

1 乙字湯エキス

2 基原、確認試験(5)及び定量法(1)の項を次のように改める。

3 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
4 キス当たり、サイコサポニン b_2 1.2~4.8 mg、バイカリン
5 ($C_{21}H_{18}O_{11}$: 446.36) 80~240 mg、グリチルリチン酸
6 ($C_{42}H_{62}O_{16}$: 822.93) 17~51 mg (カンゾウ2 gの処方)、25~
7 75 mg (カンゾウ3 gの処方)及びセンノシドA ($C_{42}H_{38}O_{20}$:
8 862.74) 0.5 mg以上又はレイン1.5 mg以上(ダイオウ0.5 gの
9 処方)、センノシドA ($C_{42}H_{38}O_{20}$: 862.74) 1 mg以上又はレ
10 イン3 mg以上(ダイオウ1 gの処方)を含む。

11 確認試験

12 (5) 乾燥エキス1.0 g (軟エキスは3.0 g)をとり、水10 mL
13 を加えて振り混ぜた後、1-ブタノール10 mLを加えて振り
14 混ぜ、遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。薄層クロマト
15 グラフィー用(E)-イソフェルラ酸・(E)-フェルラ酸混合
16 試液を標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグ
17 ラフィー (2.03) により試験を行う。試料溶液10 μ L及び標準
18 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
19 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
20 /水混液(20 : 12 : 3)を展開溶媒として約7 cm展開した後、
21 薄層板を風乾する。これに硫酸を均等に噴霧し、105 $^{\circ}$ Cで5
22 分間加熱した後、紫外線(主波長365 nm)を照射するとき、
23 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、
24 標準溶液から得た淡黄白色の蛍光を発するスポットと色調及
25 びR値が等しい(ショウマ)。

26 定量法

27 (1) サイコサポニン b_2 乾燥エキス約0.5 g (軟エキスは乾
28 燥物として約0.5 gに対応する量)を精密に量り、ジエチルエ
29 ーテル20 mL及び水10 mLを加えて10分間振り混ぜる。こ
30 れを遠心分離し、上層を除いた後、ジエチルエーテル20 mL
31 を加えて同様に操作し、上層を除く。得られた水層にメタノ
32 ール10 mLを加えて30分間振り混ぜた後、遠心分離し、上
33 澄液を分取する。残留物に薄めたメタノール(1 \rightarrow 2) 20 mL
34 を加えて5分間振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を分取し、
35 先の上澄液と合わせ、薄めたメタノール(1 \rightarrow 2)を加えて正確
36 に50 mLとし、試料溶液とする。また、定量用サイコサポニ
37 ン b_2 標準試液を標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液10
38 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
39 (2.01) により試験を行い、それぞれの液のサイコサポニン b_2
40 のピーク面積 A_T 及び A_S を測定する。

41 サイコサポニン b_2 の量(mg) = $C_S \times A_T / A_S \times 50$

42 C_S : 定量用サイコサポニン b_2 標準試液中のサイコサポニ
43 ン b_2 の濃度(mg/mL)

44 試験条件

45 検出器 : 紫外吸光光度計(測定波長 : 254 nm)
46 カラム : 内径4.6 mm, 長さ15 cmのステンレス管に5
47 μ mの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリ
48 化シリカゲルを充填する。
49 カラム温度 : 40 $^{\circ}$ C付近の一定温度
50 移動相 : 0.05 mol/Lリン酸二水素ナトリウム試液/アセ

51 トニトリル混液(5 : 3)
52 流量 : 毎分1.0 mL (サイコサポニン b_2 の保持時間約12
53 分)

54 システム適合性

55 システムの性能 : 標準溶液10 μ Lにつき、上記の条件で
56 操作するとき、サイコサポニン b_2 のピークの理論段数
57 及びシンメトリー係数は、それぞれ5000段以上、1.5
58 以下である。

59 システムの再現性 : 標準溶液10 μ Lにつき、上記の条件
60 で試験を6回繰り返すとき、サイコサポニン b_2 のピー
61 ク面積の相対標準偏差は1.5 %以下である。

62 定量法(3)の項の次に次を加える。

63 定量法

64 (4) センノシドA 乾燥エキス約0.5 g (軟エキスは乾燥物
65 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
66 ール(1 \rightarrow 2) 50 mLを正確に加えて15分間振り混ぜ、遠心分離
67 する。上澄液10 mLを正確に量り、カラム(カラムクロマト
68 グラフィー用強塩基性イオン交換樹脂0.36 gを内径約10 mm
69 のクロマトグラフィー管に注入し、あらかじめ、メタノール
70 10 mL及び薄めたメタノール(1 \rightarrow 2) 10 mLを流したものに
71 入れて流出させる。薄めたメタノール(1 \rightarrow 2) 10 mLでカ
72 ラムを洗った後、次に水/メタノール/ギ酸混液(25 : 25 : 1)
73 で流出させ、流出液を正確に5 mLとし、試料溶液とする。
74 別にセンノシドA標準品(別途10mgにつき、電量滴定により
75 水分 (2.48) を測定しておく)約5 mgを精密に量り、薄めたメ
76 タノール(1 \rightarrow 2)に溶かし、正確に200 mLとし、標準溶液と
77 する。試料溶液及び標準溶液10 μ Lずつを正確にとり、次の
78 条件で液体クロマトグラフィー (2.01) により試験を行い、
79 それぞれの液のセンノシドAのピーク面積 A_T 及び A_S を測定す
80 る。

81 センノシドA($C_{42}H_{38}O_{20}$)の量(mg) = $M_S \times A_T / A_S \times 1/8$

82 M_S : 脱水物に換算したセンノシドA標準品の秤取量(mg)

83 試験条件

84 検出器 : 紫外吸光光度計(測定波長 : 340 nm)
85 カラム : 内径4.6 mm, 長さ15 cmのステンレス管に5
86 μ mの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリ
87 ル化シリカゲルを充填する。
88 カラム温度 : 30 $^{\circ}$ C付近の一定温度
89 移動相 : 水/アセトニトリル/リン酸混液(2460 :
90 540 : 1)
91 流量 : 毎分1.0 mL (センノシドAの保持時間約14分)

92 システム適合性

93 システムの性能 : 標準溶液10 μ Lにつき、上記の条件
94 で操作するとき、センノシドAのピークの理論段数
95 及びシンメトリー係数は、それぞれ5000段以上、
96 1.5以下である。

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

100 (5) レイン 乾燥エキス約0.5 g (軟エキスは乾燥物として
101 約0.5 gに対応する量)を精密に量り、水80 mLを加えて振り

102 混ぜた後、水を加えて正確に100 mLとする。この液5 mLを
103 正確に量り、塩化鉄(III)試液20 mLを加え、還流冷却器を付
104 けて水浴中で30分間加熱した後、塩酸3 mLを加え、更に還
105 流冷却器を付けて30分間加熱する。冷後、ジエチルエーテ
106 ル25 mLずつで3回抽出し、全ジエチルエーテル層を合わせ、
107 減圧で溶媒を留去した後、残留物にメタノールを加えて溶か
108 し、正確に10 mLとし、試料溶液とする。別に定量用レイン
109 約5 mgを精密に量り、アセトンに溶かし、正確に100 mLと
110 する。この液10 mLを正確に量り、メタノールを加えて正確
111 に50 mLとし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液10
112 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
113 (2.01)により試験を行い、それぞれの液のレインのピーク面
114 積 A_T 及び A_S を測定する。

$$\text{レインの量(mg)} = M_S \times A_T / A_S \times 2 / 5$$

M_S : 定量用レインの秤取量(mg)

試験条件

検出器：紫外吸光光度計(測定波長：278 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：50 °C付近の一定温度

移動相：水／アセトニトリル／リン酸混液(650 :
350 : 1)

流量：毎分1.0 mL(レインの保持時間約17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、レインのピークの理論段数及びシン
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、レインのピーク面積
の相対標準偏差は1.5 %以下である。

9. 41 試薬・試液の項に次を追加する。

136 **レイン**、定量用 $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_6$ レイン、薄層クロマトグラフィー
137 用。ただし、次の試験に適合するもの。なお、本品は定量法
138 で求めた含量で補正して用いる。

139 **吸光度** (2.24) $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (257 nm) : 678~720 (3 mg, メタノ
140 ル, 500 mL)。

141 **ピークの単一性** 本品1 mgをアセトン100 mLに溶かし、試
142 料溶液とする。試料溶液10 μL につき、次の条件で液体クロ
143 マトグラフィー (2.01)により試験を行い、レインのピーク
144 の頂点及び頂点の前後でピーク高さの中間付近の2時点を含
145 む少なくとも3時点以上でのピークの吸収スペクトルを比較
146 するとき、スペクトルの形状に差がない。

試験条件

検出器：紫外吸光光度計(測定波長：257 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填する。

カラム温度：50 °C付近の一定温度

移動相：水／アセトニトリル／リン酸混液(650 : 350 :
1)

流量：レインの保持時間が約14 分になるように調整す
る。

システム適合性

システムの性能は、「乙字湯エキス」の定量法(5)のシ
ステム適合性を準用する。

定量法 ウルトラマイクロ化学はかりを用い、本品5 mg及び
核磁気共鳴スペクトル測定用DSS- d_6 1 mgをそれぞれ精密
に量り、核磁気共鳴スペクトル測定用重水酸化ジメチルスル
ホキシド1 mLに溶かし、試料溶液とする。この液を外径5
mmのNMR試料管に入れ、核磁気共鳴スペクトル測定用
DSS- d_6 を内部基準物質として、次の試験条件で核磁気共鳴
スペクトル測定法(〈2.21〉及び〈5.01〉)により、 ^1H NMRを
測定する。内部基準物質のシグナルを δ 0 ppmとし、 δ 8.16
ppm付近のシグナルの面積強度A(水素数1に相当)を算出す
る。

レイン($\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_6$)の量(%)

$$= M_S \times I \times P / (M \times N) \times 1.2668$$

M : 本品の秤取量(mg)

M_S : 核磁気共鳴スペクトル測定用DSS- d_6 の秤取量(mg)

I : 核磁気共鳴スペクトル測定用DSS- d_6 のシグナルの面
積強度を9.000としたときのシグナルの面積強度

N : Aに由来するシグナルの水素数

P : 核磁気共鳴スペクトル測定用DSS- d_6 の純度 (%)

試験条件

装置： ^1H 共鳴周波数400 MHz以上の核磁気共鳴スペク
トル測定装置

測定対象とする核： ^1H

デジタル分解能：0.25以下

観測スペクトル幅：-5~15 ppmを含む 20 ppm以上

スピニング：オフ

パルス角：90°

^{13}C 核デカップリング：あり

遅延時間：繰り返しパルス待ち時間60秒以上

積算回数：8回以上

ダミーキャン：2回以上

測定温度：20~30 °Cの一定温度

システム適合性

検出の確認：試料溶液につき、上記の条件で測定すると
き、 δ 8.16 ppm付近のシグナルのSN比は100以上で
ある。

システムの性能：試料溶液につき、上記の条件で測定す
るとき、 δ 8.16 ppm付近のシグナルについて、明ら
かな混在物のシグナルが重なっていないことを確認す
る。

システムの再現性：試料溶液につき、上記の条件で測定
を6回繰り返すとき、面積強度Aの内標準物質の面積
強度に対する比の相対標準偏差は1.0 %以下である。

以下の試薬を次のように改める。

レイン、薄層クロマトグラフィー用 $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_6$ 黄色~帯赤黄

204 色の粉末である。アセトンに極めて溶けにくく、水、メタノ
205 ール又はエタノール(99.5)にほとんど溶けない。

206 **確認試験** 本品のメタノール溶液(3→500000)につき、紫外
207 可視吸光度測定法(2.24)により吸収スペクトルを測定する
208 とき、波長228～232 nm, 255～259 nm及び429～433 nm
209 に吸収の極大を示す。

210 **純度試験** 類縁物質 本品1 mgをアセトン10 mLに溶かし
211 た液2 μLにつき、「大黄甘草湯エキス」の確認試験(1)を準
212 用し、試験を行うとき、 R_f 値約0.3の主スポット以外のスポ
213 ットを認めない。

214