厚生労働行政推進調査事業費(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)
総括研究報告書

医薬部外品原料規格の整備に関する試験法の開発研究

研究代表者 内山 奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 部長

【資料 4】医薬部外品原料規格「*d*-カンフル」及び「*dl*-カンフル」のキャピラリーガスクロマトグラフィーを用いた定量法の検討

研究協力者：
【分析法検討】稲葉 涼太，中村 絢，立川 孟，成瀬 敦子，橋本 秀樹，鈴木 俊也（東京都健康安全研究センター 薬事環境科学部医薬品研究科）
【室間精度の確認】吉冨 太一（神奈川県衛生研究所）

[目的]

医薬部外品原料規格（通称：外原規）は，医薬部外品等の安全性・有効性を確保するために，医薬部外品等に配合できる原料（成分）について，その品質や性状，純度，試験方法などを厚生労働省が定めた規格である．この外原規に収載されている「*d*-カンフル」及び「*dl*-カンフル」の定量法には，パックドカラムによるガスクロマトグラフィー（GC）が採用されている（図 1，表 1）．近年ではキャピラリーカラムが主流となっていることに加え，パックドカラムに使用する充填剤の供給量が減少していることから，キャピラリーカラムを用いた定量法について検討を行った．

【分析法検討】

［方法-1］

使用試薬等及び機器を，表 2 に示す．
現行条件のシステム適合性を基にポリエチレングリコール系カラム（DB-WAX）について，He 及び N_2 の 2 種類のキャリヤーガスで分析条件を探索し，キャピラリーカラムを用いた定量法の設定が可能かを検討した．参考試料として，外原規の規格（95.0%以上）に適合する試薬又は原料を *d*-及び *dl*-カンフルそれぞれ供給元の異なる 3 製品を選定し，不純物との分離，定量結果の妥当性等を検討した．

［結果-1］

1. 条件検討結果

キャピラリーカラムへ変更するにあたり，DB-WAX カラムを用いて，He 及び N_2 の 2 種類のキャリヤーガスで，現行条件をもとにシステムの性能及びシステムの再現性を満たす条件を探索した．

検討の結果，表 3，図 2 に示す分析条件を確立した．現行条件に従い，オーブン温度 160℃で，保持時間を 6 分に調整したところ，システムの性能を満たすことが分かった．キャリヤーガスについては，He，N_2 どちらも同等の結果が得られ，良好なシステムの性能，再現性，直線性が得られた．

2. 試料の定量結果

確立した分析法を用いて，*d*-及び *dl*-カンフルの複数の参考試料を 2 種類のキャリヤーガスで分析した．分析証明書に記載の純度に対する含量（%）を求めたところ，すべての試料，すべての条件において良好な結果が得られた（図 3）．

3.　参考試料に含有している不純物の分離

次に，キャリヤーガスを He として，参考試料に含まれる不純物との分離を確認した．分析を妨害するピークは認められなかった（図 4）．

4.　試験液の安定性

調製した溶液（標準溶液）を数日放置したところ，内標準物質であるサリチル酸メチルの後に微小ピークが生じることが分かった．この溶液を，室温保管（20～25℃）又は冷蔵保管（4℃）し，溶液調製日から 14 日目までの微小ピークの挙動について調べた．室温保管では 3 日目から微小なピークが生じ，時間経過とともに増加することが分かった（図 5）．この微小ピークの同定については今後の課題である．

温度により経時的に微小ピークが増加することから，用時調製し，冷所で保管する必要があると考えられる．

【室間精度の確認】

［方法-2］

確立した分析条件の妥当性を調べるため，日本化粧品工業会から提供された *d*-カンフル 3 ロット（*d*-X，*d*-Y，*d*-Z）及び日本薬局方 *dl*-カンフル 3 ロット（*dl*-X，*dl*-Y，*dl*-Z）を用い，東京都健康安全研究センター（機関①）及び神奈川県衛生研究所（機関②）による室間精度の確認を実施した．機関①では 7890B（Agilent，USA），機関②では GC-2030（島津製作所）を用い試験を行った．各機関の試験条件を表 4 に示す．キャリヤーガスは N_2 のみ実施した．

［結果-2］

提供試料を用い，2 機関で室間精度の確認を行った結果を以下に示す．

両機関で同等のクロマトグラムが得られた（図 6）．システム適合性は，両機関ともにシステムの性能（分離度 7 以上）及びシステムの再現性（RSD% 1.0%以下）を満たすことを確認した（表 5）．分離度は，機関①で *d*-カンフル 22.4，*dl*-カンフル 21.2，機関②で *d*-カンフル 16.5，*dl*-カンフル 18.6 であり，システムの性能を満たした．面積比の RSD%（n=6）は，最大で 0.07%以下といずれの結果も良好であった．

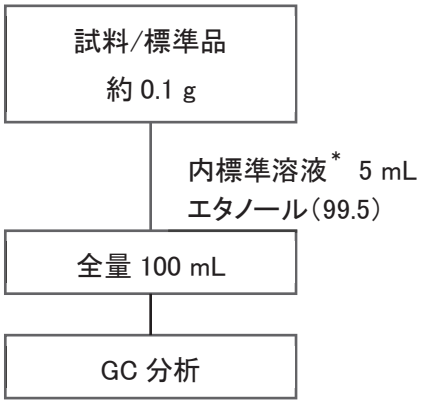
定量結果は，機関①で *d*-カンフル 97.19%～97.87%，*dl*-カンフル 97.24%～97.99%，機関②で *d*-カンフル 98.80%～99.34%，*dl*-カンフル 98.11%～98.49%であり，すべての試料で外原規が規定する純度（95.0%）を上回る結果が得られた（図 7）．室間差（絶対値）は，*d*-カンフルで 1.30～1.61%，*dl*-カンフルで 0.12～1.25%であった．装置メーカーが異なる 2 機関において大きな差は認められず，比較的良好な室間再現性が得られた．

［考察・まとめ］

外原規の *d*-及び *dl*-カンフルについて，パックドカラムによる現行条件をもとに，ポリエチレングリコール系のキャピラリーカラムについて検討したところ，良好な定量結果が得られた．キャピラリーカラムによる測定条件を確立することができたことから，現行のパックドカラムによる試験法からキャピラリーカラムへの変更は可能であると考えられる．

調製した溶液は，温度により経時的に変質すると推察されるため，用時調製し，冷蔵保管が必要である．

さらに，日本化粧品工業会から提供された *d*-及び *dl*-カンフル各 3 ロットについて 2 機関で室間精度の確認を実施したところ，すべての試料で外原規の規格に適合し，機関間の定量値に大きな差は認められなかった．異なる装置メーカーの GC を用いた場合でも良好な再現性が得られたことから，キャピラリーカラムを用いた分析法の頑健性が示唆された．



＊内標準溶液:サリチル酸メチルの
エタノール(99.5)溶液(1→25)

図 1 .「医薬部外品原料規格 2021」における *d*-及び *dl*-カンフルの分析の定量法の試料溶液及び標準溶液の調製方法

表 1 .「医薬部外品原料規格 2021」における *d*-及び *dl*-カンフルの分析の試験条件等

項目		条件
試験条件	検出器	水素炎イオン化検出器
	カラム	内径 3 mm, 長さ 3 m のガラス管に, ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコール 20M をシラン処理した 180～250 μm のガスクロマトグラフィー用ケイソウ土に 10%の割合で被覆したものを充塡する.
	カラム温度	160℃付近の一定温度
	キャリヤーガス	窒素
	流量	*d*-又は *dl*-カンフルの保持時間が約 6 分になるように調整する.
システム適合性	システムの性能	標準溶液 2 μL につき, 上記の条件で操作するとき, *d*-カンフル/*dl*-カンフル, 内標準物質の順に流出し, その分離度は7以上である.
	システムの再現性	標準溶液 2 μL につき, 上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき, 内標準物質のピーク面積に対する *d*-又は *dl*-カンフルのピーク面積の比の相対標準偏差は 1.0%以下である.
規格		95.0%以上

表 2. 使用試薬及び機器

項目	参考試料等	情報
d-カンフルの検討	*d*-A（試薬）	純度：99.4% (GC)
	d-B（試薬）	純度：99.7%
	d-C（試薬）	純度：99.9%
	標準品	日本薬局方 *d*-カンフル標準品(PMRJ, Japan)
	内標準物質	サリチル酸メチル(TCI, Japan)
dl-カンフルの検討	*dl*-A（外原規適合品）	純度：99.2%
	dl-B（試薬）	純度：98.6% (GC)
	dl-C（試薬）	純度：96.1% (GC AREA%)
	標準品	日本薬局方 *dl*-カンフル標準品(PMRJ, Japan)
	内標準物質	サリチル酸メチル(TCI, Japan)
機器	機器条件	
	GC	7890B（Agilent, USA) , FID 検出器付
	キャリヤーガス	He　又は　N_2
	分析カラム	DB-WAX　φ0.25 mm, 30 m, 0.25 μm

表 3. 確立した分析条件と現行条件の対比表

項目		確立した分析条件		現行条件
カラム		DB-WAX カラム φ0.25 mm, 30 m, 0.25 μm		10%PEG 被覆 シラン処理ケイソウ土 φ3 mm, 3 m, 180 ~ 250 μm
キャリヤーガス		He	N_2	N_2
注入量		1 μL	1 μL	2 μL
注入モード（Split 比）		Split 1:20	Split 1:20	-
カラム流量（mL/min）		0.42	0.42	保持時間を 6 分に調整
線速度（cm/sec）		15.7	15.8	-
オーブン温度		160℃	160℃	160℃
分離度	*d*-カンフル	21.3	22.4	システムの性能：7 以上
	dl-カンフル	21.7	21.2	
面積値 RSD%(n=6)	*d*-カンフル	0.33%	1.36%	-
	dl-カンフル	1.37%	2.33%	
面積比 RSD%(n=6)	*d*-カンフル	0.07%	0.14%	システムの再現性：1.0%以下
	dl-カンフル	0.01%	0.44%	
直線性 500 μg/mL 1,000 μg/mL 2,000 μg/mL	*d*-カンフル *dl*-カンフル	0.9999 0.9999	0.9999 0.9999	-

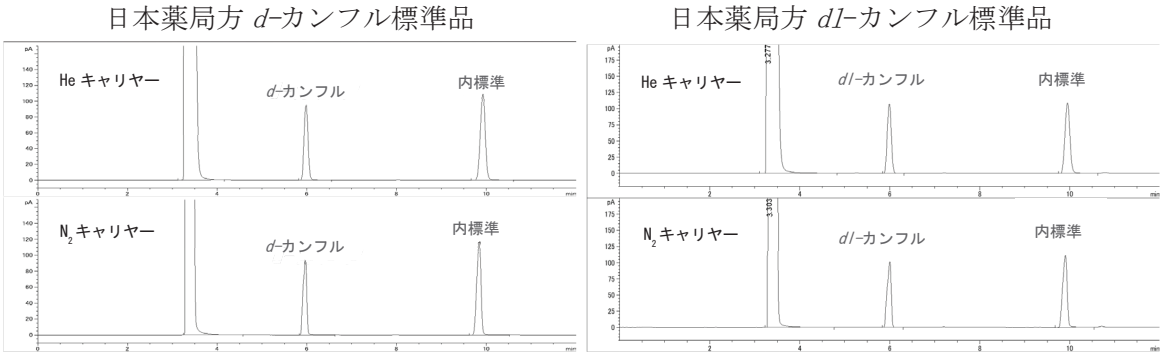


図 2. 確立した *d*-及び *dl*-カンフルの分析条件での各キャリヤーガス（He 及び N_2）における標準品の GC-FID クロマトグラム

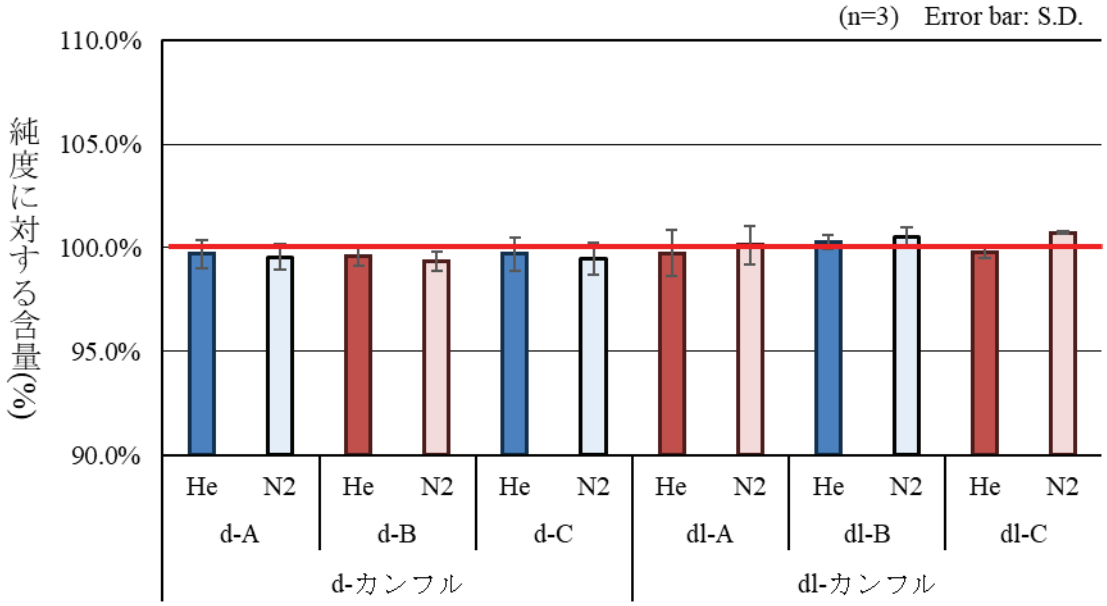


図 3. 確立した *d*-及び *dl*-*カンフル*の分析条件での各キャリヤーガス（He 及び N_2）による参考試料の定量結果

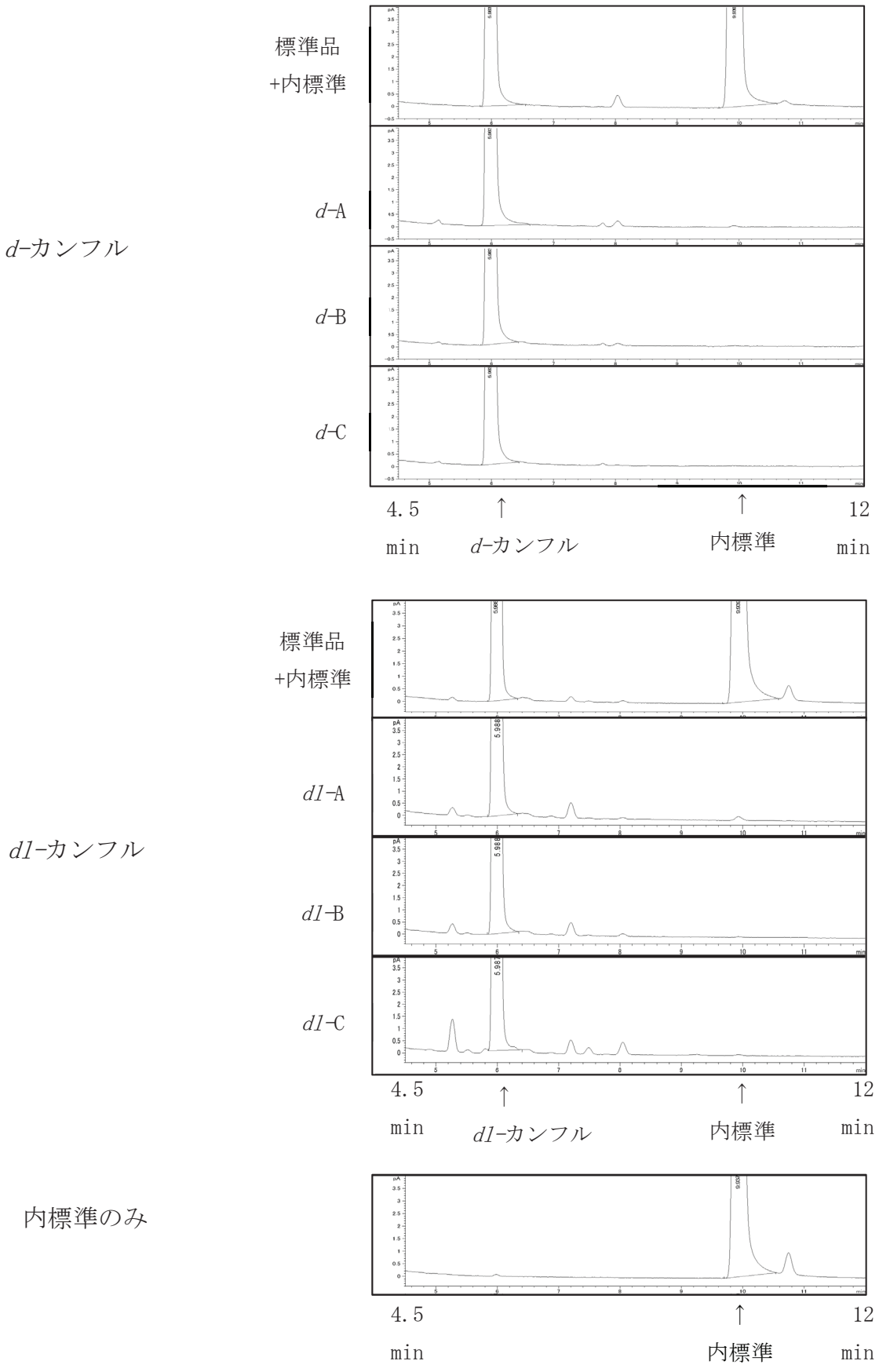


図 4. 確立した *d-*及び *dl-カンフル*の分析条件による参考試料の GC-FID クロマトグラム（拡大）（キャリヤーガス N_2）

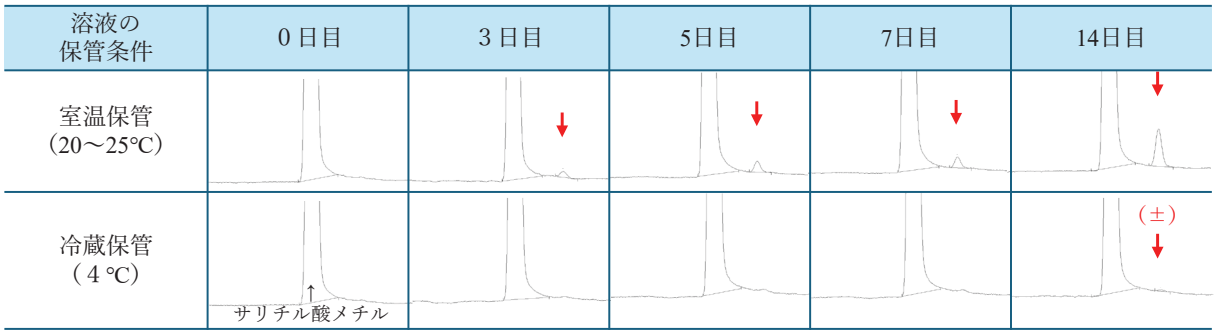


図 5. 微小ピークの経時変化（内標準：サリチル酸メチル付近を拡大）
確立した *d*-及び *dl*-カンフルの分析条件における標準溶液の GC-FID クロマトグラム（キャリヤーガス He）

表 4. 確立した分析条件の室間精度の確認における試験条件

試験条件	**機関①**	**機関②**
カラム	DB-WAX 0.25 mm, 30 m, 0.25 µm	DB-WAX 0.25 mm, 30 m, 0.25 µm
キャリヤーガス	N_2	N_2
注入量	1 µL	1 µL
注入モード	スプリット	スプリット
スプリット比	1:20	1:20
注入口温度	250℃	250℃
カラム流量	0.42 mL/min	0.42 mL/min
オーブン温度	160℃	160℃
検出器	FID	FID
装置	7890B（Agilent, USA）	GC-2030（島津製作所）

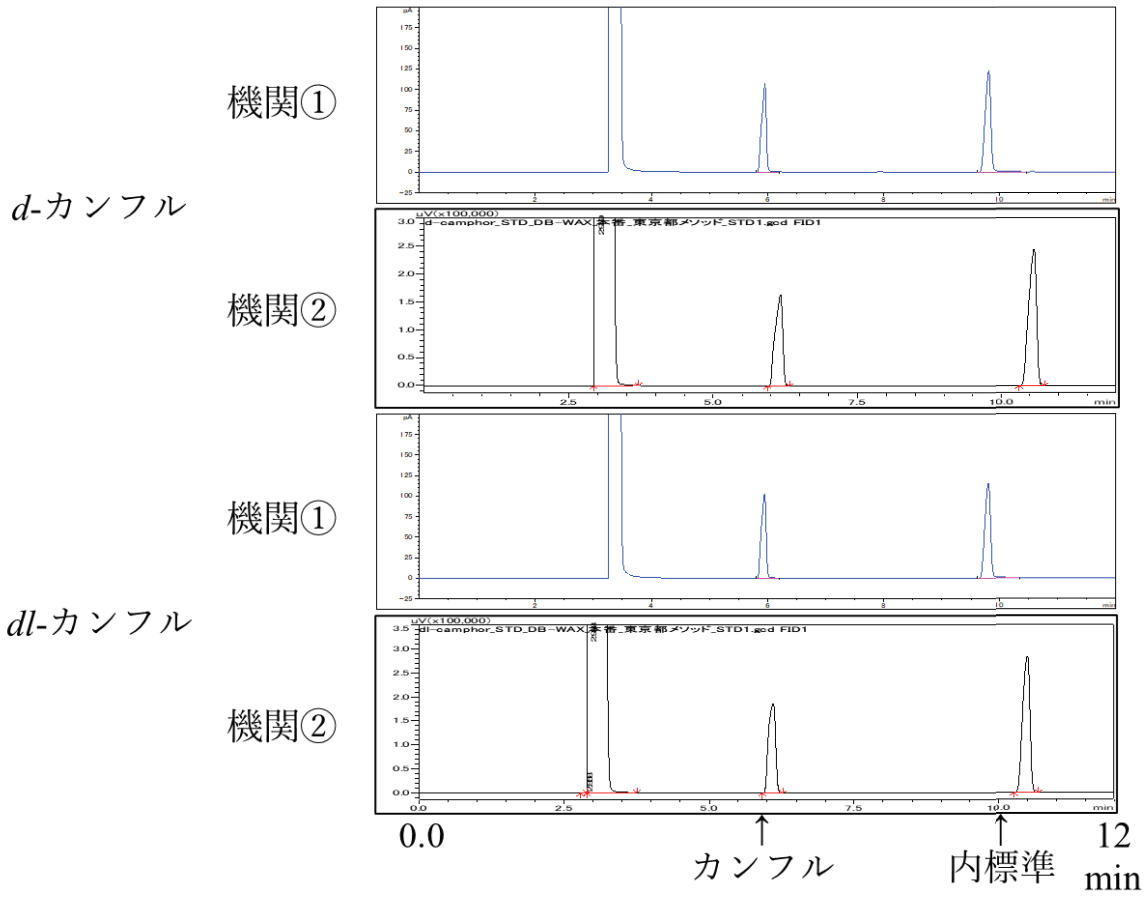


図 6.確立した *d*-及び *dl*-カンフルの分析条件による各機関の標準溶液の GC-FID クロマトグラム（キャリヤーガス N_2）

表 5. 室間精度の確認におけるシステム適合性

システム適合性		**機関①**	**機関②**
システムの性能（分離度）	*d*-カンフル	22.4	16.5
	dl-カンフル	21.2	18.6
システムの再現性（RSD% ：n=6）	*d*-カンフル	0.05%	0.07%
	dl-カンフル	0.06%	0.03%

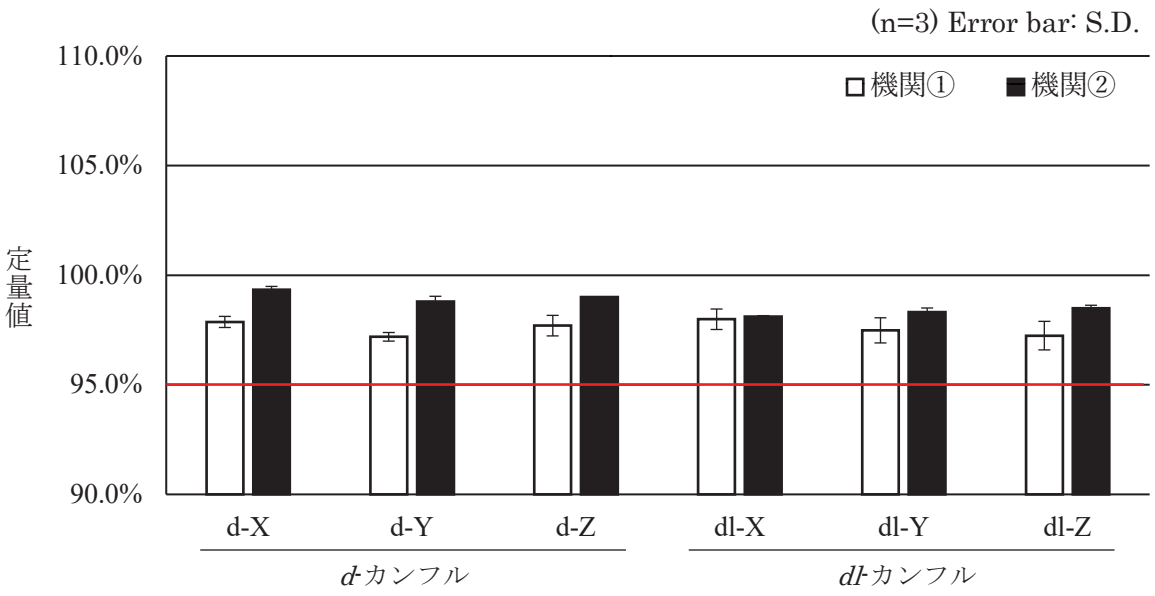


図 7. 各機関における提供された *d*-及び *dl*-カンフル試料の定量結果の比較