生薬「ボウフウ」の品質評価（野生品と栽培品の相違点）

西原正和,* 抜井啓二, 大住優子, 塩田裕徳

Quality Evaluation of *Saposhnikovia Radix*
(Differences between Wild-type and Cultivated Products)

Masakazu Nishihara,* Keiji Nukui, Yuko Osumi, and Hironori Shiota

Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center; 605-10, Gose, Nara 639-2226, Japan.

(Received October 5, 2017; Accepted November 28, 2017; Advance publication released online January 30, 2018)

Saposhnikovia Radix (“Boufu”) is an important crude drug used in Kampo formulation. It is extracted from wild-type plants. However, recently, extraction has become difficult because of a decrease in wild-type plants. Therefore, cultivated plants account for the majority of the market, from which the crude drug is extracted. However, the cultivation techniques used are not sufficient to obtain the desirable extracts. In this study, we compared the contents of the extract and the quantitative values of characteristic constituents obtained from wild-type and cultivated plants, and found a remarkable difference. Therefore, it is considered that these indicators play an important role in the establishment of better cultivation technology.

Key words—*Saposhnikovia Radix*; *Saposhnikovia* Root and Rhizome; cimifugin; prim-*O*-glucosyl cimifugin; 4'-*O*-glucosyl-5-*O*-methylvisaminol

緒 言

ボウフウは, *Saposhnikovia divaricata* SCHISCHKIN の根及び根茎を基原とした生薬で, 発汗, 解熱, 鎮痛を目標とし, 防風通聖散や釣藤散など幅広い漢方処方構成生薬とされている。そのため, わが国での生薬使用量上位 60 品目に上がっており, 平成 26 年度では, 146474 kg の使用量で, 順位は 36 位となっている。¹⁾

一方, ボウフウの産地は, 中国北部が中心とされ, 上記の使用量のうち, 国産はわずか 46 kg と少なく, その大部分が中国からの輸入に頼っているのが現状である。¹⁾

これまで, 内蒙古自治区等の野生品が主に流通していたが, 乱獲等により減少したため, 中国が「野生薬材資源保護管理条例」により保護を行う方針を示した。

このことにより, 野生品の価格は高騰し, 手に入ることが困難になっている。これに代わり, 最近

では河北省等の栽培品が流通しているところであるが, ボウフウの栽培技術は十分に確立しているとは言えず, 品質がこれまで流通していた野生品と同等であるのかは, 非常に重要な問題である。

品質規格として, ボウフウは日本薬局方に収載されているが, 成分量の評価指標としては, 希エタノールエキスによるエキス含量での規定があるものの, 特定の成分による定量規格は設定されていない。²⁾ そのため, 野生品と栽培品の同等性を確認する上での規格としては不十分と考えられた。そこで, 指標成分による定量を行うことを目標とし, 海外の公定書規格等を調べたところ, 中華人民共和国薬典及び香港中薬材標準において, 2 成分 (Prim-*O*-グルコシルシミフギン, 4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルビサミノール) の総和が 0.24% 以上として, 定量規格が設定されていた。^{3,4)} Prim-*O*-グルコシルシミフギンでは, リポ多糖による肺障害を軽減することが動物実験により報告されていることや,⁵⁾ 4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルビサミノールは, 日本薬局方において, ボウフウの確認試験の標準品として使用されているなど, いずれも重要な成分であると考えた。

奈良県薬事研究センター

*e-mail: nishihara-masakazu@office.pref.nara.lg.jp

Fig. 1. The Chemical Structures of Three Compounds

(a) prim-*O*-glucosyl cimifugin, (b) cimifugin, and (c) 4'-*O*-glucosyl-5-*O*-methylvisamminol.

そこで、本論文では、上記の2成分に加え、Prim-*O*-グルコシルシミフギンのアグリコンであるシミフギンを含めた3成分の定量法を検討することとした (Fig. 1).

この3成分の定量法は、過去にも報告があり、当初はそれに基づいて定量法を検討したが、報告された試料調製法では、試料から成分が十分に抽出されていないことが判明した.⁶⁾

そのため、試料からの抽出条件も踏まえた3成分の定量法の最適化を検討するとともに、これらの指標成分量と希エタノールエキスによるエキス含量により、ボウフウの野生品と栽培品の同等性を評価した。

方 法

1. 試料 国内で流通しているボウフウ10ロット〔野生品4ロット (ロット:A-D) 及び栽培品6ロット (ロット:E-J)] について、1ロット200 gを四分法により、均一に分け、それらを粉碎して均一な試料としたのち、42号篩 (355 μ m) を通過したものをボウフウ末として用いた。

2. 標準品 ChemFaces 社製 (武漢) Prim-*O*-グルコシルシミフギン (純度: 98.0%), シミフギン (純度: 98.0%), 和光純薬工業株式会社製 (大阪) 4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルビスアミノール (純度: 99.9%) をそれぞれ用いた。

3. 試料溶液の調製

3-1. 抽出溶媒検討溶液 ボウフウ末約0.5 gを精密に量り、抽出溶媒として水、30%メタノール、50%メタノール、70%メタノール、メタノールをそれぞれ10 mL正確に加え、30分間振とうした後、遠心分離を行い、上澄液について孔径0.45 μ mのメンブランフィルターを通し、抽出溶媒検討溶液とした。

3-2. 抽出溶媒量検討溶液 ボウフウ末約0.5 gを精密に量り、70%メタノール5 mL、10 mL、15 mL、20 mL、25 mL、30 mLをそれぞれ正確に加え、以後3-1.の抽出溶媒検討溶液と同様に調製し、抽出溶媒量検討溶液とした。

3-3. 抽出試料量検討溶液 ボウフウ末約0.1 g、0.3 g、0.5 g、0.7 g、0.9 gをそれぞれ精密に量り、70%メタノール25 mLを正確に加え、以後3-1.の抽出溶媒検討溶液と同様に調製し、抽出試料量検討溶液とした。

3-4. 抽出方法検討溶液 ボウフウ末約0.1 gを精密に量り、70%メタノール25 mLを正確に加え、超音波抽出、振とう抽出、沸騰水浴上での加熱還流抽出により、それぞれ30分間抽出した後、以後3-1.の抽出溶媒検討溶液と同様に調製し、抽出方法検討溶液とした。

3-5. 抽出回数検討溶液 ボウフウ末約0.1 gを精密に量り、70%メタノールを用いて1回 (25 mL)、2回 (15 mL、10 mL)、3回 (10 mL、10 mL、5 mL) を正確に加え、以後3-1.の抽出溶媒検討溶液と同様に調製し、抽出回数検討溶液1とした。

また、得られた上澄液を取り除いた残留物について、70%メタノール10 mLをそれぞれ正確に加え、以後3-1.の抽出溶媒検討溶液と同様に調製し、抽出回数検討溶液2とした。

3-6. 試料溶液 ボウフウ末約0.1 gを精密に量り、70%メタノール25 mLを正確に加え、30分間振とうした後、遠心分離を行い、上澄液について孔径0.45 μ mのメンブランフィルターを通し、試料溶液とした。

4. 標準溶液の調製 Prim-*O*-グルコシルシミフギン標準品約2.5 mgを精密に量り、メタノール5 mLを正確に加えて溶かし、標準原液1とした。

シミフギン標準品約1 mgを精密に量り、メタ

ノールを加えて溶かし、正確に 25 mL としたものを標準原液 2 とした。

4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノール約 2 mg を精密に量り、メタノール 4 mL を正確に加えて溶かし、標準原液 3 とした。

標準原液 1 を 5 mL、標準原液 2 を 2.5 mL、標準原液 3 を 10 mL それぞれ正確にとり、すべて加えた後、メタノールを加えて正確に 20 mL としたものを標準溶液とした。

5. HPLC 装置及び測定条件 HPLC 装置は、株式会社日立製作所製（大阪）L-7100, L-7455, L-7300, L-7200, D-7000 からなるシステムを用いた。

測定条件は、次の通りとした。検出器：紫外吸光度計（測定波長：254 nm）、フォトダイオードアレイ検出器：（測定波長：220–400 nm）、カラム：ジーエルサイエンス株式会社製 Inertsil ODS-3、粒子径：5 μ m、内径：4.6 mm、長さ：15 cm、カラム温度：40°C、移動相：水／アセトニトリル混液（4：1）、流量：毎分 1.0 mL、注入量：10 μ L。

6. システム適合性

6-1. システムの性能 標準溶液を 10 μ L 注入し、それぞれの分離度を求めた。

6-2. システムの再現性 標準溶液を 10 μ L 繰り返し 6 回注入し、得られたピーク面積から相対標準偏差（%）を求めた。

7. 分析法バリデーション

7-1. 特異性 D-7000 形アドバンストマルチシステムマネージャ（HITACHI）を用い、標準溶液及び試料溶液から得られたそれぞれのクロマトグラムの、Prim-*O*-グルコシルシミフギン、シミフギン、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノールに相当するピークのスペクトルを比較し、相関度を計算した。

7-2. 直線性 Prim-*O*-グルコシルシミフギン標準品を用いて調製した 7.81, 31.25, 62.5, 125, 200, 250, 500 μ g/mL 溶液、シミフギン標準品を用いて調製した 0.625, 2.5, 5, 10, 16, 20, 40 μ g/mL 溶液、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノール標準品を用いて調製した 7.81, 31.25, 62.5, 125, 200, 250, 500 μ g/mL 溶液を用い、それぞれ得られたクロマトグラムから、ピーク面積を求め、検量線を作成した。

7-3. 検出限界・定量限界 Prim-*O*-グルコシルシミフギン標準品を用いて調製した 250, 375, 500, 625, 750 ng/mL 溶液、シミフギン標準品を用

いて調製した 200, 250, 300, 400, 500 ng/mL 溶液、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノール標準品を用いて調製した 250, 500, 750, 1000, 1250 ng/mL 溶液を用い、それぞれ得られたクロマトグラムから S/N=3 及び 10 をそれぞれ検出限界及び定量限界として求めた。

7-4. 真度 Prim-*O*-グルコシルシミフギン標準品を用いて調製した 7.81, 125, 500 μ g/mL 溶液、シミフギン標準品を用いて調製した 0.625, 16, 40 μ g/mL 溶液、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノール標準品を用いて調製した 7.81, 62.5, 500 μ g/mL 溶液を用い、それぞれ得られたクロマトグラムから、濃度を求め、理論値を比較し、検証した。

7-5. 精度 Prim-*O*-グルコシルシミフギン標準品を用いて調製した 125 μ g/mL 溶液、シミフギン標準品を用いて調製した 16 μ g/mL 溶液、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノール標準品を用いて調製した 62.5 μ g/mL 溶液をそれぞれ 6 回調製し、得られたクロマトグラムから、ピーク面積を求めた後、併行精度を求めた。

次に、試料溶液を用いて、一元配置実験計画に基づき、室内再現精度及び併行精度について検証した。なお、実験日を因子とし、残りの要因はランダムに割り付けた。繰り返し数は 6、併行条件内の繰り返し数は 2 とした。

8. エキス含量 ボウフウ末約 2.3 g を精密に量り、日本薬局方 一般試験法 生薬試験法のエキス含量（希エタノールエキス）の項により、試験をした。

結果と考察

1. 試料（野生品、栽培品）の来歴及び外観等の比較 方法 1. に記載した試料について、その来歴等を示した（Table 1）。

試料は、いずれも日本薬局方の規格に適合するものであるが、野生品と栽培品に分けて、外観等の比較を行った。

その結果、野生品は、栽培品に比べ、外面の淡褐色がやや濃かったが、多数の縦じわ、横切面の皮部の灰褐色の度合い、空隙の多さ、木部の黄色の度合いについては、大きな差は見受けられなかった。

硬さを比較したところ、野生品は硬く、すぐに折れるのに対し、栽培品は柔らかく、割けるような形

Table 1. *Saposhnikovia Radix* Samples Used in This Study

Lot	Classification	Region	Collection year
A	Wild	China-Inner Mongolia	2013.3
B	Wild	China-Inner Mongolia	2013.12
C	Wild	China-Heilongjiang	2014.3
D	Wild	China-Inner Mongolia	2017.7
E	Cultivate	China-Inner Mongolia	2016.12
F	Cultivate	China-Inner Mongolia	2016.9
G	Cultivate	China-Inner Mongolia	2016.7
H	Cultivate	China-Unknown	2017.7
I	Cultivate	China-Unknown	2017.5
J	Cultivate	China-Unknown	2017.5

で折れた。

さらに、粉碎を行うと、野生品に比べ、栽培品では繊毛が多く認められた。

2. 3成分同時定量法の最適化と分析法バリデーション

2-1. HPLC 測定条件の最適化 過去に報告されている 11 成分同時定量法⁶⁾を今回分析した 3 成分に適用した場合、HPLC の測定条件のうち、移動相の分析モードにグラジエントが用いられてお

り、再平衡化などに時間がかかるため、品質管理の手法にはあまり適していないと考えた。そのため、分析時間の短縮を目的とし、移動相の分析モードをアイソクラティックとして、HPLC の測定条件を検討した。

まず、移動相を水/アセトニトリル混液 (4:1) とし、方法 5. に記載した条件で検討したところ、Prim-*O*-グルコシルシミフギン、シミフギン、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノールの順に溶出し、良好な分離及びピーク形状が得られた (Fig. 2)。

次に、測定波長を検討するため、フォトダイオードアレイ検出器で Prim-*O*-グルコシルシミフギン、シミフギン、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノールの紫外吸収スペクトルを測定したところ、254 nm 付近、及び 300 nm 付近に吸収が認められた (Fig. 3)。そこで、それぞれの波長を検討したところ、254 nm の方が吸光度は高く、また夾雑物の影響が少ないことから、測定波長は 254 nm とした。流量は、1.0 mL/分としたが、本条件では、分析モードをアイソクラティックとしているにもかかわらず、過去の報告⁹⁾よりも分析時間が短時間で終了した。

次に、システム適合性を検討した。

Fig. 2. HPLC Chromatograms of (A) Standard Solution and (B) 70% Methanol Extract of *Saposhnikovia Radix* (a) prim-*O*-glucosyl cimifugin, (b) cimifugin, and (c) 4'-*O*-glucosyl-5-*O*-methylvisamminol.

Fig. 3. HPLC-DAD Spectra of Three Compounds from 70% Methanol Extract of *Saposhnikovia Radix*
(a) prim-*O*-glucosyl cimifugin, (b) cimifugin, and (c) 4'-*O*-glucosyl-5-*O*-methylvisaminol.

システムの性能として、方法 6-1. に記載した条件で操作したとき、Prim-*O*-グルコシルシミフギン、シミフギン、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノールの順に溶出し、分離度は、それぞれ 11.6, 3.4 であった。

システムの再現性として、方法 6-2. に記載した条件で試験を 6 回繰り返すとき、Prim-*O*-グルコシルシミフギン、シミフギン、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノールのピーク面積の相対標準偏差を求めたところ、それぞれ 0.50%, 0.34%, 0.25% であった。

これらの結果から、HPLC の測定条件を次のように設定した。

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 μ m 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したもの。カラム温度：40°C 付近の一定温度、移動相：水／アセトニトリル混液（4：1）、流量：毎分 1.0 mL（Prim-*O*-グルコシルシミフギンの保持時間 約 4 分、シミフギンの保持時間 約 7 分、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノールの保持時間 約 9 分）、注入量：10 μ L。

システム適合性

システムの性能：標準溶液 10 μ L につき、上記の

条件で操作するとき、Prim-*O*-グルコシルシミフギン、シミフギン、4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノールの順に溶出し、その分離度は 5 以上、2.0 以上である。

システムの再現性：標準溶液 10 μ L につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、Prim-*O*-グルコシルシミフギン、シミフギン、及び 4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノールのピーク面積の相対標準偏差は 1.5% 以下である。

2-2. 抽出条件の最適化 設定した定量法により、同一ロットのボウフウ末を用いて、抽出溶媒の種類、抽出溶媒量、抽出試料量、抽出方法、抽出回数の違いによる定量値を比較し、抽出条件の最適化を行った。

2-2-1. 抽出溶媒の種類 方法 3-1. に記載した条件で抽出し、定量値を比較した（Table 2）。Prim-*O*-グルコシルシミフギンでは、水を用いた場合に定量値が減少したものの、他の溶媒では大きな差は認められなかった。シミフギンでは、溶媒間での大きな差は認められなかった。4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチルピサミノールでは、メタノールの比率が上がるにつれて、定量値が増大したものの、メタノールのみを用いた場合では 70% メタノール溶液を用いた場合よりも、定量値が低下した。以上の

Table 2. Extraction Efficiency of Three Compounds from *Saposhnikovia Radix* by Different Extraction Solvents^a

Extraction solvent	Prim- <i>O</i> -glucosyl cimifugin (%)	Cimifugin (%)	4'- <i>O</i> -glucosyl-5- <i>O</i> -methylvisamminol (%)
Water	0.381	0.0351	0.420
30% Methanol	0.413	0.0345	0.444
50% Methanol	0.410	0.0341	0.448
70% Methanol	0.410	0.0342	0.460
Methanol	0.402	0.0343	0.456

^a Calculated based on dried materials.Table 3. Extraction Efficiency of Three Compounds from *Saposhnikovia Radix* by Different Solvent Amounts^a

Solvent amount	Prim- <i>O</i> -glucosyl cimifugin (%)	Cimifugin (%)	4'- <i>O</i> -glucosyl-5- <i>O</i> -methylvisamminol (%)
5 mL	0.415	0.0338	0.453
10 mL	0.419	0.0338	0.456
15 mL	0.422	0.0339	0.461
20 mL	0.428	0.0345	0.466
25 mL	0.430	0.0345	0.470
30 mL	0.422	0.0343	0.458

^a Calculated based on dried materials.

結果から、抽出溶媒は、70%メタノール溶液を用いることとした。

2-2-2. 抽出溶媒量 方法 3-2. に記載した条件で抽出し、定量値を比較した (Table 3)。いずれの成分においても、抽出溶媒量を 25 mL としたときの定量値が高かった。以上の結果から、抽出溶媒量を 25 mL とした。

なお、過去の報告では、試料 0.25 g に対し、抽出溶媒を 5 mL 用いていた。⁵⁾ そのため、今回の検討で、過去の報告と同様の比率となるように、試料 0.5 g に対し、抽出溶媒量 10 mL での定量値も確認したが、3 成分いずれの定量値も抽出溶媒を 25 mL 用いた場合と比較して低い値を示しており、十分に抽出されていないことが確認できた。

2-2-3. 抽出試料量 方法 3-3. に記載した条件で抽出し、定量値を比較した (Table 4)。いずれの成分においても、抽出試料量を 0.1 g としたものの定量値が高かった。以上の結果から、抽出試料量を

Table 4. Extraction Efficiency of Three Compounds from *Saposhnikovia Radix* by Different Sample Amounts^a

Sample amount	Prim- <i>O</i> -glucosyl cimifugin (%)	Cimifugin (%)	4'- <i>O</i> -glucosyl-5- <i>O</i> -methylvisamminol (%)
0.1 g	0.443	0.0346	0.482
0.3 g	0.424	0.0344	0.466
0.5 g	0.419	0.0341	0.457
0.7 g	0.424	0.0343	0.460
0.9 g	0.419	0.0340	0.457

^a Calculated based on dried materials.Table 5. Extraction Efficiency of Three Compounds from *Saposhnikovia Radix* by Different Extraction Methods^a

Extraction method	Prim- <i>O</i> -glucosyl cimifugin (%)	Cimifugin (%)	4'- <i>O</i> -glucosyl-5- <i>O</i> -methylvisamminol (%)
Shaking	0.426	0.0348	0.469
Heating under reflux condenser	0.408	0.0308	0.452
Ultrasonic waves	0.427	0.0353	0.463

^a Calculated based on dried materials.Table 6. Extraction Efficiency of Three Compounds from *Saposhnikovia Radix* by Different Extraction Times^a

Extraction times / solvent value	Prim- <i>O</i> -glucosyl cimifugin (%)	Cimifugin (%)	4'- <i>O</i> -glucosyl-5- <i>O</i> -methylvisamminol (%)
1 time/25 mL	0.442 (0.012)	0.0358 (ND)	0.489 (0.015)
2 times/15 mL, 10 mL	0.446 (ND)	0.0361 (ND)	0.490 (ND)
3 times/10 mL, 10 mL, 5 mL	0.448 (ND)	0.0366 (ND)	0.490 (ND)

^a Residual values are in parenthesis; calculated based on dried materials.

0.1 g とした。

2-2-4. 抽出方法 方法 3-4. に記載した条件で抽出し、定量値を比較した (Table 5)。いずれの成分においても、加熱還流抽出では定量値が減少したが、振とう抽出と超音波抽出では大きな差は認められなかった。以上の結果から、試験の簡便性を考慮し、抽出方法を振とう抽出とした。

2-2-5. 抽出回数 方法 3-5. に記載した条件で抽出し、定量値を比較した (Table 6)。Prim-*O*-グルコシルシミフギンと 4'-*O*-グルコシル-5-*O*-メチル

ビスサミノールでは、1回抽出の場合には、成分の残存が見受けられたが、いずれの抽出回数であっても、抽出回数検討溶液1中の定量値に大きな差は認められなかった。また、シミフギンでは、いずれの抽出回数でも、定量値に大きな差は認められなかった。以上の結果から、試験の簡便性を考慮し、抽出回数を1回とした。

2-2-6. 最適化した抽出法 上記の結果から、試料の抽出法を方法3-6.に記載した条件とした。

2-3. 分析法バリデーション 設定した定量法を確立・検証するため、特異性、直線性、検出限界・定量限界、真度、精度、範囲について確認した。

特異性は、方法7-1.に記載した条件で実施したところ、Prim-O-グルコシルシミフギン、シミフギン、4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノールの相関度は、それぞれ0.9998, 0.9999, 0.9999であった。なお、相関度は1に近くなるほど、ピーク純度が高いことを示す。

直線性は、方法7-2.に記載した条件で実施し、最小二乗法により回帰直線を作成したところ、y切片の測定濃度におけるピーク面積に対する割合は、Prim-O-グルコシルシミフギン：1.52%，シミフギン：1.30%，4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール：2.88%といずれも3%以下であり、y切片の95%信頼区間（Prim-O-グルコシルシミフギン：-91205-46879，シミフギン：-2645-8951，4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール：-179526-62927）にいずれも0を含むことから、原点付近を通るとみなすことができた。また、相関係数（Prim-O-グルコシルシミフギン： $\gamma=0.9998$ ，シミフギン： $\gamma=0.9999$ ，4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール： $\gamma=0.9997$ ）は0.99以上であることから、測定範囲において十分な直線性を持つことを確認した。

検出限界・定量限界は、方法7-3.に記載した条件で実施したところ、検出限界はPrim-O-グルコシルシミフギン：15 ng/mL，シミフギン：27 ng/mL，4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール：50 ng/mLで、定量限界はPrim-O-グルコシルシミフギン：44 ng/mL，シミフギン：81 ng/mL，4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール：152 ng/mLであった。

真度は、方法7-4.に記載した条件で実施したと

ころ、理論値からの割合に対する平均はPrim-O-グルコシルシミフギン：99.7%，シミフギン：100.1%，4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール：99.7%と98.0-102.0%の範囲内であった。個々の理論値からの割合はPrim-O-グルコシルシミフギン：97.0-103.0%，シミフギン：97.2-102.7%，4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール：97.6-101.8%と97.0-103.0%の範囲内であった。また、理論値からの割合の相対標準偏差はPrim-O-グルコシルシミフギン：2.25%，シミフギン：1.95%，4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール：1.42%と精度で要求される値（2.4%以下：消費者危険率5%，生産者危険率1%より算出）より小さい値であったことから、十分な真度を持つことを確認した。

精度は、方法7-5.に記載した条件で実施したところ、併行精度はPrim-O-グルコシルシミフギン：1.60%（標準溶液），1.43%（試料溶液），シミフギン：2.33%（標準溶液），1.71%（試料溶液），4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール：2.29%（標準溶液），1.95%（試料溶液）で、室内再現精度はPrim-O-グルコシルシミフギン：1.48%（試料溶液），シミフギン：2.04%（試料溶液），4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール：2.15%（試料溶液）であり、いずれも要求される精度（2.4%以下：消費者危険率5%，生産者危険率1%より算出）より小さい値であったことから、十分な精度を持つと判断した。

以上の結果から、Prim-O-グルコシルシミフギン：7.81-500 $\mu\text{g/mL}$ ，シミフギン：0.625-40 $\mu\text{g/mL}$ ，4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノール：7.81-500 $\mu\text{g/mL}$ の範囲において、定量できると判断した。

3. 3成分量の比較 確立した定量法を用いて、方法1.に記載した国内流通品10ロット（野生品：4ロット，栽培品：6ロット）のボウフウ末について、3成分量を測定した（Table 7）。

その結果、3成分のうち、Prim-O-グルコシルシミフギン、シミフギンは、野生品の方が栽培品に比べ、それぞれ約1.8倍、約2.6倍の差があったが、4'-O-グルコシル-5-O-メチルビスサミノールについては、野生品と栽培品での差は見受けられなかった（Table 8）。

4. 希エタノールエキス含量の比較 次に、方

Table 7. Contents of the Three Compounds from *Saposhnikovia Radix* by Different Sources^a

Lot	Classification	Prim- <i>O</i> -glucosyl cimifugin (%)	Cimifugin (%)	4'- <i>O</i> -glucosyl-5- <i>O</i> - methylvisamminol (%)
A	Wild	0.845±0.0182	0.121±0.0024	0.275±0.0085
B	Wild	0.484±0.0102	0.144±0.0025	0.384±0.013
C	Wild	0.407±0.0019	0.049±0.0021	0.110±0.0043
D	Wild	1.013±0.0384	0.043±0.0005	0.192±0.0067
E	Cultivate	0.421±0.0179	0.034±0.0011	0.282±0.0091
F	Cultivate	0.521±0.0184	0.044±0.0006	0.341±0.0071
G	Cultivate	0.514±0.0081	0.025±0.0005	0.305±0.0109
H	Cultivate	0.374±0.0035	0.050±0.0004	0.292±0.0029
I	Cultivate	0.214±0.0092	0.023±0.0008	0.221±0.0090
J	Cultivate	0.312±0.0119	0.027±0.0011	0.205±0.0054

^a Calculated based on dried materials, Mean±S.D. (*n*=3).Table 8. Classification-based Comparison of Three Compounds from *Saposhnikovia Radix*^a

Classification	<i>n</i>	Prim- <i>O</i> -glucosyl cimifugin (%)	Cimifugin (%)	4'- <i>O</i> -glucosyl-5- <i>O</i> - methylvisamminol (%)
Wild	4	0.690±0.286	0.089±0.051	0.240±0.117
Cultivate	6	0.393±0.119*	0.034±0.011*	0.274±0.052

^a Calculated based on dried materials, * significantly different from the Wild group, *p*<0.05.Table 9. Contents of Dilute Ethanol-soluble Extract Content from *Saposhnikovia Radix* by Different Sources

Lot	Classification	Dilute ethanol-soluble extract content (%)
A	Wild	23.73
B	Wild	26.40
C	Wild	25.07
D	Wild	20.08
E	Cultivate	59.98
F	Cultivate	58.66
G	Cultivate	60.51
H	Cultivate	52.00
I	Cultivate	62.87
J	Cultivate	57.37

法 1. に記載した国内流通品 10 ロット（野生品：4 ロット，栽培品：6 ロット）のボウフウ末について，方法 8. に記載した条件で，希エタノールエキス含量を測定した（Table 9）。

その結果，野生品と栽培品では，エキス含量が大

Table 10. Classification-based Comparison of the Dilute Ethanol-soluble Extract Content from *Saposhnikovia Radix*

Classification	<i>n</i>	Dilute ethanol-soluble extract content (%)
Wild	4	23.82±2.72
Cultivate	6	58.57±3.71*

* Significantly different from the Wild group, *p*<0.05.

きく異なり，栽培品の方が野生品に比べ，約 2.5 倍と高値を示した（Table 10）。

また，野生品のエキス含量の平均値は 23.82 % と，日本薬局方のボウフウの規格値（20.0 % 以上）下限に近い値を示した。

ま と め

今回，ボウフウの品質評価のための成分定量法の検討と野生品と栽培品の比較を行った。3 成分の定量法については，移動相モードにアイソクラティックを用いても短時間での分析が可能であることを明らかにし，また，試料の抽出条件等を検討すること

で、得られた定量法を最適化することができた。

野生品と栽培品の比較において、希エタノールエキス含量は、栽培品での含量の平均値は 58.6%、野生品での含量の平均値は 23.8%と、いずれも日本薬局方の規格値である 20.0%以上には適合しているものの、倍以上の差となった。

一方、3 成分の定量値は、野生品の方が栽培品よりも、Prim-O-グルコシルシミフギン、シミフギンの含量が高かった。

そのため、ボウフウの品質では、希エタノールエキス含量のみでなく、これらの成分が影響する可能性も考えられた。

今回、野生品の入手が非常に困難であるため、少ないロットでの検討となったが、重要な知見が得られたため、この結果を基に、今後の栽培品での品質確保のために活用していくとともに、他の成分の相違点についても、今後検討していきたい。

謝辞 本研究に際し、貴重なボウフウの野生品サンプルをご提供頂きました日本粉末薬品株式会社様、株式会社前忠様に対しまして、ここに謝意を表します。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Japan Kampo Medicines Manufacturers Association, “Genryo Shouyaku Shiyouryou Chousahoukokusho,” Vol. 4, 2016, p. 5.
- 2) The Ministry of Health, Labour and Welfare, “The Japanese Pharmacopoeia 17th Edition,” 2016, p. 1904.
- 3) China Food and Drug Administration, “Pharmacopoeia of The People’s Republic of China,” Vol. 1, 2015, pp. 149–150.
- 4) Chinese Medicine Devision, Department of Health Government of the Hong Kong Special Administrative Region, “Hong Kong Chinese Materia Medica Standards,” Vol. 2, 2008, pp. 235–245.
- 5) Chen N., Wu Q., Chi G., Soromou L. W., Hou J., Deng Y., Feng H., *Int. Immunopharmacol.*, **16**, 139–147 (2013).
- 6) Kim M. K., Yang D. H., Jung M. Jung E. H., Eom H. Y., Suh J. H., Min J. W., Kim U., Min H., Kim J., Han S. B., *J. Chromatogr. A*, **1218**, 6319–6330 (2011).