

## 無承認無許可医薬品中の医薬品成分の検出事例

松本 洋亘 中村 昌子 塩崎 秀彰

キーワード：健康食品、シルденаフィル、シブトラミン、高速液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフ/質量分析計、液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計

### はじめに

現代の社会において健康への関心は非常に高く、摂取の手軽さと健康の保持増進効果等の期待から健康食品が広く用いられるようになった。しかし、一部の健康食品には医薬品的効能効果を発現させるため、医薬品等の成分を添加している事例が見受けられる<sup>1-4)</sup>。平成14年には、死亡者を含む重篤な健康被害事例が相次いで報告され、原因は中国製瘦身用健康食品の摂取であることが判明した<sup>5)</sup>。当該食品の調査結果によると、フェンフルラミンのN-ニトロソ誘導体であるN-ニトロソフェンフルラミン(N-NOFeN)を約3%の高い濃度で含有しており、肝障害作用等の毒性の本体はN-NOFeNであることが動物実験から明らかとなった<sup>6,7)</sup>。また、最近では瘦身用健康食品ばかりではなく、強壮への効能効果を標榜し、シルденаフィル等を含有する健康食品の違反も多数報告されている<sup>8)</sup>。

これらの健康食品は無承認無許可医薬品に該当し、薬事法に基づく品質、有効性、安全性の確認がされていないことに加え、有害な不純物等が含有されている可能性も考えられる。京都府では平成15年度から、これら無承認無許可医薬品による健康被害を未然に防止することを目的として、健康食品中の医薬品等の成分の含有について調査を実施している。

平成19年度においても本調査を実施したところ、1検体からシルденаフィル、2検体からシブトラミンが検出されたので、その結果について報告する。

### 調査方法

#### 1. 試料

平成19年度に京都府内で試買された3製品及び府民からの苦情品1製品を試料とした。製品の剤形、色等が異なるものについては、個々に調査を実施した(表1)。

表1 試料及び入手方法

製品	検体	剤形	入手方法
1	1	硬カプセル剤	
2	2	錠剤	アダルトショップでの試買
3	3	硬カプセル剤	
	4	軟カプセル剤	
4	5	硬カプセル剤(黄色)	苦情品
	6	硬カプセル剤(緑色)	

#### 2. 測定対象成分及び標準品

測定対象の9成分及び標準品の入手方法は、表2に示した。

#### 3. 標準溶液の調製

標準原液は200~1000 µg/mLとなるように各々をメタノールで調製した。なお、ヒドロキシホモシルденаフィルは、240 µg/mLのメタノール溶液として分与されたものを標準原液として使用した。

表2 測定対象成分及び標準品の入手方法

	測定対象成分	標準品の入手方法
Aグループ	dH-塩酸エフェドリン	大日本製薬株式会社から購入
	(-)-ノルエフェドリン	和光純薬工業株式会社から購入
Bグループ	クエン酸シルденаフィル	
	バルденаフィル塩酸塩三水和物	
	タダラフィル	
Cグループ	ヒドロキシホモシルденаフィル	国立医薬品食品衛生研究所から分与
	塩酸フェンフルラミン	
	N-ニトロソフェンフルラミン	
	塩酸シブトラミン一水和物	

(平成20年9月1日受理)

標準溶液として、Aグループの成分は12.5~250 μg/mL、Bグループの成分は0.5~20 μg/mL、Cグループの成分は5~20 μg/mLとなるようにメタノールで調製した。

なお、定量分析には、試料溶液の濃度を考慮し、別途、メタノールで適宜希釈した標準溶液を検量線の作成に使用した。

4. 試薬

ラウリル硫酸ナトリウム (イオンペアクロマト用)、メタノール (LC/MS用) 及びアセトニトリル (HPLC用) は和光純薬工業社製を使用した。IPCC-MS3 (214.04g/mol, LC/MS用イオンペア試薬) はジーエルサイエンス社製を使用した。メンブランフィルター (PTFE, 0.20 μm) は東洋濾紙社製を使用した。その他の試薬は市販の特級試薬を使用した。

5. 試料溶液の調製

錠剤は、乳鉢で粉碎し試料とした。硬カプセル剤及び軟カプセル剤は、カプセルから内容物を取り出し試料とした。約250mgの試料を15mLの遠心分離管に精密に量りとり、10mLのメタノールを加えて15分間超音波抽出を行った。これを遠心分離 (3000rpm, 10分) した後に上清をメンブランフィルターでろ過し、必要に応じてメタノールで適宜希釈を行い試料溶液とした<sup>9)</sup>。

6. 機器及び測定条件

機器及び測定条件は、表3~7に示した。

7. 調査手順

最初に各試料溶液についてスクリーニング分析を実施した。次に、スクリーニング分析で観察されたピークについて定性分析し、医薬品成分であると確認されたピークについて、定量分析を実施した (表8)。

結果

1. Aグループ及びBグループの成分分析

1.1 LC/PDAによる分析

LC/PDA (表3及び4の条件) により標準物質保持時間を調べたところ、表9の結果が得られた。次いで、調製

表9 LC/PDA及びLC/MS/MSIにおける標準物質保持時間

標準物質	保持時間(分)	
	LC/PDA	LC/MS/MS
d#エフェドリン	8.94	-
(-)-ノルエフェドリン	7.98	-
シルデナフィル	15.66	20.93
バルデナフィル	14.89	-
タダラフィル	19.64	-
ヒドロキシホモシルデナフィル	15.39	-

した各試料溶液について、LC/PDAによる分析を実施したところ、図1のとおり検体1から観察されたピークは、シルデナフィル標準品の保持時間及びUVスペクトルと一致した。

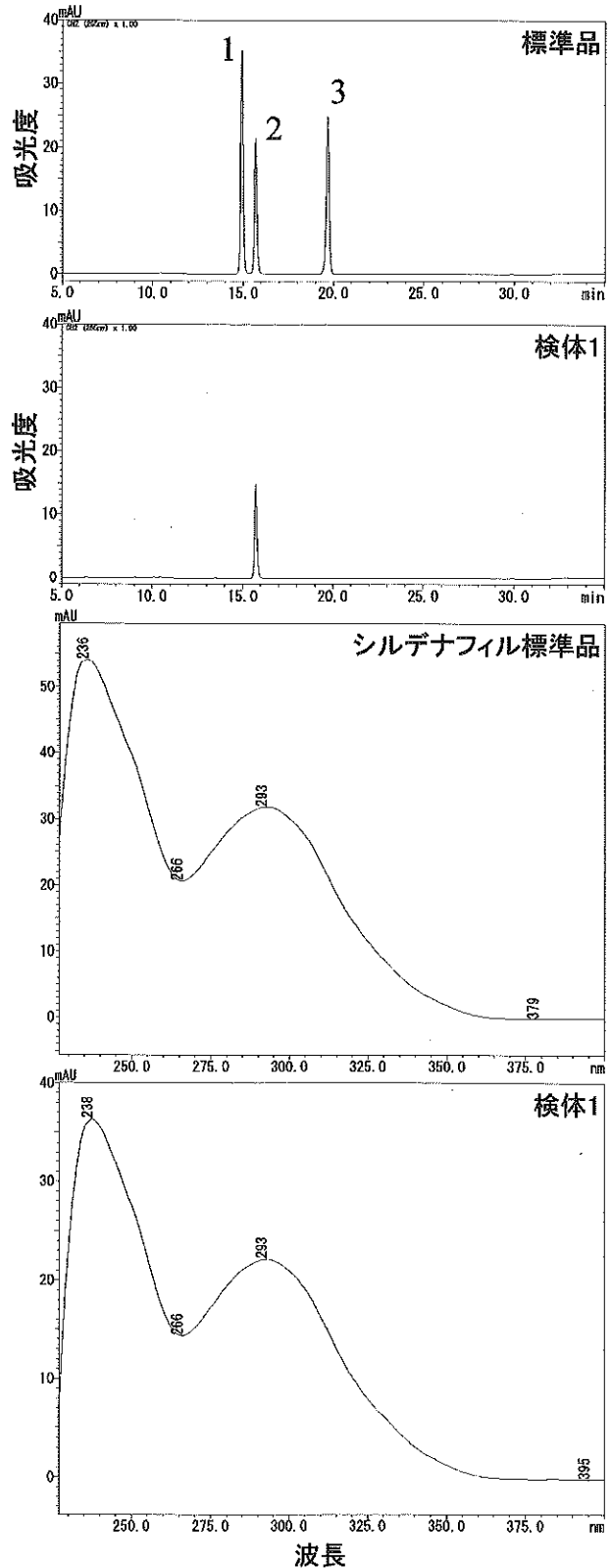


図1. 標準品と検体1のクロマトグラム及びUVスペクトル  
1;バルデナフィル, 2;シルデナフィル, 3;タダラフィル

表3 LC/PDA測定条件 I<sup>10)</sup>

LCシステム	LC-10ADvp, LC-10AD (島津製作所社製)		
検出器	フォトダイオードアレイ SPD-M10Avp (島津製作所社製)		
カラム	Cosmosil C18-MS-II (150 mm × 4.6 mmI.D., 5 μm) (ナカライテスク社製)		
移動相	ラウリル硫酸ナトリウム(1→128)/アセトニトリル/リン酸(640/340/1, v/v/v)		
注入量	10 μL		
流速	1.0 mL/min	検出波長	200nm-600nm
カラム温度	45°C	定量波長	215nm

表4 LC/PDA測定条件 II<sup>11)</sup>

LCシステム	LC-10ADvp, LC-10AD (島津製作所社製)		
検出器	フォトダイオードアレイ SPD-M10Avp (島津製作所社製)		
カラム	Unison US-C18 (150 mm × 4.6 mmI.D., 5 μm) (インタクト社製)		
移動相 A	0.02M 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 4.0)		
移動相 B	アセトニトリル		
注入量	10 μL	濃度勾配	B:10%(0-10分)-B:50%(15-25分)
流速	1.0 mL/min	検出波長	200nm-600nm
カラム温度	40°C	定量波長	265nm

表5 LC/MS/MS測定条件 III<sup>9)</sup>

LCシステム	Agilent 1100 (アジレント・テクノロジー社製)		
検出器	タンデム型質量分析計 API3000 (アプライドバイオシステムズ社製)		
カラム	Mightsil RP-18 GP (150 mm × 2.0 mmI.D., 5 μm) (関東化学社製)		
移動相 A	5.0 mM IPCC-MS3 (pH 3.0)		
移動相 B	アセトニトリル		
注入量	5 μL	濃度勾配	B:15%(0-5分)-B:60%(20-35分)
流速	0.2 mL/min		
カラム温度	40°C		

表6 MS/MS測定条件 IV<sup>9)</sup>

測定対象成分	MRM transition (m/z)		DP (V)	CE (eV)
df-エフェドリン	166.08	→ 148.20	36	17
(-)-ノルエフェドリン	152.15	→ 134.20	36	13
シルデナフィル	475.30	→ 58.15	66	85
バルデナフィル	489.25	→ 151.09	101	55
タダラフィル	390.23	→ 267.93	46	19
ヒドロキシホモシルデナフィル	505.30	→ 99.30	36	65
フェンフルラミン	232.24	→ 159.05	21	29
N-ニトロソフェンフルラミン	261.30	→ 186.73	56	25
シブトラミン	280.19	→ 138.80	26	29
Spray voltage	+5.0kV (ESI)		Turbo gas temp.	500°C

DP: declustering potential  
CE: collision energy

表7 GC/MS測定条件 V

GC	HP 5890 Series II (ヒューレットパッカード社製)		
MSD	JMS-AM II 15 型 (日本電子社製)		
カラム	DB-5MS (30m × 0.25 mmI.D., df = 0.25 μm) (アジレント・テクノロジー社製)		
注入口温度	250°C	IF 温度	250°C
カラム温度	70°C (4分) - 15°C/分 - 280°C (7分)	イオン源温度	230°C
キャリアガス	He	イオン化法	EI
カラムヘッド圧	90 kPa	イオン化電圧	70 eV
注入方法	スプリットレス (1分)	測定質量範囲	m/z 30-800
注入量	1 μL	定量イオン	m/z 114
		確認イオン	m/z 72

表8 調査手順及び分析方法

グループ	スクリーニング分析	定性分析	定量分析
A	LC/PDA (条件 I)	LC/MS/MS	LC/PDA (条件 I)
B	LC/PDA (条件 II)	(条件 III, IV)	LC/PDA (条件 II)
C	GC/MS (条件 V)	LC/PDA (条件 II)	GC/MS (条件 V)

## 1.2 LC/MS/MSによる分析

LC/PDAの分析において検体1から観察されたピークについてLC/MS/MS (表5及び6の条件, Multiple-

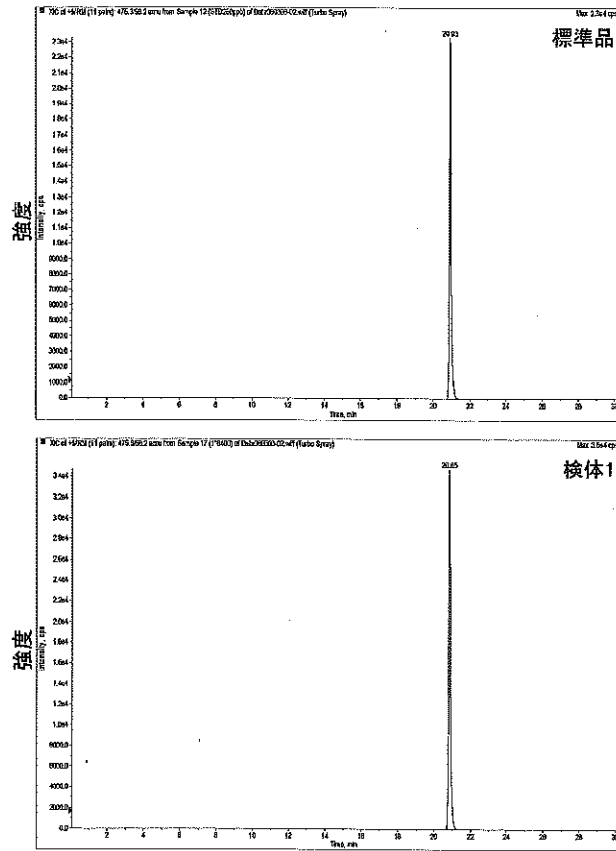


図2. シルденаフィル標準品と検体1のMRMクロマトグラム

Reaction Monitoring) で分析を実施したところ、図2のとおりMRMクロマトグラムでシルденаフィル標準品と保持時間の一致するピークが観察された。これにより、検体1から観察されたピークはシルденаフィルであると確認された。

## 2. Cグループの成分分析

### 2.1 GC/MSによる分析

GC/MS (表7の条件) によりCグループの標準物質保持時間を調べたところ、表10の結果が得られた。次いで、調製した各試料溶液について、GC/MSによる分析を実施したところ、検体5及び6から観察されたピークは図3のとおりシブトラミン標準品の保持時間及びマススペクトルと一致した。

### 2.2 LC/PDAによる分析

GC/MSの分析において検体5及び6から観察されたピークについてLC/PDA (表4の条件) で分析を実施したところ、図4及び5のとおりシブトラミン標準品とほぼ同じ保持時間でピークが観察され、さらにUVスペクトル

表10 GC/MS及びLC/PDAにおける標準物質保持時間

標準物質	保持時間(分)	
	GC/MS	LC/PDA
フェンフルラミン	9.67	-
N-ニトロソフェンフルラミン	12.88	-
シブトラミン	15.48	22.3

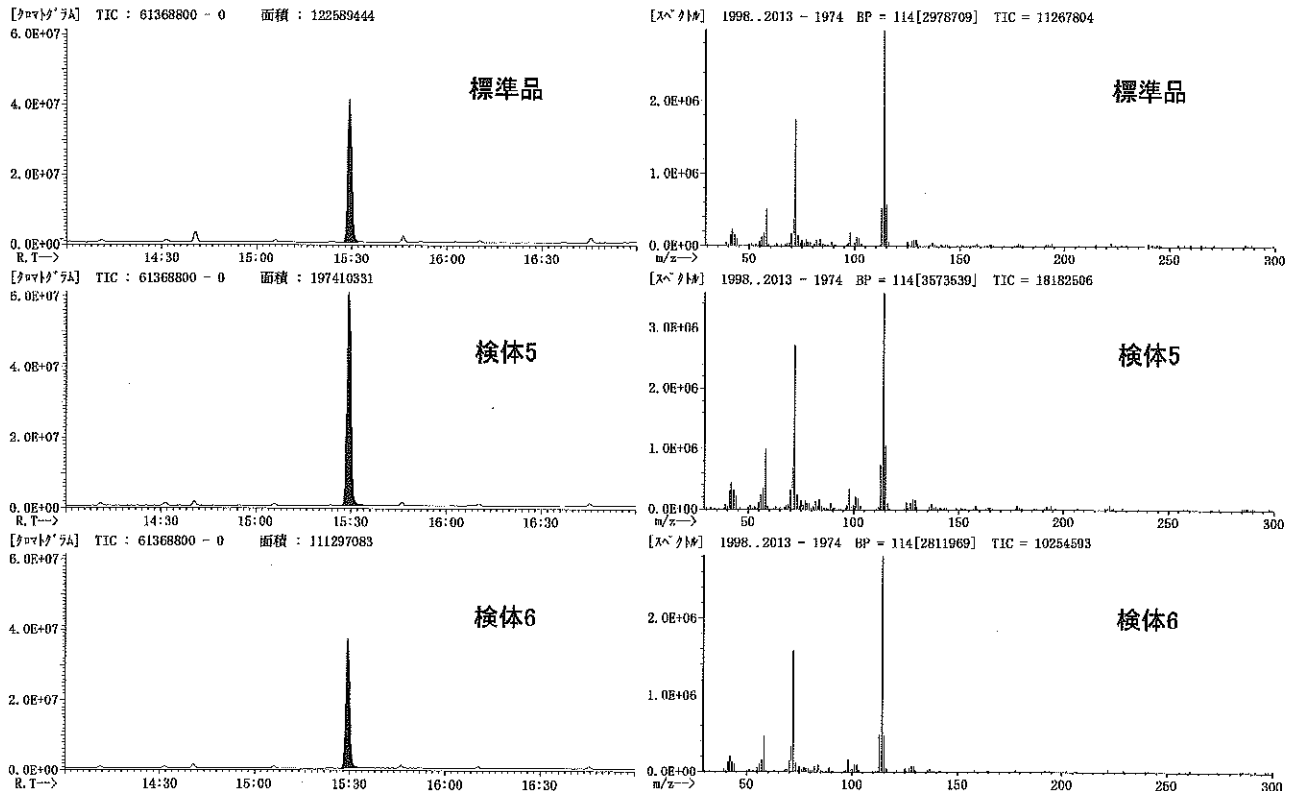


図3. シブトラミン標準品と検体5及び6のトータルイオンクロマトグラム及びマススペクトル

表11 検出された医薬品成分の定量分析結果

検体	保持時間(分)				検出された成分	mg/g	1カプセルあたりの含量 (mg)
	定量分析		定性分析				
1	15.66	LC/PDA	20.85	LC/MS/MS	シルденаフィル	83.0	33.2
5	15.48	GC/MS	22.21	LC/PDA	シブトラミン	113	10.6
6	15.48	GC/MS	22.35	LC/PDA	シブトラミン	60.1	6.6

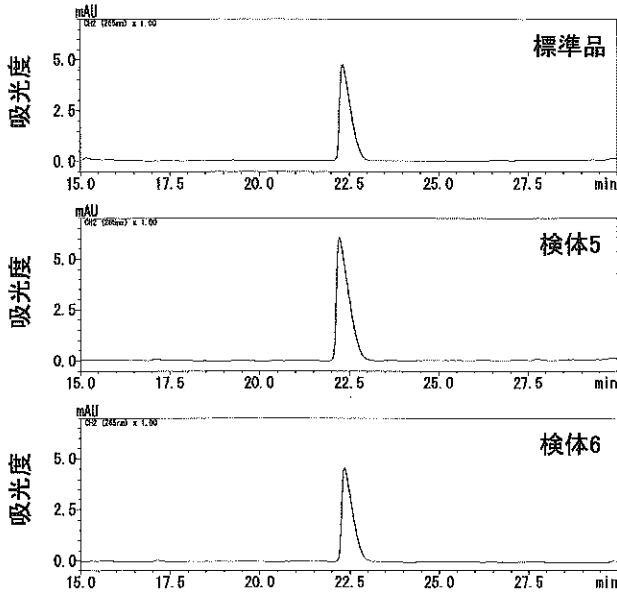


図4. シブトラミン標準品と検体5及び6のクロマトグラム

が一致したため、検体5及び6から観察されたピークはシブトラミンであると確認された。

3. 定量分析

5~20 µg/mLの範囲でシルденаフィルの検量線を作成したところ、相関係数 $R^2=1.000$ の良好な検量線が得られた。また、同様にシブトラミンについても5~20 µg/mLの範囲で検量線を作成したところ、相関係数 $R^2=0.993$ の良好な検量線が得られた。これらの検量線を用いて、検体1、5及び6の確認された成分について、LC/PDA (表4の条件) 及びGC/MS (表7の条件) により定量分析を実施し、結果を表11にまとめた。

考 察

製品1から検出されたシルденаフィルは、国内においてクエン酸シルденаフィルを有効成分とする製剤が勃起不全及び肺動脈性肺高血圧症の治療薬として承認されている。本医薬品は処方せん医薬品に指定されており、医師等の診断により適切な指導のもと使用される医薬品である。調査の結果、製品1にはシルденаフィルとして1カプセルあたり33.2mgを含有することが判明し、国内で承認されている医薬品 (シルденаフィルとして1錠あたり20mg、25mg又は50mg) に相当するものであった。したがって、当該製品が健康食品と称していることと薬用量

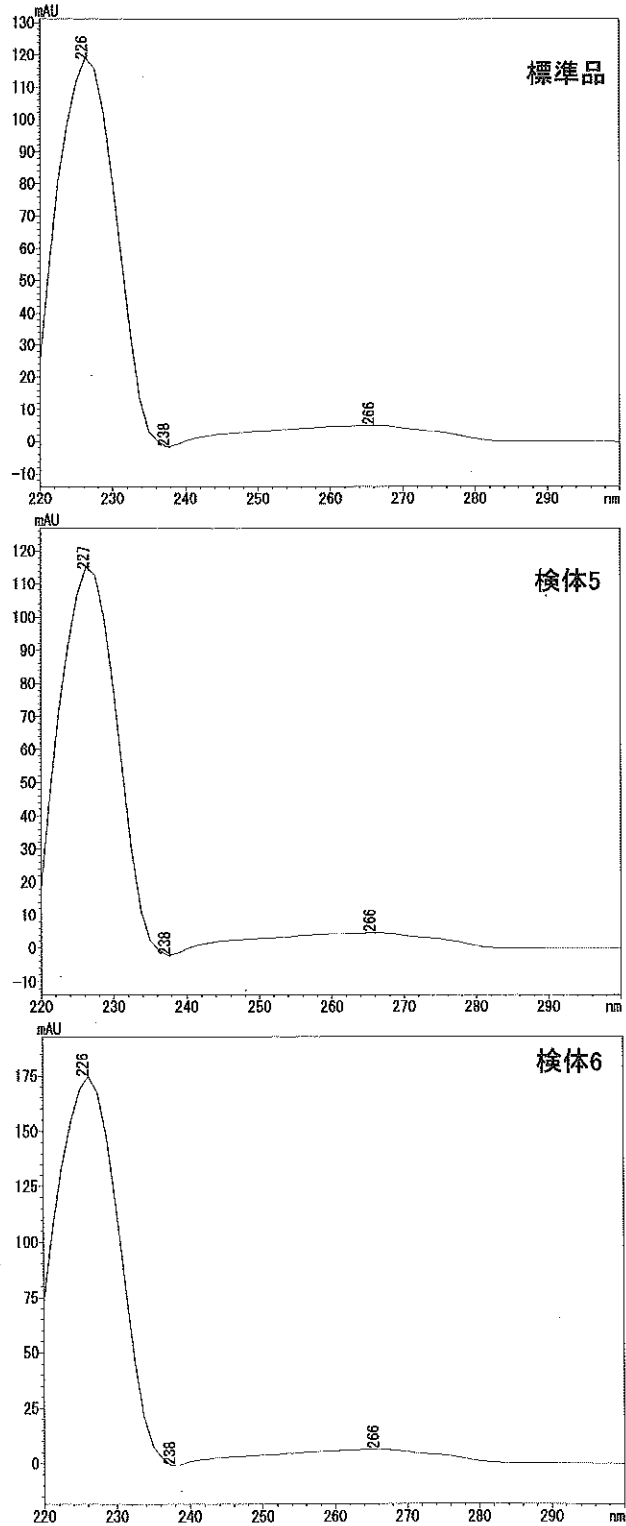


図5. シブトラミン標準品と検体5及び6のUVスペクトル

相当のシルデナフィルが含有されていたことの二点を考量すると、健康食品であると信じた消費者が当該製品を使用することにより、予期しない薬理作用が発現するおそれがある。これは、無承認無許可医薬品の使用により、重大な健康被害が発生する可能性を強く示唆するものである。

府民から健康被害の訴えがあったため分析を実施した製品4から検出されたシブトラミンは、中枢神経系で作用するタイプの肥満症治療薬<sup>10)</sup>として塩酸シブトラミンを有効成分とする製剤が国外で承認されている医薬品であるものの、平成20年7月現在、国内では未承認の医薬品である。今回の事例は、シブトラミンが配合された当該製品を個人輸入し使用した結果、健康被害が発生した一例である。また、個人輸入による健康被害は従来から報告<sup>9)</sup>されており、これらは個人輸入に潜在する極めて高い危険性を反映するものであると考えられる。

### まとめ

無承認無許可医薬品中の医薬品等の成分を分析する手法として、LC/PDA及びLC/MS/MS又はGC/MS及びLC/PDAを組み合わせることにより成分を正確に検出することができた。これらの方法により、4製品を調査したところ京都府内で試買された1製品からシルデナフィル、苦情品1製品からシブトラミンが検出された。

無承認無許可医薬品から検出される成分について近年の報告を調べてみると、単に医薬品成分を作為的に添加するのみではなく、分子構造を化学修飾した新規成分を添加する事例が判明している<sup>9)</sup>。これは調査している成分の分子構造を変化させることにより検出を回避するといった巧妙な手口であり、これらの新規成分を事前に予

見し対策を講じることは困難である。しかしながら、健康被害を未然に防止する観点から、新規成分に対する分析手法の確立及び迅速な標準品の整備が、今後ますます重要になるものと考えられる。

### 引用文献

- 1) 守安貴子ほか：薬学雑誌, 121, 765 (2001)
- 2) 熊坂謙一ほか：薬学雑誌, 123, 1049 (2003)
- 3) 神村英利ほか：医療薬学, 32, 407 (2006)
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課輸入食品安全対策室長通知：いわゆる健康食品の取扱いについて、平成17年5月27日食安輸発第0527006号
- 5) 厚生労働省発表資料：個人輸入した未承認医薬品等の服用後に発生した健康被害事例について、平成14年7月12日
- 6) 厚生労働省発表資料：N-ニトロソフェンフルラミンの検出等について、平成14年7月22日
- 7) 厚生労働省発表資料：中国製ダイエット用健康食品（未承認医薬品）に関する調査結果（概要）、平成15年2月12日
- 8) <http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/musyounin.html>, 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課, 平成20年8月20日
- 9) 松尾健ほか：第40回全国薬事指導協議会総会, 112, 奈良県 (2003)
- 10) 厚生労働省：第十五改正日本薬局方, 385 (2007)
- 11) 熊坂謙一ほか：第43回全国衛生化学技術協議会年会, 191, 鳥取県 (2006)
- 12) 深川光司ほか：日薬理誌, 118, 303 (2001)