

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 3 日現在

機関番号：84407

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590838

研究課題名(和文)漢方薬・生薬中のアristolochic acid(腎障害惹起物質・発がん物質)の検出法の確立

研究課題名(英文)Development of a method for analyzing aristolochic acid in crude drugs and kampo products.

研究代表者

田上 貴臣(Takaomi, Tagami)

大阪府立公衆衛生研究所・衛生化学部・主任研究員

研究者番号：00321943

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：漢方薬原料である生薬中のアristolochic acidを分析するための公定法は、生薬由来の妨害を受け、アristolochic acidの含有の有無を明確に判断することが困難なケースがあった。

今回、高感度かつ選択性の高い分析法の確立を目的として、固相抽出法と高速液体クロマトグラフィー/質量分析計を組み合わせることにより、生薬・漢方薬中のアristolochic acidの選択的な分析法を確立した。

研究成果の概要(英文)：In the analysis of aristolochic acid in the crude drug using the official method, it is sometimes difficult to judge existence or non-existence of aristolochic acid because of interfering peaks.

In this study, we investigated to develop a sensitive and selective method to analyze aristolochic acid. As a result, a selective method to analyze aristolochic acid in crude drugs and kampo products was established by the combination use of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography/mass spectrometer.

研究分野：分析化学

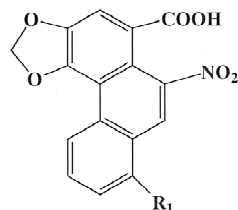
キーワード：生薬 アristolochic acid

1. 研究開始当初の背景

ウマノスズクサ科の植物に由来するアリストロキア酸(図1)が混入した植物含有製品や健康食品等による腎機能障害が我が国を含め世界各国で発生している。

日本薬局方に適合した生薬原料を用いた場合、アリストロキア酸が漢方薬などに混入する恐れはない。しかし、日本薬局方に定められている公定法を用いて分析した場合、生薬由来の妨害ピークにより、アリストロキア酸の含有の有無を明確に判断することが困難なケースがある。また、日本薬局方に定められていない植物などを使用した健康食品などにアリストロキア酸が混入することが考えられる。

このことから、製品にアリストロキア酸が含まれていないことを確認するための選択的な分析法と健康被害発生時などの原因究明のための簡便かつ迅速な分析法の確立が望まれていた。



Aristolochic acid : R₁=OMe
Aristolochic acid : R₁=H

図1 アリストロキア酸 および の構造

2. 研究の目的

生薬、漢方薬、健康食品にアリストロキア酸が含まれていないことを確認するための選択的な分析法と健康被害発生時などの原因究明のための簡便かつ迅速な分析法を確立する。

3. 研究の方法

生薬・漢方薬・健康食品を対象として、アリストロキア酸の分析法について検討を行った。

生薬・漢方薬は、一般的に乾燥品であり、単位重量あたりの妨害物質の量が多い。このことから、選択的な分析を行うために、固相抽出により試料溶液を精製し、妨害成分を除くこととした。アリストロキア酸はフェナンスレンカルボン酸を含む酸性物質であることから、固定相に陰イオン交換樹脂を用いた固相抽出法による精製により妨害成分との分離が期待できる。また、選択性の高い機器である高速液体クロマトグラフィー/質量分析計を併用することにより、選択的な分析法について検討することとした。

4. 研究成果

既に確立している固相抽出法と高速液体クロマトグラフィーを組み合わせた分析法を基に、生薬中のアリストロキア酸を対象とした選択的な分析法について検討した。その結果、試料由来の妨害を受けず、直線性を有し、回収率なども良好であった。また、アリストロキア酸を含有する植物を分析したところ、アリストロキア酸を明確に検出することができたことから、検討した分析法は、生薬中のアリストロキア酸を適切に分析することが可能であると考えられた。

図2にアリストロキア酸を含まないモッコウのクロマトグラムを示す。高速液体クロマトグラフィー/質量分析計は高い選択性を持つ機器であるが、固相抽出による精製を行わなかった場合においては、アリストロキア酸のピーク付近に妨害となるピークが認められた(b)。一方、固相抽出による精製により、妨害ピークは消え、アリストロキア酸のピークの有無を明確に判断できるようになった(c)。

また、漢方薬中のアリストロキア酸及びアリストロキア酸を対象とした選択的な分析法についても検討した。その結果、生薬を対象とした時と同様、試料由来の妨害を受けず、直線性を有し、回収率なども良好であ

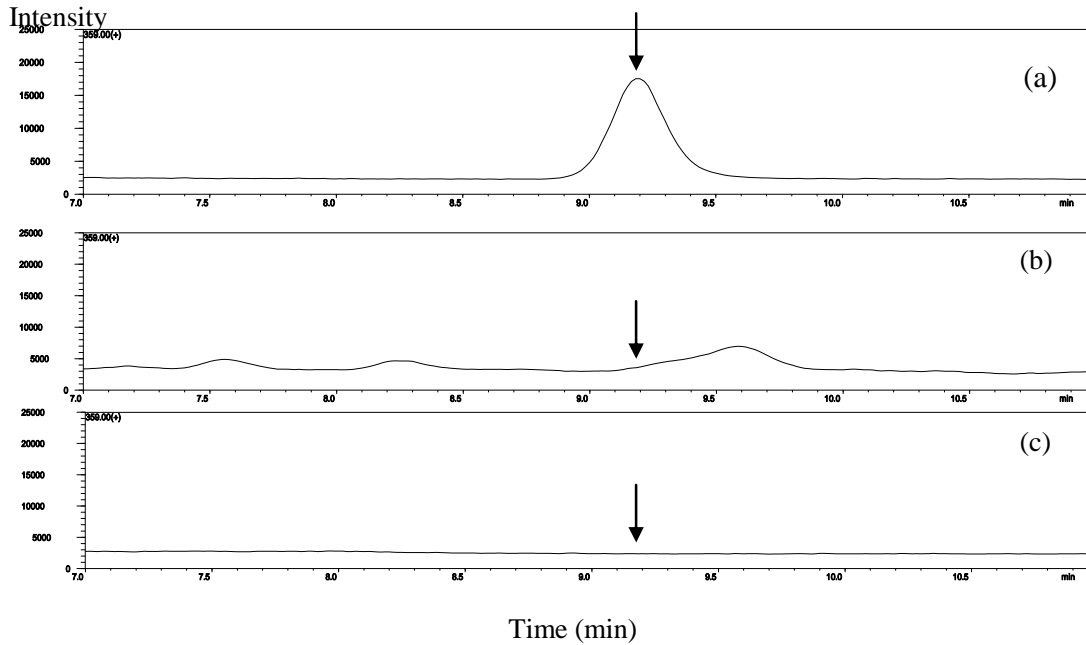


図2 モッコウのクロマトグラム

- (a) : 標準溶液 (アリストロキア酸) 1 µg/mL
- (b) : 試料溶液 (モッコウ : 固相抽出による処理無)
- (c) : 試料溶液 (モッコウ : 固相抽出による処理有)

ったことから、検討した分析法は、漢方薬中のアリストロキア酸及びアリストロキア酸を適切に分析することが可能であると考えられた。

また、健康食品を対象とした場合、高速液体クロマトグラフィー/質量分析計を用いた分析法では、良好な成果を得ることができなかった。一方、分析機器の選択肢を増やすことを目的として、誘導体化の手法とガスクロマトグラフィー/質量分析計を組み合わせた分析法についても検討を行った。その結果、誘導体化の手法とガスクロマトグラフィー/質量分析計を組み合わせることにより、アリストロキア酸を分析することが可能となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Tagami T., Takeda A., Asada A., Aoyama A., Doi T., Kawaguchi M., Kajimura K., Sawabe Y., Obana H., Yamasaki K. : A simple and selective detection method for aristolochic acid in crude drugs using solid-phase extraction Journal of Natural Medicines Volume 67, Issue 4 (2013), Page 838-843 (査読有)

〔学会発表〕(計1件)

田上貴臣、武田章弘、浅田安紀子、青山愛倫、土井崇広、梶村計志、沢辺善之、山崎勝弘 : 固相抽出法を用いた生薬・漢方製剤に混入が疑われるアリストロキア酸の簡便・迅速分析 第49回全国衛生化学技術協議会年会、2012年11月22日、香川県高松市

6. 研究組織

(1)研究代表者

田上 貴臣 (TAGAMI TAKAOMI)

大阪府立公衆衛生研究所・衛生化学部・主
任研究員
研究者番号：00321943

(2)研究分担者

武田 章弘 (TAKEDA AKIHIRO)
大阪府立公衆衛生研究所・衛生化学部・技
師
研究者番号：00622755