六君子湯エキス

Rikkunshito Extract

本品は定量するとき，製法の項に規定した分量で製したエキス当たり，ギンセノシド Rb_1（$C_{54}H_{92}O_{23}$: 1109.29）2.4 mg 以上，ヘスペリジン 16 ～ 48 mg 及びグリチルリチン酸（$C_{42}H_{62}O_{16}$：822.93）8 ～ 24 mg を含む．

製 法 「ニンジン」4 g，「ビャクジュツ」又は「ソウジュツ」4 g，「ブクリョウ」4 g，「ハンゲ」4 g，「チンピ」2 g，「タイソウ」2 g，「カンゾウ」1 g 及び「ショウキョウ」0.5 g の生薬をとり，エキス剤の製法により乾燥エキス又は軟エキスとする．

性 状 本品は淡褐色～黒褐色の粉末又は軟エキスで，においがあり，味は甘く，苦い．

確認試験

（**1**） 乾燥エキス 2.0 g（軟エキスは 6.0 g）をとり，水酸化ナトリウム試液 10 mL を加えて振り混ぜた後，1-ブタノール 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．別にギンセノシド Rb_1 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〈*2.03*〉により試験を行う．試料溶液 10 μL 及び標準溶液 2 μL 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/1-プロパノール/水/酢酸（100）混液（7：5：4：1）を展開溶媒として約 10 cm 展開した後，薄層板を風乾する．これにバニリン・硫酸試液を均等に噴霧し，105℃で 5 分間加熱した後，放冷するとき，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，標準溶液から得た紫色のスポットと色調及び R_f 値が等しい（ニンジン）．

（**2**）（ビャクジュツ配合処方） 乾燥エキス 1.0 g（軟エキスは 3.0 g）をとり，水 10 mL を加えて振り混ぜた後，ジエチルエーテル 25 mL を加えて振り混ぜる．ジエチルエーテル層を分取し，減圧で溶媒を留去した後，残留物にジエチルエーテル 2 mL を加えて試料溶液とする．別に薄層クロマトグラフィー用アトラクチレノリドⅢ 1 mg をメタノール 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〈*2.03*〉により試験を行う．試料溶液及び標準溶液 5 μL 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/ヘキサン混液（1：1）を展開溶媒として約 10 cm 展開した後，薄層板を風乾する．これに希硫酸を均等に噴霧し，105℃で 5 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，標準溶液から得た青白色の蛍光を発するスポットと色調及び R_f 値が等しい（ビャクジュツ）．

（**3**）（ソウジュツ配合処方） 乾燥エキス 2.0 g（軟エキスは 6.0 g）をとり，水 10 mL を加えて振り混ぜた後，ヘキサン 25 mL を加えて振り混ぜる．ヘキサン層を分取し，減圧で溶媒を留去した後，残留物にヘキサン 2 mL を加えて試料溶液とする．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 20 μL 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．次にヘキサン/アセトン混液（7：1）を展開溶媒として約 10 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 付近に暗紫色のスポットを認める．また，このスポットは，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℃で 5 分間加熱した後，放冷するとき，帯緑褐色を呈する（ソウジュツ）．

（**4**） 乾燥エキス 1.0 g（軟エキスは 3.0 g）をとり，水 10 mL を加えて振り混ぜた後，1-ブタノール 10 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．別に薄層クロマトグラフィー用ヘスペリジン 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〈*2.03*〉により試験を行う．試料溶液 20 μL 及び標準溶液 10 μL 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/アセトン/水/酢酸（100）混液（10：6：3：1）を展開溶媒として約 10 cm 展開した後，薄層板を風乾する．これに，2,6-ジブロモ-*N*-クロロ-1,4-ベンゾキノンモノイミン試液を均等に噴霧し，アンモニアガス中に放置するとき，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青色のスポットと色調及び R_f 値が等しい（チンピ）．

（**5**） 乾燥エキス 1.0 g（軟エキスは 3.0 g）をとり，水 10 mL を加えて振り混ぜた後，1-ブタノール 10 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．別に薄層クロマトグラフィー用リクイリチン 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〈*2.03*〉により試験を行う．試料溶液及び標準溶液 5 μL 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/メタノール/水混液（20：3：2）を展開溶媒として約 10 cm 展開した後，薄層板を風乾する．これに希硫酸を均等に噴霧し，105℃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褐色のスポットと色調及び R_f 値が等しい（カンゾウ）．

（**6**） 乾燥エキス 1.0 g（軟エキスは 3.0 g）をとり，水 10 mL を加えて振り混ぜた後，ジエチルエーテル 25 mL を加えて振り混ぜる．ジエチルエーテル層を分取し，減圧で溶媒を留去した後，残留物にジエチルエーテル 2 mL を加えて試料溶液とする．別に薄層クロマトグラフィー用[6]-ギンゲロール 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〈*2.03*〉により試験を行う．試料溶液 30 μL 及び標準溶液 5 μL 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/ヘキサン混液（1：1）を展開溶媒として約 10 cm 展開した後，薄層板を風乾する．これに噴霧用 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℃で 5 分間加熱した後，放冷するとき，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，標準溶液から得た青緑色のスポットと色調及び R_f 値が等しい（ショウキョウ）．

純度試験

（**1**） 重金属〈*1.07*〉 乾燥エキス 1.0 g（軟エキスは乾燥物として 1.0 g に対応する量）をとり，エキス剤（4）により検液を調製し，試験を行う（30 ppm 以下）．

（**2**） ヒ素〈*1.11*〉 乾燥エキス 0.67 g（軟エキスは乾燥物として 0.67 g に対応する量）をとり，第 3 法により検液を調製し，試験を行う（3 ppm 以下）．

乾燥減量〈*2.41*〉 乾燥エキス　10.0%以下（1 g，105℃，5 時間）．
　軟エキス　66.7%以下（1 g，105℃，5 時間）．

灰　分〈*5.01*〉 換算した乾燥物に対して 9.0%以下．

定 量 法

（**1**） ギンセノシド Rb_1　乾燥エキス約 2 g（軟エキスは乾燥物として約 2 g に対応する量）を精密に量り，薄めたメタノール（3 → 5）30 mL を加えて 15 分間振り混ぜた後，遠心分離し，上澄液を分取する．残留物は薄めたメタノール（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，水酸化ナトリウム試液 3 mL を加えて 30 分間放置した後，1 mol/L 塩酸試液 3 mL を加え，水を加えて正確に 20 mL とする．この液 5 mL を正確に量り，カラム（55 ～ 105 μm の前処理用オクタデシルシリル化シリカゲル 0.36 g を内径約 10 mm のクロマトグラフィー管に注入し, 使用直前にメタノールを流し，次に薄めたメタノール（3 → 10）を流して調整したもの）に入れて流出させる．薄めたメタノール（3 → 10）2 mL，炭酸ナトリウム試液 1 mL，更に薄めたメタノール（3 → 10）10 mL の順でカラムを洗い，次にメタノールで流出し，流出液を正確に 5 mL とし，試料溶液とする．別にギンセノシド Rb_1 標準品（別途水分を測定しておく）約 10 mg を精密に量り，メタノールに溶かし，正確に 100 mL とする．この液 10 mL を正確に量り，メタノールを加えて正確に 50 mL とし，標準溶液とする．試料溶液及び標準溶液 20 μL ずつを正確にとり，次の条件で液体クロマトグラフィー〈*2.01*〉により試験を行う．それぞれの液のギンセノシド Rb_1 のピーク面積 A_T 及び A_S を測定する．

ギンセノシド Rb_1（$C_{54}H_{92}O_{23}$）の量（mg）＝ $W_S \times (A_T / A_S) \times (1 / 5)$

　W_S：脱水物に換算したギンセノシド Rb_1 標準品の秤取量（mg）

　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 25 cm のステンレス管に 5 μm の液体クロマトグラフィー用カルバモイル基結合型シリカゲルを充てんする．
　　カラム温度：60℃付近の一定温度
　　移動相：アセトニトリル/水混液（4：1）
　　流量：毎分 1.0 mL（ギンセノシド Rb_1 の保持時間約 16 分）
　システム適合性
　　システムの性能：標準溶液 20 μL につき，上記の条件で操作するとき，ギンセノシド Rb_1 のピークの理論段数及びシンメトリー係数は，それぞれ 5000 段以上，1.5 以下である．
　　システムの再現性：標準溶液 20 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 Rb_1 のピーク面積の相対標準偏差は 1.5%以下である．

（**2**） ヘスペリジン　乾燥エキス約 0.1 g（軟エキスは乾燥物として約 0.1 g に対応する量）を精密に量り，薄めたテトラヒドロフラン（1 → 4）50 mL を正確に加えて 30 分間振り混ぜた後，遠心分離し，上澄液を試料溶液とする．別に成分含量測定用ヘスペリジンをデシケーター（シリカゲル）で 24 時間以上乾燥し，その約 10 mg を精密に量り，メタノールに溶かし，正確に 100 mL とする．この液 10 mL を正確に量り，薄めたテトラヒドロフラン（1 → 4）を加えて正確に 100 mL とし，標準溶液とする．試料溶液及び標準溶液 10 μL ずつを正確にとり，次の条件で液体クロマトグラフィー〈*2.01*〉により試験を行い，それぞれの液のヘスペリジンのピーク面積 A_T 及び A_S を測定する．

ヘスペリジンの量（mg）＝ $W_S \times (A_T / A_S) \times (1 / 20)$

　W_S：成分含量測定用ヘスペリジンの秤取量（mg）

試験条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：285 nm）

カラム：内径 4.6 mm，長さ 15 cm のステンレス管に 5 μm 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てんする．

カラム温度：40℃付近の一定温度

移動相：水/アセトニトリル/酢酸（100）混液（82：18：1）

流量：毎分 1.0 mL（ヘスペリジンの保持時間約 15 分）

システム適合性

システムの性能：成分含量測定用ヘスペリジン及び薄層クロマトグラフィー用ナリンギン 1 mg ずつを薄めたメタノール（1 → 2）に溶かし，100 mL とする．この液 10 μL につき，上記の条件で操作するとき，ナリンギン，ヘスペリジンの順に溶出し，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 μL につき，上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき，ヘスペリジンのピーク面積の相対標準偏差は 1.5%以下である．

（**3**） グリチルリチン酸　乾燥エキス約 0.5 g（軟エキスは乾燥物として約 0.5 g に対応する量）を精密に量り，薄めたメタノール（1 → 2）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．別にグリチルリチン酸標準品（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（1 → 2）に溶かし，正確に 100 mL とし，標準溶液とする．試料溶液及び標準溶液 10 μL ずつを正確にとり，次の条件で液体クロマトグラフィー〈*2.01*〉により試験を行い，それぞれの液のグリチルリチン酸のピーク面積 A_T 及び A_S を測定する．

グリチルリチン酸（$C_{42}H_{62}O_{16}$）の量（mg）＝ $W_S \times (A_T / A_S) \times (1 / 2)$

W_S：脱水物に換算したグリチルリチン酸標準品の秤取量（mg）

試験条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：254 nm）

カラム：内径 4.6 mm，長さ 15 cm のステンレス管に 5 μm 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てんする．

カラム温度：40℃付近の一定温度

移動相：薄めた酢酸（31）（1 → 15）/アセトニトリル混液（13：7）

流量：毎分 1.0 mL（グリチルリチン酸の保持時間約 12 分）

システム適合性

システムの性能：標準溶液 10 μL につき，上記の条件で操作するとき，グリチルリチン酸のピークの理論段数及びシンメトリー係数は，それぞれ 5000 段以上，1.5 以下である．

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，グリチルリチン酸のピーク面積の相対標準偏差は 1.5%以下である．

貯 法　容　　器　気密容器．

9．42 クロマトグラフィー用担体/充てん剤の項に次を追加する．

カルバモイル基結合型シリカゲル，液体クロマトグラフィー用　液体クロマトグラフィー用に製造したもの．