[Jpn. J. Hosp. Pharm.]
— 一般論 —
18(5) 458—465 (1992)

院内製剤エピネフリン・コハク酸プレドニゾロン混合吸入液の安定性^{†1}

水島規子*^{†2}, 田中祐子^{†2}, 藤井忠男^{†2}, 岩崎由雄^{†3}

東海大学病院薬剤部^{†2}
明治薬科大学薬剤学教室^{†3}

Stability of a Mixed Solution of Epinephrine and Prednisolone Succinate for Inhalation Prepared in Our Hospital^{†1}

NORIKO MIZUSHIMA*^{†2}, YUKO TANAKA^{†2},

TADAO FUJII^{†2}, YOSHIO IWASAKI^{†3}

Department of Pharmacy, Tokai University Hospital^{†2}
Department of Pharmaceutics, Meiji College of Pharmacy^{†3}

(Received December 16, 1991)
(Accepted March 19, 1992)

After a mixed solution of epinephrine and prednisolone succinate for inhalation (Nebulizer No.1 solution) was prepared in the hospital and was allocated into 50ml sterilized bottles, Nebulizer No.1 solution was stored for 4 weeks under the following 3 conditions i.e. at room temperature with room lighting ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 500 lux), at room temperature with prevention of room light transmittance ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, covered with brown light-resistant bag), and in a cool and dark place ($5-10^{\circ}\text{C}$, covered with brown light-resistant bag). After the storage, the observation of appearances, pH measurement, the measurement of contents and the identification and quantification of decomposed products by high-performance liquid chromatography (HPLC) were performed.

In storage at room temperature under room lighting or prevention of room light transmittance, Nebulizer No.1 solution was markedly colored; contents of epinephrine and prednisolone succinate in the mixed solution were decreased; and adrenochrome and prednisolone were detected as decomposed products. In cool and dark storage, there were no changes in appearances, even after storage for 4 weeks, and epinephrine and prednisolone succinate remained by 86% and 92%, respectively.

Keywords—stability; HPLC; epinephrine; prednisolone succinate; prednisolone; adrenochrome; inhalation; degradation products; color change

院内製剤エピネフリン・コハク酸プレドニゾロン

ン混合吸入液（以下、ネブライザー No. 1 液とする）は、耳鼻咽喉科でネブライザー使用時の基本液として繁用されている。

^{†1} 本報は、日本薬学会第 110 年会（札幌，1990 年 8 月）にて発表。

^{†2} 伊勢原市下糟屋 143; 143, Shimokasuya, Isehara-shi, 259-11 Japan

^{†3} 世田谷区野沢 1-35-23; 35-23, Nozawa 1-chome, Setagaya-ku, 154 Japan

ネブライザーは気道に湿気あるいは薬液を供給する目的でよく用いられているものであり、圧縮空気法、蒸気法、超音波法などがある。

ネブライザー No. 1 液に配合されている注射用コハク酸プレドニゾロンナトリウムは用時溶解形注射剤¹⁾であり、また一方のエピネフリンもその安定性は液性によるところが大きい²⁾ところから、使用時に溶解混合することが望ましい。しかし、用時溶解混合の手間を省きたいとする耳鼻咽喉科の要望によりネブライザー No. 1 液の名称で院内製剤として供給している。そこで、本液の使用期限を設定する必要がある、その安定性について検討した。

試験は、外観観察、pH 測定、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による含量測定および分解生成物の検索ならびに定量について実施した。

実験方法

1. 試料

水溶性プレドニン 50mg (注射用コハク酸プレドニゾロンナトリウム；コハク酸プレドニゾロンとして 63.9mg 含有, Lot No. AH01, 塩野義製薬, 添付溶解液：注射用蒸留水 5ml Lot No. 9801, 塩野義製薬), ボスミン液 (エピネフリン液：500ml, 1ml 中エピネフリンを 1mg (0.1 w/v%) 含有, Lot No. EM21, 第一製薬), および注射用蒸留水 (500ml, Lot No. 8910CS, 光製薬)。

2. 試料液の調製

a) ネブライザー No. 1 液

処方	水溶性プレドニン	500mg
	ボスミン液	16.65ml
	注射用蒸留水	適量
	全量	150ml

無菌操作法により水溶性プレドニンを添付されている溶解液で溶解した後、ボスミン液を加え、注射用蒸留水で全量とし滅菌びんに 50ml ずつ分注し試料液とした。

b) 希釈プレドニン液

水溶性プレドニン 500mg を添付されている溶解液で溶解した後、注射用蒸留水で全量 150ml とする。

c) 希釈ボスミン液

ボスミン液 16.65ml を注射用蒸留水で全量 150

ml とする。

d) 希釈ボスミン液 (pH 6.8)

ボスミン液 16.65ml を 1/30M リン酸緩衝液 (pH 6.8) で全量 150ml とする。

以上、b)～d) の液についてもネブライザー No. 1 液と同様に 50ml ずつ滅菌びんに分注し、試料液とした。

3. 保存条件

滅菌びんに分注した試料液を室温室内灯下 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 500 lux), 室温遮光 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 褐色遮光袋), 冷所遮光 ($5-10^\circ\text{C}$, 褐色遮光袋) の 3 条件に保存した。

4. 外観観察および pH 測定

試料液の色調の変化、混濁の有無について肉眼で観察した後、pH 測定を行った。pH 測定は日立-堀場 pH メーター F-7 型を用いた。

5. HPLC による含量測定と分解物の検索

I) 標準品および分解生成物の標品

コハク酸プレドニゾロン (Lot No. 86C-0149, シグマ社), プレドニゾロン (Lot No. 9628356, メルク社), L-エピネフリン (Lot No. LTQ7494, 和光純薬), アドレノクロム (Lot No. 127F0870, シグマ社)。

II) 分析条件 I

装置：TRIROTAR-V, UVIDEC-100-IV (日本分光)。検出波長：242nm (0.02 AUFS)。カラム：マイクロボンダパック C18 (ウォーターズ, 3.9mm×300mm)。移動相：水 (酢酸 pH 3.45), メタノール (9:11)。流速：1.0ml/min。試料注入量：10 μ l。

III) 分析条件 II

装置：TRIROTAR-V, UVIDEC-100-IV, FP-210 (日本分光)。検出：UV 300nm (0.02 AUFS), 蛍光検出励起 (EX) 285nm 蛍光 (EM) 340nm (ATT×8)。カラム：マイクロボンダパック C18 (ウォーターズ, 3.9mm×300mm)。移動相：リン酸を用いて pH 2.35 に調整した 10mM リン酸ナトリウム緩衝液に 1mM 1-オクタンスルホン酸ナトリウムと 10mM 硫酸ナトリウムを添加した液, メタノール (95:5)。流速：1.0ml/min。試料注入量：10 μ l。

HPLC 条件 I により試料液中のコハク酸プレドニゾロンの含量測定と同時にコハク酸プレドニゾロンの分解物であるプレドニゾロンの定量を行い、HPLC 条件 II により試料液中のエピネフリンの含量測定と同時にエピネフリンの分解物であるアドレノクロムの定量を行った。エピネフリンの含量測定には蛍光検出を、アドレノクロムの定量には UV 検出を用いた。

結果と考察

1. 外観変化および pH 変化

ネブライザー No. 1 液および比較対照のための各種試料液の外観観察と pH 測定結果を Table 1 に示す。

ネブライザー No. 1 液および各種試料液は調製時無色透明であり、冷所保存においては経時外観変化および pH 変化いずれも認められなかった。ネブライザー No. 1 液は室温室内灯下保存で2日後より、また室温遮光保存で5日後より着色が認められた。この着色は希釈ボスミン液 (pH 6.8) においても同様に認められたこと、低 pH を示す希釈ボスミン液および希釈プレドニン液ではみられないことより、エピネフリンの pH に依存

する変化であると考えられる。

また、ネブライザー No. 1 液は3週間保存後より沈殿物の生成がみとめられたが、希釈プレドニン液、希釈ボスミン液 (pH 6.8) でも認められ、コハク酸プレドニゾロン、エピネフリンのそれぞれの分解によるものと考えられる。

ネブライザー No. 1 液の調製時における pH は6.80で、水溶性プレドニンに添加されているリン酸ナトリウムの緩衝能により希釈プレドニン液と類似の pH を示すものと考えられる。ネブライザー No. 1 液と希釈プレドニン液は室温室内灯下および室温遮光保存においてやや pH 低下の傾向が認められた。

2. HPLC による分離定量

HPLC 条件 I におけるコハク酸プレドニゾロンとプレドニゾロンの標品のクロマトグラムおよび検量線を Fig. 1 に示す。

それぞれの溶出時間はコハク酸プレドニゾロン10分、プレドニゾロン8分であり、いずれも良好な分離を示し、ピーク高さをを用いた検量線の相関係数 r はコハク酸プレドニゾロン: $r=0.997$ ($n=8$), プレドニゾロン: $r=0.999$ ($n=8$) を示し、原点を通る良好な直線性を示すものであった。

Table 1. Changes of pH and Appearance during Storage

Storage condition	Time (day)	Nebulizer No.1 Solution		Diluted Predonine Solution		Diluted Bosmin Solution		Diluted Bosmin Solution (pH6.8)	
		pH	Appearance	pH	Appearance	pH	Appearance	pH	Appearance
	0	6.80	Colorless	6.96	Colorless	3.42	Colorless	6.73	Colorless
5-10°C	7	6.76	— ^{a)}	6.89	—	3.45	—	6.70	—
Prevention of light	14	6.70	—	6.87	—	3.57	—	6.72	—
	21	6.75	—	6.92	—	3.50	—	6.70	—
	28	6.72	—	6.84	—	3.55	—	6.74	—
25±2°C	7	6.60	Brown	6.82	—	3.40	—	6.68	Brown
Prevention of light	14	6.30	Brown	6.70	—	3.50	—	6.64	Brown
	21	6.23	Brown, ppt. ^{b)}	6.68	Colorless, ppt.	3.50	—	6.63	Brown, ppt.
	28	6.36	Brown, ppt.	6.56	Colorless, ppt.	3.54	—	6.60	Brown, ppt.
25±2°C	7	6.53	Brown	6.79	—	3.36	—	6.68	Brown
Under the light (500lux)	14	6.28	Brown	6.69	—	3.40	—	6.65	Brown
	21	6.21	Brown, ppt.	6.67	Colorless, ppt.	3.30	—	6.63	Brown, ppt.
	28	6.38	Brown, ppt.	6.56	Colorless, ppt.	3.32	—	6.60	Brown, ppt.

a) —: No Change, b) ppt.: Precipitate

Fig. 1. HPLC Chromatograms and Calibration Curves of Compounds in Condition I

I) HPLC Chromatograms

a : Prednisolone 0.086 μ g b : Prednisolone succinate 0.124 μ g

II) Calibration Curves by HPLC

a : Prednisolone b : Prednisolone succinate

Fig. 2. HPLC Chromatograms and Calibration Curves of Compounds in Condition II

I) HPLC Chromatograms

a : Adrenochrome 0.094 μ g b : 1-Epinephrine 5.2 μ g

II) Calibration Curves by HPLC

a : Adrenochrome b : 1-Epinephrine

HPLC 条件IIにおけるエピネフリンとアドレノクロムの標品のクロマトグラムおよび検量線を Fig. 2 に示す。

溶出時間はエピネフリン9.6分、アドレノクロム7.8分であり良好な分離が得られピーク高さを
用いた検量線の相関係数 r は、エピネフリン：

$r=0.999$ ($n=10$), アドレノクロム : $r=0.999$ ($n=10$) を示し, 原点を通る良好な直線性を示すものであった. 試料液中のエピネフリンと分解生成物アドレノクロムを同一希釈液で同時定量するため, 蛍光検出を低感度で UV 検出を高感度で用いた.

3. ネブライザー No. 1 液の安定性

ネブライザー No. 1 液および比較対照のための希釈プレドニン液保存後のコハク酸プレドニゾンの含量変化と, 分解生成物プレドニゾロンの生成量を Fig. 3 に示す. 各試料液中のコハク酸プレドニゾロンの含量は調製直後の含量を 100% として経時残存率で示し, プレドニゾロンの生成量はコハク酸プレドニゾロンに対するモルパーセントで示した.

また, HPLC 条件 I におけるネブライザー No. 1 液と希釈プレドニン液の調製時および 2 週間保存後のクロマトグラムを Fig. 4 に示す.

ネブライザー No. 1 液, 希釈プレドニン液両試料液中のコハク酸プレドニゾロンの含量は, 室温室内灯下保存および室温遮光保存において低下した.

ネブライザー No. 1 液は冷所遮光保存では 4

週間後もコハク酸プレドニゾロンの残存率は92%を示した.

分解生成物プレドニゾロンはネブライザー No. 1 液, 希釈プレドニン液両試料液ともに調製直後にも約 1 モルパーセント検出され, コハク酸プレドニゾロンの含量低下に伴い増加した. 両試料液中で調製時に分解物としてプレドニゾロンの他に保持時間 7 分にプレドニゾロンと同程度のピーク高さを示す物質 x が検出され, 経時増加が認められた. この物質は調製時より検出されること, 保存中コハク酸プレドニゾロンの含量低下に伴い生成するプレドニゾロンとともに増加していることより, コハク酸プレドニゾロンの分解物であると考えられるが, 構造を確認できなかった.

ネブライザー No. 1 液中のコハク酸プレドニゾロンの含量低下, 分解物プレドニゾロンの生成および未知分解物の生成は, 希釈プレドニン液とはほぼ同様の变化を示したことから, エピネフリンとの配合によるものではなく, 水溶性プレドニン自体の溶解後の安定性によるものと考えられる.

ネブライザー No. 1 液中および希釈ボスミン液 (pH 6.8) ならびに希釈ボスミン液保存後のエ

Fig. 3. Residual Amount of Prednisolone Succinate and Quantity of Prednisolone during Storage

I) Nebulizer No. 1 Solution II) Diluted Predonine Solution

- Prednisolone succinate × Prednisolone
- Stored under prevention of light at 5–10°C
- - - Stored under prevention of light at 25±2°C
- Stored under the light (500 lux) at 25±2°C

Fig. 4. HPLC Chromatograms of Condition I

I) Nebulizer No. 1 Solution II) Diluted Predonine Solution

A) at preparation

B) stored under prevention of light at 5–10°C for 2 weeks

C) stored under prevention of light at 25±2°C for 2 weeks

D) stored under the light (500 lux) at 25±2°C for 2 weeks

a : Prednisolone b : Prednisolone succinate x : Unknown

Fig. 5. Residual Amount of Epinephrine and Quantity of Adrenochrome during Storage

I) Nebulizer No. 1 Solution

II) Diluted Bosmin Solution (pH 6.8)

III) Diluted Bosmin Solution

● Epinephrine × Adrenochrome

--- stored under prevention of light at 5–10°C

.... stored under prevention of light at 25±2°C

— stored under the light (500 lux) at 25±2°C

Fig. 6. HPLC Chromatograms of Condition II

I) Nebulizer No. 1 Solution II) Diluted Bosmin Solution (pH 6.8)

A) at preparation

B) stored under prevention of light at 5—10°C for 1 week

C) stored under prevention of light at 25±2°C for 1 week

D) stored under the light (500 lux) at 25±2°C for 1 week

a : Adrenochrome b : Epinephrine y, z : Unknown

ピネフリンの含量変化と、分解生成物アドレノクロムの生成量を Fig. 5 に示す。各試料液中のエピネフリン含量は調製時の含量を100%として経時残存率で示し、アドレノクロムの生成量はエピネフリンに対するモルパーセントで示した。

また、HPLC 条件IIにおけるネブライザー No. 1 液と pH 6.8 の希釈ボスミン液の調製時および1週間保存後のクロマトグラムを Fig. 6 に示す。

ネブライザー No. 1 液中のエピネフリンの含量変化は保存条件による影響を受け、1週間後冷所保存では96%であるのに対し、室温遮光保存で62%、室温室内灯下保存で39%と著しい含量低下がみられた。希釈ボスミン液ではいずれの保存条件でも含量低下は認められず、pH 6.8 の希釈ボスミン液において同一 pH を示すネブライザー No. 1 液と同様のエピネフリンの含量低下が認められた。ネブライザー No. 1 液および pH 6.8 の希釈ボスミン液においてエピネフリンの含量低

下に伴いアドレノクロムの生成が認められ、その生成量はネブライザー No. 1 液において高い値を示した。Fig. 5 に示すように、アドレノクロムは増加後減少していることから、アドレノクロムからさらに他の物質への分解が進んでいるものと考えられる。Dhalla ら³⁾ は、エピネフリンの酸化分解物としてアドレノクロムとアドレノルチンの生成を報告しており、アドレノルチンの生成に対してアドレノクロムは増加後減少していることから、アドレノクロムからアドレノルチンの生成を定量的に確認している。

Fig. 6 に示すように、分解生成物としてアドレノクロムの他に UV 検出で保持時間4.5分に y のピークが、蛍光検出で保持時間3.2分に z のピークが検出された。z はネブライザー No. 1 液および pH 6.8 の希釈ボスミン液調製時より検出され、室温保存で著しい増加を示し、また、y は調製時にはほとんど認められなかったが、冷所保存で7日後わずかに検出され、室温保存で著しい

増加を示した。これら二つの未知物質のうちZは製品ボスミン液中でも検出され、またエピネフリン標品にもわずかに検出された。Yはアドレノクロム標品にもわずかに検出されること、アドレノクロム生成減少後も増加していることより、アドレノクロムからさらに分解したアドレノルチンと考えられ同定を試みた。アドレノルチンの標品が得られなかったので、UV 検出器の波長を変え(220—300nm)測定を行い、保持時間4.5分を示すピーク高さよりUV スペクトルを描いたところ、この物質YのUV スペクトルはHeacock⁴⁾の報告によるアドレノルチンのUV スペクトル($\lambda_{\max}$: 255, 285nm; $\lambda_{\min}$: 239, 272nm)と一致しなかった。

ネブライザー No. 1 液中のエピネフリン含量低下は、同一 pH に調製した pH 6.8 の希釈ボスミン液と同様の結果を示したが、未知分解物ZはpH 6.8 の希釈ボスミン液中のほうが多く、またアドレノクロムおよび未知分解物Yはネブライザー No. 1 液の方が多く検出されていることより、エピネフリンの液性による変化のほかに、配合による影響も受けているものと考えられる。未

知分解物 Y, Z については、いずれも構造を推定できなかった。

結 論

以上の結果、ネブライザー No. 1 液は、冷所遮光保存すれば4週間後も着色などの外観変化は認められず、コハク酸ブレドニゾロンの含量は92%であるが、エピネフリン含量は86%に低下すること、温度、光の影響により著しい分解を示すことを考慮し、調製後は冷所遮光保存とし、使用期限を2週間とした。

引 用 文 献

- 1) 水溶性ブレドニン添付文書、塩野義製薬株式会社；福島豁行，森 潔，“注射剤の配合変化”，富士プリント，札幌，1982，pp.424-429.
- 2) 福島豁行，森 潔，“注射剤の配合変化”，富士プリント，札幌，1982，pp.384-388；加藤裕久，古泉秀夫，横山朋正，JJSHP，**24**，17-20 (1988).
- 3) K. S. Dhalla, P. K. Ganguly, H. Rupp, R. E. Beamish, N. S. Dhalla, *Mol. Cell. Biochem.*, **87**, 85 (1989).
- 4) R. A. Heacock, M. E. Mahon, *Can. J. Chem.*, **36**, 1550 (1958).