

【原 著】

生薬試験用標準品の規格設定に関する検討 (第七報)

—— センノサイドについて (その2) ——

Studies on Standardization of Crude Drug Components (VII)

—— Sennosides (Part 2) ——

富山県薬事研究会分析部会 (センノサイド分科会)

Division of Analytical Chemistry,

Toyama Pharmaceutical Research Association

上 田 紀代美 Kiyomi UEDA	明治薬品(株) Meiji Yakuhin Co.,LTD.
江野本 加壽雄 Kazuo ENOMOTO	(株)廣貫堂 Kokando Co.,LTD.
小鍛治 まち子 Machiko KOKAJI	大和製薬(株) Taiwa Pharmaceutical Co.,LTD.
○ 小 中 宏 子 Hiroko KONAKA	(株)内山薬品商会 Uchiyama Medicine Co.,LTD.
島 谷 隆 夫 Takao SHIMATANI	救急薬品工業(株) Kyukyu Pharmaceutical Co.,LTD.
正 川 仁 Hisashi SHOGAWA	共栄製薬(株) Kyoei Pharmaceutical Co.,LTD.
永 井 喜 美 Kimi NAGAI	(株)延寿堂 Enjudo Co.,LTD.
野 上 基 志 Motoshi NOGAMI	日本酵素化学(株) Nihon kōsokagaku Co.,LTD.
掘 地 茂 Shigeru HORICHI	東亜薬品(株) Toa Medical Co.,LTD.
宮 村 芳 昌 Yoshimasa MIYAMURA	中央薬品(株) Chuo Yakuin Co.,LTD.
横 田 洋 一 Youichi YOKOTA	富山県薬事研究所 Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research

緒 言

センノサイドA (以下SA) 及びセンノサイドB (以下SB) は、一般用漢方生薬製剤、特に、瀉下薬等に広く配合されているセンナ及びダイオウの主要な指標成分である。それらの市販定量用標準品については、前報¹⁾で報告したように、10mg 1万円前後と高価であるにもかかわらず、発売メーカーにより定量値のばらつきが大きく、特に、SBにおいては98%以上のものが市販されていないという結果を得た。そこで、本部会では、より純度の高い標準品を得るために、出発原料として比較的

安価な製剤原料を使った分取精製方法を検討し、その調製方法を確立することができた。更に、その方法により調製した分取精製品の品質評価を行った結果、SA及びSBの標準品としての規格も設定することができた。また、分取精製品の安定性について検討した結果も併せて報告する。

実験の部

1. 高純度品の精製操作の検討

以下の方法に従って精製を行った。なお、純度の把握は、前報記載の定量法(HPLC法)により行った。

1) 再沈殿操作による粗精製

センノサイドカルシウムT〔アルプス薬品工業(株)製、製剤原料〕を出発原料として使用した。

操作：出発原料3gを1%NaHCO₃20mlに溶かし、ろ過した。ろ液にギ酸を加えて酸性にした後、n-ブタノール5mlを加えてよく振り混ぜると、SAを多く含む沈殿が析出した。1時間放置した後、沈殿を分離し、洗浄及び乾燥を行い、粗精製品SAを得た。上澄液を冷暗所で一夜放置し、析出したSBを多く含む沈殿を分離し、洗浄及び乾燥を行い、粗精製品SBを得た。詳細はFig. 1に示す。

2) 逆相カラムクロマトグラフ法による分離精製

カラム及びその調製：コスモシール75C₁₈-OPN〔ナカライテスク(株)製〕40gをアセトニトリルに懸濁させ、内径3cmのクロマト管に流し込み、水・アセトニトリル混液(1:1)で洗浄した後、溶出液に置換した。

操作：再沈殿操作で得られた粗精製品SA及びSBそれぞれ0.5gに、1%NaHCO₃2mlを加え、更にトリエチルアミン0.1mlを加えて溶かし、調製したカラムにのせ、0.1%ギ酸・アセトニトリル混液で溶出した。分離した黄色のバンドを分取し、窒素送風下でアセトニトリルを揮散させた後、析出した沈殿を分離し、洗浄及び乾燥を行い、分離精製品SA及びSBをそれぞれ得た。詳細はFig. 2に示す。

3) 高圧液体クロマトグラフ法による分取精製

分取用カラム：カプセルパックC₁₈(φ20mm×15cm, 5μm)〔株資生堂製〕

HPLC装置：ポンプ(Waters製; M600)

検出器(Waters製; UV-Model-481)

カラム恒温槽(スガイ製; U-620 TYPE 30)

操作：逆相カラムクロマトグラム法で得られた分離精製品SA及びSBそれぞれを、1%NaHCO₃に溶かして、50mg/ml溶液を調製し、分取用液体クロマトグラフに0.25mlずつ注入し、移動相0.1%ギ酸・アセトニトリル混液で分離して主ピークを分取した。窒素送風下でアセトニトリルを揮散させた後、析出した沈殿を分離し、洗浄及び乾燥を行い、分取精製品SA及びSBをそれぞれ得た。詳細はFig. 3に示す。また、高圧分取条件とクロマトグラムはFig. 4に示す。

2. 品質評価の実施

前報記載の試験方法に準じて行った。

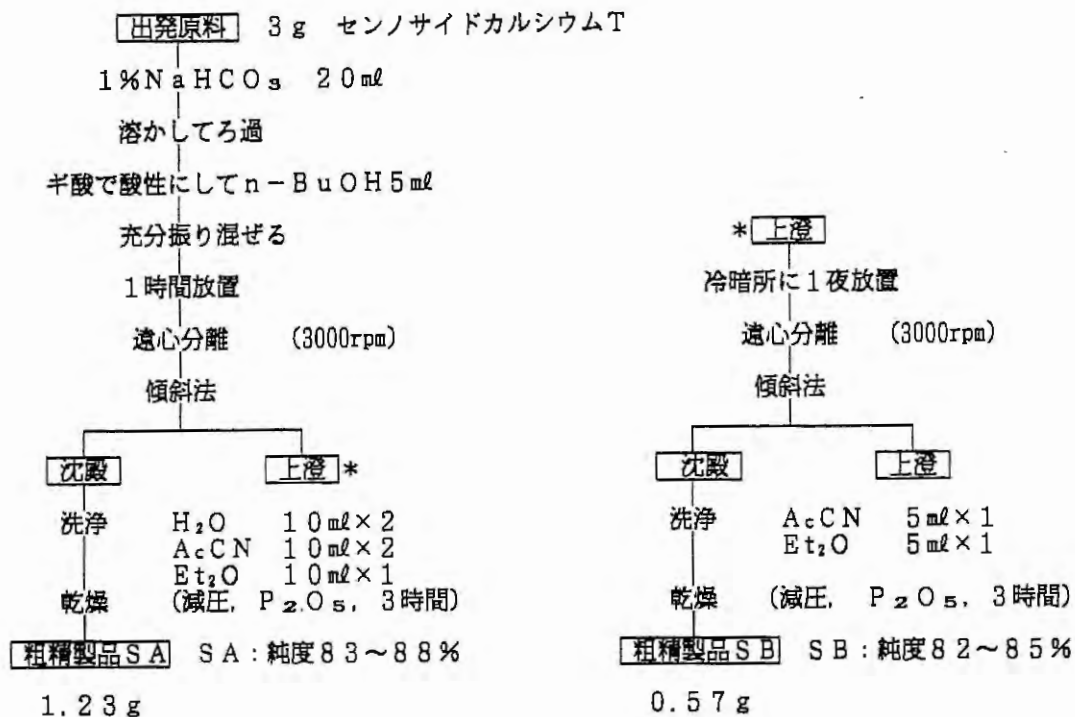


Fig. 1 再沈殿操作による粗精製

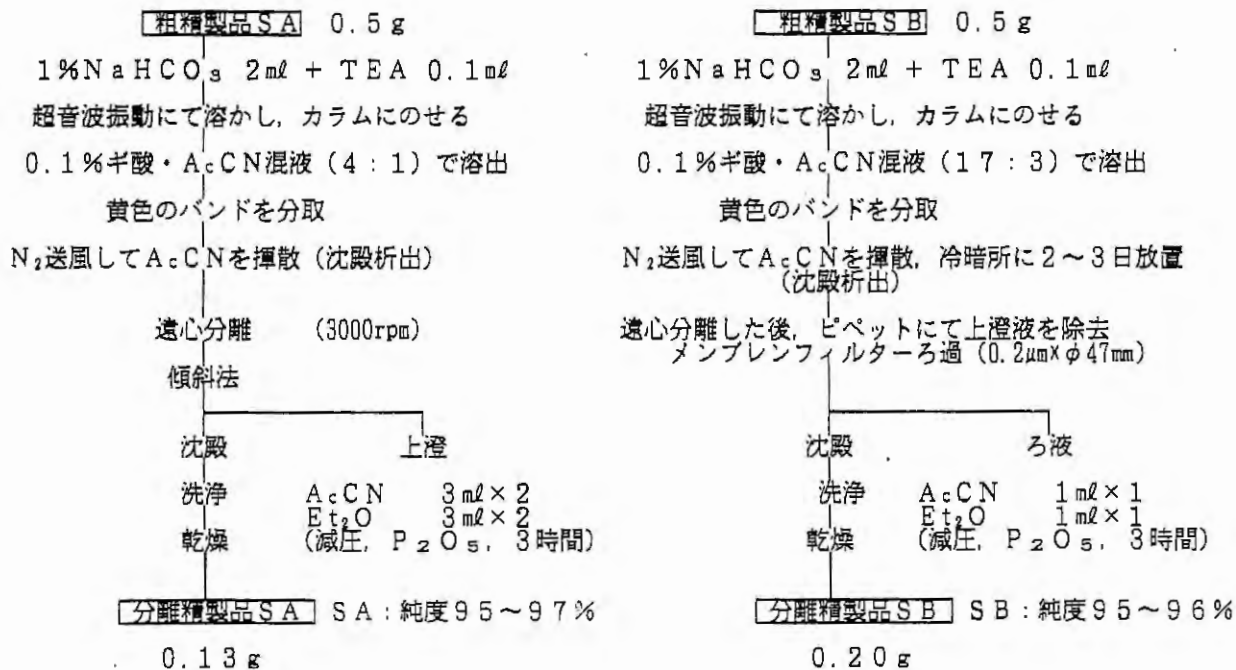


Fig. 2 逆相カラムクロマトグラフ法による分離精製

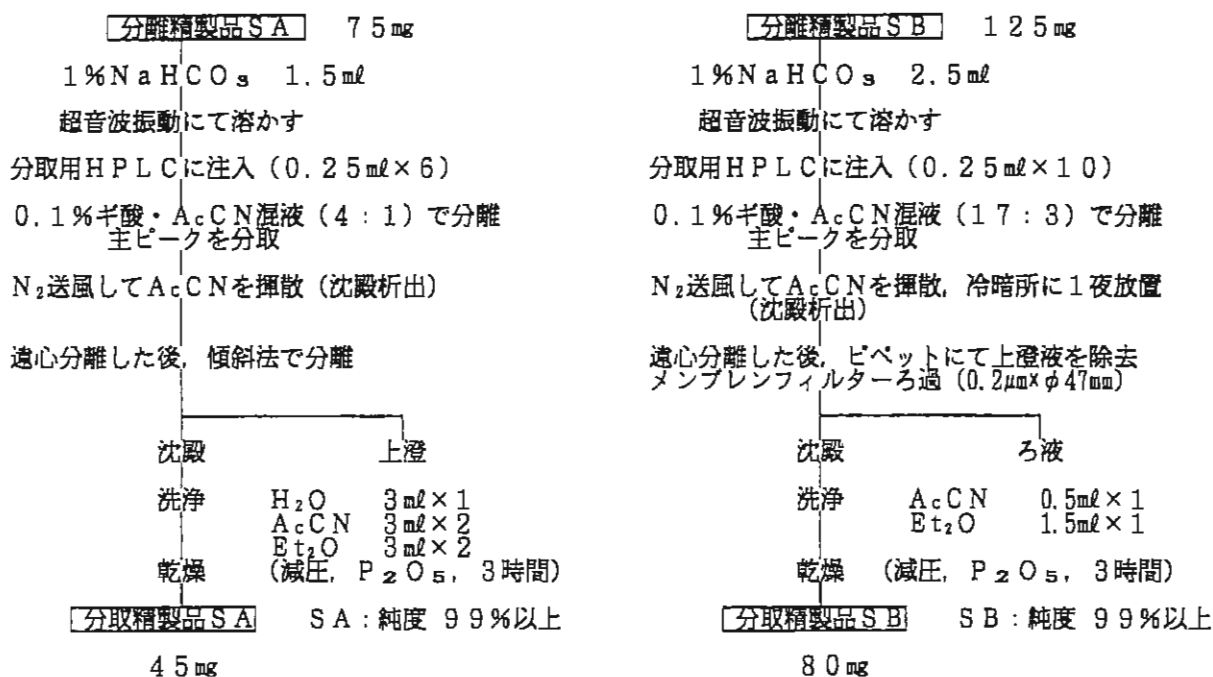


Fig. 3 高圧液体クロマトグラフ法による分取精製

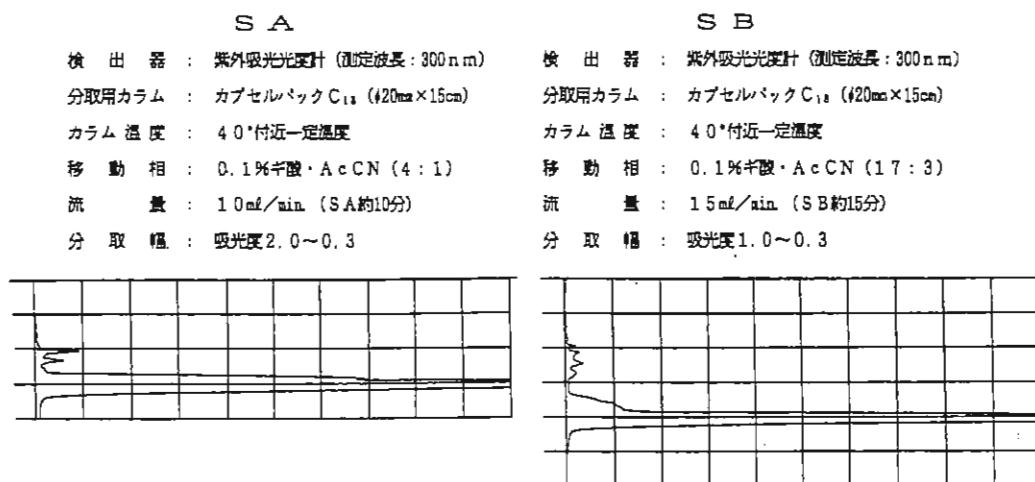


Fig. 4 高圧分取条件とクロマトグラム

3. 規格の検討

品質評価結果に基づき、規格の検討を行った。なお、比吸光度 ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 値) は、測定波長及び規格幅について、6施設で検討した。

4. 分取精製品の安定性の検討

分取精製直後と品質評価時において、一部に定量値の若干の低下が認められたので、残存溶媒に原因があるのではないかと考え、以下のように検討を行った。

操作 : 分取精製過程で残存する可能性のあるメタノール, アセトニトリル, 水及び酢酸を別々に飽和させた容器中に、定量値既知のSA及びSB標準品を入れ、2週間放置した。その後、定量値を求め、各溶媒の影響を調べた。

結果及び考察

1. 高純度品の精製

高純度品の精製操作に従い、分取精製品 SA 及び SB それぞれ 4 ロットずつを調製した。各精製過程における純度の変化を Fig. 5 に示す。最終収率は、SA 及び SB ともに 5~6% であり、純度はともに 99% 以上であった。製剤原料の再沈殿から始まり、主ピークより遅れて溶出する不純物を除去する分離精製を経て、最後に、主ピークより速く溶出する不純物を除去して純度を上げた。これらの 3 工程は、それぞれ再現性があり、得られた分取精製品の 4 ロット間のばらつきも少なかった。

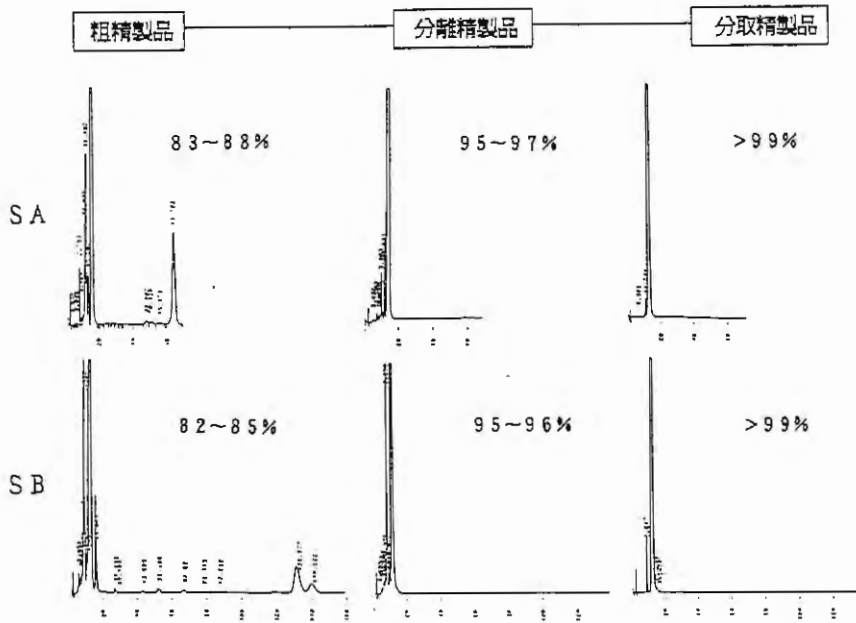


Fig. 5 精製過程における純度変化

2. 高純度品の品質評価

純度試験 (TLC 法) 及び定量法 (HPLC 法) については、標準品として満足できる結果が得られた。特に、SB については、市販品にない 99% 以上の高純度品が得られた。比吸光度 ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 値) は、その吸収極大波長 (SA: 270nm, 335nm 及び SB: 270nm, 310nm, 355nm) で測定した結果、市販標準品を含めて、6 施設間のばらつきは少なかった。SA 及び SB の吸収曲線を Fig. 6 に示す。また、品質評価結果を Table 1 に示す。

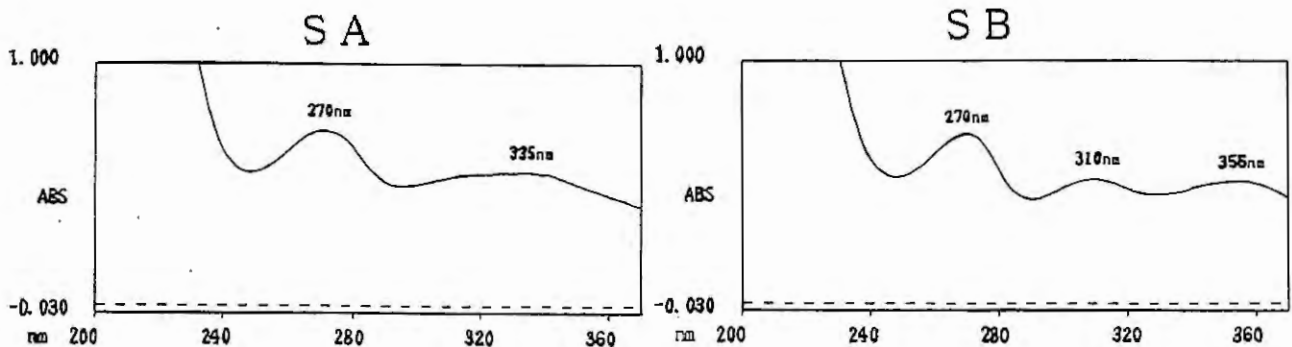


Fig. 6 SA 及び SB の吸収曲線

☆E値規格幅対象品
市販標準品はメーカー別

成分名	センノサイド A						センノサイド B							
	試験法	定量法 HPLC法	比吸光度 E _{1%} 値 (n=6)		TLC 判定	定量法 HPLC法	比吸光度 E _{1%} 値 (n=6)		TLC 判定					
			335nm	270nm			355nm	310nm		270nm				
試料	定量値(%)	平均値	SD	平均値	SD	定量値(%)	平均値	SD	平均値	SD				
分取品														
1	99.63	☆165.1	3.36	214.8	4.30	◎	98.41	156.0	3.68	159.4	4.38	217.9	5.46	○
" 2	99.90	☆164.0	3.58	214.0	4.93	◎	99.51	158.3	3.49	☆161.7	4.10	221.5	5.18	○
" 3	98.12	161.7	4.05	212.0	5.35	○	99.18	156.2	3.57	☆159.2	3.98	217.6	5.23	◎
" 4	98.93	169.9	3.17	222.0	4.58	○	99.63	151.3	5.10	☆156.4	4.61	214.8	5.82	○
市販標準品														
①	99.03	☆162.0	2.31	209.5	7.66	○	97.54	154.7	6.32	160.1	3.24	218.9	6.49	△
" ②	98.80	162.3	1.87	210.0	6.34	△	95.60	154.6	2.09	155.9	2.86	214.1	6.07	×
" ③	93.88	—	—	—	—	×	94.81	—	—	—	—	—	—	×
" ④	98.48	165.8	2.39	214.7	7.04	◎	—	—	—	—	—	—	—	—
" ⑤	95.06	152.6	2.50	200.0	6.28	×	—	—	—	—	—	—	—	—
" ⑥	98.76	166.0	4.77	217.5	7.02	○	96.69	156.5	5.56	160.9	5.68	222.7	7.38	△

◎ 副スポットなし ○ 副スポットが1/100以下の濃さ △ 副スポットが1/100前後で判定困難 × 副スポットが1/100より濃い

Table 1 品質評価結果 (分取品及び市販標準品)

3. 規格の設定

Table 1の品質評価結果より、規格を設定した。比吸光度 (E_{1%}値) については、ばらつきの少ない測定波長 (SA: 335nm 及び SB: 310nm) を選択した。また、規格幅は、定量値を考慮し、99%以上の標準品の測定値の平均値 ± 2SDとした。設定規格をTable 2に示す。

規格項目	試験方法	センノサイドA	センノサイドB
比吸光度	E _{1%} 値測定 (絶対的純度)	335nm 156~171	310nm 150~169
純度試験	TLC法 (相対的純度)	試料溶液から得た主スポット以外のスポットは標準溶液から得たスポットより濃くない	試料溶液から得た主スポット以外のスポットは標準溶液から得たスポットより濃くない
定量法	HPLC法 (相対的純度)	99% 以上	99% 以上

Table 2 設定規格

4. 分取精製品の安定性について

今回検討した溶媒中では、ギ酸のみが主ピークの分解を促進することがわかった。精製過程でギ酸を使用したため、それが残存していたことにより、標準品が分解した可能性が考えられる。この対応策として、最終精製過程で、ギ酸を完全に除くことによって、分解の防止が可能になると思われる。

ま と め

SA及びSBともに、製剤原料より分取精製品を得るまでの再現性のよい調製方法を確立し、前報の試験方法で品質評価を行った結果、本部会の最終目的である標準品の規格を設定することができた。特に、SBは市販標準品にはない99%の高純度品が得られた。なお、標準品の安定性については、調製時、ギ酸を完全に除去することにより、分解が防止されると考えられるので、最終精製過程での乾燥条件を再度検討したい。更に、本部会では、今回規格設定した標準品を使用して、原料及び製剤試験の品質管理への応用を考えている。

参 考 文 献

- 1) 富山県薬事研究会分析部会：生薬試験用標準品の規格設定に関する検討（第六報）—— センノサイドについて ——，家庭薬研究No.11. P.71 (1992)

和漢薬配合胃腸薬の理化学的品質評価

—ロートエキスについて—

Chemical Evaluation of Gastrointestinal Remedies Containing Oriental Drugs
—Scopolia Extract—

富山県和漢薬共同研究会 分析部会

Division of Analytical Chemistry,

Toyama Prefectural WAKANYAKU Research Association

新木 康子 朝日製薬㈱
Yasuko ARAKI Asahi Pharmaceutical Co.,LTD.

正川 仁 共栄製薬㈱
Hisashi SYOUGAWA Kyoiei Pharmaceutical Co.,LTD.

山下 節子 極東薬品㈱
Setsuko YAMASHITA Kyokuto Medicine Co.,LTD.

大塚 るみ
Rumi OTSUKA

○長島 美由紀 第一薬品㈱
Miyuki NAGASHIMA Daiichi Medicine Co.,LTD.

中野 秀子 大同製薬㈱
Hideko NAKANO Daido Pharmaceutical Co.,LTD.

寺口 薫 大協薬品工業㈱
Kaoru TERAGUCHI Taikyo Pharmaceutical Co.,LTD.

宮村 芳昌 中央薬品㈱
Yoshimasa MIYAMURA Chuo Medicine Co.,LTD.

金田 千果 テイカ製薬㈱
Chika KANEDA Teika Pharmaceutical Co.,LTD.

高橋 浩美 ㈱内外薬品商会
Hiromi TAKAHASHI Naigai Medicine Co.,LTD.

浅水 敬子 明生薬品工業㈱
Keiko ASAMIZU Meisei Pharmaceutical Co.,LTD.

緒 言

本県においては、赤玉はら薬、熊胆円等の和漢薬配合胃腸薬があるが、その理化学的品質評価法については確立されているとはいえない。近年、分析技術が著しく発達し、生薬指標成分の液体クロマトグラフ法（以下HPLC法）を用いた定量法が数多く報告されてきている。今回我々は、配合量も少なく、定量が困難だとされるロートエキスを取り上げ、市販のロートエキスの品質評価を行うと共に、和漢薬配合胃腸薬中のトロパンアルカロイド（ヒヨスチアミンとスコポラミン）の品質評価法を

確立するため共同研究を行った。HPLC法による定量を行う際、カートリッジカラムが迅速な前処理方法として使用されつつある。そこで、すでに報告のある陽イオン交換樹脂を充てんしたカートリッジカラム¹⁾ (以下SCXカートリッジ) 及び汎用性の高いオクタデシルシリル化シリカゲルを充てんしたカートリッジカラム (以下C₁₈カートリッジ) で前処理を行い、HPLC法による迅速定量法の検討を行った。

実験の部

1. 日局ロートエキス及びロートエキス散の品質評価

日局ロートエキス及びロートエキス散は総アルカロイド (スコポラミンとヒヨスチアミンの量の合計) として、それぞれ0.90~0.109%及び0.085~0.110%を含むという含量規格が設定されている。そこで、各社使用している日局ロートエキス及びロートエキス散を日局法に準じて操作し、品質評価を行った。

2. C₁₈カートリッジカラムからの回収条件の検討

日局ロートエキス0.15gを0.01N塩酸試液に溶かして正確に100mlとし、標準溶液とした。また、標準溶液10mlを正確に量り、C₁₈カートリッジに毎分2ml以下で負荷し、水5mlで洗浄した後、薄めたリン酸 (1→1000) ・アセトニトリル混液 (90:10、85:15、80:20) 各9mlで溶出し、更に薄めたリン酸 (1→1000) で正確に10mlとし、試料溶液とした。試料溶液及び標準溶液の20 μ lにつき、液体クロマトグラフ法により試験を行い、溶出挙動を調べた。

3. C₁₈及びSCXカートリッジを用いたロートエキス散の定量

予備試験で確立したC₁₈カートリッジによる調製法及び参考文献¹⁾ に報告されているSCXカートリッジによる調製法に準じて、各社で同一の日局ロートエキス散を用いて以下のように試験を行った。

今回、カートリッジカラムはボンドエルトC₁₈及びSCX (バリアン社製) を用い、あらかじめメタノール10ml次いで0.01N塩酸試液10mlで洗浄したものを使用した。

1) 標準溶液の調製

ロートコン定量用臭化水素酸スコポラミン約10mgを精密に量り、0.01N塩酸試液に溶かし、正確に50mlとした。この液5mlを正確に量り、更にロートコン定量用硫酸アトロピン約10mgを精密に量り、0.01N塩酸試液に溶かし、正確に250mlとした。この液2mlを正確に量り、0.01N塩酸試液を加えて正確に10mlとし、標準溶液とした。

2) C₁₈カートリッジによる試料溶液の調製

日局ロートエキス散 (乳糖散) 0.2gを精密に量り、0.01N塩酸試液に溶かして正確に50mlとした。この液20mlを正確に量り、C₁₈カートリッジに毎分2ml以下で負荷し、水10mlで洗浄した後、薄めたリン酸 (1→1000) ・アセトニトリル混液 (80:20) 9mlで溶出し、更に薄めたリン酸 (1→1000) で正確に10mlとし、試料溶液とした。

3) SCXカートリッジによる試料溶液の調製

日局ロートエキス散 (乳糖散) 0.2gを精密に量り、0.01N塩酸試液に溶かして正確に50mlとした。この液20mlを正確に量り、SCXカートリッジに毎分2ml以下で負荷し、水10ml、メタノール10ml、0.2Mリン酸二水素カリウム試液で順次洗浄し、0.2Mリン酸二水素カリウム試液・アセトニトリル混液 (1:1) 9mlで溶出し、0.5N塩酸試液0.3mlを加え、更に水を加えて正確に10

mlとし、試料溶液とした。

4) HPLC操作条件

試料溶液及び標準溶液の20 μ lにつき、次の条件²⁾でHPLC法により試験を行った。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：210nm）

カラム：内径4～6 mm、長さ15～25cmのステンレス管に粒子径約5 μ mの液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。

移動相：0.05Mリン酸二水素ナトリウム溶液をリン酸でpH3.5に調製した液・アセトニトリル混液（62：38）1000mlにラウリル硫酸ナトリウム2.88gを溶解する。

カラム温度：40°付近の一定温度

流量：ヒヨスチアミンの保持時間が11～14分になるように調整する。

4. モデル処方の特ロパンアルカロイド定量法の検討

1) モデル処方の設定

和漢薬配合胃腸薬には制酸剤が配合された総合胃腸薬と赤玉はら薬のような止瀉薬とに大別される。そこで、制酸剤が配合された総合胃腸薬を処方Iとし、赤玉はら薬のような止瀉薬を処方IIとする2種類のモデル処方を設定した。表1にそれぞれの成分及び分量を示す。

モデル処方I	1日量（3包）中	モデル処方II	1日量（150包）中
ピオタミラーゼ	600mg	塩化ベルベリン	150mg
ロートエキス散	300mg	ロートエキス散	300mg
ウルソデスオキシコール酸	28mg	ゲンノショウコ末	600mg
炭酸水素ナトリウム	720mg	カンゾウ末	150mg
メタケイ酸アルミン酸マグネシウム	900mg	沈降炭酸カルシウム	180mg
カンゾウ末	400mg	バレイショデンブソ	270mg
ケイヒ末	300mg	安息香酸	60mg
ウイキュウ末	230mg	アラビアゴム末	214mg
チョウジ末	27mg	カルメロースナトリウム	120mg
銅クロロフィリンナトリウム	24mg	酸化チタン	73mg
ヒドロキシプロピルセルロース	56mg	タルク	733mg
1-メントール	15mg	タール色素	微量
合計	3600mg	合計	2850mg

表1 モデル処方の成分及び分量

2) 添加回収試験

前項モデル処方からロートエキス散を除いたブランク試料を調製し、添加回収試験を行った。

ロートエキス散0.2gに対応するブランク試料を量り、発泡に注意しながら1N塩酸試液30mlを少量ずつ加える。10分間超音波照射した後遠心分離し抽出液を分取する。残留物は更に1N塩酸試液5mlで2回同様に抽出し、全抽出液を合わせ更に1N塩酸試液を加え、正確に50mlとする。この液20mlを正確に量り、添加溶液（注1）2mlを正確に加えて、あらかじめ調製したカートリッジカラムに負荷する。以下前項2）、3）のカートリッジカラムによる試料溶液の調製に準じて操作し、試料溶液とした。

（注1）添加溶液 ロートコン定量用スコポラミン約10mgを精密に量り、0.01N塩酸試液に溶かし正確に50mlとする。この液5mlを正確に量り、更にロートコン定量用硫酸アトロピン約10mgを精密に量り、0.01N塩酸試液に溶かし、正確に250mlとする。

3) モデル処方のトロパンアルカロイドの定量

ロートエキス散0.2gに対応する各モデル処方精密に量り、以下添加回収試験の方法に準じて抽出し、抽出液を合わせて正確に50mlとする。この液20mlを正確に量りあらかじめ調製したカートリッジカラムに負荷する。以下前項2)、3)のカートリッジカラムによる試料溶液の調製に準じて操作し、試料溶液とした。

5. ロートエキス配合の市販胃腸薬の品質評価

ロートエキス配合の市販胃腸薬5種類について今回設定した試験方法に基づいて品質評価を行った。

結果及び考察

1. 日局ロートエキス及びロートエキス散の品質評価

各社で使用している日局ロートエキス及びロートエキス散の定量結果を表2に示した。スコポラミン及びヒヨスチアミンの含量にあまり差はなく、スコポラミン対ヒヨスチアミンの比は日局ロートエキスでは約1:10、日局ロートエキス散では約1:8であった。

No	日局ロートエキス		日局ロートエキス散	
	スコポラミンの含量(%)	ヒヨスチアミンの含量(%)	スコポラミンの含量(%)	ヒヨスチアミンの含量(%)
1	0.10	0.91	0.009	0.078
2	0.09	0.89	0.012	0.086
3	0.08	0.92	0.012	0.087
4	0.09	0.86	0.009	0.080
5	0.09	0.85	0.011	0.083
6	0.10	0.86	0.011	0.082
7	0.09	0.87	—	—
平均±標準偏差	0.091±0.006	0.88±0.025	0.011±0.001	0.083±0.003

2. C₁₈カートリッジからの回収条件の検討

各溶出液につき、3回の繰り返し試験を行った結果を表3に示した。製剤分析を前提とした場合、アセトニトリル比が増えればそれだけ他成分の妨害が多くなるので、溶出液を薄めたリン酸(1→1000):アセトニトリル混液(80:20)とすることとした。

表2 日局ロートエキス及びロートエキス散の定量

0.1%リン酸・AcCNの比	1回目	2回目	3回目	平均
90:10	90.2%	90.2%	91.3%	90.6%
85:15	95.1%	98.8%	96.4%	96.8%
80:20	98.5%	98.6%	98.8%	98.6%

表3 C₁₈カートリッジカラムからの回収試験

3. 日局ロートエキス散の定量

同一の日局ロートエキス散(スコポラミン0.011%, ヒヨスチアミン0.077%含有のもの)を使用し、施設の異なる10カ所で、各カートリッジを用いて定量した結果を表4に示した。

ヒヨスチアミンの定量値はどちらのカートリッジによる調製も相対標準偏差(以下CV値)は5%前後と良好な再現性が得られた。スコポラミンの定量値はロートエキス散中の含量が少ないことや、他成分とのピークの重なりがみられる場合があり、どちらのカートリッジでもCV値が30%台と大きかった。しかしながら両者を合わせた総アルカロイドの値は日局定量値と比較して近似した値を示し、CV値も小さかった。この結果から、スコポラミンの定量は難しいと思われたので今後

はヒヨスチアミンの定量にのみ検討を加えていくことにした。代表的なクロマトグラムを図1に示した。

4. モデル処方中のヒヨスチアミンの定量法の検討

1) 設定したモデル処方2種類について、他成分によりヒヨスチアミンが妨害されていないか最

1) C₁₈カートリッジによる調製

	カラム名	内径	長さ	スコポラミン	ヒヨスチアミン	総アルカロイド
A社	Wakosil 5 C ₁₈ N	4.6	150	0.006	0.080	0.086
B社	Capcell pak SG120	4.6	150	0.014	0.072	0.086
C社	Shimpack CLC-ODS	6	150	0.004	0.087	0.091
D社	Nucleosil 5 C ₁₈	4.6	150	0.011	0.083	0.094
E社	Inertsil ODS-2	4.6	150	0.012	0.078	0.090
F社	Cosmosil 5 C ₁₈ -AR	4.6	150	0.007	0.079	0.086
G社	Inertsil ODS-2	4.6	150	0.007	0.072	0.079
H社	Inertsil ODS-2	4.6	150	0.007	0.076	0.083
I社	TSKgel 80TM	4.6	150	0.010	0.079	0.089
J社	STR ODS-M	6	150	0.008	0.077	0.085
			平均	0.0086	0.0783	0.0869
			S D	0.0029	0.0043	0.0041
			C V	33.78	5.54	4.67

単位：%

2) SCXカートリッジによる調製

	カラム名	内径	長さ	スコポラミン	ヒヨスチアミン	総アルカロイド
A社	Wakosil 5 C ₁₈ N	4.6	150	0.011	0.079	0.080
B社	Capcell pak SG120	4.6	150	0.026	0.086	0.111
C社	Shimpack CLC-ODS	6	150	0.016	0.088	0.104
D社	Nucleosil 5 C ₁₈	4.6	150	0.011	0.083	0.094
E社	Inertsil ODS-2	4.6	150	0.015	0.079	0.094
F社	Cosmosil 5 C ₁₈ -AR	4.6	150	0.023	0.083	0.106
G社	Inertsil ODS-2	4.6	150	0.014	0.080	0.094
H社	Inertsil ODS-2	4.6	150	0.011	0.087	0.087
I社	TSKgel 80TM	4.6	150	0.015	0.078	0.090
J社	STR ODS-M	6	150	0.009	0.079	0.088
			平均	0.0148	0.0821	0.0969
			S D	0.0053	0.0034	0.0073
			C V	35.73	4.20	7.53

表4 C₁₈及びSCXカートリッジカラムを用いたロートエキス散の定量

単位：%

初に検討した。その結果図2に示したように、どちらのモデル処方においてもほとんどの場合、スコポラミンの溶出位置に他成分由来のピークが重なっていた。しかし、ヒヨスチアミンの溶出位置には他成分由来のピークは認められなかった。

2) 表5に添加回収試験結果を示した。

モデル処方1について、C₁₈カートリッジ処理の回収率が若干悪く、他は良好な回収率が得られた。

3) 日局抽出法(アンモニアエーテル抽出)での定量が可能かを検討した。その結果、スコポラミンばかりかヒヨスチアミンのピーク溶出位置にも妨害ピークが多く、定量は全く

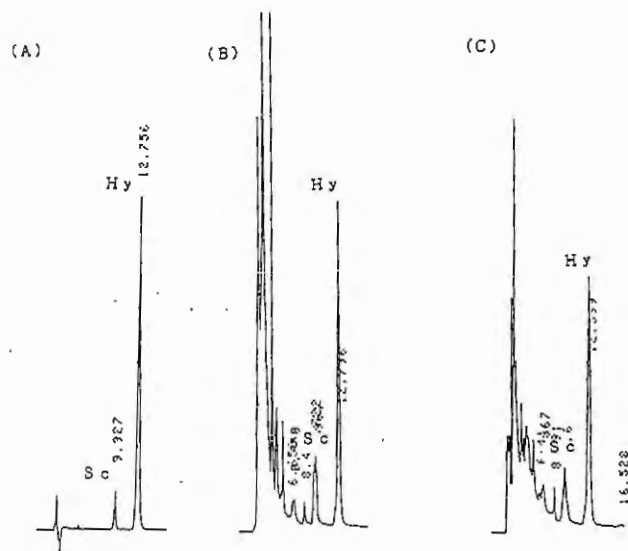


図1 C₁₈及びSCXカートリッジを用いたロートエキス散定量のHPLCクロマトグラム

Sc ; スコポラミンのピーク Hy ; ヒヨスチアミンのピーク
(A)標準溶液 (B)C₁₈カートリッジによる調製 (C)SCXカートリッジによる調製

不可能であった。このことから、カートリッジカラムによる前処理が迅速かつ有用な方法であると思われる。

4) モデル処方Iの定量結果を表6に示した。使用したロートエキス散中のヒヨスチアミン含量が0.077%であることから、モデル処方IIのSCXカートリッジ処理に関してはほぼ良好な結果が

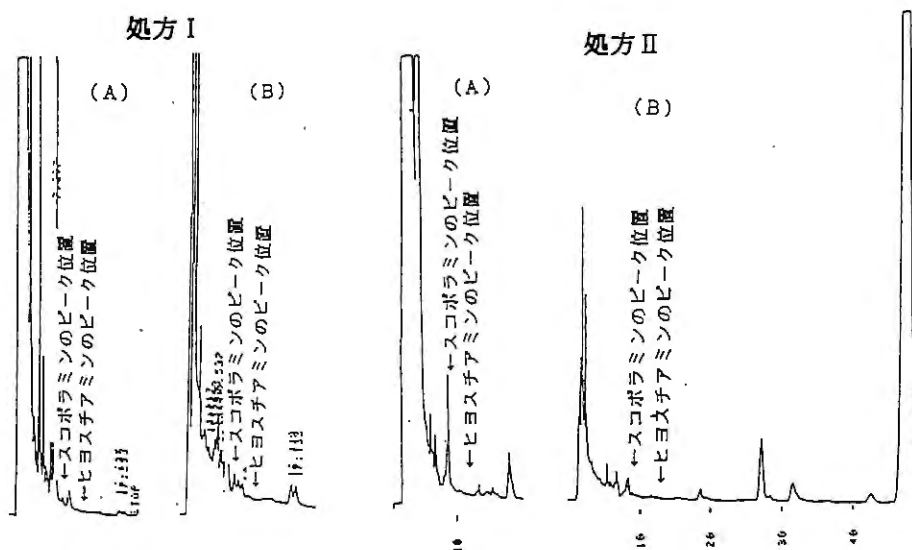


図2 モデル処方のブランクのHPLCクロマトグラム
(A)C₁₈カートリッジによる調製 (B)SCXカートリッジによる調製

モデル処方I

	カラム名	内径	長さ	C ₁₈	SCX
				ヒヨスチアミン	ヒヨスチアミン
A社	Wakosil 5 C ₁₈ N	4.6	150	94.6	99.4
B社	Capcell pak SG120	4.6	150	97.3	96.4
C社	Shimpack CLC-ODS	6	150	94.6	98.9
D社	Nucleosil 5 C ₁₈	4.6	150	95.5	97.3
E社	Inertsil ODS-2	4.6	150	99.3	99.3
			平均	96.3	98.3
			S D	1.81	1.20
			C V	1.88	1.22

単位：%

モデル処方II

	カラム名	内径	長さ	C ₁₈	SCX
				ヒヨスチアミン	ヒヨスチアミン
F社	Cosmosil 5 C ₁₈ -AR	4.6	150	100.3	100.3
G社	Inertsil ODS-2	4.6	150	98.1	99.4
H社	Inertsil ODS-2	4.6	150	100.8	100.2
I社	TSKgel 80TM	4.6	150	98.1	98.5
J社	STR ODS-M	6	150	101.2	102.4
			平均	99.7	100.2
			S D	1.34	1.29
			C V	1.34	1.29

単位：%

表5 モデル処方における添加回収試験

モデル処方I

	カラム名	内径	長さ	C ₁₈	SCX
A社	Wakosil 5 C ₁₈ N	4.6	150	0.061	0.070
B社	Capcell pak SG120	4.6	150	0.074	0.069
C社	Shimpack CLC-ODS	6	150	0.066	0.067
D社	Nucleosil 5 C ₁₈	4.6	150	0.073	0.068
E社	Inertsil ODS-2	4.6	250	0.065	0.082
			平均	0.068	0.071
			SD	0.0050	0.0055
			CV	7.31	7.71

単位：%

モデル処方II

	カラム名	内径	長さ	C ₁₈	SCX
F社	Cosmosil 5 C ₁₈ -AR	4.6	150	0.078	0.083
G社	Inertsil ODS-2	4.6	150	0.072	0.079
H社	Inertsil ODS-2	4.6	150	0.065	0.082
I社	TSKgel 80TM	4.6	150	0.071	0.074
J社	STR ODS-M	6	150	0.069	0.071
			平均	0.071	0.078
			SD	0.0042	0.0046
			CV	5.98	5.94

単位：%

表6 モデル処方におけるヒヨスチアミンの定量

られた。モデル処方IIの代表的なクロマトグラムを図3に示した。しかし、モデル処方Iの場合カートリッジカラムの違いにかかわらず回収率が若干低く、抽出不足が考えられた。これは、制酸剤による抽出妨害（例えば抽出液のpH上昇による抽出不足）あるいは生薬類による抽出妨害と思われた。

5) そこで、抽出妨害の原因となる成分が何であるかを調べるため、表7に示したA~Cの3種類のブランク試料を調製し、ヒヨスチアミンの定量を行った。その結果、生薬末を除いたCが高い回収率を示した。そこで次に生薬末を一成分ずつ除いたC1~C3のブランク試料を調製し、ヒヨスチアミンの定量を行ったところ、C2が高い回収率を示した。（チョウジ末は配合量が少ないので省略した。）このことから、ケイヒ末が多く配合されている処方では抽出法に何らかの検討を加えることが必要である。

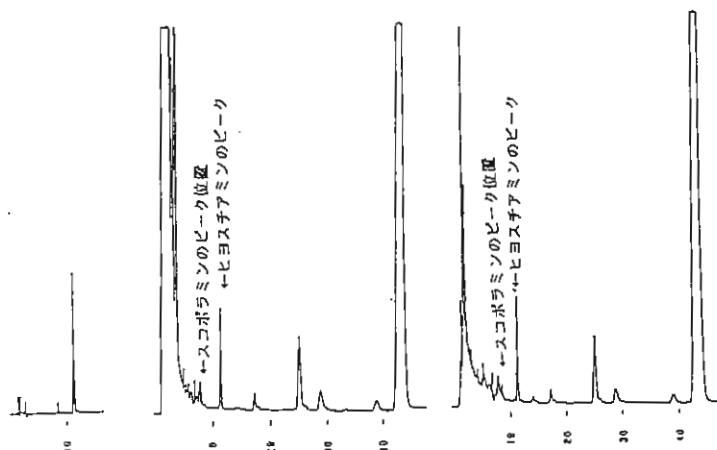


図3 モデル処方IIの定量クロマトグラム

(A)標準溶液 (B)C₁₈カートリッジによる調製 (C)SCX

	処方Iから除いた成分	カートリッジカラム	含量(%)	回収率(%)
A	炭酸水素ナトリウム	SCX	0.067	82.7
B	メタケイ酸アルミン酸マグネシウム	SCX	0.076	86.4
C	生薬末	SCX	0.080	98.8
C1	カンゾウ末	C ₁₈	0.076	91.6
		SCX	0.070	84.3
C2	ケイヒ末	C ₁₈	0.079	95.2
		SCX	0.078	94.0
C3	ウイキョウ末	C ₁₈	0.074	98.2
		SCX	0.070	84.3

表7 処方Iの各ブランク試料におけるヒヨスチアミンの定量

5. ロートエキス配合の市販胃腸薬の品質評価
ロートエキス配合の市販胃腸薬のヒヨスチア

ミンの定量結果を表7に示した。処方に適したカートリッジカラム及び分析用カラムを用いることによって、いずれも定量可能であった。定量値も、スコポラミンの含量を考慮するとほぼ日局の規格内の値が得られた。例として、S社製の錠剤のクロマトグラムを図3に示した。

単位(%)

検体	ロートエキス配合量 (一日量)	カートリッジカラム	分析用カラム	ロートエキス中の ヒヨスチアミン(%)	主に配合されている成分
錠剤(S社製)	30mg	SCX	TSLgel 80TM	0.83	ケイヒ末 カンゾウ末 オウバク末 ウイキョウ末
錠剤(T社製)	17mg	SCX	Shimpack CLS-ODS	0.84	塩化ベルベリン タンニン酸アルブミン
錠剤(K社製)	90mg*	C ₁₈	Inertsil 5C ₁₈	0.90	センブリ末 ホップ乾燥エキス
散剤(S社製)	30mg	C ₁₈	Nucleosil 5C ₁₈	0.87	エンゴサク末 ケイヒ末
顆粒剤(E社製)	30mg	SCX	TSKgel 80TM	0.84	ケイヒ油 カンゾウ末 カジュツ末 オウバク末

*ロートエキス3倍散

表8. ロートエキス配合の市販胃腸薬のヒヨスチアミンの定量

まとめ

1. 日局ロートエキス散でC₁₈及びSCXカートリッジを用いたトロパンアルカロイドの定量を行ったところ、ヒヨスチアミンの定量に関しては再現性は良かったが、スコポラミンはロートエキス散中の含量が少ないことや他成分とピークが重なる分析用カラムもあり、再現性は悪かった。
2. ロートエキスを含む和漢薬配合胃腸薬のモデル処方2種類を設定し、カートリッジカラムを用いた迅速定量法の検討を行った結果、処方IIにおいては良好な結果が得られ、十分に製品試験等に应用できることがわかった。処方Iにおいては、生薬中の特にケイヒ末の影響で若干抽出不足になることがわかり、ケイヒ末が多く配合される処方では注意が必要である。

いずれにせよ、ヒヨスチアミンの定量に関しては大島らのカラムスイッチング法による報告³⁾もあるが、カートリッジカラムを用いた方法が安価で簡便なこともあり、今後大いに利用できると考えている。

3. ロートエキス配合の市販胃腸薬5種類について、今回検討した定量法に従ってヒヨスチアミ

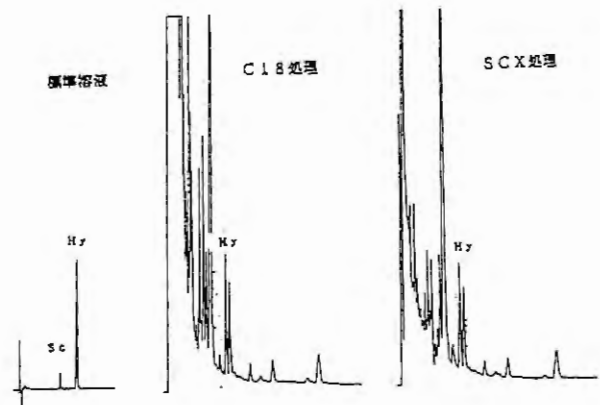


図4 S社製錠剤のHPLCクロマトグラム
カラム: TSKgel 80TM (★4.6mm×150mm)

分析用カラム	メーカー名
Wakosil 5C ₁₈ N	和光純薬工業
Capcell pak SG120	資生堂
Shimpack CLC-ODS	島津製作所
Nucleosil 5C ₁₈	ナーゲル社
Inertsil ODS-2	ジーエルサイエンス
Cosmosil 5C ₁₈ AR	ナカライテスク
TSK gel 80TM	東ソー
STR ODS-M	島津テクノリサーチ
YMC pack ODS-AL 302	ワイエムシー

表9 分析用カラム名とメーカー名

ンを定量したところ、処方に適したカートリッジカラム及び分析用カラムを選択することによって、いずれも定量可能であった。

4. 今回検討した定量法では、スコポラミンの定量は不可能であった。しかし、市販のロートエキス及びロートエキス散の品質評価を行ったところ、スコポラミンとヒヨスチアミンの相対比はほぼ一定していた。従って、ヒヨスチアミンを定量するだけでも十分に品質管理は可能であると思われる。

なお、本研究は富山県平成3年度医薬品共同研究助成事業として行われました。

謝 辞

本研究に対し、御指導を賜りました富山県薬事研究所の横田洋一氏に深謝致します。

文 献

- 1) 宮竹ノリエら：高速液体クロマトグラフィーによる胃腸薬中のヒヨスチアミンの定量，第27回全国衛生化学技術協議会年会講演要旨集 146 (1990)
- 2) 浅水敬子ら：生薬試験用標準品の規格設定に関する検討（第四報），家庭薬研究 No.10, 41 (1991)
- 3) T.Ohshima., et al, Chromatography 547, 175~183 (1991)

保存剤 塩化ベンザルコニウムの評価 (1)

Evaluation of Preservative Effect of Benzalkonium Chloride (1)

アルキル基側鎖による配合挙動とその抗菌力

Effect of Alkyl Chain Length on Antibacterial Activity

佐 貫 大三郎
Daisaburo SANUKI

青 木 貴 彦
Takahiko AOKI

○永 井 美由紀
Miyuki NAGAI

テイカ製薬株式会社 開発部
Teika Pharmaceutical Co., Ltd. Reserch and Development Division

結 言

塩化ベンザルコニウム (BAC) は比較的広い抗菌スペクトルを持つ殺菌消毒剤で、点眼剤の保存剤としても用いられている。

第十二改正日本薬局方によると、BACは分子式 $[C_6H_5CH_2N(CH_3)_2R]Cl$ のジメチルベンジルアンモニウムで、RはC₈からC₁₈で主としてC₁₂およびC₁₄から成るとされている。これらの構造は極めて類似しているが、そのアルキル鎖長の違いにより抗菌活性やアルブミンへの結合性に違いがあるとの報告がある¹⁻³⁾。またBACを液剤に配合した場合、薬剤によっては濁りを生じるなど製剤上問題となることがある。今回著書らはアルキル基鎖長の違いが濁りや抗菌力にどのような影響を及ぼすかを検討し、興味ある結果が得られたので以下その詳細を報告する。

実 験 の 部

1. 試 料

BAC同族体の側鎖アルキル基C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆, C₁₈の標準試料 [C₁₀ (純度98%), C₁₂ (98%), C₁₄ (97%), C₁₆ (94%), C₁₈ (C₁₆:16%, C₁₈:84%)] は三洋化成工業(株)より入手した。また市販品として、5社5品目の塩化ベンザルコニウム液A, B, C, D, Eを用いた。

2. 実験方法

1) BACの分析法

BACの分析はHPLC法により行った。Table1にその条件を示す。

試料はBAC濃度が1 mg/mlになるように蒸留水で希釈し、その2 mlを正確に量り、内標標準溶液 [p-ヒドロキシ安息香酸ブチル: 2.5 μg/ml (MeOH)] 2 mlを加えた液20 μlをHPLC装置に注入した。また定量は内標準法を用い面積法で行った。

2) 濁りの測定法

BAC (0.01%) と薬物を配合した水溶液につき、分光光度計 (日立320型自記分光光度計) を用い、610nm における透過率 (%) を測定した。なお薬物として、Dipotassium Glycyrrhizinate (DPGR) (0.1%), Sodium Chondroitin Sulfate (SCS) (0.1%), Sodium Sulfamethoxazole (SSM) (2%), Disodium Cromoglicate (DSCG) (2%) を用いた。

3) 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法

MIC測定は日本化学療法学会標準法に従い、液体微量希釈法で行った。各アルキル鎖のBACを滅菌蒸留水に溶解し、100~0.013 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の2倍希釈系列を作成し、その250 μl をマイクロプレートの各ウェル (350 μl 容量) に分注した。各ウェルに約 10^7 cfu/mlとした供試菌を25 μl 滴下し、37°C, 20時間培養後、肉眼的に菌の有無を判定した。

供試菌としてS.aureus (IFO 3060), P.aeruginosa (IFO 13275) を用いた。

実験結果

1. 市販BACの分析

C_{10} ~ C_{18} のBACのクロマトグラムをFig. 1に示す。この条件下では、アルキル鎖が C_{10} から C_{18} のすべてにおいて500~2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲で良好な直線性を示した。

市販BACを分析した結果をTable 2に示す。この結果ほとんどが C_{12} , C_{14} であり、 C_{16} , C_{18} は微量で、 C_{10} は認められなかった。特徴としてはAは C_{12} が約60%, C_{14} が約37%であり、B, Cはその組成比が多少異なるのに対し、D, Eは C_{12} が80%前後と多かった。またEは他と比べ C_{18} が多かった。

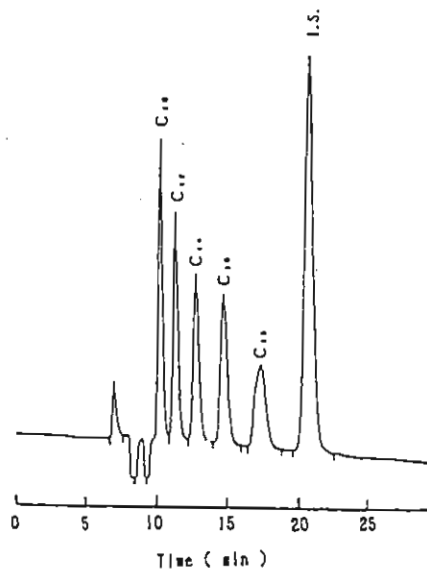


Fig. 1 Chromatogram of benzalkonium chloride

Table 1 Operating condition of HPLC

Column	GS-310 (ASAHI CHEMICAL INDUSTRY CO. LTD.)
Temperature	Room Temp.
Mobile phase	50mM NaNO ₃ aq. /Acetonitrile(1:1)
Flow rate	1ml/min
Detector	UV 254nm
Internal Standard	n-Butyl p-Hydroxy benzoate

Table 2 Percentage of homologues of long - chain alkyl group of benzalkonium chloride on the market (%)

maker \ alkyl chain	C_{10}	C_{12}	C_{14}	C_{16}	C_{18}
A	0	58.7	36.9	4.4	0
B	0	72.6	24.2	2.4	0.8
C	0	67.3	30.2	2.0	0.5
D	0	77.1	20.8	1.1	1.1
E	0	80.4	3.6	0	16.0

2. BACと薬物配合時の濁り度の測定

1) アルキル鎖別BAC

アルキル鎖別BACと薬物を配合した結果をTable3に示す。各薬剤ともBACのアルキル鎖が短いほど透過率が高く、SCS, DSCGではC₁₀との配合時の透過率はほとんど100%近くであった。一方アルキル鎖が長くなるにつれ透過率は低下し、また一部沈殿が凝集し測定不能な薬剤も見られた。

2) 市販BAC

市販BACと薬剤を配合した結果をTable4に示す。各薬剤とも透過率が低下したが、市販品Dの使用がどの薬剤に対しても透過率は高かった。

3. アルキル鎖別のBACの抗菌力

アルキル鎖別のBACのMICをFig. 2に示す。BACはアルキル鎖によりMICにかなりの違いがあり、*S.aureus*に対してはC₁₄, *P.aeruginosa*に対してはC₁₆が最も活性が強く、またいずれの菌に対してもC₁₀は極端に抗菌力が低下した。C₁₂, C₁₄を主とする市販品Aは相応の抗菌力を示した。

4. 添加剤による濁り度の改善

市販BACと各薬剤を配合した溶液に、添加剤を加え検討を行った。添加剤として界面活性剤HCO-60, TO-10, MYS-40を用い、これらの界面活性剤は医薬品添加物の点眼剤における使用前例最大濃度で行い、またβ-シクロデキストリンを1%で用いた。結果をTable5に示す。添加剤を加えない対照では透過率が低いのにに対し、添加剤を加えた場合透過率は極めて高い値を示した。

Table 3 Transmittance of mixture of drugs and each chain alkyl group of benzalkonium chloride (%)

drug alkyl chain	0.1% DPGR	0.1% SCS	2% SSM	2% DSCG
C ₁₀	64.3	99.7	95.8	99.6
C ₁₂	25.4	78.4	84.4	98.6
C ₁₄	32.7	—	—	62.9
C ₁₆	13.7	—	—	60.5
C ₁₈	—	—	—	42.3

Table 4 Transmittance of mixture of drugs and benzalkonium chloride on the market (%)

drug maker	0.1% DPGR	0.1% SCS	2% SSM	2% DSCG
A	53.3	75.9	21.7	73.5
B	53.3	80.3	21.0	91.8
C	56.4	87.0	17.0	72.6
D	77.8	93.1	37.2	98.9
E	67.8	90.3	16.7	89.8

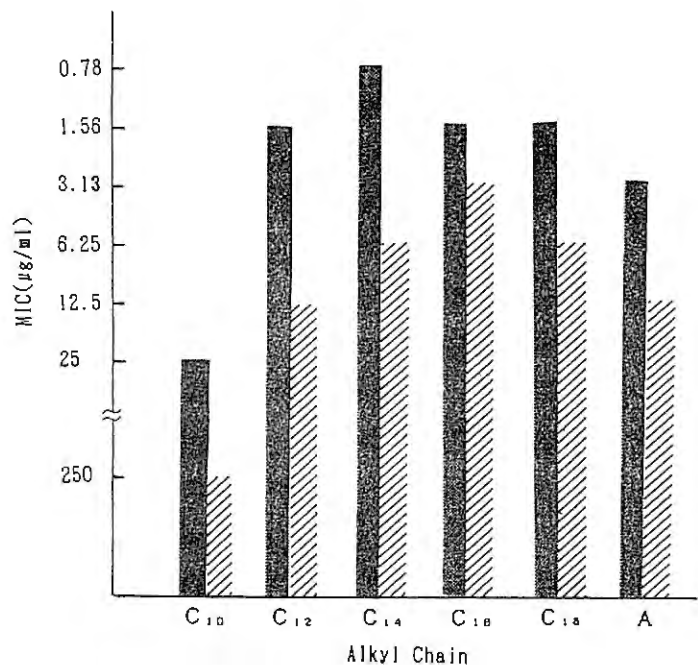


Fig. 2 MIC of each chain alkyl group of benzalkonium chloride to *S.aureus* and *P.aeruginosa*
 ■ : *S.aureus* , ▨ : *P.aeruginosa*

Table 5 Change of transmittance after appending each addition to mixture of each drug and 0.01% benzalkonium chloride (%)

addition drug	control	1% HCO-60	2.3% TO-10	3% MYS-40	1% β -cyclo dextrin
DPGR	53.3	100	100	100	96.6
SCS	75.9	100	100	100	95.8
SSM	21.7	100	100	100	98.3
DSCG	73.5	100	100	100	100

考 察

BACと薬剤との配合時の濁り度はBACのアルキル鎖が短いほど少なかった。濁りの度合いはそのアルキル鎖の長さの違いより水に対する溶解度が異なるものと考えられる。また薬剤によっても配合挙動が異なることが分かった。

S. aureus は眼感染症の90%を占め、*P. aeruginosa* は重篤な眼感染症を引き起こすと言われている。これらの菌においてBACの抗菌力は C_{12} から C_{18} の値に対し、 C_{10} では極端に低下した。また菌種によっても抗菌力に違いが見られた。薬剤との配合時の濁りに関しては C_{10} が透過性が高かったが、抗菌力の点で作用は弱く、このことが市販品に C_{10} が存在しなかった理由であると考えられる。

BACの抗菌活性に及ぼすアルキル鎖長の影響についての報告は数多くあり、一般に炭素数が C_{14} までの抗菌力は濃度の対数に直線的に増加するが、ある炭素数を越えると活性が低下することが知られている²⁾。この炭素数は供試した菌種によっても異なり¹⁾、またイースト懸濁液やヒト血清中では殺菌速度は C_{12} が C_{16} と比べ勝るとの報告もある³⁾。また牛血清アルブミンとの結合率は C_{14} が C_{12} より数倍大きいことのほか、 C_{14} 、 C_{16} は C_{12} に比べ有機物による効力の減弱を受けやすいことも報告³⁾され、実際市販品には C_{12} が一番多く含まれている。

市販BACと薬剤を配合した場合、界面活性剤などの添加により濁り度は改善された。これは界面活性剤はミセルを形成し、 β -シクロデキストリンは包接化合物を形成することにより、その溶解性が増加したものと考えられる。界面活性剤の添加による防腐剤の抗菌力に対する影響は、パラベン類の*A. nigar*に対して検討されており、界面活性剤Tween20のcmc (critical micelle concentrations) までは抗菌力は増強し、それ以上では低下するという報告⁴⁾もある。

今回界面活性剤はかなり高濃度を用いているが、低濃度では可溶化はより容易であり、薬剤や添加剤の影響によりBACの抗菌力が変化することも考えられるので、今後は添加剤低濃度での影響を検討していきたい。

文 献

- 1) D.W.Bois,J.Swarbrick,Interaction of quarternary ammonium bactericides with biological materials II:Insoluble monolayer studies,J.Pharm.Sci.,61, 393-399 (1972)
- 2) E.Tomlinson et.al.Effect of colloidal association on the measured activity of alkylbenzyl-dimethylammonium chloride against *Pseudomonas aeruginosa*,J.Med.Chem.,20,1277-1282 (1977)
- 3) K.Johnson et.al.Effect of alkyl chain length of benzalkonium chloride on the bactericidal activity and binding to organic materials,Chem.Pharm.Bull.,34, 4215-4224 (1986)
- 4) 青木 大ら, 界面活性剤の製剤への応用研究(第1報), 薬学雑誌, 76, 939-943 (1959)

湿式造粒における各種崩壊剤の特性

Effects of Several Disintegrants on Wet Granulation Method

富山県薬事研究会 製剤部会

Division of Pharmaceutics,
Toyama Pharmaceutical Research Association

釣谷 豊之 Toyoyuki TURITANI	鐘紡(株) Kanebo Co.,Ltd.
藤井 悦宗 Yoshimune FUJII	極東薬品(株) Kyokuto Yakuhin Co.,Ltd.
花木 晃 Akira HANAOKI	(株)廣貫堂 Kokando Co.,Ltd.
山岡 みどり Midori YAMAOKA	(株)広昌堂 Koshodo Co.,Ltd.
高橋 葉子 Yoko TAKAHASHI	第一薬品(株) Daiichi Medicine Co.,Ltd.
木村 充輝 Miki KIMURA	第一薬品工業(株) Daiichi Pharmaceutical Co.,Ltd.
西浦 桂子 Keiko NISHIURA	大協薬品工業(株) Taikyo Pharmaceutical Co.,Ltd.
瀧本 辰也 Tatsuya TAKIMOTO	ダイト(株) Daito Co.,Ltd.
中嶋 昌代 Masayo NAKAJIMA	大同製薬(株) Daido Pharmaceutical Co.,Ltd.
高瀬 博志 Hiroshi TAKASE	中新薬業(株) Chushin Yakugyo Co.,Ltd.
佐久間 哲 Satoshi SAKUMA	東亜薬品(株) Toa Medicine Co.,Ltd.
河合 多久己 Takumi KAWAI	東洋ファルマー(株) Toyo Pharmar Co.,Ltd.
藤田 博子 Hiroko FUJITA	(株)内外薬品商会 Naigai Medicine Co.,Ltd.
芝田 秀則 Hidenori SHIBATA	
金井 達夫 Tatsuo KANAI	日本医薬品工業(株) Nihon Iyakuhin Kogyo Co.,Ltd.
○堀田 良晴 Yoshiharu HORITA	富士化学工業(株) Fuji Chemical Industry Co.,Ltd.
本郷 高久 Takahisa HONGO	富士製薬工業(株) Fuji Pharmaceutical Co.,Ltd.
萩原 彰人 Akihito HAGIHARA	(株)富士薬品 Fuji Medicine Co.,Ltd.
川筋 透 Toru KAWASUJI	富山県薬事研究所 Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research

緒 言

崩壊剤は、錠剤、顆粒剤、カプセル剤等の経口固形剤にとって重要な添加剤のひとつであり、崩壊剤の製剤特性、Bioavailability への影響などについていくつかの報告^{1)~3)}がみられる。これは、製剤が崩壊、溶出、体内への吸収、作用部位への到達というプロセスを経て初めて薬効を発揮するため、より速く微粒子にまで崩壊することが重要であるからである。

今回、我々は10種類の崩壊剤をとりあげ、吸湿と膨潤の指標である水和能の測定及び乳糖錠における各種崩壊剤の崩壊特性を比較検討し、若干の知見を得たので以下その詳細を報告する。

実 験 の 部

1. 試 料

1) 崩 壊 剤

デンプン系崩壊剤4種及びセルロース系崩壊剤5種等合計10種類の崩壊剤を用いた。

デンプン系

カルボキシメチルスターチナトリウム (Primojel=CMS-Na, 松谷化学)

ヒドロキシプロピルスターチ (HPS-101=HPS, フロイント産業)

部分アルファー化デンプン (STARCH1500=ST, 日本カラコン)

部分アルファー化デンプン (PCS, 旭化成工業)

セルロース系

カルボキシメチルセルロース (NS-300=CMC, ニチリン化学工業)

カルボキシメチルセルロースカルシウム (ECG-505=CMC-Ca, ニチリン化学工業)

架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム (Ac-Di-Sol=ADS, 旭化成工業)

低置換度ヒドロキシプロピルセルロース (L-HPC LH-11=LH-11, 信越化学工業)

低置換度ヒドロキシプロピルセルロース (L-HPC LH-22=LH-22, 信越化学工業)

その他

架橋ポリビニルピロリドン (Kollidon CL=KCL, BASF)

2) その他の試料

乳糖はDMV製の200M, ヒドロキシプロピルセルロースは日本曹達製のHPC-L, ステアリン酸マグネシウムは日本油脂の製品を用いた。

2. 使用機器

造粒には畑鉄工所製の万能試作機HU-A及びHU-G型, 乾燥にはフロイント産業製のフローコーターFLO-1型, 打錠には岩黒製作所製単式強圧打錠機を用いた。また, 崩壊試験器は富山産業製のNT-2HS型, 恒温恒湿器はタバイ製のPR-1E型及び日立製作所製のEC-80-H HCG型を用いた。

3. 吸湿性の測定

いくつかの崩壊剤を秤量瓶の底に厚さ1~2mm程度量り, 一夜乾燥(室温, 減圧, シルカゲル)した後40°75%の恒温恒湿器に入れ, 乾燥前の秤量値をもとに重量変化率(%)を算出し, 吸湿率を求めた。

4. 水和能の測定

水和能の測定は Kornbium らの方法⁴⁾を参考にして行った。崩壊剤1.0gを50ml遠沈管に入れ、試験液30mlを加え懸濁状になるまで遠沈管を激しく振とうした。5分後、10分後に再度振とうしたのち2000rpmで15分間遠心分離し、上澄液を静かに捨て、沈渣の重さを測定した。水和能は乾燥時の重さに対する膨潤時の重さの比率で表した。

試験液は、蒸留水、日局第1液、日局第2液、pH 4.0 0.1M酢酸緩衝液、0.1Mリン酸水素ナトリウム水溶液 (pH 9.0) の5種を用いた。

5. 試作方法

崩壊剤を打錠時および顆粒内に添加する2種の方法で、主薬を加えない乳糖錠を試作した。試作処方及び手順は次のとおりである。

〈試作処方〉	賦形剤	乳糖	95.5%
	結合剤	HPC-L	2.0
	崩壊剤	各種	2.0
	滑沢剤	ステアリン酸マグネシウム	0.5
			100 %

〈試作手順〉

打錠時添加

顆粒内添加

乳糖3820g, HPC-L80gを混合

乳糖955g, HPC-L20g, 崩壊剤20gを混合

↓

↓

精製水320mlを加えて練合

精製水100mlを加えて練合

↓

↓

0.6mmスクリーンにて押し出し造粒

0.6mmスクリーンにて押し出し造粒

↓

↓

フローコーターにて乾燥

フローコーターにて乾燥

↓

↓

24メッシュ篩にて整粒

24メッシュ篩にて整粒

↓

↓

各種崩壊剤と滑沢剤を加えて混合し
1ロットを300gとする。

滑沢剤を加えて混合し
1ロットを300gとする。

↓

↓

直径10mm重量400mgで打錠

直径10mm重量400mgで打錠

6. 崩壊試験

崩壊試験は試験液に蒸留水、日局第1液、pH 4.0 酢酸緩衝液を用いて日局崩壊試験法に準じて行った。ただし、補助盤は錠剤の付着がみられたので使用しなかった。

7. 崩壊性の経時変化

試作した錠剤の経時的な崩壊挙動の変化をみるため、錠剤をガラス瓶に入れて密栓し、50° 75%の恒温恒湿器に保存し1, 2, 3ヵ月後に蒸留水を用いて崩壊時間を測定した。

結果及び考察

1. 吸湿性

一夜乾燥後から72時間の吸湿挙動を Fig. 1 に示す。多くの崩壊剤は一旦乾燥した後では吸湿は速やかで1~2時間ではほぼ平衡に達した。測定した試料の中で、KCL, ADS及びCMS-Naは吸湿性が高いことがわかった。

2. 水和能

各試験液における水和能を Fig. 2 に示す。金属塩のCMC-Ca, ADS, CMS-Naは試験液のpHの違いにより値が異なり、酸性溶液中では小さい値を示す傾向がある。その他の崩壊剤では試験液のpHに関係なくほぼ一定の値を示した。

3. 崩壊時間と水和能

試作した錠剤の崩壊時間と各種崩壊剤の水和能を併せて Fig. 3, Fig. 4 に示す。図中の崩壊時間の広がりはいずれも6錠における最大値, 最小値を表している。10種類の崩壊剤のうちKCL, CMC, CMC-Ca, ADS, CMS-Na (蒸留水 顆粒内添加を除く), LH-11, LH-22, HPSを用いた錠剤の崩壊は、比較的速く、特にKCL, CMC, CMC-Ca, ADSは速かった。一方、PCSとSTでは顆粒内添加の蒸留水と第1液の場合、ブランクと大差なくバラツキも大きかった。また、CMS-Naは蒸留水中での崩壊時間は打錠時添加が5分以内と速いのに対して、顆粒内添加ではかなりの遅延がみられた。これはCMS-Naが造粒時に添加した水によって膨潤し、一部糊状になったためと考えられる。また、全般的には顆粒内添加の方が打錠時添加よりも崩壊が遅い傾向にあり、これもCMS-Naの場合と同様の現象と考えられる。

Fig. 5 では視点をかえて、崩壊剤をデンプン系とセルロース系の2群に分けて水和能と崩壊時

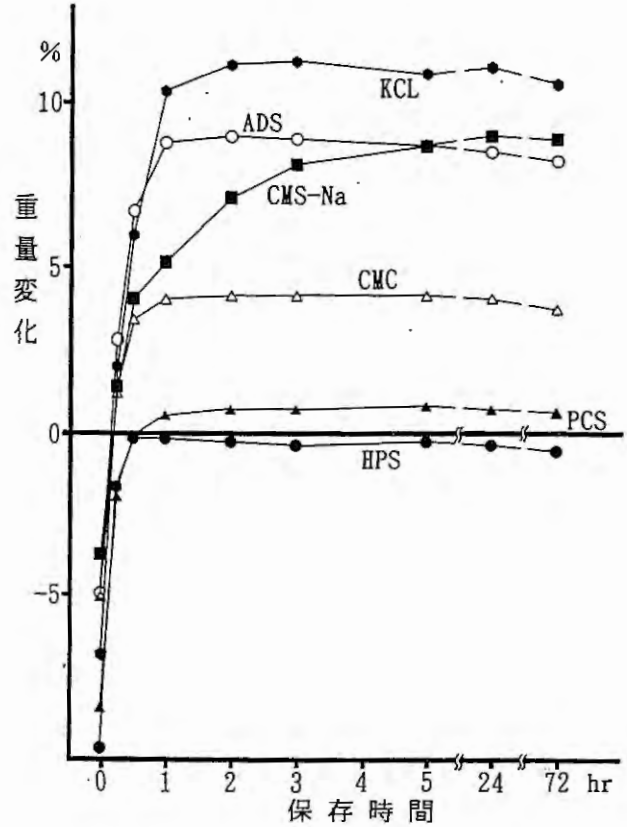


Fig. 1 各種崩壊剤の吸湿性

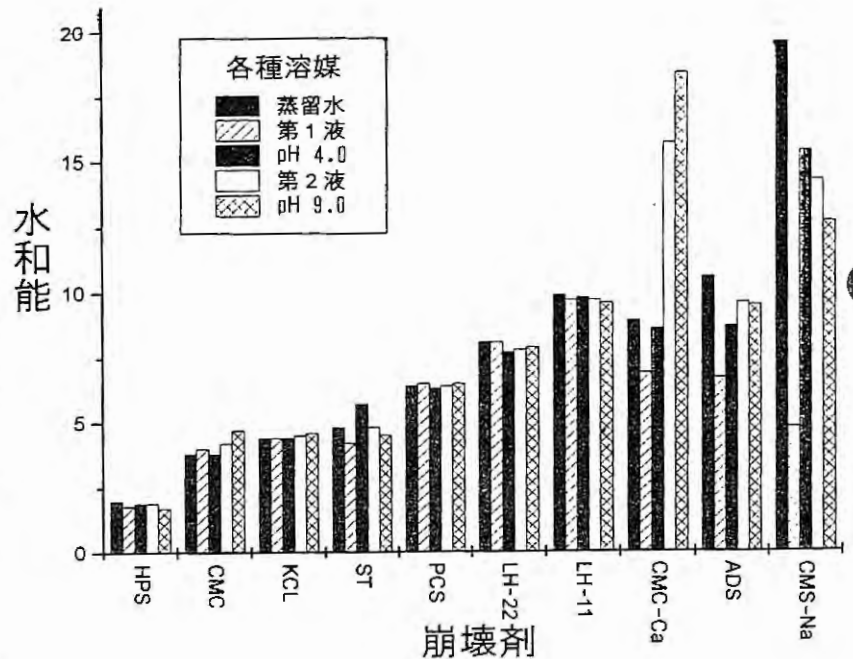


Fig. 2 各種崩壊剤の水和能

間の関係を比較した。ただし、pHにより水和能の値が大きく異なったCMS-Na, CMC-Ca, ADSは除いた。

全般的にデンプン系の方がセルロース系より崩壊が遅くなっていた。また、セルロース系では水和能に関係なく崩壊時間はほぼ一定であったが、デンプン系は蒸留水及び第1液の顆粒内添加において水和能の値が大きくなれば崩壊時間も遅くなる傾向があった。なお、試験液がpH 4.0酢酸緩衝液の場合、デンプン系やセルロース系、水和能及び崩壊剤添加方法による違いはほとんどなくすべて速く崩壊していることが判る。

4. 崩壊時間の経時変化

50°で3カ月間まで保存した試料の崩壊時間の経時変化をFig. 6, Fig. 7に示す。

崩壊時間の延長は全体にみられ、打錠時添加の方がLH-11を除き顆粒内添加よりも大きい傾向がみられた。これは顆粒内添加の場合、崩壊剤に対しあらかじめ水和、膨潤などが進行する

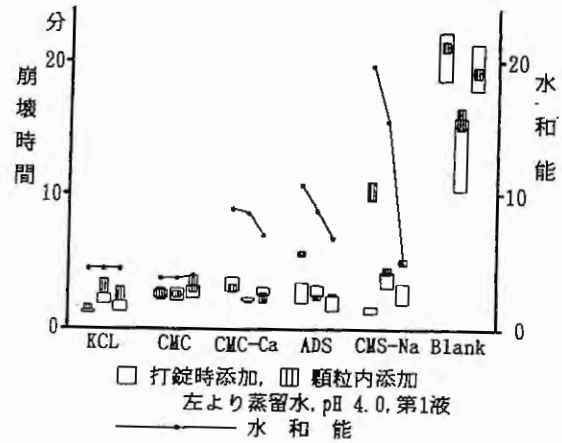


Fig. 3 錠剤の崩壊時間 1

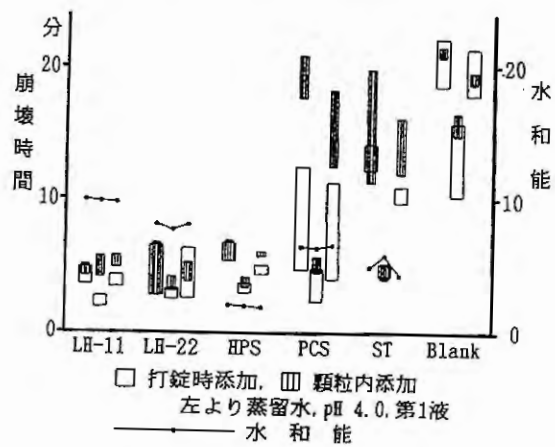
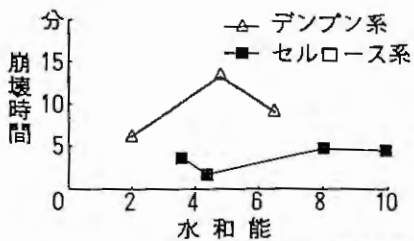
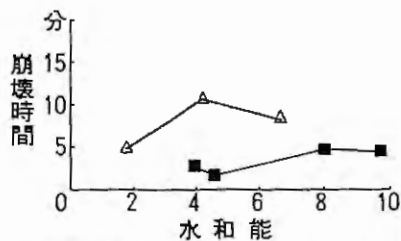


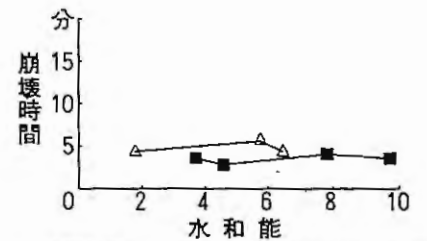
Fig. 4 錠剤の崩壊時間 2



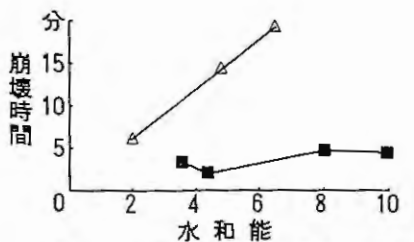
試験液:蒸留水, 崩壊剤:打錠時添加



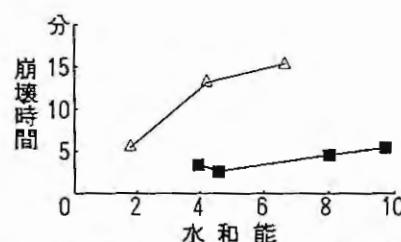
試験液:日局1液, 崩壊剤:打錠時添加



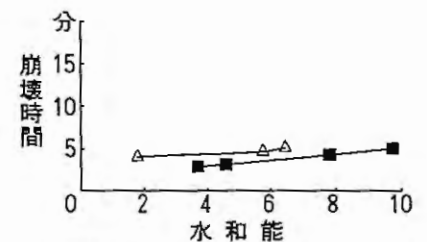
試験液:pH 4, 崩壊剤:打錠時添加



試験液:蒸留水, 崩壊剤:顆粒内添加



試験液:日局1液, 崩壊剤:顆粒内添加



試験液:pH 4, 崩壊剤:顆粒内添加

Fig. 5 水和能と崩壊時間の関係

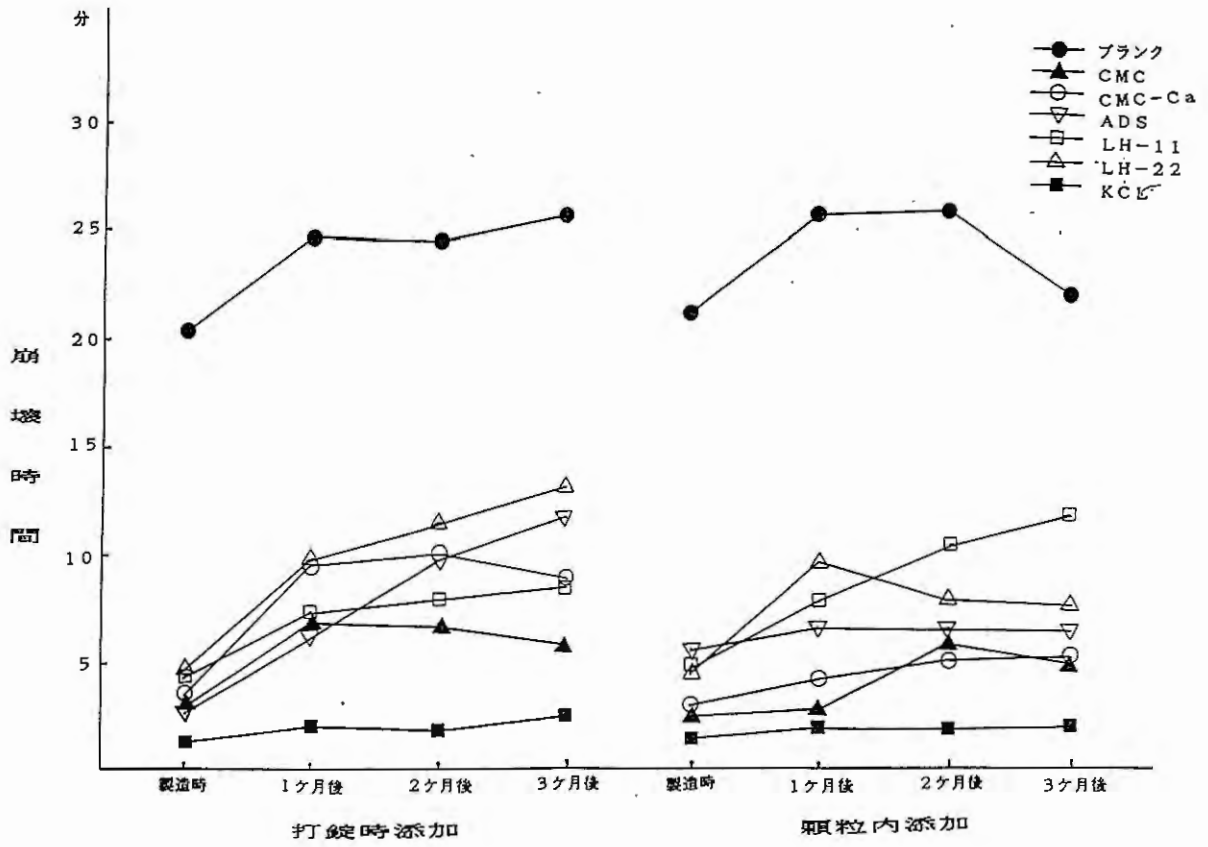


Fig. 6 崩壊時間の経時変化1

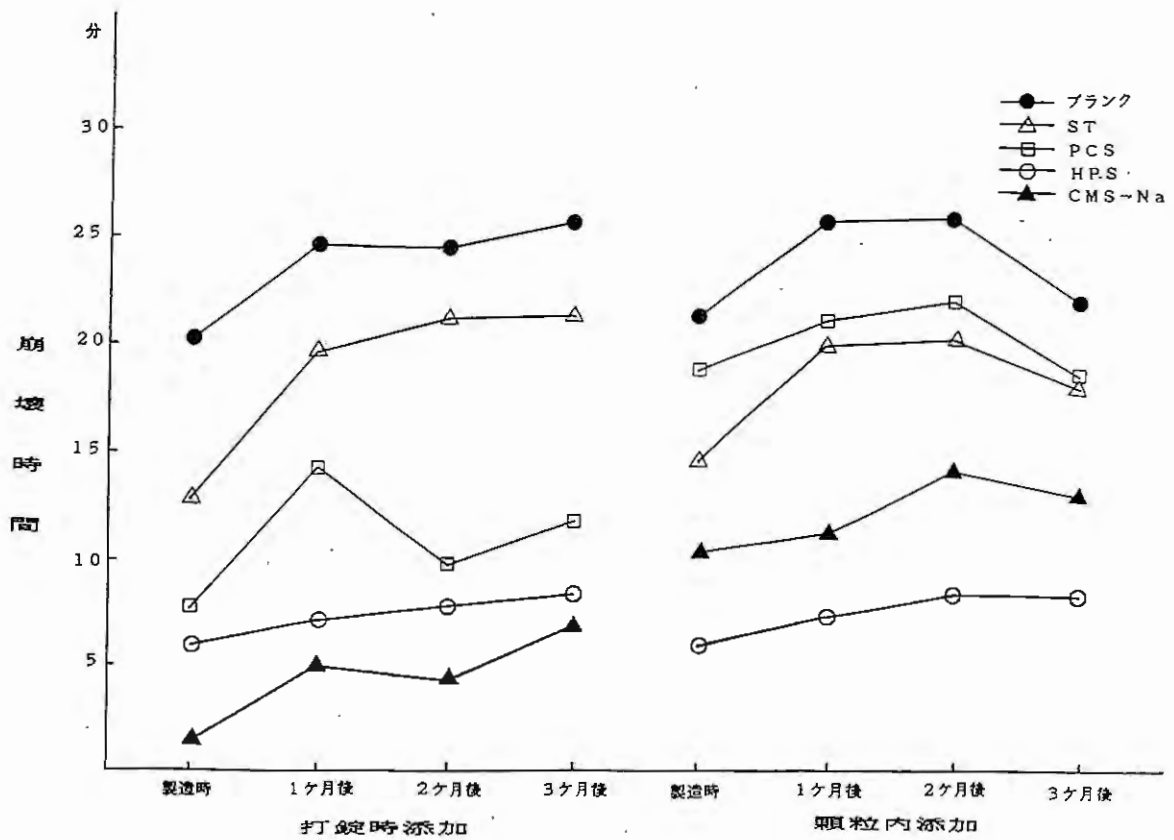


Fig. 7 崩壊時間の経時変化2

ので、その後の時間的経過に対して変化が少なくなるためなどが考えられる。中でも ADS がこの傾向が顕著であった。また、比較的崩壊時間が延長しなかった崩壊剤は KCL 及び HPS であった。

ま と め

多くの崩壊剤では、乾燥した後の吸湿は速やかで、1～2時間ではほぼ平衡に達した。また、金属塩になっている崩壊剤の水和能は、試験液の pH により値が大きく異なった。崩壊時間はセルロース系よりもデンプン系が遅い傾向があり、PCS, ST, CMS-Na の顆粒内添加では試験液の種類によって崩壊剤の効力が大きく低下したり、バラツキが大きくなったりした。また、全般的に打錠時添加の方が顆粒内添加よりも崩壊が速い傾向にあったが、逆に、50°における経時変化試験では打錠時添加に崩壊時間の延長が強くみられた。

このように崩壊剤はその構造（デンプン系やセルロース系または塩構造など）が pH 特性や造粒時、打錠時の結合状態などに大きな影響を与え、更に崩壊時間の延長にも関与し複雑な現象を引き起こしているものと推察される。崩壊剤としての機能をより効果的に発現させるためには、これらの崩壊剤の特性をふまえた製剤化が必要といえる。

今回の実験では崩壊剤の添加量を 2% として検討したが添加量の違いによっては別の結果が得られることも考えられる。今後は添加量の違いや主薬を含む錠剤などについても検討を行い、崩壊剤の性質をより多く明らかにしていきたい。

文 献

- 1) 古座谷醇ら, 湿式造粒における各種崩壊剤の影響, 最近の製剤技術とその応用 II, 医薬ジャーナル社, 1985, 71-74
- 2) 竹尾公彦ら, 錠剤の崩壊性と薬効成分アセトアミノフェンの溶出性に対する内部架橋カルボキシメチルセルロースナトリウムほかの効果, 最近の製剤技術とその応用 II, 医薬ジャーナル社, 1985, 75-79
- 3) R. A. Miller et. al., Can. J. Pharm. Sci., 15 (3), 55-58, (1980)
- 4) S. Kornblum et. al., A New Tablet Disintegrating Agent: Cross-Linked Polyvinylpyrrolidone, J. Pharm. Sci., 62, 43-49, (1973)

丸剤の崩壊試験時間の検討

Studies on Distintegration Time of Pill

○ 竹内 二三雄^a
Fumio TAKEUCHI

江野本 加壽雄^b
Kazuo ENOMOTO

株式会社 廣貫堂 製薬部^a 品質管理部^b
Pharmaceutical Division^a and Quality Control Division^b, Koukandou Co., Ltd.

緒 言

丸剤は、古い歴史を持ち、多くの利点があるため、現在でも広く愛用されている。しかし、天然物の生薬を粉末として作られた丸剤は、その成形性と崩壊性の2面で問題があり、中でも崩壊時間のばらつきが著しい。

今までに、丸剤の崩壊についてはいろいろな研究がなされてきたが、明快な解決策は見出されていない。

そこで、崩壊時間のばらつきの原因解明とその長さについて検討を行い、若干の知見が得られたので以下その詳細を報告する。

実 験 の 部

1. 試 料

本実験に用いた丸剤の処方をFig. 1に示す。この処方では整腸剤で1日量中にゲンノショウコ900mg、オウレン100mg、オウバク770mg、ヨウバイヒ200mg、センブリ20mg、ロートエキス50mg、動物胆50mgを含む。これに賦形剤を加え素丸とし、更にコーティングして赤色の丸剤とし試料とした。

1丸の重量は52.8mg、直径4.4mmの丸剤である。

1日量(60丸)中	
ゲンノショウコ	900mg
オウレン	100mg
オウバク	770mg
ヨウバイヒ	200mg
センブリ	20mg
ロートエキス	50mg
動物胆	50mg
賦形剤等	----
小計	2,990mg
コーティング剤等	----
小計	780mg
合計	3,170mg

Fig. 1 丸剤の処方

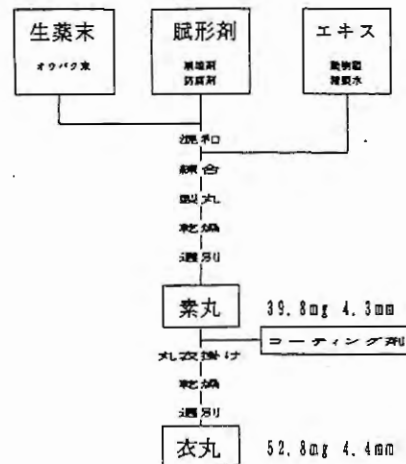


Fig. 2 丸剤の製造工程

2. 試料の調製

丸剤の製造工程を Fig. 2 に示す。

まず、生薬を粉碎し生薬末とし、賦形剤を加え混合末とする。次に、ロートエキス・動物胆のエキスに精製水を加え溶液とし、これを混合末に加え練合し製丸・乾燥・選別を行ない重量39.8mgの丸剤とし、コーティング剤で丸衣を掛け、乾燥・選別を行ない重量52.8mgの丸剤とした。以後このコーティング前の丸剤を素丸、コーティング後の丸剤を衣丸と略する。

装置：製丸機 小池鉄工 LB-760

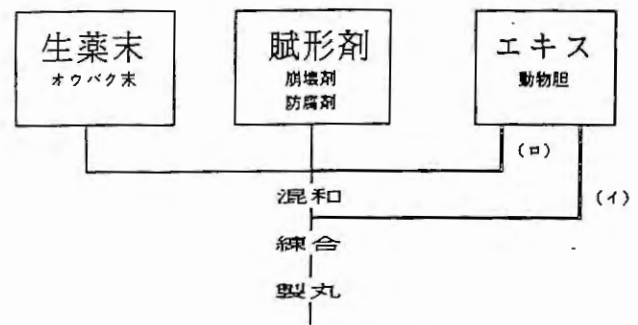


Fig. 3 製造方法の検討

3. 試験方法

崩壊試験は第12改正日本薬局方の一般試験法。

43. 崩壊試験法に準じて行なった。

装置：崩壊試験機 富山産業 NT-2H

“ 矢沢 HC-2

4. 製造方法の検討

製造及び原料におけるばらつきの要因として、粘性を持つ動物胆の不均一性が考えられる。そこで、混合・練合の工程において下記の(イ)、(ロ)の2通りの方法で混合・練合を行ない、それぞれ丸剤を製した。(Fig. 3)

(イ)動物胆を溶液として加え、練合する。

(ロ)動物胆を乾燥物として生薬末と混和した後、練合する。

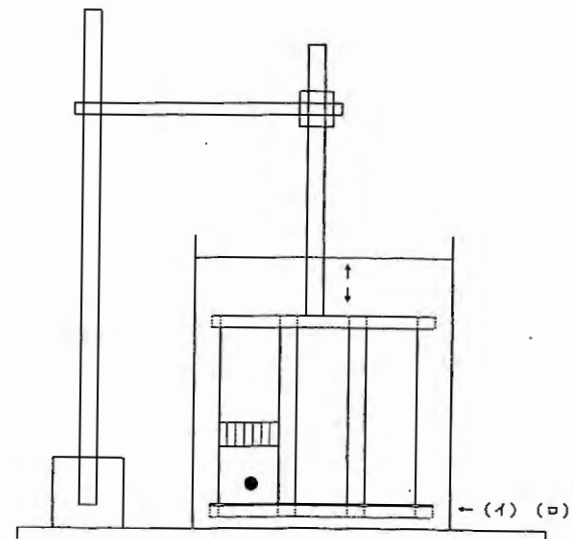


Fig. 4 試験方法の検討

5. 試験方法の検討

崩壊試験法におけるばらつきの要因として、試験器の底の網目の影響が考えられる。そこで網目の目開きが(イ)、(ロ)の2種類の試験器を用いて、試料の素丸と衣丸についてそれぞれ崩壊試験を行なった。(Fig. 4)

(イ)試験器の底の網目が従来の2.0mmの目開きのもの

(ロ)試験器の底の網目が補助筒と同じ0.42mmの目開きのもの

実験結果

1. 崩壊時間

試料6ロット(3ロット×2)の素丸と衣丸について行なった崩壊試験結果をTable 1、2に示す。

Table 1は1ロットにつき7回の試験を繰り返して行なった結果の一部を、Table 2は3ロットにつき21回行なった試験結果を動物胆の稠厚・乾燥別、丸剤の素丸・衣丸別、試験方法の網目大・網目小別に平均時間、最短最長時間、2液に入る回数についてそれぞれまとめたもので、平均時間

は3ロットの平均崩壊時間を、最短最長時間はサンプル数126個中の最短と最長崩壊時間を、2液に入る回数は21回の試験を行ない崩壊が第2液となる試験の回数である。

素丸、衣丸ともに、第2液で崩壊するものがそれぞれ見られた。この原因は、第1液の試験中に割れた丸剤の一部が試験器の網目に進入し取れにくくなるためである。また、第2液での崩壊時間は丸剤が試験器の網目より落ちた時間である。

平均崩壊時間、最短最長崩壊時間及び第2液に入る回数が試験方法の網目小の方法において減少した。特に第2液に入る回数では動物胆の稠厚、乾燥に関係なく著しく減少した。

〈素丸〉								
ロット	くり返し	崩壊時間(分)				統計量		
		第1液		第2液				
12-1	1	20	30	30	35	45	50	n=42 X=42.5 R=80 σ _{n-1} =23.1
	2	15	25	25	25	50	20	
	3	30	30	43	45	55	20	
	4	35	40	45	60	60	60	
	5	25	35	40	45	60	35	
	6	20	40	40	40	45	45	
	7	30	35	40	45	45	50	

〈衣丸〉								
ロット	くり返し	崩壊時間(分)				統計量		
		第1液		第2液				
13-1	1	30	42	58	2	3	60	n=42 X=49.8 R=103 σ _{n-1} =23.1
	2	25	30	55	57	20	30	
	3	23	40	40	43	50	60	
	4	17	31	38	8	30	38	
	5	25	38	44	48	54	20	
	6	24	35	35	38	39	60	
	7	30	30	35	41	41		

Table 1 崩壊試験成績

実験因子		試験回数(回)	平均時間(分)	最短~最長時間(分)	2液に入る回数/21
素丸	網目大	稠厚 1	3ロット×7 =21 37.3 (42.5 40.7 28.8)	10~120	7
		乾燥 2	3ロット×7 =21 30.7 (30.0 29.6 32.6)	10~70	2
	網目小	稠厚 3	3ロット×7 =21 23.8 (27.8 24.8 18.8)	8~63	1
		乾燥 4	3ロット×7 =21 24.6 (23.9 27.1 22.9)	5~48	-
衣丸	網目大	稠厚 5	3ロット×7 =21 42.0 (49.8 37.1 39.0)	15~120	9
		乾燥 6	3ロット×7 =21 41.8 (45.0 41.9 38.5)	18~72	6
	網目小	稠厚 7	3ロット×7 =21 25.7 (26.3 23.3 27.6)	6~58	-
		乾燥 8	3ロット×7 =21 27.4 (24.4 28.7 29.0)	10~62	1

Table 2 崩壊時間

2. 平均崩壊時間

平均崩壊時間のグラフ Fig. 5 に示す。

それぞれの平均値の差においては、動物胆では素丸の網目大の試験方法で稠厚と乾燥に差があるものの、その他の稠厚と乾燥では差はなかった。しかし、試験方法では網目大と網目小で稠厚と乾燥、素丸と衣丸にそれぞれ1%の危険率で有意差が認められた。

3. 最短最長崩壊時間

最短最長崩壊時間のグラフを Fig. 6 に示す。

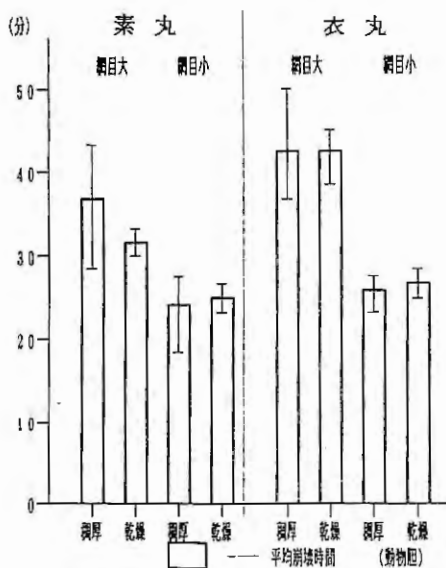


Fig. 5 平均崩壊時間

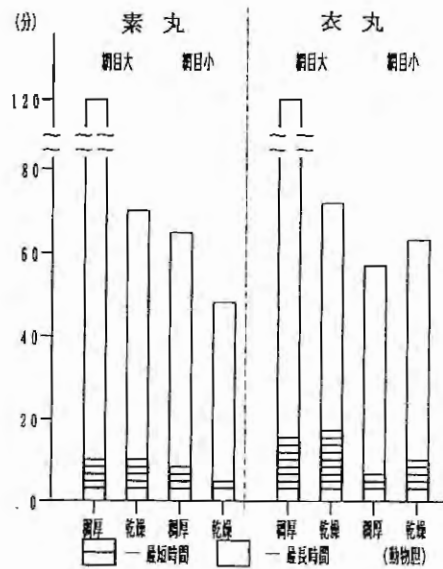


Fig. 6 最短最長崩壊時間

最短時間ではほとんど差は見られないが、最長時間では素丸、衣丸ともに、稠厚動物胆で作った丸剤を網目大の方法で試験したものと他の3つを比べると著しい差が見られた。すなわち最長崩壊時間では動物胆を乾燥物で加えて丸剤とするか、試験方法を網目小の方法とすることで丸剤の網目への引っかかりが少なくなり、最長崩壊時間がかなり短縮した。

4. 所要試験時間

所要試験時間及び所要試験時間のグラフを Table 3 及び Fig. 7 に示す。

Table 3 は 21 回の試験にかかった時間をそれぞれ計算したもので、1 回の試験の最長崩壊時間を 21 回分合計した時間である。Fig. 7 は所要試験時間をグラフとしたものである。

先の最長崩壊時間と同じように、動物胆を乾燥物で加えるか、試験方法を網目小の方法とすることで、試験時間が短くなった。

実験 2		B1		B2	
実験 1		網目の目開き (大) 2.0 mm		網目の目開き (小) 0.42 mm	
A1	動物胆 (稠厚)	素丸	23.7 H	素丸	13.7 H
A2	動物胆 (乾燥)	素丸	16.3 H	素丸	11.2 H
A1	動物胆 (稠厚)	衣丸	25.3 H	衣丸	12.7 H
A2	動物胆 (乾燥)	衣丸	20.0 H	衣丸	13.1 H

Table 3 所要試験時間

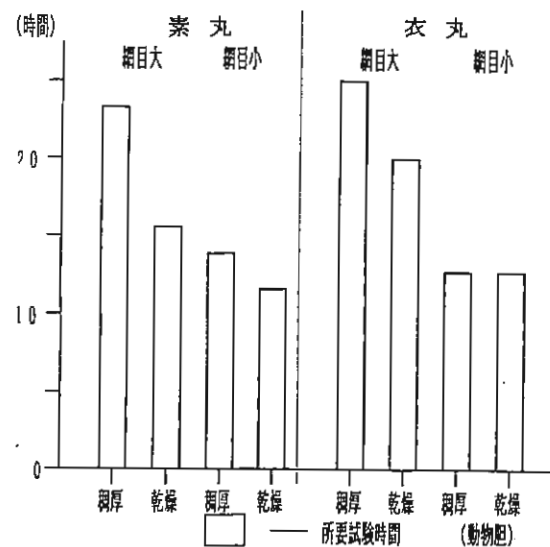


Fig. 7 所要試験時間

考 察

以上の結果より、

- 崩壊時間のばらつきの原因は、試験中に割れた丸剤の一部が試験器の底の網目に進入したまま、取れにくくなるためであることが分かった。
- この網目への丸剤の引っ掛かりの製造上の要因としては、粘りを持つ動物胆の不均一性が考えられた。そこで、原料の動物胆を溶液として加えず、乾燥物として加えて練合したところ、従来の試験方法で最長崩壊時間に著しい短縮が見られ、試験時間の短縮が計られた。
- 試験法上の要因としては、試験器の底の網の目開きが考えられた。そこで試験器の底の網の目開きを 2.0 mm → 0.42 mm に変更することで、平均崩壊時間、最長崩壊時間に著しい短縮が見られ、試験時間の短縮が計られた。

今回、崩壊試験中に丸剤の一部が試験器の底の網目に引っかかり、そのままの状態では試験を続けることの妥当性について疑問を持ち、その対策として試験方法などに検討を加え改善することができた。しかし、本試験方法（網目小）の妥当性について検討を行なうと共に、第 1 液における崩壊時間のばらつきの改善のために製造方法などについて、今後も検討をしていかなければならないと考える。

実験的空間認知障害に対する各種和漢薬の影響

Effects of Some Traditional Kampo Medicines on Spatial Cognitive Disruption
in 8-arm Radial Maze Performance in Rats

富山県薬事研究会 生物部会

Division of Pharmacology, Toyama Pharmaceutical Research Association

近藤 弘之 (ダイト)
Hiroyuki KONDO

石黒龍太郎 (第一薬工)
Ryutaro ISHIGUR

笹倉 貢 (リードケミカル)
Mitsugu SASAKURA

上川 浩 (広貫堂)
Hiroshi KAMIKAWA

寺崎 正之 (中新薬業)
Msayuki TERASAKI

篠原 達雄 (ダイト)
Tatsuo SHINOHARA

浅水 敬子 (明生薬工)
Keiko ASAMIZU

長井 喜美 (延寿堂)
Kimi NAGAI

坂井 弘一 (第一薬工)
Hiroichi SAKAI

松原 利行 (薬事研究所)
Toshiyuki MATSUBARA

緒 言

高齢化社会が進む中で痴呆は大きな社会問題となりつつある。痴呆は脳の器質的病変によって後天的に引き起こされる記憶障害、知能低下及びそれに随伴する精神的・行動的障害を総括する症候群をいい、脳血管性痴呆とアルツハイマー型痴呆の二種類がある。わが国においては前者の方が多いと言われ、その予防・治療薬の開発が積極的に進められている。痴呆改善薬の研究で不可欠である病態モデルには各種あるが、現在汎用されているのはスコポリン健忘および一過性脳虚血モデルである。生物部会でも、これらの病態モデルを用い和漢薬の中でも臨床的に痴呆改善作用があるといわれている黄連解毒湯、当帰芍薬散など^{1, 2)}を中心にラットを用いて実験的空間認知障害に対する影響を調べた。

実験材料および実験方法

1) 実験動物

薬事研究所において繁殖飼育している雄性脳卒中易発性高血圧ラット (SHRSP) および三協ラボサービス(株)より購入した Wistar 系雄性ラット (8週令) を試験に用いた。

2) 被験体

黄連解毒湯 (ヒトの1日量: オウレン 3 g, オウゴン 2 g, オウバク 2 g, サンシシ 2 g), 当帰芍薬散 (ヒトの1日量: タクシャ 4 g, シャクヤク 4 g, ソウジュツ 4 g, ブクリョウ 4 g, センキュウ 3 g, トウキ 3 g) を漢方薬煎じ器 (株) 栃本天海堂, 文火 I K-230^{とろび} で煎じ, 熱時濾過後凍結乾燥により抽出エキスを調製した。エキスの収率は黄連解毒湯が23%, 当帰芍薬散が19%であった。なお, 上記各生薬は池田屋安兵衛商店から購入した。牛黄については第一薬品工業よりオーストラリア産のものを購入した。六神丸は養命製薬で製剤したのを用いた。以上の被験体を, 超

音波発生装置（日本精機，US-150）を用いて1%カルボキシメチルセルロースナトリウム（CMC-Na，和光純薬）に均一に懸濁し試験液とした。その他の試薬として，スコポラミン臭化水素酸塩一水和物（和光純薬）を蒸留水に溶解して実験に用いた。

3) 空間認知の訓練法

使用動物の体重を約80%まで減少させるとともに，恒常的な飢餓状態を作るため，最初の9日間は餌の量を1日7gに制限し（ただし初日のみ完全絶食とした），そのうち試験期間中は1日14gを与え，餌に対する欲求を増強させた（図1）。10日目から8方向放射状迷路装置（株）メディカルリサーチイクイップメント，O&S MAZE）を用いてアーム先端にある餌を正確に早く取れるように訓練を行った。学習度の評価は表1に示すように0点から10点までの11段階の評価点（memorial score, MS）を用いて行い，学習記憶が十分されたと考えられる7点以上の点数を取れる動物（誤選択0または1回）について以下の障害を課した。

MS	8選択終了時の誤選択回数	8選択に要した時間	備考 ^{a)}
10	0回	2分以内	
9	0回	4分以内	
8	1回	2分以内	
7	1回	4分以内	
6	2回	2分以内	
5	3回以下	3分以内	
4	4回以下	4分以内	
3	5回以下	5分以内	
2	5回以下	7分以内	
1	6回以上	7分以内	
0	全試行16回以上（誤選択8回以上）		MSA
0	7分以内に8選択を終了できない		TU

a) MSA: Max. selected arm, TU: Time up

表1 8方向放射状迷路における学習評価法
[Memorial score (MS)]

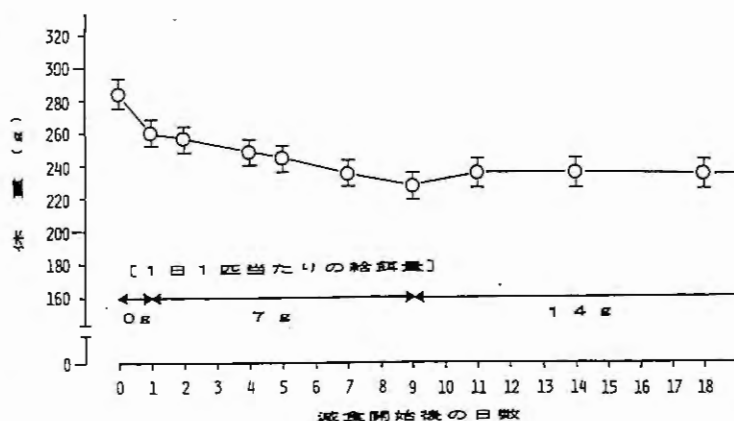


図1 食事制限下におけるラットの体重変化

図中の各点は40例の平均値±SDで表した。

4) 一過性脳虚血モデルの作製

SHRSPに被験体を経口投与し，約45分後に塩酸ケタミン100mg/kgの腹腔内投与により麻酔を施した。この動物を背位に固定後，頸部を切開し両側頸動脈を露出させた。被験体投与から正確に1時間後から両側頸動脈を動脈クレンメで閉塞した。15分間経過の後，動脈クレンメをはずし両側頸動脈の血流を再開通させ，頸部の皮膚を縫合し一過性脳虚血モデルを作製した。翌日より7日間連日8方向放射状迷路課題を実施しMSを測定した。なお，今回は椎骨動脈の焼灼を行わなかった。また，手術操作を同様に実施するが閉塞を行わない偽手術群をおいた。

5) スコポラミン健忘モデルの作製

SHRSPまたWistarラットに被験体を経口投与し，その30分後に，スコポラミンの0.5mg/kgを腹腔内に投与した。その後SHRSPを用いた実験では30分，2時間，4時間経過した時点で，またWistarラットを用いた実験では30分，1時間，2時間経過した時点で8方向放射状迷路課題を実施しMSの測定を行った。

実験結果

1. SHRSPを用いた実験

1) 一過性脳虚血モデルに対する各種薬剤の影響

脳虚血実施後1日目には溶媒対照群および黄連解毒湯投与群（ヒトの0.1日量/匹）ではMSが5程度に低下したが，偽手術群および牛黄投与群（1g/kg）ではMSがほとんど低下せず，牛黄に脳虚血による空間認知障害を予防する効果が認められた（図2）。

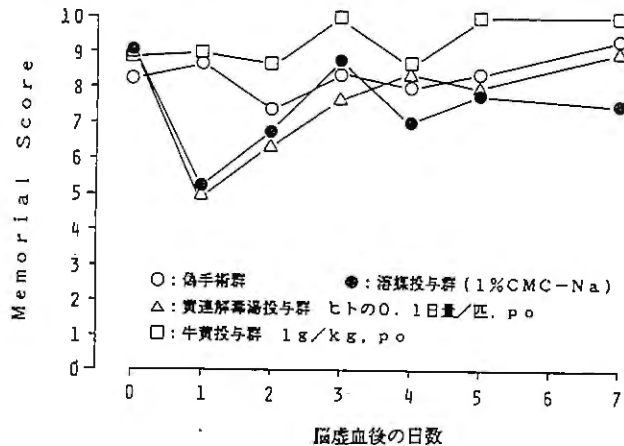


図2 両側頸動脈閉塞による記憶障害に対する黄連解毒湯および牛黄の影響

2) スコポラミン健忘モデルに対する各種薬剤の影響

スコポラミン投与により30分後にはMSが極めて低くなり空間認知がほとんどできなくなったが，黄連解毒湯の前投与により，この空間認知障害は抑制された。一方，脳虚血モデルで有効であった牛黄はこのモデルではほとんど無効であった（表2）。

投 薬 薬	用 量	動物数	Memorial score ^{a)}			
			投与前値 ^{b)}	30分後	2時間後 ^{c)}	4時間後 ^{c)}
1% CMC-Na	-	4	9.68±0.65	1.50±1.29	7.50±1.00	8.50±1.91
黄連解毒湯	0.1 日量/匹	4	9.68±0.65	6.25±4.79	6.75±2.99	6.75±2.50
牛黄	1g/kg	5	8.74±1.30	2.25±3.20	6.50±3.00	8.20±3.03

a) 別表に示す Memorial score の平均値±SD で表す。

b) 投与前3日間の平均値。

c) 測定するまえにセンターフロアおよび各アームを2回充分に清掃した

表2 SHRSPにおけるスコポラミン誘発健忘に対する黄連解毒湯および牛黄の影響

2. Wistar ラットを用いた実験

1) 迷路課題における学習度の推移

今回は使用した動物の数が多かったので，訓練に時間がかかる初期（6回目まで）には2群に分け，訓練を1日おき（但し土・日曜日を除く）に実施した。7回目からは全動物について毎日（但し土・日曜日を除く）訓練を実施した。訓練を始めた当初にはMSが0の動物がほとんどであったが，10回程度繰り返すとほぼ半数の動物が1回以下の間違いしかしなくなり，17回目にお

いては半数以上の動物が全く間違いをせずに8個の餌を取れるようになった(図3)。

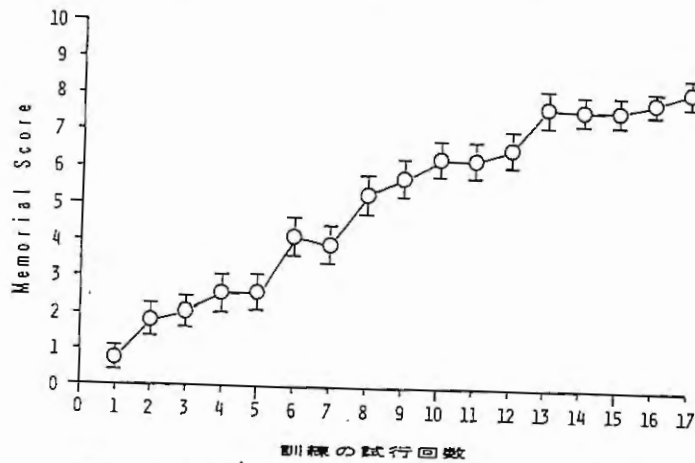


図3 8方向放射状迷路課題における学習度の推移

図中の各点は37匹のWister系雄性ラットで得られたMSの平均値±SE

2) スコポラミン健忘モデルに対する各種薬剤の影響

スコポラミン投与により30分後には空間認知がほとんどできない動物(MSがほとんど0点)が多く、1時間および2時間経過後もその回復は遅く、SHRSPでの実験よりスコポラミンによる障害が程度およびその持続時間いずれも強かった。このモデルにおいて、30分後には黄連解毒湯および牛黄に若干の改善傾向が認められ、1時間後にはこれらの2種類の薬剤の投与群に明らかな改善が認められた。一方、当帰芍薬散または六神丸投与群においては、30分後および1時間後ではそのような有効性は認められなかったが、六神丸投与群で牛黄投与群と共に2時間後にMSの改善が認められた(表3)。

被験薬	用量	動物数	Memorial Score ^{a)}			
			投与前値 ^{b)}	30分後	1時間後	2時間後
1%CMC-Na	-	8	9.40±0.61	0.63±0.92	1.00±1.20	2.75±2.92
黄連解毒湯	0.002 日量/匹 (3.9mg/body)	8	9.35±0.65	2.13±2.59	4.13±3.36*	4.25±3.54
当帰芍薬散	0.01 日量/匹 (8.3mg/body)	8	8.74±1.06	0.38±0.74	1.25±2.55	4.38±4.31
牛黄	100mg/kg	9	9.27±0.58	1.44±1.59	4.67±3.43*	7.78±1.79**
六神丸	3粒/kg	7	9.29±0.86	0.86±1.86	1.86±2.73	7.57±2.99**

a) 別表に示すMemorial scoreの平均値±SDで表す。

b) 投与前3日間の平均値。

*, ** ; 1%CMC-Na投与群に対するStudent's t-test. *, P<0.05 ; **, P<0.01.

表3 スコポラミン誘発健忘に対する各種被験薬の影響

考 察

痴呆は脳の器質的病変による脳機能低下から高度の精神活動障害が起こる状態をいい、その症状は記憶力減退、見当識障害などの知的障害とそれに伴う自発性の低下、うつ状態、不安焦燥、睡眠障害、感情失禁、興奮不穏、幻覚妄想、行動異常などである。現在、これらの治療には脳循環改善薬および脳代謝改善薬などが主に臨床使用されている。一方、東洋医学においても「神農本草経」、「千金要方」、「傷寒論」などに痴呆についての記載があり古くから関心が持たれていたようである。最近の和漢薬研究の発展の中で、痴呆に対する和漢薬の基礎的・臨床的見当が多く加えられ、黄連解毒湯、抑肝散、抑肝散加陳皮半夏、釣藤散、統命湯、当帰芍薬散についての報告がある³⁾。今回の我々の実験では黄連解毒湯がスコポラミン健忘に対し著明な抑制効果を示したが、岩崎らは黄連解毒湯では脳虚血による空間認知障害に対しての有効性のほうがスコポラミン健忘の改善効果より顕著であったと報告し⁴⁾、さらに薬物投与時間を脳虚血の前後で検討することにより、脳保護作用よりもモノアミン系の機能低下を正常化させる作用が強いとの結論を得ている。我々の脳虚血痴呆モデルで黄連解毒湯が有効性を示さなかったのは、薬物投与を脳保護作用の方が現れ易い脳虚血を行う以前に行い、脳虚血後の再生試行の前に投与した前述の報告と異なっていたためかもしれない。

一方、今回の実験で牛黄に脳虚血による空間認知障害を予防する効果が認められた。牛黄は古来より「薬性論」および「日華子緒家本草」に脳卒中に用いられたと思われる記述があり、今回それを裏付けることができたと考えられる。また、森下らが牛黄・人参製剤「霊黄参」の実験的脳虚血障害に対する作用を低酸素性脳虚血における生存時間や脳ホモジネートの過酸化脂質産生などについて検討し、牛黄中のピリルビンに抗活性酸素作用を見出だしている⁵⁾。活性酸素は脳虚血による脳神経細胞障害に深く関与することがわかっていることから、今回得られたの脳虚血痴呆に対する牛黄の有効性についてはこの報告と論理的に合致し、脳神経細胞の障害からの保護作用として捕らえることが可能と思われる。

一方、今回の実験でスコポラミン健忘モデルに対し、牛黄の有効性または黄連解毒湯の改善度が使用した二種類の動物で相違がみられたことについては、各種の要因があると思われるが、主な原因としては健忘を誘発するスコポラミンの0.5mg/kg.ip という条件がこの2種類の動物で同じ病態を作製し得なかったこと、すなわちSHRSPは薬物の反応が弱く出る傾向にあり、スコポラミン健忘の状態が軽かったため被験薬の有効性が強調されたのかも知れない。また、文献等を参考に被験薬の用量をかなり変えたことも大きな原因とも思われるが、この点についてはさらに検討の必要があると思われる。

結 論

8方向放射状迷路課題を用いた実験的空間認知障害に対する各種薬剤の影響を調べた。一過性脳虚血モデルに対し、脳卒中に良いと言われる牛黄が空間認知障害を予防した。また、スコポラミン健忘モデルに対し、黄連解毒湯に顕著な改善効果がみられると共に、牛黄もある程度有効であった。また、六神丸はこの健忘からの回復を促進する可能性が示唆された。なお、これらの結果については、薬物の用量、投与方法、成分など多方面からさらに検討を加えたいと考えている。

文 献

- 1) 小暮久也：脳血管性痴呆と和漢薬 —— 漢方方剤の近代化にむけて ——，和漢医薬学会誌，6，238-241 (1989)
- 2) 山本孝之：痴呆の漢方療法，和漢医薬学会誌，8，478-479 (1991)
- 3) 藤原道弘：漢方薬 —— その医薬学的研究の最前線，「痴呆症」，代謝，29，130-143 (1992)
- 4) 岩崎克典，大神祐輔，植木昭和，藤原道弘：実験的空間認知に対する黄連解毒湯ならびに釣藤散の作用，和漢医薬学会誌，8，476-477 (1991)
- 5) 森下信一，庄司政満，小國泰弘，杉本智潮，平井康晴，東間章二，伊藤千尋：牛黄，人参製剤壺黄参の薬理作用（第3報） —— 実験的脳虚血障害に対する作用 ——，日薬理誌，98，435-442 (1991)

パップ剤中のサリチル酸誘導体の経皮吸収に及ぼす製剤的要因

Factor Effecting on Percutaneous Absorption of Salicylic Acid Derivatives Contained in Poultice

○ 後藤 茂 小 路 宣 昭 越 井 智 西嘉山 久 世
 Shigeru GOTO Noriaki SHOJI Satoshi KOSHII Nagayo NISHIKAYAMA
 野村 明 上 田 俊 則 森 茂 高 桑 徳 郎
 Akira NOMURA Toshinori UEDA Shigeru MORI Tokuro TAKAKUWA

リードケミカル株式会社 研究部
 Research Department, Lead Chemical Co., Ltd.

緒 言

サリチル酸誘導体は、古くから消炎、鎮痛を目的としたパップ剤、プラスター剤など多くの外用剤に配合され、現在でも広く使用されている。

パップ剤中に配合されたサリチル酸誘導体の経皮吸収に関する学問的研究は、現在までに様々な形で行われてきた^{1)~4)}。しかしながら、その経皮吸収に及ぼす製剤的要因についてはほとんど報告されていない。そこで今回、サリチル酸誘導体としてサリチル酸メチル及びサリチル酸グリコールを用いて、in vitro 皮膚透過試験を行い、パップ剤中のサリチル酸誘導体の経皮吸収に及ぼす製剤的要因について検討を行った。

実 験 の 部

1. 被験薬剤

アクリル系水性基剤中に精油成分を加えて均一に混練し、不織布上に140cm²当たり14gの割合で均一に展延した製剤を用いた。製剤中精油成分の処方を Table 1 に示す。

1. パップ剤基剤のpHによる影響

	(%)							
	A-1	A-2	A-3	A-4	B-1	B-2	B-3	B-4
サリチル酸メチル	2.0	2.0	2.0	2.0	-	-	-	-
サリチル酸グリコール	-	-	-	-	2.0	2.0	2.0	2.0
d-カンフル	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
l-メントール	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
pH*	5.0	5.6	6.2	6.9	5.3	5.6	6.3	7.0

2. d-カンフル、l-メントールの添加による影響

	(%)							
	C-1	C-2	C-3	C-4	D-1	D-2	D-3	D-4
サリチル酸メチル	2.0	2.0	2.0	2.0	-	-	-	-
サリチル酸グリコール	-	-	-	-	2.0	2.0	2.0	2.0
d-カンフル	-	1.0	-	1.0	-	1.0	-	1.0
l-メントール	1.0	-	-	1.0	1.0	-	-	1.0
pH*	6.3	6.3	6.3	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2

*測定法：膏体の30倍希釈液による測定

Table 1 ハップ剤膏体中精油成分処方

2. 試験項目

- 1) 製剤中のサリチル酸誘導体の確認
- 2) サリチル酸誘導体の各種 pH 緩衝液に対する溶解度及び安定性
- 3) パップ剤基剤の pH によるサリチル酸誘導体の皮膚透過性への影響
- 4) dl-カンフル, l-メントールの添加によるサリチル酸誘導体の皮膚透過性への影響

3. 実験方法

1) in vitro 皮膚透過試験

SD系ラットの腹部皮膚を電気バリカン及び電気カミソリで慎重に除毛した後摘出し、真皮がレセプター側になるよう拡散セル (Fig. 1) に固定した。皮膚の角質層側に直径 2 cm (有効拡散表面積 3.14cm²) に裁断した製剤を貼付し、レセプター相に空気が入らないようにタイロード液約 20ml を注入した。この時点をも時間ゼロとして、スターラーで攪拌しながら温度を 37° に保ち、一定時間毎にタイロード液を 0.2ml ずつ採取し、各時間毎の皮膚透過量を求めた。採取後は新たなタイロード液 0.2ml を加えて液量を補正した。

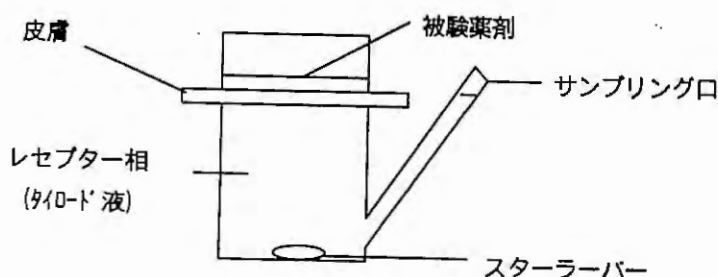


Fig. 1 in vitro 試験用拡散セル

2) サリチル酸誘導体の各 pH 緩衝液に対する溶解度及び安定性

pH 4 ~ 8 のクエン酸-リン酸塩緩衝液 5 g にサリチル酸誘導体を過飽和になるように加え、攪拌しながら 37° で 24 時間保存したのち、緩衝液中のサリチル酸誘導体及びサリチル酸の濃度を測定した。

3) サリチル酸誘導体及びサリチル酸の定量法

試料溶液 10 μ l を HPLC に注入し、UV 検出器を用いて絶対検量線法により定量した。

〈HPLC 条件〉

カラム：資生堂製 CAPCELLPAK CN (4.6mm ϕ × 250mm)

移動相：3% (v/v) CH₃COOH/CH₃OH (80:20)

流量：1.0ml/min.

カラム温度：40°

検出：UV 275nm

結果及び考察

1. 製剤中のサリチル酸誘導体の確認

in vitro 皮膚透過試験を行うにあたり、製剤中のサリチル酸誘導体及びその加水分解物であるサリチル酸濃度の確認を行った。結果を Table 2 に示す。全ての製剤においてサリチル酸誘導体はほぼ処方通り含まれており、またサリチル酸は全く検出されなかった。この確認試験は in vitro 皮膚透過試験と同時期に行った。したがって、試験期間中の製剤中サリチル酸誘導体は安定であり、製剤中にサリチル酸は全く含まれていないことが確認された。

1. ハップ剤基剤の pH による影響

	(%)							
	A-1	A-2	A-3	A-4	B-1	B-2	B-3	B-4
サリチル酸メチル	2.04	2.05	2.02	2.06	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
サリチル酸グリコール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.07	2.07	2.03	2.05
サリチル酸	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

2. α-カンフル, β-メントールの添加による影響

	(%)							
	C-1	C-2	C-3	C-4	D-1	D-2	D-3	D-4
サリチル酸メチル	2.01	2.06	2.07	2.06	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
サリチル酸グリコール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.11	2.10	2.06	2.09
サリチル酸	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N. D. : 検出されず

Table 2 製剤中サリチル酸誘導体の確認

2. サリチル酸誘導体の各種 pH 緩衝液に対する溶解度及び安定性

in vitro 皮膚透過試験に用いるタイロード液の液性を検討する目的で、各 pH 緩衝液に対するサリチル酸誘導体の溶解度及び安定性を検討した。結果を Fig. 2 に示す。pH 4~8 の範囲におけるサリチル酸メチルの溶解度は 0.7~0.8 mg/g、サリチル酸グリコールの溶解度は 10~12 mg/g であり、透過試験に用いるのに十分な溶解度であると判断した。また、安定性に関しては、pH 6 付近からサリチル酸メチル、サリチル酸グリコール共にサリチル酸への加水分解が観察され始め、pH が高くなるにしたがって溶液中サリチル酸量が増加した。上記の結果より、タイロード液の pH を 5 に設定した。

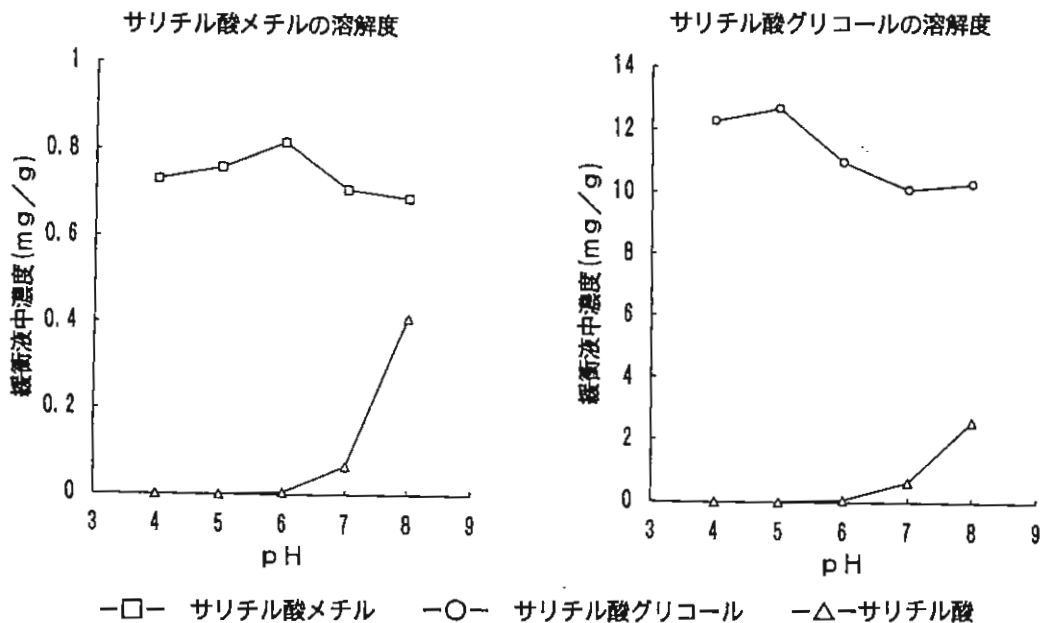


Fig. 2 サリチル酸誘導体の各種 pH 緩衝液に対する溶解度及び安定性

3. パップ剤基剤の pH によるサリチル酸誘導体の皮膚透過性への影響

サリチル酸誘導体及びサリチル酸の各時間毎の皮膚透過量を Table 3 に、各時間毎の透過量より求めた透過速度を Fig. 3 に示す。サリチル酸メチル、サリチル酸グリコール共に、基剤の pH による皮膚透過性への影響はほとんど認められなかった。サリチル酸メチルを含有する製剤ではタイロー

ド液中にサリチル酸メチルは検出されず、皮膚を透過する過程で全てサリチル酸に代謝されるものと考えられた。

1. サリチル酸メチルを含有する製剤における各時間毎の皮膚透過量

hr	$(\mu\text{mol}/\text{cm}^2)$							
	A-1		A-2		A-3		A-4	
	pH5.0		pH5.6		pH6.2		pH6.9	
	サリチル酸メチル	サリチル酸	サリチル酸メチル	サリチル酸	サリチル酸メチル	サリチル酸	サリチル酸メチル	サリチル酸
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0.78	0	0.79	0	0.73	0	0.73
3	0	1.11	0	1.13	0	1.04	0	1.03
5	0	1.47	0	1.53	0	1.43	0	1.40
7	0	1.86	0	1.95	0	1.70	0	1.65

平均値 (n=3)

2. サリチル酸グリコールを含有する製剤における各時間毎の皮膚透過量

hr	$(\mu\text{mol}/\text{cm}^2)$							
	B-1		B-2		B-3		B-4	
	pH5.3		pH5.6		pH6.3		pH7.0	
	サリチル酸グリコール	サリチル酸	サリチル酸グリコール	サリチル酸	サリチル酸グリコール	サリチル酸	サリチル酸グリコール	サリチル酸
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0.79	0	0.80	0	0.70	0.60	0.65
3	1.09	1.04	1.69	1.06	1.19	0.91	1.47	0.88
5	2.18	1.32	2.39	1.25	2.11	1.18	1.88	1.09
7	2.52	1.59	4.39	1.59	3.40	1.39	3.09	1.35

平均値 (n=3)

Table 3 ハップ剤基剤の pH によりサリチル酸誘導体の皮膚透過性への影響

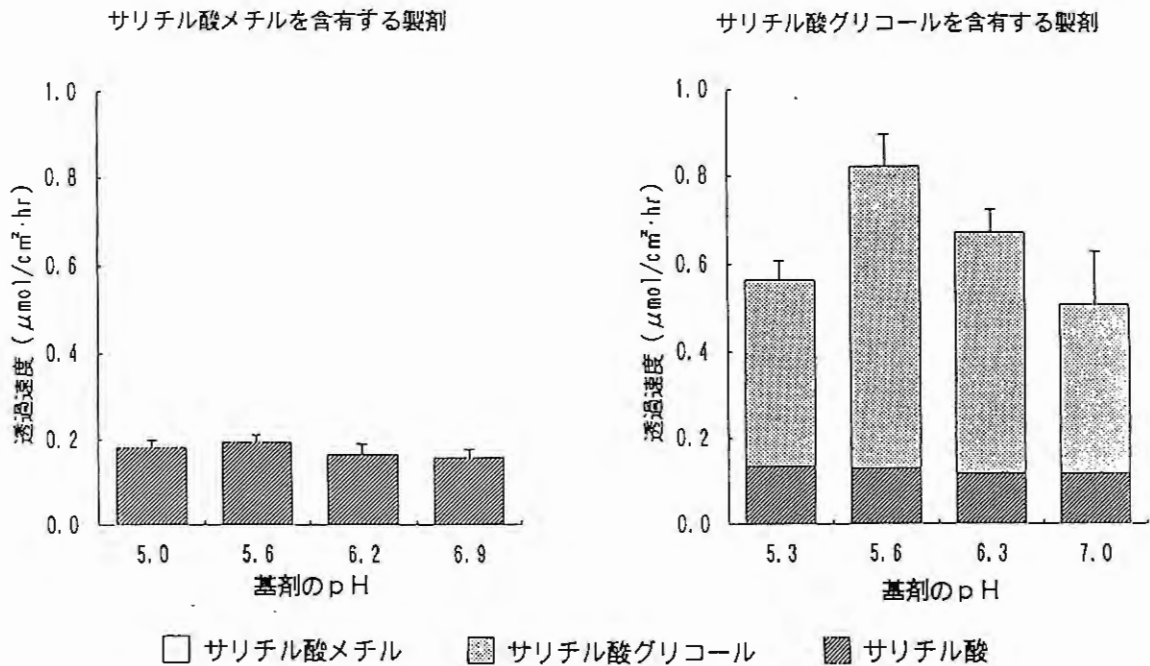


Fig. 3 ハップ剤基剤の pH によりサリチル酸誘導体の皮膚透過性への影響

平均値 \pm S. E. (n=3)

4. dl-カンフル, l-メントールの添加によるサリチル酸誘導体の皮膚透過性への影響

サリチル酸誘導体及びサリチル酸の各時間毎の皮膚透過量を Table 4 に、各時間毎の透過量より求めた透過速度を Fig. 4 に示す。サリチル酸メチル, サリチル酸グリコール共に dl-カンフル, l-メントールの添加による皮膚透過性への影響はほとんど認められなかった。サリチル酸メチルを含有する製剤ではタイロド液中にサリチル酸メチルは検出されず、皮膚を透過する過程で全てサリチル酸に代謝されるものと考えられた。

1. サリチル酸メチルを含有する製剤における各時間毎の皮膚透過量

		C-1		C-2		C-3		C-4	
		0-メントールのみ		d-カンフルのみ		-		d-カンフル+0-メントール	
hr		サリチル酸メチル	サリチル酸	サリチル酸メチル	サリチル酸	サリチル酸メチル	サリチル酸	サリチル酸メチル	サリチル酸
0		0	0	0	0	0	0	0	0
1		0	0.08	0	0.07	0	0.09	0	0.07
3		0	0.45	0	0.37	0	0.49	0	0.40
5		0	0.83	0	0.71	0	0.85	0	0.72
7		0	1.17	0	1.04	0	1.25	0	1.02

平均値 (n=3)

2. サリチル酸グリコールを含有する製剤における各時間毎の皮膚透過量

		D-1		D-2		D-3		D-4	
		0-メントールのみ		d-カンフルのみ		-		d-カンフル+0-メントール	
hr		サリチル酸グリコール	サリチル酸	サリチル酸グリコール	サリチル酸	サリチル酸グリコール	サリチル酸	サリチル酸グリコール	サリチル酸
0		0	0	0	0	0	0	0	0
1		0.14	0.08	0.11	0.04	0.08	0.05	0.07	0.09
3		0.70	0.34	0.64	0.30	0.47	0.31	0.47	0.62
5		1.30	0.66	1.17	0.50	0.86	0.52	0.90	1.19
7		1.94	0.99	1.73	0.70	1.22	0.79	1.43	1.88

平均値 (n=3)

Table 4 d-カンフル, 0-メントールの添加によるサリチル酸誘導体の皮膚透過性への影響

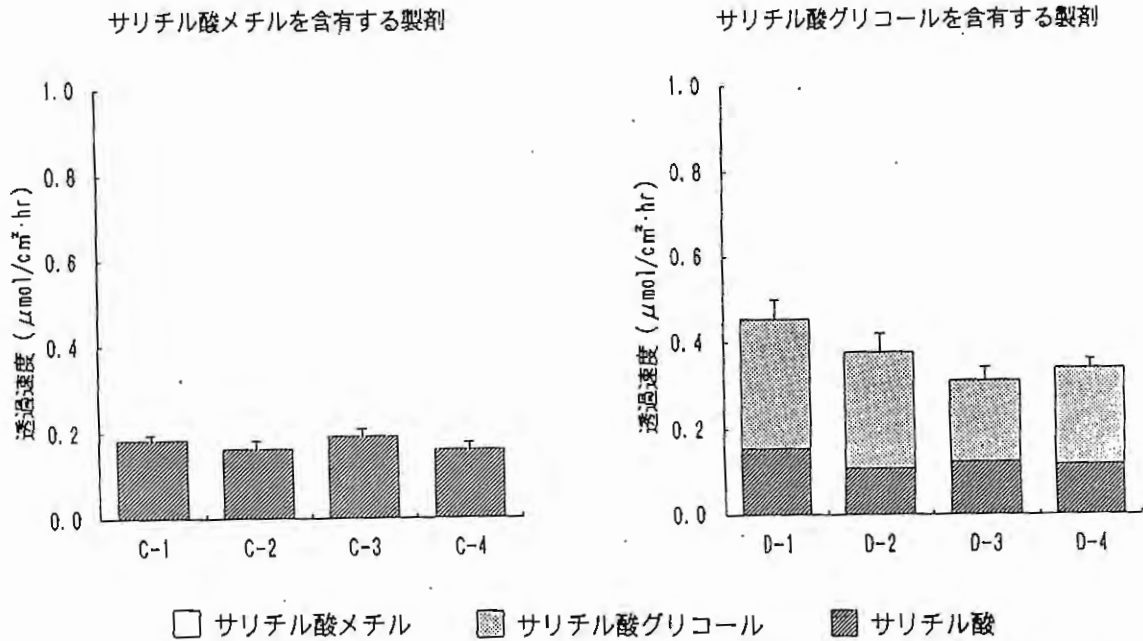


Fig. 4 d-カンフル, 0-メントールの添加によるサリチル酸誘導体の皮膚透過性への影響
平均値±S.E. (n=3)

ま と め

今回の実験より、以下に示す知見を得た。

1. パップ剤基剤の pH によるサリチル酸誘導体の皮膚透過性への影響は認められなかった。
2. dl-カンフル及びl-メントールの添加によるサリチル酸誘導体の皮膚透過性への影響は認められなかった。
3. サリチル酸メチルは皮膚透過によって全てサリチル酸に代謝され、サリチル酸として透過した。
4. サリチル酸グリコールは皮膚透過によってその透過量の10~20%が代謝され、残りの80~90%はサリチル酸グリコールとして透過した。
5. 代謝によって生じたサリチル酸はサリチル酸メチルとサリチル酸グリコールではほぼ同量であった。
6. サリチル酸誘導体とサリチル酸の総和における、サリチル酸メチルとサリチル酸グリコールの皮膚透過性の比較から、サリチル酸グリコールの方が約3倍透過性が高いことがわかった。

今後、今回検討を行った以外の要因による影響について検討するとともに、薬物の製剤からの放出性、薬物の皮膚への分配性、皮膚中での代謝の機構など検討を重ね、サリチル酸誘導体の経皮吸収の特性について解明していきたいと考えている。

文 献

- 1) Wurster, D.E., Sherman, F.K. : Investigation of Some Factors Influencing Percutaneous Absorption, J. Pharmac. Sci., 50, 288-293 (1961)
- 2) 坪井実, 駒林隆生, 森川正子 : 第1回経皮吸収型製剤シンポジウム 外用貼付剤による皮膚生物活性の変化とパップ剤の主薬(サリチル酸エステル類)の経皮吸収について, Ther. Res., 3, 25-31 (1985)
- 3) 斉藤晴夫, 北川晴雄, 杉林毅宏, 元山貢 : 第1回経皮吸収型製剤シンポジウム サリチル酸エステルを含有する成形パップ剤の皮膚吸収特性と薬効, Ther. Res., 3, 32-38 (1985)
- 4) 鈴木良雄, 伊藤幹男, 宇佐美由香利, 宅島星子 : Salicylic acid ester 含有パップ剤の薬理学的研究 経口適用によるAspirin との作用比較, 応用薬理, 31, 567-578 (1986)

漢方製剤の品質に関する研究 (第7報)

—— 黄連解毒湯 ——

Studies on Quality Evaluation of Kanpo Medicine VII
—— Oren-gedoku-to ——

吉井 美矢子
Miyako YOSHII

石田 裕子
Yuko ISHIDA

中田 るり子
Ruriko NAKADA

西本 初博
Hatsuhiko NISHIMOTO

成川 一郎
Ichiro NARIKAWA

東亜製薬株式会社 試験研究室
Research Institute, Toa Pharmaceutical Co., Ltd.

緒 言

前回第6報において「三黄瀉心湯」を構成する生薬、黄連、黄芩及び大黄中の各成分間で相互に沈殿を促進する作用が認められることについて報告した。¹⁾

「外台秘要方」²⁾を原典とする「黄連解毒湯」もベルベリンを主成分とする黄連、黄柏に黄芩、山梔子を加えた4生薬から成り、同様に成分間における沈殿の促進が予想されるため、これを実験的に確認し指標成分の動向について検討を行った。

実 験 の 部

1. 被験材料

黄連 (中国・四川省産)、黄柏 (中国・四川省産)、黄芩 (中国・河北省産)、山梔子 (中国・広西省産) はいずれも市販の局方品を用いた。

なお、用いた生薬の指標成分の含有率 (%) は Table 1 のとおりである。

2. 実験方法

1) 黄連解毒湯の抽出時間とエキス収率

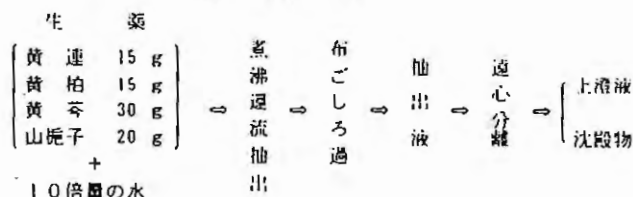
黄連解毒湯80g (10日分) に水800ml を加えて加熱し、それぞれ沸騰後30分、60分、90分間攪拌還流抽出した液を熱時布ごしろ過した。ろ液は冷後 (約20°) 遠心分離し、上澄液及びろ液中で生じた沈殿を分別採取した。上澄液は減圧下濃縮した後、沈殿と共にそれぞれ真空乾燥 (60°, 30mmHg, 48時間) し、エキ

Table 1 黄 連 解 毒 湯

構成生薬	配合量 (1日服)	指標成分名及び含量	
黄 連	1.5g	ベルベリン	7.5%
黄 柏	1.5g	ベルベリン	4.6%
黄 芩	3.0g	バイカリン	12.3%
山 梔 子	2.0g	ゲニポシド	3.2%

Table 2

抽 出 条 件



ス収率を求めた。Table 2 に簡単に抽出方法を示した。

2) 黄連解毒湯湯液調製時の指標成分の経時的移行率

黄連解毒湯及びその指標成分含有生薬につき1)の方法に準じて、沸騰後30分、60分、90分、120分間攪拌還流抽出を行い、得られた上澄液及び沈殿の乾燥エキスそれぞれについて各指標成分を下記の定量条件により定量し、移行率を求めた。

(1) 黄連、黄柏中のベルベリン

各乾燥エキスにメタノール・希塩酸混液 (100 : 1) を加えて20分間超音波抽出した液を試料溶液とする。

測定条件 カラム：SUPERIOREX ODS S-5 μm $\phi 4.6 \times 150\text{mm}$

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長 345nm)

移動相：0.1N酒石酸・アセトニトリル・メタノール・ラウリル硫酸ナトリウム混液 (49.5 : 40 : 10 : 0.5)

(2) 黄芩中のバイカリン

各乾燥エキスに薄めたメタノール (1 \rightarrow 2) を加えて20分間超音波抽出した液を試料溶液とする。

測定条件 カラム：SUPERIOREX ODS S-5 μm $\phi 4.6 \times 150\text{mm}$

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長 280nm)

移動相：0.1Mリン酸・アセトニトリル混液 (72 : 28)

(3) 山梔子中のゲニポシド

各乾燥エキスに薄めたメタノール (1 \rightarrow 2) を加えて20分間超音波抽出した液を試料溶液とする。

測定条件 カラム：SUPERIOREX ODS S-5 μm $\phi 4.6 \times 150\text{mm}$

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長 240nm)

移動相：水・アセトニトリル混液 (9 : 1)

3) 黄連及び黄柏抽出時のベルベリンの経時的移行率

黄連、黄柏及び黄連+黄柏につき1)の方法に準じて攪拌還流抽出を行い、それぞれ沸騰後30分、60分、90分、120分経過時のベルベリンの湯液中への移行率を2)の(1)の定量方法により求めた。

4) ろ過温度条件と指標成分の移行率

黄連解毒湯160g (20日分) に水1,600mlを加え、1)の方法に準じて沸騰後60分間攪拌還流抽出した後、熱時直ちに布ごしろ過する。このろ液ならびに40°及び18°にそれぞれ放冷した後、再び布ごしろ過したろ液の各上澄液中への指標成分の移行率を比較した。

3. 実験結果

1) 黄連解毒湯の抽出時間とエキス収率

沸騰後30分、60分、90分間攪拌還流抽出した場合のエキス収率はFig. 1に示した。

エキス収率は沸騰後30分では約21%、60分では約23%、90分では約23%とほぼ同率を示した。

また、沈殿物は全エキス量の約20%であった。

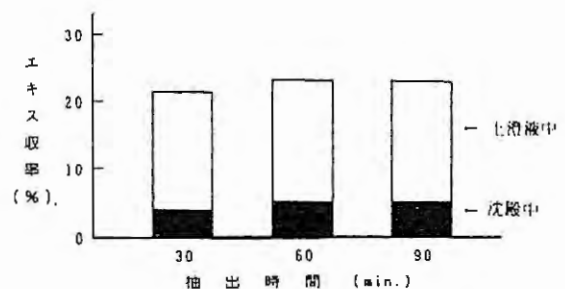


Fig. 1 黄連解毒湯の抽出時間とエキス収率

2) 黄連解毒湯湯液調製時の指標成分の経時的移行率

(1) ベルベリン (黄連+黄柏及び黄連解毒湯中のベルベリン)

上澄液及び沈殿へのベルベリンの経時的移行率については Fig. 2 に示した。沸騰後60分から90分で移行率はほぼピーク (42~43%) に達し、いずれの抽出時間においても沈殿部分への移行率はベルベリン全抽出量の約90%を占めた。

(2) 黄芩中のバイカリン

上澄液及び沈殿へのバイカリンの経時的移行率については Fig. 3 に示した。沸騰後90分ではほぼピーク (64%) に達し、いずれの抽出時間においても沈殿部分への移行率はバイカリン全抽出量の約半量を占めた。

(3) 山梔子中のゲニポシド

上澄液及び沈殿へのゲニポシドの経時的移行率については Fig. 4 に示した。沸騰後60分~90分ではほぼピーク (88~91%) に達し、いずれの抽出時間においても沈殿部分への移行率はゲニポシド全抽出量の12~15%を占めた。

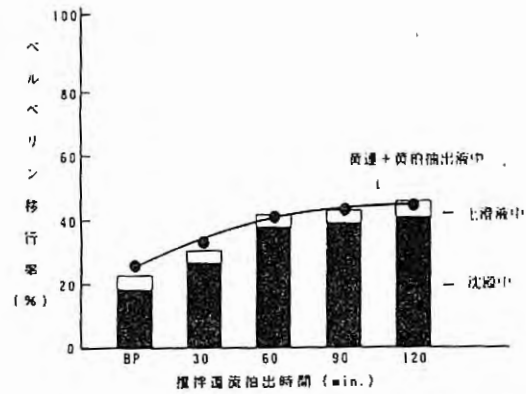


Fig. 2 黄連解毒湯湯液調製時のベルベリンの経時的移行率 (%)

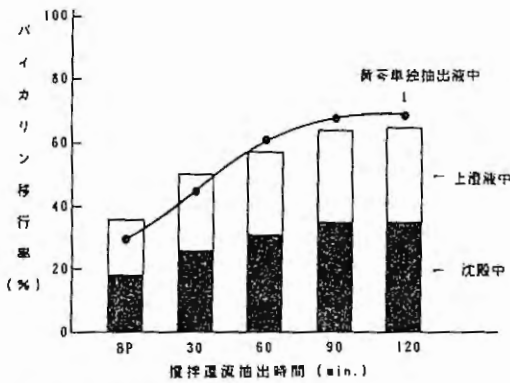


Fig. 3 黄連解毒湯湯液調製時のバイカリンの経時的移行率 (%)

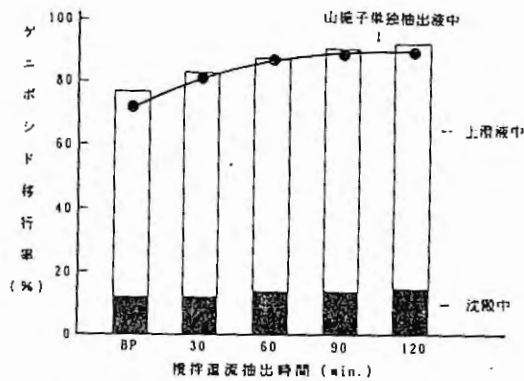


Fig. 4 黄連解毒湯湯液調製時のゲニポシドの経時的移行率 (%)

3) 黄連及び黄柏抽出時のベルベリンの経時的移行率

黄連、黄柏それぞれの単独抽出液ならびに黄連+黄柏等量混合物の抽出液へのベルベリンの経時的移行率を Fig. 5 に示した。黄柏は沸騰後30分で、黄連は沸騰後90分でベルベリンの移行率がそれぞれピークに達し、黄連+黄柏等量混合物では黄連のベルベリン移行率の影響が沸騰後90分でベルベリンの移行率がほぼピークに達した。ベルベリン移行率のピークは黄柏では約60%、黄連では約50%であったが、黄連+黄柏等量混合物では約44%であり、沸騰時から沸騰後120分までの全ての測定時において黄柏、黄連単独の場合より低い移行率を示した。

4) ろ過温度条件と指標成分の移行率

黄連解毒湯湯液を熱時、40° 及び18° でそれぞれろ過した場合の湯液中への指標成分移行率について Fig. 6 に示した。ゲニポシドは温度条件に関わりなくほぼ一定であったがバイカリンの場合は熱時ろ過した場合に比較してそれぞれ約70%，約50%と低下し、ベルベリンの場合は約21%，約12%と著明に低下した。

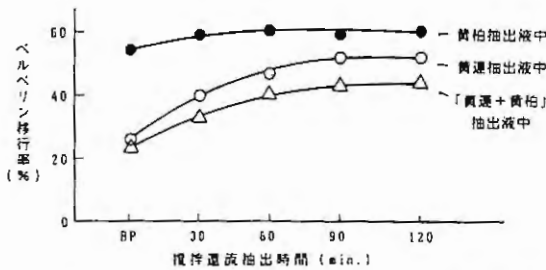


Fig. 5 黄柏及び黄連抽出時のベルベリンの経時的移行率(%)

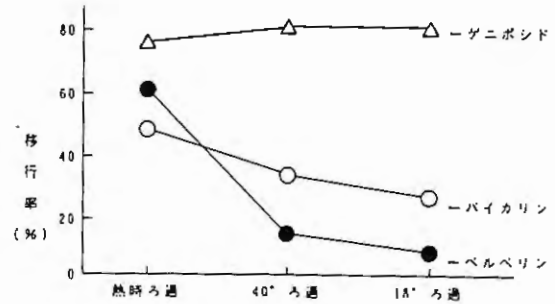


Fig. 6 ろ過温度条件と指標成分の移行率(%)

考 察

黄連解毒湯は三焦の実熱によって起こる炎症と充血を伴う諸症を治す処方とされ、黄連、黄柏中のベルベリンの抗炎症作用を主とする各種薬理作用に負うところが大きいと考えられる。

今回の実験により、黄連、黄柏中のベルベリンと黄芩中のバイカリンが相互に沈殿を促進した。一方黄連解毒湯湯液ろ過時、黄連、黄柏中のベルベリンが抽出液の温度低下に伴って著しく析出することが明らかとなり、ろ過時の温度条件が抽出液中の有効成分の含量、ひいては抽出液の有効性に大きく影響することが予想される。本処方においては抽出後は熱時速やかにろ過すべきであり、黄連解毒湯エキス製造時や黄連解毒湯湯液調製時に十分留意する必要があるとともに湯液を冷蔵庫などで保存しておいて服用するときも有効成分を十分服用するために再度加温して沈殿物を溶かさねばならない。

漢方薬は生薬の混合物であり、生薬はそれぞれ様々な成分を含んでいる。多彩な成分を含む液剤としての漢方湯液の調製には成分相互の関わり合いについては常に十分配慮すべきであると考えられる。

文 献

- 1) 成川一郎：漢方製剤の品質に関する研究（第6報）—— 三黄瀉心湯 ——，家庭薬研究，No.11. p 60-64 (1992)
- 2) 王燾：外台秘要方，上海古籍出版社，1990