

生薬製剤中の微量カフェインの確認について

西岡千鶴, 三好益美, 毛利孝明, 黒田弘之

I 緒 言

医薬品は通常、人を対象として作られたものである。しかし、時として動物にも使用されることがある。一昨年、本県にある製薬会社の漢方強心薬「S」から配合していないはずのカフェインが微量検出されたこと、日本中央競馬会から指摘された。

競争馬にはカフェインのような強心、中枢興奮作用のある薬物は当然禁止されている。メーカーはカフェインの添加又は混入は一切なく、配合生薬の陳皮にその原因を求めてきた。すなわち、陳皮の中に含まれているカフェン酸が、カフェイン類似の反応等を示し、添加又は混入でないと主張した。

我々は漢方強心薬「S」中の、微量カフェインの確認と定量について検討し、若干の知見を得たので報告する。

II 方 法

1. 試 料

- (1) 漢方医薬品「S」7検体
(製品に含有される成分は表1のとおり)
- (2) 原料生薬である甘草、紫胡、牡丹皮、陳皮(ロットの異なるもの5検体)

試料 5g
+水 100 ml 加えてPH 2
30~40°Cで20min 攪拌
遠心分離

上澄溶液
PH 9, +NH₄Cl
+3倍クロロホルム抽出
溶媒留去

残 留 物
+0.1 N HCl 3 ml
+エチルエーテル 25 ml 抽出

水 層
PH 9, NH₄Cl
+クロロホルム:メタノール(9:1) 25 ml
溶媒留去
少量のメタノール溶解

薄層クロマトグラフィー
陽性スポット
+クロロホルム:メタノール(9:1) 8 ml × 2
溶媒留去 60 μl

ガスクロマトグラフィー

FID

GC測定条件
カラム: 2%OV-17 Chromosorb (WAW DMCS)
CT: 200°C H₂: 0.6 kg/cm²
N₂: 30 ml/min Air: 0.9 kg/cm²

表1 製品に含有される成分

日局1	カンゾウ 0.5g	日局2	ボタンビ 1.0g
〃	沈降炭酸Ca 3.4	〃	ブクリョウ 1.0
日局2	トウキ 1.0	〃	オケラ 1.0
〃	ジャコウ 0.006	〃	タイソウ 1.0
〃	ゴオウ 0.06	〃	サイコ 2.0
〃	センソ 0.005	日 外	カシュウ 2.0
〃	ニンジン 1.0	〃	チンビ 1.0
(全量 15.0g)			

2. 分析方法

- (1) バルビツール酸誘導体検査法
(競争馬理化学研究所検査部)
- (2) 高速液体クロマトグラフィー法

III 結果及び考察

本県に製造所を持つA社の医薬品「S」に承認された成分以外のカフェインが含まれるということで当所にその確認のため依頼があった。

当初、カフェインの定量は図1に示したように競争馬検査所の方法でおこなった。この方法は図1でわかるように操作が複雑であり、乳化したり、クロロホルムを多量に必要とし、抽出率も悪い。そこでエキストレートカラムを用いた食品中のカフェインの定量¹⁾を応用して図2に示したように高速液体クロマトグラフ法で分析した。その結果を表2に示した。分析した7製品のうち、③, ④, ⑧, ⑩, ⑪の5つの製品から、3~4 ppmのカフェインが検出された。

製品中にカフェインが存在する原因を考えた場合、製

試料 5g
+100°C熱湯 100 ml 抽出
5 ml をカラムクロマト
エキストレート(10g)充填
+4 N H₂SO₄ 3 ml
+2 N NaOH 5 ml
+試料溶液 5 ml

静 置 (10min 放置)
+ジクロロメタン 50 ml
濃縮

試験溶液 (1 ml)

HPLC測定条件

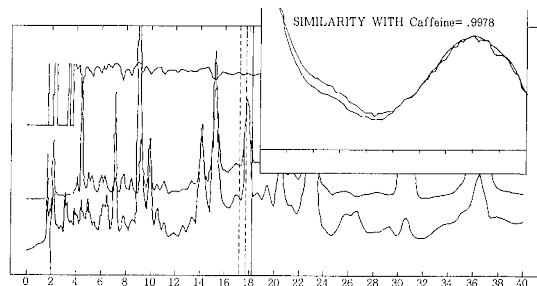
カラム: LiChrosorb Si60
(4 mm i.d × 250 mm)
移動相: 水飽和ジクロロメタン-エタノール(97:3)
流速: 1 ml/min
測定波長: 275 nm
検出器: フォトダイオードアレイUV検出器

図1 バルビツール酸誘導体検査法

図2 高速液体クロマトグラフ法

表2 製品等中のカフェイン含量

No.	検体名	ガスクロマト グラフィー	高 速 液 体 クロマトグラフィー
1	製 品 ①	ND (0.5以下)	ND (0.1以下)
2	" ②	0.6 µg/g	4.3 µg/g
3	" ③	1.1	3.5
4	" ④	1.4	3.2
5	" ⑩	1.4	3.2
6	" ⑪	1.0	3.1
7	" ⑫	ND	ND
8	陳皮 G 3	ND	ND
9	" G 4	ND	ND
10	" N 1	ND	ND
11	" 0 1	ND	ND
12	" 0 2	ND	ND
13	牡 丹 皮		ND
14	甘 草		ND
15	紫 胡		ND
16	人 参		ND



FILE NAME : s.5.5 DATE : 90/12/14
 VOLUME NO : 8/20 STORAGE TIME(min) : 0.00~41.6
 LAMP STATUS : D2(UV) TIME CONST.(s) : 1.28

図3 カフェインのフォトダイオードアレイUV吸収

表3 原料生薬及び製品間の相関表

Lot 原料生薬	カフェイン の有無	ジャコウ	カシュウ	カンゾウ	サイコ	オケラ	タイソウ	チンピ	トウキ	ニンジン	ブク リョウ	ポタンビ	ゴオウ	センソ
製 品 ①	無	A-1	B-1	C-1	D-1	E-1	F-1	G-1	H-1	I-1	J-1	?	L-1	M-1
" ②	不明	"	"	C-2	D-2	"	"	G-2	H-2	I-2	"	K-1	L-2	"
" ③	有	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
" ④	有	"	"	C-3	D-3	"	"	"	H-3	I-3	J-2	"	L-2	"
" ⑤	不明	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	L-3	"
" ⑥	"	"	"	C-4	D-4	E-2	F-2	"	H-4	I-4	J-3	K-2	L-3	"
" ⑦	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	M-1
" ⑧	有	"	"	C-5	D-5	E-3	"	G-3	"	"	J-4	"	L-4	M-2
" ⑨	不明	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	M-2
" ⑩	有	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
" ⑪	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
" ⑫	無	"	"	"	"	"	"	N-1	"	"	"	"	"	"

② 高速液体クロマトグラフィー法

造工程中に混入又は添加された、そして原料生薬中に天然に存在することなどが考えられた。A社では無水カフェインを原料とする製品は2品目在り、1品目は他社に委託し、他の1品目は昭和62年以降製造しておらず、製造工程中の混入は考えられないと主張した。もちろん、カフェインの意図的添加もしておらず、原料生薬陳皮に含まれるカフェン酸にその原因を求めた。この製品は、表1に示したように多数の生薬が原料として使用されている。カフェインは吸収極大を210 nm, 272 nmにもつが製品の抽出物は多数のピークが検出され、又陳皮では保持時間のカフェインと近似するピークが出現し、これらの確認にフォトダイオードアレイUV検出器を用いた。製品③, ④, ⑧, ⑩, ⑪ではカフェインとの類似度0.9961~0.9997でカフェインと確認できた。陳皮は5検体について分析したところ、いずれもカフェインとの類似性は低かった。図3に代表的スペクトルを示した。

他の原料生薬中のカフェインの存在が疑われ、製品と生薬ロットとの相関を調べた。それを表3に示した。

これらに基づいて入っている可能性の高いものとして牡丹皮, 甘草, 紫胡, 人參が考えられ、これらの分析を

実施しフォトダイオードアレイUV検出器で確認したところカフェインとの近似性は低かった。フォトダイオードアレイUV検出器は従来のUV検出器と比べ保持時間の他にピークに関する多角的な情報が得られ、ピークの同一性を数値化でき確認手段として有効であった。

IV 結 論

生薬を主成分とする医薬品及びその原料生薬中のカフェインの微量分析及び確認を実施した。

- 1) エキストレルートカラムを用いクリーンアップ後、高速液体クロマトグラフのフォトダイオードアレイUV検出器を用い分析したところ良好な結果が得られた。
- 2) 原料中の陳皮等生薬中のカフェインの存在が疑われたがカフェインは検出されず、製造工程中何らかの原因で誤って混入したものと考えられた。

文 献

- 1) 功刀 彰, 青木啓子, 功刀禎子: 食衛誌, 29(2), 136~139, (1988)。