

ノート

イカリインの抽出方法の検討とインヨウカク中の含有量調査

竹内 浩, 林 克弘, 志村恭子

Studies on Extraction and Determination of Icariin in *Epimedium* Herba

Hiroshi TAKEUCHI, Katsuhiko HAYASHI and Kyoko SHIMURA

イカリソウは古くから強精, 強壯薬として用いられる漢方薬であり, イカリソウ中のイカリインを特有成分として, 多くの医薬品に配合されている. しかし, 「いわゆる健康食品」と称される無承認無許可医薬品に, 意図的に混入する違法行為が全国的に報告されており, 今後当県でも健康危機事例による分析対応の可能性を否定できない. 本研究でイカリインの分析法を検討した結果, 超音波抽出法で, イカリソウからイカリインが適切に抽出されることが確認された. また, 日本薬局方「インヨウカク」を用いたイカリイン含有量調査を行ったところ, ロットによりその含有量には約2倍近いばらつきがあることが確認された.

キーワード: イカリソウ, インヨウカク, イカリイン, 高速液体クロマトグラフィー

はじめに

イカリソウはメギ科¹⁾の多年草で, 地上部を採取し, 乾燥させたものをインヨウカクと称し, 古くから強精, 強壯薬として用いられてきた. 現在, イカリソウはエキスや流エキスとしてドリンク剤をはじめとする多くの医薬品に配合されているが, いわゆる健康食品と称する無承認無許可医薬品にも混入される可能性のある生薬の一つである²⁻⁴⁾.

いわゆる健康食品にイカリソウの混入が疑われる場合には, イカリソウの特有成分であるフラボノイド配糖体のイカリインを測定し, 混入の有無を判断することになる.

当県の行政検査⁵⁾では, 「いわゆる健康食品」中の無承認無許可医薬品の抽出法として超音波抽出を採用している. この方法は, 健康食品を検査対象としており, インヨウカク中のイカリインについては抽出率の検討を行っていない.

そこで, 本研究では, 当県の行政検査に用いている抽出方法(抽出法Ⅰ)⁵⁾と無承認無許可医薬品の過去の事例で使用している抽出法(抽出法Ⅱ)⁶⁾, イカリソウを対象とした個別試験法の抽出法(抽出法Ⅲ)⁷⁾の3法を比較し, 当県の行政検査

のイカリイン抽出率を評価した. また, 上述の3法のうち最も抽出率の高かった個別試験法を用いて, 日本薬局方「インヨウカク」のイカリイン含有量調査を行ったので以下に報告する.

実験方法

1. 試料

日本薬局方(株)本天海堂製インヨウカク6ロットを用いた.

2. 試薬

1) イカリイン

和光純薬工業(株)製局方生薬試験用を用いた.

2) 有機溶媒

アセトニトリルは和光純薬工業(株)製高速液体クロマトグラフィー用を, メタノールは関東化学(株)製高速液体クロマトグラフィー用を用いた.

3) その他の試薬

リン酸およびリン酸二水素カリウムは和光純薬工業(株)製特級を用いた.

3. 標準溶液

標準溶液：イカリイン 20mg を正確に秤量し、メタノールに溶解して 20mL とした (1,000 μ g/mL)。

4. 装置および測定条件

- 1) 振とう器
ヤマト科学(株)製 SA31 型
- 2) 超音波洗浄器
ヤマト科学(株)製 8510J-MTH 型
- 3) PDA-HPLC
液体クロマトグラフ：(株)島津製作所製 LC-10AD_{VP}
フォトダイオードアレイ検出器：同社製 SPD-M10A
カラム：(財)化学物質評価研究機構製逆相カラム L-column ODS (4.6mm i.d.×150mm, 5 μ m)
カラム槽温度：40℃
移動相：0.1%リン酸水溶液：アセトニトリル (72.5 : 27.5)
流速：1.0mL/min
検出波長：270nm
試料注入量：10 μ L

5. サンプル調製

1) 調製法

(株)栃本天海堂製インヨウカク 6 ロットをフードプロセッサで細断した後、50 メッシュふるいを通し、ふるい上の小片を試料 1、ふるい下の微細片を試料 2 とした。

6. 試験溶液の調製

1) 抽出法 I

試料 100mg に 70%メタノール 10mL を加え 15 分間超音波抽出した。次いでメンブランフィルター (PTFE 製 0.45 μ m) でろ過し、試験溶液とした。

2) 抽出法 II

通知法のインヨウカク対照溶液の調製法では、インヨウカク 5g に対し、70%メタノール 30mL および 18mL の 2 回振とう抽出しているが、サンプル量が多いため採取量を 50mg とし、以下の操作を行った。

試料 50mg に 70%メタノール 30mL を加え 30 分間振とう抽出した。次いで 25℃ 5,000rpm で 10 分間遠心分離し、上清を分取した。沈殿に 70%メタノール 18mL を加え再度 30 分間振とう抽出した。次いで、同様に遠心分離し上清を分取した。得られた上清を合一し、70%メタノールを加えて 50mL とした。その一部をメンブランフィルター (PTFE 製 0.45 μ m) でろ過し、試験溶液とした。

3) 抽出法 III

試料 100mg に 50%メタノール含有 10mmol/L リ

ン酸緩衝液 (pH3.0) 30mL を加え 10 分間振とう抽出した。次いで 25℃ 5,000rpm で 10 分間遠心分離し、上清を分取した。同様の操作をさらに 2 回繰り返す、上清を合一し、抽出溶媒を加えて正確に 100mL とした。その一部をメンブランフィルター (PTFE 製 0.45 μ m) でろ過し、試験溶液とした。

7. 抽出率の評価

高野ら⁷⁾によれば、50%メタノール含有 10mmol/L リン酸緩衝液 (pH3.0) で 3 回振とう抽出することでイカリインを定量的に抽出できるとされている。そこで抽出法 III の定量値を 100% とし、抽出法 I と II の抽出率を算出した。

8. イカリイン含有量調査

抽出法 III を用いて、日本薬局方「インヨウカク」6 ロットのイカリイン含有量調査を行った。

結果および考察

1. 抽出率の評価

試料 1 と 2 のイカリイン定量値と抽出法の評価を表 1 に示した。さらに、試料全体のイカリイン含有量は、試料 1 と試料 2 のインヨウカク構成比 (55.8%および 44.2%) に基づいて算出した。

表 1 抽出法の違いによるイカリイン含量の差

抽出法	試料	含有量(mg/g)	変動係数(%)
I	1	1.82 (78.1)	6.7
	2	8.32 (91.4)	2.1
	インヨウカク*	4.69 (94.6)	—
II	1	2.13 (100.6)	7.2
	2	8.18 (98.9)	0.7
	インヨウカク*	4.80 (96.7)	—
III	1	2.33 (100)	9.9
	2	8.27 (100)	0.3
	インヨウカク*	4.96 (100)	—

n=6

*インヨウカク構成比率：試料1, 55.8%；試料2, 44.2%

試料 1 では 1 回抽出のみの抽出法 I は 78.1%、2 回抽出する抽出法 II は 91.4%と抽出率に差が見られた。試料 2 では、1 回抽出のみの抽出法 I は 100.6%、2 回抽出する抽出法 II は 98.9%と大差は小さくばらつきは小さかった。

サンプル構成比率で算出したインヨウカクのイカリイン含有量は、抽出法 III に比べて抽出法 I は 94.6%、抽出法 II は 96.7%であった。以上の結果から、抽出法 III の抽出率が抽出法 I および II よりわずかに優れているが、3 法ともほぼ同等であることが確認できた。

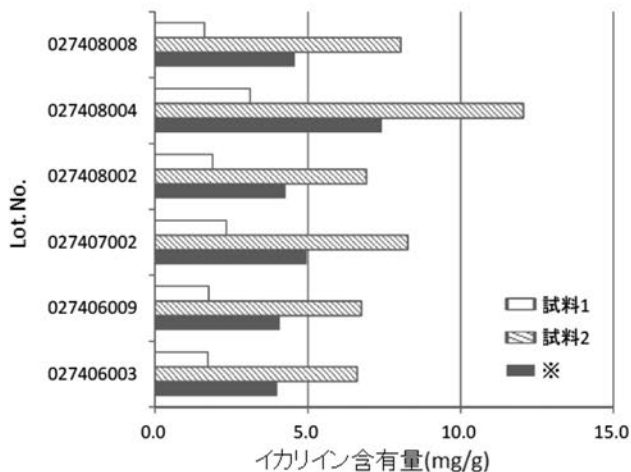
2. イカリイン含有量調査

抽出率の最も高い抽出法Ⅲを用いてインヨウカク 6 ロットのイカリイン含有量調査を行った。6 ロットの試料 1 と 2 の比率は表 2 のとおりで、どのロットも試料 1 が約 54%，試料 2 が約 46%であった。

表 2 インヨウカク各ロットにおける
試料 1 および 2 の比率

Lot. No.	比率(%)	
	試料1	試料2
027406003	53.7	46.3
027406009	53.4	46.6
027407002	55.8	44.2
027408002	52.6	47.4
027408004	51.8	48.2
027405008	53.8	46.1

全てのロットで試料 2 の方が、イカリイン含有量が 6.62～12.05mg/g で高く、試料 1 は 1.61～3.11mg/g であった。試料 1 と 2 の重量比、すなわちサンプル構成比率により単純平均して求めたインヨウカクのイカリイン含量は 3.99～7.42mg/g とロットにより 2 倍近い差があることが確認できた(図 1)。この結果は、これまでに報告⁷⁾された同一メーカーのロット違いの 2.45 倍と近い値になった。



※試料 1 および 2 の比率により算出した値

図 1 インヨウカク各ロット中のイカリイン含有量

まとめ

抽出法 3 種類を比較した結果、抽出法Ⅲが最も高い抽出率であった。抽出法Ⅲを用いて日本薬局方「インヨウカク」中のイカリイン含有量調査を実施した結果、最も含有量が少ないロットで 3.99mg/g、最も含有量が高いロットでは 7.42mg/g とロットにより約 2 倍近い差が認められた。また、当県の行政検査で用いている抽出法Ⅰは、抽出法Ⅲに比べて試料 1 では 78.1%，試料 2 では 100.6%と差が認められたが、インヨウカク全体の試料 1、2 の比率で算出した場合では、94.6%となり、ほぼ同等の抽出率であることからイカリソウ中のイカリインについても適用できることが確認できた。

文献

- 1) 伊藤美千穂：生薬単，第 2 版，114，2012，株式会社エヌ・ティー・エス，東京
- 2) 神奈川県保健福祉局生活衛生部薬務課記者発表資料：いわゆる健康食品からの医薬品成分の検出について，平成 23 年 5 月 12 日
- 3) 東京都福祉保健局健康安全部薬務課報道発表資料：医薬品成分を含有する製品の発見について，平成 24 年 8 月 7 日
- 4) 大阪府健康医療部薬務課医薬品流通グループ報道発表資料：医薬品成分が検出された健康食品について，平成 24 年 8 月 31 日
- 5) 原 有紀，竹内 浩，林 克弘，志村恭子：強壮目的健康食品中の医薬品成分の一斉分析法の検討，三重県保健環境研究所年報，57，35-40(2012)。
- 6) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課事務連絡：医薬品の該当性について，平成 23 年 5 月 11 日 試験法 (1) イ
- 7) 高野伊知郎，安田一郎，浜野朋子，瀬戸隆子，秋山和幸：イカリソウの試験法に関する研究フラボノイド配糖体イカリインの分析，東京都衛生研究所年報，38，80-84(1987)。