

# パラベン類の酸解離定数および分配定数について

中島 慶子\* 安田 敏子\*

## The Acid Dissociation Constants and the Partition Constants of Parabens

Keiko NAKAJIMA and Toshiko YASUDA

### Summary

The extractability of parabens was examined. Parabens chosen were methylparaben, ethylparaben, isopropylparaben, n-propylparaben, isobutylparaben and n-butylparaben. These parabens are very useful preservatives in pharmaceuticals, cosmetics and foods. It was found that the extractability of these parabens relate to the ester structures. To explain the reason for these differences in extractability, in the first place  $pK_a$  was determined by a UV method, and secondly a flask-shaking method was carried at higher pH than  $pK_a$ .

From apparent partition constants( $P_a$ ) obtained, real partition constants( $P$ ) were calculated.

It became clear that not  $pK_a$  but  $\log P$  obviously varied with the variation of ester portion. A linear relationship between the number of carbon atoms in the ester portion of these parabens and  $\log P$  was found.

#### I 緒言

パラベン類は、医薬品、化粧品、食品等に広く使用される防腐剤であり、それらの内、主として6種のエステルが用いられている。従来行なわれているパラベンの分析法では、水-エーテル系において、1%炭酸水素ナトリウム溶液を用いることにより、安息香酸等酸性防腐剤と分離している。炭酸水素ナトリウムの使用は、その後処理において二酸化炭素の発生を伴うので、その改善のため0.002N水酸化ナトリウム溶液の使用を検討した。その結果、0.002N水酸化ナトリウム溶液の使用が不適当であることが明らかになると同時に、以下に述べるようなパラベン類の水層への移行性に興味ある挙動が認められた。すなわちn-ブチルパラベンでは水層への移行がほとんど見られないのに対し、メチルパラベンではその大部分が水層へ移行することが分かった。

このように、エステルの違いにより分配の挙動が異なるのは、それぞれの酸解離定数  $K_a$  と分配定数  $P$  の違いによるものと考え、今回筆者らは、6種のパラベン類について  $K_a$  と  $P$  を求めたところ、若干の知見を得たので報告する。

#### II 実験

##### 1 装置

- (1) pHメーター  
日立一堀場 M-7型
- (2) 高速液体クロマトグラフ装置  
検出器 UV-254nm, Iatron Uvigraph LC-1  
分離管 ガラスカラム (内径5mm×500mm) にイアトロビーズ 6cp-2020 (スチレンジビニルベンゼンポリマー) を充填したもの  
ポンプ オリエンタルモーター(株)製 5SK25GK-A  
記録計 日本電子科学(株)製卓上形自動平衡記録計
- (3) 自記分光光度計  
EPS-3T 型日立自記分光光度計
- (4) 振とう機  
(株)常盤製作所製 TS 式シェーカー

##### 2 試薬

- (1) Sørensen の緩衝液  
Sørensen の緩衝液の成分組成および pH は Table 1 のとおりである。
- (2) Kolthoff の緩衝液  
Kolthoff の緩衝液の成分組成および pH は Table 2 のとおりである。

\*千葉衛研研究所  
(1980年3月24日受理)

Table 1. Components of Sørensen's buffer

pH	0.05M Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> ·10H <sub>2</sub> O (ml)	0.1M HCl (ml)	0.1M NaOH (ml)
1.04		100.0	
7.61	52.5	47.5	
8.13	57.5	42.5	
8.67	70.0	30.0	
8.99	85.0	15.0	
9.23	100.0		
9.59	70.0		30.0
9.86	60.0		40.0
12.13	40.0		60.0

Table 2. Components of Kolthoff's buffer

pH	0.05M Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> ·10H <sub>2</sub> O (ml)	0.05M Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (ml)
10.0	37	113
10.2	27	123
10.4	20	130
10.6	13	137
10.8	8	142
11.0	4	146

pH	0.1M NaOH (ml)	0.1M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (ml)	H <sub>2</sub> O (ml)
11.2	18	75	57

なお、本実験で使用した試薬はすべて試薬特級である。

### 3 操作

実験操作はすべて室温で行ない、(1), (2), (4)で用いる高速液体クロマトグラフ(HLC)法による定量法は前報<sup>1)</sup>によった。

#### (1) パラベン類の抽出プロフィール

操作方法をまとめてFig. 1に示した。エチルパラベン、*n*-プロピルパラベン、*n*-ブチルパラベンを各々 1 mg含

むエタノール 1 mlを30mlのエーテルに加え、これを種々の pHの水酸化ナトリウム溶液10mlずつで3回抽出し、水層(i)~(iii)とエーテル層(iv)を得る。それぞれの水層は塩酸性、食塩飽和した後、エーテルで2回抽出する。2回のエーテル層を合せ、溶媒を留去し、残留物をエタノール 1 mlに溶かし、試料溶液(i)~(iii)とする。次にエーテル層(iv)を溶媒留去し、残留物を 1 mlのエタノールに溶かし、試料溶液(iv)とす

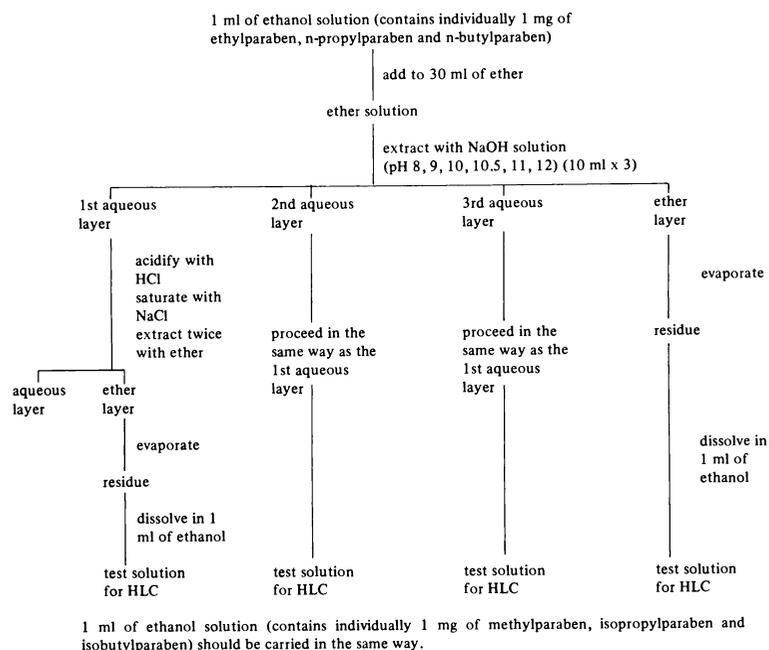


Fig. 1. Preparation of test solutions for examining the extractability of parabens

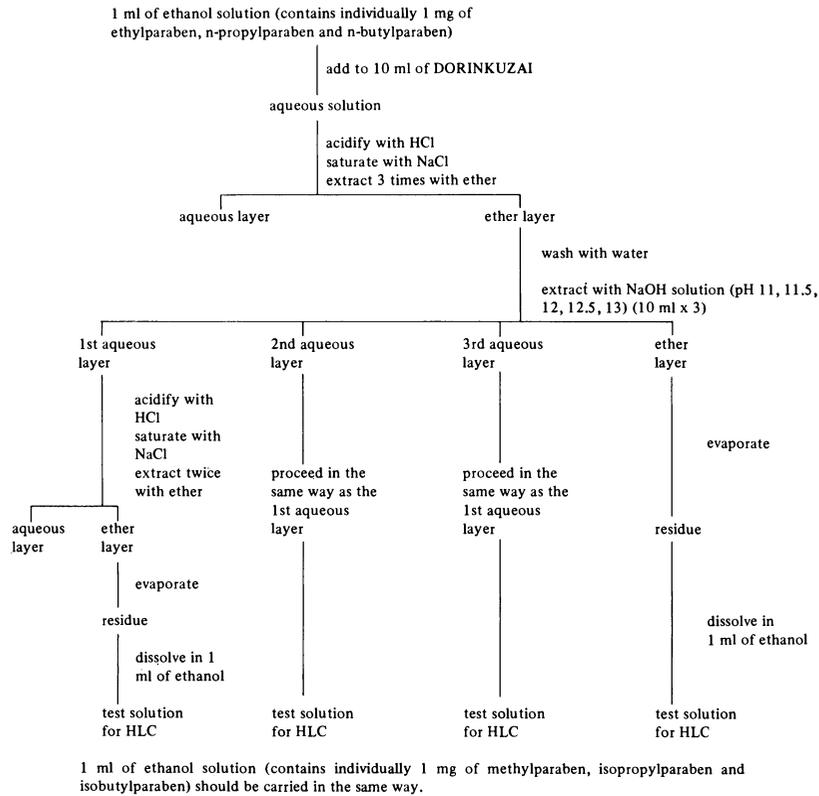


Fig. 2. Preparation of test solutions for examining the extractability of parabens in DORINKUZAI

る。試料溶液 (i) ~ (iv) を HLC 法により定量し、水層 (i) ~ (iii) およびエーテル層 (iv) 中の三種のパラベンの存在割合を求める。なお、水酸化ナトリウム溶液の pH は、8, 9, 10, 10.5, 11, 12 とした。次にメチルパラベン、イソプロピルパラベン、イソブチルパラベンを各々 1 mg 含むエタノール 1 ml について、同様の操作を行なう。

(2) ドリンク剤中のパラベン類の抽出プロフィール

操作方法をまとめて Fig. 2 に示した。パラベン類を含有せず、安息香酸を含有する (約 5mg/10ml) ドリンク剤を選び、これにエチルパラベン、n-プロピルパラベン、n-ブチルパラベンを各々 1 mg 含むエタノール 1 ml を添加し、塩酸酸性、食塩飽和した後、エーテルで 3 回 (10, 10, 8 ml) 抽出し、エーテル層を合す。これを水洗した後、種々の pH の水酸化ナトリウム溶液 10 ml ずつで 3 回抽出し、水層 (i) ~ (iii) とエーテル層 (iv) を得る。以下 (1) の (i) ~ (iv) と同様に操作し、三種のパラベンの存在割合を求める。なお、水酸化ナトリウム溶液の pH は 11, 11.5, 12, 12.5, 13 である。

(3) パラベン類の pKa

パラベンの 0.25mg/ml エタノール溶液 1 ml を Sørensen の緩衝液で 50 ml とし、pH 1 ~ 12 の 9 種の溶液を製作する。それぞれの紫外部吸収曲線を描いた後、pH を測定する。このうち pH 12 での吸光度をイオン種 (解離した分子) の吸光度とし、pH 1 での吸光度を分子種 (非解離分子) の吸光度とし、イオン種の極大吸収波長である 297nm の値から次式により pKa を算出する。

$$pKa = pH + \log \frac{d_i - d}{d - d_m}$$

$d_i$  : イオン種の吸光度

$d_m$  : 分子種の吸光度

$d$  : イオン種と分子種の共存溶液の吸光度

(4) パラベン類の分配

エーテル200mlと Kolthoff の緩衝液150mlを振とうして互いに飽和させた後、分離しておく。なお、本実験ではひとつのパラベンについて、Kolthoff の緩衝液の pH を変えて合計 3 回の操作を行なったが、パラベンと pH の関係は Table 3 のとおりである。

パラベン50mgをエーテルで50mlとし、その10mlと緩衝液で飽和されたエーテル40mlを200mlの分液ロートに入れ、さらにエーテルで飽和された緩衝液50mlを合せ、振とう機で10分振とうする。両層が分離した後、速かに水層とエーテル層を試料溶液として 4  $\mu$ l ずつ HLC に注入し、標準溶液とのピーク高の絶対比較法により、パラベン濃度を測定する。次に、振とう後の水層の pH を測定する。なお、標準溶液はパラベン250mg

Table 3. pH of Kolthoff's buffer used in a flask-shaking method

paraben ester	①	②	③
methyl-	9.8	10.0	10.2
ethyl-	10.0	10.2	10.4
isopropyl-	10.4	10.6	10.8
n-propyl-	10.4	10.6	10.8
isobutyl-	10.8	11.0	11.2
n-butyl-	10.8	11.0	11.2

をエタノールで50mlとし、その 1 ml を試料溶液と同じ溶媒で希釈して50mlとしたものを用いる。

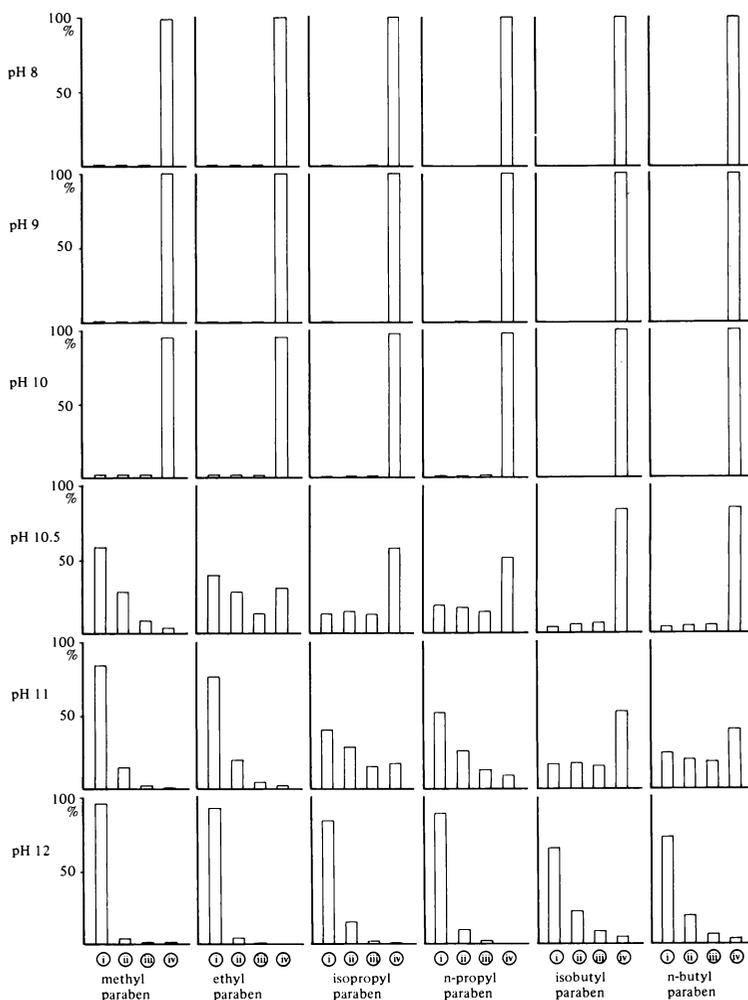


Fig. 3. Extractability of parabens

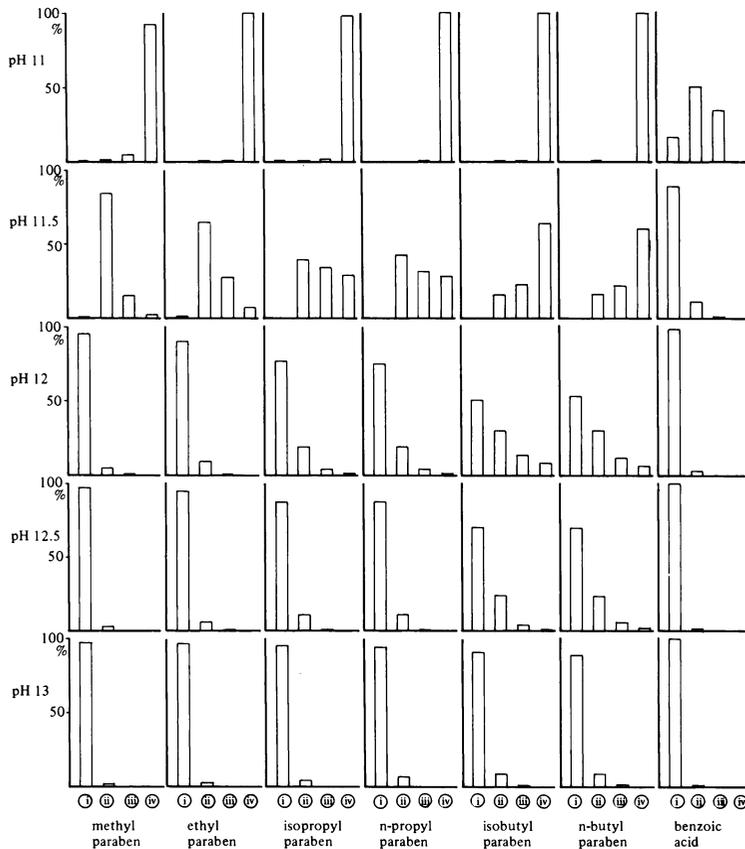


Fig. 4. Extractability of parabens and benzoic acid in DORINKUZAI

### III 結果

#### 1 パラベン類の抽出プロフィールについて

得られた結果をFig. 3に示した。左からメチルパラベン、エチルパラベン、イソプロピルパラベン、n-プロピルパラベン、イソブチルパラベン、n-ブチルパラベン、上からpH8, 9, 10, 10.5, 11, 12の順である。①は1回目の抽出で水層へ移行したパラベンの割合(%), ②は2回目の割合(%), ③は3回目の割合(%), ④はエーテル層に残留した割合(%)を示しており、①~④の合計を100%とした。

パラベン類が水層へ移行し始めるのは、pH約10.5でpKaの約8.3と比較して高い。またメチルパラベンでは

pH10.5の水酸化ナトリウム溶液で3回抽出すれば、ほとんど水層へ移行するのに対し、n-ブチルパラベンではほとんど移行しなかった。

#### 2 ドリンク剤中のパラベン類の抽出プロフィールについて

得られた結果をFig. 4に示した。左から、メチルパラベン、エチルパラベン、イソプロピルパラベン、n-プロピルパラベン、イソブチルパラベン、n-ブチルパラベン、安息香酸、上からpH11, 11.5, 12, 12.5, 13の順である。Fig. 4ではFig. 3よりも高いpH(約11.5)で水層への移行が始まっている。これは、安息香酸その他ドリンク剤中の酸性成分のためであろうと思われる。Fig. 4からもエステルの違いにより、抽出プロフィールに差があることが分かる。

3 パラベン類の pKa について

Table 4 にそれぞれのパラベンについて得られた 7 個の pKa 値およびその平均値と標準偏差, さらに平均値から求めた Ka 値を示した。

4 パラベン類の分配について

Table 5 に水層中のパラベン濃度 (mg/ml), エーテル層中のパラベン濃度 (mg/ml), 抽出後の pH, pH から求めた [H<sup>+</sup>], 回収率を示した。回収率は, 水層中のパラベン含量とエーテル層中のパラベン含量の和の添加量に対する割合 (%) である。

Table 4. Results of pKa and Ka of parabens by a UV method

paraben ester	pKa							Ave.	S.D.	Ka (x 10 <sup>-9</sup> )
	1	2	3	4	5	6	7			
methyl-	8.35	8.32	8.31	8.30	8.29	8.24	8.16	8.28	0.06	5.2481
ethyl-	8.37	8.32	8.27	8.31	8.30	8.33	8.26	8.31	0.04	4.8968
isopropyl-	8.42	8.41	8.41	8.43	8.31	8.26	8.26	8.36	0.08	4.3652
n-propyl-	8.39	8.40	8.39	8.39	8.40	8.38	8.28	8.38	0.04	4.1687
isobutyl-	8.40	8.37	8.41	8.47	8.44	8.39	8.36	8.41	0.04	3.8905
n-butyl-	8.39	8.30	8.32	8.29	8.29	8.32	8.20	8.30	0.06	5.0119

Table 5. Results of Pa and logP of parabens by a flask-shaking method

paraben ester		concentration of paraben (mg/ml)		pH after flask-shaking	[H <sup>+</sup> ] (x 10 <sup>-11</sup> M)	recovery (%)	Pa	logP
		aqueous layer	ether layer					
methyl-	①	0.09130	0.11654	9.81	15.489	98.1	1.277	1.649
	②	0.09778	0.09664	10.00	10.000	92.4	0.988	1.723
	③	0.13155	0.06959	10.19	6.457	97.1	0.529	1.639
ethyl-	①	0.03990	0.16625	10.26	5.496	103.1	4.165	2.574
	②	0.05416	0.16475	10.40	3.981	109.5	3.042	2.577
	③	0.07053	0.13240	10.55	2.818	101.5	1.877	2.516
isopropyl-	①	0.02989	0.17818	10.55	2.818	104.0	5.961	2.968
	②	0.04373	0.16042	10.73	1.862	102.1	3.669	2.936
	③	0.06071	0.14527	10.91	1.230	103.0	2.393	2.930
n-propyl-	①	0.02781	0.17948	10.51	3.090	103.6	6.454	2.943
	②	0.03894	0.17368	10.69	2.042	106.3	4.460	2.961
	③	0.05517	0.14314	10.86	1.380	99.2	2.595	2.896
isobutyl-	①	0.02414	0.18662	10.96	1.096	105.4	7.731	3.440
	②	0.03130	0.18338	11.10	0.794	107.3	5.859	3.459
	③	0.03982	0.17215	11.26	0.550	106.0	4.323	3.486
n-butyl-	①	0.02285	0.18636	10.93	1.175	104.6	8.155	3.542
	②	0.02935	0.17343	11.10	0.794	101.4	5.909	3.572
	③	0.03652	0.17633	11.22	0.603	106.4	4.828	3.604

IV 考察

パラベンはフェノール性の一塩基酸である。パラベンを AH とし, 有機相中の AH のモル濃度を [AH]org, 水相中のモル濃度を [AH]aq, AH の真の分配定数を P, 見かけの分配定数を Pa とする時, もし有機相中の AH のイオン濃度 [A<sup>-</sup>]org が無視できれば, P と Pa の間に

は次の関係式が成り立つ。

$$Pa = \frac{[H^+]}{Ka + [H^+]} P \dots\dots\dots ①$$

ただし

$$Pa = \frac{[AH]org}{[AH]aq + [A^-]aq}$$

江角ら<sup>2)</sup>は, この関係から安息香酸メチル等の P と Ka を同時に求めている。

筆者らは、当初この方法でパラベン類の P と Ka を同時に求めることを試みたが、2 個の未知数を同時に求めるため、実験条件の設定に厳密さが要求され、よい結果が得られなかった。そこで Ka の値を次に述べる方法により定め、①式に代入して P を求めた。

Ka を求める方法には、吸光度法、電位差法、溶解度法、電導度法などがあるが<sup>3)</sup>、ここでは最も簡便な吸光度法を用いた。

一方、分配操作法には、薄層クロマトグラフ法、高速液体クロマトグラフ法などがあるが<sup>4)</sup>、ここでは最も信頼できる flask-shaking 法を用いた。flask-shaking 後の水-エーテル両層中のパラベンの全濃度の定量法として、本実験では HLC 法を用いたが、これはパラベンが加水分解された場合に、生成するパラオキシ安息香酸を検出するためである。当初、HLC 法で水層中の [AH] と [A<sup>-</sup>] の合計を測定できるかどうか疑問であったが、Table 5 の回収率がほぼ 100% であったことから、[AH] aq + [A<sup>-</sup>] aq を測定できたものと思われる。

また、本実験では pKa より高い pH で flask-shaking を行なった。①式から、[H<sup>+</sup>] >> Ka (pH < pKa) の時、Pa =

Table 6. pKa and logP of parabens

paraben ester	pKa	logP
methyl-	8.26 ± 0.06	1.67 ± 0.05
ethyl-	8.31 ± 0.04	2.56 ± 0.03
isopropyl-	8.36 ± 0.08	2.94 ± 0.02
n-propyl-	8.38 ± 0.04	2.93 ± 0.03
isobutyl-	8.41 ± 0.04	3.46 ± 0.02
n-butyl-	8.30 ± 0.06	3.57 ± 0.03
Ave. ± S.D.		

P となるが、このような pH においては水層に比べエーテル層中のパラベン濃度が圧倒的に高いため、正確な Pa を求めることは困難である。pKa より高い pH において、水層とエーテル層中のパラベン濃度が近い値となり、正確な Pa を求めることが可能であった。溶質間の会合がある場合には、①式は成立しない。メチルパラベンについて pH 10.5 に設定し、初濃度(解離も分配も起きていない時の濃度)を変えて実験を行なったところ、Pa の値がほぼ一定だったことから、パラベンは水層およびエーテル層中で会合していないものと考えられる。Table 5 に、見かけの分配定数 Pa(エーテル層中のパラベンの全濃度/水層中のパラベンの全濃度)および①式より求めた log P を示した。また、Table 6 に 6 種のパラベンの

pKa と log P の平均値を示した。

一方、筆者らは①式による方法の他に、パラベンの初濃度 [AH] int とエーテル層中の濃度 [AH] org を用い次式②より P を求めることを試みた。

$$P = \frac{[AH]_{org}}{[AH]_{int} - [AH]_{org}} \cdot \left( \frac{K_a}{[H^+]} + 1 \right) \dots \dots \textcircled{2}$$

[AH] int : パラベンのエーテル層中における初濃度 (単位 M)

Table 7. logP of parabens from equation ②

paraben ester	logP
methyl-	1.68 ± 0.03
ethyl-	2.65 ± 0.11
isopropyl-	3.02 ± 0.07
n-propyl-	3.03 ± 0.13
isobutyl-	3.69 ± 0.05
n-butyl-	3.73 ± 0.10
Ave. ± S.D.	

②式を用いれば、水層中の AH の濃度を定量できない場合に P を求めることができる。②式により求めた logP を Table 7 に示した。Table 6 と Table 7 を比較すると

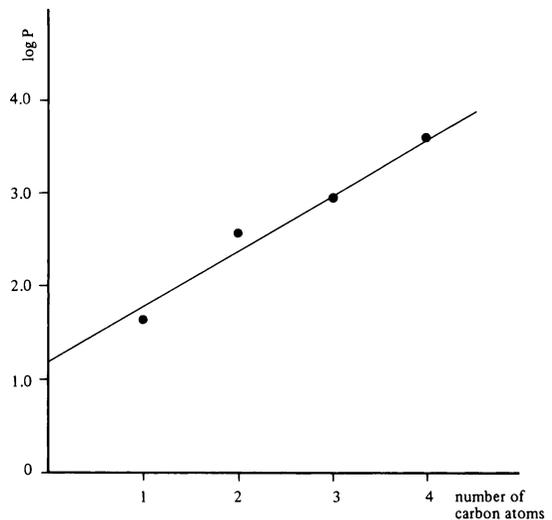


Fig. 5. Relation between the number of carbon atoms in the n-alkyl portion of paraben esters and logP

Table 6 の logP の方が標準偏差が小さく、P を求める式としては本実験では、①式の方が適当と思われる。

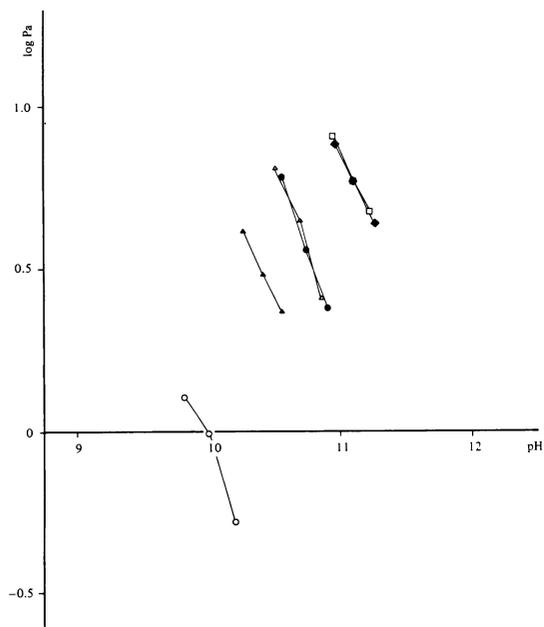


Fig. 6. Plot of  $\log P_a$  as a function of pH for methylparaben (○), ethylparaben (▲), isopropylparaben (●), n-propylparaben (△), isobutylparaben (◆) and n-butylparaben (□).

Table 6 から pKa の値には、パラベンのエステルの違いによる差がないのに対し、 $\log P$  には顕著な差があることが分かった。また、異性体間の  $\log P$  の差は小さかった。

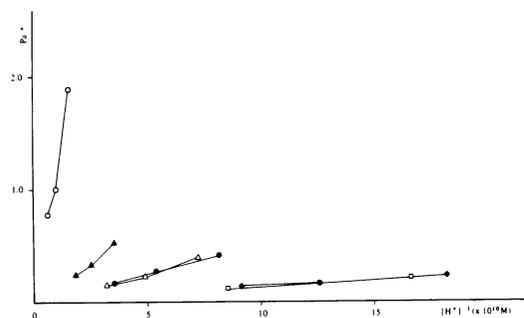


Fig. 7. Plot of reciprocal  $P_a$  as a function of reciprocal  $[H^+]$  for methylparaben (○), ethylparaben (▲), isopropylparaben (●), n-propylparaben (△), isobutylparaben (◆) and n-butylparaben (□).

パラベンの直鎖型アルキル鎖（エステル部分）の炭素数と  $\log P$  の関係を Fig. 5 に示した。両者の間には、相関関係が認められた。

次に、本実験の結果が①式に従うことを検証した。①式より

$$\log P_a = \log P - \text{pH} - \log(K_a + [H^+]) \dots\dots\dots ③$$

が得られる。本実験で得られた pH と  $\log P_a$  の関係は Fig. 6 のようであり、いずれのパラベンについても傾き -1 の直線性が認められた。一方、 $[H^+]^{-1}$  と  $P_a^{-1}$  との関係を図示したところ、Fig. 7 のようにいずれのパラベンについても直線性が認められた。これらは本実験の結果が①式に従うことを意味し、有機相中のパラベンのイオン濃度が無視しうるものであることを示唆している。

P 値は、それ自体興味あるばかりでなく、構造活性相関の研究にとっても重要である。Leo ら<sup>5)</sup>は、この立場から多数の物質の水-オクタノール系における P を求めている。各種の系における P の関係および液-液分配法としての高速液体クロマトグラフの応用などが、今後の筆者らの研究課題となろう。

## V 結論

- 1 メチルパラベン、エチルパラベン、イソプロピルパラベン、n-プロピルパラベン、イソブチルパラベン、n-ブチルパラベンの pKa を吸光度法で、P を flask-shaking 法で求めたところ、Table 6 の値が得られた。
- 2 パラベンはエステルの違いにより、異なる抽出プロフィールを持つが、これはそれぞれの pKa の差によるよりも、主に  $\log P$  の差のためである。
- 3 パラベンのエステル部分の直鎖型アルキル鎖の炭素数と  $\log P$  の間には、相関関係が認められた。

## VI 文献

- 1) 中島慶子 他：ドリンク剤中の防腐剤の分析法-I, 千葉県衛研報告, 3, 9-14, 1979.
- 2) 江角清志, 窪田種一：酸及び塩基の見かけの分配係数  $P_a$  より真の P 値及び pKa を同時に得るための解析法並びに  $P_a$  と P の関係(I), 日本薬学会第99年会講演要旨集, 419頁, 1979.
- 3) A. Albert, E. P. Serjeant: イオン定数と測定法, 丸善, 1962.
- 4) 構造活性相関懇話会：薬物の構造活性相関, 化学の領域増刊122号, 南江堂, 1979.
- 5) Albert Leo et al.: Partition coefficients and their uses, Chemical Reviews, 71, 525-, 1971.