



製薬薬剤師セミナー

トウキ葉の成分分析 (成分変動に関与する要因の探索)

奈良県薬事研究センター
大住優子
平成28年12月15日

- 
1. はじめに
 - トウキについて
 - フロクマリン類について
 2. 試験方法
 - 2-1. 試験検体
 - 2-2. 試験方法
 3. 試験結果
 - 3-1. 昨年の報告概要
 - 3-2. フロクマリン類 3 成分の含量測定
 4. まとめ及び考察

- 
1. はじめに
 - トウキについて
 - フロクマリン類について
 2. 試験方法
 - 2-1. 試験検体
 - 2-2. 試験方法
 3. 試験結果
 - 3-1. 昨年の報告概要
 - 3-2. フロクマリン類 3 成分の含量測定
 4. まとめ及び考察



Angelica acutiloba Kitagawa



トウキ 根 (農場A)



トウキ栽培地 (農場A)



トウキ栽培地 (農場B)

1. はじめに

トウキについて

- ◆ 漢方のメッカ推進プロジェクト
- ◆ 未利用部である葉などの有効活用と産業化
- ◆ トウキ(大和トウキ)

Angelica acutiloba Kitagawa

ホツカイトウキ

Angelica acutiloba Kitagawa var. *sugiyamae*

Hikino

Umbelliferae(セリ科)の植物

フロクマリン類について

◆ 欧州医薬品庁 (EMA)

Angelica archangelica L (和名: ヨーロッパトウキ) に含まれているフロクマリン類に関連したリスク評価情報を公表 (2007)

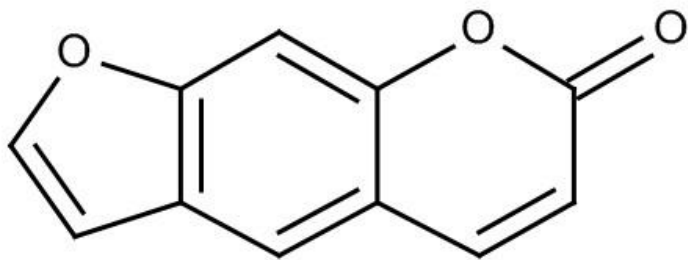
◆ 光毒性

多量に摂取し、これらの化合物が血中にある状態で紫外線を浴びると紅斑、色素沈着、びらんなどの症状を呈する。

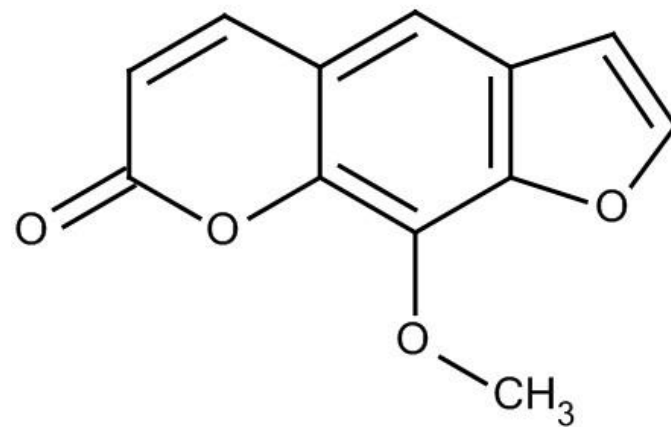
◆ プソラレン誘導体

プソラレン、キサントキシシン、ベルガプテン

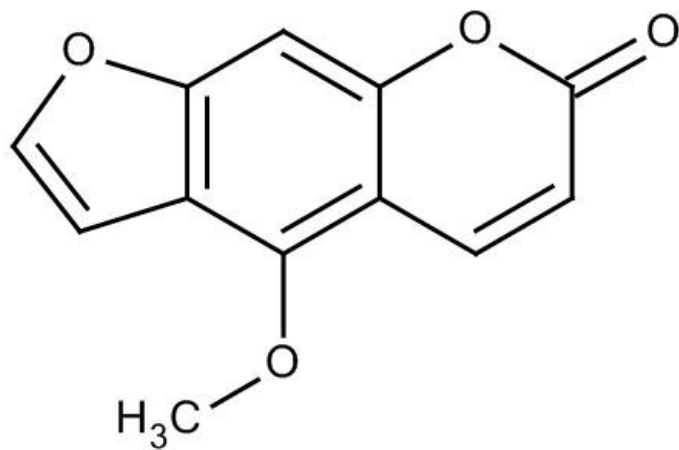
◆ ストレス化合物




プソラレン



キサントキシシン



ベルガプテン

- 
1. はじめに
 - トウキについて
 - フロクマリン類について
 2. 試験方法
 - 2-1. 試験検体
 - 2-2. 試験方法
 3. 試験結果
 - 3-1. 昨年の報告概要
 - 3-2. フロクマリン類 3 成分の含量測定
 4. まとめ及び考察

2-1. 試験検体

検体

トウキの葉及び莖

産地

奈良県五條市

乾燥・保管条件

30°Cで100時間温風乾燥後,
室温保管

① 2015年8月採取

サンプル記号
Aa-1508-①～⑩-内
Aa-1508-①～⑩-中
Aa-1508-①～⑩-外

内:3

中:2, 4

外:1, 5



1

2

3

4

5

② 2016年7月～10月採取

7月21日採取	8月25日採取	9月27日採取	10月26日採取
Aa-1607-Sh0-1～8	Aa-1607-Sh0-1～8	Aa-1607-Sh0-1～8	Aa-1607-Sh0-1～8
Aa-1607-Sh30-1～7	Aa-1607-Sh30-1～7	Aa-1607-Sh30-1～7	Aa-1607-Sh30-1～7
Aa-1607-Sh50-1～8	Aa-1607-Sh50-1～7	Aa-1607-Sh50-1～7, 9	Aa-1607-Sh50-1～7, 9
Aa-1607-F1-1～3	Aa-1607-F1-1～3	Aa-1607-F1-1～3	Aa-1607-F1-1～3
Aa-1607-F2-1～3	Aa-1607-F2-1～3	Aa-1607-F2-1～3	Aa-1607-F2-1～3
Aa-1607-M1-1～3	Aa-1607-M1-1～3	Aa-1607-M1-1～4	Aa-1607-M1-1～4
Aa-1607-P-1～2	Aa-1607-P-1～3	Aa-1607-P-1～3	Aa-1607-P-1～3
Aa-1607-N-1～2	Aa-1607-N-1～2	Aa-1607-N-1, 3	Aa-1607-N-1～3
36検体	36検体	38検体	39検体


サンプル記号

16XX:2016年XX月採取

Sh:同一系統で栽培条件(遮光)が異なる

Sh0:遮光なし Sh30:30%遮光 Sh50:50%遮光

F1, F2, M1, P, N:各系統

- 
1. はじめに
 - トウキについて
 - フロクマリン類について
 2. 試験方法
 - 2-1. 試験検体
 - 2-2. 試験方法
 3. 試験結果
 - 3-1. 昨年の報告概要
 - 3-2. フロクマリン類 3 成分の含量測定
 4. まとめ及び考察

2-2. 試験方法

2-2-1. 試料

乾燥した検体を粉砕器で粉砕し、42号ふるい(355 μ m)を通したものを試料とした。

2-2-2. 乾燥減量

105 $^{\circ}$ Cで6時間乾燥し、乾燥減量を算出した。

2-2-3. 標準溶液の調製

プソラレン(東京化成工業製,純度>98%),キサントキシン(東京化成工業製,純度>98%),ベルガプテン(東京化成工業製,純度>98%)のメタノール溶液(0.1mg/mL)をメタノール/水混液(4:1)で50倍希釈し、標準溶液とした。(最終濃度:2 μ g/mL)

2-2-4. 試料溶液の調製

試料を精密に量り，試料0.1gに対し溶媒量が10mLとなるようにメタノール/水混液(4:1)を正確に加え，20分間超音波処理の後，遠心分離し，上澄液を孔径0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過し，ろ液を試料溶液とした。

2-2-5. HPLC条件

測定波長 : 248nm

カラム : Inertsil ODS-4 (4.6mm × 150mm, 5μm)

カラム温度 : 40.0°C

移動相 : 水／アセトニトリル混液 (13:7)

流量 : 毎分1.0mL

注入量 : 10μL

装置:

Shimadzu LC-20ATポンプ, SIL-20Aオートサンプラー,
SPD-20AV検出器, CTO-20ACカラムオーブン,
Lcsolutionワークステーション


2-2-6. システム適合性

2-2-6-1. システムの性能

標準溶液10 μ Lにつき、上記の条件で操作するとき、
プソラレン、キサントキシシン、ベルガプテンの順に溶
出し、プソラレンとキサントキシシンの分離度は1.5以
上である。

2-2-6-2. システムの再現性

標準溶液10 μ Lにつき、上記の条件で試験を6回繰り
返すとき、プソラレン、キサントキシシン及びベルガプ
テンのピーク面積の相対標準偏差はそれぞれ2.0%
以下である。

- 
1. はじめに
 - トウキについて
 - フロクマリン類について
 2. 試験方法
 - 2-1. 試験検体
 - 2-2. 試験方法
 3. 試験結果
 - 3-1. 昨年の報告概要
 - 3-2. フロクマリン類 3 成分の含量測定
 4. まとめ及び考察


3-1. 昨年の報告概要

トウキと同じセリ科でフロクマリン類について報告があるハマボウフウ，野菜類からパセリ，セロリ，ニンジンについてフロクマリン含量の比較調査を行った。

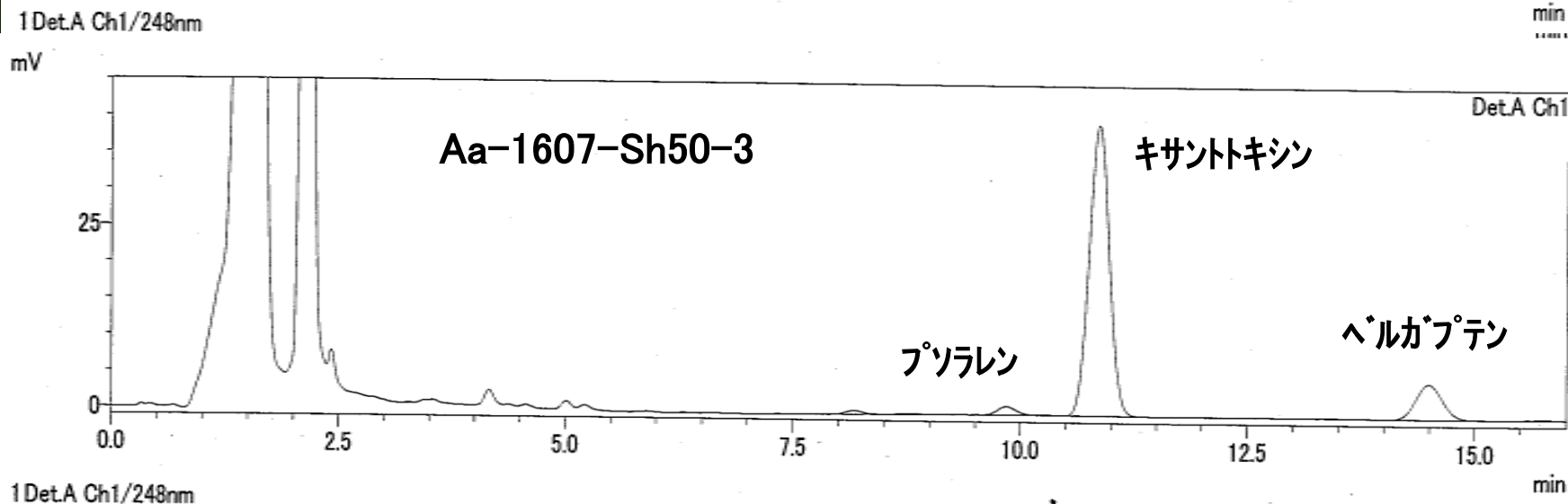
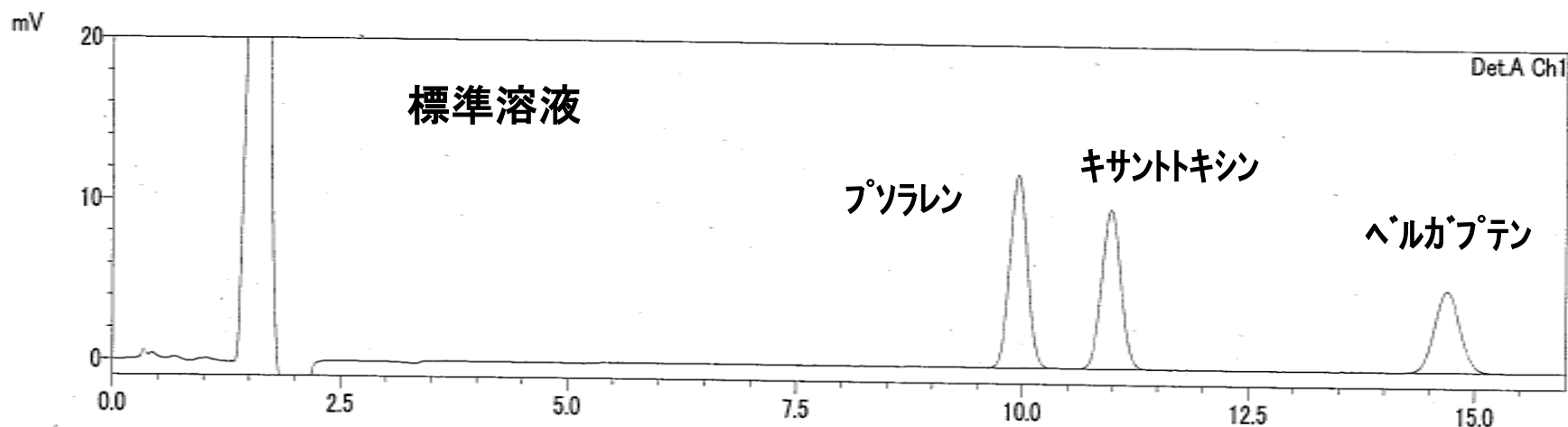
①トウキでは，茎と比較すると葉に多い。

②パセリはトウキの葉の約1/3程度，セロリは約1/10程度の量で，ニンジンの根及び葉にはほとんど含まれていない。ハマボウフウは葉及び茎で，トウキの葉の約2倍量。

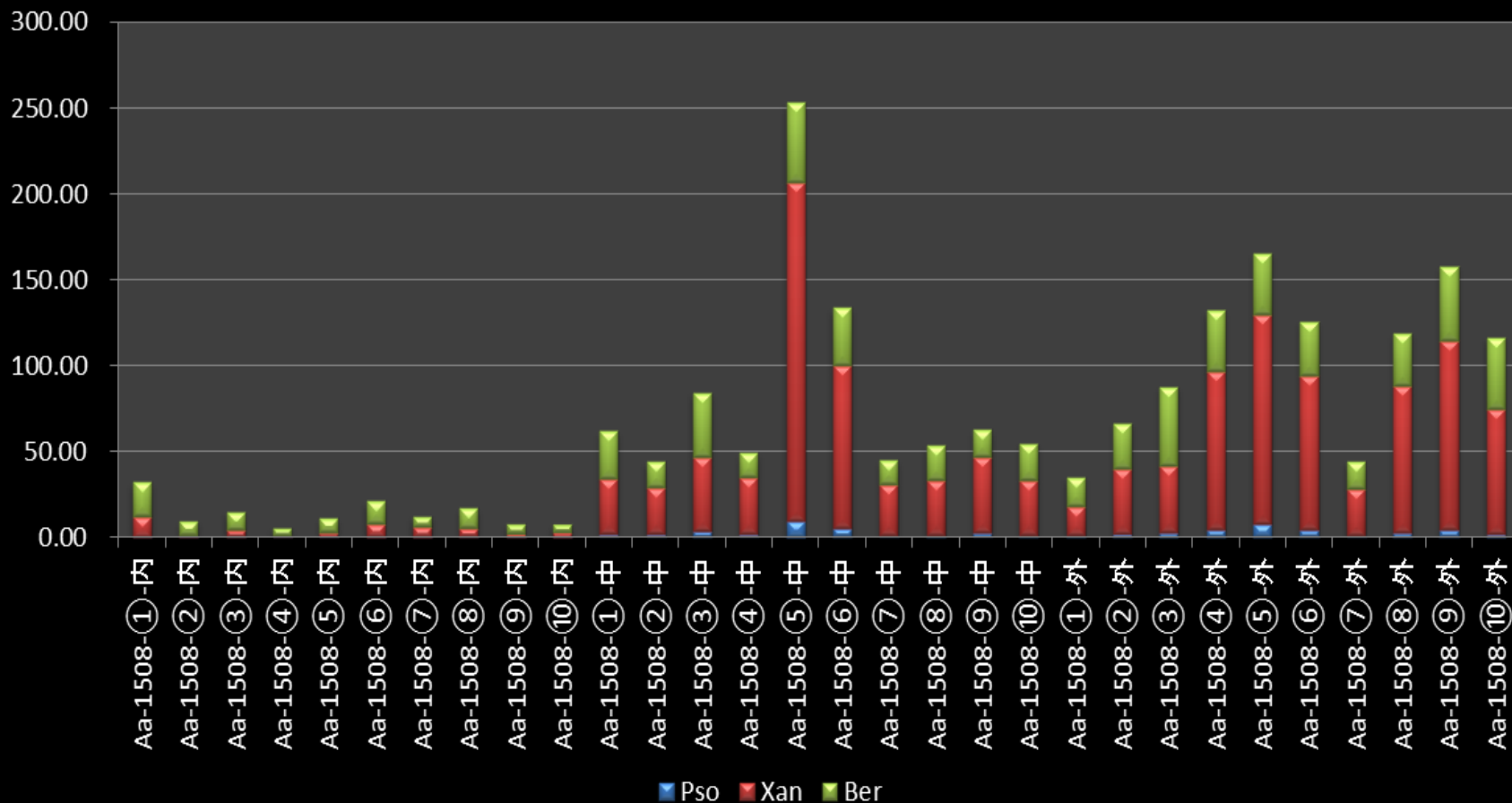
- 濃縮等の調製加工には注意が必要
- 使用の際に注意喚起の必要性
- 含量の変動が非常に大きいので，個体内，個体間，季節間，年度間などの変動について調査し，有効利用推進のため，情報提供を行う。

- 
1. はじめに
 - トウキについて
 - フロクマリン類について
 2. 試験方法
 - 2-1. 試験検体
 - 2-2. 試験方法
 3. 試験結果
 - 3-1. 昨年の報告概要
 - 3-2. フロクマリン類 3 成分の含量測定
 4. まとめ及び考察

3-2. フロクマリン類 3 成分の含量測定 代表的なクロマトグラム

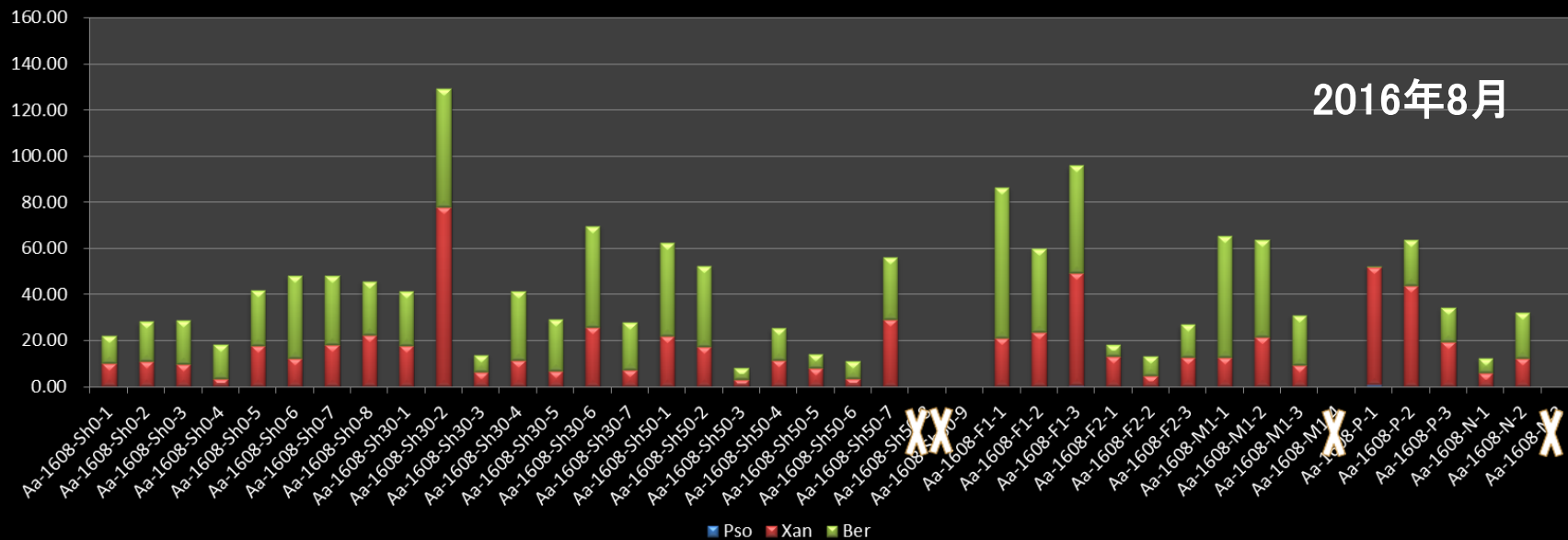
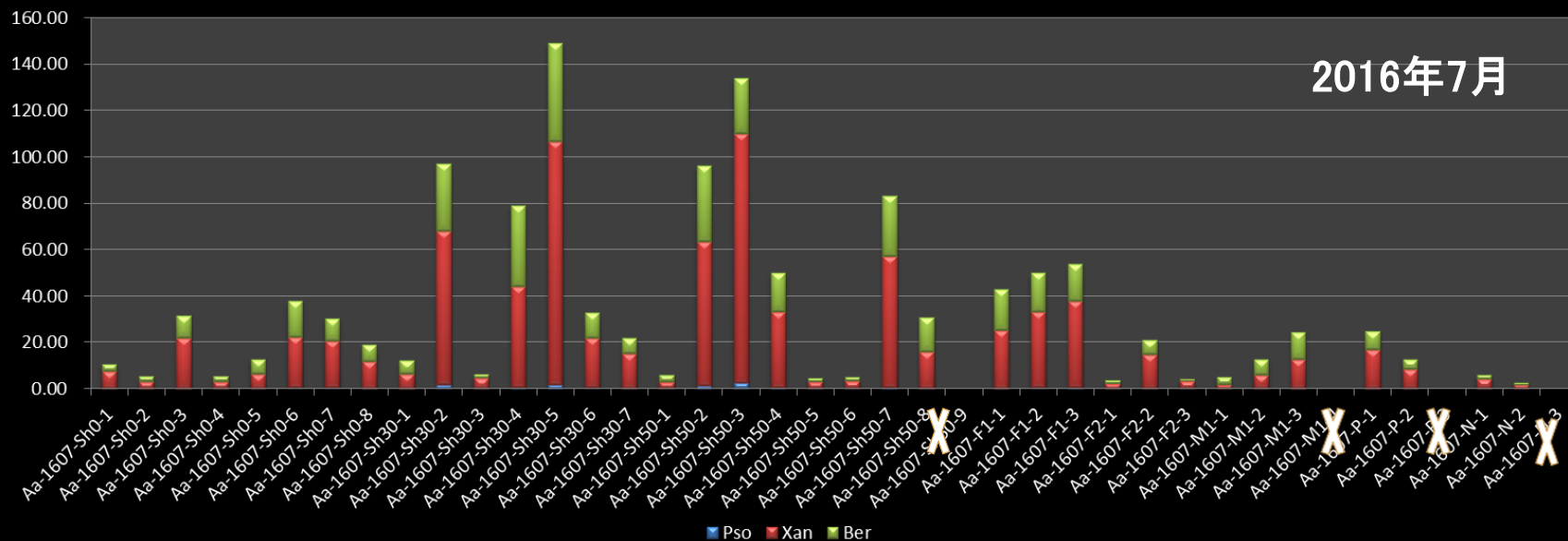


① 2015年8月採取

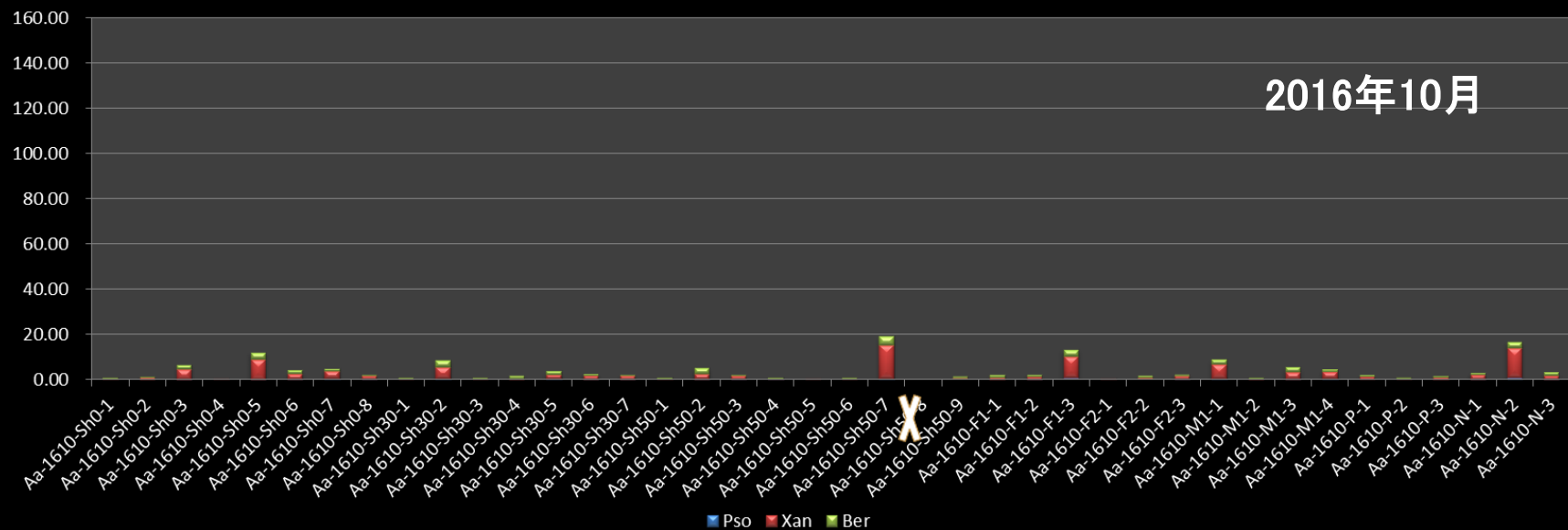
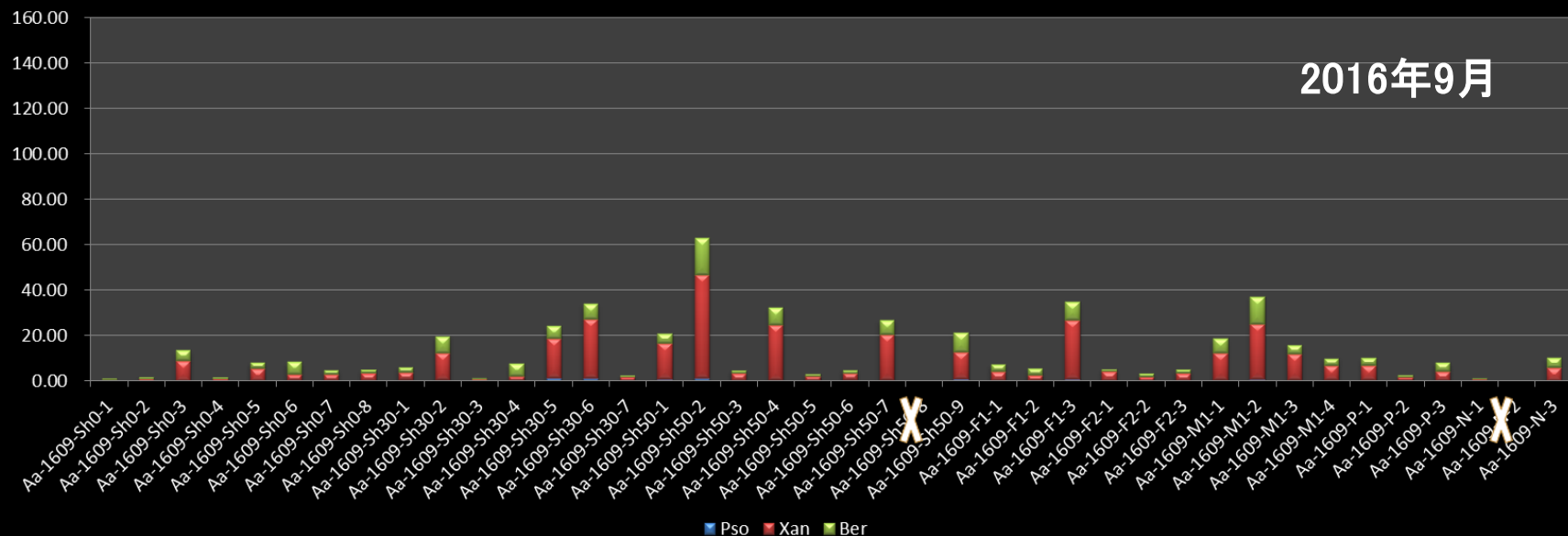


下から青がプソラレン、赤がキサントキシン、緑がベルガプテンの積み上げグラフ
縦軸は試料100g中のフロクマリン類の含量(mg)

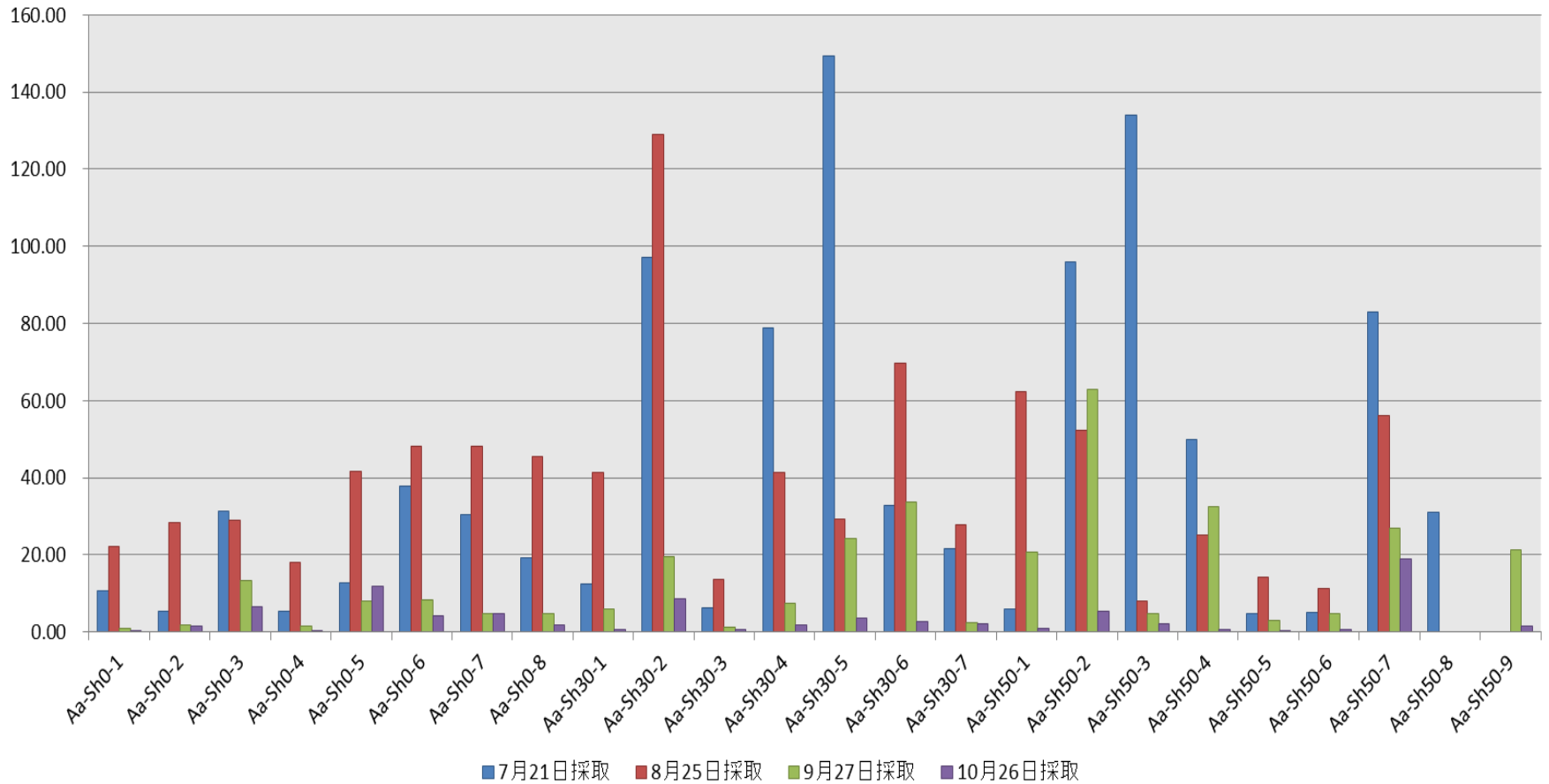
② 2016年7月～10月採取



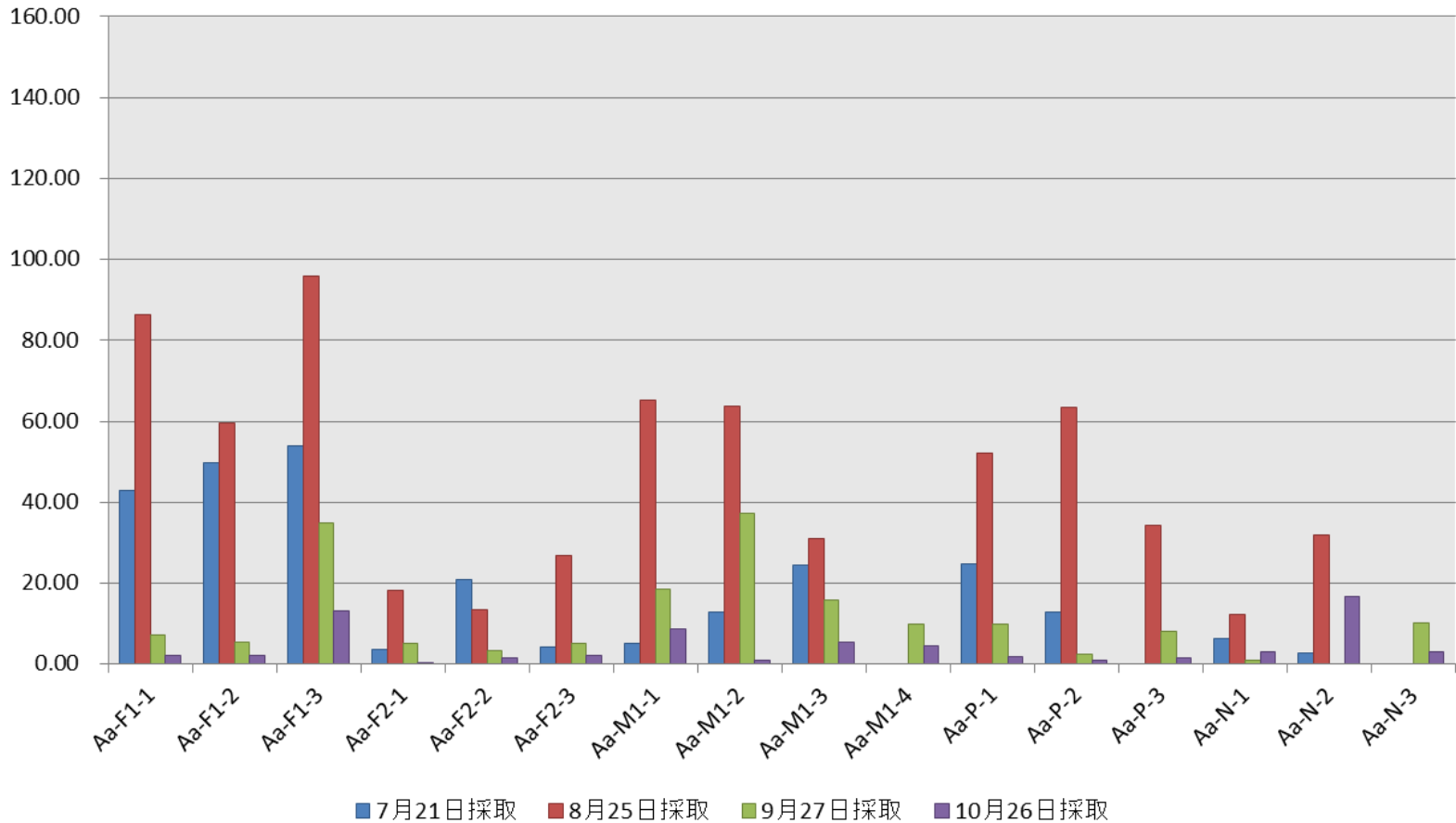
② 2016年7月～10月採取



② 2016年7月～10月採取

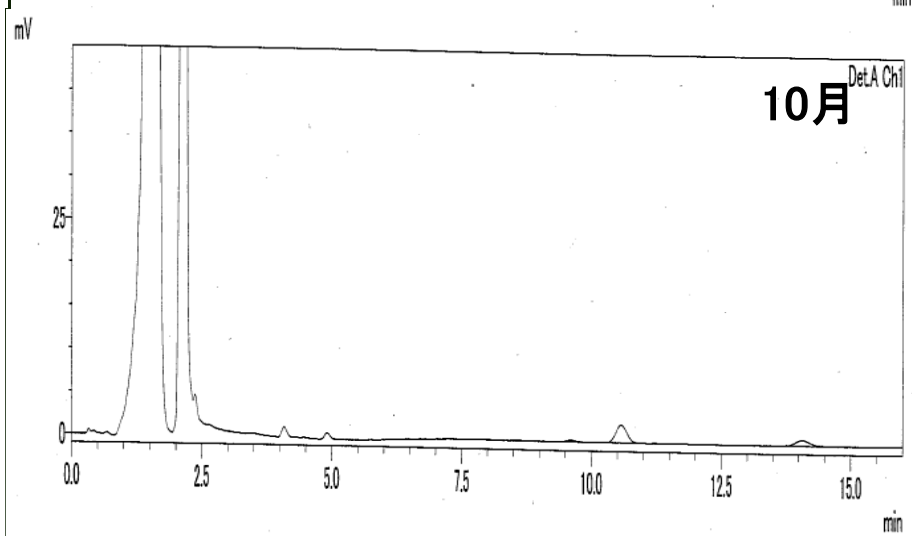
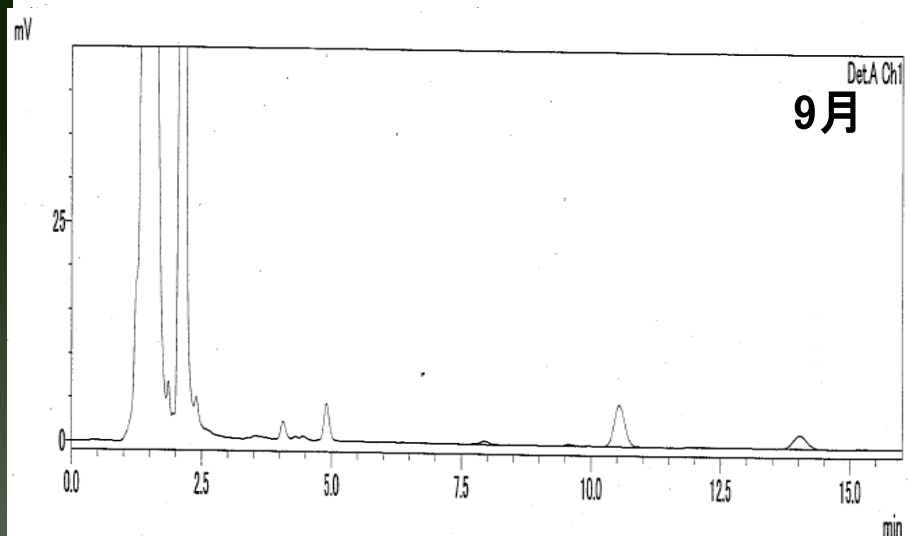
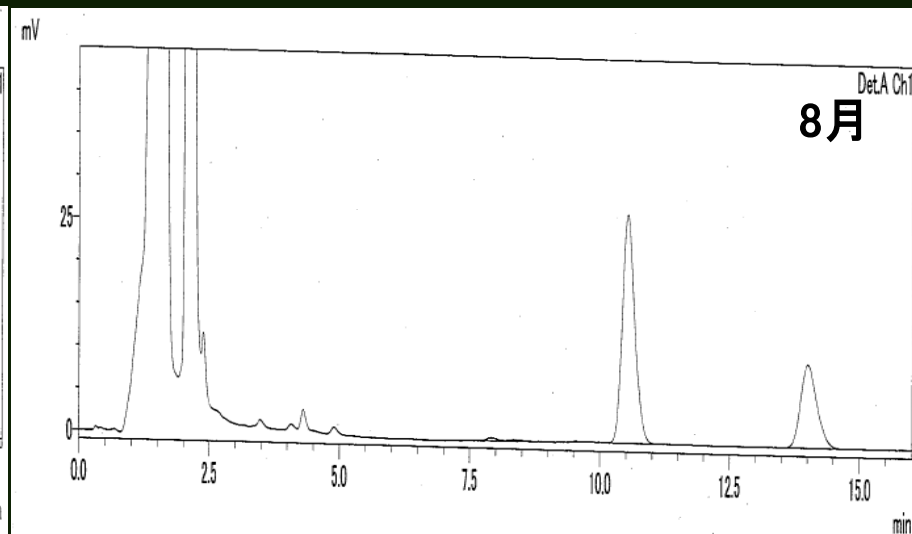
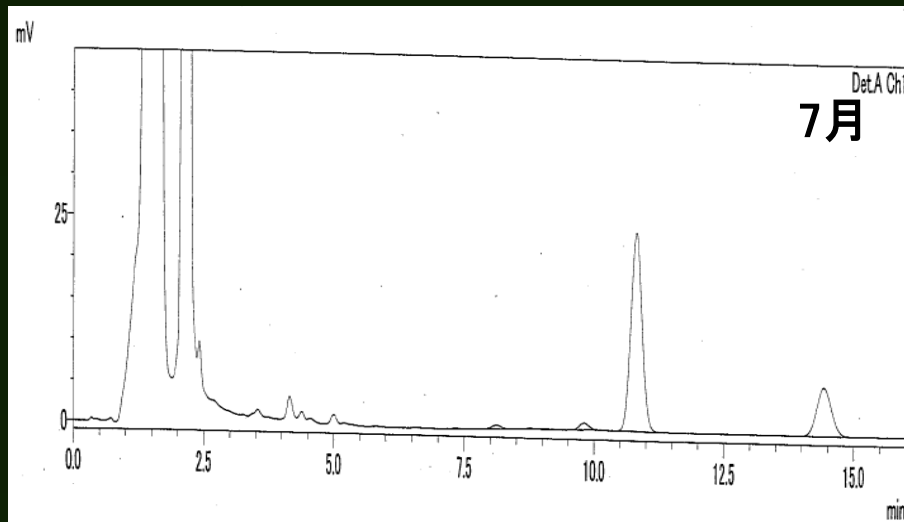


② 2016年7月～10月採取



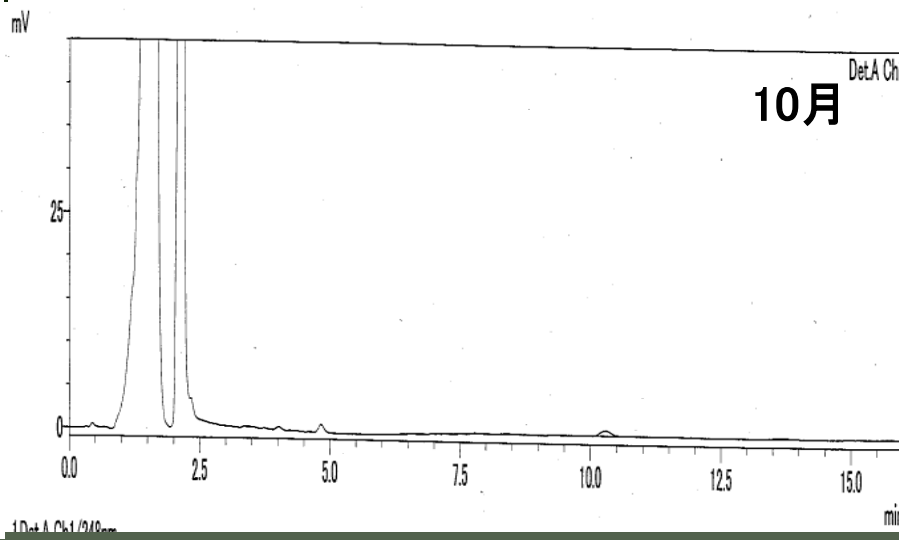
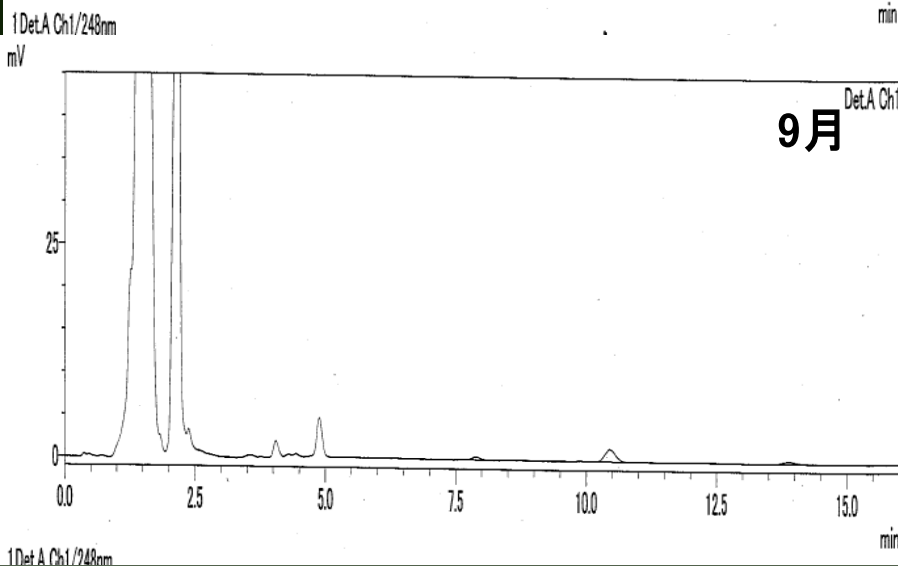
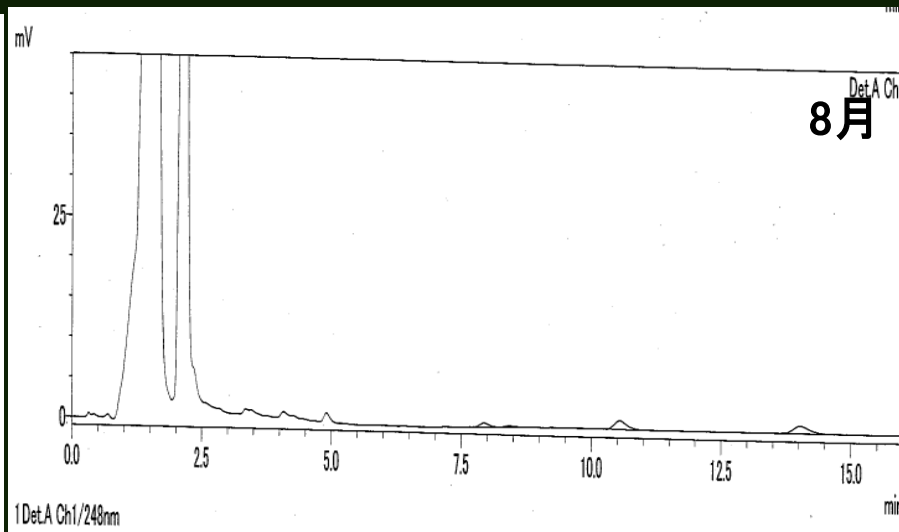
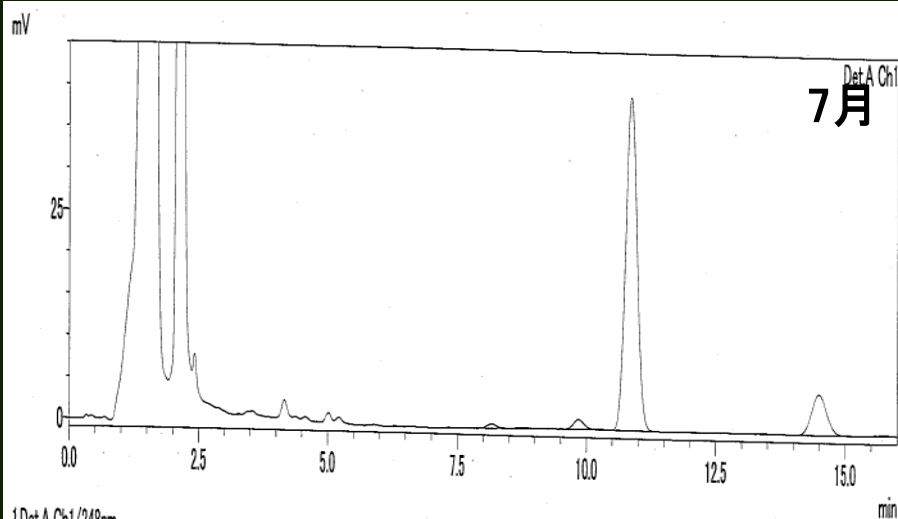
代表的なクロマトグラム


Aa-Sh30-2



代表的なクロマトグラム

Aa-Sh50-3



- 
1. はじめに
 - トウキについて
 - フロクマリン類について
 2. 試験方法
 - 2-1. 試験検体
 - 2-2. 試験方法
 3. 試験結果
 - 3-1. 昨年の報告概要
 - 3-2. フロクマリン類 3 成分の含量測定
 4. まとめ及び考察

4. まとめ及び考察

- ① フロクマリン類含量は、若い内側の葉の含量が最も少なかった。
- ② 個体間のばらつきが非常に大きいですが、7月、8月に採取した検体の方が、9月、10月に採取した検体に比べ、含量が多かった。
- ③ 遮光の有無では、全体的に遮光なしの検体の含量がばらつきが少なかった。
- ④ NやF2の系統で含量が低い傾向が認められた。
 - 有効利用にはネガティブ成分含量にも注意必要
 - フロクマリン類の少ない時期に採取
 - フロクマリン類の生成が抑えられる栽培方法
 - フロクマリン類を生成しにくい系統選抜



ご清聴ありがとうございました