芍薬中のガロタンニンの定量¹⁾

西澤 信,^{*,a} 山岸 喬,^a 野中源一郎,^b 西岡五夫^b

北海道立衛生研究所,^a 九州大学薬学部^b

Quantitative Determination of Gallotannin in *Paeoniae Radix*

MAKOTO NISHIZAWA,^{*,a} TAKASHI YAMAGISHI,^a GEN-ICHIRO NONAKA,^b
and ITSUO NISHIOKA^b

Hokkaido Institute of Public Health,^a N-19, W-12, Kita-ku, Sapporo, 060, Japan
and Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University,^b
3-1-1, Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, 812, Japan

(Received June 12, 1984)

Gallotannins (tetra—undecagalloylglucose) in *Paeoniae Radix* were separated according to the degree of galloylation (number of galloyl groups per glucose) by normal phase high performance liquid chromatography and quantitatively determined.

Total gallotannin contents of *Paeoniae Radix* produced in Hokkaido, Nara prefecture and China were shown to be in the range of 0.52—1.16%, and there was no difference among three groups of samples. The average degree of galloylation was calculated from the contents of tetra—undecagalloylglucose, and those of *Paeoniae Radix* produced in Hokkaido (5.88—7.36) appeared to be higher than those in Nara prefecture (5.30—5.72) and China (5.10—5.75). The total gallotannin contents and the average degree of galloylation varied according to the preparation methods of *Paeoniae Radix*, and the total gallotannin contents in the aerial parts of peony were found to be 5—15 times higher than that of root on fresh weight basis.

In the decoction of two Kanpo prescriptions, Shakuyaku-kanzo-to (芍薬甘草湯) and Keishi-ka-shakuyaku-to (桂枝加芍薬湯), only tetra and pentagalloylglucoses were detected as gallotannin.

Keywords—gallotannin; HPLC; *Paeoniae Radix*; *Paeonia lactiflora*; Paeoniaceae; Kanpo prescription

芍薬 (*Paeoniae Radix*, *Paeonia lactiflora* PALL. var. *trichocarpa* BUNG の根) は漢方処方に繁用されるほか、家庭薬の原料としても重要な生薬である。最近、著者らは芍薬が血中尿素窒素減少作用を有することを見出し、²⁾ その活性本体が Chart に示したガロタンニンであることを明らかにした。³⁾

ガロタンニンはグルコースと没食子酸から構成されており、通常その構成比と没食子酸の結合位置の異なる種々の化合物の混合物で、各々の構造が類似しているためこれらの分離は困難であった。このため、ガロタンニンは混合物のまま皮粉法⁴⁾ や比色法⁵⁾ などで定量されてきた。しかし、これらの方法は共存物質の影響を受けやす

Chart. Structures of Gallotannins in *Paeoniae Radix*

いばかりか、グルコースと没食子酸の構成比の違いにより定量値に誤差を生じやすい欠点がある。

一方、Beasley ら⁶⁾ は順相系の担体を用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で、五倍子、没食子の tri-dodecagalloylglucose (tri-dodecaGG) を分析している。しかし、この方法でも各ピークの分離が良好でないうえに、グラジエント溶離法を用いているため分析に長時間を要し実用的な分析法とはいえない。著者らは、Beasley らの報告をもとに HPLC の担体や溶離法の組成などを詳細に検討した結果、ガロタンニンを結合している没食子酸の数の違いで分離し、かつ迅速に分析する方法を見出した。

そこで、この方法を用い、産地や調製法の異なる芍薬についてガロタンニンを定量した。

また酸化や加水分解をうけやすいガロタンニンの漢方処方湯液中での含量を調べる目的で芍薬甘草湯、桂枝加芍薬湯の湯液中のガロタンニンを定量した。

さらにガロタンニンは虫嬰など傷害組織に存することから病理的タンニンと称されてきたが、ジャクヤクの正常な根にも存在することから、ガロタンニンの生理的な意義に興味をもち、ジャクヤクの地上部についてもガロタンニンを定量し新しい知見を得たので報告する。

実 験 の 部

1. 試料 (1) 試料の調製——各試料はウィレー型粉碎机及び遠心粉碎机 (MRK 製) を用い 48 メッシュ以下に粉碎し、デシケータ中に保存した。粉碎後、1 週間以内に定量用試料として用いた。

(2) 北海道産芍薬——国立衛生試験所北海道薬用植物栽培試験場 (北薬試) で栽培した系統⁷⁾ の異なる 4 年生のジャクヤクから調製した皮付芍薬 8 試料を用いた。

(3) 調製法別芍薬——北薬試において同一の株から栄養増殖した 3 株を収穫し、根の直径が 13.2—20.4 mm のものを選別し次のように調製加工を行った。皮付: 収穫後、水洗して乾燥した。皮去: 水洗後、根の表面のコルク層をみがきをかけて削り取った後に乾燥した。湯通: 水洗後、80°C の湯に 10 分間つけ、水でさらしてから乾燥した。

(4) 地上部の試料——道立衛生研究所薬草園で栽培したジャクヤク 1 株を、茎、葉柄、葉、がくと子房及び花卉に分け、40°C で温風乾燥したものを試料とした。

(5) 奈良県及び中国産芍薬——栃本天海堂、三国商店、長倉製薬より入手した奈良県産皮付芍薬 3 試料と中国産の赤芍及び真芍それぞれ各 3 試料を用いた。

(6) 漢方湯液——市販の局方品生薬を用い“一般漢方処方の手引き”⁸⁾ に従って湯液を調製した。

2. 標準品 定量の標準品には、芍薬から単離した 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-glucose (pentaGG, $[\alpha]_D^{20} = +18.3^\circ$ ($c=0.38$, acetone), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 280 nm ($\log \epsilon=4.59$), Calcd $\text{C}_{41}\text{H}_{32}\text{O}_{26} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: C, 49.50; H, 3.85. Found: C, 49.54; H, 3.75)⁹⁾ を用いた。

3. ガロタンニンの抽出法の検討 (1) 抽出溶媒の検討——粉碎した芍薬 5.00 g を 50 ml 共栓遠沈管にとり、抽出溶媒として酢酸エチル、エタノール、アセトン、50% 含水エタノール、50% 含水アセトンを各々 20 ml ずつ加えて 2 時間振とう後 5 分間 3000 rpm で遠沈し、それぞれの上澄を HPLC で分析し pentaGG を定量した。

(2) 抽出回数の検討——芍薬 5.00 g を 50 ml 共栓遠沈管にとり、50% 含水アセトン 20 ml を加えて 2 時間振とう抽出する。抽出液を減圧ろ過し、残渣を再び 50% 含水アセトン 20 ml で振とう抽出する。さらにこの操作をもう一度くり返し、1—3 回目の抽出液中のガロタンニンを HPLC で定量した。

(3) 酢酸エチルでの分配によるガロタンニンの精製——50% 含水アセトンによる 1 回目の抽出液から 5 ml を 50 ml 共栓遠沈管にとり、飽和食塩水 10 ml を加えた後、酢酸エチル 10 ml で数回分配し、酢酸エチル層へ移行するガロタンニンを HPLC で定量した。

4. ガロタンニンの定量法 (1) 定量用試験液の調製——試料 5.00 g を 50 ml 共栓遠沈管にとり、50% 含水アセトン 20 ml を加えて 2 時間振とうする。遠心分離 (3000 rpm, 5 分間) 後、上澄 5 ml を別の 50 ml 共栓遠沈管にとり、飽和食塩水 10 ml と酢酸エチル 10 ml を加えて 3 分間振とうする。静置後、酢酸エチル層を分離し、水層には再び酢酸エチル 10 ml を加えて同様に操作した後、酢酸エチル層を合わせて 25 ml にメスアップして試験液とした。

(2) 検量線——11.5 mg の pentaGG を 10 ml のエタノールに溶解し、これを酢酸エチルで 5, 10, 20 倍に希釈した溶液を標準溶液として検量線を作成した。TetraGG 及び hexa—undecaGG は、それぞれの 280 nm における分子吸光係数と分子量から補正係数 (pentaGG を 1 としたときの単位重量当りの吸光度の比の逆数) を算出

し、これを pentaGG の検量線の傾きにかけてそれぞれの検量線とした。補正係数: tetraGG-0.91, hexaGG-1.08, heptaGG-1.13, octaGG-1.19, nonaGG-1.22, decaGG-1.25, undecaGG-1.28.

(3) HPLC の条件——カラム: Nucleosil 50-5 (Nagel 社, 4 mm i.d.×250 mm), カラム温度: 40°C, 移動相: *n*-ヘキサン: メタノール: THF: ギ酸=55:33:11:1 (シュウ酸 450 mg/l), 流速: 1.8 ml/min, 検出波長: 280 nm (0.32AU), 機器: 日立 655 型液体クロマトグラフ, 注入量: 10 μ l.

クロマトグラム上の各ピークの面積を島津 C-R1A を用いて測定し、標準溶液から求めた検量線を用いて定量した。

(4) 湯液中のガロタンニンの定量——芍薬甘草湯の 1 日量 (芍薬 6 g, 甘草 6 g), 桂枝加芍薬湯の 1 日量 (芍薬 6 g, 桂枝, 大棗, 生姜各 4 g, 甘草 2 g) をそれぞれ 300 ml の水を用い、液量が約 150 ml になるまで煎じる。ガーゼを用い熱時ろ過した煎液を水で 200 ml にメスアップし、このうち 25 ml をとり酢酸エチル 10 ml で 2 回抽出する。酢酸エチル層を合わせ、酢酸エチルで 25 ml にメスアップして HPLC の試験液とした。

実験結果と考察

1. ガロタンニンの定量法

(1) HPLC によるガロタンニンの定量 Beasley ら⁶⁾ はガロタンニンの分析にガラス粒子 (37—50 μ) にシリカゲルを溶着した順相系担体 Corasil II (Waters 社) を用いたが、著者らは Corasil II より比表面積が大きく高分離能を期待できる Nucleosil 50-5 (Nagel 社) を用い分析条件を検討した。その結果、移動相として *n*-ヘキサン-メタノール-THF-ギ酸-シュウ酸系を用いると、グラジエント溶離法でなくとも tetra—undecaGG を分離できることがわかった。この条件は Beasley らの条件に比べ、分析時間が短かく、各々のガロタンニンの分離も良好であることから (Fig. 1), 実用的なガロタンニンの分析法と考えられる。この条件で pentaGG の検量線は 0.58—2.30 μ g の間で原点を通る直線性を示した。

(2) ガロタンニンの抽出条件 抽出効率の良い溶媒を調べた結果、Table I に示すとおり 50% 含水アセトンを用いた時が最も抽出効率のよいことがわかった。そこで、50% 含水アセトンで 3 回抽出し、各抽出液中のガロタンニン量を調べたところ、1 回の抽出で 96% 以上のガロタンニンが抽出されることから抽出回数は 1 回で十分であることがわかった (Table II)。つぎに酢酸エチルと水による分配の回数は、Table III に示したとおり 2 回で 98% 以上のガロタンニンが酢酸エチル層へ移行することから 2 回とした。

Fig. High Performance Liquid Chromatogram of Gallotannins in Paeoniae Radix

Condition: column; Nucleosil 50-5 (4 i.d.×250 mm), solvent; *n*-hexane: MeOH: THF: HCOOH=55:33:11:1 (oxalic acid 450 mg/l).

Flow rate; 1.8 ml/min.

Detection; 280 nm (0.32 AU).

a) GG represents galloylglucose.

この方法で抽出操作をした時、pentaGG (4.6 mg 添加) の回収率は 3 回の平均で 105% であった。また、同一試料について 3 回分析した際の定量値の変動係数は 1% 以下であった。

2. 芍薬中のガロタンニンの定量

北海道産、奈良県産、中国産芍薬中のガロタンニンを定量し Table IV に示す結果を得た。

総ガロタンニン含量は全試料で 0.52—1.16% (平均 0.78%) で、北海道産 (0.53—1.16%), 奈良県産 (0.73—1.01%) 及び中国産 (0.52—0.94%) の間で

TABLE I. Amounts of Pentagalloylglucose Extracted with Various Solvents

Solvents	Pentagalloylglucose (mg)
50% aq. acetone	1.98
50% aq. ethanol	1.82
Ethanol	1.19
Acetone	0.95
Ethyl acetate	0.14

Five grams of powdered Paeoniae Radix produced in Hokkaido were shaken with each solvent (20 ml) for 2 h.

TABLE II. Amounts of Gallotannins Extracted with 50% Aqueous Acetone

	Amounts of gallotannin (mg)								Total	Ratio (%)
	Tetra-GG ^{a)}	Penta-GG	Hexa-GG	Hepta-GG	Octa-GG	Nona-GG	Deca-GG	Undeca-GG		
1st extraction	0.53	2.00	0.70	0.45	0.31	0.13	0.03	—	4.14	96.6
2nd extraction	0.04	0.07	0.02	0.01	0.01	—	—	—	0.14	3.4
3rd extraction	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0

Five grams of powdered *Paeoniae Radix* produced in Hokkaido were extracted three times with 50% aqueous acetone.

a) GG represents galloylglucose.

TABLE III. Amounts of Gallotannin in the Ethyl Acetate Layer on Partition between Ethyl Acetate and Aqueous Acetone

	Amounts of gallotannin (mg)								Total	Ratio (%)
	Tetra-GG ^{a)}	Penta-GG	Hexa-GG	Hepta-GG	Octa-GG	Nona-GG	Deca-GG	Undeca-GG		
1st partition	0.13	1.91	1.18	0.94	0.61	0.26	0.10	—	5.11	85.5
2nd partition	0.06	0.49	0.15	0.07	0.02	—	—	—	0.79	13.1
3rd partition	—	0.07	0.10	—	—	—	—	—	0.08	1.4
4th partition	—	—	—	—	—	—	—	—	0	0

Five milliliters of 50% aqueous acetone extract were diluted with 10 ml of saturated NaCl solution and extracted four times with 10 ml each of ethyl acetate.

a) GG represents galloylglucose.

TABLE IV. Gallotannin Contents of *Paeoniae Radix*

Sample No. (location)	Gallotannin content (%)								Total	Average ^{b)} degree of galloylation
	Tetra-GG ^{a)}	Penta-GG	Hexa-GG	Hepta-GG	Octa-GG	Nona-GG	Deca-GG	Undeca-GG		
1. (Hokkaido)	0.01	0.14	0.10	0.13	0.14	0.11	0.06	0.01	0.69	6.89
2. (Hokkaido)	0.01	0.16	0.09	0.09	0.12	0.08	0.05	0.01	0.60	6.71
3. (Hokkaido)	0.02	0.16	0.10	0.11	0.13	0.10	0.06	0.02	0.71	6.91
4. (Hokkaido)	—	0.09	0.07	0.09	0.11	0.09	0.06	0.02	0.52	7.24
5. (Hokkaido)	0.02	0.17	0.10	0.11	0.13	0.09	0.05	—	0.67	6.57
6. (Hokkaido)	0.02	0.13	0.14	0.21	0.27	0.21	0.14	0.04	1.16	7.36
7. (Hokkaido)	0.01	0.21	0.14	0.13	0.11	0.06	0.02	—	0.70	6.29
8. (Hokkaido)	0.05	0.35	0.11	0.10	0.11	0.06	0.02	—	0.81	5.88
9. (Nara pref.)	0.06	0.38	0.25	0.14	0.07	0.03	0.01	—	0.95	5.72
10. (Nara pref.)	0.07	0.48	0.23	0.13	0.07	0.02	—	—	1.01	5.55
11. (Nara pref.)	0.07	0.42	0.13	0.07	0.03	0.01	—	—	0.73	5.30
12. (China)	0.05	0.46	0.21	0.11	0.05	0.02	—	—	0.91	5.55
13. (China)	0.04	0.47	0.17	0.11	0.07	0.04	0.02	—	0.91	5.67
14. (China)	0.04	0.50	0.17	0.11	0.07	0.04	0.01	—	0.94	5.63
15. (China)	0.02	0.24	0.11	0.07	0.06	0.02	0.01	—	0.52	5.75
16. (China)	0.04	0.59	0.15	0.06	0.04	0.01	—	—	0.89	5.32
17. (China)	0.09	0.33	0.06	0.04	0.02	0.01	—	—	0.54	5.10

a) GG represents galloylglucose.

b) Average number of galloyl groups per glucose.

それぞれ有意な差は認められなかった。しかし、tetra—undecaGG の存在比には差があり、奈良県産、中国産では undecaGG が検出されないばかりか、decaGG も検出できない試料もあったが、pentaGG 含量は北海道産に比べ高い傾向にあった。一方、北海道産は pentaGG より高分子量のガロタンニンが多く、全試料とも

penta—octaGG 含量には大きな差はなかった。そこで、平均ガロイル化度（グルコース 1 分子当りに結合する没食子酸の数の平均）を比較すると北海道産 5.88—7.36（平均 6.73）、奈良県産 5.30—5.72（平均 5.52）、中国産 5.10—5.75（平均 5.50）となり、北海道産の芍薬の方が高分子量のガロタンニンを多く含むことがわかった。

北海道産の芍薬がすべて前年の秋に収穫調製したものであるのに対し、奈良県産、中国産は調製後 2 年以上経過したものであることから、不安定なガロタンニンが芍薬調製後、より低分子量のガロタンニンへ経時変化した可能性があり、今後詳しく検討する必要がある。

3. 芍薬の調製法別試料のガロタンニン含量

芍薬には調製法により、収穫後水洗してそのまま乾燥した皮付、みがきをかけて根の表面のコルク層を削りおとした皮去、湯につけた後、水でさらした湯通などがある。そこで、これら調製法の違う芍薬のガロタンニン含量を調べたところ Table V に示す結果を得た。

TABLE V. Gallotannin Contents of *Paeoniae Radix* Prepared by Various Methods

	Gallotannin content (%)								Total	Average ^{b)} degree of galloy- lation
	Tetra- GG ^{a)}	Penta- GG	Hexa- GG	Hepta- GG	Octa- GG	Nona- GG	Deca- GG	Undeca- GG		
Kawatsuki ^{c)}	0.04	0.42	0.20	0.15	0.10	0.04	0.02	—	0.98	5.82
Kawasari ^{d)}	0.01	0.19	0.16	0.15	0.12	0.06	0.02	—	0.71	6.38
Yudoshi ^{e)}	0.05	0.49	0.24	0.10	0.04	0.01	—	—	0.93	5.46

a) GG represents galloylglucose.

b) Average number of galloyl groups per glucose.

c) The raw root was washed with water and dried.

d) Before drying, the cork layer was scraped off.

e) Before drying, the raw root was kept in water at 80°C for 10 min.

まず、皮付と皮去を比較すると皮去の方がガロタンニン含量が低く、とくに tetra—hexaGG 含量が皮付に比べて低い。このことから、皮去の操作で削りとられる根の表面には低分子量のガロタンニンが多く分布しているものと考えられる。皮付と湯通を比較すると、総ガロタンニン含量は両者に差は認められなかったが、湯通は皮付に比べて pentaGG 含量が高く、hepta—undecaGG 含量が低くなっている。これは、湯通の操作中に、分子量の大きなガロタンニンのデブシド結合が加水分解され、より分子量の小さいガロタンニンに変化したためと考えられる。

4. 漢方湯液中のガロタンニン

芍薬は漢方で繁用されるが、芍薬を配合した漢方処方湯液中で、加水分解をうけやすいガロタンニンがどのくらい残存しているか興味をひかれる。そこで、芍薬の配合割合の多い芍薬甘草湯、桂枝加芍薬湯の湯液中のガロタンニンを定量した。

結果は Table VI に示したとおりで芍薬甘草湯、桂枝加芍薬湯の湯液からは pentaGG と tetraGG のみが検

TABLE VI. Amounts of Gallotannins in Kanpo Prescriptions

	1 d dose (g)	Amount of gallotannin (mg/1 d dose)							Total
		Tetra- GG ^{a)}	Penta- GG	Hexa- GG	Hepta- GG	Octa- GG	Nona- GG	Deca- GG	
Shakuyaku- kanzo-to	12 [6] ^{b)}	2.26	19.14	—	—	—	—	—	21.40
Keishi-ka- shakuyaku-to	20 [6]	1.85	11.02	—	—	—	—	—	12.87

The gallotannin content in *Paeoniae Radix* used in this experiment was 0.93% (tetraGG 0.03%, pentaGG 0.38%, hexaGG 0.22%, heptaGG 0.16%, octaGG 0.09%, nonaGG 0.04% and decaGG 0.01%)

a) GG represents galloylglucose.

b) Values in bracket show amounts of *Paeoniae Radix* in 1 d dose.

出され、hexaGG より分子量の大きなガロタンニンは検出されなかった。1 日服用量中に含まれる pentaGG は芍薬甘草湯で 19.14 mg, 桂枝加芍薬湯で 11.02 mg であった。

芍薬から単離した hexaGG, heptaGG, octaGG を熱水で処理すると、デブシド結合が加水分解され pentaGG になることはすでに報告したが,⁸⁾ 湯液中のガロタンニンも加熱中に pentaGG に変化するものと考えられる。このように、湯液にはガロタンニンがおもに pentaGG として残存していることがわかったことから、漢方湯液の薬効を知るためには pentaGG の薬理作用や生理活性の研究が重要と思われる。

5. 地上部のガロタンニン含量

ガロタンニンは虫嬰など傷害組織に多く見い出されることから、これまで病理的タンニンとも呼ばれてきた。しかし、今回の分析でジャクヤクの新鮮な根にも乾燥重量当り 0.5—1.0% のガロタンニンが含まれていることがわかり、その生理的意義が注目される。そこで、ジャクヤク地上部についてガロタンニンの分布を調べた。

TABLE VII. Gallotannin Contents of Aerial Parts of Peony

	Gallotannin content (%)									Average ^{b)} degree of galloy- lation
	Tetra- GG ^{a)}	Penta- GG	Hexa- GG	Hepta- GG	Octa- GG	Nona- GG	Deca- GG	Undeca- GG	Total	
Stem	0.01	0.16	0.30	0.79	0.72	0.42	0.09	—	2.48 (0.96) ^{c)}	7.31
Petiol	0.01	0.15	0.26	0.92	0.94	0.69	0.19	0.02	3.19 (1.03)	7.55
Leaf	0.07	0.23	0.68	2.55	3.30	2.71	0.71	0.08	10.32 (3.05)	7.78
Calyx and ovary	0.36	1.23	1.98	4.48	3.68	1.96	0.47	0.07	14.23 (4.74)	7.03
Petal	0.49	3.67	5.03	7.70	4.23	1.65	0.22	0.02	23.01 (3.83)	6.56

a) GG represents galloylglucose.

b) Average number of galloyl groups per glucose.

c) Values in parenthesis show total gallotannin contents on fresh weight basis.

分析の結果は Table VII に示したとおりで、茎、葉柄、葉、子房とがく、花卉の順にガロタンニン含量が高く、花卉中には乾燥重量当り 23.01% のガロタンニンが検出された。これらの定量値を湿重量当りに換算すると、茎 0.96%, 葉 3.05%, 花卉 3.83% となり、それぞれ根の約 5, 15, 20 倍のガロタンニンを含んでいることがわかった。

ジャクヤクの花弁はヨーロッパで薬用にすることから¹⁰⁾花弁にガロタンニンが多いことは興味深い。

謝辞 本研究を行うにあたり貴重な試料を御恵与いただきました国立衛試北海道薬用植物栽培試験場、(株) 栃本天海堂、(株) 三国商店、(株) 長倉製薬に深謝いたします。

引用文献及び注

- 1) 本報を「タンニン及び関連化合物に関する研究 (第 27 報)」とする。第 26 報: G. Nonaka, H. Nishimura, I. Nishioka, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 印刷中。
- 2) S. Shibutani, T. Nagasawa, H. Oura, G. Nonaka, I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 874 (1981).
- 3) M. Nishizawa, T. Yamagishi, G. Nonaka, I. Nishioka, T. Nagasawa, H. Oura, *Chem. pharm. Bull.*, **31**, 2593 (1983).
- 4) 日本工業規格 JIS K6540 (植物タンニンエキス分析法)。
- 5) A. Mohammad, *Arch. Biochem.*, **24**, 270 (1949); S. Adachi, *J. Dairy Sci.*, **44**, 1375 (1961); M. L. Price, S. V. Scyoco, L. G. Butler, *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 1214 (1978); A. E. Hagerman, L. G. Butler, *ibid.*, **26**, 809 (1978); M. A. Joslyn, J. L. Goldstein, *ibid.*, **12**, 511 (1964); L. F. Marraville, O. Goldschmidt, *Anal. Chem.*, **26**, 1423 (1954); R. E. Burn, *Agronomy J.*, **1971**, 511.

-
- 6) T. H. Beasley, H. W. Ziegler, A. D. Bell, *Anal. Chem.*, **49**, 238 (1977).
 - 7) 北海道各地より集めたシャクヤクを北薬試で栽培し, 地上部の形態により系統選抜した.
 - 8) 厚生省薬務局監修, “一般用漢方処方の手引き,” 薬事日報社, 1975.
 - 9) M. Nishizawa, T. Yamagishi, G. Nonaka, I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 2850 (1980).
 - 10) ゲルハルト・マダウス, (山岸 晃, 長沢元夫訳), “ドイツの植物療法,” 日本古医学資料センター, 1974.