

外用剤配合生薬成分のマウス即時型および 遅延型アレルギーに対する作用について

Effects of traditional medicines used in poultice on immediate and delayed type allergy models in mice.

塩田 聡 木村 隆仁 勇伊 実
Satoshi SHOTA Takahito KIMURA Minoru YUUI
テイカ製薬株式会社 研究所
Research Laboratory, Teika Pharmaceutical Co. Ltd.

緒 言

近年、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、スギ花粉症に代表されるアレルギー性鼻炎などのいわゆるアレルギー性疾患の患者数は増加傾向にある。これら疾患はI型アレルギー反応およびそれに続発するアレルギー性炎症反応が複雑に関与しており、この反応制御を目的として、現在までに多くの抗アレルギー薬が登場している。しかし、その一方で、いくつかの和漢薬もアレルギー治療に対して用いられている。

今回、我々は即時型および遅延型アレルギーモデルについて検討し、外用剤に配合されている生薬成分の中から、好酸球の遊走因子であるエオタキシンの産生抑制作用を有するサンショウ¹⁾と毛細血管透過性抑制作用を有するセイヨウトチノミ²⁾の2つを選択し、アレルギー性浮腫および感作成立過程における抗体産生に対する作用を検討した。

実験の部

1. 実験材料

1) 供試動物

ddY系およびICR系雄性マウス(5, 6週齢)を用いた。動物は温度22~25°C、湿度40~60%および照明時間12時間/日(6:00~18:00)に管理された飼育室で1ケージ当たり10匹以内収容、飼育した。固型飼料(ラボMRストック)および水道水は自由に摂取させた。

2) 被験薬剤

サンショウ軟エキス(アルプス薬品工業株)、セイヨウトチノミエキス(日本粉末薬品株)、塩酸ジフェンヒドラミン(和光純薬工業株)、デキサメタゾン(ナカライテスク株)

3) 試薬

DNP-Ascaris およびDNP-ovalbumin は、株エル・エス・エルから、マウスIgG検出キットはハーランセララボ社から、モノクローナル抗マウスIgE抗体はセロテック社から購入し、その他の試薬は和光純薬工業株より購入した。

2. 実験方法

1) DNP-Ascaris による即時型アレルギー³⁾

ICR系マウス(♂, 6週齢)の尾根部を電気バリカンで除毛した。DNP-Ascaris 10 μ gを含むフロイント完全アジュバント(以下FCAと略記)との混合による油中水型エマルジョンを尾根部に皮内注射し、その7日後に2回目の感作を同様に行った。2回目の感作の7日後にマウスの右耳介の厚さをエーテル麻酔下シクネスゲージで測定し前値とした。次いで、1%ジニトロフルオロベンゼン溶液をマウス右耳介に塗布し、アレルギー反応を誘発した。抗原塗布1時間後、耳介の厚さを惹起前同様に測定して前値との差(肥厚値)を算出し、アレルギー反応の指標とした。また、被験薬剤は0.5%メチルセルロースに懸濁してアレルギー反応誘発1時間前に経口投与し、投与量はジフェンヒドラミン40mg/kg、サンショウ軟エキスおよびセイヨウトチノミエキス200mg/kgとした。

2) 塩化ピクリルによる遅延型アレルギー⁴⁾

ICR系マウス(♂, 6週齢)の腹部を電気バリカンおよびシェーバーを用いて約20×20mmの大きさに除毛した。7%塩化ピクリルエタノール溶液0.1mLをガラス棒で腹部除毛部位に様に塗布し、その8日後に2回目の感作を同様に行った。2回目の感作の4日後にマウスの右耳介の厚さをエーテル麻酔下シックスゲージで測定し前値とした。次いで、1%塩化ピクリル溶液を右耳介に塗布し、アレルギー反応を誘発した。抗原塗布24時間後、耳介の厚さは惹起前同様に測定して前値との差(肥厚値)を算出し、アレルギー反応の指標とした。また、被験薬剤は0.5%メチルセルロースに懸濁してアレルギー反応誘発直後に経口投与し、投与量はデキサメタゾン0.5mg/kg、サンショウ軟エキスとセイヨウトチノミエキスは100および200mg/kgとした。

3) 抗体価測定

抗DNP-IgG抗体価は、Enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA)を用いて測定した⁵⁾。マイクロプレートの各ウェル内に0.05M Carbonate-bicarbonate buffer (pH 9.6)で希釈したDNP-ovalbumin (1μg/mL)を100μL加え、4℃で一晩固相化させた。

0.05%Tween-20を含むPBS(以下PBSTと略記)で洗浄後、1%BSAを含むPBS200μLを加え、室温でブロッキングした。PBSTで洗浄後、0.1%BSAを含むPBSで一律2,000倍希釈した血清を室温で1時間反応させた。PBSTで洗浄後、0.1%BSAを含むPBSで希釈したビオチン標識抗マウスIgGを室温で1時間反応させPBSTで洗浄後、PBSTに希釈したペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを室温で1時間反応させた。その後、PBSTで洗浄し、H₂O₂/o-フェニレンジアミンを加えて発色させ、2N H₂SO₄で反応停止後、OD490で吸光度を測定し、その値を各血清検体の抗DNP-IgG抗体価とした。

総IgE抗体価は、サンドイッチELISAを用いて測定した。マイクロプレートの各ウェル内に抗マウスIgEモノクローナル抗体(1μg/mL)加え、4℃で一晩固相化した。0.05%Tween-20を含むTBS(50mMTris/150mM NaCl/pH7.6)で洗浄後、1%BSAを含むTBSを加え、室温で1時間ブロッキングした。0.05%Tween-20を含むTBS(以下TBSTと略記)で洗浄後、0.1%BSAを含むTBSで一律に希釈した血清を室温で2時間反応させた。TBSTで洗浄後、ビオチン標識抗マウスIgEモノクローナル抗体を室温で1時間反応させ、以降は特異的IgG抗体価測定と同様に行った。

4) 追加感作応答による抗体産生

ICR系マウス(♂, 5週齢)にDNP-Ascaris10μgを水酸化アルミニウムゲル(以下ALUMと略記)4mgとともに腹腔内投与することにより感作した。その7日後に2回目の感作を同様に行った。初回感作の6日後に群分けを行い、この日から被験薬剤を初回感作の13日後まで連日1日1回経口投与し、その投与量はデキサメタゾン10mg/kg/日、サンショウ軟エキスおよびセイヨウトチノミエキス200mg/kgで行った。また、初回感作前と初回感作の6日後および14日後に尾静脈より採血し、分離した血清は測定まで-20℃に保存した。

5) データ解析

各群ごとの平均値±標準偏差を求めデータとして表し、統計学的検討は基剤群と他の薬剤群との比較をDunnettの多重比較検定を用いて行い、p<0.05を有意差ありとした。

実験結果

1. DNP-Ascarisによる即時型アレルギー

未感作群、FCA感作群およびALUM感作群について比較した。両感作群とも14日目まで抗DNP-IgG抗体価の上昇が認められ (Fig. 1)、抗原塗布による耳介肥厚は誘発後1、2時間でピークに達する即時型の反応を示した (Fig. 2)。薬物の検討は、FCA感作したマウスを用い抗原塗布1時間目で評価した。

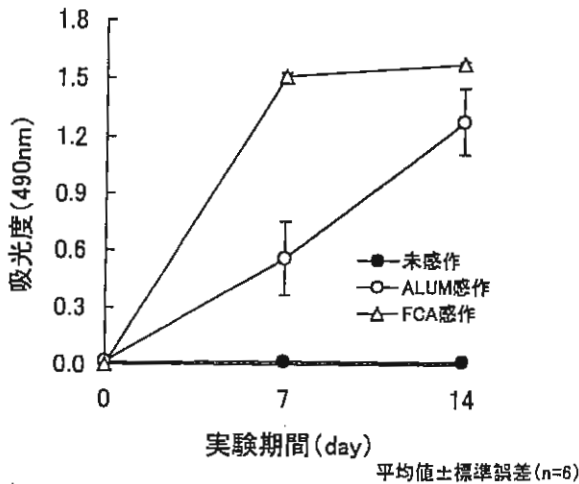


Fig. 1 抗DNP-IgG抗体価

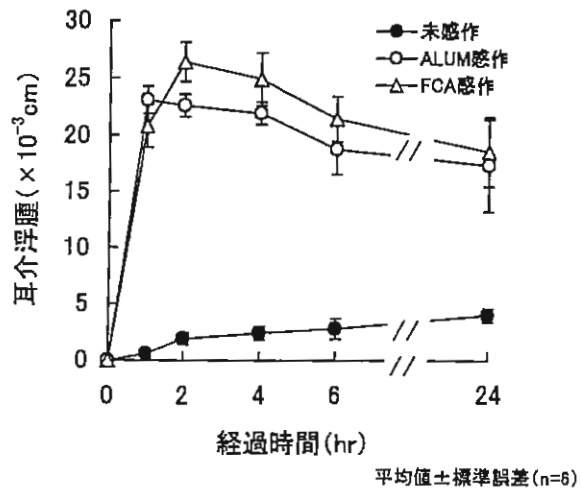


Fig. 2 耳介肥厚推移

2. 塩化ピクリルによる遅延型アレルギー

マウス系統による反応性の差についてddY系とICR系を用いて比較検討した。抗DNP-IgG抗体価に関しては、両系統間に大きな差は認められなかった (Fig. 3) が、抗原塗布による耳介肥厚はICR系に強い反応性が認められた (Fig. 4)。薬物の検討は、ICR系のマウスを用い抗原塗布24時間目で評価した。

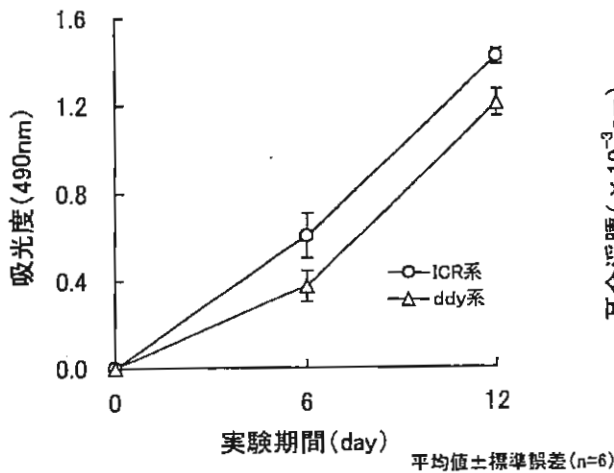


Fig. 3 抗DNP-IgG抗体価

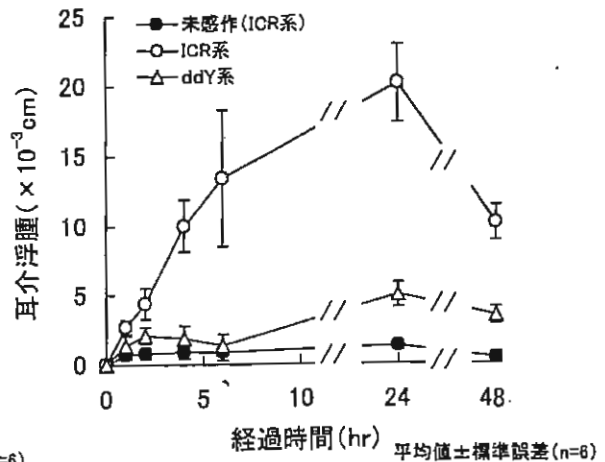


Fig. 4 耳介肥厚推移

3. 即時型アレルギーに対する効果

基剤投与群と比較して、ジフェンヒドラミン投与群に有意な抑制が認められたが、サンショウ軟エキスおよびセイヨウトチノミエキス投与両群に統計学的な有意差は認められなかった (Fig. 5, *: $p < 0.05$)。

4. 遅延型アレルギーに対する効果

基剤投与群と比較して、デキサメタゾン投与群に有意な抑制が認められたが、サンショウ軟エキスおよびセイヨウトチノミエキス投与両群に統計学的な有意差は認められなかった (Fig. 6, **: $p < 0.01$)。

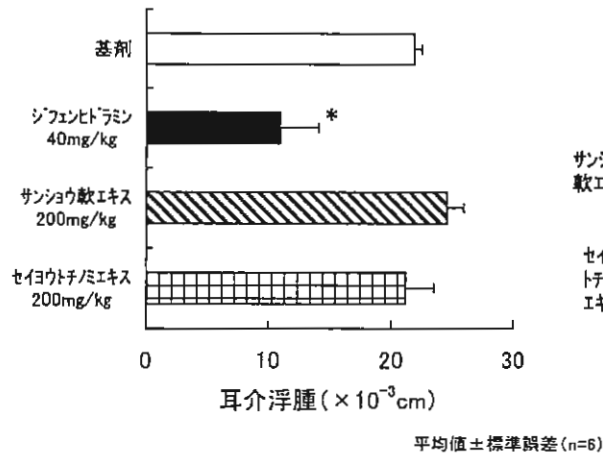


Fig. 5 即時型アレルギーに対する作用

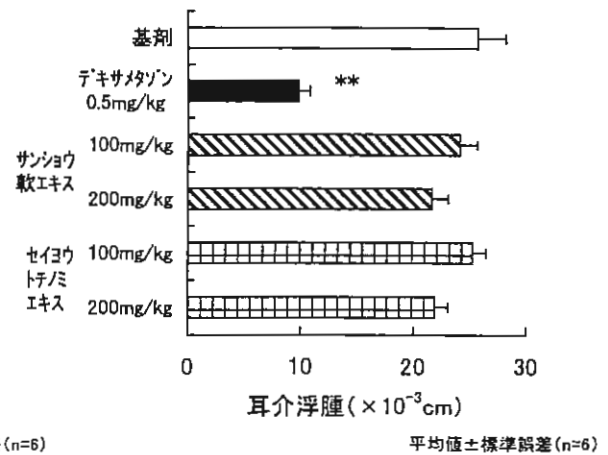


Fig. 6 遅延型アレルギーに対する作用

5. 追加感作応答による抗体産生に対する効果

アジュバントである水酸化アルミニウムゲルのみの感作処置では実験期間中で各抗体価上昇は認められなかった。それに対して、DNP-Ascarisを含む水酸化アルミニウムゲルで感作したマウスは追加感作前日の6日目の時点で各抗体価の上昇が認められ、基剤投与群では追加感作後さらに各抗体価の上昇が確認された。追加感作後の総IgE抗体価に関してはデキサメタゾン投与群に有意な抑制が認められ、セイヨウトチノミエキス投与群に弱い抑制傾向が認められたものの統計学的に有意なものではなかった (Fig. 7, *: $p < 0.05$)。また、追加感作後の抗DNP-IgG抗体価についてもデキサメタゾン投与群に有意な抑制が認められたが、サンショウ軟エキスおよびセイヨウトチノミエキス両投与群に抑制作用は認められなかった (Fig. 8, *: $p < 0.05$)。

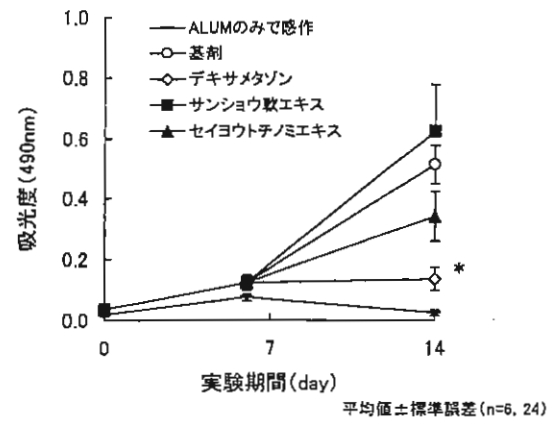


Fig. 7 総IgE抗体価

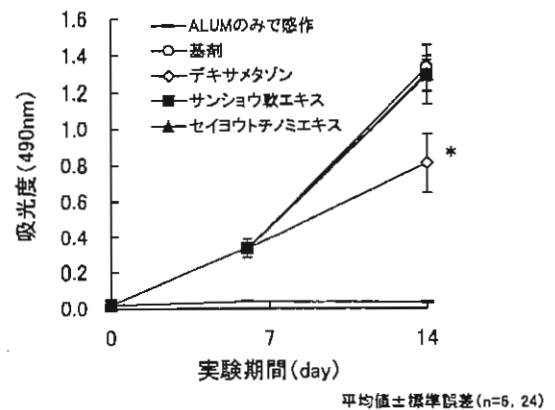


Fig. 8 抗DNP-IgG抗体価

考 察

アレルギー疾患の根本治療には、抗原の回避・除去や減感作（免疫）療法などがあげられるが、日常の診療においては効果の有効性、確実性から薬物療法が主流となっている。

我々は、外用剤に配合されている生薬成分で緒言にも述べたように、抗アレルギー作用が期待されるサンショウ軟エキスおよびセイヨウトチノミエキスについて、マウスを用いた即時型・遅延型のアレルギーモデルおよび抗体産生能に対する薬効を評価した。

その結果、即時型および遅延型アレルギーに対して今回用いた用量においては両エキスとも統計学的に有意な抑制は認められなかった。しかし、遅延型アレルギーにおいては弱い抑制傾向が観察された。この抑制傾向が薬物自身の抗アレルギー作用によるものであるのか、毒性による生体反応の低下に起因するものであるのか今回の検討のみでは明確にならなかった。

また、追加免疫応答による抗体産生に対しては、総IgE抗体価においてセイヨウトチノミエキス投与群に弱い抑制傾向が認められた。IgE抗体は即時型アレルギーにおいて重要な役割を果たしていることから、このような選択的IgE抑制はアレルギーの治療と予防の両面からも有効であると考えられた。

今回の実験で用いた2種の生薬成分には明確な作用は確認できなかったが、即時型・遅延型アレルギーおよび抗体産生能に対して抑制作用を有する可能性のある他の生薬成分について今後も調査・検討していく予定である。

参 考 文 献

1. 中島敏治, 平井浩一, 小松靖弘他, 柴朴湯のエオタキシン産生抑制成分の検討, 和漢医薬学雑誌, 15(5), 448-449 (1998)
2. Matsuda H., Li Y., Murakami T. etc, Effects of escins Ia, Ib, Iia, and Iib from horse chestnut, the seeds of *Aesculus Hippocastanum* L. on acute inflammation in animals., *Biol. Pharm. Bull.*, 20(10), 1092-5 (1997)
3. Naito K., Hirayama M., Okumura K. etc, Soluble form of the human high-affinity receptor for IgE inhibits recurrent allergic reaction in a novel mouse model of type I allergy., *Eur. J. Immunol.*, 25, 1631-7 (1995)
4. 夏梅俊之助, 右田俊彦, 免疫実験操作法A (日本免疫学会編), 1972, 614-620

標準品の安定性 (第3報)

— バルバロイン・塩化ベルベリン —

Studies on Stability of Standard in Solvent (III)

- Barbaloin • Berberine Chloride -

富山県薬事研究会分析部会 (標準品の安定性分科会)

Division of Analytical Chemistry

Toyama Pharmaceutical Research Association

小 中 宏 子	㈱内山薬品商会
Hiroko KONAKA	Uchiyama medicine Co.,Ltd.
永 井 喜 美	㈱延寿堂
Kimi NAGAI	Enjudo Co.,Ltd.
佐 賀 一 典	㈱廣貫堂
Kazunori SAGA	Kokando Co.,Ltd.
松 原 健	㈱富士薬品
Ken MATSUBARA	Fuji Medicine Co.,Ltd.
市 井 満美子	救急薬品工業㈱
Mamiko ICHII	Kyukyu Pharmaceutical Co.,Ltd.
浜 谷 紀代美	共栄製薬㈱
Kiyomi HAMATANI	Kyoei Pharmaceutical Co.,Ltd.
石 原 珠 貴	キョクトウ㈱
Tamaki ISHIHARA	Kyokuto Co.,Ltd.
関 野 明 子	第一薬品㈱
Akiko SEKINO	Daiichi Medicine Co.,Ltd.
塚 田 洋 一	第一薬品工業㈱
Yoichi TSUKADA	Daiichi Pharmaceutical Co.,Ltd.
松 平 薫	大協薬品工業㈱
Kaoru MATSUHIRA	Taikyo Pharmaceutical Co.,Ltd.
佐々木 千 恵	大光薬品㈱
Chie SASAKI	Taikou Pharmaceutical Co.,Ltd.
中 屋 華 子	大和製薬㈱
Hanako NAKAYA	Taiwa Pharmaceutical Co.,Ltd.
石 井 雅 恵	鶴居薬品工業㈱
Masae ISHII	Tsurui Pharmaceutical Co.,Ltd.
横 田 洋 一	富山県薬事研究所
Yoichi YOKOTA	Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research

緒 言

アロエは *Aloe ferox* Miller 等の葉の液汁を乾燥したもので、古くから健胃薬、緩下薬として広く使用されており、日本薬局方では、初版以来続けて収載されている。アロエの指標成分であるバルバロインは、第13改正日本薬局方では、TLC法による純度試験が記載されているのみであるが、今回の改正では標準品としての収載も検討される等、重要性は高まってきている。バルバロインはこれまでに、溶液状態での安定化についての報告¹⁾はあるものの、日常的分析時間での安定性については確認されていない。

また、健胃薬や止瀉薬として用いられるオウバクやオウレンの指標成分である塩化ベルベリンについては、溶液状態での安定性は、あまり知られていない。

当分科会では、生薬成分の定量に使用する標準品の有効利用のために、種々の標準品の溶液状態での安定性について検討を行い、これまでにグリチルリチン酸とペオニフロリンの安定性の報告^{2) 3)}を行ってきた。そこで、今回は第3報として、バルバロインと塩化ベルベリンの溶液状態での安定性を検討し、若干の知見を得たので報告する。

実 験

<バルバロイン>

1. 予試験

使用溶媒の違いによりその安定性に差があるか調べるために、6種類の溶媒を選択し、下記の条件で予試験を実施した。

溶媒は、シュウ酸を添加することで異性化が抑制されるという報告¹⁾をもとに、日常よく使用される酸を添加する等した6溶媒を用いることにした。

- 溶 媒：①メタノール ②シュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）
 ③シュウ酸（無水）の水／メタノール混液（1：1）溶液（1→5000）
 ④水／メタノール／リン酸混液（50：50：1）
 ⑤ギ酸のメタノール溶液（1→5000） ⑥アセトニトリル

試料濃度：1 mg/mL

標準品：シグマ社製 バルバロイン

保存形態：無色アンプル管に充填・密封し、アルミホイルにて遮光した。

保存温度：-25℃、60℃

保存期間：2週間

試験方法：薬事研究会バルバロイン分科会が設定した方法⁴⁾を準用した。

試験項目：比吸光度、純度試験（TLC法、HPLC法）

保存期間終了後、比吸光度及び純度試験（TLC法）は-25℃保存品を対照として、また純度試験（HPLC法）は調製直後の溶液を対照として、各試験項目における変化を調べた。

2. 短期安定性試験

アロエ配合剤中のバルバロインの定量試験は、通常、目的成分以外のピークの溶出が遅いために分析時間が長く、検体数をこなすには長時間を要する。そこで日常的分析時間中での標準溶液の安定性を把握するために、温度制御が可能なオートサンプラー（Waters717plus）を用いて、試料を一定温度に保存しながら、8時間毎、3日間の経時変化を調査した。なお、試験は薬事研究所で実施した。

1) 試料の調製及び保存条件 以下に示すものの他は予試験の項目に同じ。

溶 媒：①シュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000） ②メタノール（①の対照）

保存温度：8℃、25℃（Waters717plusにより設定）

保存期間：1～72時間

2) HPLC分析条件 次に示すものの他は前述のバルバロイン定量法を準用した。

カラム：L-ColumnODS（φ4.6mm×15cm）

流量：バルバロインの保持時間が10分になるよう調整（上記カラムで0.5mL/min）

注入量：10μL

3. 長期安定性試験

予試験及び短期安定性試験の結果より、バルバロインの含量低下の原因であるイソバルバロインへの異性化は温度依存性であることがわかった。そこで、より低温における、バルバロインのシュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）中での長期安定性試験を下記の条件及び計画表（Table 1）に基づき実施した。

1) 試料の調製及び保存条件 以下に示すものの他は予試験の項目に同じ。

溶媒：シュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）

保存温度：-80℃、-20℃、-16℃（冷凍庫に対応）、5℃（冷蔵庫に対応）

保存期間：0～12週間

2) HPLC分析条件 短期安定性試験に同じ。

ただし、試験実施中は、試料を8℃に設定したオートサンプラー（Waters717plus）中で保管した。

<塩化ベルベリン>

1. 予試験

使用溶媒の違いによりその安定性に差があるか調べるために、3種類の溶媒を選択し、予試験を行った。

溶媒：①メタノール ②メタノール/希塩酸混液（100：1） ③エタノール（99.5）

試料濃度：1mg/mL

標準品：和光純薬工業株式会社製 生薬試験用塩化ベルベリン標準品

保存形態：無色アンプル管に充填・密封し、アルミホイルにて遮光した。

保存温度：-25℃、60℃

保存期間：2週間

試験方法：第12改正日局成分含量測定用塩化ベルベリンの試験方法を準用した。

試験項目：比吸光度、純度試験（TLC法、HPLC法）

保存期間終了後、-25℃保存品を対照として、各試験項目における変化を調べた。

保存期間(週)	0	4	8	12
-80℃	○	○	○	○
-20℃		○	○	○
-16℃		○	○	○
5℃		○	○	○

Table 1 バルバロインの長期安定性試験計画表

保存期間(月)	0	1	3	6	12	18
-25℃	○					
5℃						○
25℃			○			○
40℃		○	○	○	○	

Table 2 塩化ベルベリンの長期安定性試験計画表

2. 長期安定性試験

予試験で塩化ベルベリンは溶液状態でかなり安定であるとの推定より、下記の条件及び計画表（Table 2）に基づき長期安定性試験を実施した。

1) 試料の調製及び保存条件 以下に示すものの他は予試験の項目に同じ。

溶媒：メタノール

保存温度：-25℃、5℃、25℃、40℃

保存期間：0～18ヶ月

2) HPLC分析条件 次に示すものの他は予試験と同様に行った。

カラム：CAPCELL-PAK C18 SG120 (φ4.6mm×25cm)

Mightysil RP-18GP (φ4.6mm×25cm)

結 果

<バルバロイン>

1. 予試験

予試験の結果をTable 3及びFig. 1に示す。

60℃、2週間の結果は②シュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）のものが、他の溶媒に比べて安定であった。又、同時に試験した比吸光度（E値）及びTLCにも同様の結果が得られた。

そこで、以降の試験には②シュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）を用いることにした。

	①メタノール		②シュウ酸（無水） メタノール溶液 (1→5000)		③シュウ酸(無水)の 水/メタノール混液 (1:1)溶液 (1→5000)		④水/メタノール/ リン酸混液 (50:50:1)		⑤ギ酸の メタノール溶液 (1→5000)		⑥アセト ニトリル	
	-25℃	60℃	-25℃	60℃	-25℃	60℃	-25℃	60℃	-25℃	60℃	-25℃	60℃
E 値	255	174	265	253	258	167	266	191	264	206	259	235
TLC 副スポット	○	×	○	×	○	×	○	×	○	×	×	×
		2		1		1		3		1	1	1

*TLC 副スポット 上段 ○：主スポットより副スポットが薄い ×：主スポットより副スポットが濃い
下段 ○：主スポットより濃い副スポットの数

Table 3 バルバロインの予試験結果

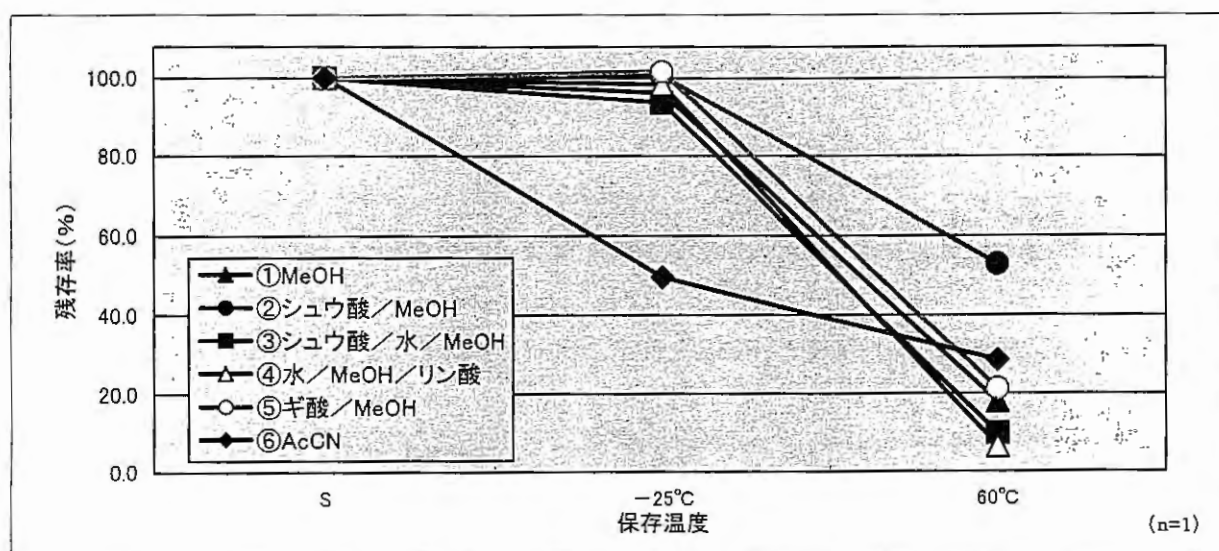


Fig.1 バルバロインの予試験結果

2. 短期安定性試験

25℃においてメタノールを溶媒としたときの調製直後と72時間後のクロマトグラムをFig. 2に示す。また、各保存温度におけるバルパロイン及びバルパロインの立体異性体であるイソバルパロインの、3日間の経時変化をTable 4、5及びFig. 3、4に示す。

バルパロインのピーク面積百分率の減少に伴い、バルパロインの前方に現れるイソバルパロインのピーク面積百分率の増加が認められた。また、8℃と25℃では明らかに8℃での結果がよく、シュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）においては、25℃では24時間後には99.0%以下になるのに対し、8℃では72時間後も99.0%以上の純度を保持した。このことから、安定性は温度に依存することが分かり、長時間にわたり分析する場合には、温度制御可能なオートサンプラーを用いる等してサンプルをできるだけ低温に保つことが望ましいと考えられる。また、対照として用いたメタノールとの差も顕著であった。

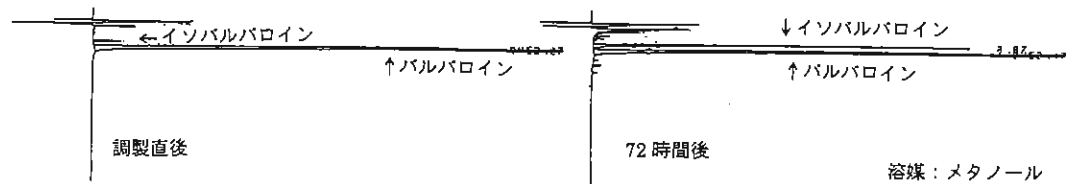


Fig.2 バルパロインの短期安定性試験（25℃）におけるクロマトグラム

経過時間（時間）		0	8	16	24	32	40	48	56	64	72
シュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）	バルパロイン	99.408	99.419	99.380	99.434	99.311	99.295	99.289	99.230	99.206	99.247
	イソバルパロイン	0.513	0.518	0.554	0.566	0.603	0.611	0.629	0.621	0.634	0.662
メタノール	バルパロイン	99.417	99.016	98.694	98.213	97.838	97.668	97.392	97.017	97.090	96.535
	イソバルパロイン	0.510	0.914	1.306	1.723	1.912	2.100	2.306	2.432	2.491	2.860

*面積百分率（%） (n=1)

Table 4 バルパロインの短期安定性試験結果（8℃）

経過時間（時間）		0	8	16	24	32	40	48	56	64	72
シュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）	バルパロイン	99.490	99.303	99.125	98.918	98.842	98.722	98.574	98.195	98.047	98.163
	イソバルパロイン	0.511	0.642	0.766	0.914	1.069	1.171	1.294	1.474	1.549	1.666
メタノール	バルパロイン	99.348	97.268	96.000	95.265	92.463	92.461	92.564	90.582	90.910	90.793
	イソバルパロイン	0.500	2.465	3.524	4.021	6.259	6.034	5.935	7.376	7.021	6.977

*面積百分率（%） (n=1)

Table 5 バルパロインの短期安定性試験結果（25℃）

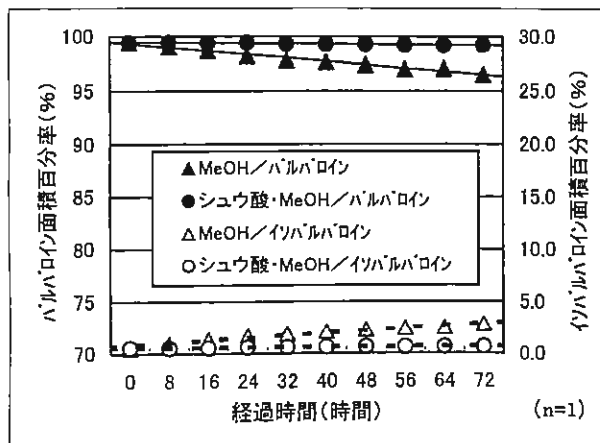


Fig. 3 バルパロインの短期安定性試験結果（8℃）

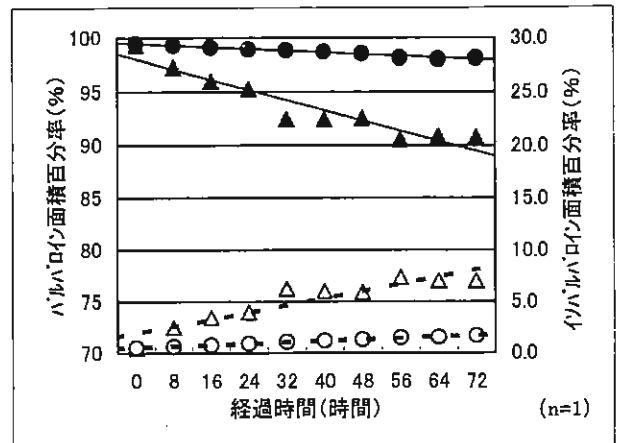


Fig. 4 バルパロインの短期安定性試験結果（25℃）

3. 長期安定性試験

バルバロインのシュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）中における長期安定性の結果をTable 6、Fig. 5に示す。5℃保存では、4週間後には面積百分率が99.0%以下となり、報告¹⁾ほど安定ではなかった。しかし、-16℃以下の保存ではほとんど変化はなく、溶媒がシュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）であれば、12週間は99.0%以上の純度が保持されることが分かった。

<塩化ベルベリン>

1. 予試験

予試験の結果をTable 7に示す。

60℃、2週間ではすべての溶媒において面積百分率の低下が認められず、99.0%以上の結果を得た。また、同時に試験した比吸光度（E値）及びTLCにも変化は認められなかった。そこで、長期安定性試験の溶媒は日局で用いられているメタノールを採用することにした。

2. 長期安定性試験

塩化ベルベリンのカラム選定時のクロマトグラムをFig. 6に示す。

また、長期安定性試験の結果をTable 8に示す。

全ての温度において99.0%以上の純度を保持した。また、比吸光度（E値）及びTLCにも変化は認められず、劣化はないものと判断できた。

保存期間 (週)	0	4	8	12
-80℃	99.413	99.397	99.428	99.388
-20℃	99.413	99.331	99.352	99.303
-16℃	99.413	99.344	99.205	99.281
5℃	99.413	98.808	98.048	97.63

(n=1)

Table 6 バルバロインの長期安定性試験結果

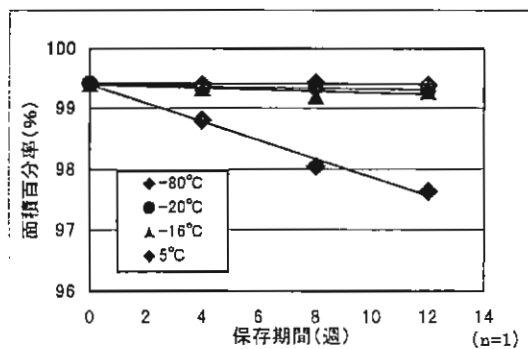


Fig.5 バルバロインの長期安定性試験結果

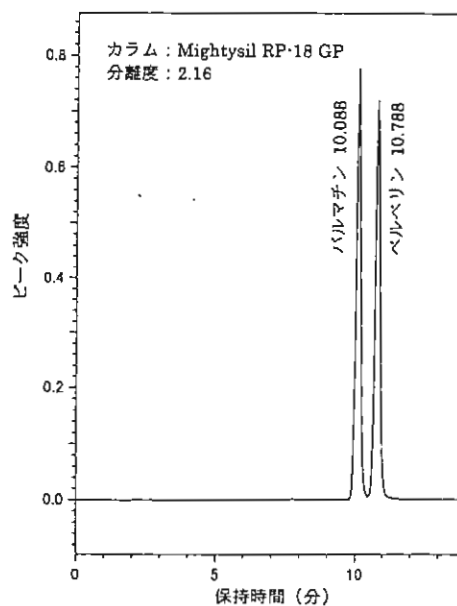


Fig.6 塩化ベルベリンのクロマトグラム

溶 媒	①メタノール		②メタノール/希塩酸混液 (100:1)		③エタノール (99.5)	
	-25℃	60℃	-25℃	60℃	-25℃	60℃
外 観	黄色	黄色	黄色	黄色 (沈殿あり)	黄色	黄色 (僅に沈殿あり)
E 値 (対 -25℃値 (%))	692.2 (100.00)	682.9 (98.66)	645.8 (100.00)	639.9 (99.09)	746.5 (100.00)	750.0 (100.47)
TLC (Rf 値)	0.37	0.37	0.30	0.30	0.34	0.34
副スポット	○	○	△	△	△	△
HPLC 純度	99.37%	99.48%	100.00%	100.00%	99.28%	99.56%

副スポット : ○-----なし △-----標準溶液より薄いスポットあり

Table 7 塩化ベルベリンの予試験結果

保存期間 (月)	0	1	3	6	12	18
-25°C	99.494					
5°C						99.495
25°C			99.501			99.486
40°C		99.480	99.509	99.495	99.485	

(n=4)

Table 8 塩化ベルベリンの長期安定性試験結果

ま と め

<バルバロイン>

1. バルバロインは、溶媒にシュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）を使用することにより、メタノールのみでの溶液保存より良好な安定性を得ることができる。
2. 日常の分析時においては、サンプルをできるだけ一定の低温下に保つことで標準溶液の劣化はかなり抑えることが可能であり、溶媒にシュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）を用いることで、より正確な分析結果を得ることができる。
3. バルバロインが溶液中で不安定である原因と考えられる、イソバルバロインへの異性化は温度依存性である。したがって、溶液の保存温度は冷凍庫内での温度（-16°C）以下が望ましく、低ければ低いほど安定性が増す。溶媒にシュウ酸（無水）のメタノール溶液（1→5000）を使用することにより、低温において、保存期間3ヶ月までは面積百分率で99.0%以上を保持できた。

現時点では3ヶ月分の調査結果しか出ていないが、溶液の保存は継続中であり、より長期における安定性についても調査する予定である。

<塩化ベルベリン>

塩化ベルベリンは、メタノール溶液中では、保存温度による影響をほとんど受けず、極めて安定であり、長期保存が可能である。

参 考 文 献

- 1) 嶋田康男ら, 生薬分析用試薬バルバロインの安定化について, 日本生薬学会第35年会, 23 (1988)
- 2) 小中宏子ら, 標準品の安定性 (第1報) -グリチルリチン酸-, 家庭薬研究, 16, 21-27 (1997)
- 3) 小中宏子ら, 標準品の安定性 (第2報) -ベオニフロリン-, 家庭薬研究, 18, 28-34 (1999)
- 4) 岩城暁子ら, 生薬試験用標準品の規格設定に関する検討 (第九報) バルバロインについて, 家庭薬研究, 16, 28-32 (1997)

直打用医薬品添加物の特性

Properties of Pharmaceutical Excipients for Direct Compression

富山県薬事研究会製剤部会（直打用医薬品添加物分科会）

Division of Pharmaceutics, Toyama Pharmaceutical Research Association

森田 浩司	共栄製薬(株)
Koji MORITA	Kyoei Pharmaceutical Co., Ltd.
富樫 正弘	日本医薬品工業(株)
Masahiro TOGASHI	Nichiiko Pharmaceutical Co., Ltd.
秋元 悟	日本医薬品工業(株)
Satoru AKIMOTO	Nichiiko Pharmaceutical Co., Ltd.
沢田 毅 稔	富士化学工業(株)
Taketoshi SAWADA	Fuji Chemical Industry Co., Ltd.
桜井 利之	富士製薬工業(株)
Toshiyuki SAKURAI	Fuji Pharmaceutical Co., Ltd.
柚木 悦子	富山県薬事研究所
Etsuko YUNOKI	Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research
川筋 透	富山県厚生部薬務食品課
Toru KAWASUJI	Toyama Prefectural Government Health and Welfare Department Pharmaceutical and Food Division

緒 言

直接粉末圧縮法（直打法）は、粉体を直接打錠するため造粒等の製造工程が短縮され、経済的に優れている。そのため欧米では、錠剤製造の約3分の1を直打法で行っており、多くの直打用添加物が研究開発されている。しかし、これら添加物の基礎的な物性を同時に比較した邦文は少ない。

そこで、まず我々は種々の直打用添加物の粉体物性及び打錠時の物性を測定した。そして直打法による成形が困難な薬物の打錠性の改善を目的として、アセトアミノフェンと葛根湯エキス末をモデル薬物として選び、実際に打錠を行いそれらの物性を評価することによって直打用添加物の特性を検討したので報告する。

実 験

1. 実験材料

1) 賦形剤

セルロース系4種類、リン酸カルシウム系3種類、乳糖系6種類の計13種類の賦形剤を用いた。

(1) セルロース系

結晶セルロース（アビセルPH101：旭化成工業）

結晶セルロース（アビセルPH301：旭化成工業）

結晶セルロース（アビセルPH302：旭化成工業）

結晶セルロース（セオラス：旭化成工業）

(2) リン酸カルシウム系

スプレードライ無水リン酸水素カルシウム（フジカリンSG：富士化学工業）

造粒無水リン酸水素カルシウム (リカミットU-100: 協和化学工業)

造粒無水リン酸水素カルシウム (GS: 協和化学工業)

(3) 乳糖系

造粒乳糖 (ルディプレス: BASF)

スプレードライ乳糖 (Pharmatose DCL11: DMV)

結晶乳糖 (β 無水) (Pharmatose DCL21: DMV)

造粒乳糖 (ダイラクトーズS: フロイント産業)

造粒乳糖 (ダブレットーズ80: Meggle GmbH)

スプレードライ乳糖 (FAST-FLO: Formost)

2) 主薬

アセトアミノフェン (岩城製薬)、葛根湯乾燥エキス末-F (アルプス薬品工業)

3) 崩壊剤

カルボキシメチルスターチナトリウム (プリモジェル: 松任化学)

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

低置換ヒドロキシプロピルセルロース (L-HPC LH21: 信越化学工業)

架橋ポリビニルピロリドン (コリドンCL: BASF)

4) 滑沢剤

ステアリン酸マグネシウム (試薬1級: 関東化学工業)

2. 粉体の物性評価方法¹⁾

安息角の測定は注入法、つまり、試料を振動フィーダーを用いながらロートを通して直径4cmの円盤上に落下させ、堆積した円錐の高さから測定する方法を用いた。(n=2~3)

見掛け比容積減少度は、小西製作所RHK型見掛け比容積減少度測定器を用い、タッピングは100回行った。(n=2)

3. 打錠方法

Table 1 実験処方

Table 1 に示した処方に基づき、各成分をポリ袋に入れ、よく混合し、理研精器(株)製P-16打錠機により、直径10mm、試料重量300mgの錠剤を3段階(50・150・250 kg/cm²)の打錠圧について作製した。

なお、葛根湯エキス錠は150kg/cm²で作製した。

	賦形剤	主薬	崩壊剤	滑沢剤
賦形剤 単味	99.5%	—	—	0.5%
主薬 単味	—	99.5%	—	0.5%
賦形剤+主薬	49.5%	50.0%	—	0.5%
賦形剤+崩壊剤	94.5%	—	5%	0.5%
賦形剤+主薬+崩壊剤	44.5%	50.0%	5%	0.5%

4. 錠剤の物性評価方法

錠厚は、テックロック製デジタルゲージを用いて測定した。(n=10) 硬度は、三力製作所製硬度計を用いて測定した。(n=4) 崩壊時間は、日本薬局方に準じ、崩壊試験器(富山産業製 NT-2HS)を用い、試験液は37℃の水を使用した。(n=6) 補助盤については、錠剤によって補助盤に付着する場合があったので、条件を統一する意味で補助盤を使用しないこととした。

結 果

1. 賦形剤単味の特徴

賦形剤単味の特徴を調べるための実験を行った。

1) 粉体の特性

流動性の目安となる安息角は、 43° 以上となると自然流出しなくなり²⁾見掛け比容積減少度は40%を越えたと容器からの自由流動は困難になると言われている。¹⁾安息角と見掛け比容積減少度は、各系によって同様の傾向を示し、リン酸カルシウム系が最も低く流動性が良かった。次いで乳糖系、セルロース系と続いた。(Table 2, Fig. 1, 2)

Table 2 賦形剤単味の粉体特性

賦形剤		安息角 ^{*1} ($^\circ$)	見掛け 比容積減少度 (%)
セルロース系	アビセルPH101	45 \pm 2.0	31.2, 31.0
	アビセルPH301	42 \pm 3.2	33.0, 33.0
	アビセルPH302	42 \pm 1.2	26.0, 26.0
	セオラス	54 \pm 1.5	45.0, 46.0
リン酸カルシウム系	フジカリンSG	31 \pm 1.2	14.5, 14.5
	リカミット	39 \pm 0.6	17.0, 16.1
	GS	32 \pm 0.6	22.0, 25.0
乳糖系	ルディプレス	40 \pm 3.5	19.0, 18.5
	DCL-11	38 \pm 1.5	18.0, 18.0
	DCL-21	46 \pm 2.7	28.0, 30.0
	ダイラクトースS	43 \pm 2.0	22.0, 23.0
	タブレットース	39 \pm 1.5	21.5, 21.0
	FAST-FLO	42 \pm 0.6	21.0, 21.0

*1 n=3の平均値 \pm 標準偏差

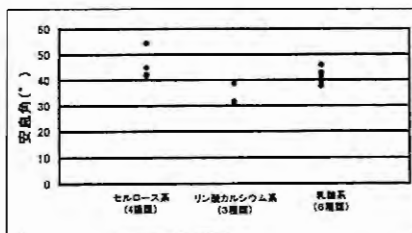


Fig. 1 賦形剤の安息角

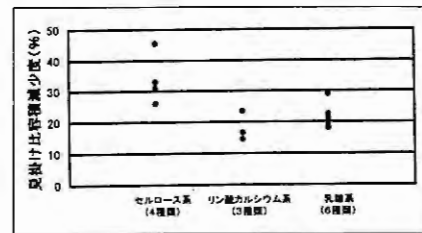


Fig. 2 賦形剤の見掛け比容積減少度

2) 錠剤の特性

各系とも打錠圧を上げるにつれて錠厚は減少し、硬度は上昇し、崩壊時間は延長した。(Fig. 3, 4, 5)

なお、Fig. 5の30:00は崩壊時間が30分ではなく、30分以上崩壊しなかったことを示した。

150kg/cm²で打錠した錠剤について各系を比較した。(Table 3)

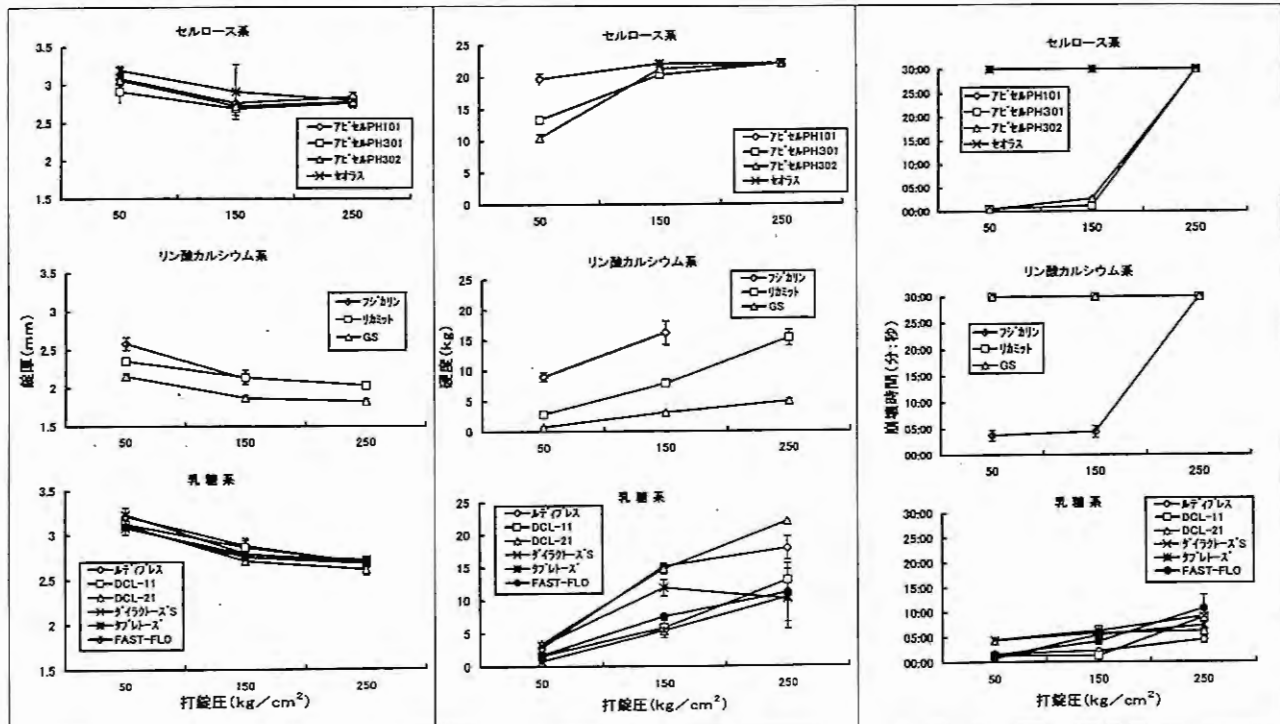


Fig. 3 錠厚に及ぼす打錠圧の影響

Fig. 4 硬度に及ぼす打錠圧の影響

Fig. 5 崩壊時間に及ぼす打錠圧の影響

- (1) セルロース系：錠厚は厚く、硬度が高く、崩壊時間はグレードによって差があり、アビセル300シリーズは5分以内に崩壊したが、他の2つは30分以上崩壊しなかった。
- (2) リン酸カルシウム系：錠厚は薄く、硬度は賦形剤によって差があり、崩壊時間は30分以上と長い傾向があった。ただし、フジカリンSGは、5分以内に崩壊した。
- (3) 乳糖系：錠厚は厚く、硬度は賦形剤によって差があり、崩壊時間は5分前後と短い傾向があった。

Table 3 賦形剤単味の錠剤物性

賦形剤	錠厚*1 (mm)	硬度*2 (kg)	崩壊時間*3 (分:秒)	
セルロース系	アビセルPH101	2.76±0.18	22.0±0.00	>30:00**4
	アビセルPH301	2.89±0.04	20.3±0.13	01:13±00:15
	アビセルPH302	2.72±0.03	21.2±0.36	02:39±00:20
	セオラス	2.91±0.36	22.0±0.00	>30:00**4
リン酸カルシウム系	フジカリンSG	2.12±0.03	16.2±1.98	04:23±01:07
	リカミット	2.14±0.09	7.9±0.17	>30:00**4
	GS	1.87±0.03	3.1±0.19	>30:00**4
乳糖系	ルディプレス	2.88±0.06	15.2±0.47	02:08±00:09
	DCL-11	2.86±0.10	5.8±1.10	01:13±00:07
	DCL-21	2.71±0.03	14.8±0.84	05:42±00:09
	ダイラクトースS	2.79±0.03	11.9±1.25	06:09±01:00
	タブレットズ	2.78±0.03	5.4±1.10	05:21±01:12
	FAST-FLO	2.75±0.07	7.5±0.42	04:02±00:36

打錠圧: 150kg/cm²

*1 n=10の平均値±標準偏差 *2 n=4の平均値±標準偏差 *3 n=6の平均値±標準偏差
*4 すべて30分以上崩壊しなかった。

2. 主薬としてアセトアミノフェン（以下AAP）を配合した場合の特性

直打による成形が困難な薬物としてAAPを選び、打錠性（成形性）の改善を目的として実験を行った。

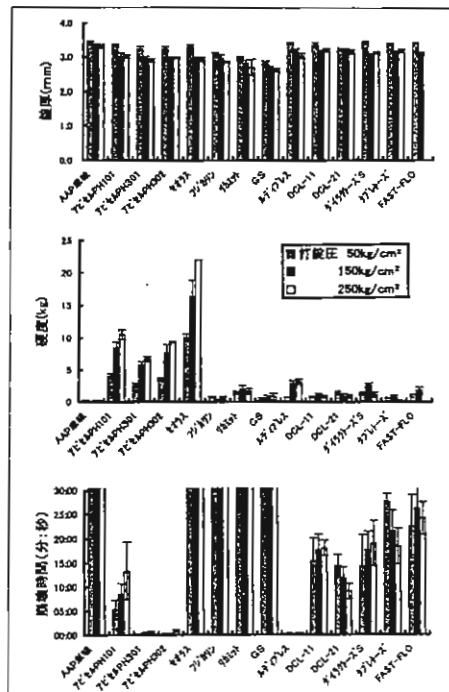


Fig. 6 AAP錠の物性に対する賦形剤の影響

1) 錠厚

AAP単味と賦形剤50%を加えた処方では、錠厚の差はあまり見られなかった。(Fig. 6)

2) 硬度

AAP単味では硬度が0.2kgと低かった。賦形剤を加えた処方では、リン酸カルシウム系と乳糖系は、硬度の上昇が見られなかった。一方、セルロース系は打錠圧を上げるにつれて硬度も上昇し、打錠圧150kg/cm²以上で硬度が5kg以上に改善された。(Fig. 6)

3) 崩壊時間

AAP単味の崩壊時間は、打錠圧にかかわらず、30分以上であった。賦形剤を加えた処方では、セルロース系と乳糖系は崩壊時間が短縮されたが、リン酸カルシウム系は、崩壊時間が30分以上であった。(Fig. 6)

4) 崩壊剤の検討

AAPに賦形剤を加えた処方では、崩壊時間の長かった賦形剤について各系から2種類選び、代表的な4種類の崩壊剤を添加し、崩壊性の改善を試みた。その結果、AAPに賦形剤と崩壊剤を添加した処方では、すべての組み合わせで崩壊時間が非常に短くなった。(Fig. 7)

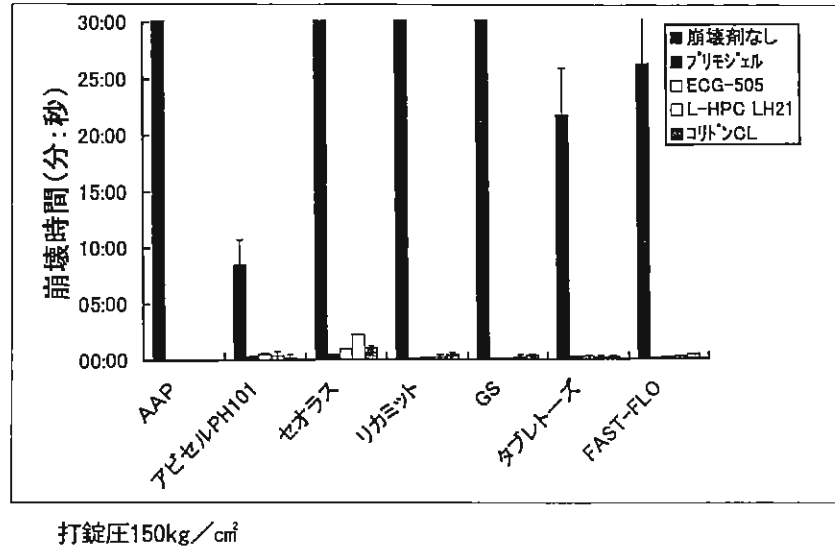


Fig. 7 AAP錠の崩壊時間に及ぼす賦形剤と崩壊剤の影響

3. 主薬として葛根湯エキス末を配合した場合の特性

吸湿性が高く、直打による成形が困難な薬物として葛根湯エキス末を選び打錠性（流動性・崩壊性）の改善を目的として実験を行った。³⁾

1) 粉体の特性

葛根湯エキス末の安息角は57.5°と大きく流動性が悪かった。そこで賦形剤を配合したところセオラス以外の処方では安息角が小さくなり、特に乳糖系において流動性の改善が見られた。

(Table 4)

2) 錠厚

葛根湯エキス錠の錠厚は、単味とセルロース系または乳糖系を加えた処方では差が見られなかった。リン酸カルシウム系を加えた処方では錠厚が薄くなった。(Table 5)

3) 硬度

葛根湯エキス錠の硬度は単味で13.2kgと十分であった。賦形剤は配合した処方については、セルロース系は、さらに硬度が上昇したが、リン酸カルシウム系と乳糖系は、賦形剤によって、硬度が上昇したものと、低下したものとが見られた。(Table 5)

4) 崩壊時間

葛根湯エキス錠の崩壊時間は単味で約1時間と崩壊性が悪かったため、賦形剤を配合し崩壊時間を測定したところ、乳糖系は崩壊時間が30分前後に短くなった。しかし、セルロース系とリン酸カルシウム系は、崩壊時間が同等かさら

Table 4 葛根湯エキス末処方の粉体特性

主薬	賦形剤	安息角(°)	
		1	2
葛根湯エキス末	—	57.0	58.0
	アビセルPH101	49.0	49.0
	アビセルPH301	49.0	51.5
	アビセルPH302	42.0	45.0
	セオラス	56.0	60.0
	フジカリンSG	37.0	42.0
	リカミット	45.0	46.5
	GS	43.0	44.0
	ルディプレス	40.0	45.0
	DCL-11	39.0	39.0
	DCL-21	39.0	40.0
	ダイラクトースS	37.0	39.0
	タブレットース	37.0	39.0
FAST-FLO	31.0	33.0	

に長くなる傾向が見られた。(Table 5)

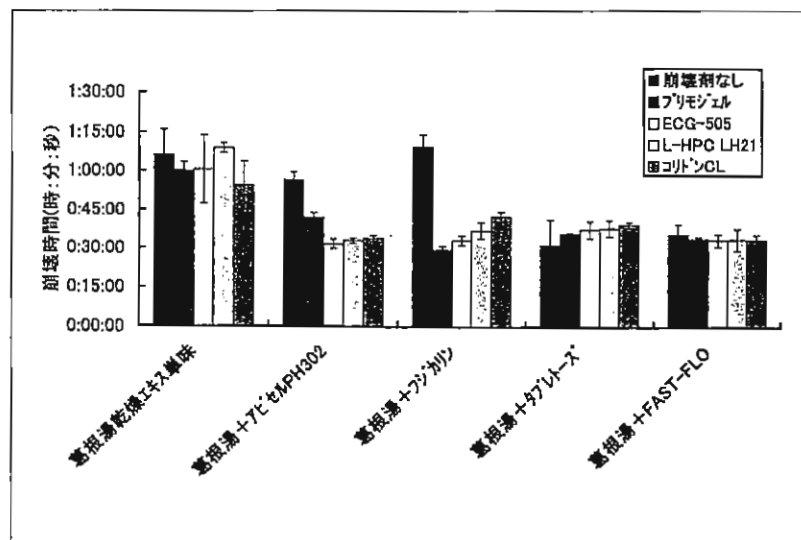
Table 5 葛根湯エキス錠の錠剤特性

主薬	賦形剤	錠厚*1 (mm)	硬度*2 (kg)	崩壊時間*3 (時:分:秒)
葛根湯 エキス 末	—	2.77±0.04	13.2±0.7	1:06:12±09:44
	アビセルPH101	2.72±0.11	19.4±0.2	1:35:59±10:09
	アビセルPH301	2.73±0.05	19.3±0.4	0:52:33±01:07
	アビセルPH302	2.78±0.04	19.1±0.3	0:56:37±03:28
	セオラス	2.73±0.05	19.6±0.1	>2:00:00*4
	フジカリンSG	2.44±0.04	18.7±0.5	1:09:49±13:17
	リカミット	2.41±0.06	13.7±0.9	>2:00:00*4
	GS	2.31±0.05	14.0±1.9	>2:00:00*4
	ルディプレス	2.76±0.06	17.3±0.5	0:43:43±02:25
	DCL-11	2.76±0.05	10.8±0.4	0:34:49±02:14
	DCL-21	2.73±0.07	12.7±1.0	0:23:29±01:15
	ダイラクトースS	2.76±0.05	14.3±0.6	0:33:28±00:57
	タブレットーズ	2.79±0.07	8.9±0.6	0:31:24±01:56
	FAST-FLO	2.75±0.05	13.1±0.6	0:35:44±09:28

打錠圧:150kg/cm²
 *1: n=10の平均値±標準偏差 *2: n=4の平均値±標準偏差 *3 n=6の平均値±標準偏差
 *4 すべて2時間以上崩壊しなかった。

5) 崩壊剤の検討

今後のロータリー打錠機での試作を考慮して、葛根湯エキス末と賦形剤の組み合わせで、流動性の改善されたアビセルPH302、タフジカリン、プレトーズ、FAST-FLOについて、崩壊剤4種類との相性を検討した。その結果、アビセルPH302、フジカリンは、どの崩壊剤を用いても崩壊性はある程度改善されたが、タブレットーズ、FAST-FLOは、崩壊剤の効果が見られなかった。(Fig. 8)



打錠圧150kg/cm²

Fig. 8 葛根湯エキス錠の崩壊時間に対する賦形剤と崩壊剤の影響

考察とまとめ

直打用の賦形剤は、流動性、成形性、崩壊性にそれぞれの特性があることが確認された。

主薬は成形性の悪いAAPの場合、セルロース系の賦形剤を選択することによって、硬度が上昇し成形性の改善が見られた。崩壊性については、セルロース系と乳糖系においては、崩壊時間の短縮が見られたが、リン酸カルシウム系においては崩壊時間の短縮は見られなかった。そこで、崩壊剤を添加したところすべての賦形剤の組み合わせにおいて崩壊時間の短縮が見られた。

また、主薬が流動性と崩壊性の悪い葛根湯エキス末の場合、流動性はほとんどの賦形剤との配合で改善が見られた。崩壊性については、乳糖系は崩壊時間が短縮されたが、セルロース系とリン酸カルシウム系においては、崩壊時間の短縮は見られなかった。そこで、崩壊剤を添加したところ、セルロース系とリン酸カルシウム系は崩壊性がある程度改善されたが、乳糖系は崩壊剤の効果が見られなかった。

このように、主薬がAAPの場合は崩壊剤の効果が顕著に見られたのに、葛根湯エキス末の場合は崩壊剤の効果が顕著でなかった理由としては、AAPのように難溶性の主薬である場合、崩壊剤の膨潤した力が周囲に伝わりやすいため錠剤を崩壊する効果を発揮しやすいのに対して、葛根湯エキス末の場合、崩壊剤が効果を発揮するためには、錠剤内部に水が入り込む必要があるが、エキス末自身の吸水も同時に起こり表面にゲル層を形成してしまうため、崩壊を妨げるのではないかと推察される。

また、乳糖系賦形剤配合の葛根湯エキス錠において崩壊剤の効果が発揮されない理由としては、乳糖そのものが溶解するため、錠剤内部の空隙が大きくなり崩壊剤の膨潤した力が周囲に伝わりにくくなるためと考えられる。⁴⁾

以上のことから直打法による製剤設計の際には、主薬の特性に応じて賦形剤や崩壊剤等の添加物を選択することが重要であると考えられる。

なお、同じ系であっても賦形剤（商品及びグレード）によって物性に差があることに注意する必要がある。

最後にこれらの結果が、直打法による製剤設計時の参考になればと考える。

文 献

- 1) 松田芳久, 製剤の物理化学的性質, 医薬品の開発15巻, 宮嶋考一郎編, 廣川書店, 東京 (1989) 249-270
- 2) 前川秀幸, 薬剤製造法(上), 医薬品開発基礎講座XI, 津田恭介編, 地人書館, 東京 (1971) 69-83
- 3) 人見信行, 漢方製剤の剤型と製法について, 最近の製剤技術とその応用III, 医薬ジャーナル社, (1986) 199-202
- 4) 笹岡清秀, 秦武久, 製剤素材I, 医薬品の開発12巻, 一番ヶ瀬尚編, 廣川書店, 東京 (1990) 185-197

液剤中のビタミン類の安定性について

Stability of Vitamins in Solution

薬事研究会製剤部会

Division of Pharmaceutics, Toyama Pharmaceutical Research Association

正川 仁	共栄製薬(株)
Hisashi SHOGAWA	Kyoei Pharmaceutical Co.,Ltd
高橋 葉子	第一薬品(株)
Yoko TAKAHASHI	Daiichi Medicine Co.,Ltd
川口 暢子	大協薬品工業(株)
Nobuko KAWAGUCHI	Taikyo Pharmaceutical Co.,Ltd
二宮 光信	東亜薬品(株)
Mitsunobu NINOMIYA	Toa Medicine Co.,Ltd
建川 礼奈	
Rena TATEKAWA	
萩原 彰人	(株)富士薬品
Akihito HAGIHARA	Fuji Medicine Co.,Ltd
西井 健一	
Ken-ichi NISHII	
渡会 三千代	富山県薬事研究所
Michiyo WATARAI	Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research
川筋 透	現 富山県厚生部薬務食品課
Toru KAWASUJI	Toyama Prefectural Government Health and Welfare Department Pharmaceutical and Food Division

緒 言

これまでにビタミン類の製剤中での安定性について、数多くの研究が報告されている¹⁾。しかし、固形製剤に関するものが多く、液剤に関するものは少ないように思われる^{2),3)}。そこで、本分科会では、ビタミン類の中でも不安定とされているビタミンB₁及びビタミンCについて、その液剤中での安定性に影響を及ぼす因子を調査し、若干の知見を得たので報告する。

実 験 の 部

1. 使用原料

原料は、硝酸チアミン(武田薬品工業(株)製)、塩酸ジセチアミン(塩野義製薬(株)製)、塩酸フルスルチアミン(ダイト(株)製)、ペンフォチアミン(浜理薬品工業(株)製)、リン酸リボフラビンナトリウム(富士薬品工業(株)製)、塩酸ピリドキシン(第一製薬(株)製)、ニコチン酸アミド(有機合成薬品工業(株)製)、無水カフェイン(白鳥製薬(株)製)、アミノエチルスルホン酸(岩城製薬(株)製)、アスコルビン酸(日本ロシュ(株)製)、ニンジン乾燥エキス(理研化学工業(株)製)、イカリソウ乾燥エキス(アルプス薬品工業(株)製)、ムイラブアマ乾燥エキス(日本粉末薬品(株)製)、ハンピチンキ(アルプス薬品工業(株)製)、ゴオウチンキ(株)三国製)、ロクジョウチンキ(株)三国製)、精製白糖(日新製糖(株)製)、異性化糖(日本コーンスターチ(株)製)、エリスリトール(日研化学(株)製)、D-ソルビトール液(70%) (日研化成(株)製)、

還元麦芽糖水飴（東和化成工業(株)製）、酢酸d- α -トコフェロール（理研ビタミン(株)製）、ピロ亜硫酸ナトリウム（和光純薬工業(株)製）、クエン酸（日本ロシュ(株)製）、クエン酸ナトリウム（和光純薬工業(株)製）、安息香酸ナトリウム（(株)伏見製薬所製）、香料（小川香料(株)製）を使用した。

2. 検体の調製方法

1) ビタミンB₁の安定性について

ビタミンB₁として市販ドリンク剤では、硝酸チアミンが最も配合例が多い。そこで、硝酸チアミンの安定性に影響を及ぼす因子を調査するため、(1)~(3)のように検体を調製した。また、参考としてビタミンB₁誘導体の安定性を調査するため、(4)のように検体を調製した。

(1) 甘味剤及びpHによる影響

表1に示す基本処方中の甘味剤として精製白糖、異性化糖、エリスリトール、D-ソルビトール液（70%）、還元麦芽糖水飴を用い、それぞれについてクエン酸にてpH3.5、3.0、2.5に調整したものを検体とした。なお、甘味剤は、50mL中精製白糖を10gとし、他の甘味剤については甘味換算をして配合した。

表1 硝酸チアミン配合基本処方

目的	成分名	配合量
有効成分	硝酸チアミン	10 mg
有効成分	リン酸リボフラビンナトリウム	5 mg
有効成分	塩酸ピリドキシン	5 mg
有効成分	ニコチン酸アミド	20 mg
有効成分	無水カフェイン	50 mg
有効成分	アミノエチルスルホン酸	1,000 mg
甘味剤	*	
pH調整剤	クエン酸	適量
防腐剤	安息香酸ナトリウム	30 mg
着色料	香料	微量
合計		50mL

(2) 他の有効成分による影響

甘味剤として異性化糖を用いた基本処方より、各有効成分を1種ずつ抜いたものをpH3.5に調整して検体とした。

(3) 生薬エキスによる影響

生薬エキスとして表2に示す植物性生薬エキスと動物性生薬エキスを用い、甘味剤に異性化糖を用いた基本処方に、植物性及び動物性生薬エキスの両方を配合したもの、植物性または動物性生薬エキスのみを配合したもの、生薬エキスを全く配合しないものをそれぞれpH3.5に調整して検体とした。

表2 生薬エキス配合量

	配合量 (原生薬換算量)
植物性生薬エキス	
ニンジン乾燥エキス	40.3 mg (600 mg)
イカリソウ乾燥エキス	100 mg (1,000 mg)
ムイラブアマ乾燥エキス	50 mg (500 mg)
動物性生薬エキス	
ハンピチンキ	0.5 mL (500 mg)
ゴオウチンキ	0.3 mL (3 mg)
ロクジョウチンキ	0.5 mL (50 mg)

(4) 各種ビタミンB₁誘導体の安定性について

市販ドリンク剤で使用されている、各種ビタミンB₁誘導体の各pH域での安定性について調査するため、甘味剤として精製白糖を用いた基本処方の硝酸チアミンを、各ビタミンB₁誘導体に置き換えて検体とした。使用したビタミンB₁誘導体は、塩酸ジセチアミン、塩酸フルスルチアミン、ペンフォチアミンの3種で、それぞれについてpH3.5、3.0、2.5に調整した。

2) ビタミンCの安定性について

アスコルビン酸の安定性に影響を及ぼす因子を調査するため、(1)~(4)の検体を調製した。

(1) pHによる影響

表3に示す基本処方中、クエン酸及びクエン酸ナトリウムにてpH5.0、4.0、3.0に調整したものを検体とした。

表3 アスコルビン酸配合基本処方

目的	成分名	配合量
有効成分	アスコルビン酸	500 mL
甘味剤	精製白糖	20 g
pH調整剤	クエン酸	適量
	クエン酸ナトリウム	
防腐剤	安息香酸ナトリウム	60 mg
合計		100 mL

(2) 溶存酸素による影響

pH5.0、4.0、3.0に調整した基本処方中、それ

それぞれに窒素バブリングしたものとしいないものを検体とした。

(3) 酸化防止剤の効果

pH5.0, 4.0, 3.0に調整した基本処方に、酸化防止剤として酢酸d- α -トコフェロール及びピロ亜硫酸ナトリウムを、それぞれ10mg/100 mL添加したものを検体とした。また、ピロ亜硫酸ナトリウムについては、pH5.0に調整した基本処方で、添加量を20、50mg/100 mLに増加したのもも調製した。

(4) 甘味剤による影響

基本処方の甘味剤に精製白糖、異性化糖、D-ソルビトール液（70%）、還元麦芽糖水飴を用い、それぞれpH5.0に調整したものを検体とした。なお、甘味剤は硝酸チアミンの場合と同様に配合した。

3. 評価方法

調製した検体を褐色ガラス製サンプル瓶に充填し、50°Cの恒温器にて2、4、6週間保存し、各検体を以下に示したHPLC条件により定量し、イニシャル値に対する残存率にて評価した。

1) HPLC条件（硝酸チアミン）

検出器：紫外吸光度計（測定波長：245nm）

カラム：Inertsil ODS-2（ ϕ 4.6mm \times 15cm）

カラム温度：40°C付近の一定温度

移動相：0.05mol/Lリン酸二水素カリウム溶液にリン酸を加えてpH2.3に調整した液900mLに、アセトリル100mLを混和する。これに1-オクタンスルホン酸ナトリウム0.4gを溶解する。

流量：0.9mL/min

注入量：10 μ L

2) HPLC条件（アスコルビン酸）

検出器：紫外吸光度計（測定波長：254nm）

カラム：Inertsil ODS-2（ ϕ 4.6mm \times 15cm）

カラム温度：40°C付近の一定温度

移動相：0.01mol/Lリン酸二水素カリウム溶液にリン酸を加えてpH3.0に調整した液980mLに、メタノール20mLを混和する。これに1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム1gを溶解する。

流量：0.5mL/min

注入量：5 μ L

結果及び考察

1. ビタミンB₁の安定性について

1) 甘味剤及びpHによる影響

市販ドリンク剤は、一般的にpH2.5~3.5の範囲でpHが設定されているものが多い。そこで、pH3.5、3.0、2.5に調

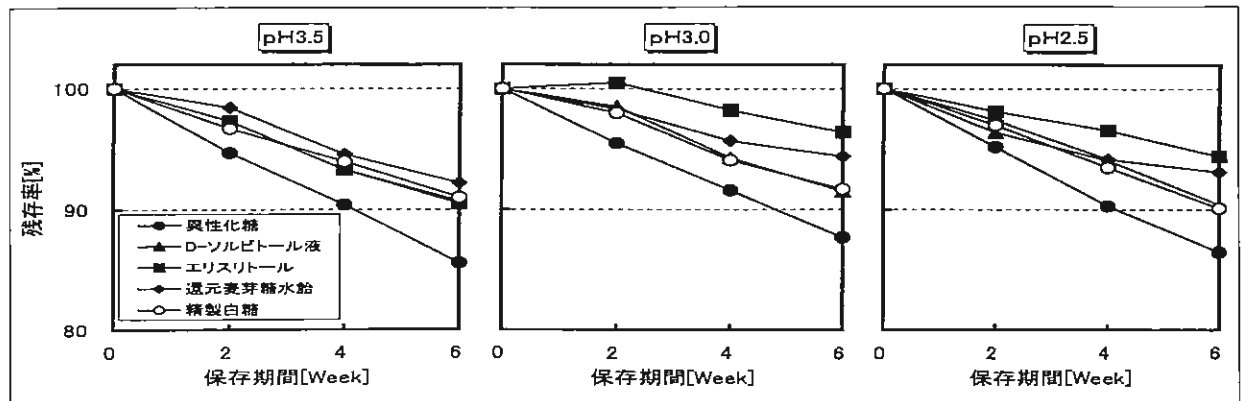


図1 硝酸チアミンの安定性へのpH及び甘味剤による影響

整した検体について、その残存率をpH毎にプロットしたものを図1に示す。50℃6週間で、いずれのpHでも異性化糖を配合した検体が最も残存率が低く、エリスリトール、D-ソルビトール液（70%）、還元麦芽糖水飴の糖アルコール系を配合した検体が比較的安定な結果となり、50℃6週間で両者の残存率に5～10%の開きがあった。また、pHの影響については甘味剤によってはあまり差が生じないものもあったが、50℃6週間の残存率は、どの甘味剤においてもpH3.5に調整した検体が最も低いという傾向がみられた。

2) 他の有効成分による影響

前述の結果で、最も残存率の低下が顕著であったpH3.5に調整した各検体について調査した結果、特に硝酸チアミンの安定性に影響を及ぼす成分は認められなかった。

3) 生薬エキスによる影響

図2に示すように、生薬エキスの配合有無による差は大きく、生薬エキスを配合したものは、配合しないものに比べ、50℃6週間で約5%残存率が低かった。しかし、加えた生薬エキスの種類による差は見られなかった。

4) 各種ビタミンB₁誘導体の安定性について

代表例として、pH3.0に調整したときの残存率をプロットしたものを図3に示す。グラフが示すように、いずれのビタミンB₁誘導体も硝酸チアミンにより特に安定なものはなかった。

2. ビタミンCの安定性について

1) pHによる影響

市販ドリンク剤は一般的にpH3.0～5.0の範囲でpHが設定されているものが多い。そこで、pH5.0、4.0、3.0に調整した検体について、その残存率をプロットしたものを図4に示す。50℃6週間で、残存率の低下が、pH3.0及び4.0に調整したものが共に44%、pH5.0に調整したものが最も安定で24%であった。

2) 溶存酸素による影響

窒素バブリングをしたときの結果を図5に示す。窒素バブリングしていない図4と比較すると窒素バブリングの有無による差はなく、溶存酸素によるアスコルビン酸の安定性への影響は、ほとんどないことが示唆された。

3) 酸化防止剤の効果

酸化防止剤の添加が、アスコルビン酸の安定化に

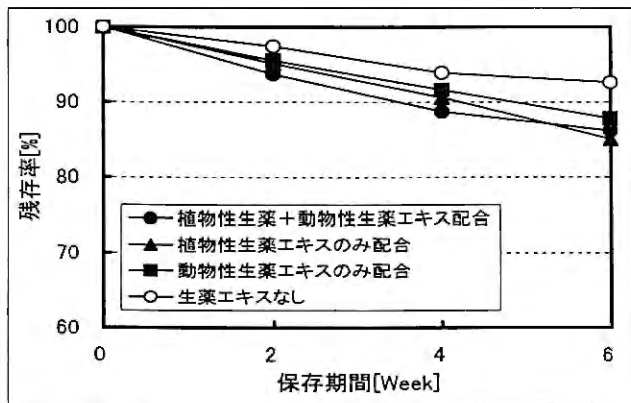


図2 硝酸チアミンの安定性への生薬成分による影響

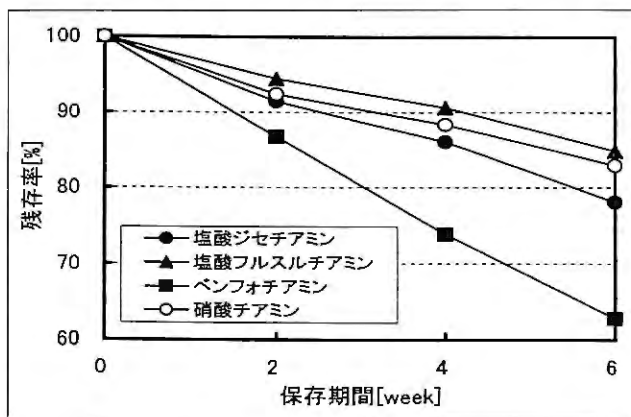


図3 各種ビタミンB₁誘導体の安定性

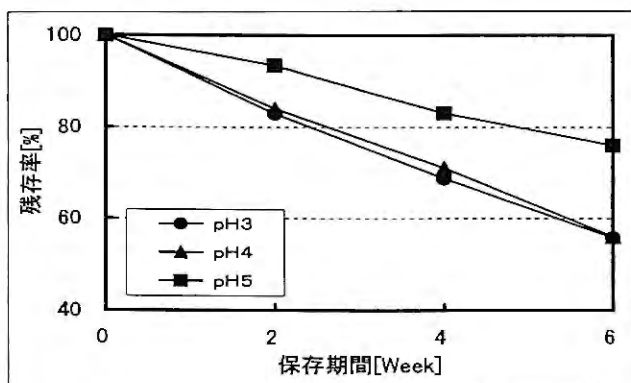


図4 アスコルビン酸の安定性へのpHによる影響

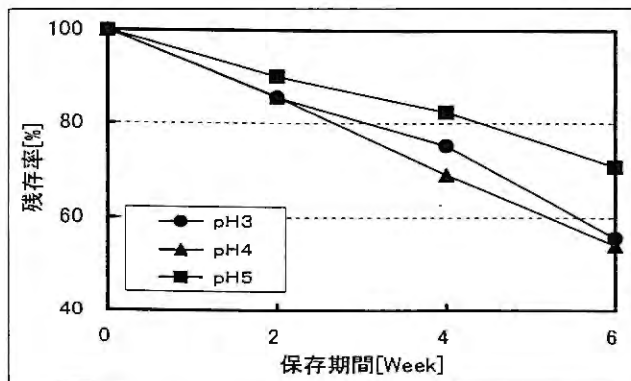


図5 アスコルビン酸の安定性への溶存酸素による影響

有効か否かを調査するために、酢酸d- α -トコフェロール及びピロ亜硫酸ナトリウムを添加してみたが、図6に示す

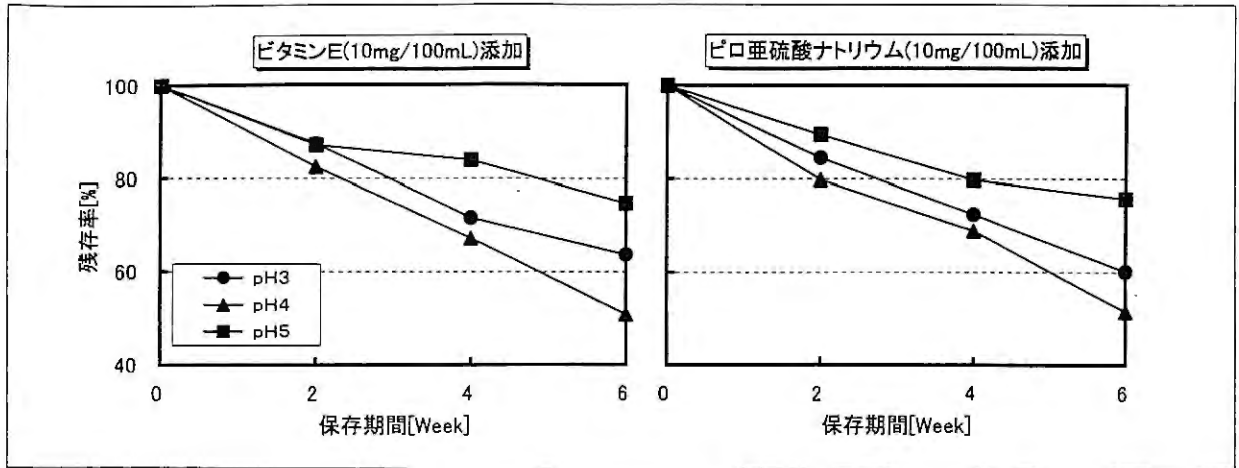


図6 アスコルビン酸の安定性への酸化防止剤の効果

ように最も安定であったpH5.0においては、改善は認められなかった。また、ピロ亜硫酸ナトリウムについては、pH5.0に調整して添加量を増加してみたが、ほとんど差は無かった。

4) 甘味剤による影響

図7に示すように硝酸チアミンの時と同様に、異性化糖を用いた検体が最も残存率が低く、D-ソルビトール液(70%)、還元麦芽糖水飴の糖アルコール系のものを用いた検体が、甘味剤を全く配合しないブランクと大差がないという結果であった。

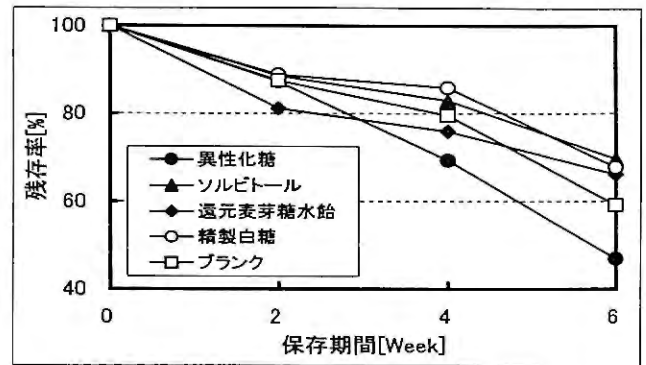


図7 アスコルビン酸の安定性への甘味剤による影響 (pH5.0)

ま と め

以上のようにビタミンB₁及びビタミンCの液剤中での安定性について検討を行ってきた結果、以下の知見が得られた。

1. 甘味剤が硝酸チアミンの安定性に及ぼす影響は大きく、同時配合した他の有効成分の影響はほとんどなかったが、生薬エキスの配合は安定性を悪化させた。
2. 今回使用したビタミンB₁誘導体の中で、硝酸チアミンより残存率の高いものはなかった。
3. アスコルビン酸は、今回検討したpHの中ではpH5.0で最も安定であり、酸化防止剤の添加や溶存酸素量の低下は、アスコルビン酸の安定化に有効ではなかった。
4. 甘味剤がアスコルビン酸の安定性に及ぼす影響は、糖アルコールは精製白糖とほぼ同等であったが、異性化糖は精製白糖より残存率で約20%低いものであった。

参 考 文 献

- 1) 石倉 英子ら, ビタミンB群配合製剤の安定性に関する研究—一般用ビタミン基準B₁B₆B₁₂主薬製剤の安定性—, 家庭薬研究, 11, 33-40 (1992)
- 2) 五日市 治ら, 高速液体クロマトグラフィーの医薬品への応用—ドリンク剤に含有される水溶性ビタミン等の含有量調査及びその経時変化について—, 岩手衛研年報, 31, 48-51 (1988)
- 3) A. H. L. Ho, A. Puri, J. K. Sugden, Effect of sweetening agents on the light stability of aqueous solutions of L-ascorbic acid, International Journal of Pharmaceutics, 107, 199-203 (1994)