高速液体クロマトグラフィーによる混合製剤の品質管理分析

伊藤裕二[®]， 吉田一義， 半田光一， 柚木伸夫， 吉田継親*

(1988 年 6 月 20 日受理)

一般用医薬品の品質管理試験の効率化を目的とし、逆相 HPLC による各種製剤の定量法の検討を行った。まず市販オクタデシルシリカ系充てん剤の比較を行った結果、多環芳香族化合物では溶出順序、分離能に差は認められなかったが、中性及び酸性成分での溶出挙動にメーカー並びにロット間での顕著な差が認められ、これら成分を指標として充てん剤を選定することにより、一定品質の充てん剤の入手を可能とした。次に抽出に条件の検討を行った結果、少量のリン酸を添加したメタノール-水混液 (7:3) を用いる超音波抽出法により製剤中の溶解性の異なる成分を同時に抽出することができた。又溶離液、検出波長などを検討し、3 種の HPLC 条件を設定した。本法は、かぜ薬、解熱鎮痛薬、ビタミン剤及び鎮うん(暈)薬へも適用可能であり、特にかぜ薬では 9 成分を同時に定量することができ、このような試験法の統一は、品質管理試験の効率化に有用であった。

1 緒 言

一般用医薬品製剤 (OTC 製剤) には通常複数の有効成分が配合されており、特に風邪薬では一般に 10 成分近くが配合されている。これら有効成分の定量分析を効率良く高精度で行うことが品質管理上重要である。これら成分の定量法としては従来紫外可視分光光度法¹⁾、あるいは GC²⁾ などが利用されてきたが、前者は選択性が低く、後者は揮発性を高めるための誘導体化が必要であり又、適用範囲が限られているなどの問題がある。最近、HPLC が急速に発達し、医薬品分析の分野にも多く取り入れられるようになった。医薬品は熱に不安定であったり、極性の高いものが多いため、緩和な条件で分析可能な HPLC^{3)~5)} が適しているが、特にオクタデシルシリカ (ODS) カラムを用いる逆相 HPLC は分離能、再現性に優れ、はん用性が高い。著者らはこの逆相 HPLC を用いて多成分の同時定量法を設定すると共に、抽出操作をも画一化して異種製剤も同一操作で定量できる方法を設定し、試験効率の向上を図った。

2 実 験

2.1 標準品、試薬及び試料

各主成分の定量用標準品としては、含量 99.0% 以上

* 大正製薬(株)総合研究所：330 埼玉県大宮市吉野町 1-403

の医薬品原体をそのまま用いた。ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) は和光純薬工業製生化学用を用いた。水酸化テトラブチルアンモニウム (TBA) は同社製 LC 用 0.5 M 溶液を、メタノール及びアセトニトリルは同社製 LC 用を用いた。その他の試薬は市販特級品を用いた。試料としては風邪薬 (試料 A)、解熱鎮痛薬 (試料 B)、ビタミン剤 (試料 C) 及び鎮うん(暈)薬 (試料 D) の試作製剤を用いた。これら製剤の主成分の処方 Table 3 の欄外に示した。

2.2 装 置

HPLC 装置は、東ソー製 GCPD 型ポンプシステムに同社製 UV-8000 型検出器を接続して用い、システムインスツルメンツ製 11 型インテグレーターを用いてピーク面積を測定した。超音波照射には BRANSON 製 521 型超音波洗浄器を用いた。

2.3 HPLC 測定条件

分離カラムは内径 4mm、長さ 150mm のステンレス管に TSKgel-LS410 (粒径 5 μ m、東ソー製) を充てんし、50 $^{\circ}$ C に保温して用いた。

溶離液及び測定波長は、目的成分により次の 3 条件を用いた。条件 1 では SDS 0.5% を含むアセトニトリル-水-リン酸混液 (510:490:1) を溶離液とし、210nm で検出した。条件 2 では 2.5mM の TBA を含む水-アセトニトリル混液 (9:1) にリン酸を加えて pH 6 に調整した液を溶離液とし、280nm で検出した。条

件3では SDS 0.5% を含む水-アセトニトリル-リン酸混液 (700:300:1) を溶離液とし、210 nm で検出した。溶離液の流量はいずれの条件でも 1 ml/min とした。試料溶液の注入量は 10 μ l とした。

2.4 定量法

試料を粉末とし、その一定量を採り (試料A:1.5 錠相当量, 試料B:0.5 錠相当量, 試料C:1 錠相当量及び試料D:2 錠相当量), メタノール-水-リン酸混液 (700:300:1) 70 ml を加え、60 °C で 10 分間加温した後、超音波を 5 分間照射し、冷後、同混液を加えて 100 ml とし、3000 rpm で 5 分間遠心分離して上澄み液を得る。この液 20 ml に内標準溶液 2 ml を加え、HPLC 装置に注入し、各成分を定量した。各 *dl*-塩酸メチルエフェドリン、ノスカピン、硝酸チアミン、臭化水素酸デキストロメトर्फアン、マレイン酸カルビノキサミン及びジフェンヒドラミンの定量は内標準溶液にフェナントレンのメタノール溶液 (3 $\rightarrow$ 200000) を用い、条件1で測定した。アセトアミノフェン、無水カフェイン、リボフラビン、ブロムワレリル尿素、エテンザミド、8-クロルテオフィリン、グアヤコールスルホン酸カリウム及びブセチンの定量は内標準溶液にフェノールの水溶液 (3 $\rightarrow$ 500) を用い、条件2で測定した。塩酸ピ

リドキシン及びニコチン酸アミドの定量は内標準溶液にパラオキシアニソ酸ブチルのメタノール溶液 (1 $\rightarrow$ 200) を用い、条件3で測定した。

3 結果及び考察

3.1 HPLC 条件の検討

3.1.1 充てん剤の検討 充てん剤としては、溶出挙動が明確で分離能に優れ適用範囲の広い ODS シリカを用い、OTC 製剤の同時定量法を検討したが、充てん剤のメーカー差あるいはロット差が大きく、常に同一の溶離条件での分析は困難であった。そこで ODS シリカの性能差についての検討を行った。市販 ODS シリカ 8 種について、多環芳香族化合物及び風邪薬に配合される成分を用いて、その溶出挙動を検討した結果を Table 1 に示す。多環芳香族化合物については充てん剤のメーカー差による影響は小さく、いずれの充てん剤を用いてもほぼ同様の溶出パターンを得たが、風邪薬成分を用いた場合はこの影響が大きく現れた。風邪薬成分のうち塩基性成分については SDS をカウンターイオンとするイオン対 HPLC 条件を設定したが、この条件では、Lichrosorb RP 18 が非常に保持が強く、塩基性成分のほとんどが溶出しなかった。これは RP 18 がエンドキャッピング処理が施されておらず、シラノール基への吸着が大きいため

Table 1 Separation behavior (k') of commercial ODS silica gel

	Column No.							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1) Aromatic compounds								
Benzene	1.78	1.99	1.86	1.90	1.90	1.86	1.67	2.17
Naphthalene	4.05	4.50	4.62	4.33	4.52	4.73	3.40	5.10
Diphenyl	6.29	6.81	7.23	6.66	6.90	7.33	5.19	8.14
Phenanthrene	9.92	10.71	10.52	9.19	10.19	11.02	6.86	11.62
Anthracene	11.70	12.67	12.19	10.22	11.61	12.62	7.57	13.19
2) Basic compounds								
<i>dl</i> -Methylephedrine hydrochloride	2.18	2.35	2.54	1.86	8.43	1.95	1.86	2.33
Noscapine	3.30	3.74	4.09	3.29	—	3.48	3.10	4.02
Thiamine nitrate	4.83	5.00	5.67	3.28	—	4.45	3.48	5.76
Dextromethorphan hydrobromide	6.47	7.10	7.40	5.67	—	7.97	5.21	8.20
Carbinoxamine maleate	8.87	9.21	10.14	6.62	—	13.57	6.33	11.76
3) Neutral and acidic compounds								
Acetaminophen	1.48	2.05	1.95	2.05	1.86	1.48	1.85	2.05
Caffeine anhydrous	4.43	6.12	4.81	4.81	5.00	5.91	4.43	4.62
Riboflavin	6.52	7.69	9.48	9.38	9.65	5.95	9.44	9.82
Phenol	9.00	9.48	10.54	6.71	8.57	6.38	5.95	11.06
Potassium guaiacolate sulfonate	12.14	12.71	15.19	6.71	10.81	4.96	8.39	11.95

Column No. I: TSK LS-410, II: TSK ODS-120A, III: TSK ODS-120T, IV: Nucleosil C18, V: Lichrosorb RP-18, VI: Zorbax ODS, VII: μ Bondapak C18, VIII: Develosil ODS

と考えられる。他の7種の充てん剤についても比較的溶出挙動の差は大きかった。又、中酸性成分については、TBAを用いるイオン対 HPLC 条件を設定し検討した。この系での溶出挙動差が最も大きく現れ、溶出順序の逆転も観察された。又、ロット差について TSK-120A 3 ロットを用い風邪薬の中酸性成分について検討を行った結果を Fig. 1 に示す。この系ではロット差も比較的大きく現れる。以上の結果より、品質管理試験に際しての充てん剤の選定方法としては、カラム検定法として一般的に用いられている多環芳香族化合物を用いる方法では

Fig. 1 Comparison of differences in elution behavior among 3 lots of TSK 120A

1) acetaminophen; 2) caffeine anhydrous; 3) riboflavin; IS) phenol; 4) potassium guaiacolate sulfonate; Mobile phase: water-acetonitrile-50 mM tetrabutylammonium hydroxide (pH 6.0) (17 : 2 : 1); Flow rate: 1 ml/min; Wavelength: 280 nm

実用的には不十分であり、特に溶出挙動の異なる風邪薬の中性及び酸性成分による検定法を設定することが、一定性能の充てん剤を確保するために必要である。

3.1.2 測定波長の設定 試料 A の HPLC 条件 1 及び 2 では、それぞれ配合量の最も少ないマレイン酸カルビノキサミン及びリボフラビンを検出するため、それ

Fig. 2 HPLC chromatograms of sample A

(a) : 1) *dl*-methylephedrine hydrochloride, 2) noscapine, 3) thiamine nitrate, 4) dextromethorphan hydrobromide, IS) phenanthrene, 5) carbinoxamine maleate; Mobile phase: acetonitrile-water-phosphoric acid (510 : 490 : 1) containing 0.5% sodium dodecyl sulfate; Flow rate: 1 ml/min; Wavelength: 210 nm. (b) : 1) caffeine anhydrous, 2) riboflavin, IS) phenol, 3) potassium guaiacolate sulfonate, 4) buccetin; Mobile phase: water-acetonitrile-50 mM tetrabutylammonium bromide (pH 6) (17 : 2 : 1); Flow rate: 1 ml/min; Wavelength: 280 nm

Table 2 Effect of solvent composition on extraction efficiency

Ingredient	Extraction efficiency, %			
	500 : 500 : 1†	650 : 350 : 1	700 : 300 : 1	800 : 200 : 1
Buccetin	88.9	95.4	99.8	99.4
Carbinoxamine maleate	100.3	98.4	101.3	98.6
Dextromethorphan hydrobromide	97.5	99.0	99.8	97.9
Noscapine	98.9	99.0	100.0	98.6
Methylephedrine hydrochloride	96.3	97.5	100.8	98.3
Potassium guaiacolate sulfonate	96.0	100.9	100.5	98.9
Caffeine anhydrous	94.2	99.0	100.5	101.0
Thiamine nitrate	98.5	98.6	100.0	99.1
Riboflavin	102.2	99.8	100.6	89.6

† Ratio of solvents, methanol : water : phosphoric acid; Sample A, $n=3$

ぞれ 210 及び 280 nm に設定した。

3.1.3 カラム温度の設定 第 11 改正日本薬局方に収載されている HPLC による定量法の多くは、カラム温度を室温に設定しているが、長時間にわたって測定する場合、室温の変化に伴い保持時間が変動することから、温度の設定が容易な 50 °C とした。

3.1.4 注入量の影響 一般に逆相系 HPLC では、溶離液の極性より低い極性の溶媒を多量に注入するとピーク形状に影響することが報告⁴⁾されており、試料 A の HPLC 条件 2 では溶離液と試料溶液の有機溶媒含量に約 60% の差があるため、注入量の影響について検討した。その結果、注入量 30 μ l 以上ではいずれの成分とも

ピークが割れる現象が見られたが、20 μ l 以下ではピーク形状は良好であったので、すべての HPLC 条件での注入量は 10 μ l とした。

3.2 抽出溶媒の検討

製剤中に配合されている複数の有効成分をすべて同一の操作で抽出できれば、HPLC での同時定量も可能となり、試験効率の向上が達成できる。しかし個々の配合成分の溶解性などの性質は大きく異なり、これらをすべて効率良く抽出するには抽出溶媒の検討が必要である。経験的に水-メタノール混液に少量のリン酸を加えて酸性とした混合溶媒が抽出効率が良いと分かっているので、この溶媒系でメタノール濃度を変化して風邪薬成分の抽出率を検討した。この結果を Table 2 に示す。メタノール濃度 65% 以下ではブセチンの抽出率が悪く、80% 以上ではリボフラビンの抽出率が悪かった。70% の場合にすべての成分が効率良く抽出されたので、以後抽出溶媒にはこの割合を用いることとした。

3.3 各種製剤への応用

以上の抽出条件及び HPLC 条件を用いて、風邪薬のほか、解熱鎮痛薬、ビタミン剤及びめまい薬の定量を行った結果を Table 3 に、又、このときのクロマトグラ

Table 3 Analytical results for four different types of samples

Ingredient	$\bar{X}_s$, %	R.S.D., %
Sample A		
Bucetin	99.8	0.3
Carbinoxamine maleate	101.3	1.1
Dextromethorphan hydrobromide	99.8	0.4
Noscapine	100.0	1.7
<i>dl</i> -Methylephedrine hydrochloride	100.8	0.3
Potassium guaiacolsulfonate	100.5	1.3
Caffeine anhydrous	100.5	0.8
Thiamine nitrate	100.0	0.6
Riboflavin	100.6	0.4
Sample B		
Acetaminophen	99.1	1.0
Ethenzamide	100.8	2.4
Bromovalerylurea	102.2	2.0
Caffeine anhydrous	103.3	2.1
Sample C		
Pyridoxine hydrochloride	100.3	0.4
Nicotinamide	98.0	0.2
Riboflavin	99.5	0.1
Thiamine nitrate	100.2	0.5
Sample D		
Dimenhydrinate	100.9	1.2
Pyridoxine hydrochloride	100.7	1.0

Sample A—Bucetin : 990 mg; Carbinoxamine maleate : 7.5 mg; Dextromethorphan hydrobromide : 48 mg; Noscapine : 48 mg; *dl*-Methylephedrine hydrochloride : 60 mg; Potassium guaiacolsulfonate : 180 mg; Caffeine anhydrous : 75 mg; Thiamine nitrate : 24 mg; Riboflavin : 12 mg/9 tablets. Sample B—Acetaminophen : 265 mg; Ethenzamide : 300 mg; Bromovalerylurea : 200 mg; Caffeine anhydrous : 50 mg/2 tablets. Sample C—Pyridoxine hydrochloride : 55 mg; Nicotinamide : 30 mg; Riboflavin : 12 mg; Thiamine nitrate : 5 mg/2 tablets. Sample D—Dimenhydrinate : 75 mg; Pyridoxine hydrochloride : 15 mg/3 tablets

Fig. 3 HPLC chromatogram of sample C

1) ethenzamide, 2) pyridoxine hydrochloride, IS) butyl parahydroxybenzoate; Mobile phase : water-acetonitrile-phosphoric acid (700 : 300 : 1) containing 0.5% sodium dodecyl sulfate; Flow rate : 1 ml/min, Wavelength : 210 nm

ムの代表例を Fig. 2 及び Fig. 3 に示す. 全成分とも回収率及び再現性は良好で, 本法が広範囲の製剤に適用可能であることが分かった.

以上のごとく簡単な抽出操作と HPLC 条件を組み合わせることにより, 同一の操作で多種の製剤の分析が可能となった. このような方法はラボラトリーオートメーションにとっても大変有利であり, この点での能率向上も可能である.

(1987 年 4 月, 日本薬学会第
107 年会において一部発表)

文 献

- 1) 日本公定書協会編: “改訂 かぜ薬・解熱鎮痛薬の試験法”, (1986), (薬業時報社).
- 2) 江島 昭, 立沢政義, 松田リエ子: 医薬品研究, **12**, 881 (1981).
- 3) 江島 昭, 立沢政義, 松田リエ子: 医薬品研究, **12**, 892 (1981).
- 4) 小山純一, 松本 俊, 大津 裕, 中田興亜: 分析化学, **37**, 142 (1988).

☆

Analytical methods for quality control of multi-component drugs analysis by HPLC. Yuji Iro, Kazuyoshi YOSHIDA, Mitsuichi HANDA, Nobuo YUNOKI and Tsuguchika YOSHIDA (Research Center, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., No. 1-403, Yoshino-cho,

Ohmiya-shi, Saitama 330)

Standardization of analytical procedures for OTC (over-the-counter) drugs using reversed-phase HPLC was studied in order to improve the efficiency of quality control. As commercial ODS packings have pronounced differences in elution behavior among manufacturers and among lots, the standard test method for obtaining a packing material having a constant elution behavior was established by testing the elution behavior of ingredients involved in anti-cold drugs. Then, extraction conditions for the simultaneous determination of anti-cold drugs were investigated. As a result, good recoveries were obtained by using a methanol-water-phosphoric acid mixture (700:300:1) as the extraction solvent and ultrasonication. HPLC conditions for determining the active ingredients in anti-cold drugs, antipyretic analgesics, vitamin preparations and antivertigo drugs were as follows: 1: a mixture of acetonitrile-water-phosphoric acid (510:490:1) containing 0.5% SDS, 2: a mixture of water-acetonitrile-50 mM TBA (pH 6) (17:2:1), 3: a mixture of water-acetonitrile-phosphoric acid (700:300:1) containing 0.5% SDS. Analytical results under the above mentioned extraction and HPLC conditions, showed good recovery and reproducibility. The efficiency of quality control was improved by this procedure.

(Received June 20, 1988)

Keyword phrases

quality control; OTC drug; HPLC; simultaneous determination.