近赤外分光法による乳鉢と乳棒による混合方法の評価 — 乳鉢への充填率および混合回数の影響 —

松元美香^{*1}, 大谷道輝¹, 早野修一², 並木路広¹, 山村喜一¹, 大崎一男², 寺下敬次郎³

東京通信病院薬剤部¹, ブルカー・オプティクス株式会社², 大阪ライフサイエンスラボ³

Evaluation of Mixing Methods with Mortar and Pestle Using Near Infrared Spectroscopy — Effects of Filling Factor and Number of Mixings on Mixing Degree —

Mika Matsumoto^{*1}, Michiteru Ohtani¹, Shuichi Hayano², Michihiro Namiki¹,
Yoshikazu Yamamura¹, Kazuo Ohsaki² and Keijirou Terashita³

Department of Hospital Pharmacy, Tokyo Teishin Hospital¹, Bruker Optics K.K.²,
Osaka Life Science Laboratory³

[Received May 23, 2011
Accepted October 12, 2011]

Only a few studies have been done on mixing methods with mortars and pestles since many factors influence the mixing degree. Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) is used to determine the composition of food and drugs in the U.S.A., Europe, and Japan. In order to evaluate its utility in establishing mortar and pestle mixing methods, we examined the effects of the number of mixings and filling factor on the mixing degree of ethenzamide and lactose, using NIRS and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Keeping the mixing ratio constant at 1:1 and varying the filling factor from 5% to 50%, and the number of mixings from 20-80, a relationship between the filling factor and the number of mixings, and the coefficient of variation as an index of mixing was examined.

A filling factor of 50% was found to be the optimum condition for mortar and pestle mixing methods. As the number of mixings increased, the coefficient of variation tended to decrease. NIRS was a more rapid and simple method of evaluation than HPLC, and there was no difference between NIRS and HPLC regarding ethenzamide concentration. These results suggested that measurement by NIRS is applicable in establishing optimum conditions for mixing pharmaceutical powders with mortars and pestles.

Key words — Near-Infrared Spectroscopy (NIRS), mortars and pestles, ethenzamide, mixing method, filling factor

緒 言

散剤は、日本では小児および高齢者に繁用される剤形である。散剤の調剤において、混合後の主薬の均一性の確保は極めて重要である。特に治療域が狭く血液中薬物濃度モニタリングが必要な薬では、小児の場合賦形が必要な処方が多く、混合後の均一性が血液中薬物濃度に影響を与える^{1,2)}。ジゴキシンの1000倍希釈では調製時の均一性や付着により、患者の血中濃度に影響が出ている³⁾。

このように散剤は調剤工程により治療効果や副作用への影響が大きく出やすい剤形であり⁴⁾、混合条件の検討が不可欠である。散剤の混合における均一性に関する検討

は、V型混合機等の機械に関しては数多く行われているものの⁵⁻¹¹⁾、乳鉢・乳棒による検討は、混合回数、習熟度、配合比、粒子径等に限られている¹²⁻¹⁶⁾。使用されている散剤もジゴキシンのフェニトイン等の血液中薬物濃度モニタリングが必要な薬が主である。乳鉢・乳棒を用いた散剤の混合では、混合方法、配合比、乳鉢への充填率および調剤者の経験度等、均一性に影響を与える因子が多く、検討するにはサンプル数が膨大となる。高速液体クロマトグラフ(HPLC)法等では抽出および測定に膨大な時間を要することから、混合条件に関する検討が限られている。

近赤外分光(NIR)法は1970年代に米国の農務省により開発され、近赤外分光を試料に照射して、光の吸収・散

* 東京都千代田区富士見2-14-23

乱を測定し、スペクトルを用いて定量・定性分析を行う方法である。日本薬局方では第十五改正(日局15)より第2追補の参考情報に、「近赤外吸収スペクトル測定法」として収載され、日局16でさらに加筆されている。試料のサンプリングおよび抽出を必要とせず、非破壊測定、連続測定、非接触測定および多成分同時測定が可能であり、加えて迅速で簡便であることから、製薬会社では製造工程の品質特性を連続的に計測管理する Process Analytical technology (PAT) として、主薬・賦形剤粒子の混合分散状態の評価に用いられている¹⁷⁾。

本研究では、乳鉢・乳棒による散剤混合の評価方法としての NIR 法の有用性を調べるために、混合回数および乳鉢への充填率と混合度の関係について検討を行った。

方 法

1. 試料

試料は日本薬局方(日局)のエテンザミド(吉田製薬(株), Lot No. 107170)と乳糖として調剤で賦形等に汎用されている EFC 倍散用結晶乳糖(マイラン製薬(株), Lot No. 1570 HQ)を購入して用いた。HPLC の定量に使用したメタノールは液体クロマトグラフィー用を、その他の試薬類は試薬特級品を購入して用いた。

混合に用いた乳鉢は外径 11 cm, 内径 10 cm, 深さ 5 cm, 容量 330 mL(薬局型乳鉢・乳棒:(株)ニッカトー)を用いた。

2. NIR 法の検量線作成および HPLC 法との定量性の比較用試料の調製

検量線作成用試料の調製: 検量線作成にはエテンザミドと EFC 倍散用結晶乳糖を用い、エテンザミド濃度が 25%, 50%, 75% に完全混合されたと仮定した試料を用いた。すなわち、エテンザミドと EFC 倍散用結晶乳糖をそれぞれ 25% では 12.5 g と 37.5 g, 50% では 25.0 g と 25.0 g, 75% では 37.5 g と 12.5 g を正確に秤量した後、乳鉢・乳棒を用い 500 回混合した。検量線作成にはエテンザミド濃度が 0% と 100% の試料として、それぞれ EFC 倍散用結晶乳糖とエテンザミドを使用した。なお、乳鉢・乳棒で作成した検量線は V 型混合機で十分に混合して作成した検量線と差がないことを確認した。

定量性の比較用試料の調製: NIR 法の乳鉢・乳棒による混合における定量結果を評価するために、従来から繁用されている HPLC 法の定量結果と比較した。定量性の比較用試料の調製は、乳鉢への散剤の充填率および混合回数と混合度の関係の評価する試料の濃度を考慮し、NIR 法の検量線作成用試料の調製と同様にを行い、25% および 50% の試料を作成した。

3. 乳鉢・乳棒による混合方法

乳鉢・乳棒による混合は中村らの方法¹⁵⁾に準じた。す

なわち、乳鉢を左手に持ちながら円を描くように回して乳鉢内の試料をよく動かしながら、乳棒をらせん状に乳鉢の中心から外側へ 10 回、次いで逆回りで外側から中心へ戻ってくるように 10 回、これを 4 回繰返し、合計 80 回転させた。乳鉢は常に乳棒を回す方向と逆に円を描くように回した。混合の担当者は個人間の変動を考慮して 1 名とし、実験前に回転速度が毎分 120 回転になるように十分に練習してから実験を行った。

4. 乳鉢への散剤の充填率および混合回数と混合度の関係の評価

乳鉢への散剤の充填率と混合度の関係の評価するために、乳鉢にエテンザミドと EFC 倍散用結晶乳糖をそれぞれ容積比 1:1 として充填した。充填率は幸保ら¹⁸⁾の報告から、一般的な調剤での散剤の混合における充填率が 50% 以下であることや、充填率を検討した論文¹⁴⁾の条件が 50% 以下であることから、上限を 50% として、それ以下の 5, 10, 30 および 50% とした。これを合計 80 回転させ、20, 40, 60 および 80 回転後に乳鉢中の任意の 5 点を NIR により測定し、エテンザミドの均一性を評価した。この操作を 3 回繰返し、NIR 法では測定に試料の採取を必要とせず、非接触で測定できることから、実験では 20, 40, 60 および 80 回転でそれぞれ別々に実験を行う必要がなく、80 回転までの混合途中でそれぞれの回転数後に測定を行った。

5. エテンザミドおよび EFC 倍散用結晶乳糖のかさ密度および充填量の算出

エテンザミドおよび EFC 倍散用結晶乳糖のかさ密度は日局 15 のかさ密度測定法に従って測定した。すなわち、16 号(オープニング 1000 μm) 篩で篩過した試料をそれぞれ 30 g 正確に量り、容量 100 mL ガラス製メスシリンダーに圧密せずに入れ、読み取ったかさ体積からかさ密度を算出した。この操作を 3 回繰返し、その平均値をエテンザミドおよび EFC 倍散用結晶乳糖のかさ密度とした。求めたエテンザミドおよび EFC 倍散用結晶乳糖のかさ密度から充填率 5, 10, 30, 50% におけるエテンザミドおよび EFC 倍散用結晶乳糖のそれぞれの充填量を算出した。具体的には実験に使用した乳鉢の容量は 330 mL であることから、充填率 5% の場合は 16.5 mL であり、エテンザミドおよび EFC 倍散用結晶乳糖はそれぞれ 8.25 mL ずつ充填することから、これに個々の算出したかさ密度を乗じて、乳鉢に充填する個々の充填量を算出した。

6. HPLC による試料中エテンザミド濃度の測定

V 型混合機により混合した試料中のエテンザミド濃度は、任意に 3 点ずつ 0.2 g を採取し、インタビューフォームに記載されている菊池¹⁹⁾らの方法に従って HPLC により定量した。すなわち、採取した試料から 0.12 g を正確に秤り、メタノールで溶解し、100 mL とした。これを 3000 g

で5分間遠心分離後、上澄液を試料溶液とし、その20 μ LをHPLCに注入した。試料溶液のエテンザミド濃度は、原末の濃度を100%として、絶対検量線法により求めた。

HPLC装置は、LC-10Advpポンプ、SPD-10Avpカラムオープン、CTO-10Asvp検出器、C-R8A計算器((株)島津製作所)を使用した。カラムはCAPCELL PAK 5 C 18 (Type SG 120, 4.6mm $\times$ 250mm, (株)資生堂)を用いた。HPLCの測定条件は、カラム温度40 $^{\circ}$ C, 検出波長280nm, 移動相は、メタノール/28%アンモニア混液(99:1), 流速1.0mL/minで行った。

7. NIRによる試料中エテンザミド濃度の測定

NIR装置は拡散反射法によるフーリエ変換型近赤外分光計(FT-NIR分光計MPA, ブルカー・オブティクス(株))を使用した。測定条件は波数分解能8 cm^{-1} , 積算回数16 scan, 測定波数12500 cm^{-1} ~4000 cm^{-1} とし、拡散反射プローブを用いて測定した。得られた原スペクトルは常法に従ってベースラインの変動を除去するため、二次微分処理をした。試料中のエテンザミド濃度は回帰分析法を用い、清水らの方法²⁰⁾に準じて検量線を作成し求めた。すなわち、エテンザミドの0%, 25%, 50%, 75%および100%の既知濃度の試料の測定結果からエテンザミドの積分値を求め検量線を作成した。検量線は各試料の任意の3点をNIRにより測定し、この操作を3回繰り返した。

乳鉢への充填率および混合回数と混合度の関係の検討はNIR法により得られた原スペクトルを二次微分し、それぞれのスペクトルのばらつきをみるために標準偏差を算出した。

8. 検定

HPLC法とNIR法の定量性の比較の検定はt検定を用い、危険率0.05未満で有意差ありと判定した。

結 果

1. エテンザミドの測定波長の選定

NIRによるエテンザミドおよびEFC倍散用結晶乳糖の原スペクトルを図1に示す。図1に示すようにエテンザミドおよびEFC倍散用結晶乳糖の原スペクトルの測定結果から、エテンザミドの測定波長としてEFC倍散用結晶乳糖のピークがなく、エテンザミドの特異的な吸収ピークである8800 cm^{-1} を選択した。すなわち、図2に示すように波数8970 cm^{-1} ~8660 cm^{-1} におけるエテンザミドのピーク面積を用いた。

2. エテンザミドおよびEFC倍散用結晶乳糖のかさ密度

エテンザミドとEFC倍散用結晶乳糖のかさ密度の測定結果はそれぞれ0.26 $\pm$ 0.002g/mLおよび0.78 $\pm$ 0.002g/mLであった。その結果、実験では充填率5, 10, 30および50%ではエテンザミドとEFC倍散用結晶乳糖をそれぞれ、2.1gと6.4g, 4.2gと12.8g, 12.6gと38.4gおよび21.0gと64.0gを正確に秤量後充填し、混合した。

3. 回帰分析法による検量線

エテンザミドの0%, 25%, 50%, 75%および100%で調製した試料のNIR法による測定結果から、波数8970 cm^{-1} ~8660 cm^{-1} におけるエテンザミドの積分値を求め、回帰分析法により作成した検量線を図3に示した。

図1. エテンザミドおよび乳糖の近赤外分光スペクトル

—: エテンザミド, —: 乳糖

図2. 波数 8970 cm⁻¹～8660 cm⁻¹におけるエテンザミドのピーク面積

図3. 近赤外分光法により作成したエテンザミドの検量線 (平均±標準偏差, n=9)

図4. 充填率別のエテンザミドの標準偏差スペクトル

—: 20回転, —: 40回転, —: 60回転, —: 80回転

検量線の相関係数は0.999, 標準誤差は0.086であり, 良好な直線性を示した。

4. HPLC法とNIR法の定量性の比較

エテンザミドの25%および50%で調製した試料のエテンザミドの濃度はHPLC法で測定した場合, それぞれ25.1±1.2%および49.3±1.6%であったのに対し, NIR法で測定した場合は24.3±1.7%および50.8±3.2%であり, それ

ぞれの濃度において両者間に有意差は認められなかった。

5. 乳鉢への散剤の充填率および混合回数と混合度の関係の評価

充填率: 充填率5, 10, 30および50%の充填率別の混合によるエテンザミドの二次微分の標準偏差スペクトルを図4に示した。

標準偏差スペクトルはピークが小さいほど標準偏差が

図5. エテンザミドの変動係数に及ぼす混合回数の影響
(平均±標準偏差, $n=3$, *: $p<0.05$)

小さいため、図4に示すように、エテンザミドの濃度は充填率50%で最も8800 cm^{-1} のピークが小さく、標準偏差が小さいことが示された。充填率50%では他の充填率と異なり、20回転後から良好な混合度が得られた。

混合回転数：混合回転数とエテンザミドの濃度の変動係数の関係を図5に示した。充填率別の評価では50%が20回転後から変動係数が6.2%と小さく、その後、変動係数の増減が認められた。その他の5、10および30%の充填率ではいずれも混合回転数の増加とともに、変動係数が減少する傾向が認められた。

考 察

NIRは1990年代までは定性分析として導入されていたが、2002年にはUSPに定量試験用の分析法として収載された。最近では、NIR法は主成分回帰分析、クラスタ分析およびPLS回帰分析等のソフト面が向上し、測定結果をより迅速に評価できるようになった。NIR法は、HPLC法等のように試料のサンプリングおよび抽出を必要とせず、非接触で測定が可能である。HPLC法とNIR法で検量線を作成したが、測定に要した時間は、HPLC法は試料の採取後から測定までに1試料あたり30分程度要したのに対し、NIR法では1試料5秒と迅速に測定可能であった。NIR法では試料の採取だけでなく、抽出も行わないことから、器具の洗浄を必要としないため、より多くの時間の短縮が可能であった。NIR法は同じ測定時間で同時に多成分の測定が可能であることも特徴の一つである。散剤の混合に関する論文はほとんどが1成分に注目した結果であるが、調剤では賦形ばかりでなく、2種類あるいはそれ以上の成分が混合される場合があり、NIR法はこれらの測定が短時間で可能である。

今回はエテンザミドの0%、25%、50%、75%および100%の試料で検量線を作成し、HPLC法とNIR法の定量性に有意な差がないことを確認したが、最近ではNIR法は定量の精度および信頼性が増したことから、検量線が

成分分布を網羅し、成分値の分散が可能な限り大きくなるように試料を選択し、配合割合を種々変化させることでNIR法だけで検量線の作成も可能である²¹⁾。

散剤の混合に関する論文は薬学領域においては、1960年代から1970年代に数多く認められるが、大部分は機械での検討であり、乳鉢・乳棒による混合を評価したものは数報に過ぎない。最近においても中村らが乳鉢・乳棒による混合の評価を、フェニトイン、ジゴキシンおよび着色乳糖で行っているに過ぎない。これらの論文では実験の対象となった成分や混合条件が異なることから、単純に比較することはできないが、充填率に関しては今回の結果では50%が最も混合性が優れていたのに対し、桜井ら¹¹⁾は5～20gの試料でも比重の軽い散剤の場合、容積300～600 cm^3 でも混合不良になることを報告している。中村ら^{15, 16)}も、充填率が10%程度で良好な混合が得られている。一方、幸保ら¹⁴⁾は、配合比、充填率によって混合の差が認められないと報告している。散剤の混合は、粒子群の大きな移動の繰り返しとなる対流、近接した粒子相互の位置交換による拡散、速度分布の差による粒子相互のすべりとなるせん断が相互に作用しながら進行する²²⁾。そのため、充填率が大きくなるほど、乳棒と散剤の接触面積が増加し、乳棒から得られる力が大きくなり、混合性が高まることが考えられる。Remington's Pharmaceutical Sciences²³⁾においても乳鉢・乳棒による混合では乳棒の頭の部分と乳鉢の内面に最大限に接触することが混合操作に大きく影響すると記載されている。充填率60%で行った予備実験では変動係数は40回転混合後で2.2%と充填率50%と同様に良好な混合性が示された。ただし、今回の結果において充填率5%が10および30%よりも良好であり、必ずしも充填率が多い方が混合が良好にはなっていない。

混合回数と混合度の関係では桜井ら¹²⁾は40回転で均質にできると報告しているが、中村ら¹⁵⁾は60回転必要であると報告している。今回の結果では充填率50%では20回転で良好な混合が得られたが、5～30%の充填率では混合回数が多くなる程、混合度が良好となる傾向が認められた。

このように乳鉢・乳棒による混合の評価では、多くの変動要因があることから、論文の追試や比較だけでも膨大な実験が必要となり、NIR法のような簡便で迅速で信頼性の高い測定法が有用である。NIR法を用いて多くの因子について検討を重ねていくことにより、散剤の混合方法を確立していくことが今後の課題である。

引用文献

- 1) 有森和彦, 河野ひとみ, 近見和代, 岩奥玲子, 中野眞汎, 抗てんかん薬服用患者における錠剤・散剤投与後の血中濃度変動とその要因の検討, 病院薬学, **13**, 361-365, 1987.
- 2) 宮本昌二, 鈴木勝, 幸田幸直, 調剤工程および服用時の薬

- 剤損失－ジゴキシン製剤をモデルにして－, 病院薬学, **25**, 292-298, 1999.
- 3) 水谷義勝, 富岡謙二, 足立孝, 松野恒夫, 河井重明, 石津谷修, 市販倍散の希釈現象, 医薬ジャーナル, **28**, 2205-2208, 1992.
 - 4) 中村均, 木村香緒里, 幸田幸直, 齋藤侑也, 中川富士雄, 分包散剤の重量変動の薬物血中濃度推移に及ぼす影響, 病院薬学, **14**, 235-240, 1988.
 - 5) 酒井晴彦, 中村あずさ, 湯上圭子, 齊藤弥, 榊渕幸吉, 西谷篤彦, 岩崎由雄, 混和機(器)による粉体製剤の混合性, 日本病院薬剤師会雑誌, **20**, 679-682, 1984.
 - 6) 矢野武夫, 蟹瀬巖, 佐納良樹, 岡本行雄, 堤万吉, 各種混合機の最適操作条件, 混合度および混合速度におよぼす粉体粒径の影響, 化学工学, **23**, 589-594, 1959.
 - 7) 坂元照男, 小倉敏弘, 前川秀幸, 製剤用粉体の混合と分離に関する研究, 薬剤学, **29**, 63-69, 1969.
 - 8) 青木大, 福田友昭, 伊勢村陽子, 春名悦子, 散剤の研究8, 薬剤学, **28**, 41-42, 1968.
 - 9) 栗田悦郎, 大塚堅一, 森岡正, 池上佳彦, V型混合機による医薬品粉体の混合, 薬剤学, **19**, 141-144, 1959.
 - 10) 岡田壽太郎, 松田芳久, 森田修之, 和田泰享, 大西治夫, 薬剤粉末の混合に関する研究, 薬学雑誌, **88**, 827-831, 1968.
 - 11) 上野高正, 齋藤実, 鈴木鑑, 試作V型散薬混和機の性能, 薬剤学, **19**, 224-247, 1959.
 - 12) 桜井喜一, 藤井正次, 伊藤進, 散剤調製における均質度の研究, 薬剤学, **16**, 7-12, 1956.
 - 13) 丹野慶紀, 渡辺勝宏, 森川恵美子, ^{113}In の混合度測定への応用(第1報), 薬剤学, **31**, 112-117, 1971.
 - 14) 幸保文治, 岩崎由雄, 水野謹爾, 散剤と顆粒剤の混合性, 薬剤学, **29**, 21-29, 1969.
 - 15) 中村均, 肥後こずえ, 鈴木あやな, 藤沼由江, 田中嘉一, 大谷道輝, 小瀧一, 伊賀立二, 散剤の混合度に及ぼす混和条件の定量的解析I－主薬(フェニトイン, ジゴキシン)の混合度に及ぼす混和回数および篩過効果－, 病院薬学, **23**, 305-311, 1997.
 - 16) 中村均, 藤沼由江, 松元美香, 大谷道輝, 小瀧一, 内野克喜, 伊賀立二, 散剤の混合度に及ぼす混和条件の定量的解析(2)－変動要因としての混和方法の習熟度－, 医療薬学, **27**, 491-494, 2001.
 - 17) 寺下敬次郎, 大崎一男, PATを目的とした攪拌混合状態のリアルタイム測定を評価, *Pharm. Tech. Japan*, **21**, 1309-1318, 2005.
 - 18) 幸保文治, 病院薬局・調剤・製剤の実務(8)散剤(2), 薬事新報, **710**, 486-489, 1973.
 - 19) 菊池憲夫, 大畠健稔, 高速液体クロマトグラフィーの医薬品への応用(II)－市販総合感冒剤中の主成分について－, 岩手県衛生研究年報, **26**, 61-64(1983).
 - 20) 清水恒, 上原泰樹, 小牧有三, 笹原英樹, 後藤明俊, 近赤外分光法による精米のグルテリン含量測定, 日本作物学会東北支部会報, **45**, 21-23(2002).
 - 21) 寺下敬次郎, 難波信之, 近赤外分光法による医薬品製造工程管理(1), *Pharm. Tech. Japan*, **20**, 1819-1831, 2004.
 - 22) 古座谷醇, 調剤用細粒の粒子径と混合性について, 薬剤学, **29**, 53-56, 1969.
 - 23) Joseph Price Remington, "Remington's Pharmaceutical Sciences", 16th Edition, Mack Publishing Co., Easton Pennsylvania, pp.1549-1550, 1980.