

健康食品中の医薬品成分分析に使用する標準品として購入した試薬について

長谷川貴志, 吹譚友秀, 高橋和長, 西條雅明, 浜名正徳

Quality of Commercial Reagent Used for Identification of Pharmaceutical Adulterants in Dietary Supplements

Takashi HASEGAWA, Tomohide FUKIWAKE, Kazunaga TAKAHASHI, Masaaki SAIJO and Masanori HAMANA

要旨

分析法構築の際に標準品として使用した市販試薬の内容物が、表示されている成分(オルリスタット)とは異なっていた。UPLC/PDA、GC/MS 及び LC/MS 分析の結果、表示されていた成分の含有は無く、フェノールフタレイン及びシブトラミンが含有されていることが判明した。

キーワード：標準品、オルリスタット、UPLC/PDA、LC/MS

Key words: standard, orlistat, UPLC/PDA, LC/MS

はじめに

近年、消費者の健康意識の向上から、いわゆる健康食品が広く利用されている。いわゆる健康食品は様々な製品が販売されており、その品質も様々である。これらの製品の中にはより効果を高めようと、医薬品成分が添加された健康食品があり¹⁾、医薬品成分を含有した製品による健康被害も報告されている²⁻⁴⁾。

いわゆる健康食品による健康被害を未然に防止するため、千葉県では年間100製品程度試買し、医薬品成分の含有の有無について検査を実施している。検査はUPLC/PDAによるスクリーニング分析法⁵⁾により行っているが、分析法構築の際に標準品として使用した市販試薬の内容物が表示されていた成分とは異なる成分であることが判明したので報告する。

実験方法

1. 試薬

オルリスタット(図-1)は orlistat と表示され市販されていた試薬(以下、市販品)及び国立医薬品食品衛生研究所からの分与品(以下、分与品)を使用した。また、フェノールフタレインは和光純薬工業

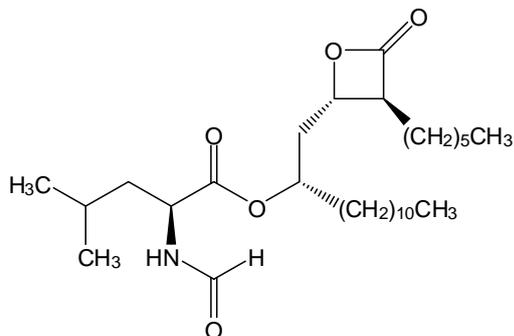


図-1 オルリスタットの構造式

製を、シブトラミン塩酸塩一水和物は LKT Laboratories 製を使用した。

2. 試験溶液

各試薬を 1000 µg/mL となるようメタノールで調製し試験溶液(1000 µg/mL)とした。試験溶液(500 µg/mL)は試験溶液(1000 µg/mL)に水を加え調製した。試験溶液(100 µg/mL)は、試験溶液(500 µg/mL)に水/メタノール(1:1)を加え調製した。なお、GC/MS に供したシブトラミン(100 µg/mL,メタノール)は、シブトラミン(1000 µg/mL)をメタノールで希釈し調製した。

UPLC 分析には、分与品は試験溶液(500 µg/mL)を用い、その他は試験溶液(100 µg/mL)を用いた。GC/MS 分析には、市販品及びフェノールフタレインは試験溶液(1000 µg/mL)を用い、シブトラミンは試験溶液(100 µg/mL,メタノール)を用いた。LC/MS 分析には、試験溶液(100 µg/mL)を用いた。

3. UPLC 分析

装置: Waters 製 ACQUITY UPLC; カラム: ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm i.d. × 50 mm, 1.7 µm, Waters 製); 移動相 A 液: 0.1%リン酸水溶液; 移動相 B 液: 0.1%リン酸含有アセトニトリル; グラジエント条件: 0-2分(A:B=95:5)→8-10分(A:B=5:95); 流速: 0.6 mL/min; 注入量: 2 µL; 測定波長: 210-400 nm; カラム温度: 40

4. GC/MS 分析

装置: Agilent 製 6890N GC 及び 5975 MSD; カラム: HP-5ms (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.25 µm, Agilent 製); キャリアガス: ヘリウム; キャリアガス流量: 1.0 mL/min; 注入法: スプリットレス; 注入量: 1 µL; 注入口温度: 200; カラム温度: 80 (1分間保持)→5 /分→190 →10 /分→310 (10分間保持); トランスファーライン温度: 280; イオン化法: EI 法; 測定質量範囲: m/z 40-600

5 . LC/MS 分析

装置：Waters 製 2695 及び ZQ 4000 MSD； カラム：Atlantis dC18 (2.1 mm i.d. × 150 mm, 3 μm, Waters 製)； 移動相 A 液：0.1% ギ酸水溶液； 移動相 B 液：0.1% ギ酸含有アセトニトリル； グラジエント条件：0 分 (A : B = 95 : 5) → 25-35 分 (A : B = 5 : 95)； カラム温度：40 ； 流速：0.2 mL/min； 注入量：10 μL； イオン化法：ESI ポジティブ； キャピラリー電圧：3.0 kV； ソース温度：120 ； デソルベーション温度：350 ； デソルベーションガスフロー：600 L/hr； コーンガスフロー：50 L/hr； コーン電圧：20 V； 測定質量範囲：m/z 100-900

結果及び考察

1 . UPLC 分析

図-2 に UPLC クロマトグラム及び UV スペクトルを示した。市販品は保持時間 4.57 分 (ピーク 1) 及び 5.27 分 (ピーク 2) にピークが観察された。分与品は保持時間 (8.18 分) にピークが観察されたが、市販品のピークとは保持時間が一致しなかった。

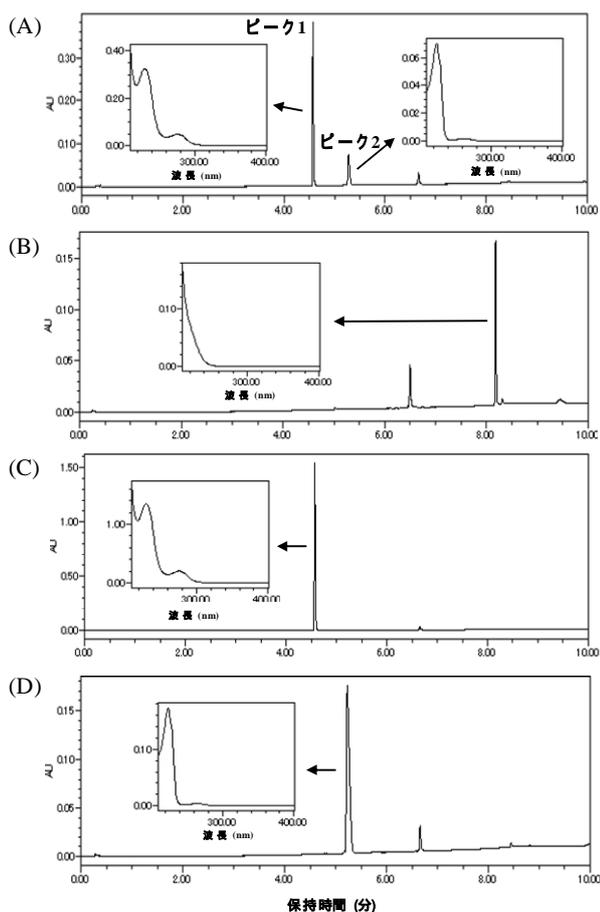


図-2 UPLC クロマトグラム及び UV スペクトル
 (A) オルリスタット (市販品, 100 μg/mL)
 (B) オルリスタット (分与品, 500 μg/mL)
 (C) フェノールフタレイン (100 μg/mL)
 (D) シブトラミン (100 μg/mL)

また、それぞれのピークの UV スペクトルを比較したところ、市販品の 2 つのピークの UV スペクトルは分与品の UV スペクトルとは一致しなかった。

次に、市販品の各ピークの UV スペクトルについて、当研究所で作成したライブラリで検索を行った。その結果、ピーク 1 はフェノールフタレインと、ピーク 2 はシブトラミンと推定された。そこで、和光純薬工業から購入したフェノールフタレインについて UPLC で分析した結果、保持時間は 4.57 分であり、保持時間及び UV スペクトルは市販品のピーク 1 と一致した。同様に LKT Laboratories から購入したシブトラミンについて UPLC で分析した結果、保持時間は 5.23 分であり、保持時間及び UV スペクトルは市販品のピーク 2 と一致した。なお、全てのクロマトグラムにおいて観察された 6.66 分のピークはシステムピークであった。

2 . GC/MS 分析

市販品について GC/MS 分析を行った結果、保持時間 23.55 分 (ピーク A) 及び 36.18 分 (ピーク B) にピークが観察された (図-3)。各ピークのマススペクトルについてライブラリ検索を行ったところ、ピーク A はシブトラミンと、ピーク B はフェノールフタレインと推定された。

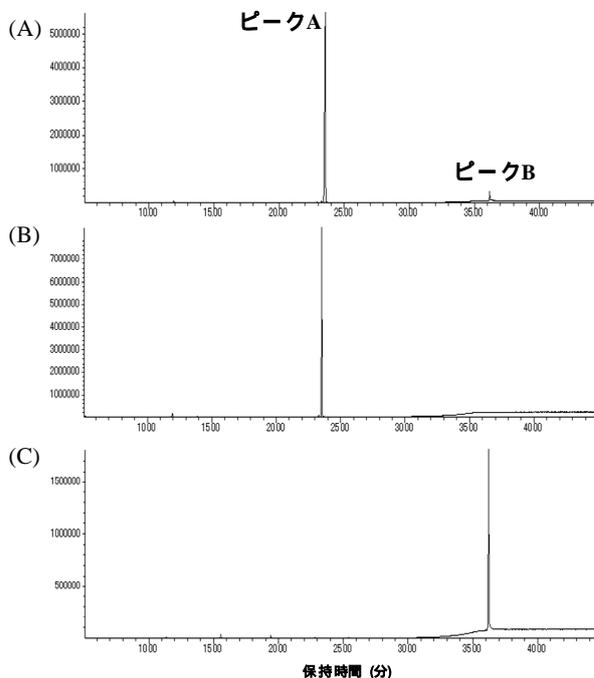


図-3 GC/MS TIC クロマトグラム
 (A) オルリスタット (市販品, 1000 μg/mL)
 (B) シブトラミン (100 μg/mL, メタノール)
 (C) フェノールフタレイン (1000 μg/mL)

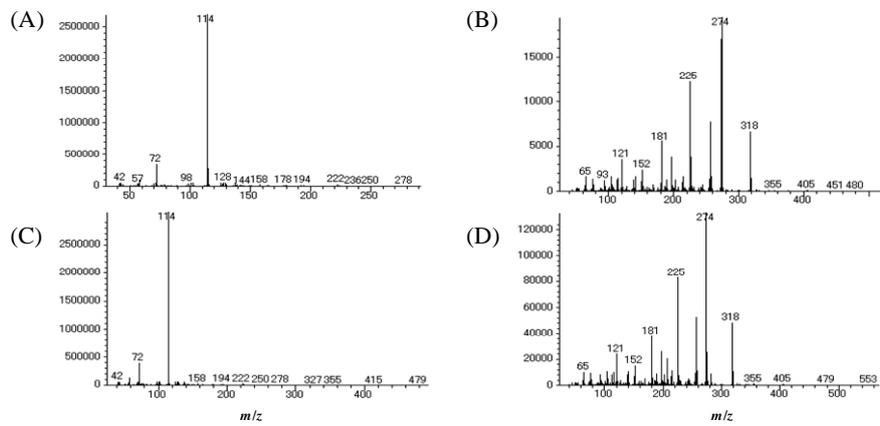


図-4 GC/MS スペクトル

- (A) オルリスタット (市販品) ピーク A
- (B) オルリスタット (市販品) ピーク B
- (C) シブトラミン
- (D) フェノールフタレイン

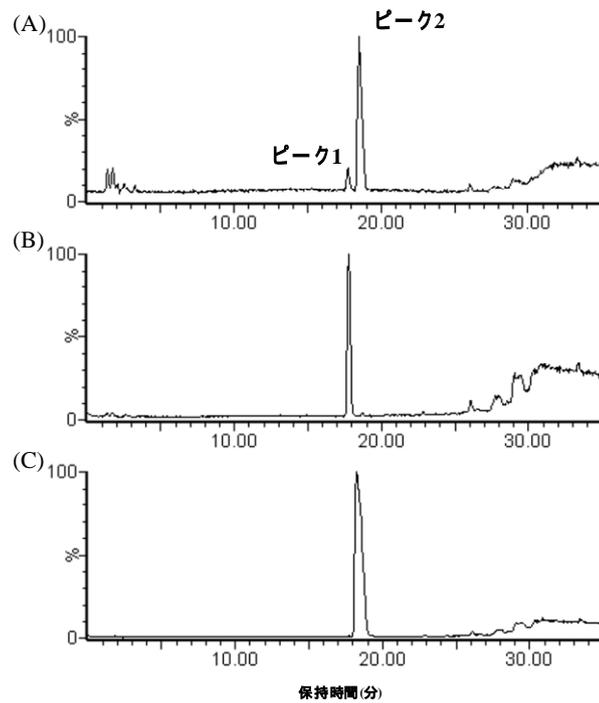


図-5 LC/MS TIC クロマトグラム

- (A) オルリスタット (市販品, 100 µg/mL)
- (B) フェノールフタレイン (100 µg/mL)
- (C) シブトラミン (100 µg/mL)

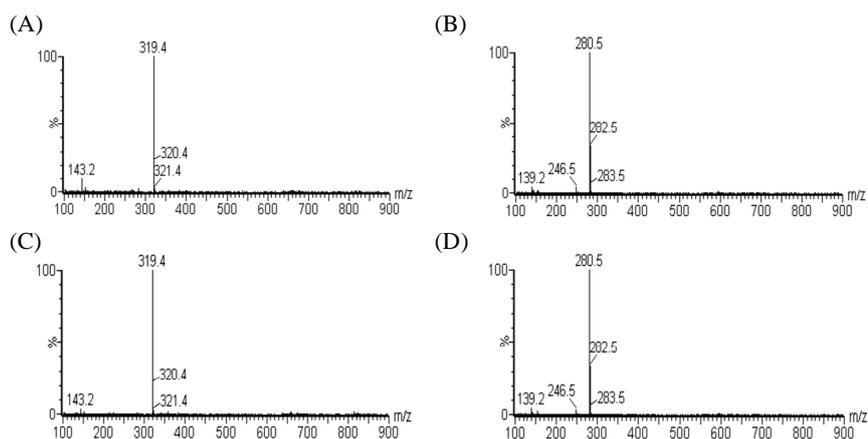


図-6 LC/MS スペクトル

- (A) オルリスタット (市販品) ピーク 1
 (B) オルリスタット (市販品) ピーク 2
 (C) フェノールフタレイン
 (D) シブトラミン

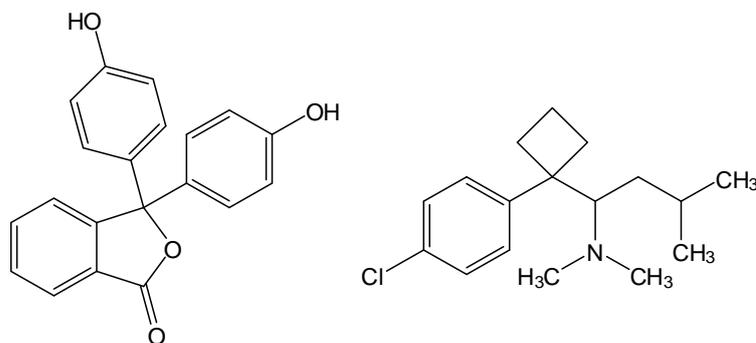


図-7 フェノールフタレイン及びシブトラミンの構造式

そこで、シブトラミン及びフェノールフタレインについて GC/MS で分析した結果、保持時間は 23.54 分及び 36.23 分であり、それぞれの保持時間及びマススペクトルは、シブトラミンは市販品のピーク A と、フェノールフタレインは市販品のピーク B と一致した (図-4)。

3. LC/MS 分析

LC/MS 分析の結果、市販品では保持時間 17.8 分 (ピーク 1) 及び 18.5 分 (ピーク 2) にピークが観察された (図-5)。それぞれのマススペクトルは、ピーク 1 では m/z 319 に $[M+H]^+$ イオンが観察され、ピーク 2 では m/z 280 に $[M+H]^+$ イオンが観察された。

フェノールフタレインについて LC/MS で分析した結果、保持時間は 17.7 分であり、そのマススペクトルは m/z 319 に $[M+H]^+$ イオンが観察され、市販品のピーク 1 と一致した。同様にシブトラミンについて LC/MS で分析した結果、保持時間は 18.4 分であり、そのマススペクトルは市販品のピーク 2 と一致した。

まとめ

以上の結果より、市販品には製品ラベルに表示されていたオルリスタットは含有されておらず、フェノールフタレイン及びシブトラミン (図-7) が含有されていること判明した。

オルリスタットはリパーゼ阻害作用を有し、海外では抗肥満薬として用いられているが、日本では医薬品として承認されていない成分である。フェノールフタレインは瀉下作用を有し昭和 45 年まで下剤として使用されていた医薬品であるが、発がん性があるとして現在では医薬品としては使用されていない。シブトラミンは食欲抑制作用を有し、海外で肥満症治療薬として用いられていたが、副作用による死亡例があることから現在では使用されていない。

オルリスタット、フェノールフタレイン及びシブトラミンはいずれも痩身作用を有しているが構造的な類似性はなく、なぜオルリスタットの代わりにフェノールフタレイン及びシブトラミンが含有されていたかについては不明であった。

過去にも市販試薬の内容成分が表示成分と一致しなかった事例が報告されているが^{6,7)}、いずれの事例でも単一の成分が入っており、ラベルの張り間違い等の単純なミスが原因と推定される。しかし、今回ように全く構造の異なる複数成分が検出された事例は報告されていない。

いわゆる健康食品中の医薬品成分の検査に用いる標準品には、試薬メーカーから購入した市販試薬を使用することが一般的である。しかし、市販試薬は今回の事例のように表示とは異なる成分が含有されている可能性があり、それらの市販試薬を標準品として使用することにより誤同定を引き起こす可能性が否定できない。市販試薬を無承認無許可医薬品の検査の標準品として使用する場合、LC/MS 等の分析機器で事前に確認するなど、十分な注意が必要と思われる。

文 献

- 1) 健康被害情報・無承認無許可医薬品情報，厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課（URL：<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/musyounin.html>）
- 2) 長谷川貴志，石井俊靖，宮本文夫，伊藤浩三：健康被害を起こした中国製ダイエット用健康食品から検出された医薬品成分について，千葉県衛生研究所研究報告，29，37-40（2005）
- 3) 守安貴子，岸本清子，中嶋順一，重岡捨身，蓑輪佳子，上村尚，他：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，東京都健康安全研究センター研究年報，54，69-73（2003）
- 4) 土井崇広，梶村計志，高取聡，田口修三，岩上正蔵：グリベンクラミドとシルデナフィルが検出された健康食品について，大阪府公衆衛生研究所研究報告，46，55-60（2008）
- 5) 吹譯友秀，長谷川貴志，芦澤英一，小倉誠，高橋和長，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，千葉県衛生研究所年報，59，79-83（2010）
- 6) 鈴木仁，高橋美佐子，永嶋真知子，瀬戸隆子，安田一郎：医薬品研究，40，253-258（2008）
- 7) 吹譯友秀，長谷川貴志，高橋和長，西條雅明，元木裕二：バルデナフィル塩酸塩として販売されていた市販使用について，千葉県衛生研究所年報，60，65-68（2011）