錯体生成による医薬品の間接原子吸光分析の利用¹⁾ (その 3)
ライネッケ塩による製剤中のノスカピンの定量

南川伝憲, 松村阜子
北陸製薬株式会社中央研究所²⁾

Application of Indirect Atomic Absorption to Analysis of Drug.¹⁾ (3).
Determination of Noscapine in Pharmaceutical Preparation
using Reinecke Salt Atomic Absorption Analysis

TSUTANORI MINAMIKAWA and KUGAKO MATSUMURA
Central Research Institute., Hokuriku Seiyaku Co., Ltd.²⁾

(Received September 10, 1975)

Noscapine formed a complex with Reinecke salt in the presence of tartaric acid (pH 1.7) and was extracted with chloroform. The amount of noscapine was determined indirectly by measuring chromium in the organic solvent solution by atomic absorption spectroscopy. This method was applied to the analysis of preparations and good results were obtained without any interference of various pharmaceuticals.

著者らは金属と金属不含の医薬品の錯塩を生成させ、それを有機溶媒で抽出した後、有機溶媒中の金属を原子吸光で分析する定量法を報告^{1,3)}してきた。この方法は適当な抽出溶媒を選択することにより、目的とする錯塩のみを特異的に分離抽出できる。また原子吸光法を用いることにより、微量分析も可能で品質管理にも広く応用できる。

この点に注目して、解熱鎮痛剤のノスカピンにライネッケ塩を反応させ、この錯塩をクロロホルムで抽出、有機溶媒中のクロム原子を原子吸光で分析する基礎条件を検討した。これに基づいて、ノスカピンを含有する複雑な配合剤の分析に本法を応用したところ、満足すべき結果が得られたので報告する。

定量操作法

ノスカピン約 200 µg/ml (クロロホルム液) 3 ml をとり、pH 1.7 の酒石酸・酒石酸ナトリウム緩衝液 5 ml およびライネッケ塩試液 10 ml を加えてよく振り混ぜる。次に水層をクロロホルム 10 ml で 3 回抽出し、全抽出液を合わせて減圧クロロホルムを留去する。得られた残留物にメチルイソブチルケトン (MIBK) 5 ml を加えて溶かし、あらかじめ MIBK で潤したろ紙を用いてろ過する。さらに MIBK 3 ml ずつで 2 回同様に残留物を抽出ろ過し、全ろ液を合わせて MIBK を加え正確に 20 ml とし試料測定溶液とする。

別に標準として、ノスカピン溶液 200 µg/ml (クロロホルム) の 1, 2, 3, 4 および 5 ml, また対照としてクロロホルム 5 ml をとり、それぞれ pH 1.7 の酒石酸・酒石酸ナトリウム緩衝液 5 ml およびライネッケ塩試液 10 ml を加えてよく振り混ぜ、以下試料溶液と同様に操作して標準溶液、対照溶液とする。

標準溶液および対照溶液につき Table III に示した原子吸光測定条件で吸光度を測定し、対照溶液から得られた吸光度を差し引いて検量線を作成する。次に試料測定溶液につき標準溶液と同様に操作して吸光度を求め、作成した検量線より試料溶液中のノスカピン含量を算出する。

なお、測定機器が毎回同じ感度になるようにノスカピン=ライネッケカート・MIBK 標準液を用いて調整する。ま

1) This paper is part VIII of a series entitled "Studies on the Quality of Pharmaceutical Preparations," Part VII: T. Minamikawa, K. Sakai, N. Hashitani, E. Fukushima, N. Yamagishi, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 21, 1632 (1973).

2) Location: Inokuchi, Katsuyama, Fukui-ken, 911, Japan.

3) 南川伝憲, 松村阜子, 亀井昭美, 山川真樹子, *分析化学*, 20, 1011 (1971).

Fig. 1. Effects of pH on the Absorbance of Noscapine-reineckate Complex

- : 2N 1N, 0.1N hydrochloric acid
- △—△: 0.2M aminoacetic acid + 0.1M sodium chloride + 0.1N hydrochloric acid
- x—x: 0.1M sodium citrate + 0.1N hydrochloric acid
- : 0.1M tartaric acid + 0.1M sodium tartrate
- ▲—▲: 0.2M potassium chloride + 0.2N hydrochloric acid
- : 1M sodium acetate + 1N hydrochloric acid

Fig. 2. Effect of Volume of Reinecke Salt Solution

- : noscapine 50 µg/ml
- : noscapine 10 µg/ml

た原子吸光測定中、試料測定溶液の前後にノスカピン=ライネッカー・MIBK 標準液の吸光度を測定し、それぞれの試料測定溶液の吸光度を補正する。

定量操作法の検討

ノスカピンの溶解度と pH ノスカピンは水にほとんど溶けないが、pH 2 以下の酸性溶液に溶解する。ノスカピンを溶解しライネッケ塩を生成するに適した pH を検討した。Fig. 1 の脚注に示した酸または緩衝液を用い、定量操作法に従い吸光度を測定したところ、pH の変化に伴う吸光度の変化が最も少なく、吸光度の最も大きい pH 1.7 の酒石酸・酒石酸ナトリウム緩衝液が最も適当であることがわかった。

ライネッケ塩試液量 ライネッケ塩試液量を定量操作法に従い検討したところ、2 ml 以上で吸光度が一定になった。そこで他の医薬品が共存しない時にはライネッケ塩試液量を 3 ml にした。

ノスカピン=ライネッカーの抽出溶媒および抽出効率 ライネッケ塩はノスカピンのほかアルカロイドまたは含窒素化合物の沈殿試薬として広く用いられ、ノスカピンの特異的沈殿試薬ではない。また、ノスカピンに通常配合されている医薬品の中にもライネッケ塩と沈殿を生ずるものが多い。しかしノスカピン=ライネッカーのみを抽出する溶媒があれば、特異的な方法になる。ノスカピン含有製剤中によく配合されている塩酸チアミン、

TABLE I. Selection of Solvents for Extraction of Noscapine-reineckate Complex

Solvent	Compound				
	Noscapine	Thiamine HCl	Aminopyrine	Chlorpheniramine maleate	dl-Methylephedrine HCl
Ethyl acetate	X	—	—	—	—
Propyl acetate	X	—	—	—	—
Butyl acetate	X	—	—	—	—
Methyl iso-butyl ketone	0	0	0	0	0
Amyl ethyl ketone	X	—	—	—	—
Ethyl lactate	0	0	0	0	0
Diethyl phthalate	X	—	—	—	—
Acetone	0	0	0	0	0
Chloroform	0	X	X	X	X
1,2-Dichloroethane	0	X	0	X	0
Methylene chloride	0	X	0	X	0

0: soluble X: insoluble —: no experiment

TABLE II. Solvents of Noscapine-reineckate Complex for Atomic Absorption Spectroscopy

Solvent	Absorbance at 3579Å
Methyl iso-butyl ketone	0.434
Ethyl acetate	0.387
Propyl acetate	0.423
Butyl acetate	0.381
iso-Amyl acetate	0.289
Ethyl lactate	0.056
Diethyl phthalate	0.002

TABLE III. Working Conditions of Atomic Absorption Spectrometry for Noscapine-reineckate Complex

Element and wavelength:	Cr, 3579Å
Slit:	3 (0.3 mm, 2Å)
Hollow cathode lamp current:	10mA
Air flow rate:	14.3 liter/min (1.87 kg/cm ²)
Fuel flow rate (acetylene):	2.0 liter/min (0.54 kg/cm ²)
Position of burner:	0
Recorder readout scale:	×I
Meter response:	×I
Chart speed:	20 mm/min

TABLE IV. Recovery Tests of Noscapine by Indirect Atomic Absorption Analysis

Noscapine added (μg/ml)	<i>n</i>	Recovery ± S.D. (%)
20.0	8	100.0 ± 1.9
30.0	7	100.2 ± 1.8
40.0	9	99.2 ± 2.3

n: the number of runs
S.D.: standard deviation

アミノピリン, マレイン酸クロルフェニラミンまたは *dl*-塩酸メチルエフェドリンについて, これらのライネッケ塩が抽出されず, ノスカピン=ライネッケカートのみが抽出される溶媒を探索した. 常法に従い, ノスカピンなどのライネッケカートの沈殿をろ取, 水洗乾燥後, 得られた結晶に各種溶媒を加え, それが溶解するか否かを検討し, その結果を Table I に示した.

ノスカピン=ライネッケカートのみを溶解する溶媒はクロロホルムであったので, 抽出溶媒としてこれを用いることにした.

次に定量操作法に従い, クロロホルムの抽出回数を検討したところ, 10 ml 1 回でほとんど抽出された. 安全を考えクロロホルム 10 ml で 4 回抽出することにした.

原子吸光測定溶媒 クロロホルムは不完全燃焼し, 炎が不安定になるので, 原子吸光測定に直接用いることはできない. そこでクロロホルム抽出液を留去した後, 原子吸光測定に適した測定溶媒を検討した. その結果を Table II に示したが, クロロホルム抽出液留去後の残留物を良く溶解し, 吸光度も一番高い MIBK を用いることにした.

原子吸光測定条件 試料を測定する基礎条件をまずノスピン=ライネッカート錯塩につき設定し、その結果を Table III に示した。なお測定機器が毎回同じ感度になるように、ノスカピン=ライネッカート・MIBK 標準溶液の吸光度を測定して、それぞれの試料の吸光度を補正した。

検量線および回収実験 定量操作法に従い、検量線を作成し、回収実験を行なった。

その結果、10—50 $\mu\text{g/ml}$ (MIBK) の範囲で良好な直線性が得られた (Fig. 3)。

また原子吸光測定時のノスカピン濃度が 20.0, 30.0 および 40.0 $\mu\text{g/ml}$ になるように pH 1.7 の酒石酸・酒石酸ナトリウム緩衝液に溶解し、定量操作法に従い回収実験を行ったところ、標準偏差パーセントが 1.8—2.3% と十分実用価値のあることがわかった (Table IV)。

応用例

製剤中のノスカピンの定量法の設定 錠剤 20 錠以上をとりその重量を精密に量り粉末とする。表示量に従いノスカピン約 20 mg に相当する量を精密に量り、これにクロロホルム 10 ml を加え 5 分間よく振り混ぜた後、3000 rpm で 5 分間遠心分離する。分離後クロロホルム溶液をあらかじめクロロホルムで潤したろ紙を用いてろ過する。さらに遠心沈殿物をクロロホルム 10 ml で 2 回洗い、先のろ液に合わせクロロホルムを加えて正確に 100 ml とする。このクロロホルム溶液 3.0 ml を用いて以下定量操作法に従い製剤中のノスカピン含量を算出する。

共存医薬品の影響 定量操作法に従い、Table V に示したノスカピンと通常併用される可能性のある解熱鎮痛剤とその賦形薬について分析結果に及ぼす影響を検討した。

その結果、負の妨害を示す医薬品および賦形薬が多かった。これは最初予期したように、ライネッケ塩がノスカピン以外の有機塩基とも錯塩を生成し、試薬の不足をきたしたためと思われる。

Fig. 3. Calibration Curve for Noscapine

TABLE V. Effects of Various Compounds on the Determination of Noscapine

No.	Compound	Coexisting weight ratio noscapine: various compound	Found (%) Amount of Reinecke salt test solution	
			3 ml	10 ml
1	Diphenylpyraline hydrochloride	1 : 2	277.0	
2	Carbetapentane citrate	1 : 2	250.3	
3	Dextromethorphan hydrobromide	1 : 2	231.3	
4	Diphenylpyraline 8-chlorotheophyllinate	1 : 2	214.9	
5	Trimeprazine tartrate	1 : 2	198.1	
6	Asverine citrate	1 : 2	120.5	
7	Allopyrabital	1 : 2	112.4	
8	Antipyrine	1 : 2	105.6	
9	<i>dl</i> -Methylephedrine hydrochloride	1 : 2	105.6	
10	Allylisopropylacetylurea	1 : 2	104.3	
11	Migrenine	1 : 2	101.4	
12	Aminopyrine	1 : 2	101.4	
13	Acetylsalicylic acid	1 : 2	100.0	
14	Sasapirine	1 : 2	98.8	
15	Riboflavine phosphate	1 : 2	97.2	
16	Ethoxybenzamide	1 : 2	96.3	
17	Carbinoxamide maleate	1 : 2	96.3	
18	Sulpyrin	1 : 2	95.7	

19	Acetaminophen	1 : 2	94.4	115.0
20	Flufenamic acid	1 : 2	92.4	102.0
21	Guaiacol glyceryl ether	1 : 2	91.9	
22	Isopropylantipyrine	1 : 2	91.7	113.0
23	Caffeine	1 : 2	91.7	119.0
24	Dihydrocodeine phosphate	1 : 2	91.0	100.0
25	Barcetin	1 : 2	90.7	97.0
26	Diphenhydramine tannate	1 : 2	90.7	98.0
27	Aluminium acetylsalicylate	1 : 2	90.1	
28	Diphenhydramine hydrochloride	1 : 2	88.2	90.0
29	Aminopropylon	1 : 2	87.6	101.0
30	Salicylamide	1 : 2	87.0	95.0
31	Phenacetin	1 : 2	86.1	105.6
32	Sodium salicylate	1 : 2	84.0	96.0
33	Chlorpheniramine maleate	1 : 2	81.9	94.0
34	Tripeleniramine hydrochloride	1 : 2	80.7	
35	Diphenhydramine salicylate	1 : 2	80.7	77.0
36	Thiamine hydrochloride	1 : 2	74.3	100.0
37	Avicel	1 : 2	102.1	
38	Gum arabic	1 : 2	101.0	
39	Magnesium stearate	1 : 2	101.0	
40	Ethyl paraoxybenzoate	1 : 2	99.5	
41	Cornstarch	1 : 2	99.3	
42	Solider	1 : 2	97.9	
43	Sucrose	1 : 2	97.9	
44	Ascorbic acid	1 : 2	97.9	
45	Talc	1 : 2	97.4	
46	Carbopol	1 : 2	97.2	
47	Heavy synthetic aluminium silicate	1 : 2	96.9	
48	Polyvinylpyrrolidone	1 : 2	95.9	
49	Magnesium carbonate	1 : 2	95.9	
50	Ethylcellulose	1 : 2	94.8	98.0
51	Light silicic acid anhydrous	1 : 2	94.8	
52	Lactose	1 : 2	94.4	119.0
53	Rice starch	1 : 2	94.4	
54	Dried aluminium hydroxide gel	1 : 2	94.4	110.0
55	Methylcellulose	1 : 2	93.8	103.0
56	Precipitated calcium carbonate	1 : 2	93.8	101.0
57	Light synthetic aluminium silicate	1 : 2	93.3	113.0
58	Magnesium oxide	1 : 2	92.8	97.0
59	Light sanalmin	1 : 2	92.4	109.0
60	Licamit	1 : 2	88.9	101.0
61	Sodium hydrogen carbonate	1 : 2	88.2	95.0
62	Magnesium aluminosilicate hydrate	1 : 2	86.6	104.0
63	Heavy sanalmin	1 : 2	86.1	112.0
64	Saccharine sodium	1 : 2	52.8	98.0

そこで負の妨害を示したものについて、ライネック塩試液量を 10 ml に増量し、定量操作法に準じ、共存医薬品の影響を検討したところ、負の妨害は少なくなった。試薬量を増量してもなお妨害を示したものについては、あらかじめ酸またはアルカリ溶液と溶媒抽出を組み合わせる工夫が必要となる。⁴⁾

調製試料中のノスカピンの定量 定量操作法に従い、調製試料中のノスカピンの含量を分析したところ、Table VI の (I) に示すように良好な結果が得られた。

4) 日本公定書協会編, “医薬品製造指針,” 薬業時報社, 東京, 1973, p. 437.

TABLE VI. Determination of Noscapine in Synthetic Preparation (I) and Commercial Samples (II)

Preparation	Compound	In 1 tablet (mg)
A	Noscapine	20
	Phenacetin	120
	Aminopyrine	120
	Caffeine	40
	Bromvalerylurea	80
	Thiamine hydrochloride	4
	<i>dl</i> -Methylephedrine hydrochloride	12
	Chlorpheniramine maleate	4
	Lactose	44
	Gum arabic	8
	Calcium carboxymethylcellulose	16
	Magnesium stearate	8
	Talc	8
	(I) $\left\{ \begin{array}{l} \bar{X} \text{ (\%)} \\ n \\ \sigma \text{ (\%)} \end{array} \right.$	97.6 10 2.34
	(II) $\left\{ \begin{array}{l} \bar{X} \text{ (\%)} \\ n \\ \sigma \text{ (\%)} \end{array} \right.$	99.5 7 2.69
B	Noscapine	13.8
	Pyribital	50
	Ephedrine hydrochloride	12.5
	Papaverine hydrochloride	15
	Dipropyrine	75
	Chlorpheniramine maleate	2
	Lactose	22
	Gum arabic	2
	Calcium carboxymethylcellulose	4
	Magnesium stearate	2
	Talc	2
	(I) $\left\{ \begin{array}{l} \bar{X} \text{ (\%)} \\ n \\ \sigma \text{ (\%)} \end{array} \right.$	101.1 10 2.47
	(II) $\left\{ \begin{array}{l} \bar{X} \text{ (\%)} \\ n \\ \sigma \text{ (\%)} \end{array} \right.$	94.9 10 1.83

X: average of recovery n : the number of runs σ : coefficient of variation

なお塩酸パペリンが配合されている製剤では、パペリン=ライネッカートがクロロホルムに抽出されるので、ノスカピンを酢酸メチル 10 ml で 3 回抽出し、抽出液を留去し残留物にクロロホルムを加えて溶かし、以下定量操作法と同様に操作したところ、Table VI の B-(I) に示すような良好な結果が得られた。

市販製剤中のノスカピンの定量 調製試料よりノスカピンが都合よく抽出できたので、市販製剤中のノスカピンの分析を行った。

その結果を Table VI に示したが、製剤 A (II), 製剤 B (II) でそれぞれ $99.5 \pm 2.69\%$, $94.9 \pm 1.83\%$ であった。

TABLE VII. Analysis of Components in Noscaphine-reineckate Complex

Component	Method of determination ^{a)}	Found (%)	Mol ratio ^{b)}
$C_{22}H_{23}NO_7$	A	49.43	1
Cr	B	6.43	1
NH_3	C	4.12	2
SCN	C	27.41	4

a) A: ultraviolet absorption spectroscopy

B: atomic absorption spectroscopy

C: visible absorption spectroscopy

b) $C_{22}H_{24}NO_7 \cdot [Cr(NH_3)_2(SCN)_4] \cdot xH_2O$

ノスカピン=ライネッカートの組成 定量操作法により得られた全クロロホルム抽出液を合わせ、減圧下クロロホルムを留去した。得られた残留物を減圧、五酸化リンのデシケーター中で一昼夜乾燥し錯体組成分析用の試料とした。

まず錯塩中のクロムは原子吸光法で、ノスカピンは 311 nm の吸光度法で分析した。また錯塩中のアンモニアはパルナス・ワグナー装置を用いて蒸留した留分についてネスラー試薬を加えて、370 nm で分析⁵⁾を行ない、チオシアンは先のアンモニア分析に用いた残留液について、塩化第二鉄塩法⁶⁾で 460 nm を用いて分析した。

以上の方法に従い得られた組成分析結果を Table VII に示した。Table VII よりノスカピン 1 モルに対してクロム 1 モル、アンモニア 2 モルおよびチオシアン酸 4 モルの割合であった。

しかし Table VII の分析結果の合計が 100% にならないのは結晶水⁷⁾が含まれているためと思われる。

実 験 の 部

機器および試薬試液類 ライネッケ塩試液——ライネッケ塩 1 g に水 40 ml を加え、1 時間かき混ぜた後ろ過し使用する。調製後 48 時間以内に使用する。

酒石酸・酒石酸ナトリウム緩衝液 (pH 1.7)——1M 酒石酸溶液 200 ml と 1M 酒石酸ナトリウム溶液 (酒石酸 150.09 g を 5N 水酸化ナトリウム溶液 400 ml に溶かし水を加えて 100 ml とする。) 100 ml を混合し、pH 1.7 に調製する。

ノスカピン——日本薬局方適品を 105° で 24 時間乾燥したものを用いた。

ノスカピン=ライネッカート・MIBK 標準溶液——ノスカピン 30 μg/ml を含む MIBK 溶液。

5) 秋谷七郎, “衛生試験法注解,” 日本薬学会編, 金原, 東京, 1956—1957, p. 379.

6) F.D. Snell, C.T. Snell, “Colorimetric Methods of Analysis, Including Some Turbidimetric and Nephelometric Methods,” Third Edition, Vol. II, Inorganic, D. Van Nostrand Company, Inc., New York, 1963, p. 783.

7) 結晶水または付着水とも考えられる。この錯塩は恒量になるまで乾燥すると分解するので、そのまま錯塩組成分析を行なった。