

坐剤中のリドカインの定量法

加瀬 信明, 矢崎 廣久, 福島 悦子

Determination of Lidocaine in Suppositories

Nobuaki KASE, Hirohisa YAZAKI and Etsuko FUKUSHIMA

I. はじめに

坐剤は本来、局所作用や即効性を目的として開発されてきたが、経口投与に比べ胃腸における障害を回避できる剤形であることから、その使用範囲は年々増加している¹⁾。こうした坐剤の品質をチェックするためには主要成分の迅速かつ正確な分析法の確立が不可欠である。

現在、医薬品の主要成分の分析は高速液体クロマトグラフ(HPLC)による方法が汎用されているが^{2),3)}、坐剤には体腔内でスムーズに溶解し、主要成分がすみやかに吸収されるようにさまざまな基剤が配合されている³⁾。したがって、坐剤中の主要成分の定量を行うには基剤をいかに分離するかが重要な課題となる。今回、著者らは局所麻酔薬中の鎮痛成分として坐剤中に広く使

用されているリドカイン(2-ジエチルアミノ-N-(2,6-ジメチルフェニル)アセトアミド)について、抽出にクロロホルムなどの有害試薬を用いずに油脂性基剤成分を除くための検討を行い、簡便な操作で高い精度が得られる定量法を確立したので報告する。

II. 実験方法

1. 試料

試験に用いた試料は、1995年6月から7月に千葉県下の薬局、薬卸商において入手した一般用5種、医療用1種の計6種類の痔疾用坐剤であった。これらの試料の概要を表1に示した。

Table 1. Suppositories' description used in this study

Sample No.	Labeled contents of Lidocaine	Labeled contents of Oleaginous bases
A (OTC)	60mg/1 suppository (1.65 g)	Hard fat 1.41 g/1 suppository
B (OTC)	60mg/1 " (1.80 g)	Witepsol E35 1.43 g/1 " Witepsol E85 0.19 g/1 "
C (OTC)	60mg/1 " (1.75 g)	Hard fat 1.62 g/1 "
D (OTC)	60mg/1 " (1.40 g)	Hard fat 1.10 g/1 "
E (OTC)	60mg/1 " (1.50 g)	Witepsol E35 1.10 g/1 " Witepsol E85 0.22 g/1 "
F (ETHICAL)	40mg/1 " (1.80 g)	Hard fat 1.38 g/1 "

2. 試薬

1) 標準品及び標準溶液: リドカインはシグマ社ラボラトリ用標準品を、HPLCの内部標準物質には(株)和光純薬、特級パラオキシ安息香酸n-ブチルを用いた。

これらは、それぞれデシケーター中で保存して恒量としたものを精秤し、リドカインはメタノールに溶解し60mg/100ml溶液とし、同様にパラオキシ安息香酸n-ブチルについても8mg/100mlメタノール溶液を調製した。

2) 有機溶媒及びその他の試薬: 本試験で使用したメタノール、ジエチルエーテルなどの有機溶媒は、(株)和光純薬特級品をさらに蒸留精製したものを、その他の試薬はいずれも(株)和光純薬製の特級品を使用した。

3. 装置

HPLC装置: 日本分光工業(株)製880-PUポンプ、(株)相馬光学製S-3702紫外可視分光検出器、(株)島津製作所製クロマトパック

C-R1A (データ処理)

遠心分離機: トミー工業(株)製TOMY LC-122

ミキサー: 三洋電気(株)製SANYO SM-M6

4. 試料溶液の調製

試料に用いた坐剤はそれぞれ20個ずつを細切後ミキサーで粉碎し、リドカイン含有表示量30mg相当量を秤取し、次に示した抽出法により、それぞれHPLC測定用試料を調製した。

1) メタノール加温溶解・抽出法

試料を共栓遠沈管にとり、塩酸・メタノール(1+200)50mlを加え、50℃の水浴中で時々振り混ぜながら加温、融解させた後、10分間振盪抽出を行う。抽出後に、直ちに氷浴中で20分間冷却し、基剤成分を析出させた後、3,500r.p.m.で5分間、遠心分離を行った。

これを放置して室温となったところで、上ずみ液1mlを正確に量り取り、内部標準液5ml、メタノール・塩酸(200+1)4mlを加えHPLC測定用試料とした。

なお、本法では抽出効率を上げる目的で、抽出に用いるメタノールに200分の1の塩酸(約0.06Mに相当)を添加したが、塩酸を添加しないメタノールのみによる抽出も比較のために行った。

坐剤中のリドカインの定量法

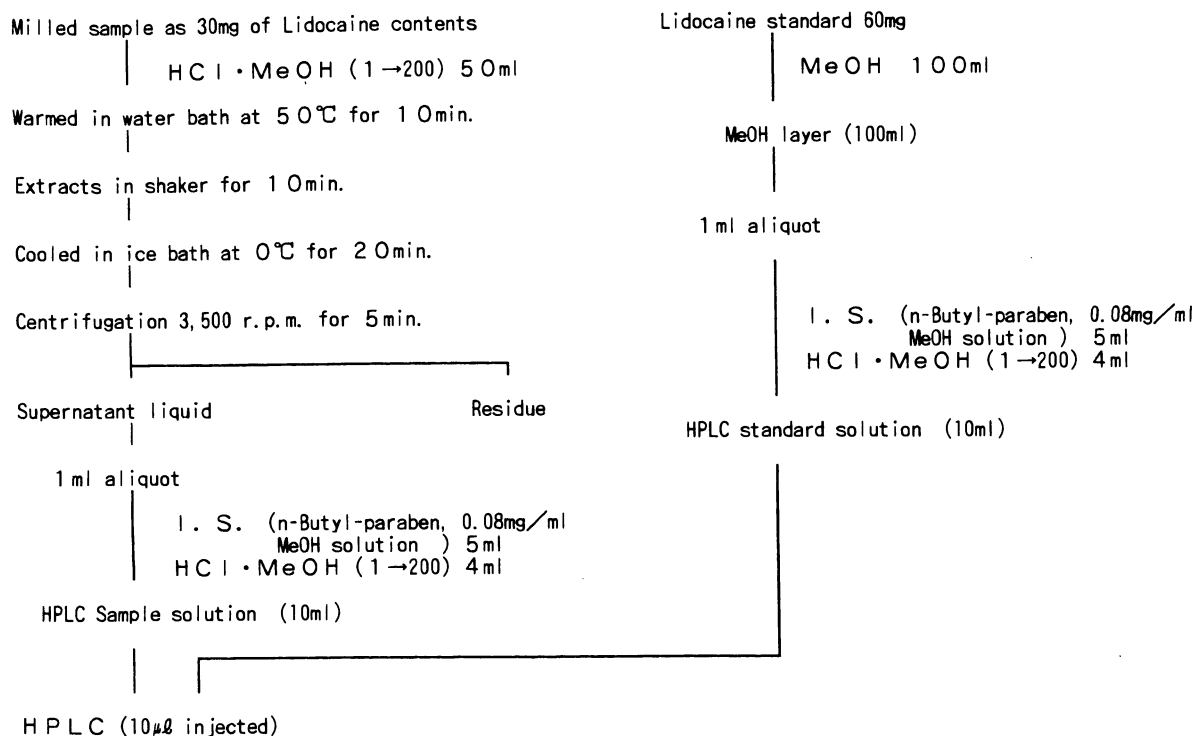


Fig.1 Flow chart of warmed Methanol extraction method.

2) エーテル・希塩酸液々分配抽出法

試料をビーカーにとり、エーテル20mlに溶解、分散させた後、分液ロートに移し、0.1M塩酸20mlを加え10分間振とう抽出し、水層を共栓比色管にとる。エーテル層は再度0.1M塩酸20mlを加

え10分間振とう抽出し、水層は先に抽出したものと合わせ、さらに0.1M塩酸を加え50mlで定容とした。

この0.1M塩酸抽出液1mlを正確に量り取り、内部標準液5ml、メタノール4mlを加えHPLC測定用試料とした。

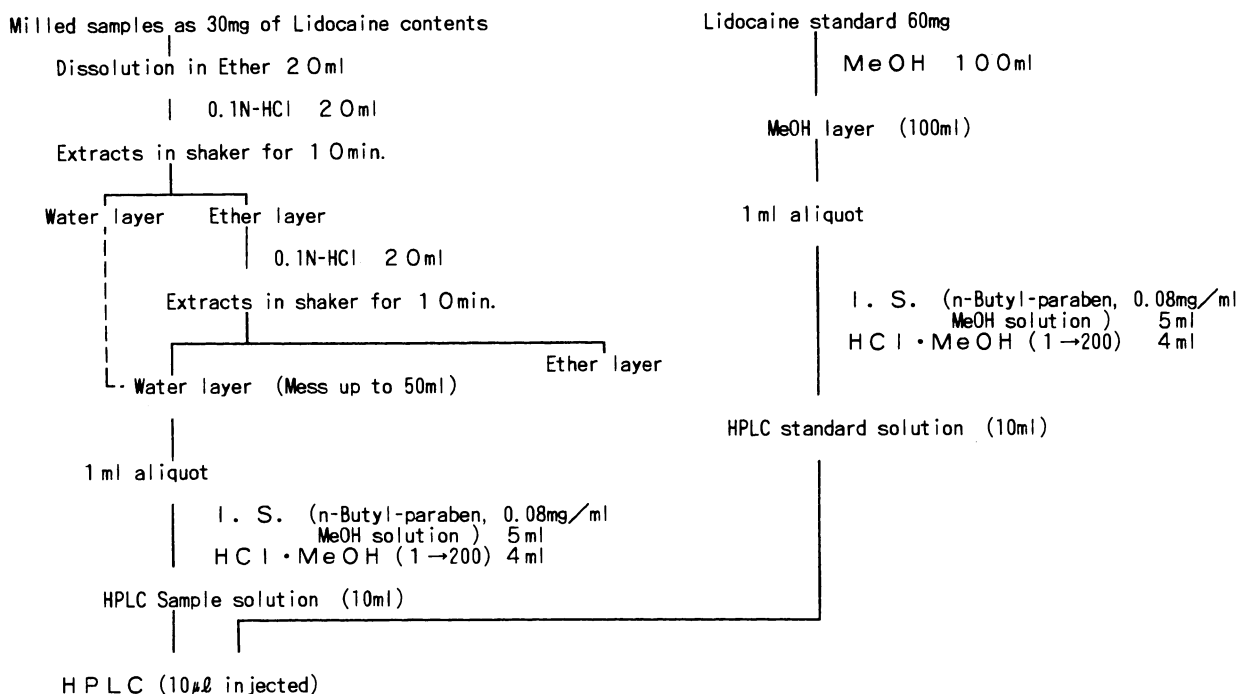


Fig.2 Flow chart of Ether-dil. HCl liquid-liquid partition extraction method.

5. HPLC条件

カラム：(株)和光純薬製, Wakosil-II 5 C18 RS
150mm×4.6mm I D

移動相：ドデシル硫酸ナトリウム1.0g (エーテル・希塩酸液々分配抽出法では2.0gを使用) をメタノール・水・リン酸(710+290+1) 1,000mlに溶かしたものの。

流速：0.9ml/min.

測定波長：230nm, カラム温度：40℃

III. 結果及び考察

1. メタノール加温溶解・抽出法

本法は坐剤中のリドカインを塩酸を添加した温メタノールで効

率よく抽出するとともに、坐剤中に配合された油脂性の基剤によりHPLC測定に支障が出ないように考慮、検討したものである。

温メタノール抽出直後、直ちに氷冷すると、数分で抽出液は白濁し基剤成分が析出し始めた。20分間氷冷を行うと基剤成分は液の全面にわたり白いゲル状の懸濁物となり、続く遠心分離操作により完全に分離された。

図3に標準試料、一般薬A, 医療薬Fのクロマトグラムを示したが、定量を妨害する夾雑ピークは見られず、リドカインと内部標準物質との分離も良好であった。

本法での定量結果を表2に示した。AからFまでの各坐剤についてそれぞれ3回ずつ繰り返し分析を行ったものであるが、一般薬A～Eで含有表示量の90.9～105.7%, CV値は0.3～1.8%, 医療薬Fで含有表示量の100.7%, CV値は0.3%といずれもばらつきのない満足できる結果が得られた。

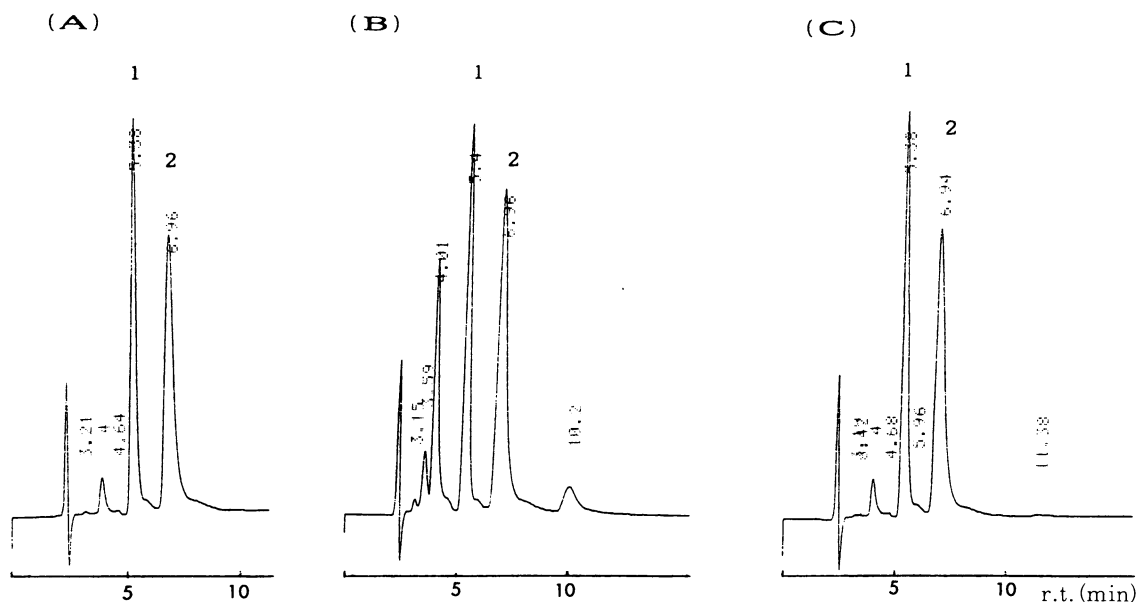


Fig. 3 HPLC chromatograms of Lidocaine standard and Methanol extracted samples. (A)Standard (Lidocaine 0.06mg/ml, I.S. 0.04mg/ml), (B)OTC suppository A, (C)Ethical suppository F
Peak 1 : I.S. (n-Butyl-paraben) Peak 2 : Lidocaine

Table 2. Lidocaine Yields (%) by warmed (55℃) methanol extraction method.

Sample Name	MeOH : HCl (200 + 1) 50ml					MeOH 50ml				
	Lidocaine Yields (%)*			AV. (%)	CV (%)	Lidocaine Yields (%)		AV. (%)	CV (%)	
A	106.0	105.7	105.3	105.6	0.3	106.9	106.9	107.8	107.2	0.4
B	99.0	102.5	103.3	101.6	1.8	98.7	97.7	96.3	97.6	1.0
C	106.1	105.8	105.1	105.7	0.4	106.7	105.4	106.2	106.1	0.5
D	103.9	101.7	101.4	102.3	1.1	103.2	104.7	108.0	105.3	1.9
E	89.7	91.0	91.9	90.9	1.0	90.9	94.6	91.1	92.2	1.8
F	100.8	100.9	100.3	100.7	0.3	109.3	111.2	109.4	110.0	0.8

※ Percentage of labeled contents (%)

一方、抽出をメタノールのみで行った場合は、遠心分離後の遠沈管壁面への基剤成分の付着や分離液の透明度が、塩酸を添加した場合に比べ、やや低くなる傾向がみられた。この場合の定量結果は塩酸を添加した場合には及ばなかったものの、CV値は0.4～1.9%と良好な範囲にあった。定量値を見ると塩酸を加えた場合とよく一致しており、メタノールのみでも抽出は十分行なわれるが、塩酸の添加は油脂性基剤などの夾雑成分のメタノール相へ

の転溶を抑え、定量値のばらつきをより小さくしていることがわかった。

通常よく見られるケースとして、加温メタノール抽出後、HPLCにより定量する方法は現在、最も汎用されている方法であるが、温時に溶け込んだ基剤が、HPLC測定の妨害やカラム充填剤の寿命を低下させる懸念がある^{4),5)}。

著者らが今回試みた方法、すなわちメタノール抽出後に氷冷操

坐剤中のリドカインの定量法

作を加えることにより基剤成分を析出させ、遠心分離により完全に除くことができる本方法は、固相抽出などによるクリーンアップに比べ簡便であり、時間も費用も軽減することができた。

市販薬を中心に痔疾用坐剤19検体について本法を用いた分析を行ったところ、表3の結果が得られた。定量値はいずれもリドカ

イン表示量の90~110%の範囲にあり、改良分析法としては満足できる結果が得られた。

医薬品の行政検査では、最終的な検査方法はそれぞれの承認書に基づく方法が指定されるが、本法は高精度で簡便なスクリーニング法として活用できることがわかった。

Table 3. Analytical Results of Lidocaine in OTC and Ethical drugs.

Sample No.	Classification	Labeled Contents of Lidocaine	Analytical Results (%)
1	O T C	60mg/Suppository (1.40 g)	103.8
2	O T C	60mg/Suppository (1.50 g)	90.9
3	O T C	60mg/Suppository (1.65 g)	99.0
4	〃	〃	97.3
5	〃	〃	99.1
6	〃	〃	99.9
7	〃	〃	102.7
8	〃	〃	100.1
9	〃	〃	102.5
10	〃	〃	101.8
11	〃	〃	102.5
12	〃	〃	99.3
13	O T C	60mg/Suppository (1.75 g)	98.2
14	〃	〃	96.5
15	〃	〃	99.6
16	〃	〃	106.1
17	O T C	60mg/Suppository (1.80 g)	99.0
18	Ethical	40mg/Suppository (1.50 g)	103.0
19	〃	〃	100.8

2. エーテル・希塩酸液々分配抽出法

坐剤中に配合されたハードファットなどの油脂性基剤はエーテルに可溶であるため、試料をエーテルに溶かし、希塩酸との液々分配抽出を行った。

試料の中にはエーテルへの溶解、分散にやや時間を要し、白濁するものもあったが、塩酸を加えて抽出することにより塩酸層に

転じ、以後の操作に支障はなかった。

また、抽出からHPLC試料調製に要する時間はメタノール加温溶解抽出法、エーテル・希塩酸液々分配抽出法のいずれの抽出法とも2時間程度でほとんど差はなかった。

本法によるHPLCクロマトグラムはメタノール加温溶解抽出法以上に夾雑ピークの少ないものが得られた。(図4)

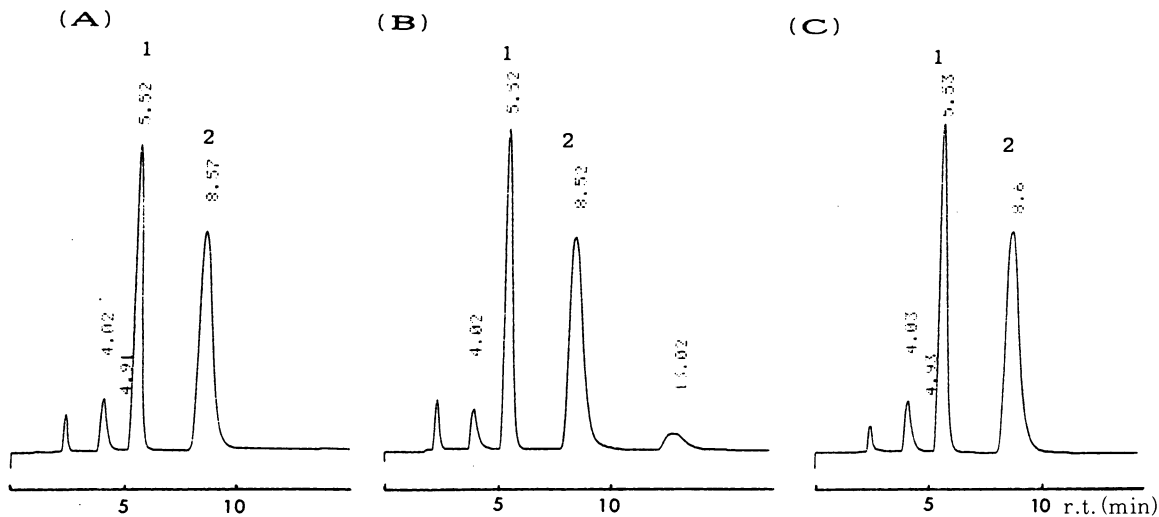


Fig. 4 HPLC chromatograms of Lidocaine standard and Ether-dil. HCl extracted samples. (A) Standard (Lidocaine 0.06mg/ml, I.S.0.04mg/ml), (B) OTC suppository A, (C) Ethical suppository F, Peak 1 : I.S. (n-Butyl-paraben) Peak 2 : Lidocaine

Table 4. Lidocaine Yields (%) by ether-0.1N HCl extraction method.

Sample Name	Ether-0.1N HCl				Chloroform-0.1N HCl	
	Lidocaine Yields (%)*			AV. (%)	CV. (%)	Lidocaine Yields (%)*
A	95.4	95.1	93.6	94.7	0.8	100.5
B	93.7	93.9	92.4	93.3	0.7	97.3
C	98.8	95.7	96.0	96.8	1.4	98.6
D	91.6	93.4	91.1	92.0	1.0	98.5
E	88.6	91.6	87.1	89.1	1.9	90.2
F	96.4	95.3	97.3	96.3	0.8	98.9

* Percentage of labeled contents (%)

定量結果を表4に示したが、CV値はバラツキは小さかったものの、定量値はメタノール・塩酸抽出及びメタノール抽出の場合に比べ約2~12%ほど低かった。

今回行った2つの抽出法の定量結果を見ると、2方法間の定量値の差が小さかった試料E、Fはエーテルにスムーズに溶解した。

これに対し、試料A~Dはエーテルへの溶解、分散に数分を要し、試料液は乳濁状態のままであった。このため、液々分配を行う際の液相間の分離状態や抽出用エーテルの揮散等、試料のロスに結びつく問題が生じ、定量値が低くなったものと推察された。

そこで、抽出溶媒をエーテルのかわりにクロロホルムを用いて試験したところ、スムーズに溶解し、エーテルで乳濁したA~Dも乳白色プリン状に溶解した。

結果は表4に示したとおり、いずれもメタノール・塩酸抽出の定量結果により近い定量値が得られた。

以上のことから、エーテルへの溶解、分散に時間を要したり、乳濁する試料については、温メタノール抽出法の方がより良い結果が得られることがわかった。

一方、エーテル・希塩酸液々分配抽出法では、より夾雑ピークの少ないクロマトグラムが得られたことから、これらの溶媒はリドカインから油脂性基剤をよりクリアーに分離する働きがあったと考えられる。

したがって、この方法において、エーテルを用いる場合には、試料の溶解、分液ロート移し込み時におけるロスの防止に注意することや、より油脂性基剤を溶かしやすい溶媒選択の検討を行うことにより、優れた坐剤中の主薬成分の一斉分析法が確立されるものと期待される。

IV. まとめ

鎮痛成分として坐剤中に広く使用されているリドカインのHP LCによる定量について、クロロホルムなどの有害試薬を用いず、共存する油脂性基剤を除くための抽出法の検討を行った。

一般薬5種、医療薬1種の計6種の痔疾用坐剤を試料に用い、

メタノールで加温溶解させ抽出する方法、エーテルで溶解、分散後塩酸性下で液々分配抽出する方法の2つについて比較、検討した。

メタノール抽出では、抽出後20分間氷冷するとにより基剤成分の析出、分離が行え、固相抽出などによるクリーンアップを用いずに、CV値0.3~1.9%とバラツキの少ない満足できる結果が得られた。メタノールに塩酸(200+1)を加えることにより夾雑成分のメタノール相への転溶を抑え、定量値のバラツキをさらに小さくすることができた。

エーテル、希塩酸による液々分配抽出では、全般に2~10%ほど低い定量値となった。これは、試料がエーテルに完全に溶解せず懸濁した場合、エーテルの揮散や懸濁物の洗い込み時によるロスが影響したものと考えられた。

本法により、市販されている痔疾用坐剤20検体の分析を行ったところ、満足できる結果が得られ、本法はリドカイン含有坐剤に十分活用できることが確認された。

V. 謝辞

本研究を行うにあたり、市販医薬品の入手にご協力いただきました千葉県業務課監視指導班、及び県内各保健所の皆様に深謝いたします。

VI. 文献

- 1) 第12改正日本薬局方解説書, C235-C237, 廣川書店, 東京, 1992.
- 2) 村西昌三: 坐剤(製剤から臨床応用まで), 77-83, 南山堂, 東京, 1985.
- 3) 江島昭, 立沢政義, 緒方宏泰, 鹿庭なほ子, 松田りえ子: 衛生試験所報告, 101, 75, 1983.
- 4) 江島昭, 立沢政義, 松田りえ子: 医薬品研究, 14, 37, 1983.
- 5) 江島昭, 立沢政義, 松田りえ子: 医薬品研究, 15, 93, 1984.