

Table 2 ^1H - and ^{13}C -NMR data of thiazoidalenafil (1) and aildenafil (2) in $\text{DMSO}-d_6$

No.	thiazoidalenafil (1)		aildenafil (2)	
	δ_c	δ_H (J in Hz)	δ_c	δ_H (J in Hz)
1	145.4	-	145.1	-
4	154.5	-	153.9	-
5-NH		-		12.21 brs
6	149.9	-	148.4	-
8	140.0	-	138.0	-
9	128.3	-	124.6	-
10	39.5	4.40s	38.0	4.16s
11	27.5	2.92t (7.5)	27.4	2.77t (7.5)
12	21.6	1.84m	21.9	1.73qt (7.5, 7.5)
13	14.0	0.96t (7.3)	14.0	0.93t (7.5)
14	126.2	-	126.6	-
15	130.5	7.65d (2.3)	130.0	7.83d (2.4)
16	127.6	-	123.8	-
17	130.9	7.70dd (2.3, 8.7)	131.6	7.81dd (2.4, 8.7)
18	113.9	7.31d (8.7)	113.4	7.37d (8.7)
19	160.3	-	159.9	-
20	64.6	4.11q (6.8)	65.0	4.20q (6.9)
21	14.3	1.23t (6.9)	14.4	1.33t (6.9)
24/28	51.7	1.64m	52.0	1.68t (10.7)
		3.44bd (9.8)		3.45dd (2.0, 10.7)
25/27	50.0	2.77m	49.9	2.73m
29/30	18.9	0.94d (5.6)	19.1	0.91d (6.4)
31	116.0	-		
32	150.0	-		
33	142.7	8.24s		
34	33.1	3.76s		

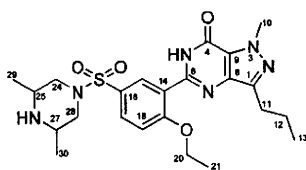


Fig. 1 Structure of aildenafil (2)

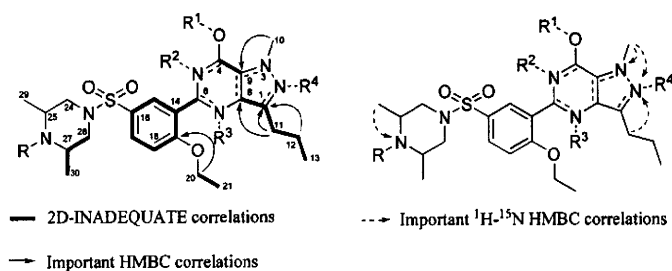


Fig. 2 2D-INADEQUATE and important HMBC correlations of thiazaildenafil (1)

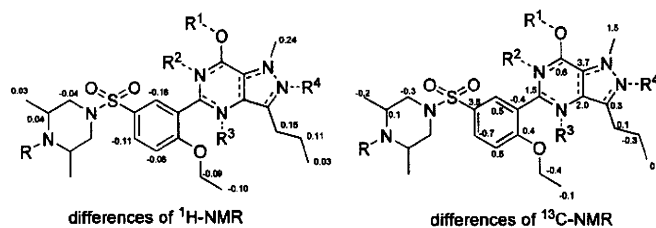


Fig. 3 Differences of the ^1H - and ^{13}C -NMR chemical shifts between 1 and 2

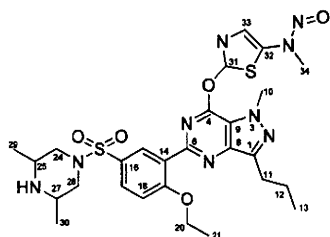


Fig. 4 Structure of nitriso-prodenafil

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査と分析，有害性評価に関する研究
研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部長 合田幸広

「いわゆる健康食品」より検出された勃起不全（ED）治療薬類似化合物の分析法について
研究協力者 鎌倉浩之 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部主任研究官

研究要旨 地方衛生研究所より問い合わせを受けた強壯を標榜する「いわゆる健康食品」に含まれていたシルデナフィル類似構造化合物の分析法の検討を行った。アンモニアアルカリ条件下，酢酸エチルで抽出を行い，得られた化合物について，LC-PDA-MS 分析を行った。その結果 10.3 分付近に m/z 630 のピークが検出された。また，単離した本化合物に 0.1%ギ酸溶液を加え，60℃で 5 時間加温後分析を行ったところ，5.6 分付近にアイルデナフィルに一致するピークが新たに検出された。本分析条件においては，シルデナフィルは 4.4 分に，タダラフィルは 8.9 分に，それぞれ検出された。

A. 研究目的

強壯を標榜する健康食品に，シルデナフィル，バルデナフィルまたはタダラフィルといった ED 治療薬（医薬品成分）やこれら ED 治療薬（医薬品成分）の一部改変した構造をもつ化合物が添加されている事例が後を絶たない。

平成 22 年 8 月に浜松市保健環境研究所より，強壯を謳う健康食品に含まれる未知の ED 治療薬構造類似化合物の同定の協力依頼があった。その後，8 月末に千葉県衛生研究所より，9 月に大阪府立公衆衛生研究所より，そして 10 月に神奈川県衛生研究所より同様の疑義照会があった。NMR による構造解析から，シルデナフィル類似構造化合物と推定され，また，複数の照会があったことなどから，本化合物の同定と並行して本化合物の分析法の作成を行うこととした。

B. 研究方法

試薬・試液：アセトニトリル，メタノールは LiChrosolv gradient grade LC 用（Merck 社）を，その他の試薬は特級品を用いた。

1. 試験液の調製

カプセル中の試料粉末 0.2 g をねじ口試験管に取り，アンモニア水 1 mL を加え，酢酸エチル 3 mL で 10 分間振とう抽出した。遠心分離後，上清を分取した。同様に抽出操作を 2 回行い，有機層を合わせて溶媒除去し，残渣を得た。これにメタノールを加えて正確に 5 mL とし，これを試験原液とした。これをメタノールで適宜希釈し，分析を行った。

2. LC-PDA-MS 測定

LC 部に Shimadzu Prominence UFLC システムを配した Shimadzu LCMS-2010 EV 質量分析計（島津製作所製）を用いた。

測定条件

カラム

Hypersil Gold C18 (1.9 μ m), 2.1 mm x
100 mm (Thermo Fisher Scientific 社),
40 $^{\circ}$ C

移動相

A 液 (0.1 %ギ酸溶液)

B 液 (0.1 %ギ酸アセトニトリル溶液)

グラジエント条件

initial (% B = 30) - 10 min (% B = 60) -
15 min (% B = 60)

流速 : 0.2 mL/min

フォトダイオードアレイ検出器 (PDA)

200~600nm, 1.2nm 間隔でスキャン

注入量 : 1 μ L

インターフェース電圧 : 4.5 kV

CDL 電圧 : -10 V

CDL 温度 : 250 $^{\circ}$ C

ヒートブロック温度 : 200 $^{\circ}$ C

イオン化法 : ESI ポジティブ

検出器 : 100~1,000 amu を 2,000 amu/s
でスキャン

C. 研究結果

1. 試験液の分析

図 1 に UV 254 nm における抽出クロマトグラムを、図 2 に 10.3 分付近に検出されたピークの UV スライススペクトルを示した。また、図 3 に全イオンクロマトグラム (TIC, 上段) 及びマスキロマトグラム (m/z 630, 下段) を、図 4 に検出されたピークのマススペクトルを示した。

得られた UV スペクトルは、既知の ED 治療薬及び類似化合物とは異なるものであった。また、マススペクトルからは、分子量関連イオンピーク ($[M+H]^+$) として既知

の類似化合物より 130~150 amu 程度大きな m/z 630 が得られた。

2. 酸処理後の試験液の分析

本化合物が酸性移動相中で経時的に分解することから、0.1%ギ酸溶液処理 (60 $^{\circ}$ C, 5hr) し、分析を行った。図 5 に UV 254 nm における抽出クロマトグラムを、図 6 に 5.6 分付近に新たに検出されたピークの UV スライススペクトルを、図 7 にマススペクトルをそれぞれ示した。

得られた UV スペクトルは、ED 治療薬であるシルデナフィルに類似したものであった。また、マススペクトルからは、 $[M+H]^+$ として m/z 489 が得られた。標品との比較から新たに検出されたピークは、アイルデナフィルと同定された。

D. 考察

平成 15 年 4 月に、強壯を標榜した「いわゆる健康食品」から違法に混入された ED 治療薬シルデナフィル (医薬品成分) が検出された報告があつて以来、そのような「いわゆる健康食品」による事例が後を絶たない。今回の事例では、構造解析の結果から ED 治療薬類似構造化合物であるアイルデナフィルの誘導体 (前駆体) と考えられる化合物が添加されていたことが判明している。本研究において、分析を行う際に酸処理することにより、本化合物は経時的に分解しアイルデナフィルを生成したことは、構造解析の結果を強く支持する結果であった。

なお、本分析条件においてシルデナフィルは 4.4 分に、タダラフィルは 8.9 分に、それぞれ検出された。

E. 結論

強壯を標榜する「いわゆる健康食品」に認められた ED 治療薬類似構造化合物の分析法を確立した。本分析条件では、10.3 分付近に本化合物は検出された。また酸処理により生成するアイルデナフィルは 5.6 分付近検出された。参考として本分析条件においてシルデナフィルは 4.4 分に、タダラフィルは 8.9 分に、それぞれ検出された。

参考

1) 医薬品成分（シルデナフィル及び類似成分）が検出されたいわゆる健康食品について；厚生労働省健康被害情報・無承認無許可医薬品情報，【医薬品成分が検出された

無承認無許可医薬品について】。

(<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/other/050623-1.html>)

F. 健康危機情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表等

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

分担研究課題：無承認無許可医薬品の調査と分析，有害性評価に関する研究
研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部長 合田幸広

協力研究者 国立医薬品食品衛生研究所有機化学部室長 ；栗原正明

無承認無許可医薬品の規制のためのインシリコ評価法に関する研究

無承認無許可医薬品を迅速に規制、検挙するためには、これらの迅速な活性評価スクリーニングが必要である。そこで本研究では *in silico* による評価法の開発に関する研究を行っている。本年度は、メチソシルデナフィル及びアセチルアッシドと Human phosphodiesterase 5 (PDE5) とのコンピュータシミュレーションによる結合モデルを構築し、活性について考察した。

A. 研究目的

無承認無許可医薬品であるシルデナフィル類似物質（PDE5 阻害剤）が健康被害の危険性があり、大きな問題となっている。これら無承認無許可医薬品を迅速に規制、検挙するためには、これら不適切な化合物の迅速な活性評価スクリーニングが必要である。しかし、*in vitro*, *in vivo* 試験では時間がかかり、迅速な対応が困難である。そこで本研究では *in silico* による評価法の開発を目的とする。

B. 研究方法

シルデナフィルは、生体内で環状グアノシン 1 リン酸 (cGMP) の分解を行っている 5 型ホスホジエステラーゼ (PDE5) の酵素活性を阻害する。(図 1, 図 2) これが NO 作動性神経に作用して血管を拡張させ、血流量が増えることによって活性を発現すると考えられている。シルデナフィル類似物質と Human Phosphodiesterase 5 (PDE5) との結合モデルを以下のようにして構築した。

PDE5 の三次元構造は X 線構造 (PDB ID: 1UDT) を用いた。タンパク質内の薬物のコンフォメーションは、プログラム *MacroModel* (Schrodinger, Inc.) のコンフォメーションルサーチ (条件: Mixed MCMM / Low Mode, Amber*) を用いて求めた。コンフォメーションルサーチで得られた最安定構造を結合モデルとした。水素結合を中心に結合モデルの評価を行った。

本年度はメチソシルデナフィル及びアセチルアッシドについて行った。

C. 研究結果と考察

1. メチソシルデナフィルと PDE5 の結合モデル

メチソシルデナフィル (図 3) には 3 つの立体異性体 (A, B, C) が存在する。(図 4) メチソシルデナフィルの 3 つの異性体と PDE5 (1UDT) の結合モデルをそれぞれ構築した。(図 5) その結果、これらはシルデナフィルが結合した部位にほぼ同一の配向性で結合することが明らかとなった。さらに、シルデナフィルは活性ドメインにおいて Gln817 と水素結合を形成するが、これらも

同様に Gln817 と水素結合を形成しうることが示された。このことにより、これらは同一の作用機序でシルデナフィルの標的分子である PDE5 を阻害する可能性が予測された。

2. アセチルアッシドと PDE5 の結合モデル

同様の手法で、アセチルアッシド(図 6) と PDE5 (1UDT) の結合モデルを構築した。(図 7) アセチルアッシドもはシルデナフィル (1UDT) とほぼ同様に PDE5 と結合することが予測され、活性がある可能性が予測される。

D. 結論

メチソシルデナフィル及びアセチルアッシドが PDE5 と結合し、阻害活性を有することを定性的に予測した。今後、定量性を得るためにはさらなる検討が必要である。

E. 健康危機情報

特になし

F. 研究発表等

Y. Demizu, M. Doi, Y. Sato, M. Tanaka, H. Okuda, M. Kurihara;

Three-dimensional structural control of diastereomeric Leu-Leu-Aib-Leu-Leu-Aib Sequences in the Solid State, *J. Org. Chem.*, **75**, 5234-5239 (2010)

M. Nagano, M. Doi, M. Kurihara, H. Suemune, M. Tanaka;

Stabilized α -helix-catalyzed enantioselective epoxidation of α, β -unsaturated ketones, *Org. Lett.*, **12**, 3564-3566 (2010)

Y. Demizu, M. Tanaka, M. Doi, M. Kurihara, H. Okuda, H. Suemune; Conformations of peptides containing a chiral cyclic α, α -disubstituted α -amino acid within the sequence of Aib residues, *J. Pept. Sci.* **16**, 621-626(2010)

Y. Demizu, N. Yamagata, Y. Sato, M. Doi, M.

Tanaka, H. Okuda, M. Kurihara; Controlling the helical screw sense of peptides with C-terminal L-valine, *J. Pept. Sci.* **16**, 153-158(2010)

M. Oba, Y. Demizu, N. Yamagata, Y. Sato, M. Doi, M. Tanaka, H. Suemune, H. Okuda, M. Kurihara; Solid-state conformation of diastereomeric -Pro-Pro-(Aib)⁴ sequences, *Tetrahedron*, **66**, 2293-2296 (2010)

M. Kurihara, Y. Sato, N. Yamagata, Y. Demizu, H. Okuda, M. Nagano, M. Doi, M. Tanaka, H. Suemune;

Computational study on helical structure of Chiral α, α -Disubstituted oligopeptides; *Peptide Science 2009*, 385-386(2010)

T. Sugiyama, K. Ninomiya, Y. Imamura, M. Kurihara, M. Takano, A. Kittaka; Sequence-specific cleavage of DNA by peptide nucleic acids conjugated with metal complexes, *Peptide Science 2009*, 425-426(2010)

Y. Demizu, A. Nakatsu, Y. Sato, S. Honzawa, A. Yamashita, T. Sugiura, A. Kittaka, S. Kato, H. Okuda, M. Kurihara;

Facile synthesis of stereoisomers of the non-secosteroidal ligand LG190178 and their evaluation using the mutant vitamin D receptor, *Lett. Org. Chem.* **8**, 43-47 (2011)

N. Yamagata, Y. Demizu, Y. Sato, M. Doi, M. Tanaka, K. Nagasawa, H. Okuda, M. Kurihara Design of a stabilized short helical peptide and its application to catalytic enantioselective epoxidation of (E)-chalcone *Tetrahedron Letters*, **52**, 798-801 (2011)

栗原正明, 出水庸介, 佐藤由紀子, 花尻瑠理, 合田幸広, 奥田晴宏

定量的構造活性相関 (QSAR) 等による違法薬物の活性予測
第 54 回日本薬学会関東支部大会 (2010. 10. 02, 東京)

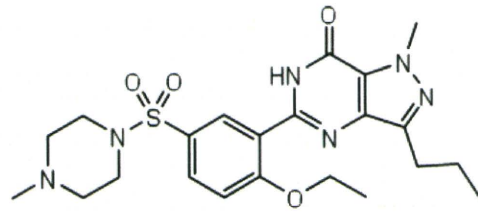


図1 シルデナフィルの構造

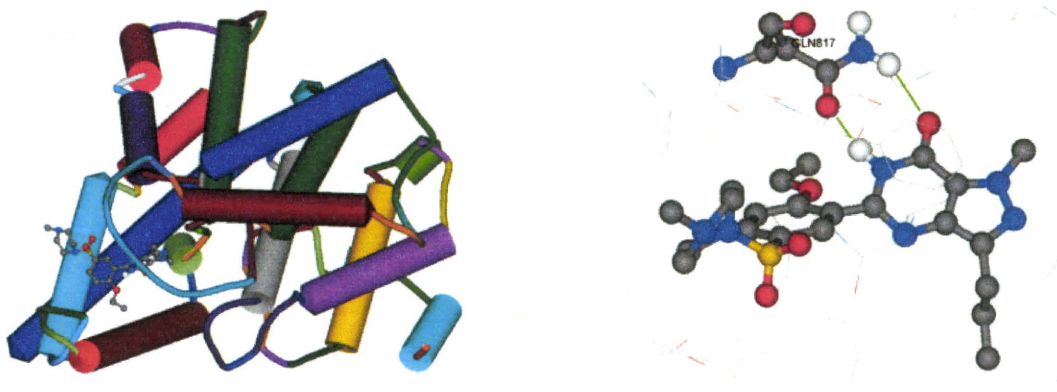


図2 シルデナフィルが結合した PDE5 の X線構造 (PDB ID: 1UDT) (左), PDE5 との水素結合 (右)

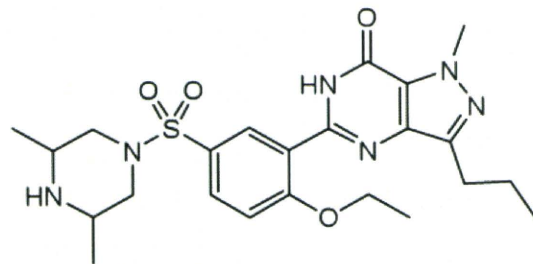


図3 メチソシルデナフィルの構造

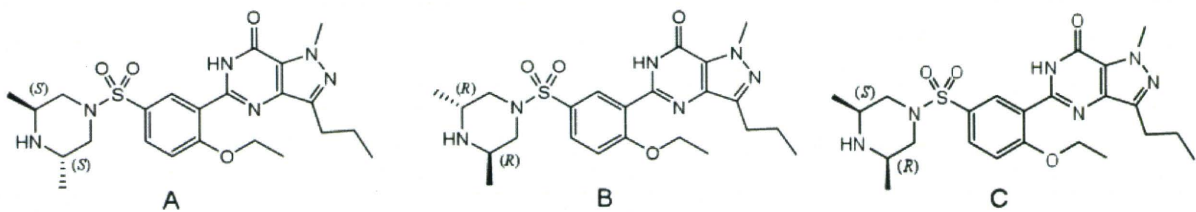
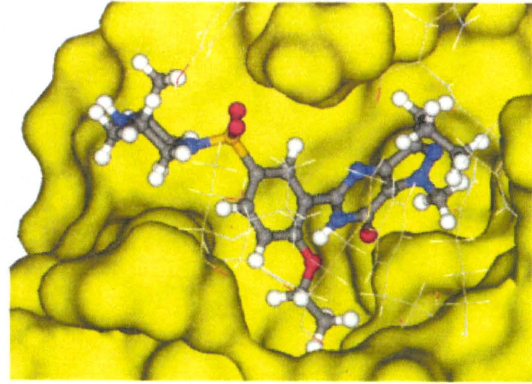
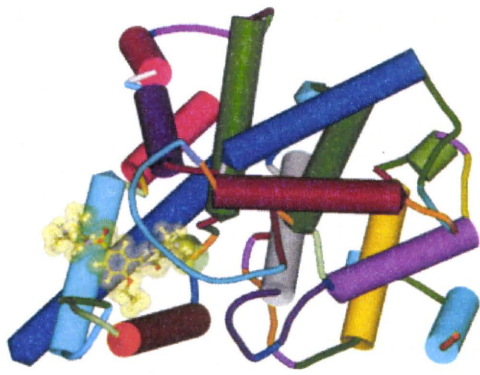
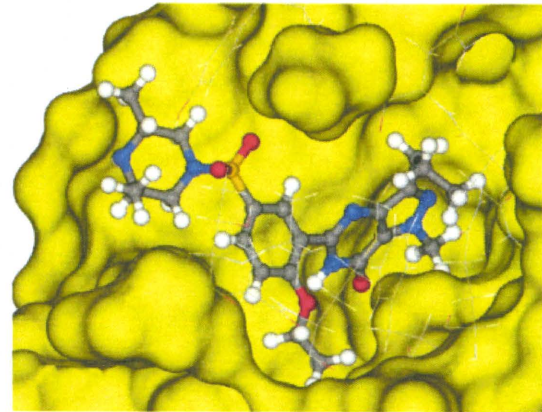
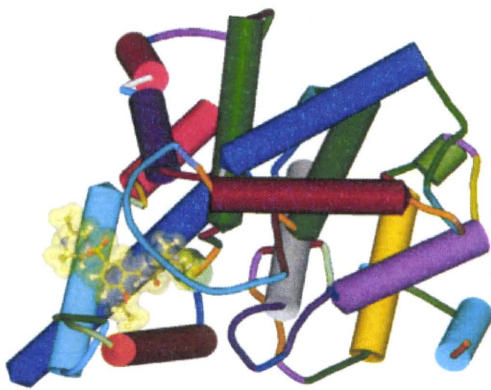


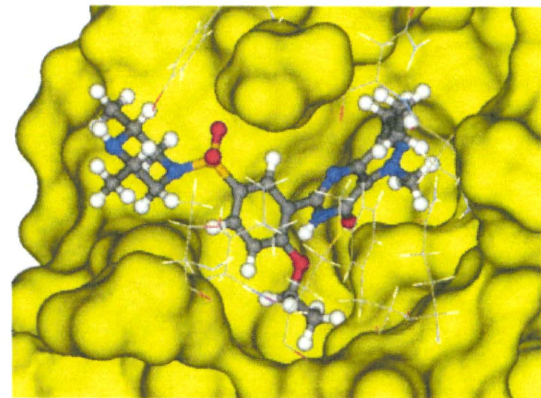
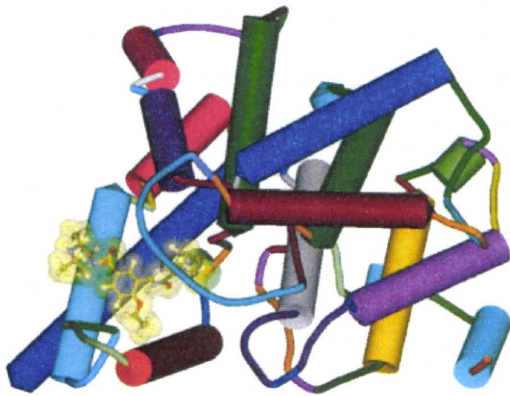
図4 メチソシルデナフィルの3つの異性体の構造



A と PDE5 の結合モデル



B と PDE5 の結合モデル



C と PDE5 の結合モデル

図5 メチソシルデナフィルと PDE5 との結合モデル

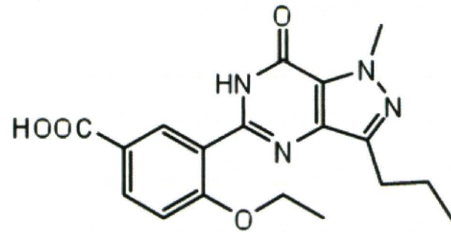


図6 アセチルアツシドの構造

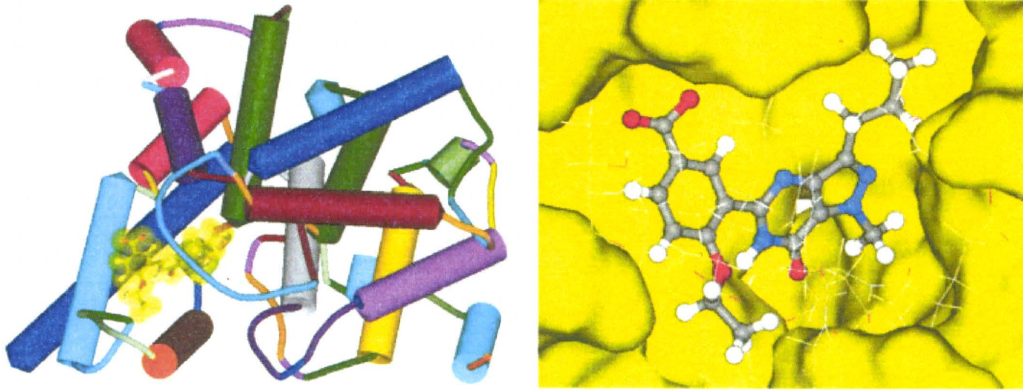


図7 アセチルアツシドと PDE5 との結合モデル

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査と分析，有害性評価に関する研究

分担研究者 合田 幸広 国立医薬品食品衛生研究所生薬部部长
研究協力者 最所 和宏 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

—電子たばこ吸入蒸気中のニコチンの簡易分析法—

研究要旨 近年、日本国内において、電子たばこの市場が拡大されつつあるが、WHO や FDA から電子たばこの安全性について懐疑的な報告も行われている。また、国民生活センターの国内市場調査においても、電子たばこのカートリッジ中にニコチンを含有する製品が多数存在することが報告された。一方で、電子たばこ吸入蒸気中に含まれるニコチンの分析についての報告はほとんど無く、カートリッジ内容物だけでなく、吸入蒸気中のニコチンについても分析の必要性があると考えられる。そこで、電子たばこ吸入蒸気中のニコチンの簡易分析法を検討し、市販製品の分析を行った。まず、カートリッジ内容物の分析をした結果、31 銘柄中 20 銘柄のカートリッジ内容物よりニコチンが検出され、1 カートリッジ内容物あたりの含有量は 0.1 から 32.6 μg であった。電子たばこ吸入蒸気中のニコチンの簡易分析法を用いて、吸入蒸気を分析した結果、カートリッジ内容物よりニコチンが検出された 20 銘柄の吸入蒸気中から、ニコチンが検出された。カートリッジ内容物に今回分析した濃度のニコチンが存在すると、それらの吸入蒸気中にもニコチンが含まれることが判明した。

A. 研究目的

近年、日本国内において、電子たばこの市場が拡大されつつあるが、WHO や FDA から電子たばこの安全性について懐疑的な報告も行われている¹⁻²⁾。また、国民生活センターの国内市場調査においても、電子たばこのカートリッジ中にニコチンを含有する製品が多数存在することが報告された³⁾。一方で、電子たばこ吸入蒸気中に含まれるニコチンの分析についての報告はほとんど無い。本研究では、電子たばこ吸入蒸気中のニコチンについて簡易分析法を開発し、市場品について定性分析を行ったので報告する。

B. 研究方法

試料は、16 製品 31 銘柄の電子たばこを用いた。

1. 電子たばこカートリッジ内容物中のニコチンの定量

電子たばこカートリッジ内容物 30 mg に 10 μL のニコチン-d3 溶液 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ メタノール溶液) 及び 290 μL の水を加えて、10 秒間ボルテックスを行った。この溶液の膜ろ過 (Ultrafree-MC, 0.45 μm filter unit, MILLIPORE) を行い、ろ液の 2 μL を下記条件の UPLC-MS/MS に注入し、定性・定量分析を行った。別に分析した標準試料から作成した検量線により、ニコチンの含有量を算出した。

LC 条件

システム：Waters 社製 ACQUITY Ultra Performance LC に Quattro Premier XE を連結したもの

カラム：ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1 x 150 mm, 1.8 μ m, Agilent technologies 社)

移動相 A 液：0.1% 酢酸水溶液

移動相 B 液：0.1% 酢酸アセトニトリル溶液
グラジエント (A 液/B 液)：95/5 (0 min) - 5/95 (5-10 min)

流速：0.3 mL/min

カラム恒温槽温度：40 $^{\circ}$ C

MS/MS 条件

イオン化法：ESI ポジティブモード

乾燥ガス流量：800 L/hr

コーンガス流量：50 L/hr

乾燥ガス温度：400 $^{\circ}$ C

キャピラリー電圧：3000 V

コーン電圧：35 V

コリジョン電圧：25 V

MRM モード：m/z 162.9 \rightarrow 116.8 (ニコチン定量)、m/z 162.9 \rightarrow 105.8 (ニコチン定性)、m/z 162.9 \rightarrow 129.9 (ニコチン定性)、m/z 165.9 \rightarrow 116.8 (ニコチン-d3 体、内部標準物質定量)

2. 電子たばこ蒸気中のニコチンの定性分析

電子たばこを吸引できる状態にセットし、チューブを付けた注射器に接続し、接続部分をパラフィルムで密封した (図 1)。電子たばこの先端が赤色に発光するのを確認しながら、注射筒のシリンジを引いた (図 2)。電子たばこをチューブごとはずし、注射針につけかえた。パイアル用インサート (容量約 300 μ L) にメタノール 200 μ L を入れ、注射針の先端を液につからせながら、注射筒のシリンジを押し込み電子たばこ

の蒸気 (約 50 mL \times 3 回) をメタノールに捕集した。このメタノール溶液の 1 μ L を GC/MS にて分析した。別に分析した標準試料と保持時間、マススペクトルを比較検討した。

GC-MS 条件

システム：Agilent technologies 社製 GC6890N に 5975MSD を連結したもの

カラム：HP-5MS (15 m x 0.25 mm, 0.25 μ m, Agilent technologies 社製)

昇温条件：50 $^{\circ}$ C (0 - 3 min) - 10 $^{\circ}$ C/min - 300 $^{\circ}$ C (28 - 31 min)

イオン化法：EI

注入法：スプリットレス

注入口温度：250 $^{\circ}$ C

トランスファーライン温度：280 $^{\circ}$ C

He ガス流量：1.0 mL/min

SCAN モード：m/z 65 - 350

SIM モード：m/z 84, 133, 161, 162 (M $^{+}$)

C. 研究結果及び考察

1. 電子たばこカートリッジ内容物中のニコチンの定量

電子たばこカートリッジ内容物中のニコチンの定量は、分離能に優れる UPLC-MS/MS を用いた。ニコチンは高極性化合物でありカラムに保持されにくいため、多くの文献にて酢酸アンモニウム/酢酸バッファーを用いてカラムに保持させているが、検出感度の低下をさけるため、0.1% 酢酸水溶液/0.1% 酢酸アセトニトリル溶液を移動相に用いて、ニコチンの保持等について検討した。UPLC 用を含む ODS カラムでは、ほとんどニコチンが保持されなかった。そこで高極性化合物の保持に優れる ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 x 100 mm, 1.8 μ m, Waters) 及び ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1 x 150 mm, 1.8 μ m, Agilent

technologies) を用いて検討した。どちらのカラムもニコチンが同様に保持はされたが、ピーク形状が良かった ZORBAX Eclipse Plus C18 を選択した。カートリッジ内容物中に大量に含まれているグリセリンとニコチンを分離するため初期移動相は 0.1% 酢酸アセトニトリル溶液が 5% からのグラジエント条件とした。ニコチン標準溶液のクロマトグラム (図 4)、カートリッジ内容物中から高濃度ニコチンが検出された製品の本分析法によるクロマトグラム (図 5)、を示した。本分析条件では、グリセリンはカラムに保持されずニコチンと完全分離していた。本法による電子たばこカートリッジ内容物中のニコチンの定量結果を表 1 に示した。製品中濃度は 0.3 から 130.3 ng/mg、1 カートリッジあたりのニコチン含有量は 0.1 から 32.6 µg であった。

2. 電子たばこ蒸気中のニコチンの定性分析

電子たばこ蒸気中のニコチンの定性分析を行うため、まず、電子たばこを実際に吸引する際の蒸気を想定し、図 1 及び 2 に示した方法で、注射筒内に蒸気を採取した。採取した蒸気からのニコチンの捕集は、予試験としてヘッドスペース用バイアル、試験管、オートサンプラー用バイアル等にメタノールを加えて通気させて行い、これらのメタノール溶液を GC-MS にて測定し比較した。これらの中で、バイアル用インサートにメタノール 200 µL を入れて捕集する方法が、ニコチンを効率よく検出できた。GC-MS 分析条件は文献 2 に記載の方法を一部変更して設定した。本分析条件下でのニコチン標準溶液のクロマトグラム、そのクロマトグラムの保持時間 10.4 分付近のピークのマススペクトル (図 6) を示した。カートリッジ内容物中から高濃度ニコチンが検出された製品の本分析法によるクロマトグラム、そのクロマトグラムの保持時間 10.4 分付近のピークのマススペクトル (図 7) を示した。保持時間及びマススペクトルはニコチン標準溶液のものと一致し、電子たばこの蒸気中から SCAN モードにてニコチンの検出が可能であった。本研究で入手した電子たばこの中で、カートリッジ内容物中からニコチンが検出された全製品について、それらの蒸気中から SIM モードにてニコチンが検出された。1 例を図 8 に示した。

市販 31 銘柄の電子たばこ中、20 銘柄のカートリッジ内容物中からニコチンが検出され、1 カートリッジあたりのニコチン含有量は 0.1 から 32.6 µg であった。全銘柄の電子たばこ吸入蒸気について簡易分析法をおこなった結果、カートリッジ内容物よりニコチンが検出された 20 銘柄の吸入蒸気中から、ニコチンが検出された。カートリッジ内容物に今回分析した濃度のニコチンが存在すると、それらの吸入蒸気中にもニコチンが含まれることが判明した。

D. 結論

市販 31 銘柄の電子たばこ中、20 銘柄のカートリッジ内容物中からニコチンが検出され、1 カートリッジあたりのニコチン含有量は 0.1 から 32.6 µg であった。全銘柄の電子たばこ吸入蒸気について簡易分析法をおこなった結果、カートリッジ内容物よりニコチンが検出された 20 銘柄の吸入蒸気中から、ニコチンが検出された。カートリッジ内容物に今回分析した濃度のニコチンが存在すると、それらの吸入蒸気中にもニコチンが含まれることが判明した。

E. 参考文献

- 1) 世界保健機構 (WHO) ホームページ
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2008/pr34/en/>
- 2) アメリカ食品医薬品局 (FDA) ホームページ
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/ScienceResearch/UCM173250.pdf>
- 3) 国民生活センターホームページ
http://www.kokusen.go.jp/pdf/n-20100818_1.pdf

F. 研究発表等

学会発表

- 1) 最所和宏、花尻 (木倉) 瑠理、合田幸広、電子たばこ吸入蒸気中のニコチンの簡易分析法について、日本薬学会第 131 回年会 (静岡, 2011 年 3 月)

表1 ニコチンが検出された電子たばこ製品のカートリッジ内容物中のニコチン濃度と含有量
および吸入蒸気中のニコチンの検出

試料	ニコチン濃度	1カートリッジ中のニコチン含有量	吸入蒸気中のニコチン
	ng/mg	μg	
K2T	11.9	2.9	○
K2MS	1.1	0.3	○
K3T	8.5	2.0	○
K3MS	3.2	0.8	○
K6	4.3	1.4	○
K7T	12.5	—*	○
K7MS	11.2	—*	○
K17MS	130.3	32.6	○
K17SS	8.7	2.2	○
K18SS	18.6	4.3	○
K22V	66.9	14.7	○
K25MS	20.8	4.8	○
K25SS	20.4	4.7	○
Y1MS	2.9	0.7	○
Y1SS	6.4	1.6	○
O1MS	3.9	1.0	○
O1SS	3.5	0.9	○
O1MI	0.3	0.1	○
O2SS	11.7	2.9	○
O3MS	3.6	0.9	○

*交換式カートリッジのため、カートリッジ内容物の全重量が測定できず、含有量の算出を行
こなうことができなかった。

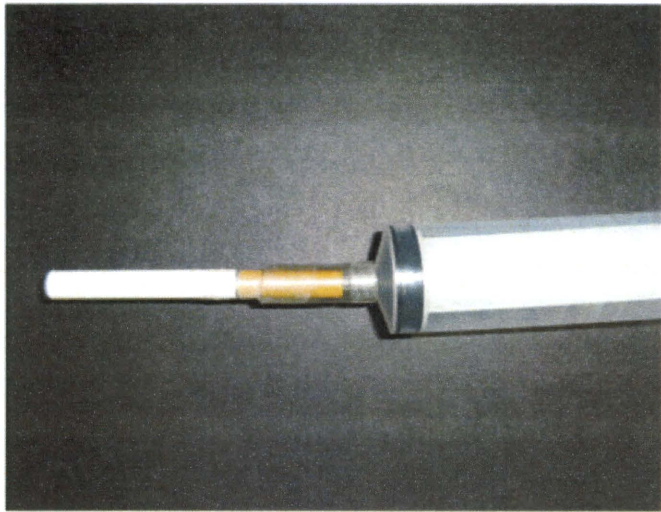


図1 電子タバコを注射等に接続した状態（吸引前）

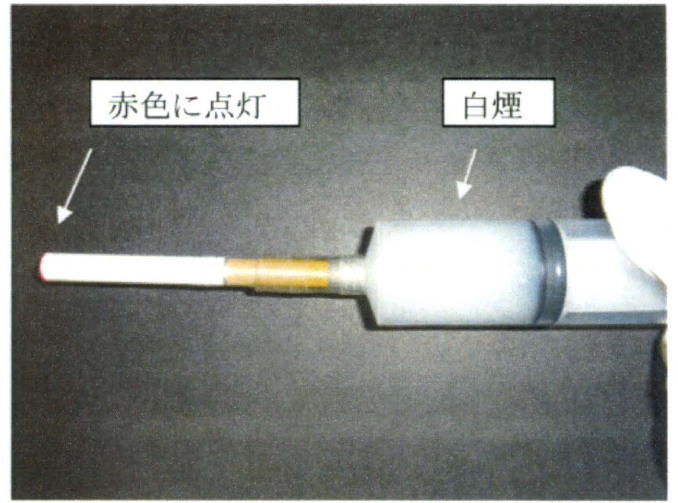


図2 シリンジを引いている状態（吸引中）

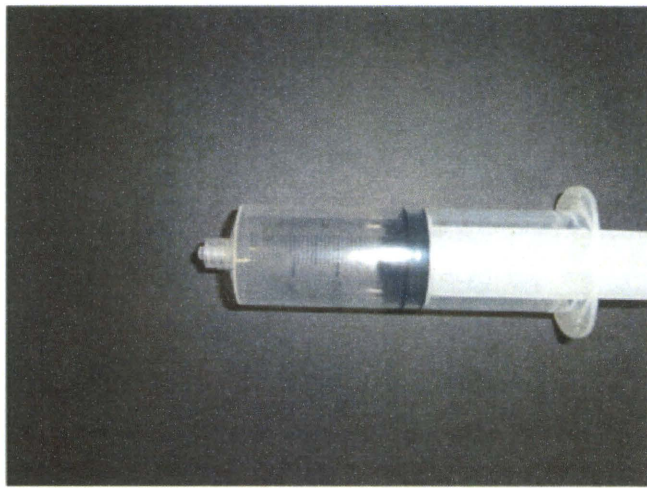


図3 蒸気の吸引が無い状態

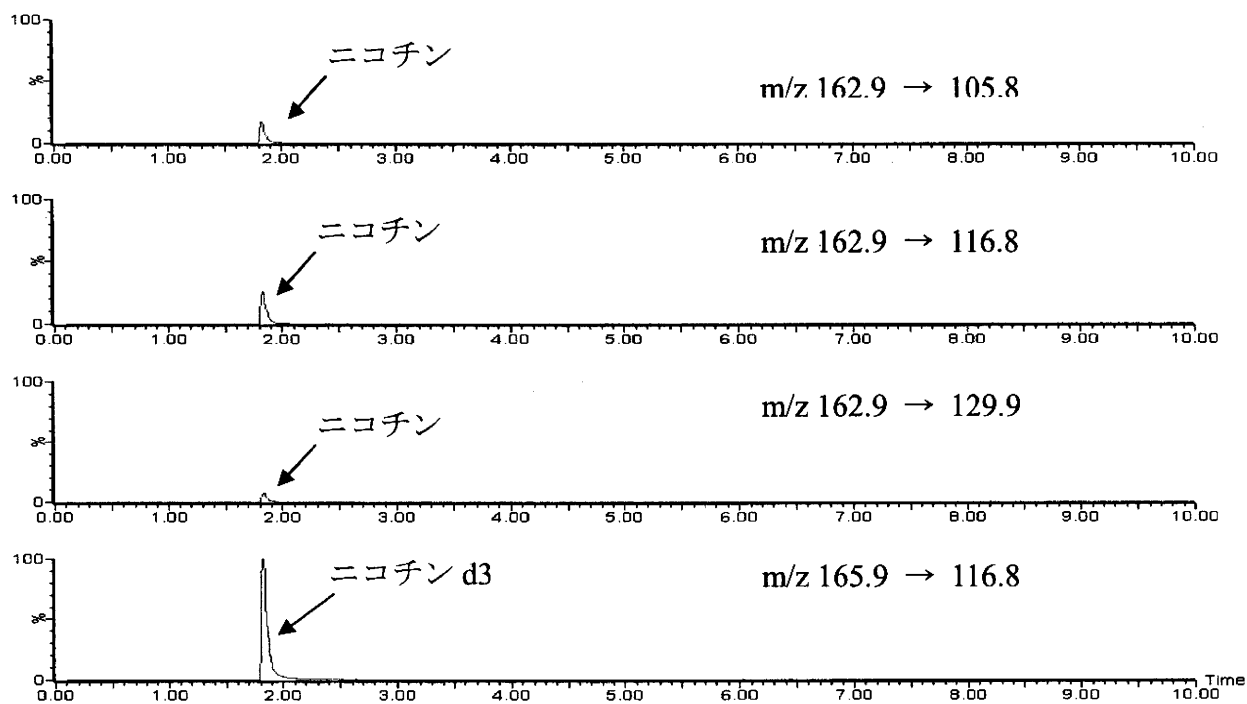


図4 ニコチン標準溶液 (10ng/mL の初期移動相溶液) のMRMクロマトグラム

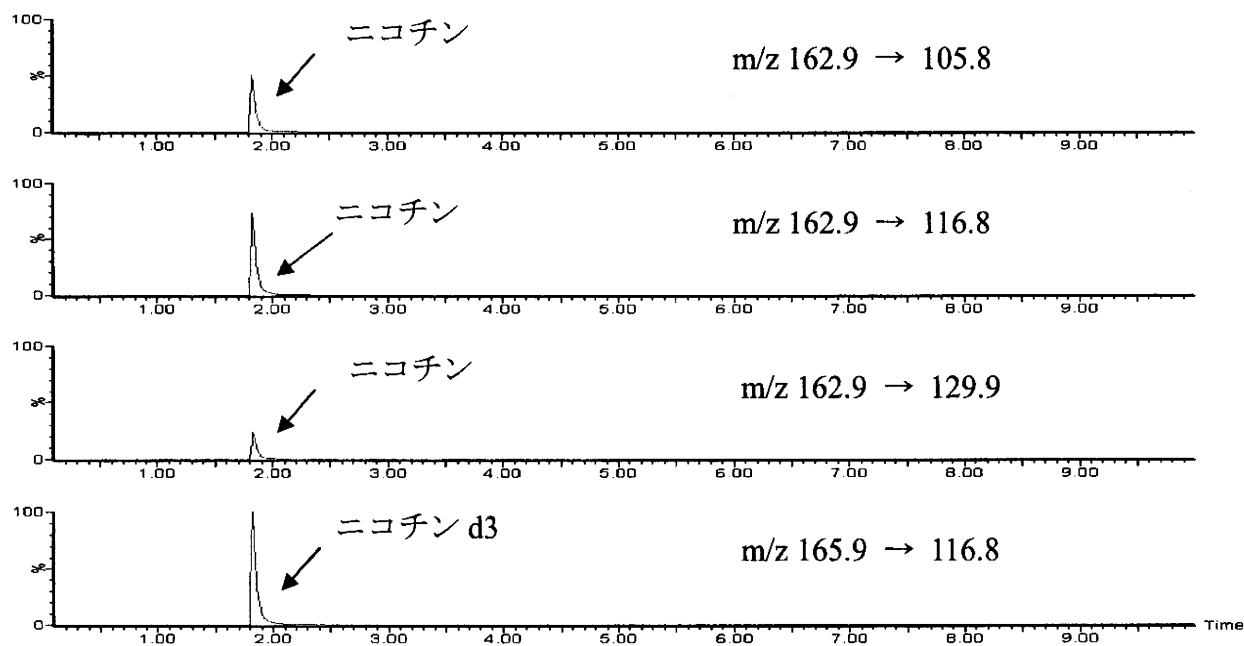


図5 試料 K17MS のカートリジ内容物溶液のMRMクロマトグラム

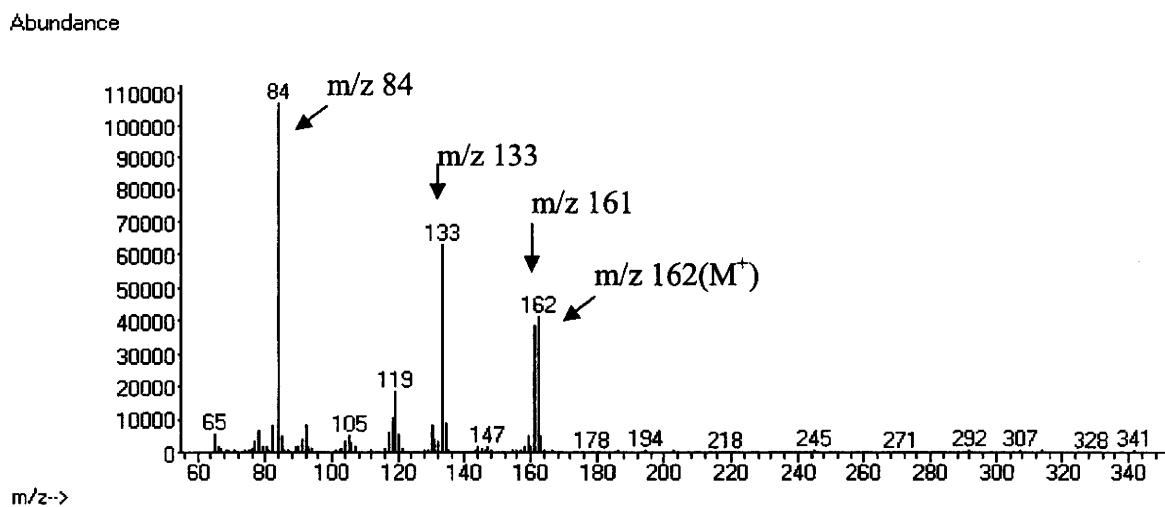
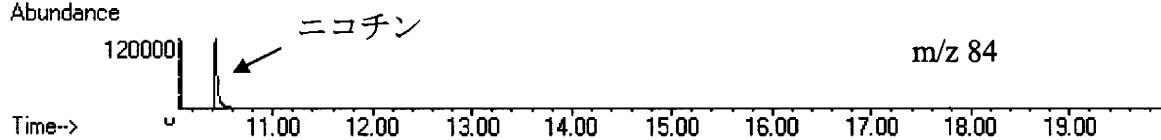
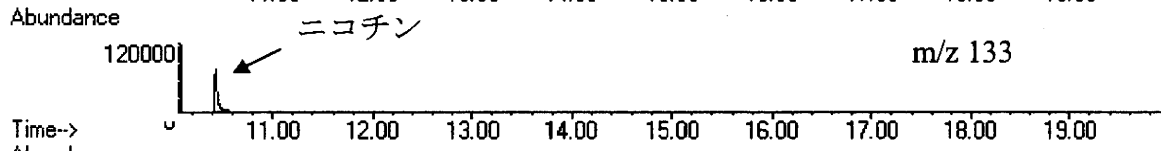
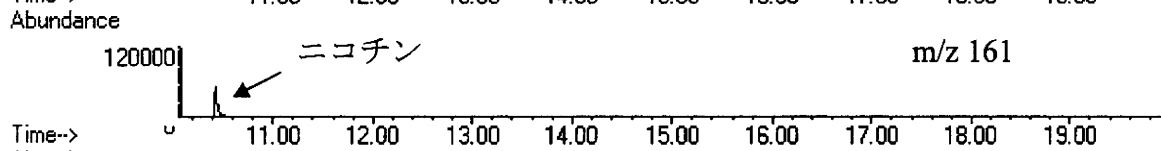
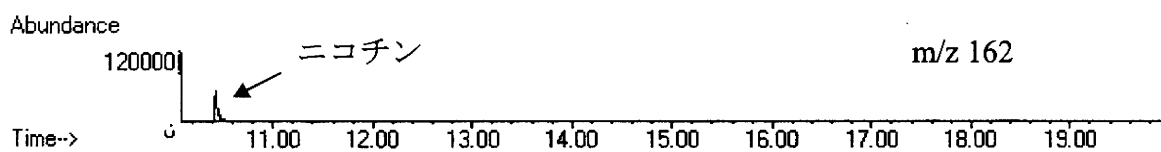
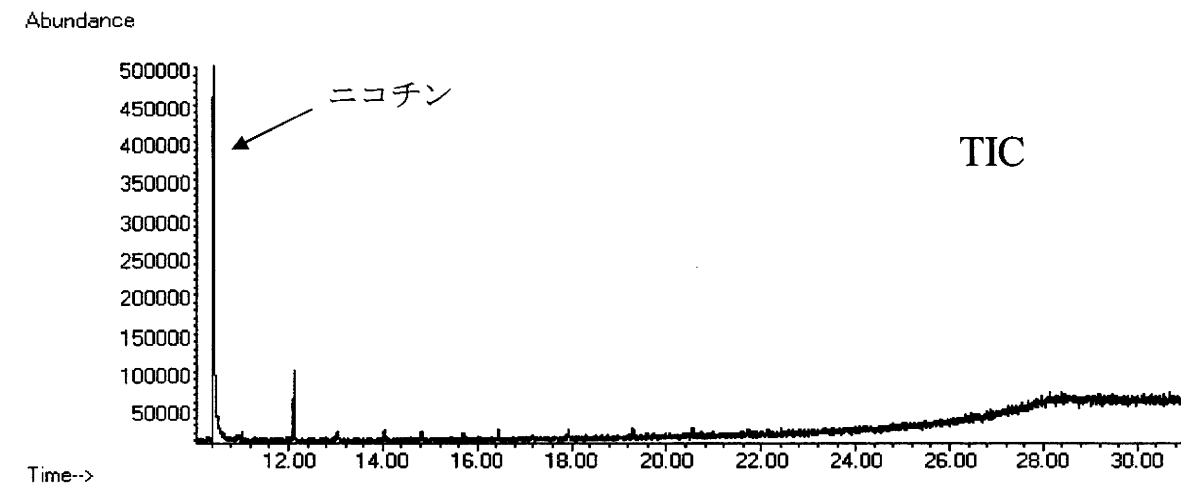
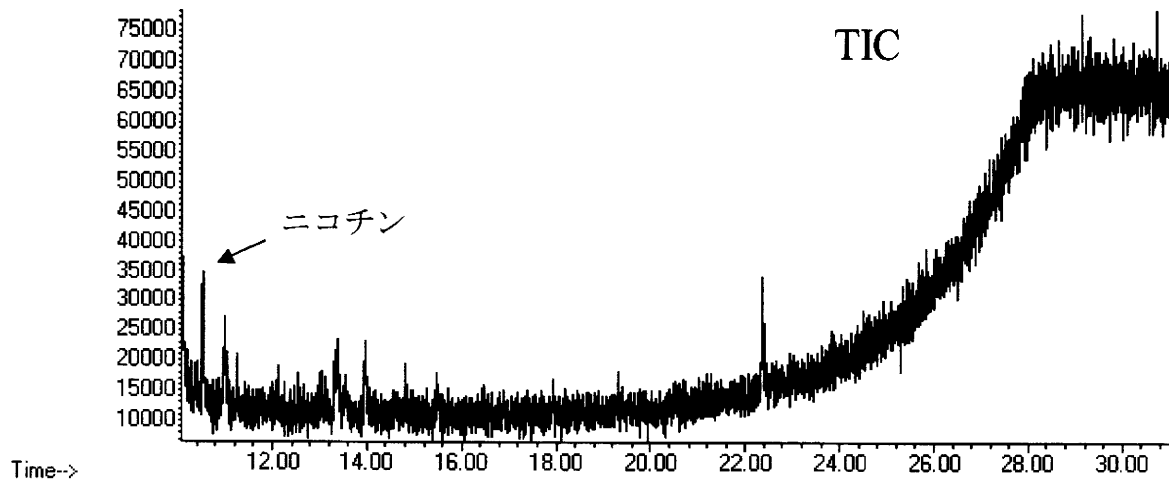
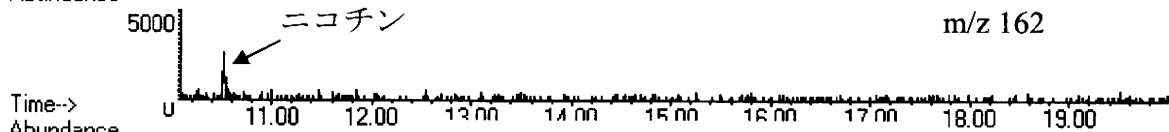


図6 ニコチン標準溶液 (10 μ g/mLのメタノール溶液) のトータルイオンクロマトグラム (TIC), マスクロマトグラム, マススペクトル (SCANモード測定)

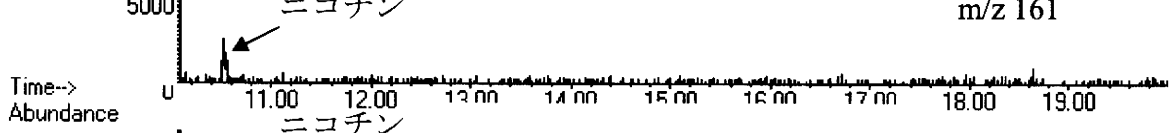
Abundance



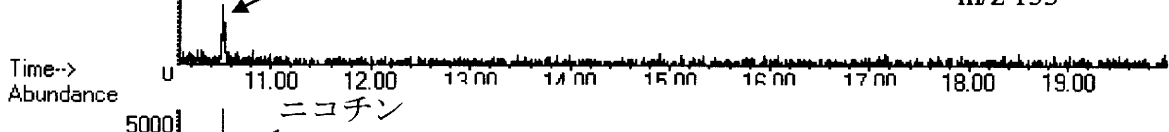
Abundance



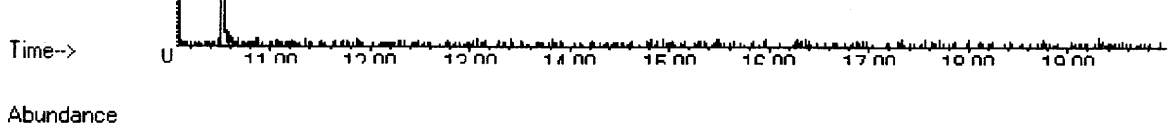
Abundance



Abundance



Abundance



Abundance

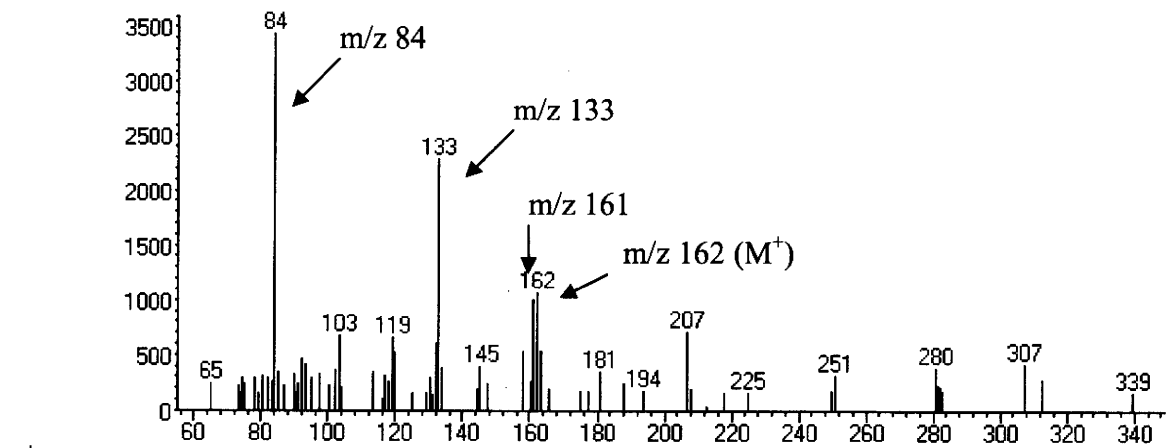


図7 試料 K17MS の蒸気の捕集メタノール溶液のトータルイオンクロマトグラム (TIC), マスク
クロマトグラム, マススペクトル (SCAN モード測定)

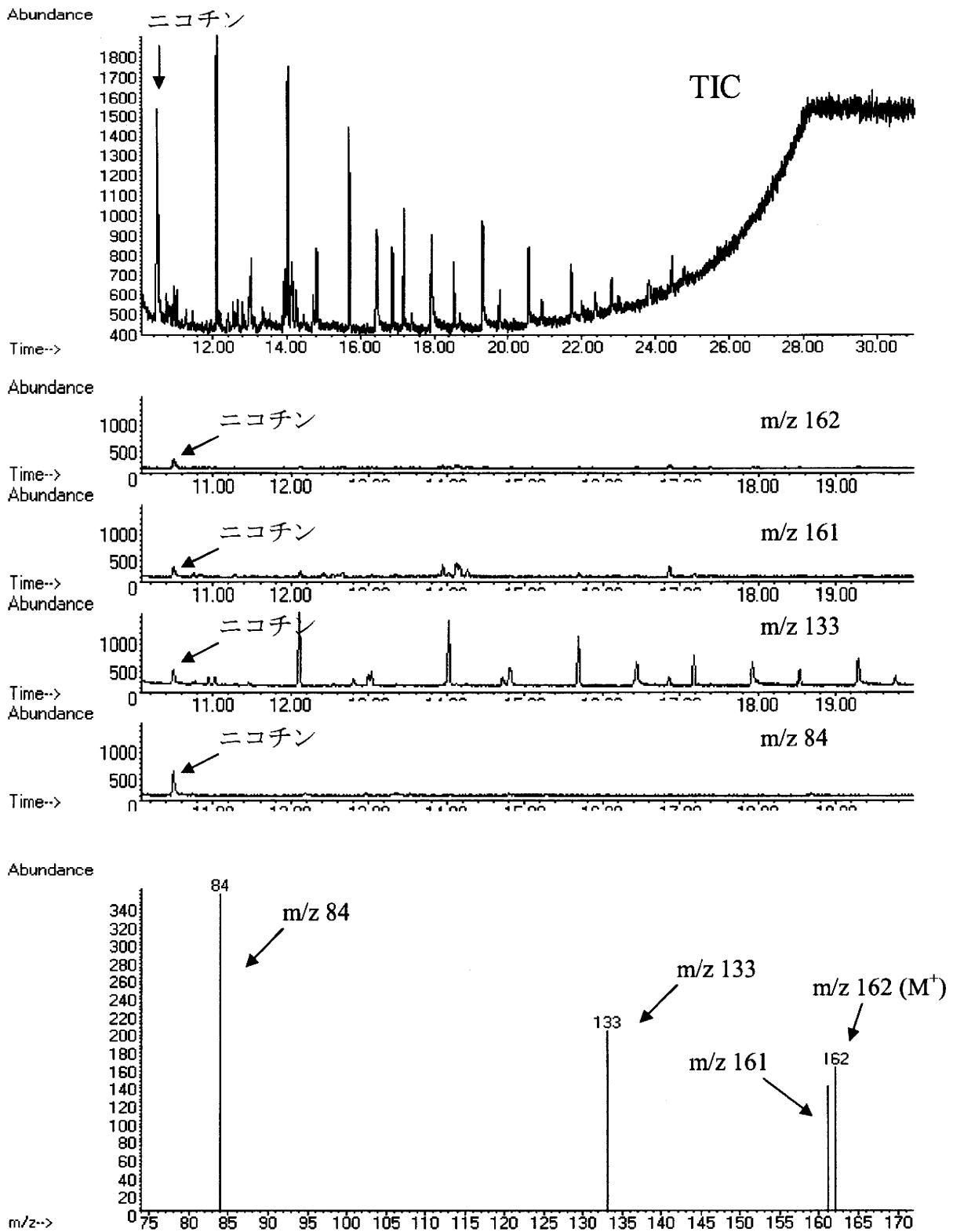


図 8 試料 K2MS の蒸気の捕集メタノール溶液のトータルイオンクロマトグラム (TIC), マスクロマトグラム, マススペクトル (SIM モード測定)

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査と分析, 有害性評価に関する研究
研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部長 合田幸広

鏡検によるセンナ茎粉末と葉軸粉末の鑑別

研究協力者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 徳本廣子

センナ茎由来と称する食品中に、「専ら医薬品成分」であるセンナの小葉や葉軸, 果実などが混入している例が明らかにされている。刻みの製品であれば, 肉眼でもこれらの混入を判別することは可能であるが, 製品が粉末状の場合, 特に茎と葉軸の鑑別は難しい。この問題を解決するため, 本研究では, 鏡検により, センナ茎粉末と葉軸粉末が鑑別できるかどうか検討した。

その結果, センナの茎には, 規則的に気孔が分布する部位があり, この部位はほぼ方形～等径性多角形の表皮系細胞より形成されている一方, 気孔周辺の表皮細胞の長軸方向の径は, ほとんど全て, 気孔のものより小さいことが判明した。これに対し葉軸では, 主として長軸方向に長い長方形～長六角形の表皮細胞より形成されており, 気孔周辺の表皮細胞は近接した気孔よりも長軸方向の径が大きいことが判明した。さらに茎, 葉軸を混合した粉末においても, 出現する表皮片は由来する組織に見られた特徴をよく表しており, 両者を区別することが可能であることが判明した。

以上, 本研究により, 気孔周辺の表皮細胞の形状を観察することで, センナ茎粉末中に混入した「専ら医薬品成分」である葉軸粉末を容易に確認できることが明らかとなった。

A. 研究目的

センナの茎は瘦身を目的とした食品としてティーバッグなどに用いられているが, 市販製品中に医薬品の常用量に近いセンノシドが検出される例が後をたたく, そのような製品中に、「専ら医薬品成分」であるセンナの小葉や葉軸, 果実などが混入している例が明らかにされている¹⁻⁵⁾。刻みの製品であれば, 肉眼でもこれらの混入を判別することは可能であるが, 製品が粉末状の場合, 特に茎と葉軸の鑑別は難しく, 多数の試みはなされているものの^{2,5,6)}, 著者らが知る限り, 両者を明確に区別できる特徴について報告された例はない。上記の問題を解決するため, 鏡検により, センナ茎粉末と葉軸粉末が鑑別できるかどうか検討した結果, 昨年度は気孔周辺の表皮細胞の形状を観察することで, センナ茎粉末中に混入した「専ら医薬品成分」である葉軸粉末を容易に確認できることを明らかとし, センナ各部位を鑑別するための組織の特徴点を示した。

さらに, 植物が栽培環境により, 大きさや特徴に変異が見られる点に留意し, 種子島で管理されていた株を東京都世田谷区にて継続栽培している間, 新

に発生した茎, 葉軸, 葉について, 元の組織と形状の比較を行なった結果, 栽培環境の差は, 鑑別の指標として用いた細胞の特徴には影響しないものと考えられた。そこで本年度は, 鑑定のための特徴が, 系統や栽培環境によらず, 普遍的なものであることを示すため, 系統及び栽培環境の異なった株を入手し, 比較検討を行なうと共に, 昨年中に解明に至らなかった組織の再検討を行った。さらに茎, 葉軸の粉末を作成し, 種々の割合で混合した試験粉末を作成し, 鑑定の可否および精度について検討した。

B. 研究方法

1. 材料

アレキサンドリアセンナ *Cassia acutifolia* (2008-10-A21), チンネベリセンナ *C. angustifolia* (2008-10-B9)。

医薬基盤研究所種子島研究部栽培品を東京都世田谷区に移し継続栽培。2008年10月-2009年5月に簡易温室にて栽培した株を使用。

1.2 乾燥標本