

輸液中のビタミンAの定量法及びその安定性に及ぼす脂肪乳剤の影響^{*1}

古田知由, 西川三喜男, 姉崎 健, 鈴木一市, 川影逸郎, 藤井喜一郎

浜松医科大学医学部附属病院薬剤部^{*2}**Determination of Vitamin A in Intravenous Fluids and Influence of Fat Emulsion on its Stability^{*1}**

TOMOYOSHI FURUTA, MIKIO NISHIKAWA, KEN ANEZAKI, KAZUICHI SUZUKI, ITSURO KAWAKAGE, and KIICHIRO FUJII

Hospital Pharmacy, Hamamatsu University School of Medicine^{*2}

(Received April 6, 1987)

Influence of fat emulsion on stability of vitamins in intravenous fluids was examined on vitamin A. A high performance liquid chromatography (HPLC) was employed for the determination of vitamin A. Vitamin A was hydrolyzed, extracted and then chromatographed as vitamin A alcohol by using Develosil ODS-5 reverse phase column. The amount of vitamin A was determined by measuring its peak area. The coefficients of variation at within-run and between-run for 2.5 I.U. are 4.46% (n=5) and 9.58% (n=3).

Decomposition of vitamin A under reflection light of 1000 lux was prevented by intravenous fluids containing fat emulsion, and then residual percent of vitamin A was increased with increasing fat emulsion concentration. Decomposition of vitamin A was prevented by use of light-resistant cover all the more, but effect of it used in this experiments was not enough. At cold place, vitamin A in intravenous fluids could be stored up to 7 days.

Keywords—intravenous fluids; fat emulsion; vitamin A; HPLC; hydrolysis; residual percent; reflection light

緒 言

高カロリー輸液 (IVH) 療法は, 近年急速な発展をとげ, 患者の栄養状態の改善に貢献してきた。IVH は各種糖質, アミノ酸, 電解質, 脂肪乳剤, ビタミンなどの成分からなり, これらは単独あるいは数種類の成分と混合して用いられ, またその有用性から one pack 方式による輸液の実施が増加してきた。これに伴い one pack 方式では, 脂肪乳剤を糖質, アミノ酸, 電解質, ビタミンと混合して使用されてきている¹⁾。脂肪乳剤を混合するに際しては, エマルジョン粒子の安定性を中心とした配合変化に十分注意しなければならない。

エマルジョン粒子の安定性については, 野呂らをはじ

め多くの検討²⁻⁵⁾ がなされている。しかし, 混合成分の安定性についての報告⁶⁾ は少ない。特に光に不安定なビタミンは, 他の IVH 成分に脂肪乳剤を混合すると安定性が異なるといわれているが⁷⁾, 詳細な報告はない。

そこで著者らは, 電解質に脂肪乳剤を混合した輸液を用いて, 薬剤調製後の保存及び IVH 施行中の条件におけるビタミンの安定性に及ぼす脂肪乳剤の影響を検討した。今回はビタミンAについて, 脂肪乳剤混合輸液中の HPLC による定量法を確立し, その安定性について若干の知見を得たので報告する。

実 験 の 部

1. 試料及び試薬

輸液はイントラリポス10% (ミドリ十字), ソリタ-T3号 (清水製薬) を用いた。ビタミンはソービタ3号 (扶桑薬品) を用いた。各々の組成を Table 1 に示した。その他はすべて試薬特級を用いた。

^{*1} 第19回東海薬剤師学術大会 (静岡, 1986年10月) で発表。

^{*2} 浜松市半田町3600; 3600, Handa-cho, Hamamatsu-shi, 431-31 Japan

2. 混合輸液組成

試料の組成を Table 2 に示した。ビタミンの点滴静注に際して、500ml から 2~3L (one pack 方式) の輸液にビタミンを添加して使用するのが一般的であるので、ビタミン量は輸液 500ml 及び 3L にソービタ 3号を 1 アンプルの割合とした。試料としては、輸液 500ml 及び 1.8L にソービタ 3号をそれぞれ 2 ml 及び 1.2ml 添加し、ビタミン A 濃度として 5.0 及び 0.83 I. U./ml とした。試料の調製後、容器内は窒素置換した。

3. 実験方法

ビタミン A の添加濃度が 5.0 I. U./ml 及び 0.83 I. U./ml の試料について、室温で室内散乱光下 (約 1000 ルクス) 遮光、非遮光とした時及び冷暗所保存 (8°C) とした時の 7 日までのビタミン A 濃度を測定し、残存率を

求めた。遮光は橙色カバーを装着することにより行い、試料は輸液ボトル (500ml) 及び IVH 用プラスチックバック (テルモ社: 2L 用) に充填した。

4. HPLC 法

試料の前処理法及び HPLC の分析条件は Fig. 1 に示すようにビタミン A パルミテートをアルカリ加水分解しビタミン A アルコールとした後、溶媒抽出し HPLC に注入した。

結果及び考察

1. 前処理の検討

試料はダイズ油、レシチンなどを含みかなりの UV 吸収を示すので、5% KOH 溶液で加水分解後抽出する方法で行った。加水分解の反応温度は 40~80°C、反応時間は 10, 20, 30 分まで検討したところ、80°C、20 分が適当であった (Fig. 2)。加水分解後溶媒抽出したが、抽出溶媒は n-ヘキサン、抽出比率は試料: イソプロパノール: 5% KOH: H₂O: n-ヘキサン=1:6:0.6:3:6で行った。抽出後上清を窒素気流下、溶媒留去しイソプロパノールを添加して試料とした。

2. HPLC 条件の検討

脂溶性ビタミンの分析例は数多くみられるが、若宮ら⁸⁾の方法に従い検討した。カラムは ODS 系の Develosil ODS-5、移動相はアセトニトリルとエタノールの混合溶媒を用い、溶媒比率を変えてビタミン A 及びブランクの分離能を調べた結果、アセトニトリル: エタノール=80:20 のとき最もよいクロマトグラムが得られた。検出波長は 325nm を用いた。輸液及びビタミン添加試料を本法で分析した時のクロマトグラムの例を Fig. 3 に示した。

3. 検量線

輸液にソービタ 3号を添加しビタミン A として 1.25,

Table 1. Composition of Intralipos, Solita-T3 and Sohviata-3

Intralipos (500ml)	
Soybean oil	50.0g
Deutoplasm lecithin	6.0g
Glycerin	12.5g
Solita-T3 (500ml)	
Sodium chloride	0.45g
Potassium chloride	0.745g
Sodium L-lactate	1.12g
Glucose	21.5 g
Sohviata-3 (2ml)	
Retinol palmitate	2500 I.U.
Cholecalciferol	200 I.U.
Tocopherol acetate	15mg
Menatetrenone	2mg

Table 2. Composition of Intravenous Fluids

Intralipos (%)	Intralipos (ml)	Solita-T3 (ml)	Sohviata-3 (ml)	Vitamin A conc. (I. U./ml)
100	500	0	2.0	5.0
	1800	0	1.2	0.83
50	250	250	2.0	5.0
25	125	375	2.0	5.0
17	85	415	2.0	5.0
	300	1500	1.2	0.83
0	0	500	2.0	5.0
	0	1800	1.2	0.83

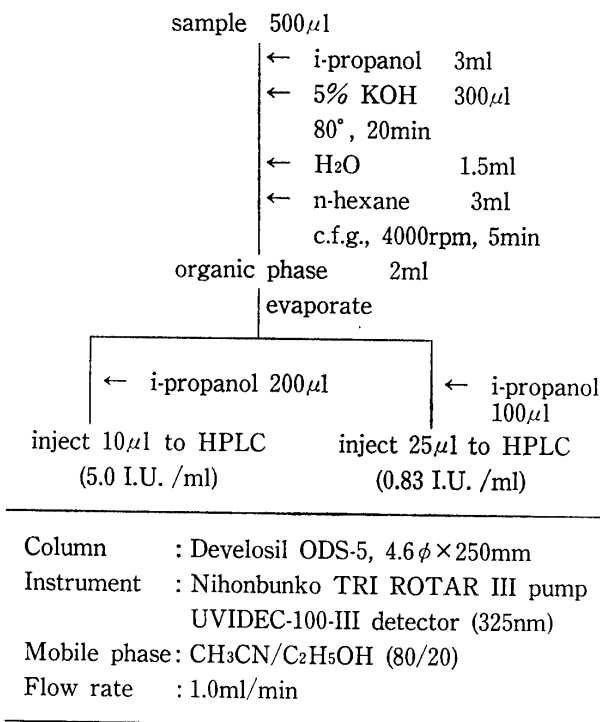


Fig. 1. Assay Procedure for Intravenous Fluids by HPLC

2.5, 5.0, 10 I.U./ml とした試料を, 実験の部で述べた方法で分析した結果, 少なくとも実験の濃度範囲では濃度とピーク面積の間に良好な直線関係が得られ, 相関係数は輸液がイントラリポスのとき 0.9994, ソリター T 3 号のとき 0.9999 であった (Fig. 4).

また, イントラリポス及びソリター-T 3 号に添加したビタミン A の濃度が 0.21, 0.42, 0.83 I.U./ml のとき

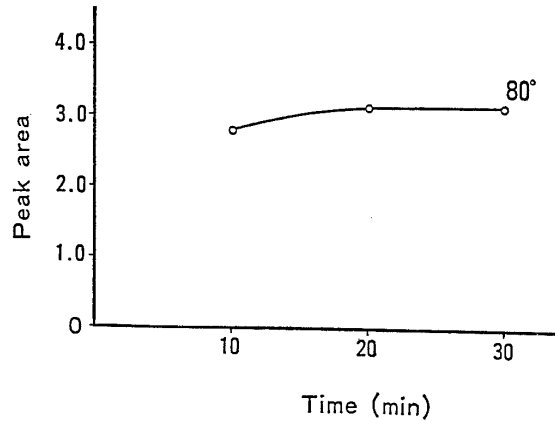


Fig. 2. Effect of Reaction Time and Temperature on Hydrolysis of Vitamin A

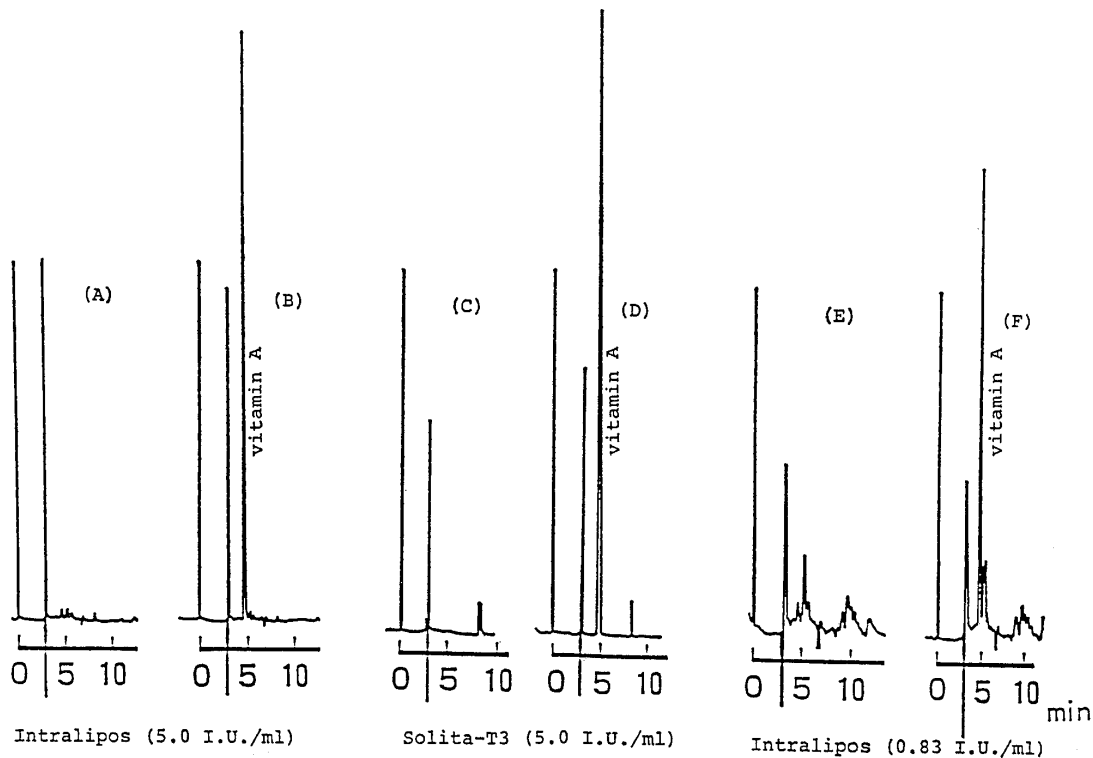


Fig. 3. Chromatogram of Vitamin A

- (A) blank intralipos, (B) intralipos containing 5.0 I.U./ml of vitamin A, (C) blank solita-T3, (D) solita-T3 containing 5.0 I.U./ml of vitamin A, (E) blank intralipos, and (F) intralipos containing 0.83 I.U./ml of vitamin A

同様に分析した結果、相関係数はそれぞれ 0.9999 及び 0.9948であった。

測定精度の検討は、イントラリポスにソービタ 3 号を添加しビタミン A として 5.0 I.U./ml とした試料を繰

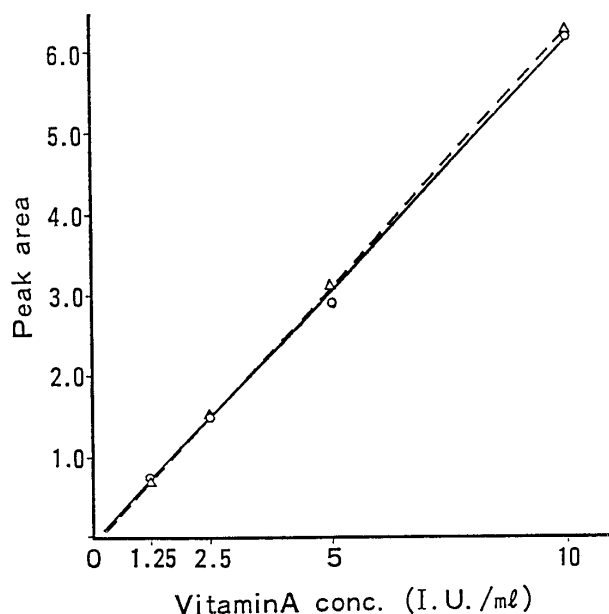


Fig. 4. Standard Curve of Vitamin A
 ○—○ : Intralipos (r=0.9994)
 △---△ : Solita-T3 (r=0.9999)

り返し測定して行った。いずれの場合も変動係数は小さく測定精度は良好だった (Table 3)。

4. ビタミン A の安定性

室内散乱光下、ビタミン A の残存率に対する脂肪乳剤と電解質の混合割合の影響を Fig. 5 に示した。ビタミン A の残存率は脂肪乳剤の混合割合が高いほど高く、脂肪乳剤濃度が 25% 以上の輸液では 1 日後においても 90% 以上を示すのに対し、0% では 50% 以下であった。このことは、脂肪乳剤の遮光効果によりビタミン A の分解が抑制されたためと思われる。

次に、ビタミン A 添加濃度と残存率の関係を Fig. 6 に示した。脂肪乳剤濃度が 17% 以上の輸液ではビタミンの添加濃度の違いによる残存率の差はあまりみられなか

Table 3. Precision of Assays for Vitamin A in Intravenous Fluid

Addedd (I.U.)	Within-run (n=5)		Between-run (n=3)	
	Found (I.U.)	C. V. ^{a)} (%)	Found (I.U.)	C. V. ^{a)} (%)
2.5	2.43	4.46	2.53	9.58

a) Coefficient of variation

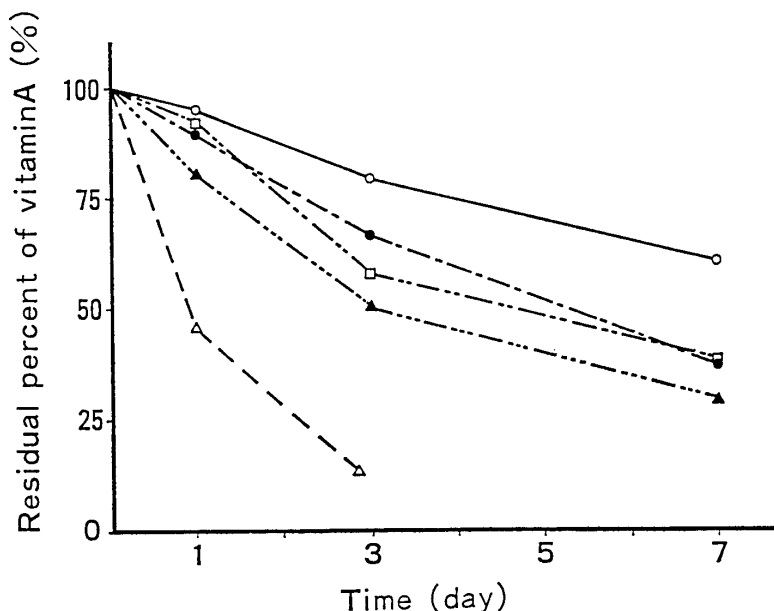


Fig. 5. Effect of Intralipos Concentration on Residual Percent of Vitamin A under Reflection Light of 1000 Lux

Conditions : Vitamin A concentration, 5.0 I.U./ml.

Intralipos Concentration, 100% (○—○), 50%

(●—●), 25% (□—□), 17% (▲—▲)

and 0% (△—△). Container, Bottle

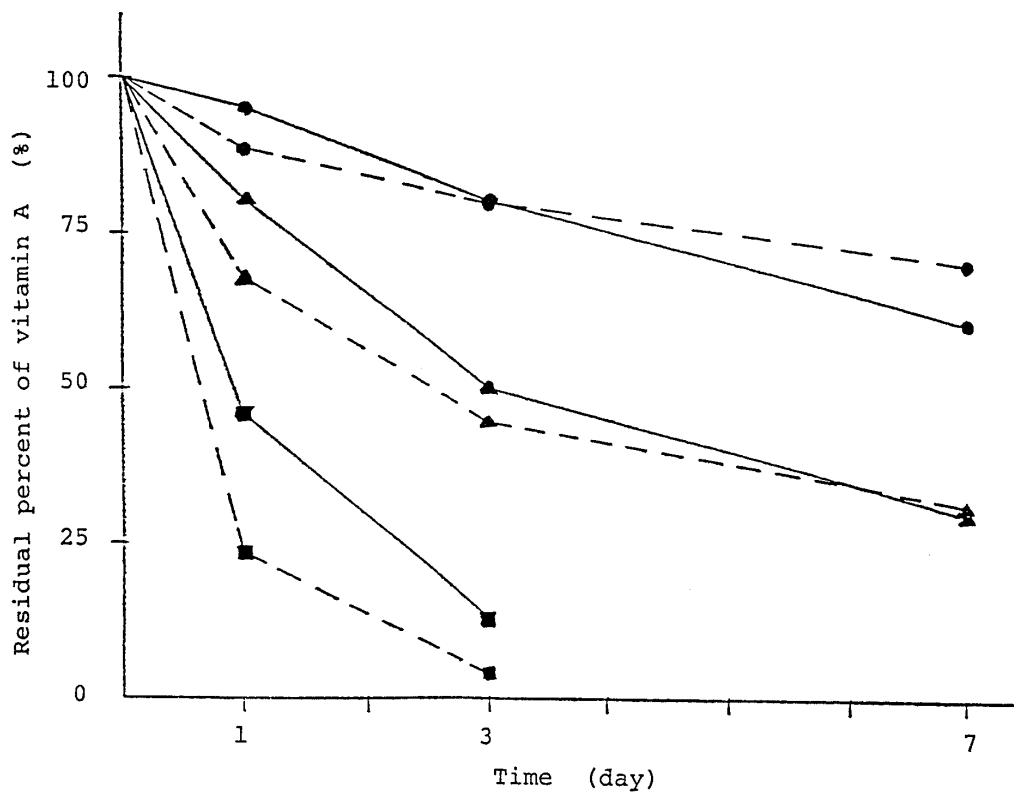


Fig. 6. Correlation between Vitamin A Concentration and Residual Percent of Vitamin A under Reflection Light of 1000 Lux

Conditions: Vitamin A concentration, 5.0 I.U./ml (—) and 0.83 I.U./ml (- - -)
Intralipos concentration, 100% (-●-), 17% (-▲-) and 0% (-■-)
Container, Bottle

ったが、0%では0.83 I.U./mlの方が残存率が低くなる傾向がみられた。

輸液遮光時及び非遮光時のビタミンAの残存率をFig. 7に示した。輸液に橙色カバーを装置することによりビタミンAの分解は抑制され⁸⁻¹⁰⁾、その効果は脂肪乳剤を混合したものより電解質だけの方が大きかったが、遮光した電解質だけの方は非遮光時の脂肪乳剤を混合した輸液中のビタミンAの残存率より低い、あるいは同程度であった。容器による違いでは、バックよりボトルの方が残存率はやや高くなるように思われた。この理由の一つとして、ビタミンAのバックへの吸着が考えられる⁹⁾。いずれの場合も1日後におけるビタミンAの残存率が90%以下であることから、遮光が不十分と考えられ遮光方法を再検討する必要がある。

冷暗所では、ビタミンAの添加濃度及び脂肪乳剤の混合濃度に関係なく、7日後においてもビタミンAの残存率はほぼ100%を示したことから、ビタミンAに関しては7日間安定であることがわかった (Table 4)。

これらのことからビタミンを添加した輸液を使用する

場合、脂肪乳剤の有無にかかわらず遮光カバーの必要性が認められた。しかし何らかの理由により遮光カバーを使用しない場合、処方脂肪乳剤が含まれていれば脂肪乳剤と他の輸液を混合せず、脂肪乳剤のボトルにビタミンを添加した方がその安定性はより保たれると思われる。

結 論

HPLC法による脂肪乳剤混合輸液中のビタミンA定量法を検討し、輸液中濃度測定を行い、ビタミンAの安定性に及ぼす脂肪乳剤の影響を検討した。

輸液中のビタミンAの定量は、試料を加水分解後、抽出することにより可能となった。輸液に脂肪乳剤を混合すると、室内散乱光下でのビタミンAの分解は抑制された。これは脂肪乳剤による遮光効果と考えられ、この効果は脂肪乳剤濃度が高いほど大きく、本実験の濃度範囲では、非遮光時においても電解質だけのものを遮光したときの残存率より高い値を示した。

脂肪乳剤を混合した輸液にビタミンAを添加したと

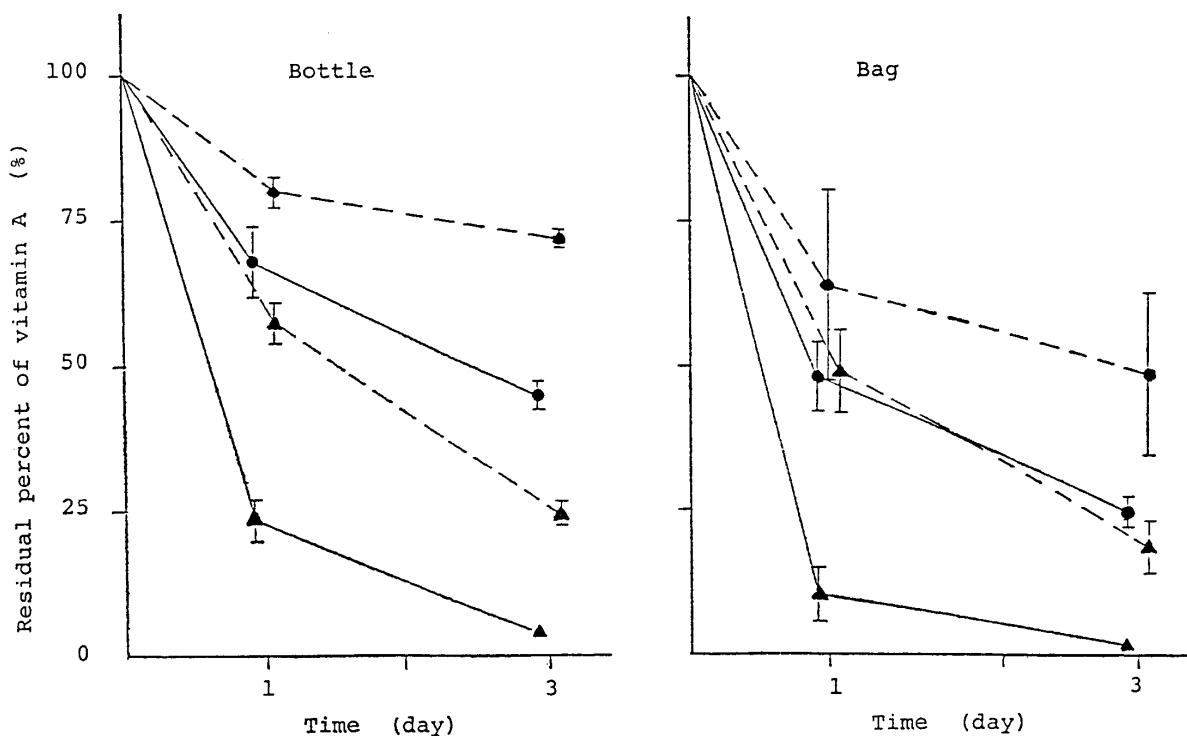


Fig. 7. Residual Percent of Vitamin A under Reflection Light of 1000 Lux with and without Light-resistant Cover

Conditions: Vitamin A concentration, 0.83 I.U./ml. Intralipos Concentration, 17% (-●-) and 0% (-▲).

Light-resistant cover (---), Exposed to reflection light (—)

Table 4. Residual Percent of Vitamin A at Cold Place (8°C)

Vitamin A conc. (I.U./ml)	Intralipos (%)	Residual percent of vitamin A (%)			
		0	1	3	7 (day)
5.0	100	100	91.1	95.3	100
	17	100	93.5	98.1	100
	0	100	88.7	98.9	99.5
0.83	100	100	—	—	91.0
	0	100	—	—	103

き、添加濃度の違いによる残存率の差はあまりみられなかった。

橙色カバーにより遮光したとき、ビタミンAの分解は抑制されたが、本実験で使用したものではその効果は不十分と考えられ、遮光方法を今後検討する必要がある。また冷暗所では、ビタミンAの添加濃度及び脂肪乳剤の混合濃度に関係なくビタミンAは7日間安定であった。

謝辞 本研究で試料を提供していただいた扶桑薬品株式会社に感謝します。

引用文献

- 1) 日笠頼則: Medical Postgraduates, 19, 425 (1981).
- 2) 野呂俊一, 高村 彰, 石井文由, 藤岡和雄, 中島忍, 北内 忍, 北内政弘: 薬剤学, 42, 17 (1982).
- 3) 山岡桂子, 中島康雄, 山岸義史, 小林国男, 長谷部正晴: JJSHP, 21, 139 (1985).
- 4) 石塚玲器, 林 信幸, 鷺田雅子, 山端一宝, 柴井清: JJHPA, 18, 915 (1982).

- 5) C. D. Black, N. G. Popovich : Drug Intell. Clin. Pharm., **15**, 184 (1981).
- 6) 山岡桂子, 沖永莊一, 中島康雄, 山岸義史, 長谷部正晴, 峰下 哲, 中村正明, 田中将雄, 竹井征夫, 島津忠寿 : 薬剂学, **46**, 222 (1986).
- 7) 三木毅一郎 : JJPEN, **5**, 421 (1983); 三木毅一郎, 谷村 弘, 小林展章, 高橋 裕, 吉田圭介, 斎藤 徹 : JJPEN, **6**, 508 (1984).
- 8) 根来健二, 若宮忠弘, 河内敬朝, 山路 昭, 紀氏 汎恵, 平岡栄一 : 日本薬学会103年会, 東京, 1983年4月.
- 9) 山岡桂子, 山岸義史, 小林国男, 長谷部正晴, 安田和人, 中村正明, 水越正信, 佐藤美恵子, 島津忠寿, 吉田功一, 永井恒司 : 薬剂学, **42**, 189 (1982).
- 10) 山路 昭, 藤井康子, 倉田義昭, 紀氏汎恵, 笠原伸元, 平岡栄一 : 日本薬学会98年会, 岡山, 1978年4月.