

高速液体クロマトグラフィーによる外用痔疾用薬に含有される リドカインの定量法の検討

山口県衛生公害研究センター

藤原美智子・歳弘克史・島中啓治*

Analytical Method of Lidocaine in External Preparation by High Performance Liquid Chromatography

Michiko FUJIWARA, Katsushi TOSHIHIRO, Keiji HATAKENAKA*

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health

はじめに

外用痔疾用薬（坐剤及び軟膏）中の局所麻酔・表面麻酔薬として使用されるリドカイン及び塩酸リドカインの定量法については、一般的にリドカインは日本薬局方¹⁾の方法により実施され、塩酸リドカインは日本薬局方、日本薬局方外医薬品成分規格（局外規）、化粧品原料基準（粧原基）のいずれにも収載されていないので、厚生省薬務局審査課より示された資料「外用痔疾用薬の試験法」により実施されている。しかし、製剤についての分析法はいずれも示されていないため、これらの方法を準用するが、滴定法であるため、操作が煩雑で、しかも、熟練を要する。そこで、簡便で分析精度の高い定量法を目標に、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いたUSP²⁾の塩酸リドカインの定量法を参考にし、試料の抽出については、ステロイドホルモン製剤の抽出法³⁾を準用してリドカインの分析法を確立した。

実験方法

1 試料

リドカインを含有する市販の外用痔疾用薬のうち、坐剤12検体、軟膏6検体を試料とした。

2 試薬

- (1) 定量用リドカイン：和光純薬製生化学用試薬を用いた。
- (2) 氷酢酸・アセトニトリル溶液（移動相）：氷酢酸50mLと水930mLを混和し、1N-水酸化ナトリウムでpHを3.40に調整した液4容量にアセトニトリル1容量を混和した溶液。

(3) 標準溶液：定量用リドカインをデシケーター（シリカゲル）で24時間乾燥し、その約60mgを正確に量りとり、1N-塩酸0.5mLを加え、移動相を加えて50mLとしたものを標準溶液とした。

(4) その他の試薬：アセトニトリルはHPLC用を、また、それ以外の試薬は試薬特級品を用いた。

3 装置

- (1) HPLC装置：東ソーアイソクラティックシステム
- (2) データ処理装置：システムインストルメンツ製クロマトコーダー12

4 試料溶液の調製

試料中のリドカイン約60mgに対応する量を正確に量り、共栓遠心沈殿管に入れ、1N-塩酸0.5mL及び移動相30mLを加え、60℃の水浴中で5分間加温した後、10～15分間激しく振り混ぜ、移動相を加えて50mLとする。次に10～15分間氷水中で冷却した後、ろ紙を用いてろ過し、そのろ液1mLをSep-Pak C18カートリッジ（Waters社製）に通し、溶出液を試料溶液とする。

5 定量

USPのリドカイン定量法を準用し、試料溶液及び標準溶液のそれぞれ20 μ Lを、次の条件のHPLCに注入し、標準溶液と試料溶液とのピーク面積比を測定し、定量する。

HPLC測定条件

検出器：紫外吸光度計（測定波長：254nm）

カラム：Inertsil ODS-2(5 μ m, 4.6mm i.d.×150mm,

ジーエルサイエンス社製)

カラム温度：40℃

移動相：氷酢酸・アセトニトリル溶液

流量：1.0mL/min

結果及び考察

1 分析法の検討

(1) 抽出法の検討

坐剤や軟膏等に含有される有効成分の抽出法について多数報告されている³⁻⁹⁾。今回のリドカインの抽出法としてはステロイドホルモン製剤の抽出法を検討した。リドカインの抽出溶媒として、メタノール、アセトニトリル及び移動相の3種類を用いて、それぞれ抽出率及びクロマトグラムの形状について検討した。表1に示すとおり、いずれの溶媒を用いても完全に抽出されたが、メタノール及びアセトニトリルでは、移動相で希釈したとき沈殿物を生じるため、HPLC法を適用する場合、充填カラムの目詰りや劣化を招き、さらに、ろ過が必要となってくるので、抽出溶媒として移動相を用いた。

表1 各種溶媒によるリドカイン抽出率
(単位：%， n = 5)

溶 媒	抽出率	抽出率
メ タ ノ ール	102.6	1.6
アセトニトリル	101.6	3.1
移 動 相	102.8	2.1

(2) 不要ピークの除去

一般に軟膏等には多数の成分が配合されており、HPLCの分析の際、試料によっては90分付近に大きなピークが出現するものがあるので、迅速化を図るためSep-Pak C18カートリッジにより除去した。その成分を含有している試料溶液を、Sep-Pak C18カートリッジへ1mL, 2mL及び3mL通し検討した結果、いずれもリドカインの回収率は101.5~101.6%と良かったが、90分付近の大きなピークは試料溶液1mL通したときには除去できたが、試料溶液2mL及び3mLと増加するに従い不要ピークが増大した。標準溶液をSep-Pak C18カートリッジに1mL通した溶液の5回の平均回収率は100.0%、変動係数1.2%と良好であった。そこで試料溶液は1mLとした。試料溶液1mLのときの不要ピーク除去前後のクロマトグラムを図1に示す。

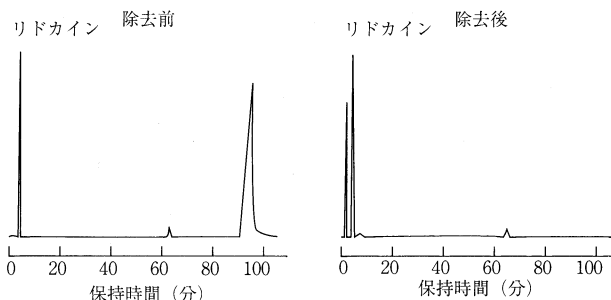


図1 Sep-Pak C18 カートリッジによる不要ピーク除去前後のHPLCのクロマトグラム

2 添加回収実験

市販の坐剤及び軟膏にそれぞれ一定量のリドカインを添加し、5回繰り返し測定して回収実験を行ったところ、表2に示すように回収率は100.3~102.3%、変動係数は0.9~3.7%と良好であった。

表2 リドカインの添加回収実験

試 料	添加量*	検出量*	回収率**	変動係数**
坐 剤 (1個中)	0	60.5	—	—
	30	91.2	102.3	3.7
	60	120.7	100.3	2.0
軟 膏 (1g中)	0	30.0	—	—
	30	60.6	101.0	1.9
	60	90.5	100.8	0.9

* : mg ** : %

3 市販品の分析結果

市販品の坐剤12検体及び軟膏6検体について本法を用いてリドカイン含有量を測定した結果、リドカイン表示量の98.3~104.4%と規格値(90~110%)以内であった。

まとめ

外用痔疾用薬(坐剤及び軟膏)中のリドカインの定量法として、USPの塩酸リドカインの定量法を参考にして高速液体クロマトグラフ法を用いた。有効成分の抽出にはステロイドホルモン製剤抽出法を準用し、不要ピーク除去にSep-Pak C18カートリッジを用いて迅速化を図った。添加回収試験では回収率100.3~102.3%、変動係数3.7%以下と良好であった。また、本法により市販の坐剤及び軟膏中のリドカインを定量した結果、他成分の妨害もなく、いずれも規格値内に入っており適合していた。本法は簡便な前処理により、正確で精度の高いリドカインの定量が可能であることから、製品の品質管理並びに行政検査のための分析法として有効である。

文献

- 1) 厚生省：第十二改正日本薬局方, 769 (1991)
- 2) United States Pharmacopoeia XXII, 766 (1990)
- 3) 江島昭ほか：医薬品研究. 15, 118~122 (1984)
- 4) 徳永裕司ほか：医薬品研究. 14, 31~36 (1983)
- 5) 中路幸男ほか：医薬品研究. 7, 17~25 (1976)
- 6) 前田有美恵ほか：分析化学. 37, 648~653 (1988)
- 7) 重岡捨身ほか：東京衛研年報. 34, 89~92 (1983)
- 8) 増川健二ほか：医薬品研究. 16, 78~84 (1985)
- 9) 沢辺善之ほか：大阪府立公衛研所報 薬事指導編,
20, 17~20 (1986)