薬 学 雑 誌
YAKUGAKU ZASSHI
106 (9) 837-839 (1986)

3-Cyanopropyltrichlorosilane 処理薄層クロマトグラフィー用プレートの評価.

シャクヤク中ペオニフロリン分析への応用

岡本光美,^{*,a} 野口 衛^b

岐阜県立多治見病院,^a 国立衛生試験所^b

Evaluation of 3-Cyanopropyltrichlorosilane Treated Thin Layer Chromatographic Plates. Application to Analysis of Paeoniflorin in Paeony Roots

MITSUYOSHI OKAMOTO^{*,a} and MAMORU NOGUCHI^b

Gifu Prefectural Tajimi Hospital,^a 5-161, Maehata-cho, Tajimi, 507, Japan

and National Institute of Hygienic Sciences,^b Kamiyoga

1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo, 158, Japan

(Received March 26, 1986)

Paeoniflorin contained in Paeony Root was analyzed by thin layer chromatography (TLC) by using a cyanoalkyl chemically bonded stationary phase, prepared by treated of pre-coated silica gel phase with 3-cyanopropyltrichlorosilane (CN). The CN-treated TLC plate was applied to the evaluation of the commercial "Paeony root". By migration with methanol-water (10 : 90, v/v) on the CN-treated TLC plate, paeoniflorin spot on the chromatogram was measured with a TLC densitometer equipped with a dual-wave length TLC scanner at λ_s 233 nm (sample) and λ_R 350 nm (reference). By this method, the amount of paeoniflorin was measured within 3% error over the range of 0.5–10 μ g, and the limit of detection was 0.5 μ g.

Keywords — paeoniflorin; Paeony root; 3-cyanopropyltrichlorosilane treated silica gel; TLC; quantitative analysis; UV scanning

緒 言

近年、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 用充填剤を薄層クロマトグラフィー (TLC) プレートに塗布し、そのプレートの性質を利用した数多くの研究が報告されている。しかしシアノアルキルシラン処理シリカゲルプレートを用いる TLC の報告は数例にすぎない。¹⁾

一方、シャクヤク (Paeony root) は漢方製剤中によく配合されている生薬の1つである。その品質管理の目的で、多数の試料を同時分析するのに TLC は、簡易で有効な手段と考えられる。しかし、吸着性の強いシリカゲルを担体とする TLC の“*R_f* 値の再現性”は相対湿度に大きく影響を受けることが報告されている。²⁾ 相対湿度の影響による、*R_f* 値の変動を小さくするためには、シリカゲル TLC プレート表面を適当に化学処理することも1つの方法と考えられる。今回、3-cyanopropyltrichlorosilane (CN) 処理 TLC プレートをを用い、シャクヤク中の有効成分の1つであるペオニフロリン (paeoniflorin, Pa) 分析への応用を検討した。

実 験 方 法

1. 試料及び試薬 Pa 標品は柴田らの方法³⁾ に準じて作成した。シャクヤクは Table I に示した計3種を用いた。その他の試薬及び試液は特級品をそのまま使用した。

2. CN 処理 TLC プレート 前報⁴⁾ に従い Silica gel 60 precoated plate (Merck, Art. 5631; Darmstadt, FRG, 10×10 cm) の4枚を、CN 1.92% トルエン溶液 260 ml 中に浸し、室温で48時間放置後、作成した。

3. 装置及び器具 TLC 測定は島津 DR-2 型データレコーダを装備した島津 CS-930 型2波長クロマトスキャナ、及び島津 C-R1A 型クロマトバックを装備した島津 CS-910 型2波長クロマトスキャナを用いて行った。

4. **TLC 条件** メタノール-水 (10:90 v/v) 溶離液, 室温条件下で展開したプレートは, 溶媒を十分に揮散させたのち λ_s (sample) を 233 nm, λ_R (reference) を 350 nm とし測定した。

5. **定量法** Pa 20 mg 相当量を精秤し, 50% メタノール溶液 10 ml を加え 30 分間, 超音波抽出後, 遠心分離 (1500 g, 5 分間) した。残渣に 50% メタノール 8 ml を加え同様に処理し, 全抽出液を合わせ, 50% メタノールで全量を 20 ml とし試料溶液とした。一方, Pa 標準品約 5 mg を精秤し 50% メタノールを加え, 5 ml とし Pa 標準溶液とした。

結果及び考察

1. 検出波長の検討

Pa 1 mg/ml を CN 処理 TLC プレートにスポットして, 実験方法 4 の条件下展開後の Pa 吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。Fig. 1 にみられるように, 233 nm 付近に紫外吸収スペクトル (UV) の吸収極大がみられたため, 測定は λ_s を 233 nm とし, 350 nm 付近の UV 吸収が小さい波長を λ_R とした。

2. 展開溶媒の検討

HPLC による Pa 分析に関する赤田ら,^{5b)} 清水ら,^{6a)} 浅川ら^{6b)}の報告を参考に, メタノール-水系, エタノール-水系, アセトニトリル-水系の組成比を変化させ検討した結果, メタノール-水 (10:90 v/v%) とした。

3. TLC クロマトグラム

CN 処理 TLC プレートをを用い, ショクヤク実試料について, 展開後の TLC クロマトグラムを Fig. 2 に示す。なお未処理 TLC プレートをを用い, 同一 TLC 条件下で展開後のクロマトグラムは Pa の分離が困難であり, 測定不可能であった。

4. 検量線の作成

検量線は定量法条件下, Pa 0.5—10 μ g の濃度範囲で相関係数 0.9938 を示し, 同一条件下での 4 μ g Pa の繰返し測定値は CV=2.32% ($n=9$) の結果を示した。

5. 実際試料への応用

市販のショクヤク試料について, 西澤ら⁷⁾の方法を準用して抽出後, 本法の実際試料への応用結果の一部を Table I に示した。以上のように CN 処理 TLC プレートは, ショクヤクの主要な有効成分と考えられている Pa の簡易測定法として使用可能なことが示唆された。さらに CN 処理 TLC プレートと, 従来使用されている未処理 TLC プレートの両者を相互に組み合わせて使用すれば, 分離挙動の違いによりショクヤク中 Pa 分析の信頼性をいっそう向上させることが期待できるものと考えられた。なお本法はとりわけ GUP (good using practice, 医

Fig. 1. Absorption Spectrum of Paeoniflorin on the 3-Cyanopropyltrichlorosilane Treated Thin Layer Chromatographic Plate

Fig. 2. Densitometric Recording of Paeoniflorin in Paeony Root on the 3-Cyanopropyltrichlorosilane Treated Thin Layer Chromatographic Plate

Pa, paeoniflorin; sample, sample A in Table I; mobile phase, CH₃OH-H₂O (10:90 v/v); detection, λ_s (sample) = 233 nm; λ_R (reference) = 350 nm.

TABLE I. Relationship of Paeoniflorin Contents in Commercial Paeony Roots versus This Method

Sample	Sample taken (μg)	Paeoniflorin added (μg)	Paeoniflorin found (μg)	Recovery (%)	Paeoniflorin content (%)	CV (%)
A	49.8	0	2.13			
(n=9)		1.02	3.03—3.11	94.4—98.1	4.28	2.73
B	60.2	0	2.62			
(n=9)		1.02	3.50—3.60	94.7—98.5	4.35	3.35
C	55.3	0	1.60			
(n=9)		1.02	2.53—2.58	94.4—97.5	2.89	2.36

薬品の消費者における品質管理に関する基準), GDP (good dispensing practice, 医薬品の調剤及び品質管理に関する基準)⁸⁾などの薬品管理の基礎試験, 品質管理試験業務, さらに病院で調剤後の薬剤監査などにも応用可能なことが示唆された。

謝辞 貴重な試料を御恵与下さいましたカネボウ薬品株式会社及びアスゲン製薬株式会社に深謝致します。

引用文献及び注

- 1) T. Omori, M. Okamoto, F. Yamada, *HRC CC, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, **6**, 47 (1983); W. Jost, H. E. Hauck, "Proceeding of the 3rd International Symposium on HPTLC," ed. R. E. Kaiser, Wuerzburg (FRG), April 1985.
- 2) 大森竹塩, 分析化学, **29**, 189 (1980); 原 昭二, 大森竹塩, 成松一久, "F. ガイス液体クロマトグラフィーの最適化," 講談社, 1980.
- 3) S. Shibata, M. Nakahara, *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 372 (1963); S. Shibata, M. Nakahara, N. Aimi, *ibid.*, **11**, 379 (1963); N. Aimi, M. Inaba, M. Watanabe, S. Shibata, *Tetrahedron*, **25**, 1825 (1969); M. Kaneda, Y. Iitaka, S. Shibata, *ibid.*, **28**, 4309 (1972).
- 4) M. Okamoto, F. Yamada, T. Omori, "Advances in Chromatography," ed. A. Zlatkis, Elsevier, 1982, p. 177; *idem*, *Chromatographia*, **16**, 152 (1982); *idem*, *HRC CC, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, **5**, 163 (1982).
- 5) 赤田良信, 河野貞子, 棚瀬弥一郎, 薬誌, **99**, 858 (1979); *idem*, *ibid.*, **100**, 224 (1980); *idem*, *ibid.*, **100**, 958 (1980).
- 6) a) 清水岑夫, 橋本竹二郎, 石川 慧, 黒崎文也, 森田直賢, 薬誌, **99**, 432 (1979); b) 浅川直樹, 服部禎一, 上山政昭, 篠田愛信, 三宅康夫, 薬誌, **99**, 598 (1979).
- 7) 西澤 信, 山岸 喬, 堀越 司, 本間尚治郎, 生薬誌, **33**, 65 (1979).
- 8) 杉原正泰, 大倉輝明, 月刊薬事, **24**, 23 (1982); 土井 脩, *ibid.*, **24**, 29 (1982); 佐伯孝雄, *ibid.*, **24**, 35 (1982); 林 弘祐, *ibid.*, **24**, 41 (1982); 福地 坦, 塩津玲子, *ibid.*, **24**, 49 (1982).