

らに、漢方処方エキス収量の実測値は、個々の構成生薬のエキス収量から予測される理論値と良く一致することが分かった。これより、エキス収量（収率）が、局方における新たな品質評価指標として、また、医療用漢方製剤後発品の同等性評価の指標として適用できる可能性が示された。

F. 研究発表

1. 学会発表

袴塚高志、水沼周子、中村高敏、合田幸広、羽田紀康、竹田忠紘、木内文之、「漢方製剤の品質評価に関する基礎的検討（3）エキス収量による漢方製剤の品質評価」、日本薬学会第130年会（岡山）、2010年3月29日

2. 誌上発表

該当無し

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

表1 処方エキス調製における処方構成と煎出条件

処方名	構成生薬とその重量	生薬総重量	煎出に用いた水の容量	処方一日量に対する比
柴朴湯	サイコ4.2g、ハンゲ3.6g、ブクリヨウ3g、オウゴン1.8g、コウボク1.8g、タイソウ1.8g、ニンジン1.8g、カンゾウ1.2g、ソヨウ1.2g、シヨウキヨウ0.6g	21g	420 mL	3/5倍量
十全大補湯	ニンジン3g、オウギ3g、ソウジユツ3g、ブクリヨウ3g、トウキ3g、シヤクヤク3g、ジオウ3g、センキュウ3g、ケイヒ3g、カンゾウ1.5g	28.5g	570 mL	1倍量
釣藤散	チヨウトウコウ3g、チンピ3g、ハンゲ3g、バクモンドウ3g、ブクリヨウ3g、ニンジン2g、ボウフウ2g、キクカ2g、カンゾウ1g、シヨウキヨウ1g、セッコウ5g	28g	560 mL	1倍量
当帰芍薬散	トウキ3g、センキュウ3g、シヤクヤク4g、ブクリヨウ4g、ソウジユツ4g、タクシヤ4g	22g	440 mL	1倍量
麦門冬湯	バクモンドウ10g、ハンゲ5g、コウベイ5g、タイソウ3g、ニンジン2g、カンゾウ2g	27g	540 mL	1倍量
無コウイ大建中湯	サンシヨウ4g、ニンジン6g、カンキヨウ10g	20g	400 mL	2倍量

表2 国内主要漢方・生薬メーカー5社の生薬における凍結乾燥エキスの収率

生薬名		A社	B社	C社	D社	E社	会社間平均	会社間変動係数
キクカ	1回目収率 [%]	18.70	13.30		19.70	15.25		
	2回目収率 [%]	18.85	14.35		18.70	15.85		
	3回目収率 [%]	18.50	14.20		20.00	14.75		
	平均収率 [%]	18.68	13.95		19.47	15.28	16.85	13.62
	変動係数	0.77	3.32		2.86	2.94	2.47	
	相対値 ^{a)}	110.91	82.81		115.56	90.72	100.00	
コウベイ	1回目収率 [%]	4.20	4.20		3.75			
	2回目収率 [%]	3.95	3.75		3.70			
	3回目収率 [%]	3.70	4.05		4.10			
	平均収率 [%]	3.95	4.00		3.85		3.93	1.59
	変動係数	5.17			4.22		4.32	
	相対値 ^{a)}	100.42	101.69		97.88		100.00	
サンショウ	1回目収率 [%]	16.45	12.05	12.40	14.80	15.15		
	2回目収率 [%]	16.10	12.70	12.75	15.10	15.85		
	3回目収率 [%]	16.40	12.65	13.35	15.80	16.30		
	平均収率 [%]	16.32	12.47	12.83	15.23	15.77	14.52	10.82
	変動係数	0.95	2.37	3.06	2.75	3.00	2.42	
	相対値 ^{a)}	112.35	85.84	88.36	104.89	108.56	100.00	
センキュウ	1回目収率 [%]	19.20	29.10	17.25	24.65	29.75		
	2回目収率 [%]	18.80	29.85	17.80	24.20	27.70		
	3回目収率 [%]	19.55	31.05	16.55	23.90	28.30		
	平均収率 [%]	19.18	30.00	17.20	24.25	28.58	23.84	21.09
	変動係数	1.60	2.68	2.97	1.27	3.01	2.31	
	相対値 ^{a)}	80.46	125.82	72.14	101.71	119.88	100.00	
ソウジュツ	1回目収率 [%]	34.20	31.35	26.85	28.70	29.05		
	2回目収率 [%]	34.10	30.10	26.75	28.45	29.60		
	3回目収率 [%]	33.15	29.15	27.80	30.15	29.80		
	平均収率 [%]	33.82	30.20	27.13	29.10	29.48	29.95	7.30
	変動係数	1.40	2.98	1.74	2.58	1.08	1.96	
	相対値 ^{a)}	112.92	100.85	90.61	97.17	98.45	100.00	
チョウトウコウ	1回目収率 [%]	7.85	14.85		9.95	11.10		
	2回目収率 [%]	8.15	14.60		9.85	11.50		
	3回目収率 [%]	8.00	15.00		10.10	11.15		
	平均収率 [%]	8.00	14.82		9.97	11.25	11.01	22.57
	変動係数	1.53	1.11		1.03	1.58	1.31	
	相対値 ^{a)}	72.67	134.60		90.54	102.20	100.00	
バクモンドウ	1回目収率 [%]	56.75	55.40	27.55	48.05	57.05		
	2回目収率 [%]	57.05	54.20	28.85	49.80	57.80		
	3回目収率 [%]	56.05	56.95	26.70	51.35	55.55		
	平均収率 [%]	56.62	55.52	27.70	49.73	56.80	49.27	22.51
	変動係数	0.74	2.03	3.19	2.71	1.65	2.06	
	相対値 ^{a)}	114.90	112.67	56.22	100.93	115.28	100.00	
ボウフウ	1回目収率 [%]	20.10	16.85	16.25	15.65	15.35		
	2回目収率 [%]	19.45	15.45	16.55	14.90	15.95		
	3回目収率 [%]	18.70	15.90	16.70	15.10	15.65		
	平均収率 [%]	19.42	16.07	16.50	15.22	15.65	16.57	8.97
	変動係数	2.95	3.63	1.13	2.08	1.57	2.27	
	相対値 ^{a)}	117.18	96.96	99.58	91.83	94.45	100.00	

a) 会社間平均収率を100とした場合の各社の平均収率の相対値

表3 国内主要漢方・生薬メーカー5社の生薬より調製した処方における凍結乾燥エキスの収率

処方名		A社	B社	C社	D社	E社	会社間 平均	会社間 変動係数
柴朴湯	1回目収率 [%]	17.14	18.86	15.52	15.48	21.62		
	2回目収率 [%]	16.90	17.67	15.90	15.33	21.71		
	3回目収率 [%]	15.43	17.57	15.90	16.62	22.43		
	平均収率 [%]	16.49	18.03	15.78	15.81	21.92	17.61	13.10
	変動係数	4.60	3.24	1.14	3.64	1.65	2.85	
	相対値 ^{a)}	93.67	102.42	89.61	89.79	124.50	100.00	
十全大補湯	1回目収率 [%]	27.79	29.54	25.65	27.79	30.42		
	2回目収率 [%]	27.30	27.82	26.00	27.12	30.42		
	3回目収率 [%]	28.21	30.32	26.07	27.79	30.32		
	平均収率 [%]	27.77	29.23	25.91	27.57	30.39	28.17	5.43
	変動係数	1.34	3.56	0.71	1.14	0.16	1.38	
	相対値 ^{a)}	98.56	103.75	91.96	97.86	107.86	100.00	
釣藤散 ^{b)}	1回目収率 [%]	19.39	21.04	16.14	17.54	19.21		
	2回目収率 [%]	19.04	19.96	15.25	18.21	18.64		
	3回目収率 [%]	18.93	21.32	15.50	18.46	19.00		
	平均収率 [%]	19.12	20.77	15.63	18.07	18.95	18.51	9.10
	変動係数	1.04	2.81	2.41	2.17	1.24	1.93	
	相対値 ^{a)}	103.29	112.23	84.45	97.63	102.39	100.00	
当帰芍薬散	1回目収率 [%]	23.68	22.32	22.36	22.14	21.91		
	2回目収率 [%]	22.68	22.36	21.14	21.59	23.77		
	3回目収率 [%]	23.59	22.41	19.95	22.55	24.05		
	平均収率 [%]	23.32	22.36	21.15	22.09	23.24	22.43	3.57
	変動係数	1.94	0.17	4.65	1.77	4.08	2.52	
	相対値 ^{a)}	103.94	99.69	94.29	98.47	103.61	100.00	
麦門冬湯 ^{c)}	1回目収率 [%]	31.56	33.78	22.41	28.96	33.96		
	2回目収率 [%]	30.26	32.37	21.96	27.85	34.11		
	3回目収率 [%]	28.59	32.67	21.67	29.00	33.63		
	平均収率 [%]	30.14	32.94	22.01	28.60	33.90	29.52	14.25
	変動係数	4.02	1.84	1.38	1.86	0.59	1.94	
	相対値 ^{a)}	102.09	111.59	74.57	96.91	114.85	100.00	
無コウイ 大建中湯	1回目収率 [%]	16.10	16.65	10.95	16.20	16.80		
	2回目収率 [%]	15.90	16.90	11.05	17.05	16.80		
	3回目収率 [%]	17.55	17.10	11.45	16.95	16.05		
	平均収率 [%]	16.52	16.88	11.15	16.73	16.55	15.57	14.21
	変動係数	4.45	1.09	1.94	2.27	2.14	2.38	
	相対値 ^{a)}	106.10	108.46	71.63	107.49	106.32	100.00	

a) 会社間平均収率を100とした場合の各社の平均収率の相対値

b) C社においてはチョウトウコウ及びキクカ取り扱いがないため、A社のチョウトウコウ及びキクカを使用

c) C社及びE社においてはコウベイの取り扱いがないため、A社のコウベイを使用

表4-1 構成生薬単味のエキス収率から予測される凍結乾燥エキス理論収量と実測値の比較[柴朴湯]

柴朴湯 構成生薬	柴朴湯 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
サイコ	7	構成生薬一日量あたりの 理論エキス収量 [g] ^{a)}	0.916	0.690	0.723	0.778	1.866	0.994	44.5
ハンゲ	6		0.575	0.803	0.565	0.384	0.415	0.548	27.1
ブクリョウ	5		0.067	0.069	0.033	0.044	0.043	0.051	28.0
オウゴン	3		1.343	1.256	1.201	0.946	1.472	1.243	14.1
コウボク	3		0.366	0.316	0.276	0.284	0.340	0.316	10.7
タイソウ	3		1.295	1.297	1.285	1.424	1.719	1.404	11.8
ニンジン	3		0.676	1.013	0.419	0.880	0.865	0.771	26.7
カンゾウ	2		0.420	0.487	0.414	0.484	0.539	0.469	10.0
ソヨウ	2		0.292	0.331	0.304	0.251	0.461	0.328	21.8
シヨウキョウ	1		0.104	0.100	0.048	0.112	0.076	0.088	26.5
処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] ^{b)}			6.053	6.360	5.267	5.586	7.795	6.212	14.1
処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] ^{c)}			5.772	6.311	5.522	5.533	7.672	6.162	13.1
一日量換算実測値/一日量理論値 ^{d)}			0.954	0.992	1.048	0.991	0.984	0.994	3.1

- a) 単味生薬煎出液の凍結乾燥における平均エキス収率(N=3)をもとに算出
 b) 構成生薬一日量あたりの理論エキス収量の単純和
 c) エキス調製における抽出スケールを考慮して、エキス収量実測値の平均(N=3)を一日量に換算
 d) 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(一日量換算値)の割合

表4-2 構成生薬単味のエキス収率から予測される凍結乾燥エキス理論収量と実測値の比較[十全大補湯]

十全大補湯 構成生薬	十全大補湯 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
ニンジン	3	構成生薬一日量あたりの 理論エキス収量 [g] ^{a)}	0.676	1.013	0.419	0.880	0.865	0.771	26.7
オウギ	3		0.738	0.770	0.941	0.768	0.962	0.836	11.4
ソウジュツ	3		1.015	0.906	0.814	0.873	0.885	0.898	7.3
ブクリョウ	3		0.040	0.042	0.020	0.027	0.026	0.031	28.0
トウキ	3		1.096	1.075	0.995	1.051	1.143	1.072	4.6
シャクヤク	3		0.915	0.932	0.955	0.917	1.019	0.947	4.1
ジオウ	3		1.640	1.627	1.471	1.453	1.650	1.568	5.6
センキュウ	3		0.575	0.900	0.516	0.728	0.857	0.715	21.1
ケイヒ	3		0.205	0.185	0.205	0.158	0.171	0.185	10.0
カンゾウ	1.5		0.315	0.365	0.310	0.363	0.404	0.351	10.0
処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] ^{b)}			7.214	7.813	6.644	7.216	7.981	7.374	6.5
処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] ^{c)}			7.913	8.330	7.383	7.857	8.660	8.029	5.4
一日量換算実測値/一日量理論値 ^{d)}			1.097	1.066	1.111	1.089	1.085	1.090	1.4

- a) 単味生薬煎出液の凍結乾燥における平均エキス収率(N=3)をもとに算出
 b) 構成生薬一日量あたりの理論エキス収量の単純和
 c) エキス調製における抽出スケールを考慮して、エキス収量実測値の平均(N=3)を一日量に換算
 d) 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(一日量換算値)の割合

表4-3 構成生薬単味のエキス収率から予測される凍結乾燥エキス理論収量と実測値の比較 [釣藤散]

釣藤散 構成生薬	釣藤散 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
チョウトウコウ ^{a)}	3	構成生薬一日量あたりの 理論エキス収量 [g] ^{a)}	0.240	0.444	0.240	0.299	0.338	0.312	24.3
テンピ	3		0.825	0.892	0.762	0.794	0.841	0.823	5.3
ハンゲ	3		0.288	0.402	0.283	0.192	0.208	0.274	27.1
バクモンドウ	3		1.699	1.666	0.831	1.492	1.704	1.478	22.5
ブクリョウ	3		0.040	0.042	0.020	0.027	0.026	0.031	28.0
ニンジン	2		0.451	0.675	0.279	0.587	0.577	0.514	26.7
ポウフウ	2		0.388	0.321	0.330	0.304	0.313	0.331	9.0
キクカ ^{e)}	2		0.374	0.279	0.374	0.389	0.306	0.344	12.7
カンゾウ	1		0.210	0.243	0.207	0.242	0.270	0.234	10.0
シヨウキョウ	1		0.104	0.100	0.048	0.112	0.076	0.088	26.5
セッコウ	5		-	-	-	-	-	-	-
処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] ^{b)}			4.618	5.064	3.373	4.438	4.657	4.430	5.7
処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] ^{c)}			5.353	5.817	4.377	5.060	5.307	5.183	9.1
一日量換算実測値/一日量理論値 ^{d)}			1.159	1.149	1.298	1.140	1.140	1.177	5.2

- a) 単味生薬煎出液の凍結乾燥における平均エキス収率 (N=3) をもとに算出
 b) 構成生薬一日量あたりの理論エキス収量の単純和
 c) エキス調製における抽出スケールを考慮して、エキス収量実測値の平均 (N=3) を一日量に換算
 d) 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 (一日量換算値) の割合
 e) C社においてはチョウトウコウ及びキクカの取り扱いがないため、A社のチョウトウコウ及びキクカを使用

表4-4 構成生薬単味のエキス収率から予測される凍結乾燥エキス理論収量と実測値の比較 [当帰芍薬散]

当帰芍薬散 構成生薬	当帰芍薬散 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
トウキ	3	構成生薬一日量あたりの 理論エキス収量 [g] ^{a)}	1.096	1.075	0.995	1.051	1.143	1.072	4.6
センキュウ	3		0.575	0.900	0.516	0.728	0.857	0.715	21.1
シャクヤク	4		1.220	1.242	1.273	1.222	1.358	1.263	4.1
ブクリョウ	4		0.053	0.055	0.026	0.035	0.035	0.041	28.0
ソウジュツ	4		1.353	1.208	1.085	1.164	1.179	1.198	7.3
タクシャ	4		0.687	0.644	0.553	0.597	0.501	0.596	11.0
処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] ^{b)}			4.984	5.124	4.448	4.796	5.073	4.885	5.7
処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] ^{c)}			5.130	4.920	4.653	4.860	5.113	4.935	3.6
一日量換算実測値/一日量理論値 ^{d)}			1.029	0.960	1.046	1.013	1.008	1.011	2.9

- a) 単味生薬煎出液の凍結乾燥における平均エキス収率 (N=3) をもとに算出
 b) 構成生薬一日量あたりの理論エキス収量の単純和
 c) エキス調製における抽出スケールを考慮して、エキス収量実測値の平均 (N=3) を一日量に換算
 d) 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 (一日量換算値) の割合

表4-5 構成生薬単味のエキス収率から予測される凍結乾燥エキス理論収量と実測値の比較 [麦門冬湯]

麦門冬湯 構成生薬	麦門冬湯 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
バクモンドウ	10	構成生薬一日量あたりの 理論エキス収量 [g] ^{a)}	5.662	5.552	2.770	4.973	5.680	4.927	22.5
ハンゲ	5		0.479	0.669	0.471	0.320	0.346	0.457	27.1
コウベイ ^{a)}	5		0.197	0.200	0.197	0.193	0.197	0.197	1.2
タイソウ	3		1.295	1.297	1.285	1.424	1.719	1.404	11.8
ニンジン	2		0.451	0.675	0.279	0.587	0.577	0.514	26.7
カンゾウ	2		0.420	0.487	0.414	0.484	0.539	0.469	10.0
処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] ^{b)}			8.503	8.879	5.416	7.980	9.058	7.967	5.7
処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] ^{c)}			8.137	8.893	5.943	7.723	9.153	7.970	14.2
一日量換算実測値/一日量理論値 ^{d)}			0.957	1.002	1.097	0.968	1.011	1.007	4.9

- a) 単味生薬煎出液の凍結乾燥における平均エキス収率(N=3)をもとに算出
 b) 構成生薬一日量あたりの理論エキス収量の単純和
 c) エキス調製における抽出スケールを考慮して、エキス収量実測値の平均(N=3)を一日量に換算
 d) 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(一日量換算値)の割合
 e) C社及びE社においてはコウベイの取り扱いがないため、A社のコウベイを使用

表4-6 構成生薬単味のエキス収率から予測される凍結乾燥エキス理論収量と実測値の比較 [無コウイ大建中湯]

無コウイ 大建中湯 構成生薬	無コウイ 大建中湯 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
サンショウ	2	構成生薬一日量あたりの 理論エキス収量 [g] ^{a)}	0.326	0.249	0.257	0.305	0.315	0.290	10.8
ニンジン	3		0.676	1.013	0.419	0.880	0.865	0.771	26.7
カンキョウ	5		0.415	0.467	0.440	0.473	0.481	0.455	5.3
処方一日量あたりの理論エキス収量 [g] ^{b)}			1.417	1.729	1.116	1.658	1.661	1.516	5.7
処方エキス収量実測値の一日量換算値 [g] ^{c)}			1.652	1.688	1.115	1.673	1.655	1.557	14.2
一日量換算実測値/一日量理論値 ^{d)}			1.165	0.976	0.999	1.009	0.996	1.029	6.7

- a) 単味生薬煎出液の凍結乾燥における平均エキス収率(N=3)をもとに算出
 b) 構成生薬一日量あたりの理論エキス収量の単純和
 c) エキス調製における抽出スケールを考慮して、エキス収量実測値の平均(N=3)を一日量に換算
 d) 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(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

研究分担者 鎌倉浩之 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部主任研究官

漢方エキス中の水銀，ヒ素，鉛及びカドミウムの実態調査

研究要旨 ヒ素及び重金属は，生薬中に不純物として検出される可能性の有る物質の一つと考えられ，日本薬局方においてヒ素試験法及び重金属試験法が定められている．これまでに，国内で流通する生薬の安全性の確保を目的に，将来の具体的な規制を見据えながら，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，それらの実態を把握することを行ってきた．第15改正日本薬局方からは漢方エキスが記載され，医薬品としての重要性が高まるとともに，それらの安全性の確保も重要な課題となっている．そこで，日本薬局方に記載された漢方エキスのうち，小青竜湯，加味逍遙散，八味地黄丸，葛根湯及び黄連解毒湯を対象にヒ素，カドミウム，水銀及び鉛の実態調査を行った．その結果，試験を行った5処方64検体については，香港基準値と比較した場合，小青竜湯1検体においてカドミウム値が0.52 ppmと0.3 ppmを越えた以外は，いずれも基準値を下回っていた．しかしながら，小青竜湯においては，検体全てで比較的高値でカドミウムが検出された．一方，ヒ素や鉛は，同一処方内でもメーカーやロットによって値に幅があるなどの結果であったことから，原料生薬のヒ素及び重金属量を調査を行うなど，今回得られた結果の原因説明が必要と考えられた．

研究協力 日本漢方生薬製剤協会技術委員会不純物試験法部会

A. 研究目的

ヒ素及び重金属は，生薬中に不純物として検出される可能性の有る物質の一つと考えられ，日本薬局方においてヒ素試験法及び重金属試験法が定められている．これまでに，国内で流通する生薬の安全性の確保を目的に，将来の具体的な規制を見据えながら，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，それらの実態を把握することを行ってきた．第15改正日本薬局方からは漢方エキスが記載され，医薬品としての重

要性が高まるとともに，それらの安全性の確保も重要な課題となっている．そこで，日本漢方生薬製剤協会の協力の下，日本薬局方に記載された漢方エキスにつきヒ素，カドミウム，水銀及び鉛の実態調査を行うこととした．試料は日本漢方生薬製剤協会員の漢方エキス製造各社の，製造に供した原料生薬の確保されているものを用いることとした．今回は，小青竜湯，加味逍遙散，八味地黄丸，葛根湯及び黄連解毒湯を対象に検討することとした．

B. 研究方法

小青竜湯，加味逍遙散及び八味地黄丸は，8社

全てのエキスを、葛根湯及び黄連解毒湯は、それぞれ4社のエキスを分析対象とし、各エキスにつき2ロットの分析を行った。

試薬・試液

硝酸は、電子工業用 (d = 1.42, 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 0.2 g 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 25 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: 1.4 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 1.16 L/min

サンプリング位置: 8.5 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: 1.0 sec/point (As, Cd 及び Pb),

5.0 sec/point (Hg)

香港生薬基準値¹⁾

ヒ素 2.0 ppm, カドミウム 0.3 ppm, 水銀 0.2 ppm,
鉛 5.0 ppm

C. 結果

表にそれぞれの漢方処方エキスの測定結果を示した。

1. 小青竜湯

ヒ素についてはE社2ロットで1.39 ppm, 及び1.39 ppm と 1.0 ppm を越えて検出され、また、B社2ロット (0.90 ppm, 0.85 ppm), A社1ロット (0.80 ppm) 及びH社1ロット (0.85 ppm) で0.8 ppm を越えて検出され、比較的高値を示したが、香港生薬基準値 2.0 ppm を越える検体はなかった。カドミウムについてはH社1ロットで0.52 ppm と香港生薬基準値 0.3 ppm を越えて検出されたが、それ以外では、いずれの検体もそれを下回っていた。しかしながら、16検体中12検体で0.2 ppm を越えて検出され、カドミウム値が高い傾向が認められた。水銀については0.03 ppm 及び0.09 ppm であった2検体以外は、定量限界 (0.02 ppm) 以下で、いずれの検体も香港生薬基準値 0.2 ppm 以下であった。鉛については16検体中5検体 (1.18-2.13 ppm) で1.0 ppm を越えて検出された。

それぞれの値の平均値は、ヒ素 0.67 ppm, カドミウム 0.25 ppm 及び鉛 0.93 ppm で、ヒ素及びカドミウムが高い傾向が認められた。鉛もやや高めであった。

2. 加味逍遙散

ヒ素についてはB社1ロットで1.28 ppm と1.0 ppm を越えて検出された。また、D社1ロットで0.75 ppm 及びB社1ロットで0.67 ppm あったほかは、0.24~0.54 ppm であり、16検体いずれにおいても香港基準値2.0 ppm を越えなかった。カドミウムについてはB社1ロットで0.14 ppm であったほかは、いずれも0.1 ppm 以下であった。また、水銀についてはいずれの検体も定量限界 (0.02 ppm) 以下であった。鉛についてはB社1ロット (1.59 ppm) 及びG社1ロット (1.42 ppm) で1.0 ppm を越えて検出されほか、3検体が0.7 ppm を越えていたが、それ

以外の13検体では0.51 ppm 以下であった。

それぞれの値の平均値は、ヒ素 0.49 ppm, カドミウム 0.06 ppm 及び鉛 0.58 ppm で、水銀はいずれの検体も定量限界以下であった。ヒ素がやや高めの傾向が認められた。

3. 八味地黄丸

ヒ素についてはC社1ロットで1.28 ppm と1.0 ppm を越えて検出された。また、D社2ロットで0.81 ppm 及び0.80 ppm, C社1ロットで0.72 ppm あったほかは、0.29~0.47 ppm であった。カドミウムについてはE社1ロットで0.15 ppm, H社1ロットで0.14 ppm であったほか5検体が0.10~0.12 ppm であった。水銀はH社1ロットが0.02 ppm であったほかは、いずれも定量限界以下であった。鉛は1社1ロットで1.83 ppm と1.0 ppm を越えたほか1ロットで0.74 ppm, また、1社1ロットで0.82 ppm 及び1ロットで0.52 ppm であった。それ以外はいずれも0.3 ppm 以下であった。

それぞれの値の平均値は、ヒ素 0.51 ppm, カドミウム 0.09 ppm 及び鉛 0.42 ppm であった。ヒ素及びカドミウムがやや高めの傾向が認められた。

4. 葛根湯

ヒ素については8検体いずれも0.5 ppm 以下であった。カドミウムについてはA社1ロットで0.14 ppm, A社1ロットで0.10 ppm であったほかは、いずれも0.09 ppm 以下であった。水銀はいずれも定量限界以下であった。鉛は1.0 ppm を越えるものは無く、0.30~0.68 ppm であった。

それぞれの値の平均値は、ヒ素 0.29 ppm, カドミウム 0.08 ppm 及び鉛 0.49 ppm であった。水銀はいずれの検体も定量限界以下であった。カドミウムがやや高めの傾向が認められた。

5. 黄連解毒湯

ヒ素についてはいずれも0.5 ppm 以下であった。カドミウムについてはE社1ロットで0.15 ppm であったほか8検体中4検体が0.11~0.13 ppm であ

った。水銀はF社1ロットが0.03 ppm であったほかは、いずれも定量限界以下であった。鉛についてはF社1ロットで1.45 ppm と1.0 ppm を越えて検出されほかは、0.38~0.58 ppm であった。

それぞれの値の平均値は、ヒ素 0.31 ppm, カドミウム 0.11 ppm 及び鉛 0.63 ppm で、水銀は定量限界以下であった。カドミウムがやや高めの傾向が認められた。

D. 考察

小青竜湯の処方構成生薬8種類のうちケイヒ、ゴモシ及びマオウを除くハンゲ、カンゾウ、サイシン、シャクヤク及びカンキョウの5生薬については、本研究において実態調査を行っている。これら生薬のうち、サイシンではヒ素、カドミウム及び鉛が、ハンゲではカドミウムが、カンキョウではヒ素及び鉛が高値で検出されている。試験を行った16検体においてカドミウムは、最小値0.16 ppm, 平均値0.25 ppm と全体的に高値であったこと、ヒ素及び鉛において高値を示した検体が認められたことなど、原料とした生薬に由来すると考えられる結果であった。

加味逍遙散の処方構成生薬10種類のうちサイコ、ブクリョウ、サンシシ及びハッカを除く6種類の生薬シャクヤク、ソウジュツ、トウキ、ボタンピ、カンゾウ及びショウキョウの実態調査の結果は、ソウジュツ及びトウキではカドミウムが、ボタンピではヒ素及びカドミウムが高値を示した。試験を行った16検体においては、ヒ素で高値を示した検体数は1(1.28 ppm), カドミウムで1(0.14 ppm), 鉛で2(1.59 ppm, 1.42 ppm) で原料生薬との明瞭な相関は認められなかった。

八味地黄丸、葛根湯及び黄連解毒等に関しては、処方構成生薬のうちで実態調査を行った生薬が、特に高値を示さなかったもの(葛根湯の処方構成生薬7種類のうちカッコン、タイソウ、マオウ及

びケイヒを除くカンゾウ、シャクヤク及びショウキョウ)や処方構成生薬数に占める割合が低いもの(八味地黄丸の8種類のうち、タクシャ及びボタンピの2種類、黄連解毒湯の4種類のうち、オウレン1種類)であり、原料生薬との関連性については不明である。

今回試験を行った5処方64検体につき、香港基準値と比較した場合、小青竜湯1検体においてカドミウム値が0.52 ppmと0.3 ppmを越えた以外は、いずれも基準値を下回っていた。一方、これらのエキスの製造に用いた同一ロットの生薬は入手可能であり、今後各処方において数検体ずつを選択し、原料生薬のヒ素及び重金属量を調査を行うなど、今回得られた結果の原因解明が必要と考えられた。

E. 結論

日本薬局方に収載された漢方エキスのうち、小青竜湯、加味逍遙散、八味地黄丸、葛根湯及び黄連解毒湯を対象にヒ素、カドミウム、水銀及び鉛の実態調査を行った。その結果、試験を行った5処方64検体については、香港基準値と比較した場合、小青竜湯1検体においてカドミウム値が0.52 ppmと0.3 ppmを越えた以外は、いずれも基準値を下回っていた。しかしながら、小青竜湯に

おいては、検体全てで比較的高値でカドミウムが検出された。一方、ヒ素や鉛は、同一処方内でもメーカーやロットによって値に幅があるなどの結果であったことから、原料生薬のヒ素及び重金属量を調査を行うなど、今回得られた結果の原因解明が必要と考えられた。

参考文献

- 1) Hong Kong Chinese Materia Medica Standards Volume 1, Appendix V: Determination of Heavy Metals, p129-131, Government of the Hong Kong Special Administrative Region, the People's Republic of China, 2005

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)

1. 小青竜湯

(ppm)

		As 75	Cd 111	Hg *) 202	Pb 206+207+208
A	1	0.80	0.19	tr.	0.64
	2	0.44	0.17	tr.	0.52
B	1	0.90	0.25	tr.	1.51
	2	0.85	0.23	tr.	1.18
C	1	0.39	0.23	0.09	0.69
	2	0.34	0.16	tr.	0.32
D	1	0.45	0.21	0.03	0.49
	2	0.37	0.22	tr.	0.38
E	1	1.39	0.28	tr.	2.13
	2	1.39	0.25	tr.	1.89
F	1	0.45	0.28	n.d.	0.76
	2	0.48	0.26	tr.	0.81
G	1	0.52	0.18	n.d.	0.47
	2	0.38	0.23	n.d.	0.47
H	1	0.85	0.29	tr.	1.62
	2	0.67	0.52	tr.	0.94
平均		0.67	0.25	-	0.93

*) tr. < 0.02 ppm, n.d. < 0.004 ppm

2. 加味逍遙散

(ppm)

		As 75	Cd 111	Hg *) 202	Pb 206+207+208
A	1	0.43	0.07	tr.	0.33
	2	0.33	0.07	n.d.	0.36
B	1	0.67	0.06	tr.	0.83
	2	1.28	0.14	n.d.	1.59
C	1	0.54	0.05	tr.	0.41
	2	0.44	0.04	tr.	0.35
D	1	0.45	0.07	tr.	0.43
	2	0.75	0.05	tr.	0.70
E	1	0.37	0.05	n.d.	0.27
	2	0.37	0.07	n.d.	0.39
F	1	0.53	0.03	tr.	0.44
	2	0.48	0.07	tr.	0.51
G	1	0.32	0.05	tr.	0.32
	2	0.24	0.07	tr.	1.42
H	1	0.37	0.06	tr.	0.77
	2	0.35	0.03	tr.	0.16
平均		0.49	0.06	-	0.58

*) tr. < 0.02 ppm, n.d. < 0.004 ppm

表 (2)

3. 八味地黄丸		(ppm)			
		As 75	Cd 111	Hg *) 202	Pb 206+207+208
A	1	0.28	0.07	n.d.	0.16
	2	0.29	0.12	n.d.	0.14
B	1	0.30	0.09	tr.	0.20
	2	0.38	0.06	tr.	0.15
C	1	1.28	0.09	tr.	0.52
	2	0.72	0.10	tr.	0.82
D	1	0.81	0.08	tr.	0.31
	2	0.80	0.06	tr.	0.25
E	1	0.38	0.12	tr.	1.84
	2	0.34	0.15	tr.	0.74
F	1	0.41	0.10	tr.	0.29
	2	0.47	0.11	n.d.	0.28
G	1	0.40	0.06	tr.	0.26
	2	0.47	0.06	tr.	0.29
H	1	0.37	0.09	tr.	0.20
	2	0.43	0.14	0.02	0.23
平均		0.51	0.09	-	0.42

*) tr. < 0.02 ppm, n.d. < 0.004 ppm

4. 葛根湯		(ppm)			
		As 75	Cd 111	Hg *) 202	Pb 206+207+208
A	1	0.46	0.14	tr.	0.64
	2	0.20	0.10	tr.	0.56
B	1	0.23	0.08	tr.	0.41
	2	0.43	0.05	tr.	0.31
C	1	0.18	0.07	n.d.	0.60
	2	0.17	0.07	n.d.	0.30
D	1	0.27	0.06	tr.	0.68
	2	0.39	0.09	tr.	0.40
平均		0.29	0.08	-	0.49

*) tr. < 0.02 ppm, n.d. < 0.004 ppm

5. 黄連解毒湯		(ppm)			
		As 75	Cd 111	Hg *) 202	Pb 206+207+208
E	1	0.24	0.15	tr.	0.63
	2	0.30	0.07	tr.	0.44
F	1	0.31	0.09	0.03	0.58
	2	0.42	0.12	tr.	1.45
G	1	0.34	0.11	n.d.	0.54
	2	0.41	0.08	n.d.	0.54
H	1	0.25	0.13	tr.	0.38
	2	0.20	0.13	tr.	0.50
平均		0.31	0.11	-	0.63

*) tr. < 0.02 ppm, n.d. < 0.004 ppm

分担研究報告書

分担研究課題

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集積しその情報を活用するために、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、データ収集を行うとともに現行法の問題点とその解決策の検討を行った。今年度検討した31品目の生薬のTLCによる確認試験のうち、何らかの問題点が明らかになったウコン、カシュウ、サンショウ、ベラドンナコン、マシン、ヤクモソウ、リョウキョウ、ロートコン並びに昨年度検討したマクリについては、問題点を解決するための試験条件の変更を検討して試験法の改正案を作成し、日本薬局方原案審議委員会生薬等（B）委員会に提案した。これらの改正案は、日本薬局方の信頼性の向上と日本で用いられる生薬の品質の確保に貢献することが期待される。

研究協力者

石崎昌洋 三和生薬株式会社
糸 博之 和光純薬株式会社試薬事業部
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

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

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

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。そこで昨年度は、標準物質を同時に展開しない確認試験について TLC の画像データを収集するとともに、各試験法での問題点を検討し、エンゴサク、オウゴン、ジコッピ、マクリについて確認試験条件の改良法を作成した。また、確認試験の迅速な実施を図るため、TLC の展開距離を現行の 10 cm から 7 cm に変更可能かを検討した。これらの結果は、確認試験法の改正案として日本薬局方原案審議委員会生薬等 (B) 委員会に提案され、日本薬局方の規定に反映されつつある。

今年度は、昨年度に引き続き、生薬各条に規定された TLC による確認試験の実施結果に基づいて、その問題点を検討し、必要に応じて改良案を作成した。

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、日本薬局方の生薬各条に規定された TLC による確認試験を実施して、その問題点等を検討した。薄層板としては、前年度に引き続き、メルク社製並びに和光純薬工業社製の市販プレートをを用い、10 cm と 7 cm の展開結果を比較した。今年度検討した生薬は、インチンコウ、インヨウカク、ウコン、ウヤク、ウワウルシ、カシュウ、キササゲ、キョウカツ、キョウニン、ケイヒ、ゴボウシ、サンショウ、サンソウニン、シコン、シツリシ、ジャシヨウシ、シヨウキョウ、シンイ、ダイオウ、トウニン、ドクカツ、テンマ、バイモ、ビャクゴウ、ビンロウジ、ベラドンナコン、ヘンズ、マシニン、ヤクモソウ、リョウキョウ、ロートコンの 31 品目である。

C. 研究結果

1. 指標成分の Rf 値並びに TLC プレートが Rf 値に与える影響

今年度検討した生薬の確認試験における指標成分の Rf 値の実測値の平均を Table 1 に示す。標品を同時に展開しない確認試験では、指標成分の Rf 値が日局に記載されているが、今回検討した

品目の中では、ドクカツの指標成分の Rf 値が日局記載の値と 0.1 程度異なっており、日局の規定を変更する必要があるものと思われた。また、ウヤクとサンソウニンについては、複数のスポットが認められるため、その記述法などについて今後検討する必要がある。

メルク社製のプレートと和光純薬社製プレートを比較すると、和光純薬社製のプレートで Rf 値が大きくなる傾向にあり、特に酸性基を持つセンノシドを検出するダイオウの確認試験で、指標成分の Rf 値に大きな差が見られた。現行のダイオウの確認試験ではサンプル調製法が煩雑であり、TLC の展開距離も 15 cm と例外的であることから、同じ化合物を指標成分としているセンナの確認試験とともに、確認試験条件の再検討が必要であろう。また、ゴボウシの確認試験でもメルク社製のプレートと和光純薬社製プレートとの間にやや大きな Rf 値の差が認められたが、日局の規定を変更する必要はないものと判断された。

2. 展開距離と Rf 値の再現性に関する検討

現在日局各条の生薬の TLC による確認試験では、ほとんどの場合展開距離が 10 cm と規定されているが、この展開距離を 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、昨年度に引き続き検討した。

今回検討した 31 品目について、同一機関で行った展開距離 7 cm と 10 cm の TLC のクロマトグラムを比較した結果、両者の間にはほとんどパターンの差がなく、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 (Table 1)。

3. 生薬の確認試験条件の再検討

今回検討した品目の TLC による確認試験のうち、何らかの変更が必要と考えられた品目については改善策を検討し、以下の品目について変更案を作成して日本薬局方原案審議委員会生薬等 (B) 委員会に提案した。なお、今回提案した確認試験では、前述の結果から TLC の展開距離は総て 7 cm とした。現行法と改正案で実施した TLC のクロマトグラムを Fig. 1~3 に示す。

(1) ウコン

現行の溶媒条件では指標成分であるクルクミンのスポットが2つに分かれて見えることから、展開溶媒中の酢酸の比率を大きくするとともに、 R_f 値を現行の値と同一にするために酢酸エチルとヘキサンの割合を調節した溶媒組成に変更した。変更案を、以下に示す。

確認試験案：本品の粉末(本品) 0.5 g にメタノール 20 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。この液につき、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 5 μ L 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/ヘキサン/酢酸(100)混液(11:9:1)を展開溶媒として約 7 cm 展開した後、薄層板を風乾するとき、 R_f 値 0.4 付近に黄色のスポットを認める。

(2) カシュウ

現行法ではスポットするサンプルの濃度が濃すぎることから、濃縮操作を省略することとした。変更案を、以下に示す。

確認試験案：本品の粉末 1 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。この液につき、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 5 μ L 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/水/メタノール/酢酸(100)混液(200:10:10:3)を展開溶媒として約 7 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線(主波長 365 nm)を照射するとき、 R_f 値 0.3 付近に青白色の蛍光を発するスポットを認める。

(3) サンショウ

現行法では混合蛍光剤入りのプレートを用いているが、これを用いる必要性が認められないこと、また指標成分の R_f 値が大きすぎることから、無コウイ大建中湯の確認試験で採用されたサンショウの確認試験の条件を用いた確認試験に変更した。

確認試験案：本品の粉末(本品) 2 g に水 10 mL を加え、5 分間振り混ぜた後、ジエチルエーテル 5 mL を加えて振り混ぜ、遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。この液につき、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 10 μ L を薄層クロマトグラフィー用シリカゲル(蛍光剤入り)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/ヘキサン/メタノール/酢酸(100)混液(20:20:1:1)を展開溶媒として約 7 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線(主波長 254 nm)を照射するとき、 R_f 値 0.3 付近にスポットを認める。

(4) マクリ

昨年度改良案を作成したが、これについて更に検討し、以下の確認試験案を作成した。

確認試験案：本品の粉末 2 g に希エタノール 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。別にカイニン酸 5 mg を希エタノール 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 5 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。次にギ酸エチル/ギ酸/水混液(5:1:1)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 → 50)を均等に噴霧し、105°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 R_f 値が等しい。

(5) マシニン

現行の検出試薬(バニリン・硫酸試液)は調製並びに取扱いに注意を要する等の問題があることから、16 局から新たに利用できるようになる噴霧用バニリン・硫酸・エタノール試液を検出試薬として用いるように変更する改正案を作成した。

確認試験案：本品の粉末 0.3 g にメタノール 3 mL を加え、10 分間振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。この液につき、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 5 μ L 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。次にヘキサン/酢酸エチル混液(9:2)を展開溶媒として約 7 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに噴霧用バニリン・硫酸・エタノール試液を均等に噴霧し、105°C で 5 分間加熱するとき、

R_f 値 0.6 付近に濃青紫色のスポットを認める。

(6) ヤクモソウ

現行法ではスポットの検出に問題があることから、検出試薬を噴霧用ドラーゲンドルフ試液からドラーゲンドルフ試液に変更した。

確認試験案：本品の粉末 1 g にメタノール 10 mL を加え、10 分間振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。この液につき、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 10 μ L 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。次に水/メタノール混液 (1:1) を展開溶媒として約 7 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これにドラーゲンドルフ試液を均等に噴霧し、直ちに亜硝酸ナトリウム試液を均等に噴霧するとき、 R_f 値 0.5 付近に灰褐色のスポットを認める。このスポットは、風乾するとき、直ちに退色し、後に消失する。

(7) リョウキョウ

肉眼での検出ではスポットがはっきり確認できない場合があるため、UV による検出に変更した。

確認試験案：本品の粉末 0.5 g にアセトン 5 mL を加え、5 分間振り混ぜた後、ろ過し、ろ液を試料溶液とする。この液につき、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 5 μ L を薄層クロマトグラフィー用シリカゲル (蛍光剤入り) を用いて調製した薄層板にスポットする。次にシクロヘキサン/酢酸エチル/酢酸 (100) 混液 (12:8:1) を展開溶媒として約 7 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線 (主波長 254 nm) を照射するとき、 R_f 値 0.4 付近に 2 個のスポットを認める。

(8) ベラドンナコン・ロートコン

ヤクモソウと同様に、検出試薬を噴霧用ドラーゲンドルフ試液からドラーゲンドルフ試液に変更した。

確認試験案：本品の粉末 2.0 g を共栓遠心沈殿管に入れ、アンモニア試液 30 mL を加え、5 分間超音波を照射した後、遠心分離する。上澄液を分液漏斗にとり、酢酸エチル 40 mL を加えて振り混ぜる。酢酸エチル層を分取し、無水硫酸ナトリウム 3 g を加えて振り混ぜ、液が澄明になっ

た後、ろ過する。ろ液をとり、減圧下で酢酸エチルを留去し、残留物をエタノール (95) 1 mL に溶かし、試料溶液とする。別にアトロピン硫酸塩標準品 2 mg をエタノール (95) 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 <2.03> により試験を行う。試料溶液及び標準溶液 5 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。次にアセトン/水/アンモニア水 (28) 混液 (90:7:3) を展開溶媒として約 7 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これにドラーゲンドルフ試液を均等に噴霧するとき、試料溶液から得た主スポットは、標準溶液から得た黄赤色のスポットと色調及び R_f 値が等しい。

(9) ジャショウシ

展開距離を現行の 10 cm から 7 cm に変更する改正案を作成した。

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。本研究では、昨年度に引き続き生薬の確認試験を日常的に行っている生薬関連会社で行われた TLC による生薬の確認試験のクロマトグラムを基にして、現行の確認試験法の問題点を整理し、これを解決するための試験法の検討を行った。

日本薬局方の各条の規定を作成する際には、十分な追試験が行われ、パブリックコメントも募っているが、今回検討した生薬の TLC による確認試験の中には、改善を要すると思われる試験が見られた。これらの問題点の中には、規定が作成されてから長期間見直しが行われなかったことから起因すると思われる問題点も見られたことから、設定されてから長い期間が経過した試験法については、適宜見直しを行う必要がある。特に TLC 用の検出試薬などは新たに工夫されたものも多いことから、新たな成果を日局に取り入れていく努力も必要であろう。

今年度は 31 品目の生薬の TLC による確認試験を検討し、ウコン、カシュウなど 10 品目の確認試験について、改正案を作成して日本薬局方原案審議委員会に提案した。しかし、今年度検討し

た品目の中には、問題点が指摘されたものの試験法の改正案の作成に至らなかった品目もある。これらの品目については、次年度も引き続き検討を行う予定である。

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、試験法の問題点を検討するために、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、データ収集を行うとともに、得られたクロマトグラムに基づいて、試験法の問題点並びにその解決法の検討を行った。今年度検討した31品目の生薬のうち、何らかの問題点が明らかになったウコン、カシュウ、サンショウ、ベラドンナコン、マシニン、ヤクモソウ、リョウキョウ、ロートコン並びに昨年度検討したマクリについては、問題点を解決するための試験条件の変更を検討して試験法の改正案を作成し、日本薬局方原案審議委員会生薬等(B)委員会に提案した。これらの改正案は、日本薬局方の信頼性の向上と日本で用いられる生薬の品質の確保に貢献することが期待される。

F. 研究発表

1. 木内文之，成川佑次，合田幸広，石崎昌洋，糸博之，川崎武志，川原信夫，神本敏弘，菊地祐一，近藤誠三，杉本智潮，日向野太郎，山本豊，日本薬局方収載のTLCによる生薬の確認試験(1) 1-ブタノール/水/酢酸(100)混液を展開溶媒とする確認試験について，日本生薬学会第57回年会，徳島，2010年9月。
2. 木内文之，成川佑次，合田幸広，石崎昌洋，糸博之，川崎武志，川原信夫，神本敏弘，菊地祐一，近藤誠三，杉本智潮，日向野太郎，山本豊，日本薬局方収載のTLCによる生薬の確認試験(1) 1-ブタノール/水/酢酸(100)混液を展開溶媒とする確認試験について，生薬学雑誌，65 (1)，25-32 (2011)。

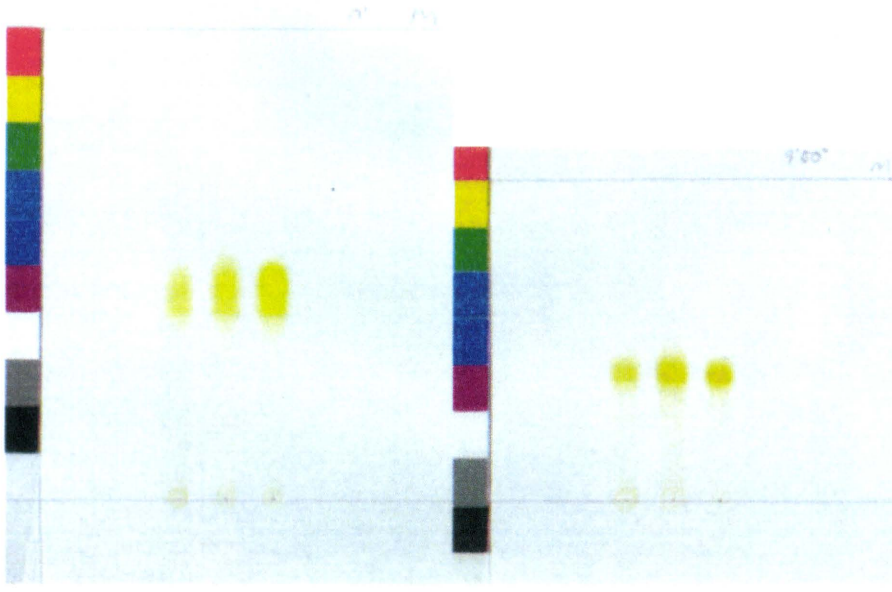
G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1. 検討した生薬の確認試験の溶媒系とRf値

生薬	溶媒系	平均Rf値				局方記載 Rf値	備考
		M7	M10	W7	W10		
インゲンコウ	アセトン/ヘキサン(1:1)	0.45	0.44	0.48	0.48	0.5	問題なし
インヨウカク	酢酸エチル/エタノール(99.5)/水混液(8:2:1)	0.45	0.44	0.46	0.47		問題なし
ウコン	酢酸エチル/ヘキサン/酢酸(100)(70:30:1)	0.42	0.43	0.42	0.46	0.4	1スポットになるように溶媒を変更
*ウコン (溶媒変更)	酢酸エチル/ヘキサン/酢酸(100)(11:9:1)	0.37	0.38	0.40	0.40	0.4	追試データ
ウヤク	酢酸エチル/メタノール/アンモニア水(28)(10:2:1)	0.38	0.37	0.40	0.39	0.4	複数のスポットがあるが、試験法はこのままとし、JPTIIにTLCの写真載せる
ウワウルシ	ギ酸エチル/水/ギ酸(8:1:1)	0.33	0.36	0.31	0.33		変更案で追試
カシュウ	酢酸エチル/水/メタノール/酢酸(100)(200:10:10:3)	0.28	0.28	0.28	0.29	0.3	濃縮操作を行わない方法に変更
*カシュウ	酢酸エチル/水/メタノール/酢酸(100)(200:10:10:3)	0.27	0.26	0.29	0.28	0.3	追試データ
キササゲ	酢酸エチル/エタノール(99.5)/水(20:2:1)	0.63	0.63	0.67	0.66	0.7	カタルポンドの検出が困難 指標成分から再検討
キョウカツ	酢酸エチル/ヘキサン/メタノール/酢酸(100)(20:20:1:1)	0.24	0.25	0.25	0.26		1社の標本のデータ
キョウニン	酢酸エチル/メタノール/水(20:5:4)	0.66	0.67	0.66	0.67	0.7	3つスポットが見られるもの があり、再検討
ケイヒ	ヘキサン/酢酸エチル(2:1)	0.44	0.43	0.46	0.46	0.4	問題なし
ゴボウシ	アセトン/酢酸エチル/水(15:10:1)	0.33	0.32	0.40	0.39	0.4	MとWでRf値の差があるがこのままとする
サンショウ	酢酸エチル/エタノール(95)/水(8:2:1)			0.71	0.71	0.7	変更を検討
*サンショウ (溶媒変更)	酢酸エチル/ヘキサン/メタノール/酢酸(100)(20:20:1:1)	0.25	0.27	0.28	0.30	変更案:0.3	追試データ
サンソウニン	アセトン/酢酸エチル/水/酢酸(100)(10:10:3:1)	0.29	0.29	0.38	0.38	0.3	局方の記載を修正、発色法を変更
*サンソウニン	アセトン/酢酸エチル/水/酢酸(100)(10:10:3:1)	0.27	0.28	0.38	0.38	変更案:0.3付近に2個	追試データ。スポットが3つ見えるものがあることから再検討
シコン	酢酸エチル/エタノール(95)(3:1)	0.76	0.75	0.82	0.79	0.75	このまま
シツリシ	酢酸エチル/水(40:1)	0.45	0.44	0.47	0.46	0.4	問題なし
ジャショウシ	ヘキサン/酢酸エチル(2:1)	0.29	0.30	0.30	0.30		問題なし
ショウキョウ	酢酸エチル/ヘキサン(1:1)	0.31	0.30	0.30	0.30		発色が温度条件によって異なるため、色の記載を外す
シンイ	酢酸エチル/アセトン/水/ギ酸(5:3:1:1)	0.27	0.27	0.27	0.28	0.3	問題なし
ダイオウ (確認試験)	1-プロパノール/酢酸エチル/水/酢酸(100)(40:40:30:1)	0.28	0.32	0.48	0.59		試料調製法から再検討
テンマ	酢酸エチル/メタノール/水(8:2:1)	0.42	0.42	0.46	0.46	0.4	発色時間を1分から5分に変更
*テンマ	酢酸エチル/メタノール/水(8:2:1)	0.36	0.38	0.40	0.40		追試
トウニン	酢酸エチル/メタノール/水(20:5:4)	0.29	0.28	0.32	0.32		問題なし
ドクカツ	ヘキサン/酢酸エチル/酢酸(100)(30:10:1)	0.48	0.49	0.49	0.53	0.6	発色試薬を変更
*ドクカツ	ヘキサン/酢酸エチル/酢酸(100)(30:10:1)	0.46	0.48	0.48	0.48	変更案:0.5	追試データ。Rf値を変更
バイモ	酢酸エチル/メタノール/アンモニア水(28)(17:2:1)	0.42	0.42	0.41	0.41	0.4	問題なし
		0.62	0.61	0.62	0.62	0.6	
ビャクゴウ	酢酸エチル/メタノール/水(12:2:1)	0.28	0.28	0.32	0.33	0.3付近に2つ	問題なし
		0.37	0.37	0.42	0.42		
ビンロウジ	アセトン/水/酢酸(100)(10:6:1)	0.59	0.56	0.56	0.54		試料調製法等の変更案を追試
ペラドンナコン	アセトン/水/アンモニア(28)(90:7:3)	0.32	0.34	0.27	0.26		検出法を変更
ヘンズ	酢酸エチル/酢酸(100)(100:1)	0.42	0.42	0.48	0.48	0.4	問題なし
マシン	ヘキサン/酢酸エチル(9:2)	0.56	0.60	0.60	0.61	0.6	発色試薬を変更
*マシン	ヘキサン/酢酸エチル(9:2)	0.60	0.59	0.61	0.64	0.6	追試データ
ヤクモソウ	水/メタノール(1:1)					0.5	発色がうまく行かない
*ヤクモソウ	水/メタノール(1:1)	0.45	0.45	0.44	0.45	0.5	発色試薬の変更を提案
リョウキョウ	シクロヘキサン/酢酸エチル/酢酸(100)(12:8:1)	0.34	0.35	0.38	0.40	0.4~0.5に2個	検出法をUVIに変更
		0.40	0.42	0.43	0.45		
*リョウキョウ	シクロヘキサン/酢酸エチル/酢酸(100)(12:8:1)	0.37	0.37	0.37	0.39	0.4~0.5に2個	追試データ
		0.40	0.40	0.41	0.42		
ロートコン	アセトン/水/アンモニア(28)(90:7:3)	0.65	0.67	0.70	0.70		検出法を変更
		0.30	0.33	0.26	0.28		

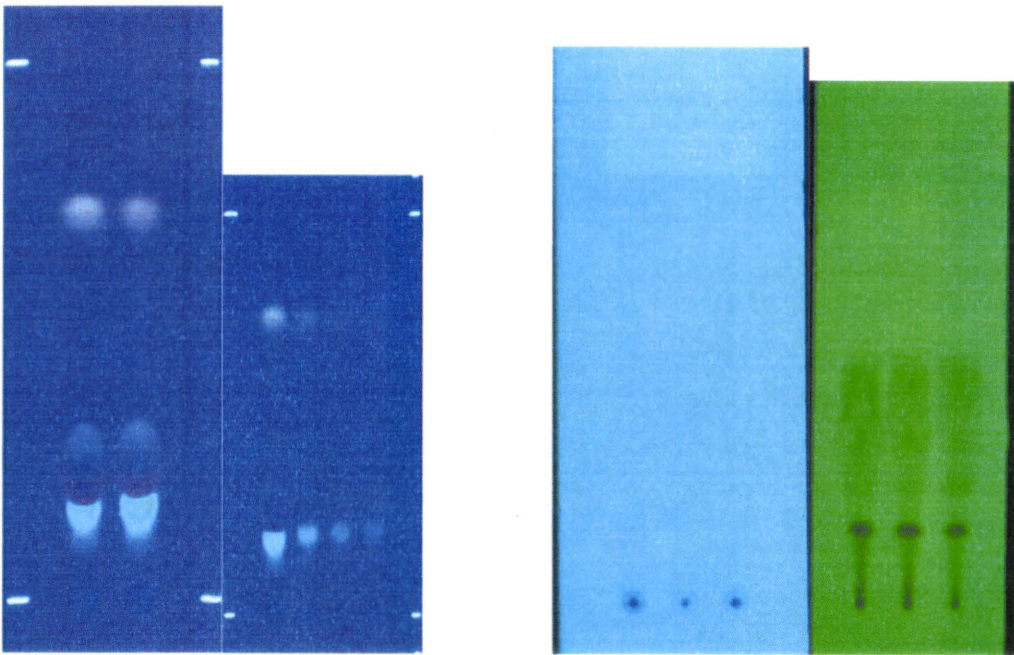
Rf値は2~7社の平均。M7: Merck 7cm展開, M10: Merck 10cm展開, W7: 和光7cm展開, W10: 和光10cm展開。 * 追試データ



現行法

改正案

ウコンの確認試験



現行法

改正案

カシュウの確認試験

現行法

改正案

サンショウの確認試験

Fig. 1 現行法と改良案による TLC の比較 1