

Title	歯科用局所麻酔薬中の血管収縮薬の安定性に及ぼす因子
Author(s)	川口, 充; 沢木, 康平; 大瀬, 茂靖; 馬場, 裕史; 渡辺, 正人; 鯨井, 正夫
Journal	歯科学報, 99(5): 421-427
URL	http://hdl.handle.net/10130/2026
Right	

歯科用局所麻酔薬中の血管収縮薬の安定性に及ぼす因子

川 口 充 澤 木 康 平 大 瀬 茂 靖
馬 場 裕 史 渡 辺 正 人 鯨 井 正 夫

東京歯科大学薬理学講座
(主任：川口 充 教授)

(1999年5月6日受付)

(1999年5月14日受理)

抄 録：この研究は歯科用局所麻酔薬中のカテコールアミンの安定性に対する、光、温度、容器の影響を調べた。サンプルA(カートリッジタイプ)とD(アンプルタイプ)はA社から、サンプルBとC(両者ともカートリッジタイプ)はB社とC社から購入した。含有カテコールアミンの規格値は、サンプルAとDでは *l*-epinephrine が12.5 μ g/ml、サンプルBとCではそれぞれ、*l*-epinephrine tartrate が20 μ g/ml、*l*-norepinephrine が40 μ g/ml である。アンプル中の *l*-epinephrine 量は、2ヵ月間の蛍光灯や殺菌灯の紫外線暴露および、23 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ C、50 $^{\circ}$ Cの各温度による遮光貯蔵でもほぼ安定していた。しかし、カートリッジでは、紫外線暴露により著しく減少し、2ヵ月目では55%まで低下した。23 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ Cの温度では影響はなかったが、50 $^{\circ}$ Cでは55%まで減少した。これらの結果からプランジャーゴムに含まれる成分は局所麻酔薬中のカテコールアミンの酸化に関与するだけでなく、光化学反応によりその反応性が増強されることが示唆された。以上より、カートリッジ中のカテコールアミンの減少を防ぐには遮光し、適正な温度に保つことが必要である。

キーワード：カテコールアミン、安定性、温度、カートリッジ、局所麻酔薬

緒 言

注射薬を保存する容器の形状は外部から空気や細菌の混入を完全に遮断できる密封容器であることが要求される。密封容器には、アンプルとバイアル瓶が一般的であるが、特殊なものに歯科用局所麻酔薬のカートリッジがある。これらの容器のうちアンプルが最も完全な密封を期待できる。一方、カートリッジはガラスの筒、プランジャーゴム、アルミシールで固定されたゴム栓から構成されている。この形状は熱膨張係数が異なる材料か

ら構成されているため、変形を防ぐためには適切な温度管理が要求される。また、ゴムと薬液が接触するため化学反応を生じる可能性についても考慮に入れなければならない。

先に我々は局所麻酔薬中の *l*-epinephrine の経時変化と保存容器の形状の関係を調べたところ、カートリッジの方がアンプルに比べ蛍光灯の光による減少率が大きかったこと、30 $^{\circ}$ Cの温度ではどの容器の *l*-epinephrine もほとんど変化しなかったことから、光が経時変化に重要な因子であることを報告した¹⁾。カートリッジが容器として不安定であることは櫻井ら²⁾により報告されている。これらの実験では、50 $^{\circ}$ Cの高温での負荷試

験を行っていない。そこでこの実験では、保存容器の形状による安定性の違いをさらに明確にするために、高温の負荷試験を実験条件に加え、アンプルとカートリッジ中の血管収縮薬の経時変化の違いを調べた。

実験方法

1. 使用薬物

局所麻酔薬は、カートリッジタイプをA, B, C三社から、アンプルタイプをA社から同一ロットのものを購入した。各社の局所麻酔薬に含まれる血管収縮薬の規格は、カートリッジタイプの局所麻酔薬ではサンプルA: *l*-epinephrine 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, サンプルB: *l*-epinephrine tartrate 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, サンプルC: *l*-norepinephrine 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$, アンプルタイプの局所麻酔薬ではサンプルD: *l*-epinephrine 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ である。

血管収縮薬の定量のためにスタンダードとして *l*-epinephrine HCl と *l*-norepinephrine HCl は Sigma から購入した。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)の移動相には、メタノール(LCグレード, ナカライテスク株式会社), 1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム(Regis Co. Ltd), リン酸2水素1ナトリウム(特級, 和光純薬株式会社), エチレンジアミン4酢酸ナトリウム(特級, 和光純薬株式会社)を用いた。

2. 局所麻酔薬中の *l*-epinephrine 量, *l*-norepinephrine 量に対する負荷試験

光による負荷と温度による負荷を明確にするため, 1) 23°Cに調整された室温に遮光して保存したものを対照群として, 2) 23°Cの室温で蛍光灯(FL)の直下に遮光せずに保存した場合, 3) 23°Cの室温で紫外線殺菌灯(UV)の直下に遮光せずに保存した場合, 4) 30°Cの恒温器内に遮光して保存した場合, 5) プランジャーゴムをコーティングしているワックスが軟化し出す50°Cに調節した恒温器内に遮光して保存した場合の変化量と比較した。これらの条件について1群を5検体として, 1週間, 2週間, 3週間, 4週間, 2ヶ月間を経過させ, 各時間ごとに *l*-epinephrine, *l*-

norepinephrine 量を測定した。また, 購入時にサンプル中の *l*-epinephrine, *l*-norepinephrine 量を測定し, 経時変化率のための基準値とした。

3. *l*-epinephrine, *l*-norepinephrine 量の測定

検体の作製はカートリッジとアンプルから0.1mlを試験管にとり, 0.1N塩酸を1.8ml, 内部標準物質の 3, 4-dihydroxybenzylamine(DHBA)12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を0.1ml加えて, 全量を2mlとした。

カテコールアミンの測定は Kissinger³⁾により開発された HPLC と electrochemical detector (ECD)の組み合わせによる方法を応用した。さらに, 移動相には1-ヘプタンスルホン酸ナトリウムを添加してイオンペークロマトグラフィーによる測定を行い, 各ピークの分離能を高めた⁴⁾⁵⁾。

検体は, 10~20 μl を HPLC(LC9: 島津製作所)・ECDシステムに導入し, chromatopac(C-R1A: 島津製作所)によりクロマトグラムの記録とピークの面積計算を行った(Table 1)。

実験結果

1. サンプル中の *l*-epinephrine および *l*-norepinephrine の基準値

今回用いた局所麻酔薬のサンプルA, B, C, D中の血管収縮薬の含有量はサンプルAとサンプルDの *l*-epinephrine がそれぞれ 14.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$,

Table 1 The conditions for HPLC detection of *l*-epinephrine and *l*-norepinephrine in local anesthetic agents

Injection volume	10~20 μl
Column	Nucleosil ₇ C ₁₈ (ChemcoPak [®] ; 4 × 250mm)
Column temperature	40°C
Mobile phase	0.1M phosphate buffer(pH3.5), containing 8% methanol and 2.5 mM heptan-1-sulfonate sodium
Applied volt	600mV
Sensitivity	16nA
Flow rate	1 ml/min

14.21 $\mu\text{g/ml}$, サンプルBの *l*-epinephrine が 22.43 $\mu\text{g/ml}$, サンプルCの *l*-norepinephrine が 40.68 $\mu\text{g/ml}$ と規格値よりも若干多い値を示したが、その差は規格値の10%の範囲内であった (Table 2)。

2. 23°Cの室温での遮光保存の効果

遮光したカートリッジのサンプルAとアンプルのサンプルDは、いずれも *l*-epinephrine 量は各期間において基準値の100から96%の間の値を示し、2ヶ月間の放置による変化は認められなかった (Fig. 1-A, B)。

3. 蛍光灯および殺菌灯の紫外線の影響

カートリッジタイプ(サンプルA)は蛍光灯, 殺

菌灯ともに大きな減少を示した。蛍光灯では、1週間目で基準値の87%, 2週間目で81%, 3, 4週間目で78%, 2ヶ月目で60%に減少した。殺菌灯下では、1週間目では基準値との違いは認められなかったが、2週間目で90%, 3週間目で85%, 4週間目で83%, 2ヶ月目で67%に減少した (Fig. 1-A)。

アンプルタイプ(サンプルD)は蛍光灯では *l*-epinephrine 量の変動はほとんど認められなかったが、殺菌灯では2ヶ月目で10%以下の弱い減少を示した (Fig. 1-B)。

4. 温度(30°C, 50°C)の影響

恒温器で30°Cに調節し遮光して経時変化を調べたところ、カートリッジ(サンプルA, B, C)およびアンプル(サンプルD)のいずれの場合も *l*-epinephrine 量, *l*-norepinephrine 量は、どの期間でも基準値に対して測定値は $\pm 3 \sim 4\%$ の誤差に留まり、変化は認められなかった (Fig. 2-A, B, C, D)。

これに対して、恒温器で50°Cに調節し遮光して経時変化を調べたところ、アンプル(サンプルD)の *l*-epinephrine は各期間での変動が少なく、2ヶ月目でも10%の減少率にとどまった (Fig. 2-

Table 2 The contents of *l*-epinephrine and *l*-norepinephrine in local anesthetic agents

	Sample			
	A ($\mu\text{g/ml}$)	B ($\mu\text{g/ml}$)	C ($\mu\text{g/ml}$)	D ($\mu\text{g/ml}$)
<i>l</i> -Epinephrine	14.05 \pm 0.31	22.43 \pm 0.66	-	14.21 \pm 0.30
<i>l</i> -Norepinephrine	-	-	40.68 \pm 0.57	-

Each value is represented by means \pm S.D. (n = 5)

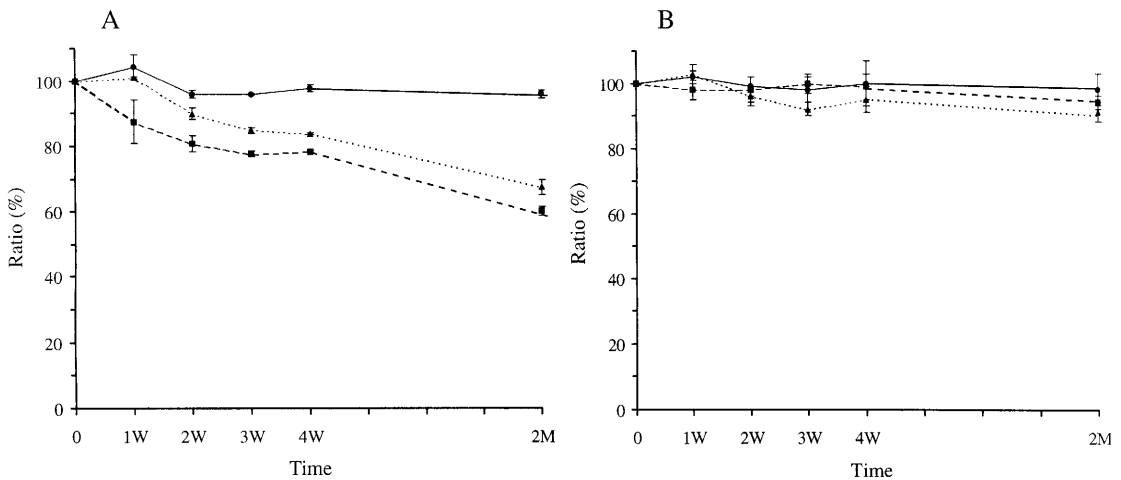


Fig. 1 Time course of *l*-epinephrine contents in local anesthetic agents under exposing to ultra-violet ray (UV) and fluorescent light (FL). A : cartridge type (sample A), B : ampoule type (sample D). Shielding : (—●—), UV : (··▲··), FL : (—■—).

B)。一方、カートリッジでは、*l*-epinephrine 量、*l*-norepinephrine 量は著明に減少した。サンプルA、サンプルBの *l*-epinephrine 量はそれぞれ、1週間目で94%、99%、2週間目で86%、89%、3週間目で77%、81%、4週間目で71%、80%、2ヶ月目で55%、57%に減少した (Fig. 2- A, C)。また、サンプルCの *l*-norepinephrine 量は、1週間目で98%、2週間目で94%、3週間目で88%、4週間目で84%、2ヶ月目で58%に減少した (Fig. 2-D)。

考 察

歯科用局所麻酔薬の特徴は血管収縮薬を加えることにより、局所における停滞時間を延長できるため麻酔作用の相乗効果が得られることである。したがって、血管収縮薬の減少は局所麻酔薬の作用を減弱させることになる。血管収縮薬のうち、体内で長時間作用するものは血圧に対する影響が大きく好ましくない。そこで、体内で速やかに代謝されるカテコールアミンが用いられてきた。しかしカテコールアミンはカテコール核の水酸基が

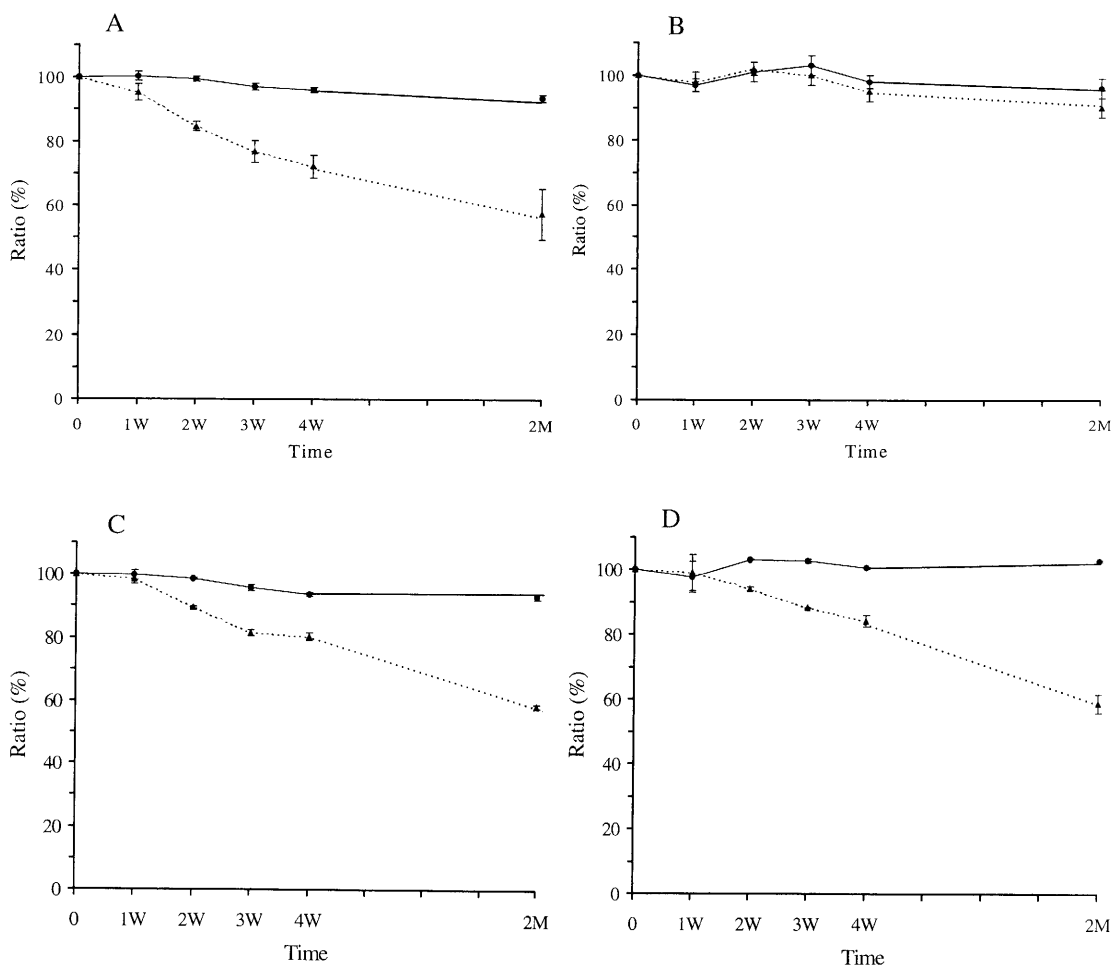


Fig. 2 Time course of *l*-epinephrine and *l*-norepinephrine contents in local anesthetic agents under keeping at 30°C and 50°C. A : cartridge type (sample A), B: ampoule type (sample D), C: cartridge type (sample B), D: cartridge type (sample C). 30°C: (—●—), 50°C: (···▲···).

酸化されやすく、キノンタイプに変化しアドレナリン受容体に対する親和性を失う。そのため注射液はpHを3から4にして安定性を保持しているが、保存条件によっては酸化が早められ、局所麻酔薬の血管拡張作用に対して拮抗力を失う。したがって、保存容器と管理方法は局所麻酔薬の効力の持続を左右する重要な因子である。そこで、いくつかの条件設定の下での負荷試験を行い、管理条件と保存容器の形状により局所麻酔薬中の血管収縮薬の濃度がどのように影響を受けるか調べ、薬物の変性に対するカートリッジの構造的影響を推定した。

先に、我々は局所麻酔薬の光と温度に対するカートリッジとアンプル中の *l*-epinephrine の経時変化を調べた¹⁾。その結果、23°Cの一定温度の条件で、蛍光灯と殺菌灯はともに *l*-epinephrine の濃度を著しく低下させた。この時カートリッジタイプはアンプルタイプに比べ *l*-epinephrine の減少率が約4倍から6倍大きかった。

今回の実験でも、カートリッジ中の *l*-epinephrine の減少率は2ヶ月目で33%から40%と、アンプルが10%であったのに比べ減少率ははるかに大きかった。この結果は、光に対する安定性はカートリッジの方がアンプルに比べはるかに低いことを示している。

蛍光灯は殺菌灯よりも各期間で若干大きい減少率を示したが、その差は10%以下と非常に僅かな変化を示した。殺菌灯から出る波長のうち短波長の紫外線はエネルギーが強く反応力も強いが、ガラスや水に吸収されやすいのでカートリッジ内の薬物に対する影響はほとんどない。一方、蛍光灯と殺菌灯から出る可視光線に近い波長の紫外線はガラスを通過しやすく、内部の薬物の化学反応に関与する可能性が大きい。殺菌灯は蛍光灯よりも短波長の紫外線を多く出すが、今回の実験では蛍光灯と殺菌灯の間に *l*-epinephrine の酸化作用に顕著な差が認められず、ほぼ同様の減少率を示したのは、ガラスを通過できる波長が共通のものであったため反応力に差を生じなかったと推測できる。

アンプルでは特に顕著な減少は認められなかった。この結果は、保存容器の化学的性質と関係があると考えられる。アンプルはガラスだけで作られているが、カートリッジは2種類のゴムとガラスの筒で構成されている。ガラスは化学的に安定しているが、ゴムは化学変化や経時の変化を受けやすい。したがって、カートリッジ中の薬物はアンプルよりも容器内での化学変化を受ける確率が高い。アンプルのもう一つの特徴として不活性ガスの置換を完全に行えるため、酸化等の化学反応を防ぎ薬物の安定性を高めることができる。

次に、遮光した条件で温度による影響を調べた。温度が30°Cでは2ヶ月間、すべてのサンプルで特に変化は認められなかった。しかし、50°Cではカートリッジタイプのサンプル中の *l*-epinephrine および *l*-norepinephrine は時間依存性にほぼ同じ割合で減少し、2ヶ月目ではいずれも45%前後の減少率を示した。これは、アンプルタイプのサンプルに比べ4倍から5倍大きな減少率を示したことになる。温度が50°Cの時、アンプルとカートリッジの間に大きな差が生じたことから、温度に対してもカートリッジは弱点があり、*l*-epinephrine を酸化させる構造的要素を含んでいることが推測される。そこで、ブランジャーゴムに注目する必要がある。一般に天然ゴムや合成ゴムは架橋を行う際に反応速度を速めるために金属触媒を用いる。天然ゴムの加硫には亜鉛が用いられる⁶⁾。亜鉛は脱水素反応により酸化を行う⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾。従って、亜鉛が溶液に含まれると *l*-epinephrine や *l*-norepinephrine のようなカテコールアミン類は酸化されやすくなる。

局所麻酔薬の溶液は *l*-epinephrine の安定性を高めるため、pHが3から4の間に調整されている。カートリッジのブランジャーゴムは絶えず酸性の溶液に接触しているが、高温の酸性溶液に接触するとゴムから金属イオンが溶出する割合は高くなる。この現象が、カートリッジ内の *l*-epinephrine あるいは *l*-norepinephrine の酸化を促していると考えられる。また、23°Cのような低い温度でも金属が溶出しており、光による化学

変化を促進したと考えられる(未発表データ)。

また, プランジャーゴムは冷蔵庫に保管した場合, 過度に冷却するとガラスとゴムの収縮率の違いから密封容器としての性質を失う可能性がある。カートリッジはアンプルに比べ, 密封容器としてやや不完全な性質を持つので, 温度管理に特に注意を払う必要がある。

以上の結果から, アンプルに比べ, カートリッジは薬物に対する化学的安定性および構造的安定性で弱点があり, 遮光して保存するだけでなく適正な温度管理が必要と考える。

結 論

局所麻酔薬の保存容器であるアンプルとカートリッジの局所麻酔薬中の *l*-epinephrine と *l*-norepinephrine の経時変化に対して行った実験結果から次の結論が得られた。

蛍光灯, 殺菌灯の光による血管収縮薬の減少はカートリッジで強く見られた。また, 50°C の高温による血管収縮薬の減少は, カートリッジで大きく見られた。以上の結果から, カートリッジは臨床的には使いやすい反面, アンプルに比べ光と熱に不安定な容器であり, その原因はゴムにあることが推察された。

文 献

- 1) 川口 充, 石井裕一, 矢崎欽也, 堤 璋二: 局所麻酔薬中のエピネフリンの種々条件下における経時的変化, 歯薬療法, **5**: 23~29, 1986.
- 2) 櫻井 誠, 金子 譲, 一戸達也, 中久喜 喬: 歯科用局所麻酔薬2%リドカイン(キシロカイン®)カートリッジ中のエピネフリン濃度の経時的変化, 日歯麻誌, **14**, 546~551, 1986.
- 3) Felice, L. J., Felice, J. D., Kissinger, P. T.: Determination of catecholamines, in rat brain parts by reverse-phase ion-pair liquid chroma-

tography. *J Neurochem*, **31**: 1461~1465, 1978.

- 4) Wagner, J., Palfreyman, M., Zraika, M.: Determination of dopa, dopamine, dopac, epinephrine, norepinephrine, alpha-monofluoromethyl-dopa and alpha-didifluoromethyl-dopa in various tissues of mice and rats reversed-phase ion-pair liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr*, **164**: 41~45, 1979.
- 5) Davies, C. L., Molyneux, S. G.: Routine determination of plasma catecholamines using reversed-phase, ion-pair high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr*, **231**: 41~51, 1982.
- 6) 箕浦有二: 高分子反応. 高分子間の反応(高分子学会高分子実験学編集委員会編)193~236, 共立出版, 東京, 1978.
- 7) Murdano, A. P., Sakai, Y., Konishi, T., Yasuda, F., Tani, Y., Kato, N.: Purification and properties of methyl formate synthase, a mitochondrial alcohol dehydrogenase, participating in formaldehyde oxidation in methylotrophic yeasts. *Appl Environ Microbiol*, **63**: 1715~1720, 1997.
- 8) Ikeda, H., Esaki, N., Nakai, S., Hashimoto, K., Uesato, S., Soda, K., Fujita, T.: Acyclic monoterpene primary alcohol: NADP⁺ oxidoreductase of *Rauwolfia serpentina* cells: the key enzyme in biosynthesis of monoterpene alcohols. *J Biochem (Tokyo)*, **109**: 341~347, 1991.
- 9) Daff, S., Sharp, R.E., Short, D. M., Bell, C., White, P., Manson, F. D., Reid G. A., Chapman, S. K.: Interaction of cytochrome c with flavocytochrome b2. *Biochemistry*, **21**: 6351~6357, 1996.
- 10) Daussmann, T., Aivasidis, A., Wandrey, C.: Purification and characterization of an alcohol: N, N-dimethyl-4-nitrosoaniline oxidoreductase from the methanogen *Methanosarcina barkeri* DSM 804 strain Fusaro. *Eur J Biochem*, **248**: 889~896, 1997.
- 11) Niehaus, W. G., Mallett, T. C.: Purification and characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Cryptococcus neoformans*: identification as "nothing dehydrogenase". *Arch Biochem Biophys*, **313**: 304~309, 1994.

Factors influencing vasoconstrictor stability in dental local anesthetics

Mitsuru KAWAGUCHI, Kohei SAWAKI, Shigeyasu OHSE
Yasuhumi BABA, Masahito WATANABE, Masao KUJIRAI

Department of Pharmacology, Tokyo Dental College

(Chairman : Prof. Mitsuru Kawaguchi)

Key words : catecholamine, stability, temperature, cartridge, local anesthetics

We investigated the effects of light, temperature, and container type on the levels of *l*-epinephrine and *l*-norepinephrine in dental local anesthetics. Sample A (cartridge type) and sample D(ampoule type) were purchased from the company A, and samples B and C(cartridge types), respectively from companies B and C. The authorized concentration of catecholamines are as follows : samples A and D contain 12.5 $\mu\text{g/ml}$ of *l*-epinephrine, sample B and C contain 20 $\mu\text{g/ml}$ of *l*-epinephrine tartrate and 40 $\mu\text{g/ml}$ of *l*-norepinephrine, respectively. The *l*-epinephrine levels in ampoules remained to be stable in fluorescent (FL) and ultraviolet (UV) lights, and also in the circumstances shielded from light and kept in temperature at 23°C, 30°C, or 50°C for two months. However, in the cartridge exposed to FL or UV light, epinephrine levels were remarkably decreased by 55% at the second month. Temperatures of 23°C and 30°C had little effect on alterations in *l*-epinephrine and *l*-norepinephrine, whereas a temperature of 50°C remarkably lowered the levels by 55%. The plunger gum contains some heavy metals used for staining and polymerizing. Small amounts of heavy metals are sufficient to catalyze the oxidation of catecholamines and enhance photochemical effects of FL or UV light. Our data indicate that plunger gum can be a critical factor in accelerating the oxidation of catecholamines, and moreover reactions are activated at higher temperature (50°C). Consequently we conclude that it is very important to keep shielding from lights, and adequate temperature for preventing from a decrease in catecholamine levels in the local anesthetics in the cartridge.

(*The Shikwa Gakuho*, 99 : 421~427, 1999)