

いわゆる健康食品中のビンカミン及びビンポセチンの分析法確立と含有量調査

山崎翠、長谷川貴志¹⁾、高橋和長、印南佳織、吹譯友秀、吉田智也

Midori YAMAZAKI, Takashi HASEGAWA¹⁾, Kazunaga TAKAHASHI,
Kaori INNAMI, Tomohide FUKIWAKE, Tomoya YOSHIDA

Quantitative measurement of vincamine and/or vinpocetine in dietary supplement

要旨

いわゆる健康食品中に含まれるビンカミン及びビンポセチンを対象に、超高速液体クロマトグラフ(UPLC)を用いた分析法の検討を行った。ビンカミン及びビンポセチンの抽出は1%ギ酸水溶液/メタノール混液(1:1)で行い、UPLC条件は10 mmol/L 炭酸水素アンモニウム緩衝液(pH 10.0)及びアセトニトリルのグラジエントとした。添加回収の結果、回収率は91.2-103.3%であり、良好な結果だった。本法を市販の健康食品に適応した結果、1錠(又はカプセル)当たりのビンカミン含有量は3.9-28.1 mg、ビンポセチンの含有量は3.7-8.8 mgであった。

キーワード: ビンカミン、ビンポセチン、いわゆる健康食品、超高速液体クロマトグラフィ

Keywords: vincamine, vinpocetine, dietary supplement, UPLC

(平成30年5月29日受付 平成30年7月10日受理)

はじめに

近年、いわゆる健康食品は広く用いられるようになり、消費者の約6割が現在利用している報告がある¹⁾。消費者がいわゆる健康食品を利用する目的は、体調の維持・病気の予防が最も多く、他に健康増進、特定の栄養素の補給、疲労回復、美容、老化予防、ダイエット、病状の改善、その他が挙げられている¹⁾。目的に応じて多様な製品があるが、特定成分を多量に含有している製品も流通しており、いわゆる健康食品に含まれる特定成分を過剰に摂取したことによる健康被害が発生している²⁾。

ヒメツルニチニチソウ(*Vinca minor* L.)はキョウチクトウ科の植物であり、物忘れや記憶力に関心がある旨を標榜したいわゆる健康食品の原材料として用いられている。医薬品の範囲に関する基準において、ヒメツルニチニチソウは全草が医薬品の効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質に該当している³⁾。ヒメツルニチニチソウに含有されているビンカミンは、脳血流を増加させることによる脳血管障害の治療薬として報告されており⁴⁾、医薬品の範囲に関する基準では専ら医薬品として使用される成分本質である³⁾。

また、ビンカミン誘導体であるビンポセチンは、過去に日本国内で脳循環改善薬として用いられていた医薬品成分であったが、再評価の結果、有効性が確認できないとして、承認整理が行われ、現在では医薬品としては認められていない。アメリカではビンポセチンはサプリメントとして販売されており、福岡県においてビンポセチンの検出事例が報告されている⁵⁾。ビンポセチンは抗炎症作用を有するとの報告もあるが⁶⁾、悪心、めまい、口渇、低血糖、高血

糖、頭痛、胸やけ等の他に頻脈、無顆粒球症のような重大な副作用事例もあり⁷⁾、ビンカミン又はビンポセチンの過剰摂取による健康被害の発生は否定できない。

今回、いわゆる健康食品中のビンカミン及びビンポセチンの分析法を構築し、市販のいわゆる健康食品中のビンカミン及びビンポセチン含有量の実態調査を実施したので報告する。

実験方法

1. 試薬及び標準品

1) 標準品

ビンカミン及びビンポセチンは東京化成工業製を用いた。

2) 標準溶液

各標準品を秤量後、メタノールで標準原液(1000 µg/mL)を調製した。各標準原液の一定量を採り混合した後メタノールで希釈し、混合標準液を調製した。

3) 試薬

アセトニトリルはSIGMA-ALDRICH製のHPLC用を用いた。その他の試薬は和光純薬工業製の特級を用いた。

2. 試料

平成24年度から27年度にインターネット通信販売で試買した19製品を使用した。なお、内訳は、カプセル10製品、錠剤9製品であった。

3. 装置

UPLCは、デガッサー、ポンプ、オートサンプラー、カラムオープン及びフォトダイオードアレイ検出器から構成されるWaters製ACQUITY UPLCを用いた。

1) 現: 千葉県健康福祉部薬務課

4. 分析条件

カラム：ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm i.d.×100 mm、1.7 μm)、移動相 A：10 mmol/L 炭酸水素アンモニウム緩衝液 (pH10.0)、移動相 B：アセトニトリル、グラジエント条件：0.0-2.0 分 (50%B) →3-5 分 (95%B)、流速：0.4 mL/分、カラム温度：40℃、注入量：1 μL、測定波長：210-400 nm、定量波長：278 nm

5. 試験溶液の調製

カプセルは内容物を取り出し、錠剤は乳鉢を用いて粉末にした。粉末試料約 50 mg を共栓試験管に精密に量り、1%ギ酸水溶液/メタノール混液 (1:1) 4 mL を加え、10 分間超音波抽出を行った。1,310×g にて 10 分間遠心分離し、上清を分取した。残渣に 1%ギ酸水溶液/メタノール混液 (1:1) 4 mL を加え同様に操作した。分取した上清を合わせ、1%ギ酸水溶液/メタノール混液 (1:1) で正確に 10 mL にし、0.2 μm メンブランフィルターでろ過した。

結果及び考察

1. UPLC 条件の検討

カラムは Waters 製の ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm i.d.×50 mm、1.7 μm) を用い、混合標準液の濃度は 100 μg/mL とし、移動相には A 液に 10 mmol/L 酢酸緩衝液 (pH 3.0)、10 mmol/L ギ酸緩衝液 (pH 4.0)、10 mmol/L リン酸緩衝液 (pH 5.0)

及び 10 mmol/L 炭酸水素アンモニウム緩衝液 (pH 10.0) を用い、B 液にアセトニトリルを用いてグラジエント分析の検討を行った。

酸性条件の酢酸、ギ酸及びリン酸緩衝液ではビンカミン又はビンポセチンのピークの形状がブロードとなり、ギ酸及びリン酸緩衝液では検体において定量の妨害となるピークが検出された。塩基性条件の炭酸水素アンモニウム緩衝液では良好なピーク形状が得られ、妨害となるピークも検出されなかったことから、炭酸水素アンモニウム緩衝液を用いることとした。

2. 検量線及び定量下限

0.5-500 μg/mL の範囲で良好な直線性 ($r^2=0.999$) が得られた。また、本法における定量下限 ($S/N=10$) はビンカミン、ビンポセチン共に試料中濃度として 100 μg/g であった。

3. 抽出条件の検討

吹譯らの報告⁸⁾では、健康食品中の医薬品成分の抽出に 70%メタノール溶液が用いられているが、ビンカミンは酸に溶解するため⁹⁾、抽出溶媒にメタノール、70%メタノール、50%メタノール、0.1 mol/L 塩酸/メタノール混液 (1:1)、1%ギ酸水溶液/メタノール混液 (1:1)、1%ギ酸含有メタノールを用いて、検討を行った。

検討結果は表-1 及び表-2 に示した。

ビンカミン及びビンポセチンの抽出量は 1%ギ酸

表-1 ビンカミンの抽出に対する溶媒及び回数の比較 (製品No.2)

抽出溶媒	ビンカミン抽出量 (μg/g)			
	抽出回数			3回目までの合計
	1	2	3	
メタノール	114.9	2.8	0.1	117.8
70% メタノール	114.9	3.1	0.2	118.2
50% メタノール	113.6	4.4	0.3	118.3
0.1 mol/L 塩酸/メタノール混液 (1:1)	112.7	3.8	0.1	116.6
1% ギ酸水溶液/メタノール混液 (1:1)	116.8	4.0	0.1	120.9
1% ギ酸含有メタノール	115.8	2.8	0.2	118.8

表-2 ビンポセチンの抽出に対する溶媒及び回数の比較 (製品No.12)

抽出溶媒	ビンポセチン抽出量 (μg/g)			
	抽出回数			3回目までの合計
	1	2	3	
メタノール	42.3	1.5	0.1	43.9
70% メタノール	38.3	4.7	0.6	43.6
50% メタノール	9.1	11.2	8.2	28.5
0.1 mol/L 塩酸/メタノール混液 (1:1)	42.0	1.9	0.1	44.0
1% ギ酸水溶液/メタノール混液 (1:1)	43.6	2.1	0.1	45.8
1% ギ酸含有メタノール	45.1	1.4	0.1	46.6

水溶液/メタノール混液（1：1）及び1%ギ酸含有メタノールが良好であった。UPLCにおけるピーク形状を比較したところ、1%ギ酸含有メタノールで抽出した場合、ビンカミンのピーク形状がブロードとなり、ピークの高さは他の溶媒より低かった。このことから、抽出溶媒は1%ギ酸水溶液/メタノール混液（1：1）を用いることにした。抽出回数は1%ギ酸水溶液/メタノール混液（1：1）及び1%ギ酸含有メタノール共に2回実施することで、98%以上抽出可能であったことから、2回とした。

4. 添加回収試験

添加回収試験は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性ガイドライン」¹⁰⁾を参考に、あらかじめビンカミン及びビンボセチンを含むしていないことを確認した錠剤2製品（製品 No.7 及び 10）を用い、1日2併行、5日間の枝分かれ実験モデル

にて実施した。添加量は各成分の定量下限である100 µg/g 及び定量下限の10倍となる1000 µg/g とした。その結果は表-3 に示すように真度（回収率）は91.2-103.3%、併行精度は0.5-6.1%、室内精度は0.8-6.5%であり、ガイドラインの目標値を達成した。

5. 検体への適用

本法を用い、市販の健康食品に適用した結果を表-4 に示した。19製品中ビンカミンを含む成分が4製品、ビンボセチンを含む成分が3製品であり、最大でビンカミンが28.1 mg/カプセル、ビンボセチンが8.8 mg/錠であった。アメリカではビンカミンの治療推奨量を20-40日間毎日40-80 mgとしているが¹¹⁾、今回、製品に記載されたとおりの服用を行った場合、ビンカミンの摂取量が80 mgを超える製品はなかった。

表-3 添加回収試験結果

対象成分	製品No.	添加量(µg/g)	真度(%)	併行精度(%)	室内精度(%)
ビンカミン	7	100	97.0	3.7	6.2
		1000	96.4	1.3	1.7
	10	100	91.2	6.1	6.5
		1000	99.6	1.4	1.7
ビンボセチン	7	100	96.3	4.3	4.4
		1000	97.6	0.5	1.2
	10	100	103.3	2.2	2.3
		1000	99.3	0.7	0.8

表-4 ビンカミン及びビンボセチンの含有量について

製品No.	形状	ビンカミン含有量 ^{*1} (mg/unit)	ビンボセチン含有量 ^{*1} (mg/unit)	製品の 摂取目安量 (unit/day)	ビンカミン 最大摂取量 (mg/day)	ビンボセチン 最大摂取量 (mg/day)
1	カプセル	ND	ND	3	—	—
2	カプセル	28.1	ND	2	56.2	—
3	カプセル	3.9	ND	2-6	23.1	—
4	錠剤	ND	ND	6	—	—
5	カプセル	ND	ND	4	—	—
6	錠剤	6.2	ND	6	37.3	—
7	錠剤	ND	ND	5-10	—	—
8	錠剤	ND	ND	3	—	—
9	錠剤	ND	ND	3	—	—
10	錠剤	ND	ND	2-4	—	—
11	カプセル	ND	ND	2	—	—
12	錠剤	ND	8.8	3	—	26.4
13	カプセル	ND	4.1	1-3	—	12.4
14	錠剤	ND	3.7	2	—	7.5
15	錠剤	ND	ND	1-3	—	—
16	カプセル	3.9	ND	2-4	15.5	—
17	カプセル	ND	ND	1-3	—	—
18	カプセル	ND	ND	3	—	—
19	カプセル	ND	ND	3	—	—

^{*1} n=1

ビンポセチン製剤であるカラン®錠及びカラン®細粒1%の用法用量は1回1錠もしくは0.5g(ビンポセチンとして5mg)を1日3回経口投与であり¹²⁾、製品No.12に記載された摂取目安量は1日3錠であった。製品No.12を記載どおり摂取した場合、医薬品の含有量以上のビンポセチンを摂取することとなり、副作用や他の医薬品との相互作用が起これ、健康被害が発生する可能性は否定できないと思われた。

まとめ

UPLCを用いて、いわゆる健康食品中のビンカミン、ビンポセチンの分析法を構築することができた。本法を市販の健康食品に適用したところ、1錠(又はカプセル)当たりのビンカミン含有量は3.9-28.1mg、ビンポセチン含有量は3.7-8.8mgであった。

文献

- 1)消費者の「健康食品」の利用に関する実態調査(アンケート調査), 内閣府消費者委員会事務局(URL: http://www.cao.go.jp/consumer/iinkaikouhyou/2012/hokoku/201205_report.html)
- 2)梅垣敬三:健康食品による被害の実際, 調剤と情報, 15(1), 16-20(2009)
- 3)無承認無許可医薬品の指導取締りについて, 薬発第476号, 昭和46年6月1日
- 4)C.C. Lim, P.J.Cook, I.M. James: The effect of an acute infusion of vincamine and ethyl apovincamine on cerebral blood flow in healthy volunteers, British Journal of Clinical Pharmacology,9,100-101 (1980)
- 5)厚生労働省と福岡県が医薬品成分(シルデナフィルなど)を含むいわゆる健康食品に注意喚起, 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所国立健康・栄養研究所(URL: <https://hfnet.nibiohn.go.jp/contents/detail2168.html>)
- 6)Kye-Im Jeon, Xiangbin Xu, Toru Aizawa, Jae Hyang Lim, Hirofumi Jono, Dong-Seok et al.: Vinpocetine inhibits NF-κB-dependent inflammation via an IKK-dependent but PDE-independent mechanism, PNAS,107,9795-9800,(2010)
- 7)Chemical Information Review Document for Vinpocetine, National Toxicology Program(URL: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/chem_background/exsumpdf/vinpocetine091613_508.pdf)
- 8)吹譯友秀, 長谷川貴志, 芦澤英一, 小倉誠, 高橋市長, 西條雅明, 他: UPLC/PDAによるいわゆる健康食品中の医薬品成分スクリーニング分析法について, 千葉県衛研年報, 59 (2010)
- 9)Mostafa A.M.Shehata,Mohammad A.El Sayed,Moha-

mmad F. El Tarras Mohammad G. El Bardicy: Stability-indicating methods for determination of vincamine in presence of its degradation product, JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND BIOMEDICAL ANALYSIS,38,72-78(2005)

10)食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて, 食安発第1115001号, 平成19年11月15日

11)SUMMARY OF DATA FOR CHEMICAL SELECTION Vincamine, National Toxicology Program (URL: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/chem_background/exsumpdf/vincamine_508.pdf)

12)医療用医薬品 添付文書 XML 表示システム, 東京薬科大学 ドラッグラショナル研究開発センター (<http://www.drc.toyaku.ac.jp/packins/>)