

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5193870号
(P5193870)

(45) 発行日 平成25年5月8日(2013.5.8)

(24) 登録日 平成25年2月8日(2013.2.8)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 31/5575 (2006.01)	A 6 1 K 31/5575
A 6 1 K 9/107 (2006.01)	A 6 1 K 9/107
A 6 1 K 47/24 (2006.01)	A 6 1 K 47/24
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 2
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00

請求項の数 26 (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2008-533146 (P2008-533146)
 (86) (22) 出願日 平成19年9月3日(2007.9.3)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2007/067133
 (87) 国際公開番号 W02008/029763
 (87) 国際公開日 平成20年3月13日(2008.3.13)
 審査請求日 平成22年7月12日(2010.7.12)
 (31) 優先権主張番号 特願2006-240572 (P2006-240572)
 (32) 優先日 平成18年9月5日(2006.9.5)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(73) 特許権者 000001421
 キュービー株式会社
 東京都渋谷区渋谷1丁目4番13号
 (73) 特許権者 591040753
 東和薬品株式会社
 大阪府門真市新橋町2番11号
 (74) 代理人 110000154
 特許業務法人はるか国際特許事務所
 (74) 代理人 100121278
 弁理士 都築 美奈
 (72) 発明者 神谷 里美
 東京都府中市住吉町5丁目13番地の1
 キュービー株式会社研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 プロスタグランジン脂肪乳剤およびその製造方法、ならびにその安定化方法および乳化剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ホスファチジルコリン(PC)およびホスファチジルグリセロール(PG)を含むリン脂質を含有し、該リン脂質中のPCとPGの比(PC:PG)(質量比)が85:15~99.7:0.3である、プロスタグランジンを有効成分として含有する脂肪乳剤。

【請求項2】

PC:PG(質量比)が95:5~99.7:0.3である、請求項1記載の脂肪乳剤。

【請求項3】

PC:PG(質量比)が97:3~99.5:0.5である、請求項2記載の脂肪乳剤

10

【請求項4】

ホスファチジリエタノールアミン(PE)を実質的に含有しない、請求項1乃至3のいずれか1項に記載の脂肪乳剤。

【請求項5】

PGの脂肪酸残基中に、直鎖状の炭素数12-18個の飽和または不飽和脂肪酸残基が含まれる、請求項1乃至4のいずれか1項に記載の脂肪乳剤。

【請求項6】

PGが卵黄由来である、請求項1乃至5のいずれか1項に記載の脂肪乳剤。

【請求項7】

20

遊離高級脂肪酸又はその塩を実質的に含有しない、請求項 1 乃至 6 のいずれか 1 項に記載の脂肪乳剤。

【請求項 8】

遊離オレイン酸を実質的に含有しない、請求項 1 乃至 6 のいずれか 1 項に記載の脂肪乳剤。

【請求項 9】

前記リン脂質 1 質量部に対して、0.015 質量部以下の遊離高級脂肪酸又はその塩を含有する、請求項 1 乃至 6 のいずれか 1 項に記載の脂肪乳剤。

【請求項 10】

前記リン脂質 1 質量部に対して、0.15 質量部以下の遊離高級脂肪酸又はその塩を含有する、請求項 9 に記載の脂肪乳剤。

10

【請求項 11】

前記遊離高級脂肪酸が遊離オレイン酸である、請求項 9 または 10 に記載の脂肪乳剤。

【請求項 12】

前記リン脂質中の PC の含有量および PG の含有量の合計が 95 質量%以上である、請求項 1 乃至 11 のいずれか 1 項に記載の脂肪乳剤。

【請求項 13】

静脈内注射用である、請求項 1 乃至 12 のいずれか 1 項に記載の脂肪乳剤。

【請求項 14】

プロスタグランジンがプロスタグランジン E₁ またはその誘導体である、請求項 1 乃至 13 のいずれか 1 項に記載の脂肪乳剤。

20

【請求項 15】

プロスタグランジンがプロスタグランジン E₁ である請求項 1 乃至 14 のいずれか 1 項に記載の脂肪乳剤。

【請求項 16】

平均粒子径が 300 nm 以下であり、かつ、40℃にて 7 日間保存した後のプロスタグランジン E₁ の残存率が 70%以上である、請求項 15 記載の脂肪乳剤。

【請求項 17】

平均粒子径が 300 nm 以下であり、かつ、40℃にて 7 日間保存した後のプロスタグランジン E₁ の残存率が 80%以上である、請求項 15 記載の脂肪乳剤。

30

【請求項 18】

平均粒子径が 300 nm 以下であり、かつ、40℃にて 7 日間保存した後のプロスタグランジン E₁ の残存率が 85%以上である、請求項 15 記載の脂肪乳剤。

【請求項 19】

平均粒子径が 300 nm 以下であり、かつ、20℃にて 2 ヶ月保存した後のプロスタグランジン E₁ の残存率が 80%以上である、請求項 15 記載の脂肪乳剤。

【請求項 20】

平均粒子径が 300 nm 以下であり、かつ、5℃にて 1 年間保存した後のプロスタグランジン E₁ の残存率が 80%以上である、請求項 15 記載の脂肪乳剤。

【請求項 21】

ホスファチジルコリン (PC) およびホスファチジルグリセロール (PG) を含むリン脂質を含有し、該リン脂質中の PC と PG の比 (PC : PG) (質量比) が 85 : 15 ~ 99.7 : 0.3 である、プロスタグランジンを有効成分として含有する脂肪乳剤を調製する工程を含む、請求項 1 乃至 20 のいずれか 1 項に記載の脂肪乳剤の製造方法。

40

【請求項 22】

前記調整する工程において、上記脂肪乳剤の pH を 4 ~ 7 に調整する、請求項 21 記載の脂肪乳剤の製造方法。

【請求項 23】

前記調整する工程において、上記脂肪乳剤の pH を 4.5 ~ 6.5 に調整する、請求項 21 記載の脂肪乳剤の製造方法。

50

【請求項 24】

プロスタグランジン₂を有効成分として含有する脂肪乳剤において、PC : PG (質量比)が85 : 15 ~ 99 . 7 : 0 . 3であり、かつ、PEを実質的に含有しないリン脂質を使用することを含む、プロスタグランジンの安定化方法。

【請求項 25】

プロスタグランジン₂を有効成分として含有する脂肪乳剤において、PC : PG (質量比)が85 : 15 ~ 99 . 7 : 0 . 3であり、かつ、PEを実質的に含有しないリン脂質を使用することを含む、脂肪粒子の安定化方法。

【請求項 26】

PC : PG (質量比)が85 : 15 ~ 99 . 7 : 0 . 3であり、かつ、PEを実質的に含有しないリン脂質よりなる、プロスタグランジン₂を有効成分として含有する脂肪乳剤に用いる乳化剤。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、有効成分の安定性および乳化安定性に優れたプロスタグランジン₂脂肪乳剤およびその製造方法、ならびにその安定化方法および該安定化方法で使用される乳化剤に関する。

【背景技術】

【0002】

プロスタグランジン₂は、二重結合を3 - 5個有する必須脂肪酸から合成される生理活性物質であり、炎症・痛み・腫れの調整、血圧機能・心機能・胃腸機能の調整、消化酵素の分泌調整、腎機能調節、血液凝固、血小板凝集、アレルギー反応、神経伝達、各種ホルモンの産生等に関与している。

20

【0003】

プロスタグランジン₂ E1 (PGE1) 製剤の一形態として、静脈注射用の脂肪乳剤が開発され (例えば、特公平1 - 57094号公報、特公平1 - 57096号公報、特開2001 - 10958号公報参照)、市販されているものもある。

【0004】

しかしながら、現在市販されているPGE1脂肪乳剤は低温 (例えば5℃以下) で遮光して保存しなければならず、また、低温で保存したとしても品質保証期間が短い (例えば5ヶ月×1年間)。その理由としては、有効成分であるPGE1が化学的に不安定であることが挙げられる。例えば、PGE1脂肪乳剤は、保存時に凍結しないよう留意する必要があるため、5℃で保存する場合、厳密な温度管理が必要である。このように、現在市販されているPGE1脂肪乳剤は、厳密な温度管理下で保存する必要があり、保存中の品質管理が難しい。そこで、PGE1の安定性を高める検討が種々なされてきたが (例えば、特公平8 - 18989号公報、特開平4 - 338333号公報参照)、その効果は十分なものとは言い難かった。また、脂肪乳剤の安定性を高めるための検討についても行われているが (例えば、特表2005 - 500366号公報、WO2004/52354号公報参照)、プロスタグランジン₂脂肪乳剤についての記載は一切なされていない。

30

40

【0005】

このような状況に鑑みて、有効成分 (プロスタグランジン₂) の安定性および乳化安定性に優れたプロスタグランジン₂脂肪乳剤の開発が求められている。

【発明の開示】

【0006】

本発明は、有効成分の安定性および乳化安定性に優れた、プロスタグランジン₂を有効成分として含有する脂肪乳剤およびその製造方法、ならびにその安定化方法および該安定化方法で使用される乳化剤を提供する。

【0007】

本発明の一態様に係るプロスタグランジン₂を有効成分として含有する脂肪乳剤は、

50

ホスファチジルコリン (P C) およびホスファチジルグリセロール (P G) を含むリン脂質を含有し、該リン脂質中の P C と P G の比 (P C : P G) が 8 5 : 1 5 ~ 9 9 . 7 : 0 . 3 である。

【 0 0 0 8 】

上記脂肪乳剤において、 P C : P G が 9 5 : 5 ~ 9 9 . 7 : 0 . 3 であることができる。この場合、 P C : P G が 9 7 : 3 ~ 9 9 . 5 : 0 . 5 であることができる。

【 0 0 0 9 】

上記脂肪乳剤において、ホスファチジリエタノールアミン (P E) を実質的に含有しないことができる。

【 0 0 1 0 】

上記脂肪乳剤において、 P G の脂肪酸残基中に、直鎖状の炭素数 1 2 - 1 8 個の飽和または不飽和脂肪酸残基が含まれることができる。

【 0 0 1 1 】

上記脂肪乳剤において、 P G が卵黄由来であることができる。

【 0 0 1 2 】

上記脂肪乳剤において、遊離高級脂肪酸又はその塩を実質的に含有しないことができる。

【 0 0 1 3 】

上記脂肪乳剤において、遊離オレイン酸を実質的に含有しないことができる。

【 0 0 1 4 】

上記脂肪乳剤において、前記リン脂質 1 質量部に対して、 0 . 0 1 5 質量部以下の遊離高級脂肪酸又はその塩をさらに含有することができる。また、上記脂肪乳剤において、前記リン脂質 1 質量部に対して、 0 . 1 5 質量部以下の遊離高級脂肪酸又はその塩を含有することができる。この場合、前記遊離高級脂肪酸が遊離オレイン酸であることができる。

【 0 0 1 5 】

上記脂肪乳剤において、前記リン脂質中の P C の含有量および P G の含有量の合計が 9 5 % 以上であることができる。

【 0 0 1 6 】

上記脂肪乳剤において、静脈内注射用であることができる。

【 0 0 1 7 】

上記脂肪乳剤において、プロスタグランジンがプロスタグランジン E 1 またはその誘導体であることができる。

【 0 0 1 8 】

上記脂肪乳剤において、プロスタグランジンがプロスタグランジン E 1 であることができる。

【 0 0 1 9 】

この場合、平均粒子径が 3 0 0 n m 以下であり、かつ、 4 0 にて 7 日間保存した後のプロスタグランジン E 1 の残存率が 7 0 % 以上であることができる。

【 0 0 2 0 】

また、この場合、平均粒子径が 3 0 0 n m 以下であり、かつ、 4 0 にて 7 日間保存した後のプロスタグランジン E 1 の残存率が 8 0 % 以上であることができる。

【 0 0 2 1 】

また、この場合、平均粒子径が 3 0 0 n m 以下であり、かつ、 4 0 にて 7 日間保存した後のプロスタグランジン E 1 の残存率が 8 5 % 以上であることができる。

【 0 0 2 2 】

また、この場合、平均粒子径が 3 0 0 n m 以下であり、かつ、 2 0 にて 2 ヶ月保存した後のプロスタグランジン E 1 の残存率が 8 0 % 以上であることができる。

【 0 0 2 3 】

また、この場合、平均粒子径が 3 0 0 n m 以下であり、かつ、 5 にて 1 年間保存した後のプロスタグランジン E 1 の残存率が 8 0 % 以上であることができる。

10

20

30

40

50

【0024】

本発明の一態様に係る脂肪乳剤の製造方法は、

ホスファチジルコリン（PC）およびホスファチジルグリセロール（PG）を含むリン脂質を含有し、該リン脂質中のPCとPGの比（PC：PG）が85：15～99.7：0.3である、プロスタグランジンを含む有効成分として含有する脂肪乳剤を調製する工程を含む。

【0025】

上記脂肪乳剤の製造方法では、前記調整する工程において、上記脂肪乳剤のpHを4～7に調整することができる。

【0026】

上記脂肪乳剤の製造方法では、前記調整する工程において、上記脂肪乳剤のpHを4.5～6.5に調整することができる。

【0027】

本発明の一態様に係るプロスタグランジンの安定化方法は、

プロスタグランジンを含む有効成分として含有する脂肪乳剤において、PC：PGが85：15～99.7：0.3であり、かつ、PEを実質的に含有しない乳化剤を使用することを含む。

【0028】

本発明の一態様に係る脂肪粒子の安定化方法は、

プロスタグランジンを含む有効成分として含有する脂肪乳剤において、PC：PGが85：15～99.7：0.3であり、かつ、PEを実質的に含有しない乳化剤を使用することを含む。

【0029】

本発明の一態様に係る乳化剤は、PC：PGが85：15～99.7：0.3であり、かつ、PEを実質的に含有しないリン脂質よりなり、プロスタグランジンを含む有効成分として含有する脂肪乳剤に用いる。

【0030】

上記脂肪乳剤によれば、ホスファチジルコリン（PC）およびホスファチジルグリセロール（PG）を含むリン脂質を含有し、該リン脂質中のPCとPGの比（PC：PG）が85：15～99.7：0.3であることにより、有効成分（プロスタグランジン）の安定性および乳化安定性の両方に優れている。このため、市販のプロスタグランジン脂肪乳剤と比較して、保存期間の延長および/または保存温度範囲の拡大が可能である。例えば、後述する実施例の結果より、PGE1脂肪乳剤の品質保証期間（5×1年）を2年程度に延長したり、保存温度範囲を10程度に拡大できる可能性がある。これにより、保存中の品質管理がより容易である。また、上記脂肪乳剤によれば、従来技術と同様に、脂肪粒子の粒子径が小さくかつ均一であることにより、病変部位に効率よく薬剤を集積できるため、少量でも優れた有効性を発揮することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0031】

以下、本発明の一実施形態に係るプロスタグランジンを含む有効成分として含有する脂肪乳剤（以下、「プロスタグランジン脂肪乳剤」または単に「脂肪乳剤」ともいう。）およびその製造方法、ならびにその安定化方法および該安定化方法で使用される乳化剤について説明する。なお、本実施形態において、「%」は「質量%」を、「部」は「質量部」を意味する。

【0032】

1. 脂肪乳剤

本実施形態に係るプロスタグランジン脂肪乳剤は、プロスタグランジン（有効成分）、リン脂質（乳化剤）、油基材、および水を含む乳化物（水中油型乳剤）である。すなわち、本実施形態に係るプロスタグランジン脂肪乳剤は、脂肪粒子が水中に分散された乳化物であり、該脂肪粒子においては、リン脂質を含む膜の内側にプロスタグランジンおよび油

10

20

30

40

50

基材が主に包含されている。

【0033】

本実施形態に係るプロスタグランジン脂肪乳剤における各成分の含有量は、プロスタグランジンが0.2～100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、油基材が脂肪乳剤の全量に対して5～50%であり、また、リン脂質が油基材に対し1～50%である。

【0034】

また、本実施形態に係るプロスタグランジン脂肪乳剤は、必要に応じて、高級脂肪酸、等張化剤、抗酸化剤、pH調整剤をさらに含有することができる。

【0035】

さらに、本実施形態に係る脂肪乳剤のpHは4～7であることが好ましく、pHが4.5～6.5であることがより好ましい。本実施形態に係る脂肪乳剤において、pHが4未満であると乳化安定性が低下することがあり、一方、pHが7を超えると、有効成分の安定性が低下することがある。

10

【0036】

以下、本実施形態に係る脂肪乳剤を構成する各成分について説明する。

【0037】

1.1. プロスタグランジン

プロスタグランジンは、プロスタ酸を基本骨格として有する化合物の総称であり、その環構造により、A、B、C、D、E、F、G、H、I等に分類されている。上述したように、プロスタグランジンは生理活性物質であり、例えば、平滑筋刺激、炎症、アレルギー、細胞の分泌・凝集・遊走、細胞増殖、神経伝達などにおいて細胞情報伝達物質として機能する。より具体的には、プロスタグランジンはその種類によって、子宮筋および摘出小腸等の平滑筋収縮作用、降圧作用、昇圧作用、抗脂肪分解作用、胃液分泌の阻止作用、中枢神経系への作用、血小板粘着性の減少作用、血小板凝集抑制作用、血栓作成阻止作用、表皮増殖作用、角質化刺激作用等の生理学的作用を有する。

20

【0038】

本実施形態に係る脂肪乳剤に含まれるプロスタグランジンとしては、PGA1、PGB1、PGD2、PGE1、PGE2、PGF1、PGF2、PGI2およびこれらの誘導体が挙げられ、PGE1およびその誘導体であることが好ましい。ここで、誘導体としてはアルキルエステルが好適である（例えば特許第2602964号参照）。

30

【0039】

中でもPGE1は例えば、血管拡張、血圧降下、腎血流量増大、ナトリウム利尿、レニン分泌促進、エリスロポエチン分泌促進、血小板凝集阻害、気管支拡張、子宮収縮、腸管運動亢進、胃・腸の縦走筋収縮、胃・腸の輪状筋弛緩、胃酸分泌抑制、胃粘膜保護作用、免疫抑制作用、末梢交感神経終末からのノルエピネフリン遊離抑制等の作用を有する。したがって、本実施形態に係るPGE1を含有する脂肪乳剤は例えば、慢性動脈閉塞症における四肢潰瘍ならびに安静時疼痛の改善、進行性全身性硬化症および全身性エリテマトーデスにおける皮膚潰瘍の改善、糖尿病における皮膚潰瘍の改善、振動病における末梢血行障害に伴う自覚症状の改善ならびに末梢循環・神経・運動機能障害の回復、動脈管依存性先天性心疾患における動脈管の開存および経上腸間膜動脈性門脈造影における造影能の改善に用いることができる。

40

【0040】

1.2. リン脂質

本実施形態に係る脂肪乳剤で使用されるリン脂質は、ホスファチジルコリン(PC)およびホスファチジルグリセロール(PG)を含む。また、リン脂質は、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、アンモニウム塩などの薬学的に許容しうる塩であってもよい。

【0041】

PCとしては、卵黄レシチン、大豆レシチン、あるいは公知の方法にて合成、半合成により得られたレシチン等が挙げられる。中でも卵黄レシチンが好ましく、リン脂質含量が高められた精製卵黄レシチン、さらには、PEを実質的に含有しない高度精製卵黄レシチ

50

ンが好ましい。

【0042】

尚、精製卵黄レシチンは医薬品添加物規格に、高度精製卵黄レシチンは医薬品添加物事典（日本医薬品添加剤協会編）に準ずる。精製卵黄レシチン中には、通常12～18%程度のPEが含まれる。

【0043】

本実施形態に係る脂肪乳剤は、PEを実質的に含有しないことが好ましい。PEを実質的に含有しない脂肪乳剤は、高度精製卵黄レシチン、または合成、半合成により得られたレシチンをリン脂質として使用することにより製造することができる。

【0044】

リン脂質がPEを実質的に含有しないことは、例えば、以下の方法により確認することができる。すなわち、リン脂質を10%（w/v）となるよう、クロロホルム・メタノール混合溶液に溶解させた溶液を、シリカゲル薄層板の下端部に10μLチャージする。この薄層板を展開溶剤（クロロホルム：メタノール：水=65：25：4）を用いて展開し、乾燥させる。その後、ニンヒドリン試薬を噴霧し、120℃で約10分間加熱した時、同様にチャージしたPE標準液で検出されるスポットの部位に発色を認めない場合、リン脂質がPEを実質的に含有しないと判定する。

【0045】

PGは、化学合成により製造されたものであってもよいし、植物または細菌から抽出されたものであってもよいし、あるいは、公知の方法（生化学実験講座3 脂質の化学、294-295頁、東京化学同人、1974年）にしたがって、大豆や卵黄由来のレシチンを原料としてグリセロールの存在下でホスホリパーゼDを作用させることにより調製されたものであってもよい。

【0046】

PGの脂肪酸残基には、一般的に、直鎖状または分岐状の炭素数12-22個の飽和または不飽和脂肪酸残基が存在するが、本実施形態に係る脂肪乳剤においては、PGの脂肪酸残基中に、直鎖状の炭素数12-18個の飽和または不飽和脂肪酸残基が含まれることが好ましく、直鎖状の炭素数16-18個の飽和または不飽和脂肪酸残基が含まれることがより好ましい。

【0047】

上記範囲の炭素数を有する脂肪酸残基を含むPGを使用することにより、特に、卵黄レシチン由来のPCを使用する場合、PCの脂肪酸の鎖長とPGの脂肪酸の鎖長とが同程度となり、より安定化された脂肪乳剤が得られると推察される。

【0048】

化学合成のPGは例えば、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール、ジオレオイルホスファチジルグリセロール、ジラウロイルホスファチジルグリセロール、ジミリストイルホスファチジルグリセロール、ジステアロイルホスファチジルグリセロール、およびパルミトイルオレオイルホスファチジルグリセロールのうち少なくとも1種であることができる。また、天然由来のPGにおいては、由来物質特有の脂肪酸残基を有するPGを用いることができる。中でも、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール、大豆レシチン由来のPGまたは卵黄レシチン由来のPGが好ましく、有効成分の安定性の向上および生体適合性の面から、卵黄レシチン由来のPGがさらに好ましい。

【0049】

本実施形態に係る脂肪乳剤においては、リン脂質中のPCとPGの比（PC：PG）が85：15～99.7：0.3である。PC：PGが上記範囲にあることにより、有効成分の安定性および乳化安定性の両方を向上させることができる。PGが上記範囲を超えると、保存中のPGE1の安定性に悪影響を及ぼすため、好ましくない。また、PC：PGは90：10～99.7：0.3であるのが好ましく、95：5～99.7：0.3であるのがより好ましく、97：3～99.5：0.5であるのがさらに好ましい。

【0050】

また、有効成分の化学的安定性を向上させる点において、リン脂質中のPCの含有量およびPGの含有量の合計は95%以上であるのが好ましく、98%以上であることがより好ましい。

【0051】

リン脂質としては、上述のPCおよびPG以外のリン脂質（例えば、スフィンゴミエリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルポリグリセロール、ホスファチジルエチレングリコール、およびホスファチジルポリエチレングリコール並びにこれらのリゾ体、リゾPC、リゾPGの内の少なくとも1種）を5%未満含んでいてもよい。また、天然由来のリン脂質には、リン脂質以外に、トリグリセロール、コレステロール等の成分を5%未満含んでいてもよい。

10

【0052】

1.3. 油基材

本実施形態に係る脂肪乳剤で使用される油基材としては、例えば、大豆油、ゴマ油、ナタネ油、サフラワー油、オリーブ油、ヒマシ油、コーン油、綿実油、米油、ヒマワリ油、グレープシード油、小麦胚芽油などの植物油や、中鎖脂肪酸トリグリセリド(MCT)が挙げられる。植物油は精製植物油であることが好ましい。

【0053】

1.4. 高級脂肪酸

本実施形態に係る脂肪乳剤において、遊離高級脂肪酸は乳化補助剤としての機能を有する。すなわち、本実施形態に係る脂肪乳剤において、遊離高級脂肪酸を含有することにより、乳化安定性を高めることができる。本発明において、「遊離高級脂肪酸」とは、カルボン酸をいい、「遊離高級脂肪酸の塩」とは、遊離高級脂肪酸の薬学的に許容しうる塩（例えば、ナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩などのアルカリ土類金属塩）の形態の高級脂肪酸をいう。「遊離高級脂肪酸又はその塩」には、油基材である植物油やリン脂質を構成する脂肪酸エステル形態のものを含まない。また、ここで、含有される遊離高級脂肪酸は、油基材である植物油やリン脂質に含まれる遊離高級脂肪酸を含まないものとする。

20

【0054】

高級脂肪酸は、直鎖状または分岐状の炭素数6-22個（好ましくは12-20個）の飽和または不飽和脂肪酸である。高級脂肪酸としては、例えば、オレイン酸、ステアリン酸、リノール酸、パルミチン酸、リノレン酸、ミリスチン酸が挙げられ、オレイン酸が好ましい。

30

【0055】

本実施形態に係る脂肪乳剤は、有効成分の安定性および乳化安定性に優れているため、遊離の高級脂肪酸又はその塩（例えば遊離オレイン酸）が実質的に含有されていなくてもよい。高級脂肪酸又はその塩を含有する場合、リン脂質1部に対して0.15部以下であることが好ましく、0.015部以下であることがより好ましい。高級脂肪酸の含有量がリン脂質1部に対して0.15部を超えると、有効成分の安定性が低下する場合がある。高級脂肪酸の含有量がリン脂質1部に対して0.015部以下である場合、有効成分の安定性を維持しつつ、優れた乳化安定性を得ることができる。なお、「遊離高級脂肪酸を実質的に含有しない」とは、あくまでも配合目的で添加されることがないことをいい、例えば、油基材である植物油またはリン脂質の分解により生じた遊離高級脂肪酸や、意図しない混入により含有される遊離高級脂肪酸を除くものとする。

40

【0056】

脂肪乳剤が遊離オレイン酸を実質的に含有しないことは、例えば、以下の方法により確認することができる。

【0057】

脂肪乳剤1mLに対し、エタノール1mL、ジエチルエーテル0.5mL、および石油エーテル0.5mLを加えて攪拌する。これを遠心分離した上層を採取し、窒素により溶媒を留去する。得られた油相成分を10% (w/v) となるように溶解したクロロホルム

50

・メタノール混合溶液 2 μL を、シリカゲル薄層板の下端部にチャージする。この薄層板を展開溶剤（クロロホルム：メタノール：水 = 65 : 25 : 4）を用いて展開し、乾燥させる。その後、50%（w/w）硫酸を噴霧し、約 120℃ で 30 分間加熱した後、同様にチャージしたオレイン酸標準液で検出されるスポットの部位に発色を認めない場合、脂肪乳剤が遊離オレイン酸を実質的に含有しないと判定する。

【0058】

本実施形態に係る脂肪乳剤が、PE および/または遊離の高級脂肪酸（例えば遊離オレイン酸）を実質的に含有しないことにより、該脂肪乳剤に含まれる成分の数を少なくすることができ、かつ、有効成分の安定性をより高めることができる。

【0059】

1.5. その他の成分

本実施形態に係る脂肪乳剤では必要に応じて、等張化剤（例えば、グリセリン、ブドウ糖、塩化ナトリウム）、抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸およびその塩、安息香酸、クエン酸およびその塩、ジブチルヒドロキシアニソール、ジブチルヒドロキシトルエン、トコフェロール、D-ソルビトール）、pH調整剤（水酸化ナトリウム、塩酸、各種リン酸塩）を含有していてもよい。

【0060】

1.6. 製造方法

本発明の一実施形態に係るプロスタグランジン脂肪乳剤の製造方法は、ホスファチジルコリン（PC）およびホスファチジルグリセロール（PG）を含むリン脂質を含有し、PC : PG が 85 : 15 ~ 99.7 : 0.3、好ましくは 90 : 10 ~ 99.7 : 0.3、より好ましくは 95 : 5 ~ 99.7 : 0.3、さらに好ましくは 97 : 3 ~ 99.5 : 0.5 であるリン脂質を配合して脂肪乳剤を調製する工程を含む。上記脂肪乳剤を調製する工程は、より具体的には、プロスタグランジン（有効成分）、上記リン脂質（乳化剤）、油基材、および水を乳化させる工程を含む。

【0061】

PC と PG の配合方法としては、PC と PG を油基材または水に混合および均質化しておき、そこへ水または油基材を加えて乳剤を調製すればよく、油基材中で均質化することが好ましい。

【0062】

例えば、所定量の油基材（例えば大豆油）に、リン脂質（PC および PG）、プロスタグランジン（例えば PGE1）、およびその他の添加剤（例えばグリセリン）などを常用のホモジナイザーにて混合および均質化し、次いで、これに必要な量の水を加えた後、前記ホモジナイザーで再び均質化を行って水中油型乳剤に変換することにより、本実施形態に係る脂肪乳剤を製造することができる。

【0063】

PC と PG は別々に配合しても、同時に配合してもよい。また、PC の一部を酵素反応によって PG とし、これを使用してもよく、PC または PG の精製工程中に、PG または PC を含有する粗精製物やこれらの精製品等を添加し、PC : PG が 85 : 15 ~ 99.7 : 0.3 の比率になるように混合したものから精製して得られたリン脂質を使用してもよい。卵黄由来の PC と PG を使用する場合、卵黄中の PC を酵素反応により PG とし、PC と PG とが 85 : 15 ~ 99.7 : 0.3 の比率になるように卵黄液を混合してからリン脂質の精製を行い、これを使用してもよい。

【0064】

製造上の都合によっては、本実施形態に係る脂肪乳剤に安定化剤、等張化剤、pH調整剤などの添加剤を加えてもよい。また、得られた脂肪乳剤にろ過処理、加熱処理（高温加熱処理など）をさらに施してもよい。

【0065】

また、本実施形態に係るプロスタグランジン脂肪乳剤の製造方法において、pH を好ましくは 4 ~ 7（より好ましくは 4.5 ~ 6.5）に調整する工程を含むことができる。本

10

20

30

40

50

実施形態に係る脂肪乳剤において、pHが4未満であると乳化安定性が低下することがあり、一方、pHが7を超えると、有効成分の安定性が低下することがある。

【0066】

さらに、本発明の一実施形態に係る脂肪乳剤の製造方法は、上記脂肪乳剤のpHを4～7に調整した後、該脂肪乳剤を気密または密封容器に入れて、所定温度にて高温加熱処理を所定時間行う工程をさらに含むことができる。上記高温加熱処理によって、有効成分（プロスタグランジン）の分解を抑制しつつ、上記脂肪乳剤の滅菌を行うことができる。ここで、上記高温加熱処理は高圧蒸気加熱滅菌処理またはスプレー式加熱滅菌処理であるのが好ましい。

【0067】

上記高圧蒸気加熱滅菌処理またはスプレー式加熱滅菌処理の温度および時間はそれぞれ、110～140 および0.5～30分間であることが好ましい。例えば、上記高圧蒸気加熱処理を127 で1分間相当行うことができる。127、1分間相当とは、F₀値に換算すると約9～10となり、微生物の死滅を目的とした加熱条件の一例である。

【0068】

上記製造方法にて得られた脂肪乳剤は、乳化安定性のみならず、有効成分（プロスタグランジン）の安定性に優れている。例えば、上記高温加熱処理後の脂肪乳剤は、上記高温加熱処理前の脂肪乳剤と比較して、プロスタグランジンの残存率が70%以上であり、好ましくは80%以上であり、より好ましくは85%以上である。

【0069】

1.7.安定化方法および乳化剤

本発明の一実施形態に係るプロスタグランジン脂肪乳剤の安定化方法は、プロスタグランジンを有効成分として含有する脂肪乳剤において、PC：PGが85：15～99.7：0.3であり、かつ、PEを実質的に含有しないリン脂質を使用することを含む。さらに、本発明の一実施形態に係る乳化剤は、プロスタグランジン脂肪乳剤に使用され、PC：PGが85：15～99.7：0.3であり、かつPEを実質的に含有しないリン脂質よりなる。このような乳化剤としては、例えば、上記PC：PGの比率でPGを含有させた、上述した高度精製卵黄レシチンが挙げられる。

【0070】

1.8.用途および特性

本実施形態に係る脂肪乳剤によれば、ホスファチジルコリン（PC）およびホスファチジルグリセロール（PG）を含むリン脂質を含有し、該リン脂質中のPCとPGの比（PC：PG）が85：15～99.7：0.3であることにより、例えばオレイン酸などの遊離脂肪酸が実質的に含有されていなくても、乳化安定性を維持しつつ、有効成分（プロスタグランジン）の安定性を高めることができる。さらに、本実施形態に係る脂肪乳剤によれば、PEを実質的に含有しないことにより、有効成分（プロスタグランジン）の安定性をさらに高めることができる。

【0071】

本実施形態に係る脂肪乳剤は、静脈内注射用として使用することができる。この場合、本実施形態により得られた脂肪乳剤のpHを調整した後、アンプルやバイアル、プレフィルドシリンジ容器などの気密または密封容器に充填し、高温加熱処理などを施すことができる。

【0072】

また、本実施形態に係る脂肪乳剤の平均粒子径は300nm以下であることが好ましく、150～250nmの範囲内であることがより好ましい。平均粒子径がこれより大きい場合、脂肪乳剤の乳化系が不安定となることがある。また、特に静脈内に投与した場合には、150nmより小さい場合は、炎症部位（特に末梢血管内壁）やマクロファージに集積する速度が遅延し、投与後の生理活性の発揮が不十分となる可能性がある。

【0073】

また、本実施形態に係る脂肪乳剤は、平均粒子径は300nm以下であり、プロスタグ

10

20

30

40

50

ランジンが P G E 1 であって、かつ、4 0 にて 7 日間保存した後の P G E 1 の残存率が 7 0 % 以上であることが好ましく、8 0 % 以上であることがより好ましく、8 5 % 以上であることがさらに好ましい。さらに 2 0 にて 2 カ月間保存した後のプロスタグランジン E 1 の残存率が 7 0 % 以上であることが好ましく、8 0 % 以上であることがより好ましく、8 5 % 以上であることがさらに好ましい。さらに 5 にて 1 年間保存した後のプロスタグランジン E 1 の残存率が 8 0 % 以上であることが好ましく、8 5 % 以上であることがより好ましく、9 0 % 以上であることがさらに好ましい。本発明において、脂肪乳剤の 4 0 × 7 日間の保存は、脂肪乳剤の長期保存安定性を評価するための試験である（例えば特開平 4 - 3 3 8 3 3 3 号公報参照）。また、2 0 × 2 カ月間の保存も同様に、本実施形態に係る脂肪乳剤の長期保存安定性を評価するための試験である（例えば I C H ガイドライン Q 1 A 参照）。

10

【 0 0 7 4 】

本実施形態に係る脂肪乳剤によれば、P C および P G を含むリン脂質を含有し、該リン脂質中の P C と P G の比（P C : P G ）を 8 5 : 1 5 ~ 9 9 . 7 : 0 . 3 であることにより、有効成分である P G E 1 の保存安定性が優れており、かつ、配合される他の添加剤を制限したり、脂肪乳剤中の脂肪粒子の平均粒子径を増大させたり、脂肪乳剤中の脂肪粒子の粒度分布のばらつきを生じさせたりすることがない。また、本実施形態に係る脂肪乳剤によれば、従来技術と同様に、脂肪粒子の粒子径が小さくかつ均一であることにより、病変部位に効率よく薬剤が集積し、少量でも優れた有効性を発揮する。

20

【 0 0 7 5 】

ここで、保存後の脂肪乳剤中の P G E 1 の残存率（%）は、H P L C（高速液体クロマトグラフ）法にて、高温加熱処理直後の脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量と、保存後の該脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量とを測定し、得られた高温加熱処理直後の脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量と、保存した後の該脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量とに基づいて、以下の式（1）により算出される。また、H P L C 法による脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量の詳しい測定方法は、後述する実施例に記載された通りである。

【 0 0 7 6 】

【 数 1 】

30

$$PGE1の残存率(\%) = \frac{\text{保存後の脂肪乳剤中のPGE1の含有量}(g)}{\text{高温加熱処理直後の脂肪乳剤中のPGE1の含有量}(g)} \times 100$$

..... (1)

【 0 0 7 7 】

1 . 9 . 投与形態

本実施形態に係る脂肪乳剤は、非経口の投与経路にてヒトまたはヒト以外の哺乳類に投与されるのが好ましく、静脈内注射（点滴静脈内注射を含む）により投与されることがより好ましい。例えば、0 . 2 ~ 1 0 0 μ g / m L のプロスタグランジンを含む本実施形態に係る脂肪乳剤をそのまま、または輸液に混和して、静脈内注射により投与することができる。

40

【 0 0 7 8 】

2 . 実施例

以下、実施例によって本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は実施例に限定されない。

【 0 0 7 9 】

2 . 1 . 評価方法

本実施例において、脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量および脂肪乳剤中の脂肪粒子の平均粒子径は以下の方法によって測定された。

【 0 0 8 0 】

50

2.1.1. PGE1の含有量

脂肪乳剤中のPGE1の含有量は、脂肪乳剤をSEP-PAKC₁₈カートリッジ（ウォーターズ社製）で前処理し、ポストカラム法によるHPLC法により測定された。操作条件は以下の通りとした。

検出器：紫外部吸光光度計（測定波長：278nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（内径4mm、長さ15cm）

カラム温度：約60

移動相：pH6.3の1/150mol/L リン酸塩緩衝液・アセトニトリル混液（3：1）

移動相の流量：1mL/min

（ポストカラム反応条件）

反応液：1mol/L 水酸化カリウム溶液

流量：0.5mL/min

反応コイル：内径約0.5mm、長さ約10mのテフロン（商標名）チューブ

反応温度：約60

【0081】

2.1.2. 脂肪粒子の平均粒子径

脂肪乳剤中の脂肪粒子の平均粒子径は、N4PLUSサブミクロン粒度分布測定装置（ベックマン・コールター（株）製）にて測定された。

【0082】

2.1.3. 脂肪乳剤中のPEの検出

脂肪乳剤1mLに対し、エタノール1mL、ジエチルエーテル0.5mL、石油エーテル0.5mLを加えて攪拌する。これを遠心分離した上層を採取し、窒素により溶媒を除去する。得られた油相成分を20%（w/v）となるように溶解したクロロホルム・メタノール混合溶液20μLを、シリカゲル薄層板の下端部にチャージする。この薄層板を展開溶剤（クロロホルム：メタノール：水=65：25：4）を用いて展開し、乾燥させる。その後、ニンヒドリン試薬を噴霧し、約120℃で10分間加熱した時、同様にチャージしたPE標準液で検出されるスポットの部位に、発色を認めない場合、脂肪乳剤がPEを実質的に含有しないと判定する。

【0083】

2.2. 実施例1

油基材として大豆油50g、リン脂質として卵黄レシチンPC-98N（キューピー（株）製、ホスファチジルコリンの純度98.8%、前述のリン脂質中のPE検出方法にてPEが検出されなかったもの）8.82gおよびジパルミトイルホスファチジルグリセロール（日本油脂（株）製）0.18gをホモキサーにて分散し、均質化した。これにプロスタグランジンE₁ 3.5mgを添加した後、日本薬局方濃グリセリン11.05gを溶解させた注射用水を添加して混合し、全量を500gとして粗乳化液を得た。次に、上記粗乳化液をマントン・ガウリン型ホモジナイザー（APV社製）にて600kgf/cm²の加圧下で15回通液して、実施例1の脂肪乳剤（平均粒子径193nm、213nm）を得た。この脂肪乳剤中の脂肪粒子の平均粒子径を測定し、かつ、脂肪乳剤中のPGE1の含有量を算出した。

【0084】

得られた脂肪乳剤中のPGE1の含有量（調製直後の脂肪乳剤中のPGE1の含有量）を表1および表2に、脂肪乳剤の脂肪粒子の平均粒子径（調製直後の脂肪乳剤中の脂肪粒子の平均粒子径）を表3および表4にそれぞれ示す。

【0085】

次に、得られた脂肪乳剤を孔径0.45μmのメンブレンフィルターにてろ過し、水酸化ナトリウム水溶液にてpH5.0、5.5（2サンプル）、6.0に調整して2mLアンプルに分注した後、高温加熱処理として110℃で5分間スプレー式加熱滅菌処理を行った。次いで、該アンプルを開封して、この脂肪乳剤中のPGE1の残存率（加熱直後の

10

20

30

40

50

脂肪乳剤中の P G E 1 の残存率) を算出し、かつ、脂肪乳剤中の脂肪粒子の平均粒子径 (加熱直後の脂肪乳剤中の脂肪粒子の平均粒子径) を測定した。その結果を表 1 ないし表 4 にそれぞれ示す。

【 0 0 8 6 】

なお、高温加熱処理直後の脂肪乳剤中の P G E 1 の残存率は、上述した脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量の測定方法にしたがって、高温加熱処理直後の脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量を測定し、調製直後の脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量に対する高温加熱処理直後の脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量の比 (%) として算出した。

【 0 0 8 7 】

さらに、高温加熱処理後のアンプルを 4 0 ℃ にて 7 日間保存した後、該アンプルを開封して、4 0 ℃ × 7 日間保存後の脂肪乳剤中の P G E 1 の含有量を測定し、式 (1) に基づいて、4 0 ℃ × 7 日間保存後の脂肪乳剤中の P G E 1 の残存率を算出した。また、4 0 ℃ × 7 日間保存後の脂肪乳剤中の脂肪粒子の平均粒子径を測定した。その結果を表 1 ないし表 4 にそれぞれ示す。また、実施例 1 の脂肪乳剤中から、P E は検出されなかった。

【 0 0 8 8 】

なお、実施例 1、2、4 - 6 および比較例 2、3、6 においては、p H を 5 . 0 に調整した場合、実施例 1、2、4、7、9、1 0、1 2 および比較例 1 - 4、6、7 においては、p H を 5 . 5 に調整した場合、ならびに、実施例 1、3、7、8、1 1 および比較例 3、5 においては、p H を 6 . 0 に調整した場合の結果を示している (表 1 ないし表 4 参照) 。

【 0 0 8 9 】

また、実施例 1 - 1 2 および比較例 1 - 7 において、P C の使用量は、リン脂質 (卵黄レシチン) の使用量に P C の純度 (0 . 9 8 8 = 9 8 . 8 %) を乗じて算出したものである。

【 0 0 9 0 】

さらに、表 1 および表 2 において、「オレイン酸 (質量部) 」は、リン脂質 1 質量部に対するオレイン酸の含有量 (質量部) を示している。

【 0 0 9 1 】

2 . 3 . 実施例 2

実施例 1 の脂肪乳剤において、卵黄レシチン P C - 9 8 N の配合量を 8 . 5 5 g とし、ジパルミトイルホスファチジルグリセロールの配合量を 0 . 4 5 g とした以外は、実施例 1 と同様の方法により、実施例 2 の脂肪乳剤 (平均粒子径 2 2 2 n m) を得た。p H は、希塩酸にて 5 . 0 および 5 . 5 に調整した。

【 0 0 9 2 】

実施例 2 および後述する実施例 3 - 1 2 および比較例 1 - 7 の脂肪乳剤について、実施例 1 の脂肪乳剤と同様の方法にて、高温加熱処理および 4 0 ℃ × 7 日間の保存を行い、それぞれの場合における脂肪乳剤中の P G E 1 の残存率および脂肪粒子の平均粒子径をそれぞれ測定した。その結果を表 1 ないし表 4 に示す。実施例 2 の脂肪乳剤中から、P E は検出されなかった。

【 0 0 9 3 】

2 . 4 . 実施例 3

実施例 1 の脂肪乳剤において、卵黄レシチン P C - 9 8 N の配合量を 7 . 6 5 g とし、ジパルミトイルホスファチジルグリセロールの代わりに、卵黄リン脂質を精製し得られた P C をグリセロールの存在下でホスホリパーゼ D 処理して調製された P G (以下卵黄由来 P G) を 1 . 3 5 g 用い、さらにアンプル分注後の高温加熱処理条件を 1 2 7 ℃、1 分間とした以外は、実施例 1 と同様の方法により、実施例 3 の脂肪乳剤 (平均粒子径 2 2 9 n m) を得た。この卵黄由来 P G の脂肪酸残基の組成中、炭素数 1 6 が 3 5 %、炭素数 1 8 が 5 7 % であった。p H は、水酸化ナトリウム水溶液にて 6 . 0 に調整した。実施例 3 の脂肪乳剤中から、P E は検出されなかった。また、実施例 3 で得られた脂肪乳剤は、例えば後述する実施例 8、1 1 で得られた脂肪乳剤と比較して、加熱直後の有効成分 (P G E

10

20

30

40

50

1) の残存率が低いことから、PGの添加量が増加すると、加熱後の有効成分の安定性に悪影響を及ぼす傾向があると考えられる。

【0094】

2.5. 実施例4

実施例1の脂肪乳剤において、大豆油にオレイン酸0.6gを加える以外は、実施例1と同様の方法により、実施例4の脂肪乳剤(平均粒子径226nm)を得た。pHは、希塩酸にて5.0に、水酸化ナトリウム水溶液にて5.5に調整した。実施例4の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

【0095】

2.6. 実施例5

実施例1の脂肪乳剤において、大豆油にオレイン酸1.2gを加える以外は、実施例1と同様の方法により、実施例5の脂肪乳剤(平均粒子径210nm)を得た。得られた脂肪乳剤のpHは5.0であった。実施例5の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

【0096】

2.7. 実施例6

実施例2の脂肪乳剤において、大豆油にオレイン酸1.2gを加える以外は、実施例2と同様の方法により、実施例6の脂肪乳剤(平均粒子径230nm)を得た。pHは、希塩酸にて5.0に調整した。実施例6の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

【0097】

2.8. 実施例7

実施例3の脂肪乳剤において、卵黄レシチンPC-98Nの配合量を8.82gとし、卵黄由来PGの配合量を0.18gとし、さらにアンプル分注後の高温加熱処理条件を110、5分間とした以外は、実施例3と同様の方法により、実施例7の脂肪乳剤(平均粒子径218nm)を得た。pHは、希塩酸にて5.5に、水酸化ナトリウム水溶液にて6.0に調整した。実施例7の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

【0098】

2.9. 実施例8

実施例3の脂肪乳剤において、卵黄レシチンPC-98Nの配合量を8.91gとし、卵黄由来PGの配合量を0.09gとした以外は、実施例3と同様の方法により、実施例8の脂肪乳剤(平均粒子径197nm)を得た。pHは、水酸化ナトリウム水溶液にて6.0に調整した。実施例8の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

【0099】

2.10. 実施例9

実施例8の脂肪乳剤において、大豆油にオレイン酸0.12gを加える以外は、実施例8と同様の方法により、実施例9の脂肪乳剤(平均粒子径217nm)を得た。pHは、水酸化ナトリウム水溶液にて5.5に調整した。実施例9の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

【0100】

2.11. 実施例10

実施例8の脂肪乳剤において、卵黄レシチンPC-98Nの配合量を8.955gとし、卵黄由来PGの配合量を0.045gとした以外は、実施例8と同様の方法により、実施例10の脂肪乳剤(平均粒子径198nm)を得た。pHは、希塩酸にて5.5に調整した。実施例10の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

【0101】

2.12. 実施例11

実施例8の脂肪乳剤において、卵黄レシチンPC-98Nの配合量を8.973gとし、卵黄由来PGの配合量を0.027gとした以外は、実施例8と同様の方法により、実施例11の脂肪乳剤(平均粒子径195nm)を得た。pHは、水酸化ナトリウム水溶液にて6.0に調整した。実施例11の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。実施例11で得られた脂肪乳剤は、加熱後の平均粒子径が約50nm程度増大していることから

10

20

30

40

50

、加熱安定性に若干劣ると考えられるが、油相の分離は確認されず、有効成分（PGE1）の安定性にも優れていた。

【0102】

2.13. 実施例12

実施例2の脂肪乳剤において、ジパルミトイルホスファチジルグリセロールの代わりに、大豆リン脂質をグリセロールの存在下でホスホリパーゼD処理して調製されたPG（以下大豆由来PG）を用い、さらにアンプル分注後の高温加熱処理条件を127℃、1分間とした以外は、実施例2と同様の方法により、実施例12の脂肪乳剤（平均粒子径227nm）を得た。この大豆由来PGの脂肪酸残基の組成中、炭素数16が14%、炭素数18が78%であった。pHは、希塩酸にて5.5に調整した。実施例12の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

10

【0103】

2.14. 比較例1

実施例5の脂肪乳剤において、卵黄レシチンPC-98Nの配合量を9.0gとし、ジパルミトイルホスファチジルグリセロールの配合量を0gとした以外は、実施例5と同様の方法により、比較例1の脂肪乳剤（平均粒子径214nm）を得た。pHは、水酸化ナトリウム水溶液にて5.5に調整した。比較例1の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

【0104】

2.15. 比較例2

実施例1の脂肪乳剤において、卵黄レシチンPC-98Nの配合量を9.0gとし、ジパルミトイルホスファチジルグリセロールの配合量を0gとした以外は、実施例1と同様の方法により、比較例2の脂肪乳剤（平均粒子径189nm）を得た。pHは、希塩酸で5.0に、水酸化ナトリウム水溶液で5.5に調整した。比較例2の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

20

【0105】

2.16. 比較例3

比較例1の脂肪乳剤において、アンプル分注後の高温加熱処理条件を127℃、1分間とした以外は、比較例1と同様の方法により、比較例3の脂肪乳剤（平均粒子径216nm）を得た。pHは、希塩酸にて5.0に、水酸化ナトリウム水溶液にて5.5および6.0に調整した。比較例3の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

30

【0106】

2.17. 比較例4

実施例12の脂肪乳剤において、大豆由来PGの代わりに、卵黄リン脂質を精製し得られたPCをL-セリンの存在下でホスホリパーゼD処理して調製された卵黄ホスファチジルセリン（以下卵黄由来PS）を用いる以外は、実施例12と同様の方法により、比較例4の脂肪乳剤（平均粒子径221nm）を得た。pHは、水酸化ナトリウム水溶液にて5.5に調整した。比較例4の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。

【0107】

2.18. 比較例5

実施例8の脂肪乳剤において、卵黄レシチンPC-98Nの配合量を8.991gとし、卵黄PGの配合量を0.009gとした以外は、実施例8と同様の方法により、比較例5の脂肪乳剤（平均粒子径192nm）を得た。pHは、水酸化ナトリウム水溶液で6.0に調整した。比較例5の脂肪乳剤中から、PEは検出されなかった。なお、比較例5の脂肪乳剤は、加熱後に分離が確認されたため、PGE1の定量および保存試験を行わなかった。

40

【0108】

2.19. 比較例6

比較例1の脂肪乳剤において、卵黄レシチンPC-98Nの配合量を7gとし、卵黄レシチンPL-100M（キユーピー（株）製、PE含量：15.8%）2gを加える以外

50

は、比較例 1 と同様の方法により、比較例 6 の脂肪乳剤（平均粒子径 195 nm）を得た。pH は、希塩酸にて 5.0 に、水酸化ナトリウム水溶液にて 5.5 に調製した。リン脂質中の PE 含量は 3.5% であり、比較例 6 の脂肪乳剤中から PE が検出された。

【0109】

2.20. 比較例 7

実施例 12 の脂肪乳剤において、大豆由来 PG の代わりに、ジパルミトイルホスファチジン酸を用いる以外は、実施例 12 と同様の方法により、比較例 7 の脂肪乳剤（平均粒子径 238 nm）を得た。pH は、水酸化ナトリウム水溶液にて 5.5 に調整した。比較例 7 の脂肪乳剤中から、PE は検出されなかった。

【0110】

【表 1】

	オレイン酸 (質量部)	PC:PG	pH	調製直後	加熱直後		40°C×7日間保存後	
				PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (b)	PGE1 残存率 (%) (b/a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (c)	PGE1 残存率 (%) (c/b)
実施例 1	0	98:2	5.0	7.29	6.78	92.9	5.69	83.9
			5.5					
			5.5	5.69	5.37	94.3	4.68	87.2
			6.0					
実施例 2	0	95:5	5.0	6.12	5.88	96.1	4.77	81.2
			5.5					
実施例 3	0	85:15	6.0	6.60	4.08	61.9	2.91	71.3
実施例 4	0.067	98:2	5.0	6.35	5.75	90.6	4.76	82.7
			5.5					
実施例 5	0.133	98:2	5.0	7.57	6.76	89.3	5.09	75.3
実施例 6	0.133	95:5	5.0	6.94	6.30	90.8	4.47	71.0
実施例 7	0	98:2	5.5	6.64	6.13	92.3	5.55	90.5
			6.0					
実施例 8	0	99:1	6.0	7.02	5.90	84.0	5.32	90.2
実施例 9	0.0133	99:1	5.5	6.97	6.01	86.2	5.23	87.0
実施例 10	0	99.5:0.5	5.5	7.20	6.28	87.2	5.67	90.3
実施例 11	0	99.7:0.3	6.0	7.66	6.52	85.1	5.86	89.9
実施例 12	0	95:5	5.5	7.18	5.69	79.2	4.60	80.9

【0111】

10

20

30

40

【表 2】

	オレイン酸 (質量部)	PC:PG	pH	調製直後	加熱直後		40°C×7日間保存後					
				PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (b)	PGE1 残存率 (%) (b/a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (c)	PGE1 残存率 (%) (c/b)				
比較例1	0.133	100:0	5.5	7.20	6.32	87.8	4.21	66.7				
比較例2	0	100:0	5.0	6.34	5.89	92.9	5.58	94.8				
			5.5						5.84	92.1	5.59	95.8
比較例3	0.133	100:0	5.0	7.12	5.95	83.5	4.36	73.4				
			5.5						5.76	80.9	4.07	70.6
			6.0						5.52	77.5	3.63	65.9
比較例4	0	(PC:PS =95:5)	5.5	6.11	4.74	77.6	2.56	54.0				
比較例5	0	99.9:0.1	6.0	—	—	—	—	—				
比較例6	0.133	(PC:PE = 96.5:3.5)	5.0	7.10	5.66	79.7	2.52	44.5				
			5.5						5.61	79.0	2.44	43.5
比較例7	0	(PC:PA =95:5)	5.5	6.93	4.93	71.3	3.00	60.7				

10

20

【 0 1 1 2 】

【表 3】

	pH	調製直後		加熱直後		40°C×7日間保存後	
		平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)	平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)	平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)
実施例1	5.0	193	86	211	82	200	66
	5.5			214	88	213	88
	5.5	213	32	211	63	212	72
	6.0			212	78	213	82
実施例2	5.0	222	68	218	80	225	78
	5.5			219	55	220	85
実施例3	6.0	229	56	226	70	230	74
実施例4	5.0	226	86	225	88	229	50
	5.5			227	74	225	80
実施例5	5.0	210	85	211	71	217	66
実施例6	5.0	230	74	223	60	232	68
実施例7	5.5	218	86	219	68	215	80
	6.0			221	73	213	78
実施例8	6.0	197	81	198	60	196	82
実施例9	5.5	217	77	221	71	211	74
実施例10	5.5	198	58	191	56	181	64
実施例11	6.0	195	67	239	53	234	72
実施例12	5.5	227	93	233	85	226	74

10

20

30

【 0 1 1 3 】

【表 4】

	pH	調製直後		加熱直後		40°C×7日間保存後	
		平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)	平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)	平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)
比較例1	5.5	214	33	219	47	219	63
比較例2	5.0	189	69	731 (加熱後分離)	315	423	195
	5.5			(加熱後分離、測定不能)		413	185
比較例3	5.0	216	78	419	189	427	179
	5.5			311	76	340	99
	6.0			227	75	226	67
比較例4	5.5	221	29	225	77	219	80
比較例5	6.0	192	78	753 (加熱後分離)	354	—	—
比較例6	5.0	195	70	191	76	197	72
	5.5			187	68	186	71
比較例7	5.5	238	53	239	65	238	66

なお、表 1, 2 において、「PC : PG」は、各脂肪乳剤に配合されるリン脂質中の PC と PG との比を示す。

【0114】

表 1 ないし表 4 に示される結果より、実施例 1 - 12 で得られた脂肪乳剤によれば、PC および PG を含むリン脂質を含有し、該リン脂質中の PC と PG の比 (PC : PG) が 85 : 15 ~ 99.7 : 0.3 であることにより、40 × 7 日間保存後の PGE1 の残存率が 70% 以上であり、さらには 80% 以上、良好な条件下では 85% 以上とすることができ、脂肪粒子の平均粒子径が 300 nm 以下であり、かつ、調製直後、加熱直後、および 40 × 7 日間の保存後のいずれの場合においても脂肪粒子の平均粒子径のばらつきが小さかった。したがって、実施例 1 - 12 で得られた脂肪乳剤によれば、有効成分 (PGE1) の安定性および乳化安定性に優れている。

【0115】

これに対して、比較例 1 で得られた脂肪乳剤では、調製直後の脂肪乳剤と比較して、40 × 7 日間保存後の脂肪乳剤の PGE1 の残存率が大きく低下した。また、比較例 2 で得られた脂肪乳剤では、調製直後の脂肪粒子と比較して、加熱直後および 40 × 7 日間保存後の脂肪粒子の平均粒子径のばらつきが大きくなった。さらに、比較例 2 で得られた脂肪乳剤では、調製直後の脂肪粒子の平均粒子径と比較して、加熱直後および 40 × 7 日間保存後の脂肪粒子の平均粒子径が著しく大きくなり、製剤の分離も確認された。また、比較例 3 で得られた脂肪乳剤では、pH 5.0 および 5.5 では加熱直後に脂肪粒子が大きくなり、pH 6.0 では 40 × 7 日間保存後の PGE1 の残存率が低下していた。これらの理由としては、比較例 1 - 3, 5 で得られた脂肪乳剤では、リン脂質中の PC と PG の比 (PC : PG) が 85 : 15 ~ 99.7 : 0.3 の範囲にないため、有効成分 (PGE1) の安定性および / または乳化安定性が低いためであると理解できる。

【0116】

また、PG の代わりに PS を使用した比較例 4 においては、加熱直後および 40 × 7 日間保存後の乳化安定性は保たれていたが、40 × 7 日間保存後の PGE1 の残存率が

著しく低下していた。同様に、PGの代わりにPAを用いた比較例7においても、加熱直後および40 × 7日間保存後の乳化安定性は保たれていたが、40 × 7日間保存後のPGE1の残存率が著しく低下していた。このことから、PGの代わりに、PSまたはPAを用いた場合、乳化安定性は高いが、PGE1の消長が大きくなることが理解される。

【0117】

比較例6についても、リン脂質中にPEを含有することにより乳化安定性は高くなるが、比較例1、3に対して、PGE1の消長が大きくなっていることが確認された。

【0118】

2.21.20にて2ヵ月間保存後の結果

実施例1、実施例7および比較例1で得られた脂肪乳剤(pH5.5)を20の条件下で2ヶ月間保存した。保存後のPGE1の残存率および平均粒子径を表5および表6に示す。なお、20にて2ヵ月間保存した後のPGE1の残存率については、前述の式(1)により算出した。

【0119】

表5および表6の結果より、20にて2ヵ月保存した後においても、比較例1で得られた脂肪乳剤に対して実施例1で得られた脂肪乳剤のほうが、有効成分(PGE1)の安定性が高いことが理解される。

【0120】

【表5】

	オレイン酸 (%)	PC:PG	pH	調製直後	加熱直後		20°C×2ヵ月間保存後	
				PGE1 (μg/mL) (a)	PGE1 (μg/mL) (b)	PGE1 残存率 (%) (b/a)	PGE1 (μg/mL) (c)	PGE1 残存率 (%) (c/b)
実施例1	0	98:2	5.5	5.69	5.37	94.3	4.97	92.5
実施例7	0	98:2	5.5	6.64	6.13	92.3	5.59	91.1
比較例1	0.133	100:0	5.5	7.20	6.32	87.8	4.36	69.1

【0121】

【表6】

	pH	調製直後		加熱直後		20°C×2ヵ月間保存後	
		平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)	平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)	平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)
実施例1	5.5	213	32	211	63	211	79
実施例7	5.5	218	86	219	68	224	36
比較例1	5.5	214	33	219	47	228	67

【0122】

2.22.5にて6ヵ月間保存後の結果

実施例1、実施例7および比較例1で得られた脂肪乳剤(pH5.5)を5の条件下で6ヵ月間保存した。保存後のPGE1の残存率および平均粒子径を表7および表8に示す。なお、なお、5にて6ヵ月間保存した後のPGE1の残存率については、前述の式(1)により算出した。

【 0 1 2 3 】

表 7 および表 8 の結果より、5 にて 6 ヶ月間保存した後においても、比較例 1 で得られた脂肪乳剤に対して実施例 1 および 7 で得られた脂肪乳剤のほうが、有効成分 (P G E 1) の安定性が高いことが理解される。

【 0 1 2 4 】

【表 7】

	オレイン酸 (%)	PC:PG	pH	調製直後	加熱直後		5°C × 6 ヶ月間保存後	
				PGE1 (μg/mL) (a)	PGE1 (μg/mL) (b)	PGE1 残存率 (%) (b/a)	PGE1 (μg/mL) (c)	PGE1 残存率 (%) (c/b)
実施例 1	0	98:2	5.5	5.69	5.37	94.3	5.36	99.8
実施例 7	0	98:2	5.5	6.64	6.13	92.3	5.99	97.6
比較例 1	0.133	100:0	5.5	7.20	6.32	87.8	5.32	84.2

10

20

【 0 1 2 5 】

【表 8】

	pH	調製直後		加熱直後		5°C × 6 ヶ月間保存後	
		平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)	平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)	平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)
実施例 1	5.5	213	32	211	63	227	87
実施例 7	5.5	218	86	219	68	236	64
比較例 1	5.5	214	33	219	47	231	52

30

【 0 1 2 6 】

2 . 2 3 . 5 にて 1 年間保存後の結果

実施例 1、実施例 7 および比較例 1 で得られた脂肪乳剤 (p H 5 . 5) を 5 の条件下で 1 年間保存した。保存後の P G E 1 の残存率および平均粒子径を表 9 および表 1 0 に示す。なお、なお、5 にて 1 年間保存した後の P G E 1 の残存率については、前述の式 (1) により算出した。

【 0 1 2 7 】

表 9 および表 1 0 の結果より、5 にて 1 年間保存した後においても、比較例 1 で得られた脂肪乳剤に対して実施例 1 および 7 で得られた脂肪乳剤のほうが、有効成分 (P G E 1) の安定性が高いことが理解される。

40

【 0 1 2 8 】

【表 9】

	オレイン酸 (%)	PC:PG	pH	調製直後	加熱直後		5°C×1年間保存後	
				PGE1 (μg/mL) (a)	PGE1 (μg/mL) (b)	PGE1 残存率 (%) (b/a)	PGE1 (μg/mL) (c)	PGE1 残存率 (%) (c/b)
実施例1	0	98:2	5.5	5.69	5.37	94.3	5.13	95.6
実施例7	0	98:2	5.5	6.64	6.13	92.3	5.60	91.4
比較例1	0.133	100:0	5.5	7.20	6.32	87.8	4.71	74.5

10

【 0 1 2 9 】

【表 1 0】

	pH	調製直後		加熱直後		5°C×1年間保存後	
		平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)	平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)	平均粒子径 (nm)	標準偏差 (nm)
実施例1	5.5	213	32	211	63	205	78
実施例7	5.5	218	86	219	68	218	74
比較例1	5.5	214	33	219	47	211	65

20

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 9/12	(2006.01)	A 6 1 P 9/12
A 6 1 P 1/04	(2006.01)	A 6 1 P 1/04
A 6 1 P 13/12	(2006.01)	A 6 1 P 13/12
A 6 1 P 7/00	(2006.01)	A 6 1 P 7/00
A 6 1 P 37/08	(2006.01)	A 6 1 P 37/08

- (72)発明者 内田 知徳
東京都府中市住吉町5丁目13番地の1 キューピー株式会社研究所内
- (72)発明者 吉田 英人
東京都府中市住吉町5丁目13番地の1 キューピー株式会社研究所内
- (72)発明者 井上 泰孝
東京都府中市住吉町5丁目13番地の1 キューピー株式会社研究所内
- (72)発明者 山田 昇
大阪府門真市一番町2番7号 東和薬品株式会社中央研究所内
- (72)発明者 梶原 健一
大阪府門真市一番町2番7号 東和薬品株式会社中央研究所内

審査官 関 景輔

- (56)参考文献 特開平04-338333(JP,A)
特開昭60-149524(JP,A)
特表2003-501376(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/5575
A61K 9/107
A61K 47/24
A61P 1/04
A61P 7/00
A61P 9/12
A61P 13/12
A61P 29/00
A61P 37/08
A61P 43/00
CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)