

資料

健康食品中のムタプロデナフィルの検出事例

伊達 英代, 井原 紗弥香, 寺内 正裕, 新井 清, 松尾 健

Detections of Mutaprodrenafil in Health Foods

HIDEYO DATE, SAYAKA IHARA, MASAHIRO TERAUCHI, KIYOSHI ARAI and TAKESHI MATSUO

(Received September 30, 2011)

平成22年度「無承認無許可医薬品等実態調査」において、本県薬務課が買い上げた1製品より、勃起不全治療薬のシルデナフィルと構造が類似した、ムタプロデナフィルを検出した。この成分は、HPLC、LC-MS及びLC-MS/MS分析から、酸性条件下で分解しメチソシルデナフィルとなる成分であると判明した。

Key words : 勃起不全治療薬, 健康食品, メチソシルデナフィル, ムタプロデナフィル

緒 言

「無承認無許可医薬品」に該当する、医薬品成分が添加された「健康食品」が全国で発見され、健康被害の報告が後を絶たない。これら「健康食品」のうち、最も発見数が多いのは、勃起不全治療薬の主成分であるシルデナフィル及びその類似成分が添加された「健康食品」である。このような「健康食品」が、数多く販売されていることから、全国で買い上げ調査等が実施されており、厚生労働省の統計では、平成23年7月末現在、313製品が発見されている [1]。

本県においても、薬務課が実施している「無承認無許可医薬品等実態調査」の一環として、県内で購入した「健康食品」について、シルデナフィル類を対象に成分分析を行っているところであるが、平成22年度の調査において、1製品から、酸性条件下でメチソシルデナフィルを生じる成分、ムタプロデナフィルが検出されたので、その概要を報告する。

方 法

1 試 料

平成22年度「無承認無許可医薬品等実態調査」において買い上げた製品「BS30」: 白色カプセルで、内容物は微黄色粉末。内容物の重量は、0.97 gであった。

2 試 薬

(1) 標準品

国立医薬品食品衛生研究所生薬部より提供を受けた、酸性条件下で分解してメチソシルデナフィルを生じる化合物を確認用標準品とした。

なお、メチソシルデナフィル及びムタプロデナフィルの構造を、図1に示した。

(2) その他試薬

メタノール及び蒸留水はSIGMA-ALDRICH Inc. 製 HPLC用を、アセトニトリルは、関東科学(株)製 HPLC用を用いた。その他試薬は、特級品を使用した。

3 装 置

HPLCはHP 1100 (Agilent Technologies製)、LC-MSはHP 1100/MSD (Agilent Technologies製)、MS/MSは、API 3000 (AB Sciex製)を用いた。

4 標準溶液の調製

確認用標準品約0.5 mgを2%ギ酸メタノール溶液5 mlで溶解した。

5 試料溶液の調製

最所ら [2] の方法を参考に試料溶液を調製した。内容物約100 mgを精密に量り取り、2%ギ酸メタノール溶液5 mlを加え、超音波で60分間抽出し、遠心分離 (3000 rpm, 10 min) した後、上澄み液を試料溶液とした。

6 分析条件

(1) HPLC 条件

HPLC 条件は、既報に従った [3].

カラムは YMC-Pack ODS-AM (4.6×150 mm, 5 μm, YMC 製) を用いた. 分析は0.1% リン酸溶液 (A 液) とアセトニトリル (B 液) によるグラジエント条件で行った. まず, A 液 : B 液 (80 : 20) から20分で (30 : 70) とし, さらに5分間保持した. 検出波長は 254 nm, 注入量は10 μl, カラム温度は40℃とした.

(2) LC-MS 条件

カラムは, YMC-Pack ODS-AM (1.5×150 mm, 5 μm, YMC 製) を用いた. 分析は0.1% ギ酸溶液 (A 液) とアセトニトリル (B 液) によるグラジエント条件で行った. まず, A 液 : B 液 (80 : 20) から20分で (30 : 70) とし, さらに5分間保持した. 流量は0.2 ml/min,

注入量は5 μl, カラム温度は40℃とした. スキャン範囲は100-600 *m/z*, フラグメント電圧は100 vとした.

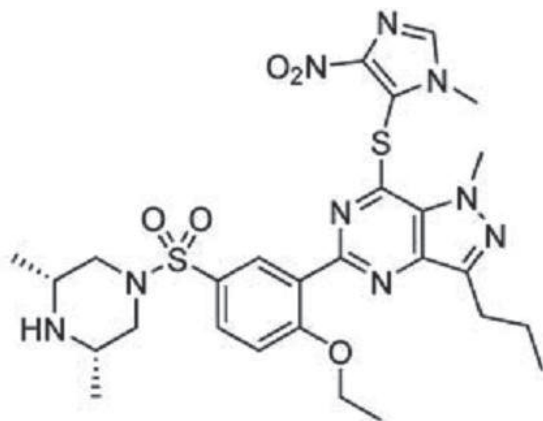
(3) MS/MS スペクトル測定条件

MS/MS スペクトルの測定は, 豊田ら [4] の方法を用いた. まず, 標準溶液及び試料溶液について Q1 スキャンを行い, [M+H]⁺ 及び [M-H]⁻ と推察されるイオンを確認した. 次に, そのイオンをプレカーサーイオンとし, 表1に示した LC-MS/MS 条件を用いて, プロダクトイオンスキャン測定を実施した.

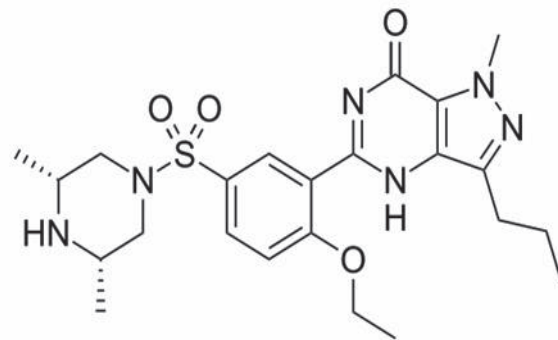
結果及び考察

1 HPLC 分析の結果

試料溶液について HPLC を用いて分析したところ, 保持時間11分付近に, ピーク A が認められた. この試



ムタプロデナフィル
C₂₇H₃₅N₉O₅S₂ 分子量 : 629.8



メチソシルデナフィル
C₂₃H₃₂N₆O₄S 分子量 : 488.6

図1 ムタプロデナフィル及びメチソシルデナフィルの構造式

表1 LC-MS/MS 分析条件

○ HPLC conditions

Device	: Agilent 1100 serie (Agilent Technologies)
Column	: Phenomenex Mercury MS Luna® C18 (2.0×10 mm, 3 μm)
Flow rate	: 0.2 ml/min
Column temp.	: 40℃
Inj. volume	: 1 μl
Mobile phase	: Sol.A : H ₂ O containing 5 mmol/l CH ₃ COONH ₄ Sol.B : CH ₃ OH / CH ₃ CN (1:1) containing 5 mmol/l CH ₃ COONH ₄
Gradient profile	: A : B (80 : 20) → 5 min → A : B (5 : 95) (Hold 3min)

○ MS/MS conditions

Device	: API 3000 (AB Sciex)
Ionization mode	: ESI (Negative and Positive)
Scan type	: Product ion scan
Ion spray voltage	: -4500 eV (Negative) and 5500 eV (Positive)
CE voltage	: ±20 eV, ±35 eV, ±50 eV
Ion source temp.	: 400 ℃
(The other conditions were default values of each device.)	

料溶液について、さらに詳細に検討を行うため分析を繰り返したところ、時間の経過と共に保持時間8.5分付近に、新たなピークBが認められた(図2)。このことから、Bの成分は、Aの成分をギ酸酸性溶液中で放置した結果、分解して生じた成分と考えられた。

2 LC-MS 分析の結果

HPLCで検出されたA、Bを確認するため、LC-MSを用いて、抽出当日と抽出後8日間放置した試料溶液をそれぞれ分析した。その結果、HPLCの結果と同様に、抽出8日目のトータルイオンクロマトグラム(TIC)に、

A及びその分解物と推察されるBが認められた(図3)。

各LC-MSスペクトルから、化合物Aの分子量は629、化合物Bの分子量は488と推察された。

3 LC-MS/MS 分析の結果

表1に示した条件で、推定分子量629のAについては、プリカーサーイオンを m/z 630とし、推定分子量488のBについては、プリカーサーイオンを m/z 489としてMS/MSスペクトルを測定した。得られたスペクトルを図4に示した。

Aのスペクトルにおいて、 m/z 142のイオンが観測さ

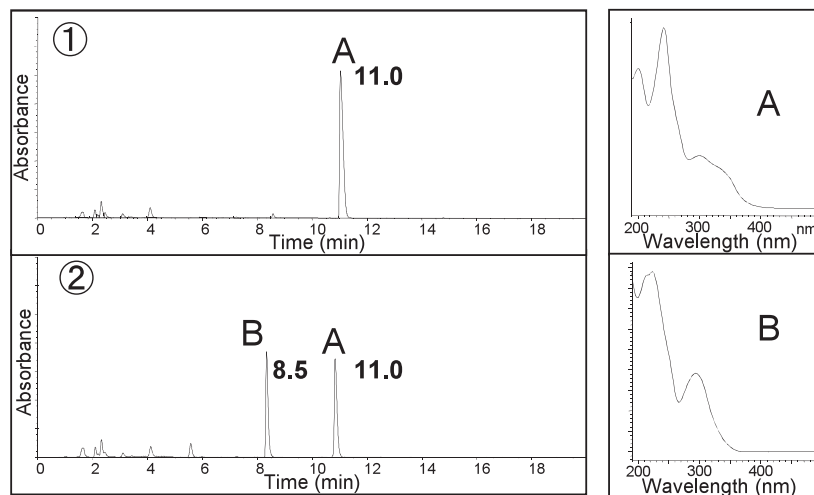


図2 試料溶液のHPLCクロマトグラムとA及びBのUVスペクトル

①：抽出当日 ②：抽出8日後

A：ムタプロデナフィル B：メチソシルデナフィル

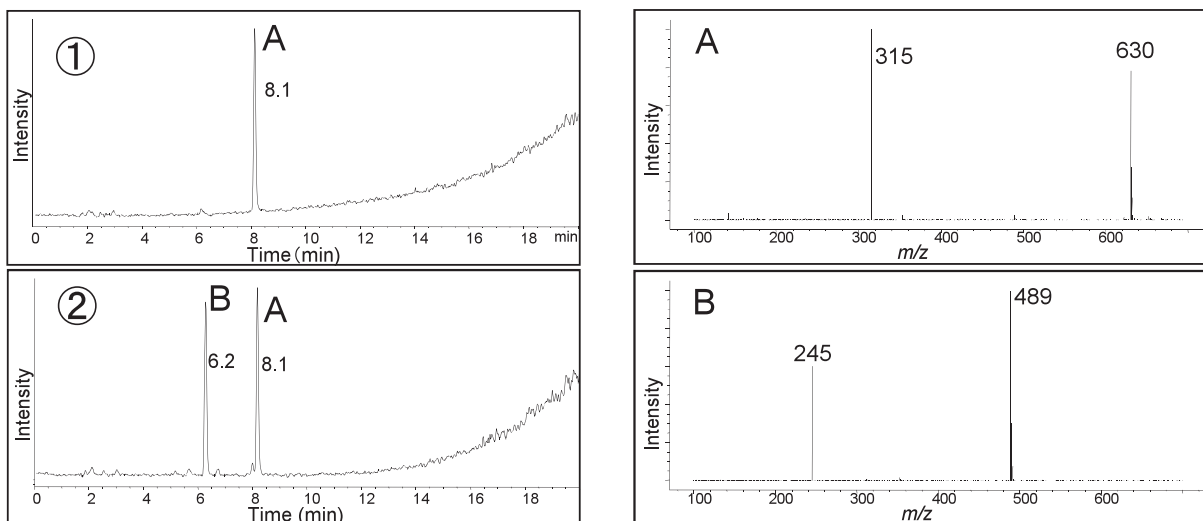


図3 試料溶液のLC-MSクロマトグラムとA及びBのMSスペクトル

①：抽出当日 ②：抽出8日後

A：ムタプロデナフィル B：メチソシルデナフィル

れていることから、プリカーサーイオン m/z 630からこの m/z 142で示される構造部分が脱離した、分子量488のBが生じたと考えられた。

現在、報告されているシルデナフィル類似物質のうち、Bと同じ分子量488の化合物は、メチソシルデナフィル、ホモシルデナフィル及びバルデナフィルがある [5]。Choi DMらは、メチソシルデナフィル、ホモシルデナフィル及びバルデナフィルのEI-MSスペクトルで m/z 113, 311のイオンが観測されていることを報告しているが [6]、Bのスペクトルにも同様に m/z 113, 311のイオンが観測されている。したがって、Bはこれら3つの化合物のうちの1つと考えられた。

これらのことから、本県薬務課を通じて、厚生労働省及び国立医薬品食品衛生研究所に問い合わせたところ、千葉県、神奈川県、大阪府及び浜松市において、健康食品中から、酸性条件下で分解してメチソシルデナフィルを生じる化合物が相次いで検出されていることが判明した。そこで、国立医薬品食品衛生研究所生薬部より、確認用標準品として、酸性条件下で分解してメチソシルデナフィルを生じる化合物の提供を受けた。

そこで、確認用標準品を2%ギ酸メタノール溶液で溶解した直後及び8日放置後にHPLC, LC-MS及びLC-MS/MSを用いて分析を行った。その結果、試料と

同様の分析結果を示すピークが確認されたことから、本試料中に添加されていたのは、酸性条件下で分解してメチソシルデナフィルを生じる化合物Aであり、Bはメチソシルデナフィルであることが判明した。

その後、Aについて、国立医薬品食品衛生研究所により構造が決定され、ムタプロデナフィルと命名された [7]。また、「専ら医薬品として使用される成分本質」に該当するものと判断され、ムタプロデナフィルを含有する「健康食品」は、無承認無許可医薬品として規制されることとなった。

ま と め

シルデナフィル及びその類似成分を対象にした「無承認無許可医薬品等実態調査」において、酸性条件下でメチソシルデナフィルを生じるムタプロデナフィルを検出した。この製品については、県ホームページを通じて広く県民に注意喚起すると共に、他県にも情報提供を行った。

今回発見されたムタプロデナフィルのような、新たなシルデナフィル類似物質が検出される可能性は依然として高く、今後も、監視を継続していく必要があると考えられる。

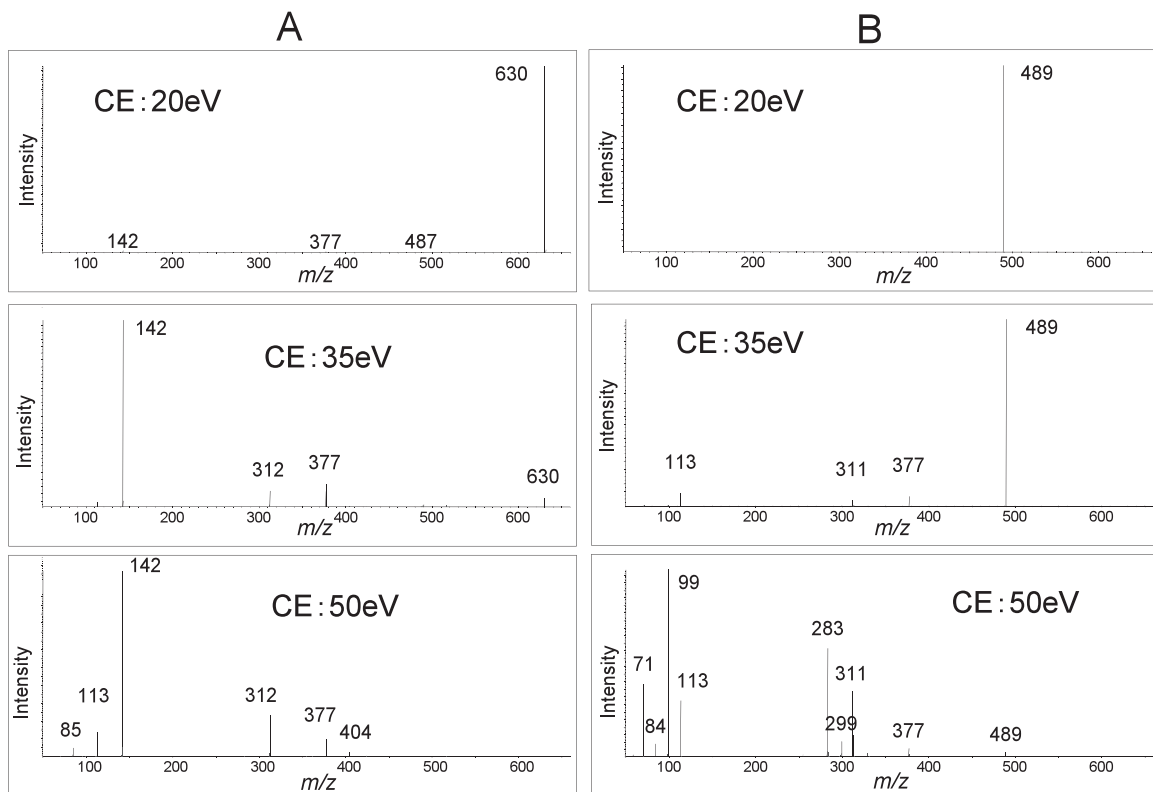


図4 A及びBのMS/MSスペクトル

A：ムタプロデナフィル（プリカーサーイオン m/z 630）

B：メチソシルデナフィル（プリカーサーイオン m/z 489）

謝 辞

確認用標準品を供与していただいた, 国立医薬品衛生研究所 生薬部 合田幸広先生並びに花尻 (木倉) 瑠理先生に, 感謝申し上げます.

参考文献

- [1] 厚生労働省ホームページ. 無承認無許可医薬品情報. <http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/musyounin.html>, (参照2011-7-31).
- [2] 最所和宏, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広. 平成20年度無承認無許可医薬品の買い上げ調査について—強壮用健康食品—. 第44回全国衛生化学技術協議会年会要旨. 2009. p. 278-279.
- [3] 伊達英代, 寺内正裕, 松尾健. 健康食品中のシルデナフィル, タダラフィルの検出事例. 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告. 2009; 17:37-42.
- [4] 豊田安基江, 杉村光永, 松尾健, 寺内正裕, 伊達英代, 井原紗弥香, 森田晃祥, 山辺真一, 肥塚加奈江, 藤原美智子他. 相互利用可能なLC/MS/MSスペクトルライブラリ作成のための研究(第1報)—プロダクトイオンスキャンによるMS/MSスペクトル取得条件の検討—. 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告. 2008;16:1-4.
- [5] 安田一郎. 健康食品中に含まれる医薬品類似成分. 食品衛生学雑誌. 2010;51(6):402-407.
- [6] Choi DM, Park S, Yoon TH, Jeong HK, Pyo SJ, Park J, Kim DJ, Kwon SW. Determination of analogs of sildenafil and vardenafil in foods by column liquid chromatography with a photodiode array detector, mass spectrometry, and nuclear magnetic resonance spectrometry. J AOAC Int. 2008;91(3):580-588.
- [7] Demizu Y, Wakana D, Kamakura H, Kurihara M, Okuda H, Goda Y. Identification of mutaprodifenafil in a dietary supplement and its subsequent synthesis. Chem Pharm Bull. 2011;59(10):1314-1316.