

表7-1 凍結乾燥及びスプレードライにより調整した処方エキスにおける理論収量と実測値の比較 [大黄甘草湯]

大黄甘草湯 <sup>a)</sup>										
	構成生薬	一日量中の分量[g]		A社	B社	C社	D社	E社	会社間平均	会社間変動係数
凍結乾燥	ダイオウ	4	構成生薬一日量あたりの理論エキス収量 <sup>b)</sup> [g]	1.004	0.922	1.112	0.914	1.122	1.015	8.8
	カンゾウ	2		0.486	0.550	0.469	0.532	0.581	0.524	7.9
		処方一日量あたりの理論エキス収量 <sup>c)</sup> [g]	1.490	1.472	1.581	1.446	1.703	1.539	6.1	
	処方エキス収量実測値の一日量換算値 <sup>d)</sup> [g]		1.455	1.513	1.547	1.502	1.752	1.554	6.7	
	一日量換算実測値/一日量理論値 <sup>e)</sup>		0.976	1.027	0.979	1.039	1.029	1.010	2.7	
スプレードライ	ダイオウ	4	構成生薬一日量あたりの理論エキス収量 <sup>f)</sup> [g]	0.743	0.592	0.819	0.616	0.696	0.693	12.0
	カンゾウ	2		0.381	0.429	0.350	0.390	0.459	0.402	9.5
		処方一日量あたりの理論エキス収量 <sup>g)</sup> [g]	1.123	1.021	1.168	1.006	1.156	1.095	6.2	
	処方エキス収量実測値の一日量換算値 <sup>h)</sup> [g]		1.123	1.019	1.082	1.003	1.176	1.081	5.9	
	一日量換算実測値/一日量理論値 <sup>i)</sup>		1.000	0.998	0.926	0.997	1.017	0.988	3.2	

a) エキス調整において、一日量の8倍スケールで煎出し、その1/5を凍結乾燥に、残りの4/5をスプレードライに供した

b) 単味生薬煎出液の凍結乾燥における平均エキス収率(N=2)をもとに算出

c) 構成生薬一日量の凍結乾燥における理論エキス収量の単純和

d) エキス調整における抽出スケールを考慮して、凍結乾燥エキス収量実測値の平均(N=2)を一日量に換算

e) 凍結乾燥における、処方一日量の理論エキス収量に対する、処方エキス収量実測値の一日量換算値の割合

f) 単味生薬煎出液のスプレードライにおける平均エキス収率(N=2)をもとに算出

g) 構成生薬一日量のスプレードライにおける理論エキス収量の単純和

h) エキス調整における抽出スケールを考慮して、スプレードライエキス収量実測値の平均(N=2)を一日量に換算

i) スプレードライにおける、処方一日量の理論エキス収量に対する、処方エキス収量実測値の一日量換算値の割合

表7-2 凍結乾燥及びスプレードライにより調整した処方エキスにおける理論収量と実測値の比較 [黄連解毒湯]

黄連解毒湯 <sup>a)</sup>										
	構成生薬	一日量中の分量 [g]		A社	B社	C社	D社	E社	会社間平均	会社間変動係数
凍結乾燥	オウレン	1.5	構成生薬一日量あたりの理論エキス収量 [g] <sup>b)</sup>	0.276	0.262	0.225	0.283	0.221	0.253	10.1
	オウバク	1.5		0.240	0.253	0.259	0.237	0.214	0.240	6.5
	オウゴン	3		1.401	1.287	1.251	0.990	1.501	1.286	13.4
	サンジシ	2		0.489	0.569	0.500	0.537	0.427	0.504	9.5
	処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] <sup>c)</sup>			2.406	2.371	2.234	2.047	2.363	2.284	5.8
	処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] <sup>d)</sup>			1.763	1.646	1.970	1.742	1.929	1.810	6.7
	一日量換算実測値/一日量理論値 <sup>e)</sup>			0.733	0.694	0.882	0.851	0.816	0.795	8.9
スプレードライ	オウレン	1.5	構成生薬一日量あたりの理論エキス収量 [g] <sup>f)</sup>	0.216	0.202	0.174	0.207	0.185	0.197	7.7
	オウバク	1.5		0.104	0.123	0.112	0.112	0.104	0.111	6.3
	オウゴン	3		0.991	0.985	0.953	0.765	1.177	0.974	13.5
	サンジシ	2		0.322	0.391	0.328	0.372	0.301	0.343	9.7
	処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] <sup>g)</sup>			1.633	1.700	1.567	1.456	1.767	1.625	6.6
	処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] <sup>h)</sup>			1.117	1.085	1.113	1.164	1.135	1.123	2.3
	一日量換算実測値/一日量理論値 <sup>i)</sup>			0.684	0.638	0.710	0.799	0.643	0.695	8.4

a) エキス調整において、一日量の8倍スケールで煎出し、その1/5を凍結乾燥に、残りの4/5をスプレードライに供した

b) 単味生薬煎出液の凍結乾燥における平均エキス収率 (N=2) をもとに算出

c) 構成生薬一日量の凍結乾燥における理論エキス収量の単純和

d) エキス調整における抽出スケールを考慮して、凍結乾燥エキス収量実測値の平均 (N=2) を一日量に換算

e) 凍結乾燥における、処方一日量の理論エキス収量に対する、処方エキス収量実測値の一日量換算値の割合

f) 単味生薬煎出液のスプレードライにおける平均エキス収率 (N=2) をもとに算出

g) 構成生薬一日量のスプレードライにおける理論エキス収量の単純和

h) エキス調整における抽出スケールを考慮して、スプレードライエキス収量実測値の平均 (N=2) を一日量に換算

i) スプレードライにおける、処方一日量の理論エキス収量に対する、処方エキス収量実測値の一日量換算値の割合

表7-3 凍結乾燥及びスプレードライにより調製した処方エキスにおける理論収量と実測値の比較 [芍薬甘草湯]

芍薬甘草湯 <sup>a)</sup>										
	構成生薬	一日量中の分量 [g]		A社	B社	C社	D社	E社	会社間平均	会社間変動係数
凍結乾燥	シャクヤク	6	構成生薬一日量あたりの理論エキス収量 [g] <sup>b)</sup>	1.946	1.922	1.986	1.946	2.208	2.002	5.3
	カンゾウ	6		1.458	1.650	1.407	1.596	1.744	1.571	7.9
			処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] <sup>c)</sup>	3.404	3.572	3.393	3.542	3.952	3.573	5.7
			処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] <sup>d)</sup>	3.350	3.575	3.292	3.392	3.438	3.409	2.8
			一日量換算実測値/一日量理論値 <sup>e)</sup>	0.984	1.001	0.970	0.958	0.870	0.957	4.8
スプレードライ	シャクヤク	6	構成生薬一日量あたりの理論エキス収量 [g] <sup>f)</sup>	1.266	1.172	1.228	1.231	1.155	1.210	3.4
	カンゾウ	6		1.142	1.286	1.049	1.171	1.378	1.205	9.5
			処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] <sup>g)</sup>	2.408	2.458	2.276	2.402	2.533	2.415	3.5
			処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] <sup>h)</sup>	2.472	2.478	2.413	2.308	2.475	2.429	2.7
			一日量換算実測値/一日量理論値 <sup>i)</sup>	1.027	1.008	1.060	0.961	0.977	1.007	3.5

a) エキス調製において、一日量の8倍スケールで煎出し、その1/5を凍結乾燥に、残りの4/5をスプレードライに供した

b) 単味生薬煎出液の凍結乾燥における平均エキス収率 (N=2) をもとに算出

c) 構成生薬一日量の凍結乾燥における理論エキス収量の単純和

d) エキス調製における抽出スケールを考慮して、凍結乾燥エキス収量実測値の平均 (N=2) を一日量に換算

e) 凍結乾燥における抽出スケールを考慮して、凍結乾燥エキス収量に対する、処方エキス収量実測値の一日量換算値の割合

f) 単味生薬煎出液のスプレードライにおける平均エキス収率 (N=2) をもとに算出

g) 構成生薬一日量のスプレードライにおける理論エキス収量の単純和

h) エキス調製における抽出スケールを考慮して、スプレードライエキス収量実測値の平均 (N=2) を一日量に換算

i) スプレードライにおける、処方一日量の理論エキス収量に対する、処方エキス収量実測値の一日量換算値の割合

表7-4 凍結乾燥及びスプレードライにより調製した処方エキスにおける理論収量と実測値の比較 [葛根湯]

葛根湯 <sup>a)</sup>									
構成生薬	一日量中の分量 [g]	A社	B社	C社	D社	E社	会社間平均	会社間変動係数	
凍結乾燥	カッコン	1.511	1.857	1.601	1.752	1.936	1.731	9.1	
	マオウ	0.668	0.600	0.628	0.548	0.584	0.606	6.7	
	タイソウ	1.701	1.805	1.701	1.705	2.087	1.800	8.3	
	ケイヒ	0.282	0.210	0.243	0.207	0.198	0.228	13.6	
	シャクヤク	0.923	0.963	1.002	0.966	1.113	0.993	6.5	
	カンゾウ	0.480	0.542	0.468	0.536	0.542	0.514	6.3	
	シヨウキョウ	0.114	0.125	0.057	0.106	0.125	0.105	24.0	
	処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] <sup>c)</sup>	5.679	6.102	5.700	5.819	6.586	5.977	5.7	
	処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] <sup>d)</sup>	5.903	7.153	5.697	6.326	6.421	6.300	8.0	
	一日量換算実測値/一日量理論値 <sup>e)</sup>	1.039	1.172	0.999	1.087	0.975	1.055	6.6	
スプレードライ	カッコン	1.138	1.402	1.158	1.088	1.240	1.205	9.1	
	マオウ	0.539	0.389	0.532	0.427	0.441	0.466	12.8	
	タイソウ	1.150	1.190	1.136	1.137	1.289	1.180	4.9	
	ケイヒ	0.211	0.154	0.163	0.128	0.134	0.158	18.5	
	シャクヤク	0.603	0.578	0.626	0.641	0.602	0.610	3.6	
	カンゾウ	0.192	0.427	0.345	0.399	0.444	0.361	25.3	
	シヨウキョウ	0.080	0.099	0.027	0.072	0.099	0.075	34.8	
	処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] <sup>e)</sup>	3.913	4.237	3.987	3.892	4.249	4.055	3.9	
	処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] <sup>f)</sup>	4.481	4.200	4.107	4.050	4.363	4.240	3.8	
	一日量換算実測値/一日量理論値 <sup>f)</sup>	1.145	0.991	1.030	1.040	1.027	1.047	5.0	

a) エキス調製において、一日量の8倍スケールで煎出し、その1/5を凍結乾燥に、残りの4/5をスプレードライに供した

b) 単味生薬煎出液の凍結乾燥におけるエキス収率をもとに算出

c) 構成生薬一日量の凍結乾燥における理論エキス収量の単純和

d) エキス調製における抽出スケールを考慮して、凍結乾燥エキス収量実測値を一日量に換算

e) 凍結乾燥における、処方一日量の理論エキス収量に対する、処方エキス収量実測値の一日量換算値の割合

f) 単味生薬煎出液のスプレードライにおけるエキス収率をもとに算出

g) 構成生薬一日量のスプレードライにおける理論エキス収量の単純和

h) エキス調製における抽出スケールを考慮して、スプレードライエキス収量実測値を一日量に換算

i) スプレードライにおける、処方一日量の理論エキス収量に対する、処方エキス収量実測値の一日量換算値の割合

分担研究課題 生薬中の不純物に関する研究

分担研究者 鎌倉浩之 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部主任研究官

生薬中のヒ素、カドミウム、鉛及び水銀の実態調査

研究要旨 これまで市場に流通する生薬中のヒ素及び重金属の含量を測定し、それらの実態の把握を行ってきた。その結果、メーカーによらずカドミウム含量の高いもの（ガジュツ等）や修治の違いによって含量が異なるもの（ショウキョウとカンキョウ）があることが判明した。そこで、前者については、圃場栽培品及び標準栽培品と市場品の結果を比較し、栽培条件の違いの影響を検討した。また、後者については、刻み生薬を部位ごとに選別し、比較を行い、外皮の処理の違いの影響を検討した。その結果、ガジュツのカドミウム含量は、圃場栽培品、標準栽培品共に WHO ガイドラインの基準値を満たし、市場品では高値で検出される傾向にあったカドミウムが栽培条件によっては、コントロール出来る可能性が示唆された。また、カンキョウでは、外皮を含む部位でヒ素、カドミウム及び鉛含量が内部より数倍高いことが判明したが、ヒ素、鉛において内部含量は、外皮を含まないショウキョウの値より高いことが明らかとなった。従って、カンキョウでこれら有害金属含量が高いのは、単に外皮を含むという理由だけで説明されるのではなく、修治過程において、これらの含量が増える何らかの原因があるものと推定された。

研究協力者

杉村康司（独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部研究員

飯田 修（独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部リーダー

A. 研究目的

代替医療への関心が世界的に高まるに従い、生薬を使用する国が増え、それに伴い、生薬の品質確保が重要な課題となってきた。生薬の安全性と品質を評価し、生薬中の不純物の基準と分析法に関する WHO ガイドラインを作成する会議<sup>1)</sup>が開催されるなど、その取組みは世界的規模で展開されている。また、諸外国では、個別の金属につ

いて ppm レベルの限度値を設定されつつある<sup>1)</sup>。

本研究において、市場に流通する生薬のなかで、土壤重金属の影響を受けやすいと思われる根類及び根茎類生薬及び、漢方処方における構成生薬としての汎用性の高さ、諸外国での分析結果等を考慮し、選択した 20 種の生薬中のヒ素及び重金属の含量を測定し、それらの実態を把握することを行ってきた。これらのうち、メーカーによらずカドミウム含量の高いもの（ガジュツ等）や修治の違いによって含量が異なるもの（ショウキョウとカンキョウ）があることが判明した。今回、前者については、（独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部の圃場栽培品及び標準栽培品をすでに分析を行った市場品での

結果と比較し、栽培条件の違いの影響を検討することとした。また、後者については、カンキョウの刻み生薬を部位ごとに選別し、比較を行い、修治における外皮（コルク皮）の処理の違いの影響を検討することとした。

## B. 研究方法

ガジュツについては、(独) 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部の圃場栽培品及び標準栽培品をスライスし、40℃、24時間送風乾燥したものを主に外皮の部位と内部とに分け、粉碎し試料とした。カンキョウは、選別が容易であった刻み市場品2検体を用い、目視で、外皮を明らかに含む生薬片と、光沢があり明らかに部位が内部のものと考えられる生薬片をそれぞれ、各検体の部位毎に100片以上選び、粉碎し試料とした。

## 試薬・試液

硝酸は、原子吸光分析用（関東化学製）を、水はRO水を更にMilli-Q（日本ミリポア製）により精製して得られた超純水を用いた。また、金属標準液は、和光純薬製を適宜希釈して用いた。その他の試薬は全て試薬特級品を用いた。

## 試料調製

試料粉碎は、HEIKO SAMPLE MILL TI-200（平工製作所製）を用いて行った。この粉碎試料0.1gをポリテトラフルオロエチレン製分解容器に入れ、これに硝酸1 mLを加えた後、密封し、150℃で5時間加熱した。冷後、水を加えて正確に50 mLとし、検液とした。別に対象金属標準液を混合し、数濃度に希釈し標準液とした。これらを ICP-MS 装置に導入し、標準溶液から作成した検量線により、定量を行った。

## ICP-MS 測定条件

装置: Agilent 7500c (Agilent 社製)

高周波出力: 1.5 kW

プラズマガス流量: Ar 14.9 L/min

補助ガス流量: Ar 0.9 L/min

キャリアーガス流量: Ar 1.2 L/min

サンプリング位置: 8 mm

ペリスタポンプ回転速度: 0.1 rps

測定数: 3 points/peak

積分時間: 0.3 sec/point

## C. 結果及び考察

表1にガジュツの結果を、表2にカンキョウの結果をそれぞれ示した。

### 1. ガジュツ

ヒ素は、圃場品、標本園品共に主に外皮の部位で検出され、内部では検出されないか検出されてもわずかなものであった。鉛は、圃場品の内部では検出されなかったが外皮部で0.113 ppm、標本園品では外皮部で0.426 ppm、内部で0.216 ppmであった。一方、カドミウムは、外皮部、内部共にほぼ同等の値で検出された。また、圃場品と標本園品とでは圃場品の方が高値を示した。水銀は検出されなかった。

これまでの市場品の分析では、4試料中ヒ素は1試料で0.03 ppm、カドミウム及び鉛は4試料全てにおいて検出され、それぞれ1.30～2.45 ppm及び1.59～5.92 ppmであった。また水銀は検出されていない。

今回の分析より、圃場品、標本園品共に市場品と比べてカドミウム及び鉛は低い値であり、特にカドミウム値は、圃場栽培品、標準栽培品共にWHOガイドライン<sup>3)</sup>の基準値(0.3ppm)を満たしていた。従って、市場品では高値で検出される傾向にあったカドミウムが栽培条件によっては、コントロール出来る可能性が示唆された。

土壌中のカドミウム量と玄米中のカドミウム量の関係を調査した結果<sup>5)</sup>では、土壌の含量に関連して可食部中カドミウム濃度に違いが出ることが報告されている、日本市場品は、中国で生産されたものと考えられる。従って、原産地の土壌のカドミウム含量について、現段階では調査不可能である。今後、国産の医薬品原料であるガジュツについて、引き続き金属含量測定を行い、オウレンの様に、重金属含量が、国産品で明らかに低いかどうか検討する予定である。

なお、韓国食品医薬品安全庁 (KFDA) では、使用実態等を鑑み、生薬毎に重金属の個別規制値を設定する試み<sup>4)</sup>がなされており、日本においても、同様の対応を行うべきか、検討が必要であるものと考えられる。

## 2. カンキョウ

ヒ素、カドミウム及び鉛において、外皮を含む部位の方が内部と比べて3倍から10倍程度高い値を示した(2試料の平均値:ヒ素2.7倍、カドミウム6.1倍、鉛4.2倍)。水銀は検出されなかった。

これまでの市場品の分析では、ショウキョウ5試料中でヒ素含量は0, 0.07, 0.19, 0.21, 0.23 ppm, カドミウムは0.04, 0.14, 0.16, 0.17, 0.25 ppm, 鉛は0, 0.16, 0.16, 0.18, 0.19 ppmであったのに対し、カンキョウ5試料ではヒ素は0.25, 0.26, 0.26, 0.32, 0.32ppm, カドミウムは0, 0.05, 0.07, 0.19, 0.27 ppm, 鉛は0.42, 1.03, 1.80, 1.19, 2.44ppmであり、ヒ素と鉛において、カンキョウがショウキョウより明らかに高い値を示すことが判明している。

日本で使用されているショウキョウは、皮去り(コルク皮を除去)後乾燥したものであるのに対し、カンキョウは、皮付きのまま蒸した後、乾燥していると考えられている。

今回、同一ロットのカンキョウ刻み生薬について、外皮部と内部と明確にわかる生薬片を選択し、それぞれの金属含量を測定した結果、ヒ素、カドミウム、鉛含量において、明らかに外皮部の方が内部より高いことが判明した。

1ロットの生薬片を観察すると、外皮部を含む生薬片の割合は、内部の生薬片より、明らかに少ない。これは、生姜乾燥物より、1片が5mm程度の生薬片を調製した場合、当然のことである。従って、生薬全体の金属含有値を考えると、内部片の方が、よりその含有値に貢献しているものと考えられる。

今回測定した外皮部のカドミウムの値は、これまでに測定した市場品のショウキョウ(皮去り、乾燥のみ)、カンキョウ(皮を付けたまま蒸した後、乾燥)で得られた分析値の範囲内(0.27 ppm以下)である一方、内部では、ほとんど検出されないことが判明した。これまでの市場品の分析では、ショウキョウ(皮なし)、カンキョウ(皮付き)でのカドミウム含量に大きな差がないことが明らかとなっている。従って、これらを考えると、カドミウムの場合、外皮部により蓄積されやすいものの、実際の生薬での値は、外皮部があるなしに関わらず、植物体そのものに含まれていた含量に影響を受けるものと推定された。従って、ショウキョウ市場品のように、0.25ppm程度の含有量がある場合には、修治の影響ではなく、むしろ植物体根茎由来のカドミウムであるものと推定される。

ヒ素の場合、今回の試料では、内部の含量(平均0.22ppm)がカンキョウの含有値(平均)に近似し、外皮部は、その値の2-3倍の値を示している。一方、今回のカンキョウ内部の含有値は、ショウキョウ市場品のうち4検体(80%)の含有値よりも高い。この事実は、根茎内部からなるショウキョウよりも、内部であったとしても修治を受

けたカンキョウで含量が高いことを示している。従って、カンキョウのヒ素含量がショウキョウと比較して高いのは、単に皮付きであるという理由だけでなく、生姜の根茎がカンキョウに修治される段階で、よりヒ素含量が高くなったと考える必要があることを示唆している。

鉛の場合、カンキョウ内部の含量(平均0.27ppm)、外皮部の含量(平均1.11ppm)とも、前回のカンキョウの含有値(平均1.52ppm)より小さい。以前に測定したカンキョウ市場品では1検体(含量0.42ppm)、今回の含量を説明可能な検体が存在する。従って、その検体と同様の鉛含量を持つ生薬が今回の生薬と使用されたものと考え、今回の結果と整合性がとれる。一方、ショウキョウ市場品の含量は、今回測定したカンキョウ内部のものよりもずっと小さい(平均0.14ppm)。これらの事実を考え合わせると、鉛の場合も、皮付きであるから、ショウキョウと比較してカンキョウでの含量が高いというだけでなく、ヒ素と同様、修治される際、より鉛含量が高くなったと考える必要があることを示唆している。

カンキョウの場合、蒸される際や乾燥されるときに、燃料として重金属を含有する石炭が使用される可能性が高い。また、乾燥時間は、植物の根茎をそのまま乾燥するショウキョウより、蒸したものを乾燥するカンキョウの方が、より長時間必要であるものと考えられる。

以上のことを考え合わせると、ショウキョウよりカンキョウで、ヒ素及び鉛含量が高いのは、部位として、皮部を含むことも一因ではあるが、それだけでは説明できず、修治過程で、これら金属含量が増える何らかの原因があるものと推定された。

#### E. 結論

ガジュツのカドミウム値は、圃場栽培品、標準栽培品共に WHO ガイドライン<sup>3)</sup>の基準値を満たし、市場品では高値で検出される傾向にあったカドミウムが栽培条件によっては、コントロール出来る可能性が示唆された。

また、カンキョウの金属含量について部位別に測定した結果、ショウキョウより、カンキョウにおいてヒ素及び鉛含量が高いのは、部位として皮部を含むことが一因であるものの、それだけでは説明が出来ず、修治過程で、これらの含量が増える何らかの原因があるものと推定された。

#### 参考文献

- 1) WHO consultation on contaminants and residues in herbal medicines, 2004年7月, ミラノ
- 2) 衛生試験法・注解2005, 日本薬学会編, 2005.
- 3) Determination of arsenic acid and heavy metals "Quality control methods for medicinal plant materials", p. 61-63, Geneva, World Health Organization, 1998.
- 4) The 7th standing committee meeting of FHH, 2009年11月
- 5) 農用地土壌環境基準等専門委員会報告参考資料, p. 5, 中央環境審議会土壌農薬部会農用地土壌小委員会, 2010年2月17日(第1回)  
(<http://www.env.go.jp/council/10dojo/yoshi10-07.html>)

#### F. 健康危機情報

特になし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



表1 ガジュツの圃場品及び標本園品での測定結果 (n=2)

		As	Cd	Hg	Pb
圃場	外皮部	0.112	0.125	n.d.	0.113
	内部	0.010	0.124	n.d.	n.d.
標本園	外皮部	0.048	0.089	n.d.	0.426
	内部	n.d.	0.070	n.d.	0.216

n.d.: not detected

表2 カンキョウの外皮部及び内部の測定結果 (n=2)

		As	Cd	Hg	Pb
1	外皮部	0.525	0.029	n.d.	1.53
	内部	0.185	n.d.	n.d.	0.466
2	外皮部	0.666	0.216	n.d.	0.703
	内部	0.260	0.040	n.d.	0.070

n.d.: not detected

## 生薬のTLC情報の集積と公開に関する研究

研究分担者 木内 文之 慶應義塾大学薬学部・教授

日本薬局方に規定されている薄層クロマトグラフィーによる生薬の確認試験について、代表的なクロマトグラムを画像データとして集積し一般に公開するために、生薬の確認試験を日常的に行っている生薬関連会社の担当者を中心とする研究班を組織し、データ収集に際しての問題点並びにクロマトグラムの再現性等に関する検討を行った。クロマトグラムの色の再現性については、色見本を添えてデータを収集することにより、相対的に色の再現性を確保することとした。薄層板のメーカーにより Rf 値が変化するかを、1-ブタノール/水/酢酸(100)混液を用いる確認試験について検討した結果、Merck社製プレートと Wako 社製プレートでは、酸性物質の Rf 値が大きく異なることが明らかとなるとともに、ジコッピとシャゼンソウでは、局方に規定されている Rf 値と実際に観察された Rf 値の差が大きいことが明らかになったことから、これらの問題点を解決するための検討を行い、確認試験の改正案を作成した。また、現行の確認試験では 1-ブタノール/水/酢酸(100)混液を用いる場合、展開に 2 時間程度を必要とするが、展開距離を現行の 10cm から 7 cm に変更することにより、確認試験自体には何の影響も与えず、必要とする時間を約 55%に短縮することができることを明らかにした。

### 研究協力者

石崎昌洋 三和生薬株式会社  
糸 博之 和光純薬株式会社社薬事業部  
川崎武志 株式会社ウチダ和漢薬研究開発部  
川原信夫 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター  
神本敏弘 株式会社ツムラ中央研究所  
菊地祐一 株式会社ツムラ中央研究所  
合田幸広 国立医薬品食品衛生研究所生薬部  
近藤誠三 小太郎漢方製薬株式会社研究所  
杉本智潮 救心製薬株式会社総合研究所  
成川佑次 慶應義塾大学薬学部  
日向野太郎 大正製薬株式会社セルフメディケーション開発研究所  
山本 豊 株式会社栃本天海堂品質管理部

### A. 研究目的

本格的な高齢化社会を迎えつつある現在、国民の健康に対する漢方の役割に大きな期待が寄せられている。漢方薬の有効性・安全性を担保するためには、そこで用いられる原料薬物である生薬の品質の確保が必須であるが、生薬は天産品であるため、その品質の確保のための様々な努力が必要である。

日本薬局方では、生薬の含有成分に関する規定として、確認試験、定量法、精油含量等を定めている。これらのうち確認試験は、その生薬に特徴的な成分（群）或は類似生薬との判別に有効な成分（群）を検出する方法を主として採用しており、第 15 改正日本薬局方では指標成分を TLC で検出する方法が多く採用されている。TLC は、特別な装置を必要とせず、簡便に行える分析法であるが、厳密に条件を揃えないと Rf 値の再現性が確

保できないため、分析に際してはサンプルと標準物質とを同時に展開するのが一般的である。日本薬局方の生薬の確認試験に於いても、多くの生薬でこの方法が採用されている。しかし、生薬の確認試験の中には、指標となる成分の標準物質が利用できない等の理由で、サンプルのみを TLC で分析し、発色試薬等による発色の色調並びに Rf 値で指標成分を確認するものもあことから、成分の含量等の影響で、指標成分を見誤る可能性もある。そこで本研究では、日本薬局方に記載されている TLC を用いた生薬の確認試験を実施する際に参照できる、典型的な TLC クロマトグラムを集積し、これを公開することを目的として検討を行った。

## B. 研究方法

生薬の確認試験を日常的に行っている生薬関連会社の担当者を中心とする研究班を組織し、以下の点について検討を行った。

### 1. TLCの画像データを集積する際の、色の再現性を担保する方法に関する検討

日本薬局方に規定されている TLC による生薬の確認試験では、指標成分のスポットの色についても言及されている。従って、TLC の画像を集積する際には、画像データでの色の再現性をどのように担保するかが、重要な課題であることから、その方法について検討を加えた。

### 2. TLC プレートが Rf 値に与える影響

日本薬局方の一般試験法<2.03>薄層クロマトグラフィー<sup>1)</sup>では、使用する薄層板について、通例としてその作製法を規定している。しかし、実際の試験に於いては、市販の薄層板が使用されているのが現状である。そこで、現在最も一般的に使用されていると思われる Merck 社製の薄層板（カタログ番号 1.057xx：使用する薄層板の大きさにより xx は 14, 15, 19）と、国産メーカー品として Wako 社製の薄層板（カタログ番号 199-08403）を用い、展開結果に差があるかを検討した。薄層クロマトグラフィーは、日本薬局方の一般試験法<2.03>の規定に従い、以下のように行うこととした。

1) 局方に「約」とある場合は、約をとって実施

する。

- 2) 薄層板は、既製のもので、高さ 20 cm のものを用いる。基本的には Merck 社製のものを用い、Wako 社製のものとの比較を行う。
- 3) 薄層板の下端 2 cm の位置に 1 cm 間隔でスポットし、展開溶媒の高さは 1 cm とする。
- 4) 展開距離は 10 cm（別に規定があるものはその距離）とする。

### 3. 展開距離と Rf 値の再現性に関する検討

薄層クロマトグラフィーは簡便に行える点が大きな利点の一つであるが、高極性溶媒を使用する場合、非常に長い展開時間を必要とする。展開時間は、展開距離を少し短くすることにより、大幅に短縮できることから、現在 10 cm で行われている展開距離を 7 cm に変更した場合の Rf 値並びに分離パターンの変化について検討した。実験方法は前記と同様とし、展開距離が 7 cm の場合には、高さ 10 cm の薄層板を用いた。

### 4. 生薬の確認試験条件の再検討

今回の検討の中で、現在日本薬局方に規定されている生薬の確認試験の条件には問題があると思われた、エンゴサク、オウゴン、ジコッピ、マクリについて、確認試験の条件の再検討を行った。

## C. 研究結果

### 1. TLCの画像データを集積する際の、色の再現性を担保する方法に関する検討

日本薬局方に規定されている TLC による生薬の確認試験では、指標成分のスポットの色についても言及されていることから、TLC の画像データを集積・公開する際には、色の再現性に注意する必要がある。色の再現性に影響を与える因子としては様々なものが考えられるが、画像の取得に際しては、使用する光源の種類と適正露出の選択が、最も重要であると考えられる。一方、データの公開に際しては、公開方法により問題点が異なってくる。即ち、印刷物として公開する場合には、印刷に於ける色の再現性を確保すれば良いが、電子データとしてインターネット等で公開する場合には、データを閲覧する側の環境により、画面上或はプリンターに出力した際の画像の色が異なる可能性があるため、絶対的な色の再現性を求めることはできない。そこで、画像データを取得

する際には、TLC に色見本を添えることにより色の基準を統一し、この色見本の色を基準として相対的に色の再現性を確保することとした。

基準として使用する色見本としては、日本色研事業株式会社製の「新配色カード 129a」(Lot No.00706)を用い、ビビッドトーンの v3 (さえたきみのあか)、v8 (さえたき)、v12 (さえたみどり)、v16 (さえたみどりみのあお)、v19 (さえたむらさきみのあお)、v24 (さえたあかむらさき)並びに無彩色の W (しろ)、Gy5.5 (中間のグレイ)、Bk (くろ)の各カードを1 cm 角に切り、これをこの順番に帯状に張り合わせたものを作成して、TLC プレートに添付することとした。なお、上記の色は、色材の三原色(シアン: v16, マゼンタ: v24, イエロー: v8)並びに色光の三原色(R: v3, G: v12, B: v19)に相当する色である。<sup>2)</sup>

今回の検討では、参加各社で画像の取得に用いている機材がばらばらであるため、取得したデータについて、各社が色見本の色がでくだけ再現できるように色の補正を行うこととし、データの収集を行ったが、公開時の色の再現性については、更に検討を行う必要がある。

## 2. TLC プレートが Rf 値に与える影響

日本薬局方の一般試験法<2.03>薄層クロマトグラフィーでは、使用する薄層板について、通例としてその作製法を規定している。<sup>1)</sup>この規定は、薄層板を自分で調製することを前提としたものであるが、現在では、通常市販の薄層板が使用されている。市販の薄層板はメーカーによって使用している担体の粒度や活性度が異なることが考えられることから、現在最も一般的に使用されていると思われる Merck 社製の薄層板と、国産メーカー品として Wako 社製の薄層板を用い、展開結果に差があるかを検討した。

まず予備的にウイキョウ、オウゴン、エンゴサク、ビワヨウ、クコシについて検討を行った (Table 1)。まず全体的な Rf 値の再現性について見ると、試験法を厳密に守ることにより、良好な Rf 値の再現性を得ることができることが明らかとなった。次に Merck 社と Wako 社の薄層板の差について見ると、Merck 社より Wako 社のプレートの方が Rf 値が大きい傾向にあり、特にオウゴ

ンの確認試験で Rf 値に大きな差が見られ、エンゴサクについても Rf 値に大きな差が見られた。オウゴンでは指標成分であるオウゴニンと同時に展開していたため、Rf 値が変わっても問題は無いが、エンゴサクでは指標成分を同時に展開しておらず、かわりに確認するスポットの Rf 値を規定していることから、現在規定されている Rf 値とはかなり異なる値を示す Wako 社製の薄層板を使った場合、試験に支障が出るものと思われる。また、オウゴンについても、指標成分のオウゴニンのスポットの位置が、サンプルと標品とでずれる傾向にあったことから、エンゴサクとオウゴンについては、試験条件を再検討することにした (後述)。

さて、オウゴンの確認試験で Merck 社と Wako 社の薄層板での Rf 値の差が特に大きかったことから、次にオウゴンの確認試験と同じ 1-ブタノール/水/酢酸(100)を含む展開溶媒を用いている生薬の確認試験について、Merck 社と Wako 社のプレートの比較を行った (Table 2)。検討した 12 品目の生薬では、ほとんどの場合 Merck 社製プレートより Wako 社製プレートの方が Rf 値が大きい傾向があり、両者の間で指標成分の Rf 値の差が大きかった (差が 0.1 以上) のは、オウゴン、カンゾウ、マクリであった。これらはいずれも指標成分がその分子内にカルボキシル基を持つものであり、両社のプレートの間には、酸性物質に対する親和性に大きな差があることが明らかとなった。一方、ジコッピやシャゼンソウでは、Rf 値の差は大きくなかったものの、Wako 社製のプレートの方が、指標成分のスポットの形状が良かった。また、局方で 2 つのスポットを確認することが規定されているトウガシについては、Merck のプレートでは対象となる 2 つのスポットが確認できたが、Wako のプレートではこれらが 1 スポットとなってしまい、分離確認ができなかったことから、トウガシの確認試験に Wako 社製の薄層板を使用することは不相当であることが明らかとなった。

日本薬局方に規定されている TLC を用いた生薬の確認試験では、標準物質を同時に展開しない場合には、指標成分の Rf 値が規定されている。今回検討した生薬のうち、局方に Rf 値が規定さ

れているコウボク、ジコッピ、シャゼンソウ、テンモンドウ、トウガシ、マオウについて、局方に規定された Rf 値と実際に得られた値を比較すると (Table 2), 局方に規定された値は Merck 社製プレートで得られた値とほぼ一致していた。しかし、ジコッピとシャゼンソウについては、局方規定値と実際に得られた値とがかなり異なるため、局方の規定を訂正する必要があるものと思われる。

### 3. 展開距離と Rf 値の再現性に関する検討

薄層クロマトグラフィーでは、オウゴンの確認試験で用いられている 1-ブタノール/水/酢酸 (100) のような高極性溶媒を使用する場合、非常に長い展開時間を必要とする。展開に要する時間は、プレートの上に行く程長くなるため、展開距離を少し短くすることにより、展開に要する時間を大幅に短縮できると考えられる。そこで、現在 10 cm で行われている展開距離を 7 cm に変更することにより、指標スポットの Rf 値並びに分離パターンが変化するかを、日本薬局方の生薬の確認試験で、1-ブタノール/水/酢酸 (100) を含む展開溶媒を用いている品目 (オウゴン、オウバク、オウレン、カンキョウ、カンゾウ、コウボク、ジコッピ、シャゼンソウ、テンモンドウ、トウガシ、マオウ、マクリ) について検討した。

同一機関で行った展開距離 7 cm と 10 cm の TLC の画像を、原線から溶媒先端までの長さを揃えて比較したものを Fig. 1a-c に示す。また、指標成分の Rf 値を Table 3 にまとめた。Fig. 1 からわかるように、展開距離が 7 cm でも 10 cm でも、クロマトグラムのパターンにはほとんど変化がなく、スポットの確認には全く支障がないことが明らかとなった。また、指標成分スポットの Rf 値を比較しても、展開距離の差による Rf 値の変化はほとんど見られなかった。一方、展開に必要な時間について見ると (Table 4), Merck 社製プレートを用いた場合、いずれの生薬に於いても 10 cm 展開するのに必要な時間が 120-130 分であるのに対し、7 cm の展開に必要な時間は 70 分程度であり、展開距離を 30% 短くすることにより、展開に要する時間を半分近くに短縮できることが明らかとなった。

### 4. 生薬の確認試験条件の再検討

#### (1) エンゴサク

先に述べたように、エンゴサクの確認試験では、使用する薄層板によって Rf 値がかなり異なることが明らかになったが、この確認試験では指標成分を同時に展開しておらず、かわりに確認するスポットの Rf 値を規定していることから、使用する薄層板によっては、試験に支障が出るものと思われる。そこで、標準物質を同時に展開する試験法に改良するための検討を行った。標準物質としては、成分定量用として既に利用可能な硝酸デヒドロコリダリンを用いることとし、確認試験法自体は現行の方法を用いることとした。なお、成分定量に用いる標準溶液 (メタノール/希塩酸混液に溶解) を用いると、Merck 社のプレートではスポットの形が悪くなり、Wako 社のプレートでは Rf 値が変化するため、これを薄層クロマトグラフ用に流用することは適当ではなかった。変更案を、以下に示す (現行からの変更部分を下線で示す)。

**確認試験案:** 本品の粉末 2 g にメタノール 10 mL を加え、15 分間振り混ぜた後、ろ過し、ろ液を試料溶液とする。別に薄層クロマトグラフィー用デヒドロコリダリン硝酸化物 1mg をメタノール 20 mL に溶かし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフィーにより試験を行う。試料溶液及び標準溶液 10  $\mu$ L ずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次にメタノール/酢酸アンモニウム溶液 (3  $\rightarrow$  10) / 酢酸 (100) 混液 (20 : 1 : 1) を展開溶媒として 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線 (主波長 365 nm) を照射するとき、試料溶液から得た数個のスポットのうち 1 個のスポットは、標準溶液から得た黄緑色の蛍光を発するスポットと色調及び Rf 値が等しく、その下側に黄色の蛍光を発するスポットを認める。また、噴霧用ドラージェンドルフ試液を均等に噴霧し、風乾後、亜硝酸ナトリウム試液を均等に噴霧するとき、Rf 値 0.6 付近に褐色のスポットを認める。

#### (2) オウゴン

オウゴンの確認試験に於いて、オウゴニンの標品のスポットの位置と、サンプル中のオウゴニンのスポットの位置がずれる傾向が見られた (Fig.

2) . この Rf 値のずれは、スポットするオウゴニンの量の差に起因し、サンプル中のオウゴニンの量が標品の量に較べて多いためと思われたことから、サンプルの調製条件の再検討を行った。現在の薬局方の規定では、オウゴンの粉末 2g にメタノール 10 mL を加えて 3 分間加温抽出し、その 5  $\mu$ L をスポットするが、抽出するサンプルの量並びに抽出法を変えて検討した結果 (Fig. 3) , サンプル量を減らし、室温で振り混ぜる抽出法に変えることにより、標品とサンプルの Rf 値の違いを防ぐことができることが明らかとなった。変更案を、以下に示す (現行からの変更部分を下線で示す)。

**確認試験案:** 本品の粉末 1g にメタノール 25 mL を加え、15 分間振り混ぜた後、ろ過し、ろ液を試料溶液とする。別にバイカリン標準品 1 mg をメタノール 1 mL に溶かし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフィーにより試験を行う。試料溶液及び標準溶液 5  $\mu$ L ずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に 1-ブタノール/水/酢酸(100)混液 (4:2:1) を展開溶媒として約 7 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに塩化鉄(III)・メタノール試液を均等に噴霧するとき、試料溶液から得た数個のスポットのうち 1 個のスポットは、標準溶液からえた暗緑色のスポットと色調及び R<sub>f</sub> 値が等しい。

#### (3) ジコッピ

ジコッピの確認試験では、ピリジンを含む展開溶媒が用いられているが、試験実施環境への影響等を考慮すると、ピリジンを含まない溶媒系への変更が望まれることから、検討を行った。ピリジンの代わりに 5% 酢酸アンモニウム試液を用いる溶媒系 (1-ブタノール/5% 酢酸アンモニウム試液/酢酸 (100) 混液 (2:1:1)) に変更することにより、確認試験が可能であることが明らかとなった。

#### (4) マクリ

現行の確認試験では、1) 試料調製に時間がかかる、2) カイニン酸標準溶液の負荷量が過大である、3) 粘液多糖の影響でマクリの試料が正常なクロマトグラムとならないことがある、4) 展開溶媒が 2 層分離の上層を用いており、試験環境

の影響を受けやすい、5) 検出がニンヒドリンの水飽和ブタノール溶液 (1 $\rightarrow$ 500) と特殊であるなどの問題点があることから、これらの問題点を解決するための検討を行い、以下の改良案が提案されたが、これについては、更に検討が必要である。

**改良案:** 本品の粉末 2g に水/エタノール(95)混液(1:1)10 mL を加え、15 分間振とうした後、ろ過し、ろ液を試料溶液とする。別にカイニン酸 5 mg を水 10 mL に溶かし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフィー<2.03>により試験を行う。試料溶液及び標準溶液 10  $\mu$ L ずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に 1-ブタノール/水/酢酸(100)混液(7:2:1)を展開溶媒として約 7 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これにニンヒドリンのエタノール(95)溶液(1 $\rightarrow$ 50)を均等に噴霧し、105 $^{\circ}$ C で 5 分間加熱するとき、試料溶液から得た数個のスポットのうち 1 個のスポットは、標準溶液から得た黄赤色のスポットと色調及び Rf 値が等しい。

#### D. 考察

薄層クロマトグラフィーは、特別な装置を必要とせず、簡便に行えることから、日本薬局方の生薬の確認試験として多用されているが、一般的に Rf 値の再現性が悪いなどの問題もある。本研究は、日本薬局方の生薬の確認試験を実施するにあたり参照できる、代表的な薄層クロマトグラムの画像データを集積し、それを公開することを目的としている。

生薬の確認試験では、スポットの色も重要な情報となることから、画像データの公開に当たっては、色の再現性を確保する必要があるが、印刷物として公開する場合とホームページ等の電子媒体で公開する場合とで、状況がかなり異なる。そこで、データの集積の段階では、色見本を添えて画像データを取得することにより、相対的に色の再現性を確保することとし、公開の段階でその方法に応じた補正を考えることとした。

一般に薄層クロマトグラフィー法は、Rf 値の再現性に乏しいとされているが、今回、日本薬局方の一般試験法<2.03>薄層クロマトグラフィーの規定を厳密に守ってデータを集めたところ、

Rf 値については、かなり良い室間再現性が得られた。これは、今回の研究に参加しているのが、生薬の確認試験を日常的に行っている生薬関連会社の担当者であることも大きな要因であると考えられるが、局方の規定によって、Rf 値の再現性がかなり担保されていることが確認された。

日本薬局方の一般試験法<2.03>薄層クロマトグラフィーでは、使用する薄層板について、通例としてその作製法を規定している。この規定は、薄層板を自分で調製することを前提としたものであるが、現在では、通常市販の薄層板が使用されている。そこで、現在最も一般的に使用されていると思われる Merck 社製の薄層板と、国産メーカー品として Wako 社製の薄層板を用い、展開結果を比較した結果、酸性物質の Rf 値に大きな差が見られた。生薬の TLC による確認試験の中には、標準物質と一緒に展開せず、確認スポットの Rf 値と色調を示してある場合がある。今回検討した生薬については、局方に規定された Rf 値は、Merck 社製のプレートを用いた場合のものとよく一致しており、Wako 社製のプレートを用いると、確認試験が正しく行えない場合があることが明らかになった。このようなものについては、その情報を公開するとともに、標準物質を同時に展開する方法に試験法を変更する等の対策が必要であるが、今回エンゴサについては、標準物質を用いる試験法の改良案を作成した。また、ジコッピとシャゼンソウでは、実際に観察された Rf 値と局方の規定とにずれが見られたことから、局方の規定を見直す必要があることが明らかとなった。更に、サンプルの調製法等に問題があると思われる確認試験がみられたことから、これらの問題点の解決のための検討を行い、改良案を作成した。局方に規定されている確認試験は、関係者による追試験等を経て作成されたものであるが、使用する薄層板による違いの検討は、これまで行われたことが無かったと思われることから、今年度実施できなかった生薬、特に標準物質を同時に展開しない確認試験が規定されている品目について、次年度以降優先的に検討していく予定である。

薄層クロマトグラフィーは、迅速に行える分析法であるが、水を含む溶媒系などでは、展開に長い時間を必要とする。生薬の確認試験でも、1-

ブタノール/水/酢酸(100)混液のように水を含む溶媒系がしばしば用いられているが、このような溶媒系では、10cm の展開に2時間程度が必要であり、時間の短縮が望まれる。TLC の展開に要する時間は、展開距離が長くなればなるほど加速度的に長くなることから、展開距離を少し短くすることにより、必要時間を大幅に短縮できる。今回、展開距離を7cm として、現行の10cm の展開と比較した結果、分離パターン並びに Rf 値に影響を与えること無く、展開時間を半分近くまで短縮できることが明らかとなった。この結果から、現行では10cm となっている生薬の TLC による確認試験の展開距離を7cm に変更することにより、特に水を含む溶媒系を用いる確認試験の大幅な効率化が図れるものと思われる。

## E. 結論

日本薬局方に規定されている薄層クロマトグラフィーによる生薬の確認試験について、代表的なクロマトグラムを画像データとして集積し、一般に公開するために、生薬の確認試験を日常的に行っている生薬関連会社の担当者を中心とする研究班を組織し、データ収集に際しての問題点並びにクロマトグラムの再現性等に関する検討を行った。クロマトグラムの色の再現性については、色見本を添えてデータを収集することにより、相対的に色の再現性を確保することとしたが、データ公開に際して、その方法に適した補正の方法等を今後更に検討する必要がある。

Rf 値の再現性に関する検討の一環として、用いる薄層板のメーカーにより Rf 値が変化することを、1-ブタノール/水/酢酸(100)混液を用いる確認試験について検討した結果、Merck 社製プレートと Wako 社製プレートでは、酸性物質の Rf 値が大きく異なることが明らかとなるとともに、ジコッピとシャゼンソウでは、局方に規定されている Rf 値と実際に観察された Rf 値の差が大きいが明らかになった。これらの問題点を解決するための検討を行い、確認試験の改正案を作成した。また、現行の確認試験では1-ブタノール/水/酢酸(100)混液を用いる場合、展開に2時間程度を必要とするが、展開距離を現行の10cm から7cm に変更することにより、確認試験自体には何の影

Table 1 予備試験結果

		ヘキサン/酢酸エチル(20:1)					平均				局方
		A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社			
Merck	Rf値	0.40	0.45	0.45		0.45	0.44	0.4	0.43		0.4付近 暗紫色
	展開時間			17 min			23 min	16 min	19 min		
Wako	Rf値	0.39	0.45	0.45		0.47	0.44	0.4	0.43		0.4付近 暗紫色
	展開時間			12 min			15 min	12.5 min	13 min		

		1-ブタノール/水/酢酸(100)(4:2:1)					平均				局方
		A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社			
Merck	Rf値	0.33	0.35	0.31	0.36		0.33	0.34	0.34		バイカリン
	展開時間			120 min	109 min		140 min	124 min	123 min		
Wako	Rf値	0.52	0.55	0.49			0.53	0.55	0.53		バイカリン
	展開時間			76 min			70 min	77 min	74 min		

		メタノール/酢酸アンモニウム溶液(3→10)/酢酸(100)(20:1:1)					平均				局方
		A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社			
Merck	Rf値	0.34	0.33	0.36	0.35	0.34	0.33	0.31	0.34		0.35付近 黄色
	展開時間	0.39	0.38	0.40	0.40	0.38	0.38	0.36	0.38		
Wako	Rf値	0.40	0.41	0.40		0.35	0.42	0.39	0.40		0.4付近 黄緑色
	展開時間	0.46	0.47	0.46		0.40	0.48	0.44	0.45		
				41 min	40 min		40 min	36.5 min	39 min		
				24 min			20 min	21.5 min	22 min		

		メタノール/酢酸アンモニウム溶液(3→10)/酢酸(100)(20:1:1)					平均				局方
		A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社			
Merck	Rf値	0.60	0.6	0.63	0.60	0.56	0.60	0.59	0.60		0.6付近
Wako	Rf値	0.61	0.63	0.63		0.53	0.62	0.61	0.61		褐色

		水/アセトニトリル(3:2)(ODSプレート)					平均				局方
		A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社			
Merck	Rf値	0.51		0.53			0.50	0.5	0.51		0.5付近

		ヘキサン/酢酸エチル(10:1)					平均				局方
		A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社			
Merck	Rf値	0.54	0.62			0.62	0.57		0.59		0.6付近
Wako	Rf値	0.57	0.63			0.64	0.57		0.60		黄色



響も与えず、必要とする時間を約 55%に短縮することができることを明らかにした。

以上のように、今回の検討で得られた結果は、日本薬局方の生薬の確認試験法の改良に大きく寄与するものである。

**(参考文献)**

1. 厚生労働省, 第 15 改正日本薬局方, p. 37.
2. <http://www.sikiken.co.jp/pccs/pccs02.html>.

**F. 研究発表**

なし

**G. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

Table 2 Merck (M)社製並びにWako (W)社製TLCプレートを使用した場合の指標スポットのRf値の比較

Rf値(10 cm展開)		A社		B社		C社		D社		E社		F社		G社		平均		局方
生薬	溶媒系	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	Rf値
オウゴン	1-ブタノール/水/酢酸(100) (4:2:1)	0.35	0.62	0.34	0.49			0.34	0.54	0.36	0.52	0.35	0.54			0.35	0.54	—
オウバク	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	0.33	0.34	0.30	0.29	0.29	0.32	0.32	0.33	0.30	0.31	0.28	0.30	0.30	0.29	0.30	0.31	—
オウレン	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	0.33	0.34	0.31	0.29	0.27	0.29	0.32	0.29	0.32	0.32	0.29	0.29			0.31	0.30	—
カンキョウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (8:5:3)	0.30	0.32	0.29	0.33	0.29	0.37			0.30	0.31			0.28	0.35	0.29	0.34	—
カンゾウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	0.22	0.56	0.20	0.53	0.18	0.53	0.20	0.52	0.20	0.51	0.24	0.52	0.20	0.52	0.21	0.53	—
コウボク	1-ブタノール/水/酢酸(100) (4:2:1)	0.29	0.35	0.31	0.35	0.29	0.32	0.28	0.31	0.30	0.35					0.29	0.34	0.3付近
ジコッピ	1-ブタノール/水/ピリジン/ 酢酸(100)(3:1:1:1)	0.40	0.46	0.40	0.42	0.39	0.43							0.36	0.38	0.39	0.42	0.5付近
シャゼンソウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	0.53	0.57	0.51	0.59	0.54	0.57									0.53	0.58	0.5付近
テンモンドウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (10:6:3)	0.38	0.47	0.37	0.44	0.40	0.40									0.38	0.44	0.4付近
トウガシ*	1-ブタノール/水/酢酸(100) (8:6:3)	0.41 0.45	0.53	0.41 0.44	0.53	0.43 0.46	0.50	0.35	0.42							0.42 0.45	0.50	0.4付近に 2スポット
マオウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	0.40	0.40	0.35	0.41	0.36	0.38	0.35	0.35	0.36	0.37	0.36	0.36			0.36	0.38	0.35付近
マクリ	水/1-ブタノール/酢酸(100) (5:4:1)	0.27	0.41	0.23	0.38	0.23	0.38									0.24	0.39	—

\*トウガシについては、Wakoのプレートを用いた場合1スポットに見える。

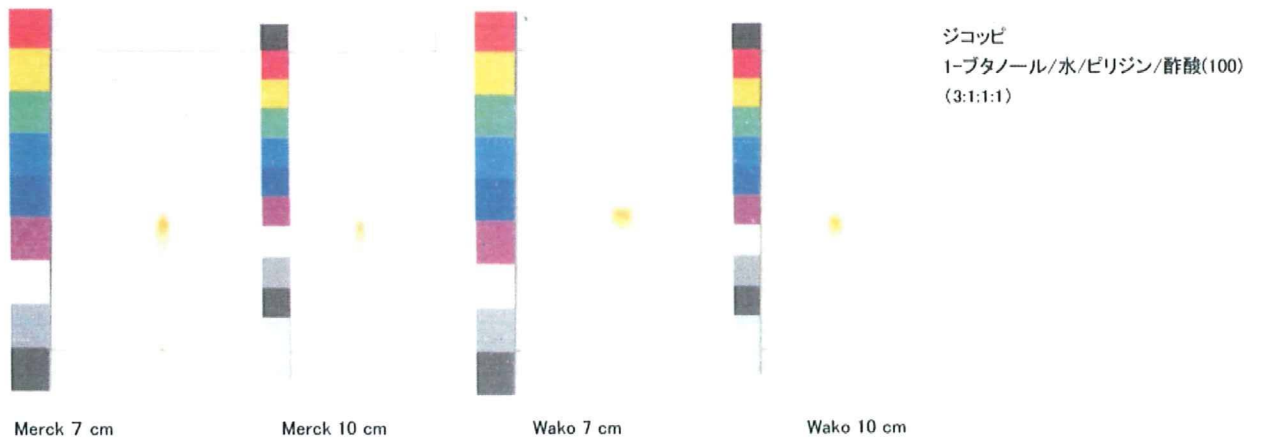
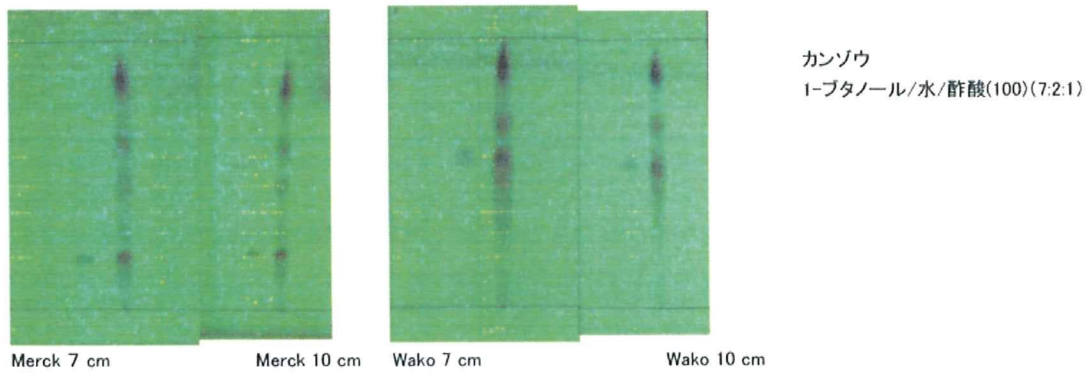
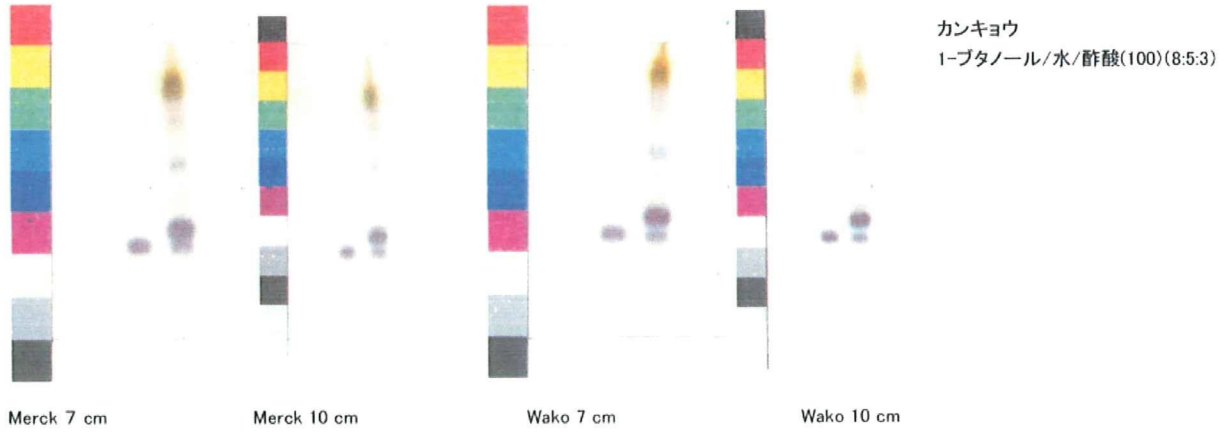
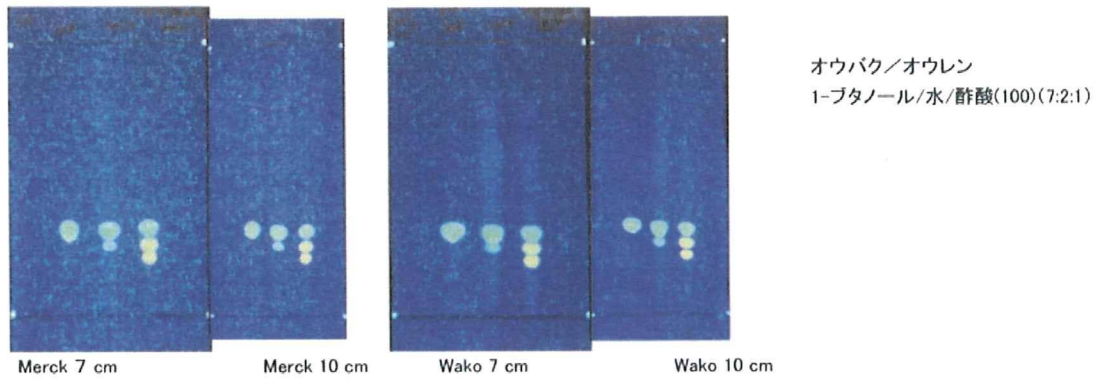


Fig. 1a 展開距離7cmと10cmの比較(1)

Table 3 日本薬局方生薬確認試験に於いて展開距離を7cmと10cmとした場合のRf値の比較

生薬	溶媒系	A社		B社		C社		D社		E社		F社		G社		平均	
		7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm
オウゴン	1-ブタノール/水/酢酸(100) (4:2:1)	0.33	0.35	0.37	0.34			0.36	0.34	0.36	0.36	0.33	0.35			0.35	0.35
			0.62	0.55	0.49			0.56	0.54	0.57	0.52	0.54	0.54			0.56	0.54
オウバク	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	0.33	0.33	0.31	0.30	0.29	0.29	0.29	0.32	0.29	0.30	0.25	0.28	0.29	0.30	0.29	0.30
			0.34	0.29	0.29	0.29	0.32	0.29	0.33	0.31	0.31	0.28	0.30	0.29	0.29	0.29	0.31
オウレン	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	0.33	0.33	0.33	0.31	0.28	0.27	0.29	0.32	0.30	0.32	0.26	0.29			0.30	0.31
			0.34	0.29	0.29	0.26	0.29	0.29	0.29	0.31	0.32	0.30	0.29			0.29	0.30
カンキョウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (8:5:3)	0.30	0.30	0.31	0.29	0.31	0.29			0.31	0.30			0.30	0.28	0.31	0.29
			0.32	0.33	0.33	0.38	0.37			0.31	0.31			0.33	0.35	0.34	0.34
カンゾウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	0.26	0.22	0.19	0.20	0.21	0.18	0.19	0.20	0.19	0.20	0.17	0.24	0.21	0.20	0.20	0.21
			0.56	0.57	0.53	0.55	0.53	0.55	0.52	0.53	0.51	0.51	0.52	0.54	0.52	0.54	0.53
コウボク	1-ブタノール/水/酢酸(100) (4:2:1)	0.31	0.29	0.31	0.31	0.33	0.29	0.27	0.28	0.31	0.30					0.31	0.29
			0.35	0.33	0.35	0.28	0.32	0.29	0.31	0.31	0.35					0.30	0.34
ジコッピ	1-ブタノール/水/ピリジン/ 酢酸(100)(3:1:1:1)	0.41	0.40	0.41	0.40	0.38	0.39							0.34	0.36	0.39	0.39
			0.46	0.44	0.42	0.43	0.43							0.37	0.38	0.41	0.42
シャゼンソウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	0.60	0.53	0.54	0.51	0.55	0.54									0.56	0.53
			0.57	0.59	0.59	0.64	0.57									0.62	0.58
テンモンドウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (10:6:3)	0.38	0.38	0.37	0.37	0.40	0.40									0.38	0.38
			0.47	0.43	0.44	0.40	0.40									0.42	0.44
トウガシ*	1-ブタノール/水/酢酸(100) (8:6:3)	0.43	0.41	0.41	0.41	0.40	0.43	0.36	0.35							0.40	0.42
		0.46	0.45	0.45	0.44	0.44	0.46									0.45	0.45
			0.53	0.54	0.53	0.53	0.50	0.45	0.42							0.51	0.50
マオウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	0.37	0.40	0.36	0.35	0.36	0.36	0.36	0.35	0.37	0.36	0.35	0.36			0.36	0.36
			0.40	0.43	0.41	0.36	0.38	0.37	0.35	0.40	0.37	0.35	0.36			0.38	0.38
マクリ	水/1-ブタノール/酢酸(100) (5:4:1)	0.27	0.27	0.25	0.23	0.21	0.23									0.24	0.24
			0.41	0.39	0.38	0.40	0.38									0.40	0.39

\*トウガシについては、Wakoのプレートを用いた場合1スポットに見える。

上段: Merck社製プレート

下段: Wako社製プレート

Table 4 日本薬局方生薬確認試験に於いて展開距離を7cmと10cmにした場合の展開時間の比較

生薬	溶媒系	A社		B社		C社		D社		E社		F社		G社		平均	
		7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm	7 cm	10 cm
オウゴン	1-ブタノール/水/酢酸(100) (4:2:1)	75	140	78	133			66	110	59	105	60	125			68	123
			86	40	72			44	75	36	63	45	80			41	75
オウバク	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	73	131	69	118	70	132	67	117	71	120	65	140	60	115	68	125
			70	38	67	40	72	44	78	41	70	45	85	33	68	40	73
オウレン	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	73	131	69	118	70	126	66	113	71	120	65	140			69	125
			70	38	67	40	74	44	77	41	70	45	85			42	74
カンキョウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (8:5:3)	75	152	64	117	71	122			68	115			73	128	70	127
			77	41	71	46	77			44	69			36	67	42	72
カンゾウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	73	131	65	114	66	130	65	115	71	120	65	150			68	127
			70	42	74	37	77	43	73	40	70	45	85			41	75
コウボク	1-ブタノール/水/酢酸(100) (4:2:1)	71	138	67	120	68	123	66	110	70	113					68	121
			80	38	69	38	69	44	75	40	73					40	73
ジコッピ	1-ブタノール/水/ピリジン/ 酢酸(100)(3:1:1:1)	79	153	67	122	66	117							63	116	69	127
			82	42	72	36	66							40	67	39	72
シャゼンソウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	73	131	68	111	70	132									70	125
			70	42	78	40	72									41	73
テンモンドウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (10:6:3)	85	140	70	111	70	136									75	129
			80	41	72	40	71									41	74
トウガシ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (8:6:3)	72	140	66	114	80	148	59	118							69	130
			72	41	72	46	80	44	68							44	73
マオウ	1-ブタノール/水/酢酸(100) (7:2:1)	73	131	66	123	68	130	65	115	65	115	65	140			67	126
			70	45	78	45	72	43	75	42	79	45	85			44	77
マクリ	水/1-ブタノール/酢酸(100) (5:4:1)	79	159	67	112	87	144									78	138
			86	39	69	51	87									45	81

上段: Merck社製プレート

下段: Wako社製プレート