

ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油の酸化分解に関する研究 —薬物の分解促進とヒスタミン遊離作用—

西川 三喜男* 藤井 喜一郎*

ポリオキシエチレン系界面活性剤、とくにポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 60 (HCO-60) は注射剤の可溶化剤として使用されるが、HCO-60 に含まれる ethylene oxide (EO) 鎖が光、温度、金属触媒の影響で分解することが報告されている¹⁾。われわれも HCO-60 が自動酸化され、hydroperoxide (HPO), formaldehyde (FA), 蟻酸が生成することを明らかにした²⁾。今回この酸化分解過程で生じる free radical による薬物への影響を検討し、その原因物質の解明を行った。また、HCO-60 含有製剤、とくにビタミン K₂ 注投によるショック症例の報告が見られるが、この原因を free radical による HCO-60 の酸化分解から検討した。

方法：1) 10% HCO-60 含有 1% miconazole (MCZ) 水溶液をアンプルに封入し、種々の温度での8日後の pH, FA 濃度(吸光度法), MCZ の残存率 (HPLC 法), および MCZ の分解物比を測定した。また、窒素置換した場合も検討した。次に、60°C で3日間インキュベーションした HCO-60 水溶液に 0.5% MCZ, 1.0% doxycycline-HCl (DOXY), 0.5% adriamycin-HCl (ADR) を添加、アンプルに封入し 30°C で7日後の薬物の残存率 (HPLC 法) を測定し、分解していない新しい HCO-60 水溶液を用いた場合と比較した。2) 5% HCO-60 含有 0.5% MCZ 水溶液に Fe(II)イオン (0.5 mM), H₂O₂ (5 mM) および Fe(II) と H₂O₂ を同時に添加したときの pH, FA 濃度, MCZ 残存率, および MCZ の分解物比を

求めた。また、hydroxy radical scavenger (potassium iodide, thiourea, cysteine, trolox, butanol, dimethylsulfoxide) を 25 mM 添加し、MCZ の分解抑制を調べた。3) 人白血球濃厚液を pipes buffer (pH 7.4) で3回洗浄後、白血球浮遊液とし、その 4 ml に種々の物質を 0.8 ml 添加後、37°C で60分間インキュベーションした。その後アイスバス中で10分間冷却し、4°C, 350 g で遠心分離後、上清中のヒスタミン (HST) 量を Shore らの方法³⁾で測定した。添加した物質は、Cu(II)イオン, H₂O₂, HCO-60, HCO-60 含有のビタミン K₂ (K₂) およびビタミン K₃ (K₃), およびそれらの混合物である。総 HST 量は、sample を超音波処理、さらに凍結融解法で HST を遊離させ、同様に測定した。また薬物添加したときの HST 遊離率は、測定した HST 量から自然 HST 遊離量を差し引き、総 HST 量で除して求めた。

結果：1) HCO-60 含有 MCZ 水溶液において、30°C では、HCO-60 の分解の指標となる pH, FA 濃度に変化はみられず、MCZ の残存率も変化なく分解物も認められなかった。一方、40°C 以上で pH は低下、FA 濃度は増加し、これにともない MCZ の残存率は低下し分解物も認められた。しかし窒素置換すると 60°C でもこれらの変化はみられず、HCO-60 および MCZ の分解は抑制されることが判明した。次に、酸化分解した HCO-60 に MCZ, DOXY, ADR を添加した場合、分解していない新しい HCO-60 水溶液に添加した場合と比べ、これらの薬物の残存率は低下した。

2) Fe(II), H₂O₂ 単独の添加では、pH, FA 濃度, MCZ 残存率, 分解物比に大きな変化はなか

* 浜松医科大学医学部附属病院薬剤部

〒431-31 浜松市半田町 3600

ったが、Fe(II)とH₂O₂を同時に添加(Fenton試薬)すると、これらは著明に変化しHCO-60, MCZの分解が促進することが判明した。またHCO-60を含まないMCZ酢酸溶液にFenton試薬を添加した場合にもMCZの分解が促進した。またhydroxy radical scavengerの添加によりMCZの分解は抑制され、とくにKI, thioureaの添加によりMCZの分解は完全に抑制された。3) 0.5 mM Cu(II)イオン, 5 mM H₂O₂, 10% HCO-60, 1 mM K₂, 1 mM K₃, および60°Cで72時間インキュベーションしたHCO-60, K₂それぞれ単独の添加ではHST遊離率に有意な差は見られなかった。Cu(II)とH₂O₂を同時に添加したときのHST遊離率は、低濃度では有意な差はみられなかったが、濃度依存的に有意に上昇した。また0.1 mM Cu(II), 1 mM H₂O₂, および10% HCO-60を含む溶液に1 mM K₂および1 mM K₃を添加するとHST遊離率は、15.0%および26.3%と有意に上昇した(P<0.01)。なお、1 mM K₃は単独添加でも15.5%と有意に上昇した(P<0.01)。

考察: 不飽和脂肪酸を含む脂質の自動酸化については、従来からよく研究されているがEO鎖も脂質と同様の自動酸化を受けることがわかっている¹⁾。今回、その酸化が薬物に影響を与えるかを検討した結果、MCZの分解はHCO-60の分解に伴って生じること、酸素依存性の分解反応であること、また分解したHCO-60を添加することによりMCZ, DOXY, ADRの分解が促進することから、HCO-60の分解が薬物の分解を誘発することが明らかとなった。

この分解機構をより詳細に検討するため、Fe(II), H₂O₂, およびFe(II)とH₂O₂を同時に加えたときのHCO-60含有MCZ溶液への影響を調べた。Fe(II)とH₂O₂を同時に加えるとFenton reactionによりhydroxy radicalが生じる。Fe(II)とH₂O₂を単独で添加したとき、HCO-60やMCZへの影響はあまり見られないが、同時に加えてhydroxy radicalを生じさせるとHCO-60, MCZとも分解が促進した。またHCO-60を含ま

ないMCZの酢酸溶液中でも、hydroxy radicalがMCZを分解させることが明らかとなった。次にhydroxy radical scavengersを用いてMCZの分解の抑制効果を検討した結果、hydroxy radicalの発生を抑制すればMCZの分解も抑制できることが明らかとなった。

Hydroxy radicalは活性酸素種の中でもきわめて毒性が強い。またEO鎖を含む界面活性剤を静注したとき、まれにアナフィラキシー様ショックが報告されているが^{4,5)}、これにはIgEが関与しなくても生じることから⁶⁾、顆粒球への薬物の直接作用と考え、薬物添加によるHST遊離率を測定し、free radicalとの関係を検討した。その結果、Cu(II)とH₂O₂を同時に加えることによって生じるhydroxy radicalの濃度に依存してHST遊離率が上昇した。また、Cu(II), H₂O₂, およびHCO-60を含む系でK₂, K₃を添加するとHST遊離率が上昇したことからK₂, K₃も関与していることが明らかとなった。このことはquinone骨格を有するK₂, K₃がfree radicalの影響でsemiquinone radicalに変化することと関係があるかもしれない⁷⁾。しかしHCO-60の酸化分解とショックとの関係を明らかにするには、より詳細な研究が必要である。

結論: HCO-60の分解は薬物の分解を促進し、その原因物質はHCO-60の分解過程で生じるhydroxy radicalであると思われる。また、hydroxy radicalにより、HCO-60含有のK₂, K₃によるHST遊離作用は増強された。

文 献

- 1) Donbrow, M., Azaz, E. et al.: J. Pharm. Sci., **60**: 1676-1681 (1978).
- 2) 西川三喜男ほか: 日本薬学会第110年会講演要旨, p. 99 (1990).
- 3) Shore, P. A. et al.: J. Pharmacol. Exp. Ther., **127**: 182-186 (1959).
- 4) Siddall, S. J. et al.: Lancet, **i**: 394 (1989).
- 5) Barnes, H. M. et al.: Br. J. Dermatol., **95**: 653 (1976).
- 6) Carstensen, H. et al.: Lancet, **i**: 55 (1989).
- 7) 小沢俊彦ほか: 薬誌, **110**: 617-638 (1990).