

## 医薬部外品原料規格グリチルリチン酸ジカリウムに含まれる不純物の構造推定について

### 1 はじめに

グリチルリチン酸ジカリウム (図 1) は、マメ科の植物であるカンゾウ (甘草) の根に含まれる有効成分グリチルリチンの誘導体である。薬理作用として、抗アレルギー作用、ステロイドホルモン様作用が知られており、医薬品、化粧品、医薬部外品等に広く配合されている<sup>1)</sup>。

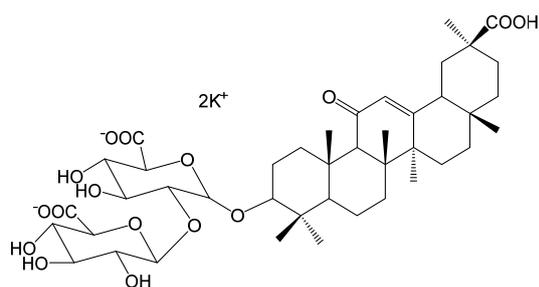


図 1 グリチルリチン酸ジカリウムの構造

医薬部外品に配合される成分のうち、医薬部外品原料規格 (以下、「外原規」という。) に記載された成分は、その規格を満たすことが求められている。外原規グリチルリチン酸ジカリウムの含量規格は吸光光度法で 96.0~102.0% に設定されている<sup>2)</sup>。しかし、一般用医薬品試験法<sup>3)</sup>において、外原規グリチルリチン酸ジカリウムを液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定すると、グリチルリチン酸ジカリウムそのものの含量は 70~80% 程度と記載がある。吸光光度法による定量は選択性が低く、共通する部分構造を持つ化合物群が混在する場合、これらが合算された定量値となる。一方、HPLC は、上述のような化合物群を分離して定量することができる。以上のことから、外原規グリチルリチン

酸ジカリウム中には、吸光光度法では区別できない不純物が存在すると考えられる。

今回は、医薬部外品の安全性確保に資することを目的として、医薬部外品に配合されることの多い外原規グリチルリチン酸ジカリウム中の不純物に関する解析を試みたので、その結果について紹介する。

### 2 実験方法

#### (1) グリチルリチン酸ジカリウム試料

試料 A として A 社製標準品 (外原規適合品) を、試料 B として B 社製標準品 (HPLC >99%) を用いた。

#### (2) 試料溶液の調製

グリチルリチン酸ジカリウム試料 A、B それぞれについて、1  $\mu$ g/mL となるように移動相で希釈して調製した。

#### (3) 測定条件

##### 1) UHPLC-PDA 測定条件

Waters 社製 UPLC H-Class システムを用いて、以下の測定条件で分析を行った。カラムは Waters 社製 ACQUITY UPLC HSS T3 (内径 2.1 mm, 長さ 150 cm, 粒子径 1.8  $\mu$ m) を使用した。移動相はギ酸 (1 $\rightarrow$ 500)/アセトニトリル混液 (8:5) とし、カラム温度 40°C、流速 0.4 mL/min、注入量 2  $\mu$ L、測定波長を 210~400 nm とした。

##### 2) LC-Q/TOFMS 測定条件

Agilent 社製 Agilent 1100 series-Agilent G6530 システムを用いて、以下の測定条件で分析を行った。液体クロマトグラフ部は 1)

UHPLC-PDA 測定条件と同条件とし、質量分析部は、イオン化法をESI (-)、フラグメンター電圧を150 V、コリジョンエネルギーを50 eVとした。

### 3 結果及び考察

#### (1) UHPLC-PDAによる分析

グリチルリチン酸ジカリウムの測定波長254 nmにおける、試料A、Bのクロマトグラムを図2に示した。

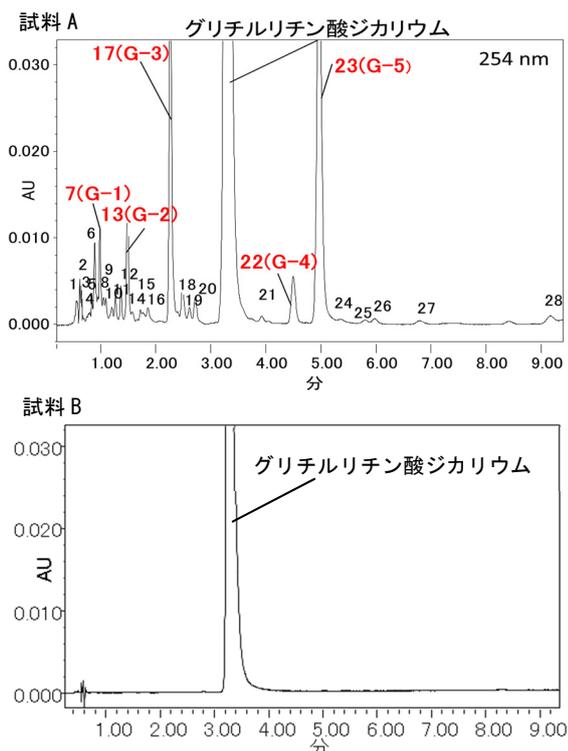


図2 254nmにおける試料A、Bのクロマトグラム

試料Bの結果から、保持時間3.2分のピークがグリチルリチン酸ジカリウムであると考えられた。また、試料Aでは主成分以外に28本のピークが検出された。図3に試料Aの主要なピークG-1からG-5のUVスペクトルとそれぞれの存在比率(254 nm)を示した。存在比率は254 nmでのピーク面積値の合計に対する各ピーク面積値の割合から算出した。

G-1からG-5はいずれもグリチルリチン酸ジカリウムと類似したUVスペクトルパターンを示すことから、グリチルリチン酸ジカリウムと同様の骨格を持つ化合物であると推定された。また、試料Aにおけるグリチルリチン酸ジカリウムの含量は約80%と算出された。

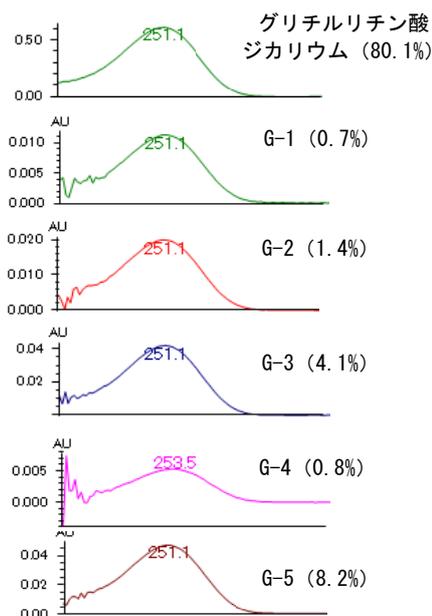


図3 254nmにおける主要ピークのUVスペクトルと存在比率

#### (2) LC-Q/TOFMSによる分析

G-1からG-5について詳細に解析するためにLC-Q/TOFMSによる分析を行った。グリチルリチン酸ジカリウムのMSスペクトルにおいて、糖鎖由来と推定される特徴的なフラグメントイオン ( $m/z$  351.05) が観測された。(図4)

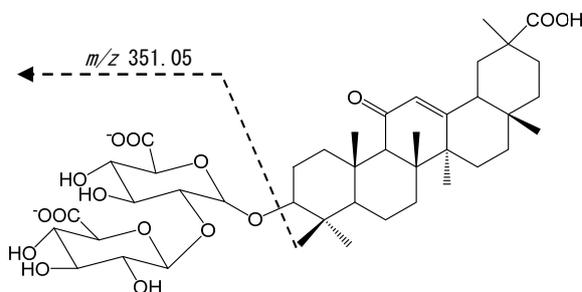


図4 グリチルリチン酸ジカリウムに特徴的なフラグメントイオン

試料Aにおいてこのフラグメントイオンが観測されるピークを抽出したところ、図5に示すマスククロマトグラムが得られた。

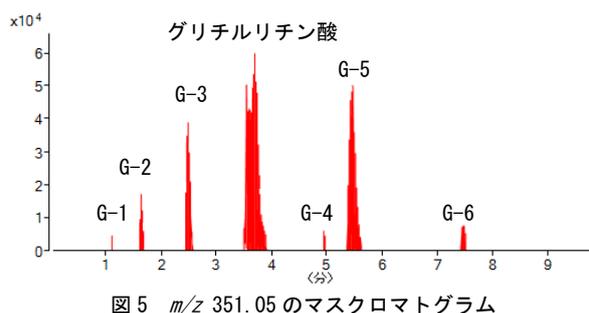


図5  $m/z$  351.05のマスククロマトグラム

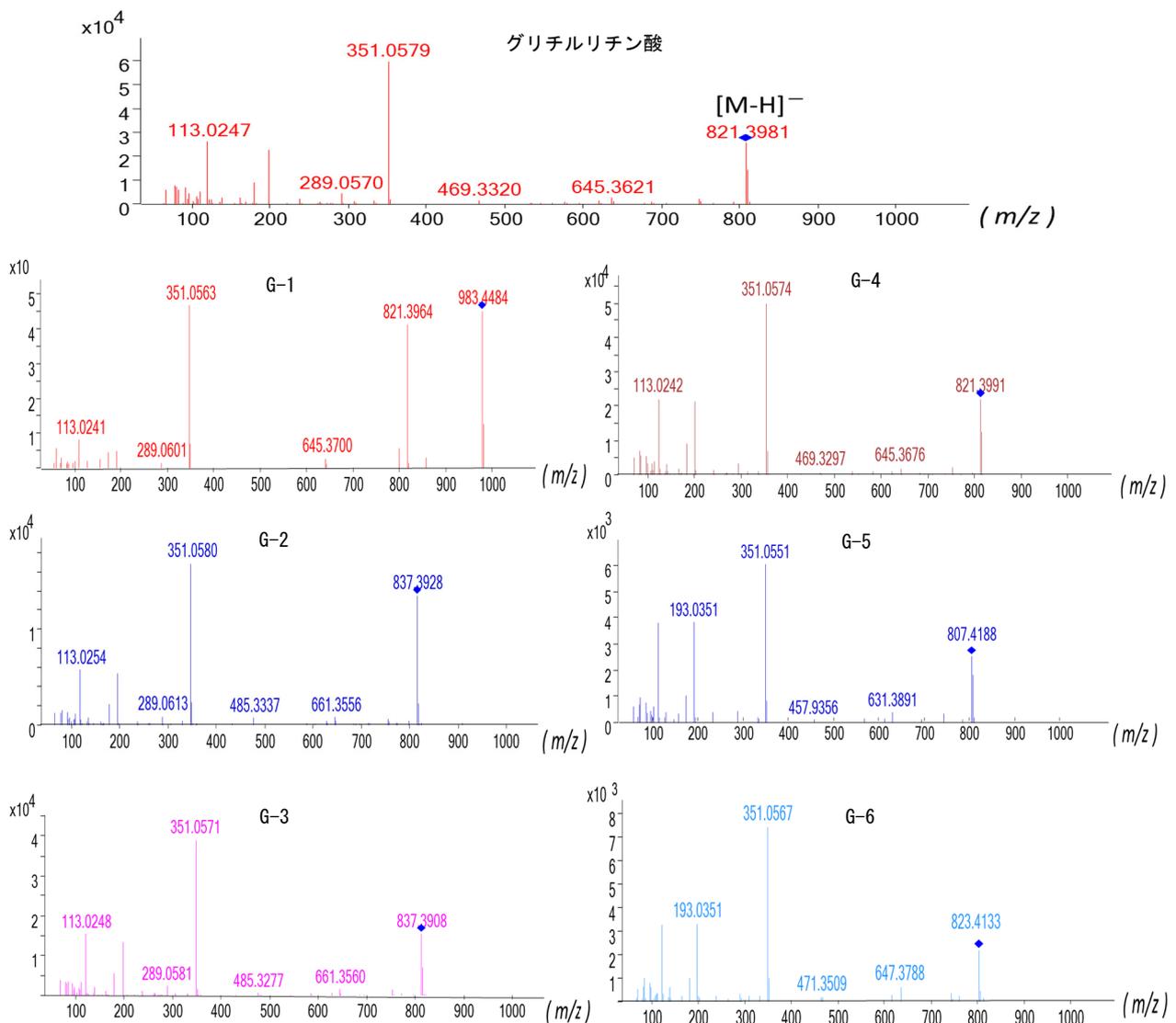


図 6 各ピークの MS スペクトル

7.5 分に検出されたピーク G-6 は UHPLC-PDA による分析では主要なピークとして検出されなかったことから、254 nm 付近に UV 吸収を持たず、グリチルリチン酸ジカリウムと同様の糖鎖を持つと考えられた。G-1 から G-6 の MS/MS 分析の結果を図 6 に示した。ピーク強度、保持時間及び MS スペクトルから、図 5 で 3.7 分に検出されたピークはグリチルリチン酸と推定された。

図 6 から、G-1 はグリチルリチン酸に  $m/z$  162 の置換基が結合した構造と推定された。しかし、今回の結果から具体的な構造の推定には至らなかった。G-2, G-3 はグリチルリチン酸の水素原子が水酸基に置換された構造、G-4 はグリチ

ルリチン酸の立体異性体、G-5 はグリチルリチン酸からメチル基が脱離した構造、G-6 はグリチルリチン酸の二重結合またはケトン部分に水素が付加した構造と推定された。

#### 4 おわりに

外原規グリチルリチン酸ジカリウム中に含まれる不純物の構造解析を試みた。その結果、検出された主要な 6 種類の不純物はグリチルリチン酸ジカリウムと類似した構造を有すると推定された。そのうちの 5 種は、UV スペクトルのパターンからグリチルリチン酸ジカリウムの吸光度法による定量値に影響を及ぼすと考えられた。従って、外原規グリチルリチ

ン酸ジカリウムの含量規格は、これらを含めた規格であると考えられる。不純物については、製造メーカーやロット毎に種類や含量などが異なる可能性が考えられることから、外原規グリチルリチン酸ジカリウムを原料として使用する製剤は、このような内容を踏まえた有効性、安全性の検証が必要と考えられた。

## 5 参考文献

- 1) 日本公定書協会編. 化粧品原料基準第二版注解, 1984, 344p-347p, 薬事日報社.
- 2) 薬事審査研究会監修. 医薬部外品原料規格2006 統合版, 2013, 510p-511p, 薬事日報社.
- 3) 真弓忠範・ほか編. 一般用医薬品の試験法上巻, 1997, 222p, 薬事時報社

(文責：衛生化学部 小林俊也, 富田浩嗣)

---

愛知衛研技術情報 第44巻第1号 令和2年(2020)年 6 月 5 日

照会・連絡先 愛知県衛生研究所

〒462-8576 名古屋市北区辻町字流7番6号

愛知県衛生研究所のホームページ【 <https://www.pref.aichi.jp/eiseiken/> 】

総務課：	052-910-5618	生物学部	052-910-5654
企画情報部		ウイルス研究室：	052-910-5674
健康科学情報室：	052-910-5619	細菌研究室：	052-910-5669
		医動物研究室：	052-910-5654
		衛生化学部	052-910-5638
		医薬食品研究室：	052-910-5639
		生活科学研究室：	052-910-5643

代表電話： 052-910-5618

代表FAX： 052-913-3641

---