技術論文

ブロモピロガロールレッドとニオブ(V)を用いる製剤中の
マレイン酸クロルフェニラミンの吸光光度定量

中川 幸代*, 森 逸男*, 松尾 敬子*, 重村 康之*, 藤田 芳一®*

Spectrophotometric determination of chlorpheniramine
maleate in pharmaceutical preparations
with Bromopyrogallol Red and niobium(V)

Sachiyo NAKAGAWA, Itsuo MORI, Takako MATUO,
Yasuyuki SHIGEMURA and Yoshikazu FUJITA*

*Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1, Nasahara, Takatsuki-shi, Osaka 569-1024

(Received 4 June 1999, Accepted 17 July 1999)

A spectrophotometric method for the determination of chlorpheniramine maleate (CPM) was established by using Bromopyrogallol Red (BPR) and niobium(V). This method can be used to determine 2 ~ 32 µg/10 ml CPM at 635 nm. The apparent molar absorptivity is $8.0 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ with a relative standard deviation ($n = 8$, 19.6 µg) of 0.83%. The proposed method, which is a simple procedure without separation, was applied to assays of CPM in pharmaceutical preparations (eye drop, syrup, capsule and lotion). The analytical results and recoveries were satisfactory.

Keywords : chlorpheniramine maleate; spectrophotometry; pharmaceutical preparations; Bromopyrogallol Red and niobium(V).

1 緒 言

著者らは、色素、金属イオン及び被分析物質（薬物）間の三元錯体生成反応系を利用する薬物定量法が、色素-薬物あるいは金属イオン-薬物の二元錯体生成反応系を用いた従来法に比べ、感度、選択性、簡便性などの種々の点で優れていることを認め、本反応系を用いてこれまで多くの薬物の実用分析法を報告した^{1)~5)}。今回は抗ヒスタミン薬として複合製剤中に広範囲に含有されているマレイン酸クロルフェニラミン（CPM）に対し、色素としてブロモピロガロールレッド（BPR）、金属イ

オンにニオブ(V) $\{\text{Nb(V)}\}$ を用いるとき CPM との発色反応が鋭敏であり、既に報告した *o*-ヒドロキシヒドロキノンフタレイン-チタン(IV)-フッ化物 $\{\text{QP-Ti(IV)-F}^-\}$ 法⁵⁾ に優ることを認めた。したがって、その最適定量条件を設定し、市販複合製剤（点眼剤、シロップ剤、カプセル剤、ローション剤）中の CPM の分析に応用したところ、良好な結果が得られたので報告する。

2 実 験

2.1 試薬及び装置

CPM 溶液：シグマ製の CPM を水に溶解して $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ 水溶液として用いた。

BPR 溶液：ヤンセン製の BPR を用い、メタノールに

* 大阪薬科大学：596-1094 大阪府高槻市奈佐原 4-20-1

溶解して、 2.0×10^{-3} M を調製して用いた。

Nb(V) 溶液: キシダ化学製の原子吸光用標準溶液 (1000 ppm) を適宜 1.0×10^{-3} M 水溶液として用いた。

Tween 40 溶液: ナカライテスク製 Tween 40 を水に溶解して 1.0% 水溶液として用いた。

緩衝液: Walpole の 0.2 M 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を液性調整に用いた。

その他の試薬は、市販特級品をそのまま用いた。また本実験では、イオン交換水、再蒸留メタノールを使用した。

分光光度計: 吸収スペクトル及び吸光度の測定に島津製作所製 UV-160A 型分光光電光度計で層長 10 mm の石英製セルを用いた。

pH メーター: pH の測定には堀場 F-22 型複合電極 pH メーターを用いた。

2・2 定量操作

10 ml のメスフラスコに 1.0×10^{-3} M Nb(V) 液 0.5 ml, 1.0% Tween 40 液 1.0 ml, Walpole 緩衝液 (pH 4.3) 2.5 ml 及び 2.0×10^{-3} M BPR 液 0.6 ml を加え、次いでほぼ 2~32 μ g までの CPM を加え水で 10 ml とする。別に同様に処理して得た BPR-Nb(V) 液 (B 液) とともに 30 $^{\circ}$ C で 20 分間静置後 BPR-Nb(V)-CPM 液 (A 液) の 635 nm での吸光度を B 液を対照に測定し、あらかじめ作成して得た検量線より CPM 量を求める。

3 結果と考察

3・1 色素及び金属イオンの選定

まず、使用する色素及び金属イオンの組み合わせの予備的検討として、色素に BPR, ピロガロールレッド (PR), ピロカテコールバイオレット (PV), クロムアズロール B (CAB), キシレノールオレンジ (XO), フェニルフルオロン (PF), QP など、また金属イオンに Nb(V), タンタル (V) {Ta(V)}, スズ (IV) {Sn(IV)}, ジルコニウム (IV) {Zr(IV)}, チタン (IV) {Ti(IV)}, モリブデン (VI) {Mo(VI)} などを選びその発色反応を比較した。その結果、色素及び金属イオンの鋭敏性の順序はそれぞれ $BPR \gg CAB > PV > QP > PR > PF$ 及び $Nb(V) > Sn(IV) > Zr(IV) > Ti(IV) > Mo(VI) > Ta(V)$ であった。したがって、本 CPM の定量法に際しては、市販色素の BPR と金属イオンの Nb(V) を用いて基礎的定量条件の設定を行った。

3・2 吸収スペクトル

非イオン性界面活性剤 Tween 40 共存下, pH 4.3 付近

Fig. 1 Absorption spectra obtained under the standard procedure (2・2)

CPM taken: 8.0×10^{-6} M; Curve 1: CPM-Nb(V)-BPR against water; Curve 2: Nb(V)-BPR against water; Curve 3: curve 1 minus curve 2

で BPR-Nb(V)-CPM (A 液) と BPR-Nb(V) 液 (B 液) の間には明りょうな発色差が認められ、635 nm 付近の吸光度変化が CPM 濃度に比例するので、以下の定量操作に 635 nm を用いることにした。

3・3 pH の影響

Walpole の 0.2 M 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を全量 10 ml に対し 2~4 ml 加えて、最終的に pH 3.9~4.7 に液性調整するとき、ほぼ一定で最大の吸光度を示した。

3・4 界面活性剤の影響

生成する発色錯体の水溶性化、安定化及び定量感度の上昇を目的として非イオン性 [Tween 40, Tween 80, Tween 20, Triton N-101, Triton X-405, Triton X-305, Triton X-100, Brij 35, Brij 58, ポリビニルアルコール ($n=500$), ポリビニルピロリドン (K-30), アラビアゴム末], 陽イオン性 [塩化ステアリルトリメチルアンモニウム, 塩化セチルピリジニウム], 陰イオン性 [ラウロイルサルコシナトリウム, 硫酸ドデシルナトリウム] あるいは両性 [Swanol 301] 界面活性剤の併用を検討した。その結果、陽イオン性、陰イオン性及び両性界面活性剤の共存は本発色反応を著しく妨害した。非イオン界面活性剤としては、Tween 系が最も高感度を与えるが、そのうち 1.0% Tween 40 液を全量 10 ml に対し

Table 1 The sensitivities and reproducibilities of the proposed method with drugs studied

Drug	$\epsilon^a)$ ($\times 10^4$)	RSD ^{b)} , %
CPM	8.0	0.83
Diphenhydramine	0.85	1.25
Astemizole	0.80	1.34
Ketotifen	0.37	2.07
Histamine	6.0	0.85
Papaverine	4.0	0.92

a): molar absorptivity ($1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)b): relative standard deviation ($n = 8$)

0.5～2 ml 使用するとき, A 液は安定で再現性ある吸光度を示した.

3・5 Nb(V) 及び BPR 量の影響

CPM ($2.0 \times 10^{-6} \text{ M}$, $4.0 \times 10^{-6} \text{ M}$) 及び $5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ Nb(V) に対し, BPR 液を Nb(V) 液のほぼ 2 倍以上用いるとき, 一定の吸光度を示した. したがって, B 液の吸光度及び CPM の定量限界を考慮して, $5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ Nb(V) 及び $1.2 \times 10^{-4} \text{ M}$ BPR を定量操作に用いることにした.

3・6 発色体の安定性

発色体の安定性を室温で検討したところ, 15～60 分間静置するとき, 吸光度はほぼ一定値を示すが, より感度の上昇と再現性の向上を目的として, 加温操作を検討した. 加温温度として 20, 25, 30, 35, 40℃, 加温時間として 10～60 分間静置後の吸光度を比較した結果, 30℃ で 20 分間静置後の吸光度を測定するとき, 感度, 再現性とも最適であった. また, 試薬添加順序の検討を行ったところ, Nb(V)→界面活性剤→緩衝液→BPR→CPM の順に添加するとき, 最も高い吸光度が得られた.

3・7 検量線の作成

2・2 の定量操作に従って CPM の検量線を作成したところ, $2 \sim 32 \mu\text{g}$ の CPM 濃度において良好な直線 ($Y = 0.020X - 0.001$, $r = 0.998$) を得た. なお, 定量下限は 10σ (σ は空試験試料の測定値の標準偏差) に相当する CPM 濃度とした. CPM 及びその他二, 三の抗ヒスタミン薬関連化合物と見掛けのモル吸光係数 (ϵ , $1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) 及び相対標準偏差 (RSD) を Table 1 に示す. 本操作における CPM 定量時の感度は QP-Ti(IV)-F⁻法³⁾のほぼ 1.2 倍以上, ジンコン法⁶⁾の 2.4 倍以上を示し, 分析精度も向上することを認めた. なお, 定量感度はへ

Table 2 Effect of foreign substances on the recovery of CPM

Substance	Molar ratio [†]	Recovery, %
None	—	100.0
Fe(III), alum	0.4	103.3
Cu(II), sulfate	0.4	92.8
NaCl	100	100.0
KNO ₃	100	100.0
KH ₂ PO ₄	20	98.5
Glucose	100	100.0
Glycine	100	100.0
Taurine	100	100.0
Caffeine	100	100.0
Citric acid	20	100.0
Ascorbic acid	50	100.0
Thiamine	5	100.0
Pyridoxine	20	100.0
Norephedrine	40	102.5
Lysozyme	(0.5 μg)	101.6
Methylcellulose	(50 μg)	100.0

CPM taken: $5.0 \times 10^{-6} \text{ M}$; [†]: substance/CPM

Table 3 Determination of CPM in pharmaceutical preparations

Sample	Content/mg			Recovery, %
	Nominal amount	Present method	Other method ^{a)}	
A	0.300	0.307	0.310	98.3
B	0.100	0.108	1.098	97.7
C	0.300	0.287	0.169	100.5
D	3.200	3.330	— ^{b)}	103.9
E	0.400	0.384	— ^{b)}	99.5
F	2.000	2.126	— ^{b)}	102.8

Sample A: eye drop (in 1 ml), also contained ϵ -aminocaproic acid (10 mg), dipotassium glycyrrhizinate (1.7 mg), phenylephrine. HCl (1.0 mg); Sample B: eye drop (in 1 ml), also contained tocopherol acetate (0.15 mg), neostigmine (0.05 mg), aminoethylsulfonic acid (0.1 mg); Sample C: syrup (in 1 ml), also contained codeine phosphate (1.5 mg), methylephedrine. HCl (2.0 mg), *Senega* extract (1.2 mg); Sample D: capsule (in 1 capsule); also contained phenylpropanolamine. HCl (40.0 mg), *Belladonna* alkaloid (0.2 mg); Sample E: syrup (in 1 ml), also contained dihydrocodeine phosphate (1.0 mg), guaifenesin (5.7 mg), caffeine (2.1 mg); Sample F: lotion (in 1 ml); also contained ephedrine. HCl (1.5 mg), dibucaine. HCl (1.0 mg), cetylpyridinium chloride (1.0 mg).

a) QP-Ti(IV)-F⁻ method, b) undetermined

テロ環窒素原子を持つ薬物が相対的に高いことが示唆されるが、より詳細な検討を行う必要がある。

3・8 共存物質の影響

本定量法における共存物質の影響を CPM (5.0×10^{-6} M) を用いて検討したところ、CPM の 5 倍モル量以内のチアミン、20 倍モル量以内のクエン酸、ピリドキシン、50 倍モル量以内のアスコルビン酸、ノルエフェドリン、多量の塩化ナトリウム、グルコース、グリシン、タウリン、カフェインなどの共存は妨害しなかった。一方、金属イオンの鉄(III)イオン、銅(II)イオンなどの共存はそれぞれ正、負の誤差を、また少量のリゾチームは正の誤差を与えた。結果を Table 2 に要約した。

3・9 錯体の組成

本発色体の組成を連続変化法、モル比法で検討したところ、Nb : BPR : CPM = 1 : 2 : 1 の結果が得られた。したがって、本発色反応で生成する錯体は、Nb(BPR)₂ (CPM) の三元錯体と推定されるが、本質的に本発色体がどのような錯体 (イオン会合錯体、混合配位子錯体、など) なのかといった詳細な検討が今後必要である。

3・10 製剤中の CPM 分析

本定量法を市販製剤 (点眼剤、シロップ剤、カプセル剤、ローション剤) 中の CPM の分析に応用したところ、Table 3 に見られるように分析値、回収率とも良好で、同時に併行実験した QP-Ti(IV)-F⁻ 法⁵⁾ に比べ良好な結果を示した。したがって本法は、複合製剤中の CPM の実用分析法として十分適用できることを認めた。

(1998 年 4 月、日本薬学会)
第 118 年会において発表)

文 献

- 1) Y. Fujita, I. Mori, S. Kitano: *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1289 (1983).
- 2) Y. Fujita, I. Mori, K. Fujita, Y. Nakahashi, T. Tanaka: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 5004 (1987).
- 3) Y. Fujita, I. Mori, M. Toyoda: *Anal. Sci.*, **6**, 807 (1990).
- 4) Y. Fujita, I. Mori, M. Toyoda: *Anal. Sci.*, **8**, 313 (1992).
- 5) Y. Fujita, I. Mori, S. Kitano: *Bunseki Kagaku*, **32**, E327 (1983).
- 6) 服部忠雄, 鷺尾幸夫, 井上正秀: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **27**, 707 (1978).

要 旨

ピロガロールレッド及びニオブ(V) との三元錯体生成反応を用いるマレイン酸クロルフェニラミンの簡便、迅速で高感度な吸光度定量法を開発した。635 nm での吸光度を測定する定量操作における相対標準偏差は 0.83% (19.6 µg, $n=8$) であった。マレイン酸クロルフェニラミンと配合されやすい薬物の共存の影響もほとんどなかった。本法を市販の複合製剤 (点眼剤、シロップ剤、カプセル剤、ローション剤) 中のマレイン酸クロルフェニラミン分析に応用したところ、回収率はほぼ 98~104% を示し、分析値も良好であり、実用分析法として十分利用できることを認めた。