The Japan Society for Analytical Chemistry

水蒸気をキャリヤーガスとしたガスクロマトグラフィーの医薬品分析への応用

I. 日本薬局方製剤中のサリチル酸及びフェノールの定量

森下宗夫®，飯塚英昭*，片柳真佐**，矢島毅彦*

(1985 年 10 月 1 日受理)

野中らにより，水蒸気をキャリヤーガスとしたガスクロマトグラフィー (SGC) が提案されて以来，種々の物質の分離やパターン分析に応用され報告されている．著者らは SGC 法が水蒸気をキャリヤーガスに用いることにより，極性物質の誘導体化を省略できる点に着目し，医薬品製剤中の有効成分の定量を試みた．今回はフェノール及びサリチル酸含有製剤に応用した．カラムに 4% リン酸処理した Chromosorb P AW を充てん剤として使用した結果，安息香酸を内標準物質とし，カラム温度 130～240°C (昇温速度 10°C/min)，給水量 10 μl/min で行うと，保持時間はフェノール 4.0 分，安息香酸 8.0 分，サリチル酸 10 分であった．フェノールとサリチル酸の安息香酸に対する重量比 (X_1, X_2) とピーク高さ比 (Y_1, Y_2) の間には，$Y_1=2.736X_1-0.006$ ($r_1=0.996$)，$Y_2=0.529X_2+0.027$ ($r_2=0.998$) の回帰式が成立した．日本薬局方製剤中上記を含む軟こう剤 3 品目及び酒精剤 3 品目につき，その実用性を検討し，良好な結果が得られた．

1 緒　　言

従来のガスクロマトグラフィー (GC) の移動相は一般に不活性ガスである．その性質上吸着クロマトグラフィーの分離には大きな変化を期待できない．しかし，移動相に極性の高い水蒸気を用いた場合は，固定相の表面における吸着作用の変化及び気相中への分配率の変化を生ずると考えられており[1)2)]，分離能への影響が期待できる．水溶液試料をはじめとして特に大きな極性を有する物質，高沸点化合物を含む水溶液，すなわち，乳液・懸濁液の試料にも都合よく利用できる吸着クロマトグラフィーであることが野中[1)~3)]及び田中[4)]により，種々の物質の分離を例として報告されている．

著者らは医薬品には極性物質が多く，複合製剤に注射液を始め水を溶媒とする液剤・乳剤及び軟こう剤など高沸点化合物を含む製剤が多種あることから，水蒸気をキャリヤーガスとしたガスクロマトグラフィー (SGC) に適応できる可能性が大であることに着目し，本法を GC の有する精度・感度・簡便性に加えて迅速で経済性の高い実用分析として応用することを目的とし，本実験に取り組んだ．

フェノール及びサリチル酸は角質軟化薬・抗菌薬として，軟こうや液剤に配合され，第十改正日本薬局方（日局十）にも 10 数種の含有製剤が収載されているが，定量法の確立したものは少ないので，その定量を検討した．

2 実　　験

2・1 標準物質及び試料

標準物質に使用したサリチル酸，フェノール及び安息香酸は，和光純薬工業製特級試薬を用いた．

試料としては以下の日局十製剤を用いた．A：サリチル酸・カーボン軟こう (処方，サリチル酸 10 g，薬用炭 10 g，白色ワセリン 80 g)，B：サリチル酸・フェノール軟こう (処方，サリチル酸 5 g，フェノール 3 g，白色ワセリン 92 g)，C：硫黄・サリチル酸・チアントール軟こう (処方，サリチル酸 3 g，硫黄 10 g，チアントール 10 g，酸化亜鉛 10 g，白色ワセリン 67 g)，D：複方サリチル酸精 (処方，サリチル酸 2 g，フェノール 0.5 g，グリセリン 4 ml，エタノール 80 ml，水で全量を 100 ml とする)，E：トウガラシ・サリチル酸精 (処方，サリチル酸 5 g，フェノール 2 g，トウガラシチンキ 4 ml，ヒマシ油 10 ml，エタノールで全量を 100 ml とする)，F：複方ヨード・トウガラシ精 (処方，液状フェノール 2 ml，ヨードチンキ 20 ml，トウガラシチンキ 10 ml，カンフル 5.5 g，サリチル酸メチル 1 ml，ヒマシ油 10 ml，エタノールで全量を 100 ml とする)

* 東邦大学薬学部：274　千葉県船橋市三山 2-2-1
** 三和生薬株式会社：321　栃木県宇都宮市平出工業団地 1-6

NII-Electronic Library Service

The Japan Society for Analytical Chemistry

なお，以下試料については A～F の記号を用いる．

2・2 試料溶液の調製

サリチル酸を約 10 mg 以上あるいはフェノールを約 4 mg 含む試料を精密に採り（軟こう剤はアルミはく上にとる），エーテル 30 ml に溶解し，不溶物を認めるときは沪過して除去する．溶解した溶液を 0.2 M 水酸化ナトリウム溶液 10 ml で 3 回抽出し，抽出液を 1 M 塩酸溶液で酸性とし，エーテル 3 ml 及び 2 ml で 2 回抽出し，抽出液を合わせエーテルを留去する．これに内標準物質として安息香酸 10 mg を加え，エタノールを加えて溶解し，全量を 10 ml として試料溶液とする．

2・3 SGC 測定条件

装置：大倉理化学研究所製 SSC-1/Model-701
カラム：ガラスカラム，内径 2.2 mm×長さ 3 m
固定相：Chromosorb P AW 60/80 (4% リン酸処理)
移動相：水，給水量 10 μl/min
カラム温度：130～240°C (昇温速度：10°C/min)
検出器：水素フレームイオン化検出器 (250°C)

2・4 検量線の作成

試料溶液を上記条件下において SGC の装置に 2 μl 注入し，得られたクロマトグラムの安息香酸のピーク高さに対する，サリチル酸及びフェノールのピーク高さの比と安息香酸の重量に対する，サリチル酸及びフェノールの重量比を基にした検量線を作成した．

3 結果及び考察

3・1 SGC 測定条件の検討

カラム：弱酸類の分析用充てん剤としては，極性の小さい Chromosorb P AW 及び Porasil F が用いられているが[1)~7)]，更に酸の吸着を弱めるため，Chromosorb P AW に 4% リン酸処理を行ったものを用いた．

カラム温度と水蒸気流量：初めにフェノールの分析条件及びサリチル酸の分析条件を検討し，内標準物質にはいずれも安息香酸を用いて，水蒸気流量及びカラム温度の保持時間に対する関係を調べた．その結果フェノールの定量については，軟こう剤の前処理で残存するエーテル及び酒精剤基剤のエタノールとの分離が可能な，カラム温度 140°C，給水量 18.7 μl/min を最適条件とした．又サリチル酸の定量については，内標準物質の安息香酸との分離を検討し，カラム温度 200°C，給水量 40 μl/min を最適条件とした．

次にサリチル酸及びフェノールの同時定量の測定条件を検討した．フェノールの測定条件ではサリチル酸のピークが広がり {Fig. 1 (a)}，サリチル酸の測定条件ではフェノールが溶媒と分離しなかった {Fig. 1 (b)}．そこで昇温クロマトグラフィーを検討した．予試験の結果，分析温度の差を大きくし，給水量を小さくしたほうが分離が良いことが認められたので，開始温度 130°C，終了温度 240°C，昇温の割合を 1 分間に 10°C とし，給水量 10 μl/min とした．その結果，Fig. 1(c) に示すように，保持時間 4 分にフェノール，8 分に安息香酸，10 分にサリチル酸の良好なピークが得られたので，この条件を用いることとした．

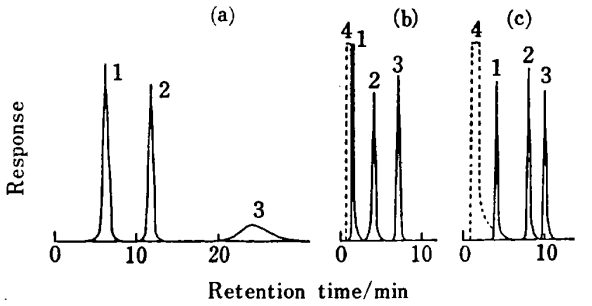

Fig. 1 Chromatograms of a solution containing phenol, salicylic acid and benzoic acid
1 : phenol, 2 : benzoic acid, 3 : salicylic acid, 4 : solvent; (a) : water feeding rate 18.7 μl/min, column temp. 140°C; (b) : water feeding rate 40 μl/min, column temp. 200°C; (c) : water feeding rate 10 μl/min, column temp. 130～240°C (10°C/min); Column : Chromosorb P AW 60/80 modified with 4% H_3PO_4, 2.2 mmϕ×3 m; Detector : hydrogen flame ionization detection (250°C)

3・2 検量線及び定量精度

本法においては，昇温クロマトグラフィーを行うので，内標準物質に安息香酸を用いる内標準法とした．先の測定条件により得られたクロマトグラムより，フェノール及びサリチル酸の安息香酸に対する重量比 (X_1, X_2) とピーク高さ比 (Y_1, Y_2) の間にそれぞれ良好な直線関係式を得た．回帰式は $Y_1=2.736X_1-0.006$, $Y_2=0.529X_2+0.027$, 相関係数はそれぞれ $r_1=0.996$, $r_2=0.998$ であった．

次にクロマトグラムの再現性を検討した．フェノール，サリチル酸及び安息香酸をそれぞれ 4.73 mg, 10.22 mg, 10.05 mg 採り，エタノールを加えて溶解し，全量を 10 ml とした．この溶液の 2 μl を注入したところ，5 回の繰り返し操作による相対標準偏差は，フェノール及びサリチル酸の安息香酸に対するピーク高さ比でそれぞれ 0.16%, 0.39% であり，再現性は十分であった．

NII-Electronic Library Service

The Japan Society for Analytical Chemistry

3・3　製剤の前処理法

3・3・1　軟こう剤　軟こう剤処方中の軟こう基剤としては単軟こう，白色ワセリンなどが，又他の共存するものとしてはチアントール，薬用炭，硫黄及び酸化亜鉛などが含まれているので，それらの影響を検討した．まず軟こう剤のうち共存物の少ない試料Bのエーテル抽出液について SGC を行った．その結果は Fig. 2(a) でノイズが大きく，フェノール及びサリチル酸のピークを確認することはできず，共存物の影響の大なることが認められた．そこでエーテル抽出液を 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液 4 ml で2回抽出し，水にて全量を 10 ml とし検液(b)とした．又試料Bを別にとり，エーテル抽出液を 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液 10 ml で2回抽出し，更にそのアルカリ抽出液を 1 M 塩酸で酸性とし，エーテルにて2回抽出後，エーテルを留去し，残留物をエタノールに溶解し，全量を 10 ml とし検液(c)とした．検液(b)及び(c)のそれぞれ 2 μl を注入して得られたクロマトグラムは Fig. 2(b) 及び(c)である．検液(b)にはノイズが見られるが，検液(c)に比較してピーク高さに差はなかった．従って軟こう剤の前処理としては，アルカリ抽出する(b)かもしくは更に操作を進めてエーテル抽出する(c)かどちらかを採用することとした．

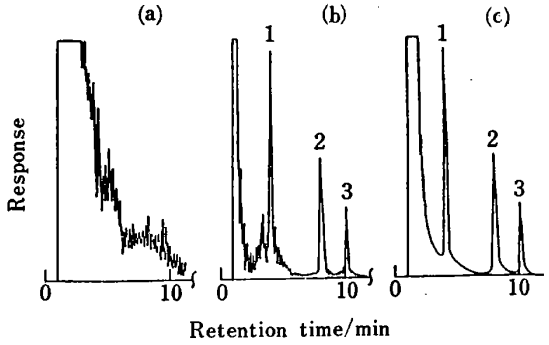

Fig. 2　Comparison of methods for preparation of a test solution from an ointment

1 : phenol, 2 : benzoic acid, 3 : salicylic acid; (a) : ether extract, (b) : alkaline extract, (c) : ether extract of acidified alkaline extract. The conditions are the same as in Fig. 1 (c). For preparation of test solutions, see the text.

次にこの操作の再現性を調べる目的で回収実験を行った．方法は初めに白色ワセリン及び単軟こうそれぞれ 0.1 g をアルミはく上に量り取り，更にサリチル酸 10 mg 及びフェノール 4 mg を精密に量り取る．よく混和後アルミはくごと分液漏斗に移し，前述の抽出操作を行った．安息香酸を抽出液に加えそれぞれ全量を 10 ml とし，検液(b)及び(c)とした．5回繰り返しの回収率の平均値及び相対標準偏差を Table 1 に示した．その結果回収率に差を認めなかった．しかしカラム維持の目的からは検液(c)の調製法を採用することが望ましい．

Table 1　Recovery test of salicylic acid and phenol from ointment

Compound	Alkaline extract (b)		Ether extract of acidified alkaline extract (c)	
	Recovery, %	R.S.D., %	Recovery, %	R.S.D., %
Salicylic acid	99.4	0.80	99.3	0.59
Phenol	99.2	0.72	99.4	0.59

3・3・2　酒精剤　酒精剤処方中に共存するヒマシ油，トウガラシチンキ，グリセリン，カンフル及びサリチル酸メチルなどの影響を検討した．酒精剤の 0.2～0.5 ml を正確に量り，エーテル 10 ml を加え，0.1 M 水酸化ナトリウム溶液 4 ml で2回抽出し，水にて全量を 10 ml とし検液(a)とした．以下軟こう剤に準じて操作を行い検液(b)とした．検液(a)及び検液(b)のそれぞれ 2 μl を注入して得られたクロマトグラムは，Fig. 3(a)，(b) である．

これらの結果は，酒精剤は軟こう剤におけるよりも調製法などによる差を認めないことを示すものである．しかし前述同様カラム維持の目的からは検液(b)の調製法を採用することが望ましい．

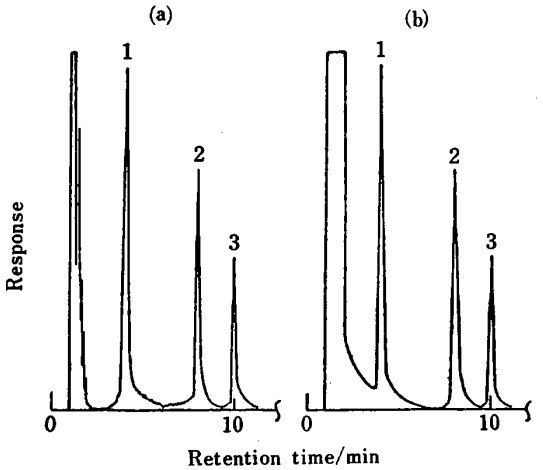

Fig. 3　Comparison of methods for preparation of a test solution from a spirit

1 : phenol, 2 : benzoic acid, 3 : salicylic acid; (a) : alkaline extract, (b) : ether extract of acidified alkaline extract. The conditions are the same as in Fig. 1 (c). For preparation of test solutions, see the text.

NII-Electronic Library Service

The Japan Society for Analytical Chemistry

3・4 製剤中のフェノール及びサリチル酸の定量

薬局方製剤中フェノール及びサリチル酸含有製剤の分析を行った．製剤試料中軟こう剤である A, B 及び C については 0.1～0.4 g を精密に量り，又酒精剤である D, E 及び F については 0.2～0.5 ml を正確に量り，2・2 及び 2・4 に従って操作し，試料溶液を調製後定量を行った．各試料につき 5 回分析した結果を，Table 2 及び Table 3 に示した．その際それぞれの試料の分析で得たクロマトグラムにはフェノール，サリチル酸及び安息香酸を妨害するピークは認められなかった．定量値は同一試料での測定において，ばらつきが少なく十分実用可能であることを示した．

又試料中 F はフェノールのみ，A 及び C はサリチル酸のみを含む試料であり，これらの各試料については，3・1 に示した測定条件（フェノールの測定条件：カラム温度 140°C，給水量 18.7 μl/min；サリチル酸の測定条件：カラム温度 200°C，給水量 40 μl/min）で分析を行った．試料溶液の調製は上記同様に行い，各試料につき 5 回分析した結果を Table 4 に示した．先の同時定量カラム条件の結果に比較してばらつきが小さく，昇温に不可欠な温度の回復を待つ必要がなく，分析時間を短縮できる．従ってフェノールあるいはサリチル酸のいずれか一方を含む場合には，それぞれを定温で分析するほうが良い定量値を得ることを認めた．なおこの方法における検量線の回帰式は，フェノール及びサリチル酸の安息香酸に対する重量比を X_1 及び X_2，ピーク高さ比を Y_1 及び Y_2 とすると，それぞれ $Y_1=3.174X_1+0.052$，$Y_2=0.477X_2-0.003$ であり，相関係数はそれぞれ $r_1=0.9993$ 及び $r_2=0.9992$ であった．

Table 2 Determination of phenol and salicylic acid in ointments

Ointments	Taken/μg P	Taken/μg SA	Found/μg P	Found/μg SA	R.S.D., % P	R.S.D., % SA
A	33.4 24.6 27.8 26.2 31.0	—	3.52 2.58 2.92 2.76 3.26	—	2.50 2.88 2.68 3.20	—	0.78
B	33.6 35.2 31.6 34.8 29.6	1.048 1.098 0.986 1.086 0.924	1.832 1.918 1.722 1.896 1.614	1.064 1.096 0.994 1.112 0.920	1.884 1.948 1.736 1.936 1.632	1.16	0.78
C	67.0 73.6 66.0 69.0 66.6	—	2.052 2.254 2.020 2.112 2.040	—	2.022 2.240 1.998 2.080 2.048	—	0.80

P : phenol; SA : salicylic acid; A : salicylated carbon ointment (Rp. salicylic acid 10 g, medicinal carbon 10 g, white petrolatum 80 g); B : salicylated phenol ointment (Rp. salicylic acid 5 g, phenol 3 g, white petrolatum 92 g); C : sulfur, salicylic acid and thianthol ointment (Rp. salicylic acid 3 g, sulfur 10 g, thianthol 10 ml, zinc oxide 10 g, white petrolatum 67 g)

Table 3 Determination of phenol and salicylic acid in spirits

Spirits (μl)	Taken/μg P	Taken/μg SA	Found/μg P	Found/μg SA	R.S.D., % P	R.S.D., % SA
D 0.04	0.644	1.944	0.648	1.969	0.83	0.97
E 0.04	0.834	1.986	0.832	2.008	1.19	0.86
F 0.04	0.730	—	0.725	—	0.47	—

P : phenol; SA : salicylic acid; D : compound salicylic acid spirit (Rp. salicylic acid 2 g, phenol 0.5 g, glycerol 4 ml, ethanol 80 ml, filled up to 100 ml with water); E : capsicum and salicylic acid spirit (Rp. salicylic acid 5 g, phenol 2 g, capsicum tincture 4 ml, castor oil 10 ml, filled up to 100 ml with ethanol); F : compound iodine and capsicum spirit (Rp. phenol 2 ml, iodine tincture 20 ml, capsicum tincture 10 ml, *d*- or *dl*-camphor 5.5 g, methyl salicylate 1 ml, castor oil 10 ml, filled up to 100 ml with ethanol). The data were obtained after five runs.

Table 4 Determination of phenol or salicylic acid in pharmaceutical preparations

Preparation	Sample taken/μg Pheonl or Salicylic acid	Found/μg	R.S.D., %
	(Salicylic acid)		
A	25.6 28.0 27.0 28.8 27.6	2.69 2.94 2.84 3.03 2.90	2.68 2.95 2.85 3.01 2.88	0.54
	(Salicylic acid)		
C	70.4 65.6 64.8 66.4 67.0	2.156 2.009 1.984 2.033 2.051	2.151 2.000 1.991 2.034 2.038	0.39
	(Phenol)		
F	0.04 μl	0.730 μl	0.728 μl 0.726 〃 0.730 〃 0.728 〃 0.732 〃	0.31

A, C, F : Tables 2, 3.

以上，本法においては従来の GC では不可能であるアルカリ抽出液の直接注入により良好な結果を得た．このことから前処理操作が簡便ですみ，分析所要時間が短縮でき，多数試料の分析に適する点から，フェノール及びサリチル酸を含有する製剤分析に実用し得る方法であることが認められた．

NII-Electronic Library Service

The Japan Society for Analytical Chemistry

文　献

1) 野中　昭："水蒸気キャリアーガス気-固クロマトグラフィー"，(1976)，(応用光学研究所)．
2) 野中　昭：分化，**17**，944 (1968)．
3) 野中　昭：分化，**20**，422 (1971)．
4) 田中多美穂：油化学，**30**，51 (1981)．
5) 野中　昭：分化，**16**，1166 (1967)．
6) 野中　昭：分化，**17**，91 (1968)．
7) 野中　昭：分化，**17**，1215 (1968)．

☆

Application of steam carrier gas chromatography to analyses of pharmaceuticals; I. Determination of salicylic acid and phenol in pharmaceutical preparations in the Japanese Pharmacopoeia X. Muneo Morishita, Hideaki Iizuka*, Masa Katayanagi** and Takehiko Yajima* (*School of Pharmaceutical Science, Toho University, 2-2-1, Miyama, Funabashi-shi, Chiba 274; **Sanwa Shoyaku Co., Ltd., 1-6, Hiraide Kogyodanchi, Utsunomiya-shi, Tochigi 321)

The determination method of phenol and salicylic acid in pharmaceutical preparations was investigated by using adsorption chromatography with steam as a carrier, the temperature of which was more than 100° C. Chromosorb P AW (60～80 meshes) modified with 4% phosphoric acid was employed as a stationary phase. With benzoic acid as an internal standard, both phenol and salicylic acid were able to be determined quantitatively without interference by moisture in samples or solvent alcohol under the following conditions: for phenol, column temperature, 140°C and water feeding rate, 18.7 μl/min; for salicylic acid, column temperature, 200°C and water feeding rate, 40 μl/min. Simultaneous determination of phenol and salicylic acid was performed by raising the column temperature at a rate of 10°C/min from 130°C to 240 °C and at the water feeding rate of 10 μl/min. Benzoic acid was also used as an internal standard for the simultaneous determination. Following results were obtained by the regression analysis of the weight ratio (X_1, X_2) and the peak height ratio (Y_1, Y_2) between phenol or salicylic acid and benzoic acid: regression equations, $Y_1=2.736X_1-0.006$ and $Y_2=0.529X_2+0.027$; correlation coefficients, $r_1=0.996$ and $r_2=0.998$; relative standard deviations after five runs, 0.16% for Y_1 and 0.39% for Y_2. These data indicate that the present method is good enough for quantitative analysis. Under the conditions mentioned above, six pharmaceuticals specified in JPX were successfully analyzed quantitatively.

(Received October 1, 1985)

Keyword phrases

steam carrier gas chromatography; determination of salicylic acid and phenol; pharmaceutical preparation.

NII-Electronic Library Service