

# 高速液体クロマトグラフィーによる甘草含有製剤中のグリチルリチンの定量

福島 悦子, 矢崎 廣久, 久門 勝利

## Determination of Glycyrrhizin in Pharmaceutical Preparations including Glycyrrhizae Radix by High Performance Liquid Chromatography

Etsuko FUKUSHIMA, Hirohisa YAZAKI  
and Katsutoshi KUMON

### I はじめに

甘草は、鎮痛・鎮けい薬、胃腸薬、風邪薬等と広繁な配合製剤に用いられ使用頻度の高い生薬であると共に、甘味料添加物として食品にも使用されている。

著者らは生薬エキス製剤を化学的に品質評価するため、代表的な有効成分を用いた成分分析を行っているが、その一環として甘草を含有する市販製剤について、その主成分であるグリチルリチン(G)の定量を試みた。Gの定量法として比色法、薄層クロマトグラフ(TLC)法<sup>1,2)</sup>、ガスクロマトグラフ(GC)法、高速液体クロマトグラフ(HPLC)法<sup>3-12)</sup>などが報告されているが、最近ではHPLC法を用いる分析法が最も多く、主流となっている。

既報<sup>13)</sup>において著者らは、生薬及び製剤を超音波抽出とHPLC法を組み合わせた簡便で効率的な方法により分析を行ったが、今回も甘草含有市販製剤について、同様な方法を試みたところ良好な成績が得られたので報告する。

### II 実験方法

#### 1. 試料

1993年11月~12月に県内の医薬品販売業者の店頭で入手した生薬エキス製剤19処方24検体を使用した。

#### 2. 試薬

G標準品：和光純薬工業(株)製生薬試験用標準品を用いた。

アセトニトリル(AN)：和光純薬(株)製高速液体クロマトグラフ用試薬を用いた。

メチルアルコール(MeOH)、酢酸(AcOH)：試薬特級を用いた。

#### 3. 装置

HPLC装置：日本分光工業(株)製MULTI-340型ホットダイオードアレイ検出器(データ処理システム付き)、LC800型ポンプ

超音波発生器：シャープ製UT-304型

粉碎器：柴田製SCM-40型

#### 4. 試料溶液の調製

試料を粉碎器にかけ均質な粉末とした後、約0.5gを精秤し50%MeOHを加え30分間超音波抽出し、0.45 $\mu$ mメンブランフィルターを通してHPLC用試料溶液とした。

#### 5. HPLC条件

カラム：日本ミリポア製Puresil C18, 4.6mm $\times$ 15cm

移動相：2%AcOH-AN (32+18)

流速：1.0ml/min

波長範囲：200-350nm (254nmで定量)

カラム温度：30 $^{\circ}$ C

### III 結果及び考察

調査試料として甘草を含有する市販製剤19処方・24検体の定量を行った。今回用いた分析方法は著者らが日常検査において繁用している超音波抽出-HPLC法によったが、製剤からの抽出溶媒及びHPLCの移動相については、漢方技術研究会<sup>9)</sup>の方法に準じた。

分析結果は表1に示した。また、標準液、小柴胡湯、芍薬甘草湯及び防己黄耆湯のクロマトグラムを図1~4に示した。これらクロマトグラムからも明らかな通り、種々の配合処方中に甘草のG成分を妨害する夾雑ピークは見られず、分離の良い単一ピークが得られた。ただし、19処方のうち「十味敗毒湯」と「加味逍遙散」については、Gピーク付近に若干の夾雑ピークによる妨害を認めたため、コンピューターのデータ処理ソフトを用いて「ピーク分離」の操作を行った。従って、HPLCの分離条件については更に若干の検討を要する。

G含有量については、すべての製剤について、それぞれの承認書に記載されている「規格値」の範囲内の値となった。また、これらG値を、原料甘草中のGに換算すると各製剤により0.6~4.1%と幅広い値を示した。志村ら<sup>11)</sup>はエキス製剤中のG値は0.7~3.0%、相楽ら<sup>9)</sup>は0.42~1.54%(6処方)であったと報告している。また赤田ら<sup>4)</sup>は製剤中のG値で5.4%、小川ら<sup>5)</sup>は4.9~5.9%と報告している。従って今回分析した市販生薬エキス製剤から算出したG含有値は、「規格値」及び報告例と比較してもきわめて近い値であり、満足のいく結果であった。

表1 甘草含有製剤中のグリチルリチン分析結果

No.	一般名	規格値			測定値		
		製剤中G (mg/g)	甘草中G (mg/g)	甘草中G (%)	製剤中G (mg/g)	甘草中G (mg/g)	甘草中G (%)
1	小柴胡湯	2.8~6.0	10.5~22.5	1.1~2.3	4.8	18.0	1.8
2	〃	3.3~6.9	12.4~25.8	1.2~2.6	3.7	13.9	1.4
3	〃	2.3~5.4	8.6~20.2	0.9~2.0	3.4	12.7	1.3
4	苓桂求甘湯	2.6~6.8	7.8~20.4	0.8~2.0	3.8	11.4	1.1
5	〃	2.6~7.4*1	5.9~16.7	0.6~1.7	6.2	14.0	1.4
6	補中益氣湯	1.0~4.0	0.7~24.0	0.7~2.4	1.5	9.0	0.9
7	〃	2.5~5.9	12.5~29.5	1.3~3.0	3.6	18.0	1.8
8	桂枝加求附湯	1.0~2.5	3.0~7.5	0.3~0.8	2.1	6.3	0.6
9	〃	3.3~5.0	19.2~29.1	1.9~2.9	3.3	19.2	1.9
10	五淋散	1.0~2.6	3.3~8.7	0.3~0.9	2.1	7.0	0.7
11	六君子湯	1.4~4.1	5.7~16.7	0.6~1.7	1.4	5.7	0.6
12	釣藤散	0.7~3.2	6.7~30.8	0.7~3.1	1.4	13.5	1.4
13	清上防風湯	0.5~1.4	4.0~11.2	0.4~1.1	1.4	11.2	1.1
14	荊芥連翹湯	1.0~3.0	6.4~19.2	0.6~1.9	2.2	14.1	1.4
15	大黃甘草湯	4.0~13.0	25.6~83.3	2.6~8.3	6.4	41.0	4.1
16	小建中湯	0.8~2.2	10.8~29.7	1.1~3.0	1.9	25.7	2.6
17	葛根湯加川弓辛夷	1.7~5.0	8.2~24.0	0.8~2.4	4.3	20.7	2.1
18	十味敗毒湯	1.6~4.9	4.4~13.5	0.4~1.4	3.1	8.6	0.9
19	甘草湯	10~57	11.2~64.1	1.1~6.4	23.0	25.9	2.6
20	加味逍遙散	2.0~4.0	8.0~16.0	0.8~1.6	3.2	12.8	1.3
21	芍薬甘草湯	2.5~8.0*2	3.8~12.2	0.4~1.2	12.5	19.1	1.9
22	葛根湯	2.2~6.6	9.9~29.7	1.0~3.0	4.2	18.9	1.9
23	防己黃耆湯	1.5~2.5	6.0~10.0	0.6~1.0	2.9	11.6	1.2
24	柴胡桂枝湯	1.6~4.7	12.6~37.0	1.3~3.7	4.5	35.4	3.5

\* 1 : 自社規格値5.2~15.7mg/g

\* 2 : 自社規格値6.5~19.6mg/g

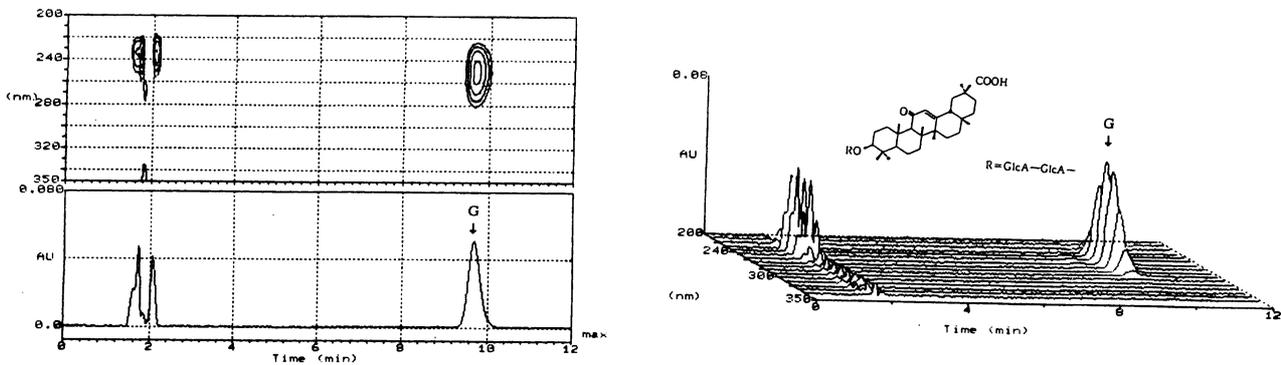


図1 グリチルリチン標準液の等高線と3次元クロマトグラム

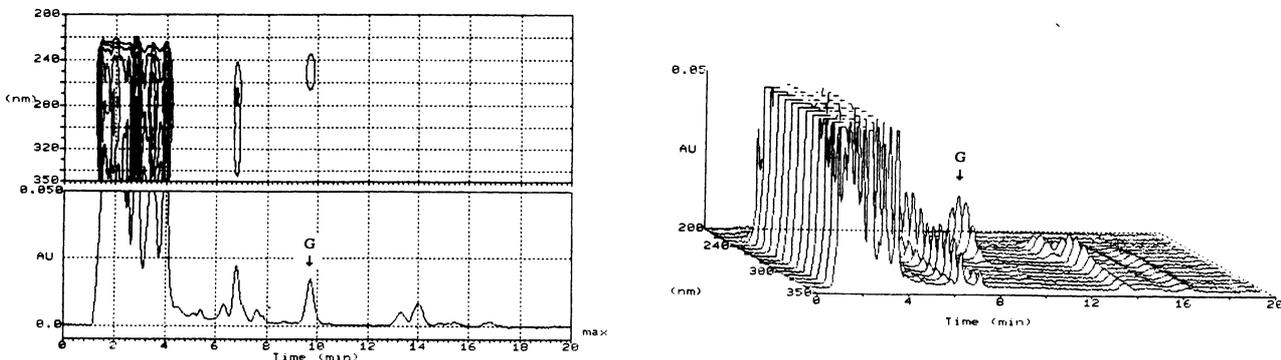


図2 小柴胡湯の等高線と3次元クロマトグラム

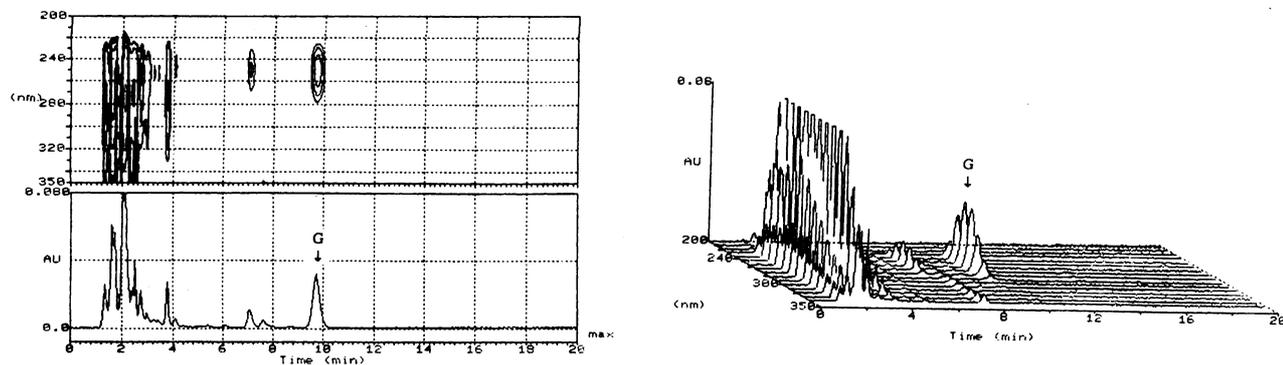


図3 芍薬甘草湯の等高線と3次元クロマトグラム

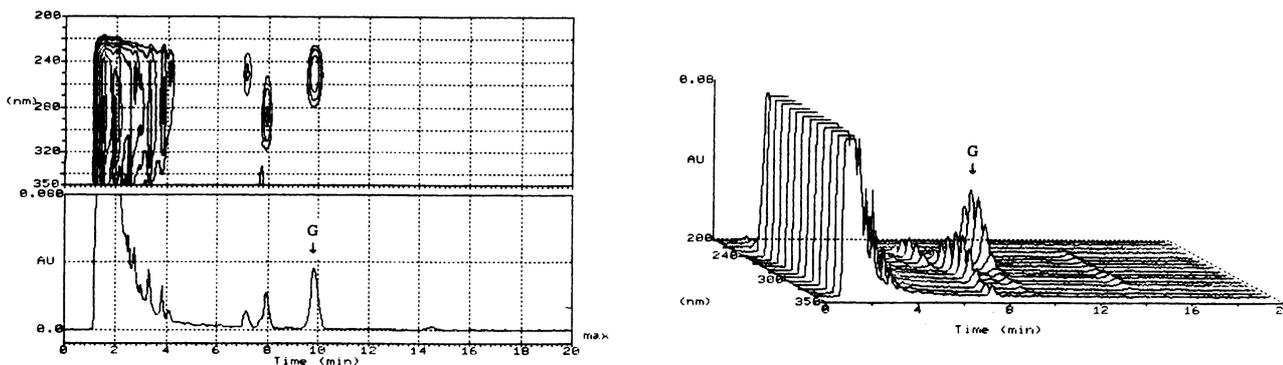


図4 防己黄耆湯の等高線と3次元クロマトグラム

#### IV まとめ

19処方・24検体について、その有効成分であるGの定量分析を行った。分析方法は超音波抽出-HPLC法を用いたが、簡便迅速で精度の良い分析法として使用出来ることを認めた。また、市販エキス製剤中のG含有量は、承認書による「規格値」に適合する値であったが、甘草中のG値に換算すると各製剤により幅広い値(0.6~4.1%)であったのでその原因、理由等について再度検討したい。

#### 謝 辞

市販製剤の入手にあたり御協力いただきました千葉県業務課、及び各保健所業務担当者の方々に深謝いたします。

#### V 文 献

- 1) 原田正敏編集 生薬の成分定量: 広川書店 (1991)
- 2) 難波恒雄, 吉崎正雄, 富森毅, 坪井正彦, 加藤公代: 生薬の品質に関する基礎研究 (第4報) 水素炎イオン化検出器を用いた薄層クロマトグラフィーによる生薬成分の定量法 その1 甘草中のGlycyrrhizinの定量, 薬誌, 96(8), 809-814 (1975)
- 3) 日本薬局方解説書第12改正: 広川書店 (1991)
- 4) 赤田良信, 棚瀬弥一郎: 高速液体クロマトグラフ法による甘

草中のグリチルリチンの定量, 薬誌, 96(8), 1035-1037 (1976)

- 5) 小川俊太郎, 吉田明義, 三谷洋子: 生薬主成分の分析学的研究 (第1報) 甘草中グリチルリチンの高速液体クロマトグラフィーによる定量, 薬誌, 96(1), 122-124 (1976): (第2報) ibid, 96(12), 1488-1491 (1976)
- 6) 相楽和彦, 伊東祐二, 大島俊之, 村山普, 糸川秀治: イオンペアクロマトグラフィーによる甘草配合の漢方剤中のグリチルリチンの定量, 生薬, 40(1), 77-83 (1986)
- 7) 山本恵一, 堀場聖子, 人見信之: 生薬成分定量用標品の品質について, グリチルリチン酸モノアンモニウム, 第14回生薬分析討論会講演要旨, 50-54 (1985)
- 8) 漢方技術研究会: 各種指標成分を用いた漢方エキス剤の分析法と品質管理, 第16回生薬分析討論会講演要旨, 35-41 (1987)
- 9) 漢方技術研究会: 漢方エキス中の指標成分の定量 (その1) - 高速液体クロマトグラフ法によるグリチルリチンの定量とその定量精度について -, 第19回生薬分析討論会講演要旨, 30-41 (1990)
- 10) 相楽和彦, 半田光一, 増田光宏, 田辺麻子, 水谷卓: 甘草中のグリチルリチン定量法について, 第21回生薬分析討論会講演要旨, 51-60 (1992)
- 11) 志村恭子, 佐藤誠, 今村倫子, 坂井享, 大熊和行, 森善宣, 倉田英雄: 漢方, 生薬製剤中のグリチルリチン酸およびペオニフロリンの定量, 第30回全国衛生化学技術協議会講演集, 144-145 (1993)

- 12) 岡田憲三, 田中順, 宮下晶, 井元勝恵: 高速液体クロマトグラフィーによる甘草成分の分析 (第1報) グリチルリチンの定量, 薬誌, 101(9), 822-828 (1981)
- 13) 福島悦子, 矢崎廣久, 久門勝利: 芍薬含有製剤中のペオニフロリンの定量, 千葉衛研報告, 第17号, 41-44 (1993)