



血中クルクミノイドのUV検出高速液体 クロマトグラフィーによる 分離定量法の開発

惠 淑萍* 林 千登勢** 櫻井俊宏*** 神 繁樹*** 石井智美**
村井 毅* 上馬場和夫**** 小川弘子***** 千葉仁志*** 黒澤隆夫*

ウコン（ターメリック）に含まれるポリフェノールであるクルクミノイドのヒトにおける吸収・代謝・動態は不明である。我々は、血中クルクミノイドのUV検出高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による定量法を開発し、ターメリック粉3 g（クルクミノイド60~90 mg含有）を服用した健常成人7名（m:f= 5:2, 24±1歳）と市販ウコン錠（90%精製クルクミノイド480 mg含有）を服用した健常成人7名（m:f=4:3, 22±2歳）の血中抱合型並びに非抱合型のクルクミノイド（非還元型）を本法により測定した。ターメリック粉群では服用1時間後に最大血中濃度が142.9±63.7 nmol/lに達した。一方、ウコン錠群では服用8時間に最大血中濃度が26.9±17.7 nmol/lとなり、クルクミノイドの精製度が消化管吸収速度に影響する可能性が示唆された。酵素水解反応の結果から、非還元型クルクミノイドは大部分がグルクロン酸抱合体あるいはグルクロン酸と硫酸の二重抱合型として存在し、一部が遊離型として存在することが推測された。今回開発したHPLC法は、ウコン食品の薬理学的研究に有用なツールとなることが期待される。

Key words : クルクミノイド, ウコン, ターメリック, HPLC, 内部標準物質準法

1. 緒言

ターメリックは、熱帯アジア地域で古くから栽培されてきたショウガ科植物ウコン *Curcuma longa* Linné の根茎であり、古来より染色剤、食品防腐剤、香辛料としてのみならず肝機能改善薬としても用いられてきた¹⁾。ターメリックのポリフェノール成分であるクルクミノイドは抗酸化作用や抗炎症作用を持つことが知られており、肝障害、悪性腫瘍、動脈硬化症、アルツハイマー病

などの予防や改善を期待した健康食品が多数販売されている²⁻⁵⁾。これらの健康食品中のクルクミノイド含量には大きな商品間差があるが、ウコン食品の適正な摂取および安全性を確保するためには主要成分であるクルクミノイドの吸収、移行、分布、代謝、排泄などの体内動態を把握することが重要な課題となっている。

クルクミノイドの体内動態に関しては、1978年にHolderらが、トリチウム標識したクルクミノイドをラットに経口摂取させると、糞便中に89%、尿中に6%が排泄されることが報告されて以来⁶⁾、その後も種々の実験動物を用いてクルクミノイドの体内代謝の研究が進められてきた。しかしながら、ヒトにおける体内動態研究に関する知見は見当たらない。本研究は、血中クルクミノイドのUV検出高速液体クロマトグラフィー（HPLC）

*北海道医療大学薬学部生命物理科学講座

**酪農学園大学大学院酪農学研究所

***北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学講座

****富山大学和漢医薬学総合研究所

*****金沢大学大学院自然科学研究科

による分離定量法を確立し、本法によってヒトにおけるクルクミノイドの血中濃度推移と血中の抱合様式を明らかにしたものである。

2. 材料と方法

2.1 標品の調製

クルクミノイドは、化学構造上の特徴から非還元型と還元型に大別される(図1)。非還元型は、ビスデメトキシクルクミン[1,7-bis(4-hydroxyphenyl)-1,6-hepta-diene-3,5-dione], デメトキシクルクミン[1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-(4-hydroxyphenyl)-1,6-

heptadiene-3,5-dione], クルクミン[1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione]の3種である。一方、還元型は、テトラヒドロビスデメトキシクルクミン[1,7-bis(4-hydroxyphenyl)-heptan-3,5-dione], テトラヒドロデメトキシクルクミン[1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-(4-hydroxyphenyl)-heptan-3,5-dione], テトラヒドロクルクミン[1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-heptan-3,5-dione]の3種であり、テトラヒドロ体とも呼ばれる。定量法を開発する上で必須となるこれら6種の標品は以下の方法で調製した。すなわち、非還元型クルクミノイド3種(1-3)と還元型クルク

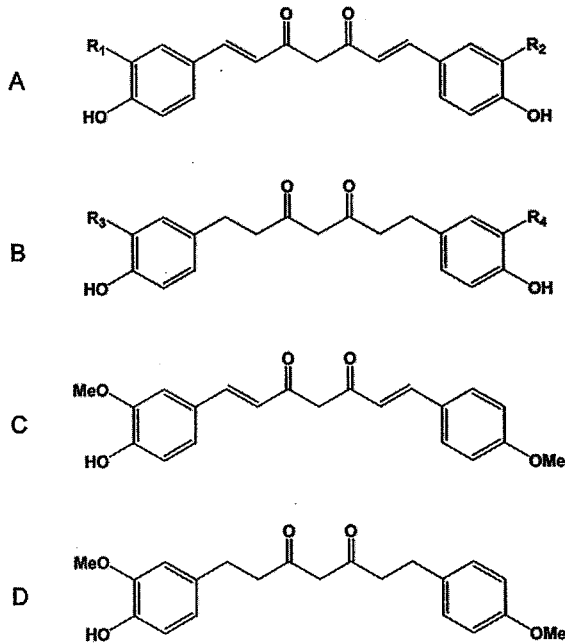


図1 クルクミノイドと内部標準物質の化学構造

- (A) 非還元型クルクミノイド: ビスデメトキシクルクミン(BDC, 1): $R_1 = R_2 = H$; デメトキシクルクミン(DC, 2): $R_1 = OMe, R_2 = H$; クルクミン(C, 3): $R_1 = R_2 = OMe$.
 (B) 還元型クルクミノイド: テトラヒドロビスデメトキシクルクミン(TBDC, 4): $R_3 = R_4 = H$; テトラヒドロデメトキシクルクミン(TDC, 5): $R_3 = OMe, R_4 = H$; テトラヒドロクルクミン(TC, 6): $R_3 = R_4 = OMe$.
 (C) 非還元型クルクミノイドの定量に用いる内部標準物質: デメトキシクルクミンモノメチルエーテル(IS-1, 7)
 (D) 還元型クルクミノイドの定量に用いる内部標準物質: テトラヒドロデメトキシクルクミンモノメチルエーテル(IS-2, 8)

ミノイド3種(4-6)は、クルクミノイド粗抽出品をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、クロロホルム:メタノール(50:1, v/v)で溶出される画分を酢酸エチルエステルから繰り返し再結晶して得た。一方、還元型クルクミノイド標品は、クルクミノイド粗抽出品を金属触媒下で接触還元して得られた還元生成体を、前述と同様の方法で精製した。なお、クルクミノイド粗抽出品及びその接触還元物は山田健康堂(株)より提供を受けた。

2.2 内部標準物質の合成

生体内微量成分のUV検出HPLC分析では、物理的、化学的性質が類似した同族体が内部標準物質(IS)として広く用いられ、これが測定結果の信頼度を高める要素ともなっている。非還元型と還元型クルクミノイドはそれぞれ420 nmと280 nmに吸収極大波長を有しており、UV検出HPLCではこれらの分光学的特性を利用することが出来る。このため、ISとしては、これらと化学構造が類似した同族体が望ましい。そこで、クルクミノイドが保有するフェノール性水酸基をメチルエーテル化すると疎水性が増大し、逆相系のODSカラムではクルクミノイドに比して保持力が増大し遅く溶出されるものと想定されることから、デメトキシクルクミン(1)とテトラヒドロデメトキシクルクミン(4)を原料に用いて、これらのメチルエーテル誘導体を合成し、ISとしての適否に検討を加えた。すなわち、デメトキシクルクミン(1)またはテトラヒドロデメトキシクルクミン(4)それぞれ1 gを、1 mol/l水酸化ナトリウム(10 ml)に溶解し、氷冷下攪拌しながらジメチル硫酸(0.6 g)を滴下した。攪拌30分後に塩酸を加えて弱酸性とした後、クロロホルムで生成物を抽出した。引き続き、有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去して得られる生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、クロロホルム:メタノール(50:1, v/v)で溶出される画分をそれぞれ酢酸エチル、酢酸エチル/ヘキサン、酢酸エチルから再結晶しデメトキシクルクミンメチルエーテル誘導体3種とテトラヒドロデメトキシクルクミンメチルエーテル誘導体3種を得た。そこで、これらメチルエーテル誘導体のHPLCにおける溶出挙動を精査し

た。その結果、非還元型クルクミノイドのISとして、デメトキシクルクミンモノメチルエーテル(7)、一方、還元型クルクミノイドのISとしてテトラヒドロデメトキシクルクミンモノメチルエーテル(8)が最適であることが判った。そこで、以下の実験ではこれら2種の化合物をISとして用いることとした。

2.3 採血

HPLC条件の検討および血中存在様式の検討では、北海道大学において、健常ボランティア(n=3)に料理用市販ターメリック粉(4~10 g)を牛乳200 mlとともに服用させ、1時間後にEDTA管で採血した。なお、牛乳で服用させたのは、クルクミノイドが脂溶性で水では吸収が悪いためである。

血中濃度推移の検討には、国際伝統医学研究所において、健常成人14名を2群に分け、ターメリック粉群(n=7, 男:女=5:2, 24±1歳)はターメリック粉3g(クルクミノイド60~90 mg含有)、ウコン錠群(n=7, 男:女=4:3, 22±2歳)はウコン錠6錠(90%精製クルクミノイド480 mg含有)を牛乳200 mlとともに単回服用させた。なお、対照群として、別の日に同一被験者に牛乳200 mlのみを服用させた。採血は投与直前、投与30分、1, 2, 4, 8, 24時間後に肘静脈よりヘパリン添加採血管を用いて行った。

血液はすべて4℃で3000 rpm, 10分間遠心分離し、得られる血漿を使用時まで-80℃で保存した。

2.4 血漿試料の前処理

ラットにクルクミノイドを経口投与すると、血中にグルクロン酸抱合体あるいはグルクロン酸と硫酸との二重抱合体として出現することが報告されている⁷⁾。そこで本研究では、これら抱合体をいったん酵素で加水分解し、遊離するアグリコンをHPLCにて測定することとし、はじめにヒト血中抱合体の酵素水解に検討を加えた。

2.4.1 HPLC条件及び血中動態に関する検討のための前処理

ここでは、グルクロン酸抱合体と硫酸抱合体を一挙に酵素的に脱抱合すべく、β-グルクロニダーゼとスルファターゼを含む酵素源を用いて加水分解反応を行った。すなわち、スルファ

ターゼ活性 (40000 U/mg) と β -グルクロニダーゼ活性 (≥ 300 U/mg) を併せ持つ, Sigma社のスルファターゼ type H-1 (2.8 mg) を 2% アスコルビン酸と 0.01% EDTA を含有する 10 mmol/l リン酸緩衝液 (pH 5.0, 0.5 ml) に溶解し, この酵素溶液 (0.5 ml) と 試料血漿 (0.5 ml) とを混合し, 37°C で非還元型は 2 時間, 還元型は 4 時間反応させた。反応終了後, 既知濃度の内部標準物質 (非還元型 60 pmol/20 μ l, 還元型 120 pmol/40 μ l) と 酢酸エチル (4 ml) を加えよく混和し, 遠心分離 (3500 rpm, 25°C, 15 分) 後の酢酸エチル層を遠心濃縮機で乾固した。

2.4.2 血中抱合体の選択的な加水分解反応

脱抱合反応により遊離型として観察されるクルクミノイドを以下のように定義した。すなわち, β -グルクロニダーゼとの酵素反応によって遊離するクルクミノイドをグルクロン酸抱合型, スルファターゼとの酵素反応によって遊離するクルクミノイドを硫酸抱合型, β -グルクロニダーゼとスルファターゼを含む酵素液で加水分解を受けて遊離するクルクミノイドを全抱合型とした。全抱合型からグルクロン酸抱合型と硫酸抱合型を除いたものをグルクロン酸と硫酸との二重抱合型 (1 分子内にグルクロン酸抱合と硫酸抱合を含むもの) とした。脱抱合反応を行わないで検出されるクルクミノイドを遊離型とし, 上記の各抱合型から差し引いた。

グルクロン酸抱合体の加水分解: 血漿 0.25 ml に対して β -グルクロニダーゼ type VII-A, 711 U (スルファターゼ活性なし, Sigma) を含む 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) 0.5 ml を添加し, 37°C で 2 時間インキュベートした。

硫酸抱合体の加水分解: 血漿 0.25 ml に対してスルファターゼ type-VIII, 35 U (β -グルクロニダーゼ < 3.6 U, Sigma) を含む酢酸緩衝液 (pH 5.0) 0.5 ml を添加し, 同様にインキュベートした。この場合, β -グルクロニダーゼを完全に阻害するために 21 mmol/l D-サッカリン酸を酢酸緩衝液に添加した。

グルクロン酸と硫酸の二重抱合体の加水分解: HPLC 条件及び血中動態に関する検討のための前処理法と同様に, β -グルクロニダーゼとスルファターゼの両方の活性を持つスルファ

ターゼ type H-1 (Sigma) を用いて脱抱合反応を行った。

2.5 HPLC 条件

分離カラムに Inertsil ODS-2 カラム (4.6 \times 250 mm, GL Sciences), 移動相に 0.1% トリフルオロ酢酸: アセトニトリル (1:1, v/v) 混液を用い, 非還元型は流速 1.0 ml/min, 一方の還元型は流速 0.5 ml/min で, それぞれ 420 nm と 280 nm でモニターした。試料は, 血漿抽出物をメタノール 50 μ l に溶解し 25 μ l を注入した。定量値は目的ピークと内部標準物質の面積比を用いて検量線から求め, 目的物質と内部標準物質の分子吸光係数の差は検量線を作成して補正した。

2.6 倫理

本研究は, 北海道大学医学研究科と国際伝統医学センターの倫理委員会の承認を受け, 被験者のインフォームドコンセントを得て実施した。

3. 結果

3.1 標品と内部標準物質のクロマトグラム

非還元型の標品と内部標準物質のクロマトグラムを **図2A** に, 還元型の標品と内部標準物質のクロマトグラムを **図2B** に示す。各成分は良好に分離された。

3.2 血漿試料のクロマトグラム

ターメリック服用 1 時間後に採血した血漿試料の非還元型クルクミノイドのクロマトグラムを **図2C** に示した。ピーク 1~4 は **図2A** で示した標品 (ピーク 1~3) と内部標準物質 (ピーク 4) の保持時間にそれぞれ一致した。同一の血漿試料を用いた場合の還元型クルクミノイドのクロマトグラムを **図2D** に示す。ピーク 5~8 は, **図2B** で示した還元型の標品 (ピーク 5~7) と内部標準物質 (ピーク 8) の保持時間にそれぞれ一致した。ピーク成分の構造は, これらの HPLC ピークを分取し, ESI-TOF-MS (JMS-T100 CS, 日本電子) 分析において観測された分子量が理論値と一致することから確認した (結果は示さない)。しかし, HPLC では, 還元型クルクミノイドの周辺には, クルクミノイド以外の物質によるピークが数多く観察された (**図2D**)。この結果から, 今回の HPLC 条件によって還元型クルクミノイドを正

確に定量することは困難であると思われたので、定量に関する以下の実験は非還元型クルクミノイドについてのみ行うこととした。

3.3 直線性, 回収率, 再現性

非還元型標品3種の検量線を上述したISを用いて作成した。その結果0~50 pmol の範囲で良好な直線性を示した(図3)。そこで、ターメリック服用後の血漿に既知量の標品を添加し、3回の実験で添加回収率を求めた。添加回収率の平均は93.1%~114.8%と良好であった。同時再現性と日差再現性は、低濃度, 中濃度, 高濃度のクルクミノイドを含む血漿を用いて5回の測

定を行い、変動係数は2.4%~16.2%であった。

3.4 抱合様式

ターメリック服用1時間後の血漿中抱合体を酵素的に加水分解し、生成する遊離型の非還元型クルクミノイドを測定した時のHPLCクロマトグラムを図4に示す。 β -グルクロニダーゼ処理によって、グルクロン酸抱合型クルクミノイドは遊離型に変換され、これがHPLCで検出される(図4C)。また、 β -グルクロニダーゼ/スルファターゼ処理を行うと、 β -グルクロニダーゼ処理だけの場合よりもクルクミノイドのピーク強度が増大した(図4D)。一方、スルファターゼのみで処理

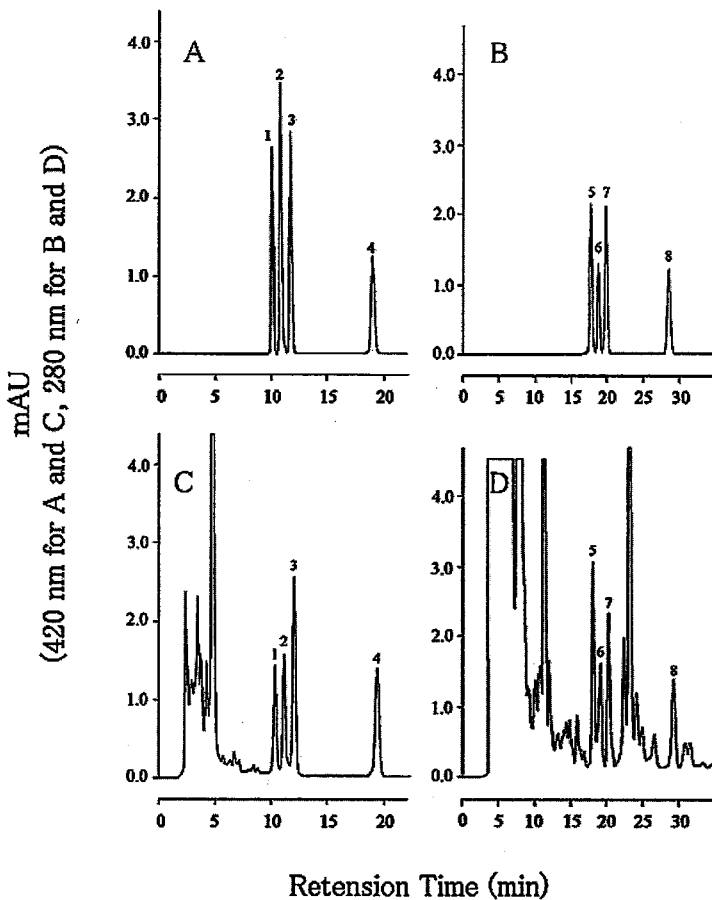


図2 標品と内部標準物質, 及び血漿抽出物のクロマトグラム

(A) 非還元型クルクミノイドのクロマトグラム, (B) 還元型クルクミノイドのクロマトグラム, (C) 血漿抽出物 (非還元型) のクロマトグラム, (D) 血漿抽出物 (還元型) のクロマトグラム. 1: BDC, 2: DC, 3: C, 5: TBDC, 6: TDC, 7: TC, 4: IS-1, 8: IS-2.

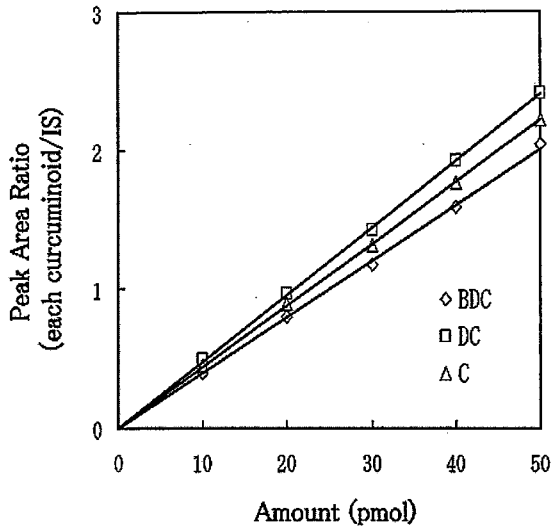


図3 非還元型クルクミノイドの検量線
 BDC: $y=0.0404x+0.009$; DC: $y=0.0479x+0.006$; C: $y=0.0443x+0.0002$.

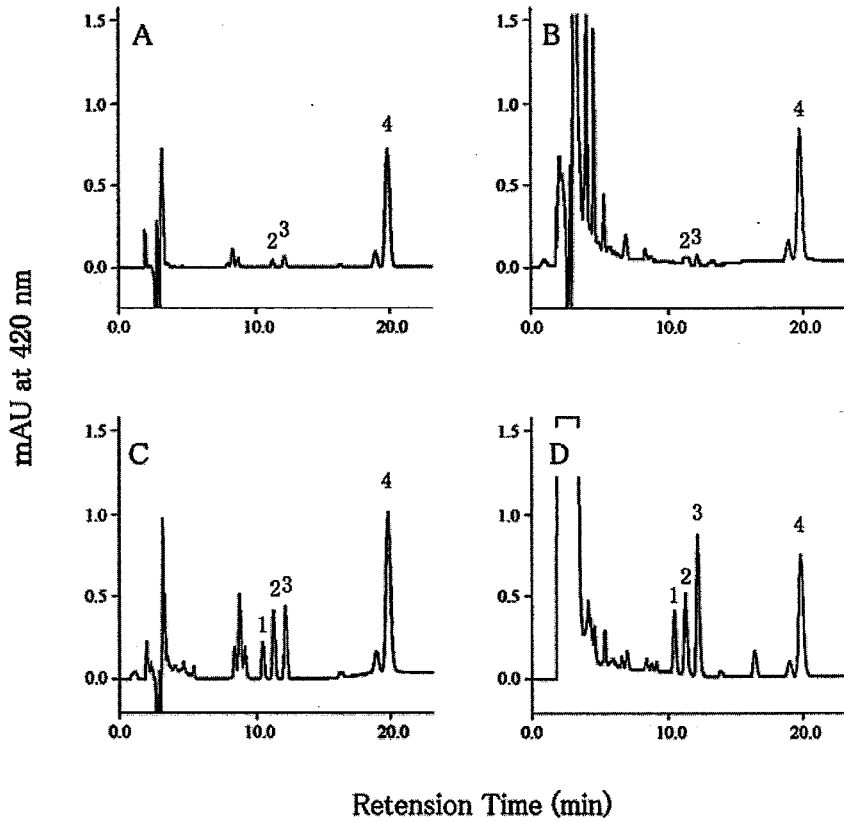


図4 血中非還元型クルクミノイドの酵素的脱抱合反応の影響
 (A) 脱抱合反応なし, (B) スルファターゼ処理, (C) β -グルクロニダーゼ処理,
 (D) スルファターゼ/ β -グルクロニダーゼ処理. 1: BDC, 2: DC, 3: C, 4: IS-1.

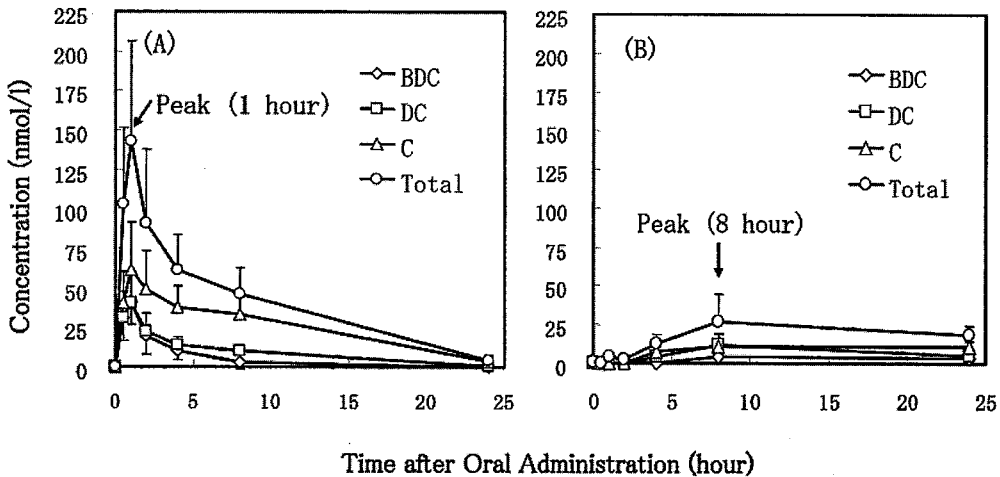


図5 ターメリック及び市販ウコン錠を服用した健康成人の血漿中クルクミノイドの濃度推移
 (A) ターメリック粉 (60~90 mg クルクミノイド含有), n=7;
 (B) 市販ウコン錠 (90%精製クルクミノイド 480 mg 含有), n=7;
 (平均±SD).

した場合にはクルクミノイドのピーク強度が減少した(図4B)。しかし、酵素処理をしないで検出された遊離型(図4A)を差し引くと、硫酸抱合型としてはほとんど検出されなかった。これらの結果、非還元型クルクミノイドは、遊離型が4.6% (3.6%~5.9%) (平均及び最小~最大), グルクロン酸抱合型が50.0% (40.5%~56.1%), グルクロン酸と硫酸との二重抱合型が45.4% (39.7%~53.5%)を占めることが推測された。

3.5 血中濃度推移

ターメリック粉群では服用後30分で血中濃度が上昇し、1時間で最大濃度の 142.9 ± 63.7 nmol/l (平均±SD) に到達したが、その後急速に減少し、24時間後にはほぼ服用前に戻った(図5A)。ウコン錠服用者では血中濃度は緩やかに上昇し、服用後8時間で最大濃度 26.9 ± 17.7 nmol/l (平均±SD) となったが、ターメリック粉群の最大濃度の約1/6 のレベルに留まった。また、24時間後にも血中に非還元型クルクミノイドの存在が確認された(図5B)。

4. 考察

クルクミノイドをラットに経口投与した場合に

体内に吸収される量は約1%であることが過去に報告されている⁸⁾。我々は、ヒト血中クルクミノイドを低濃度域で正確に精度よく測定するためにクルクミノイドの内部標準物質を合成した。内部標準物質を用いることにより、抽出効率の変動の影響を受けることなく、ヒトの血中クルクミノイドの測定が可能になった。

非還元型クルクミノイドをラットに経口投与した場合の、血液における還元型クルクミノイドの存在については否定的な報告がある⁷⁾。一方、ラット血中では還元型クルクミノイドが非還元型クルクミンよりも高濃度になるとの報告もある⁹⁻¹¹⁾。我々は両者の抽出方法を追試したが、前者の方法ではHPLC溶出液中に還元型クルクミノイドを確認できなかったものの、後者の方法では還元型クルクミノイドと思われるHPLCピークを検出し、質量分析で構造が確認された。抽出方法の違いが還元型クルクミノイドの検出に影響しているのかもしれない。

非還元型クルクミノイドは他の物質の干渉を受けづらい420 nmの波長で測定でき、HPLC-UV法で定量が可能であった。一方、還元型クルクミノイドはフェノール構造の吸収波長である280 nmで観察しなければならないため、フェ

ノール類を始めとする様々な生体成分の干渉を受けやすく、HPLC-UV法による定量は信頼性が低いことを確認した。従って、ラット血中で還元型が非還元型よりも高濃度であったという過去の報告も更に正確な方法で検証する必要があるだろう。

一般に、ラットではグルクロン酸転移酵素であるUDP-グルクロナシルトランスフェラーゼは肝臓、消化管粘膜（小腸、大腸）、腎臓で活性が高く、硫酸転移酵素であるスルフトランスフェラーゼ活性は主に肝臓で認められる⁷⁾。経口摂取されたクルクミノイドの大部分は消化管から吸収されずにほぼ排出されるが、一部は消化管粘膜でグルクロン酸抱合を受けて血中に出現し、グルクロン酸抱合型の一部は、肝臓でスルフトランスフェラーゼによって硫酸抱合を受け、グルクロン酸と硫酸の二重抱合体になるものと考えられている⁷⁾。また、硫酸抱合体が観察されなかったのは、消化管粘膜のスルフトランスフェラーゼ活性が低いため、先にグルクロン酸抱合を受けてしまうためではないかと考察されている⁷⁾。

本研究では、ヒトに投与したクルクミノイドが血中ではグルクロン酸抱合体とともにグルクロン酸と硫酸との二重抱合体として存在することが推測された。これらの結果は、すでに得られているラットの結果と符合する。しかし、本研究では遊離型も少量だが確認され、この点においてラットの報告とは相違する。周知のごとく、非抱合型クルクミノイドは脂溶性、一方、抱合体は水溶性である。このため、両者の薬物動態学的特性は大きく異なり、これが組織・臓器における吸収、移行、分布、排泄を大きく左右する。今後は、こうした観点からのさらなる検討が必要となろう。

ターメリック粉およびウコン錠を経口投与した場合の血中動態の検討では、ターメリック粉の場合、抱合型クルクミノイドの血中濃度は速やかに上昇し、1時間で最大血中濃度に達した。クルクミノイド含量の大きいウコン錠の場合、むしろ上昇は緩やかで最大血中濃度も低いレベルに留まった。ラットの白内障モデルを用いた研究で、ターメリックがクルクミン精製品よりも効果

が高いという報告があり、ターメリックに含まれるクルクミン以外の成分による生物学的利用率の上昇が関係すると推測されているが、本研究の結果と矛盾しない¹²⁾。精製度に加えて、剤型の違いが血中動態に影響する可能性も考えられるが、我々の検討では錠剤を粉末として与えても血中動態には大きな変化が観察されなかった（結果は示さない）。機能性食品では、有効成分の精製度を上げると消化管吸収が大きく低下することがあるが、クルクミノイドもその例であると考えられる。

本研究により、ウコン食品間や個体間での血中動態の比較が可能となった。これにより、クルクミノイドの生物学的利用率を最大にする精製法の検討や、クルクミノイドの吸収および代謝の個体差（遺伝子、疾患）の検索、クルクミノイドの吸収に影響する食品成分の同定などの研究が可能となる。また、クルクミノイドの薬理作用と血中濃度の関係についても研究が可能となった。

今後の課題として、還元型クルクミノイドの定量が残されており、UV吸収によらない液体クロマトグラフィー/質量分析法による定量を検討する必要があるだろう。また、今回の検討では抱合様式の解析を酵素水解法によったが、使用する酵素の特異性に問題が残る。今後は、抱合型標品の確保とそれらの直接分析法の確立が求められる。

謝辞

本研究は、山田小百合氏(株式会社 山田健康堂)の励ましと御支援により実施することができました。心より感謝いたします。

文献

- 1) Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP: Curcumin: The story so far, *Eur J Cancer*, **41**: 1955-1968, 2005.
- 2) Garcea G, Berry DP, Jones D J L, Singh R, Dennison AR, Farmer PB, Sharma RA, Steward WP, Gescher AJ: Consumption of the putative chemopreventive agent curcumin by cancer patients: Assessment of curcumin levels in the

- colorectum and their pharmacodynamic consequences, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **14**:120-125, 2005.
- 3) Lim GP, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy SA, Cole GM: The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse, *J Neurosci*, **21**: 8370-8377, 2001.
 - 4) Olszanecki R, Jawien J, Gajda M, Mateuszuk L, Gebaska A, Korabiowska M, Chlopicki S, Korbut R: Effect of curcumin on atherosclerosis in apoE/LDLR-double knockout mice. *J Physiol Pharmacol*, **56**: 627-635, 2005.
 - 5) Osawa T, Sugiyama Y, Inayoshi M, Kawakishi S: Antioxidative activity of tetrahydrocurcuminoids, *Biosci Biotechnol Biochem*, **59**: 1609-1612, 1995.
 - 6) Holder GM, Plummer JL, Ryan AJ: The metabolism and excretion of curcumin [1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione] in the rat, *Xenobiotica*, **8**: 761-768, 1978.
 - 7) Asai A, Miyazawa T: Occurrence of orally administered curcuminoid as glucuronide and glucuronide/sulfate conjugates in rat plasma, *Life Sci*, **67**: 2785-2793, 2000.
 - 8) Yang KY, LC Lin, Tseng TY, Wang SC, Tsai TH: Oral bioavailability of curcumin in rat and the herbal analysis from *curcuma longa* by LC-MS/MS, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, **853**: 183-189, 2007.
 - 9) Naito M, Wu X, Nomura H, Kodama M, Kato Y, Kato Y, Osawa T: The protective effects of tetrahydrocurcumin on oxidative stress in cholesterol-fed rabbits, *J Atheroscler Thromb*, **9**: 243-250, 2002.
 - 10) Okada K, Wangpoengtrakul C, Tanaka T, Toyokuni S, Uchida K, Osawa T: Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress-induced renal injury in mice, *J Nutr*, **131**: 2090-2095, 2001.
 - 11) Inano H, Onoda M, Inafuku N, Kubota M, Kamada Y, Osawa T, Kobayashi H, Wakabayashi K: Chemoprevention by curcumin during the promotion stage of tumorigenesis of mammary gland in rats irradiated with γ -rays, *Carcinogenesis*, **20**: 1011-1018, 1999.
 - 12) Suryanarayana P, Saraswat M, Mrudula T, Krishna TP, Krishnaswamy K, Reddy GB: Curcumin and turmeric delay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats, *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **46**: 2092-2099, 2005.

受付日: 2008年12月16日

受理日: 2008年12月24日

別刷請求先

千葉 仁志

北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学講座

〒060-0812 北海道札幌市北区北12条西5丁目

TEL/FAX: 011-706-3698

E-mail: chibahit@med.hokudai.ac.jp

Quantitative analysis of curcuminoids in human plasma by means of HPLC with UV detection

Shuping Hui*, Chitose Hayashi**,
Toshihiro Sakurai***, Shigeki Jin***,
Satomi Ishii**, Tsuyoshi Murai*,
Kazuo Uebaba****, Hiroko Ogawa*****,
Hitoshi Chiba***, Takao Kurosawa*

*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido Health Sciences University

**Graduate School of Dairy Science, Rakuno Gakuen University

***Faculty of Health Sciences, Hokkaido University

****Institute of Natural Medicine, Toyama University

*****Graduate School of Natural Science and Technology, Kanazawa University

Summary

Curcuminoids are the polyphenols contained in turmeric. They are getting more popular in Japan as an ingredient of health foods. However, little is known about the intestinal absorption, metabolites and pharmacokinetic profiles of orally administered curcuminoids in human. In this report, quantitative analyses of curcuminoids in human plasma after oral administration were done by using HPLC with the aid of synthetic curcuminoid derivatives as an internal standard. For non-reduced forms of curcuminoids, the average recoveries from plasma were 93.1%~114.8%, and the coefficients of variation were less than 16.2%. The enzymatic hydrolysis demonstrated that the non-reduced curcuminoids were glucuronides (50.0%), glucuronide/sulfate double conjugates (45.4%) and free (4.6%) at 1 hour after oral ingestion of 4 g turmeric powder. The maximum plasma concentrations of curcuminoids (non-reduced form) in the turmeric powder group (60~90 mg curcuminoids included, n=7) and the turmeric tablet group (90% purified curcuminoids 480 mg included, n=7) were 142.9 ± 63.7 nmol/l (mean \pm SD) at 1 hour and 26.9 ± 17.7 nmol/l (mean \pm SD) at 8 hour, respectively, indicating the different

intestinal absorption rates. The present method will serve as a useful analytical tool for pharmacological studies of curcuminoids.

Key words

curcuminoids, turmeric, HPLC, internal standard