製剤組成が異なる2種類のインドメタシン口腔スプレーの安定性評価

田澤佑基,^a 鏡 圭介,^a 渡辺祐子,^a 久保田康生,^a 原田幸子,^a
小林正紀,^a 山田武宏,^a 井関 健*,^{a,b}

Evaluation of the Stability of Indomethacin Oral Spray in Two Different Formulation Conditions

Yuki Tazawa,^a Keisuke Kagami,^a Yuko Watanabe,^a Kosei Kubota,^a Sachiko Harada,^a
Masaki Kobayashi,^a Takehiro Yamada,^a and Ken Iseki*,^{a,b}

^aDepartment of Pharmacy, Hokkaido University Hospital; Kita 14-jo, Nishi 5-chome, Kita-ku, Sapporo 060-8648, Japan; and

^bLaboratory of Clinical Pharmaceutics and Therapeutics, Division of Pharmasciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University; Kita 12-jo, Nishi 6-chome, Kita-ku, Sapporo 060-0812, Japan.

(Received September 4, 2017; Accepted December 21, 2017)

Indomethacin (IM) oral spray is a hospital preparation that is used to reduce pain from oral mucositis induced by radiotherapy and chemotherapy. IM oral spray consists of IM (0.25%) dissolved in KH₂PO₄-NaOH buffer (Formulation A) or Formulation A containing xylitol (Xyl) and glycerin (Gly) (Formulation B). To clarify the stability of IM oral spray in two different formulation conditions, we evaluated the residual rates of IM in these formulations to determine the optimal storage temperature and shelf-life. IM oral spray was stored at freezer temperature (−20°C), refrigerator temperature (4°C) and room temperature (25°C) for up to 16 weeks after preparation. The residual rate of IM was determined by using HPLC. The residual rates of IM in Formulation A and Formulation B after storage for 16 weeks at freezer temperature were ≥95%. When stored at refrigerator temperature, the residual rate of IM in Formulation A was 96.1% after 12 weeks, and the residual rates of IM in Formulation B were 95.8% after 2 weeks, 90.1% after 4 weeks and 72.7% after 12 weeks. These results suggested that Formulation A is stable for at least 12 weeks when stored at 4°C. However, degradation of IM seemed to be accelerated in the formulation containing Xyl and Gly, suggesting that the expiration date should be shortened to 2 weeks at 4°C. In addition, both formulations were stable for at least 16 weeks in a freezer, indicating that long-term preservation is possible.

Key words—indomethacin oral spray; storage temperature; shelf-life; glycerin; xylitol

緒 言

頭頸部がん治療及び造血幹細胞移植の前処置における放射線療法や大量化学療法施行時には口腔粘膜炎の発現頻度が非常に高い。^{1,2)} 口腔粘膜炎の予防に対しては、クライオセラピー、アロプリノールの含漱などが行われているが、これらは疼痛の軽減を目的としたものではない。^{3,4)} 口腔粘膜炎の疼痛コントロールに対しては、非ステロイド性消炎鎮痛薬のインドメタシン (indomethacin; IM) を溶解した IM 口腔スプレーが院内製剤として開発され、口腔粘膜炎の疼痛軽減効果やオピオイド使用量の減少など、その有用性が報告されてきた。⁵⁻⁷⁾

IM 口腔スプレーの調製は Chiba ら⁸⁾が報告した IM の原末をリン酸二水素カリウム-水酸化ナトリウム緩衝液に溶解した 1.25% の IM 溶液をベースとして、Shiratsuchi ら⁹⁾は 1.25% の IM 溶液を精製水で希釈し 0.25% の IM 溶液とした製剤を報告している (Formulation A)。また、Nakamura ら⁶⁾は甘味料としてキシリトール (xylitol; Xyl)、粘稠性を持たせるためにグリセリン (glycerin; Gly) を添加した製剤を報告している (Formulation B)。このように IM 口腔スプレーには 2 種類の製剤が臨床応用されており、⁷⁾ 施設間で使用されている製剤組成は異なっている。

院内製剤は患者のニーズに合わせた薬剤の調製ができる一方で、使用期限を設定する上で重要な調製後の安定性や製剤中の主薬の安定性に及ぼす添加物の影響に関する情報が十分ではない。IM 口腔スプ

^a北海道大学病院薬剤部, ^b北海道大学大学院薬学研究
院臨床薬剤学研究室

*e-mail: ken-i@pharm.hokudai.ac.jp

レーの使用期限は 1.25% の IM 溶液で検討した報告に基づき、調製後から冷所 (4°C) 保存で 1 ヶ月と設定されている。^{7,9)} 製剤中の IM の分解は加水分解が主たる要因であるが、¹⁰⁾ Gly の IM 分解促進作用やその分解経路に関する報告もある。¹¹⁻¹³⁾ つまり、Gly を含有した製剤の使用期限は冷所 (4°C) 保存で 1 ヶ月より短い可能性があるが、製剤の安定性が評価されていないため最適な使用期限は明らかではない。

そこで本研究では、製剤組成が異なる 2 種類の IM 口腔スプレーの安定性を比較し、IM 口腔スプレーの使用期限を冷所 (4°C) 条件下で 1 ヶ月とすることの妥当性を検証した。また、Gly を含有した製剤の適切な保存温度と使用期限の設定を目的とした検討も併せて行ったので、ここに報告する。

方 法

1. IM 口腔スプレーの調製方法 Chiba ら⁸⁾ の報告に従い、1.25% の IM 溶液を調製した。すなわち、0.625 g の IM (和光純薬工業株式会社、大阪) を 0.2 M リン酸二水素カリウム (和光純薬工業株式会社、大阪) : 0.2 M 水酸化ナトリウム (和光純薬工業株式会社、大阪) = 1 : 1 の溶液 (約 35 mL) に分散させたあとに、0.2 M 水酸化ナトリウム (約 9 mL) を徐々に加えて完全に溶解させた。その後、0.2 M リン酸二水素カリウムを加えて pH メーター LAQUA (株式会社堀場製作所、京都) を用いて pH を 7.4 に調整した後、精製水を加えて全量を 50 mL とし、1.25% IM 溶液とした。次に調製した 1.25% の IM 溶液 20 mL を精製水で全量を 100 mL とし、Formulation A を調製した。また、Formulation B は 1.25% の IM 溶液 20 mL に Xyl (和光純薬工業株式会社、大阪) を 5 g、Gly (和光純薬工業株式会社、大阪) を 16 mL 加え、精製水で全量を 100 mL とし、調製した。調製した溶液は 0.22 μ m のメンブランフィルターマイレクス® GV (Merck Millipore, Billerica) でろ過し、遮光したガラスバイアル (三田理化学工業株式会社、大阪) に 10 mL ずつ分注したものを IM 口腔スプレーとした。

2. IM の定量方法 IM の定量は Chiba ら⁸⁾ の方法を一部改変して HPLC 法で測定した。HPLC はすべて株式会社島津製作所製 (京都) の検出器 (SPD-20A)、カラムオープン (CTO-20AC)、オー

トサンプル (SIL-30AC)、送液ポンプ (LC-30AD)、データ処理装置 (C-R8A) で構成されたものを使用した。移動相は 10 mM 酢酸緩衝液 (pH=4.7) / メタノール (40 : 60, v/v) を流速 1.0 mL/min で流した。カラムは TSK-gel ODS-80TS (5 μ m, 4.6 mm I.D. $\times$ 150 mm, 東ソー株式会社、東京) を使用し、カラム温度は 30°C、検出波長は 254 nm とした。サンプルは 10 μ L を注入した。酢酸緩衝液を調製するのに酢酸 (和光純薬工業株式会社、大阪) と酢酸ナトリウム (和光純薬工業株式会社、大阪) を使用した。メタノールは HPLC 用 (和光純薬工業株式会社、大阪) を使用した。IM の分解物を定性分析するために、IM の加水分解物である 5-メトキシ-2-メチルインドール-3-酢酸 (5-methoxy-2-methylindole-3-acetic acid; MMA, 和光純薬工業株式会社、大阪) と 4-クロロ安息香酸 (4-chlorobenzoic acid; CBA, 和光純薬工業株式会社、大阪) を使用した。

3. IM 口腔スプレーの保存条件と安定性の評価方法 調製した IM 口腔スプレーは冷凍 (-20°C)、冷所 (4°C) 及び室温 (25°C) 条件下で 16 週間まで保存し、継続的に IM 残存率を算出した。また、IM の安定性に及ぼす添加物の影響を明らかにするために Formulation A に Xyl のみを添加した製剤と Gly のみを添加した製剤をそれぞれ調製し、冷所 (4°C) 条件下で調製から 4 週間後の残存率を Formulation A の残存率と比較した。凍結融解による安定性の評価は冷凍 (-20°C) と室温 (25°C) の繰り返しによって行った。IM 残存率は調製直後の IM 含量を 100% とし、3 ロットの平均値として算出した。使用期限は有効成分の 95% 以上を保つ条件とした。

4. 統計解析 統計処理には、JMP® Pro12 (SAS Institute Inc., Cary) を用いた。各組成間の残存率の比較には Tukey 法を用いて解析を行い、有意水準は $p < 0.05$ とした。

結 果

1. IM 口腔スプレーの安定性の評価

1-1. 保存温度による IM の安定性 調製した IM 口腔スプレーを冷凍 (-20°C)、冷所 (4°C) 及び室温 (25°C) 条件下で 16 週間まで [室温 (25°C) 条件下では 2 週間まで] 保存し、継続的に製剤中の IM 残存率を算出した (Table 1)。その結果、冷凍

Table 1. Stability of IM Spray under Different Storage Conditions

Storage conditions	Formulation	Residual rate (%)							
		1 day	3 days	1 week	2 weeks	4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Freezer temperature −20°C	Formulation A Gly (−), Xly (−)	—	—	—	100.5±0.4	100.4±0.4	100.4±0.5	100.2±0.4	100.3±0.6
	Formulation B Gly (+), Xly (+)	—	—	—	100.3±0.2	100.2±0.2	99.9±0.3	99.7±0.5	99.4±1.0
Refrigerator temperature 4°C	Formulation A Gly (−), Xly (−)	—	—	—	99.7±0.3	98.9±0.5	97.4±0.4	96.1±0.4	94.4±0.5
	Formulation B Gly (+), Xly (+)	—	—	—	95.8±0.7	90.1±0.6	80.3±0.3	72.7±0.6	65.2±0.8
Room temperature 25°C	Formulation A Gly (−), Xly (−)	99.6±0.2	98.3±0.1	94.8±0.4	90.3±0.1	—	—	—	—
	Formulation B Gly (+), Xly (+)	96.1±0.2	88.4±0.1	73.3±0.4	55.7±1.3	—	—	—	—

IM oral spray was stored at freezer temperature (−20°C), refrigerator temperature (4°C) and room temperature (25°C) for up to 16 weeks. Each point represents the mean with S.D. ($n=3$).

Table 2. Effect of Xyl and Gly on Residual Rate of IM

Storage conditions	Formulation	Residual rate (%)	pH
		4 weeks	Just after preparation
Refrigerator temperature 4°C	Formulation A Gly (−), Xly (−)	98.5±0.5	7.6
	Gly (−), Xly (+)	94.7±0.4*	7.5
	Gly (+), Xly (−)	92.0±0.6*,†	7.6
	Formulation B Gly (+), Xly (+)	89.8±0.7*,†,‡	7.5

IM oral spray was stored at refrigerator temperature (4°C) for 4 weeks. Each residual rate and pH represents the mean with S.D. and the mean respectively ($n=3$).

* $p<0.01$ compared to Formulation A; † $p<0.01$ compared to formulation containing Xly; ‡ $p<0.01$ compared to formulation containing Gly.

(−20°C) 条件下で保存したときの Formulation A と Formulation B の残存率は調製から 16 週間まで低下を認めなかった。一方、冷所 (4°C) 条件下で保存した場合、Formulation A の IM の残存率は調製から 12 週間で 96.1% であったが、Formulation B の残存率は調製後から経時的に低下し、2, 4, 12 週間後ではそれぞれ 95.8%, 90.1% 及び 72.7% であった。また、室温 (25°C) 条件下では Formulation A と Formulation B の IM の残存率はともに調製から 1 週間で 95% を下回った。

1-2. 添加物の IM の安定性への影響 IM の安定性に及ぼす添加物の影響を明らかにするために Formulation A に Xyl と Gly を単独又は両方添加した製剤 (Formulation B) を調製し、冷所 (4°C) 条件下にて保存した場合の IM 残存率を比較した (Table 2)。その結果、調製から 4 週間の時点で Xyl と Gly を単独又は両方添加した製剤 (Formulation B) の残存率はそれぞれ 94.7%, 92.0% 及び 89.8% と

Table 3. Effect of Freezing and Thawing on Stability of IM

Freezing and thawing (cycles)	Formulation	Residual rate (%)
5	Formulation A Gly (−), Xly (−)	100.7±0.1
	Formulation B Gly (+), Xly (+)	100.2±0.5

Each point represents the mean with S.D. ($n=3$).

なり Formulation A の残存率 98.5% と比較して有意に低下した。また、Gly を単独で添加した製剤の残存率は Xyl を単独で添加した製剤の残存率と比較して有意に低下した。なお、調製直後の pH はどの組成も 7.5 付近であった。

1-3. 凍結融解による IM の安定性への影響

IM の安定性に及ぼす凍結融解の影響を検討した。その結果、凍結融解を 5 回繰り返しても Formulation A と Formulation B の IM 残存率はそれぞれ 100.7%, 100.2% となり低下を認めなかった (Table 3)。

Fig. 1. Typical HPLC Chromatograms of IM and Degradation Products in Formulation A and Formulation B
IM oral spray was stored at refrigerator temperature (4°C) for 4 weeks after preparation.

2. IM 分解物の定性分析 IM の分解物を同定するために定性分析を行った. 冷所 (4°C) 条件下で調製から 4 週間保存後の Formulation A のクロマトグラム上には 2 種類の分解物が認められた (Fig. 1). この分解物の保持時間は同じ条件で測定した IM の加水分解生成物である MMA と CBA の保持時間と一致した. 一方, Formulation B のクロマトグラム上には MMA, CBA 以外にも複数のピークが検出された (Fig. 1).

考 察

今回, われわれは IM 口腔スプレーの使用期限を冷所 (4°C) 保存で 1 ヶ月とする妥当性の評価, 及び Gly を含有する IM 口腔スプレーの最適な保存温度と使用期限の設定を目的として検討した.

IM 口腔スプレーの安定性評価の結果, Xyl と Gly を含まない Formulation A は冷所 (4°C) 保存では調製から 12 週間は安定であることが示され, これまで使用期限とされてきた冷所 (4°C) 保存で 1 ヶ月とする妥当性は確認できた. また, 冷凍 (-20°C) 保存では調製から少なくとも 16 週間安定であり, 凍結保存することで長期保存が可能であることが明らかとなった. Momo ら¹⁰⁾ も Gly と Xyl を含まない IM 口腔スプレーで安定性を評価し, 冷所 (4°C) 保存では約 2 ヶ月間, 冷凍 (-20°C) 保存では 2 年間安定であり, 凍結融解は IM の安定性に影響を及ぼさないことを報告していることから, 冷凍保存することで調製業務の効率化が期待できると考えられる.

一方, Gly と Xyl を含む Formulation B は冷所 (4°C) 保存では調製後 4 週間で残存率が 95% を下回り, 使用期限は調製から 2 週間までとするのが妥当と考えられた. また, 冷凍 (-20°C) 保存では Formulation A と同様に少なくとも 16 週間は安定であり, 長期保存が可能であることが明らかとなった. さらに, Formulation A に Xyl 又は Gly を添加することで安定性が低下したことから, Xyl と Gly の両添加物が IM の分解促進に寄与していると示唆された. IM の安定性低下作用は Xyl よりも Gly を添加したときに大きかったことから Gly の方が IM の分解促進への寄与が大きいと考えられた. IM はアルカリ条件下で加水分解され易い化合物である⁸⁾ ことから調製後の pH を測定したが, どの製剤でも pH 7.5 付近であったことから, 安定性の差は pH によるものではなく, IM と添加物の直接的な反応によるものと考えられた.

そこで IM の分解機構について考察を行った (Fig. 2). Curran ら,¹²⁾ Kwong ら¹³⁾ は, Gly を含む IM 坐剤の分解物について解析し, 4-chlorobenzoic acid- α -monoglyceride (CMG) と IM- α -monoglyceride を同定している. また, Chiba ら¹¹⁾ は IM と Gly が直接反応して CMG が生成すると報告している. 今回, Formulation B のクロマトグラム上に検出した MMA と CBA 以外のピークを同定するには至らなかったが, 前述の報告から IM のグリセライドに由来するピークと推察された. また, Xyl に関しても IM となんらかの反応を起こしていると推察されるが, 分解物の同定には至らず, 詳細な反応機

Fig. 2. Decomposition Mechanism of IM

構については、今後の検討課題である。一方、Formulation A のクロマトグラム上には分解物として MMA と CBA のみが検出されたことから、Formulation A 中の IM の分解は加水分解のみで説明できると考えられる。

患者の IM 口腔スプレーの使用実態についてみると頭頸部がん患者における IM 口腔スプレーの使用期間は平均 29 日 (5–53 日) と報告されている。¹⁴⁾ われわれの安定性評価から室温 (25℃) 保存では IM の分解は速やかで Formulation A では調製から 1 週間後には 95% 以下の残存率となり、Formulation B では調製から数日後には残存率が 95% 未満となったことから製剤の払い出し後の主成分 IM の分解を抑えるためには、冷所管理の徹底が重要であると考えられる。

われわれが行った検討から Xyl と Gly 含まない Formulation A のほうが Xyl と Gly を含む Formulation B より安定性で優れ、調製業務の効率面で有用であると考えられた。Xyl と Gly を含む Formulation B を使用する場合には、冷所 (4℃) 保存でも 2 週間後には 95.8% まで残存率が低下したことから、病棟で使用する場合は払い出しを行うまでは薬剤部で凍結保存することが必要と考えられ、解凍後は短期間で使い切れるように IM 口腔スプレー 1 本あたりの容量を少なくするなどの対策が必要であると考えられた。また、今回の検討では、一定の温度条件下での安定性評価を行ったが、冷凍 (−20℃)

から冷所 (4℃) さらに室温 (25℃) へと実際に患者が使用する場合を想定し、保存条件を変化させて安定性評価を行うことでより最適な使用期限の設定が可能になると考える。さらに、有効性に関連する口腔内への滞留性、¹⁵⁾ 使用感に関する味や刺激感については評価していないが、Suzuki ら¹⁶⁾ は Gly の増粘剤としての効果は不十分であるとし、ポリアクリル酸ナトリウムや熱応答ゲルに変更し、口腔内への滞留性を向上させた新規 IM 口腔スプレーを報告している。今後、製剤組成の最適化を行う際には口腔内への滞留性と使用感に関しても考慮する必要があるものと考えられる。また、IM の安定性に影響を及ぼさない増粘剤や甘味料を探索することで安定性と疼痛コントロールの 2 つの面で更なる有用性の向上が期待できると考えられる。

以上の結果より、主薬の安定性の観点から IM 口腔スプレーの使用期限は Xyl と Gly を含まない製剤では冷所保存で調製から 12 週間以内まで、一方の Xyl と Gly を含む製剤では調製から 2 週間以内までとすることが望ましいことを明らかにした。また、両製剤とも冷凍保存では少なくとも 16 週間まで安定であり、長期保存が可能であることが明らかとなった。IM 口腔スプレーの品質を適切に保つためには、製剤組成に応じた保存期間の設定が重要であり、本研究結果は院内製剤の適正な保存方法の観点において重要な情報となると考えられる。

利益相反 開示すべき利益相反はない

REFERENCES

- 1) Trotti A., Bellm L. A., Epstein J. B., Frame D., Fuchs H. J., Gwede C. K., Komaroff E., Nalysnyk L., Zilberberg M. D., *Radiother. Oncol.*, **66**, 253–262 (2003).
- 2) Graziutti M. L., Dong L., Miceli M. H., Krishna S. G., Kiwan E., Syed N., Fassas A., van Rhee F., Klaus H., Barlogie B., Anaissie E. J., *Bone Marrow Transplant.*, **38**, 501–506 (2006).
- 3) Lalla R. V., Bowen J., Barasch A., Elting L., Epstein J., Keefe D. M., McGuire D. B., Migliorati C., Nicolatou-Galitis O., Peterson D. E., Raber-Durlacher J. E., Sonis S. T., Elad S., *Cancer*, **120**, 1453–1461 (2014).
- 4) Takemi T., Iwase M., Kamijo R., Kurachi Y., Mizuno T., Nagumo M., *Oral Therap. Pharmacol.*, **15**, 8–11 (1996).
- 5) Shiratsuchi T., Makimura M., Furukawa T., Miwa H., Takezawa M., Kan Y., *Jpn. J. Clin. Res. Death Dying*, **23**, 98–103 (2000).
- 6) Nakamura T., Aoyama T., Yanagihara Y., Yamada Y., Miyoshi A., Kanda Y., Hirai H., Furukawa T., Iga T., *Yakugaku Zasshi*, **123**, 1023–1029 (2003).
- 7) “Byoin Yakkyoku Seizai Jireishu,” ed. by Japanese Society of Hospital Pharmacists, YAKUJI NIPPO LIMITED, Tokyo, 2013, pp. 94–96.
- 8) Chiba K., Takahashi M., Hayase N., Akutsu S., Inagaki S., *Jpn. J. Hosp. Pharm.*, **18**, 43–51 (1992).
- 9) Chiba K., Takahashi M., Hayase N., Akutsu S., Inagaki S., *Iyaku J.*, **26**, 1173–1178 (1990).
- 10) Momo K., Homma M., Suzuki Y., Kambayashi Y., Kohda Y., *Yakuzaigaku*, **74**, 211–216 (2014).
- 11) Chiba K., Takahashi M., Hayase N., Akutsu S., Inagaki S., *Yakuzaigaku*, **52**, 199–206 (1992).
- 12) Curran N. M., Lovering E. G., McErlane K. M., Watson J. R., *J. Pharm. Sci.*, **69**, 187–189 (1980).
- 13) Kwong E., Pillai G. K., McErlane K. M., *J. Pharm. Sci.*, **71**, 828–830 (1982).
- 14) Ebina K., Kizawa Y., Homma M., Wada T., Momo K., Hosono H., Kohda Y., *Palliative Care Research*, **2**, 301–305 (2007).
- 15) Ito A., Fujii E., *Iyaku J.*, **37**, 3090–3093 (2001).
- 16) Suzuki K., Yanagihara Y., Aoyama T., Suzuki H., Iga T., *Iyaku J.*, **40**, 2322–2327 (2004).