(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第4018133号
(P4018133)
(45)発行日　平成19年12月5日(2007.12.5)　(24)登録日　平成19年9月28日(2007.9.28)

(51)Int.Cl.		F I	
A61K 38/27	(2006.01)	A61K	37/36
A61K 9/08	(2006.01)	A61K	9/08
A61K 47/02	(2006.01)	A61K	47/02
A61K 47/10	(2006.01)	A61K	47/10
A61K 47/12	(2006.01)	A61K	47/12

請求項の数 1　(全 11 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願平6-505439
(86)(22)出願日　平成5年7月29日(1993.7.29)
(65)公表番号　特表平7-509719
(43)公表日　平成7年10月26日(1995.10.26)
(86)国際出願番号　PCT/US1993/007149
(87)国際公開番号　WO1994/003198
(87)国際公開日　平成6年2月17日(1994.2.17)
審査請求日　平成12年7月27日(2000.7.27)
(31)優先権主張番号　923,401
(32)優先日　平成4年7月31日(1992.7.31)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　596168317
ジェネンテック・インコーポレーテッド
ＧＥＮＥＮＴＥＣＨ，ＩＮＣ．
アメリカ合衆国カリフオルニア・９４０８０－４９９０・サウス・サン・フランシスコ・ディーエヌエー・ウェイ・１
(74)代理人　100109726
弁理士　園田　吉隆
(74)代理人　100101199
弁理士　小林　義教
(72)発明者　オッコンナー、バーバラ・エイチ
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０７０、サン・カルロス、ダール・アベニュー　１５０番

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ヒト成長ホルモン水性製剤

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
５ｍｇ／ｍｌのｈＧＨ、８．８ｍｇ／ｍｌの塩化ナトリウム、２．０ｍｇ／ｍｌのポリソルベート２０、２．５ｍｇ／ｍｌのクエン酸ナトリウム、および２．５ｍｇ／ｍｌのフェノールを含有し、ｐＨが６．０である水性液体医薬製剤。
【発明の詳細な説明】
発明の属する技術分野
本発明は、ヒト成長ホルモン（ｈＧＨ）を含有する医薬品製剤、そのような製剤の製造方法および使用方法に関する。とりわけ本発明は、水性製剤中で増大した安定性を有するそのような医薬品製剤に関する。
発明の背景
当業界において知られているヒト成長ホルモン製剤は全て、再構成の必要がある凍結乾燥調製物である。プロトロピン［Ｐｒｏｔｒｏｐｉｎ：商標］ｈＧＨは、１バイアルにつき、ｈＧＨ５ｍｇ、マンニトール　４０ｍｇ、一塩基性リン酸ナトリウム　０．１ｍｇ、二塩基性リン酸ナトリウム　１．６ｍｇを含み、ｐＨ７．８に再構成される［フィジシャンズ・デスク・リファレンス（Ｐｈｙｓｉｃｉａｎ'ｓ Ｄｅｓｋ Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ），メディカル・エコノミクス社（Ｍｅｄｉｃａｌ Ｅｃｏｎｏｍｉｃｓ Ｃｏ.），オラウェル（Ｏｒａｗｅｌｌ），ニュージャージー（ＮＪ），１０４９頁，１９９２年］。ヒューマトロープ［Ｈｕｍａｔｒｏｐｅ：商標］ｈＧＨは、１バイアルにつき、ｈＧＨ　５ｍｇ、マンニトール　２５ｍｇ、グリシン　５ｍｇ、二塩基性リン酸ナトリウム　１．１３ｍｇを含み、ｐＨ７．５に再構成される［フィジシャンズ・デスク・リファレンス，１２６６頁

，１９９２年］。
成長ホルモン製剤に対する一般的評価に関しては、カレント・コミュニケーションズ・イン・モレキュラー・バイオロジー［（Current Communications in Molecular Biology），Ｄ．マーシャック（Marshak）およびＤ．リウ（Ｌiu）編，２３～３０頁，コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー出版社（Cold Spring Harbor Laboratory Press），コールド・スプリング・ハーバー，ニュージャージー，１９８９年］を参照する。タンパクの安定化に関する重要な他の刊行物は、以下の通りである。
米国特許第４，２９７，３４４号は、グリシン、アラニン、ヒドロキシプロリン、グルタミン、およびアミノ酪酸といったような選択されたアミノ酸、並びに単糖、オリゴ糖といったような炭水化物、または糖アルコールを添加することによる、凝固因子IIおよびVIII、抗トロンビンIII、並びにプラスミノーゲンの熱安定化を開示している。
米国特許第４，７８３，４４１号は、ｐＨ６．８～８．０で弱親水性および弱疎水性の領域鎖を交互に含有する界面活性剤を５００ppmまで添加することよる、水溶液における界面でのインスリン等のタンパクの変性防止方法を開示している。
米国特許第４，８１２，５５７号は、ヒト血清アルブミンを使用してのインターロイキン－２の安定化方法を開示している。
欧州特許出願公開第０３０３７４６号は、非還元糖、糖アルコール、糖酸、ペンタエリトリトール、ラクトース、水溶性デキストラン、およびフィコールを含むポリオール、アミノ酸、生理学的pHで帯電する側鎖を有するアミノ酸のポリマー、並びにコリン塩を用いての成長促進ホルモンの安定化を開示している。
欧州特許出願公開第０２１１６０１号は、ポリオキシエチレン－ポリオキシプロピレン単位を含有し、約１，１００～約４０，０００の平均分子量を有するブロックコポリマーで形成されたゲルマトリックス中での成長促進ホルモンの安定化を開示している。
欧州特許出願公開第０１９３９１７号は、タンパクと炭水化物との複合体の水溶液であることを特徴とする、徐放性の生物学的に活性な組成物を開示している。
オーストラリア特許出願第ＡＵ－Ａ－３０７７１／８９号は、グリシンおよびマンニトールを使用しての成長ホルモンの安定化を開示している。
米国特許第５，０９６，８８５号（これは先行技術ではない）は、グリシン、マンニトール、非イオン界面活性剤、および緩衝液を含有する凍結乾燥用のｈＧＨ製剤を開示している。本発明は、グリシンの不存在下、予想外に安定化された水性製剤を提供する。
ｈＧＨは、幾つかの分解経路、特に脱アミド化、凝集、ペプチド基本骨格のクリッピング、およびメチオニン残基の酸化を受ける。これら反応の多くは、タンパクから水を除去することにより有意に緩徐され得る。しかし、ｈＧＨに関する水性製剤の開発には、再構成の誤りを無くすことにより投与量の精度を増し、さらに臨床的には製品の使用を簡易化することにより患者のコンプライアンスを増すという利点がある。従って、本発明の目的は、分解産物を許容し得る程に制御でき、激しい攪拌（これは凝集を招く）に対して安定であり、また微生物汚染に対して耐性（これは多様な使用包装を可能とする）である水性ｈＧＨ製剤を提供することである。

発明の概要

本発明の一態様は、製薬的に許容し得る安定なヒト成長ホルモンの水性製剤であって、ヒト成長ホルモン、緩衝液、非イオン界面活性剤、また所望により、中性塩、マンニトール、および保存剤を含む製剤である。
本発明のさらなる態様は、ヒト成長ホルモン水性製剤の変性防止方法であって、ヒト成長ホルモンと０．１～５％（ｗ／ｖ）（重量／体積）の非イオン界面活性剤とを混合することより成る方法である。本発明のまたさらなる他の態様では、この安定化製剤は２～８℃で６～１８カ月間保存される。

図面の説明

図１は、４０℃（すなわち、熱的ストレスを与えて）で２８日間保存した水性成長ホルモン製剤、および５℃（すなわち、推奨されている保存条件下）で１年間保存した水性成長ホルモン製剤のサイズ排除クロマトグラムである。

図２は、水性製剤中での成長ホルモン凝集に関するアレニウス速度分析のプロットである。
図３は、熱的ストレス（４０℃）を与えた水性製剤hＧＨサンプルを、推奨されている条件下（２～８℃）に一年間保存した水性製剤hＧＨサンプルと比較している陰イオン交換クロマトグラムである。
図４は、水性製剤中でのhＧＨの脱アミド化に関するアレニウス速度分析のプロットである。
図５は、マンニトールを中性塩と代替している種々の製剤中に存在するモノマーのパーセンテージに関するグラフである。

発明の詳しい説明

＜Ａ．定義＞

次の用語は、明細書および請求の範囲で使用する通り、以下に説明する意味を有している。

「ヒト成長ホルモン」または「hＧＨ」という用語は、天然供給源の抽出および精製を包含する方法により、また細胞培養系の組換えにより産生されるヒト成長ホルモンを示す。その配列と特性は、例えば、ホルモン・ドラッグズ［（Hormone Drugs），ゲリガイアン（Gueriguian）ら，米国特許条約，ロックビル（Rockville），メリーランド（ＭＤ）（１９８２年）］に詳述されている。同様に、この用語は、生物学的に活性なヒト成長ホルモン等価物（例えば、全配列中で一つまたはそれ以上のアミノ酸が異なっているもの）を包含する。さらに、本出願で使用する該用語は、hＧＨの置換、欠失および挿入アミノ酸変異体、または翻訳後修飾体を包含する。注目される２つの種は、１９１個のアミノ酸から成る天然種（ソマトロピン）と、通常、組換えにより得られる１９２個のアミノ酸から成るＮ－末端メチオニン（met）種（ソマトレム）である。

hＧＨの「製薬的に有効な量」という用語は、投与療法において治療効果を発揮する量を示す。本発明の組成物は、hＧＨを少なくとも約０．１mg／ml、約１０mg／ml以上、好ましくは約１mg／ml～約２０mg／ml、さらに好ましくは約１mg／ml～約５mg／ml量含有するよう調製する。下垂体性小人症を患っている人間の患者へ投与する際にこれらの組成物を使用する場合は、例えば、意図する処置に対する現在の適用療法に対応して、これらの組成物を約０．１mg／ml～約１０mg／ml含有する。その濃度範囲は本発明にとって重要ではなく、また臨床医によって種々に変更され得る。

＜Ｂ．一般的方法＞

本発明ではグリシンを必要としない。グリシンは本発明の水性製剤の任意成分であり、以後に再構成する凍結乾燥製剤に比べ、グリシンは本発明の水性製剤ではあまり有利な点を有していない。グリシンの量は、０mg／ml～約７mg／mlの範囲である。

非イオン界面活性剤には、ポリソルベート２０または８０等といったようなポリソルベート、およびポロキサマー１８４または１８８といったようなポロキサマー、プルロニック［（Pluronic：商標）］ポリオール、並びに他のエチレン／ポリプロピレンブロックポリマー等が包含される。安定な水性製剤を得るのに有効な量を使用するが、これは通常、約０．１％（ｗ／ｖ）～約５％（ｗ／ｖ）、さらに好ましくは０．１％（ｗ／ｖ）～約１％（ｗ／ｖ）の範囲内である。非イオン界面活性剤を使用することで、該製剤はタンパクの変性を起こすことなく、ひずみおよび表面ストレスにさらされるのを可能とする。例えば、そのような界面活性剤を含有する製剤は、肺投与および針のないジェットインジェクターガンで使用するようなエアゾール装置に適用される。

緩衝液には、リン酸塩、トリス、クエン酸塩、コハク酸塩、酢酸塩、およびヒスチジン緩衝液が包含される。該緩衝液は約２mM～約５０mMの範囲内が最も有利である。好ましい緩衝液はクエン酸ナトリウム緩衝液である。

保存剤を製剤に含有して微生物の成育を遅滞させることにより、hＧＨの「多様な使用」包装が可能となる。保存剤には、フェノール、ベンジルアルコール、メタークレゾール、メチルパラベン、プロピルパラベン、塩化ベンザルコニウム、および塩化ベンゼトニウム等がある。好ましい保存剤には、０．２～０．４％（ｗ／ｖ）のフェノールおよび０．７

～１％（ｗ／ｖ）のベンジルアルコールが包含される。
緩衝液で調節する、水性hＧＨ製剤に適当なpH範囲は、約４～８、さらに好ましくは約５．５～約７、最も有利には６．０である。好ましくは、脱アミド化、凝集、およびhＧＨの沈降を最小とする緩衝液濃度範囲を選択する。
マンニトールは、所望により、水性hＧＨ製剤中に包含させることができる。マンニトールの好ましい量は、約５mg／ml～約５０mg／mlである。マンニトールの代替物として、ラクトース、トレハロース、スタチオース、ソルビトール、キシリトール、リビトール、ミオイノシトール、ガラクチトール等といったような他の糖または糖アルコールが使用される。
所望により、塩化ナトリウムまたは塩化カリウムといったような中性塩を糖または糖アルコールの代わりとして使用できる。該塩の濃度は製剤中に存在する他の成分に依存するが、ほぼ等張となるよう調節する。例えば、ＮａＣｌの濃度範囲は、存在する他の成分に応じて５０～２００mMとすることができる。
好ましい態様では、本発明の製剤は、pＨ６．０で以下の成分を含む。

成　分	量（mg）
hＧＨ	5
塩化ナトリウム	8.8
ポリソルベート２０	2.0
クエン酸ナトリウム	2.5
フェノール	2.5
滅菌水	1ml

上記量は先でより詳細に述べた範囲内で幾分変更可能であり、また該材料は、成分カテゴリーの範囲内で代替可能であることが分かるであろう。すなわち、ポリソルベート８０、またはポロキサマーをポリソルベート２０に代替することができ、コハク酸塩または酢酸塩緩衝液を代わりに使用でき、また他の保存剤および異なったpHを使用することができる。さらに、一つ以上の緩衝剤、保存剤、糖、中性塩、または非イオン界面活性剤を使用することができる。好ましくは、該製剤は等張および無菌である。
通例、本発明の製剤は、安定な形態での調製を損なわない量で、また有効で安全な医薬品投与に適当な量で他の成分を含有する。例えば、当業者に周知の他の製薬的に許容し得る賦形剤が、該組成物の一部を成し得る。これには、例えば、種々の増量剤、さらなる緩衝剤、キレート化剤、酸化防止剤、補助溶剤等がある。これらの具体例には、トリメチルアミン塩（「トリス緩衝液」）、およびエデト酸二ナトリウムが包含され得る。
実験例
＜Ａ．アッセイ法＞
０．５ml／分の流量、４５℃でＴＳＫ　ＤＥＡＥ　５ＰＷカラム（１．０×７．５cm）を用い、陰イオン交換クロマトグラフィー（ＨＰＩＥＣ）を行った。このカラムは、１０％（ｗ／ｖ）のアセトニトリルを含有する５０mMのリン酸カリウム（pＨ５．５）で平衡とした。１０％（ｗ／ｖ）の一定のアセトニトリルを含む５０～１００mMのリン酸カリウム（pＨ５．５）の２５分グラジエントを使用し、溶離を行った。カラムには、タンパク８３μgを充填した。２３０nmで検出した。
非変性サイズ排除クロマトグラフィーは、１５０mMの塩化ナトリウムを含有する５０mMのリン酸ナトリウム（pＨ７．２）中のＴＳＫ　２０００　ＳＷＸＬカラムを用いて行った。その流量は１ml／分であり、カラム充填量は５０～７５μgであり、２１４および２８０nmのいずれかで検出した。
変性サイズ排除クロマトグラフィーは、２００mMのリン酸ナトリウム（pＨ６．８～７．２）／０．１％　ＳＤＳ中、ゾルバックス（Ｚorbax）ＧＦ２５０カラムを用いて行った。

その流量は１．０ml／分であり、カラム充填量は５０～７５μgであり、２１４および２８０nmのいずれかで検出した。

＜Ｂ．製剤調製＞

一般に、これらの実験例における分析用の水性hＧＨ製剤サンプルは、ゲル濾過カラム上で緩衝液交換することにより調製した。その溶離緩衝液は、塩化ナトリウムまたはマンニトールのいずれか、緩衝液および非イオン界面活性剤をそれらの最終比率で含有していた。この結果として得られる溶液を所望のhＧＨ濃度まで希釈して、保存剤を添加した。その溶液を滅菌メンブランフィルター（孔サイズ：０．２ミクロン程度のもの）を使用して滅菌濾過し、１型３cc滅菌ガラスバイアルの１つに注ぎ入れ、栓をして、水性タイプのブチルゴム栓やアルミニウムフリップオフタイプのふたで密閉した。

実験例で使用する該水性hＧＨ製剤は、溶液１mlにつき、ソマトロピン ５．０mg［Genentech, Ｉnc.］、マンニトール ４５．０mg、フェノール ２．５mg、ポリソルベート２０ ２．０mg、およびクエン酸ナトリウム ２．５mgを含み、pH６．０であった。本例において比較対象として使用する凍結乾燥製剤は、再構成後の滅菌溶液１mlにつき、ソマトロピン ５．０mg、グリシン １．７mg、マンニトール ４５．０mg、リン酸ナトリウム １．７mg、ベンジルアルコール ９mgを含んでいた。

＜Ｃ．実施例 Ｉ＞

水性製剤の化学的安定性

hＧＨ水性製剤のバイアル［ロット １２７３８／５５－１０２および１２７３８／５５－１０５］を２～８℃という適した保存温度、もしくは１５℃または２５℃という高い保存温度でインキュベートした後、幾つかの時点で取り出し、pH、色および外観、並びにタンパク濃度の変化を調べた。さらに、極度なストレス状態での分解パターンを研究するために、サンプルを４０℃でインキュベートした。また水性製剤に関する分解パターンを凍結乾燥成長ホルモンに関する既知の分解パターンと比較した。

２～８℃で一年間保存した場合、該水性製剤は、pH、色および外観、並びにタンパク濃度に僅かな変化を示した。２～８℃で一年間保存したサンプルに対して行った非変性サイズ排除ＨＰＬＣでは、薬物製品は有意な凝集を全く示さなかった（図１）。この結果は、グリシンが凍結乾燥製剤における凝集を防ぐのに有用であるという米国特許第５，０９６，８８５号の教示から見て予想外なことである。

８℃以上の温度では、pHまたはタンパク濃度における変化は全時間にわたって殆ど、もしくは全く観察されなかった。目視観察により、４０℃で保存したサンプルでは時間に伴って乳白光の増大が示された。この変化は、１５～２５℃で保存している間が最小であり、２～８℃で保存している間には観測されなかった。

分解産物の量は、クロマトグラムの全hＧＨ領域が占める領域パーセンテージとして計算した。次いで、１００％から分解産物のパーセンテージを減じ、$\log_{10}$をとって、日数時間に対してプロットすることにより、各々の反応に対する速度定数を計算した。これらのデータを通るようにして引いた直線の傾きを反応定数（ｋ）として使用した。１５、２５、および４０℃で各々計算した反応速度定数の絶対値の自然対数（ln）を絶対温度の逆関数としてプロットした後、５℃まで外挿することにより、アレニウス分析を行った。サイズ排除ＨＰＬＣより得られたデータのアレニウスおよび実時間速度分析（図２）では、１８カ月保存した後の成長ホルモン凝集量は１％（ｗ／ｖ）未満であることが示される。

４０℃で保存した水性hＧＨ製剤に関して行った陰イオン交換ＨＰＬＣ分析では、２８日間にわたって酸性ピークが増大することが示された（図３）。約１６、１７．５、および２６分の時点で溶離するこれら３本のピークは、１４９、１５２、および１４９＋１５２位でのhＧＨの脱アミド化により生じた。この方法により得られたデータのアレニウスおよび実時間速度分析（図４）を上記のようにプロットすると、２～８℃で１８カ月保存したこれらのロットにおける脱アミド化hＧＨの量は約９％（ｗ／ｖ）であることが示される。これには、０時間の時点での、約２．４％（ｗ／ｖ）の脱アミド化hＧＨに関する初期量が含まれる。１５％（ｗ／ｖ）程度の脱アミド化値が他のhＧＨ製品に関して報告された［ラーハマー（Larhammar）,Ｈ．ら，（１９８５年），インターナショナル・ジャ

ーナル・オブ・ファーマシューティクス（Ｉｎｔ.Ｊ.Ｐharmaceutics）２３：１３～２３］。脱アミド化速度は水性状態においてより速いが、この速度はpＨ６．０およびそれ以下で最小となる。

＜Ｄ．実施例 II＞

水性製剤の物理的安定性

凍結乾燥成長ホルモンの６つのバイアル各々を注入用静菌水［（ＢＷＦＩ），米国特許］１mlで再構成した。溶解後、その含有物を３ccのバイアルへ移し、栓をして密閉すると、水性製剤と同じ形状のものが得られる。hＧＨ水性製剤の物理的安定性に対する攪拌効果を調べるために、hＧＨ水性製剤の６つのバイアルと再構成した凍結乾燥hＧＨの６つのバイアルとを、円筒型グラス－コル攪拌機（Ｇlas-Ｃol Ｓhaker-in-the-Ｒound）を用い、２．５の作動調節点を使用して８±１cmの水平振動を与えながら、１分間につき２４０ジョルト（jolts）で、水平としたまま上下に激しく室温で２４時間攪拌する。各々の製剤に対し、全て同じだけの力が確実にかかるよう、１２個全てのサンプルを攪拌機の上へ一直線状に置いた。アッセイを行うために、３０分、６時間、および２４時間の時点でバイアルを２つずつ取り出した。

その結果を表１に示す。攪拌によっての水性製剤の視覚的透明度における変化は極く僅かであった。成長ホルモンのモノマーの全含量には、非変性サイズ排除ＨＰＬＣアッセイで見い出されるような変化はなかった。このアッセイでは非共有凝集物を検出したが、変性サイズ排除ＨＰＬＣアッセイでは、これをＳＤＳにより完全に分散させる。

比較により、これらの結果はまた、攪拌して僅か３０分後でも、再構成した凍結乾燥製品は処置に対し感受性がより強いということを示した。この感受性は、本発明の水性製剤以外に、現在有用な全てのhＧＨ製剤にとって典型的である。非イオン界面活性剤の配合は、発生するこの現象を防ぐのに最も重要な因子である。

〈表　1〉　凍結乾燥製剤に対する水性製剤の室温での撹拌効果

サンプル	色／外観	% ＨＰＳＥＣ モノマー	% 溶解 タンパク	% 全[1] モノマー
未攪拌のもの				
水性製剤	透明／無色	９９．７	ＮＤ	ＮＤ
水性製剤	透明／無色	９９．９	ＮＤ	ＮＤ
凍結乾燥製剤	透明／無色	９９．０	１００	９９．０
凍結乾燥製剤	透明／無色	ＮＤ	１００	ＮＤ
０．５時間撹拌したもの				
水性製剤	極僅かに乳白光／無色	９９．９	１００	９９．９
水性製剤	極僅かに乳白光／無色	１００．０	１００	１００．０
凍結乾燥製剤	僅かに乳白光／無色	９３．６	１００	９３．６
凍結乾燥製剤	透明／無色	９２．８	１００	９２．８
６時間撹拌したもの				
水性製剤	僅かに乳白光／無色	９９．９	１００	９９．９
水性製剤	乳白光／無色	９９．８	１００	９９．８
凍結乾燥製剤	非常に乳白光／黄色ないし褐色	８０．５	７３	５８．８
凍結乾燥製剤	非常に乳白光／黄色ないし褐色	７２．７	６１．７	４４．９
２４時間撹拌したもの				
水性製剤	僅かに乳白光／無色	９９．８	１００	９９．８
水性製剤	透明／無色	９９．８	ＮＤ	ＮＤ
凍結乾燥製剤	非常に混濁／黄色ないし褐色	６０．６	２１．５	１３．０
凍結乾燥製剤	非常に混濁／黄色ないし褐色	５６．７	１４．８	８．４

[1]全モノマー ＝ （％ モノマー × ％ 溶解タンパク）／ １００

＜Ｅ．実施例 III＞

水性製剤中での保存効果

標準米国特許試験を採用して短縮するという方法により、hＧＨ水性製剤のサンプルは細菌問題を起こしやすかった。この試験では、細菌の最終濃度が10^5～10^6ＣＦＵ／mlと

なるよう、大腸菌（Ｅ.coli）または黄色ブドウ球菌（Ｓ.aureus）のいずれかの懸濁液をｈＧＨ水性製剤に添加した。２０～２５℃でインキュベーションを開始した直後、また４～２４時間インキュベートした後、チューブ内に残存している生存可能な細菌を数えた。試験期間の微生物濃度におけるパーセンテージの変化を次の方程式により計算した。

$$\text{初期価 \%} = \frac{\text{T＝X時間の時点での数}}{\text{T＝0時間の時点での数}} \times 100$$

この実験の結果では、２種の細菌にとって、生存可能な細菌の濃度は、２４時間後には初期濃度の０．０１％未満に減少することが示された。

＜Ｆ．実施例 IV＞

塩によるマンニトールの代替

この実験では、ｈＧＨの水性製剤を塩、マンニトール、および非イオン界面活性剤の濃度をいろいろと変えたものと比較した。製剤は全て、５mg／mlのｈＧＨ、０．２５％（ｗ／ｖ）のフェノール、１０mMのクエン酸ナトリウムを含有しており、pHは６．０であった。サンプルは２～８℃で３～４カ月保存した。図５は、指示した製剤中に存在するモノマーのパーセンテージを示す。以下の表は、各々の製剤の組成を示す。これらの結果は、界面活性剤の存在下、マンニトールが中性塩で代替された製剤中で、予想外なｈＧＨの安定性を実証するものである。

〈表　3〉　図５で試験した製剤

製剤ロット	組　　成
４２	0.1%(w／v) ポリソルベート２０ ５０mM マンニトール
４７	0.1%(w／v) ポロキサマー１８８ 0.1M NaCl
５１	0.5%(w／v) ポリソルベート２０ ５０mM マンニトール
５２	0.1%(w／v) ポロキサマー１８８ ５０mM マンニトール
５３	0.1%(w／v) ポロキサマー１８４ ５０mM マンニトール
６０	0.2%(w／v) ポリソルベート２０ 0.1M NaCl
６１	0.2%(w／v) ポリソルベート２０ 0.05M NaCl
６２	0.2%(w／v) ポリソルベート２０ 0.15M NaCl
６３	0.2%(w／v) ポリソルベート２０ ５０mM マンニトール

【図１】

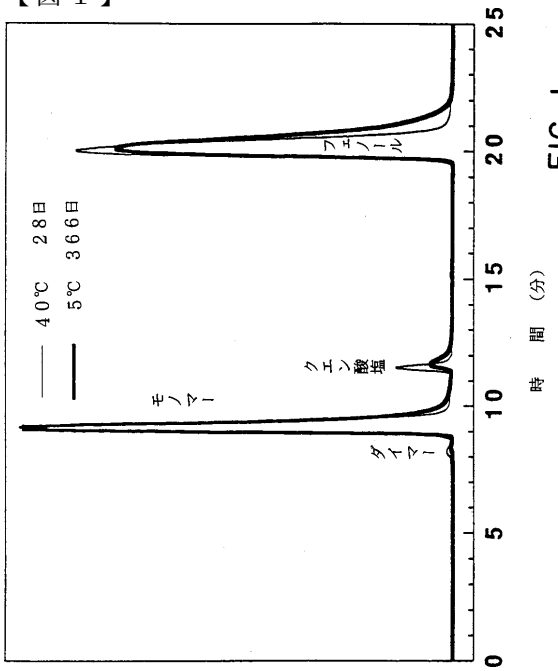

FIG. 1

【図２】

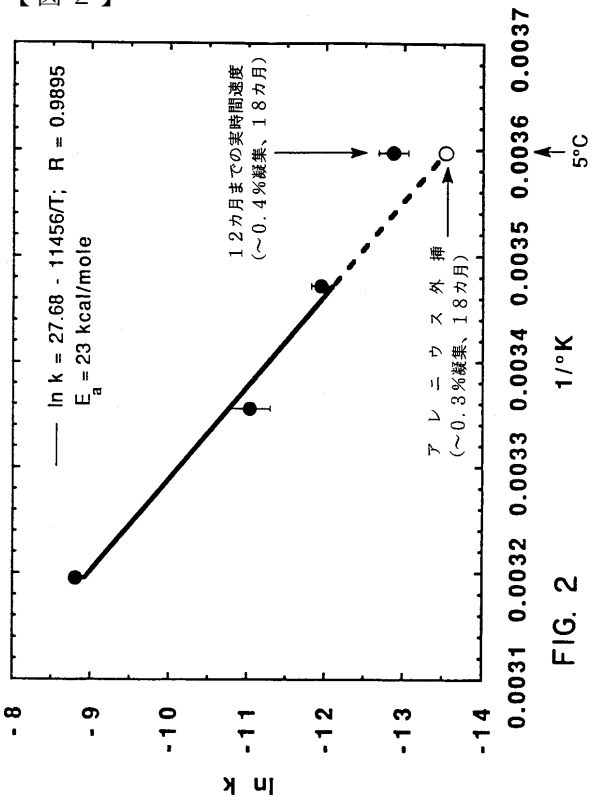

FIG. 2

【図３】

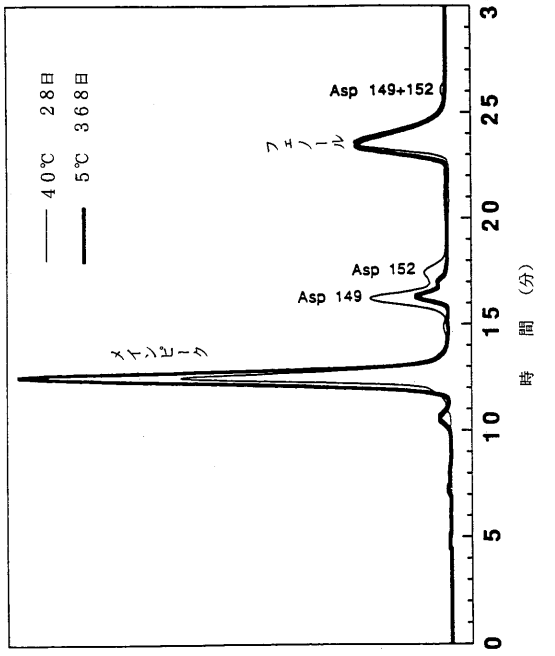

FIG. 3

【図４】

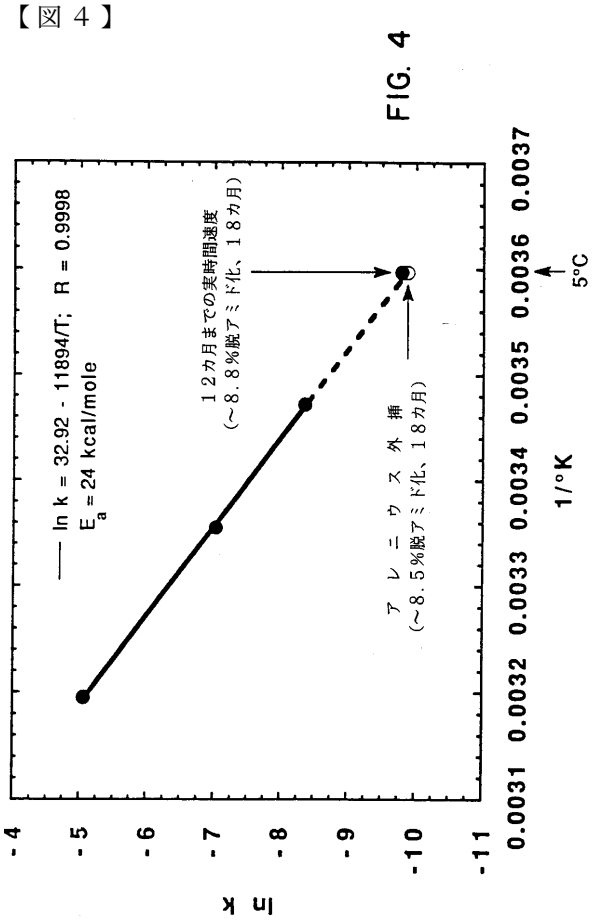

FIG. 4

【図５】

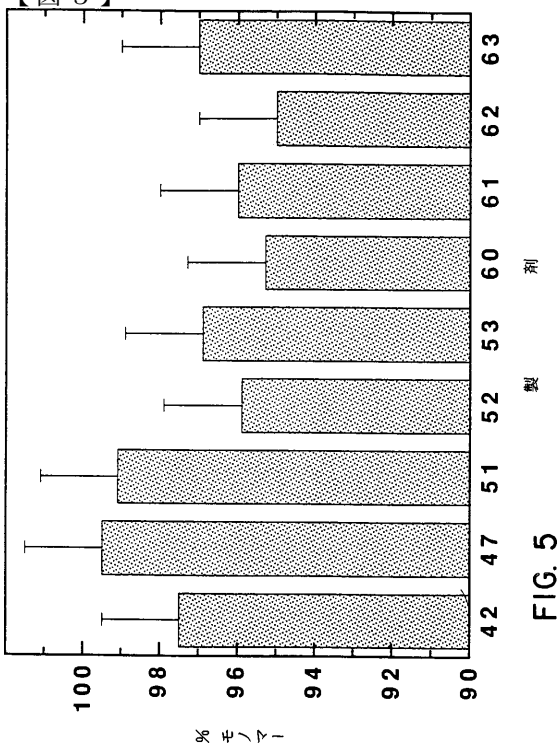

FIG. 5

フロントページの続き

(51)Int.Cl. FI
Ａ６１Ｋ 47/34 (2006.01) Ａ６１Ｋ 47/34

(72)発明者 エスヴェイン、ジェームズ・キュー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０３８、モス・ビーチ、ポスト・オフィス・ボックス １３（番地の表示なし）

審査官 大久保 元浩

(56)参考文献 特開平０１－３０８２３５（ＪＰ，Ａ）
特開昭６２－０７０３１９（ＪＰ，Ａ）
特開昭６０－０３８３９８（ＪＰ，Ａ）
特開昭５５－１５７５１８（ＪＰ，Ａ）
特表平０３－５０３７６４（ＪＰ，Ａ）
欧州特許出願公開第００３０３７４６（ＥＰ，Ａ１）
国際公開第９１／０１８６２１（WO，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K 38/27
A61K 9/08
A61K 47/02
A61K 47/10
A61K 47/12
A61K 47/34
WPIDS(STN)