

「いわゆる健康食品」中の医薬品成分分析について

西條 雅明、石井 俊靖、長谷川貴志、永田 知子

Medicinal Compounds Detected in Dietary Supplements with Suggestive Expression for Tonic and Weight Reduction

Masaaki SAIJO, Toshiyasu ISHII, Takashi HASEGAWA and Tomoko NAGATA

要 旨

健康食品中の医薬品成分分析において、HPLC/PDAによるライブラリー構築及び一斉分析法確立により迅速分析が可能となった。さらに原理の異なる測定法（LC/MS及びTLCによる確認試験）を組み合わせ同定を行った。

18年度に試買した80製品を試験したところ、8製品から7種（延べ10種）の医薬品成分が確認された。

キーワード：健康食品：強壮：痩身：一斉分析：HPLC/PDA：LC/MS：TLC

Key Word：Dietary Supplement：Tonic：Weight Reduction：Simultaneous determination：HPLC/PDA：LC/MS：TLC

はじめに

近年、人々の健康に対する意識や関心が高まっており、健康の維持、増進や痩身、強壮効果等を期待して健康食品が広く用いられるようになってきている。しかし、これら健康食品の中には、効果を高めようと医薬品成分を含有した製品がみられ、それらを摂取することにより健康被害を受けるといった事例が数多く報告されている^{1)~4)}。平成14年7月には痩身効果を標榜した中国製健康食品に、N-ニトロソフェンフルラミン、フェンフルラミン、甲状腺ホルモンなどの医薬品成分が含有され、3名の死亡者を含む大規模な健康被害が発生した。また、強壮効果を標榜した健康食品については、全国的に毎年医薬品成分が検出されており、健康被害の発生が危惧されるところである。

このような中、本県においても平成18年度に、「いわゆる健康食品」を摂取したことによる健康被害と疑われる事例が発生した。そこで、「いわゆる健康食品」中の医薬品成分を対象とする一斉分析法を構築し、さらに原理の異なる測定法を用いた確認試験を組み合わせ分析を行った。その結果、平成18年度に試買した80製品では、8製品から7種（延べ10種）の医薬品成分を検出したので報告する。

実験方法

1. 試料

平成18年度に、インターネット通信販売や千葉県内の販売店で試買した80製品。

2. 試薬及び試液

1) 標準品：トリアムテレンはALEXIS社製。アスピリン、フェニルブタゾン、カワイン、シブトラミン(SIB)、ビスコジルはLKT Laboratories, Inc.製。アセトアミノフェンはMP BioMedicals, Inc.製。フェンフルラ

ミン、マジンドールはSIGMA社製。タダラフィル、バルデナフィルはToronto Research Chemicals, Inc.製。エフェドリン、メチルエフェドリンはアルプス薬品工業(株)製。アトロピン、コルチゾンは東京化成工業(株)製。N-ニトロソフェンフルラミン、アミノ安息香酸エチル(EAB)、インドメタシン、エテンザミド、グリクラジド、グリベンクラミド、スピロラクソン、センノシドA、センノシドB、デキサメタゾン、トルブタミド、ノルエフェドリン、ヒドロクロロチアジド、ヒドロコルチゾン、ピロキシカム、フェノールフタレイン(PP)、プレドニゾロン、プロカイン、フロセミド、プロピオン酸クロベタゾール、ベタメタゾン、ヨヒンビン、和光純薬工業(株)製。シルデナフィル(SDF)はファイザー製薬(株)から、プソイドエフェドリンはカネボウからの分与品。アミノタダラフィル(ATF)、キサントアントラフィル(XAF)、ヒドロキシホモシルデナフィル(HHS)、プソイドバルデナフィル(PVF)、ホモシルデナフィル、ホンデナフィルは国立医薬品食品衛生研究所からの分与品。

2) 標準溶液の調製

(1) 標準原液は、各標準品を1000 μ g/mLとなるよう各々メタノールで調製した。ただし、センノシドA、B標準原液は、1000 μ g/mLとなるよう1%炭酸水素ナトリウム溶液で調製した。

(2) 標準溶液は、これら標準原液をメタノールで10、50、100及び200 μ g/mLに適宜調製した。

3) その他の試薬

メタノールは残留農薬用を、アセトニトリルはHPLC用(いずれも、和光純薬工業(株)製)を用いた。水はミリポア社製MILLI-Q Laboにより精製して用いた。その他の試薬はすべて市販の試薬特級品を用いた。

3. 装置

1) フォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロ

マトグラフ (HPLC/PDA)

(1) 日本分光製PU-2089型ポンプ、同AS-2055型オートサンプラー、同CO-2065型カラムオーブン、同MD-2015型PDA検出器を用いた。(一斉分析用)

(2) Waters社製616型ポンプ、同CHM型カラムオーブン、同996型PDA検出器を用いた。(定量分析用)

2) 高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) : Waters社製2695型セパレーションモジュール、同ZQ4000型質量分析計を用いた。(確認試験用)

4. 測定条件

1) HPLC/PDA 測定条件

カラム : TSK-GEL ODS 80-Ts (4.6mm i.d.×150mm、5 μ m)、流速 : 1.0mL/min、注入量 : 20 μ L、カラム温度 : 40℃、測定波長 : 200-400nm

(1) 一斉分析

移動相A液 : アセトニトリル/水/リン酸混液 (100 : 900 : 1、5 mmol/Lヘキサンスルホン酸ナトリウム含有)、B液 : アセトニトリル/水/リン酸混液 (900 : 100 : 1、5 mmol/Lヘキサンスルホン酸ナトリウム含有)、グラジエント条件 : 0分 (A:B=90:10)→25分 (A:B=55:45)→44-49分 (A:B=10:90)→50-65分 (A:B=90:10)、測定波長 : 210-400nm (Max Absorbance)

(2) PP 定量分析

グラジエント条件 : 0分 (A:B=75 : 25)→15-20分 (A:B=60 : 40)→21-35分 (A:B=75 : 25)、定量波長 : 230nm

(3) SIB 定量分析

アイソクラティック条件 : (A:B=60:40)、定量波長 : 220nm

(4) ATF、HHS、PVF、XAF 定量分析

移動相C液 : 0.1%リン酸溶液、D液 : 0.1%リン酸アセトニトリル、グラジエント条件 : 0分 (C:D=80 : 20)→15分 (C:D=55 : 45)→20分 (C:D=45 : 55)→21-35分 (C:D=80 : 20)、定量波長 : 270nm

(5) EAB 定量分析

アイソクラティック条件 : (C:D=60:40)、定量波長 : 290nm

2) LC/MS 測定条件

カラム : Atlantis dC18 (2.1mm i.d.×150mm、3 μ m)、移動相E液 : 0.1%ギ酸溶液、F液 : 0.1%ギ酸含有アセトニトリル、流速 : 0.2mL/min、注入量 : 10 μ L、カラム温度 : 40℃、イオン化法 : ESI ポジティブ、コーン電圧 : 10、20、30、60及び90V、測定質量電荷比範囲 : m/z 100-800

グラジエント条件1 : 0分 (E:F=80:20)→50-60分 (E:F=20:80)→61-70分 (E:F=80:20)

グラジエント条件2 : 0分 (E:F=95:5)→15分 (E:F=80:20)→30-35分 (E:F=20:80)→36-50分 (E:F=95:5)

3) 薄層クロマトグラフィー (TLC) 測定条件

Merck社製Silica gel 60 F254 (105℃、1時間乾燥)、スポット量 5 μ L

(1) 塩基性展開溶媒 : クロロホルム/メタノール/28%アンモニア水 (90 : 5 : 5) の下層溶媒、検出 : 254、365nmを照射し、吸収スポットの有無と色調を確認した。さらに10%硫酸を噴霧し、橙色のスポットを確認した。

(2) 酸性展開液溶媒 : 1-ブタノール/水/酢酸 (7 : 2 : 1)、検出 : 254nmを照射し、吸収スポットの有無と色調を確認した。

(3) 中性展開液溶媒 : クロロホルム/酢酸エチル (2 : 1)、検出 : 254nmを照射し、吸収スポットの有無と色調を確認した。さらに10%硫酸を噴霧し、105℃で5分間加熱後、紫外線365nmを照射し、蛍光スポットの有無を確認した。

5. 試験溶液の調製

試料は粉末とし、約0.10g (液体試料は0.5mL) を精密に量り取り、70%メタノール10mLを加え15分間超音波抽出後、0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過し、試験原液とした。試験原液をさらにメタノールで10倍に希釈し、HPLC/PDAによる一斉分析用溶液とした。TLCによる確認試験用溶液は、必要に応じて窒素風乾により適宜濃縮した。定量分析用溶液はメタノールで適宜希釈した。

結果及び考察

1. HPLC/PDA による一斉分析

守安らの報告⁵⁾を参考に HPLC/PDA 分析条件を設定し、過去に報告例のある健康食品中の医薬品成分を中心とした47成分の標準溶液を測定し、標準物質保持時間 (表1) と吸収スペクトルをライブラリーに登録した。

このライブラリー情報を基に、平成18年度分の80製品について試験した結果、8製品から8種の医薬品成分 (表2) を含んでいる可能性が示唆された。

製品No.1、No.3 及びNo.5 において保持時間が18.187～18.400分に確認されたピークは、標準品のSDF (18.333分) とHHS (18.627分) の保持時間と近接し、吸収スペクトルは同形状であった (図1) ため、一斉分析法だけでは医薬品成分を判断できなかった。一斉分析で医薬品成分が検出された製品については、さらにLC/MSによる確認試験を行った。

2. LC/MS による確認試験 (表3)

HPLC/PDA による一斉分析で検出された、5製品 (製品No.1～No.5) 及び3製品 (製品No.6～No.8) を、それぞれLC/MSのグラジエント条件1及び2で試験したところ、次のように医薬品成分を確認した。

1) グラジエント条件1

(1) 製品No.1 からは、保持時間11.06分のピークが検出され、 m/z 505に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。マススペクトルが標準品HHSと一致した (図2)。

(2) 製品No.2 からは、保持時間24.51分のピークが検出され、 m/z 460に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。マススペクトルが標準品PVFと一致した。

表 1 HPLC/PDA による標準品の保持時間

成分名	保持時間(分)	成分名	保持時間(分)
アセトアミノフェン	2.867	イカリイン	16.533
ヒドロクロロチアジド	3.627	ビスコジル	16.707
ノルエフェドリン	4.453	ベタメタゾン	16.987
プソイドエフェドリン	5.227	フェノールフタレイン (PP)	17.213
プロカイン	5.227	デキサメタゾン	17.227
エフェドリン	5.267	オリスタット	17.253
メチルエフェドリン	5.867	アミノタダラフィル (ATF)	17.760
アスピリン	7.347	シルデナフィル (SDF)	18.333
センノシドB	7.507	ヒドロキシホモシルデナフィル (HHS)	18.627
トリアムテレン	7.720	トルブタミド	18.787
アトロピン	8.107	ホモシルデナフィル	19.267
エテンザミド	8.880	タダラフィル	19.960
センノシドA	9.920	キサントアントラフィル (XAF)	20.413
アミノ安息香酸エチル (EAB)	10.213	カワイン	21.907
ヨヒンビン	11.627	グリクラジド	22.253
マジンドール	13.493	シブトラミン (SIB)	23.920
ブレドニゾロン	13.533	プソイドバルデナフィル (PVF)	24.013
バルデナフィル	13.760	スピロラクトン	26.707
ヒドロコルチゾン	13.813	N-ニトロソフェンフルラミン	28.867
コルチゾン	13.987	インドメタシン	29.787
フロセミド	14.573	グリベンクラミド	30.173
フェンフルラミン	14.653	フェニルブタゾン	30.280
ピロキシカム	14.827	プロピオン酸クロベタゾール	32.027
ホンデナフィル	16.040		

表 2 HPLC/PDA一斉分析におけるライブラリー検索結果

製品No.	HPLC/PDA 一斉分析		
	保持時間(分)	吸収スペクトル	ライブラリー検索結果
1	18.400	図1参照	SDF or HHS
2	24.027	標準品と一致	PVF
3	17.453	標準品と一致	ATF
3	18.187	図1参照	SDF or HHS
4	20.413	標準品と一致	XAF
5	18.240	図1参照	SDF or HHS
6	17.307	標準品と一致	PP
6	24.293	標準品と一致	SIB
7	20.173	標準品と一致	XAF
8	10.393	標準品と一致	EAB

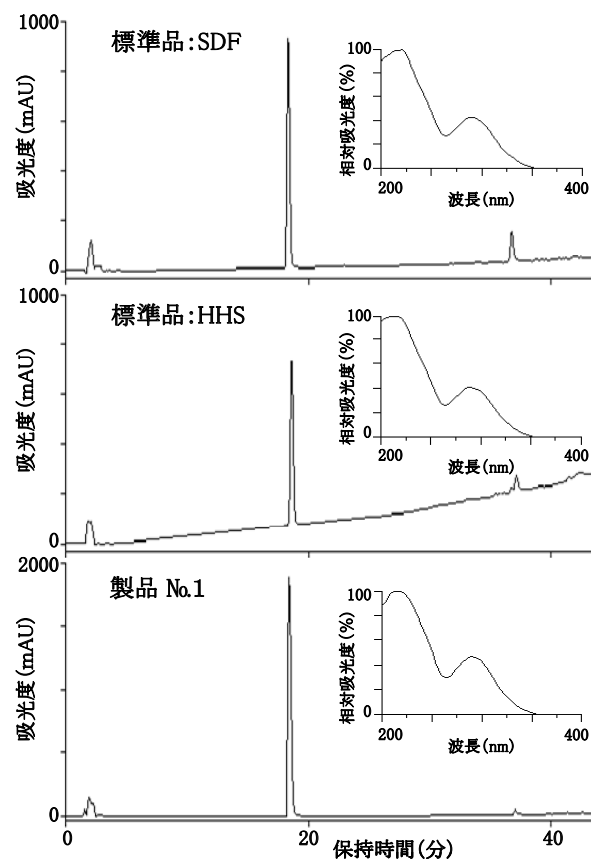


図 1 標準品SDF、HHS及び製品No.1のHPLCクロマトグラム及び吸収スペクトルグラム

表3 LC/MS 確認試験結果

製品No.	LC/MS			標準品と一致した成分
	保持時間(分)		[M+H] ⁺	
	条件1	条件2	<i>m/z</i>	
1	11.06	—	505	HHS
2	24.51	—	460	PVF
3	10.93	—	505	HHS
3	15.95	—	391	ATF
4	20.10	—	390	XAF
5	11.08	—	505	HHS
6	—	27.93	280	SIB
6	—	28.56	319	PP
7	—	29.75	390	XAF
8	—	26.58	166	EAB

(3)製品No.3からは、保持時間10.93分、15.95分のピーク（以下ピーク1、2とする）が検出された。ピーク1は、 m/z 505に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。マススペクトルが標準品 HHS と一致した。

ピーク2は、 m/z 391に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。マススペクトルが標準品 ATF と一致した。

(4)製品No.4からは、保持時間20.10分のピークが検出され、 m/z 390に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。マススペクトルが標準品 XAF と一致した。

(5)製品No.5からは、保持時間11.08分のピークが検出され、 m/z 505に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。マススペクトルが標準品HHSと一致した。

2) グラジエント条件2

(1)製品No.6からは、保持時間27.93分、28.56分のピーク（以下ピーク3、4とする）が検出された。

ピーク3は、 m/z 280に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。マススペクトルが標準品 SIB と一致した。

ピーク4は、 m/z 319に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。マススペクトルが標準品 PP と一致した。

(2)製品No.7からは、保持時間29.75分のピークが検出され、 m/z 390に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。マススペクトルが標準品XAFと一致した。

(3)製品No.8からは、保持時間26.58分のピークが検出され、 m/z 166に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。マススペクトルが標準品 EAB と一致した。

3. TLC による確認試験

TLC 分析において、一斉分析、LC/MS 確認試験で検出された成分の R_f 値及びスポットの色調は、標準品と

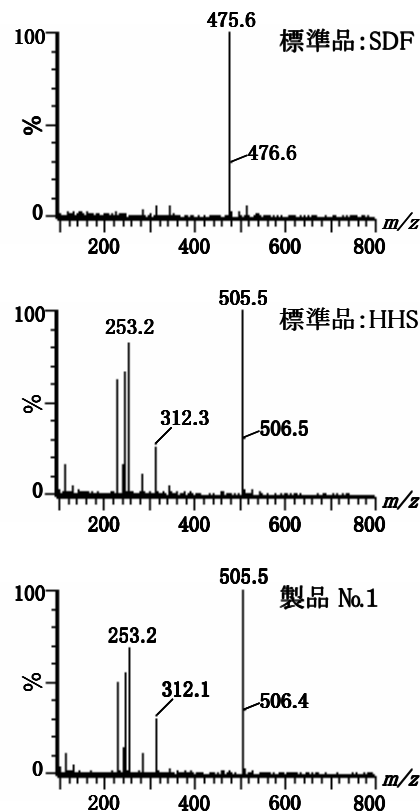


図2 標準品 SDF、HHS 及び製品No.1 のマススペクトルグラム

一致した。

4. 定量分析

HPLC/PDA による一斉分析、LC/MS 及び TLC による確認試験の結果により同定した8製品について、各定量法で分析したところ、次のような結果（表4）を得た。

1) ATF、HHS、PVF、XAF の定量分析

製品No.1、No.3 及びNo.5 には各1カプセル中に HHS が 29.3~72.8mg、製品No.2 には PVF が1錠中7.60mg、製品No.3 には他に ATF が1カプセル中それぞれ13.3mg、製品No.4 及びNo.7 には XAF が1カプセル中14.7mg及び22.2mgが含まれていた。

表4 検出された医薬品成分の定量分析結果

製品No.	検出物質	定量結果
1	HHS	31.0mg/cap
2	PVF	7.60mg/錠
3	ATF	13.3mg/cap
3	HHS	72.8mg/cap
4	XAF	14.7mg/cap
5	HHS	29.3mg/cap
6	SIB	10.7mg/cap
6	PP	61.0mg/cap
7	XAF	22.2mg/cap
8	EAB	74.5mg/本

国内ではクエン酸シルデナフィル、塩酸バルデナフィル水和物及びタダラフィルが、医薬品（商品名：パイアグラ[®]錠（薬用量：1日1回25～50mg）、レビトラ[®]錠（薬用量：1日1回5～20mg）及びシアリス[®]錠（薬用量：1日1回5～20mg））として承認されている。

今回検出された成分は、いずれも国内外で医薬品としては承認されていないが、先に示した承認医薬品と同様の作用を有する⁶⁾ことが考えられ、健康被害の発生するおそれが否定できない。

2) EAB、PP⁷⁾、SIBの定量分析

製品No.6には1カプセル中SIB及びPPが10.7mg及び61.0mg、製品No.8にはEABが1本（内容量3.2mL）中に74.5mg含まれていた。

SIBは、日本では未承認の医薬品であり、海外では肥満症治療薬として用いられ、10mgで減量効果が確認されている⁸⁾。製品No.6にはそれと同程度のSIBが含有されていることが明らかとなった。

PPは、昭和45年まで下剤として使用されていた医薬品成分であり、昭和46年以降は日本薬局方から削除されている。また、1996年には動物実験により発ガン性が報告されている⁹⁾。下剤としての用量は100～300mg/日であり¹⁰⁾、製品No.6にはそれと同程度のPPが含有されていることが明らかとなった。

EABは、局所麻酔薬であり、外用として5～15%軟膏、液剤として用いられる¹¹⁾。製品No.8は、液体を噴霧し使用する形態であり、2.3%のEABが含有されていた。

まとめ

健康食品中の医薬品成分分析において、ライブラリーの構築及び一斉分析法確立により迅速分析が可能となった。さらに原理の異なる測定法（LC/MS及びTLCによる確認試験）を組み合わせることによって同定した。

今回、18年度に試買した80製品を、この一連の試験法に適用したところ、8製品から7種（延べ10種）の医薬品成分が確認された。いずれの医薬品成分も1日1回服用または適当量の噴霧により、効能効果が期待できると考えられ、使用方法等によっては、健康被害を引き起こす恐れがあった。

近年では、既存の医薬品成分を添加するだけでなく、それらの医薬品成分をさらに誘導体化して健康食品等に添加する事例も増えている^{3),12)}。数多くの医薬品成分に対応するためには、今後も様々な試験法を組み合わせる必要があると考えられる。

文献

- 1) 浜野朋子、瀬戸隆子、塩田寛子、上村尚、上田有理、早乙女芳明、小団扇浩、金丸正孝（2001）：痩身を標榜する健康茶から検出された医薬品成分について、東京衛研年報、52、43-47
- 2) 守安貴子、重岡捨身、岸本清子、石川ふさ子、中嶋順一、上村尚、安田一郎（2001）：健康食品中に含有するシルデナフィルの確認試験、薬学雑誌、121、

765-769

- 3) 守安貴子、岸本清子、中嶋順一、重岡捨身、蓑輪佳子、上村尚、安田一郎（2003）：健康被害を起こした中国製ダイエット健康食品における検査結果、東京健安研年報、54、69-73
- 4) 熊坂謙一、小島尚、土井佳代、佐藤修二（2003）：健康食品に添加されていた経口血糖降下薬グリベンクラミドの検出事例、薬学雑誌、123、1049-1054
- 5) 守安貴子、蓑輪佳子、岸本清子、重岡捨身、門井秀郎、安田一郎（2005）：ダイエット健康食品中に含有される医薬品の検索法と健康被害を起こした「天天素清脂こう囊」への適用、東京健安研年報、56、81-86
- 6) HOSOGAI N, HAMADA K, TOMITA M, NAGASHIMA A, TAKAHASHI T, GOTO T et al. FR 226807: A potent and selective phosphodiesterase type 5 inhibitor. Eur J Pharmacol 2001 Oct 5; 428(2): 295-302
- 7) 松阪綾子、熊坂謙一、小島尚、土井佳代：フェノールフタレインを検出したダイエット用健康食品（2005）、平成16年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部理化学部会研究会要旨、113-116
- 8) 斎木厚人、白井厚治（2005）：メタボリックシンドローム治療の将来展望 メタボリックシンドローム治療における抗肥満薬の位置づけ、医学のあゆみ、213、643-649
- 9) NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Phenolphthalein (CAS No. 77-09-8) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Feed Studies). (1996)、Natl Toxicol Program Tech Rep Ser.、465、1-354
- 10) 化学大辞典編集委員会編：化学大辞典7、736-737、東京、共立出版、1969
- 11) 日本医薬情報センター編：医療薬日本医薬品集2005（第28版）、118-119、東京、じほう、2005
- 12) 横田洋一、津野敏紀、寺崎さち子、鈴木英世（2005）：いわゆる健康食品中の脱N-ジメチルシブトラミンの検出について、富山県薬事研究所年報、31、33-37