

光学，蛍光並びに偏光顕微鏡による医薬品の同定

——調剤室における落下及び浮遊粉じん中の薬物——

市場みすず，金沢 一，清水 昶幸，

幸保美枝子，千賀慶太郎[®]，田村 善藏*

(1985 年 9 月 30 日受理)

調剤室における落下及び浮遊粉じん中の薬物を光学，蛍光及び偏光顕微鏡を用いて非破壊的に同定することを試みた。粉じん捕集は 1985 年 2 月 5 日（火曜日）午前 9 時から午後 5 時まで行った。落下粉じんは，床上 120 cm に設置したメンブランフィルター上に捕集し，浮遊粉じんは，床上 150 cm にメンブランフィルターを装着したホルダーを設置して，550 mmHg で吸引捕集した。捕集した粉じん（落下粉じん：0.36 mg，浮遊粉じん：1.34 mg）は，それぞれ光学，蛍光及び偏光顕微鏡の順に観察し，粒子の形状や色調などを別途に作成した標準標本と比較対照した。その結果粉じんから，中枢神経系用薬 3 種（アレピアチン，ネオフィリン，フェノバル），消化器官用薬 3 種（M. M.，S. M 散，ベクシー），ビタミン剤 2 種（ハイボン，メチコパール）及び賦形剤 3 種（CMC，トウモロコシデンプン，バレイショデンプン）の計 11 種の薬物を同定することができた。賦形剤を除くすべての薬物は，化学イオン化質量分析において，標準標本に合致する分子イオン又はフラグメントピークが観測された。

1 緒 言

調剤室における粉じんは，環境衛生並びに薬物交差汚染の面から重要な問題である。しかし，粉じん中の薬物の同定に関する研究は少ない¹⁾。これらの観点から，著者らは先に慶應義塾大学病院薬局調剤室における落下粉じんを捕集して，薄層クロマトグラフィー及び化学イオン化質量分析を行い，粉じんから 8 種の薬物を同定した²⁾。本研究では，落下とともに浮遊粉じんをも捕集して，粉じん粒子の形状並びに光学的諸性質を光学，蛍光及び偏光顕微鏡により観察し，前回よりも更に微量な粉じんから薬物を非破壊的に同定できるかどうかを検討した。すなわち，近年分析機器の進歩により，医薬品の同定には様々な分析法が利用されているが，多くの場合種々の前処理を必要とし，しかも分析法によっては試料の回収が不可能など不都合な点が多く，従って非破壊的な分析法の開拓が必要と考えたからである。

2 実 験

2.1 粉じんの捕集

落下及び浮遊粉じんの捕集は測定点 1（散剤ひょう量・分包場所付近）²⁾において，1985 年 2 月 5 日（火曜日）午前 9 時より午後 5 時まで行った。落下粉じんは，床上 120 cm に設置したガラス板上にデュラポア GVHP フィルター（孔径 0.22 μm ，47 mm ϕ ，日本ミリポア）を静置して捕集した。一方浮遊粉じんは，床上 150 cm に同種のフィルターを固定したホルダーを設置し，これに気体流量調整オリフィス（日本ミリポア）を装着して，550 mmHg（14.0 l/min）で吸引捕集した。捕集した粉じんは，それぞれシリカゲルデシケーターで室温，30 分間乾燥後，直示分析天びん（H54AR，Mettler）を用いてひょう量した。

2.2 顕微鏡観察

顕微鏡観察は，光学（ニコン XF-21），落射蛍光（ニコン XF-EFD）及び偏光顕微鏡（ニコン XTP-11）（各日本光学製）を用いてそれぞれ倍率 50 又は 100 倍で

* 慶應義塾大学病院薬局：160 東京都新宿区信濃町 35

行い、写真撮影にはエクタクロムフィルム（カラー
スライド用、35 mm, ASA 400, Kodak）を使用し
た。

フィルター上に捕集した粉じんは、そのままスライド
ガラス（50×50 mm）上に移し、光学、蛍光顕微鏡の順
に観察した。偏光顕微鏡による観察は、蛍光顕微鏡観察
後、フィルターを別のスライドガラスに圧着し、付着し
た粉じんについて行った。

2.3 標準標本の作成

薬物の同定に当たっては、顕微鏡下で比較対照を行う
ために、当薬局で散剤として調剤されている約 250 種類
の薬物の標準標本を作成した。すなわち、調剤時の粒子
径になるように必要に応じて薬物を微粉化し、スライド
ガラス（20×70 mm）に置いたデュラポア GVHP フィ
ルター（13 mmφ）上に振動、落下させ、カバーガラス
を付して標本とした。なお偏光顕微鏡用標本にはデュラ
ポア GVHP フィルターは使用しなかった。

2.4 薄層クロマトグラフィー（TLC）

落下及び浮遊粉じんは顕微鏡観察後、それぞれフィル
ターごと、又スライドガラスからエタノール（試薬特
級、和光純薬工業）で熱抽出（5 ml×2, 90°C, 5 分間）
し、濾過後可溶部を減圧濃縮して試料 1 及び 2 とした。
各試料につき、混合蛍光剤含有シリカゲル 70 FM プレ
ートワーク（20×20 cm, 和光純薬工業）を用いて、1-
ブタノール-酢酸-水（4:1:1）で展開後、PAN UV ラ
ンプ（PUV-1 A, 東京光学）を照射してスポットの色
調を観察し、 R_f 値を算出した。

2.5 質量スペクトル（MS）の測定

質量スペクトルの測定は、2.4 の試料 1 及び 2 につき
質量分析計（JMS D-300, 日本電子）を用いて、反応
ガスをイソブタンとする化学イオン化法（CIMS）によ
り、イオン化電圧 70 eV で、直接導入法により行った。

3 結果及び考察

3.1 粉じんの捕集

本研究では、落下及び浮遊粉じんについて分析する
ために、粉じんはフィルター上に捕集した。フィルタ
ーは、顕微鏡観察、TLC 及び CIMS の測定を考慮
して、光線の透過性並びに耐薬品性に優れたデュラポア
GVHP フィルターを採用した。なおフィルターの設置
場所は、散剤ひょう量・分包場所付近（測定点 1²⁾）と
し、高さは落下粉じんについては既報²⁾と同様に 120

cm に、又浮遊粉じんについては、粉じんの吸入を考慮
して 150 cm に設定した。

1985 年 2 月 5 日に捕集した落下及び浮遊粉じんは、
それぞれ 0.36 mg 及び 1.34 mg であり、浮遊粉じんは
落下粉じんの約 4 倍量であった。なお、当日の処方せん
枚数は 1624 枚であり、総散剤量は約 27000 g であっ
た。

3.2 光学顕微鏡観察

捕集した粉じんはまず、光学顕微鏡（50 倍）で観察
し、粒子の分布や形状及び色調などを比較した。その結
果、落下粉じんには 20~30 μm の粒子が多く、浮遊粉
じんには 20~30 μm の粒子に加えて、5 μm 以下の粒子
が多く含有されていることが明らかとなった。又形状に
ついては、両粉じんとも無晶形が多いが、針状晶、板状
晶、柱状晶、球状晶なども観察された。更に色調につい
ては、両粉じんとも灰白色の粒子が多いが、茶褐色や赤
色粒子も若干認められ、特に浮遊粉じんには濃緑色の無
晶形粒子が多数観察された。

次に、粉じん中の個々の粒子を同定するために 100 倍
で観察し、標準標本と比較した。その結果、トウモロコ
シデンプン及びバレイショデンプンはそれぞれ灰白色卵
形及び灰白色球形粒子として、更にメコバラミンを主成
分とするメチコパール（エーザイ）は赤褐色粒子として
それぞれ両粉じんに観察され、いずれも標準標本と良く
一致した。又両粉じんに認められた濃緑色無晶形粒子
は、銅クロロフィリンナトリウムを含有するベクシー（杏
林製薬）あるいはメサフィリン（エーザイ）のいずれか
が考えられたが、CIMS の結果からベクシーであること
が支持された。このほか、フェニトインを主成分とする
アレビアチン（大日本製薬）が両粉じんに茶色柱状晶と
して、又 CMC が落下粉じんに無色糸状物質として観
察されたが、これらの薬物の同定には偏光顕微鏡が適し
ていた。

通常光学顕微鏡では、色調に関する情報は少ないが、
本研究ではフィルターを使用したために、光はフィルタ
ーによって適度に回折、散乱して減弱される結果、若干
ながら色調をとらえることができた。又倍率について
は、特に浮遊粉じんの場合には粒子の密度が高いために、
落下粉じんに比べて高倍率にするほど暗視野となり、
写真撮影にはいずれの顕微鏡においても 100 倍が適
当であった。

3.3 蛍光顕微鏡観察

蛍光顕微鏡観察は、主波長 365 nm の紫外線を照射し

て行った。それより長波長の励起光 (405, 436, 495, 546 nm) では判定が困難であった。蛍光顕微鏡では、青色及び黄色系粒子が両粉じんに多数認められた。青色系粒子は多岐にわたり、同定は困難であったが、黄色系粒子としては、タカジアスターゼ、無機塩類及び生薬類から成る S・M 散 (三共) と、重曹、ゲンチアナ及び重質酸化マグネシウムから成る M.M. (慶應義塾大学病院薬局製剤) が両粉じんに、又リボフラビン酪酸エステルを主成分とするハイボン (東京田辺製薬) が落下粉じんに認められ、これらの薬物は、色調、輝度並びに形状から区別することができた。とりわけハイボンは、強く輝く黄色の蛍光を発し、容易に判定することができた。このほかバレイショデンプン、CMC 及びベクシーと考えられる粒子も観察されたが、これらの薬物の同定には、光学ないし偏光顕微鏡が適していた。

なお、標準標本の蛍光顕微鏡観察では、長時間紫外線を照射すると退色や変色をうける薬物が若干認められたので、粉じんの観察は短時間で行った。

3.4 偏光顕微鏡観察

偏光顕微鏡を用いて粒子の干渉色、複屈折の有無並びに形状などを観察した。その結果、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン及び CMC が両粉じんに観察され、これらはその特異な形状に加えて、複屈折により固有の干渉色を示すことから、光学顕微鏡よりも容易に判定することができた。更に、アミノフィリンを主成分とするネオフィリン (エーザイ) が両粉じんに、又光学顕微鏡において示唆されたアレビアチンが落下粉じんにそれぞれ柱状晶として観察され、これらはいずれも黄色から青色に変化するが、結晶の微細構造が異なることから区別することができた。又、フェノバルビタール製剤であるフェノバル (三共) は、微小針状晶として落下粉じんに認められ、これは、黄色から青色を経て無色に変化した。以上の薬物は、いずれも標準標本の形状と色調の変化とも良く一致することから容易に同定することができた。

このように、偏光顕微鏡の特徴は、結晶の光学的性質により色調の変化を観察できることであり、結晶性薬物の同定に威力を発揮する。ちなみにアミノフィリンとフェノバルについては、これらの粒子を光学及び蛍光顕微鏡で特定することはできなかった。なお、偏光顕微鏡の有用性と、前述の蛍光顕微鏡による変化を勘案すれば、蛍光顕微鏡は最後に使うことが望ましいと考えている。

3.5 TLC 及び CIMS

顕微鏡観察により存在が示唆された薬物を確認するために、エタノール抽出物について TLC 並びに CIMS を行った。混合蛍光剤含有薄層プレートを用いる TLC では、試料が微量なためか、明確なスポットを検出することはできなかった。しかし、CIMS では、アミノフィリン、フェニトイン及びフェノバルビタールの分子量に相当する分子イオンピークがそれぞれ m/z 181 ($M+H$)⁺ (テオフィリンとして)、 m/z 253 ($M+H$)⁺ 及び m/z 233 ($M+H$)⁺ に観察され、更に、S・M 散 { m/z 534, 541 ($M+H$)⁺}, ハイボン { m/z 282, 310 ($M+H$)⁺}, ベクシー { m/z 257, 283, 369 ($M+H$)⁺} 及びメチコバル { m/z 163 ($M+H$)⁺} のフラグメントピークも標準標本のピークと一致し、賦形剤を除いてすべて確認することができた。又カフェイン及びカルバマゼピンの分子量に一致する分子イオンピークが観測されたが、これらはいずれの顕微鏡においてもその粒子を特定するには至らなかった。

4 結 語

本研究では以上のように、微量な粉じんから3種の顕微鏡を用いることにより、11種の薬物 (中枢神経系用薬: アレビアチン, ネオフィリン, フェノバル; 消化器官用薬: M.M., S・M 散, ベクシー; ビタミン剤: ハイボン, メチコバル; 賦形剤: CMC, トウモロコシデンプン, バレイショデンプン) を同定することができた (Table 1)。

落下及び浮遊粉じんは、粒子の分布状態に顕著な差が認められたが、フェノバルとハイボンが落下粉じんにのみ見いだされた点を除いては、いずれの薬物も両粉じんに認められた。

薬物の同定に際しては、各顕微鏡からの情報を相補的に利用したが、ネオフィリン、フェノバル、M.M., ハイボン及びメチコバルでは1種の顕微鏡によって同定した。特に偏光顕微鏡は、粒子の色調の変化を明確に観察できる点で最も有効であると考えられ、結晶光学的特性を有する粒子であれば、確度の高い同定が可能である。事実 A.O.A.C.³⁾ では、240 種に及ぶ結晶性医薬品の光学的諸性質が収載されている。ちなみに渡辺ら⁴⁾ は、薬物の識別・同定を目的に、偏光顕微鏡により日本薬局方収載医薬品についてキー屈折率などを浸液法で測定しているが、本研究では、微量な薬物を非破壊的に同定することを主眼としたので、試料に何らの処理を加えることなく、直接顕微鏡観察を行った。

なお今後は、薬剤の構成成分個々についての標準標本

Table 1 Identified drugs in fallen and floating dust

Drug	Photomicrograph						CIMS <i>m/z</i> (M+H) ⁺
	Optical		Polarizing		Fluorescence		
	Fallen dust	Floating dust	Fallen dust	Floating dust	Fallen dust	Floating dust	
Aleviatin	br	br		b↔y			253 ^{a)}
Neophylline			b↔y	b↔y			195 ^{b)}
Phenobal			b↔y↔c				233 ^{c)}
M. M.					yb	yb	355
Pecsie	g	g	g	g		g	257, 283, 369
S·M				y	y	y	534, 541
Hibon					by		282, 310
Methycobal	r	r					163
CMC	c		b↔y↔c	b↔y↔c	c		—
Corn starch	c		b, y, p	b, y, p			—
Potato starch	c	c	b, y, p	b, y, p	c		—

b : blue, br : brown, by : brilliant-yellow, c : colorless, g : green, p : pink, r : raddish-pink, y : yellow, yb : yellowish-blue; a) phenytoin, b) theophylline, c) phenobarbital.

の作成に加えて、粒子のヨウ素に対する親和性や融点を直接顕微鏡下観察するなど、他の方法を併用することにより、更に多数の薬物の同定が可能となるものと考えている。

本研究に当たり、顕微鏡観察にご便宜を図って下さいました本学医学部解剖学教室安田健二郎教授並びに三啓株式会社島野好央、佐々本芳彦両氏に深謝いたします。又薬じんの捕集に際してご協力いただいた日本ミリボア・リミテッド 山本博誠、岩淵義信両氏と、質量スペクトルを測定して下さいました本学薬理学教室齊藤和季博士並びに山中 肇氏に感謝致します。

文 献

- 1) 力石忠昭, 武田 豊, 仲田欣一, 金久保好男: 薬剤学, **44**, 169 (1984).
- 2) 市場みすず, 金沢 一, 幸保美枝子, 武信貞男, 田口重雄, 千賀慶太郎, 田村善蔵: 薬剤学, **44**, 231 (1984).
- 3) S. Williams, Ed.: "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists", 14th Ed., (1984), (Association of Official Analytical Chemists, Inc, Arlington).
- 4) 渡辺 厚, 山岡由美子, 黒田耕司, 横山照由, 梅田常雄: 薬誌, **105**, 481 (1985).

☆

Identification of drugs with optical, fluorescence and polarizing microscopes; Drugs in fall-

en and floating dust in a dispensary. Misuzu ICHIBA, Hashime KANAZAWA, Nobuyuki SHIMIZU, Mieko KOBO, Keitaro SENG and Zengo TAMURA (Keio University Hospital Pharmacy, 35, Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160)

The fallen dust was collected on a membrane filter at the height of 120 cm from the floor, while the floating dust was sucked on a membrane filter under 550 mmHg at the 150 cm height. Collection of these dust was conducted at one place near the dispensing corner of powders during the period of 9 : 00 am to 5 : 00 pm on Feb. 5, 1985. The respective resulting dust (fallen dust 0.36 mg, floating dust 1.34 mg) was successively examined with optical, fluorescence, and polarizing microscopes. By microscopic comparison of dust with standard drugs, eleven kinds of drugs (three agents affecting central nervous system, three agents affecting digestive organs, two vitamins, and three excipients) were identified from the dust. The existence of all drugs except excipients was also confirmed by the chemical ionization mass spectrometry.

(Received September 30, 1985)

Keyword phrases

identification of drugs in fallen and floating dust in a dispensary; optical microscope; fluorescence microscope; polarizing microscope; chemical ionization mass spectrometry.