

## LC/MS による強壯用健康食品中未承認医薬品の一斉分析法について

赤城理恵 味戸一宏 河野裕子 川田好徳 鈴木昭彦 竹村悦子 斎藤和男  
理化学グループ

### 要 旨

健康食品中に強壯目的で使用された報告例のある 6 成分（シルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィル、ホンデナフィル、キサントアントラフィル、ヨヒンビン）について LC/MS による一斉分析法を検討した。本法で添加回収試験（添加濃度 0.2mg/g, n = 3）を行った結果、回収率は 92.3 ~ 102.5%, 変動係数は 5%以内であり良好な結果が得られた。定量下限値は 0.02mg/g であり、強壯用健康食品中未承認医薬品の検査に適応可能であることが明らかとなった。

キーワード：LC/MS, 健康食品, 強壯剤, 未承認医薬品

### はじめに

近年の健康ブームにより、瘦身、強壯などを目的としたいわゆる健康食品の需要が増大している。その一方でこれらの健康食品の中から、医薬品成分が発見され薬事法違反に問われたり、その摂取により重篤な健康被害が報告されるなどの事例が後を絶たない。また既存の医薬品成分だけでなく、それらの構造の一部を変えた類似物質も次々に発見されている。

このような中、厚生労働省により、いわゆる健康食品または健康食品と称する無承認無許可医薬品による健康被害発生の未然防止及び被害発生時の拡大防止を目的として、都道府県等並びに厚生労働省における「健康食品・無承認無許可医薬品健康被害防止対応要領<sup>1)</sup>」が定められ、対応策が強化された。

これを受け、健康食品中の医薬品成分を迅速かつ正確に分析するため、2006 年度から 2 ヶ年計画で LC/MS による健康食品中未承認医薬品の一斉分析法を検討した。2006 年度は、瘦身目的の健康食品中の医薬品の一斉分析法の検討を行い前報で報告した<sup>2)</sup>。2007 年度は、強壯目的の健康食品を対象とし一斉分析法を検討したので報告する。

### 方 法

#### 1 検査項目

国内で承認されている医薬品成分であるシルデナフィル、バルデナフィル、タダラフィル、ヨヒンビンの 4 成分に、ホンデナフィル、キサントアントラフィルを加えた 6 成分を検査項目とした。

#### 2 試薬等

##### 1) 標準品

シルデナフィル、バルデナフィル、タダラフィル、ホンデナフィル、キサントアントラフィルは国立医薬品食品衛生研究所から分与されたもの、ヨヒンビンは市販品を使用した。

##### 2) 標準原液

各標準品を秤量し、1,000µg/mL となるようにアセトニトリルで溶解し調製した。

##### 3) 標準溶液

標準原液を等量ずつ混合し、アセトニトリル/5mM ギ酸アンモニウム緩衝液 (pH3.5) 25/75 で適宜希釈して使用した。

##### 4) 試薬

アセトニトリル、蒸留水、ギ酸は HPLC 用、その他は試薬特級を用いた。

#### 3 装置及び測定条件

##### 1) 装置

LC 部：Waters Alliance 2695

MS 部：Waters ZQ4000

PDA 検出器：Waters 2996

2) 測定条件

(1) LC 条件

カラム：InertsilODS-3 (2.1×150mm, 5μm, GLサイエンス)

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

B 液 アセトニトリル

グラジエント条件：(A 液/B 液)100/0 (0-3 分)  
 - 70/30 (13-20 分) - 50/50 (20.01-30 分)  
 - 100/0 (30.01-45 分)

流速：0.3mL/分

カラム恒温槽：40℃

PDA 検出器：200 ~ 500nm

(2) MS 条件

イオン化法：ESI ポジティブモード

キャピラリー電圧：3.3kV

ソース温度：120℃

脱溶媒温度：350℃

コーンガス流量：60L/時

脱溶媒ガス流量：360L/時

4 試料溶液の調製

厚生労働省から通知された方法<sup>3)</sup>に準拠した方法で実施した。

錠剤は乳鉢で粉碎及び均一化した試料，カプセル剤は内容物，粉末等はそれぞれ 200mg，液体は 200μL を分析試料とした。

液体試料の場合は，窒素気流下 (40℃) で可能な限り液分を蒸発させた。分析試料に 1%ギ酸水溶液/アセトニトリル(1/4)2mL を加え，超音波下 5 分抽出を行った。次いで遠心分離 (1,500rpm 程度，3 分間) を行い，上澄を 1mL をとり，LC/MS 測定条件の移動相 A 液 1mL を加え，膜ろ過を行い試料溶液とした。

5 分析方法

1) 定性分析

試料溶液 1μL を LC/MS に注入し，分析 (SCAN モード) を行う。別に分析した標準試料と保持時間，UV スペクトルを比較検討する。

2) 定量分析

定性分析試料溶液 100μL を 10mL に定容した溶液 5μL を LC/MS に注入し，分析 (SIM

モード) を行う。別に分析した標準試料より作成した検量線から定量を行う。

結果及び考察

1 LC条件の検討

厚生労働省から通知された方法<sup>3)</sup>の測定条件で実施したところ，図 1 に示すように 6 成分のピークが分離した。

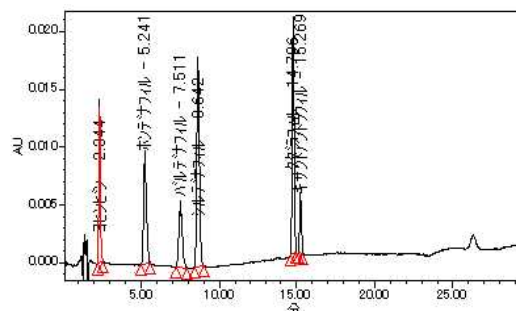


図 1 HPLC のクロマトグラム (290nm)

各標準品の UV 吸収スペクトルを図 2 に示す。それぞれ特有の UV 吸収スペクトルパターンを示した。

2 MS 条件の検討

1) SCAN モード

ポジティブモードでコーン電圧 30V, 90V における各標準品のマススペクトルを測定した結果を図 3 に示した。コーン電圧 30V の時，シルデナフィル，バルデナフィル，ホンデナフィル，ヨヒンビンでは [M+H]<sup>+</sup> である m/z475, m/z489, m/z467, m/z355 の強度が最も大きかった。タダラフィルとキアントアントラフィルでは，ともにプロトン付加イオン [M+H]<sup>+</sup> である m/z390 よりも，タダラフィルでは m/z268, キアントアントラフィルでは m/z151 の方が強度が大きかった。6 成分ともに電圧を 90V に上げるとフラグメントイオンが認められた。そこで，コーン電圧を変動させ，プロトン付加イオンとフラグメントイオンから対象物質の同定を行うこととした。

2) SIM モード

それぞれモニターイオンを選択し，イオン強度が大きくなる最適なコーン電圧を定量用

(SIM モード) の条件とした (表 1).

### 3 定量分析における検量線及び定量下限値

標準溶液を用いて SIM モードでピーク面積から検量線を作成した. その結果 0.010 ~ 2.0 $\mu$ g/mL の濃度範囲で相関係数 0.998 以上と良好な直線性を示した. 定量下限値は 0.02mg/g であった.

表 1 SIM 測定条件

検査項目	測定条件	
	モニターイオン(m/z)	コン電圧(V)
シルデナフィル	475	50
タダラフィル	268	30
バルデナフィル	489	40
ホンデナフィル	467	40
キサントアントラフィル	151	30
ヨヒンビン	355	40

### 4 添加回収試験結果

不検出が確認されている試験品に 0.2mg/g になるように標準品を添加し, 添加回収試験を実施した結果を表 2 に示す. 平均回収率は 92.3 ~ 102.5%, 変動係数 (CV) はいずれも 5% 以内であり, 良好な結果が得られた.

表 2 添加回収試験結果 (n = 3)

検査項目	平均回収率 (%)	CV (%)
シルデナフィル	97.7	2.1
タダラフィル	95.5	4.5
バルデナフィル	102.5	1.8
ホンデナフィル	98.7	1.5
キサントアントラフィル	92.3	1.7
ヨヒンビン	100.3	2.5

### 5 検査実施結果

本県で実施している 2007 年度医薬品含有 (疑い) 食品等の検査事業で買い上げた強壮や男性機能亢進を目的とした健康食品 5 品目について検査を実施した結果, 6 成分すべて検出されなかった.

また厚生労働省から通知されている類似物等 12 品目についても UV スペクトル, マススペクトルによる定性分析を実施してみたが, 疑わしいピークは認められなかった.

2004 年度検査を実施し, シルデナフィルの含有が確認されている中国製強壮剤について本法で定性分析を実施した結果, シルデナフィルと保持時間の一致するピークが認められ, このピークについて UV スペクトルとマススペクトルを測定したところ, シルデナフィルのスペクトルと一致した (図 4).

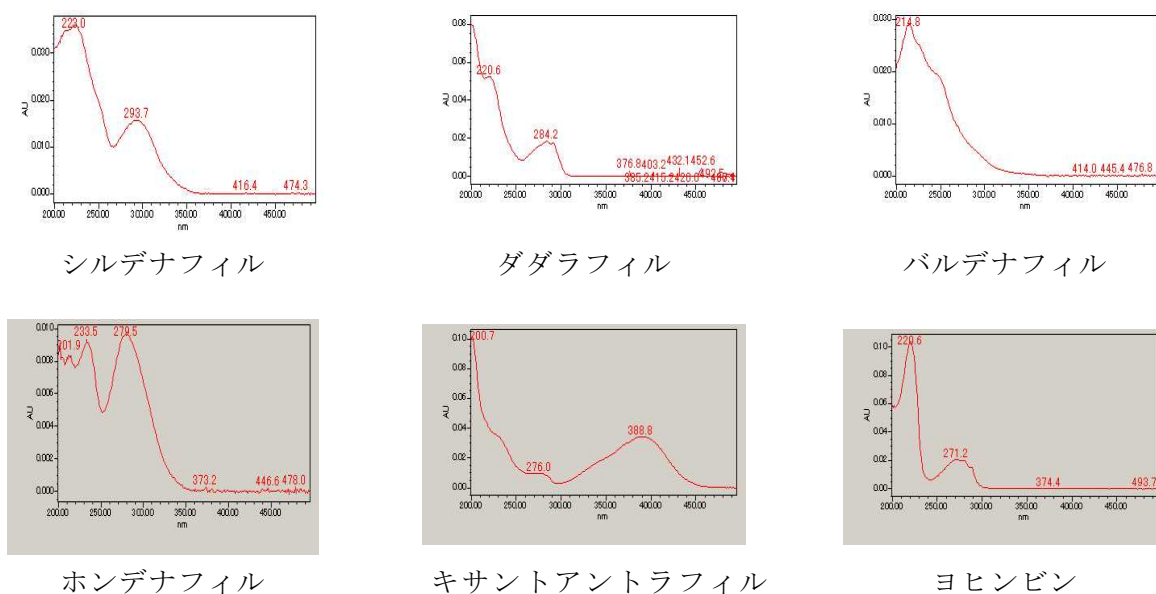


図 2 標準品の UV スペクトル

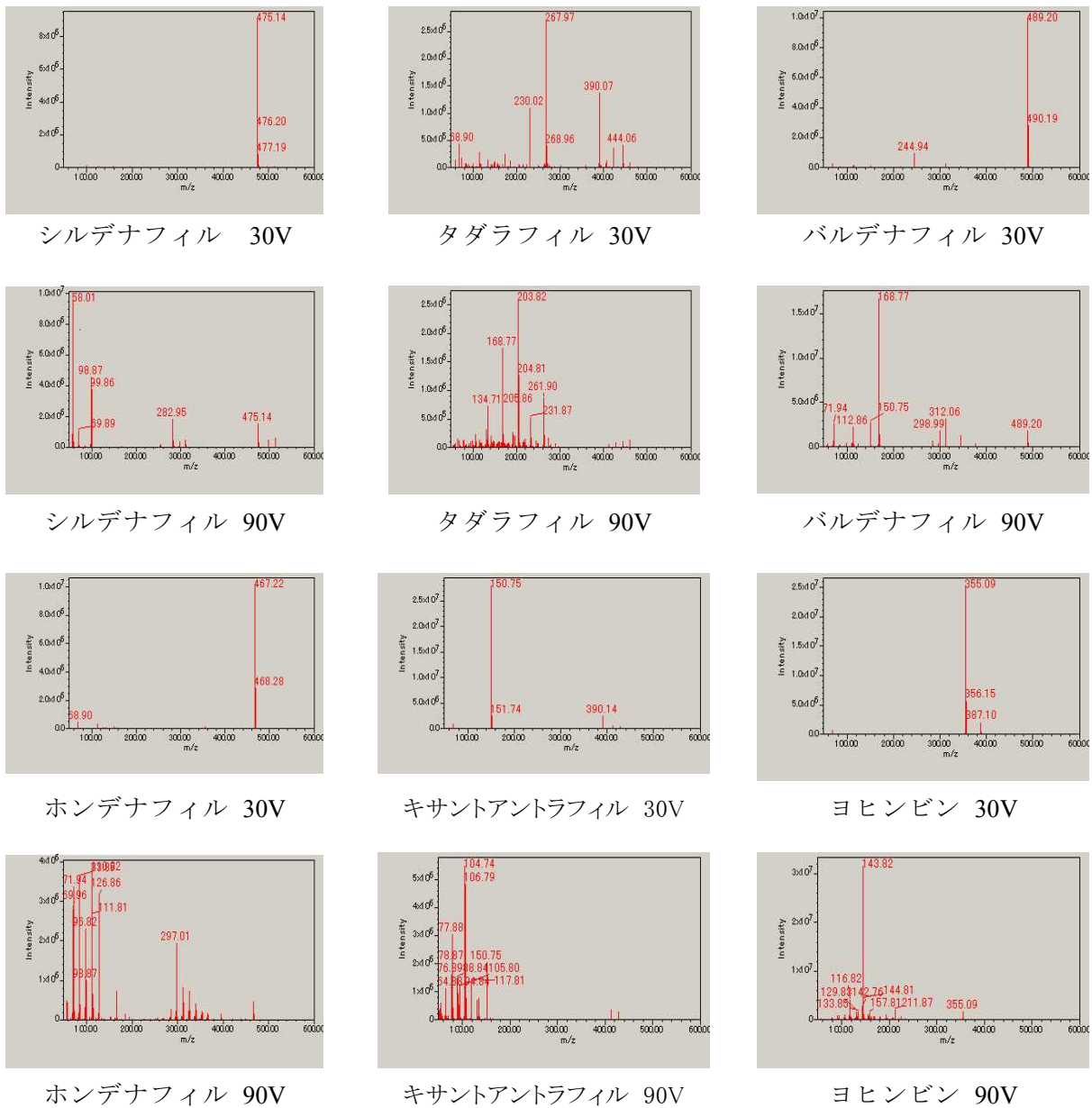


図3 コーン電圧 30V 及び 90V における標準品のマススペクトル

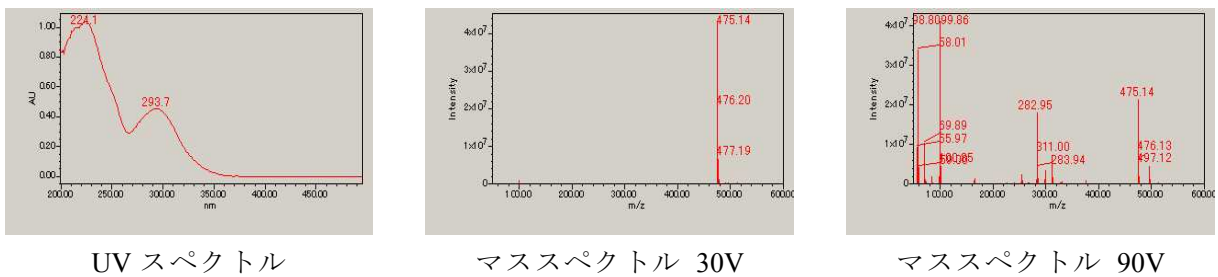


図4 試験品（シルデナフィル検出）UV スペクトル及びコーン電圧 30V 及び 90V におけるマススペクトル

### まとめ

LC/MS による強壯用健康食品中未承認医薬品 6 種（シルденаフィル，タダラフィル，バルденаフィル，ホンденаフィル，キサントアントラフィル，ヨヒンビン）の一斉分析法を検討した。

その結果，簡便な抽出操作で，健康食品中の医薬品成分を迅速にかつ正確に分析することが可能となった。

今後も類似物質等の情報を収集し，入手可能な標準品については順次検討を行い，無承認無許可医薬品による健康被害発生の未然防止及び健康被害発生時の拡大防止に寄与していきたいと考える。

### 引用文献

- 1)厚生労働省医薬局長通知. 健康食品・無承認無許可医薬品被害防止対策要領について. 平成 14 年 10 月 4 日, 医薬発第 1004001 号.
- 2)LC/MS による瘦身用健康食品中未承認医薬品の一斉分析法について. 福島県衛生研究所年報 2006 ; 24 : 47-50.
- 3)厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課長通知. ウデナフィルの分析方法について. 平成 19 年 8 月 22 日, 薬食監麻発第 0822010 号.