

1 ブシ配合漢方処方エキスの総アルカロイド定量法の改正について（意見募集）

2 対象品目の定量法（3）総アルカロイドを次のとおり改正する。

3 1. 対象品目

4 牛車腎気丸エキス
5 真武湯エキス
6 八味地黄丸エキス

7 2. 改正案

10 **定量法(3)総アルカロイドの項を次のように改める。ただし、真**
11 **武湯エキスでは「乾燥エキス約1g(軟エキスは乾燥物として約1g**
12 **に対応する量)を精密に量り、」を「本品約1gを精密に量り、」に置**
13 **き換える。**

14 定量法

15 (3) 総アルカロイド 乾燥エキス約1g(軟エキスは乾燥
16 物として約1gに対応する量)を精密に量り、ジエチルエーテ
17 ル20mLを加えて振り混ぜた後、0.1mol/L塩酸試液3.0mL
18 を加えて10分間振り混ぜ、遠心分離し、ジエチルエーテル
19 層を除いた後、ジエチルエーテル20mLを加えて同様に操作
20 し、ジエチルエーテル層を除く。水層にアンモニア試液1.0
21 mL及びジエチルエーテル20mLを加えて30分間振り混ぜた
22 後、遠心分離し、ジエチルエーテル層を分取する。水層にア
23 ンモニア試液1.0mL及びジエチルエーテル20mLを加えて
24 同様に操作し、これを2回繰り返す。全抽出液を合わせ、低
25 圧(真空)で溶媒を留去した後、残留物をブシ用リン酸塩緩衝
26 液/アセトニトリル混液(1:1)に溶かして正確に10mLとし、
27 この液を遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。別に定量用
28 安息香酸約10mgを精密に量り、ブシ用リン酸塩緩衝液/ア
29 セトニトリル混液(1:1)に溶かし、正確に100mLとする。
30 この液10mLを正確に量り、ブシ用リン酸塩緩衝液/アセト
31 ニトリル混液(1:1)を加えて正確に100mLとし、標準溶液
32 とする。試料溶液、分離確認用ブシモノエステルアルカロイ
33 ド混合標準試液及び標準溶液20μLずつを正確にとり、次の
34 条件で液体クロマトグラフィー(2.01)により試験を行う。
35 試料溶液、標準溶液及び分離確認用ブシモノエステルアルカ
36 ロイド混合標準試液との比較により安息香酸、ベンゾイルメ
37 サコニン、ベンゾイルヒパコニン及び14-アニソイルアコ
38 ニンを同定した後、試料溶液のベンゾイルメサコニン、ベン
39 ズイルヒパコニン及び14-アニソイルアコニンのピーク面積
40 A_M 、 A_H 及び A_A 並びに標準溶液の安息香酸のピーク面積 A_S
41 を測定する。

42 ベンゾイルメサコニン塩酸塩の量(mg) = $M_S \times A_M / A_S \times$
43 $1/100 \times 4.19$

44 ベンゾイルヒパコニン塩酸塩の量(mg) = $M_S \times A_H / A_S \times$
45 $1/100 \times 4.06$

46 14-アニソイルアコニン塩酸塩の量(mg) = $M_S \times A_A / A_S \times$
47 $1/100 \times 3.69$

48 M_S : qNMRで含量換算した定量用安息香酸の秤取量(mg)

49 試験条件

50 検出器: 紫外吸光光度計(測定波長: ベンゾイルヒパコニ
51 ン、ベンゾイルメサコニン及び安息香酸は231nm, 14
52 -アニソイルアコニンは254 nm)

53 カラム: 内径4.6 mm, 長さ15 cmのステンレス管に5 μm
54 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
55 カゲルを充填する。

56 カラム温度: 40℃付近の一定温度

57 移動相: ブシ用リン酸塩緩衝液/テトラヒドロフラン混液
58 (183:17)

59 流量: 毎分1.0 mL

60 システム適合性

61 システムの性能: 分離確認用ブシモノエステルアルカロイ
62 ド混合標準試液20 μLにつき、上記の条件で操作すると
63 き、ベンゾイルメサコニン、ベンゾイルヒパコニン、
64 14-アニソイルアコニンの順に溶出し、ベンゾイルメ
65 サコニンのピークの理論段数及びシンメトリー係数は、
66 それぞれ5000段以上、1.5以下である。

67 システムの再現性: 標準溶液20 μLにつき、上記の条件で
68 試験を6回繰り返すとき、安息香酸のピーク面積の相対
69 標準偏差は1.5%以下である。

71 9.41 試薬・試液の項に次を追加する。

72 14-アニソイルアコニン塩酸塩 $C_{33}H_{47}NO_{11} \cdot HCl$ 白色の
73 結晶性の粉末又は粉末である。メタノールに溶けやすく、
74 水又はエタノール(99.5)にやや溶けにくい。融点: 約210℃
75 (分解)。

76 吸光度 (2.24) $E_{1cm}^{1\%}$ (258 nm): 276 ~ 294 (脱水物に換算した
77 もの5 mg, メタノール, 200 mL)。

78 安息香酸、定量用 C_6H_5COOH 白色の結晶性の粉末又は粉
79 末で、エタノール(95)又はアセトンに溶けやすく、水に溶け
80 にくい。なお、本品は定量法で求めた含量で補正して用いる。
81 **確認試験** 本品につき、定量法を準用するとき、 δ 7.26
82 ppm付近に多重線の2水素分のシグナル、 δ 7.38 ppm付近に
83 三重の三重線様の1水素分のシグナル、 δ 7.80 ppm付近に多
84 重線の2水素分のシグナルを示す。

85 **ピークの単一性** 本品1 mgをブシ用リン酸塩緩衝液/テト
86 ラヒドロフラン混液(183:17) 100 mLに溶かし、試料溶液
87 とする。試料溶液20 μLにつき、次の条件で液体クロマトグ
88 ラフィー(2.01)により試験を行い、安息香酸のピークの頂
89 点及び頂点の前でピーク高さの midpoint 付近の2時点を含む少
90 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する
91 とき、スペクトルの形状に差がない。

92	試験条件	144	7.80 ppm付近のシグナルのSN比は100以上である。
93	カラム, カラム温度, 移動相及び流量は「牛車腎気丸エ	145	システムの性能: 試料溶液につき, 上記の条件で測定する
94	キス」の定量法(3)の条件を準用する。	146	とき, δ 7.24 ~ 7.40 ppm及び δ 7.79 ~ 7.80 ppm付近
95	検出器: フォトダイオードアレイ検出器(測定波長:	147	のシグナルについて, 明らかな混在物のシグナルが重な
96	231 nm, スペクトル測定範囲: 220 ~ 400 nm)	148	っていないことを確認する。また, 試料溶液につき, 上
97	システム適合性	149	記の条件で測定するとき, 各シグナル間の面積強度比
98	システムの性能: 分離確認用ブシモノエステルアルカロ	150	$(A_1/3)/(A_2/2)$ は, 0.99 ~ 1.01である。
99	イド混合標準試液20 μ Lにつき, 上記の条件で操作す	151	システムの再現性: 試料溶液につき, 上記の条件で測定を
100	るとき, ベンゾイルメサコニン, ベンゾイルヒパコニ	152	6回繰り返すとき, 面積強度 A_1 又は A_2 のqNMR用基準物
101	ン, 14-アニソイルアコニンの順に溶出し, ベンゾ	153	質の面積強度に対する比の相対標準偏差は1.0%以下で
102	イルメサコニンのピークの理論段数及びシンメトリ	154	ある。
103	係数は, それぞれ5000段以上, 1.5以下である。	155	ブシモノエステルアルカロイド混合標準試液, 分離確認用 以
104	ただし, 安息香酸(C_6H_5COOH)の量(%)が99.5 ~ 100.5%	156	下の1)又は2)により調製する。
105	に入るものは, ピークの単一性は不要とする。	157	1) 薄層クロマトグラフィー用ベンゾイルメサコニン塩酸塩2
106	定量法 ウルトラマイクロ化学はかりを用い, 本品30 mg及び	158	mg, ベンゾイルヒパコニン塩酸塩1 mg及び14-アニソイル
107	核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4 5 mgをそれ	159	アコニン塩酸塩2 mgをジクロロメタンに溶かし, 正確に
108	ぞれ精密に量り, 核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化アセ	160	1000 mLとする。この液5 mLを正確に量り, 低圧(真空)で溶
109	トン5 mLに溶かし, 試料溶液とする。この液を外径5 mmの	161	媒を留去する。用時, これにブシ用リン酸塩緩衝液/テトラ
110	NMR試料管に入れ, 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-	162	ヒドロフラン混液(183 : 17) 5 mLを正確に加えて分離確認用
111	BTMSB- d_4 をqNMR用基準物質として, 次の試験条件で核	163	ブシモノエステルアルカロイド混合標準試液とする。この液
112	磁気共鳴スペクトル測定法(〈2.21〉及び〈5.01〉)により, 1H	164	20 μ Lにつき, 次の条件で液体クロマトグラフィー〈2.01〉に
113	NMRを測定する。qNMR用基準物質のシグナルを δ 0 ppm	165	より試験を行うとき, ベンゾイルメサコニン, ベンゾイルヒ
114	とし, δ 7.24 ~ 7.40 ppm及び δ 7.79 ~ 7.80 ppm付近のシ	166	パコニン, 14-アニソイルアコニンの順に溶出し, それぞ
115	グナルの面積強度 A_1 (水素数3に相当)及び A_2 (水素数2に相	167	れぞれの分離度は4以上である。
116	当)を算出する。	168	試験条件
117	安息香酸(C_6H_5COOH)の量(%) = $M_S \times I \times P / (M \times N) \times$	169	カラム, カラム温度, 移動相及び流量は「牛車腎気丸エ
118	0.5392	170	キス」の定量法(3)の試験条件を準用する。
119	M : 本品の秤取量(mg)	171	検出器: 紫外吸光度計(測定波長: 245 nm)
120	M_S : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4 の秤	172	2) 薄層クロマトグラフィー用ベンゾイルメサコニン塩酸塩2
121	取量(mg)	173	mg, ベンゾイルヒパコニン塩酸塩1 mg及び14-アニソイル
122	I : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4 のシグ	174	アコニン塩酸塩2 mgをブシ用リン酸塩緩衝液/テトラヒド
123	ナルの面積強度を18.000としたときの各シグナルの面	175	ロフラン混液(183 : 17)に溶かし, 正確に1000 mLとし, 分
124	積強度 A_1 及び A_2 の和	176	離確認用ブシモノエステルアルカロイド混合標準試液とする。
125	N : A_1 及び A_2 に由来する各シグナルの水素数の和	177	この液20 μ Lにつき, 次の条件で液体クロマトグラフィー
126	P : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4 の純度	178	〈2.01〉により試験を行うとき, ベンゾイルメサコニン, ベ
127	(%)	179	ンゾイルヒパコニン, 14-アニソイルアコニンの順に溶出
128	試験条件	180	し, それぞれの分離度は4以上である。
129	装置: 1H 共鳴周波数400 MHz以上の核磁気共鳴スペクト	181	試験条件
130	ル測定装置	182	カラム, カラム温度, 移動相及び流量は「牛車腎気丸エ
131	測定対象とする核: 1H	183	キス」の定量法(3)の試験条件を準用する。
132	デジタル分解能: 0.25 Hz以下	184	検出器: 紫外吸光度計(測定波長: 245 nm)
133	観測スペクトル幅: -5 ~ 15 ppmを含む20 ppm以上	185	ベンゾイルヒパコニン塩酸塩 $C_{31}H_{43}NO_9 \cdot HCl$ 白色の結晶
134	スピニング: オフ	186	又は結晶性の粉末である。メタノールに溶けやすく, 水にや
135	パルス角: 90°	187	や溶けやすく, エタノール(99.5)にやや溶けにくい。融点:
136	^{13}C デカップリング: あり	188	約230°C(分解)。
137	遅延時間: 繰り返しパルス待ち時間60秒以上	189	吸光度 (2.24) $E_{1cm}^{1\%}$ (230 nm): 225 ~ 240 (脱水物に換算した
138	積算回数: 8回以上	190	もの5 mg, メタノール, 200 mL)。
139	ダミーキャン: 2回以上	191	
140	測定温度: 20 ~ 30°Cの一定温度	192	
141	システム適合性	193	
142	検出の確認: 試料溶液につき, 上記の条件で測定するとき,		
143	δ 7.24 ~ 7.28 ppm, δ 7.36 ~ 7.40 ppm及び δ 7.79 ~		