



COSMOSIL

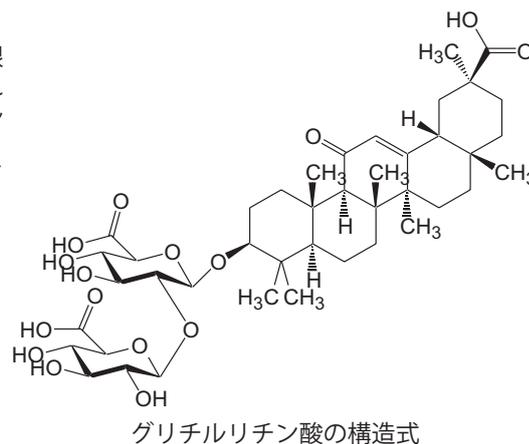
日本薬局方が改正され、グリチルリチン酸の分析方法が変更されました。第十七局および第十七局第一追補の新しい条件でグリチルリチン酸を分析し、コスモシルカラムがグリチルリチン酸の分析に適合しましたので紹介します。

はじめに

● グリチルリチン酸

グリチルリチン酸は別名グリチルリチンという化合物で、カンゾウの根などに含まれます。日本薬局方では、カンゾウおよびカンゾウ末、それにカンゾウが含まれるさまざまなエキス製剤(末尾の表参照)でグリチルリチン酸の定量を行います。

今回は、グリチルリチン酸を含む製剤の定量法に基づいて分析を行いました。定量法には5種類の分析(下表参照)があり、このうち(a)、(b)、(c)について分析を行いました。



グリチルリチン酸の構造式

表. グリチルリチン酸の定量分析の種類

試験	分析	カラム適合評価基準
(a)	システムの再現性の確認	6回繰り返して試験し、グリチルリチン酸のピーク面積の相対標準偏差が1.5%以下
(b)	システムの性能 グリチルリチン酸一アンモニウムに含まれる不純物とグリチルリチン酸の分離	グリチルリチン酸に対する相対保持時間約0.9のピークとグリチルリチン酸の分離度が1.5以上
(c)	システムの性能 (E)-シナムアルデヒドとグリチルリチン酸の分離	グリチルリチン酸と(E)-シナムアルデヒドの分離度が1.5以上
(d)	システムの性能 バイカレインおよび(E)-シナムアルデヒド、グリチルリチン酸の分離	グリチルリチン酸のピーク以外に二つのピークを認め、グリチルリチン酸とそれぞれのピークの分離度が1.5以上
(e)	システムの性能 バイカレインとグリチルリチン酸の分離	グリチルリチン酸とバイカレインの分離度が1.5以上

サンプル調製

● グリチルリチン酸標準溶液

- ① グリチルリチン酸約10 mgを秤量する。
- ② 薄めたメタノール(1 → 2)を加えて溶解し、全量を100 mLにする。(0.1 mg/mL 溶液)

● グリチルリチン酸一アンモニウム溶液

- ① グリチルリチン酸一アンモニウム5 mgを秤量する。
- ② 希エタノール[エタノール(95) : 水 = 1 : 1 (vol:vol)] 20 mLを加え、溶解する。(0.25 mg/mL 溶液)

● シナムアルデヒド添加グリチルリチン酸標準溶液

- ① (E)-シナムアルデヒド約1 mgを秤量する。
- ② メタノール50 mLを加え、溶解する。(0.02 mg/mL 溶液)
- ③ この液2 mLにグリチルリチン酸標準溶液(0.1 mg/mL)2 mLを加えて混合する。(グリチルリチン酸0.05 mg/mL、(E)-シナムアルデヒド0.01 mg/mL)

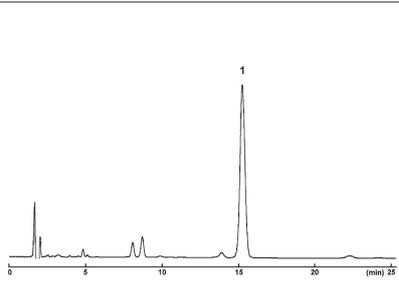
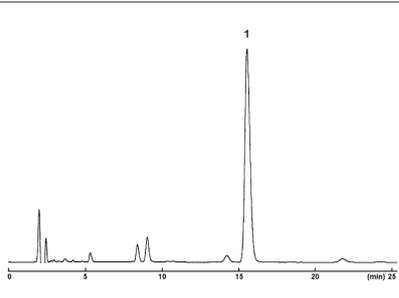
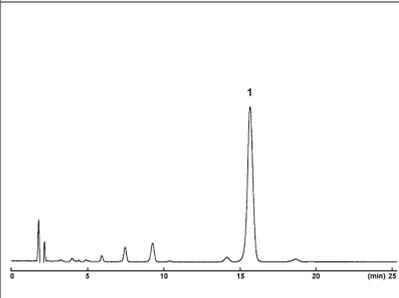
移動相の作製方法

● 50 mM- 酢酸アンモニウム(アセトニトリル / 水 / 酢酸 = 28 / 72 / 0.5)

酢酸アンモニウム3.85 gを水720 mLに溶かし、酢酸(100)5 mLおよびアセトニトリル280 mLを加える。

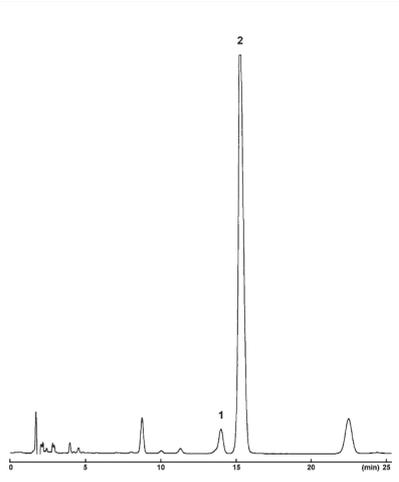
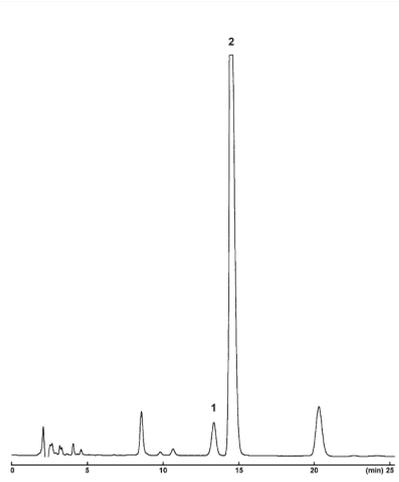
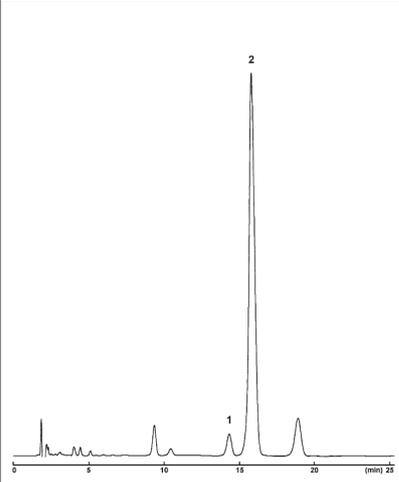
## ■ 試験(a)

### ● システムの再現性の確認 (n=6)

カラム	5C <sub>18</sub> -MS- II	5C <sub>18</sub> -AR- II	5C <sub>18</sub> -PAQ
流速	1 mL/min	0.8 mL/min	1 mL/min
RSD	0.69%	0.89%	0.62%
クロマトグラム			
カラム	: COSMOSIL 5C <sub>18</sub> シリーズ, 4.6 mmI.D.-150 mm		ピーク
移動相	: 50 mM- 酢酸アンモニウム(アセトニトリル/水/酢酸 = 28 / 72 / 0.5)		1: グリチルリチン酸
温度	: 40°C		6 回繰り返して注入し、グリチルリチン酸のピーク面積の相対標準偏差 (RSD) は、どのカラムにおいても基準である 1.5% を下回っていました。→ 適合
検出	: UV 254 nm		
サンプル	: グリチルリチン酸標準溶液 (0.1 mg/mL)		
注入量	: 10 μL		

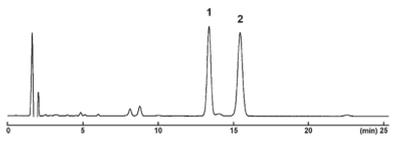
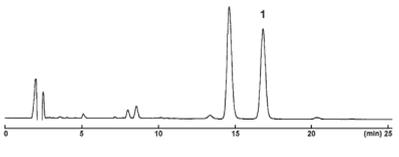
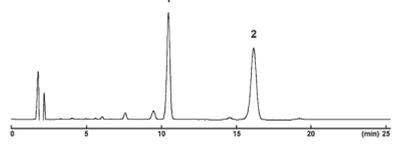
## ■ 試験(b)

### ● システムの性能：グリチルリチン酸—アンモニウムに含まれる不純物とグリチルリチン酸の分離

カラム	5C <sub>18</sub> -MS- II	5C <sub>18</sub> -AR- II	5C <sub>18</sub> -PAQ
流速	1 mL/min	0.8 mL/min	1 mL/min
Rs (2/1)	1.9	1.9	2.15
クロマトグラム			
カラム	: COSMOSIL 5C <sub>18</sub> シリーズ, 4.6 mmI.D.-150 mm		ピーク
移動相	: 50mM- 酢酸アンモニウム(アセトニトリル/水/酢酸 = 28 / 72 / 0.5)		1: 不純物 (グリチルリチン酸に対する相対保持時間 0.9)
温度	: 40°C		2: グリチルリチン酸
検出	: UV 254 nm		ピーク 1 とピーク 2 の分離度 (Rs) は、どれも基準である 1.5 を上回っていました。→ 適合
サンプル	: グリチルリチン酸—アンモニウム溶液 (0.25 mg/mL)		
注入量	: 10 μL		

## ■ 試験(c)

### ● システムの性能：(E)-シナムアルデヒドとグリチルリチン酸の分離

カラム	5C <sub>18</sub> -MS-II	5C <sub>18</sub> -AR-II	5C <sub>18</sub> -PAQ
流速	1 mL/min	0.8 mL/min	1 mL/min
Rs (2/1)	3.58	3.52	9.69
クロマトグラム			
カラム	COSMOSIL 5C <sub>18</sub> シリーズ, 4.6 mmI.D.-150 mm		ピーク
移動相	50 mM-酢酸アンモニウム(アセトニトリル/水/酢酸 = 28/72/0.5)		1: (E)-シナムアルデヒド 2: グリチルリチン酸
温度	40°C		
検出	UV 254 nm		
サンプル	(E)-シナムアルデヒド添加グリチルリチン酸標準溶液 グリチルリチン酸(0.05 mg/mL) (E)-シナムアルデヒド(0.01 mg/mL)		ピーク 1 とピーク 2 の分離度(Rs)は、どれも基準である 1.5 を上回っていました。→ 適合
注入量	10 μL		

コスモシル 5C<sub>18</sub> シリーズの 3 種類のカラムは、(a)システムの再現性の確認、(b)システムの性能：グリチルリチン酸-アンモニウムに含まれる不純物とグリチルリチン酸の分離、(c)システムの性能：(E)-シナムアルデヒドとグリチルリチン酸の分離の三つの分析において、いずれも日本薬局方の要求する項目を満たしていました。

## ■ カンゾウを含む生薬製剤で、第十七局および第十七局第一追補で改訂になったもの

日本薬局方	製剤名	試験名	試験法
第十七局	カンゾウ	定量法	(a),(b)
	カンゾウ末	定量法	(a),(b)
第十七局 第一追補	乙字湯エキス	定量法(3)	(a),(b)
	葛根湯エキス	定量法(3)(i)	(a),(b),(c)
		定量法(3)(ii)	(a),(b)
	葛根湯加川芎辛夷エキス	定量法(3)(i)	(a),(b),(c)
		定量法(3)(ii)	(a),(b)
	加味帰脾湯エキス	定量法(3)	(a),(b)
	加味逍遙散エキス	定量法(3)	(a),(b)
	カンゾウエキス	定量法	(a),(b)
	カンゾウ粗エキス	定量法	(a),(b)
	柴胡桂枝湯エキス	定量法(4)(i)	(a),(b),(d)
		定量法(4)(ii)	(a),(b)
	柴朴湯エキス	定量法(3)(i)	(a),(b),(e)
		定量法(3)(ii)	(a),(b)
	柴苓湯エキス	定量法(3)(i)	(a),(b),(d)
		定量法(3)(ii)	(a),(b)
	芍薬甘草湯エキス	定量法(2)	(a),(b)
	十全大補湯エキス	定量法(3)(i)	(a),(b),(c)
		定量法(3)(ii)	(a),(b)
	小柴胡湯エキス	定量法(3)(i)	(a),(b),(e)
		定量法(3)(ii)	(a),(b)
小青竜湯エキス	定量法(3)(i)	(a),(b),(c)	
	定量法(3)(ii)	(a),(b)	
大黄甘草湯エキス	定量法(2)	(a),(b)	
釣藤散エキス	定量法(2)	(a),(b)	

■ カンゾウを含む生薬製剤で、第十七局および第十七局第一追補で改訂になったもの つづき

日本薬局方	製剤名	試験名	試験法
第十七局 第一追補	桃核承気湯エキス	定量法(5)	(a),(b)
	麦門冬湯エキス	定量法(2)	(a),(b)
	半夏瀉心湯エキス	定量法(2)(i)	(a),(b),(e)
		定量法(2)(ii)	(a),(b)
	防已黄耆湯エキス	定量法(2)	(a),(b)
	防風通聖散エキス	定量法(4)	(a),(b)
	補中益気湯エキス	定量法(3)	(a),(b)
	麻黄湯エキス	定量法(3)(i)	(a),(b),(c)
		定量法(3)(ii)	(a),(b)
	抑肝散エキス	定量法(3)	(a),(b)
	六君子湯エキス	定量法(3)	(a),(b)
苓桂朮甘湯エキス	定量法(2)(i)	(a),(b),(c)	
	定量法(2)(ii)	(a),(b)	

■ 分析に用いた製品

分類	用途	製品名	規格	製品番号	サイズ 内径×長さ(mm) / 容量	価格
カラム	分析	コスモシール 5C18-MS-II パックドカラム	SP(高速液体クロマトグラフ用)	38019-81	4.6 mmI.D.-150 mm	42,000
		コスモシール 5C18-AR-II パックドカラム		38144-31	4.6 mmI.D.-150 mm	42,000
		コスモシール 5C18-PAQ パックドカラム		02486-71	4.6 mmI.D.-150 mm	42,000
試薬	移動相	アセトニトリル 劇	SP(高速液体クロマトグラフ用)	00430-41	1 L	6,900
		蒸留水		14029-91	1 L	1,470
		酢酸		08963-02	25 mL	3,000
		酢酸アンモニウム	JIS 試薬特級	02406-95	500 g	1,800
	サンプル溶媒	メタノール 劇	SP(高速液体クロマトグラフ用)	21929-81	1 L	1,550
エタノール		14741-41		1 L	4,700	

COSMOSIL  
コスモシール は、ナカライテスク株式会社の登録商標です。

ご注意 試験・研究用以外には使用しないでください。

※記載の内容は、'19年2月現在の情報に基づいております。  
※価格に消費税は含まれておりません。

**nacalai tesque**  
The quality for certainty.



● Web site  
<https://www.nacalai.co.jp/cosmosil/>

■ 販売取扱店

● 価格・納期のご照会  
試薬部 0120-489-552

ナカライテスク株式会社

● 製品に関する技術的なご照会  
<https://www.nacalai.co.jp/ss/Contact/>  
TEL:075-211-2703

〒604-0855 京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町498

1902T