薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
105 (10) 996—1000 (1985)

生薬およびその製剤の理化学的品質評価に関する研究 (第3報)
サンシシおよびその製剤の分析

早川順子,* 野田直希, 山田貞二, 三上栄一, 宇野圭一
愛知県衛生研究所

Studies on Physical and Chemical Quality Evaluation of Crude Drugs
Preparations. III. Analysis of Gardenia Fruits and Its Preparations

JUNKO HAYAKAWA,* NAOKI NODA, SADAJI YAMADA,
EIICHI MIKAMI and KEIICHI UNO

Aichi Prefectural Institute of Public Health, 7-6, Nagare,
Tsuji-machi, Kita-ku, Nagoya, 462, Japan

(Received March 15, 1985)

Gardenia fruits and its commercial preparations were evaluated chemically by means of thin layer chromatography and high performance liquid chromatography.

Geniposide, one of major constituents, was used as a standard substance.

Recoveries of geniposide from model preparations were 98.5%.

The methods are considered to be useful for the identification and quantitative determination of geniposide in commercial preparations containing gardenia fruits.

Keywords—chemical evaluation; geniposide; gardenia fruit; crude Chinese drug; TLC; HPLC

サンシシ (*Gardeniae Fructus*) は日本薬局方にクチナシ *Gardenia jasminoides* ELLIS 又はその他同属植物 (*Rubiaceae*) の果実と記載され, 古来, 多くの漢方方剤に利胆, 止血, 消炎及び解熱・鎮痛等の目的で使用される重要な生薬である. また, 近年, 自然食品指向から飲食物の黄色天然着色料としてもその需要が増加の傾向にある.

著者らは, 前報¹⁾ で食品に着色料として使用されたクチナシ黄色色素を geniposide を指標として薄層クロマトグラフィー (TLC) 及び高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により定性した.

Geniposide²⁾ は緩和な瀉下作用³⁾ 及び胆汁分泌促進作用⁴⁾ を示すといわれ, サンシシの有効成分の1つと考えられる. 今回, 製剤の理化学的品質評価の一環として, サンシシ及びサンシシが処方された市販製剤について geniposide の定性・定量分析を行ったところ興味ある知見を得たので報告する.

1. TLC による Geniposide の定性

Geniposide を対照としてサンシシ及びサンシシが処方された製剤 (温清飲, 黄連解毒湯, 防風通聖散, 加味逍遙散) のメタノール抽出物の TLC による結果を Fig. 1 に示した. Fig. 1 より上記市販製剤から *R_f* 値約 0.4 に geniposide の赤紫色のスポットが検出された. また, サンシシを除いた処方 (7) からは geniposide と同一 *R_f* 値に他成分のスポットは認められなかった. スイシシ (水梔子) は *Gardenia jasminoides* ELLIS var. *grandiflora* NAKAI の果実で, サンシシと同様に使用されているが, TLC のパターンはサンシシとほとんど同様であった. さらに上記市販製剤に処方されているその他の生薬 13 種 (ジュツ, ブクリョウ, サイコ, ボタンピ, カンゾウ, ショウキョウ, ハッカ, マオウ, ダイオウ, レンシ, キキョウ, ケイガイ, ボウフウ) からは geniposide と同一 *R_f* 値にスポットは検出されなかった. なお, TLC による geniposide の検出限界は約 0.1 μ g であった.

2. HPLC による定量

分析条件の設定 Geniposide のメタノール溶液が 237.5 nm に極大吸収を示すことから検出波長を 238 nm

Fig. 1. TLC of MeOH Extracts of Gardenia Fruits and Its Preparations

TLC condition.

Pre-coated Silica gel 60 F₂₅₄ plate; solvent: CHCl₃-MeOH-H₂O (65:35:10, lower phase); spray reagent: *p*-anisaldehyde-H₂SO₄ (with heating at 150°C for 1 min).

1: geniposide, 2: fruits (Sanshishi, Japan, Kanto), 3: fruits (Sanshishi, Japan, Tokai), 4: fruits (Sanshishi, China, Kosei), 5: fruits (Suishishi, China, Kohoku), 6: fruits (Suishishi, China, Kosei), 7: authentic prepared Unseilin without gardenia fruit, 8: authentic prepared Unseilin, 9: Bofutsuseisan, 10: Kamishoyosan, 11: Orengedokutō.

Fig. 2. HPLC of MeOH Extracts of Gardenia Fruits and Its Preparations

HPLC condition

Column: LiChrosorb RP-18 (4.6 mm i.d. × 25 cm), mobile phase: CH₃CN-H₂O (15:85), flow rate: 0.6 ml/min, detector: UV 238 nm.

(a) geniposide, (b) fruits (Sushishi), (c) fruits (Suishishi), (d) authentic prepared Unseilin, (e) authentic prepared Unseilin without gardenia fruit, (f) commercial Unseilin, (g) commercial Orengedokutō, (h) commercial Bofutsuseisan, (i) commercial Kamishoyosan.

に設定した。Fig. 2 より geniposide (a) は保持時間 10.4 分にシャープなピークとして検出された。また、サンシシが処方されている市販製剤 (f-i) から同一保持時間にピークが検出された。このピーク部分を分取し、前述の条件で TLC により定性を行ったところ geniposide 以外のスポットは検出されなかった。また、温清飲からサンシシを除いた処方の製剤モデル (e) からは geniposide と同一保持時間を有する他成分のピークは認められなかった。検量線は 10—400 ng の範囲で原点を通る直線性を示した。

抽出溶媒の検討 サンシシを実験の部「試験溶

液の調製①」に従って抽出操作を行い、geniposide の最大収量値を 100 とした場合の各種溶媒による geniposide 抽出率を Table I に示した。その結果より、検体抽出溶媒としてメタノールを使用した。Geniposide の抽出率は検体を水浴上 1 時間加熱還流後一定に達した。

そこで、geniposide 含有量が 6.99% のサンシシを用いて調製した温清飲について回収実験を行った結果、geniposide の回収率は 98.5% (変動係数 3.14%) であった。

原料サンシシ中の Geniposide の定量 入手し得た生薬原料のサンシシ及びスイシシ 15 種について、HPLC により定量した結果を Table II に示したが、geniposide 含有量の最小量と最大量の差は 1.9 倍であった。

市販製剤中の Geniposide の定量 Table III に市販製剤中の geniposide の定量結果を示した。各製剤いずれも処方生薬の種類は厚生省内規の通りであるが、処方量が異なる。したがって、製品間の比較を容易にするために実測値の他に表示された原料生薬の処方量から製剤 100 g 中に含まれるサンシシの量 (g 数) を算出し、この値と geniposide の実測値をもとに、製造時サンシシが正確に処方されたと仮定して、そのサンシシ中の geniposide 含有量を換算した。

Table III より geniposide の定量値はエキス剤 (顆粒剤、散剤及び錠剤) と煎剤との間には大きな差が認められた。すなわち、エキス剤に使用されたサンシシ中の geniposide 含有量は、温清飲：0.41—4.31%，黄連解毒湯：

TABLE I. Yields of Geniposide Extracted from Gardenia Fruits by Various Solvents

Solvents	Yield (%)
H ₂ O	100.0
MeOH	100.0
70% EtOH	97.1
99.5% EtOH	68.9
Acetone	34.8
CHCl ₃	22.8
CHCl ₃ -MeOH (1:1)	100.0
CH ₃ CN	45.3
CH ₃ CN-MeOH (1:1)	96.2

TABLE II. Contents of Geniposide in Gardenia Fruits

Sample	Place of production origin	No.	Loss on drying (%)	Geniposide contents (%)
Sanshishi	Japan	1	6.0	3.70 (3.94) ^{a)}
		2	7.0	6.99 (7.52)
	China	3	7.5	5.93 (6.41)
		4	6.4	5.84 (6.24)
		5	6.3	4.92 (5.25)
		6	7.0	4.92 (5.30)
		7	6.2	5.72 (6.10)
		8	6.0	4.40 (4.68)
		9	6.4	5.86 (6.26)
Suishishi ^{b)}	China	1	7.2	4.97 (5.36)
		2	6.9	6.35 (6.82)
		3	6.6	6.11 (6.54)
		4	6.7	5.36 (5.75)
		5	5.9	3.91 (4.15)
		6	6.2	6.60 (7.05)

^{a)} The yields (%) calculated from the dried materials are given in the parentheses. ^{b)} Suishishi (*Gardenia jasminoides* ELLIS var. *grandiflora* NAKAI) is prescribed to the preparations in the same direction as Sanshishi.

TABLE III. Contents of Geniposide in Commercial Preparations Containing Gardenia Fruits

Sample	No.	Pharmaceutical forms	Loss on drying (%)	Geniposide (%)	Contents of gardenia fruits in the preparations (g/100 g)	Calculated geniposide in gardenia fruits used to the preparations (%)
Unseiin	1	Granule	0.93	0.73	30.0	2.43
	2	Granule	3.21	0.18	44.4	0.41
	3	Granule	0.85	0.36	25.0	1.44
	4	Granule	2.07	0.72	16.7	4.31
	5	Granule	2.57	0.11	16.7	0.66
	6	Tablet	3.50	0.27	16.7	1.62
	7	Tablet	1.92	0.41	37.0	1.11
	8	Tablet	1.48	0.38	37.0	1.03
	9	Decoction	8.56	0.46	8.3	5.54
	10	Decoction	8.70	0.52	8.3	6.27
Örengedokutō	1	Granule	0.68	0.72	40.0	1.80
	2	Granule	4.53	0.96	25.0	3.84
	3	Granule	0.71	0.60	22.2	2.70
	4	Granule	1.55	1.61	63.3	2.54
	5	Granule	0.65	0.80	22.2	3.60
	6	Granule	2.84	1.41	22.2	6.35
	7	Powder	1.99	1.16	26.7	4.34
	8	Tablet	1.95	0.59	33.3	1.77
	9	Tablet	2.26	1.04	74.1	1.40
	10	Tablet	2.50	1.50	50.0	4.50
	11	Decoction	7.81	1.77	28.6	6.19
Bōfūtsūseisan	1	Granule	0.78	0.20	24.0	0.83
	2	Granule	2.20	0.28	13.3	2.11
	3	Powder	2.69	0.21	20.0	1.05
	4	Tablet	0.32	0.28	10.0	2.80
	5	Tablet	3.37	0.17	39.2	0.43
	6	Tablet	2.87	0.19	22.3	0.85
	7	Decoction	10.51	0.21	4.7	4.47
Kamishōyōsan	1	Granule	1.34	0.60	40.0	1.50
	2	Granule	4.10	0.58	40.0	1.45
	3	Granule	3.06	0.85	22.2	3.83
	4	Granule	2.68	0.41	44.4	0.92
	5	Powder	2.70	0.51	66.7	0.76
	6	Tablet	2.54	0.50	66.7	0.75
	7	Decoction	9.40	0.56	8.9	6.29

1.40—6.35%, 防風通聖散: 0.83—2.80%, 加味逍遙散: 0.75—3.83% であり, 製造元あるいは製造ロットによるバラツキが大きく, また, 前述 (Table II) のサンシ中の geniposide 定量値 (3.94—7.52%) と比較して全般的に少ない. とくに処方生薬の種類が多い防風通聖散 (処方生薬数: 16 種), 加味逍遙散 (同: 10 種) にその傾向が著しい. このことは各製造元のエキス調製法及び剤形に至る製造工程の違いに起因するものと推定される.

一方, 煎剤は処方の種類を問わず定量値は 4.47—6.29% であり, この値は先の原料サンシのそれとほぼ一致している.

以上の結果, エキス剤の geniposide 含有量は煎剤のそれと比較し低含量のものが多かった. この原因を原料生薬のバラツキ, 成分の季節変動などに起因するものとは考えにくく, 各種剤形に製造する工程中のロス, 原料エキスの抽出不十分等もあり得ることを示唆している.

エキス剤は使用上の簡便さから頻用されるようになっているが、有効成分の全貌が解明されていない今日では原料生薬中の種々の成分が十分に抽出されていることが望ましい。そのためには、サンシンの主要成分であり、かつ薬理試験による有効性が確認されている geniposide などを指標として原料、製剤及び製造工程の品質管理を行うことが安定した製品の供給につながるものと考えらる。

実 験 の 部

1. 標準物質 Geniposide——前報¹⁾と同一操作で局方サンシン(中国産)より抽出、単離した。mp 163.5°C, 無色針状晶, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 203 nm (ϵ , 15943), 237.5 nm (ϵ , 16571).
 2. 試料 1) サンシン——①日本産2種, ②中国産7種.
2) スイシン——中国産6種.
3) サンシン含有製剤——i) エキス剤(顆粒, 散剤又は錠剤): ①温清飲7社8製品, ②黄連解毒湯9社10製品, ③防風通聖散6社6製品, ④加味逍遙散6社6製品.
ii) 煎剤(ティーバッグ型): ①温清飲1社2製品, ②黄連解毒湯, ③防風通聖散, ④加味逍遙散各1社1製品.
 3. 試薬 1) ミリポアフィルター FH (0.5 μm) (日本ミリポア工業 K.K.).
2) TLC プレート——シリカゲル 60 F₂₅₄ (0.2 mm, メルク Art. 5554).
3) 発色試薬——*p*-アニスアルデヒド-硫酸試薬.⁵⁾
4) その他の試薬及び有機溶媒は市販の特級品を使用した.
 4. 装置 1) 高速液体クロマトグラフ——島津製作所 LC-3 型.
2) 検出器——島津製作所 SPD-2A.
3) 粉碎器——NRK 分析粉碎器 R-8.
 5. 分析操作法 1) 試料溶液の調製——①サンシン: 粉碎したサンシン約 0.2 g を精密に秤り, メタノール 150 ml を加え, 水浴上1時間加熱還流する。冷後濾過し, 残渣を充分メタノールで洗い, 濾液と洗液を合する。濾液は 50°C 以下減圧濃縮後, メタノールを加えて 100 ml とし試料溶液とする。
② サンシン含有製剤: 試料を混和・粉碎したのち, 表示量からサンシン 0.5—1.0 g に相当する量を精秤し, メタノール 200, 150, 150 ml で①と同様に加熱還流抽出し, 以下同様の操作を行い, 最後にメタノールを加えて 200 ml とし試験溶液とする。
2) TLC による定性——展開溶媒として, クロロホルム-メタノール-水 (65:35:10) の下層を用い展開後, 発色試薬として *p*-アニスアルデヒド-硫酸試薬を噴霧し, 150°C 1 分間加熱する。
3) HPLC による定量——① 検量線: Geniposide のメタノール溶液を濃度別に4段階2系列調製し, 各々 2 μl (① 10, 20, 30, 40 ng 含有, ② 100, 200, 300, 400 ng 含有) を HPLC に注入し, ピーク高から絶対検量線法で作成した。
② 測定条件 カラム: Hiber column LiChrosorb RP-18 (5 μm , 4.6 mm i.d. $\times$ 25 cm, メルク), 移動相: アセトニトリル-H₂O (15:85), 流速: 0.6 ml/min, カラム温度: 室温, 測定波長: 238 nm.
③ 製剤モデルからの回収実験: Geniposide 含量既知のサンシンを使用し, 温清飲 (1 日量: トウキ 4.0 g, ジオウ 4.0 g, シャクヤク 4.0 g, センキュウ 4.0 g, オウレン 1.5 g, オウゴン 3.0 g, サンシン 4.0 g, オウバク 1.5 g) 及び対照品として上記処方よりサンシンを除いたものを調製し, HPLC を用いて定量した。
- 謝辞 本研究に当り御助言をいただきました静岡薬科大学 村田敏郎教授, 御校閲下さいました摂南大学薬学部 宮原一元教授に深謝します。また, 実験材料の一部を提供していただきました松浦薬業株式会社に感謝します。

引 用 文 献

- 1) 野田直希, 山田貞二, 早川順子, 宇野圭一, 衛生化学, **29**, 7 (1983).
- 2) H. Inoue, S. Taguchi, T. Endo, *Tetrahedron Lett.*, **1969**, 2347; H. Inoue, S. Saito, T. Shingu, *ibid.*, **1970**, 3581; T. Endo, T. Taguchi, *Chem. Pharm. Bull.*, **21**, 2684 (1973).
- 3) 難波恒雄, “原色和漢薬図鑑(上),” 保育社, 大阪, 1980, p. 189.
- 4) 日本公定書協会編, “第10改正日本薬局方解説書,” 廣川書店, 東京, 1981, D-373.
- 5) E. Stahl, U. Kaltenbach, *J. Chromatogr.*, **5**, 351 (1961).