[Jpn. J. Hosp. Pharm.]
技術報告
19(3) 244-247 (1993)

キャピラリー電気泳動によるアスピリン軟膏中のアスピリンの迅速定量^{†1}

神田 進^{†2}, 土屋雅勇^{†2}, 今井一洋^{†2}, 西尾敦子^{†3}, 与田玲子^{†3}

東京大学医学部附属病院分院薬剤部^{†2}

共立薬科大学^{†3}

Rapid Determination of Aspirin in Aspirin Ointment by Capillary Electrophoresis^{†1}

SUSUMU KANDA^{†2}, MASAO TSUCHIYA^{†2}, KAZUHIRO IMAI^{†2},

ATSUKO NISHIO^{†3} and REIKO YODA^{†3}

Branch Hospital Pharmacy, University of Tokyo^{†2}

Kyoritsu College of Pharmacy^{†3}

(Received January 29, 1993)
(Accepted February 23, 1993)

Stability of aspirin in 2% aspirin ointment was studied using micellar electrokinetic chromatography (MEKC) which is one of the methods of capillary electrophoresis.

The preparation of a sample is very simple, only to disperse a few milligrams of ointment into a buffer by ultrasonication.

A half life of aspirin in 2% washable aspirin ointment at 30° was found to be 51.7 days determined by MEKC, which corresponds to the value obtained by HPLC.

Keywords—aspirin; aspirin ointment; capillary electrophoresis; micellar electrokinetic chromatography

はじめに

キャピラリー電気泳動法は、近年、医学、薬学のバイオサイエンスの分野で用いられるようになってきた分析法の一つである¹⁻³⁾。一般的には内径 100 μ m 以下のキャピラリー内で行う電気泳動である。電解液中にイオン性界面活性剤を添加す

ると試料の一部はミセル中に取り込まれ、ミセルと同じ速度で、ミセルに取り込まれないものは電気浸透流で移動する。イオン性ミセルは電気浸透流とは異なる速度で移動するので電荷を持たない中性の試料でも分析可能である。その分析試料はオリゴヌクレオチドなどの核酸、ペプチド、アミノ酸、低分子医薬品などである。

高速液体クロマトグラフ法に比べるとアセトニトリル、酢酸エチル、メタノールなどの有機溶媒を多量に使用することがないので、ランニング・コストが廉価であるばかりでなく、環境衛生、環境保全の面で優れている。検出感度の点ではキャピラリー電気泳動法は高速液体クロマトグラフ法

^{†1} 本論文は日本薬学会第 113 年会 (1993 年 3 月, 大阪) で発表。

^{†2} 東京都文京区目白台 3-28-6; 3-28-6, Mejirodai, Bunkyo-ku, Tokyo, 112 Japan

^{†3} 東京都港区芝公園 1-5-30; 1-5-30, Shiba-koen, Minato-ku, Tokyo, 105 Japan

に劣るが分離能は高い。試料濃度として 10^{-5}M 以上必要であるが、試料量としては1nl以上で十分である。

当院薬剤部では、帯状疱疹後神経痛、慢性関節リウマチ、口腔粘膜疾患にともなう疼痛などに適用できるアスピリン軟膏を調製してきた⁴⁻⁷⁾。このうちアスピリン親水性軟膏は軟膏中のアスピリンが保存条件によっては一部分解しサリチル酸になることがある。軟膏中のアスピリンの安定性は前報⁶⁾では高速液体クロマトグラフ法で測定したが、迅速に測定する方法としてキャピラリー電気泳動法を用いてアスピリンおよびサリチル酸を同時定量する方法を検討した。

方 法

キャピラリー電気泳動装置は高压電源部として日本分光890-CE、UV検出器は日本分光875-CEを用い、200nmで検出した。キャピラリーは内径 $50\mu\text{m}$ 、全長50cm、分離長30cmのフェーズシリカキャピラリーを用いた。試料の注入は電氣的

移動法を用いた。5秒間印加電圧15KVをかけ電氣的に注入した。電解液は20mMリン酸塩緩衝液(pH7.0)/50mMドデシル硫酸ナトリウム(SDS)を用いた。アスピリン、サリチル酸もこの電解液に溶解した。

アスピリン親水性軟膏は次の処方ものを調製した⁶⁾。

Rp. アスピリン	2 g
クロタミトン	6 g
硬化ナタネ油	30 g
モノステアリン酸グリセリン	5 g
ミリスチン酸イソプロピル	ad 100 g

試料は2%アスピリン親水性軟膏約5ミリグラムを正確に量り、電解液1mlにブランソン超音波洗浄器を用い、超音波処理をすることで懸濁した。

結果および考案

1. アスピリンおよびサリチル酸の検量線

アスピリン、サリチル酸をそれぞれ電解液1ml

Fig. 1. アスピリンとサリチル酸の検量線

アスピリン (○) とサリチル酸 (●) をそれぞれ電解液 (pH 7.0) に溶解した。

に溶かし、泳動後、移動時間および検量線を求めた。その結果、アスピリン（移動時間4.28分）、サリチル酸（移動時間5.26分）の絶対検量線は $10\mu\text{M}$ ～ $750\mu\text{M}$ の範囲で直線であった（Fig. 1）。

これは2%の軟膏を1mlに懸濁したとき、最少量 $90\mu\text{g}$ （アスピリンとして10 nmol）の軟膏があればアスピリンは検出可能であることを示している。

後述するようにアスピリンは水溶液では加水分解するので、定量の再現性はサリチル酸を試料として用い、同一検体を10回定量することで検討した。その結果、変動係数は移動時間について1.19%，面積値について1.32%の良好な結果が得られた（Table 1）。このような結果を得るためには、1回毎にキャピラリーを0.2N NaOH、20%メタノールで洗浄することが必要である。なお、内標準物質としてはアセトアミノフェン（移動時間2.99分）を用いた。

2. 水溶液中でのアスピリンの安定性

この測定法ではアスピリンは水溶液であるため、まず、水溶液中、室温でのアスピリンの安定

Table 1. 移動時間・面積値の同時再現性

検体 #	移動時間 (分)	面積値 ($\mu\text{V} \cdot \text{秒}$)
1	5.450	209978
2	5.387	213126
3	5.429	217506
4	5.404	211810
5	5.421	218554
6	5.283	213682
7	5.279	209674
8	5.392	213434
9	5.317	211682
10	5.283	210970
平均	5.365	213042
標準偏差	0.064	2816
変動係数	1.19%	1.32%

キャピラリー：50 μm ID×30cm（有効長）

電解液：20mM リン酸塩緩衝液（pH 7.0）/50mM SDS

注入法：電気的移動法 15kV、5秒

印加電圧：15kV

検出：200nm

試料：250 μM サリチル酸

性を求めた。Fig. 2 から計算で求めたアスピリンの半減期は、電解液中（pH 7.0）では80時間であった。泳動時間は15分以内なので分析時間内のアスピリンの分解は定量に殆ど影響しないと考えられる。

Fig. 2. 水溶液中でのアスピリンの分解
アスピリン（500 μM ）を電解液（pH 7.0）に溶解し、室温での分解を測定した。

3. 2%アスピリン親水性軟膏中のアスピリン、サリチル酸の定量

軟膏中のアスピリンは溶解補助剤のクロタミトンに溶解してから基剤と混合しているが、一部結晶として存在する可能性があるため、軟膏を超音波処理で懸濁することでアスピリンが可溶化されることを確かめた。

アスピリン軟膏約5ミリグラムを正確に量り、それを超音波処理で電解液に懸濁したものと、その中に含まれる理論量のアスピリンを含むアスピリン水溶液を調製し、それぞれを定量した（Fig. 3A, B）。その結果、両者の面積値がほぼ同じになったのでアスピリン軟膏中のアスピリンは可溶化されたと考えられる。電解液は界面活性剤（SDS）を含むのでアスピリンはミセルに取り込まれることで可溶化されたと考えられる。

4. 2% アスピリン親水性軟膏中のアスピリンの安定性

Fig. 3. アスピリンとアスピリン親水性軟膏のキャピラリー電気泳動
(A) 2%アスピリン親水性軟膏 (理論値 500 μ M) (B) アスピリン (500 μ M).
試料(A), (B)ともに電解液 (pH 7.0) に溶解した。

前報⁶⁾で2%アスピリン親水性軟膏中のアスピリンを高速度液体クロマトグラフ法で定量し、アスピリン軟膏の5 $^{\circ}$ 、20 $^{\circ}$ 、30 $^{\circ}$ における安定性を報告した。Fig. 4にキャピラリー電気泳動法で求めた軟膏中のアスピリンの残存率を示した。この結果は前報⁶⁾とよく一致した。親水性軟膏は基剤に若干の水分を含むため、アスピリンの一部加水分解が起こり、Fig. 4から計算した30 $^{\circ}$ Cにおけるアスピリン軟膏中のアスピリンの半減期は51.7日であった。この値は、高速液体クロマトグラフ法で定量し求めた値⁶⁾(30 $^{\circ}$ のとき $t_{1/2}$ は53.4日)とほぼ一致した。

なお、同様の方法で油性アスピリン軟膏中⁴⁾のアスピリンを定量することができた。この場合も超音波処理でアスピリンを可溶化できたと考えられる。

この方法は SDS を添加して電気泳動を行う、いわゆる ミセル動電クロマトグラフィー^{2,3)}であるが、緩衝液に界面活性剤の SDS を添加することで同時にアスピリンの可溶化を可能にしている。

キャピラリー電気泳動法では、直接軟膏を緩衝液に懸濁するだけで軟膏成分の分析を簡便かつ迅速に行うことができた。

Fig. 4. アスピリン親水性軟膏中のアスピリンの安定性
2%アスピリン親水性軟膏を各温度 (5 $^{\circ}$ C (○), 20 $^{\circ}$ C (□), 30 $^{\circ}$ C (●)) においたものを経時的に測定した。

速に行うことができた。

この方法は他の軟膏成分の分析にも応用可能であると考えられる。病院薬学の分野において薬剤の成分分析、安定性試験、配合変化などの試験において有効な手段の一つになると思われる。

謝辞 本研究を遂行するにあたり、キャピラリー電気泳動装置を貸与して下さった日本分光株式会社に深謝します。

引用文献

- 1) 本田 進, ファルマシア, 26, 340-345 (1990).
- 2) 寺部 茂, ぶんせき, 1991, 599-606 (1991).
- 3) 寺部 茂, 生化学, 64, 111-115 (1992).
- 4) 土屋雅勇, 塚本幸恵, 宇津園子, 今井一洋, 平石禎子, 阿部幸枝, 花岡一雄, 病院薬学, 15, 404-408 (1989).
- 5) 塚本幸恵, 宇津園子, 土屋雅勇, 今井一洋, 平石禎子, 花岡一雄, 病院薬学, 17, 198-203 (1991).
- 6) 土屋雅勇, 塚本幸恵, 今井一洋, 平石禎子, 花岡一雄, 山村秀夫, 病院薬学, 17, 335-340 (1991).
- 7) K. Imai, M. Tsuchiya, S. Watanabe, N. Yasuno, M. Yokomizo, Y. Takahashi and Y. Tejima, 病院薬学, 18, 496-499 (1992).