

乾式造粒による漢方エキス含有チュアブル錠に関する製剤設計  
-芍薬甘草湯エキスをモデル薬物として-  
Formulation design on chewable tablets containing kampo extract  
by dry granulation  
- *Shakuyaku-kanzo-to* - extract  
used as a model drug -

伊東宏子 島谷隆夫 佐藤洋子 和田直久 上西篤志 木村隆仁  
Hiroko ITO Takao SHIMATANI Yoko SATO Naohisa WADA Atsushi KAMINISHI  
Takahito KIMURA

テイカ製薬株式会社 研究所

Research Laboratory, Teika Pharmaceutical Co., Ltd.

永井秀昌 明官勇雄

Hidemasa NAGAI Isao MYOKAN

富山県薬事研究所

Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research

## 緒 言

漢方エキスとは、生薬原末(主には生薬原末の混合物)から、水、エタノール等の有機溶媒、その混合溶媒を用いてエキスを抽出し、濃縮・乾燥して粉末化させたもので、詳細には、「改定 一般用漢方処方の手引き」(財団法人 日本公定書協会監修、日本漢方生薬製剤協会編集、株式会社じほう発行)、並びに「改定 一般用漢方処方の手引き 平成 22 年 4 月 1 日通知(加減方追加) 対応追補版」(財団法人 日本公定書協会監修、日本漢方生薬製剤協会編集、株式会社じほう発行)に記載されている漢方処方の生薬を用い、日本薬局方エキス剤の製法等に従って得たものである。

漢方薬の一つである「芍薬甘草湯」は、漢方の原典である『傷寒論』に記載されており、臨床的には、骨格筋の有痛性痙攣様異常収縮であるこむら返り<sup>1)</sup>や腹痛<sup>2)</sup>、尿管結石の痙痛発作<sup>3)</sup>に効果を有し、ペインクリニックでは神経ブロックの補助的薬剤として用いられている<sup>4)</sup>。さらに、肛門科領域でも、内肛門括約筋の痙攣のために生じる裂肛の疼痛や、痔核手術の術後疼痛に対する効果が報告されている<sup>5)6)</sup>。また、「芍薬甘草湯」の薬理学的機序としては、未だ不明な点があるものの、芍薬中のペオニフロリンがカルシウムイオン系に、甘草中のグリチルリチン酸がカリウムイオン系に関与して、electropharmacological coupling 機構を形成し、神経筋シナプスを持続的に脱分極することにより鎮痛作用を発揮すると考えられている<sup>7)</sup>。さらに、骨格筋だけでなく、平滑筋にも効果があるとされている<sup>8)</sup>。上述した、漢方薬である「芍薬甘草湯」から抽出したエキスは、日本薬局方に「芍薬甘草湯エキス」として収載されており、それを配合した経口固形製剤の剤形としては、錠剤、顆粒剤などが一般的に良く知られている。

しかしながら錠剤は、その形状が大きくなることや、一回の服用量が多くなることに伴い、服用時に飲み込みにくくなるという問題がある。顆粒剤は、服用時にむせる、歯の隙間に入り込む、などの問題があるため、患者にとって大きな負担となっている。更に、これらの剤形の製剤を服用する際には、いずれも水を必要とするため、緊急時に服用できないという問題がある。

近年では、服用性の改善を目指し、口腔内崩壊錠(OD錠)やチュアブル錠の研究開発が進展している。

口腔内崩壊錠は口腔内で速やかに溶解または崩壊させて服用する錠剤、チュアブル錠は咀嚼して服用する錠剤で、両者とも水なしで服用が可能のため、服用シーンを選ばず、水がない状況下でも服用でき、患者のQOL(Quality of life)の向上や服薬アドヒアランスの改善をもたらしている。

永井<sup>9)</sup>らは、上述した課題を解決すべく、芍薬甘草湯エキスを50%配合した高含量チュアブル錠について鋭意検討した結果、水を造粒液として用い、流動層造粒機による湿式造粒を採用することで、錠剤の製剤設計を確認している。しかしながら、芍薬甘草湯エキスは外観が茶褐色と識別しやすい色調を有し、更に、高い吸湿性を持ち、吸湿が進むにつれて粘稠性が増すため、上述した湿式造粒による生産では、機械及び設備に付着し、他製品へのクロスコンタミを引き起こす要因となり得る。

そこで本研究では、上述した内容を踏まえ、水を用いずに行う、乾式造粒機による乾式造粒を採用し、「芍薬甘草湯エキス」を用いたチュアブル錠の製剤設計を検討したので、その詳細について報告する。

## 実験方法

### 1 試料

本研究に使用した試料を表1に示す。

【表1】 試料

| 配合目的 | 配合物質名            | メーカー名                 |
|------|------------------|-----------------------|
| 薬効成分 | 芍薬甘草湯エキス         | アルプス薬品工業              |
| 賦形剤  | 粉末還元麦芽糖水アメ       | 三菱商事フードテック            |
|      | イソマル             | BENE0-Palatinit       |
| 結合剤  | 結晶セルロース          | 旭化成ケミカルズ              |
|      | 合成ケイ酸アルミニウム      | 協和化学工業                |
|      | メタケイ酸アルミン酸マグネシウム | 富士化学工業                |
| 崩壊剤  | カルメロースカルシウム      | ニチリン化学工業              |
| 高甘味剤 | スクラロース           | 三栄源エフ・エフ・アイ           |
|      | タウマチン            | 三栄源エフ・エフ・アイ           |
| 滑沢剤  | ステアリン酸マグネシウム     | 太平化学産業                |
|      | フマル酸ステアリルナトリウム   | PHARMA TRANS SANAQ AG |

### 2 使用機器

本研究に使用した機器(製剤機器及び測定機器)を表2に示す。

【表2】 使用機器

| 名称               | メーカー名   | 型番       |
|------------------|---------|----------|
| 攪拌混合造粒機          | フロイント産業 | GM-MULTI |
| 乾式造粒機・オンレーター式整粒機 | フロイント産業 | TF-MINI  |
| ロータリー式打錠機        | 菊水製作所   | VELA5    |
| ロードセル式錠剤硬度計      | 岡田精工    | PC-30    |
| ダイヤルシクネスゲージ      | テクロック   | SMD-565L |
| 崩壊試験器            | 富山産業    | NT-40H   |
| 摩損度試験器           | 富山産業    | TFT-120  |

### 3 乾式造粒処方及びその調製方法

本錠剤の調製は、表3に示す製剤処方の組成に基づき、攪拌混合造粒機に、芍薬甘草湯エキスと、粉末還元麦芽糖水アメ又はイソマルと、結晶セルロースと、合成ケイ酸アルミニウムを投入した後、チョッパー攪拌回転数1500rpm、アジテータ攪拌回転数400rpmの操作条件で、5分間攪拌混合した後、更に、フマル酸ステアリルナトリウムを投入し、同様な操作条件で、5分間攪拌混合した。

この混合物を乾式造粒機に投入し、ロールタイプ DPS、ロール回転速度 10rpm、スクリー回転速度 20rpm、ロール圧 5MPa の操作条件で、フレーク状造粒物を調製し、更に、オシレーター式整粒機で、スクリーンサイズ 0.813mm、回転数 100rpm の操作条件で整粒した。

【表3】 モデル薬物含有製剤における乾式造粒部分の製剤処方

| 処方No.            | A     | B     | C     | D     |
|------------------|-------|-------|-------|-------|
| 芍薬甘草湯エキス         | 56.54 | 56.54 | 56.54 | 56.54 |
| 合成ケイ酸アルミニウム      | 4.95  | 4.95  | 4.95  | 4.95  |
| 結晶セルロース (UF-702) | 14.84 | —     | 14.84 | —     |
| 結晶セルロース (UF-711) | —     | 14.84 | —     | 14.84 |
| イソマル             | 20.66 | 20.66 | —     | —     |
| 粉末還元麦芽糖水アメ       | —     | —     | 20.66 | 20.66 |
| タウマチン            | 0.04  | 0.04  | 0.04  | 0.04  |
| フマル酸ステアリルナトリウム   | 2.97  | 2.97  | 2.97  | 2.97  |
| Total (%)        | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

#### 4 製剤処方及びその調製方法

表 3 に示す組成に基づき調製した整粒物に、表 4 に示したその他の後添加部分を加えた後、ロータリー式打錠機を用い、4kN、6kN、8kN、10kN 及び 12kN の 5 水準の打錠圧で打錠し、1 錠の直径が 10mm で、その質量が 380mg の平型の錠剤を得た。

【表4】 モデル薬物含有製剤における製剤処方

| 処方No.                 | 1                | 2     | 3     | 4     |
|-----------------------|------------------|-------|-------|-------|
| 芍薬甘草湯エキス              | 52.63            | 52.63 | 52.63 | 52.63 |
| 合成ケイ酸アルミニウム           | 4.61             | 4.61  | 4.61  | 4.61  |
| 結晶セルロース (UF-702)      | 13.82            | —     | 13.82 | —     |
| 結晶セルロース (UF-711)      | —                | 13.82 | —     | 13.82 |
| イソマル                  | 19.23            | 19.23 | —     | —     |
| 粉末還元麦芽糖水アメ            | —                | —     | 19.23 | 19.23 |
| タウマチン                 | 0.04             | 0.04  | 0.04  | 0.04  |
| フマル酸ステアリルナトリウム        | 2.76             | 2.76  | 2.76  | 2.76  |
| 後<br>添<br>加<br>部<br>分 | スクラロース           | 0.46  |       |       |
|                       | カルメロースカルシウム      | 4.61  |       |       |
|                       | メタケイ酸アルミン酸マグネシウム | 1.38  |       |       |
|                       | ステアリン酸マグネシウム     | 0.46  |       |       |
| Total (%)             | 100.0            | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

#### 5 評価方法

##### 1) 乾式造粒物の評価方法

##### (1) フレーク形成率

試験は、ロール通過後の造粒品 (1 分間) の全量を 12mesh のふるいで分級した後、残ったものの質量を測定して算出した (n=1)。

(2) 粒度分布

試験は、オシレーター通過後の整粒品をふるいで6段階(18meshふるい上、18~22mesh、22~30mesh、30~42mesh、42~150mesh、及び150meshふるい下)に分級後、それぞれに残ったものの質量を測定して算出した。

2) 錠剤の評価方法

(1) 硬度試験

試験は、ロードセル式錠剤硬度計を用いて実施し、錠剤の硬度を測定した(n=10)。

(2) 摩損度試験

試験は、日本薬局方参考情報の「錠剤の摩損度試験法」に準じて、摩損度試験器を用いて実施した。また、錠剤数を20錠として、錠剤の摩損度を測定した(n=1)。

## 実験結果

製剤処方に配合する基剤として、賦形剤は、イソマル又は粉末還元麦芽糖水アメを、結合剤は、平均粒子径90 $\mu$ mの結晶セルロース[UF-702]又は平均粒子径50 $\mu$ mの結晶セルロース[UF-711]を種々選択し、それぞれの基剤が乾式造粒物及び錠剤の物性に及ぼす影響について評価した。

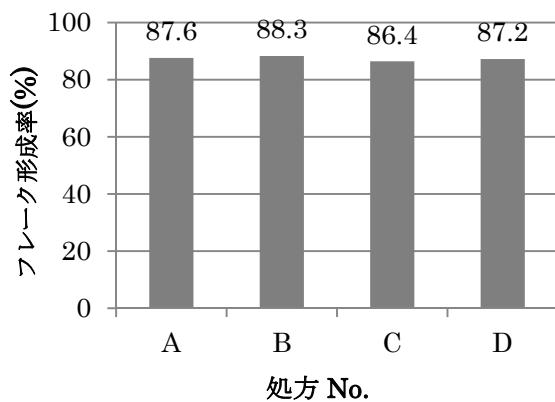
### 1 乾式造粒物の評価結果

1) フレーク形成率

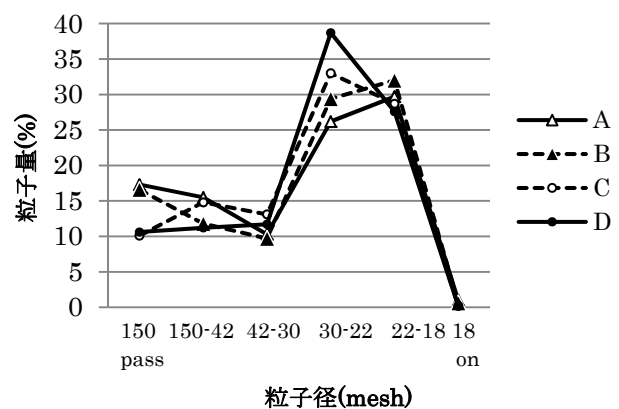
フレーク形成率の測定結果を図1に示す。全ての処方において、85%以上のフレーク形成率を満たし、処方間の大きな差はほとんど認められなかった。

2) 粒度分布

粒度分布の測定結果を図2に示す。イソマルを用いた処方、及び粉末還元麦芽糖水アメを用いた処方は、それぞれが特徴的な粒度分布を示した。また、結晶セルロース[UF-711]を用いた処方は、結晶セルロース[UF-702]を用いた処方より、大きな顆粒が形成されやすいといった傾向が認められた。



【図1】 フレーク形成率



【図2】 粒度分布

## 2 製剤の評価結果

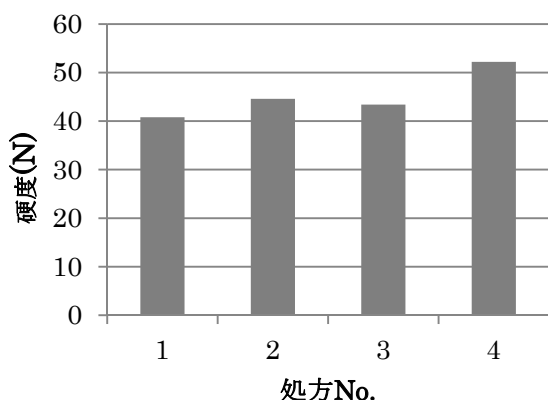
### 1) 硬度試験

硬度試験の測定結果を表 5 及び図 3~4 に示す。また、本錠剤は直径が 10mm であるが、「硬度は直径 6~8mm の錠剤では 5kgf 以上あれば製造中あるいは輸送中に破損しない」という報告<sup>10)</sup>を参考に、目標値を 50N(5.0986kgf)以上とした。そこで、打錠圧 8kN における 4 処方の硬度を比較したところ、目標値を満たした処方が、処方 No. 4 であった(図 3)。また、5 水準の打錠圧での硬度を比較したところ、いずれの製剤処方でも、打錠圧の上昇に伴い、硬度が増加し、高い正の相関性を認めた。

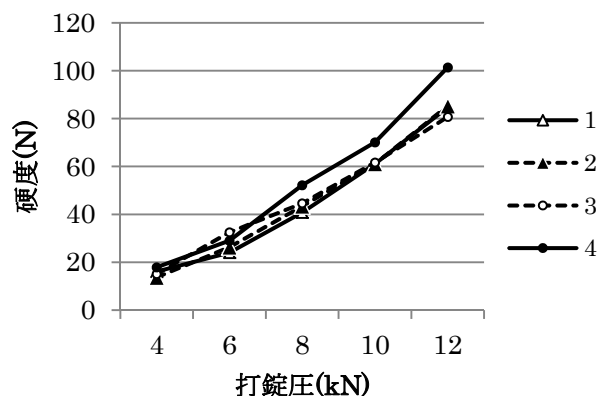
【表 5】 打錠圧における錠剤の硬度

硬度(N)

| 処方 No. | 打錠圧 (kN) |      |      |      |       |
|--------|----------|------|------|------|-------|
|        | 4        | 6    | 8    | 10   | 12    |
| 1      | 16.1     | 24.0 | 40.8 | 61.1 | 84.7  |
| 2      | 13.7     | 26.3 | 43.4 | 61.1 | 85.3  |
| 3      | 15.1     | 32.5 | 44.6 | 61.7 | 80.7  |
| 4      | 17.9     | 29.0 | 52.2 | 70.1 | 101.4 |



【図 3】 打錠圧 8kN における錠剤の硬度



【図 4】 打錠圧による錠剤の硬度

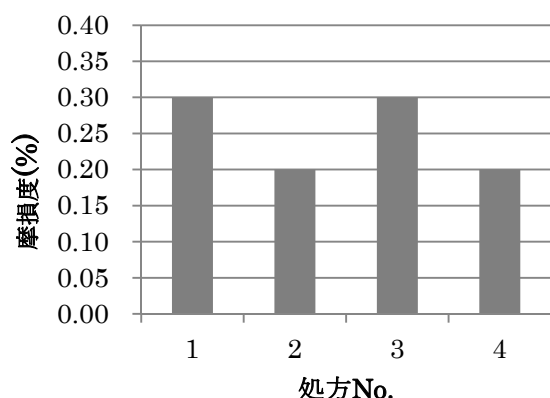
### 2) 摩損度試験

摩損度試験の測定結果を表 6 及び図 5~6 に示す。また、本錠剤は素錠であるが、「摩損度が 0.2% 以上の場合フィルムコーティング時に問題となる」という報告<sup>10)</sup>を参考に、目標値を 0.2%以下に設定した。そこで、打錠圧 8kN における 4 処方の摩損度を比較したところ、目標値を満たした処方が、処方 No. 2 と処方 No. 4 であった(図 5)。また、打錠圧 5 水準での摩損度の変動を比較したところ、いずれの製剤処方でも、打錠圧の上昇に伴い、摩損度が低下した。更に、処方 No. 4 は、他の製剤処方と比較して、低打圧条件下(4kN)においても摩損度が低かった(図 6)。

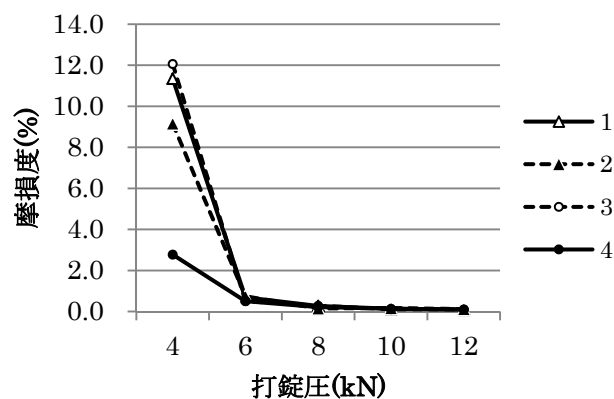
【表 6】打錠圧における錠剤の摩損度

摩損度<%>

| 処方 No. | 打錠圧 (kN) |     |     |     |     |
|--------|----------|-----|-----|-----|-----|
|        | 4        | 6   | 8   | 10  | 12  |
| 1      | 11.4     | 0.7 | 0.3 | 0.1 | 0.1 |
| 2      | 9.2      | 0.7 | 0.2 | 0.2 | 0.1 |
| 3      | 12.1     | 0.5 | 0.3 | 0.1 | 0.1 |
| 4      | 2.8      | 0.5 | 0.2 | 0.1 | 0.1 |



【図 5】打錠圧 8kN における錠剤の摩損度



【図 6】打錠圧による錠剤の摩損度

## 考 察

今回我々は、漢方エキスを高含量(50%以上)配合したチュアブル錠に関して、乾式造粒による製剤化技術を確認することを目的に、モデル薬物である「芍薬甘草湯エキス」を約 53%含有させ、2 種類の賦形剤として、粉末還元麦芽糖水アメ又はイソマル、並びに 2 種類の結合剤として、平均粒子径の異なる結晶セルロースを添加し、種々組み合わせて乾式造粒物及び錠剤の物性評価を行った。その結果、以下のことが明らかになった。

乾式造粒物の物性評価では、全ての処方において、85%以上のフレーク形成率を認めた。更に、粒度分布では、結合剤である、平均粒子径 50  $\mu\text{m}$  の結晶セルロース[UF-711]を組み合わせた処方が、平均粒子径 90  $\mu\text{m}$  の結晶セルロース[UF-702]を組み合わせた処方より大きな顆粒を形成することがわかった。

打錠圧 8kN で打錠した錠剤の物性評価において、錠剤の硬度の目標値を 50N 以上と設定した場合、その値を満たした処方処方は処方No.4 で、更に、錠剤の摩損度の目標値を 0.2%以下と設定した場合、その値を満たした処方処方は処方No.2 及び処方 No. 4 であった。よって、両方の目標値を満たした処方 No. 4 が最適な製剤処方と考えられ、賦形剤として粉末還元麦芽糖水アメを用い、結合剤として平均粒子径の小さい結晶セルロース[UF-711]を用いることが、本製剤処方における錠剤物性を改善させる有用な手段であることが考えられた。

5 水準での打錠圧で打錠した錠剤の物性評価では、全ての製剤処方において、打錠圧を上昇させることに伴い、錠剤の硬度の増加、錠剤の摩損度の減少など、高い相関性を有した変動を認めた。

上述したように、「芍薬甘草湯エキス」を含有したチュアブル錠の製剤設計の最適化がなされており、今後、本製剤技術を、他の漢方エキスにも適用可能な製剤技術として、プラットフォーム化の確立を目

指し、医薬品分野に貢献していきたい。

## 文 献

- 1) Hyodo T. et al., Immediate Effect of Shakuyaku-kanzo-to On Muscle Cramp in Hemodialysis Patients, *Nephron Clin. Pract.*, **104**, c28-32 (2006).
- 2) 桂敏夫：腹痛に対する甘草湯、芍薬甘草湯の効き方，日本東洋医学雑誌，46：293-299(1995)。
- 3) 井上雅，横山光彦，石井亜矢乃：尿管結石による疝痛発作時の芍薬甘草湯の効果，日本東洋医学雑誌，62：359-362(2011)。
- 4) 西本憲生：ペインクリニックにおける芍薬甘草湯の使用経験，漢方診療，9：41-44(1990)。
- 5) 遠藤剛：裂肛による内肛門括約筋の痙攣に伴う疼痛に対する芍薬甘草湯の臨床成績，新薬と臨床，49：712-719(2000)。
- 6) 宮崎道彦ほか：結紮切除術・術後疼痛に対する芍薬甘草湯の NSAIDs 上乘せ鎮痛効果-無作為割付による比較検討-，日本大腸肛門病会誌，65：313-317(2012)。
- 7) 木村正康，木村郁子：芍薬甘草湯による骨格筋の弛緩作用，漢方医学，35：58-59(2011)。
- 8) 木村正康：漢方方剤による病態選択活性の作用機構-蒼朮成分から Ach 受容体脱感作促進物質の薬理学的発見，代謝，29：9-35(1992)。
- 9) 永井秀昌，明官勇雄：漢方エキス含有錠剤の設計に関する研究，平成 25 年度 富山県薬事研究所報，41：33-35(2014)。
- 10) 粉体の圧縮成形技術，粉体工学会・製剤と粒子設計部会編，日刊工業新聞社，1998，p135。

# シクロデキストリンを用いた苦味マスクング法の検討と評価

## Study on Bitter Masking of Drugs by Cyclodextrins

富山県薬事研究会製剤部会

Division of Drug Formulation Toyama Pharmaceutical Research Association

|                            |  |                             |  |
|----------------------------|--|-----------------------------|--|
| 向 勝臣<br>Katsuomi MUKAI     | 株式会社パナケイア製薬<br>PANAKEIA SEIYAKU Co., Ltd.                                | 森下 佳典<br>Keisuke MORISHITA  | キョーリンリメディオ株式会社<br>KYORIN Rimedio Co., Ltd.                               |
| 杉窪 克哉<br>Katsuya SUGIKUBO  | 小太郎漢方製薬株式会社<br>Kotaro Pharmaceutical Co., Ltd.                           | 牧島 央和<br>Hirokazu MAKISHIMA | 小林化工株式会社<br>Kobayashi Kako Co., Ltd.                                     |
| 上西 篤志<br>Atsushi KAMINISHI | テイカ製薬株式会社<br>Teika Pharmaceutical Co., Ltd.                              | 霜鳥 武司<br>Takeshi SHIMOTORI  | 日本曹達株式会社<br>Nippon Soda Co., Ltd.  |
| 梶原 隆介<br>Ryusuke KAJIHARA  | 日医工株式会社<br>Nichi-Iko Pharmaceutical Co., Ltd.                            | 栗山 武大<br>Takehiro KURIYAMA  | バイホロン株式会社<br>BIHOLON Co., Ltd.   |
| 朝野 裕貴<br>Yuki ASANO        | 株式会社富士薬品<br>Fujiyakuhin Co., Ltd.  | 八木 清<br>Kiyoshi YAGI        | 明治製薬株式会社<br>Meiji Pharmaceutical Co., Ltd.                               |
| 安住 新吾<br>Shingo AZUMI      | 株式会社陽進堂<br>Yoshindo Inc.   | 明官 勇雄<br>Isao MYOKAN        | 富山県薬事研究所<br>Toyama Prefectural Institute for<br>Pharmaceutical Research. |
| 永井 秀昌<br>Hidemasa NAGAI    | 富山県薬事研究所<br>Toyama Prefectural Institute for<br>Pharmaceutical Research. |                             |  |

## 緒 言

口腔内崩壊錠の製剤設計に活用できる効果的な苦味マスクング法の確立を目的として、マスクング法の一種である化学的マスクング法について、最適なマスクング剤や配合量を検討し、味を数値化できる味認識装置を用いて評価を行った。苦味マスクング効果の評価は、ヒトによる官能試験に頼る場合が多いが、今回は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。

苦味薬物としてクロルフェニラミンマレイン酸塩及びアセトアミノフェン、マスクング剤として、包接化により苦味を軽減させるシクロデキストリン (CyD) を用い、CyDの種類 ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  等) や配合量を変化させた場合の苦味強度を味覚センサで測定し評価したので、その結果を報告する。



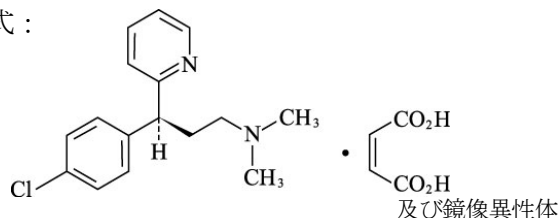
## 実験方法

### 1. 試薬

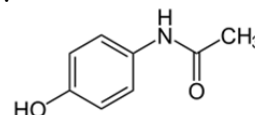
#### 1) 苦味薬物

*d,l*-クロルフェニラミンマレイン酸塩（金剛薬品㈱）、アセトアミノフェン（山本化学工業㈱）

構造式：



構造式：



#### 2) 包接剤

$\alpha$ -シクロデキストリン ( $\alpha$ -CyD, 和光純薬工業㈱)

MW: 972.84

$\beta$ -シクロデキストリン ( $\beta$ -CyD, 和光純薬工業㈱)

MW: 1134.98

$\gamma$ -シクロデキストリン ( $\gamma$ -CyD, 和光純薬工業㈱)

MW: 1297.12

2-ヒドロキシプロピル- $\beta$ -シクロデキストリン (HP- $\beta$ -CyD 和光純薬工業㈱)

MW: 1541.54

### 2. 装置

味認識装置：TS-5000Z（㈱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）

Table 1 センサ特性表

| センサ | 荷電   | 先味              | 後味          | 特性   |
|-----|------|-----------------|-------------|--|
| BT0 | マイナス | 苦味              | 医薬品系（塩酸塩）苦味 | 塩酸塩苦味に特異的に応答する   |
| AN0 | マイナス | 塩味、酸味、苦味（アミノ酸系） | ミネラル系苦味     | 塩基性苦味、陽イオン（Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> 等）に応答する |
| C00 | プラス  | 雑味、苦味           | 酸性苦味        | ビール、コーヒー等の苦味に応答する                                      |
| AE1 | プラス  | 雑味、渋味           | 渋味          | お茶、ワイン等の渋味に応答する  |

### 3. 実験方法

検体を希釈する希釈液には 10 mM KCl を用い、5 mM クロルフェニラミンマレイン酸溶液を調製した。また、50 mM アセトアミノフェン溶液を同様に調製した。これらの溶液をメスシリンダーで 70 mL 量り、100 mL ビーカーに入れ、各種 CyD を添加し、スターラーを用いて 60 分間攪拌・混合し、包接化した。攪拌混合後の溶液は測定用カップ 2 個に約 35 mL ずつ分注した。味覚測定終了後、pH を測定するとともに（実験開始より約 1 日後）、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<sup>\*1</sup>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

推定値はセンサの電圧値に固有の係数を乗じることによって計算される値であり、味覚項目として表される。推定値では、1以上の差で味の差を識別することができるとされている。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、各センサ値に下記の係数を乗じることによって算出した。

|           |                   |
|-----------|-------------------|
| 酸性苦味（先味）  | = -0.140×C00      |
| 渋味（先味）    | = -0.1575×AE1     |
| 塩基性苦味（先味） | = 1.117×AN0       |
| 塩酸塩苦味（後味） | = 0.3×CPA(BT0)    |
| 酸性苦味（後味）  | = -0.210×CPA(C00) |
| 渋味（後味）    | = -0.252×CPA(AE1) |

### 実験結果

#### 1. 各種 CyD によるクロルフェニラミンマレイン酸塩（CM）のマスキング効果

各種 CyD と CM を溶液中で攪拌して包接し、包接後の溶液を味認識装置を用いて評価した。包接化に用いた CyD 濃度は CM と等モル濃度（5 mM）又は4倍濃度（20 mM）として実験を行った。その結果、CM の苦味は BT0 センサに顕著に応答し、後味を示す CPA の値も高いことから、塩酸塩の苦味が強く、脂質膜に吸着して脱離しにくい苦味であることが確認された（Table 2, 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、すべての CyD に塩基性苦味の抑制作用が認められた（Table 3, Fig. 2）。特に、 $\alpha$  と  $\beta$ -CyD の抑制効果が高く、 $\alpha$ -CyD の 20mM において顕著な BT0 センサ電圧値の抑制効果が認められており、コントロールと比較して塩酸塩苦味（後味）が約 1/5 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 3, Fig. 2）。

Table 2 クロルフェニラミンマレイン酸塩 (5 mM) の電圧値

| 電圧値                    | BT0    | AN0    | C00    | AE1     | CPA (BT0) | CPA (AN0) | CPA (C00) | CPA (AE1) |
|------------------------|--------|--------|--------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Control                | 214.88 | 118.37 | -80.86 | -114.51 | 74.74     | 24.02     | 2.66      | -7.90     |
| $\alpha$ -CyD 5 mM     | 179.81 | 103.51 | -85.03 | -112.35 | 59.06     | 23.23     | 1.39      | -7.72     |
| $\beta$ -CyD 5 mM      | 172.75 | 101.42 | -86.80 | -114.07 | 55.68     | 19.32     | 1.16      | -8.02     |
| $\gamma$ -CyD 5 mM     | 188.38 | 115.65 | -83.74 | -113.32 | 60.00     | 29.02     | 1.45      | -8.01     |
| HP- $\beta$ -CyD 5 mM  | 183.19 | 111.27 | -84.29 | -113.21 | 59.25     | 26.90     | 1.56      | -8.11     |
| $\alpha$ -CyD 20 mM    | 131.93 | 82.46  | -83.04 | -103.13 | 16.40     | 5.89      | 0.54      | -6.75     |
| $\beta$ -CyD 20 mM     | 143.21 | 73.49  | -89.29 | -110.37 | 45.17     | 3.49      | 0.66      | -7.54     |
| $\gamma$ -CyD 20 mM    | 183.07 | 103.02 | -84.80 | -111.25 | 62.44     | 13.49     | 0.88      | -7.68     |
| HP- $\beta$ -CyD 20 mM | 161.81 | 89.76  | -85.96 | -109.30 | 54.09     | 10.55     | 0.66      | -7.51     |

(各測定値は3回測定した平均値を示す)

Table 3 クロルフェニラミンマレイン酸塩 (5 mM) の推定値

| 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                | 11.32     | 18.04   | 43.24      | 22.42      | -0.56     | 1.99    |
| $\alpha$ -CyD 5 mM     | 11.91     | 17.69   | 41.81      | 17.72      | -0.29     | 1.94    |
| $\beta$ -CyD 5 mM      | 12.15     | 17.96   | 34.78      | 16.70      | -0.25     | 2.02    |
| $\gamma$ -CyD 5 mM     | 11.72     | 17.85   | 52.23      | 18.00      | -0.31     | 2.02    |
| HP- $\beta$ -CyD 5 mM  | 11.80     | 17.83   | 48.41      | 17.77      | -0.33     | 2.05    |
| $\alpha$ -CyD 20 mM    | 11.63     | 16.24   | 10.60      | 4.92       | -0.11     | 1.70    |
| $\beta$ -CyD 20 mM     | 12.50     | 17.38   | 6.28       | 13.55      | -0.14     | 1.90    |
| $\gamma$ -CyD 20 mM    | 11.87     | 17.52   | 24.29      | 18.73      | -0.18     | 1.94    |
| HP- $\beta$ -CyD 20 mM | 12.03     | 17.21   | 18.98      | 16.22      | -0.14     | 1.90    |

(各測定値は3回測定した平均値を示す)

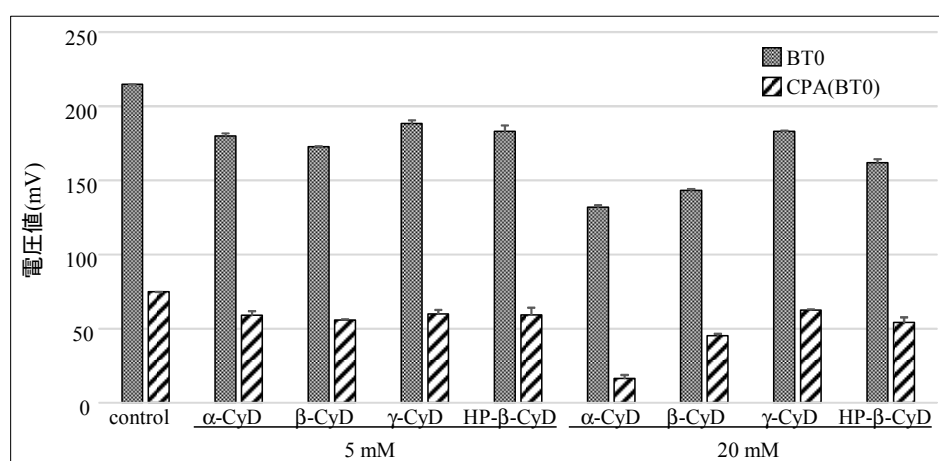


Fig. 1 CyD 包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩の BT0 電圧値

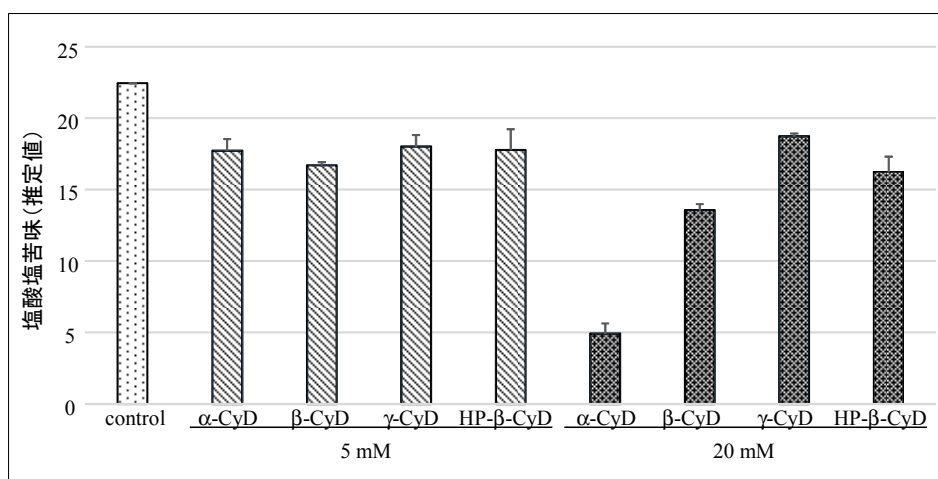


Fig. 2 CyD 包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩の塩酸塩苦味

## 2. $\alpha$ 及び $\beta$ -CyD によるクロルフェニラミンマレイン酸塩のマスクング効果

次に、 $\alpha$  及び  $\beta$ -CyD の濃度依存性を検討するため、CyD の濃度を 5, 20, 40, 50 mM として薬物水溶液中で包接し、味認識装置で苦味の測定を行った。なお、 $\beta$ -CyD の水への溶解度は低く、40 mM 以上では溶解度以上となり、懸濁状態となっていた。その結果、 $\alpha$ -CyD の 20 mM の電圧値はコントロールと比較して最も低く、マスクング効果が高いことが明らかとなった。しかしながら、40, 50 mM とさらに CyD 濃度を増加させても電圧値と濃度に相関性は認められなかった (Table 4, 5, Fig. 3, 4)。

Table 4 クロルフェニラミンマレイン酸塩 (5 mM) の味覚評価 (電圧値)

| 電圧値                 | BT0    | AN0    | C00    | AE1     | CPA (BT0) | CPA (AN0) | CPA (C00) | CPA (AE1) |
|---------------------|--------|--------|--------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Control             | 223.77 | 109.44 | -65.50 | -114.00 | 89.06     | 11.78     | 2.55      | -6.36     |
| $\alpha$ -CyD 5 mM  | 181.92 | 93.84  | -70.39 | -112.05 | 67.49     | 11.99     | 1.06      | -6.06     |
| $\alpha$ -CyD 20 mM | 136.01 | 73.44  | -70.22 | -101.38 | 22.96     | 8.12      | -0.46     | -5.70     |
| $\alpha$ -CyD 40 mM | 131.30 | 59.74  | -64.70 | -90.54  | 55.67     | 7.79      | -0.83     | -5.51     |
| $\alpha$ -CyD 50 mM | 123.23 | 58.83  | -62.16 | -86.34  | 52.38     | 8.38      | -0.94     | -5.50     |
| $\beta$ -CyD 5 mM   | 188.61 | 92.79  | -71.10 | -113.87 | 76.97     | 6.30      | 1.76      | -6.19     |
| $\beta$ -CyD 20 mM  | 143.80 | 68.10  | -76.27 | -109.96 | 50.45     | 4.28      | -0.17     | -5.96     |
| $\beta$ -CyD 40 mM  | 142.28 | 64.84  | -75.34 | -108.64 | 47.98     | 3.62      | -0.12     | -5.94     |
| $\beta$ -CyD 50 mM  | 142.61 | 64.10  | -74.78 | -108.27 | 48.51     | 3.26      | -0.02     | -6.03     |

(各測定値は 3 回測定した平均値を示す)

Table 5 クロルフェニラミンマレイン酸塩 (5 mM) の味覚評価 (推定値)

| 推定値                 | 酸性苦味<br>(先味) | 渋味<br>(先味) | 塩基性苦味<br>(先味) | 塩酸塩苦味<br>(後味) | 酸性苦味<br>(後味) | 渋味<br>(後味) |
|---------------------|--------------|------------|---------------|---------------|--------------|------------|
| Control             | 9.17         | 17.96      | 21.20         | 26.72         | -0.54        | 1.60       |
| $\alpha$ -CyD 5 mM  | 9.85         | 17.65      | 21.58         | 20.25         | -0.22        | 1.53       |
| $\alpha$ -CyD 20 mM | 9.83         | 15.97      | 14.62         | 6.89          | 0.10         | 1.44       |
| $\alpha$ -CyD 40 mM | 9.06         | 14.26      | 14.02         | 16.70         | 0.17         | 1.39       |
| $\alpha$ -CyD 50 mM | 8.70         | 13.60      | 15.08         | 15.71         | 0.20         | 1.39       |
| $\beta$ -CyD 5 mM   | 9.95         | 17.93      | 11.34         | 23.09         | -0.37        | 1.56       |
| $\beta$ -CyD 20 mM  | 10.68        | 17.32      | 7.71          | 15.13         | 0.03         | 1.50       |
| $\beta$ -CyD 40 mM  | 10.55        | 17.11      | 6.51          | 14.39         | 0.02         | 1.50       |
| $\beta$ -CyD 50 mM  | 10.47        | 17.05      | 5.86          | 14.55         | 0.01         | 1.52       |

(各測定値は3回測定した平均値を示す)

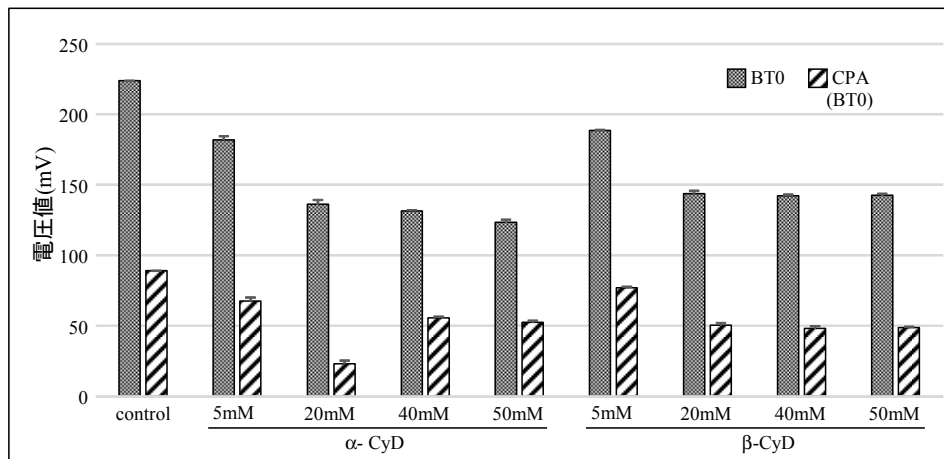


Fig.3  $\alpha$ 及び $\beta$ -CyD 包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩の BT0 電圧値

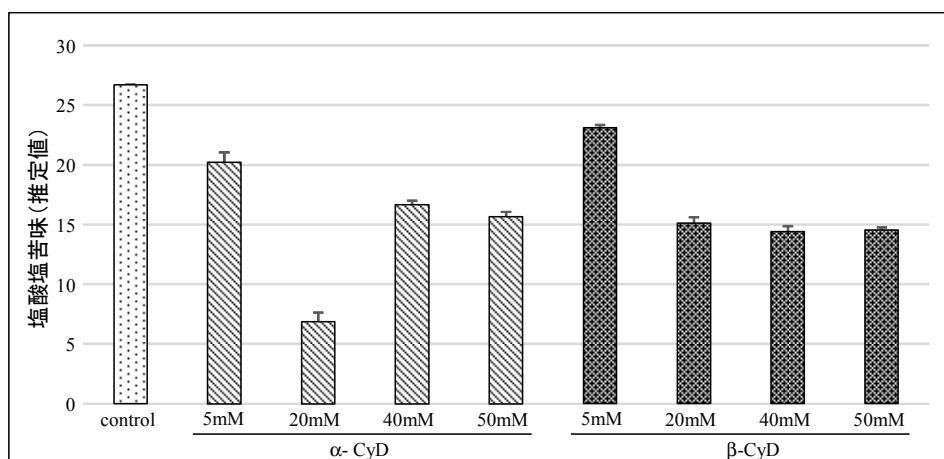


Fig. 4 CyD 包接化によるクロルフェニラミンマレイン酸塩の塩酸塩苦味

### 3. 各種 CyD によるアセトアミノフェン (AA) のマスキング効果

各種 CyD と AA を溶液中で攪拌して包接し、1 と同様に包接後の溶液を味認識装置で評価した。結果には示していないが、CM と同じ 5 mM 濃度では AA の苦味は弱く、センサへの応答性が低かったため、50 mM 濃度での検討を行った。包接化に用いた CyD 濃度は AA 溶液と等モル濃度 (50 mM) 又は 2 倍濃度 (100 mM) とした。その結果、AA の苦味は BT0 センサにはほとんど応答せず、酸性苦味である C00 及び AE1 センサに反応する酸性苦味であることが確認された。C00 及び AE1 センサは推定値に換算すると酸性苦味及び渋味として表され、値は小さいものの後味も検出された (Table 6, 7)。

測定の結果、いずれの CyD との包接化においても、AE1 センサの電圧値は抑制されていたが、C00 センサは $\beta$ -CyD のみ抑制が認められた (Table 6, Fig. 5)。AE1 センサの電圧値及び渋味推定値は、 $\beta$  及び HP- $\beta$ -CyD の抑制効果が大きく、50 mM 濃度において、ともにコントロールの約 1/2 に抑制していた。2 倍量の 100 mM においても同様の抑制効果が認められたものの、50 mM 濃度と比較して顕著な抑制は見られなかった (Fig. 5, 6)。

Table 6 アセトアミノフェン (50 mM) の味覚評価 (電圧値)

| 電圧値                    | BT0   | AN0   | C00    | AE1    | CPA (BT0) | CPA (AN0) | CPA (C00) | CPA (AE1) |
|------------------------|-------|-------|--------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Control                | 2.46  | -1.97 | -12.40 | -34.50 | 0.22      | -1.49     | -0.64     | -1.19     |
| $\alpha$ CyD 50 mM     | 2.01  | 49.08 | -14.96 | -29.95 | 0.17      | 3.95      | -2.15     | -1.28     |
| $\beta$ CyD 50 mM      | 1.62  | 14.79 | -0.56  | -15.95 | -0.22     | 0.83      | -0.74     | -0.43     |
| $\gamma$ -CyD 50 mM    | 1.33  | 5.83  | -15.05 | -25.65 | -0.13     | 0.84      | -0.31     | -0.69     |
| HP- $\beta$ CyD 50 mM  | 5.36  | 3.06  | -13.99 | -18.49 | 0.46      | 0.97      | -0.08     | -0.31     |
| $\alpha$ CyD 100 mM    | 1.52  | 57.8  | -11.05 | -27.38 | 0.12      | 11.76     | -2.08     | -1.78     |
| $\beta$ CyD 100 mM     | 1.05  | 16.49 | 1.22   | -13.76 | 0.02      | 0.91      | -0.74     | -0.35     |
| $\gamma$ -CyD 100 mM   | 1.74  | 14.75 | -14.66 | -21.92 | 0.33      | 3.44      | -0.29     | -0.51     |
| HP- $\beta$ CyD 100 mM | 12.20 | 11.92 | -13.85 | -12.22 | 0.45      | 2.66      | -0.27     | -0.04     |

(各測定値は 3 回測定した平均値を示す)

Table 7 アセトアミノフェン (50 mM) 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               | 1.74      | 5.43    | -2.68      | 0.07       | 0.13      | 0.30    |
| $\alpha$ CyD 50mM     | 2.10      | 4.72    | 7.10       | 0.05       | 0.45      | 0.32    |
| $\beta$ CyD 50mM      | 0.08      | 2.51    | 1.49       | -0.07      | 0.16      | 0.11    |
| $\gamma$ -CyD 50mM    | 2.11      | 4.04    | 1.52       | -0.04      | 0.07      | 0.17    |
| HP- $\beta$ CyD 50mM  | 1.96      | 2.91    | 1.75       | 0.14       | 0.01      | 0.08    |
| $\alpha$ CyD 100mM    | 1.55      | 4.31    | 21.17      | 0.04       | 0.44      | 0.45    |
| $\beta$ CyD 100mM     | -0.17     | 2.17    | 1.65       | 0.01       | 0.16      | 0.09    |
| $\gamma$ -CyD 100mM   | 2.05      | 3.45    | 6.18       | 0.10       | 0.06      | 0.13    |
| HP- $\beta$ CyD 100mM | 1.94      | 1.92    | 4.78       | 0.13       | 0.06      | 0.01    |

(各測定値は 3 回測定した平均値を示す)

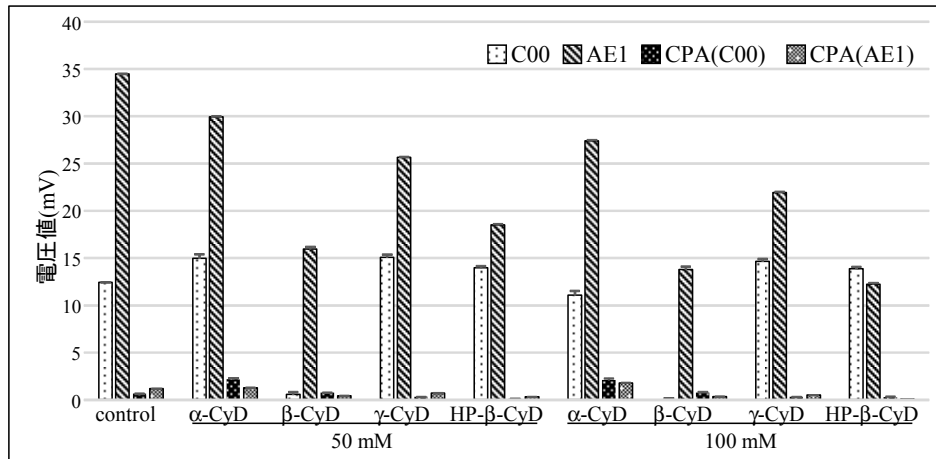


Fig. 5 AE1, CPA(AE1)電圧値 (絶対値に変換)

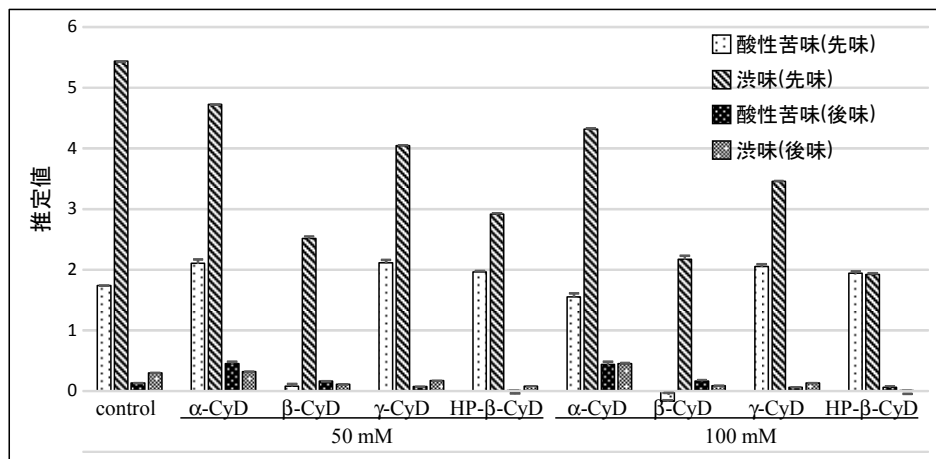


Fig. 6 CyD 包接化によるアセトアミノフェンの推定値

#### 4. 各種 CyD と薬物との安定度定数及び pH の測定

各種 CyD と薬物との複合体の安定度定数を算出するため、T. Higuchi ら<sup>1)</sup>により確立された溶解度法による測定を試みた。CM と各種 CyD との安定度定数は報告されているため<sup>2)</sup>、CyD と AA との安定度定数について、1:1 の複合体を形成すると仮定し測定した (Fig. 7)。

その結果、α-CyD については  $7.53 \text{ M}^{-1}$  と比較的小さい安定度定数が得られたものの、β、γ 及び HP-β-CyD については CyD のポケットに 1 分子以上の AA が入ったと推定される結果となり、安定度定数の計算はできなかった。また、CM 及び AA と各種 CyD との包接化溶液の pH を測定した結果、CyD の種類及び添加量を変化させても、pH に大きな違いは認められなかった (Table 8)。

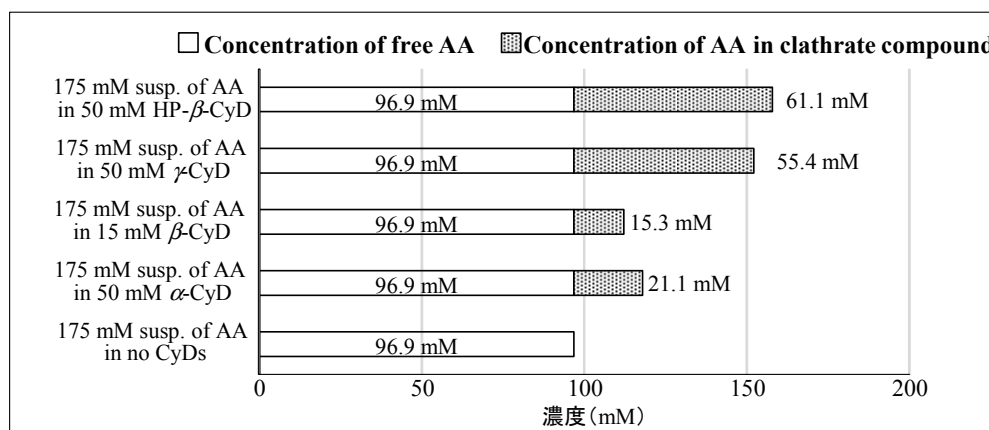


Fig. 7 アセトアミノフェン溶液中での各種 CyD の溶解度の比較

Table 8 薬物と CyD 包接化溶液の pH

|         | control | $\alpha$ | $\beta$ | $\gamma$ | HP- $\beta$ | $\alpha$ | $\beta$ | $\gamma$ | HP- $\beta$ |
|---------|---------|----------|---------|----------|-------------|----------|---------|----------|-------------|
| CyD 濃度  | —       | 5 mM     |         |          |             | 20 mM    |         |          |             |
| CM 5 mM | 4.90    | 4.92     | 4.79    | 4.74     | 4.75        | 4.93     | 4.67    | 4.65     | 4.67        |
| AA 5 mM | 5.89    | 5.9      | 5.89    | 5.89     | 5.89        | 5.92     | 5.91    | 5.41     | 5.56        |

## 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 を用いた医薬品の苦味マスキング効果を味認識装置で評価した。CyD として汎用されている  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -CyD に加え、 $\beta$ -CyD の誘導体で高い水溶性を持つ HP- $\beta$ -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。また、人工脂質膜を使用したセンサで、味覚を数値化できる味認識装置を用いて苦味の定量を行った。

クロルフェニラミンマレイン酸塩 (CM) の苦味を測定した結果、塩酸塩の苦味が非常に強く、後味も強い苦味であることが確認された。この苦味マスキングには、CyD のうち  $\alpha$  及び  $\beta$ -CyD に強い抑制作用が認められ、特に  $\alpha$  に顕著なマスキング効果が認められた。このため、CM の苦味マスキングには薬物の 4 倍モル濃度の  $\alpha$ -CyD での包接化が有効であると考えられる。CM と  $\alpha$ -CyD との安定度定数 (K) は他の CyD よりも比較的小さいことが報告されている<sup>2)</sup>が、マスキング効果は最も強い結果となった。 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、HP- $\beta$ -CyD いずれも単独では BT0 センサに応答しないことを確認していることから、これらのマスキング効果は包接化によってもたらされたものと考えられる。また、CyD 濃度と後味の苦味強度に相関が認められなかった原因の詳細は不明だが、先味は濃度依存的に苦味を抑制していることから、20 mM 以上では何らかの形で人工脂質膜への吸着に影響を与えたと考えられる。

アセトアミノフェン (AA) の苦味を測定した結果、通常投与量に近い濃度において、C00 及び AE1 センサに応答する酸性苦味 (渋味) が認められた。後味に関してはそれほど強い電圧値は示さず、マスキングは比較的容易であると考えられる。この苦味マスキングには  $\beta$  及び HP- $\beta$ -CyD に強い抑制作用が認められており、100 mM の包接化でともに AE1 センサ値をコントロールの約 1/2 に抑制していた。今回、AA と全ての CyD との安定度定数は計算できなかったものの、CyD と AA は複合体を形成することは明らかである。また、CyD 濃度として、AA と等モル濃度の 50 mM と 2 倍濃度の 100 mM を検討したが、両者の苦味抑制効果に大きな差は認められなかった。AA については、1 回当たりの服用量が多く、等モル量の CyD で包接するには添加量が多くなることから、CyD の種類としては水溶性の高い HP- $\beta$ -CyD が有効であると考えられる。なお、CyD は薬物の安定性や溶出性に影響を与える場合もあることから、製剤開発の際には薬物との相互作用について確認しておく必要がある。

今回の実験により、苦味薬物を CyD によって包接化させた際のマスキング効果を、味認識装置を用いて定量的に評価できることを確認した。苦味薬物の種類によって応答するセンサは異なるものの、各種 CyD によるマスキング効果を評価することができ、その最適濃度についても評価が可能であった。このため今後、新たな口腔内崩壊錠を設計する上で、マスキング効果を評価する際に有用な手段であると考えられる。



## 文 献

1. T. Higuchi, K. A. Connors, "Phase Solubility Techniques," *Advanced Analytical Chemistry of Instrumentation*, Vol. 4, 117-212 (1965)
2. 宮本祐司、シクロデキストリン包接による抗ヒスタミン薬およびアルンド酸の苦味マスキングに関する研究、熊本大学学位論文 (2010)

**攪拌造粒による新規口腔内崩壊錠に関する研究[V]**  
**-ロペラミド塩酸塩をモデル薬物として-**  
Studies on new orally disintegrating tablets manufacturing  
by agitation granulation [V]  
-Loperamide hydrochloride used as a model drug-

上西篤志      島谷隆夫      長谷川豊  
伊東宏子      川岸貴博      和田直久      木村隆仁  
Atsushi KAMINISHI   Takao SHIMATANI   Yutaka HASEGAWA  
Hiroko ITO   Takahiro KAWAGISHI   Naohisa WADA   Takahito KIMURA  
テイカ製薬株式会社 研究所  
Research Laboratory, Teika Pharmaceutical Co., Ltd.

## 緒 言

医薬品の分野における経口固形製剤の剤形としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤等が一般的に知られているが、いずれも服用時に水を必要とするため、高齢者・小児・幼児の患者、嚥下困難な患者、寝たきりの患者、水分摂取が制限されている患者等にとっては服用しづらいといった、コンプライアンス及びアドヒアランスの面で大きな問題があるとされている。しかし、近年では、これらの患者のコンプライアンス及びアドヒアランスの向上を目指し、容易にかつ安全に服用できる剤形として、口腔内の唾液で崩壊し、水なしで服用、もしくは、少量の水で服用が可能な口腔内崩壊錠が相次いで開発されてきた。

増田<sup>1)</sup>の分類によると、口腔内崩壊錠は技術コンセプトにより、鋳型錠製剤、湿製錠製剤、一般錠型製剤の3種類に分類することができ、更に一般錠型製剤は易成形性添加剤使用製剤、崩壊機構工夫製剤、多孔質成形体製剤の3種類に分類できると言われ、これらの多くは、成形性、崩壊性及び吸水性の機能を向上させるために、特殊な製造設備や複雑な製造方法を用いることが必要であるため、汎用性の面で解決すべき多くの課題を抱えている<sup>2), 3)</sup>。しかしながら、我々は既に、製剤処方中に水溶性結合剤として用いられるポビドン、又はヒドロキシプロピルセルロースと、矯味剤として用いられるタンニン酸とを併用して配合し、汎用的な製造方法である攪拌造粒を用いることにより、成形性及び崩壊性、並びに吸水性に優れた口腔内崩壊錠の製剤技術「howatt®」(high-performance orally disintegrating tablet with water-soluble polymer and tannic acid technology の略)を見出すことができた<sup>4), 5)</sup>。更に、本製剤処方を基に調製された口腔内崩壊錠の経時的な安定性を検証したところ、それぞれの錠剤物性が苛酷条件下でも維持されることが確認された<sup>6), 7)</sup>。

また、本製剤処方を構成する添加物(賦形剤、結合助剤、崩壊剤)を種々選択した場合においても、それぞれ良好な錠剤物性(崩壊性及び吸水性)を維持し<sup>8), 9)</sup>、更に、それぞれの錠剤物性が苛酷条件下においても維持されることを確認した<sup>10)</sup>。

そこで本研究では、上述した製剤技術を基に製剤設計した、ロペラミド塩酸塩配合の口腔内崩壊錠の製剤処方において、その主要構成成分であるヒドロキシプロピルセルロース及びタンニン酸の必要性を検証するため、その製剤処方を基に、ヒドロキシプロピルセルロースを除いた処方、タンニン酸を除いた処方、及び両成分を除いた製剤処方における錠剤物性(成形性及び崩壊性及び吸水性)の比較評価を行ったので、その詳細について報告する。

## 実験方法

### 1. 試料

本研究に使用した試料を表 1 に示す。

表1. 試料

| 配合目的   | 配合物質名            | メーカー名               |
|--------|------------------|---------------------|
| 薬効成分   | ロペラミド塩酸塩         | Sifavitor           |
| 水溶性結合剤 | ヒドロキシプロピルセルロース   | 日本曹達                |
| 賦形剤    | D-マンニトール         | ロケットジャパン、三菱商事フードテック |
| 結合剤    | メタケイ酸アルミン酸マグネシウム | 富士化学工業              |
| 崩壊剤    | クロスポビドン          | BASF ジャパン           |
| 清涼化剤   | l-メントール          | 小城製菓                |
| 甘味剤    | アスパルテーム          | 味の素                 |
| 矯味剤    | クエン酸水和物          | サツマ化工               |
|        | タンニン酸            | 富士化学工業              |
| 滑沢剤    | ステアリン酸マグネシウム     | 太平化学産業              |
| 香料     | ピーチミクロン          | 高砂香料工業              |

### 2. 使用機器

本研究に使用した機器（製剤機器及び測定機器）を表 2 に示す。

表2. 使用機器

| 名称          | メーカー名 | 型番               |
|-------------|-------|------------------|
| 攪拌混合造粒機     | 岡田精工  | メカノミル MM-20N     |
| 定温乾燥機       | アズワン  | OFW-450B         |
| ロータリー式打錠機   | 菊水製作所 | VELA5            |
| ロードセル式錠剤硬度計 | 岡田精工  | PC-30            |
| 崩壊試験器       | 富山産業  | NT-40H           |
| 口腔内崩壊試験器    | 井元製作所 | OD-mate IMC-14D1 |

### 3. 製剤処方及びその調製方法

本研究で調製した製剤処方を表 3 に示す。

処方No. 1の調製は、まずヒドロキシプロピルセルロース、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム及びD-マンニトールを攪拌混合造粒機に投入し、混合した後、適量の無水エタノールにロペラミド塩酸塩及びタンニン酸を溶解した液を徐々に加えて造粒した。次に、この造粒品を定温乾燥機で乾燥した後、この乾燥品を整粒した。更に、この整粒品に、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、クロスポビドン、アスパルテーム、l-メントール、香料及びステアリン酸マグネシウムを加えて混合した後、ロータリー式打錠機を用い、4、6、8、10、12 kNの5水準の打錠圧で打錠し、1錠の直径が8 mmで、その質量が220 mgの錠剤を得た。また、タンニン酸を除いた処方（処方No. 2）、ヒドロキシプロピルセルロースを除いた処方（処方No. 3）、並びにタンニン酸及びヒドロキシプロピルセルロースを除いた処方（処方No. 4）においても、同様な調製条件で実施した。

表3. 製剤処方

| 処方No. | 1                   | 2     | 3     | 4     |       |
|-------|---------------------|-------|-------|-------|-------|
| 造粒部分  | ロペラミド塩酸塩            | 1.2   | 1.2   | 1.2   | 1.2   |
|       | D-マンニトール            | 464.7 | 470.1 | 475.5 | 480.9 |
|       | タンニン酸(TA)           | 5.4   | —     | 5.4   | —     |
|       | ヒドロキシプロピルセルロース(HPC) | 10.8  | 10.8  | —     | —     |
|       | メタケイ酸アルミン酸マグネシウム    | 6.0   | 6.0   | 6.0   | 6.0   |
| 後添加部分 | クロスボビドン             | 20.0  | 20.0  | 20.0  | 20.0  |
|       | メタケイ酸アルミン酸マグネシウム    | 6.5   | 6.5   | 6.5   | 6.5   |
|       | アスパルテーム             | 1.4   | 1.4   | 1.4   | 1.4   |
|       | l-メントール             | 0.5   | 0.5   | 0.5   | 0.5   |
|       | クエン酸水和物             | 2.3   | 2.3   | 2.3   | 2.3   |
|       | 香料                  | 0.4   | 0.4   | 0.4   | 0.4   |
|       | ステアリン酸マグネシウム        | 2.3   | 2.3   | 2.3   | 2.3   |
|       | 総量(g)               | 521.5 | 521.5 | 521.5 | 521.5 |

#### 4. 評価方法

##### 1) 硬度試験

試験は、ロードセル式錠剤硬度計を用いて実施し、錠剤の硬度を測定した (n = 10)。

##### 2) 崩壊試験 (I)

試験は、第 16 改正日本薬局方一般試験法の「崩壊試験法」に準じて、崩壊試験器を用いて実施した。また、試験液には水を用い、補助板なしの条件で錠剤の崩壊時間 (I) を測定した (n = 6)。

##### 3) 崩壊試験 (II)

試験は、口腔内の唾液で服用することを想定し、更に舌と上あごによって加圧される条件も加味し、口腔内崩壊試験器を用いて実施した。また、試験液には水を用い、外加重を100g、並びに内加重を30gに設定し、錠剤の下端のみから試験液が浸透するように測定部の浸漬位置を調整して、錠剤の崩壊時間 (II) を測定した (n = 6)。

##### 4) 吸水試験

試験は、図 1 に示すように、直径 6.5 cm のシャーレに水 6 mL を入れ、その中に水に溶けないティッシュペーパーを 4 つ折りにして置き、これを完全に濡らした後、錠剤 1 個をその上に置き、錠剤全体が湿潤に要したぬれ時間を測定した (n = 3)<sup>11)</sup>。

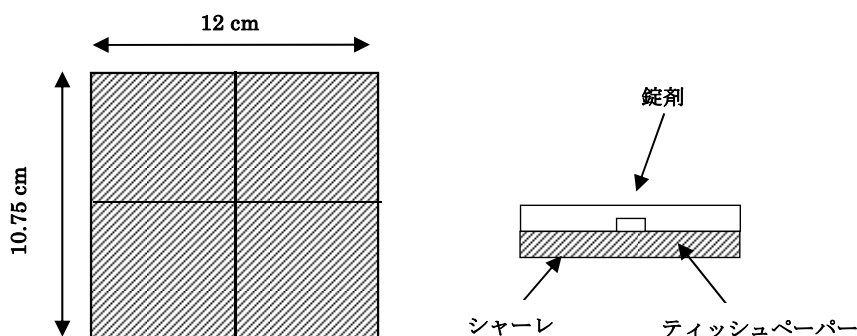


図 1: 錠剤の吸水試験の方法

## 5) 吸水膨潤試験

試験は、図2に示す錠剤の吸水膨潤試験装置<sup>12)</sup>を用いてスクリーンの上に水で湿らせた1.5 mm四方のろ紙をのせ、錠剤を置いた瞬間から吸水される水の量をピペットのメモリにて測定した(n=3)。

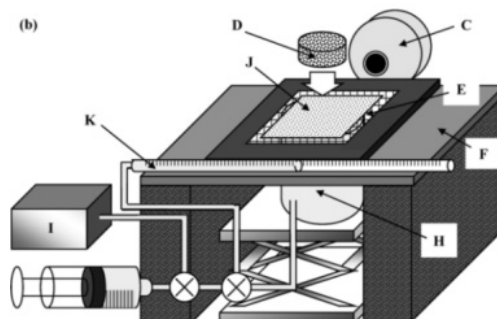


図2: 錠剤の吸水膨潤試験装置 (参考文献12より抜粋)

## 実験結果

製剤技術「howatt®」を適用したロペラミド塩酸塩配合製剤処方(処方No. 1)を本製剤処方とし、本製剤処方からタンニン酸を除いた処方(処方No. 2)、ヒドロキシプロピルセルロースを除いた処方(処方No. 3)、並びにタンニン酸とヒドロキシプロピルセルロースを除いた処方(処方No. 4)の4処方について、それぞれの錠剤物性(成形性、崩壊性、及び吸水性)の比較評価を行った。

### 1. 硬度試験による物性評価

表4及び図3から明らかなように、打錠圧8 kNにおける硬度は、処方No. 4において32.1 Nであり、処方No. 3では上昇し、60.5 Nであった。処方No. 2においては78.2 Nで、処方No. 3よりも硬度が上昇した。処方No. 1では67.1 Nと、処方No. 2より低下していたが、処方No. 3及び処方No. 4と比較して硬度上昇が認められた。また、表4及び図4が示すように、処方No. 4において打錠圧を4、6、8、10及び12 kNと上昇させると硬度は13.1、21.9、32.1、37.4及び34.1 Nとなり、10 kNまでは硬度が打錠圧に伴って上昇したが、12 kNでは10 kNよりも低くなった。また、処方No. 3では打錠圧の上昇に伴い、硬度が23.5 Nから85.4 Nに上昇したが、10 kNから12 kNにかけて硬度の上昇幅が減少する傾向が見られた。しかしながら、処方No. 1及び処方No. 2においては、打錠圧に依存して、硬度がそれぞれ27.2 Nから100.3 N、34.2 Nから116.0 Nに上昇した。

表4. ロペラミド塩酸塩配合製剤の物性評価結果【硬度(N)(平均値)】

| 処方 No. | 組成  |    | 打錠圧(kN) |      |      |       |       |
|--------|-----|----|---------|------|------|-------|-------|
|        | HPC | TA | 4       | 6    | 8    | 10    | 12    |
| 1      | ○   | ○  | 27.2    | 45.9 | 67.1 | 82.8  | 100.3 |
| 2      | ○   | —  | 34.2    | 57.1 | 78.2 | 100.7 | 116.0 |
| 3      | —   | ○  | 23.5    | 42.7 | 60.5 | 76.6  | 85.4  |
| 4      | —   | —  | 13.1    | 21.9 | 32.1 | 37.4  | 34.1  |

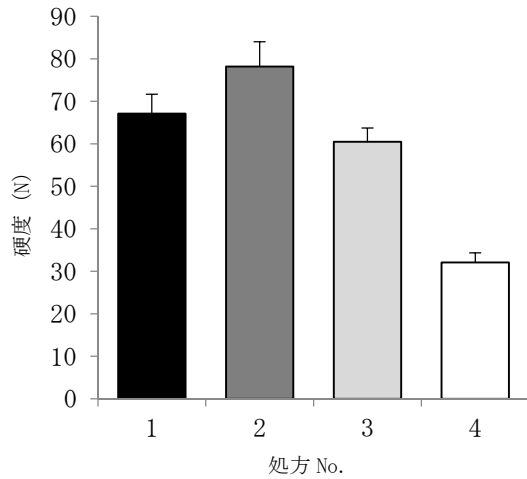


図 3: 打錠圧 8 kN の硬度

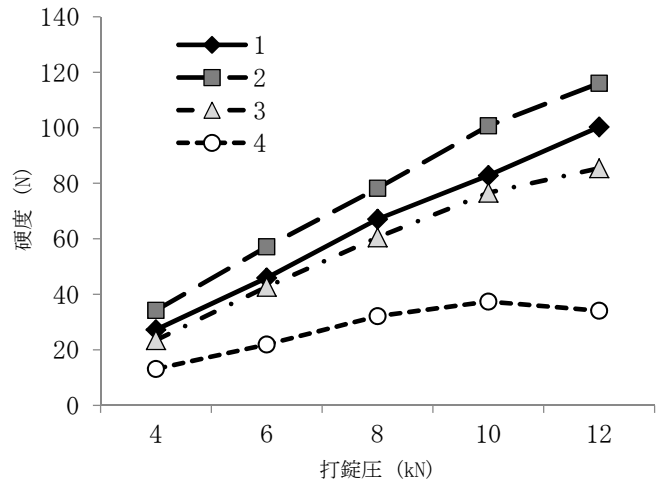


図 4: 打錠圧と硬度の関係

## 2. 崩壊試験 (I) による物性評価

表5及び図5から明らかなように、打錠圧8 kNにおける崩壊時間 (I) は、処方No. 4において11.5秒、処方No. 3では12.0秒であった。一方、処方No. 2は19.7秒と、処方No. 3及び処方No. 4と比較して顕著な遅延が見られた。しかしながら、処方No. 1においては10.0秒であり、処方No. 2と比べて崩壊時間 (I) が短縮され、処方No. 3及びNo. 4と同程度となった。また、図6が示すように、処方No. 4以外の処方においては、硬度が上昇すると、崩壊時間 (I) が遅延する傾向が見られたが、どの硬度においても、処方No. 1が最も速やかな崩壊性を示した。

表5. ロペラミド塩酸塩配合剤の物性評価結果【崩壊時間 (I) (秒) (平均値)】

| 処方 No. | 組成  |    | 打錠圧 (kN) |      |      |      |      |
|--------|-----|----|----------|------|------|------|------|
|        | HPC | TA | 4        | 6    | 8    | 10   | 12   |
| 1      | ○   | ○  | 6.3      | 9.0  | 10.0 | 13.0 | 15.0 |
| 2      | ○   | —  | 17.0     | 18.0 | 19.7 | 26.0 | 26.0 |
| 3      | —   | ○  | 11.3     | 11.3 | 12.0 | 13.0 | 16.0 |
| 4      | —   | —  | 10.7     | 12.3 | 11.5 | 12.3 | 14.3 |

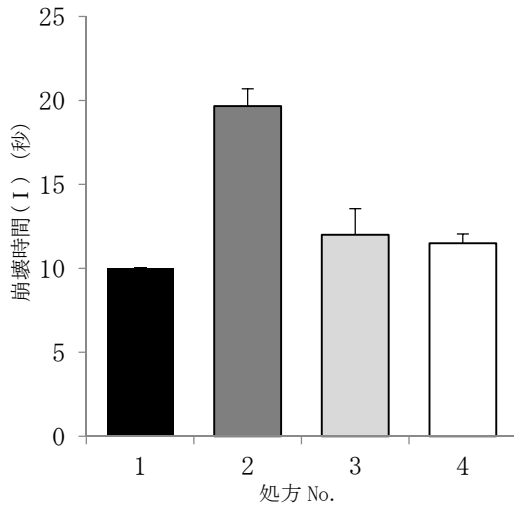


図 5: 打錠圧 8 kN の崩壊時間 (I)

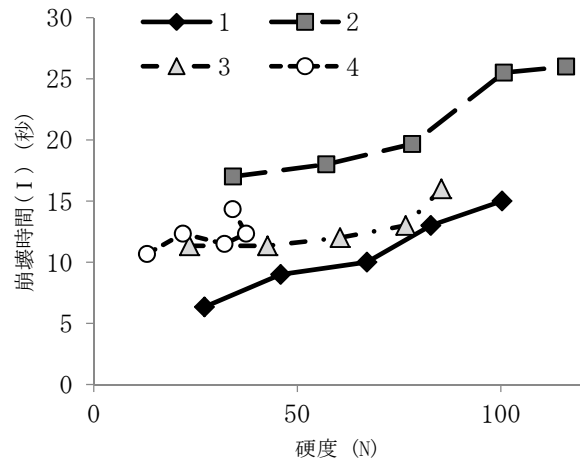


図 6: 硬度と崩壊時間 (I) の関係

### 3. 崩壊試験 (II) による物性評価

表6と図7から明らかなように、打錠圧8 kNにおける崩壊時間(II)は、処方No.4において16.3秒であった。処方No.3では10.9秒と、処方No.4と比較して崩壊時間(II)が短縮された。その一方で、処方No.2は77秒と、処方No.3及び処方No.4と比較して顕著な遅延が見られた。しかしながら、処方No.1において14.6秒と、処方No.2と比べて崩壊時間(II)の短縮が認められた。また、図8が示すように、処方No.1、処方No.3及び処方No.4では、どの硬度においても、処方No.2と比較して速やかな崩壊性を示した。

表6. ロペラミド塩酸塩配合剤の物性評価結果【崩壊時間(II) (秒) (平均値)】

| 処方 No. | 組成  |    | 打錠圧 (kN) |      |      |      |       |
|--------|-----|----|----------|------|------|------|-------|
|        | HPC | TA | 4        | 6    | 8    | 10   | 12    |
| 1      | ○   | ○  | 9.9      | 11.3 | 14.6 | 18.3 | 25.1  |
| 2      | ○   | —  | 72.2     | 76.6 | 77.0 | 85.0 | 106.6 |
| 3      | —   | ○  | 13.0     | 12.6 | 10.9 | 12.1 | 13.6  |
| 4      | —   | —  | 20.3     | 20.7 | 16.3 | 12.7 | 13.7  |

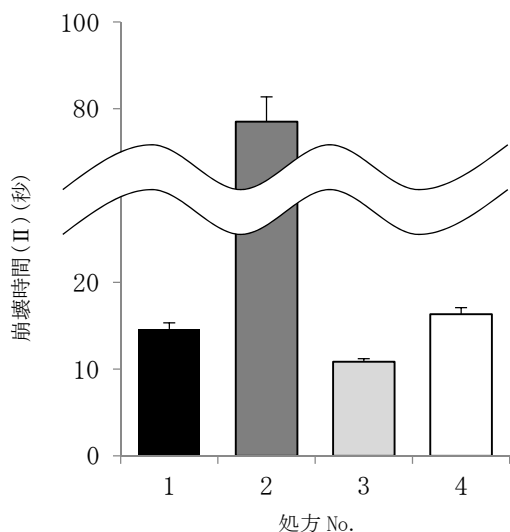


図 7: 打錠圧 8 kN の崩壊時間 (II)

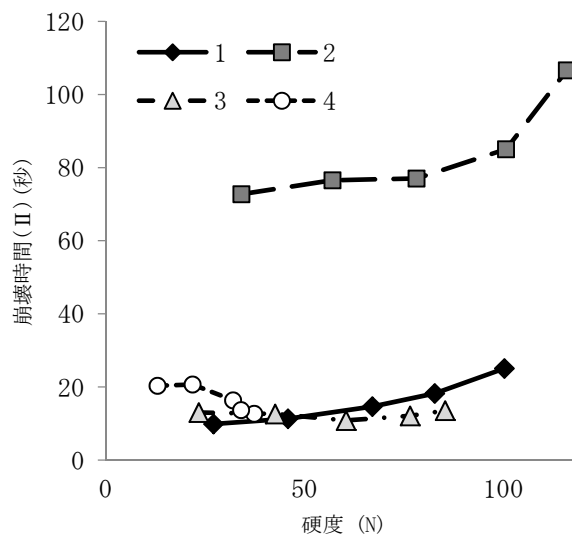


図 8: 硬度と崩壊時間 (II) の関係

#### 4. 吸水試験による物性評価

表7及び図9が示すように、打錠圧8 kNにおけるぬれ時間は、処方No. 4において20.7秒であった。そして、処方No. 3ではぬれ時間が短縮され12.1秒であったが、処方No. 2はぬれ時間が顕著に遅延して707.7秒であった。処方No. 1は、処方No. 2と比較するとぬれ時間が顕著に短縮され、12.7秒であった。また、図10から明らかのように、処方No. 2で硬度に依存してぬれ時間の遅延が見られた。しかしながら、処方No. 1、処方No. 3及び処方No. 4は硬度に依存したぬれ時間の遅延が見られず、どの硬度においても処方No. 2と比較して速やかな吸水性を示した。

表7. ロペラミド塩酸塩配合製剤の物性評価結果【ぬれ時間(秒)(平均値)】

| 処方 No. | 組成  |    | 打錠圧 (kN) |       |       |       |       |
|--------|-----|----|----------|-------|-------|-------|-------|
|        | HPC | TA | 4        | 6     | 8     | 10    | 12    |
| 1      | ○   | ○  | 20.3     | 17.0  | 12.7  | 16.3  | 19.7  |
| 2      | ○   | —  | 551.7    | 586.7 | 707.7 | 824.3 | 941.0 |
| 3      | —   | ○  | 12.3     | 12.7  | 12.1  | 10.7  | 11.0  |
| 4      | —   | —  | 21.7     | 21.7  | 20.7  | 17.7  | 17.7  |



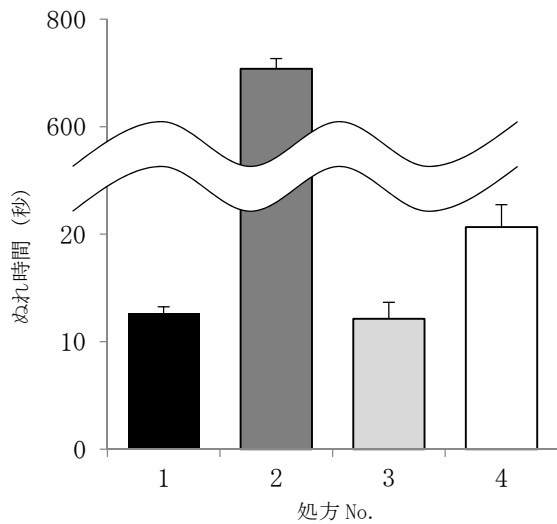


図9: 打錠圧 8 kN のぬれ時間

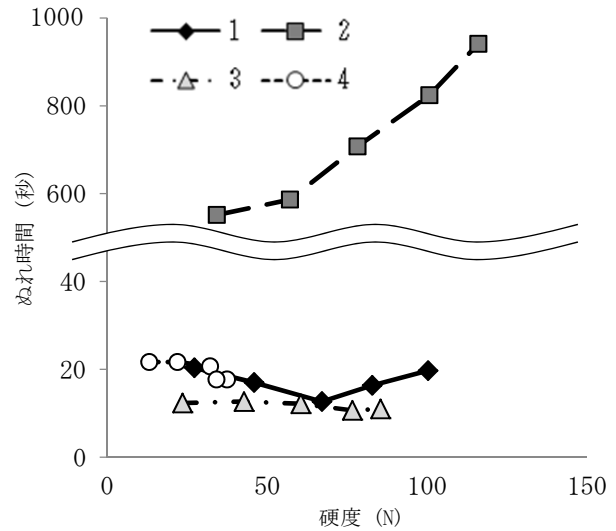


図10: 硬度とぬれ時間の関係

### 5. 吸水膨潤試験による物性評価

表8及び図11から、処方No. 1、処方No. 3及び処方No. 4において、吸水量は40秒前後まで時間の経過に伴って急激な増加傾向を示し、その後は平衡状態に達した。しかしながら、処方No. 2においては、初期の吸水量も他の処方と比較して少なく、180秒経過時点でも他の処方と比較して3分の1程度の吸水量しかなかった。

表8. ロペラミド塩酸塩配合剤の物性評価結果【吸水量(μL) (平均値)】

| 処方No. | 組成  |    | 経過時間(秒) |     |     |     |     |     |     |
|-------|-----|----|---------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|       | HPC | TA | 20      | 40  | 60  | 80  | 100 | 150 | 180 |
| 1     | ○   | ○  | 93      | 134 | 144 | 148 | 152 | 155 | 156 |
| 2     | ○   | —  | 18      | 26  | 31  | 34  | 37  | 46  | 50  |
| 3     | —   | ○  | 85      | 127 | 142 | 147 | 151 | 156 | 159 |
| 4     | —   | —  | 83      | 119 | 137 | 143 | 148 | 154 | 157 |

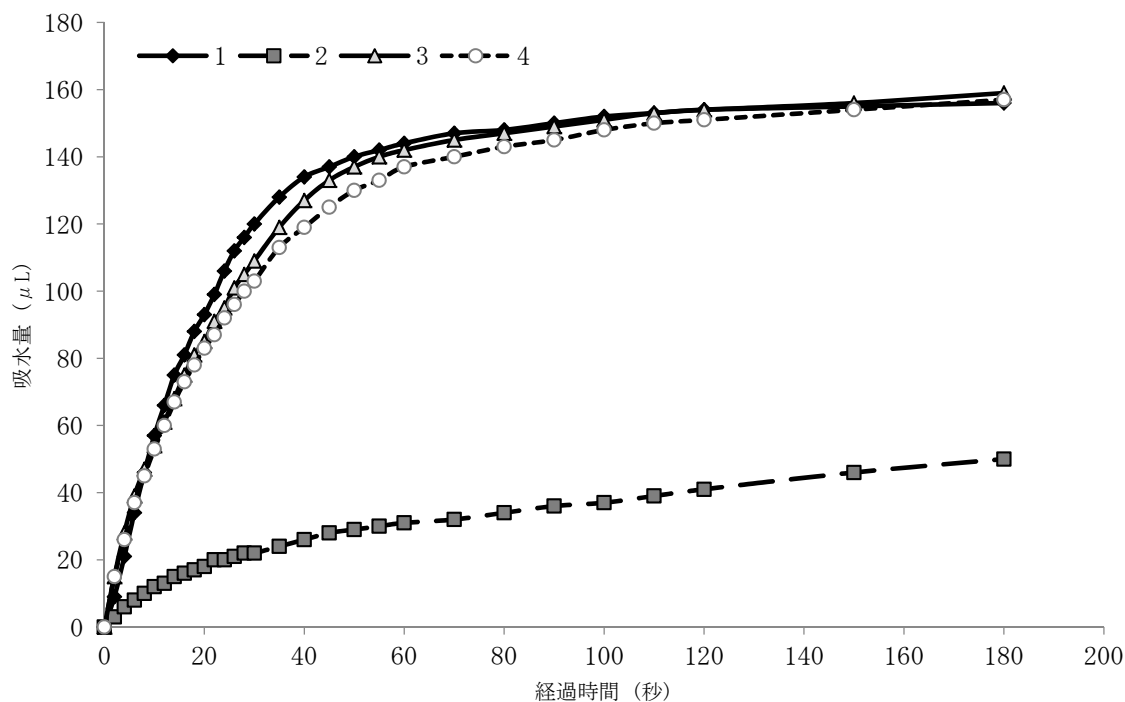


図 11:経過時間毎の吸水量 (μL)

## 考 察

今回、我々は製剤技術「howatt®」を適用したロペラミド塩酸塩配合の口腔内崩壊錠において、主要構成成分であるヒドロキシプロピルセルロース及びタンニン酸の必要性を検証すべく、その製剤処方を基に、ヒドロキシプロピルセルロースを除いた処方、タンニン酸を除いた処方、並びに両成分を除いた処方を調製し、それぞれの錠剤物性（成形性、崩壊性及び吸水性）の比較評価を行った。

その結果、薬効成分としてロペラミド塩酸塩を配合した製剤処方でも、ヒドロキシプロピルセルロース及びタンニン酸の両成分を配合することで、高い硬度を保持しながら、速やかな崩壊性及び吸水性を示す口腔内崩壊錠となることが示された。更に、吸水膨潤試験では、吸水初期において急激な吸水量の増加が見られ、吸水初期における吸水速度が高く維持されることが崩壊性及び吸水性の向上に寄与していると考えられた。

本製剤技術は、2014 年度グッドデザイン賞(主催：公益財団法人日本デザイン振興会)を受賞しており、「経口固形製剤における成形性（硬度）と崩壊性（崩壊時間）のトレードオフを解決したマイクロレベルの優れた構造デザイン」として高く評価された。今後も、従来の製剤技術とは異なる、新たな口腔内崩壊錠の製剤技術として、プラットフォームの確立を目指し、医薬品分野に貢献していきたい。

## 文 献

- 1) 増田義典：口腔内崩壊錠の潮流と製剤設計, PHARM TECH JAPAN, Vol.22 No.3: 401-412 (2006).
- 2) 増田義典：知っておきたい口腔内崩壊錠の知識, 調剤と情報, 11 (11): 1499-1506 (2005).
- 3) 緒方賢次, 他：速崩壊錠の崩壊試験法に関する検討, 医療薬学, 27 (6): 553-558 (2001).
- 4) 島谷隆夫, 他：ポビドンまたはヒドロキシプロピルセルロースを用いた新規口腔内崩壊錠の研究, PHARM TECH JAPAN, Vol.29 No.1: 161-166 (2013).
- 5) 川岸貴博, 他：攪拌造粒による新規口腔内崩壊錠に関する研究, 家庭薬研究, 32: 42-49(2013).
- 6) 島谷隆夫, 他：攪拌造粒による新規口腔内崩壊錠に関する研究[Ⅱ], 家庭薬研究, 33: 39-52 (2014).
- 7) 島谷隆夫, 他：ポビドンまたはヒドロキシプロピルセルロースを用いた新規口腔内崩壊錠の研究[Ⅱ], PHARM TECH JAPAN, Vol.30 No.6: 967-974 (2014).
- 8) 島谷隆夫, 他：ポビドンまたはヒドロキシプロピルセルロースを用いた新規口腔内崩壊錠の研究[Ⅲ], PHARM TECH JAPAN, Vol.31 No.3: 35-42 (2015).
- 9) 和田直久, 他：攪拌造粒による新規口腔内崩壊錠に関する研究[Ⅲ], 家庭薬研究, 34: 31-43 (2015).
- 10) 島谷隆夫, 他：攪拌造粒による新規口腔内崩壊錠に関する研究[Ⅳ], 家庭薬研究, 34: 44-64 (2015).
- 11) Y. Bi, H. Sunada, Y. Yonezawa, K. Danjo, A. Otsuka, K. Iida, Preparation and evaluation of a compressed tablet rapidly disintegrating in the oral cavity, *Chem. Pharm. Bull.*, **44** (11), 2121-2127 (1996).
- 12) K. Kondo, T. Niwa, K. Danjo, *Chem. Pharm. Bull.*, **60**(10), 1240-1248 (2012).

## 医薬品試験の効率化に関する検討（第3報）

### —HILIC カラムを用いた点眼剤中の多成分同時定量法について—

Studies on improving the efficiency in pharmaceutical test. III

-Multicomponent simultaneous assay in the ophthalmic solutions by HILIC column-

|                |   |                |                                 |
|----------------|---|----------------|---------------------------------|
| 竹村麻美           | 富士製薬工業株式会社  | 二谷智恵           | 救急薬品工業株式会社                      |
| Mami TAKEMURA  | Fuji Pharma Co., Ltd  | Chie FUTATSUYA | Kyukyu Pharmaceutical Co., Ltd. |
| 福島美和           | 株式会社池田模範堂   | 室谷亜紀子          | シミック CMO 株式会社                   |
| Miwa FUKUSHIMA | Ikedo Mohando Co.,Ltd                                       | Akiko MUROTANI | Cmic CMO Co., Ltd.              |
| 横田洋一           | 富山県薬事研究所  |                |                                 |
| Yoichi YOKOTA  | Toyama Prefectural Institute for<br>Pharmaceutical Research |                |                                 |

### 緒言

近年、親水性相互作用型クロマトグラフィー（HILIC）に関する研究が進み、各メーカーから HILIC に用いる様々な固定相が開発・発売されている。HILIC は順相クロマトグラフィーの一種であり、水と有機溶媒（アセトニトリルなど）の混合溶液と、高極性の固定相を用いる分離モードである。通常の順相クロマトグラフィーでは非水溶性の有機溶媒を用いるため、親水性の化合物の中にはこの溶媒系に溶解しないため分析できないという問題があったが、HILIC では移動相が水系であり、高極性化合物も溶解、分析が可能である。HILIC は古典的な未修飾シリカゲルに加えて、アミノプロピル基、アミド基、ジオール、シアノ基、双極イオンと様々な高極性官能基が修飾されたシリカゲルを充填したカラムに適用できる。

アラントインは水に可溶性化合物ではあるが、逆相で高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分析する場合は ODS への保持がほとんど無いため、HILIC が最も有効な分析手法であると考えられる。しかし、多成分配合製剤において、アラントインと同時に親水性化合物を同時に分析しようとした場合、HILIC では固定相の種類が様々で、それぞれにおいて移動相中の塩の種類、塩濃度、pH、水含有率がピーク保持、形状に対してどのような変化をもたらすかの予測が難しく、試験法設定が困難である。

昨年度は、アラントインを含む点眼剤について、HILIC を用いてその他有効成分である水溶性ビタミンとの同時分析について検討されてきたが、『カラムの平衡化』という問題があり、ピークの保持時間が定まらず試験結果に対する評価が難しい状態であった。そこで、本年度は、固定相の違う数種類の HILIC カラムを用いて『カラム平衡化』『ピークの分離』『点眼薬の定量』の3点において順番に検討していき、分析対象とした点眼剤の分析方法について最も適した条件を見出すこととした。

## 実験方法

### 1. カラムの平衡化時間の確認

様々な固定相を使用している各種の HILIC カラム（粒子径、内径、長さが同じ物）を用いて、移動相を流した状態でのピーク保持時間の変化を確認することとした。評価方法としては点眼剤中の含有成分である、アラントイン及びピリドキシリン塩酸塩を用いて、2 時間ごとの保持時間の変化を確認し、カラム平衡化時間の比較のため、以下の計算で算出した値を『保持時間変動率』として定義し、保持時間変動の大きさを算出し比較した。

$$\text{保持時間変動率 (\%)} = (\text{2 時間後との保持時間の差}) / \text{保持時間} \times 100$$

### 試験方法

ピリドキシリン塩酸塩（東京化成工業株）約 50mg 及びアラントイン（和光純薬工業株）約 50mg をそれぞれ精密に量り、水 10mL に溶かし、アセトニトリルを加え正確に 50mL とし、ピリドキシリン塩酸塩標準原液及びアラントイン標準原液とした。ピリドキシリン塩酸塩標準原液 2.5mL 及びアラントイン標準原液 5mL を正確に取り、アセトニトリル／水混液（4：1）を加え正確に 50mL とし、標準溶液とした。標準溶液 10 $\mu$ L につき以下の試験を行った。

### 試験条件

検出器：紫外吸光光度計（検出波長：210nm）

カラム：YMC-Triart Diol-HILIC 4.6 $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m（株ワイエムシイ）

YMC-Pack Polyamine II 4.6 $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m（株ワイエムシイ）

COSMOSIL HILIC 4.6 $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m（ナカライテクス株）

Merck Zic-HILIC 4.6 $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m（メルク株）

移動相：アセトニトリル／50mM NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>（H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>で pH2.8 に調製）（4：1）

カラム温度：37 $^{\circ}$ C

流量：1.0mL／min

### 2. 分析条件の最適化

カラム平衡化の結果が良好であった 2 種類のカラム YMC-Triart Diol-HILIC 及び Merck Zic-HILIC（以下 Diol、Zic カラム）を用いて、移動相中のアセトニトリル濃度、塩濃度及び pH を変化させ、標準溶液の各成分の保持時間の変化を調べた。

### 試験方法\*

ピリドキシリン塩酸塩約 50mg、クロルフェニラミンマレイン酸塩（東京化成工業株）約 15mg、テトラヒドロゾリン塩酸塩（シグマーアルドリッチ）約 25mg 及びアラントイン約 50mg をそれぞれ精密に量り、水 10mL に溶かし、アセトニトリルを加えてそれぞれ正確に 50mL とし、ピリドキシリン標準原液、クロルフェニラミン標準原液、テトラヒドロゾリン標準原液及びアラントイン標準原液とした。別に、ネオスチグミンメチル硫酸塩（東京化成工業株）25mg を精密に量り、水 10mL に溶かし、アセトニトリルを加え正確に 50mL とした。この液 2mL を正確にとり、アセトニトリル／水混液（4：1）を加えて正確に 20mL とし、ネオスチグミンメチル標準原液とした。ピリドキシリン標準原液、クロルフェニラミン標準原液、テトラヒドロゾリン標準原液及びネオスチグミンメチル標準原液 1mL

ずつを正確にとり、アラントイン標準原液 2mL 及び内標準溶液 1mL を正確に加え、アセトニトリル／水混液 (4 : 1) を加えて正確に 20mL とし、標準溶液とした。

標準溶液 10 $\mu$ L につき、下記の条件で HPLC を使用し HILIC により試験を行った。

内標準溶液 シチジン (東京化成工業株) のアセトニトリル／水混液 (4 : 1) 溶液 (3→5000)

#### 試験条件

カラム : YMC-Triart Diol-HILIC 4.6×250mm, 5 $\mu$ m (株ワイエムシィ)

Merck Zic-HILIC 4.6×250mm, 5 $\mu$ m (メルク株)

移動相 : 『アセトニトリル／25mM NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> で pH2.8 に調製) (4 : 1)』を基本に、下線部の移動相中のアセトニトリル濃度 (80～84%)、リン酸塩濃度(0～50mol/mL)、pH (pH2.2～4.6) を変化させた。

検出器、カラム温度、流量は「1. カラム平衡化」条件と同じ。

### 3. 点眼剤の定量

「2. 分析条件の最適化」の結果より、各カラムで最適化した分析条件にて、点眼剤中の各成分の定量を試みた。また、検量線の作成及びシステム適合性の評価も行った。

#### 試験方法※

市販点眼薬 1mL (ピリドキシリン塩酸塩約 1mg、ネオスチグミンメチル硫酸塩約 0.05mg、クロルフェニラミンマレイン酸塩約 0.3mg、テトラヒドロゾリン塩酸塩約 0.5mg 及びアラントイン約 2mg に対応する量) を正確に量り、内標準溶液 1mL を正確に加え、さらに移動相を加えて正確に 20mL とし、孔径 0.45  $\mu$ m のメンブランフィルターでろ過し、ろ液を試料溶液とした。

ピリドキシリン塩酸塩約 25mg、クロルフェニラミンマレイン酸塩約 7.5mg、テトラヒドロゾリン塩酸塩約 12.5mg 及びアラントイン約 25mg をそれぞれ精密に量り、移動相に溶かし、それぞれ正確に 25mL とし、ピリドキシリン標準原液、クロルフェニラミン標準原液、テトラヒドロゾリン標準原液及びアラントイン標準原液とした。別に、ネオスチグミンメチル硫酸塩約 12.5mg を精密に量り、移動相に溶かし、正確に 25mL とした。この液 2mL を正確にとり、移動相を加えて正確に 20mL とし、ネオスチグミンメチル標準原液とした。ピリドキシリン標準原液、クロルフェニラミン標準原液、テトラヒドロゾリン標準原液及びネオスチグミンメチル標準原液 1mL ずつを正確にとり、アラントイン標準原液 2mL 及び内標準溶液 1mL を正確に加え、移動相を加えて正確に 20mL とし、標準溶液とした。

試料溶液及び標準溶液 10 $\mu$ L につき、下記の条件で HPLC を使用し HILIC により試験を行った。

内標準溶液 : シチジンの移動相溶液 (3→5000)

## 試験条件

カラム：YMC-Triart Diol-HILIC 4.6×250mm, 5 $\mu$ m (株ワイエムシイ)

Merck Zic-HILIC 4.6×250mm, 5 $\mu$ m (メルク株)

移動相：Diol カラム

リン酸 0.05mg を水 200mL に溶かし、アセトニトリル 800mL を加えて混和する。

Zic カラム

リン酸二水素アンモニウム 0.173g 及びリン酸 0.33g を水 150mL に溶かし、アセトニトリル 850mL 加えて混和する。

検出器、カラム温度、流量は「1. カラム平衡化」「2. 分析条件の最適化」の条件と同じ。

※昨年度の試験条件<sup>1)</sup>を参考に分析条件を検討した。なお、標準物質として市販試薬を用いた。

## 実験結果

### 1. カラムの平衡化時間の確認

Diol カラム及び Zic カラムの 2 種類のカラムにおいて、保持時間の安定化に要する時間が比較的少なく、1.0mL/min で 240mL (4 時間) 程度の通液で保持時間変動率が 1%以下となった。また、昨年度用いていた YMC-Pack Polyamine II については、保持時間の安定化に 360mL (6 時間) 以上の時間を要し、今回の移動相条件においてもカラムの平衡化にかなりの溶媒量が必要であった。COSMOSIL HILIC については、1080mL (18 時間) の通液後においても保持時間が安定しなかった。

(Fig.1)

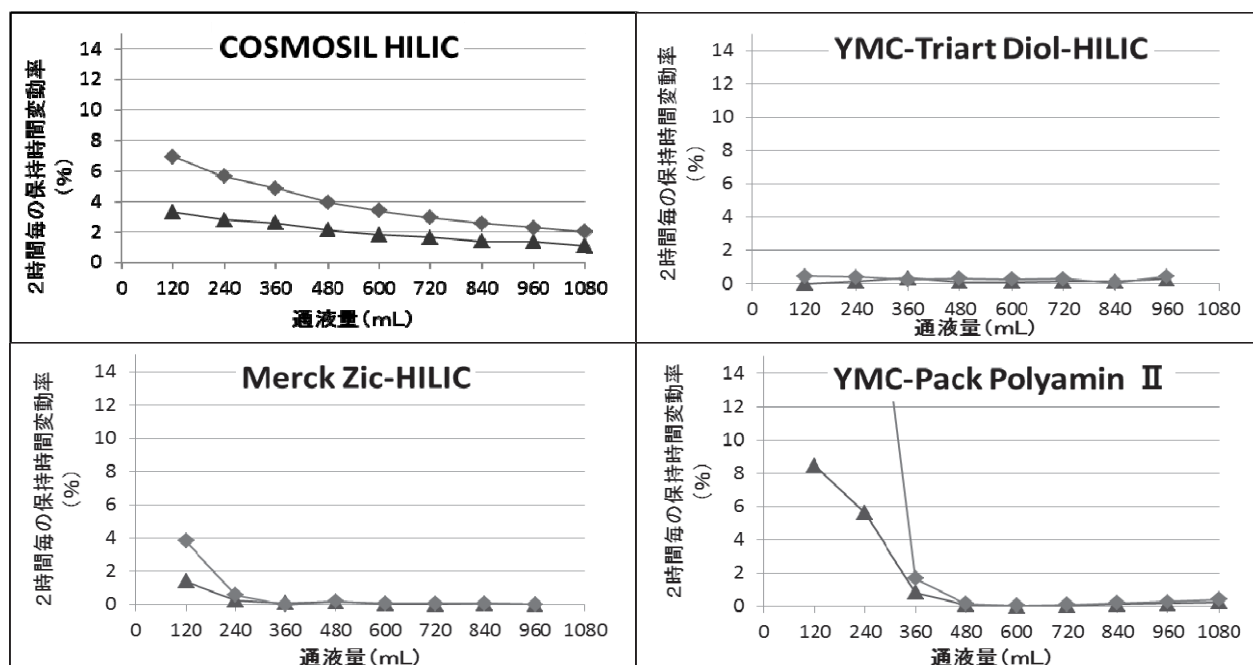


Fig.1 カラムの種類による保持時間変動率の比較(▲：アラントイン ◆：ピリドキシン)

## 2. 分析条件の最適化

### 1) アセトニトリル濃度変化 (80%~84%)

アセトニトリル濃度が84%を超えると移動相が白濁し沈殿が発生したため、80~84%での検討とした。Diol 及び Zic カラムのいずれにおいても、今回の検討の範囲内では完全分離は認めなかったが、アセトニトリル濃度を高くすることによって分離が向上する傾向があった (Fig.2)。

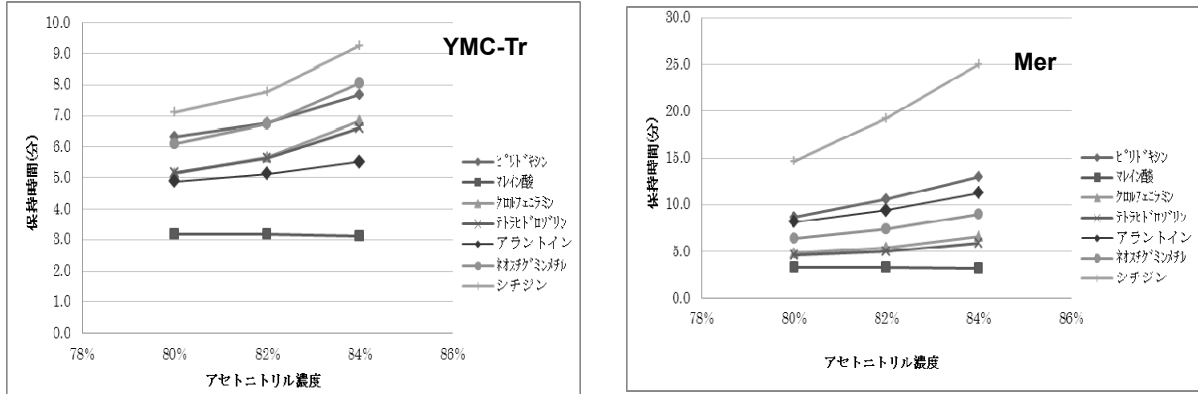


Fig.2 アセトニトリル濃度による保持時間の変化

### 2) 塩濃度変化(0~50mM)

塩の有無では保持の挙動が大きく異なったが、塩濃度によるピーク保持時間への影響はほとんどみられなかった。Diol カラムでは塩を添加せずに pH を 2.8 とした液を用いた場合、各成分が分離したが、ピリドキシン、シチジンのピークにてテーリングを認めた。Zic カラムでは今回の検討の範囲内では完全分離はなされなかった (Fig.3)。

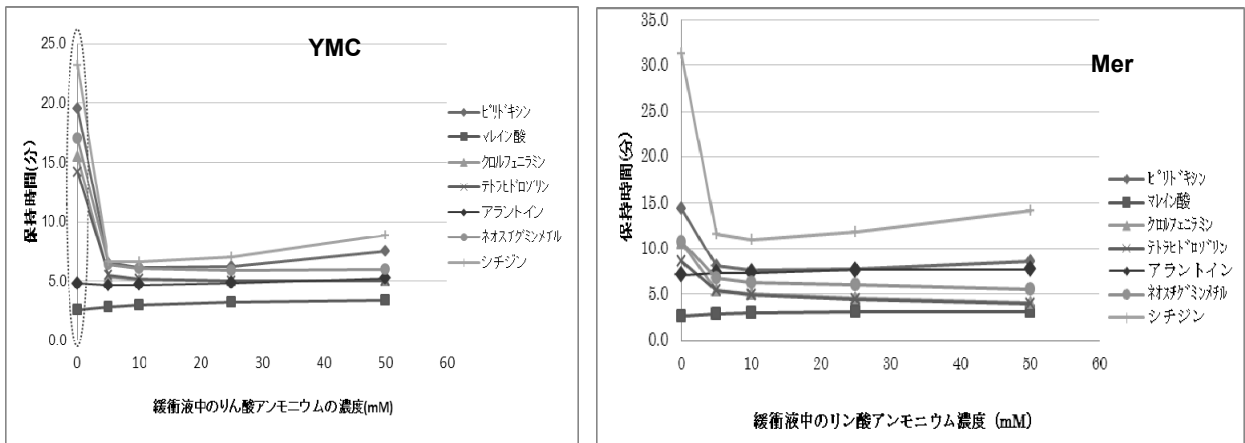


Fig.3 リン酸アンモニウム濃度による保持時間の変化

### 3) pH 変化 (pH2.2~4.6)

pH を変動させることによりピリドキシン及びシチジン (内標準物質) のみ、保持が大きく変化した。Diol カラムでは今回の検討の範囲内では完全分離はなされなかった。Zic カラムでは pH2.2 にて完全分離が認められた (Fig.4)。



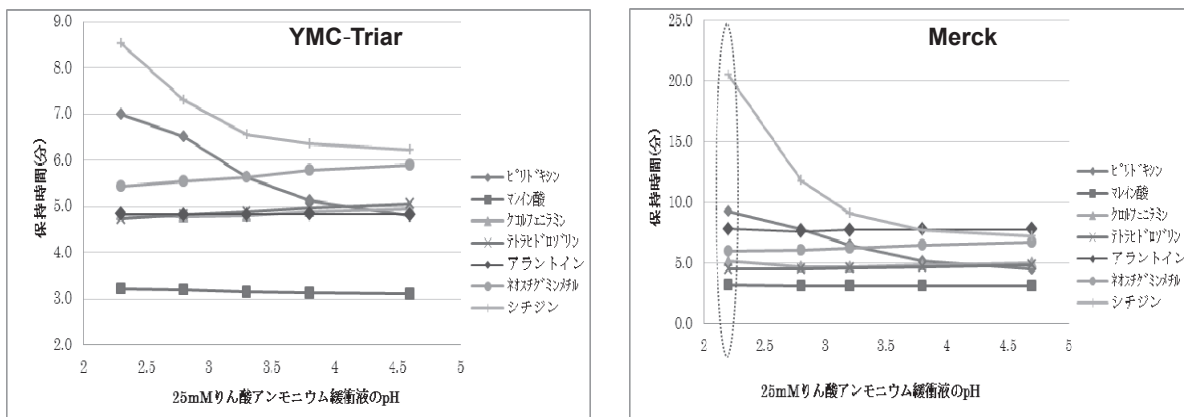


Fig.4 リン酸アンモニウム緩衝液の pH による保持時間の変化

以上の結果より、Diol カラムにおいては塩なしで pH2.8 とすると分離の可能性があり、Zic カラムにおいては pH2.2 で塩濃度を 25mM より減らし移動相中のアセトニトリル濃度を上げると分離の可能性があることがわかった。それぞれ以下の移動相条件を最適条件とした。

Diol カラム：リン酸 0.05g を水 200mL に溶かし、アセトニトリル 800mL を加えて混和する。

Zic カラム：リン酸二水素アンモニウム 0.173g 及びリン酸 0.33g を水 150mL に溶かし、アセトニトリル 850mL 加えて混和する。

### 3. 点眼剤の定量

Diol カラムに関しては標準溶液における各成分の分離は可能であったが、試料溶液を測定した際に試料中に含まれる塩と思われる影響によりピーク形状の乱れが確認されたことから、定量値の測定を断念した (Fig.5)。

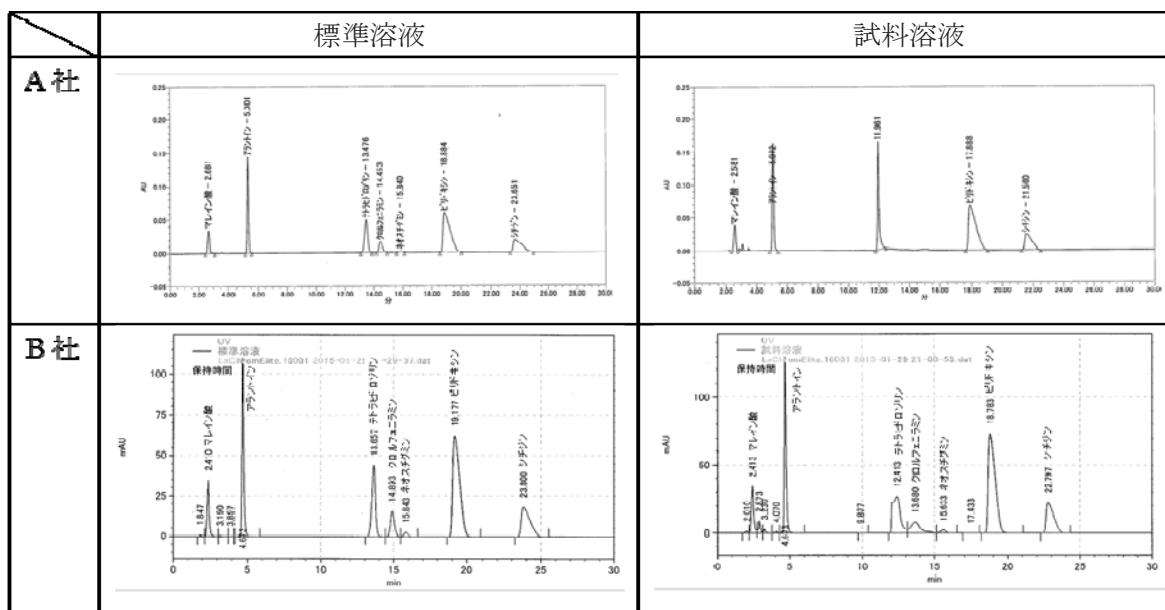


Fig.5 Diol カラムにおける標準溶液と試料溶液のクロマトグラム

Zic カラムにおいては、試料溶液のピーク形状についても問題は認めなかった (Fig.6)。

以上の結果を踏まえ、Zic カラムを用いて、検量線、システムの再現性、システムの性能及び 3 社による定量値再現性の確認を行った。検量線についてはピーク面積が最も小さいネオスチグミンにおいて相関係数が 0.994 ではあったが、全体としては 0.999 前後であり、直線性における濃度相関性はほぼ問題は無い結果であった (Table1)。システム再現性では、一部ばらつきが認められる結果となったが、測定機器の違いやネオスチグミンのピークが比較的小さいためにバラツキが生じやすかった事が原因であると考えられる (Table2)。システムの性能については各々のピークが完全に分離しており、良好な結果であった (Table3)。更に 3 社による分析においても、各成分の定量値は相対標準偏差が 1.5%以内とほぼ同様の値であったため、定量値の再現性についても問題がないことが確認できた (Table4)。

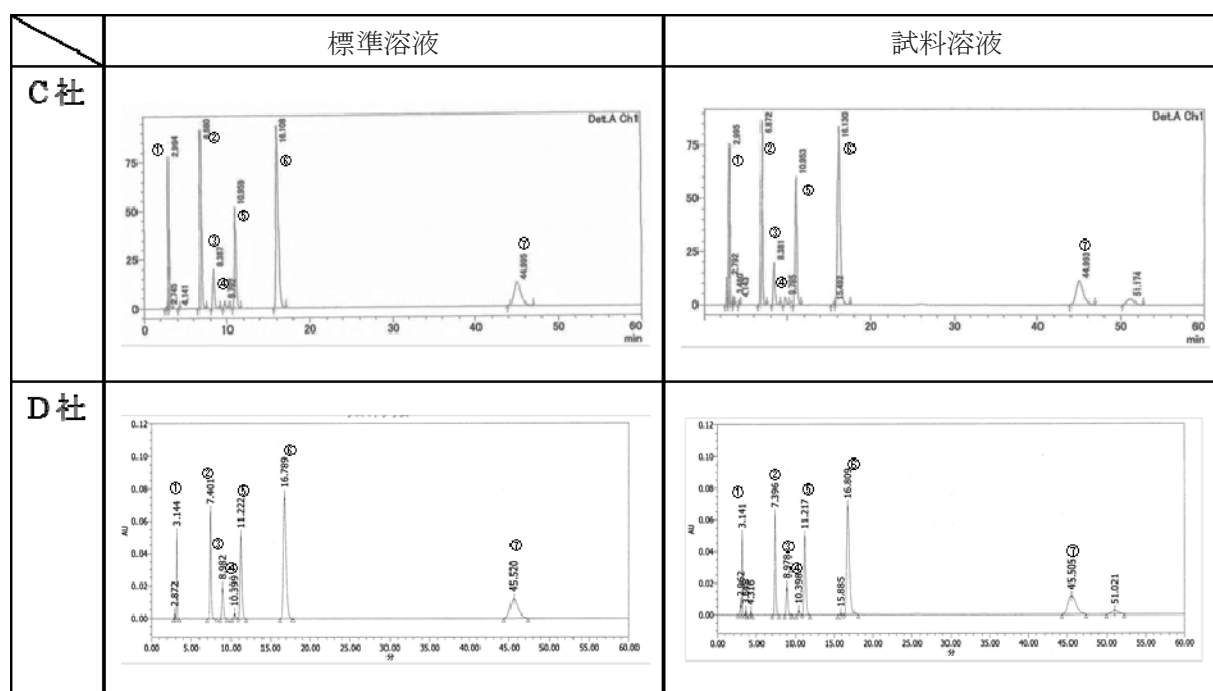


Fig.6 Zic カラムにおける標準溶液と試料溶液のクロマトグラム

- ①マレイン酸 ②テトラヒドロゾリン ③クロルフェニラミン ④ネオスチグミン ⑤アラントイン  
⑥ピリドキシシン ⑦内標準物質 (シチジン)

Table1 Zic カラムにおける各成分の回帰式と相関係数

|      | テトラヒドロゾリン        | クロルフェニラミン       | ネオスチグミン          | アラントイン           | ピリドキシシン          |
|------|------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| 回帰式  | $Y=0.995X+0.010$ | $Y=0.381-0.009$ | $Y=0.060X-0.010$ | $Y=1.210X-0.016$ | $Y=2.652X-0.123$ |
| 相関係数 | R=0.999          | R=1.000         | R=0.994          | R=1.000          | R=0.998          |

Table2 Zic カラムにおけるシステム再現性確認

|    | システム再現性における相対標準偏差(%) (n=6) |           |         |        |        |
|----|----------------------------|-----------|---------|--------|--------|
|    | テトラヒドロゾリン                  | クロルフェニラミン | ネオスチグミン | アラントイン | ピリドキシン |
| A社 | 0.09                       | 0.03      | 0.36    | 0.07   | 0.32   |
| C社 | 0.54                       | 0.79      | 1.05    | 0.60   | 0.79   |
| D社 | 0.42                       | 0.60      | 0.72    | 0.42   | 0.46   |

Table3 Zic カラムにおけるシステムの性能確認

|    | 分離度 (前に溶出するピークとの分離度) |           |         |        |        |      |
|----|----------------------|-----------|---------|--------|--------|------|
|    | テトラヒドロゾリン            | クロルフェニラミン | ネオスチグミン | アラントイン | ピリドキシン | シチジン |
| A社 | 25.3                 | 6.7       | 5.5     | 3.7    | 11.6   | 29.3 |
| C社 | 6.1                  | 4.3       | 3.6     | 3.3    | 11.7   | 28.8 |
| D社 | 18.4                 | 4.8       | 3.6     | 2.0    | 10.4   | 25.0 |

Table4 Zic カラムにおける定量値の再現性確認

|        | 成分含有率 (%) |           |         |        |        |
|--------|-----------|-----------|---------|--------|--------|
|        | テトラヒドロゾリン | クロルフェニラミン | ネオスチグミン | アラントイン | ピリドキシン |
| A社     | 99.9      | 99.5      | 98.3    | 99.3   | 97.4   |
| C社     | 98.1      | 99.1      | 96.9    | 99.0   | 95.9   |
| D社     | 97.2      | 97.3      | 98.1    | 98.1   | 95.6   |
| 平均値    | 98.4      | 98.7      | 97.8    | 98.8   | 96.3   |
| 標準偏差   | 1.329     | 1.147     | 0.765   | 0.650  | 0.933  |
| 相対標準偏差 | 1.35      | 1.16      | 0.78    | 0.66   | 0.97   |

## 考 察

今回の検討の結果、アラントインを含む点眼剤中の多成分同時分析が可能となり、分析時間の短縮化に寄与できる結果が得られた。

HILIC カラムは種類により平衡化に必要な時間、ピークの保持時間や形状が大きく違ってくることから、測定対象に適した HILIC カラムを選択することが重要であると考えられる。

なお、今回の検討で得られた各カラムでの平衡化にかかる時間の傾向及び Diol カラム及び Zic カラムにおける移動相中のアセトニトリル濃度、塩濃度及び pH による各成分のピーク保持時間変動等の基礎的データは、今後、他の製剤において HILIC カラムを用いて分析方法を検討する上でも参考となる貴重なデータであると言える。

## 文 献

- 1) 山本豊巖ら、家庭薬研究 No34、65-72(2015)

## 医薬品試験の効率化に関する検討(第2報)

### - 超高速液体クロマトグラフ(UHPLC)の汎用性及び優位性について -

Studies on improving the efficiency in pharmaceutical test. II.

### -General versatility and superiority of Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC)-

|                  |   |                 |                                   |
|------------------|---|-----------------|-----------------------------------|
| 飯村和也             | 株式会社陽進堂   | 池崎富子            | 株式会社陽進堂                           |
| Kazuya IIMURA    | Yoshindo Inc.   | Tomiko IKEZAKI  | Yoshindo Inc.                     |
| 松任宏子             | 中央薬品株式会社  | 森元久美子           | テイカ製薬株式会社                         |
| Hiroko MATTO     | Chuo Pharmaceutical Co.,Ltd                                 | Kumiko MORIMOTO | Teika Pharmaceutical Co., Ltd.    |
| 田中雄大             | 東亜薬品株式会社  | 馬渡暢子            | 株式会社パナケイア製薬                       |
| Yudai TANAKA     | TOA Pharmaceuticals Co.,Ltd                                 | Yoko MAWATARI   | Panakeia Pharmaceutical Co., Ltd. |
| 山本豊巖             | ファーマパック株式会社   | 新海邦孟            | 富士製薬工業株式会社                        |
| Hougen YAMAMOTO  | Pharmapack Co.,Ltd  | Kunio SHINKAI   | Fuji Pharma Co., Ltd.             |
| 小林夏絵             | 株式会社富士薬品  | 前田渚             | 株式会社富士薬品                          |
| Natsue KOBAYASHI | Fujiyakuin Co.,Ltd  | Nagisa MAEDA    | Fujiyakuin Co.,Ltd.               |
| 横田洋一             | 富山県薬事研究所  |                 |                                   |
| Yoichi YOKOTA    | Toyama Prefectural Institute for<br>Pharmaceutical Research |                 |                                   |

## 緒言

近年、高速液体クロマトグラフ(HPLC)分析における分析時間の短縮や移動相溶媒の削減の一例として超高速液体クロマトグラフ(UHPLC)を用いた超高速分析技術が注目されている。UHPLCとは、超微粒子充填カラムの利点を最大限に引き出すことができるように優れた低注入量からの注入再現性や高耐圧性等をもった液体クロマトグラフである。粒径 2  $\mu\text{m}$  以下の超微粒子充填カラムを使用することで、高い分離効率と分析時間の短縮を可能にしている。

UHPLCを使用することが効率化につながると言われている一方で、HPLCに比べると、まだ普及台数も少ない。そこで、今回、UHPLCを所有する複数の会社で、昨年度確立した同一試験条件<sup>1)</sup>で試験を行うことで室間再現性を検証することとした。さらに、HPLCとUHPLC間で、カラムなど同一条件で試験を行い、室間再現性を比較することとした。これらの実験を通じてUHPLCの汎用性及び優位性が認められれば、今後UHPLCのさらなる普及につながると考えた。

## 1. UHPLCの室間再現性の検証

### 実験方法

「アセトアミノフェン」を 105°Cで 2 時間乾燥し、その約 56 mg、「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 56 mg 及び「無水カフェイン」を 80°Cで 4 時間乾燥し、その約 17 mg 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)20 mL に溶かし

た後、内標準溶液 5 mL を正確に加えた。この液 2 mL 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 20 mL とし、標準溶液とした。

また、標準溶液と同様に、標準溶液に対して 60%、80%、100%、120%、140%となるように適宜調製を行い、検量線用標準溶液を調製した。

標準溶液及び検量線用標準溶液について、Table1 の 4 社(A、B、C、D)の UHPLC を用いて、下記の条件で試験を行った。分析時間の短縮についても検証するため 2 流量で実施した。

内標準溶液 安息香酸 (和光純薬工業製試薬) 1.0 g をアセトニトリル 50 mL に溶かし、薄めたリン酸(1→1000)を加えて 100 mL とした。

#### 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 2.2  $\mu$ m 2.0 mmID×75 mm (ジーエルサイエンス社製)  
(デッドボリューム削減のため、カラム入口にジーエルサイエンス社製高耐圧性フィッティング使用)

カラム温度：40°C

移動相：薄めたリン酸 (1→1000) / アセトニトリル混液 (17 : 3)

流量：0.3 mL/min 及び 0.6 mL/min

注入量：1  $\mu$ L

## 実験結果及び考察

理論段数、分離度、シンメトリー係数、相関係数及び注入量再現性(面積及び内標準物質に対する面積比)の各分析パラメータを各会社間で求めた結果、早く溶出するアセトアミノフェンとカフェインの理論段数、分離度及びシンメトリー係数が若干ばらついた他は、ばらつきもなく良好な結果が得られた。(Fig.1~2 及び Table2)。

流量を 0.3 mL/min から 0.6 mL/min に上げることでアセトアミノフェンとカフェインの理論段数及び分離度は多少減少したが、A 社、D 社のシンメトリー係数は、少し改善されることが確認された。

以上より流量を 2 倍にしても分析パラメータに問題はなく、分析時間を約半分の数分に短縮できることが確認された。

## 2. UHPLC 及び HPLC の室間再現性の比較

### 実験方法

UHPLC の汎用性を検証するため、HPLC でも使用される粒径 3  $\mu$ m、内径 3.0mm のカラムを用いて、UHPLC 所有の 4 社(A 社、B 社、C 社、D 社)と HPLC 所有の 4 社(E 社、F 社、G 社、H 社)で比較を行った (Table1)。カラム、カラムフィッティング及び試験条件を統一し、流量は 0.6 mL/min で行った。

#### 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 3  $\mu$ m 3.0 mmID×75 mm (ジーエルサイエンス社製)  
(デッドボリューム削減のため、カラム入口にジーエルサイエンス社製高耐圧性フィッティング使用)

カラム温度：40°C

移動相：薄めたリン酸 (1→1000) / アセトニトリル混液 (17 : 3)

流量：0.6 mL/min

注入量：1  $\mu$ L

## 実験結果及び考察

本試験方法では、UHPLC 及び HPLC においても各成分における良好な分離度、シンメトリー係数、相関係数、注入量再現性(内標準物質に対する面積比)が得られ、各社においてばらつきはなかった (Fig.3~4 及び Table3)。しかし、アセトアミノフェン、カフェインの理論段数と分離度において、HPLC に対して UHPLC が約 2 倍以上であった。更に、UHPLC 所有の 4 社及び HPLC 所有の E 社、G 社において良好な注入量再現性(面積)が得られた。しかし、HPLC 所有の F 社、H 社は相対標準偏差が 1.0%を大きく上回った。これは、注入量を UHPLC に合わせ 1  $\mu$ L としたためと思われる。

## まとめ

本試験条件において UHPLC は異なる環境下(企業間、UHPLC メーカー間)でもほぼ同等な結果が得られるということが確認できた。更に流量を上げ、分析時間を短縮しても良好な結果が得られた。また、UHPLC で HPLC 用カラムを使用し分析を行っても、HPLC 用カラムは問題なく使用することができ、更に溶出の早い成分(アセトアミノフェン、カフェイン)に関しては、理論段数、分離度、注入量再現性(面積)の点で優位性が確認できた。UHPLC は面積と面積比の相関係数及び注入量再現性のいずれも良好な結果が示されたことから、絶対検量線法及び内標準法のどちらの分析方法を選択しても問題ないと考えられる。

以上のことから、UHPLC は汎用性・優位性のある機器として医薬品試験の効率化に寄与できると考えられる。

Table1 使用機器

| 機器      | UHPLC   |          | HPLC       |          |            |                |
|---------|---------|----------|------------|----------|------------|----------------|
| 会社      | A,B,C 社 | D 社      | E 社        | F 社      | G 社        | H 社            |
| ポンプ     | H-Class | LC-30AD  | LC-20ADXR  | LC-20AT  | LC-20AD    | alliance       |
| 検出器     |         | SPD-M20A | SPD-20A    | SPD-20A  | SPD-20A    | Dual $\lambda$ |
| オートサンブラ |         | SIL-30AC | SIL-20ACXR | SIL-20AC | SIL-20ACHT | alliance       |

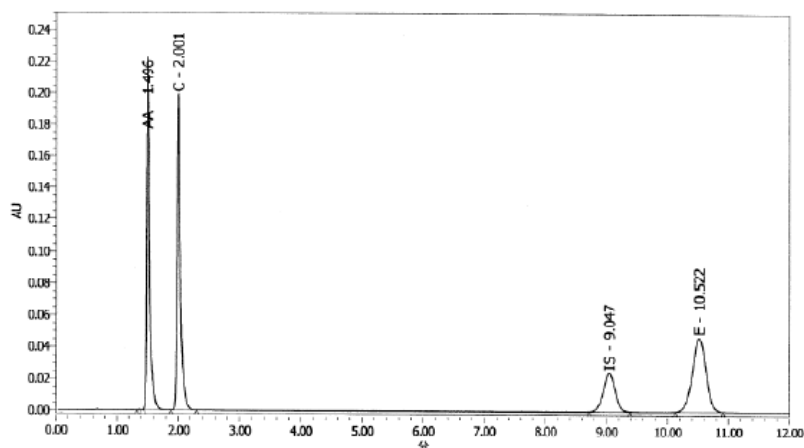


Fig.1 標準溶液のクロマトグラム(A 社、0.3 mL/min)

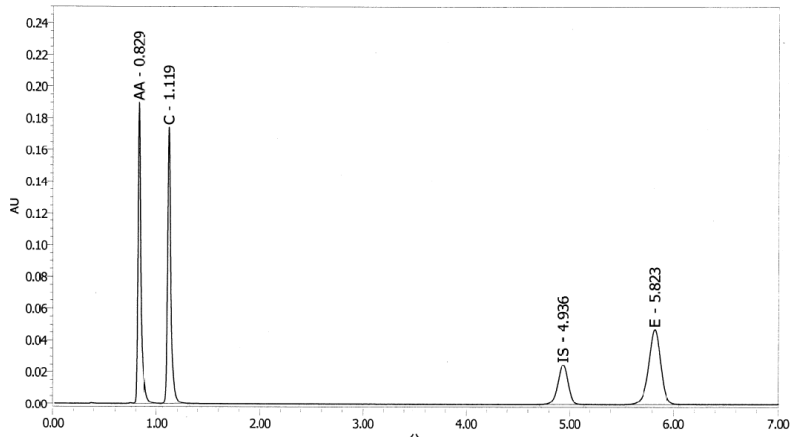


Fig.2 標準溶液のクロマトグラム(A社、0.6 mL/min)

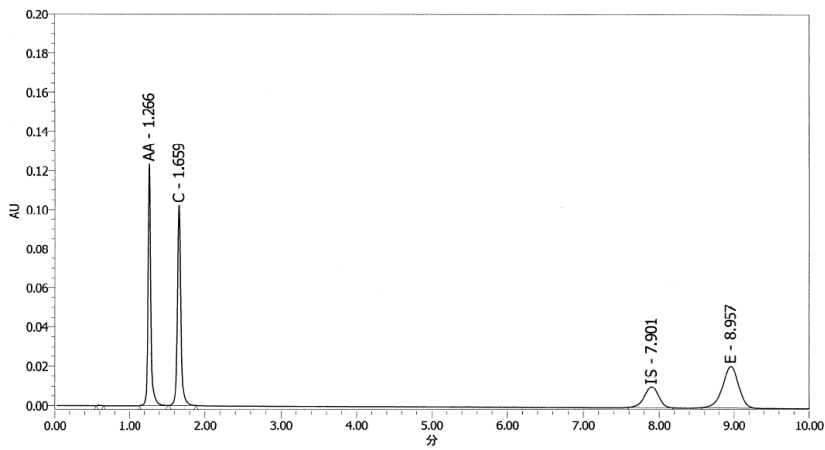


Fig.3 標準溶液のクロマトグラム(A社、UHPLC)

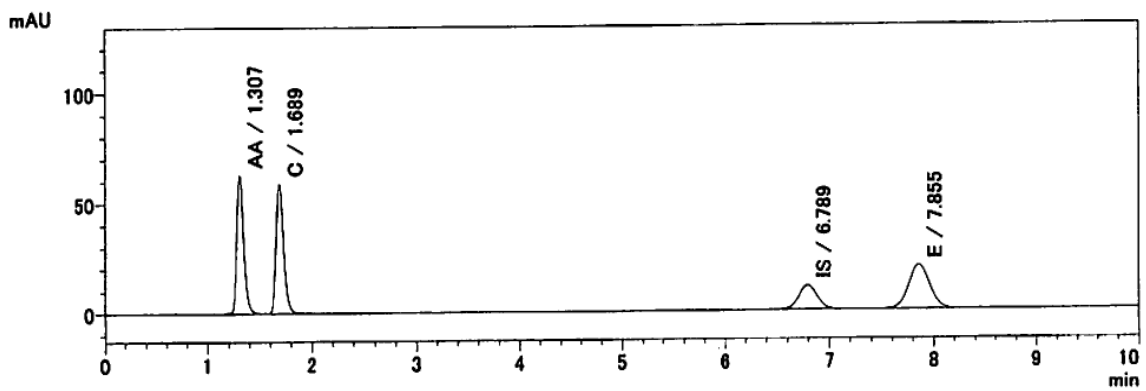


Fig.4 標準溶液のクロマトグラム(E社、HPLC)

AA : アセトアミノフェン、C : カフェイン、IS : 内標準物質、E : エテンザミド

Table2 UHPLCによる分析パラメータ

| パターン<br>(上:流量,下:会社) |                            | 0.3 mL/min |       |       |       | 0.6 mL/min |       |       |       |
|---------------------|----------------------------|------------|-------|-------|-------|------------|-------|-------|-------|
|                     |                            | A社         | B社    | C社    | D社    | A社         | B社    | C社    | D社    |
| カラム圧(psi)           |                            | 3700       | 4445  | 4566  | 4133  | 6800       | 8535  | 8603  | 8004  |
| アセト<br>アミノ<br>フェン   | 保持時間(min)                  | 1.496      | 1.294 | 1.248 | 1.226 | 0.829      | 0.655 | 0.632 | 0.637 |
|                     | 理論段数                       | 7688       | 10699 | 6976  | 3468  | 5673       | 7203  | 5832  | 1642  |
|                     | 分離度                        | -          | -     | -     | -     | -          | -     | -     | -     |
|                     | シンメトリー係数                   | 1.97       | 0.98  | 1.05  | 1.70  | 1.78       | 1.01  | 1.03  | 1.61  |
|                     | 相関係数(面積)                   | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.998      | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                     | 注入量再現性(面積)<br>(6回の相対標準偏差)  | 0.317      | 0.162 | 0.120 | 0.378 | 0.461      | 0.098 | 0.205 | 0.286 |
|                     | 相関係数(面積比)                  | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                     | 注入量再現性(面積比)<br>(6回の相対標準偏差) | 0.348      | 0.232 | 0.209 | 0.163 | 0.459      | 0.146 | 0.236 | 0.117 |
| カフ<br>フェン           | 保持時間(min)                  | 2.001      | 1.885 | 1.682 | 1.645 | 1.119      | 0.964 | 0.865 | 0.862 |
|                     | 理論段数                       | 9673       | 13089 | 9259  | 5141  | 7779       | 9674  | 7863  | 2851  |
|                     | 分離度                        | 6.77       | 10.23 | 6.72  | 4.80  | 6.13       | 8.84  | 6.47  | 3.54  |
|                     | シンメトリー係数                   | 1.66       | 0.92  | 0.98  | 1.57  | 1.52       | 0.95  | 0.96  | 1.52  |
|                     | 相関係数(面積)                   | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                     | 注入量再現性(面積)<br>(6回の相対標準偏差)  | 0.298      | 0.071 | 0.109 | 0.360 | 0.516      | 0.093 | 0.205 | 0.249 |
|                     | 相関係数(面積比)                  | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 1.000 |
|                     | 注入量再現性(面積比)<br>(6回の相対標準偏差) | 0.344      | 0.159 | 0.193 | 0.149 | 0.488      | 0.144 | 0.254 | 0.069 |
| 内標<br>準物質           | 保持時間(min)                  | 9.047      | 7.962 | 7.004 | 6.810 | 4.936      | 3.792 | 3.334 | 3.389 |
|                     | 理論段数                       | 10512      | 11436 | 11340 | 10557 | 12560      | 12754 | 12133 | 8217  |
|                     | 分離度                        | 32.54      | 33.50 | 32.04 | 29.02 | 33.74      | 32.69 | 30.93 | 23.67 |
|                     | シンメトリー係数                   | 0.99       | 0.94  | 0.93  | 1.04  | 0.96       | 0.92  | 0.91  | 1.07  |
|                     | 注入量再現性(面積)<br>(6回の相対標準偏差)  | 0.325      | 0.168 | 0.264 | 0.399 | 0.337      | 0.092 | 0.305 | 0.265 |
|                     | 相関係数(面積比)                  | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
| エテ<br>ンザ<br>ミド      | 保持時間(min)                  | 10.522     | 9.905 | 8.269 | 8.012 | 5.823      | 4.817 | 4.045 | 4.064 |
|                     | 理論段数                       | 10683      | 11197 | 11315 | 10855 | 12571      | 12578 | 12132 | 9150  |
|                     | 分離度                        | 3.89       | 5.80  | 4.42  | 4.21  | 4.63       | 6.72  | 5.32  | 4.24  |
|                     | シンメトリー係数                   | 0.97       | 0.94  | 0.92  | 1.01  | 0.93       | 0.91  | 0.90  | 1.04  |
|                     | 相関係数(面積)                   | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                     | 注入量再現性(面積)<br>(6回の相対標準偏差)  | 0.490      | 0.102 | 0.144 | 0.371 | 0.296      | 0.207 | 0.343 | 0.275 |
|                     | 相関係数(面積比)                  | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999      | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                     | 注入量再現性(面積比)<br>(6回の相対標準偏差) | 0.337      | 0.114 | 0.201 | 0.148 | 0.316      | 0.211 | 0.116 | 0.123 |



Table3 UHPLC 及び HPLC 間の分析パラメータ

| パターン<br>(上:使用機器,下:会社) |                            | UHPLC |       |       |       | HPLC  |       |       |       |
|-----------------------|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                       |                            | A社    | B社    | C社    | D社    | E社    | F社    | G社    | H社    |
| カラム圧(psi)             |                            | 1800  | 2012  | 1867  | 1595  | 1305  | 1195  | 1218  | 1400  |
| アセトアミノフェン             | 保持時間(min)                  | 1.266 | 1.282 | 1.197 | 1.173 | 1.307 | 1.363 | 1.385 | 1.288 |
|                       | 理論段数                       | 7315  | 6640  | 4972  | 3764  | 1896  | 1592  | 768   | 1681  |
|                       | 分離度                        | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
|                       | シンメトリー係数                   | 1.29  | 1.14  | 1.30  | 1.35  | 1.39  | 1.32  | 1.50  | 1.26  |
|                       | 相関係数(面積)                   | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                       | 注入量再現性(面積)<br>(6回の相対標準偏差)  | 0.439 | 0.404 | 0.452 | 0.224 | 0.579 | 1.224 | 0.447 | 2.916 |
|                       | 相関係数(面積比)                  | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                       | 注入量再現性(面積比)<br>(6回の相対標準偏差) | 0.722 | 0.423 | 0.370 | 0.275 | 0.100 | 0.370 | 0.175 | 1.028 |
| カフェイン                 | 保持時間(min)                  | 1.659 | 1.838 | 1.591 | 1.550 | 1.689 | 1.772 | 1.769 | 1.622 |
|                       | 理論段数                       | 7913  | 7189  | 5538  | 4738  | 2744  | 2418  | 1237  | 2335  |
|                       | 分離度                        | 5.88  | 7.45  | 5.16  | 4.54  | 3.07  | 2.92  | 1.92  | 2.58  |
|                       | シンメトリー係数                   | 1.18  | 1.08  | 1.22  | 1.26  | 1.33  | 1.26  | 1.46  | 1.26  |
|                       | 相関係数(面積)                   | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                       | 注入量再現性(面積)<br>(6回の相対標準偏差)  | 0.377 | 0.540 | 0.205 | 0.179 | 0.606 | 1.230 | 0.533 | 2.933 |
|                       | 相関係数(面積比)                  | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                       | 注入量再現性(面積比)<br>(6回の相対標準偏差) | 0.693 | 0.546 | 0.254 | 0.371 | 0.217 | 0.317 | 0.100 | 0.876 |
| 内標準物質                 | 保持時間(min)                  | 7.901 | 7.834 | 6.672 | 6.499 | 6.789 | 7.171 | 6.914 | 6.229 |
|                       | 理論段数                       | 8721  | 7893  | 6977  | 8543  | 7075  | 7318  | 6192  | 5975  |
|                       | 分離度                        | 30.31 | 27.37 | 25.15 | 25.28 | 22.64 | 22.58 | 18.67 | 20.09 |
|                       | シンメトリー係数                   | 0.95  | 1.01  | 1.05  | 1.04  | 1.06  | 1.02  | 1.04  | 1.09  |
|                       | 注入量再現性(面積)<br>(6回の相対標準偏差)  | 0.573 | 0.266 | 0.305 | 0.224 | 0.502 | 1.273 | 0.505 | 3.483 |
|                       | 相関係数(面積比)                  | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
| エテンザミド                | 保持時間(min)                  | 8.957 | 9.617 | 7.788 | 7.540 | 7.855 | 8.383 | 8.026 | 7.123 |
|                       | 理論段数                       | 8582  | 7776  | 6977  | 7422  | 7145  | 7484  | 6459  | 6083  |
|                       | 分離度                        | 2.92  | 4.53  | 3.22  | 3.20  | 3.08  | 3.36  | 2.97  | 2.58  |
|                       | シンメトリー係数                   | 0.95  | 1.01  | 1.05  | 1.04  | 1.05  | 1.01  | 1.02  | 1.09  |
|                       | 相関係数(面積)                   | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                       | 注入量再現性(面積)<br>(6回の相対標準偏差)  | 0.379 | 0.265 | 0.116 | 0.108 | 0.385 | 1.302 | 0.538 | 3.374 |
|                       | 相関係数(面積比)                  | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 0.999 |
|                       | 注入量再現性(面積比)<br>(6回の相対標準偏差) | 0.362 | 0.230 | 0.205 | 0.229 | 0.160 | 0.398 | 0.051 | 0.264 |

## 参考文献

- 1) 山本豊巖ら、家庭薬研究 No34、65-72(2015)

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—

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

— Study on quantification of total Curcuminoids of Curcumaе rhizoma—

|                  |   |                 |                                 |
|------------------|---|-----------------|---------------------------------|
| 大根谷 章浩           | 小太郎漢方製薬株式会社   | 堀井 周文           | クラシエ製薬株式会社                      |
| Akihiro DAIKONYA | Kotaro Pharmaceutical Co., Ltd.                             | Chikafumi HORII | Kracie Pharma, Ltd.             |
| 奥野 康之            | 株式会社廣貫堂   | 田中 啓介           | クラシエ製薬株式会社                      |
| Yasuyuki OKUNO   | Kokando Co., Ltd.   | Keisuke TANAKA  | Kracie Pharma, Ltd.             |
| 野本 有沙            | 株式会社廣貫堂   | 菊池 菜々香          | 第一薬品工業株式会社                      |
| Arisa NOMOTO     | Kokando Co., Ltd.   | Nanaka KIKUCHI  | Daiichi Yakuhin Kogyo Co., Ltd. |
| 横田 洋一            | 富山県薬事研究所  |                 |                                 |
| Yoichi YOKOTA    | Toyama Prefectural Institute<br>for Pharmaceutical Research |                 |                                 |

## 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るため、1 検体当たりの分析時間の短縮化が求められている。これまで、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に使用する ODS 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  $\mu\text{m}$ 、内径 4.6 mm、長さ 150 mm のカラム (以下、150 mm カラム) から粒径 3  $\mu\text{m}$ 、内径 4.6 mm、長さ 75 mm のカラム (以下、75 mm カラム) に変更することで、分析時間の短縮化を図ってきた<sup>1-7)</sup>。ウコン中の総クルクミノイドは、JP16 に記載されている分析法においてクルクミンの保持時間は約 11 分とされている。しかしながら、保持時間で約 70 分付近にも夾雑ピークが検出されるため、1 検体あたりの分析時間は非常に長く、分析時間の短縮化が望まれる。本研究ではウコン中の総クルクミノイドに着目し、分析時間の短縮を目的に検討を行ったので報告する。

## 実験方法

### 1. 試薬・材料

局方生薬試験用 (定量用) クルクミン Lot KPR3636 (和光純薬工業)

局方一般試験用 デメトキシクルクミン Lot AWQ5385 (和光純薬工業)

局方一般試験用 ビスデメトキシクルクミン Lot AWJ4558 (和光純薬工業)

日局ウコン (栃本天海堂、高砂薬業、松原粉末薬品より入手した。それぞれウコン①、②、③と記載)

## 2. 溶液調製

- システム性能溶液： クルクミン約 10 mg を精密に量り、メタノールに溶かして正確に 50 mL とし クルクミン原液とした。デメトキシクルクミン及びビスデメトキシクルクミン約 2 mg ずつを精密に量り、クルクミン原液 10 mL に溶かしてシステム性能溶液とした。
- 標準溶液： クルクミン原液 5 mL を正確に量り、メタノールを加えて正確に 25 mL とし、標準溶液とした。
- 試料溶液： JP16 ウコンの定量法の項に従い調製した。

## 3. HPLC 分析条件

- 検出器： 紫外吸光光度計（測定波長：245 nm 及び 420 nm）
- 移動相： 水／アセトニトリル／酢酸（100）混液（56：43：1）
- カラム温度： 40 °C
- 流量： 毎分 1.0 mL
- 注入量： 10 µL

## 実験 I：カラムの選定

分析時間短縮化の検討に用いる 75 mm カラムの選定を目的として、システム性能溶液、標準溶液および試料溶液に対し、150 mm カラムを用い、1 社で分析を行った。使用したカラムを Table 1 に示す。保持時間、シンメトリー係数、理論段数および分離度を評価項目として検討を行った。分離度はビスデメトキシクルクミンとデメトキシクルクミン及びデメトキシクルクミンとクルクミンのピークから算出した。また、ウコン中の総クルクミノイド含量についても評価した。

Table 1 実験 I に使用した 150 mm カラム

| カラム名                          | メーカー名      |
|-------------------------------|------------|
| L-column2 ODS                 | 化学物質評価研究機構 |
| Inertsil ODS - 3              | ジーエルサイエンス  |
| Wakosil - II 5C18HG           | 和光純薬工業     |
| UnisonUS - C18                | Imtakt     |
| YMC - Pack ODS - A A - 302    | YMC        |
| YMC - Pack Pro C18            | YMC        |
| Develosil ODS - 5             | 野村化学       |
| Mightysil RP - 18GP           | 関東化学       |
| TSKgel ODS - 80T <sub>M</sub> | 東ソー        |
| TSKgel ODS - 80T <sub>S</sub> | 東ソー        |

## 実験Ⅱ：分析時間の短縮化の検討

YMC-Pack Pro C18 の 150 mm カラムを対照カラムとし、実験Ⅰにおいて保持時間、シンメトリー係数、理論段数、分離度を評価し、3種の75 mm カラムを選定した。分離度が良好で入手可能な3種の75 mm カラムを用いて3社で分析を行った。評価項目は保持時間、シンメトリー係数、理論段数、分離度およびシステム再現性とした。

### 実験結果

#### 実験Ⅰ：カラムの選定

Table 2 に 150 mm カラムにおけるシステム性能溶液の分析結果を示した。いずれのカラムにおいても ビスデメトキシクルクミン (以下、BC と記載) とデメトキシクルクミン (以下、DC と記載) 及び DC とクルクミン (以下、C と記載) の分離度は 2.0 以上と良好であった (Table 2)。実験Ⅰにおいて、各項目を総合的に判断し、また入手可能であった3種の75 mm カラム (Wakosil-II 3C18HG、YMC-Pack ProC18、Develosil ODS-3) を選定した。なお、TSKgel ODS-80T<sub>M</sub> 及び 80T<sub>S</sub> の 2 本は分離度等が良好であったが、同シリーズで長さ 75 mm、粒径 3 µm のカラムの販売がなかったため本試験では選定をしなかった。

Table 2 150 mm カラムにおけるシステム性能溶液の分析結果 (測定波長 245 nm)

| カラム名                        | 保持時間 (min) | シンメトリー係数 | 理論段数  | 分離度 (BC/DC) | 分離度 (DC/C) |
|-----------------------------|------------|----------|-------|-------------|------------|
| L-column2                   | 11.01      | 1.26     | 12814 | 3.80        | 3.75       |
| Inertsil ODS-3              | 17.49      | 1.05     | 9186  | 3.21        | 3.20       |
| Wakosil-II 5C18HG           | 10.72      | 0.99     | 11412 | 3.68        | 3.67       |
| UnizonUS-C18                | 15.21      | 0.86     | 11977 | 3.38        | 3.37       |
| YMC-Pack ODS-A              | 12.69      | 0.97     | 12963 | 3.55        | 3.52       |
| YMC-Pack ProC18             | 14.40      | 0.96     | 12862 | 3.96        | 3.98       |
| Develosil ODS-5             | 13.21      | 1.11     | 10275 | 3.27        | 3.26       |
| Mightysil RP-18GP           | 11.63      | 0.74     | 7468  | 2.62        | 2.73       |
| TSKgel ODS-80T <sub>M</sub> | 15.20      | 1.06     | 13681 | 3.77        | 3.84       |
| TSKgel ODS-80T <sub>S</sub> | 15.16      | 1.03     | 15096 | 4.20        | 4.23       |

保持時間、シンメトリー係数及び理論段数はクルクミンのピークより求めた。

試料溶液においては、いずれのカラムにおいても BC、DC 及び C のピーク周辺に夾雑ピークを認めた。Fig. 1 に Wakosil-II 5C18HG (粒径 5  $\mu\text{m}$ 、内径 4.6 mm、長さ 150 mm) のクロマトグラムの一例を示した。夾雑ピークは隣接し、移動相の溶媒組成変更による分離も困難であることが予想された。そのため、日本薬局方技術情報<sup>8)</sup>のウコンの項を参考に、測定波長 420 nm において分析を試みた結果、測定波長 245 nm で認められた夾雑ピークは消失し、分析可能であると考えられた。

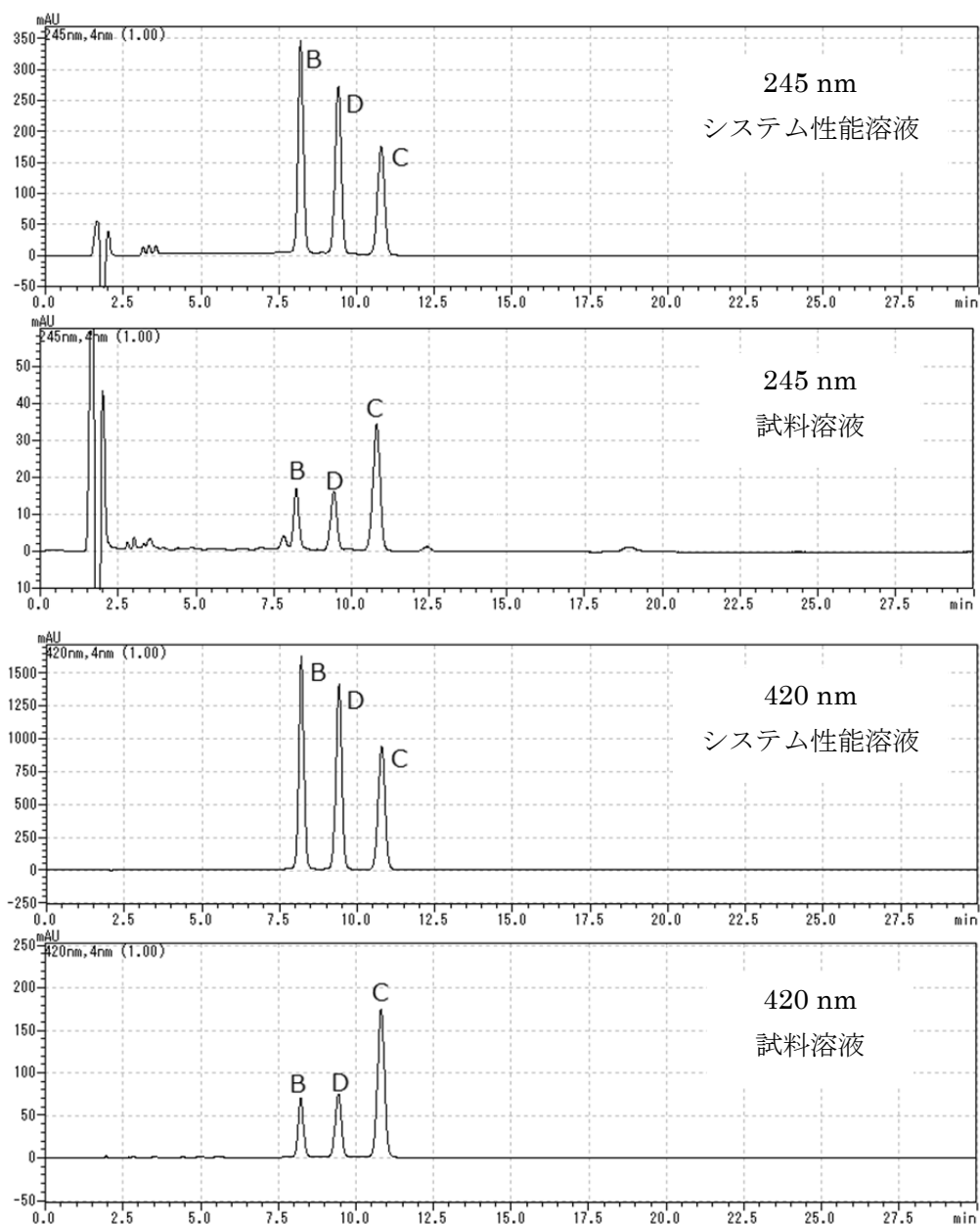


Fig. 1 Wakosil-II 5C18HG (粒径 5  $\mu\text{m}$ 、内径 4.6 mm、長さ 150 mm) のクロマトグラム (上から検出波長 245 nm システム性能溶液、試料溶液、検出波長 420 nm システム性能溶液、試料溶液、B : ビスデメトキシクルクミン、D : デメトキシクルクミン、C : クルクミン)

同一試料溶液について、測定波長を 245 nm 及び 420 nm でそれぞれ測定し、総クルクミノイドの定量値を比較した (Table 3)。測定波長 420 nm では、245 nm と比較して総クルクミノイドの定量値は少し小さくなるという結果を示した。また、相対標準偏差は小さいことから、定量値のバラつきが改善されることがわかった。クロマトグラム及び定量値の結果より、分析時間の短縮化の検討に用いる測定波長を 420 nm と設定することとした。それに伴い、C のみを標準とし、モル吸光係数比を DC 及び BC のピーク面積に乗じて総クルクミンの含量を算出していたが、測定波長を変更したことにより、C、DC 及び BC 各標準物質によりそれぞれ定量値を算出し、合計することで総クルクミノイドの含量を算出することとした。

Table 3 測定波長 245 nm 及び 420 nm におけるウコン中の総クルクミノイドの定量値

| 測定波長   | 試料   | ウコン中の総クルクミノイドの平均値 (%) | 相対標準偏差 (%) |
|--------|------|-----------------------|------------|
| 245 nm | ウコン① | 1.71                  | 4.45       |
|        | ウコン② | 1.56                  | 4.03       |
|        | ウコン③ | 2.68                  | 3.24       |
| 420 nm | ウコン① | 1.51                  | 1.59       |
|        | ウコン② | 1.44                  | 1.59       |
|        | ウコン③ | 2.50                  | 2.43       |

データは 150 mm カラム (10 種) の平均値

#### 実験 II : 分析時間の短縮化の検討

Table 4 に選定した 3 種類の 75 mm カラムのシステム標準溶液の分析結果を示した。尚、対照カラムには YMC-Pack ProC18 (粒径 5 µm、内径 4.6 mm、長さ 150 mm) を用いた。総クルクミノイドの定量にあたり、3 種類全ての 75 mm カラムにおいて、C、DC 及び BC が約 0.01 - 0.1 mg/mL の濃度範囲において、直線性を示すことを確認した。選定した 75 mm カラムの分離度は BC と DC 及び DC と C で 2.0 以上であり、良好な分離を示した。150 mm カラムから 75 mm カラムへカラムを変更することにより、理論段数は対照カラムよりも小さくなったものの、システム再現性の値は小さくなり、再現性が良くなることがわかった。C、DC 及び BC の各目的成分の保持時間は約 2/3 から半分程度に短縮されることがわかった。また、測定波長を JP16 記載の 245 nm から日本薬局方技術情報を参考にした 420 nm に変更することで、目的成分 (C、DC 及び BC) に隣接する夾雑ピークだけでなく、目的成分の後ろに検出されていた夾雑ピークも消失することがわかった (Fig. 2)。

Table 4 システム標準溶液の分析結果 (150 mm 対照カラム及び 75 mm カラム)

| カラム名                        | サイズ                   | 保持時間 (min) |      |      | 圧力 (MPa) | 理論段数  |       |       |
|-----------------------------|-----------------------|------------|------|------|----------|-------|-------|-------|
|                             |                       | BC         | DC   | C    |          | BC    | DC    | C     |
| YMC -Pack ProC18<br>(対照カラム) | 4.6×150 mm<br>粒径 5 μm | 10.1       | 11.5 | 13.0 | 8.1      | 11197 | 11905 | 12338 |
| YMC - Pack ProC18           | 4.6×75 mm<br>粒径 3 μm  | 5.9        | 6.8  | 7.8  | 7.3      | 6144  | 6144  | 7252  |
| Wakosil- II 3C18HG          |                       | 4.7        | 5.3  | 6.1  | 6.2      | 4628  | 5205  | 5716  |
| Develosil ODS - 3           |                       | 4.9        | 5.6  | 6.4  | 7.2      | 4278  | 4710  | 5118  |

| カラム名                         | サイズ                   | シムトリー係数 |      |      | 分離度   |      | システム再現性 |      |      |
|------------------------------|-----------------------|---------|------|------|-------|------|---------|------|------|
|                              |                       | BC      | DC   | C    | BC/DC | DC/C | BC      | DC   | C    |
| YMC - Pack ProC18<br>(対照カラム) | 4.6×150 mm<br>粒径 5 μm | 0.91    | 0.91 | 0.92 | 3.45  | 3.49 | 0.69    | 0.75 | 0.95 |
| YMC - Pack ProC18            | 4.6×75 mm<br>粒径 3 μm  | 0.93    | 0.93 | 0.93 | 2.78  | 2.89 | 0.29    | 0.16 | 0.18 |
| Wakosil - II 3C18HG          |                       | 0.94    | 0.91 | 0.89 | 2.31  | 2.43 | 0.12    | 0.12 | 0.14 |
| Develosil ODS - 3            |                       | 1.12    | 1.10 | 1.08 | 2.19  | 2.21 | 0.31    | 0.20 | 0.24 |

(結果は分析した 3 社における平均値)

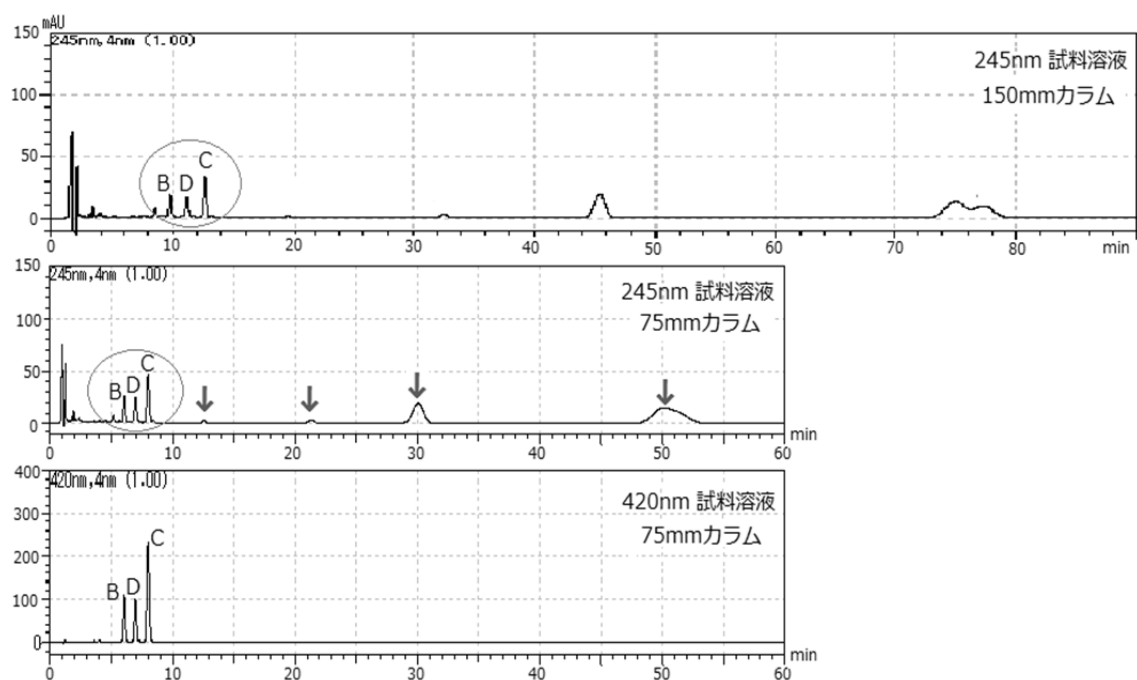


Fig. 2 試料溶液における各分析条件のクロマトグラム (YMC-Pack Pro C18 カラムを使用、B : ビスデメトキシクルクミン、D : デメトキシクルクミン、C : クルクミン)

Table 5 に対照カラムと 3 種類の 75 mm カラムの総クルクミノイド定量結果をまとめた。分析時間の短縮化の検討において、JP16のウコンの項の記載されている分析条件をもとに、測定波長を 420 nm に変更してウコンの総クルクミノイドを定量した。いずれの 75 mm カラムにおいても、総クルクミノイドの定量値は対照カラムと同等の値を示すことが認められた。標準偏差や RSD の値も良かった。A 社、B 社、C 社の室間再現性においてもバラつきは小さいことがわかった。

Table 5 対照カラム (150 mm) 及び 75 mm カラムの総クルクミノイド定量結果

| 対照カラム<br>(YMC-Pack ProC18) | 総クルクミンの含量(%) |      |      | 平均(%) | 標準偏差  | RSD  |
|----------------------------|--------------|------|------|-------|-------|------|
|                            | A 社          | B 社  | C 社  |       |       |      |
| ウコン①                       | 1.48         | 1.44 | 1.48 | 1.47  | 0.019 | 1.29 |
| ウコン②                       | 1.42         | 1.37 | 1.41 | 1.40  | 0.022 | 1.54 |
| ウコン③                       | 2.41         | 2.35 | 2.42 | 2.39  | 0.031 | 1.29 |

| Wakosil-II 3C18HG | 総クルクミンの含量(%) |      |      | 平均(%) | 標準偏差  | RSD  |
|-------------------|--------------|------|------|-------|-------|------|
|                   | A 社          | B 社  | C 社  |       |       |      |
| ウコン①              | 1.52         | 1.44 | 1.49 | 1.48  | 0.033 | 2.22 |
| ウコン②              | 1.45         | 1.39 | 1.40 | 1.41  | 0.026 | 1.86 |
| ウコン③              | 2.49         | 2.35 | 2.37 | 2.40  | 0.062 | 2.57 |

| YMC-Pack ProC18 | 総クルクミンの含量(%) |      |      | 平均(%) | 標準偏差  | RSD  |
|-----------------|--------------|------|------|-------|-------|------|
|                 | A 社          | B 社  | C 社  |       |       |      |
| ウコン①            | 1.48         | 1.45 | 1.46 | 1.46  | 0.012 | 0.85 |
| ウコン②            | 1.43         | 1.39 | 1.41 | 1.41  | 0.016 | 1.16 |
| ウコン③            | 2.42         | 2.37 | 2.42 | 2.40  | 0.024 | 0.98 |

| Develosil ODS-3 | 総クルクミンの含量(%) |      |      | 平均(%) | 標準偏差  | RSD  |
|-----------------|--------------|------|------|-------|-------|------|
|                 | A 社          | B 社  | C 社  |       |       |      |
| ウコン①            | 1.49         | 1.44 | 1.48 | 1.47  | 0.022 | 1.47 |
| ウコン②            | 1.43         | 1.39 | 1.40 | 1.41  | 0.017 | 1.21 |
| ウコン③            | 2.45         | 2.36 | 2.39 | 2.40  | 0.037 | 1.56 |



## 考 察

今回、ウコン中の総クルクミノイドの分析時間の短縮を目的として、150 mm カラムから 75 mm カラムへ変更した結果、目的成分の保持時間が短縮されることがわかった。また、測定波長を 245 nm から 420 nm に変更することで、目的成分に近接する夾雑ピークだけでなく、目的成分の後ろに検出されていた夾雑なピークも消失することがわかり、1 分析あたりの分析時間の短縮化が可能であることがわかった。対照カラムと総クルクミノイドの定量値も同等の値を示したことから定量性も認められた。これらの結果より、75 mm カラムを使用し、測定波長に 420 nm を用いることにより、ウコン中の総クルクミノイドの分析時間の大幅な短縮化と移動相溶媒の削減が可能であることが示唆された。

## 文 献

- 1) 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、pp. 28–34 (2009) .
- 2) 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、pp. 23–30 (2010) .
- 3) 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、pp. 31–43 (2011) .
- 4) 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、pp. 61–69 (2012) .
- 5) 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、pp. 19–27 (2013) .
- 6) 野本有沙ら：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、pp. 19–27 (2014) .
- 7) 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]－ショウガオールについての基礎的検討－  
家庭薬研究 No.34、pp. 25–30 (2015) .
- 8) 一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団編、日本薬局方技術情報 2011、(株)じほう、東京、pp. 801–803 (2011) .