

高速液体クロマトグラフィーによる薬局製剤 「解熱鎮痛薬7」の有効成分の定量法について

山口県衛生公害研究センター

藤原美智子・歳弘克史・畠中啓治

Analytical Method of 「Antipyretic Analgesics 7」 in Pharmaceutical Preparations by High Performance Liquid Chromatography

Michiko FUJIWARA, Katsushi TOSHIHIRO
Keiji HATAKENAKA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health

はじめに

薬局製剤は「薬局製剤業務指針」(以下指針)に基づき、各品目ごとに承認基準が定められている¹⁾。それらの基準のうち、有効成分の定量法が示されているものは少なく、ほとんどのものが確認試験だけである。薬局製剤のうち、最もよく製造されている「解熱鎮痛薬7」の指針による規格及び試験方法は、有効成分のアセトアミノフェン、エテンザミド、無水カフェイン及びブロムワレリル尿素の確認試験並びに無水カフェイン及びブロムワレリル尿素の定量法が示されている。これらの試験法は、いずれも操作が煩雑で長時間を要し、クロロホルムやベンゼンなどの有害な溶媒を使用しなければならない。また、ブロムワレリル尿素の定量法では、十分に賦形剤を取り除くことができないために、定量が困難であった。このことは、製造業者が医薬品の品質管理上、また、地方衛生研究所等では行政検査を行う必要上から問題である。このため、「解熱鎮痛薬7」に配合されている4種類の有効成分の迅速かつ簡便な定量法を確立することを目的として、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いた一斉分析条件の検討を行った。その方法を用いて、市販薬局製剤の含有量を測定した。

実験方法

1 試料

市販の「解熱鎮痛薬7」を用いた。この製剤の処方は次のとおりである。

日本薬局方	アセトアミノフェン	0.68 g
〃	エテンザミド	1.02 g
〃	無水カフェイン	0.25 g
〃	ブロムワレリル尿素	0.60 g
賦形剤	デンプン、乳糖又は これらの混合物	適量
全量		4.5 g

2 試薬

- (1) リン酸溶液：リン酸 1 ml を水で 1000 ml とする。
- (2) リン酸・アセトニトリル混液：リン酸溶液とアセトニトリルを等量混ぜ合わせる。
- (3) 標準原液：アセトアミノフェン、エテンザミド、カフェイン及びブロムワレリル尿素の標準品を用い、各々 100 mg を精密に量り、個別にリン酸・アセトニトリル混液に溶かし、正確に 100 ml とする。
- (4) 内標準溶液 (IS)：フェノール 250 mg をリン酸・アセトニトリル混液 100 ml に溶かす。
- (5) 標準溶液：アセトアミノフェン標準原液 6.8 ml、エテンザミド標準原液 10.2 ml、カフェイン標準原液 2.5 ml、ブロムワレリル尿素標準原液 6.0 ml 及び IS 3 ml をとり、リン酸・アセトニトリル混液で正確に 50 ml とする。

3 装置

HPLC装置：東ソーCCPE-II

超音波洗浄器：Yamato BRANSONIC 3210

4 試料溶液の調製

試料10包をとり、乳鉢で均一に混合する。その約0.05 g を精密に量り、リン酸・アセトニトリル混液 30 ml

を加え、10分間超音波抽出した後にIS 3 mlを加え、正確に50mlとし、メンブランフィルターでろ過し、試験溶液とする。

5 HPLC測定条件

試料溶液及び標準溶液20 μ lにつき、次の条件で試験を行い、ピーク面積比により測定する。

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：220nm）

カラム：LiChrosorb RP-18

(5 μ m, 4.0mm i.d.X250mm, Merck社製)

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

移動相：リン酸溶液・アセトニトリル混液 (825:175)

流量：1 ml/min

結果及び考察

1 HPLC測定条件

(1) 移動相

現在、解熱鎮痛薬の各有効成分の定量は、ODS系カラムが広く用いられている²⁻⁴。ODS系カラムはLiChrosorb RP-18を用い、移動相はリン酸を含む水-アセトニトリルの混液を選び、組成比を変え各有効成分のカラム保持比(K')を比較し、アセトニトリル濃度を設定した。図1に示すように、アセトニトリル濃度が高いほど各成分のK'は小さく、分離が悪くなる。そこで各成分のK'の差が大きく、短時間に分別定量できる点を考慮し、リン酸溶液・アセトニトリル混液(825:175)を用いることにした。この時の各成分間の分離度は2.7~10.9で、分析時間は約18分であった。

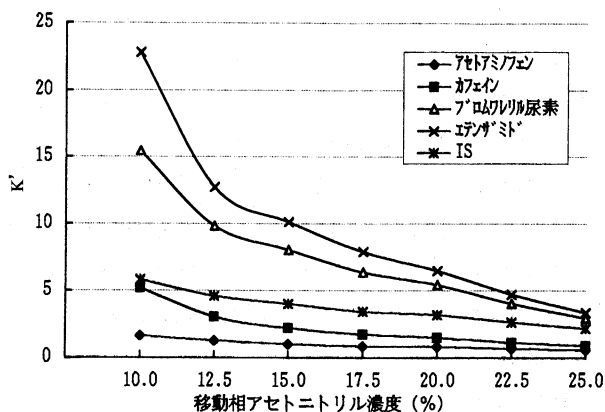


図1 各成分のK'に及ぼすアセトニトリル濃度の影響

(2) 測定波長

この解熱鎮痛薬は、各有効成分の配合量が異なり、紫外外部吸収の極大波長や分子吸光係数もそれぞれ異なるため、各成分の標準品のメタノール溶液(0.01mg/ml)の吸収スペクトルを測定した(図2)。各有効成分とも

200~240nmの範囲に吸収があるので、この波長間を5nm間隔で、標準溶液のHPLCのクロマトグラムを確認した結果、各有効成分が同時に定量できる220nmを測定波長とした。このクロマトグラムを図3に示す。

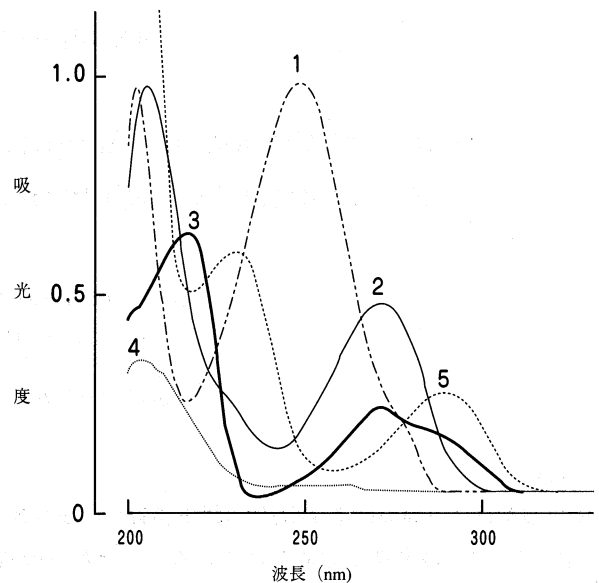


図2 標準品のUV吸収スペクトル

- 1. アセトアミノフェン
- 2. カフェイン
- 3. フェノール (内標準物質)
- 4. ブロムワレリル尿素
- 5. エテンザミド

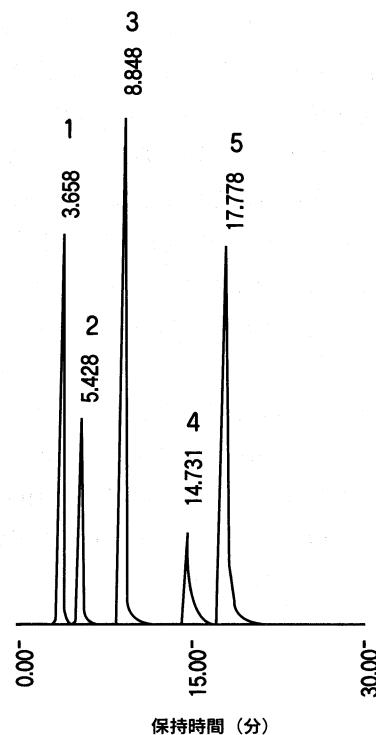


図3 標準品のクロマトグラム

- ピーク1. アセトアミノフェン
- 2. カフェイン
- 3. フェノール (内標準物質)
- 4. ブロムワレリル尿素
- 5. エテンザミド

2 検量線及び再現性

解熱鎮痛薬の各成分の検量線を作成したところ、アセトアミノフェン 0.024~0.24mg/、エテンザミド0.04~0.4mg/、無水カフェイン 0.008~0.08mg/ 及びブロムワレリル尿素 0.024~0.24mg/ の範囲で、ピーク面積比 (y) と各成分の濃度 (x) との間に原点を通る良好な直線が得られた。この検量線の直線回帰式及び回帰係数を表1に示す。また、標準溶液における再現性を求めたところ、各成分の変動係数は0.07~0.22% (n=5)と満足できる結果であった。

表1 直線回帰式及び回帰係数

成分名	直線回帰式	回帰係数
アセトアミノフェン	$y = 3.971x + 0.003$	1.000
エテンザミド	$y = 5.911x + 0.009$	0.999
カフェイン	$y = 6.871x + 0.003$	1.000
ブロムワレリル尿素	$y = 2.157x$	0.999

3 回収試験

各有効成分の標準品で「解熱鎮痛薬7」の処方に基づき調製した試料(モデル試料)を用いて、本法により回収率を求めた結果を表2に示す。5回繰り返し分析したときの回収率を成分別にみると平均値が99.2~101.1%、変動係数0.25~1.60%と良好な結果が得られた。

表2 モデル試料中の有効成分の回収率

回数	成分名	アセトアミノフェン	エテンザミド	カフェイン	ブロムワレリル尿素
1		100.2%	102.0%	97.9%	99.7%
2		100.3	100.6	101.6	100.0
3		99.8	101.9	98.6	100.4
4		99.7	102.4	97.9	98.7
5		100.0	98.8	100.0	98.9
	平均値	100.0%	101.1%	99.2%	99.6%
	標準偏差	0.25	1.47	1.59	0.72
	変動係数	0.25%	1.45%	1.60%	0.72%

4 市販品の分析結果

本法により、市販薬局製剤の「解熱鎮痛薬7」2検体とかぜ薬3検体を定量した結果、各成分は表3に示すとおり、「解熱鎮痛薬7」が表示量の92.2~106.7%、かぜ薬が表示量の92.3~101.7%とすべて規格範囲以内であった。

表3 市販薬局製剤の表示量に対する成分含有量(単位:%)

処方番号 (品目名)	成分名			
	アセトアミノフェン	エテンザミド	カフェイン	ブロムワレリル尿素
解熱鎮痛薬7	92.5±3.27	92.2±1.59	98.5±3.50	97.7±2.87
解熱鎮痛薬7	106.7±1.79	100.3±1.77	99.0±4.54	102.4±3.88
かぜ薬2	92.3±1.64	96.7±0.03		
かぜ薬3-①	95.0±0.33	99.4±0.34	93.0±1.93	
かぜ薬5-①	99.9±1.11	93.8±2.80	101.7±1.51	

n=5

まとめ

薬局製剤「解熱鎮痛薬7」の迅速・簡便な分析を目的として、HPLCによる4種類の有効成分の同時定量法を確立した。本法は、煩雑な前処理なしに、各有効成分の回収率が99.2~101.1%、変動係数0.25~1.60%と精度よく定量できた。また、「解熱鎮痛薬7」以外の薬局製剤についても、これらの有効成分を迅速に同時定量できたので、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) 日本薬剤師会編：薬局製剤業務指針・第3版。薬事日報社(1988)
- 2) 日本公定書協会編集：改定 かぜ薬・解熱鎮痛薬の試験法。薬業時報社(1986) p.137~166
- 3) 江島 昭ほか：医薬品研究。12, 881~891(1981)
- 4) 鈴木政雄ほか：医薬品研究。21, 453~457(1990)