

抽出メチル化による製剤中テオフィリンのガスクロマトグラフィー

高野正樹<sup>a)</sup>，平光 敦<sup>a)</sup>，河合 聡<sup>b)</sup>

岐薬紀要 (1987) 36 : 49-52

**要約：**ガスクロマトグラフィーによる製剤中テオフィリンの簡易定量法を確立した。製剤中テオフィリンを 0.1N 水酸化ナトリウム試液で抽出した液にカウンターイオンとして臭化テトラブチルアンモニウムを加えたのち，ヨウ化メチルと内部標準物質（ステアリン酸メチル）を含むジクロロメタンで抽出メチル化し，その一定量を濃縮することなくガスクロマトグラフに注入した。分離条件は 3% SE-30, 2.0m, 200°C, FID である。

**索引用語：**テオフィリン，ガスクロマトグラフィー，抽出メチル化

**Gas Chromatographic Determination of Theophylline in Preparations  
after Extractive Methylation**

MASAKI TAKANO<sup>a)</sup>, ATSUSHI HIRAMITSU<sup>a)</sup>, and SATOSHI KAWAI<sup>b)</sup>

*Ann. Proc. Gifu Pharm. Univ.* (1987) 36 : 49-52

**Abstract :** A simple method for the determination of theophylline in preparations by gas chromatography (GC) after extractive methylation is described. Theophylline in preparations is extracted with 0.1N sodium hydroxide by shaking. To a 2.5 ml aliquot of the sample solution obtained, a counter-ion (tetrabutylammonium bromide) solution is added and the mixture is extracted into methylene chloride containing methyl iodide and an internal standard (methyl stearate). Extraction and methylation of theophylline proceed simultaneously. An aliquot of the extract is injected without evaporation into GC. GC is carried out at 200°C on a 2.0 m of glass column packed with 3% SE-30.

**Keyphrases :** theophylline, gas chromatography, extractive methylation

a) 協和薬品工業株式会社  
岐阜市野一色 2 丁目 8-6

b) 岐阜薬科大学薬品分析化学教室  
岐阜市三田洞東 5 丁目 6-1

a) Kyowa Pharmaceutical CO., Ltd.,  
8-6, Noishiki 2 chome, Gifu 500

b) Department of Pharmaceutical Analytical  
Chemistry,  
Gifu Pharmaceutical University, 6-1,  
Mitahora-higashi 5 chome, Gifu 502

Received February 28, 1987

The Annual Proceedings of Gifu

Pharmaceutical University,

ISSN 0434-0094, CODEN : GYDKA 9

テオフィリン (3,7-Dihydro-1,3-dimethyl-1H-purine-2,6-dione) は、カフェイン、テオブロミンなどのキサントシン誘導体が有する薬理作用のうち、利尿作用と強心作用は最も強く、中枢興奮作用は最も弱い。動脈硬化による疾患、気管支喘息による呼吸困難、狭心症、冠状血管障害、頭痛などに用いられている。

従来製剤中のテオフィリンの定量には、非水滴定法、<sup>1)</sup> ヨウ素滴定法、<sup>2)</sup> 沈殿滴定法、<sup>3)</sup> EDTA 滴定法、<sup>4)</sup> 電位差滴定法、<sup>5)</sup> 吸光光度法、<sup>6)</sup> 重量法<sup>7)</sup> などが行われてきた。最近では高速液体クロマトグラフィーによる体液中テオフィリンの定量が報告されている。<sup>8-10)</sup> ガスクロマトグラフィー (GC) を利用して血中テオフィリンを定量した報告では、遊離形<sup>11)</sup> ではテーリングが大きく、ブチル化、<sup>12)</sup> ペンチル化<sup>13)</sup> などの誘導体化操作は煩雑である。Floberg ら<sup>14)</sup> は抽出エチル化により血漿中テオフィリンとカフェインの GC-MS による同時分析を報告しているが、今回著者らはアルキル化反応が一層容易に進行する抽出メチル化法について詳細に検討を加え、GC による製剤中テオフィリンの簡易定量法を確立した。

## 実験の部

### 試薬

臭化テトラブチルアンモニウム (カウンターイオン) 溶液 (0.02M) : 半井化学製臭化テトラブチルアンモニウムおよび当量の水酸化ナトリウムに水を加えて溶かし、0.02M 濃度に調整した。

緩衝液 (pH 10, 0.5M) : 0.5M 炭酸ナトリウム溶液と 0.5M 炭酸水素ナトリウム溶液を約等量ずつ混ぜ、pH 10 に調整した。

抽出溶液 (内部標準物質を含む) : 東京化成製ステアリン酸メチル 500mg をジクロロメタンに溶かして 100ml とし、内部標準溶液とした。この内部標準溶液 5ml にヨウ化メチル 20ml とジクロロメタンを加えて全量 100ml とした。

標準溶液 : テオフィリンを約 105°C で 4 時間乾燥し、その約 100mg を精密に量り、0.1N 水酸化ナトリウム試液を加えて溶かし正確に 100ml とし標準溶液とした (1mg/ml)。

### 装置および測定条件

ガスクロマトグラフ : 水素炎イオン化検出器 (FID) 付島津ガスクロマトグラフ GC-8A 型を用いた。分離カラム : 内径 2.6mm, 長さ 2m のガラスカラムにシリコン SE-30 を 60~80 メッシュのクロモソルブ W (AW-DMCS) に 3% 含浸させたものを充てんして用いた。測定条件 : 試料気化室および検出器温度は 250°C, カラム温度は 200°C, 窒素流速は 60ml/min であった。

### 試料溶液の調製

錠剤 : 錠剤を粉末とし、テオフィリン 100mg に対応する量を精密に量り、0.1N 水酸化ナトリウム試液 30ml を加え、10 分間振盪抽出したのち遠心分離 (3500 rpm, 5 分) し、上澄液をろ過する。残留物に更には 0.1N 水酸化ナトリウム試液 30ml で 2 回同様に操作し、全ろ液を合わせ、これに 0.1N 水酸化ナトリウム試液を加えて全量 100.0ml とし試料溶液とした。

内服液 : テオフィリン 25mg に対応する量を正確に量り、1N 水酸化ナトリウム溶液 2.5ml を加え、クロロホルム 20ml で抽出する。更にクロロホルム 20ml で 2 回同様に抽出したのち水層を分取、水を加えて全量 25.0ml とし試料溶液とした。(全クロロホルム抽出液は合してカフェインの定量に用いる)。

### 定量法

試料溶液 2.50ml を正確に量り、臭化テトラブチルアンモニウム溶液 2 ml, 緩衝液 1 ml および抽出溶液 5.00ml

を正確に加え，室温で30分間振盪する。ジクロロメタン層を分取し，無水硫酸ナトリウムで脱水したのち，その 1  $\mu$ l を GC に注入した。別に標準溶液 2.50ml を正確に量り，同様に操作した。テオフィリンの含量計算は，試料溶液より得られた内部標準物質に対するピーク高比を標準溶液より得られたそれと比較することによって行った。更に製剤中のテオフィリンは含水物であるため，係数 1.100 を乗じて補正した。

### 結果と考察

テオフィリンをそのままの形で GC 分析を行うと著しいテーリングを示し，その測定値は安定しなかった。また，水剤中テオフィリンの有機溶媒抽出も容易ではなかった。そこでテオフィリンを抽出メチル化法によってカフェインに変え，GC 分析を行う方法を検討した。抽出メチル化の条件は Floberg らの報告<sup>14)</sup>を参考にしながら検討を行った。カウンターイオンである臭化テトラブチルアンモニウム濃度が高いと GC における溶媒部分のピークバンドの広がりが大きく，テオフィリンのメチル化体（カフェイン）のピークの出現を妨害したので 0.02M に設定した。一方メチル化剤であるヨウ化メチルの濃度は 20v/v% と高くした。これらの条件での抽出メチル化反応は，Floberg らの抽出エチル化反応が 50°C，20分の加熱操作を必要としているのに比べ，室温で容易に進行した。また，試料溶液 2.5ml 中のテオフィリン含量が 0.5~3.0mg の範囲で検量線は原点を通る直線性を示した。本条件での抽出メチル化率はカフェインに換算して95%であった。テオフィリン 1.0mg/ml を含む試料溶液についてのくり返し実験の変動係数は 0.6% (n=5) ときわめて良好であった。ガスクロマトグラムの一例を Fig. 1 に示した。

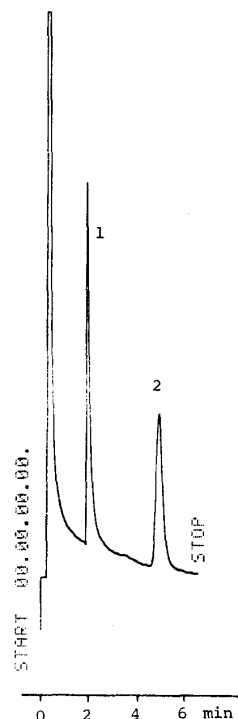


Fig. 1 Gas chromatogram of theophylline (1.0 mg/ml) after extractive methylation

Peak : 1=methylated theophylline (caffeine) ; 2=methyl stearate (internal standard)

GC conditions : column=3% SE-30, 2m ; column temp.= 200°C ; detector=FID

カフェインが共存する製剤中のテオフィリンを定量する場合には当然予めカフェインを除去する必要がある。「試料溶液の調製」の項の「内服液」はその場合の操作法を記したものである。カフェインはクロロホルムで容易に抽出除去される。クロロホルム抽出液はカフェインの定量に用いられる。カフェインを含有しない製剤についてはクロロホルム抽出操作の必要はない。

本法は，操作が簡便迅速であること，クロマトグラム上のピーク形状が改善され，測定値が安定していること，粉

末固形製剤，液剤共に適用できること，カフェインが共存している製剤でも分別定量が可能であることなどの利点を有し，製剤中テオフィリンのルーチン分析にきわめて有用である。

#### 引用文献

- 1) 日本薬局方，第7改正
- 2) C. Runti, *Farmaco Ed. prat.*, **11**, 218 (1956). [CA. **53**, 6537 (1959)].
- 3) J. Bosly, *J. pharm. Belg.*, **4**, 66 (1949). [CA. **43**, 6786 (1949)].
- 4) B. Budesinsky and E. Vanickova, *Ceskoslov. farm.*, **5**, 77 (1956). [CA. **50**, 17333 (1956)].
- 5) A. Bartilucci and C. A. Discher, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **39**, 641 (1950).
- 6) R. Hyatt, *J. Assoc. Offic Agr. Chemists*, **40**, 800 (1957).
- 7) P. W. Schmitt, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **19**, 821 (1930).
- 8) 中沢一治，田中晴美，*薬学雑誌*，**105**，848 (1985).
- 9) W. J. Hurst, K. P. Snyder and R. A. Martin, Jr., *J. Chromatogr.*, **318**, 408 (1985).
- 10) Y. H. Park, C. Goshorn and O. Hinsvark, *J. Chromatogr.*, **343**, 359 (1985).
- 11) G. M. Schier and I. E. T. Gan, *J. Chromatogr.*, **225**, 208 (1981).
- 12) G. M. Schier and I. E. T. Gan, *J. Chromatogr.*, **182**, 232 (1980).
- 13) J. L. Brazier, D. Delaye, M. Desage and A. Bannier, *J. Chromatogr.*, **224**, 439 (1981).
- 14) S. Floberg, B. Lindström and G. Lönnerholm, *J. Chromatogr.*, **221**, 166 (1980).