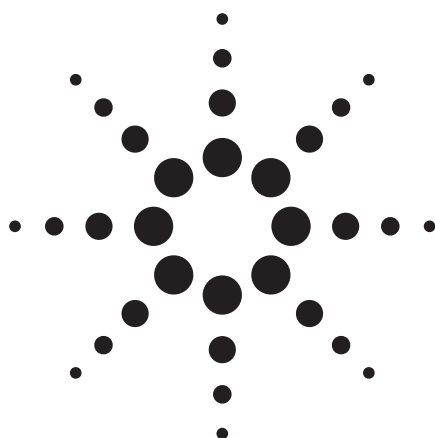


漢方薬の分析に対する従来型 ICP-MS と ORS-ICP-MS の有効性の評価 アプリケーション



医薬品

著者

Dengyun Chen

Agilent Technologies Co., Ltd. (China)

XinMei Wang, Shen Ji

The Medical Testing Center of Shang-Hai (China)

Miao Jing, Xiaoru Wang

The First Institute of Oceanography, S.O.A

Qingdao, 266061

China

要旨

全世界的に、薬草および薬草抽出製品を使用した伝統的医薬の果たす役割がこれまで以上に大きくなってきています。このアプリケーションノートでは、誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) を使った漢方薬 (TCM : Traditional Chinese Medicines) の無機成分を解析するメソッドの開発について説明します。

Agilent 7500a ICP-MS を使い、漢方薬中の元素の定量性について ICP-MS ハードウェアと USEPA Method 200.8 の両方を用いて評価しました。As、Pb、Hg、Cd といった重要な微量元素および P、Ca、Fe、K、Na といった主要成分を含む認証標準物質 (CRM) を分解し、Agilent ICP-MS によって測定し、評価を行いました。

さらに、オクタポールリアクションシステム (ORS) を備えた Agilent 7500c ICP-MS により、桃の葉の CRM 中の As および Se を定量しました。干渉補正式を使用せずに得られた ORS の分析結果は、干渉補正式を使った非セル型 ICP-MS から得られた分析結果よりも参照値に近いという結果となりました。

はじめに

薬草や薬草を原料とした医薬品は、世界人口のほぼ 80% の人々、特に発展途上国の人々に対する医療で重要な役割を果たしています。たとえば、中国では漢方の薬草や薬品が病気の予防と治療のために何千年の間使われてきました。1800 年代後半からは、医師による医療現場で合成医薬品と共に処方して利用されるようになりました。漢方薬の材料は主として薬用植物ですが、他のタイプの植物や動物、鉱物からとられた抽出成分を含むこともあります。植物全体をそのまま薬草として用いることもあります。たいいていは根や根茎、果実、種、花、葉、木、樹皮、つるを加工して調合します。原材料はあらかじめ定まった手順に従って加工され、定まった調合法で使用する成分の「Ying Pian」、あるいは患者に処方するための「Fu Fang」となります。人や動物に使用する医薬品はすべて、定められた品質、安全性、効力の基準をクリアしている必要があります。しかし、多くの未確認の化学物質が完成品に含まれているため、薬草由来の医薬品に対する品質保証は問題が多い分野です。これらサンプル中の元素組成の判定は、GAP (Good Agriculture Practice)、GSP (Good Sourcing Practice)、GLP (Good Laboratory Practice)、GMP (Good Manufacturing Practice)、GCTP (Good Clinical Trial Practice) といったプログラムで定められているように、漢方薬の品質保証において非常に重要な役割を果たしています。



Agilent Technologies

漢方薬の重金属成分は、一般的に毒性とバイオアベイラビリティの観点から検査されます。Pb、Cd、Hg、Asといった重金属は、栽培、加工、保存といった過程で汚染するなど、さまざまな経路で薬草に入り込む可能性があります。植物の根や葉は、空気や水、土から重金属を吸収することがあります。こういった重金属は、植物の中のある特定の箇所で蓄積されます。よって植物中に存在する重金属の量は、植物の部分によって大きく変化します。薬草中に存在する他の元素は、治療や栄養面で効果があるものかもしれません。Mg、Zn、Mn、Ni、Cu、Seといった多くの栄養素は、人間の健康にとって不可欠です。

ICP-MS は、元素判定の分析手法として急速に認知されるようになってきており、幅広い範囲のサンプルで使用されています。環境や生体サンプル中の微量、超微量元素の測定といった分野で広く活用されています。ICP-MS は、サンプルの多元素同時分析を高速で実行することができ、ICP-OES（発光分光分析法）と比較して、スペクトル干渉成分が少ない、検出限界（DL）が低い、同位体比率を測定できるといった数多くの利点があります。本報では、漢方薬サンプルに含まれる微量成分および主要元素を ICP-MS にて同時に分析し、メソッドの確度、精度および検出限界、認証標準物質（CRM）の分析結果などについて示しました。さらに As と Se について、非セル型 ICP-MS で EPA 200.8 メソッドに定められている干渉補正式によって得られた分析結果と、ORS セルテクノロジーによって得られた分析結果を比較しました。

実験

装置構成および試薬

本実験では、ICP-MS として Agilent 7500a および 7500c ORS を使用しました。操作パラメータについては表1 を参照してください。サンプルは、マイクロ波分解（CEM MARS、CEM 社、米国）、またはラボで開発した密閉系 PTFE 高压容器（100 mL）によって調製しました。サンプルの分解と分解チューブの洗浄には硝酸（68% w/v、GR、Merck）を使用しました。純水（超純水装置Milli-Q）を本実験すべてにわたって使用しました。

表1. 7500a/7500c ICP-MS 操作パラメータ

高周波電力	1350W (7500a)、1500W (7500c)
ネブライザ	バピントンネブライザ
スプレーチャンバ	Scott ダブルパス型、2±0.1 °C
トーチ	Fassel 型
データ採取モード	スペクトル分析モード および定量モード
サンプリング深さ	7.0 mm
キャリアガス流量	1.08 L/min
メイクアップガス流量	0.0 L/min

マイクロ波分解手順は、機器マニュアルにある植物サンプル分解用の標準作業手順（SOP）に従いました。認証標準物質の分析結果を比較したところ、2つの分解法の間で有意な違いはありませんでした。

結果と考察

7500a ICP-MS（非セル型）の漢方薬に対するメソッド検出限界

茶（GBW 07605）、茶葉（GBW 08513）、桃の葉（GBW 08501）、小麦粉（GBW 08503）、米粉（GBW 08502）および豚肝臓（GBW 08551）の認証標準物質（National Research Centre for Certified Reference Materials、北京、中国）をメソッドの確度、精度、検出限界のテストのために使用しました。7500aによる測定値と保証値を表2に示しました。

表2. CRM の保証値および 7500a ICP-MS (非セル型) の測定値

元素 (単位)	茶		茶葉		小麦		米		豚肝臓	
	保証値	測定値	保証値	測定値	保証値	測定値	保証値	測定値	保証値	測定値
²³ Na (μg/g)	*	†	*	†	*	†	8.4±0.6	8.47	2330±40	2162
²⁴ Mg (μg/g)	1700±100	1847	2760±240	2747	551±21	594	120±5	125.7	747±26	643
²⁷ Al (ng/g)	(3000)	2652	*	6748	*	25.1	*	†	*	81993
³¹ P (μg/g)	2840±60	2991	1480±80	1504	(1500)	1607	-	739.2	(13000)	12820
³⁹ K (μg/g)	16600±600	17440	8630±620	8363	1980±140	2001	656±15	663.8	11500±200	10724
⁴³ Ca (μg/g)	4300±200	4333	8000±660	7459	441±22	431.8	*	†	197±7	203
⁵² Cr (ng/g)	800±20	819.4	(2000)	1897	*	88.7	*	20.14	*	1341
⁵⁵ Mn (μg/g)	1240±40	1265	2170±120	2008	19.6±1	20.1	9.8±0.2	9.7	8.32±0.19	8.75
⁵⁷ Fe (μg/g)	264±10	266.9	347±12	353.7	39.8±2.6	37.1	5.1±0.2	4.1	1050±40	1055
⁵⁹ Co (ng/g)	180±20	201	(180)	186.9	*	15.7	*	4.9	(100)	94
⁶⁰ Ni (ng/g)	4600±300	4813	5090±760	4953	*	123.4	*	50.5	*	227
⁶⁵ Cu (μg/g)	17.3±1	18.3	8.96±0.58	7.77	4.4±0.3	4.6	2.6±0.2	2.92	17.2±0.5	17.5
⁶⁶ Zn (μg/g)	26.3±0.9	27.9	22.6±1.5	21.5	22.7±2	23.7	14.1±0.5	15.1	172±4	171
⁷⁵ As (ng/g)	280±30	279.6	180±48	152.2	220±20	166	51±3	56.8	44±4	48
⁸² Se (ng/g)	(72)	112.1	40±6	90.6	(100)	57.8	45±8	13.6	940±30	1054
¹¹⁴ Cd (ng/g)	57±8	65.6	23±4	26.5	31±2	25.9	20±2	18.2	67±2	83
¹³⁷ Ba (μg/g)	58±3	56.2	120±10	103.8	*	1.85	*	104.6	*	494
²⁰² Hg (ng/g)	(13)	9.9	(17)	25.9	*	1.7	*	191.9	*	327
²⁰⁸ Pb (ng/g)	4400±200	4409	1000±40	853.7	350±80	359.5	750±100	756.6	540±20	549
²³² Th (ng/g)	61±8	53.4	104±14	93.5	*	3.8	*	0.455	*	2.2
²³⁸ U (ng/g)	*	15.34	*	36.8	*	1.3	*	*	*	3

* 保証値なし

† 未計測

7500a ICP-MS の測定値は保証値とよく一致しており、誤差は 2、3 の元素を除き、すべて 10% 未満です (表2)。元素はすべて同時に測定し、サンプルはすべて同じ方法で分解しました。この分析結果から、茶と茶葉 (葉由来の漢方薬の典型例)、小麦と米粉 (種由来の漢方薬の典型例) および豚肝臓 (動物由来の漢方薬の典型例) は保証値とよく一致しており、このメソッドが生薬の分析に適用可能であることがわかりました。As、Pb、Hg、Cd といった重要な元素を微量レベルで測定すると同時に、P、Ca、Fe、K、Na といった主成分を約 8 桁の濃度範囲にわたって測定できました。7500a ICP-MS は広いダイナミックレンジ (9 桁) を有するため、このように優れた回収率が得られます。この分析結果は、このメソッドが漢方薬の元素分析に適用可能であることを示しています。

メソッド検出限界 (MDL) は、豚肝臓サンプルを使って求めました。豚肝臓は、分解物中に高濃度の NaCl と有機物質を含んでいるため、EPA 200.8 の干渉補正式がマトリックスの干渉除去にどれほど効果があるかを評価するのに適しています。外部精度と MDL を得るため、約 10 日間のうち 7 回のサンプル測定を行いました (表3)。

表3. 豚肝臓サンプルのMDL

元素 (単位)	LIVER	LIVER01	LIVER02	LIVER03	LIVER04	LIVER05	LIVER06	LIVER07	Average	%RSD	固体サンプル における MDL
²³ Na (μg/g)	2244	2200	2192	2144	2104	2088	2135	2189	2162	2.5	0.14
²⁴ Mg (μg/g)	667.8	653.8	654.5	644	628.3	629.3	630.8	637.1	643	2.2	0.01
³¹ P (μg/g)	12980	12700	12860	12750	12910	12790	12800	12770	12820	1	0.3
³⁹ K (μg/g)	10810	10780	10710	10660	10530	10640	10810	10850	10724	1.0	0.5
⁴³ Ca (μg/g)	204.6	204.6	203.5	202.4	200.7	201.7	203.5	205	203	1	3.9
⁵⁷ Fe (μg/g)	1059	1036	1069	1066	1050	1059	1051	1053	1055	1.0	0.4
²⁷ Al (ng/g)	80990	86520	86980	76130	77650	79040	75690	*	81993	5.8	6.9
⁵² Cr (ng/g)	1411	1393	1377	1330	1308	1300	1302	1310	1341	3.4	16
⁵⁵ Mn (ng/g)	8937	8820	8792	9063	8387	8792	8655	8580	8753	2.4	11
⁵⁹ Co (ng/g)	95.13	95.35	92.57	94.81	92.69	93.02	92.9	93.5	94	1	1.4
⁶⁰ Ni (ng/g)	233.2	229.1	227.9	223.5	225.9	226.2	227.2	225.9	227	1.3	6.0
⁶⁵ Cu (ng/g)	17630	17540	17380	17450	17450	17500	17540	17390	17485	0.5	2.3
⁶⁶ Zn (ng/g)	173900	169600	169000	167900	171500	168400	173100	175700	171138	1.7	11
⁷⁵ As (ng/g)	40.35	63.33	33.69	34.72	43.33	58.25	56.42	50.17	48	24	25
⁸² Se (ng/g)	1085	1081	1052	1036	1033	1058	1046	1037	1054	1.9	34
¹¹⁴ Cd (ng/g)	84.69	83.16	80.76	83.33	84.77	83.1	82.35	84.72	83	1.7	0.8
¹³⁷ Ba (ng/g)	496	492.7	497.4	495.9	491	488.9	493.2	498.5	494	0.7	1.4
²⁰² Hg (ng/g)	329.3	327.2	328.5	329.3	325	327.7	320.6	331	327	1.0	1.6
²⁰⁸ Pb (ng/g)	547.9	545.3	548.7	548.3	548.6	550.2	548.3	554.1	549	0.5	0.6
²³² Th (ng/g)	2.21	2.03	2.14	2.23	2.29	2.24	2.14	2.08	2.2	4.0	0.08
²³⁸ U (ng/g)	3.49	3.33	3.63	3.29	3.47	3.15	3.4	3.38	3	4.2	0.08

* 未測定

表3 で示されている MDL データから、ほとんどの元素に関して、本メソッドの感度は実際の漢方薬サンプルを測定するのに十分であることがわかります。ただし、AsとSe (MDL がそれぞれ 25 ng/g と 34 ng/g) は例外でした。これらの元素に対しては、世界保健機構 (WHO) および米国の食品医薬品局 (FDA) によって定められた規定値 (表4) を達成するため、コリジョンリアクションセル (CRC) 技術を搭載した Agilent 7500c を使用しました。ここでは、⁷⁵As に対する ArCl の干渉および ⁷⁸Se に対する ArAr の干渉を除去する能力を7500cが備えているかどうかについて評価しました。

表4. 漢方薬、薬草サプリメント中の重金属成分に関する法規制[1]

規制値 (μg/g)	Pb	Cd	Hg	As
「TCM品質基準」に関する推奨値	5	0.5	0.2	0.2
薬草および製剤の輸出入の青果貿易標準	5	0.3	0.2	2
輸入薬草サプリメントに対するフランスの規制値	5	0.2	0.1	5
薬品および機能性食品に対する米国FDAの規制値	1	0.3	0.026	0.02
輸入薬草サプリメントに対する東南アジアの規制値	20	N/A	0.5	5

干渉方程式か、ORS 反応ガスか

桃の葉の 認証標準物質 を密封圧力容器で分解し、7500c ORS の通常（ガスなし）モードと、水素を反応ガスとして使用するガスモードの2つのモードで分析しました。表5で示されている分析結果は、ガスなしモードで、EPA 200.8 の干渉補正式を使用せずに得られたものです。

表5. ICP-MS による桃の葉（CRM 08501）の分析結果 – ORS セルガスなし、干渉補正式なし

元素（単位）	参照値	定量値
⁵² Cr (ng/g)	940±140	949
⁵⁹ Co (ng/g)	(250)	229
⁶³ Cu (μg/g)	10.4±1.6	9.1
⁶⁶ Zn (μg/g)	22.8±2.5	20.7
⁷⁵ As (ng/g)	340±60	425
⁸² Se (ng/g)	(40)	95.4
¹¹⁴ Cd (ng/g)	18±8	14.7
¹³⁷ Ba (μg/g)	18.4±1.8	17.7
²⁰² Hg (ng/g)	46±12	58
²⁰⁸ Pb (ng/g)	990±80	922

7500a およびガスなしモードの 7500c で得られたこれまでの分析結果から予測されるとおり、As と Se を除くすべての元素で定量値と参照値が良く一致していることがわかります。As と Se が他の元素より高い回収率を示しているのは、サンプル中の高濃度の Cl と、Ar ガス中の Kr が原因であると考えられます。

As および Se に対する干渉を打ち消す EPA 200.8 干渉補正式の信頼性をテストするため、これらの元素を 2 つのチューニングメソッドにより定量しました。最初のモード（#1）では、ORS にガスは加えられず、干渉補正式を使用しました。第 2 のモード（#2）では、ORS に 4.5 mL の H₂ を加え、補正式は使いませんでした。その結果を表6 に示します。

表6. 桃の葉 CRM 中の As と Se に対する干渉をコントロールする 2 種類の手法の比較

元素（単位）	チューニング	参照値	定量値	元素（単位） （単位）	チューニング	参照値	定量値
⁷⁵ As (ng/g)	#1 標準 （ガスなし）モード	340±60	386	⁷⁸ Se (ng/g)	#1*	(40)	73
⁷⁵ As (ng/g)	#2 H ₂ モード	340±60	350	⁸² Se (ng/g)	#2**	(40)	44

*干渉方程式を使用、ORSセルガスは使用せず

**ORS ガスに 4.5 mL の H₂ を添加、干渉方程式は使用せず

このデータから、As に干渉するArCl (75) と Seに干渉する ArAr の除去に対しては、H₂ と ORS の組み合わせが非常に有効であることがわかります。一方、USEPA 200.8 の干渉補正式だけに頼ると、あまり信頼できない結果になりました。As の測定値は参照値の範囲内にありましたが、RSD は高く、Se は質量数 82 でしか測定することができませんでした。質量数 82 で定量値が高いのは、Kr の干渉によるものです。

結論

この実験より、ICP-MS が認証標準物質の分解サンプルに含まれるさまざまな微量成分や主要元素の定量に適しており、漢方薬の分析に応用可能であることがわかりました。ただ、漢方薬中の重要な要素すべてをカバーするためには、As および Se における分子イオン干渉を ORS-ICP-MS によって除去することが必要になります。「通常」の ICP-MS に USEPA 200.8 の干渉補正式を適用するだけでは、As および Se に対して信頼できる分析結果を得ることができませんでしたが、桃の葉の認証標準物質では、水素ガスモードで 7500c ORS を動作させることによって、これらの元素を正確に定量できました。なお、このアプリケーションノートでは強調されていませんが、7500 ORS では一回の分析ですべての元素に対して信頼できる分析結果を得ることができ、干渉方程式の必要性もありません。

参考文献

1. BinFeng XIA et al., (2004) Modern Instruments, 10 (1), 17–19.
2. Department of International Trade, PRC, Green Trade Standards of Importing & Exporting Medicinal Plants & Preparations, Industry Regulations of Department of International Trade, PRC, wm2-2001, 2001.4, 25.

さらに詳しい情報

当社の製品およびサービスの詳細についてはウェブサイト (www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

お問い合わせは： 0120-477-111
横河アナリティカルシステムズ株式会社
〒192-0033 東京都八王子市高倉町 9-1

Agilentは、この文書に含まれる誤りあるいは本資料の提供、履行、使用に関連して生じた付随的または間接的な損害について責任を負いません。
ここに記載されている情報、内容および仕様は予告なしに変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2005

Printed in the USA
March 21, 2005
5989-2570JAJP



Agilent Technologies