

サンショウ配合外用剤の薬理作用について

Pharmacological Effect of Poultice Containing
Zanthoxylum piperitum Extract

○小池 淳平 塩田 聡 竹内 秀達

Junpei KOIKE Satoshi SHIOTA Hidetatsu TAKEUCHI

折橋 正浩 石黒 幸男

Masahiro ORIHASHI Yukio ISHIKURO

テイカ製薬株式会社 研究部

Division of Research, Teika Pharmaceutical Co., Ltd.

緒 言

現在、抗炎症・鎮痛等の治療にインドメタシンやケトプロフェンなどの非ステロイド系抗炎症薬を主薬とした第二世代貼付剤が高い評価を得ている一方で、抗炎症・鎮痛作用を有する生薬成分を配合することにより有用性を高めている製品も多い。

今回、我々は、古くから芳香性辛味整腸薬の原料として用いられてきた山椒に、局所知覚麻痺作用があることに着目し、山椒の貼付剤への配合を目的として鎮痛作用の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

ウシガエル (体重70~100g, 実験1)。

Wistar系雄性ラット (5~7週齢, 実験2,3)。

ラットは予め温度 $23 \pm 1^\circ$, 湿度40~60%の飼育室で1週間予備飼育した後、実験に供した。

予備飼育期間中は固形試料 (MM-3 船橋農場製) と水道水を自由に摂取させた。

2) 使用薬物

Brewer's yeast

3) 被験薬剤

(1) サンショウ軟エキス (実験1)

3%サンショウ軟エキス/20%ポリエチレングリコール (200) 溶液を用いた。

(2) サンショウ軟エキス配合貼付剤 (実験2,3)

基剤、及び基剤にサンショウ軟エキスを0.3, 1, 10, 20%配合した製剤を用いた。

2. 実 験 方 法

1) 実験1 (表面知覚麻痺作用¹⁾)

ウシガエル10匹を用いた。カエルを断頭し、反射ガエルとし、これを固定器に懸垂し、検体がショック状態から回復した後、0.05N塩酸中に反射ガエルの踵関節以下を浸漬し、反射のあることを確認した。次に、反射ガエルの左右後肢を、被験薬剤に3分間浸漬した後、水で洗浄し、経時的に0.05N塩酸で刺激し反射時間を測定した。尚、0.05N塩酸で1分刺激しても反射のみられない場合は、0.1N塩酸で更に1分、それでもみられない場合は、0.2Nで更に1分刺激した。合計3分間の刺激でも反射のみられないものを反射消失とした。

2) 実験2 (正常足における疼痛抑制効果)

Randall - Selitto 法²⁾ を一部変更して実施した。

実験の前日に、ラット右後肢の毛を除毛クリームにより除毛した。実験当日、ラット右後肢の疼痛閾値を analgesy meter を用いて、もがき様反応を指標として測定し、正常疼痛閾値とした。次に、3.5 × 4cm に切断した被験薬剤を貼付し、テープで固定した後、被験薬剤をかじらないようにラットの上半身にフードをかぶせた。被験薬剤は1時間毎に新たな同一被験薬剤を貼付し、疼痛閾値を2時間おきに2回測定した。

$$\text{疼痛閾値比} = \frac{\text{各時間における疼痛閾値}}{\text{正常疼痛閾値}}$$

実験データに関する統計処理は Dunnett の多重比較検定で行い、Error bar は標準誤差を示した。

3) 実験3 (炎症足における疼痛抑制効果)

Randall - Selitto 法を一部変更して実施した。

実験の前日に、ラット右後肢の毛を除毛クリームにより除毛した。実験当日、ラット右後肢の疼痛閾値を analgesy meter を用いて、もがき様反応を指標として測定し、正常疼痛閾値とした。次に、起炎剤として20%ビール酵母懸濁液0.1mlをラット右後肢の足蹠皮下に注射した。起炎剤注射2時間後に、3.5 × 4cm に切断した被験薬剤を貼付し、テープで固定した後、被験薬剤をかじらないようにラットの上半身にフードをかぶせた。被験薬剤の貼付後1時間毎に疼痛閾値を4回測定した。疼痛閾値の測定を行った後は、新たな同一被験薬剤を貼付した。

$$\text{疼痛閾値比} = \frac{\text{各時間における疼痛閾値}}{\text{正常疼痛閾値}}$$

実験データに関する統計処理は Dunnett の多重比較検定で行い、Error bar は標準誤差を示した。

結 果

1. 表面知覚麻痺作用

実験1の被験薬剤の表面知覚麻痺作用の結果を Table 1 に示した。実験1では、3%サンショウ軟エキス浸漬足に Control 足 (20%ポリエチレングリコール) に対して明らかな表面知覚麻痺作用が認められた。

Table 1

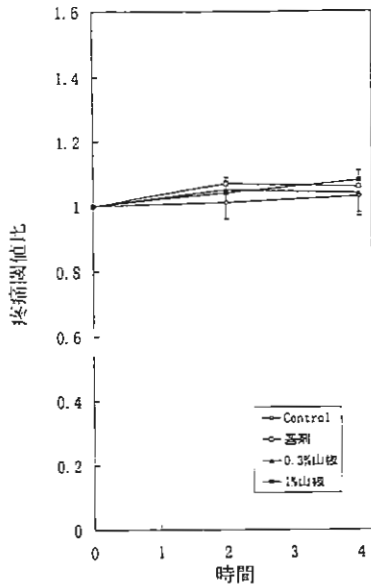
観察時間	コントロール足										サンショウ軟エキス浸漬足									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
直後	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-
10分後	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	2	-	1	-	-	-	-
20分後	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1	-	-	-	2	-	2	-	-	-	-
30分後	3	3	2	2	1	2	1	1	2	1	-	-	-	2	-	2	-	-	-	-

反応時間 (秒)
- : 反射消失

反射ガエルに対する表面麻酔効果

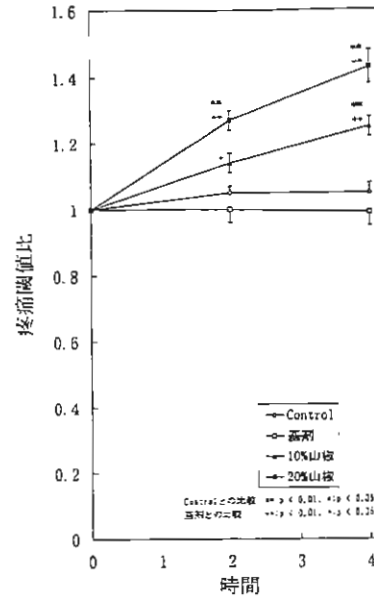
2. 正常足における疼痛抑制効果

実験2の被験薬剤の疼痛抑制効果の結果をFig.1,2に示した。Fig.1には、Control（無処置）、基剤、0.3%サンショウ軟エキス配合貼付剤、1%サンショウ軟エキス配合貼付剤での結果を示したが、これら4群間で有意な差は認められなかった。Fig.2には、Control（無処置）、基剤、10%サンショウ軟エキス配合貼付剤、20%サンショウ軟エキス配合貼付剤での結果を示した。10%、20%サンショウ軟エキス配合貼付剤貼付群でControl群（無処置）、基剤貼付群に対して有意な疼痛抑制効果が認められた。



ラット正常足における疼痛抑制効果1

Fig.1

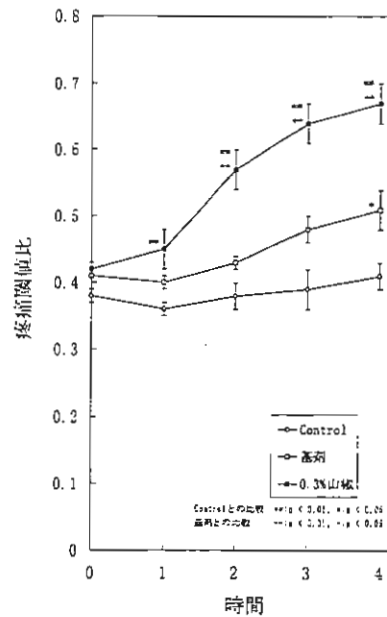


ラット正常足における疼痛抑制効果2

Fig.2

3. 炎症足における疼痛抑制効果

実験3の被験薬剤の疼痛抑制効果の結果をFig.3に示した。実験3では、0.3%サンショウ軟エキス配合貼付剤貼付群でControl（無処置）群、基剤貼付群に比べて有意な疼痛抑制効果が認められた。



ラット炎症足における疼痛抑制効果

Fig.3

考 察

実験1の結果から、今回使用したサンショウ軟エキスに局所麻酔作用のあることが確認された。また、実験2において、サンショウ軟エキス配合貼付剤を貼付することにより、正常足において疼痛閾値が増加したことから、貼付剤においても局所麻酔効果が発揮されていると考えられた。また、この貼付剤は、ビール酵母で炎症を惹起させた足においても有意にその疼痛閾値を増加させた(実験3)。サンショウ軟エキス配合貼付剤が、基剤貼付群に比べ有意な疼痛抑制効果が認められたことにより、サンショウによる局所麻酔作用により、疼痛閾値が増加したのと考えられた。尚、正常足において0.3,1%サンショウ軟エキス配合貼付剤に疼痛抑制効果が認められなかったのは炎症を惹起させた足に比べて薬物の吸収が少ないためと思われる。これらの結果は、このサンショウ軟エキス配合貼付剤が炎症時の疼痛を緩和するのに有効であることを示唆している。更に、疼痛ばかりでなく、浮腫、発赤、熱感を抑制するような生薬あるいは薬剤との併用により、さらなる抗炎症効果が期待できると考えられた。

文 献

- 1) 原学郎ら：塗布表面麻酔薬ザロカインパスタに関する基礎実験, 歯科学報, 58 (9), 5 - 8, (1958)
- 2) Randall, L.O. and Selitto, j.j. : Archs int. Pharmacodyn. 111, 409 - 419, (1957)

和漢薬配合製剤の理化学的品質評価

—動物胆中の抱合胆汁酸について—

Chemical Evaluation of Remedies Containing Oriental Drugs
— Conjugated Bile acids in Animal Biles —

富山県薬事研究会分析部会

Division of Analytical Chemistry, Toyama Pharmaceutical Reserch Association

長谷香織	共栄製薬(株)
Kaori HASE	Kyoei Pharmaceutical Co.,LTD
館岡裕二	新新薬品工業(株)
Yuji TATEOKA	Shinshin Chemical Industries Co.,LTD
○石田貴日	第一薬品(株)
Takahi ISHIDA	Daiichi Medicine Co.,LTD
吉崎真由美	第一薬品工業(株)
Mayumi YOSHIZAKI	Daiichi Pharmaceutical Co.,LTD
中野秀子	大同製薬(株)
Hideko NAKANO	Daido Pharmaceutical Co.,LTD
大間知幸子	松井薬品(株)
Yukiko OMACHI	Matsui Pharmaceutical Co.,LTD
青木真知子	明治製薬(株)
Machiko AOKI	Meiji Pharmaceutical Co.,LTD
浅水敬子	明生薬品工業(株)
Keiko ASAMIZU	Meisei Pharmaceutical Co.,LTD

緒言

富山県の代表的な和漢薬配合製剤である六神丸や熊胆円等には熊胆、牛胆等の動物胆が多く配合されているが、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言えない。最近、動物胆中の抱合胆汁酸を液体クロマトグラフ法により定量する方法¹⁾が報告されているが、基準となる標準品の規格設定はなされていない。

我々は、前報²⁾で標準品の規格設定及び試験方法の検討を行い、市販標準品の品質評価を行ったが今回はそこで得られた純度の高い標準品を用いて、市販動物胆の品質評価を行い、さらに和漢薬配合製剤中の抱合胆汁酸の品質評価法を検討し、若干の知見を得たので報告する。

実験の部

1. 熊胆及び牛胆中の抱合胆汁酸の定量

横田らの方法¹⁾に準じて行った。

熊胆又は牛胆約0.2gを精密に量り、メタノール30mℓを加え、還流冷却器を付けて水浴上で1時間加熱し、冷後ろ過し、さらにメタノールを加えて正確に50mℓとする。この液2mℓを正確に量り、溶媒を減圧留去し、残留物に水2mℓを正確に加え溶かす。この液1mℓを正確に量り、あらかじめ調製したセップパックC₁₈に毎分2mℓ以

下で負荷する。これを水3mℓで洗浄した後、メタノール4mℓで溶出し、さらにメタノールを加えて正確に5mℓとし、試料溶液とした。(Chart1)

別にタウロウルソデオキシコール酸(以下TUDC)ナトリウム約45mg、タウロケノデオキシコール酸(以下TCDC)ナトリウム約45mg及びタウロコール酸(以下TC)ナトリウム約15mgを精密に量り、メタノールを加えて溶かして正確に50mℓとする。この液10mℓを正確に量り、メタノールを加えて正確に50mℓとし、熊胆標準溶液とした。また、TC-Na約45mg、グリココール酸(以下GC)約45mg、タウロデオキシコール酸(以下TDC)ナトリウム約15mg及びグリコデオキシコール酸(以下GDC)ナトリウム約15mgを精密に量り、メタノールを加えて正確に50mℓとする。この液10mℓを正確に量り、メタノールを加えて正確に50mℓとし、牛胆標準溶液とした。なお、各標準品は105°で4時間乾燥したものをを用いた。

2. ゴオウ中の抱合胆汁酸の定量

横田らの方法³⁾に準じて行った。

ゴオウ約0.25gを精密に量り、メタノール30mℓを加え、還流冷却器を付けて水浴上で1時間加熱し、冷後ろ過し、さらにメタノールを加えて正確に50mℓとする。この液10mℓを正確に量り、溶媒を減圧留去し、残留物に0.01N水酸化ナトリウム溶液8mℓを正確に加え溶かす。この液3mℓを正確に量り、上に陽イオン交換樹脂を充填したカートリッジカラム(TOYOPAK IC-SP M)を連結した陰イオン交換樹脂を充填したカートリッジカラム(TOYOPAK DEAE M)に毎分2mℓ以下で負荷する。これを水10mℓ及びメタノール5mℓで順次洗浄した後、TOYOPAK IC-SP Mをはずし、TOYOPAK DEAE Mを0.2Mリン酸二水素カリウム・アセトニトリル混液(1:1)4mℓで溶出し、さらに0.2Mリン酸二水素カリウム・アセトニトリル混液(1:1)を加えて正確に5mℓとし、試料溶液とした。(Chart1)

別に、牛胆標準溶液と同様に調製したものをゴオウ標準溶液とした。

なお、イオン交換樹脂を充填したカートリッジカラムを用いたのは、1のような極性による分離だけではゴオウ中の他の夾雑成分を取り除くことができないためであり、陽イオン交換樹脂を用いてビリルビン系色素等を除き、陰イオン交換樹脂により酸性物質である抱合胆汁酸を保持させ試験を行った。

HPLC操作条件

検出器：紫外吸光光度計(測定波長：210nm)

カラム：L-column ODS/化学品検査協会(φ4.6mm×15cm)

STR-ODS II/島津テクノリサーチ(φ4.6mm×15cm)

Shim-pack CLC-ODS/島津テクノリサーチ(φ4.6mm×15cm)

LichroCART LiChrospher Rp-18 selectB/MERCK(φ4.6mm×25cm)

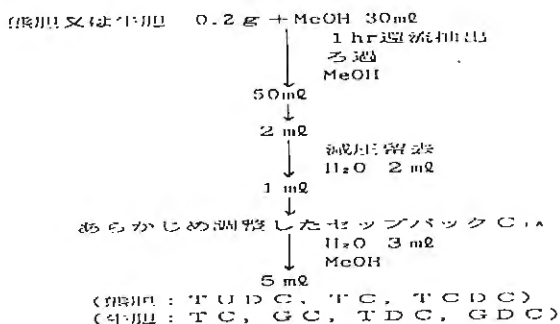
移動相：メタノール・0.02Mリン酸二水素カリウム(pH3.0)混液(67:33)

カラム温度：40°付近の一定温度

流量：0.6~0.7mℓ/min

注入量：10μℓ

熊胆及び牛胆の定法



ゴオウの定法

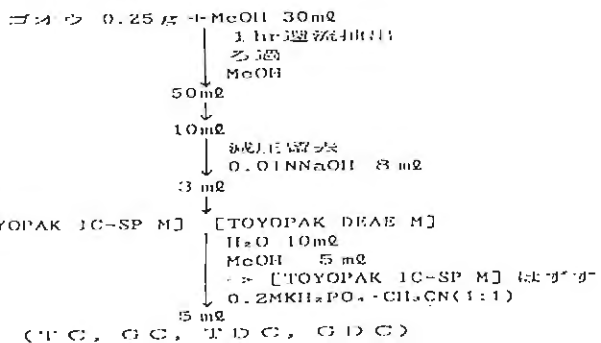


Chart 1

試料溶液の調製法

3. 熊胆、牛胆及びゴオウの品質評価

1の方法に準じて熊胆22検体及び牛胆5検体、2の方法に準じてゴオウ16検体の品質評価を行った。

4. モデル処方 of 抱合胆汁酸の定量

多くの生薬が配合された熊胆円タイプのもと、いわゆる熊参丸タイプのもと2種類のモデル処方を作製し (Table1)、メタノール・強アンモニア水混液 (99:1) で超音波抽出した後、2の方法に準拠し、抱合胆汁酸の添加回収試験を行った。

Table 1 モデル処方の成分及び分量

処方 1		処方 2	
ゲンノショウコ末	400mg	テクセツニンジン末	100mg
センブリ末	25	センブリ末	50
リュウタン末	50	熊胆	100
ダイオウ末	50		
トウヒ末	500		
ニンジン末	150		
ケイヒ末	250		
オウバク末	150		
牛胆汁エキス末	200		

(1日量中)

5. 市販の和漢薬配合剤の品質評価

4で設定した試験方法に基づき、市販剤の動物胆中の抱合胆汁酸の定量を行った。

結果及び考察

1. 熊胆及び牛胆中の抱合胆汁酸の定量

熊胆及び牛胆のHPLCクロマトグラムをFig.1に示した。熊胆ではTUDC, TC, TCDCのピークがみられ、良好な分離を示した。また、牛胆においては熊胆とは異なるパターンを示し、TC, GC, TDC及びGDCのピークがみられ、良好な分離を示した。

同一の熊胆を施設の異なる6カ所で定量した結果をTable2に示した。含量の低いTCに関してはバラツキが大きかったものの、TUDC, TCDCではCV値6%前後、総胆汁酸量でもCV値5.60%と良好な結果が得られた。

また、同一の牛胆を施設の異なる5カ所で定量した結果 (Table2)、含量の低いTDC, GDCではCV値6%前後であったが、TC, GCではCV値4%前後、総胆汁酸量でも3.59%と良好な結果が得られた。

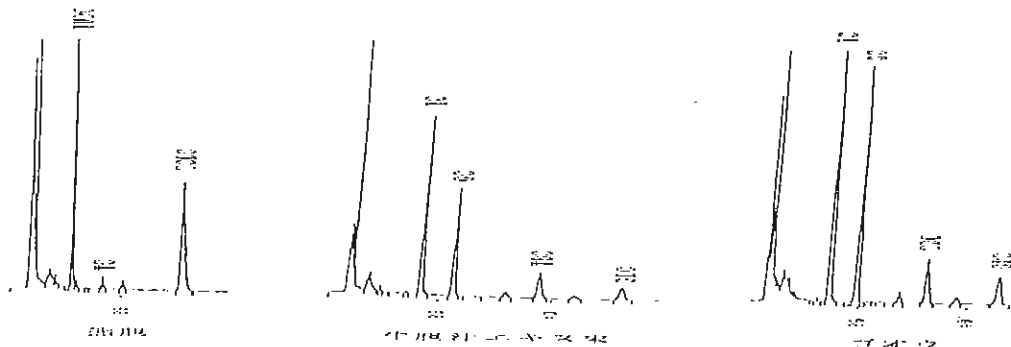


Fig.1 動物胆のHPLCクロマトグラム

2. ゴオウ中の抱合胆汁酸の定量

ゴオウのHPLCクロマトグラムをFig.1に示した。牛胆と同様に、TC,GC,TDC及びGDCのピークがみられ、良好な分離が得られた。

同一のゴオウを施設の異なる3カ所で定量した結果 (Table2)、総胆汁酸量ではCV値5%前後と良好な結果が得られた。

Table 2 動物胆の定量結果

熊胆 (6社)

	TUDC	TC	TDC	総胆汁酸量
平均 (%)	26.53	1.48	29.11	57.11
CV (%)	5.55	7.12	6.74	5.60

牛胆汁エキス末 (5社)

	TC	GC	TDC	GDC	総胆汁酸量
平均 (%)	29.07	22.04	6.89	5.15	63.15
CV (%)	3.73	4.59	5.22	6.73	3.59

ゴオウ (3社)

	TC	GC	TDC	GDC	総胆汁酸量
平均 (%)	4.43	3.64	1.75	2.15	11.96
CV (%)	3.16	10.97	11.73	5.66	6.02

3. 熊胆、牛胆及びゴオウの品質評価

熊胆の品質評価を行った結果をFig.2に示した。総胆汁酸量が天然のもので70~80%、飼育のもので50~60%であった。しかしながら、検体間の差が大きく使用の際には注意が必要である。

牛胆の品質評価を行った結果をFig.3に示した。総胆汁酸量は60~70%で、このうち総胆汁酸量が低いものは水分を多く含んでいるためであると思われる。

ゴオウを品質評価した結果をFig.4に示した。総胆汁酸量は5~13%で、産地によるバラツキが大きく、使用の際には注意が必要であると思われた。

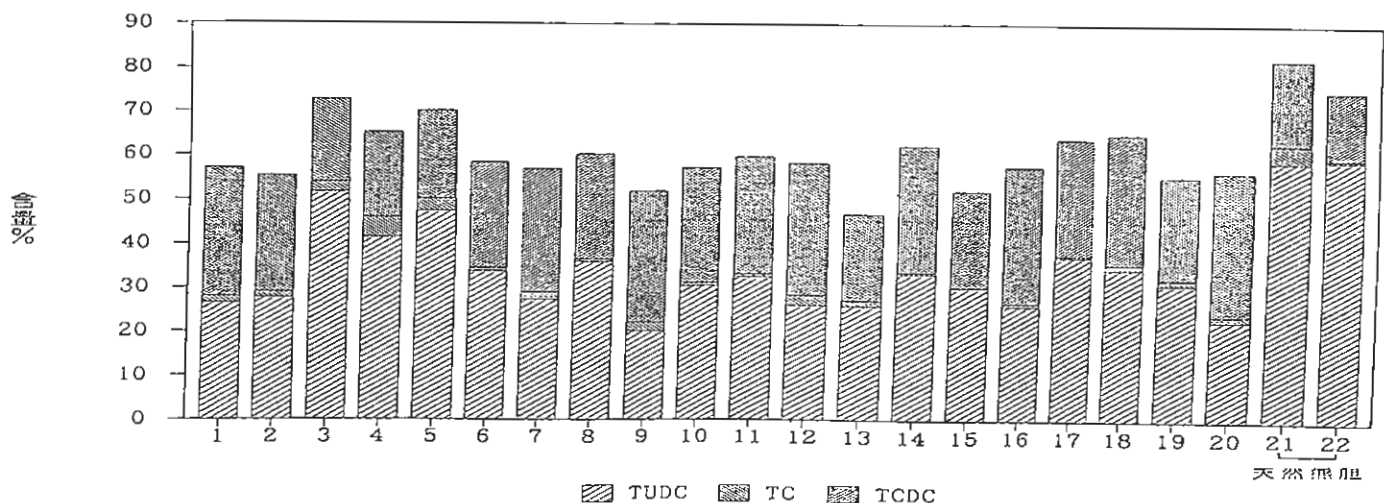


Fig.2 熊胆中の抱合胆汁酸

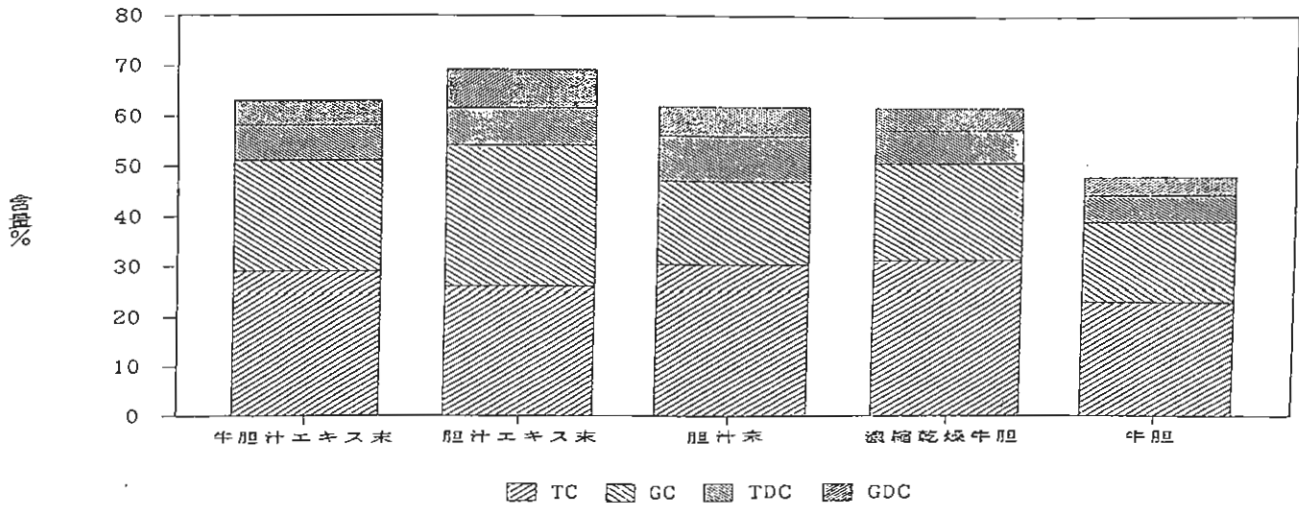


Fig.3 牛胆中の抱合胆汁酸

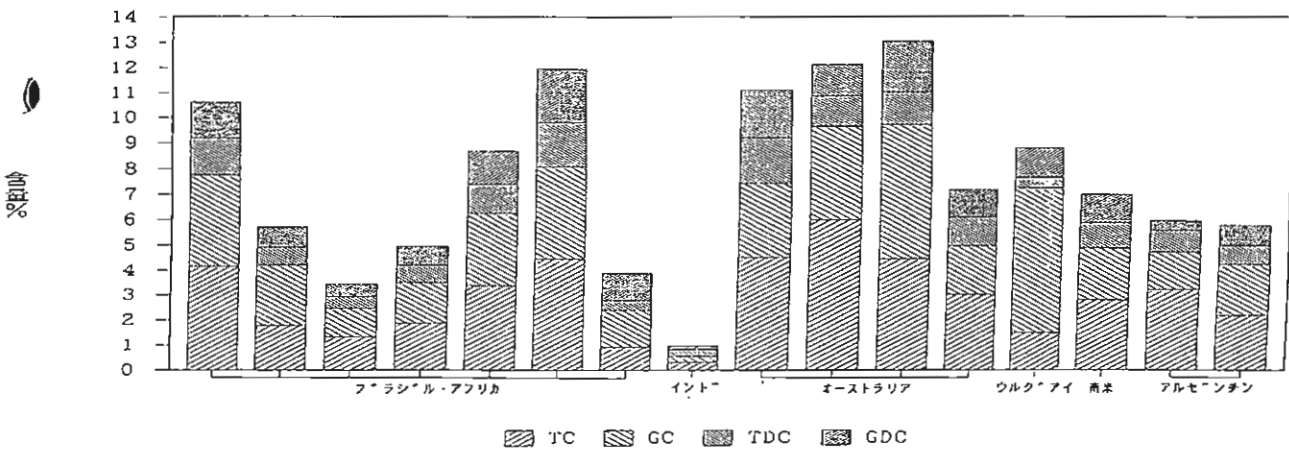


Fig.4 ゴウ中の抱合胆汁酸

4. モデル処方 of 抱合胆汁酸の定量

Fig5に処方1、2それぞれの標準溶液、試料溶液及びプラセボ溶液のHPLCクロマトグラムを示した。処方1においては、プラセボ溶液の抱合胆汁酸のピーク位置に妨害ピークは見られず、試料溶液においても良好な分離が得られ、定量は可能であった。処方2においては、プラセボ溶液のTCの溶出位置にチクセツニンジン由来のピークがみられたが、移動相の比率を若干変えることにより良好な分離が得られた。

プラセボ試料に動物胆をそれぞれ添加し、回収試験を行った。試験結果をTable3に示した。いずれのカラムにおいても移動相の比率を若干変えることで定量は可能であり、回収率も98~102%と良好な結果が得られた。

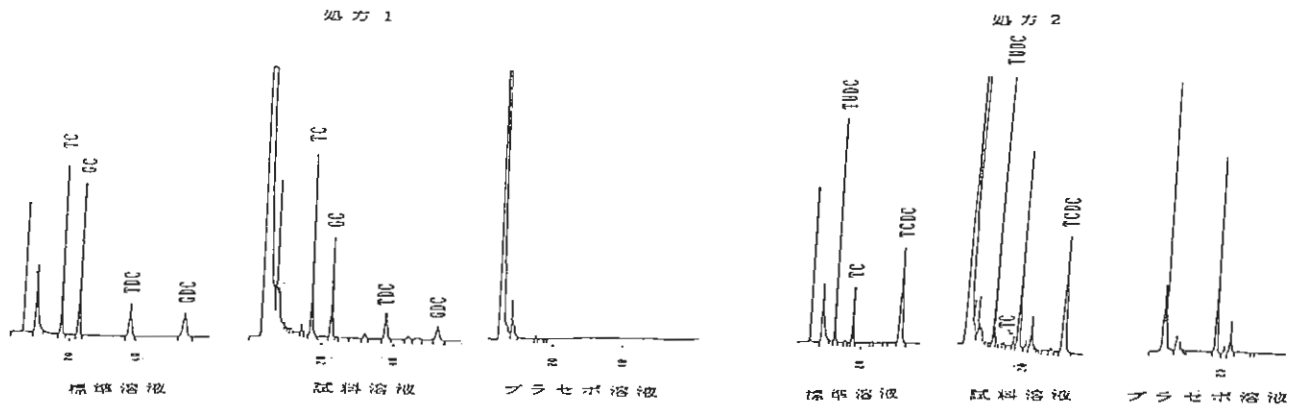


Fig.5 モデル処方のHPLCクロマトグラム

Table 3 回収試験結果

カラム	移動相比 ^{*1}	処方 1	処方 2
A	60 : 40	99.0	102.0
	62 : 38	100.8	100.0
B	67 : 33	98.0	100.3
	67 : 33	99.7	102.0
C	65 : 35	98.0	100.3
D	*2	98.3	99.0
平均 (%)		99.0	100.6
CV (%)		1.13	1.18

*1 MeOH・0.02MK₂HPO₄ (pH3.0)*2 MeOH・CH₃CN・0.02MK₂HPO₄ (pH3.0) (48:12:40)

5. 市販の和漢薬配合製剤の品質評価

3種の胃腸薬及び2種の強心薬について定量を行った。Fig.6に市販胃腸薬と救命丸のそれぞれの処方とHPLCクロマトグラムを示した。市販胃腸薬に関しては、ユウタン由来のTUDC,TC及びTCDCのピークと、稠厚牛胆由来のTC,GC,TDC及びGDCのピークはチクセツニンジン由来のピークと良好な分離を示し、定量は可能であると思われる。また、救命丸についても、牛胆及びゴオウ由来のTC,GC,TDC及びGDCのピークが他のピークと良好な分離を示し、定量は可能であると思われる。他の製剤についても、抱合胆汁酸のピークと他成分のピークとの分離は良好であり、各製造会社で使用している動物胆中の抱合胆汁酸含有量が不明であるため、製剤からの抽出率はわからないものの、HPLCクロマトグラムを用いての品質管理法としては十分であると思われる。

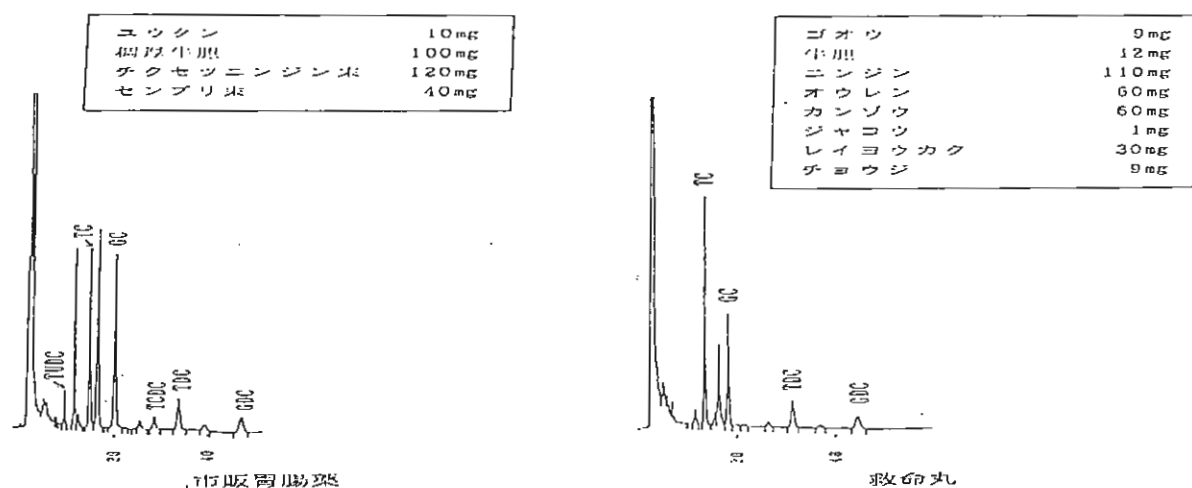


Fig.6 市販製剤の処方及びHPLCクロマトグラム

ま と め

1. 前報で規格及び試験方法を検討した標準品を市販動物胆中の抱合胆汁酸量を定量した結果、熊胆、牛胆、ゴオウいずれの場合も、産地の違いや天然のものか飼育のものか等の違いにより、品質にバラツキが大きいことがわかった。したがって、使用する際には注意が必要である。
2. 市販動物胆の品質評価で設定した試験法が、市販製剤に応用できるかどうか2種類のモデル処方について検討

を行った。熊胆円タイプのモデル処方では、他成分の影響もなく良好な結果が得られた。熊参丸タイプのモデル処方では、チクセツニンジンによる妨害が見られたが、移動相の比率を若干変えることにより、良好な分離が得られた。

3. モデル処方での検討結果を受けて、市販製剤の定量を行った。その結果、今回使用したカラムでは、移動相の比率を若干変えることで定量は可能であると思われた。

なお、本研究の一部は、富山県の平成7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) 横田洋一ら、高速液体クロマトグラフ法による市販動物胆中の抱合胆汁酸の分析、富山県薬事研究所所報、No.18, 88 (1991)
- 2) 長谷香織ら、生薬試験用標準品の規格設定に関する検討(第八報) -市販抱合胆汁酸標準品の品質評価-、家庭薬研究、No.14,63 (1995)
- 3) 横田洋一ら、高速液体クロマトグラフ法による市販製剤中の抱合胆汁酸の分析、富山県薬事研究所所報、No.20,107 (1993)

漢方製剤の品質に関する研究 (第10報)

—葛根中のイソフラボンの動向—

Studies on Quality Evaluation of Kanpo Medicine X

—The Changes of the isoflavone derivatives in Pueraria Root —

○吉井美矢子

Miyako YOSHII

西本初博

Hatsuhiko NISHIMOTO

中田るり子

Ruriko NAKADA

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

葛根は発汗・解熱及び筋肉の緊張緩和等の作用があるとされ、葛根を配合した代表的処方葛根湯の効能を特徴付けていると考えられる。葛根中には活性成分としてイソフラボン化合物が含まれ、その中の一つ、ダイゼインが葛根の薬効に関わるとの薬理的報告¹⁾がある。

今回葛根中のイソフラボン化合物の含量を求め、かつ、葛根湯湯液調製過程におけるそれらの動向を葛根単独の湯液の場合との比較において実験的に確認した。

実 験 の 部

1. 被 験 材 料

葛根 (四川省産 3ロット、湖北省産 1ロット、湖南省産 1ロット)

葛根湯構成生薬 (1日量 17g: 葛根 4g、麻黄 3g、桂枝 2g、芍薬 2g、甘草 2g、乾生姜 1g、大棗 3g)

葛根を除く生薬はいずれも同一ロットの市販の日局品を用いた。

なお湯液調製には、四川省産葛根 2ロットを用いた。

2. 実 験 方 法

1) 葛根中のプエラリン、ダイズイン及びダイゼインの含量

葛根を粉末にし、50%メタノールを加え、超音波抽出器を用いて抽出し、各成分の含量を液体クロマトグラフ法で求めた。

2) 湯液調製時のプエラリン、ダイズイン及びダイゼインの動向

(1) 葛根の湯液調製時のプエラリン、ダイズイン及びダイゼインの動向

葛根 170g に水 1.7 l を加え、Fig.1 の装置を用いて攪拌還流抽出し、沸騰開始時及び以後 30分、60分、90分、120分経過時に湯液を採取し、各湯液中の各成分の含量を液体クロマトグラフ法で求めた。

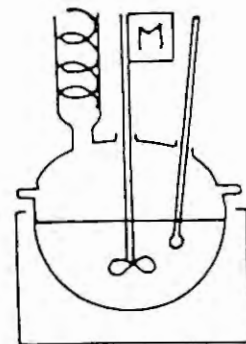


Fig.1 攪拌還流抽出装置

(2) 葛根湯の湯液調製時の各成分の動向

葛根湯生薬170gに水1.7ℓを加え、(1)と同様に攪拌還流抽出し、各湯液中の各成分の含量を液体クロマトグラフ法で求めた。

3. 測定方法

液体クロマトグラフ法（絶対検量線法）により、次の条件で葛根中及び湯液中のイソフラボン含量を測定した。

測定条件

カラム：Cosmosil 5C18-AR φ4.6mm×150mm

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：254nm）

移動相：プエラリン、ダイズインの場合は、0.1%リン酸・アセトニトリル混液（9：1）

ダイゼインの場合は、0.1%リン酸・アセトニトリル混液（8：2）

実験結果

1. 葛根中のプエラリン、ダイズイン及びダイゼインの含量

葛根5ロット中のプエラリン、ダイズイン及びダイゼインの含量を測定した結果をTable1に示した。プエラリンは1.87~4.27%、ダイズインは0.27%~1.04%、ダイゼインは0.06~0.14%で、湖南省産のイソフラボン含量が最も少なかった。

Table 1 葛根中のイソフラボン化合物の含量 (%)

ロット番号	産地	プエラリン	ダイズイン	ダイゼイン
1	四川省	3.87	0.82	0.08
2	四川省	4.11	0.83	0.08
3	四川省	3.48	1.04	0.14
4	湖南省	1.87	0.27	0.06
5	湖北省	4.27	0.97	0.06

2. 葛根湯調製時のプエラリン、ダイズイン及びダイゼインの動向

1) 葛根の湯液調製時の各成分の動向

葛根（四川省産ロット1又は2）を攪拌還流抽出したときのプエラリン、ダイズイン及びダイゼインの動向をTable2並びにFig.2に実線で示した。沸騰時までにプエラリン、ダイズインは、それぞれ実験結果Table1に示す定量値の約40%、ダイゼインの場合は約30%が湯液中へ移行し、沸騰開始60分後には、プエラリンは約65%、ダイズインは約80%、ダイゼインの場合は約45%が移行した。以後湯液中濃度は定常値となった。ロット1とロット2の定量値にはほとんど差はなかった。

Table 2 湯液中のイソフラボン化合物の移行率 (%)

イソフラボン化合物	試験対象	葛根のロット番号	沸騰時 (b.p)	沸騰後 30分	沸騰後 60分	沸騰後 90分	沸騰後 120分
プエラリン	葛根	1	42	58	65	68	68
		2	43	60	64	70	70
	葛根湯	1	40	60	67	69	73
		2	42	58	69	73	75
ダイズイン	葛根	1	42	65	77	82	84
		2	45	66	80	84	87
	葛根湯	1	40	68	75	75	85
		2	42	74	80	88	89
ダイゼイン	葛根	1	30	34	44	45	48
		2	30	35	45	47	47
	葛根湯	1	28	33	44	47	49
		2	31	41	45	49	49

四川省産葛根ロット1 又は2使用

2) 葛根湯の湯液調製時の各成分の動向

葛根湯を攪拌還流抽出したときのプエラリン、ダイズイン及びダイゼインの動向を Table2並びに Fig.2に破線で示した。沸騰時までにプエラリン、ダイズインはそれぞれ実験結果 Table1に示す定量値の約40%、ダイゼインの場合は、約30%が湯液中へ移行し、沸騰開始60分後にはプエラリンは、約70%、ダイズインは、約80%、ダイゼインは約45%が移行した。ロット1とロット2の定量値にはほとんど差はなかった。葛根のみの湯液とこの葛根を用いた葛根湯湯液の定量値に差はなく同様の動向を示した。

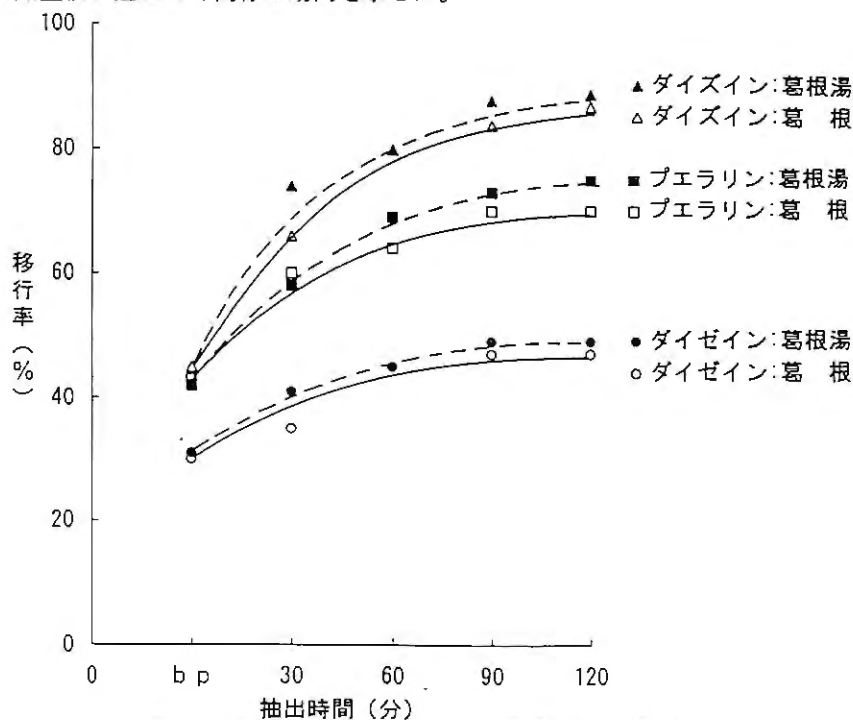


Fig.2 湯液中のイソフラボン化合物の移行率

考 察

- 今回測定を行った葛根中のイソフラボン化合物3成分中においては、いずれもプエラリンの定量値が最も高く、ダイズインがこれに次ぎ、ダイゼインは最も低かった。ロットによる含量差は2~4倍で、湖南省産の葛根中の各成分が最も少なく、産地による含量差が予想された。

湯液調製時のこれら成分の動向は、葛根湯の湯液と葛根単独の湯液においてほとんど差はなく、いずれも沸騰開始後約60分でほぼ最高値に達し、この傾向はこれまでの我々の報告内容と一致するものである。

- 漢方処方湯液調製時において、現在、定量可能な水溶性成分は、分解や揮散が著しい成分を別として、基本的には沸騰開始後約60分で湯液中への溶出成分濃度が最高値に達する。このことをふまえ、漢方湯液の調製方法を標準化すべきと考える。

参 考 文 献

- 柴田承二、原田正敏、村上孝夫：
和漢薬成分の研究（第2報）葛根成分の鎮痙作用について、薬誌 79,863 - 866 (1959)

水溶性コーティング基剤の特性

Properties of Aqueous Film Coating Agents.

—キャストリング膜の調製と物性評価—

Preparation and Estimation of Casting Films

富山県薬事研究会 製剤部会

Division of Pharmaceutics,

Toyama Pharmaceutical Research Association

黒田 匡	(株)内山薬品商会
Tadasu KURODA	Uchiyama Medicine Co.,Ltd
正川 仁	共栄製薬(株)
Hisashi SHOGAWA	Kyoei Pharmaceutical Co.,Ltd
花 木 晃	(株)廣貫堂
Akira HANAKI	Kokando Co.,Ltd
高 橋 葉 子	第一薬品(株)
Yoko TAKAHASHI	Daiichi Medicine Co.,Ltd
河 口 学	第一薬品工業(株)
Manabu KAWAGUCHI	Daiichi Pharmaceutical Co.,Ltd
日 水 裕 子	大協薬品工業(株)
Yuko HIMIZU	Taikyo Pharmaceutical Co.,Ltd
○中 嶋 義 徳	ダイト(株)
Yoshinori NAKAJIMA	Daito Co.,Ltd
桶 田 雄 司	東亜薬品(株)
Yuji OKETA	Toa Medicine Co.,Ltd
金 田 行 宏	
Yukihiro KANEDA	
河 合 多 久 巳	東洋ファルマー(株)
Takumi KAWAI	Toyo Pharmar Co.,Ltd
堀 田 良 晴	富士化学工業(株)
Yoshiharu HORITA	Fuji Chemical Industry Co.,Ltd
亀 沢 真 也	富士製薬工業(株)
Shinya KAMEZAWA	Fuji Pharmaceutical Co.,Ltd
萩 原 彰 人	(株)富士薬品
Akihito HAGIHARA	Fuji Medicine Co., Ltd
鉛 山 晃	陽進堂(株)
Akira NAMARIYAMA	Yoshindo Co.,Ltd
嶋 田 健 一	
Kenichi SHIMADA	
前 川 利 玄	
Toshiharu MAEKAWA	
上 田 俊 則	リードケミカル(株)
Toshinori UEDA	Lead Chemical Co.,Ltd
堀 内 環	
Tamaki HORIUCHI	
川 筋 透	富山県薬事研究所
Toru KAWASUJI	Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research

緒 言

コーティング用医薬品添加物として、多くの種類のものが市販されている¹⁾が、これらの基礎的な特性を同時に比較した報文は少ない。今回、我々は、種々のコーティング用医薬品添加物を用い、キャスト膜の作製を試みた。そのうち成膜可能であった水溶性基剤のヒドロキシプロピルメチルセルロース及びヒドロキシプルセルロースについて引っ張り強度、溶解性及び透湿性について検討したので報告する。

実 験 の 部

1. 試 料

使用したコーティング基剤を以下に示す。

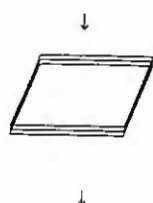
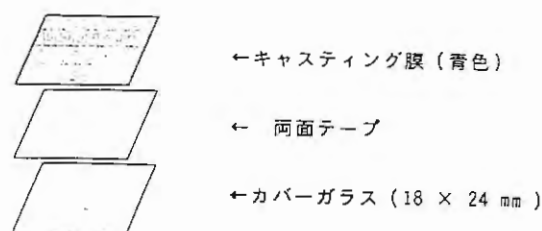
- ヒドロキシプロピルメチルセルロース (TC-5 EW, 信越化学工業)
- ヒドロキシプロピルメチルセルロース (TC-5 MW, 信越化学工業)
- ヒドロキシプロピルメチルセルロース (TC-5 RW, 信越化学工業)
- ヒドロキシプロピルセルロース (HPC-SSL, 日本曹達)
- ヒドロキシプロピルセルロース (HPC-SL, 日本曹達)
- ヒドロキシプロピルセルロース (HPC-L, 日本曹達)
- エチルセルロース (N-7-F, 信越化学工業)
- エチルセルロース AD (アクアコート, 旭化成)
- ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート (AS-LF, 信越化学工業)
- ポビドン (PVP K-30, BASF社)
- メタアクリル酸コポリマー-L (オイドラギットL100-55, レーム社)
- メタアクリル酸コポリマー-LD (オイドラギットL30D-55, レーム社)
- アミノアルキルメタアクリレートコポリマー-E (オイドラギットE100, レーム社)
- アクリル酸エチルメタクリル酸メチルコポリマーエマルジョン (オイドラギットNE30D, レーム社)

2. 使用機器

キャスト膜の作製にはヤマト製アプリケーション、引っ張り強度の測定には不動工業製のレオメーターNRM-2002J型、溶解性の測定には富山産業製の崩壊試験器NT-2HS型、透湿性の測定のための恒温恒湿器は日立製のEC-80-HHCGを用いた。

3. キャスティング膜の作製方法

10%溶液を、アプリケーションを用いて、ガラス板又はPETシート上に展開した。但し、エチルセルロース及びオイドラギットE100はエタノール、オイドラギットL30D-55及びNE30Dは水、その他は水：エタノール=1:1を用いて溶液を調製した。なお、溶解性の測定を行うために青色1号（ブリリアントブルーFCF、特殊化学製）を0.01%添加した。これを風乾し、ガラス板又はPETシートから剥し、キャスト膜とした。



溶解時間を測定

崩壊試験器使用 試験液 ; 水
温度 ; 37 °
速度 ; 30 ストローク/min

膜の青色が見えなくなった時間を読みとる。

Fig.1 溶解性測定方法

TC-5MW及びHPC-SLについては、可塑剤としてマクロゴール6000（和光純薬）を固形分に対して5、10、20%配合した膜も作製した。

4. 引っ張り強度

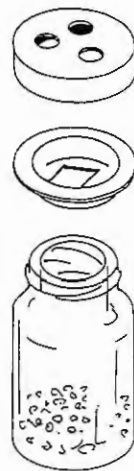
レオメーターを用いて、幅10mmの各キャスト膜の引っ張り強度を測定し、膜の断面積で割った値(kg/cm²)を指標として評価した。

5. 溶解性

Fig.1に示すようにカバーガラス（18×24mm）にキャスト膜を両面テープで貼り付け、これを崩壊試験器に入れ、37°の水における溶解時間を測定した。

6. 透湿性

Fig.2に示すようにガラスマヨネーズ瓶（140ml）のキャップ及び中栓に穴をあけ、このうち中栓にキャスト膜を貼り付けた。瓶の底に塩化カルシウム（和光純薬、水分測定用）を入れ、中栓及びキャップをし、これを40° 75%の恒温恒湿器に入れた。経時的な重量変化を測定し、透湿性を評価した。



←穴（9mmφ×3か所）

←中栓・キャスト膜

透湿面積 2×2 cm²

（又はblank（膜無し））

（又は対照（防水膜 剥離ビニレン））

←ガラス瓶

粒状 塩化カルシウム 15 g

（水分測定用 CaCl₂ : 110.99）

40° 75%RH 放置

（恒温恒湿器；日立EC-80HHC）

透湿性 = 24 hr までの重量増加(mg) / 4(cm²)

Fig.2 透湿性測定方法

結 果

1. キャスティング膜の作製

14種類のコーティング基剤のうち、TC-5EW、MW、RW及びHPC-SSL、SL、Lを評価可能な膜として作製できた。また、TC-5MWにマクロゴール6000を5、10、20%配合した膜及びHPC-SLに5、10%配合した膜が作製できた。その他の基剤については、剥れない、脆い、不均一などの原因から、評価不可能であった。

2. 引っ張り強度

引っ張り強度とコーティング基剤の粘度（メーカー表示）との関係をFig.3に、マクロゴール6000添加量との関係をFig.4に示した。

粘度が高いグレードのものほど、引っ張り強度の値が大きくなった。粘度を基準としてTC-5とHPCを比較すると、引っ張り強度ではTC-5がHPCより大きい値を示した。

マクロゴール6000については、添加量が多いほど、引っ張り強度の値が小さくなった

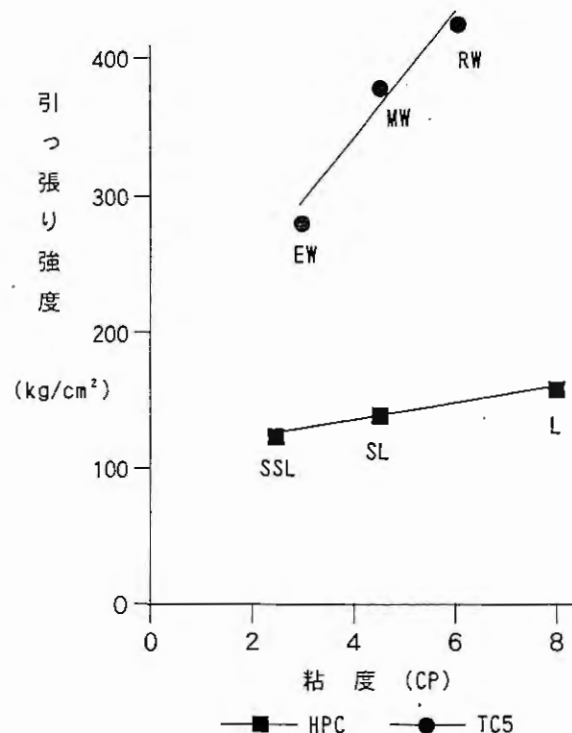


Fig.3 引っ張り強度と粘度の関係

3. 溶解性

溶解性とコーティング基剤の粘度との関係をFig.5に、マクロゴール6000添加量との関係をFig.6に示した。

粘度が高いほど、溶解性（単位時間あたりに溶解する膜の厚み）が低下した。

マクロゴール6000の添加量及びTC-5とHPCとの間に差はほとんどみられなかった。

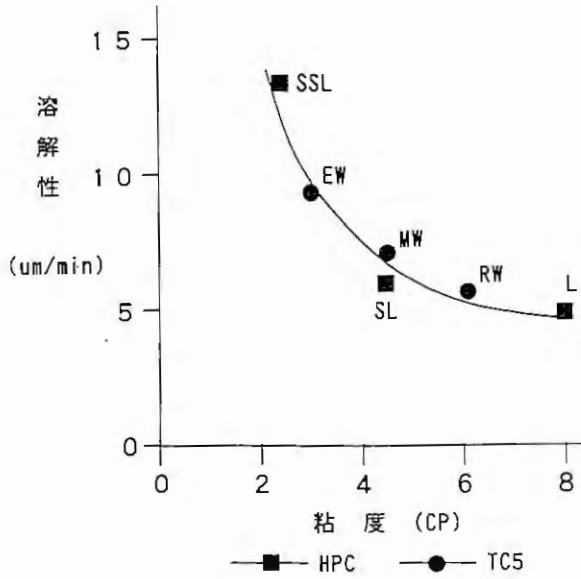


Fig.5 溶解性と粘度の関係

Table 1 透湿性と粘度の関係

(透湿性の単位 $\text{mgH}_2\text{O}/24\text{hr}\cdot\text{cm}^2$)

膜材料	回数	実験 1		実験 2	
		厚さ μm	透湿性	厚さ μm	透湿性
HPC-SSL(2.5)	①			25	188
	②			36	121
HPC-SL(4.5)	①	20	148	32	136
	②			31	126
HPC-L(8)	①			19	162
	②			29	137
TC-5 EW(3)	①	10.7	292	27	260
	②	10.7	318	27	216
TC-5 MW(4.5)	①	15.0	261	24	209
	②	15.0	274	24	193
TC-5 RW(6)	①	12.5	299	24	196
	②	12.5	312	22	222
TC-5 S(15)	①	13.3	304		
	②	13.3	317		
膜無し(Blank)	①		1881		2645
	②		2646		2109
防湿膜 (ポリ塩化ビニリデン)	①		5		
	②		3		

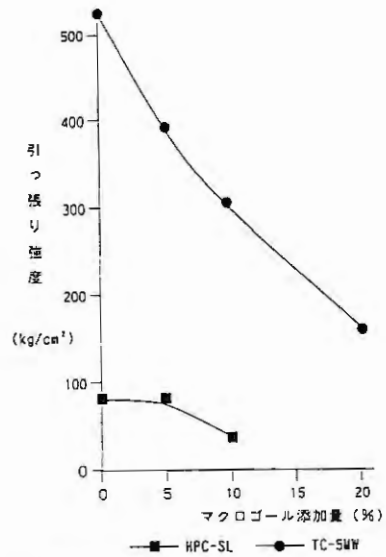


Fig.4 引っ張り強度とマクロゴール添加量の関係

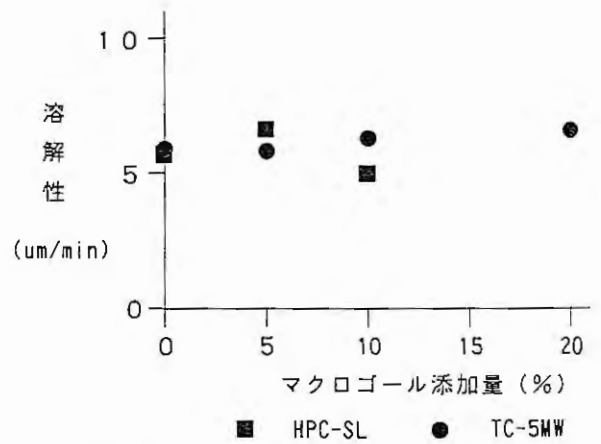


Fig.6 溶解性とマクロゴール添加量の関係

Table 2 透湿性マクロゴール添加量の関係

(透湿性の単位 $\text{mgH}_2\text{O}/24\text{hr}\cdot\text{cm}^2$)

膜材料	PEG 含量	厚さ μm	重量 mg/cm^2	透湿性
TC-5 MW(4.5)	0 %	21	2.43	220
	5	23	2.78	229
	10	19	2.69	249
	20	25	3.12	331
HPC-SL(4.5)	0 %	30	3.76	124
	5	31	4.61	133
	10	21	2.53	229

4. 透湿性

透湿性とコーティング基剤との関係を Table.1 に、マクロゴール6000添加量との関係を Table.2 に示した。

膜厚が大きいほど、また基剤の粘度が高いほど透湿性が低かった。TC-5とHPCとを比較すると、HPCの方が透湿性が低い傾向にあった。

マクロゴール6000については、添加量が多いほど、透湿性がわずかに高くなる傾向があった。

考察及びまとめ

今回の研究により、厚さ 20 μm 前後のキャスト膜を作製する方法及び評価方法を確立することができた。キャスト膜の物性値による評価では、TC-5及びHPCについては粘度が高いグレードほど、強度が大きくなり、溶解性は低下し、透湿性がやや低くなる傾向がみられた。これらの結果は同じ素材においてもグレードの違い、すなわち平均分子量の違いが、キャスト膜の物性に影響を及ぼすことを示している。

マクロゴール6000添加量が多くなると、強度は低下し、透湿性がわずかに高くなる傾向がみられたが、溶解性はほとんど変化しなかった。マクロゴールは可塑剤として通常はスプレー法による成膜を容易にし、膜の老化防止の目的でよく使用されているが、今回のキャスト膜においては特に著しい物性値の改善はみられなかったことから、使用目的に応じて使用量には充分注意が必要であると考えられた。

TC-5とHPCを比較した場合、TC-5の方が強度は大きく、透湿性が高い傾向にあったが、溶解性はほとんど変わらなかった。また、キャスト膜を調製する際にはTC-5の方が剥しやすかった。

これらの物性値は大きな差ではないが、使用目的や製造工程によっては最終製品の特性にも差が出ると考えられるので、これらの物性値を考慮して、処方設定などの製剤検討を行うべきだと考えられる。今後は、これらの基剤がコーティング後の錠剤の強度及び透湿性などに及ぼす影響を検討する予定である。

文 献

- 1) 高岸靖 長田俊治 医薬品の開発 第12巻 製剤素材 I 一番ヶ瀬尚 廣川書店 東京 (1990) p198~214

液体クロマトグラフ法の分析パラメータの変動要因について

Studies on Factors of Variation in Analytical Parameters used in HPLC

小 中 宏 子	(株)内山薬品商会
Hiroko KONAKA	Uchiyama Medicine Co.,Ltd
中 村 淳	救急薬品工業(株)
Atushi NAKAMURA	Kyukyu Pharamaceutical Co.,Ltd
古 沢 和 義	救急薬品工業(株)
Kazuyosi FURUSAWA	Kyukyu Pharamaceutical Co.,Ltd
浜 谷 紀代美	共栄製薬(株)
Kitomi HAMATANI	Kyoei Pharamaceutical Co.,Ltd
江野本 加壽雄	(株)広貫堂
Kazuo ENOMOTO	Kokando Co.,Ltd
岩 脇 康 之	新新薬品工業(株)
Yasuyuki IWAKI	Shinshin Pharamaceutical Co.,Ltd
荒 木 幸 子	第一薬品(株)
Yukiko ARAKI	Daiichi Medicine Co.,Ltd
栗 山 法 子	第一薬品工業(株)
Noriko KURIYAMA	Daiichi Pharamaceutical Co.,Ltd
瀧 本 辰 也	ダイト(株)
Tatuya TAKIMOTO	Daito Co.,Ltd
才 木 良 則	東亜薬品(株)
Yoshinori SAIKI	Toa Medical Co.,Ltd
堀 内 環	リードケミカル(株)
Tamaki HORIUCHI	Lead Chemical Co.,Ltd
○山 本 芳 子	富山化学工業(株)
Yosiko YAMAMOTO	Toyama Chemical Co.,Ltd
太 田 修 平	鐘紡(株)
Shuhei OHTA	Kanebo Co.,Ltd
清 水 雅 子	藤沢薬品工業(株)
Masako SHIMIZU	Fujisawa Pharamaceutical Co.,Ltd
山 崎 裕美子	藤沢薬品工業(株)
Yumiko YAMAZAKI	Fujisawa Pharamaceutical Co.,Ltd
横 田 洋 一	富山県薬事研究所
Youichi YOKOTA	Toyama Prefectural Institute for Pharamaceutical Research

結 言

薬事法改正によりGMPソフトが許可要件化され、製造工程等のバリデーションが必要となった。これに伴い、分析機器や分析法について、それぞれキャリブレーション、バリデーションがより重要となってきている。そこで、現在医薬品分析に繁用されている液体クロマトグラフ法について、その分析パラメータに影響を及ぼす種々の要因について、基礎的検討を行った。まず最初に液体クロマトグラフ機器の相違が分析パラメータに及ぼす影響について調べるため、統一した方法を用い、各社で使用している機器で分析を行いデータを収集した。次にカラム温度、流量、注入

量等の主に機器に関わる分析条件を変化させ、パラメータの変動について調査した。さらに実際の解熱鎮痛薬の分析を統一した方法で各社で行い、分析パラメータ及び定量値の変動についても検討した。

実験の部

1. 方法

以下の方法で各社で分析を行い、機種間の相違を求めた。試料には疎水性のベンゼン誘導体及びウラシル (K' = 0) を用いた。Fig.1 にクロマトグラムを示す。

1) 試料溶液

ウラシル (U) 0.0125mg/ml、メチルベンゼン (MB)、エチルベンゼン (EB)、プロピルベンゼン (PB)、ブチルベンゼン (BB) 及びアルミベンゼン (AB) それぞれを 0.25mg/ml としたメタノール溶液

2) 操作条件

検出: 254nm、カラム: J'sphere ODS-M80 4.6mmID × 15cm (YMC)、カラム温度: 40°、移動相: メタノール・水混液 (80:20)、流量: 1ml/min、試料注入量: 10 μl、注入回数: 6回

3) 測定パラメータ

保持時間 (Rt)、面積 (A)、高さ (H)、質量分布比 (K'), 半値幅 (W_{1/2})、理論段数 (N)、分離度 (Rs) 及びそれらの変動係数 (CV)

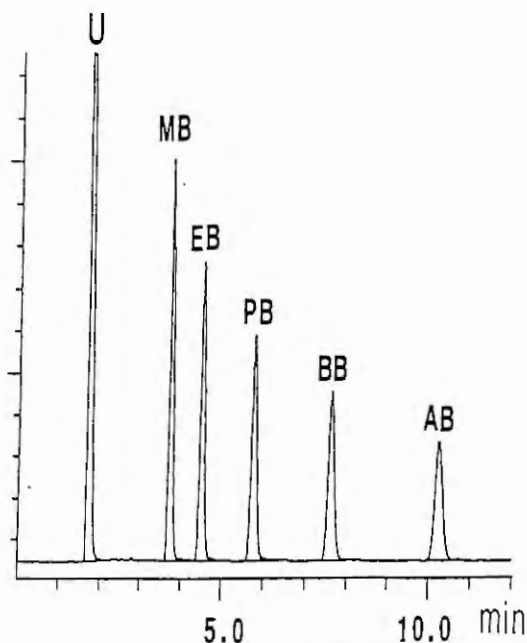
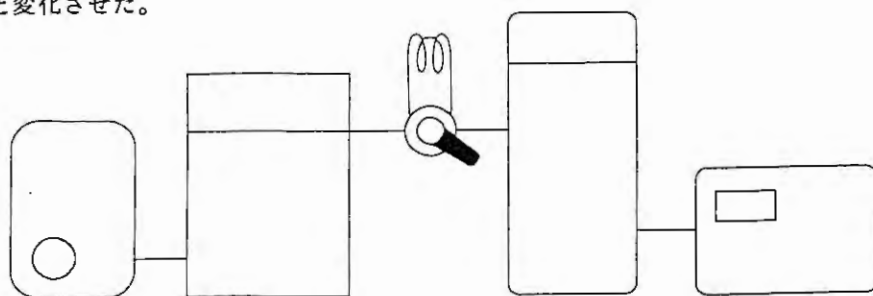


Fig.1 クロマトグラム

2. デッドボリュームの影響

1と同じ試料溶液及び操作条件において、Fig.2に示すように自動注入装置とカラムオープン間に注入バルブ (レオダイン製7125) を接続し、INJECTの位置で自動注入装置から試料を注入し、それぞれのパラメータ値を求め、LOADの位置において得られたパラメータ値と比較した。デッドボリュームとなるサンプルループ容量は20、50、100、200 μlと変化させた。



ポンプ オートサンプラー カラムオープン 検出器

Fig.2 実験装置

3. 操作条件の変動

1と同じ試料溶液について、以下に示す操作条件の一条件のみ (他の条件は1の条件と同じ) を、それぞれ3水準に変動させて分析を行い、パラメータ値を求め基本条件 (下線部) で得られたパラメータ値と比較した。それぞれの基本条件からの変動 (%) は3社ずつで行い、平均値を求めた。

操作条件

カラム温度：35°、40°、45°；移動相：メタノール・水混液（70：20）、(80：20)、(90：20)；流量：
0.8、1.0、1.2ml/min、試料注入量：5、10、15 μl（自動注入装置）

4. 解熱鎮痛薬の分析

アセトアミノフェイン（A）、カフェイン（C）、エテンザミド（E）含有製剤について、それぞれ約0.075、0.017及び0.125g対応量を精密に量り、アセトニトリル・薄めたリン酸（1→1000）混液（1：1）を加えて抽出し、正確に100mlとした。その液10mlを正確に量り、内標準溶液5mlを加え、アセトニトリル・薄めたリン酸（1→1000）混液（1：1）を加えて100mlとしたものを試料溶液とした。同様の操作を行った標準溶液を用い、以下の操作条件で分析を行い、内標準物質にたいする面積比（内標比）、ピーク分離度及び定量値を求めた。なお、カラムについては実際の運用に近づけるため、異なる3ロットを用いた。Fig.3にクロマトグラムを示す。

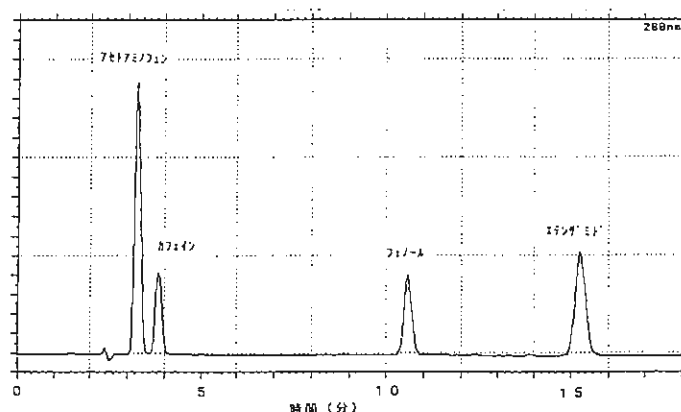


Fig.3 解熱鎮痛薬のクロマトグラム

内標準溶液：フェノールのアセトニトリル・薄めたリン酸（1→1000）混液（1：1）溶液（1.8→1000）

操作条件

検出：280nm、カラム：J'sphere ODS - M80 4.6mmID × 15cm（YMC）、カラム温度：40°、移動相：
薄めたリン酸（1→1000）・アセトニトリル混液（8：2）、流量：0.9ml/min、注入量：10 μl、

結果及び考察

1. 機種（注入装置）の影響

マニュアル注入では、各ピークの間隔のCV値は、ほとんどが1%以下であったのに対し、自動注入装置では0.3%~2.5%とマニュアル注入よりばらつきが大きい傾向が見られた。この原因としては、自動注入装置の注入機構の相違やメンテナンスの有無などが考えられた。また、マニュアル注入より自動注入装置のほうが各ピーク間の分離度が低下した（Fig.4）。この原因について次の検討を行った。

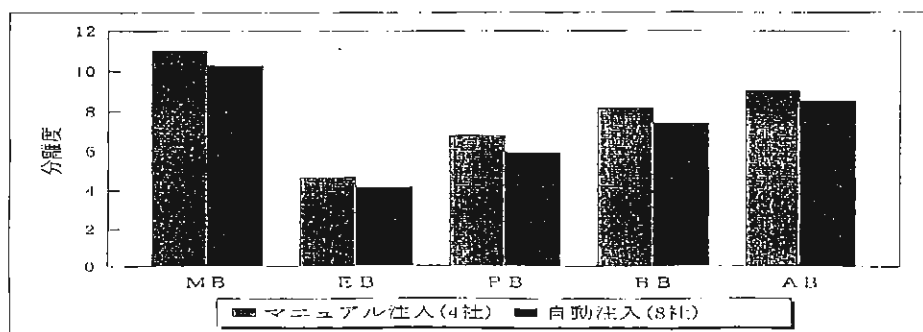


Fig.4 注入装置が分離度に与える影響

2. デッドボリュームの影響

デッドボリュームが増加するにつれ、H、N、Rsに低下がみられ、しかもK'の小さいものほどその影響は大きかった (Fig.5、6)。このことから1でみられた自動注入装置による分離度低下の原因の一つは、デッドボリュームの増加であると思われる。従って、機器の接続についても注意を要すると思われる。

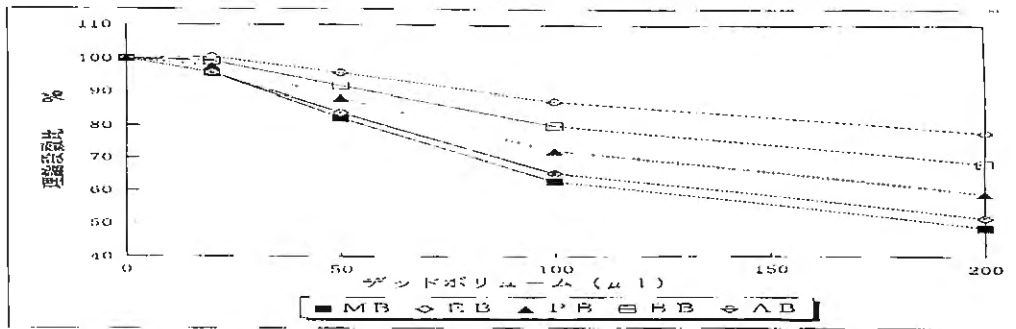


Fig.5 デッドボリュームが理論段数に与える影響

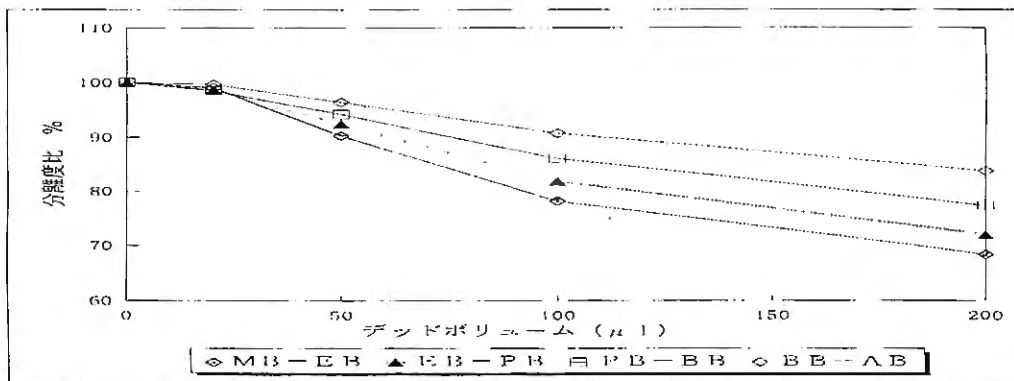


Fig.6 デッドボリュームが分離度に与える影響

3. 分析条件の変動

分析条件の変動による分析パラメータの変化を Table1 に示す。すなわち、

- 1) カラム温度の上昇により若干Rt、K'、N、Rsは低下したが、A、N、W_{1/2}にはほとんど影響はなかった。
- 2) 移動相のメタノール比率の増加によりHは増加したが、Aには影響はなかった。Rt、k'、W_{1/2}、N、Rsにかなりの低下がみられた。
- 3) 流量と反比例の関係でRt、A、Rt、W_{1/2}が大きく減少したが、K'、H、N、Rsには大きな影響はなかった。
- 4) 自動注入装置の注入量の増加により、H、Aともばらつきが減少したが、N、Rsに若干低下がみられた。

Table 1 操作条件の変動とパラメータの増減 (%)

条件変動 (増減)	Rt	AREA	HIGHT	k'	W _{1/2}	N	Rs
温度 +5	-3	0	+2	-4	-2	-6	-6
(°) -5	+3	0	-2	+5	+3	+4	+4
移動相 +10	-20	0	+22	-28	-16	-10	-20
(MeOH比) -10	+16	+1	-9	+20	+13	+7	+15
流量 +0.2	-16	-16	-3	0	-13	-7	-3
(ml/min) -0.2	+25	+23	0	0	+23	+3	+1
注入量 +5	-1	+50(-29)	+48(-44)	0	+4	-8	-6
(μl) -5	-2	-53(+29)	-50(+119)	+1	-6	+9	+6

備考：各値は基本条件での各ベンゼン誘導体のパラメータからの増減(%)を平均したもの
()はCV

4. 解熱鎮痛薬の分析

今回統一方法として用いたA、C及びEの同時分析法にはA、Cの分離度が若干悪いという問題があった。同一の試料抽出液及び標準溶液を用い、参加各社で分析を行った結果、Table2に示すように定量値については、大きなばらつきは見られなかった。これはAとCの分離度はばらついたものの最低1.7とほぼ完全分離をしていたためと思われる。分離度のばらつきについては、注入装置及びカラムロットのばらつきによるものと思われた。

Table 2 解熱鎮痛薬の分析結果

	含量 (%)			分離度	ピーク面積比		
	A	C	E		A/C	A	C
最大	101.8	102.1	103.5	3.9	1.555	1.131	2.847
最小	100.7	100.7	100.5	1.7	1.038	0.795	1.451
平均	101.2	101.3	101.3	2.6	1.304	0.966	2.101
CV (%)	0.3	0.4	0.7	20.5	10.4	9.4	17.3

内標比も大きくばらつき、これは参加各社の検出器の検出波長の違いによるものと思われた。そこで波長を1nmずつ変化させ、A、C及びEの内標準物質（フェノール）に対する面積比を求めたところ、波長の増加に従い増大した (Fig.7)。これはA、C、E及びフェノールの吸収曲線がそれぞれ相違することから生じたと考えられた (Fig.8)。液体クロマトグラフの検出器の波長精度は通常 $\pm 2\text{nm}$ 程度であり、この範囲でも今回用いた測定波長付近では、内標比が大きく変動し、これがばらつきの原因となったものと考えられた。

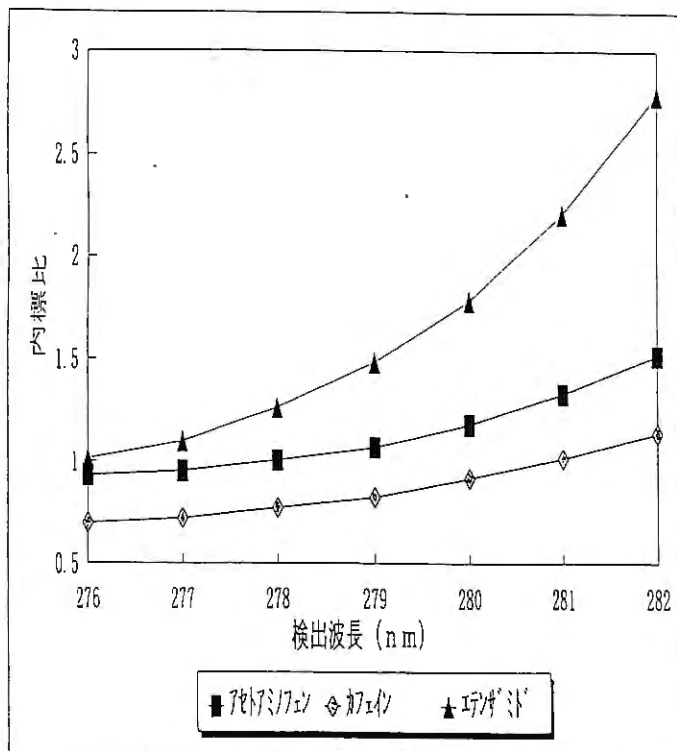


Fig.7 検出波長と内標比の関係

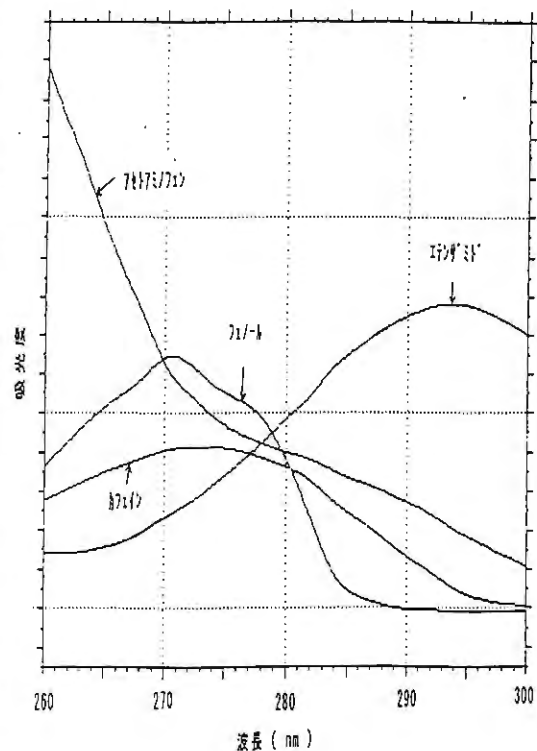


Fig.8 吸収曲線

ま と め

1. 液体クロマトグラフの注入装置では、自動注入のほうがマニュアル注入より分離度が低下した。この原因の一つは、デッドボリュームの増加であると考えられた。
2. 個々の操作条件の変動のうち、流動変動がピーク面積に大きな影響を与えることがわかった。また自動注入装置における、面積、高さの再現性は注入量の増加により改善された。
3. 解熱鎮痛薬の分析で内標比が機種間で変動したことは、検出器の波長のばらつきによるものと考えられ、波長設定については十分考慮する必要がある。

以上から液体クロマトグラフ法においては総合的な機器管理が重要と思われ、また、操作条件については、機器由来の変動に左右されない頑健性が必要であると考えられた。

示差走査熱量計 (Differential Scanning Calorimeter) による 成形パップ剤中の水の状態分析

Analysis of Water in Poultice by
Differential Scanning Calorimeter

○山越敏明 鷹田裕子 横井秀輔
Toshiaki YAMAKOSHI Yuko TAKATA Hideharu YOKOI

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

製剤中の水分は薬物の安定性や錠剤の硬度などに影響を及ぼす重要な因子である。水性貼付剤であるパップ剤の賦形薬は、高分子化合物や、グリセリンなどの保湿成分及び水から構成され、特に含水率に関しては他の製剤に比較してきわめて多く、少ないものでも約40%、多いものでは80%近い製剤がある。パップ剤は、湿布薬の別名がある通り、水の蒸発時の気化熱によって炎症部位を冷却することや、経皮吸収製剤としては角質層の軟化により薬物の経皮吸収を促進することなど、水分が重要な役割を持つ製剤である。今回は、パップ剤中のこの水分子に注目し、示差走査熱量計 (Differential Scanning Calorimeter、以下DSC) を用いて熱分析を行うことによって、膏体中での水分子の結合状態を調べることにより、若干の知見を得たので報告する。

DSC装置は試料と標準試料とを同時にかつ精密に制御しながら温度変化させて、ある温度における物質の凝固、融解や結晶の相変化などによる吸熱や発熱を、標準試料との温度差として検知し、熱量を電気信号として出力する装置である。

医療品に関してはTG(熱重量測定)やDTA(示差熱量計)を用いた分析は多くの報告がなされているが、DSCを用いた分析は特にパップ剤に関しては報告されていない。しかしDSCは近年、高分子化学や繊維業界など、素材産業の分野において、熱量を精密かつ簡便に測定できる手段として広く利用されている分析方法である¹⁻²⁾。

実 験 の 部

1. 試料

実験に使用した試料の含水率をTable 1に示す。今回の実験では、含水率30.60%~76.90%までの9種類のパップ剤を調製し試料とした。

2. 実験方法

1) 測定装置

実験に用いた測定装置は、セイコー電子工業製のDSC220C示差走査熱量計およびSSC5000熱分析システムである。

2) DSC測定原理

DSC検出部の構成をFig.1に示す。ヒートシンクは温度プログラムにより、温度コントロールされる。今回の実験では、加温は電熱ヒーター、冷却はガス冷却ユニットを使用した。サンプル、リファレンスの各ホルダーには熱流入面から熱抵抗体を通してヒートシンクの熱が伝わり(あるいは奪われ)、これによりサンプル及びリファレンスの温度が変化する。

各熱抵抗体を通る熱量は各熱抵抗体の両端、つまり熱流入面と各ホルダーでの温度差に比例する。ここでヒートシンクは精密に温度制御されているため熱流入面での温度は均一になっている。したがって、サンプルホルダー及びリファレンスホルダーに流れる熱量の差は両ホルダーでの温度差に比例する。これを熱電対で検知し、DSC信号として出力する。

3) 実験操作

- ①パップ剤の膏体を削り取り、約50mgを精秤しアルミニウム容器に入れ、試料とした。
- ②試料と標準試料(α -アルミナ)とをDSC内のそれぞれのホルダーに固定した。
- ③下記の温度プログラムに従って温度をスキニングさせて測定を行った。

降温	→	- 50℃	→	20℃
- 2℃/min				+ 2℃/min

3. 測定項目

得られた各試料のDSCチャートのピークの温度、面積(発熱量及び吸熱量)を読み取り、また、得られたチャートのピーク形状を解析した。今回使用した試料のパップ剤膏体の場合はFig.3~Fig.6に示すように降温時に1~2カ所、昇温時に1カ所ずつのピークが観察された。

結果及び考察

調製した試料は含水率のほか、賦形薬や有効成分もそれぞれ異なるが、今回は主に含水率に注目し、以下の考察を行った。

1. パップ剤中の水分の凝固点降下

Fig.7に20℃から-50℃まで温度を降下させたときのDSCチャートを示す。横軸に温度、縦軸に熱量をプロットした。数値はそれぞれの試料の含水率を示す。曲線は上向きに1~2箇所のピークが観察されることから、水の凝固による発熱のピークと考えることができる。

Table 1 試料膏体中の含水率及びDSC測定結果

サンプル	含水率 [%]	ピーク温度 [°C]			ピーク面積 [mJ/mg]	
		降温時①	降温時②	昇温時	降温時①	降温時②
1	30.6	-40.98		-28.58	-19.1	
2	32.7	-36.71		-22.96	-34.4	
3	47.6	-28.15		-15.80	-78.4	
4	54.3	-20.30		-10.53	-118.2	
5	59.5	-14.98		-6.77	-129.7	
6	61.4	-17.47		-7.96	-117.7	
7	69.2	-15.58		-8.14	-150.0	
8	72.9	-6.00	-4.32	1.65	-231.1	-22.6
9	76.9	-5.40	-4.70	1.90	-208.1	-44.8

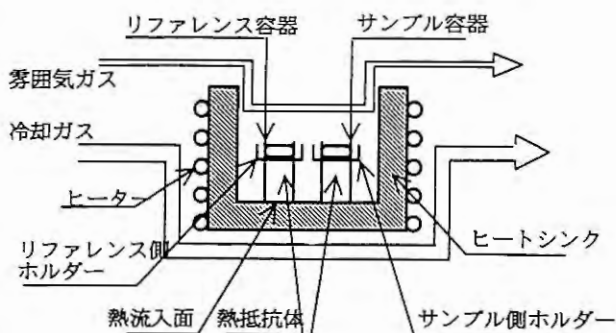


Fig.1 DSC検出部の構造

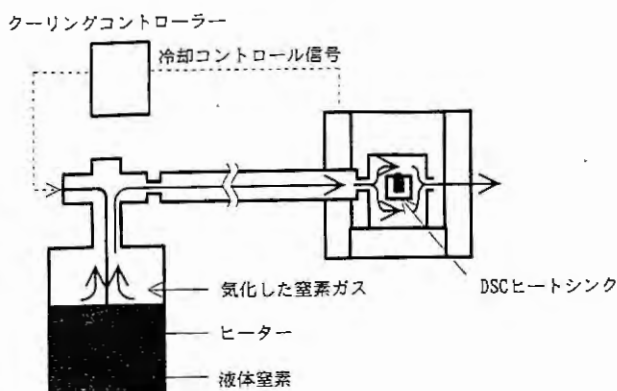


Fig.2 DSCとガス冷却ユニット

DSC

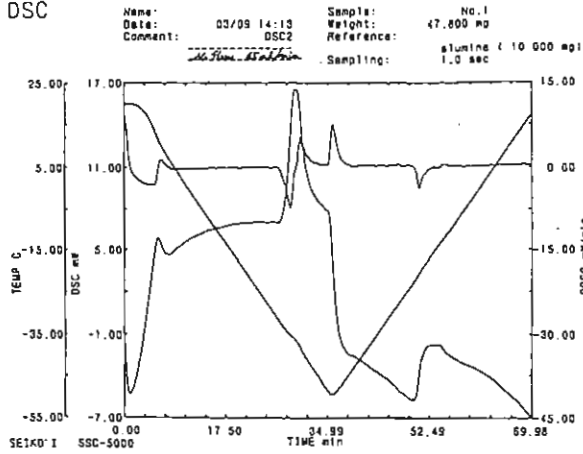


Fig.3 含水率30.6%の試料のDSCチャート

DSC

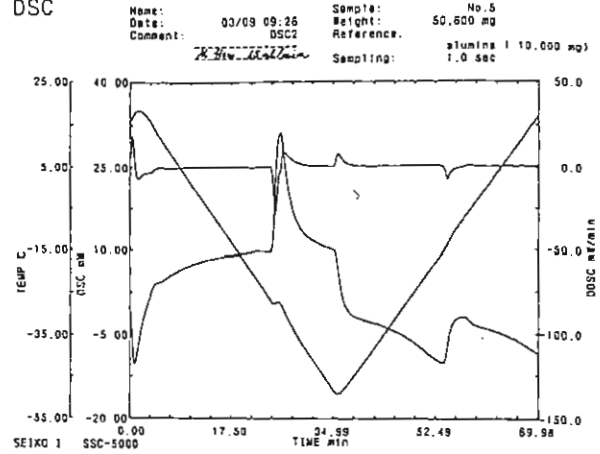


Fig.4 含水率47.6%の試料のDSCチャート

DSC

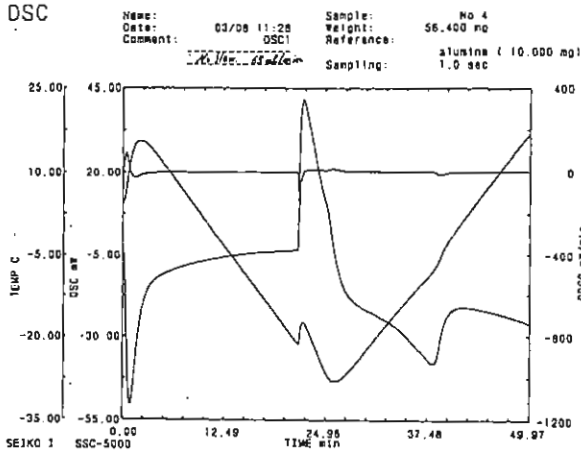


Fig.5 含水率61.4%の試料のDSCチャート

DSC

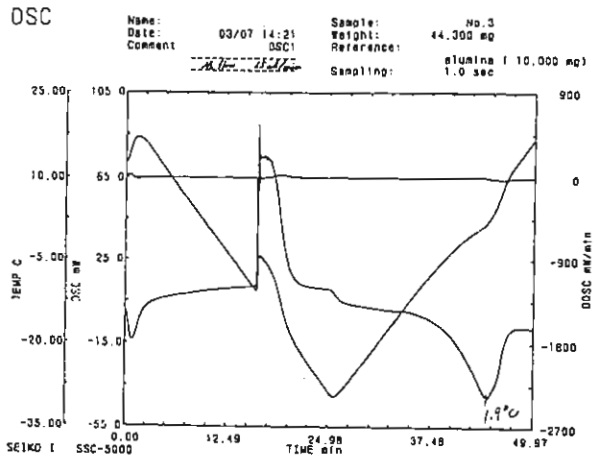


Fig.6 含水率54.3%の試料のDSCチャート

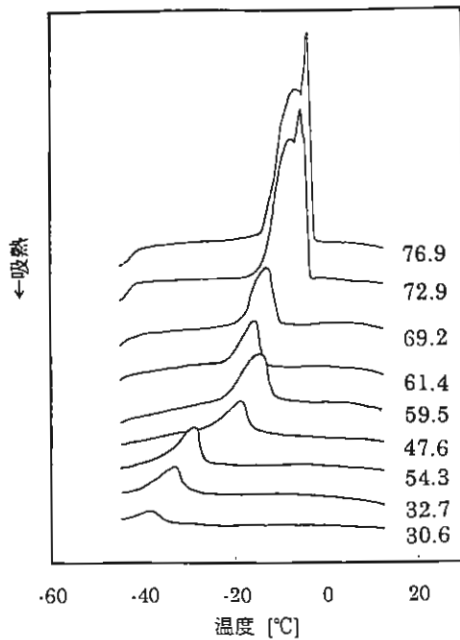


Fig.7 降温時のDSCチャート

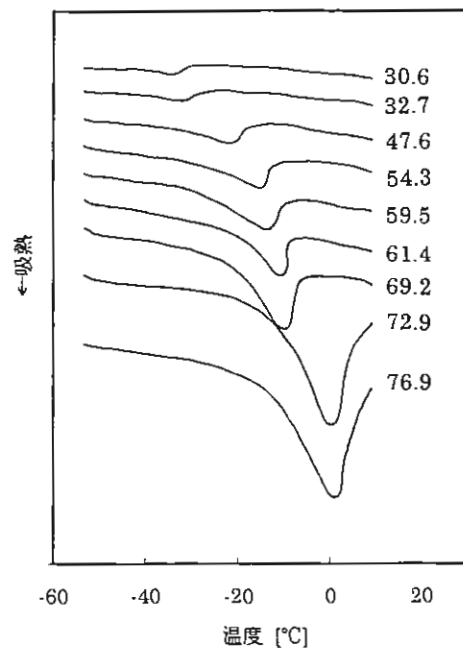


Fig.8 昇温時のDSCチャート

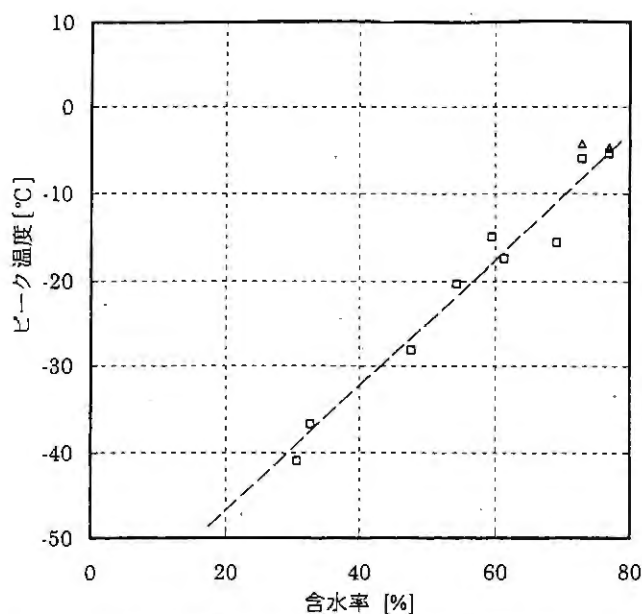


Fig.9 膏体の含水率と凝固温度の関係

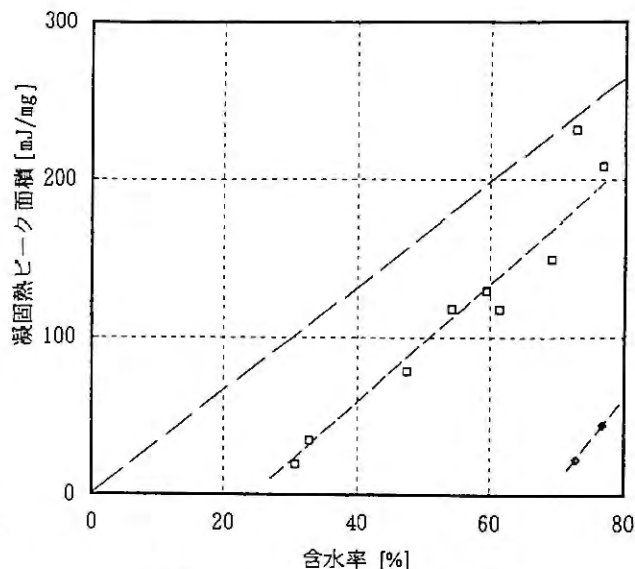


Fig.10 膏体の含水率と凝固熱量の関係

含水率30.6%の試料では-40℃付近にブロードな発熱ピークが認められるが、含水率76.9%と72.9%の試料では-4℃~-6℃にシャープな発熱ピークが認められた。含水率と凝固温度の関係をFig.9に示した。凝固温度はいずれの試料でも0℃よりも低く、含水率が低い試料ほど凝固温度が低くなっていく傾向が認められる。

これらの結果から、パップ剤中の水分のほとんどは自由水の状態ではなく、束縛水（細孔内や、高分子ミセル内に存在し、水と接している他の物質との相互作用が水分子同士の相互作用に比べて無視できない状態）であると考えられる。賦形薬、特に高分子と水との相互作用によって水分が束縛され、含水率が低い膏体ほど、相対的に賦形薬からの作用が大きく、より強く束縛されているためと考えられる。

Fig.8に昇温時のDSCチャートを示す。曲線は下向きの吸熱ピークとなっている。この場合も含水率の低下に伴った凝固温度の変化といった、降温時と同様の傾向が見られたが、吸熱ピークの温度（融解温度）が相対的に高くなり、ピーク形状はブロードになっている。また、含水率の高い試料で見られたシャープなピークは認められなかった。

凝固点がこのように降下する要因としては、保湿剤として使用しているグリセリンなどの影響による凝固点降下も一部考えられるが、グリセリンによる凝固点降下よりも更に低い温度となっていることから、賦形薬と水との強い相互作用の影響があるものと考えられる。

2. 凝固熱量の減少

含水率と降温時のピーク面積（凝固熱量）の関係をFig.10に示す。含水率が低い試料ほど凝固熱量は小さくなる傾向が観察された。しかしいずれの試料においても、発熱量は膏体中の水分がすべて凝固したと仮定した場合の熱量よりも小さく、今回使用した温度範囲では凝固しない水（凝集していない水分子、分子状の水分子）の存在が推察される。

3. 膏体中の水分の束縛状態の分類

含水率が70%以上の試料の降温時のDSCチャートにおいてピークが2箇所見られた (Fig.7)。これらのピークのうち、よりシャープなピークはその形状と、凝固温度が比較的0℃に近いことから、膏体との相互作用をあまり受けていない「自由水」のピークと考えられる。温度が0℃より若干低くなる原因としては溶質による凝固点降下が考えられる。

次に、自由水よりもブロードな形状のピークは含水率が低いほど凝固点がる傾向から、膏体、特に賦形薬中の高分子に相互作用を受けている「束縛水」と考えると考えることができる。

また、膏体中の自由水と束縛水による凝固熱量の和は膏体中の全水分の凝固熱量より低いことから自由水、束縛水以外の水の結合形態の存在が予想される。すなわち、高分子などの賦形薬により凝固しない水分、「分子状の水分子」の存在が予想され、分子状の水分子は水分子同士の凝集力よりも強い作用を受けているものと考えられる。

ま と め

繊維のDSC分析によって、親水性高分子に吸着した水の結晶化及び融解現象から、自由水と束縛水及び不凍水に分類できることが明らかにされている^{3)~6)}。本研究の結果、パップ剤の膏体においてもDSC分析によってピークの形状から凝固熱量を調べることにより、個々の水分の割合を推定できると考えられる。また、それぞれの膏体中の水分の状態を、自由水、束縛水及び分子状の水の3種類に分類できることが明らかである。

製剤としては、冷感タイプのパップ剤では揮発しやすい、弱い束縛水が好ましく、逆に温感タイプでは、より強く束縛された状態が好ましいと考えられる。

謝 辞

本研究に対し、ご懇篤なご指導を賜りました富山大学教育学部教授の手塚昌郷先生に深く感謝致します。

文 献

- 1) 齊藤安俊；“物質科学のための熱分析の基礎”、共立出版（1990）。
- 2) 西本右子、市村 裕、寺本芳彦；熱測定、17、66（1990）。
- 3) 石切山一彦、十時 稔；第23回熱測定討論会要旨集、188（1987）。
- 4) 石切山一彦、坂本 厚、十時 稔；第26回熱測定討論会要旨集、44（1990）。
- 5) 長田義仁；化学と工業、43、80（1990）。
- 6) 中村邦雄；ぶんせき、10、834（1994）。