

2015230/6A

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス

政策研究事業

無承認無許可医薬品の調査・分析及び
量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究

平成 27 年度 総括・分担研究報告書

(H27-医薬-指定-010)

研究代表者 袴塚 高志

平成 28 (2016) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書 無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究 袴塚高志	1
II. 分担研究報告書	
A. 食薬区分判定の申請を受けた成分本質に関する検討	
1. 無承認無許可医薬品の調査・分析・監視に関する研究 「専ら医薬品」の調査に関する研究 合田幸広	9
B. 食薬区分のグレーゾーンに位置する植物体及び化合物に関する検討	
2. 無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究 各地で採集したオオイタドリにおけるemodin含量の調査 丸山卓郎・吉富太一	14
3. 無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究 <i>Sida</i> 属植物の組織形態学的研究(3)～地域変異の検討 丸山卓郎・山路誠一	21
4. 無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究 3次元蛍光スペクトルを用いた <i>Pueraria mirifica</i> 含有健康食品の品質評価について 丸山卓郎・山路誠一	26
5. 無承認無許可医薬品の調査と分析に関する研究 バンレイシ(<i>Annona squamosa</i>)の成分研究 大塚英昭	36
C. 量的概念に基づく判定基準に関する検討	
6. 無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に 関する研究 量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究 袴塚高志・合田幸広・西川秋佳・小川久美子	40
D. 専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直し	
7. 無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に 関する研究 専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直しに関する研究 袴塚高志	43
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	46

無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む 専ら医薬品の規制に関する研究

研究代表者 袴塚高志 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長

研究要旨 我が国の「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」に例示される成分であるかどうか、依頼のあった新規な化学物質4品目及び植物由来物質5品目の本質について、文献調査等を行った。このうちATPは、医薬品として使用実態があり、処方箋医薬品成分であることから、また、ED治療薬関連化合物は、その構造を考慮すると、ED治療薬と同様の効能・効果を予想して合成されたものと判断されることから、専ら医薬品に指定すべき成分本質と判断されるべきと考察した。

一方、オオイタドリは、我が国で健康食品として流通し、anthraquinone (AQ) 類や resveratrol (RV) を含有することが知られている。本年度は、LC/MSを用いたオオイタドリのAQ類およびRVの迅速定量分析法により、各地で採集されたオオイタドリに対し、精製水と有機溶媒(アセトン)によるEMの抽出効率と、その定量値について検討した。その結果、精製水とアセトンで抽出効率に大きな差異は無く、北海道産のオオイタドリは本州産に対し、100倍以上のEMを含有することが判明した。

また、*Sida* 属植物の有害性評価および規制範囲の検討に資する知見を得る目的で、同属植物の組織形態のうち、新たに入手した海外産植物の葉における毛茸の形態、および毛茸分布の分布の季節的消長について検討した。その結果、その他の同属植物と同様に、検討した試料における毛茸の星状毛は向背軸両面において観察期間全般にわたって安定的であり、とっくり状腺毛は向軸面で夏期以降脱落し、背軸面では時期にかかわらず保持されており、*Sida* 属植物の鑑別では、毛茸の性状観察が有用であることが、改めて確認された。

さらに、3次元蛍光スペクトルを用いた健康食品製品の品質評価法の基礎検討として、タイ産生薬である *Pueraria mirifica* (PM) の含有が表示されている健康食品に対して、同分析を行ったところ、スペクトルデータを主成分分析することにより、正しくPMを含有する製品とそれ以外の偽品及び「専ら医薬品」に分類される同属植物、カッコンとを区別可能であることが分かった。

また、バンレイシ科植物であるトゲバンレイシ(*Annona muricata*)の果実は美味で可食であり、その葉を一部カリブ海沿岸地方で茶として飲用しているが、時としてParkinson病的症状を呈することが報告されている。そこで、同科同属植物であるバンレイシ(*Annona squamosa*)の葉のメタノール抽出物のブタノール分配画分の成分検索を行ったが、Parkinson病の発症で脳内に増加すると言われている tetrahydrobenzylisoquinoline (TBQ)、あるいはその構造類縁体は単離されなかった。

さらに、原材料を食経験の延長線上での議論が困難な濃度に濃縮して製造する健康食品が見受けられることから、従来の成分本質そのものの判断に加え、量的な概念も含めた医薬品成分の規制の在り方について検討した。判定基準の検討対象となる品目として、1)「非医」の中

で、一定濃度以上に濃縮されれば問題が生じる品目、及び、2)「専医」の中で、一定の濃度までなら問題のない品目が想定された。また、現時点でリストに記載されていない品目についても、今後新たに食薬区分の判断を要求される場合は、同様な判断が必要となるものと考えられた。さらに、成分本質自体に量的概念を導入することは困難が予想されることから、特定の化合物(群)を判定基準の検討対象とする必要性が指摘された。さらに、医薬品として流通するセンノシドや医薬品として流通する生薬の成分であるアントラキノン、その使用実態から判断基準を策定することが比較的容易と考えられ、最初の原案作成の対象として候補に挙げられた。

現行の「専ら医薬品リスト」と「非医薬品リスト」について、原材料の基原や使用部位、名称、別名等の項目を中心にチェックを行ったところ、「専ら医薬品リスト」については重大な問題点はほとんど見出されなかったが、「非医薬品リスト」については、1)名称と他名等の不整合、2)重複、3)不適切な使用部位、4)誤記、等のケースが見付かった。また、含有する成分の情報等から、「専ら医薬品リスト」への移行について再検討すべき品目も見付かった。

研究分担者

合田 幸広 国立医薬品食品衛生研究所
薬品部長
丸山 卓郎 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部第一室長
大塚 英昭 安田女子大学薬学部教授
西川 秋佳 国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター長
小川久美子 国立医薬品食品衛生研究所
病理部長

A. 目的

無承認無許可医薬品は、医薬品としての承認や許可がないにもかかわらず、医薬品としての目的性を持たせた製品であり、これらの流通により、適正な医療機会の喪失等、様々な健康被害の発生が懸念される。また、近年、原材料を高濃度に濃縮して製造する健康食品が見受けられることから、従来の成分本質そのものの判断に加え、量的な概念も含めた医薬品成分の規制の在り方について検討することが必要である。さらに、平成26年6月12日より一般用医薬品のインターネット販売が可能となったことから、それに乗じた質の悪い健康食品の流通量の増加も懸念されている。

このような状況において本研究では、通常

ルートを通じて新規に申請のあった成分本質(原材料)については、基原植物、医薬品としての使用実態、含有成分、毒性データ、麻薬・向精神薬・覚せい剤様作用等を調査し、また、市場で流通するグレーゾーンの植物体及び化合物については、さらに含有成分の単離同定、薬理活性の予測等を行い、専ら医薬品に分類すべきであるか検討し、無承認無許可医薬品の監視・取締りを念頭に、必要であれば分析法等を開発する。一方、食経験の延長線上で議論することが困難な濃度まで原材料を濃縮して製造される健康食品に関して、その食薬区分の判定に、成分本質そのものの判断に加えて、いかにして量的な概念に基づく判定基準を導入するか検討する。また、「専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)リスト」及び「医薬品の効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質(原材料)リスト」について、原材料の基原や使用部位、名称、別名を中心として見直しを行う。

B. 研究方法

B-1. 食薬区分判定の申請を受けた成分本質に関する検討

無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究「専ら医薬品」の調査に

関する研究」として、主に以下の①～⑩の調査項目について検討した。

- ①名称，他名等，部位等，備考
- ②学名，基原植物和名等，生薬名，英名等
- ③医薬品としての使用実態があるか
- ④毒性データ
- ⑤アルカロイド，毒性タンパク，毒薬劇薬指定成分等を含むか
- ⑥麻薬，向精神薬及び覚醒剤様作用があるもの（類似化合物も含む）及びその原料植物であるか
- ⑦主要な二次代謝産物等
- ⑧主要な生理活性
- ⑨その他注意すべき点
- ⑩指定医薬品または要指示医薬品に相当する成分を含むか

また，本調査では，原著論文以外に，主に以下の参考文献を使用した。

- 1：日本薬局方（16局及び16局第一，第二追補）
- 2：日本薬局方外生薬規格 2015
- 3：（新訂）和漢薬，医歯薬出版（赤松金芳）
- 4：中薬大辞典，小学館
- 5：The Complete German Commission E Monographs Therapeutic Guide to Herbal Medicines, The American Botanical Council (Com E)
- 6：Botanical Safety Handbook, American Herbal Products Association
- 7：Dictionary of Plant Toxins, Jeffery B. Harborne FRS, Herbert Baxter, Willey
- 8：WHO Monographs on Selected Medicinal Plants
- 9：ブラジル産 薬用植物事典（橋本悟郎）
- 10：和漢薬百科図鑑（難波恒雄）
- 11：原色牧野和漢薬草大図鑑，北隆館
- 12：（原色）牧野植物大図鑑：北隆館
- 13：日本の野生植物，平凡社
- 14：園芸植物大辞典，小学館
- 15：世界の植物，朝日新聞社
- 16：中国薬典 2015

B-2. 食薬区分のグレーゾーンに位置する植物体及び化合物に関する検討

無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究「各地で採集したオオイタドリにおける emodin 含量の調査」として，LC 部に Shimadzu Prominence UFLC システムを配した LCMS-2020 質量分析計（島津製作所製）を用い，採集したオオイタドリについては，使用部位として若芽部を選び，精製水抽出とアセトン抽出の2種類を検討した。

また，無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究「*Sida* 属植物の組織形態学的研究(3)～地域変異の検討」として，キンゴジカ *Sida rhombifolia* L. は 2013 年に（独）医薬基盤種子島研究部にて栽培されていたものを5月から10月までの6か月間，1ヶ月ごとに採取したものをを用いた。試料は頂端から基本的に4～5節目の，十分に成長した葉を採取し，冷蔵下で水に6～8時間程度浸漬後，表皮を剥離するか，剥離が容易でない場合は観察する部位と反対側の葉肉組織をカミソリでそぎ落とし，必要な観察部位の表皮を得た。試料をグリセリンにて簡易包埋し，光学顕微鏡（オリンパス BH-2）下にて観察した。

さらに，無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究「3次元蛍光スペクトルを用いた *Pueraria mirifica* 含有健康食品の品質評価について」として，*Pueraria mirifica* (PM) の含有が表示されている健康食品について，粉末試料については，未処理で，カプセル剤については，中の粉末試料を取り出し，刻みの試料については，粉碎した後，50号の篩（300 μm ）にかけたものをを用いた。3次元分光蛍光スペクトル（蛍光指紋）の測定は分光蛍光光度計 F-7000（日立ハイテクサイエンス）で行った。得られた3次元蛍光スペクトルのデータの中から，励起波長未満の蛍光波長，励起波長と等しい蛍光波長，励起波長+5及び10 nm の蛍光波長を除いた部分を用いてデータ

マトリクスを作成し、多変量解析ソフトウェア SIMCA-14 (インフォコム) により、主成分分析を行った。別に、各検体のスペクトルにおいて、特徴的に見出されたピーク、8 点の蛍光強度に限定したデータマトリクスを作成し、同様に主成分分析を行った。

また、無承認無許可医薬品の調査と分析に関する研究として、タイ王国で採集したバンレイシ (*A. squamosa*) の葉を粉碎し、メタノールで抽出し、抽出液をヘキサンで洗浄し濃縮乾固して残渣を水に懸濁して、EtOAc と 1-BuOH で分配して、その 1-BuOH 可溶画分を順相シリカゲルおよび逆相シリカゲルクロマトグラフィー、逆相 HPLC で分画、精製を行った。得られた新規化合物は機器分析を行い構造を決定し、既知化合物はその各種スペクトルを文献値と比較することにより同定した。

B-3 量的概念に基づく判定基準に関する検討
量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究として、平成 27 年度は検討班会議を 2 回開催し、問題点の整理と基礎的な議論を行った。

B-4 専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直し

無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究「専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直しに関する研究」として、

平成 27 年 4 月 1 日薬食発第 0401 第 2 号、厚生労働省医薬局長通知「医薬品の範囲に関する基準の一部改正について」の別添として例示されている「専ら医薬品リスト」と「非医薬品リスト」について、原材料の基原や使用部位、名称、別名等の項目を中心にチェックを行った。

(倫理面への配慮)

ヒト由来サンプル及び実験動物を使用しておらず、該当する事由はない。

C. 結果・考察

C-1. 食薬区分判定の申請を受けた成分本質に関する検討

新規に調査依頼があった化学物質では、ATP は、医療用医薬品として使用されていること等から専ら医薬品に指定すべき成分本質と判断されるべきと考察した。また、homotadalafil 及び dimethyl- dithiodenafil は、主要分子構造が ED 治療薬である tadalafil 及び sildenafil と同一であること等から、専ら医薬品に指定すべき成分本質と判断されるべきと考察した。N-アセチルノイラミン酸は、既に、食品成分中にある程度存在し、生物医薬品等の構成成分の一部ではあるものの単体として医薬品としては使用されていないこと等から、非医と考察した。

植物由来物質 5 品目のうち、アオバナ (*Commelina communis* L. var. *hortensis* Makino) 地上部は、成分として、1-デオキシノジリマイシン (1-deoxynojirimycin) と、ピロリジン化合物 (2,5-dihydroxymethyl-3,4-dihydroxypyrrolidine) を含み、どちらも含窒素化合物であること、1-デオキシノジリマイシンは、専ら医として指定されている化学成分であること、本エキスは α -グルコシダーゼ阻害に由来すると考えられる抗糖尿病活性、抗肥満活性が報告され、特許がとられていることが特筆される。一方で既に食品として販売例はあり、前述した化合物も、高い毒性化合物とは考えられないので、添付された安全性試験結果と合わせて含有成分を特に言及しなければ、非医となりうると考察した。ヨーロッパナラ (*Quercus robur*) は、Botanical Safety Handbook に掲載され、Class は 2d、ただし、入浴剤等、外用を念頭に Class が規定され、医薬品としての使用経験はある。一方、成分的には 10% 以上のタンニンであるが、ワイン樽としての使用等を考慮すると食経験はあるものと考えられる。さらに、文献検索からも、危険な化合物は入っていないものと推定されることから非医とな

りうると考えられた。イナゴマメ（カロブ）の莢については、成分的には、縮合型タンニン、糖類、ペクチン、アミノ酸類であり、近年ココアパウダーの代替品としての使用が検討されていることが明かとなった。また、最近、カロブには、D-pinitol が多量に入っていることが判り、D-pinitol は、グルコーストランスポーターの亢進作用があり、糖尿病予防効果があるとされ、また、D-pinitol の脱メチル化体の Chiro-inositol は、不妊の原因の一つの、多嚢胞性卵巣症候群の改善に効果が有るとされていることが判明している。一方で、マメ科植物なので、レクチンの安全性については考慮すべきであるが、添付の経口投与のデータを考慮すると、急性毒性は非医の基準を十分にみていると考察された。

C-2. 食薬区分のグレーゾーンに位置する植物体及び化合物に関する検討

「各地で採集したオオイタドリにおける emodin 含量の調査」では、emodin (EM) 含量の調査のため、各地でオオイタドリを採集し、LC-MS により定量した。オオイタドリの使用部位は、全てのサンプルで若芽部を選択し、抽出溶媒は、精製水と有機溶媒(アセトン)を用いた。Sample 1 - 8 を各溶媒で抽出したものに対し、EM 1 g に換算したところ、精製水とアセトンでは抽出効率が、ほぼ同等と考えられた。また、北海道産の各オオイタドリ中の EM は、1 g あたり 5.0 - 6.3 mg、本州産の各オオイタドリ中の EM は、1 g あたり 0.0015 - 0.0064 mg であり、北海道産は本州産に対し、100 倍以上の EM を含有していることが判明した。EM は、いくつかの高等植物の器官において存在し、その含量は季節性や光の強度に影響されることが知られており、オオイタドリ中の EM 含量が各地域の環境に強く依存していることが示唆された。

「*Sida* 属植物の組織形態学的研究(3)～地域変異の検討」では、キンゴジカ *S. rhombifolia*

について、星状毛を構成する剛毛の叢生本数は年間を通じて向軸面で 2-7-13(本/束, 最小-平均-最大, 以下同様)、背軸面で 2-13-27(本/束)、長さは向軸面で 13-81-181(μm , 最小-平均-最大, 以下同様)、背軸面で 13-75-140(μm)で、向軸面と背軸面で大きな差はなく、過去に検討したヨーロッパ、アジア産の同種との差もほとんど認められなかった。腺毛の分布密度のうち、球状腺毛は全期間を通じて観察されたが、とっくり状腺毛は向軸面では 5、6月に少量認められたものの、7月以降は脱落していた。背軸面では全試料ですべての採集期間中における分布が認められ、その密度は 12~33 本/ mm^2 であった。また、今回検討したソロモン諸島産キンゴジカ *S. rhombifolia* では、これまでと同様、アオイ科植物に特有な毛茸の形態学的特徴が観察された。すなわち星状毛が観察され、その分布量と密度、構成する剛毛の本数はほぼ一定であり、1箇所から叢生する剛毛の本数における季節的消長は、ほとんど認められなかった。とっくり状腺毛においては分布密度の季節的消長が認められ、盛夏以降、向軸面で本腺毛は観察されなかった。また、背軸面では全期間を通じて脱落、消失せず、一定量が残存していた。このことは、同種が気候変動の少ない地域で生育していた場合でも、とっくり状腺毛が鑑別の指標として利用可能であることを示唆している。球状腺毛も全期間を通じて安定的に存在し、これまでと同様、種内変異は認められず種間差識別の指標にはなり得ない結果となった。

「3次元蛍光スペクトルを用いた *Pueraria mirifica* 含有健康食品の品質評価について」では、各検体よりメタノールエキスを調製し、3次元蛍光スペクトルを測定したところ、健康食品製品群のうち、*Pueraria mirifica* (PM) を含有する3検体については、2つのピーク波長が一致し、PM を含有しない健康食品製品、5検体のうち、4検体に関しては、4点のピークを持ち、その他の形状についてもよく似たスペク

トルが得られた。参照試料として測定した粉カッコン (*Pueraria montana* var. *thomsonii*), カッコン (*Pueraria montana* var. *lobata*), デンプンのうち、粉カッコンの 2 検体については、上述した PM を含まなかった健康食品製品 4 検体のものと類似していた。取得したスペクトルデータから作成したデータマトリクスを用いて、主成分分析を行った結果、第一主成分と第二主成分により全データの約 89% を表現することができた。カッコンの 4 検体とデンプンの 4 検体は、それぞれ、個別のクラスターを形成し、クラスター内の分布も狭い範囲に限定された。

次に、各検体のスペクトルにおいて、特徴的に見出されたピーク、8 点のみからなるデータマトリクスを作成し、主成分分析を行った。その結果、全データを用いて行った主成分分析の結果をよく再現した。PM 含有表示健康食品及び参照試料の 3 次元蛍光スペクトルデータを主成分分析した結果、正しく PM を含有する製品と偽品とを区別することが可能であり、さらに、「専ら医薬品」であるカッコンとも、明瞭に区別された。遺伝子解析の結果、PM の含有が確認された 3 検体のうち 1 つのみが、主成分分析において、正品と偽品の中間にプロットされ、正品に特徴的なピークの他に、偽品の多くで認められたピークを有していた。このことから、このものは、PM と偽品の混合物であることが、強く示唆され、同時に、主成分分析において、その点が、よく表現されていることが明らかになった。

続いて、特徴的な 8 点のピークに限定して行った主成分分析では、クズイモ由来の試料を除き、全データによる結果が再現されており、全検体のスペクトルの目視で確認された特徴的なピークのみによる主成分分析が、正品と偽品との鑑別に有効であることが確認できた。これらのピークが、今回、分析に供した試料を区別するための指標成分を反映していると考えられることから、今後、蛍光検出器を備えた

HPLC 分析等を行うことにより、これらの成分の同定を行う予定である。

また、バンレイシ科植物の成分研究では、バンレイシ (*A. squamosa*) の葉のメタノール抽出液の 1-BuOH 可溶画分より 11 種類の成分を単離同定し、そのうち 1 つは新規であり、その他は既知化合物であった。新規化合物の構造は arabinothalictoside と同一のアグリコンを有するが、糖の種類がグルコースとキシロースから構成されており、また、ニトロ基を有していた。既知化合物については文献地との比較により同定された。Parkinson 病の発症で脳内に増加すると言われている tetrahydrobenzylisoquinoline (TBQ) は、今回バンレイシの葉の成分分析では構造類縁体も含めて単離されなかった。

C-3 量的概念に基づく判定基準に関する検討
量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究として、原材料を食経験の延長線上での議論が困難な濃度に濃縮して製造する健康食品が見受けられることから、従来の成分本質そのものの判断に加え、量的な概念も含めた医薬品成分の規制の在り方について検討する必要性が生じていることについて、班員の中での認識を共有した上で、判定基準の検討対象について議論した。

判定基準の検討対象となる品目として、1) 「非医」の中で、一定濃度以上に濃縮されれば問題が生じる品目、及び、2) 「専医」の中で、一定の濃度までなら問題のない品目が想定された。また、現時点でリストに記載されていない品目についても、今後新たに食薬区分の判断を要求される場合は、同様な判断が必要となるものと考えられた。さらに、成分本質自体に量的概念を導入することは困難が予想されることから、特定の化合物(群)を判定基準の検討対象とする必要性が指摘され、具体的な例としては、アントラキノン、センノシド、ゲニポシド、クマリン等が挙げられた。一方、判定の根

拠とする情報については、従来通り、NIOSH が提供する RTECS の毒性情報とその元文献を活用することが有用とされた。また、急性毒性だけではなく、反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性についても注意するべきとの意見が出された。さらに、医薬品として流通するセンノシドや医薬品として流通する生薬の成分であるアントラキノン、その使用実態から判断基準を策定することが比較的容易と考えられ、最初の原案作成の対象として候補に挙げられた。

C-4 専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直し

現行の「専ら医薬品リスト」について重大な問題点はほとんど見出されなかった。一方、「非医薬品リスト」については、1) 名称と他名等の不整合、2) 重複、3) 不適切な使用部位、4) 誤記、等のケースが見付かった。また、含有する成分の情報等から、「専ら医薬品リスト」への移行について再検討するべき品目も見付かった。

D. 結論

新規に「専ら医薬品」であるかどうか判断が求められた品目について、医薬食品局監視指導・麻薬対策課長が招集する「医薬品の成分本質に関するワーキンググループ」のための調査を遂行するとともに、既存の専ら医薬品リスト並びに、非医薬品リストの様々な項目について、同課の依頼に基づき検討を行った。なお、本研究の成果は、厚生労働省において食薬区分の見直しを検討するための厚生労働行政上重要な基礎資料となるものであり、平成 13 年 3 月 27 日付医薬発第 243 号厚生労働省医薬局長通知で、「リストについては、科学的な検証に基づき定期的に見直しを行うこととし、概ね一年程度の期間毎に追加、訂正、削除等を行うこととする」とした、現行の「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」

の見直し作業に貢献するものである。

オオイタドリに含有されるアントラキノン類およびレスベラトロールの迅速定量分析法を用い、各地で採集したオオイタドリに対し、EM の精製水及びアセトン抽出による差異を検証した。その結果、精製水とアセトンで抽出効率に大きな差は確認されなかった。また、EM 含量は各 Sample 間で大きな差が認められ、北海道産は本州産に対し、100 倍以上多いことが判明した。

Sida 属植物の葉の組織形態について、ヨーロッパやアジア産に加え、南半球ソロモン諸島に分布する *S. rhombifolia* の毛茸を観察したところ、これまでと同様、星状毛や球状腺毛が安定的に分布し、とっくり状腺毛が向軸面において季節的消長をみせ、背軸面で安定的に分布するなどの結果が得られた。すなわち *Sida* 属植物の同定、鑑別には同属植物における毛茸の観察が有用である旨が、さらに裏付けられたといえる。

3 次元蛍光スペクトルを用いた健康食品製品の品質評価法の基礎検討として、タイ産生薬である *Pueraria mirifica* (PM) の含有が表示されている健康食品に対して、同手法を適用した。その結果、スペクトルデータを主成分分析することにより、正しく PM を含有する製品とそれ以外の偽品及び「専ら医薬品」に分類される同属植物、カッコンとを区別可能であった。

タイ王国チェンマイで採集したバンレイシ科 (Annonaceae) 植物 バンレイシ (*Annona squamosa*) の葉より含有成分として、ニトロ基を有する化合物の配糖体がえられた。植物よりニトロ基を有する化合物が得られることは比較的稀である。

食経験の延長線上での議論が困難な濃度に原材料を濃縮して製造される場合に加えて、専ら医に区分される品目の中に十分な食経験を有するものがある場合について、量的な概念を含めた医薬品成分の規制が可能であるか議論された。含有成分の毒性情報、医薬品としての

使用実態、発がん性情報等を勘案して、具体的にどのような方策が可能であるか次年度以降に検討することとされた。

現行の「専ら医薬品リスト」と「非医薬品リスト」について、原材料の基原や使用部位、名称、別名等の項目を中心にチェックを行ったところ、「専ら医薬品リスト」については重大な問題点はほとんど見出されなかったが、「非医薬品リスト」については、1)名称と他名等の不整合、2)重複、3)不適切な使用部位、4)誤記、等のケースが見付かった。また、含有する成分の情報等から、「専ら医薬品リスト」への移行について再検討するべき品目も見付かり、来年度以降、裏付ける根拠を探しつつ、全体的な整理を行うこととなった。

E. 研究発表

論文発表等

- 1) Goda, Y.: New labeling system of health food products and what needs to be addressed for quality control. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **56**: J135-J138 (2015).
- 2) Goda, Y.: New labeling system of health food products and quality of health food. *Pharmaceutics (Yakuzaigaku)*, **75**: 170-176 (2015).
- 3) 合田幸広, 機能性表示食品の品質保証の確認は? 重要となる分析法の公開, *I.Bヘルスケア*, **29**(1), 6 (2016).
- 4) Tokumoto, H., Shimomura, H., Hakamatsuka, T., Ozeki, Y. and Goda, Y.: Detection of *Nicotiana tabacum* leaf contamination in pharmaceutical products. *Biol. Pharm. Bull.*, **39**: accepted (2016).

学会発表等

- 1) 合田幸広, 健康食品の新しい機能性表示と品質に関する課題, 第109回日本食品衛生学会学術講演会, 東京 (2015.5)
- 2) 合田幸広, 健康食品の分析から見えてきた

品質に関する課題と、機能性表示食品について試験検査センターで出来ること, 平成27年度日本薬剤師会試験検査センター連絡協議会講演会, 高崎 (2015.6)

- 3) Goda, Y., Experience in Japan: Analysis and identification of illegal constituents in health food products implicitly advertizing tonic or slimming effect in the National Institute of Health Sciences, International Conference on Illegal Medicines and Adulterated Dietary Supplements, Taipei (2015.9)
- 4) 合田幸広, 食薬区分と違法ドラッグ, 漢方薬・生薬認定薬剤師研修会, 東京 (2015.9)
- 5) 合田幸広, 食薬区分と生薬, 東京農工大学工学部生命工学科講義, 東京 (2015.11)
- 6) 袴塚高志, 無承認無許可医薬品と食薬区分について, 茨城県薬剤師会検査センター医薬品研修会, 水戸 (2015.10)

新聞報道等

- 1) 合田幸広, 機能性表示食品の最大の課題は、品質保証, *日経バイオテック*, 2015年11月23日
- 2) 機能性表示食品, 最大の課題は品質保証だ, *FOOCOM.NET*, 合田幸広・国立医薬品食品衛生研究所薬品部長インタビュー, 2015年12月7日

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析・監視に関する研究

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所薬品部長 合田幸広

「専ら医薬品」の調査に関する研究

国立医薬品食品衛生研究所薬品部長 合田幸広

我が国の「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」に例示される成分であるかどうか、依頼のあった新規な化学物質 4 品目及び植物由来物質 5 品目の本質について、文献調査等を行った。このうち ATP は、医薬品として使用実態があり、処方箋医薬品成分であることから、また、ED 治療薬関連化合物は、その構造を考慮すると、ED 治療薬と同様の効能・効果を予想して合成されたものと判断されることから、専ら医薬品に指定すべき成分本質と判断されるべきと考察した。

研究協力者

大塚英昭 広島大学大学院医歯薬学総合研究
科 名誉教授（安田女子大学薬学部教授）

海老塚豊 国立医薬品食品衛生研究所客員研
究員

A. 研究目的

無承認無許可医薬品とは、医薬品としての承認や許可を受けていないにもかかわらず、医薬品としての目的性を持たせた製品であり、その判断は、医薬品の範囲に関する基準（直近の改正：平成 27 年 4 月 1 日薬食発第 0401 第 2 号、厚生労働省医薬局長通知「医薬品の範囲に関する基準の一部改正について」）に基づき行われる。本基準は、主に成分本質（原材料）、効能効果、形状、用法用量の 4 要素に分けられるが、本研究では、特に成分本質（原材料）により無条件に「専ら医薬品」と判断されるべき成分本質について調査を行うものである。

分担研究者らは、平成 15 年度より、本研究班の前身である「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）の有効性及び安全性等の評価に関する研究」において、平成 13 年 3 月 27 日付の「専ら医薬品リスト」に記載された 331 品目について、「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）の有効性及び安全性の評価に関する研究」として、これらの品目について、徹底的な調査・分析を行い、最終的に「A 安全性に十分な配慮が必要であり、専ら医薬品と考えられる、B 国内外を含め医薬品として使用実態があり、専ら医薬品と考えられる、C さらに調査を続ける必要がある、D 現在のところ判断データがない、E 医薬品としての使用実績が乏しく、含有成分等からも食薬区分の見直し対象となり得ると考えられる」の 5 段階の評価を行って来た。また、現在食薬区分上分類がなされていない新規成分本質（原材料）について、国内外の医薬品としての使用実態、毒性、

麻薬様作用，含有成分の構造等に基づき，食品又は医薬品のどちらに分類すべきものであるか調査を行い，さらに判断の根拠となる各種実験を行ってきた．その結果を基礎に，平成19年4月に医薬品の範囲に関する基準が大改正（平成19年4月17日 医薬発第1115003号）され，専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）が321成分（植物由来242，動物由来21，その他58）となった．さらに引き続き「専ら医薬品」としての規制の範囲に関する研究において新規に申請のあった成分本質（原材料）や，近年，違法ドラッグ取り締まり等で新たに発見される化合物等について食薬区分の検討を行い，前述した平成27年の通知では，専ら医薬品として使用される成分本質は，325成分（植物由来236，動物由来21，その他68）となった．

本研究では，無承認無許可医薬品の調査と分析，有害性評価に関する研究の他の分担研究と連携しながら，文献調査等を行い，医薬生活衛生局監視指導・麻薬対策課長が招集する「医薬品の成分本質に関するワーキンググループ」のための調査・検討を行ったので報告する．

B. 研究方法

調査項目は，主に以下の①～⑩である．

- ①名称，他名等，部位等，備考
- ②学名，基原植物和名等，生薬名，英名等
- ③医薬品としての使用実態があるか
- ④毒性データ
- ⑤アルカロイド，毒性タンパク，毒薬劇薬指定成分等を含むか
- ⑥麻薬，向精神薬及び覚醒剤様作用があるもの（類似化合物も含む）及びその原料植物であるか

⑦主要な二次代謝産物等

⑧主要な生理活性

⑨その他注意すべき点

⑩指定医薬品または要指示医薬品に相当する成分を含むか

本調査では，原著論文以外に，主に以下の参考文献を使用している．

1：日本薬局方(16局及び16局第一，第二追補)

2：日本薬局方外生薬規格2015

3：(新訂)和漢薬，医歯薬出版（赤松金芳）

4：中薬大辞典，小学館

5：The Complete German Commission E Monographs Therapeutic Guide to Herbal Medicines, The American Botanical Council (Com E)

6：Botanical Safety Handbook, American Herbal Products Association

7：Dictionary of Plant Toxins, Jeffery B. Harborne FRS, Herbert Baxter, Willey

8：WHO Monographs on Selected Medicinal Plants

9：ブラジル産 薬用植物事典（橋本悟郎）

10：和漢薬百科図鑑（難波恒雄）

11：原色牧野和漢薬草大図鑑，北隆館

12：(原色) 牧野植物大図鑑：北隆館

13：日本の野生植物，平凡社

14：園芸植物大辞典，小学館

15：世界の植物，朝日新聞社

16：中国薬典2015

これらの参考文献のうち，①名称で規定する基原植物を確定するために，まず，日本の公定書である文献1,2を優先した．次いで，和漢薬と考えられるものでは，医薬品の範囲に関する基準，別添1で参考文献に指定されている，文献3,4での記載を優先し，次いで，

10～16等の記載内容等を考慮し、最も相応しいと考えられるものを選択した。また、欧米で用いられている生薬、ハーブについては、同様に別添1で記載のある5, 6, 7, 8の記載について優先的に考慮し、他文献も踏まえて最も相応しいと考えられるものを選択した。また、南米原産の植物（生薬、ハーブ）については9の記載を、主に参考とした。さらに、英名については、主に文献5, 6を参考とした。なお、局方での生薬の正名は、カタカナであるが、通知での生薬名は、参考情報であるので、基本的に、より情報が多い漢字で記載した。

③は、文献1-2, 5, USP, 新一般用漢方処方の手引き（じほう、通称新210処方）、JAPICの日本医薬品集（医療用、一般用）並びに、インターネット等の情報を参考にした。医薬品としての使用実態は、日本で医薬品並びにその成分として承認されている場合（新210処方の構成生薬である場合を含む）、文献5（Com E）やUSPに記載されている場合には、使用実態があるとしたが、文献3, 4, 9, 10, 16等に記載されているだけでは、使用実態があるとはしなかった。

④は、②の基原植物の学名や英名を、植物毒性データベースであるRTECSで検索するとともに、Merck Index等の情報も参考とした。また、学名に対応するデータがない場合には、同属植物のデータも学名とともに記載した。さらに、基原植物が含有する化合物の毒性データについても、ここに記載した。

⑤, ⑥, ⑦は、学名でケミカルアブストラクツ(CA)検索した要旨並びに原著論文を参考にするとともに、文献7, 10並びにPhytochemical Dictionary (Jeffery B.

Harborne FRS, Herbert Baxter, Gerard P. Moss)等を参考にした。

⑧は、学名でケミカルアブストラクツ検索した要旨並びに原著論文、Phytochemical Dictionary並びに、文献4, 10, 11等を参考にした。

⑨は、①-⑧以外の情報で、インターネットを中心にして情報を収集した。

⑩は、日本医療用医薬品集（じほう）、JAPIC一般用医薬品集（JAPIC）等を参考とした。

C. 研究結果と考察

新規に調査依頼があった化学物質では、ATPは、医療用医薬品として使用されており、判断基準の(1)専ら医薬品としての使用実態があるに完全に合致し、また処方箋医薬品でもあるため(2)-(3)と判断され、専ら医薬品に指定すべき成分本質と判断されるべきと考察した。

また、homotadalafil及びdimethyldithiodenafilは、主要分子構造がED治療薬であるtadalafil及びsildenafilと同一であり、その構造を考慮すると、ED治療薬と同様の効能・効果を予想して合成されたものと判断されることから、専ら医薬品に指定すべき成分本質と判断されるべきと考察した。

N-アセチルノイラミン酸は、既に、食品成分中にある程度存在し、LD50等の急性毒性データも非医双頭であり、生物医薬品等の構成成分の一部ではあるものの単体として医薬品としては使用されておらず、非医と考察した。

植物由来物質5品目のうち、アオバナ(*Commelina communis* L. var. *hortensis* Makino)地上部は、成分として、1-デオキシノジリマイシン(1-deoxynojirimycin)と、ピロリジン化合物(2,5-dihydroxymethyl-3,4-

dihydroxypyrrrolidine) を含み、どちらも含窒素化合物であること、1-デオキシノジリマイシンは、専ら医として指定されている化学成分であること、本エキスは α -グルコシダーゼ阻害に由来すると考えられる抗糖尿病活性、抗肥満活性が報告され、特許がとられていることが特筆される。また、これらの化合物以外に 10 種のフラボノイドが単離され、さらに抗酸化活性が報告されているが、本植物自体の安全性の公開報告はない。一方で既に食品として販売例はあり、前述した化合物も、高い毒性化合物とは考えられないので、添付された安全性試験結果と考える合わせて含有成分を特に言及しなければ、タウリン含有のものと同様に非医となりうると考察した。

ヨーロッパナラ (*Quercus robur*) は、Botanical Safety Handbook に掲載され、Class は 2d、ただし、入浴剤等、外用を念頭に Class が規定されている。また、Com E にも記載があるが、internal use では、禁忌と副作用は記載されていない。従って、医薬品としての使用経験はある。一方、成分的には 10%以上のタンニンであるが、ワイン樽としての使用等を考慮すると食経験はあるものと考えられる。さらに、文献検索からも、危険な化合物は入っていないものと推定されることから非医となりうると考えられた。ただし、近縁のショウボクヒ (局方ボクソク、クヌギ、コナラ、ミズナラ) は日本で医薬品としてしか使われていないということで、専ら医指定されているので、この点について配慮が必要と考えられた。

イナゴマメ (カロブ) の莢については、成分的には、縮合型タンニン、糖類、ペクチン、アミノ酸類であり、タンニン含量が高いため、そのままの使用が難しく、発酵等と組み合わせ

て、(家畜のえさや、バイオエタノール原料) 等への利用が検討されてたが、近年ココアパウダーの代替品としての使用が検討されていることが明かとなった。また、最近、カロブには、D-pinitol が多量に入っていることが判り、D-pinitol は、グルコーストランスポーターの亢進作用があり、糖尿病予防効果があるとされ、また、D-pinitol の脱メチル化体の Chiro-inositol は、不妊の原因の一つの、多嚢胞性卵巣症候群の改善に効果が有るとされていることが判明している。一方で、マメ科植物なので、レクチンの安全性については考慮すべきであるが、添付の経口投与のデータを考慮すると、急性毒性は非医の基準を十分にみたしていると考察された。従って、現在の食薬区分のルールに基づくと、非医であるものと考察した。

それ以外の二品目については、資料が充分でなく、現段階では食薬区分の判断はむずかしいものと考察した。

また、これまでの検討成果を元に、平成 27 年 3 月 16 日に「医薬品の成分本質に関する WG」が開催されるが、現時点では、本 WG で取り上げられる内容について情報がなく、本件は、次年度以降の報告とする。

D. 結論

新規に「専ら医薬品」であるかどうか判断が求められた品目について、医薬食品局監視指導・麻薬対策課長が招集する「医薬品の成分本質に関するワーキンググループ」のための調査を遂行するとともに、既存の専ら医薬品リスト並びに、非医薬品リストの様々な項目について、同課の依頼に基づき検討を行った。

なお、本研究の成果は、厚生労働省において食薬区分の見直しを検討するための厚生

労働行政上重要な基礎資料となるものであり、平成13年3月27日付医薬発第243号厚生労働省医薬局長通知で、「リストについては、科学的な検証に基づき定期的に見直しを行うこととし、概ね一年程度の期間毎に追加、訂正、削除等を行うこととする」とした、現行の「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」の見直し作業に貢献するものである。

E. 健康危機情報

特になし。

F. 研究発表等

論文発表等

- 1) Goda, Y.: New labeling system of health food products and what needs to be addressed for quality control. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **56**: J135-J138 (2015).
- 2) Goda, Y.: New labeling system of health food products and quality of health food. *Pharmaceutics (Yakuzaigaku)*, **75**: 170-176 (2015).
- 3) 合田幸広, 機能性表示食品の品質保証の確認は? 重要となる分析法の公開, *I.Bヘルスケア*, **29**(1), 6 (2016).
- 4) Tokumoto, H., Shimomura, H., Hakamatsuka, T., Ozeki, Y. and Goda, Y.: Detection of *Nicotiana tabacum* leaf contamination in pharmaceutical products. *Biol. Pharm. Bull.*, **39**: accepted (2016).

学会発表等

- 1) 合田幸広, 健康食品の新しい機能性表示と品質に関する課題, 第109回日本食品衛生

学会学術講演会, 東京 (2015.5)

- 2) 合田幸広, 健康食品の分析から見えてきた品質に関する課題と, 機能性表示食品について試験検査センターで出来ること, 平成27年度日本薬剤師会試験検査センター連絡協議会講演会, 高崎 (2015.6)
- 3) Goda, Y., Experience in Japan: Analysis and identification of illegal constituents in health food products implicitly advertizing tonic or slimming effect in the National Institute of Health Sciences, International Conference on Illegal Medicines and Adulterated Dietary Supplements, Taipei (2015.9)
- 4) 合田幸広, 食薬区分と違法ドラッグ, 漢方薬・生薬認定薬剤師研修会, 東京 (2015.9)
- 5) 合田幸広, 食薬区分と生薬, 東京農工大学工学部生命工学科講義, 東京 (2015.11)

新聞報道等

- 1) 合田幸広, 機能性表示食品の最大の課題は、品質保証, *日経バイオテク*, 2015年11月23日
- 2) 機能性表示食品、最大の課題は品質保証だ, *FOOCOM.NET*, 合田幸広・国立医薬品食品衛生研究所薬品部長インタビュー, 2015年12月7日

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究
研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部室長 丸山卓郎

各地で採集したオオイタドリにおける emodin 含量の調査

協力研究者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部流動研究員 吉富太一

研究要旨 オオイタドリは、我が国で健康食品として流通し、anthraquinone (AQ) 類や resveratrol (RV) を含有することが知られている。本研究室では、LC/MS を用いたオオイタドリの AQ 類および RV の迅速定量分析法を開発し、*Polygonum* 属植物由来の生薬 3 種（コジョウコン、カシュウ、ケンジン）、健康食品 7 製品および採集したオオイタドリおよびイタドリについて定量を行い、9 成分の定量結果を報告した。今回、この手法を用い、各地で採集されたオオイタドリに対し、精製水と有機溶媒(アセトン)による EM の抽出効率と、その定量値について検討した。その結果、精製水とアセトンで抽出効率に大きな差異は無く、北海道産のオオイタドリは本州産に対し、100 倍以上の EM を含有することが判明した。

A. 研究目的

オオイタドリ *Polygonum sachalinense* は、わが国で中部地方以北に群生する植物であり、同属のイタドリ *P. cuspidatum* 同様、その若芽部を食する習慣が各地域に根付いている。

近年、これらの植物は、マウス等の寿命延長作用やヒト抗動脈硬化作用を持つと考えられる resveratrol (RV) を含有する¹⁾²⁾ことから、世界各国で健康食品として流通している。一方で、これらは劇薬相当の毒性を有する emodin (EM) を含有することから、その取扱いについて注意する必要がある。

EM は、anthraquinone (AQ) 骨格を有する植物色素の一種であり、遊離もしくは配糖体の形で

含まれる 2 次代謝物である³⁾ (Fig. 1)。様々な高等植物において、その存在が報告され、存在する器官も根、茎、葉、種子など多岐に渡る分布が確認されている⁴⁾。この分子は、植物自身を捕食する動物や病原体あるいは強光などの外部刺激から保護する目的で存在すると考えられている⁴⁾。

オオイタドリ中の EM について、本研究室で調査し、葉、根、および茎の比較では葉が最も多くの EM を含有することを明らかにした⁵⁾。EM は AQ 骨格を有するため、比較的疎水性の高い分子と考えられるが、その抽出溶媒として、精製水のみしか検討しておらず、有機溶媒による抽出効率と定量値を改めて確認する必要があ

る。以上のことから、本研究室で開発されたオオイタドリの AQ 類および RV の迅速定量分析法を利用し、種々のオオイタドリから有機溶媒による抽出を行い、その抽出効率と定量値の確認を行うことを目的とした。

B. 研究方法

1. 実験材料

本研究に用いた標準品の RV は東京化成工業株式会社より購入した。EM は Abcam 社より購入した。内標準物質として用いた Ethyl *p*-hydroxybenzoate は和光純薬工業株式会社より購入した。その他の試薬は、1 級，特級，あるいは液体クロマトグラフィー用を用いた。

2. 装置

LC 部に Shimadzu Prominence UFLC システムを配した LCMS-2020 質量分析計 (島津製作所製) を用いた。

3. LC/MS 分析

3-1. 試料調製

RV 及び EM の標準品 1 mg を MeOH で溶解し、保存溶液 1 mL を得た。各保存溶液を用いて段階希釈し、0.2 mg/mL になるように内標準物質を加えた標準溶液 (0.0075 ~ 10 µg/mL) を調製し、検量線を作成した。

採集したオオイタドリについては、使用部位として若芽部を選び、精製水抽出とアセトン抽出の 2 種類を検討した。

精製水抽出は、粉碎したサンプルをそれぞれ 100 mg 取り、10 mL の精製水を加え、振とう機を用いて 20 分間振とうさせ、遠心分離後、

上清を回収した。この操作を 5 回行い、精製水を濃縮した後 MeOH で再溶解した。これを、検量線範囲内になるよう適宜希釈し、内標準物質をそれぞれ加えて測定溶液とした。

アセトン抽出は、粉碎したサンプルをそれぞれ 20 mg 取り、10 mL のアセトンを加え、振とう機を用いて 20 分間振とうさせ、遠心分離後、上清を回収した。この操作を 3 回行い、アセトンを濃縮した後 MeOH で再溶解した。これを、検量線範囲内になるよう適宜希釈し、内標準物質をそれぞれ加えて測定溶液とした。

3-2. 分析条件

以下の条件により分析を行った。

LC 条件

カラム : Kinetex 2.6u C18 100A (2.1×150 mm, 2.6 µm; Phenomenex)

移動相 A 液 : 0.5% 酢酸水溶液

移動相 B 液 : アセトニトリル

グラジエント (A 液/B 液) : 70/30 (initial) – 30/70 (3 min) – 30/70 (10 min) – 0/100 (5 min hold)

流速 : 0.2 mL/min

注入量 : 1 µL

カラム恒温槽温度 : 40°C

検出器 : ダイオードアレイ検出器 (スキャン範囲 190 – 800 nm)

MS 条件

イオン化法 : ESI ネガティブモード

ネブライザーガス流量 : 1.5 L/hr

ドライイングガス流量 : 10.0 L/hr

インターフェイス電圧 : 4.5 kV

DL 電圧 : 0 V

DL 温度：250°C

ヒートブロック温度：200°C

検出器電圧：1.1 kV

SIM モード： m/z 227 (RV), 269 (EM)

C. 研究結果および考察

上記の条件において行った LC/MS 分析時のマスキロマトグラムを示した(Fig. 2). それぞれ任意の濃度に調製した RV 及び EM の標準溶液における内標準物質 Ethyl *p*-hydroxybenzoate に対するピーク面積比から検量線を作成した(内部標準法). RV は, 0.01 – 2.5 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲において $R^2 = 0.9993$, EM は, 0.0075 – 0.1 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲において, $R^2 = 0.9995$ の良好な直線性を示した. これは, 本研究室にて報告された結果に一致した⁵⁾.

EM 含量の調査のため, 各地でオオイタドリを採集し(Table 1), 上記の定量法を適用した. オオイタドリの使用部位は, 全てのサンプルで若芽部を選択した. 抽出溶媒は, 精製水と有機溶媒(アセトン)を用いた. 事前検討で, 有機溶媒は, メタノールとアセトンを使用し, マスキロマトグラムと UV クロマトグラムのピーク面積値から EM の抽出効率を比較した. その結果, 抽出効率は, アセトンがメタノールに対し, およそ 2 倍程度良好という結果を得た(Table 2).

Table 3 において, Sample 1 – 8 を各溶媒で抽出したのに対し, EM 1 g に換算した結果を示した. その結果, 精製水とアセトンでは抽出効率が, ほぼ同等と考えられた.

また, Sample 間の比較では, Sample 1 – 5 は北海道で, Sample 6 – 8 は本州で採集したものであった. 北海道産の各オオイタドリ中の EM は,

1 g あたり 5.0 – 6.3 mg, 本州産の各オオイタドリ中の EM は, 1 g あたり 0.0015 – 0.0064 mg であり, 北海道産は本州産に対し, 100 倍以上の EM を含有していることが判明した. EM は, いくつかの高等植物の器官において存在し, その含量は季節性や光の強度に影響される⁶⁾. この結果は, オオイタドリ中の EM 含量が各地域の環境に強く依存して, その量を調整していることを示唆している.

D. 結論

本研究室で開発されたオオイタドリに含有されるアントラキノン類およびレスベラトロールの迅速定量分析法を用い, 各地で採集したオオイタドリに対し, EM の精製水及びアセトン抽出による差異を検証した.

その結果, 精製水とアセトンで抽出効率に大きな差は確認されなかった. また, EM 含量は各 Sample 間で大きな差が認められ, 北海道産は本州産に対し, 100 倍以上多いことが判明した.

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

参考文献

- 1) Baur J. A., Pearson K. J., Prince N. L., Jamieson H. A., Lerin C., Kalra A., Prabhu W., Allard J. S., Lopez-Lluch G., Lewis K., Pistell P. J., Poosala S., Becker K. G., Boss O., Gwinn D., Wang M., Ramaswamy S., Fishbein K. W.,

- Spencer R. G., Lakatta E. G., Le Couteur D., Shaw R. J., Navas P., Puiqsriver P., Ingram Cabo R., Sinclair D. A.: Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*, **444**, 337-342 (2006).
- 2) Wong R. H., Howe P. R., Buckley J. D., Coates A. M., Kunz I., Berry N. M.: Acute resveratrol supplementation improves flow-mediated dilatation in overweight/obese individuals with mildly elevated blood pressure, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **21**, 851-856 (2011).
- 3) Bentley R.: Secondary Metabolite Biosynthesis. *Critical Reviews in Biotechnology*, **19**, 1-40 (1999).
- 4) Ido I. : Emodin – a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants, *New Phytologist*, **155**, 205-217 (2002).
- 5) 在間一将, 丸山卓郎 : 厚生労働科学研究費補助金事業, 「健康食品と称して販売される無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究」, 平成 26 年度分担研究報告書, (2015).
- 6) Waterman PG., Mole S.: Extrinsic factors influencing production of secondary metabolites in plants, *Insect-plant interactions*, **1**, 107-134 (1989).

Table 1 A list of crude extract from *P. sachalinense*.

Sample no.	Source plant	Locality	Collection date
1	<i>P. sachalinense</i>	北海道帯広市	2014.4
2	<i>P. sachalinense</i>	北海道帯広市	2014.4
3	<i>P. sachalinense</i>	北海道帯広市	2014.4
4	<i>P. sachalinense</i>	北海道帯広市	2014.4
5	<i>P. sachalinense</i>	北海道上川郡下川町	2014.5
6	<i>P. sachalinense</i>	新潟県糸魚川市	2014.5
7	<i>P. sachalinense</i>	新潟県村上市	2014.4
8	<i>P. sachalinense</i>	山形県鶴岡市	2014.5

Table 2 The comparison between mass chromatogram peak area and UV chromatogram peak area of the extracted EM from *P. sachalinense*.

solvent	Mass chromatogram Peak area	UV chromatogram Peak area
Acetone	536414	7596
Methanol	274989	3436