

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

守安貴子*, 岸本清子*, 中嶋順一*, 重岡捨身*,
 蓑輪佳子*, 上村尚**, 安田一郎*

Analytical Results of Chinese Weight-loss Supplemets Caused Health Damages

Takako MORIYASU*, Kiyoko KISHIMOTO*, Junichi NAKAJIMA*, Sutemi SHIGEOKA*,
 Keiko MINOWA*, Hisashi KAMIMURA** and Ichiro YASUDA*

Keywords : ダイエット weight loss, 健康食品 dietary supplements, 中国製 Chinese-made, フェンフルラミン fenfluramine, *N*-ニトロソフェンフルラミン *N*-nitroso-fenfluramine, 乾燥甲状腺末 dried thyroid

緒言

近年における健康志向の高まりにより、健康食品の利用は年々増加する傾向にある。しかし、これらの健康食品の中には、効果を高めるために医薬品成分を含有するような薬事法違反の事例も少なくない。

平成14年7月に中国製ダイエット用健康食品を利用していた女性が重篤な肝障害で、死に至るといった事件が起こった。同様な健康被害が次々と明らかになり、その総患者数671名(平成15年5月現在)、死者3名を出す重大な事件¹⁾となった。これらの健康食品には*N*-ニトロソフェンフルラミン、フェンフルラミン及び甲状腺末等の医薬品が含有されていたが、このフェンフルラミンは平成8年に日本で初めて健康食品に含有された事例²⁾のあった食欲抑制剤である。また、甲状腺末は日本薬局方にも収載されている医薬品³⁾であるが、1965年頃やせ薬として乱用された後、平成13年にも健康食品への混入例⁴⁾があった。一方、*N*-ニトロソフェンフルラミンについては事件当時まで研究報告のない、新たな化合物であった。

著者らは、症状が発現したとされる関連製品を中心に検査を行った結果、ほとんどの製品から上記3種の医薬品成分を検出した他、いくつかの特徴が認められたので報告する。また、今回含有していた*N*-ニトロソフェンフルラミンは、これまでに知られていない新たな化合物であるが、その性状についても若干の知見が得られたので、併せて報告する。

甲状腺末に関しては次報で報告する⁵⁾。

実験方法

1. 試料

症状が発現したとされ、東京都薬事監視課に持ち込まれた製品、厚生労働省から発表された銘柄で薬事監視員等が東京都内から収去した製品、全59検体。銘柄は紆之素膠

囊、茶素減肥、御芝堂減肥膠囊、御芝堂清脂素、茶素膠囊、茶素ダイエットカプセル、ダイヤモンドスリム、Be petite等、21銘柄。製品の形態はカプセル剤55検体、錠剤2検体、粉末2検体。

2. 試薬及び装置

1) 標準品

塩酸フェンフルラミンはシグマ社製試験用試薬を用い、*N*-ニトロソフェンフルラミンは以下の合成法により得た。合成法：塩酸フェンフルラミンをアンモニアアルカリ性下ジエチルエーテルで抽出し、エーテルを減圧留去してフェンフルラミン231mgを得た。これを1*N*塩酸/アセトニトリル(1:1)10mLに溶解し、氷冷下攪拌しながら徐々に3mMの亜硝酸ナトリウム溶液3mLを滴下した。1時間攪拌後、ジエチルエーテルにより5回抽出し、薄いアンモニア水により洗浄した後、エーテルを留去した。これにより182.5mgの*N*-ニトロソフェンフルラミンを得た(収率79%)。なお、確認は核磁気共鳴スペクトル法、HPLC/質量分析法、赤外吸収スペクトル測定法により行った。

2) HPLC/PDA

日本分光(株)製PU-980型ポンプ、同MD-915型フォトダイオードアレイ検出器、同DG-980-50型デガッサー、同AS-950型オートサンプラー、同CO-965型恒温槽、JASCO-BORWINデータ処理システムにより構成。

3) GC/MS

サーモクエスト社製2000 SERIES Trace GC / Trace MS

4. 測定条件

1) TLC条件

薄層板：MERCK社製Silica gel 60 F₂₅₄ (Art No.5715)を105で1時間乾燥、展開溶媒：クロロホルム/メタノール/アンモニア水(28%) (90:18:3)、検出：紫外線 254

* 東京都健康安全研究センター医薬品部医薬品研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター環境保健部

nm(吸収スポット), ドラージェンドルフ試薬(橙色スポット)

2) HPLC/PDA 条件

カラム: Cosmosil 5 C18 AR- (4.6×150 mm, 5 μm),
カラム温度: 40 , 検出: 200~350nm(PDA), 移動相:
アセトニトリル 500mL, 水 500mL, リン酸 1mL 及び
ウリル硫酸ナトリウム 6g を混和, 流速: 1 mL/min, 注入
量: 10 μL ,

3) GC/MS 条件

カラム: クロムパック CP-SIL8CB(30 m ,0.25 mmI.D.,
0.25 μm),

カラム温度: 80 (1 min) 20 /min 昇温 260 (1
min), ガス流量: 1.5 mL/min , 注入口温度: 260 , ス
プリット比: 10:1, 注入量 1 μL, イオン化電圧 70 eV,
ソース温度: 200 , インターフェース温度: 250 , ス
キャンレンジ: 40~400 m/z, スキャンスピード: 400 ms

5. 標準溶液の調製

TLC 用標準溶液: フェンフルラミン及び *N*-ニトロソ
フェンフルラミンの 100 μg/mL クロロホルム溶液

LC 用標準溶液: 塩酸フェンフルラミン及び *N*-ニトロ
ソフェンフルラミンの 50~100 μg/mL メタノール溶液

6. 試料溶液の調製

TLC 用: 試料の 1/2 日用量を秤り, 水 2 mL およびアン
モニア水(25%)1mL, エーテル 30 mL を加え, 20 分間振
とうし, 遠心分離した. エーテル層を 5 g の無水硫酸ナト
リウムをのせたる紙でろ過し, エーテルを減圧留去後, ク
ロロホルム 0.5 mL に溶解した. GC/MS 用: TLC 用試料
溶液をクロロホルムで適宜希釈し, これを 0.45 mm のメン
ブランフィルターでろ過した. LC 用(定量): 試料の 1/2
日用量をとり, 50%アセトニトリル溶液 20 mL を加え,
10 分間超音波照射した後, 15 分間振とうし, 遠心分離を

行った. アセトニトリル層を分取し, 残留物に更に 50%
アセトニトリル溶液 20 mL を加え, 同様に操作し, 抽出液
を合わせ, 50%アセトニトリル溶液で全量を 50 mL とし
た.

7. *N*-ニトロソフェンフルラミンの安定性試験

N-ニトロソフェンフルラミン約 100 μg/mL の 50%ア
セトニトリル溶液を透明及び褐色のフラスコに入れ, 冷
蔵庫, 加速試験器(蛍光灯, 40 , 加湿なし), 室内
(蛍光灯下), 窓際(太陽光)の 4 条件で保存し, HPLC
により, 経時変化を測定した.

結果及び考察

1. TLC による定性試験

今回の試料は事故検体であり, 試料中の含有成分につ
いて多くの情報を得る必要があった. そこで, まず TLC に
よる定性試験を行った. その結果, 多くの試料から共通し
て, *R_f* 値 0.4, 0.6, 0.65 及び 0.7 のスポットが得られた.
いずれも紫外吸収を持ち, ドラージェンドルフ試薬により
発色したが, 0.4, 及び 0.65 のスポットはややピンク色を
帯びた橙色であり, 他の 2 スポットの橙色とは異なってい
た. これらを標準品の *R_f* 値と比較したところ *R_f* 値 0.6 が
フェンフルラミン及び *R_f* 値 0.7 が *N*-ニトロソフェンフル
ラミンであることがわかった. その他の 2 スポットにつ
いては GC/MS 等他の機器分析の結果から, *R_f* 値 0.4 がニコ
チン酸アミド, *R_f* 値 0.65 がカフェインであることが明ら
かとなった.

試料はさまざまな商品名がつけられていたが, TLC による
分析結果を見るとスポットの検出パターンが似ているも
のが多く, 原材料に共通のものが用いられていると推測さ
れた.

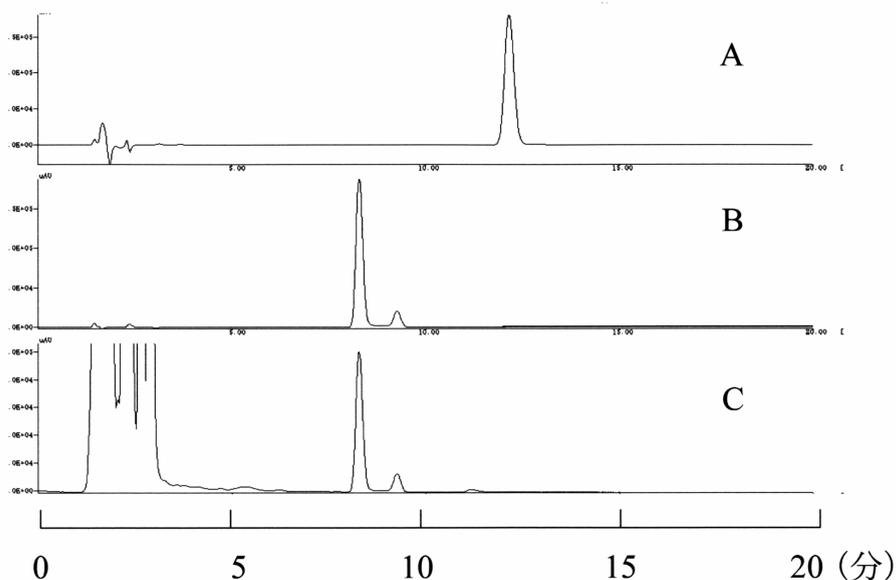


図1. 標準品及び試料の HPLC クロマトグラム

A: フェンフルラミン標準品

B: *N*-ニトロソフェンフルラミン標準品

C: 試料(茶素減肥)

2. HPLC/PDAによる定性定量試験

HPLCのクロマトグラムを図1に示したが、フェンフルラミンは保持時間約12分に、*N*-ニトロソフェンフルラミンは約8~9分に2本のピークとして検出された。*N*-ニトロソフェンフルラミンは窒素を中心に回転異性体があると考えられており、この異性体が2本のピークとして得られたと思われる。試料中のこれら2本のピーク面積比は、後出のピークが前出のピークの約10~15%と一定していたが、定量には両ピーク的面積を合計して算出した。

なお、本HPLC条件における検出限界は2 µg/mL、定量限界は4 µg/mLである。

また、各ピークの紫外外部吸収スペクトルをみると、フェンフルラミンは208 nm及び265 nm付近に極大吸収、228 nm付近に極小吸収を持ち、*N*-ニトロソフェンフルラミンは208 nm及び234 nm付近に極大吸収、224 nm付近に極小吸収を持つスペクトルが得られ、定性試験に有効であった。

3. GC/MSによる確認試験

厚生労働省から提示された*N*-ニトロソフェンフルラミンの試験法⁶⁾はLC/MSを用いた方法であったが、代替法としてGC/MSによる確認を行うこととした。その結果、本試験条件でフェンフルラミンは保持時間4.5分にピークが得られ、*m/z* 72(100%), 56(14), 159(7), 109(5)等のマスフラグメントが得られた。また、*N*-ニトロソフェンフルラミンは保持時間6.7分、マスフラグメントは *m/z* 159(100%), 186(62), 101(53), 71(43), 56(36)であった。

4. 医薬品成分を含有していた健康食品の特徴

1) 今回検査した59検体のうち、フェンフルラミン、*N*-ニトロソフェンフルラミン及び甲状腺末のいずれかを含有していた試料は48検体で、これらの成分を高い検出率で検出した。また、図2に示すように、1つの試料から2成分以上を検出する試料が多く、3成分を検出するものも1検体あった。

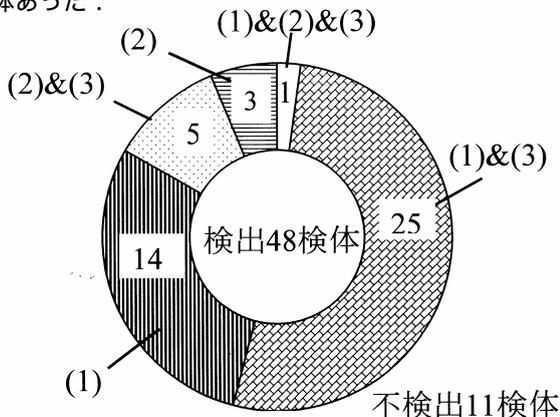


図2. 試料中の医薬品成分の検出結果

- (1) *N*-ニトロソフェンフルラミン
- (2) フェンフルラミン
- (3) 甲状腺末

2) 同じ銘柄の試料でも、図3に示すように外箱の文字や写真が異なるものがあり、カプセルの内容物も黄色粉末と茶色粉末など全く異なるものもあった。含有する成分の種類や含有量も異なっており、その一例を表1に示したが、製品の不統一が顕著であった。こうした製品の不統一性から製造者や製造所が異なることが推測され、いわゆる偽物が出回っていると考えられた。医薬品成分を含有したものは効果が高く、よく売れることから、こうした偽物が出回るのは一つの特徴といえる。



図3. 試料の外観及び内容物の性状

- : 製品により異なる箇所
- : 試料Aの内容物
- : 試料B及びCの内容物

3) カプセル内容物から別色のカプセルの破片を検出した試料が多く見受けられた。これらの試料は再加工が疑われ、製造における信頼性の欠如が推測された。

4) 本事件は「中国製ダイエット用健康食品」事件といわれているが、日本で製造された製品にも今回の3成分が検出されたものがあった。これは、輸入したプレミックスの原材料にフェンフルラミン等の医薬品成分が混入されていたと考えられる。健康食品の原材料の多くが、輸入によって入手されていることを考えると、日本製品なら安全であるとはいえないことがわかる。

5. *N*-ニトロソフェンフルラミンの安定性試験

1) *N*-ニトロソフェンフルラミンの性状

N-ニトロソフェンフルラミンは、これまでに研究報告のない新たな化合物であり、標準品の入手も難しかったことから、合成により得た。構造式、偏光度、IR測定データを図4に示したが、化学構造はフェンフルラミンによく似

ており、薬理活性については研究情報がないものの、類似の活性を期待して健康食品に加えられたと考えられている。

表 1. 製品別の医薬品成分検出例

製品名	甲状腺末	フェンフルラミン	N-ニトロソフェンフルラミン
	-	-	5.2
	-	-	5.5
	+	-	3.7
	+	-	3.9
	+	-	4.9
茶素減肥	+	-	4.6
	+	-	4.7
	+	-	3.7
	+	-	3.7
	+	-	3.9
	+	-	3.8
	+	2.8	-
	+	2.6	-
	-	4.3	
	-	4.2	
	-	4.0	
絆之素胶囊	-	-	3.4
	+	-	5.2
	+	-	5.4
	+	-	5.2
	+	-	5.4
	-	-	5.4
	-	-	5.5
	+	-	1.5
+	-	1.5	

単位：mg/カプセル，+：検出，-：検出限度以下
 検出限度：甲状腺末 5 ng/mg(チロキシン, 3,5,3'-トリイオドチロニンとして),
 フェンフルラミン及び N-ニトロソフェンフルラミン 0.2 mg/1日用量

毒性については、一般に N-ニトロソ化合物は強い発ガン性を有する事が知られているが、N-ニトロソフェンフルラミンも肝細胞性の障害と胆管系への障害の可能性を含む広義の肝障害を惹起すると推察されており、本事件の肝障害の原因物質と判断されている⁷⁾。

2) N-ニトロソフェンフルラミンの安定性試験

合成した本物質はオイル状の物質であったが、経時的に黄変したことから、安定性試験を行った。その結果、図 5

に示したとおり、透明フラスコに入れ、太陽光下または加速試験器内に保存した溶液は 1 日で完全に分解した。一方褐色フラスコに保存した溶液では加速試験を除き 30 日を経過してもほとんど分解しなかった。この結果から、N-ニトロソフェンフルラミンは光に不安定であると考えられた。また、試料中の安定性を試験したところ、通常の保存状態(遮光)では比較的安定であったのに対し、加速試験器内では 1 日で 40% に減少し、太陽光下では 1 週間で 50% に減少した。試料中でも光により容易に分解することがわかった。

分解物について解析するため、完全に分解した後の溶液を LC/MS により分析したところ、分解物と思われるピークが 6 本検出され、その 1 つはフェンフルラミンと保持時間、マスフラグメントが一致した。また、いずれのピークからも共通して m-trifluoromethyl toluene 残基と推測される m/z 159 が得られ、フェンフルラミン類似体と考えられた。

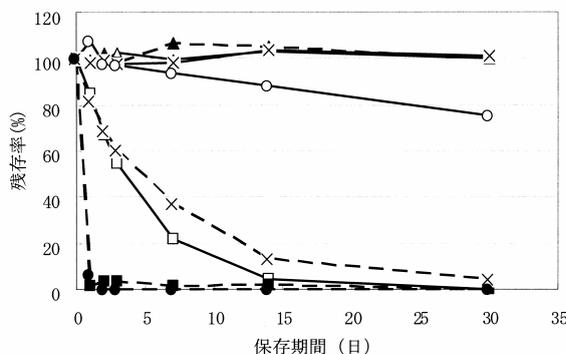


図 5. N-ニトロソフェンフルラミンの安定性試験

保存条件; —△—: 冷蔵褐色, —▲—: 冷蔵透明, —□—: 加速褐色,
 —■—: 加速透明, —×—: 蛍光灯褐色, —○—: 蛍光灯透明,
 —○—: 太陽光褐色, —●—: 太陽光透明

今後も N-ニトロソフェンフルラミンのような新たなフェンフルラミン誘導体が健康食品中に含有される危険性は十分あるが、その際には m/z 159 のマスフラグメントが一つの有力なメルクマールになると考えられた。

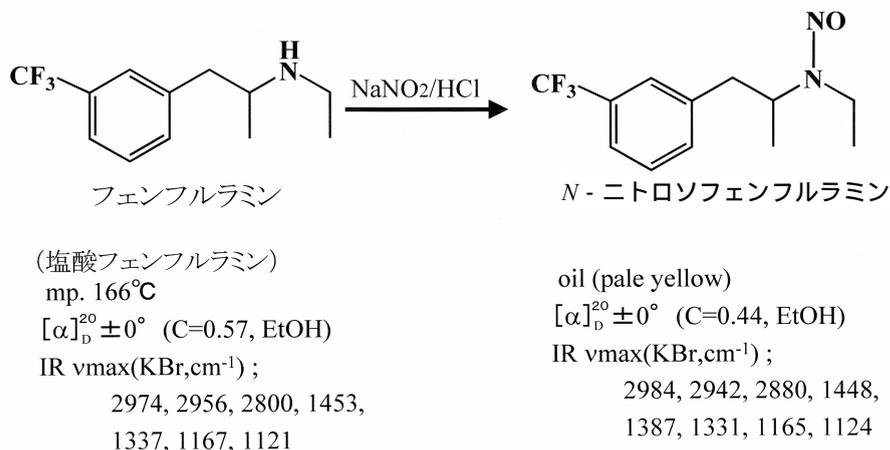


図 4. N-ニトロソフェンフルラミンの合成及び物理定数等

結 論

フェンフルラミン, *N*-ニトロソフェンフルラミン及び甲状腺末を含有していた中国製ダイエット用健康食品を検査したところ, 以下のような結果が得られた.

1. フェンフルラミン, *N*-ニトロソフェンフルラミンの TLC 及び GC/MS による定性試験, HPLC/PDA による定性定量試験法を確立した.
2. 1つの試料から, *N*-ニトロソフェンフルラミンと甲状腺末が同時に検出されるというように, 2成分以上を重複して含有するものが多かった.
3. 同じ銘柄でも外箱や内容物の色調, 含有する成分が異なるものがあり, 製品の不統一性が顕著であった.
4. カプセルの内容物に別色のカプセルの破片が多数混在する粗悪品が認められ, 再加工が疑われた.
5. 日本製品にも, *N*-ニトロソフェンフルラミンや甲状腺末等を含有するものがあつた.
6. *N*-ニトロソフェンフルラミンは光に不安定であり, 太陽光下に置くと1日で分解した.

文 献

- 1) 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による健康被害事例等, 2003年5月30日
- 2) 安田一郎, 塩田寛子, 浜野朋子, 他: 東京衛研年報, **48**, 71-75, 1997.
- 3) 厚生労働省: 第十四改正日本薬局方, 854-855, 2002年4月1日
- 4) 小坂妙子, 浜田洋彦: 食衛誌, **43**, 225-229, 2002.
- 5) 養輪佳子, 守安貴子, 中嶋順一, 他: 東京健安研七 年 報, **54**, 74-77, 2003.
- 6) 厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課事務連絡: *N*-ニトロソフェンフルラミンの分析法について, 2002年7月24日
- 7) 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)に関する調査結果, 2003年2月12日