

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 27～29 年度 総合研究報告書

(H27-医薬-指定-010)

研究代表者 袴塚 高志

平成 30 (2018) 年 3 月

目 次

I.	総合研究報告書		
	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.	研究成果の刊行に関する一覧表	23
III.	研究成果の刊行物・別刷	25

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。本研究では、新規に申請のあった成分本質（原材料）について、専ら医薬品に分類すべきであるか検討する。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、無承認無許可医薬品の監視・取締りを念頭に、含有成分の単離同定、薬理活性の予測等を行い、必要であれば分析法等を開発する。また、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する適否及び方法について検討する。さらに、食薬区分リストについて、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。

新規に申請のあった成分本質（原材料）については、RTECS, Chemical Abstracts, 通知に記載されている参考文献等を利用しながら、毒性データ、二次代謝成分や生理活性、麻薬、向精神薬、覚せい剤様作用があるかどうか調査を行った。新規に申請のあった植物由来成分のうち、アドニス属、コイケマ、ムラサキムカシヨモギ及びゴミシを除き、非医薬品成分であるものと考えられた。化学物質では、ATP、ホモタダラフィル、ジメチルジチオデナフィル及びデスカルボンシルデナフィルについて、専ら医薬品に指定すべき成分本質と判断されるべきと考察した。

グレーゾーンの植物体に関する検討では、各地で採集されたオオイタドリについて精製水と有機溶媒(アセトン)によるエモジン (EM) の抽出効率と定量値について検討し、精製水とアセトンで抽出効率に大きな差異は無く、北海道産のオオイタドリは本州産に対し、100 倍以上の EM を含有することを明らかにした。また、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、3次元蛍光スペクトルを用いた分析を行ったところ、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のカッコシとの鑑別が可能であることが分かった。さらに、時として Parkinson 病的症状を呈することが報告しているトゲバンレイシ(*Annona muricata*)に関連して、同科同属植物であるバンレイシ(*A. squamosa*)及びカーラウエーク(*A. siamensis*)について成分検索を行った。また、沖縄に産するカキノキ科植物であるリュウキュウガキ(*Diospyros maritima*)について、その果実は毒とされているが、時として「柿」という名称から、誤食の可能性もあるため、危害を及ぼす可能性のある成分の検討を行った。さらに、国内及びアメリカの市場で流通するカツアバ含有食品に含まれる基原種の推定を目的に、遺伝子配列解析を行ったところ、*Erythroxylum* 属または *Trichilia* 属の植物がカツアバとして区

区別なく用いられている可能性が示された。また、*Sida* 属植物の組織形態について検討し、*Sida* 属植物の鑑別では毛茸の性状観察が有用であることを確認した。さらに、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が、ハネセンナに医薬品成分（センナの小葉や葉軸，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する目的で，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。また，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が，韓国では何首烏の代わりに白首烏が使用されており，近年韓国では白首烏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ことを受けて，中国市場及び韓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，また，それぞれの生薬の組織形態についても検討した。

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とを受けて，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。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（*N*-cyclopentyl nortadalafil，Dipropylaminopretadalafil 及び *N*-Phenylpropenyltadalafil）への対応に備え，これら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。

さらに，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た。成分本質自体に量的概念を導入することは困難が予想されることから，特定の化合物（群）を判定基準の検討対象とする必要性が指摘された。そこで，ゲニポシド，ゲニピン，センノシドについて，毒性，既存の関連品目の規制値，副作用情報，有害事象報告を調査し，ゲニポシド，ゲニピンについて，薬用量を基準とした改定案をまとめた。さらに，センノシドにおける量的概念を加えた規制に関する検討の一環として，センナ茎およびハネセンナ（キャンドルブッシュ，ゴールデンキャンドル）を含む製品中のセンノシドに関する UPLC-MS を用いた新しい分析法を確立し，日局センナと国産ハネセンナ葉を対象として分析し，得られた LC-MS データを用いてセンナおよびハネセンナの判別分析を行い，センナ特有の指標成分と成り得る化合物を見出した。

また，現行の「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ところ，「専ら医薬品リスト」については重大な問題点はほとんど見出されなかったが，「非医薬品リスト」については，1) 名称と他名等の不整合，2) 重複，3) 不適切な使用部位，4) 誤記，等のケースが見付かった。また，含有する成分の情報等から，「専ら医薬品リスト」への移行について再検討すべき品目も見付かった。さらに，「非医薬品リスト」中の全品目について，基原植物の和名，学名の調査を行い，その結果に基づき，名称変更，同一植物に由来する複数品目の統合，同一項目に包含されている複数植物の分離作業を行い，暫定の改定リスト案をまとめた。

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

研究の目的

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、厚労省の監視指導・麻薬対策課（監麻課）との密接な連携の下、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。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」（平成30年4月18日付医薬・生活衛生局長通知（薬生発0418第4号）の別紙）に基づいて行われる。また、同通知の別添として、食薬区分リストに例示が掲げられている。このリストに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。さらに、無承認無許可医薬品の監視を念頭に、これまでの買い上げ調査等で検出された成分の文献情報や分析法開発等により、適切に監視・指導できる体制を整える必要がある。また、食薬区分リストの基原植物や部位等において、利用者たる国民を

混乱させ得る部分については、見直す必要がある。本研究では、医薬品の成分本質に関するWGのメンバーを中心として、各分野の専門家の協力を得て上記記事案に対応した。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、本研究では、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し、具体的な判定基準案を作成した。

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

「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, 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

「オオイタドリに関する研究」として, LC
部に Shimadzu Prominence UFLC システムを配
した LCMS-2020 質量分析計 (島津製作所製)
を用い, 採集したオオイタドリについては, 使
用部位として若芽部を選び, 精製水抽出とア
セトン抽出の 2 種類を検討した.

「Pueraria mirifica 含有健康食品の品質
評価研究」として, *Pueraria mirifica* (PM) の
含有が表示されている健康食品, 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, 各種デンプンを手
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次元分光蛍光スペクトル (蛍
光指紋) を測定した. 3次元分光蛍光スペクトル
(蛍光指紋) の測定は分光蛍光光度計 F-7000
(日立ハイテクサイエンス) で行った. 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. 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+5 及び 10 nm
の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. 別に, 各検体のスペクトルにおいて,
特徴的に見出されたピーク, 8 点の蛍光強度に
限定したデータマトリクスを作成し, 同様に主
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.

「バンレイシ科及びカキノキ科植物の成分
研究」では, タイ王国で採集したバンレイシ
(*Annona squamosa*) 及びカーラウエーク (*Annona
siamensis*) の葉を粉碎し, メタノールで抽出し,
含有成分の分画, 精製を行った. また, 先島諸
島八重山郡竹富町で採集したリュウキュウガ
キ (*Diospyros maritima*) の葉を粉碎し, メタノ
ールで抽出し, 含有成分の分画, 精製を行った.
得られた新規化合物は機器分析を行って構造
を決定し, 既知化合物はその各種スペクトルを
文献値と比較することにより同定した.

「カツアバの基原植物に関する研究」として,
国内及びアメリカの市場で流通するカツアバ
含有食品について分析を行った. 塩基配列解析
においては, 粉末及びカプセルのものはそのま
ま使用し, 葉を刻んだ状態のものは, ミキサー
により粉碎してから使用した. これらの粉末よ
り, genomic DNA を抽出, 精製し, このものを
鋳型とし, 植物の核 rDNA 領域に保存性の高い

配列に設計されたプライマーを用いて PCR を行うことにより、目的とする核 rDNA ITS 領域を含む DNA 断片を増幅した。得られた PCR 産物を精製した後、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。得られた塩基配列の多重整列解析は、GENETYX の Multiple Alignment により行った。

「Sida 属植物の組織形態学的研究」では、2013 年に(独)医薬基盤種子島研究部にて栽培されていたキングジカ *Sida rhombifolia* L. を 5 月から 10 月までの 6 か月間、1 ヶ月ごとに採取したものを材料に用いた。試料は頂端から基本的に 4～5 節目の、十分に成長した葉を採取し、冷蔵下で水に 6～8 時間程度浸漬後、表皮を剥離するか、剥離が容易でない場合は観察する部位と反対側の葉肉組織をカミソリでそぎ落とし、必要な観察部位の表皮を得た。試料をグリセリンにて簡易包埋し、光学顕微鏡 (オリンパス BH-2) 下にて観察した。

「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。

「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、白首烏及び異葉牛皮消 (耳葉牛皮消)、また、韓国市場及び中国市場で入手した白首烏等につ

いて、その基原種を成分と遺伝子の両面から調査した。また、本研究のために、*C. wilfordii* Hemsley 及び *C. auriculatum* Royle ex Wight の植物標本の一部を、高知県立牧野植物園及び国立科学博物館筑波実験植物園から提供いただいた。*C. wilfordii* Hemsley を九州の 2 箇所で採集した。また、*P. multiflorum* Thunberg は武田薬品工業株式会社京都薬用植物園及び日本新薬株式会社山科植物資料館から DNA 解析用試料として提供をうけた。高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC) による成分分析では、HPTLC Silica gel 60 F254 Glass plate (20×10 cm) を用い、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。塩基配列解析では、粉末にした生薬試料より 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 (以下 *trnL-trnF* 領域)、同じく葉緑体 DNA *trnH-psbA* intergenic spacer region (以下 *trnH-psbA* 領域) に特異的なプライマーを用い、PCR 反応を行った。PCR 反応により得られた増幅産物は、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 相同性検索及び種の同定された植物標本や植物体由来の遺伝子配列との比較により、基原種を推定した。また、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、及び『何首烏』試料について、主として横切片を作成して組織形態を光学顕微鏡下にて観察した。

「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、2017 年 1 月に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．

「新規 ED 治療薬類縁体の分析法に関する研究」では，*N*-Cyclopentyl nortadalafil 及び Dipropylaminopretadalafil ，*N*-Phenylpropenyltadalafil の標準品を購入し，LC-PDA-MS 分析の条件について検討した．

B-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，ゲニピン，クチナシ色素及びセンノシドについて，毒性，既存の関連品目の規制値，副作用情報，有害事象報告を調査した．毒性情報調査は，RTECS (Registry of Toxic Effects of Chemical Substances) 及び Botanical Safety Handbook などによった．副作用情報は，医薬品医療機器総合機構が提供する医薬品副作用データベースを利用した．その他の情報は，以下の公定書，書籍を参照するとともに，必要に応じて，Google Scholar による関連文献情報の検索を行った．

- ・ 第 17 改正日本薬局方
- ・ 日本薬局方外医薬品規格 2002（局外規）
- ・ 日本薬局方外生薬規格 2015（局外生規）
- ・ 食品添加物公定書第 8 版
- ・ 医薬部外品原料規格 2006
- ・ 日本医薬品情報センター編，一般用医薬品集 2017
- ・ 日本医薬品情報センター編，医療用医薬品集 2017
- ・ 第 24 回生薬に関する懇談会『山梔子』講演要旨集
- ・ 局方医薬品承認申請の手引

「LC-MS を用いた *Cassia* 属ハネセンナおよびセンナの分析に関する研究」では，栽培品のハネセンナ *Cassia alata* は国立研究開発法

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より供与された植物体の一部（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．市販の日局センナ（5 種），栽培品のハネセンナ葉（2 種），について，ミキサーにて粉碎し，得られた粉末試料を 70% MeOH に懸濁し，LC-MS 分析に供した．LC-MS 分析には Q Exactive Quadrupole-Orbitrap ハイブリッド型質量分析計を使用し，測定データをメタボローム解析ソフトウェア Progenesis QI ver. 1.0 で処理し，ピークの検出（ピーク強度，保持時間（RT），質量数（*m/z*）），アライメントを行い，EzInfo でデータマトリクスの作成を行った．このデータマトリクスを SIMCA Ver. 14 を用いて判別分析を行った．

B-4 専医リスト及び非医リストの植物基原等の見直し

「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 30 年 4 月 18 日付医薬・生活衛生局長通知（薬生発 0418 第 4 号）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．学名については，
1) The Plant List (<http://www.theplantlist.org/>),
2) International Plant Name Index

(<http://www.ipni.org/ipni/plantnamesearchpage.do>),

3) YList (<http://ylist.info/index.html>)

を用いて現在通用している学名を調べた。和名については、同書籍の記載及び上記調査で明らかになった学名を基に、YList を用いて調査した。改定リストの作成に当たっては、現在のリストでは、名称が、生薬名のものと植物名のものが混在していることから、植物和名を名称とすることで統一を図った。ただし、複数の基原植物を持つ生薬を、別項目として扱うのは、利便性の点で難があるため、そのような品目は、生薬名を名称とし、他名に、全ての基原植物を列記した。

(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

「専ら医薬品」の調査に関する研究」では、新規に調査依頼があった化学物質の中で、ATP は、医療用医薬品として使用されていること等から専ら医薬品に指定すべき成分本質と判断されるべきと考察した。また、homotadalafil 及び dimethyl- dithiodenafil は、主要分子構造が ED 治療薬である tadalafil 及び sildenafil と同一であること等から、専ら医薬品に指定すべき成分本質と判断されるべきと考察した。N-アセチルノイラミン酸は、既に、食品成分中にある程度存在し、生物医薬品等の構成成分の一部ではあるものの単体として医薬品としては使用されていないこと等から、非医と考察した。β-アラニンについては、魚肉や鳥胸肉といった筋肉に豊富に含まれ、食経験が十分にあり、特に問題となる毒性も見られず、EFSA でも安全性への懸念はもたらさないと結論づけられており、また医薬品としての使用実

態がないことから、非医であるものと考察した。ED 治療薬であるシルデナフィル類縁物質であるデスカルボンシルデナフィルは、PDE5 の活性発現部に結合し、また実際に阻害活性を持つこと、さらに処方箋薬であるシルデナフィル様の作用を意図して合成されたものと考えられることから、専ら医薬品に指定すべき成分本質と判断されると考察した。

植物由来物質のうち、アオバナ (*Commelina communis* L. var. *hortensis* Makino) 地上部は、成分として、1-デオキシノジリマイシン (1-deoxynojirimycin) と、ピロリジン化合物 (2,5-dihydroxymethyl-3,4-dihydroxypyrrolidine) を含み、どちらも含窒素化合物であること、1-デオキシノジリマイシンは、専ら医として指定されている化学成分であること、本エキスはα-グルコシダーゼ阻害に由来すると考えられる抗糖尿病活性、抗肥満活性が報告され、特許がとられていることが特筆される。一方で既に食品として販売例はあり、前述した化合物も、高い毒性化合物とは考えられないので、添付された安全性試験結果と考え合わせて含有成分を特に言及しなければ、非医となりうると考察した。ヨーロッパナラ (*Quercus robur*) は、Botanical Safety Handbook に掲載され、Class は 2d、ただし、入浴剤等、外用を念頭に Class が規定され、医薬品としての使用経験はある。一方、成分的には 10% 以上のタンニンであるが、ワイン樽としての使用等を考慮すると食経験はあるものと考えられる。さらに、文献検索からも、危険な化合物は入っていないものと推定されることから非医となりうると考えられた。イナゴマメ (カロブ) の莢については、成分的には、縮合型タンニン、糖類、ペクチン、アミノ酸類であり、近年ココアパウダーの代替品としての使用が検討されていることが明かとなった。また、最近、カロブには、D-pinitol が多量に入っていることが判り、D-pinitol は、グルコーストランスポーターの亢進作用があり、糖尿病予防効果がある

とされ、また、D-pinitol の脱メチル化体の Chiro- inositol は、不妊の原因の一つの、多嚢胞性卵巣症候群の改善に効果が有るとされていることが判明している。一方で、マメ科植物なので、レクチンの安全性については考慮すべきであるが、添付の経口投与のデータを考慮すると、急性毒性は非医の基準を十分にみたしていると考察された。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。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た。*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 件ヒットし、全草、メタノールエキスで経口、ラットで、炎症作用 (YY55) 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。ゴミシは、チョウセンゴミシの果実で、日本薬局方に収載されており、医療用 5 処方、一般用 17 処方に使用される重要生薬であり、日本では伝統的に医薬品と考えられ、専ら医薬品に指定されている。また BSH において医薬品との相互作用（特に肝臓代謝）が多数報告されており、また肝炎治療薬 Biphenyldimethyl-dicarboxylate (BDD) の発見の経緯となった生薬でもある。一方で、韓国では食経験が豊富とされている。含有成分的には、リグナンの gomisin A と schzandrin が著名で、それぞれが 0.2-0.3% 及び 0.4-0.6% と、天然物としては高含量で含まれていると報告がある。RTECS で gomisin A を検索すると、経口、マウスで、それぞれ LD50 値 777mg/kg, 1448mg/kg となっており、特に前者は劇薬基準 (300mg/kg) の 2.5 倍の値を示し、かなり危険な化合物と考えられる。また、これらの成分について、多くの一般薬理試験が実施された結果、効果として、睡眠、全身活動の低下、体温低下がみられている。また、中枢試験で、ヘキサバルビタールナトリウム催眠延長作用が LD50 値の 1/40 で発現し、持続性の運動抑制作用から、中枢抑制作用、あるいはトランキライザー様作用があると報告されている。これらの結果を考えると、日本で専ら医薬品としての使用実態だけでなく、薬理活性的にも、処方箋薬相当の成分を含むと判断出来る可能性があるものと考えられる。また、機能性として示されている論文は、動物実験ではあるが、肝保護作用、抗高血圧作用、血糖降下作用、心臓保護作用など、処方箋薬相当の効果を目指したものである。従って、本品については、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。

動物由来物質では、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。フコシルラクトースは、人類の初乳に含まれている成分で、EFSA から新規食品成分として認められており、経口での LD50 値も 5000mg/kg 以上であり、また医薬品成分としての使用も現在のところ特になく考えられるので、非医薬品成分と考えられた。なお、名称は、正確に 2'-0-フコシルラクトースとすべきものと考察した。ヒドロキシアパタイトは魚骨等に含まれる成分で、今回はホタテ貝殻由来のものと考えられた。本物質は、経口での安全性が高いことが示されており、非医薬品成分と考えら得た。ただし、基原の差で X 線回折のデータが微妙に異なり、また熱処理の有無によっても、化学組成が変化することから、基原の定義が重要であるものと考えた。

これらの情報は、平成 28 年 3 月 16 日、平成 29 年 2 月 6 日、平成 30 年 2 月 19 日に開催された医薬品の成分本質に関するワーキンググループ (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

「オオイタドリに関する研究」では、emodin (EM) 含量の調査のため、各地でオオイタドリを採集し、抽出溶媒は精製水と有機溶媒 (アセトン) を用い、LC-MS により定量した。精製水とアセトンでは抽出効率がほぼ同等と考えられた。また、北海道産の各オオイタドリ中の EM は、1 g あたり 5.0 - 6.3 mg、本州産の各オオイタドリ中の EM は、1 g あたり 0.0015 - 0.0064 mg であり、北海道産は本州産に対し、100 倍以上

のEMを含有していることが判明した。EMは、いくつかの高等植物の器官において存在し、その含量は季節性や光の強度に影響されることが知られており、オオイタドリ中のEM含量が各地域の環境に強く依存していることが示唆された。

「Pueraria mirifica 含有健康食品の品質評価研究」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1品目、PM非含有品1品目の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。

「バンレイシ科及びカキノキ科植物の成分研究」では、バンレイシ (*A. squamosa*) の葉のメタノール抽出液の1-BuOH可溶画分より11種類の成分を単離同定し、そのうち1つは新規であり、その他は既知化合物であった。新規化合物の構造はarabinothalictosideと同一のアグリコンを有するが、糖の種類がグルコースとキシロースから構成されており、また、ニトロ基を有していた。一方、Parkinson病の発症で脳内に増加すると言われているtetrahydrobenzyl-isoquinoline (TBQ)は、今回バンレイシの葉の成分分析では構造類縁体も含めて単離されなかった。一方、カーラウエーク (*Annona siamensis*) の葉より15種類の成分を単離同定し、そのうち1つは新規であり、その他は既知化合物であった。新規化合物は、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。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、その平面構造を確認し、相対構造決定のためNOESYスペクトルの解析を行った。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。また、リュウキュウガキの葉MeOH抽出液より単離した化合物は、比旋光度 -31.6 を示す無色針状結晶として得られ、赤外線吸収スペクトル、高分解能質量分析、 1H -NMR、 ^{13}C -NMR、二次元NMRスペクトルによる解析の結果、カルボニル基、

二個の一級水酸基および酸素官能基を有する三級炭素からなるカウラン型ジテルペンであろうと予想された。

「カツアバの基原植物に関する研究」として、13種の国内及びアメリカの市場で流通するカツアバ含有食品について、植物の核 rDNA 領域に保存性の高い配列に設計された共通プライマーを用いた PCR 増幅を行ったところ、3 検体は、国際塩基配列データベースに登録されている *Trichilia* 属が最も近い配列候補として挙げられた。その他の検体については、カツアバの基原種とされるものとは異なる種の登録配列が候補として挙げられた。解析したシーケンス配列について、解析が出来たサンプルの 10 検体中 4 検体で、複数種の増幅による複数配列が見られた。共通プライマーを用いた増幅において、複数の検体で複数配列が見られた原因として、製品中の複数の植物種の DNA を増幅している可能性が考えられた。この結果から、他の検体でも実際には複数の植物種が存在しており、その中から増幅しやすい種の配列が増幅した結果が示されているだけなのではないかと考え、特異的プライマーを設計し、これらを用いた増幅を行った。*Erythroxylum* 属特異的プライマーを用いた増幅では、6 検体で、予想される塩基長の DNA の明瞭な増幅が見られた。得られた PCR 産物について塩基配列解析を行った結果、データベース上の *Erythroxylum* 属植物と相同性の高い配列が確認された。一方、国内市場の 7 検体に関しては、予想される塩基長の増幅は見られなかった。*Trichilia* 属特異的プライマーを用いた増幅では、6 検体で、予想される塩基長を持つ DNA の明瞭な増幅バンドが見られた。得られた PCR 産物について塩基配列解析を行った結果、データベース上の *Trichilia* 属植物と相同性の高い配列が確認された。一方、国内市場の 7 検体に関しては、予想される塩基長の増幅バンドは見られなかった。特異的プライマーを用いた増幅の結果、アメリカ市場品 6 検体から *Erythroxylum* 属、

Trichilia 属両方の属の登録配列が候補に挙げられたことから、製品中にはこれら両方の属の植物が入っていることが示唆された。この結果から、材料あるいは加工の段階において、これら 2 つの種は区別なく扱われており、一緒に製品中に加えられている可能性が考えられた。また、*Erythroxylum* 属の植物の存在が示唆されたことから、製品中にアルカロイドが含まれている可能性があり、これに関しては LC などを用いた成分分析を行う必要があると思われる。

「*Sida* 属植物の組織形態学的研究」では、キンゴジカ *S. rhombifolia* について、星状毛を構成する剛毛の叢生本数及び長さは向軸面と背軸面で大きな差はなく、過去に検討したヨーロッパ、アジア産の同種との差もほとんど認められなかった。腺毛の分布密度のうち、球状腺毛は全期間を通じて観察されたが、とっくり状腺毛は向軸面では 5、6 月に少量認められたものの、7 月以降は脱落していた。背軸面では全試料ですべての採集期間中における分布が認められ、その密度は 12~33 本/mm²であった。また、今回検討したソロモン諸島産キンゴジカ *S. rhombifolia* では、これまでと同様、アオイ科植物に特有な毛茸の形態学的特徴が観察された。すなわち星状毛が観察され、その分布量と密度、構成する剛毛の本数はほぼ一定であり、1 箇所から叢生する剛毛の本数における季節的消長は、ほとんど認められなかった。とっくり状腺毛においては分布密度の季節的消長が認められ、盛夏以降、向軸面で本腺毛は観察されなかった。また、背軸面では全期間を通じて脱落、消失せず、一定量が残存していた。このことは、同種が気候変動の少ない地域で生育していた場合でも、とっくり状腺毛が鑑別の指標として利用可能であることを示唆している。球状腺毛も全期間を通じて安定的に存在し、これまでと同様、種内変異は認められず種間差識別の指標にはなり得ない結果となった。

「*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。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。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、先の曲がった毛、毛の破片が観察された。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。

「何首烏及び関連生薬の基原種調査」として、中国市場品の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-tnH 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。さらに、韓国市場で入手した何首烏及び白首烏とラベルされた計 7 ロットについて、高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC) による成分分析、及び遺伝子配列解析に供し、中国市場品の分析結果と比較検討した。生薬購入時に何首烏とラベルされていた検体のうち、中国市場品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。一方韓国市場では *C. auriculatum* 由来のものが何首烏として取引されていた。日本薬局方「カシュウ」の確認試験項目で規定されている確認成分はスチルベン配糖体であり、主波長 366 nm の紫外線照射をした際に R_f 値 0.3 付近にみられる青白色のスポットだが、本研究の HPTLC 分析では *C. wilfordii* や *C. auriculatum* 由来と推定される生薬には本スポットは認められなかった。このことから、日本において、基原種の異なる種が局方医薬品として流通する何首烏と誤用される可能性は低いと考えられた。異葉牛皮消の基原種である *C. auriculatum* 由来のものが白首烏として扱われていることが、本研究でも確認された。本研究で調べた白首烏とラベルされた生薬のほとんどが *C. auriculatum* 由来のものであった。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り、中国の薬局方である中国薬典には白首烏、異葉牛皮消ともに記載されていない。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が、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。このような背景が、白首烏とラベルされた中国市場品のほとんどが *C. auriculatum* 由来のものである一因と考えられた。一方、白首烏の公的規格が整備されている韓国の市場品でも、*C. auriculatum* が白首烏として扱われている事例がみられた。また、ひとつのロットに *C. wilfordii* と *C. auriculatum* 由来のものが混在しているという事例も確認された。両者の外観は酷似しているため、白首烏を扱い慣れていない者には誤った基原種の混入を見極めることは困難であると思われた。また、今回初めて、白首烏として流通するものの中に、*C. wilfordii* でも *C. auriculatum* でもない種の不明な *Cynanchum* 属由来のものが含まれていることが判明した。

さらに、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。

「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、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、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) があった。前者については、LC-PDA-MS 分析及び ^1H -、 ^{13}C -NMR を測定し、ソバルディ錠とソホス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。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した。

「新規 ED 治療薬類縁体の分析法に関する研究」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。また、同様に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*-Phenylpropenyltadalafil の標準品を購入し、各種機器分析データ及び LC-PDA-MS による分析法をまとめた。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。*N*-Phenylpropenyltadalafil と同じ質量数 504 を持つ化合物として、hydroxyhomosildenafil, homothiodenafil が存在することから、これらは、質量分析計による分離が不可能であり、*N*-Phenylpropenyltadalafil の分析法を考える上では、両化合物とカラム分離することが要求されるが、それぞれの化合物を含有することが既知の健康食品製品を用いて確認を行ったところ、いずれの成分も良好な分離を示した。

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として、原材料を食経験の延長線上での議論が困難な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性が生じていることについて、班員の中での認識を共有した上で、判定基準の検討対象について議論した。

「量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究」では、判定基準の検討対象となる品目として、1)「非医」の中で、一定濃度以上に濃縮されれば問題が生じる品目、及び、2)「専医」の中で、一定の濃度までなら問題のない品目が想定された。また、現時点でリストに記載されていない品目についても、今後新たに食薬

区分の判断を要求される場合は、同様な判断が必要となるものと考えられた。さらに、成分本質自体に量的概念を導入することは困難が予想されることから、特定の化合物(群)を判定基準の検討対象とする必要性が指摘され、具体的な例としては、アントラキノン、センノシド、ゲニポシド、クマリニン等が挙げられた。一方、判定の根拠とする情報については、従来通り、NIOSH が提供する RTECS の毒性情報とその元文献を活用することが有用とされた。また、急性毒性だけではなく、反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性についても注意すべきとの意見が出された。さらに、医薬品として流通するセンノシドや医薬品として流通する生薬の成分であるアントラキノンは、その使用実態から判断基準を策定することが比較的容易と考えられ、最初の原案作成の対象として候補に挙げられた。

そこで、ゲニポシドに関する調査を行ったところ、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記載され、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、クチナシ黄が記載されているが、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。

次いで、ゲニポシド、ゲニピン、センノシドについて、毒性、既存の関連品目の規制値、副作用情報、有害事象報告を調査した。ゲニポシドは、クチナシの果実に含まれるイリドイド配糖体の一つである。局方収載生薬サンシシは、このクチナシの果実に由来する生薬であり、その利胆作用は、ゲニポシドが、腸管で加水分解されて生成したゲニピンが、肝臓中で、トランスポーターMrp2の発現誘導、胆管膜上への移動を促進することにより、ビリルビンの排泄を促すことによるものと推測されている。このため、日局では、サンシシに対してゲニポシド 3.0%以上を含むと規定している。一方で、クチナシは、黄色色素クロシンを含むことから、食品添加物としても利用されており、食品添加物公定書には、クチナシ黄色素、クチナシ青色素、クチナシ赤色素が収載されている。この内、クチナシ黄色素には、純度試験としてゲニポシド 0.5%以下(色価 100 換算)が規定されているが、この規格は、ゲニポシドの毒性によるものではなく、被添加食品中のタンパク質とゲニピンが反応して青色色素を生成することにより、黄色色素としての品質の低下を招くことを阻止するためのものである。なお、クチナシ青色素は、この性質を利用して調製されている。他に、関連する公定書上の規格としては、医薬部外品原料規格 2006 に、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、ゲニピンの含量についての規格は、設定されていない。医薬部外品は食薬区分上、医薬品として扱われ、今回の量的規制の検討の妨げにはならないため、上記品目のゲニポシド、ゲニピン含量の調査は行わなかった。

ゲニポシド、ゲニピンの毒性情報を RTECS により検索した結果、ゲニポシドについては、in vivo での毒性情報は、認められなかった。一方、ゲニピンの毒性については、千葉大の原田ら(後の国立衛生試験所生薬部長)による報告があり、マウスにおける LD50 値は、経口で、237

mg/kg、腹腔で、190 mg/kg、静注で、153 mg/kg であった。食薬区分の判断の際に参考とすべき、経口投与における毒性値は、劇薬相当である。ゲニポシドが、生体中でゲニピンに代謝されることを考え合わせると、ゲニポシドとゲニピンの和として、量的規制を考える必要がある。

医薬品としての副作用情報については、サンシシを単味で用いることはないことから、サンシシを配合する代表的な漢方処方に対して検索を行った。その結果、加味逍遙散、黄連解毒湯、辛夷清肺湯、茵陳蒿湯において、腸間膜静脈硬化症や肝障害の報告が見られ、特に、前3者での報告が多かった。日本漢方生薬製剤協会による生産動態調査(2014年)における、これらの処方の生産高順位は、記載順に 5, 34, 49, 79 位であり、症例数の多寡は、使用量を反映したものであると思われる。上記4処方の添付文書には、副作用情報として腸間膜静脈硬化症と肝機能障害についての記載が共通して見られる。この内、腸間膜静脈硬化症については、病理所見として、患者の患部に青色色素の沈着が認められることから、直接的なエビデンスはないものの、サンシシ中のゲニポシド及びその代謝物であるゲニピンが、本症状に関与していると推測されている。これらの漢方処方中のゲニポシド含量としては、加味逍遙散と黄連解毒湯について、日局の規定があり、25-135 mg である。

以上のことから、ゲニポシドの量的規制としては、最小の薬用量である 25 mg より十分に低い値として、2.5 mg を設定し、ゲニピンとの和として規制すべきと考えた。また、ゲニポシド類の含有植物としては、クチナシを含めて、アカネ科植物が多く、他に、シソ科、クマツヅラ科植物などからも報告がある。このため、ゲニポシド、ゲニピンを含む全ての植物素材に、この規制値を適用した場合、予期せぬ植物素材が規制対象となり、流通、生産阻害を引き起こす恐れがある。このことから、規制の範囲については、クチナシに限定するのが望ましいと思われる。以上の結果を反映させた非医リスト改正

案として、「名称：サンシシ，他名等：クチナシ，部位：果実・茎・葉，備考：ゲニポシドとゲニピンの一日摂取量の和が 2.5mg を超えるものは「医」」，が提案された。

一方，センノシドは，センナやダイオウに含まれるビスアンスロン誘導体であり，体内でβ-グルコシダーゼにより糖が外れてセニジンとなり，さらに代謝され，レインアンスロンとなり，大腸壁を刺激して蠕動運動を活発にして瀉下作用をもたらすとされている。センナについては，日局では，センナ及びセンナ末に対して，総センノシド[センノシド A 及びセンノシド B] 1.0%以上を含むと規定している。また，局外規では，センナエキスに対して，センノシド A として 15.0~25.0%を含むと規定している。さらに，局外生規では，センナ実に対して，総センノシド[センノシド A 及びセンノシド B] 1.0%以上を含むと規定している。また，ダイオウ及びダイオウ末に対しては，センノシド A 0.25%以上を含むと規定している。さらに，局方収載の漢方処方中のセンノシド含量については，大黄甘草湯エキスは，センノシド A : 3.5 mg 以上（ダイオウ 4 g 処方），桃核承気湯エキスは，センノシド A : 3 mg 以上（ダイオウ 3 g 処方），乙字湯エキスは，センノシド A : 0.5 mg 以上（ダイオウ 0.5 g の処方），センノシド A : 1 mg 以上（ダイオウ 1 g の処方）と規定されている。なお，食品添加物公定書第 8 版及び医薬部外品原料規格 2006 に，センナ及びダイオウについての記載はない。センノシドの毒性情報を RTECS 及び Scifinder により検索した結果，Marvola らの報告によると，マウスにおける LD50 値は，センノシド A 及び B の総量として，経口では 5000 mg/kg 以上，静注では 4100 mg/kg であった。また，20%センナエキスの LD50 値は，経口では 5000 mg/kg 以上，静注では 171 mg/kg であった。また，Mengs の報告では，ラット及びマウスにおける LD50 値は，センノシドとして，経口では約 5000 mg/kg であった。従って，食薬区分の判断の際に参考とするべき，経口投

与における毒性値としては，センノシド A，B の総量についての毒性は低いと考えられた。一方，センナエキスとしての毒性は静注では劇薬基準 (<100 mg/kg) より低いものの注意すべき値であると考えられた。医薬品としての副作用情報については，(センノシド内用薬)として，嘔吐，無力症，死亡，薬物性肝障害，胃腸炎，帯状疱疹，血中ナトリウム減少，痙攣発作，多発性硬化症再発，好酸球増加と全身症状を伴う薬物反応など，(センナ・センナ実内用薬)として，全身性皮疹，薬疹の報告があった。また，Botanical Safety Handbook では，センナの葉及び果実(さや):クラス 2d に分類されている。

また，センナ及びダイオウの成分として，同様に瀉下作用を有するレインなどのアントラキノン類の含量についても検討する必要があると考えられ，センノシドの規格値については今後も継続して検討することとなった。

「LC-MS を用いた *Cassia* 属ハネセンナおよびセンナの分析に関する研究」では，市販の日局センナ抽出物を用いて既報の条件を参考に，ギ酸水溶液—ギ酸アセトニトリル系，ギ酸水溶液—アセトニトリル系の溶媒にて LC-MS の分析条件を検討したが，いずれの条件においても Sennoside B と Sennoside 類縁体と予測されるピークを分離できなかった。最終的に，ギ酸水溶液—ギ酸メタノール系にて Sennoside B に重なっていたと考えられるピークを分離することができた。そこで，本条件にて市販のセンナ 5 種および種子島産ハネセンナ 2 種を分析し，これらのサンプルより得られた LCMS データについてセンナ・ハネセンナのグループで判別分析 (Scalling: palato) を行った。その結果，LC-ESI-(+)-MS，LC-ESI-(-)-MS それぞれのスコアプロット上でいずれもセンナ，ハネセンナの 2 つのグループに分かれる事が確認できた。さらに，LC-ESI-(+)-MS の S-Plot より，センナの指標成分として Tinnevellin glucoside 及び Vicenin-II を見出した。また，LC-ESI-(-)-MS の S-Plot からは，センナの判別の寄与成分と

して、Sennoside A 及び Sennoside B を同定した。

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」において、現行の「専ら医薬品リスト」について重大な問題点はほとんど見出されなかった。一方、「非医薬品リスト」については、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。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。また、「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い、暫定の改定リスト案をまとめた。見直しの結果、名称変更品目が、148品目、複数項目を統一した品目が、31品目（インドカラタチ、ウスベニアオイ、オウギ、オオムギ、キバナシュスラン、ギムネマ、クズ、クスノキ、クロスグリ、ケイ

ヒ、コゴメグサ、コパイバ、サクリュウカ、スマレ、セイタカミロバラン、セイヨウシナノキ、セイヨウヒメスノキ、センリョウ、タンポポ、チョウジ、トウガラシ、トケイソウ、パウダルク、プエラリアミリフィカ、ブッソウゲ、マツヨイグサ、ムラサキフトモモ、ユウガオ、ルイボス、ローズヒップ)、一つの項目を複数品目に分離したものが、6品目（ガウクルア、イチヤクソウ、ウメガサソウ、ガマ、サイカチ、ブラッククミン）であった。この内、分離品目については、それぞれ、他名に記載のアカガウクルア、ロクテイソウ、オオウメガサソウ、ヒメガマ、トウサイカチ、ニゲラを別品目とした。また、元品目のガウクルアとブラッククミンは、それぞれ、プエラリアミリフィカ、クロタネソウへの名称変更を提案した。

一方、「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。

オオイタドリに含有されるアントラキノン類およびレスベラトロールの迅速定量分析法を用い、各地で採集したオオイタドリに対し、EMの精製水及びアセトン抽出による差異を検証した。その結果、精製水とアセトンで抽出効率に大きな差は確認されなかった。また、EM含量は各Sample間で大きな差が認められ、北海道産は本州産に対し、100倍以上多いことが判明した。

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、同手法を適用した。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。

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、同属のバンレイシ (*Annona squamosa*) の葉及びカーラウエーク (*Annona siamensis*) の葉の成分研究を行ったが、特に注意すべき成分は単離されず、引き続き検討が必要とされた。また、沖縄県八重山郡竹富町で採集したリュウキュウガキの葉の毒性成分と目されるナフトキノン誘導体の単離には至らず、引き続き検討が必要とされた。

アメリカ市場のカツアバ含有食品では、*Erythroxylum* 属及び *Trichilia* 属の両方の

植物が使用されているものが多く、一方で、国内のそれらでは、どちらの植物も使用されていないものが多い可能性が示唆された。今回の国内の結果に関しては、検体によっては遺伝子損傷などにより標的としていた配列の増幅が出来なかった可能性もあり、今後は、成分分析を行って *Erythroxylum* 属が含有するとされるアルカロイドについて確認する必要がある。

Sida 属植物の葉の組織形態について、ヨーロッパやアジア産に加え、南半球ソロモン諸島に分布する *S. rhombifolia* の毛茸を観察したところ、これまでと同様、星状毛や球状腺毛が安定的に分布し、とっくり状腺毛が向軸面において季節的消長をみせ、背軸面で安定的に分布するなどの結果が得られた。すなわち *Sida* 属植物の同定、鑑別には同属植物における毛茸の観察が有用である旨が、さらに裏付けられたと言える。

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ところ、製品中にハネセンナ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。

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。また、公的規格が整備されている韓国でも白首烏とされるもののなかに誤った種由来のものが混入されていたと

いう実態が明らかとなった。このため、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。日本では白首烏の流通実績はほとんどないが、今後、健康食品などとして日本で流通する可能性は高く、上述のように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、安全性を十分に確保する必要がある。

何首烏の組織形態学研究において、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たと言える。

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。

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*-cyclopentyl nortadalafil、dipropylaminopretadalafil 及び

N-Phenylpropenyltadalafil への対応に備え、同化合物の各種機器分析データ及び分析法をまとめることができた。

食経験の延長線上での議論が困難な濃度に原材料を濃縮して製造される場合に加えて、専ら医に区分される品目の中に十分な食経験を有するものがある場合について、量的な概念を

含めた医薬品成分の規制が可能であるか議論された。含有成分の毒性情報、医薬品としての使用実態、発がん性情報等を勘案して、具体的にどのような方策が可能であるか検討することとされた。ゲニポシド、ゲニピン、センノシドについて、毒性、既存の関連品目の規制値、副作用情報、有害事象報告を調査し、ゲニポシド、ゲニピンについては、薬用量を基準とした改定案をまとめることができた。

センノシド A、B 及びセンノシド B に近接したピークを分離する LC 分析条件を見出すことができた。その条件下で日局センナとハネセンナ葉を試料として LCMS データを用いた判別分析を行い、センナの寄与成分として Tinnevellin glucoside、Vicenin-II、Sennoside A 及び Sennoside B の4種の化合物を同定した。中でも、Vicenin-II もその化学的安定性から有効な指標成分と成り得る可能性が示された。

現行の「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ところ、「専ら医薬品リスト」については重大な問題点はほとんど見出されなかったが、「非医薬品リスト」については、1) 名称と他名等の不整合、2) 重複、3) 不適切な使用部位、4) 誤記、等のケースが見付かった。さらに、非医リスト見直しを進めて、基原植物の学名、和名を調査し、同一植物素材に由来するにも関わらず、生薬名と植物名などで、別項目として扱われている品目や別植物でありながら、同一項目にまとめられている品目の整理を行い、抽出された見直し対象品目について、今後の作業の方向づけを行った。

E. 研究発表 論文発表等

- 1) Goda, Y.: New labeling system of health food products and what needs to be

- addressed for quality control. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **56**: J135-J138 (2015).
- 2) Goda, Y.: New labeling system of health food products and quality of health food. *Pharmaceutics (Yakuzaigaku)*, **75**: 170-176 (2015).
 - 3) 合田幸広, 機能性表示食品の品質保証の確認は? 重要となる分析法の公開, *I.Bヘルスケア*, 29(1), 6 (2016).
 - 4) 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).
 - 5) 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).
 - 6) N. Sato-Masumoto, T. Uchikura, H. Sugiwaki, M. Yoshimura, S. Masada, T. Atsumi, M. Watanabe, N. Tanaka, N. Uchiyama, Y. Amakura, T. Hakamatsuka. Survey on the original plant species of crude drugs distributed as *Cynanchi Wilfordii Radix* and its related crude drugs in the Korean and Chinese markets. *Biol. Pharm. Bull.*, **40**, 1693-1699 (2017).
 - 7) 合田幸広: 機能性表示食品(届出企業)に求められる品質保証の考え方, *薬理と治療*, **45**(11), 1751-1753 (2017).
 - 8) 合田幸広: 薬用植物の規制と食薬区分機能性, *アグリバイオ* **28**(2), 28-32 (2018).
 - 9) Tokumoto, H., Shimomura, H., Hakamatsuka, T., Ozeki, Y. and Goda, Y.: Fluorescence coupled with macro and microscopic examinations of morphological phenotype give key characteristics for identification of crude drugs derived from scorpions. *Biol. Pharm. Bull.*, **41**, 510-523 (2018).
- 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, 第109回日本食品衛生学会学術講演会, 東京 (2015.5)
 - 2) 合田幸広, 健康食品の分析から見えてきた品質に関する課題と, 機能性表示食品について試験検査センターで出来ること, 平成27年度日本薬剤師会試験検査センター連絡協議会講演会, 高崎 (2015.6)
 - 3) Goda, Y., Experience in Japan: Analysis and identification of illegal constituents in health food products implicitly advertizing tonic or slimming effect in the National Institute of Health Sciences, International Conference on Illegal Medicines and Adulterated Dietary Supplements, Taipei (2015.9)
 - 4) 合田幸広, 食薬区分と違法ドラッグ, 漢方薬・生薬認定薬剤師研修会, 東京 (2015.9)
 - 5) 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 (2015.11)
 - 6) 袴塚高志, 無承認無許可医薬品と食薬区分について, 茨城県薬剤師会検査センター医薬品研修会, 水戸 (2015.10)
 - 7) 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).
 - 8) 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).
 - 9) 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).
 - 10) 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).
 - 11) 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）
- 12) 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）
- 13) 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）.
- 14) 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）.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 合田幸広，機能性表示食品の品質保証について，IFIA（国際食品素材/添加物会議）Japan 2017 会議棟セミナー，東京（2017.5）.
- 18) 合田幸広，機能性表示食品（届出企業）に求められる品質保証の考え方，メディカルライター協会セミナー，東京（2017.7）.
- 19) 合田幸広，機能性関与成分の定義を考える，日本アントシアニン研究会第 6 回研究会，東京（2017.7）.
- 20) 合田幸広，機能性表示食品の品質保証について 1，JADMA セミナー（2017.7）.
- 21) 合田幸広，機能性表示食品の品質保証について 2，JADMA セミナー（2017.8）.
- 22) 合田幸広，機能性表示食品の表示と機能性表示食品，日本食品化学学会第 33 回食品化学シンポジウム（2017.10）
- 23) 後藤佑斗ら，国内及びアメリカ市場で流通するカツアバ製品の基原種について，日本薬学会第 138 年会，2018 年，3 月，金沢（2018.3.）
- 新聞報道等
- 1) 合田幸広，機能性表示食品の最大の課題は，品質保証，日経バイオテク，2015 年 11 月 23 日
- 2) 機能性表示食品，最大の課題は品質保証だ，FOOCOM.NET，合田幸広・国立医薬品食品衛生研究所薬品部長インタビュー，2015 年 12 月 7 日
- 3) 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

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
H. Tokumoto, H. Shimomura, T. Hakamatsuka, Y. Ozeki, Y. Goda	Fluorescence coupled with macro and microscopic examinations of morphological phenotype give key characteristics for identification of crude drugs derived from scorpions.	<i>Biol. Pharm. Bull.</i>	41(4)	510-523	2018
合田 幸広	薬用植物の規制と食薬区分	アグリバイオ	2(1)	28-32	2018
合田 幸広	機能性表示食品（届出企業）に求められる品質保証の考え方	薬理と治療	45(11)	1751-1753	2017
N. Sato-Masumoto, T. Uchikura, H. Sugiwaki, M. Yoshimura, S. Masada, T. Atsumi, M. Watanabe, N. Tanaka, N. Uchiyama, Y. Amakura, T. Hakamatsuka.	Survey on the original plant species of crude drugs distributed as <i>Cynanchi Wilfordii Radix</i> and its related crude drugs in the Korean and Chinese markets.	<i>Biol. Pharm. Bull.</i>	40	1693-1699	2017
H. Katsui, S. Sugimoto, K. Matsunami, H. Otsuka, S. Lhi eo chaiphant	Lignan diesters of canangafruticoside A from the leaves of <i>Cananga odorata</i> var. <i>odorata</i> .	<i>Chem. Pharm. Bull.</i>	65	97-101	2017
H. Tokumoto, H. Shimomura, T. Hakamatsuka, Y. Ozeki, Y. Goda	Detection of <i>Nicotiana tabacum</i> leaf contamination in pharmaceutical products.	<i>Biol. Pharm. Bull.</i>	39	1263-1272	2016
合田 幸広	機能性表示食品制度の行方ー関与成分検討会を振り返る	I.Bヘルスケア	40(12)	8	2016
合田 幸広	機能性表示食品の品質保証の確認は？重要となる分析法の公開	I.Bヘルスケア	29(1)	6	2016
Goda, Y.	New labeling system of health food products and what needs to be addressed for quality control.	<i>Shokuhin Eiseigaku Zasshi</i>	56(4)	J135-J138	2015

Goda, Y.	New labeling system of health food products and quality of health food.	<i>Pharmaceutics (Yakuzaigaku)</i>	75(3)	170-176	2015
合田 幸広	機能性表示食品の最大の課題は、品質保証	日経バイオテク	11月23日		2015

その他 新聞報道

発表者氏名	タイトル名	発表紙名	巻号	ページ	発行年
袴塚 高志	生薬・漢方関連の最近の話題 (2)	薬事日報	11824	4	2016
合田 幸広	機能性表示食品、最大の課題は品質保証だ 合田幸広・国立医薬品食品衛生研究所薬品部長インタビュー"	FOOCOM. NET	12月7日	-	2015

5

薬用植物の規制と食薬区分

Regulation of medicinal plants and the borderline of pharmaceuticals to non-pharmaceuticals in Japan

こうだ ゆきひろ
合田 幸広

国立医薬品食品衛生研究所 薬品部長



合田 幸広

1980年 東京大学薬学部卒業
'85年 同 大学大学院薬学系研究
科博士課程修了
'86年 国立衛生試験所（現国立
医薬品食品衛生研究所）
食品添加物 研究員
'96年 同所食品部 第三室長
2001年 同所 生薬部長
'13年 同所 薬品部長、現在に
至る

Key words : 食薬区分, 薬用植物, 機能性表示食品

Abstract: 日本で広く薬用植物を適切に利用するには、薬用植物の規制として最も重要と考えられる、「食薬区分」を良く理解する必要がある。特に、強い生理活性成分を含む薬用植物の場合、成分本質だけで一義的に医薬品と判断される「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」に記載されるかどうか、事前に厚労省の判断を受けておくことが重要となる。

はじめに

薬機法第2条の定義によれば、医薬品とは、「(1) 日本薬局方に収められている物、(2) 人又は動物の疾病の診断、治療又は予防に使用されることが目的とされている物であって、機械器具等（機械器具、歯科材料、医療用品、衛生用品並びにプログラム（電子計算機に対する指令であって、一の結果を得ることができるように組み合わせられたものをいう。以下同じ。）及びこれを記録した記録媒体をいう。以下同じ。）でないもの（医薬部外品及び再生医療等製品を除く。）、(3) 人又は動物の身体の構造又は機能に影響を及ぼすことが目的とされている物であって、機械器具等でないもの

（医薬部外品、化粧品及び再生医療等製品を除く。）」となっている。

一方、薬用植物とは、「広辞苑」によれば、「医薬として用い、医薬の原料とする植物。日本薬局方に収載されているもの。古来漢方で用いるもの。民間で用いるものなどがある。薬草」と定義されている。ここで「医薬」という言葉がくせ者で、後者に民間で用いるものも含むことを鑑みると、医薬品として国が正式に認めていない（薬機法の定義に合わない）、民間薬も含むことになろう。さらに、天然物化学的にもう少し幅広に捉えれば、薬用植物とは、植物のなかで全体あるいはその一部分が、人（あるいは他の動物に対して）なんらかの薬効を有する物（あるいは有する

Yukihiro Goda : Head, Division of Drugs, National Institute of Health Sciences

と信じられている物)と考えることができよう。本稿では、レギュラトリーサイエンス(科学的規制のための科学)の研究者の立場から、この広義な薬用植物の利用に密接に関連する規制について概説する。

薬用植物研究は、知の地平線を広げるための理学部的なサイエンス(nature science)だけでなく、薬用植物を何らかに利用するために行うもの、即ちservice scienceを目指したものが多いためと考えるが、その際には、所謂「食薬区分」の概念を良く理解しておくことが重要である。食品衛生法では、食品とは上記薬機法に規定する医薬品(及び医薬部外品)以外の全ての飲食物であると規定している。従って日本では、飲食物は食品衛生法か薬機法のどちらかで規制され、それぞれ食品と医薬品に分類される。この法的な規制の境界線を「食薬区分」と言う。

ヒトには自由権があり、何を食べようが自由であるがため、食品の規制は、危険物以外比較的ゆるやかである。一方で、医薬品は、人又は動物の身体の構造又は機能に影響を及ぼすものであるため、厳しい規制がかかる。もし、薬用植物の研究を行っても、その出口が食品であるか、薬品であるかで、出口に至る道りは大きくことなる。また、薬用植物の出口には、外用としての使用を目的としたものがある。この場合、化粧品や医薬部外品を出口とする場合が多いと推定するが、これらのものは薬機法の規制をうけることになる。

1. 食薬区分の概要

食薬区分は、区分の四要素と言われる成分本質(原材料)、表示(効能効果)、形状(剂

形)、用法用量で判断される。このうち、成分本質だけで一義的に医薬品と判断されるものは、局長通知の別添である「専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)リスト」(医薬品の範囲に関する基準の一部改正について、平成28年10月12日 薬食発第1012第1号)に記載されている。現在、全327成分、うち植物由来236成分(センナ葉、マオウなど)、動物由来21成分(蛇毒、センソなど)、その他70成分(アスピリン、バルデナフィルなど)が同リストに記載され、別に成分本質だけでは一義的には医薬品と判断しない、いわゆる「非医リスト」も例示されている。これらのリストに記載されていない成分本質は、厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課(監麻課)に、判断を求めることができ、これらの判断は定期的に公表されることになっている。

成分本質だけで一義的に医薬品となるものは、リスト化されその考え方も、以下のように公表されている。

「専ら医薬品として使用される

成分本質(原材料)リスト」*の考え方

(1) 専ら医薬品としての使用実態のある物。

解熱鎮痛消炎剤、ホルモン、抗生物質、消化酵素等専ら医薬品として使用される物。

(2) (1)以外の動植物由来物(抽出物を含む。), 化学的合成品等であって、次のいずれかに該当する物。ただし、一般に食品として飲食に供されている物を除く。

- ① 毒性の強いアルカロイド、毒性タンパク等、その他毒劇薬指定成分(別紙参照)に相当する成分を含む物(ただし、食品衛生法で規制される食品等に起因して中毒を起こす植物性自然毒、動物性自然毒等を除く)

- ② 麻薬、向精神薬及び覚せい剤様作用がある物（当該成分及びその構造類似物（当該成分と同様の作用が合理的に予測される物に限る）並びにこれらの原料植物）
- ③ 処方せん医薬品に相当する成分を含む物であって、保健衛生上の観点から医薬品として規制する必要性がある物

注1) ビタミン、ミネラル類及びアミノ酸（別紙参照）を除く。ただし、ビタミン誘導体については、食品衛生法の規定に基づき使用される食品添加物である物を除き、「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」に記載される物とみなす。

注2) 当該成分本質（原材料）が薬理作用の期待できない程度の量で着色、着香等の目的のために使用されているものと認められ、かつ、当該成分本質（原材料）を含有する旨標ぼうしない場合又は当該成分本質（原材料）を含有する旨標ぼうするが、その使用目的を併記する場合等総合的に判断して医薬品と認識されるおそれがないことが明らかな場合には、「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」に記載されていても、医薬品とみなさない。

注3) 「医薬品の効能効果を標ぼうしない限り食品と認められる成分本質（原材料）リスト」に記載されている原材料であっても、水、エタノール以外の溶媒による抽出を行った場合には、当該抽出成分について、上記の考え方に基づいて再度検討を行い、「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」に記載すべきかどうか評価する。

食薬区分において、専ら医薬品成分本質（原材料）（以下、専ら医薬品）を含む飲食物は、基本的に医薬品として判断される。ここで、気をつけなくてはならないのは、実際に医薬品として使用されていない成分本質であったとしても、上記の条件に合えば、専ら医薬品成分と判断されリストに記載されることである。

2. 日本薬局方と食薬区分

前述のように薬機法では、第2条に「日本薬局方に収められている物」を医薬品として定義している。従って、日本薬局方に記載されている生薬は、当然医薬品と考えられる。ところが、食薬区分では、多くの生薬が、「医薬品の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」に挙げられ、効能効果を標榜しない限り食品として流通することが認められている。これは、医薬品として扱うかどうかの判断が、前述の区分の四要素によってなされ、成分本質だけではないことによる。

実際には、食薬区分で専ら医薬品とされた生薬は、日本薬局方（及び日本薬局方外生薬規格）に規格が記載されたものの5割弱しかない。サイコやシコンのような、専ら医薬品指定された生薬は、物としての出口が医薬品しかないと、当然ながら、その品質は日本薬局方規格を満たしている必要がある。

一方、医薬品の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）リストにも、カンゾウ、オタネニンジン（ニンジン）といった多数の重要な生薬が示されており、前述の「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」の考え方に示された判断基

準 (1) (P.29 リスト参照) のみで、食薬区分がなされているわけではないことが良く判る。

カンゾウの場合、日本薬局方に記載されており、また最も重要な生薬のひとつであるが、食品添加物である甘味料としてもよく使われている。また、食品である薬膳にも使用される。従って、カンゾウの場合、医薬品目的で使用される際には、医薬品、添加物目的で使われる時は、食品添加物、食品の構成成分として存在するときは、食品と考える。一方で、葛根湯の構成生薬として有名なカッコンには (2) に対応する成分は、入っていないと考えられるが、日本では、医薬品原材料として以外使われたことがない。従って、(1) により、専ら医薬品と判断されている。このように、専ら医薬品であるかどうかは、文化的要素も加味されて判断がなされている。

3. 食薬区分の判断例

食薬区分について、誤解してはならないのは、判断基準の (2)-①, (2)-② (P.29 リスト参照) である。此処に示されている判断基準は、医薬品としての使用実態がなくても、人の安全確保のために、成分本質で、ある植物、物質等を、薬機法で取り締まる専ら医薬品 (無承認無許可医薬品) と判断することがある点である。食品衛生法の改正で、食品衛生法によっても、当該食品において、健康被害を生ずるおそれがあるときは、食品衛生上の危害の発生を防止するため、薬事・食品衛生審議会の意見を聴いて、その食品を販売することを禁止することができることになったが、薬機法で無承認無許可医薬品として取り締まる

には、審議会の意見を必要としない。

例えば、ナス科のアユルヴェーダ生薬である Ashwagandha (アシュワガンダ。学名: *Withania somnifera*) 全草であるが、成分として withaferin A (ウィサフェリン A) を含み、同化合物のマウスに対する急性毒性 (ip) LD50 値は 54mg/kgm であり、劇薬成分である。従って、本植物エキスが抽出されて濃縮された場合の危険性を考えて、判断基準 (2)-①により、専ら医薬品としてリスト上に記載されている。従って、本植物を日本で利用しようとするなら、出口は医薬品しかないが、医薬品としての規格が定められているわけではないため、植物そのもの (あるいはそのエキス) を医薬品にするには、新有効成分医薬品としての審査をクリアする必要がある。

また、ハマビシ科の *Peganum harmala* (ハルマラ) の全草は、モノアミン酸化酵素阻害剤であるアルカロイド harmine (ハルミン), harmaline (ハルマリン) を含み、これらの物質は、幻覚作用そのものも引き起こすと言われている。言い換えれば、危険ドラッグ成分の一種といえる。従って、判断基準 (2)-②により、専ら医薬品としてリスト上に記載されている。

4. 食薬区分の注意点

食薬区分において、専ら医薬品成分本質 (原材料) を含む飲食物は、基本的に医薬品として判断される。ただし、薬理作用がなく、また形態が明らかに食品の場合には、ソテツ味噌のように、成分本質として専ら医薬品であるソテツを原材料としていても、非医薬品扱いとなる例外がある。また、「その他」に分類

される。化合物や酵素は、精製度によって判断される。タウリンは専ら医薬品であるが、他方タウリン高含有のカキエキスやしじみエキスは非医薬品となる。ただし、販売の際タウリン含有を積極的に明示すれば、薬機法違反を問われることになる。また、名称にも注意が必要である。ヤマノイモや、ショウガ、ナツメ、ハトムギなど植物名を用いれば、非医薬品となるが、日本薬局方で定義された生薬名、即ちサンヤク、ショウキョウ、タイソウ、ヨクイニンを用いると医薬品となる。

5. 機能性表示食品と食薬区分

機能性表示食品制度は、平成27年にスタートした新しい制度である。機能性表示食品は、これまで存在した特定保健用食品と同様に保健機能食品に含まれるが、特定保健用食品とは異なり、国の審査を必要とせず、企業の責任で、機能性表示食品ガイドライン（直近の改正：平成28年3月31日（消食表第234号））に従って、機能性を表示できる。薬用植物として出口をこの機能性表示食品と考えた場合、事前に対象物について、食薬区分を受け、「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料リスト）」に含まれる成分ではないことを確認しておく必要がある。現行のガイドラインでは、植物エキスそのものは機能性表示成分とはならず、あくまでも、特定の化合物や化合物群が対象となっている。従って、前述のタウリンの場合、食薬区分上専ら医薬品成分とされているので、機能性表示成分とはならない。桑の葉に含まれるデオキシノジリマイシンも同様である。

現在販売されている機能性表示食品には、

ヒハツ由来ピペリンのようにアルカロイドを関与成分として謳っている物がある。ヒハツ（*Piper lognum*）そのものは、食薬区分で既に非医薬品として判断がなされているが、これは、ヒハツが香辛料として使用される使用実態を考えて区分がなされたものと推定される。一方で、ピペリンそのものは食薬区分を受けていないが、物質的には、劇薬相当の有毒アルカロイドであり、判断基準(2)-①(P.29リスト参照)に抵触するものと考えている。今後、機能性表示成分として、植物エキスそのものが認められる方向性は存在するが、その場合であったとしても、このようなアルカロイド含有植物は、製法まで規定したエキスとして、食薬区分の判断を事前にしておく必要があると考える。

おわりに

本稿では、薬用植物の出口を内服用として、レギュラトリーサイエンスの研究者の立場から食薬区分について概説した。対象を外用の化粧品とした場合、全成分表示が求められ、化粧品基準においては「医薬品の成分」の配合が禁止されているが、これは基本的には医薬品として承認されている成分を指しており、専ら医薬品成分とは異なることに注意が必要である。また、化粧品基準では一部を除きホルモンの配合も禁止されているため、ホルモン用作用があるものについても、事前に監麻課に相談することを推奨する。

※「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」（医薬品の範囲に関する基準の一部改正について、平成28年10月12日 薬食発第1012第1号）

TOPICS : 食品情報の信頼性向上のために何をすべきか

機能性表示食品(届出企業)に求められる 品質保証の考え方

国立医薬品食品衛生研究所

合田 幸広

 ライフサイエンス出版

TEL (03) 3664-7900 (代表)

【禁 無断転載・複製】

TOPICS : 食品情報の信頼性向上のために何をすべきか

機能性表示食品(届出企業)に求められる 品質保証の考え方

国立医薬品食品衛生研究所

合田 幸広

1. 品質保証の基本的な考え方

医薬品審査の書類はかなりの厚さがあり、品質、毒性、臨床で構成されている。大まかに言うと品質は薬学、動物試験を行う毒性は獣医、臨床は医師が中心となって効能・効果を見ている。医薬品で何かエビデンスを得るにはこのセットが必要になるが、毒性も臨床も品質が同じでないかぎり議論はできない。だから医薬品審査では最初に品質の審査が行われる。

品質保証の基本は「エビデンスを取得したものと同等の品質を持つ製品が、継続的に販売できるか」ということである。それができなければエビデンスは何の意味もなくなってしまう。また、“同等”には原材料だけではなく、錠剤・カプセルなど製剤上の同等性も含まれている。機能性表示食品のガイドラインでは、機能性関与成分について、「直接的又は間接的な定量確認及び定性確認が可能な成分」と規定されており、量だけでなく定性的に同じかどうかも大事な部分である。

本稿では、品質保証にあたって最低限必要な、基原、含量、崩壊性の三つについて基本的な考えを述べたい。

2. 基原の保証

通常「きげん」というと「起源」という文字が使われるが、「基原」を使用する場合は、生薬と原材料の植物のように、進化が絡まずモノ同士の直接的なつながりが見えるものを言う。基原の同定にはい

くつかの手法があり、外部形態を肉眼や顕微鏡で観察する形態学的同定が基本である。それ以外には成分による同定、遺伝子型による同定があり、品質確保の第一歩として、エビデンスの取られたものと同じ種(species)を使うことが重要である。

健康食品の原材料を分析して基原を同定しても、十数年前は合っているものが3分の2くらいで、あとの3分の1は異なる基原が使われていた。最近はこちらまでひどくはないが、ビルベリーが配合された健康食品のアントシアニンを分析したところ、アントシアニンが検出されなかったり、ビルベリー由来ではないアントシアニンが含まれたりしている結果も報告されている¹⁾。この原因の一つとして分析法にも問題がある。分析にあたっては、機能性関与成分と分析法の関係は1対1対応であるべきで、再現性を確認できるよう分析法は正確に公開されるべきである。

3. 含量の保証

原材料の基原が正しいことがわかれば、次は原材料の定量指標成分の定量となる。定量分析の場合、その分析を行って得られた値が正しいかどうか、バリデーションを取らなければならない。しかし、バリデーションが取られていない分析法で分析されているものがある。公定書にある分析法に従って行えば大丈夫だが、そうでなければ自分でバリデーションを実施しなければならない。消費者庁に提出する書類に必要な試験法を記載する際、同法についてバリデーションが行われていることを確認さ

せる欄が必要だろう。正しいデータを使用することで、エビデンスの取られたものと同じ性能を持つものが市販されている、とはじめて言えるわけで、この観点から、試験法としてより適切な分析法を選択する必要がある。

次に、定量の際に気をつけることとして、定量用の標準物質として、正しい純度のものを使用する必要性が挙げられる。試薬として販売されているものの純度は、クロマトグラフィックな純度表示が高くても、水分やクロマトで検出できない不純物があるため95%ぐらいが普通、悪いと90%ぐらいになる。また、私は過去に2回ほどラベル表示と内容物が異なる試薬を購入したことがあるが、とくに天然物でマイナーな成分は、本当にそのものであるかどうかはわからない。試薬がそのレベルなので、この試薬を使って分析したといっても、その試薬そのものの純度がどうなのかということについては保証されていない。

医薬品の世界では、日本薬局方標準品という、国が法的に保証しているものを使って純度を保証している。たとえばシアニジン-3-O-グルコシドの絶対純度をqNMR法で測ると、成績書の純度は99.0%以上だが、87.2%と出てくる。これを100%として定量すると、含量が10%ドロップする。それに、次に述べる含量のバラツキ、総重量のバラツキなども勘案すると、最後は食品表示法違反になるのではないかということである。

原材料で定量指標成分が規定量以上入っていても、まだ品質保証の問題は安心できない。というのは、薬の世界では含量均一性試験や重量偏差試験があつて、1錠1錠が同じものであつて初めて意味がある。しかしそういう状態ではないのが健康食品の世界である。健康食品の質量のバラツキをこの制度ができる前に調べたところ、商品1錠ずつの重さのバラツキが5%~10%ぐらいあり、下のほうに振れる製品もある。医薬品の場合にはまずありえないが、健康食品では95%ぐらいしか質量がないものもある。さらに、各製品1ロット20粒を取り、均質な粉末として3回試験を実施して、成分の含量の平均値として出すと、含量が10%程度ドロップする製品が容易に見つかる。賦形剤以外の原材料が低かったのか、均一性に問題があったのか原因はわか

らない。実際に機能性表示食品で分析をすると、同じカプセルに入っている含量が120対102という商品も出てくるが、これを見ると混ぜ方が悪かったのではないかと推定される。粉を均一に混ぜるのは非常に大変なため、粉体で含量を調べると20%くらい異なる場合もある。これでは明らかに成分均一性が保たれていない。含量が表示量より少ないというの、もしかすると混ぜ方が悪くて、少ないサンプルばかりだったのかもしれない。メーカーは故意に下げようとしているのではないかもしれないがいろいろなところに問題が出ている。

機能性表示食品制度は善意に基づいてできた制度である。検討会での議論では、善意の制度ではあるが、健康食品メーカーに守っていただいて、あとで試験をしたときに、その試験で間違いが出たら罰しますよ、ということでこの制度は成り立っている。そういうことを考えた場合、従来の健康食品の作り方をしているのであれば、50%くらい増し仕込みをしないと、一番わかりやすい表示量というところで間違いが起きてしまう可能性が考えられる。

次に不純物についての規格も考えなければならない。日本に入ってくるもので、ひどい残留農薬は出てこない。とくにエキス化されているものは、多くの場合はまず問題はない。一方で重金属や砒素の含量はどうだろうか。こういうものが大丈夫だとしても、よくあるのは鉄分が多量に入っている健康食品である。これは規格の問題ではなく、初めから意識していないのかもしれない。これらは肝障害を引き起こす可能性があり、また、特定の危険な不純物の問題やアレルギー物質は入っていないかという問題もある。特定の不純物ではないが、植物薬として有名で、すでに機能性表示食品になっているものにイチョウ葉エキスがある。イチョウ葉エキスの医薬品としての規格は、ビフラボノイドは精製工程で除去すべきとされており、ギンコール酸はアレルギー物質で、変異原性、細胞毒性があり、ヨーロッパ薬局方では5 ppm以下と規定されている。しかし、機能性表示食品はこういうものについて具体的な規定は何もない。

分析関係の問題では、まずバリデーションデータがどこに公開されているのかということが大事である。多くの健康食品メーカーは、食品分析センター

に頼む場合が多いが、食品分析センターに聞いたところ、言われたとおり分析しているだけで、依頼されなければバリデーションまではやりませんと言われたことがある。バリデーションが取られていない試験法は信頼できないので、これもバラツキの原因かもしれない。

4. 崩壊性の保証

含量と不純物の問題がクリアされたなら、次は製剤学的同一性が必要となる。機能性が生じるのは、そもそも錠剤、カプセルの製剤が消化器官で崩壊し、機能性成分が消化器官に溶出して、消化器官で吸収され、機能性成分が血液に溶け込んで機能するからであり、この過程も同等でなければ、機能性もエビデンスを取った時と同等だとは言えない。

製剤学的同等性はバイオアベイラビリティ、すなわち、通常は血中薬物濃度を用いて算出する。その結果、製剤が関与する範囲では治療学的な同等性は同じだということを説明している。しかし、食品の臨床試験で生物学的同等性試験を行うのは大変なので、最低限製剤は崩壊させてください、崩壊しなければエビデンスには全然つながらないですよと主張して、機能性表示食品制度には崩壊試験を義務づけていただいたという経緯がある。

また、最終製品で崩壊性が確認されてもそれで十分ではない。たいていの製品には2年くらいの有効期限があるが、古くなると製品は乾燥して硬くなる。この問題は包装の問題と関係してくる。医薬品の場合、錠剤の外の包装は厳密で、包装がしっかりしているから乾燥もしないし崩壊性も維持される。医薬品は包装と錠剤は製品として一体だが、健康食品ではまだそれは考えられていない(図1)。

5. おわりに

機能性食品の品質でメーカーに望むことをまとめると、まずエビデンスが取られたものを正確に表す名前にすること。基原の保証が確立され、バリデーションが取られた分析法で分析を行い、含量を保証する適切な規格があつて、その場合均一性や不純物の規格に配慮し、使用期限内のすべての時期で少なくとも崩壊試験には適合してください、他の規格も満たしてくださいということになるだろう。食品と

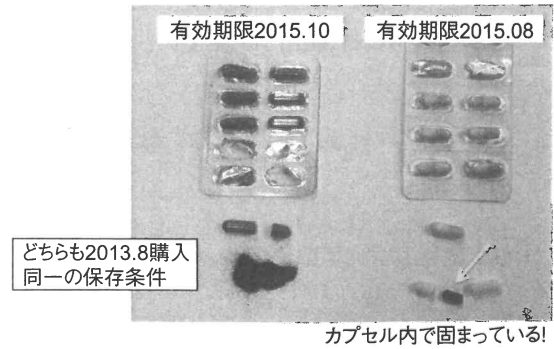


図1 医薬品(左)と健康食品(右、アントシアニン製剤)

いっても、このくらいのことは十分やってほしいと思っ

ている。有効性・安全性と品質を考えた場合、つねに臨床試験でエビデンスの取られたものと同じものを売らない限り効能は言えないだろう。その同じものを売り続けるための品質保証のシステムが必要になる。それが分析法であり、製品の出荷の際に行う試験である。

また、GMPのプロセスがどうなっているかということも大事である。医薬品と同じようなGMPと言うが、食品のGMPは有効性を保証するためのプロセスについて何も書いていない場合が多い。安全性の保証、たとえば髪の毛が入らないとか毒物が入らない等、そういうことを目指した内容は書かれていても、有効性の保証のため、基原をどのように保証し、製剤学的な均一性が保たれているのかということについては書かれておらず、GMPで規定していない場合は試験をしないことになる。

機能性表示食品制度もスタートして2年経ったが、メーカーが正直に真正面を向いて取り組み、お互いに無駄なストレスがない良い制度だと思っている。しかし、あまりひどいことをやっていると、消費者から信用がなくなり、この制度もひっくり返ってしまう。せつかくつくった制度なので、長く続く制度になることを願っている。

文 献

- 1) 日向野太郎, 岡本仁, 植竹厚裕, 明戸孝夫, 袴塚高志, ビルベリー配合食品中のアントシアニン類及びアントシアニン類の分析. 日食化誌2009; 16(2): 60-5.

Regular Article

Survey on the Original Plant Species of Crude Drugs Distributed as *Cynanchi Wilfordii Radix* and Its Related Crude Drugs in the Korean and Chinese Markets

Naoko Sato-Masumoto,^a Takashi Uchikura,^b Hidemi Sugiawaki,^b Morio Yoshimura,^b Sayaka Masada,^a Toshiyuki Atsumi,^c Masato Watanabe,^d Nobuyuki Tanaka,^e Nahoko Uchiyama,*^a Yoshiaki Amakura,^b and Takashi Hakamatsuka^a

^aDivision of Pharmacognosy, Phytochemistry and Narcotics, National Institute of Health Sciences; 1–18–1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158–8501, Japan; ^bDepartment of Pharmacognosy, College of Pharmaceutical Sciences, Matsuyama University; 4–2 Bunkyo-cho, Matsuyama, Ehime 790–8578, Japan; ^cDepartment of Pharmacognosy, School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University of Health and Welfare; 1714–1 Yoshino, Nobeoka, Miyazaki 882–8508, Japan; ^dGraduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University; 5–1 Oe-honmachi, Kumamoto 862–0973, Japan; and ^eDepartment of Botany, National Museum of Nature and Science; 4–1–1 Amakubo, Tsukuba, Ibaraki 305–0005, Japan.

Received March 15, 2017; accepted August 2, 2017

Cynanchi Wilfordii Radix (CWR) is used in Korea as a substitute for *Polygoni Multiflori Radix* (PMR), which is a crude drug traditionally used in East Asian countries. Recently, the use of *Cynanchi Auriculati Radix* (CAR) in place of PMR and CWR has emerged a major concern in the Korean market. In Japan, PMR is permitted to be distributed as a pharmaceutical regulated by the Japanese Pharmacopoeia 17th edition (JP17). Although CWR and CAR have not traditionally been used as medicines, CWR was recently introduced as a health food. The distribution of unfamiliar CWR-containing products could lead to the misuse of original species for PMR and CWR like in Korea. To prevent this situation, the original species of plant products distributed as PMR, CWR, and CAR in the Korean and Chinese markets were surveyed and identified by their genes and components. The results revealed that all two PMR in the Korean market were misapplied as CAR, and that CAR was incorrectly used in eight of thirteen products distributed as CWR in both markets. As PMR is strictly controlled by JP17, the risk of mistaking PMR for CWR and CAR would be low in Japan. In contrast, the less stringent regulation of health food products and the present situation of misidentification of CWR in the Korean and Chinese markets could lead to unexpected health hazards. To ensure the quality and safety of crude drugs, it is important to use the information about the genes and components of these crude drugs.

Key words *Cynanchum wilfordii*; *Cynanchum auriculatum*; *Polygonum multiflorum*; high-performance thin-layer chromatography analysis; genetic polymorphism

Cynanchi Wilfordii Radix (CWR, 白首烏) is defined as the root of *Cynanchum wilfordii* HEMSLEY (Asclepiadaceae) in the Korean Herbal Pharmacopoeia (KHP)¹; in Korea, CWR has been used as a substitute for *Polygoni Multiflori Radix* (PMR, 何首烏). PMR, a root derived from *Polygonum multiflorum* THUNBERG (Polygonaceae), has been traditionally used in East Asian countries for restorative effects, detoxification, and as a laxative. It is listed in the Japanese Pharmacopoeia 17th edition (JP17), the Korean Pharmacopoeia (KP), and the Chinese Pharmacopoeia (CP).

CWR is one of the most commonly used ingredients in health foods in Korea and various CWR-containing products exist for the treatment of menopausal symptoms.² In April 2015, an investigation into CWR-containing products by the Korea Food and Drug Administration revealed that *Cynanchum auriculatum* ROYLE ex WIGHT (Asclepiadaceae) was illegally used for 65% of these products.^{3,4} The roots of *C. auriculatum* have been traditionally used as *Cynanchi Auriculati Radix* (CAR, 耳葉牛皮消) in China, but CAR is now listed as a toxic plant by the U.S. Food and Drug Administration (FDA) because of its ability to initiate miscarriage in female pigs.⁵ Because CAR is similar to CWR, the misuse of CWR and CAR is a well-established problem. To assist in the prevention

of this misuse, a PCR method for distinguishing CWR from CAR has been reported^{6,7} and is prescribed in the KHP.⁸ In addition to this problem, CWR is also sometimes misused as PMR because of the similarity in their Korean names of “*Baek Ha Su O*” and “*Ha Su O*,” respectively.⁹ Thus, the misuse of PMR, CWR, and CAR is a major concern in Korea.

In Japan, PMR is only permitted for use in pharmaceuticals, while classifications of CWR and CAR into pharmaceuticals or non-pharmaceuticals have not been carried out, yet. Therefore, CWR and CAR can be introduced as food materials in the Japanese market although they do not have sufficient history of use in traditional medicines or foods. Indeed, some CWR-containing health foods have already been released in the U.S. market and are likely to be released in the Japanese market in the near future. For example, there is a strong possibility that a clinical study of Japanese people using CWR-containing health foods was for the purpose of obtaining permission to sell these products as “Foods with Function Claims.”¹⁰ At present, there have been no reported cases of the misuse of PMR, CWR, or CAR in Japan, an increased transaction volume of CWR in the Japanese health food market could lead to the risks of the misuse of PMR and CAR that have been seen in Korea. As the abuse of PMR in health foods is illegal and

* To whom correspondence should be addressed. e-mail: nuchiyama@nihs.go.jp

misidentified CWR could cause unexpected health hazards, it is necessary to develop analytical methods to discriminate between PMR, CWR, and CAR.

To ensure the quality of pharmaceuticals containing natural products, the correct original plant species must be used. The importance of quality control at the raw material stage has been indicated not only for pharmaceuticals, but also for health foods containing natural products. In many countries, it has been reported that some health foods appear to contain natural products that are different from the indicated materials.^{11–17)} Considering the possibility of the distribution of health foods containing CWR, an unfamiliar material in Japan, it is necessary to investigate the original plant species of CWR distributed in foreign markets. In this study, we collected crude drugs from the Korean and Chinese markets that have been presented as PMR, CWR, and CAR, analyzed their chemical composition and DNA sequences, and identified their original plant species.

MATERIALS AND METHODS

Materials The market samples presented as PMR, CWR, and CAR are shown in Table 1. Products Ko1–7 were purchased at crude drug stores in the Gyeongdong market (Seoul, Korea), and products Ch1–19 were collected from a Chinese market and provided by Japanese crude drug wholesalers. The herbarium specimens of *C. wilfordii* and *C. auriculatum* were provided by the herbarium of The Kochi Prefectural Makino Botanical Garden (MBK) and the vascular plants herbarium, Department of Botany, National Museum of Nature and Science (TNS), respectively (Table 2). The herbarium acronym follows the Index Herbariorum.¹⁸⁾

Fresh leaves of *P. multiflorum* were supplied by the Takeda Garden for Medicinal Plant Conservation, Kyoto (Takeda Pharmaceutical Co., Osaka, Japan) and the Yamashina Botanical Garden (Nippon Shinyaku Co., Kyoto, Japan) (Table 2). In addition, fresh whole plants were harvested from two sites in Kyushu, Japan for DNA analysis. These plants were morphologically identified as *C. wilfordii* by Dr. Toshiyuki Atsumi,

Kyushu University of Health and Welfare, and Mr. Masato Watanabe, Kumamoto University (Table 2).

DNA Sequence Analysis

Extraction of Total DNA

The weight of the ground roots was measured, and a 20–30-mg portion of tissue was used for DNA extraction. The total DNA of the market products was extracted using a DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, U.S.A.) and QIAcube™ (Qiagen).

Table 1. The Korean and Chinese Market Samples Used in This Study

Product No.	Labeled name	Locality	Market
Ko1	CWR (白首烏)	Unknown	Korea
Ko2	CWR (白首烏)	Korea	
Ko3	CWR (白首烏)	Korea	
Ko4	CWR (白首烏)	Yeongcheon	
Ko5	CWR (白首烏)	Yeongcheon	
Ko6	PMR (何首烏)	Korea	
Ko7	PMR (何首烏)	Korea	
Ch1	PMR (何首烏)	Sichuan	China
Ch2	PMR (何首烏)	Sichuan	
Ch3	CWR (白首烏)	Jiangsu	
Ch4	CAR (異樣牛皮消)	Guangxi	
Ch5	PMR (何首烏)	Sichuan	
Ch6	PMR (何首烏)	Sichuan	
Ch7	PMR (何首烏)	Sichuan	
Ch8	CWR (白首烏)	Guangxi	
Ch9	CWR (白首烏)	Jiangsu	
Ch10	CWR (白首烏)	Jiangsu	
Ch11	CWR (白首烏)	Jiangsu	
Ch12	CWR (白首烏)	Jiangsu	
Ch13	CWR (白首烏)	Jiangsu	
Ch14	CWR (白首烏)	Jiangsu	
Ch15	PMR (何首烏)	Guangxi	
Ch16	PMR (何首烏)	Sichuan	
Ch17	PMR (何首烏)	Sichuan	
Ch18	CAR (耳葉牛皮消)	Jiangsu	
Ch19	CAR (耳葉牛皮消)	Jiangsu	

Table 2. Authentic Plant Samples Used in This Study*

Voucher No.	Identified original species	Source	Sample form	GenBank accession no.		
				ITS	<i>trnL-trnF</i>	<i>trnH-psbA</i>
NIHS-DPP-40001	<i>P. multiflorum</i>	Takeda Garden for Medicinal Plant Conservation, Kyoto (Takeda Pharmaceutical)	Fresh leaves	KY610502	KY610503	—
NIHS-DPP-40002	<i>P. multiflorum</i>	Yamashina Botanical Garden (Nippon Shinyaku)	Fresh leaves	LC217191	LC217192	—
NIHS-DPP-10001	<i>C. wilfordii</i>	Wild (Miyazaki Prefecture, Japan)	Whole plant	LC217193	LC217197	LC217195
NIHS-DPP-10002	<i>C. wilfordii</i>	Wild (Kumamoto Prefecture, Japan)	Whole plant	LC217194	LC217198	LC217196
MBK0147750	<i>C. wilfordii</i>	Herbarium of The Kochi Prefectural Makino Botanical Garden (MBK)	Herbarium	LC217897	LC217909	LC217903
MBK0147752	<i>C. wilfordii</i>		Specimen	LC217898	LC217910	LC217904
MBK0124851	<i>C. wilfordii</i>		LC217899	LC217911	LC217905	
MBK0098266	<i>C. wilfordii</i>		LC217900	LC217912	LC217906	
MBK0104147	<i>C. wilfordii</i>		LC217901	LC217913	LC217907	
MBK0106808	<i>C. wilfordii</i>		LC217902	LC217914	LC217908	
TNS601490	<i>C. auriculatum</i>		Herbarium, Department of Botany, National Museum of Nature and Science (TNS)	Herbarium	LC217915	LC217917
TNS727275	<i>C. auriculatum</i>	Specimen		LC217916	LC217918	—

* The plant species were initially identified based on their morphological characteristics.

Amplification of the Internal Transcribed Spacer (ITS), *trnL-trnF*, and *trnH-psbA* Regions

We amplified the internal transcribed spacer (ITS) region from the nuclear DNA using ITS5a (5'-CCTTATCATTTAGAGAAAGGAG-3') as the forward primer and ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') as the reverse primer.^{19,20} Two other primers, *trnLF-c* (5'-CGAAATCGGTAGACGCTA-3') and *trnLF-f* (5'-ATTGAACTGGTACACGAG-3'), were used for the amplification of the *trnL* (UAA)-*trnF* (GAA) intergenic spacer (*trnL-trnF*) region from chloroplast DNA.²¹ The primer pair of *TrnHf_05* (5'-CGCGCATGGTGGATTACAAATCC-3') and *PsbA3_f* (5'-GTTATGCATGAACGTAATGCTC-3') was also used to amplify the *trnH-psbA* intergenic spacer (*trnH-psbA*) region from chloroplast DNA.^{22,23}

The PCR for the amplification of the ITS, *trnL-trnF* and *trnH-psbA* regions was performed in a reaction mixture of 25 μ L composed of KOD FX Neo (0.5 U; Toyobo, Osaka, Japan), 0.2 mM deoxyribonucleotide triphosphates (dNTPs), 0.2 μ M forward and reverse primers, and DNA template (0.5 μ L). The temperature cycling program for PCR was as follows: initial denaturation at 94°C for 120 s; followed by 31–40 cycles of 98°C for 10 s, 60°C for 30 s, and 68°C for 70 s; and a final elongation at 68°C for 70 s. The amplicon size was confirmed by microchip electrophoresis using a MCE202 MultiNA system (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Sequence Analysis of PCR Amplicons

Amplified PCR products were purified with the use of a MiniElute[®] PCR Purification Kit (Qiagen). Purified DNA sequences were determined by Eurofins Genomics (Tokyo, Japan). The obtained DNA sequences from the herbarium specimens and fresh plants were submitted to GenBank (Table 2). The sequences obtained from the crude drugs were used as queries, and identical sequences were confirmed by analysis with the BLAST algorithm from the GenBank database. We also compared the sequences with those of known plant species, in order to determine their original plant species.

High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC) Analysis

Chemicals and Apparatus

The HPTLC plates used in this study were HPTLC Silica gel 60 F254 glass plates (20×10 cm; Merck, Darmstadt, Germany). HPTLC was performed with Camag HPTLC equipment (Camag, Muttenz, Switzerland) including a TLC sample applicator, Linomat V (Camag), for spraying samples on the plates, and a TLC Visualizer documentation system (Camag) for capturing the HPTLC images. Compounds were detected by UV irradiation (either 254 or 366 nm) and stained by dilute sulfuric acid (10%, prepared with as described in JP17). 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene 2-*O*- β -D-glucoside was purchased from Sigma-Aldrich.

Extraction of the Crude Drugs for HPTLC

Each purchased product was ground, dissolved in methanol (0.5 g ground powder in 5.0 mL solvent), and sonicated for 5 min. The extract was filtered, evaporated to dryness, and then redissolved in 1 mL methanol for HPTLC analysis.

Chromatographic Conditions and Detection

Aliquots (3 or 5 μ L) of each extract were applied on the HPTLC plates as 8-mm wide bands, which were separated from their neighboring bands by a distance of 2 mm. Plates were developed in a TLC chamber saturated with a mobile phase of ethyl acetate–water–methanol–acetic acid

(200:10:10:3). The development length was 7 cm. For the detection of the compounds, HPTLC plates were illuminated with UV 254 and 366 nm, sprayed with dilute sulfuric acid reagent, and heated at 105°C.

RESULTS

Identification of the Original Plant Species of Korean and Chinese Market Products Based on the ITS, *trnH-psbA*, and *trnL-trnF* Regions

Before we analyzed the ITS, *trnH-psbA*, and *trnL-trnF* regions of the market products, we investigated these regions in authentic plant samples of species that were first identified based on their morphological characteristics (Table 2). The ITS regions of the two authentic plants of *P. multiflorum* THUNBERG consisted of 548 nucleotides and showed the highest similarity with that of *P. multiflorum* (GenBank accession no. KR537762) at 99.5–99.8% identity. The *trnL-trnF* regions of these authentic plants consisted of 362 nucleotides and were identical to that of *P. multiflorum* (GenBank accession nos. KJ887075 and EU402461). In the case of the eight authentic plant samples morphologically identified as *C. wilfordii* HEMSLEY, their ITS regions each consisted of 632 nucleotides and showed the highest similarity with that of *C. wilfordii* (GenBank accession no. AY548207), with 99.5–99.8% identity. The *trnH-psbA* and *trnL-trnF* regions of these eight samples consisted of 380 and 322 nucleotides, respectively, and they were identical to those of *C. wilfordii* (GenBank accession nos. KT220733 and JX028243, respectively). Moreover, the ITS and *trnL-trnF* regions of the two authentic plants identified as *C. auriculatum* ROYLE ex WIGHT consisted of 632 and 322 nucleotides, and they were identical to that of *C. auriculatum* (GenBank accession nos. EU580717 and JX028242, respectively). However, it was difficult to analyze the DNA sequences of the *trnH-psbA* regions derived from authentic plants of *P. multiflorum* and *C. auriculatum*.

Our comparison of the same regions among *P. multiflorum*, *C. wilfordii*, and *C. auriculatum* revealed that the regions of *P. multiflorum* were significantly different from those of the other two species. Although the nucleotide identity between *C. wilfordii* and *C. auriculatum* was 99.1% for the ITS and *trnL-trnF* regions, the *trnH-psbA* region of *C. wilfordii* was clearly distinguishable from that of *C. auriculatum* by the size and arrangement of the nucleotides (Supplementary Fig. S1).

The results indicated that these three species could be distinguished by the analysis of their ITS, *trnH-psbA*, and *trnL-trnF* regions. In this study, the original plant species of the Korean and Chinese market products were predicted from the comparisons of their DNA sequences with those from authentic plants (Table 2). However, as *trnH-psbA* regions derived from *P. multiflorum* and *C. auriculatum* could not be obtained, those regions of the market products were compared with the sequences submitted to GenBank.

We first performed DNA sequence analysis on seven products presented as PMR and CWR in the Korean market. Their ITS and *trnL-trnF* and *trnH-psbA* sequences were compared with those of the authentic plant samples to distinguish their original species (Table 3). The results indicated that all regions derived from products Ko6 and Ko7, labelled as PMR, were identical to those from *C. auriculatum* (GenBank accession nos. LC217915, KT220734, and LC217917). The original

plant species of PMR is defined as *P. multiflorum* in the KP and the JP17, which indicated that other species have been mistaken for PMR, such as products Ko6 and Ko7.

Among the Korean market products presented as CWR, products Ko2–5 were thought to be correctly derived from *C. wilfordii*, because their ITS regions shared 99.7–100% identity with the ITS region of *C. wilfordii* (GenBank accession no. LC217897), and their *trnH-psbA* and *trnL-trnF* regions were identical to those of *C. wilfordii* (GenBank accession nos. LC217903 and LC217909, respectively). However, when we randomly selected four blocks from a package of product Ko1 (the other CWR product purchased in the Korean market) for the DNA analysis, the sequences from three of the blocks were similar to those from *C. wilfordii*, and those from the other block were similar to those from *C. auriculatum*, with each sharing 99.7–100% identity. The results suggest that product Ko1, which was labelled as CWR, was contaminated with CAR.

Subsequently, we performed a DNA sequence analysis of 19 products presented as PMR, CWR, and CAR in the Chinese market (Table 3). Several types of ITS and *trnL-trnF* regions were obtained from eight products distributed as PMR (products Ch1, Ch2, Ch5–7, and Ch15–17) and we used the sequences of these products as queries against the GenBank database using the BLAST algorithm in addition to the comparison of the sequences with those of authentic plants (NIHS-DPP-40001 and -40002).

Our findings revealed that all of the ITS and *trnL-trnF* regions derived from the eight market products showed the

highest similarity (99.1–100% identity) with those from *P. multiflorum*. In the case of *P. multiflorum*, several types of DNA sequences have been submitted to GenBank and the nucleotide identity between the two sequences obtained from authentic the *P. multiflorum* used in this study was approximately 99.3%. These results implied that intraspecific mutations were more likely to occur in *P. multiflorum*. We thus concluded that these market products, presented as PMR in China (*i.e.*, products Ch1, Ch2, Ch5–7, and Ch15–17), are derived from the root of *P. multiflorum*, which is defined as the original plant species of PMR.

Among the Chinese market products presented as CWR, the sequences of products Ch3 and Ch8–14 were identical to those of *C. auriculatum*, the original plant species of CAR in the ITS, *trnH-psbA*, and *trnL-trnF* regions. In contrast, the sequences of the ITS, *trnH-psbA*, and *trnL-trnF* regions of product Ch13 (presented as CWR) showed the highest similarity with those of *C. wallichii* (GenBank accession nos. LN896989, LN896868, and LN896761, respectively), with 99.4, 99.7, and 100% identity. Products Ch4 and Ch19, which were distributed as CAR, harbored the same sequences as product Ch13. These results suggest that products Ch4, Ch13, and Ch19 were derived from *Cynanchum* spp. other than *C. wilfordii* and *C. auriculatum*.

The sequences of product Ch18 (presented as CAR) were identical to those of *C. auriculatum*. Our results revealed that no Chinese market product distributed as CWR used in this study was derived from the root of *C. wilfordii*, which is defined as the original plant species of CWR in Korea. DNA

Table 3. The Korean and Chinese Market Products and Their Identified Original Species Based on Their Genetic Sequences

Product No.	Labeled name	Scientific name predicted by labeled name	Identified species based on the genetic sequences
Ko1	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. wilfordii</i> , <i>C. auriculatum</i>
Ko2	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. wilfordii</i>
Ko3	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. wilfordii</i>
Ko4	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. wilfordii</i>
Ko5	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. wilfordii</i>
Ko6	PMR (何首烏)	<i>P. multiflorum</i>	<i>C. auriculatum</i>
Ko7	PMR (何首烏)	<i>P. multiflorum</i>	<i>C. auriculatum</i>
Ch1	PMR (何首烏)	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>
Ch2	PMR (何首烏)	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>
Ch3	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>
Ch4	CAR (異樣牛皮消)	<i>C. auriculatum</i>	<i>Cynanchum</i> spp.
Ch5	PMR (何首烏)	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>
Ch6	PMR (何首烏)	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>
Ch7	PMR (何首烏)	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>
Ch8	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	— ^{a)}
Ch9	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>
Ch10	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>
Ch11	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>
Ch12	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>
Ch13	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>Cynanchum</i> spp.
Ch14	CWR (白首烏)	<i>C. wilfordii</i>	<i>C. auriculatum</i>
Ch15	PMR (何首烏)	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>
Ch16	PMR (何首烏)	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>
Ch17	PMR (何首烏)	<i>P. multiflorum</i>	<i>P. multiflorum</i>
Ch18	CAR (耳葉牛皮消)	<i>C. auriculatum</i>	<i>C. auriculatum</i>
Ch19	CAR (耳葉牛皮消)	<i>C. auriculatum</i>	<i>Cynanchum</i> spp.

Products in which the original species identified by genetic sequences were inconsistent with the species predicted by their labeled names are indicated by a gray background.

a) DNA was not extracted.

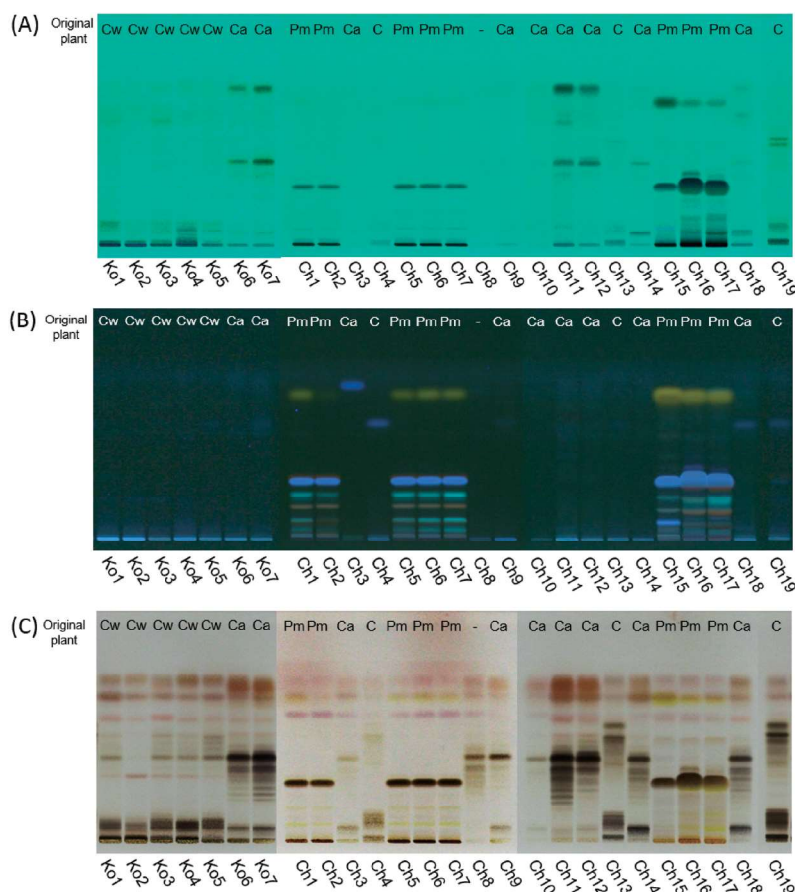


Fig. 1. HPTLC Chromatogram of the Crude Drug Products Available in the Korean and Chinese Markets

HPTLC plates illuminated with UV 254nm (A) and UV 366nm (B), sprayed with a dilute sulfuric acid reagent, and heated at 105°C (C). Pm: *P. multiflorum*, Cw: *C. wilfordii*, Ca: *C. auriculatum*, C: unknown species of genus *Cynanchum*. The extract of *C. wilfordii* was classed as product Ko1, which is a mixture of *C. wilfordii* and *C. auriculatum*.

could not be extracted from product Ch8.

Results of the HPTLC Analysis of the Market Products

The results of the HPTLC analysis of the market products, in which the original plant species were identified by their DNA sequences, are shown in Fig. 1. Products Ch1, Ch2, Ch5–7, and Ch15–17, the original species of which were presumed to be *P. multiflorum*, showed very similar HPTLC separation patterns. Their HPTLC patterns were clearly distinguished from those of other market products derived from *Cynanchum*.

In the identification test for PMR listed in the JP17, a fluorescent bluish white spot detected under ultraviolet light (the main wavelength is 365nm) at an *Rf* value of approximately 0.3 is defined as a characteristic marker; this spot is known to be 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene 2-*O*- β -D-glucoside.^{24,25} This spot was detected in all products predicted to be derived from *P. multiflorum* (Figs. 1, 2), but was not detected in products Ko6 or Ko7, which were identified as derivatives from the root of *C. auriculatum* by their DNA sequences, despite their label of PMR (Fig. 1).

Similar to *P. multiflorum*, the separation patterns of the products derived from *C. wilfordii* (products Ko1–5) were similar to each other in the HPTLC analysis, and they did not correspond to those of *C. auriculatum* (products Ko6, Ko7, Ch3, Ch9–12, Ch14, and Ch18). Further investigations are in progress to identify compounds detected as spots that are specific to each original plant species.

The HPTLC separation patterns of products Ch4, Ch13,

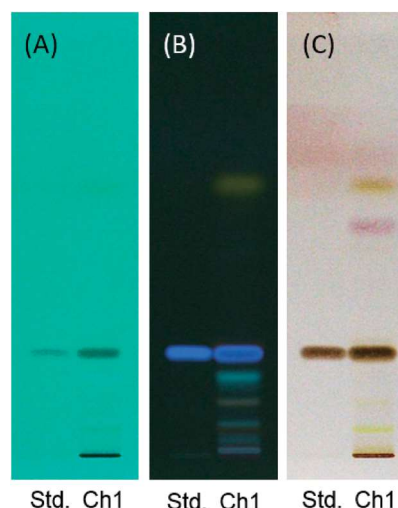


Fig. 2. HPTLC Chromatogram of the Crude Drug Derived from *P. multiflorum* (Product No. Ch1) and an Identification Marker Compound of JP17 Polygona Multiflora Radix

An HPTLC plate was illuminated with UV 254nm (A) or UV 366nm (B), sprayed with a dilute sulfuric acid reagent, and heated at 105°C (C). Std.: 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene 2-*O*- β -D-glucoside, a marker compound for identification of JP17 Polygona Multiflora Radix.

and Ch19, whose species were presumed to be *Cynanchum* spp. other than *C. wilfordii* and *C. auriculatum*, were different from those of the products derived from *C. wilfordii* and *C. auriculatum*. This result supported our DNA analysis that

Table 4. Comparison of Crude Drug Names in Japan, Korea, and China

Scientific names of original plant species	Names of crude drugs		
	Japan	Korea	China
<i>P. multiflorum</i>	Polygoni Multiflori Radix (何首烏) ^{a)}	Polygoni Multiflori Radix (何首烏) ^{b)}	Polygoni Multiflori Radix (何首烏) ^{c)}
<i>C. wilfordii</i>		Cynanchi Wilfordii Radix (白首烏) ^{d)}	Gé shān xiāo (隔山消) ^{e)} Gé shān niú pí xiāo (隔山牛皮消) ^{e)} Bai shou wu (白首烏) ^{e)}
<i>C. auriculatum</i>		I yeob u pi so (耳葉牛皮消) ^{d)} (Cynanchi Auriculati Radix)	Bai shou wu (白首烏) ^{e)} Gé shān xiāo (隔山消) ^{e)}

a) Regulated by the Japanese Pharmacopoeia (JP) 17th edition. b) Regulated by the Korean Pharmacopoeia (KP). c) Regulated by the Chinese Pharmacopoeia (CP). d) Regulated by the Korean Herbal Pharmacopoeia (KHP). e) Described in the Dictionary of the Chinese Traditional Medicines.^{56,27)} Crude drugs listed in JP, KP, KHP, and CP are indicated by a gray background.

confirmed that the original species of products Ch4, Ch13, and Ch19 were neither *C. wilfordii* nor *C. auriculatum*. In this study, the HPTLC separation patterns were different depending on the original species of the products and similar patterns were observed among products derived from the same species. These results indicated that the original species of PMR, CWR, and CAR could be distinguished by their chemical compositions.

DISCUSSION

Our study revealed that some Korean and Chinese market products distributed as CWR were contaminated by roots of *C. auriculatum* and other *Cynanchum* spp., which indicated that the analytical method for discriminating *Cynanchum* species is necessary to prevent the misuse of CWR in Japan. As these species are apparently similar to *C. wilfordii*, a high degree of experience in handling CWR would be required to identify market products by only their morphological features. Most of the previous studies on the quality control of CWR have reported methods for the discrimination of *C. wilfordii* and *C. auriculatum*, the respective original plant species of CWR and CAR. However, in this study, roots of *Cynanchum* spp. that were neither *C. wilfordii* nor *C. auriculatum*, were newly identified in CWR products distributed in the Chinese market (products Ch4, Ch13, and Ch19). More studies are needed to discriminate *C. wilfordii* from other *Cynanchum* spp. grown naturally in China.

One of the reasons why this contamination of the original species for crude drugs occurs is likely to be the ambiguous definitions of CWR and CAR. Unlike *P. multiflorum*, which is defined as the original species for PMR in the JP17, KP, and CP, the corresponding crude drugs of *C. wilfordii* and *C. auriculatum* differ between countries and even between scientific reports. In Korea, CWR is officially defined as the root of *C. wilfordii* by the KHP, whereas the term “白首烏 [bai-shou-wu (CWR)]” can be found in the Dictionary of the Chinese Traditional Medicines, a book that lists crude drugs used in China. This dictionary indicates that the original plant species for 白首烏 is *C. auriculatum* and that “隔山消 [ge-shan-xiao]” is a synonym for 白首烏.²⁶⁾ The roots of *C. wilfordii* are described as “隔山消 [ge-shan-xiao]” and 白首烏 is listed as a synonym for 隔山消 in the same dictionary²⁷⁾ (Table 4). Thus, the distinction between CWR and CAR is unclear in China. Indeed, one scientific study from China reported that both *C. wilfordii* and *C. auriculatum* were the original plant species of

白首烏 [bai-shou-wu].²⁸⁾ Another report stated that all Chinese 白首烏 products were derived from the roots of *C. auriculatum*.⁹⁾ Therefore, it is possible that the quality and the original species of 白首烏 vary by the country of production in Korea or China. In addition, as approximately 30% of the CWR used in Korea are Chinese products,⁹⁾ our present findings revealed that information about the market from which 白首烏 was purchased cannot be used to predict its original plant species.

Unlike CWR and CAR, PMR is permitted only to be as a pharmaceutical in Japan, and its quality is strictly controlled under the JP17. In the present study, a characteristic marker for the identification of PMR listed in the JP17 was detected only in the market products correctly derived from *P. multiflorum* (Fig. 1B). As the crude drugs derived from *Cynanchum* spp. (e.g., products Ko6 and Ko7) are incompatible with the identification of the test criteria for PMR, the distribution of spurious PMR-containing products would be unlikely to occur while the production of PMR is controlled under the JP17.

The establishment of Good Manufacturing Practices for crude materials is desirable for not only pharmaceuticals, but also for health foods containing natural products, in order to ensure the quality and safety of these products under the less stringent regulation.²⁹⁾ When crude drugs with limited circulation in the Japanese market (such as CWR) are used as materials for health foods, it is important to confirm the existence of homonymous drugs and to use information on the genes and components of original plant material in addition to their morphological information.

The discrimination of the original plant species by HPTLC and DNA sequence analysis shown in this study was an effective tool to ensure the quality and safety of products containing crude drugs. Further investigations are in progress to identify the compounds detected as spots that were specific to each original plant species in the HPTLC analyses, and to explore characteristic marker components for a liquid chromatography-mass spectrometry analysis for the determination of the plant species. Additionally, microscopic observation is also underway to identify plant species in our research.

Acknowledgments We are very grateful to Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Uchidawakanyaku Ltd., and Matsuura Yakugyo Co., Ltd. for the provision of crude drugs distributed in the Chinese market. We thank Dr. Hajime Mizukami and Ms. Naoko Shintani of the MBK Herbarium for the provision of herbarium specimens of *C. wilfordii*, and the Takeda Garden for Medicinal Plant Conservation, Kyoto, Takeda Pharma-

ceutical Co., Ltd. and the Yamashina Botanical Garden, Nippon Shinyaku Co., Ltd. for the donation of the fresh leaves of *P. multiflorum*. This work was supported by a Health Labour Sciences Research Grant provided by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

Conflict of Interest The authors declare no conflict of interest.

Supplementary Materials The online version of this article contains supplementary materials.

Supplementary Fig. S1. Alignments of the nucleotide sequences derived from *C. wilfordii* and *C. auriculatum*. (A) ITS region from *C. wilfordii* (Cw, GenBank accession no. LC217897) and *C. auriculatum* (Ca, GenBank accession no. LC217915), (B) *trnH-psbA* region from *C. wilfordii* (Cw, GenBank accession no. LC217903) and *C. auriculatum* (Ca, GenBank accession no. KT220734), (C) *trnL-trnF* region from *C. wilfordii* (Cw, GenBank accession no. LC217909) and *C. auriculatum* (Ca, GenBank accession no. LC217917).

REFERENCES

- 1) Korea Food and Drug Administration. *The Korean Herbal Pharmacopoeia*, p. 98 (2002).
- 2) Chang A, Kwak BY, Yi K, Kim JS. 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 (2012).
- 3) Ministry of Food and Drug safety, Korea.: <<http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=676&seq=27270>>, cited 29 January, 2016.
- 4) Division of Safety Information on Drug and Food, National Institute of Health Sciences. “Foods safety information (Chemical substances) No. 9/2015. p. 22.”: <<http://www.nihs.go.jp/hse/food-info/foodinfonews/2015/foodinfo201509c.pdf>> cited 29 January, 2016.
- 5) U.S. Food and Drug Administration (FDA). “FDA Poisonous Plant Database.”: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/Plantox/Detail.CFM?ID=11513>> cited 29 January, 2016.
- 6) Kim KH, Kim YS, Kim MR, Lee HY, Lee KH, Kim JH, Seong RS, Kang TS, Lee JH, Jang YM. Development of primer sets for the detection of *Polygonum multiflorum*, *Cynanchum wilfordii* and *C. auriculatum*. *J. Food Hyg. Safe.*, **30**, 289–294 (2015).
- 7) Kim MK, Wang H, Kim YJ, Sathiyamoorthy S, Kwon WS, Yang DC. Molecular authentication by multiplex-PCR of three similar medicinal plant species: *Cynanchum wilfordii*, *Cynanchum auriculatum* and *Polygonum multiflorum* (*Fallopia multiflorum*). *J. Med. Plant Res.*, **7**, 2584–2589 (2013).
- 8) Ministry of Food and Drug safety, Korea. The Korean Herbal Pharmacopoeia “*Cynanchi Wilfordii Radix*.”: <http://www.mfds.go.kr/files/upload/herbmed/photo_data/KHP1352.pdf> accessed 29 January, 2016.
- 9) Lee BJ, Lee K. Discrimination and proper use of *Polygoni Multiflori Radix*, *Cynanchi Wilfordii Radix*, and *Cynanchi Auriculati Radix* in Korea: A descriptive review. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2015**, 827380 (2015).
- 10) 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 15 April, 2016.
- 11) Kletter C, Glasl S, Presser A, Werner I, Reznicek G, Narantuya S, Celtek S, Haslinger E, Jurenitsch J. Morphological, chemical and functional analysis of *Catuaba* preparations. *Planta Med.*, **70**, 993–1000 (2004).
- 12) Masada-Atsumi S, Kumeta Y, Takahashi Y, Hakamatsuka T, Goda Y. Evaluation of the botanical origin of black cohosh products by genetic and chemical analyses. *Biol. Pharm. Bull.*, **37**, 454–460 (2014).
- 13) 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).
- 14) Maruyama T, Sugimoto N, Kuroyanagi M, Kim IH, Kamakura H, Kawasaki T, Fujita M, Shimada H, Yamamoto Y, Tada A, Yamazaki T, Goda Y. Authentication and chemical study of *isodonis herba* and *isodonis extracts*. *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 1626–1630 (2007).
- 15) Maruyama T, Kamakura H, Miyai M, Komatsu K, Kawasaki T, Fujita M, Shimada H, Yamamoto Y, Shibata T, Goda Y. Authentication of the traditional medicinal plant *Eleutherococcus senticosus* by DNA and chemical analyses. *Planta Med.*, **74**, 787–789 (2008).
- 16) Goda Y. The safety of health foods and importance of their origin. *Yakugaku Zasshi*, **128**, 837–838 (2008).
- 17) Wakana D, Maruyama T, Kamakura H, Sugimura K, Iida O, Kanai T, Yamaji S, Kimura T, Goda Y. Surveying studies on the botanical source of the herbal materials sold as the *Sida* products based on the genetic and the microscopic features. *Jpn. J. Food Chem. Safety*, **19**, 111–118 (2012).
- 18) Thiers B. (continuously updated). “Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden’s Virtual Herbarium.”: <<http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>>
- 19) White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, pp. 315–322 (1990).
- 20) Downie SR, Katz-Downie DS. A molecular phylogeny of *Apiaceae* subfamily *Apioideae*: Evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Am. J. Bot.*, **83**, 234–251 (1996).
- 21) Taberlet P, Gielly L, Pautou G, Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding region of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.*, **17**, 1105–1109 (1991).
- 22) Sang T, Crawford D, Stuessy T. Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution and biogeography of *Paeonia* (*Paeoniaceae*). *Am. J. Bot.*, **84**, 1120–1136 (1997).
- 23) Tate JA, Simpson BB. Paraphyly of *Tarasa* (*Malvaceae*) and diverse origins of the polyploid species. *Syst. Bot.*, **28**, 723–737 (2003).
- 24) *Japanese crude drugs standards 2014.* (Goda Y, Hakamatsuka T eds.) Jiho Inc., Tokyo, p. 643 (2014).
- 25) *Partner Pharmacognosy* (Second ed.). (Taketani K, Toriizuka K eds.) Nankodo Co., Ltd., p. 374 (2012).
- 26) Nanjing University of Traditional Chinese Medicine ed., *Dictionary of the Chinese Traditional Medicine* (Second ed.) Vol. 1, Shanghai Science and Technology Press, p. 1007 (2006).
- 27) Nanjing University of Traditional Chinese Medicine ed., *Dictionary of the Chinese Traditional Medicine* (Second ed.) Vol. 2, Shanghai Science and Technology Press, p. 3395 (2006).
- 28) Zhang X, Shan L, Huang H, Yang X, Liang X, Xing A, Huang H, Liu X, Su J, Zhang W. Rapid identification of acetophenones in two *Cynanchum* species using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **49**, 715–725 (2009).
- 29) Ministry of Health, Labour and Welfare, “The basic policy of good manufacturing of foods in tablets and capsules, and guideline for voluntary inspection of safety of materials for foods in tablets and capsules.”: <<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2007/07/dl/s0710-5g.pdf>>, accessed 19 January, 2017.

Note

Lignan Diesters of Canangafruticoside A from the Leaves of *Cananga odorata* var. *odorata*

Haruka Katsui,^a Sachiko Sugimoto,^a Katsuyoshi Matsunami,^a Hideaki Otsuka,^{*,a,b} and Sorasak Lhieochaiphant^c

^aDepartment of Pharmacognosy, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University; 1–2–3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734–8553, Japan; ^bFaculty of Pharmacy, Yasuda Women's University; 6–13–1 Yasuhigashi, Asaminami-ku, Hiroshima 731–0153, Japan; and ^cDepartment of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University; 239 Huaw Kaew Road, Chiang Mai 50200, Thailand.

Received July 28, 2016; accepted October 16, 2016

From the leaves of *Cananga odorata* var. *odorata*, three relatively large molecules, namely two aryl naphthalene lignan diesters of canangafruticoside A and one cyclobutane lignan diester of canangafruticoside A, were isolated along with four known compounds. The structures of the new compounds were elucidated based on spectroscopic evidence.

Key words *Cananga odorata* var. *odorata*; Annonaceae; lignan; canangafruticoside A

Parkinson's disease (PD) is a common neurodegenerative disorder. More than 10 genes have been identified as causing familial PD.¹⁾ However, in idiopathic PD, which accounts for over 90% of PD cases, endogenous and exogenous environmental factors are believed to be crucial for the onset of symptoms.^{2,3)} In 1999, Caparros and Elbaz suggested the high prevalence of atypical Parkinsonism in the Caribbean island of Guadeloupe was linked to consumption of Annonaceous fruits and herbal tea prepared from *Annona muricata* and *A. squamosa*.⁴⁾ A related Annonaceous plant, *Cananga odorata*, is used as an herbal medicine for treating fevers and symptoms of malaria,⁵⁾ and ylang-ylang is an essential oil obtained from the flowers of *C. odorata*. This oil has euphoric and sedative effects on the nervous system and its fragrant components have been well analyzed. However, there has been little phytochemical study of the non-oil constituents in *Cananga* species; thus, *Cananga* species attracted our attention. *C. odorata* (LAM.) HOOKER f. & THOMSON var. *odorata* is called fragrant cananga or wild cananga, and megastigmene glucoside has been isolated from this plant.⁶⁾ Further investigation of this plant resulted in the isolation of three relatively large molecules, namely, lignan canangafruticoside A diesters (**1–3**) (Fig. 1), along with one known lignan glucoside, (+)-isolariciresinol 3a-*O*- β -D-glucopyranoside (**4**),⁷⁾ and three known flavonol glycosides, kaempferol 3-*O*-neohesperidoside (**5**),⁸⁾ quercetin 3-*O*-neohesperidoside (**6**),⁹⁾ and 3-*O*-robinoside (**7**).¹⁰⁾ 10-*O*-*p*-Coumaroyl and 10-*O*-caffeoyl esters of canangafruticoside A (**8**), namely canangafruticosides C (**9**) and E (**10**), respectively, which have been isolated from *C. odorata* var. *fruticosa*, were also obtained.¹¹⁾ In this paper, we describe the structural elucidation of these new lignan derivatives by intensive inspection of one- and two-dimensional NMR spectroscopic data.

Results and Discussion

Air-dried leaves of *C. odorata* var. *odorata* were extracted with MeOH three times and the concentrated MeOH extract was partitioned with solvents of increasing polarity. The 1-BuOH-soluble fraction was separated by various chromatographic procedures, including column chromatography (CC)

on a highly porous synthetic resin (Diaion HP-20), normal silica gel and reversed-phase octadecyl silica gel (ODS) CC, droplet counter-current chromatography (DCCC), and HPLC to afford three new compounds (**1–3**) (Fig. 1).

Compound **1** ($[\alpha]_D^{25}+17.5$) was isolated as an amorphous powder and its elemental composition was determined as C₅₀H₆₀O₂₃ by high-resolution (HR) electrospray-ionization (ESI) MS. The IR spectrum exhibited absorptions corresponding to hydroxy groups (3367 cm⁻¹), ester functional groups (1720 cm⁻¹), and aromatic rings (1604, 1513 cm⁻¹). UV absorptions at 286, 311, and 330 also indicated the presence of aromatic rings. The ¹H-NMR spectrum included three singlet aromatic signals (δ_H 6.87, 7.31, 8.29) and two characteristic signals [δ_H 6.89 (2H, d), 7.10 (2H, d)], coupled in an AA'BB' system, along with anomeric protons [δ_H 4.47 (2H)], two sets of *cis*-olefinic protons, and two close aldehyde signals (Table 1). In the ¹³C-NMR, 16 overlapping or binary signals were ob-

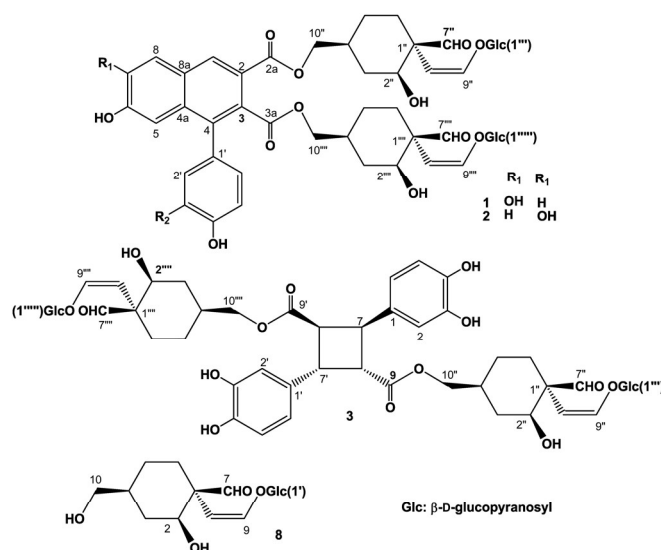


Fig. 1. Structures of New Compounds Isolated and Canangafruticoside A (**8**)

* To whom correspondence should be addressed. e-mail: hotsuka@hiroshima-u.ac.jp; otsuka-h@yasuda-u.ac.jp

Table 1. ¹H-NMR Spectroscopic Data for Compounds **1**, **2**, and **3** (CD₃OD, 400 MHz)

H	1	2	3
1	8.29 s	8.47 s	—
2	—	—	6.74 d 1.1
5	6.87 s	6.94 d 2.2	6.72 d 8.2
6	—	—	6.62 dd 8.1, 1.1
7	—	7.18 d 8.8, 2.2	4.22 m
8	7.31 s	7.93 d 8.8	3.74–3.77 m
2'	7.10 d 8.5	6.74 d 1.5	6.74 d 1.1
3'	6.89 d 8.5	—	—
5'	6.89 d 8.5	6.87 d 8.0	6.72 d 8.2
6'	7.10 d 8.5	6.61 dd 8.0, 1.5	6.62 dd 8.2, 1.1
7'	—	—	4.22 m
8'	—	—	3.74–3.77 m
2'', 2'''	3.74 dd 11.5, 4.1 3.79 m	3.66 m 3.74 m	3.70–3.79 2H m
3'', 3'''	1.25–1.34 2H m 1.79–1.96 2H m	1.42–1.44 2H m 1.96–2.05 2H m	1.09 m, 1.12 m 1.66–1.69 2H m
4'', 4'''	1.95 2H m	1.96–2.05 2H m	1.29–1.32 2H m
5'', 5'''	1.29–1.32 2H m 1.65 2H m	1.36–1.44 2H m 1.67–1.75 2H m	0.98–1.01 2H m 1.22–1.26 2H m
6'', 6'''	1.29–1.32 2H m 2.38 2H m	1.29–1.44 2H m 2.31–2.45 2H m	1.22–1.26 2H m 2.26 m, 2.28 m
7'', 7'''	9.77 s 9.84 s	9.83 s 9.77 s	9.76 s 9.76 s
8'', 8'''	4.59 d 6.6 4.64 d 6.6	4.59 d 6.6 4.63 d 6.6	4.58 d 6.6 4.58 d 6.6
9'', 9'''	6.44 d 6.6 6.47 d 6.6	6.44 d 6.5 6.47 d 6.5	6.43 d 6.6 6.43 d 6.6
10'', 10'''	3.72–3.80 2H m 4.17–4.20 2H m	3.84–3.87 2H m 4.00–4.21 1H m	3.70–3.79 4H m
1'', 1''''	4.47 2H d 7.8	4.49 2H d 7.6	4.48 d 8.2
2'', 2''''	3.25 2H dd 9.1, 7.8	3.26 2H m	3.26 dd 8.9, 8.2
3'', 3''''	3.30–3.31 2H m	3.30–3.32 2H m	3.30–3.32 2H m
4'', 4''''	3.30–3.31 2H m	3.30–3.32 2H m	3.30–3.32 2H m
5'', 5''''	3.35 2H m	3.35 2H m	3.35 2H m
6'', 6''''	3.66 2H dd 12.0, 4.5 3.86 2H dd 12.0, 2.1	3.66 2H dd 11.4, 4.4 3.86 2H dd 11.4, 1.1	3.66 2H dd 11.9, 4.4 3.86 2H dd 11.9, 1.4

served, which resembled those of canangafruticoside A (**8**) or the canangafruticoside A region of an aryldihydronaphthalene lignan dicarboxylic acid diester of canangafruticoside A (**11**) isolated from a related plant, *C. odorata* var. *fruticosa*¹¹) (Table 2). The remaining 16 ¹³C-NMR signals, two of which were of double strength, comprised 14 *sp*² carbons and two carbonyl carbons. Based on these results, the structure of compound **1** was expected to be the aryl-naphthalene lignan dicarboxylic acid diester of canangafruticoside A with a *para*-substituted benzene ring bearing one hydroxy functional group (δ_C 158.3) and the naphthalene skeleton bearing two hydroxy functional groups (δ_C 149.4, 150.9). Because the three aromatic protons appeared as singlets in the ¹H-NMR spectrum, the positions of the two hydroxy groups on the naphthalene skeleton could only be at C-6 and C-7. This was substantiated by the heteronuclear multiple bond correlations (HMBC) between H-1 and C-2a, C-4a and C-8, H-5 and C-4 and C-7, and H-8 and C-1 and C-6 (Fig. 2), and those from H₂-10'' and H₂-10'''' and C-2a and C-3a established the ester linkages between two canangafruticoside A units and the lignan dicarboxylic acid. Therefore, the structure of **1** was assigned as shown in Fig. 1.

Compound **2** ($[\alpha]_D^{25}+12.8$), was isolated as an amorphous

powder and its elemental composition was determined as C₅₀H₆₀O₂₃ by HR-ESI-MS. The IR and UV spectra were similar to those of **1**. The NMR spectra also indicated the presence of two units of canangafruticoside A and 16 *sp*² and two carbonyl carbons. In the ¹H-NMR spectrum, two sets of aromatic protons coupled in an ABX system and one singlet aromatic proton was observed. Thus, the *para*-substituted aromatic ring present in **1** was replaced by a 1,3,4-trisubstituted ring and only one hydroxy group was present on the naphthalene ring. In the HMBC spectrum, H-5 [δ_H 6.94 (d, *J*=2.2 Hz)] showed a correlation cross peak with C-4 and H-8 [δ_H 7.93 (d, *J*=8.8 Hz)] and C-1, and their coupling constants showed that C-7 bears a hydrogen atom. Therefore, the hydroxy group was on C-6 and the structure was elucidated as shown in Fig. 1.

Compound **3** ($[\alpha]_D^{25}+13.5$) was isolated as an amorphous powder and its elemental composition was determined as C₅₀H₆₄O₂₄ by HR-ESI-MS. The IR spectrum of **3** was similar to the spectra of **1** and **2**, and overlapping and binary signals corresponding to two units of canangafruticoside A were also observed in the NMR spectrum. Three aromatic protons signals, each corresponding to two protons, were coupled in an ABX system, and of the remaining 18 ¹³C-NMR signals, 12

Table 2. ¹³C-NMR Spectroscopic Data for Compounds **1**, **2**, and **3** (CD₃OD, 100 MHz)

C	1	2	C	3	8^{a)}
1	130.0	132.1	1	131.96	
2	129.7	138.1	2	115.97	
2a	167.8	167.6	3	146.2	
3	123.1	132.6	4	145.5	
3a	171.8	171.5	5	116.4	
4	137.8	138.0	6	120.19	
4a	130.1	138.1	7	42.5	
5	110.1	109.0	8	48.6	
6	150.9	159.9	9	173.80	
7	149.4	121.2	1'	131.98	
8	112.0	132.4	2'	116.00	
8a	132.1	128.5	3'	146.3	
1'	129.9	129.8	4'	145.6	
2'	132.6	118.9	5'	116.4	
3'	116.0	146.48	6'	120.16	
4'	158.3	146.46	7'	42.5	
5'	116.0	116.3	8'	48.7	
6'	132.6	123.3	9'	173.81	
1'', 1'''	56.23	56.2	1'', 1'''	56.19	56.32
	56.24	56.3		56.24	56.32
2'', 2'''	75.7	75.7	2'', 2'''	75.59	75.5
	75.8	75.8		75.65	75.8
3'', 3'''	35.9	35.92	3'', 3'''	35.7	35.7
	36.0	35.93		35.9	35.9
4'', 4'''	36.9	36.9	4'', 4'''	37.0	37.35
	37.3	37.4		37.0	37.39
5'', 5'''	26.1	26.2	5'', 5'''	25.9	26.0
	26.2	26.3		26.2	26.1
6'', 6'''	31.0	31.1	6'', 6'''	31.06	31.3
	31.1	31.2		31.15	31.4
7'', 7'''	206.9	206.99	7'', 7'''	206.88	206.89
	206.9	207.03		206.9	206.94
8'', 8'''	110.2	110.1	8'', 8'''	110.1	110.17
	110.2	110.2		110.2	110.21
9'', 9'''	146.1	146.1	9'', 9'''	146.0	146.1
	146.3	146.3		146.1	146.2
10'', 10'''	70.4	70.5	10'', 10'''	69.7	69.8
	70.7	70.9		69.9	70.2
1''', 1''''	104.2	104.3	1''', 1''''	104.2	104.3
2''', 2''''	74.6	74.6	2''', 2''''	74.6	74.6
3''', 3''''	78.5	78.5	3''', 3''''	78.5	78.6
4''', 4''''	71.3	71.3	4''', 4''''	71.3	71.3
5''', 5''''	78.0	78.0	5''', 5''''	78.0	78.0
6''', 6''''	62.6	62.7	6''', 6''''	62.6	62.7

a) Canangafruticoside A region of canangafruticoside A diester of arylidihydronaphthalene lignan dicarboxylic acid.⁷⁾

*sp*² carbon signals were assigned to the two 1,3,4-trisubstituted benzene rings, two to carbonyl carbons, and four to methine carbons, indicating a dimeric phenyl propanoid skeleton. The lack of protons demanded one more ring system, and four characteristic methine carbons (δ_C 42.5×2, 48.6, 48.7) can form a cyclobutane ring. The cyclobutane ring can form through the dimerization of phenylpropanoids with a double bond at the 7-position, and the possible stereoisomers of the phenylpropanoids are shown in Fig. 3.¹²⁾ Because the ¹³C-NMR signals for the lignan skeleton appeared as sets, stereoisomers that possess a C₂ symmetric axis (**E**, **F**, **G**, **H**) were eliminated as candidates. Improbable dimerization products between *trans*- and *cis*-phenylpropanoids are so far unknown and these

isomers (**C**, **D**, **I**, **J**) were eliminated. The correlation peaks of H-2 (or 2') and H-6 (or 6') with H-8 and H-8' in the phase-sensitive nuclear Overhauser enhancement spectroscopy eliminated **A**. The remaining two candidates, **B** and **K**, could be formed through the dimerization of *trans*-phenylpropanoids. The ¹³C-NMR chemical shifts reported for truxinic acid, **B** (δ_C 44.6, 45.1, 45.9, 46.2)¹³⁾ do not match those of **3** (Table 2), whereas those of the cyclobutane ring carbons (δ_C 42.1, 42.8, 48.0, 48.7) of shimobashiric acid (**K**), a truxillic acid isolated from *Keiskea japonica*, closely resembled those of **3**.¹⁴⁾ Therefore, the structure of **3** was assigned as shown in Fig. 1.

Three large molecules were isolated from the leaves of *C. odorata* var. *odorata*. The compounds were the arylnaphtha-

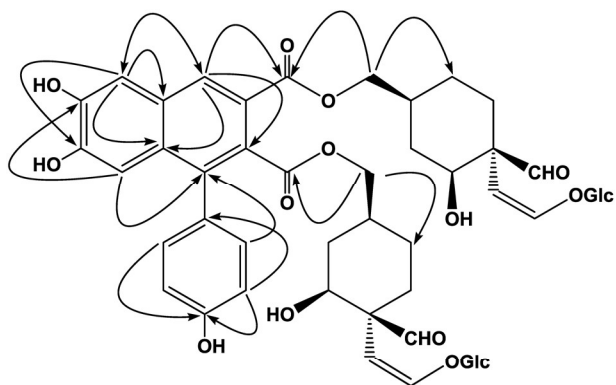


Fig. 2. HMBC Correlations of Compound 1

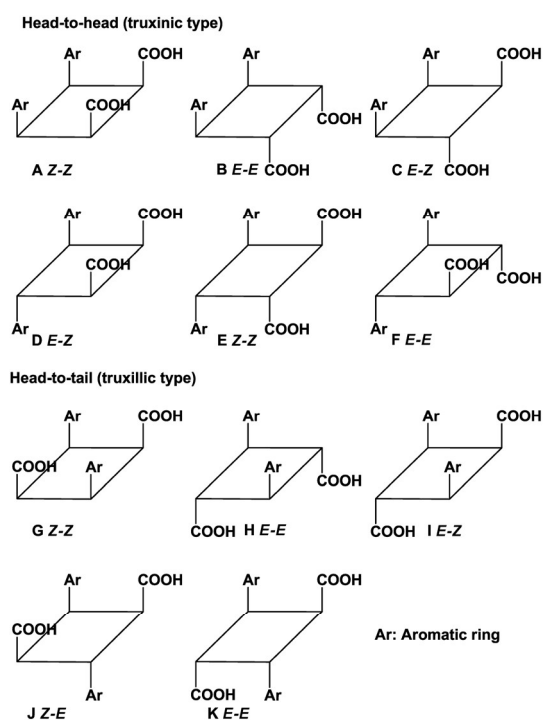


Fig. 3. Possible Isomers of Cyclobutane Derivatives

lene lignan dicarboxylic acid diesters of an unusual monoterpene glucoside, canangafruticoside A (**8**) and a truxillic acid diester of canangafruticoside A. Canangafruticoside A was first isolated from a related species, *C. odorata* var. *fruticosa* and its stereochemistry was extensively examined.¹¹⁾ Because 10-*O*-acyl esters of canangafruticoside A, namely canangafruticosides C and E, were also isolated from the title plant, the stereochemistry of the canangafruticoside A moiety in **1**, **2**, and **3** must be the same as that isolated from *C. odorata* var. *fruticosa*.

Experimental

General Experimental Procedures Optical rotations were measured on a polarimeter (P-1030, JASCO, Tokyo, Japan). IR and UV spectra were measured on IR and UV/Vis spectrophotometers (FT-710, Horiba, Kyoto, Japan and V-520, JASCO, respectively). ¹H- and ¹³C-NMR spectra were recorded on a spectrometer (JNM α -400, JEOL, Tokyo, Japan) at 400 and 100 MHz, respectively, with tetramethylsilane as

an internal standard. Positive-ion HR-ESI-MS was performed by nanospray ESI-TOF-MS (QSTAR XL, Applied Biosystems, Foster City, CA, U.S.A.). Silica gel CC was performed on silica gel 60 (Merck, Darmstadt, Germany; 70–230 mesh), and reversed-phase (ODS) open CC on Cosmosil 75C₁₈-OPN (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan; Φ =50 mm, L =25 cm). DCCC (Tokyo Rikakikai, Tokyo, Japan) used 500 glass columns (Φ =2 mm, L =40 cm), and the lower and upper layers of the solvent mixture CHCl₃–MeOH–H₂O–1-PrOH (9:12:8:2) were used as the mobile and stationary phases, respectively. Fractions (5 g each) were collected and numbered according to their order of elution with the mobile phase. HPLC was performed on an ODS column (Inertsil; GL Sciences Inc., Tokyo, Japan; Φ =6 mm, L =25 cm).

Plant Material Leaves of *C. odorata* var. *odorata* (Annonaceae) were collected in March 2005 from a cultivated plant in the Botanical Garden, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand.

Extraction and Isolation Dried leaves of *C. odorata* var. *odorata* (541 g) were extracted three times with MeOH (4.5 L \times 3) at 25°C for one week each and the total extracts were concentrated to 3 L *in vacuo*. The extracts were washed with *n*-hexane (3 L; hexane-soluble fraction: 20.1 g) and the MeOH layer was concentrated to a gummy mass. The gummy mass was suspended in water (3 L) and then extracted with EtOAc (3 L) to give an EtOAc-soluble fraction (14.0 g), and with 1-BuOH (3 L) to give a 1-BuOH-soluble fraction (27.4 g). The remaining water-layer was concentrated to furnish a water-soluble fraction (70.3 g).

The 1-BuOH-soluble fraction (27.0 g) was subjected to CC (Diaion HP-20, Mitsubishi Kagaku, Tokyo, Japan; Φ =40 mm, L =50 cm), using H₂O–MeOH (4:1, 3 L; 2:3, 3 L; 3:2, 3 L; 1:4, 3 L), and MeOH (3 L), and 500 mL fractions were collected. The residue (8.61 g) in fractions 14–18 (H₂O–MeOH, 2:3, 3:2) was subjected to silica gel CC (250 g) with elution by CHCl₃–MeOH (19:1, 1.5 L; 17:3, 1.5 L; 3:1, 1.5 L) and 300 mL fractions were collected. The residue (2.13 g) in fractions 14–18 was separated by ODS open CC (linear gradient: MeOH–H₂O 1:9, 500 mL \rightarrow 9:1, 500 mL, 10 g fractions), and the residue (282 mg) was subjected to DCCC. The residue (73.4 mg) in fractions 30–34 was purified by HPLC (H₂O–MeOH, 3:2; 1 mL/min) to give **5** (13.4 mg) from the peak at 35 min. The residue (44.7 mg) in fractions 42–48 was purified by HPLC (H₂O–MeOH, 13:7; 1 mL/min) to give **4** (6.5 mg) from the peak at 15 min. The residue (160 mg) in fractions 72–86 obtained on ODS open CC was purified by HPLC (H₂O–MeOH, 11:9; 1 mL/min) to give **10** (33.0 mg) from the peak at 30 min. The residue (636 mg) obtained on silica gel CC was separated by DCCC and the residue (288 mg) in fractions 54–59 was separated by HPLC (H₂O–MeOH, 1:1; 1 mL/min) to afford **6** (16.7 mg), **7** (6.3 mg), **3** (8.1 mg), and **1** (7.0 mg) from the peaks at 12, 22, 39, and 80 min, respectively.

The residue (3.94 g) in fractions 19–22 obtained by Diaion HP-20 CC was subjected to silica gel CC (120 g) with elution by CHCl₃–MeOH (19:1, 800 mL; 9:1, 800 mL; 4:1, 800 mL; 7:3, 800 mL; 3:2, 800 mL) and CHCl₃–MeOH–H₂O (6:4:1, 800 mL), and 100 mL fractions were collected. The residue (0.50 g) in fractions 12–19 was separated by ODS open CC (linear gradient: MeOH–H₂O, 1:9, 600 mL \rightarrow 9:1, 600 mL, 2 g fractions) to give **9** (23.7 mg) in fractions 148–151. The residue in fractions 25–45 (1.49 g) was separated by ODS open CC

(linear gradient: MeOH–H₂O, 1:9, 600 mL→9:1, 600 mL, 2 g fractions), and the residue in fractions 339–352 (140 mg) was purified by HPLC (H₂O–MeOH, 1:1; 1 mL/min) to give **2** (10.2 mg) from the peak at 88 min.

Compound 1

Amorphous powder, $[\alpha]_D^{25}+17.5$ ($c=0.70$, MeOH); IR ν_{\max} (film) cm^{-1} : 3367, 2929, 1720, 1708, 1604, 1513, 1257, 1171, 1074, 1042; UV λ_{\max} (MeOH) nm ($\log \epsilon$): 227 (4.15), 255 (4.26), 286 (3.93), 311 (3.84), 330 (3.79); ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): Table 1; ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz): Table 2; HR-ESI-MS (positive-ion mode) m/z : 1051.3404 [M+Na]⁺ (Calcd for C₅₀H₆₀O₂₃Na: 1051.3418).

Compound 2

Amorphous powder, $[\alpha]_D^{25}+12.8$ ($c=1.02$, MeOH); IR ν_{\max} (film) cm^{-1} : 3384, 2931, 1710, 1654, 1617, 1516, 1437, 1261, 1208, 1075, 1044; UV λ_{\max} (MeOH) nm ($\log \epsilon$): 251 (4.16), 286 (3.95), 309 (3.90), 327 (3.83), 350 (3.41); ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): Table 1; ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz): Table 2; HR-ESI-MS (positive-ion mode) m/z : 1051.3397 [M+Na]⁺ (Calcd for C₅₀H₆₀O₂₃Na: 1051.3418).

Compound 3

Amorphous powder, $[\alpha]_D^{25}+13.5$ ($c=0.81$, MeOH); IR ν_{\max} (film) cm^{-1} : 3367, 2935, 1720, 1708, 1604, 1513, 1444, 1285, 1200, 1075, 1040; UV λ_{\max} (MeOH) nm ($\log \epsilon$): 227 (4.02), 253 (3.78), 286 (3.76); ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): Table 1; ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz): Table 2; HR-ESI-MS (positive-ion mode) m/z : 1071.3650 [M+Na]⁺ (Calcd for C₅₀H₆₄O₂₄Na: 1071.3680).

Sugar Analysis Compounds **1–3** were hydrolyzed with 1 M HCl at 90°C for 2 h. The hydrolysates were analyzed with a chiral detector (OR-2090plus, JASCO) on an amino column [Asahipak NH₂P-50 4E; CH₃CN–H₂O, 4:1, 1 mL/min] to give peaks for D-glucose at 13.7 min. All peaks showed positive optical rotation signs. Peaks were identified by co-chromatography with authentic D-glucose.

Acknowledgments The authors are grateful for access to the superconducting NMR instrument (JNM α -400, JEOL) at the Analytical Center of Molecular Medicine and the nano-spray ESI-MS system (QSTAR XL, Applied Biosystems) at the Analysis Center of Life Science of the Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, the Natural Sci-

ence Center for Basic Research and Development, Hiroshima University. The authors thank the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS)-National Research Council of Thailand (NRCT) Core University Program on Natural Medicine for allowing them to conduct joint work with Thai scientists. This work was financially supported in part by Grants-in-Aid from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan, and JSPS (Nos. 22590006, 23590130, and 15H04651). Thanks are also due to the Astellas Foundation for Research on Medicinal Resources and the Takeda Science Foundation for financial support.

Conflict of Interest The authors declare no conflict of interest.

References

- 1) Shulman J. M., De Jager P. L., Feany M. B., *Annu. Rev. Pathol.*, **6**, 193–222 (2011).
- 2) Allam M. F., Del Castillo A. S., Navajas R. F., *Neurol. Res.*, **27**, 206–208 (2005).
- 3) Shaw C. A., Höglinger G. U., *Neuromolecular Med.*, **10**, 1–9 (2008).
- 4) Caparros-Lefebvre D., Elbaz A., Caribbean Parkinsonism Study Group, *Lancet*, **354**, 281–286 (1999).
- 5) Tan L. T. H., Lee L. H., Yin W. F., Chan C. K., Abdul Kadir H., Chan K. G., Goh B. H., *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2015**, 896314 (2015).
- 6) Matsunami K., Nagashima J., Sugimoto S., Otsuka H., Takeda Y., Lhieochaiphant D., Lhieochaiphant S., *J. Nat. Med.*, **64**, 460–467 (2010).
- 7) Otsuka H., Hirata E., Shinzato T., Takeda Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1084–1086 (2000).
- 8) Ahmad A. S., Nafady A. M., Mansour A. I., *Nat. Prod. Res.*, **13**, 1218–1230 (2009).
- 9) Zhou X., Peng J., Fan G., Wu Y., *J. Chromatogr. A*, **1092**, 216–221 (2005).
- 10) Brasseur T., Angenot L., *Phytochemistry*, **25**, 563–564 (1986).
- 11) Nagashima J., Matsunami K., Otsuka H., Lhieochaiphant D., Lhieochaiphant S., *Phytochemistry*, **71**, 1564–1572 (2010).
- 12) Hartley R. H., Morrison W. H. III, Balza F., Towers G. H. N., *Phytochemistry*, **29**, 3699–3703 (1990).
- 13) Sudo H., Ide T., Otsuka H., Hirata E., Takushi A., Shinzato T., Takeda Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 542–546 (2000).
- 14) Murata T., Miyase T., Yoshizaki F., *Chem. Pharm. Bull.*, **60**, 121–128 (2012).

機能性表示食品制度の行方——関与成分検討会を振り返る

分析方法の公開は必須 関与成分が明確でない受理案件もWGで議論

国立医薬品食品衛生研究所 薬品部長 合田 幸広 氏

さまざまな問題点を あぶり出した

特筆すべき点は、ほとんど見切り発車のようにスタートしてしまった現行の「機能性表示食品」が持つ品質管理面でのさまざまな問題点について、検討会であぶり出され、改善する手立てについて、報告書に組み込んだことだ。

当初より、表示と分析方法は一体であるので、分析法の公開は必須であると筆者は主張してきた。この点について、現行のガイドラインでは非公開となっているものについても、今回の報告書では「原則公開とすることが適当である」という文章を組み込んだことは大きな成果であり、業界団体の委員の方にも、この点をよくわかっていただけたことは、大変よかったと思っている。

次に、「機能性関与成分が明確でない」という言葉に誤解がないように、この場合の機能性関与成分とは「エキスおよび分泌物」と定義し、関与成分と品質管理のための指標成分を区別させ、既に販売されている製品についても「機能性関与成分が明確でない」製品があり、そのような製品で現在、機能性関与成分と称しているものは、品質管理のための指標成分にすぎないという実態の認識を委員全体で共有できたことも成果だ。そのような製品については、今後のワーキンググループでの議論の対象とすることができる点も大きな成果だと考えている。

さらに、機能性表示食品の品質保証とは、エビデンスを取ったものと、同等の製品を継続的に供給していくことであり、原材料の同等性の評価に、定量分析だけでなく、パターン分析が重要で、製剤の同等性として崩壊性、溶出性、均一性も考慮する必要があるといった、製剤学的な考え方も広く委員の方々にご理解いただき、報告書に組み込んだことも特筆すべきことだと考えている。

我々は、健康食品(機能性表示食品を含む)について継続的に分析を行ってきたが、定量用の標準物質は、クロマトグラフィー純度が高くても絶対純度が90~95%程度しかない(5~10%は水分や無機不純物に由来)という実態を明らかにしている。この問題についても、業界団体の方に理解をしていただいたことは、食品分析全体において重要な進歩と言えるだろう。定量分析で、1カプセルでも絶対含量が低ければ、食品表示法違反が問えるわけであるから、この点をよく考えて、今後、製品改良・開発を行ってほしい。

企業が善良であることを念頭に

機能性表示食品制度は、その制度を利用する企業が善良であることを念頭に、時間とコストを削減し、消費者に機能性食品を届ける制度である。筆者は、長く天然物の品質管理についてレギュラトリーサイエンスの立場から関わってきたが、このような



善意を念頭に物事が実施できれば、生産者と消費者の両者に多大なメリットがある。

今回の報告書の最後には「平成27年度に実施した機能性表示食品制度に係る機能性関与成分に関する検証事業における買い上げ調査の結果、機能性表示食品の品質管理上の課題が見られた。本制度は、企業等の責任において届け出る制度であり、消費者の信頼があって初めて成り立ち得る制度である。届出者等には、届出前の届出資料の確認、品質管理、事後的な機能性及び安全性に関する科学的根拠の確認など届出者等自らが倫理観を持って本制度の信頼の確保のために努力することが求められる」と書かれている。

本制度を形骸化させず、真に生産者と消費者の両者にメリットがあるような制度に発展させるためには、生産者側がこの文章を良く理解し、正しいエビデンスに基づいて、適切な品質管理がなされた機能性表示食品を供給していくことが必須である。

機能性表示食品の品質保証の確認は? 重要となる分析法の公開

国立医薬品食品衛生研究所 薬品部長 合田 幸広 氏

第三者が 確認できない現状

機能性表示食品の製品に関する最大の疑問は、品質保証である。どのように品質保証をしているのか。まず、品質保証の根幹をなす機能性関与成分に関する分析法が公開されていないことに疑問を感じる。

筆者の理解では、届出制度というのは性善説に基づいた制度である。機能性関与成分について正しい基原のものが使用され、表示されている量が含まれており、品質管理が適切に行われているかどうかは、分析法が公開されなければ第三者は確認できない。書類上では「品質保証をしっかりと行っています」ということになっていても、科学的にそれを確かめる術がなければ、だれもメーカーの品質保証に疑問を挟むことができない。

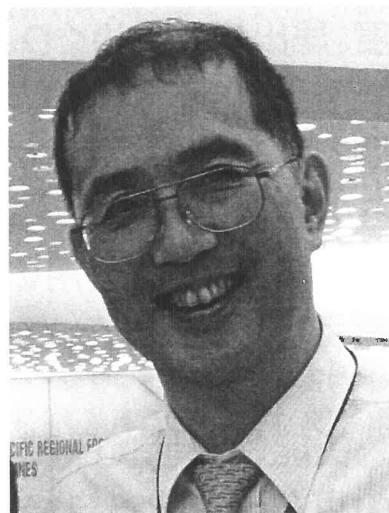
ここで言う品質保証というのは、異物が入っていたり、不潔な商品を買っていたりしていない、ということではない。臨床試験をしたものと、有効性と安全性のエビデンスがとられたものと、同じものが同じように商品として販売されているという品質保証である。

もし、その有効性が多成分系のものに由来するならば、定性的な成分パターンまで、基本的にエビデンスがとられたものと商品は同じである必要がある。また、賞味期限内に商品の中身が、エビデンスをとったものと同じ状態であることを保証する必要がある。

いわゆる健康食品では、間違った基原の天然物が原料として使われている製品がかなりの頻度で見つかっている。さらに、崩壊性が著しく低く、摂取しても有効成分が体内に吸収されそうにない製品や、表示にある成分含量について正確に入っていないものも多い。また、賞味期限内なのに、包装が悪く、通常の保存でカプセル内の粉末が変質してしまうものも多い。こうした問題点が、機能性表示食品において解決されているのかどうか、まったく不明である。届出書類を見ても、原料の品種や菌株まで明記していなかったり、エビデンスがとられたものとの同一性をどのように保証しているのかを含め、品質保証の工程がほとんど書いていなかったりするものもあり、判断できないものが多い。

品質保証にはコストがかかる。しかし、しっかりと品質保証をしなければ機能性を言うべきではない。一般的な食品では、消費者はおいしさなどで、その良し悪しを判断できる。一方、錠剤・カプセルといったサプリメント形態の食品では、消費者は何をもってその良し悪しを判断すればよいのか。

事業者自身がしっかりと品質保証の系を作り、管理することが原則だが、品質保証のための詳しい手法が、そこで行う分析法とともに消費者庁に届けられ、少なくとも、消費者庁が依頼した第三者の分析機関に公開されることが非常に重要である。



る。基原の保証は、入手した原材料の遺伝子で確認しているのか、あるいは定性的なクロマトグラムパターンで確認しているのか、それとも何らかの公定書に従っているのか。また、有効成分の安定性は加速試験で確認しているのか、それとも事前に室温で保存して成分パターンの変化が起こらないことや変質しないことを確認しているのか。これらの試験を行った商品と、現在販売されている商品で製造ラインに変化はないのか。崩壊試験はロットごとで行っているのか、といった点が問われる。

食品分野において昔から、表示は分析法と一体と言う考え方があった。医薬品と違い、義務づけられたGMPと公的な機関の査察がない状態で販売される商品では、分析が品質保証の確認の根幹をなす。食品衛生法では、食品の有効性を保証しない。食品表示法では製品の分析結果に基づいて、メーカーへの信頼が確認される。この点を関係者は良く考え、より良い制度になってくれればと考える。

健康食品の新たな機能性表示と品質に関する課題 (平成27年5月 第109回日本食品衛生学会学術講演会シンポジウム)

合 田 幸 広*

New Labeling System of Health Food Products and What Needs to Be Addressed for Quality Control

Yukihiro GODA

Division of Drugs, National Institute of Health Sciences:
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

1. 緒 言

平成27年度から健康食品に、新たな機能性表示が認められた。6月からは、新しい制度での機能性表示食品が実際に店頭に並ぶことになる。本制度は、国ではなく企業等が自らその科学的根拠を評価したうえで、その旨および機能を表示する制度であり、国が提示したガイドラインに基づき安全性の根拠、生産・製造および品質の管理、健康被害の情報収集体制、機能性の根拠、機能性の内容等について、消費者庁に届けなければ、原則、販売が可能になる。本制度の枠組みは、規制改革会議の指示に基づいて平成25年12月から消費者庁で発足した「食品の新たな機能性表示制度に関する検討会」での議論に基づいて決まったものである。筆者は、この検討会に委員として参加し、そこで現在の健康食品の品質に関する意見書を提出した。本稿では、検討会の意見書の背景となった健康食品の品質を示す実験結果と新たな制度で守られるべき課題について紹介する。

2. 検討会での意見書と背景

第3回検討会では、おもに、安全性に関する品質管理手法について議論がなされた。この検討会に筆者が提出した意見書は、ネット上で公開されているのでご覧いただきたい (<http://www.caa.go.jp/foods/index19.html>)。

3. 健康食品等の基原の分析結果^{1)~16)}

2005年より、筆者の研究グループにおいて健康食品および健康食品の原料について基原を分析してきた。分析結果をまとめたものを表1に示す。

表1で分かるように、102件の検体のうち、基原の正しい68検体(67%)で正しい基原の原材料を使用しているものと考えられたが、残りの34検体のうち、22検体(21%)で、基原の間違った原材料が使用されていたり、

賦形剤しか入っておらず、12検体(12%)は、表示されているもの以外の原材料が加えられていることが分かった。

このような、間違った原材料が使用されているという報告は、われわれ以外でも存在し、例えば、国民生活センターが2008年に行ったコンドロイチン硫酸を原材料と表示した健康食品に関する分析報告でも、16検体中、正しい基原の原材料が使用されているのは10検体(63%)で、残りの6検体中、3検体が間違った原材料、3検体が表示されているもの以外の原材料が使用されていたとされ、われわれの分析結果と、ほぼ同じ結果が得られている。

4. 間違った基原の原材料が使用される原因

これまでの分析結果から、このような基原の間違いは、非意図的に起こるとすれば、大きく分けて3タイプ存在するものと考えられる。すなわち、植物名の表示の問題、採取の際の植物の誤同定、原材料の受け取りの際の検査態勢の不備である。

5. 基原の表示にかかわる問題

原材料の基原は、分類学に基づいた学名(と使用部位)で規定される。生薬では日本薬局方や局方外生薬規格において、学名で基原が規定されるとともに、公的な植物和名が同時に記載されるため、原料植物に対する混乱が起りにくい。また、古来より日本で生育してきた植物には、標準和名があり、和名でその植物をある程度規定できる場合が多い。他方、健康食品の場合、原材料について学名で規定するというルールがないだけでなく、外来植物や、外国産の植物が原材料になっている場合が多い。したがって、表示に用いられる植物名は、原材料の導入者が、その都度販売目的で正当な根拠なく付ける場合が見られる。また植物和名と生薬名も、混同しやすく、健康食品の表示では、よく混乱が生じている。例えば、植物和名ウコン(*Curcuma longa*)は、生薬名もウコンであり、これらは局方で規定されているが、健康食品では、別植物であるハル

* 国立医薬品食品衛生研究所薬品部: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

表1. 健康食品等（医薬品と規制されているものを除く）の基原の分析結果

分析対象物	分析方法	分析年	分析数	正品	混合物	完全偽品	正品割合 (%)
プエラリア (健康食品) ⁴⁾	遺伝子, 成分	2005	17	6	2	9	35
コンドロイチン硫酸 (健康食品) ⁵⁾	成分	2005	12	10	0	2	83
春ウコン (<i>C. aromatica</i>) (健康食品) ⁶⁾	遺伝子, 形態	2006	2	1	0	1	50
エンメイソウ (生薬・健康食品原料) ⁷⁾	遺伝子, 成分	2006	2	1	Hybrid 1	0	50
ブラックコホッシュ (健康食品) ^{8),9)}	遺伝子, 成分	2008	16	11	1	4	69
<i>Sida</i> 属植物 (健康食品原料) ¹⁰⁾	遺伝子, 形態	2009	11	5 ^{*1}	1	5	50
ビルベリー (健康食品) ¹¹⁾	成分	2009	7	3 ^{*2}	3	1	43
イチョウバ (健康食品) ^{12),13)}	成分	2009	16	13 ^{*2}	3	0	81
シャタバリ (健康食品) ^{14),15)}	遺伝子, 成分	2011	11	11	0	0	100
チェストツリー (健康食品) ¹⁶⁾	遺伝子, 成分	2012	8	7	1	0	88
合計			102	68	12	22	67

*1 同属であれば正品とした。*2 劣化品を含む。

ウコン (*C. aromatica*) と区別するためアキウコンやクスリウコンと呼称する場合が多い。このような名称の混乱も、表示と中身が一致しない原因の1つであるものと考えられる。

6. 採取の際の植物の誤同定

われわれの研究において、健康食品の原材料として使用される可能性のある植物として、*Sida* 属植物を商社を通じて輸入した。表1に示したように、11検体について調査したところ、基原植物が表示と一致していたのは2検体、表示と種は一致していないが属は一致したもの3検体（ここまで正品とした）、複数の基原の混合物でその中に *Sida* 属植物が検出されたもの2検体、完全に基原が間違っていたもの4検体（1検体は僅かに *Sida* 属植物を含む）であった。*Sida* 属植物の形態学的同定は、比較的難しいため、この場合、採取時、間違っただけで採取したものが、そのまま *Sida* 属植物として商社を通じて輸入されたものと推定される。

このように、天然物の場合、一部の商品は採取で入手されるため、最初の採取者が誤同定してしまうと、最終的な製品も間違っただけの基原のものを含むことになる。このような間違いを防ぐには、原材料の受け入れ試験（鑑別）が重要となる。生薬を使用して生産される医薬品の場合、生薬の鑑別能力があり、生薬の取り扱いを熟知している生薬の専門家を生薬管理責任者として置かなくてはならず、生薬に関する品質確保には、この者が責任を負うことになっている。このような専門家は、形態学的な知識に加えて、化学的な成分分析結果、時には遺伝子による分析結果を組み合わせ、正しい基原を同定し基原の間違った原材料が混入することを防ぐが、健康食品分野では、このような制度はない。

基原の間違いを防ぐには、もう1つの方法がある。これは、GAP (Good Agricultural Practice) 管理された農場で生産された原材料を使用することで、この場合には、種苗から、原材料の生産段階を管理できるため、間違っただけの原材料を使用する可能性は非常に低くなる。

7. 原材料受け取りの際の検査態勢の不備

前述したコンドロイチン硫酸の場合、国民生活センターの分析で、基原が表示されたサメでないと指摘を受けた会社があり、その会社から、筆者に次のような説明があった。その会社では「受け取りの際に、紙媒体で基原を確認しているだけでなく、原材料の製造現場まで行って基原を確認している。したがって、センターの分析根拠が間違っているのではないか。」そこで筆者は、「もし御社の製品が、本当にサメ由来のものであるなら、それは、構成成分の構造から、天然物化学的に大発見であり、多分、御社は、原材料の供給会社にだまされているのではないか。原材料受け取りの際、基原が分かるような受け取り規格を作って、分析を行うことが重要」と説明した。グローバル化して、食品偽造が頻繁に行われる可能性がある現代では、最終製品の製造会社に適切な分析法がないと、悪意のある中間業者から、簡単に、より安価な原材料をつかまされてしまう。錠剤やカプセルの原材料は、すでに、粉末化やエキス化されているため、このような問題を引き起こさないためには、成分レベルで正しい基原を判別できる手法を事前に確立しておくことが重要となる。

8. 基原以外の問題

これまで述べてきたように、健康食品の品質には、原材料の基原の間違いだけでなく、意図的な未表示原材料の問題、保存劣化の問題、成分の多様性の問題、成分含量の問題など、多様な問題が存在する。生鮮食品や明らか食品（加工品であるが、明らかに食品の形態をしたもの）では、消費者は、これまでの経験に基づく五感による判断や、味覚の好き嫌いで、良好な（例えば、新鮮な）、使用者にあった商品を選択することができる。しかし、錠剤やカプセル状の形態の場合、消費者は、その表示と販売者等の提供する広告等の情報に基づいてしか、その良否を判断することができない。したがって、原材料の基原の間違いをはじめとする、ここに挙げた問題は、消費者のレベルでは簡単には避けることができない。

このようなことを考えたとき、さらに重要な問題がある

ことに気がついた。それは、錠剤・カプセルの崩壊性、溶出性の問題である。経口医薬品では、成分の安全性と有効性を保証するため、製剤の規格として、少なくとも溶出試験が課されている。また、医療上の効果を上げるため、製剤にさまざまな工夫がなされたうえで、厳しい品質規格が定められ、製造管理がなされている。また、これらに違反すれば、薬機法違反として、罰せられることになる。したがって、同じ名前の製品であれば、常に同じように、効くことが保証される。

一方、健康食品の場合には、安全性は、食品衛生法の規定の範囲内で規制されているが、もともと有効性を表示できないこともあり、崩壊性といった製品規格や、製造管理において、強制力のある規定はない。このような背景があるため、医薬品とは異なり、崩壊しない製品があるのではないかと思ひ、日本薬局方の規定に従い、イチヨウバ、チェストツリー、グルコサミンを含む32製品について崩壊試験を実施した。

9. 崩壊試験の結果¹⁷⁾

崩壊試験は、日本薬局方に準拠して行った。チェストツリー製品の場合、ヨーロッパで医薬品として販売されている3製品は、すべて試験に適合したが、健康食品（素錠、フィルムコーティング錠、ハードカプセル）では、8製品中2製品が不適合となった。イチヨウバにおいても、医薬品として販売されている5製品はすべて試験に適合したが、健康食品（素錠、フィルムコーティング錠、ソフトカプセル、ハードカプセル）では、10製品中5製品が不適合となった。さらに、グルコサミン（素錠、フィルムコーティング錠）では、健康食品14製品中9製品が不適合となった。これらを合計すると、健康食品では32製品中、16製品が不適合と、50%が規定時間内に崩壊しないという結果となった。

国民生活センターでも、コンドロイチン硫酸を含む健康食品18製品（カプセル17、錠剤1）について、水に対する崩壊試験を実施したところ、カプセルの9製品では、規定時間内に崩壊しないことが報告された。また、 α -リポ酸での試験では17銘柄中5製品で、高麗人参での試験では8製品中3製品で、崩壊試験不適合との報告がなされており、全体の40%の製品で不適合との結果が示され、われわれの結果を支持するものであった。

大手の食品会社や、大手の健康食品会社の製品でも、崩壊試験不適合の製品が見られたため、大手の食品会社の関係者に崩壊試験を行っていないのか、個人的に問い合わせたところ、自社で出荷前に崩壊試験を行っているが、保存中の変化は見えていない。したがって、こちらで分析をしたものは、古いのではないかとの回答があった。そこで、こちらで改めて賞味期限を見ると、まだ十分賞味期限内の製品であった。

経口医薬品の場合、その期限内の有効性・安全性を保証するため、長期保存試験（加速試験も含む）に崩壊（溶

出）試験が組み合わされて規格化され、使用期限内では、必ず崩壊（溶出）することが担保されているが、健康食品の場合、そのようなルールがないため、このように5割もの製品が、一定時間内に崩壊しないとの結果がでたものと推定される。

また、最近の経験だが、室温で保存していた賞味期限を1年以上残す健康食品について、PTP包装を開き、カプセルを出して、カプセルの中身を開き、調べると、カプセル内の散剤が、ねっとり固まっていることに気づいた。一方、同時に同じ環境で保存していた、同類の成分がはいっていると考えられる医薬品では、保存前と同じで全く変化がないことを確認した。したがって、健康食品の場合には、製剤設計そのものが、保存を考慮して考えられていないものと推定された。

10. 新制度での課題

医薬品の品質管理とは、有効性と安全性を確認した臨床試験が行われたときと同じ状態の医薬品を、使用者に届けるためにある。一方、健康食品の場合、通常、品質管理は、主に製品の安全性や見栄えを保証するために行われている。したがって、有効性（機能性）について、保証するという概念が、ほとんどないように思われる。これは、ヒト（または動物）の身体または機能に影響を及ぼすことを目的としているものは、原則、医薬品であって、食品では、これまで保健機能食品（特定保健用食品＋栄養機能食品）を除き、機能性を表示することができないことにも由来すると考えられる。崩壊しなければ、安全性は確保されるから、これは、食品衛生法上の違反でない。しかしながら、新制度では、ヒトに対してしっかりとしたエビデンスがあるものは、部位と組み合わせる程度の機能表示ができることになった。したがって、このような新制度に対応する製品（機能性表示食品）では、意見書で述べたように、機能性を品質保証するようなシステムが必要となる。少なくとも新制度に届け出をだす製品の製造者は、このような課題があることをよく理解したうえで、その対策をとるべきと考えられる。

文 献

- 1) Goda, Y. Labeling and contents of "Health Foods". *Farumashia*, **42**, 905-907 (2006).
- 2) Goda, Y. The origin of natural products and their quality. *Foods and Food Ingredients Journal of Japan*, **212**, 343-344 (2007).
- 3) Goda, Y. The safety of health foods and importance of their origin. *Yakugaku Zasshi*, **128**, 837-838 (2008).
- 4) 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).
- 5) Sakai, S., Otake, R., Toida, T., Goda, Y. Identification of the origin of chondroitin sulfate in "health foods". *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 299-303 (2007).

- 6) Tokumoto, H., Shimomura, Y., Katsuki, S., Goda, Y. Morphological discrimination of *Curcuma longa* L. and *Curcuma aromatica* Salisb. *Shoyakugaku Zasshi*, **62**, 54–65 (2008).
- 7) Maruyama, T., Sugimoto, N., Kuroyanagi, M., Kim, I. H., Kamakura, H., Kawasaki, T., Fujita, M., Shimada, H., Yamamoto, Y., Tada, A., Yamazaki, T., Goda, Y. Authentication and chemical study of *Isodonis herba* and *Isodonis* extracts. *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 1626–1630 (2007).
- 8) Masada-Atsumi, S., Onuma, M., Suenaga, E., Maruyama, T., Hishida, A., Kiuchi, F., Kobayashi, S., Goda, Y., Hakamatsuka, T. Genome-based authentication of black cohosh (*Cimicifuga racemosa*; Ranunculaceae) supplements available in the Japanese markets. *Jpn. J. Food Chem. Safety*, **20**, 178–188 (2013).
- 9) Masada-Atsumi, S., Kumeta, Y., Takahashi, Y., Hakamatsuka, T., Goda, Y. Evaluation of the botanical origin of black cohosh products by genetical and chemical analyses. *Biol. Pharm. Bull.*, **62**, 454–460 (2014).
- 10) Wakana, D., Maruyama, T., Kamakura, H., Sugimura, K., Iida, O., Kanai, T., Yamaji, S., Kimura, T., Goda, Y. Surveying studies on the botanical source of the herbal materials sold as the *Sida* products based on the genetic and the microscopic features. *Jpn. J. Food Chem. Safety*, **19**, 111–118 (2012).
- 11) Higano, T., Okamoto, H., Uetake, A., Aketo, T., Hakamatsuka, T. An analysis of anthocyanins and anthocyanidins in the bilberry health foods. *Jpn. J. Food Chem. Safety*, **16**, 60–65 (2009).
- 12) Kakigi, Y., Hakamatsuka, T., Icho, T., Goda, Y., Mochizuki, N. Investigation of biologically active components in ginkgo leaf products on the Japanese market. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **75**, 777–779 (2011).
- 13) Kakigi, Y., Hakamatsuka, T., Icho, T., Goda, Y., Mochizuki, N. Comprehensive analysis of flavonols in Ginkgo biloba products using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with ultra-violet detection and time-of-flight mass spectrometry. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **76**, 1003–1007 (2012).
- 14) Kumeta, Y., Maruyama, T., Wakana, D., Kamakura, H., Goda, Y. Method for identifying botanical origin of shatavari product and its application for survey analysis of the products in Japanese market. *Jpn. J. Food Chem. Safety*, **18**, 163–167 (2011).
- 15) Kumeta, Y., Maruyama, T., Wakana, D., Kamakura, H., Goda, Y. Chemical analysis reveals botanical origin of shatavari products and confirms of absence of alkaloid asparagamine A in *Asparagus racemosus*. *J. Nat. Med.*, **67**, 168–173 (2013).
- 16) Fukahori, M., Kobayashi, S., Naraki, Y., Sasaki, T., Oka, H., Seki, M., Masada-Atsumi, S., Hakamatsuka, T., Goda, Y. Quality evaluation of medicinal products and health foods containing Chaste Berry (*Vitex agnus-castus*) in Japanese, European and American markets. *Chem. Pharm. Bull.*, **62**, 379–385 (2014).
- 17) Sato-Masumoto, N., Masada, S., Takahashi, S., Terasaki, S., Yokota, Y., Hakamatsuka, T., Goda, Y. Disintegration test of health food products containing *Ginkgo biloba* L. or *Vitex agnus-cactus* L. in the Japanese market. *Medicines*, **2**, 47–54 (2015).

《最近のトピックス》



健康食品の新たな機能性表示と健康食品の品質

合 田 幸 広* Yukihiro Goda

国立医薬品食品衛生研究所薬品部

1. 緒 言

薬剤学の読者の皆様は、平成 27 年度から健康食品に、新たな機能性表示が認められることをご存じだろうか。現在（平成 26 年 7 月）、我が国で食品の機能性表示を行うことができるのは、栄養機能食品及び特定保健用食品である。このような現状に対して、規制改革会議から改革の指示がだされ、それに伴い、平成 25 年 12 月「食品の新たな機能性表示制度に関する検討会」が消費者庁で発足し、検討会での議論の結果、新制度の枠組みが決まった。筆者は、この検討会に委員として参加し、そこで、現在の健康食品の品質に関する意見書を提出した。本稿では、検討会発足までの経緯と意見書、検討会の意見書の背景となった現在の健康食品の品質を示す実験結果について記載するとともに、新たな制度における品質保証の概略について紹介する。

2. 検討会について

2.1 発足までの経緯

平成 25 年 1 月に安倍内閣のもと発足した、「国の成長・発展、国民生活の安定・向上及び経済活動活性化への貢献」を目的とした規制改革会議が、検討

項目の一つとして「一般健康食品の機能性表示を可能とする仕組みの整備」を掲げ、その議論において、栄養機能食品については対象成分が限定されていること、また、特定保健用食品については、食品ごとに安全性や有効性に係る臨床試験が必須であるとともに、許可手続に時間と費用がかかるため中小企業にとってハードルが高いこと等、現行制度についての課題が指摘された。その結果、規制改革実施計画（平成 25 年 6 月 14 日閣議決定）において、「特定保健用食品、栄養機能食品以外のいわゆる健康食品をはじめとする保健機能を有する成分を含む加工食品及び農林水産物について、機能性の表示を容認する新たな方策をそれぞれ検討し、結論を得る。なお、その具体的な方策については、民間が有しているノウハウを活用する観点から、その食品の機能性について、国ではなく企業等が自らその科学的根拠を評価した上でその旨及び機能を表示できる米国のダイエタリーサプリメントの表示制度を参考にし、企業等の責任において科学的根拠のもとに機能性を表示できるものとし、かつ、一定のルールの下で加工食品及び農林水産物それぞれについて、安全性の確保（生産、製造及び品質の管理、健康被害情報の収集）も含めた運用が可能な仕組みとすることを念頭に検討を行う。」こととされた。また、その検討及び実施スケジュールについては、「平成 25 年度検討、平成 26 年度結論・措置（加工食品、農林水産物とも）」と示され、担当省庁については、消費者庁、厚生労働省、農林水産省の 3 省庁とされた。

2.2 検討会の検討内容

この検討会は、この閣議決定を踏まえ、消費者・生活者の視点に立ち、国民全体の利益を考える観点

*昭和 55 年東京大学薬学部卒業，昭和 60 年東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了，昭和 61 年国立衛生試験所（現国立医薬品食品衛生研究所）食品添加物部研究員，平成 4 年同主任研究官，平成 8 年同食品部室長，平成 13 年同生薬部長，平成 25 年同薬品部長，東京農工大学，名古屋市立大学客員教授，日本食品化学学会奨励賞，日本生薬学会学術貢献賞他，専門：医薬品，食品及び違法薬物のレギュラトリーサイエンス。連絡先：〒158-8501 世田谷区上用賀 1-18-1
E-mail: goda@nihs.go.jp

から、企業等の責任において科学的根拠を基に機能性を表示できる新たな方策について検討するために、消費者庁長官の下に設置されたもので、新制度は、安全性の確保を前提とした上で、消費者の誤認を招くものではなく、消費者の自主的かつ合理的な商品選択に資するものとなるよう検討していくこととなった。この点を踏まえ、検討会では新制度に向けた検討事項として、新制度に係る安全性確保の在り方、新制度に基づく機能性表示に必要な科学的根拠の考え方、消費者にとって誤認のない機能性表示の在り方等について、平成 25 年 12 月から平成 26 年 7 月までの全 8 回にわたり議論が行われた。

2.3 第 3 回検討会に提出した意見書

第 3 回検討会では、おもに、安全性に関する品質管理手法について議論がなされた。以下に、この検討会に提出した意見書(<http://www.caa.go.jp/foods/index19.html>) の概要を記載する。

これまでの錠剤・カプセル等の形状を持つ日本で入手できる健康食品に関する分析経験から、多くの製品について以下の様に品質に問題があり、機能性を表示するならば、この点を考慮した制度とすべき。

1) 基原の問題

原材料に、間違った基原のものが使われていること(原材料そのものが入っていないことも含む)が、かなりの頻度で出現し、防止のためには、受け入れ試験において、原材料の基原を保証するための試験を規定し、この試験を少なくとも原材料の受け入れのロット毎に実施する必要がある。また、基原の保証責任者を GMP 上規定することが望まれる。

2) 崩壊性

多くの製品で、崩壊性が非常に悪い。少なくとも機能性を謳うならば、人の消化管で一定時間内に崩壊する必要がある。従って、ロット毎に出荷前に規定された崩壊試験を実施、これを GMP 上の試験に組み込む必要がある。また、製品の使用期限内であれば一定の崩壊性が確保されていることを、確認しておく必要がある。

3) 機能性成分の量

多くの製品で、量が表示に対しばらつく。また、異なった製品では、同じ原材料名でも 100 倍以上量が違うことがある。また、成分は、製造工程で劣化する可能性があり、必ず最終製剤での分析方法を確立し、GMP 上の試験にこの分析を組み込むべき。

また、有害成分についても、量のコントロールを行うべき。

生産、製造における品質について、企業の責任において情報を開示するならば、どのような試験で基原を保証しているか、さらに試験の頻度について開示。崩壊性試験の結果と、試験の頻度についても開示。製造製品中の関与成分の分析法と規格値、安全性上コントロールすべき成分の分析法と限度値について開示、分析結果についても開示。

また、安全性確保のために GMP は必須であるが、GMP は機能性確保のためにも必須。

3. 意見書の背景

筆者は、国立医薬品食品衛生研究所において、これまで食品添加物部、食品部、生薬部、薬品部に所属してきた。その間、天然物の安全性、有効性とそれを担保する品質保証法について研究対象としてきた。特に、2001 年、いわゆる四六通知(食薬区分)の改正で、錠剤・カプセル型のものが、形状だけでは医薬品と判断されない状況になって以来、このような形状の健康食品についても、断続的ではあるが、様々な角度から分析を行ってきた。前掲した意見は、次項から述べる錠剤・カプセル形状の健康食品の現状を踏まえたものである。

3.1 健康食品等の基原の分析結果^{1~4)}

2005 年より、筆者の研究グループにおいて、前述した様々な方法で、健康食品及び健康食品の原料について、その基原を分析してきた。基原に関する分析結果をまとめた物を表 1 に示す。

表 1 で判るように、102 件の検体のうち、基原の正しい 69 検体(67%)で正しい基原の原材料を使用しているものと考えられたが、残りの 33 検体のうち、22 検体(21%)で、基原の間違った原材料が使用されていたり、賦形剤しか入っておらず、12 検体(12%)は、表示されているもの以外の原材料が加えられていることが判った。

このような、間違った原材料が使用されているという報告は、我々以外でも存在し、例えば、国民生活センターが 2008 年に行ったコンドロイチン硫酸を原材料と表示した健康食品に関する分析報告でも、16 検体中、正しい基原の原材料が使用されているのは 10 検体(63%)で、残りの 6 検体中、3 検体が間違った原材料、3 検体が表示されているもの

表1 健康食品等（医薬品と規制されているものを除く）の基原の分析結果

分析対象物	分析方法	分析年	分析数	正品	混合物	完全偽品	正品割合 (%)
プエラリア（健康食品）	遺伝子, 成分	2005	17	6	2	9	35
コンドロイチン硫酸（健康食品）	成分	2005	12	10	0	2	83
ハルウコン (<i>C. aromatica</i>) (健康食品)	遺伝子, 形態	2006	2	1	0	1	50
エンメイソウ（生薬・健康食品原料）	遺伝子, 成分	2006	2	1	hybrid 1	0	50
ブラックコホッシュ（健康食品）	遺伝子, 成分	2008	16	11	1	4	69
<i>Sida</i> 属植物（健康食品原料）	遺伝子, 形態	2009	11	5 ^{*1}	1	5	50
ビルベリー（健康食品）	成分	2009	7	3 ^{*2}	3	1	43
イチョウバ（健康食品）	成分	2009	16	13 ^{*2}	3	0	81
シャタバリ（健康食品）	遺伝子, 成分	2011	11	11	0	0	100
チェストツリー（健康食品）	遺伝子, 成分	2012	8	7	1	0	88
合計			102	68	12	22	67

*1 同属であれば正品とした, *2 劣化品を含む。

外の原材料が使用されていたとされ、我々の分析結果と、ほぼ同じ結果が得られている。

3.2 間違った基原の原材料が使用される原因

これまでの分析結果から、このような基原の間違いは、非意図的に起こるとすれば、大きく分けて3タイプ存在するものと考えられる。即ち、植物名の表示の問題、採取の際の植物の誤同定、原材料の受け取りの際の検査態勢の不備である。

3.2.1 基原の表示に係る問題

原材料の基原は、分類学に基づいた学名（と使用部位）で規定される。生薬では日本薬局方や局方外生薬規格において、学名で基原が規定されるとともに、公的な植物和名が同時に記載されるため、原料植物に対する混乱がは起こりにくい。また、古来より日本で生育してきた植物には、標準和名があり、和名でその植物をある程度規定できる場合が多い。他方、健康食品の場合、原材料について学名で規定するというルールがないだけでなく、外来植物や、外国産の植物が原材料になっている場合が多い。従って、表示に用いられる植物名は、原材料の導入者が、その都度販売目的で正当な根拠なくつける場合が見られる。また植物和名と生薬名も混同しやすく、健康食品の表示では、よく混乱が生じている。例えば、植物和名ウコン (*Curucuma longa*) は生薬名もウコンであり、これらは局方で規定されているが、健康食品では、別植物であるハルウコン (*C. aromatica*) と区別するためアキウコンやクスリウコンと呼称する場合が多い。このような名称の混乱も、表示と中身が一致しない原因のひとつであるものと考えられる。

3.2.2 採取の際の植物の誤同定

我々の研究において、健康食品の原材料として使用される可能性のある植物として、*Sida* 属植物を商社を通じて輸入した。表1に示したように、11検体について調査したところ、基原植物が表示と一致していたのは2検体、表示と種は一致していないが属は一致したもの3検体（ここまで正品とした）、複数の基原の混合物でその中に *Sida* 属植物が検出されたもの2検体、完全に基原が間違っていたもの4検体（1検体は僅かに *Sida* 属植物を含む）であった。*Sida* 属植物の形態学的同定は、比較的難しいため、この場合、採取時、間違っ採取したものが、そのまま *Sida* 属植物として商社を通じて輸入されたものと推定される。

また、このような誤同定の例は、研究者でも散見される。例えば、我々はシャタバリと呼ばれるアユルベータ生薬（基原植物：*Asparagus racemosus*）において、正しい基原のものでは asparagamine 類アルカロイドが検出されないこと、asparagamine 類は、*Stemona* 属植物に特有の物質であることを報告している。他方、最近でも学会発表の中で、シャタバリ (*A. racemosus*) から、2種の新規、4種の既知 asparagamine 関連アルカロイドを単離したという報告があった。そこで、著者に連絡し、当方でその原材料について分析をすると、*Stemona* 属植物が基原であったことを確認している。これは、生薬シャタバリの使用部位が根であり、*A. racemosus* と *Stemona* 属の根のマクロな形態は、非常に近似している結果、生薬市場で間違っ販売され、それを入手した研究者が、基原を確認せずに、学会発表を行

ったことを示している。

このように、天然物の場合、一部の商品は採取で入手されるため、最初の採取者が誤同定してしまうと、最終的な製品も間違っただ基原のものを含むことになる。このような間違いを防ぐには、原材料の受け入れ試験（鑑別）が重要となる。生薬を使用して生産される医薬品の場合、生薬の鑑別能力があり、生薬の取り扱いを熟知している生薬の専門家を生薬管理責任者として置かなくてはならず、生薬に関する品質確保には、この者が責任を負うことになっている。このような専門家は、形態学的な知識に加えて、化学的な成分分析結果、時には遺伝子による分析結果を組み合わせ、正しい基原を同定し基原の間違った原材料が混入することを防ぐが、健康食品分野では、このような制度はない。

基原の間違いを防ぐには、もう一つの方法がある、これは、GAP (Good Agricultural Practice) 管理された農場で生産された原材料を使用することで、この場合には、種苗から、原材料の生産段階を管理できるため、間違っただ原材料を使用する可能性は非常に低くなる。

3.2.3 原材料受け取りの際の検査態勢の不備

前述したコンドロイチン硫酸の場合、国民生活センターの分析で基原が表示されたサメでない旨指摘を受けた会社があり、その会社から、筆者に次の様な説明があった。「受け取りの際に、紙媒体で基原を確認しているだけでなく、原材料の製造現場まで行って基原を確認している。従って、センターの分析根拠が間違っているのではないか。」そこで筆者は、「もし御社の製品が、本当にサメ由来のものであるなら、それは、構成成分の構造から、天然物化学的に大発見であり、多分、御社は、原材料の供給会社にだまされているのではないか。原材料受け取りの際、基原が判るような受け取り規格を作って、分析を行うことが重要。」と説明した。グローバル化して、食品偽造が頻繁に行われる可能性がある現代では、最終製品の製造会社に適切な分析法がないと、悪意のある中間業者から、簡単に、より安価な原材料をつかまされてしまう。錠剤やカプセルの原材料は、既に、粉末化やエキス化されているため、このような問題を引き起こさないためには、成分レベルで正しい基原を判別できる手法を事前に確立しておくことが重要となる。

3.3 製造販売者に起因する問題

ビルベリーについて7製品を分析すると、以下の様な結果が得られている。A：ヨーロッパ薬局方 (EP) に適合し、成分的に問題無い製品、B：cyanidin 3-O-glucoside を主に含有する他のアントシアニン含有エキスが加えられた製品、C：グリコンが多く検出され、長期保存されたエキスを使用した可能性の高い製品、D：アサイあるいは、カシスエキスが加えられた製品、E：ビルベリーエキス含量は僅かで、他のアントシアニン含有エキスが主成分と考えられる製品、F：アグリコンが多く検出され、長期保存されたエキスを使用した可能性の高い製品、G：アントシアニンが全く検出されない製品、が確認された。これらの製品のうち、B、D、E、Gの製品は、意図的な操作の結果、生み出されたものである可能性が高い。幾分でも好意的に考えれば、混ぜ物がある製品について、何らかの定量規格（例えば、色価の規定）があったが、その規格に適合しなかったため、代わりに他の成分を加え、定量規格にあわせた結果、このような製品が生じたと解釈できる。食品の場合、規格があったとしても、定量規格のみの場合が多く、基原を確認するための定性規格がないと、このような製品が出回ることになる。また、成分がほとんど含まれていない製品の場合には、製剤での原材料の均一化過程がうまくいかないまま、非意図的にこのような製品が生じたとも推定できるが、これも医薬品では全く考えられない分析結果である。また、配糖体でなく、アグリコンまで分解した成分が多く存在する製品では、製造段階で古い原材料を使用したのか、それとも製品の製造工程で分解したのか、あるいは保存が悪かったのか、製剤の作り方がずさんで、製品化された後、吸湿した結果、分解したのか、様々な可能性が考えられる。

また、イチヨウバの場合、16製品についてフラボノイドを対象に主成分分析を行ったが、EPで規格化された医薬品と同じ成分パターンを示す製品は7製品のみであった。残りの5製品は、分解の結果生じたと考えられるアグリコンが多く、3製品は、意図的にアグリコン（フラボノイド）が加えられており、これも定量規格にフラボノイド含量が規定されていることに由来するものと推定された。さらに1製品は、製造工程で通常除くべきピフラボンが除かれていないという結果が得られ、健康食品の場合、

強制力のある適切な規格がないことが、このような問題を生じさせているものと考えられた。

3.4 構成成分の多様性

ビルベリーやイチョウバの場合では、意図的、非意図的を問わず、製造工程の違いによる構成成分の多様性が見られた。しかし、成分の多様性は、原材料そのものにも存在する。チェストツリー粉末入り製品を対象に、ヨーロッパで医薬品として使用されている8製品と、日本で健康食品として入手可能な8製品について、遺伝子分析及び、成分についてLC/MS/MS分析すると、興味深い結果が得られた。即ち、医薬品として使用されている製品では、当然ながら基原 (*Vitex agnus-castu*) は正しく、また、成分パターンも、どの製品でもほぼ同一であった。一方で、健康食品の場合、8製品中7製品は、チェストツリー以外の遺伝子を検出せず、正しい基原の原材料が使用されているものと判断されたが、成分パターンは、ばらばらで、共通のピークパターンを見出すことは困難であった。これは、チェストツリーの含有成分が、産地や、栽培方法、収穫時期等で多様性を示すために生じたためと推定される。医薬品の場合には、一定の規格の下で、栽培から製造が管理されているのに対し、健康食品では、そのような配慮がなされていないために生じる問題と考えられた。従って、指標成分⁵⁾についての含量も製品間で大差があり、例えば、チェストツリーの指標成分 casticin では、製品間で、290倍の差、agnuside では、425倍の含量差が見られた。

3.5 基原以外の問題

これまで述べてきたように、健康食品の品質には、原材料の基原の間違いだけでなく、意図的な未表示原材料の問題、保存劣化の問題、成分の多様性の問題、成分含量の問題など、多様な問題が存在する。生鮮食品や明らか食品（加工品であるが、明らかに食品の形態をしたもの）では、消費者は、これまでの経験に基づく五感による判断や、味覚の好き嫌いで、良好な（例えば、新鮮な）、使用者にあった商品を選択することができる。しかし、錠剤やカプセル状の形態の場合、消費者は、その表示と販売者等の提供する広告等の情報に基づいてしか、その良否を判断することができない。従って、原材料の基原の間違いをはじめとする、ここに挙げた問題は、消費者のレベルでは簡単には避けることができない。

このようなことを考えたとき、さらに重要な問題があることに気がついた。それは、錠剤・カプセルの崩壊性、溶出性の問題である。経口医薬品では、成分の安全性と有効性を保証するため、製剤の規格として、少なくとも溶出試験が課されている。また、医療上の効果を上げるため、製剤に様々な工夫がなされた上で、厳しい品質規格が定められ、製造管理がなされている。また、これらに違反すれば、薬事法違反として、罰せられることになる。従って、同じ名前の製品であれば、常に同じように、効くことが保証される。

一方、健康食品の場合には、安全性は、食品衛生法の規定の範囲内で規制されているが、もともと有効性を表示できないこともあり、崩壊性といった製品規格や、製造管理において、強制力のある規定はない。このような背景があるため、医薬品とは異なり、崩壊しない製品があるのではないかと思ひ、日本薬局方の規定に従い、イチョウバ、チェストツリー、グルコサミンを含む32製品について崩壊試験を実施した。

3.6 崩壊試験の結果

崩壊試験は、日本薬局方に準拠して行った。チェストツリー製品の場合、ヨーロッパで医薬品として販売されている3製品は、全て試験に適合したが、健康食品（素錠、フィルムコーティング錠、ハードカプセル）では、8製品中2製品が不適合となった。イチョウバにおいても、医薬品として販売されている5製品は全て試験に適合したが、健康食品（素錠、フィルムコーティング錠、ソフトカプセル、ハードカプセル）では、10製品中5製品が不適合となった。さらに、グルコサミン（素錠、フィルムコーティング錠）では、健康食品14製品中9製品が不適合となった。これらを合計すると、健康食品では32製品中、16製品が不適合と、50%が規定時間内に崩壊しないという結果となった。

国民生活センターでも、コンドロイチン硫酸を含む健康食品18製品（カプセル17、錠剤1）について、水に対する崩壊試験を実施したところ、カプセルの9製品では、規定時間内に崩壊しないことが報告された。また、 α -リポ酸での試験では17銘柄中5製品で、高麗人参での試験では8製品中3製品で、崩壊試験不適合との報告がなされており、全体の40%の製品で不適合との結果が示され、我々の結果

を支持するものであった。

我々のグループが行った試験において、特にグルコサミンでは、1社の不適合製品について、さらに溶出試験（精製水）も行った。その結果、試験を行った6個の錠剤のうち3個は90%以上溶出するのに4時間、残りの3個は7時間かかり、これらの製品は、安全ではあるが、生体内では全く利用されない可能性が示唆された。また、溶出試験結果は、製剤の製造過程に依存するため、この結果は、異なったロットが同一のボトルに入っていたことを示している。従って、製品について正しいロット管理がなされていないものと考えられた。

大手の食品会社や、大手の健康食品会社の製品でも、崩壊試験不適合の製品が見られたため、大手の食品会社の関係者に崩壊試験を行っていないのか、個人的に問い合わせたところ、自社で出荷前に崩壊試験を行っているが、保存中の変化は見えない。従って、こちらで分析をしたものは、古いのではないかとの回答があった。そこで、こちらで改めて賞味期限を見ると、まだ充分賞味期限内の製品であった。

経口医薬品の場合、その期限内の有効性・安全性を保証するため、長期保存試験（加速試験も含む）に崩壊（溶出）試験が組み合わされて規格化され、使用期限内では、必ず崩壊（溶出）することが担保されているが、健康食品の場合、そのようなルールがないため、このように5割もの製品が、一定時間内に崩壊しないとの結果がでたものと推定される。

また、最近の経験だが、室温で保存していた賞味期限を1年以上残す健康食品について、PTP包装を開き、カプセルを出して、カプセルの中身を開き、調べると、カプセル内の散剤が、ねっとり固まっていることに気づいた。一方、同時に同じ環境で保存していた、同類の成分がはいっていると考えられる医薬品では、保存前と同じで全く変化がないことを確認した。従って、健康食品の場合には、製剤設計そのものが、保存を考慮して考えられていないものと推定された。

4. 品質管理とは

医薬品の品質管理とは、有効性と安全性を確認した臨床試験が行われた時と同じ状態の医薬品を、使用者に届けるためにある。一方、健康食品の場合、

通常、品質管理は、主に製品の安全性や見栄えを保証するために行われている。従って、有効性について、保証するという概念が、ほとんどないように思われる。これは、人（又は動物）の身体又は機能に影響を及ぼすことを目的としているものは、原則、医薬品であって、食品では、これまで保健機能食品（特定保健用食品+栄養機能食品）を除き、機能性を表示することができないことにも由来すると考えられる。崩壊しなければ、安全性は確保されるから、これは、食品衛生法上の違反でない。しかしながら、新制度では、部位と組み合わせる程度の機能表示ができることになった。従って、このような製品では、意見書で述べたように、機能性（有効性）を保証するような、システムが必要となる。

5. 新制度における品質保証（サブプリント形状の加工食品について）の概要

新制度では、あくまで、企業等が自らその科学的根拠を評価した上で、企業責任で機能を表示する制度である。この制度では、機能性の科学的根拠として、最終製品を用いた臨床試験あるいは、最終製品又は機能性関与成分に関する研究レビューを必要とされ、これらの機能性の根拠情報について、販売前の定められた期日までに消費者庁に届け、その情報は、販売前に開示されるとともに、企業のWebサイト等で、国民が自由にアクセスできる状態で開示（専門家向け、及び一般消費者向け）をすることになっている。

これと同時に、生産・製造及び品質に関して、次のような項目について届けるとともに、公開されることになっている。イ：機能性関与成分及び安全性に関わる成分の量に関する規格（分析法、規格値、限度値等）。基原の確認の観点から、定性確認が可能であることも必要。また、保存劣化も考慮して、必ず最終製品での分析法を確立して実施することになっている。ロ：GMPの取り組み状況（機能性の観点も含めた検討が期待される）。ハ：施設や作業員の衛生管理体制。ニ：異物混入や他製品との混同の防止体制。ホ：製品の均質性とその管理体制。ヘ：規格外製品の出荷防止体制。ト：製造・品質等の記録文書やサンプルの保管体制。チ：原料の基原の保証試験の方法及び製品の崩壊性試験の結果並びに当該試験の頻度。リ：製品分析の結果。

このように、届け出事項のうち、品質管理に関するものは、かなり前掲の意見書が反映されたものとなった。ただし、事前審査はされない届け出事項であるので、性善説に基づいた規定である。しかしながら、新制度の適切な運用をはかるため、消費者庁が中心となり、食品表示法に基づく収去等を行い、そのものについて、試験研究機関等が分析を行い、表示されたデータが虚偽の物でないことを確認するなど、販売後の監視を徹底することとされている。なお、この制度は、新しい考え方に基づく制度であるため、施行後2年を目処に、新制度の施行状況を検討し、その検討結果に基づき、さらに必要な措置がとられる可能性が高い。

6. おわりに

錠剤・カプセル型の健康食品は、医薬品と同様、消費者は見た目では良否がわからない製品である。来年から実施される健康食品に関する新制度では、企業の責任で、健康食品であったとしても、人に対してしっかりとしたエビデンスがあるものは、体の各部位の健康維持に関して機能性表示が可能となる。

従って、このような製品については、当然ながら、医薬品と基本的に同様の考え方で、受け入れ試験と製剤設計を行い、消費者が使用する時まで品質保証ができる管理体制を取る必要があるものと考えられる。

食品分野は、これまで薬学分野の研究者や技術者にとって無関係の分野であったと感じている。しかしながら、本制度が来年度から運用されることを考えれば、食品分野へも、薬学の関係者が積極的に参入して頂ければ、今後、より良い製品が流通していくものと期待している。

引用文献

- 1) 合田幸広, 健康食品の表示と実態, *ファルマシア*, **42** (9), 905-907 (2006).
- 2) 合田幸広, 天然物の基原と品質, *FFI ジャーナル*, **212** (5), 343-344 (2007).
- 3) 合田幸広, 健康食品の安全性確保と基原の重要性, *薬学雑誌*, **126** (6), 837-838 (2008).
- 4) 合田幸広, 健康食品の品質に関する話題, *日本食品安全協会会報*, **9** (4), 55-62 (2014).
- 5) 第十七改正日本薬局方改正案, 生薬等の定量指標成分について, *日本薬局方フォーラム*, **23** (4), 720-721 (2014).

合田幸広・国立医薬品食品衛生研究所薬品部長インタビュー

機能性表示食品の最大の課題は、品質保証

4月に創設された「機能性表示食品」は11月11日現在、計129製品が届け出を済ませ、情報が消費者庁のウェブサイトで公表されている。ただし、大きな課題も浮上してきた。品質保証の弱さだ。根拠資料と同等の成分が同量、製品に含まれているのか、製品は全てのロットにおいて同じように安定生産されているのか、はっきりしない。制度の方向性を決めた「食品の新たな機能性表示制度に関する検討会」で、品質保証の問題を鋭く指摘していたのが国立医薬品食品衛生研究所の合田幸広・薬品部長だ。今、合田部長はどのように制度を見ているのか？ 話を聞いた。

——まず、現在の制度への感想をお聞かせください。

合田 最大の問題は、各製品の機能性関与成分の分析法が公開されていないことだと思う。品質管理が適正に行われているのか、表示されている量の機能性関与成分が含まれているのか。第三者が分析できないことには確認できない。追試ができない。

——書類上では「品質保証をしっかりと行っています」ということになっていても、科学的にそれを確かめる術がない、ということですね。

合田 いわゆる健康食品においては、間違った基原の天然物、例えば植物種が異なったり部位が違うなどの原材料を用いた製品がかなりの頻度で見つかった。さらに、崩壊性が著しく低い製品や、表示にある成分の含有量を満たさない製品も目立った。賞味期限内なのに変質しているものも多かった。こうした点が、機能性表示食品において解決されているのかどうか不明だ。届出書類を見ても、原料の品種や菌株まで明記していなかったり、品質保証の工程をほとんど書いていなかったりで、判断できない。

——事業者の中には、食品なのだから、そんな高度なことを求めなくても、という声もあります。

合田 一般的な食品は、おいしさなどを消費者が評価できる。しかし、機能性については、消費者はなかなか実感できない。だますことになってはいけないので、医薬品並みの品質管理までは求めないが、事業者自身が厳しく管理するという原則が必要だ。

天然物の有効性はほとんどの場合、多成分の化合物群による。例えばビルベリー由来アントシアニンであれば、デルフィニジン、シアニジン、ヘチュニジン、ペオニジン、マルビジンをアグリコンとし、それらの3-O-グルコシドや3-O-ガラクトシドなど、様々な糖の配糖体として存在する。従って、機能性関与成分を「ビルベリー由来アントシアニン」とする場合、定量分析に加えて定性的なパターン分析を行って、根拠とする論文で用いられた試料と製品が同等、同量であることを示さないといけない。ところが、そこまで確認していることを届出書類で示している製品は少ない。それは、おかし。

品質保証には、コストが掛かる

——食品なのだから、そんなコストは掛けられない、という意見も強いです。

合田 確かに、品質保証は、しっかりとすればするほどコストが掛かる。検討会で、事業者代表の委員が新制度について「現在、原価20%のものが、41%まで上がる。45%を超えると赤字になってしまう」と発言していた。しかし、広告費に莫大な金額を掛けている現実もある。広告費を品質保証に回してレベルアップを目指すような動きが出てくると良いのだが。

——消費者庁は近く「機能性表示食品制度に係る残された課題検討会」を設置して、見直しに入ります。品質保証の問題の解決法は？

合田 消費者庁が、品質保証に関する非常に細かい記入フォームを作り、届出書類としての記入を事業者に求めるという手はある。基原に関する遺伝子分析や化学分析、各工程で起きている物質の変換、どのような機器で定量や定性分析を行うかなど、詳細に記入してもらうことで、「ここまでしないと、天然物の機能性は保証できない」ということを事業者に分かってもらう。冒頭で述べたように、分析法の公開も必要だ。第三者が比較的容易にできる崩壊性分析などで各製品の検証を行い公表する取り組みなども重要だと思う。

(松永和紀=科学ライター) 