

ヘッドスペースガスクロマトグラフィーによる外用剤中の l-メントール、dl-カンフルおよびサリチル酸メチル の同時定量法

中島 慶子 安田 敏子

Simultaneous Determination of l-Menthol, dl-Camphor and Methyl Salicylate
in Pharmaceutical Preparations for External Application Using Head
Space Gas Chromatography

Keiko NAKAJIMA and Toshiko YASUDA

Summary

A simple and rapid method by using head space technique was attempted for the simultaneous determination of l-menthol, dl-camphor and methyl salicylate in medicated spirits intended for external application.

One ml of ethanol solution of a sample was added into a 100ml vial containing 50ml of 30% ethanol solution. Ethyl salicylate was used as an internal standard. After shaking, the bottle was maintained at constant temperature of ambient. One ml of overlying air was injected into a gas chromatograph, equipped with a flame ionization detector. l-Menthol, dl-camphor and methyl salicylate were separated on a glass column (1.5m x 3 mm) packed with 2% Silicone DC QF-1 + 1.5% Silicone OV-17 on Gaschrom Q.

This procedure was found to be applicable to "Compound Methyl Salicylate Spirit", "Dental Phenol with Camphor" (J.P.X) and the commercial anti-inflammatory liniment. Application of this procedure to several cataplasms was also attempted and performed successfully.

I 緒言

l-メントール (ME), dl-カンフル (CA) およびサリチル酸メチル (MS) は消炎鎮痛成分として、外用液剤やパップ剤中に配合されている。これらの分析は水蒸気蒸留により得られた精油のガスクロマトグラフィー¹⁾が一般的である。しかし、この方法は蒸留に長時間を要し、かつ蒸留中に成分揮散の恐れがある。一方、揮発性成分の分析法としてヘッドスペースガスクロマトグラフィーが有用であるが、その応用例は主に環境、食品および生体試料中の有機溶媒²⁻⁵⁾が対象であり、その他の揮発性物質への応用はほとんどなされていない。そこで、今回、定量法が設定されていない局方「複方サリチル酸メチル精」、「歯科用フェノール・カンフル」中のCA, MSの定量法の設定および市販の消炎鎮痛塗布剤中のME, CA, MSの分析の簡便、迅速化を目的として、ヘッドスペースガスクロマトグラフィーの応用を

検討した。また、パップ剤分析への応用についても試みたので報告する。

II 実験

1. 試薬

CAおよびタルク：和光純薬製試薬一級。ポリビニルピロリドン：和光純薬製化粧品用。マレイン酸クロルフェニラミン：東京化成製試薬特級。その他：和光純薬製試薬特級。

2. ガスクロマトグラフ

島津GC-4 CMおよびGC-7 AG (FID検出器付き)。カラム：内径3 mm, 長さ1.5 mのガラス製。充填剤：Gaschrom Q (80-100 mesh) にシリコンDC QF-1 2%およびシリコンOV-17 1.5%をコーティングしたもの(和光純薬製)。カラム恒温槽温度：100°C。試料注入口および検出器温度：150°C。キャリアーガス：窒素ガス (流量40 ml/min)。水素：0.6 kg/cm²。空気：0.5 kg/cm²。ガスタイトシリンジ：ハミルトン社製1002-L-TN。

3. 標準混合溶液

ME1.05g, CA1.80g, MS2.25gをエタノールで50mlとしたもの。

4. 内部標準溶液

サリチル酸エチル (ES) 3gをエタノールで100mlとしたもの。

5. 液剤の分析法

ME 0-6% (W/V), CA 0-4.8% (W/V) または MS 0-8% (W/V) となるように試料をエタノールで希釈する。100mlのバイアルびん中に30%エタノール50mlを分注器を用いて正確に量り、希釈した試料溶液1mlと内部標準溶液1mlを速やかに加え、ゴム栓とアルミキャップで密栓する。ゴム栓はコアリングの少ないものを使用する。バイアルびんを振とう機を用いて30分間振とうし、室温±2℃の恒温水槽中に30分間首まで浸し、そのヘッドスペースガス1mlをガスタイトシリンジを用いてガスクロマトグラフに注入する。試料と同濃度になるようにME, CA, MSのエタノール溶液を調製し、その1mlと内部標準溶液1mlを用いて同様に操作して標準とする。得られた試料と標準のクロマトグラム上のME, CA, MSのESに対するそれぞれのピーク高比の絶対比較により、定量を行なう。

6. パップ剤の分析法

ME 0-60mg, CA 0-48mg または MS 0-80mg 対応量のパップ剤 (約3-4cm平方) を切り取り、重量を測定する。100mlのバイアルびんに入れ、30%エタノール50mlと内部標準溶液1mlを加え密栓し、数時間放置後、振とう機を用いて30分間振とうし、室温±2℃の恒温水槽中に30分間首まで浸し、そのヘッドスペースガス1mlをガスタイトシリンジを用いてガスクロマトグラフに注入する。切り取ったパップ剤と同じ重量のME, CA, MSをその1ml中に含むように調製した標準のエタノール溶液1mlと内部標準溶液1mlを用いて同様に操作して標準とする。分析後、パップ剤の布を取り出し、洗浄、乾燥して重量を測定し、はじめの重量との差を膏体重量とする。定量は液剤の分析法と同様に行なう。

III 結果および考察

1. ガスクロ充填剤の選択

MSやCAの分析には通常10%PEG20Mや20%PEG6000が用いられる。そこで、これらを用いてヘッドスペースガスの注入を行なったところ、ベースラインが乱れ、良好なクロマトグラムが得られなかった。2%QF-1+1.5%OV-17ではガスの注入時にも液体注入時と

同様の良好なクロマトグラムが得られたので、本実験ではこれを用いることとした。

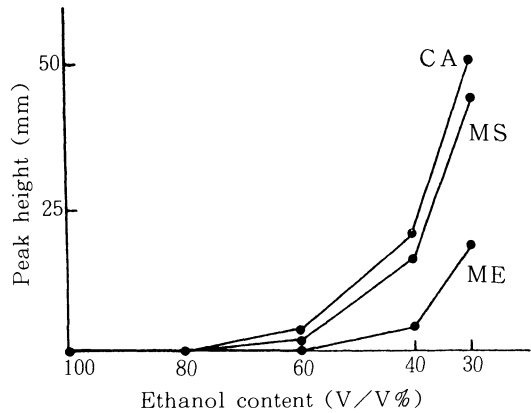


Fig. 1 Effect of Ethanol Content on Gaseous Concentrations of 1-Menthol (ME), dl-Camphor (CA) and Methyl Salicylate (MS)

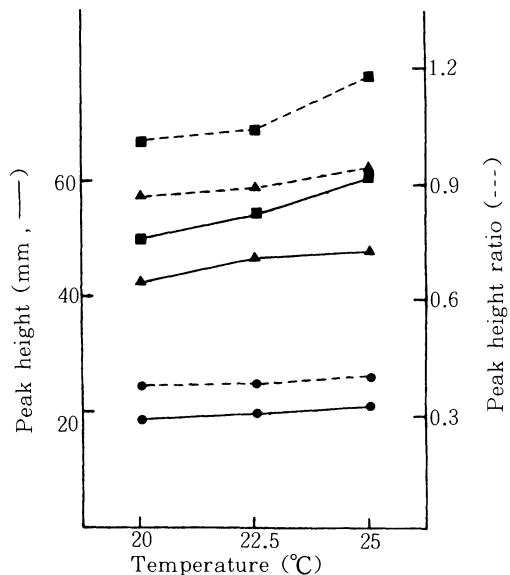


Fig. 2 Effect of Equilibration Temperature on Gaseous Concentrations of 1-Menthol (●), dl-Camphor (■) and Methyl Salicylate (▲)

2. 溶媒の検討

水、エタノール混液のエタノール濃度を100-30% (V/V)まで変え、それぞれの50mlをバイアルびんに採り、標準混合溶液および内部標準溶液各々1mlを加えて、ヘッドスペースガス中の3成分のピーク高の変化を調べた

(Fig. 1)。水の分率が増すと溶質の溶解度が小さくなり、気相濃度が高くなるのでピーク高は大きくなる。しかし、エタノールが30%(V/V)より少ないと、溶質が溶けずに油滴となって分離するので溶媒組成はエタノール30%とした。恒温槽の水温とピーク高、ピーク高比の関係はFig. 2のとおりであった。CAとMSでは温度の増加に伴ない、ピーク高、ピーク高比ともに増加するので、恒温槽の水温は実験中一定に保つ必要がある。

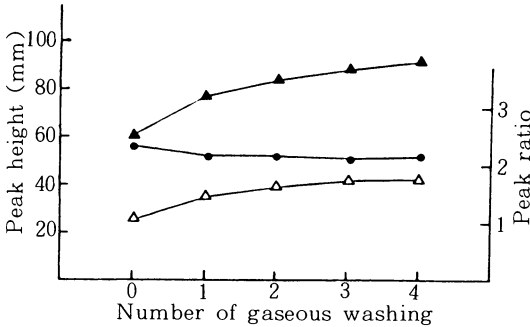


Fig.3 Relation between the Number of Gaseous Washing of Syringe and Peak Height
 -△- : peak height of ethyl salicylate,
 -▲- : peak height of methyl salicylate,
 -●- : peak height ratio (methyl salicylate/ethyl salicylate).

3. ヘッドスペースガスの採取について

ガスタイトシリンジ内にガスを採取する際、1回目に吸入したガスをそのまま注入した場合と何回かガスによる洗浄を行った場合ではピーク高が異なる。しかし、洗

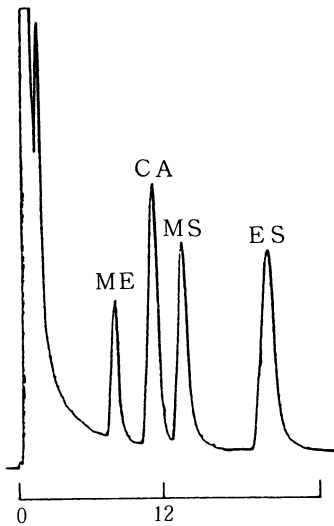


Fig.4 Chromatogram of Standard (Head Space Method)
 peaks:ME,1-menthol;CA,dl-camphor;MS,methyl salicylate;ES,ethyl salicylate (IS).

浄を1回以上行った時のピーク高比はほぼ一定であった (Fig. 3)。本実験では5回目に吸入したガス1mlを

ガスクロマトグラフに注入することとした。使用したシリンジをその都度、アセトンとクロロホルムで洗浄、乾燥することにより、異常ピークの出現を防ぐことができた。

4. 注入の再現性

標準混合溶液および内部標準溶液各々1mlを含む1本のバイアルびんからガス1mlを連続して7回注入した時のピーク高比の変動係数はMEが3.18%, CAが3.96%, MSが0.95%であった。また7本のバイアルびんからそれぞれ1回ずつ注入した時の変動係数はMEが4.64%, CAが2.24%, MSが0.71%とほぼ良好であった。Fig. 4に標準混合溶液および内部標準溶液から成るヘッドスペースガスのクロマトグラムを示した。4成分とも完全に分離した良好なピークが得られた。

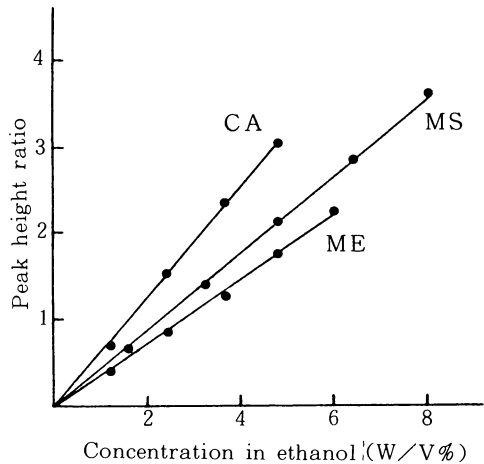


Fig.5 Calibration Curves of 1-Menthol (ME), dl-Camphor (CA) and Methyl Salicylate (MS)

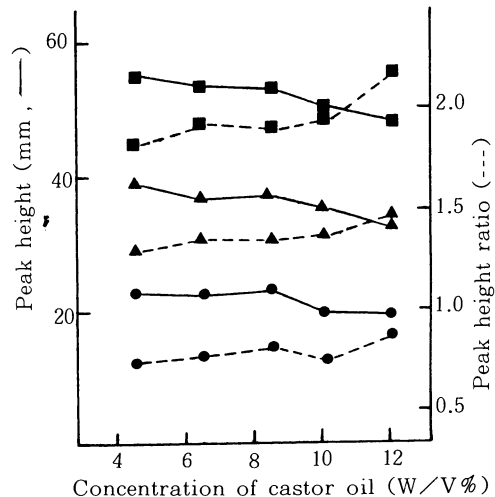


Fig.6 Effect of Castor Oil on Gaseous Concentrations of 1-Menthol (●), dl-Camphor (■) and Methyl Salicylate (▲)

5. 検量線

ME 3 g, CA 3 g, MS 4 g をエタノールで 50 ml とし、その 2, 4, 6, 8, 10 ml をエタノールで 10 ml としたものの各々 1 ml と内部標準溶液 1 ml を用いて、それらのヘッドスペースガスによる検量線を作成した。ME では 0 - 6 % (W/V), CA では 0 - 4.8 % (W/V), MS では

0 - 8 % (w/v) まで原点を通る直線となった (Fig.5)。

6. 外用液剤からの回収率

Table 1 に局方「複方サリチル酸メチル精」、局方「歯科用フェノール・カンフル」および市販の消炎鎮痛塗布剤の成分を示した。これらについての添加回収実験の結果は Table 2 のとおり良好であった。

Table 2. Recovery of l-Menthol (ME), dl-Camphor (CA) and Methyl Salicylate (MS) from Pharmaceutical Preparations

	Compound methyl salicylate spirit	Dental phenol with camphor	Anti-inflammatory liniment
ME			102.1 ± 4.0
CA	97.3 ± 0.4	99.9 ± 3.2	101.9 ± 2.1
MS	99.8 ± 0.8		99.9 ± 1.6
Ave. ± C. V. (%), n = 5			

Table 1. Composition of Pharmaceutical Preparations

Compound methyl salicylate spirit		Dental phenol with camphor		Anti-inflammatory liniment	
MS	4 ml	CA	65 g	ME	5.2 g
CA	5 g	Phenol	35 g	CA	5.2 g
Capsicum tincture	10 ml			MS	5.0 g
to make 100 ml with ethanol				Chlorpheniramine maleate	0.1 g
				Thymol	0.7 g
				to make 100 ml with ethanol	

MS: methyl salicylate, CA: dl-camphor, ME: l-menthol.

7. ヒマシ油の影響

局方「複方ヨードトウガラシ精」についても回収実験を行ったところ、10%含有されているヒマシ油のために、標準と比べて試料のピーク高比が大きくなることが判った。そこで、標準混合溶液中にヒマシ油を 4 - 12% (W/V) 混合し、3成分のピーク高、ピーク高比の変化を調べた (Fig. 6)。ヒマシ油の濃度が増すに伴ない、ピーク高比の増大が認められ、ヒマシ油を含有する試料には本法は応用できないことが判った。

8. パップ剤分析への応用

Table 3 に示した組成のモデル膏体を調製し、その 1.5g と綿布 (3 × 4 cm) 1 枚を 30% エタノール 50 ml とともに 100 ml のバイアルびんに採り、標準混合溶液および内部標準溶液各々 1 ml を加え、回収実験を行った。その結果は Table 4 のとおり満足すべきものであった。そこで市販のパップ剤 3 試料に本法を応用して成分の定量を行った。

Table 3. Composition of Model Cataplast

Component	Added (g)
Concentrated glycerin	15
Talc	50
Gelatin	2.5
Polyvinyl pyrrolidone	3
Distilled water	28

Table 4. Recovery of l-Menthol, dl-Camphor and Methyl Salicylate from Model Cataplast

Ingredient	Recovery (%)
l-Menthol	101.0 ± 2.2
dl-Camphor	103.7 ± 2.1
Methyl Salicylate	100.3 ± 1.0

Ave. ± C. V., (n = 5)

Table 5. Comparison of Head Space Method with Distilling Method

Sample	Ingredient	Results (%) ^{a)}	
		Distilling method	Head space method
Cataplasm I	ME 0.975% ^{b)}	79.1	79.1 ± 4.2 ^{c)}
	CA 2%	64.1	63.1 ± 3.2
	MS 2%	80.9	63.7 ± 3.9
Cataplasm II	ME 0.7%	100.2	96.7 ± 5.8
	CA 0.4%	81.5	85.6 ± 3.7
	MS 0.8%	84.2	85.5 ± 2.2
Cataplasm III	MS 2%	82.2	84.5 ± 3.7

a) Percentage of indicated content.

b) Indicated content.

c) Ave. ± C.V. (%), n = 4.

ME: l-menthol, CA: dl-camphor, MS: methyl salicylate.

また、これらのパップ剤を精油定量法(局方、生薬試験法)に従って蒸留し、得られた精油のエーテル溶液2μlを同一条件のガスクロマトグラフィーで定量した。定量値の比較をTable5に示した。これら3試料では蒸留法と本法とがよく一致したが、その他の水性ゲル基剤を用いたパップ剤では膏体の膨潤等のため、両定量値は一致しなかった。

IV まとめ

ヘッドスペースガスクロマトグラフィーを用いることにより、局方「複方サリチル酸メチル精」、局方「歯科用フェノール・カンフル」および市販の消炎鎮痛塗布剤(酒精剤)中のl-メントール、dl-カンフル、サリチル酸メチルを簡便、迅速に定量することができた。また、本法を市販のパップ剤3試料に応用することができた。

文献

1) 原田裕文 他: 第十改正日本薬局方収載製剤「複

方サリチル酸メチル精」の定性、定量について、医薬品研究, 14, 411-416, 1983.

- 2) Kaiser K.L.E., Oliver B.G.: Determination of Volatile Halogenated Hydrocarbons in Water by Gas Chromatography, Anal. Chem., 48, 2207-2209 (1976).
- 3) Dietz E.A., Jr., Singley K.F.: Determination of Chlorinated Hydrocarbons in Water by Head Space Gas Chromatography, Anal. Chem., 51, 1809-1814 (1979).
- 4) 小嶋 操: ヘッドスペースガスのガスクロマトグラフィーによる発泡酒および炭酸飲料中のエタノールの簡易微量定量法, 醱酵工学雑誌, 54, 479-484, 1976.
- 5) 岡本克夫: 有機溶剤中毒に関する法医学的研究, 独罪学雑誌, 47, 60-74, 1981.