

皮膚疾患薬中の酸化亜鉛の分析法

矢崎 廣久, 加瀬 信明, 福島 悦子

Extraction and Determination of Zinc Oxide in Ointment, Liniment and Cream

Hirohisa YAZAKI, Nobuaki KASE and Etsuko FUKUSHIMA

I はじめに

酸化亜鉛 (ZnO) は古くから外用薬として用いられてきたが、その効用としては、適用箇所への穏やかな収斂作用、防腐作用及び保護作用が知られている¹⁾。そのため、主に皮膚疾患薬として重用され、分泌物の吸収、収斂性の発現、患部の保護と患部を乾燥させるなどの薬理作用を目的とした多くの製品が販売されている。また、疾患部の状態で表皮剥離、湿潤性病変等に適応した薬剤とするため、種々の剤形が作られている^{2,3)}。

現在、日本薬局方において、ZnO製剤は、亜鉛華、亜鉛華軟膏、アクリノール・亜鉛華軟膏等の名称で記載されており、その検出・定量はキレート滴定法を行うことが定められている¹⁾。すなわち、試料を強熱灰化法で灰化した後、塩基性下でエリオクロムブラックTを指示薬に、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (EDTA) 滴定を行う方法が記載されている。しかしながら本法は、試料採取量を2gと多量に設定しているため、処理操作の灰化温度を850度の高温にしても、灰化終了まで2昼夜以上を要する試料も時々見られ、多くの試料を能率良く分析するのはきわめて難しい。

著者らは、以前から医薬品の安全性と品質を確保する目的で、いろいろな薬剤の試験検査を行っているが⁴⁾、ZnO製剤分析の迅速性と簡易化を図るため、液々分配を利用した溶媒抽出法及び原子吸光分光法による検討を行い、市販製剤に適用可能な方法を見出した。なお、食品や生体試料等の分野で従来から汎用されている湿式分解法^{5,6)}についても試みたので、それらの知見も合わせて報告する。

II 実験方法

1. 試料

実験に用いた試料は、1994年11~12月に千葉県下の薬局、薬種商の店頭にて入手した一般用及び医療用皮膚疾患薬などの検体で、剤形は軟膏、クリーム、リニメント等であった。この中から分析方法の検討用試料として、いずれもZnO 10%含有の亜鉛華単軟膏、軟膏、フェノール・亜鉛華リニメント及びクリームを選んで実験を行った。

2. 試薬

1) 標準溶液：加熱乾燥し恒量とした酸化亜鉛 (和光純薬、特級) を精秤し、必要濃度に応じ、10%硝酸で希釈調製して標準溶

液とした。

2) 有機溶媒及びその他の試薬：本実験で使用した有機溶媒その他の試薬は、和光純薬製の特級品を使用した。

3. 機器及び測定条件

1) 原子吸光分光光度計：亜鉛の測定はフレイム方式とし、装置はJarrell Ash AA-1 Mark II, 燃料と助燃ガスは、アセチレン-空気を使用した。

2) 電気マッフル炉：試料の灰化において、マッフル炉は東洋製作所(株)製KM-280型を使用した。

4. 試料溶液の調製

試料分解液を調製するため、今回実施した3種類の前処理法は以下に示す通りである。

1) 強熱灰化法 (局方)：試料2gをろつば内に秤取し、徐々に温度を上げ炭化後、850℃のマッフル炉内で1~2昼夜強熱灰化する。冷後、塩酸酸性で定容として、NaOHで塩基性に変えてからエリオクロムブラックTを指示薬にEDTA滴定を行い、ZnO量を求める。なお、他の分析法と比較するため、本法で得られた試料分解液を分割して、原子吸光法による定量検出をも試みた。

2) 湿式分解法 (簡易法)：試料を試験管に取り、硝酸を滴下して加熱分解してから、過酸化水素水も適宜おり混ぜながらブロックヒーターを用いて加熱分解反応を2~4日間行う。反応終了後、残留物に10%硝酸を加え溶かし、定容として口過したものを試料溶液とする。

なお、適切な試料採取量を探る目的で、25, 50, 100, 200mgの4段階に分けて取り、データの比較を行った。

3) 溶媒抽出法 (開発法)：ピーカーに100mgの試料を採取し、イソオクタン (2, 2, 4-トリメチルペンタン) 10mlと10%硝酸30mlを用いて分液ロート中に洗い込み、振とうを20分間行う。振とう後、硝酸層を取り、残ったイソオクタン層に20mlの10%硝酸を加え再抽出を行う。硝酸層を合わせて適宜希釈し、原子吸光検出用の試料溶液とした。溶媒抽出法については、抽出・分析条件を設定するため種々の検討を試みた。

5. 検出方法

前処理操作を終えた各試料溶液は、フレイム方式の原子吸光装置にかけるため検量線の直線域に入るよう10%硝酸で希釈を行った後、分析を行った。Zn測定波長は213.9nmで、また燃料及び助燃ガスはアセチレンと空気を使用した。

III 実験結果及び考察

1. 溶媒抽出法

1) Zn抽出溶媒の選択：軟膏、リニメント、クリーム等に基

剤として含まれるパラフィン、アクリノール及びその他の油脂を取り除くために、有機溶媒と希硝酸による液々分配を行うこととし、使用する有機溶媒種及び適当と思われる酸濃度の検討を行った。

有機溶媒量は実験室で繁用されるものの内、液性、溶解性などから、可能性の高いものとしてn-ヘキサン、イソオクタン、酢酸エチル、そしてクロロホルムを選び、「実験方法」に記載の操作により、4種の試料を3回づつ繰返し分析をした。表1に示す通り、クロロホルム、酢酸エチルについては軟膏等の溶解性に優れてはいるが、平均回収率(AV)及び変動係数(CV)において、イソオクタンやヘキサンと比べ若干低い値を示し、品目によってはバラツキ傾向が見られた。また、酢酸エチルは、酸抽出の際加水分解を受け、多少の容量変化を起す点、さらにクロロホルム

については環境分野での規制対象物質である点を考慮すると、いづれも不適當と判断された。

イソオクタン、ヘキサンについては、AV及びCV値共に遜色のない好結果が得られているが、ヘキサンは試料によってはわずかにエマルジョンを生成する検体も見られることから、分析操作にはイソオクタンを採用した。

液々分配抽出を行う場合、硝酸の濃度によりZnO回収率が受ける影響を調べたものが表2である。剤形の異なる亜鉛華単軟膏とフェノール・亜鉛華リニメントについて、硝酸濃度を5、10、20%と変化させて振とう抽出を行ったところ、5%濃度ではやや高めの値となってしまったが、10~20%範囲ではAV及びCV共に良い結果が得られた。したがって、この後の原子吸光測定による希釈操作も考慮して、抽出溶媒の酸濃度は10%とした。

表1 溶媒抽出法による各種溶媒別の回収率

試料	イソオクタン		ヘキサン		酢酸エチル		クロロホルム	
	AV*	CV%	AV	CV%	AV	CV%	AV	CV%
亜鉛華単軟膏	102.2	0.8	99.9	1.3	99.7	3.0	99.2	1.1
軟膏	101.3	1.3	102.2	1.4	95.2	4.4	97.6	4.3
リニメント	103.4	1.6	101.2	0.8	93.3	8.1	98.1	2.2
クリーム	100.5	1.0	100.8	1.5	101.6	4.0	100.6	0.9

*表示量に対する酸化亜鉛の平均値(%), n=3

表2 溶媒抽出法における硝酸濃度の違いによるZnO回収率

試料	硝酸濃度	ZnO回収率(%)			AV	CV(%)
		100%	101%	102%		
亜鉛華単軟膏	5%	111.2	107.5	103.5	107.4	2.93
	10%	101.5	103.4	101.8	102.2	0.82
	20%	99.8	100.9	98.9	99.9	0.82
フェノール・亜鉛華リニメント	5%	107.6	109.0	113.5	110.0	2.29
	10%	101.7	103.3	105.5	103.5	1.51
	20%	100.8	100.3	99.9	100.3	0.37

2) 試料量及び抽出回数: 亜鉛華剤の溶媒抽出法を行う場合、試料採取をどの程度の量にすると良い結果が得られるかを検討してみた。表3に示すように、50、100、200mg量づつ取り分析操作を行った結果、軟膏剤についてはいずれも大差のない成績であったが、リニメント剤では200mg採取すると、AVが高めとなり、CVにバラツキ傾向が見られた。そこで、採取時の測り易さ及び希釈率の容易性を考え、100mgの採取量とした。

溶媒抽出法における抽出回数がZnO回収率に及ぼす影響を調べたものが、表4である。イソオクタン10mlに対し、全量で50mlの10%硝酸を用いる場合、それぞれ30、20mlに分割抽出する(2回)方法、あるいは20、20、10mlに分ける(3回)方法等の実験を行った。1~3回の抽出は、AV値を見る限り差異はないものの、

酸50mlの1回抽出だけではCV値が良くないため、2回抽出が適切と思われた。

2. 溶媒抽出法と他の分析法との比較

いろいろな剤形の試料について、局方記載の強熱灰化法、並びに食品はじめ多くの分野で常用される湿式分解法で分析した結果を表5、表6に掲げる。

強熱灰化では、分解試料溶液を2分して、キレート滴定と原子吸光測定の種類で定量を試みたが、表に見られるように数値的にはそれ程の違いはなかった。本法の試料2g採取は、他の方法より量的に多いため、850℃の高温でも、最低1昼夜以上を要するが、灰化が白色に仕上がりがさえすれば、AV、CVとも安定性の高い良い結果となっている。

表3 溶媒抽出法における試料採取量の違いによるZnO回収率

試料	試料量	ZnO回収率(%)			AV	CV(%)
		100%	101%	102%		
亜鉛華単軟膏	50mg	100.2	100.0	99.9	100.0	0.13
	100mg	101.5	103.4	101.8	102.2	0.82
	200mg	100.7	106.0	104.9	103.9	2.20
フェノール・亜鉛華リニメント	50mg	103.6	104.1	101.9	103.2	0.91
	100mg	101.7	103.3	101.5	102.2	0.79
	200mg	103.8	110.5	122.3	112.2	6.82

表4 溶媒抽出法における試料抽出回数によるZnO回収率

試料	抽出回数*	ZnO回収率(%)			A V	C V (%)
亜鉛華単軟膏	1回	102.5	102.7	103.7	103.0	0.51
	2回	101.5	101.7	103.4	102.2	0.83
	3回	100.0	100.8	99.4	100.1	0.57
フェノール・亜鉛華リニメント	1回	93.7	104.9	105.3	101.3	5.31
	2回	103.3	101.7	101.5	102.2	0.79
	3回	100.1	101.2	104.0	101.8	1.61

* イソオクタン層10mlに対し、1回は10%硝酸50ml, 2回は10%硝酸30, 20ml, 3回は10%硝酸20, 20, 10mlづつを各々使用して抽出した, n = 3

表5 強熱灰化法(局方)による酸化亜鉛製剤の定量結果

試料	定量法	定量値 (酸化亜鉛表示量に対する%)			A V ^{*1}	S V	C V (%)
亜鉛華単軟膏	滴定値 ^{*2}	100.7	100.8	100.2	100.6	0.26	0.3
	原子吸光測定値 ^{*3}	100.7	102.7	102.0	101.8	0.90	0.9
軟膏	滴定値	101.7	99.7	101.7	101.0	0.97	1.0
	原子吸光測定値	99.4	96.7	100.0	98.4	1.32	1.3
リニメント	滴定値	100.7	102.2	100.7	101.2	1.41	0.7
	原子吸光測定値	101.2	100.0	100.0	100.4	0.54	0.5
クリーム	滴定値	98.7	97.6	95.6	97.3	1.26	1.3
	原子吸光測定値	96.5	94.3	93.1	94.6	1.43	1.5

*¹ n = 3

*² EDTAによるキレート滴定法

*³ 原子吸光測定装置を用いたときの定量値

表6 湿式分解法における試料量の違いによる回収率

試料	25mg		50mg		100mg		200mg	
	A V*	C V%	A V	C V%	A V	C V%	A V	C V%
亜鉛華単軟膏	102.9	2.2	99.1	1.0	99.8	1.8	97.3	0.9
軟膏	104.9	2.7	100.5	1.8	102.9	2.1	90.6	0.7
リニメント	108.1	1.2	102.7	2.2	96.6	2.3	88.1	1.1
クリーム	108.2	2.9	100.1	0.2	97.4	0.6	89.6	0.3

* 表示量に対する酸化亜鉛の平均値(%), n = 3

一方、湿式分解法については、ZnO製剤の分析に関する知見もないので、最適な試料採取量をも探るため、25~200mgの範囲で4段階のサンプリングを行なってみた。

表6の結果から明らかのように、200mg採取では90%前後のA V値しか得られず、25mgの場合はC V%がきわめて悪くなることから、50~100mgの範囲が適当と判断され、希釈上の便宜もあり100mg採取が適当と結論された。試料の量や品目により分解時間は15~30時間程度と異なるが、試料採取量が適当な場合A V, C V共に良好であった。

今回開発した溶媒抽出法は、前処理操作が簡便・迅速に行えるので、測定まで含めて2時間前後の早さで分析可能な点が、1昼夜~3昼夜を要する他の分析方法との大きな違いになっている。従来、重金属分析で行われてきた溶媒抽出法は、ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム(APDC)、ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム(DDTC)、ジチゾン・メチルイソブチルケトン(MIBK)等に見られるように、まず多くの金属と錯体を形成させてからクロロホルムや酢酸エテルといった有機溶媒層に抽出し、原子吸光法あるいは吸光光度法を用いて定量を行うの

が一般的であった⁵⁻⁸⁾。今回、著者らが行った溶媒抽出法は、逆に有機溶媒層に夾雑物質を溶解させて除き、酸溶液で金属を捕捉する原理を用いているので、錯体-有機溶媒抽出法のような抽出時の厳密なpH調整や抽出後の有機溶媒層中の金属濃度に関する経時変化等の心配も皆無である⁹⁾。そして、本法は実験に見られるように、局方の強熱灰化法及び広い分野で繁用される湿式分解法と比較しても、A V値、C V値共に遜色のない優れた成績が得られている。

IV まとめ

酸化亜鉛(ZnO, 亜鉛華)を含有する皮膚疾患薬の簡易分析について、種々の検討を行った。亜鉛華単軟膏、リニメント、クリームなどの剤形を選び、溶媒抽出法-原子吸光測定を組み合わせた定量法を開発した。試料中に基剤として含まれるパラフィン、アクリノール及びその他の油脂類を除去するため、イソオクタンと10%硝酸による液々分配抽出を行うこととし、分析条件設定に向けたいくつかの実験を行った。これらの検討の結果、設定された

溶媒抽出法は、従来から行なわれている局方の強熱灰化法、並びに湿式分解法と比較した場合、非常に迅速・簡便に操作を行なうことができ、数値的にもAVやCV値に差は認められなかった。したがって、一般用、医療用のZnO含有薬剤に充分活用できる分析方法であることが分かった。

謝 辞

本研究を行なうにあたり、市販医薬品の入手に御尽力いただいた薬務課監視指導班の方々、並びに県内各保健所の薬事監視員の皆様に深謝いたします。

V 文 献

- 1) 第12改正日本薬局方解説書, C1071-C1073, D1-D8, 廣川書店, 東京, 1991.
- 2) 大阪府病院薬剤師会編: 医薬品要覧第5版, 1160-1166, 薬業時報社, 東京, 1992.
- 3) 日本医薬情報センター編: 日本医薬品集, 医療薬1-2, 一般薬641, 665, 薬業時報社, 東京, 1992-93.
- 4) 矢崎廣久, 竹田敏晴, 中島慶子(1991): ビタミンEカプセル製剤中の多金属元素測定について, 千葉県衛生研究所研究報告, 15, 19-25.
- 5) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解, 556-560, 568-571, 金原出版, 東京, 1990.
- 6) 下村滋, 保田和雄, 長谷川敬彦, 須見泰子: スレーヴィン原子吸光分析, 178-187, 廣川書店, 東京, 1970.
- 7) 日本化学会編: 実験化学講座(続), 7, 503-507, 丸善, 東京, 1966.
- 8) 無機応用比色分析編集委員会編: 無機応用比色分析, 5, 430-450, 共立出版, 東京, 1976.
- 9) 保田和雄: 原子吸光分析の実際, 81-84, 講談社, 東京, 1980.