

ダイエット健康食品中に含有される医薬品の検索法と健康被害を起こした「天天素清脂胶囊」への適用

守 安 貴 子*, 蓑 輪 佳 子*, 岸 本 清 子*,
重 岡 捨 身*, 門 井 秀 郎*, 安 田 一 郎*

Determination of Drugs in the Dietary Supplements for Weight Loss and Applying to “Tentenso” Caused Health Damage

Takako MORIYASU*, Keiko MINOWA*, Kiyoko KISHIMOTO*, Sutemi SHIGEOKA*, Hideo KADOI* and Ichiro YASUDA*

Keywords : 健康食品 dietary supplements, ダイエット weight loss, 食欲抑制剤 suppression appetite, 代謝機能亢進剤 advance metabolism, 瀉下剤 purgative, 利尿剤 diuretic, 薄層クロマトグラフィー TLC, 液体クロマトグラフィー/フォトダイオードアレイ HPLC/PDA, 液体クロマトグラフィー/質量分析 HPLC/MS, 天天素清脂胶囊 weight loss capsule “tentenso”

緒 言

健康志向の高まりにより、いわゆる「健康食品」の利用は年々増加する傾向にある。中でもダイエットを目的としたものは、老若男女を問わず関心が高く、様々な商品が販売されている。その一方で、平成14年に死亡者3名、総患者数約700名を出した中国製ダイエット健康食品被害事例¹⁻³⁾のように、医薬品成分が添加された薬事法違反の例は後を絶たない。平成17年6月にも、「天天素清脂胶囊」（以下、「天天素」と略す）と呼ばれる製品から、食欲抑制剤シブトラミン及びマジンドール、瀉下剤のフェノールフタレイン、生薬のダイオウが検出される事例があった。

このような事例による健康被害の拡大を防ぐためには、健康食品に含有される医薬品成分を迅速に検索し、都民に知らせることが重要である。

ダイエットを目的とした健康食品に混入される可能性のある医薬品は、食欲抑制剤、代謝機能亢進剤、利尿剤、瀉下剤等様々である。また、近年は、既存の医薬品成分だけでなく、これらを化学修飾した新規化合物が混入される事例も多く、成分を特定することは難しい。そこで、まず、薄層クロマトグラフィー（TLC）を用いた一次検索により幅広く検索を行った後、分離の良い液体クロマトグラフィー/フォトダイオードアレイ（HPLC/PDA）により二次検索を行う方法を検討した。検出された医薬品はさらに、HPLC/MSで質量スペクトルを標準品と比較し、確認することとした。

本法を、健康被害を引き起こした「天天素」に適用し試験したところ、良好な結果が得られたので報告する。

実 験 方 法

1. 検索対象成分

検索の対象とする医薬品成分20種はTLC及びHPLCの試

験結果と共に表1に示した。

2. 試料

健康被害が生じたとして、薬事監視課より分析依頼のあった「天天素」9製品とインターネットにより購入した1製品。

3. 試薬及び装置

1) 標準品及び試薬 塩酸エフェドリン、塩酸メチルエフェドリン、塩酸プソイドエフェドリン、塩酸フェニルプロパノールアミン、ニケタミド、塩酸フェンフルラミン、メフェンテルミンヘミスルフェート、塩酸フェンテルミン、マジンドール、ビスコジル、ピコスルファートナトリウム、ヒドロクロロチアジド、クロロチアジド及びフロセミドはSigma社製、センノシドA及びセンノシドBは松浦薬業（株）製、フェノールフタレインは和光純薬（株）製、塩酸シブトラミン（1水和物）は国立医薬品食品研究所分与品、脱N-ジメチルシブトラミンは市販製品から単離精製したもの及びN-ニトロソフェンフルラミンは合成品を用いた。アセトニトリルは和光純薬製HPLC用を用い、ドラーゲンドルフ試薬は日本薬局方⁴⁾の試薬試液によった。その他は試薬特級品を用いた。

2) HPLC/PDA装置 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した装置を用いた。

3) HPLC/MS装置 日立製作所（株）製M-1200Hシステムを用いた。

*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 Public Health Research Institute
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

4. 測定条件

1) TLC 薄層板: MERCK社製Silica gel 60 F₂₅₄ (Art No.5715) を105℃で1時間乾燥したもの. スポット量: 5 μ L. 検出: 暗所にて紫外線254 nmを照射し, 吸収スポットの有無を確認. また, ドラージェンドルフ試薬噴霧後10%硫酸を噴霧し, 橙色のスポットの有無を確認. 展開溶媒: ①クロロホルム/メタノール/28%アンモニア水 (90:10:1), ②1-ブタノール/酢酸/水 (7:1:2)

2) HPLC/PDA カラム: Cosmosil 5C₁₈-AR-II (4.6 mm i.d.×150 mm, 5 μ m), カラム温度: 40℃, 流速: 1 mL/min, 検出: PDA 200~400 nm, 試料注入量: 10 μ L, 移動相: ①A液-アセトニトリル/水/リン酸 (100:900:1, ラウリル硫酸ナトリウムを10mM含有) とB液-アセトニトリル/水/リン酸 (900:100:1, ラウリル硫酸ナトリウムを10mM含有) のグラジエント分析, A液:B液 90:10→30:70 (0分→25分, 35分まで保持). ②A液-アセトニトリル/水 (100:900, 臭化テトラブチルアンモニウムを3mM含有) とB液-アセトニトリル/水 (900:100, 臭化テトラブチルアンモニウムを3mM含有) のグラジエント分析, A液:B液 100:0→50:50 (0分→10分, 20分まで保持).

3) HPLC/MS「天天素」の分析条件 カラム: Cosmosil 5C₁₈-AR-II (4.6 mm i.d.×150 mm, 5 μ m), カラム温度: 40℃, 流速: 1 mL/min, 試料注入量: 10 μ L, 移動相: 0.1%蟻酸溶液: 0.1%蟻酸含有アセトニトリル (65:35), 検出: APCI⁺, スキャンモード, ドリフト電圧: 30 V, マルチプライアー電圧: 1800 V, ニードル電圧: 2700 V, ネブライザー温度: 200℃, デソルベーション温度: 400℃.

5. 標準溶液の調製

いずれの成分もTLC用は約1,000 ppm, HPLC用は約50 ppmのメタノール溶液を用いた.

6. 試料溶液の調製

試料は粉末とし, 約1/2日用量をはかりとり, 70%メタノール30 mLで1回, 15 mLで1回, 超音波15分及び振とう30分を行い抽出した⁵⁾. 遠心分離後上澄液を合わせ, 50 mLにメスアップした. これを0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過したものをHPLC用試料溶液とした. TLC用には, HPLC用試料溶液を40 mLとり, 溶媒留去後メタノール0.5 mLに溶解したものをを用いた.

結 果 及 び 考 察

1. 検索対象成分

本法では, これまで健康食品に混入した事例があった医薬品成分を中心に, 基礎代謝亢進, 食欲抑制, 利尿, 瀉下作用のある成分を検索の対象とした.

2. TLC条件の検討

20種の医薬品成分をTLCにより完全分離することは, 実際のところ難しい. しかし, 脂質, タンパク質, 糖質, 他

の化学成分など様々な夾雑物を含む健康食品に含有される, 多種類の医薬品成分を検出するには, まず, 幅広い成分検索を行う必要があり, このような場合TLCは有用である. また, TLCは展開溶媒を変えることで試料溶液中の成分を幅広く検索することができ, 一度に大量の検体を処理できることも第一義的な検索法として適当であると考えられた. そこで, まずTLCにおける各種展開溶媒による分離及び検出条件について検討した.

1) 展開溶媒の検討 展開溶媒としてクロロホルム, ヘキサン, アセトン, アルコールをそれぞれ主に用いた系について検討した. 酸性成分 (センノシドA, B, ピコスルファートナトリウム, ヒドロクロロチアジド, クロロチアジド, フロセミド) についてはアルコール系が, 塩基性・中性成分 (上記酸性成分以外の成分) の分離にはアンモニアを加えたクロロホルム系が良好であった. そこで, クロロホルム系とアルコール系について条件検討し, その結果を表1に示した. クロロホルム/メタノール/アンモニア水の組成比を変えた3条件TLC1~3 (詳細は表1の欄外に記載) のうち, TLC1は, 分析対象とした塩基性・中性成分の R_f 値がいずれも0.48以上と高かった. 逆にTLC3ではエフェドリン類がほとんど展開せず, R_f 値は0に近い値であった. 一方, TLC2では R_f 値が0.16~0.87と適度に分離したため, 本条件を設定した. アルコール系では, 酢酸を加えた2条件TLC4, 5 (詳細は表1の欄外に記載) と, 分離に大きな差はなかった. しかし, 健康食品などの製品を実際に試験した場合, TLC4の方が, 夾雑物の妨害が少なかったためTLC4を設定した.

2) 検出方法の検討 対象とした成分の多くは, 共役する二重結合がその構造にあるので紫外線 254 nm付近に吸収を持つ. したがって, 20種すべての成分が, 暗所紫外線 254 nm照射下での検出が可能であった. その他の検出法として, ドラージェンドルフ試薬, 10%硫酸, ニンヒドリン, プロモクレゾールグリーン, フタル酸アニリン, リンモリブデン酸, 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド, 2,7ジクロロフルオレセイン, ジニトロフェニルヒドラジン等, 各噴霧試薬による発色を検討した. その結果, ドラージェンドルフ試薬により発色する成分が最も多く, 構造の中に窒素を持つ塩基性・中性成分12種が橙色に発色した. また, この発色は, 更に10%硫酸を噴霧することにより, 色調が強まることから, これらの成分の検出にはこの組み合わせを用いることとした. 一方, 酸性成分はプロモクレゾールグリーン試薬により黄色に発色したが, TLCの展開溶媒に①ではアンモニア水, ②では酢酸を用いていることから, 展開後は, 薄層板全体が塩基性あるいは酸性に偏り, 成分本来の発色を示さなかった. 他の噴霧試薬でも特徴的に発色するものがなかったため, 酸性成分は, 紫外線照射のみによる検出を行うこととした.

なお, ほとんどの成分において, 紫外線照射下での検出はドラージェンドルフ試薬による発色より感度が良く, いずれの成分も500 ng/スポット以上の検出感度があった. こ

れは、薬用量が最も低いマジンドールでも、その薬用量(0.5 mg/日)の1/5を検出できる感度である。

3. HPLC/PDA条件の検討

TLCによる検索法は第一義な検索として有用であるが、医薬品成分20種を判別するのは不可能であった。そこで、医薬品が混入している疑いのあるものの二次検索法として、分離能の高いHPLC/PDA法について検討した。

カラムにはC18カラムを用いることとし、まず、スルホン酸系イオン対試薬を用いたグラジエント条件HPLC1,2

(条件は表1の欄外に記載)を実施した。結果を表1に示したが、いずれの条件も、酸性成分である、センノシドA及びB、ピコスルファートナトリウム、ヒドロクロロチアジド及びクロロチアジドの保持が弱く、別の条件検討が必要であった。保持された成分についてみると、HPLC1では、エフェドリン類の溶出が早く、ニケタミド、N-ニトロソフェンフルラミン、センノシドA及びBと保持時間が重なっていた。一方HPLC2では、シブトラミンと脱N-ジメチルシ

表1. TLC及びHPLC試験結果*

薬効	医薬品成分名	TLC Rf値					TLC 検出		HPLC保持時間 (分)		
		クロロホルム系			アルコール系		UV254 nm照射	ドラーゲンドルフ試薬噴霧	HPLC1	HPLC2	HPLC3
		TLC1	TLC2	TLC3	TLC4	TLC5					
基礎代謝亢進	エフェドリン	0.48	0.18	0.05	0.49	0.40	+	+	5.0	19.0	—
	メチルエフェドリン	0.65	0.34	0.10	0.36	0.35	+	+	5.3	19.2	—
	ブソイドエフェドリン	0.50	0.20	0.05	0.45	0.40	+	+	4.9	18.7	—
	フェニルプロパノールアミン	0.53	0.16	0.05	0.56	0.45	+	+	4.3	18.5	—
	ニケタミド	0.80	0.66	0.33	0.63	0.65	+	—	3.5	15.3	6.8
食欲抑制	フェンフルラミン	0.77	0.62	0.26	0.51	0.45	+	+	14.0	23.5	—
	N-ニトロソフェンフルラミン	0.87	0.87	0.75	0.94	0.90	+	+	3.5	22.2	18.4
	メフェンテルミン	0.67	0.30	0.08	0.44	0.39	+	+	7.8	20.7	—
	フェントラミン	0.59	0.10	0	0.50	0.44	+	+	12.6	22.2	—
	フェンテルミン	0.71	0.38	0.18	0.63	0.53	+	+	7.1	20.0	—
制瀉下	マジンドール	0.77	0.43	0.18	0.40	0.39	+	+	12.4	22.6	—
	シブトラミン	0.87	0.85	0.82	0.50	0.47	+	+	21.9	27.6	—
	脱N-ジメチルシブトラミン	0.88	0.71	0.55	0.66	0.63	+	+	21.1	27.2	—
	センノシドA	0	0	0	0.44	0.39	+	—	6.4	3.1	11.0
	センノシドB	0	0	0	0.26	0.26	+	—	4.5	1.7	10.7
利尿	ビスコジル	0.88	0.79	0.69	0.93	0.94	+	+	16.1	21.8	16.3
	ピコスルファートナトリウム	0	0	0	0.24	0.42	+	—	2.1	1.4	13.4
	フェノールフタレイン	0.60	0.18	0.07	0.96	0.95	+	—	18.1	9.6	11.8
	ヒドロクロロチアジド	0.3	0	0	0.88	0.92	+	—	3.7	2.4	5.9
	クロロチアジド	0.1	0	0	0.83	0.90	+	—	3.3	2.3	9.4
	フロセミド	0.1	0	0	0.91	0.87	+	—	15.2	7.4	12.0

* +:検出, —:不検出

TLC1: クロロホルム/メタノール/アンモニア水 (75/25/1), TLC2: 同 (90/10/1), TLC3: 同 (90/5/1)

TLC4: 1-ブタノール/酢酸/水 (7/1/2), TLC5: 1-プロパノール/酢酸エチル/水/酢酸 (40/40/3/1)

HPLC1: A液 アセトニトリル/水/リン酸 (100:900:1, ヘキサンスルホン酸ナトリウムを5mM含有)

B液 アセトニトリル/水/リン酸 (900:100:1, ヘキサンスルホン酸ナトリウムを5mM含有)

A液:B液 90:10→55:45 (0分→25分)

HPLC2: A液 アセトニトリル/水/リン酸 (100:900:1, ラウリル硫酸ナトリウムを10mM含有)

B液 アセトニトリル/水/リン酸 (900:100:1, ラウリル硫酸ナトリウムを10mM含有)

A液:B液 90:10→30:70 (0分→25分, 35分まで保持)

HPLC3: A液 アセトニトリル/水 (100:900, 臭化テトラブチルアンモニウムを3mM含有)

B液 アセトニトリル/水 (900:100, 臭化テトラブチルアンモニウムを3mM含有)

A液:B液 100:0→50:50 (0分→10分, 20分まで保持)

ブトラミンとの分離が難しいものの、その他は良好な分離を示したため、本条件を採用した。

HPLC2では分析できない酸性成分は、アミン系のイオン対試薬を用いたグラジエント分析HPLC3（詳細は表1の欄外に記載）で良好に分離したため、これらの成分についてはHPLC3を設定した。この条件では、HPLC2で分析できたフロセミド、フェノールフタレイン、ニケタミド、ビスコジル、*N*-ニトロソフェンフルラミンも分析可能であった。

HPLC2と3のクロマトグラムを図1に示した。

図2に各成分の紫外外部吸収スペクトルを示した。エフェドリン類、フェンフルラミン、フェンテルミン、メフェンテルミンは吸収に起因する骨格が等しいため、紫外外部吸収スペクトルも同一であった。また、シブトラミンと脱*N*-ジメチルシブトラミンも同様であったが、その他の成分については、それぞれ特徴的な吸収スペクトルを示し、定性の上で有用であった。

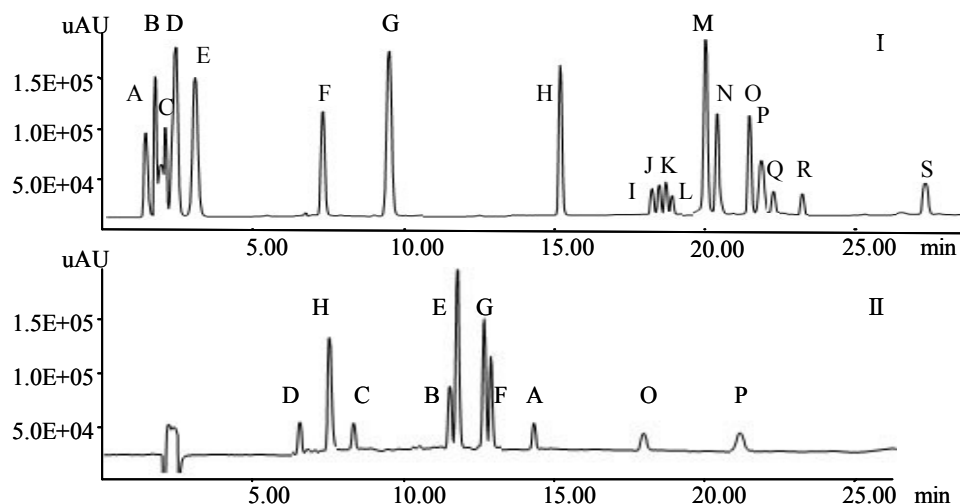


図1. 標準品のHPLCクロマトグラム

I : HPLC2のマックスプロット, II : HPLC3の240nmプロット (分析条件は表1に記載)
 A : ピコスルファートナトリウム, B : センノシドB, C : クロロチアジド, D : ヒドロクロロチアジド, E : センノシドA, F : フロセミド, G : フェノールフタレイン, H : ニケタミド, I : フェニルプロパノールアミン, J : プソイドエフェドリン, K : エフェドリン, L : メチルエフェドリン, M : フェンテルミン, N : メフェンテルミン, O : ビサコジル, P : *N*-ニトロソフェンフルラミン, Q : マジンドール, R : フェンフルラミン, S : シブトラミン及び脱*N*-ジメチルシブトラミン

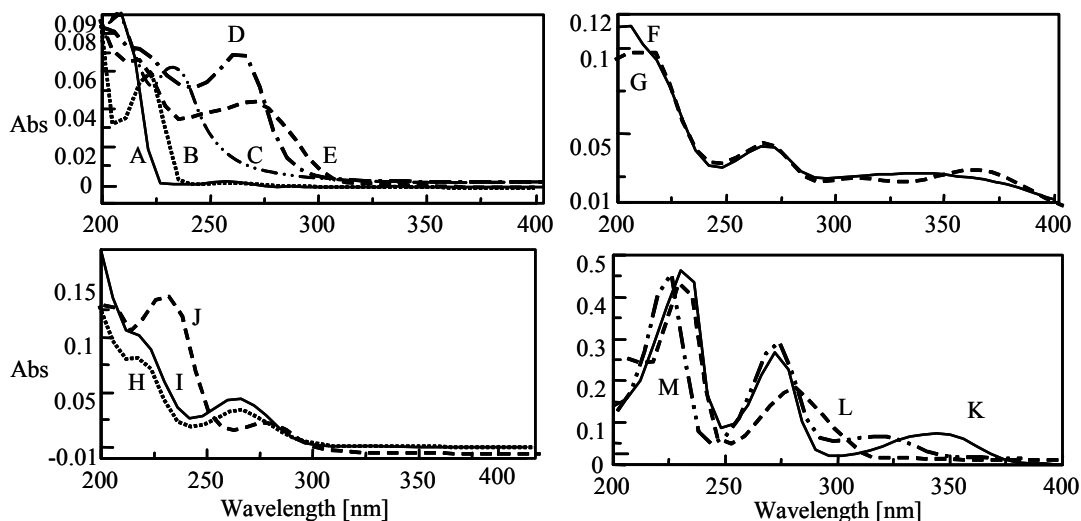


図2. 標準品の紫外外部吸収スペクトル

A:エフェドリン類, フェンフルラミン, フェンテルミン, メフェンテルミン, B:シブトラミン, 脱*N*-ジメチルシブトラミン, C: *N*-ニトロソフェンフルラミン, D:ニケタミド, E:マジンドール, F:センノシドA, G:センノシドB, H:ピコスルファート, I:ビスコジル, J:フェノールフタレイン, K:フロセミド, L:クロロチアジド, M:ヒドロクロロチアジド

4. 健康被害を起こした「天天素」の分析

図3に示した「天天素」は、インターネットを中心に、ダイエットを目的とした健康食品として全国規模で販売されていた。しかし、これを摂取していた都内の女性が亡くなり、「天天素」との因果関係が疑われた。その後、日本全国でこれによる被害が報告され、その被害者は123名⁶⁾に上った。含有されていた成分のうち、マジンドールは向精神薬に指定されており、医師の指示の下で厳密に使用されるべき医薬品である。また、シブトラミンも欧米で使用されている医薬品であるが、入手には医師の処方箋が必要である。フェノールフタレインは発ガン性が強く、現在は使用が禁止されている。このような作用の強いあるいは有害な成分が健康食品に含有されていたのは、大変、危惧されるべき事である。

この「天天素」の試験に、本法への適用を試みた。



図3. 天天素清脂膠囊の外観及び内容物

1) TLCの結果 「天天素」のTLCの結果を図4に示した。マジンドール、シブトラミン、フェノールフタレインと R_f 値が一致するスポットが得られ、マジンドール及びシブトラミンはドラージェンドルフによる発色も同様であった。また、展開溶媒①はアルカリ性であるため、フェノールフタレインと思われるスポットは、展開中淡赤色を示し、標準品の挙動と一致した。

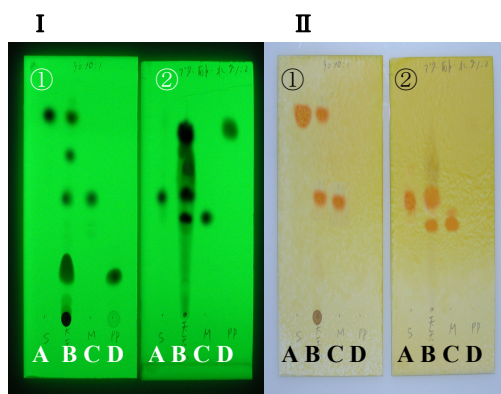


図4. 天天素清脂膠囊のTLCクロマトグラム

I : 紫外線照射, II : ドラージェンドルフ試薬噴霧
① : TLC2, ② : TLC4 (分析条件は表1に記載)
A:シブトラミン, B:天天素, C:マジンドール,
D:フェノールフタレイン

2) HPLC/PDAの結果 HPLCのクロマトを図5に示した。

TLCの結果同様、マジンドール、シブトラミン、フェノールフタレインと保持時間が一致した。「天天素」ではマジンドールとフェノールフタレインの含有量が100倍近く異なり、クロマト上ではマジンドールが極小ピークとなるが、紫外吸収スペクトルをみると、標準品と完全に一致し、確認が可能であった。その他の2成分も同様に一致した。クロマトの上で特に妨害となるピークは認められず、良好な試験結果であった。

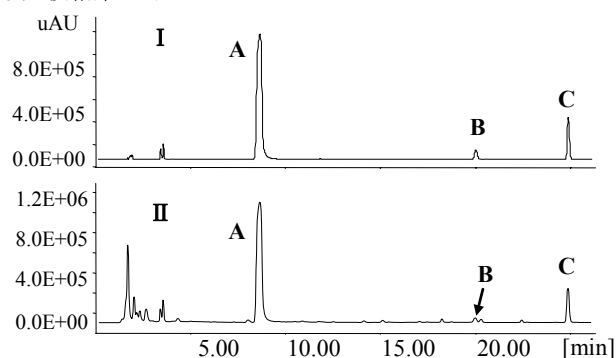


図5. 天天素清脂膠囊のHPLCクロマトグラム

I : 標準溶液, II : 天天素清脂膠囊
A:フェノールフタレイン, B:マジンドール, C:シブトラミン
分析条件: HPLC2 (詳細は表1に記載)

3) HPLC/MSによる確認 本法では多成分の一斉検索を目的としているため、検索対象成分すべてについて、成分個々のHPLC/MSによる確認試験の検討は行っていない。しかし、検索により製品から成分を検出した場合は、精度の高いHPLC/MSなどによる確認試験を通常行っている。そこで、「天天素」について、HPLC/MSを用いた確認を行った。その結果、 m/z 285 (マジンドール), 280 (シブトラミン), 319 (フェノールフタレイン), いずれも $M+H^+$ を検出し、TLC及びHPLC/PDAの結果を裏付ける結果が得られた。

4) 試験結果 「天天素」10検体の結果を表2に示した。含有量は、マジンドール1.2~1.7mg/カプセル、シブトラミン5.6~8.8 mg/カプセル、フェノールフタレイン97~126 mg/カプセルであり、これらはいずれも薬効を現すのに十分な量であった。このように、合成医薬品は比較的検出量に大きな差はなかったが、製品の中には生薬のダイオウを検出するものがあり、製品の成分組成は不統一であった。マジンドールとシブトラミンはどちらも食欲抑制剤であり、フェノールフタレインとダイオウも同様に瀉下剤である。このように、同じ薬効を示すものが重なって含有されていたことにより、作用が大変強力となり、健康被害につながったものと推測される。

表 2. 天天素清脂胶囊の試験結果*

	マジンドール	シブトラミン	フェノールフタレイン	ダイオウ
検体 1	1.5	7.0	123	検出
検体 2	1.5	6.9	119	検出
検体 3	1.7	7.6	126	検出
検体 4	1.3	5.9	106	不検出
検体 5	1.3	5.6	101	不検出
検体 6	1.5	7.0	117	検出
検体 7	1.5	6.7	111	検出
検体 8	1.6	7.3	125	検出
検体 9	1.7	8.8	118	検出
検体10	1.2	6.7	97	検出

* 単位: mg/カプセル

結 論

ダイエット健康食品中に含有される可能性が高い医薬品の検索法について検討したところ、以下のことが明らかとなった。

1. 20成分のうち塩基性・中性成分14種については、クロロホルム/メタノール/アンモニア水系による分離が良好であった。それ以外の成分については、ブタノール/酢酸/水系を用いたTLC分析を実施することとした。この2条件を組み合わせることにより、20成分の検索が可能であった。

2. HPLC/PDAを用いた検索法では、ラウリル硫酸ナト

リウムと臭化テトラブチルアンモニウムをイオン対にそれぞれ用いたグラジェント分析を組み合わせることにより、20成分の検索が可能であった。

3. 「天天素」について本法を適用したところ、マジンドール、シブトラミン、フェノールフタレインを検出し、その含量は1カプセルあたり、マジンドールが1.2~1.7 mg, シブトラミンが5.6~8.8 mg, フェノールフタレインが97~126 mgであった。

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) 守安貴子，岸本清子，蓑輪佳子他：東京衛研年報，**54**，69～73，2003
- 3) 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
- 4) 厚生労働省監修：第十四改正日本薬局方，155，2001
- 5) 浜野朋子，瀬戸隆子，塩田寛子他：東京衛研年報，**52**，43～47，2001
- 6) 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，2005年7月6日