

35. ダイエット用健康食品に違法配合される 高極性医薬品成分の新規迅速分析法の検討

○ 中村暁彦（大阪府立公衆衛生研究所）

【緒言】

健康食品の売上げが近年増加しているが、薬効を期待する目的で違法に医薬品成分が配合される例が数多く見受けられる。大阪府立公衆衛生研究所では、平成 14 年度に中国で死亡例のあった「御芝堂清脂素」から抗肥満薬フェンフルラミンを検出して¹⁾以降、ダイエット用健康食品の検査を実施している。平成 20 年度の検査においては医薬品成分のヨヒンビンが検出され²⁾、国民の健康被害が懸念された。

健康食品に違法に配合された医薬品成分は一般的に逆相クロマトグラフィーで分析されるが、高極性成分はカラムへの保持が弱いため、試料中の妨害成分と分離させることが難しい。これらの高極性成分により大規模な健康被害が発生した場合に速やかな対応が取れない可能性があり、迅速・簡便な分析法を新たに開発することが必要であった。

本研究では、高極性医薬品 5 成分（メトホルミン、ブホルミン、フェンホルミン、フェニルプロパノールアミン、サルブタモール）について、HILIC（親水性相互作用クロマトグラフィー）分析用カラムを用いる簡便な一斉分析法を開発した。さらに、妨害成分の影響が大きいウーロン茶に本研究の対象成分を添加し、特異性及び回収率等を検討した。

【実験方法】

I. 標準物質及び試薬

i) 標準物質

メトホルミン（MFM）は Alexis Biochemicals 社製の ALX-270-432 を用いた。ブホルミン（BFM）は和光純薬工業製の生化学用を用いた。フェンホルミン（PFM）は Sigma-Aldrich 社製の P7045 を用いた。フェニルプロパノールアミン（PPA）は東京化成工業製（一）ーノルエフェドリンの 1 級を用いた。サルブタモール（SAL）は和光純薬工業製の化学用を用いた。

ii) 試薬

試薬は全て和光純薬工業製を用いた。アセトニトリル、エタノール（99.5）、ギ酸は液体クロマトグラフィー用を使用した。ギ酸アンモニウムは特級を使用した。

II. 試験溶液の調製

i) 検量線用標準混液の調製

各標準物質をエタノール（99.5）100mL に溶解し標準原液とした。標準原液にエタノール（99.5）を加えて希釈し、1.0–50 µg/mL の範囲で検量線用標準混液を調製した。

ii) 添加回収用試料溶液の調製

ウーロン茶の茶葉約 1 g を精秤し、標準原液（終濃度 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を添加後、エタノール（99.5）を加えて正確に 100 mL とした。この溶液を 60 分間攪拌後、15 分間超音波抽出し濾過したものを添加回収用試料溶液とした。

III. 装置と測定条件

装置：LC-10 AD-VP システム（島津製作所製）

カラム：XBridge Amide Column, 3.5 μm , 4.6 \times 250 mm（Waters 製）

移動相：アセトニトリル／0.1%ギ酸含有 26.5mM ギ酸アンモニウム溶液混液（87:13）

流量：1mL / min

注入量：5 μL

カラム温度：40 $^{\circ}\text{C}$

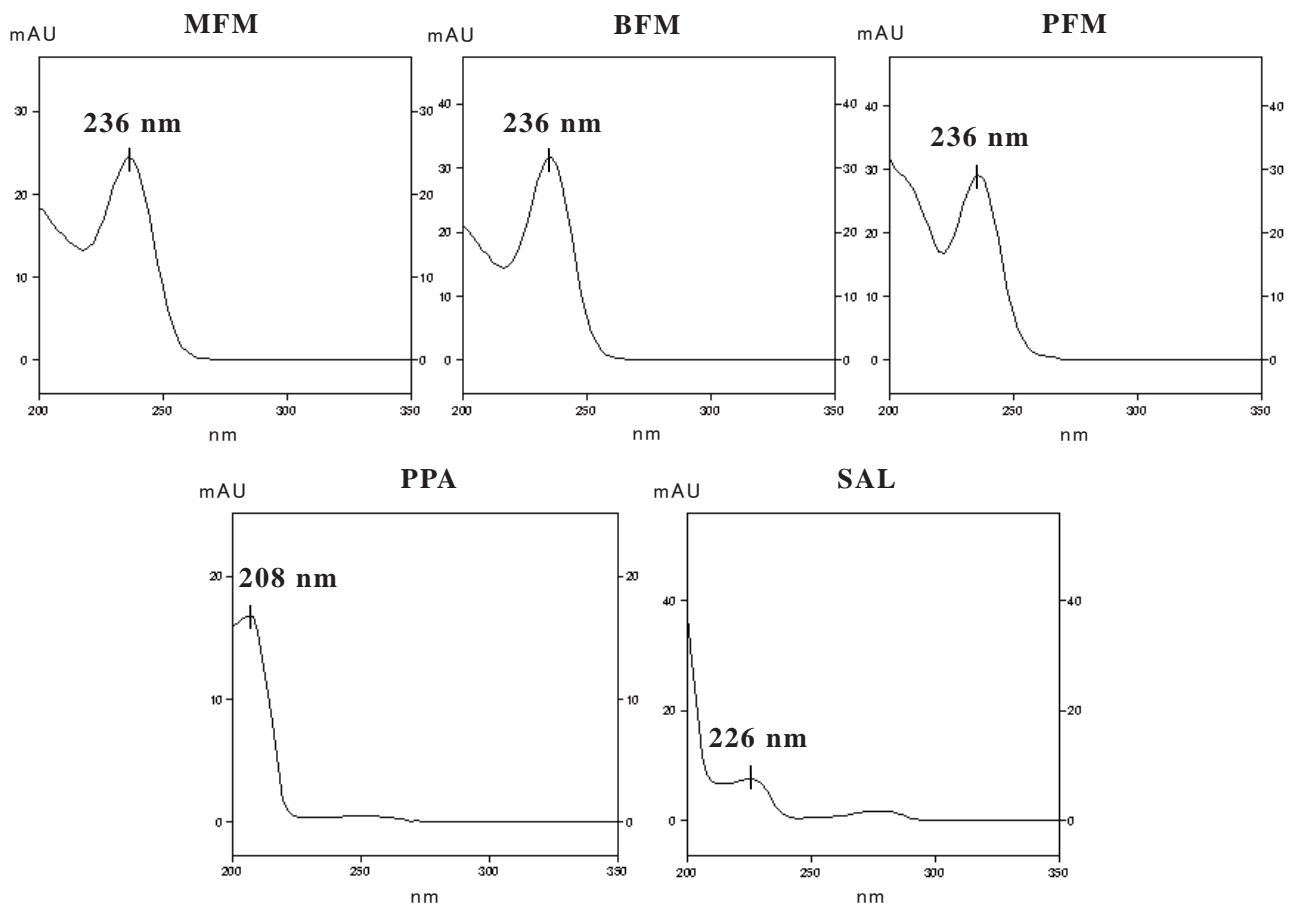
測定波長：208, 226, 236 nm

【結果】

I. 測定波長の検討

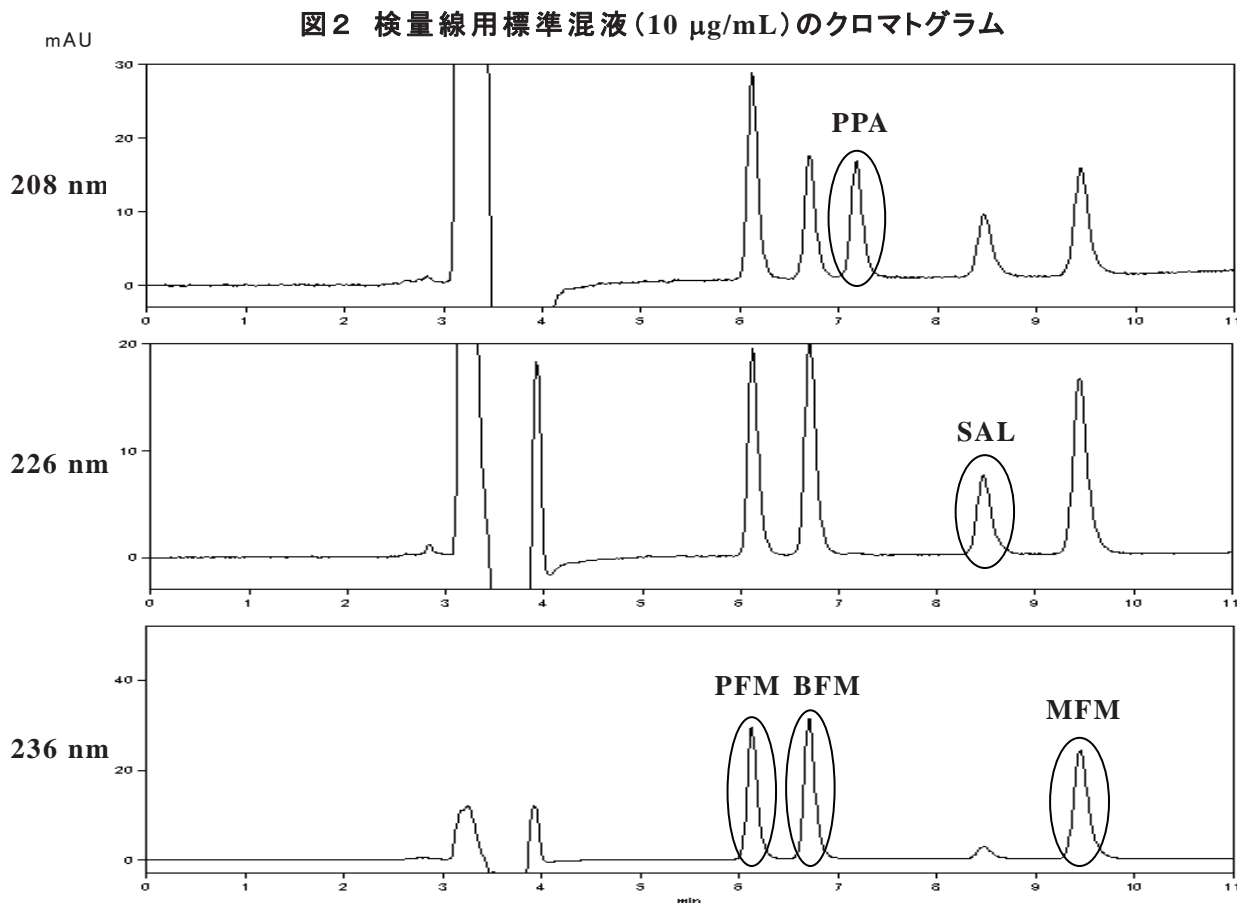
検量線用標準混液（10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）について、多波長検出器を用い 200-350 nm の範囲で UV スペクトルを測定した結果、対象成分の極大波長はそれぞれ 208 nm, 226 nm 及び 236 nm となった（図 1）ことから、本分析法における測定波長とした。

図 1 対象成分の極大波長



II. 検量線用標準混液のクロマトグラム

HILIC 分析用カラムを用い、上記の試験条件により検量線用標準混液(10 µg/mL)を測定した。その結果、対象成分は良好に分離した (図2)。



III. 直線性

検量線用標準混液 (1.0–50 µg/mL) を用いピーク面積値による絶対検量線法で検量線を作成した (N = 3)。その結果、全ての成分は 1.0–50 µg/mL の範囲で原点付近を通る良好な直線性を示した (図3・表1)。

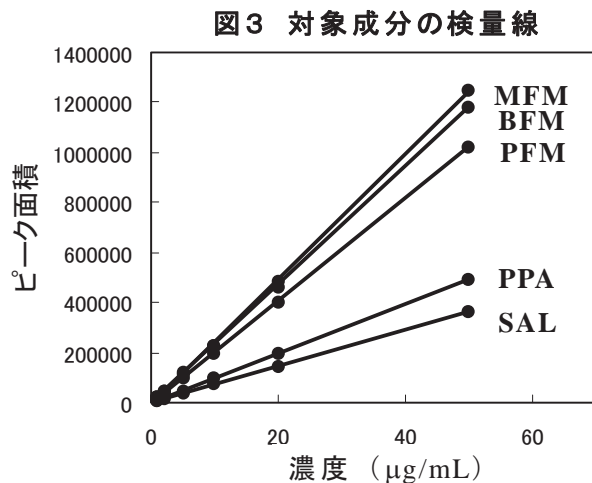


表1 検量線と相関係数

成分名	検量線	相関係数
MFM	$y = 25001x - 9500$	0.9998
BFM	$y = 23652x - 3719$	0.9999
PFM	$y = 20461x - 3914$	1.0000
PPA	$y = 9863x - 461$	1.0000
SAL	$y = 7311x - 195$	0.9999

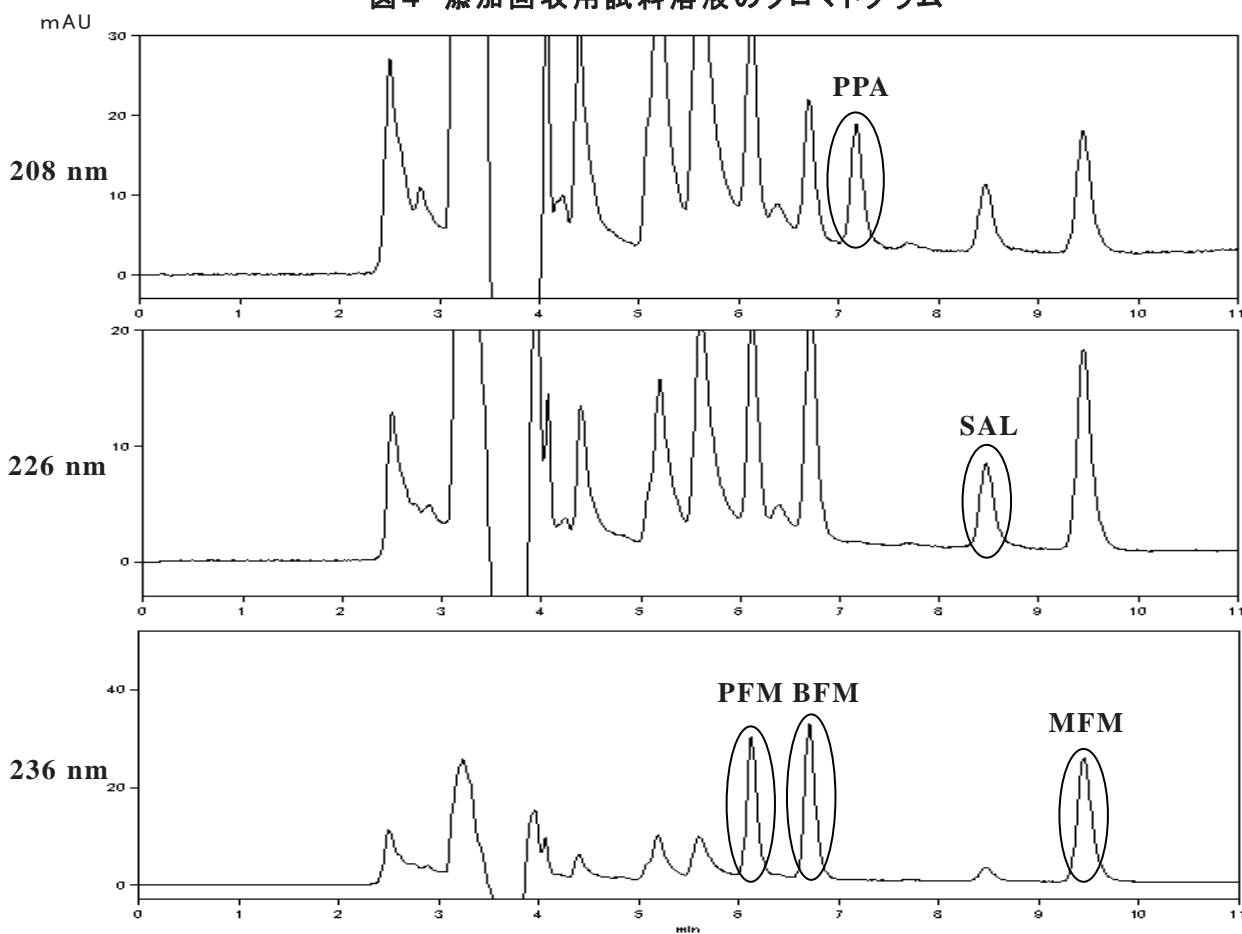
IV. 回収率の測定

添加回収用試料溶液を上記の測定条件で分析した。その結果、妨害成分が先に溶出し対象成分を良好に分離できたこと（図4）から、本法は対象成分に特異性の高い分析法であることを確認した。次に、ピーク面積値を測定し回収率を算出したところ、回収率は約100%であり、変動係数は4%以内であった（表2）。

表2 添加回収試験結果

成分名	回収率(%)	変動係数(%)
MFM	103.9	2.3
BFM	100.7	1.4
PFM	97.5	2.0
PPA	101.0	3.5
SAL	96.7	2.0

図4 添加回収用試料溶液のクロマトグラム



【考察】

健康食品に違法に配合されるおそれのある医薬品成分のうち、極性が高いものは通常の逆相クロマトグラフィーで妨害成分と分離させることが困難である。HILICを用いる分析法は一般的に極性の低い成分から溶出するため、対象成分を妨害成分と分離できる可能性があった。実際、本研究で開発した分析法では対象成分を妨害成分から容易に分離・検出することができた。本法は分析機器が通常の液体クロマトグラフィーと同一であり、専用の機器を新たに設置する必要がない。

本研究の対象成分のうち、メトホルミン及びブホルミン、フェンホルミンはいずれもビ

グアナイド系の糖尿病治療薬である。特にメトホルミンは青年期肥満の治療薬としての効果が報告されており³⁾、健康食品に違法に配合される可能性も考えられる。フェニルプロパノールアミン（ノルエフェドリンのラセミ体）は風邪薬のほか米国でかつて食欲抑制剤としても使用されてきたが、脳出血を起こす危険性があるとして問題になった⁴⁾。(+)体にはほとんど薬理活性がない⁵⁾ことから、本研究では(-)体を対象とした。サルブタモールは喘息治療薬であるが、副作用として脂肪燃焼効果があり⁶⁾海外でダイエット目的に摂取されることがある。

近年ダイエット用健康食品から検出される医薬品成分のジャンルが広がってきており、それらの成分に対応した監視の強化を行う必要がある。新規に配合される可能性のある成分を迅速に分析できるようにしておくことは、国民の健康被害を未然に防ぐためにも重要である。

【まとめ】

ダイエット用健康食品中に違法に配合される可能性のある高極性医薬品 5 成分について一斉分析法を検討した。その結果、HILIC を用いることにより、妨害成分が多いウーロン茶について対象成分を容易に検出・定量することができた。

【参考文献】

- 1) 大阪府薬務課ホームページ，中国産痩身用健康食品の収去試験結果について，<http://www.pref.osaka.jp/yakumu/kensyoku/kenh14kaiage.html> (accessed 2011-9-26)
- 2) 中村暁彦ら，ダイエット効果を暗示するいわゆる健康食品からヨヒンビンを検出した事例について，大阪府立公衆衛生研究所研究報告，**47**, 37-41(2009)
- 3) Wilson DM, et al., Metformin extended release treatment of adolescent obesity: a 48-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial with 48-week follow-up, *Arch Pediatr Adolesc Med.*, **164**, 116-123 (2010)
- 4) 厚労省通知 塩酸フェニルプロパノールアミンを含有する医薬品による脳出血に係る安全対策について，平成 15 年 8 月 8 日薬食安発第 08080001 号
- 5) 鎌倉浩之，佐竹元吉，(-) -，(+) - 及び (±) - ノルエフェドリンの体内動態に関する研究，薬学雑誌，**118**, 143-149 (1998)
- 6) Schiffelers SL, et al., beta(1)- and beta(2)-Adrenoceptor-mediated thermogenesis and lipid utilization in obese and lean men, *J Clin Endocrinol Metab.*, **86**, 2191-2199 (2001)

【経費使途明細】

HILIC 分析用カラム (XBridge Amide Column 等)	184,254 円
有機溶媒 (アセトニトリル、エタノール等)	29,315 円
高極性医薬品成分購入費 (ブホルミン、フェンホルミン等)	44,897 円
消耗品等 (分析用フィルター、バイアル、書籍等)	46,571 円
合計 (助成金 30 万円と交通費 5000 円及び銀行利息 37 円を含む)	305,037 円