

無承認無許可医薬品の検査に用いるデータの収集

沢辺 善之* 中村 暁彦* 田口 修三*

「いわゆる健康食品」に違法に含まれる医薬品成分のスクリーニングに用いるために、GC-MS及びHPLCによる医薬品成分63種類の検出の可否と保持時間のデータを収集した。その内訳は、中枢神経用剤15、ホルモン剤11、気管支拡張剤4、食欲抑制剤3、利尿剤4、ED治療剤1、排尿障害用剤2、糖尿病用剤2、解熱鎮痛消炎剤4、高脂血症用剤1、抗ヒスタミン剤4、血圧降下剤8、副腎皮質ホルモン剤2及び痛風治療剤2種である。

キーワード：ガスクロマトグラフィー質量分析計、高速液体クロマトグラフィー、医薬品

key words：GC-MS, HPLC, drug

大阪府では収去試験の一環として、「いわゆる健康食品」(以下、健康食品)に違法に含まれる医薬品成分の検査を実施している¹⁻⁵⁾。医薬品成分を含有する健康食品は無承認無許可医薬品といわれ、薬事法による取締りの対象となる。今回、無承認無許可医薬品の検査に役立てる目的で、GC-MS及びHPLCを用いた医薬品成分の測定データを収集したので報告する。

実験方法

1. 試薬

中枢神経用剤15、ホルモン剤11、気管支拡張剤4、食欲抑制剤3、利尿剤4、ED治療剤1、排尿障害用剤2、糖尿病用剤2、解熱鎮痛消炎剤4、高脂血症用剤1、抗ヒスタミン剤4、血圧降下剤8、副腎皮質ホルモン剤2及び痛風治療剤2種の全63種類の医薬品成分を試料とした。それぞれの試料は、当課に保存していた試薬及び医薬品の標準品を用いた。

TMS誘導体化剤は、BSTFA(N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide, SUPELCO)を用いた。

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課
Gathering of GC-MS and HPLC Data on Illegal Drug Test
by Yoshiyuki SAWABE, Akihiko NAKAMURA and
Shuzo TAGUCHI

2. 装置および測定条件

GC-MS装置はAgilent 6890N GC System - 5973 Mass Selective Detectorを、HPLC装置は島津 HPLC LC-10 CLASS-VP システムを用いて以下の条件で操作した。

GC-MS 測定条件

カラム：DB-5ms, 0.25 mm × 30 m, 0.25 μm

注入口温度：300°C

カラム温度：100°C - (10°C/min) - 320°C, 18 分間保持

注入量：1 μL (Splitless)

イオン源温度：150°C

インターフェイス温度：250°C

キャリアーガス：ヘリウム 2 mL/min

スキャン範囲：m/z 10 - 700

MS ライブラリー：Mass Spectral Libraries NIST
Rev.D.04.00

HPLC 測定条件

カラム：L-column ODS. 4.6 × 150 mm, 5 μm

移動相：ドデシル硫酸ナトリウム (1→128)・アセトニ
トリル・リン酸混液 (570 : 430 : 1)

流量：1.5 mL/min

カラム温度：45°C

注入量：10 μL

検出器：フォトダイオードアレイ検出器
(測定波長 210 nm、範囲 200 - 400 nm)

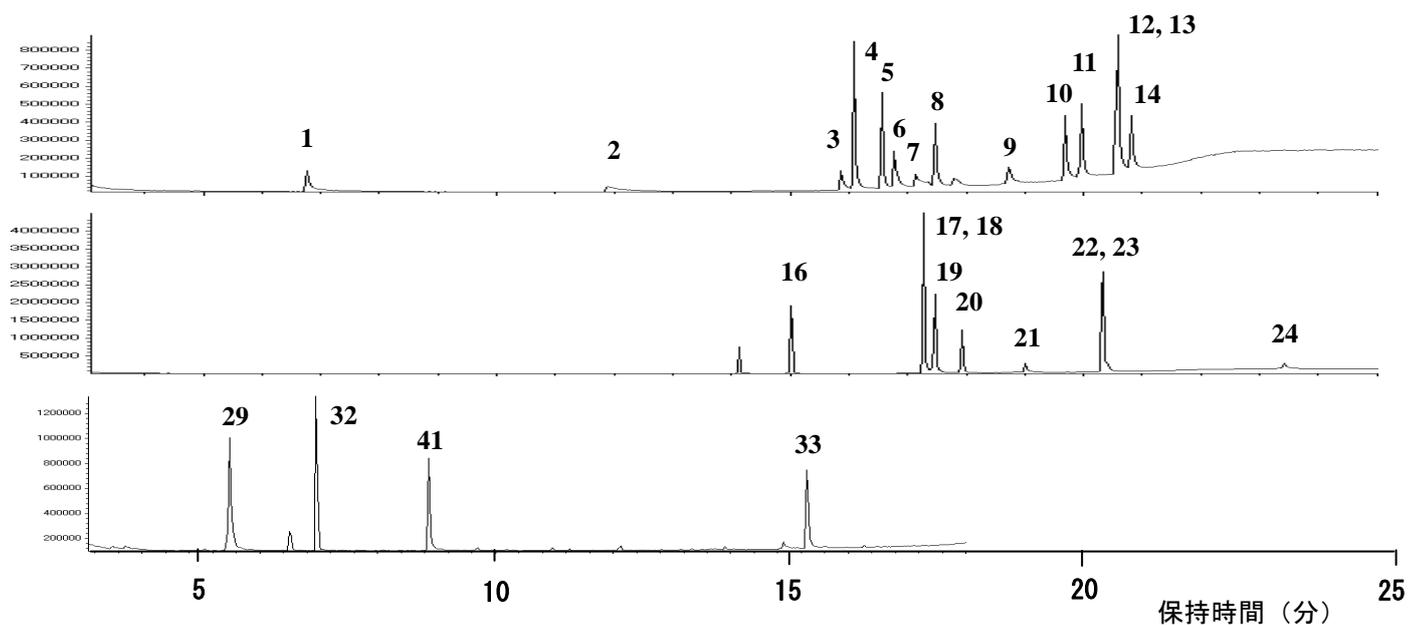


図1 GC-MSのトータルイオンクロマトグラム (TIC)
 (一部の成分のみを示す。ピーク番号の成分名は表1を参照)

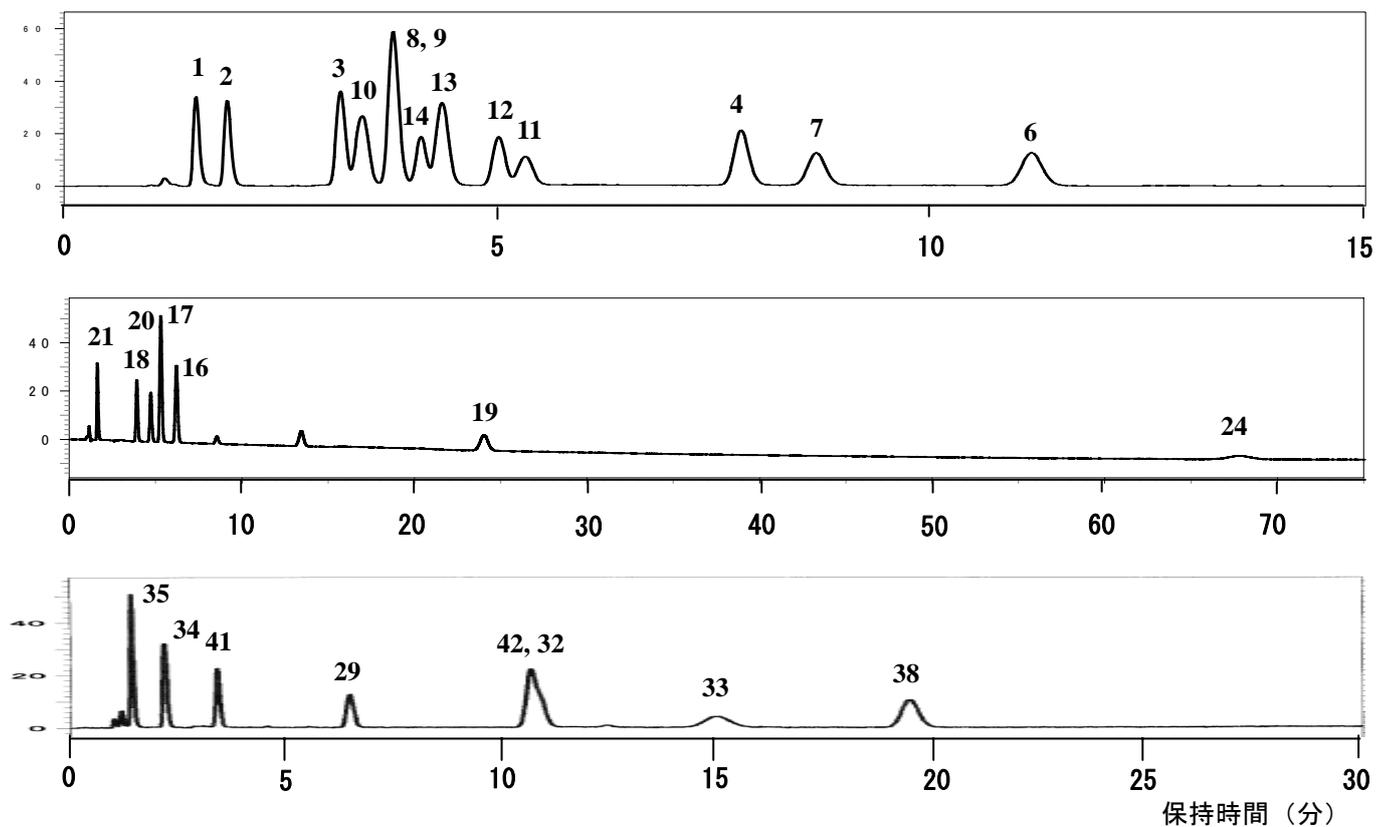


図2 HPLCのクロマトグラム (測定波長 210 nm)
 (一部の成分のみを示す。ピーク番号の成分名は表1を参照)

表1 医薬品成分の GC-MS 及び HPLC の保持時間

ピーク 番号	薬効	医薬品成分名	保持時間 (分)		
			GC-MS 原体	TMS	HPLC 原体
1		バルビタール	6.9	7.8	1.5
2		フェノバルビタール	11.9	11.6	1.9
3		ロラゼパム	15.9	16.3	3.2
4		ジアゼパム	16.1	NR	7.8
5		クロルプロマジン塩酸塩	16.6	NR	ND
6		クロルジアゼポキシド	16.8	NR	11.2
7		オキサゾラム	17.2	15.9	8.7
8	中枢神経用剤	フルニトラゼパム	17.5	NR	3.8
9		ニトラゼパム	18.8	16.8	3.8
10		エスタゾラム	19.7	NR	3.4
11		アルプラゾラム	20.0	NR	5.3
12		エチゾラム	20.6	NR	5.0
13		トリアゾラム	20.6	NR	4.4
14		ブロチゾラム	20.9	NR	4.1
15		ブロモバレリル尿素	6.7	6.3	2.0
				8.4	
16		ジエチルスチルベストロール	14.9	14.2	6.5
17		エストロン	17.3	17.4	5.5
18		エストラジオール	17.4	17.6	4.1
19		メストラノール	17.5	18.0	24.0
20		エチニルエストラジオール	17.9	18.4	4.7
21	ホルモン剤	エストリオール	19.0	19.0	1.7
22		エストラジオールプロピオン酸エステル	20.4	NR	ND
23		エストラジオール吉草酸エステル	20.4	20.4	ND
24		エストラジオール安息香酸エステル	23.5	23.4	68.0
25		クロルマジノン酢酸エステル	21.4	NR	14.9
26		メチルテストステロン	17.8	17.7	5.9
27		エフェドリン塩酸塩	5.1	5.1	6.1
				6.9	
28	気管支拡張剤	プソイドエフェドリン塩酸塩	5.1	5.0	5.7
				7.0	
29		メチルエフェドリン塩酸塩	5.5	5.4	6.5
30		テオフィリン	12.2	11.0	1.3
31		フェンフルラミン塩酸塩	3.5	5.8	22.0
32	食欲抑制剤	N-ニトロソフェンフルラミン	7.0	NR	11.0
33		マジンドール	15.3	14.9	15.0

表1 つづき

34		フロセミド	ND	ND	2.2
35	利尿剤	ヒドロクロチアジド	ND	ND	1.4
36		トリクロルメチアジド	ND	ND	1.9
37		スピロラクトン	24.6	NR	6.0
38	ED 治療剤	シルデナフィルクエン酸塩	ND	ND	19.5
39	排尿障害用剤	プロピベリン塩酸塩	15.8	NR	ND
40		オキシブチニン塩酸塩	16.4	NR	ND
41	糖尿病用剤	クロルプロパミド	8.9	9.7	3.4
42		グリベンクラミド	ND	ND	10.7
43	解熱鎮痛消炎剤	インドメタシン	19.4	19.5	10.1
44		ジクロフェナクナトリウム	13.4	14.5	10.0
45		メフェナム酸	13.7	13.7	16.1
46		プラノプロフェン	15.7	NR	2.5
47	高脂血症用剤	プラバスタチンナトリウム			2.0
48	抗ヒスタミン剤	ジフェンヒドラミン塩酸塩	10.8	NR	22.9
49		クロルフェニラミンマレイン酸塩	12.2	NR	ND
50		メキタジン	18.9	NR	ND
51		ホモクロルシクリジン塩酸塩	15.3	NR	ND
52	血圧降下剤	マニジピン塩酸塩	ND	NR	ND
53		ニフェジピン	17.1	NR	4.5
54		ニルバジピン	18.8	NR	10.9
55		ニカルジピン塩酸塩	24.4	NR	28.9
56		カプトプリル	10.5	12.4	1.5
57		エナラプリルマレイン酸塩	18.4	NR	12.2
58		ジルチアゼム塩酸塩	19.9	NR	20.4
59		ベニジピン塩酸塩	27.1	NR	34.9
60	副腎皮質ホルモン剤	デキサメタゾン	19.6		2.5
61		プレドニゾン	19.3		1.9
62	痛風治療剤	アロプリノール	ND	7.8	1.1
63		ベンズブロマロン	18.4	19.1	38.8

ND : ピークを検出しない

NR : TMS 化をされない

網掛けのピークのMSスペクトルは市販のライブラリーと一致した

薬効は日本医薬品集医療薬 2009 年版 (株式会社じほう) を参考にした

3. 試料溶液の調製

GC-MS 用試料溶液

各試料をアセトニトリルに溶かし、0.1 mg/mL に調製した液を GC-MS に注入した。

GC-MS 用 TMS 化試料溶液

GC-MS 用試料溶液 0.5mL をバイアルにとり、BSTFA 0.1 mL を加え、きつくフタをしめ、60°C で 5 分間放置した液を GC-MS に注入した。

HPLC 用試料溶液

GC-MS 用試料溶液を HPLC に注入した。

結果及び考察

測定した 63 種類の医薬品成分のうち一部の成分のクロマトグラムを図 1 (GC-MS) 及び図 2 (HPLC) に示した。クロマトグラムのピーク番号は、表 1 のピーク番号と一致している。

また、GC-MS 及び HPLC で測定した医薬品成分（原体）の保持時間を表 1 に示した。GC-MS の測定では、TMS 化した医薬品成分（TMS）の保持時間も示した。また、医薬品成分の TMS 誘導体の情報を収集することは、気化しにくいいため GC-MS での分析に適さず、通常はライブラリーに収載されない医薬品成分の検索にも有用となるものと考ええる。

GC-MS により得られたマススペクトルは自製のライブラリーとして保存した。表 1 の網掛けの保持時間のピークは、市販のマススペクトルのライブラリー（Mass Spectral Libraries NIST Rev.D.04.00）と一致した成分である。

当課において健康食品に含まれる無承認無許可医薬品の検査は、平成 14 年に全国規模で発生した中国製減肥茶による健康被害事例を端緒としている。翌年から大阪府独自で健康食品の買い上げ検査を実施し、現在まで複数の医薬品成分を検出してきた。

健康食品に違法に添加された医薬品成分を検査する場合、個々の検体のパッケージやホームページに掲載されている文言、暗示される効能などの情報をもとに、添加されたと推定される医薬品成分を決定し、一次スクリーニングとして HPLC や TLC（薄層クロマトグラフィー）による分析が行われる。この際、推定医薬品

と同一保持時間及び同一スペクトルが得られた場合は、種々のクロマトグラフィーの組み合わせ、特に、高速液体クロマトグラフィー - 質量分析計（LC-MS）や GC-MS により最終的な同定結果とする。また、HPLC の分析においては、検体のクロマトグラムに現れるすべてのピークの紫外吸収スペクトルを検討し、医薬品成分の類似化合物の存在も検査される。

このように、まずはじめにターゲットとする医薬品成分を決定し検査する手法が用いられてきたのは、ほとんどの医薬品成分が HPLC や TLC を使うと容易に分析できること。また、端緒となった中国製減肥茶の分析で目的とする医薬品成分が確定していたことによると考えられる。

しかしながら、従来の手法では、ターゲットの医薬品成分は判別可能であるが、それ以外の多くの医薬品成分については試験を行わないので含有されていても見落とすことになる。さまざまな分析法の特性を考慮した場合、一次スクリーニングとしては GC-MS が最も有効性が高い手法であると考ええる。今後は本報告のように、GC-MS や HPLC で得たデータを収集し、活用することで、従来の TLC や HPLC での方法とともに、より見過ごすことが少ない検査法を検討していきたいと考える。

文 献

- 1) 大阪府立公衆衛生研究所企画総務部企画調整課編，大阪府立公衆衛生研究所年報 - 平成 15 年度版，77～82（2004）
- 2) 大阪府立公衆衛生研究所企画総務部企画調整課編，大阪府立公衆衛生研究所年報 - 平成 16 年度版，75～80（2005）
- 3) 大阪府立公衆衛生研究所企画総務部企画調整課編，大阪府立公衆衛生研究所年報 - 平成 17 年度版，67～72（2006）
- 4) 大阪府立公衆衛生研究所企画総務部企画調整課編，大阪府立公衆衛生研究所年報 - 平成 18 年度版，74～78（2007）
- 5) 大阪府立公衆衛生研究所企画総務部企画調整課編，大阪府立公衆衛生研究所年報 - 平成 19 年度版，69～74（2008）