

医薬品試験の効率化に関する検討（第4報）

—グラジエント法を用いた解熱鎮痛薬成分の分析法の検討—

Studies on improving the efficiency in pharmaceutical test.IV.

-Study on an analytical method of analgesic antipyretic ingredients using gradient HPLC-

森元久美子	テイカ製薬株式会社	島倉征一	ジャパンメディック株式会社
Kumiko MORIMOTO	Teika Pharmaceutical Co., Ltd.	Seiichi SHIMAKURA	Japan Medic Co., Ltd.
亀田奈穂美	ファーマパック株式会社	前川知子	富士製薬工業株式会社
Naomi KAMEDA	Pharmapack Co.,Ltd	Tomoko MAEKAWA	Fuji Pharma Co., Ltd.
齊藤令奈	株式会社富士薬品	坂田康平	株式会社陽進堂
Reina SAITOU	Fujiyaku Co.,Ltd	Kohei SAKATA	Yoshindo Inc.
横田洋一	富山県薬事研究所		
Yoichi YOKOTA	Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research		

緒言

グラジエント法は高速液体クロマトグラフィー（HPLC）において移動相の組成を連続的に変化させることで複数成分を短時間で溶出させる溶離法である。これを用いることで、分離の改善や複数の成分を比較的短時間で溶出させることが可能であり、多成分同時分析における試験効率化に有効である。しかしながら、品質管理における医薬品の定量試験において、単一の移動相を用いて成分を溶出させるアイソクラティック法が多く用いられており、グラジエント法を積極的に選択することはほとんどない。その理由として、グラジエント法は使用する機器により保持時間の差が大きく、再現精度が良くないためと考えられた。そこで本検討では、グラジエント法を用いた試験の再現精度及び医薬品の定量試験における実用性について検証した。

実験

1. 室間再現性の検証

1) 試験方法

グラジエント法を用いた試験の室間再現精度を評価するため、昨年度報告したアイソクラティック移動相¹⁾から、グラジエント移動相への変更を行い、以下に示す条件にて、異なる試験室（6社）に設置された各種 HPLC 機器（Table 2）を用いてグラジエント法で繰り返し6回の分析を実施した。

(1) 試験溶液

「アセトアミノフェン」を 105℃で2時間乾燥し、その約 56mg、「エテンザミド」をデシケーター（シリカゲル）で3時間乾燥し、その約 56mg 及び「無水カフェイン」を 80℃で4時間乾燥し、その約 17mg をそれぞれ精密に量り、薄めたリン酸（1→1000）／アセトニトリル混液（1：1）20mL に溶かした後、内標準溶液 5mL を正確に加える。この液 2mL を量り、薄めたリン酸（1→1000）／アセトニトリル混液（8：1）を加えて 20mL とし、標準溶液とする。

内標準溶液：安息香酸 2g をアセトニトリル 50mL に溶かし、薄めたリン酸 (1→1000) を加えて 100mL とする。

(2) 試験条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：280nm)

カラム：Inert Sustain C18 粒径 3 μ m 内径 3mm 長さ 75mm GL-サイエンス (株)

カラム温度：40 $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相 A：薄めた酢酸 (100) (1→1000) / アセトニトリル混液 (9 : 1)

移動相 B：10mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 / アセトニトリル混液 (3 : 2)

移動相の送液：移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御した。

時間 (分)	移動相 A (vol%)	移動相 B (vol%)
0 → 5	100 → 0	0 → 100

流量：1.0mL/min

注入量：1 μ L

2) 結果及び考察

アイソクラティック法及びグラジエント法のクロマトグラムを示したが (Fig.1~2)、分離が改善され時間短縮が可能となっていることがわかる。

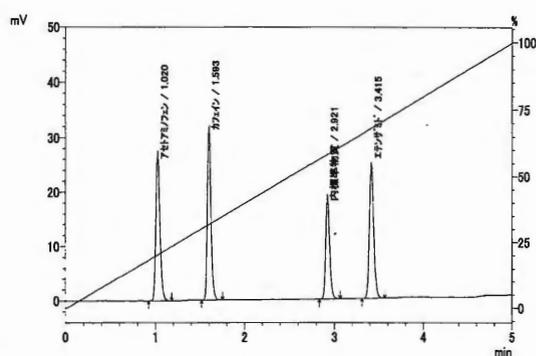
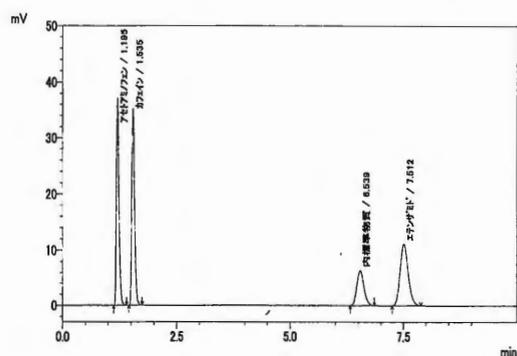


Fig.1 アイソクラティック法のクロマトグラム

Fig.2 グラジエント法のクロマトグラム

6社にて分析を行い、保持時間、理論段数、分離度、シンメトリー係数、6回の注入量再現性 (ピーク面積及び内標準物質に対するピーク面積の比) を求めた結果、アセトアミノフェンの保持時間は、6社の試験結果において、いずれも保持時間は約1分であった。しかしながら、カフェインは約1.5~1.8分、内標準物質は約2.9~5.2分、エテンザミドは約3.4~5.5分と後に溶出する成分ほど保持時間に違いが認められた (Table 1 及び Fig.3~4)。原因として、グラジエントプログラムと実際の移動相の混合比との間に時間差「グラジエント遅れ」があり、これが使用した機器より異なっているためと考えられた。そのため、異なる使用機器を用いてグラジエント法により試験する場合、保持時間を一致させるためには、実際に移動相の混合比が変わる時間を合わせる必要があると考えられた。

Table 1 分析結果の各パラメータ (室間再現精度)

		A社	B社	C社	D社	E社	F社
カラム圧 (psi)		1972	1730	1900	1850	2929	2117
アセトアミン フェン	保持時間 (min)	1.070	1.090	1.040	1.110	1.049	1.009
	理論段数	2338	1518	2013	1006	2309	1751
	分離度	—	—	—	—	—	—
	シンメトリー係数	1.49	1.36	1.37	1.06	1.49	1.47
	再現性 (面積) 6回の相対標準偏差	0.354	0.275	0.367	1.419	0.288	0.388
	再現性 (面積比) 6回の相対標準偏差	0.150	0.077	0.143	0.630	0.303	0.212
カフェイン	保持時間 (min)	1.835	1.808	1.670	1.822	1.516	1.514
	理論段数	4576	3468	3936	2718	5372	4624
	分離度	7.76	6.13	6.34	5.10	5.49	5.46
	シンメトリー係数	1.33	1.26	1.23	1.05	1.43	1.45
	再現性 (面積) 6回の相対標準偏差	0.338	0.302	0.335	1.396	0.216	0.399
	再現性 (面積比) 6回の相対標準偏差	0.155	0.060	0.094	0.596	0.125	0.213
内標準物質	保持時間 (min)	5.207	3.592	3.510	3.386	2.896	2.898
	理論段数	33240	21998	34039	9806	19017	15235
	分離度	30.35	16.27	20.20	11.31	16.59	15.09
	シンメトリー係数	1.25	1.26	1.14	1.01	1.9	1.33
	再現性 (面積) 6回の相対標準偏差	0.235	0.285	0.252	1.064	0.234	0.225
	再現性 (面積比) 6回の相対標準偏差	0.127	0.037	0.091	0.265	0.125	0.149
エテンザミド	保持時間 (min)	5.524	4.114	4.025	3.917	3.391	3.391
	理論段数	44089	26242	37120	12523	21866	16939
	分離度	2.90	5.27	6.47	3.82	5.65	4.97
	シンメトリー係数	1.27	1.24	1.14	1.02	1.18	1.28
	再現性 (面積) 6回の相対標準偏差	0.280	0.295	0.326	1.205	0.212	0.323
	再現性 (面積比) 6回の相対標準偏差	0.127	0.037	0.091	0.265	0.125	0.149

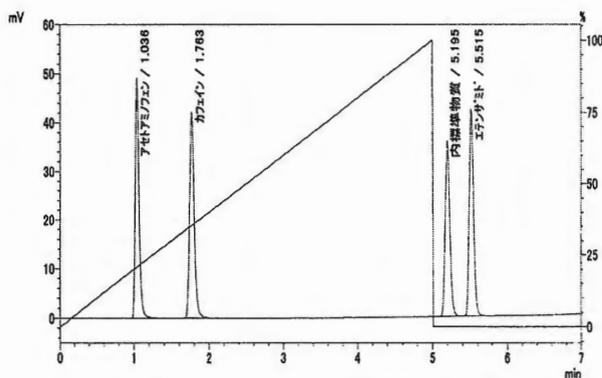


Fig.3 クロマトグラム (A社)

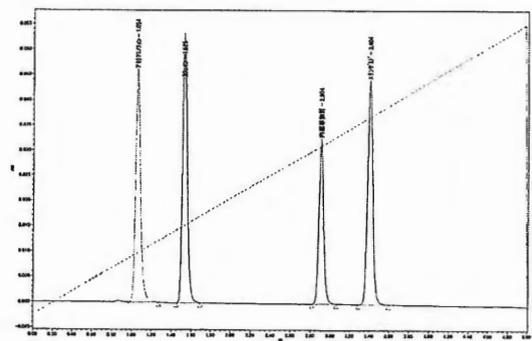


Fig.4 クロマトグラム (E社)

2. 「グラジエント遅れ」の測定

1) 試験方法

グラジエント分析において保持時間を一致させて室間再現精度を比較するためには、HPLC装置ごとにシステムボリュームによるグラジエント遅れ(プログラム上の混合比に対する実際の移動相の混合比の遅れ)が異なることを考慮して、プログラムを補正する必要がある。システムボリュームは複数の溶媒が混合される位置からカラム入口までの容量であり、グラジエント方式

(低圧混合、高圧混合)、ミキサー容量、オートサンプラ、配管の長さ及び内径に依存する。また、低圧混合方式は送液ポンプの前、高圧混合方式は送液ポンプの後ろで溶媒が混合されるため、一般的に低圧混合方式の方がシステムボリュームが大きくなり、これに伴いグラジエント遅れも大きくなる。

6社のHPLC装置それぞれにおいてグラジエント遅れがどの程度であるかを明らかにするため、移動相Bに紫外線吸収を示すアセトンを追加して移動相の吸光度の変化を測定した²⁾。

(1) 試験溶液

精製水

(2) 試験条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：280nm）

カラム：なし

カラム温度：40℃付近の一定温度

移動相A：水

移動相B：0.3%アセトン溶液

移動相の送液：移動相A及び移動相Bの混合比を次のように変えて濃度勾配制御した。

時間 (分)	移動相 A (vol%)	移動相 B (vol%)
0 → 5	100 → 0	0 → 100

流量：1.0mL/min

2) 結果及び考察

使用機器によりグラジエント遅れが異なっており、各社の結果を比較すると、その時間は約0.5～3分であり、最大2.5分の差があることが明らかとなった (Table 2 及び Fig.5～6)。また、機器により吸光度変化の立ち上がり時間に違いは認められたが、5分間の濃度勾配はグラジエントプログラムとほぼ同程度であった。また、各社の使用機器において、A～E社は低圧混合方式、F社は高圧混合方式であったが、E社は超高速クロマトグラフィー対応の仕様のため、低圧混合方式でもグラジエント遅れが少ないこと、同型のB社及びC社でもグラジエント遅れに差があることが明らかになった。これらは配管に依存するものと考えられる。

以上より、システムボリュームの違いによるグラジエント遅れを考慮してグラジエントプログラムを補正することで、異なる機器間でも保持時間の再現性を得ることは可能であると考えた。

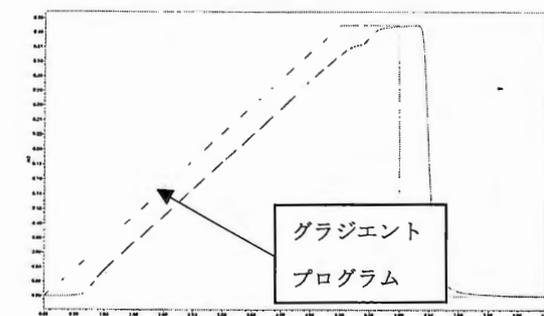
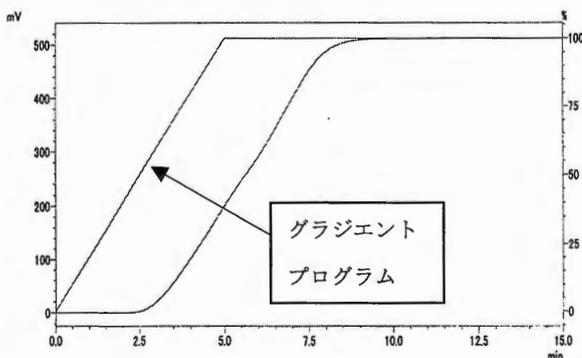


Fig.5 クロマトグラム (時間差 3.0 分、A 社)

Fig.6 クロマトグラム (時間差 0.5 分、E 社)

3. グラジエント開始時間補正後の室間再現性の検証

1) 試験方法

グラジエント遅れの最も大きかった A 社の保持時間に合わせるため、移動相 A を 100% の比率で流す時間を使用機器ごとに設定することで、注入の 3 分後から移動相の組成変化が始まるようにグラジエントの開始時間を補正した (Table 2)。すなわち、2. で測定したグラジエント遅れを補正するため、Table2 に示すとおり、移動相 A を 100% で流す時間を機器ごとに設定した。その後は、1. に示した条件と同様に 5 分間で移動相 B が 100% となるようグラジエントプログラムを設定した。

Table 2 各社の機器構成及びグラジエントプログラムの補正

	A 社	B 社	C 社	D 社	E 社	F 社
ポンプ	LC-20AD	LC2010	LC2010	e 2695	H-Class	LC-20AD 2 台
オートサンプラ	SIL20AC					SIL-20AC
検出器	SPD-20A			e 2489	TUV	SPD-20A
グラジエント方式	低圧	低圧	低圧	低圧	低圧	高圧
グラジエント遅れの時間 (分)	3.0	1.4	1.0	1.0	0.5	0.5
移動相 A を 100% で流すように設定した時間 (分)	0	1.6	2.0	2.0	2.5	2.5

2) 結果及び考察

6 社それぞれ、理論段数、分離度、シンメトリー係数、6 回の再現性 (ピーク面積及び内標準物質に対するピーク面積の比) を求めた (Table 3 及び Fig.7~8)。

アセトアミノフェンの保持時間は、6 社の試験結果において、いずれも保持時間は約 1 分であった。また、カフェインは約 1.7~1.8 分、内標準物質は約 4.9~5.2 分、エテンザミドは約 5.5~5.7 分であり、A 社に合わせたため溶出時間は遅くなったが、内標準物質とエテンザミドの相対標準偏差が小さくなり再現性が大きく向上した (Table 4)。また、いずれの分析対象成分においても、ピーク面積の比の 6 回の相対標準偏差は、0.3% 以内であり、良好な再現性が得られた。D 社において、面積の 6 回の相対標準偏差が 1.5% 以上となったが、グラジエントプログラム補正前後の全成分とも 1.0% 以上であること、注入量が 1 μ L と少量であることから、使用機器による注入量ばらつきであると考えられる。

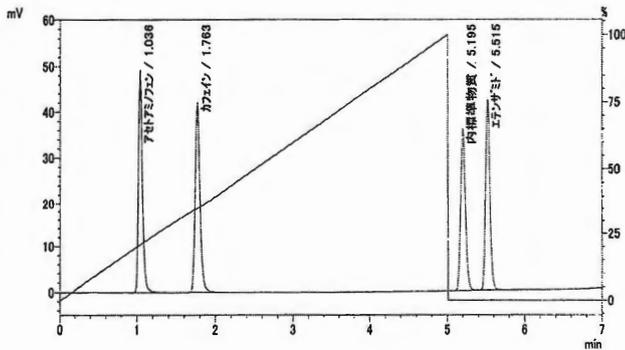


Fig.7 クロマトグラム (A社)

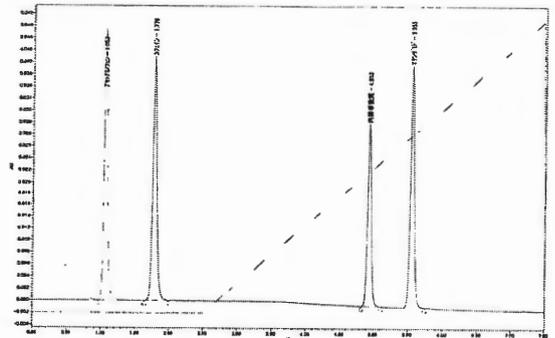


Fig.8 クロマトグラム (E社)

Table 3 分析結果の各パラメータ（補正後の室間再現精度）

		A社	B社	C社	D社	E社	F社
カラム圧 (psi)		1972	1730	1900	1850	2910	2132
アセトアミノフェン	保持時間 (min)	1.070	1.084	1.041	1.083	1.053	1.026
	理論段数	2338	1480	2022	1020	2268	1799
	分離度	—	—	—	—	—	—
	シンメトリー係数	1.49	1.36	1.37	1.03	1.48	1.47
	再現性（面積）6回の相対標準偏差	0.354	0.367	0.245	1.759	0.128	0.115
	再現性（面積比）6回の相対標準偏差	0.150	0.052	0.227	0.087	0.099	0.035
カフェイン	保持時間 (min)	1.835	1.802	1.673	1.805	1.776	1.779
	理論段数	4576	3184	3841	2379	4428	3524
	分離度	7.76	5.98	6.33	5.10	7.42	6.97
	シンメトリー係数	1.33	1.27	1.24	1.05	1.21	1.24
	再現性（面積）6回の相対標準偏差	0.338	0.356	0.176	1.760	0.073	0.136
	再現性（面積比）6回の相対標準偏差	0.155	0.032	0.051	0.074	0.081	0.073
内標準物質	保持時間 (min)	5.207	4.879	5.054	4.970	4.933	4.939
	理論段数	33240	33383	45502	19569	41054	31007
	分離度	30.35	26.29	33.44	21.85	31.01	27.21
	シンメトリー係数	1.25	1.22	1.10	1.03	1.10	1.21
	再現性（面積）6回の相対標準偏差	0.235	0.336	0.157	1.732	0.073	0.122
	再現性（面積比）6回の相対標準偏差	0.127	0.036	0.102	0.048	0.154	0.098
エテンザミド	保持時間 (min)	5.524	5.489	5.699	5.603	5.555	5.564
	理論段数	44089	42091	59609	24948	48751	39237
	分離度	2.90	5.72	6.88	4.46	6.30	5.55
	シンメトリー係数	1.27	1.22	1.12	1.03	1.12	1.22
	再現性（面積）6回の相対標準偏差	0.280	0.338	0.152	1.746	0.162	0.146
	再現性（面積比）6回の相対標準偏差	0.127	0.036	0.102	0.048	0.154	0.098

Table 4 グラジエントプログラム補正前後の保持時間の比較

成分名	グラジエントプログラム補正前		グラジエントプログラム補正後	
	平均 (分)	相対標準偏差 (%)	平均 (分)	相対標準偏差 (%)
アセトアミノフェン	1.061	0.03	1.060	0.02
カフェイン	1.694	0.09	1.778	0.03
内標準物質	3.582	0.24	4.997	0.02
エテンザミド	4.060	0.19	5.572	0.01

4. 医薬品の定量分析

1) 試験方法

今回設定した試験方法を用いて、有効成分としてアセトアミノフェン、カフェイン及びエテンザミドを含有する医薬品の定量分析を行った。比較のために昨年度報告した¹⁾アイソクラティック法での分析も行った。

2) 結果及び考察

今回設定した試験方法で分析した結果、グラジエント法を用いた場合、アイソクラティック法に比べ3成分全ての定量値が2%低くなった。アイソクラティック分析時に見られる、保持時間約4.5分の不純物ピークがグラジエント分析では見られなかったこと、3成分全ての定量値が低

かったことから、内標準物質のピークに不純物ピークが重なった結果、内標準ピークで補正した定量値が低くなったと推察された。そこで、分析に使用するカラムを Inert Sustain C18 から CAPCELL PAK C18 UG120 に変更したところ、内標ピークと不純物ピークが分離し、その結果アイソクラティック法とグラジエント法の間で定量値に大きな差は見られなかった (Table 5 及び Fig.9~12)。

Table 5 医薬品の定量結果

成分名	Inert Sustain C18			CAPCELL PAK C18 UG120		
	定量値 (%)		定量値の差 (%)	定量値 (%)		定量値の差 (%)
	アイソクラティック	グラジエント	グラジエント-アイソクラティック	アイソクラティック	グラジエント	グラジエント-アイソクラティック
アセトアミノフェン	100.6	98.6	-2.0	100.3	100.0	-0.3
カフェイン	98.4	96.4	-2.0	98.2	97.8	-0.4
エテンザミド	99.8	97.5	-2.3	99.6	99.3	-0.3

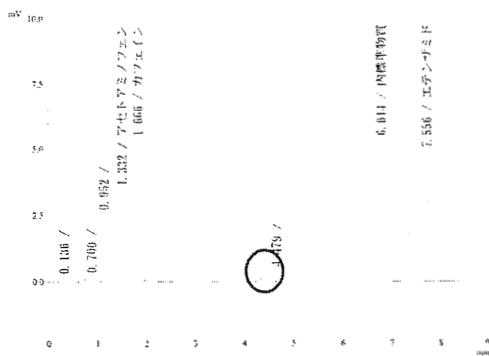


Fig.9 クロマトグラム (Inert Sustain C18 アイソクラティック法)

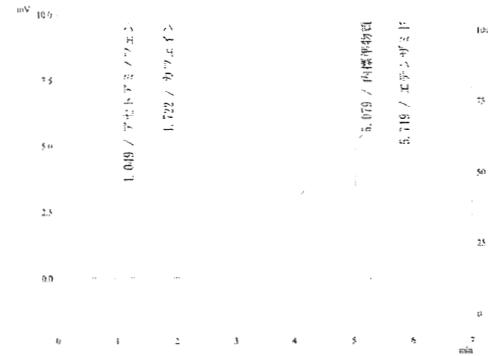


Fig.10 クロマトグラム (Inert Sustain C18 グラジエント法)

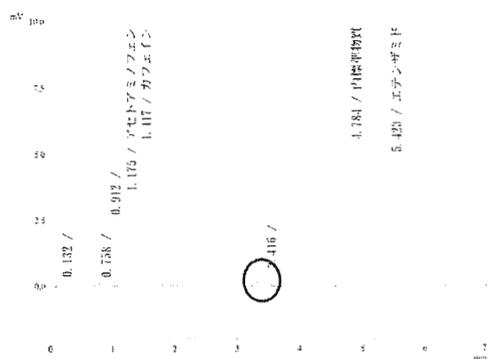


Fig.11 クロマトグラム (CAPCELL PAK C18 UG120 アイソクラティック法)

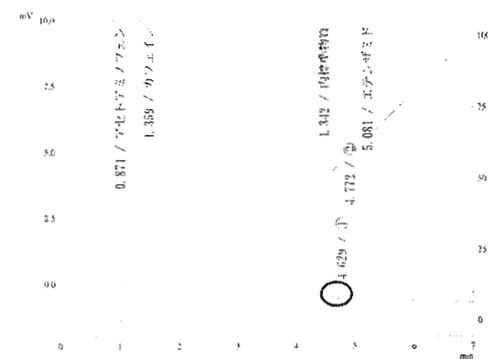


Fig.12 クロマトグラム (CAPCELL PAK C18 UG120 グラジエント法)

総括

アセトアミノフェン、エテンザミド及びカフェインの同時分析のモデル試験として、医薬品の定量試験におけるグラジエント法を作成し、その実用性を6社で検討した。

その結果、各社の機器では、ピークの保持時間はばらついたが、各機器のグラジエント遅れを測定し、その値を使用してグラジエントの開始時間を補正することで、異なる機器を使用した場合においても、保持時間を一致させることが可能であり、ピーク面積の比の再現性も良好であることが明らかになった。

また、市販製剤を用いたの定量試験においても、カラムの変更によりアイソクラティック法と同様の結果を得ることができた。医薬品の品質管理での定量試験においては、アイソクラティック法が多用されてきたが、本研究により、グラジエント法の実用性が示唆された。グラジエント法を用いることで、保持の異なる複数の成分を順に分離よく、短時間で溶出させることが可能であり、多成分同時分析における試験効率化に有効であると考えられる。

今後グラジエント法を用いることで、さらに成分数の多い製剤の同時分析における試験効率化を検討することが課題である。

文 献

- 1) 飯村和也ら、医薬品試験の効率化に関する検討（第2報）、家庭薬研究、No.35、57-62 (2016)
- 2) Wako Analytical Circle No.14(1999)

HPLC法の分析時間短縮化に関する検討（第9報）

－八味地黄丸エキス・牛車腎気丸エキス中のロガニンの分析－

Study on shortening of analysis time in high performance liquid chromatography.IX.

－ Study on analysis of Loganin in Hatimijiogan Extract and Gosyajinkigan Extract －

黒崎 之予	株式会社廣貫堂	堀井 周文	クラシエ製薬株式会社
Yukiyo KUROSAKI	Kokando Co., Ltd.	Chikafumi HORII	Kracie Pharma, Ltd.
奥野 康之	株式会社廣貫堂	小此木 明	クラシエ製薬株式会社
Yasuyuki OKUNO	Kokando Co., Ltd.	Akira OKONOGI	Kracie Pharma, Ltd.
横田 洋一	富山県薬事研究所	大根谷 章浩	小太郎漢方製薬株式会社
Yoichi YOKOTA	Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research	Akihiro DAIKONYA	Kotaro Pharmaceutical Co., Ltd.

緒言

製造管理及び品質管理における分析では多検体を処理する必要があり、1 検体当たりの分析時間の短縮化が求められている。当部会では、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に使用するカラムを第十六改正日本薬局方（JP 16）等の公定書で汎用される粒径 5 μm、内径 4.6 mm、長さ 150 mm（以下、150 mm カラムと略す）のカラムから粒径 3 μm、内径 4.6 mm、長さ 75 mm のカラム（以下、75 mm カラムと略す）に変更することで分析時間の短縮化を図ってきた¹⁻¹⁰。2013 年度は、JP 16 における定量法で保持時間が 25 分と長く品質試験の現場においても分析時間の短縮が望まれるサンシュユ中のロガニンを分析した⁸。本年度はサンシュユのロガニンの分析の応用を考え、八味地黄丸エキスと牛車腎気丸エキスのロガニンの分析時間の短縮を検討した。

実験方法

1. 実験 I : カラムの選抜

1) 試薬及び生薬

試薬及び生薬	Lot.No.	メーカー
局方生薬試験用（定量用・薄層クロマトグラフィー用）ロガニン	Lot. KPF0396	和光純薬工業（株）
日局ジオウ	Lot. 005015007	（株） 栃本天海堂
日局サンシュユ	Lot. 004715003	（株） 栃本天海堂 ロガニン0.76%（試験成績書）
日局サンヤク	Lot. 004915004	（株） 栃本天海堂
日局タクシャ	Lot. 007215002	（株） 栃本天海堂
日局ブクリョウ	Lot. 009515008	（株） 栃本天海堂
日局ボタンピ	Lot. 010015002	（株） 栃本天海堂
日局ケイヒ	Lot. 002815005	（株） 栃本天海堂
日局ブシ末1	Lot. NDA122	三和生薬（株）
日局ゴシツ	Lot. 003715001	（株） 栃本天海堂
日局シャゼンシ	Lot. 005415001	（株） 栃本天海堂

2) エキスの調製方法（「医療用漢方エキス製剤の取扱いについて」¹⁾を参照にして調製）

(1) 八味地黄丸エキス粉末の調製

土瓶にジオウ 5g、サンシュユ 3g、サンヤク 3g、タクシャ 3g、ブクリョウ 3g、ボタンピ 3g、ケイヒ 1g、ブシ末 1g 及び水 440 mL を加え、蓋がない状態で加熱抽出後、熱時ろ過を行い 220 mL の抽出液を得た。これを凍結乾燥し八味地黄丸エキス粉末とした。

(2) 八味地黄丸サンシュユブランクエキス粉末の調製

土瓶にジオウ 5g、サンヤク 3g、タクシャ 3g、ブクリョウ 3g、ボタンピ 3g、ケイヒ 1g、ブシ末 1g 及び水 380 mL を加え、蓋がない状態で加熱抽出後、熱時ろ過を行い 190 mL の抽出液を得た。これを凍結乾燥し八味地黄丸サンシュユブランクエキス粉末とした。

(3) 牛車腎気丸エキス粉末の調製

土瓶にジオウ 5g、サンシュユ 3g、サンヤク 3g、タクシャ 3g、ブクリョウ 3g、ボタンピ 3g、ケイヒ 1g、ブシ末 1g、ゴシツ 3g、シャゼンシ 3g 及び水 560 mL を加え、蓋がない状態で加熱抽出後、熱時ろ過を行い 280 mL の抽出液を得た。これを凍結乾燥し牛車腎気丸エキス粉末とした。

(4) 牛車腎気丸サンシュユブランクエキス粉末の調製

土瓶にジオウ 5g、サンヤク 3g、タクシャ 3g、ブクリョウ 3g、ボタンピ 3g、ケイヒ 1g、ブシ末 1g、ゴシツ 3g、シャゼンシ 3g 及び水 500 mL を加え、蓋がない状態で加熱抽出後、熱時ろ過を行い 250 mL の抽出液を得た。これを凍結乾燥し牛車腎気丸サンシュユブランクエキス粉末とした。

3) 標準溶液及び試料溶液の調製方法

JP 16 八味地黄丸エキス及び牛車腎気丸エキスのロガニン定量法の項に従い、上記の試料を用いて、以下の標準溶液及び試料溶液を調製した。

(1) ロガニン標準溶液の調製

定量用ロガニン約 10 mg を精密に量り、薄めたメタノール(1 → 2)に溶かして正確に 100 mL とし、標準溶液とした。

(2) 試料溶液の調製

エキス粉末約 0.5 g を薄めたメタノール (1 → 2) 50 mL で 15 分間振り混ぜた後、ろ過し、ろ液を試料溶液とした。

4) 試験方法

ロガニン標準溶液、八味地黄丸エキス粉末、八味地黄丸サンシュユブランクエキス粉末、牛車腎気丸エキス粉末及び牛車腎気丸サンシュユブランクエキス粉末試料溶液に対し、150 mm カラムで 1 社 (A 社) で分析を行った。使用したカラムを Table 1 に示す。評価項目は、含量を算出するとともにシステム適合性に従い、再現性、シンメトリー係数および理論段数について確認を行った上で、分離度については、各試料溶液のロガニンの直前及び直後の未同定成分との分離度を算出しカラムの性能を評価した。

Table 1 分析に使用した 150 mm カラム

カラム	Lot.No.	販売元
TSKgel ODS-80Ts	0017201	東ソー (株)
Capcell pak C18 UG120	ACAB16345	(株) 資生堂
L-column2 ODS	E4515061-W	(一財) 化学物質評価研究機構
YMC-Pack ODS-A	0415118305 (W)	(株) ワイエムシィ
Wakosil-II 5 C 18 HG	05531	和光純薬工業 (株)
YMC-pack proC18	0415144513 (W)	(株) ワイエムシィ
Capcell pak MG	AKAB02449	(株) 資生堂
Mightysil RP-18 GP	8045691	関東化学 (株)

試験条件

JP 16 「八味地黄丸エキス」及び「牛車腎気丸エキス」のロガニン定量法に準じた。

検出器： 紫外吸光光度計 (測定波長 238 nm)

カラム温度： 50℃

移動相： 水/アセトニトリル/メタノール混液 (55 : 4 : 1)

流量： 毎分 1.2 mL

注入量： 10 μ L

評価項目： 再現性、シンメトリー係数、理論段数、分離度*、含量

*分離度はロガニンのピークとその前後の未同定成分のピークを評価した。

2. 実験Ⅱ：分析時間短縮化の検討

日本薬局方技術情報 2011 に記載されている TSKgel ODS-80Ts の 150 mm カラムを対照カラムとし、実験Ⅰで選抜したカラムの 75 mm カラム (Table 3) を使用し、各社それぞれで分析を行った。評価項目は実験Ⅰと同様であり、分析時間を短縮しても良好に分析が可能であるか評価を行った。

分析機器

A 社：LC 20 AD Prominence (島津製作所製)

B 社：LC-2010AHT (島津製作所製)

C 社：1260 infinity LC (アジレントテクノロジー製)

Table 2 検討に使用した 150 mm カラム及び 75 mm カラム

カラム	サイズ	Lot.No.	販売元
TSKgel ODS-80Ts 対照カラム	4.6×150 mm 粒径 5 μ m	0017201	東ソー (株)
Capcell pak C18 UG120	4.6×75 mm	ARAI01775	(株) 資生堂
Wakosil-II 3 C 18 HG	粒径 3 μ m	SAH8731	和光純薬工業 (株)
Mightysil RP-18 GP		917530	関東化学 (株)

実験結果

1. 実験 I : カラムの選抜

対照カラムである TSKgel ODS-80Ts カラムのクロマトグラムを 150mmカラムのクロマトグラムの一例として Fig 1 に示した。保持時間約 26 分にロガニンのピークが認められ、また、八味地黄丸サンシュユブランクエキス粉末及び牛車腎気丸サンシュユブランクエキス粉末の試料溶液からロガニンの保持時間にピークは検出されなかったことから、特異性があることを確認した。

各カラムの分析結果を Table 3 に示した。この結果より、検討を行った 5 種すべてのカラムにおいて 5000 段以上の理論段数と 1.5 以下のシンメトリー係数が得られており、JP 16 のシステム再現性の相対標準偏差も 1.5% 以下を満たし、保持時間や含量に差が無いことを確認した。分離度についてはロガニンの直前及び直後の未同定成分との分離度にも問題がないことを確認した。これらの結果から 75 mm カラムでも問題なく分析できると推測するが、その中でも理論段数や直前及び直後の未同定成分との分離度が確保できており、保持時間が短い Capcell pak C18 UG120、Wakosil-II 5 C 18 HG、Mightysil RP-18 GPについて 75 mm カラムを検討することとした。

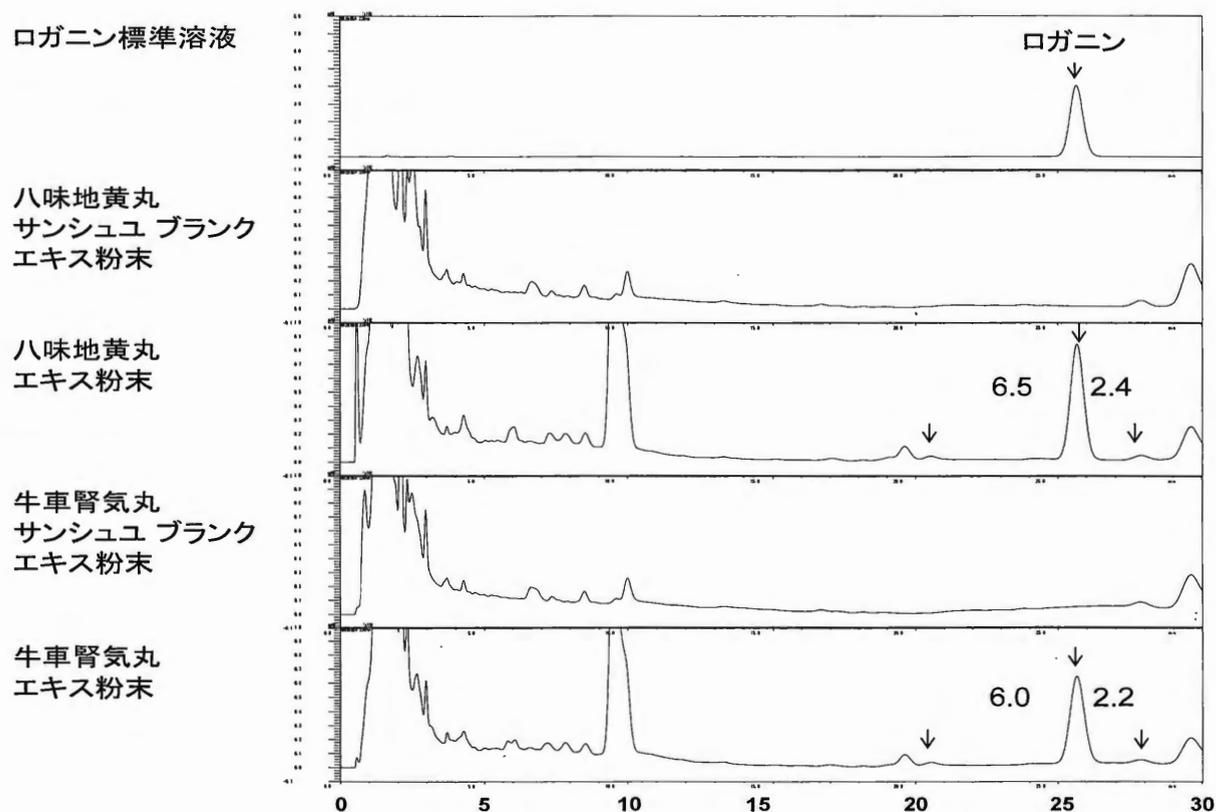


Fig 1 150 mm カラム (TSKgel ODS-80Ts) のクロマトグラム (数値は未同定成分との分離度を示す)

Table 3 150 mm カラムにおける八味地黄丸エキス粉末及び牛車腎気丸エキス粉末のロガニンの分析結果 (A 社)

サンプル	カラム	カラム 長さ (mm)	保持時間 (min)	相対標準 偏差 (%)	分離度 (1) *	分離度 (2) *	理論段数 (段)	シンメ トリー 係数	ロガニン 含量 (mg/day)
八味地黄丸 エキス粉末	TSKgel ODS-80Ts	150	25.7	0.10	6.5	2.4	13061	1.04	13.5
	Capcell pak C18 UG120		16.8	0.49	5.4	1.9	9783	1.07	13.3
	L-Column2		19.2	0.08	5.5	3.2	13376	1.03	13.5
	YMCpack ODS-A		20.3	0.04	7.2	3.2	14266	1.02	13.6
	Wakosil-II 5C18HG		18.1	0.88	5.8	2.5	10590	1.01	13.0
	YMCpack pro C18		23.6	0.19	8.2	4.6	15252	1.04	13.6
	Capcell pak MG		22.9	0.09	5.8	2.4	9867	1.07	13.8
Mightysil RP-18 GP	20.1	0.13	5.9	2.6	12883	1.03	13.6		
牛車腎気丸 エキス粉末	TSKgel ODS-80Ts	150	25.7	0.10	6.0	2.2	11465	1.04	14.9
	Capcell pak C18 UG120		16.8	0.49	5.4	1.9	9749	1.08	14.7
	L-Column2		19.2	0.08	5.5	3.3	12780	1.00	14.6
	YMCpack ODS-A		20.3	0.04	7.1	3.5	14561	1.03	15.0
	Wakosil-II 5C18HG		18.1	0.88	5.7	2.5	10458	1.00	14.5
	YMCpack proC18		23.5	0.19	8.0	4.6	15125	1.03	15.1
	Capcell pak MG		22.9	0.09	5.7	2.5	10206	1.05	14.4
Mightysil RP-18 GP	20.1	0.13	5.8	2.5	12840	1.03	14.9		

*分離度はロガニンのピークとその前後の未同定成分のピークをそれぞれ分離度 (1)、分離度 (2) として評価した。

2. 実験Ⅱ：分析時間短縮化の検討

実験Ⅰで得た 150 mm カラムのクロマトグラム及び実験Ⅱで得た 75 mm カラムのクロマトグラムの比較を Fig 2 に示した。150 mm カラムと 75 mm カラムのクロマトグラムはそれぞれ類似したパターンを示した。

対照カラム及び 75 mm カラムにおける分析結果を Table 4 及び 5 に示した。いずれの 75 mm カラムも、1.5 以下のシンメトリー係数を示し、相対標準偏差も 1.5% 以下を示した。Capcell pak C18 UG120 のみ、1 社で理論段数が 5000 段以下になる結果であったが、それ以外のカラムは JP 16 のシステム適合性およびシステム再現性を満たすことが判明した。75 mm カラムの圧力は、対照の 150 mm カラムと大差なかった。

また、ロガニンの直前及び直後にある未同定成分のピークについてはそれぞれ分離度 1.5 以上を満たし、含量についても対照カラムと同じ値であり、定量には問題がないことが確認された (Table 4 及び 5)。ロガニンの含量については対照の 150 mm カラム及び 75 mm カラムのいずれにおいても各社で八味地黄丸エキス粉末では約 13.3 mg/day、牛車腎気丸エキス粉末では約 14.7 mg/dayであった。

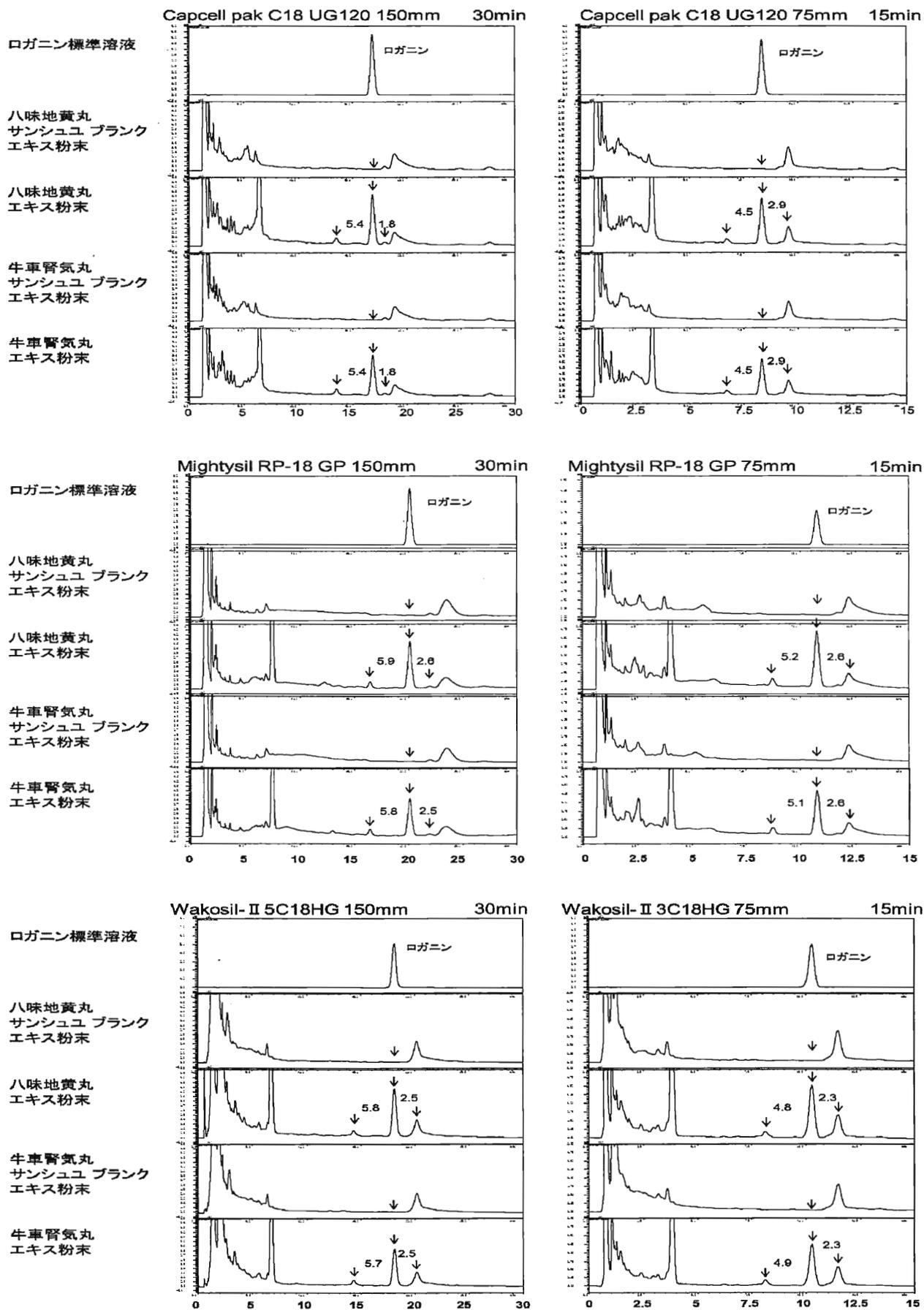


Fig 2 150 mm 及び 75 mm カラムのクロマトグラム (数値は未同定成分との分離度を示す)

Table 4 対照カラム及び 75 mm カラムにおける八味地黄丸エキス粉末のロガニンの分析結果

カラム	保持時間 (min)	圧力 (MPa)	相対標 準偏差 (%)	分離度 (1) *	分離度 (2) *	理論段数 (段)	シンメト リー係数	ロガニン 含量 (mg/day)	ロガニン 含量平均 (mg/day)	分析 担当
TSKgel ODS-80Ts	25.7	8.5	0.10	6.5	2.4	13061	1.04	13.5		A
4.6×150 mm、5 μm	22.1	8.5	0.07	6.3	2.1	12495	1.11	13.4	13.4	B
(対照カラム)	21.9	8.4	0.06	5.3	2.2	9548	1.13	13.3		C
Capcell pak C18 UG120	8.3	7.5	0.18	4.5	2.9	7832	1.08	13.6		A
4.6×75 mm、3 μm	8.4	7.1	0.04	4.3	3.3	7950	0.99	13.7	13.5	B
	8.1	7.2	0.11	2.9	2.5	4620	1.19	13.2		C
Wakosil-II 3 C18 HG	10.3	6.8	0.39	4.8	2.3	7091	0.92	13.2		A
4.6×75 mm、3 μm	10.4	6.5	0.05	4.9	2.6	8708	0.99	13.5	13.2	B
	10.0	6.7	0.21	3.7	2.2	5913	1.13	12.9		C
Mightysil RP-18 GP	10.8	8.5	0.08	5.2	2.6	9580	1.03	13.0		A
4.6×75 mm、3 μm	10.6	8.1	0.02	5.2	2.4	9848	1.01	13.5	13.2	B
	10.5	8.1	0.15	4.0	2.4	6607	1.14	13.1		C

*ロガニンのピークとその直前及び直後の未同定成分のピークとの分離度を、それぞれ分離度 (1)、分離度 (2) として評価した。

Table 5 対照カラム及び 75 mm カラムにおける牛車腎気丸エキス粉末のロガニンの分析結果

カラム	保持時間 (min)	圧力 (MPa)	相対標 準偏差 (%)	分離度 (1) *	分離度 (2) *	理論段数 (段)	シンメト リー係数	ロガニン 含量 (mg/day)	ロガニン 含量平均 (mg/day)	分析 担当
TSKgel ODS-80Ts	25.7	8.5	0.10	6.0	2.2	11465	1.04	14.9		A
4.6×150 mm、5 μm	22.1	8.5	0.07	6.4	2.1	12463	1.11	14.8	14.8	B
(対照カラム)	21.9	8.4	0.06	5.3	2.2	9540	1.13	14.7		C
Capcell pak C18 UG120	8.3	7.5	0.18	4.5	2.9	7570	1.08	14.6		A
4.6×75 mm、3 μm	8.4	7.1	0.04	4.3	3.3	7952	0.99	15.0	14.7	B
	8.1	7.2	0.11	2.9	2.5	4514	1.21	14.5		C
Wakosil-II 3 C18 HG	10.3	6.8	0.39	4.9	2.3	7191	0.92	14.7		A
4.6×75 mm、3 μm	10.4	6.5	0.05	5.0	2.6	8788	0.99	14.9	14.6	B
	10.0	6.7	0.21	3.9	2.2	6030	1.14	14.2		C
Mightysil RP-18 GP	10.7	8.5	0.08	5.1	2.6	9445	1.03	14.5		A
4.6×75 mm、3 μm	10.6	8.1	0.02	5.2	2.3	9841	1.01	14.9	14.6	B
	10.5	8.2	0.15	4.0	2.4	6534	1.15	14.5		C

*ロガニンのピークとその直前及び直後の未同定成分のピークとの分離度を、それぞれ分離度 (1)、分離度 (2) として評価した。

考 察

八味地黄丸エキス粉末及び牛車腎気丸エキス粉末中のロガニンの分析において、150 mm カラムから 75 mm カラムに変更することにより、分析時間を約 60 % ~ 70 % 短縮することができた。また、ロガニンの含量について、対象カラムと 75 mm カラムおける差は見られなかった。

今回選抜した 75 mm カラムは 150 mm カラムで検討した中で保持時間が短く、理論段数、分離度が小さいものであり、カラムの性能としては低いものを選択したが、分析時間の短縮化に成功した。従って、検討したその他の 150 mm カラムについても、75 mm に変更することで分析時間短縮化も可能と推測する。

Capcell pak C18 UG120 の 75 mm カラムの結果について、C 社のみ理論段数が 5000 段以下となった。3 社の理論段数の計算に差は無く、カラムの劣化と推測した。カラムを使用した会社の順番は A 社 → B 社 → C 社であることから、A 社にカラムを送付し、再分析を行ったところカラムの理論段数は 5000 段以上であった。これは、C 社が使用した機器が他 2 社と違うメーカーであり、機器の特性による差が原因の 1 つとして推測した。今回の検討では理論段数 5000 を切った場合においても、ロガニンの含量値に差が見られず定量性が保持されているという点でも、75 mm カラムの適用が可能ではないかと考えられた。

文 献

- 1) 永井喜美ら：HPLC における六神丸のブフォステロイドの分析（第一報）
家庭薬研究 No. 22、23 - 30（2003）。
- 2) 俣野豊ら：HPLC における六神丸のブフォステロイドの分析（第二報）
家庭薬研究 No. 24、19 - 26（2005）。
- 3) 永井喜美ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討 - 生薬成分について -
家庭薬研究 No. 28、28 - 34（2009）。
- 4) 安藤英広ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討（第 2 報） - 生薬成分について -
家庭薬研究 No. 29、23 - 30（2010）。
- 5) 堀井周文ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討（第 3 報） - 生薬成分について -
家庭薬研究 No. 30、31 - 43（2011）。
- 6) 中林佐知栄ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討（第 4 報） - 生薬成分について -
家庭薬研究 No. 31、61 - 69（2012）。
- 7) 前田典子ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討（第 5 報） - 生薬成分について -
家庭薬研究 No. 32、19 - 27（2013）。
- 8) 野本有紗ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討（第 6 報） - 生薬成分について -
家庭薬研究 No. 33、19 - 27（2014）。
- 9) 堀井周文ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討（第 7 報） - 無コウイ大建中湯エキスの [6]
- ショーガオール定量法についての基礎的検討 - 家庭薬研究 No. 34、25 - 30（2015）。
- 10) 大根谷章浩ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討（第 8 報） - ウコン中の総クルクミノ
イドについて - 家庭薬研究 No. 35、63 - 70（2016）。
- 11) 厚生省薬務局審査第一、第二課長通知、昭和 60 年 5 月 31 日、薬審二第 120 号（1985）。

シクロデキストリンを用いた苦味マスキング法の検討と評価 (第2報)

Study on Bitter Masking of Drugs by Cyclodextrins (The second report)

富山県薬事研究会製剤部会

Division of Drug Formulation Toyama Pharmaceutical Research Association

菅原 崇 Takashi SUGAHARA	キョーリンリメディオ株式会社 KYORIN Rimedio Co., Ltd.	早苗 秀敏 Hidetoshi SANAE	救急薬品工業株式会社 Kyukyuu Pharmaceutical Co., Ltd.
杉窪 克哉 Katsuya SUGIKUBO	小太郎漢方製薬株式会社 Kotaro Pharmaceutical Co., Ltd.	西村 友快 Tomoyoshi NISHIMURA	小林化工株式会社 Kobayashi Kako Co., Ltd.
布目 基倫 Motomichi NUNOME	新新薬品株式会社 Shinshin Pharmaceutical Co., Ltd.	奥谷 和寛 Kazuhiro OKUTANI	第一薬品工業株式会社 Daiichi Yakuhin Kogyo Co., Ltd.
山田 篤志 Atsushi YAMADA	テイカ製薬株式会社 Teika Pharmaceutical Co., Ltd.	霜鳥 武司 Takeshi SHIMOTORI	日本曹達株式会社 Nippon Soda Co., Ltd.
横山 慎一 Shinichi YOKOYAMA	日医工株式会社 Nichi-Iko Pharmaceutical Co., Ltd.	澤田 裕史 Hirofumi SAWADA	バイホロン株式会社 BIHOLON Co., Ltd.
廣谷 武史 Takeshi HIROTANI	バイホロン株式会社 BIHOLON Co., Ltd.	八木 清 Kiyoshi YAGI	明治製薬株式会社 Meiji Pharmaceutical Co., Ltd.
安住 新吾 Shingo AZUMI	株式会社陽進堂 Yoshindo Inc.	向 勝臣 Katsuomi MUKAI	株式会社パナケイア製薬 PANAKEIA SEIYAKU Co., Ltd.
明官 勇雄 Isao MYOKAN	富山県薬事研究所 Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research.	永井 秀昌 Hidemasa NAGAI	富山県薬事研究所 Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research.

緒言

口腔内崩壊錠に活用できる効果的な苦味マスキング法の確立を目的として、マスキング法の一つである化学的マスキング法について検討し、味認識装置を用いて苦味評価を行った。苦味マスキング効果の評価は、ヒトによる官能試験に頼る場合が多いが、味認識装置による苦味の定量化によって、客観的な苦味評価を試みた。

前報では、クロルフェニラミンマレイン酸塩 (CM) に対して、 α -もしくは β -シクロデキストリン (CyD) を4倍モル比配合することで顕著な苦味マスキング効果が認められることを報告した。今回は、その結果に基づき、CMをCyDで包接化した顆粒を製造し、その顆粒を用いた錠剤について評価を行ったので報告する。

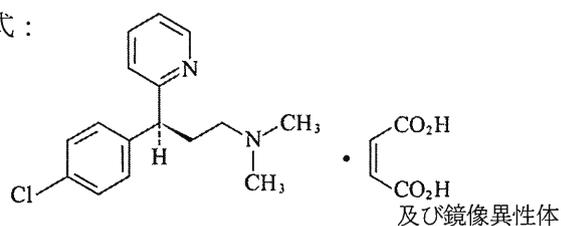
実験方法

1. 試薬

1) 苦味薬物

*d*Hクロロフェニラミンマレイン酸塩 (CM, 金剛薬品(株))

構造式：



2) 包接剤

α -シクロデキストリン (α -CyD, 和光純薬工業(株))

MW: 972.84

β -シクロデキストリン (β -CyD, 和光純薬工業(株))

MW: 1134.98

2. 装置

- 1) 噴霧乾燥造粒機：パルビス ミニスプレーGB-22 (ヤマト科学(株))
- 2) 乾式造粒機：ローラーコンパクター TF-LABO (フロイント産業(株))
- 3) 真空凍結乾燥機：ラブコンコ FD-10 (朝日ライフサイエンス(株))
- 4) ロータリー式打錠機：VELA5 (株菊水製作所)
- 5) 味認識装置：TS-5000Z (株インテリジェントセンサーテクノロジー)
センサ：医薬品評価用苦味センサ 4 種 (BT0, AN0, C00, AE1)

3. 実験手順

1) CyD との包接化溶液

包接化に用いた CyD は、前報で優れたマスキング効果を発揮した α -及び β -CyD の 2 種類とした。また、CyD の配合比は前報で最も効果が認められた CM に対して 4 倍モルとした。CM7.82 g と α -CyD 84.76 g を秤量し、蒸留水 1,000 mL に溶解させ、攪拌機で完全に溶解した。なお、理論上は CM の 4 倍モル量の α -CyD は 77.83 g であるが、水分補正して 84.76 g とした (水分量 8.18%)。

また、CM2.44 g と β -CyD 33.11 g を秤量し、蒸留水 2,000 mL に溶解させ、攪拌機で完全に溶解した。なお、理論上は CM の 4 倍モル量の β -CyD は 28.38 g であるが、水分補正して 33.11 g とした (水分量 14.31%)。

攪拌機を用いてそれぞれ 60 分間攪拌して包接化し、包接化溶液を用いて 2) と 3) の実験を行った。

2) 噴霧乾燥造粒機を用いての粉末化

包接化溶液を天秤に乗せ、ギアポンプを用いて噴霧乾燥造粒機に接続し、以下の条件で噴霧造粒を行い、生成した粉体を 850 μm のふるいで篩過し、粉体を回収した。

風量：0.50 m³/min、給気温度：180°C、出口温度：約 60°C、スプレー速度：約 15 g/min

3) 真空凍結乾燥機を用いての粉末化

包接化溶液をステンレス製のトレイに入れてマイナス 20°C で凍結させた後、下記条件で真

空凍結乾燥を行った。真空凍結乾燥後、生成した粉体を 850 μm のふるいで篩過し、粉体を回収した。

真空度：65～50 mTorr、一次乾燥：-40～14°C、二次乾燥：14～29°C

4) 錠剤の試作

2) と 3) で作成した包接化粉体を用いて錠剤を試作した。打錠はロータリー式打錠機を用い、直径 9mm の標準 R 杵を用いた。処方は下記の 5 処方で行錠し、錠剤は 1 錠 301.5mg、硬度 50N 程度となるように調整して打錠した。

なお、2) の噴霧乾燥造粒機を用いて得られた粉体は、極めて付着性が高く、打錠に適さなかったことから、あらかじめ CyD 包接化粉体と直打用乳糖水和物及びステアリン酸マグネシウムの半量を混合し、乾式造粒と整粒を行い、打錠処方に供した。

また、アスタリスク (*) を付した原料については、それぞれ水分を測定し、水分補正した処方量とした。またその際、1 錠あたり 301.5mg となるように直打用乳糖の処方量を調整した。

打錠処方

a) CyD 非配合処方 (コントロール)	(1 錠あたり)	
CM	6.0 mg	
直打用乳糖水和物 (ダイラク トーズ R)	219.0 mg	
直打用結晶セルロース (セオラス UF702)	60.0 mg	
クロスポビドン (コリドン CL)	15.0 mg	
ステアリン酸マグネシウム	1.50 mg	
合 計	301.50 mg	
b) α -CyD 非包接化処方		
CM	6.0 mg	
α -CyD*	59.7 mg	
直打用乳糖水和物 (ダイラク トーズ R)	159.3 mg	
直打用結晶セルロース (セオラス UF702)	60.0 mg	
クロスポビドン (コリドン CL)	15.0 mg	
ステアリン酸マグネシウム	1.50 mg	
合 計	301.50 mg	
c) α -CyD 包接化処方		
α -CyD-CM 包接化粉体*	65.7 mg	(CM 6 mg 含有)
直打用乳糖水和物 (ダイラク トーズ R)	159.3 mg	
直打用結晶セルロース (セオラス UF702)	60.0 mg	
クロスポビドン (コリドン CL)	15.0 mg	
ステアリン酸マグネシウム	1.50 mg	
合 計	301.50 mg	
d) β -CyD 非包接化処方		
CM	6.0 mg	
β -CyD*	69.7 mg	

直打用乳糖水和物 (ダイラクトーズ R)	149.3 mg
直打用結晶セルロース (セオラス UF702)	60.0 mg
クロスポビドン (コリドン CL)	15.0 mg
ステアリン酸マグネシウム	1.5 mg
合 計	301.5 mg

e) β -CyD 包接化処方

β -CyD-CM 包接化粉体*	75.7 mg	(CM 6 mg 含有)
直打用乳糖水和物 (ダイラクトーズ R)	149.3 mg	
直打用結晶セルロース (セオラス UF702)	60.0 mg	
クロスポビドン (コリドン CL)	15.0 mg	
ステアリン酸マグネシウム	1.5 mg	
合 計	301.5 mg	

5) 味の評価

検体を希釈する希釈液には 10 mM KCl を用い、4) で作成した錠剤 a) ~e) のそれぞれ 10 錠を測定用カップに入れ、CM の濃度が 1.7 mg/mL となるように調製した。味覚測定終了後、実験者数名による官能試験によって苦味強度の確認を行った。

4. 解析方法

各検体につき味認識装置のプログラムに従って 4 回測定し、最初の 1 回目のデータを除いた計 3 回のデータを以下の解析に使用した。

1) 電圧値での評価

得られた 3 回の測定データについて、専用の解析アプリケーションを用いて補完加算処理^{*1}し、平均して得られた値を各センサの電圧値として評価した。味認識装置では最初に検体溶液中で測定する先味に加え、各センサを 3 回の洗浄後に基準液中で測定する後味 (CPA 値) の測定も行った。なお、人工脂質膜がプラス荷電である C00 と AE1 は、マイナス側に出力するセンサであるため、結果のグラフは絶対値に変換して比較した。その際、正の値については、0 とみなして表示した。

※1 味認識装置では、測定を重ねるたびにセンサ出力が減少するため、ブランクとして用いた検体 (10 mM KCl) を用いてベースラインの補正を行う必要がある。

2) 推定値での評価

推定値は、得られた 3 回の測定データを専用の解析アプリケーションを用いて補完加算処理し、各センサ値に固有の係数を乗じることによって算出される値¹⁾であり、1 以上の差で味の差を識別することができる味覚項目として表される。

実験結果

1. CyD 包接化溶液の顆粒化実験 (噴霧乾燥造粒法)

噴霧乾燥造粒法によって、CM を含む CyD 包接化溶液を粉体化し、下記の通り生成物を得た。

- ① α -CyD-CM 包接化粉体 収量 : 85.65g 収率 92.9% 水分量 7.08%
- ② β -CyD-CM 包接化粉体 収量 : 24.76g 収率 73.4% 水分量 8.63%

2. CyD 包接化溶液の顆粒化実験（真空凍結乾燥法）

真空凍結乾燥法によって、CM を含む CyD 包接化溶液を粉体化し、下記の通り生成物を得た。

- ① α -CyD-CM 包接化粉体 収量：84.69g 収率 95.0% 水分量 3.89%
- ② β -CyD-CM 包接化粉体 収量：24.70g 収率 75.5% 水分量 5.79%

3. CyD 包接化粉体の乾式造粒と打錠

噴霧乾燥造粒法によって得られた CyD-CM 包接化粉体を乳糖水和物、ステアリン酸マグネシウムと混合し、乾式造粒機で造粒した。得られたフレークは微粉を除去し、オシレーター式整粒機（目開き 0.8mm）を用いて整粒し、打錠用顆粒とした。これに直打用結晶セルロース、クロスポビドン、ステアリン酸マグネシウムを加えて混合し、ロータリー式打錠機にて打錠し、301.5 mg/Tab（硬度 50N）の錠剤を得た。また、真空凍結乾燥法によって得られた CyD-CM 包接化処方、CyD 非包接化処方及び CyD 非配合処方については、直打法により同様の錠剤を得た。

4. CyD 包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩（CM）錠のマスクング効果

eCで試作した錠剤について、懸濁した溶液を味認識装置で評価した。その結果、CM の苦味に応答する BT0 センサの電圧値は α 及び β -CyD の包接化によって低下し、マスクング効果を示すことが確認され、顆粒化法として用いた噴霧乾燥造粒法及び真空凍結乾燥法の両者ともに効果が認められた。また、包接化していない CyD を配合する処方と比較しても若干の電圧値の抑制が認められた。 α 及び β -CyD で比較した場合、噴霧乾燥造粒法では、 β -CyD のマスクング効果が高く、真空凍結乾燥法では α -CyD のマスクング効果が高い結果となっており、最もマスクング効果が認められた噴霧乾燥造粒法の β -CyD による包接化で、コントロールの 1/2 程度にまで苦味を抑制していた（Table 1, Fig. 1）。

また、解析アプリケーションを用いて電圧値を推定値に変換し、各味覚項目にて評価した。その結果、BT0 センサ値は塩酸塩苦味として表され、 α 及び β -CyD の包接化錠剤に塩基性苦味の抑制作用が認められた（Table 2）。電圧値と同様に、噴霧乾燥造粒法の β -CyD による包接化法の抑制効果が最も高く、コントロールと比較して塩酸塩苦味（後味）が約 1/2 に抑制されていた。また、この結果は官能試験による結果とも相関していた（Table 2, Fig. 2）。

Table 1 クロルフェニラミンマレイン酸塩配合錠の味覚評価（電圧値）

平均	BT0	AN0	C00	AE1	CPA (BT0)	CPA (AN0)	CPA (C00)	CPA (AE1)
Control (CM 10Tablets)	100.77	63.57	-43.65	-48.80	63.99	11.99	-2.05	-3.88
α -CyD 包接化なし	94.29	63.92	-44.10	-47.45	50.79	9.26	-1.44	-3.68
α -CyD 包接化(噴霧乾燥造粒)	62.48	44.53	-35.56	-32.00	39.04	6.57	-1.26	-2.94
α -CyD 包接化(凍結乾燥)	70.50	48.77	-38.44	-36.78	41.29	7.36	-1.47	-3.20
β -CyD 包接化なし	102.38	69.24	-53.71	-59.98	64.49	13.32	-1.80	-4.40
β -CyD 包接化(噴霧乾燥造粒)	50.95	38.25	-30.31	-26.46	36.28	7.02	-0.92	-1.80
β -CyD 包接化(凍結乾燥)	80.83	57.93	-46.78	-48.14	48.06	9.82	-1.55	-3.86

（各測定値は 3 回測定した平均値を示す）

Table 2 クロルフェニラミンマレイン酸塩配合錠の味覚評価 (推定値)

推定値	酸性苦味 (先味)	渋味 (先味)	塩基性苦味 (先味)	塩酸塩苦味 (後味)	酸性苦味 (後味)	渋味 (後味)
Control (CM 10Tablets)	6.11	7.69	21.58	19.2	0.43	6.11
α -CyD 包接化なし	6.17	7.48	16.66	15.24	0.3	6.17
α -CyD 包接化 (噴霧乾燥造粒)	4.98	5.04	11.83	11.71	0.26	4.98
α -CyD 包接化 (凍結乾燥)	5.38	5.79	13.24	12.39	0.31	5.38
β -CyD 包接化なし	7.52	9.45	23.98	19.35	0.38	7.52
β -CyD 包接化 (噴霧乾燥造粒)	4.24	4.17	12.63	10.88	0.19	4.24
β -CyD 包接化 (凍結乾燥)	6.55	7.58	17.67	14.41	0.33	6.55

(各測定値は3回測定した平均値を示す)

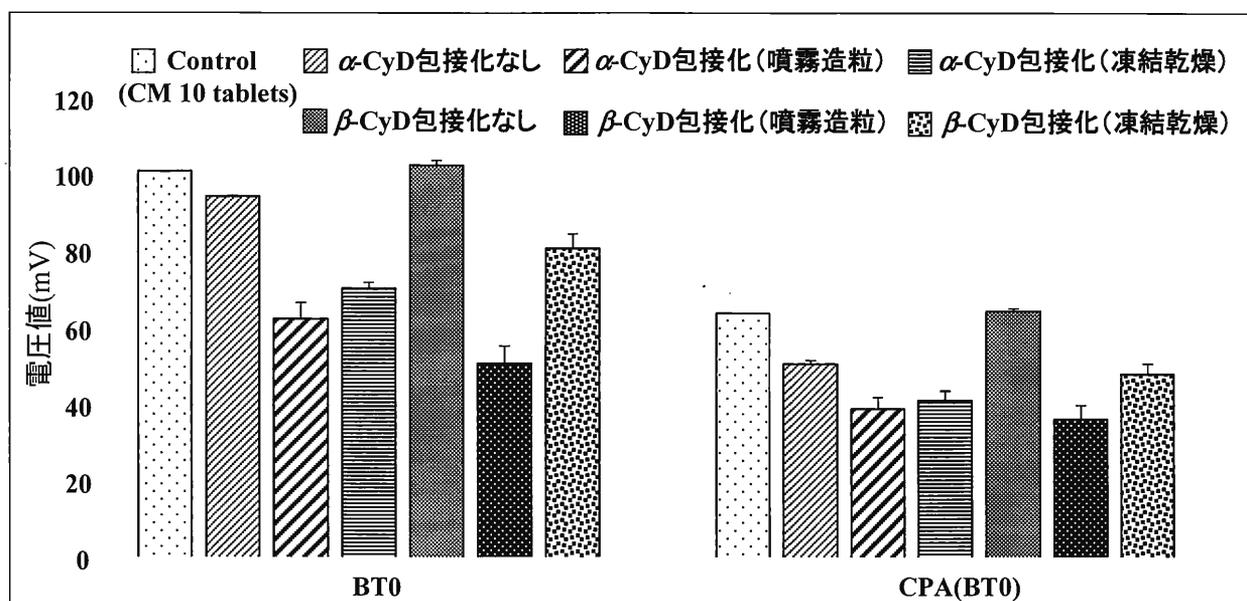


Fig. 1 α 及び β -CyD包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩錠のBT0電圧値

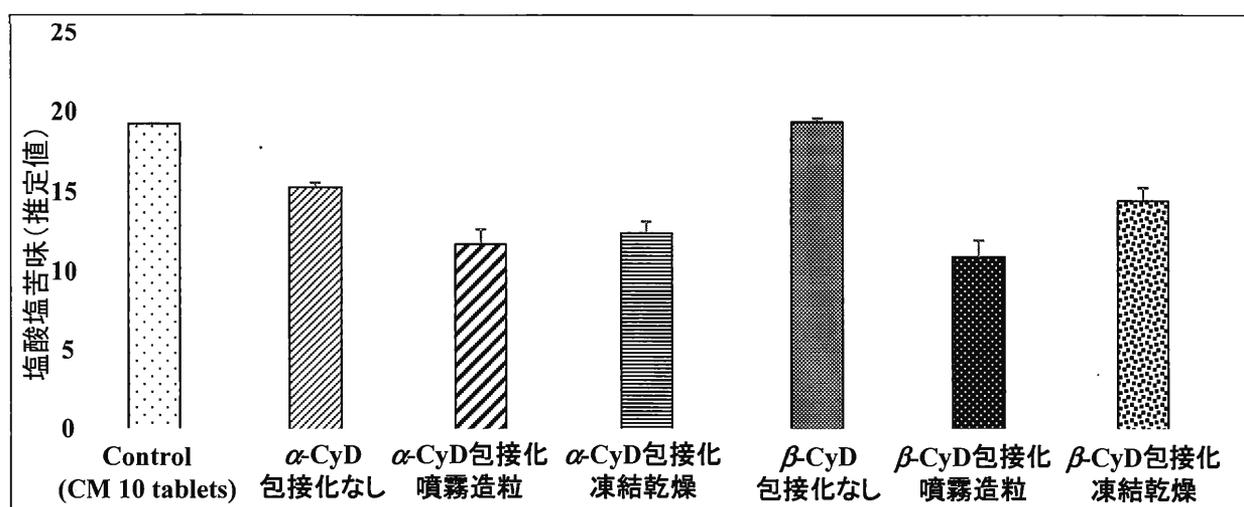


Fig. 2 CyD包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩錠の塩酸塩苦味

考 察

今回、我々は口腔内崩壊錠の製剤開発へ応用することを目的として、CyDを用いてクロルフェニラミンマレイン酸塩(CM)を包接化、顆粒化、さらに錠剤を製し、錠剤の苦味マスキング効果を味認識装置で評価した。

前報において、CyDとして汎用されている α 、 β 、 γ -CyDに加え、 β -CyDの誘導体で高い水溶性を持つHP- β -CyDの4種類を用い、それらの濃度を変更して実験を行った結果、CMの苦味マスキングには薬物の4倍モル比の α -及び β -CyDでの包接化が有効であることを報告している¹⁾。

そこで今回は、CMを4倍モル比の α -及び β -CyDで包接化させ、顆粒化することによって錠剤を試作し、苦味をマスキングした錠剤での評価を行った。顆粒化には噴霧乾燥造粒法及び真空凍結乾燥法を用い、得られた粉体をロータリー式打錠機で打錠し、錠剤を得た。この際、噴霧乾燥造粒機を用いて顆粒化した粉体は極めて付着性が強く、打錠に適さなかったが、乾式造粒を行うことによって、打錠に最適な顆粒を得ることができた。

錠剤の苦味を測定した結果、CMの苦味はBT0センサに応答する塩酸塩苦味が認められた。CMの4倍モル比の α -及び β -CyDで包接化を行った錠剤では、先味・後味及び塩酸塩苦味でコントロールと比べて苦味の抑制が認められていた。また、包接化操作を行わず、CyDのみ配合した錠剤でも電圧値の抑制が認められたが、味覚測定時の錠剤の懸濁過程において、包接化が起きたと推測される。なお、結果には示していないが、錠剤中のCM含量をHPLCで定量した結果、規定値の98%が含まれていることを確認している。

前報では、CMのマスキング効果が最も顕著であったのは、 α -CyDであったが、錠剤化した今回の実験においては噴霧乾燥造粒法では β -CyDが、真空凍結乾燥法では α -CyDに強い苦味の抑制が認められた。この詳細な理由は不明であるが、 α -及び β -CyD自体、またはそれぞれのCyD-CM包接化粉体の溶解度の違いや乾燥工程における処理温度の違い(噴霧乾燥造粒：室温~60℃、真空凍結乾燥：-40~30℃)による包接化平衡のズレが影響した可能性も考えられる。

今回の実験により、苦味薬物をCyDによって包接化させ、顆粒化した錠剤においてもマスキング効果が認められることを確認した。また、CyD包接化溶液の粉末化法として、噴霧乾燥造粒と乾式造粒の組み合わせ法及び真空凍結乾燥法による顆粒化が有効であることが明らかとなり、今後、新たな口腔内崩壊錠を設計する上で、有用な手段であると考えられる。

文 献

- 1) 向勝臣ら、シクロデキストリンを用いた苦味マスキング法の検討と評価、家庭薬研究、35、29-38 (2016)

製造エリアの除染方法の検討 — 二酸化塩素の有効性について —

Study on decontamination method in manufacturing area

— The effectiveness of Chlorine dioxide —

板坂建明

Tateaki ITASAKA

テイカ製薬株式会社

Teika Pharmaceutical Co.,Ltd.

本多充也

Mitsuya HONDA

中尾広次

Hirotsugu NAKAO

アース環境サービス株式会社

Earth Environmental Service Co.,Ltd.

緒言

日本薬局方の参考情報「消毒法及び除染法」には、除染剤の例として過酸化水素、過酢酸、ホルムアルデヒドが挙げられている。しかし、これらの除染剤については、当社では次のような問題があると考えている。

過酸化水素は、アイソレーターのような小空間においては有効であるものの、複数の作業室を含む製造エリアのような大空間では必要な濃度まで上げることが難しいと思われる。過酢酸は、過酢酸水溶液をミスト状に噴霧して使用するため、大空間への拡散性に問題がある。ホルムアルデヒドは、その水溶液であるホルマリンを加熱気化させて使用するため拡散性は良好なもの人体には有害であり、また設備への吸着などにより除染後の製造再開に大幅な時間がかかり、当社においては除染開始から3日後に再稼働を行っているのが現状である。

そこで、除染後の再稼働が短時間で済むと言われる二酸化塩素による除染を当社製造エリアにて検証した。

二酸化塩素ガスについて^{1) 2)}

1. 二酸化塩素ガスの殺菌効果

二酸化塩素は、亜塩素酸ナトリウムと塩酸から生成される物質である。



図1. 二酸化塩素生成の反応式

また、微生物に対して、過酸化水素及び過酢酸と同様の高い殺菌効果があるとされている。

殺菌力	殺菌剤種類	一般細菌	黄色ブドウ球菌	真菌	芽胞形成菌
高度	過酸化水素	○	○	○	○
	過酢酸	○	○	○	○
	二酸化塩素	○	○	○	○
中度	ホルムアルデヒド	○	○	○	△
	次亜塩素酸ナトリウム	○	○	○	△
	エタノール	○	○	△	×
低度	両性イオン性界面活性剤	○	△	△	×
	塩化ベンザルコニウム	○	△	△	×

表 1. 各種殺菌剤の有効性

2. 二酸化塩素ガスの殺虫効果

二酸化塩素は、微生物に対する高い殺菌効果とともに、チャタテムシやダニに対する殺虫効果も確認されている。

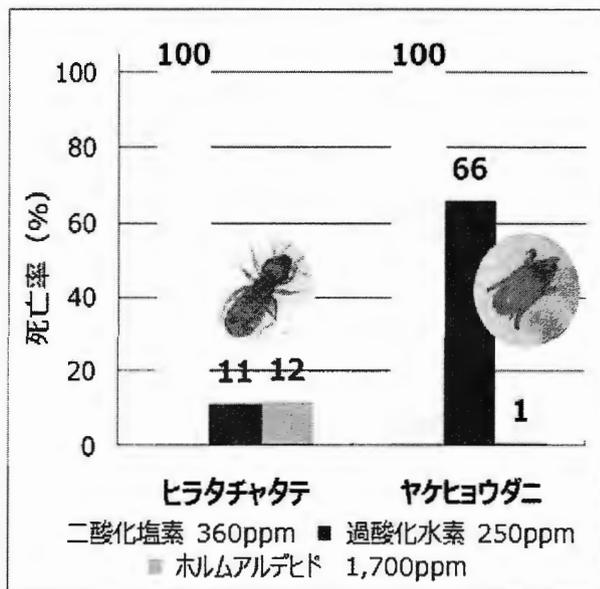
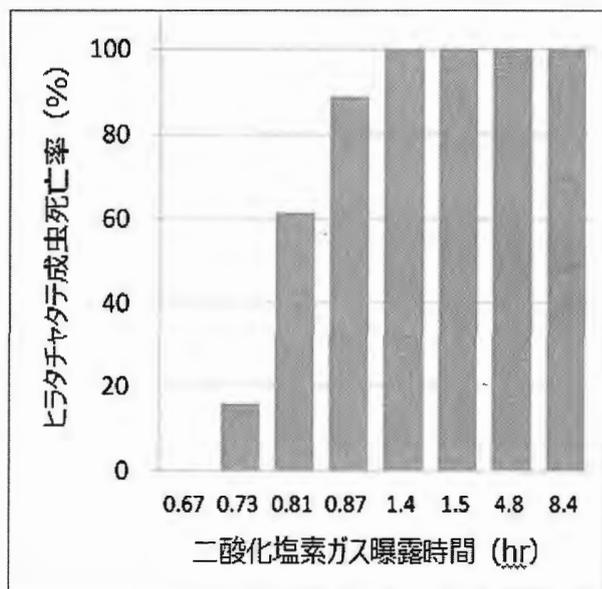


図 2. 殺菌剤による殺虫効果

3. 二酸化塩素ガスの留意点

二酸化塩素ガスは光により分解することから、避難誘導灯も含め除染エリアは消灯及び遮光する必要がある。また、二酸化塩素ガスは酸化力があり高温・高湿度で材質に影響を与える可能性があるため、温湿度の管理が必要である。

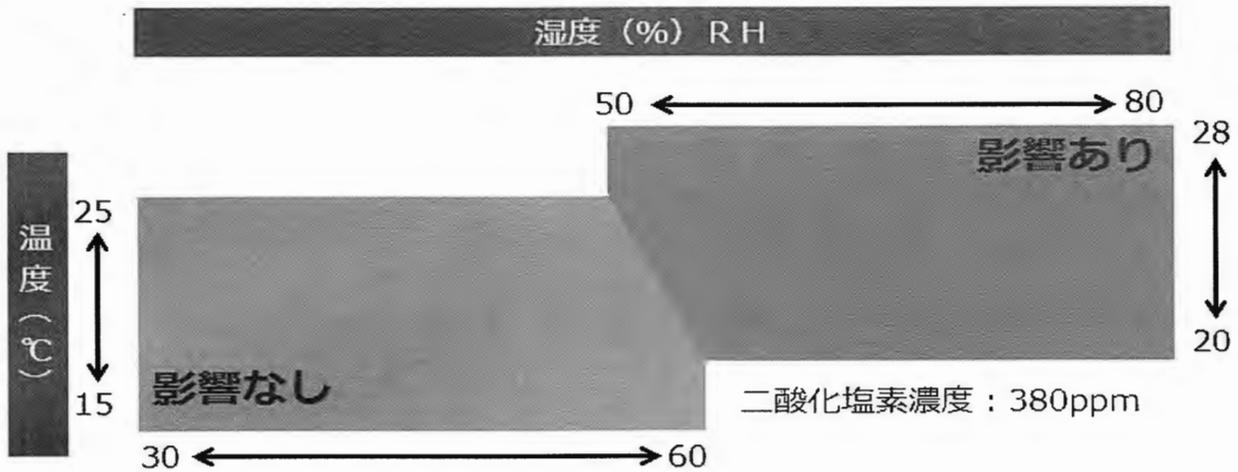


図3. 材質への影響範囲

実験方法

1. 実験条件

当社製造エリアにて二酸化塩素の除染効果を検証した。なお、除染レベルは日本薬局方参考情報では作業室においては3log以上の減少を求められているが6log減少を目標値とした。

- ・ 目標除染レベル：6logの減少
- ・ 対象場所：当社グレードBエリア 710m³
(グレードA区域を含む)
- ・ 使用機器：

ESCO Willmaster ガス発生機 CD-700	2台
ガス計測器 CDM-5	2台
ガス回収機 CDR-SH	2台
サーキュレーター	12台
除湿機	3台
- ・ 使用薬剤：25%亜塩素酸ナトリウム及び9%塩酸
- ・ 検証用BI：*B. atrophaeus* (Mesalabs社製、
Lot ACD-134、 2.7×10^6 cfu/枚)
- ・ BI設置位置：各室に1~4枚(部屋の大きさによる)
合計26ヶ所
- ・ 除染条件：ガス濃度380ppm以上で490分
- ・ 入室条件：0.1ppm以下
(米国職業安全衛生局(OSHA)の定める職業性曝露基準参照)

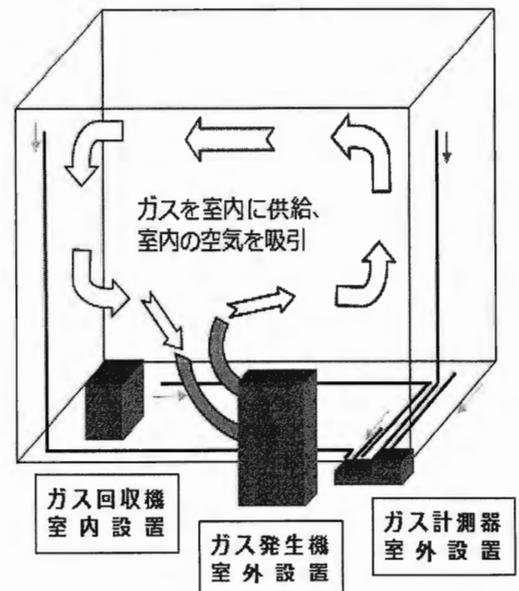


図4. システム概要

2. 実験要領

- ・実験エリアの遮光および消灯を行う。
- ・実験エリアの温度・湿度を確認する。必要に応じて温度・除湿調整を行う。
- ・25%亜塩素酸ナトリウム水溶液と9%塩酸水溶液を工事混合し1台当たり106mL/分で20分間吐出し二酸化塩素ガスを生成させる。(発生機2台で4240mL吐出)
※ガスが生成され濃度が安定するまでに20分程度かかる予想。
- ・20分後、ガス濃度を測定し規定濃度を確認した後、規定濃度で490分間暴露する。
(規定濃度保持のため発生機吐出量を2台で8mL/分と設定)
- ・曝露終了後、翌朝までガス回収機2台を作動させて、ガス回収を行う。
- ・翌朝ガス濃度を測定し0.1ppm以下であることを確認する。
ガス濃度0.1ppm以下で実験エリアの入室可能

実験結果

実験エリアは遮光および消灯を行った。またエリアの温湿度を確認したところ25°C/46%であった。図3に示した限度値の25°C/50%よりも低湿度ではあったものの除染中の空調停止による温度の上昇が予想され、万一の設備への影響を避けるために湿度は40%付近まで下げることにした。除湿機により湿度を43%まで低下させたのち、充てん室(四部屋)の包装室コンベア開口部からガスを吹き込み、グレードBの充てん室、容器保管室、通路及び更衣室の除染を行った。なお、空隙は全て養生テープ等で塞ぎ、ガス漏れを最小限に抑えた。

立ち上げは計画通りにガスを吐出させたものの想定のガス濃度には達せず、さらに吐出量を増やしたものの最大濃度310~340ppmにとどまった。しばらくすると除染エリア以外にガス漏れがされたため吐出量を減らして継続して除染を続けたが、ガス漏れが激しくなり除染エリア以外で0.75ppmの濃度検知されたため、施設及び設備への影響を考慮し除染を中止し、ガス回収機を運転させた。

翌日には入室可能な0.1ppm以下まで濃度は低下しており、回収時間(除染終了から入室可能になるまでの時間)はおおよそ10時間であった。

また、各所に設置したBIは、いずれも6log減少が確認された。

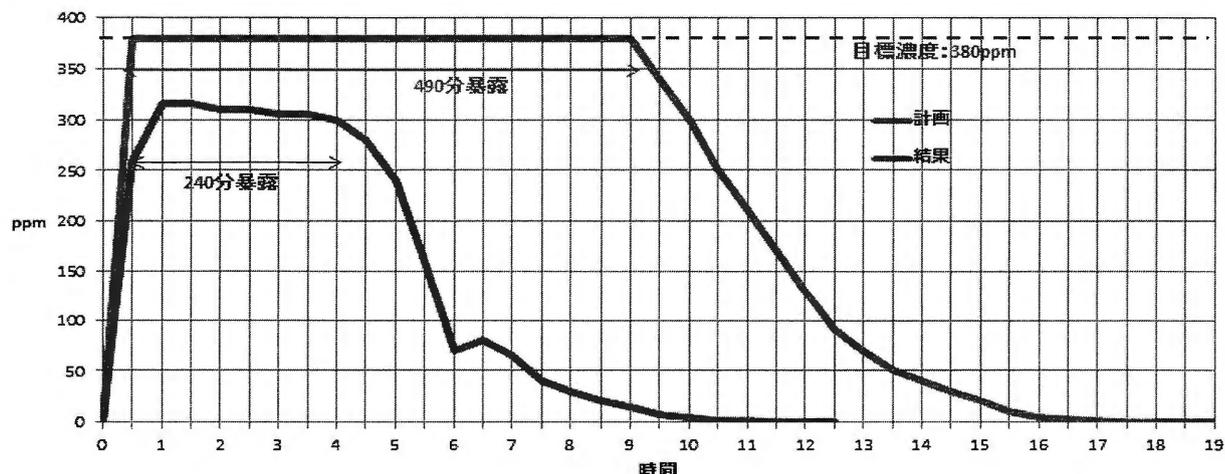


図5. 二酸化塩素の濃度推移

考 察

養生テープなどで気密性を上げる工夫はしたものの想定以上のガス漏れが生じ、除染条件のガス濃度まで達することができなかった。さらに、除染時間も想定より短く、除染はかなり緩和な条件となった。しかし、BI での検証では 6log 減少が確認され、ガス回収の時間においても短時間で完了させることができた。また、懸念されていた二酸化塩素の強い酸化力による金属類の錆などの影響は見られなかった。

以上のように二酸化塩素は除染剤として有効であることが確認された。但し、継続的、定期的な実施には、空調ダクトからと思われるガス漏れ対策として密閉ダンパーの設置など製造エリアの気密性を上げることや梅雨の季節のような湿度の高い時期の除湿対策などの更なる工夫が必要である。これらの対応でより有効かつ安定した使用が可能になるとと思われる。

文 献

- 1) 中尾広次、二酸化塩素ガスによる除染システム、クリーンテクノロジー、Vol25 No. 12、7-10、(2015)
- 2) アース環境サービス(株) ESCO Willmaster 資料

家庭薬研究 NO.36 2017

2017年3月



〒930-8501 富山市新総曲輪 1-7 富山県厚生部くすり政策課
TEL 076(444)3236 FAX 076(444)3498
http://www.pref.toyama.jp/cms_sec/1208/index.html

この冊子は再生紙を使用しています。`