

資料

いわゆる健康食品中の医薬品成分検査について

福司山 郁 恵 下堂 蘭 栄 子 榎 元 清 美
 岩 屋 あまね 吉 村 浩 三

1 はじめに

痩身及び強壮効果を目的としたいわゆる健康食品（以下「健康食品」という。）は、店頭やインターネット等で販売されており、高い関心を集めている。しかし、効果を高めるために医薬品成分やその類似物質が混入されていることがあり、死亡や肝機能障害などの重篤な健康被害を引き起こすことがある。

本県でも2002年に中国製ダイエット用健康食品による健康被害事例が発生し、当センターで検査を行った結果、医薬品成分が検出された。この事例を受け、2003年より健康食品中の医薬品成分について検査を行っている。

これまで抽出法としては、アンモニア塩基性酢酸エチル抽出法を用いていたが、粘膜刺激性のあるアンモニアと麻酔作用等のある酢酸エチルを使用するため、研究員への身体的影響が大きいことや、前処理工程の多さが課題となっており、熊坂らの方法¹⁾及び原口らの方法²⁾を参考に抽出方法を見直すことにした。

また、カプセル剤については、通常カプセル基剤を外し、取り出した内容物について検査を行うこととされていたが、医薬品成分が内容物ではなくカプセル基剤より検出された事例が報告されている。そこで、カプセル基剤についても検査が適応できるよう、試料希釈液の検討を行うこととした。

2 方法

2.1 検体

県内で販売されている痩身及び強壮効果を目的として使用される健康食品を用いた。

2.2 試薬等

2.2.1 試薬及び試液

標準品はSIGMA-Aldrich製のフェンフルラミン、和光純薬製のオリスタット、タダラフィルを用いた。また、その他の成分5種類（N-ニトロソフェンフルラミン、シ

ブトラミン、ホンデナフィル、シルデナフィル、バルデナフィル）は国立医薬品食品衛生研究所からの分与品を使用した。

試料の抽出及びLC/MS/MS測定には関東化学(株)製のメタノール、アセトニトリル及びギ酸（LC/MS用）、アンモニア水（有害金属測定用）、和光純薬(株)製の酢酸エチル（残留農薬試験・PCB試験用）を使用した。

2.2.2 標準液の調製

各標準原液をメタノール又はアセトニトリル/水（1：1）で適宜希釈し、混合標準溶液を調製した。

2.3 装置

高速液体クロマトグラフは、(株)島津製作所製 ProminenceLCシリーズを使用した。

質量分析装置は(株)エービー・サイエックス社製4000 QTRAPを使用した。

2.4 測定条件

高速液体クロマトグラフと質量分析装置の測定条件を表1に示す。

2.5 試料液の調製

アンモニア塩基性酢酸エチル抽出法は図1、超音波抽出法については図2のとおり実施した。

2.6 添加回収試験

検査対象物質が検出されないことを確認した検体に、試料中濃度が錠剤は10µg/g、カプセル剤は16.7µg/gとなるよう混合標準液を添加し、試験に供した（n=3）。

表1 LC/MS/MSの測定条件

LC条件	
分析カラム	Mightysil RP-18 GP Aqua (内径2mm, 長さ100mm, 粒径5μm)
流速	0.2mL/min
注入量	2μL
カラム温度	40°C
移動相	A: 0.1%ギ酸
移動相	B: アセトニトリル
グラジェント条件	
ポジティブモード	(90/10)2分間保持→(10/90)8分間 →(10/90)5分間保持→(90/10)0.1分間→(90/10)10分間保持
ネガティブモード	(90/10)2分間保持→(10/90)10分間 →(10/90)5分間保持→(90/10)0.1分間→(90/10)10分間保持

MS/MS条件			
イオン化モード: ESI・ポジティブモード			
イオンスプレー電圧: 5.5kV			
イオンソース温度: 500°C			
測定対象物質及び測定パラメータ			
測定対象物質	Q1/Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)
フェンフルラミン	232/159	61	33
N-ニトロソフェンフルラミン	261/159	56	29
シブトラミン	281/125	41	35
ホンデナフィル	467/111	126	43
シルデナフィル	475/58	116	85
バルデナフィル	489/151	111	71

イオン化モード: ESI・ネガティブモード			
イオンスプレー電圧: -4.5kV			
イオンソース温度: 300°C			
測定対象物質及び測定パラメータ			
測定対象物質	Q1/Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)
オリスタット	494/158	-100	-26
タダラフィル	388/262	-90	-26

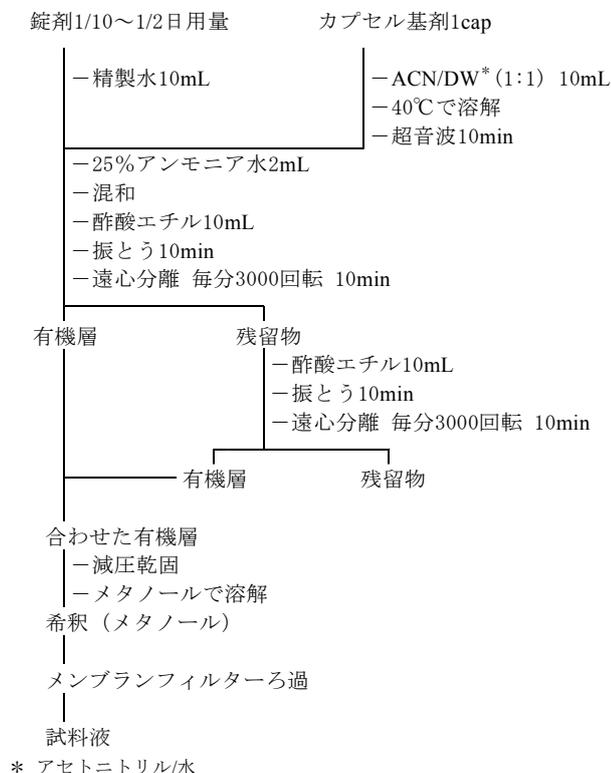
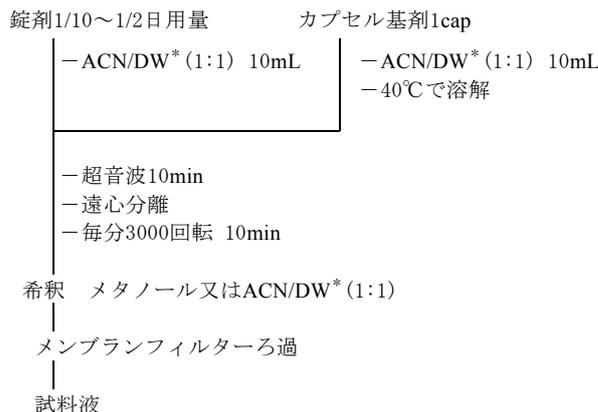


図1 アンモニア塩基性酢酸エチル抽出法フロー



* アセトニトリル/水

図2 超音波抽出法フロー

3 結果及び考察

3.1 クロマトグラム及び検量線

対象とした8物質の検量線は、0.005~0.05μg/mLの範囲で良好な直線性(相関係数r=0.999以上)が得られた。

また、いずれのクロマトグラムについても、妨害ピーク等は確認されなかった。例としてフェンフルラミン(0.02ppm)のクロマトグラムを示す(図3)。

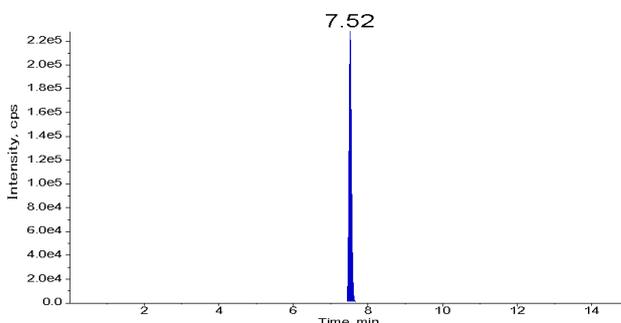


図3 フェンフルラミンのクロマトグラム

3.2 検査方法の比較

3.2.1 抽出方法

アンモニア塩基性酢酸エチル抽出法と超音波抽出法でそれぞれ抽出を行い、メタノールで希釈した試料液について回収率の比較を行った。その結果、回収率はどちらの抽出方法についても良好であった(表2-1, 2-2)。

特にカプセル基剤については、超音波抽出法を用いることで回収率の改善が見られた。これはアンモニア塩基性酢酸エチル抽出法と比較して、超音波抽出法は試料液調製までの前処理工程数が少ないことが要因として考えられる。

表2-1 錠剤 抽出法の比較

(単位：%)

対象物質	平均回収率		変動係数	
	酢酸エチル法*	超音波抽出法	酢酸エチル法*	超音波抽出法
フェンフルラミン	100.3	99.2	1.0	0.6
N-ニトロフェンフルラミン	95.3	100.0	1.3	0.5
シブトラミン	100.3	96.2	0.8	2.4
ホンデナフィル	101.2	82.2	2.5	2.5
シルデナフィル	94.5	105.0	1.9	2.1
バルデナフィル	95.5	94.0	5.0	3.7
オリスタット	92.5	100.7	1.9	2.5
タダラフィル	100.0	100.2	0.5	2.5

* アンモニア塩基性酢酸エチル抽出法

表2-2 カプセル基剤 抽出法の比較

(単位：%)

対象物質	平均回収率		変動係数	
	酢酸エチル法*	超音波抽出法	酢酸エチル法*	超音波抽出法
フェンフルラミン	93.2	102.0	2.5	0.5
N-ニトロフェンフルラミン	76.5	94.3	2.0	1.3
シブトラミン	85.2	102.0	4.4	2.2
ホンデナフィル	86.3	104.0	4.2	2.9
シルデナフィル	85.8	100.3	6.4	2.6
バルデナフィル	66.2	82.8	6.8	1.5
オリスタット	83.7	96.5	5.2	1.9
タダラフィル	85.3	93.0	3.3	1.9

* アンモニア塩基性酢酸エチル抽出法

3. 2. 2 試料希釈液の比較

超音波抽出方法によるカプセル基剤の検査においては、試料希釈液にメタノールを用いると、カプセル基剤の主成分であるゼラチンの影響で、ろ過フィルターが詰まる場合があった。そこで、試料希釈液として、アセトニトリル/水 (1:1) を用い、メタノールと比較検討を行った。

その結果、回収率については、メタノールと同様に良好であり (表3-1, 3-2)、ろ過についても速やかに行うことができた。

4 まとめ

健康食品の検査における抽出法及び試料希釈液について検討を行った結果、以下のことが分かった。

1) 錠剤については、超音波抽出法はアンモニア塩基性酢酸エチル抽出法と同程度の回収率を得ることができた。

表3-1 錠剤 試料希釈液の比較

(単位：%)

対象物質	平均回収率		変動係数	
	メタノール	ACN/DW*(1:1)	メタノール	ACN/DW*(1:1)
フェンフルラミン	99.2	101.7	0.6	1.9
N-ニトロフェンフルラミン	100.0	100.8	0.5	2.0
シブトラミン	96.2	92.7	2.4	1.4
ホンデナフィル	82.2	75.2	2.5	7.7
シルデナフィル	105.0	104.3	2.1	2.2
バルデナフィル	94.0	102.0	3.7	4.3
オリスタット	100.7	101.3	2.5	3.6
タダラフィル	100.2	97.3	2.5	1.8

* アセトニトリル/水

表3-2 カプセル基剤 試料希釈液の比較

(単位：%)

対象物質	平均回収率		変動係数	
	メタノール	ACN/DW*(1:1)	メタノール	ACN/DW*(1:1)
フェンフルラミン	102.0	104.0	0.5	1.9
N-ニトロフェンフルラミン	94.3	96.8	1.3	0.8
シブトラミン	102.0	100.8	2.2	1.0
ホンデナフィル	104.0	89.0	2.9	4.6
シルデナフィル	100.3	104.8	2.6	2.6
バルデナフィル	82.8	83.7	1.5	7.6
オリスタット	96.5	97.0	1.9	1.0
タダラフィル	93.0	92.7	1.9	0.8

* アセトニトリル/水

2) カプセル基剤の検査においては、超音波抽出法を用いることで回収率が改善された。

3) カプセル基剤については、超音波抽出法の場合、試料調製希釈液にアセトニトリル/水 (1:1) を用いることで速やかなろ過が行えた。

なお、2002年から2011年までの10年間で健康食品108検体について検査を行ったが、2004年以降医薬品成分の検出事例はない。

今後とも、より効率的な検査法や検出事例を踏まえた検査項目数の拡充に向けて検討を重ね、無承認無許可医薬品の実態把握を行い、健康被害の未然防止に努めていきたい。

参考文献

1) 熊坂謙一, 麻生順子, 他;平成21年度医薬類似品検

査結果について，第47回全国衛生化学技術協議会年会講演集，300～301（2010）

- 2) 原口那津美，志岐寿子，古川義朗；いわゆる健康食品の成分分析について，佐賀県衛生薬業センター所報，**31**，119～122（2010）