

図 2. HPLC クロマトグラム
(上から, 標準溶液, エキス, 原生薬, 標準煎剤)

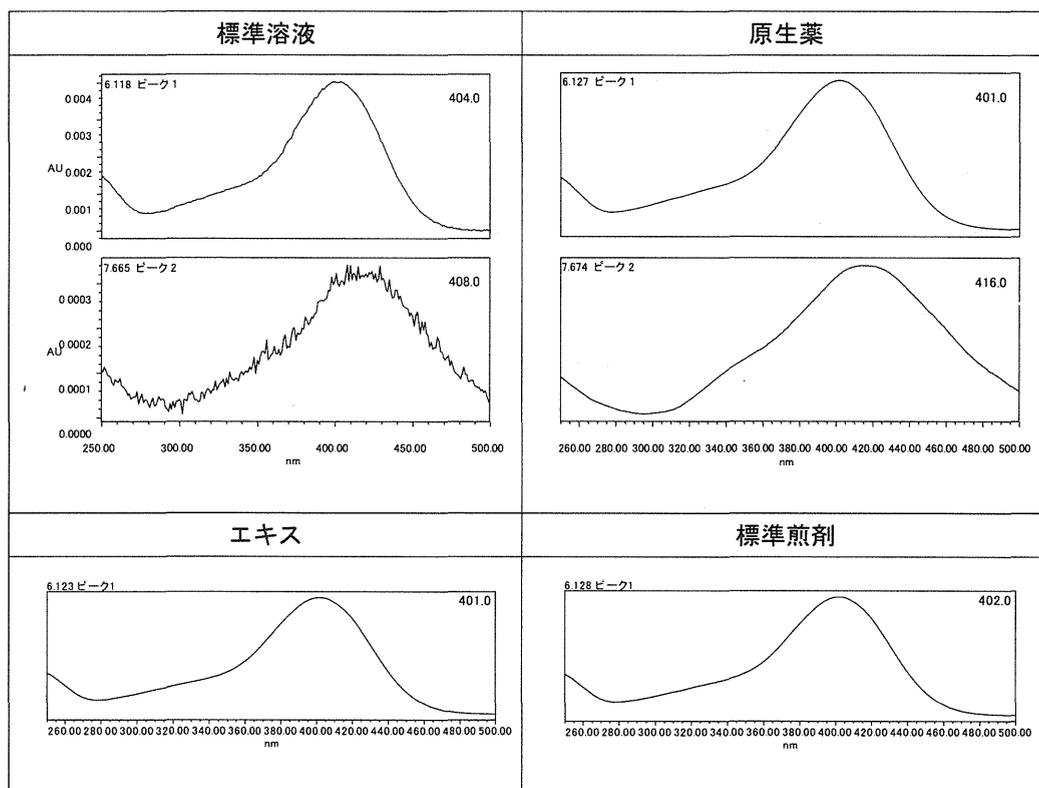


図 3. PDA スペクトル

(参考文献)

- 1) 合田幸広ら「ベニバナ黄色素の主色素成分の構造決定及び市販製品中の主色素成分含量」
日本食品化学学会誌 (*Jpn. J. Food. Chem*), Vol.1(1), 54-58 (1997)

コウジンエキスの指標成分とその確認試験・定量方法について

1. 指標成分となりえる化合物：ギンセノシド Rg₁(ginsenoside Rg₁)およびギンセノシド Rb₁(ginsenoside Rb₁)

日本薬局方(JP)「コウジン」を参考に、確認成分にはギンセノシド Rg₁、定量成分にはギンセノシド Rg₁およびギンセノシド Rb₁を選定した。

2. 確認試験

日本薬局方(JP)「コウジン」を参考にする。

乾燥エキス 0.5 g に水 10 mL および 1-ブタノール 10 mL を加え、15 分間振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。別に薄層クロマトグラフィー用ギンセノシド Rg₁ 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 5 μ L および標準溶液 2 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/メタノール/水混液(14 : 5 : 4)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 10 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、標準溶液から得たスポットと色調および R_f 値が等しい。

3. 定量法

日本薬局方(JP)「コウジン」を参考にする。

- (1) ギンセノシド Rg₁

乾燥エキス約 0.3 g を精密に量り、共栓遠心沈殿管に入れ、薄めたメタノール(3→5) 30 mL を加えて 15 分間振り混ぜ、遠心分離し、上澄液を分取する。残留物に薄めたメタノール(3→5) 15 mL を加え、同様に操作する。全上澄液を合わせ、薄めたメタノール(3→5)を加えて正確に 50 mL とする。この液 10 mL を正確にとり、希水酸化ナトリウム試液 3 mL を加えて 30 分間放置した後、0.1 mol/L 塩酸試液 3 mL を加え、薄めたメタノール(3→5)を加えて正確に 20 mL とし、試料溶液とする。別にギンセノシド Rg₁ 標準品(別途水分を測定しておく)約 10 mg を精密に量り、薄めたメタノール(3→5)に溶かし、正確に 100 mL とし、標準溶液とする。試料溶液 20 μ L および標準溶液 10 μ L ずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行う。それぞれの液のギンセノシド Rg₁ のピーク面積を測定し、含量を求める。

- (標準煎剤)

標準煎剤 30 mL を正確にとり、メタノールを加えて正確に 50 mL とする。この液を

遠心分離し、その 10 mL を正確にとり、希水酸化ナトリウム試液 3 mL を加えて 30 分間放置した後、0.1 mol/L 塩酸試液 3 mL を加え、薄めたメタノール(2→5)を加えて正確に 20 mL とした液を試料溶液とする。

試験条件

検出器：紫外吸光光度計(測定波長：203 nm)

カラム：内径 4.6 mm, 長さ 15 cm のステンレス管に 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度：30°C 付近の一定温度

移動相：水/アセトニトリル混液(4 : 1)

流量：ギンセノシド Rg₁ の保持時間が約 25 分になるように調整する。

システム適合性

システムの性能：ギンセノシド Rg₁ 標準品およびギンセノシド Re 1 mg ずつを薄めたメタノール(3→5)に溶かして 10 mL とする。この液 10 μ L につき、上記の条件で操作するとき、ギンセノシド Rg₁、ギンセノシド Re の順に溶出し、その分離度は 1.5 以上である。

システムの再現性：標準溶液 10 μ L につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、ギンセノシド Rg₁ のピーク面積の相対標準偏差は 1.5% 以下である。

(2) ギンセノシド Rb₁

(1) の試料溶液を試料溶液とする。別にギンセノシド Rb₁ 標準品(別途水分を測定しておく)約 10 mg を精密に量り、薄めたメタノール(3→5)に溶かし、正確に 100 mL とし、標準溶液とする。試料溶液 20 μ L 及び標準溶液 10 μ L ずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行う。それぞれの液のギンセノシド Rb₁ のピーク面積を測定し、含量を求める。

試験条件

検出器：紫外吸光光度計(測定波長：203 nm)

カラム：内径 4.6 mm, 長さ 15 cm のステンレス管に 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度：40°C 付近の一定温度

移動相：水/アセトニトリル混液(7 : 3)

流量：ギンセノシド Rb₁ の保持時間が約 20 分になるよう調整する。

システム適合性

システムの性能：ギンセノシド Rb₁ 標準品およびギンセノシド Rc 1 mg ずつを薄めたメタノール(3→5)に溶かして 10 mL とする。この液 10 μ L につき、上記の条件で操作するとき、ギンセノシド Rb₁、ギンセノシド Rc の順に溶出し、その分離度は 3

以上である。

システムの再現性：標準溶液 10 μL につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、
ギンセノシド Rb₁ のピーク面積の相対標準偏差は 1.5% 以下である。

【参考資料】

・ ギンセノシド Rg₁

CAS Number: 22427-39-0

JP に標準品および試薬(薄層クロマトグラフィー用)として収載

・ ギンセノシド Rb₁

CAS Number: 41753-43-9

JP に標準品として収載

・ 各国公定書での記載

JP	定性	<p>確認成分：ギンセノシド Rg₁</p> <p>試験法：薄層クロマトグラフィー</p> <p>展開溶媒：酢酸エチル/メタノール/水混液(14 : 5 : 4)</p> <p>検出法：噴霧用バニリン・硫酸・エタノール試液を均等に噴霧し、105℃で 10 分間加熱</p>
	定量	<p>定量成分と含量規格：ギンセノシド Rg₁ 0.10%以上</p> <p>試験法：液体クロマトグラフィー</p> <p>検出器：UV(203 nm)</p> <p>カラム：ODS カラム(内径 4.6 mm、長さ 15 cm、粒径 5 μm)</p> <p>移動相：水/アセトニトリル混液(4 : 1)</p> <p>定量成分と規格：ギンセノシド Rb₁ 0.20%以上</p> <p>試験法：液体クロマトグラフィー</p> <p>検出器：UV(203 nm)</p> <p>カラム：ODS カラム(内径 4.6 mm、長さ 15 cm、粒径 5 μm)</p> <p>移動相：水/アセトニトリル混液(7 : 3)</p>
CP	定性	<p>確認成分：ギンセノシド Rb₁, Re, Rf および Rg₁</p> <p>試験法：薄層クロマトグラフィー</p> <p>展開溶媒：クロロホルム/酢酸エチル/メタノール/水混液(15 : 40 : 22 : 10)の下層</p> <p>検出法：10%硫酸エタノール溶液を均等に噴霧し、105℃で加熱し、自然光下と UV(365 nm)で確認</p> <p>標準薬液：ニンジン標準品から試験液と同方法で作成された液</p>
	定量	<p>定量成分と含量規格：ギンセノシド Rg₁ および Re 0.25%以上</p> <p>ギンセノシド Rb₁ 0.20%以上</p> <p>試験法：液体クロマトグラフィー</p>

		<p>検出器：UV(203 nm)</p> <p>カラム：ODS カラム</p> <p>移動相：アセトニトリル／水混液</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>時間</th> <th>アセトニトリル(%V/V)</th> <th>水(%V/V)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0-35</td> <td>19</td> <td>81</td> </tr> <tr> <td>35-55</td> <td>19→29</td> <td>81→71</td> </tr> <tr> <td>55-70</td> <td>29</td> <td>71</td> </tr> <tr> <td>70-100</td> <td>29→40</td> <td>71→60</td> </tr> </tbody> </table>	時間	アセトニトリル(%V/V)	水(%V/V)	0-35	19	81	35-55	19→29	81→71	55-70	29	71	70-100	29→40	71→60					
時間	アセトニトリル(%V/V)	水(%V/V)																				
0-35	19	81																				
35-55	19→29	81→71																				
55-70	29	71																				
70-100	29→40	71→60																				
EP/BP	定性	<p>確認成分：aescin および arbutin</p> <p>試験法：薄層クロマトグラフィー</p> <p>展開溶媒：酢酸エチル／水／ブタノール混液(25:50:100)の上層</p> <p>検出法：アニスアルデヒド溶液を噴霧し、105-110℃で5-10分間加熱</p>																				
	定量	<p>定量成分と含量規格：ギンセノシド Rg₁ および Rb₁ 0.40%以上</p> <p>試験法：液体クロマトグラフィー</p> <p>検出器：UV(203 nm)</p> <p>カラム：ODS カラム(内径 4.6 mm, 長さ 12.5cm, 粒径 5μm)</p> <p>移動相：アセトニトリル／リン酸水溶液(pH2)混液</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>時間</th> <th>アセトニトリル(%V/V)</th> <th>リン酸水溶液(%V/V)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0-8</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>8-40</td> <td>20→40</td> <td>80→60</td> </tr> <tr> <td>40-45</td> <td>40→60</td> <td>60→40</td> </tr> <tr> <td>45-47</td> <td>60→100</td> <td>40→0</td> </tr> <tr> <td>47-52</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>52-55</td> <td>100→20</td> <td>0→80</td> </tr> </tbody> </table>	時間	アセトニトリル(%V/V)	リン酸水溶液(%V/V)	0-8	20	80	8-40	20→40	80→60	40-45	40→60	60→40	45-47	60→100	40→0	47-52	100	0	52-55	100→20
時間	アセトニトリル(%V/V)	リン酸水溶液(%V/V)																				
0-8	20	80																				
8-40	20→40	80→60																				
40-45	40→60	60→40																				
45-47	60→100	40→0																				
47-52	100	0																				
52-55	100→20	0→80																				
USP	定性	未収載																				
	定量	未収載																				
HKCMMS	定性	<p>確認成分：ギンセノシド Rb₁, Rc, Rf および Rg₁, ならびにブソイドギンセノシド F₁₁ が検出されないこと</p> <p>試験法：薄層クロマトグラフィー</p> <p>展開溶媒：クロロホルム／メタノール／水混液(13:7:2)の下層</p> <p>検出法：10%硫酸エタノール溶液を均等に噴霧し、95℃で加熱</p>																				

	定量	<p>定量成分と含量規格:ギンセノシド Rg₁および Re 0.19% 以上</p> <p>ギンセノシド Rb₁ 0.20%以上</p> <p>試験法:液体クロマトグラフィー</p> <p>検出器:UV(203 nm)</p> <p>カラム:ODS カラム(内径 4.6 mm, 長さ 25 cm, 粒径 5 μm)</p> <p>移動相:アセトニトリル/リン酸水溶液(pH2)混液</p> <p>時間 アセトニトリル(%V/V) リン酸水溶液(%V/V)</p> <table data-bbox="627 672 1301 761"> <tr> <td>0-20</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>20-60</td> <td>20→42</td> <td>80→58</td> </tr> </table>	0-20	20	80	20-60	20→42	80→58
0-20	20	80						
20-60	20→42	80→58						

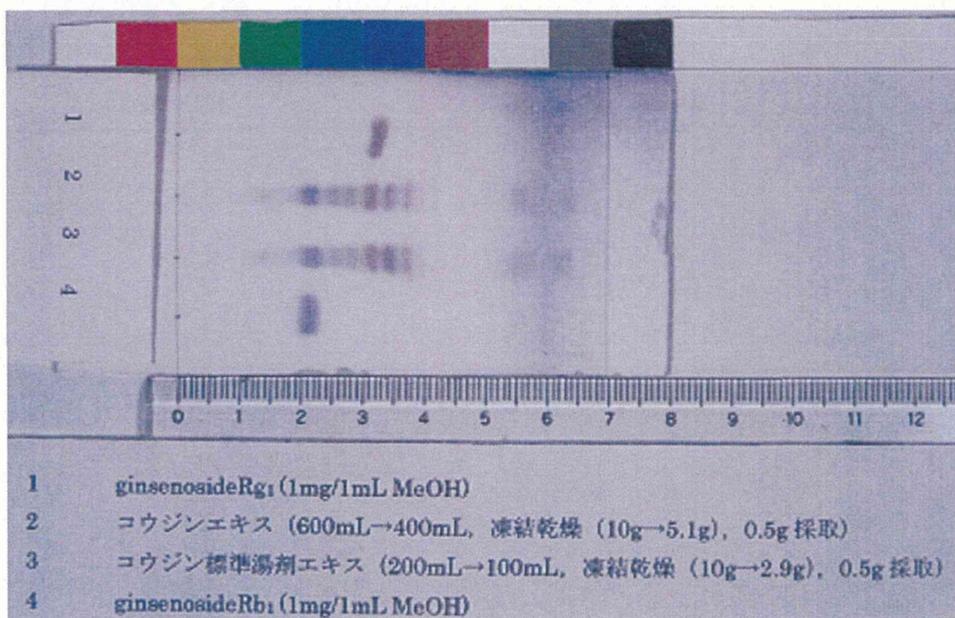
【試験実施結果】

○確認試験

サンプル調製

「コウジン」(ギンセノシド Rg₁ : 0.30%, ギンセノシド Rb₁ : 0.46%)

「コウジン」10 g に常水(水道水) 600 mL を加え、約 400 mL となるまで煎じた。煎じた液を温時ガーゼろ過した液を煎液とし、煎液を凍結乾燥したものをコウジンエキスとした。
(確認試験に関しては標準湯剤についても検討した。調製方法は常水 200 mL → 100 mL)



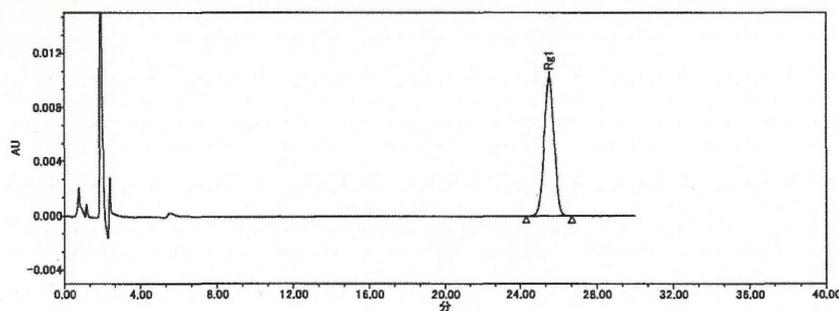
ギンセノシド Rg₁ を指標とした確認試験において、0.5g 採取で問題なく確認ができた。「コウジン」の確認試験は 2g 採取

○定量法

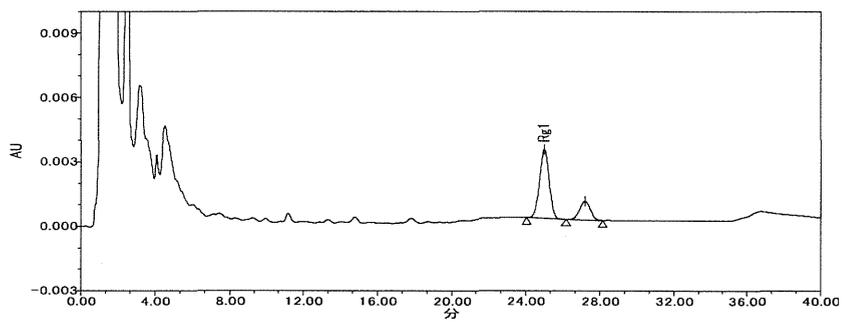
①エキスについて

- ・ギンセノシド Rg₁

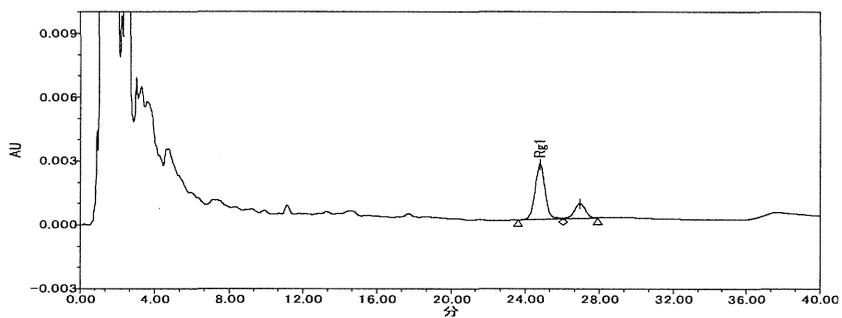
標準溶液 (ギンセノシド Rg₁, Y 軸スケールは他の 1.5 倍)



「コウジン」(日局, 10 μ L 注入)

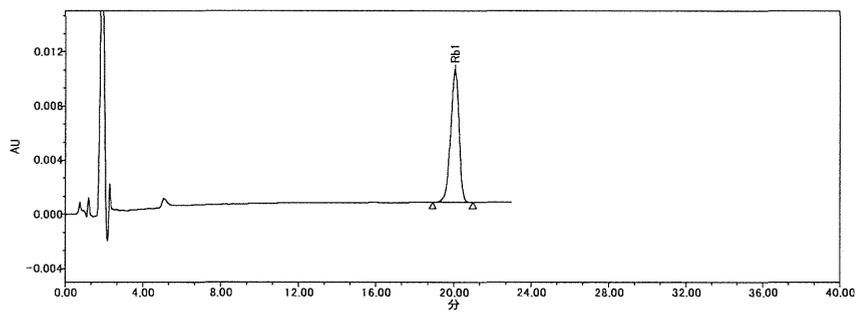


コウジンエキス (20 μ L 注入)

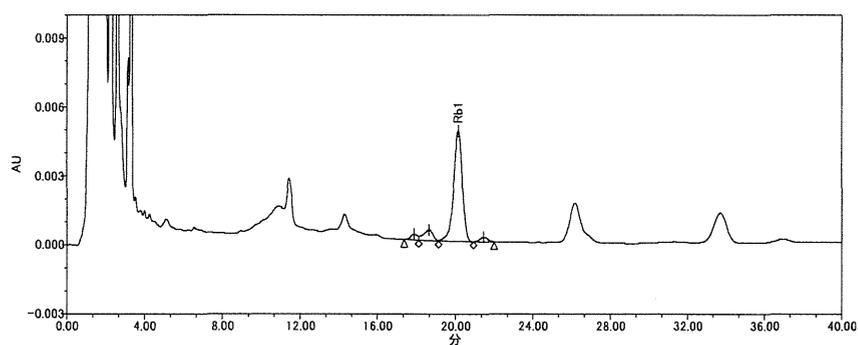


・ギンセノシド Rb₁

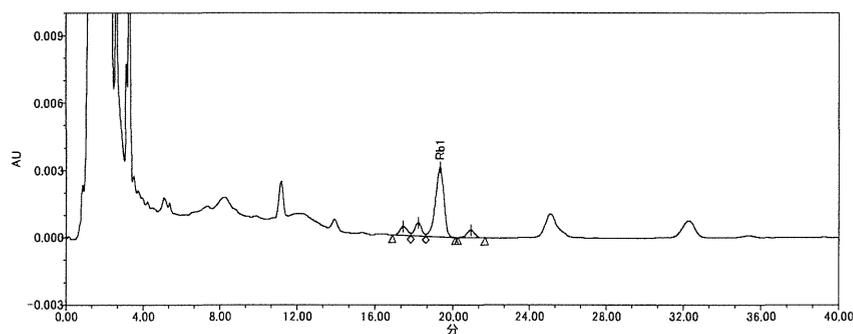
標準溶液 (ギンセノシド Rb₁, Y 軸スケールは他の 1.5 倍)



「コウジン」(日局, 10 μ L 注入)



コウジンエキス (20 μ L 注入)



②標準煎剤について

サンプル調製

「コウジン」(ギンセノシド Rg₁ : 0.30%, ギンセノシド Rb₁ : 0.46%)

「コウジン」10 g に常水(水道水) 600 mL を加え、約 400 mL となるまで煎じた。煎じた液を温時ろ紙でろ過し、冷ました液を煎液とした。

なお、標準煎剤の試料調製中に生じた沈殿物に、指標成分が含有していないことを確認するため、沈殿試料溶液(遠心分離後の沈殿物を薄めたメタノール(2→5) 1 mL を加えて遠心分離後、上澄み液を除去し、水 50 mL を正確に加え、40°C 10 分間超音波抽出を行ったもの 10 mL を正確にとり、希水酸化ナトリウム試液 3 mL を加えて 30 分間放置した後、0.1 mol/L 塩酸試液 3 mL を加え、水を加えて正確に 20 mL とした液) も同様に分析した。

結果

沈殿試料溶液からは定量値に影響を与える量のギンセノシド Rg₁ 及び Rb₁ は検出されなかった。

n=3 の相対標準偏差についても両化合物共に 1.0% を下回った。

以下に検討結果を記載する。(含量値(%) は 10g のコウジンが 400 mL の水に溶解しているものと仮定して原生薬換算をして算出した)

・ギンセノシド Rg₁ (原料試験成績書 : 0.3%)

No.1 0.276%

No.2 0.277%

No.3 0.280% CV : 0.75%

・ギンセノシド Rb₁ (原料試験成績書 : 0.46%)

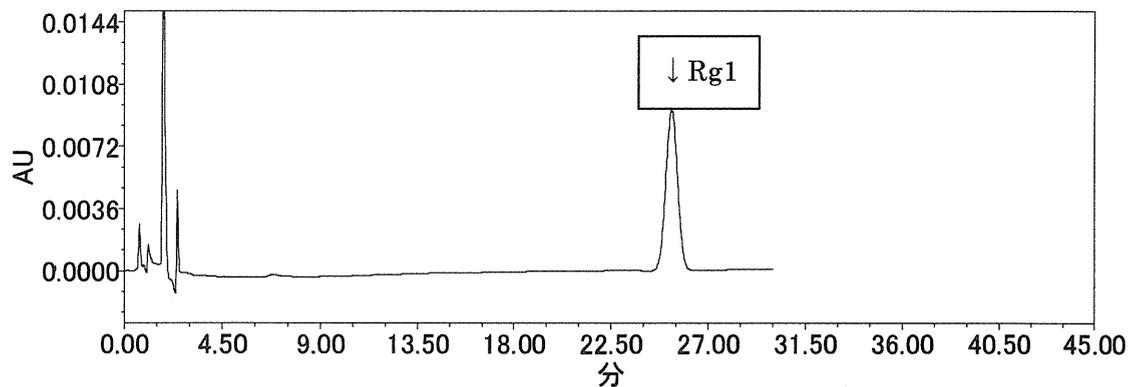
No.1 0.361%

No.2 0.362%

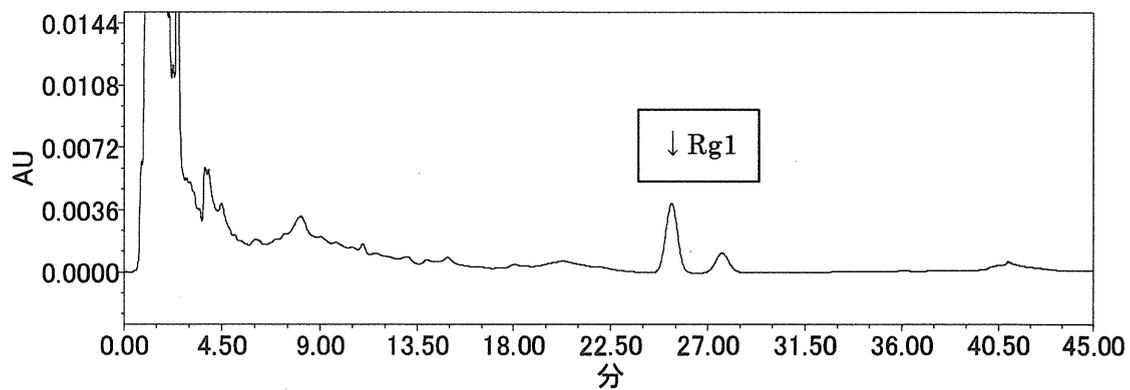
No.3 0.366% CV : 0.73%

・ギンセノシド Rg1

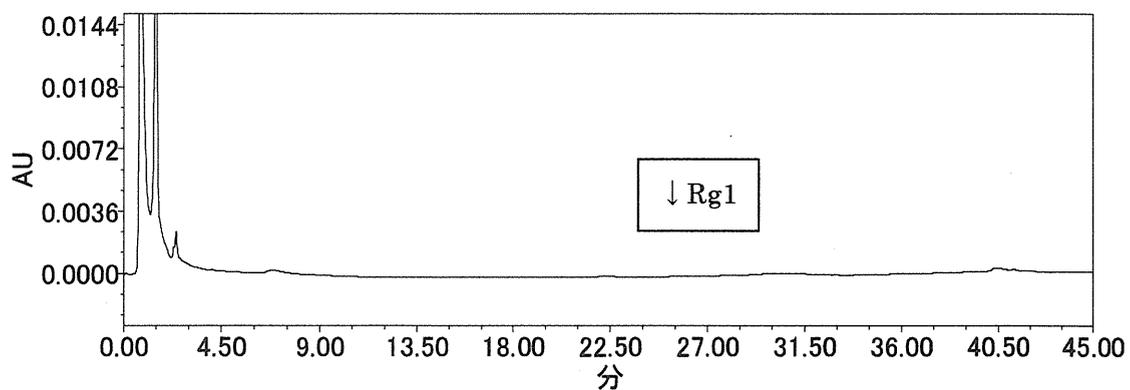
標準溶液 (10 μ L 注入)



コウジン煎液試料溶液 (20 μ L 注入)

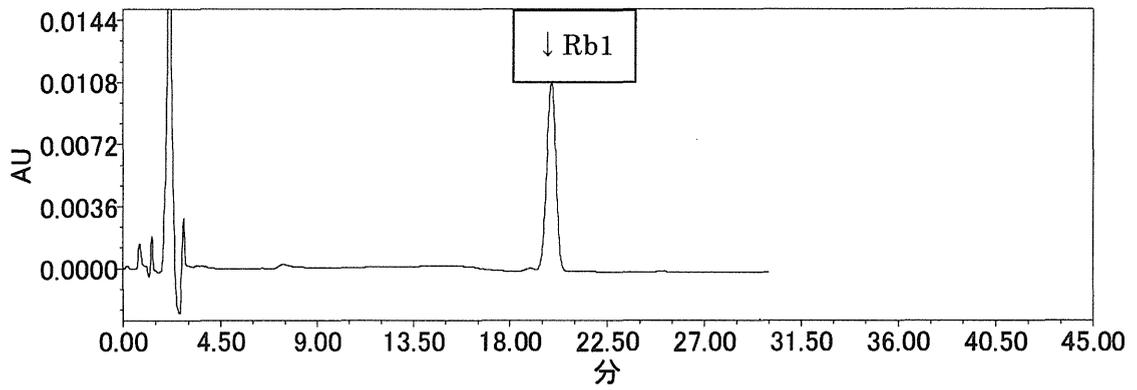


沈殿試料溶液 (20 μ L 注入)

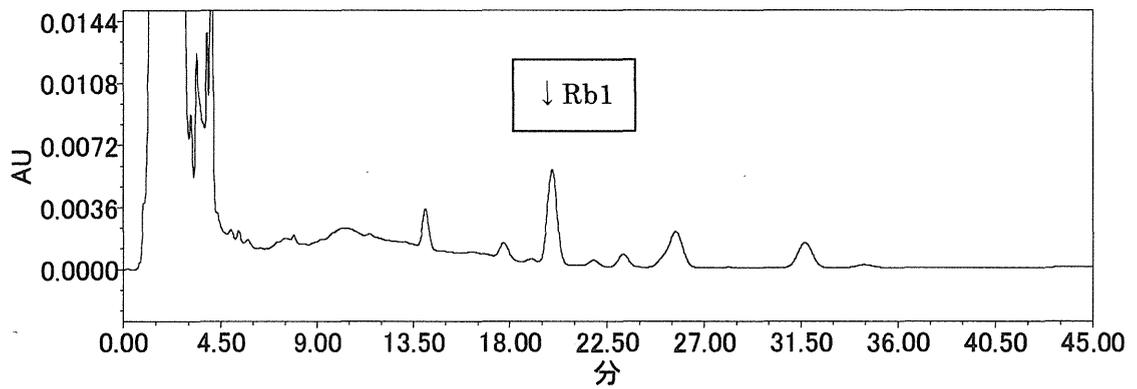


・ギンセノシド Rb1

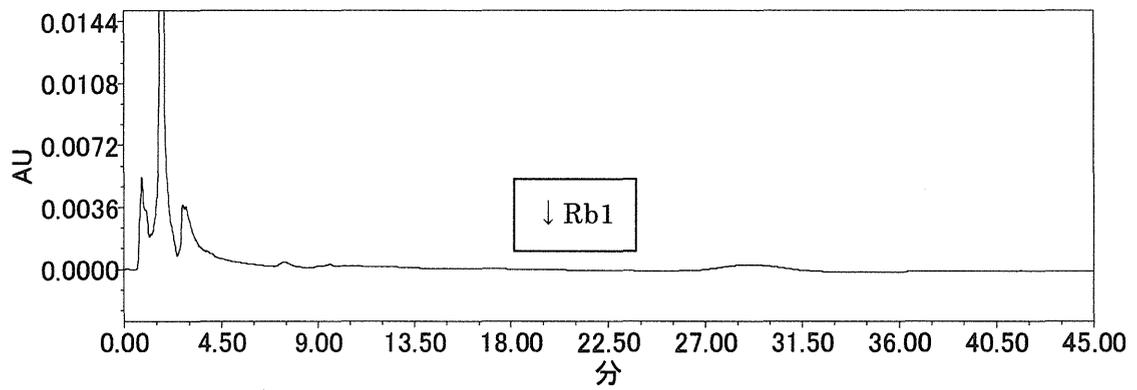
標準溶液 (10 μ L 注入)



コウジン煎液試料溶液 (20 μ L 注入)



沈殿試料溶液 (20 μ L 注入)



サフランエキスの指標成分とその確認試験・定量方法について

1. 指標成分となりえる化合物：クロシン I (crocin I), クロシン II (crocin II)

JP：「サフラン」にて、クロシンの成分含量規格として、サフラン粉末 0.100g/150mL のろ液 1mL の 10 倍希釈水溶液は、カルバゾクロムスルホン酸ナトリウム三水和物水溶液 49 μ g/mL より、波長 438nm における吸光度が大きい、とされている。

CP：標準品クロシン I, クロシン II を用い、HPLC による定量により総定量値が 10.0% 以上、とされている。

EP/BP：未収載。

USP：未収載。

HKCMMS：標準品クロシン I, クロシン II を用い、薄層クロマトグラフィーによりスポットの Rf 値と色が等しい、とされている。

また、HPLC によるフィンガープリンティングにて 4 つのピークが特徴的とあり、それぞれピクロクロシン, クロシン I, クロシン II とされている。(4 つのピークのうち 1 つは物質名が記載されていなかった)。

定量においては、標準品クロシン I, クロシン II を用い、HPLC による定量により総定量値が 10.0% 以上、とされている。

なお、JP におけるクロシンとはクロシン I のことと考えられる (日本化学物質辞書 Web より、“クロシン” の慣用名として“クロシン 1” の記載あり)。

以上の情報から、指標化合物の候補としては少なくともクロシン I が適切と考えられ、さらに、CP, HKCMMS にて、流通している標準品を用いて確認及び定量することができるクロシン II (クロシン I も同様) も合わせて適切と考えられる。

想定される含量：クロシン I + クロシン II の合計含有量が 10.0% 以上 (CP, HKCMMS における含量規格)

2. 確認試験

香港中薬材基準(HKCMMS)「Croc Stigma」を参考にする。

乾燥エキス約 70 mg (サフラン原生薬約 0.1g に相当) をアルミニウム箔で遮光した遠心沈殿管にとり、メタノール 10 mL を加え、10 分間超音波(100W)を照射した後、ろ過し試料溶液とする。別にクロシン I 1.0 mg をアルミニウム箔で遮光したマイクロチューブにとり、メタノールで 1 mL とし、クロシン I 標準溶液とする。また別にクロシン II 0.5 mg をアルミニウム箔で遮光したマイクロチューブにとり、メタノールで 1 mL とし、クロシン II 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。試料溶液及びクロシン I 標準溶液、クロシン II 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(蛍光剤入り)(HPTLC silica gel F254)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/イソプロパノール/水/ギ酸混液(65 : 35 : 20 : 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、試料溶液から得た数個のスポットはクロシン I 標準溶液及びクロシン II 標準溶液から得たスポットと色調及び R_f 値が等しい。

3. 定量法

香港中薬材基準(HKCMMS)「Crocī Stigma」を参考にする。

乾燥エキス約 7.0 mg (サフラン原生薬 10mg に相当) を精密に量り、遠心沈殿管に入れ、50%メタノール溶液 40 mL を加えて、遮光しながら 40°C で 30 分間超音波を照射し、遠心分離(3000G, 5 分間)し、上澄液を、50 mL メスフラスコに分取し、50%メタノールで正確に 50 mL とし、ろ過(0.45 μ m, PTFE フィルター)し、試料溶液とする。別に定量用クロシン I 約 2.0 mg, 定量用クロシン II 約 2.0 mg を精密に量り、それぞれ別のマイクロチューブに入れ、50%メタノール溶液で正確に 10 mL とし、遮光しながら 40°C で 30 分間超音波を照射し、標準原液(各 200 mg/L)とする。次に標準原液に 50%メタノール溶液を加えてクロシン I 又はクロシン II が共に 0.5, 2, 10, 20, 40 mg/L となるよう希釈し、標準溶液 1 から 5 とする。試料溶液及び標準溶液 1 から 5 を 50 μ L ずつ正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行い、標準溶液から得た検量線を用いて、試料溶液中のクロシン I 及びクロシン II の合計含有量を求める。

(標準煎剤)

標準煎剤 5 mL (サフラン原生薬 10 mg に相当) を正確にとり、遠心沈殿管に入れ、50%メタノール溶液 40 mL を加えて、遮光しながら 40°C で 30 分間超音波を照射し、遠心分離(3000G, 5 分間)し、上澄液を、50 mL メスフラスコに分取し、50%メタノールで正確に 50 mL とし、ろ過(0.45 μ m, PTFE フィルター)し、試料溶液とする。

試験条件

検出器：可視吸光光度計(測定波長：440 nm)

カラム：5 μ m のオクタデシルシリル化シリカゲルを充填した、内径 4.6 mm, 長さ 250 mm のカラム

移動相：水/メタノール混液(50 : 50)

流速：1.0 mL/min

溶出時間：30 分

システム適合性

標準溶液 3 (クロシン I 及びクロシン II 各 10 mg/L) 10 μ L につき、上記の条件で 5

(資料 3)

回繰り返すとき、クロシンⅠ及びクロシンⅡのピーク面積，保持時間の相対標準偏差はそれぞれ 5.0%以下，2.0%以下であり，クロシンⅠ，クロシンⅡのピークから得られる理論段数はそれぞれ 3000，4000 以上である。

また，クロシンⅠのピークと最も近接のピーク，クロシンⅡのピークの最も近接のピークの分離度はどちらも 1.5 以上である。

【参考資料】

・クロシン I

CAS Number: 42553-65-1

・クロシン II

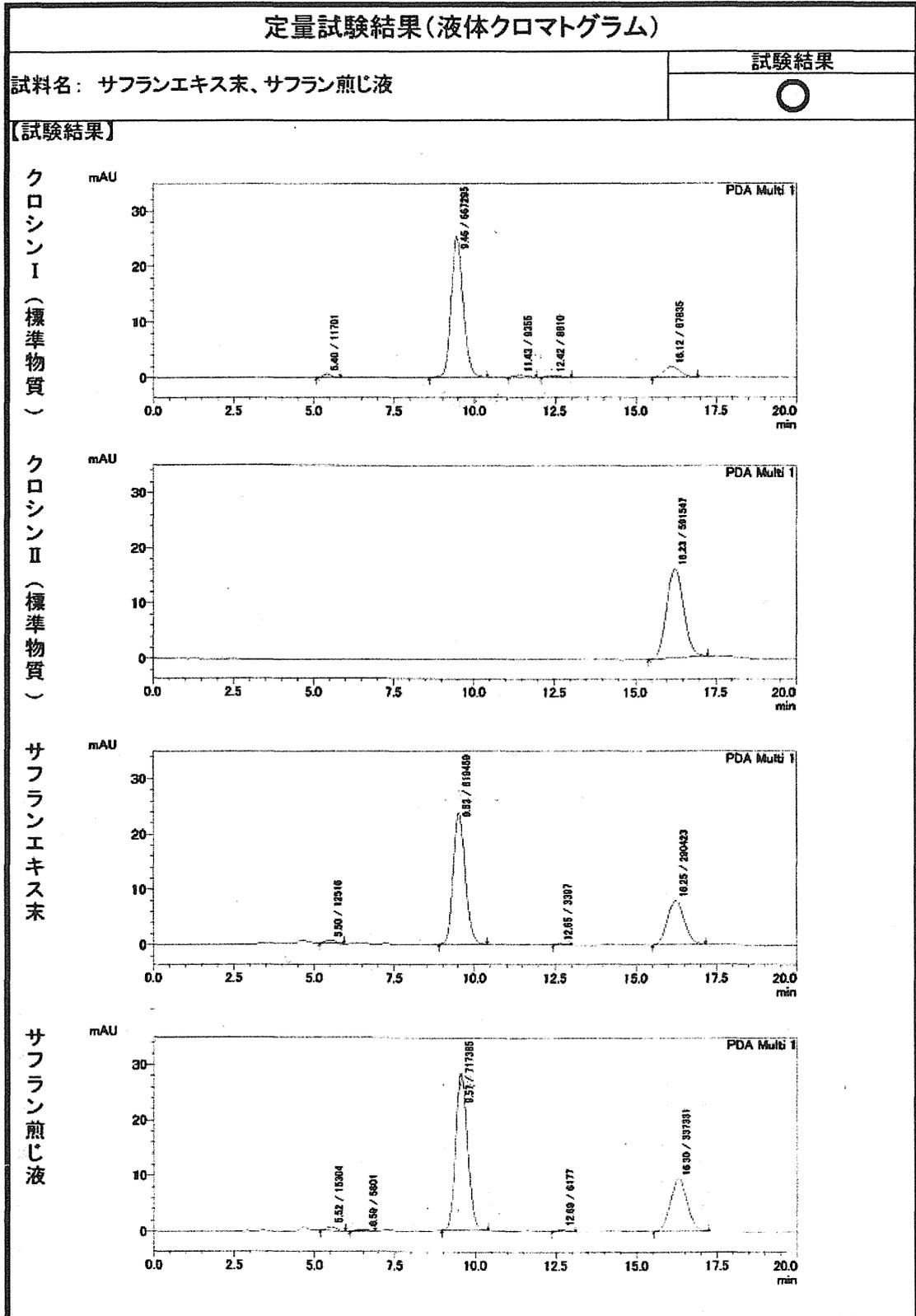
CAS Number: 55750-84-0

・各国公定書での記載

JP	定性	試験法：硫酸による呈色反応（暗青色～紫色～赤褐色）
	定量	規定なし
CP	定性	規定なし
	定量	定量成分と含量規格：クロシン I + クロシン II（10.0%以上） 試験法：薄層クロマトグラフィー カラム：ODS カラム 検出器：分光光度計(440 nm) 移動相：メタノール/水(45 : 55)
EP/BP	定性	未収載
	定量	未収載
USP	定性	未収載
	定量	未収載
HKCMMS	定性	確認成分：クロシン I, クロシン II 試験法：薄層クロマトグラフィー(シリカゲル F254 プレート) 展開溶媒：酢酸エチル/イソプロパノール/水/ギ酸混液 (65 : 35 : 20 : 1) 検出法：UV 254 nm
	定量	定量成分と含量規格：クロシン I + クロシン II (10.0%以上) 試験法：液体クロマトグラフィー カラム：ODS カラム 検出器：紫外可視吸光度計(440 nm) 移動相：水/メタノール混液(50 : 50)

確認試験結果	
試料名: サフランエキス末	試験結果 ○
【試験結果】	
指標成分: クロシン I	
	濃度 スポット量 Rf値 色調
標準物質	1mg/mL 10 μ L 0.17 灰色
標準物質	1mg/mL 20 μ L 0.17 灰色
サフラン エキス末	7mg/mL 10 μ L 0.17 灰色
指標成分: クロシン II	
	濃度 スポット量 Rf値 色調
標準物質	0.5mg/mL 5 μ L 0.34 灰色
標準物質	0.5mg/mL 10 μ L 0.34 灰色
サフラン エキス末	7mg/mL 10 μ L 0.35 灰色

クロシン I (1mg/mL) 10 μ L	クロシン I (1mg/mL) 20 μ L	クロシン II (0.5mg/mL) 5 μ L	クロシン II (0.5mg/mL) 10 μ L	エキス末 (7mg/mL) 10 μ L
----------------------------------	----------------------------------	------------------------------------	-------------------------------------	--------------------------------



ジュウヤクエキスの指標成分とその確認試験・定量方法について

1. 指標成分となりえる化合物：クエルシトリン(quercitrin)

香港中薬材標準(HKCMMS)「Houttuyniae Herba」では、確認成分及び定量成分として quercitrin(クエルシトリン)が規定されていることから、確認成分及び定量成分にはクエルシトリンを選定した。

想定される含量：0.10～4.32%(香港生薬基準における原生薬の規格：0.17%以上)

ジュウヤク中のクエルシトリンの含量は、HPLCにより、0.86～4.32%(1992年、国内自生、葉、100検体)及び0.58～1.97%(1992年、中国、葉、17検体)であった(AV-422：ジュウヤクの生薬学的研究(1)、川村智子、久田陽一ら、Natural Medicines 48(3) 208-12 (1994))。

ジュウヤク中のクエルシトリンの含量は、HPLCにより、0.10～0.38%(1983年、国内又は産地不明、14検体)であった(高速液体クロマトグラフィーによる十薬中のクエルシトリンの定量、桂英二、山岸喬、道衛研所報 33 119-21 (1983))。

2. 確認試験

香港中薬材標準(HKCMMS)「Houttuyniae herba」を参考にする。

乾燥エキス 0.5 g をとり、薄めたメタノール(7→10) 30 mL を加えて 15 分振り混ぜた後、ろ過し、ろ液を試料溶液とする。別にクエルシトリン 1.0 mg をとり、薄めたメタノール(7→10) 2 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 10 μ L 及び標準溶液 2 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/2-ブタノン/ギ酸/水混液(80 : 12 : 5 : 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。これに塩化アルミニウム(III)六水和物のエタノール溶液(1→40)を均等に噴霧し、105°Cで3分間加熱した後、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、標準溶液から得たスポットと色調及び R_f 値が等しい。

3. 定量法

香港中薬材標準(HKCMMS)「Houttuyniae herba」を参考にする。

乾燥エキス約 0.5 g を精密に量り、薄めたメタノール(7→10) 50 mL を正確に加えて 15 分間振り混ぜた後、ろ過し、ろ液を試料溶液とする。別に定量用クエルシトリン約 4.5 mg を精密に量り、薄めたメタノール(7→10)に溶かし、正確に 10 mL とし、標準原液とする。標準原液を正確に量り、薄めたメタノール(7→10)を加えて 1 L 中にクエ