ブシ配合漢方処方エキスの総アルカロイド定量法の追加改定について（報告）

2023年3月に意見募集を行った対象品目の定量法について、以下のとおり変更することを報告いたします。なお、本改正に伴い追加予定の試薬について当初の内容から変更はございません。

１．対象品目

牛車腎気丸エキス
真武湯エキス
八味地黄丸エキス

２．改正案

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，」に置き換える．

定量法

（３）　総アルカロイド(ベンゾイルメサコニン塩酸塩及び14－アニソイルアコニン塩酸塩，又はベンゾイルメサコニン塩酸塩及びベンゾイルヒパコニン塩酸塩)　乾燥エキス約1 g(軟エキスは乾燥物として約1 gに対応する量)を精密に量り，ジエチルエーテル20 mLを加えて振り混ぜた後，0.1 mol/L塩酸試液3.0 mLを加えて10分間振り混ぜ，遠心分離し，ジエチルエーテル層を除いた後，ジエチルエーテル20 mLを加えて同様に操作し，ジエチルエーテル層を除く．水層にアンモニア試液1.0 mL及びジエチルエーテル20 mLを加えて30分間振り混ぜた後，遠心分離し，ジエチルエーテル層を分取する．水層にアンモニア試液1.0 mL及びジエチルエーテル20 mLを加えて同様に操作し，これを2回繰り返す．全抽出液を合わせ，低圧(真空)で溶媒を留去した後，残留物をブシ用リン酸塩緩衝液／アセトニトリル混液(1：1)に溶かして正確に10 mLとし，この液を遠心分離し，上澄液を試料溶液とする．別に定量用安息香酸約10 mgを精密に量り，ブシ用リン酸塩緩衝液／アセトニトリル混液(1：1)に溶かし，正確に100 mLとする．この液10 mLを正確に量り，ブシ用リン酸塩緩衝液／アセトニトリル混液(1：1)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．試料溶液のベンゾイルメサコニン，ベンゾ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を測定する．

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

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

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

M_S：qNMRで含量換算した定量用安息香酸の秤取量(mg)

試験条件

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

カラム温度：40℃付近の一定温度

移動相：ブシ用リン酸塩緩衝液／テトラヒドロフラン混液(183：17)

流量：毎分1.0 mL

システム適合性

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ド混合標準試液20 µLにつき，上記の条件で操作するとき，ベンゾイルメサコニン，ベンゾイルヒパコニン，14－アニソイルアコニンの順に溶出し，ベンゾイルメサコニン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，安息香酸のピーク面積の相対標準偏差は1.5%以下である．