薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
102 (10) 978-983 (1982)

注射剤の処方化と混合に関する研究 (第 2 報¹⁾) 亜硫酸水素ナトリウムによる
ペニシリン類およびセファロスポリン C 類の分解²⁾

寺尾求馬,* 丸井悦子, 米沢誠一, 川島儀子
近畿大学薬学部

Studies on the Formulation and Admixture of Parenteral
Preparations. II.¹⁾ Degradation of Penicillins and
Cephalosporin C's by Sodium Bisulfite²⁾

MOTOME TERAU,* ETSUKO MARUI, SEIICHI YONEZAWA, and NORIKO KAWASHIMA
Faculty of Pharmacy, Kinki University, Kowakae 3-4-1, Higashi-Osaka, 577, Japan

(Received April 26, 1982)

The degradation rates of penicillins and cephalosporin C's in aqueous solution were found to be accelerated by the coexistence of sodium bisulfite (SBS). The action of SBS was recognized to be catalytic. The destructive actions of SBS on penicillin G, carbenicillin, methicillin and sulbenicillin were shown by comparatively small catalytic rate constants. The actions of SBS on ampicillin and cloxacillin were shown by one figure larger catalytic rate constants, *i.e.*, catalytic rate constants for penicillin G and ampicillin were $4.47 \text{ M}^{-1}\text{h}^{-1}$ and $30.53 \text{ M}^{-1}\text{h}^{-1}$, respectively, at 60°C , pH 6.5 and $\mu=0.1$. The degradations of cephaloridine and cephalothin were also remarkably accelerated by SBS. As the results of stability studies on ampicillin in solution, the action of SBS was shown to be largest at pH value of approximately 6.5 and pH-rate profile was known to be inverse to that of the straight solution of ampicillin, and the effects of temperature and the concentration of SBS on the actions were determined. By utilizing these data, a new practical approach by use of a nomograph was proposed to predict the stability of ampicillin in the admixture of the antibiotics with parenterals containing SBS as an additive.

Keywords—stability of penicillin; stability of cephalosporin C; compatibility of parenteral admixture; catalytic action of sodium bisulfite; stability prediction of antibiotics

第 1 報¹⁾ では、注射剤の抗酸化剤として汎用される亜硫酸水素ナトリウム (SBS) がアスコルビン酸およびシアノコバラミンと反応することが明らかにされ、注射剤の処方化および混合注射における添加剤の問題点として指摘された。Abraham ら³⁾ は、SBS および亜硫酸ナトリウムが pH 7 で、ベンジルペニシリン (PC-G) の penicilloic acid への加水分解を促進し、反応の終末で SBS の約 80% が回収されたことから、SBS の PC-G に対する作用は触媒的らしいと推定している。その後この反応についての製剤学的報告はない。ペニシリン類およびこれと構造近縁のセファロスポリン C 類の抗生物質はしばしば輸液中に加えられて点滴注射されるが、市販の総合アミノ酸輸液にはすべて SBS が添加されている点から、Abraham らの報告はこの種抗生物質の臨床使用上十分な吟味を要するものと考えられる。そこで著者らはペニシリン類およびセファロスポリン C 類抗生物質に対する SBS の作用を検討し、混合注射における適合性を判断するための 1 つの実用的方式を得たので報告する。

実 験 の 部

試料 ペニシリン類およびセファロスポリン C 類抗生物質は次の市販品をそのまま用いた。ベンジルペニシリンカリウムおよびクロキサシリンナトリウム (明治製菓製), アンピシリンおよびスルベニシリンナトリウム (武田薬品製), カルベニシリンナトリウム (藤沢薬品製), メチシリンナトリウム (万有製薬製), セファロチンナトリウムおよびセファロリシン (塩野義製薬製)。試薬はすべて和光純薬製の試薬特級品を用いた。蒸留水はイオン交換樹脂による精製水をパイレックス製蒸留装置によって蒸留してつくり、溶媒として使用する直前、煮

沸して脱気し、窒素を吹き込みながら冷却した（脱気水）。安定性試験用の抗生物質溶液の pH は十分な緩衝能をもつリン酸塩緩衝液を用いて調整し、安定性試験中の pH を、特定した pH 値に対し ± 0.1 以内の変動に維持した。溶液はすべて脱気水を用いて窒素気流中で調製し、JPX 適合の無色ガラスアンプルに充てんし、アンプルの空間を窒素置換して溶封した。溶液のイオン強度は塩化カリウムによって調整した。

安定性試験 等温法と赤木ら⁴⁾の昇温加速試験装置を用いた直線昇温法とによった。昇温法では、 15°C から 80°C までの昇温を 4—11 時間で行った。両方法とも加熱には恒温水槽を用い、設定温度に対し $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 以内に調節した。

定量法 ペニシリン類——ペニシリンの初濃度は日本抗生物質医薬品基準（1974）のヨウ素滴定法によって定量した。反応液中のペニシリン濃度の時間的变化はこのヨウ素滴定法を一部変更した方法で定量した。すなわち、反応液中から 2 ml（ペニシリン初濃度として $1.0\text{ mg}/2\text{ ml}$ に相当）ずつを 100 ml 共栓フラスコ 2 個（A, B）に取り、A には 1 N 水酸化ナトリウム液 1.0 ml を加え、室温で 20 分間放置後、 1.2 N 塩酸 1.0 ml および 0.01 N ヨウ素液 5 ml （ただし、SBS 添加液の場合は、SBS 1.0 mg 当り 2.0 ml の 0.01 N ヨウ素液を増量）を正確に加え、室温、暗所に 20 分間放置後、過剰のヨウ素を 0.01 N チオ硫酸ナトリウム液（ $a\text{ ml}$ ）で滴定した（指示薬：デンプン試液）。B には 0.01 N ヨウ素液 5 ml （SBS 添加液の場合は A と同様に増量）を正確に加え、室温、暗所に 20 分間放置後、 0.01 N チオ硫酸ナトリウム液（ブランク、 $b\text{ ml}$ ）で滴定した（指示薬：デンプン試液）。($b-a$) の値からペニシリンの分解速度を求めた。

セファロsporin C 類——B.P. 1973 の cephaloridine^{5a)} および cephalixin^{5b)} に対するヨウ素滴定法に準じた。ただし、SBS 添加液に対する 0.01 N ヨウ素液の増量はペニシリンの場合と同様に行った。

結果および考察

PC-G に対する SBS の作用

$1.34 \times 10^{-3}\text{ M}$, pH 6.5 の PC-G 水溶液に SBS を添加し、 60°C での PC-G の安定性を SBS 無添加の溶液と比較した。PC-G 単独溶液、SBS 5 倍モルおよび 10 倍モル添加溶液の 5 時間後の PC-G 残存率は、それぞれ 89.9%, 79.5% および 61.1% で、SBS の添加によって PC-G の分解が促進され、添加量が増すと PC-G の分解率が

Fig. 1. Apparent First Order Degradation of PC-G in Solution accelerated by SBS at pH 6.5 and 60°C

Initial concentration, PC-G: $1.34 \times 10^{-3}\text{ M}$;
SBS: —○—, none; —□—, $6.70 \times 10^{-3}\text{ M}$;
—△—, $1.34 \times 10^{-2}\text{ M}$.

Fig. 2. Relationship Between the Iodine Consumption in Blank Determination and the Degraded Amount of PC-G

Initial concentration of PC-G and SBS: $1.34 \times 10^{-3}\text{ M}$;
—●—, straight solution of PC-G; —○—, mixed solution of PC-G and SBS.

増す傾向がみられた。PC-G 濃度の対数値を反応時間に対してプロットしたところ Fig. 1 のような直線関係が得られたことから、この反応は PC-G について見掛け上 1 次である。

安定性試験の過程で、ヨウ素滴定のブランク値は PC-G の分解が進むにつれて増加したが、PC-G 単独溶液と SBS 添加 PC-G 溶液のブランク値の差は、初めに添加した SBS 量に相当するヨウ素の理論量に一致して一定であった (Fig. 2)。すなわち、PC-G が分解しても SBS 量は変化せず、PC-G に対する SBS の作用は触媒的であることが確認された。

一定の pH に調整した PC-G, SBS 混合溶液中の PC-G の分解に関する 1 次の速度定数 k は次のように表わすことができる。

$$k = k_0 + k_{\text{SBS}}[\text{SBS}] \quad (1)$$

ここに、 k_0 および k_{SBS} はそれぞれ PC-G 単独溶液 (SBS=0) 中の PC-G の分解速度定数および PC-G, SBS 混合溶液中の SBS の触媒速度定数を示す。初濃度 $1.34 \times 10^{-3} \text{ M}$ の PC-G 溶液に種々の濃度の SBS を添加し、pH およびイオン強度をそれぞれ 6.5 および 0.1 に調節し、 60°C における PC-G の分解をしらべたところ Fig. 3 の結果を得た。このデータから k_{SBS} は $4.47 \text{ M}^{-1} \text{ h}^{-1}$ と求められた。SBS と同様に強い還元性をもつアスコルビン酸はやや弱い触媒作用を示し、SBS の作用は特異的に強いようである。

$1.34 \times 10^{-3} \text{ M}$ の PC-G 単独溶液およびこれに等モルの SBS を添加した溶液の分解に対する温度の影響を観察し、次のような Arrhenius 式を得た。ただし、両溶液の pH およびイオン強度は、共にそれぞれ 6.5 および 0.1 に調整した。

PC-G 単独溶液：

$$\log k = 10.64 - \frac{18750}{4.576 T}$$

PC-G, SBS 混合溶液：

$$\log k = 5.33 - \frac{10080}{4.576 T}$$

Fig. 3. Catalytic Degradation of PC-G in Solution by SBS or Ascorbic Acid (V.C) at pH 6.5, μ 0.1 and 60°C

Initial concentration of PC-G: $1.34 \times 10^{-3} \text{ M}$;
—○—, PC-G-SBS; —●—, PC-G-V.C.

単独溶液の活性化エネルギーが約 19 kcal/mol であるのに対し、SBS 混合溶液のそれは約 10 kcal/mol と小さく、触媒反応の特徴を示している。

ペニシリン類およびセファロsporin SBS 類抗生物質に対する SBS の分解作用

ペニシリン類とセファロsporin C 類抗生物質の水溶

Fig. 4. Catalytic Degradation of Ampicillin (AB-PC) in Solution by SBS or V.C at pH 6.5, μ 0.1 and 60°C

Initial concentration of AB-PC: $1.34 \times 10^{-3} \text{ M}$;
—○—, AB-PC-SBS; —●—, AB-PC-V.C.

TABLE I. Effect of Sodium Bisulfite (SBS) on the Degradation of Penicillins and Cephalosporin C's at pH 6.5, μ 0.1 and 60°C

Penicillin and cephalosporin C	$k_0 \text{ h}^{-1} \times 10^2$	$k_{\text{SBS}} \text{ M}^{-1} \text{ h}^{-1}$
Penicillin G	2.09	4.47
Carbenicillin	1.51	2.49
Methicillin	3.42	4.46
Sulbenicillin	1.29	7.20
Ampicillin	2.56	30.53
Cloxacillin	2.23	50.25
Cephaloridine	5.00	23.69
Cephalothin	2.60	33.14

k_0 : Rate constant on straight solution,
 k_{SBS} : catalytic rate constant of SBS.

液 (pH 6.5) について PC-G と同様に SBS の触媒的分解作用がみとめられた。アンピシリン (AB-PC) に対して得られた結果を Fig. 4 に示す。抗生物質の種類と SBS の作用の関係を Table I にまとめた。各抗生物質の単独溶液では速度定数 (k_0) に大差なく、ほぼ同等の安定性をもつが、SBS を添加した溶液の安定性は抗生物質の種類によって著しく異なることが知られた。すなわち、PC-G、カルベニシリン、メチシリンおよびスルベニシリンに対する SBS の作用は、ほぼ同等の、比較的小さい触媒速度定数で示されたが、AB-PC およびクロキサシリンに対する触媒速度定数はこれらより一桁大きく、SBS の分解作用は顕著であった。セファロリジンおよびセファロチンも SBS の分解作用を強く受けることが知られた。なお、PC-G の場合と同様に、AB-PC に及ぼすアスコルビン酸の作用は、Fig. 4 から明らかなように、弱いことがわかった (触媒速度定数, $2.01 \text{ M}^{-1} \text{ h}^{-1}$)。

SBS の分解作用を強く受ける上記のような抗生物質は、アミノ酸輸液のような、SBS を安定剤として含む注射液と混合使用する場合には適合性について十分な注意が必要と考えられる。そこで、SBS の作用を強く受ける AB-PC をモデルとして選び、SBS による分解をより詳細に検討し、混合注射における適合性を判断するための合理的な方式を探索することとした。

AB-PC に対する SBS の分解作用 : SBS の触媒作用に対する pH の影響

実際の注射液に関連の深い pH 範囲での AB-PC の安定性をリン酸塩緩衝液中で検討した。 $1.34 \times 10^{-3} \text{ M}$ AB-PC および $6.70 \times 10^{-3} \text{ M}$ SBS からなる一定 pH 溶液において、リン酸塩の濃度を変化させたとき、AB-PC の見掛けの分解速度定数は Fig. 5 のごとく得られた。各 pH について、リン酸塩濃度に対する速度定数の回帰直線と縦軸の交点は当該 pH における、リン酸塩濃度ゼロの時の、SBS による AB-PC の見掛けの分解速度定数を示す。このようにして得られた速度定数と pH の関係は Fig. 6 に示される。Hou ら⁶⁾ によれば、AB-PC の単独水溶液は pH 6.5 付近が最も安定で、それより酸性側では水素イオンの、アルカリ性側では水酸イオンの触媒作用を受けて分解速度が増すことが明らかにされている。著者らの得た、SBS 共存時の AB-PC の pH-rate profile は極めて特異的で、pH 6.5 付近が最も不安定であるという、単独溶液とは全く逆の関係を示しているのは注目すべきことである。これに類似した釣り鐘型 pH-rate profile は catechol および 3,6-bis-(dimethylaminomethyl)catechol の触媒作用による PC-G の分解反応⁷⁾ に見られているものの、SBS の触媒作用についての解析は未だ成功せず、なお検討をつづけている。

SBS の触媒作用に対する温度の影響

AB-PC 溶液に種々の濃度に SBS を添加し、直線昇温法で AB-PC の分解を観察した結果、Fig. 7 に示す Arrhenius プロットおよび式 (2)–(4) のとき Arrhenius 式を得た。SBS 濃度の増加につれて活性化エネルギーの減少がみられた。したがって、速度定数に対する温度の影響を推定するには、SBS の濃度に対応した Arrhenius 式を用いる必要がある。

AB-PC 単独溶液 (AB-PC, $1.34 \times 10^{-3} \text{ M}$; pH 6.5; $\mu=0.2$) :

$$\log k = 16.36 - \frac{27700}{4.576 T} \quad (2)$$

AB-PC, SBS 混合溶液 (AB-PC, および SBS, $1.34 \times 10^{-3} \text{ M}$; pH 6.5; $\mu=0.2$) :

Fig. 5. Effect of pH and Phosphate Buffer Concentration on the Catalytic Degradation of AB-PC in Solution by SBS at μ 0.1 and 60°C

Initial concentration, AB-PC: 1.34×10^{-3} M;
SBS: 6.70×10^{-3} M.
—○—, pH 5.32; —●—, pH 5.90; —□—, pH 6.50;
—■—, pH 7.00; —△—, pH 7.40; —▲—, pH 8.00.

溶液の Arrhenius 式とから, SBS 含有注射液に混合した AB-PC の $t_{0.9}$ を推定するためのノモグラフ (Fig. 8) を作成した. このノモグラフを利用すれば, 種々の濃度の SBS を含む注射液に混合した AB-PC の安定性を任意の pH と温度で予測し, 混合注射の可否を判断し, または, より安定な保存条件を知ることができる.

輸液 500 ml を点滴注射するに要する時間を 2 時間と仮定すれば, 輸液中に混合した薬物の $t_{0.9}$ が 2 時間より小さいときには混合注射は不可能となる. 0.05% の SBS を含む輸液に AB-PC を混合したとき, 混合液の pH

Fig. 6. pH-Rate Profile of the Degradation of AB-PC by SBS at μ 0.5 and 60°C

Initial concentration, AB-PC: 1.34×10^{-3} M;
SBS: 6.70×10^{-3} M.

$$\log k = 10.22 - \frac{17550}{4.576 T} \quad (3)$$

AB-PC, SBS 混合溶液 (AB-PC, 1.34×10^{-3} M; SBS, 6.70×10^{-3} M; pH 6.5; $\mu = 0.2$):

$$\log k = 5.85 - \frac{9850}{4.576 T} \quad (4)$$

SBS 含有注射液に対する AB-PC の適合性予測

Utilization time ($t_{0.9}$) は用時溶解した薬物の力価が 10% 減少する時間を指し, 抗生物質の粉末注射剤を用時溶解して調製した溶液について, その使用可能な保存時間の限度を表わす場合などに利用される. 著者らはこの $t_{0.9}$ を混合注射液の使用可能な保存時間を示すために用いた. 実際の混合注射液で問題となる比較的狭い pH 領域では, pH が変化しても SBS による AB-PC 分解反応の活性化エネルギーが同じであると仮定し, AB-PC についての前述の pH-rate profile と種々の濃度の SBS 共存

Fig. 7. Arrhenius-type Relationship between the Degradation Rate Constant of AB-PC and Temperature at Various Concentrations of SBS at pH 6.5 and μ 0.2

Initial concentration, AB-PC: A-E, 1.34×10^{-3} M;
SBS: A, 1.34×10^{-2} M; B, 6.70×10^{-3} M; C, 2.68×10^{-3} M; D, 1.34×10^{-3} M; E, none SBS.

が 5.8—6.8 であれば、室温 25°C での $t_{0.9}$ は 2 時間より小さいことが Fig. 8 の曲線 E から知られ、混合注射は不可能と推定される。もし、この混合液の pH が 5.5 ならば、混合後速やかに点滴注射するように十分な注意を払えば混合注射は可能であろう。曲線 C から、SBS の濃度が 0.01% 程度に小さければ、保存を含めて室温で約 10 時間以内に点滴注射を終えればよく、それ以上の保存を要するときは曲線 A (5°C) により、冷蔵庫保存が役立つことが知られる。SBS を含まない輸液中の AB-PC は安定性がよく、その $t_{0.9}$ は曲線 B から知られるように、pH 5.5—7.0 の範囲であれば、力価に関しては、室温で 30 時間またはそれ以上の保存が可能と推定される。

以上のように、今回検討した抗生物質は SBS によって触媒的に分解されることが知られた。ここに得られた速度論的データを利用して、種々の条件における混合注射液の安定性を能率よく予測するためノモグラフを利用する方式を設定した。この方式は一般的に混合注射の適合性を判断する上で有用な手段となりうるものと考えられる。

AB-PC の濃厚水溶液では分解産物の重合が認められている。⁸⁾ 著者らは主として輸液への混合を実際の問題としているから AB-PC の濃度は小さく、重合体の生成はおそらく無視出来るものと予想しているが、若し重合体が生成するとすれば、重合体は抗原性をもつことが知られており、⁹⁾ 安全性の面から問題となる。SBS による分解促進が同時に低濃度での重合をも促進するか否かについては引きつづき検討を行う。

謝辞 本研究の開始に当って貴重な示唆を与えられた武田薬品工業株式会社製剤研究所の岡田弘晃研究員ならびに昇温加速法についてご援助頂いた同研究所の赤木弥三郎研究員の両氏に深謝いたします。

引用文献および注

- 1) 第 1 報：寺尾求馬，丸井悦子，田中恵子，中尾泰子，薬誌，**100**，81 (1981)。
- 2) 日本薬学会第 97 年会で発表，東京，1977 年 4 月。
- 3) E.P. Abraham, E. Chain, "Antibiotics," Vol. II, ed. by H.W. Florey, Oxford Medical Publications, 1949, p. 802.
- 4) 赤木弥三郎，矢敷孝司，松沢 兌，日本薬学会第 91 年会で発表，福岡，1971。
- 5) a) British Pharmacopoeia, 1973, p. 89; b) *ibid.*, p. 87.
- 6) J.P. Hou, J.W. Poole, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 447 (1969).
- 7) M.A. Schwartz, *J. Pharm. Sci.*, **53**, 1433 (1964); **54**, 1308 (1965).
- 8) G.T. Stewart, *Antimicrob. Agents Chemother.* **543** (1967), **128** (1968); H. Smith, A.C. Marshall, *Nature (London)*, **232**, 45 (1971); H. Ottens, E. DeHaan, C.H.J. Sengers, *Int. Arch. Allergy*, **41**, 575 (1971); E.J. Kuchinskis, G.N. Levy, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 727 (1972); H. Bundgaard, *J. Pharm. Pharmacol.*, **26**, 385 (1974); *Acta Pharm. Suecia*, **13**, 9 (1976); H. Bundgaard, C. Larsen, *J. Chromatogr.*, **132**, 51 (1977); **147**, 143 (1978).
- 9) J.M. Dewdney, H. Smith, A.W. Wheeler, *Immunology*, **21**, 517, 527 (1971); A.C. Munro, J.M. Dewdney, H. Smith, A.W. Wheeler, *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, **50**, 192 (1972); S. Ahlstedt, A. Kristoffersson, P.-O. Svärd, L. Thor, B. Örtengren, *ibid.*, **51**, 131 (1976).

Fig. 8. Nomograph for the Prediction of Utilization Time ($t_{0.9}$) of AB-PC in Admixture Containing Various Concentrations of SBS and at Various Temperatures and pH's

Initial concentration of AB-PC: 1.34×10^{-3} ; A, AB-PC with 1.34×10^{-3} M (ca. 0.01%) SBS at 5°C; B, AB-PC straight solution at 25°C; C, AB-PC with 1.34×10^{-3} M SBS at 25°C; D, AB-PC with 6.70×10^{-3} M (ca. 0.05%) SBS at 5°C; E, AB-PC with 6.70×10^{-3} M SBS at 25°C.