリン (以下 KF) の 6 種, 抗悪性腫瘍剤はキロサイド, エンドキサン (以下 ED), エスキノン (以下 EQ), 5-Fu, マイトマイシン S (以下 MMC) およびオンコピンの 6 種, ビタミン剤はアスכולチン, フラビタン (以下 VB₂), 強力メタボリン G (以下 VB₁), ストラゼ (以下 NT), パントール (以下 PO), ビドキサール (以下 VB₆), ビタメジン (以下 VMD) およびビタノイリン (以下 VNU) の 8 種, ならびにその他 11 種の注射剤, すなわちアドナ, アスバラ K, カルチコール (以下 CC), K. C. L., MSD, ネオフィリン, ニコリン (以下 NC), ノボヘパリン (以下 HP), ベルサンチン (以下 PS), プリンペランおよびタチオンの 39 種の注射剤を実験材料とした (Table 1).

2. 各 pH 域における安定性

実験に先だち UK について 0.1 N-HCl, 0.1 N-NaOH を用い pH 域による外観変化を調べるとともに, pH 3, 4, 5, 6, 7, 8 および 9 における 24 時間の安定性についても検討した.

3. 配合試験

UK 6,000 unit を生理食塩液 (以下生食と略す) で正確に 5 ml に溶解し, 用時溶解の注射剤は能書の指示に従って ED および MMC は注射用蒸留水で, VNU は 20% ブドウ糖液に, 他はすべて生食で Table 1 に示した量にそれぞれ正確に溶解し, 各試料液とした. 配合は 1 バイアルまたは 1 アンプルの割合で混合し, 配合試料原液とした. いずれも室温に放置し, 配合直後, 3, 6 および 24 時間後にそれぞれサンプリングし, 外観変化の観察, pH の測定および UK の力価をフィブリン平板 (以下 FP と略す) 法で測定した.

4. UK の力価の測定

Walton らの方法¹⁻³⁾ に従い FP を作成し, 定量に用いた.

フィブリノーゲン溶液: ヒト・フィブリノーゲン (以下 FG と略す) 1 バイアルに, 約 4° に保存した 1% リン酸塩緩衝液 (以下 PB と略す) pH 7.4 100 ml を注射筒を用いて注入し, 泡立てないようにゆるやかに注意しながら溶解した. 完全に溶解させた後, 全量を 200 ml とし, 50 ml ずつ 100 ml のビーカー 4 個に分注した.

トロンビン溶液: ヒト・トロンビン (ミドリ十字) 1 バイアルに PB (pH 7.4) 10 ml を加えて溶解した.

アガロース溶液: アガロース (以下 AG と略す) 300 mg に PB (pH 7.4) 48 ml を加えて, 100° の水浴上で

ガラス棒で時々かき混ぜながら溶かして調製し, これを各々 12 ml ずつ 4 本の試験管に分注した.

平板の作製: FG 溶液 および AG 溶液を, それぞれ 45° に調節した水浴上に 10 分間以上浸し, 溶液の温度がいずれも 45° 以下に保たれていることを確認したのち, AG 溶液中にトロンビン溶液 0.5 ml ずつ加えて混和した. 直ちにその混液を FG 溶液に加え, 液が均等になるようにガラス棒でおだやかにかき混ぜたのち, 内り 100×200×10 mm のプラスチック製の平板調製容器に移した. この溶液が容器の隅々まで均等な厚さを保つようにスパーテルで拡げ, また気泡もスパーテルですばやく除いた. 約 15 分間静置し, 固化させて, 4 枚の平板を作製した. なお, 平板はサンプリングごとに作製した.

標準溶液および配合試料原液の添着ならびに培養: 標準溶液は 50, 25, 12.5, 6.25 unit/ml になるように生食を用いて調製し, 各配合試料原液も標準液の濃度範囲に入るように生食で各々希釈し, 定量用試料液とした. 透明な平板の下に 1.5 mm 間隔の方眼紙をそれぞれ置き, その交点にマイクロピペットを用いて, 1 枚の平板に標準液 および 各定量用試料液を 10 μ l 3 点ずつ添着し, 37° で 18~20 時間培養した. 培養後, 各溶解窓の直径を測定し, それぞれ平均値を算出した. 横軸に UK の濃度 (unit/ml), 縦軸に溶解窓の直径 (mm) をとり, 片対数グラフを用いて検量線を作成した (Fig. 2). これより定量用試料液中の unit/ml を求め, 残存率は混合前の UK の力価に対する割合で示した.

Fig. 2. Standard Curve of Urokinase Tested with Fibrin-plate Method

なお、同様に各配合剤の試料液も添着し、培養して溶解窓を示さないことを確認した。

実験結果

用時溶解させて用いる注射剤は生食、注射用蒸留水および20%ブドウ糖に溶解させた。そのときの外観およびpHの測定値を、また他の注射剤は実験に用いたpHと外観をTable 1に示した。

1. 各pH域における安定性

UKを生食5mlに溶解させ、各々等分し、一方に0.1N-HClを、他方に0.1N-NaOHをそれぞれ10mlずつ加えてpHを測定した。UKはpH1.2~12.7の範囲で外観変化は認められなかった(Table 2)。

各pH域は0.1Mクエン酸および1%リン酸塩を用いてpH3~9までの各pHを調製した。これらの各々50

mlにUK 0.5mlずつを加えた後、室温に放置し、これより0, 3, 6および24時間後に各々サンプリングし、UKの力価を測定した。その結果、UKはpH3~9の範囲で、配合24時間後においても90%以上の残存率を、また室温放置のUKの生食溶液も同様に90%以上をそれぞれ示し安定であった。これらの結果はJ. Plongら⁴⁾や山本ら⁵⁾の成績と一致した(Table 3)。

2. 配合変化試験

補液類は実際の使用量の1/10、他の注射剤は1/2アンブルまたはバイアルの配合量で実験した。外観の観察、pHの測定およびUKの力価の測定の結果を各々Table 4~7に示した。

補液類において外観変化はほとんどなく、pHはGL, DXおよびPZとの混合ではこれら配合剤のpHより少し高めであった。他は補液のpHに近似値を示した。ま

Table 2. Visible Change of Urokinase Caused by pH Shifts

	ml	point	pH
0.1N-HCl	10	-	7.0 → 1.2
0.1N-NaOH	10	-	7.0 → 12.7

The pH was shifted by addition of 0.1N-HCl or 0.1N-NaOH.

Table 3. Stability of Urokinase at Various pH Levels

pH	<u>Residual potency(%)</u> <u>Hours after mixing</u>			
	0	3	6	24
3.0	101	98	104	92
4.0	95	95	101	95
5.0	99	90	91	90
6.0	97	94	105	91
7.0	109	99	109	92
8.0	95	104	109	92
9.0	106	102	106	102
Urokinase	100	105	95	97

Residual potency(%) was tested with at room temperature respectively.

Adjustments of pH treated with sodium phosphate dibasic, potassium phosphate monobasic and citric acid.

た, ST₃ および PST との混合で, 配合 6 時間後より, GL では配合 24 時間後に UK の力価の低下がそれぞれ認められた (Table 4).

抗生剤において GM, CBPC および SBPC では外観, pH および力価共に変化は認められなかった. CEC との混合において, pH の酸性側へのシフトがみられ, 力価では配合直後に 90% 以下の残存率でその後経時的に低下する傾向を示した. KF との混合において, 配合 24 時間後に濃色変化がみられ, pH は経時的に酸性側へシフトした. また, 力価では配合直後に残存率がわずかに 33% で, さらに経時的に変化し, 24 時間後では 10% 以下であった. ABPC において, pH はわずかながら酸性側へのシフトがみられ, 力価は配合直後に約 60% に低下するが, その後大きな変化はみられなかった.

抗悪性腫瘍剤との混合では, 外観および pH 共に経時

的变化は認められず, 力価も配合 24 時間後にそれぞれ 90% 以上の残存率を示し安定であった (Table 5).

ビタミン剤との混合では, 外観および pH 共に配合 24 時間後も混合時と同様で経時的な変化はなかった. しかし, VB₁, VB₂, VB₆, VMD および VNU は配合 6 時間後にそれぞれ 70% 前後に, また PO では配合 24 時間後に力価の低下が認められた (Table 6).

その他 11 種の注射剤において, CC ならびに PS との混合では, 配合直後より混濁がみられ, CC はその後沈殿物を生じた. pH においては変化がみられなかった. K. C. L. および NC との混合では配合 3 時間後に, また MDS および HP との混合では配合 6 時間後に, それぞれ残存率が 90% 以下になった (Table 7).

なお, 力価において配合直後に 120% 以上になった配合例では, その直後の力価を 100% とした.

Table 4. Results of Compatibility Test with Urokinase and Infusions

Drugs	Measurements	Houre after mixing			
		0	3	6	24
Glunon	pH	6.5	6.4	6.3	6.2
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	96	110	107	73
Dextran (low mol)	pH	4.4	4.4	4.3	4.3
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	116	124	129	121
Physisalz	pH	6.6	6.6	6.7	6.6
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	110	107	118	90
Hartmann D	pH	4.4	4.4	4.4	4.4
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	97	105	116	104
Lactec	pH	6.7	6.7	6.7	6.6
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	90	99	101	89
Physiosol 3	pH	4.3	4.3	4.3	4.4
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	104	114	104	98
Solita T3	pH	5.2	5.2	5.2	5.2
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	104	75	71
Peri-Solita	pH	6.0	6.0	6.1	6.1
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	114	110	75	78

Table 5. Results of Compatibility Test with Urokinase and Antibiotics, and Antineoplastics

Drugs	Measurements	Hours after mixing			
		0	3	6	24
Gentacin	pH	6.1	6.1	6.1	5.9
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	109	115	92
Gripenin	pH	6.8	6.9	6.8	6.5
	Appearance	pale yellow	→	→	→
	Potency(%)	100	98	97	96
Lilacillin	pH	6.5	6.5	6.5	6.5
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	101	103	110	109
Penbritin	pH	9.0	8.6	8.5	8.3
	Appearance	pale yellow	→	→	→
	Potency(%)	57	56	58	46
Celtol	pH	6.2	5.5	5.5	4.5
	Appearance	pale yellow	→	→	→
	Potency(%)	88	62	59	49
Keflin	pH	6.8	6.5	6.1	5.0
	Appearance	pale yellow	→	→	yellow
	Potency(%)	33	26	12	9
Cylocide	pH	7.0	7.1	7.1	7.0
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	100	93	98
Endoxan	pH	7.0	7.0	6.9	6.7
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	95	100	117	119
Esquinon	pH	7.2	7.2	7.2	7.1
	Appearance	orange	→	→	→
	Potency(%)	99	111	112	141
5-Fu	pH	8.4	8.4	8.4	8.4
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	106	106	93
Mitomycin S	pH	7.0	7.0	7.0	7.0
	Appearance	blue violet	→	→	→
	Potency(%)	99	112	99	107
Oncovin	pH	6.9	7.0	7.0	6.9
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	101	109	96

Table 6. Results of Compatibility Test with Urokinase and Vitamins

Drugs	Measurement	Hours after mixing			
		0	3	6	24
Ascertin	pH	6.9	7.1	7.1	6.8
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	102	98	108
Flavitan	pH	6.9	6.9	6.8	6.9
	Appearance	ora. yellow	→	→	→
	Potency(%)	105	102	71	59
Metabolin G	pH	6.3	6.3	6.3	6.3
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	96	96	78	71
Nutrase	pH	5.8	5.8	5.8	5.4
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	95	102	124	129
Pantol	pH	6.8	6.8	6.8	6.7
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	98	95	91	66
Pydoxal	pH	6.6	6.5	6.4	6.3
	Appearance	pale yellow	→	→	→
	Potency(%)	100	104	78	52
Vitamedin	pH	4.8	4.8	4.8	4.8
	Appearance	pink	→	→	→
	Potency(%)	112	121	75	81
Vitanourin	pH	4.4	4.4	4.4	4.5
	Appearance	brown	→	→	→
	Potency(%)	100	93	66	71

ora. yellow : orangish yellow

考 察

UK と 39 種の注射剤との配合変化を検討した結果、KF との混合で配合 24 時間後に濃色変化が認められた。この変化は、通常 KF を溶解し、24 時間放置していても認められる。従って UK との混合による変化とは必ずしもいえない。

CC の主成分であるグルコン酸カルシウムの水に対する溶解度は 1 g/30 ml である。注射剤 8.5~10 w/v % の濃度は過飽和状態で結晶が析出しやすいといわれており、⁹⁾ CC との混合による配合直後よりの白濁は UK の力価の低下が認められないことから、CC の溶解度の変化に基因するものと推測される。

PS との混合における外観変化は PS が pH 2.8 と強

酸性を示し、自身よりアルカリ性の薬剤の配合には注意が必要であるといわれている。⁶⁾ 混合により pH 2.8 から pH 4.6 に変動したため PS の主成分であるジピリダモールが析出し、黄濁したものと考えられる。

ST₃, PST, VB₁, VB₂, VB₆, VMD, VNU, MDS および HD との混合において配合 6 時間後に、K, C, L および NC との混合で配合 3 時間後に、また CEC, KF および ABPC との混合で配合直後よりそれぞれ力価の低下がみられた。特に KF においては配合直後より低下し、24 時間後ではわずか 10% 以下の残存率であった。UK は pH 3~9 の範囲で安定であったことから、これらの UK の力価の低下は pH による影響ではなく、配合剤との間の化学的または物理的变化に基因すると思われる。DX, ED, EQ および NT との混合において力価

Table 7. Results of Compatibility Test with Urokinase and 11 Kinds of Injection

Drugs	Measurments	Hours after mixing			
		0	3	6	24
Adona	pH	6.8	6.8	6.8	6.8
	Appearance	orange	→	→	→
	Potency(%)	103	97	97	99
Aspara K	pH	6.9	6.8	6.9	6.8
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	94	95	91
Calcicoll	pH	6.3	6.3	6.3	5.9
	Appearance	white tur.	→	→	Preci.
	Potency(%)	106	102	93	93
K.C.L.	pH	6.5	6.5	6.5	6.5
	Appearance	yellow	→	→	→
	Potency(%)	92	59	32	31
MDS	pH	6.9	6.9	6.9	6.9
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	103	110	82	82
Neophyllin	pH	9.0	9.0	9.0	9.0
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	92	92	105
Nicholin	pH	7.0	7.0	7.0	7.0
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	90	79	75	80
Novo Heparin	pH	7.0	7.0	7.0	7.1
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	103	80	76
Persantin	pH	4.8	4.9	4.7	4.6
	Appearance	Yellow tur.	→	→	→
	Potency(%)	98	92	90	90
Primperan	pH	6.7	6.7	6.7	6.8
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	110	98	98
Tathion	pH	6.5	6.5	6.5	6.5
	Appearance	colorless	→	→	→
	Potency(%)	100	107	93	99

Tur. : turbidity, preci. : precipitation

に経時的な上昇が認められた。配合前にこれらの注射剤は溶解窓を示さなかったことから混合により拡散性が増大したためではないと思われる。

結 論

ウロキナーゼと39種の注射剤との配合変化を検討した

結果は次のとおりである。

1. 外観変化のみられたカルチコール、ペルサンチンならびに力価の著明な低下が認められたセルトール、ケフリン、ベンブリチン、K.C.L. およびニコリンとの直接の混合使用は避けるべきである。

2. 配合6時間後に力価の低下がみられたソリタ T₃、

ベリソリタ, フラビタン, 強力メタボリン G, MDS およびノボヘパリンは混合使用にあたっては十分留意する必要がある。

謝辞 本研究にあたり, ウロキナーゼの標品を提供された株式会社ミドリ十字に深謝いたします。

文 献

1) P. L. Walton : Clin. Chim. Acta, **13** (5), 680

(1966).

2) N. A. Marsh : Thromb. Diath. Haemorr., **31**, 75 (1972).

3) 西崎笹夫, 川村次良 : 医薬品研究, **5** (3), 295 (1974).

4) J. Plong, N. D. Kjeldgaard : Biochem. Biophys. Acta, **24**, 278 (1957).

5) 山本勝義, 伊藤 進 : 病院薬学, **5**(1), 13(1979).

6) 福島裕行監修 : 注射薬の配合変化, p. 20, メディカルプランニング, 1977.