

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

長谷川貴志, 石井 俊靖, 宮本 文夫, 伊藤 浩三

Medicinal Components Detected in Chinese Dietary Supplement Caused Health Damages

Takashi HASEGAWA, Toshiyasu ISHII,
Fumio MIYAMOTO and Kozo ITO

I. 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より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⁾²⁾。平成14年7月には中国製ダイエット用健康食品に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。それ以降も同様の健康被害が繰り返し起こり、平成17年5月にはダイエット用健康食品の天天素(天天素清脂こう囊: てんでんそせいしこうのう)による死亡者1名を含む123名の健康被害が発生した³⁾。本県においても、喉の渇きや食欲減退等の症状を呈し当該製品を摂取したと疑われる健康被害が発生し、その製品について検査を実施したので、その概要について報告する。

II. 実験方法

1. 試料

千葉県内で入手した天天素10カプセルを試料とした。

2. 試薬及び試液

1) 標準品: シブトラミン (SIB) はLKT Laboratories Inc.製, マジンドール (MAZ) はSigma社製, フェノールフタレイン (PP) は和光純薬工業株製を用いた。

2) 標準溶液

(1) 混合標準溶液はSIB (5 µg/mL), MAZ (50 µg/mL) 及びPP (5 mg/mL)となるようメタノールに溶解した。

(2) 定量用SIB標準溶液は10, 50及び100ng/mLとなるようメタノールに溶解した。

(3) 定量用MAZ標準溶液は1, 5及び10 µg/mLとなるようメタノールに溶解した。

(4) 定量用PP標準溶液は10, 50及び100 µg/mLとなるようメタノールに溶解した。

3) その他の試薬

メタノールは和光純薬工業株製残留農薬用を, アセトニトリルは和光純薬工業株製HPLC用を用い, 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) ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS): 株式会社島津製作所製GC17A/QP5000型を用いた。

2) 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) Waters社製616型ポンプ, 同CHM型カラムオープン, 同996型PDA検出器を用いた。(MAZ定量試験に使用)

(2) 日本分光株製PU-2089型ポンプ, 同AS-2055型オートサンブラー, 同CO-2065型カラムオープン, 同MD-2015型PDA検出器を用いた。(PP定量試験に使用)

3) 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。

4. 測定条件

1) GC/MS測定条件

カラム: DB-5 ms (0.25mm i.d.×30m, 0.25 µm, カラム温度: 70°C (2分) → 10°C/min → 280°C (5分), 注入口温度: 250°C, ヘリウムガス, 流速: 1.2mL/min, 注入量: 1 µL, スプリットレス, 測定質量範囲: m/z40~350

2) HPLC/PDA測定条件

(1) MAZ定量試験

カラム: TSK-GEL ODS80-Ts (4.6mm i.d.×250mm, 5 µm), 移動相: 0.02Mリン酸二水素カリウム溶液 (pH3.0)/アセトニトリル (3:1), 流速: 1.0mL/min, 注入量: 20 µL, カラム温度: 40°C, 測定波長: 210~400nm, 検出波長: 269nm

(2) PP定量試験

カラム: Inertsil ODS-3 (4.6mm i.d.×150mm, 5 µm), 移動相: 水/アセトニトリル (3:2), 流速: 1.0mL/min, 注入量: 20 µL, カラム温度: 40°C, 測定波長: 200~400nm, 検出波長: 205nm

3) LC/MS測定条件

カラム: Atlantis dC18 (2.1mm i.d.×150mm, 3 µm), 移動相: A液 0.1%ギ酸溶液, 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) → 15分 (A:B=80:20) → 30分 (A:B=20:80), 流速: 0.2mL/min, 注入量: 10 µL, カラム温度: 40°C, イオン化法: ESIポジティブ, コーン電圧: 30及び60V, 測定質量範囲: m/z100~500

5. 試験溶液の調製

三上らの方法⁴⁾に従い、カプセルの内容量を精密に秤量し、そこから約0.2gを精密に量り、メタノール20mLを加え30分間超音波抽出し、0.45µm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20倍に希釈し、GC/MS (SCAN) 用及びHPLC/PDA用試験溶液とした。GC/MS (SIM) 用試験溶液は試験原液をメタノールで2000倍に希釈して用いた。LC/MS用試験溶液は試験原液をメタノールで40倍に希釈して用いた。

III. 結果及び考察

1. GC/MSによる確認試験

混合標準溶液をGC/MSのSCANモードで測定した結果、Fig. 1に示すクロマトグラムが得られた。保持時間16.2分にSIBのピークが検出され、そのマススペクトルはm/z114に基準ピークが、72, 58, 42にフラグメントイオンが観察された (Fig. 2)。保持時間21.3分にMAZのピークが検出され、そのマススペクトルはm/z266に基準ピークが、231, 102, 88にフラグメントイオンが観察された。また、保持時間23.3分のピークはPPであり、m/z274に基準ピークが、318, 225, 181, 121にフラグメントイオンが観察された。PPは混合標準溶液を2回連続して分析したとき、1回目では検出されず2回目で検出された。これはPPがキャピラリーカラムに吸着したため1回目では検出されなかったものと考えられる。試験溶液を同様に分析した結果、保持時間16.2分、21.3分及び23.3分にピークが検出され、そのマススペクトルはそれぞれSIB, MAZ, PPの標準品と一致した。

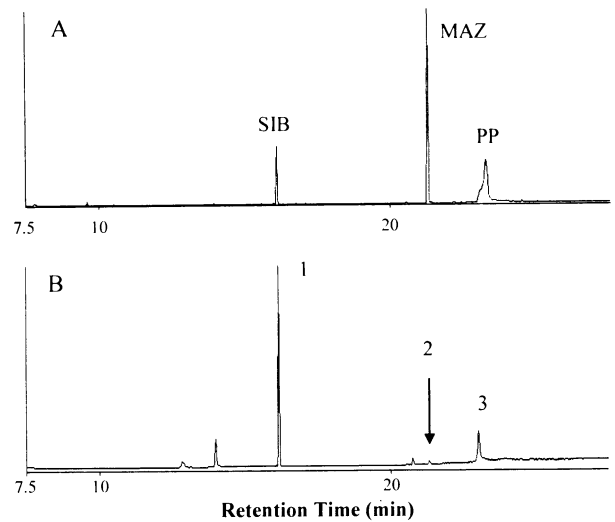


Fig. 1. GC/MS Chromatograms of Mix Standard Solution and Sample Solution

(A) Mix standard solution ; Sibtramine (SIB) (5µg/mL), Mazindol (MAZ) (50µg/mL), Phenolphthalein (PP) (5 mg/mL) , (B) Sample solution

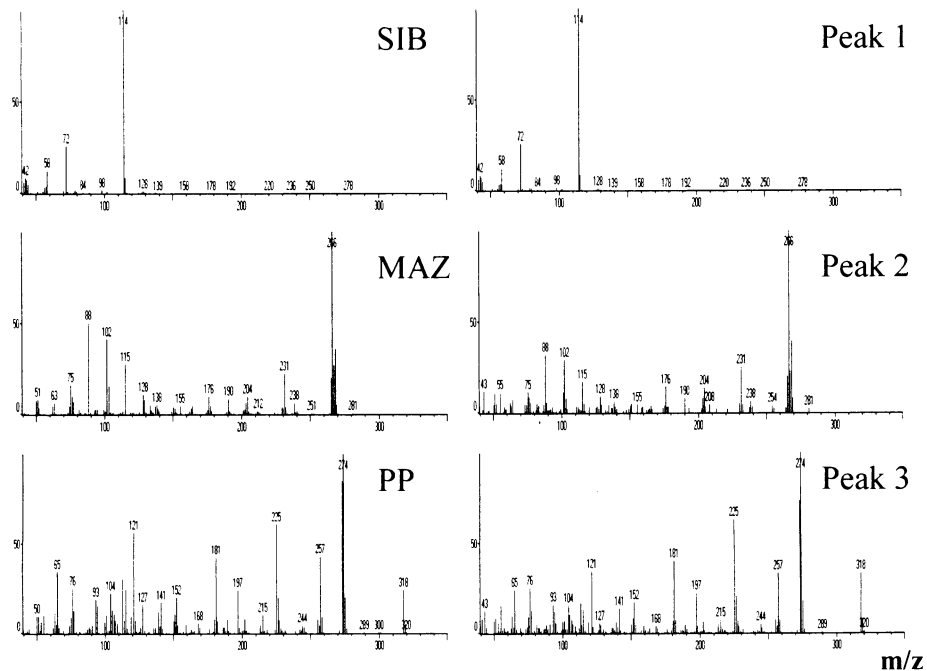


Fig. 2. Mass Spectra of Peaks at 16.2, 21.3 and 23.3 Minutes in the GC/MS Chromatograms Shown in Fig. 1

2. 各成分の定量試験

1) SIBの定量試験⁷⁾

m/z114をターゲットイオンとしてGC/MSのSIMモードで定量試験を行った。標準溶液のピーク面積より、絶対検量線法で検量線を作成したところ、10~100ng/mLの範囲で良好な直線性を示した。この条件で試験溶液を分析した結果、SIBの1カプセル当たりの含有量は7.3mgであった (n=3)。SIBは日本では未承認の医薬品で、海外では肥満症治療薬として用いられており、10mgで減量効果が確認されている⁸⁾。天天素より検出されたSIBは薬用量にかなり近いことが明らかとなった。

2) MAZの定量試験⁹⁾

HPLC/PDAで定量試験を行った。標準溶液及び試験溶液のクロマトグラムをFig.3に示した。標準溶液のピーク面積より検量線を作成したところ、1~10 μ g/mLの範囲で良好な直線性を示した。試験溶液において、MAZ標準溶液と保持時間及びUVスペクトルが一致したピークについて定量試験を行った結果、MAZが1カプセル中1.4mg含まれていることが分かった (n=3)。MAZは向精神薬に指定されている食欲抑制剤で、食事療法や運動療法の効果が不十分な高度肥満症に対して用いられる。用量は成人1日1回0.5mg、1日最高1.5mgまでとされ、できる限り最小有効量を用い、投与期間は3ヶ月を限度とするとされている⁹⁾。天天素より検出されたMAZは最高用量に匹敵する量であることが明らかとなった。

3) PPの定量試験¹⁰⁾

HPLC/PDAでPPの定量試験を行った。標準溶液及び試験溶液のクロマトグラムをFig.4に示した。標準溶液のピーク面積より検量線を作成したところ、10~100 μ g/mLの範囲で良好な直線性を示した。試験溶液において、PP標準溶液と保持時間及びUV

スペクトルが一致したピークについて定量試験を行った結果、PPが1カプセル中118mg含まれていることが分かった (n=3)。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、昭和16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¹¹⁾。下剤としての用量は100~300mg/日といわれており¹²⁾、天天素には薬用量のPPが含有されていることが明らかとなった。

3. LC/MSによる確認試験⁷⁾

MAZ標準溶液の全イオンクロマトグラムでは保持時間23.4分にピークを認め、コーン電圧30Vでm/z285に[M+H]⁺に由来する分子イオンピークが観察された (Fig.5-A)。SIB標準溶液では保持時間27.8分にピークを認め、コーン電圧30Vでm/z280に[M+H]⁺のイオンピークが観察された (Fig.5-B)。PP標準溶液では保持時間28.2分にピークを認め、コーン電圧30Vでm/z319に[M+H]⁺のイオンピークが観察された (Fig.5-C)。試験溶液では保持時間23.8分と28.2分にピークが確認された。保持時間23.8分のピークのコーン電圧30VにおけるマススペクトルはMAZ標準溶液のマススペクトルと一致した (Fig.5-D)。また、保持時間28.2のピークトップの前後0.3分のコーン電圧30Vにおけるマススペクトルを解析したところ、保持時間27.9分のピークのマススペクトル (Fig.5-E)はSIB標準溶液と、保持時間28.5分のピークのマススペクトル (Fig.5-F)はPP標準溶液と一致した。これはSIBとPPの保持時間が近接しているため、ピークが重なり一つのピークになったものと考えられる。

コーン電圧60Vにおいて同様に分析したところ、試験溶液の保持時間23.8、27.9及び28.5分のフラグメントパターンは、それぞれMAZ、SIB、PP標準溶液のマススペクトルと一致した。

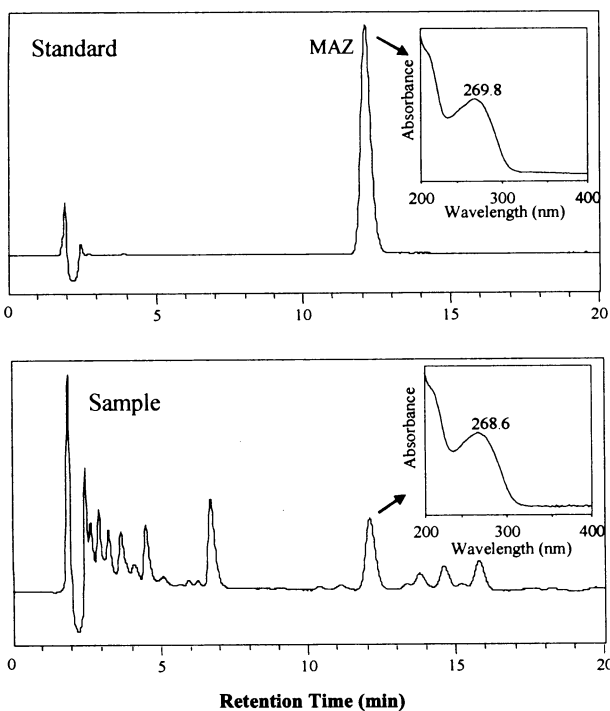


Fig. 3. HPLC Chromatograms and UV Spectra of Standard MAZ Solution and Sample Solution

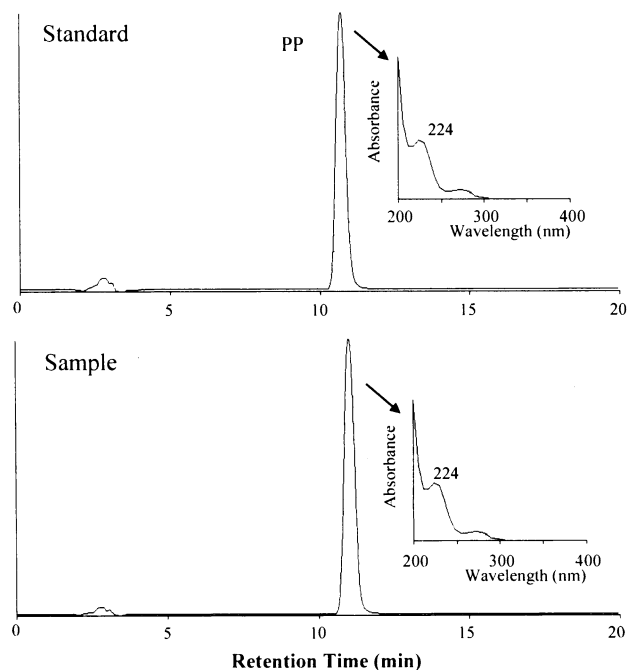


Fig. 4. HPLC Chromatograms and UV Spectra of Standard PP and Sample Solution

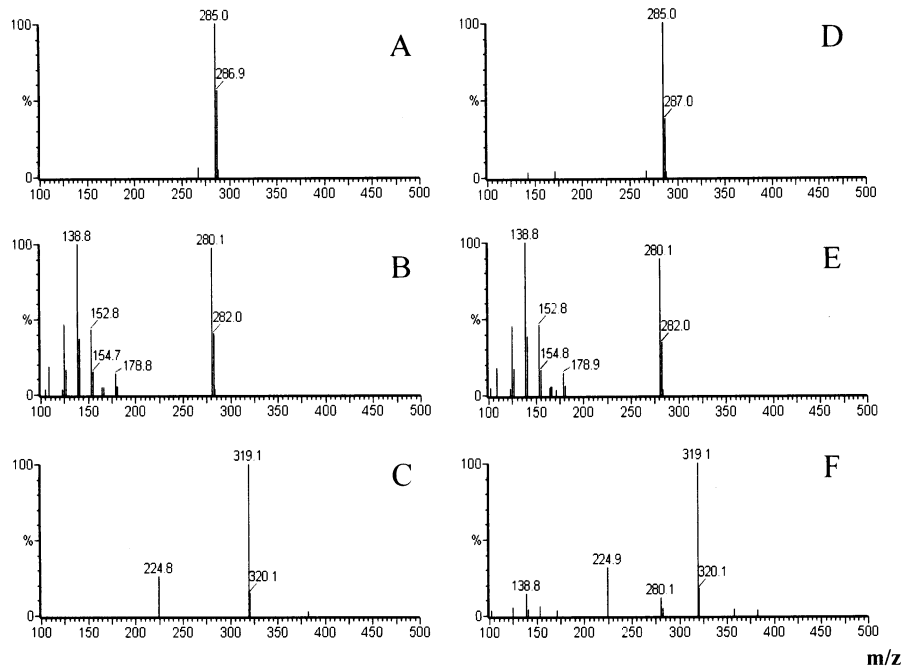


Fig. 5. Mass Spectra of Peaks at 23.4, 27.8 and 28.2 Minutes Obtained from Standard Solution and 23.8, 27.9 and 28.5 Minutes Sample Solution by LC/MS
 (A) Standard MAZ (peak at 23.4 min), (B) Standard SIB (peak at 27.8 min), (C) Standard PP (peak at 28.2 min), (D) Sample (peak at 23.8 min), (E) Sample (peak at 27.9 min), (F) Sample (peak at 28.5 min)

IV. まとめ

今回、天天素についてGC/MSのSCANモードで分析を行い、検出された医薬品成分について、個別に定量試験を行った。その結果、1カプセル当たりSIBが7.3mg、MAZが1.4mg、PPが118mg検出され、その量は1日1カプセル服用した場合、いずれの成分も薬用量に匹敵する量であり、健康被害を引き起こす恐れのあるものであった。

健康食品中の医薬品成分の分析においては、GC/MSはライブラリ検索機能を用いることにより、登録されている物質であれば迅速に分析することができ、検査法として有用であった。しかし近年では、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),10)}。このような新規物質に対応するためにはHPLC/PDAやLC/MS等による確認も必要であり、様々な分析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, 養輪佳子, 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, 東京健安研七報, 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) 厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課報道発表資料: 中国製ダイエット用健康食品 (未承認医薬品) による健康被害事例等, 2005年11月22日
- 6) 三上栄一, 大野勉, 岡尚男, 石原廣男 (2005): 個人輸入したダイエット食品に検出された医薬品成分に関する検討, 医療薬学, 31, 52-57
- 7) 厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課長: シブトラミンの分析方法について, 医薬監麻第0411004号, 平成15年4月11日
- 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) 日本医薬情報センター編: 医療薬日本医薬品集2005 (第28版), 2212-2213, 東京, じほう, 2005
- 10) 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
- 11) 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
- 12) 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
- 13) 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