

資料 2－3

—アマメシバの成分検索に関する分析調査について（平成 15 年度）—

国立医薬品食品衛生研究所
食品部 穂山浩

アマメシバ中の有害物質の分析について

2003 年 8 月までに鹿児島県や愛知県等において、健康食品アマメシバを常用していた女性数名が閉塞性細気管支炎を発症し、病院に入院または通院治療する健康被害事例が発生した。アマメシバ (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) はトウダイグサ科に属する低木で、マレーシア等の東南アジア諸国ではその若芽を加熱調理し、食用としている。近年、台湾では生鮮アマメシバをジュースとしてダイエット目的で摂取した女性等に肺障害が発生したとの報告がなされている。また過去には本植物に papaverine が含有されているとの報告もなされている。これを受け、国立医薬品食品衛生研究所（国立衛研）生薬部では 2003 年 8 月に、本健康被害の原因究明の一環として、papaverine の有無について TLC 及び LC/MS による確認を行ったところであるが、papaverine は検出されず、原因成分を特定する必要性が示された。

このため、トウダイグサ科に含有する有害物質で、標準品が入手可能なものを中心に、リシニン、リシン、シアン配糖体のアミグダリン及びリナマリン、ならびに発癌プロモータであるホルボール及びそのエステル類 5 種、ヒスタミン、カビ毒であるフモニシン、真菌についての分析をおこなった。

1. アマメシバ試料

1. 試料

(1) よこださん家のあまめしば（以下 試料 A）

原材料：あまめしば

賞味期限：05.01.07

形態：緑色粉末

(2) あまめしば粉末製品（以下 試料 B）

原材料：あまめしば

賞味期限：2004.04.25

形態：緑色粉末

(3) 久司道夫のあまめしば（本製品は、久司道夫氏との名称使用の契約を締結せずにその氏名を冠して販売されていたもの。）（以下 試料 C）

原材料：あまめしば

賞味期限：15. 1. 10

形態：緑色粉末

(4) 生鮮アマメシバ（以下 試料 D）

形態：生鮮アマメシバ 以上 4 検体

2. 標準物質

Phorbol : Calbiochem 製

Phorbol 12,13-Diacetate	: シグマ アルドリッチ製
Phorbol 12,13-Dibutyrate	: シグマ アルドリッチ製
Phorbol 12,13-Dibenzoate	: シグマ アルドリッチ製
Phorbol 12-Myristate,13-Acetate	: シグマ アルドリッチ製
Phorbol 12,13-Didecanoate	: 和光純薬製
Ricinine	: フナコシ製
Linamarin	: Calbiochem 製
Amygdalin	: 和光純薬製
Ricin	: 和光純薬製 Ricin 120 Solution(2.5 mg/mL)、
Fumonisin B1, B2	: 和光純薬製
Histamine	: 和光純薬製

3. 分析方法

3.1 リナマリン、アミグダリン、リシニン、ホルボール及びそのエステル類

リナマリン、アミグダリン、リシニン、ホルボール及びそのエステル類について、LC/MS/MS 法で標準溶液を測定し、検量線を作成した。同一条件で、抽出した試料溶液を測定し、各測定対象化合物の濃度を分析した。

3.2 リシン

各製品からタンパク質抽出液で抽出後、SDS-PAGE、ウェスタンブロッティング、質量分析により分析を行った。

3.3 ヒスタミン

各製品から 0.1N HCl で抽出し、前処理後、ポストカラム HPLC 法により分析した。

3.4 フモニシン B1,B2

各製品から抽出溶媒で抽出し、前処理した後、ポストカラム HPLC 法により分析した。

3.5 真菌

希釈平板法を用いた。検体を滅菌蒸留水に懸濁し、 $1 \times 10^{-1} \sim 1 \times 10^{-10}$ g plate で平板上に塗抹した。培地は、ポテト・デキストロース寒天培地と M40Y 寒天培地を用いた。25℃で7日間培養し、集落の計数と同定を行った。

3.5 未知成分分析

本実験では事故品と同一の製造業者の製品“よこださん家のあまめしば” 300g を試料として用い、室温でメタノール (2.0 L x 3) で冷浸し、含有成分の抽出を行った。その後、活性炭カラムクロマトグラフィー、シリカゲルクロマトグラフィーをシリカゲル LPLC を用いて分離を行い、得られた成分の化合物について各種スペクトルデータによる構造解析を行った。

4. 分析結果

調査した試料 A～C においてヒスタミンが 2.33-5.75 $\mu\text{g/g}$ のレベルで、試料 A～D においてシアン配糖体のリナマリンが 60 -110 $\mu\text{g/g}$ のレベルで検出されたことが初めて明らかとなった。また、炭素数 7 で分子内に 5 員環ラクトン構造を有する新規アスコルビン酸関連化合物を新たに検出した。結果の概要は、表 1 および表 2 に示す。

表 1 測定結果

試料名 対象物質名	試料 A ($\mu\text{g/g}$)	試料 B ($\mu\text{g/g}$)	試料 C ($\mu\text{g/g}$)	試料 D ($\mu\text{g/g-wet}$)	測定方法
アミグダリン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	LC/MS/MS
リシニン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	LC/MS/MS
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	GC/MS
リナマリン	76	60	110	0.39	LC/MS/MS
ホルボール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	LC/MS/MS
ホルボール 12,13-ジアセテート	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	LC/MS/MS
ホルボール 12,13-ジブチレート	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	LC/MS/MS
ホルボール 12-ミリステート 13-アセテート	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	LC/MS/MS
ホルボール 12,13-ジベンゾエート	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	LC/MS/MS
ホルボール 12,13-ジデカノエート	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	LC/MS/MS
リシン	検出されず	検出されず	検出されず	検出されず	SDS-PAGE
	検出されず	検出されず	検出されず	検出されず	ウェスタン ブロッティング
	検出されず	検出されず	検出されず	検出されず	質量分析計

N.D. : 検出下限値未満(試料 A、B、C : $< 0.5 \mu\text{g/g-dry}$ 、試料 D : $< 0.08 \mu\text{g/g-wet}$)

リシン測定：リシンの測定は定性試験として実施した。

* 試験は $n = 1$ で行った。

表 2 測定結果

	試料 A	試料 B	試料 C
	μg/g－d r y	μg/g－d r y	μg/g－d r y
フモニシン	N.D.	N.D.	N.D.
ヒスタミン	5.75	4.57	2.33
真菌	4CFU／gTrichoderma, Cladosporium,	入手サンプル量が 少なく測定不可	入手サンプル量が 少なく測定不可
成分検索	炭素数7で分子内に5員 環ラク톤構造を有する 新規アスコルビン酸関連 化合物を検出	入手サンプル量が 少なく測定不可	入手サンプル量が 少なく測定不可

5. 結論

本結果から判断すると、閉塞性細気管支炎の原因物質の候補と考えられるものとし

て、シアン配糖体のリナマリン、ヒスタミン、新規アスコルビン酸誘導体の3物質があげられる。リナマリンの毒性試験の報告としては、Toxicol.Appl.Pharmacol.,42,539-551 (1977)におけるラットの急性毒性試験で、500mgの単回投与で240分以内に中毒症状を呈した後、試験したすべてのラットが死亡すること、また反復投与毒性試験から94 mg/kgBW/dayの5週間連続投与により収縮時血圧が低下し、心臓組織中のcytochrome oxidase活性が低下することが知られている。しかし、閉塞性細気管支炎と関連するような毒性情報は報告されていない。また現在まで報告されているリナマリンの毒性に関する文献は、いずれも投与量が多く、低投与量の毒性実験が同様の結果を示すかは今までのところ報告されていない。