

塩酸バンコマイシン点眼液の薬剤学的検討と MRSA 眼感染症への適用

伊藤瑞紀,^a 青山隆夫,^{*,a} 家本亜希子,^a 中島克佳,^a天野史郎,^b 中村 均,^a 佐藤 均,^c 伊賀立二^a東京大学医学部附属病院薬剤部,^a 東京大学医学部附属病院眼科,^b 昭和大学薬学部,^c**Pharmaceutical Investigation of Vancomycin Hydrochloride Eye Drops and Their Topical Application to MRSA Eye Infection**Mizuki ITOH,^a Takao AOYAMA,^{*,a} Akiko IEMOTO,^a Katsuyoshi NAKAJIMA,^aShiro AMANO,^b Hitoshi NAKAMURA,^a Hitoshi SATO,^c and Tatsuji IGA^a*Department of Pharmacy,^a and Department of Ophthalmology,^b The University of Tokyo Hospital, Faculty of Medicine, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan and Department of Clinical and Molecular Pharmacokinetics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Showa University,^c 1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8555, Japan*

(Received October 18, 2000; Accepted March 5, 2001)

Two formulations of 0.5% vancomycin hydrochloride (VM) eye drops (VM-B and VM-C eye drops) were prepared by dissolving commercial VM powder for injection with preserved water B (PWB) containing phosphate buffer and preserved water C (PWC) containing only antimicrobial preservative, respectively. The VM-B eye drops have neutral pH (about 6.3), and the VM-C eye drops acidic pH of about 3.5. The pharmaceutical examination of these eye drops was performed regarding its clinical application to MRSA eye infection. In an irritability test using a rabbit's eye, the average number of winks after instillation of one drop of VM-B eye drops was 0.8 times/min and significantly smaller than that of VM-C eye drops (2.0 times/min). In dark storage at 4°C, no change of VM concentration in both eye drops was observed for 25 weeks after preparation and the mean residual concentrations as determined by the HPLC-UV (240 nm) method were constant over 90% for 8 weeks, of the initial concentration. However, the residual VM concentration of VM-B eye drops under a room condition declined to 58% after 4 weeks and 20% after 8 weeks, and VM in light storage at 40°C was not detectable after 8 weeks. The drug concentration of VM-C eye drops declined to 83% after 4 weeks and 74% after 8 weeks under a room condition, and to 46% after 4 weeks and 20% after 8 weeks under light storage at 40°C. Under these storage conditions, the precipitation of VM related crystals was observed in both the eye drops when the residual percentage of VM was lower than 80%. Judging from HPLC chromatograms of a solution of the precipitated crystals, it was suggested that this crystal was degradation products of VM. The VM-B eye drops was applied to a patient with MRSA eye infection, because other medication was not effective. After continuous instillation of a drop per times every hour to both eyes, MRSA in corneal culture turned out negative after one week, and the clinical condition was remarkably improved. On the basis of the result of eye-irritability, VM-B eye drops with neutral pH was suggested to be superior to acidic VM-C eye drops from a safety point of view. It was also indicated that VM-B eye drops can be effectively used for 8 weeks under dark storage at 4°C for MRSA eye infection, which is a useful piece information for the proper usage of the VM eye drops.

Key words—vancomycin hydrochloride; eye drops; irritability; stability; MRSA eye infection

緒 言

近年, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) による感染症が増加しており, 眼科領域でも MRSA による涙腺炎, 結膜炎, 角膜炎, 眼内炎や角膜潰瘍などが多く報告されている.¹⁻⁸⁾ MRSA 眼感染症はアミノ配糖体の市販点眼液など

で治療した場合, 多くは改善が見られるが, 日和見感染の強いもの, 多剤に対し高度耐性である場合には著しく重症になり失明に至ることがある. 市販薬が無効である場合, MRSA に抗菌作用を持つ塩酸バンコマイシン (VM) や硫酸アルベカシンの注射剤から調製した点眼液を使用することも報告されており,¹⁻⁹⁾ 当院薬剤部においても, 院内製剤として

0.5% VM 点眼液を調製して、他剤が無効な MRSA 眼感染症の患者に適応している。点眼液の調製には注射用の VM 末を使用するが、VM 末を生理食塩液に溶解した溶液の pH は低く (pH 3—4),¹⁰⁾ pH 未調整の液性が酸性の VM 点眼液を使用した場合の刺激症状、眼瞼炎、びまん性表層角膜炎の発生が報告されているため、^{11—13)} 当院ではリン酸緩衝液を含む pH 6.5 の滅菌点眼用溶解液 B (PWB) で溶解し、さらに等張化剤として塩化ナトリウムを添加して調製している (pH 6.3)。しかし、この VM 点眼液は、冷所保存においても調製後に結晶が析出することがある。また、点眼液を外来患者に投薬することを考慮した場合、少なくとも 1 カ月以上の安定性の確保が必要であるが、VM 点眼液の安定性についての詳細な報告はない。

このことから、本研究では、VM 点眼液の調製法、保管方法及び使用期間を確立することを目的として、VM 点眼液の溶解液として PWB 及び緩衝性のない滅菌点眼用溶解液 C (PWC) を用いて調製した 2 種類の 0.5% VM 点眼液の薬学的な検討を行った。さらに、MRSA 眼感染症患者に VM 点眼液を適応した症例について報告する。

方 法

1. 試薬 塩酸バンコマイシン末は点滴静注用 0.5 g (シオノギ製薬 Lot.No. VM18261)、等張化剤の塩化ナトリウムは日本薬局方品を用いた。防腐剤のパラオキシ安息香酸メチルとパラオキシ安息香酸プロピル、緩衝剤としての無水リン酸二水素ナトリウム (NaH_2PO_4) と無水リン酸水素ナトリウム (Na_2HPO_4) は試薬特級品を用いた。眼刺激性試験の対照には生理食塩液 (大塚製薬) を用いた。点眼液中の VM の定量に用いた無水リン酸二水素カリウム、アセトニトリル、及びその他の薬品は、試薬特級品を使用した。

2. 0.5% VM 点眼液の調製方法 VM 点眼液の溶媒に用いた PWC (preserved water C) は、精製水にパラオキシ安息香酸メチルを 0.026% (w/v)、パラオキシ安息香酸プロピルを 0.014% の濃度に溶解し、PWB (preserved water B) は、PWC にさらに無水リン酸二水素ナトリウムを 0.56%、無水リン酸水素ナトリウムを 0.284% の濃度に加えて調製した。両溶解液ともに高圧蒸気滅菌 (115°C,

30 min) を行い無菌化した。各溶解液に点滴静注用塩酸バンコマイシン末 0.5 g を溶解し、等張化剤として、PWC の場合は塩化ナトリウム 0.8 g、PWB では 0.5 g を添加した後、各溶解液で全量 100 ml とした。十分に攪拌して均一にした溶液を孔径 0.45 μm 、直径 25 mm の酢酸セルロース製メンブランフィルター (マイレクス®: 日本ミリポア Ltd.) でろ過し (準細菌ろ過)、5 ml ポリプロピレン製滅菌済青色点眼容器に 5 ml ずつ分注し、PWC を用いた点眼液を VM-C 点眼液、PWB を用いた場合を VM-B 点眼液とした。点眼液の pH と浸透圧は各々 pH メーター (東亜電波, HM20E) と浸透圧計 (Advanced Instruments, Model 3900) を用いて測定した。

3. VM 点眼液の眼刺激性の検討 (家兎瞬目反応試験) 点眼時の眼刺激性について家兎 (雄性、体重約 3 kg) を用いて検討を行った。試験液は VM-C 点眼液と VM-B 点眼液、対照として生理食塩液を用い、点眼量は 1 回 1 滴で、家兎の片眼に点眼後の 1 分間の瞬目回数を測定した。試験前に生理食塩液を点眼して瞬目回数が 0 又は 1 回で眼の状態が通常と変わらないことを確認した後、生理食塩液の影響が完全に消失した 15 min 後に各試験液を点眼した。試験は 1 日 1 回で、 $n=4$ とした。なお、点眼時の瞬目は除いた。

4. VM 点眼液の安定性試験 各 VM 点眼液を、相対湿度 75% で、4°C 暗所、室温散光下及び 40°C 蛍光灯下の 3 条件下で保存し、調製後 25 週間まで経時的に点眼液の性状を肉眼観察するとともに、点眼液の pH、重量 (点眼容器を含む重量で測定してあらかじめ秤量した容器の重量を差し引いた値) 及び点眼液中の VM 濃度を測定した。なお、点眼液中に結晶が析出した場合には、その上清中の VM 濃度を測定した。重量の測定には電子微量天秤 (METTLER, TOLEDO AB204) を、VM の定量には HPLC-UV 法を用いた。試料数は $n=5$ とした。

5. VM 点眼液中の VM の定量法 試料中 VM 濃度の定量は、Hosotsubo らの方法¹⁴⁾ を改変した方法で行った。VM 点眼液 1 ml に精製水 4 ml を加えて希釈し、その 20 μl を HPLC カラムに注入した。また、点眼液中に析出した結晶は、孔径 0.45 μm の酢酸セルロース製メンブランフィルター (日本ミリポア Ltd.) 上にろ取し、精製水 5 ml で洗浄した後、

0.1N 塩酸 3 ml に溶解した溶液を HPLC に注入した。

HPLC 装置は島津高速液体クロマトグラフ LC-9A, 検出器は島津分光光度計 SPD-6A を使用した。カラムは, ステンレススチール管 (250×4 mmφ) に Nucleosil 5C₁₈ を充填して用いた。検出波長は 240 nm, 感度は 0.64 a.u.f.c, カラム温度は 30 °C とした。移動相は 0.05 M KH₂PO₄/NaOH (pH 5.0) : CH₃CN=9 : 1 の混液を用い, 流速は 1 ml/min に設定した。既知濃度の各 VM 溶液 (0.625, 1.25, 2.5, 5 mg/ml) の 1 ml に試料と同様に精製水 4 ml を加えて希釈した溶液を HPLC に注入し, 各クロマトグラム上に得られた VM のピーク高さより作成した絶対検量線より試料中の VM 濃度を求めた。なお, 検量線の作成に用いた VM は, 点眼液の調製に用いた点滴静注用 0.5 g VM 末と同じ Lot を使用し, 測定日毎に新しい VM 末で検量線を作成した。

6. MRSA 眼感染症患者に対する 0.5% VM 点眼液の適用 東京大学医学部附属病院眼科に入院中の MRSA 眼感染症患者に, VM-B 点眼液を適用した。患者は 73 歳男性, 糖尿病を基礎疾患とする角膜潰瘍で, 角膜が全層にわたり混濁していたため, 感染を疑い, 角膜擦過片を培養した結果, グラム陽性桿菌とグラム陽性球菌が検出された。オフロキサシンなどの抗菌剤の市販点眼液が点眼され, さらに抗生物質の静脈内及び経口投与が行われたが, 改善はほとんど認められなかった。その後, 培養片から MRSA が検出されたため, この患者にインフォームド・コンセントを得た後, VM-B 点眼液のほぼ 1 時間毎の点眼が, 就寝している時間を除いて実施された。なお, 患者の視力はほとんどないためナースによって点眼された。臨床効果は, 症状, 角膜擦過片の培養及び副作用の発現などから, 担当医師が総合的に判定した。

結 果

1. 0.5% VM 点眼液の調製 VM-C 及び VM-B 点眼液ともに無色透明な液で, pH は VM-C 点眼液が約 3.5, VM-B 点眼液が約 6.3 であった。浸透圧はともに 280±5 mOsm であり, ほぼ生理食塩液と等張であった。

2. 0.5% VM 点眼液の眼刺激性の検討 (家兎瞬

目反応試験) (Fig. 1) VM-B 点眼液の瞬目回数は 0.75±0.50 回 ($n=4$) で, saline の 0.25±0.50 回と比べて有意差はなかった。VM-C 点眼液は 2.0±1.17 回で, saline 及び VM-B 点眼液に比べて有意に刺激性が高かった。

3. 経時的肉眼観察と, pH 及び重量の変化 4 °C 暗所下では, 両点眼液ともに調製後 25 週間まで変化は認められなかったが, 室温散光下では VM-B 点眼液は調製後 4 週目に, VM-C 点眼液は 8 週間目より点眼液中に白色結晶が認められた。さらに 40 °C 明所保存では, 両点眼液ともに 2 週間目より結晶が観察された。これらの結晶は経時的に徐々に増加して点眼容器の壁と底に付着し (Fig. 2), 点眼容器を激しく振とうしても溶解しなかった。

VM-B 点眼液の pH は調製直後の 6.3 から, VM-C 点眼液は 3.5 から, どの保存条件においても, 25 週間までほとんど変化は認められなかった。点眼液の重量も変動は見られなかった。

4. VM 点眼液中の VM 濃度の経時変化 (Fig. 3(a) (b)) 各条件下に保存した VM-B 点眼液中の VM の残存率 (調製直後の VM 濃度に対する率) の経時変化を Fig. 3(a) に, VM-C 点眼液における経時変化を Fig. 3(b) に示した。VM-B 点眼液では, 4°C 暗所保存の 4 週間ではほとんど残存率の

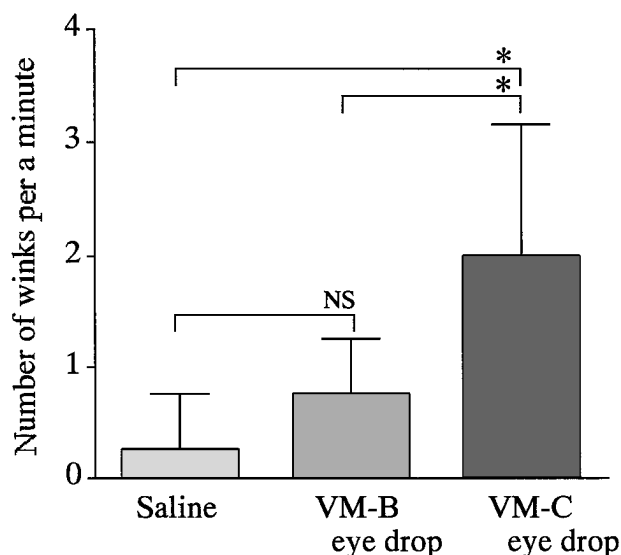


Fig. 1. Number of Winks for a Minute after Dropping Saline or 0.5% Vancomycin HCl (VM) Eye Drop Solutions (VM-B and VM-C Eye Drops) to an Eye of Male Rabbit

Each bar and vertical line present the mean ± S.D. of 4 experiments. *: significant difference, NS: not significant difference ($p < 0.05$), as assessed by Student's *t*-test.

Table 1. Degradation Rate and Time Declined to 50% (Half Life: $t_{0.5}$) and 90% (Shelf life: $t_{0.9}$) Residual Percentage in 0.5% Vancomycin Hydrochloride (VM) Eye Drops

Eye drops	Storage condition	Degradation rate (week ⁻¹)	$t_{0.5}$ $t_{0.9}$	
			(week)	
VM-B	Darkness at 4°C	0.0052	58.2	8.8
	Room condition	0.0815	3.7	0.56
	Lightness at 40°C	0.5114	0.59	0.09
VM-C	Darkness at 4°C	—	—	—
	Room condition	0.0200	15.0	2.3
	Lightness at 40°C	0.0793	3.8	0.58



Fig. 2. Photograph of 0.5% Vancomycin HCl Eye Drop (VM-B Eye Drop) Precipitated Crystal at 4 Weeks after Preparation under Light Storage at 40°C

低下は認められなかったが、8週間後で $89 \pm 7\%$ 、25週間後では $75 \pm 5\%$ と減少傾向にあった。室温散光下では、4週間後で $58 \pm 3\%$ に、40°C 明所保存では、1週間後で $51 \pm 2\%$ に低下した。4週間後には定量限界以下となった。VM-C 点眼液の残存率の変化は、4°C 暗所保存では25週間においてもほとんど変化はなかったが、室温散光下と40°C 明所保存では8週間後で各々 $74 \pm 4\%$ 、 $20 \pm 3\%$ であり、VM-B 点眼液と同様の残存率の低下が認められた。しかしながら、pHの低いVM-C 点眼液の方がVM-B 点眼液より安定性が高いことが分かった。

両点眼液中のVMの残存率の片対数プロットから、VMの残存率は各条件ともにほぼ1次速度で減少することが認められたため、その速度を最少二乗法により求め、両点眼液の各条件における半減期 ($t_{0.5}$) と90%の残存率を示す期間 ($t_{0.9}$) を求めた (Table 1)。その結果、VM-B 点眼液の $t_{0.9}$ は冷暗所保存で8.8週間であり、VM-B 点眼液の調製後の8

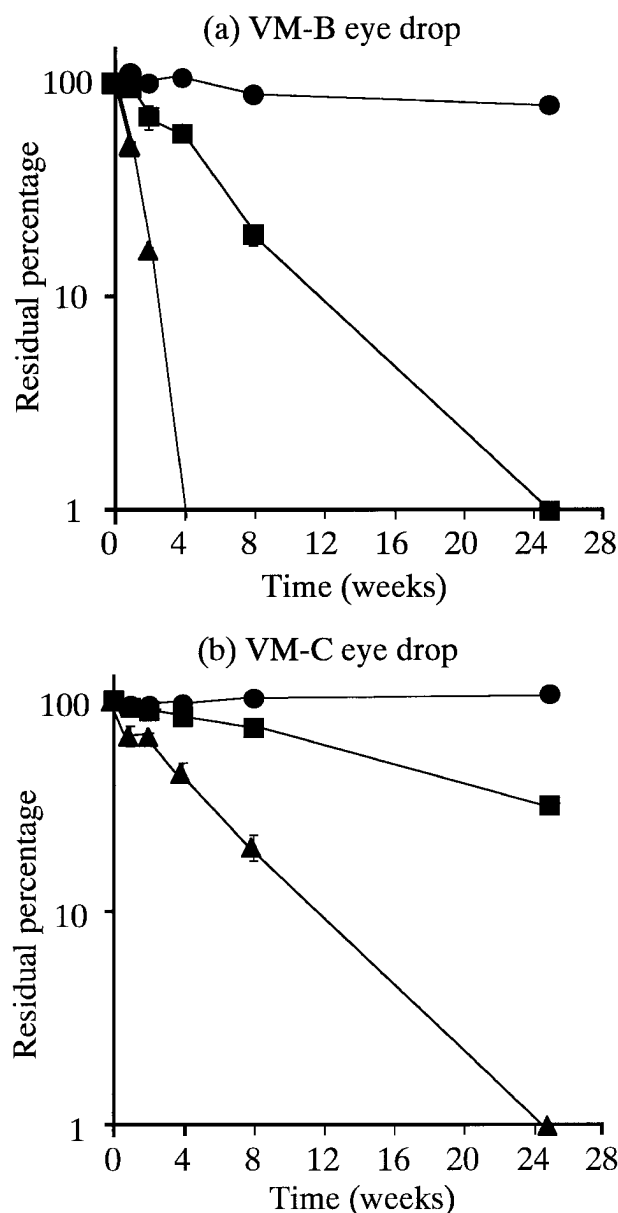


Fig. 3. Time Courses of Residual Percentage of Vancomycin HCl (VM) in 0.5% VM Eye Drops ((a) VM-B and (c) VM-C Eye Drop) under Three Storage Conditions

●: darkness at 4°C, ■: room condition, ▲: lightness at 40°C.
Each bar and vertical line present the mean \pm S.D. of 4 experiments.

(a)Just after preparation (b)supernatant (c)solution of crystal

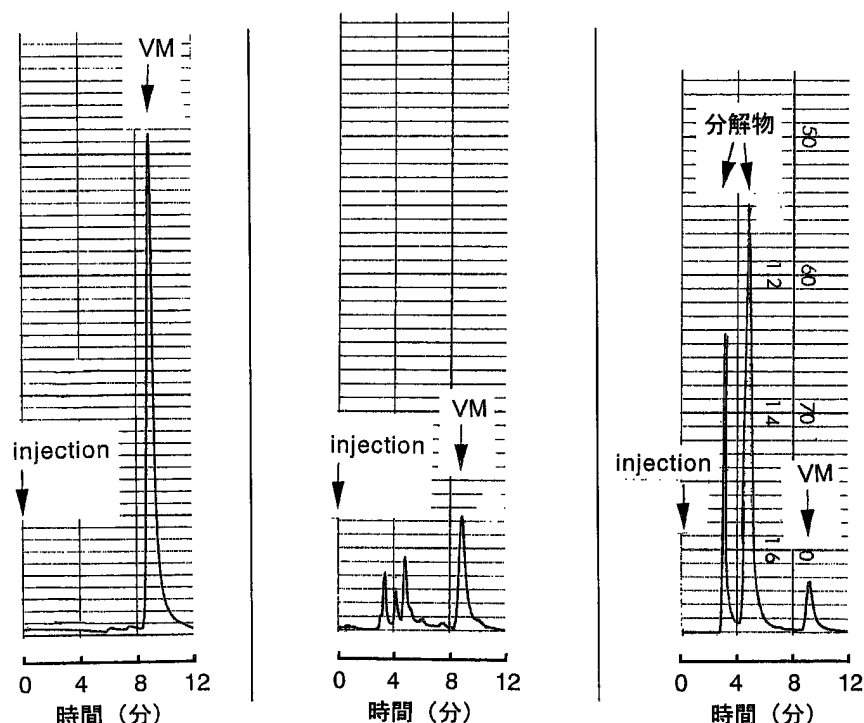


Fig. 4. Chromatograms of 0.5% Vancomycin HCl (VM) Eye Drops (VM-B Eye Drop)
 (a) Immediately after preparation, (b) Supernatant and (c) Solution of crystal at 2 weeks after preparation under light storage at 40°C.

週間は使用可能であることが分かった。

次に、点眼液中に析出した結晶の溶解液を HPLC によって分離し、240 nm で検出した。Figure 4 には、40°C 明所保存の 4 週間後の VM-B 点眼液のクロマトグラムを示した。Fig. 4(b) の上清のクロマトグラム上には保持時間 10 min の VM のピークが最も大きいピークであったが、Fig. 4(c) の結晶の溶解液のクロマトグラム上には VM のピークと異なる保持時間に大きな他のピークが検出された。この傾向は、結晶が析出したすべての試料において同様であった。

5. MRSA 眼感染症患者に対する 0.5% VM 点眼液の適用 Figure 5 に患者の検出菌、臨床症状、及び使用薬剤を経時的に示した。糖尿病を基礎疾患とする角膜潰瘍で、角膜が全層にわたり混濁し、豚脂様物質が沈着、前房蓄膿、角膜浮腫が発生し、グラム陽性球菌とグラム陽性桿菌が検出されたため、オフロキサシン点眼液などの抗生物質の市販点眼液の 1 時間毎の点眼、就寝前に塩酸オキシテトラサイクリン眼軟膏の点眼、さらに抗生物質の静脈内及び経口投与が行われた。前房蓄膿と角膜浮腫の改善は

認められたが、角膜の混濁にほとんど変化はなく、後日 (1 月 19 日)、1 月 13 日の培養片から MRSA が検出されたため、VM-B 点眼液の 1 時間毎の点眼が開始された。薬剤変更後 1 週間 (1 月 25 日) で角膜混濁や豚脂様物質の沈着などの症状に改善がみられ、MRSA は陰性となった。また、患者からは刺激性などの訴えはなかった。Figure 6 には、VM-B 点眼液適用前後の眼の状態を示した。適用後には、角膜にわずかに癒痕が見られるが、混濁の消失が認められた。

考 察

VM 点眼液の調製法、保管方法及び使用期間を確立することを目的として、VM-C 点眼液と VM-B 点眼液の薬剤学的な検討を行った。点眼液を調製した VM 末は、適応外使用ではあるが、注射剤から点眼剤への剤形変更であるため品質的には問題ないと考えられる。点眼液の VM 濃度は 0.5—5% の範囲で報告されているが、最も濃度の低い 0.5% を採用した。VM は pH が中性付近では、若干溶解度が低下するが 0.5% の濃度では溶解性には問題なかった。




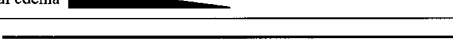

Disease:corneal ulcer, Age:73 years, Sex:male			
	January		
	12	19	26
Bacterial culture	G(+)-coccus, G(+)-bacillus _____ MRSA(+)- _____		
Clinical condition	Corneal opacity  Adherence of waxy substance  Hypopyon  Corneal edema 		
Medication	ofloxacin eye drop _____ cefnoxime HCl eye drop _____ tobramycin eye drop _____ 0.5% Vancomycin HCl eye drop (VM-B)  oxytetracycline HCl + polymyxin B sulfate eye ointment _____ erythromycin lactobionate + colistin Na methanesulfonate eye ointment _____ cefazopran HCl i.v. _____ albekasin sulfate i.v. _____ cefaclor capsule _____ kanamycin sulfate capsule _____		

Fig. 5. Medication Protocol Using 0.5% Vancomycin HCl Eye Drop (VM-B Eye Drop) to Eyes with MRSA Infection of a Patient and the Regression of Clinical Condition

(a)before treatment (b)after treatment

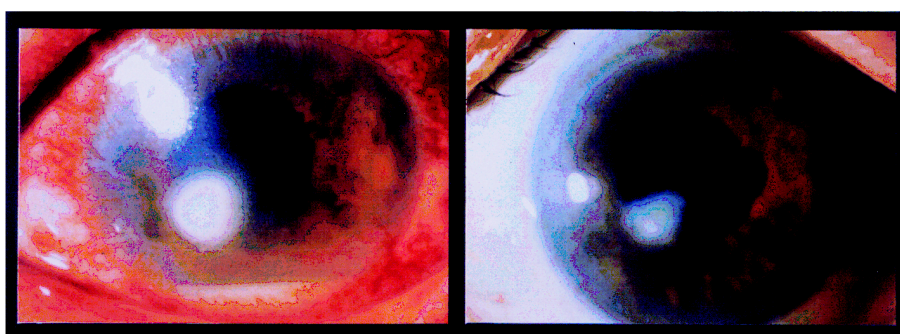


Fig. 6. Photographs of an Eye with MRSA Infection of a Patient (a) before and (c) after Treatment with 0.5% Vancomycin HCl Eye Drop (VM-B Eye Drop)

製剤処方については、抗菌剤の点眼液であるが、VMの抗菌スペクトルが狭いため、一般的に用いられている2種類のパラオキシ安息香酸エステルを含むPWCとさらにリン酸緩衝液を含むPWBを用いた。家兎を用いた眼刺激性試験では、pHの低いVM-C点眼液(pH 3.5)の方が、VM-B点眼液(pH 6.3)より高い刺激性を示した(Fig. 1)。これはVM-C点眼液のpHの低いことに起因すると思われる。VM-C点眼液に緩衝性はないため、点眼後に涙液の緩衝作用によって直ちに中性に調整されるが、刺激症状、眼瞼炎、びまん性表層角膜炎の発生

が報告されているため、¹¹⁻¹³⁾ 安全性の面から、pHが中性に近いVM-B点眼液を使用した方が良いことが示された。

VM点眼液の経時的肉眼観察では、両点眼液とも4°C暗所保存では変化がなかったが、室温散光下及び40°C明所では薬液中に結晶析出が認められた。両点眼液間ではVM-B点眼液の方が室温散光下で結晶析出の時期が早く析出量も多かった(Fig. 2)。析出した結晶はVMであり振とうすると溶解するので使用が可能であると報告されているが、⁵⁾ 本研究では激しく振とうしても溶解しなかったため、析

出した結晶は VM ではない可能性が示唆された。経時的な残存率の変化では、両点眼液ともに 4°C 暗所以外の保存条件では経時的に残存率がほぼ一次速度で低下し、これらの条件では保存が困難であることが示された (Fig. 3)。両点眼液の比較では VM-C 点眼液の方が残存率の低下速度は遅く、安定性には pH が関与することが示唆された。これらのことより、安定性の面からは両点眼液とも冷暗所保存で、VM-C 点眼液は調製後 6 カ月間、VM-B 点眼液は 2 カ月間使用できると考えられた。点眼液中に析出した結晶の溶解液のクロマトグラムから、結晶は VM ではなく分解物であると推察される (Fig. 4)。VM の分解物としては、加水分解物である抗菌活性をもたない CDP-I (Crystalline degradation product-I) などが報告されている。¹⁵⁻¹⁷⁾ 結晶が析出した点眼液の上清の VM の残存率は両点眼液ともに 80% 以下であることより、VM の分解が進行して、点眼液中の分解物濃度が高まった結果、析出したものと考えられる。このことから、VM 点眼液の保存中に結晶が析出した場合には、VM の残存率は 80% 以下であり、臨床使用は避けるべきと考えられる。

VM-B 点眼液を他剤が無効であった角膜潰瘍で MRSA 眼感染症の患者の両眼に 1 回 1 滴 1 時間毎の点眼を行った結果、薬剤変更後 1 週間で角膜擦過片の MRSA が陰性となり、症状は劇的に改善された。この時、他の抗菌薬の点眼液としてニューキノロン系抗菌薬のオフロキサシン点眼液とアミノ配糖体抗生物質のトブラマイシン点眼液が併用されているが、これは VM-B 点眼液が併用される前から使用されており、またエリスロマイシンとコリスチンの配合剤の眼軟膏は MRSA に対する抗菌力は低いため、この患者における、症状の改善は主に VM-B 点眼液によるものと推察される (Fig. 5, Fig. 6)。

以上のことから、0.5% VM 点眼液は、VM-C 点眼液の方が安定性が高かったが、眼刺激性を考慮すると pH がより中性である VM-B 点眼液の方が安全性の面で優れており、冷暗所保存で調製後 8 週間は使用可能であることが分かった。外来患者への長期的な投薬も可能であると考えられるが、結晶が析出した場合は、使用期間内であっても使用を中止すべきである。VM 点眼液は MRSA 眼感染症に有効であることが確認されたが、乱用による耐性菌の発

現の危険性を考慮して、MRSA の検出の確認と他剤が無効である場合のみに使用すべきであると考えられる。

REFERENCES

- 1) Tazawa H., Ohishi M., *Nippon Rinsho*, **50**, 1122-1126 (1992).
- 2) Ohishi M., *Folia Ophthalmol. Jpn.*, **41**, 17-25 (1990).
- 3) Yamamoto M., Akamatsu S., Imaizumi M., Murakami T., *Ganka Rinsho Iho*, **91**, 1361-1363 (1997).
- 4) Motoyama M., Tazawa H., Sakaue F., Miyao M., Ohishi M., *Folia Ophthalmol. Jpn.*, **43**, 280-285 (1992).
- 5) Fleischer A. B., Hoover D. L., Khan J. A., Parisi J. T., Burns R. P., *Am. J. Ophthalmol.*, **101**, 283-287 (1986).
- 6) Ohishi M., Nagai S., Omomo A., *Chemotherapy*, **34**, 665-670 (1986).
- 7) Matsumoto K., Mita T., Shimizu Y., *Atarashii Ganka*, **10**, 1881-1883 (1993).
- 8) Aoyagi M., Hoya T., Nohara M., Seki A., Segawa Y., *Atarashii Ganka*, **11**, 1255-1258 (1994).
- 9) *Hospital Pharmacy Preparation (The 4th edition)*, Edited by Japanese Society of Pharmaceutical Health Care and Sciences, Yakuji Nippo Co. Inc., Tokyo, 99 (1996).
- 10) Mizunuma H., Hidaka N., Higashitani Y., Hidaka T., Okuda H., *Kagaku Ryohono Ryoiki*, **8**, 98-105 (1992).
- 11) Fukui N., Ikemoto F., *Gendaino Rinsho*, **4**, 277-289 (1970).
- 12) Barron B., *Arch. Ophthalmol.*, **111**, 18 (1993).
- 13) Ito Y., Ando E., Nemoto A., *Folia Ophthalmol. Jpn.*, **48**, 352-356 (1997).
- 14) Hosotsubo H., *J. Chromatogr.*, **487**, 421-427 (1989).
- 15) Harris C. M., Kopecka H., Harris T. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 6915-6922 (1983).
- 16) Anne L., Chan K., Colin L., Gottwald K., *Therap. Drug Monit.*, **11**, 585-591 (1989).
- 17) Nagarajan R., Merkel K. E., Michel K. H. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 7896-7897 (1988).