

ノート

ロートコン配合製剤中のアルカロイドの定量法について

志村恭子, 佐藤誠, 橋爪清, 中山治

The Quantitative Analysis of Alkaloid in the Medicine of Scopolia Rhizoma Scopolia Rhizoma, Alkaloid, Atropine

Kyoko SHIMURA, Makoto SATO, Kiyoshi HASHIZUME
and Osamu NAKAYAMA

ハシリドコロ又はその他同属植物の根茎及び根であるロートコンは, 消化液分泌抑制, 鎮痛, 鎮けい作用を持つことから, 主に胃腸薬等に配合されている。ロートコン配合製剤中のアトロピン及びスコポラミン等の微量のアルカロイドの定量法は, 他の配合生薬等妨害物の影響を受け易い。そこで, ロートコン配合生薬製剤(胃腸薬)をモデル処方とし, アルカロイドの測定方法, 抽出法, 精製法等を検討し, アトロピン等の定量法を確立した。本法はイオン交換樹脂を用いる精製法により配合生薬による妨害を除去することができるもので, 本法により多くのロートコン配合市販胃腸薬中アトロピン等の微量成分の分析が可能であった。

キーワード: ロートコン, アルカロイド, アトロピン

はじめに

生薬配合製剤の需要の拡大に伴い, 的確な品質評価と高品質な生薬配合製剤の流通が重要な課題となっている。しかしながら, 現時点においては, 品質評価法は十分に確立されておらず高精度な生薬有効成分の定量法を早急に確立し, 科学的な品質評価を行う必要がある。

ロートコンは, 消化液分泌抑制, 鎮痛, 鎮けい作用を持つことから, 主に胃腸薬等に配合され, 胃酸過多, 胃炎, 胃・十二指腸潰瘍, けいれん性便秘疾患等に適用される。また, 軟膏や座薬に配合され, 痔疾等の肛門疾患における鎮痛, 鎮けいにも用いられている。このように, ロートコンは数多くの医薬品に配合されている重要な生薬である。ロートコンの有効成分は, アトロピン, スコポラミン等のトロパンアルカロイドである。これらアルカロイドの含有量は微量であるが, その薬理作用は強力であるので, 正確な含有量を知ることが品質管理上, 临床上不可欠である。ロート

コン及びロートエキス単品中のアルカロイドの定量法は比較的研究されてはいるが, これらを配合した製剤中の定量法についての報告は数少なく, 製剤中ロートコンの定量法の検討が必要である。そこで, ロートコン配合製剤中の微量のアルカロイドの定量法を定め, 市販胃腸薬中のアルカロイドの含有量実態を把握し, 医薬品の有効性及び安全性の確保に資することを目的として本研究を行った。

方法

1. 材料

1) モデル処方

ロートコン含有製剤中アルカロイドの試験方法を検討するにあたり, 代表的な胃腸薬の処方として以下のモデル処方を定めた。表1に胃腸薬のモデル処方1日量中の有効成分を示す。

表1 胃腸薬モデル処方1日量(12錠)中成分

日 局	アクリノール	
日 局	塩化ベルベリン	
日 局	タンニン酸アルブミン	
日 局	クジン末	
局外規	アカメガシワエキス	
日 局	ロートエキス	60mg
別紙規格(1)	エンゴサク乾燥エキス	

注： は配合されていることを示す。

2) ロートコン配合市販製剤

ロートコンを配合する市販の胃腸薬製剤 11 検体 (胃腸薬 A ~ K) について含有量調査を行った。表 2 に各製剤の 1 日量及び 1 日量あたりのロートエキス又はロートエキス散の配合量及び配合成分の一覧を示す。 は各成分が含有されていることを意味する。

2. 試薬

標準品はアルプス薬品(株)製のロートコン定量用硫酸アトロピン及びロートコン定量用臭化水素酸スコポラミンを使用した。アセトニトリルは液体クロマトグラフ用をその他の試薬は試薬特級を用いた。また、固相抽出カートリッジとして Varian 社製の Bond Elut Bonded Phase scx 3mL を用いた。

3. 試験方法

モデル処方用試験法として以下のように定めた。図 1 に試料溶液の調製方法を示す。

試料約 1g (ロートエキス約 23mg に対応する量) を精密に量り、1N 塩酸試液 20mL を加えて 20 分間超音波抽出後、更に 10 分間振り混ぜて抽出する。この液を遠心分離し水層を分取する。残留物は更に 1N 塩酸試液 20mL 及び 10mL ずつを加えて同様に操作し、得られた抽出液を合わせ 1 N 塩酸試液を加えて正確に 50mL とする。この液 20mL を正確に量り、あらかじめメタノール 30mL 及び 2% 酢酸溶液 30mL で前処理を行った陽イオン交換樹脂カートリッジカラムに流速 2mL/min.以下で付加する。次いでカートリッジカラムは水 20mL、メタノール 10mL 及び 0.2M リン酸二水素カリウム試液 10mL を用いて流速 2mL/min.以下で順次洗浄した後、0.2M リン酸二水素カリウム試液・アセトニトリル混液(1:1) 9mL で溶出し、0.5N 塩酸試液 0.3mL を加えて pH 約 3 とした後、水を加えて正確に 10mL とし試料溶液とする。

別にロートコン定量用硫酸アトロピン(別途、日局「硫酸アトロピン」と同様に乾燥減量を測定しておく。)約 12.5mg を精密に量り、0.2M リン酸二水素カリウム試液・アセトニトリル混液(1:1) に溶かして正確に 50mL とする。この液 2mL を正確に量り、0.2M リン酸二水素カリウム試液・アセトニトリル混液(1:1) を加えて正確に 50mL とし標準溶液とする。

試料溶液及び標準溶液を 25 μ L ずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。それぞれの液のアトロピンのピーク面積を測定する。

HPLC 条件

検出器：紫外吸光度計(測定波長：210nm)、カラム：内径約 6mm、長さ 15~25 cm のステンレス管に 5 μ m の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。カラム温度：40 付近の一定温度、移動相：薄めたリン酸(1→4)で pH3.2 に調製した 0.02M リン酸二水素カリウム試液・アセトニトリル混液(3:2) 1000mL にラウリル硫酸ナトリウム 5mM を含む。流量：アトロピンの保持時間が約 14 分になるように調整する。

その他検討した試料溶液の調製方法を図 2 及び図 3 に示す。その概要は以下のとおりである。図 2 の(1)は、0.5N 塩酸試液で抽出後、エーテル洗浄し水層をアルカリにしてエーテルで抽出後溶媒を留去後移動相に転溶する方法である。(2)は少量の試料をとり少量の 3 種類の溶媒(0.1N 硫酸溶液、移動相、20% 酢酸溶液)で直接抽出する方法である。(3)は試料をアルカリにしてエーテルで抽出後溶媒を留去後移動相に転溶する方法である。

結 果

モデル処方(胃腸薬)中のロートコン有効成分の定量にあたり、数種の逆相系カラムにつき、イオンペア試薬を含むアセトニトリル・水系移動相を用いて最適 HPLC 条件を定めた。

本法で分析を行ったところ、硫酸アトロピン及び臭化水素酸スコポラミンは 1~100 (μ g/mL) の範囲で原点を通る良好な直線性($r=0.999$ 以上)を示した。本法による HPLC クロマトグラム上で、リテンションタイムは硫酸アトロピン 14 分、臭化水素酸スコポラミン 11 分であり、分離度は 3 と良好な分離を示した。従って、HPLC 条件としてはアトロピンとスコポラミンの同時分析が可能であった。

様々な精製法についても検討したところ、図 2、図 3 に示すその他の試料溶液の調製方法ではいずれも回収率が低く、図 1 に示す方法では回収率も高く妨害を除去することが可能であった。そこで、均一にした試料 1g をとり、1N 塩酸試液 50mL で抽出し、この液 20mL を量り、あらかじめ前処理を行ったイオン交換樹脂カートリッジカラムに付加し、メタノール及び 0.2M リン酸二水素カリウム試液で順次洗浄後、同試液・アセトニトリル

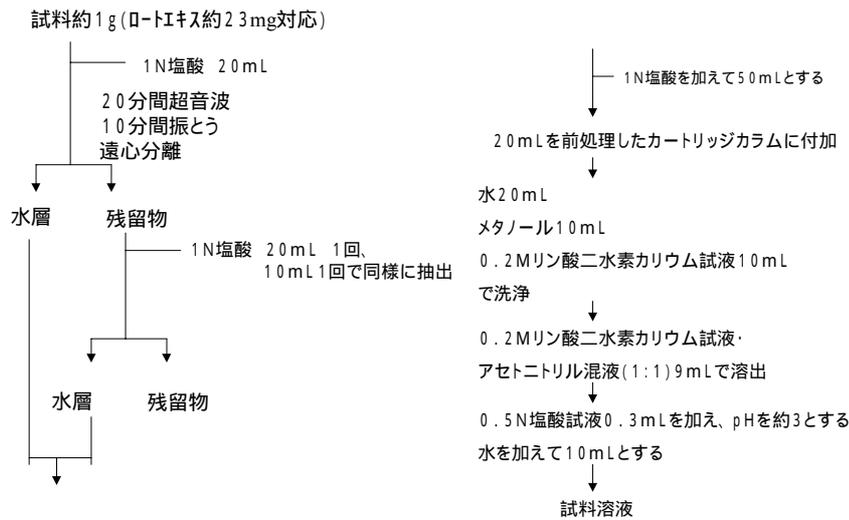


図 1 試料溶液調製方法

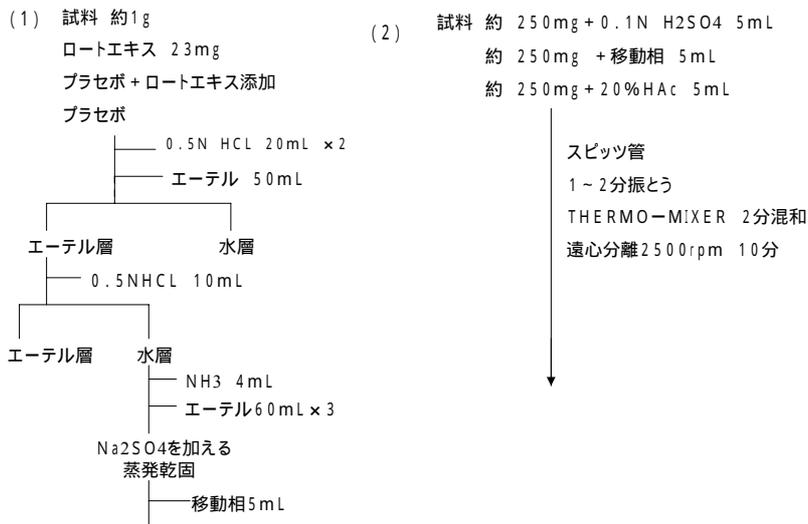
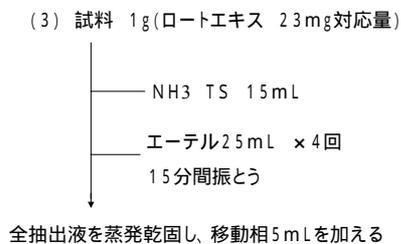


図 2 その他の試料溶液の調製方法

表 3 モデル処方 (胃腸薬) 及び市販胃腸薬含有ロートエキス中のアトロピン含有量 (%)



	アトロピン含有量 (%)
モデル処方 (止瀉薬)	0.738
胃腸薬 A	0.788
胃腸薬 B	0.883
胃腸薬 C	0.868
胃腸薬 D	0.673
胃腸薬 E	0.804
胃腸薬 F	0.891
胃腸薬 G	0.740
胃腸薬 H	0.625
胃腸薬 I	0.618
胃腸薬 J	0.696
胃腸薬 K	0.927

図 3 その他の試料溶液の調製方法

表2では各種市販胃腸薬の記載どおりロートエキス又は散の配合量を示しているが、表3では各配合量をロートエキスとして換算したものに對するアトロピンの含有量を示す。従って各製剤に配合されているロートエキスに對するアトロピンの含有量が表されているわけで、その範囲は0.618~0.927%となり、各製剤ともある程度近似した値を示した。

考 察

ロートコンはハシリドコロ又はその他同属植物の根茎及び根である。ハシリドコロはわが国に自生する有毒植物の一つであり、これを誤って食用とし中毒した事例が多くみられる。また、ロートコンを原料として製造されるロートエキスは外国の薬局方ではベラドンナエキスに相当する。ロートコンは、消化液分泌抑制、鎮痛、鎮けい作用を持つことから、主に胃腸薬等に配合され、痔疾等の肛門疾患にも用いられなど数多くの医薬品に配合されている。

ロートコンの有効成分は、ヒヨスチアミン、アトロピン、スコポラミン等のトロパンアルカロイドである。植物体内でのアルカロイドの大部分はヒヨスチアミンとして含まれるが、生薬又はエキス調製の間ヒヨスチアミンのラセミ体であるアトロピンに変わりやすい。スコポラミンはヒヨスチアミンに比し一般に1桁下の含量になるが、含量比が一定でなく、またスコポラミンは薬理作用が強いことから、日本薬局方では、ロートコン及びロートエキスについて、ヒヨスチアミンとスコポラミンの定量値の合計を総アルカロイドとして規定している¹⁾。これらのアルカロイドの定量法は、現在では、液体クロマトグラフ法が主流である。ロートコン及びロートエキス単品についての定量法は比較的研究されてはいるが、これらを配合した製剤中の定量法についての報告^{2),3),4)}は数少ない。

ロートコン配合製剤中のアトロピン及びスコポラミン等の微量のアルカロイドの定量法は他の配合生薬等妨害物の影響を受け難いことから、本研究ではロートコン配合生薬製剤(胃腸薬)をモデル処方とし、アルカロイド測定方法、抽出

法、精製法等を検討した。

アトロピン及びスコポラミンは分子内に塩基性部分があるのでイオン対試薬を加えてカラム内に保持する必要があることから、これらアルカロイドの測定法を定めるにあたり、高感度の液体クロマトグラフ法により、数種の逆相系カラムを用い、各種イオンペア試薬を用いたアセトニトリル・水系移動相について最適測定条件を検討した。

ロートコン配合製剤中有効成分の定量については、配合生薬の影響を受けやすいことから、数種の抽出溶剤を用い、抽出法を検討後、エーテル洗浄、イオン交換樹脂を用いる精製法等について検討した。一般に胃腸薬ではロートコンの配合量は小量である上に、アトロピン等のアルカロイドはロートコンに微量含まれているためエーテル洗浄法では損失もみられ十分な回収率が得られなかった。そこで、確実に回収率をあげるために、固相抽出用カートリッジによる試料濃縮の検討を行った。アトロピン等のアルカロイドを陽イオン交換カートリッジカラムに吸着させるために試料溶液は酸性とした。一旦陽イオン交換カートリッジカラムに保持されたアルカロイドを溶出させるには一般にイオン強度の高い塩又はメタノール・水混液等が用いられるが⁴⁾、本法では0.2Mリン酸二水素カリウム試液・アセトニトリル混液(1:1)を用いたところ良好な結果であった。

以上の検討の結果、モデル処方中のアトロピン及びスコポラミンの同時分析定量法を確立するとともに、分析法バリデーションを実施した。直線性、特異性、再現性、回収率等においてアトロピンは良好な結果を得ることができたがスコポラミンは極微量含まれているため回収率についてはやや問題があった。

本法を用いて他の市販胃腸薬についてもロートコン中アルカロイドの定量を行った。表2からもわかるように胃腸薬には様々な成分が配合されているが、本法の陽イオン交換樹脂を用いる精製法を用いることにより配合成分に起因する妨害が除去され、多くの市販ロートコン配合胃腸薬中アトロピンの定量が可能となりその含有量実態を把握することができた。本研究によれば各市販胃腸薬に配合されているロートエキスに對す

るアトロピンの含有量は0.7~0.9%であった。ロートエキスそのものではヒヨスチアミンとスコポラミンの定量値の合計を総アルカロイドとして0.9~1.09%が規定されており¹⁾、他の報告^{2),3),4)}から判断しても本研究で得られた各市販胃腸薬のアトロピン含有量は妥当な値であると思われる。

ま と め

ロートコンは主に胃腸薬に配合されており、その有効成分であるアトロピン等は微量であるため定量は難しい。本法では、陽イオン交換樹脂を用いる精製法を用いることにより精度良くアトロピンの定量が可能である。本法を用いてロートコン配合市販胃腸薬中のアトロピンの含有量実態を把握した。

文 献

- 1) 第十四改正日本薬局方解説書、広川書店、東京、(2002)
- 2) 岡村俊男、布浦由樹：高速液体クロマトグラフィーによる胃腸薬中のアトロピンの定量、大阪府立公衛研所報、Vol.19、7-9(1985)。
- 3) 中井裕幸、今村勝美、岩佐曜：高速液体クロマトグラフィーによる胃腸薬中のロートエキスの定量、薬学雑誌、Vol.112、944-949(1992)。
- 4) 小里一友、三方比奈子、鶴森敏樹：キャピラリー電気泳動法による胃腸薬中のロートエキスの迅速定量、薬学雑誌、Vol.119、868-879(1999)。