

フィゾスチグミンの安定性に対する抗酸化剤の影響<sup>\*1</sup>

山添喜久雄, 鈴木一市, 森田久代, 川影逸郎, 藤井喜一郎  
 浜松医科大学医学部附属病院薬剤部<sup>\*2</sup>

Influence of Antioxidant on the Stability of Physostigmine<sup>\*1</sup>

KIKUO YAMAZOE, KAZUICHI SUZUKI, HISAYO MORITA,  
 ITSURO KAWAKAGE, KIICHIRO FUJII

Pharmacy of Hamamatsu University School of Medicine Hospital<sup>\*2</sup>

(Received August 1, 1983)

Stability of physostigmine (PS) in the presence of sodium pyrosulfite (SPS,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) as antioxidant was examined in aqueous solution by HPLC method. Addition of SPS has no effect on the degradation rate of PS in aqueous buffer solution with pH range of 3.3–5.6 at 93°C under aerobic and anaerobic conditions. When the pH is not adjusted, residual levels of PS in solution of 0.05% and 0.1% SPS were not more than 10% for 8 hours and 14] hours under anaerobic condition, respectively, though these samples were stable for 17 hours under aerobic condition. combination of antioxidant and gas in substitution for air is generally effective for the stabilization of drug. However, PS, when SPS was added, became more stable under aerobic condition than anaerobic condition.

**Keywords**—physostigmine; HPLC; stability; injection; sodium pyrosulfite

## はじめに

フィゾスチグミン(以下 PS と略す)は従来から点眼剤として緑内障治療に用いられているが, 近年スコポラミンやアトロピンによる central anticholinergic syndrome に PS の特異的な拮抗作用が示され,<sup>1,2)</sup> 本院でも各種薬物による術後覚醒遅延に対して PS の注射剤の有効性が認められている。<sup>3,4)</sup>

PS 注射剤の製剤化にあたり, 著者らは前報<sup>5)</sup> で高速液体クロマトグラフィー(以下 HPLC と略す)法による PS の定量法を開発し, 非水滴定法・吸光度法<sup>6)</sup> および Davies らの方法<sup>7)</sup> と比較した結果, HPLC 法が有用な定量法であることを示した。さらに, 水溶液中の加熱分解について好気的および嫌気的条件下で安定性に差はないが, 生成する分解物に差異を認めた。

PS はアルカリ水溶液中容易に加水分解をうけエゼリンになり酸化されて着色の原因物質であるラブレゼリ

ンになる。<sup>8)</sup> PS の安定化については古くから点眼剤を目的に検討され,<sup>9)</sup> 亜硫酸塩の添加により分解による着色は抑制されるが, 分解に対して影響を与えないことが認められた。<sup>7)</sup> しかし, 注射剤を目的としたガス置換などの製剤的条件下での亜硫酸塩の効果や至適濃度を検討した例はない。また, 検討された安定性試験の結果に相反するものがあり, これは用いられた定量法の相違によるものと指摘されている。<sup>10)</sup>

そこで今回, HPLC 法を用いて注射剤の抗酸化剤として汎用されるピロ亜硫酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) を添加し, PS の安定性に対する効果を各種水溶液中検討した結果, 若干の知見を得たので報告する。

## 実験方法

## 1. 試薬および試液

McIlvaine 緩衝液: 0.1 M クエン酸および 0.2 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 。その他は前報<sup>5)</sup>と同様。

## 2. 試料液の調製

試料液中の PS 濃度はいずれもサリチル酸塩として 0.1% で, ガラスアンプル中  $\text{N}_2$  置換の有無の両者につ

\*1 日本薬学会第103年会(東京, 1983年4月)で発表。

\*2 浜松市半田町 3600; 3600, Handa-cho, Hamamatsu-shi, 431-31 Japan

いて  $93 \pm 1^\circ$  における PS の残存率を経時的に測定した。

### 3. HPLC 法および pH 測定

前報<sup>5)</sup>と同様。

### 4. 亜硫酸濃度測定

試料液 50 ml に炭酸水素ナトリウム 250 mg を加えクロロホルム抽出し、水層を検液としてヨウ素滴定法<sup>11)</sup>により測定した。

## 結果・考察

### 1. PS の定量値に対する $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ の影響

Fig.1 に HPLC クロマトグラムでの各成分の溶出位置および  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の影響を示す。実線ピークの 1・2・3 はそれぞれ PS の塩であるサリチル酸・PS・内部標準物質のトルペリゾンであり、破線 4・5 は分解物ピークで 4 は主に好氣的条件下生成するラブレゼリン、5 は嫌氣的条件下特異的に生じる未知物質である。<sup>5)</sup> 一方、PS 水溶液中に  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  を 0.5% 添加すると PS ピークは破線の 6 のようなリーディング現象を生じ、ピーク高は約 20% 減少した。さらに  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の添加量を増すとその量に応じてリーディングは大きくなり、ピーク波形にもなる定量値への影響が認められる。しかし、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の汎用される添加濃度は 0.1% 付近であることから、添加量を 0.1% 以下で PS の定量を試みた結果、ほとんどリーディングはなくピーク面積値比から求めた定量値は  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の影響をうけなかった。すなわち、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の添加濃度が 0.1% 以下であれば本 HPLC 法による PS の定量は可能である。

このような  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の高濃度の添加によるリーディングは PS ピークに特異的であり、添加濃度に依存していることから、PS と  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の相互作用が原因であると考えられるが、最近 Hussain ら<sup>12)</sup> は Scheme 1 のような付加体の生成を提唱し、著者らが認めたリーディング現象もこのような付加体の生成が一因を成すものと推定される。

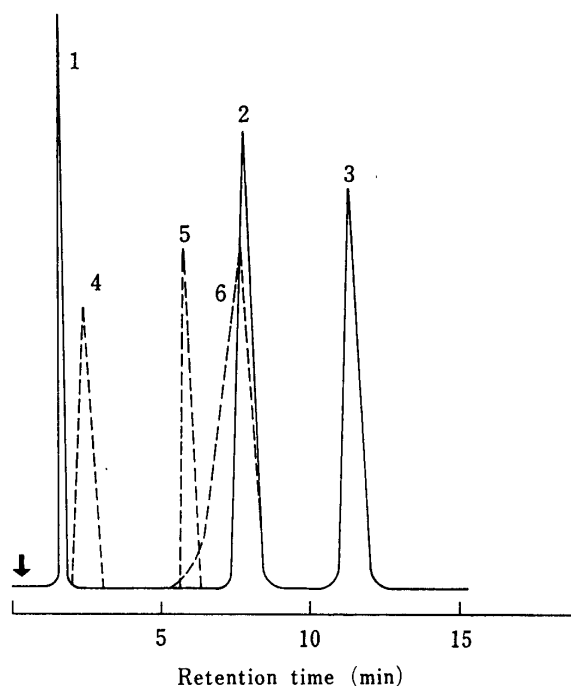
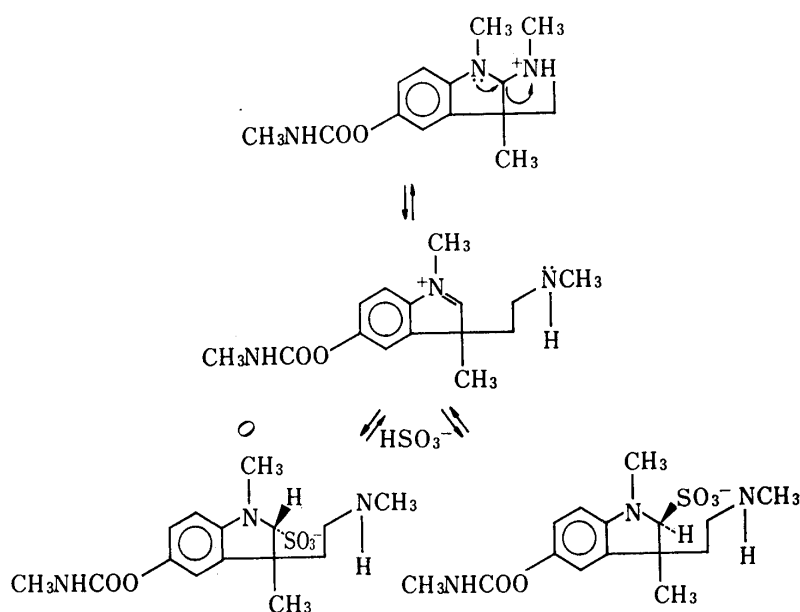


Fig. 1. Influence of Sodium Pyrosulfite on HPLC Chromatogram of Physostigmine Salicylate



Scheme 1.

## 2. PS の安定性に対する $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ の影響

### 1) 緩衝液中での安定性

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  を 0~0.1% 含む PS 水溶液の pH 値を McIlvaine 緩衝液で 3.3~5.6 に調節し、それぞれ  $\text{N}_2$  置換有無の両者の安定性を検討した。Table 1 に pH 5.6 にしたものを 4 時間加熱した場合の安定性と着色の有無を示す。 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の添加量および  $\text{N}_2$  置換の有無にかかわらず、いずれの残存率も約 55% と同率であった。しかし、外観変化には差が認められ、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の添加濃度が 0.01% と低濃度では  $\text{N}_2$  置換しないと着色は抑制できなかった。さらに pH 値を 4.3 および 3.3 に調節した溶液中でも  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の添加量および  $\text{N}_2$  置換は PS の安定性に対して影響を与えなかった (Fig. 2)。

すなわち、PS の安定化には pH 値の設定が重要であり、着色の抑制に対して  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の添加や  $\text{N}_2$  置換は有効であった。

### 2) pH 無調整液中での安定性

院内で調製する無菌製剤という観点から、製剤原料や混合操作による汚染の防止は重要であり、そのため製剤処方合理的に単純化することが望ましいと考えられる。また、特殊製剤処方の実態調査<sup>13)</sup>においても注射剤の処方で緩衝液を使用している例は少ない。そこで  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  自身弱酸性を示し、PS 水溶液に添加した場合無添加のときの pH 値 5.5 を 4 付近にまで低下できることから、緩衝液で pH 調整しない溶液中での PS の安定性を検討した。

Fig. 3 に示すように、 $\text{N}_2$  無置換の場合は PS 水溶液中に  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  を 0.05% および 0.1% 添加すれば加熱 17 時間後も残存率に変化はなく、溶液の pH 値も加熱前後で変化はなかった。しかし、 $\text{N}_2$  置換した場合は  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  の 0.01% 添加では無添加とほぼ同様に 3 時間で残存率が約 10% に、0.05% および 0.1% 添加ではそれぞれ 8 およ

Table 1. Effect of Sodium Pyrosulfite and  $\text{N}_2$  on the Stability of Physostigmine Adjusted to pH 5.6

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (%)	Flushing with $\text{N}_2$	Residual (%)	Color
none	-	53.6	+
0.01	-	54.0	±
	+	55.5	-
0.05	-	55.7	-
	+	56.1	-
0.1	-	56.5	-
	+	55.5	-

Decomposition time : 4 hr

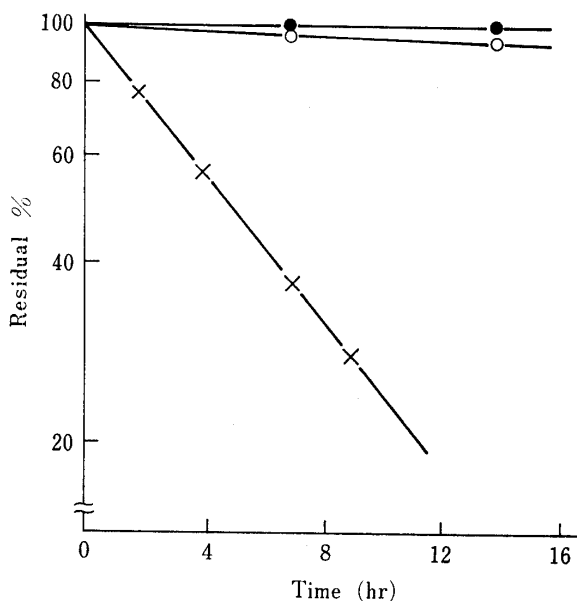


Fig. 2. Effect of Sodium Pyrosulfite and  $\text{N}_2$  on the Stability of Physostigmine at Various pH

Each point represents residual % of physostigmine in solution without  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  and containing 0.01, 0.05, 0.1%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  under aerobic and anaerobic condition.

● pH 3.3, ○ pH 4.3, × pH 5.6

び 14 時間後に残存率 80% 以上のものが急激に 10% 以下となった。また、溶液の pH 値は加熱前に比べ約 2 上昇していた。着色現象は緩衝液中と同様に  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  を添加して  $\text{N}_2$  置換したものでは見られなかった。

主薬以外に  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  のみを添加した場合、 $\text{N}_2$  置換の併用によりその添加量に応じて PS の安定性は向上するが、 $\text{N}_2$  置換を併用しないものに比べ安定性は低下していることが判明した。すなわち、好氣的条件下調製して安定である保存期間であっても、嫌氣的条件下調製されたものでは製剤としての品質が損われている危険性が考えられる。

亜硫酸塩の主薬の安定性に対する影響は、直接反応するアスコルビン酸の例<sup>14)</sup>や触媒的に作用するペニシリン類の例<sup>15)</sup>で知られる。そこで  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  を 0.05% 添加して  $\text{N}_2$  置換した試料について pH 値の変動および亜硫酸の残存量を測定した (Fig. 4)。加熱前の pH 値は約 4 であったが、PS がほとんど分解していない間に 6 にまで上昇し、その後 PS は急速に分解するが pH 値は 6.5 とわずかに 0.5 上昇するだけであった。亜硫酸濃度の測定はヨウ素滴定法により検討したが、PS やその分解物が共存する場合ヨウ素液は混濁し定量困難となる。そこで USP の吸光度法<sup>9)</sup>の前処理方法を適用して、これらの妨

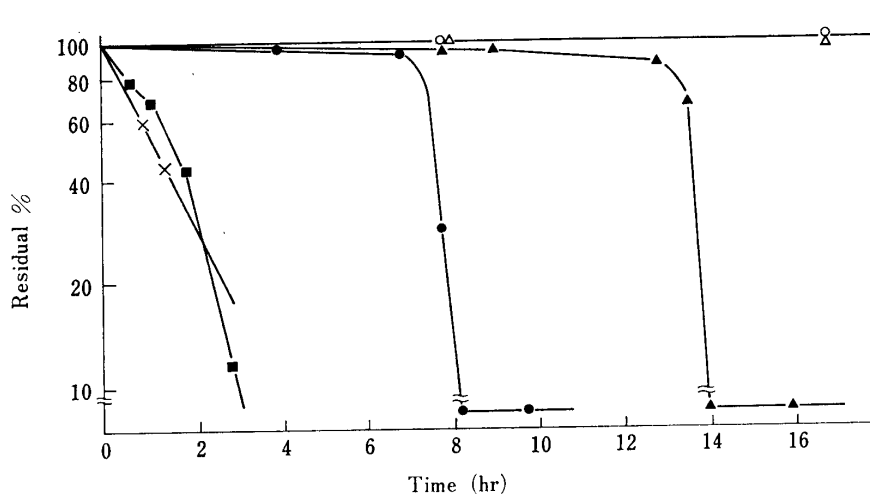


Fig. 3. Effect of Sodium Pyrosulfite and  $N_2$  on the Stability of Physostigmine without Adjustment of pH

Initial  $Na_2S_2O_5$  concentration :  $\times$  none,  $\blacksquare$  0.01%,  $\circ$   $\bullet$  0.05%,  
 $\triangle$   $\blacktriangle$  0.1%

Condition :  $\times$   $\circ$   $\triangle$  aerobic,  $\blacksquare$   $\bullet$   $\blacktriangle$  anaerobic

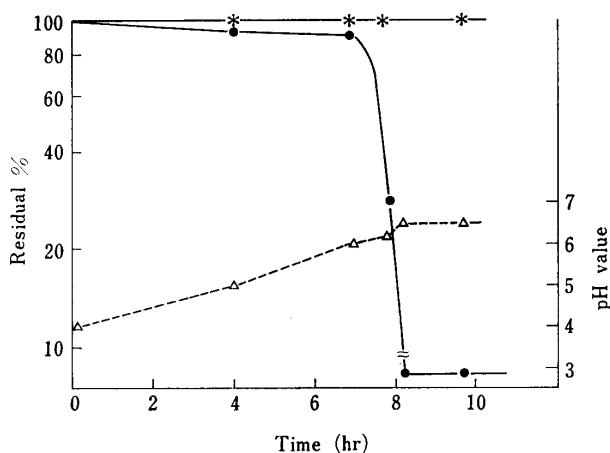


Fig. 4. Decomposition of Physostigmine and Sodium Pyrosulfite and Change of pH Value under Anaerobic Condition

$\bullet$  : Physostigmine,  $\ast$  :  $Na_2S_2O_5$ ,  $\triangle$  : pH value

害物質を除き定量を試みた結果、ブランク値と差はなく定量可能であった。  $SO_3^-$  付加体の生成や亜硫酸イオンの平衡状態など未解決な点も残すが、この方法により残存亜硫酸濃度を測定したところ PS が分解してもほとんど変化はなかった。

以上の結果から嫌気的条件下 PS は間接的に  $Na_2S_2O_5$  の影響をうけ、たとえば分解して生成するメチルアミノ体などの関与により溶液の pH 値は上昇して PS の不安定領域の pH 値に達した時点で PS は急速に分解するものと考えられる。また、  $Na_2S_2O_5$  の添加量の多いものほど分解に要する時間が長い、これは  $Na_2S_2O_5$  が量

的に pH 値の上昇を抑制しているものと考えられる。

このように一般に主薬の安定化のために併用して有効と考えられる抗酸化剤の添加と、  $N_2$  置換が PS の場合その安定性を低下させることが認められ、このことから今後、他の主薬についても慎重な製剤的条件の設定が必要と考えられる。

## 結 論

抗酸化剤として  $Na_2S_2O_5$  を添加して PS の安定性を検討した。緩衝液中では  $Na_2S_2O_5$  の添加濃度および  $N_2$  置換の併用の有無は PS の安定性に影響を与えなかったが、溶液の pH 値を緩衝液で調節しない場合、PS の安定性は  $Na_2S_2O_5$  の存在下  $N_2$  置換しないものに比べ  $N_2$  置換したもので低下した。これは  $N_2$  置換中 PS が  $Na_2S_2O_5$  の影響をうけ、溶液の pH 値が上昇することにより PS の分解が促進されたものと考えられる。

## 文 献

- 1) R.C. Duvoisin, R. Katz : J. Am. Med. Assoc., 206, 1963 (1968).
- 2) L.T. Greene : Anesth. Analg., 50, 222 (1971).
- 3) 松田 功, 尾藤育子, 白石義人, 村田克介, 池田和之, 鈴木一市, 川影逸郎, 藤井喜一郎 : 麻酔, 31, 617 (1982).
- 4) 松田 功, 大竹一栄, 吉沢 陸, 佐藤一雄, 池田和之, 鈴木一市, 川影逸郎, 藤井喜一郎 : 麻酔, 31, 865 (1982).
- 5) 山添喜久雄, 鈴木一市, 森田久代, 川影逸郎, 藤井喜一郎 : 病院薬学, 9(4), 307 (1983).

- 6) U. S. Pharmacopeia, XX, 1980, p. 624.
- 7) D. J. G. Davies, G. Fletcher : J. Pharm. Pharmacol., 20, 108 S (1968).
- 8) B. Robinson : J. Pharm. Pharmacol., 17, 89 (1965).
- 9) 青木 大, 今里 雄 : 薬剂学, 17, 163 (1957); S. Riegelman, D. G. Vaughan : J. Am. Pharm. Assoc., Pract. Pharm. Ed., 19, 537 (1958).
- 10) A. R. Rogers, G. Smith : Pharm. J., 211, 353 (1973).
- 11) 日本公定書協会編 : “第十改正日本薬局方解説書,” 広川書店, 東京, 1981, p. D-761.
- 12) A. Hussain, H. Wahner, J. Triplett : J. Pharm. Sci., 67, 743 (1978).
- 13) 吉成昌郎, 伊藤 博, 笠原伸元, 幸保文治, 島田慈彦, 渋谷文則, 森 和之, 山瀬康正 : 病院薬学, 7, 8 (1981).
- 14) 寺尾求馬, 丸井悦子, 田中恵子, 中尾泰子 : 薬誌, 100, 81 (1980).
- 15) 寺尾求馬, 丸井悦子, 米沢誠一, 川島儀子 : 薬誌, 102, 978 (1982).