

題事項として議決された。EWG2 (Testing Method in Monographs) の責任者となった分担研究者は試験法及び規格値に関する比較表の作成について担当し、日本、中国、韓国、ベトナム4カ国の薬局方に収載された生薬の試験法、特に確認試験法におけるTLC条件並びに定量法(成分含量測定法)における分析条件の詳細について比較表を作成し、比較検討を行った。さらにEWG5 (Information on General Tests) の課題事項である日本、中国、韓国、ベトナム4カ国の薬局方に収載された生薬関連一般試験法の詳細についても比較表を作成し、その検討結果について報告を行った¹⁻³⁾。

一方、近年、環境汚染防止並びに実験者の健康保護を目的として、各種試験における有害試薬の使用を極力排除する“クリーンアナリシス”が世界的に浸透しつつある。日本においても2002年に公示された第十五改正日本薬局方原案作成要領、第一部、第十五改正日本薬局方原案の作成に関する細則において、有害な試薬の扱いと題して、人及び環境への影響を配慮した試験方法となるよう努めるとの記載がなされている⁴⁾。本項目には、ベンゼン、四塩化炭素、水銀化合物等の試薬は原則使用せず、またクロロホルム、ジクロロメタン(塩化メチレン)等のハロゲン化合物は使用について慎重に検討すると記載されている。有害試薬の扱いについては、2007年に公示された第十六改正日本薬局方原案作成要領においても継承され、特にクロロホルム等のハロゲン化合物は代替溶媒がない場合についてのみその使用を認めると記載され、より厳密な表記に変更されている⁵⁾。

このような背景の下、2006年のFHH会議において、クリーンアナリシスを指向した国際調和の観点から、TLCの展開溶媒として有害試薬を使用している国は、他国の有害試薬を使用しない試験法を参考にして自国の試験法を変更する努力を行うことが重要であるとの提案がなされ、自国内

で流通する生薬を用い、有害試薬を使用しない他局の試験法について検討することが承認された。昨年度の本研究において、FHH諸国の局方に収載された共通生薬のTLCを用いた確認試験法について、各種試験条件の詳細な検討を行い、比較実験を行った⁶⁾。

本研究では、その際日本及び韓国のみで展開溶媒にクロロホルムを使用していたサイコについて有害溶媒を使用しない方法が導入可能か検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

本研究ではFHH参加国及び地域のうち、独自の薬局方を保有している日本、中国、韓国、ベトナムの4カ国の生薬に関して検討を行っている。対象となる生薬は著者の一人でEWG1 (Nomenclature) の責任者でもある酒井が作成した共通生薬リストに収載された106種である²⁾。これらの生薬をもとにTLCを用いた確認試験における有害試薬の使用実態を調査し、日本薬局方(JP)に記載された試料調製法により検液を調製し、TLCの比較検討を行った。比較検討に使用した各国薬局方をTable 1に示す。尚、本研究において動物由来試料を用いた実験は行わず、倫理面で大きな支障となる問題は無いと考えられる。

Table 1 比較検討に使用した各国薬局方

日本薬局方 (JP)
第15改正日本語版, 英語版
日本薬局方外生薬規格1989年日本語版
中華人民共和国薬典 (CP)
2005年版中国語版, 英語版
大韓民国薬局方 (KP)
2002年第8版韓国語版, 英語版
ベトナム薬局方 (VP)
2005年第3版英語版

C. 研究結果

サイコについて、各国局方の試験条件により

TLC 検討を行った。結果を Fig. 1 に示す。この結果、特にサイコでは、JP 及び KP でクロロホルムを使用しているのに対し、CP 及び VP では有害溶媒を使用しておらず、CP 及び VP 法を用いても国内流通生薬の確認が可能であることが明らかとなった。さらに検出試薬の違いによる呈色の比較検討を行った (Fig. 2)。この結果、噴霧用 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液では、saikosaponin a 及び d の呈色が異なることが確認され、本噴霧試液を用いることにより、saikosaponin a 及び d を同時に分別、検出することが可能となった。

D. 考察

重要生薬であるサイコでは、有害試薬を用いないこと並びに明瞭な検出の二点において CP 及び VP 法が優れていることが明らかとなり、JP 法を変更する必要があると考えられた。

E. 結論

第十五改正日本薬局方第一追補以前の日本薬局方 (JP) において展開溶媒にクロロホルムを用いているサイコに関して詳細な検討を行った。この結果、中華人民共和国薬典及びベトナム薬局方の有害試薬を用いない試験条件でも指標成分が検出可能であることが確認された。本結果を基に JP の確認試験における試験条件の変更を行い、第十五改正日本薬局方第二追補において有害試薬を使用しない試験法が収載された。

以下に改正されたサイコの確認試験法を記載する。

「本品の粉末 1.0g にメタノール 10mL を加え、還流冷却器を付け、水浴上で 15 分間穏やかに煮沸し、冷後、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サイコサポニン a 1mg をメタノール 1mL 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 μ 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。次に酢酸エチル/エタノール(99.5)/水混液(8:2:1)を展開溶媒として約 10cm 展開した後、薄層板を風乾する。噴霧用 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液を均等に噴霧し、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、標準溶液から得た灰褐色のスポットと色調及び R_f 値が等しく、その上側に近接した黄赤色のスポットを認める。」

F. 参考文献

- 1) 川原信夫, 酒井英二, 糸数七重, 佐竹元吉, 合田幸広: 西太平洋地区 4 カ国 (日本、中国、韓国、ベトナム) の薬局方収載生薬の各種試験法並びに規格値の比較に関する研究. 生薬学雑誌, **60** (1), 39-50 (2006).
- 2) 川原信夫, 酒井英二, 糸数七重, 佐竹元吉, 合田幸広: 西太平洋地区 4 カ国 (日本、中国、韓国、ベトナム) の薬局方収載生薬の各種試験法並びに規格値の比較に関する研究 (第 2 報) 生薬学雑誌, **60** (2), 73-85 (2006).
- 3) 川原信夫, 糸数七重, 佐竹元吉, 合田幸広: 西太平洋地区 4 カ国 (日本、中国、韓国、ベトナム) の薬局方収載生薬の各種試験法並びに規格値の比較に関する研究 (第 3 報) 生薬学雑誌, **61** (1), 44-57 (2007).
- 4) 日本薬局方フォーラム, **11** (1), 84-100 (2002).
- 5) 日本薬局方フォーラム, **16** (1), 161-200 (2007).

G. 健康危険情報

本研究において健康に危険を及ぼすような情報は無い。

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 川原信夫, 井戸淑恵, 中島育美, 川崎武志, 酒

井英二, 合田幸広: 西太平洋地区 4 カ国(日本、中国、韓国、ベトナム) の薬局方収載生薬の各種試験法並びに規格値の比較に関する研究(第 4 報) クリーンアナリシスと国際調和を指向した TLC 条件の比較. 生薬学雑誌, **62** (2), 72-78 (2008).

2. 学会発表
特になし

I. 知的所有権の取得状況
特になし

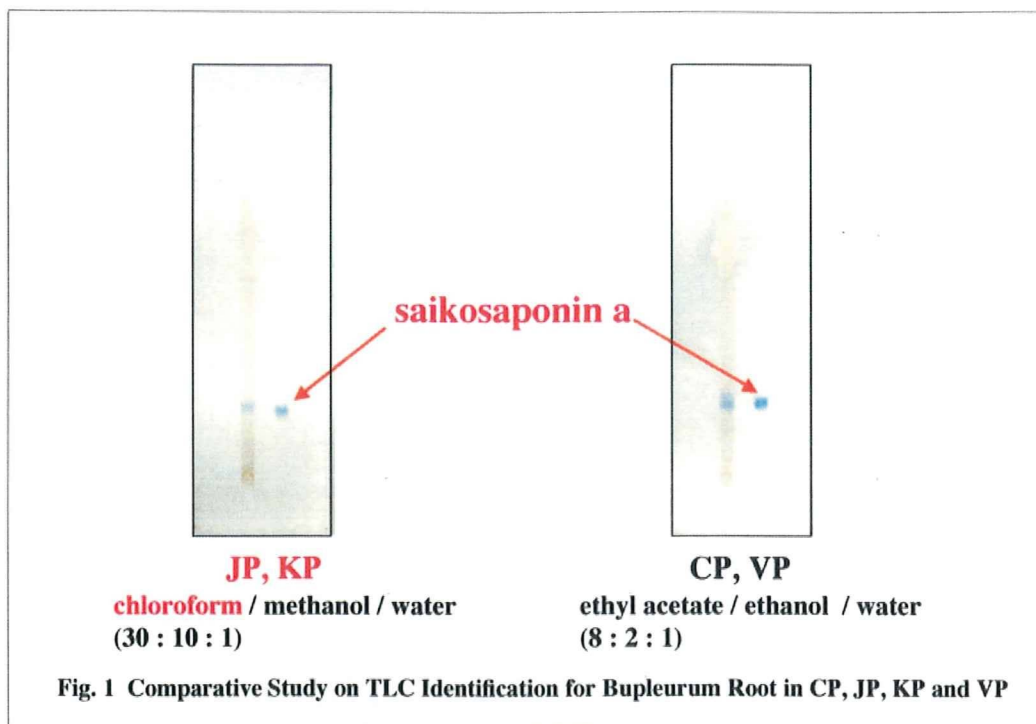
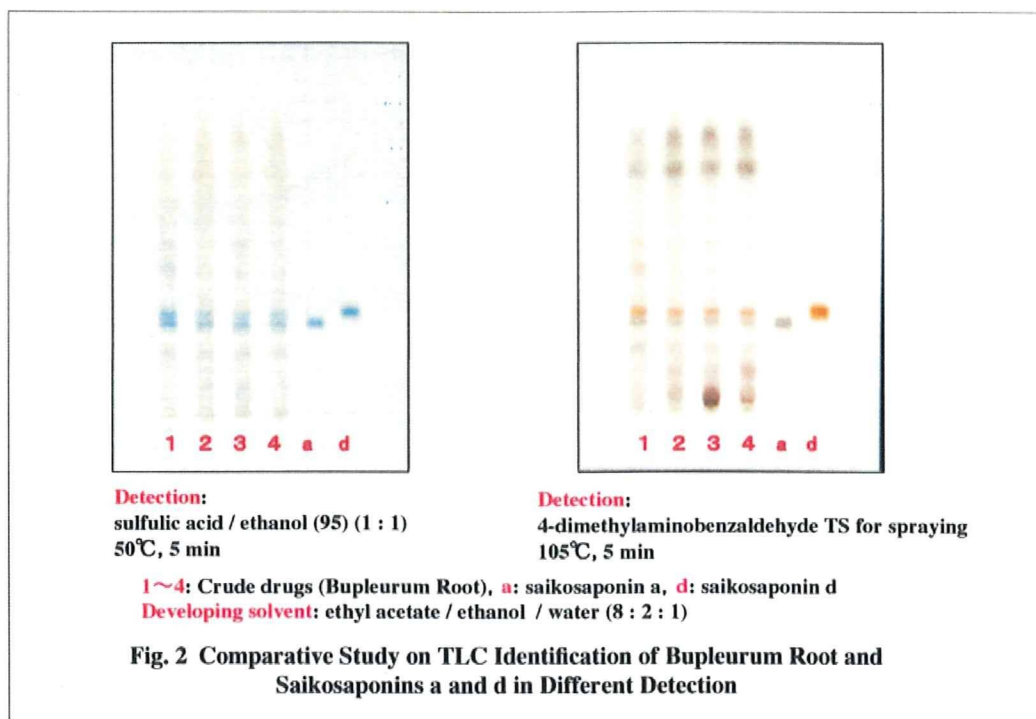


Fig. 2 Comparative Study on TLC Identification of Bupleurum Root and Saikosaponins a and d in Different Detection



研究成果の刊行に関する一覧表

原著論文

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻、号	ページ	出版年
Terabayashi, S. 他	Authentication and standardization of botanical origin and morphology of coix fruit in the Japanese Pharmacopoeia	The Journal of Japanese Botany	84(2)	77-84	2009
Kawahara, N. 他	Studies on relationship between taste and content of sulfur dioxide in crude drugs obtained from the Japanese market	Iyakuhin Kenkyu	40(3)	129-135	2009
Goda, Y. 他	A guanidine derivative from seeds of <i>Plantago asiatica</i>	J. Nat. Med.	63(1)	58-60	2009
Sato, M. 他	Analysis of organophosphorus pesticide residues in crude drugs (Part 3)	Pharmaceutical and Medical Device Regulatory Science	41(4)	324-337	2010
Amakura, Y. 他	TLC-based identification test for the crude drug "Salviae miltiorrhizae Radix" and "Codonopsis Radix"	Jpn. J. Pharmacog.		submitted	2010

総説

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻、号	ページ	出版年
Goda, Y. 他	Revision of the 210 OTC formulae	The Pharmaceuticals Monthly	51(6)	829-833	2009
Goda, Y.	Quality assurance of Kampo medicines and crude drugs	Rinsho-Kensa	53(8)	873-877	2009
Anjiki, N. 他	Objective taste evaluation of crude drugs and foods by means of taste-sensing system	FFI Journal	215(1)	176-183	2010
Goda, Y. 他	Approval standards for OTC Kampo products	Jpn. J. Drug Inform.	11(4)	210-216	2010

単行本

著者氏名	タイトル名	編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
合田幸広	各条解説・生薬の鏡検写真と生薬及び漢方処方エキス の薄層クロマトグラフィー 確認試験例	日本公定書協 会	日本薬局方 技術情報 2010	じほう	東京	2010	121-125 192-194 color pages 3-10
合田幸広	「一般用漢方処方の見直し を図るための調査研究」の 経緯について	日本漢方生薬 製剤協会	改訂一般用漢方処方の手 引き	じほう	東京	2009	v-vii
袴塚高志	「一般用漢方処方の手引 き」改訂のポイント	日本漢方生薬 製剤協会	改訂一般用漢方処方の手 引き	じほう	東京	2009	ix-xxiii

