(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3820607号
(P3820607)
(45)発行日　平成18年9月13日(2006.9.13)　(24)登録日　平成18年6月30日(2006.6.30)

(51)Int.Cl.		F I	
A61K 38/55	(2006.01)	A61K	37/64
A61P 7/02	(2006.01)	A61P	7/02
A61K 47/12	(2006.01)	A61K	47/12

請求項の数 24　(全 18 頁)

(21)出願番号　特願平7-293160
(22)出願日　平成7年11月10日(1995.11.10)
(65)公開番号　特開平9-132534
(43)公開日　平成9年5月20日(1997.5.20)
審査請求日　平成14年10月28日(2002.10.28)

(73)特許権者　000006725
三菱ウェルファーマ株式会社
大阪府大阪市中央区平野町２丁目６番９号
(74)代理人　100080791
弁理士　高島　一
(72)発明者　瓜生　勝寛
大阪府枚方市招提大谷２丁目２５番１号
株式会社ミドリ十字中央研究所内
(72)発明者　中島　常隆
大阪府枚方市招提大谷２丁目２５番１号
株式会社ミドリ十字中央研究所内
(72)発明者　結城　隆
大阪府枚方市招提大谷２丁目２５番１号
株式会社ミドリ十字中央研究所内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】アンチトロンビン－ＩＩＩの液状製剤およびその保存安定化方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
アンチトロンビン－III 、およびグルコン酸もしくはその塩を含有することを特徴とするアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項２】
さらに糖を含有することを特徴とする請求項１に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項３】
さらに界面活性剤を含有することを特徴とする請求項１または２に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項４】
さらにグルコン酸以外の有機酸もしくはその塩を含有することを特徴とする請求項１～３に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項５】
グルコン酸以外の有機酸がクエン酸であることを特徴とする請求項４に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項６】
グルコン酸もしくはその塩の濃度が、液状製剤中０．５～３．０ｗ／ｖ％の範囲であることを特徴とする請求項１～５に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項７】

有機酸もしくはその塩の濃度が、液状製剤中２～２０ｗ／ｖ％の範囲であることを特徴とする請求項４または５に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項８】
アンチトロンビン－III の濃度が、１０～５００単位／ｍｌであることを特徴とする請求項１～７に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項９】
ｐＨが７～１０の範囲であることを特徴とする請求項１～８に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項１０】
さらに糖硫酸エステルを含有することを特徴とする請求項１～９に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項１１】
糖硫酸エステルがヘパリンであることを特徴とする請求項１０に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項１２】
ヘパリンの濃度が、１～１０００単位／ｍｌであることを特徴とする請求項１１に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤。
【請求項１３】
アンチトロンビン－III 液状製剤に安定化剤としてグルコン酸もしくはその塩を添加することを特徴とするアンチトロンビン－III 液状製剤の保存安定化方法。
【請求項１４】
さらに補助安定化剤として糖を添加することを特徴とする請求項１３に記載のアンチトロンビン－III 液状製剤の保存安定化方法。
【請求項１５】
さらに補助安定化剤として界面活性剤を添加することを特徴とする請求項１３または１４に記載のアンチトロンビン－III 液状製剤の保存安定化方法。
【請求項１６】
安定化剤としてさらにグルコン酸以外の有機酸もしくはその塩を添加することを特徴とする請求項１３～１５に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤の保存安定化方法。
【請求項１７】
グルコン酸以外の有機酸がクエン酸であることを特徴とする請求項１６に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤の保存安定化方法。
【請求項１８】
グルコン酸もしくはその塩を、液状製剤中０．５～３．０ｗ／ｖ％の範囲の濃度となるように添加することを特徴とする請求項１３～１７に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤の保存安定化方法。
【請求項１９】
有機酸もしくはその塩を、液状製剤中２～２０ｗ／ｖ％の範囲の濃度となるように添加することを特徴とする請求項１７または１８に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤の保存安定化方法。
【請求項２０】
アンチトロンビン－III の濃度が１～１０００単位／ｍｌであることを特徴とする請求項１３～１９に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤の保存安定化方法。
【請求項２１】
ｐＨが７～１０の範囲に調整することを特徴とする請求項１３～２０に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤の保存安定化方法。
【請求項２２】
さらに糖硫酸エステルを添加することを特徴とする請求項１３～２１に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤の保存安定化方法。
【請求項２３】

糖硫酸エステルがヘパリンであることを特徴とする請求項２２に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤の保存安定化方法。
【請求項２４】
ヘパリンの濃度が、１～１０００単位／ｍｌであることを特徴とする請求項２３に記載のアンチトロンビン－III の液状製剤の保存安定化方法。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
【発明の属する技術分野】
本発明は、長期保存において安定で、かつ投与しても血圧の低下や心臓障害の生じることがほとんどないアンチトロンビン－III の液状製剤およびアンチトロンビン－III 液状製剤の安定化方法に関する。
【０００２】
【従来の技術】
アンチトロンビン－III （以下、ＡＴ－III という。）は血漿中に存在するα$_2$グロブリンに属する糖蛋白質の一種で、その分子量は６５０００～６８０００である。ＡＴ－III はプロテアーゼ阻害活性を有しており、トロンビンの凝固活性に対する強い阻害作用、およびその他の血液凝固因子、活性化Ｘ因子、活性化IX因子などに対する阻害作用をも有している。その他、プラスミンやトリプシンに対する阻害作用があることも報告されている。これらの阻害作用は、一般にヘパリンの共存下でより速やかに進行することが知られている。
【０００３】
このような薬理作用を有するＡＴ－III は、凝固異常亢進の補正、具体的には汎発性血管異常症（ＤＩＣ）の治療を目的として用いられるものである。ところで、ＡＴ－III は溶解状態では安定性が悪く、重合化により静注投与における副作用の原因ともなることから、これまで凍結乾燥の態様で製剤化されていた。
一方、液状製剤は、乾燥製剤に比べると使用時における注射用蒸留水への溶解の必要もなく簡便に投与でき、また製造工程で凍結乾燥操作を必要とせず製造上経済的であるなどの利点があるが、上記の如く、ＡＴ－III は溶液状態では安定性に劣ることからＡＴ－III 液状製剤の実用化は遅れていた。僅かに試薬の分野で、ＡＴ－III をヘパリンの共存下、溶液状態で４℃７日間保存可能であったことを確認したにすぎない（特開昭５５－１０３４６３号）。
【０００４】
このような問題を解決する製剤として、ＷＯ９４／２２４７１に、安定化剤としてクエン酸もしくはその塩を含有するＡＴ－III 液状製剤が開示されている。このＡＴ－III 液状製剤は、加熱処理時および長期保存時におけるＡＴ－III の活性の低下および重合化が防止され、安定性が良好である。
しかし、上記ＡＴ－III 液状製剤はクエン酸もしくはその塩を含有しているため、この液状製剤を投与すると血圧の低下や心臓障害が生じるという問題があった。
【０００５】
【発明が解決しようとする課題】
本発明の目的は、ＡＴ－III の溶液状態での安定性を改善し、長期保存が可能で、特に４℃から室温での長期保存において安定であり、かつ投与しても血圧の低下や心臓障害が生じることがほとんどなく、さらには投与の簡易なＡＴ－III 液状製剤およびその保存安定化方法を提供することである。
【０００６】
【課題を解決するための手段】
前述の如き従来技術における問題を解消するため本発明者らは、溶液状態でのＡＴ－III の安定化および心臓障害の低減について広範な検討を試みてきたところ、安定化剤としてグルコン酸もしくはその塩を配合することにより、ＡＴ－III の溶液状態での安定性が良好で長期保存においてもＡＴ－III が安定であり、かつこのように調製したＡＴ－III 液

状製剤を投与しても血圧の低下や心臓障害を生じることがほとんどないことを見出した。そしてこのＡＴ－III 液状製剤は、臨床面でも薬理効果および安全性において何ら問題のないことを見出し本発明を完成したものである。

【０００７】

すなわち本発明は、アンチトロンビン－III 、およびグルコン酸もしくはその塩とを含有することを特徴とするアンチトロンビン－III の液状製剤に関する。また、本発明は、アンチトロンビン－III 液状製剤に安定化剤としてグルコン酸もしくはその塩を添加することを特徴とするアンチトロンビン－III 液状製剤の保存安定化方法に関する。

【０００８】

以下に本発明を詳細に説明する。

（Ｉ）ＡＴ－III について

本発明で使用されるＡＴ－III は、ヒト由来のもので医薬として使用できる程度に精製されたものであれば特に制限されるものではなく、例えばヒトの全血、血漿、血清または凝固した血液から圧搾された血清などから精製することができる。使用される血液としては、特にＨＢｓ抗原、抗ＨＩＶ抗体、抗ＡＴＬＶ抗体、抗ＨＣＶ抗体に対して陰性であり、ＧＴＰが正常値の２倍以下であるものが好ましい。

血液，血漿からのＡＴ－III の精製法としては、例えば特開昭４８－３５０１７号公報（米国特許３８４２０６１号）、特公昭５９－７６９３号公報（米国特許４３４０５８９号）、特開平１－２７５６００号公報（ＥＰ３３９９１９）、ＥＰ５５１０８４に開示の方法等が例示される。

例えば、血漿からクリオプリシピテートを除去した上清の低温エタノール画分IV－１、画分IVまたは画分II＋III を、更にヘパリンアフィニティークロマトグラフィーなどの操作を経て精製する方法などが挙げられる。

また、細胞培養法〔例えば、特表昭５７－５００７６８号公報（ＥＰ５３１６５）参照〕、遺伝子工学法〔例えば、特開昭５８－１６２５２９号公報（ＥＰ９０５０５）参照〕などにより調製されるＡＴ－III も使用できる。

【０００９】

（II）ＡＴ－III の液状製剤

本発明のＡＴ－III 液状製剤は、ＡＴ－III 、およびグルコン酸もしくはその塩とを含有する液状製剤である。

本発明のＡＴ－III 液状製剤は、ＡＴ－III を通常１０～５００単位／ｍｌ、好ましくは１～２００単位／ｍｌ、より好ましくは２５～１００単位／ｍｌの割合で含有するものである。本明細書においてＡＴ－III １単位とは、正常人血漿１ｍｌ中に含まれるＡＴ－III 量に相当するＡＴ－III の量をいう。

【００１０】

グルコン酸は塩の態様をしていてもよく、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩、アンモニウム塩等の有機塩等が例示される。好ましくはナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、マグネシウム塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩であり、特に好ましくはカルシウム塩、ナトリウム塩である。

【００１１】

グルコン酸もしくはその塩は、上記液状製剤中、好ましくは０．５～３．０ｗ／ｖ％、より好ましくは０．５～２．０ｗ／ｖ％、特に好ましくは１．０～１．５ｗ／ｖ％の範囲となるように添加される。この添加量が０．５ｗ／ｖ％未満の場合、ＡＴ－III の安定化効果が不十分であり、逆に添加量が３．０ｗ／ｖ％を超える場合、クエン酸ナトリウムとのキレート作用により、沈殿物を生じたり、ＡＴ－III の安定化効果が低下して好ましくない。

【００１２】

本発明の液状製剤は、さらにグルコン酸以外の有機酸を含有していてもよい。本明細書において有機酸とは、分子内に少なくとも１個、好ましくは１～３個のカルボキシル基（－

ＣＯＯＨ）を有する化合物をいう。一塩基酸、二塩基酸、三塩基酸とは、それぞれカルボキシル基を１、２または３個有する化合物をいう。

【００１３】

本発明で使用されるグルコン酸以外の有機酸は、脂肪族または芳香族、飽和または不飽和、一塩基酸（モノカルボン酸）、二塩基酸（ジカルボン酸）または三塩基酸（トリカルボン酸）のいずれでもよい。好ましくは炭素数２～１０、より好ましくは炭素数２～６のものが挙げられる。一塩基酸としては、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸などの飽和脂肪族モノカルボン酸、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンなどの一塩基酸のアミノ酸が例示される。二塩基酸としては、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、グルタル酸、アジピン酸などの飽和脂肪族ジカルボン酸、マレイン酸、フマル酸などの不飽和脂肪族ジカルボン酸、フタル酸などの芳香族ジカルボン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸などの二塩基酸のアミノ酸、リンゴ酸、酒石酸などの二塩基酸のヒドロキシ酸が例示される。三塩基酸としては、クエン酸などの三塩基酸のヒドロキシ酸が例示される。好ましくは、リンゴ酸、酒石酸、マレイン酸、アスパラギン酸、クエン酸であり、より好ましくはリンゴ酸、クエン酸である。

【００１４】

さらに、かかる有機酸は塩の態様をしていてもよい。有機酸の塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩、アンモニウム塩等の有機塩等が例示される。好ましくは、ナトリウム塩またはカルシウム塩である。本発明で使用される有機酸塩として、より好ましくはリンゴ酸ナトリウム、クエン酸ナトリウムであり、特に好ましくはクエン酸ナトリウムである。

【００１５】

有機酸もしくはその塩は、上記液状製剤中、好ましくは２～２０ｗ／ｖ％、より好ましくは２～１０ｗ／ｖ％、特に好ましくは３～５ｗ／ｖ％の範囲となるように添加される。この添加量が２ｗ／ｖ％未満の場合、ＡＴ－III の安定化効果が低下し、逆に添加量が２０ｗ／ｖ％を超える場合、ＡＴ－III の安定化効果は良好となるが、浸透圧比が高くなり毒性による血圧の低下をきたすので好ましくない。特に有機酸がクエン酸である場合、得られる製剤を投与すると血圧の低下や心臓障害が生じる。

【００１６】

本発明の液状製剤には、さらに補助安定化剤として糖を添加してもよい。糖の添加により、有機酸の添加量を低くし、ＡＴ－III 活性の失活の原因となる二峰性を防ぐことができる。本発明で使用される糖としては、例えば単糖類、二糖類、糖アルコール、アミノ糖等が挙げられる。単糖類としてはグルコース、フルクトース、ガラクトース、マンノース、アラビノース、イノシトール等が、二糖類としてはサッカロース、ラクトース、マルトース等が、また糖アルコールとしてはマンニトール、ソルビトール、キシリトール等が例示される。またアミノ糖としては、グルコサミンおよびアミノ糖誘導体であるＮ－アセチル－Ｄ－グルコサミンなどが例示される。好ましくは、サッカロース、ラクトース、ソルビトール、イノシトール、マルトース、Ｎ－アセチル－Ｄ－グルコサミン、マンニトールである。

【００１７】

糖は、上記製剤中、好ましくは０．１～４０ｗ／ｖ％、より好ましくは０．５～２０ｗ／ｖ％、特に好ましくは５～１０ｗ／ｖ％の範囲となるように添加される。この添加量が０．１ｗ／ｖ％未満の場合、ＡＴ－III の安定化効果が低下し、逆に添加量が４０ｗ／ｖ％を超える場合、ＡＴ－III の安定化効果は良好となるが、浸透圧比が高くなり粘性が増すので好ましくない。

【００１８】

また本発明の液状製剤には、補助安定化剤として界面活性剤をさらに添加してもよい。界面活性剤の添加により、保存中の不溶性異物の発生を防止することができる。界面活性剤としては、非イオン系界面活性剤が好ましく、例えばポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル（例えば商品名：トウィーン）、ポリオキシエチレン－ポリオキシプロピレン

共重合体（例えば商品名：プルロニック）、ポリアルキレングリコール（例えば、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール等）、ポリオキシエチレンアルキルエーテル（例えば商品名：トリトン）等が例示される。これらの界面活性剤の分子量は２，０００～２０，０００が好ましい。ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルの脂肪酸としては、ステアリン酸、パルミチン酸、ミリスチン酸、ラウリン酸、オレイン酸等の炭素数１２～１８の脂肪酸が挙げられる。

【００１９】

界面活性剤は、上記製剤中、好ましくは０．００５～０．１ｗ／ｖ％、より好ましくは０．０１～０．０５ｗ／ｖ％、特に好ましくは０．０１～０．０３ｗ／ｖ％の範囲となるように添加される。この添加量が０．００５ｗ／ｖ％未満の場合、ＡＴ－III の安定化効果が低下し、また振盪すると蛋白の変性による不溶性異物が出現し、逆に添加量が０．１ｗ／ｖ％を超える場合、毒性による血圧の低下をきたすので好ましくない。

【００２０】

また、本発明の液状製剤には、さらにその他の安定化剤を添加することもできる。例えば、無機塩、アルブミン、アプロチニン、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）またはその塩などが挙げられる。無機塩としては特に限定されないが、塩化ナトリウム、塩化カリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、リン酸ナトリウム、リン酸水素二カリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸カリウム等が例示される。

【００２１】

また本発明の液状製剤には、本発明の目的に反しない限り、通常液状製剤に用いられる添加剤、例えば等張化剤（ソルビトール、マンニトール、グリセリン、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、グルコース、塩化ナトリウム等）、防腐殺菌剤（塩化ベンザルコニウム、パラオキシ安息香酸エステル類、ベンジルアルコール、パラクロルメタキセノール、クロルクレゾール、フェネチルアルコール、ソルビン酸またはその塩、チメロサール、クロロブタノール等）、キレート剤（エデト酸ナトリウム、縮合リン酸ナトリウム等）、粘稠剤（ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルアルコール、ポリアクリル酸ナトリウム等）等を通常使用される添加量で配合することができる。

【００２２】

本発明のＡＴ－III 液状製剤は、さらに糖硫酸エステルを添加することもできる。糖硫酸エステルとしては、ヘパリン、デキストラン硫酸等が例示され、好ましくはヘパリンである。ヘパリンの含有量は、液状製剤中、好ましくは１～１０００単位／ｍｌ、より好ましくは１０～１００単位／ｍｌである。またＡＴ－III に対する割合は、ＡＴ－III １単位当たり好ましくは０．１～１００単位、より好ましくは１～５単位が例示される。

【００２３】

本発明の液状製剤は、好ましくはｐＨ７．０～１０．０、より好ましくはｐＨ７．０～９．０、特に好ましくはｐＨ７．０～８．０であり、この範囲において安定であり、就中ｐＨ７．０～７．８においては長期保存に安定である。またｐＨ７．０～８．０の製剤は、注射時の疼痛が緩和されるので、注射剤として使用するのに適している。

【００２４】

ｐＨの調整は通常の方法で行うことができ、例えば調整剤として水酸化物または適当な緩衝液などを用いて行ってもよい。水酸化物としては水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等が例示される。緩衝液としてはリン酸塩緩衝液、重炭酸塩緩衝液、トリス緩衝液等が例示される。

【００２５】

本発明の液状製剤には、本発明の目的に反しない限りＡＴ－III 以外の薬効成分を配合することができる。例えば血漿分画製剤（トロンビン、ヘパリンコファクター、フィブリノゲン）等が例示される。

【００２６】

本発明の液状製剤の態様としては、ＡＴ－III が他の成分と共に水中に溶解された態様で

あれば特に制限されるものではなく、例えば注射剤、点滴剤などの態様のものが例示される。溶解させる水としては、例えば注射用蒸留水、滅菌精製水等が例示される。

【００２７】

本発明の液状製剤は、液剤の種類に応じ、自体既知の手段を用いて調製することができる。また所望により加熱処理、除菌濾過などの処理を施すことができる。

【００２８】

このようにして調製された本発明液状製剤は、通常４℃～室温において長期保存が可能である。通常１５℃以下で少なくとも２４ヵ月間、室温で少なくとも６ヵ月間の保存が可能であり、製剤調製時におけるＡＴ－III 活性の少なくとも８０％、好ましくは９０％以上保持する。

【００２９】

本発明の液状製剤は、先天性ＡＴ－III 欠乏に起因する血栓形成傾向およびＡＴ－III 低下を伴う汎発性血管内凝固症候群（ＤＩＣ）の治療に有用である。

本剤の投与方法は、従来のＡＴ－III 注射剤もしくは点滴剤の処方に準じることができ、例えば、本発明液状製剤を緩徐に静注もしくは点滴静注する方法が挙げられる。

通常、本発明液状製剤は１日１，０００～３，０００単位（又２０～６０単位／kg）の割合で投与されるが、かかる投与量は年齢、体重、症状などにより適宜増減してもよい。なお、産科的、外科的ＤＩＣなどで緊急処置として本剤を使用する場合は、１日１回４０～６０単位／ｋｇを投与することが好ましい。

本発明の液状製剤の浸透圧は、ヒトおよび動物の生理的条件と同じかもしくはそれに近いことが好ましい。

【００３０】

【実施例】

次に、実施例を示して本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものでない。

実施例１

ＡＴ－III ５００単位、グルコン酸カルシウム３００ｍｇを注射用水１０ｍｌに溶解し、ｐＨを７．５に調整してＡＴ－III 液状製剤とした。

【００３１】

実施例２

ＡＴ－III ５００単位、グルコン酸カルシウム１００ｍｇ、クエン酸ナトリウム３００ｍｇを注射用水１０ｍｌに溶解し、ｐＨを７．５に調整してＡＴ－III 液状製剤とした。

【００３２】

実施例３

ＡＴ－III ５００単位、グルコン酸ナトリウム１５０ｍｇ、クエン酸ナトリウム５００ｍｇを注射用水１０ｍｌに溶解し、ｐＨを７．５に調整してＡＴ－III 液状製剤とした。

【００３３】

実施例４

ＡＴ－III ５００単位、グルコン酸カルシウム１００ｍｇ、リンゴ酸ナトリウム３００ｍｇを注射用水１０ｍｌに溶解し、ｐＨを７．５に調整してＡＴ－III 液状製剤とした。

【００３４】

実施例５

ＡＴ－III ５００単位、グルコン酸カルシウム１００ｍｇ、サッカロース２０００ｍｇを注射用水１０ｍｌに溶解し、ｐＨを７．５に調整してＡＴ－III 液状製剤とした。

【００３５】

実施例６

ＡＴ－III ５００単位、グルコン酸カルシウム１００ｍｇ、ポリオキシエチレン－ポリオキシプロピレン共重合体（商品名プルロニックＰＦ－６８）１ｍｇを注射用水１０ｍｌに溶解し、ｐＨを７．５に調整してＡＴ－III 液状製剤とした。

【００３６】

実施例７
ＡＴ－III ５００単位、グルコン酸カルシウム１００ｍｇ、サッカロース２０００ｍｇ、ポリオキシエチレン－ポリオキシプロピレン共重合体（商品名プルロニックＰＦ－６８）１ｍｇを注射用水１０ｍｌに溶解し、ｐＨを７．５に調整してＡＴ－III 液状製剤とした。

【００３７】
実施例８
ＡＴ－III ５００単位、グルコン酸カルシウム１００ｍｇ、クエン酸ナトリウム３００ｍｇ、サッカロース２０００ｍｇ、ポリオキシエチレン－ポリオキシプロピレン共重合体（商品名プルロニックＰＦ－６８）１ｍｇを注射用水１０ｍｌに溶解し、ｐＨを７．５に調整してＡＴ－III 液状製剤とした。

【００３８】
実施例９
ＡＴ－III ５００単位、グルコン酸カルシウム１５０ｍｇ、クエン酸ナトリウム５００ｍｇ、サッカロース１０００ｍｇ、ポリオキシエチレン－ポリオキシプロピレン共重合体（商品名プルロニックＰＦ－６８）１ｍｇ、ヘパリン５０００単位を注射用水１０ｍｌに溶解し、ｐＨを７．５に調整してＡＴ－III 液状製剤とした。

【００３９】
以下の実験例において、本発明のＡＴ－III 液状製剤中のＡＴ－III の安定性を調べた。なお、ＡＴ－III の安定性は、残存するＡＴ－III 活性および／またはＡＴ－III の重合化の割合から評価した。なお、以下に述べるように、ＡＴ－III 活性はＡＴ－III 活性測定キット（テストチームＡＴ－III ・２キット：第一化学薬品製）を用いて測定し、ＡＴ－III の重合化の割合はＨＰＬＣ（高速液体クロマトグラフィー）分析によって測定した。

【００４０】
（１）ＡＴ－III 活性の測定
検体希釈液５０μｌ〔２．４Ｕ／ｍｌヘパリン，４０ｍＭ　トリス－塩酸緩衝液，０．１４Ｍ　ＮａＣｌ，１０ｍＭ　ＥＤＴＡ（ｐＨ８．４）中〕をチューブに採り、ヒトトロンビン溶液〔０．９％塩化ナトリウム、０．０５％ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ），０．０５％ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）＃６０００中、１Ｕ／ｍｌトロンビン含有）１００μｌを加え、３７℃で５分間プレインキュベートした後、合成基質液（Ｓ－２２３８：ＨＤ－フェニルアラニル－Ｌ－ピペコリル－Ｌ－アルギニル－ｐ－ニトロアニリド・二塩酸塩）１００μｌを加え、さらに３７℃で５分間インキュベートした。発色後、クエン酸溶液を１ｍｌ加えて反応を停止させ、分光光度計で波長４０５ｎｍの吸光度を測定した。測定検体と同時に正常ヒト血漿（１Ｕ　ＡＴ－III ／ｍｌ）を測定し、その検量線から検体のＡＴ－III 含量を測定した。

【００４１】
（２）ＨＰＬＣ分析
Ｇ３，０００SW_{XL}カラム（東ソー社製）を０．３Ｍ　ＮａＣｌ加０．０５Ｍリン酸塩緩衝液（ｐＨ７．０）で平衡化した後、流速０．７ｍｌ／分で測定を行った。

【００４２】
実験例１
ＡＴ－III （乾燥製剤、商品名ノイアート、ミドリ十字社製）濃縮バルク液（ＡＴ－III 力価：５０Ｕ／ｍｌ）を２％クエン酸ナトリウム、ｐＨ７．５で一夜透析した後、表１に示す各種安定化剤を添加し、除菌濾過後、６０℃で１時間または５５℃で１０時間加熱処理を行い、ＨＰＬＣ分析を行った。結果を表１に示す。

【００４３】
【表１】

配合剤	60℃−1hr	55℃−10hr
	HPLC分析(%)	HPLC分析(%)
5w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5) (対照)	79.7	83.3
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Lact., 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	25.5	——
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Dext., 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	31.8	69.0
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Sorb., 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	36.5	——
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Gly., 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	56.4	69.3
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Mann., 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	34.2	——
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Malt., 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	24.2	——
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Inos., 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	62.8	75.6
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%L-lys-HCl, 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	9.2	——
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%L-Arg-HCL, 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	4.3	——
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Phe, 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	4.4	——
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Gluc-Na, 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	79.0	81.6
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Ala, 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	59.1	——
2w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 5w/v%Sali-Na, 0.01w/v%P.F.-68 (pH7.5)	15.9	——

【００４４】

クエン酸の添加量を減らし、グルコン酸ナトリウムを安定化剤の１つとして添加した製剤は対照と同等の安定化効果を示した。

【００４５】

実験例２

ＡＴ－III（乾燥製剤、商品名ノイアート、ミドリ十字社製）濃縮バルク液（ＡＴ－III力価：５０Ｕ／ｍｌ）を２％クエン酸ナトリウム、ｐＨ７．５で一夜透析した後、表２に示す安定化剤を添加し、除菌濾過後、５５℃で１０時間または６０℃で３０分間加熱処理を行い、ＨＰＬＣ分析を行った。結果を表２に示す。

【００４６】

【表２】

配合剤	55℃-10hr		60℃-30min	
	AT-III活性 (%)	HPLC分析 (%)	AT-III活性 (%)	HPLC分析 (%)
3%Gluc-Ca加20%Sacc加0.01%PF-68 pH7.5	86.5	79.3	88.2	85.2
5%Gluc-Ca加20%Sacc加0.01%PF-68 pH7.5	93.1	86.8	93.8	91.5
2%Cit.-Na加20%Sacc加0.01%PF-68 pH7.5	75.2	72.5	65.0	63.2
3%Cit.-Na加20%Sacc加0.01%PF-68 pH7.5	85.0	78.5	87.2	85.0
4%Cit.-Na加20%Sacc加0.01%PF-68 pH7.5	86.5	82.3	93.0	92.7
5%Cit.-Na加20%Sacc加0.01%PF-68 pH7.5	92.3	84.5	95.5	95.1
2%Cit.-Na加20%Sacc加1%Gluc.-Ca加0.01%PF-68 pH7.5	85.5	82.8	79.5	74.8
3%Cit.-Na加20%Sacc加1%Gluc.-Ca加0.01%PF-68 pH7.5	92.5	89.5	93.5	88.6
4%Cit.-Na加20%Sacc加1%Gluc.-Ca加0.01%PF-68 pH7.5	96.8	93.0	98.5	93.5
5%Cit.-Na加20%Sacc加1%Gluc.-Ca加0.01%PF-68 pH7.5	99.5	94.5	99.8	95.2
3%Cit.-Na加20%Sacc.加1%Gluc.-Ca加0.01%PF-68 pH7.5(対照:非加熱)	(100)	(96.0)	(100)	(96.0)

【００４７】

有機酸としてグルコン酸カルシウムのみを用いた例は、有機酸としてクエン酸ナトリウムのみを用いた例と同等の安定化効果を示し、有機酸としてグルコン酸カルシウムとクエン酸ナトリウムを併用した例は、有機酸としてクエン酸ナトリウムのみを用いた例よりも良好な安定化効果を示した。

【００４８】

実験例３

ＡＴ－III （乾燥製剤、商品名ノイアート、ミドリ十字社製）濃縮バルク液（ＡＴ－III 力価：５０Ｕ／ｍｌ）を２％クエン酸ナトリウム、ｐＨ７．５で一夜透析した後、表３に示す安定剤を添加し、除菌濾過後、５５℃で１０時間加熱処理を行い、１時間、３時間、５時間および１０時間のＡＴ－III 活性の残存率の測定およびＨＰＬＣ分析を行った。結

果を表３、図１および図２に示す。

【００４９】

【表３】

配合剤	1 hr		3 hr		5 hr		10 hr	
	HPLC (%)	AT-III (%)	HPLC (%)	AT-III (%)	HPLC (%)	AT-III (%)	HPLC (%)	AT-III (%)
3.0w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 1.0w/v%Gluc-Ca, 0.01w/v%P.F.-68 pH7.5	98.3	92.6	91.4	89.6	85.9	89.2	83.2	83.4
3.0w/v%Cit-Na, 15w/v%Sacc., 1.0w/v%Gluc-Ca, 0.01w/v%P.F.-68 pH7.5	98.7	92.3	93.2	94.8	88.7	91.2	85.3	86.8
3.0w/v%Cit-Na, 20w/v%Sacc., 1.0w/v%Gluc-Ca, 0.01w/v%P.F.-68 pH7.5	98.9	96.4	94.7	94.6	92.5	94.0	91.3	93.5
3.0w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 3.0w/v%Glu-Na, 1.0w/v%Gluc-Ca, 0.01w/v%P.F.-68 pH7.5	98.6	94.4	95.7	92.0	92.3	94.4	90.1	92.4

【００５０】

3.0w/v%Cit-Na, 20w/v%Sacc., 1.0w/v%Gluc-Ca, 0.01w/v%P.F.-68 pH7.5の組成の安定化剤を使用した製剤が安定化効果が最も良好であることがわかった。

【００５１】

実験例４

ＡＴ－III （乾燥製剤、商品名ノイアート、ミドリ十字社製）濃縮バルク液（ＡＴ－III 力価：５０Ｕ／ｍｌ）を２％クエン酸ナトリウム、ｐＨ７．５で一夜透析した後、表４に示す安定剤を添加し、除菌濾過後、１１℃で３、６、１２、１５、１８、２２ヵ月後のＡＴ－III 活性の残存率の測定およびＨＰＬＣ分析を行った。結果を表４に示す。

【００５２】

【表４】

組成	開始時		3M		6M		12M		15M		18M		22M	
	HPLC(%)	AT-III(%)	HPLC(%)	AT-III(%)	HPLC(%)	AT-III(%)	HPLC(%)	AT-III(%)	HPLC(%)	AT-III(%)	HPLC(%)	AT-III(%)	HPLC(%)	
3%Gluc-Ca 20%Sacc 0.01%PF-68	99.9	100	100	96.6	98.5	100.5	92.8	90.0	90.7	86.8	89.4	88.0	86.4	
3%Cit-Na 20%Sacc 0.01%PF-68	100	100	99.5	99.9	99.8	99.8	94.0	91.2	91.9	88.6	89.0	88.9	87.8	
3%Cit-Na 20%Sacc 1%Gluc-Ca 0.01%PF-68	99.9	100	100	100	99.7	98.6	95.7	93.5	94.1	91.2	92.3	89.7	91.2	
5%Cit-Na 10%Sacc 1%Gluc-Ca 0.01%PF-68	100	100	99.9	99.7	99.8	99.5	99.7	96.4	96.1	92.5	94.1	90.5	92.6	

【００５３】

表４より、 3w/v%Gluc-Ca, 20w/v%Sacc., 0.01w/v%P.F.-68 pH7.5 の組成、 3w/v%Cit-Na, 20w/v%Sacc., 1w/v%Gluc-Ca, 0.01w/v%P.F.-68 pH7.5の組成、および 5w/v%Cit-Na, 10w/v%Sacc., 1w/v%Gluc-Ca, 0.01w/v%P.F.-68 pH7.5の組成の液状製剤はいずれも２２ヵ月でも安定性が良好であることがわかった。

【００５４】

表１～４および図１～２中、Cit-Naはクエン酸ナトリウム、Sacc. はサッカロース、P.F.

-68 はプルロニックＰＦ－６８、 Lact.はラクトース、 Dext.はデキストロース、 Sorb.はソルビトール、Gly.はグリシン、 Mann.はマンニトール、 Malt.はマルトース、 Inos.はイノシトール、lys はリジン、Arg はアルギニン、Phe はフェニルアラニン、Gluc-Na はグルコン酸ナトリウム、Ala はアラニン、Sali-Na はサリチル酸ナトリウム、Gluc-Ca はグルコン酸カルシウム、Glu-Naはグルタミン酸ナトリウムを示す。

【００５５】

実験例５

ＡＴ－III 液状製剤の犬に対する呼吸・循環器系に及ぼす影響を調べた。

なお、試験にはイヌ（雑種、雄性、体重９．０～１１．０ｋｇ、予備飼育期間１週間以上）を７頭使用し、温度１９±２℃、湿度６５±１０％の条件で飼育した。この雄性雑犬を１群３頭使用し、ペントバルビタール－Ｎａ塩の静脈内投与（２５ｍｇ／ｋｇ）で麻酔し後背位に固定した。呼吸、血圧、心拍数、血流量および心電図を測定し、平均値±標準偏差を求めた。呼吸は気管にチューブ（商品名トラキロン、テルモ製）にサーミスター型呼吸センサー（日本光電製、ＴＲ－６１２Ｔ）を介し、血圧は大腿動脈にカテーテルを挿入しディスポ血圧トランスデュサー（日本光電製、ＤＸ－３６０）および圧ランプ（日本光電製、ＡＰ－６４１Ｇ）を介して、心拍数は脈圧をトリガーして心拍計（日本光電製、ＡＴ－６０１Ｇ）を介して、血流量は大腿動脈に血流量測定用プローブを装着し電磁流量計（日本光電製、ＭＦＶ－３１００）を介して、いずれもポリグラフ（日本光電製、ＲＭ－６０００）に連結し同時記録した。心電図（ＰＲ、ＱＲＳ、ＱＴ、Ｔ、Ｓ－Ｔ）は標準四肢第II誘導にて心電計（日本光電製、ＥＣＧ－８１１０）上に記録した。被検薬剤として、ＡＴ－III （５０Ｕ／ｍｌ）、３ｗ／ｖ％グルコン酸カルシウム、２０．０ｗ／ｖ％サッカロースおよび０．０１ｗ／ｖ％プルロニックＰＦ－６８からなるｐＨ７．５のＡＴ－III 液状製剤（Ａ）、ＡＴ－III （５０Ｕ／ｍｌ）、３ｗ／ｖ％クエン酸ナトリウム、２０．０ｗ／ｖ％サッカロースおよび０．０１ｗ／ｖ％プルロニックＰＦ－６８からなるｐＨ７．５のＡＴ－III 液状製剤（Ｂ）、およびＡＴ－III （５０Ｕ／ｍｌ）、３ｗ／ｖ％クエン酸ナトリウム、２０．０ｗ／ｖ％サッカロース、１．０ｗ／ｖ％、グルコン酸カルシウムおよび０．０１ｗ／ｖ％プルロニックＰＦ－６８からなるｐＨ７．５のＡＴ－III 液状製剤（Ｃ）を使用し、その投与量は０．６ｍｌ／ｋｇとし、大腿静脈内に留置したカテーテルを介してマルチホルダー付シリンジポンプ（Ｈａｒｖａｒｄ２２－Ｍ）を用い、投与速度０．２５ｍｌ／ｋｇ／ｍｉｎとした。なお、観察時間は投与前、投与中間、投与後１分、５分、１５分および３０分とした。その結果を表５～表７に示す。

【００５６】

【表５】

液状製剤（Ａ）の呼吸・循環器系に及ぼす影響　（平均±標準偏差）

測定項目			投与終了後時間経過				
	前値	投与中間	終了直後	１分	５分	１５分	３０分
呼吸	100 ±0	150.0 ±0.0	191.7 ±8.3	175.0 ±25.0	162.5 ±12.5	112.5 ±12.5	112.5 ±12.5
血圧 （収縮）	100 ±0	95.8 ±4.7	91.9 ±5.9	94.9 ± 5.1	95.9 ± 6.7	99.9 ± 3.8	99.7 ± 3.5
血圧 （拡張）	100 ±0	90.7 ±3.5	88.4 ±0.1	88.6 ± 2.4	91.9 ± 5.7	98.7 ± 2.9	103.0 ± 1.9
血圧 （平均）	100 ±0	93.0 ±4.0	89.9 ±2.7	91.4 ± 3.5	93.7 ± 6.1	99.2 ± 3.3	101.5 ± 2.7
心拍数	100 ±0	106.7 ±9.6	106.3 ± 10.0	112.8 ±17.5	115.1 ±19.8	114.9 ±17.7	111.1 ±16.5
血流量	100 ±0	116.2 ± 17.7	124.0 ± 25.2	125.3 ±27.3	114.9 ±24.8	106.5 ±12.8	98.5 ± 2.1
心電図 （PR）	100 ±0	99.2 ±0.8	—— ——	97.6 ± 0.1	96.7 ± 1.7	95.8 ± 2.6	97.5 ± 0.8
心電図 （QRS）	100 ±0	97.6 ±2.4	—— ——	92.3 ± 1.8	97.6 ± 2.4	94.1 ± 5.9	94.7 ± 0.6
心電図 （QT）	100 ±0	100.0 ±0.0	—— ——	102.5 ± 3.2	102.5 ± 3.2	98.9 ± 4.3	99.7 ± 2.8
心電図 （T）	100 ±0	97.3 ±9.3	—— ——	94.0 ± 6.0	100.0 ± 0.0	118.7 ±14.5	115.3 ±11.3
心電図 （S-T）	100 ±0	106.5 ±3.7	—— ——	101.9 ± 9.2	101.0 ±11.9	97.4 ±11.9	99.6 ± 7.8

【００５７】
【表６】

液状製剤（Ｂ）の呼吸・循環器系に及ぼす影響　（平均±標準偏差）

測定項目			投与終了後時間経過				
	前値	投与中間	終了直後	１分	５分	１５分	３０分
呼吸	100 ±0	168.9 ± 47.0	174.4 ± 47.9	155.5 ±44.9	294.9 ±98.0	206.3 ±90.7	183.7 ±40.4
血圧 （収縮）	100 ±0	92.5 ±8.1	75.5 ± 11.6	84.4 ±10.8	88.6 ± 7.8	90.2 ± 4.3	94.8 ± 4.5
血圧 （拡張）	100 ±0	91.0 ±4.2	68.0 ±7.9	79.3 ± 7.4	85.9 ± 6.0	91.4 ± 4.0	95.8 ± 4.8
血圧 （平均）	100 ±0	91.6 ±5.8	71.3 ±9.2	81.6 ± 8.7	87.1 ± 6.5	90.2 ± 4.0	95.4 ± 4.6
心拍数	100 ±0	99.8 ±7.4	101.3 ± 14.2	95.3 ±10.4	95.7 ± 8.1	96.7 ± 4.3	100.5 ± 5.7
血流量	100 ±0	109.1 ± 13.6	96.4 ± 14.2	109.3 ±16.0	113.5 ± 7.5	110.3 ± 2.0	91.2 ± 1.5
心電図 （PR）	100 ±0	95.0 ±2.7	—— ——	103.3 ± 2.4	100.6 ± 3.3	99.8 ± 2.8	96.9 ± 1.7
心電図 （QRS）	100 ±0	100.4 ±3.3	—— ——	106.0 ± 0.5	103.5 ± 5.0	102.1 ± 2.1	97.8 ± 2.2
心電図 （QT）	100 ±0	102.0 ±9.6	—— ——	109.9 ±11.7	102.0 ± 9.5	99.2 ± 8.4	91.9 ± 7.2
心電図 （T）	100 ±0	83.5 ± 13.3	—— ——	76.8 ±18.3	88.9 ± 9.5	99.4 ± 6.8	102.2 ± 8.2
心電図 （S-T）	100 ±0	103.4 ±9.4	—— ——	113.5 ±13.4	104.3 ± 9.1	100.7 ± 7.3	92.9 ± 6.1

【００５８】
【表７】

液状製剤（Ｃ）の呼吸・循環器系に及ぼす影響　（平均±標準偏差）

測定項目			投与終了後時間経過				
	前値	投与中間	終了直後	１分	５分	１５分	３０分
呼吸	100 ±0	111.6 ±3.9	116.0 ±8.0	106.8 ± 5.0	98.4 ± 1.6	92.8 ± 1.7	100.5 ± 9.1
血圧 （収縮）	100 ±0	103.0 ±1.3	105.8 ±3.3	104.7 ± 2.0	104.5 ± 1.9	105.0 ± 1.0	103.9 ± 3.4
血圧 （拡張）	100 ±0	103.5 ±0.7	103.6 ±1.2	102.7 ± 1.1	102.1 ± 1.3	101.7 ± 1.1	100.4 ± 3.4
血圧 （平均）	100 ±0	103.3 ±0.8	104.5 ±1.8	103.6 ± 1.4	103.1 ± 1.2	103.1 ± 0.7	101.9 ± 3.3
心拍数	100 ±0	100.5 ±1.8	100.1 ±3.6	99.0 ± 3.3	98.6 ± 3.3	96.9 ± 4.9	97.4 ± 2.0
血流量	100 ±0	101.1 ±4.8	115.9 ± 10.6	115.2 ± 9.7	113.9 ±11.3	107.3 ±15.1	100.5 ±12.6
心電図 （PR）	100 ±0	100.6 ±0.6	—— ——	100.7 ± 1.6	101.3 ± 1.3	100.6 ± 0.6	100.6 ± 0.6
心電図 （QRS）	100 ±0	97.6 ±2.4	—— ——	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	95.7 ± 2.2	97.6 ± 2.4
心電図 （QT）	100 ±0	103.8 ±1.6	—— ——	103.5 ± 3.5	100.7 ± 1.9	100.4 ± 1.8	102.5 ± 2.0
心電図 （T）	100 ±0	101.8 ±1.8	—— ——	109.8 ± 8.3	103.6 ± 6.3	97.4 ± 4.4	108.9 ±14.2
心電図 （S-T）	100 ±0	103.9 ±0.9	—— ——	103.7 ± 3.7	100.7 ± 2.0	100.4 ± 1.5	102.3 ± 1.2

【００５９】

表５～７より、液状製剤（Ｂ）においては、血圧が低下し、心電図に変化が認められたが、液状製剤（Ａ）においては、液状製剤（Ｂ）に比べて血圧の低下および心電図の変化はかなり抑えられ、液状製剤（Ｃ）においては、血圧の低下および心電図の変化はほとんど認められなかった。

【００６０】

参考例

コーンの冷エタノール分画法で得られた画分IV－１のペースト１０ｋｇを生理食塩水１００リットルに懸濁し、硫酸バリウムを５ｗ／ｖ％になるように加え、室温で３０分間攪拌し、微量に存在するプロトロンビンを硫酸バリウムに吸着させて除去した。この上清液をｐＨ６．５に調整し、ポリエチレングリコール＃４，０００を１３ｗ／ｖ％となるように加え、生じた沈澱を遠心分離して除き、さらにポリエチレングリコール＃４，０００を３０ｗ／ｖ％になるように加え、生じた沈澱を遠心分離して回収した。この沈澱を冷生理食塩水約２０リットルに溶解し、予め生理食塩水で調整されたヘパリンセファロースのカラムに注入し、ＡＴ－III をカラムに吸着させた。このカラムを０．４Ｍの塩化ナトリウム

溶液で洗浄して不純蛋白を除いた後、２．０Ｍの塩化ナトリウム溶液をカラムに流して溶出してくる部分を回収した。
このＡＴ－III の水溶液にクエン酸ナトリウムを０．６Ｍの濃度に加え、ｐＨ７．８に調整した後、６０℃で１０時間の加熱処理を施した後、塩化ナトリウム（最終濃度３Ｍ）およびクエン酸ナトリウム（最終濃度２０ｍＭ）を添加し、ｐＨ７．５に調整した。一方、３Ｍ塩化ナトリウム含有２０ｍＭクエン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ７．５）で平衡化したブチル型ポリビニル系担体（ブチルトヨパール６５０、東洋曹達（株）製）にＡＴ－III 含有水溶液を接触させたのちに上記緩衝液で展開し、未吸着画分を回収した。続いて０．５％クエン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ７．５）に対して一夜透析を行い精製ＡＴ－III を得た。

【００６１】

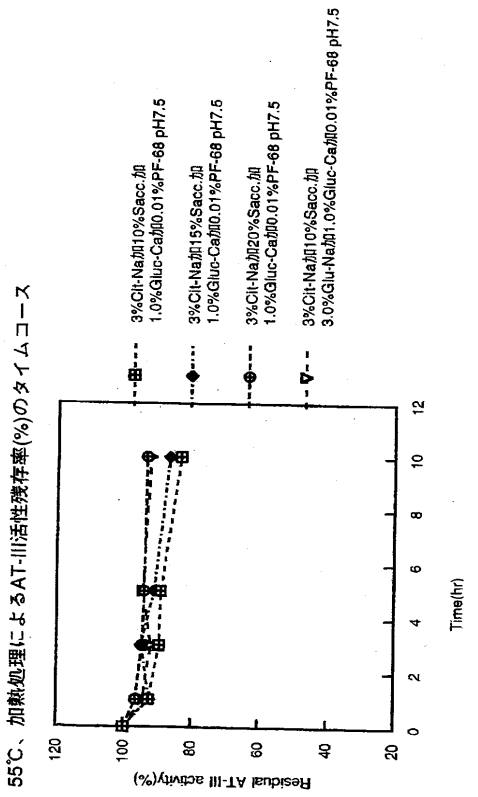
【発明の効果】

ＡＴ－III と安定化剤（グルコン酸もしくはその塩、糖硫酸エステルまたは界面活性剤）を配合してなる本発明のＡＴ－III 液状製剤によれば、加熱処理時および長期保存時におけるＡＴ－III 活性の低下、重合化を防止することができ、かつ投与しても血圧の低下や心臓障害が生じることがほとんどない。このため、本発明の液状製剤はそのまま商品（注射剤など）として提供することができる。従って、使用に際して用時溶解することなく、そのまま注射剤等として患者に投与することができるため、投与時の操作が簡略化でき臨床使用上有用である。また製造工程において、凍結乾燥工程を省くことができるため、製造の効率化、および経済化を図ることができる。

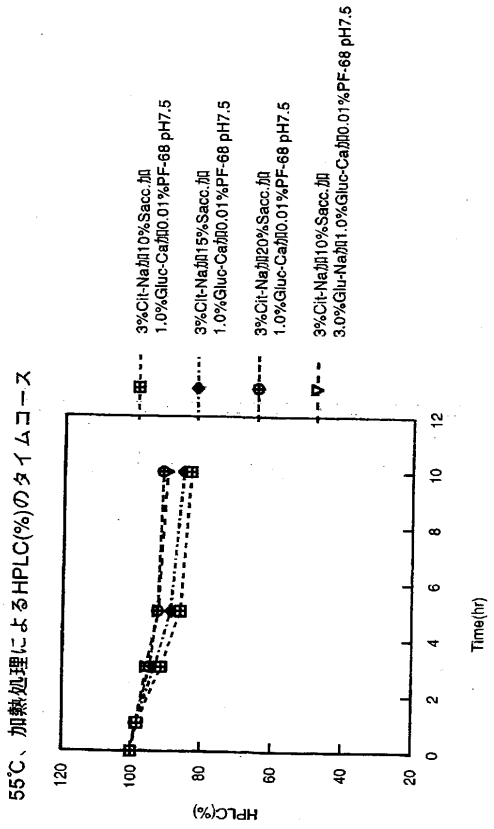
【図面の簡単な説明】

【図１】実験例３のＡＴ－III 活性残存率のタイムコースを示すグラフである。
【図２】実験例３のＨＰＬＣ分析のタイムコースを示すグラフである。

【図１】



【図２】



フロントページの続き

審査官　川口　裕美子

(56)参考文献　国際公開第９４／２２４７１（WO，Ａ１）
実開平０８－０５９５０６（ＪＰ，U）
実開平０６－０２４９９７（ＪＰ，U）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K 38/55
A61K 47/12
MEDLINE CAPLUS EMBASE BIOSIS (STN)