

高速液体クロマトグラフィーによる市販軟膏および 混合製剤からの吉草酸ベタメタゾンの定量*¹

大城 進, 喜屋武典, 藤本勝喜
琉球大学医学部附属病院薬剤部*²

HPLC Determination of Betamethasone-17-valerate in Commercial Ointment and Admixtures

SUSUMU OHSHIRO, NORI KYAN and KATSUYOSHI FUJIMOTO
Hospital Pharmacy, Faculty of Medicine, The University of the Ryukyus*²

(Received June 26, 1984)

High performance liquid chromatography (HPLC) was used in determination of betamethasone-17-valerate (BM-V) in commercial ointment. The conditions of HPLC were as follows-model: Shimadzu LC-4A; detector: SPD-2SA; wavelength: 239nm; column: Zorbax ODS(4.6×250mm); short guard-column: Zorbax ODS (4.0×50mm); mobile phase: MeOH: H₂O = 75 : 25 (v/v); flow rate: 1 ml/min; pressure: 100kg/cm² (at 40°C). BM-V in commercial ointment and other ointment or cream admixture was also measured by the present HPLC method. BM-V ointment or admixture was dissolved or suspended into cyclohexane, and then MeOH: H₂O (9 : 1 or 8 : 2) was used to extract BM-V from cyclohexane. Naphthalene was used as an internal standard material. 10μl of extract solution was directly injected into HPLC column. The amount of BM-V was determined by comparing the peak height of BM-V to that of naphthalene on the chromatogram.

The results showed the possibility that compatibility of BM-V ointment admixed with other ointment or cream can be studied with the present method.

Keywords—betamethasone-17-valerate; naphthalene; ointment; cream; high performance liquid chromatography

従来ホルモン製剤の定量については吸光度法^{1,2)} が用いられてきたが、近年、簡便かつ分析精度の面から HPLC 法が多用されるようになってきている。この方法は軟膏中からのホルモンの分離・定量³⁾ にも用いられているが、吉草酸ベタメタゾン（以下 BM-V と略す）含有軟膏から BM-V を定量した報告はまだない。そこで著者らは HPLC 法を用いて市販軟膏から BM-V を定量することを試みた。さらに、皮膚科領域処方により調剤された他の軟膏またはクリームとの混合製剤からも BM-V を定量することができた。

実験方法

1. 試料・試薬および装置

BM-V 含有軟膏としてリンデロン-VG 軟膏 (Lot No. ZM 06) を用い、配合した軟膏およびクリームは当病院において実際に配合処方されるもののうち5品目を選んだ。それらは 5-FU 軟膏協和® (Lot No. 171 AAK), エンペンドクリーム® (Lot No. B 550), ウレパール® (Lot No. 1L92), ヒルドイド® (Lot No. A22795), 10%サリチル酸ワセリン (院内製剤) である。標準品の BM-V は塩野義製薬から提供してもらった。内部標準物質のナフタレンは液体シンチレーター用 (和光純薬) を再々結晶して用い、溶解剤として使用したシクロヘキサン、および本実験に使用したメタノール、水は HPLC 分析用である。

*¹ 日本薬学会第 103 年会 (東京, 1983 年) で一部発表。

*² 沖縄県中頭郡西原町字上原 207 番地; 207, Aza Uehara, Nishihara-cho, Nakagami-gun, Okinawa, 903-01 Japan

HPLC の装置は島津 LC-4A で、UV 検出器は SPD-2AS である。

2. BM-V の HPLC 法による定量条件

HPLC により BM-V を分離した報告⁴⁾はあるが、保持時間が示されていないことや使用カラムが異なることから、定量条件を検討した。その結果、次の条件が最適条件の一つであったので以後の実験はこの条件に従って行った。

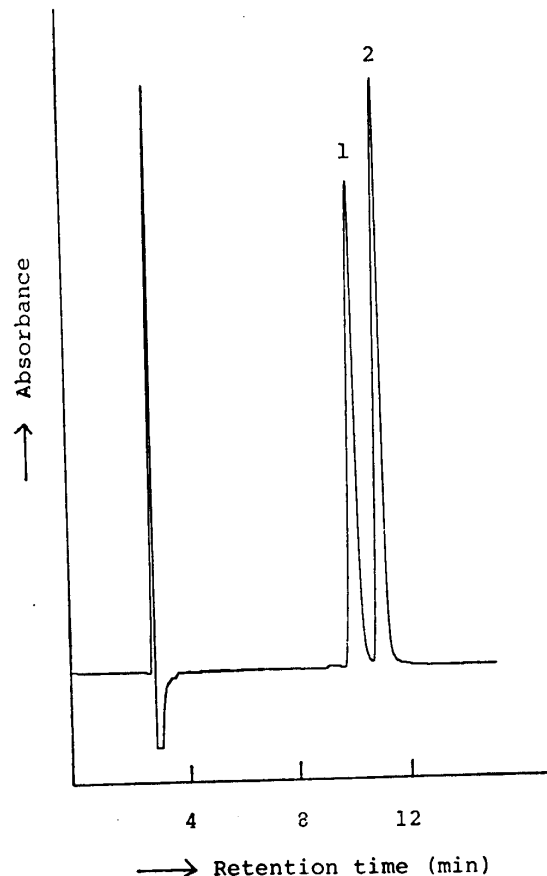
カラム：Zorbax ODS (4.6×250 mm)、ショートガードカラム：同 (4.0×50 mm)、波長：239 nm、移動相：メタノール：水 (75：25)、流速：1 ml/min、圧力：100 kg/cm²、検出感度：0.02 AUFS。

以上の条件でナフタレンを内部標準物質として BM-V を分離したチャートを Fig. 1 に示す。BM-V とナフタレンの保持時間 (tr) は 9.3 min と 10.4 min であり、完全に分離した。次に本法を用いて検量線を作成した。2.5～15 µg/ml の範囲の BM-V の濃度の標準液を調製し、その 10 µl を HPLC に注入した。Fig. 2 から明らかなように、BM-V の濃度と BM-V とナフタレンのピーク高さの比は原点を通る良好な直線性を示したので、十分定量性がわかった。

3. リンデロン-VG 軟膏からの BM-V の抽出・定量

Landgraf らの方法⁵⁾を参考とし、いろいろ検討した結果、軟膏 0.5 g をビーカーに精秤した後、シクロヘキサン 30 ml にて水浴上 (40℃) で溶解し分液ロートに移し、メタノール：水 (9：1) 25 ml でビーカーを洗浄後、分液ロートに加え激しく振とうした後、下層をろ過し分取した。さらにメタノール：水 (9：1) 10 ml で 2 回洗浄・抽出を行い、ろ過後先の下層に加えそれに 1mg/ml のナフタレン液 2 ml を加えた後、メタノール：水 (9：1) を加えて正確に全量 50 ml とした。Landgraf らは抽出に用いるメタノールと水の比を 8：2 としているが、ナフタレンの溶解と後で述べる混合製剤の場合、ビーカー中の残分を溶解させるにはメタノール：水の比率を 9：1 にした方が早いので、この比率を用いた。さらに彼らはクロロホルムにて再抽出を行っているが、著者らはメタノール：水 (9：1) の抽出液 10 µl を直接 HPLC に注入した。

メタノールのみによる抽出法⁶⁾およびイソオクタンとメタノール混液による抽出法⁴⁾では本法の回収量を 100 とした場合に比べ、それぞれの回収率は 79% と 94% であり、本法に比べて低かった。



Model: Shimadzu LC-4A
 Detector: SPD-2AS
 Wave length: 239 nm
 Mobile phase: MeOH:H₂O (75:25)
 Flow rate: 1 ml/min
 Pressure: 100 Kg/cm²
 Column: Zorbax ODS (4.6×250 mm)
 Short guard-column: Zorbax ODS
 (4.0×50 mm)
 (at 40℃)

1. BM-V
 2. Naphthalene (I.S.)

Fig. 1. HPLC of Betamethasone-17-valerate (BM-V)

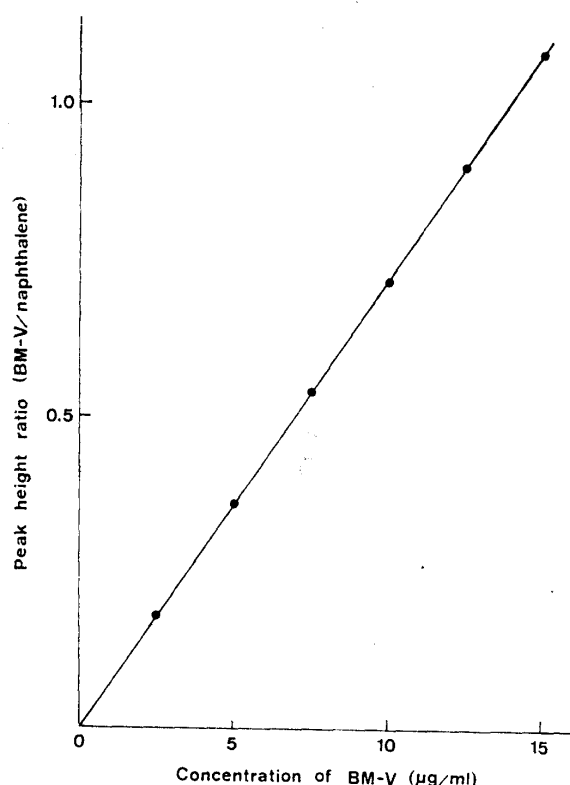


Fig. 2. Calibration Curve for BM-V

4. 他の軟膏またはクリームとの混合製剤からのBM-Vの定量

リンデロン-VG軟膏と他の軟膏またはクリームをおのおの重量比で1:1の割合で秤取し、よく混合した直後各混合製剤1.0gを精秤し、先に述べた方法により抽出・定量した。しかし、ヒルドイドとの混合製剤はメタノール:水の比率を9:1で抽出するとシクロヘキサン層とメタノール層の分離が不可能なため、その比率は8:2とした。逆にウレパールとの混合製剤はメタノール:水を8:2とするとシクロヘキサンとの分離が非常に悪かった。

結果と考察

1. リンデロン-VG軟膏からのBM-Vの定量

Table 1に回収量・標準偏差およびメーカー表示量(600 μg/0.5g)を基にした回収率を示す。この表からわかるように標準偏差は小さく、変動係数は1.2%であり、本実験の抽出・定量法はBM-Vの定量法として適当と思われる。また回収率は100.4%であり、この軟膏には表示量のBM-Vが含有されていることが推定される。しかし、表示量以上のBM-Vが入っている可能性は否定できず、回収率は一応の目安にするのが無難であろう。この市販軟膏には硫酸ゲンタマイシンが混合されているが、アミノグリコシド抗生物質には紫外部におけ

Table 1. Recovery and Reproducibility of BM-V in Rinderon-VG Ointment

Taken (μg)	Found (μg)
600	594.0
	609.0
	596.5
	610.4
$\bar{X}$	602.5
S.D.	7.30
Recovery (%) relative to label claim	100.4

る吸収はないので本法を妨害しなかった。

2. 他の軟膏またはクリームとの混合製剤からのBM-Vの定量

混合製剤からBM-Vを分離したクロマトグラムをFig. 3に示す。混合に用いた軟膏やクリームの成分はBM-Vより先に出現しており、BM-Vのピークは他の軟膏やクリーム中の物質に影響されていないことがわかる。また混合に用いた軟膏やクリーム単独のクロマトグラムにおいて、BM-Vおよびナフタレンとの同じ t_R を示す妨害ピークは認められなかった。

各混合製剤からのBM-Vの回収量・標準偏差および回収率をTable 2に示してある。ウレパールとの混合製剤からの回収量が630.7 μgと最も高い値を示し、ヒルドイドとの混合製剤からのそれは579.8 μgと最も低い値を示している。これらの違いはおおのの標準偏差は小さいことから、混合に用いた軟膏およびクリームの基剤の違いによるBM-Vの抽出の難易によるものと思われる。

結 論

本実験においてHPLCにより市販軟膏からBM-Vが定量できたことは、BM-V含有市販軟膏の品質管理が簡便かつ精度よく行われることが期待できる。また混合製剤からBM-Vを定量できたことは、調剤薬または注射薬を混合する場合に配合性を検討するように、本法により軟膏やクリームを混合する場合の配合性が検討できる可能性を示した。

文 献

- 1) 宮崎順一, 田中一郎, 大谷省治, 新海弘之, 原悦子, 佐藤斐子, 吉沢弘: 薬剤学, 23(4), 41(1963).

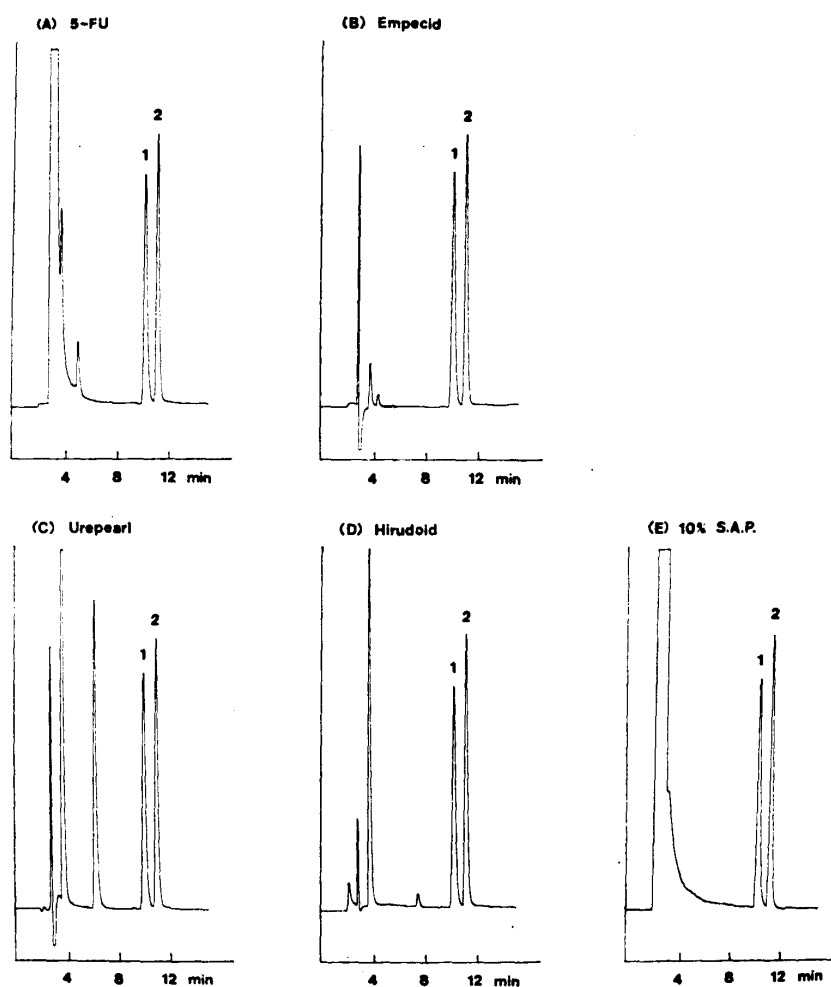


Fig. 3. HPLC of BM-V in Rinderon-VG Ointment Admixed with 5-FU Ointment (A), Empecid Cream (B), Urepearl (C), Hirudoid (D) and 10% Salicylic Acid Petrolatum (E)
1 : BM-V, 2 : Naphthalene

Table 2. Recovery and Reproducibility of BM-V in Admixtures

Admixed Material	Found (μg)	Recovery (%)
5-FU Ointment	612.6 ± 1.97	102.1
Empecid Cream	614.7 ± 10.96	102.5
Urepearl	630.7 ± 3.52	105.1
Hirudoid	579.8 ± 10.13	96.6
10% Salicylic Acid Petrolatum	588.4 ± 6.28	98.1

Data are expressed as the mean $\pm$ S.D., n=4.

- 2) 内藤俊一, 後藤サユリ, 岡田忠三, 菊森清忠, 進藤健治: 薬剤学, 31(4), 304 (1971).
- 3) 山岡桂子, 西川元博, 斎藤好廣, 佐藤孝俊: 病院薬学, 6(2), 99 (1980).
- 4) F. Bailey and P.N. Brittain: J. Chromatogr., 83, 431 (1973).
- 5) W.C. Landgraf and E.C. Jennings: J. Pharm. Sci., 62(2), 278 (1973).
- 6) 佐藤孝俊, 斎藤好廣, 山岡桂子, 佐々木真利子, 水谷告: 油化学, 26(4), 32 (1977).

経口アスピリンの薬効を高めしかも副作用の軽減を可能にした新-解熱・鎮痛・抗炎症剤

静注用アスピリンDL-リジン製剤

® **ヴェノピリン** ®

健保適用

非ステロイド・非ピリン系

“ヴェノピリン”は、新しく開発された
静注用アスピリンDL-リジン製剤です。

●ヴェノピリンの特性

1. アスピリンの血中濃度を急速に高めプロスタグランジンの生合成を抑制する。
2. 作用発現が速い。
3. 優れた解熱・鎮痛・抗炎症効果をもつ。
4. 胃腸粘膜障害が少ないなど安全性に優れている。
5. 非麻薬性、非耽溺性の非ステロイド・非ピリン系薬剤である。

●効能・効果

術後疼痛、症候性神経痛、緊急に解熱を必要とする場合。

●用法・用量

本品は用時アスピリンDL-リジンとして900mgを日本薬局方注射用蒸留水5~20mlに溶解し、静脈内に投与する。通常成人に対し1回アスピリンDL-リジンとして900mgを1日1~2回投与する。

なお、年齢、症状により適宜増減する。

文献集贈呈

※使用上の注意等は、製品添付文書をご参照ください。



三 ド リ 十 字

〒541 大阪市東区今橋1-15-1

®登録商標