

短報

いわゆる健康食品から検出された医薬品成分の立体配置の特定手法の検討

岩橋孝祐, 熊坂謙一

Study on qualitative methods for the configuration of pharmaceutical ingredients, found in dietary supplements

Takahiro IWAHASHI and
Kenichi KUMASAKA

緒言

いわゆる健康食品として販売されている製品の中には違法に医薬品成分を含んでいるものがある¹⁾。そのため、神奈川県では、医薬品成分を混入して販売されている製品の流通防止を図るため、試買検査を実施している。過去の当該検査において、強壮効果目的に使用されるPDE5阻害薬（シルデナフィル、タダラフィル、キサントアントラフィル等）や痩身効果を目的とした成分（5-ヒドロキシトリプトファン（以下、5-HTP）、フェノールフタレイン、ビンポセチン等）を検出し、報告している²⁻⁴⁾。検出された成分は製品によってその含有量も大きく異なり、医薬品としての使用量の10倍以上の量が1包から検出されたこともある⁵⁾。そのうえ、立体異性体を有する医薬品成分については、一般的に立体配置により生理活性が異なる可能性がある⁶⁾ため、想定外の健康被害の発生のおそれがあり、より注意が必要である。また、立体配置の違いにより、名称が変わったり、食薬区分⁷⁾での取り扱いが異なる物質もある⁶⁾ため、行政処分等の対応時にはその立体配置の特定が重要である。しかしながら、立体異性体の中でもエナンチオマーについては、物理的及び化学的性質がほとんど同じであるため、通常の検査で行っているODSカラムを用いた高速液体クロマトグラフィーによる分析ではこれらを分離し、特定することは困難である。そこで、本研究では立体異性体をもつ医薬品成分の中でも神奈川県において検出事例のあるキサントアントラフィル及び

5-HTP（図1）を対象とし、融点測定装置や高速液体クロマトグラフ（以下、HPLC）を用いて、立体異性体の特定手法を検討することとした。

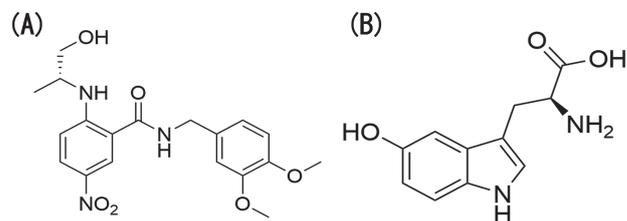


図1 (R)-キサントアントラフィル(A)及びL-5-ヒドロキシトリプトファン(B)の構造式

方法

1. 標準品及び試薬

キサントアントラフィル（R体及びS体）標準品はToronto Research Chemicals製、5-HTP(L体)標準品はナカライテスク製、5-HTP(DL体)標準品はThermo Fisher Scientific製を用いた。試薬類は富士フィルム和光純薬製のものを使用し、メタノールは試薬特級又はHPLC用、リン酸、アセトニトリル及びイソプロパノールはHPLC用、リン酸二水素ナトリウム水和物は医薬品添加物規格、その他試薬類は試薬特級を用いた。また、誘導体化試薬である2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl Isothiocyanate（以下、GITC）は東京化成工業製を使用した。水はアドバンテック東洋製RFV642HAで精製した高純度純水を使用した。

2. 装置及び測定条件

融点測定装置は東京インスツルメンツ製MPA100型OptiMeltを用いて昇温速度を1.0°C/minとし、融点を日本薬局方の一般試験法に準じて目視で判定するとともに、参考として輝度を確認した。

HPLCはPDA検出器を接続したWaters製ACQUITY UPLC H-Class PLUSシステムを使用し、それぞれ測定条件を検討した。表1にキサントアントラフィルの、表2に5-HTPのキラルカラムの測定条件を示した。また、表3には5-HTP誘導体について、強壮を目的とした成分の分析に関する通知⁸⁾を参考に作成した、ODSカラムを用いた測定条件を示した。なお、本条件は試買検査において、スクリーニング検査の測定条件としている。

3. 試料の調製（融点測定用）

融点測定はR体及びS体のキサントアントラフィルをそれぞれクロロホルムで溶解し、測定溶液とした。R体、S体それぞれの測定溶液及びR体、S体測定溶

表1 キサントアントラフィルのキラルカラム HPLC 測定条件

装置	ACQUITY UPLC H-Class PLUS (Waters製)
カラム	SUMICHIRAL AGP (住化分析センター製) 2.0 mm I.D. × 100 mm, 粒子径 5 μm
カラム温度	25°C
移動相	0.1 mol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) / イソプロパノール (90:10)
流量	0.2 mL/min
標準溶液濃度	0.1 mg/mL (メタノール溶液)
注入量	1 μL
検出器	ACQUITY UPLC eλ PDA Detector (検出波長 393 nm, 測定波長 200–500 nm)

表2 5-HTP のキラルカラム HPLC 測定条件

装置	ACQUITY UPLC H-Class PLUS (Waters製)
カラム	SUMICHIRAL OA-6100 (住化分析センター製) 4.6 mm I.D. × 150 mm, 粒子径 5 μm
カラム温度	25°C
移動相	2 mmol/L 硫酸銅水溶液 / メタノール (90:10)
流量	1.4 mL/min
標準溶液濃度	4 mg/mL (水溶液)
注入量	3 μL
検出器	ACQUITY UPLC eλ PDA Detector (検出波長 275 nm, 測定波長 200–400 nm)

表3 5-HTP 誘導体の ODS カラム HPLC 測定条件

装置	ACQUITY UPLC H-Class PLUS (Waters製)
カラム	ACQUITY UPLC HSS T3 (Waters製) 2.1 mm I.D. × 100 mm, 粒子径 1.8 μm
カラム温度	40°C
移動相	A: 0.1% リン酸水溶液 B: アセトニトリル
グラジエント送液条件	(A:B) 95:5 (1 min) → 71:29 (9 min) → 17:83 (18–23 min)
流量	0.45 mL/min
試料溶液濃度	0.05 mg/mL (アセトニトリル溶液)
注入量	1 μL
検出器	ACQUITY UPLC eλ PDA Detector (検出波長 254 nm, 測定波長 200–400 nm)

液を等量混合した液をマイクロシリンジで融点測定用毛細管にキサントアントラフィルの量が約 30 μg となるよう注入し、減圧乾燥により溶媒を除去した後、少量の水で同様の操作を繰り返し、毛細管に詰めた。

4. キラルカラム分析用標準溶液の調製

キラルカラムによる分析では、方法1に示した各標準品を用い、表1、表2に示した濃度となるようそれぞれの溶媒で溶解、希釈し、標準溶液とした。さらに、キサントアントラフィルはR体、S体がそれぞれ表1の濃度となるようそれぞれの溶液を等量加え、混合溶液とした。

5. 5-HTP の誘導体化

5-HTP の各標準品を 0.5 mg/mL の濃度となるよう 0.2% トリメチルアミン含有の水 / アセトニトリル (1:1) に溶かし、0.2% GITC アセトニトリル溶液と 1:1

の割合で混合し、30分間室温で反応させた。この液をアセトニトリルで5倍に希釈し、試料溶液とした。

結果及び考察

1. 融点

キラル化合物の融点については、結晶構造の違いとエナンチオマーの混合存在比による融点の変化が知られている⁹⁾。今回、キサントアントラフィルについて、R体及びS体各標準品の融点並びに混合物の融点を確認した。入手できた標準品の量が少なかったことから、日本薬局方の一般試験法に準じた測定ができなかった。そのため、溶液化し微量の試料を毛細管に詰めて測定した。R体及びS体はそれぞれ約128°Cで液化したが、R、S体混合物は約77°Cで液化し、輝度にも明確な変化がみられた(図2)。熊坂らによる報告²⁾では旋光度の測定で立体配置を確認しているが、本法では、より少ない試料での測定が可能であった。旋光度測定と同様に検体からの単離及び精製は必要であるものの、含有量が少ない検体の場合、本法による分析が有用であると考えられた。なお、D-5-HTPは入手できなかったため、5-HTPについては混合による融点の変化を確認することはできなかった。しかしながら、融点変化の有無による立体配置の確認は、他の化合物にも応用可能と考えられた。

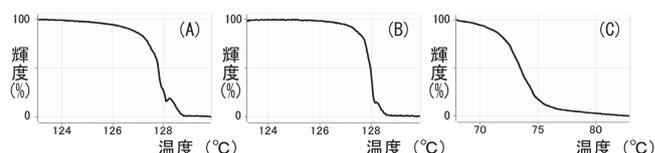


図2 キサントアントラフィル融点測定による輝度の変化

(A) R体, (B) S体, (C) R, S体混合

2. キラルカラムによる分析

酸性、塩基性、中性化合物と幅広い化合物を分離対象化合物とした α 1-acid glycoprotein をキラルセクターに用いたカラム(表1)及びアミノ酸を分離対象化合物としたL-酒石酸、(S)-バリン、(S)-1-(α -ナフチル)エチルアミンをキラルセクターに用いたカラム(表2)を用いて各移動相で条件検討を行った。その結果、キサントアントラフィル及び5-HTPは表1、表2に示した条件で、それぞれキサントアントラフィルのR体、S体あるいは5-HTPのD体、L体を明確に分離することが可能となった(図3、図4)。5-HTPについては、カラムメーカーから類似化合物のトリプトファンを硫酸銅水溶液及びアセトニトリル

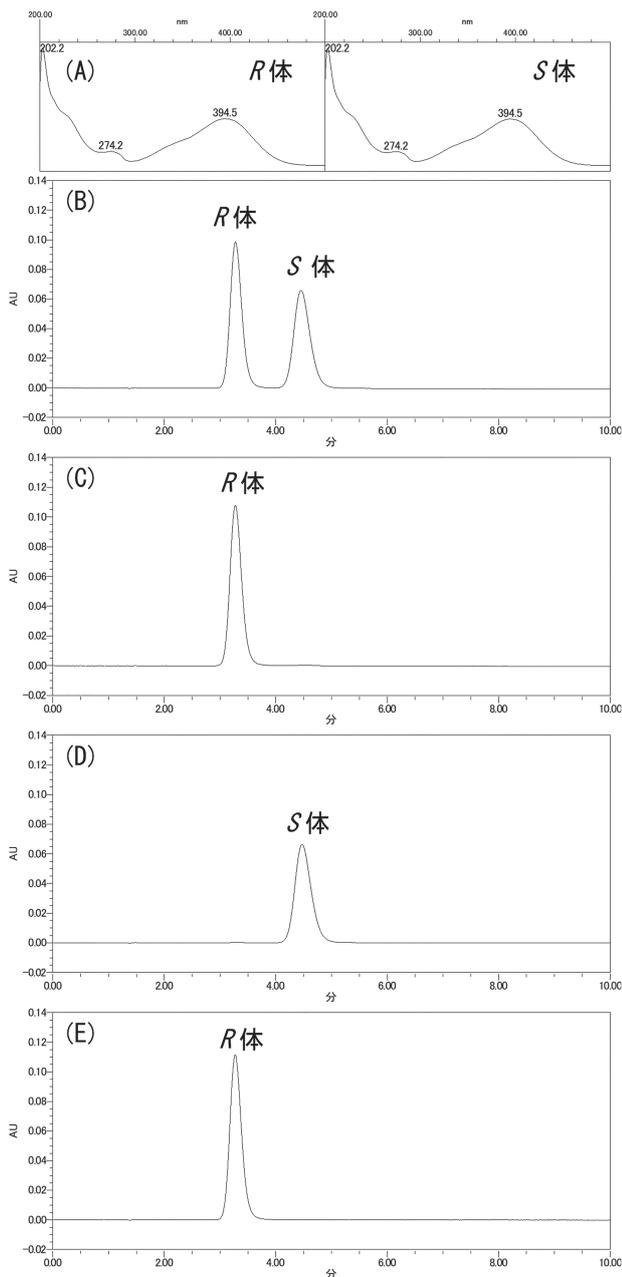


図 3 キラルカラム分析によるキサントアントラフィルの LC/PDA のスペクトル及びクロマトグラム

- (A) R 体及び S 体混合溶液から得られた各ピークの PDA スペクトル
- (B) R 体及び S 体混合溶液のクロマトグラム
- (C) R 体のクロマトグラム
- (D) S 体のクロマトグラム
- (E) 他メーカーからラセミ体として販売されていた試薬のクロマトグラム

を用いた分離条件が示されていたが、同条件では分析ができず、移動相に使用する有機溶媒をアセトニトリルからメタノールに変更したところ、分析可能となった。また、他のメーカーからラセミ体、DL 体として販売されていた試薬について、同様に分析したところ、

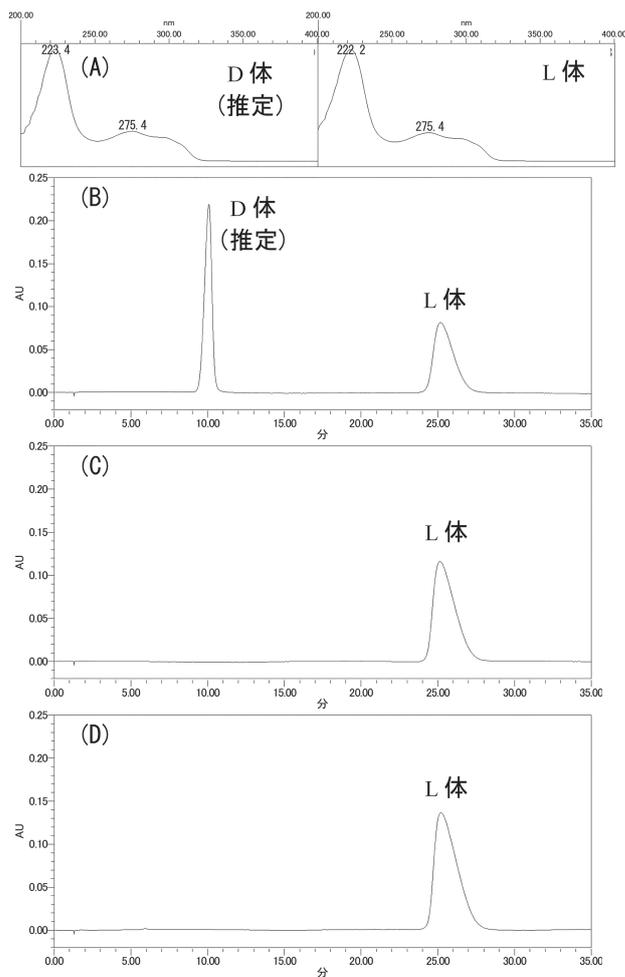


図 4 キラルカラム分析による 5-HTP の LC/PDA のスペクトル及びクロマトグラム

- (A) DL 体から得られた各ピークの PDA スペクトル
- (B) DL 体のクロマトグラム
- (C) L 体のクロマトグラム
- (D) 他メーカーから DL-5-HTP として販売されていた試薬のクロマトグラム

それぞれ (R)-キサントアントラフィル及び L-5-HTP のみが含まれていた (図 3(E), 図 4(D)). 5-HTP については、D 体の標準品を入手することができなかったが、DL 体を分析したところ、L 体のピークと面積値及び PDA スペクトルが一致する D 体と推定されるピークが得られた (図 4(B)).

3. ジアステレオマー誘導体化試薬による分析

キサントアントラフィル及び 5-HTP 中のヒドロキシ基またはアミノ基を対象とし、キラル誘導体化試薬を用いてエナンチオマーをジアステレオマー化することにより、汎用される ODS カラムによる分離が可能か検討を行った。本研究では、キサントアントラフィルをジアステレオマー化する条件の確立には至らなかった。一方、5-HTP では、GITC による誘導体化で、

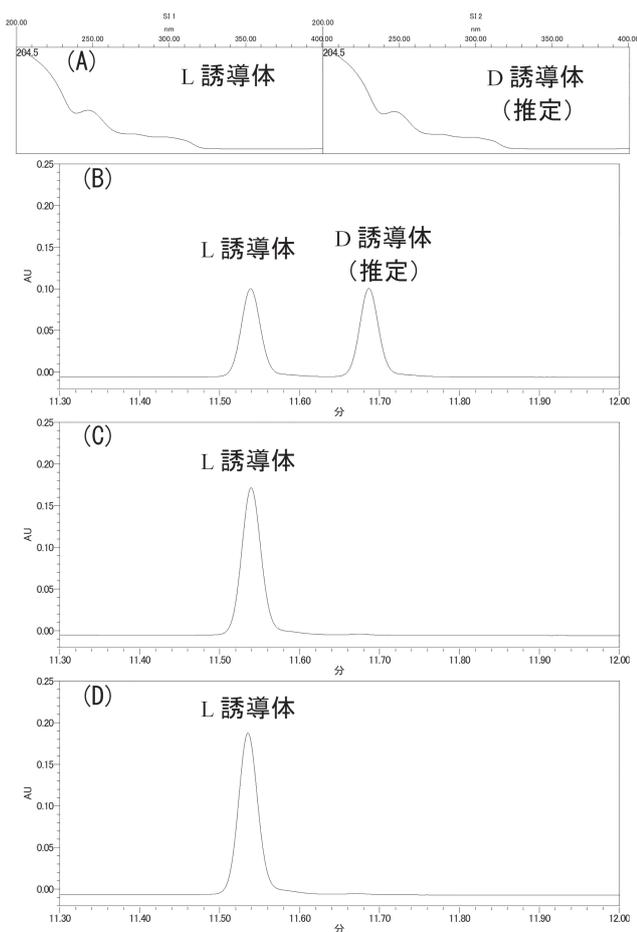


図5 5-HTP 誘導体の ODS カラム分析

- (A) DL 誘導体から得られた各ピークの PDA スペクトル
 (B) DL 誘導体のクロマトグラム
 (C) L 誘導体のクロマトグラム
 (D) 他メーカーから DL-5-HTP として販売されていた試薬を誘導体化したもののクロマトグラム
 ※ 23 分の分析中 11.3 分から 12.0 分を拡大した。

ODS カラムによる分離が確認できた (図 5)。また、5-HTP は極性が高く、ODS カラムでは保持が弱い、誘導体化することにより、適度な保持時間で検出できるようになった。同様に他のメーカーから DL 体として販売されていた試薬について分析したところ、L-5-HTP のみが含まれていたことを確認した (図 5(D))。2. の結果と併せて、試薬を定性用の標準品として使用する場合、選定について注意が必要であるとともに、健康食品に添加される違法な医薬品成分は、業者さえ想定していない立体配置であるおそれがあると示唆された。5-HTP については、検体に含まれる夾雑成分による影響を考慮する必要があるが、高価なキラルカラムを使用せずに、より低い濃度で立体配置を特定できた。

まとめ

当県でいわゆる健康食品から検出された事例のあるキサントアントラフィル及び 5-HTP について、標準品を用いて立体配置を特定する分析法を検討し、融点測定、キラルカラム及び誘導体化による分析条件を構築できた。キラルカラムを用いた分析では、キサントアントラフィル及び 5-HTP において、エナンチオマーとの良好な分離条件が確立できた。しかしながら、キラルカラムによる立体配置の特定には、高価なキラルカラムや、各カラムメーカーとの相談のうえの各種移動相等の分離条件の検討が必要であり、それでもなお分離条件を確立できるとは限らない。そのため、比較的安価な融点測定やジアステレオマー誘導体化による分析法も有用であると考えられる。キサントアントラフィルの融点測定では、旋光度の測定と同様に検体からの抽出、精製が必要となるものの、微量でも各エナンチオマー及びその混合による融点の明確な変化が確認できた。また、5-HTP を誘導体化することで、ODS カラムによる分離も可能であった。いわゆる健康食品の試験検査では検査対象である医薬品成分の含有量以外にも多種多様な夾雑成分による影響を考慮する必要があるが、今回検討した方法はキサントアントラフィル及び 5-HTP の立体配置の特定に有用であると考えられた。また、キラル分析を行う際は、定性用の標準品として使用する試薬の選定、確認にも注意が必要であると考えられた。

(令和 7 年 7 月 2 日受理)

文献

- 1) 神奈川県ホームページ：健康食品等による健康被害について <<https://www.pref.kanagawa.jp/docs/n3x/yakumu/info/kenkoushokuhin.html>>(2025/05/08 アクセス)
- 2) Kenichi KUMASAKA, Nobuo KAWAHARA, Kayo DOI, Takashi KOJIMA, and Yukihiro GODA :Determination of (R)-Xanthoanthrafil, a Phosphodiesterase-5 Inhibitor, in a Dietary Supplement Promoted for Sexual Enhancement, Chem. Pharm. Bull, **56**(2), 227-230 (2008)
- 3) 厚生労働省ホームページ：医薬品成分を含有する製品の発見について <https://www.mhlw.go.jp/content/11126000/Kanagawa-press_2.pdf> (2025/05/08 アクセス)
- 4) 岩橋孝祐, 羽田千香子, 外館史祥, 甲斐茂美, 大橋直彦, 桑原千雅子：いわゆる健康食品からピン

ポセチンが検出された事例, 神奈川県衛生研究所
研究報告, 53, 47-50 (20)

- 5) 東京都ホームページ: 医薬品成分を含有する製品の発見について<<https://www.metro.tokyo.lg.jp/information/press/2024/08/2024080604>> (2025/05/08 アクセス)
- 6) 小林 俊哉, 石崎 哲章, 佐々木 良祐, 安藤 利典, 樋野 千寿: 超臨界流体クロマトグラフによるメトルフランの光学異性体の分離, 関税中央分析所報, 57, 85-89 (2017)
- 7) 食薬区分における成分本質 (原材料) の取り扱いの例示, 薬生監麻発 0331 第9号, 令和2年3月31日
- 8) ヒドロキシチオホモシルデナフィルの分析方法について, 薬食監麻発 0301 第8号, 平成 22 年3月1日
- 9) 桶谷 龍成, 久木 一郎: キラル化合物の融点相図の作成と結晶化による光学分割への適用, 熱測定, 51(2), 78-84 (2024)