



診療と新薬 Web

ダプトマイシン静注用 350 mg「ニプロ」における保存安定性評価および血管刺激性評価：

室温で3年間保存可能なダプトマイシン製剤（後発医薬品）

阪本和子¹⁾／黒川由紀¹⁾／新開規弘¹⁾／井上裕之²⁾／鹿取建志¹⁾／初鹿 稔¹⁾

● 要旨

ダプトマイシンはメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）に対して強力な殺菌作用を示す薬剤である。今般、ダプトマイシン製剤の後発医薬品を開発するにあたり、室温での保存が可能であり、また、溶解性の優れた製剤を目指した。そこで、糖、糖アルコールおよびアミノ酸等の中から安定剤となり得る各種添加剤を加えて調製した製剤を60°Cにて保存し、21日後における不純物量を評価することにより、安定剤としてL-アルギニン400 mgおよびD-マンニトール80 mgを選定した。選定した安定剤を添加した製剤について、安定性試験ガイドラインに準じて、加速試験および長期保存試験を実施した結果、不純物の経時的な増加が認められたものの、ダプトマイシン含量および溶解時間に経時変化はほとんど認められず、本製剤の貯法および有効期間は「室温」および「3年」と設定することができた。

本製剤の製剤特性として、貯法は室温であり、溶解前に室温に戻す操作は不要である点および溶解液を注入後、数分間ゆっくりとバイアルを回すことにより溶解可能であり、溶解性の優れている点が挙げられる。

なお、本製剤ではL-アルギニン400 mgおよびD-マンニトール80 mgを添加剤として加えることにより、溶解後の浸透圧比が先発医薬品に比べて高くなることから、ウサギを用いて血管刺激性について検討を行った。その結果、静脈内急速投与、静脈内持続投与共に血管刺激性を誘発する可能性は低く、その程度は先発医薬品と同程度であると考えられた。

以上の結果をもって、本製剤は『ダプトマイシン静注用350 mg「ニプロ」』として、2023年8月15日に本邦において医薬品製造販売承認を取得した。

キーワード：ダプトマイシン、抗菌、MRSA、凍結乾燥、後発医薬品、安定性試験、室温、溶解性、血管刺激性

緒 言

ダプトマイシンは13個のアミノ酸からなる環状リポペプチドであり、*Streptomyces*属の発酵産物に由来する抗生物質である。本薬は菌の細胞膜と結合し、脱分極させることで膜電位を消失させ、DNA、RNAおよび蛋白質の合成阻害により細菌を死滅させるとされる。グラム陽性菌に対し抗菌活性を示し、増殖期および静止期にある他抗菌薬感受性

株および耐性株にも活性が認められ、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）に対しても強力な殺菌作用を示す¹⁾。本邦では市販製剤として、凍結乾燥製剤であるキュビシン[®]静注用350 mg（以下、先発医薬品）が2011年に販売されている。

先発医薬品は、添加剤（pH調節剤）として水酸化ナトリウムが添加されており、貯法は2～8°C、有効期間は4年である¹⁾。一方、海外では本邦で販売されている先発医薬品と同様の製剤（Cubicin）

1) ニプロ株式会社 医薬事業部 医薬品研究所 2) ニプロ株式会社 国内事業部 国内商品開発・技術営業本部

表1 本製剤、先発医薬品および海外市販品の製剤特性比較

		本 製 剤 ⁴⁾	先発医薬品 ¹⁾	海外市販品 ²⁾
成 分		ダプトマイシン L-アルギニン D-マンニトール 塩酸 水酸化ナトリウム	ダプトマイシン 水酸化ナトリウム	ダプトマイシン ショ糖 水酸化ナトリウム
生理食塩液 7 mL に溶解	pH	6.2～7.2	4.0～5.0	規定されていない 薬剤調製方法
	浸透圧比	約3	約1	
上記の溶液を 生理食塩液 100 mL で希釀	pH	5.7～6.7	公知情報不明	6.8
	浸透圧比	約1	公知情報不明	
注射用水 7 mL に溶解	pH	6.2～7.2	規定されていない 薬剤調製方法	公知情報不明
	浸透圧比	約2		公知情報不明
上記の溶液を 生理食塩液 100 mL で希釀	pH	5.7～6.7	規定されていない 薬剤調製方法	公知情報不明
	浸透圧比	約1		公知情報不明
溶解方法		<ul style="list-style-type: none"> ・生理食塩液または注射用水 7 mL をバイアルの内壁をつたわらせながらゆっくりと注入する。 ・数分間ゆっくりとバイアルを回す。 ・完全に溶解したことを確認する。 	<ul style="list-style-type: none"> ・生理食塩液 7 mL をバイアルの内壁をつたわらせながらゆっくりと注入する。 ・バイアルをゆっくりと回しながら塊または粉末を十分に湿らせる。 ・溶解するまで約10分間静置する。 ・数分間ゆっくりとバイアルを回す。 ・完全に溶解したことを確認する。 	<ul style="list-style-type: none"> ・注射用水 7 mL をバイアルの内壁をつたわらせながらゆっくりと注入する。 ・数分間バイアルを回す。 ・完全に溶解したことを確認する。
貯 法		室温 (1～30°C)	2～8°C	20～25°C

に加えて、添加剤としてショ糖および水酸化ナトリウムが添加されており、貯法が20～25°CであるCubicin RF（以下、海外市販品）も販売されている²⁾。

また、先発医薬品では生理食塩液を注入後、溶解するまで約10分間の静置等が必要であるが、海外市販品では数分間バイアルを回すことによって溶解できるように改良されている（表1）。先発医薬品の開発に携わったキュービスト社により、ショ糖またはトレハロースを添加することによるダプトマイシン凍結乾燥製剤の安定性および溶解性改善について、特許化されている³⁾。

今回、ダプトマイシン凍結乾燥製剤の後発医薬品（以下、本製剤）を開発するにあたり、室温での保存が可能であり、また、溶解性の優れた製剤を目指

し、種々の添加剤による保存安定性への影響を確認した。また、本製剤では添加剤を加えることにより、溶解後の浸透圧比が先発医薬品に比べて高くなることから（表1）、血管刺激性に与える影響についても動物実験により評価した。

実 験

1. 材 料

(1) 本製剤の調製

安定剤のスクリーニングとして用いた本製剤は、水酸化ナトリウムを含むダプトマイシン溶液に各種添加剤を溶かし、塩酸溶液または水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを6.8～7.0に調整し、液量調整を行った薬液をろ過滅菌後、ガラスバイアルに充てんし、凍結乾燥により調製した。

表2 静脈内急速投与における群構成

群	試験物質	溶解液	投与条件	例数
1	本製剤	生理食塩液	7 mL*/10秒	3
2	本製剤	注射用水		3
3	先発医薬品	生理食塩液		3
4	先発医薬品	注射用水		3
5	アスコルビン酸注 500 mg	—		3
6	生理食塩液	—		3

*ダブトマイシンとして 350 mg (5 群および 6 群を除く)

表3 静脈内持続投与における群構成

群	試験物質	溶解液	投与条件	例数
1	本製剤	生理食塩液	7 mL*/30分	3
2	本製剤	注射用水		3
3	先発医薬品	生理食塩液		3
4	先発医薬品	注射用水		3
5	アミパレン [®] 輸液	—	210 mL/6時間	3
6	生理食塩液	—	7 mL/30分	3

*ダブトマイシンとして 350 mg

また、保存安定性評価および血管刺激性評価に用いた本製剤は、塩酸を含む L-アルギニン溶液にダブトマイシンおよび D-マンニトールを加えて溶かし、塩酸溶液又水酸化ナトリウム溶液を用いて pH を 6.6～6.8 に調整し、液量調整を行った薬液をろ過滅菌後、バイアルに充てんし、凍結乾燥により調製した。

(2) 使用動物

18 週齢の日本白色種雄性ウサギを北山ラバース株式会社より入手し、4 日間の検疫・馴化期間の後、実験に用いた。動物は環境制御された飼育室（温度 $23 \pm 3^\circ\text{C}$ 、湿度 40-75%、照明時間 12 時間 / 日）で飼育し、固型飼料 LRC4（オリエンタル酵母工業株式会社）および水道水を自由摂取させた。なお、本実験は施設の動物実験委員会により審議され、承認を得た後に、実施した。

2. 試験方法

(1) 安定剤スクリーニング試験および安定性試験

室温保存可能な製剤の開発にあたり、各種添加剤を加えた本製剤を調製し、60°C にて 21 日間保存後、不純物量を測定し、安定剤のスクリーニングを

実施した。

また、本製剤の安定性評価のため、安定性試験ガイドライン⁵⁾に準じて、加速試験および長期保存試験として、 $40 \pm 1^\circ\text{C} / 75 \pm 5\% \text{ RH}$ および $25 \pm 2^\circ\text{C} / 60 \pm 5\% \text{ RH}$ で保存し、それぞれ開始時、2、4、6 箇月後および開始時、3、6、9、12、18、24、36 箇月後における不純物の量、ダブトマイシンの含量ならびに溶解時間（注射用水 / 生理食塩液）を測定した。

不純物の量およびダブトマイシンの含量は、LC-20A（島津製作所株式会社）を用い、以下の条件下で測定を行った。

1) 不純物の量

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：223 nm）

カラム：IB-Sil C8（内径 4.6 mm、長さ 25 cm、

粒子径 5 μm 、Phenomenex）

カラム温度：30°C 付近の一定温度

移動相 A：pH 3.1 のリン酸二水素アンモニウム
緩衝液

移動相 B：アセトニトリル

移動相の送液：グラジェント法

流量：毎分 1.0 mL

2) ダプトマイシンの含量

検出器：紫外吸光度計（測定波長：223 nm）

カラム：IB-Sil C8（内径 4.6 mm, 長さ 25 cm,
粒子径 5 μm, Phenomenex）

カラム温度：30°C付近の一定温度

移動相：pH 3.1 のリン酸二水素アンモニウム緩衝液 / アセトニトリル混液 (3 : 2)

流量：毎分約 1.0 mL

3) 溶解時間

溶解液（生理食塩液または注射用水）7 mL をバイアルの内壁をつたわらせながらゆっくりと注入後、ゆっくりとバイアルを回し、溶解するまでの時間を測定した。なお、溶解時間は溶解液注入完了後から溶解までの時間とした。

(2) 血管刺激性試験

1) 試験物質および調製方法

試験には、開発医薬品として安定剤である L-アルギニン 400 mg および D-マンニトール 80 mg を

添加した本製剤を、先発医薬品としてキュビシン® 静注用 350 mg を用いた。また、陽性対照としてアスコルビン酸注 500 mg 「NP」 およびアミパレン® 輸液を、陰性対照として生理食塩液「NP」を用いた。

本製剤および先発医薬品は 1 バイアルあたり各群指定された溶解液（表2および表3）を用時 7 mL 加え溶解し、それぞれダプトマイシン濃度が 50 mg/mL の溶液として使用した。アスコルビン酸注 500 mg, アミパレン® 輸液および生理食塩液は、そのまま使用した。

表4 血栓形成性の評価

血栓の長さ	評価
0 mm	一
1 ~ 4 mm	+
5 ~ 14 mm	#
15 mm 以上	##

表5 充血および腫脹の傷害範囲による評価基準

充血および腫脅	評価
変化なし	一
観察部位範囲内のみ	+
観察部位範囲を中心に耳介の 1/3 にわたる	#
観察部位範囲を中心に耳介の 1/2 ~ 全体にわたる	##

表6 痢皮の評価基準

痢皮形成	評価
変化なし	一
軽度	+
中等度	#
強度	##

表7 病理組織評価基準

病理所見	評価基準	評価
血管内皮細胞の変性・壊死	異常なし 観察範囲の 1/3 以下 観察範囲の 1/3 ~ 2/3 観察範囲の 2/3 以上	0 1 2 3
血管壁および血管周囲組織の炎症細胞浸潤	異常なし 軽度の炎症細胞浸潤 中等度～重度の炎症細胞浸潤 広域な重度の炎症細胞浸潤	0 1 2 3
血管壁および血管周囲組織の浮腫	異常なし 限局性の浮腫 広域な浮腫 観察範囲全体に及ぶ浮腫	0 1 2 3
血栓の形成	異常なし 血管断面の 1/3 以下 血管断面の 1/3 ~ 2/3 血管断面の 2/3 以上	0 1 2 3

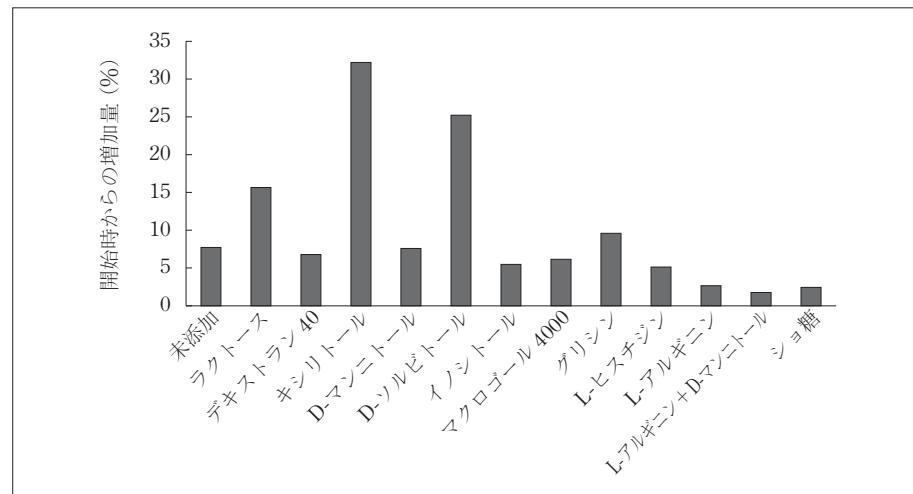


図1 各種添加剤を用いて調製したダプトマイシン製剤の苛酷試験(60°C, 21日後)における不純物総量の増加量〔増加量は各時点の平均値(n=2)の差より算出〕

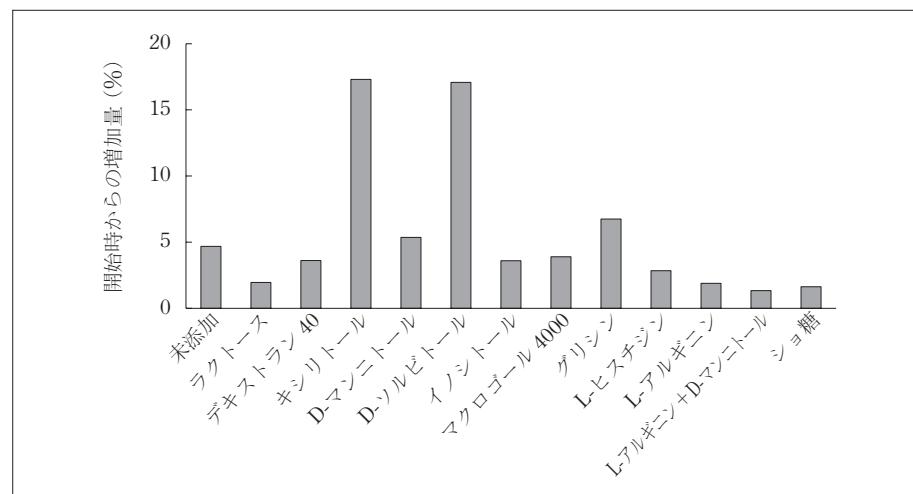


図2 各種添加剤を用いて調製したダプトマイシン製剤の苛酷試験(60°C, 21日後)におけるラクトン加水分解物の増加量〔増加量は各時点の平均値(n=2)の差より算出〕

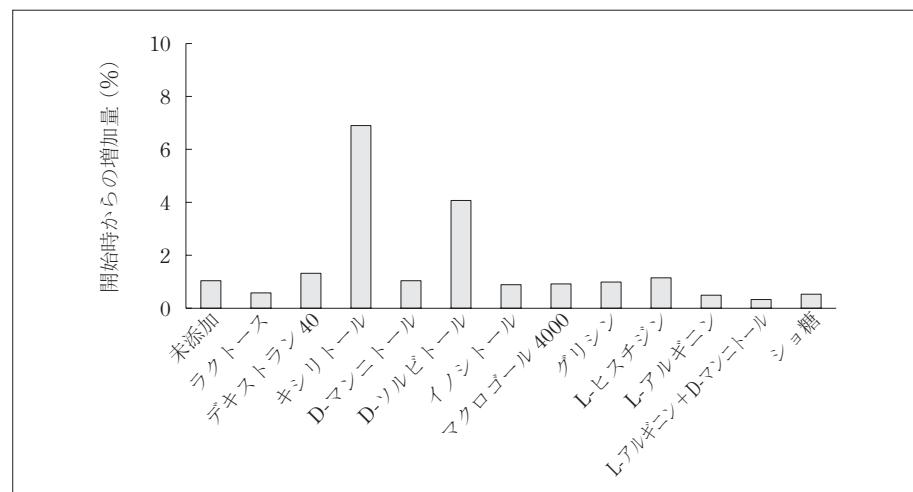


図3 各種添加剤を用いて調製したダプトマイシン製剤の苛酷試験(60°C, 21日後)における無水ダプトマイシンの増加量〔増加量は各時点の平均値(n=2)の差より算出〕

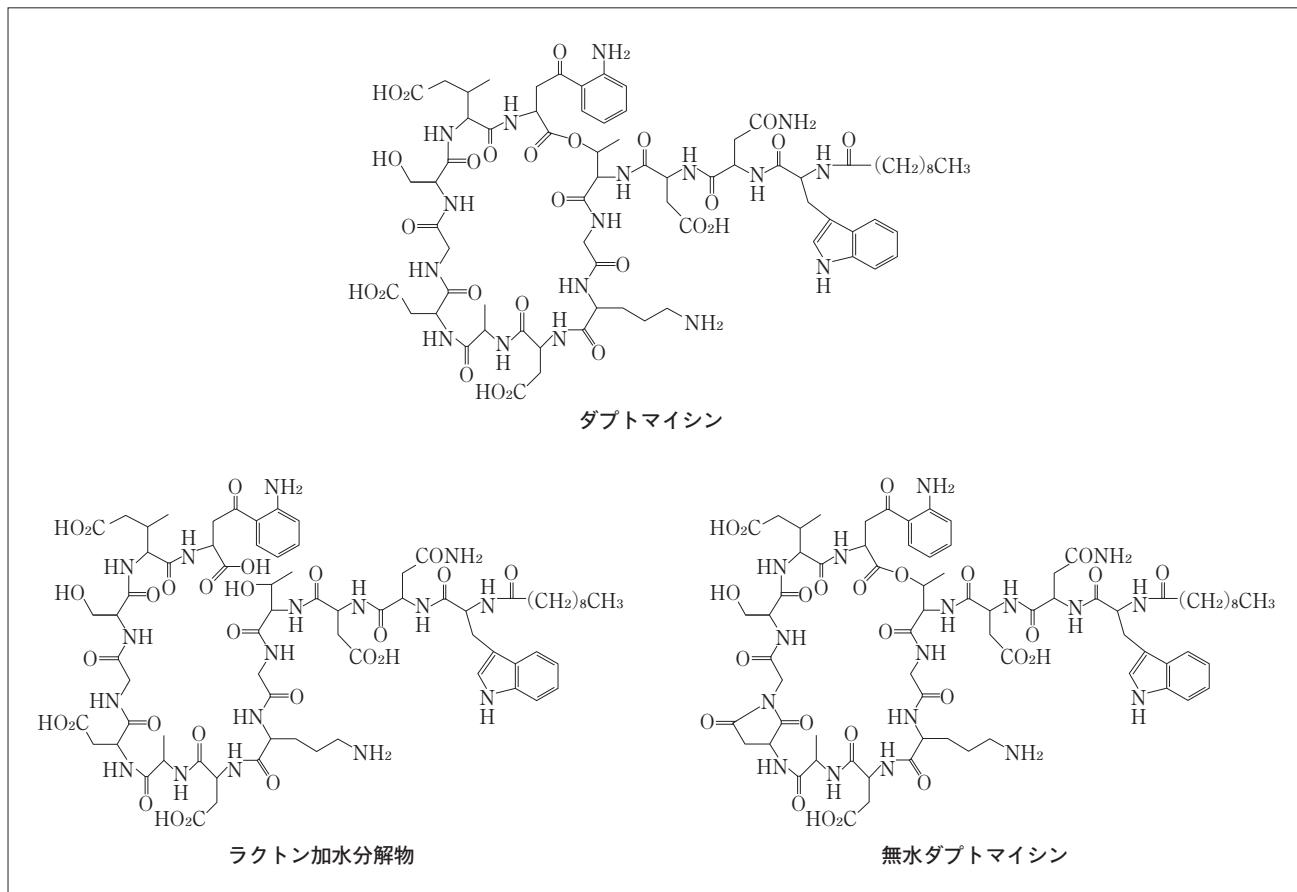


図 4 ダプトマイシンおよび不純物

2) 投与方法

試験当日、無麻酔保定下のウサギに対して、耳介静脈内に留置針（26G × 3/4）を穿刺し、留置した。その後、各群指定された試験物質を、インフュージョンシリンジポンプを使用し、各群の指定された投与条件で静脈内投与した（表 2 および表 3）。

3) 評価方法

【肉眼観察】

投与前、投与終了後 30 分および 24 時間に、ウサギ耳介静脈の留置針先端箇所から頭部方向（血流の下流方向）へ向かって 3 cm 部分を観察部位とし、血管および周囲組織の血栓形成性を表 4、局所炎症反応（充血、腫脹および痂皮形成）を表 5 および表 6 の評価基準に従い評価した。

【病理組織学的評価】

留置針先端箇所から頭部方向へ向かって 1 cm 部分（近位）および 3 cm 部分（遠位）を評価部位とし、hematoxylin-eosin (HE) 染色の病理組織切片を常法に従って作製し、表 7 の病理組織評価基準に従い評点付けを行った。

3) 浸透圧比の算出方法

投与液の浸透圧は、凝固点降下法により OM-6060（アークリイ株式会社）を用いて測定を行い、浸透圧比（生理食塩液に対する比）を算出した。なお、アスコルビン酸注 500 mg は浸透圧が高いため、水にて 10 倍希釈した液について浸透圧を測定し、算出した浸透圧比を 10 倍し、アスコルビン酸注 500 mg の浸透圧比とした。

結果

1. 本製剤の安定剤スクリーニングおよび保存安定性の評価結果

(1) 安定剤スクリーニング（60°C で 21 日間保管後における類縁物質の増加量）

室温保存可能な製剤の開発にあたり、文献情報⁶⁾を参考に、糖、糖アルコールおよびアミノ酸等の中から安定剤となり得る添加剤のスクリーニングを行うため、各種添加剤を加えて調製した本製剤を 60°C にて保存し、21 日後における不純物量を評価した（図 1、図 2 および図 3）。なお、未添加およ

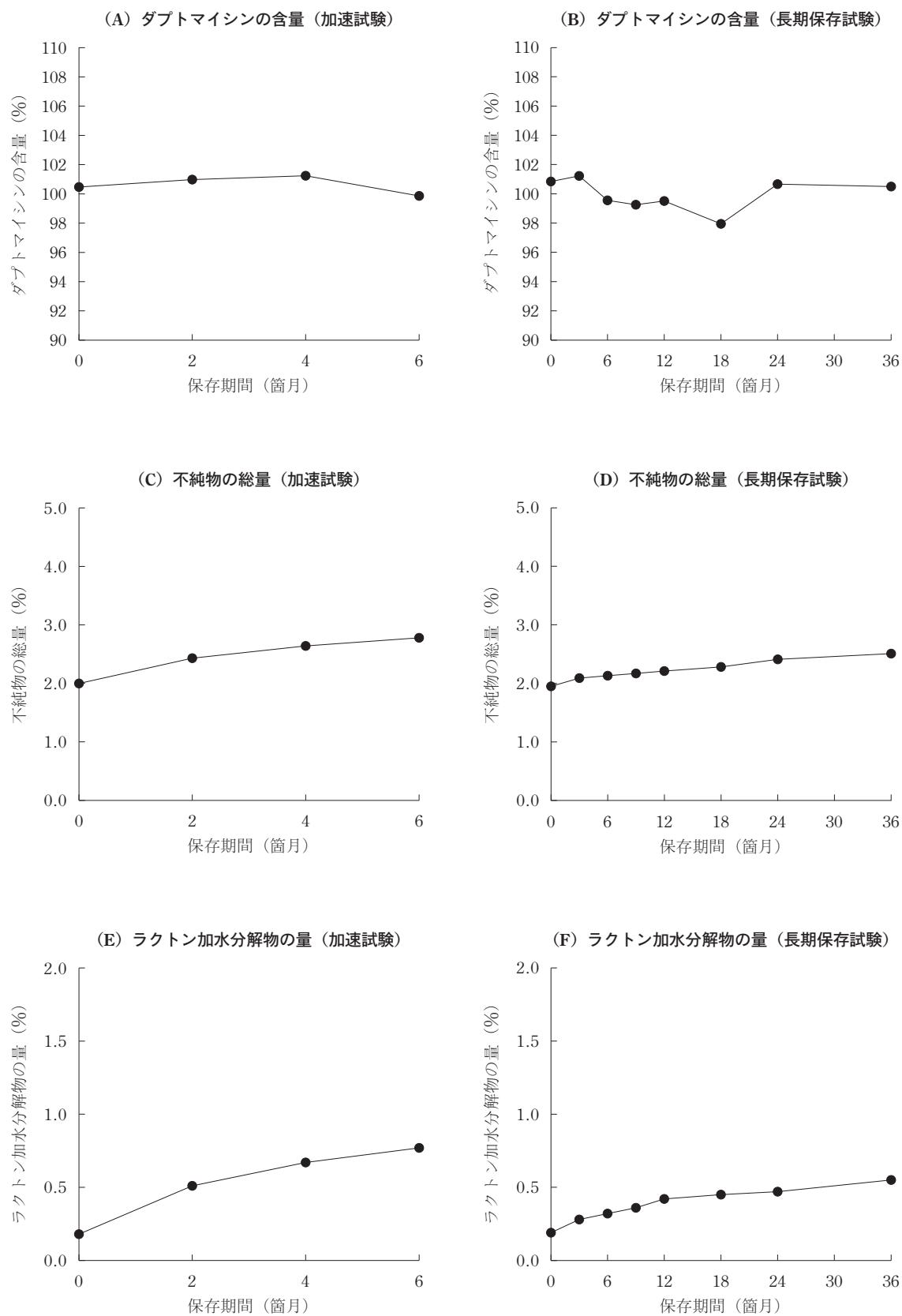


図5 本製剤の加速試験(40°C /75% RH)および長期保存試験(25°C /60% RH)における含量および不純物量の推移(n=3, 平均値)

表8 本製剤の加速試験(40°C /75% RH)における溶解時間の推移(n=3, 平均値)

試験物質	溶解液	保存期間			
		開始時	2箇月	4箇月	6箇月
本 製 剂	生理食塩液	56秒	49秒	43秒	54秒
	注射用水	58秒	56秒	53秒	49秒

表9 本製剤の長期保存試験(25°C /60% RH)における溶解時間の推移(n=3, 平均値)

試験物質	溶解液	保存期間							
		開始時	3箇月	6箇月	9箇月	12箇月	18箇月	24箇月	36箇月
本 製 剤	生理食塩液	60秒	51秒	49秒	54秒	56秒	49秒	47秒	57秒
	注射用水	63秒	59秒	53秒	55秒	58秒	47秒	49秒	52秒

び海外市販品で添加剤として用いられているショ糖も検討した。

その結果、先発医薬品のインタビューフォームに記載されている不純物であるラクトン加水分解物、無水ダプトマイシン(図4)および総量の開始時からの増加量は、安定剤としてL-アルギニンおよびD-マンニトールを添加した製剤で最も抑えられていたことから、本製剤の安定剤としてL-アルギニン400 mgおよびD-マンニトール80 mgを選定した。

そこで、安定剤としてL-アルギニン400 mgおよびD-マンニトール80 mgを添加した本製剤について、安定性評価のため、安定性試験ガイドライン⁵⁾に準じて、加速試験および長期保存試験を実施した。

(2) 加速試験および長期保存試験

本製剤の加速試験(40±1°C /75±5% RH)の結果において、6箇月後の不純物総量およびラクトン加水分解物量は2.78%および0.77%であり、それぞれの開始時からの増加量は0.78%および0.59%であった。経時的な不純物総量およびラクトン加水分解物量の増加が認められた(図5)。また、含量低下はほとんど認められなかった(図5)。生理食塩液および注射用水での溶解時間も43~56秒および49~58秒であり、いずれの溶解液でも溶解性が優れており、経時的な変化が認められなかった(表8)。

また、本製剤の長期保存試験(25±2°C /60±5% RH)の結果において、36箇月後の不純物総量お

よびラクトン加水分解物量は2.51%および0.55%であり、それぞれの開始時からの増加量は0.56%および0.36%であった。室温3年に相当するとされる加速試験6箇月後の試験結果に比べて、長期保存試験36箇月後の不純物増加量は抑えられており、含量低下もほとんど認められなかった(図5)。生理食塩液および注射用水での溶解時間も47~60秒および47~63秒であり、いずれの溶解液でも溶解性が優れており、経時的な変化が認められなかった(表9)。

2. 血管刺激性の評価結果

本製剤を生理食塩液または注射用水で溶解した投与液の浸透圧比は、先発医薬品を生理食塩液で溶解した投与液の浸透圧比よりも高くなることから(表1)、投与時の血管刺激性が懸念される。そこで、本製剤をヒトに投与した際の血管刺激性に関するリスク評価を行うため、ウサギを用いた血管刺激性試験を実施した。臨床において本製剤は緩徐に静脈内注射または30分かけて点滴静注することにより投与されることから、投与液7mL(ダプトマイシンとして350mg)を10秒間および30分間かけて注入することにより誘発される血管刺激性の程度を肉眼的および病理組織学的に評価した。なお、陽性対照として高張であるアスコルビン酸注およびアミパレン®輸液についても評価を行った(表10~13)。

10秒間かけて投与した静脈内急速投与において、アスコルビン酸注500mgを投与した群(5群)では、全例で投与終了後24時間に血管周囲の充血および腫脹が肉眼的に確認された(表10)。さらに、

表10 試験物質の静脈内急速投与30分後および24時間後におけるウサギ耳介静脈および周囲組織の肉眼観察結果(n=3)

群	試験物質	溶解液	観察時間	血栓形成性				充血および腫脅				痂皮			
				-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
1	本製剤	生理食塩液	30分	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
			24時間	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
2	本製剤	注射用水	30分	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			24時間	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
3	先発医薬品	生理食塩液	30分	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
			24時間	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
4	先発医薬品	注射用水	30分	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			24時間	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
5	アスコルビン酸注 500mg	-	30分	3	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0
			24時間	3	0	0	0	0	2	1	0	3	0	0	0
6	生理食塩液	-	30分	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			24時間	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0

表11 試験物質の静脈内急速投与24時間後における病理組織学的評価結果(n=3)

群	試験物質	溶解液	評価部位	変性・壊死				炎症細胞浸潤				浮腫				血栓			
				0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
1	本製剤	生理食塩液	近位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			遠位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
2	本製剤	注射用水	近位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			遠位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
3	先発医薬品	生理食塩液	近位	3	0	0	0	2	0	1	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			遠位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
4	先発医薬品	注射用水	近位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			遠位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
5	アスコルビン酸注 500mg	-	近位	0	1	2	0	0	0	2	1	0	0	0	3	0	3	0	0
			遠位	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	2	3	0	0	0
6	生理食塩液	-	近位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			遠位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0

病理組織学的評価において血管内皮細胞の変性や、重度の浮腫など複数の異常所見が確認された(表11)。アスコルビン酸注500mgの浸透圧比は9.86と高張であり(表14)、静脈内に投与されたことで血管内皮が傷害され、血管刺激性が誘発されたものと推察された。これに対して、生理食塩液で溶解した本製剤を投与した群(1群)の1例で、投与終了後30分に血管周囲の充血および腫脹が肉眼所見で

観察されたが、この変化は、投与終了後24時間では消失する一時的なものであった(表10)。また、同個体の投与後24時間の病理組織学的評価において、顕著な変化は認められなかった(表11)。同様な肉眼所見は、生理食塩液で溶解した先発医薬品(3群)の1例においても認められたが、同個体の病理組織学的評価では、近位部位における中等度の炎症反応が認められた(表10および表11)。

表 12 試験物質の静脈内持続投与 30 分後および 24 時間後におけるウサギ耳介静脈および周囲組織の肉眼観察結果 (n=3)

群	試験物質	溶解液	観察時間	血栓形成性				充血および腫脅				痂皮			
				-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
1	本製剤	生理食塩液	30 分	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			24 時間	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
2	本製剤	注射用水	30 分	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			24 時間	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
3	先発医薬品	生理食塩液	30 分	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			24 時間	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
4	先発医薬品	注射用水	30 分	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			24 時間	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
5	アミパレン®輸液	-	30 分	3	0	0	0	0	2	1	0	3	0	0	0
			24 時間	3	0	0	0	0	3	0	0	3	0	0	0
6	生理食塩液	-	30 分	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			24 時間	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0

表 13 試験物質の静脈内持続投与 24 時間後における病理組織学的評価結果 (n=3)

群	試験物質	溶解液	評価部位	変性・壊死				炎症細胞浸潤				浮腫				血栓			
				0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
1	本製剤	生理食塩液	近位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			遠位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
2	本製剤	注射用水	近位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			遠位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
3	先発医薬品	生理食塩液	近位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			遠位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
4	先発医薬品	注射用水	近位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			遠位	3	0	0	0	1	2	0	0	1	2	0	0	3	0	0	0
5	アミパレン®輸液	-	近位	1	0	2	0	0	2	1	0	2	1	0	0	3	0	0	0
			遠位	1	1	1	0	1	0	2	0	1	0	2	0	3	0	0	0
6	生理食塩液	-	近位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
			遠位	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0

以上より、生理食塩液あるいは注射用水で溶解された本製剤の静脈内急速投与が血管刺激性を誘発する可能性は低く、その程度は先発医薬品と同程度であることが明らかとなった。

30 分間かけて投与した静脈内持続投与（ただし、アミパレン®輸液は 6 時間かけて投与）において、アミパレン®輸液を投与した群（5 群）では、投与終了後 30 分および 24 時間に全例で腫脹が肉眼的

に確認された（表 12）。同個体の 24 時間後の病理組織学的評価において、血管内皮細胞の変性・壊死、炎症細胞浸潤ならびに、血管周囲組織の浮腫が観察された（表 13）。アミパレン®輸液は、浸透圧比 3.49 の高張輸液であり（表 14），本試験結果は高張輸液が血管内皮損傷を伴う炎症性細胞浸潤や浮腫などの血管刺激性を誘発する可能性を示唆した以前の報告に一致している⁷⁾。これに対し、本製剤を

表14 投与液の浸透圧比

試験物質	溶解液	投与方法	浸透圧比 (生理食塩液に対する比)
本 製 剤 (n=3)	生理食塩液	静脈内急速投与 静脈内持続投与	2.64
	注射用水	静脈内急速投与 静脈内持続投与	1.69
先発医薬品 (n=1)	生理食塩液	静脈内急速投与	1.15
		静脈内持続投与	1.17
	注射用水	静脈内急速投与	0.15
		静脈内持続投与	0.17
アスコルビン酸注 500 mg (n=1)	—	静脈内急速投与	9.86
アミパレン [®] 輸液 (n=1)	—	静脈内持続投与	3.49

生理食塩液あるいは注射用水に溶解した群（1群および2群）ならびに、キュビシン[®]静注用350 mgを生理食塩液に溶解した群（3群）では、肉眼的および病理組織学的評価の何れにおいても血管ならびに、その周囲組織に対して顕著な変化を及ぼさなかつた（表12および表13）。なお、臨床にて実施しない溶解方法ではあるが、キュビシン[®]静注用350 mgを注射用水に溶解した群（4群）では、遠位部において軽度の炎症性細胞浸潤および限局性浮腫を引き起こした（表13）。本溶液が、軽度の血管刺激性を誘発した原因は明確ではないが、本溶液の浸透圧比が0.17であったことから（表14）、低浸透圧溶液を静脈内投与したことが一因となった可能性も考えられた。

以上より、生理食塩液あるいは注射用水で溶解された本製剤の静脈内持続投与が血管刺激性を誘発する可能性は低く、その程度は先発医薬品と同程度であることが明らかとなつた。

考 察

60°Cでの安定剤のスクリーニング評価において、安定剤としてL-アルギニンおよびD-マンニトールを添加した製剤で最も不純物の増加が抑えられていたことから、本製剤の安定剤としてL-アルギニン400 mgおよびD-マンニトール80 mgを選定した。

L-アルギニンおよびD-マンニトールによる安定化の推測されるメカニズムは、凍結乾燥製剤の製剤

設計に関する文献情報等⁸⁾⁻¹⁰⁾から、ダプトマイシン（ペプチド）分子周辺から凍結や凍結乾燥により奪われる水分子の代わりにD-マンニトールの水酸基やL-アルギニンのグアニジン基がペプチドと水素結合することにより、分子構造を安定化し（水分子置換作用）、また、安定剤により非晶質状態の分子を中心とした非常に粘度が高く分子運動性の低いガラス状態の凍結濃縮・凍結乾燥マトリックスが形成され、ペプチドをその内部に封じ込めることにより、化学反応や構造変化を抑制している（ガラス化作用）可能性が考えられる。

本製剤は加速試験および長期保存試験において、不純物の経時的な増加が認められたものの、ダプトマイシン含量および溶解時間に経時変化はほとんど認められなかった。

以上の結果に基づき、本製剤の貯法および有効期間は「室温」および「3年」と設定することができた。また、貯法が冷所の製剤では溶解前に室温に戻す操作が必要となるが、本製剤の貯法は室温であり、溶解前に室温に戻す操作は不要である。また、溶解液を注入後、数分間ゆっくりとバイアルを回すことにより溶解可能であり、溶解性の優れた製剤である。

なお、本製剤は先発医薬品に比べて浸透圧比が高いことから、ウサギを用いて血管刺激性について検討を行つた。その結果、静脈内急速投与、静脈内持続投与共に血管刺激性を誘発する可能性は低く、そ

の程度は先発医薬品と同程度であると考えられた。

結論

安定剤としてL-アルギニンおよびD-マンニトールを添加することにより、溶解性に優れ、室温で有効期間3年を担保可能な本製剤の開発に成功した。本製剤は先発医薬品に比べて浸透圧比が高いことから、血管刺激性を誘発する可能性が懸念されたが、血管刺激性を誘発する可能性は低く、その程度は先発医薬品と同程度であることが示唆された。本製剤は『ダプトマイシン静注用350mg「ニプロ」』として、2023年8月15日に本邦において医薬品製造販売承認を取得した⁴⁾。

参考文献

- 1) キュビシン[®]静注用350mg医薬品インタビューフォーム〔2024年2月改訂(第11版), MSD株式会社〕
- 2) Merck Sharp & Dohme LLC : FULL PRESCRIBING

INFORMATION for CUBICIN RF.

- 3) キュービスト ファーマシューティカルズ リミテッド ライアビリティ カンパニー：特許第6041673号, 特許第6088681号, 特許第6239167号
- 4) ダプトマイシン静注用350mg「ニプロ」添付文書〔2023年10月改訂(第2版), ニプロ株式会社〕
- 5) 安定性試験実施方法のガイドライン〔平成3年2月15日薬審第43号〕
- 6) 伊豆津健一：タンパク質医薬品の凍結乾燥. 薬剤学2012; **72**: 353-8.
- 7) Kuwahara T, Asanami S, Tamura T, et al : Effects of pH and osmolality on phlebitic potential of infusion solutions for peripheral parenteral nutrition. J Toxicol Sci 1998; **23**: 77-85.
- 8) 伊豆津健一：凍結溶液の熱測定と凍結乾燥製剤の製剤設計. Netsu Sokutei 2009; **36**: 112-20.
- 9) 伊豆津健一：凍結乾燥によるタンパク質の構造変化と添加剤による安定化. 低温生物工学会誌 2003; **49**: 47-53.
- 10) 今村維克：タンパク質水溶液の凍結乾燥. 生物工学2018; **96**: 137-41.