〔薬 学 雑 誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
94 (8) 917—921 (1974)

UDC 547.475.2.04 : 546.212.04 : 615.31.014

アスコルビン酸の安定性に関する研究 (第 7 報¹⁾) 水溶液中における
Ascorbyl Monolaurate の安定性

塚本長太郎, 尾関昭二, 長谷川正俊, 服部富士雄
名古屋市立大学薬学部²⁾

Studies on the Stability of Ascorbic Acid. VII.¹⁾ Stability of
Ascorbyl Monolaurate in Aqueous Solution

TOYOTARO TUKAMOTO, SHOJI OZEKI, MASATOSHI HASEGAWA, and FUJIO HATTORI
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University²⁾

(Received November 26, 1973)

In order to clarify the mode of degradation of ascorbyl monolaurate, kinetic study was made on its decomposition in aqueous solution under aerobic conditions. Thin-layer chromatography (TLC) of its degradation products indicated the presence of lauric acid, that results from hydrolytic cleavage of the ester bond, and other unidentified degradation products. The rate of degradation of ascorbyl monolaurate in aqueous solution was determined at 45°, 60°, and 80° in the pH range of 3.10—10.12 and at the ionic strength of 0.1. The pH-rate profile of the rate of disappearance of ascorbyl monolaurate from an aqueous solution and that of ascorbic acid was determined at 80°. The profiles showed that ascorbic acid is more susceptible to degradation than its monolaurate in the alkaline region. This phenomenon is probably due to either a micelle formation of the latter or a difference in the steric hindrance of molecular structure. The results of kinetic experiment on ascorbyl monolaurate in ethanol-water mixtures indicated that the logarithm of the rate constant varies lineally with the reciprocal of the dielectric constant.

アスコルビン酸モノ脂肪酸エステル (AsA-MFE) の水に対する溶解度は疎水性のアルキル連鎖の長さが増すに従って減少し、連鎖の炭素数が 12 個 (ascorbyl monolaurate: AsA-ML) 以上になると室温の水にはきわめて難溶となる。しかし、その分子構成はいわゆる親水性部分と親油性部分から成り立っているため著しい界面活性能を示し、水に溶けた分子は会合してミセルを形成する。³⁾ そのため溶解度は温度によって著しい影響をうけ加温することによって水に溶けやすくなる。AsA-MFE は現在各種製剤の安定化剤、抗酸化剤などとして盛んに用いられているが、その安定性に関する報告は定量法の困難さのためかほとんど見るべきものがない。さきに著者らはこれら脂溶性ビタミン C である AsA-MFE の新しい高精度な定量法を確立し報告したが、⁴⁾ 今回その方法を用いて水溶液中における AsA-ML の安定性について種々速度論的な観察を行なったのでその結果について報告する。なお AsA-MFE の分解はまず endiol 基の酸化反応およびエステル結合の加水分解反応が関与し、これらは並発的に進行し、さらにその分解生成物は逐次的に変化するものと考えられる。著者らはその複合反応の機構を解明する一端として今回 AsA-ML の overall な分解反応について検討した。

実 験 の 部

試料および試液 Ascorbyl monolaurate; 6-O-lauryl-L-ascorbic acid (AsA-ML) は Swern ら⁵⁾ の方法により合成した結晶 (mp 102—103°) を乳鉢で粉碎したのち篩過 (100 メッシュ) して均一な細末とした。Dehydro-

1) 第 6 報: 塚本長太郎, 尾関昭二, 平松茂之, 大内健次, 名市大薬研, 20, 40 (1972).

2) Location: Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya.

3) T. Tukamoto, S. Ozeki, K. Tejima, S. Adachi, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 19, 804 (1971).

4) 塚本長太郎, 尾関昭二, 加賀博和, 谷口昌生, 薬誌, 90, 73 (1970).

5) D. Swern, A.J. Stirton, J. Turer, P.A. Wells, *Oil & Soap* (Chicago), 20, 224 (1943) [*Chem. Abstr.*, 38, 501 (1944)].

ascorbic acid (DAsA) (mp 224—225°); 6-O-lauryl-L-dehydroascorbic acid (mp 110—112°), laurohydroxamic acid (mp 93—94°) および 6-O-lauryl-2,3-diketo-L-gulonohydroxamic acid (mp 135—136°) は常法により合成した元素分析合致品を用いた。SeO₂ は使用直前に昇華精製した。その他の試薬類は試薬特級を、入手できないものは試薬一級を用いた。水は使用直前に蒸留した再蒸留水を、緩衝液はすべてイオン強度 0.1 になるように調製したもの⁶⁾を用いた。

定量法 AsA-ML は二酸化セレン法⁴⁾ アスコルビン酸 (AsA) はヨウ素法⁷⁾ で定量した。なお、二酸化セレン法による場合はあらかじめ検液中に共存する AsA による障害を除くため CHCl₃ で抽出分離した検液について定量した。すなわち、検液 5 ml を分液漏斗にとり、CHCl₃ 10 ml, 水 20 ml を加えて振とうしたのち、CHCl₃ 層を分取し、これに 4% SeO₂ 水溶液 2 ml を加え、50° の水浴上で 5 分間加熱し、以下既報の方法にしたがい生成した無晶形赤れんが色の Se 粒子を分離し、HNO₃ で H₂SeO₃ としたのち、これをヨウ素法滴定によって定量した。

操作法 還流冷却器を付けた内容 300 ml の三ツロフラスコを用いて 0.01M AsA-ML 水溶液 200 ml を調製し、一定温度の恒温槽中に浸し、以後一定時間ごとに検液を採取し、含量変化を測定した。

薄層クロマトグラフィー (TLC) 吸着剤として Kieselgel G (Merck) を用い厚さ 0.25 mm の薄層を作製し、120°, 1 時間で活性化を行なった。展開溶媒は CHCl₃-EtOH (90:10), 呈色剤はヨウ素蒸気および過塩素酸鉄試液を使用した。

操作法 (a)—0.01M AsA-ML の水溶液を 80° の恒温槽中に浸し、0, 2, 4, 6, 8 および 24 時間後に検液を採取し TLC を行なった。

(b)—同様に採取した検液に NH₂OH·HCl, KOH を加えてヒドロキサム酸誘導体としたのち xylene で抽出し, xylene 層を減圧濃縮したものについて TLC を行なった。

結果および考察

(1) 水溶液中の AsA-ML 分解物の TLC

TLC の結果は Fig. 1 に示すごとくである。横軸の算用数字は反応時間, A, B, C, D は標準物質でそれぞれ 6-O-lauryl-L-ascorbic acid,⁸⁾ lauric acid, laurohydroxamic acid および 6-O-lauryl-2,3-diketo-L-gulonohydroxamic acid, 縦軸は R_f 値である。

Fig. 1. Thin-Layer Chromatogram of the Degradation Products of AsA-ML in Aqueous Solution at 80°

specimen: A, 6-O-lauryl-L-ascorbic acid; B, lauric acid; C, laurohydroxamic acid; D, 6-O-lauryl-2,3-diketo-L-gulonohydroxamic acid
solvent: CHCl₃-EtOH (90:10)
exposure: iodine vapour
spray: ferric perchlorate

(a): これは反応液をそのまま検液として薄層上に塗布したもので、展開後ヨウ素蒸気に暴露して顕色した。全体的に分離が不十分で反応生成体の識別は困難であるが、0 時間において見られるスポットの面積 (この場合 AsA-ML そのものである) は反応時間に比例して順次小さくなっている。また、2 時間以降では上記スポットに endiol 基の酸化反応に起因すると思われる波状の濃淡が認められる。さらに、6 時間以降ではエステル結合の加水分解反応によって生成したと考えられるラウリン酸のスポットがみられ、このスポットは反応時間とともに大きくなっているのが認められる。これらの実験の結果 AsA-ML の水溶液は 80° で徐々に分解し、24 時間後にはかなり異質のものに変化していることがわかった。また、初期における AsA-ML の分解は AsA 部分の酸化反応とエステル

結合部分の加水分解反応が並行していることが明らかとなった。

(b): これは残存する AsA-ML をヒドロキサム酸誘導体としたのち, xylene 可溶部すなわちラウリン酸エステルとラウリン酸のみを抽出分離して TLC を行なったもので、ヨウ素蒸気の暴露によってラウリン酸を、過塩素酸鉄試液の噴霧によってヒドロキサム酸誘導体を発色させた。この xylene 可溶部は水に溶けやすい AsA, DAsA,

6) 千谷晃一, 近藤洋一, “実験化学講座,” 24, 日本化学会編, 丸善, 東京, 1958, p. 227.

7) 日本公定書協会版, “第八改正日本薬局方第一部解説書,” 広川書店, 東京, 1971, C, 22.

8) 6-O-Lauryl-L-dehydroascorbic acid のスポットは AsA-ML と全く同一の場所に認められた。

2,3-diketogulonic acid および 2,3-diketo-L-gulonohydroxamic acid などを含むしていないためテーリングのないきれいな2個のスポットが得られた。そのうち1個はラウリン酸であり、もう1個は過塩素酸鉄試液により紫色を呈することから明らかにヒドロキサム酸誘導体であると考えられる。24時間後のスポットはこの実験法においても0時間に比して著しく小さく AsA-ML の分解が進んでいることを示しており、ラウリン酸の検出によってエステル部分の加水分解は明らかであるが、laurohydroxamic acid と 6-O-lauryl-2,3-diketo-L-gulonohydroxamic acid のスポットが重なるためこの方法によって AsA-ML の分解の動態をこれ以上知ることは無理であることがわかった。

(2) AsA-ML の分解速度定数

温度 45°, 60° および 80°, pH 3.10—10.12 の間において AsA-ML の残存濃度を二酸化セレン法により測定し、その対数を反応時間に対してプロットすると、いずれの場合においても直線関係が得られ擬一次反応に従って分解することが認められた。よって、それらの直線の勾配より分解速度 (k) 定数を計算した k および半減期 ($t_{1/2}$) を Table I に示す。

TABLE I. Observed Rate Constants and Half-Life Periods for the Degradation of 6-O-Lauryl-ascorbic Acid at Various Temperatures and pH Values

Temperature, (°C)	pH	$k \times 10^2$, hr ⁻¹	$t_{1/2}$, hr	E_a kcal/mole
45	3.10	2.69	26.6	7.74
60		4.49	15.4	
80		8.80	7.9	
45	5.52	3.09	22.4	7.47
60		5.40	12.8	
80		10.30	6.7	
45	7.34	3.45	20.0	7.39
60		5.76	12.0	
80		11.00	6.3	
45	8.48	3.98	17.4	7.08
60		6.60	10.5	
80		12.10	5.7	
45	9.37	5.02	13.8	6.39
60		7.95	8.7	
80		13.70	5.1	
45	10.12	6.76	10.3	6.02
60		10.56	6.6	
80		17.40	4.0	

この実験から水溶液中の AsA-ML は温度および pH の増加にしたがって分解速度が大きくなることが明らかとなった。つぎに比較のため同様に 80° における 0.01M AsA 水溶液の k を pH 3.10—10.12 の間において求めた。その結果は pH 3.10, 5.52, 7.34, 8.48, 9.37 および 10.12 においてそれぞれ 0.087, 0.107, 0.141, 0.159, 0.177 および 0.250 hr⁻¹ であった。80° における AsA-ML と AsA の pH- k プロファイルを Fig. 2 に示す。

この図から両者の分解速度は酸性領域においてはほとんど差はないが中性付近からアルカリ領域になると AsA の方が分解されやすくなる。この現象はおそらくミセル形成の結果によるものであると考えられるが、あるいは分子構造の立体的障害の相違によるものであるかもしれない。

Fig. 3 は $\log k$ を $1/T$ に対してプロットしたもので図に示すように負の勾配を持った直線が得られた。これより活性化エネルギー (E_a) を求めた。その結果は pH 3.10, 5.52, 7.34, 8.48, 9.37 および 10.12 においてそれぞれ 7.74, 7.47, 7.39, 7.08, 6.39 および 6.02 kcal/mole であった (Table I)。これらの結果からも pH の増加

Fig. 2. The pH-Rate Profile of the Degradation of AsA and AsA-ML in Buffered Aqueous Solutions at 80°

—○—: AsA
—●—: AsA-ML

Fig. 3. Arrhenius Plots showing Temperature Dependence of the AsA-ML Degradation at pH 3.10—10.12

—○—: pH 10.12
—●—: pH 9.37
—□—: pH 8.48
—■—: pH 7.34
—△—: pH 5.52
—▲—: pH 3.10

するにしたがって水溶液中の AsA-ML は不安定となることは明らかである。

(3) アルコールの影響

温度 80°, エタノール濃度 0, 20, 40, 60, 80 および 100% において 0.01 M AsA-ML の残存濃度を測定した。その結果、水-エタノール系溶液中においても AsA-ML は擬一次反応にしたがって分解することおよびその分解速度は溶媒のエタノール濃度によって著しい差異があり、エタノール濃度の増加、つまり律速段階に関与する水濃度の減少が反応速度を減少させることがわかった。Table II に水-エタノール溶液中における k および $t_{1/2}$ を示す。

誘電率 D の溶媒中で k は一般に次のように表わされる。⁹⁾

TABLE II. Observed Rate Constants and Half-Life periods for the Degradation of 6-O-Lauryl-ascorbic Acid in EtOH-H₂O Mixtures at 80°

EtOH (%)	$k \times 10^2, \text{hr}^{-1}$	$t_{1/2}, \text{hr}$
0	8.88	7.8
20	7.52	9.2
40	5.93	11.7
60	5.13	13.5
80	3.30	21.0
100	1.73	40.0

Fig. 4. Relation Between Rate Constant and Dielectric Constant

9) 妹尾 学, 新井 健, “有機化学反応における溶媒効果,” 浅原照三編, 産業図書, 東京, 1970, p. 3.

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{N z_A z_B e^2}{D r^* R T} \quad (1)$$

ただし, k_0 : $D=\infty$ の溶媒中での反応速度定数, z_A, z_B : イオン A, B のイオン価, e : 電荷, N : アボガドロ数, r^* : 遷移状態での電荷間距離, R : 気体定数, T : 絶対温度である.

Fig. 4 は k の対数を誘電率の逆数に対してプロットしたもので, 負の勾配をもった直線が得られた. なお, 水-エタノール溶液の 80° における誘電率はエタノール濃度 0, 20, 40, 60 および 80% においてそれぞれ 60.58, 50.81, 40.93, 31.82 および 23.20 として計算した.¹⁰⁾ この結果 AsA-ML の分解反応は (1) 式より等符号の電荷をもったイオン間の反応が支配的であることがわかった. また, AsA-ML はアルコールなどの溶媒を用いて誘電率を減少させることによって分解速度を減少し, 安定化されることが明らかとなった.

10) G. Åkerlof, *J. Am. Chem. Soc.*, **54**, 4125 (1932).