徐放性プロゲステロン坐剤の物性と薬物吸収に対する カプリン酸ナトリウムの添加効果

岩田政則^{†1,2}, 小宮幸子^{†2}, 中村宏司^{†2}, 木内雅和^{†2}, 米谷芳枝^{†2},
安藤紀子^{†3}, 平原史樹^{†3}, 高山幸三^{†2}

横浜市立大学医学部附属市民総合医療センター薬剤部^{†1}

星薬科大学薬剤学教室^{†2}

横浜市立大学医学部産婦人科学教室^{†3}

Effect of Sodium Caprate against Physical Characteristics and Absorption on Sustained Release Progesterone Suppositories

Masanori Iwata^{†1,2}, Sachiko Komiyama^{†2}, Kouji Nakamura^{†2}, Masakazu Kiuchi^{†2}, Yoshie Maitani^{†2},
Noriko Andoh^{†3}, Fumiki Hirahara^{†3} and Kozo Takayama^{†2}

Department of Pharmacy, Yokohama City University Medical Center^{†1}

Department of Pharmaceutics, Hoshi University^{†2}

Department of Obstetrics and Gynecology, Yokohama City University, School of Medicine^{†3}

[Received July 27, 2000
Accepted November 29, 2000]

For luteal support therapy with progesterone for luteal phase defects such as infertility, sterility, *in vitro* fertilization and embryo transfer, it is important to have both a rapid rise in the plasma concentration and constancy. The additive effect of sodium caprate for mixed type progesterone suppositories, consisting of Witepsol W35 and Witepsol E85 at 1 : 1, was therefore investigated *in vitro* and *in vivo*.

The strength, the thermodynamic characteristics, the surface structures, the drug release properties and the drug absorption properties were examined for these suppositories. The strength of the suppositories increased with the addition of sodium caprate. The addition of sodium caprate, however, had no effect on the thermodynamic characteristics of these formulas. The drug release from the progesterone suppositories occurred via the matrix and pores, and was confirmed by *in vitro* dissolution profiles in which the amount of progesterone is proportional to the square root of time. The sustained plasma concentration of progesterone was examined after the vaginal administration of mixed type suppositories.

The plasma concentration of progesterone at an initial phase after the administration of 2 % sodium caprate/mixed suppository (formulation D) was found to be twice that of the mixed suppository (formulation A, no containing sodium caprate). Furthermore, the area under the plasma concentration-time curve from 0 to 6 hours for formulation D increased to 1.3 times that of formulation A. The findings of this study suggest that the mixed type progesterone suppositories with the additional of sodium caprate should improve the effectiveness of luteal support therapy.

Keywords — progesterone, luteal support therapy, mixed type suppositories, sodium caprate, matrix

^{†1} 横浜市南区浦舟町 4-57 ; 4-57, Urafune-cho, Minami-ku, Yokohama-shi, Kanagawa, 232-0024 Japan

^{†2} 東京都品川区荏原 2-4-41 ; 2-4-41, Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo, 142-8501 Japan

^{†3} 横浜市金沢区福浦 3-9 ; 3-9, Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama-shi, Kanagawa, 236-0004 Japan

緒 言

プロゲステロンは、黄体機能不全に起因する不妊症、不育症の治療に施行されてきた^{1,2)}。体外受精には黄体賦活法としてゴナドトロピン (HCG) 注 (500IU/日) が胚移植前後に3～4回筋肉注射されるとともに血中のプロゲステロン量を上昇させる黄体補充療法としてプロゲステロンが25mg～50mg/日で連日筋肉注射か経口で投与される³⁾。しかし、プロゲステロンの筋肉内注射は、自己投与不可能であること、疼痛が伴うことなど患者のQOL面で問題がある。また、経口投与は肝臓での初回通過効果を受けることから一定の血中濃度が得られないなどの問題がある。この問題を解決するために、著者らは不妊症や不育症に有効であるプロゲステロン坐剤⁴⁾を胚移植の翌日から連日にわたり投与することを考案した。

従来のウイテプゾール W35を基剤とした坐剤の融点 が約35℃であることから、坐剤が投与後速やかに体温で融解してしまい、その一部が膣から体外へ漏出するため生物学的利用能は筋肉内注射の約50%となっている。体外受精における胚の着床維持には、血中プロゲステロン濃度を速やかに有効濃度へ移行させ、長時間にわたってこれを持続させなければならない。

著者らは2種類の異なる融点を有するウイテプゾールを混合した混合型基剤を用いると、薬物放出制御が可能となり、放出挙動がマトリクスを介することを明らかにした⁵⁾。一方、カプリン酸ナトリウムは薬物の経皮吸収促進剤として有用な物質であり、坐剤にも用いられている⁶⁾。

本研究では、投与開始より薬物血中濃度の有効濃度に達する時間を早めるとともに薬物放出の徐放化を目的に、2種類のウイテプゾールからなる混合型基剤にカプリン酸ナトリウムを添加したプロゲステロン坐剤を調製し、その有用性について検討した。

実 験 の 部

1. 試薬

主薬であるプロゲステロンは、和光純薬社製生化学用を使用した。坐剤の基剤には、ウイテプゾール W35およびウイテプゾール E85 (ダイナミット・ノーベル社) を用いた。吸収促進剤であるカプリン酸ナトリウムは、和光純薬社製を使用した。その他の試薬類は特級品を用いた。

2. 坐剤の調製

坐剤の重量が1.40gとなるように、主薬、基剤および

Table 1. Formulation of Mixed Type Progesterone Suppositories.

Formulation	Sodium Caprate	Progesterone	Base
A	0.000g (0.0%)	0.100g	1.300g
B	0.007 (0.5)	0.100	1.293
C	0.014 (1.0)	0.100	1.286
D	0.028 (2.0)	0.100	1.272

Base : Witepsol W35/Witepsol E85 (1 : 1)

添加剤を混合して溶融法に従い調製した (Table 1)。坐剤中のプロゲステロン量は100mgとし、基剤の混合比は1 : 1とした。坐剤中のカプリン酸ナトリウムの添加率を0%, 0.5%, 1.0%, 2.0%とし、それぞれ処方 A, 処方 B, 処方 C, 処方 Dとした。坐剤の調製にあたり、プロゲステロンを融解した基剤に加えて透明になるまで攪拌し、これをプラスチックコンテナ (1.5mL, カナエ社) に流入したのち室温に放置した。坐剤の固化後これを冷暗所 (約4℃) に保存した。各試験において、試料は保存2日後のものを使用し、坐剤1個あたりの重量を1.40gに調製した。

3. 坐剤の特性値

1) 坐剤の強度

坐剤の強度試験をレオテック社製レオメータ RT3000 D, 加圧部品 No.13を用いて測定した。坐剤を試料台に設置した後、60cm/minで加圧したときの破断応力を坐剤の強度とした。測定は15個の坐剤について行い、平均値を求めた。

2) 坐剤の熱力学的特性値

坐剤の熱力学的特性値である融解のピーク温度を測定した。測定は、示差走査熱量計 DSC8230B (理学電気社), 解析ソフト「DPS-8151」を用いた。測定は3回行い、平均値を求めた。

3) 坐剤の表面構造

坐剤の表面をレーザー顕微鏡を用いて観察した。坐剤を37℃の精製水中に放置し、24時間後に採取した後、これを室温下で真空ポンプを用いて24時間にわたり吸引乾燥した。坐剤表面の特性値である高度差、表面粗さ (JIS) をレーザーテック社製レーザー顕微鏡 1 LM21, 画像処理システム ASPECT II を用いて測定した。測定はそれぞれの坐剤について10回行い、その平均値を求めた。

4) 薬物放出性

坐剤の薬物放出試験を円筒ろ紙法⁷⁾を用いて実施した。試験液として1%ラウリル硫酸ナトリウム液 (37.0 ± 0.5℃, 900mL) を用い、セルの回転速度は50rpmと

した。24時間にわたり経時的に試験液 5 mL を採取した後、同量の試験液を加えた。試験液中のプロゲステロン量を島津社製分光光度計 UV2200 を用いて 248 nm における吸光度を測定し、あらかじめ作成した検量線より求めた。測定は、各坐剤 6 個について行い、その平均値を求めた。

5) 薬物吸収性

体重約 3.5 kg の日本白色ウサギ (雌) の腔に坐剤を投与した後、クリップで腔口を閉鎖した。坐剤の投与前および投与後 6 時間にわたり経時的に耳静脈より血液約 1 mL を採取した後、3000 rpm で 3 分間遠心分離を行い、血漿を分離して試料とした。試料中のプロゲステロン量をラジオイムノアッセイ法⁸⁾ (プロゲステロンキット「第一」II) により測定した。測定は、それぞれの坐剤について 1 群 5 羽とし、その平均値を求めた。

6) 計算

薬物放出試験および薬物吸収試験における各種パラメータは、山岡ら⁹⁾のプログラムより求めた。

結果および考察

1. 坐剤の特性値

坐剤の強度を Fig. 1 に示す。コントロールである処方 A の強度は 1.69 ± 0.03 kg であるのに対して、カプリン酸ナトリウムを添加した処方 B、処方 C および処方 D の強度はそれぞれ 2.14 ± 0.24 kg, 2.19 ± 0.23 kg, 2.08 ± 0.32 kg であった。本結果より、カプリン酸ナトリウムを坐剤に添加することにより、強度が増す傾向が観察されたが、処方間での有意差は認められなかった。坐剤の強度は、保存時および使用時に評価される特性値の一つである。本研究で調製した坐剤の使用にあたり、いずれも問題はないと判断した。

Fig. 1. Effect of Sodium Caprate on the Strength of Progesterone Suppositories. Formulation (A)~(D) represented in Table 1. Mean $\pm$ S. D. (n=15).

一方、処方 A, B, C, および D 坐剤のピーク温度は、 $39.4 \pm 0.6^\circ\text{C}$, $39.5 \pm 0.9^\circ\text{C}$, $40.1 \pm 1.2^\circ\text{C}$, $39.6 \pm 0.9^\circ\text{C}$ であった。坐剤の融点は投与後の薬物放出に大きな影響を与える要因である。本試験結果からは、混合型ウイテプゾール基剤にカプリン酸ナトリウムを加えたことによる坐剤の融解への影響はないものと判断した。

2. 薬物放出に関する特性

1) 表面構造

レーザー顕微鏡を用いて観察した放出試験開始 24 時間後における坐剤の表面画像を Fig. 2 に示す。いずれの坐剤も同様な画像であり、処方間に大きな相違がみられなかったことから、カプリン酸ナトリウム添加による肉眼的な表面状態の変化は少ないものと判断した。坐剤表面の試験開始前と試験開始 24 時間後の高度差および平

Fig. 2. Microscopic Surface of Progesterone Suppositories at 24 Hours (X20). Formulation (A)~(D) represented in Table 1.

均粗さの値と変化率を Table 2 に示す。放出試験開始前におけるカプリン酸ナトリウムを添加した坐剤の高度差は、無添加の坐剤に比べて低い値を示した。また、24時間後における高度差はいずれも低下し、カプリン酸ナトリウム添加率が増すと、高度差の変化率は低下する傾向を示した。試験開始前における平均粗さは、カプリン酸ナトリウムの添加により処方 A に比べて低い値となった。放出試験開始24時間後の表面粗さは、いずれも低下したが処方間に大きな差は認められなかったことから、カプリン酸ナトリウム添加による坐剤表面の影響は少ないものと判断した。しかし本結果が試験開始前と24時間後のみの結果での評価であることから、今後は経時的な表面状態の観察も必要と考える。

2) 薬物放出性

円筒ろ紙法による薬物放出量と薬物放出速度の経時的变化を Fig. 3 に示す。試験開始24時間後における処方 A, B, C および D の薬物放出量 (平均 $\pm$ S.D.) は、 $21.7 \pm 4.3\text{mg}$, $31.4 \pm 4.7\text{mg}$, $43.4 \pm 9.1\text{mg}$, $43.8 \pm 5.7\text{mg}$ で、試験開始24時間までの台形法で求めた薬物放出曲線下面積 (ADT) は、 $21.7 \pm 4.3\text{mg} \cdot \text{h/mL}$, $31.4 \pm 4.7\text{mg} \cdot \text{h/mL}$, $43.4 \pm 9.1\text{mg} \cdot \text{h/mL}$, $43.8 \pm 5.7\text{mg} \cdot \text{h/mL}$ であり、放出が持続した。また、各坐剤のみかけの薬物放出速度の最高値を示すまでの時間は、カプリン酸ナトリウムを添加した処方 B, C, D では3時間であり、その値も処方 A の1.0~1.5倍となった。以上の結果から、水溶性のカプリン酸ナトリウムの混合型坐剤への添加は、

Table 2. Change of Maximum Height of the Profiles (Ry) and 10-point Height of Irregularities (Rz) before and after 24 Hours.

	Formulation	Before	After 24hr	Difference	(%)
Ry	A	$308.5 \pm 45.4 \mu\text{m}$	59.1 ± 6.7	249.4	80.8
	B	256.7 ± 18.1	49.4 ± 6.5	207.3	80.7
	C	283.4 ± 11.0	72.7 ± 5.5	210.7	74.3
	D	247.4 ± 26.1	64.8 ± 8.8	182.6	73.8
Rz	A	309.9 ± 57.6	73.4 ± 8.7	236.4	76.3
	B	279.9 ± 36.1	65.5 ± 3.4	214.4	76.2
	C	287.1 ± 8.9	79.9 ± 4.9	207.4	72.2
	D	278.0 ± 21.3	76.7 ± 3.1	201.3	72.4

Mean $\pm$ S. D. (n=10).

Fig. 3. The Time Course Changes in Release Amount and Rate of Progesterone from Suppositories.

○; Form A, △; Form B, □; Form C, ●; Form D

Mean $\pm$ S. D. (n=6).

Fig. 4. The Amount of Progesterone Released as a Function of the Square Root of Time.

○; Form A, △; Form B, □; Form C, ●; Form D

薬物の徐放性を有しながら初期の薬物放出性も増加することが示された。

Fick の法則¹⁰⁾を適用し、横軸に時間の平方根、縦軸に薬物放出量をあてはめた (Fig. 4)。本剤の処方では直線性を示し、得られた直線回帰式の r^2 値 (決定係数) も処方 A が 0.975 であるのに対して処方 C, D はいずれも 0.996 であった。したがって、カプリン酸ナトリウムを添加した混合基剤のプロゲステロン坐剤からの薬物放出は基剤のマトリクスを介して行われるものと判断した。この結果は、前報⁴⁾で得られた結果と一致した。カプリン酸ナトリウムを添加すると、マトリクスからまず水溶性のカプリン酸ナトリウムが溶解し、孔をつくるため、薬物の放出性が高くなったと推察した。

3) *In vivo* 薬物吸収性

ウサギを用いた *in vivo* 投与試験で得られた血漿中プロゲステロン濃度の経時変化を Fig. 5 に示す。カプリン酸ナトリウムを添加した坐剤では、投与開始直後から血漿中プロゲステロン値が急激に上昇する傾向を示した。ちなみに、坐剤の投与 10 分後における処方 A のプロゲステロン濃度が $22.6 \pm 3.6 \text{ ng/mL}$ (平均値 $\pm$ S.E.) であったのに対して、カプリン酸ナトリウムを添加した処方 B, C, D の坐剤は $30.8 \pm 6.6 \text{ ng/mL}$ (1.4 倍), $30.5 \pm 5.8 \text{ ng/mL}$ (1.4 倍), $44.2 \pm 7.0 \text{ ng/mL}$ (2.0 倍) であった。試験開始 6 時間までの台形法で算出した薬物血漿中濃度曲線下面積 (AUC_{0-6}) は、カプリン酸ナトリウムの添加により増加する傾向を示し、処方 D の AUC_{0-6} 値は処方 A の約 1.3 倍となった。以上の知見から、投与初期の血漿中プロゲステロン濃度値は、カプリン酸ナトリウム添加によって急激に増加すること、ウイテプゾー

Fig. 5. Plasma Concentration of Progesterone after the Administration of Suppositories to Rabbits.

○; Form A, △; Form B, □; Form C, ●; Form D

Mean $\pm$ S. E. ($n = 6$).

ル W35のみを用いた従来の坐剤にくらべて長時間持続することが明らかとなった。これは、カプリン酸ナトリウムが坐剤の投与直後から放出されて膣粘膜に作用して薬物吸収促進作用をもたらす、坐剤への体液の侵入とともに内部のプロゲステロンがマトリクスを介して放出されたためであると考えられる。

製剤の開発にあたり、患者の QOL の改善・向上は重要な因子となる。従来からの経口投与や筋肉内投与によるプロゲステロンの黄体補充療法が種々の問題点を有することから、坐剤による投与が行われるようになった¹¹⁾。しかし、一般に膣坐剤の基剤としてマクロゴールが使用されるが、粘膜刺激性を有することから、時として炎症・出血が問題となる。著者らは、坐剤の基剤としてウイテプゾールを用いたプロゲステロン坐剤¹²⁾による膣投与を考案し、これらの問題点を改善した¹³⁾。

体外受精・胚移植にあたっては、血中プロゲステロン値が高い ($> 9 \text{ ng/mL}$) 例ほど、妊娠成功率は高いことが報告¹⁴⁾されている。したがって、黄体補充に際しては、ある時間一定の血漿中薬物濃度を保ち、濃度を有効濃度へ達するまでの時間を短縮し、生物学的利用能を高めるプロゲステロン坐剤が求められる。本研究で、異なる 2 種類のウイテプゾールを混合した坐剤基剤が、徐放性を示すことに加えてカプリン酸ナトリウムの添加によって、投与直後の薬物吸収量を向上させることを明らかにした。著者らは、カプリン酸ナトリウムの混合型基剤への添加は、坐剤の強度や表面状態を大きく変えることなく、マトリクスを介した薬物の放出性を高くし、さらに膣粘膜に対して吸収促進作用を示したと推察してい

る。今後、これらの現象の仮説についてさらに検討の上
解明したい。

謝辞 本研究にあたり、ご協力をいただいた川崎ゆり、北野
とおる両氏に感謝いたします。

引用文献

- 1) C. J. C. M. Hamilton, K. A. Jaroudi, U. V. Siek, The value of luteal support with progesterone in gonadotropin-induced cycles, *Fertility and Sterility*, **60**, 786-790 (1993).
- 2) P. Devroey, G. Palermo, C. Bourgain, L. Van Waesberghe, J. Smits, A.C. Van Steirteghem, Progesterone administration in patients with absent ovaries, *Int. J. Fertil.*, **34**, 188-193 (1989).
- 3) D.W. Polson, P.A.W. Rogers, A. Krapez, J.F. Leeton, Vaginal progesterone as luteal phase support in an IVF/GIFT programme, *Eur. J. Obstet Gynecol. Reprod. Biol.*, **46**, 35-38 (1992).
- 4) M. Iwata, S. Komiya, T. Nakamura, M. Kiuchi, N. Andou, F. Hirahara, Y. Maitani, K. Takayama, Release of progesterone from mixed base type suppositories consist of Witepsols, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 受理.
- 5) 岩田政則, 高山幸三, 高橋由里, 小幡誉子, 町田良治, 永井恒司, 城武昇一, 基剤混合型ジクロフェナクナトリウム坐剤からの薬物放出及び薬物吸収に対する温度の影響, *薬学雑誌*, **119**, 170-177 (1999).
- 6) T. Murakami, H. Kawakita, M. Kishimoto, Y. Higashi, H. Amagase, T. Hayashi, N. Nojima, T. Fuwa, N. Yata, Intravenous and subcutaneous pharmacokinetics and rectal bioavailability of human epidermal growth factor in the presences of absorption promoter in rats, *Int. J. Pharm.*, **46**, 7-9 (1988).
- 7) 岩田政則, 城武昇一, 黄崇智, 町田良治, 永井恒司, ビーズおよび円筒ろ紙を用いた坐剤試験法の開発, *病院薬学*, **20**, 273-278 (1994).
- 8) 牧野恒久, 岡親弘, 原利夫, 元山鎮雄, 田淵土志夫, 原崇文, 飯塚理八, 西江晴男, 新しいチューブ固相法 RIA キットによるヒト血中 Estradiol, Progesterone の動態の研究, *ホルモンと臨床*, **36**, 975-979 (1988).
- 9) K. Yamaoka, T. Nakagawa, T. Uno, Statistical moments in pharmacokinetics, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **6**, 547-558 (1978).
- 10) J.B. Schwartz, A.P. Simnelli, W.I. Higuchi, Drug release from wax matrices. 1. Analysis of data with first-order kinetics and with diffusion-controlled method, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 274-277 (1968).
- 11) L.N. Weckstein, K. Hampton, A. Jacobson, K. Ivani, D. Galen, J. Andres, Improvement of pregnancy rates with oocyte donation in order recipients with the addition of progesterone vaginal suppositories, *Fertility and Sterility*, **60**, 573-575 (1993).
- 12) 岩田政則, 城武昇一, 平原史樹, 水口弘司, 町田良治, 永井恒司, プロゲステロン坐剤の臨床効果と徐放性二相坐剤の開発, *薬剤学*, **53**, 148-154 (1993).
- 13) 平原史樹, 安藤紀子, 沢井かおり, 平吹知雄, 杉浦賢, 水口弘司, 岩田政則, 習慣性流産の病態と治療, *産婦人科の世界*, **48**, 993-1001 (1996).
- 14) O. Ishihara, J. Taya, Y. Iino, M. Saitoh, K. Kinoshita, The significance of luteal support for *in vitro* fertilization and embryo transfer patients, *Jpn. J. Fertil. Steril.*, **38**, 629-634 (1993).