

Jpn. J. Hosp. Pharm.
 一般論文
 15(5) 332-335 (1989)

1%ラウロマクロゴール注射薬中のアルデヒド類の微量分析

加藤裕久, 秋山公一, 高地新八郎, 斎藤正明, 横山朋正
 国立病院医療センター薬剤部*

Microanalysis of Aldehydes in 1% Lauromacrogol Injection

YASUHISA KATO, KOHICHI AKIYAMA, SHINHACHIRO KOHCHI,
 MASAOKI SAITO, and TOMOMASA YOKOYAMA

Department of Pharmacy, National Medical Center Hospital*

(Received April 17, 1989)

1% Lauromacrogol (LM) injection as hospital pharmacy product has been used as a sclerosing agent in the treatment of esophageal varices.

LM, a polyoxyethylene ether is prepared by the additive polymerization of ethylene oxide with lauryl alcohol, and accordingly the possibility of degradation for sterilization is present.

A high-performance liquid chromatographic (HPLC) method was presented for the separation and analysis of aldehydes in LM injection as their 2,4-dinitrophenylhydrazones (DNPH). In spite of the sterilization of LM injection, FA and acetaldehyde (AA) were confirmed. Aliphatic carbonyl compounds were increased after the sterilization, especially AA was increased more than 20 times. A HPLC system for the determination of FA and AA with DNPH has been presented and this method provides a potentially very selective and sensitive method for the determination of these compounds in LM injection.

Keywords—1% lauromacrogol; 2,4-dinitrophenylhydrazine; formaldehyde; acetaldehyde; high-performance liquid chromatography; Schiff reaction

緒言

ホルムアルデヒド (FA) をはじめとする低級脂肪族アルデヒド類は、その極大吸収波長が低波長領域に存在し、夾雑物質等の妨害を受け易いため、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法による分析には種々のラベル化が行われている¹⁻³⁾。特に、UV用ラベル化剤である2,4-ジニトロフェニルヒドラジン塩酸塩 (DNP) を用いヒドラゾン誘導体とする方法^{4,5)} は、微量に定量的かつ迅速にラベル化が行え、前処理操作が簡便であるため、低級アルデヒド類の分析に繁用されている。

一方、病院・診療所等における透析器具や再使用ダイアライザーの残留 FA の検出には、シッフ反応を利用し

たファーストホルマラート (FF) 試薬が用いられている。そこで、食道静脈瘤の内視鏡的栓塞療法に用いられる硬化剤の一つで、市販されていないため院内製剤化されているラウロマクロゴール (LM) 注射薬⁶⁾ 中の低級アルデヒド類の分析に、FF 試薬と DNP を用いた HPLC 法により検討したので報告する。

実験方法

1. 試料

Table 1 に 1% LM 注射薬の製剤処方を示す。調製方法は LM 1.0g を無水エタノールで溶解し、注射用蒸留水を加えて、全量 100ml とし、0.22 μ m メンブランフィルターでろ過後、20ml の褐色アンプルに充填・熔閉した。滅菌は、121°C、20分間高圧蒸気滅菌を行った。自動アンプル溶閉機は旭精機製、高圧蒸気滅菌機はサクラ精機製を用いた。

* 新宿区戸山1丁目21-1; 21-2, Toyama 1-chome, Shinjuku-ku, Tokyo, 162 Japan

Table 1. Prescription of 1% Lauromacrogol Injection

Lauromacrogol (Aethoxysclerol)	1.0 g
Dehydrated Ethanol	5.0ml
Water for Injection	to 100ml

2. 試薬

FF 試薬はオルガノンテクニカ社製 (Lot No. S6C-012) を用い、ホルマリン、アセトアルデヒド (AA), n-ブタノン (NB) およびプロピオンアルデヒド (PA) は和光純薬 (試薬特級), DNP は東京化成, 液体クロマトグラフ用アセトニトリル (CH_3CN) は和光純薬製を用いた。LM は日本ケミカル製のエトキシスクレロール (ニコール BL-9EX) を用いた。

3. FA 原液の標定

特級ホルマリン (約37%のFA含有) 約1gを精密に秤り、水で全量100mlとし、Romijin法⁷⁾により標定した。

4. 装置および器具

波長可変モニター付島津高速液体クロマトグラフLC-6A, 島津自記分光光度計UV-260, 東興化学研究所pHメーターTP100, 石井商店ジェットエアパライザーを使用した。

5. HPLC 法による定量

分離カラムは, ODS (6mm×15cm, Shimpack), 移動相は $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}=60/40$, 流速は 1.0ml/min, カラム温度は室温, 検出感度は 0.16 AUFS, 圧力は 90kg/cm², 検出波長は 360nm とした。内部標準物質 (I.S.) は 1.64mM PA と NB について検討した。

1% Lauromacrogol Injection 0.5ml

extd. with 1mM DNP 0.5ml
and 1.64mM I.S. 10 μ l

Vortex 30 sec

Incubation 40°C for 10 min

Cooling on Ice Water for 5 min

10 μ l Injection to HPLC

Chart 1. Analytical Procedure for Aldehydes from 1% Lauromacrogol Injection

前処理方法は Chart 1 に示すように, 試料溶液 0.5 ml に I.S. 10 μ l と 1mM DNP 0.5ml を加え, 30秒間攪拌後, 40°C, 10分間インキュベーションし, 氷冷後, その 10 μ l を HPLC に注入した。

6. FF 試薬による検出

本試薬はシッフ反応による色調変化を利用して, FA 量を簡便に測定する試薬で, 室温で 2ppm まで検出可能である。FF 試薬に試料 1 ml を加え, 混和後, 一定時間の色調を観察した。

結果および考察

1. DNP による定量

DNP は Chart 2 に示すような反応式により脂肪族アルデヒドおよびケトンと反応し, 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン (DNPH) を迅速に生成する。1.64 mM NB と PA を用いて I.S. の検討を行った結果, Fig. 1 に示すように PA は NB に比べ約25倍感度よく検出され, 保持時間も短かった (PA : 8.7分, NB : 10.6分)。したがって, 1.64 mM PA を I.S. とした。なお, 滅菌前後の LM 注射薬をブランクとしたとき, クロマトグラム上に I.S. の妨害ピークは認められなかった。

FA の検量線を, 定量条件下で作成した結果, 0.58 から 18.5ppm の範囲で, FA 量とそのとき得られた I.S. に対するピーク面積比との回帰直線は, ほぼ原点を通った。AA についても 1.25 から 80.0ppm の範囲で直線性が認められた。それぞれの回帰直線は,

$$\text{FA} : y = 0.217x + 0.026 \quad (r = 0.997)$$

$$\text{AA} : y = 0.066x + 0.187 \quad (r = 0.999)$$

であった。FA と AA の検出限界はそれぞれ 0.4ppm と 0.3ppm であった。

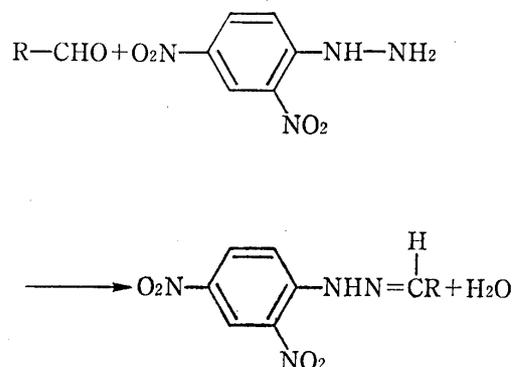


Chart 2. Structure of 2,4-Dinitrophenylhydrazine and Its Reaction with Aldehydes

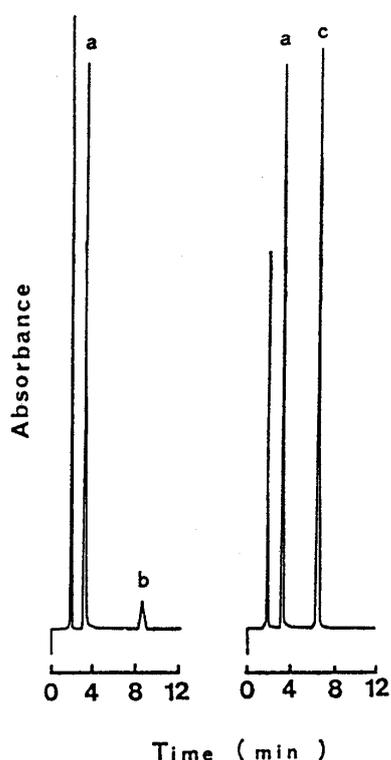


Fig. 1. Investigation of Internal Standard. Chromatograms of (a) 1mM 2,4-Dinitrophenylhydrazine Hydrochloride, (b) 1.64 mM n-Butanone and (c) 1.64 mM Propionaldehyde.

2. アルデヒド類の分析

1% LM注射薬の滅菌前後の脂肪族アルデヒド類の含量の変動を Table 2 に示す。FF 試薬はアルデヒド類と反応し、滅菌により 3 ppm から 30ppm に増加した。一方、HPLC 法では FA と AA が同時に検出された。そのときのクロマトグラムを Fig. 2 に示す。各ピークの間隔は良好であり、FA と AA 以外の高級アルデヒドは検出されなかった。FF 試薬はシッフ反応により総アルデヒド量を FA 量に換算して検出してしまったため、注意を要する。

Table 2 に示すように、FA と AA はすでに製剤原料中に含有されていることが確認され、より純度の高い

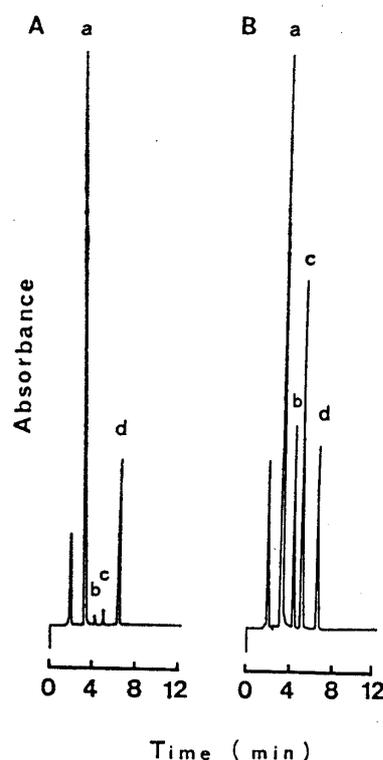


Fig. 2. Chromatograms from (A) before Sterilization and (B) after Sterilization of 1% Lauromacrogol Injection.

Peak a: 1mM 2,4-Dinitrophenylhydrazine Hydrochloride, Peak b: Formaldehyde, Peak c: Acetaldehyde, Peak d: 1.64mM Propionaldehyde (Internal Standard).

LM 製品の供給が望まれる。高圧蒸気滅菌により FA は約 3 倍、AA では 20 倍以上増加した。この増加はポリオキシエチレンエーテルである LM のエーテル結合が滅菌操作により切断されたためと推定された。FA はタンパク質の遊離アミノ基と結合して脂質を溶解し、アルデヒド中最も強力な殺菌作用を有する⁸⁾ことが知られている。しかし、静注時の毒性については不明である。一方、AA をヒトに 2 から 7 ppm の血中濃度で静脈注射し

Table 2. Effect of Sterilization on Content of Aldehydes in 1% Lauromacrogol Injection

Sterilization ^{a)}	Content (ppm)		
	Aldehydes ^{b)}	Formaldehyde ^{c)}	Acetaldehyde ^{c)}
Before	3	1.29 ± 0.11	0.52 ± 0.12
After	30	3.62 ± 0.30	11.37 ± 1.70

a) 121°C, 20 min, b) Fast Formalert (Organon Teknika Co., mean, n=3), c) HPLC method (mean ± SD, n=3)

た場合、脈拍数、呼吸量の急激な上昇とともに、呼気中の CO₂ 量が減少したとの報告がみられる⁹⁾。1% LM 注射薬を滅菌することにより、AA 濃度が 0.52ppm から 11.37ppm まで上昇することから、すべてが静脈内に入らないとしても危険な含量である。

LM はラウリルアルコールに酸化エチレンを平均9モル付加したエーテル型の非イオン性界面活性剤であるが、その毒性は低いことが確認されている。しかし、局所的な溶血や全身の主要臓器、特に心臓への影響が報告されている。さらに毒性が低く、血栓形成作用の強い LM はエチレンオキッド鎖長が n=6 の単一物質といわれている¹⁰⁾。

結 論

FF 試薬による FA の検出法では、AA などのアルデヒド類を含んで検出してしまうことが新たに判明した。また、HPLC 法による DNP を用いたラベル化は、1% LM 注射薬中の FA や AA の微量分析法として有効であった。

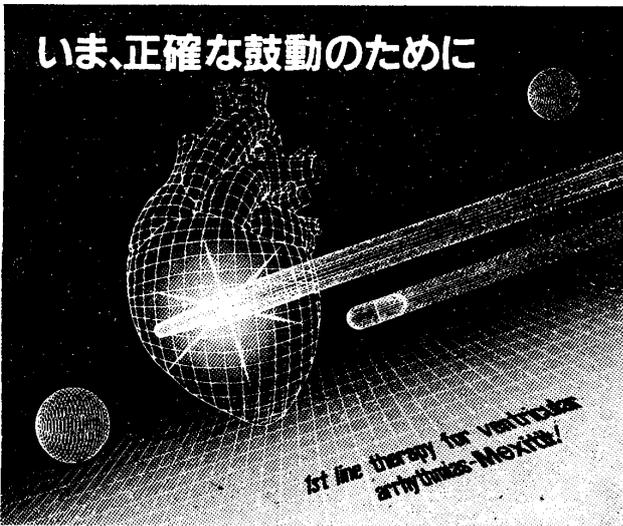
食道静脈瘤の硬化栓塞剤として用いられる LM にはもととも FA および AA が含有されており、1% LM 注射薬の調製時に高圧蒸気滅菌をすることによりアルデヒ

ド類は増加し、特に、AA は顕著に増加することが判明した。

引用文献

- 1) M. Okamoto, *J. Chromatogr.*, 202, 55-61 (1980).
- 2) 鈴木義仁, 分析化学, 34, 314-318 (1985).
- 3) 鈴木義仁, 谷 和江, 分析化学, 29, 849-853 (1980).
- 4) L.J. Papa, and L.P. Turner, *J. Chromatogr. Sci.*, 10, 747-750 (1972).
- 5) M.A. Carey, and H.H. Persinger, *J. Chromatogr. Sci.*, 10, 537-543 (1972).
- 6) 秋山公一, 加藤裕久, 斎藤正明, 高地新八郎, 古泉秀夫, 横山朋正, 薬事新報, 1541, 578-580 (1989).
- 7) 日本公定書協会, “第十一改正日本薬局方解説書”, 廣川書店, 東京, 1986, pp.899-903.
- 8) 大森義仁, “トキシコロジー”, 廣川書店, 東京, 1978, pp.264-267.
- 9) 後藤 稔, 池田正之, 原 一郎, “産業中毒便覧(増補版)”, 医歯薬出版, 東京, 1982, pp.1089-1091.
- 10) 酒井昌博, 聖マリアンナ医科大学雑誌15, 353-370 (1987).

いま、正確な鼓動のために



1st line therapy for ventricular arrhythmias - Mexitil!

不整脈治療剤

メキシチール®

カプセル50mg・100mg
注射液
(塩酸メキシレチン) 健保適用

■効能・効果

頻脈性不整脈(心室性)

※用法・用量、使用上の注意等については添付文書をご覧ください。
資料請求先: 日本ベーリンガー・インゲルハ임株式会社 学術部 〒666-01 兵庫県川西市矢間字高田103番地

<p>輸入・製造 日本ベーリンガー・インゲルハ임株式会社 兵庫県川西市矢間字高田103番地</p> <p>販売 大日本製薬株式会社 大阪市中央区道修町2丁目6番8号</p>	<p>販売 田辺製薬株式会社 大阪市中央区道修町3丁目2番10号</p> <p>販売 三亜薬品工業株式会社 東京都中野区藏3丁目13番6号</p>
--	---