

漢方製剤の品質に関する研究 (第8報)

— 乙 字 湯 —

Studies on Quality Evaluation of Kanpo Medicine VIII

— Otsuji-to —

○吉井美矢子 石田裕子 中田るり子
Miyako YOSHII Yuko ISHIDA Ruriko NAKADA

西本初博 成川一郎
Hatsuhiko NISHIMOTO Ichiro NARIKAWA

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

緒 言

乙字湯は原南陽が江戸時代に創方した数少ない日本の処方であり、一般に痔疾患の治療に用いられている。しかしながら、現在では原南陽の処方に配合されていた大棗、生姜を当帰に変更した浅田宗伯の処方が一般的に用いられている。

今回、我々は「乙字湯」の製剤化の条件が品質に及ぼす影響を検討し、若干の知見を得たので報告する。

Table 1 乙字湯処方比較

乙 字 湯

原典：原南陽（叢桂亭医事小言） ¹⁾	出典：浅田宗伯（勿誤藥室方函口訣） ²⁾
柴 胡 七 部	柴 胡 七 部
黄 芩 七 部	黄 芩 七 部
升 麻 四 部	升 麻 四 部
大 黄 四 部	大 黄 四 部
甘 草 三 部	甘 草 三 部
<u>大 棗</u> 四 部	} ⇨ <u>当 帰</u>
<u>生 姜</u> 二 部	

Table 2 被験材料

実 験 の 部

1. 被 験 材 料

柴胡（中国・湖北省産）、大黄（中国・四川省産）、升麻（中国・遼寧省産）、黄芩（中国・河北省産）、甘草（中国・内蒙古産）、当帰（中国・雲南省産）はいずれも市販の局方品を用いた。また、比

乙字湯 構成生薬	配合量	指標成分名	含有率
柴 胡	5 g	総結合型 アントラキノン	2.9 %
大 黄	1 g		
升 麻	1 g	バイカリン	16.3 %
黄 芩	3 g		
甘 草	3 g	グリチルリチン酸	3.3 %
当 帰	6 g		

較に用いた升麻（富山県薬用植物指導センター栽培品・サラシナ升麻）は掘りあげた後、水洗いし、陰干ししたものをを用いた。

なお、用いた生薬の指標成分含有率（%）は Table 2のとおりである。

また、中国産升麻は関升麻，北升麻の混合品である。

2. 実験方法

1) エキス収率

(1) 抽出方法

乙字湯152g（8日分：柴胡40g，大黄，升麻各8g，黄芩，甘草各24g，当帰48g）に水1,520mlを加え，それぞれ沸騰後30分間，60分間，90分間及び120分間攪拌還流抽出した後，それぞれ布ごしろ過した。（出典：臨床応用漢方処方解説）

(2) エキス量の測定

布ごし後，ろ過した各抽出液は遠心分離し，40～50°で減圧濃縮後，真空乾燥（60°，30mmHg，48時間）し，得られた乾燥エキスを秤量した。

2) 乙字湯湯液調製時の指標成分の経時的移行率

乙字湯152g（8日分：柴胡40g，大黄，升麻各8g，黄芩，甘草各24g，当帰48g）に水1,520mlを加え，沸騰直後，沸騰30分，60分，90分及び120分後にそれぞれ抽出液の一定量を採取し，次の測定条件で各指標成分含有量を求めた。

(1) 大黄中の総結合型アントラキノン類の試料溶液調製方法及び測定条件

各還流抽出液+塩酸1滴→クロロホルム洗浄→炭酸水素ナトリウム試液でアルカリ性→塩化第二鉄溶液（1→5）を加え，沸騰水浴中で加温→塩酸を加え加温→冷後エーテル抽出→減圧下濃縮乾固→酢酸マグネシウム・メタノール溶液（1→200）を一定量加えて波長510nmで比色定量した。

(2) 黄芩中のバイカリンの試料溶液調製方法及び測定条件

各還流抽出液を，一定量にした液を試料溶液とし，高速液体クロマトグラフ法，絶対検量線法により下記の測定条件で定量した。

測定条件：カラム：SUPERIOREX ODS S-5 μm ϕ 4.6×150mm

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) 甘草中のグリチルリチン酸の試料溶液調製方法及び測定条件

各還流抽出液を，一定量にした液を試料溶液とし，高速液体クロマトグラフ法，絶対検量線法により下記の測定条件で定量した。

測定条件：カラム：Cosmosil 5C₁₈-AR ϕ 4.6×150mm

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：254nm）

移動相：水・アセトニトリル・氷酢酸混液（65：35：3）

3) 乙字湯及び構成生薬のTLCによる比較

乙字湯がわが国で創方された処方である以上，升麻は本来サラシナ升麻を用いるべきだと考えられる。しかし，生産量，価格等の関係で現在はほとんど中国産の升麻が用いられている。そこで，市販の中国産升麻と日本産サラシナ升麻について次の条件で薄層クロマトグラフィーを行い，検出されたスポットの比較を行った。

試料溶液調製方法：

乙字湯並びに中国産（遼寧省産）と日本産（富山県薬用植物指導センター栽培品）の升麻をメタノール抽出した。

展開溶媒：クロロホルム・メタノール・水混液（65：35：10）の下層

検出方法：希硫酸噴霧後，105°で3～5分間加熱

また，乙字湯を煮沸還流すると，沸騰直後に強力な芳香を発生し，還流冷却器の管内に白色結晶が付着した。そこでこの結晶成分を取り出し，乙字湯構成生薬中の精油成分と薄層クロマトグラフィーにより比較し，由来する生薬を検討した。

試料溶液調製方法：

乙字湯，中国産（遼寧省産）升麻と日本産（富山県薬用植物指導センター栽培品）升麻及び当帰を「日局」生薬試験法・精油定量法に準じて操作し，試料溶液を調製した。

展開溶媒：クロロホルム

検出方法：紫外線（主波長 365nm）

実験結果

1) エキス収率

各抽出時間によるエキス収率をFig. 1に示した。

この結果，エキス収率は30～31%とほとんど一定で，抽出時間による差は認められなかった。

2) 乙字湯湯液調製時の指標成分の経時的移行率

乙字湯湯液調製時における各生薬（大黄，黄芩，甘草）中の指標成分移行率の推移をFig. 2に示した。

黄芩中のバイカリンの湯液中への移行率は沸騰後60～90分で57～61%とほぼピークに達し，甘草中のグリチルリチン酸の湯液中への移行率は沸騰直後から沸騰後120分までほぼ一定の移行率50～53%を示した。一方大黄中に含まれる総結合型アントラキノンの湯液中への移行率は沸騰直後には97%の移行率を示し，その後漸減して120分間の還流抽出により約76%まで大きく減少した。

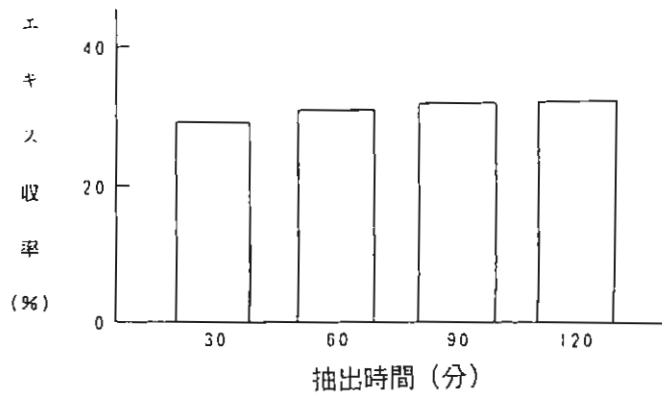


Fig.1 乙字湯の抽出時間とエキス収率 (%)

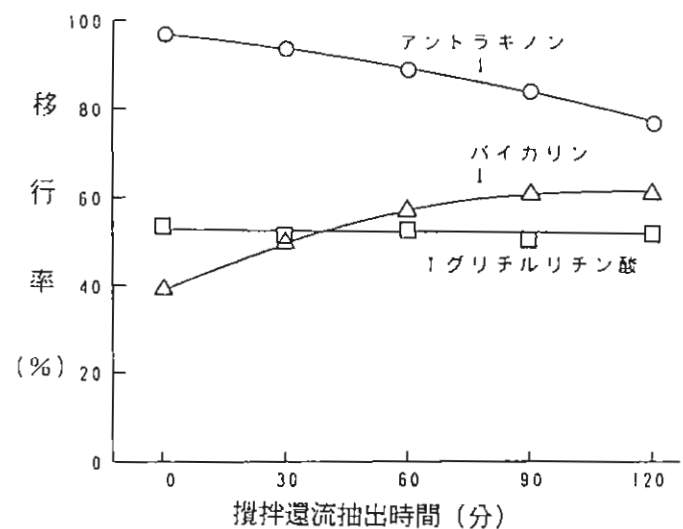


Fig.2 乙字湯湯液調製時の指標成分の経時的移行率 (%)

3) 乙字湯及び構成生薬の TLC による比較

升麻の確認及び比較のための薄層クロマトグラフィーの結果を Photo. 1 に、また乙字湯構成生薬中の精油成分比較のための薄層クロマトグラフィーの結果を Photo. 2 に示した。

この結果、中国産升麻（関升麻と北升麻の混合物：医薬大難波教授の鑑定結果）と日本産升麻（サラシナ升麻：富山県薬用植物指導センター栽培品）では明らかに異なるスポットが検出された。また、還流冷却器の管内に析出した白色結晶は当帰中の揮発性精油成分であることを確認した。

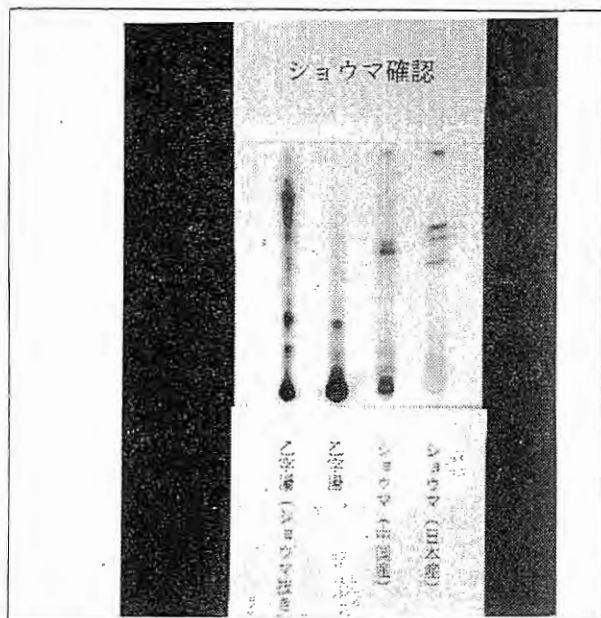


photo. 1

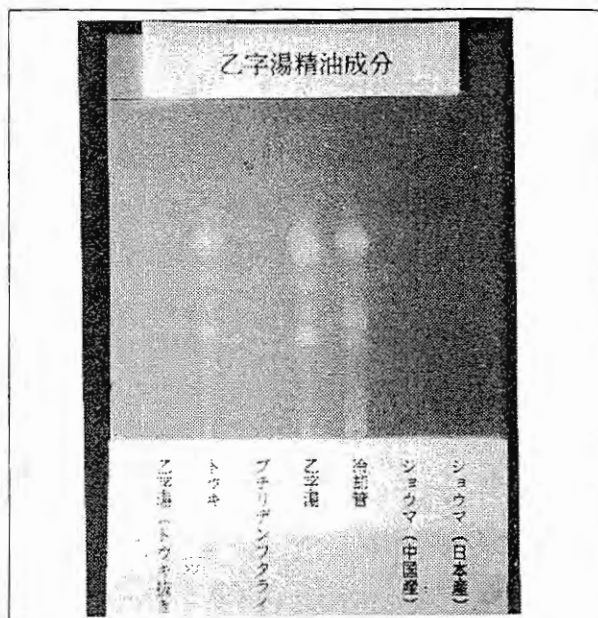


photo. 2

考 察

今回の実験結果から、乙字湯のエキス収率は抽出時間が30分、60分、90分、120分のいずれの場合にも約30%とほぼ同じ値を示した。又、還流抽出時の各指標成分の経時変化をみた場合、黄芩中のバイカリンは沸騰後約60分でほぼピークに達し、甘草中のグリチルリチン酸は沸騰時から120分加熱まで終始ほぼ一定の値を示した。

一方大黄中の結合型アントラキノン³⁾は120分の加熱によって約97%から約76%にと大きく減少したが、さきに大黄甘草湯の実験³⁾によって大黄の瀉下成分の総結合型アントラキノンが抽出時間の経過とともに減少したことに同じ傾向が認められ、長時間の加熱により分解が進むものと考えられる。

乙字湯のエキス収率や各指標成分、とりわけ総結合型アントラキノンの動向から、また、乙字湯が一般に痔疾患の治療に用いられることを考慮すれば、長時間の抽出は瀉下作用や抗菌作用の低下などが予想され、ひいては乙字湯の品質低下を招くものと考えられる。以上により乙字湯の抽出においては、煮沸抽出時間は1時間程度が適切と考えられる。

なお、TLC上に現われた各生薬中成分については今後解明したいと考えている。

参 考 文 献

- 1) 原南陽：叢桂亭医事小言
- 2) 浅田宗伯：勿誤薬室方函口訣
- 3) 成川一郎ら：漢方製剤の品質に関する研究（第3報）—大黄甘草湯—，家庭薬研究，NO. 8.

和漢薬配合胃腸薬の理化学的品質評価

——ダイオウ及びセンナについて——

Chemical Evaluation of Gastrointestinal Remedies Containing Oriental Drugs

——Rhubarb & Senna Leaf——

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.
○小鍛冶 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
長 谷 香 織 Kaori HASE	共栄製薬(株) Kyohei Pharmaceutical Co.,LTD
永 井 喜 美 Kimi NAGAI	(株)延寿堂 Enjudo Co.,LTD.
宮 村 芳 昌 Yoshimasa MIYAMURA	中央薬品(株) Chuo Yakuhin Co.,LTD.
吉 崎 真由美 Mayumi YOSHIZAKI	第一薬品工業(株) Daiichi Pharmaceutical Co.,LTD
栗 山 法 子 Noriko KURIYAMA	

緒 言

ダイオウは、熊胆円等の本県の伝統的な和漢薬配合胃腸薬及び瀉下薬に配合され、漢方処方においても要薬である。また、センナは、瀉下薬として生薬製剤に広く配合されている。これらの瀉下成分は、ジアンスロン誘導体のセンノサイド（以下Sn）類とされている。

ダイオウ及びセンナ、また、これらの配合製剤の理化学的品質評価については、高速液体クロマトグラフ法（以下HPLC法）を用いた定量法¹⁾²⁾が数多く報告されているが、県内の製薬会社各社においては、比色法が主に用いられているのが現状である。しかし、比色法については、瀉下活性がSnに比べて低いとされる8-グルコシルレイン等のアントラキノン誘導体³⁾も含めて定量する方法であり、また、操作が繁雑で分析者の熟練を要するため、より簡便な迅速定量法の確立が望まれている。

そこで我々は、HPLC法によるSnA及びSnBの定量法、並びに比色法の類似法としてアントラキノン誘導体を酸化分解し、生成したレインをHPLC法により定量する方法⁴⁾（以下レイン法）について検討を行った。

実験の部

1. 比色法による総アントラキノン配糖体 (SnAとして) の定量

日局ダイオウ末及びセンナ末を局外生規センナジツの定量法に準じて定量を行った。

2. レイン法による総レイン配糖体 (SnAとして) の定量

1. の比色法をHPLC法に応用する方法について検討を行った。

日局ダイオウ末及びセンナ末について、図1に示すように、メタノール・0.1% NaHCO₃混液 (7 : 3) で抽出し、これを塩酸、塩化第二鉄により酸化分解し、レインを生成する。レイン法-抽出では、生成したレインをエーテル・クロロホルム混液 (2 : 1) で抽出し、これをHPLC法 (絶対検量線法) で定量し、また、レイン法-C₁₈では、反応液をセップパックC₁₈ (ミリポア製) に負荷し、1% トリエチルアミン・メタノール溶液で溶出し、これをHPLC法 (絶対検量線法) で定量した。

使用した標準品：センノサイドA (和光純薬工業(株)製)

HPLC操作条件

検出器：可視吸光光度計

(測定波長：450nm)

カラム：内径4~6 mm, 長さ15~30 cmのステンレス管に3~10 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。

カラム温度：40° 付近の一定温度

移動相：メタノール・水・氷酢酸混液
(14 : 6 : 1)

液量：レインの保持時間が約8分になるように調整した。

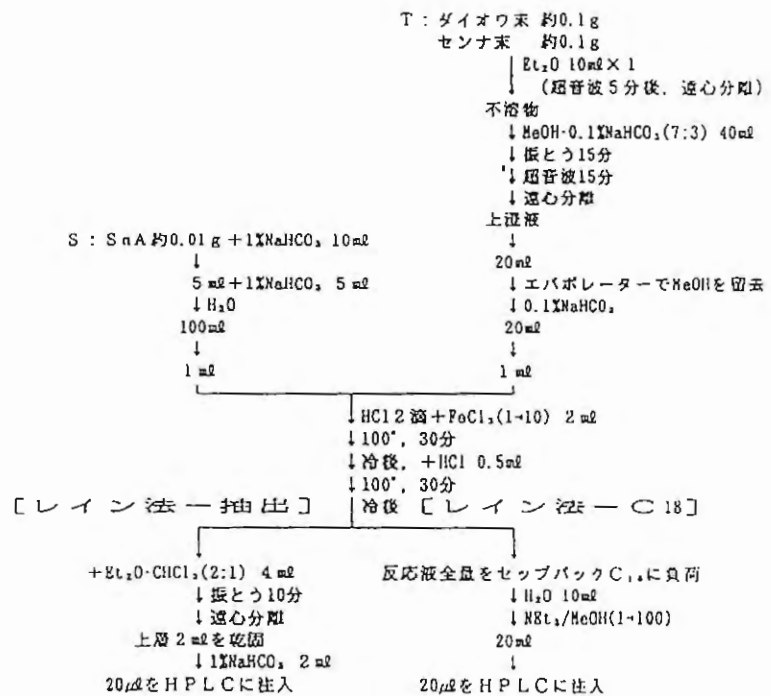


図1 レイン法の操作法

3. HPLC法によるSnA及びSnBの定量

1) 試料の抽出

ダイオウ末及びセンナ末約0.1gを精密に量り、メタノール・0.1% NaHCO₃混液 (7 : 3) 20mlを加え、15分間激しく振り混ぜた後、15分間超音波抽出を行い、この液を遠心分離し、上澄液を分取した。この操作を繰り返す、分取した液を集め、メタノール・0.1% NaHCO₃混液 (7 : 3) で正確に50mlとし、試料溶液とした。日局ダイオウ末 (2種) 及びセンナ末 (3種) について、次の2), 3) の検討を行った。

使用した標準品：前年度の薬事研究会分析部会センノサイド分科会の報告⁵⁾ で示した標準品の

規格に合致したものを用了。

2) セツパックQMAを用いたSnA, SnBの定量 (QMA法)

1) の試料溶液について、井上の方法⁶⁾ にならい、陰イオン交換カートリッジであるセツパックQMA (ミリポア製) により前処理を行い、HPLC法 (絶対検量線法) で定量を行った。移動相は、イオン抑制法、イオンペア法^{7) 8)} で検討した (図2)。

HPLC操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：340 nm)

カラム：内径4~6 mm, 長さ15~30 cmのステンレス管に3~10 μm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。

カラム温度：40° 付近の一定温度

移動相：薄めたリン酸 (1→1000) ・アセトニトリル混液

(ダイオウにおいて、SnBとそれに近接する夾雑物とが分離する比率で試験を行った。)

流 量：使用したカラムにより適宜設定した。

3) イオンペア法で直接SnA, SnBを定量 (直接法)

前処理をせずに、1) の試料溶液を0.22 μmメンブランフィルターろ過のみで直接HPLCに注入し絶対検量線法で定量を行った。

HPLC操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：340 nm)

カラム：内径4~6 mm, 長さ15~30 cmのステンレス管に3~10 μm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。

カラム温度：40° 付近の一定温度

移動相：5 mM臭化テトラ-n-ヘプチルアンモニウムを含む、酢酸塩緩衝液 (pH5.0) ・アセトニトリル混液

(センナにおいて、SnBとそれに近接する夾雑物とが分離する比率で試験を行った。)

流 量：使用したカラムにより適宜設定した。

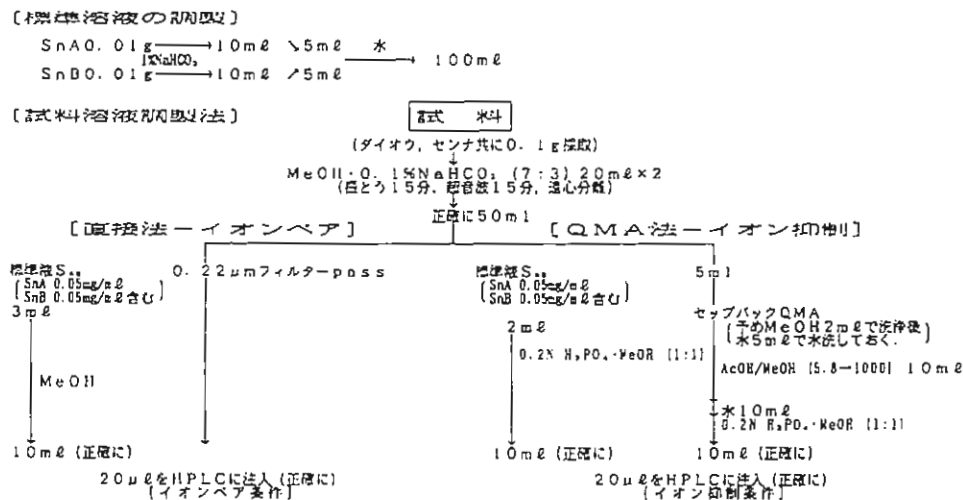


図2 QMA法及び直接法の操作法

4. ダイオウの品質評価

3. 2), 3) の検討で, バラツキの比較的小さかった, QMA法-イオン抑制及び直接法-イオンペアによって, 以下のダイオウの品質評価を行った。

市販品: 雅黄 1~3級 (6検体), 四川産大黄 (1検体), 北鮮産大黄 (1検体), 錦紋大黄 (4検体)

立山弥蛇ヶ原産大黄 (太い, 中程度, 細い各1検体: 富山県薬事研究所より提供)

ギンギシ (1検体; 過去にダイオウの代用品として用いられた。)

5. 製剤への応用

市販されている胃腸薬や瀉下薬によく配合されている他の生薬と混合したモデル処方調製し, QMA法及び直接法で定量を行った。

カラムは, 4種について最適なHPLC条件を検討して定量した。処方①は, 一般に瀉下薬によく配合されている生薬を配合し, 処方②は, これに胃腸薬等に用いられ定量を妨害する可能性のある成分を加えた (表1)。

〈モデル処方〉

	処方①	処方②
センナ 1	400 mg	400 mg
ダイオウ 1	400	400
アロエ	400	400
ケンゴシ	200	—
カンゾウ	—	400
オウレン	—	200

表1 モデル処方による回収実験

6. 市販製剤の実測

市販されている胃腸薬, 瀉下薬 8種について, QMA法-イオン抑制, 直接法-イオンペアの両方法で SnA, SnB を定量した。

単位: %

		ダイオウ1	ダイオウ2	センナ1	センナ2
A社	1回目	4.17	3.48	2.26	2.78
	2回目	4.20	3.49	2.36	2.71
B社	1回目	4.36	3.70	2.28	3.24
	2回目	—	3.56	2.09	—
E社	1回目	4.56	4.14	2.41	2.74
	2回目	4.62	4.00	2.39	2.61
平均		4.38	3.73	2.30	2.82
CV(%)		4.17	6.85	4.70	7.78

表2 比色法の定量結果

結果及び考察

1. 比色法 [総アントラキノン配糖体 (SnA) として] とレイン法

3社で定量を行ったところ, 表2のような結果が得られた。CV値は, 4.17~7.78%であった。この比色法をHPLC法に応用したのがレイン法である。レイン法-抽出での定量は5社で行い, 表3の結果及び図3のクロマトグラムが得られた。比色法とレイン法は相関があったが, レイン法-抽出のCV値は17.76~37.26%とバラツキが大きかった。原因としては, 酸化分解が不十分,

エーテル・クロロホルム混液（2：1）の室温による容積の変化等が考えられる。また、セップパック C_{18} を用いてレインを回収する方法であるレイン法- C_{18} で定量してみたが、標準品 SnA を分解して得たレインのセップパック C_{18} からの回収率が、90%前後と完全ではなく、更に改良が必要である。

2. HPLC 法による SnA 及び SnB の定量

比色法及びレイン法は、瀉下活性が低い 8-グルコシルレイン等のアントラキ

ノン誘導体も含めて定量する方法であるため、瀉下活性が数値に反映されない。ダイオウ及びセンナの瀉下作用を評価するために定量するのであれば、主な瀉下活性成分である SnA、SnB を指標として定量を行う方法のほうが望ましいと思われる。また、操作の簡便性という点からも、比色法及びレイン法よりも、HPLC法による SnA 及び SnB の定量のほうが有用であると考えられる。

実験の部2. の検討結果及びそのクロマトグラムを図4, 5に示した。参加各社で、QMA法-イオン抑制及び直接法-イオンペアにおける移動相の最適比率の検討を行った。

QMA法-イオン抑制では、カラムによって最適比率が異なった。そこで、ダイオウの分析において、SnBとそれに近接する夾雑物とが分離する比率を最適比率として試験を行うことにした。

直接法-イオンペアでも、最適比率はカラムによって異なった。これについては、センナの分析において、SnBとそれに近接する夾雑物とが分離する比率を最適比率として試験を行うことにした。

両方法の結果をまとめたものを図6, 7に示した。各方法とも3社ずつで試験を行ったところ、どちらもほぼ一定の値が得られた。値を比較するとQMA法-イオン抑制でセンナのSnBの値が少し高めに定量される傾向がある。またQMA法において、試料を前処理し、イオンペア条件で分析する方法も検討したが、前処理を行った後の試料溶液のpHは2付近と低く、これを直接HPLCに注入し、中性付近の移動相で分析を行ったため、カラムによっては分離が不十分となりこの方法は採用しなかった。

単位：%

	カラム	内径(mm)×長さ(mm)	ダイオウ1	ダイオウ2	センナ1	センナ2
C社	Cosmosil 5C18-AR	4.6×150	5.20	4.70	2.30	2.27
D社	Inertsil ODS-2	4.6×250	2.97	3.14	1.49	1.54
E社	L-column	4.6×150	2.80	2.31	1.68	2.04
F社	Shim-pack CLC-ODS	6.0×150	1.94	2.57	1.72	1.98
G社	STR ODS-1	4.6×150	4.13	4.10	2.17	2.53
平均			3.41	3.36	1.87	2.07
CV(%)			33.32	26.98	16.51	15.88

各定量値は3回の平均

表3 レイン法-抽出の定量結果

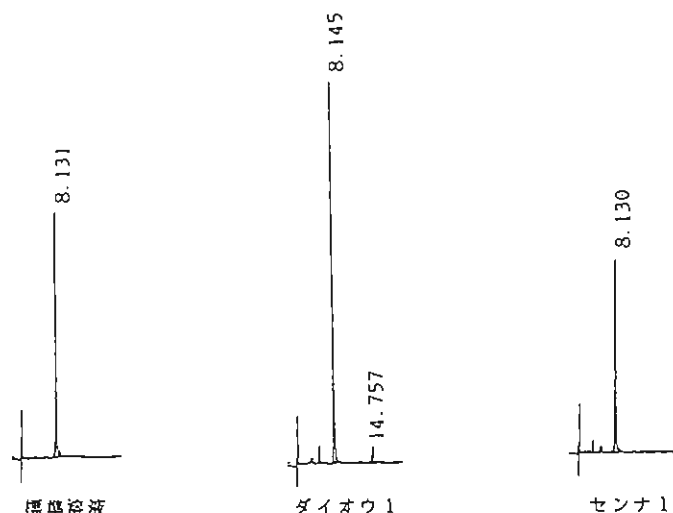


図3 レイン法のクロマトグラム

	カラム	内径 (mm) × 長さ (mm)	移動相の比率	流量 (ml/min)
D 社	Cosmosil 5C18-AR	4.6 × 150	65 : 35	1.0
E 社	Inertsil ODS-2	4.6 × 150	65 : 35	1.2
G 社	Shim-pack CLC-ODS	4.6 × 150	68 : 32	1.8

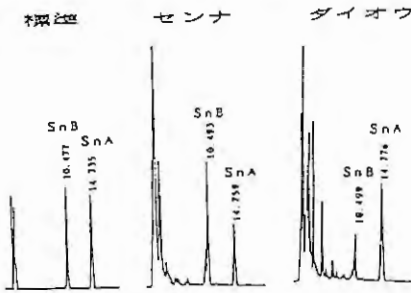


図4 直接法-イオンペア

	カラム	内径 (mm) × 長さ (mm)	移動相の比率	流量 (ml/min)
A 社	L-column	4.6 × 150	84 : 16	1.3
C 社	Chemcosorb 5C18H	4.6 × 150	83 : 17	0.9
F 社	STR ODS-1	4.6 × 150	82 : 18	1.0

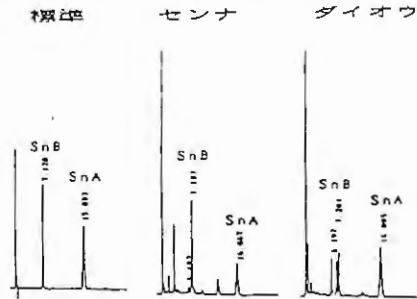


図5 QMA法-イオン抑制

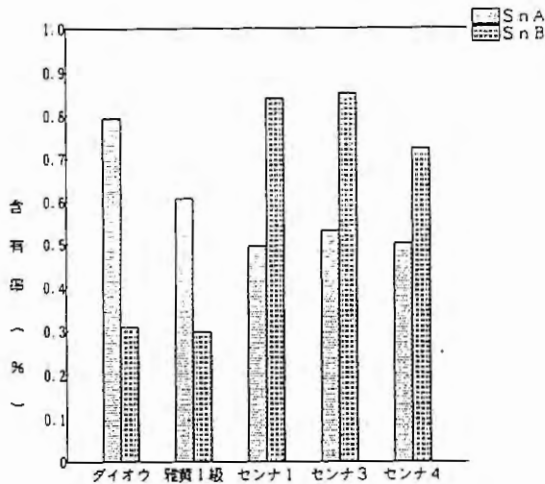


図6 QMA法-イオン抑制の定量結果

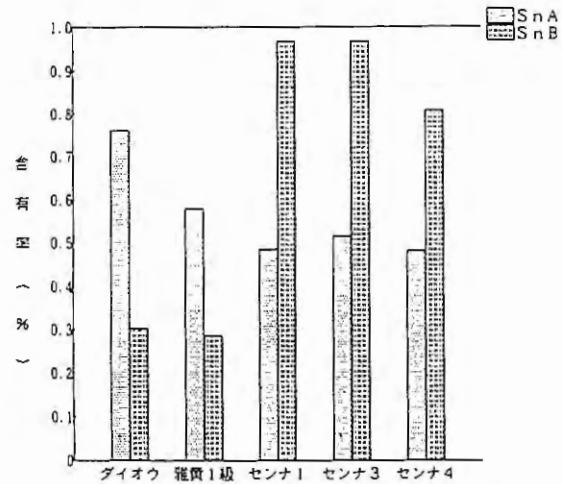


図7 直接法-イオンペアの定量結果

3. 市販ダイオウの品質評価

QMA法-イオン抑制及び直接法-イオンペアで得られた定量値に若干の違いがあるものの、定量が可能であることがわかったので、市販ダイオウの品質評価を行った。図8にその結果を示した。

日本に輸入されているダイオウのほとんどは雅黄で、市場での形状等から等級分けされるが、本実験の結果からは、等級とSnA及びSnBの含量との相関性は認められなかった。

四川産の雅黄及び北鮮大黄は、SnA及びSnBの含量が他に比べて高かった。

ダイオウの最良品とされ、比較的高価な錦紋大黄4種類について定量を行ったが、SnA及びSnBの含量は雅黄に比べて、非常に低かった。

立山で栽培されたダイオウについて、根の太さから、太い、中程度、細いの3種に分けて定量したところ、雅黄に近い値が得られ、太いほどSnA、SnBの含量が高い傾向が見られた。

他に、ダイオウの代用品として用いられたことのあるギシギシについて定量したところ、SnA、SnBは検出されなかった。

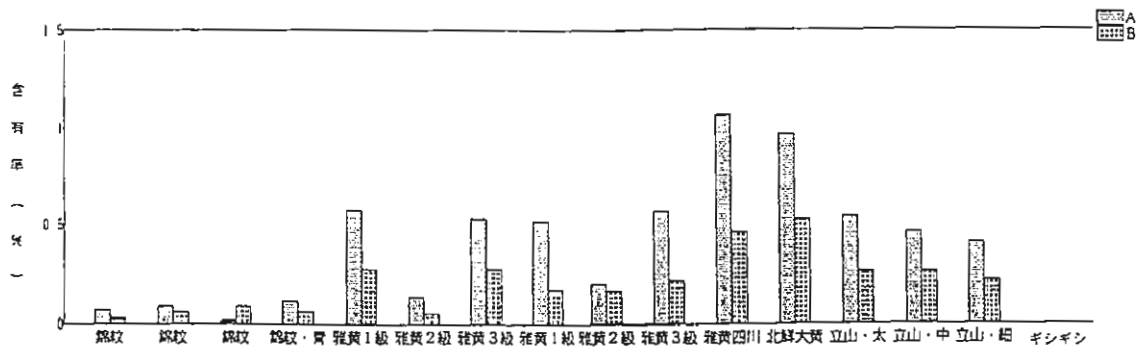


図8 市販ダイオウの品質評価結果

4. 製剤への応用

8社がそれぞれモデル処方①, ②について, QMA法-イオン抑制, 直接法-イオンペアで定量した結果(回収率)を表4に示した。

カラムは4種, それぞれ最適条件を検討して定量した。ここでの回収率とは, 原料として用いたセンナ, ダイオウのSnA, SnBの含量を基準として, モデル処方①, ②のSnA, SnBの含量から求めた。

B社の直接法処方②のSnAは, 回収率が150.8%と高い値を示したが, これはカンゾウ末由来の妨害成分がSnAと重なったためである。しかし, A社では, これを分離させるために, 移動相の比率を変え, 分析時間を長くした結果, 97.1%と良好な値が得られた。そこで, B社のこのデータを削除して平均値, CV値を求めた。QMA法, 直接法を比べると, 回収率の平均値には大きな差は認められないが, CV値は直接法が大きく, 測定施設間のバラツキが大きいことがわかった。

直接法-イオンペア

	A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社	H社	平均	CV(%)	
カラム	Inertsil ODS-2	Inertsil ODS-2	L-column	L-column	STR ODS-II	STR ODS-II	Cosmosil 5C18-AR	Cosmosil 5C18-AR			
移動相	68:32	65:35	60:40	60:40	68:32	68:32	66:34	66:34			
流量(ml/min)	1.5	1.1	1.3	1.3	1.2	1.2	1.2	1.2			
処方①(回収率)(%)	SnA	98.4	103.6	98.4	96.8	96.2	103.6	94.2	106.3	99.69	4.02
	SnB	103.3	106.9	98.0	96.9	111.9	97.6	95.1	114.8	103.06	6.75
処方②(回収率)(%)	SnA	97.1	150.8	97.4	94.4	95.7	103.8	94.1	118.3	100.11	8.00
	SnB	100.0	93.4	95.3	97.3	102.6	98.4	120.4	113.6	102.62	8.64

QMA法-イオン抑制

	A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社	H社	平均	CV(%)	
カラム	Inertsil ODS-2	Inertsil ODS-2	L-column	L-column	STR ODS-II	STR ODS-II	Cosmosil 5C18-AR	Cosmosil 5C18-AR			
移動相	84:16	84:16	84:16	84:16	82:18	82:18	84:16	84:16			
流量(ml/min)	0.9	0.9	1.3	1.3	1.0	1.0	0.9	0.9			
処方①(回収率)(%)	SnA	100.8	101.3	98.6	99.8	94.2	99.9	100.4	99.1	99.26	2.10
	SnB	101.2	96.5	100.6	97.8	94.2	96.0	100.9	101.1	98.54	2.62
処方②(回収率)(%)	SnA	99.5	99.9	98.3	100.5	100.6	98.9	98.5	98.7	99.36	0.85
	SnB	98.0	97.1	99.5	95.2	100.5	95.3	97.6	101.7	98.11	2.24

表4 モデル処方の定量結果

5. 市販製剤の実測

市販されている製剤8種について定量した結果及びその代表的なクロマトグラムを図9に示した。ここでも, QMA法-イオン抑制, 直接法-イオンペアの定量値に大きな差は認められない。しかし, クロマトグラムを比較すると, QMA法のほうが他成分のピークが少なくカラムへの負担

が少ないように感じられる。

Dの直接法では、オウゴン由来の成分とSnBを分離させるのに分析時間が1時間かった。また、Hのように多くの成分を配合している製剤でも定量は可能であることがわかった。

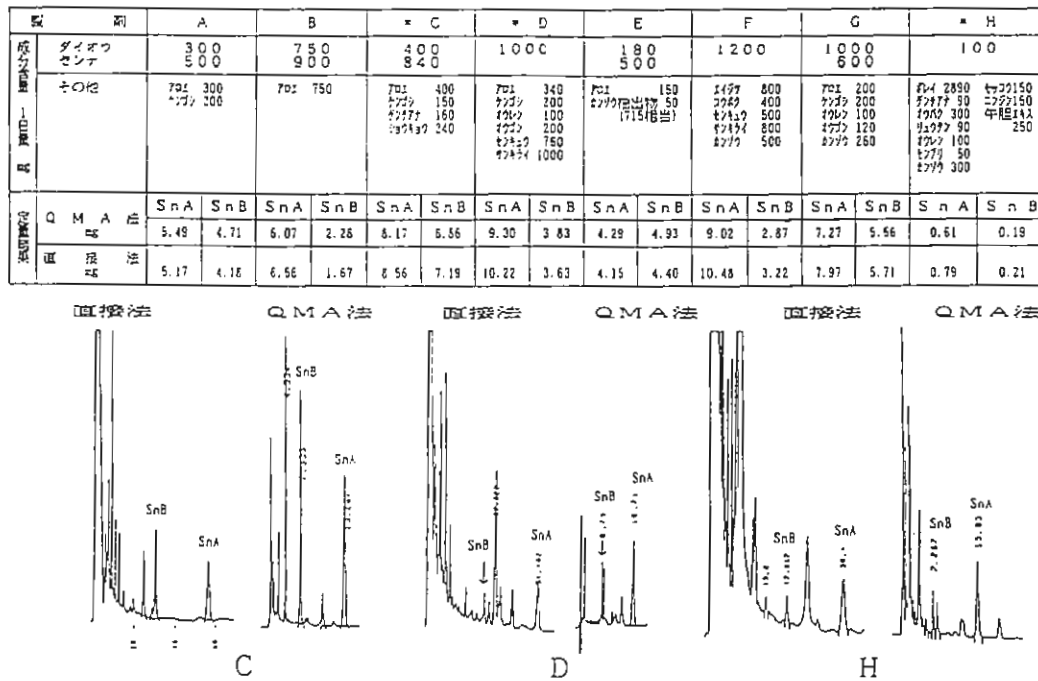


図9 市販製剤の定量結果

まとめ

1. 比色法とこれをHPLC法に応用したレイン法は相関が見られた。しかし、レイン法はバラツキが大きく実用的ではないので、今後の検討、改良が必要である。
2. QMA法—イオン抑制はバラツキも少なく安定な定量値が得られた。移動相の最適比率は、カラムによって差があり、条件の検討は、カラム毎に行う必要がある。QMA法—イオンペアについては、QMAから溶出した液が酸性であったため、イオンペアの中性付近の移動相との条件が合わず、良い分離が得られなかった。
3. 直接法—イオンペアも条件の検討はカラム毎に行う必要があるが、バラツキの少ない良好な結果が得られた。
4. QMA法—イオン抑制、直接法—イオンペアを比べると、センナのSnBの値が、QMA法—イオン抑制でやや高めに定量される。しかし、QMA法—イオン抑制は、前処理を行い、イオン抑制条件で分析するため、カラムへの負担が少ない。直接法—イオンペアは、前処理を行わないので定量操作は簡単だが、分析時間が若干長く、またイオンペア試薬を使うためカラムへの負担が大きい。両方法一長一短だが、目的によって使い分けるほうが良い。
5. 市販ダイオウを定量したが、SnA、SnBの含量と市場での等級とは相関がないという結果が得られた。今後、検体数を増やして検討していきたい。
6. 製剤の定量では、カンゾウ及びオウゴンが、直接法—イオンペアで妨害物質となったが、これらはセップパックQMAによる前処理で除去できた。製剤によって定量法を使い分けるほうが良い。

なお、本研究の一部は、富山県の平成4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、ご指導を賜りました富山県薬事研究所横田洋一主任研究員に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) F. Muffat et al, J. Chromatogr., 369, 261 (1986)
- 2) K. Sagara et al, J. Chromatogr., 403, 253 (1987)
- 3) H. Oshio et al, Chem. Pharm. Bull., 26, 2458 (1978)
- 4) 三上栄一ら：センナ，大黃が配合された瀉下薬の評価法の一検討，第28回全国衛生化学技術協
議会講演集，1818 (1991)
- 5) 上田紀代美ら：生薬試験用標準品の規格規定に関する検討(第七報)－センノサイドについて－
家庭薬研究 No. 12, 20 (1993)
- 6) 井上雅成：陰イオンカートリッジを用いたダイオウ・センナ中のセンノサイドA, Bの
HPLCによる定量，奈良県薬事指導所報告，10, 54 (1990)
- 7) 上田紀代美ら：生薬試験用標準品の規格規定に関する検討(第六報)－センノサイドについて－
家庭薬研究 No. 11, 70 (1992)
- 8) 石田美鈴ら：Cassia angustifolia (センナ) の小葉・花・果実及び葉軸における成分の比較，
家庭薬研究 No. 9, 90 (1990)

市販シリカ系 ODS 充填剤の品質評価について

On Evaluation of Commercial Octadecyl Silanized Silica gel

富山県薬事研究会 分析部会
Division of Analytical Chemistry,
Toyama Pharmaceutical Research Association

新木 康子 Yasuko ARAKI	朝日製薬(株) Asahi Pharmaceutical Co.,Ltd
島谷 隆夫 Takao SHIMATANI	救急薬品工業(株) Kyukyu Pharmaceutical Co.,Ltd
藤田 雅美 Masami FUJITA	第一薬品(株) Daiichi Medicine Co.,Ltd
中村 小百合 Sayuri NAKAMURA	第一薬品工業(株) Daiichi Pharmaceutical Co.,Ltd
酒井 葉子 Yoko SAKAI	
○小八木 泰弘 Yasuhiro KOYAGI	ダイト(株) Daito Co.,Ltd
徳道 保弘 Yasuhiro TOKUMITI	中越薬品(株) Chuetsu Pharmaceutical Co.,Ltd
宮村 芳昌 Yoshimasa MIYAMURA	中央薬品(株) Chuo Medicine Co.,Ltd
金田 千果 Chika KANEDA	テイカ製薬(株) Teika Pharmaceutical Co.,Ltd
高橋 浩美 Hiromi TAKAHASHI	(株)内外薬品商会 Naigai Medicine Co.,Ltd
川上 恵美子 Emiko KAWAKAMI	日本医薬品工業(株) Nihon Iyakuhin Kogyo Co.,Ltd
中村 伊都子 Ituko NAKAMURA	松井製薬(株) Matui Pharmaceutical Co.,Ltd
村田 素代 Motoyo MURATA	東亜薬品(株) Toa Medicine Co.,Ltd
川島 剛 Tuyosi KAWASIMA	富士薬品工業(株) Fuji Chemical Industries,Ltd
浅水 敬子 Keiko ASAMIZU	明生薬品工業(株) Meisei Pharmaceutical Co.,Ltd
横田 洋一 Yoichi YOKOTA	富山県薬事研究所 Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research

緒 言

高速液体クロマトグラフ法において、シリカ系 ODS 充填剤は逆相系の充填剤の大部分を占め、多数のメーカーが様々な製品を製造している。しかし、原料となるシリカゲルの品質、オクタデシルシリル化の方法や割合、あるいは残存シラノール基のエンドキャップの有無等、製造方法が各社においてそれぞれ異なるため、その品質については必ずしも一定ではない。しかも、それらの情報がユーザーに充分伝えられず、分析対象についてどのような充填剤を選択すべきか、指標について満足なものなかった。

一方、大津ら¹⁾はシリカ系 ODS 充填剤について、簡便な品質評価法を作成し、それから多くの情報が得られるとの報告をしている。そこで今回我々は、現在市販されているシリカ系 ODS 充填剤について、その方法を利用して品質評価を行った。さらに医薬品の分析における充填剤の品質の影響について、日局のセンソのブフォステロイドの定量法を例に検討し、若干の知見を得たので報告する。

実験の部

1. 調査対象：38種類の市販のオクタデシルシリル化したシリカゲルを内径4.6mm長さ15cmのステンレスカラムに充填したもの（ODSカラム）を検体とした。

No.	カラム名	カラムメーカー	No.	カラム名	カラムメーカー
1	TSKGEL-ODS 80TH	東ソー株式会社	22	ODSPAK	昭和電工株式会社
2	TSKGEL-ODS 120T		23	INERTSIL ODS	ジェールサイエンス株式会社
3	TSKGEL-ODS 120A		24	INERTSIL ODS-II	
4	TSKGEL-ODS 80Ts		25	DEVELOSil ODS	野村化学株式会社
5	YMC-ODS A-302	ワイエムシー株式会社	26	DEVELOSil ODS-T	
6	YMC-ODS AL-302		27	DEVELOSil ODS-K	
7	YMC-ODS AM-302		28	DEVELOSil ODS-N	
8	YMC-ODS AQ-302		29	DEVELOSil ODS-A	
9	CEMCOORB-ODS-L	ケムコ株式会社	30	L-COLUMN	化学品検査協会株式会社
10	CEMCOORB-ODS-UB		31	WAKOSIL 5C18	和光純薬工業株式会社
11	SUPERIOREX ODS S-5	資生堂株式会社	32	WAKOSIL 5C18T	
12	URTRON N-C18-L	信和化工株式会社	33	WAKOSIL 5C18H	
13	URTRON N-C18-II		34	WAKOSIL II 5C18BG	
14	COSMOSIL C18	ナカライテスク株式会社	35	SOKEN PAK NEW-ODS-IV	総研化学株式会社
15	COSMOSIL C18-P		36	グアイテック ODS	ダイソー株式会社
16	COSMOSIL C18-AR		37	NUCLEOSIL C18	M. NAGEL
17	STR-ODS-H	島津テクノリサーチ株式会社	38	ZORBAX C-18RX	DU PONT
18	STR-ODS-II				
19	CHROMATOREX PU-0005H	富士ディヴィソン株式会社			
20	CHROMATOREX PU-0005TT				
21	CHROMATOREX PU-0005HT				

注：粒子径は5μmに統一した

表1 市販ODSカラム

2. 分析条件：品質評価は大津らの方法に準じて行った測定条件と試料及びその濃度を表2に示す。センソのブフォステロイドの分析は第12改正日本薬局方に従った。
3. 評価法：それぞれの成分について、ウラシルを基準とした保持係数 (k') 及び理論段数 (N) を計算し、以下の分離係数 α (k'/k') 及び理論段数比 N (N_1/N_2) をパラメーターとして求めた。なおそれぞれのパラメーターは3回求めたものの平均値で表した。 α はそれぞれT/B, CF/PH, 及びTP/OTについて、 N はPA/Tについて測定し、

センソのブフォステロイドについては、シノブファギン (C) とレジブフォゲニン (R) の分離度Rs (C/R) を求めた。

操作条件	1	2
カラム	5C18 (4.6mmID×15cm)	
検出器	紫外吸光度計 (測定波長: 254nm)	
カラム温度	40° 付近の一定温度	
移動相	メタノール・水混液 (1:1)	メタノール・水混液 (4:1)
流量	1ml/min	
試料注入量	5μl	
試料及び濃度	ウラシル (U) 0.025mg/ml カフェイン (CF) 0.050 フェノール (PH) 0.250 2-エチルピリジン (EP) 0.150 安息香酸メチル (MB) 0.500 ベンゼン (B) 11.000 N,N-ジメチルアニリン (DA) 0.085 トルエン (T) 1.450 フェニルアセチルアセトン (PA) 0.250	ウラシル (U) 0.025mg/ml Cis-スチルベン (CS) 0.060 Trans-スチルベン (TS) 0.100 o-テルフェニル (OT) 0.050 m-テルフェニル (MT) 0.050 p-テルフェニル (PT) 0.020 トリフェニレン (TP) 0.020

表2 ODSカラムの品質評価法

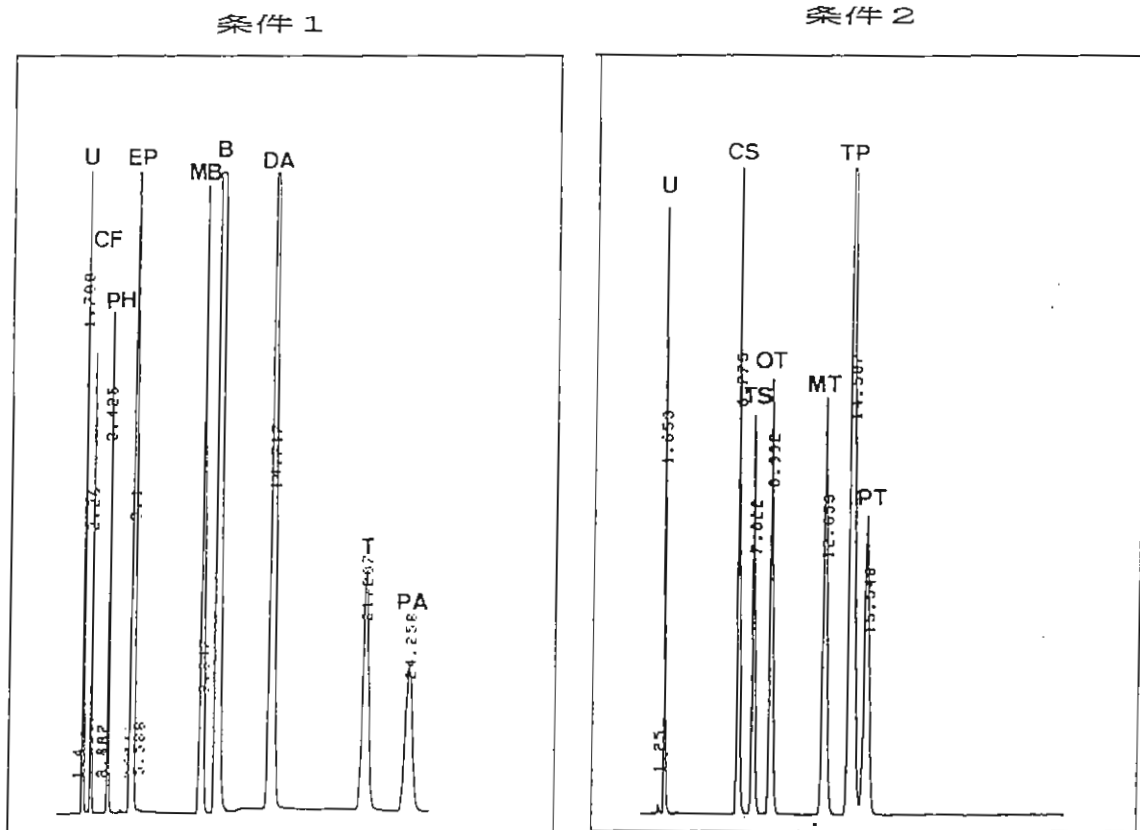


図1 条件1及び2のクロマトグラム

結果及び考察

1. ODSカラムの品質評価について

各パラメーターとODSカラムの品質評価に関連する諸特性との関係を表3に示す。以下これら特性と充填剤との関連について判明したことを詳述する。

評価項目	パラメーター	構造式
疎水性相互作用 (カーボン含有量)	α (T/B)	<chem>Cc1ccccc1</chem> <chem>c1ccccc1</chem>
水素結合性 (残存シラノール基量)	α (CF/PH)	<chem>CN1C(=O)NC(=O)N1C</chem> <chem>Oc1ccccc1</chem>
配位結合性 (金属含有量)	N (PA/T)	<chem>CC(=O)OCC1=CC=CC=C1</chem> <chem>Cc1ccccc1</chem>
平面認識能 (シリル化剤官能基致)	α (TP/OT)	<chem>c1ccc2c(c1)ccc3ccccc23</chem> <chem>c1ccc2c(c1)ccc3ccccc23</chem>

表3 各パラメーターとODSカラムの品質

- (1) α (T/B)の値は大きいほど充填剤の疎水性の相互作用が強いことを意味する。すなわちシリカゲルに結合したカーボン量が多いほどトルエン(T)はベンゼン(B)よりより強く保持される。図2から明らかなように、最近では比較的疎水性で相互作用の強いものが多く市販されている。

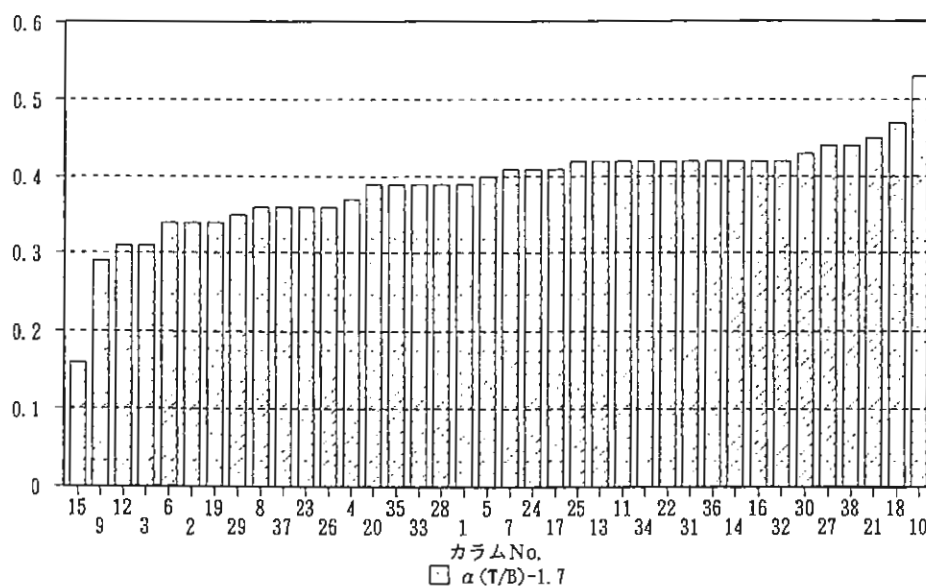


図2 疎水性相互作用

(2) α (CF/PH) の値は大きいほど水素結合性が強い、すなわちオクタデシルシリル化されていないシリカゲルの残存シラノール基が多いほどカフェイン (CF) の溶出が遅れることを意味している。市販充填剤の多くは残存シラノール基がなんらかの形でエンドキャップされ水素結合性が弱いものが多いことがわかった。またエンドキャップしていないと表示されたものについては、その値にばらつきが大きかった (図3)。従って、水素結合性の強い物質の分析には ODS カラムの選択に留意する必要がある。

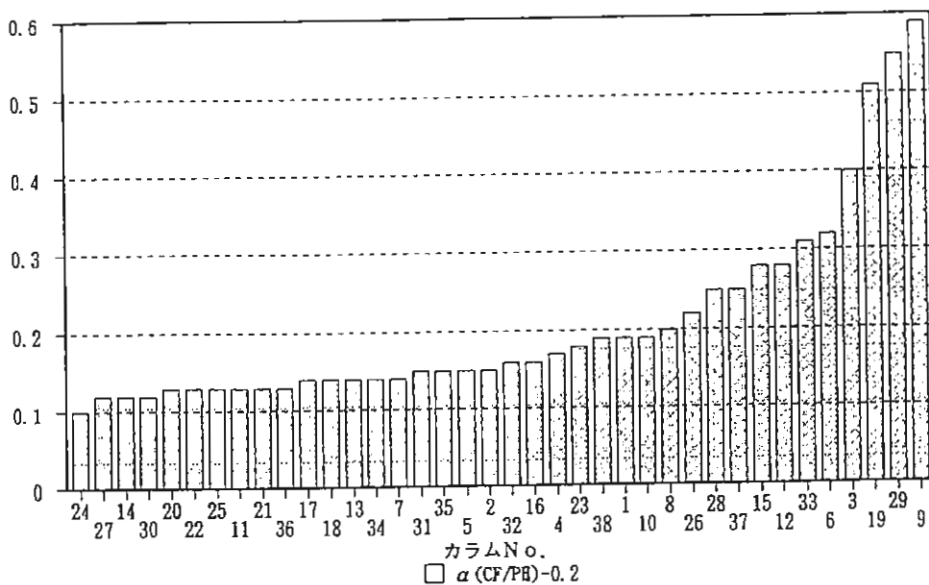


図3 水素結合性

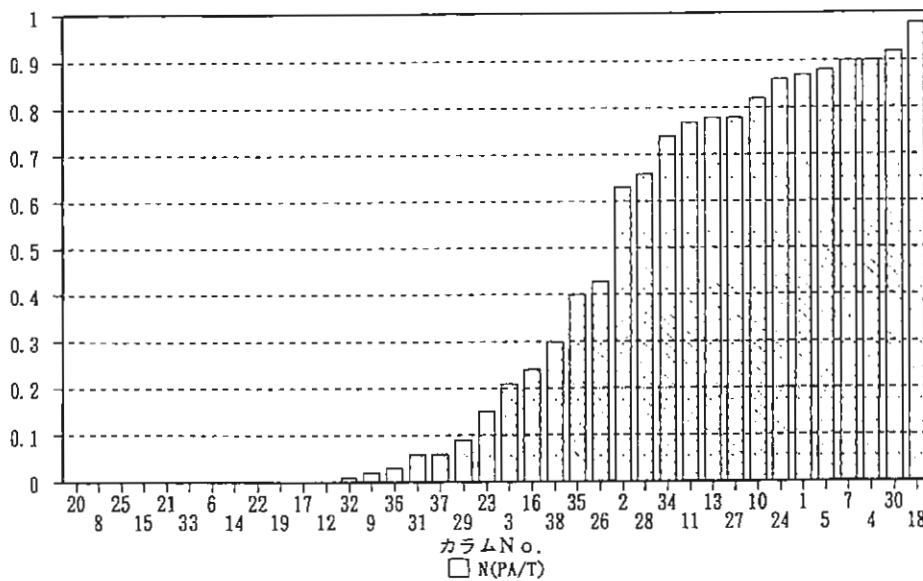


図4 配位結合性

(3) N (PA/T) の値は大きいほど配位結合性が弱い、すなわちシリカゲル中の金属が少なく、配位結合性の強いフェニルアセチルアセトン (PA) のピークがシャープであることを意味して

いる。市販品は、配位結合性が弱いものと強いものがほぼ半々であり、メーカーが高純度シリカを使用していることがわかった(図4)。なお、PAが溶出ししない場合は(PA/T)の値は0とした。

- (4) α (TP/OT) の値は大きいほど平面認識能が高い、すなわちオーテルフェニル (OT) より平面的なトリフェニレン (TP) のほうが保持されやすいことを意味している。これはオクタデシルシリル化の方法による相違とされ、モノメリックよりポリメリックな合成法のほうが平面認識能が高いと言われている。モノメリックな合成法とはI官能性のシリル化試薬を用いるのに対し、ポリメリックな合成法とは多官能性のシリル化試薬を用いる方法である。市販品には、平面認識能が高いODSカラムが少なく、ほとんどはモノメリックな合成法によるものと思われる。(図5)

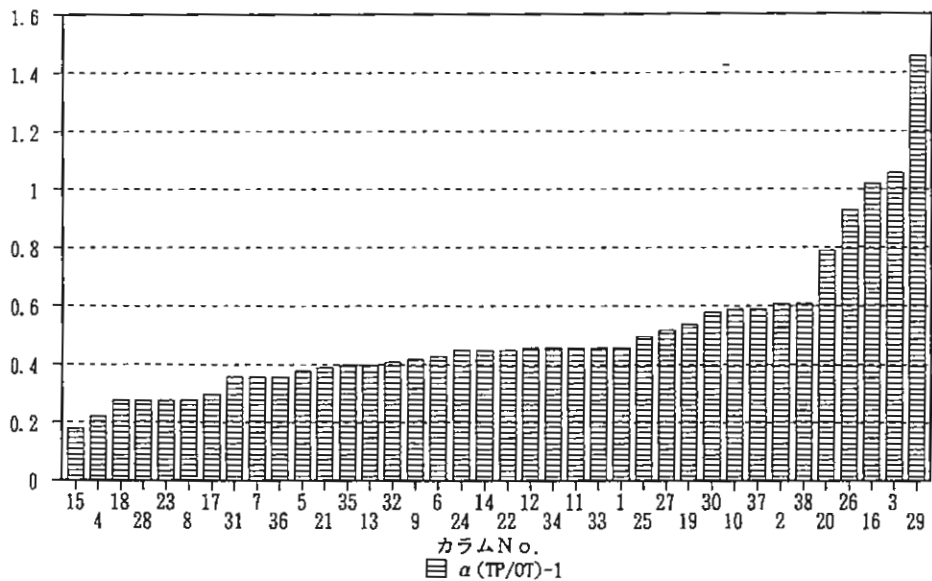


図5 平面認識能

2. ブフォステロイドの分析とカラムの品質について

シノブファギンとレジブフォゲニンは(図6)に示すように構造が極めて似かよっているため、分離は比較的困難である。そこで分析に用いたODSカラムの各種パラメーターについて詳細に検討した結果、主に α (CF/PH)がその分離に寄与していることが判明した。すなわちエンドキャップされていない水素結合性の強いODSカラムほど両者の分離がよ

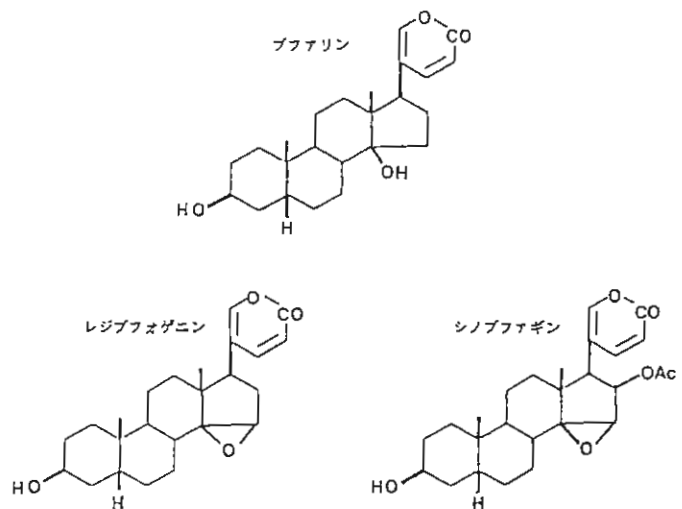


図6 ブフォステロイドの構造式

いことを意味している (図7)。すでにこのことは経験上知られていたが²⁾、今回このパラメーターの解析によりこの事実が裏づけられた。しかし、 α (CF/PH) が比較的小さい充填剤の中にも分離能の良いものも若干あり、現在さらに詳しく解析中である。図8に代表的なクロマトグラムを示す。

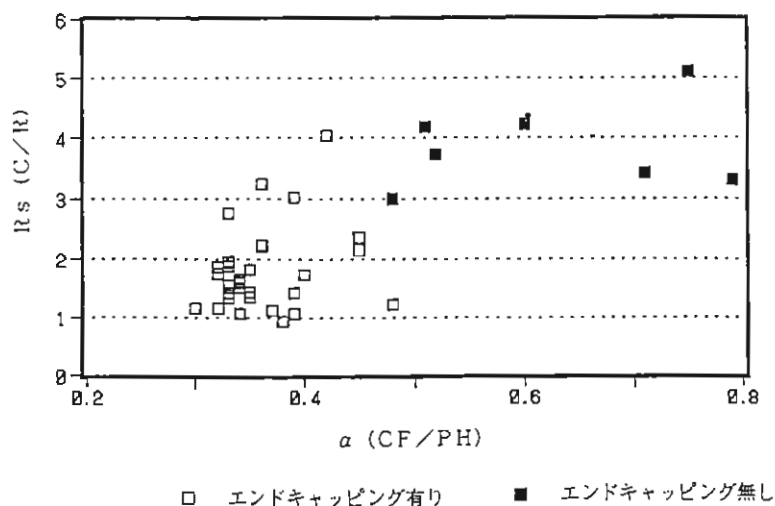


図7 ODSカラムの α (CF/PH)と R_s (C/R)の相関について

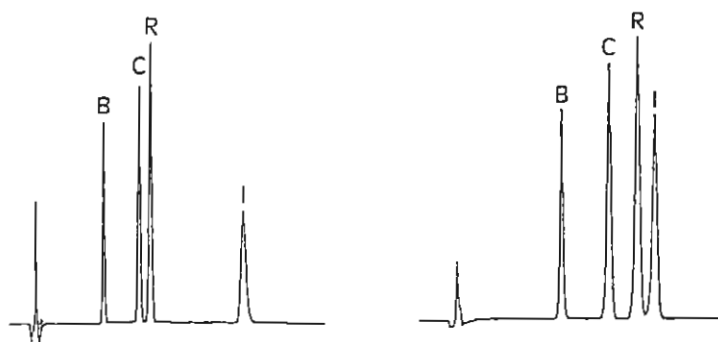


図8 プロスタグロイドの液体クロマトグラム

HPLC条件 カラム: (A) DEVELOASIL ODS, (B) CHEMCOSORB 5-ODS-L,
 移動相: 薄めたリン酸 (1→1000)・アセトニトリル混液 (11:9),
 流量: 1 ml/min, カラム温度: 40°, 検出: 300nm
 B: ブファリン, C: シノブファギン, R: レジブフォゲニン, I: インドメタシン

ま と め

疎水性相互作用, 水素結合性, 配位結合性, 平面認識能を示すパラメーターを使用し, 38種の市販 ODSカラムを品質評価したところ, 水素結合性, 配位結合性及び平面認識能にばらつきがみられた。従って, 分析対象によってそれぞれに適した充填剤を使い分ける必要がある。またセンソのブフォステロイドの分離能を解析したところ, 主に α (CF/PH) が寄与していることが確かめられた。今後さらに多くの医薬品の分離の解析に本法を利用する予定である。

謝 辞

本研究を行うにあたり御指導された資生堂基礎化学研究所 大津裕氏, ODSカラムを供与されたメーカー各社及び実験の一部を手伝われた薬事リレカント教育参加の皆様へ深謝致します。

文 献

- 1) 大津他, シリカ C₆₀ 充填剤の二次効果の解析と市販充填剤の評価法: クロマトグラフィー, Vol. 11, No 4, p48~49 (1990)
- 2) 横田他, センソの品質評価について (第1報) - ブフォステロイド -, 富山県薬事研究所年報, 16, 83~93 (1990)

湿式造粒における各種崩壊剤の特性 (第2報)

Properties of Several Disintegrants on Wet Granulation Method

—— オウバクエキス含有錠の崩壊性 ——

—— Disintegration Properties of Tablets Containing Phellodendron Extract ——

富山県薬事研究会 製剤部会

Division of Pharmaceutics,

Toyama Pharmaceutical Research Association

釣谷豊之	鐘紡(株)
Toyoyuki TSURITANI	Kanebo Co.,Ltd
四柳寛充	
Hiromitsu YOTSUYANAGI	
大谷幸宏	
Yukihiro OTANI	
藤井悦宗	極東薬品(株)
Yoshimune FUJII	Kyokuto Yakuhin Co.,Ltd
山岡みどり	(株)広昌堂
Midori YAMAOKA	Kosyodo Co.,Ltd
高橋葉子	第一薬品(株)
Yoko TAKAHASHI	Daiichi Medicine Co.,Ltd
木村充輝	第一薬品工業(株)
Miki KIMURA	Daiichi Pharmaceutical Co.,Ltd
西浦桂子	大協薬品工業(株)
Keiko NISHIURA	Taikyo Pharmaceutical Co.,Ltd
中嶋昌代	大同製薬(株)
Masayo NAKAJIMA	Daido Pharmaceutical Co.,Ltd
高瀬博志	中新薬業(株)
Hiroshi TAKASE	Chushin Yakugyo Co.,Ltd
佐久間哲	東亜薬品(株)
Satoshi SAKUMA	Toa Medicine Co.,Ltd
河合多久己	東洋ファルマー(株)
Takumi KAWAI	Toyo Pharmar Co.,Ltd
金井達夫	日本医薬品工業(株)
Tatsuo KANAI	Nihon Iyakuhin Kogyo Co.,Ltd
堀田良晴	富士化学工業(株)
Yoshiharu HORITA	Fuji Chemical Industry Co.,Ltd
本郷高久	富士製薬工業(株)
Takahisa HONGO	Fuji Pharmaceutical Co.,Ltd
亀沢真也	
Shinya KAMEZAWA	
○萩原彰人	(株)富士薬品
Akihito HAGIHARA	Fuji Medicine Co.,Ltd
川筋透	富山県薬事研究所
Toru KAWASUJI	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。

我々は、各種崩壊剤の基礎的な特性及び製剤への使用方法の検討を目的として、種々の検討を行い、第1報⁴⁾では吸湿性、水和能及び乳糖錠における崩壊性について報告した。今回は生薬エキスの配合錠の崩壊は遅いことが多いのでモデルとしてオウバクエキスを選び、これを含有する錠剤の崩壊性について検討した。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リン (Kollidon CL = KCL, BASF)

2) その他の試料

オウバクエキスは日本粉末薬品製のオウバク乾燥エキス、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製を用いた。

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、乾燥は岩黒製作所の棚式通風乾燥機607C型、打錠には岩黒製作所製単式強圧打錠機を用いた。また、崩壊試験機は富山産業製のNT-2HS型を用いた。

3. 各種崩壊剤のエタノールに対する膨潤性

膨潤性の測定はKornbiumらの方法⁵⁾を参考にして行った。崩壊剤1.0gを50ml遠沈管に入れ、エタノール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。膨潤性は

乾燥時の重さに対する膨潤性の重さの比率で表した。

4. 試作方法

崩壊剤を打錠時または顆粒内に添加する2種の方法で、次に示した試作処方及び手順で試作した。

〈試作処方〉	オウバクエキス	0 ~ 25	%
	乳糖	70.5 ~ 97.5	%
	HPC-L	2	%
	崩壊剤	0 ~ 10	%
	ステアリン酸Mg	0.5	%
	合計	100	%

〈試作手順〉

崩壊剤を打錠時添加

乳糖, オウバクエキス及びHPC-Lを混合

↓

95%エタノールを添加して練合し,
0.6mmバスケットで円筒造粒

↓

棚式乾燥(50°C, 一夜)し, 24号篩過

↓

崩壊剤及びステアリン酸Mgを加えて混合

↓

直径10mm, 重量400mgで打錠

崩壊剤を顆粒内添加

乳糖, オウバクエキス, 崩壊剤及びHPC-Lを混合

↓

95%エタノール又は精製水を添加して練合し,
0.6mmバスケットで円筒造粒

↓

棚式乾燥(50°C, 一夜)し, 24号篩過

↓

ステアリン酸Mgを加えて混合

↓

直径10mm, 重量400mgで打錠

5. 崩壊試験

崩壊試験は試験液に蒸留水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。

6. オウバクエキスを25%配合した場合の崩壊性

オウバクエキスを25%配合し、練合液は95%エタノールで、10種の崩壊剤について2%打錠時添加して錠剤を試作し、崩壊時間を測定し、また、崩壊剤を添加しないブランクについても同様に試験した。

7. オウバクエキス配合量の検討

オウバクエキス配合量を5, 10, 20%とし、練合液は95%エタノールで、崩壊剤KCLを2%打錠時添加して錠剤を試作し、崩壊時間を測定した。また、崩壊剤を添加しないブランクについても同様に試験した。

8. オウバクエキス5%での崩壊性

オウバクエキスを5%配合し、練合液は95%エタノールで、10種の崩壊剤についてそれぞれ2, および5%を打錠時添加して錠剤を試作し、崩壊時間を測定した。また、崩壊剤を添加しないブラ

ンク及びデンプン系4種の崩壊剤の10%配合品についても同様に試験した。

9. 崩壊剤の顆粒内添加

1) 練合液が95%エタノールの場合の崩壊性

オウバクエキスを5%配合し、練合液は95%エタノールで、10種の崩壊剤を5%顆粒内に添加した錠剤を試作し、崩壊時間を測定した。また、崩壊剤を添加しないブランクについても同様に試験した。

2) 造粒時添加溶剤が精製水の場合

オウバクエキスを5%配合し、練合液は精製水で、10種の崩壊剤を5%顆粒内添加した錠剤を試作し、崩壊時間を測定した。また、崩壊剤を添加しないブランクについても同様に試験した。

10. CMS-Naを顆粒内添加した場合の練合液による違い

オウバクエキスを5%配合し、崩壊剤CMS-Naを2%顆粒内添加した錠剤を練合液が精製水及び95%エタノールの2種類を試作し、崩壊時間を測定した。崩壊剤が10%及び5%添加の結果と併せて比較した。

結果及び考察

1. 各種崩壊剤のエタノールに対する膨潤性

第1報では蒸留水に対する膨潤性(水和能)を報告したが、練合時に使用するエタノールに対する膨潤性も錠剤の崩壊時間に影響があると考え、この試験を行った。表1に第1報で報告した蒸留水に対する膨潤性ととも結果を示したが、すべての崩壊剤が蒸留水よりエタノールの方が少ない膨潤性を示した。また、エタノールではKCL及びCMCが若干の膨潤性を示した。

2. オウバクエキスを25%配合した場合の崩壊性

結果を表1に示す。崩壊剤の種類に関係なく崩壊時間がブランクの30.5分と大差無く、最も速いKCLで25.3分であった。したがって、オウバクエキスが25%含まれる場合、崩壊剤の特性比較は困難であり、適当なオウバクエキスの配合量の検討が考えられた。

3. オウバクエキス配合量の検討

実験はオウバクエキスを25%配合した場合に最も速かったKCLを用いて行い、結果をFig. 1に示した。オウバクエキス量が増えるにしたがい崩壊が遅くなり、20%の場合はブランクとほとんど差がなかった。また崩壊剤を配合しないブランクでは、オウバクエキス量に関係なく崩壊時間はほぼ一定であった。この結果及びオウバクエキスを配合しない錠剤での崩壊(第1報で報告、表1参照)は全体的に速く、崩壊時間に差が少なかったことから、オウバクエキス5%が最も崩壊

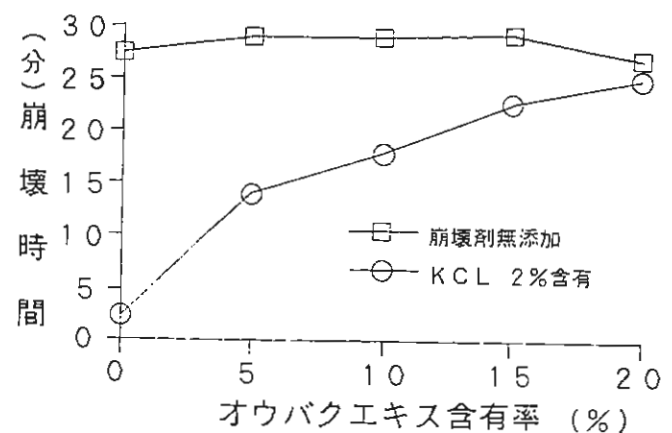


Fig.1 オウバクエキス配合量と崩壊時間の関係

剤の特性を比較しやすいと考えられた。

4. オウバクエキス5%での崩壊性

崩壊剤の添加量と崩壊時間の関係を Fig. 2 に示した。添加量2及び5%においては、CMC及びKCLが特に崩壊が速く、デンプン系とセルローズ系とを比較した場合はセルローズ系の方が速い傾向があった。また、HPS、ADS及びLH-22は、配合量を2%から5%としても崩壊時間の短縮が少なく、デンプン系では10%添加においても特に速い崩壊性を示すものはなかった。

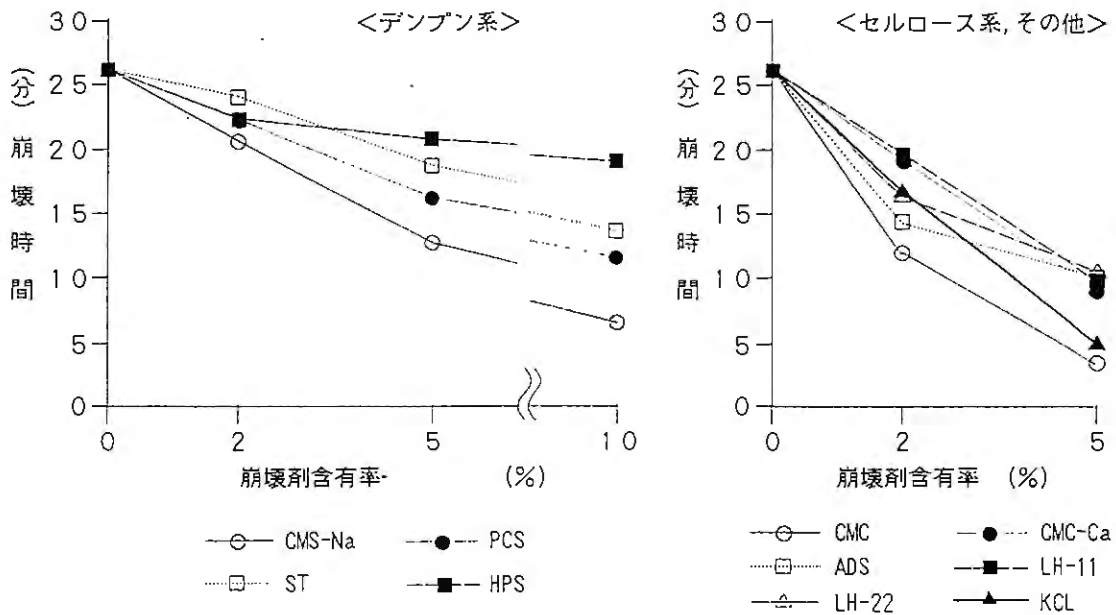


Fig.2 崩壊剤の添加量と崩壊時間の関係

オウバクエキス量	25%	5%	5%	5%	0%	0%	蒸留水での膨潤性	エタノールでの膨潤性
練 合 液	95%エタノール	95%エタノール	95%エタノール	精製水	精製水	精製水		
崩壊剤添加法	打錠時	打錠時	顆粒内	顆粒内	打錠時	顆粒内		
崩壊剤添加量	2%	5%	5%	5%	2%	2%		
ブ ラ ン ク	30.5	25.0	25.5	23.3	20.3	21.		
CMS - Na	28.0	12.8	8.3	62.3	1.4	10.3	19.6	1.5
HPS	27.9	20.7	23.8	38.2	6.0	5.9	2.0	1.8
ST	28.9	18.7	15.8	63.3	12.9	14.6	4.8	1.6
PCS	28.2	16.3	16.2	68.0	7.8	18.8	6.4	1.8
CMC	26.5	3.4	13.3	17.6	2.8	2.5	3.8	3.1
CMC - Ca	28.1	9.0	9.3	21.3	3.4	3.0	8.9	2.2
ADS	26.3	10.1	10.5	12.4	2.5	5.6	10.6	2.1
LH - 11	29.0	9.8	9.4	23.3	4.2	4.7	9.9	2.8
LH - 22	29.4	10.5	10.9	23.9	4.5	4.5	8.1	2.5
KCL	25.3	4.9	16.8	26.8	1.2	1.2	4.4	3.6

表1 各試作品の崩壊時間及び各種崩壊剤の膨潤性

5. 崩壊剤の顆粒内添加

95%エタノール造粒及び精製水造粒とも表1に示した。

1) 練合液が95%エタノールの場合の崩壊性

95%エタノール造粒では、CMC及びKCL以外は打錠時添加と大差はなかったがエタノールに対して膨潤性のあるこの2種は顕著に崩壊が遅くなった。これは練合時にある程度崩壊剤が膨潤してしまい、崩壊剤としての効力が減少したものと考えられる。

2) 練合液が精製水の場合

精製水造粒では、全体的に打錠時添加より崩壊が遅かったが、中でもデンプン系の4種の崩壊剤が顕著であり、ブランクより報か時間が長くなった。この場合も練合時に崩壊剤が膨潤してしまい、さらに結合剤として働いたと考えられる。

6. CMS-Naを顆粒内添加した場合の練合液による違い

CMS-Naの添加量と崩壊時間の関係をFig. 3に示した。精製水造粒の場合、添加量に応じてむしろ結合剤的な作用を示した。一方、95%エタノール造粒では2、5%とも充分崩壊剤として作用していた。

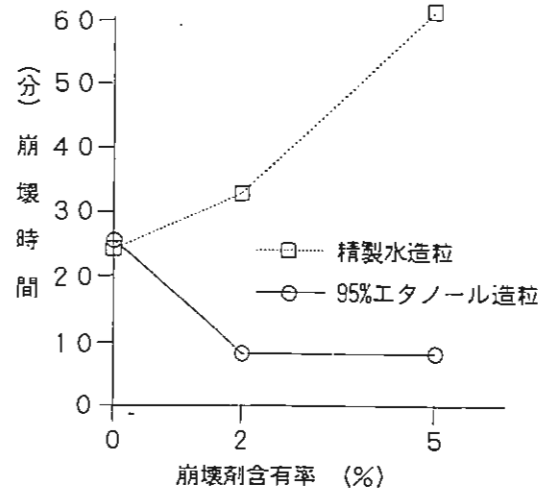


Fig.3 CMS-Naの添加量と崩壊時間の関係

ま と め

第1報では、崩壊剤の構造（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た。

オウバクエキス25%配合では全体的に崩壊が遅く、崩壊剤の特性を比較することができなかったため、エキス配合量5%に固定して実験を行なった。その結果、崩壊剤2及び5%ではセルロース系が比較的速く崩壊したが、デンプン系では10%添加でも特に速い崩壊を示すものは見出せなかった。また練合液としてエタノールを用いて崩壊剤を顆粒内添加した場合、多くは打錠時添加と大差はなかったが、エタノールに対して膨潤性のあるCMC、KCLについては顕著に崩壊が遅延した。同様に精製水を用いて崩壊剤を顆粒内添加した場合は、全体的に崩壊は遅く、特にデンプン系4種の崩壊剤が顕著で、崩壊剤を配合しないブランクよりも遅くなった。このうちCMS-Naについて2、5%添加での検討を行ったところ崩壊遅延の様子からは結合剤的な作用が認められ、一方CMS-Naについてエタノールを用いて造粒した場合は、ブランクより速く崩壊剤としての作用を示した。

これらの検討結果より、今後、崩壊剤を配合した処方では製剤設計する場合には、こうした特性を考慮して崩壊剤の種類や添加量及び練合液を選択する必要があると考えられる。

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) 富山県薬事研究会製剤部会, 湿式造粒における各種崩壊剤の特性, 家庭薬研究No. 12 27 (1993)
- 5) S. Kornblum et. al., A New Tablet Disintegrating Agent : Cross-Linked Polyvinylpyrrolidone, J. Pharm. Sci., 62, 43-49, (1973)

ドリンク剤中のグルクロノラクTONの安定性に関する検討

Studies on Stability of Glucuronolactone in Oral Liquids

○長谷香織 正川 仁
Kaori HASE Hisashi SHOGAWA

山本文雄 今村 暢子
Fumio YAMAMOTO Nobuko IMAMURA

共栄製薬株式会社 開発技術部

Development and Technology Division, Kyohei Pharmaceutical Co., Ltd

緒 言

ビタミン含有ドリンク剤は服用の手軽さも手伝い、近年その需要は伸び、医薬品製造メーカーにおいても主力製品となってきている。一方、有効成分として配合されているビタミンB₁類及びパントテン酸カルシウムの経時的含量低下¹⁾や生薬エキス配合製品においては沈殿の発生等、問題の多い製剤でもある。また、医薬品の有効成分の安定性は製品開発段階において最も重要視される項目である。

今回我々は、ドリンク剤中に多く配合されるグルクロノラクTONに注目し、その安定性について若干の知見を得たので報告する。

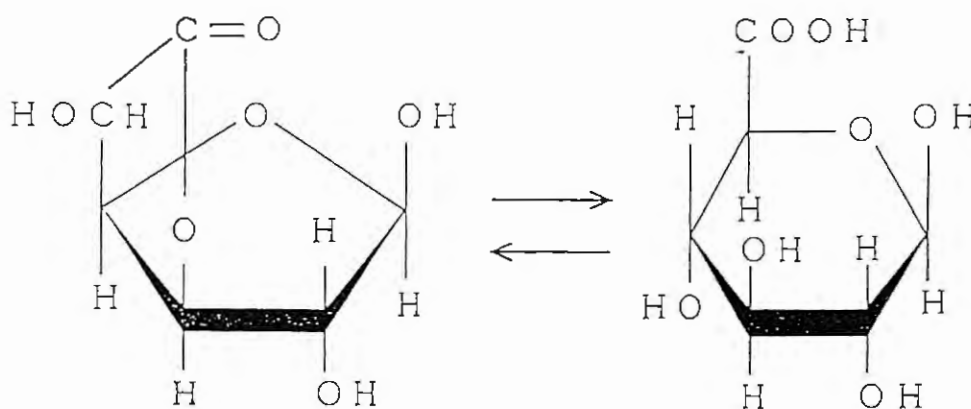


Fig.1 グルクロノラクTONとグルクロン酸

グルクロノラクTONはFig. 1に示されるように、水溶液中ではグルクロン酸と一定成分比で平衡状態にある。グルクロン酸はβグルクロニデース・インヒビターで、生体内で種々の有毒物質の解毒を促進し、また肝グリコーゲンの増加、肝脂質の減少等、肝機能を増強することから、諸肝疾患、中毒症及び疲労回復等に広く利用されている。

実験の部

1. モデル処方

全量50 mlのミニドリンク剤としてモデル処方を2種類作製した。処方内容はTable 1のとおりである。

		処方1	処方2
矯味剤	グルクロノラクトン	500mg	500mg
	アミノエチルスルホン酸	1000mg	—
	硝酸チアミン	10mg	10mg
	リン酸リボフラビンナトリウム	2mg	2mg
	ニコチン酸アミド	20mg	20mg
	無水カフェイン	50mg	50mg
	精製白糖	8000mg	8000mg
	D-ソルビトール液(70%)	2000mg	2000mg
	ハチミツ	500mg	500mg
	d1-リンゴ酸	200mg	200mg
防腐剤	安息香酸ナトリウム	30mg	30mg
	パラオキシ安息香酸ブテル	2.5mg	2.5mg
	パラオキシ安息香酸プロピル	2.5mg	2.5mg
溶解補助剤	エタノール	0.1ml	0.1ml
着香剤	香料	微量	微量
溶剤	精製水	全量50ml	全量50ml

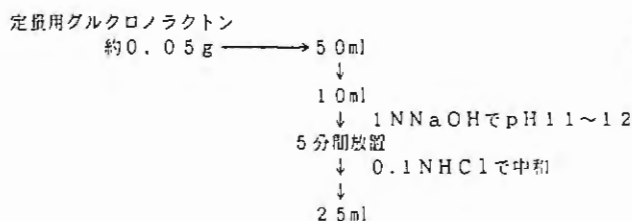
2. 定量法

1) 試料溶液及び標準溶液の調製法

Table 1 モデル処方の成分及び分量

有沢らの方法²⁾に準じて行った。すなわち、定量用グルクロノラクトン約0.05gを精密に量り、水に溶かして正確に50mlとし、この液10mlを正確に量り、1N水酸化ナトリウム試液でpH11~12とし、5分間放置した後、0.1N塩酸試液で中和し、水を加えて正確に25mlとし、標準溶液とした。別に、試料5ml(グルクロノラクトン5mgに対応する量)を正確に量り、水を加えて正確に50mlとし、この液10mlを正確に量り、標準溶液に準拠して操作し、試料溶液とした。(Chart 1)なお、1N水酸化ナトリウム試液でpH11~12とし5分間放置するのは、グルクロノラクトンをグルクロン酸に変換し、HPLC法により分析するためである。

標準溶液



試料溶液

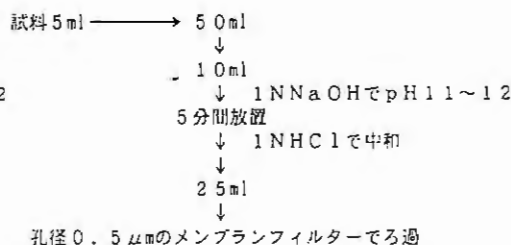


Chart 1 標準溶液及び試料溶液の調製法

2) HPLC操作条件

検出器：紫外吸光光度計(測定波長210nm)

カラム：ワイエムシ社製PA-03(内径4.6mm,長さ250mm)

移動相：アセトニトリル・30mMリン酸二水素カリウム溶液・メタノール混液
(58:37:5)

カラム温度：40°付近の一定温度

流量：グルクロン酸のピークが約14分に溶出するように調整する。

注入量：20μl

3. 保存条件及び保存期間

40°で2, 4, 6箇月の各時点

4. グルクロノラクトンとアミノエチルスルホン酸及びアミノ酸類の反応性

安定性試験結果から、アミノエチルスルホン酸がグルクロノラクトンに何らかの影響を及ぼしているのではないかと考え、その反応様式について検討した。

まず、グルクロノラクトンとアミノエチルスルホン酸を水に溶かし、pH3に調整後、40°で保存しても短期間での含量の低下はみられなかったため、グルクロン酸ナトリウムとアミノエチルスルホン酸をChart 2に示すように調製し、40°で保存した後、定量を行った。また、3種類のアミノ酸についても同様に実験した。

5. 市販製剤のグルクロノラクトンの定量

2で設定した定量法でグルクロノラクトン配合市販ドリンク剤の定量を行った。

結果及び考察

1. 定量法

先の条件で検量線を作成したところFig. 2に示すように0.2~0.6 mg/mlの範囲で、相関係数0.9999でほぼ原点を通る直線性が得られた。

Fig. 3に標準溶液、試料溶液、空試験溶液のHPLCクロマトグラムを示した。空試験溶液のグルクロン酸のピーク位置には妨害ピークは見られなかった。

また、空試験溶液に表示量の80%、100%、120%を添加し、回収試験を行ったところ、平均回収率

試験方法

グルクロン酸ナトリウム1g+アミノ酸類①~④各2g
 ↓ H₂O 80mlに溶解
 ↓ pH3に調整 (H₃PO₄又は1NHCl)
 ↓ 100ml
 ↓ 80~90°の水浴で3分間加熱
 室温で放冷

Chart 2 グルクロン酸とアミノ酸類の反応性

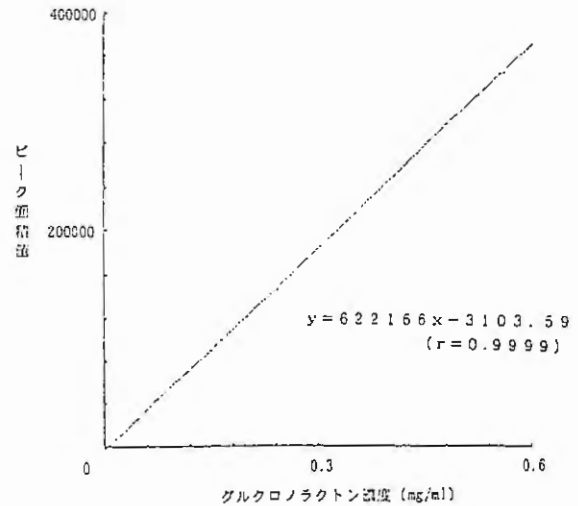


Fig.2 検量線

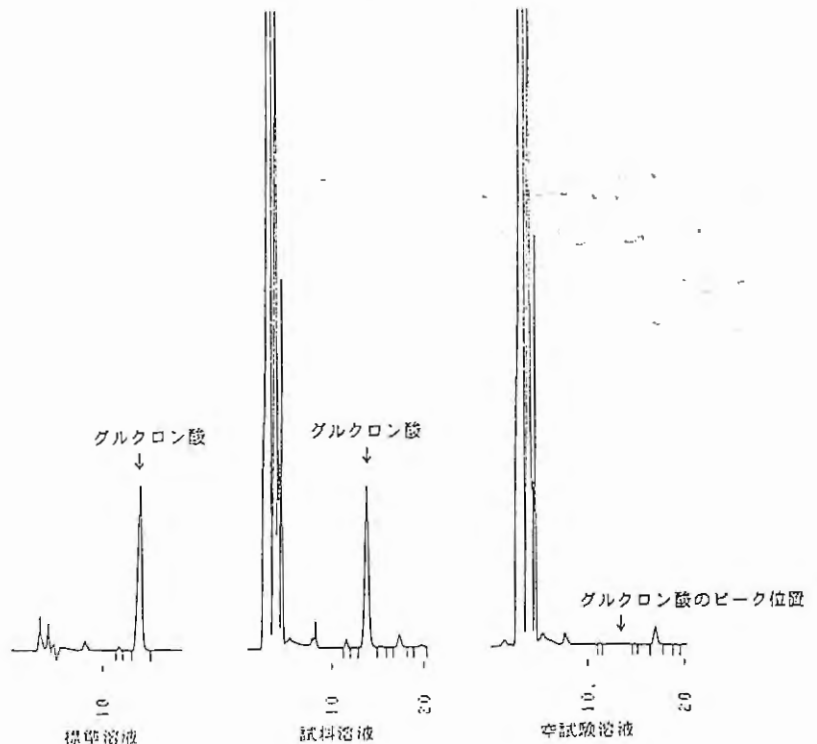


Fig.3 HPLCクロマトグラム

結果が得られた。(Table 2)

	標準溶液		試料溶液		回収量(mg)	回収率(%)
	採取量(mg)	A s	添加量(mg)	A t		
1	50.37	238410	40.09	190351	40.22	100.3
2	49.53	232277	49.57	234231	49.95	100.8
3	49.91	234275	60.03	280884	59.84	99.7
					平均	100.3
					CV%	0.55

Table 2 添加回収試験結果

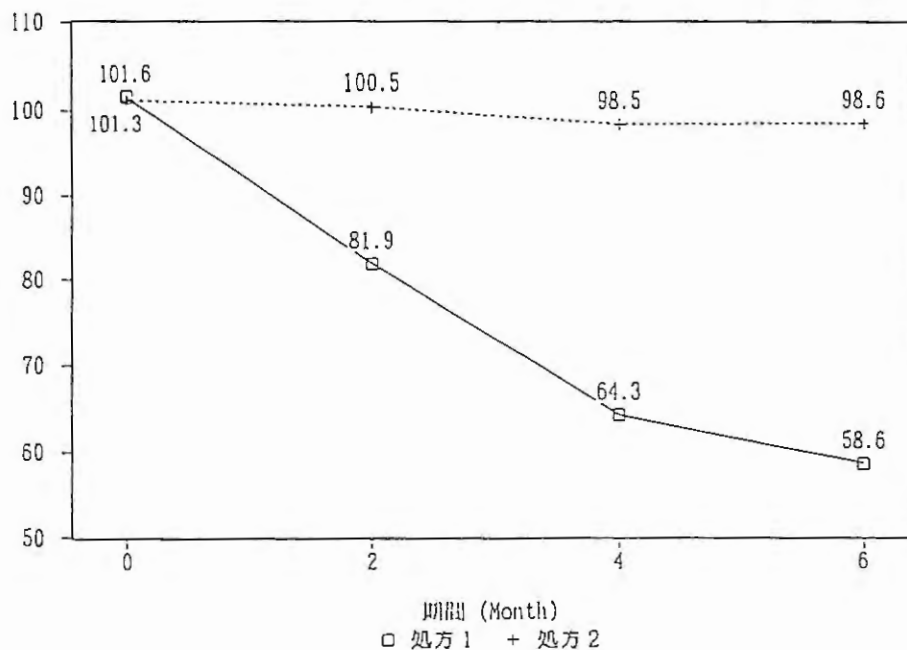


Fig.4 安定性試験結果 (40° 75% RH)

2. モデル処方におけるグルクロノラクトンの安定性試験結果

Fig. 4に示したように、アミノエチルスルホン酸が配合されていない処方2は40° 6箇月後もほとんど含量低下はみられなかった。一方、処方1は40° 2箇月後ですでに20%も含量が低下し両処方間に大きな差が生じた。また、HPLCクロマトグラム上では、Initialは処方1と2で差はみられないが、40° 6箇月後では、処方2はInitialとほぼ同じであるのに対し、処方1ではInitialではみられなかったピークが存在していた。(Fig. 5) また、処方1のアミノエチルスルホン酸をHPLC法³⁾で定量したところ、約10%の含量低下がみられた。この結果から、アミノエチルスルホン酸がグルクロノラクトンに何らかの影響を及ぼしていると考えられる。

3. グルクロノラクトンとアミノエチルスルホン酸及びアミノ酸類の反応性

グルクロン酸ナトリウムとアミノエチルスルホン酸を水にとかし、pH 3に調整後、40°で保存したところ、2週間で約20%も含量が低下した。グルクロノラクトンを調整したときは含量低下がみられなかったことから、グルクロノラクトンがグルクロン酸に変換した後、反応が起こることが示唆された。また、3種類のアミノ酸についても同様に、含量低下が生じた。(Table 3)

アミノ酸類	グルクロン酸含量(%)		
	Initial	2 W	4 W
①アミノエチルスルホン酸	100.7	83.8(83)	77.9(77)
②L-アスパラギン酸ナトリウム	99.9	92.2(92)	88.3(88)
③グリシン	99.9	83.8(84)	—
④L-グルタミン酸ナトリウム	100.7	88.0(87)	83.5(83)

() 残存率(%)

Table 3 反応性試験結果

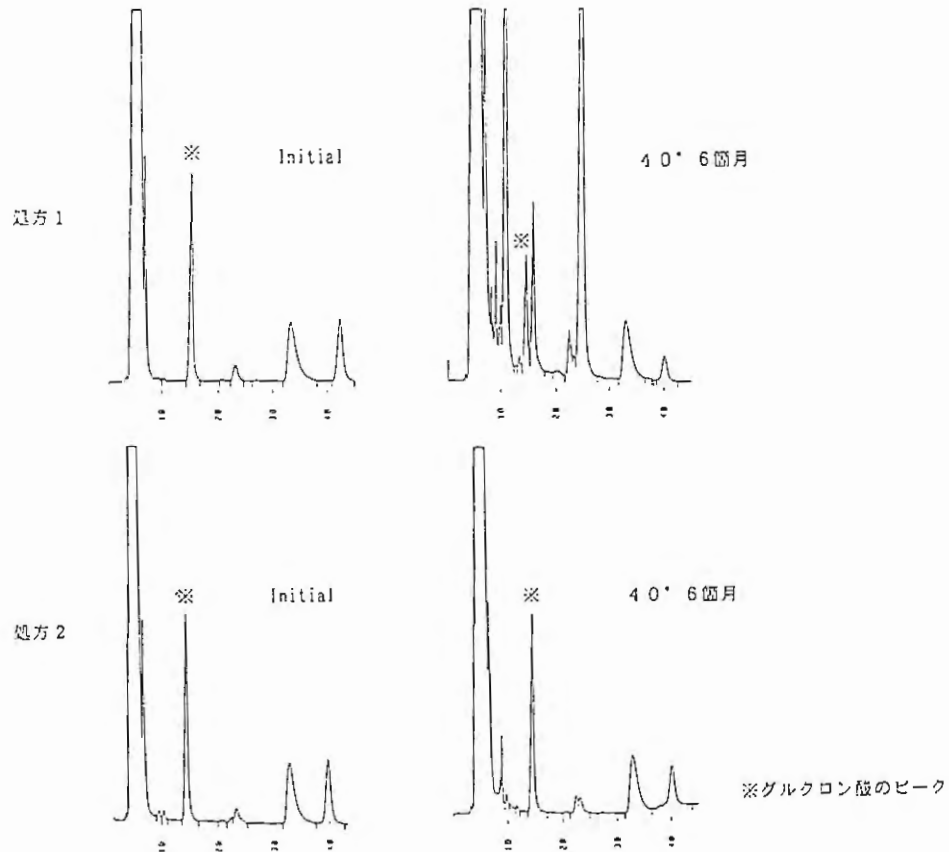


Fig.5 Initial, 40° 6箇月後HPLCクロマトグラム

4. 市販製剤のグルクロノラクトンの定量

Table 4 に示すように、モデル処方で得た結果と同様に、アミノエチルスルホン酸が同時に配合されたドリンク剤はグルクロノラクトン含量が低く、特に製剤Cについては、アミノ酸類も配合されているため78.1%と低い定量値が得られた。

	主な配合成分	定量値(%)
A	グルクロノラクトン ビタミンB ₂ の塩基、ビタミンB ₂ リン酸エステル、ビタミンB ₂ ニコチン酸アミド、イノシトール、dl-塩化カルニチン、無水カフェイン クコシ酸エキス、オウゴンエキス、オウゴンエキス	102.8
B	グルクロノラクトン 塩酸チアミン、リン酸リボフラビンナトリウム、塩酸ピリドキシリン ニコチン酸アミド、イノシトール、塩化カルニチン、無水カフェイン ニンジン油エキス、ガラナ油エキス	95.9
C	グルクロノラクトン、アミノエチルスルホン酸 塩酸チアミン、リン酸リボフラビン、塩酸ピリドキシリン、塩酸リジン L-塩酸アルギニン、D-ソルトチニールアルコール、ニコチン酸アミド カフェイン、ローヤルゼリー、ササフィルチンキ L-アスパラギン酸マグネシウム、L-アスパラギン酸カリウム	78.1
D	グルクロノラクトン、アミノエチルスルホン酸 塩酸チアミン、リボフラビン、ニコチン酸アミド、無水カフェイン	95.7

Table 4 市販製剤中のグルクロノラクトンの定量

ま と め

1. グルクロノラクトン配合ドリンク剤のモデル処方と2種類作製し、HPLC法により、安定性試験を実施したところ、アミノエチルスルホン酸同時配合処方については経時的含量低下が起り、品質保証上問題があることがわかった。
2. グルクロノラクトンの経時変化は、グルクロン酸への変化の後、アミノエチルスルホン酸と反応することにより発生していると考えられる。
3. グルクロン酸はアミノ酸とも容易に反応を起こすことから、ドリンク剤においてグルクロノラクトンとアミノ酸の同時配合は要注意である。

文 献

- 1) 高崎慎一ら, B群ビタミンと共存するパントテン酸カルシウムの分解について, 家庭薬研究, 5, 54, (1986)
- 2) 有沢みさをら, 高速液体クロマトグラフ法によるドリンク剤中のグルクロノラクトンの定量, 富山県薬事研究所報 (平成2年度) p84
- 3) 古田益夫ら, HPLC法によるアミノエチルスルホン酸 (タウリン) の定量について, 滋賀県薬事指導所報 (平成3年3月), 第7集, p40~47

生薬エキスを配合したパップ剤の鎮痛消炎作用について

Analgesy and Anti-inflammatory Effects of Poultice
Containing Crude Drugs Extracts

○後藤 茂 笹倉 貢 住吉 晴美
Shigeru GOTO Mitsugu SASAKURA Harumi SUMIYOSHI

リードケミカル株式会社 研究開発部
Research and Development Department, Lead Chemical Co., Ltd.

緒 言

薬用植物は古くから身近な治療薬として内用、外用を問わず用いられ、現在でも広く使用されている。現在市販されている鎮痛消炎を目的としたパップ剤の中にも、サリチル酸誘導体やメントール、カンフルといった精油成分の他に、鎮痛作用または消炎作用を有する生薬成分を配合しているものがある。

今回、我々は鎮痛作用または消炎作用を有する生薬をパップ剤に配合した場合の生薬の有効性について、鎮痛作用及び消炎作用としてラット足蹠カラゲニン浮腫抑制作用を、各種生薬について比較検討を行ったので報告する。

実 験 の 部

1. 実験材料

1) 使用動物

生後5～6週齢のWistar系雄性ラットを使用した。ラットはあらかじめ温度 $22 \pm 1^\circ$ 、湿度50～60%の飼育室で一週間飼育し、飼料としてラット用固形飼料（船橋農場製、MM-3）を用い、飼料、水ともに自由に摂取させた。

2) 使用薬物

カラゲニン（PicninA 逗子化学）

dry yeast（オリエンタル酵母製）

3) 被験薬剤

・アクリル系水性基剤中に生薬成分を加えて均一に混練し、不織布上に 140cm^2 当たり14gの割合で均一に展延した製剤を用いた。

(1) 鎮痛作用

実験1として、基剤（生薬成分を含まない製剤）、ベラドンナエキスを0.2%配合した製剤、カンゾウ末を0.2%配合した製剤、ボウイエキスを0.2%配合した製剤を用いて実験を行った。既報¹⁾では、ベラドンナエキスの製剤中濃度が0.2%以上で鎮痛作用が認められ、その作用は0.2%でほぼプラトーに達したと報告されている。また、実験2として、セイヨウトチノミエキスを0.5%配合した製剤、サンシシ末を1%配合した製剤、オウバク末を2%配合した製剤を用いて実験を行った。

(2) 消炎作用

実験3として、基剤（生薬成分を含まない製剤）、ベラドンナエキスを0.2%配合した製剤、カンゾウ末を0.2%配合した製剤、ボウイエキスを0.2%配合した製剤を用いて実験を行った。また、実験4として、セイヨウトチノミエキスを0.5%配合した製剤、サンシシ末を1%配合した製剤、オウバク末を2%配合した製剤を用いて実験を行った。既報²⁾において、セイヨウトチノミエキスの製剤中濃度が0.5%以上で有意な抗炎症効果が得られ、かつその効果は0.5%でほぼプラトーに達したと報告されている。

2. 実験方法

1) 鎮痛作用

Randall-Selitto法を一部変更して実施した。

ラット（体重140～180g）は1群8～10匹使用し、実験前日、左側後肢足蹠の被毛を電気カミソリで剪毛した。実験当日、足蹠皮下に20% yeast水溶液0.1mlをwalking padの一つを通して注入し、起炎2時間後同部位に3.5cm×4cmに裁断した被験薬剤を貼付した。被験薬剤適用1、2、3及び4時間後に各炎症足の圧痛閾値をAnalgesy Meter（Ugo-Basile社製）で測定し、各群毎の全測定値の和を当該群の鎮痛閾値とし、次式により鎮痛係数を求めた。

$$\text{鎮痛係数} = \frac{\text{各被験薬剤群の鎮痛閾値}}{\text{control群の鎮痛閾値}}$$

なお、被験薬剤は測定時取り除き、測定後直ちに新たな同種薬剤を貼付した。実験中ラットは首に保護紙を適用し絶食絶水とし、実験のデータに関する統計処理はすべてStudentのt検定で行った。

2) ラット足蹠カラゲニン浮腫抑制作用

ラット（体重160～180g）は1群7～10匹使用し、実験前日、左側後肢足蹠の被毛を電気カミソリで剪毛した。実験当日、足蹠皮下に1%カラゲニン溶液0.05mlをwalking padの一つを通して注入し、直ちに同部位に3.5cm×4cmに裁断した被験薬剤を貼付した。貼付3時間後に炎症足蹠容積を測定し、起炎前容積に対する増加率から浮腫率を求め、次式により浮腫抑制率を算出した。

$$\text{浮腫抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{各被験薬剤群の浮腫率}(\%)}{\text{control群の浮腫率}(\%)}\right) \times 100$$

実験中ラットはすべてボールマンゲージ内に拘束して絶食絶水とし、実験のデータに関する統計処理はstudentのt検定で行った。

結 果

1. 鎮痛作用

実験1の各被験薬剤の鎮痛作用の結果をTable 1に示す。実験1では、ベラドンナエキス配合製剤でcontrolに対して有意な差が認められた。

実験2の各被験薬剤の鎮痛作用の結果をTable 2に示す。実験2では、セイヨウトチノミエキス、サンシシ末、オウバク末のいずれの製剤でも鎮痛作用はcontrolに対して有意な差は認められなかった。

n = 8

群	圧痛閾値 ($\times 10$ g) \pm S.E.	鎮痛係数
control	18.8 \pm 1.3	—
基剤	19.1 \pm 1.1	1.02
ペラドンナエキス0.2%	24.4 \pm 1.2*	1.30
カンゾウ末0.2%	19.4 \pm 0.7	1.03
ボウイエキス0.2%	21.3 \pm 0.4	1.13

* P < 0.01 (controlに対して)

Table 1 鎮痛作用 (実験1)

n = 10

群	圧痛閾値 ($\times 10$ g) \pm S.E.	鎮痛係数
control	13.2 \pm 0.9	—
トチノミエキス0.5%	15.3 \pm 0.7	1.16
サンシシ末1%	12.2 \pm 0.7	0.92
オウバク末2%	13.1 \pm 0.7	0.99

Table 2 鎮痛作用 (実験2)

2. 消炎作用

実験3の各被験薬剤の消炎作用の結果をTable 3に示す。実験3では、ペラドンナエキス、カンゾウ末、ボウイエキスのいずれの製剤でもcontrolに対して有意な差は認められなかった。

実験4の各被験薬剤の消炎作用の結果をTable 4に示す。実験4では、セイヨウトチノミエキス配合製剤及びオウバク末配合製剤においてcontrolに対して有意な差が認められた。

n = 7

群	浮腫率 (%) \pm S.E.	浮腫抑制率 (%)
control	68.7 \pm 7.5	—
基剤	66.6 \pm 3.1	3.1
ペラドンナエキス0.2%	67.8 \pm 6.6	1.3
カンゾウ末0.2%	58.2 \pm 2.8	15.3
ボウイエキス0.2%	66.6 \pm 6.5	3.1

Table 3 消炎作用 (実験3)

n = 10

群	浮腫率 (%) \pm S.E.	浮腫抑制率 (%)
control	76.6 \pm 2.3	—
トチノミエキス0.5%	60.2 \pm 4.6*	21.4
サンシシ末1%	68.0 \pm 3.9	11.2
オウバク末2%	63.8 \pm 3.5*	16.7

* P < 0.01 (controlに対して)

Table 4 消炎作用 (実験4)

ま と め

今回の実験では、鎮痛作用では、今回配合した濃度においてベラドンナに認められた。ベラドンナエキス中には、アトロピン、スコポラミンなどのトロパンアルカロイドが含まれていることが知られているが、スコポラミンの含有量は極めて少なく、ベラドンナエキスの主成分はアトロピンであると考えられる。このアトロピンには、鎮痛作用が認められている。³⁾

また、消炎作用では、今回配合した濃度においてセイヨウトチノミとオウバクに消炎作用が認められた。

今後の課題として、今回の実験をもとに、様々な生薬について、配合量と鎮痛作用、消炎作用の関係について、また生薬成分の経費吸収と鎮痛作用、消炎作用の関係を更に詳しく検討していきたいと考えている。

文 献

- 1) 元山貢, 杉林毅宏: ベラドンナエキスの皮膚適用による鎮痛効果, 家庭薬研究, No. 4, 29-33 (1985)
- 2) 元山貢, 野村明, 杉林毅宏, 森政雄: セイヨウトチノミエキス配合パップ剤の抗炎症効果, 家庭薬研究, No. 3, 59-62 (1984)
- 3) スタインエッガー, ヘンゼル (糸川秀治, 太田明廣, 西川嘉廣, 共訳): 生薬学(下), 化学・薬理学へのアプローチ, 廣川書店, 東京, 1983, 279-285

リン酸クリンダマイシン外用製剤の検討

Examination of Clindamycin phosphate Transdermal Preparations

佐 貫 大 三 郎 ○ 東 出 充 志
Daisaburo SANUKI Atsushi HIGASHIDE

テイカ製薬株式会社 研究部
Teika Pharmaceutical Co.,Ltd. Reserch Division

緒 言

尋常性座瘡いわゆる「にきび」は、かつての”青春のシンボル”ではなくなり、現在では小中学生及び高校生にとって深刻な悩みとなる場合がある。

尋常性座瘡の発生メカニズムとしては、右図に示すように^{1) 2)}、思春期に多く分泌される男性ホルモン アンドロゲンの刺激により皮脂分泌が盛んとなることから端を発し、皮脂の排出亢進に伴い、その皮脂中に含まれているトリグリセライドは常在菌の *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) のリパーゼ等により分解され、遊離脂肪酸を生成する。この遊離脂肪酸が起炎作用となり、角化の亢進、毛漏斗の閉塞を引き起こし面皰を形成する。また、面皰内で嫌気性菌である *P. acnes* から産生される各種酵素により角質、面皰壁を破壊し、産生される化学遊走因子により白血球の遊走³⁾を生じ、炎症を惹起するものと考えられている。

この座瘡病巣部に存在する *P. acnes* に対し、リン酸クリンダマイシン⁴⁾ (以下 CLD-P と略す) が有効に作用するとされ、現在院内処方としてダラシンローション^{5) 6)} が使用されている。しかしながらこの院内処方は、刺激性、におい及び使用期限等の点で問題があり、また医療用市販品は米国では使用されているものの、日本国内では使用されていない。

そこで、本研究は安定性、経皮吸収性及び使用感の面から製剤の検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

実 験 の 部

1. 実験材料

CLD-P 外用製剤として、以下①、②に示す CLD-P 1.0% を含むローション及びゲルを用い検討を行った。

比較対象として院内処方 (ダラシンローション)、米国市販品ローション及びゲルを使用した。

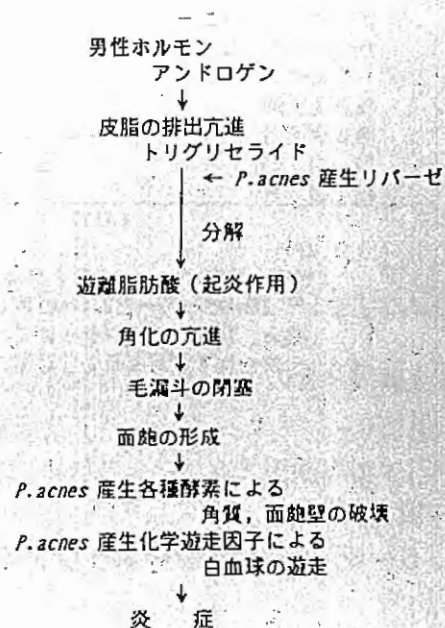


図1 尋常性座瘡の病態メカニズム

①試作ローション	
CLD-P	1.0 g
グリセリン	4.0 g
プロピレングリコール	16.0 g
緩衝剤	0.1 g
界面活性剤	0.2 g
吸収促進剤	0.3 g
防腐剤	適量
精製水	適量
	100.0 ml
pH	5.2
比重	1.0
粘度	1.0 cst

②試作ゲル	
CLD-P	1.0 g
プロピレングリコール	20.0 g
カルボキシビニルポリマー	1.0 g
トリエタノールアミン	0.3 g
界面活性剤	0.2 g
吸収促進剤	0.3 g
防腐剤	適量
精製水	適量
	100.0 g
pH	5.3
ゼリー強度 ^{*)}	10.2 g/cm ²

注：^{*)} 20mlビーカーに2.5cmの高さに流し込み、10mmφアダプターにて、レオメーターにて測定する。(25°C)

③院内処方(ダラシンローション)	
CLD-P	1.0 g
プロピレングリコール	10.0 ml
イソプロピルアルコール	50.0 ml
精製水	適量
	100.0 ml
pH	6.0

④米国市販品ローション	
CLD-P	1.0% 含有
pH	5.7

⑤米国市販品ゲル	
CLD-P	1.0% 含有
pH	5.6

2. 使用動物

5~6週令雄性wistar系ラット(体重約150g)を用い、1週間飼育した後、試験に用いた。

3. 実験方法

1) 安定性試験

それぞれの製剤3ロットについて、40°RH75%の条件下に保存し、性状観察及びCLD-Pの含有量を経時的に測定した。

CLD-Pは、高速液体クロマトグラフ(HPLC)法を用い、ローション剤及びゲル剤を移動相に溶解させ、定量を行った。

HPLC条件は以下の通りである。

HPLC条件

カラム：オクタデシル化シリカゲル 4.6φ×250mm

移動相：水/アセトニトリル/リン酸(85/15/0.2)

カラム温度：40°付近の一定温度

流量：CLD-Pの保持時間が約22分になるように調整

検出器：UV 215nm

内標準物質：サリチル酸ナトリウム水溶液10.0μg/ml

2) 経皮吸収試験

CLD-P経皮吸収試験として、座瘡病巣部が毛漏斗部にあることから皮膚中薬物濃度を測定した。

皮膚中薬物濃度の測定は以下の通り行った。

測定方法：ラット腹部を除毛した後、ウレタン麻醉下（1000 mg/kg）で背位固定した後、腹部中央の20 cm²の面積に試験製剤を5 mg/cm²の割合で塗布した。塗布6時間後、水を含ませた脱脂綿、次に50%メタノールを含ませた脱脂綿で十分清拭した後、腹部の皮膚を摘出し真皮側に付着している脂肪を取り除き、直径2 cm²のポンチにて皮膚を打抜き、重量を測定した。この採取した皮膚を細切りにし、2 mlの精製水を加えホモジナイズし、3000rpmで10分間遠心分離した。上清を0.45 μmメンブランフィルターにてろ過し、ろ液に等量の内標準溶液を加え、攪拌、遠心後、上清をとりHPLC法により皮膚中のCLD-Pの濃度を測定した。

HPLC条件は次の通りである。

HPLC条件

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 4.6 φ × 250 mm

移動相：水/アセトニトリル/0.1%リン酸水溶液（17/83）

カラム温度：40° 付近の一定温度

流量：CLD-Pの保持時間が約20分になるように調整

検出器：UV 205 nm

内標準物質：パラオキシ安息香酸エチル メタノール溶液 1 μg/ml

3) 使用感テスト

試験の主旨を十分説明した後、本テストに承諾を得た成人男女ボランティア10名を対象とした。使用感テストは盲検法で行い、顔部を中心に塗布した。

試験項目は、化粧品での一般的な評価項目⁷⁾を利用して以下の基準を定め5段階評価で行った。検定はU検定を用いた。

評価項目	刺激性	なし	5 > 3 > 1	あり
	しっとり感	しっとり	5 > 3 > 1	ばさつく
	伸び	塗り易い	5 > 3 > 1	塗りにくい
	ぬめり感	さっぱり	5 > 3 > 1	ぬるぬるする
	べたつき感	べたつかない	5 > 3 > 1	べたつく
	におい	なし	5 > 3 > 1	あり

結果の部

1. 安定性試験

表1に試作ローション、院内処方ダラシンローション、米国市販品ローション及び試作ゲル、米国市販品ゲルのCLD-P含有量の安定性結果を示した。

試作ローション及び試作ゲルは含量の低下がほとんどみられなかった。また、ゲルはローションより安定な傾向がみられた。

ダラシンローション、米国市販品ローション及びゲルは、含量の低下傾向が認められた。

	40 °C イニシアル比 (%)			
	0.5M	1.0M	3.0M	6.0M
試作ローション	99.9	99.7	99.2	97.5
ダラシンローション	98.3	88.5	-	-
市販品ローション	99.0	98.4	93.4	93.2
試作ゲル	99.8	99.7	99.2	98.6
市販品ゲル	99.8	98.9	86.9	86.8

表1 リン酸クリンダマイシンの安定性

2. 経皮吸収試験

水及びメタノールを含有した脱脂綿で清拭したとき皮膚表面に薬剤が残留していないことを確認

した後、ラットの塗布6時間後の皮膚中薬物濃度を測定した。その結果を表2に示した。

試作ローション、試作ゲル共に $2.7 \mu\text{g/g}$ 以上の値を示し、米国市販品ゲルよりも高い値を示した。

	皮膚中薬物濃度 ($\mu\text{g/g}$)	
	平均	S. E.
試作ローション	2.71	0.25
市販品ローション	2.71	0.30
試作ゲル	3.04	0.41
市販品ゲル	1.17	0.38

(S.E.は標準誤差)

試作ローション, ゲル : n=6
市販品ローション, ゲル : n=3

表2 リン酸クリンダマイシンのラットでの皮膚中濃度

3. 使用感テスト

1) ローション剤

ローション剤での使用感テストの結果を表3, 図2に示した。

表3の検定は、試作ローションとの比較結果を示し、*は5%危険率より有意差を認めたことを示す。

試作ローションはダラシンローションと比べ、刺激性、しっとり感及びにおいにおいて有意差がみられ、また米国市販品ローションと比べ、ぬめり感及びべたつき感で優れていることがわかった。

		刺激性	しっとり感	伸び	ぬめり感	べたつき感	におい
試作ローション	平均	3.9	3.8	3.9	4.1	3.9	4.4
	S.E.	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.4
ダラシンローション	平均	3.7	3.4	3.8	4.1	4.2	1.4
	S.E.	0.5	0.3	0.4	0.3	0.3	0.4
U検定		*	*				*
市販品ローション	平均	4.9	3.7	4.1	2.5	2.6	4.0
	S.E.	0.1	0.3	0.3	0.5	0.5	0.4
U検定					*	*	

U検定: 試作ローションとのMann-Whitney U検定
(*: 5% Significant)
(S.E.は標準誤差)

表3 ローション剤の使用感テスト結果

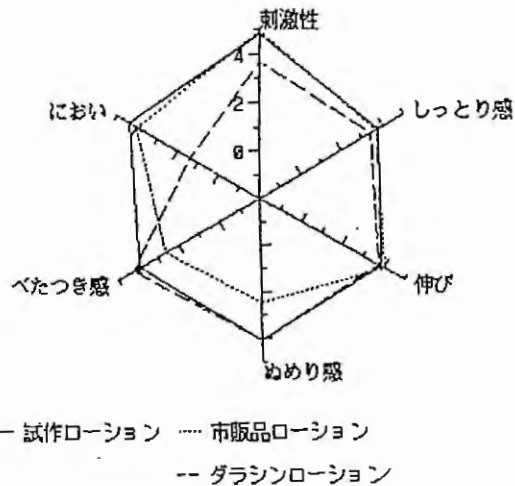


図2 ローション剤の使用感テスト結果

		刺激性	しっとり感	伸び	ぬめり感	べたつき感	におい
試作ゲル	平均	5.0	4.2	3.8	4.3	3.6	3.4
	S.E.	1.0	0.3	0.3	0.4	0.3	0.5
市販品ゲル	平均	4.9	3.9	4.6	4.0	4.0	4.0
	S.E.	0.1	0.4	0.2	0.2	0.1	0.5
U検定							

U検定: 試作ゲルとのMann-Whitney U検定
(*: 5% Significant)
(S.E.は標準誤差)

表4 ゲル剤の使用感テスト結果

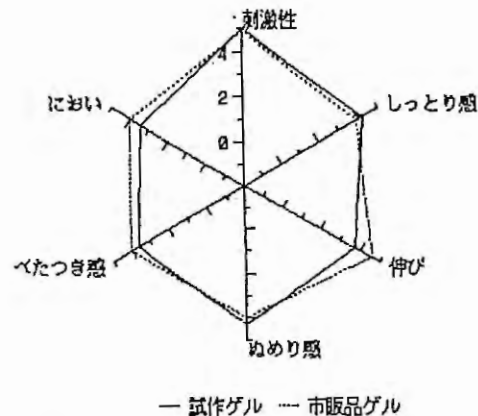


図3 ゲル剤の使用感テスト結果

2) ゲル剤

ゲル剤での使用感テストの結果を表4, 図3に示した。

試作ゲルは, 米国市販品ゲルと比べ, 各評価項目において同等であった。

考 察

試作ローション及びゲルはアルコールを用いず, 水溶性成分を多く用い, また緩衝剤を用いてpHを5.2に調整することによって経時的に安定な製剤が得られ, 刺激性, しっとり感, 伸び, めめり感, べたつき感及びにおい等の使用感の改善も認められた。

更に経皮吸収性については, 試作ローション及びゲルのラットの6時間後の皮膚中薬物濃度は2.7 $\mu\text{g/g}$ 以上であり, クリンドマイシンの最小発育阻止濃度(MIC)が, 0.1 $\mu\text{g/ml}$ であること⁹⁾からラットの皮膚の比重を考慮しても, ラット皮膚中の薬物濃度で十分効果があるものと考えられ, ヒトに対しても効果が期待できるものとする。

*P. acnes*に対する抗菌力試験法として, ラットの耳介に*P. acnes*を皮内注射し, 肥厚度の変化及びその組織像を検討する方法⁹⁾やラットの背部に空気嚢を作成して*P. acnes*を嫌氣的に注入し, 嚢内浸出液の菌数を測定する方法¹⁰⁾があり, 今後検討していきたい。

ま と め

リン酸クリンドマイシン外用製剤の検討の結果, 院内処方と比べ優れた安定性を示し, 皮膚中への吸収性が高く, 刺激性が少ない等の使用感が良好な製剤が得られた。

文 献

- 1) 佐藤良夫, 標準皮膚科学, 第2版, 旗野倫編, 医学書院, 1988, 228-229
- 2) 早川律子, にきびの治療法, 医学の門, 26, 118-112 (1986)
- 3) クリンドマイシン・ローション研究班, 1%クリンドマイシン・ローションの尋常性座瘡にたいする治療効果, 西日皮膚, 43, 287-290 (1981)
- 4) William Resh, Topically Antibiotics in Acne Vulgaris, Arch Dermatol, 112, 182-185 (1976)
- 5) 病院薬局製剤, 第3版, 日本病院薬剤師会編, 薬事日報, 1990, 241-242
- 6) 山崎雄一郎, 最近の皮膚外用剤, 第1版, 中山秀夫編, 南山堂, 1991, 55
- 7) 経皮適用製剤開発マニュアル, 第1版, 松本光雄監修, 清至書院, 1985, 266-271
- 8) 赤松浩彦, 座瘡病巣部細菌による好中球遊走因子産生に対するClindamycinの最小発育阻止濃度以下での影響, 炎症, 12, 261-264 (1992)
- 9) Shuichi Higaki, Intradermal Injection of Propionibacterium acnes, Acta Dermato (Kyoto), 86, 4, 459-463 (1991)
- 10) 医薬品の開発9 医薬品の探索III, 第1版, 齊藤洋・野村靖幸編, 廣川書店, 1990, 49