

エタノールアミンオレート注射液の製剤方法の検討と臨床への適用

鈴木広幸, 梅津隆夫, 庄司達雄,*¹ 正木盛夫,
藤原和雄, 小原勝敏, 粕川禮司,*² 鈴木裕子*³

福島県立医科大学附属病院薬剤部*¹

福島県立医科大学第2内科*²

福島県衛生公害研究所*³

**Preparation of Ethanolamine Oleate Injection
and Its Clinical Application**

HIROYUKI SUZUKI, TAKAO UMETSU, TATSUO SHOJI,*¹
MORIO MASAKI, KAZUO FUJIWARA, KATSUTOSHI OBARA,
REIJI KASUKAWA,*² HIROKO SUZUKI*³

Pharmacy, Fukushima Medical College Hospital*¹

Second Department of Internal Medicine, Fukushima Medical College*²

Fukushima Institute of Health*³

(Received July 10, 1985)

5% ethanolamine oleate (EO) as sclerosant in the treatment of esophageal varices was prepared under various conditions, and the stability of the solution at room temperature for 7 or 8 weeks was studied. Oleic acid in EO was measured as an indicator for stability of the solution by means of gas chromatograph. It was found that dissolved oxygen-removed EO was more stable than untreated one. Neither treatment of N₂ gas exchange in vial cavity nor autoclaving was essential to keep the content of oleic acid in EO for 8 weeks.

24 (88.9%) out of 27 patients with esophageal varices treated with endoscopic embolization using 5% EO made by our pharmacy were successfully treated. Frequency of complications and abnormal laboratory findings after treatment with the solution showed a rate which is roughly similar to the results reported by other researchers.

Keywords—ethanolamine oleate; sclerosing solutions; sclerosants; stability; injection sclerotherapy; endoscopic embolization; esophageal varices; varicose veins

はじめに

静脈瘤に対する硬化剤注入療法は古く、これまでさまざまな硬化剤が使用されてきている(表1)。

著者らは ethanolamine oleate 注射液を院内製剤して食道静脈瘤に対する臨床応用を試み、良好な成績を得たので報告する。

Ethanolamine oleate 注射液は国内では製造または輸入販売がされていないが、英国薬局方¹⁾に記載がされているため、国内の病院においては、これに従って院内製剤を行っているものと思われる。²⁾ 著者らは英国薬局方に準拠して製剤を繰り返すうち、製造ロットの違いにより臨床効果に差が生じることを認めたので、注射液の製剤方法と経時的安定性について見直しを行った。

Ethanolamine oleate 注射液の安定性に関しては、今村ら³⁾および武田ら⁴⁾の報告がある。今村ら³⁾によると、ethanolamine oleate 注射液を 115°C、30分間の条件で滅菌した場合、滅菌直後のオレイン酸残存率は 83.1~84.6%であり、加熱滅菌によって15%程度減少すること

*^{1,2} 福島県福島市杉妻町4-45; 4-45, Sugitsuma-cho, Fukushima-shi, Fukushima, 960 Japan

*³ 福島県福島市方木田字水戸内16-6; 16-6, Azamitouchi, Hokida, Fukushima-shi, Fukushima, 960 Japan

が示されている。また、冷蔵庫内に保存して30日を経過した時点ではおよそ70%の残存率であるとし、また、結果は明示されていないが、アンプル内の空気を窒素ガスで置換して好成績が得られたと報告している。

一方、武田ら⁴⁾の報告では、アンプル内の窒素ガス置換の有無と加熱滅菌・非滅菌の組み合わせで4条件を設定し、製剤後の経時変化を追っているが、いずれの条件であっても8週間経過後もオレイン酸含量の低下は見られない。

これら2つの報告を比較すると、加熱滅菌およびアンプル内空気の窒素ガス置換が製剤の安定性に及ぼす影響について一致した結果とはなっていない。

そこで2つの因子の影響を確認することに加え、注射液中に溶存する酸素の影響について、製剤中のオレイン酸含量を指標として製剤の安定性の検討を行い、また、原料オレイン酸の純度についても検討を行った。

実験の部

1. オレイン酸定量法の検討

英国薬局方¹⁾の「Ethanalamine Oleate Injection」の項では製剤中のオレイン酸定量法として、抽出した後、水酸化ナトリウム液で滴定する方法を採用している。これに準じて試料K, T (原料オレイン酸; 後述) の滴定を行ったところ、それぞれ101.1%, 97.9%であった。試料Tの場合、試薬メーカーの検査成績では90.3%⁶⁾であり、滴定値とくい違っている。市販のオレイン酸には不純物としてステアリン酸、パルミチン酸、リノール酸などが含まれるものと予想される⁶⁾ので、このような相違した値になったものと思われる。したがって、英国薬局方に規定された方法では原料オレイン酸の純度や注射液中のオレイン酸の経時変化を正確に測定することが困難であると思われるので、ガスクロマトグラフによって定量を行った。

2. 標準品および使用薬品

- オレイン酸メチルエステル標準品 (ガスクロ工業)
- オレイン酸標準品 (P-L Biochemicals, Inc.)
- 脂肪酸メチルエステル定量用混合試料 (ガスクロ工業)
- オレイン酸 Extra Pure Reagent (関東化学), EP (東京化成)
- 0.1 N 硫酸: 容量分析用
- Dimethylformamide dimethylacetal (ガスクロ工業)
- その他モノエタノールアミン, ベンジルアルコール,

表 1. これまでに使用されてきた硬化剤

Sodium morrhuate (Varicocid) ^{9,10,13,16,18)}
Quinine ¹⁰⁾
Ethanalamine oleate ^{3,11,14,15,20,21,22)}
Bucrylate ¹⁷⁾
Polidocanol (Aethoxysklerol) ¹⁹⁾
Phenolmandelöl ¹⁹⁾
Sodium psylliate ¹¹⁾
Oleate quinine ¹¹⁾
Moru-Quin ¹¹⁾
Quinine-uretan ¹²⁾

表 2. 試料

(1) 原料オレイン酸

試料記号	品名・規格・製造番号
K	オレイン酸・Extra Pure Reagent・Test No.703 S 5013
T	オレイン酸・EP・Lot. AT 01

(2) 注射液

試料記号	溶存酸素	バイアル上部空間の窒素ガス置換	加熱滅菌	抗酸化剤
	除去……………○ 除去しない…×	置換……………○ 置換しない…×	滅菌……………○ 滅菌しない…×	添加……………○ 添加しない…×
①	×	○	×	×
②	○	○	×	×
⑥	×	○	×	○
A	×	×	×	×
B	×	×	○	×

亜硫酸ナトリウム、クロロホルム、無水芒硝およびアセトンは市販特級品を用いた。

いずれの薬品も特に精製せず、そのまま用いた。

3. 試料

(1) 原料オレイン酸：表2に示した。

(2) 注射液：表2に示した。

溶存酸素除去の方法：製剤に用いる蒸留水を煮沸し、冷後窒素ガスを7分間注入した。

バイアル上部空間の窒素ガス置換の方法：実際の製剤にあたって実施可能な方法として、バイアル内に窒素ガスを吹き込んで空気と置換し、速やかにキャップを閉めた。

加熱滅菌の方法：115°C、30分間の高圧蒸気滅菌

抗酸化剤：試料⑥のみ亜硫酸ナトリウムを0.1%添加した。

製剤処方と操作は英国薬局方¹⁾に準じた。

モノエタノールアミン	0.91 g
オレイン酸 (試料T)	4.23 g
ベンジルアルコール	2 ml
蒸留水	適量

全量 100 ml

試験期間中、試料 (注射液) は遮光して室温に保存した。

4. 検量線の作成

オレイン酸メチルエステル標準品をアセトンに溶解して0.1%、0.2%、0.3%および0.4%に調製し、ガスクロマトグラフに注入して得たピーク高さから検量線を作成した。

5. ガスクロマトグラフ用試料の調製

試料①, ②, ⑥, ④, ⑤ (注射液) からのオレイン酸抽出方法は英国薬局方¹⁾に準じて試料 10 ml に 0.1N 硫酸 20 ml を加え、クロロホルム 25 ml にて3回抽出した。クロロホルム層を合わせて、蒸留水 10 ml にて2回洗浄し、無水芒硝で乾燥した後、クロロホルムを加えて全量を 100 ml とした。本液 5 ml を試験管に採り、水浴上で加温しながら窒素ガス気流下に溶媒を留去した。残渣にメチルエステル化試薬 0.3 ml を加え、60°C で 15 分間加温した。冷後アセトンを加えて全量を 5 ml とし、ガスクロマトグラフ用試料とした。

試料K, T (原料オレイン酸) については、前記試料 (注射液) の抽出、乾燥処理以後の操作を行った。

なお、オレイン酸標準品および標準品によって製剤した注射液を試料と同様に操作して抽出率とエステル化率を決定し、試料の測定値を補正した。

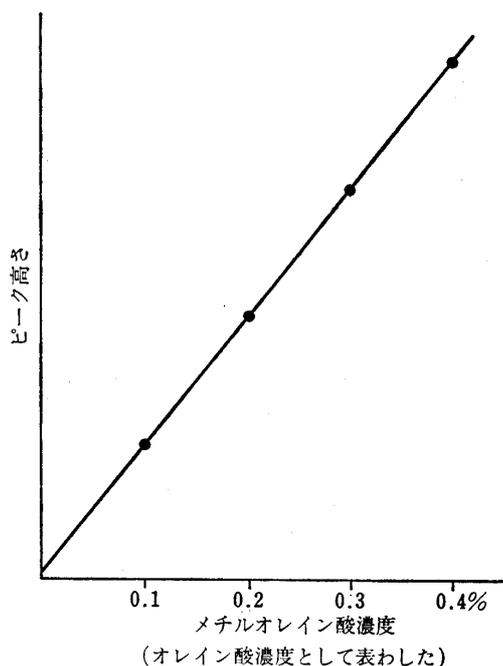


図 1. オレイン酸メチルエステル標準品による検量線

6. ガスクロマトグラフ装置および測定条件

装置は島津製作所製 GC-6 AMで、水素炎イオン化検出器 (FID) を用いた。カラムはガラス製で、長さ 1.5 m、内径 3 mm のものを使用し、充てん剤として 15% DEGS でコーティングした Chromosorb W (AW・DMCS) 80/100 メッシュを用いた。カラム槽温度は 195°C、注入口および検出器の温度は 230°C とした。キャリアガスは窒素ガスを 45 ml/min の流速で使用した。試料注入量は 2 μ l とした。その他、水素ガスの圧力は 0.5 kg/cm²、空気は 1.0 kg/cm² とした。

以上の条件でオレイン酸中に予想される不純物である高級脂肪酸を分離できることを定量用混合試料を用いて確認した (図 2)。

定量はピーク高さによる絶対検量線法によった。

結果

1. オレイン酸メチルエステル標準品および試料 (注射液) のクロマトグラムを図 3 に示した。

2. 試料K, T (原料オレイン酸) を測定した結果、その純度はそれぞれ 56.7%、86.5% であった。

3. 試料①, ②, ⑥, ④, ⑤ (注射液) について、オレイン酸の経時変化を図 4 に示した。プロットに際して原料オレイン酸の純度を 100%、製剤中のオレイン酸濃度を 5%、抽出率を 100%、エステル化率を 100% に補正してオレイン酸残存率を示し、純度 100% のオレイン酸 5% に対応する理論値を 100% とした。

試料⑥は製剤直後にオレイン酸含量が半減しているが、他の4試料はいずれも製剤直後に101~96%の範囲にあり、7~8週間後には95~86%に漸減していること

が認められた。

4. 試料①, ②は8週間後に微黄色に着色した。試料⑥は8週間後も無色であった。試料④は3週間後に微黄色に着色した。試料⑧は滅菌直後から微黄色に着色した。

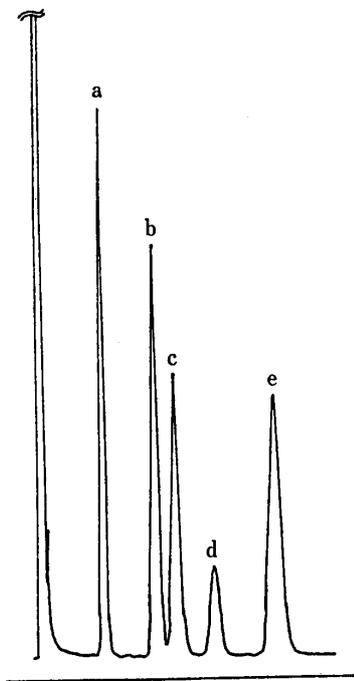


図 2. 脂肪酸メチルエステル定量用混合試料の分離例

a : パルミチン酸, b : ステアリン酸,
c : オレイン酸, d : リノール酸,
e : リノレン酸

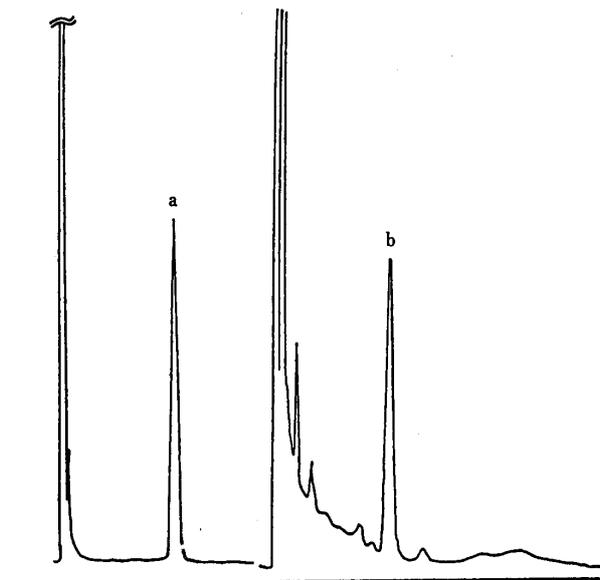


図 3. オレイン酸メチルエステル標準品および試料(注射液)のクロマトグラム

a : オレイン酸メチルエステル標準品
b : 試料(注射液)

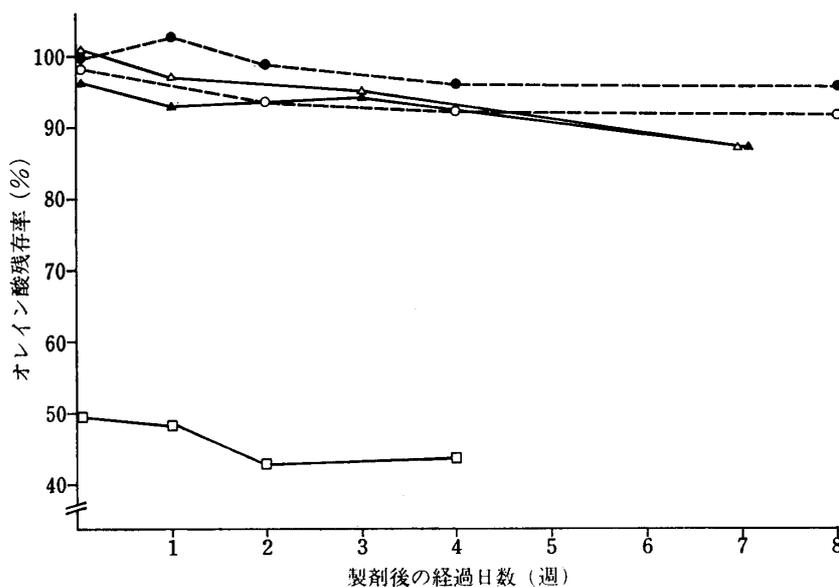


図 4. 注射液中におけるオレイン酸残存率の経時変化
○試料① ●試料② □試料⑥ △試料④ ▲試料⑧

臨床の部

1. 対象及び方法

対象は食道静脈瘤を有する肝硬変患者25例、特発性門脈圧亢進症1例、原因不明の限局性静脈瘤1例の計27例である。これらは静脈瘤からの出血の既往のある例及び静脈瘤に出血の危険徴候である発赤所見 (RC sign) のある例である。

栓塞剤は表3に従って製剤した5% ethanalamine oleate 注射液 (EO) を4°Cに5~90日間保存したものを使用した。

栓塞手技は高瀬²⁰⁾の方法に準じて行った。患者に施行前ペンタゾシン 15 mg, 塩酸ヒドロキシジン 25 mg 筋注し, 上部消化管内視鏡検査と同様の前処置をし, 左側臥位にて行った。食道ファイバースコープ (オリンパス GIF-2T または GIF-Q) に, 口側バルーンを装着させ, スコープを食道に挿入し, 食道・胃接合部近くで穿刺部を選定し, 口側バルーンをふくらませ, 口側への血流を遮断する。静脈瘤に穿刺針 (トップ社製) を刺入し, 血液の逆流により穿刺針先端が静脈瘤内腔にあることを確認した後, 栓塞剤 (5% EO) を静脈瘤1本当たり10~20 ml 注入した。穿刺部位にトロンビン1~2万単位を散布し, 穿刺針を抜去し, 穿刺部位の止血を確認した後, 口側バルーンの空気を抜き, 食道ファイバースコープを抜去した。施行後12時間までベッド上安静にし, 食餌は翌日より成分栄養食 (E.D. 食) を1週間投与した。1週後に食道内視鏡検査をして, 食道静脈瘤の消失がなければ第2回目を行い, 消失するまで反復した。

成績

治療後の食道静脈瘤の発赤所見の減弱又は消失, 基本色調の変化, 形態の変化を指標に, 本法による効果判定

表3. 臨床に用いた5% ethanalamine oleate 注射液の処方および調製法

〈処方〉	
モノエタノールアミン	0.91 g
オレイン酸 (試料Tを用いた)	4.23 g
ベンジルアルコール	2 ml
蒸留水	適量
全量 100 ml	

〈調製法〉

英国薬局方に準じて調製後, 0.45 μのメンブランフィルターでろ過し, 褐色アンブルに10 ml ずつ分注し, 窒素ガス置換してから熔封し, 115°C, 30分間の高圧蒸気滅菌を行う。

を行った。27例中24例に著明または明らかな改善を認め有効と判定, 有効率は88.9%であった。また, これらの症例を1年以上, 2年以内の期間観察した結果, 有効持続期間は平均18.1カ月であった。

本法による副作用または合併症は, 一過性ショック2例 (7.4%), 縦隔洞炎及び胸水貯留1例 (3.7%), 食道潰瘍6例 (22%), 発熱20例 (74%), 胸痛18例 (67%), 脾腫の増大4例 (15%), 肉眼的ヘモグロビン尿2例 (7.4%) で血清酵素学的に異常を認めたものは, GOT 31回中12回 (38.7%), LDH 33回中22回 (66.7%), CPK 21回中13回 (61.9%) であった。これら血清酵素異常はいずれも一過性で, 1週間以内に正常化した。

考 察

1. 原料オレイン酸の純度については, 試料Kが56.7%, 試料Tが86.5%と, かなり低い値であった。試料Tの場合, メーカーの検査成績では90.3%²¹⁾であったが, 在庫, 輸送, 購入後の保管の過程で純度が低下したと思われる。ethanalamine oleate 注射液の院内製剤にあたっては, 原料オレイン酸はできるだけ高純度のものを購入し, 使用のつど瓶内に窒素ガスを充てんし, 冷暗所に保管する等の対策を講じて品質の維持に努めるべきであると思われる。また, 精製については今後検討を加えたい。

2. オレイン酸は酸化を受けやすい物質なので,²²⁾ 試料⑥においては抗酸化剤として亜硫酸ナトリウムを添加してみたが, よい結果は得られなかった。亜硫酸ナトリウムは水性液剤の抗酸化剤としてよく使用されるもののひとつであるが, この場合はオレイン酸と何らかの反応をおこしたものと推定される。²³⁾ しかし, 他の試料の実験結果から, 抗酸化剤を使用しなくても院内製剤として十分な品質のものができることが判明したので, さらに検討はしなかった。

3. バイアル上部空間の窒素ガス置換について, 置換した試料①と置換しなかった試料④を比較すると, 4週間後の付近で残存率が逆転しており, このデータだけでは効果が明確でなかった。

4. 酸化を受けやすい物質を注射液に製剤する場合, 安定化の一方法として溶媒中の溶存酸素を除くことも一般的に行われる。^{7,8)} 溶存酸素除去の操作をした試料②と除去しなかった試料①を比較すると, いずれの測定時点でも試料②の方が高い残存率を示したことから, 除去の効果はあったと思われる。

5. 加熱滅菌については, 英国薬局方がオートクレーブによる加熱滅菌を規定しており, この滅菌条件で今村

ら³⁾が15%程度のオレイン酸の減少を報告しているため追試したところ、加熱した試料⑧と比較して、加熱しなかった試料④の方が高い値を示したが、7週間後には試料⑧と同じ値になった。この原因については精査しなかったが、加熱滅菌によるオレイン酸濃度の減少が有意であるとしても5%程度であり、今村らの結果より少ない。

6. いずれの試料もオレイン酸残存率を経時的にみれば漸減であるが、その傾きは今村らのデータより明らかに小であった。

また、武田ら⁴⁾の報告によれば、滅菌・非滅菌、アンブル上部空間の窒素ガス置換の有無にかかわらず、8週間にわたってほとんど変化が見られないとしているが、著者らの実験では7~8週間で95~86%に減少している。この相違の原因については保存温度の違いも考えられるが、今後さらに検討を加えたいと考えている。

7. 院内製剤した5%EOを用いて内視鏡的食道静脈瘤栓塞療法を行い、88.9%の有効率を得た。この成績は河原ら²³⁾の24例中16例(66.7%)、友田ら²⁴⁾の30例中25例(83%)の有効率を上回る高いものである。表3の方法で調製、保存した5%EOは、製造後90日までは臨床の有効性を満足できるものであると考えられる。

8. 合併症、副作用についてはすでに藤原²⁵⁾小原ら²⁶⁾が報告しているが、友田ら²⁴⁾の報告とも類似したものである。血清酵素の異常については、GOTは溶血と骨格筋障害、LDHは溶血、CPKは骨格筋障害に起因することが示されている。²⁷⁾

謝辞 試料の測定にあたり、ご助言をいただいた福島県衛生公害研究所、小柳潔部長ならびに古関正意部長に深く感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) "British Pharmacopoeia 1980," Her Majesty's Stationery Office, London, 1980, p.608.
- 2) 日本病院薬剤師会：“病院薬局製剤—特殊処方とその調製法,” 第1版, 薬事日報社, 東京, 1982, p.52-53.
- 3) 今村明正ほか: JJHPA, 18, 665 (1982).
- 4) 武田光志ほか: 病院薬学, 10(1), 35 (1984).
- 5) 東京化成工業株式会社検査成績書.
- 6) "The Merck Index," 10th ed., Merck & Co., Inc., Rahway, 1983, p.979.
- 7) 野上寿：“薬局製剤とその解説,” 改訂第4版, 南山堂, 東京, 1964, p.270.
- 8) 寺尾求馬ほか：“無菌製剤—その調製と臨床適用—,” 廣川書店, 東京, 1979, pp.22-23.
- 9) H.I. Biegeleisen: Surg., Gynec. and Obstet., 57, 696 (1933).
- 10) H.I. Biegeleisen: Lancet, 230, 944 (1936).
- 11) H. I. Biegeleisen: Ann. Surg., 105, 610 (1937).
- 12) C. Crafoord, and P. Frenckner: Acta Oto-Laryngol., 27, 422 (1939).
- 13) W. Waltman, et al.: Arch. Surg., 41, 1101 (1940).
- 14) G.W. Johnston, and H.W. Rodgers: Br. J. Surg., 60, 797 (1973).
- 15) J. Terblanche, et al.: Surg., Gynec. and Obstet., 148(3), 323 (1979).
- 16) 二川俊二, 杉浦光雄: 総合臨床, 29(7), 1953 (1980).
- 17) 木村邦夫ほか: 総合臨床, 29(7), 2016 (1980).
- 18) L. Jeffrey, et al.: Arch. Surg., 115, 476 (1980).
- 19) 曾我基行, K. J. Paquet: 臨床外科, 36, 363 (1981).
- 20) 高瀬靖広, 岩崎洋治: 臨床外科, 36, 1061(1981).
- 21) J.D. Stamatakis, E.R. Howard, H.T. Psacharopoulos, and A. P. Mowat: Br. J. Surg., 69 (2), 74 (1982).
- 22) S.E. Hedberg, D.L. Fowler, and RLR Ryan: Am. J. Surg., 143(4), 426 (1982).
- 23) 河原清博, 宮崎誠司: 日本消化器病学会秋季大会講演予報集, 191 (1982).
- 24) 友田純, 安原高士: 日本消化器病学会秋季大会講演予報集, 191 (1982).
- 25) 藤原和雄: 福島医学雑誌, 33(3-4), 207 (1983).
- 26) 小原勝敏, 藤原和雄, 栗原陽一, 正木盛夫, 五十嵐勤, 吉田浩, 粕川禮司: 日本消化器病学会雑誌, 80, 2031 (1983).
- 27) 正木盛夫, 藤原和雄, 近藤祐一郎, 鈴木秀, 斎藤孝一, 小原勝敏, 栗原陽一, 森藤隆夫, 五十嵐勤, 吉田浩, 粕川禮司: 日本消化器病学会雑誌, 80, 2030 (1983).
- 28) L.C. Schroeter: J. Pharm. Sci., 50, 891(1961).