

< 研究発表 >

医薬品類 8 種の水環境中動態に関する実験的検討

山本 裕史, 中村 雄大, 林 昭秀, 森口 茂美, 中村 友紀, 関澤 純

徳島大学総合科学部 (〒770-8502 徳島市南常三島町 1-1 E-mail:hiroshi@ias.tokushima-u.ac.jp)

概要

国内で消費量が多く未変化体排泄率が高いために予測環境中濃度が高く、また水棲生物に対する予測無影響濃度が低い医薬品類8種を選定し、それらの水環境中動態を調べることにした。これらの医薬品類は体内から尿中に排泄された後、下水処理場で主に活性汚泥処理に供せられ、水環境中に排出される。本研究では、簡易な回分式活性汚泥処理による除去率、底質や天然有機物質(NOM)への収着などを調べた。その結果、水環境中での残留性については医薬品類の化学構造や物理化学的性質がそれぞれ多種多様であることから、その動態についても様々なものが見られた。特に、これらの医薬品類は環境中でよく見られる中性域のpHではアミンやカルボキシル基がそれぞれ正または負に帯電しており、オクタノール水・分配係数で表される疎水性では説明できず、水相からの活性汚泥や底質、NOMなどの相への移行には他の要素が大きな影響を与えていることがわかった。

キーワード: 医薬品、水環境、挙動、動態、収着

1. はじめに

わが国をはじめ先進諸国では社会の高齢化が進む中、医薬品類の消費量は年々増加の一途をたどっている¹⁾。その一方で 1990 年代後半以降、水環境中に存在して生態系に微量で影響を及ぼす可能性がある物質として医薬品類が注目されるようになってきた²⁻⁴⁾。これらの物質は人や家畜に対して生理活性を持つように開発されたものであり、哺乳類等に対する安全性は十分に評価されてから市場に出回っている。しかしながら、人や家畜の体内で代謝を受け、あるいはある程度は代謝を受けずに未変化体のまま尿中に排泄されるが、その後水環境中に排出された際の水棲生物の影響については不明な点が多い。このことから、欧州では POSEIDON プロジェクトによって水環境中の医薬品濃度のモニタリングやその下水・浄水プロセスにおける挙動に関する大規模な研究が行われているほか⁵⁾、EMEA によってその環境リスクアセスメントも行われている⁶⁾。米国でも USGS による医薬品類の一斉調査⁷⁾のほか、抗うつ剤が魚体から検出されたという報告⁸⁾を受けて一般市民の関心の高まりを受け、大規模な環境中医薬品類に関するプロジェクト⁹⁾が行われてきた。水棲生物に対する毒性試験についても欧米各国の様々な研究者によって様々な医薬品類を対象に行われ始めており、そのレビュー論文も最近発行されている¹⁰⁾。

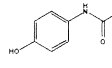
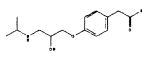
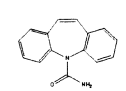
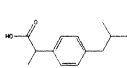
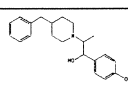
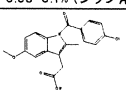
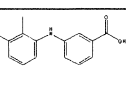
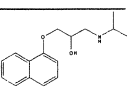
わが国においても水環境に携わる専門家の興味の対象となり始めている。首都圏を中心に水環境中の医薬品濃度に関する調査が 2002 年頃から盛んになってきており、下水処理放流水や河川水中から最大 1 µg/L 程度で検出されている¹¹⁻¹³⁾。しかしながら、河川等の水環境中における実験室レベルでの挙動・動態メカニズムについては研究例が少ない。そこで、我々のグループでは医薬品類 4 物質について底質や NOM(天然有機物質)への収着、回分式活性汚泥処理による除去率、リボソーム・水分配係数による生物濃縮性の評価などをおこなってきた¹⁴⁾。本研究では、それに加えて 4 物質について底質を 1 種加えて試験をおこなうこととした。

2. 実験方法

2.1 使用した医薬品類

使用する医薬品類は、Table 1 に示す Acetaminophen (解熱鎮痛剤)、Atenolol (ベータ遮断剤)、Carbamazepine (抗てんかん剤)、Ibuprofen (非ステロイド系抗炎症剤)、Ifenprodil (以下脳循環代謝剤)、Indomethacin と Mefenamic acid (ともに非ステロイド系抗炎症剤)、Propranolol (ベータ遮断剤) の 8 種とした。表にそれぞれの年間消費量を推定したものと、未変化体排泄率、化学構造を示す。なお、ここで国内年間消費量は岩根による試行的スクリーニング¹⁵⁾に倣い、厚生労働省医政局編集の「薬事工業動態統計」¹⁶⁾に示されている場合はその値を、「薬事ハンドブック」¹⁾に記載されている売上高を「今日の治療薬」¹⁷⁾に記載されている薬価で割ることによって推計した。

Table 1 Pharmaceuticals Selected in This Study.

項目/医薬品	Acetaminophen	Atenolol	Carbamazepine	Ibuprofen
国内年間消費量	740 t	5.4 t	45 t	23 t
未変化体排泄率	0.9-2.7%	90%	2-3%	<1%
化学構造				
log D _{ow} ²⁵⁾	0.34	-2.02	2.67	1.16
pKa	1.72, 9.86	9.16, 13.88	-0.49, 13.94	4.41
項目/医薬品	Ifenprodil	Indomethacin	Mefenamic acid	Propranolol
国内年間消費量	8.6 t	52 t	38 t	1.1 t
未変化体排泄率	20-30%	64% (服用剤) 0.08-0.1% (シップ剤)	74%	<1%
化学構造				
log D _{ow} ²⁵⁾	1.97	0.14	2.42	1.00
pKa	9.34, 9.99	3.96	-1.31, 3.73	9.14, 13.84

2.2 回分式活性汚泥処理方法¹⁴⁾

標準活性汚泥処理法を採用する都市下水道の終末処理場から返送汚泥を採取し、実験室内に持ち帰って MLSS を測定後、予備的な回分式活性汚泥処理をおこなって医薬品類の除去効率を調べた。なお、MLSS は 2,000 mg/L に調整し、医薬品類の添加初期濃度を 100 µg/L として 100 mL 三角フラスコ内に合計 100 mL になるように調整した。コントロールとして活性汚泥のみのものと、医薬品類のみのものを用意し、混合後すぐの 0 時間後のサンプルと暗所 25°C でエアープンプで曝気して 6 時間後のサンプルを用意した。遠沈によって固液分離した後、水相中についてはガラス繊維ろ紙でろ過後、親化合物濃度を上記の高速液体クロマトグラフィーを用いて測定した。なお、汚泥への収着分についてもメタノールで抽出して同様に遠沈、ろ過、測定し、0 時間後における回収率で補正して収着分を算出した。なお、吸光検出器および蛍光検出器では物質の同定ができないために、活性汚泥のみのものについて同様の方法で測定し、妨害ピークがないように全物質について確認実験を行った。

2.3 リポソーム/水分配係数の測定方法

人工膜小胞体(リポソーム)を用いて生物濃縮性の指標として優れているリポソーム/水分配比(D_{lipw})を測定した。リン脂質としてはその構造が細胞膜の主成分に最も近いとされるパルミトイルオレオイルフォスファチジルコリン(POPC、日本精化社製)を用いた。リポソームは薄膜加水法¹⁸⁾およびエクストルージョン(押し出しろ過法)^{19)・20)}を用いて平均粒径 0.6~0.8 µm に調整した。Escher らによって開発²¹⁾され、筆者ら²⁰⁾によって改良された平衡透析法を用いてリン酸緩衝液(pH=7.0)内で測定した。なお、ここで溶液中の医薬品類濃度は島津製作所社製の蛍光検出器(RF-10D)および吸光検出器(SPD-10A)付高速液体クロマトグラフィー(HPLC、LC-10AD システム)を用いて測定し、リポソーム/水分配係数を算出した。なお、リポソーム濃度は TOC 計(島津製作所社製 TOC-5000)を用いて測定した。

2.4 土壌・底質および NOM への収着実験方法

(1) 土壌・底質へ収着実験方法

土壌としては有機炭素分が比較的高い国際腐植物質学会(IHSS, St. Paul, MN, USA)から購入した Elliot Silt Roam Soil を用いた。他にも、徳島市西部を流れる田宮川の河川底質(有機炭素分は比較的低い)を用い、OECD テストガイドライン 106 に準拠して試験をおこなった。簡単に手順を示すと、10 mL 共栓付遠沈管に医薬品水溶液とリン酸緩衝液(pH=7)、土壌もしくは底質、ならびにアジ化ナトリウムを混合し、暗所で 24 h 回転攪拌した。その後、遠心分離し、ろ過後上記の蛍光、吸光検出器付 HPLC を用いて医薬品の水相中濃度を測定し、土壌・底質を入れないコントロールとの差を固相濃度として収着係数を算出した。

(2) NOM への収着実験方法

天然有機物質(NOM)への収着は物理化学的性質が明らかで研究例が多い米国スワニー川産のものを用い、蛍光強度が強い物質については蛍光消光法で、蛍光強度が弱い物質については水溶解度増加法で収着係数を求めた。実験方法の詳細については既報¹⁴⁾の通りである。

3. 結果および考察

3.1 活性汚泥による除去率

回分式活性汚泥処理による対象とした医薬品類の水相からの除去率を Table 2 に示す。なおここで Removal Rate は汚泥への収着分(Sorbed on Sludge)と未回収分(Unknown)を合わせたものである。

Table 2 Results of Batch Activated Sludge Treatment

	水相中 残存率	活性汚泥 への収着	未回収分	除去率	文献値
Acetaminophen	3.6%	<0.3%	96.1% ^{<}	96.4%	98% ²²⁾
Atenolol	78%	<0.2%	21.8% ^{<}	22%	<10% ²²⁾
Carbamazepine	99% ^{<}	<0.1%	<0.1%	<0.1%	7% ³⁾
Ibuprofen	4.5%	<0.5%	95.0% ^{<}	95.5%	90% ³⁾
Ifenprodil	25%	8.2%	69%	77%	NA
Indomethacin	69%	3.0%	28%	31%	75% ³⁾
Mefenamic acid	24%	17%	59%	76%	41-50% ²³⁾
Propranolol	40%	37%	23%	60%	96% ³⁾

NA: Not Available

Table 2 に示すように、Acetaminophen や Ibuprofen などは除去率が高く、約 96% であった。ともに活性汚泥への収着分は検出されず、活性汚泥により生分解され別の物質に変換されたものと考えられる。この結果はこれまでの他の研究者による下水流出水と下水流入水の濃度比較から求められる除去率^{3), 22)}とほぼ一致しており、これらの物質については環境中への排出負荷量は下水処理場によって大きく削減されるものと考えられる。Ifenprodil や Mefenamic acid は除去率が 8 割弱で、活性汚泥への収着分もそれぞれ 8%、17% と比較的低く、6 割から 7 割の生分解が見られた。Ifenprodil については他の研究者による研究例はなく、Mefenamic acid についてはスイスでの研究例²³⁾に比べてやや高くなった。温度や MLSS 濃度の違い、処理タイプの違いなどがその違いの原因として考えられる。Propranolol についてはそれに対して、Atenolol、Carbamazepine や Indomethacin は除去率が低く、水相中に 69% 以上残存したままであることがわかった。特に Carbamazepine は低く、水相中に 99% 以上が残存しており、日本の下水処理場の流入流出水の濃度比較¹¹⁾からも低除去率が指摘されている。各家庭からの排水中に含まれるもののほとんどが水環境中に排出される恐れがある。Atenolol や Indomethacin についても活性汚泥処理後、次亜塩素酸ナトリウムやオゾン等で消毒処理されることから、除去率はやや改善することが予想される⁵⁾ものの、ある程度は放流水中に含まれたまま河川等の水環境中に排出されるものと考えられる。医薬品類のように弱酸や弱塩基であり pH によってその収着・生分解が大きく変化することが予想される²⁴⁾物質については、処理場の運転条件や下水流入水の性質、気候などによってその除去率が変動することが考えられる。特に本研究の予備的な試験ならびに他の研究者の報告において低除去率が指摘された Atenolol、Carbamazepine などについては、今後は下水処理場全体での挙動をパイロットプラントでの試験や実際の処理場においてマスバランスを調べるなどの詳細な検討が必要であると考えられる。

3.2 リポソーム/水分配係数測定による生物濃縮性評価

次に Fig. 1 にリポソーム/水分配比の対数値($\log D_{lipw}$)とオクタノール/水分配比($\log D_{ow}$)²⁵⁾の対数値の関係を示

す。Fig. 1 から明らかなように通常はイオン化しない物質は当然のこと、イオン化している物質で見られる弱い正の相関²⁰⁾は全く見られなかった。これは医薬品類のように中性域でイオン化している可能性のある物質は、様々な置換基のついたフェノール類²¹⁾や二級アミンの医薬品 Fluoxetine²⁶⁾で見られるように、そのオクタノール水分配係数がイオン化していない物質に対して極端に低くなってしまふのに対して、生物濃縮係数やリポソーム/水分配比では比較的变化が少ないことに起因していると考えられる。

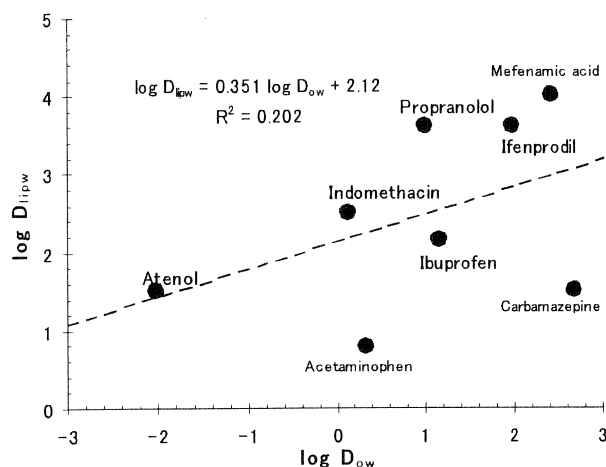


Fig. 1 Relationship between $\log D_{lipw}$ と $\log D_{ow}$

一方、 D_{lipw} が 1000 を超えたのは Ifenprodil、Mefenamic acid、Propranolol の3種類であり、残りの物質は 300 以下であった。その3物質については、水棲生物体内での代謝の影響から生物濃縮係数は D_{lipw} の値よりはる程度低くなる可能性が高い。これらの物質は前節の活性汚泥処理において除去率は 60~77%とある程度高いものの、その生物への移行性が高いことから活性汚泥への収着分もある程度観察されており、下水処理場内で蓄積されている可能性もある。さらに、この3物質はこれまでにわかっている水棲生物に対する急性毒性についても他の5物質よりも比較的強いことがわかっている^{10),27)}ことから、今後は詳細な検討が必要と考えられる。

3.3 土壌・底質および NOM への収着係数

底質および NOM への収着係数を求めたが、その値を Table 3 に示す。表に示すように NOM への収着係数は有機炭素量あたり、土壌・底質への収着係数は固形物あたりの値である。なお、土壌・低湿を比較すると、概して有機炭素含有量が 2.7% と高い Elliot Silt Roam Soil (ESRS) の方が有機炭素含有量が 2.7% と低い田宮川底質に比べて低かった。

Ifenprodil や Propranolol の収着係数は NOM、土壌・底質ともに大きく、 $\log D_{ow}$ の値が大きく疎水性が高い四環の PAHs の一つ Pyrene とほぼ同程度であった。これは水環境中の土壌・底質等が試験をおこなった中性域で表面が負に帯電していることが多い²⁸⁾ため、 pK_a が比較的高く中性域で正に帯電しているアミン構造を持つ物質との親和性が高いからであると考えられる。同様の試験を Propranolol に対して 2 種類の土壌・底質でおこなった他の研究者の結果とほぼ一致していた²⁹⁾。同様に、第 2 級アミンのアテノロールも $\log D_{ow}$ が他の物質よりも極端に低く疎水性吸着の寄与が少ないと考えられるが、NOM や土壌・底質等に対する収着係数は 17 β -estradiol 等と同様に

比較的高く、電気化学的な親和性が大きな影響を及ぼしている可能性が高い。逆に Carbamazepine は NOM、土壌・底質ともに小さく、Pyrene などと比べ 3 オーダー程度低かった。もともと、Carbamazepine は底質への収着係数が低く、地下水中等でも移動速度が非常に高いことが知られており^{30),31)}、そのような実験結果と一致する。さらに、カルボキシル基がある非ステロイド系抗炎症剤の Ibuprofen や Indomethacin、Mefenamic acid は土壌・底質への収着係数が比較的低く、Carbamazepine と同程度であった。これは、カルボキシル基の pK_a が比較的低く、中性域で負に帯電しているために同様に負に帯電している土壌・底質との親和性が低いことが原因として考えられる。このように、選定した医薬品類については中性域でアミンが正に、カルボキシル基が負に帯電しているものがあり、NOM、土壌・底質への収着が物質の疎水性 ($\log D_{ow}$) の強さだけでは説明できず、疎水性吸着の寄与は小さいことが考えられる^{32),33)}。

Table 3 Sorption Coefficients of Selected Pharmaceuticals on NOM, Soil and River Sediment.

	Log D_{ow} (pH 7)	NOM K_{oc}	ESRS K_s	田宮川底質 K_s
Acetaminophen	0.34	6.0×10^2	7.7	2.6
Atenolol	-2.02	2.4×10^4	1.1×10^2	8.1
Carbamazepine	2.67	4.8×10	1.2×10	1.4
Ibuprofen	1.16	3.5×10^4	5.5×10^{-1}	9.1×10^{-1}
Ifenprodil	1.97	2.7×10^4	1.8×10^3	4.6×10^2
Indomethacin	0.14	3.1×10^3	1.5×10	2.2
Mefenamic acid	2.42	$< 7.5 \times 10^2$	1.1×10	3.0
Propranolol	1.00	4.3×10^4	1.1×10^3	1.0×10^2
Pyrene	5.17	4.0×10^4	2.9×10^3	4.7×10^2
17 β -estradiol	4.13	2.6×10^4	9.3×10	1.1×10

K_{oc} , K_s の単位はそれぞれ L/kg C, L/kg-solid

3.4 各物質の水環境中動態に関する考察

本研究で選定した医薬品 8 物質のうち、Carbamazepine は活性汚泥による除去率が低いために水環境中に排出されている可能性が高く、水環境中から広く検出されていることとも一致する。また、この Carbamazepine は $\log D_{lipw}$ 、NOM や土壌・底質への収着係数は比較的低く、水環境中での移動速度が高い上に水相中に残留しやすいと考えられる。同様に活性汚泥による除去率が低かった Atenolol については、NOM や土壌への収着は Carbamazepine よりやや高いものの、水環境中での移動速度は同様にある程度高いと考えられる。

生物濃縮性が高いと指摘された 3 物質のうち Ifenprodil と Propranolol の 2 物質については活性汚泥への収着がある程度確認され、NOM や土壌・底質への収着係数も疎水性が高い四環の PAHs の一種 Pyrene に匹敵するくらい高く、土壌・底質への蓄積性の高さのほか、溶解態の NOM や SS などに収着することにより移動速度が高まるなどその挙動は複雑であると考えられる。今後、底質中の濃度測定のほか、光分解や生分解など河川等の自然環境水中での残留性についても検討を進めていく必要がある。一方、Mefenamic acid については他のカルボキシル基も持つ NSAIDs でも生物濃縮性がやや低い

Indomethacin や Ibuprofen と同様に NOM や土壌・底質への収着係数は低く、水環境中での移動速度は速いと考えられる。Ibuprofen は活性汚泥でも短時間で分解されることから水環境中での生分解性は高いと推測できるが、Indomethacin や Mefenamic acid についてはそれほど除去率も高くなく、Ifenprodil や Propranolol 同様に水棲生物に対する毒性の評価も必要と考えられる。NSAIDs と近い構造の解熱鎮痛剤の Acetaminophen については、下水処理場における除去率も高く、生物濃縮性や土壌・底質等への蓄積性も低いうえ、急性毒性についても比較的弱いことから、現時点では水環境におけるリスクはそれほど高くはないと考えられる。

いずれにせよ、本研究で得られた実験室内でのデータは水環境中で検出されている濃度の分布³⁴⁾、さらには環境中での動態として他にも重要だと考えられる光分解性³⁵⁾や生分解性などとあわせ、Fugacity モデルなどを活用³⁶⁾して総合的に水環境中での動態を評価する必要がある。また、実際の水棲生物に対する毒性評価による予測無影響濃度(Predicated No-Effect Concentration: PNEC)と環境中予測濃度(Predicated Environmental Concentration: PEC)もしくは下水処理場での検出濃度との比を用いた生態リスク初期評価^{27), 37), 38)}を進めるだけでなく、生理活性を持つようにデザインされた医薬品類についてはその毒性学的メカニズムに応じてグルーピングして生態影響評価を行う必要性もある。

参考文献

- 1) じほう、薬事ハンドブック (2005).
- 2) Daughton C. and Ternes T. A., *Environ. Health Persp.*, **107** [suppl. 6], 907-938 (1999).
- 3) Ternes T. A., *Wat. Res.*, **32**, 3245-3260 (1998).
- 4) Halling-Sørgensen B. et al., *Chemosphere*, **36**, 357-393 (1998).
- 5) Ternes T. A. et al., POSEIDON Detailed Report Related to the Overall Duration (<http://www.eu-poseidon.com>) (Checked on June 30, 2006) (2006).
- 6) EMEA, Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use (<http://www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/444700en.pdf>) (Checked on June 30, 2006) (2006).
- 7) Kolpin D. W. et al., *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 1201-1211 (2002).
- 8) Brooks B. W. et al., *Environ. Chem. Toxicol.*, **24**, 464-469 (2005).
- 9) USEPA, Pharmaceuticals in the Environment (http://es.epa.gov/ncer/publications/meetings/drining_aug23-25_03.html) (Checked on June 30, 2006) (2005).
- 10) Fent K. et al., *Aquat. Toxicol.*, **76**, 122-159 (2006).
- 11) 谷島利勝、高田秀重、第37回日本水環境学会年会要旨集 (2003).
- 12) 清野敦子、古庄早苗、益永茂樹、水環境学会誌, **27**, 685-691 (2004).
- 13) 有菌幸司、高尾雄二、水環境学会誌, **29**, 200-206 (2006).
- 14) Yamamoto H. et al., *Environ. Sci.*, **12**, 347-358 (2005).
- 15) 岩根泰蔵、医薬品の環境影響評価法に関する研究、平成15年度総括研究報告書(代表 井上達)、厚生労働科学技術研究費補助金最終報告書 (2004).
- 16) じほう、平成15年薬事工業生産動態統計年報 (2004).
- 17) 水島裕編、今日の治療薬 2006-解説と便覧 (2006).
- 18) Mueller P. et al., *Biophys. J.*, **44**, 375-381 (1983).
- 19) Hope M. J. et al., *Biochim., Biophys. Acta*, **812**, 55-65 (1985).
- 20) Yamamoto H. and Lijestrand H. M., *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 1139-1147 (2004).
- 21) Escher B. I. and Schwarzenbach R. P., *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 260-270 (1996).
- 22) Paxeus N., *Wat. Sci. Technol.*, **50**[5], 253-260 (2004).
- 23) Tauxe-Wuersvh A. et al., *Wat. Res.*, **39**, 1761-1772 (2005).
- 24) Urase T. and Kikuta T., *Wat. Res.*, **39**, 1289-1300 (2005).
- 25) ACD software (Calculated by log D Suite).
- 26) Nakamura Y. et al., *Aquat. Toxicol.*, (under review).
- 27) Yamamoto H. et al., *Environ. Sci.* (under review).
- 28) Schwarzenbach R. P. et al. *Environmental Organic Chemistry* (1993).
- 29) Drillia P. et al., *Chemosphere*, **60**, 1034-1044 (2005).
- 30) Opiel J. et al., *Sci. Total Environ.*, **328**, 265-273 (2004).
- 31) Löffler D. et al., *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 5209-5218 (2005).
- 32) Scheytt T. et al., *Chemosphere*, **60**, 245-253 (2005).
- 33) Jones O. A. H. et al., *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **50**, 297-305 (2006).
- 34) Tixier C. et al., *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 1061-1068 (2003).
- 35) Andreozzi R. et al., *Chemosphere*, **50**, 1319-1330 (2003).
- 36) Anderson P. D. et al., *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 838-849 (2004).
- 37) Ferrari B. et al., *Environ. Chem. Toxicol.*, **23**, 1344-1354 (2004).
- 38) 環境省、化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン (<http://www.env.go.jp/chemi/report/h17-21/index.html>) (Checked on June 30, 2006)