

アンチ・ドーピングを志向した生薬配合一般用医薬品の
含有成分に関する調査・研究

東京薬科大学薬学部 講師

よこすか あきひと
横須賀 章人

アンチ・ドーピングを志向した生薬配合一般用医薬品の 含有成分に関する調査・研究

東京薬科大学薬学部 漢方資源応用学教室 横須賀 章人

(〒192-0392 長東京都八王子市堀之内町1432-1 TEL:042-676-4575)

要旨

2017年発効の世界アンチ・ドーピング規定「禁止表国際基準」に、生薬由来成分のヒゲナミンが明記された。本研究では、生薬配合一般用医薬品中のヒゲナミンの含有に関する正確な情報を得ることを目的として、ヒゲナミンを含有する生薬や植物に関する過去の研究報告を調査するとともに、数種の生薬についてHPLCによりヒゲナミンの含有の有無を確認した。

1. 調査研究目的

2020年オリンピック・パラリンピック東京大会に向けて、日本国内ではアンチ・ドーピングへの関心が高まっている。一定基準以上の大会（国民体育大会レベル以上）に出場するアスリートは、ドーピング検査を受ける対象となるが、意図的ではなく禁止物質を含む医薬品や栄養補助食品（サプリメント）を摂取することに起因する「うっかりドーピング」が問題となっている。

2017年1月1日発効の世界アンチ・ドーピング規定2017年禁止表国際基準において、以前の禁止物質である「ベータ2作用薬」の例としてヒゲナミンが明記された [1]。ヒゲナミンは植物から抽出されるアルカロイド成分（分子内に窒素原子を含む成分）であり、海外で市販されている脂肪燃焼効果をうたったサプリメント等に含まれることが知られている。過去の海外のドーピング検査においても、ヒゲナミンの検出によるアンチ・ドーピング規則違反事例が報告されている。また、ヒゲナミンはいくつかの生薬にも含まれており、生薬配合サプリメントの摂取および漢方薬の服用に対して注意喚起をする国内のスポーツ競技団体もある。ヒゲナミンが生薬配合一般用医薬品やサプリメントなどに本当に含まれるのかについてインターネット上では情報の混乱も見受けられ、正確な情報に基づく適正な使用が求められる。

本調査研究では、生薬や植物中のヒゲナミンの含有に関する過去の研究報告の調査と、生薬中のヒゲナミンの含有の有無を分析することで、生薬配合一般用医薬品のヒゲナミンの含有に関して正確な情報を提供することを目的とする。

2、調査研究方法

2-1 ヒゲナミンを含む生薬や植物の文献調査

ヒゲナミン (Higenamine) は、イソキノリン骨格を基本構造とするアルカロイド (分子構造中に窒素原子を含む塩基性成分) である (図 1)。そのほかにノルコクラウリン (norcoclaurine)、デメチルコクラウリン (demethylcoclaurine) などの別名がある。これらの化合物名とヒゲナミンの構造式を対象として、学術論文誌の文献調査を行い、ヒゲナミンを含有する生薬や植物に関する情報を調査した。併せて、和文誌やインターネット上の情報を確認した。

2-2 生薬中のヒゲナミンの分析

高速液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography: HPLC) を用いて、生薬中のヒゲナミンの検出を行った。

[試料]

生薬は、(株)ウチダ和漢薬 (東京) より購入した。各生薬の製造ロット番号は以下の通りである。(日局) サイシン (Lot F1T0202)、(日局) ゴシユユ (Lot EA50144)、(日局) ブシ (Lot G4C0243)、(日局) チョウジ (Lot F530309)、ナンテンジツ (Lot FA10401)。

ヒゲナミンの標準品は、ChromaDex, Inc. (CA, USA) より購入した。

HPLC による分析に用いたアセトニトリル (高速液体クロマトグラフ用)、酢酸 (高速液体クロマトグラフ用) は、いずれも和光純薬工業株式会社 (大阪) 社製を用いた。水は超純水を用いた。その他の試薬は市販の特級品を用いた。

[ヒゲナミン標準品溶液]

ヒゲナミン標準品 1.0 mg を正確に秤量し、メタノール-水 (1:1) 溶液 0.1 mL で希釈し、ヒゲナミン標準品溶液 (10 mg/mL) とした。

[生薬試料溶液]

生薬 3.0 g を MeOH 20 mL で 5 分間、超音波抽出し、ろ過後、減圧下濃縮後、乾燥し、抽出エキスを得た。抽出エキス 1.0 mg を正確に秤量し、メタノール-水 (1:1) 溶液 0.1 mL で希釈し、生薬試料溶液 (10 mg/mL) とした。

[分析条件]

生薬中のヒゲナミンを HPLC で分析するための条件 (カラム、溶離液、測定波長、等) の検討を行い、以下の分析条件に決定した。

ポンプ: 島津 LC-20AD

検出器: 日立 Chromaster 5410 UV

検出波長：UV 285 nm

インテグレーター：ランタイムインストルメント Chromato-Pro

カラム：資生堂 Capsell Pak C18 UG120（内径 4.6 mm、長さ 250 mm、粒子径 5 μm）

流速：0.8 mL/min

溶離液：CH₃CN-H₂O-AcOH = 15 : 85 : 0.17

試料注入量：20 μL

3、調査研究成果

3-1 ヒゲナミンを含む生薬や植物の文献調査

生薬および植物のヒゲナミンの含有に関する過去の研究報告を調査した。

3-1-1 ヒゲナミンを含む生薬

1) サイシン（細辛）

ウスバサイシン *Asiasarum sieboldii* またはケイリンサイシン *Asiasarum heterotropoides* var. *mandshuricum*（ウマノスズクサ科）の根および根茎を基原とする生薬である。小菅らにより、鎮咳成分としてヒゲナミンが同定されている [2]。小青竜湯、当帰四逆加呉茱萸生姜湯、立効散、苓甘姜味辛夏仁湯、麻黄附子細辛湯などの漢方処方に配合される。

2) ゴシユユ（呉茱萸）

ゴシユユ *Euodia rutiocarpa* (*Evodia rutiocarpa*) または *Euodia bodinieri* (*Evodia bodinieri*)（ミカン科）の果実を基原とする生薬である。エボジアミン (evodiamine) やエボカルピン (evocarpine) などのアルカロイドを含み、ヒゲナミンの含有も確認されている [3]。温経湯、呉茱萸湯、当帰四逆加呉茱萸生姜湯などに配合される。

3) ブシ（附子）

ハナトリカブト *Aconitum carmichaeli* またはオクトリカブト *Aconitum japonicum*（キンポウゲ科）の塊根を基原とする生薬である。小菅らにより、強心成分としてヒゲナミンが同定されている [4,5]。桂枝加朮附湯、牛車腎気丸、真武湯、大防風湯、八味地黄丸、麻黄附子細辛湯などの漢方処方に配合される。

4) チョウジ（丁子）

チョウジ *Syzygium aromaticum*（フトモモ科）のつぼみを基原とする生薬である。主成分は、オイゲノール (euganol) などの精油成分であるが、ヒゲナミンを含むという報告がある [3]。柿蒂湯、治打撲一方、女神散などの漢方処方に配合される。基原植物は、香辛料（クローブ）としても用いられる。

5) ナンテンジツ（南天実）

ナンテン *Nandina domestica* の果実（メギ科）を基原とする生薬である。鎮咳作用を目的に民間薬として用いられる。ヒゲナミンのほかに、ナンテンニン、イソコリジン、ドメスチンなどのアルカロイ

ドを含む [6,7]。本生薬のエキスを含む一般用医薬品が販売されている。

3-1-2 ヒゲナミンを含む植物

1) イボツツラフジ

イボツツラフジ *Tinospora crispa* (ツツラフジ科) は、東南アジアでは樹液や葉を薬用として用いる。本植物の茎にはヒゲナミンが含まれており、強心活性を有するという報告がある [8]。海外では、サプリメントの原料として用いられる。同じくツツラフジ科植物の *Tiliacora cordifolia* の茎からもヒゲナミンの単離報告がある [9]。

2) ハス

ハス *Nelumbo nucifera* (ハス科) は、地下茎を食用として用いるほか、成熟果実はセキレンシ (石蓮子)、種子はレンニク (蓮肉) という生薬として、解熱や滋養・強壯を目的に薬用に用いられる。本植物の葉から、ヒゲナミンおよびその配糖体の含有の報告がある [10 - 12]。

3) その他の植物

その他、*Gnetum parvifolium* (グネツム科) [13]、クロタネソウ *Nigella sativa* (キンポウゲ科) [14]、バンレイシ *Annona squamosa* (バンレイシ科) [15] などの植物からもヒゲナミンの含有の報告がある。

3-2 生薬中のヒゲナミンの分析

前項の文献調査の結果においてヒゲナミンを含有することが確認された5種の生薬 (サイシン、ゴシュユ、ブシ、チョウジ、ナンテンジツ) について、HPLC によりヒゲナミンの含有を確認した。その結果、ブシ、チョウジ、ナンテンジツに、ヒゲナミン標準品と同じ保持時間 (7.32 分) にピークが確認された。各生薬の HPLC 分析のクロマトグラムを図 2 に示す。

サイシンは、文献調査の結果および富山大学和漢医薬総合研究所の伝統医薬データベースにおいてもヒゲナミンの含有が確認されている [16]。しかしながら、今回の実験に用いた試料では明確なピークが確認されず、ヒゲナミンの含有量は非常に少ないと考えられた。ブシは、ヒゲナミンと同じ保持時間のピークが確認できたが、そのピーク面積は小さく、ヒゲナミンの含有量は非常に少ないと考えられた。ゴシュユとチョウジは、ヒゲナミンと同じ保持時間のピークに重なる大きなピークが観測され、本分析条件ではヒゲナミンの確認ができなかった。

4、考察とまとめ

本調査研究では、生薬配合一般用医薬品のヒゲナミンの含有に関して正確な情報を得ることを目的として、生薬および植物のヒゲナミンの含有に関する過去の研究報告の調査を行うとともに、生薬中のヒゲナミンの含有の有無を HPLC 分析により確認した。

文献調査において、生薬では、サイシン、ゴシュユ、ブシ、チョウジ、ナンテンジツにヒゲナミンの含有の報告が確認された。また、それらの生薬以外にも、数種の植物からヒゲナミンの含有の報告が確認された。近年、これらの植物の抽出エキスを含有するサプリメントが海外で販売されて

いる。成分表示には植物エキス名のみが表記されることも多く、ヒゲナミンが含有されることを知らずに摂取する可能性も考えられる。今後も継続して、ヒゲナミンを含有する植物の成分研究に関する情報を収集することが必要である。

ヒゲナミンの含有が報告されている5種の生薬について、HPLC分析によりヒゲナミンの含有の有無を確認した。その結果、いくつかの生薬にはヒゲナミンと同じ保持時間のピークが観測されたことから、実際に生薬中にヒゲナミンが含有されていると考えられた。一方で、今回の分析条件ではヒゲナミンの検出ができなかった生薬もあった。生薬や植物の含有成分の量は、産地、栽培条件、採集時期、保存状況などにより差がでる場合もある。今後は、より多くの製品ロットについてHPLC分析を行い、ヒゲナミンの含有の有無を確認していきたい。また、HPLCの分析条件も、より精度の高いものとなるように検討していきたい。さらに、今回HPLC分析を行わなかったが、アルカロイドを含むとされる生薬（オウレン、オウバクなど）や、ヒゲナミンの含有の報告のある植物についても今後検討をし、ヒゲナミンの含有の有無に関する正確な情報を得ていきたい。

世界アンチ・ドーピング規定における禁止物質であるエフェドリンおよびメチルエフェドリンは、ヒゲナミンと同じく生薬や植物に含有されるが、ドーピング検査においては閾値基準（尿中濃度 $10\mu\text{g}/\text{mL}$ を超えないこと）が設けられている。ヒゲナミンには閾値基準はなく、わずかな含有量でも検出されればアンチ・ドーピング規定違反となる可能性がある。したがって、アスリートの立場としては、ヒゲナミンを含有することが過去に報告されている生薬を含む一般用医薬品の摂取を控えることが、「うっかりドーピング」を防ぐために必要と考えられた。

本研究で得られた成果を足がかりとして、今後も生薬や植物中のヒゲナミンの含有に関するさらに多くの正確な情報を調査していく予定である。

謝辞

本研究の遂行のため、公益財団法人 一般用医薬品セルフメディケーション振興財団により研究助成を賜りましたことを深く感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 世界アンチ・ドーピング規定 2017年禁止表国際基準 2017年1月1日発効 公益財団法人日本アンチ・ドーピング機構, 2016年11月
- 2) Kosuge T, Yokota M, Nukaya H, Gotoh Y, and Nagasawa M. Studies on antitussive principals of *Asiasari radix*. *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 2284-2285 (1978).
- 3) 小菅卓夫, 横田正実: 呉茱萸の化学と薬理. *現代東洋医学*, 5, 46-51 (1984).
- 4) 小菅卓夫, 横田正実, 長沢道男: トリカブト根中の強心成分に関する研究 (第1報) Higenamine の単離およびその構造. *薬学雑誌*, 98, 1370-1375 (1978).
- 5) Kosuge T and Yokota M. Studies on cardiac principal of *Aconite root*. *Chem. Pharm. Bull.*, 24, 176-178 (1976).

- 6) Tsukiyama M, Ueki T, Yasuda Y, Kikuchi H, Akaishi T, Okumura H, and Abe K. β 2-Adrenoceptor-mediated tracheal relaxation induced by higenamine from *Nandina domestica* Thunberg. *Planta Med.*, 75, 1393-1399 (2009).
- 7) Ueki T, Akaishi T, Okumura H, Morioka T, and Abe K. Biphasic tracheal relaxation induced by higenamine and nantenine from *Nandina domestica* THUNBERG. *J. Pharmacol. Sci.*, 115, 254-257 (2011).
- 8) Praman S, Mulvany MJ, Williams DE, Andersen RJ, and Jansakul C. Crude extract and purified components isolated from the stems of *Tinospora crispa* exhibit positive inotropic effects on the isolated left atrium of rats. *J. Ethnopharmacol.*, 149, 123-132 (2013).
- 9) Bajpai V, Singh A, Chandra P, Negi MP, Kumar N, and Kumar B. Analysis of phytochemical variations in dioecious *Tinospora cordifolia* stems using HPLC/QTOF MS/MS and UPLC/QqQLIT -MS/MS. *Phytochem. Anal.*, 27, 92-99 (2016).
- 10) Zhou M, Jiang M, Ying X, Cui Q, Han Y, Hou Y, Gao J, Bai G, and Luo G. Identification and Comparison of Anti-Inflammatory Ingredients from Different Organs of Lotus *Nelumbo* by UPLC/Q-TOF and PCA Coupled with a NF- κ B Reporter Gene Assay. *PLoS One*, 8, e81971 (2013).
- 1 1) Mukherjeea PK, Mukherjeea D, Majia AK, Raia S, and Heinrich M. The sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) – phytochemical and therapeutic profile. *J. Pharm. Pharmacol.*, 61, 407-422 (2009).
- 1 2) Kashiwada Y, Aoshima A, Ikeshiro Y, Chen Y-P, Furukawa H, Itoigawa M, Fujioka T, Mihashi K, Cosentino LM, Morris-Natschkeg SL, and Lee K-H. Anti-HIV benzyloquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera*, and structure–activity correlations with related alkaloids. *Bioorg. Med. Chem.*, 13, 443–448 (2005).
- 1 3) Xu Q and Lin M. Benzyloquinoline Alkaloids from *Gnetum parvifolium*. *J. Nat. Prod.* 62, 1025-1027 (1999).
- 1 4) Yun Q, Liu Q, He C, Ma X, Gao X, Talbie A, and Zhou J. UPLC-Q-TOF/MS characterization, HPLC fingerprint analysis and species differentiation for quality control of *Nigella glandulifera* Freyn et Sint seeds and *Nigella sativa* L. seeds. *Anal. Methods*, 6, 4845–4852 (2014).
- 1 5) Leboeuf M, Cave A, Touche A, Provost J, and Forgacs P. Isolation of higenamine from *Annona squamosa*; significance of adsorbent macromolecular resins in extractive plant chemistry. *J. Nat. Prod.* 44, 53-60 (1981).
- 1 6) 富山大学和漢医薬総合研究所伝統医薬データベース
<http://dentomed.toyama-wakan.net/ja/>

表、図及び写真

図 1、ヒゲナミンの構造式

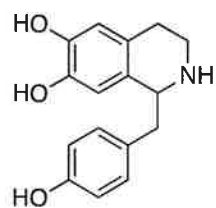
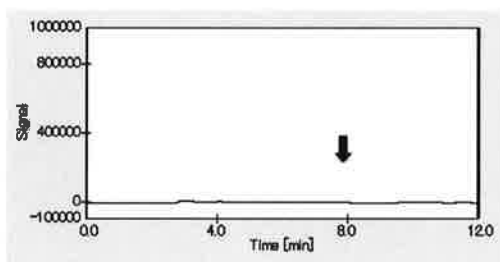
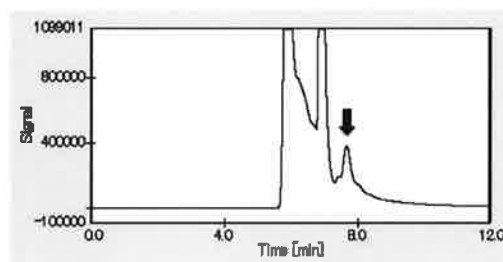


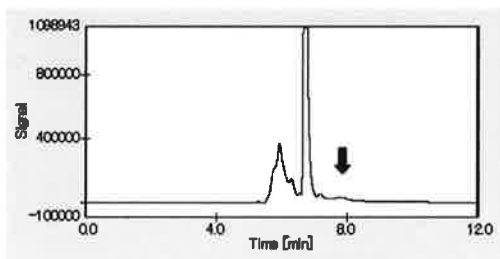
図 2、生薬中のヒゲナミンの有無の確認 (分析結果のクロマトグラム)



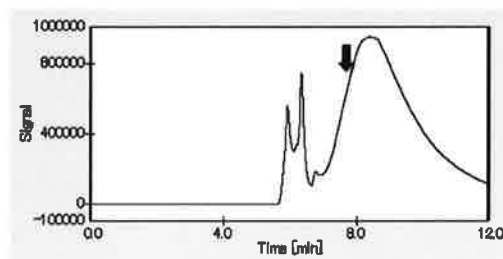
細辛 (サイシン) 抽出エキス



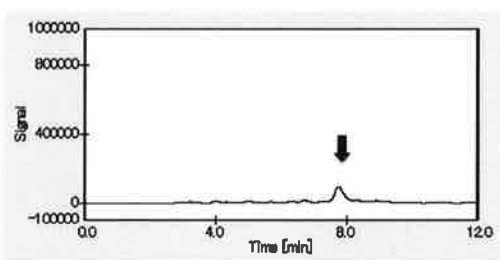
呉茱萸 (ゴシュユ) 抽出エキス



附子 (ブシ) 抽出エキス



丁子 (チョウジ) 抽出エキス



南天実 (ナンテンジツ) 抽出エキス