

Accurate-Mass Q-TOF LC/MS と All Ions MS/MS による PCDL および 断片イオンを用いた植物および栄養補助 食品からのピロリジジナルカロイドの スクリーニング

アプリケーションノート

食品、栄養補助食品、植物

著者

Bharathi Avula, Satyanarayanaraju
Sagi, Yan-Hong Wang, Mei Wang, and
Ikhlal A. Khan
National Center for Natural Products
Research, Research Institute of
Pharmaceutical Sciences,
University of Mississippi,
University, Mississippi, USA

Jerry Zweigenbaum
Agilent Technologies, Inc.
Wilmington, Delaware, USA

概要

ピロリジジナルカロイド (PAs) とその N-オキシド体 (PANOs) には、ヒトおよび動物に対する深刻な肝毒性作用があります。健康被害を防ぐため、これらの化合物を検出、同定、および定量できる堅牢な分析メソッドが必要とされています。トリプル四重極 LC/MS システムは、ターゲット検出には最適ですが、ターゲット分析に必須となる標準物質の入手は必ずしも容易ではありません。実際、既知の天然由来 PAs のうち、標準物質として入手できるのはごく一部にすぎません。また、トリプル四重極 LC/MS 分析は、未知化合物のスクリーニングには最適ではありません。一方、精密質量データが得られる高分解能質量分析は、特定の標準物質を用いなくても、未知 PAs/PANOs の断片イオンを用いたスクリーニングが可能です。

このアプリケーションノートでは、精密質量四重極飛行時間型 (Q-TOF) LC/MS と All Ions MS/MS、およびデータベース/MS ライブラリの検索により、植物および栄養補助食品中の PAs および PANOs を高い選択性と感度で PCDL と断片イオンを用いたスクリーニング、検出と同定、および定量するワークフローを紹介します。このワークフローでは、まず、25 種類の PAs/PANOs 標準物質を分析し、それぞれの高分解能精密質量 MS/MS スペクトルを使用して解析しました。これらのデータからパーソナル化合物データベースライブラリ (PCDL) を作成し、それをもとに 44 種類の植物および栄養補助食品サンプル中の PAs/PANOs をスクリーニングしました。さらに、Q-TOF LC/MS の応答を用いて定量を行いました。明確なターゲット化合物でない PAs/PANOs については、それぞれの特徴的なフラグメントイオンとフラグメンテーションパターンをもとに同定しました。PAs/PANOs の解析技術は、その他の植物および栄養補助食品サンプルに含まれる PAs のスクリーニング、検出への適用が可能で、さらなる PAs/PANOs の発見の可能性も有しています



Agilent Technologies

はじめに

ピロリジジンアルカロイド (PA) は、植物が植食昆虫からの防衛手段として作り出す天然由来の二次代謝物で、シンフィツム (いわゆるコンフリー: ムラサキ科 (ワスレナグサおよびヒレハリソウ))、キク科 (ヒマワリ)、およびマメ科 (エンドウ) 植物の多くに含まれています。PAs とその *N*-オキシド体 (PANOs) は、複素環有機化合物を中心化学構造としたピロリジジンを基本骨格としています (図 1)。

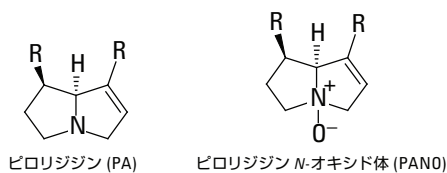


図 1. PA および PANO の基本骨格構造

PAs/PANOs にはヒトおよび動物に対する肝毒性作用があることから、その検出、特性解析、および定量が重要視されています。これまでに同定された PAs は 350 種類を超え、その約半分に毒性があります [1]。PAs の毒性作用は主に、肝臓の小静脈が塞栓する肝中心静脈閉塞症 (VOD: veno-occlusive disease) を誘発します。これらの作用の多くは、飲食物から PAs を除去することで元に戻せますが、肝硬変を発症した場合、回復は不可能です。また、低濃度での長期暴露は、発がん性につながるおそれがあります。German Commission E では、生薬に含まれる PAs とその PANOs の摂取量を 1.0 $\mu\text{g}/\text{日}$ (最長 6 週間) または 0.1 $\mu\text{g}/\text{日}$ (期間制限なし) に制限することを推奨しています [2]。

一般に、PAs/PANOs は、植物の種子および花の部分に集中しています [3]。また、牛乳、臓物、卵、肉製品がヒト体内への侵入経路になる可能性もあります。例えば、サワギクは、草食行動によって動物体内に取り込まれる PAs 摂取源の 1 つです。オオルリソウは、一般に草食時には家畜に好まれません、ペレット状飼料や貯蔵飼料として摂取されます [4]。植物を食料とする昆虫類は PAs を体内に蓄えることから [5]、蜂蜜にも PAs が含まれている可能性があります [6,7]。この他、ルリジサの葉、ヒレハリソウ (ハーブティーとして使用)、ノボロギク、フキタンポポなど、PAs を含む薬草の使用に伴う健康リスクも懸念されており、その具体例が文献で取り上げられています [8,9,10]。

このように、PAs/PANOs には毒性があり、日常生活でその毒性にさらされる可能性があることから、これらの化合物による重大な健康リスクを防ぐため、高度な試験方法が必要とされています。天然由来 PAs の構造多様性は微量分析および定量において課題となりますが、それに対するさまざまな分析メソッドが提案されています [11]。従来から用いられてきたメソッドには、比色スクリーニン

グ、薄層クロマトグラフィー (TLC)、核磁気共鳴 (NMR)、ガスクロマトグラフィー (GC)、液体クロマトグラフィー (LC)、LC-質量分析 (LC/MS) などがあります。GC による PANOs の分析には、誘導体化が必要です。LC は、サンプル前処理が容易で、PAs と PANOs を同時に検出できます。エレクトロスプレーイオン化 (ESI) を用いた LC/MS は、特に PAs および PANOs が極性化合物であることから、分析メソッドとして適しています。

トリプル四重極 LC/MS は、ターゲット検出に使用される分析メソッドに適しており、化合物を精密に同定および定量することが可能です。ただし、ターゲット分析に必須となる標準物質の入手は必ずしも容易ではありません。実際、既知の天然由来 PAs のうち、標準物質が市販されているのはごく一部にすぎません。そのため、トリプル四重極 LC/MS に基づく分析は、ターゲット定量には最適ですが、未知化合物のスクリーニングには使用されていません。標準物質を入手できない場合に、未知 PAs およびその誘導体を検出および解析するうえで解決策となるのが、精密質量データが得られる高分解能質量分析です。この分析メソッドでは、プリカーサおよびフラグメントの精密質量をもとに化合物を同定することができます (正確な確認は標準物質による同定が必要)。スペクトルライブラリデータベースで精密質量スペクトルを検索することにより、多数の化合物をすばやくスクリーニングできます。フルスキャン質量スペクトルを使用すれば、データベースに登録されていない化合物の同定や、データのレトロスペクティブ分析 (過去のデータ再解析による分析) も可能です。

このアプリケーションノートでは、精密質量 Q-TOF LC/MS システムと All Ions MS/MS のデータ取り込みおよび処理機能を組み合わせて使用し、スペクトルライブラリデータベースを検索することで、植物および栄養補助食品中の PAs および PANOs を高い選択性と感度で PCDL と断片イオンを用いたスクリーニング、同定、および定量するワークフローを紹介します。このワークフローでは、まず、25 種類の PAs/PANOs 標準物質を、それぞれの高分離能精密質量 MS/MS スペクトルを使用して解析しました。これらのデータからパーソナル化合物データベースライブラリ (PCDL) を作成し、それをもとに 44 種類の実際の植物および栄養補助食品サンプル中の PAs/PANOs をスクリーニングしました。また、Q-TOF LC/MS の応答を用いて定量を行いました。明確なターゲット化合物でない PAs/PANOs については、それぞれの特徴的なフラグメントイオンとフラグメンテーションパターンをもとに同定しました。PAs/PANOs の解析技術を、その他の植物および栄養補助食品サンプルに含まれる特異的 PAs/PANOs のさらなる発見につなげられる可能性があります。このメソッドの詳細および結果については、文献「Characterization and screening of pyrrolizidine alkaloids and N-oxides from botanicals and dietary supplements using UHPLC-high resolution mass spectrometry」 [12] をご覧ください。

実験

試薬と溶媒の入手先および実験手順の詳細については、「Food Chemistry」に掲載の文献 [12] をご覧ください。

標準物質、サンプル、サンプル前処理

表 1 に示す 25 種類の標準試料を Cerilliant Corporation (米国テキサス州ラウンドロック) から入手し、濃度 1.0 mg/mL のメタノール溶液として調製しました。各化合物の化学構造については、文献 [12] をご覧ください。表 1 でアスタリスクの付いたリデリンおよびレトロルシンは、1/10 の摂取量で非常に高い毒性を示す PAs です。

表 1. PA/PANO 標準試薬

Monocrotaline	Retrorsine <i>N</i> -oxide
Intermedine	Heliotrine
Monocrotaline <i>N</i> -oxide	Seneciphylline
Indicine	Heliotrine <i>N</i> -oxide
Lycopsamine	Seneciphylline <i>N</i> -oxide
Europine	Integerrimine
Europine <i>N</i> -oxide	Senecionine
Indicine <i>N</i> -oxide	Senecionine <i>N</i> -oxide
Riddelline *	Senkirkine
Junceine	Schimidine
Riddelline <i>N</i> -oxide	Lasiocarpine
Trichodesmine	Lasiocarpine <i>N</i> -oxide
Retrorsine *	

実験には、44 種類の植物および栄養補助食品サンプルを使用しました。その入手先は、文献 [12] に記載のとおりです。使用した植物サンプルは、14 種類のキオン属 (*Senecio species*) サンプル、5 種類のヒヨドリバナ属 (*Eupatorium species*) サンプル、1 種類のカッコウアザミ (*Ageratum conyzoides L.*) サンプル、1 種類のフキタンポポ (*T. farfara L.*) サンプル、2 種類のフキ属 (*Petasites species*) サンプル、1 種類のナンバンリソウ (*H. indicum L.*) サンプル、11 種類のヒレハリソウ属 (*Symphytum species*) サンプル、1 種類のルリジサ (*Borago officinalis*) サンプル、および 1 種類のクロタリヤ (*Crotalaria juncea L.*) サンプルです。また、西洋フキ (*P. hybridus*) を含有することがラベルに明記されている 7 種類の栄養補助食品も分析しました。

サンプルの抽出手順は、PAs の安定性、PANOs/PAs 比、および収率に影響する可能性があるため、以下の 5 種類のサンプル前処理を検討しました。

1. メタノールによる超音波処理
2. メタノールによる超音波処理と再溶解
3. MeOH:H₂O と酸による超音波処理
4. アルカロイド抽出 (Alkaloidal extraction)
5. マイクロ波抽出

これらのサンプル抽出方法のうち、メタノールによる超音波処理が最適でした。この抽出手順では、50 mg の乾燥植物サンプルを 2.5 mL のメタノール中で 30 分間超音波処理しました。次に、15 分間遠心分離 (959 g) し、透明な上澄み液を回収しました。この手順をさらに 4 回繰り返し、すべての上澄み液を合わせてから、10 mL 計量フラスコでメスアップしました。Q-TOF LC/MS システムへの注入前に、約 2 mL の抽出液を 0.45 μm PTFE メンブランフィルタでろ過しました。高濃度の抽出液は 10 倍に希釈しました。

Q-TOF LC/MS 分析

標準物質およびサンプル抽出物の LC/MS 分析には、Agilent 1290 Infinity LC システムと、Agilent Jet Stream デュアルエレクトロスプレーイオン源を装着した Agilent 6530 Accurate-Mass 四重極飛行時間型 (Q-TOF) LC/MS システムを使用しました。HPLC システムでは、バイナリポンプ、真空溶媒デガッサ、108 バイアルウェルプレートトレイをセットしたオートサンブラ、およびサーモスタットで温度制御されるカラムコンパートメントを使用しました。HPLC および Q-TOF LC/MS のパラメータを表 2 および表 3 に示します。

表 2. HPLC パラメータ

機器	Agilent 1290 Infinity LC システム
カラム	Agilent Poroshell 120 EC-C18、 2.1 × 150 mm、2.7 μm (p/n 693775-902)
移動相	A) 0.1 % ギ酸水溶液 B) 0.1 % ギ酸アセトニトリル溶液
グラジエント	0~23 分で B を 3 % から 4 % へ増加、 23~45 分で B を 4 % から 15 % へ増加、 45~55 分で B を 15 % から 25 % へ増加、 次の 2 分間で B を 100 % へ増加
流量	0.27 mL/min
ポストランカラム 平衡化	B の 3 % 溶液で 5 分間
カラム温度	40 °C
注入量	2 μL

表 3. Q-TOF LC/MS パラメータ

機器	Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS システム
イオン化モード	Agilent Jet Stream 技術搭載ポジティブイオン エレクトロスプレー
質量範囲	50~950 <i>m/z</i>
乾燥ガス	N ₂ (300 °C、11 L/min)
シースガス	325 °C、10 L/min
ネブライザガス	35 psi
フラグメント	125 V
キャピラリー	3,500 V
スキマ	65 V
オクタポール RF	750 V

データベースおよび MS/MS スペクトルライブラリに登録するデータを取得するために、表 4 のパラメータを使用して PAs/PANOs 標準試料をターゲット MS/MS モードで分析しました。全 25 種類の化合物についてさまざまなフラグメンテーション挙動が予測されたため、複数のコリジョンエネルギーを設定しました。

表 4. ターゲット MS/MS パラメータ

アイソレーション MS/MS	1.3 amu
コリジョンエネルギー	10、20、30、および 40 eV

植物および栄養補助食品サンプルの分析は、すべてのイオンを通過させるように設定して All Ions MS/MS モードで行いました。実験 1 および実験 2 では、コリジョンエネルギーをそれぞれ 0 eV と 30 eV に設定しました。

All Ions MS/MS は、Agilent TOF および Q-TOF LC/MS システムで利用できるデータ取り込みモードです。このモードでは、プリカーサイオンをアイソレーションせずに断片化することが可能です。All Ions MS/MS データ取り込みモードでは、高エネルギーสキャンと低エネルギーสキャンが切り替わります (図 2)。質量分析計に導入されたすべてのイオンは、まずそのままの状態で分析されます (実験 1)。その後、断片化されて (実験 2) フラグメントイオンを生成します。このフラグメントイオンを使用して、化合物を同定および確認することができます。

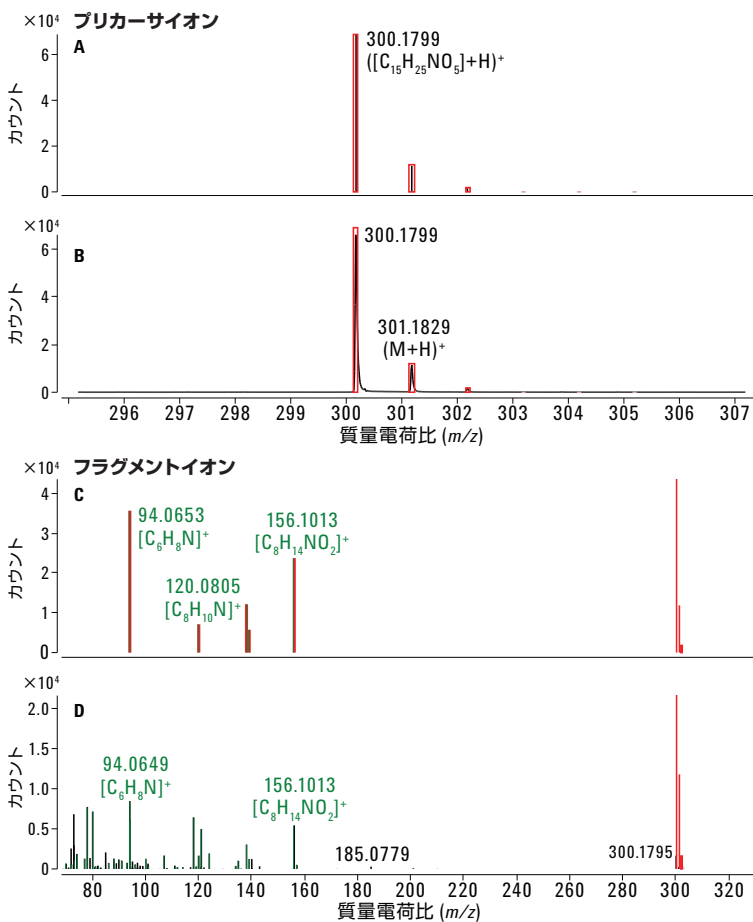


図 2. A および B は、コリジョンエネルギー 0 eV で得られた M+H⁺ イオンを、Agilent MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアの Find by Formula アルゴリズムで同定した結果です。A はバックグラウンドを差し引いたセントロイド質量スペクトル、B はプロファイル未加工の質量スペクトルです。赤のボックスは、同位体の理論的な位置とアブダンスを示します。C および D は、コリジョンエネルギー 30 eV で採取したスペクトルです。C は、MS/MS ライブラリスペクトルと一致したイオンのセントロイド質量スペクトルです。D はプロファイル未加工のスペクトルで、他のプリカーサから生成されたと考えられるイオンが含まれています。

精密質量測定値は、ポジティブ ESI モードでリファレンス質量 m/z 121.0509 (プロトン化プリン) および 922.0098 (プロトン化ヘキサキス (1H, 1H, 3H-テトラフルオロプロポキシ) ホスファジン, または HP-921) を用いたリファレンスイオン補正により取得しました。リファレンス溶液は、Agilent 1200 シリーズ イソクラティックポンプを使用して ESI ソースヘスプリット比100:1、流量 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ で導入しました。

データ解析

データの取り込みおよび処理には、Agilent MassHunter Workstation ソフトウェア (Acquisition バージョン A.05.01、Qualitative Data Analysis バージョン B.06.00) を使用しました。

PAs/PANOs のデータベースライブラリの構築には、MassHunter PCDL Manager (バージョン B.04.00) を使用しました。分離ピークの検出後、ピークを平均してスペクトルを生成し、MassHunter PCDL Manager にインポートしました。

MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアは、Find by Formula アルゴリズムにより、Agilent PCDL の精密質量データベースをもとに All Ions MS/MS データからプリカーサイオンを抽出します。図 3 は、Indicine の共溶出プロットです。All Ions MS/MS ソフトウェアは、抽出された分離ピークと、精密質量 MS/MS ライブラリに保存されているフラグメントイオンを自動的に関連付けます。その後、プリカーサイオンとそれに対応するフラグメントイオンのピークをプロットし、その共溶出を評価して共溶出スコアを付けます。共溶出スコアと共溶出プロットは、各化合物のプリカーサイオンとフラグメントイオンの相関性の度合いを示します。

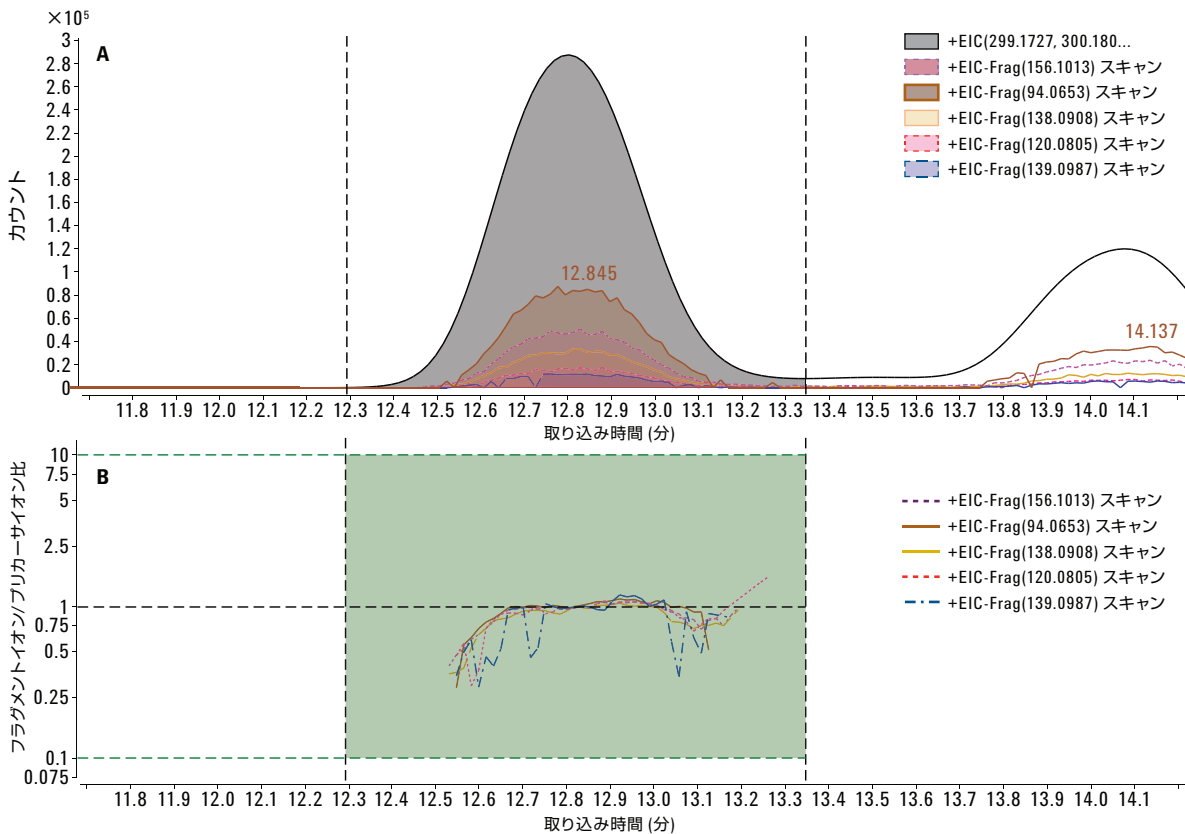


図 3. *S. officinalis* から抽出した Indicine の共溶出プロット。
 A) プリカーサイオンとプロダクトイオンが抽出され、イオンクロマトグラム上で重ね合わされています。
 B) 共溶出スコアの計算値がプロットされています。

結果と考察

クロマトグラフィーの結果

文献 [12] に示されているように、標準試料混合物と分析した各属の植物の MS1 レベルのベースピーククロマトグラム上では、 m/z 299.2 の Indicine および m/z 329.2 の Europine を除くすべての標準物質が分離されました。これらの化合物は、精密質量 MS および MS/MS データを使用することで容易に識別できました。質量精度は 2 ppm 以下でした。

標準物質のフラグメンテーション

標準試料の MS/MS フラグメンテーションから、サンプル抽出物に含まれる PAs/PANOs の同定に役立つ特徴的な CID (衝突誘起解離) フラグメントイオンが得られました。アバundanceの最も高いフラグメントイオンは、 m/z 94、120、138、168、172、および 254 で観察されました。例えば、図 4A および 4B に示すスペクトルには、 m/z 94.06、120.08、138.09、および 254.14 にイオンピークが現れています。PAs として観察された特徴的なフラグメントイオンの多くは、それぞれの *N*-オキソ体のスペクトルでも観察されました。Riddelline および Riddelline *N*-oxide のフラグメント帰属は、文献 [12] に示されているとおりです。

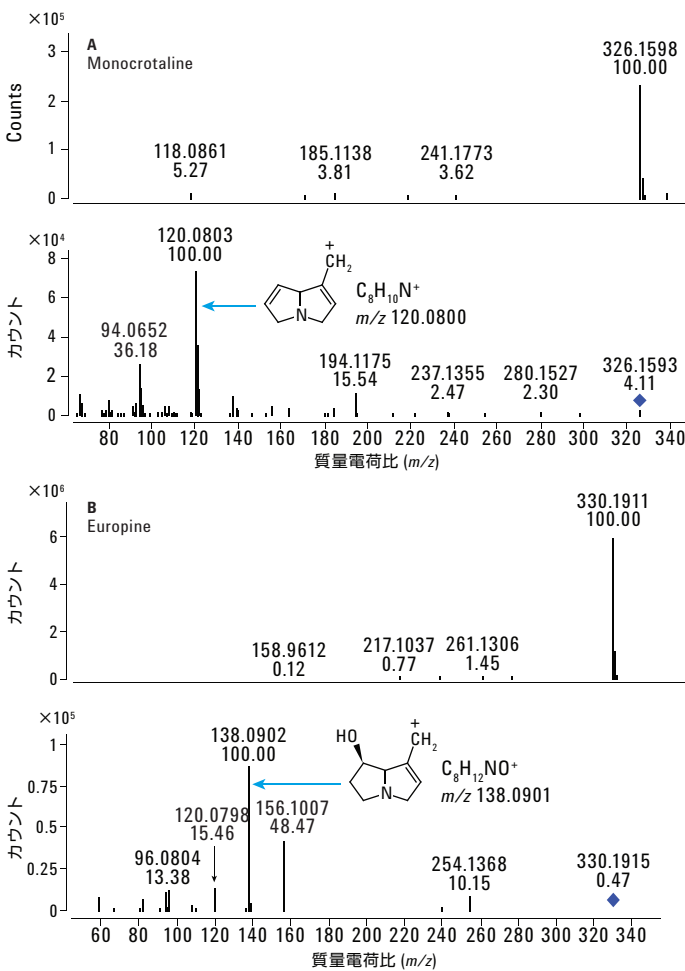


図 4. (A) Monocrotaline および (B) Europine について収集した MS (単離または コリジョンエネルギーなし) および MS/MS (コリジョンエネルギー 40 eV) ライブラリスペクトルには、 m/z 96.08、120.08、138.09、および 254.14 に特徴的なイオンピークが現れています。

化合物データベースライブラリ

25 種類の標準試薬の分析から得られたデータをもとに、MS/MS スペクトルライブラリを構築しました。MS/MS スペクトルの生成には、一価の擬分子陽イオン ($[M+H]^+$) のみを選択しました。分離ピークの検出後、ピークを平均してスペクトルを生成し、MassHunter PCDL Manager にインポートしました (図 5)。

このライブラリの有用性を植物および栄養補助食品サンプル抽出物で確認しました。スペクトルの照合では、未知化合物のスペクトルに該当するピークをライブラリで検索しました。ライブラリスペク

トルに含まれるすべてのフラグメントがサンプルにも存在し、精密質量が指定された許容差内で、クロマトグラフィーにより完全に共溶出している場合、一致スコアを 100 としました。

一般に、夾雑なサンプルでは、プリカーサと 1 つのフラグメントが適切にリテンションタイムで溶出していれば、真の陽性として判定されます。All Ion MS/MS では、夾雑なサンプルの分析時でも、MS/MS で生じる選択外の PAs のプリカーサに起因する偽陰性の判定を大幅に低減することが可能です。このような偽陰性は、非常に多くの化合物が共溶出する場合にデータ依存型分析 (自動 MS/MS) で起こることがあります。

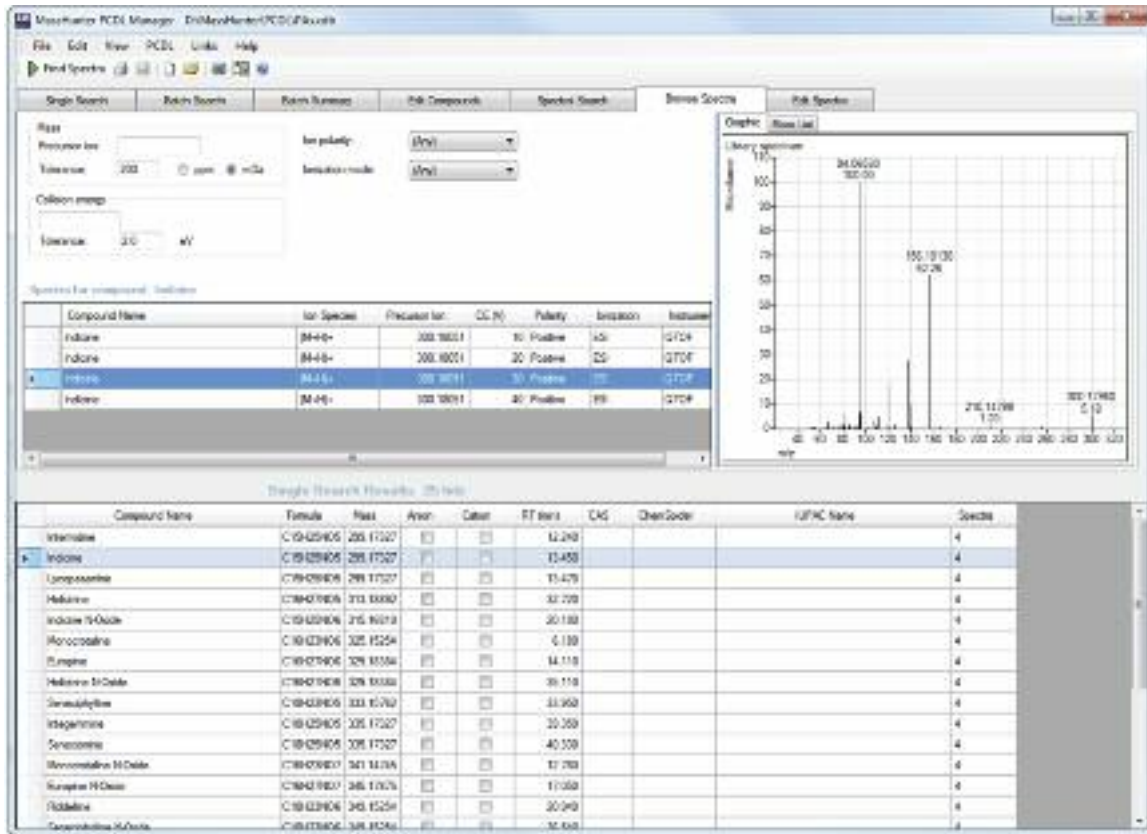


図 5. 25 種類の標準試薬の分析により得られたデータをもとに、MassHunter PCDL Manager で PAs/PANOs 固有の MS/MS スペクトルライブラリを構築しました。

植物および栄養補助食品中の PAs の検出

植物および栄養補助食品サンプルと、PDCL に取り込んだ標準試薬の LC リテンションタイムおよび ESI 質量スペクトルを比較することにより、植物および栄養補助食品サンプル抽出物から多数の PAs/PANOs が検出されました。具体的な化合物名や検出量などのリストは、文献 [12] に記載のとおりです。PAs/PANOs の同定は、プロトン化分子および特徴的なフラグメントイオンの精密質量に基づいて行いました。標準試料のないその他の PAs/PANOs については、精密質量と特徴的な MS/MS フラグメントによってその存在が示されました。このように、このメソッドでは、標準物質のない PAs 様のターゲットフラグメントの存在をスクリーニングすることができました。

図 6 は、西洋フキ (フキ属 (genus Petasites)、一般名はフキ) を含有する栄養補助食品サンプル抽出物の All Ions MS/MS 抽出イオンクロマトグラムです。このクロマトグラムから、 m/z 138、136、および 120 に現れている特徴的なイオンピークによりノンターゲット PAs/PANOs が検出に優れているかがわかります。図 7 は、リテンションタイム 23 分のピークについて、コリジョンエネルギー 0 eV および 30 eV で収集した All Ions MS/MS スペクトルです。0 eV 印加時には、擬分子イオンが生成されています。また、30 eV のときは、多数のピークから成るフラグメンテーションパターンが生成されています。ここに示されているフラグメントが、複数の擬分子イオンの産物である可能性があることに注意してください。このスペクトルには、PAs を示すフラグメントが存在していることがわかります。ピークとして表れていれば、データベースにはないその他のフラグメントを解釈し、その分子式を特定することで、結果的に未知 PAs/PANOs 化合物を検出および同定できる可能性があります。

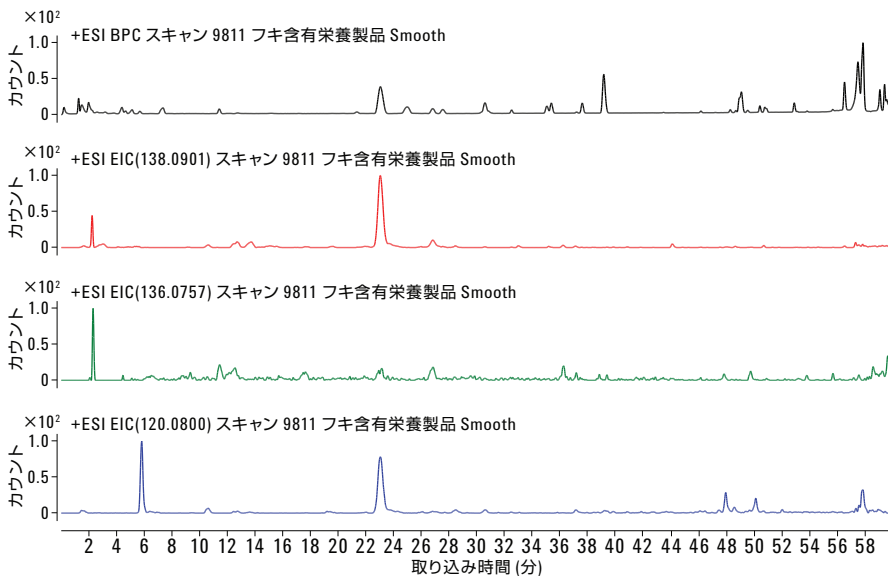


図 6. 西洋フキ (フキ属 (genus Petasites)、一般名はフキ) を含有する栄養補助食品サンプル抽出物の All Ions MS/MS 抽出イオンクロマトグラム。 m/z 138、136、および 120 に現れている特徴的なイオンピークを使用することで、ノンターゲット PA が検出されました。

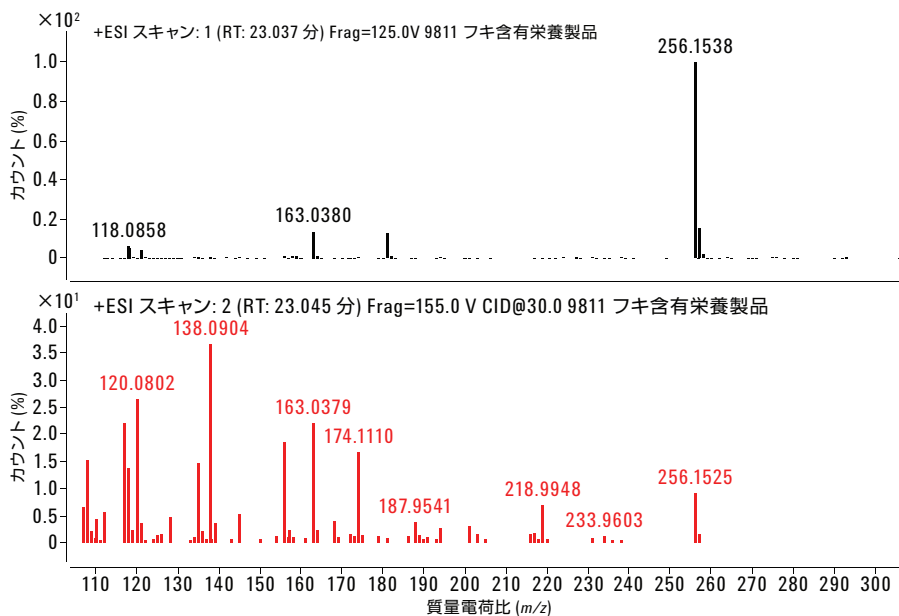


図 7. 図 6 に示した栄養補助食品抽出物の分析結果をもとに、リテンションタイム 23 分で採取した All Ions MS/MS スペクトル。コリジョンエネルギー 0 eV の印加時には、 m/z 256.1538 に擬分子イオンピークが現れました。コリジョンエネルギー 30 eV では、特徴的な PA フラグメントを含む多数のピークから成るフラグメンテーションパターンが観察されました。

PAs の定量

標準物質を用いて検量線を作成しました。低濃度ターゲット用として、0.5 ~ 500 ng/mL の濃度範囲を設定しました。Riddelline *N*-oxide、Trichodesmine、および Retrorsine を除く化合物については 500~5,000 ng/mL の範囲の高濃度側の検量線も作成しました。検量線の直線性は $R^2 > 0.99$ でした。除外の 3 化合物の検量線の濃度範囲は、それぞれ 5~2,500 ng/mL、20~2,500 ng/mL、および 1~2,500 ng/mL としました。3 種類の化合物の検出下限 (LOD) はそれぞれ 1、5、および 0.4 ng/mL、他の化合物では検出下限 (LOD) は 0.05~0.1 ng/mL でした。

サンプル抽出物の定量には、シングル MS モードで動作する Q-TOF LC/MS を使用しました。PAs/PANOs について、擬分子イオン ($[M+H]^+$) の抽出イオンクロマトグラム (EIC) を生成し、面積積分より求めました。

Q-TOF LC/MS システムの精密質量および高分離能により、高い選択性が得られました。分析した植物および栄養補助食品の一部の定量結果は、文献 [12] に記載のとおりです。特定の植物に存在する PAs/PANOs を完全に検出、同定ができれば、ターゲットトリプル四重極 LC/MS に基づくメソッドでの定量が可能になります。ただし、同定されていないものの測定については、Q-TOF LC/MS が最適なメソッ

ドとなります。栄養補助食品には意図外の異物が多数混入している可能性があります。このような夾雑物の影響による偽陰性を低減するために、Q-TOF LC/MS メソッドを使用することをおすすめします。

結論

PAs および PANOs は、ムラサキ科、キク科、マメ科植物など多くの植物に広く含まれており、ヒトおよび動物に対する肝毒性作用を持つことがわかっています。また、PAs/PANOs を含有するハーブや補助食品の摂取に伴う健康リスクも懸念されています。このような状況を背景に、PAs/PANOs の検出、同定、および定量が重要視されています。

トリプル四重極 LC/MS システムは、ターゲット検出には最適ですが、ターゲット分析に必須となる標準物質の入手は必ずしも容易ではなく、未知化合物のスクリーニングには向いていません。PAs/PANOs を示すフラグメントの存在をスクリーニングするうえで解決策となるのが、標準試料を必要としない、Agilent 6530 Accurate - Mass Q - TOF LC/MS システムと All Ions MS/MS 機能を用いた分析メソッドです。今回紹介したワークフローでは、25 種類の PAs/PANOs 標準

試薬を分析し、それぞれの高分解能精密質量 MS/MS スペクトルを解析しました。これらのデータから PCDL を作成することで、植物および栄養補助食品サンプル中の PAs/PANOs 型化合物をスクリーニングできました。明確なターゲット化合物でない PAs については、それぞれの特徴的なフラグメントイオンとフラグメンテーションパターンをもとに検出、同定しました。一連の結果から、このメソッドが、植物および栄養補助食品中の既知および未知の PAs/PANOs を 1 回の分析で断片イオンからスクリーニングできる、感度および選択性に優れた効果的な手法であることが示されました。この技術はその他のサンプルに含まれる未知の PAs/PANOs のさらなる発見につながる可能性まで有しています。

参考文献

1. B. L. Stegelmeier, *et al.* Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. *J. Nat. Toxins*, **8**(1), 95-116 (1999).
2. M. Blumenthal, W. R. Busse. The complete German commission e monographs: Therapeutic guide to herbal medicines. Austin, TX: *American Botanical Council*, pp. 116 (1998).
3. P. P. Fu, *et al.* Genotoxic pyrrolizidine alkaloids and pyrrolizidine alkaloid *N*-oxides — Mechanisms leading to DNA adduct formation and tumorigenicity. *Journal of environmental science and health Part C, Environ. Carcinogenesis & Ecotoxicology Rev.*, **19**, 353-385 (2001).
4. B. L. Stegelmeier, *et al.* Pyrrole detection and the pathologic progression of *Cynoglossum officinale* (houndstongue) poisoning in horses. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **8**, 81-90 (1996).
5. R. Nishida, *et al.* Male sex pheromone of a giant danaine butterfly, *Idea leuconoe*. *J. Chem. Ecol.*, **22**(5), 949-972 (1996).
6. M. Kempf, *et al.* Pyrrolizidine alkaloids (PAs) in honey and pollen-legal regulation of PA levels in food and animal feed required. *Mol. Nutr. Food Res.*, **54**(1), 158-68 (2010).
7. J. A. Edgar, *et al.* Honey from Plants Containing Pyrrolizidine Alkaloids: A Potential Threat to Health. *J. Agric. Food Chem.*, **50**(10), 2719-2730 (2002).
8. C. R. Kumana, *et al.* Herbal tea induced hepatic veno-occlusive disease: quantification of toxic alkaloid exposure in adults. *Gut*, **26**, 101-104 (1985).
9. R. J. Huxtable. The Myth of Beneficent Nature: The Risks of Herbal Preparations. *Ann. Intern. Med.*, **117**(2), 165-166 (1992).
10. W. V. McDermott, MD, *et al.* The Budd-Chiari Syndrome and Hepatic Veno-occlusive Disease: Recognition and Treatment. *Arch. Surg.*, **125**(4), 525-527 (1990).
11. C. Crews, *et al.* Update on analytical methods for toxic pyrrolizidine alkaloids: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **396**(1), 327-338 (2010).
12. B. Avula B, *et al.* Characterization and screening of pyrrolizidine alkaloids and *N*-oxides from botanicals and dietary supplements using UHPLC-high resolution mass spectrometry. *Food Chem.*, **178**, 136-48 (2015).

詳細

本書に記載されたデータは典型的な結果です。アジレントの製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト (www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2015

Printed in Japan

October 12, 2015 5991-6254, JAJP



Agilent Technologies