衛生化学
EISEI KAGAKU
25 (6) 295-300 (1979)

ガスクロマトグラフィーによる製剤の定量分析 (第5報¹⁾)
ルビジウムアルカリフレイム検出器を用いた総合感冒剤中のマレイン酸
クロルフェニラミン及び塩酸メチルエフェドリンの微量分析²⁾

鯉渕昌信, 江島 昭
国立衛生試験所³⁾

Determination of Pharmaceutical Preparations by Gas Chromatography. V.¹⁾
Determination of Chlorpheniramine Maleate and *dl*-Methylephedrine Hydrochloride
using a Nitrogen Selective RbCl-Alkali Flame Ionization Detector²⁾

MASANOBU KOIBUCHI and AKIRA EJIMA
National Institute of Hygienic Sciences³⁾

(Received June 13, 1979)

Gas-liquid chromatographic determination of nanogram quantities of chlorpheniramine maleate (CP-M) and *dl*-methylephedrine hydrochloride (ME-HCl) in antipyretic and analgesic preparations was examined.

Prescribed amounts of CP-M and ME-HCl in the preparations are 0.4—1.5 mg and 2—5 mg, respectively. Rubidium chloride alkali flame ionization detector was more sensitive for nitrogen-containing compounds than normal flame ionization detector and could easily detect 40 ng of CP-M which showed 30 % of the peak height of full scale without base line drift or noise.

Each base was extracted from alkaline aqueous solution with benzene containing internal standard. If Noscamin was prescribed for the preparation, it was necessary to decompose it in sodium hydroxide solution by warming at 50° for 30 min and extraction with benzene because Noscamin has a long retention time and interferes the routine analysis of CP-M and ME-HCl. Benzene layer (1.0 μ l) was injected into the gas chromatograph. Internal standards used were *N*-butyryl-*o*-toluamide for ME-HCl and diphenylpyraline for CP-M.

Gas chromatographic conditions were: 3.5 % JXR on Chromosorb G (80—100 mesh, acid-washed and silane-treated), glass column (2.5 mm $\times$ 2 m) at a temperature of 180°, nitrogen as a carrier gas at the flow rate of 30 ml/min, and using RbCl alkali flame ionization detector.

Keywords—chlorpheniramine maleate; methylephedrine hydrochloride; RbCl alkali flame ionization detector; gas chromatography; analytical data of commercial sample

緒 言

現在市販されている総合感冒剤はいわゆる混合製剤で解熱鎮痛剤、鎮咳剤及び抗ヒスタミン剤等が配合されている。これらの成分は比較的配合量が多い解熱鎮痛剤と配合量の少ない鎮咳剤及び抗ヒスタミン剤に分類することができる。前者の分析についてはガスクロマトグラフ

ィー (GC) により迅速に、かつ精度よく定量できることをすでに報告した¹⁾。しかし、後者の配合量の少ない成分については、従来の水素炎イオン化検出器 (FID) を用いた GC では必ずしも満足ゆく結果が得られておらず、品質管理としての迅速性、精度なども検討する必要があるものと思われる。

1) 第4報: 井上哲男, 鯉渕昌信, 原真智子, 衛生化学, **19**, 23 (1973)。

2) 日本分析化学会第26年会発表, 山口, 1977年10月。

3) Location: I-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo (東京都世田谷区上用賀 I-18-1)。

一般に抗ヒスタミン剤や鎮咳剤は、他の配合剤に比べて作用が激しく、製剤1ケ中の含量もできるだけ表示量からのへだたりの少ないことが望まれており、衛生化学的見地からも、長期連用された場合など問題が起こる可能性もある。

今回著者らは最も繁用されている鎮咳剤である塩酸メチルエフェドリン (ME-HCl またその塩基を ME と記す) 及び抗ヒスタミン剤のマレイン酸クロルフェニラミン (CP-M またその塩基を CP と記す) の GC による分析法を検討し良好な結果を得たので報告する。

これらの製剤での配合量は通例1錠中 ME-HCl については 2—5 mg であるのに対して CP-M については 0.4—1.5 mg と少ない。このため CP-M の測定には FID を用いた GC では試料の抽出液を濃縮するかあるいは多量の検体を秤取する必要がある。濃縮を行なう場合主に有機溶媒に抽出された ME が濃縮操作で揮散することもあり、それを防止するためには操作に時間がかかる。一方濃縮操作を行なわない場合に検出感度に問題も生じてくることがある。しかしながら Karmen⁴⁾ らが提唱し、その後検討が重ねられて来たアルカリ金属炎イオン化検出器 (AFID) を用いることにより、含窒素化合物を特異的かつ高感度に検出することができるようになった。AFID は FID に比べ感度については窒素原子1個当たり約50倍の上昇が見られるが、しかしノイズが多いという欠点があり定量分析には再現性に難点があった。今回著者らは今迄の装置を改良し、ノイズを少なくすることに成功した。これによりこれまで行なわれていた前操作の繁雑さはほとんどなくなり、迅速にまた再現性よく総合感冒剤中の微量成分 CP-M を分析できることから、今回改良した AFID を用いる GC は製剤の品質管理にもじゅうぶん効果を上げ得ることがわかった。

実験の部

1. 試薬及び装置 塩酸メチルエフェドリン及びマレイン酸クロルフェニラミン；局方適品、ジフェニルピラリン塩酸塩 (DPP-HCl)；エーザイ製のもの、N-butyl-*o*-toluamide (BT)；*o*-toluidine 5 g に無水 *n*-酪酸のピリジン溶液 (50% v/v) 15 ml を加え、2時間放置後、減圧、60° で試薬を除き、ベンゼンから再結晶する。白色の結晶、mp 78—79°；その他の溶媒、試薬は試薬特級を用いた。アンモニア試液及び各規定の水酸化ナトリウム液は薬局方に従って調製した。

内部標準溶液——DPP-HCl 240 mg をとり、水 50 ml を加えて溶かし、1 N 水酸化ナトリウム液 5 ml を加え、

Fig. 1. Comparative Figures of RbCl-Alkali Flame Ionization Detector and Normal Flame Ionization Detector

1. FID-jet, 2. RbCl-tip, 3. Collector for Amp., 4. Porcelain pipe.
- A. RbCl-Alkali flame ionization detector.
- B. Normal flame ionization detector.

酢酸エチル (又はヘキサン、ベンゼン、トルエン) 100 ml ずつで3回抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、同じ溶媒を加えて 600 ml とする。この液に BT 1.2 g を加えて溶かす。

ガスクロマトグラフ——日立 163 (水素炎イオン化検出器付)、AFID はステンレス製で Fig. 1 に示すものを自製した。

カラム：JXR を35%の割合で Chromosorb G (80—100 mesh, 酸及びシラン処理したもの) に均一にコーティングし、内径 2.5 mm, 長さ 2 m の硬質ガラス製カラムに充填する。使用前3日間 230° で窒素を通じエージングしたものを用いた。

キャリアーガス：窒素を用い 30 ml/min.

水素：FID では 30 ml/min, AFID では 15 ml/min.

カラム温度：180°, 注入口温度：220°.

2. ルビジウムアルカリフレイム検出器 Fig. 1 に示したように装置に付属の FID より大型の検出器をステンレススチールで作成した。本器はアルカリ金属塩の着脱を容易にし、かつ保温性を高めるため磁製のパイプを挿入した。アルカリ金属塩は水素炎のノズルの先端に RbCl の粉末をプレスし外径 4 mm, 厚さ 3 mm の円柱

4) A. Karmen, L. Giuffrida, *Nature*, 201, 1204 (1964).

を作り中心にノズルの径と同じ径の穴をあけてとり付けた。含窒素化合物に対するよい感度と、少ないノイズのための水素量と空気量は、キャリアーガス 30 ml/min の場合、それぞれ 15 ml/min と 300 ml/min であった。

結果及び考察

FID と AFID(RbCl) の応答の比較

CP-M 0.60 mg を水 5 ml に溶かし、1 N 水酸化ナトリウム液 1 ml を加えて混和し、ベンゼン 15 ml を加えて振り混ぜたのを静置し、ベンゼン層 1.0 μ l を GC に注入する (CP-M として 40 ng)。これを FID を用いて測定すると Fig. 2 A—C に示すごとく定量分析に適するピーク高さを得るためにはかなり感度を上げねばならない。しかし、感度を上げるとベースラインにノイズもかなり入り、正確にピークを測定することは困難になる。

一方、AFID (RbCl) を用いて検出すると同じ 40 ng の CP-M でも増感されるため感度を下げて測定でき、Fig. 2-D に示すようにノイズも少なくピーク高さも十分のものが得られ、AFID の利用の効果が十分に示され AFID を用いる GC は製剤中に微量に配合された含窒素化合物の分析に適していることが明らかになった。

2. CP 及び ME の抽出溶媒及び溶媒量の検討

CP-M (1 mg) 及び ME-HCl (5 mg) の水溶液をとり、水を加えて 5 ml とし、1 N 水酸化ナトリウム 1 ml を加え、各々の塩基を有機溶媒で抽出する。使用した有機溶媒はベンゼン、トルエン、ヘキサン及び酢酸エチルで、各溶媒は 5.0 ml, 10.0 ml, 15.0 ml 及び 20.0 ml を用いた。各有機溶媒層から CP-M 0.6 mg 及び ME-HCl 3 mg に相当する容量を正確に量り、内部標準溶液

Fig. 2. Gas-liquid Chromatograms of Chlorpheniramine using Flame Ionization Detector (FID) and Rubidium Chloride-Alkali-flame Ionization Detector (AFID(RbCl))

Gas chromatographic conditions: 2.5 mm, i. d., 2 m at 180°; injection temp. 220°, carrier gas nitrogen 30 ml/min, hydrogen (for AFID) 15 ml/min.

40 ng of chlorpheniramine maleate was injected.

A—C: with FID, D: AFID(RbCl).

Attenuation: A, 10×1 ; B, 10×2 ; C, 10×4 ; D, $10^2 \times 4$.

TABLE I. Effect of Solvent for Recovery of Chlorpheniramine and Methylephedrine from Aqueous Solution

Solvent	Drugs (Found %)	
	Chlorpheniramine maleate add 1.0 mg	methylephedrine hydrochloride add 5.0 mg
Ethylacetate		
5 ml	100.0	100.0
10 ml	89.1	92.2
15 ml	86.4	90.2
20 ml	87.4	87.4
Toluene		
5 ml	100.0	100.0
10 ml	99.9	99.1
15 ml	100.2	100.6
20 ml	100.7	100.5
Benzene		
5 ml	100.0	100.0
10 ml	101.3	100.6
15 ml	99.7	99.9
20 ml	100.1	100.0
Hexane		
5 ml	100.0	—
10 ml	99.1	—
15 ml	100.0	—
20 ml	100.7	—

の一定量及び各溶媒を加えて 17 ml とする. 溶媒 5.0 ml 用いた時の抽出率を 100% とし, それぞれ 1 回の抽出による抽出率を求めた. Table I に示すように酢酸エチルでは溶媒量が増えると抽出率が減少したが, 他の溶媒では溶媒量による抽出効率は変らなかった. 酢酸エチルは水を溶かし, 溶媒量として容量が増加するため見掛けの抽出率が減ったものと思われる. 以上の結果から抽出には 15 ml のベンゼンを用いることにした.

3. CP-M 及び ME-HCl の検量線

CP-M 0.4—1.2 mg, ME-HCl 1.25—3 mg をとり, 水 5 ml を加えて溶かし, 1 N 水酸化ナトリウム液 1 ml を加え, 内部標準溶液(ベンゼン) 15 ml を正確に加え, よく振り混ぜ, ベンゼン層 1.0 μ l を GC に注入し, それぞれの内部標準に対するピーク高比を求め検量線を書いたところ Fig. 3 に示すように直線を示し定量性のあることを確認した.

4. くり返し注入による再現性

CP-M 及び ME-HCl それぞれについて同一溶液をくり返し注入し, そのピーク高比の再現性をみたところ, Table II に示すようにいずれの成分も c. v. は小さく, 製剤分析への利用が可能であった.

Fig. 3. Calibration Curves for Chlorpheniramine Maleate and Methylephedrine Hydrochloride

Diphenylpyraline was the internal standard for chlorpheniramine.

N-Butyryl-*o*-toluamide was the internal standard for methylephedrine.

TABLE II. Repeatability of Chlorpheniramine and Methylephedrine with AFID(RbCl) using Internal Standard Method

	Peak height ratio					
	Chlorpheniramine maleate			Methylephedrine hydrochloride		
	0.411 mg	0.822 mg	1.233 mg	2.53 mg	5.06 mg	7.59 mg
1	0.326	0.709	1.099	0.888	1.809	2.803
2	0.329	0.701	1.112	0.888	1.788	2.782
3	0.327	0.702	1.107	0.885	1.798	2.746
4	0.328	0.701	1.114	0.879	1.795	2.778
5	0.329	0.704	1.129	0.882	1.792	2.757
6	0.328	0.711	1.115	0.877	1.798	2.780
7	—	—	—	0.872	1.785	2.781
Means	0.328	0.705	1.113	0.882	1.795	2.775
s	0.001	0.004	0.010	0.006	0.008	0.019
c. v.	0.30%	0.60%	0.89%	0.68%	0.45%	0.68%

5. ノスカピンが配合されている製剤に対する処理

ノスカピンは総合感冒剤に CP-M 及び ME-HCl と一緒に配合されている場合が多いが、CP-M 及び ME-HCl の分析温度では CP の流出したかなり後に流出して来る。しかし、ノスカピンは CP-M や ME-HCl などと同時に分析できるものではなく、かなり後から流出するためブロードのピークになってしまう。従って CP-M 及び ME-HCl を連続して多数分析する場合、後からノスカピンのブロードなピークが流出し、ルーチン分析に支障を来たしてしまう。このため、あらかじめノスカピンの除去が必要になって来た。ノスカピンはアンモニア溶液中では分解しないが、水酸化ナトリウム溶液中では徐々に分解し有機溶媒に抽出されなくなり、CP 及び ME とあらかじめ分離することが可能であると思われるので、まずノスカピンの分解条件を検討し、続いてその条件における CP 及び ME の安定性を検討した。

塩酸ノスカピン溶液 (1 mg/ml) 5.0 ml をとり、コン

Fig. 4. Effect of Sodium Hydroxide Concentration for Decomposition of Noscapine

A : room temperature, 1.0 ml added, standing time 1 hr.
 B : 35°, 1.0 ml added, standing time 1 hr.
 C : 35°, 2.0 ml added, standing time 1 hr.
 D : 50°, 1.0 ml added, standing time 30 min.

TABLE III. Stability of Chlorpheniramine and Methylephedrine in 1 N Sodium Hydroxide Solution at 50°

Chlorpheniramine maleate add 1.0 mg to 15 ml 1 N NaOH			Methylephedrine hydrochloride add 5.06 mg to 15 ml 1 N NaOH		
standing time	found(mg)	found(%)	standing time	found(mg)	found(%)
15 min	1.003	100.3	10 min	5.09	100.6
30 min	0.998	99.8	20 min	5.05	99.8
60 min	1.007	100.7	30 min	5.08	100.3
90 min	1.013	101.3	40 min	5.07	100.2
			60 min	5.16	101.9
			90 min	5.14	101.5

トロールにアンモニア試液 1 ml を加え、その他には 1 N—5 N の水酸化ナトリウム液 1 ml—2 ml を加え、室温、35° 及び 50° に於けるノスカピンの分解をみた。その結果を Fig. 4 に示した。

ノスカピンは水酸化ナトリウム濃度が低い時や、温度が低い時はかなり残存するが、ある程度の温度をかけ、アルカリ濃度を高くし、かつ反応時間を長くすることにより完全に分解させることができた。従って、5 N 水酸化ナトリウムを 1 ml 加え（水溶液中のアルカリ濃度は 5/6 N）50°、30 分間反応させることにした。次にノスカピンを分解させるこの条件で CP 及び ME がどの程度安定であるか確認しなくてはならない。即ち、CP-M 1 mg, ME-HCl 5 mg を 1 N 水酸化ナトリウム溶液中で 50°、30 分間反応させ、冷後、検量線の作成と同様に抽出し、回収率をみたのが Table III である。CP 及び ME はいずれも 90 分間までは安定であり、ノスカピン配合剤に対する処理の影響はないことがわかった。

6. 市販製剤の分析

以上検討した諸条件を考慮し、市販の錠剤、カプセル剤の分析法を次のように確立した。

錠剤 20 個をとり、その重量を精密に量り粉末とする。カプセル剤は 20 個をとり内容物の重量を精密に量り粉末とする。1 錠または 1 カプセルに相当する量を精密に量り、水 5 ml を加え各成分が溶出するようにときどき振り混ぜ 10—20 分間放置する（ノスカピンが配合されている場合は 5 N 水酸化ナトリウム液 1 ml を加え、50° で

TABLE IV. Prescription of Commercial Antipyretic and Analgesic Preparation tested

Aminopyrine	12.5 mg
Acetaminophen	10.0 mg
Allopyrabit	12.5 mg
dl-Methylephedrine Hydrochloride	2.0 mg
Caffeine anhydride	10.0 mg
Chlorpheniramine maleate	0.5 mg
Noscapin	2.0 mg
in 1 tablet	

TABLE V. Determination of Chlorpheniramine Maleate and Methylephedrine Hydrochloride in Commercial Preparation

	Chlorpheniramine maleate Found (%)	Methylephedrine hydrochloride Found (%)
1	103.5	95.4
2	104.0	97.4
3	102.5	96.6
Means	103.3	96.5

Fig. 5. Gas-liquid Chromatogram of Commercial Preparation contained Chlorpheniramine and Methylephedrine with AFID(RbCl)

Gas chromatographic conditions were same as in Fig. 2. 1: solvent, 2: methylephedrine, 3: I.S. for methylephedrine, 4: caffeine, 5: aminopyrine, 6: chlorpheniramine, 7: I.S. for chlorpheniramine. Attenuation: a) $10^2 \times 64$, b) $10^2 \times 4$.

30 分間振り混ぜる）。次に内部標準液 15 ml を正確に加えて激しく振り混ぜ、上層が分離するまで放置するか遠心分離する。上層 1.0 μ l を GC に注入し、それぞれの内部標準物質に対するピーク高比を求め、検量線から含量を求める。

Table IV に市販製剤の一つの処方を示し、この試料の分析で得られたクロマトグラムを Fig. 5 に、またその分析結果を Table V にあげた。

まとめ

総合感冒剤に微量に配合されている抗ヒスタミン剤 CP-M 及び鎮咳剤 ME-HCl の GC による簡易分析法について、ルビジウムアルカリフレイム検出器を用いて検討した。この検出器は含窒素化合物を特異的に検出できるため、微量に配合された含窒素医薬品でも濃縮操作の必要もなく、操作も非常に簡単ですむ利点がある。従って含量均一性試験への利用ができるものと思われる。

謝辞 本研究に当たり、御助言御援助をいただいた静岡薬科大学・村田敏郎教授ならびに国立衛生試験所大阪支所長・井上哲男博士に深謝いたします。