

安田女子大学紀要 45, 303-314 2017.

デキストリンをキラルセクターとしたCE法によるジルチアゼム およびその関連物質のエナンチオマー分離と光学純度測定も 兼ねた製剤定量法の開発

西 博 行

Enantiomer Separation of Diltiazem and its Related Compounds
by Capillary Electrophoresis with Dextrin as a Chiral Selector
and Development of Assay of Diltiazem Formulation with Optical Purity Testing

Hiroyuki NISHI

Abstract

This paper describes separation of enantiomers of diltiazem, its deacetyl form, and 8-chloro derivative by capillary electrophoresis (CE) employing dextrin as a chiral selector. Five different dextrans were used and the optimization of the CE conditions was investigated. As an increase of the concentration of the chiral selector, enantiomer separation is improved with an increase of analysis time. A simultaneous enantiomer separation of these three compounds was achieved at 15 % dextrin addition. As an application of the developed method, a content uniformity testing of diltiazem tablets was investigated. With a use of the internal substance (IS) method, CE content uniformity testing was successfully performed. There is no difference in both data obtained by the conventional HPLC method and the developed CE method. Optical purity testing is also successful by the developed method together with content assay.

Keywords : Capillary electrophoresis, dextrin, enantiomer separation, diltiazem, content uniformity testing

1. はじめに

医薬品は、天然物由来、それらを出発原料とした半合成医薬品、また、全くの合成医薬品などに分けることができる。これらに光学異性体が存在する場合、前者2つでは光学活性医薬品として得られることが多いが、後者の合成品では一般的にラセミ体医薬品が得られ、これまでは β -ブロッカー類に代表されるように、ラセミ体はそのまま医薬品として使用された。

その後、1980年代前後からのキラルテクノロジーの急速な進展により、これらを選択的に合成、あるいは分離評価することが可能となった結果、薬理活性、毒性面や体内動態において、立体特異性が存在することが知られるようになった。具体的には、光学異性体が存在する医薬品で光学活性体（キラル体）は、鎮痛作用や催眠作用など疾病に有効な作用をもつ一方で、もう一方

の対掌体（好ましくないエナンチオマー）には、毒性あるいは味が苦いといった作用を持っていることが分かっている。そのため医薬品は、現在ではラセミ体でなくシングルエナンチオマーとして開発される。年々開発される化合物の分子構造は複雑化し、そのこともあって、今日開発される合成医薬品の70%がキラリティーをもつ化合物といわれている^[1,2]。

このような背景を基に、光学活性な医薬品の品質評価が必須となっている。特に光学活性体（キラル体）の対掌体は、不純物としてとらえられるようになっており、医薬品規制当局は、この対掌体不純物（マイナーエナンチオマー）に対してICHガイドライン^[3]を適応し、原則0.1%レベルの評価が要求される。光学異性体の分析法には、光学活性な固定相をもつカラム（キラルカラム）を用いるか、光学活性試薬を用いてジアステレオマーに誘導体化した後、通常のクロマトグラフィーにより光学分割する手法が汎用され、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）やガスクロマトグラフィー（GC）による分析法が一般化している。また、分取では、キラルカラムを用いる超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）が実用化されている^[4-10]。

一方、キャピラリー電気泳動（CE）法を用いた分析法も利用されている。CE法は、分離性能が高く、分析が迅速である、試料量や溶媒量が少量で済む、原則水性の溶媒を用いるため環境への影響が少ない、メソッド開発が容易であるなどの特長をもつ。光学異性体分析においては、泳動液にシクロデキストリン（CD）などのキラルセクターを添加するだけでエナンチオマー分離が可能であり、他の分析法と比べて安価で簡便に行えるという利点を持つ^[10-13]。我々は、これまでCE法の特長を生かした応用として、光学異性体の分離分析法の開発研究を行っており、キラルセクターとして多糖類が有用であること、多糖類のうち、デキストリンはジルチアゼムのエナンチオマー分離に有効であることを報告しているが^[13-15]、今回はジルチアゼムの関連物質も含めた化合物の分離について検討を行い、一斉エナンチオマー分離およびジルチアゼム（ヘルベッサー）のエナンチオマー分離を兼ねた含量均一性試験を行った^[16]。また、従来のODSカラムを用いた日本薬局方収載法であるHPLC法による含量均一性試験も併せて行ったので結果について報告する。

2. 実験方法

2.1 試料および試薬

検討に用いたジルチアゼムとその関連物質は、以下のとおりである。ジルチアゼム塩酸塩（活性体（図1）およびラセミ体）、8-クロロジルチアゼムマレイン酸塩（活性体およびラセミ体）はいずれも田辺三菱製薬㈱から入手したものをそのまま用いた。ジルチアゼムの脱アセチル体（ラセミ体）は、ジルチアゼム塩酸塩（ラセミ体）の1 mg/mLメタノール溶液1 mLに、1 mol/L水酸化ナトリウム溶液20 μ Lを加え、約80°Cで15分加温により加水分解させ、HPLCにより脱アセチル体に全て分解されていることを確認して使用した。また、ジルチアゼム製剤としては、ヘルベッサー錠60 mg（田辺三菱製薬㈱）の市場品を用いた。ジルチアゼム以外のラセミ体としては、臭化チペピジウム、トリメトキノール塩酸塩、スルコナゾール硝酸塩（以上、田辺三菱製薬㈱）、d-クロルフェニラミンマレイン酸塩、ベラパミル、プリマキンリン酸塩（以上、和光純薬工業㈱）を、また、チペピジンヒベンズ酸塩（田辺三菱製薬㈱）も用いた。更にプロピオン酸系の抗炎症剤としてイブプロフェン、ナプロキセン、フルルビプロフェン、ケトプロフェンおよびプラノプロフェン（以上、アルドリッチ）も用いた。

CE用のキラルセクターとして用いたデキストリンは、アミコール1L、アミコール5L、白色デキストリン、黄色デキストリン、日本薬局方(JP)デキストリンで、これらは日澱化学(株)(大阪市)から提供されたものを使用した。その他、シクロデキストリン(CD)として、 α -CD、 β -CD及び γ -CD(和光純薬工業(株))を使用した。リン酸二水素カリウム、尿素、リン酸(85%)、塩酸(以上、試薬特級)およびHPLC用メタノールは、和光純薬工業(株)から購入したものを使用した。水は、Elix UV純水製造装置(MILLIPORE,日本ミリポア(株))を使って、精製したものを使用した。

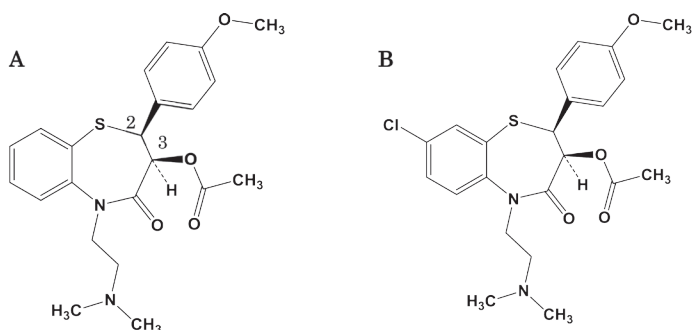


図1 ジルチアゼム(DIL)((+)-(2S,3S))(A)とその8-クロロ誘導体(CLD)((+)-(2S,3S))(B)の構造
ベンゾチアゼピン構造の2位, 3位がともにS-体であるものが活性体((+)-(2S,3S))で, 3位のアセチル基が脱離したものが脱アセチル(OH)体。OH体は, 本薬物の前駆体, 主不純物かつ主代謝物である。

2.2 装置および実験方法

CE装置は、ベックマン・コールター株式会社製キャピラリー電気泳動P/ACEシステムMDQを、解析ソフトは同社の32 Karatを用いた。分析に用いたキャピラリーは、内径75 μm 、長さ60 cm(有効50 cm)の溶融シリカキャピラリーeCAP Capillary Tubing(ベックマン・コールター)を使用した。なお、キャピラリーは、装置の保冷剤により25°Cの一定温度とした。印加電圧は、+30 kV一定とし、ファトダイオードアレー検出器を用いて、200 nm及び254 nmで測定を行った。泳動液は、0.02 mol/Lリン酸二水素カリウム溶液に薄めたリン酸(1 \rightarrow 10)を用いてpHを調整し、孔径0.45 μm のメンブランフィルター(Life Sciences)を用いてろ過後、また、キラルセクターを添加する場合は、添加後にろ過し、超音波洗浄器AU-16C(東京理科器械(株))で脱気して分析に供した。試料注入は、陽極側から圧力法(0.5 psiで5 s)により行った。キャピラリーは、使用前は、0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液で5分程度洗浄した後、純水で3分間洗浄し、最後に泳動液で2分洗浄を行った。各分析前は、純水で1分間洗浄した後、泳動液で1分間洗浄を行った。

HPLC法による含量均一性試験に用いた装置は、(株)島津製作所(京都)のProminence装置一式(UHPLC対応)を使用した。ポンプはLC-20AB(耐圧上限40 MPa, 約400 kg/cm²)、オートインジェクターとしてはSIL-20ACを、多波長検出器としてSPD-M20A(システムコントローラはCBM-20A, カラムオープンはCTO-20A)を用いて40°C一定とし、また、デガッサーDGU-20A3

を使用した。HPLCカラムは、Phenomenex Gemini NX5u C18 (5 μ m, 4.6 mm i.d.×150 mm) を、移動相はメタノール/0.05 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 3.0) 混液 (3 : 2) を用いた。

2.3 CEでのエナンチオマー分離の検討

ラセミ体 1 mg/mLのメタノール溶液を調製し、この溶液を適宜、10 倍程度純水で希釈したものを試料溶液とした。また、活性体が入手可能なものに対しては、ラセミ体に活性体を添加したものを調整し、分析に供した。用いたキラレセクターは、上記のデキストリン 5 種類と 3 種類のCDである。

2.4 CE法によるジルチアゼム製剤の含量均一性試験

錠剤一個をとり、抽出溶媒としてメタノール・0.05 mol/L混液 (1 : 1) 40 mLを加え、約20分超音波洗浄器を用いて照射し、十分崩壊させる。その後、抽出溶媒を加えてよく振り混ぜた後、正確に 50 mLとし、メンブランフィルターでろ過する。ろ液 2 mLを正確にとり、内標準溶液 (以下記載のIあるいはII) 2 mLを正確に加え、精製水で 20 mLとしたものを試料溶液とする。別にジルチアゼム (活性体) 60 mgを精密に量り、抽出溶媒を加えて正確に 50 mLとし、標準原液とする。標準原液 2 mLを正確にとり、内標準溶液 2 mLを正確に加え、精製水で 20 mLとしたものを標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 (200 μ Lをサンプルカップに入れる) につき、次の条件で日局・参考情報・キャピラリー電気泳動法により試験を行い、内標準物質のピーク面積に対するジルチアゼムのピーク面積の比を求める。以上の内標準法により含量を求め、日局・一般試験法・製剤均一性試験法1に準じて試験を行う。

内標準溶液

I : 8-クロロジルチアゼム 60 mgを量り、抽出溶媒を加えて溶かし、50 mLとする。

II : チベピジンヒベンズ酸塩 180 mgを量り、抽出溶媒を加えて溶かし、50 mLとする。

操作条件

検出波長 : 200 nmあるいは 254 nm (多波長検出器)

キャピラリー : 内径 75 μ m, 長さ 60 cm (有効 50 cm) の溶融シリカ管

キャピラリー温度 : 25°Cの一定温度

泳動液 : 指定した濃度のデキストリンを含む 0.02 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 2.5)

印加電圧 : +30 kVの一定電圧

試料注入 : 圧力法 (0.5 psi で 5 sの一定時間)

2.5 HPLC法によるジルチアゼム製剤の含量均一性試験

錠剤一個をとり、抽出溶媒としてメタノール・0.05 mol/L混液 (1 : 1) 80 mLを加え、約20分超音波洗浄器を用いて照射し、十分崩壊させる。その後、抽出溶媒を加えてよく振り混ぜた後、正確に 100 mLとし、メンブランフィルターでろ過する。ろ液 2 mLを正確にとり、抽出溶媒を加えて正確に 100 mLとしたものを試料溶液とする。別にジルチアゼム (活性体) 60 mgを精密に量り、抽出溶媒を加えて正確に 100 mLとし、標準原液とする。標準原液 2 mLを正確にとり、抽出溶媒を加えて正確に 100 mLとしたものを標準溶液とする。試料溶液および標準溶液

それぞれ 10 μ L を正確にとり、次の条件で日局・一般試験法・液体クロマトグラフィー<2.01>により試験を行い、日局・一般試験法・製剤均一性試験法1にしたがって試験を行う。

操作条件

検出器：紫外可視吸光光度計（測定波長：254 nm）

カラム：内径 4.6 mm、長さ 15 cm のステンレス管に 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。

カラム温度：40℃ 付近の一定温度

移動相：メタノール / 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液（pH 3.0）混液（3 : 2）

流量：1 mL/min

3. 結果及び考察

3.1 CE分析条件の最適化

3.1.1 泳動液のpHの影響

ジルチアゼム類のエナンチオマーの分離について検討を行うにあたり、まず、泳動液のpHがジルチアゼム（DIL）とその分解物（かつ主不純物、主代謝物でもある）脱アセチル体（OH体）との分離に及ぼす影響を検討した。ジルチアゼム（図1参照）は、構造にジメチルアミノエチル基を有する塩基性化合物であり、酸性領域では正に帯電して、負極側に泳動する。そこで 0.02 mol/L リン酸塩緩衝液を用い、pH 2.0、2.5 および 3.0 について影響を検討した。その結果を表1に示す。狭いpH範囲であったので泳動時間に及ぼす影響は大きくなかったが、OH体、DILの順に泳動し、両者の分離度（Rs）が pH 2.5 のときに約1.6と最も大きな値を与えた（図2A参照）。そこで、以下の検討には、pH 2.5の泳動液を用いることとした。

3.1.2 デキストリンの種類の影響

CE法によるエナンチオマー分離では、泳動液に単にキラルセクターを添加し、エナンチオマー間との間で形成されるジアステレオメリックな関係を形成させることで分離が達成される。CE法に適用されているキラルセクターとしては、CD、クラウンエーテル類、多糖類、タンパク質、キラル界面活性剤など多数あるが、DILに対しては、キラルセクターとしてデキストリンが有効であることを既に報告している¹¹⁵⁾。今回は、デキストリンとして市販されているもののうち、酵素変換による製造品2種類（アミコール）と焙焼によるデキストリン3種類の計5種類について、エナンチオマー認識に及ぼす影響を検討した。

上記のデキストリンをそれぞれ 4% 添加した泳動液（pH 2.5）を用いて、DIL およびその OH 体、いずれもラセミ体のエナンチオマー分離を行った。結果を表2に示す。デキストリンを添加することにより、緩衝液のみでの泳動順が逆転し、(+) -DIL、(+) -OH 体となり、その後 (-) -DIL、(-) -OH 体であった（図2B参照）。デキストリンは電気的に中性であるために、pH 2.5 条件では非常に弱い（遅い）電気浸透流とともに、正極側に移動するが、このデキストリンの濃厚な高分子溶液の中を正に帯電した化合物は比較的早い電気泳動速度で同じく正極側に移動することになる。この際に、ジルチアゼムよりも OH 体のほうが、デキストリンと強く相互作用することがわかった。また、活性体である (+) 体よりもそのエナンチオマーの (-) 体がよ

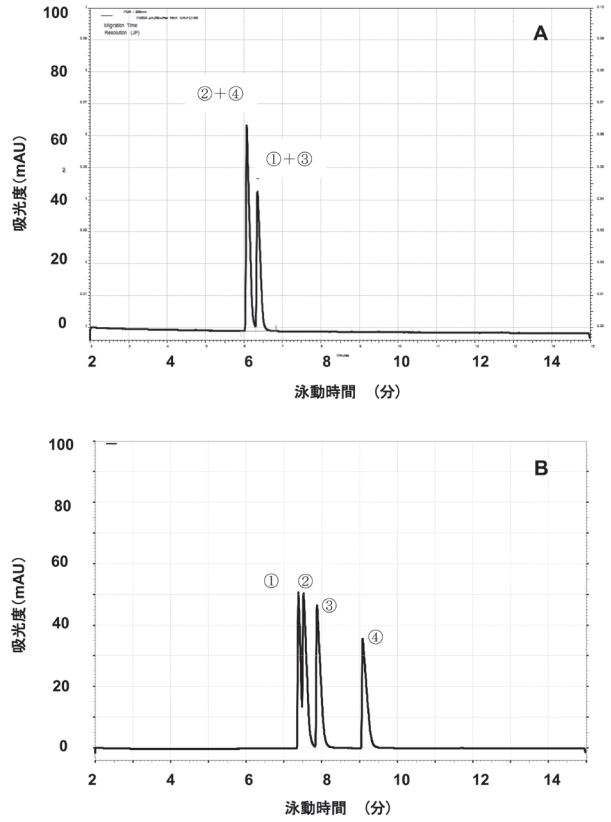


図2 CEによる(±)-(DIL)およびその脱アセチル(OH)体の分離
 A: デキストリン無添加, B: デキストリン4%添加
 試料① (+)-DIL ② (+)-OH ③ (-)-DIL ④ (-)-OH

キャピラリー: 内径 75 μ m, 有効長 50 cm, 温度: 25 $^{\circ}$ C, 印加電圧: 30 kV, 検出: UV 254 nm, 緩衝液: 0.02 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 2.5) にデキストリン (アミコール 5 L) を添加, 試料注入: 圧力法 (0.5 psi, 5 s) 0.1 mg/mL 溶液

表1 緩衝液のpHのDILとそのOH体の分離に及ぼす影響

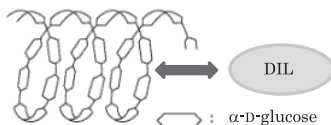
pH	Migration time / min		Rs
	OH-form	DIL	
2.0	5.117	5.325	1.087
2.5	6.071	6.350	1.646
3.0	6.033	6.317	1.346

り強く相互作用され, 結果として上記の泳動順になった。デキストリンは, その構成ユニットであるD-グルコースが α (1 \rightarrow 4) 結合により連なったアミロースであり, 水溶液中ではらせん構造をとることが知られている (表2参照)。CDと異なるこのゆるやかならせん構造がジルチアゼム

の大きさとマッチしたものと推定された。表2より、製造方法により多少の識別能（分離係数 α ）の差が認められたが、以後の検討には移動時間の最も短かったアミコール 5L を用いることとした。このデキストリンの製造法の違いによる選択性の差は、その分子量、またその分子量分布によるものと推定された。

表2 異なるデキストリンによるDILとそのOH体のエナンチオマー分離

Selector	Migration time (min)				Separation factor (α)	
	(+)-DIL	(-)-DIL	(+)-OH	(-)-OH	DIL (α)	OH (α)
Amycole 1L	7.72	8.338	7.833	10.03	1.080	1.280
Amycole 5L	7.383	7.875	7.517	9.088	1.067	1.209
White dextrin	8.458	9.342	8.583	12.20	1.105	1.421
Yellow dextrin	8.463	9.250	8.567	11.79	1.093	1.376
JP dextrin	8.408	9.342	8.475	12.50	1.111	1.475



3.1.3 デキストリン濃度の影響とジルチアゼム類エナンチオマーの一斉分離の検討

キラルセクターであるアミコール 5L の添加濃度がジルチアゼム及びOH体のエナンチオマー分離に及ぼす影響について検討した。0.02 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 2.5) にアミコール 5L を2～15%となるよう添加し（溶解しにくい場合は加熱して）溶解させた後、0.45 μ mメンブランフィルターでろ過し、泳動液とした。予想したとおり、濃度の上昇とともに、化合物との相互作用が強まり、泳動時間が遅くなり、それに伴って分離が改善された。ジルチアゼムおよびOH体（いずれもラセミ体）のエナンチオマー分離における結果を表3に、ジルチアゼムとその8-クロロ誘導体（いずれもラセミ体）のエナンチオマー分離を表4にまとめる。表3と表4において選択性 α は、デキストリン添加濃度の上昇とともに大きくなっているが、一方、分離度 R_s に関しては、ピーク形状が対称性にかけることによるものと考えられるが多少ばらつきが見受けられた。分離例として、DIL、そのOH体（いずれもラセミ体）に8-クロロ誘導体 (CLD)（ラセミ体）を加えた3者のものを図3に示す。15%の添加により、3者の相互分離が可能となった。なお、15%濃度では、かなり粘性が高かく、扱いにくい溶液となった。

そこで、その他の添加剤でエナンチオマーの分離選択性が改善された報告ある、有機溶媒（メタノール）、尿素、また、いくつかのCDを、デキストリンの低い濃度（4%）に追加で加え、エナンチオマー分離の改善について検討した。しかし、いずれの場合も単独でデキストリンを持っていた場合より、選択性 α が低下したため、最初に述べたアミコール 5L のみをキラルセクターとすることとした。なお、デキストリンでは、評価したいジルチアゼムのマイナーエナンチオマーにあたる（-）体が活性体である（+）体のあとに移動するために、純度試験法としては不利となる。エナンチオマーの移動順については、用いるキラルセクター、多糖類の種類により反転する可能性があり、今後検討を進めたい。

表3 デキストリン濃度のDILとそのOH体のエナンチオマー分離に及ぼす影響

Concn. (%)	(+)-DIL (min)	(-)-DIL (min)	(+)-OH (min)	(-)-OH (min)	α (DIL)	α (OH)	Rs (DIL)	Rs (OH)
2	6.917	7.271	7.075	7.904	1.051	1.117	2.084	4.831
4	7.375	7.846	7.487	9.096	1.064	1.215	3.198	8.916
6	8.117	8.750	8.167	10.663	1.078	1.306	4.546	11.91
8	8.854	9.658	8.854	12.125	1.091	1.369	3.134	12.32
10	9.571	10.58	9.675	13.583	1.105	1.404	5.535	19.40
15	12.046	13.77	12.44	18.354	1.143	1.475	6.783	23.40

表4 デキストリン濃度のDILとCLDのエナンチオマー分離に及ぼす影響

Concn. (%)	(+)-DIL (min)	(-)-DIL (min)	(+)-CL (min)	(-)-CL (min)	α (DIL)	α (CL)	Rs (DIL)	Rs (CL)
2	6.971	7.296	7.142	7.558	1.047	1.058	1.92	2.39
4	7.558	7.946	7.871	8.479	1.051	1.077	2.55	4.06
6	8.167	8.637	8.637	9.450	1.058	1.094	1.97	2.99
8	8.846	9.537	9.471	10.512	1.078	1.110	4.15	6.21
10	9.546	10.488	10.304	11.571	1.099	1.123	4.25	7.32
15	12.088	13.808	13.208	15.254	1.142	1.155	6.98	5.30

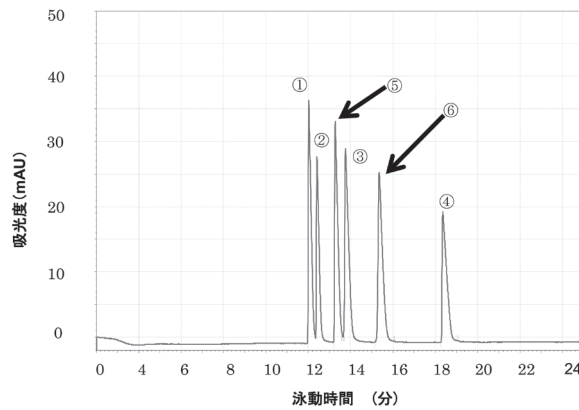


図3 デキストリン (15%) 添加による(±)-DIL, (±)-OHおよび(±)-CLDの一斉エナンチオマー分離
分析条件及び試料①~④は図2と同じ。試料 ⑤(+)-CLD ⑥(-)-CLD

3.2 ジルチアゼム製剤分析への応用

3.2.1 CE法によるジルチアゼム製剤の含量均一性試験 (その1)

CE法では、HPLCとは異なり泳動時間および試料注入量の再現性が劣るため、内標準 (IS) 法による定量を採用することが一般的である。そこで、純度が確認されている製剤の含量均一性を評価する含量均一性試験につき、ジルチアゼム製剤 (ヘルベッサ錠 60 (ジルチアゼム塩酸

塩 60 mg 含有)) を対象に検討を行った。なお、今回の含量均一性試験では、キラルセクターを用いた条件で実施するので、光学異性体の確認、あるいは光学純度も含めた試験法となる。

内標準物質としては、DILの近傍に泳動し、関連物質のピークと重複しないものとして、今回のエナンチオマー分離の対象とした 8-クロロ誘導体であるCLDを用いて検討を行った。分析条件としては、DILとIS物質が分離されるアミコール 5L 濃度 2 %とした。また、製剤からの抽出溶媒については、DILの溶解を考慮し、メタノール、メタノール・0.05 mol/L 塩酸混液 (1 : 1) について検討を行ったが、どちらも回収率は問題ない結果を与えたので、後者を選択した。

含量均一性試験法は、日局・一般試験法・含量均一性試験に準じて試験を行った。試料 10 個につき試料溶液を調製し、標準溶液とともに各々 5 秒間加圧法によりキャピラリーに導入してCE分析を行った。図 4 A に標準溶液のクロマトグラム例を示す。また、含量均一性試験の結果を表5 (CE-1) に示す。含量値 98.2%, 相対標準偏差 2.58%, 判定値は 6.39%となり、日局・含量均一性試験の判定値15%以下となり、試験に適合した。

3.2.2 CE法によるジルチアゼム製剤の含量均一性試験 (その2)

上記で用いたCLDは、対象のDILの関連化合物で物性が似ており、また、近傍に泳動することからIS物質として好ましいが、入手が困難である。また、2 %アミコール 5L 条件で泳動時間がDILの直後であり、OH体の泳動時間と近く、製剤の純度が確認されているものを対象としている。

そこで、DILよりも後に泳動するマイナーエナンチオマーや活性体のOH体と重複しないIS物質を探索した。候補として、臭化チペピジウム、トリメトキノール塩酸塩、d-クロルフェニラミ

表5 CE法 (2種類) 及びHPLC法によるジルチアゼム錠の含量均一性試験の結果

Entry	Content (CE-1)	Content (CE-2)	Content (HPLC)
1	95.5	101.7	100.4
2	97.1	101.1	99.7
3	102.4	99.4	100.75
4	95.8	103.0	101.4
5	100.4	96.6	97.1
6	98.5	102.2	99.6
7	99.5	100.6	99.6
8	99.5	96.2	104.9
9	99.1	99.3	97.6
10	94.1	99.2	99.4
Average (%)	98.2	99.9	100.0
SD (%)	2.53	2.23	2.17
RSD (%)	2.58	2.23	2.17
Acceptable Value	6.39	5.35	5.21

ンマレイン酸塩, チペピジンヒベンズ酸塩などの塩基性薬物について検討したところ, チペピジンがDILより前に泳動し, IS物質として適していたため選択した。

上記3.2.1と同様に日局・一般試験法・含量均一性試験に準じて試験を行った。試料 10 個につき試料溶液を調製し, 標準溶液とともに各々 5 秒間加圧法によりキャピラリーに導入してCE分析を行った。図 4Bに標準溶液のエレクトロフェログラム例を示す。また, 含量均一性試験の結果を表 5 (CE-2) に示す。含量値 99.9%, 相対標準偏差 2.23%, 判定値は 5.35%となり, 日局・含量均一性試験の判定値15%以下となり, 試験に適合した。

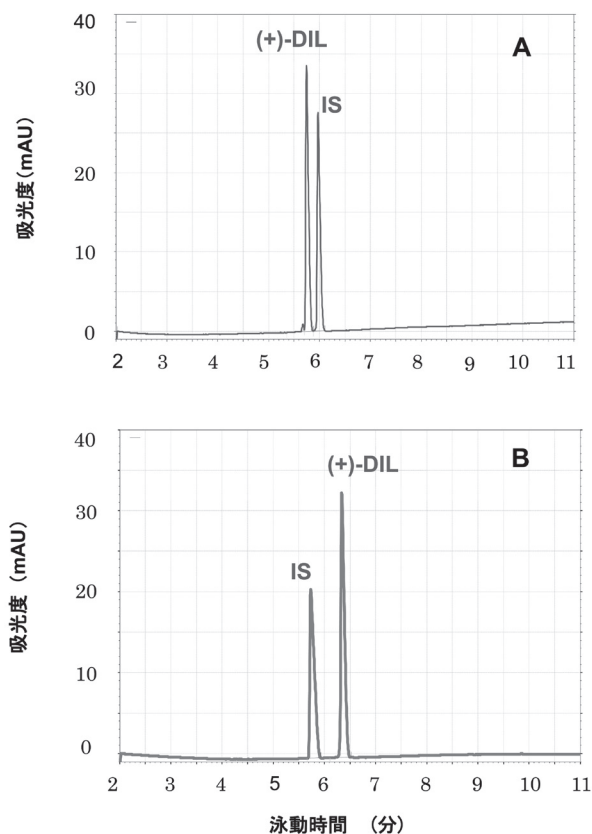


図4 内標準 (IS) 法によるジルチゼム錠の含量均一性試験での標準溶液のエレクトロフェログラムIS物質: A: (+)-CLD, B: チペピジン。分析条件は図2と同じ (ただし, デキストリン濃度2%)

3.2.3 HPLC法によるジルチアゼム製剤の含量均一性試験

CE法による含量均一性試験と比較する目的で, HPLC法による含量均一性試験を行った。

HPLC法では, 試料の注入精度が高いため, 一般的に内標準物質を加えない方法で試験法が行われる。設定した上記記載の試験法に従って試験を行った結果, 含量値 100.0%, 相対標準偏差 2.17%, 判定値は 5.21%となり, 日局・含量均一性試験の判定値である15%以下となり, 試験に

適合した。含量均一性試験の結果を表5にあわせて示す。上記2つのCE法による結果は、HPLC法による結果と同等であることが確認された。

3.3 デキストリンによるジルチアゼム以外のエナンチオマー分離の検討

最後に、キラルセクターとして用いたデキストリンにつき、他のいくつかの医薬品（エナンチオマー）の識別について検討を行った。塩基性薬物に対しては、DILで用いた分析条件、すなわち、デキストリンを含む0.02 mol/Lリン酸塩緩衝液（pH 2.5）で検討したところ、チペピジウム、スルコナゾール、ベラパミル、プリマキンが、また、酸性の薬物であるプロピオン酸系の抗炎症剤の場合は、デキストリンを含む0.02 mol/Lリン酸-ホウ酸塩緩衝液（pH 7.0）を用いた。その結果、イブuproフェン、ナプロキセン、フルルビプロフェンがエナンチオマー分離された。デキストリンを10%添加した条件でのイブuproフェンとスルコナゾールの分離例を図5に示す。

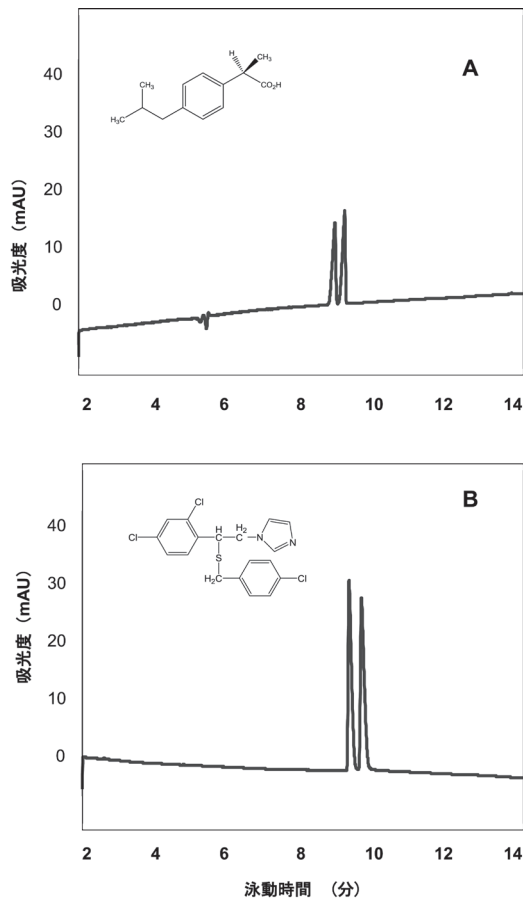


図5 デキストリン添加（10%）によるA：イブuproフェン、B：スルコナゾールのエナンチオマー分離
分析条件は図2と同じ（ただしAはpH 7.0の緩衝液）。

4. ま と め

CE法を用いてカルシウムチャンネルブロッカーであるジルチアゼム（ヘルベッサー）のエナンチオマー分離法を検討した。その結果、泳動液として 0.02 mol/L リン酸塩緩衝液（pH 2.5）にキラルセクターとしてデキストリン（アミコール 5L）を加えた液を用いることにより、良好な分離が得られた。DIL, また、関連物質であるOH体, CLD, それぞれ単独のエナンチオマーの分離が目的であれば、数%のデキストリンの添加でベースライン分離され、デキストリンがこれらベンゾチアゼピン骨格を有する化合物のエナンチオマー識別に有用であることが分かった。更に、3者の一斉エナンチオマー分離についても、デキストリン濃度を15%にすることで達成された。

本法により、光学異性体の分離も兼ねた製剤の含量均一性試験を行ったところ、内標準法を用いることで、HPLC法による方法と同等の精度で試験が実施されることが示された。本法は、従来のHPLC法より分析時間を短縮でき、試料量や溶媒量が少量で済む。今回は製剤からの抽出や試料の溶解にメタノールを用いたが、分析（泳動液）には有機溶媒を用いない。今回のDILに限れば、水に対する溶解性が優れるため、抽出溶媒も含めて溶媒フリーでの試験法を設定することも可能である。CE法は、環境への影響が少ない、有用な試験法であることが分かった。

引 用 文 献

- 1) 村上尚道, 「光学活性医薬品開発とキラルプロセス化学技術 第1部第2章光学活性医薬品の開発動向」, サイエンス&テクノロジー, 23-35, (2011).
- 2) 成松鎮雄, 「キラル化学, Part I 第2章 医薬学におけるキラリティとキラル化合物」, 日本化学会編, 化学同人, 16-21, (2013).
- 3) ICH guidelines Q6A, <http://www.pmda.go.jp/int-activities/int-harmony/ich/0068.html>
- 4) Nishioka R. and Harada S., *Chromatography*, 37, 65-71, (2016).
- 5) 西 博行, 「光学活性医薬品開発とキラルプロセス化学技術 第3部第3章光学異性体の分析と不純物の工程管理」, サイエンス&テクノロジー, 235-247, (2011).
- 6) 大西 敦, 宮澤賢一郎, 「キラル化学, Part II 第14章HPLC,SFCによるキラル分離最前線」, 日本化学会編, 化学同人, 142-147, (2013).
- 7) Okamoto Y., *Advances in Polymer Science*, 261, 391-414, (2013).
- 8) Christodoulou E. A., *Current Organic Chemistry*, 14, 2337-2347, (2010).
- 9) Scriba G. K. E., "Chiral separation in separation science - an update", *Journal of Chromatography A*, (2016).
- 10) Al-Othman Z.A., Al-Warthan A., Alam S.D., Ali i., *Biomedical Chromatography*, 28, 1514-1524, (2014).
- 11) Gubitz G. and Schmid M. G., *Electrophoresis*, 28, 114-126, (2007).
- 12) Preinerstorfer B., Lammerhofer M., Lindner W., *Electrophoresis*, 30, 100-132, (2009).
- 13) Nishi H., *CE Advance*, (Recent Advances in Capillary Electrophoresis and Related Techniques), 11(1), 2-12, (2009).
- 14) Nishi H., Izumoto S., Nakamura K., Nakai H., Sato T., *Chromatographia*, 42, 617-630, (1996).
- 15) Kuwahara Y. and Nishi H., *YAKUGAKU ZASSHI*, 118(10), 456-463, (1998).
- 16) 永松久実, 中島理絵, 田中 萌, 西 博行, 日本薬学会第132年会 (北海道大学), 要旨集p.141 講演番号29P2-pm087 (2012).

[2016. 9. 29 受理]