

HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討 (第 6 報)

- 生薬成分について -

Study on shortening of analysis time in high performance liquid Chromatography. VI.

- Crude drugs -

野本 有沙 株式会社廣貫堂
Arisa NOMOTO Kokando Co., Ltd.
堀井 周文 クラシエ製薬株式会社
Chikafumi HORII Kracie Pharma, Ltd.
田中 啓介 クラシエ製薬株式会社
Keisuke TANAKA Kracie Pharma, Ltd.
古寺 篤子 小太郎漢方製薬株式会社
Atsuko KODERA Kotaro Pharmaceutical Co., Ltd.
福田 大輔 北日本製薬株式会社
Daisuke FUKUTA kitanihonseiyaku Co., Ltd.
堀 祐輔 北日本製薬株式会社
Yusuke HORI kitanihonseiyaku Co., Ltd..

横田 明佳 株式会社廣貫堂
Sayaka YOKOTA Kokando Co., Ltd.
永井 喜美 株式会社延寿堂
Kimi NAGAI Enjudo Co., Ltd.
中山 恵理 第一薬品工業株式会社
Eri NAKAYAMA Daiichi Yakuhin Kogyo Co., Ltd.
関本 直也 キョクトウ株式会社
Naoya SEKIMOTO Kyokuto Co., Ltd.
横田 洋一 富山県薬事研究所
Yoichi YOKOTA Toyama Prefectural Institute for
Pharmaceutical Research

結言

医薬品の製造管理及び品質管理における分析では多検体を処理する必要性から、1 検体当たりの分析時間の短縮化が求められている。また、近年では、経済状況の悪化に起因するアセトニトリルの価格高騰といった事象から使用溶媒の削減にも注力する必要がある。

これまでに高速液体クロマトグラフィー(HPLC)に使用する ODS カラムを日本薬局方等の公定書で汎用される粒径 5 μ m(内径 4.6mm、長さ 150mm)から粒径 3 μ m(内径 4.6mm、長さ 75mm)に変更する事で、分析時間の短縮化と移動相溶媒の削減を検討してきた^{1)~5)}。

今回の検討対象成分として、センソ配合製剤である六神丸中のブフォステロイドについて、これまでの報告^{6),7)}を応用し検討した。また、八味丸等に配合されるサンシュユの日本薬局方のロガニンの定量法について検討を行った。

実験方法

1. 六神丸中のブフォステロイド

1) カラムの検討

(1) 試薬及び試料

ブファリン、レジブフォゲニン及びシノブファギン標準物質は和光純薬工業株式会社製の生薬試験用を、生薬は第十六改正日本薬局方(以下 JP16 とする)の生薬総則及び医薬品各条(生薬等)に適用する生薬を使用した。

(2) 標準溶液及び試料溶液

標準溶液

ブファリン(以下 B)、レジブフォゲニン(以下 R)及びシノブファギン(以下 C)をそれぞれ 10mg 精密に量り、それぞれにアセトニトリルを加えて超音波で溶かし、正確に 50mL とし B 標準原液、R

標準原液及びC標準原液とした。これらの液をそれぞれ2.5mL、2.5mL、5mL正確に量り、薄めたアセトニトリル(1→2)を加えて正確に50mLとし、標準溶液とした。

混合試料

モデル製剤(Table1)の処方からセンソのみを除いた混合試料を作製し、その34.4mgを精密に量り、薄めたアセトニトリル(1→2)約8mLを加えて15分間超音波照射した後、15分間振り混ぜ、さらに薄めたアセトニトリル(1→2)を加えて正確に10mLとした。この液を0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過し、ろ液を混合試料溶液とした。

ジンコウ溶液

ジンコウ末20mgを精密に量り、薄めたアセトニトリル(1→2)約40mLを加えて15分間超音波照射した後、15分間振り混ぜ、さらに薄めたアセトニトリル(1→2)を加えて正確に50mLとした。この液を0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過し、ろ液をジンコウ溶液とした。

混合試料+標準溶液

センソを除いた混合試料172mgを精密に量り、薄めたアセトニトリル(1→2)約40mLを加えて15分間超音波照射した後、15分間振り混ぜ、B標準原液、R標準原液及びC標準原液をそれぞれ2.5mL、2.5mL、5mL正確に加え、さらに薄めたアセトニトリル(1→2)を加えて正確に50mLとした。この液を0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過し、ろ液を混合試料+標準溶液とした。

(3) 試験条件

JP16に準拠し、下記のとおりで検討した。

検出器：紫外吸光光度計(測定波長：300nm)

移動相：薄めたリン酸(1→1000)/アセトニトリル混液(11：9)

カラム温度：40℃

流量：毎分1.0mL

注入量：10 μ l

カラム：Table2に示した

Table2 使用カラム

カラム名	粒子径(μ m)	エンドキャップ処理	内径×長さ(mm)	メーカー
Develosil ODS-A-3	3	なし	4.6×75	野村化学
Inertsil ODS-P	3	なし	4.6×75	ジエールサイエンス
Cadenza CL-C18	3	なし	4.6×75	Imtakt
Wakosil-II 3C18 HG	3	あり	4.6×75	和光純薬工業
Cadenza CD-C18	3	あり	4.6×75	Imtakt

Table1 モデル製剤の処方(mg)

センソ	20	
ジャコウ	20	↑
ジンコウ	20	
ニンジン	20	混
ユウタン	20	合
ゴオウ	20	試
サリチル酸	10	料
寒梅粉	20	
米の粉	40	
薬用炭	2	↓
計	192	172

2) 検量線及び添加回収試験

(1) 検量線

B 標準原液、R 標準原液及び C 標準原液それぞれ 1、2、2.5、4 及び 5mL をそれぞれ正確に量り、薄めたアセトニトリル (1→2) を加えてそれぞれ正確に 50mL とし、検量線溶液とした。

(2) 添加回収試験

日局センソ約 50mg を精密に量り、薄めたアセトニトリル (1→2) 約 20mL を加えて 15 分間超音波照射した後、15 分間振り混ぜ、さらに薄めたアセトニトリル (1→2) を加えて正確に 25mL とし、センソ原液とした。混合試料約 86mg に、センソ原液 2.5、5、7.5mL (表示量に対し 50%、100%、150%) を正確に加え、15 分間超音波照射した後、15 分間振り混ぜ、さらに薄めたアセトニトリル (1→2) を加えて正確に 25mL とし添加回収試料溶液とした。別に、センソ原液 5mL を正確にとり、薄めたアセトニトリル (1→2) を加えて正確に 25mL とし添加回収標準溶液とした。

(3) 試験条件

検出器、移動相、カラム温度、流量及び注入量については、1-1) - (2) と同様

カラム：Cadenza CD-C18 長さ 75mm×内径 4.6mm 粒径 3µm

3). 市販のセンソ配合製剤の分析

(1) 試料

ジンコウ配合の市販のセンソ配合製剤 10 種 (①～⑩) を入手し、実験に用いた。各種製品の配合成分を Table3 に示した

(2) 標準溶液及び試料溶液

試料溶液：前法 2) に準じ、市販のセンソ配合製剤は粉碎せず、そのまま試料とした。各製剤 20 粒をとり、その質量を精密に量り、1 粒の平均質量を算出した後、センソ約 20 mg に相当する粒数を取り、その質量を精密に量り、薄めたアセトニトリル (1→2) 30mL を加えて 15 分間超音波照射した後、15 分間振り混ぜ、薄めたアセトニトリル (1→2) を加えて正確に 50mL とし、遠心分離した後、上澄液を 0.45µm メンブランフィルターでろ過し、ろ液を試料溶液とした。

標準溶液：1-1) - (2) に記載する標準溶液と同様に調製する。

HPLC 条件：1-2) と同様。

本研究の共同研究者 4 社 (A、B、C、D) で同様の操作により試験を行った。各社で使用した分析機器は以下の通りである。

A 社及び C 社…LC-2010A HT (島津製作所製)、B 社…LC-20AD (島津製作所製)

D 社…UPLC H CLASS (Waters)

Table3 各種製品における配合成分

製品	成 分
①	サフラン、羚羊角、シンジュ、動物胆、ジンコウ
②	サフラン、ユウタン、ジンコウ
③	ニンジン、ユウタン、ジンコウ
④	ユウタン、ガジュツ、カンゾウ、オウレン、ジンコウ
⑤	ユウタン、ジンコウ
⑥	ユウタン、ガジュツ、カンゾウ、オウレン、ジンコウ
⑦	ユウタン、シンジュ、ロクジョウ、ジンコウ
⑧	シンジュ
⑨	ユウタン、シンジュ、アセンヤク、ジンコウ
⑩	ユウタン、シンジュ、犀角、鹿茸、反鼻、竜骨、竜腦、ジンコウ

※ただし、各種製品に「センソ、ゴオウ、ジャコウ、ニンジン」は共通に含まれるため省略した。

2. サンシュユ中のロガニン

1) カラムの選抜

(1) 試料

局方生薬試験用 ロガニン：和光純薬工業株式会社、Lot. TLP5514

日局サンシュユ：株式会社ウチダ和漢薬、Lot. B460207

日局サンシュユ：株式会社栃本天海堂、製造番号 004712004

(2) 標準溶液及び試料溶液

JP16 サンシュユ定量法の項に従い、上記の試料を用いて調製した溶液を標準溶液及び試料溶液として用いた。なお、調製した標準溶液及び試料溶液は分注し、各社で同一のものを使用した。
標準溶液：ロガニン約 10 mg を精密に量り、薄めたメタノール(1→2)に溶かして正確 100 mL とし、標準溶液とした。

試料溶液：サンシュユを細切以下にし、その約 1 g を精密に量り、共栓遠心沈殿管に入れ、薄めたメタノール(1→2) 30 mL を加えて 20 分間振り混ぜ、遠心分離し、上澄液を分取した。残留物は薄めたメタノール(1→2) 30 mL を加えて、更に 2 回、同様に操作した。

全抽出液を合わせ、薄めたメタノール (1 → 2) を加えて正確に 100 mL とし、試料溶液とした。

ロガニン標準溶液及びサンシュユ 2 種についての試料溶液に対し、粒径 5 μ m、長さ 150 mm、内径 4.9mm カラムを用い、本研究の共同研究者 4 社(A、B、C、D)で分担し、以下の条件に従い分析を行った。使用したカラムを Table4 に示す。

(3) 試験条件

JP16 サンシュユ定量法の項に従った。なお、流量に関しては、保持時間が 25 分になるよう調整すると記載されているが、2011 年度技術情報 (JPTI 2011) を参照し、毎分 1.2 mL で検討を行うこととした。

Table 4 カラムの選抜における検討カラム

カラム名	メーカー
CAPCELL PAK C ₁₈ UG120	資生堂
CAPCELLPAK C ₁₈ MG	資生堂
L-Column2 ODS	化学物質評価研究機構
Mightysil RP-18 GP	関東化学
TSK gel ODS-80T _s	東ソー
Wakosil-II 5C18 HG	Wako
YMC-Pack Pro C18	YMC
YMC-Pack ODS-A	YMC

検出器：紫外吸光光度計 測定波長 (238 nm)

カラム温度：50°C

移動相：水/アセトニトリル/メタノール混液 (55 : 4 : 1)

流量：毎分 1.2 mL 注入量：10 μ L

2) 分析時間短縮化の検討

JPTI 2011 で使用される粒径 5 μ m、長さ 150 mm、内径 4.6mm の TSK gel ODS-80T_s を対照カラムとし、2-1) で選抜したカラムの 粒径 3 μ m、長さ 75 mm、内径 4.6mm カラムを使用し (Table 5)、2-1) -

(3) と同様の試験条件で分析を行った。

Table5 分析時間短縮化における検討カラム

カラム名	内径×長さ (mm)	粒径 (μ m)
TSK gel ODS-80T _s	4.6 × 150	5
YMC-Pack ODS-A	4.6 × 75	3
CAPCELL PAK C ₁₈ UG120	4.6 × 75	3
L-Column2 ODS	4.6 × 75	3

各社で使用した分析機器は以下の通りである。

A 社…LC-2010 (島津製作所製)、B 社…D-2000 (日立ハイテクノロジーズ製)

C 社…LC20AD Prominence (島津製作所製)、D 社…LC20AD Prominence (島津製作所製)

実験結果

1. 六神丸中のブフォステロイド

1) カラムの検討

六神丸中のブフォステロイドの分析にはジンコウ成分が妨害することが報告されている^{6),7)}。

Table6 に示すように、エンドキャッピング処理なしのカラムは各ステロイドの分離は良好ではあるが、ジンコウ成分のピークとRのピークが完全に、もしくは一部が重なってしまい分離は困難であった。これにより、エンドキャッピング処理の施されている ODS カラムを用いるほうが有用であると考えられた。

しかし、エンドキャッピング処理ありの Wakosil-II 3C18 HG カラムは、ジンコウ成分のピークとRのピークが分離しているもののC及びRのピーク分離が良くなかった。Cadenza CD-C18 カラムについては、ジンコウ成分のピークとRのピークが分離しており、C及びRのピーク分離も良好であった(Fig.1)。以上の結果より、Cadenza CD-C18 カラムが各ステロイド及びジンコウ由来のピークを分離するのに適すると考えられた。

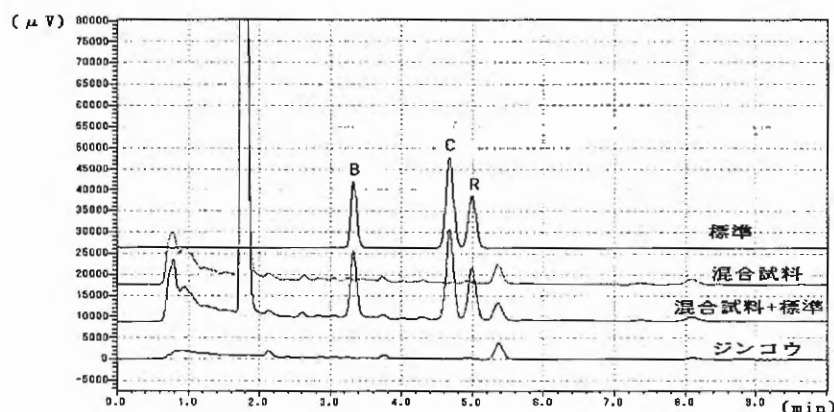
Table6 粒径 3 μ m、長さ 75mm×内径 4.6mm カラムの検討結果

カラム	保持時間(min)			理論段数			分離度		
	B	C	R	B	C	R	B/C	C/R	R/ジンコウ(※)
DevelsilODS-A-3	4.47	5.64	7.00	6929	7966	8628	5.03	4.91	-(分離しない)
Inertsil ODS-P	3.00	3.79	4.63	1690	2208	2391	2.55	2.43	-
Cadenza CL-C18	3.73	4.95	5.94	7446	8917	9709	6.39	4.43	-
Wakosil-II 3C18HG	2.94	4.05	4.31	5837	7536	7961	6.49	1.38	1.28
Cadenza CD-C18	3.32	4.67	4.99	7169	8884	9304	7.61	1.58	1.72

備考1: (※) Rとジンコウ由来ピークとの分離度

備考2: (-)はジンコウのピークが検出できなかったため記載していない

Fig.1 Cadenza CD-C18 カラムのチャート

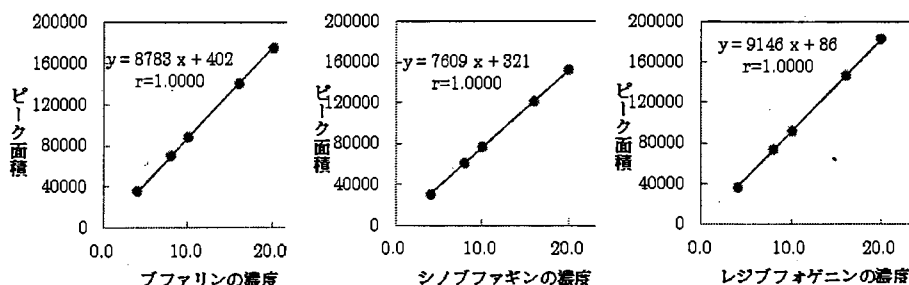


2). 直線性及び添加回収

(1) 直線性

直線性については、Fig.2 に示すとおり本試験条件で各ステロイドは濃度 4.0 μ g/ml $\sim$ 20 μ g/ml の範囲で、ほぼ原点を通る直線性を示すことを確認した。

Fig.2 B、C 及び R の検量線



(2) 添加回収

ブフォステロイド (B、C 及び R の合計) としての添加回収率を算出したところ、添加 50%において 105.4%、添加 100%において 102.6%、添加 150%において 102.2%であった (Table7)。低濃度においては、ピーク周辺の妨害ピークの影響を受けやすいこともあり、100%を少し超える回収率を示したものの、それ以外では、ほぼ 100%の良好な回収率を示した。

Table7 ブフォステロイドとしての添加回収率

添加率	繰り返し	回収率(%)	平均回収率(%)
50%	1	105.7	105.4
	2	106.5	
	3	104.0	
100%	1	102.4	102.6
	2	103.5	
	3	102.0	
150%	1	102.9	102.2
	2	102.3	
	3	101.5	

3) センソ配合剤の定量

各製品のセンソ成分及びジンコウ成分のピークの分離は、いずれも良好な分離を示した (Table8)。なお、D 社については、高耐圧の機器 (UPLC) を使用した結果、高い分離度を示した。

Table8 各種製剤における分離度

分離度	シノブファギン/レジブフォゲニン				レジブフォゲニン/ジンコウ			
	A 社	B 社	C 社	D 社	A 社	B 社	C 社	D 社
①	1.61	1.56	1.49	1.86	1.53	1.53	1.52	—
②	1.59	1.54	1.47	1.84	1.43	1.46	1.64	1.86
③	1.59	1.54	1.46	1.83	1.42	1.45	1.63	1.86
④	1.59	1.55	1.49	1.85	1.39	1.43	1.62	1.82
⑤	1.59	1.52	1.46	1.85	1.22	1.16	1.57	1.76
⑥	1.60	1.54	1.49	1.84	1.40	1.42	1.65	1.86
⑦	1.60	1.55	1.46	1.83	1.42	1.46	1.62	1.86
⑧	1.60	1.56	1.50	1.86	—	—	—	—
⑨	1.59	1.55	1.48	1.84	1.41	1.44	1.62	1.87
⑩	1.59	1.56	1.48	1.85	1.40	1.46	1.61	1.83

各種製品におけるブフォステロイドの含量の室間再現性は、2%以下であり、各社でほぼ同様な値を示した。各社異なるロットのカラムを用いたが、ロット間の再現性も良く、本試験条件は各社でセンソ配合剤の品質管理に十分適応できるものと考えられた (Table9)。

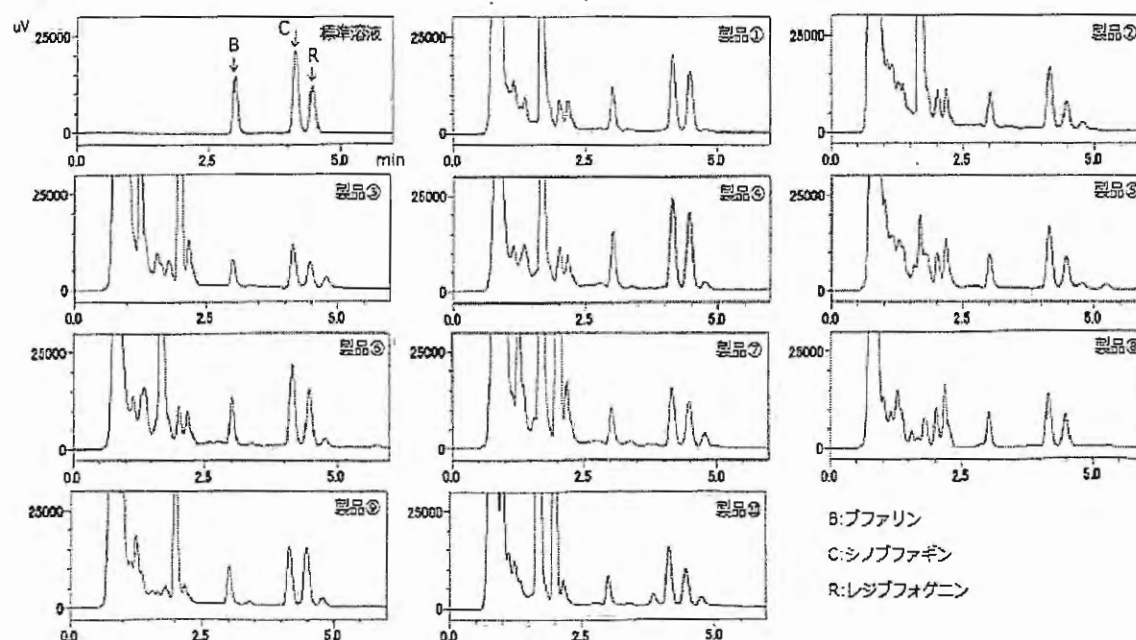
Fig.3 に各種市販製剤①-⑩のクロマトグラムを示した。

Table9 センソ配合剤 1 日量中のブフォステロイド (mg)

製品	A 社	B 社	C 社	D 社	平均	標準偏差	相対標準偏差
----	-----	-----	-----	-----	----	------	--------

①	0.377	0.377	0.384	0.388	0.382	0.0054	1.428
②	0.322	0.324	0.330	0.334	0.328	0.0055	1.682
③	0.204	0.206	0.209	0.209	0.207	0.0024	1.183
④	0.480	0.487	0.481	0.490	0.485	0.0048	0.990
⑤	0.271	0.278	0.273	0.279	0.275	0.0039	1.403
⑥	0.395	0.408	0.394	0.406	0.401	0.0073	1.815
⑦	0.219	0.218	0.225	0.225	0.222	0.0038	1.702
⑧	0.314	0.317	0.317	0.319	0.317	0.0021	0.651
⑨	0.270	0.271	0.274	0.276	0.273	0.0028	1.010
⑩	0.334	0.330	0.329	0.337	0.333	0.0037	1.112

Fig.3 各種市販製剤①-⑩のクロマトグラム



2. サンシュユ中のロガニン

1) カラムの検討

検討を行った 8 種すべての粒径 $5\mu\text{m}$ (内径 4.6mm 、長さ 150mm) カラム (以下 150mm カラム) において、5000 段以上の理論段数、1.5 以下のシンメトリー係数が得られており、日局のシステム適合性を満たすことが確認された (Table 10)。また、直前のピークと十分な分離度を得られており、各カラムで定量値に大きな差が見られなかったことから、定量に問題ないことが確認された。しかし、保持時間に関しては、差が見られる結果となった。この結果を考慮し、保持時間の最も短かった CAPCELL PAK C_{18} UG120、JPT1 2011 で用いられる TSK gel ODS-80T_s に近い値を示した YMC-PACK ODS-A、高い理論段数を示した L-Column 2 ODS を選抜し、粒径 $3\mu\text{m}$ (内径 4.6mm 、長さ 75mm) カラム (以下 75mm カラム) を使用し、分析時間短縮化の検討を行うこととした。

Table 10 150mm カラムの検討結果

カラム名	保持時間 (min)	シンメトリー係数	理論段数	分離度	定量値(ウチダ)	定量値(橋本)
CAPCELL PAK C ₁₈ UG120	15.6	1.03	8085	4.61	0.71	0.71
CAPCELLPAK C ₁₈ MG	23.7	1.02	11267	6.43	0.70	0.63
L-Column2 ODS	18.5	1.03	13659	5.10	0.71	0.64
Mightysil RP-18 GP Column	19.7	1.08	12411	5.55	0.70	0.63
TSK gel ODS-80T ₅	23.7	1.04	13110	6.00	0.70	0.66
Wakosil-II 5C18 HG	17.6	0.99	9482	5.10	0.73	0.64
YMC Pro C18	25.2	1.03	12128	6.44	0.80	0.69
YMC-Pack ODS-A	24.6	1.06	15052	6.18	0.70	0.63

その結果、75 mm カラムによる分析においても、すべてのカラムにおいて、5000 段以上の理論段数、1.5 以下のシンメトリー係数が得られ、日局のシステム適合性を満たすことが確認された (Table11、Table12)。また、標準溶液におけるピーク面積の相対標準偏差が 1.5%以下であり、システムの再現性を満たすことも確認された。さらに、直前のピークと十分な分離度が得られ、定量値も対照カラムと同等の値であり、定量性にも問題がないことが確認された。保持時間が最も短かったのは CAPCELLPAK であり、理論段数が最も高かったのは L-Column であった。これらの傾向は 150 mm カラムと同様であった。分析時間に関しては、YMC において約半分に、CAPCELLPAK、L-Column で約 3 分の 1 に、短縮されることが判明した (Fig.4)。しかし、すべてのカラムにおいて分析順に保持時間が短くなり、圧力も下がっている傾向が見られたため、連続分析に対する耐久性に興味を持たれる結果となった。

Table 11 標準溶液の分析結果 (75mm カラムおよび 150mm の対照カラム)

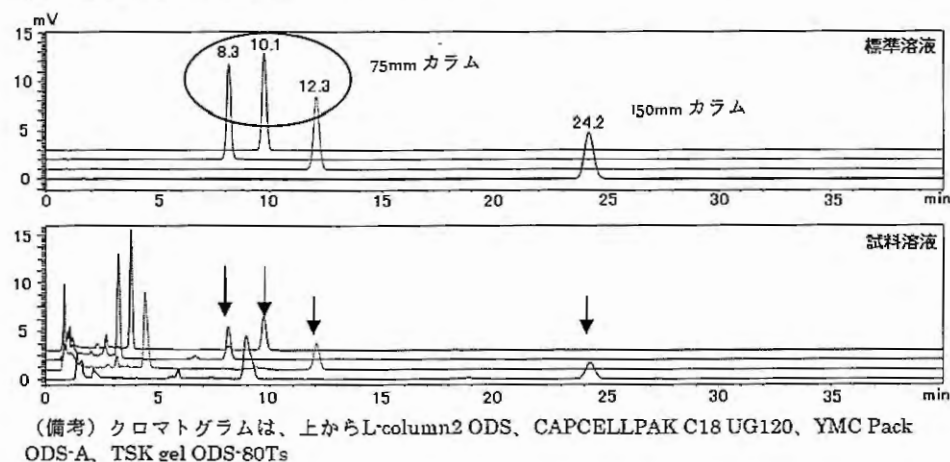
カラム	保持時間 (min)	圧力 (MPa)	シンメトリー係数	理論段数	相対標準偏差
TSK gel ODS-80T ₅ 4.6 × 150 mm, 粒径 5 μm	27.1	8.7	1.06	15058	0.27
	24.3	7.9	1.05	15479	0.65
	24.2	7.5	1.05	15578	0.19
	24.2	7.3	1.07	15039	0.24
YMC-Pack ODS-A 4.6 × 75 mm, 粒径 3 μm	13.6	8.1	1.04	9220	0.16
	11.5	7.5	1.05	9718	0.95
	12.2	7.0	1.04	9587	0.16
	12.0	6.9	1.04	9498	0.28
CAPCELL PAK C18 UG120 4.6 × 75 mm, 粒径 3 μm	9.0	7.1	1.04	7831	0.13
	7.8	6.2	1.03	8106	0.79
	8.2	6.1	1.08	7322	0.09
	8.1	5.8	1.07	7421	0.12
L-Column 2 ODS 4.6 × 75 mm, 粒径 3 μm	11.4	8.0	1.05	10098	0.31
	9.4	7.2	1.07	10072	0.74
	9.7	7.0	1.08	9975	0.11
	9.7	6.5	1.07	10041	0.43

Table 12 試料溶液の分析結果 (75mm カラムおよび 150mm の対照カラム)

カラム	保持時間 (min)	分離度	シンメトリー係数	理論段数	定量値(ウチダ)	定量値(橋本)
TSK gel ODS-80T ₅ 4.6 × 150 mm, 粒径 5 μm	27.0	7.1	1.05	15113	0.70	0.63
	24.4	6.5	1.04	15416	0.71	0.64
	24.2	8.1	1.05	15533	0.71	0.64
	24.3	7.3	1.06	15034	0.69	0.61
YMC-Pack ODS-A 4.6 × 75 mm, 粒径 3 μm	13.6	4.7	1.03	9350	0.71	0.63
	11.5	4.8	1.02	9845	0.70	0.66
	12.2	6.6	1.03	9555	0.71	0.64
	12.1	4.4	1.03	9504	0.71	0.64
CAPCELL PAK C18 UG120 4.6 × 75 mm, 粒径 3 μm	9.0	4.4	1.03	7962	0.70	0.62
	7.8	4.1	1.03	8218	0.70	0.64
	8.2	4.0	1.07	7306	0.72	0.64
	8.1	3.9	1.07	7460	0.71	0.63
L-Column 2 ODS 4.6 × 75 mm, 粒径 3 μm	11.4	4.7	1.04	10169	0.70	0.63
	9.5	4.2	1.04	10048	0.70	0.65
	9.7	4.4	1.06	9802	0.71	0.64
	9.7	4.3	1.07	9985	0.70	0.62

(注)各カラム 4 社の分析結果を上から順に記載

Fig.4 150 mm 及び 75mm カラムのクロマトグラム



考察

六神丸中のブフォステロイドにおいては、市販のセンソ配合剤の分析について、JP16 に準拠した移動相を用い、更に HPLC カラムをエンドキャッピング処理の施された Cadenza CD-C18 のカラムを用いることで、ブフォステロイドの各成分とジンコウ成分のピークとの分離が可能となった。またこれまでの報告⁶⁾に比べ、分析時間のほぼ 50%の短縮化及び移動相溶媒の使用量削減を達成することができた。また今回、高耐圧の機器(UPLC)を使用することで、より高い分離度を得ることができた。今後、これらの機器を導入することで、更なる分析精度の向上と時間短縮が期待できると考えられた。

サンシュウ中のロガニンの分析においては、粒径 5 μ m (内径 4.6mm、長さ 150mm) カラムから粒径 3 μ m (内径 4.6mm、長さ 75mm) カラムに変更することにより、分析時間の短縮化及び移動相溶媒の使用量削減が可能であることが判明した。今後、八味地黄丸料エキスなどサンシュウを含む漢方処方エキスの分析に興味を持たれる。

文献

- 1) 永井喜美ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討－生薬成分について－
家庭薬研究 No. 28、28-34 (2009)
- 2) 安藤英広ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討(第 2 報)－生薬成分について－
家庭薬研究 No. 29、23-30 (2010)
- 3) 堀井周文ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討(第 3 報)－生薬成分について－
家庭薬研究 No. 30、31-43 (2011)
- 4) 中林佐知栄ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討(第 4 報)－生薬成分について－
家庭薬研究 No. 31、61-69 (2012)
- 5) 前田典子ら：HPLC 法の分析時間短縮化に関する検討(第 5 報)－生薬成分について－
家庭薬研究 No. 32、19-27 (2013)
- 6) 永井喜美ら：HPLC における六神丸のブフォステロイドの分析 (第一報)
家庭薬研究 No. 22、23-30 (2003)
- 7) 俣野豊ら：HPLC における六神丸のブフォステロイドの分析 (第二報)
家庭薬研究 No. 22、19-26 (2005)