

厚生労働行政推進調査事業費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス

政策研究事業

無承認無許可医薬品の調査・分析及び
量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究

平成 28 年度 総括・分担研究報告書

(H27-医薬-指定-010)

研究代表者 袴塚 高志

平成 29 (2017) 年 3 月

目 次

I.	総括研究報告書		
	無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究		
	袴塚 高志	1
II.	分担研究報告書		
A.	<u>食薬区分判定の申請を受けた成分本質に関する検討</u>		
1.	無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究		
	「専ら医薬品」の調査に関する研究		
	合田 幸広	13
B.	<u>食薬区分のグレーゾーンに位置する植物体及び化合物に関する検討</u>		
2.	無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究		
	C型肝炎治療薬ハーボニー配合錠の偽造品に関する成分分析		
	袴塚 高志・内山 奈穂子	19
3.	無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究		
	日本国外で流通する何首烏及び関連生薬の基原種調査		
	袴塚 高志・佐藤 直子	37
4.	無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究		
	<i>Cynanchum</i> 属および <i>Polygonum</i> 属植物に由来する『何首烏』の組織形態学的研究(1)		
	丸山 卓郎・山路 誠一・吉田 和範・赤坂 優駿	47
5.	無承認無許可医薬品の調査と分析に関する研究		
	3次元蛍光スペクトルを用いた <i>Pueraria mirifica</i> 含有健康食品の品質評価について		
	丸山 卓郎	57
6.	無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究		
	<i>Cassia</i> 属植物ハネセンナ及びセンナの鑑別に関する研究		
	袴塚 高志・内山 奈穂子・徳本 廣子	73
7.	無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究		
	健康食品中から見出された新規 ED 治療薬類縁体の文献調査について		
	丸山 卓郎	81

8.	無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究 N-Cyclopentyl nortadalafil 及び dipropylaminopretadalafil の LC-PDA- MS 分析について 丸山 卓郎	93
9.	無承認無許可医薬品の調査と分析に関する研究 大塚 英昭	103
C.	<u>量的概念に基づく判定基準に関する検討</u>		
10.	量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究 袴塚 高志・丸山 卓郎・合田 幸広・西川 秋佳・ 小川 久美子・内山 奈穂子	109
D.	<u>専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直し</u>		
11.	無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究 専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直しに関する研究 丸山 卓郎・袴塚 高志	113
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	125

無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む 専ら医薬品の規制に関する研究

研究代表者 袴塚高志 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長

研究要旨

無承認無許可医薬品は、医薬品としての承認や許可がないにもかかわらず、医薬品としての目的性を持たせた製品であり、これらの流通により、適正な医療機会の喪失等、様々な健康被害が予想される為、医薬品医療機器等法により、その製造、販売、授与、広告が禁止されている。本研究は、これら製品の流通を防ぎ、国民の健康・安全を確保する目的で行われる。

まず、我が国の「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」に例示される成分であるかどうか、依頼のあった天然物8品目の本質について、文献調査等を行った。アドニス属、コイケマ、ムラサキムカシヨモギを除き、非医薬品成分であるものと考えられた。アドニス属については、強心配糖体の有無と種の定義が重要、コイケマについてはステロイドアルカロイドの有無、ムラサキムカシヨモギについてはピロリチジンアルカロイドの存在から、専ら医薬品と判断される可能性があり、医薬品の成分本質ワーキンググループでの議論が重要と考えられた。

また、平成29年1月、医薬品の卸売販売業者及び薬局を通じてC型肝炎治療薬「ハーボニー配合錠」の偽造品が流通する事案が発生した。これを受けて、これら偽造品の実態把握のため、GC-MS、高分解能LC-MS及びNMRによる分析を行い、さらに、検体の形状などから類推された市販製品と直接比較した結果、国内流通のサプリメントの可能性が高いものが検出された。別の製品からは、グリチルリチンやエフェドリンなどの生薬成分が検出され、類推された市販製品と直接比較した結果、国内流通の鼻炎、感冒などに使用する漢方製剤の可能性が高いものと推定された。

さらに、何首烏は日本薬局方収載生薬のひとつであり、古くから強壯、解毒、補血、緩下のために用いられている。一方、韓国では何首烏の代わりに白首烏が使用されてきたが、近年これと形態のよく似た異葉牛皮消との誤用が問題となっている。現在のところ、日本に医薬品として流通しているのは何首烏のみであり、白首烏及び異葉牛皮消の誤用は報告されていないが、今後日本でも白首烏配合製品が流通する可能性が高く何首烏と誤用される危険性も高まるため、中国市場において何首烏、白首烏、異葉牛皮消として流通する生薬の基原種について、成分と遺伝子の両面から調べ実態を調査した。その結果、中国市場で何首烏として流通するのは基原種に誤りはなく、一方で、白首烏と異葉牛皮消は基原種に混乱がみられた。

さらに、日本薬局方『何首烏』はタデ科 Polygonaceae ツルドクダミ *Polygonum multiflorum* Thunberg の塊根を用いる生薬であるが、国外の生薬市場ではガガイモ科 Asclepiadaceae のイケマ *Cynanchum* 属植物塊根由来の『白首烏』が同類生薬として流通している。こうした生薬による有害性評価および規制範囲の検討に資する知見を得る目的で *Cynanchum* 属および *Polygonum* 属植物由来と考えられた生薬の組織形態について検討した。その結果、検討した試料からは *C. auriculatum*, *C. wilfordii*, のほか *C. bungei* 由来品と考えられる基原植物が

見出された。各試料では乳管が確認された一方、種によりその多寡に差が認められた。木部内には外師包囲型の異常維管束が認められ、二次組織群の形状が直線状、くさび形、楕円形を呈していた。これらの形態は Polygonum 属由来品の形態とは全く異なっていた。このように Cynanchum 属由来生薬の鑑別では、根の横切面の観察は有用であった。

また、ハネセンナはキャンドルブッシュ等の別名で、便秘の解消などに効果があるとして健康食品として用いられている。一方、類似の植物として挙げられるセンナは、医薬品的効能効果を標榜しない限り、医薬品として判断しない成分本質（非医薬品）として扱うことのできるものが茎のみであるにもかかわらず、茎を用いた市販製品中に、「専ら医薬品」である小葉や葉軸、果実などが混入している例がある。ハネセンナに医薬品成分（センナの葉や葉軸、果実）が混入することも視野に入れ、両者の鑑別の基準を作成しておく必要があった。そこで鏡検によりハネセンナ及びセンナについて各部位の特徴を検討したところ、製品中にハネセンナ *Cassia alata* が使用されていることは、下面表皮の乳頭状突起を検出することで容易に鑑別できるが、同時にセンナが混入しているような場合、現段階で明らかにされている組織の特徴だけでは、ハネセンナとセンナを鑑別する明確な判断基準がないことが明らかとなった。

また、3次元蛍光スペクトルを用いた健康食品製品の品質評価法の基礎検討として、タイ産生薬である *Pueraria mirifica* (PM) の含有が表示されている健康食品に対して、同分析を行った。その結果、スペクトルデータを主成分分析することにより、正しく PM を含有する製品とそれ以外の偽品及び「専ら医薬品」に分類される同属植物、カクコンとを区別可能であった。

さらに、強壯用健康食品中に ED 治療薬類縁体が混入され、このものを原因とすると考えられる健康被害が発生していることや、近年では、インターネットを介して ED 治療薬を購入するケースもあることから、健康食品中からの単離が報告されている新規 ED 治療薬類縁体について文献調査を行った。2015 年以降、韓国、台湾、米国、シンガポールの 4 カ国から、計 10 化合物が報告されており、その内訳は、9 化合物が tadalafil 誘導体、残り 1 化合物は、sildenafil 誘導体であった。

また、強壯用健康食品への添加が危惧される ED 治療薬アナログ 2 種 (*N*-cyclopentyl nortadalafil 及び dipropylaminopretadalafil) への対応に備え、両化合物の標準品を購入し、各種機器分析データ及び LC-PDA-MS 分析法をまとめた。

バンレイシ科植物であるトゲバンレイシ (*Annona muricata*) の果実は美味で可食であり、その葉を一部カリブ海沿岸地方で茶として飲用する習慣を持っているが、時として Parkinson 病的症状を呈することが報告されているため、成分研究を行ったところ、新規カロラン型セスキテルペン 1 種を含む 15 種の化合物が単離され、化学構造が決定された。

食経験の延長線上で議論することが困難な濃度まで原材料を濃縮して製造される健康食品の出現に対応して、その食薬区分の判定に、成分本質そのものの判断に加えて、量的な概念に基づく判定基準を導入できるかどうか検討している。今年度は、ゲニポシド及びそれを含有するクチナシの毒性情報について調査研究を行った。その結果、ゲニポシド自身に強い毒性を示す情報は見出されず、また、ゲニポシドを含むクチナシ色素についても、強い毒性を示す情報は見出されなかった。以上より、現状ではゲニポシドについて量的規制を設定するための科学的根拠は乏しい状況と思われた。

昨年度に引き続き、専医リスト及び非医リストについて、見直しの必要性をチェックした。その結果、後者のリストの内、専医リストへ移行すべき品目として、コンフリーとセイヨウアカネの2品目が見出された。また、移行を検討すべき品目として11品目、基原が混乱しているもの3品目、範囲が不明瞭なもの6品目が認められた。

研究分担者

合田 幸広 国立医薬品食品衛生研究所
薬品部長
丸山 卓郎 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部第一室長
大塚 英昭 安田女子大学薬学部教授
西川 秋佳 国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター長
小川久美子 国立医薬品食品衛生研究所
病理部長

A. 目的

無承認無許可医薬品は、医薬品としての承認や許可がないにもかかわらず、医薬品としての目的性を持たせた製品であり、これらの流通により、適正な医療機会の喪失等、様々な健康被害の発生が懸念される。また、近年、原材料を高濃度に濃縮して製造する健康食品が見受けられることから、従来の成分本質そのものの判断に加え、量的な概念も含めた医薬品成分の規制の在り方について検討することが必要である。さらに、平成26年6月12日より一般用医薬品のインターネット販売が可能となったことから、それに乗じた質の悪い健康食品の流通量の増加も懸念されている。

このような状況において本研究では、通常のルートを通じて新規に申請のあった成分本質（原材料）については、基原植物、医薬品としての使用実態、含有成分、毒性データ、麻薬・向精神薬・覚せい剤様作用等を調査し、また、市場で流通するグレーゾーンの植物体及び化合物については、さらに含有成分の単離同定、薬理活性の予測等を行い、専ら医薬品に分類す

べきであるか検討し、無承認無許可医薬品の監視・取締りを念頭に、必要であれば分析法等を開発する。一方、食経験の延長線上で議論することが困難な濃度まで原材料を濃縮して製造される健康食品に関して、その食薬区分の判定に、成分本質そのものの判断に加えて、いかにして量的な概念に基づく判定基準を導入するか検討する。また、「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」及び「医薬品的効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質（原材料）リスト」について、原材料の基原や使用部位、名称、別名を中心として見直しを行う。

B. 研究方法

B-1. 食薬区分判定の申請を受けた成分本質に関する検討

無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究「専ら医薬品」の調査に関する研究」として、主に以下の①～⑩の調査項目について検討した。

- ①名称、他名等、部位等、備考
- ②学名、基原植物和名等、生薬名、英名等
- ③医薬品としての使用実態があるか
- ④毒性データ
- ⑤アルカロイド、毒性タンパク、毒薬劇薬指定成分等を含むか
- ⑥麻薬、向精神薬及び覚醒剤様作用があるもの（類似化合物も含む）及びその原料植物であるか
- ⑦主要な二次代謝産物等
- ⑧主要な生理活性
- ⑨その他注意すべき点

⑩指定医薬品または要指示医薬品に相当する成分を含むか

また、本調査では、原著論文以外に、主に以下の参考文献を使用した。

- 1: 日本薬局方(16局及び16局第一, 第二追補)
- 2: 日本薬局方外生薬規格 2015
- 3: (新訂) 和漢薬, 医歯薬出版(赤松金芳)
- 4: 中薬大辞典, 小学館
- 5: The Complete German Commission E Monographs Therapeutic Guide to Herbal Medicines, The American Botanical Council (Com E)
- 6: Botanical Safety Handbook, American Herbal Products Association
- 7: Dictionary of Plant Toxins, Jeffery B. Harborne FRS, Herbert Baxter, Willey
- 8: WHO Monographs on Selected Medicinal Plants
- 9: ブラジル産 薬用植物事典(橋本梧郎)
- 10: 和漢薬百科図鑑(難波恒雄)
- 11: 原色牧野和漢薬草大図鑑, 北隆館
- 12: (原色) 牧野植物大図鑑: 北隆館
- 13: 日本の野生植物, 平凡社
- 14: 園芸植物大辞典, 小学館
- 15: 世界の植物, 朝日新聞社
- 16: 中国薬典 2015

B-2. 食薬区分のグレーゾーンに位置する植物体及び化合物に関する検討

無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究「C型肝炎治療薬ハーボニー配合錠の偽造品に関する成分分析」として、奈良県内の薬局で見つかったハーボニー配合錠の偽造品5製品・計7検体(全て錠剤)について分析を行った。各検体を粉碎した後、メタノールを加えて超音波処理し、フィルターろ過したものを試料原液とし、試料原液は適宜希釈し試料溶液とした。対照品として、ギリアド社より提供された正規品(ハーボニー®配合錠, ソバルディ錠®)及びその有

効成分であるソホスブビル(Sofosbuvir), レジパスビル(Ledipasvir)の標品を使用した。分析にはGC-MS、高分解能LC-MS及びNMRを用いた。

また、無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究「日本国外で流通する何首烏及び関連生薬の基原種調査」として、国内生薬メーカーを通じて入手した何首烏, 白首烏および異葉牛皮消(耳葉牛皮消)について、高性能薄層クロマトグラフィー(HPTLC)による成分分析を行った。また、生薬試料よりDNAを抽出し、核rDNAのInternal transcribed spacer region(以下ITS領域)、葉緑体DNA *trnL-trnF* intergenic spacer(*trnL-trnF*領域)、葉緑体DNA *trnH-psbA* intergenic spacer region(*trnH-psbA*領域)をPCR増幅して塩基配列解析を行い、これら配列について、BLAST相同性検索により基原種を推定した。白首烏の基原植物を公に定義しているのは韓国のみである。中国の薬局方である中国薬典には白首烏, 異葉牛皮消ともに中国薬典への掲載はないが、中国で扱われる生薬を記載している中薬大辞典には両生薬に関する記述がある。これによると、白首烏[bai-shou-wu]の基原植物は*C. auriculatum* Royle ex Wightとされており、韓国で白首烏の基原植物とされる*C. wilfordii*の根は隔山消[ge-shan-xiao]と記されていた。さらに、白首烏の別名として隔山消が、隔山消の別名として白首烏が挙げられており、両生薬の区別が曖昧であることが推察されたうえ、どちらかといえば*C. auriculatum*の根が白首烏として認識されているように思われた。中国から報告された白首烏を題材とした科学論文でも、*C. auriculatum*と*C. wilfordii*の両方がbai-shou-wu(白首烏)の基原として記述されていた。本研究で用いた検体はすべて中国産であったため、白首烏として購入したほとんどの生薬でその基原種が異葉牛皮消のものと入れ替わるという現象が起こったと考えられる。今後、韓国産の白首烏や

異葉牛皮消の遺伝子についても検討するべきであろう。

また、無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究「*Cynanchum* 属および *Polygonum* 属植物に由来する『何首烏』の組織形態学的研究 (1)」として、中国と韓国市場で流通していた『白首烏』、及び白首烏と同様イケマ (*Cynanchum*) 属植物の塊根由来と考えられた『耳葉牛皮消(耳叶牛皮消)』の塊根相当部分について検討した。同時に『何首烏』試料についても検討した。組織形態の観察は、主として横切片を作成して行った。包埋した切片は光学顕微鏡下にて観察した。

さらに、無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究「*Cassia* 属植物ハネセンナ及びセンナの鑑別に関する研究」として、ハネセンナ (*Cassia alata*) 及びセンナ (*Cassia acutifolia* 及び *Cassia angustifolia*) について、国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 薬用植物資源センター 種子島研究部より供与された栽培品の植物体の一部(花、植物体上部の主茎と葉、植物体中部の主茎と側枝および側枝の葉、植物体下部の主茎)を使用した。また、ハネセンナ *C. alata* を主原料とする旨表示のあるティーバッグ並びにタブレットの市販製品各 1 製品を入手し使用した。栽培品は、数か所の側枝から得た小葉を用い、その中央部の上面及び下面の表皮をピンセットで剥離して試料とし、鏡検した。一方、市販製品は表皮のみを剥離することが困難であったため、乳棒と乳鉢を用いて粉末を作成して鏡検した。

また、無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究「3次元蛍光スペクトルを用いた *Pueraria mirifica* 含有健康食品の品質評価について」では *Pueraria mirifica* 含有表示健康食品として従前の研究で遺伝子解析を行った製品、及び新たに購入した市場に流通する製品、及び参照試料として粉カッコン、カッコン、各種デンプン入手して検討した。各試料粉末に

メタノールを加え、振とう抽出後、遠心して、上清をとり、これを試料溶液とし、3次元蛍光分光スペクトル(蛍光指紋)を測定した。さらに、得られた3次元蛍光スペクトルのデータの中から、励起波長未満の蛍光波長、励起波長と等しい蛍光波長、励起波長+2, 4, 6, 8 及び 10 nm の蛍光波長、そして励起波長 200, 210, 220 nm に対する蛍光波長を除いた部分を用いてデータマトリクスを作成し、多変量解析ソフトウェア SIMCA-14 (インフォコム) により、主成分分析を行った。また、試料粉末に、酢酸エチルとエチルパラベンを加えて超音抽出後、上清を回収し、LC-MS 分析に供した。得られたクロマトグラムから、PM に特徴的な成分である Kuwakhurin ($[M-H]^-$ $m/z=367$) のピーク面積値を、内部標準物質として加えたエチルパラベン ($[M-H]^-$ $m/z=165$) のピーク面積値で標準化した数値を求めて、主成分得点との相関を調べた。

さらに、無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究「健康食品中から見出された新規 ED 治療薬類縁体の文献調査について」として、Google Scholar を用い、"sildenafil" / "vardenafil" / "tadalafil" と "dietary supplement" でコンビネーション検索し、2015 年以降の報告を抽出した。また、国立医薬品食品衛生研究所安全情報部が発信する「食品安全情報」における Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) についても、2015 年以降のものを確認した。

また、無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究「*N*-Cyclopentyl nortadalafil 及び dipropylaminopretadalafil の LC-PDA-MS 分析について」として、標準品をメタノールに溶解し、LC-PDA-MS 分析に供した。

さらに、タイ王国で採集されていたカーラウエーク (*A. siamensis*) の葉を粉碎し、メタノールで抽出し、濃縮残渣を水に懸濁して、EtOAc で分配して EtOAc 可溶画分と水可溶画分を得た。

B-3 量的概念に基づく判定基準に関する検討

ゲニポシド及びクチナシ色素について、食品添加物公定書第8版、医薬部外品原料規格2006の他に、American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook、Natural sources of flavourings 及びその他の文献情報を調査した。

B-4 専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直し

無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究「専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直しに関する研究」として、平成28年10月12日 薬生発1012第1号、厚生労働省医薬・生活衛生局長通知「無承認無許可医薬品の指導取締りについて」の別添として例示されている「専ら医薬品リスト」と「非医薬品リスト」について、原材料の基原や使用部位、名称、別名等の項目を中心にチェックを行った。また、平成13年3月27日付の「専ら医薬品リスト」発出時の主要メンバーである佐竹元吉博士（元国立医薬品食品衛生研究所生薬部長）が監修した「学名でひく食薬区分リスト」及びそれに付随して情報提供されたコメント集を参考として検討した。

別名については、インターネット上の製品名及び Botanical Safety Handbook (BSH) 2nd Ed. に記載の英名、別名を参照した。

要検討品目の含有成分の簡易検索は、KNAPsAc (http://kanaya.naist.jp/knapsack_jsp/top.html) を用いて行った。

(倫理面への配慮)

ヒト由来サンプル及び実験動物を使用しておらず、該当する事由はない。

C. 結果・考察

C-1. 食薬区分判定の申請を受けた成分本質に関する検討

アドニス属花卉の色素抽出物での照会であったが、これは定義が難しく、従来どおり植物と部位での判断をするなら、強心配糖体を確実に含むため、明確に専ら医と考えられた。さらに、属で定義するのではなく、種まで、実際に使う植物を細かく定義することが重要であるものと考察した。

コイケマ（ガガイモ科）の根は、アイヌの神聖な植物イケマ（毒草）の同属植物である。イケマの根と同様に、本植物でも、様々なアルカロイド（ステロイダルアルカロイドや、ジアミノアセトフェノン等）が入っており、これらアルカロイドそのものの毒性実験のデータはないものの、同属（カモメツル属）の *Cynanchum otophyllum* Schneid. の extract（青洋参、大耳白薇）では、経口、ほ乳類でLD50が278mg/kgと劇薬基準のデータがRTECSで報告されている。また、*C. defoliascens* でも、マウス ip で、147mg/kgと劇薬基準にかなり近い値と報告されているため、この植物は、専ら医薬品の2の第一項に触れる可能性が存在するものと考えられた。

冬虫夏草は、食経験と、含有成分、毒性試験のデータから非医と考察された。従って、現行の部位等の記述をどう変更すべきかが重要と考えられる。

Sideritis scardica は、照会された学名が間違っており、学名は、*Sideritis scardica* でありであり、正しい学名で対応した。その結果、RTECS, BSH, ComE とともに、情報がなく、RTECSの同族植物においても、問題となる活性は記載されていないことが判明した。さらにCAの検索の結果、含有成分は、モノテルペン類、トリテルペン類、フェノリクス等であり、食経験とシソ科ということも考慮して、非医と考察された。

ナガミノアマナズナは、RTECSに記載がなく、学名の *Camelina sativa* でCAを検索すると650件以上ヒット、alkaloid で絞ると、4件ヒット、*Phytochemistry* 67(18), 2050-2057

(2006) の「Brassicaceae contain nortropine alkaloids」では、ナス科だけでなく、アブラナ科でも、ノルトロパンアルカロイドが検出されることが報告され、*C. sativa* の開花期の葉から、calystegine 類が検出されることが判明した。さらに、calystegine そのものを RTECS で検索すると、calystegine B3 がラット、経口で TDL0 が 16.8mg/kg (U30 : 栄養と総代謝, 生化学的変化) と出力され、本物質の存在で、何らかの毒性が出る可能性が考えられた。一方, seed では、アルカロイドが検出されるという論文はないことが明らかとなった。対象部位は、種子から搾油した種子油とすると、特に、alkaloid の存在は問題とならず、カナダ保健省も、毒性について考察しているものは、タンパク質とグルコシノレートだけで、これらの危険性は、非常に小さいと報告していること、さらに食経験と急性毒性試験結果を合わせて、非医と考察された。

ムラサキムカシヨモギ, *Vernonia cinerea* で RTECS を検索すると 5 件ヒット、全草、メタノールエキスで経口、ラットで、炎症作用 (Y Y55) に対して TDL0 が 250mg/kg とかなり強い作用があることが判明した。成分的には、トリテルペン、フラボノイド、精油分ではモノテルペノイド、セスキテルペノイドと、キク科の典型的なパターンであるが、CA で本種のアルカロイドについても、5 件ヒットし、ピロリチジンアルカロイドの存在が確認 (Research Journal of Phytochemistry (2012), 6(3), 75-83) された。コンフリーでは、ピロリチジンアルカロイドの存在で、食品衛生法上で、喫食が禁止となっていることを考えると、食薬 WG での議論が重要であるものと考察した。

カジメは、RTECS で 3 件ヒット、特に気になる毒性の記載はなく、論文検索からも、NOAEL が 2g/KgBW/日であり、安全度が高いことが判明した。また、単離化合物も、ポリフェノール類であり、特に問題があるものは存在しなかった。従って、これらの情報に、味噌汁等に入れて食

べるという食経験と併せて、非医と考察した。プラズマローゲン (Plasmalogen) は、定義すると、1-0-alk-1'-enyl 2-acyl glycerol phospholipids and glycolipids, となるが、照会対象は、食鳥肉に含まれているプラズマローゲンを濃縮して (エタノール, 高温抽出) 得られたものであることから、名称は、少なくとも食鳥肉由来プラズマローゲンすべきと考えられた。他方、食薬区分としては、食鳥肉由来であること (食経験) と、過剰摂取をさせたヒトでの安全性試験の結果から、問題なく非医と考察した。

これらの情報は、平成 28 年 2 月 6 日に開催された食薬 WG における基礎資料となった。

C-2. 食薬区分のグレーゾーンに位置する植物体及び化合物に関する検討

「C 型肝炎治療薬ハーボニー配合錠の偽造品に関する成分分析」では、各検体の外観及び形状等から、ハーボニー配合錠あるいはソバルディ錠 400 mg と推測される検体 (橙色及び黄色の錠剤)、及びハーボニー配合錠あるいはソバルディ錠 400 mg とは異なる検体 (黄色及び紫色の錠剤) があつた。前者については、LC-PDA-MS 分析及び ¹H-、¹³C-NMR を測定し、ソバルディ錠とソホスブル標準品とのスペクトルの一致をもって化合物を同定した。後者のうち黄色の錠剤については、GC-MS 及び LC-PDA-MS 分析により、各種ビタミン成分が検出された。さらに、国内メーカー X 社のビタミンサプリメントについて、その形状、サイズ、色味などが酷似し、また、GC-MS 及び LC-MS 分析において、分析スペクトルもほぼ一致したことから、橙色錠剤はほぼこのビタミンサプリメントそのものであると推定した。一方、紫色の錠剤については、粉碎時に生薬あるいはハーブ特有のにおいを発したことから、植物粉末などが配合されている可能性が考えられた。そこで、GC-MS 分析及び LC-PDA-MS 分析を行った結果、エフェドリン、プソイドエフェドリン (マオウ成分) 等の生薬

成分が検出された。最終的には、国内 A 社の製造販売する小青竜湯エキス錠と外観、サイズ、粉末の性状及び成分組成が酷似することから、添加物、不純物プロファイル、製剤学的特性、等の同等性は検証していないものの、A 社製の小青竜湯エキス錠剤である可能性が極めて高いものと推定された。

「日本国外で流通する何首烏及び関連生薬の基原種調査」では、何首烏及び類似生薬計 19 検体について HPTLC 分析を行った結果、何首烏とラベルされている検体の分離パターンは白首烏や異葉牛皮消とされる検体の分離パターンと明らかに区別された。一方、白首烏または異葉牛皮消とされる検体では、2 種類の分離パターンが見られ、入手した生薬試料の中に、生薬のラベルと中身が異なるものが存在する可能性が示唆された。そこで、これら 19 検体について遺伝子配列から基原種の推定を試みた。ITS 領域、psbA-trnH 領域及び trnL 領域の塩基配列解析の結果、生薬購入時に何首烏とラベルされている検体はすべて、何首烏の基原植物である *P. multiflorum* と最も高い配列相同性を示した。一方、白首烏及び異葉牛皮消とされている検体の遺伝子配列解析では 2 つのグループに分かれ、このグループはそれぞれ HPTLC での 2 種類の分離パターンと完全に一致し、一方は *C. auriculatum* であると推定され、他方は *C. wilfordii* でも *C. auriculatum* でもない *Cynanchum* 属植物由来である可能性が考えられた。

「*Cynanchum* 属および *Polygonum* 属植物に由来する『何首烏』の組織形態学的研究(1)」では、各市場品における組織形態の比較検討を行い、*Cynanchum* 属植物の根の一般的形態、及び、*C. auriculatum*、*C. wilfordii*、及び *C. bungei* の根に由来する生薬の特徴を明らかにし、さらには、*Polygonum multiflorum* の根の一般的形態についても観察した。その結果、『白首烏』と『何首烏』類生薬の組織形態学的な検討した

結果、『白首烏』の基原はいずれもイケマ属植物の肥大根、『何首烏』の基原のほとんどはツルドクダミの塊根を、それぞれ用いていた。なお生薬の一部には周皮を剥いだものや、スライスにより片となったものも認められた。さらに、『白首烏』類生薬の横切片を観察したところ、ガガイモ科に特有な乳管が常見されるタイプと、ほとんど認められないタイプとに分かれた。『白首烏』類生薬は、中国では毒性生薬や香料生薬ではなく、一般的な生薬として市場に出回っている。本生薬は韓国の生薬市場では比較的一般性のある生薬であったものの、一部の問屋では *Cynanchum* 属植物由来の『何首烏』が販売されており、タデ科 (*Polygonaceae*) タデ (*Polygonum*) 属植物塊根由来の『何首烏』との混同が懸念された。

「*Cassia* 属植物ハネセンナ及びセンナの鑑別に関する研究」では、栽培品のハネセンナ *C. alata* の葉の形態について、センナ及び *C. corymbosa* など他の *Cassia* 属植物との鑑別の指標とされている乳頭状突起を鏡検したところ、ハネセンナの葉の下面表皮にのみ認められる特徴で、葉の上面の表皮には認められなかった。その一方で *C. alata* の上面表皮の組織中には、センナ (*C. acutifolia* 及び *C. angustifolia*) と形、大きさ共によく似た細胞が出現することが明らかとなった。次に、市販キャンドルブッシュ製品の組織片を観察したところ、ハネセンナの特徴である乳頭状突起及び先の尖った毛が見られた。

「3次元蛍光スペクトルを用いた *Pueraria mirifica* (PM) 含有健康食品の品質評価について」では、各検体よりメタノールエキスを調製し、3次元蛍光スペクトルを測定した。健康食品製品群のうち、PM を含有する検体については、共通する 3 つのピーク波長が観察された。参照試料として測定した粉カッコン (*Pueraria montana* var. *thomsonii*)、カッコン (*Pueraria montana* var. *lobata*)、デンプンについても、それぞれ特徴的なピーク波長が

観察された。カッコン 4 検体, デンプン 4 検体, PM 含有品 Pu-14, PM 非含有品 Pu-17 の 10 検体のデータを除外したデータマトリクスを新たに作成して, 主成分分析を行った。その結果, 第一主成分と第二主成分により全データの約 98%を表現することができた。PM 含有表示健康食品及び参照試料の 3 次元蛍光スペクトルデータを主成分分析した結果, 短波長域の蛍光が出力できたことにより, 健康食品群と「専ら医薬品」であるカッコンが明瞭に区別された。遺伝子解析の結果, PM の含有が確認された 6 検体のうち, 1 つは, 他の検体と異なる 3 次元蛍光スペクトルを示し, 主成分分析においても, 他の検体とは離れた位置にプロットされ, これは, PM 以外の鑑別種不明の成分の混入の影響によるものと推察された。また, 偽品の 7 検体のうち, 1 つは他の 6 検体とは異なる 3 次元蛍光スペクトルを示し, 主成分分析においても, 他の偽品検体とは離れた位置にプロットされた。これは先行研究により明らかとなっている基原種としてのクズイモの成分が示す蛍光が, 他に比べてその強度が大きいためであると推察された。デンプン 4 検体はほとんど蛍光を示さず, 主成分分析でも得点がほぼないため原点付近に分布して, 他の検体とは明瞭に区別された。この主成分分析では, カッコンの分離に大きく寄与している成分が全体に与える影響が大きいため, これらの検体のデータを除くことで, PM に特徴的な成分がより発見し易くなるのではないかと考え, 新たにデータマトリクスを作成した。その結果, 第一主成分のみで全データのほとんどを表現できることが明らかとなった。

「健康食品中から見出された新規 ED 治療薬類縁体の文献調査について」では, 2015 年以降に新規に報告された ED 治療薬類縁体は, 10 化合物であり, その内訳は, sildenafil タイプが, 1 種, 残りの 9 種は, tadalafil タイプであり, vardenafil タイプのものは, 認められなかった。国別では, 韓国が 5 化合物,

台湾が 3 化合物, 米国が 2 化合物, シンガポールが 1 化合物であった。一方, RASFF に報告があった化合物は, 9 化合物であり, このうち, 8 化合物は, sildenafil タイプ, 残りは, tadalafil であり, これらはいずれも既に論文報告されているものであった。

「*N*-Cyclopentyl nortadalafil 及び dipropylaminopretadalafil の LC-PDA-MS 分析について」では, 海外の健康食品市場に流通する製品から, 検出事例が報告された *N*-Cyclopentyl nortadalafil 及び dipropylaminopretadalafil について, その標準溶液を LC-PDA-MS 分析した結果, ウデナフィルの分析方法として厚生労働省通知された分析条件において, 担体に十分に保持され, 分析が可能であることが確認された。本分析法の有用性を確認するために, ED 治療薬及びその類縁体が含まれていることが既知の健康食品製品から調製した試料溶液に, 各化合物の標準溶液を一定量, 添加し, 同様に分析を行ったところ, いずれの成分も良好な分離を示し, それぞれの化合物の同定が可能であった。

「健康食品と称して販売される無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究」では, 活性を指標にシリカ ゲル, ODS, HPLC などの各種カラムクロマトグラフィーにより分離精製を行い, 新規カロラン型セスキテルペン 1 種を含む 15 種の化合物を単離し, 化学構造の決定を行った。単離した化合物について A549 細胞毒性活性試験を行ったところ, フラボノイドのルテオリンの活性が最も強かった。

C-3 量的概念に基づく判定基準に関する検討

「量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究」では, ゲニポシドに関する情報として, Botanical Safety Handbook では, Class I (適切な使用法であれば安全に利用可能)に区分され, また, Natural Sources of Flavours の補遺にも毒性学的な懸念は示されていなかった。また, 文献情報として, いくつかゲニポシ

ドの毒性試験結果を見出したが、いずれも強い毒性を示すものではなかった。さらに、ゲニポシドを含むクチナシに関する情報として、食品添加物公定書第8版にクチナシ黄色素が収載され、純度試験として、geniposideの含量が0.5%以下(色価100換算)に設定されていることが分かった。ただし、これは安全面での規定ではなく、被添加食品中のタンパクとgeniposideが反応して青系の色素を生成するため、黄色素としての品質面を考慮した数値と思われた。一方、医薬部外品原料規格2006には、クチナシエキス、クチナシ青液、クチナシ黄が収載されているが、ゲニポシド含量に関する規格は無かった。

クチナシ黄色素の情報については、単回投与試験、12週間の反復投与試験、95週間の発がん性試験においても、強い毒性を示すデータは認められなかった。

C-4 専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直し

「専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直しに関する研究」では、アントラキノンの一つであるemodinは、食薬区分WGにおいて、劇薬相当として扱われているが、これは腹腔投与による急性毒性試験のLD₅₀値に基づくものであり、同じ論文において、経口投与では、急性毒性が認められておらず、食薬区分の判断において、emodinを劇薬相当とすることの科学的合理性はないため、emodinの含有を理由に専ら医薬品と判断しているものについては、見直しを行うべきと思われた。ただし、ダイオウ、カシユウなど、emodin含有植物の多くは、医薬品としての使用実態を有するものが多いことから、実際に非医リストに移されるものは、多くないと思われた。「非医薬品リスト」については、昨年度の報告の通り、1) 名称と他名等の不整合、2) 植物和名と生薬名や通称名で重複して記載、3) 使用部位の誤り、4) 誤記が多数存在するため、これらについて整理を行うとともに、

即時に「専ら医薬品リスト」へ移行すべき品目、移行を検討すべき品目等、要検討品目を抽出した。「専ら医薬品リスト」へ移行する品目として、コンフリー、セイヨウアカネの2品目、移行を検討すべき品目として、クジチョウ、キョウチクトウなど、11品目、基原の混乱や各項目が示す植物の範囲が不明瞭なものとして、ガウクルアやヤナギなど、9品目が抽出された。「専ら医薬品リスト」への移行を検討すべき品目について、KNApSAcにより、成分情報を簡易検索した結果、キョウチクトウ、クジチョウは、危険性が特に高いと思われた。BSHの記載は、クジチョウについて、同属植物(*Corydalis yanhusuo*)が、class 2b、イボツツラフジ、ヤナギ属、ヒメツルニチニチソウ、ワイルドカナダレタスについて、そのものあるいは同属植物が、class 1とされていた。基原の混乱が危惧される品目のうち、ガウクルアは、小松らにより整理がなされていることから、それに従い項目を整理すべきと考えられた。

D. 結論

新規に「専ら医薬品」であるかどうか判断が求められた品目について、医薬食品局監視指導・麻薬対策課長が招集する「医薬品の成分本質に関するワーキンググループ」のための調査を遂行するとともに、既存の専ら医薬品リスト並びに、非医薬品リストの様々な項目について、同課の依頼に基づき検討を行った。なお、本研究の成果は、厚生労働省において食薬区分の見直しを検討するための厚生労働行政上重要な基礎資料となるものであり、平成13年3月27日付医薬発第243号厚生労働省医薬局長通知で、「リストについては、科学的な検証に基づき定期的に見直しを行うこととし、概ね一年程度の期間毎に追加、訂正、削除等を行うこととする」とした、現行の「専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)リスト」の見直し作業に貢献するものである。

ハーボニーの偽薬に関して、今回の偽造品は、

7 検体中 6 検体がハーボニー配合錠の正規品と明らかに形状の異なる製品で偽造されていたため、患者でも容易に判別できるケースであった。しかし、本製品は極めて高額な医薬品であるため、既存の強壯用や痩身用偽造品と同様に、外観も似せた偽造品が新たに流通する可能性も危惧され、今後も引き続き注意が必要である。なお、本結果については、平成 29 年 2 月 1 日付の厚生労働省報道発表資料：C 型肝炎治療薬「ハーボニー®配合錠」の偽造品について（第 4 報）として報告されている。さらに、本事案を踏まえ、医療用医薬品の適正な流通を確保するため、卸売販売業者及び薬局に対する注意喚起を行うとともに、監視指導を強化することが、厚生労働省より平成 29 年 2 月 16 日付で通知された。

何首烏及び関連生薬の基原種に関して、何首烏として流通する生薬については、本研究で調査した限りでは正しい基原植物が用いられていた。何首烏の基原植物として定められているものは日中韓で一致していることもあり、何首烏として扱われているものの中に日本で医薬品としては認められていない白首烏や異葉牛皮消が混入する可能性は低いと思われた。一方、中国で流通している白首烏と異葉牛皮消の基原植物は、韓国で定められているものと異なることが明らかとなった。この一因として、中国と韓国とで白首烏の基原植物とされる種が一致していないことが挙げられる。そのため、輸入先が中国か韓国かによって基原植物が異なる可能性が高く、同じ「白首烏」を入手したつもりでもその品質が大きく異なる危険性が示唆された。日本での流通実績がほとんどなく定義の曖昧な原料を健康食品等で使用する場合、異物同名が存在しないかなどを見極める必要がある。

何首烏の組織形態学研究において、今回、分子生物学的に明らかにした基原種を根拠として、組織形態による試料検討時に各種毎のリファレンスとして取り扱った。その結果、分子生

物学的手法によって得られた同定結果と同様な種間差が認められた。このような基原種同定法は、比較植物が入手しにくい基原種の研究に一定の可能性を開くと考えられ、分子生物学的手法と並行した組織形態学的研究に一定の価値を見出しえたと言える。

タイ産生薬である *Pueraria mirifica* (PM) の含有が表示されている健康食品に対する、3 次元蛍光スペクトルを用いた品質評価法において、正しく PM を含有する製品とそれ以外の偽品及び「専ら医薬品」に分類される同属植物、カッコトを区別可能であった。

ハネセンナ及びセンナの鑑別に関して、鏡検によりハネセンナ及びセンナについて各部位の特徴を把握することにより、両者の鑑別のための基準の作成を試みた。その結果、製品中にハネセンナ *C. alata* が使用されていることは、下面表皮の乳頭状突起を検出することで容易に鑑別できるが、同時にセンナが混入しているような場合、現段階で明らかにされている組織の特徴だけでは、ハネセンナとセンナを鑑別する明確な判断基準がないことが明らかとなった。今後さらに詳細な検討を重ね、鑑別の指標となる特徴を見出す必要があるという結論を得た。

新規 ED 治療薬類縁体の調査において、検索エンジンを用い、2015 年以降に健康食品中からの単離が報告された ED 治療薬類縁体を調査したところ、4 カ国から、計 10 化合物が報告されており、その内、9 化合物は、tadalafil の類縁体であった。

強壯用健康食品への添加が危惧される ED 治療薬アナログの内、*N*-cyclopentylnortadalafil 及び dipropylaminopretadalafil への対応に備え、両化合物の標準品を購入し、各種機器分析データ及び分析法をまとめた。

バンレイシ科植物であるトゲバンレイシ (*Annona muricata*) の果実において、時として Parkinson 病的症状を呈することが報告されてい

るため、成分研究を行ったところ、新規カロラン型セスキテルペン 1 種を含む 15 種の化合物が単離された。

昨年度の検討において、具体的に名が挙げられた天然化合物のうち、ゲニポシドについて毒性情報等を調査したが、ゲニポシドの毒性については情報が十分ではなかった。さらに、食品添加物としてのクチナシ黄色素については、特に強い毒性を示す情報は報告されていなかった。現状では、ゲニポシドに量的規制を設定するための科学的根拠は乏しい状況と思われた。

食薬区分リストの見直しにおいては、主に非医リストについて、見直し対象品目の抽出を行った。また、それぞれの対象品目の処理について、今後の作業の方向づけを行うとともに、成分情報の取得を行った。

E. 研究発表

論文発表等

- 1) Tokumoto, H., Shimomura, H., Hakamatsuka, T., Ozeki, Y. and Goda, Y.: Detection of *Nicotiana tabacum* leaf contamination in pharmaceutical products. *Biol. Pharm. Bull.*, **39**, 1263-1272 (2016).
- 2) 合田幸広: 機能性表示食品制度の行方-関与成分検討会を振り返る, *I. Bヘルスケア* **40**(12), 8 (2016).

学会発表等

- 1) 合田幸広, 健康食品の新しい機能性表示と品質に関する課題, 健康機能表示食品開発検討会, 東京 (2016. 5).
- 2) 合田幸広, 機能性表示食品の品質に関する課題, 農水省食品安全に係る科学セミナー, 東京 (2016. 9) .
- 3) 合田幸広, 機能性表示食品制度, 進化への課題, 緊迫討論機能性表示食品全員集合祭, 東京 (2016. 9) .
- 4) 合田幸広, 食薬区分と生薬, 東京農工大学工学部生命工学科講義, 東京 (2016. 12) .

- 5) 内山奈穂子, 鎌倉浩之, 政田さやか, 辻本恭, 細江潤子, 丸山卓郎, 合田幸広, 袴塚高志; C 型肝炎治療薬ハーボニー配合錠の偽造品に関する成分分析, 日本法中毒学会第 36 年会 (2017 年 7 月発表予定)
- 6) 佐藤 (増本) 直子, 内倉崇, 杉脇秀美, 好村守生, 政田さやか, 内山奈穂子, 丸山卓郎, 天倉吉章, 袴塚高志: 国外で流通する何首烏及び関連生薬の基原種について. 日本生薬学会第 63 回年会 (2016. 9)
- 7) 吉田和範, 篠田量太, 赤坂優駿, 佐藤直子, 内山奈穂子, 丸山卓郎, 袴塚高志, 『白首烏』の生薬学的研究, 日本薬学会第 137 年会, 仙台 (2017. 3).
- 8) 赤坂優駿, 篠田量太, 吉田和範, 佐藤直子, 内山奈穂子, 丸山卓郎, 袴塚高志, 『白首烏』の生薬学的研究(2)~『何首烏』との比較について, 日本薬学会第 137 年会, 仙台 (2017. 3).
- 9) 後藤佑斗, 佐藤直子, 河村麻衣子, 花尻瑠理, 袴塚高志, 丸山卓郎, 3次元蛍光スペクトルデータの多変量解析による *P. mirifica* 含有健康食品の品質評価法の検討, 日本生薬学会第 63 回年会, 2016 年 9 月, 富山.
- 10) 袴塚高志, 局方生薬に関する最近の話題と食薬区分について, 第 32 回 生薬に関する懇談会, 2016 年 12 月, 東京.

新聞報道等

- 1) 袴塚高志, 生薬・漢方関連の最近の話題 (2), 薬事日報, 11824, 4 (2016)

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に
関する研究

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所薬品部長 合田幸広

「専ら医薬品」の調査に関する研究

国立医薬品食品衛生研究所薬品部長 合田幸広

我が国の「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」に例示される成分であるかどうか、依頼のあった天然物 8 品目の本質について、文献調査等を行った。アドニス属、コイケマ、ムラサキムカシヨモギを除き、非医薬品成分であるものと考えられた。アドニス属については、強心配糖体の有無と種の定義が重要、コイケマについてはステロイダルアルカロイドの有無、ムラサキムカシヨモギについてはピロリチジンアルカロイドの存在から、専ら医薬品と判断される可能性があり、医薬品の成分本質ワーキンググループでの議論が重要と考えられた。

研究協力者

大塚英昭 広島大学大学院医歯薬学総合研究

科 名誉教授（安田女子大学薬学部教授）

海老塚豊 国立医薬品食品衛生研究所客員研
究員

条件に「専ら医薬品」と判断されるべき成分本
質について調査を行うものである。

分担研究者らは、平成 15 年度より、本研究
班の前身である「専ら医薬品として使用される
成分本質（原材料）の有効性及び安全性等の評
価に関する研究」において、平成 13 年 3 月 27
日付の「専ら医薬品リスト」に記載された 331
品目について、「専ら医薬品として使用される
成分本質（原材料）の有効性及び安全性の評
価に関する研究」として、これらの品目につい
て、徹底的な調査・分析を行い、最終的に「A
安全性に十分な配慮が必要であり、専ら医薬品
と考えられる、B 国内外を含め医薬品として使
用実態があり、専ら医薬品と考えられる、C さ
らに調査を続ける必要がある、D 現在のところ
判断データがない、E 医薬品としての使用実
績が乏しく、含有成分等からも食薬区分の見直

A. 研究目的

無承認無許可医薬品とは、医薬品としての承
認や許可を受けていないにもかかわらず、医薬
品としての目的性を持たせた製品であり、その
判断は、医薬品の範囲に関する基準（直近の改
正：平成 27 年 12 月 28 日薬生発第 1228 第 4 号、
厚生労働省医薬局長通知「医薬品の範囲に関す
る基準の一部改正について」）に基づき行われ
る。本基準は、主に成分本質（原材料）、効能
効果、形状、用法用量の 4 要素に分けられるが、
本研究では、特に成分本質（原材料）により無

し対象となり得ると考えられる」の5段階の評価を行って来た。また、現在食薬区分上分類がなされていない新規成分本質（原材料）について、国内外の医薬品としての使用実態、毒性、麻薬様作用、含有成分の構造等に基づき、食品又は医薬品のどちらに分類すべきものであるか調査を行い、さらに判断の根拠となる各種実験を行ってきた。その結果を基礎に、平成19年4月に医薬品の範囲に関する基準が大改正（平成19年4月17日 医薬発第1115003号）され、専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）が321成分（植物由来242、動物由来21、その他58）となった。さらに引き続き「専ら医薬品」としての規制の範囲に関する研究」において新規に申請のあった成分本質（原材料）や、近年、違法ドラッグ取り締まり等で新たに発見される化合物等について食薬区分の検討を行い、前述した平成27年の通知では、専ら医薬品として使用される成分本質は、329成分（植物由来236、動物由来21、その他72）となった。

本研究では、無承認無許可医薬品の調査と分析、有害性評価に関する研究の他の分担研究と連携しながら、文献調査等を行い、医薬生活衛生局監視指導・麻薬対策課長が招集する「医薬品の成分本質に関するワーキンググループ」のための調査・検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

調査項目は、主に以下の①～⑩である。

- ①名称、他名等、部位等、備考
- ②学名、基原植物和名等、生薬名、英名等
- ③医薬品としての使用実態があるか
- ④毒性データ
- ⑤アルカロイド、毒性タンパク、毒薬劇薬指

定成分等を含むか

- ⑥麻薬、向精神薬及び覚醒剤様作用があるもの（類似化合物も含む）及びその原料植物であるか
- ⑦主要な二次代謝産物等
- ⑧主要な生理活性
- ⑨その他注意すべき点
- ⑩指定医薬品または要指示医薬品に相当する成分を含むか

本調査では、原著論文以外に、主に以下の参考文献を使用している。

- 1：日本薬局方（17局）
- 2：日本薬局方外生薬規格2015
- 3：（新訂）和漢薬，医歯薬出版（赤松金芳）
- 4：中薬大辞典，小学館
- 5：The Complete German Commission E Monographs Therapeutic Guide to Herbal Medicines, The American Botanical Council (Com E)
- 6：Botanical Safety Handbook, American Herbal Products Association
- 7：Dictionary of Plant Toxins, Jeffery B. Harborne FRS, Herbert Baxter, Willey
- 8：WHO Monographs on Selected Medicinal Plants
- 9：ブラジル産 薬用植物事典（橋本悟郎）
- 10：和漢薬百科図鑑（難波恒雄）
- 11：原色牧野和漢薬草大図鑑，北隆館
- 12：（原色）牧野植物大図鑑：北隆館
- 13：日本の野生植物，平凡社
- 14：園芸植物大辞典，小学館
- 15：世界の植物，朝日新聞社
- 16：中国薬典2015

これらの参考文献のうち、①名称で規定する基原植物を確定するために、まず、日本の

公定書である文献 1, 2 を優先した。次いで、和漢薬と考えられるものでは、医薬品の範囲に関する基準、別添 1 で参考文献に指定されている、文献 3, 4 での記載を優先し、次いで、10~16 等の記載内容等を考慮し、最も相応しいと考えられるものを選択した。また、欧米で用いられている生薬、ハーブについては、同様に別添 1 で記載のある 5, 6, 7, 8 の記載について優先的に考慮し、他文献も踏まえて最も相応しいと考えられるものを選択した。また、南米原産の植物（生薬、ハーブ）については 9 の記載を、主に参考とした。さらに、英名については、主に文献 5, 6 を参考とした。なお、局方での生薬の正名は、カタカナであるが、通知での生薬名は、参考情報であるので、基本的に、より情報が多い漢字で記載した。

③は、文献 1-2, 5, USP, 新一般用漢方処方の手引き（じほう、通称新 210 処方）、JAPIC の日本医薬品集（医療用、一般用）並びに、インターネット等の情報を参考にした。医薬品としての使用実態は、日本で医薬品並びにその成分として承認されている場合（新 210 処方の構成生薬である場合を含む）、文献 5 (Com E) や USP に記載されている場合には、使用実態があるとしたが、文献 3, 4, 9, 10, 16 等に記載されているだけでは、使用実態があるとはしなかった。

④は、②の基原植物の学名や英名を、植物毒性データベースである RTECS で検索するとともに、Merck Index 等の情報も参考とした。また、学名に対応するデータがない場合には、同属植物のデータも学名とともに記載した。さらに、基原植物が含有する化合物の毒性データについても、ここに記載した。

⑤, ⑥, ⑦は、学名でケミカルアブストラクト(CA)検索した要旨並びに原著論文を参考にするとともに、文献 7, 10 並びに Phytochemical Dictionary (Jeffery B. Harborne FRS, Herbert Baxter, Gerard P. Moss)等を参考にした。

⑧は、学名でケミカルアブストラクト検索した要旨並びに原著論文、Phytochemical Dictionary 並びに、文献 4, 10, 11 等を参考にした。

⑨は、①-⑧以外の情報で、インターネットを中心に情報を収集した。

⑩は、日本医療用医薬品集（じほう）、JAPIC 一般用医薬品集（JAPIC）等を参考とした。

C. 研究結果と考察

今年度、新規に調査依頼があったものは、全て天然物であった。

アドニス属花卉の色素抽出物での照会であったが、これは定義が難しく、従来どおり植物と部位での判断をするなら、強心配糖体を確実に含むため、明確に専ら医と考えられた。従って、もし非医の判断をするとするなら、「強心配糖体が含まれないこと」等の制限が必要となるが、このような非医の定義は、これまででない「医薬品の成分本質に関する WG」（食薬 WG）での議論が重要であるもと考えられた。さらに、属で定義するのではなく、種まで、実際に使う植物を細かく定義することが重要であるものと考察した。

コイケマ（ガガイモ科）の根は、アイヌの神聖な植物イケマ（毒草）の同属植物である。イケマの根と同様に、本植物でも、様々なアルカロイド（ステロイダルアルカロイドや、ジアミノアセトフェノン等）が入っており、これらア

ルカロイドそのものの毒性実験のデータはないものの、同属（カモメツル属）の *Cynanchum otophyllum* Schneid, の extract（青洋参、大耳白薇）では、経口、ほ乳類でLD50が278mg/kgと劇薬基準のデータがRTECSで報告されている。また、*C. defoliascens* でも、マウス ip で、147mg/kgと劇薬基準にかなり近い値と報告されています。従って、この植物は、専ら医薬品の2の第一項に触れる可能性が存在するものと考えられた。なお、元来コイケマは、韓国で数年前にアンチエイジング健康食品でブームになり、中国産の別種が大量に入ってきて、韓国内で大問題になった曰くつき植物で、コイケマについて、論文を検索すると、韓国のものが多く、日本の薬学会の論文誌でも、Comparative Study of the Effects of Various Culture Conditions on Cell Growth and Gagaminine Synthesis in Suspension Culture of *Cynanchum wilfordii* (MAXIM.) HEMSLEY のタイトルで、韓国の Dae-Won LEE らが報告しており、前文の部分で、幅広い生理活性に触れています。なお、Gagaminine はステロイダルアルカロイドです。冬虫夏草は、食経験と、含有成分、毒性試験のデータから非医と考察された。従って、現行の部位等の記述をどう変更すべきかが重要と考えられる。

Sideritis scardica は、照会された学名が間違っており、学名は、*Sideritis scardica* でありであり、正しい学名で対応した。その結果、RTECS, BSH, ComE とともに、情報がなく、RTECS の同族植物においても、問題となる活性は記載されていないことが判明した。さらに CA の検索の結果、含有成分は、モノテルペン類、トリテルペン類、フェノリクス等であり、食経験とシソ科ということも考慮して、非医と考察され

た。

ナガミノアマナズナは、RTECS に記載がなく、学名の *Camelina sativa* で CA を検索すると 650 件以上ヒット、alkaloid で絞ると、4 件ヒット、*Phytochemistry* 67(18), 2050-2057 (2006) の「Brassicaceae contain nortropane alkaloids」では、ナス科だけでなく、アブラナ科でも、ノルトロパンアルカロイドが検出されることが報告され、*C. sativa* の開花期の葉から、calystegine 類が検出されることが判明した。さらに、calystegine そのものを RTECS で検索すると、calystegine B3 がラット、経口で TDLO が 16.8mg/kg (U30: 栄養と総代謝、生化学的変化) と出力され、本物質の存在で、何らかの毒性が出る可能性が考えられた。一方、seed では、アルカロイドが検出されるという論文はないことが明らかとなった。対象部位は、種子から搾油した種子油とすると、特に、alkaloid の存在は問題とならず、カナダ保健省も、毒性について考察しているものは、タンパク質とグルコシノレートだけで、これらの危険性は、非常に小さいと報告していること、さらに食経験と急性毒性試験結果を合わせて、非医と考察された。

ムラサキムカシヨモギ、*Vernonia cinerea* で RTECS を検索すると 5 件ヒット、全草、メタノールエキスで経口、ラットで、炎症作用 (Y Y55) に対して TDLO が 250mg/kg とかなり強い作用があることが判明した。成分的には、トリテルペン、フラボノイド、精油分ではモノテルペノイド、セスキテルペノイドと、キク科の典型的なパターンであるが、CA で本種のアルカロイドについても、5 件ヒットし、ピロリチジンアルカロイドの存在が確認 (*Research Journal of Phytochemistry* (2012), 6(3), 75-83) さ

れた。コンフリーでは、ピロリチジンアルカロイドの存在で、食品衛生法上で、喫食が禁止となっていることを考えると、食薬 WG での議論が重要であるものと考察した。

カジメは、RTECS で 3 件ヒット、特に気になる毒性の記載はなく、論文検索からも、NOAEL が 2g/KgBW/日であり、安全度が高いことが判明した。また、単離化合物も、ポリフェノール類であり、特に問題があるものは存在しなかった。従って、これらの情報に、味噌汁等に入れて食べるという食経験と併せて、非医と考察した。

プラズマローゲン (Plasmalogen) は、定義すると、1-0-alk-1'-enyl 2-acyl glycerol phospholipids and glycolipids, となるが、照会対象は、食鳥肉に含まれているプラズマローゲンを濃縮して (エタノール, 高温抽出) 得られたものであることから、名称は、少なくとも食鳥肉由来プラズマローゲンすべきと考えられた。他方、食薬区分としては、食鳥肉由来であること (食経験) と、過剰摂取をさせたヒトでの安全性試験の結果から、問題なく非医と考察した。

これらの情報は、平成 28 年 2 月 6 日に開催された食薬 WG における基礎資料となった。また別に、クサギ、イノシシの胆嚢、5-HTP, PG 誘導体等、担当部局からの問い合わせに、科学的見地から対応した。

D. 結論

新規に「専ら医薬品」であるかどうか判断が求められた品目について、医薬食品局監視指導・麻薬対策課長が招集する「医薬品の成分本質に関するワーキンググループ」のための調査を遂行するとともに、既存の専ら医薬品リスト並びに、非医薬品リストの様々な項目について、

同課の依頼に基づき検討を行った。

なお、本研究の成果は、厚生労働省において食薬区分の見直しを検討するための厚生労働行政上重要な基礎資料となるものであり、平成 13 年 3 月 27 日付医薬発第 243 号厚生労働省医薬局長通知で、「リストについては、科学的な検証に基づき定期的に見直しを行うこととし、概ね一年程度の期間毎に追加、訂正、削除等を行うこととする」とした、現行の「専ら医薬品として使用される成分本質 (原材料) リスト」の見直し作業に貢献するものである。

E. 健康危機情報

特になし。

F. 研究発表等

論文発表等

- 1) Tokumoto, H., Shimomura, H., Hakamatsuka, T., Ozeki, Y. and Goda, Y.: Detection of *Nicotiana tabacum* leaf contamination in pharmaceutical products. *Biol. Pharm. Bull.*, **39**, 1263-1272 (2016).
- 2) 合田幸広: 機能性表示食品制度の行方-関与成分検討会を振り返る, *I.Bヘルスケア* **40**(12), 8 (2016).

学会発表等

- 1) 合田幸広, 健康食品の新しい機能性表示と品質に関する課題, 健康機能表示食品開発検討会, 東京 (2016.5).
- 2) 合田幸広, 機能性表示食品の品質に関する課題, 農水省食品安全に係る科学セミナー, 東京 (2016.9).
- 3) 合田幸広, 機能性表示食品制度, 進化への

課題，緊迫討論機能性表示食品全員集合祭，
東京（2016.9）。

- 4) 合田幸広，食薬区分と生薬，東京農工大学
工学部生命工学科講義，東京（2016.12）。

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)
分担研究報告書

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の
規制に関する研究

研究分担者 袴塚 高志 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長

C型肝炎治療薬ハーボニー配合錠の偽造品に関する成分分析

研究協力者 内山 奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部室長

平成 29 年 1 月, 医薬品の卸売販売業者及び薬局を通じて C 型肝炎治療薬「ハーボニー配合錠」の偽造品が流通する事案が発生した. これを受けて, 我々はこれら偽造品の実態把握のため, GC-MS, 高分解能 LC-MS 及び NMR による分析を行った.

奈良県内の薬局で見つかったハーボニー配合錠の偽造品 5 製品・計 7 検体(全て錠剤)について分析を行った(製品 1-5). なお, 同ボトルに 2 種類の錠剤が見つかった製品 2 及び 4 は, 各錠剤を A, B とした. 計 7 検体の分析を行った結果, 製品 1 及び 5 からは各種ビタミン類が検出された. さらに, 検体の形状などから類推された市販製品と直接比較した結果, 国内流通のサプリメントの可能性が高いものと推定された. 製品 2A, 3 及び 4B からは, ソホスブビルが検出され, 製品 4A からはソホスブビル及びレジパスビルが検出された. さらに, 正規品(ソバルディ錠 400 mg, ハーボニー配合錠)と直接比較した結果, それぞれの正規品である可能性が高いものと推定された. 製品 2B からは, グリチルリチンやエフェドリンなどの生薬成分が検出された. 本検体についても, 類推された市販製品と直接比較した結果, 国内流通の鼻炎, 感冒などに使用する漢方製剤(小青竜湯エキス錠剤)の可能性が高いものと推定された.

以上, 本事案は正規品と明らかに形状の異なる製品で偽造されていたため, 患者でも容易に判別できるケースであった. しかし, 本製品は極めて高額な医薬品であるため, 既存の強壯用や痩身用偽造品と同様に, 外観も似せた偽造品が新たに流通する可能性も危惧され, 今後注意が必要である.

研究協力者

鎌倉浩之:国立医薬品食品衛生研究所 生薬部
主任研究官

政田さやか:国立医薬品食品衛生研究所 生薬
部主任研究官

辻本恭:国立医薬品食品衛生研究所 生薬部派
遣研究員

細江潤子:国立医薬品食品衛生研究所 生薬部

非常勤職員

徳本廣子:国立医薬品食品衛生研究所 生薬部
非常勤職員

丸山卓郎:国立医薬品食品衛生研究所 生薬部
室長

合田幸広:国立医薬品食品衛生研究所 薬品部
長

A. 研究目的

平成 29 年 1 月, 医薬品の卸売販売業者及び薬局を通じて C 型肝炎治療薬「ハーボニー配合錠」の偽造品が流通する事案が発生した [1-4]. これを受けて, 我々はこれら偽造品の実態把握のため, GC-MS, 高分解能 LC-MS 及び NMR による分析を行ったので報告する [5].

B. 研究方法

【試料及び調製法】

奈良県内の薬局で見つかったハーボニー配合錠の偽造品 5 製品・計 7 検体(全て錠剤)について分析を行った(製品 1-5). なお, 同ボトルに 2 種類の錠剤が見つかった製品 2 及び 4 は, 各錠剤を A, B とした(Table 1). 各検体の外観及び粉碎時の色・形状等は Table 1 及び Fig. 11 に示した.

各検体を粉碎した後, 粉末 50 mg にメタノール 2 mL を加えて 20 分間超音波処理し, フィルターろ過したものを試料原液(25 mg/mL)とした. 試料原液は適宜希釈し試料溶液とした.

【試薬】

対照品として, ギリアド社より提供された正規品(ハーボニー®配合錠, ソバルディ錠® 400 mg)及びその有効成分であるソホスブビル(Sofosbuvir), レジパスビル(Ledipasvir)の標品を使用した. それぞれの形態内訳は Table 2, Fig. 11 に示した通りである. また, ビタミン類及び天然化合物の標準物質は, 国立衛研所蔵のものを用いた.

【分析条件】

[GC-MS] 装置: 島津製作所製 GCMS-TQ8040 及び GC-2010, カラム: DB-5 (30 m x 0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 µm, Agilent 社製), キャリアーガス: He, 1 mL/min, 注入法: スプリット(10/1), 注入量: 1 µL, 気化室温度: 200°C, インターフェイス温度: 250°C, カラム温度: 60°C (1 min hold) – 10°C/min – 320°C (15 min hold), イオン化法: EI 法, scan range: m/z 45-1000.

[高分解能 LC-MS] 装置: UltiMate 3000 RS LC

system 及び Q Exactive Quadrupole-Orbitrap ハイブリッド型質量分析計(Thermo Fisher Scientific 社製), カラム: ACQUITY UPLC HSS T3 column (100 x 2.1 mm, particle size 1.8 µm, Waters 社製), 移動相: A: 0.1%ギ酸水溶液, B: 0.1%ギ酸アセトニトリル.

<グラジエント条件>

①ハーボニー配合錠関係化合物, 生薬関係成分 95 % A/5%B to 60%A/40%B (0-10 min), to 40%A/60%B (10-12 min), and to 10%A/90%B (12-16 min, 11 min hold).

②ビタミン類関係化合物

99%A/1%B (0-5 min hold) to 80%A/20%B (5-15 min), and to 5%A/95%B (15-16 min, 11 min hold). 流速: 0.4 ml/min, カラム温度: 40°C, 注入量: 2 µL. 検出: 質量分析装置及びフォトダイオードアレイ(PDA)検出器(測定波長: 190-600 nm).

質量分析条件 イオン化: エレクトロスプレーイオン化(ESI)法, Positive and negative mode, Capillary temperature: 320 °C, Vaporizer temperature: 300 °C, Desolvation gas: helium, Splay voltage: 4.0 KV, Cone voltage: 35.0 V, Normalized collision energy: 30.0 V, mass spectral range: m/z 100-1500. キャリブレーション: LTQ Velos ESI Positive Ion Calibration Solution 及び ESI Negative Ion Calibration Solution (何れも Pierce 社製)を使用した.

[NMR] 装置: JEOL 社製 ECA800, CH-cold probe 付属. 測定核種: ^1H , ^{13}C , 測定溶媒: methanol- d_4 (99.96%, ISOTEC 社製). 内部基準物質: TMS.

C. 研究結果

各検体の外観及び形状等から, ハーボニー配合錠あるいはソバルディ錠 400 mg と推測される検体(製品 2A, 3, 4A, 4B の錠剤), 及びハーボニー配合錠あるいはソバルディ錠 400 mg とは異なる検体(製品 1, 2B 及び 5)があった(Table, 1, 2,

Fig. 11). 以下, 分析結果を2つに分けて述べる. また, 検出化合物の構造式を Fig. 1 に示す.

1. ハーボニー配合錠あるいはソバルディ錠 400 mg と推測される検体 (製品 2A, 3, 4A, 4B の錠剤)

1-1. 製品 2A, 3 及び 4B

製品 2A, 3, 4B は黄色の錠剤であり, 粉碎時の色は白色の粉末であった. また, これら3検体の外観や粉碎時の形状などは, 正規品であるソバルディ錠 400 mg に類似していた (Table, 1, 2, Fig. 11). 各検体の LC-PDA-MS 分析を行った結果, 上記3製品から, ソバルディ錠 400 mg の有効成分であるソホスブビル (Sofosbuvir) (Fig. 1a) が検出され, その TIC クロマトグラム (Pos), マススペクトル及び UV スペクトルは, ソバルディ錠 400 mg と類似していた (Fig. 2a-d). また, TIC クロマトグラム (Neg) 及び LC-PDA クロマトグラムも同様に類似していた (data not shown). なお, ソホスブビルは, 標品との直接比較により同定した. また, GC-MS 分析では, 分解物らしきものは検出されたものの, 化合物の同定には至らなかった (data not shown). そこで, ¹H- 及び ¹³C-NMR を測定し, 製品 2A, 3, 4B (Fig. 3b-d) と, ソバルディ錠 400 mg (Fig. 3a), ソホスブビル標準品とのスペクトルの一致をもって化合物を同定した. さらに, 製品 2A, 3, 4B の錠剤については, LC-UV による簡易的な定量を行った結果, ソホスブビルがギリアド社製の正規品 (ソバルディ錠 400 mg) と同程度に含有されていることが判明した (data not shown).

添加物, 不純物プロファイル, 製剤学的特性等の同等性は検証していないため, 確定的な結論を出すことは難しいが, 以上の分析結果及び各検体の外観, サイズ, 粉末の性状等から判断する限り, 製品 2A, 3, 4B の錠剤はソバルディ錠 400 mg である可能性が極めて高いものと推定された.

1-2. 製品 4A

製品 4A は橙色の錠剤であり, 粉碎時の色は白色の粉末であった. また, 本検体の外観や粉碎時の形状などは, 正規品であるハーボニー配合錠に類似していた (Table, 1, 2, Fig. 11). LC-PDA-MS 分析を行った結果, 本検体から, ハーボニー配合錠の有効成分であるソホスブビル (Sofosbuvir) 及びレジパスビル (Ledipasvir) の2成分が検出され (Fig. 1a), 本検体の TIC クロマトグラム (Pos/Neg) 及び LC-PDA クロマトグラムはハーボニー配合錠と類似していた (Fig. 4a-d). また, 本検体中の2成分:ソホスブビル及びレジパスビルのマススペクトル (Pos/Neg) 及び UV スペクトルについても, ハーボニー配合錠のものとよく一致した (Fig. 4a-d). なお, ソホスブビル及びレジパスビルは, 各標品との直接比較により同定した (data not shown). GC-MS 分析では, 分解物らしきものは検出されたものの, 化合物の同定には至らなかった (data not shown). そこで, ¹H- 及び ¹³C-NMR を測定し, 製品 4A と, ハーボニー配合錠, ソホスブビル及びレジパスビル標準品とのスペクトルの一致をもって両化合物を同定した (data not shown). さらに, 製品 4A の錠剤については, LC-UV による簡易的な定量を行った結果, ソホスブビルがギリアド社製の正規品 (ハーボニー配合錠) と同程度に含有されていることが判明した (data not shown).

本検体についても, 添加物, 不純物プロファイル, 製剤学的特性等の同等性は検証していないため, 確定的な結論を出すことは難しいが, 以上の分析結果及び各検体の外観, サイズ, 粉末の性状等から判断する限り, 製品 4A の錠剤はハーボニー配合錠である可能性が極めて高いものと推定された.

2. ハーボニー配合錠あるいはソバルディ錠 400 mg とは異なる検体 (製品 1, 2B 及び 5)

2-1. 製品 1 及び 5

製品 1 及び 5 は黄色の錠剤であり、粉碎時の色は黄色粉末であった。正規品であるハーボニー配合錠(橙色)やソバルディ錠 400 mg(黄色)の粉碎時は白色粉末であること、また外観や形状等から、これら 2 検体は、正規品であるハーボニー配合錠やソバルディ錠とは異なるものであった (Table, 1, 2, Fig. 11)。GC-MS 分析を行った結果、製品 1 及び 5 から、ニコチンアミド(ナイアシン)、 α -、 β -、 γ -トコフェロールが検出された (Fig. 1b, 5)。次に、LC-PDA-MS 分析を行った結果、製品 1 及び 5 から、チアミン (Vitamin B₁)、ニコチンアミド(ナイアシン)、ピリドキシン (Vitamin B₆)、パントテン酸、リボフラビン (Vitamin B₂) が検出された (Fig. 1b, 6a, 6b)。また、両検体の TIC クロマトグラム (Pos/Neg) 及び PDA クロマトグラムは類似していた (TIC (Pos): Fig. 6c)。なお、各成分は、標品との直接比較により、保持時間、精密質量、マススペクトルの一致をもって同定した。

さらに、国内メーカー X 社より、自社のビタミンサプリメントが、製品 1 及び 5 の錠剤と外見上酷似しているとの申し出があり、該当する錠剤の提供を受け、その形状、サイズ、色味などを比較したところ、確かに酷似していた (Table, 1, 2, Fig. 11)。また、GC-MS 及び LC-MS 分析において、X 社製のビタミン配合サプリメントの成分プロファイルが製品 1 及び 5 の錠剤に由来するものと類似していた (Fig. 5, 6)。添加物、不純物プロファイル、等の同等性は検証していないため、確定的な結論を出すことは難しいが、以上の分析結果及び各検体の外観、サイズ、粉末の性状等から判断する限り、製品 1 及び 5 は、X 社製のビタミン配合サプリメントである可能性が極めて高いものと推定された。

2-2. 製品 2B

製品 2B は紫色の錠剤であり、粉碎時の色は茶色粉末であった。正規品であるハーボニー配合錠(橙色)やソバルディ錠 400 mg(黄色)の粉碎時は白色粉末であること、また外観や形状等か

ら、本検体は、正規品であるハーボニー配合錠やソバルディ錠とは異なるものであった (Table, 1, 2, Fig. 11)。また、粉碎時に生薬あるいはハーブ特有のにおいを発したことから、植物粉末などが配合されている可能性が考えられたため、顕微鏡による観察(鏡検)を行った。しかし、植物の細胞、組織片、器官、等は観察されなかったことから、製品 2B は植物由来のエキス剤の可能性が考えられた (data not shown)。

GC-MS 分析を行った結果、製品 2B から、エフェドリン、プソイドエフェドリン(マオウ成分)、ケイヒ酸(ケイヒ、マオウなどの成分)、[6]-ショウガオール(カンキョウなどの成分)、[6]-ギンゲロール(ショウキョウ、カンキョウなどの成分)、シザンドリン、ゴミシン A(ゴミシ成分)、アサリニン(サイシン成分)、以上 8 種類の生薬成分が検出された (Fig. 1c, 7)。次に、LC-PDA-MS 分析を行った結果、エフェドリン、プソイドエフェドリン(マオウ成分)、アルピフロリン、ペオニフロリン(シャクヤク成分)、リクイリチン、グリチルリチン(カンゾウ成分)、シザンドリン、ゴミシン A(ゴミシ成分)、アサリニン(サイシン成分)、[6]-ショウガオール(カンキョウなどの成分)、以上 10 種類の生薬成分が検出された (Fig. 1c, 8-10)。なお、各成分は、標品との直接比較により、保持時間、精密質量、マススペクトルの一致をもって同定した。

初期に行った GC-MS 及び LC-MS 分析による成分プロファイル上で、まず、シャクヤク、カンゾウ、マオウ及びケイヒなどに特徴的な成分が検出されたことから、これらを配合生薬とする漢方処方として葛根湯、小青竜湯、葛根湯加川芎辛夷、小青竜湯合麻杏甘石湯、五積散などが候補に挙げられた。これらの情報に加えて、錠剤の形状、サイズ、色味などを勘案して聞き取り調査及びインターネット検索を繰り返し、最終的に国内メーカー A 社の葛根湯エキス錠剤あるいは小青竜湯エキス錠剤に絞り込んだ。そこで、A 社より葛根湯エキス錠剤及び小青竜湯エキス錠剤の提供を受け、錠

剤の形状、サイズ、色味を観察したところ、これらは酷似していた (Table, 1, 2, Fig. 11). しかし、製品 2B 及び小青竜湯エキス錠剤は同程度の重量であったが、葛根湯エキス錠剤の重量は 20 mg 程度軽かった (Table, 1, 2). また、GC-MS 及び LC-MS 分析において、A 社製の小青竜湯エキス錠剤の成分プロファイルが製品 2B の錠剤に由来するものと高度に一致した (Fig. 8-10). 一方、葛根湯エキス錠剤の成分プロファイルとは明らかに異なっていた (Fig. 8-10). さらに、この分析過程で、製品 2B から、葛根湯には配合されず、小青竜湯に配合される生薬であったゴミシンの成分 (シザンドリン, ゴミシン A), 及びサイシンの成分 (アサリニン), カンキョウの成分 ([6]-ショウガオール) を検出した (Fig. 8-10).

添加物、不純物プロファイル、製剤学的特性、等の同等性は検証していないため、確定的な結論を出すことは難しいが、以上の分析結果及び各検体の外観、サイズ、粉末の性状等から判断する限り、製品 2B の錠剤は、A 社製の小青竜湯エキス錠剤である可能性が極めて高いものと推定された。

以上の結果から、偽造品 5 製品・計 7 検体より検出された化合物及び分析結果より類推される製品を Table 3 にまとめた。

D. 考察

今回の偽造品は、7 検体中 6 検体がハーボニー配合錠の正規品と明らかに形状の異なる製品で偽造されていたため、患者でも容易に判別できるケースであった。しかし、本製品は極めて高額な医薬品であるため、既存の強壯用や痩身用偽造品と同様に、外観も似せた偽造品が新たに流通する可能性も危惧され、今後も引き続き注意が必要である。なお、本結果については、平成 29 年 2 月 1 日付の厚生労働省報道発表資料: C 型肝炎治療薬「ハーボニー®配合錠」の偽造品について (第 4 報) として報告されている [5].

さらに、本事案を踏まえ、医療用医薬品の適正な流通を確保するため、卸売販売業者及び薬局に対する注意喚起を行うとともに、監視指導を強化することが、厚生労働省より平成 29 年 2 月 16 日付で通知された [6].

E. 結論

本研究では、C 型肝炎治療薬「ハーボニー配合錠」の偽造品 5 製品・計 7 検体について分析を行った。その結果、3 検体からはソホスブビルが検出され、1 検体からはソホスブビル及びレジパスビルが検出されたことから、それぞれソバルディ錠 400 mg、ハーボニー配合錠の正規品である可能性が高いものと推定された。また、2 検体からは各種ビタミン類が検出され、国内流通のサプリメントの可能性が高いものと推定された。さらに、1 検体からは複数の生薬成分が検出され、国内流通の鼻炎、感冒などに使用する漢方製剤 (小青竜湯エキス錠剤) の可能性が高いものと推定された。

以上、今回の偽造品は、明らかに正規品と異なる製品で偽造されていたため、患者でも容易に判別できるケースであった。しかし、本製品は極めて高額な医薬品であるため、外観も似せた偽造品が新たに流通する可能性も危惧され、今後注意が必要である。

F. 研究発表

1. 学会発表

内山奈穂子, 鎌倉浩之, 政田さやか, 辻本恭, 細江潤子, 丸山卓郎, 合田幸広, 袴塚高志; C 型肝炎治療薬ハーボニー配合錠の偽造品に関する成分分析, 日本法中毒学会第 36 年会 (2017 年 7 月発表予定)

2. 誌上発表

該当無し

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

H. 参考文献

- [1] 厚生労働省, 平成 29 年 1 月 17 日付, 医政総発 0117 第1号・医政経発 0117 第1号・薬生総発 0117 第1号・薬生監麻発 0117 第1号通知「医薬品の適正な流通の確保について」.
- [2] 厚生労働省, 報道発表資料, C型肝炎治療薬「ハーボニー®配合錠」の偽造品について (平成 29 年 1 月 17 日).
- [3] 厚生労働省, 報道発表資料, C型肝炎治療薬「ハーボニー®配合錠」の偽造品について (平成 29 年 1 月 23 日).
- [4] 厚生労働省, 報道発表資料, C型肝炎治療薬「ハーボニー®配合錠」の偽造品について (平成 29 年 1 月 25 日).
- [5] 厚生労働省, 報道発表資料, C型肝炎治療薬「ハーボニー®配合錠」の偽造品について (平成 29 年 2 月 1 日).
- [6] 厚生労働省, 報道発表資料, 医療用医薬品の適正な流通の確保の徹底について (平成 29 年 2 月 16 日).

Table 1 使用検体

検体	性状：錠剤外觀→粉碎時の形状・色	サイズ：縦×横×厚さ(mm)	重量(mg)
製品1	黄色錠剤→黄色粉末	8.9×20.4×7.7	1488
製品2A	黄色錠剤→白色粉末	9.1×20.2×7.0	1232
製品2B	紫色円形錠剤→茶色粉末 (生薬またはハーブ特有のにおい有)	9.1(直径)×5.3	337
製品3	黄色錠剤→白色粉末	9.1×20.3×7.1	1236
製品4A	橙色錠剤→白色粉末	10.4×19.8×6.9	1044
製品4B	黄色錠剤→白色粉末	9.2×20.3×7.2	1272
製品5	黄色錠剤→黄色粉末	8.9×20.4×7.7	1534

Table 2 各検体との比較対照製品及び標準物質

比較対照	性状：錠剤外觀→粉碎時の形状・色	サイズ：縦×横×厚さ(mm)	重量(mg)
ハーボニー配合錠	橙色錠剤→白色粉末	10.4×19.7×6.8	1036
ソバルディ錠 400 mg	黄色錠剤→白色粉末	9.2×20.2×7.2	1252
ソホスプビル標準物質	白色粉末	-	-
レジパスビル酒石酸塩標準物質	白色粉末	-	-
国内流通市販サプリメント	黄色錠剤→黄色粉末	8.9×20.4×7.7	1527
国内流通の漢方製剤 「小青竜湯エキス」(錠剤)	紫色円形錠剤→茶色粉末 (生薬またはハーブ特有のにおい有)	9.1(直径)×5.3	332
国内流通の漢方製剤 「葛根湯エキス」(錠剤)	紫色円形錠剤→茶色粉末 (生薬またはハーブ特有のにおい有)	9.0(直径)×5.2	312

Table 3 各検体より検出された化合物及び分析結果より類推される製品

検体	性状：錠剤外觀→粉碎時の形状・色	検出化合物	可能性の高い製品
製品1	黄色錠剤→黄色粉末	ビタミン類(ビタミンB1, B2, B6, E, ナイアシン, パントテン酸)	国内流通サプリメント
製品2A	黄色錠剤→白色粉末	ソホスプビル	ソバルディ錠 400 mg
製品2B	紫色円形錠剤→茶色粉末 (生薬またはハーブ特有のにおい有)	エフェドリン, プソイドエフェドリン(マオウ成分) アルビフロリン, ペオニフロリン(シャクヤク成分) リクイリチン, グリチルリチン(カンゾウ成分) シザンドリン, ゴミシンA(ゴミシ成分) アサリニン(サイシン成分) [6]-ショウガオール(カンキョウなどの成分) [6]-ギンゲロール(ショウキョウなどの成分) ケイヒ酸	国内流通の鼻炎, 感冒 などに使用する漢方製剤 「小青竜湯エキス」(錠剤)
製品3	黄色錠剤→白色粉末	ソホスプビル	ソバルディ錠 400 mg
製品4A	橙色錠剤→白色粉末	ソホスプビル, レジパスビル	ハーボニー配合錠
製品4B	黄色錠剤→白色粉末	ソホスプビル	ソバルディ錠 400 mg
製品5	黄色錠剤→黄色粉末	ビタミン類(ビタミンB1, B2, B6, E, ナイアシン, パントテン酸)	国内流通サプリメント

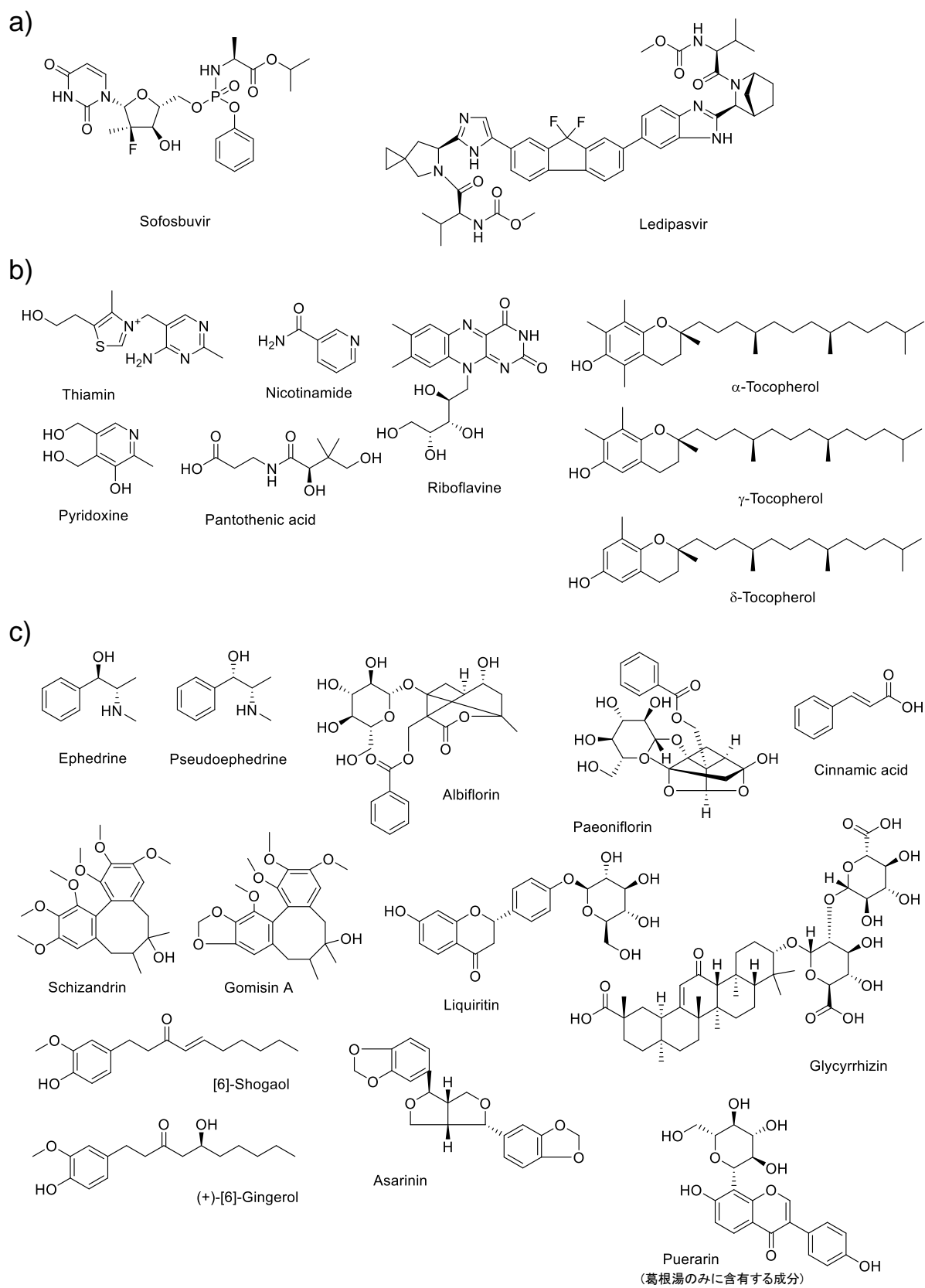


Fig. 1 検出化合物の構造式

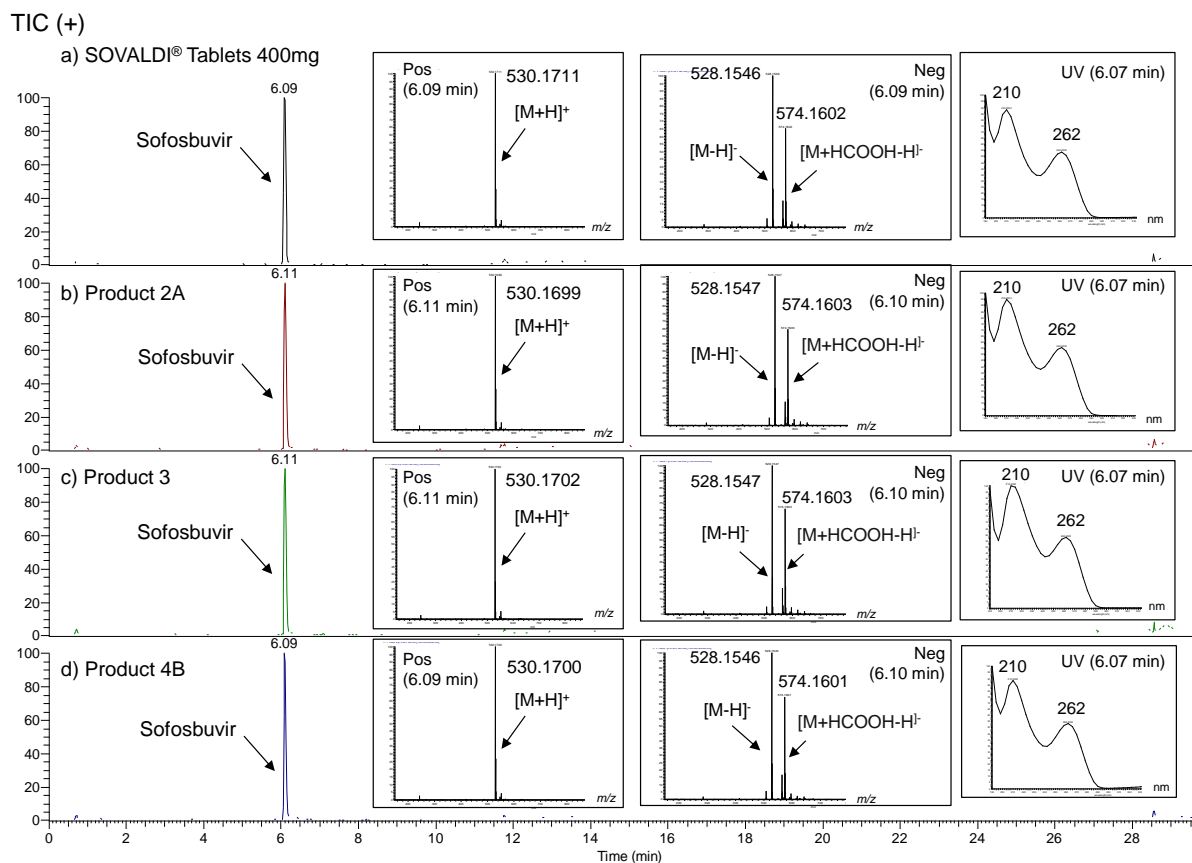


Fig. 2 LC-PDA-MS analysis of SOVALDI® Tablets 400mg, Product 2A, 3 and 4B (Pos/Neg/UV)

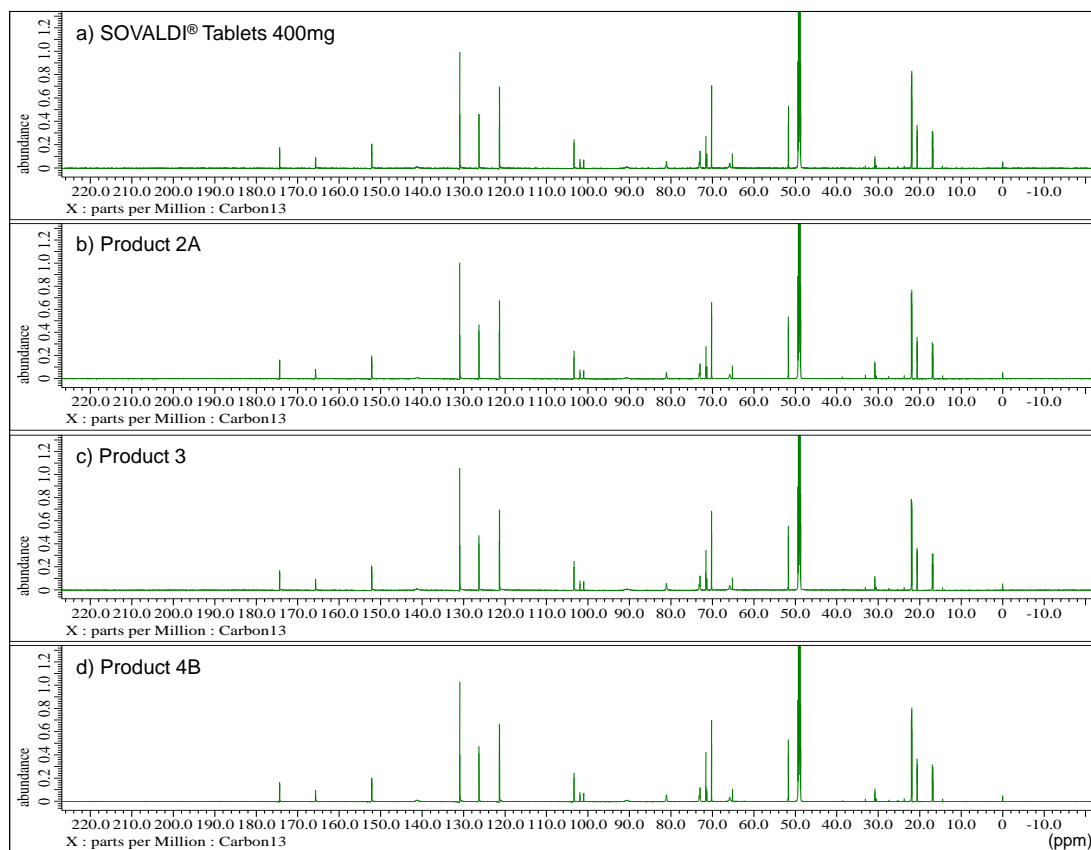


Fig. 3 ¹³C-NMR spectra of SOVALDI® Tablets 400mg, Product 2A, 3 and 4B

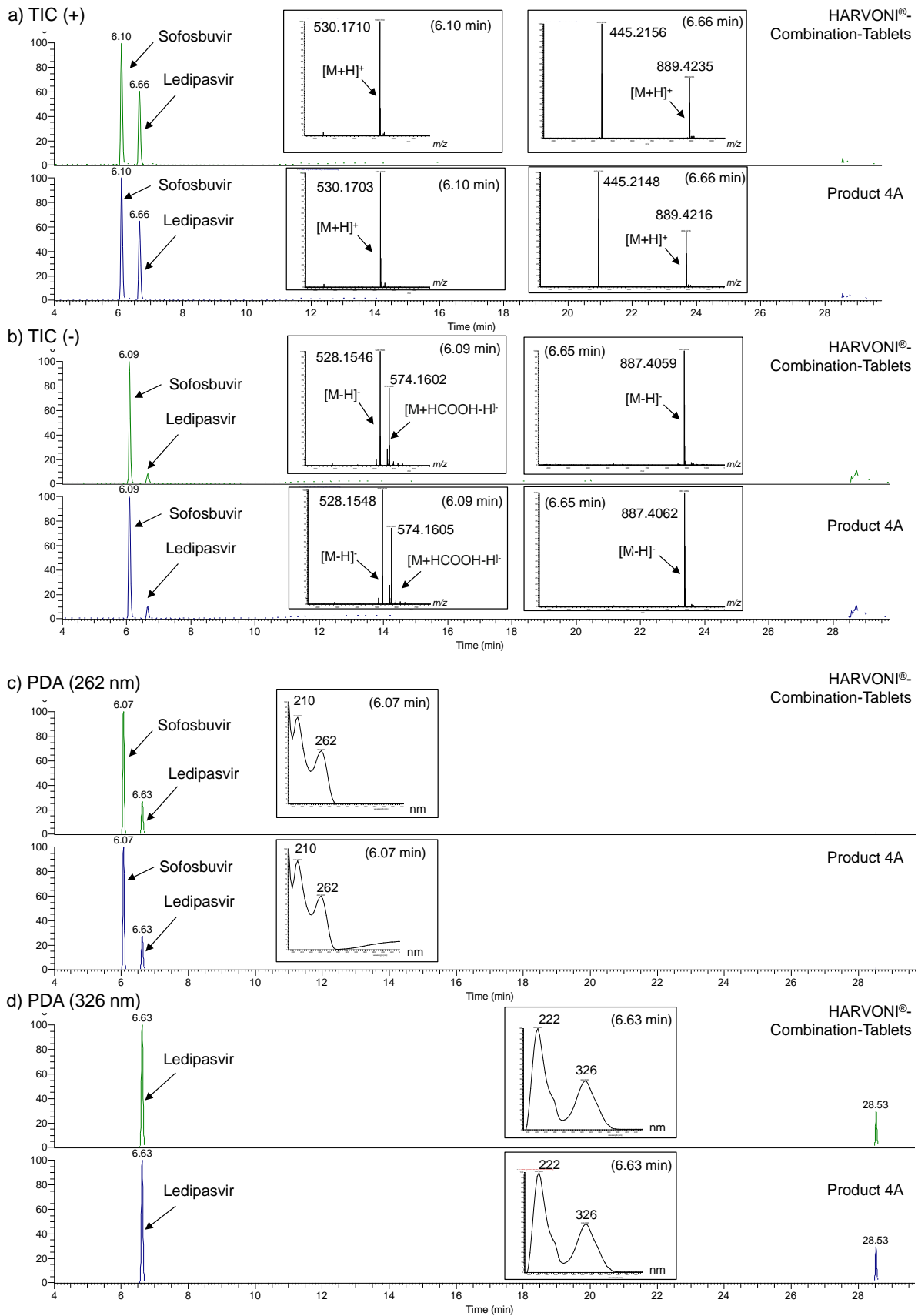
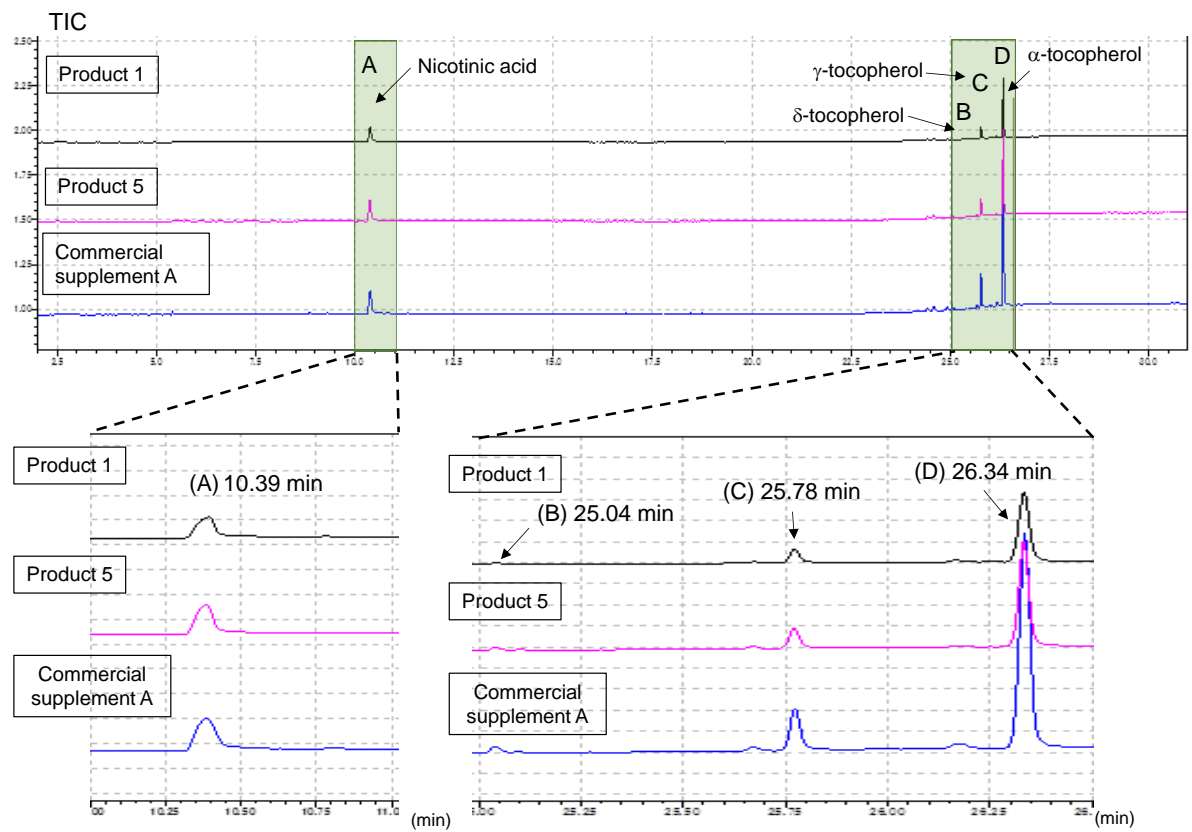
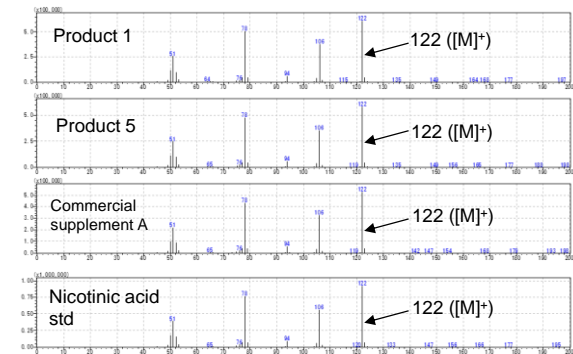


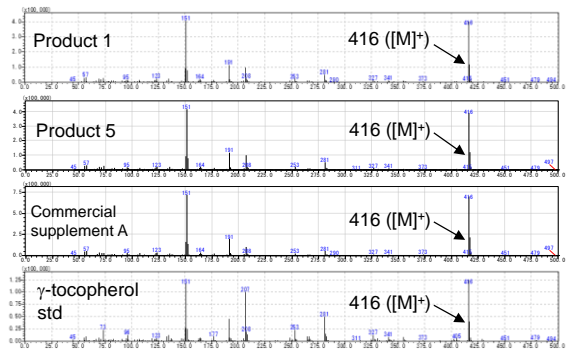
Fig. 4 LC-PDA-MS analysis of HARVONI®-Combination-Tablets and Product 4A



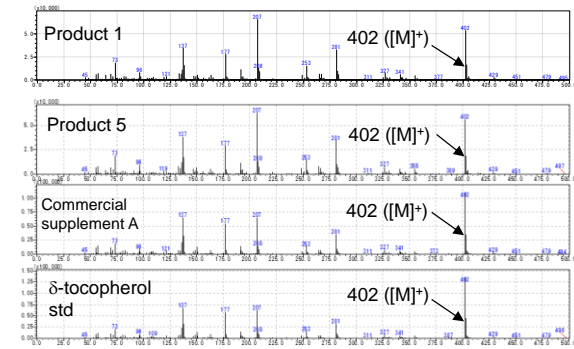
(A) 10.4 min



(C) 25.8 min



(B) 25.0 min



(D) 26.3 min

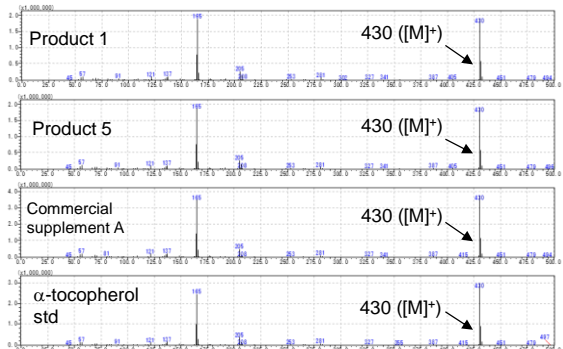


Fig. 5 GC-MS analysis of Commercial supplement A, Product 1 and 5

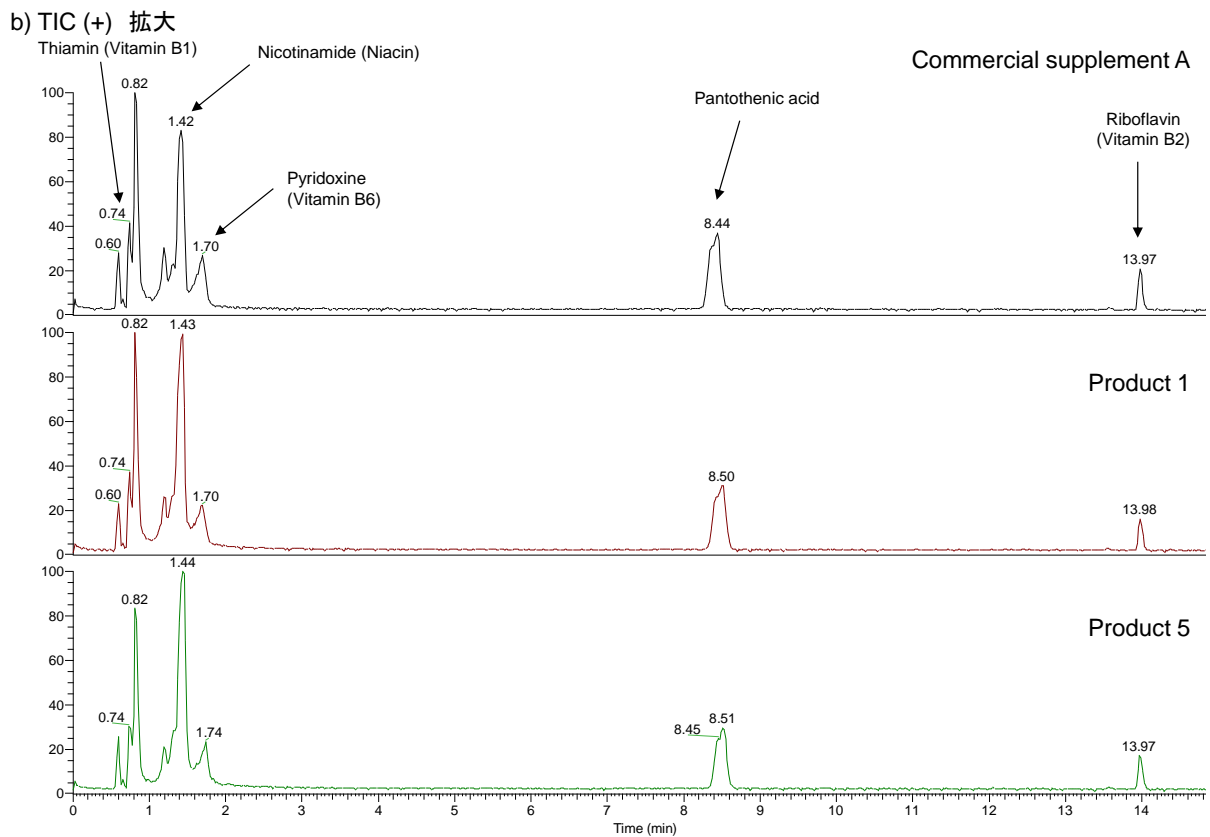
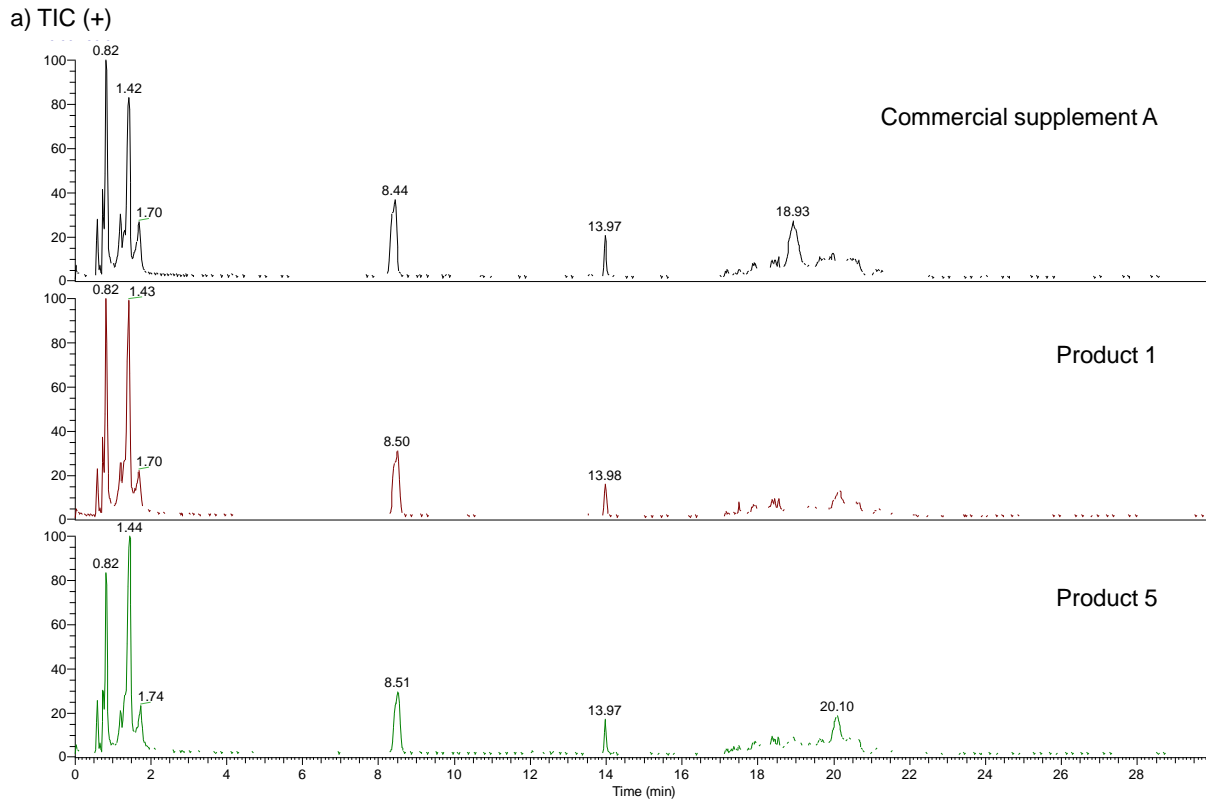


Fig. 6 LC-MS analysis of Commercial supplement A, Product 1 and 5

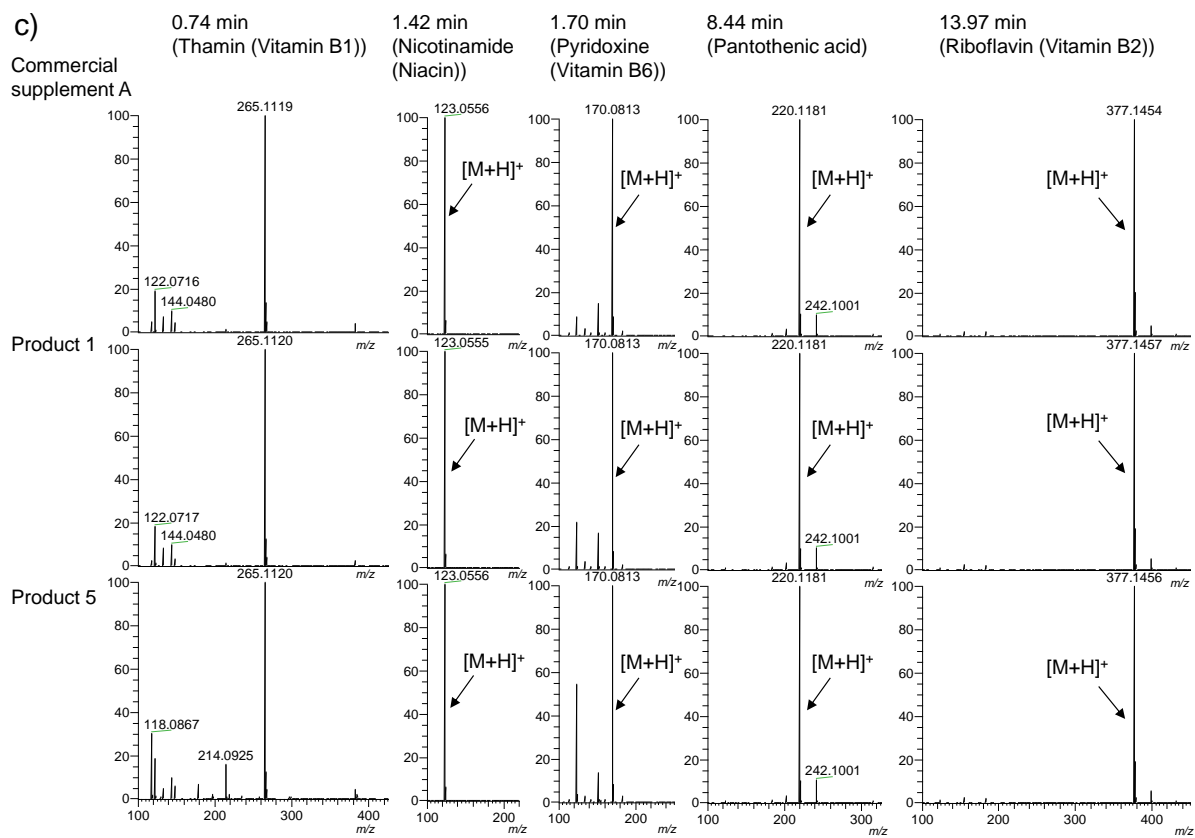


Fig. 6(続き) LC-MS spectra of Commercial supplement A, Product 1 and 5

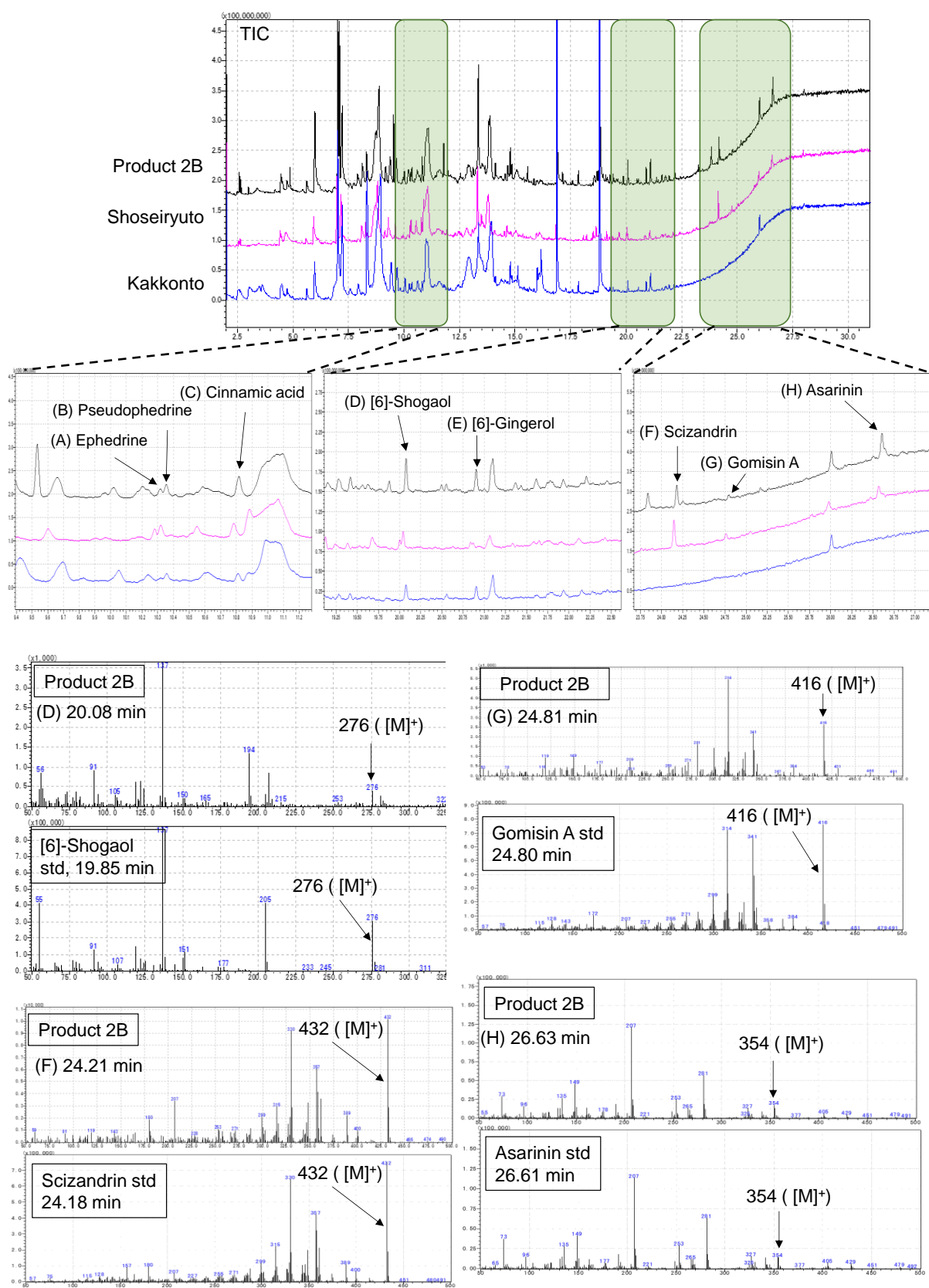
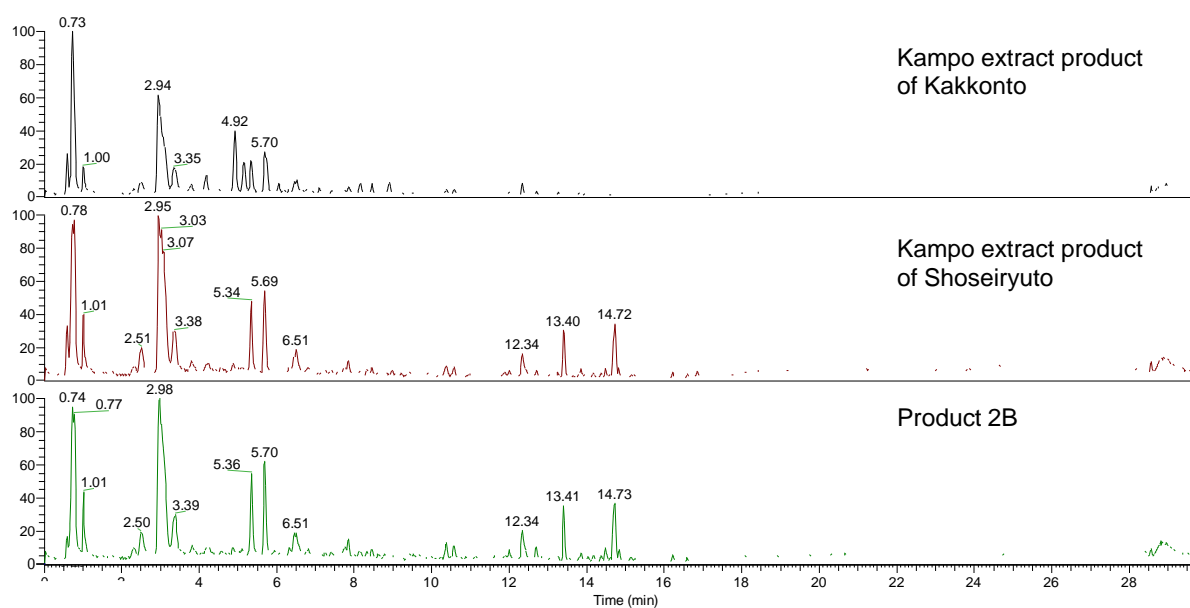


Fig. 7 GC-MS analysis of of Product 2B, Kampo extract products of Kakkonto and Shoseiryuto

a) TIC (Pos)



b) TIC (Pos) 拡大

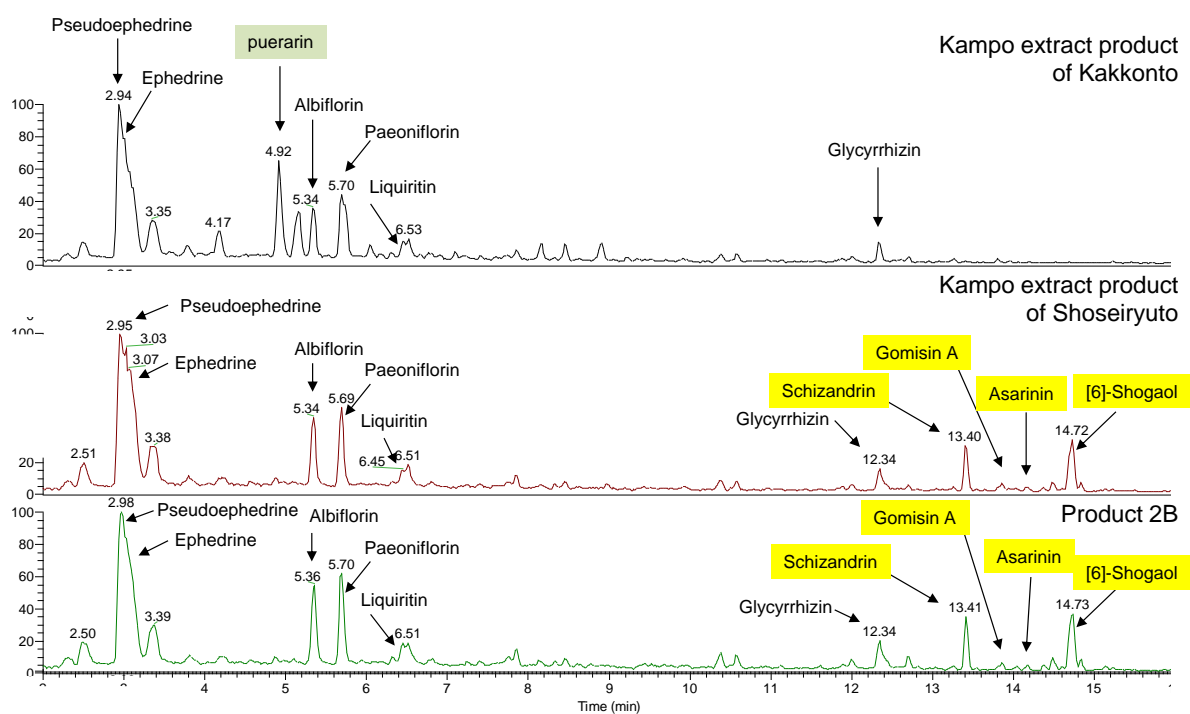
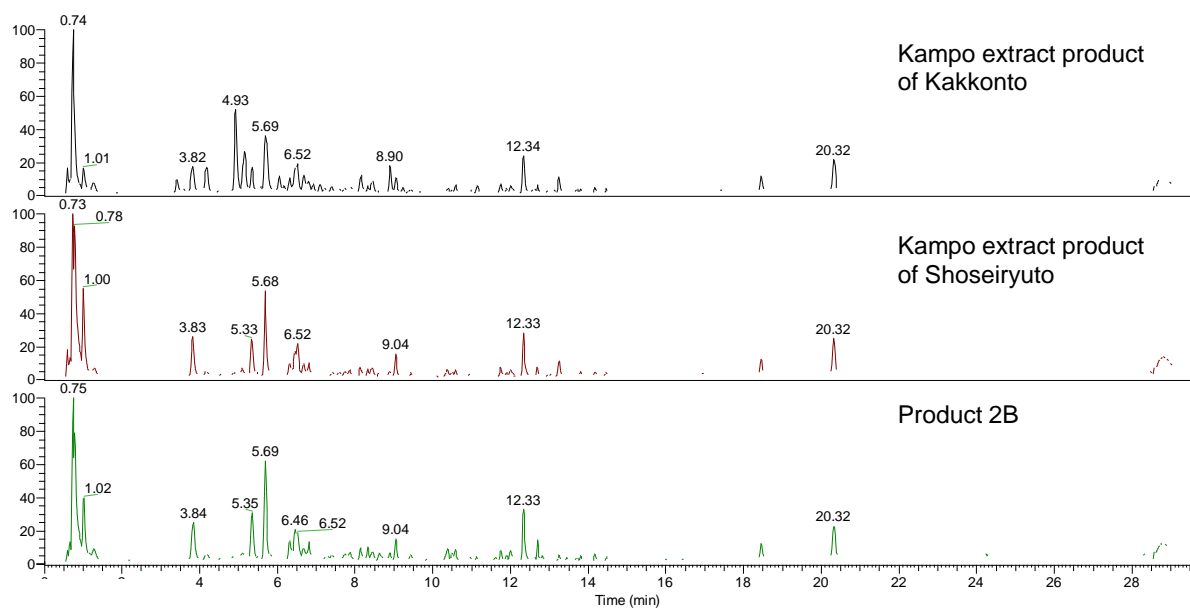


Fig. 8 LC-MS chromatograms of of Product 2B, Kampo extract products of Kakkonto and Shoseiryuto (Pos)

a) TIC (Neg)



b) TIC (Neg) 拡大

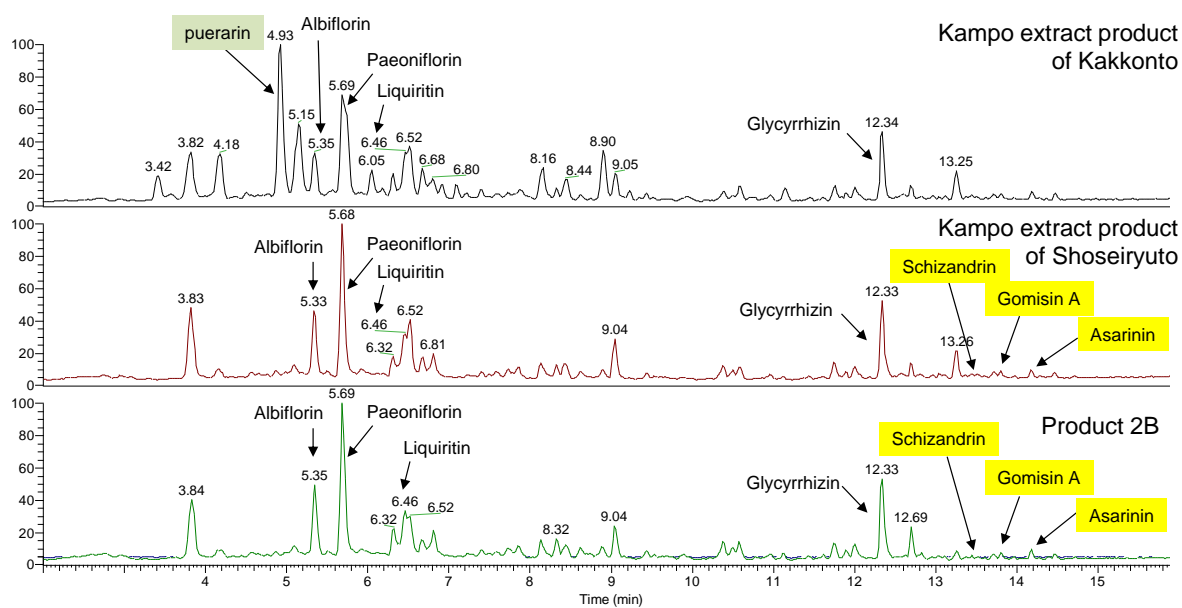
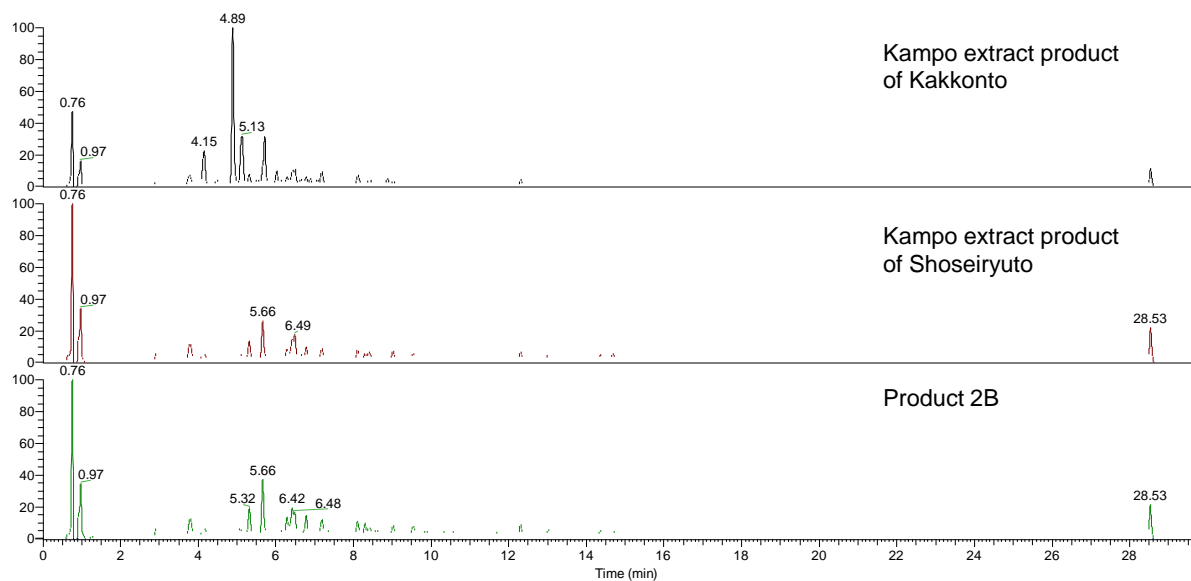


Fig. 9 LC-MS chromatograms of of Product 2B, Kampo extract products of Kakkonto and Shoseiryuto (Neg)

a) PDA



b) PDA(拡大)

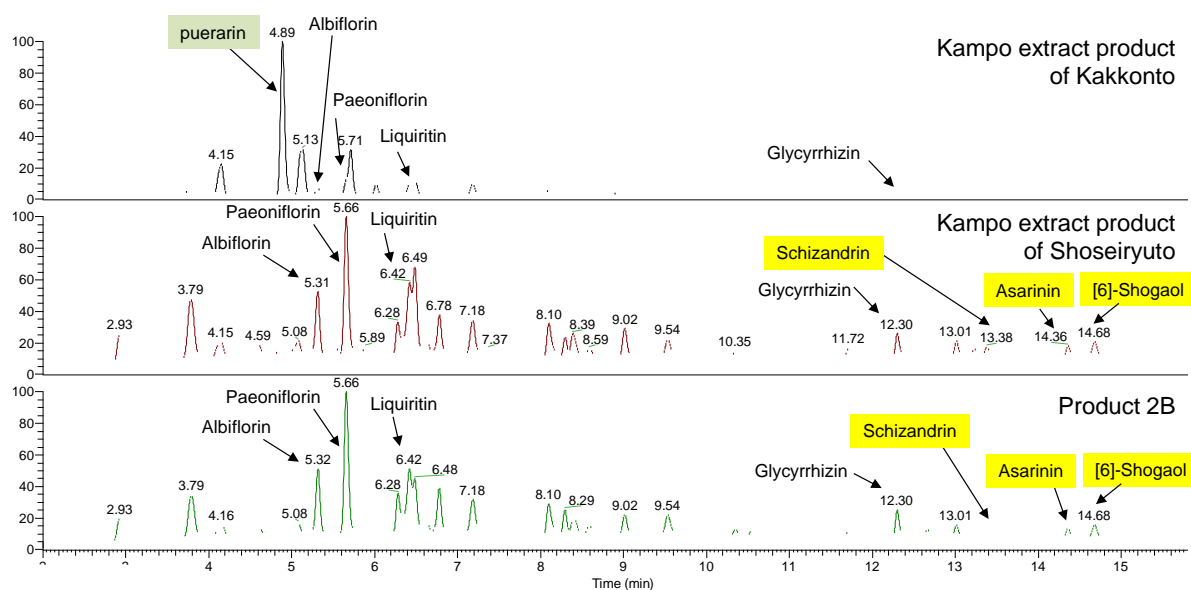


Fig. 10 LC-PDA chromatograms of Product 2B, Kampo extract products of Kakkonto and Shoseiryuto)

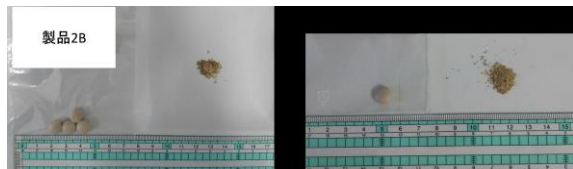
【製品 1】 【国内流通市販サプリメント】



【製品 2A】 【ソバルディ錠】



【製品 2B】 【国内流通の漢方製剤「小青竜湯エキス」(錠剤)】



【製品 3】 【ソバルディ錠】



【製品 4A】 【ハーボニー配合錠】



【製品 4B】 【ソバルディ錠】



【製品 5】 【国内流通市販サプリメント】

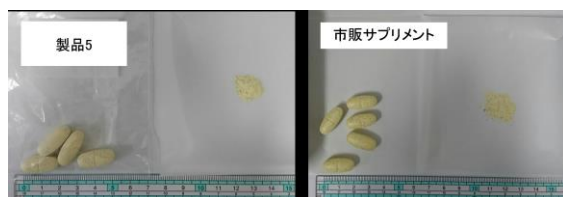


Fig. 11 各検体の外観及び粉碎時の色及び形状

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)
分担研究報告書

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の
規制に関する研究

研究分担者 袴塚 高志 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長

日本国外で流通する何首烏及び関連生薬の基原種調査

研究協力者 佐藤 直子 国立医薬品食品衛生研究所 前・生薬部非常勤職員
(現・食品添加物部研究員)

何首烏は日本薬局方収載生薬のひとつであり、古くから強壯、解毒、補血、緩下のために用いられている。一方、韓国では何首烏の代わりに白首烏が使用されてきたが、近年これと形態のよく似た異葉牛皮消との誤用が問題となっている。現在のところ、日本に医薬品として流通しているのは何首烏のみであり、白首烏及び異葉牛皮消の誤用は報告されていないが、今後日本でも白首烏配合製品が流通する可能性が高く何首烏と誤用される危険性も高まる。本研究では、日本国外として中国市場において何首烏、白首烏、異葉牛皮消として流通する生薬の基原種について、成分と遺伝子の両面から調べ実態を調査した。その結果、中国市場で何首烏として流通するものでも基原種に誤りはなく、日本では医薬品として認められていない白首烏や異葉牛皮消とは成分・遺伝子どちらの方法でも明らかに区別できることが示された。一方、白首烏と異葉牛皮消は基原種に混乱がみられた。

研究協力者

天倉 吉章 松山大学薬学部 教授
丸山 卓郎 国立医薬品食品衛生研究所 室長
内山奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所 室長
政田さやか 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

A. 研究目的

何首烏は、日本薬局方(第十六改正)収載生薬のひとつであり、ツルドクダミ(*Polygonum multiflorum* Thunberg)の塊根である。古くから、強壯、解毒、補血、緩下のために用いられているが、韓国では何首烏の基原植物が自生せ

ず、代わりに白首烏も使用されてきた。白首烏の基原種について、日本に公の定義はないが、韓国ではコイケマ(*Cynanchum wilfordii* Hemsley)の根を基原とする生薬であると規定されている(表1)¹⁾。

近年、白首烏配合の健康食品が主に更年期障害を改善する²⁾目的で、韓国国内で多く流通している。しかし、2015年4月、食品医薬品安全処(KFDA)が韓国市場に流通する白首烏配合製品を調査した結果、65%の製品に白首烏と形態のよく似た異葉牛皮消が違法に使用されていることが明らかとなった^{3, 4)}。異葉牛皮消は*C. auriculatum* Royle ex Wightの根である

が、*C. auriculatum* を妊娠中の雌豚に与えると流産を惹起するという報告があり、アメリカ食品医薬局 (FDA) が運営しているデータベースでは有毒植物として記載されているものである⁵⁾。今回のような白首烏と異葉牛皮消の誤用は韓国では古くから問題となっており、これまでに PCR 法を用いた両者の鑑別法が多く報告されており^{6,7)}、大韓薬典外韓薬 (生薬) 規格集にも記載されている⁸⁾。

現在のところ、日本に医薬品として流通しているのは何首烏のみであり、白首烏及び異葉牛皮消の誤用は報告されていない。しかし、上述の白首烏配合製品のなかにはアメリカですでに販売されているものもあり、日本でも機能性表示食品として許可を取る目的で日本人を対象とした臨床試験が行われている⁹⁾。今後、日本でも白首烏配合製品が流通する可能性が高く、それに伴い白首烏の流通が盛んになれば何首烏と誤用される危険性も高まる。そこで、日本国外 (中国市場) で何首烏、白首烏、異葉牛皮消として流通する生薬の基原植物について、成分と遺伝子の両面から調べ実態を調査したので報告する。

B. 研究方法

実験材料

本研究に使用した何首烏、白首烏および異葉牛皮消 (耳葉牛皮消) の詳細を表 2 に示す。これら生薬はすべて国内生薬メーカーを通じて入手した。

高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC) による分析

a) 試薬及び装置

高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC) は、HPTLC Silica gel 60 F254 Glass plate (20×10 cm) (Merck 社製) を用いた。試料溶液注入には、TLC サンプルアプリーケーター リノマート V, TLC 画像の撮影には、TLC 撮影システム

TLC ビジュアライザー (いずれも CAMAG 社製) を使用した。

検出は、紫外線 (UV) 照射 (254, 366 nm), 希硫酸試液 (局方に準拠して調製) により行った。

b) 試料溶液の調製及び分析条件

各試料の試料溶液の調製は、以下のように行った。また、すべての試料溶液は HPTLC ガラスプレートにスポットし、約 7 cm 展開した。各スポットのバンド幅は 8 mm, バンド間隔 2 mm とした。

試料調製 各試料の粉末 0.5 g にメタノール 5.0 mL を加え、約 5 分間超音波処理を行った。自然ろ過後、得られたろ液を蒸発乾固し、残留物をメタノール 1 mL に溶解したものを試料溶液とした。

HPTLC 条件 注入量: 各 3 μ L, 展開溶媒: 酢酸エチル/水/メタノール/酢酸 (100) (200:10:10:3), 検出: UV 照射 (254, 366 nm), 希硫酸噴霧試液噴霧後、加熱。

塩基配列解析

a) DNA 抽出

生薬試料を 20–30 mg 量りとり、粉碎したものを DNA 抽出用試料とした。DNA 抽出には DNeasy® Plant Mini Kit (QIAGEN) 及び QIAcube™ (QIAGEN) を使用した。

b) PCR 条件

核 rDNA の Internal transcribed spacer region (以下 ITS 領域) の増幅には ITS5A 及び ITS4 を^{10,11)}、葉緑体 DNA *trnL-trnF* intergenic spacer (以下 *trnL-trnF* 領域) には *trnL*F-c 及び *trnL*F-f を¹²⁾、同じく葉緑体 DNA *trnH-psbA* intergenic spacer region (以下 *trnH-psbA* 領域) には *PsbA3_f* 及び *TrnHf_05* を^{13,14)} それぞれプライマーとして用いた。これらプライマー配列を表 3 に示す。

PCR 反応液は、どの領域を増幅する場合も同じく、KOD FX Neo (TOYOBO) 0.5 μ L, 2×PCR

buffer for KOD FX Neo 12.5 μ L, dNTPs 0.2 mM, forward 及び reverse primer 各 0.2 μ M を含むものに, 0.5 μ L の DNA 溶液を加え全量を 25 μ L とした. PCR 反応は DNA Engine thermal cycler (Bio-Rad) を用いて行い, 温度プログラムは (94°C, 2 min) \times 1 cycle, (98°C, 10 sec; 60°C, 30 sec; 68°C, 70 sec) \times 31 cycles, (68°C, 70 sec) \times 1 cycle とした. なお, 増幅産物はマイクロチップ電気泳動装置 MCE202 MultiNA (Shimadzu) を用いて泳動し確認した.

増幅産物精製及び配列解析

PCR 反応により得られた増幅産物は, MiniElute® PCR Purification Kit (QIAGEN) を用いて精製し, ユーロフィンジェノミクス株式会社 に委託してダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した. これら配列について, BLAST 相同性検索により基原種を推定した.

C. 研究結果

高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC) による分析

何首鳥及び類似生薬計 19 検体について, HPTLC 分析を行った結果を図 1 に示す. 分析の結果, 何首鳥とラベルされている検体 (Sample nos. 1, 2, 5-7, 15-17; 以下パターン A) の分離パターンは白首鳥や異様牛皮消とされる検体の分離パターンと明らかに区別された.

一方, 白首鳥または異葉牛皮消とされる検体では, 2 種類の分離パターンが見られた (図 1). すなわち Sample nos. 3, 8-12, 14, 18 で見られたパターン (以下, パターン B) と Sample nos. 4, 13, 19 で見られたパターン (以下, パターン C) である. パターン B を示したのはほとんどが白首鳥として流通していたものであったが, Sample no. 18 のみ耳葉牛皮消として流通するものであった. また, パターン C を示した 3 検体のうち, Sample nos. 4, 19 は牛

皮消とされる検体であったが, Sample no. 13 のみ白首鳥として流通するものであった. これらの結果から, 入手した生薬試料の中に, 生薬のラベルと中身が異なるものが存在する可能性が示唆された. そこで, これら 19 検体について遺伝子配列から基原種の推定を試みることにした.

ITS 領域, psbA-tnH 領域及び trnL 領域の塩基配列解析

表 2 に示す何首鳥及び類似生薬について, ITS 領域, *trnH-psbA* 領域及び *trnL-trnF* 領域の配列を調べ, 基原種の推定を行った (表 4, 5). なお, Sample no. 8 からは DNA が抽出されなかった.

生薬購入時に何首鳥とラベルされている検体 (Sample nos. 1, 2, 5-7, 15-17, HPTLC パターン A に該当) はすべて, 何首鳥の基原植物である *P. multiflorum* の ITS 及び *trnL-trnF* 領域 (表 4) と最も高い配列相同性を示した. これら検体の *trnH-psbA* 領域の配列はダイレクトシーケンスでは解析できなかったものの, ITS 及び *trnL-trnF* 領域の結果から生薬購入時に何首鳥とラベルされている検体 (Sample nos. 1, 2, 5-7, 15-17) はすべて *P. multiflorum*, すなわち何首鳥の正しい基原種から生産されたものであることが示された. これにより, HPTLC でパターン A を示す検体は何首鳥であると考えられた (表 5).

一方, 白首鳥 (Sample nos. 3, 9-14) 及び異葉牛皮消 (Sample nos. 4, 18, 19) とされている検体の ITS 領域, *trnH-psbA* 領域及び *trnL-trnF* 領域を解析したところ, どの領域でも sample nos. 3, 9-12, 14, 18 のグループと sample nos. 4, 13, 19 のグループにわかれた. これらのグループはそれぞれ HPTLC のパターン B (ただし Sample no. 8 は DNA 抽出されなかったため含まれず) とパターン C とに完全に一致した. パ

ターン B 検体の ITS 領域, *trnH-psbA* 領域及び *trnL-trnF* 領域はそれぞれ *C. auriculatum* の ITS 領域, *trnH-psbA* 領域及び *trnL-trnF* 領域 (GenBank accession nos. EU580717, KT220734 and JX028242) と一致した. このことから, HPTLC でパターン B を示す検体の基原種は *C. auriculatum* であると推定された(表 5). 一方, パターン C 検体の ITS 領域, *trnH-psbA* 領域及び *trnL-trnF* 領域は, *C. wallichii* のもの(GenBank nos. LN896989, LN896868 and LN896761) とそれぞれ最も高い配列相同性を示した. そのため, これらの基原種は, *C. wilfordii* でも *C. auriculatum* でもない *Cynanchum* 属植物由来である可能性が考えられた(表 5).

以上の結果をまとめると(表 5), 生薬購入時に何首烏とラベルされていた検体はすべて, 生薬名から予想される基原種と遺伝子から推定される基原種が一致した. 一方, 白首烏あるいは異葉牛皮消とラベルされていたもので予想される基原種と遺伝子から推定される基原種が一致したと考えられるものは Sample no. 18 のみであった. 残りの検体については, 白首烏として購入した検体の殆どは異葉牛皮消の基原種 (*C. auriculatum*) 由来のものであり, 異葉牛皮消として購入したものは *Cynanchum* 属と推定されるものの, 基原種は不明であった.

D. 考察

本研究で用いた検体は, 表 2 に示すようにすべて中国産生薬である. 一方, 白首烏の基原植物を公に定義しているのは韓国のみである. 今回, 白首烏の基原種が異葉牛皮消の基原種と入れ替わっている可能性があるという結果を受け, 中国で両生薬の基原植物がどのように規定されているかを調べた(表 1). 中国の薬局方である中国薬典には白首烏, 異葉牛皮消ともに中国薬典への収載はないが, 中国で扱われる生

薬を記載している中薬大辞典には両生薬に関する記述がある. これによると, 白首烏[bai-shou-wu]の基原植物は *C. auriculatum* Royle ex Wight とされており¹⁵⁾, 韓国で白首烏の基原植物とされる *C. wilfordii* の根は隔山消[ge-shan-xiao]と記されていた¹⁶⁾. さらに, 白首烏の別名として隔山消が, 隔山消の別名として白首烏が挙げられており, 両生薬の区別が曖昧であることが推察されたうえ, どちらかといえば *C. auriculatum* の根が白首烏として認識されているように思われた. 中国から報告された白首烏を題材とした科学論文でも, *C. auriculatum* と *C. wilfordii* の両方が bai-shou-wu (白首烏) の基原として記述されていた¹⁷⁾. 本研究で用いた検体はすべて中国産であったため, 白首烏として購入したほとんどの生薬でその基原種が異葉牛皮消のものに入れ替わるという現象が起こったと考えられる. 今後, 韓国産の白首烏や異葉牛皮消の遺伝子についても検討したいと考えている.

E. 結論

何首烏として流通する生薬については, 本研究で調査した限りでは正しい基原植物が用いられていた. 何首烏の基原植物として定められているものは日中韓で一致していることもあり, 何首烏として扱われているものの中に日本で医薬品としては認められていない白首烏や異葉牛皮消が混入する可能性は低いと思われた.

一方, 中国で流通している白首烏と異葉牛皮消の基原植物は, 韓国で定められているものと異なることが明らかとなった. この一因として, 中国と韓国とで白首烏の基原植物とされる種が一致していないことが挙げられる. そのため, 輸入先が中国か韓国かによって基原植物が異なる可能性が高く, 同じ「白首烏」を入手したつもりでもその品質が大きく異なる危険性が

示唆された。日本での流通実績がほとんどなく定義の曖昧な原料を健康食品等で使用する場合、異物同名が存在しないかなどを見極める必要がある。

F. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 佐藤 (増本) 直子, 内倉崇, 杉脇秀美, 好村守生, 政田さやか, 内山奈穂子, 丸山卓郎, 天倉吉章, 袴塚高志: 国外で流通する何首烏及び関連生薬の基原種について. 日本生薬学会第 63 回年会 (2016. 9)

2. 誌上発表

該当無し

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

参考文献

- 1) The Korean Herbal Pharmacopoeia. Korea Food and Drug Administration, p. 98 (2002).
- 2) Chang A, Kwak BY, Yi K, Kim JS (2012) The effect of herbal extract (EstroG-100) on pre-, peri- and post-menopausal women: a randomized double-blind, placebo-controlled study. *Phytother. Res.* **26**: 510-516.
- 3) Ministry of Food and Drug safety, Korea. <http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=676&seq=27270> (accessed 2016-12-13).
- 4) 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部, 食品安全情報 (化学物質) No. 9/2015. p. 22. <http://www.nihs.go.jp/hse/food-info/foodinfonews/2015/foodinfo201509c.pdf> (accessed 2016-12-13).
- 5) U.S. Food and Drug Administration (FDA). FDA Poisonous Plant Database. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/Planttox/Detail.CFM?ID=11513> (accessed 2016-12-13).
- 6) Kim KH, Kim YS, Kim MR, Lee HY, Lee KH, Kim JH, Seong RS, Kang TS, Lee JH, Jang YM (2015). Development of primer sets for the detection of *Polygonum multiflorum*, *Cynanchum wilfordii* and *C. auriculatum*. *J. Food Hyg. Saf.* **30**: 289-294.
- 7) Kim MK, Wang H, Kim YJ, Sathiyamoorthy S, SaengKwon W, Yang DC (2013). Molecular authentication by multiplex-PCR of three similar medicinal plant species: *Cynanchum wilfordii*, *Cynanchum auriculatum* and *Polygonum multiflorum* (*Fallopia multiflorum*). *J. Med. Plants Res.* **7**:2584-2589.
- 8) Ministry of Food and Drug safety, Korea. 대한약전외한약(생약) 규격집수재생약(KH P) “Cynanchi Wilfordii Radix.” http://www.mfds.go.kr/files/upload/herbmed/photo_data/KHP1352.pdf (accessed 2016-12-13).
- 9) UMIN Clinical Trials Registry (UMIN-CTR). “Clinical study on the efficacy and safety of EstroG-100J for menopausal symptoms: randomized double-blinded controlled study”. UMIN test ID: UMIN000015967. https://upload.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr_view.cgi?recptno=R000018381 (accessed 2016-12-13)
- 10) White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. p. 315-322

- in: Innis, M., Gelfand, D., Sninsky, J. & White, T. (eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications*. San Diego: Academic Press.
- 11) Downie SR, Katz-Downie DS (1996) A molecular phylogeny of Apiaceae subfamily Apioideae: Evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Amer. J. Bot.* **83**: 234–251.
 - 12) Taberlet PL, Gielly G, Pautou J, Bouvet K (1991) Universal primers for amplification of three non-coding region of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* **17**:1105–1109.
 - 13) Samg T, Crawford DJ, Stuessy TF (1997) Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution and biogeography of Paeonia (Paeoniaceae). *American Journal of Botany* **84**:1120–1136.
 - 14) Tate JA, Simpson BB (2003) Paraphyly of Tarasa (Malvaceae) and diverse origins of the polyploid species. *Systematic Botany* **28**: 723–737.
 - 15) 南京中醫葯大學編著, 中葯大辭典 上 (第二版)., 上海科學技術出版社, p. 1007 (2006).
 - 16) 南京中醫葯大學編著, 中葯大辭典 下 (第二版)., 上海科學技術出版社, p. 3395 (2006).
 - 17) Zhang X, Shan L, Huang H, Yang X, Liang X, Xing A, Huang H, Liu X, Su J, Shang W (2009) Rapid identification of acetophenones in two *Cynanchum* species using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **49**: 715–725.

表 1 各国における生薬名とその基原植物名のちがい

基原植物（学名）	和名	生薬名		
		日本	韓国	中国
<i>Polygonum multiflorum</i>	ツルドクダミ	何首烏 ^{1)*}	何首烏 ^{2)*}	何首烏 ^{3)*}
<i>Cynanchum wilfordii</i>	コイケマ	—	白首烏 ^{4)*}	隔山消, 隔山牛皮消, 白首烏 ⁵⁾
<i>Cynanchum auriculatum</i>	—	—	牛皮消	白首烏, 隔山消 ⁵⁾

¹⁾日本薬局方第 17 改正, ²⁾大韓薬典, ³⁾中国薬典, ⁴⁾大韓薬典外韓薬（生薬）規格集, ⁵⁾中薬大辞典.

*各国で公定規格が整備されているもの.

表 2 本研究で用いた生薬市場品

Sample no.	購入時の生薬名	流通市場	産地
1	何首烏	中国	四川省
2	何首烏	中国	四川省
3	白首烏	中国	江蘇省
4	異様牛皮消	中国	広西
5	何首烏	中国	四川省
6	何首烏	中国	四川省
7	何首烏	中国	四川省
8	白首烏	中国	広西
9	白首烏	中国	江蘇省
10	白首烏	中国	江蘇省
11	白首烏	中国	江蘇省
12	白首烏	中国	江蘇省
13	白首烏	中国	江蘇省
14	白首烏	中国	江蘇省
15	何首烏	中国	広西
16	何首烏	中国	四川省
17	何首烏	中国	四川省
18	耳葉牛皮消	中国	江蘇省
19	耳葉牛皮消	中国	江蘇省

表 3 本研究で用いたプライマー配列

プライマー名	配列
ITS5a	5'-CCTTATCATTTAGAGGAAGGAG-3'
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'
PsbA3_f	5'-GTTATGCATGAACGTAATGCTC-3'
TrnHf_05	5'-CGCGCATGGTGGATTACAAATCC-3'
trnLF-c	5'-CGAAATCGGTAGACGCTA-3'
trnLF-f	5'-ATTGAACTGGTGACACGAG-3'

表 4 GenBank に登録されている *P. multiflorum* 由来配列の accession nos. と、それら配列と最も高い相同性を示した生薬の一覧

GenBank accession no.		
ITS 領域	<i>trnL-trnF</i> 領域	Sample no.
EF016288	EU402451	1
	EU024783	5, 7
EU596382	EU402451	2
EF016292	EU402488	6, 15
EU808016	EU402460	16, 17

表 5 本研究に用いた中国市場品における，遺伝子配列から推定された基原種及び HPTLC パターン

Sample no.	購入時の生薬名	生薬名から予想された学名	遺伝子配列から推定された学名	HPTLC パターン
1	何首烏	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>	A
2	何首烏	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>	A
3	白首烏	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>	B
4	異様牛皮消	<i>C. auriculatum</i>	<i>Cynanchum</i> spp.	C
5	何首烏	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>	A
6	何首烏	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>	A
7	何首烏	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>	A
8	白首烏	<i>C. wilfordii</i>	— ^{a)}	B
9	白首烏	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>	B
10	白首烏	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>	B
11	白首烏	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>	B
12	白首烏	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>	B
13	白首烏	<i>C. wilfordii</i>	<i>Cynanchum</i> spp.	C
14	白首烏	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>	B
15	何首烏	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>	A
16	何首烏	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>	A
17	何首烏	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>	A
18	耳葉牛皮消	<i>C. auriculatum</i>	<i>C. auriculatum</i>	B
19	耳葉牛皮消	<i>C. auriculatum</i>	<i>Cynanchum</i> spp.	C

背景が灰色のものは，生薬名から予想される学名と遺伝子解析から推定された学名が異なっていた生薬。

^{a)} DNA が抽出されなかった製品

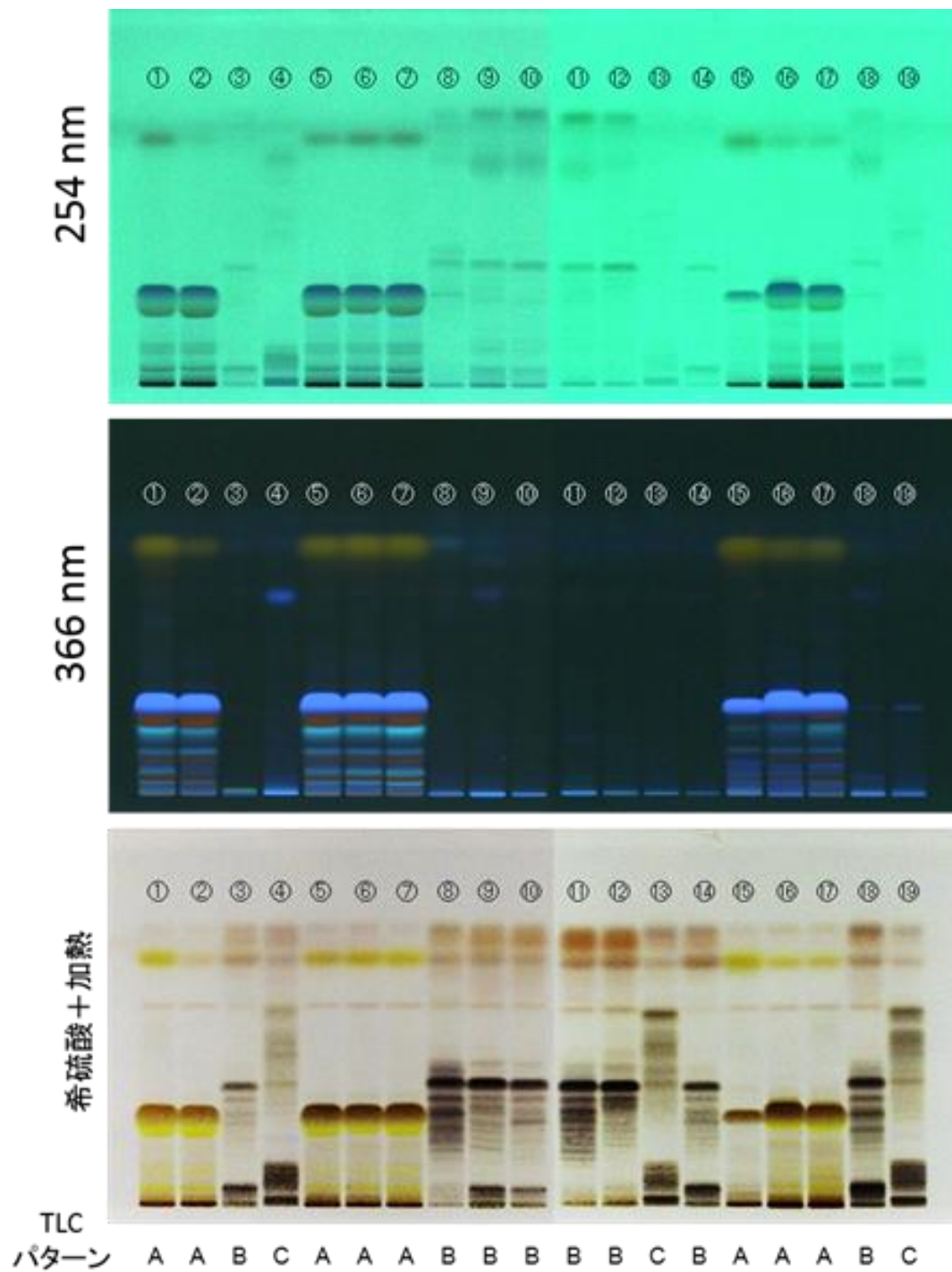


図1 何首烏，白首烏及び異葉牛皮消の HPTLC 分析結果
 数字は Sample no. を， TLC パターンは本文中のパターン A, B, C をそれぞれ示している.

分担研究報告書

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析・有害性予測と監視に関する研究

分担研究者 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部室長 丸山 卓郎

Cynanchum 属および *Polygonum* 属植物に由来する『何首烏』の組織形態学的研究(1)

協力研究者 日本薬科大学 漢方薬学分野 山路 誠一, 吉田 和範, 赤坂 優駿

研究要旨 日本薬局方『何首烏』はタデ科 Polygonaceae ツルドクダミ *Polygonum multiflorum* Thunberg の塊根を用いる生薬であるが, 国外の生薬市場ではガガイモ科 Asclepiadaceae のイケマ *Cynanchum* 属植物塊根由来の『白首烏』が同類生薬として流通している. こうした生薬による有害性評価および規制範囲の検討に資する知見を得る目的で *Cynanchum* 属および *Polygonum* 属植物由来と考えられた生薬の組織形態について検討した. その結果, 検討した試料からは *C. auriculatum*, *C. wilfordii*, のほか *C. bungei* 由来品と考えられる基原植物が見出された. 各試料では乳管が確認された一方, 種によりその多寡に差が認められた. 木部内には外師包囲型の異常維管束が認められ, 二次組織群の形状が直線状, くさび形, 楕円形を呈していた. これらの形態は *Polygonum* 属由来品の形態とは全く異なっていた. このように *Cynanchum* 属由来生薬の鑑別では, 根の横切面の観察は有用であった.

協力研究者

佐藤直子 国立医薬品食品衛生研究所 前生薬部非常勤職員(現食品添加物部 研究員)

内山奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部 室長

マ *C. wilfordii* (Maxim.) Hook.f.の肥大根とされるが²⁾, イケマ属植物は中国で約 60 種報告される³⁾だけでなく, 同属植物は生薬の『白薇』, 『白前』, 『徐長卿』などの基原植物も含み, 本質は不明瞭である. そこで今回は韓国及び中国産の市場品『白首烏』について, 基原植物の解明を分子生物学的手法と並行して実施し, 組織形態学的な基原の解明を試みた. なお同時に『何首烏』の組織形態学的な検討も併せて実施した.

A. 研究目的

『何首烏』はタデ科 Polygonaceae のツルドクダミ *Polygonum multiflorum* Thunb.の塊根に由来する生薬であるが, 古来「赤と白」に分ける¹⁾うちの, 「白」の何首烏は『白首烏』の名で中国や韓国で流通している. 『白首烏』の基原はガガイモ科 (Asclepiadaceae) イケマ属の *Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight やコイケ

B. 研究方法

1. 実験材料

試料は中国と韓国市場で流通していた『白首烏』, 及び白首烏と同様イケマ(*Cynanchum*)属植

物の塊根由来と考えられた『耳葉牛皮消(耳叶牛皮消)』の塊根相当部分について検討した。また同時に『何首烏』試料も入手した(表1, 図1)。

2. 実験方法

2-1. 組織形態の観察

主として横切片を作成した。試料はまず適切な大きさに切り出し、冷蔵下で水に8時間程度浸漬後、氷結試料載台に載せ、滑走式マイクロームにて薄片を作成した。切り出しは植物体の軸方向と垂直になる向き、かつ水平になるよう、切片を作成した。製片後は必要に応じて Sudan III 染色液やヨウ素試液を用いた染色のほか、Eau de Javell を用いて漂白、透明化を施し中和水洗の後、ただちにグリセリンにて簡易包埋した。包埋した切片は光学顕微鏡(オリンパスBH-2)下にて観察した。カバーガラスの幅を超える試料では、周皮から根の中心部分を含む切片となるよう、水浸前後の切り出し時に調整した。

C. 研究結果

各市場品における、組織形態に基づく同定結果を表1~2に示した。また代表的な観察写真を図2~3に示した。

1. *Cynanchum* 属植物の根の一般的形態(図2)

最外層は周皮からなるが、商品により周皮は剥がれていることがある。コルク皮層から二次師部にかけて乳管が認められる。また二次皮層の外側には石細胞群が認められ、種により不連続な塊となるか、連続し、かつ二層になるものが認められる。二次木部の道管群と木部柔細胞からなる塊は種により直線状、くさび形、あるいはだ円形などを呈する。道管径は種により異

なる。また二次木部の柔細胞群中に外師包圍型の異常維管束が認められる。一次木部は二~四原形。基本組織中にはでんぷん粒が認められ、単粒または2~4粒の複粒からなる。

1) *C. auriculatum* の根に由来する生薬(図2A)

二次皮層中の乳管が多数認められる。石細胞群は不連続で、周皮を剥いである商品では、石細胞群は痕跡程度の量に留まる。二次木部は直線状~広線形を呈し、その中の道管径は45~100 μm であった。

2) *C. wilfordii* の根に由来する生薬(図2B)

二次皮層中の乳管は少量認められるが、二次皮層中に不定根の組織が認められるケースでは比較的多くの乳管が認められた。石細胞群は不連続で塊は *C. auriculatum* のそれよりも小さく、周皮を剥いである商品では、石細胞群はまったく認められないものがある。二次木部はくさび形~だ円形を呈し、その中の道管径は50~83 μm であった。

3) *C. bungei* の根に由来すると推定された生薬(図2C)

二次皮層中の乳管が少量認められる。石細胞群は連続して全形の外側に環状を呈するものと、その内側に塊をなすものの2層が認められた。二次木部は長卵形を呈し、その中の道管径は88~213 μm と他の2種よりも大型であった。以上の特徴は、分子生物学的に同定したどの種にも認められない特徴であったが、一部の文献記載²⁾にある *C. bungei* の根の特徴に良く一致したことから、同種由来と推定した。

2. *Polygonum multiflorum* の根の一般的形態(図3)

最外部は周皮からなる。このとき最外層から2~3層のコルク層内には内容物が認められたが残りの5~7層ではこのような内容物は

認められなかった。二次皮層の柔組織中には褐色の内容物を含むものが認められ、Sudan IIIでは染色されなかったが、先述のコルク層内の内容物とともに塩化鉄(III)で濃青色に染色された。二次皮層の内側には1つの大きな二次維管束が認められるが、二次皮層中には他にも二次維管束からなる複数の異常維管束が形成され、複数の異常維管束が1つの大きな二次維管束を取り囲む形になっている(図3 Fig.1-E)。一次維管束は3~5原形を呈していた。

以上の結果は、生薬『何首烏』として入手した商品のうち、*Cynanchum* 属植物の根由来でない生薬の全てに合致した。

D. 小結

1. 今回『白首烏』と『何首烏』類生薬の組織形態学的な検討した結果、『白首烏』の基原はいずれもイケマ属植物の肥大根、『何首烏』の基原のほとんどはツルドクダミの塊根を、それぞれ用いていた。なお生薬の一部には周皮を剥いだものや、スライスにより片となったものも認められた(図1)。

2. 『白首烏』類生薬の横切片を観察したところ、ガガイモ科に特有な乳管が常見されるタイプと、ほとんど認められないタイプとに分かれた。乳管は通常 Sudan III 試液による観察が可能だが、一部では細胞含有物との識別が困難であったことからヨウ素試液を用いた観察を併用した。この場合、乳管は黄色に染色される。また *Cynanchum* 属の根の二次木部では、二次維管束として形成された木部細胞群とは別に、異常維管束が点在することが明らかになった。この異常維管束は木部の中で外師包圍維管束を形成しており、いわゆる二次維管束から独立して観察された。

3. 今回、基原植物標本をリファレンスと用いる従来の方法ではなく、分子生物学的な複数の手法に基づいて推定された基原植物種を便宜上の根拠とした。こうした推測に基づいて塊根の組織形態分類を試みたところ、その特徴は主に3パターンに分かれることがわかったが、その3パターンは塩基配列パターンから推測された基原種と高い相同性を示した。

E. 考察

『白首烏』類生薬は、中国では毒性生薬や香料生薬ではなく、一般的な生薬として市場に出回っていた(著者らの調査による(安徽省亳州市 2016))。本生薬は韓国の生薬市場では比較的一般性のある生薬であったものの、一部の問屋では *Cynanchum* 属植物由来の『何首烏』が販売されており、タデ科(Polygonaceae)タデ(*Polygonum*)属植物塊根由来の『何首烏』との混同が懸念された。

F. 結論

今回、分子生物学的に明らかにした基原種を根拠として、組織形態による試料検討時に各種毎のリファレンスとして取り扱った。その結果、分子生物学的手法によって得られた同定結果と同様な種間差が認められた。このような基原種同定法は、比較植物が入手しにくい基原種の研究に一定の可能性を開くと考えられ、分子生物学的手法と並行した組織形態学的研究に一定の価値を見出しえたと言える。

G. 研究発表

1. 学会発表

1) 吉田和範, 篠田量太, 赤坂優駿, 佐藤直子, 内山奈穂子, 丸山卓郎, 袴塚高志, 『白首烏』

の生薬学的研究, 日本薬学会第 137 年会, 仙台 (2017. 3).

2) 赤坂優駿, 篠田量太, 吉田和範, 佐藤直子, 内山奈穂子, 丸山卓郎, 袴塚高志, 『白首烏』の生薬学的研究(2)～『何首烏』との比較について, 日本薬学会第 137 年会, 仙台(2017. 3).

2. 論文発表

無し

G. 知的財産権の出願, 登録状況

無し

H. 健康危機情報

無し

参考文献

- 1) 唐慎微撰, 『重修政和經史証類備用本草』, 人民衛生出版社, 北京, 1957, p. 262.
- 2) 中国医学科学院薬物研究所編, 『中薬誌』第二冊, 人民衛生出版社, 北京, 1982, pp. 328-336.
- 3) Wu, Z.Y. and Raven P.H., “Flora of China” Vol. 16, Missouri Botanical Garden, St. Louis, 1995, pp. 205-223.



図1 韓国及び中国市場に流通する『白首烏』(上)と『何首烏』(下)

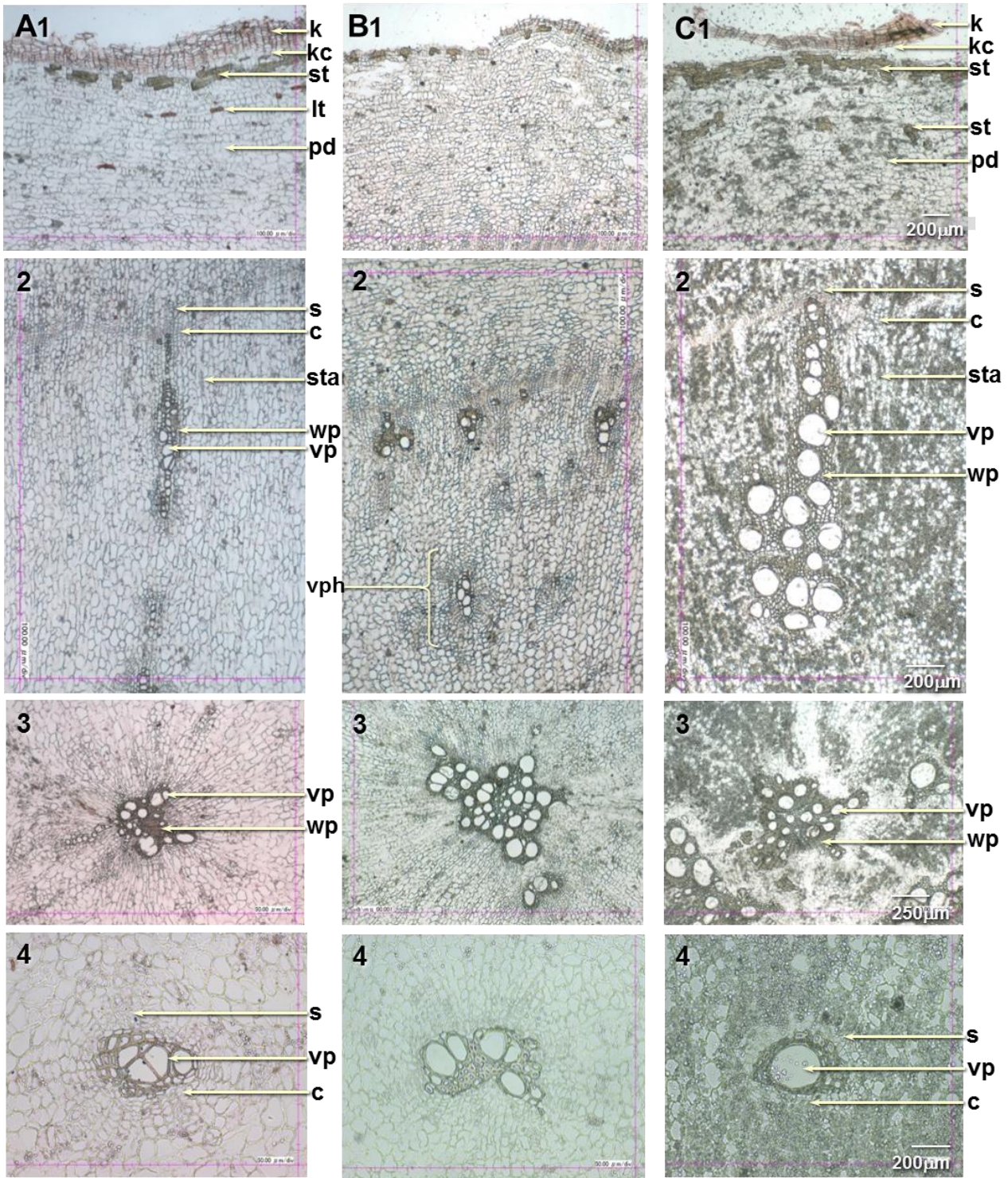


図2 中国および韓国市場に流通していた『白首烏』の横切面

A) “Heshouwu(何首烏)” in Seoul (Root of *Cynanchum auriculatum**), B) “Baishouwu(白首烏)” in Seoul, Korea (Root of *C. wilfordii**), C) “Erye niupi xiao(耳葉牛皮消)” in China (Root of *C. bungei*(estimated²⁾)) 1) Periderm and Secondary cortex, 2) Vascular bundle from secondary phloem to secondary xylem, 3) Xylary region including primary xylem, and 4) Anomalous vascular bundle in xylary tissue. *The botanical origins were determined genetically. Crude drug names in the parenthesis are recorded in each market. (c; cambium, k; cork, kc; cork cambium, lt; laticiferous tube, pd; cork cortex, st; stone cell(s), sta; starch grain(s), vph; amphicribal vascular bundle, vp; pitted vessel,)

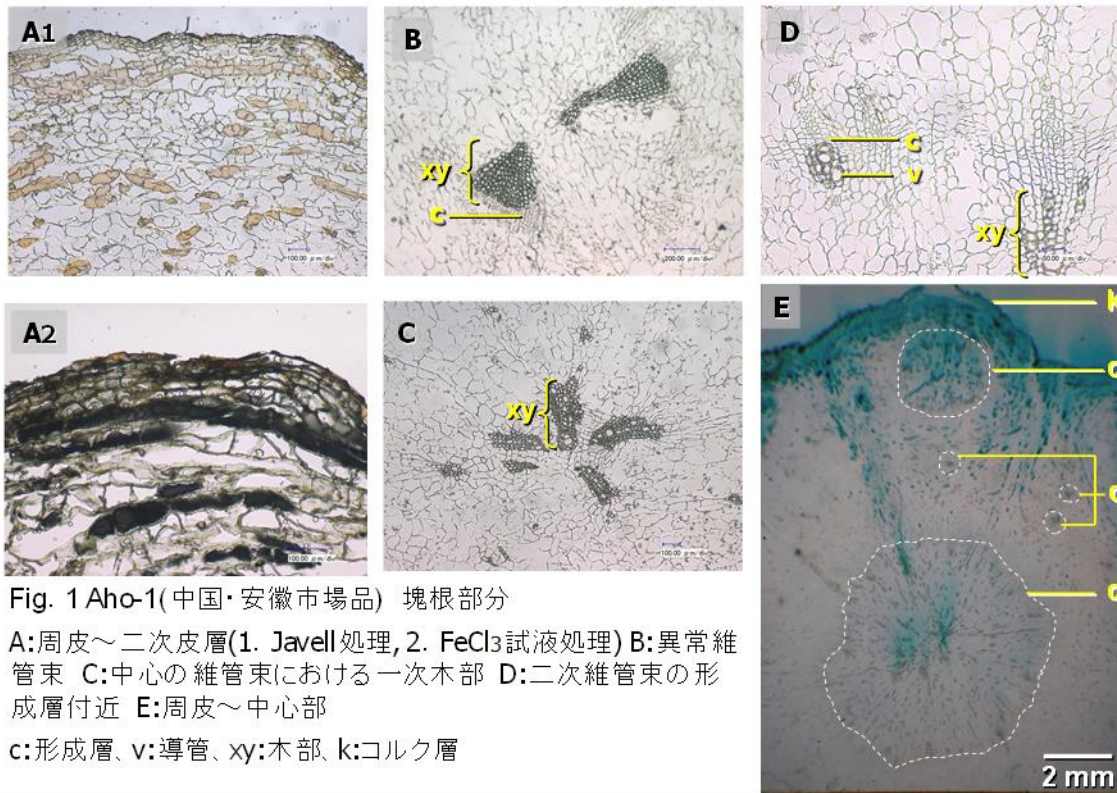


Fig. 1 Aho-1(中国・安徽省市場品) 塊根部分

A:周皮～二次皮層(1. Javell処理, 2. FeCl₃試液処理) B:異常維管束 C:中心の維管束における一次木部 D:二次維管束の形成層付近 E:周皮～中心部

c:形成層、v:導管、xy:木部、k:コルク層

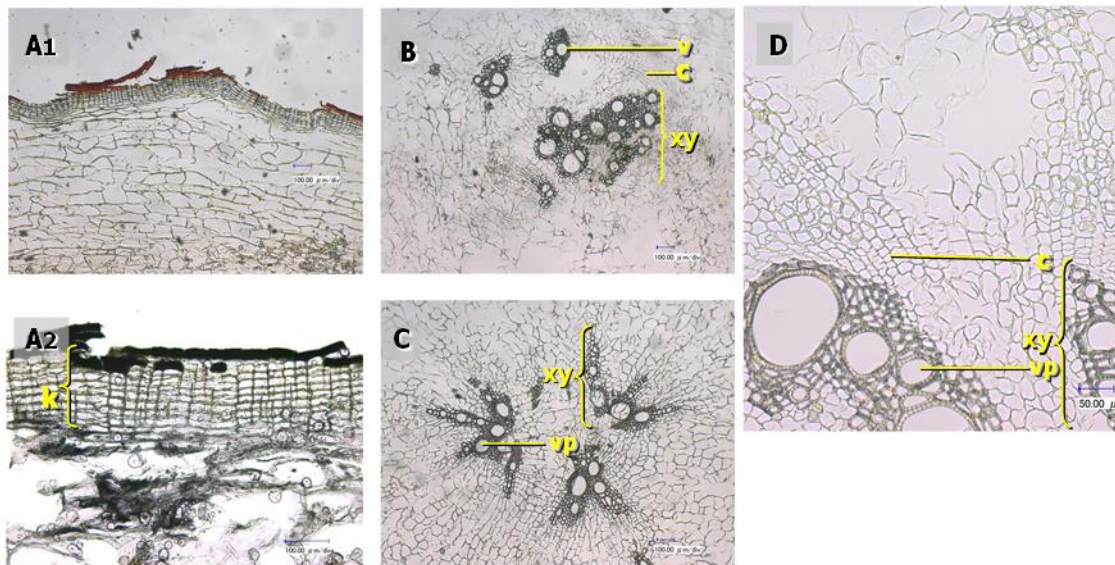


Fig. 2 Ch-1～2 (中国・四川省市場品)

A: 周皮～二次皮層(1. Javell処理, 2. FeCl₃試液処理) B: 異常維管束 C: 中心の維管束における一次木部 D: 二次維管束の形成層付近

(c: 形成層、v: 導管、xy: 木部、k: コルク層)

図3 中国市場に流通する『何首烏』の横切面

表1						
試料 No.	購入時商品名	市場地	産地	遺伝子解析による 基原植物の推定学名	形状	組織形態学的手法による 基原植物の推定学名
Ch1	何首烏	中国	四川省	<i>Polygonum multiflorum</i> L.	片	<i>P. multiflorum</i> L.
Ch2	何首烏	中国	四川省	<i>P. multiflorum</i> L.	片	<i>P. multiflorum</i> L.
Ch4	异叶牛皮消 (異葉牛皮消)	中国	広西自治区	<i>Cynanchum</i> sp. (not <i>C. auriculatum</i> , <i>C. wilfordii</i>)	原形 と片	<i>Cynanchum bungei</i> Dcne.
Ch9	白首烏	中国	江蘇省	<i>C. auriculatum</i>	原形	<i>C. auriculatum</i> Royle ex Wight
Ch10	白首烏	中国	江蘇省	<i>C. auriculatum</i>	原形	<i>C. auriculatum</i>
Ch11	白首烏	中国	江蘇省	<i>C. auriculatum</i>	原形	<i>C. auriculatum</i>
Ch12	白首烏	中国	江蘇省	<i>C. auriculatum</i>	原形	<i>C. auriculatum</i>
Ch13	白首烏	中国	江蘇省	<i>Cynanchum</i> sp. (not <i>C. auriculatum</i> , <i>C. wilfordii</i>)	片	<i>C. bungei</i>
Ch18	耳叶牛皮消 (耳葉牛皮消)	中国	江蘇省	<i>Cynanchum</i> sp. (not <i>C. auriculatum</i> , <i>C. wilfordii</i>)	片	<i>C. bungei</i>
Ch19	耳叶牛皮消 (耳葉牛皮消)	中国	江蘇省	<i>Cynanchum</i> sp. (not <i>C. auriculatum</i> , <i>C. wilfordii</i>)	片	<i>C. bungei</i>
Ka21 (Ko2)	白首烏	韓国	韓国	<i>C. wilfordii</i>	原形	<i>C. wilfordii</i> (Maxim.) Hook.f.
Ka22 (Ko3)	白首烏	韓国	韓国	<i>C. wilfordii</i>	原形	<i>C. wilfordii</i>
Ka23 (Ko4)	白首烏	韓国	永川, 慶尚北道	<i>C. wilfordii</i>	原形	<i>C. wilfordii</i>
Ka24 (Ko5)	白首烏	韓国	永川, 慶尚北道	<i>C. wilfordii</i>	原形	<i>C. wilfordii</i>
Ka25 (Ko6)	何首烏	韓国	韓国	<i>C. auriculatum</i>	原形	<i>C. auriculatum</i>
Ka26 (Ko7)	何首烏	韓国	韓国	<i>C. auriculatum</i>	原形	<i>C. auriculatum</i>
Ah-1	白首烏	中国	(安徽省)	<i>C. auriculatum</i>	原形	<i>C. auriculatum</i>
Ah-2	白首烏	中国	(安徽省)	<i>C. auriculatum</i>	片	<i>C. auriculatum</i>
Aho-1	白首烏	中国	(安徽省)	<i>P. multiflorum</i>	片	<i>P. multiflorum</i>

表2 中国、韓国市場品『白首烏』の組織形態学特徴

種	<i>Cynanchum auriculatum</i>	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. bungei</i> (estimated ²⁾)
乳管の出現頻度	++	±	±
維管束組織			
二次木部の形状	直線状～ 広線形	くさび形, だ円形	長卵形
最大道管径			
二次維管束中 (μm)	45-64-100	50-63-83	88-138-213
一次維管束中 (μm)	50-78-115	70-97-115	9-129-175
異常維管束			
型	外師包圍型	外師包圍型	外師包圍型
出現頻度	++	++	+
二次皮層中の石細胞			
出現頻度	不連続 またはなし*	不連続 またはなし*	連続(外側) 不連続(内側)
層数	1	1	(1)2
でんぷん粒	単粒または 複粒(2-4)	単粒または 複粒(2-4)	単粒または 複粒(2-4)

* Sometimes periderm is peeled off.

分担研究報告書

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長 丸山卓郎

3次元蛍光スペクトルを用いた *Pueraria mirifica* 含有健康食品の品質評価について

研究要旨 3次元蛍光スペクトルを用いた健康食品製品の品質評価法の基礎検討として、タイ産生薬である *Pueraria mirifica* (PM) の含有が表示されている健康食品に対して、同分析を行った。その結果、スペクトルデータを主成分分析することにより、正しく PM を含有する製品とそれ以外の偽品及び「専ら医薬品」に分類される同属植物、カッコンとを区別可能であった。

協力研究者

後藤佑斗 国立医薬品食品衛生研究所生薬部

派遣研究員

佐藤直子 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部 研究員

A. 研究目的

Pueraria mirifica (*P. candollei* var. *mirifica*; PM) は、タイ国、主にチェンマイ周辺に自生するマメ科の植物であり、その肥大した塊根は、kwao keur (ガウクルア) と呼ばれる回春薬として古くより当地で用いられている。その成分には、daidzein, genistein, kwakhurin, puerarin などのイソフラボン類や coumestrol, mirificoumestan などのプレロカルパン誘導体, miroestrol (1), deoxymiroestrol (2)(Fig. 1) などが知られ、後者 2 成分のエストロゲン作用が、薬理活性の本体であると考えられている^{1),2)}。近年、国内では、美容、丰胸効果などを謳い、本植物を原料とした「いわゆる健康食品」が、数多く販売されている。しかし、以前、我々が、PM 含有を謳った

健康食品に対して行った、DNA 配列解析による基原種鑑別では、正しく PM を含有するのは約半数に留まることが確認されている³⁾。

PM の含有が確認できなかった製品からは、ムラサキウマゴヤシ (アルファルファ) やスペインカンゾウ、ハスの遺伝子が検出され、「専ら医薬品として使用される成分本質 (原材料) リスト」に区分されるものは見出されなかったが、中には、サツマイモとコムギの遺伝子が検出され、明らかにデンプンを主原料とするもの (このものは、カプセル剤であり、賦形剤の表示はなかった) や、クズイモ (*Pachyrhizus erosus*) のように、PM を誤同定したものと思われるものもあった。

PM と同属植物の *P. lobata* (*P. montana* var. *lobata*) の根は、「専ら医薬品」に区分される、生薬カッコンの原料であり、上記のクズイモの例のように、PM 製品に誤使用された場合、健康被害の恐れがある。

健康食品の原料植物の鑑定に、DNA 配列解析は有用な手段であるが、時間及びコストがか

かるという欠点がある。一方、近年、3次元蛍光スペクトル測定と主成分分析を組み合わせた解析が食品分野に応用され、マンゴーの産地判別や小麦粉とそば粉の混合割合の推定などが報告されている^{4,5)}。本手法は、操作が簡便であり、測定に要する時間もごく僅かであることから、PM製品を始めとして、偽品が多く流通する健康食品分野の分析手法としては、有用性が高いと思われる。

そこで昨年度、以前の調査で用いたPM製品を用いて、3次元蛍光スペクトルによる健康食品製品の品質評価法の基礎検討を行った。その結果、正しくPMを含有する正品とそれ以外の偽品との区別、およびカッコンとの区別が可能であることが明らかになった。しかしその際、一部の製品で短波長域の励起光が吸収されており、3次元蛍光スペクトルの取得データが不完全であった。また、試料数についても、予備検討から数を追加して検討を行う必要があった。

従って、本研究ではよりよいデータを取得するための実験方法の検討と、PM製品数を増やした解析を行った。

B. 研究方法

1. 実験材料

本研究に使用されたPM含有表示健康食品の詳細をTable 1に示した。このうち、Pu-1~29は、以前の研究で遺伝子解析を行ったものである。Pu-31~36は、新たに購入した市場に流通する製品であり、遺伝子解析を行っていない。今回は、添加物等が含まれているものについても検討を行った。また、参照試料として用いた

粉カッコン、カッコン、各種デンプンの詳細をTable 2に示した。

2. 実験方法

2-1. 試料調製

各試料のうち、粉末試料については、未処理で、カプセル剤については、中の粉末試料を取り出し、使用した。刻みの試料(Pu-21~24)については、Wonder Crush/Mill D3V-100(大阪ケミカル)により粉砕した後、50号の篩(300 μm)にかけてのものを用いた。

各試料粉末100 mgにメタノール5 mLを加え、15分間振とう抽出後、1000 G x 5分間遠心して、上清をとり、これを試料溶液とした。

2-2. 3次元分光蛍光スペクトル(蛍光指紋)測定

測定は分光蛍光光度計F-7100(日立ハイテクサイエンス)で行った。曲底標準セル(GL Sciences, 光路長5 mm)に試料溶液1 mLを入れて、以下の条件で測定した:

測定モード, 3次元; データモード, 励起波長範囲, 200.0~500.0 nm; 励起側サンプリング間隔, 10.0 nm; 蛍光波長範囲, 200.0~600.0 nm; 蛍光側サンプリング間隔, 2.0 nm; スキャンスピード, 60000 nm/min; 励起側スリット幅, 5.0 nm; 蛍光側スリット幅, 5.0 nm; ホトマル電圧, 400 V; レスポンス, 自動; スペクトル補正, On; シャッタ制御, Off; 自動フィルタ制御, On(自動1)。

測定は各試料につき3回行った。各回の測定を開始する前に、10 ppm 硫酸キニーネ溶液の測定を行い、励起波長(Ex)/蛍光波長(Em)

=340/450 nm の値をもとに、測定値の標準化を行った。

2-3. 主成分分析

得られた 3 次元蛍光スペクトルのデータの中から、励起波長未満の蛍光波長、励起波長と等しい蛍光波長、励起波長+2, 4, 6, 8 及び 10 nm の蛍光波長、そして励起波長 200, 210, 220 nm に対する蛍光波長を除いた部分を用いてデータマトリクスを作成し、多変量解析ソフトウェア SIMCA-14 (インフォコム) により、主成分分析を行った。データの前処理については、行わなかった。

2-4. LC/MS 分析

2-1. の試料粉末 200 μ L に、酢酸エチル 2 mL とエチルパラベン (50 μ g/mL) 4 μ L を加えて 3 時間超音抽出後、1000 G x 5 分間遠心して、上清を回収した。残渣にメタノール 2 mL を加えて 3 時間超音抽出後、1000G x 5 分間遠心して、上清を回収した。2 つの上清を合わせたものをエバポレーションした抽出物に、メタノール 200 μ L を加えて再溶解させて、0.45 μ m フィルターろ過したものを、以下の条件で分析した：

装置, LCMS-2020 (Shimadzu); 分析カラム, Inertsil®ODS-3 (150 x 2.1 mm ID, 5 μ L, GL Sciences); 移動相, 0.1%酢酸 (A) とアセトニトリル (B) でグラジエント, 5% B (0 min) \rightarrow 20% B (25 min) \rightarrow 100% B (35 min); 流速, 0.300 mL/min; イオン化, ESI ネガティブモード; キャピラリー電圧, 1.45 kV; ネブライザーガス流量, 1.50 L/min; ドライイングガス流量,

15 L/min; ヒートブロック温度, 200°C; データ取得, SIM モード; 設定値, $m/z=165.00, 367.00$.

得られたクロマトグラムから、PM に特徴的な成分である Kuwakhurin ([M-H]⁻ $m/z=367$) のピーク面積値を、内部標準物質として加えたエチルパラベン ([M-H]⁻ $m/z=165$) のピーク面積値で標準化した数値を求めて、主成分得点との相関を調べた。

C. 研究結果

各検体よりメタノールエキスを調製し、3 次元蛍光スペクトルを測定した。各検体のスペクトル (3 回の測定のうちの 1 回) を Fig. 2 に示した。

すべての検体で、低波長領域の励起光が吸収されることなく、蛍光が出力されていた。

健康食品製品群 (Table 1) のうち、PM を含有する 6 検体 (Pu-2, 10, 14, 15, 18, 29) については、Pu-14 を除く 5 検体において 3 つのピーク波長 (Ex/Em=220/320, 230/425, 310~320/410~420 nm) が一致したが、Pu-15, 29 に関しては、他の 2 検体では見られない、さらに 1 つのピーク波長 (Ex/Em=280/340 nm) が認められた。Pu-14 に関しては、他とは励起波長のやや異なる 3 つのピーク波長 (Ex/Em=230/316, 250/410, 350/416 nm) を示した。

PM を含有しない健康食品製品, 7 検体のうち, 6 検体 (Pu-1, 3, 4, 8, 11, 13) に関しては, 4 点のピーク波長 (Ex/Em=220/330~345, 230/400, 280~290/335~345, 330~340/410 nm) を持ち, その他の形状についてもよく似たスペクトルが得られた。さらに Pu-1 では, 420/530 nm に小さなピークを認めた。一方, Pu-17 について

は、4つのピーク波長 (Ex/Em=220/332, 240/422, 280/328, 340/418 nm) を示すスペクトルを与えた。これらのピークは他の6検体で示したピークと近い波長を示していたが、340/418 nmをピークとする蛍光スペクトル強度が他の検体に比べて大きく、その影響で全体図も視覚的に他の検体と異なっていた。

次に、新規に購入追加したPM含有未解析の6検体 (Pu-31, 32, 33, 34, 35, 36) のうち、Pu-31, 32, 35の3検体では、4つのピーク波長 (Ex/Em=220/340~344, 230/414~424, 290/358~360, 310/418~420 nm) が一致した。Pu-34では、4つのピーク波長 (Ex/Em=210/424, 220/354, 310/374, 320/418 nm) を示した。310/374 nm以外のピークについては、上記の3検体と一致した。Pu-33, 36の2検体では、4つのピーク波長 (Ex/Em=220/364~366, 230~240/402~412, 320/376~380, 340/412 nm) が一致した。低波長側の2つのピーク波長については、他の4検体と一致した。

参照試料として測定した粉カッコン (*Pueraria montana* var. *thomsonii*)、カッコン (*Pueraria montana* var. *lobata*)、デンプンのうち、粉カッコンの2検体 (Pu-19, 20) については、4つのピーク波長 (Ex/Em=220/324~326, 210~230/400~402, 280/328~332, 320/396~400 nm) を特徴とするほぼ同一のスペクトルが得られた。このスペクトル形状は、上述したPMを含まなかった健康食品製品4検体のものと類似していた。

また、カッコンの4検体 (Pu-21, 22, 23, 24) については、2つのピーク (Ex/Em=210/388~402, 360/408~412 nm) が一致した、ほぼ同一の

スペクトルが得られた。

原料植物の異なる4種のデンプン (Pu-25, 26, 27, 28) では、ごく弱い強度であったが、3つのピーク (Ex/Em=210~220/326~338, 250/436~442, 280/306~308 nm) が一致した。Pu-25ではさらに、310/392 nmにピークが認められた。

取得したスペクトルデータから作成したデータマトリクスを用いて、主成分分析を行った。この際、励起波長200~220 nmの範囲については、蛍光強度が0もしくは負の値を示した検体が多く見られたため、データマトリクス作成前に除外した。結果、第一主成分と第二主成分により全データの約96%を表現することができた (Fig. 3)。

まず、カッコンの4検体は第一、第二主成分ともに正方向にクラスター (Fig. 3-A) 分離しており、PM含有、非含有製品群と区別された。また、デンプンの4検体も原点付近でクラスター (Fig. 3-B) 分離した。

製品群および粉カッコンに関しては、第一主成分が正方向、第二主成分が負方向に分布した。このうち、PMを含有する6検体のうちのPu-14と、PMを含有しない7検体のうちのPu-17は、それぞれ他の検体群と離れた位置に (Fig. 3-C, D) プロットされた。この2検体について、第一主成分と第三主成分 (Fig. 5)、第二主成分と第三主成分 (Fig. 7) で分布を確認したところ、Fig. 3同様、他の検体群とは離れた位置 (Fig. 5-C, D および Fig. 7-C, D) に分布した。

このデータマトリクス作成に用いたスペクトルデータから、カッコン4検体、デンプン4検体、PM含有品Pu-14、PM非含有品Pu-17の10検体のデータを除外したデータマトリクス

を新たに作成して、主成分分析を行った。その結果、第一主成分と第二主成分により全データの約 98%を表現することができた (Fig. 9)。

PM を含有する 5 検体のうち、Pu-2, 10, 18 は、第一主成分軸において、最も正の方向にクラスター分離していた (Fig. 9-A)。Loading plot の結果から、このクラスターの分離に大きく寄与している成分は、310~330 nm の光で励起され、410~420 nm の蛍光を発する成分であると推定された (Fig. 10)。一方、Pu-15, 29 については、上記の検体群と次に述べるクラスターC の中間に分布した (Fig. 9-B)。

PM を含有しない 5 検体 Pu-1, 3, 4, 8, 11, 13 は、粉カッコンの 2 検体と近い点に分布し、これらは主成分分析による分離が不可能であった (Fig. 9-C)。

PM 含有未解析の Pu-31~36 については、クラスターA の近くに 1 検体 (Pu-34)、クラスターB の近くに 3 検体 (Pu-31, 32, 35)、クラスターA の位置から、第二主成分が負の方向にある位置に 2 検体 (Pu-33, 36) がそれぞれ分布した。

この主成分分析における第一主成分得点と、PM に特徴的な成分である kuwakhurin を示す MS スペクトルのピーク面積値との相関を調べたところ、ピーク面積値の常用対数と第一主成分得点との間で正の相関を示した (Fig. 11)。

Fig. 9 のクラスターA, B, C に属する検体は同じようにクラスターを形成した (Fig. 11-A, B, C)。未解析の 6 検体については、これらのクラスターに沿うように直線的に分布した。

D. 考察

PM 含有表示健康食品及び参照試料の 3 次

元蛍光スペクトルデータを主成分分析した結果、短波長域の蛍光が出力できたことにより、健康食品群と「専ら医薬品」であるカッコンが明瞭に区別された (Fig. 3-A)。遺伝子解析の結果、PM の含有が確認された 6 検体のうち、Pu-14 は、他の検体と異なる 3 次元蛍光スペクトルを示し、主成分分析においても、他の検体とは離れた位置にプロットされた (Fig. 3-C)。これは、Pu-14 に含まれる PM 以外の鑑別種不明の成分の影響によるものと推察される。また、偽品の 7 検体のうち、Pu-17 は他の 6 検体とは異なる 3 次元蛍光スペクトルを示し、主成分分析においても、他の偽品検体とは離れた位置にプロットされた (Fig. 3-D)。これは先行研究により明らかとなっている Pu-17 の基原種であるクズイモの成分が示す蛍光が、他に比べてその強度が大きいためであると推察される。デンプン 4 検体はほとんど蛍光を示さず、主成分分析でも得点がほぼないため原点付近に分布して、他の検体とは明瞭に区別された (Fig. 3-B)。これは、デンプンに蛍光を発する成分が少ないのか、もしくはメタノールによる抽出では成分が得られないのか判断できないが、少なくとも偽品に見られる蛍光ピークがデンプン由来のものである可能性は低いと考えられる。

この主成分分析では、カッコンの分離に大きく寄与している Ex/Em=360/412 nm などの成分が全体に与える影響が大きいため、これらの検体のデータを除くことで、PM に特徴的な成分がより発見し易くなるのではないかと考え、新たにデータマトリクスを作成した。その結果、第一主成分のみで全データのほとんどを表現できることが明らかとなった (Fig. 9)。

この図において、クラスターAに分離された3検体は、PM非含有群であるクラスターCと明瞭に区別された。しかし、クラスターBに分離された2検体は、クラスターCと明瞭に区別することはできなかった。この原因として、クラスターAの検体は混合物が少なくPM原料に近い組成であるのに対し、クラスターBの検体は別種との混合物であることから、PM成分の含有が低いことが可能性として挙げられる。このことは、次に記述したkuwakhurin含有量について調べたLC/MS分析の結果とも一致している。

この図における第一主成分方向の検体の分布を見ると、得点の低い方に偽品が、高い方に正品が集中して分布しており、さらに正品の中でも別種との混合物である場合は、PM成分の含有量が少ないために、偽品寄りの位置に分布しているのではないかと予想した。そこで、第一主成分とPM含有成分の相関を見るために、PMに特徴的な既知の成分であるkuwakhurinの含有量について、MSスペクトルの該当ピーク面積値を調べることで、簡易的にkuwakhurin含有量との相関を調べた。その結果、ピーク面積値と第一主成分得点の間には正の相関が見られ、この第一主成分得点が、検体中のPM含有量を反映していることが示唆された。

PM含有未解析の6検体に関しては、3次元蛍光スペクトルの特徴、主成分分析の分布及びkuwakhurin含有量から、いずれの検体もPMを含み、その含有量は大きい方から、Pu-33, 36の2検体、Pu-34, Pu-31, 32 35の3検体の順になっていることが推察された。

PM成分の分離に最も寄与していると考えられる、Ex/Em= 310~330/410~420 nmの成分が、今回、分析に供した試料を区別するための指標成分を反映していると考えられることから、現在、蛍光検出器を備えたHPLC分析等を行うことにより、これらの成分の同定を行っている。

E. 結論

タイ産生薬である*Pueraria mirifica* (PM)の含有が表示されている健康食品に対する、3次元蛍光スペクトルを用いた品質評価法において、未同定検体を含む追加検討及び励起光の短波長領域の吸収を防ぐ改善策について検討を行った。その結果、短波長領域の吸収を起こさない条件を決定した。また、この条件において追加試料を含めた検討を行った結果、正しくPMを含有する製品とそれ以外の偽品及び「専ら医薬品」に分類される同属植物、カッコンとを区別可能であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

後藤佑斗, 佐藤直子, 河村麻衣子, 花尻瑠理, 袴塚高志, 丸山卓郎, 3次元蛍光スペクトルデータの多変量解析による*P. mirifica*含有健康食品の品質評価法の検討, 日本生薬学会第63回年会, 2016年9月, 富山。

参考文献

- 1) Chansakaow S., Ishikawa T., Seki H., Sekine K., Okada M., Chaichantipyuth C., Identification of deoxymiroestrol as the actual rejuvenating principle of “kwao keur” *Pueraria mirifica*: a known miroestrol may be an artifact. *J. Nat. Prod.*, **63**, 173-175 (2000).
- 2) Ingham J. L., Tahara S., Pope G. S., Chemical components and pharmacology of the rejuvenating plant *Pueraria mirifica*. In Keung W. M. ed., *Pueraria-The genus Pueraria*, Taylor and Francis Inc., New York (2002).
- 3) Maruyama T., Kawamura M., Kikura-Hanajiri R., Goda Y., Botanical origin of dietary supplements labeled as “kwao keur”, a folk medicine from Thailand, *J. Nat. Med.*, **68**, 220-224 (2014).
- 4) Sugiyama T., Fujita K., Tsuta M., Sugiyama J., Shibata M., Kokawa M., Araki T., Nabetani H., Sagara Y., Prediction for mixture rate of buckwheat flour against wheat flour using excitation-emission matrix (EEM), *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **57**, 238-242 (2010).
- 5) Nakamura Y., Fujita K., Sugiyama J., Tsuta M., Shibata M., Yoshimura M., Kokawa M., Nabetani H., Araki T., Discrimination of the geographic origin of mangoes using fluorescence fingerprint, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **59**, 387-393 (2012).

Table 1 Details of commercial *Pueraria mirifica* products used in this study.

Sample #	製品形態	色	表示成分等	先行研究による鑑別種
Pu-1	カプセル	灰黄白色	プエラリア・ミリフィカ (カウクルア) 100%	ムラサキウマゴヤシ + ?
Pu-2	カプセル	灰黄白色 (有色の破片含有)	プエラリア・ミリフィカ ショ糖脂肪酸エステル	<i>Pueraria mirifica</i>
Pu-3	カプセル	灰黄白色	プエラリア・ミリフィカパウダー	不明
Pu-4	カプセル	うすい黄みの赤	海洋性フィッシュコラーゲンペプチド	不明
Pu-8	カプセル	灰黄白色 (有色の破片含有)	プエラリア100%	スペインカンゾウ
Pu-10	粉末	灰黄白色 (有色の破片含有)	プエラリア粉末100%	<i>Pueraria mirifica</i>
Pu-11	カプセル	灰黄白色	1カプセル中 中身約260 mg	サツマイモ+パンコムギ
Pu-13	カプセル	灰黄白色	プエラリア・ミリフィカ末約252 mg	ハス + ?
Pu-14	カプセル	黄土色	タイ産のピュアプエラリアを100%	<i>Pueraria mirifica</i> + ?
Pu-15	カプセル	乳白色	プエラリア・ミリフィカを100%	<i>Pueraria mirifica</i> + ?
Pu-17	カプセル	茶褐色	ガウクルア(プエラリア) 配合	クズイモ
Pu-18	粉末	灰黄白色	ガウクルア100%濃縮カプセル	<i>Pueraria mirifica</i>
Pu-29	粉末		プエラリア・ミリフィカ 100%	<i>Pueraria mirifica</i> + マカ
Pu-31	カプセル		プエラリア, マカ	(新規購入製品のため未鑑別)
Pu-32	カプセル		プエラリア・ミリフィカ末	(新規購入製品のため未鑑別)
Pu-33	カプセル		被包材 (豚由来ゼラチン使用)	(新規購入製品のため未鑑別)
Pu-34	カプセル		プエラリア・ミリフィカ (白いも根槐部)	(新規購入製品のため未鑑別)
Pu-35	錠剤		被包材 (豚由来ゼラチン)	(新規購入製品のため未鑑別)
Pu-36	錠剤		プエラリア・ミリフィカ粉末	(新規購入製品のため未鑑別)
			ゼラチン (被包剤)	(新規購入製品のため未鑑別)
			プエラリア・ミリフィカ末	(新規購入製品のため未鑑別)
			プエラリア・ミリフィカ 326.7 mg (99%)	(新規購入製品のため未鑑別)
			タピオカスターチ 3.3 mg (1%)	(新規購入製品のため未鑑別)
			プエラリア・ミリフィカ	(新規購入製品のため未鑑別)
			植物精製加工油脂	(新規購入製品のため未鑑別)

Table 2 Details of *Pueraria thomsonii* roots, *Pueraria* roots and starches used in this study.

Sample #	製品形態	表示成分等
Pu-19	粉末	粉カッコン
Pu-20	粉末	粉カッコン : 中国雲南省□(富寧)
Pu-21	刻	カッコン
Pu-22	刻	カッコン□(<i>Pueraria lobata Ohwi</i>)
Pu-23	刻	カッコン
Pu-24	刻	カッコン
Pu-25	粉末	コムギデンプン
Pu-26	粉末	サツマイモデンプン
Pu-27	粉末	バレイショデンプン
Pu-28	粉末	トウモロコシデンプン

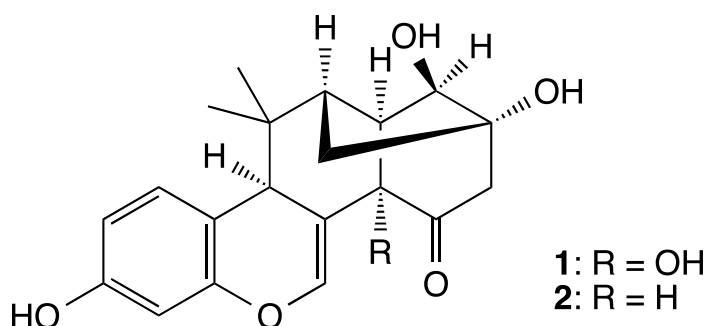


Fig. 1 Structures of miroestrol and deoxymiroestrol

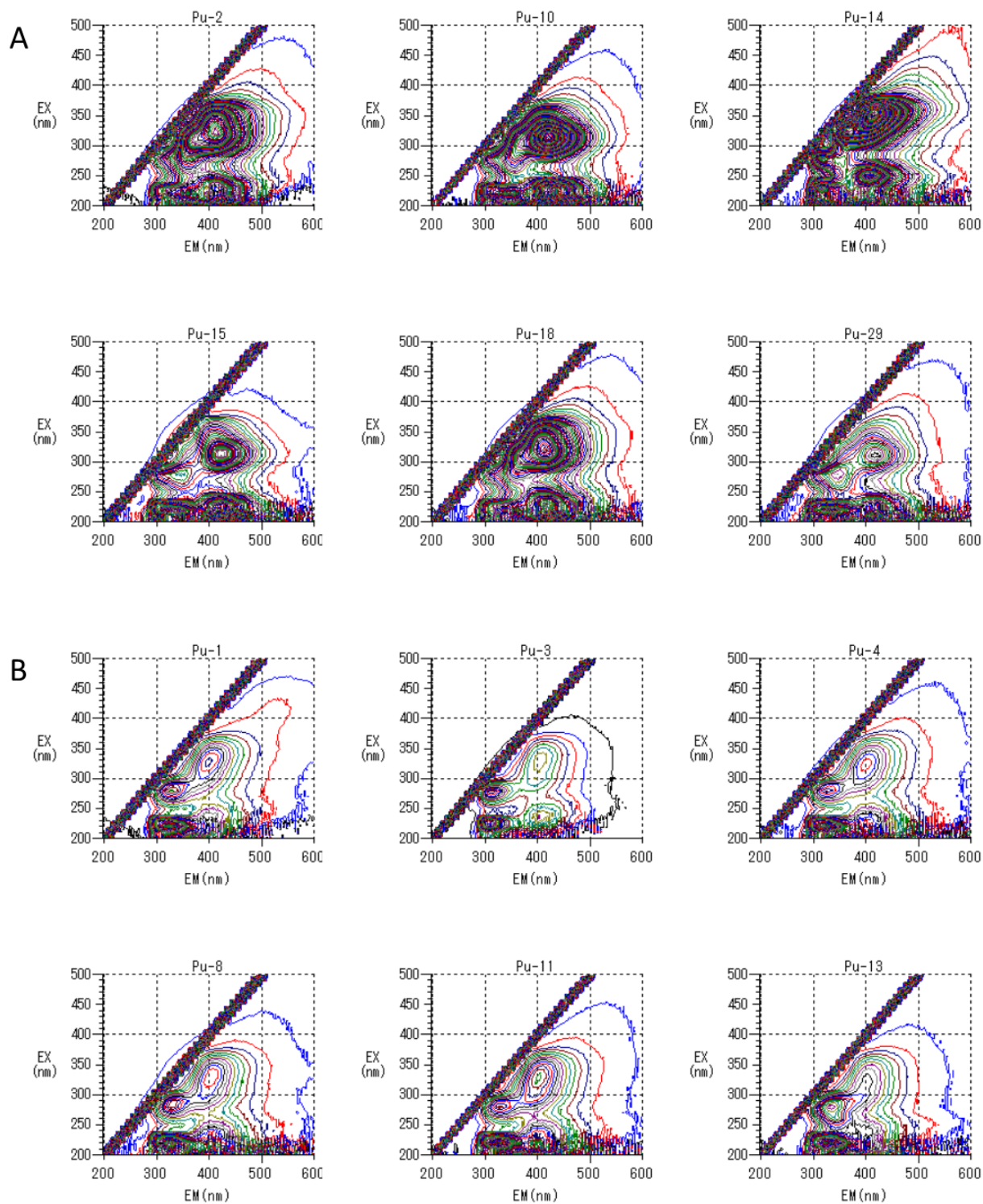


Fig. 2 3D fluorescence spectra

Scale, -1.0 to 10000; contour line span, 2.0

A, PM-containing products; B, PM-unobserved products

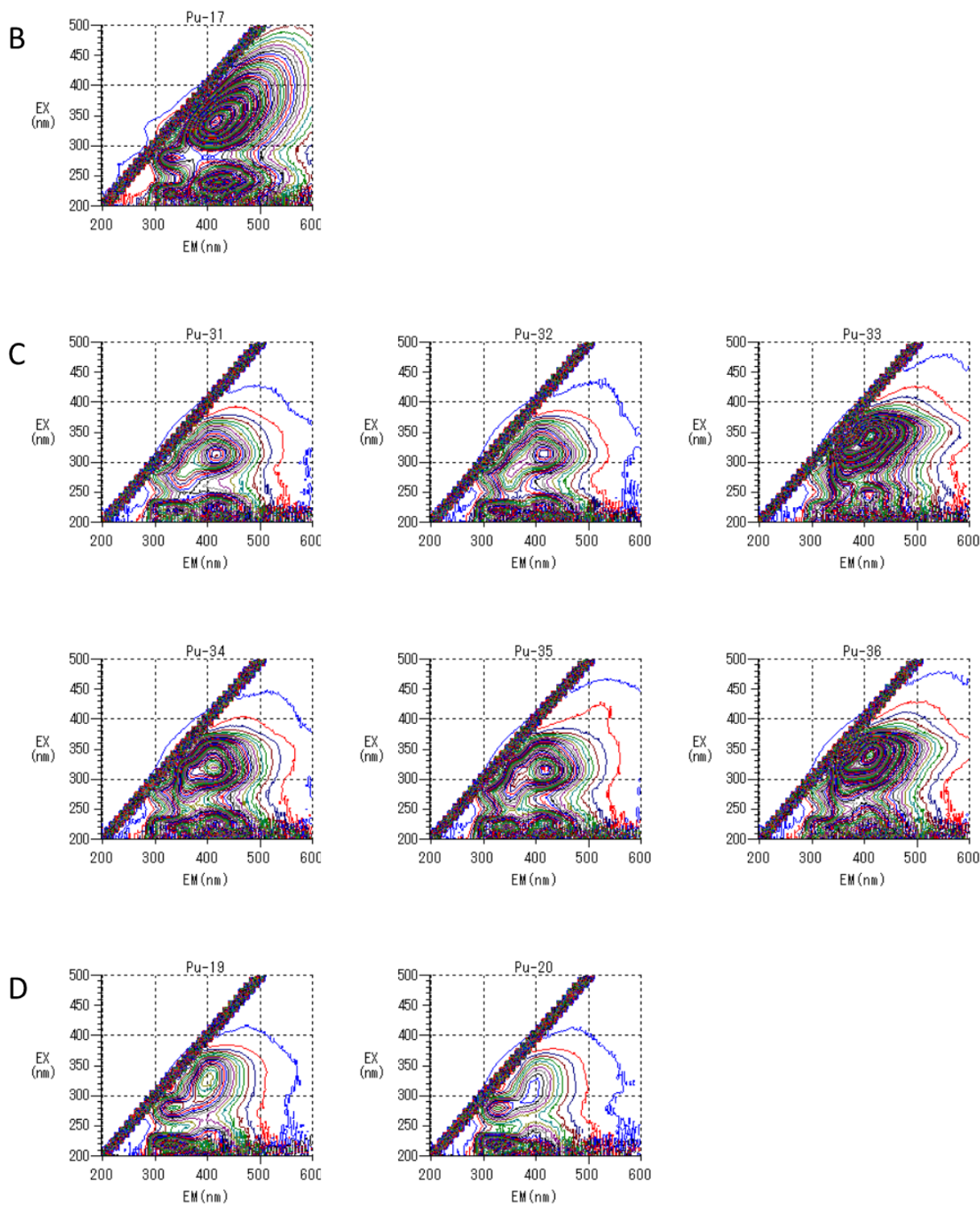


Fig. 2 Continued
 B, PM-unobserved products; C, PM-unknown products; D, *Pueraria thomsonii* roots

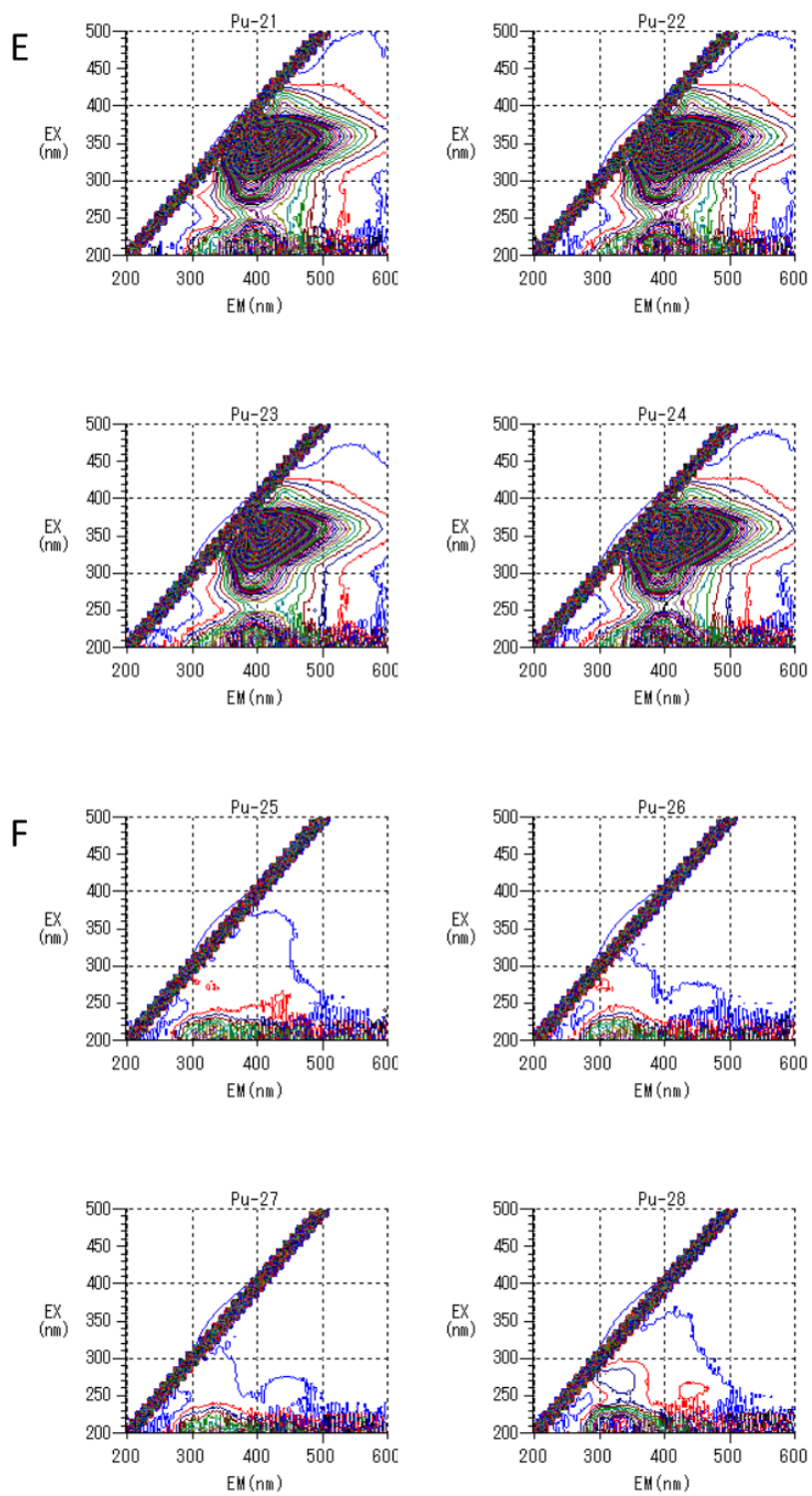


Fig. 2 Continued
 E, Pueraria roots; F, starches

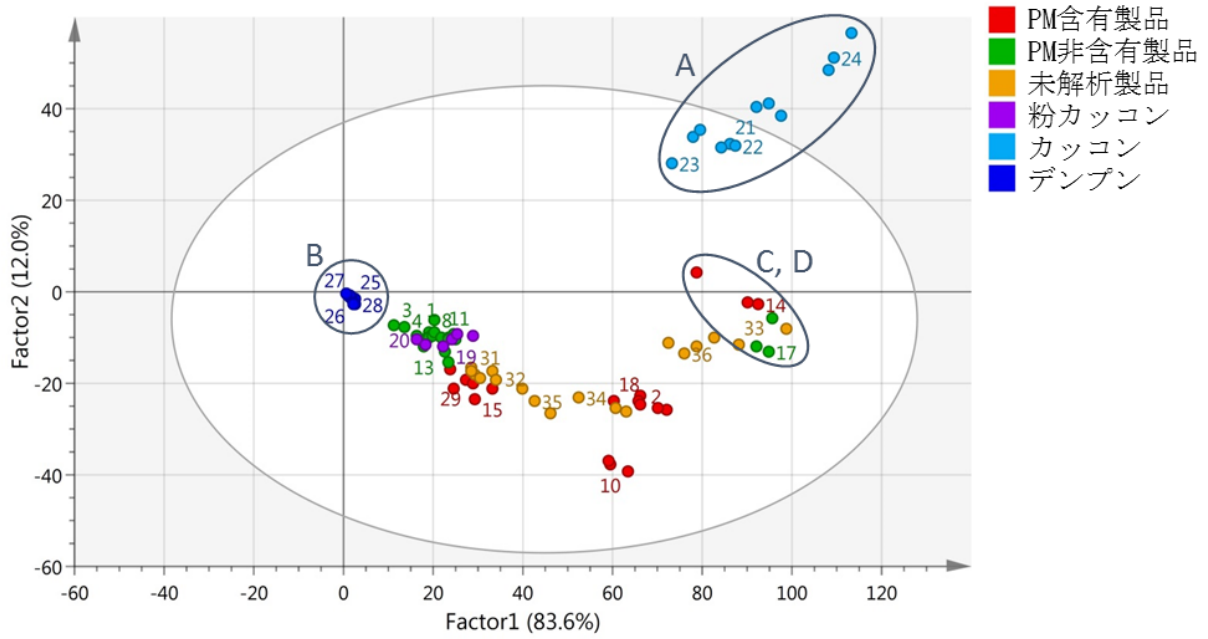


Fig. 3 Score plot on PCA-1 (Factor 1 vs Factor 2)

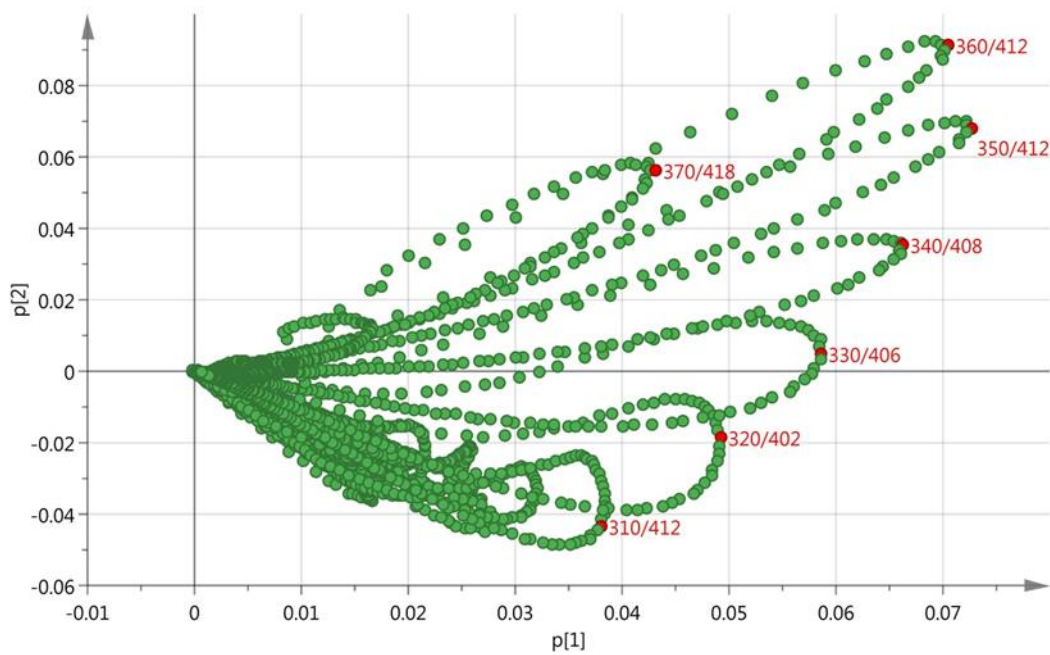


Fig. 4 Loading plot on PCA-1 (Factor 1 vs Factor 2)

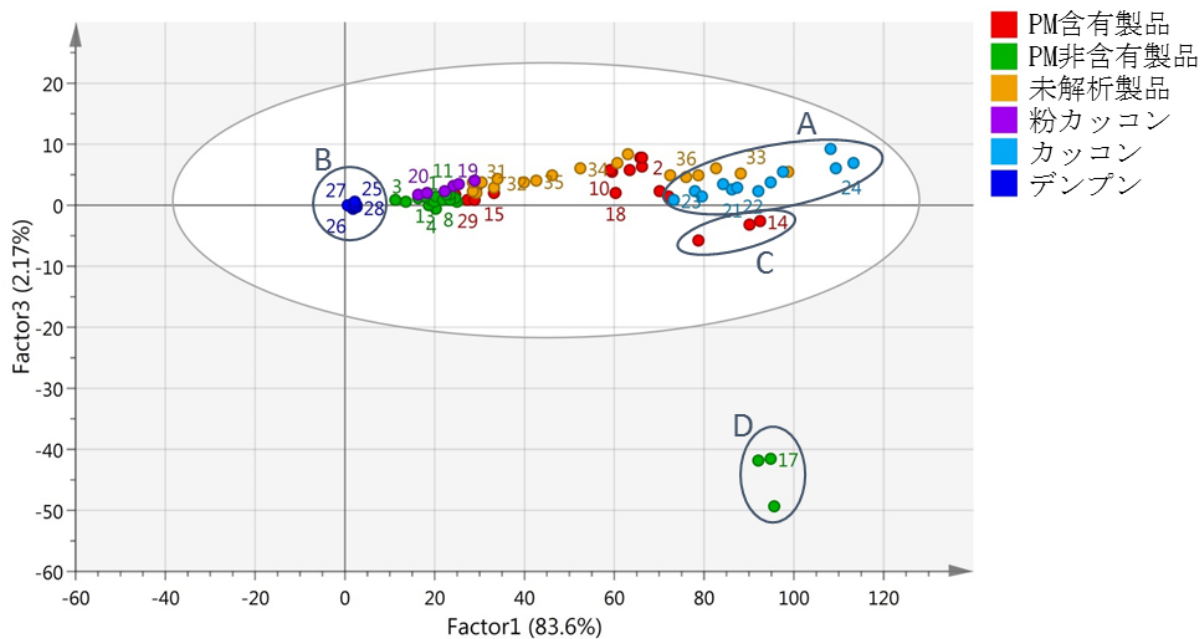


Fig. 5 Score plot on PCA-1 (Factor 1 vs Factor 3)

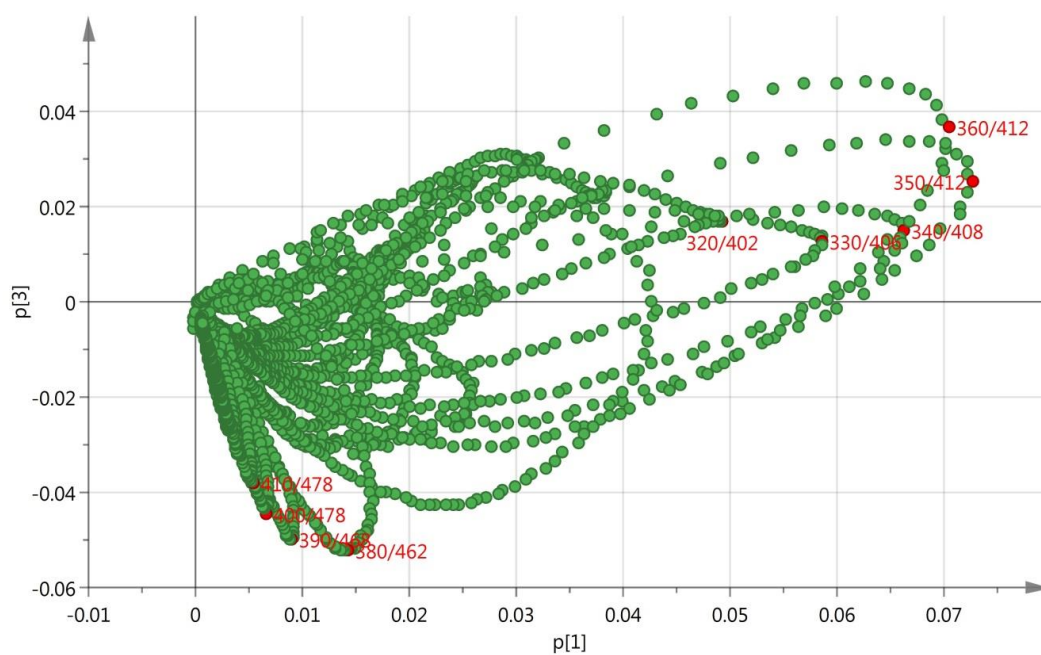


Fig. 6 Loading plot on PCA-1 (Factor 1 vs Factor 3)

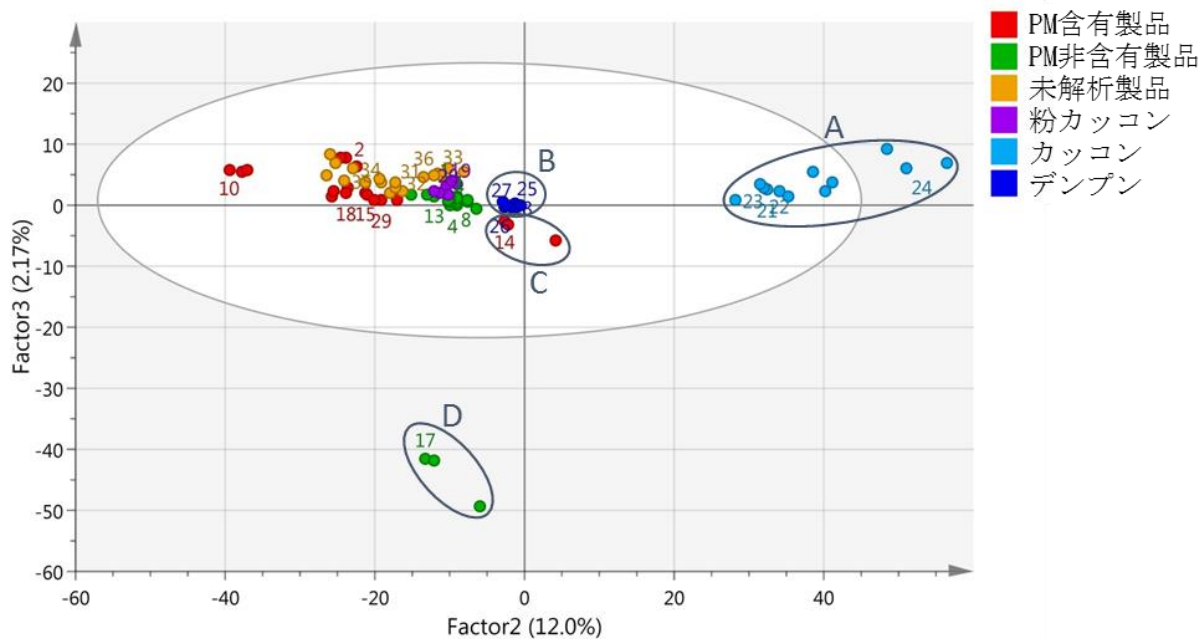


Fig. 7 Score plot on PCA-1 (Factor 2 vs Factor 3)

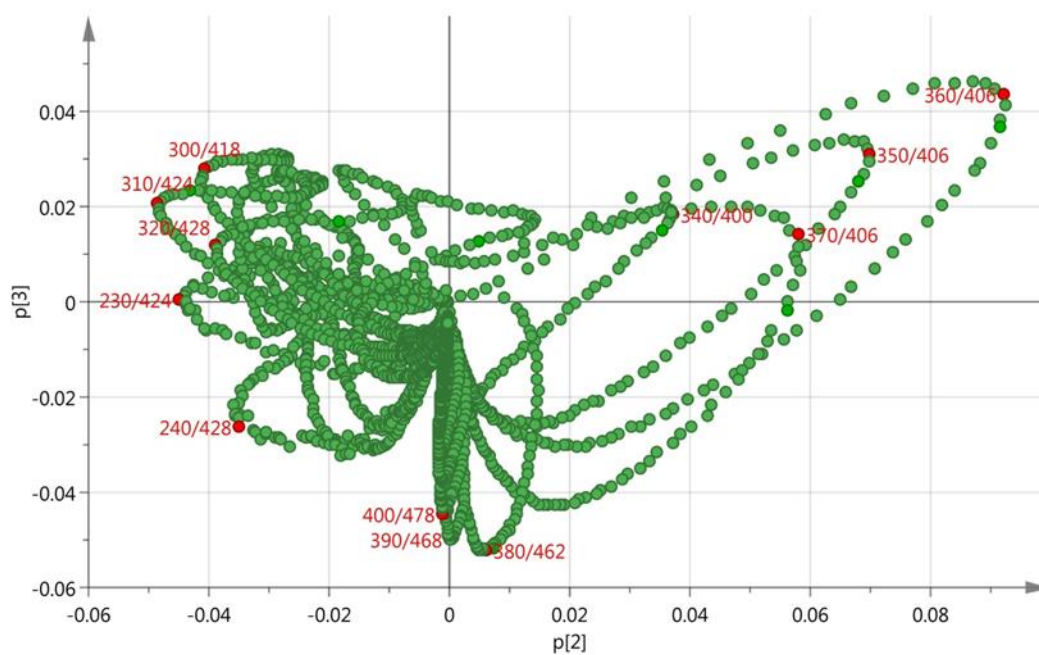


Fig. 8 Loading plot on PCA-1 (Factor 2 vs Factor 3)

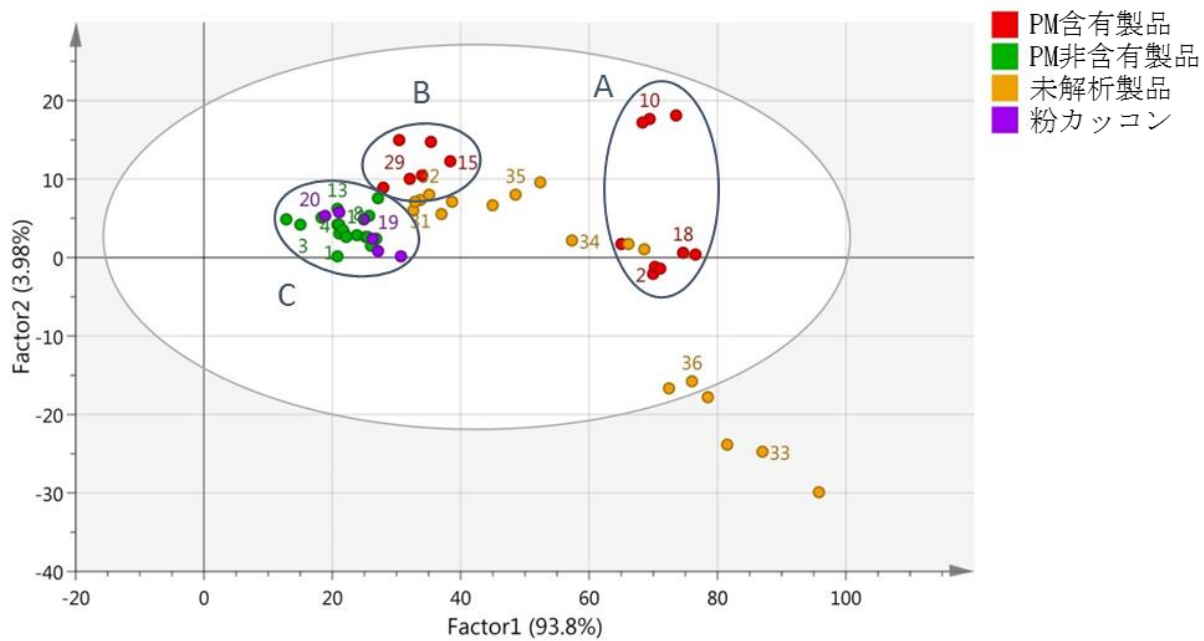


Fig. 9 Score plot on PCA-2 (exclude Pu-14, 17, 21~24, 25~28)

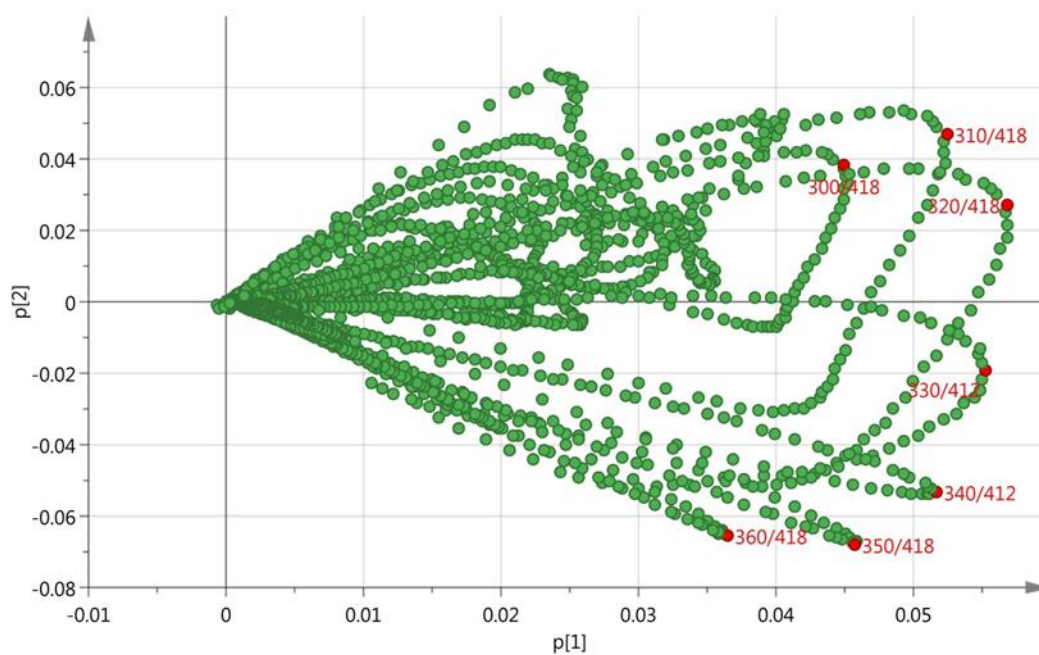


Fig. 10 Loading plot on PCA-2 (exclude Pu-14, 17, 21~24, 25~28)

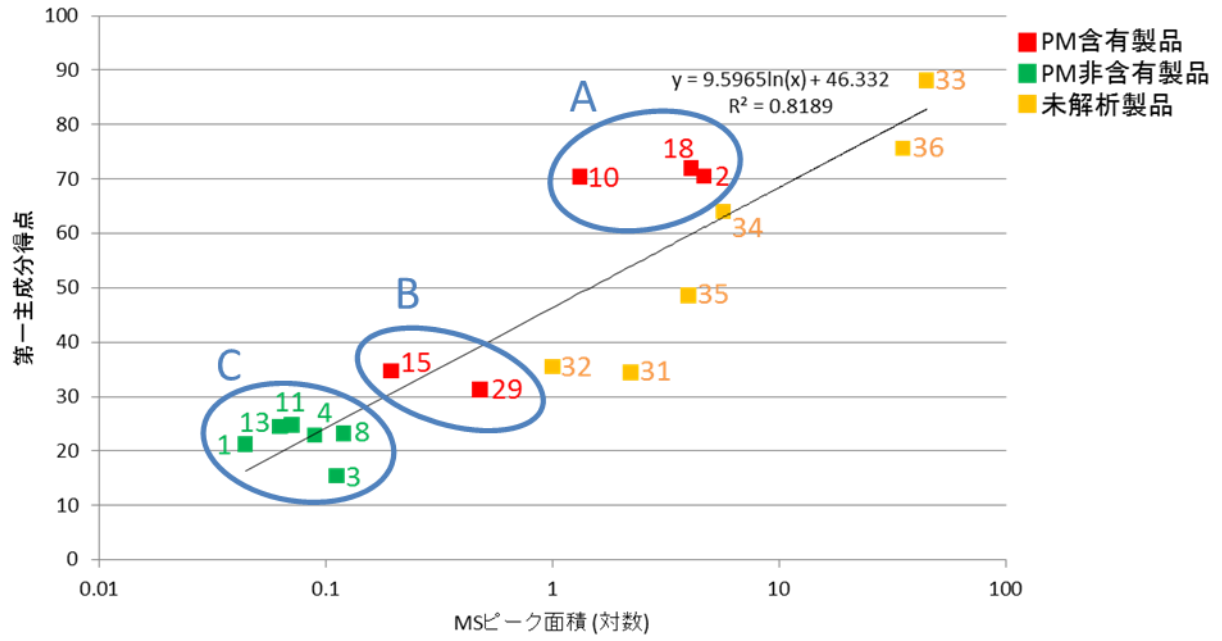


Fig. 11 The correlation between PCA Score (Factor 1) and [Kuwakhurin MS ピーク面積値]

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の
規制に関する研究

研究分担者 袴塚 高志 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長

研究協力者 内山 奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部室長

Cassia 属植物ハネセンナ及びセンナの鑑別に関する研究

研究協力者 徳本 廣子 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部

ハネセンナはキャンドルブッシュ等の別名で、便秘の解消などに効果があるとして健康食品として用いられている。一方類似の植物として挙げられるセンナは、医薬品的効能効果を標榜しない限り、医薬品として判断しない成分本質（非医薬品）として扱うことのできる茎のみが、食品として用いることができるにもかかわらず、茎を用いた市販製品中に、「専ら医薬品」であるセンナの小葉や葉軸、果実などが混入している例がある。ハネセンナにおいてもセンノシドが検出されていることから、医薬品成分（センナの小葉や葉軸、果実）の混入も視野に入れ、鑑別の基準を作成しておく必要があった。そこで鏡検によりハネセンナ及びセンナについて各部位の特徴を把握することにより、両者の鑑別のための基準の作成を試みた。その結果、製品中にハネセンナ *Cassia alata* が使用されていることは、下面表皮の乳頭状突起を検出することで容易に鑑別できるが、同時にセンナが混入しているような場合、現段階で明らかにされている組織の特徴だけでは、ハネセンナとセンナを鑑別する明確な判断基準がないことが明らかとなった。従って、今後さらに詳細な検討を重ね、鑑別の指標となる特徴を見出す必要があると考えられた。

研究協力者

川原信夫:国立研究開発法人 医薬基盤・健康・
栄養研究所 薬用植物資源研究センター長

飯田修:国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 薬用植物資源研究センター つくば研究部研究員

安食 菜穂子:国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 薬用植物資源研究センター 種子島研究部 研究員

A. 研究目的

ハネセンナはキャンドルブッシュ、ゴールドデンキ

ャンドル等の別名で、健康食品としてティーバッグなどに用いられており、便秘の解消などに効果があると言われている。

一方類似の植物として挙げられるセンナは、小葉が日本薬局方に収載される医薬品であるのをはじめ、葉軸、葉柄、果実も含め「専ら医薬品として使用される成分本質」（「専ら医薬品」）として規制されている。医薬品的効能効果を標榜しない限り、医薬品として判断しない成分本質（非医薬品）として扱うことのできる茎のみが、食品として用いることができるにもかかわらず、茎を用いた市販製品の中には医薬品の常用量に近い含量の

センノシドが検出される例が後をたたく、そのような製品中に、「専ら医薬品」であるセンナの小葉や葉軸、果実などが混入している例が明らかにされている¹⁾。

ハネセンナにおいてもセンノシドが検出されており²⁻⁷⁾、また市販のハネセンナ(キャンドルブッシュ)を含む健康茶に関する健康被害事例も報告されていることから⁸⁾、医薬品成分(センナの小葉や葉軸、果実)の混入も視野に入れ、鑑別の基準を作成しておく必要があった。ハネセンナ小葉の特徴として乳頭状突起が挙げられているが、類似の植物との鑑別を正確に行うためには、他の部位の特徴についても観察が必要である。そこで鏡検により各部位の特徴を把握することにより、鑑別のための基準の作成を試みた。

B. 研究方法

【実験材料】

栽培品:ハネセンナ *Cassia alata* は 2015 年 11 月に、センナ (*Cassia acutifolia* 及び *Cassia angustifolia*) は 2008 年 10 月に⁹⁾、国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 薬用植物資源センター 種子島研究部より供与された栽培品の植物体の一部(花、植物体上部の主茎と葉、植物体中部の主茎と側枝および側枝の葉、植物体下部の主茎)を使用した(Fig. 1A)⁹⁾。

市販製品:ハネセンナ *C. alata* を主原料とする旨表示のあるティーバッグ並びにタブレット各 1 製品を入手し使用した(Fig. 1B)。

【試料の調整】

a) 栽培品

栽培品は、数か所の側枝から得た小葉を用い、その中央部の上面及び下面の表皮をピンセットで剥離して試料とした。剥離した表皮は、スライドガラス上にとり、封入剤としてグリセリン水を 1~2 滴滴下した後、気泡が封入されないようカバーガラスで覆い、40 倍、100 倍、400 倍(対物レンズは、4 倍、10 倍、40 倍)で鏡検した。

b) 市販製品

市販製品は表皮のみを剥離することが困難であったため、粉末として観察した。粉末は乳棒と乳鉢を用いて作成し、主として 100 号篩通過粉末を試験に用いた。プレパラートは、局方の生薬試験法に準じ作成した。時計皿にグリセリン水を数滴滴下し、ここに少量の試料をとりガラス棒でかき混ぜた後、2~3 分以上放置して気泡を除いた。この少量を柄付針の先でスライドガラスにとり、封入剤としてグリセリン水を 1 滴加えた後、組織片が重ならずほぼ均等に広がるようカバーガラスで覆い、100 倍および 400 倍(対物レンズは、10 倍、40 倍)で鏡検した。

【使用機器】

外部形態の観察にはルーペおよびデジタルマイクロスコープズームレンズ VH-Z25 (Keyence Co., Osaka, Japan) を用い、10~175 倍(= 15 インチモニター上での倍率)にて観察、剥離した表皮の内部形態および粉末の観察には、光学顕微鏡 Axio Scope.A1 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany) を用い常光で観察した。写真撮影には、顕微鏡用デジタルカメラ DP-21 (Olympus Co., Tokyo, Japan) を用いた。

【試薬】

封入剤として JP 生薬試験法に規定されるグリセリン水(グリセリンと精製水を 1:1 で混合したもの)を使用した。

C. 研究結果

栽培品のハネセンナ *C. alata* の葉の形態を Fig. 2 に示し、比較としてセンナの形態を Fig. 3 に示した。また、市販キャンドルブッシュ製品の組織片を Fig. 4 に示した。まず、栽培品についてそれぞれを観察した結果、ハネセンナの特徴である乳頭状突起(2B-f)は、センナ及び *C. corymbosa* など他の *Cassia* 属植物との鑑別の指標とされているが、鏡検したところハネセンナの葉の下面表皮にのみ認められる特徴で、葉の上面の表皮に

は認められなかった (Fig. 2A). その一方で *C. alata* の上面表皮の組織中には、センナ (*C. acutifolia* 及び *C. angustifolia*) と形、大きさ共によく似た細胞が出現することが明らかとなった (Fig. 2A, 3A). ハネセンナ *C. alata* の上面表皮には、壁が波型を示す表細胞 (Fig. 2A-a) および多角形の表皮細胞が認められた (Fig. 2A-b). 葉脈上の表皮は長多角形の細胞 (Fig. 2A-c) よりなり、葉脈付近には結晶細胞列 (Fig. 2A-d) も認められた.

センナの小葉については、特徴として多角形の表皮細胞 (Fig. 3A-a) が挙げられることが多いが¹⁰⁻¹³⁾、詳細な観察を行ったところ、多角形の表皮細胞は葉脈部に近い一部の範囲で認められる表皮細胞の形状で、葉の辺縁部では、多くの植物に認められるような、壁が波型の表皮細胞よりなっていることが明らかになっている (Fig. 3A-c)⁹⁾. 毛の形状についても、*C. alata* の毛は直線的であり根元が膨らんでいる点で特徴的であるといえるが (Fig. 2B-g)、今回の観察において、根元に大きなふくらみを持たず、湾曲する毛が検出された (Fig. 2B-h). センナでは基部より L 字型に湾曲した毛が特徴的だが (Fig. 3A-b, 3B-b)、全ての毛が湾曲するものではなく、直線的な毛も検出されている (Fig. 3A-d). 毛の根元には放射状に配列する表皮細胞 (Fig. 2A-d) を認めるが、この特徴もハネセンナとセンナで類似するものである.

さらに、ハネセンナとセンナは基原植物を比較すると葉の大きさに顕著な差がみられるにもかかわらず (Fig. 1A)、表皮細胞の大きさには大きな差は認められないことも明らかとなった (Fig. 2A, 2B, 3A, 3B).

次に、市販キャンドルブッシュ製品の組織片を観察した (Fig. 4). その結果、ハネセンナの特徴である乳頭状突起 (Fig. 4A-a) 及び先の尖った毛 (Fig. 4A-b) が見られた. これらはハネセンナの確認のキーとなる組織片である. またその他に、乳頭突起が確認できない表皮片 (Fig. 4B-c)、先の曲がった毛 (Fig. 4B-d)、毛の破片 (Fig. 4B-e) が

観察された. しかし、これらの組織片についてはこれまで報告がないため、基原を判定することが困難であった.

D. 考察

特殊な形態を持っている植物は、単独であれば、種の鑑別が可能であるが、類似の形態を示す細胞が共通して出現する植物と混合されているような事例においては、全ての組織を対象とした比較では由来の断定が極めて難しいものとなる. 今回の結果では、製品中にハネセンナ *C. alata* が使用されていることは、下面表皮の乳頭状突起を検出することで容易に鑑別できるが、同時にセンナが混入しているような場合、現段階で明らかにされている組織の特徴だけでは、ハネセンナとセンナを鑑別する明確な判断基準がないことが明らかとなった.

E. 結論

本研究では、鏡検によりハネセンナ及びセンナについて各部位の特徴を把握することにより、両者の鑑別のための基準の作成を試みた. その結果、製品中にハネセンナ *C. alata* が使用されていることは、下面表皮の乳頭状突起を検出することで容易に鑑別できるが、同時にセンナが混入しているような場合、現段階で明らかにされている組織の特徴だけでは、ハネセンナとセンナを鑑別する明確な判断基準がないことが明らかとなった. 今後さらに詳細な検討を重ね、鑑別の指標となる特徴を見出す必要があるという結論を得た.

F. 研究発表

1. 学会発表
該当無し
2. 誌上発表
該当無し

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

H. 参考文献

- 1) 国民生活センター; ダイエットなどをうたった「健康食品」ーセンナ茎を使った茶類を中心にー, 2005年9月7日 http://www.kokusen.go.jp/pdf/n-20050907_1g.pdf (Accessed: November 2016).
- 2) 鈴木幸子, 荒金眞佐子, 吉澤政夫, 北川重美, 塩田寛子, 岸本清子, 森謙一郎, 荻野周三; 健康食品に配合される *Cassia* 属植物の鑑別, 東京健安研七年報 *Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health*, 60, 91-96 (2009).
- 3) 谷口康幸, 田近英彦, 高尾泰昌, 辰尾良秋, 山村良美, 黒崎文也, 藤野廣春, 瀬戸山保, 中沢真子; ハネセンナ *Cassia alata* の小葉, 花部, 果実のセンノシド含量, 生薬学雑誌, 66, 77-80 (2012).
- 4) 高橋市長, 石井俊靖, 西條雅明, 長谷川貴志, 岡田博, 永田知子; *Cassia alata* L.(ハネセンナ)各部位におけるセンノシド A, B 及びアントラキノン類の含有量, 生薬学雑誌, 64, 21-25 (2010).
- 5) 安食菜穂子, 飯田修, 杉村康司, 吉岡達文, 末岡昭宣, 野村知史, 藤田浩基, 川原信夫; 日本国内におけるハネセンナ(キャンドルブッシュ)の生育について, 日本食品化学学会第20回 総会・学術大会 (2014. 5)
- 6) 安食菜穂子, 飯田修, 杉村康司, 吉岡達文, 末岡昭宣, 野村知史, 藤田浩基, 川原信夫; 日本国内におけるハネセンナ(キャンドルブッシュ)の生育について 2ー種子島における継続栽培の可能性ー, 日本食品化学学会第21回 総会・学術大会 (2015. 5)
- 7) 安食菜穂子, 飯田修, 杉村康司, 吉岡達文, 末岡昭宣, 野村知史, 藤田浩基, 川原信夫; 日本国内におけるハネセンナ(キャンドルブッシュ)の生育について 3ー種子島における継続的種子採取の可能性及び成分分析ー, 日本食品化学学会第22回 総会・学術大会 (2016. 6)
- 8) 国民生活センター; キャンドルブッシュを含む健康茶ー下剤成分(センノシド)を含むため過剰摂取に注意ー, 2014年1月23日 http://www.kokusen.go.jp/pdf/n-20140123_1.pdf (Accessed: November 2016).
- 9) 徳本廣子, 下村裕子, 飯田修, 袴塚高志, 合田幸広; 鏡検による粉末センナ茎と粉末センナ葉軸の鑑別, 生薬学雑誌, 65, 114-128 (2011).
- 10) Jackson BP, Snowden DW. Atlas of Microscopy of Medicinal Plants, Culinary Herbs and Spices, CRC press, pp. 214-215 (1990). ISBN 0-8493-7705-6.
- 11) Fujita M., “Shoyakugaku”, Nanzando, Tokyo, 1957, pp. 220-222.
- 12) American Herbal Pharmacopoeia: Botanical Pharmacognosy Microscopic Characterization of Botanical Medicine. CRC press, London, pp. 608-610 (2011). ISBN 978-1-4200-7326-3
- 13) Youngken HW, Textbook of Pharmacognosy, 6th ed.. Blakiston Company, Philadelphia, pp. 459-465 (1950).

A) 栽培品

Cassia alata

中央部の葉



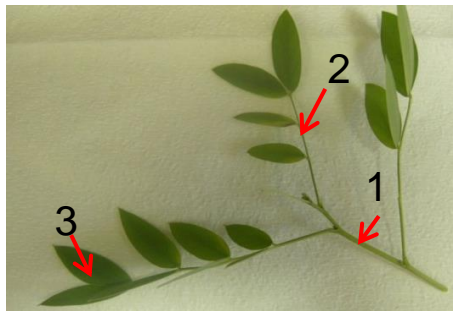
小葉



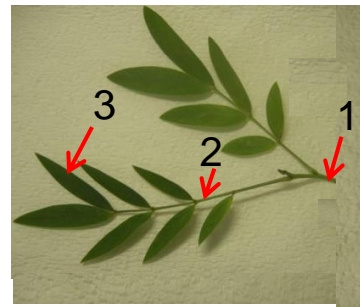
5cm

比較用センナ

C. acutifolia



C. angustifolia



5cm

1: 茎, 2: 葉軸, 3: 小葉

B) 栽培品

ティーバッグ内容物



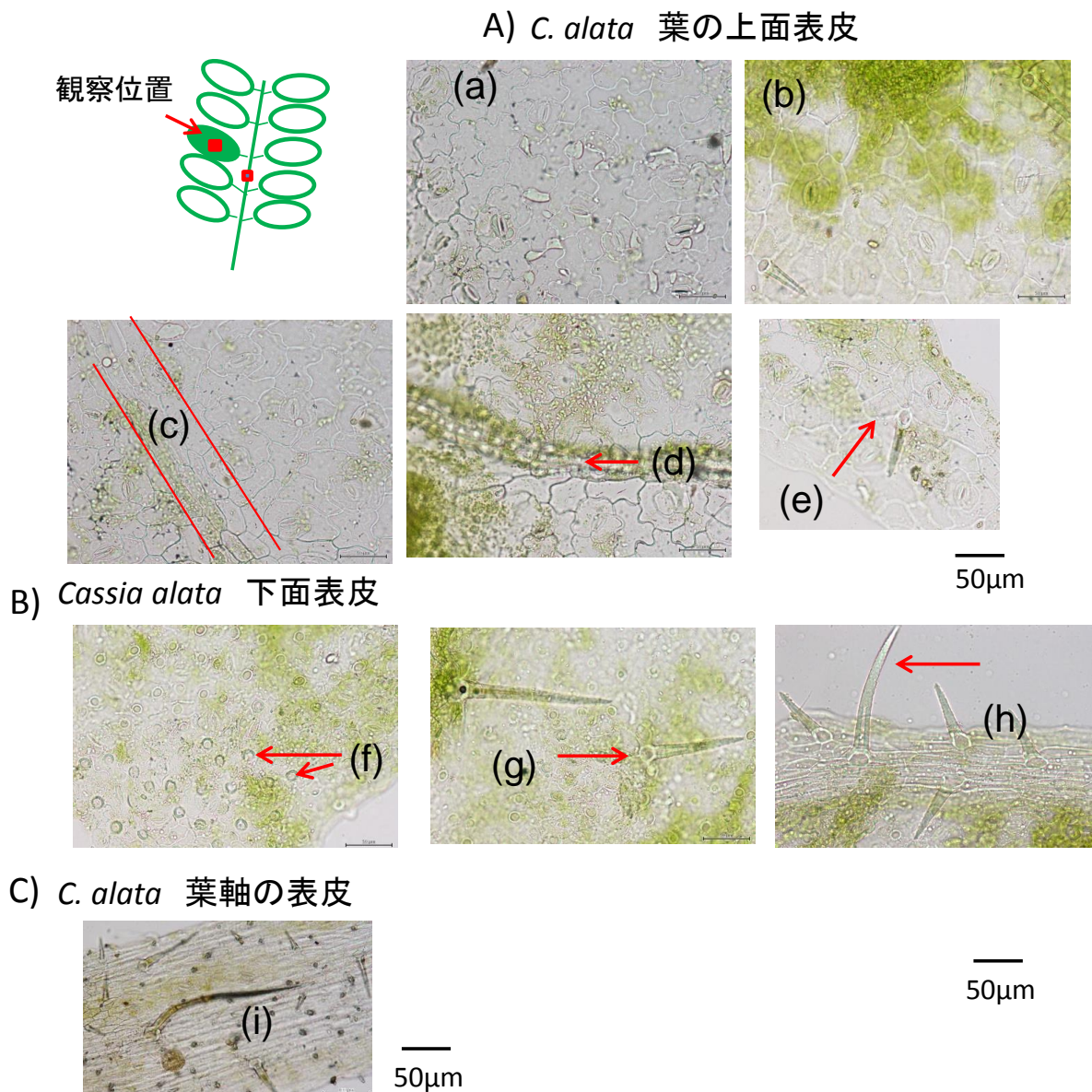
キャンドルブッシュ 100% (茎・葉)の記載あり

タブレット



キャンドルブッシュ 100% の記載あり

Fig.1 使用した検体と部位の名称



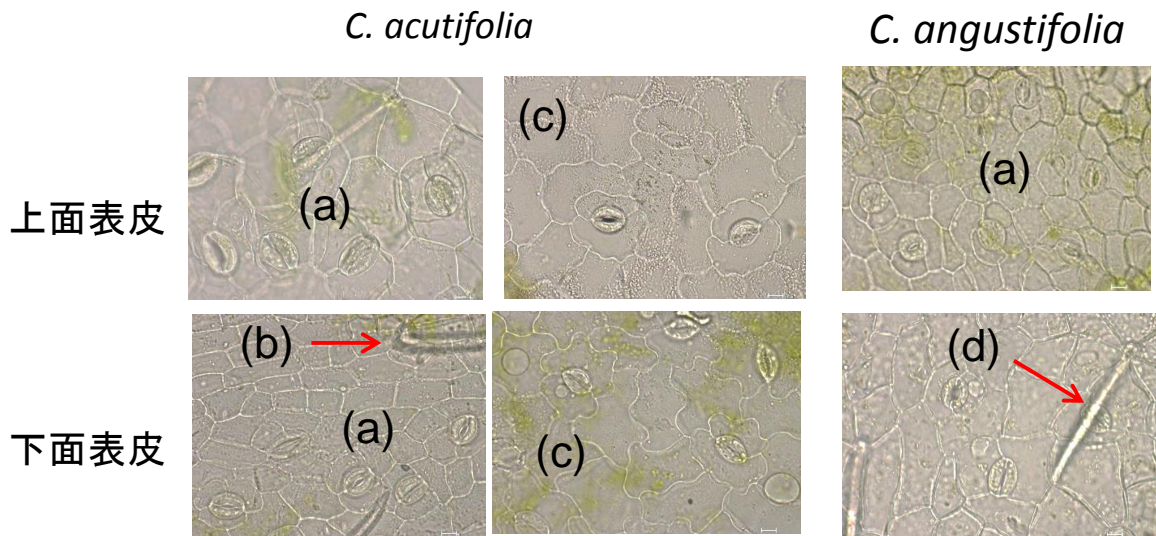
A: 葉の上面表皮の形態. (a) 壁が波型の表皮細胞, (b) 多角形の表皮細胞. 緑色は表皮に伴った柵状組織中の葉緑粒, (c) 葉脈上の表皮細胞, (d) 結晶細胞列, (e) 毛の周囲では表皮細胞が放射状に配列する. (a) - (e) はセンナにも認められる特徴である. 上面表皮には乳頭状突起は見られない.

B: 葉の下面表皮の形態. (f) 乳頭状突起, センナには認められないので, 鑑別点となる, (g) 直線的な毛. 根元が膨らんでいるのが特徴的, (h) 葉脈上の表皮に認められた毛. 湾曲したものも認められる. 葉脈上には乳頭状突起は見られない.

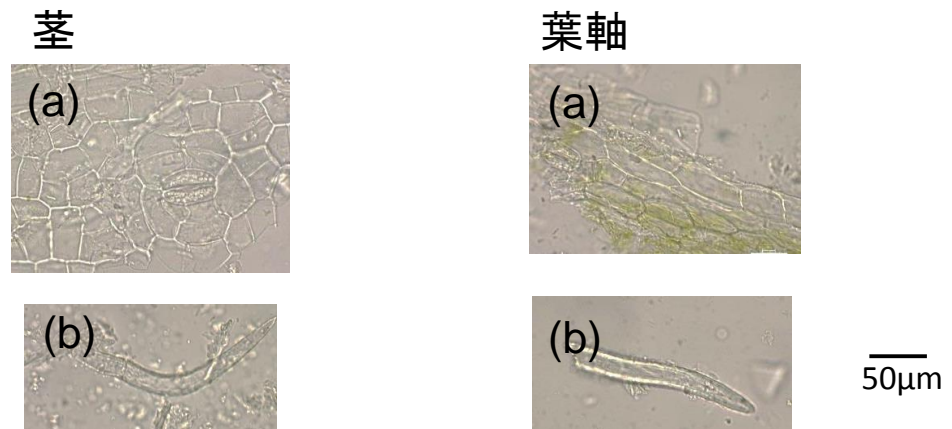
C: (i) 葉軸上の毛. センナの毛とよく似た形態の毛が認められた.

Fig. 2 *Cassia alata* ハネセンナの表皮の形態

A) *C. acutifolia* ならびに *C. angustifolia* の葉の表皮



B) *C. acutifolia* の茎, 葉軸の表皮



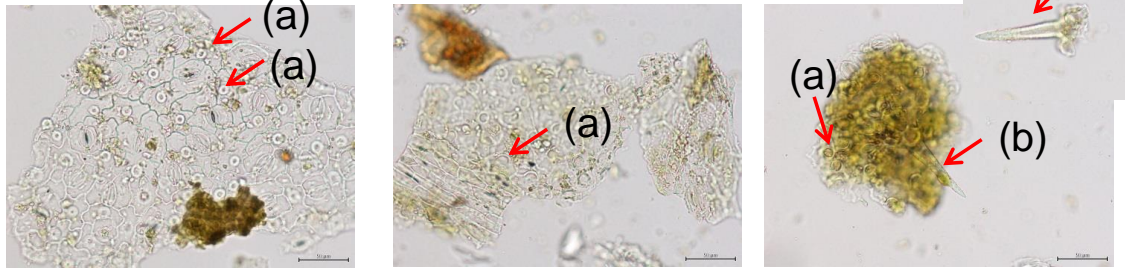
A: 葉の表皮の形態, (a) センナの特徴とされる多角形の表皮細胞, (b) 湾曲した毛, (c) 波型の表皮細胞, (d) 湾曲しない毛. 細胞の大きさは センナ, ハネセンナともにほぼ同等であった.

B: 茎と葉軸の表皮及び毛の形態, (a) 表皮, (b) 毛.

市販製品より検出した, センナに類似した組織片の由来について, 誰にでも明らかに区別できる相違点を挙げる必要がある

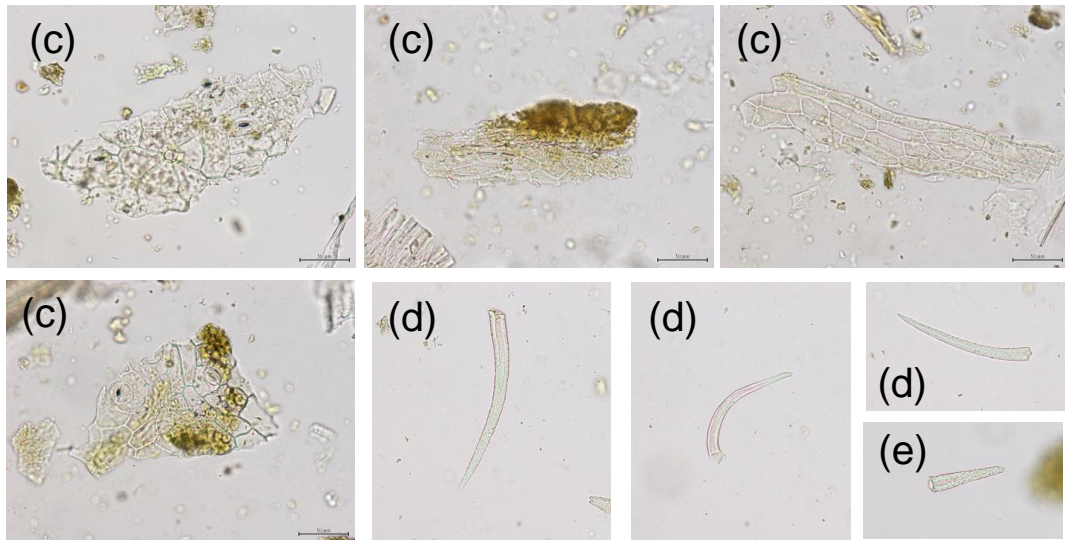
Fig. 3 比較に用いたセンナの表皮の形態

A) 市販 キャンドルブッシュ製品中の組織片



(a)ハネセンナの特徴である乳頭状突起, (b)先の尖った毛
これらはハネセンナの確認のキーとなる組織片

B) その他に観察された組織片



50µm

(c) 乳頭突起が確認できない表皮片, (d) 先の曲がった毛, (e) 毛の破片
これらについては報告がないため, 基原の判定ができない

ハネセンナの組織を確認して, 出現する組織片をまとめた写真が必要である

Fig. 4 市販 キャンドルブッシュ製品中の組織片

分担研究報告書

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究
研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長 丸山卓郎

健康食品中から見出された新規 ED 治療薬類縁体の文献調査について

強壯用健康食品中に ED 治療薬類縁体が混入され、このものを原因とすると考えられる健康被害が発生していることや、近年では、インターネットを介して ED 治療薬を購入するケースもあることから、健康食品中からの単離が報告されている新規 ED 治療薬類縁体について文献調査を行った。その結果、2015 年以降、韓国、台湾、米国、シンガポールの 4 カ国から、計 10 化合物が報告されており、その内訳は、9 化合物が *tadalafil* 誘導体、残り 1 化合物は、*sildenafil* 誘導体であった。各化合物の構造式、 ^1H , ^{13}C -NMR データを図表にまとめた。

A. 研究目的

近年、健康食品に無承認無許可医薬品が含まれ、このものが原因と思われる健康被害が多数、発生している。痩身用を標榜した健康食品への食欲抑制剤や下剤及びその作用を有する生薬の混入や、強壯用を謳った健康食品への ED (erectile dysfunction) 治療薬及びその類似化合物の混入などがその代表例であり、このような製品を摂取し、頭痛、嘔吐、動悸などの症状を訴える事例や重篤な場合には、死に至ったケースもある。厚生労働省では、昭和 46 年の薬務局長通知、「無承認無許可医薬品の指導取り締まりについて」を順次、改定し、「医薬品の範囲に関する基準」を提示するとともに、監視業務を強化している。その結果、痩身用製品への医薬品成分の混入は激減し、強壯用製品についても、店頭販売のものから検出されるケースは、少なくなっている。その一方で、インターネットを介して販売される強壯用製品からは、依然として ED 治療薬及びそれらの類縁体が検出されている。また、近年では健康食品ではなく、ED 治療薬そのものをインターネットにより購入する場合も多くあり、これらの製品の品質についても注意する必要がある。

国内の市場品から新規の ED 治療薬類縁体

が報告されるケースは無くなっているが、その背景には、試験機関が近年の危険ドラッグ対策強化に忙殺されていた側面も推察される。実際、海外では、依然として様々な新規化合物が報告されている。

インターネットの普及により、情報、流通のグローバル化が進む現在、海外での有害事例は、多くの場合、いずれ日本国内でも発生することが予期される。そこで本研究では、そのような事態に備え、海外において新規に流通が報告された ED 治療薬類縁体の文献検索を行った。

B. 研究方法

Google Scholar を用い、"sildenafil" / "vardenafil" / "tadalafil" と "dietary supplement" でコンビネーション検索し、2015 年以降の報告を抽出した。また、国立医薬品食品衛生研究所安全情報部が発信する「食品安全情報」における Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) についても、2015 年以降のものを確認した。

C. 研究結果と考察

Google Scholar による検索結果を Table 1 にまとめた。2015 年以降に新規に報告された

ED 治療薬類縁体は、10 化合物であり、その内訳は、sildenafil タイプが、1 種、残りの 9 種は、tadalafil タイプであり、vardenafil タイプのものは、認められなかった。国別では、韓国が 5 化合物、台湾が 3 化合物、米国が 2 化合物、シンガポールが 1 化合物であった。一方、RASFF に報告があった化合物は、9 化合物であり、このうち、8 化合物は、sildenafil タイプ、残りは、tadalafil であった (Table 2)。これらはいずれも既に論文報告されているものであった。新規に報告された ED 治療薬類縁体、10 化合物の構造式、精密質量値、¹H、¹³C-NMR データを Fig. 1-10 及び Table 3-11 にまとめた。

D. 結論

検索エンジンを用い、2015 年以降に健康食品中からの単離が報告された ED 治療薬類縁体を調査した。その結果、4 カ国から、計 10 化合物が報告されており、その内、9 化合物は、tadalafil の類縁体であった。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

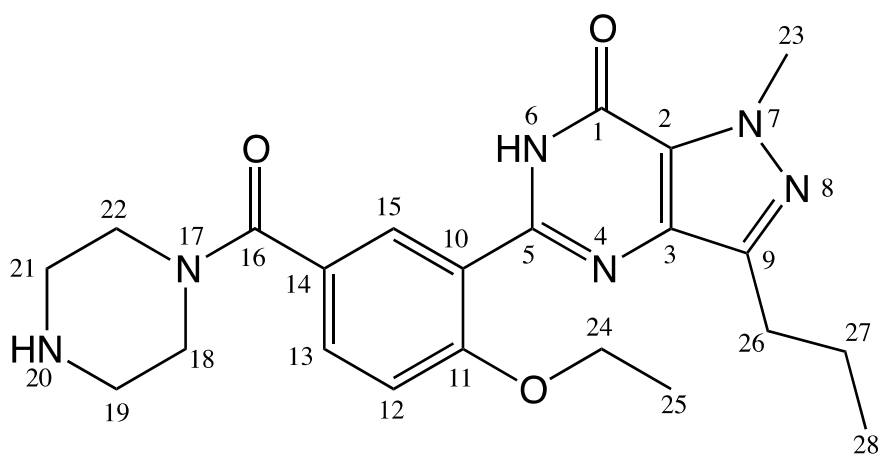
なし

Table 1 2015 年以降に報告された新規 ED 治療薬類縁体

No.	Compound name	Compound type	Exact mass	Country	Reference
1	Desethylcarbodenafil	Sildenafil	424.2223	Taiwan	Food Additives & Contaminants: Part A, DOI: 10.1080/19440049.2016.1236402 (online available)
2	<i>N</i> -Phenylpropenyltadalafil	Tadalafil	504.1798	Taiwan	Food Additives & Contaminants: Part A, 33:2, 179–185 (2016) (online available)
3	<i>N</i> -Cyclopentylnortadalafil	Tadalafil	443.1845	Singapore Korea	J. Pharm. Biomed. Anal., 118, 235–241 (2016) (online available) J. Pharm. Biomed. Anal., 123, 1–9 (2016) (online available)
4	Bisprecyclopentyltadalafil	Tadalafil	865.3323	Korea	J. Pharm. Biomed. Anal., 123, 1–9 (2016) (online available)
5	2-Hydroxyethylnortadalafil	Tadalafil	419.1481	USA	J. Pharm. Biomed. Anal., 103, 99–103 (2015)
6	Chloropropanoylpretadalafil	Tadalafil	440.1139	USA	J. Pharm. Biomed. Anal., 128, 360–366 (2016) (online available)
7	<i>Trans</i> -Bisprehomotadalafil	Tadalafil	825.3010	Korea	J. Pharm. Biomed. Anal., 115, 352–358 (2015) (online available)
8	Bisprenortadalafil	Tadalafil	735.2435	Korea	Food Additives & Contaminants: Part A, 33:6, 945–952 (2016) (online available)
9	Homotadalafil	Tadalafil	403.1532	Korea	J. Pharm. Biomed. Anal., 103, 80–84 (2015) J. Pharm. Biomed. Anal., 115, 352–358 (2015) (online available)
10	Dipropylaminopretadalafil	Tadalafil	491.2420	Taiwan	Food Additives & Contaminants: Part A, 33:6, 953–958 (2016) (online available)

Table 2 2015 年以降に RASFF に報告された ED 治療薬類縁体

No.	Compound name	Compound type	Vol.	Date
1	dimethylsildenafil	sildenafil	2015/No.1	2015.01.07
			2016/No.20	2016.09.28
2	dithiodesmethylcarbodenafil	sildenafil	2015/No.9	2015.04.28
			2016/No.16	2016.08.03
3	desmethylcarbodenafil	sildenafil	2015/No.9	2015.04.28
			2016/No.16	2016.08.03
4	carbodenafil	sildenafil	2015/No.9	2015.04.28
5	thiosildenafil?	sildenafil	2015/No.18	2015.09.02
			2015/No.19	2015.09.16
			2016/No.12	2016.06.08
			2016/No.12	2016.06.08
6	sildenafil	sildenafil	2016/No.20	2016.09.28
			2016/No.20	2016.09.28
7	tadarafil	tadalafil	2016/No.12	2016.06.08
8	thiodimethylsildenafil	sildenafil	2016/No.20	2016.09.28
9	thiosildenafil	sildenafil	2016/No.20	2016.09.28



desethylcarbodenafil

exact mass: 424.2223

Fig. 1 Chemical structure of desethylcarbodenafil

Table 3 NMR data of desethylcarbodenafil
(DMSO-*d*₆, 500 MHz for ¹H, 125 MHz for ¹³C)

No.	δ_{H}	δ_{C}
1	-	153.6
2	-	124.2
3	-	137.9
5	-	148.9
9	-	144.9
10	-	122.5
11	-	157.2
12	7.17 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =8.7 Hz)	112.4
13	7.50 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =8.7, 2.3 Hz)	130.8
14	-	127.8
15	7.63 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =2.3 Hz)	129.7
16	-	168.1
18/22	3.42 (4H, br <i>s</i>)	-*
19/21	2.68 (4H, br <i>s</i>)	45.7
23	4.14 (3H, <i>s</i>)	37.8
24	4.16 (2H, <i>q</i> , <i>J</i> =7.0 Hz)	64.3
25	1.32 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> =7.0 Hz)	14.4
26	2.76 (2H, <i>t</i> , <i>J</i> =7.4 Hz)	27.1
27	1.72 (2H, <i>q</i> , <i>J</i> =7.4 Hz)	21.7
28	0.92 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> =7.4 Hz)	13.8
6-NH	11.9 (1H, br <i>s</i>)	-
20-NH	-	-

*: Signals are missing.

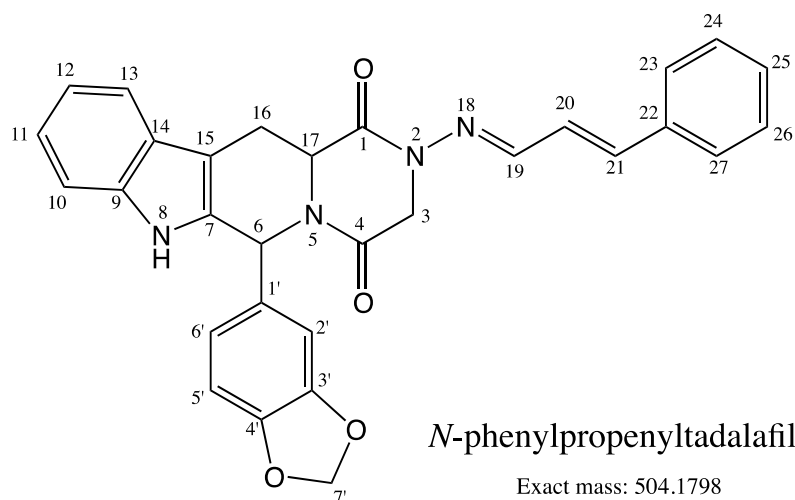


Fig. 2 Chemical structure of *N*-phenylpropenyltadalafil

Table 4 NMR data of *N*-phenylpropenyltadalafil
(DMSO-*d*₆, 500 MHz for ¹H, 125 MHz for ¹³C)

No.	δ_{H}	δ_{C}
1	-	163.6
3	4.45 (2H, <i>q</i>)	49.7
4	-	165.5
6	6.16 (1H, <i>s</i>)	55.6
7	-	133.9
9	-	136.3
10	7.29 (1H, <i>d</i> , $J=7.8$ Hz)	111.3
11	7.05 (1H, <i>d</i> , $J=7.8$ Hz)	121.3
12	6.99 (1H, <i>d</i> , $J=7.8$ Hz)	118.9
13	7.55 (1H, <i>d</i> , $J=7.8$ Hz)	118.2
14	-	125.8
15	-	104.7
16	3.09 (1H, <i>ddd</i> , $J=15.6, 11.6, 1.0$ Hz) 3.58 (1H, <i>dd</i> , $J=15.6, 4.5$ Hz)	23.3
17	4.60 (1H, <i>dd</i> , $J=11.6, 4.5$ Hz)	56.0
19	8.23 (1H, <i>d</i> , $J=8.5$ Hz)	150.7
20	7.09 (1H, <i>d</i> , $J=16.0$ Hz)	125.5
21	7.15 (1H, <i>d</i> , $J=16.0$ Hz)	141.1
22	-	135.8
23,27	7.62 (2H, <i>d</i> , $J=7.2$ Hz)	127.3
24,26	7.39 (2H, <i>t</i> , $J=7.2$ Hz)	128.9
25	7.33 (1H, <i>t</i> , $J=7.2$ Hz)	129.1
1'	-	136.9
2'	6.90 (1H, <i>d</i> , $J=1.7$ Hz)	107.0
3'	-	147.2
4'	-	146.2
5'	6.76 (1H, <i>d</i> , $J=8.1$ Hz)	108.0
6'	6.82 (1H, <i>dd</i> , $J=8.1, 1.7$ Hz)	119.4
7'	5.90 (2H, <i>dd</i> , $J=3.8$ Hz)	100.9
8-NH	11.0 (1H, <i>s</i>)	-

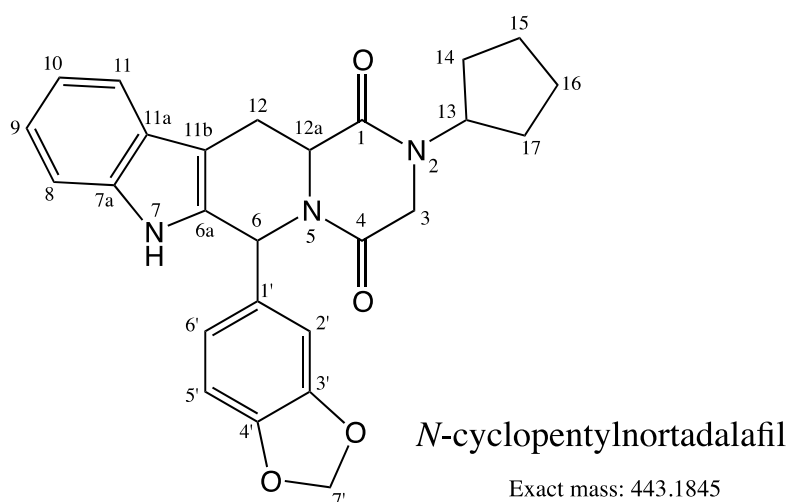
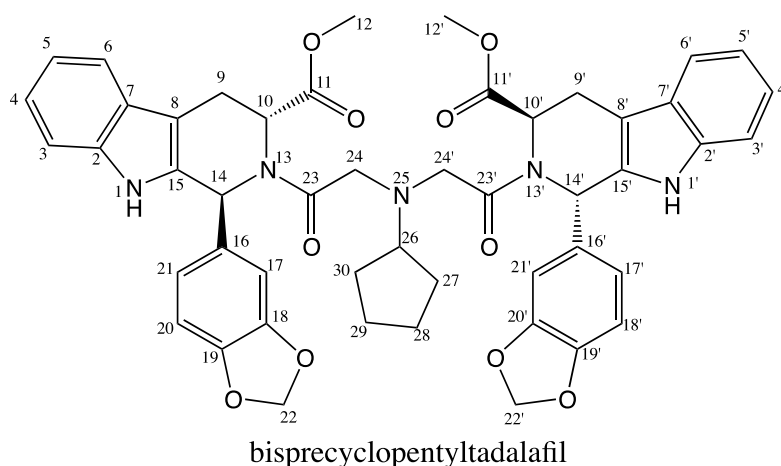


Fig. 3 Chemical structure of *N*-cyclopentylnortadalafil

Table 5 NMR data of *N*-cyclopentylnortadalafil
(DMSO-*d*₆, 500 MHz for ¹H, 125 MHz for ¹³C)

No.	δ_{H}	δ_{C}
1	-	166.9
3	3.84 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =17.0 Hz) 4.11 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =17.0 Hz)	45.2
4	-	167.5
6	6.18 (1H, <i>s</i>)	54.7
6a	-	136.6
7	11.09 (1H, <i>s</i>)	-
7a	-	136.1
8	7.31 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =8.0 Hz)	111.3
9	7.06 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> =7.0 Hz)	121.2
10	6.99 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> =7.0 Hz)	118.9
11	7.54 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =8.0 Hz)	118.1
11a	-	125.7
11b	-	104.6
12	2.97 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =15.5, 11.5 Hz) 3.47 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =15.5, 5.0 Hz)	22.4
12a	4.42 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =11.5, 5.0 Hz)	55.4
1'	-	133.8
2'	6.82 (1H, <i>d</i>)	106.7
3'	-	147.1
4'	-	146.1
5'	6.78 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =8.0 Hz)	108.0
6'	6.72 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =8.0, 1.5 Hz)	119.0
7'	5.92 (2H, <i>s</i>)	100.9
13	4.80 (1H, <i>q</i>)	53.6
14/17	1.76 (2H, <i>br m</i>); 1.52 (2H, <i>br m</i>)	28.2
15/16	1.68 (2H, <i>br m</i>); 1.54 (2H, <i>br m</i>)	23.9



Exact mass: 865.3323

Fig. 4 Chemical structure of bisprecyclopentyltadalafil

Table 6 NMR data of bisprecyclopentyltadalafil
(CDCl₃, 600 MHz for ¹H, 150 MHz for ¹³C)

No.	δ_{H}	δ_{C}
1, (1')	9.90 (2H, s, NH-1, 1')	-
2, (2')	-	136.8
3, (3')	7.34 (2H, d, $J=7.9$ Hz)	111.1
4, (4')	7.11 (2H, t, $J=7.3$ Hz)	121.6
5, (5')	7.05 (2H, t, $J=7.4$ Hz)	118.9
6, (6')	7.55 (2H, d, $J=7.6$ Hz)	118.1
7, (7')	-	126.6
8, (8')	-	107.3
9, (9')	9b, 9'b: 3.60 (2H, br d, $J=15.9$ Hz)	21.1
10, (10')	6.15 (2H, s)	51.7
11, (11')	-	171.3
12, (12')	H-9a, 9'a, 12, 12' overlapped: 3.16-3.09 (8H, m)	51.2
13, (13')	-	-
14, (14')	6.89 (2H, s)	50.9
15, (15')	-	130.6
16, (16')	-	134.5
17, (17')	6.84 (2H, s)	109.7
18, (18')	-	147.3
19, (19')	-	146.9
20, (20')	6.68 (2H, d, $J=7.9$ Hz)	107.1
21, (21')	6.52 (2H, d, $J=7.7$ Hz)	122.6
22, (22')	5.93 (4H, d, $J=4.4$ Hz)	101.0
23, (23')	-	170.7
24, (24')	24a, 24'a: 3.52-3.50 (2H, m) 24b, 24'b: 3.95 (2H, br s)	56.1
25	-	-
26	3.35 (1H, br s)	63.9
27, 30, 28, 29	H-27b, 30b overlapped: 1.79 (2H, br s) H28a,b, 29a,b, 27a, 30a overlapped: 1.64-1.41 (6H, m)	26.3 (C-27, 30), 23.5, 23.4 (C-28, 29)

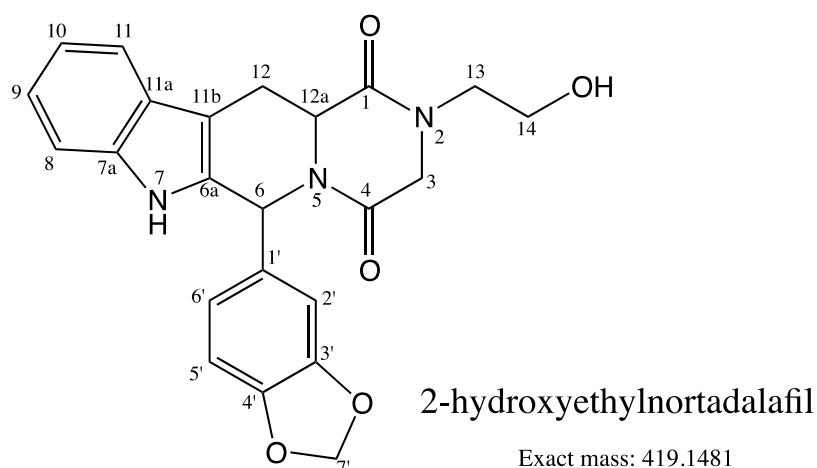


Fig. 5 Chemical structure of 2-hydroxyethylnortadalafil

Table 7 NMR data of 2-hydroxyethylnortadalafil
(DMSO-*d*₆, 500 MHz for ¹H, 125 MHz for ¹³C)

No.	δ_{H}	δ_{C}
1	-	167.3
3	4.01 (1H, <i>d</i> , $J=17.1$ Hz) 4.26 (1H, <i>dd</i> , $J=17.0, 1.1$ Hz)	51.1
4	-	166.7
6	6.16 (1H, <i>s</i>)	55.0
6a	-	136.8
7	11.05 (1H, <i>s</i>)	-
7a	-	136.1
8	7.30 (1H, <i>d</i> , $J=8.0$ Hz)	111.3
9	7.06 (1H, <i>m</i>)	121.2
10	7.00 (1H, <i>m</i>)	118.9
11	7.54 (1H, <i>d</i> , $J=7.8$ Hz)	118.1
11a	-	125.8
11b	-	104.7
12	2.97 (1H, <i>dd</i> , $J=15.4, 11.9$ Hz) 3.49 (1H, <i>dd</i> , $J=15.8, 4.7$ Hz)	22.7
12a	4.42 (1H, <i>dd</i> , $J=11.6, 4.2$ Hz)	55.4
13	3.35 (1H, <i>m</i>) 3.60 (1H, <i>m</i>)	48.1
1'	-	133.9
2'	6.85 (1H, <i>s</i>)	106.9
3'	-	147.1
4'	-	146.1
5'	6.78 (2H, <i>m</i>)	108.0
6'	5.92 (2H, <i>s</i>)	100.9
7'	5.92 (2H, <i>s</i>)	100.9
14	3.56 (2H, <i>m</i>)	58.5
14-OH	4.79 (1H, <i>t</i> , $J=5.2$ Hz)	

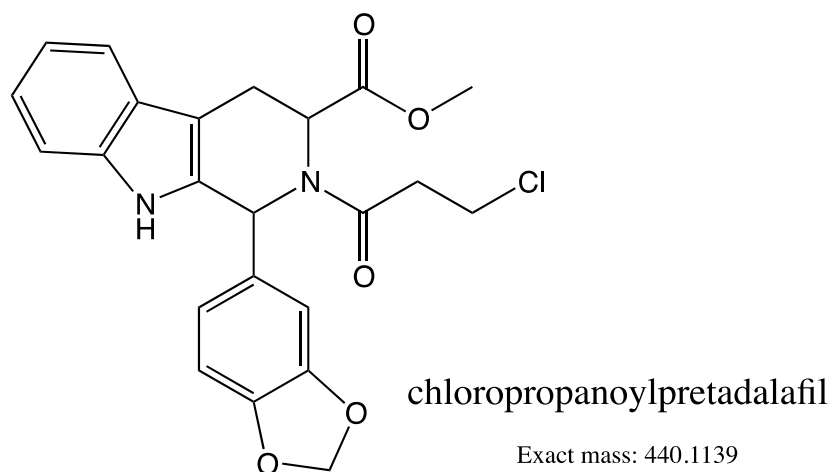
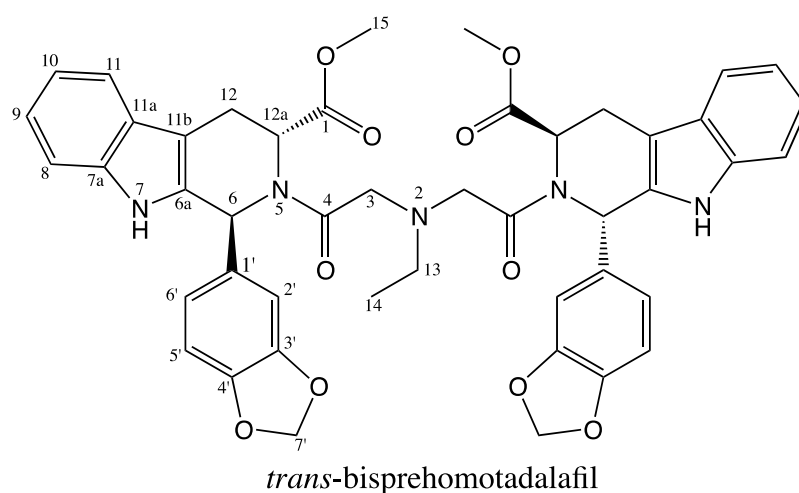


Fig. 6 Chemical structure of chloropropanoylpretadafil

* : 論文に NMR スペクトルデータの記載なし



Exact mass: 825.3010

Fig. 7 Chemical structure of *trans*-bisprehomotadalafil

Table 8 NMR data of *trans*-bisprehomotadalafil
(CDCl₃, 600 MHz for ¹H, 150 MHz for ¹³C)

No.	δ_{H}	δ_{C}
1	-	171.1
3	3.25 (2H, <i>d</i> , $J=13.9$ Hz) 3.75 (2H, <i>d</i> , $J=14.1$ Hz)	57.6
4	-	170.4
6	6.75 (2H, <i>s</i>)	51.3
6a	-	130.1
7	7.54 (2H, <i>s</i>)	-
7a	-	136.3
8	7.19 (2H, <i>d</i> , $J=5.8$ Hz)	110.9
9	7.11 (2H, <i>t</i> , $J=7.1$ Hz)	122.4
10	7.07 (2H, <i>t</i> , $J=14.7$ Hz)	119.7
11	7.48 (2H, <i>d</i> , $J=7.7$ Hz)	118.6
11a	-	126.4
11b	-	107.9
12	3.03 (2H, <i>dd</i> , $J=15.0, 6.1$ Hz) 3.59 (2H, <i>d</i> , $J=15.9$ Hz)	21.5
12a	5.63 (2H, <i>d</i> , $J=6.3$ Hz)	52.1
13	2.60–2.58 (1H, <i>m</i>) 2.74–2.72 (1H, <i>m</i>)	49.1
14	1.00 (3H, <i>s</i>)	11.9
15	3.11 (6H, <i>s</i>)	52.0
1'	-	133.4
2'	6.83 (2H, <i>s</i>)	110.1
3'	-	147.5
4'	-	147.1
5'	6.54 (2H, <i>d</i> , $J=7.9$ Hz)	107.5
6'	6.50 (2H, <i>d</i> , $J=7.1$ Hz)	122.9
7'	5.82 (4H, <i>s</i>)	101.0

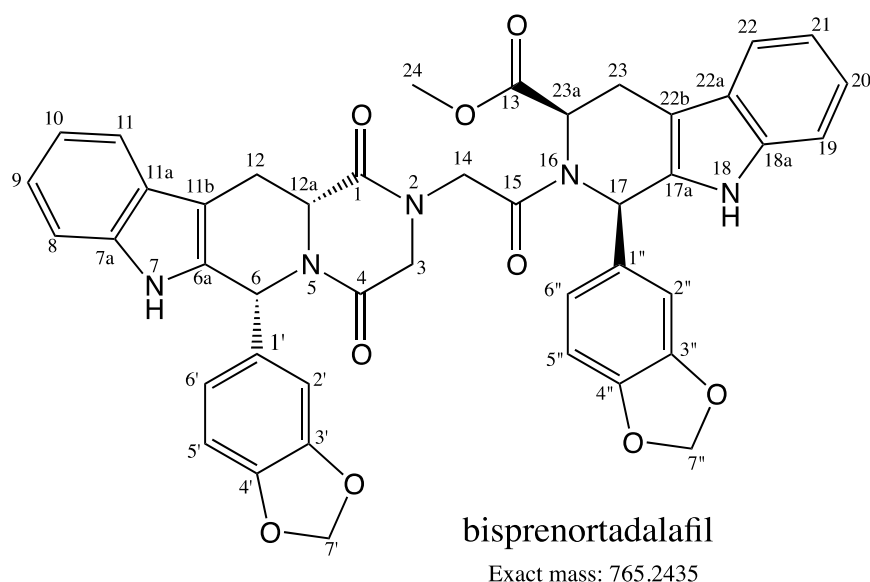


Fig. 8 Chemical structure of bisprenortadalafil

Table 9 NMR data of bisprenortadalafil
(CDCl₃, 600 MHz for ¹H, 150 MHz for ¹³C)

No.	δ_H	δ_C	No.	δ_H	δ_C
1	-	168.5	1'	-	137.9
3	4.40 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =16.9 Hz) 3.98 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =16.9 Hz)	52.1	2'	6.90 (1H, <i>s</i>)	108.3
4	-	168.1	3'	-	148.6
6	6.33 (1H, <i>s</i>)	56.5	4'	-	147.6
6a	-	135.1	5'	6.68 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =8.0 Hz)	108.71
7	10.23 (1H, <i>s</i>)	-	6'	6.90-6.87 (1H, <i>m</i>)	121.0
7a	-	137.8	7'	5.90 (2H, <i>dd</i> , <i>J</i> =9.5, 8.0 Hz)	102.0
8	7.36 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =8.0 Hz)	112.2	1''	-	134.9
9	7.13 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> =7.5 Hz)	122.8	2''	6.81 (1H, <i>s</i>)	110.7
10	7.11-7.04 (1H, <i>m</i>)	120.0	3''	-	148.4
11	7.61 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =7.7 Hz)	119.0	4''	-	148.1
11a	-	127.3	5''	6.70 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =8.1 Hz)	108.2
11b	-	106.5	6''	6.56 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =7.6 Hz)	123.73
12	3.68-3.60 (1H, <i>m</i>) 3.18-3.10 (1H, <i>m</i>)	23.9	7''	5.95 (2H, <i>s</i>)	102.1
12a	4.59-4.53 (1H, <i>m</i>)	56.7			
13	-	171.5			
14	4.88 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =16.2 Hz)	48.7			
15	-	168.7			
17	6.93 (1H, <i>s</i>)	52.3			
17a	-	131.2			
18	9.96 (1H, <i>s</i>)	-			
18a	-	137.86			
19	7.33 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =7.9 Hz)	112.1			
20	7.11-7.04 (1H, <i>m</i>)	122.5			
21	7.11-7.04 (1H, <i>m</i>)	120.2			
22	7.58 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =7.8 Hz)	119.1			
22a	-	127.5			
22b	-	108.0			
23	3.68-3.60 (1H, <i>m</i>) 3.18-3.10 (1H, <i>m</i>)	22.1			
23a	5.23 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =6.8 Hz)	52.8			
24	3.18-3.10 (3H, <i>m</i>)	52.4			

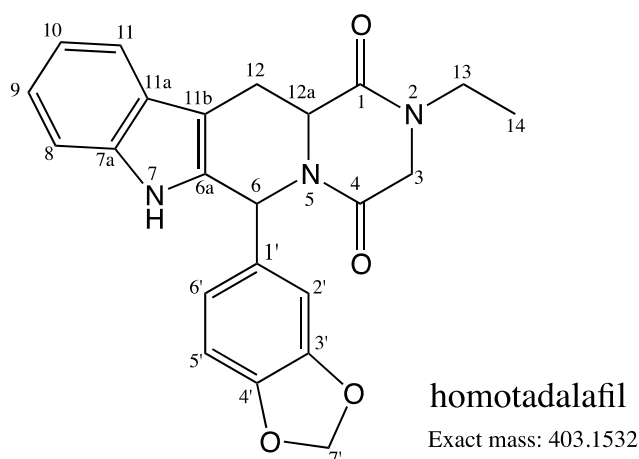


Fig. 9 Chemical structure of homotadalafil

Table 10 NMR data of homotadalafil
(pyridine- d_5 , 400 MHz for ^1H , 100 MHz for ^{13}C)

No.	δ_{H}	δ_{C}
1	-	166.6
3	4.06 (1H, <i>d</i> , $J=17.2$ Hz) 4.26 (1H, <i>dd</i> , $J=17.2, 1.6$ Hz)	50.2
4	-	167.7
6	6.58 (1H, <i>br s</i>)	57.1
6a	-	134.9
7	11.9 (1H, <i>br s</i>)	-
7a	-	137.9
8	7.48 (1H, <i>ddd</i> , $J=7.2, 7.2, 4.0$ Hz)	111.9
9	7.26 (1H, <i>ddd</i> , $J=7.2, 7.2, 4.0$ Hz)	122.1
10	7.26 (1H, <i>ddd</i> , $J=7.2, 7.2, 4.0$ Hz)	119.7
11	7.77 (1H, <i>ddd</i> , $J=7.2, 7.2, 4.0$ Hz)	118.8
11a	-	127.1
11b	-	106.2
12	3.59 (1H, <i>ddd</i> , $J=16.0, 11.2, 1.2$ Hz) 4.10 (1H, <i>dd</i> , $J=16.0, 4.4$ Hz)	24.4
12a	4.54 (1H, <i>br dd</i> , $J=11.2, 1.2$ Hz)	56.9
13	3.34 (1H, <i>dq</i> , $J=14.0, 7.2$ Hz) 3.66 (1H, <i>dq</i> , $J=14.0, 7.2$ Hz)	41.0
14	1.03 (3H, <i>t</i> , $J=7.2$ Hz)	12.0
1'	-	137.5
2'	7.15 (1H, <i>d</i> , $J=2.0$ Hz)	108.2
3'	-	148.2
4'	-	147.2
5'	6.70 (1H, <i>d</i> , $J=8.0$ Hz)	108.3
6'	7.09 (1H, <i>dd</i> , $J=8.0, 2.0$ Hz)	121.0
7'	5.80 (1H, <i>br s</i>)	101.5

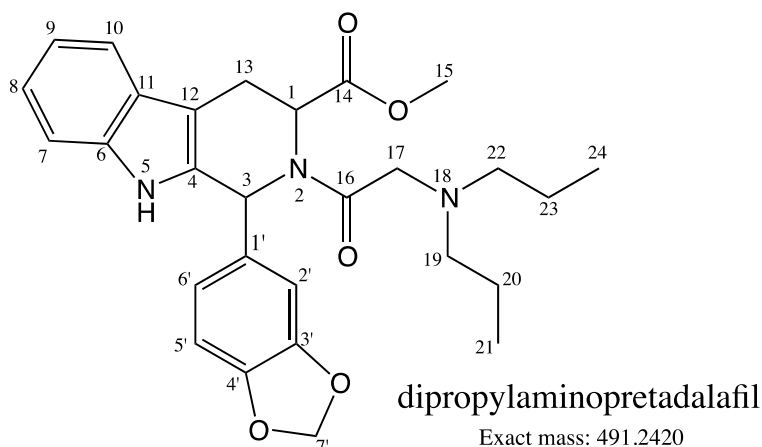


Fig. 10 Chemical structure of dipropylaminopretadafil

Table 11 NMR data of dipropylaminopretadafil
(DMSO-*d*₆, 500 MHz for ¹H, 125 MHz for ¹³C)

No.	δ_{H}	δ_{C}
1	5.71 (1H, <i>d</i> , $J=6.8$ Hz)	51.6
3	6.75 (1H, <i>s</i>)	50.4
4	-	130.3
6	-	136.3
7	7.27 (1H, <i>d</i> , $J=8.0$ Hz)	111.2
8	7.08 (1H, <i>t</i> , $J=7.6$ Hz)	121.4
9	7.01 (1H, <i>t</i> , $J=7.6$ Hz)	118.6
10	7.52 (1H, <i>d</i> , $J=8.0$ Hz)	118
11	-	125.9
12	-	106.2
13	2.98 (1H, <i>dd</i> , $J=13.8, 6.8$ Hz) 3.43 (1H, <i>d</i> , $J=13.8$ Hz)	21.2
14	-	171
15	3.01 (3H, <i>s</i>)	51.5
16	-	170.6
17	3.25, 3.61 (1H each, <i>d</i> , $J=13.8$ Hz)	58.8
19/22	2.37, 2.48 (2H each, <i>q</i> , $J=7.3$ Hz)	55.7
20/23	1.38 (4H, <i>m</i>)	19.3
21/24	0.78 (6H, <i>t</i> , $J=7.3$ Hz)	11.7
1'	-	134.1
2'	6.66 (1H, <i>d</i> , $J=1.2$ Hz)	109.1
3'	-	146.8
4'	-	146.4
5'	6.77 (1H, <i>d</i> , $J=8.1$ Hz)	107.4
6'	6.45 (1H, <i>dd</i> , $J=8.1, 1.2$ Hz)	122.2
7'	5.95 (2H, <i>d</i> , $J=5.2$ Hz)	100.9
5-NH	10.83 (1H, <i>s</i>)	-

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究
研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長 丸山卓郎

N-Cyclopentyl nortadalafil 及び dipropylaminopretadalafil の LC-PDA-MS 分析について

研究要旨 強壯用健康食品への添加が危惧される ED 治療薬アナログ 2 種 (*N*-cyclopentylnortadalafil 及び dipropylaminopretadalafil) への対応に備え、両化合物の標準品を購入し、各種機器分析データ及び LC-PDA-MS 分析法をまとめた。

協力研究者

最所和宏 国立医薬品食品衛生研究所生薬部
主任研究官

A. 研究目的

近年、健康食品に無承認無許可医薬品が含まれ、このものが原因と思われる健康被害が発生している。痩身用を標榜した健康食品への食欲抑制剤や下剤及びその作用を有する生薬の混入や、強壯用を謳った健康食品への ED (erectile dysfunction) 治療薬及びその類似化合物 (Fig. 1) の混入などがその代表例であり、このような製品を摂取し、頭痛、嘔吐、動悸などの症状を訴える事例や重篤な場合には、死に至ったケースもある。厚生労働省では、昭和 46 年の薬務局長通知、「無承認無許可医薬品の指導取り締まりについて」を順次、改定し、「医薬品の範囲に関する基準」を提示するとともに、監視業務を強化している。その結果、痩身用製品への医薬品成分の混入は激減し、強壯用製品についても、店頭販売のものから検出されるケースは、少なくなっている。その一方で、インターネットを介して販売される強壯用製品からは、依然

として ED 治療薬及びそれらの類縁体が検出されている。

近年では、国内の市場品から新規の ED 治療薬類縁体の同定は報告されていないが、海外では、依然、様々な新規化合物が報告されている (Fig. 2)。また、最近では、健康食品に混入されるだけでなく、正規品を装った偽造品による健康被害も発生している。

インターネットの普及により、情報、流通のグローバル化が進む現在、海外での有害事例は、多くの場合、日本国内でも発生することが予期され、実際、海外での報告から数年後に、日本の市場品から検出される例が認められている。一方、ED 治療薬の正規品の製造メーカー 4 社が合同で行ったインターネット調査では、偽造品が流通していることは認識しながらも、自分が購入したものは、本物であると根拠なく認識している男性が多数存在することが明らかになっている。このことから、ED 治療薬類縁体による健康被害防止のためには、購入者に対する注意喚起を強化する傍ら、これまで同様、監視業務を継続する必要があると考えられる。

本研究では、海外において新規に流通事例が

報告された化合物群を含有する健康食品が流通した場合に備え、それらの内、*N*-cyclopentylnortadalafil (1) 及び dipropylaminopretadalafil (2) の標準品を入手し、各種機器分析データ及び LC-PDA-MS 分析法をまとめた。

B. 研究方法

1. 実験材料

1 及び 2 の標準品は、TLC Pharmachem 社より購入した。

ED 治療薬及びその類縁体を含有する健康食品は、当研究部の試験業務により、当該化合物を含有することが既に確認されていた 2 製品を用いた (Table 1)。

2. 実験方法

2-1. 試料調製

1 及び 2 について、1 mg をそれぞれメタノール 1 mL に溶解し標準溶液 A₁, A₂ とした。このものを、メタノールでさらに 10 倍積したものを、それぞれ、標準溶液 B₁, B₂ とした。

ED 治療薬およびその類縁体を含有する健康食品 (Table 1)、それぞれ 100 mg に 1%ギ酸溶液/アセトニトリル (1/4) 1 mL を加え、10 分間振とう抽出を行った。さらに遠心分離を 3000 G にて 5 分間行い、上清を分取した。各製品由来の抽出液 240 µL に、標準溶液 A₁, A₂ を各 30 µL スパイクしたものを分析用試料とした。

2-2. LC-PDA-MS 分析

厚生労働省の通知²⁾を参考に以下の条件で行った。

LC 条件

カラム : Inertsil ODS-3 (2.1×150 mm, 5 µm; GL Sciences)

移動相 A 液 : アセトニトリル/5 mM ギ酸アンモニウム緩衝液 (pH3.5) 25/75

移動相 B 液 : アセトニトリル

グラジエント (A 液/B 液) : 100/0 (0-3 min) - 3%/min - 70/30 (13-30 min)

流速 : 0.3 mL/min

カラム恒温槽温度 : 40°C

検出器 : ダイオードアレイ検出器 (モニター波長 290 nm)

MS 条件

イオン化法 : ESI ポジティブモード

乾燥ガス流量 : 10 L/hr

コーンガス流量 : 1.5 L/hr

DL 温度 : 250°C

ヒートブロック温度 : 200°C

キャピラリー電圧 : 1.1 kV

質量電荷比範囲 : 100-800

C. 研究結果

上記の条件において、1 及び 2 の標準溶液 B₁, B₂ を LC-PDA-MS 分析した結果、それぞれ 21.3 分及び 12.3 分に溶出され、これらの UV スペクトルは、論文報告の通り、タダラフィルのものと類似していた^{3),4)}。また、マススペクトルについても、各化合物の構造から予想される分子量に由来する擬似分子イオンピークをベースピークとして認めた (Figs. 3, 4)。

本分析法の有用性を確認するために、ED 治

療薬及びその類縁体が含まれていることが既知の健康食品製品から調製した試料溶液に、各化合物の標準溶液を一定量、添加し、同様に分析を行ったところ、いずれの成分も良好な分離を示し、それぞれの化合物の同定が可能であった (Fig. 5).

D. 考察

海外の健康食品市場に流通する製品から、検出事例が報告された **1** 及び **2** の標準品を購入し、各種機器分析データ及び分析法をまとめた。両化合物とも、ウデナフィルの分析方法として厚生労働省通知された分析条件において、担体に十分に保持され、分析が可能であることが確認された。従って、本方法は **1,2** を含有する健康食品製品が流通した場合の監視業務に有用であり、迅速な対応が可能となった。

E. 結論

強壯用健康食品への添加が危惧される ED 治療薬アナログの内、*N*-cyclopentylnortadalafil 及び dipropylaminopretadalafil への対応に備え、両化合物の標準品を購入し、各種機器分析デー

タ及び分析法をまとめた。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

参考文献

- 1) ファイザー株式会社, ED 治療薬使用者の購入ルートによる偽造品への意識・実態の違いを調査. 平成 23 年 6 月 29 日, http://www.pfizer.co.jp/pfizer/company/press/2011/2011_06_29.html.
- 2) 厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課長通知. ウデナフィルの分析方法について. 平成 19 年 8 月 22 日, 薬食監麻発第 0822010 号.
- 3) Y. Xu, C. L. Kee, X. Ge *et al.*, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **118**, 235-241 (2016).
- 4) Y. C. Huang, H. C. Lee, Y. L. Lin *et al.*, *Food Addit. Contam. Part A*, **33**, 953-958 (2016).

Table 1. The list of health supplement including therapeutic agents for erectile dysfunction (ED) and their derivatives

Product name	Ingredient(s)
Inkei-zodai-gan (陰莖增大丸)	sildenafil, tadalafil
Sambempo (三便宝)	hydroxyhomosildenafil, tadalafil

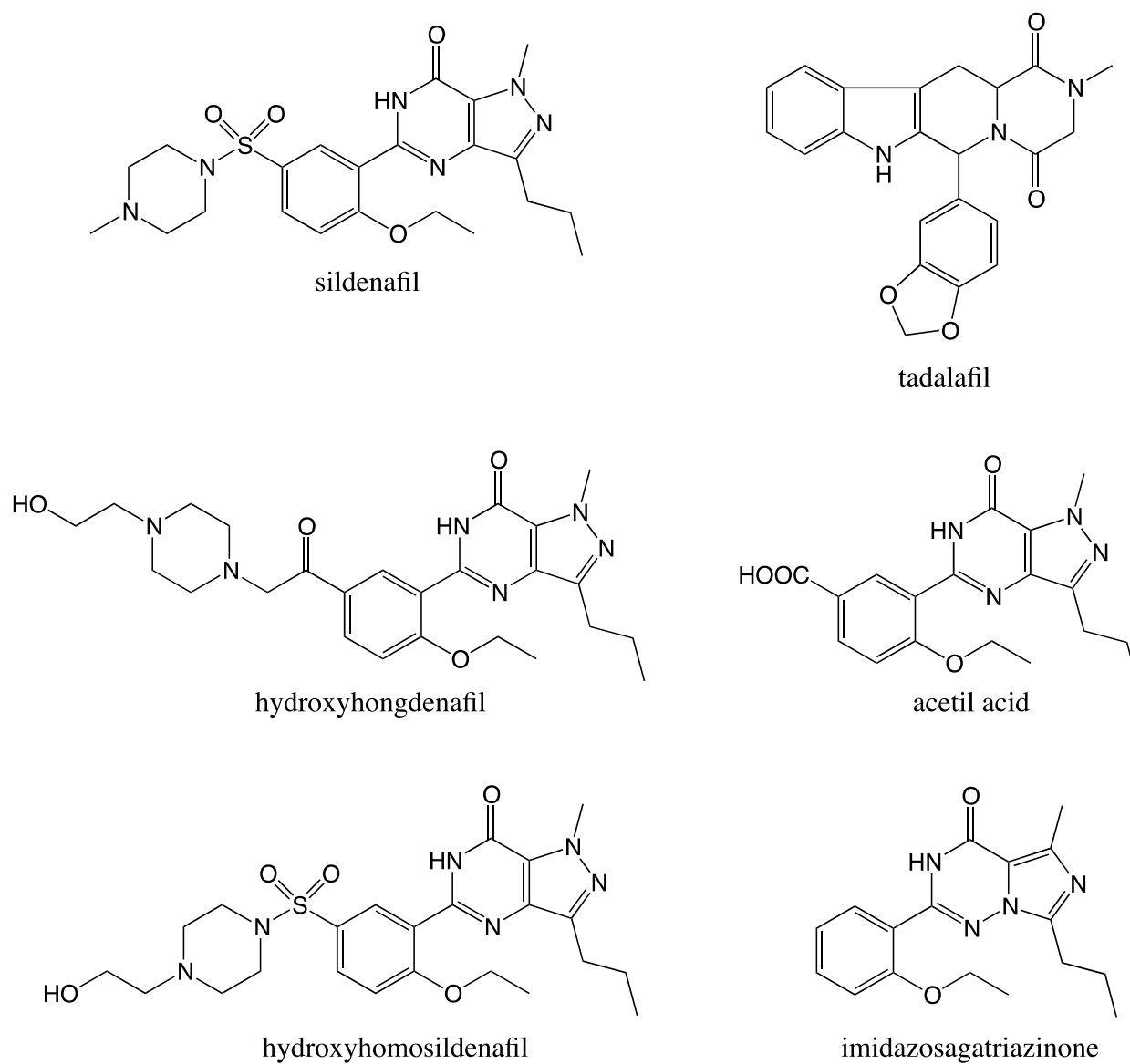


Fig. 1 Structures of several therapeutic agents for ED and their analogues

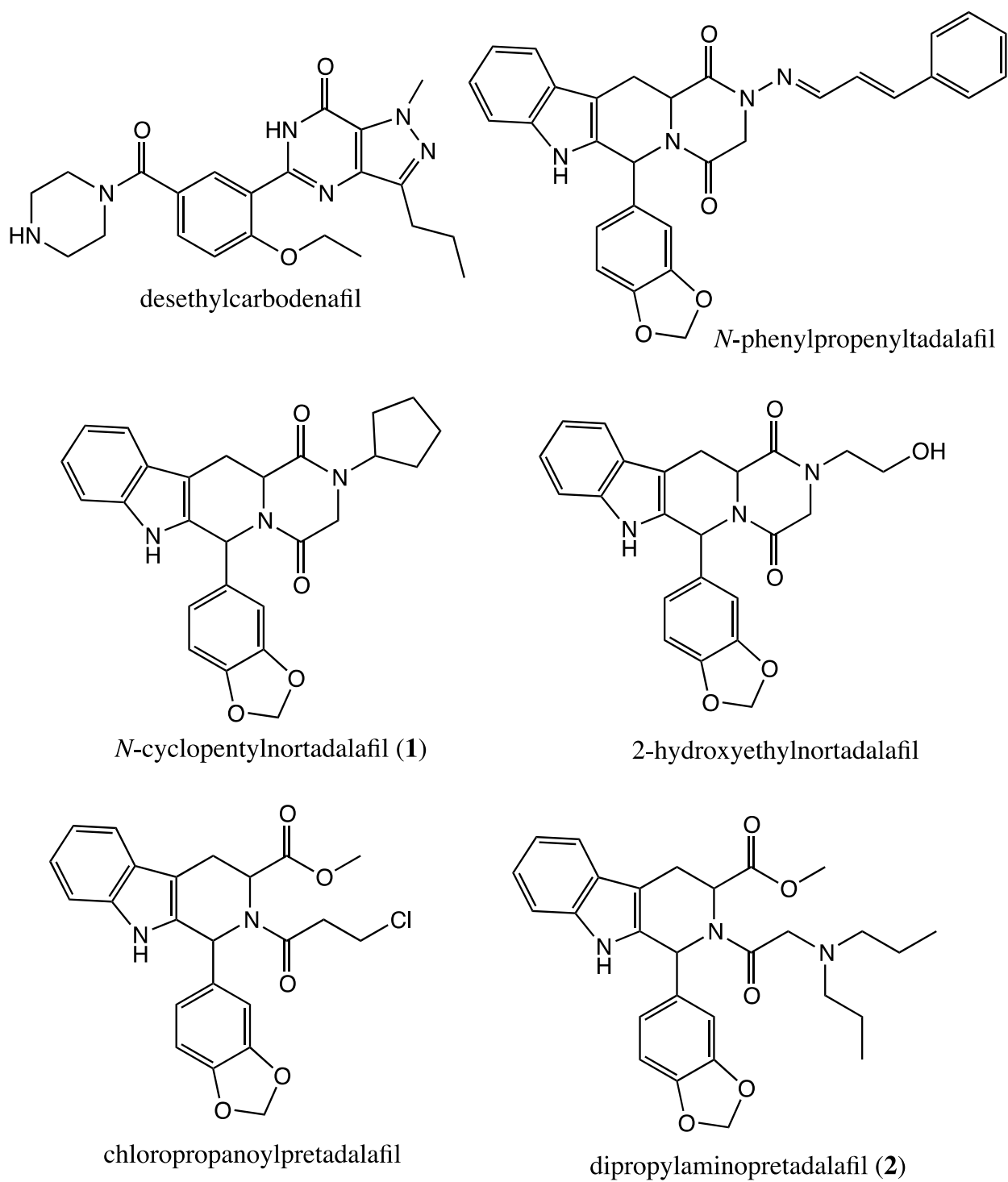


Fig. 2 Structures of newly reported ED treatment drug analogues

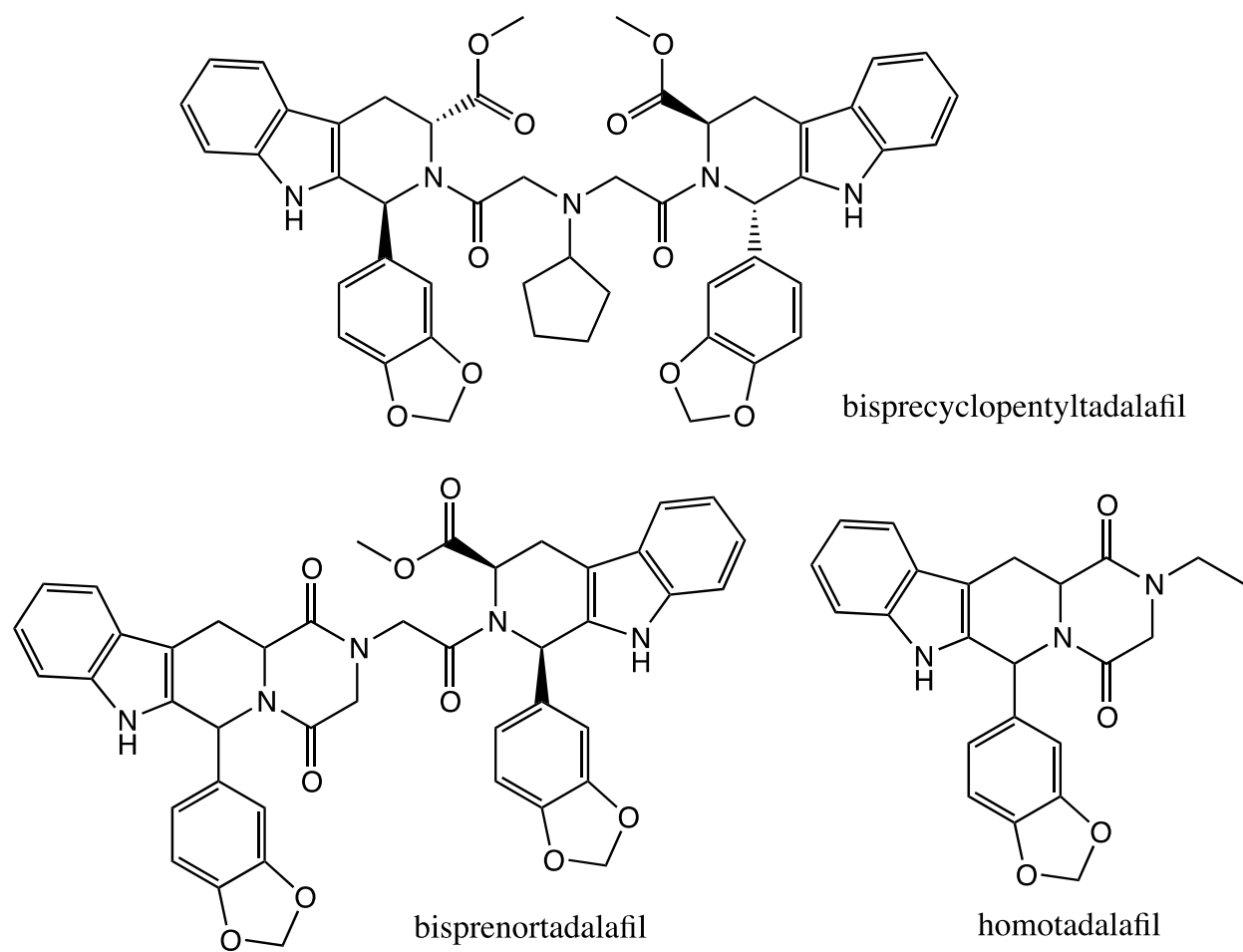


Fig. 2 Continued

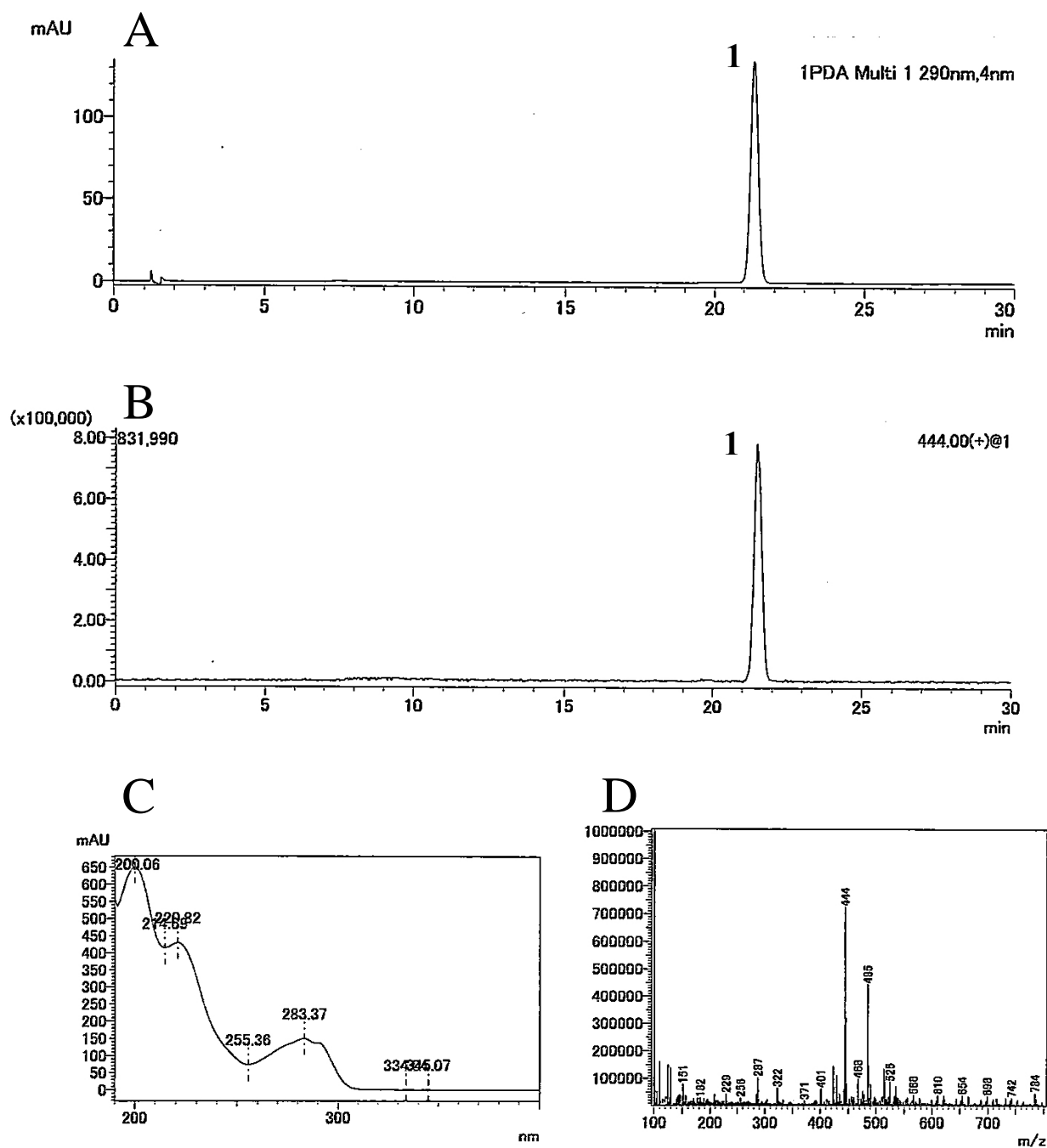


Fig. 3 LC chromatograms and spectroscopic data of *N*-cyclopentylnortadalafil (**1**)

A: Chromatogram at 290 nm on LC-PDA-MS analysis

B: Mass chromatogram at m/z 444 on LC-PDA-MS analysis

C: UV spectrum of peak **1** (*N*-cyclopentylnortadalafil)

D: Mass spectrum of **1** (*N*-cyclopentylnortadalafil)

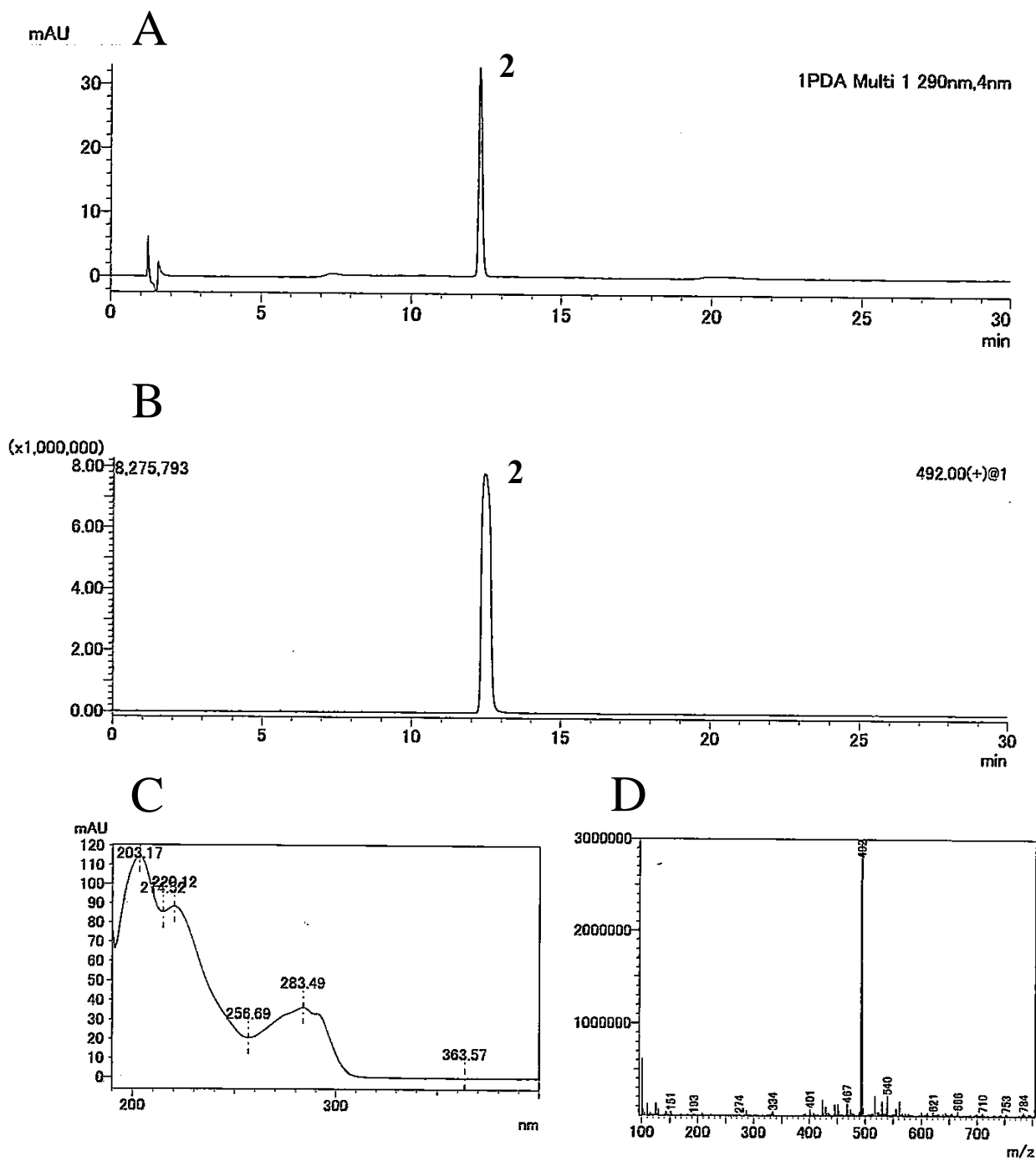


Fig. 4 LC chromatograms and spectroscopic data of dipropylaminopretadafil (**2**)

A: Chromatogram at 290 nm on LC-PDA-MS analysis

B: Mass chromatogram at m/z 492 on LC-PDA-MS analysis

C: UV spectrum of peak **2** (dipropylaminopretadafil)

D: Mass spectrum of **2** (dipropylaminopretadafil)

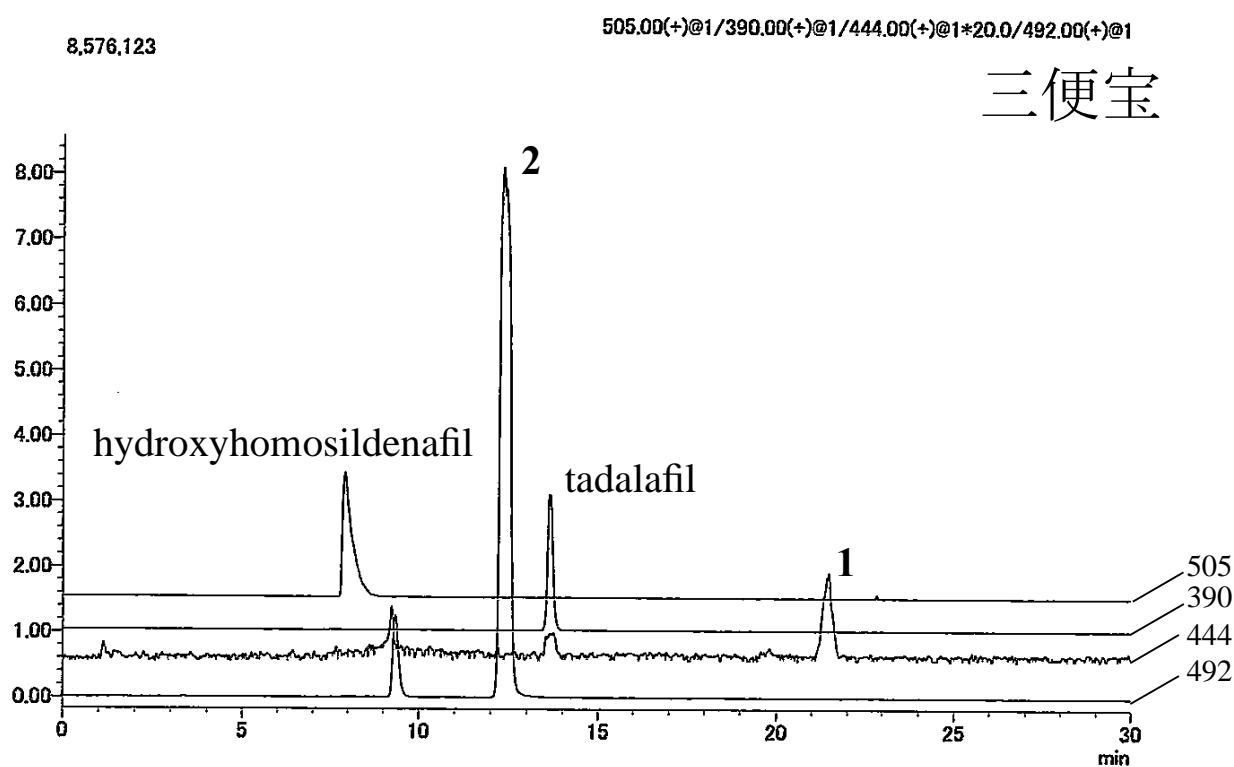
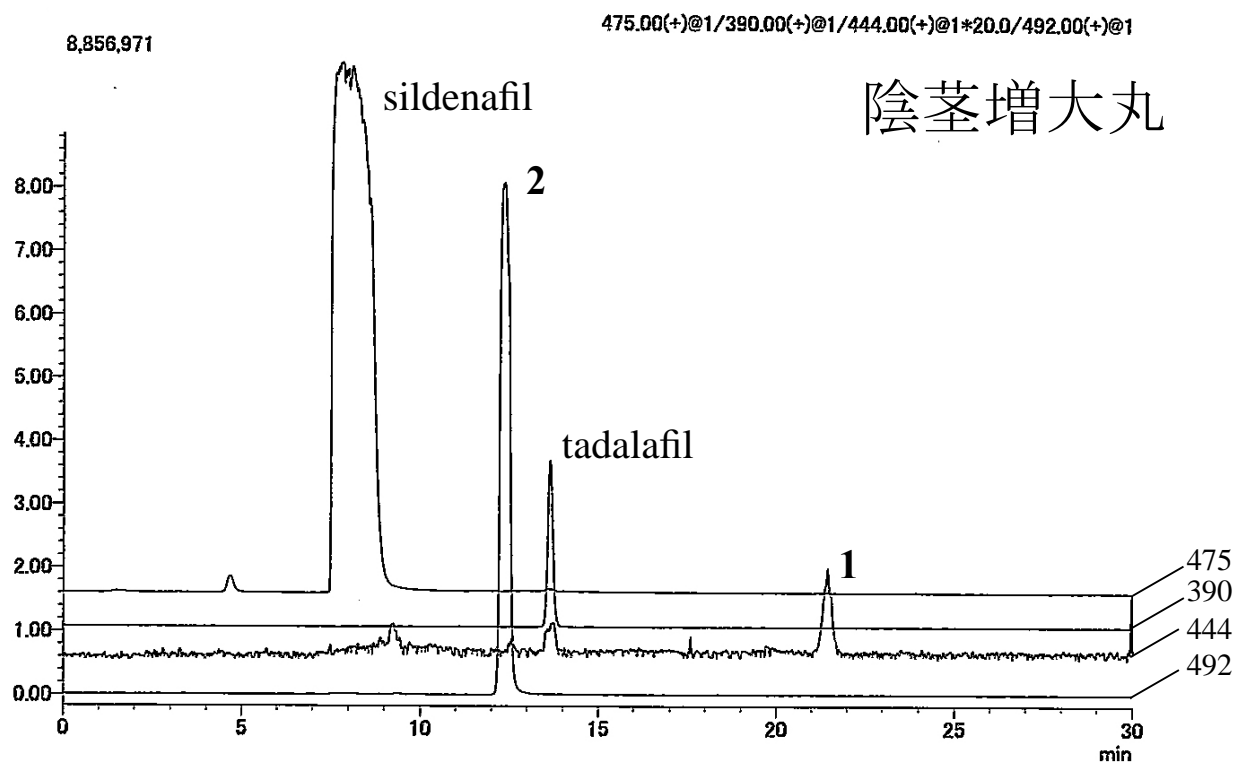


Fig. 5 Mass chromatograms of food supplements for tonicity spiked with authentic *N*-cyclopentyl nortadalafil (1) and dipropylaminopretadalafil (2)

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(医薬品・医療機械等レギュラトリーサイエンス総合研究事業) 分担研究報告書

分担課題名 無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究

分担研究者 大塚 英昭 安田女子大薬学部 教授

研究要旨

バンレイシ科植物であるトゲバンレイシ(*Annona muricata*)の果実は美味で可食である。その葉を一部カリブ海沿岸地方で茶として飲用している。激しい運動を伴う狩猟などに出掛ける前や、豪雨にあつて体が冷え切った時にトゲバンレイシの葉を煎じて飲む習慣を持っている。しかし時として Parkinson 病的症状を呈することが報告されている。同科植物の成分にも興味をもたれ、成分研究を行ってきている。

研究協力者名

広島大学 教授 松浪勝義、准教授 杉本幸子
安田女子大学 准教授 稲垣昌宣、助教 川上 晋
パヤップ大 准教授 Sorasak Lhieochaiphant

A. 研究目的

バンレイシ科植物であるバンレイシの果実は釈迦頭と呼ばれ、大変美味である。近縁植物のトゲバンレイシはソーソップとよばれ英国がん研究所によれば、Triamazon という商品名で売られている未認可ハーブ薬の有効成分であるといわれている。またその葉には擬似的 Parkinson 病を引き起こす成分等含んでいるといわれている。その関連から本研究ではバンレイシ科植物カーラウエークの成分の検索および生物活性試験を行った。カーラウエーク (*Artabotrys siamensis*) はタイ原産の本天性つる植物でタイでは人気の香木である。



Fig. 1

B. 研究方法

タイ王国で採集されていたカーラウエーク (*A. siamensis*)の葉 (848 g) を粉碎し、メタノールで抽出し、濃縮残渣を水に懸濁して、EtOAc で分配して EtOAc 可溶画分と水可溶画分をえた (Chart 1)。

Chart 1 抽出図

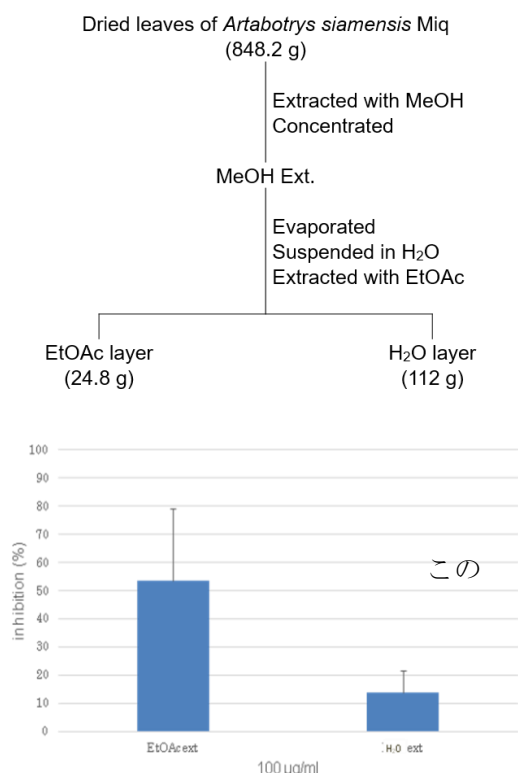


Fig. 2 画分の A549 細胞毒性活性
EtOAc 画分に A549 細胞毒性活性を見出したので、この EtOAc が画分を精査することとした。

C. 研究結果

活性を指標にシリカゲル、ODS、HPLC などの各種カラムクロマトグラフィーにより分離精製を行った。その結果、新規化合物 1 種を含む 15 種の化合物を単離し化学構造の決定を行った (Chart 2)。

このうち、化合物 2 は新規であり、その他 1, 3-15 は既知化合物であった。新規化合物は構造決定をおこなった。高分解能マスマスペクトルにより、その分子式を $C_{15}H_{26}O_2$ と決定し、核磁気共鳴スペクトル解析の結果、カロラン型セセキテルペンであることが示唆された。さらに詳細な各種スペクトルの解析の結果 Fig. 3 示す構造であること

が判明した。

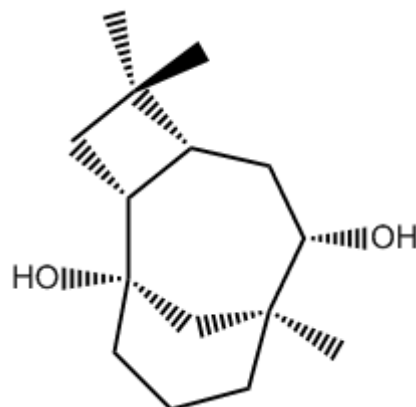


Fig. 3 化合物 2 の構造

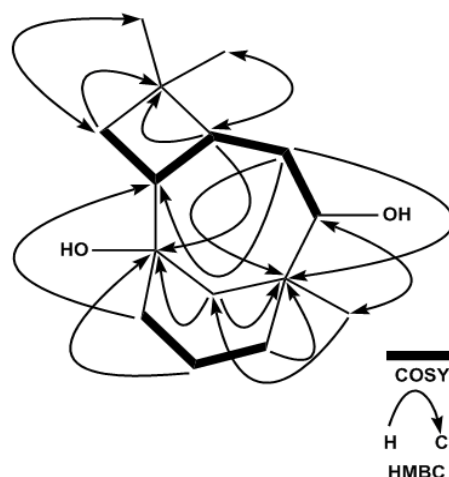


Fig. 4 化合物 2 の COSY および HMBC
次いで本化合物の構造の確認のため二次元 NMR スペクトルを解析し、Fig. 4 の結果から、その平面構造を確認した。ついで、相対構造決定のため NOESY スペクトルの解析を行った (Fig. 5)。NOESY 相間が、5 位のプロトンと 2 位のプロトンと、2 位のプロトンと 7 位のプロトン、14 位のプロトンと 6 位のプロトンと 12a 位のプロトン、12b 位のプロトンと 15 位のプロトン、15 位のプロトンと 9 位のプロトンの間に相間がみられたことから、相対立体配置を Fig. 3 のように決定した。

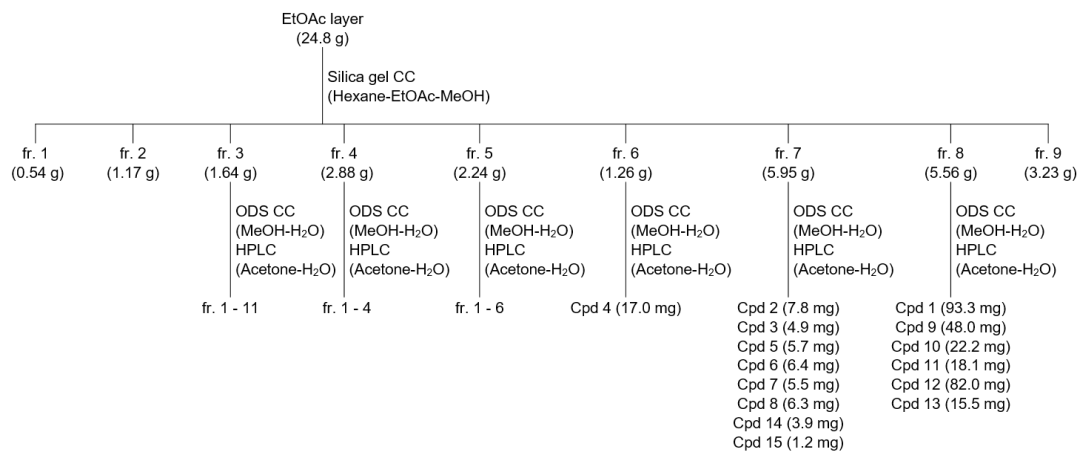


Chart 2

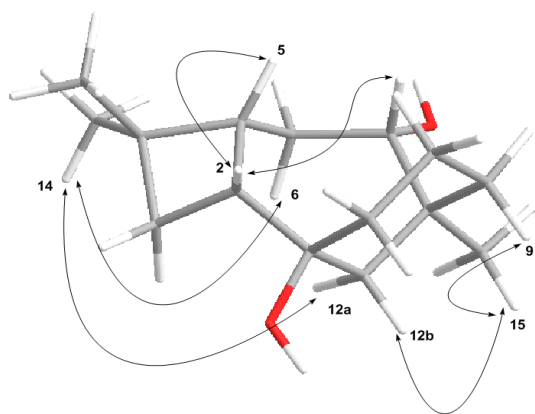


Fig. 5 NOESY

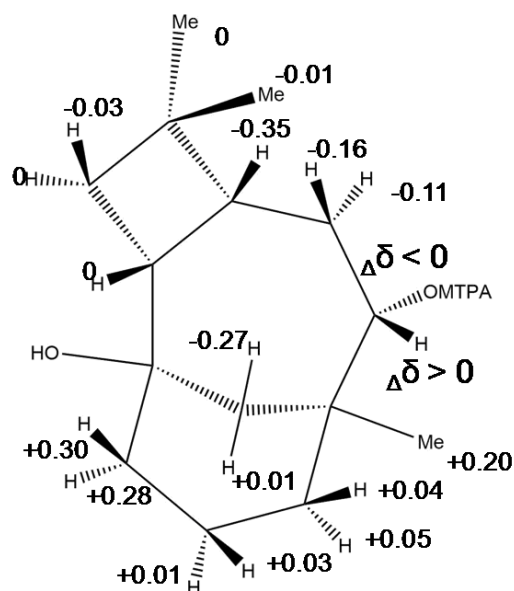
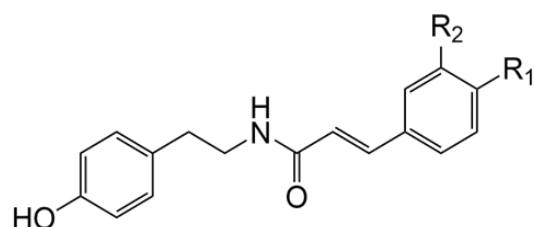
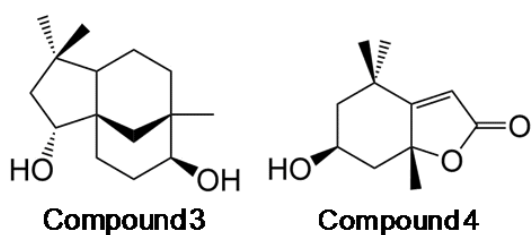


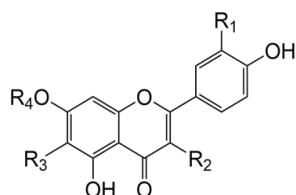
Fig. 6 モッシャー法の結果

さらに絶対構造の決定のためにモッシャー変法を適用した。*(R)*-および*(S)*-MTPA エステルを合成して、¹H-NMR スペクトルを測定して芳香環の磁気異方性から生じる化学シフトの差よりその対抗構造を決定した (Fig. 6)。Fig. 3 構造は絶対配置含めて示している。

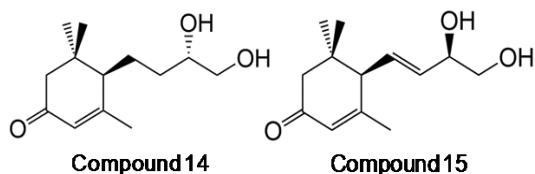
その他単離された既知化合物は以下のとおりである。新規化合物と類似した骨格である、クロバン型セスキテルペンである化合物 3 が得られたほか、テルペンラクトンが一種 (化合物 4)、チラミン骨格を有する化合物が 3 種、フラボン骨格を有する化合物が 7 種、メガスティグマンが 2 種得られた。このうち化合物 4 から 9、化合物 11 は、アルタボツリス属では初めて単離された。



	R ₁	R ₂
Compound 5	OH	OMe
Compound 6	OH	H
Compound 7	H	H



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Compound 1	H	O-L-Ara(p)-(2→1)-L-Rha	H	H
Compound 8	OH	H	H	H
Compound 9	H	H	D-Glc	H
Compound 10	OH	O-D-Glc-(6→1)-L-Rha	H	H
Compound 11	H	O-D-Glc-(6→1)-L-Rha	H	H
Compound 12	OH	O-L-Ara-(2→1)-L-Rha	H	H
Compound 13	H	H	H	D-Glc



そのほかに今回単離された化合物を示している。新規化合物と類似した骨格である、クロバン型セスキテルペンである化合物 3 が得られた。そのほか、テルペンラクトンが 1 種、チラミン骨格を有する化合物が 3 種、フラボン骨格を有する化合物が 7 種、メガスティグマンが 2 種が得られた。このうち、化合物 4 から化合物 9、化合物 11 は、アルタボツリス属からは初めて単離された。

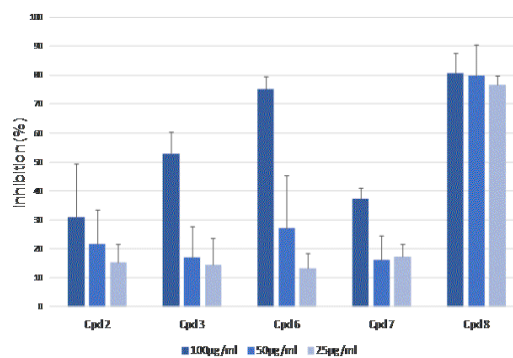


Fig. 7

単離した化合物について A549 細胞毒性活性試験をおこなった。Fig. 7 には、今回単離した化合物のうち、活性が見られた化合物の一部を示している。一番活性の強かったのは右端で化合物 8、すなわちルテオリンであった。算出された IC₅₀ は 5.84 μg/ml であった。

D. 結論

タイ王国チェンマイで採集したバンレイシ科(Annonaceae)植物カーラウエーク (*Artabotrys siamensis*) より新規カララン型セスキテルペン一種を単離して、その絶対配置を含めて構造を決定した。単離した化合物について A549 細胞毒性活性試

験を行った結果、この植物の抽出物に見られた活性の一部はルテオリンによるものと考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

Katsui, H., Sugimoto, S., Matsunami, K., Otsuka, H., Lhieochaiphant, S.: Lignan diesters of canangafruticoside A from the leaves of *Cananga odorata* var. *odorata*. *Chem. Pharm. Bull.*, 65, 97–101 (2017)

2. 学会発表等

柳田容瑠、杉本幸子、山野 喜、大塚英昭、

松浪勝義, *Artabotrys siamensis* 葉部より単離した新規カロラン型セスキテルペン
日本薬学会第137年会, 仙台 (2017.03.)

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

.2. 実用新案登録

なし

3. その他なし

G. 参考文献

なし

分担研究報告書

分担研究課題 量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部長 袴塚高志

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部第一室長 丸山卓郎

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長 西川秋佳

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所病理部長 小川 久美子

研究協力者 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部第二室長 内山 奈穂子

近年、原材料を高濃度に濃縮して製造する健康食品が見受けられることから、我々は、食経験の延長線上で議論することが困難な濃度まで原材料を濃縮して製造される健康食品に関して、その食薬区分の判定に、成分本質そのものの判断に加えて、量的な概念に基づく判定基準を導入できるかどうか検討している。今年度は、ゲニポシド及びそれを含有するクチナシの毒性情報について調査研究を行った。その結果、ゲニポシド自身に強い毒性を示す情報は見出されなかった。また、ゲニポシドを含むクチナシ色素は食品添加物公定書及び医薬部外品原料規格に記載され、食品添加物公定書には純度試験としてゲニポシド含量が規定されているが、これは毒性学的な目的によるものではなく、各種文献においても強い毒性を示す情報は見出されなかった。以上より、現状ではゲニポシドについて量的規制を設定するための科学的根拠は乏しい状況と思われた。

A. 研究目的

無承認無許可医薬品は、医薬品としての承認や許可がないにもかかわらず、医薬品としての目的性を持たせた製品であり、これらの流通により、適正な医療機会の喪失等、様々な健康被害の発生が懸念される。また、近年、原材料を高濃度に濃縮して製造する健康食品が見受けられることから、従来の成分本質そのものの判断に加え、量的な概念も含めた医薬品成分の規制の在り方について検討することが必要である。さらに、平成26年6月12日より一般用医薬品のインターネット販売が可能となったこ

とから、それに乗じた質の悪い健康食品の流通量の増加も懸念されている。

人が経口的に服用する物について、医薬品に該当するか否かの判断は、「医薬品の範囲に関する基準」（直近の改正：平成27年4月1日薬食発第0401第2号、厚生労働省医薬局長通知「医薬品の範囲に関する基準の一部改正について」）に基づいて行われる。また、同通知の別添として、「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」及び「医薬品的効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質（原材料）リスト」に例示が掲げられ

ている。どちらのリストにも掲載されていない成分本質（原材料）について、都道府県の薬務課を通じて厚生労働省へ照会された場合は、医薬品としての使用実態、麻薬用作用、薬理活性等を調査し、専ら医薬品に分類するべきであるかどうか検討する必要がある。また、近年、原材料を高濃度に濃縮して製造する健康食品が見受けられることから、従来の成分本質そのものの判断に加え、量的な概念も含めた医薬品成分の規制の在り方について検討する必要があるが生じている。

このような状況において本研究では、食経験の延長線上で議論することが困難な濃度まで原材料を濃縮して製造される健康食品に関して、その食薬区分の判定に、成分本質そのものの判断に加えて、いかにして量的な概念に基づく判定基準を導入するか検討する。

昨年度は、成分本質自体に量的概念を導入することはやや困難であり、含有される特定の天然化合物（群）を対象とした基準作りが適当であろうとの結論に達した。そこで、今年度は、昨年度具体的に名が挙がっていた天然化合物（アントラキノン、センノシド、ゲニポシド、クマリン）のうち、ゲニポシドについて毒性情報等を調査した。

B. 研究方法

ゲニポシド及びクチナシ色素について、以下の書籍、公定書等にて調査し、その他に文献情報を調査した。

- American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook, Second Edition 2nd Edition, Edited by Zoë Gardner and Michael McGuffin, CRC Press (March 15, 2013)

- Natural sources of flavourings - Report No. 1, Council of Europe (2000)
- 食品添加物公定書第8版
- 医薬部外品原料規格 2006

C. 研究結果と考察

ゲニポシドに関する情報

Botanical Safety Handbook では、ゲニポシドが Class I（適切な使用法であれば安全に利用可能）に区分されていた。また、Natural Sources of Flavourings の補遺には、1899年に WHO より食品添加物としての仮の ADI 値が 0-0.9 mg/kg と示されたが、1993 年には取り下げられ、現在は、飲料の含量制限が quinine の濃度として 75mg/L と規定され、毒性学的に懸念は示されていない。

また、文献情報として、Nat. Prod. Res., 27, 929-933 (2013) において、ゲニポシドの毒性試験が行われており、LD50（経口、ラット）が、1431.1 mg/kg、急性毒性が、574 mg/kg、亜慢性毒性は、24.3 mg/kg と示され、72.9 mg/kg を 90 日間投与で、肝毒性を認めなかった。さらに、Chen J. K., and T.T. Chen, Chinese medical herbology and pharmacology (2004) において、LD50（経口、マウス）が、107.4 g/kg と示され、Zhu Y.-P., Chinese materia medica: Chemistry, pharmacology and applications (1998) において、LD50（腹腔、マウス）が、31.79 g/kg と示されていた。

クチナシに関する情報

食品添加物公定書第8版にはクチナシ黄色素が収載され、純度試験として、geniposide の含量が、0.5% 以下に設定されている（色価 100 換算）。ただし、これは安全面での規定ではな

く、被添加食品中のタンパクと geniposide が反応して青系の色素を生成するため、黄色素としての品質面を考慮した数値と思われた。一方、医薬部外品原料規格 2006 には、クチナシエキス、クチナシ青液、クチナシ黄が収載されているが、ゲニポシド含量に関する規格は無かった。

クチナシ黄色素の毒性情報については、単回投与試験において、急性経口 LD50 はラットで 5,000mg/kg 超と報告されている¹⁾。また、C57BL マウスを用いた飲水(0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6%)投与による 12 週間の反復投与試験において、検体投与に起因する毒性学的影響は認められず、無毒性量は、1.6g/kg/day と考えられる²⁾。さらに、C57BL マウスを用いた飲水(0.2, 0.8%)投与による 95 週間の発がん性試験においても、検体投与に起因する毒性学的影響及び発がん性は認められず、無毒性量は 0.8g/kg/day と考えられる²⁾。

D. 結論

昨年度の検討において、具体的に名が挙げられた天然化合物のうち、ゲニポシドについて毒性情報等を調査したが、ゲニポシドの毒性については情報が十分ではなかった。さらに、食品添加物としてのクチナシ黄色素については、特に強い毒性を示す情報は報告されていなかった。

本研究で問題としているのは、食経験の延長線上での議論が困難な濃度に原材料が濃縮された場合の対応であり、クチナシ黄色素の高い安全性だけでは対応を断念する理由にならないが、一方で、現状では量的規制を設定するための科学的根拠に乏しい状況であることも確かと思われた。

E. 健康危機情報

特になし。

F. 研究発表等
論文発表等
なし

学会発表等
なし

参考文献

- 1) 清水ら：化学的合成品以外の食品添加物のマウスおよびラットにおける急性経口毒性について、生活衛生、37、215-220、1993
- 2) Nariaki Fujimoto et.al: Chronic toxicity Study of Gardenia Yellow color in C57BL mice, J. Toxicol. Pathol. 7, 455-460, 1994

分担研究報告書

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査・分析に関する研究

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長 丸山卓郎

研究分担者 袴塚 高志 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長

専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直しに関する研究

昨年度に引き続き、専医リスト及び非医リストについて、見直しの必要性をチェックした。その結果、後者のリストの内、即時に専医リストへ移行すべき品目として、コンフリーとセイヨウアカネの2品目が見出された。また、移行を検討すべき品目として11品目、基原が混乱しているもの3品目、範囲が不明瞭なもの6品目が認められた。移行を検討すべき品目の成分情報をKNApSAcKによる簡易検索により取得し、まとめた。

協力研究者

内山奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

政田さやか 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

が行われているが、非医薬品リストについては、長く見直しがなされていないことから、昨年度、本研究班において、リストの見直しを行った。今年度においても、引き続き、見直しを行い、特に区分の見直しが必要と考えられた品目について、含有成分調査を行った。

A. 研究目的

人が経口的に摂取するものを販売する場合、その品目は、行政上、医薬品あるいは食品のいずれかに分類され、それぞれ、薬機法あるいは食品衛生法の適用を受ける。各品目がいずれに属するか、その判断は、「医薬品の範囲に関する基準」に基づき行われる（医薬・生活衛生局長通知、無承認無許可医薬品の指導取締について、別紙、平成28年10月12日薬生発1012第1号）。同通知には、（別添2）、（別添3）として、「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」及び「医薬品的効能効果を標榜しない限り医薬品と判断しない成分本質（原材料）リスト」が例示されている。このうち、専ら医薬品リストについては、本研究班の前身である「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）の有効性及び安全性等の評価に関する研究」（平成15年～平成17年度）において見直し

B. 研究方法

平成28年10月12日薬生発1012第1号、厚生労働省医薬・生活衛生局長通知「無承認無許可医薬品の指導取締について」の別添として例示されている「専ら医薬品リスト」と「非医薬品リスト」について、原材料の基原や使用部位、名称、別名等の項目を中心にチェックを行った。また、平成13年3月27日付の「専ら医薬品リスト」発出時の主要メンバーである佐竹元吉博士（元国立医薬品食品衛生研究所生薬部長）が監修した「学名でひく食薬区分リスト」及びそれに付随して情報提供されたコメント集を参考として検討した。

別名については、インターネット上の製品名及び Botanical Safety Handbook (BSH) 2nd Ed. に記載の英名、別名を参照した。

要検討品目の含有成分の簡易検索は、

KNApSAc

(http://kanaya.naist.jp/knapsack_jsp/top.htm)
1) を用いて行った。

C. 研究結果と考察

1. 専ら医薬品リストについて

アントラキノンの一つである emodin は、食薬区分 WG において、劇薬相当として扱われているが、これは腹腔投与による急性毒性試験の LD₅₀ 値に基づくものであり、同じ論文において、経口投与では、急性毒性が認められていない。従って、食薬区分の判断において、emodin を劇薬相当とすることの科学的合理性はない。このため、emodin の含有を理由に専ら医薬品と判断しているものについては、見直しを行うべきである。ただし、ダイオウ、カシュウなど、emodin 含有植物の多くは、医薬品としての使用実態を有するものが多いことから、実際に非医リストに移されるものは、多くないと思われる。

2. 非医薬品リストについて

「非医薬品リスト」については、昨年度の報告の通り、1) 名称と他名等の不整合、2) 植物和名と生薬名や通称名で重複して記載、3) 使用部位の誤り、4) 誤記が多数存在する。これらについて整理を行うとともに、即時に「専ら医薬品リスト」へ移行すべき品目、移行を検討すべき品目等、要検討品目を抽出した。その結果を Table 1 にまとめた。「専ら医薬品リスト」へ移行する品目として、コンフリー、セイヨウアカネの 2 品目、移行を検討すべき品目として、クジチョウ、キョウチクトウなど、11 品目、基原の混乱や各項目が示す植物の範囲が不明瞭なものとして、ガウクルアやヤナギなど、9 品目が抽出された。

「専ら医薬品リスト」への移行を検討すべき

品目について、KNApSAc により、成分情報を簡易検索した結果を Tables 2-12 にまとめ、主な成分の構造を Fig. 1 に示した。このうち、キョウチクトウ、クジチョウは、危険性が特に高いと思われる。BSH の記載は、クジチョウについて、同属植物 (*Corydalis yanhusuo*) が、class 2b、イボツヅラフジ、ヤナギ属、ヒメツルニチニチソウ、ワイルドカナダレタスについて、そのものあるいは同属植物が、class 1 とされていた。その他の品目は、記載がなかった。今後、含有成分についての毒性情報を整理し、適切な処理をしていく必要がある。

基原の混乱が危惧される品目のうち、ガウクルアは、小松らにより整理がなされていることから、それに従い項目を整理すべきである。残りの 2 品目については、市場品を購入し、基原植物の同定と成分研究を行うことにより、流通実態を把握した上で、適切な判断を行うべきと考える。

範囲が不明瞭な品目については、当時の経緯を知る人間に背景を確認するか、それが難しい場合は、範囲が明確になるよう再分類を行うべきである。

D. 結論

主に非医リストについて、見直し対象品目の抽出を行った。また、それぞれの対象品目の処理について、今後の作業の方向づけを行うとともに、成分情報の取得を行った。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

Table 1 非医薬品リスト中の要検討品目

No.	項目	理由
即時に「専ら医」へ移動が必要		
1	コンフリー	既に食品としての販売が禁止されている(肝障害)
2	セイヨウアカネ	食品添加物としての販売が禁止されている(発がん性)
「専ら医」への移動を検討		
3	イヌホオズキ	アルカロイドを含む
4	イボツツラフジ	アルカロイドを含む
5	キョウチクトウ	強心配糖体を含む
6	ギンネム	ミモシンを含む
7	クジチョウ	アルカロイドを含む
8	ズルカマラ	アルカロイドを含む
9	ヒメツルニチニチソウ	ビンカアルカロイドを含む
10	ヒヨドリジョウゴ	アルカロイドを含む
11	ミソハギ	アルカロイドを含む
12	セイヨウシロヤナギ	アスピリン開発の発端となった植物で, サリシンを含む
13	ワイルドカナダレタス	ラクツカリウムを含む
基原が混乱		
14	ガウクルア	赤, 白, 黒ガウクルアがあり, それぞれで基原植物が異なる
15	ウンナンコウトウスギ	市場では, ハクトウスギとの区別が不明瞭 タキサン骨格のジテルペンを含む
16	カツアバ	基原植物が混乱しており, コカノキ属植物が使用される恐れがある
範囲が不明瞭		
17	ミント	アップルミント, スペアミント, セイヨウハッカ, ハッカとの区別が曖昧
18	カノコソウ	他名等を見るとセイヨウカノコソウを指しているようにも思え, 曖昧
19	クワ	マルベリーも記載されており, それぞれの範囲が不明瞭
20	サルビア	ヤクヨウサルビアを指すのか, サルビア属全般を指すのか不明瞭
21	ヤナギ	<i>Salix</i> 属植物全般を指すのか? 不明瞭
22	レオナルスソウ	<i>Leonurus</i> 属植物の一つであるメハジキは, ヤクモソウの基原植物であり, 専ら医である

Table 2 イヌホオズキ (*Solanum nigrum*) の含有成分

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	alpha-Chaconine	C45H73NO14	steroid alkaloid
2	Solamargine	C45H73NO15	steroid alkaloid
3	Solanidine	C27H43NO	steroid alkaloid
4	alpha-Solanine	C45H73NO15	steroid alkaloid
5	Solasodine	C27H43NO2	steroid alkaloid
6	Solasonine	C45H73NO16	steroid alkaloid
7	Tigogenin	C27H44O3	steroid
8	Quercetin 3-glucosyl-(1->6)-galactoside	C27H30O17	flavone glycoside
9	Quercetin 3-rhamnosyl-(1->2)-galactoside	C27H30O16	flavone glycoside
10	Quercetin 3-rhamnosyl-(1->2)[glucosyl-(1->6)-galactoside]	C33H40O21	flavone glycoside
11	Petunidin 3-rutinoside-5-glucoside	C34H43O21	anthocyanine glycoside
12	Peonanin	C43H49O22	anthocyanine glycoside
13	Petanin	C43H49O23	anthocyanine glycoside
14	Negretein	C44H51O23	anthocyanine glycoside
15	Desgalactotigonin	C50H82O22	triterpene saponin
16	Nigrumnin I	C55H90O25	triterpene saponin
17	Nigrumnin II	C55H88O27	triterpene saponin
18	Solanigroside C	C51H82O26	triterpene saponin
19	Solanigroside D	C55H88O27	triterpene saponin
20	Solanigroside E	C55H88O28	triterpene saponin
21	Solanigroside F	C56H92O28	triterpene saponin
22	Solanigroside G	C50H82O23	triterpene saponin
23	Solanigroside H	C51H82O22	triterpene saponin
24	Uttroside B	C56H94O28	triterpene saponin

Table 3 イボツツラフジ (*Tinospora crispa*) の含有成分

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	(-)-Secoisolariciresinol	C20H26O6	lignan
2	<i>N-cis</i> -Feruloyltyramine	C18H19NO4	amino acid derivative
3	<i>N-trans</i> -Feruloyltyramine	C18H19NO4	amino acid derivative
4	Tembetarine	C20H26NO4	alkaloid
5	<i>N</i> -Acetylnornuciferine	C20H21NO3	aporphine alkaloid
6	<i>N</i> -Formylanonaine	C18H15NO3	aporphine alkaloid

Table 4 キョウチクトウ (*Nerium indicum*) の含有成分

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	Oleandrose	C7H14O4	arabinose derivative
2	Ursolic acid	C30H48O3	triterpene
3	Adynerin	C30H44O7	cardenolide glycoside
4	Betulinic acid	C30H48O3	triterpene
5	Kaempferol	C15H10O6	flavonoid
6	Rutin	C27H30O16	flavone glycoside
7	Oleanolic acid	C30H48O3	triterpene
8	Acetylursolic acid	C32H50O4	triterpene
9	Uvalol	C30H50O2	triterpene
10	Cardenolide N-1	C30H46O7	cardenolide glycoside
11	Cardenolide N-2	C30H44O7	cardenolide glycoside
12	Cardenolide N-3	C30H42O8	cardenolide glycoside
13	Cardenolide N-4	C32H48O9	cardenolide glycoside
14	Neridienone A	C21H26O3	steroid
15	Neridienone B	C21H28O4	steroid
16	Ursolaldehyde	C30H48O2	triterpene
17	20beta,28-Epoxytaraxaster-21-en-3beta-ol	C31H52O3	triterpene
18	Ocotillol	C30H52O3	triterpene
19	28-Norurs-12-en-3beta-ol	C29H48O	triterpene
20	3beta,13beta-Dihydroxyurs-11-en-28-oic acid	C30H48O4	triterpene
21	3beta,27-Dihydroxy-12-ursen-28-oic acid	C30H48O4	triterpene
22	Isoprene	C5H8	carbon hydrate
23	Proceragenin	C23H34O4	cardenolide

Table 5 ギンネム (*Leucaena leucocephala*) の含有成分

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	Gibberellin A1	C19H24O6	diterpenoid, plant hormon
2	Gibberellin A8	C19H24O7	diterpenoid, plant hormon
3	Gibberellin A17	C20H26O7	diterpenoid, plant hormon
4	Gibberellin A19	C20H26O6	diterpenoid, plant hormon
5	Gibberellin A20	C19H24O5	diterpenoid, plant hormon
6	Gibberellin A23	C20H26O7	diterpenoid, plant hormon
7	Gibberellin A29	C19H24O6	diterpenoid, plant hormon
8	Gibberellin A34	C19H24O6	diterpenoid, plant hormon
9	Gibberellin A53	C20H28O5	diterpenoid, plant hormon
10	L-Mimosine	C8H10N2O4	toxic amino acid

Table 6 クジチョウ (*Corydalis bungeana*) の含有成分 (検索は, *C. yanhusuo* で行った)

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	Fumaric acid	C4H4O4	fatty acid
2	Allocryptopine	C21H23NO5	alkaloid
3	Berberine	C20H18NO4	berberine alkaloid
4	Canadine	C20H21NO4	berberine alkaloid
5	Isocorydine	C20H23NO4	aporphine alkaloid
6	Palmatine	C21H22NO4	isoquinoline alkaloid
7	Protopine	C20H19NO5	alkaloid
8	Coptisine	C19H14NO4	isoquinoline alkaloid
9	(-)-Kikemanine	C20H23NO4	isoquinoline alkaloid
10	(-)-Isocorypalmine	C20H23NO4	isoquinoline alkaloid
11	Saulatine	C22H23NO6	isoquinoline alkaloid
12	Scoulerine	C19H21NO4	isoquinoline alkaloid
13	(-)-Tetrahydrocoptisine	C19H17NO4	isoquinoline alkaloid
14	Corydaline	C22H27NO4	isoquinoline alkaloid
15	Dehydrocorydaline	C22H24NO4	isoquinoline alkaloid
16	Tetrahydropalmatine	C21H25NO4	isoquinoline alkaloid
17	Isocorybulbine	C21H25NO4	isoquinoline alkaloid
18	Thalicmidine	C20H23NO4	aporphine alkaloid
19	Norisocorydine	C19H21NO4	aporphine alkaloid
20	Tetrahydrocorysamine	C20H19NO4	isoquinoline alkaloid
21	Leonticine	C20H25NO3	alkaloid
22	Lirioferine	C20H23NO4	aporphine alkaloid
23	Juziphine	C18H21NO3	isoquinoline alkaloid

影数字が, クジチョウの成分として報告があるもの

Table 7 *ズルカマラ (Solanum dulcamara)* の含有成分

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	Solamargine	C45H73NO15	steroid alkaloid
2	Solasodine	C27H43NO2	steroid alkaloid
3	Solasonine	C45H73NO16	steroid alkaloid
4	Calystegin A3	C7H13NO3	tropane alkloid
6	Calystegin B2	C7H13NO4	tropane alkloid
7	Columbin	C20H22O6	diterpene
8	Tigogenin	C27H44O3	steroid
9	Yamogenin	C27H42O3	steroid
10	Lycoxanthin	C40H56O	tetraterpene
11	Lycophyll	C40H56O2	tetraterpene
12	Soladulcidine	C27H45NO2	steroid alkaloid
14	Calystegine B1	C7H13NO4	tropane alkloid
15	Tomatidenol	C27H43NO2	steroid alkaloid
16	beta-Solamarine	C45H73NO15	steroid alkaloid glycoside
17	Calystegine A5	C7H13NO3	tropane alkloid
18	Calystegine N1	C7H14N2O3	tropane alkloid
19	15alpha-Hydroxysoladulcidine	C27H45NO3	steroid alkaloid
20	15alpha-Hydroxysolasodine	C27H43NO3	steroid alkaloid
21	15alpha-Hydroxytomatidenol	C27H43NO3	steroid alkaloid
22	15alpha-Hydroxytomatidine	C27H45NO3	steroid alkaloid

Table 8 *セイヨウシロヤナギ (Salix alba)* の含有成分

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	Cupressuflavone	C30H18O10	biflavonoid
2	Salicin	C13H18O7	phenolic glycoside
3	Rhamnazin 3-glucoside	C23H24O12	flavon glycoside
4	Triandrin	C15H20O7	phenylpropanoid glycoside
5	Isoprene	C5H8	carbon hydrate

Table 9 ヒメツルニチニチソウ (*Vinca minor*) の含有成分

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	Eburnamonine	C19H22N2O	alkaloid
2	Vincamine	C21H26N2O3	alkaloid
3	Vincristine	C46H56N4O10	alkaloid
4	(+)-Lirioresinol B	C22H26O8	lignan
5	Quercetin 3-robinobioside-7-rhamnoside	C33H40O20	flavone glycoside
6	Myricetin 3-robinobioside-7-rhamnoside	C33H40O21	flavone glycoside
7	(-)-Vincorine	C21H22N2O2	alkaloid
8	(+)-Minovincinine	C21H26N2O3	alkaloid
9	11-Methoxyvincadiformine	C22H28N2O3	alkaloid
10	Vincadine	C21H28N2O2	alkaloid
11	(-)-11-Methoxyeburnamonine	C20H24N2O2	alkaloid
12	(-)-16-Epivincamine	C21H26N2O3	alkaloid
13	(+)-Eburnamenine	C19H22N2	alkaloid
14	(+)-Isoeburnamine	C19H24N2O	alkaloid
15	(+)-Vincaminine	C21H24N2O4	alkaloid
16	(+)-Vincinine	C22H26N2O5	alkaloid
17	Minovincine	C21H24N2O3	alkaloid
18	Vincorine	C22H28N2O3	alkaloid
19	Vincoridine	C21H24N2O3	alkaloid
20	Strictamine	C20H22N2O2	alkaloid

Table 10 ヒヨドリジョウゴ (*Solanum lyratum*) の含有成分

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	Solamargine	C45H73NO15	steroid alkaloid
2	Solasonine	C45H73NO16	steroid alkaloid
3	Columbin	C20H22O6	diterpene
4	Soladulcidine	C27H45NO2	steroid alkaloid

Table 11 ミソハギ (*Lythrum anceps*) の含有成分

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	Lythramine	C29H37NO5	alkaloid

Table 12 ワイルドカナダレタス (*Lactuca virosa*) の含有成分

No.	Name	Molecular fomula	Category
1	8-Deoxylactucin	C15H16O4	Sesquiterpen lactone
2	Lactucin	C15H16O5	Sesquiterpen lactone
3	Lactucopicrin	C23H22O7	Sesquiterpen lactone
4	(+)-Picriside B	C21H30O8	Sesquiterpen lactone glycoside
5	Ixerin F	C21H30O9	Sesquiterpen lactone glycoside
6	Jacquinelin	C15H18O4	Sesquiterpen lactone
7	Crepdiaside B	C21H28O9	Sesquiterpen lactone glycoside
8	11beta,13-Dihydroglucozaluzanin C	C21H30O8	Sesquiterpen lactone glycoside
9	11beta,13-Dihydrolactucin	C15H18O5	Sesquiterpen lactone
10	Cichorioside B	C21H28O10	Sesquiterpen lactone glycoside
11	11beta,13-Dihydrolactucopicrin	C23H24O7	Sesquiterpen lactone

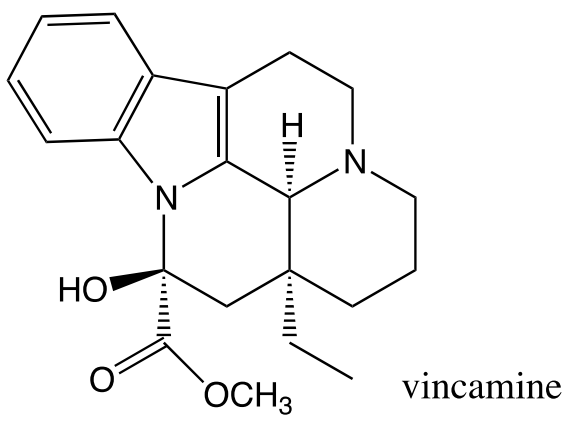
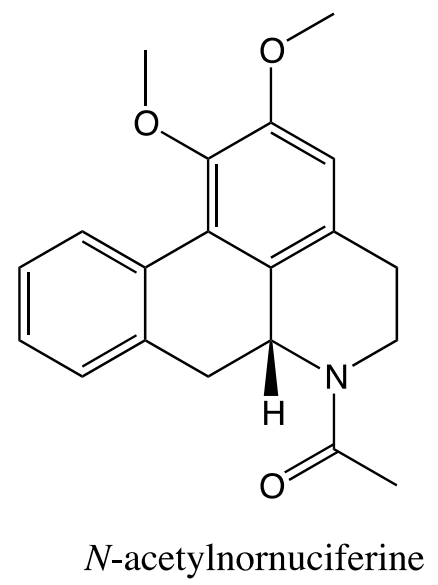
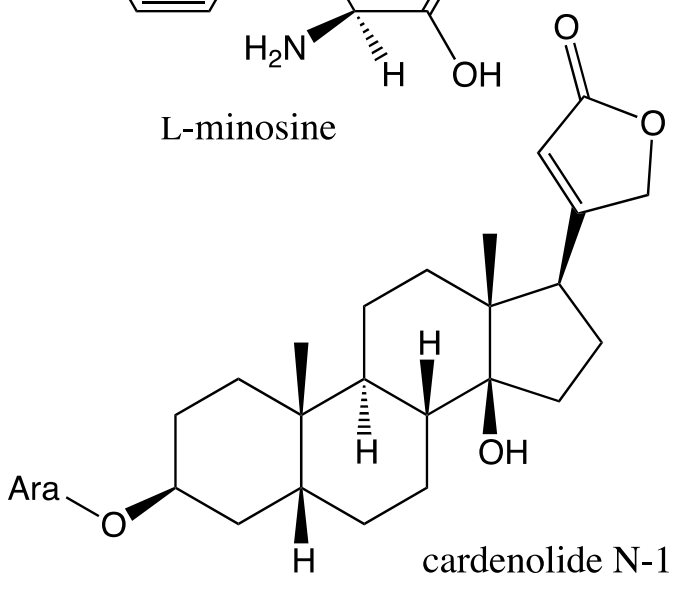
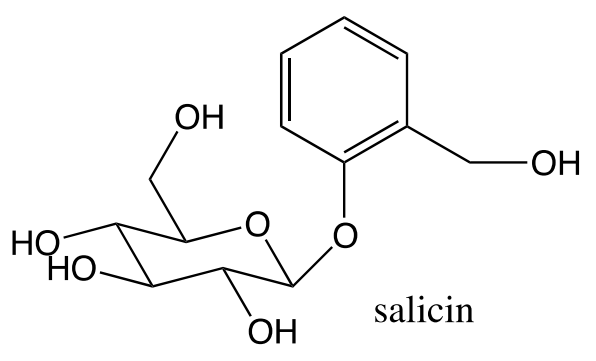
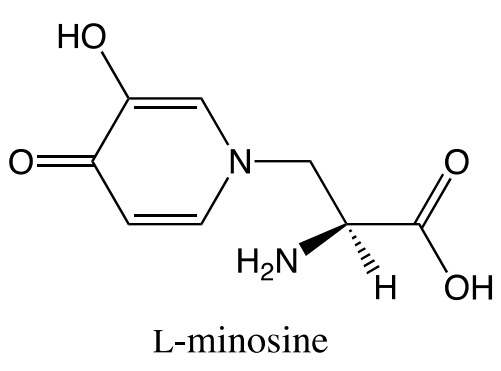
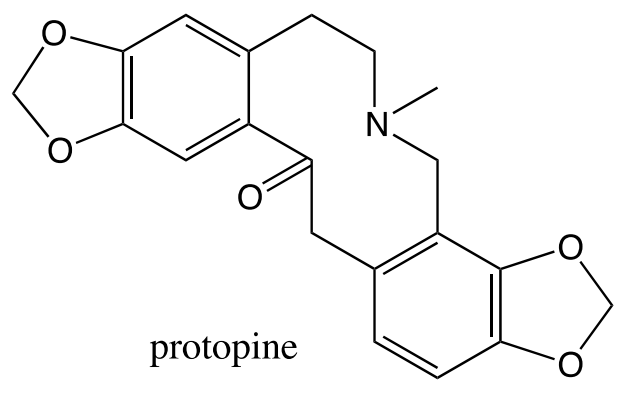
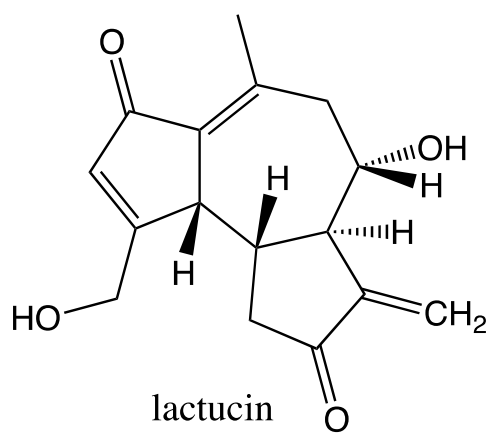


Fig. 1 移行検討品目の主な含有成分の構造

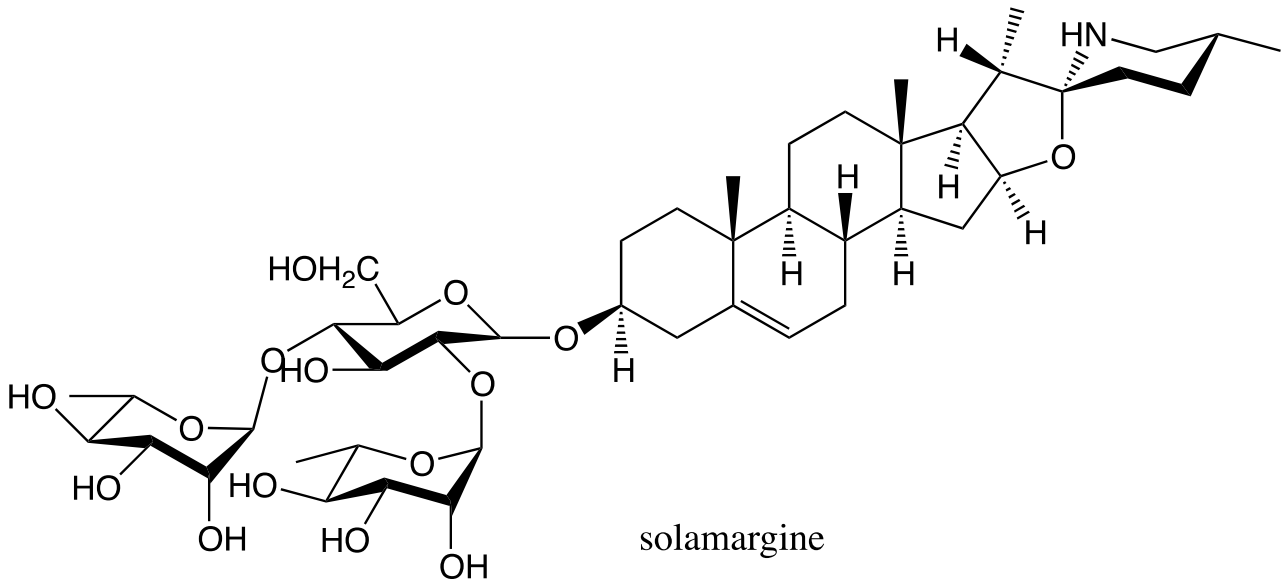
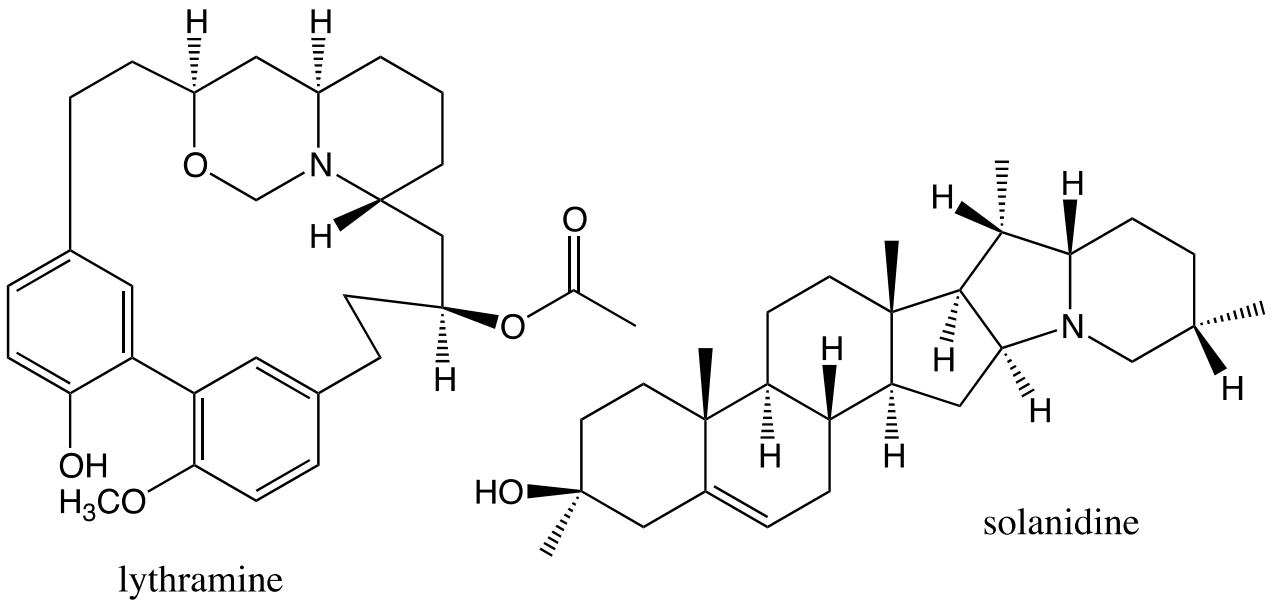


Fig. 1 続き

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tokumoto, H., Shimomura, H., Hakamatsuka, T., Ozeki, Y., Goda, Y.	Detection of Nicotiana tabacum leaf contamination in pharmaceutical products.	Biol. Pharm. Bull.	39	1263-1272	2016
Katsui, H., Sugimoto, S., Matsunami, K., Otsuka, H., Lhieochaiphant, S.	Lignan diesters of canangafruticoside A from the leaves of Cananga odorata var. odorata.	Chem. Pharm. Bull.	65	97-101	2017
合田 幸広	機能性表示食品制度の行方・関与成 分検討会を振り返る	LBヘルスケア	40(12)	8	2016

その他 新聞報道

発表者氏名	タイトル名	発表紙名	巻、号	発行年	ページ
袴塚 高志	生薬・漢方関連の最近の話題 (2)	薬事日報	11824	2016	4