

## LC/MS/MS による「いわゆる健康食品」中の痩身薬の分析

小山和志<sup>1</sup>・月岡 忠<sup>2</sup>・田口泰久<sup>3</sup>・山本明彦<sup>1</sup>  
宮澤正徳<sup>1</sup>・岩松巳佳子<sup>4</sup>・中野文夫<sup>1</sup>・白石 崇<sup>5</sup>

LC/MS/MS, SRM 法を用いて過去に健康被害の発生した「いわゆる健康食品」に配合された痩身用医薬品 10 成分の一斉分析法を検討した。その結果、操作が簡便で選択性、感度及び再現性について良好な分析法が得られた。また、本法を用いて市場流通品でダイエット等の表示のある痩身用の「いわゆる健康食品」の分析を行った。

キーワード：痩身薬, いわゆる健康食品, 液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法 (LC/MS/MS)

### 1. はじめに

近年、食生活の変化や健康志向の高まりとともに、店頭ばかりでなく、テレビ、インターネット等を通じて健康に係る情報もたらされ、市場には多種多様な「いわゆる健康食品」が流通している。また、平成 19 年内閣府食品安全委員会が「いわゆる健康食品」の浸透度合いなどを把握するため、食品安全モニターに対して実施した調査によると、約 7 割が摂取した経験があるとの結果であった<sup>1)</sup>。これらのことから「いわゆる健康食品」はかなり身近なものとなってきていると思われる。

しかしながら、この中には、痩身効果を目的として医薬品成分等が配合されたものがあり、知らずに摂取した人の中には、健康被害にあっている場合もある。実際に、中国製ダイエット用食品等で副作用により、死亡するなど重大な健康被害が発生している<sup>2)</sup>。国では、順次医薬品成分等の分析法を通知しているが十分ではない。

そこで、健康被害の発生した製品に含まれていたシブトラミン、フェンフルラミン等 10 成分について、健康被害の未然防止と原因究明に活用するため、高感度で選択性に優れた液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法 (LC/MS/MS) を用いた一斉分析法の検討を行った。その結果、操作が簡便で感度、選択性及び再現性の良好な分析条件が得られたので報告する。また、この方法を用いて衛生

部薬事管理課で試買した市場流通品の分析を行ったので合わせて報告する。

### 2. 実験方法

#### 2.1 試薬及び標準品

##### 2.1.1 試薬

アセトニトリル：関東化学(株)製, LC/MS 用  
蒸留水：関東化学(株)製, LC/MS 用  
ギ酸：関東化学(株)製, HPLC 用  
その他：残留農薬試験用又は試薬特級

##### 2.1.2 標準品

オリスタット：SIGMA 製  
シブトラミン塩酸塩水和物：ALEXIS 製  
N-ニトロソフェンフルラミン：和光純薬工業(株)製, 薬理研究用  
ピサコジル：SIGMA 製  
フェンテルミン塩酸塩：SIGMA 製  
フェンフルラミン：和光純薬工業(株)製, 生化学用  
マジンドール：SIGMA 製  
センノシド A：和光純薬工業(株)製, 局方生薬試験用  
センノシド B：和光純薬工業(株)製, 局方生薬試験用  
フロセミド：和光純薬工業(株)製, 生化学用

---

1 長野県環境保全研究所 食品・生活衛生部 〒380-0944 長野市安茂里米村 1978  
2 株式会社エスコ 〒381-0006 長野市富竹 173-2  
3 長野県立総合リハビリテーションセンター 〒381-8577 長野市下駒沢 618-1  
4 〒380-0872 長野市南長野  
5 飯田食肉衛生検査所 〒395-0821 飯田市松尾新井 6220-5

2.1.3 標準原液の調製

センノシドA及びセンノシドBは炭酸水素ナトリウム溶液(1→100)<sup>3)</sup>, マジンドールはメタノール, その他はアセトニトリルに溶かして各0.4mg/mLの標準原液を調製した.

2.2 装置及び測定条件

2.2.1 LC条件

LC: 島津製作所(株), Prominence  
 カラム: Cadenza CD-C18 (3.0mmI.D. × 150mm 3μm)  
 移動相: A液; アセトニトリル, B液; 0.1% ぎ酸混液, グラジエント条件は表1に示した.  
 流量: 0.4mL/min  
 カラム温度: 40℃  
 試料温度: 5℃  
 注入量: 5μL

表1 LC グラジエント条件

時間(min)	A (%)	B (%)
0	5	95
1	5	95
25	100	0
30	100	0

A: アセトニトリル, B: 0.1% ぎ酸

2.2.2 MS/MS条件

MS/MS: サーモフィッシャーサイエンティフィック(株), TSQ Quantum Ultra EMR  
 イオン化法: ESI(Electrospray Ionization)  
 シースガス: 50(unit)  
 AUXガス: 25(unit)  
 分解能(FWHM): ユニット分解能; Q1=0.7, Q3=0.7  
 高分解能; Q1=0.1, Q3=0.7  
 SRM(Selected Reaction Monitoring) 個別条件: 表2のとおり

表2 SRM (Selected Reaction Monitoring) 個別条件

	ESI極性	スプレー電圧(V)	チューブレンスオフセット	プレカーサイオン(m/z)	プロダクトイオン(m/z)	コリジョンエネルギー(eV)
フェンテルミン			58	150	133	10
マジンドール			90	285	256	19
フェンフルラミン			78	232	159	24
シブトラミン	(+)	3000(V)	72	280	125	28
ピサコジル			88	362	184	29
N-エトツフェンフルラミン			68	261	187	10
オリスタット			84	496	319	13
センノシドB			-132	861	386	35
センノシドA	(-)	2000(V)	-132	861	386	35
フロセミド			-71	329	285	16

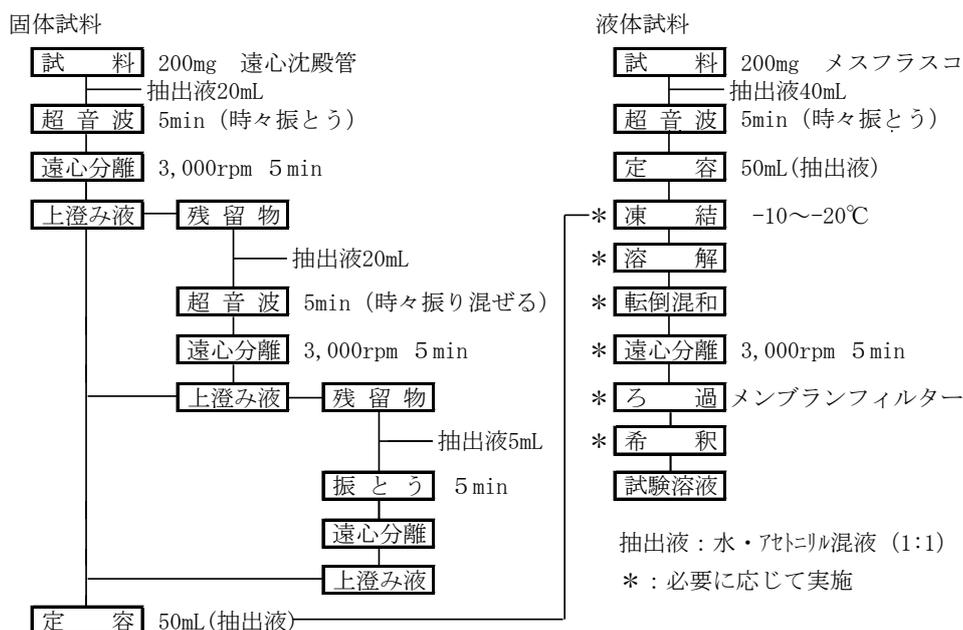


図1 フローシート

### 2.3 試料

試料は衛生部薬事管理課が、長野県内でダイエット等の表示のある痩身用の「いわゆる健康食品」10検体を試買した。内訳は錠剤7検体、粉末2検体、ティーバック1検体であった。

### 2.4 分析操作

錠剤、顆粒剤及び健康茶等の固形試料は、乳鉢で粉碎均一化後、また、軟カプセルの内容物等の液体試料はよく混合した後その約200mgを精密に量り、図1のフローシートに従い試料溶液を調製し、LC/MS/MSで分析を行った。なお、フローシートの\*付きの操作は、必要に応じてクリーンアップとして脱脂が必要な場合や試料に濁りがあるときに実施した。

### 2.5 検量線の作成

表2に示したESIの極性ごとに標準原液を水・アセトニトリル混液(1:1)で希釈し、0.0005～0.2 µg/mLの検量線用混合標準溶液を調製した。この溶液を装置に注入し、ピーク面積を測定し絶対検量線法により検量線を作成した。

## 3. 調査結果および考察

### 3.1 抽出条件

痩身用医薬品の抽出液には、メタノール<sup>4)</sup>やアセトニトリル・水混液(1:1)<sup>5)</sup>等が用いられている。メタノールやアセトニトリルで標準溶液を調製し分析を行うと、ピーク形状が悪化する成分があった。そこで転溶媒や水による希釈等の操作を省略してLC/MS/MS分析できるようにするため、抽出液はアセトニトリル・水混液(1:1)とした。

抽出は超音波と振とうを併用することとした。抽出回数は、健康茶に各成分1 µgを添加し、窒素ガスで乾燥後の試料を用いて検討を行った。その結果、すべての成分について1回目の抽出で95%以上、2回目ではほぼ100%の抽出率が得られた。しかし、センノシドA及びセンノシドBについては、濃度の濃い試料を想定しているが、溶解度が低いため、抽出回数を3回とした。

### 3.2 クリーンアップ法

軟カプセル内容物等の脂肪分の多い試料を水・アセトニトリル混液(1:1)で抽出したところ、試料

溶液が白濁した。遠心分離や0.45 µmのフィルターでろ過を行ったが十分な結果が得られなかったため、脱脂方法を検討した。

脱脂方法はODS法<sup>6)</sup>、n-ヘキサン/アセトニトリル分配法<sup>7)</sup>及び冷凍法<sup>8)</sup>を検討した。その結果、ODS法ではフェンフルラミン等、n-ヘキサン/アセトニトリル分配法ではオリスタット等の回収率の低下がみられたため、安定した回収率が得られ、また、操作の簡便な冷凍法を採用した。

### 3.3 LC/MS/MS 操作条件

#### 3.3.1 LC 操作条件

移動相は、カラム圧が低く溶出力の強い水・アセトニトリル系とし、MS/MSでのイオン化を促進するため、ギ酸を加えた。なお、ギ酸濃度は一般的な0.1%とした。この条件で30分以内に全成分が分離するグラジエント条件等のLC操作条件を決めた。また、マジンドールのピーク形状が時間の経過とともに変化したため、試料温度を下げたところ、この変化が小さくなることが判明したため、試料温度を装置で設定可能な下限値付近の5℃とした。

#### 3.3.2 MS/MS 操作条件

医薬品成分ごと、0.5 µg/mLの水・アセトニトリル混液(1:1)溶液をMS/MSにインフュージョン注入しSRM条件等のMS/MSの最適化を行った。なお、シースガス圧、コリジョンエネルギー等MS/MS操作条件の内の共通条件については、ESIの極性ごとに最も感度の悪い成分の条件、ポジティブモードではマジンドール、ネガティブモードではセンノシドBの条件を採用した。

### 3.4 添加回収試験

分析対象成分が含まれていない健康茶、錠剤及び軟カプセル内容物約200mgに各成分1 µgを添加し、健康茶及び錠剤の場合は、窒素パージにより乾燥後分析を行った(n=3)。その結果を表3に示した。魚油が主成分の軟カプセル内容物については、オリスタットの回収率がやや低めであったが、その他については、回収率、CV(%)共に良好であった。また、クロマトグラム上には、目的成分付近に夾雑物による妨害ピークは認められなかった。健康茶で実施した添加回収試験のクロマトグラムを図2に示した。

表3 添加回収試験の結果

	健康茶		錠 剤		軟カプセル内容物*	
	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)
フェンテルミン	82	2.9	89	4.1	90	2.1
マジンドール	86	9.3	94	2.8	90	2.5
フェンフルラミン	89	2.2	83	1.1	90	2.9
シブトラミン	94	3.2	98	3.6	93	1.1
ピサコジル	100	0.6	101	2.3	98	0.7
N-ニトロソフェンフルラミン	102	3.7	94	2.3	99	0.5
オリスタット	93	1.3	103	5.1	68	5.2
センノシドB	82	2.2	91	7.1	93	3.7
センノシドA	85	1.8	92	1.7	91	3.0
フロセミド	116	3.3	93	9.7	113	5.9

\*：脱脂操作を実施

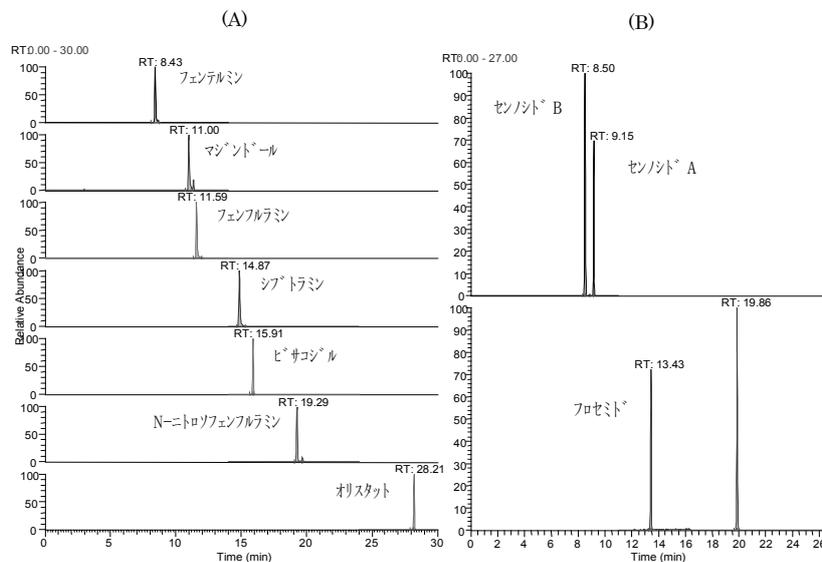


図2 添加回収試験のクロマトグラム：(A) ESI (+)；(B) ESI (-)

### 3.5 検量線

0.0005 ~ 0.2  $\mu\text{g/mL}$  の検量線用混合標準溶液 5  $\mu\text{L}$  を LC/MS/MS に注入し検量線を作成した。N-ニトロソフェンフルラミン、シブトラミン、センノシドA及びセンノシドBは 0.2  $\mu\text{g/mL}$  まで、フェンテルミン、フェンフルラミン、フロセミド及びマジンドールは 0.1  $\mu\text{g/mL}$  まで、ピサコジル及びオリスタットは 0.05  $\mu\text{g/mL}$  までの濃度範囲で決定係数  $R^2 = 0.99$  以上のほぼ原点を通る良好な直線が得られた。代表的な検量線を図3に示した。

### 3.6 検出下限値及び定量下限値

0.005  $\mu\text{g/mL}$  の検量線用混合標準溶液を5回繰り返し注入し、その標準偏差 (SD) から検出下限値 (計算式 =  $3 \times \text{SD}$ )、定量下限値 (計算式 =  $10 \times \text{SD}$ ) を求めた。その結果を表4に示す。

「いわゆる健康食品」中の医薬品成分の添加量は、医薬品として使用されるときのものが基準になるものと思われる。今回、最も定量下限値の高かったマ

ジンドールの用法及び用量は、成人の場合、マジンドールとして 0.5mg を 1日1回昼食前に経口投与されるものである<sup>9)</sup>。1錠 200mg の錠剤にマジンドールが 0.5mg 添加されていると仮定し、今回検討した方法で試料溶液を調製すると、マジンドール濃度は 10  $\mu\text{g/mL}$  となり、定量下限値としては十分であると考えられる。

表4 検出下限値・定量下限値

	検出下限値 ( $\mu\text{g/g}$ )	定量下限値 ( $\mu\text{g/g}$ )
フェンテルミン	0.11	0.37
マジンドール	0.42	1.42
フェンフルラミン	0.07	0.23
シブトラミン	0.08	0.27
ピサコジル	0.15	0.48
N-ニトロソフェンフルラミン <sup>*</sup>	0.14	0.48
オリスタット	0.25	0.84
センノシドB	0.21	0.71
センノシドA	0.21	0.69
フロセミド	0.29	0.97

\*：主ピークの値

### 3.7 実試料の分析

本法で衛生部薬事管理課が県内で試買した市販のダイエット用健康食品 10 検体の分析を行った。その結果、センノシド A 及びセンノシド B を検出した製品が 1 検体あった。当該製品のクロマトグラムを図 4 に示した。濃度は検出下限値を超えていたが、定量下限値未満であった。また、当該品を念のため実体顕微鏡で検鏡したがセンナを確認することはできなかった。

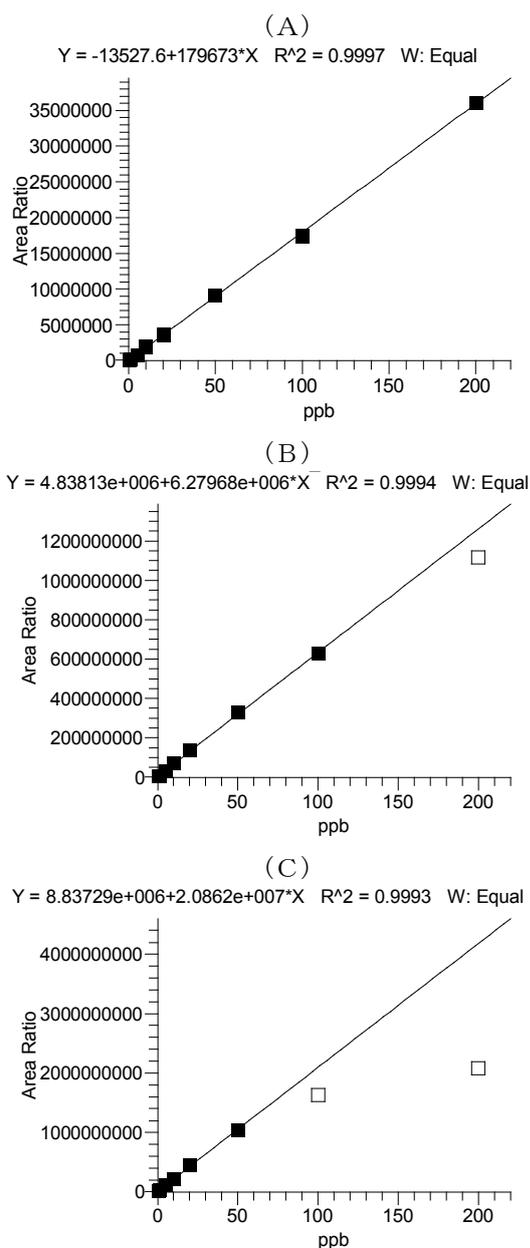


図 3 検量線の例: (A) N - ニトロソフェンフルラミン; (B) フェンフルラミン; (C) ビサコジル

なお、LC/MS/MS (ESI) 分析ではマトリックスによるイオン抑制やイオンエンハンスメン

トが問題となるため、試料抽出液に標準溶液を添加して定量し、マトリックスの影響を確認した。その結果、すべての成分について、定量値が目標値の 72 ~ 122% の範囲であったので、マトリックスの影響をほとんど受けなかったものと思われた。

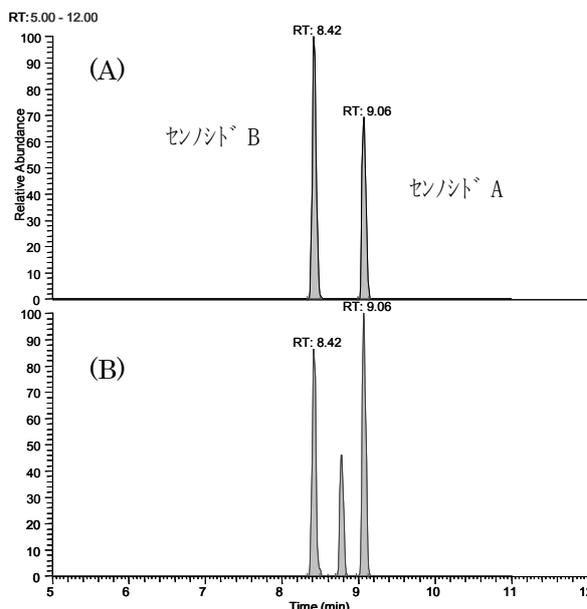


図 4 クロマトグラム: (A) 標準溶液; (B) 試料抽出液

### 4. まとめ

LC/MS/MS による「いわゆる健康食品」中の瘦身効果を目的とする医薬品成分の一斉分析法を検討し、衛生部薬事管理課が、長野県内で試買したダイエット等の表示のある瘦身用の「いわゆる健康食品」10 検体の分析を行った。その結果、1 検体から微量のセンノシド A 及びセンノシド B を検出したが、薬理効果があるほどの濃度<sup>10)</sup>ではなかった。

今回検討した方法は、抽出やクリーンアップ操作が簡便であり、分析の妨げになるような夾雑物ピークも認められず選択性に優れ、また、十分な検出感度を得られたことから有効な試験法と思われる。

今後は、医薬品成分の配合された「いわゆる健康食品」による健康被害の未然防止や原因究明などに本法を活用していきたい。また、医薬品成分の分析対象項目をさらに増やすなどの検討を行い、瘦身効果を標榜する「いわゆる健康食品」中の医薬品成分の実態を把握していきたいと考える。

### 文 献

- 1) 食品安全モニター課題報告「食品の安全性に関

- する用語集等について」(平成 19 年 2 月実施)の結果, 食品安全委員会, 12-21.
- 2) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課無承認無許可医薬品情報 <http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/musyounin.html>
  - 3) 第十五改正日本薬局方, 厚生労働省, 1231-1232.
  - 4) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知(平成 19 年 6 月 19 日付け薬食監麻発第 0619001 号)「脱 N-メチルシブトラミンの分析方法について」
  - 5) 厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課長通知(平成 14 年 7 月 29 日付け医薬監麻発第 0729009 号)「いわゆる健康食品と称する無承認無許可医薬品の監視指導について」.
  - 6) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知(平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号)「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」別添(GC/MS による農薬等の一斉試験法(農産物)).
  - 7) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知(平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号)「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」別添(HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I(畜水産物)).
  - 8) 食品衛生検査指針食品添加物編(2003), (社)日本食品衛生協会, 65-70.
  - 9) サノレックス錠 0.5mg 添付文書, ノバルティスファーマ(株)
  - 10) 国民生活センター商品テスト結果, ダイエットなどをうたった「健康食品」—センナ茎を使った茶類を中心に—.

**Determination of slimming drugs in dietary supplement  
by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS)**

Kazushi KOYAMA<sup>1</sup>, Tadashi TUKIOKA<sup>2</sup>, Yasuhisa TAGUCHI<sup>3</sup>, Akihiko YAMAMOTO<sup>1</sup>,  
Masanori MIYAZAWA<sup>1</sup>, Mikako IWAMATSU<sup>4</sup>, Fumio NAKANO<sup>1</sup> and Takashi SHIRAISHI<sup>5</sup>

- 1 Nagano Environmental Conservation Research Institute, Food and Pharmaceutical Sciences Division,  
1978 Komemura Amori, Nagano 380-0944, Japan.
- 2 Eco Science Corporation,  
173-2 Tomitake, Nagano 381-0006, Japan
- 3 Nagano Prefectural Rehabilitation Center  
618-1 Simokomazawa, Nagano 381-8577, Japan
- 4 Minaminagano, Nagano 380-0872, Japan
- 5 Iida Meat Inspection Laboratory,  
6220-5 Arai Matsuo, Iida 395-0821, Japan.

**Key words :** slimming drugs, dietary supplement, liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS)