

健康食品中のムタプロデナフィル検出事例とその酸処理条件の検討

青山愛倫* 浅田安紀子* 武田章弘* 土井崇広*
皐月由香* 田上貴臣* 沢辺善之*

平成22年度に大阪府にて実施した強壮効果を標榜する健康食品の試買調査において、1製品よりシルデナフィル構造類似成分であるムタプロデナフィルを検出した。HPLC/PDA及びLC/MSによる分析の結果、当該成分は酸処理をすることによりメチソシルデナフィルに分解されることを確認した。さらに、その酸処理条件について検討を行ったところ、温度や酸の濃度及び種類が検出に影響を与えることが確認された。また、特定の酸処理条件下において未知化合物を検出した。

キーワード：健康食品、勃起不全治療薬、ムタプロデナフィル、メチソシルデナフィル

Key words：dietary supplement, drugs for erectile dysfunction, mutaprodenafil, methisosildenafil

近年、健康や美容に対する意識の高まりやインターネットなどで容易に入手可能なことから健康食品の需要が増大している。しかし、一部の健康食品の安全性や品質は充分とはいえない。実際に、医薬品成分を含有した健康食品の服用による死亡例や重篤な健康被害が全国で報告されており、大きな社会問題となっている¹⁾。厚生労働省ホームページ「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」²⁾によると、強壮効果を標榜した健康食品に医薬品成分が含有されていた製品は、354製品であった(平成25年5月31日時点)。検出された医薬品成分は、勃起不全(以下、ED)治療薬の有効成分であるシルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィル、及びこれらの構造の一部を変更した類似化合物である。強壮効果を標榜した健康食品において、これら医薬品成分及び類似化合物は頻繁に検出されているのが現状である^{3)~7)}。

大阪府では、健康食品による健康被害の未然及び拡大防止のため、強壮効果と痩身効果を標榜する健康食

品等の試買調査を行っている。平成22年度に試買した製品の中で1製品について、酸処理によりメチソシルデナフィルに分解されるムタプロデナフィル(当時、「酸処理するときメチソシルデナフィルを生じる推定分子量629の未知物質」として扱われた[表1])を検出したので報告する。また、その酸処理条件について検討を行い、特定の条件下において未知化合物を検出したので併せて報告する。

方法

1、試料

平成22年度の健康食品試買調査において試買した製品「スーパーエックス」(剤形:硬カプセル)を用いた。

2、試薬

メチソシルデナフィルは、千葉県衛生研究所より提供されたものを用いた。ホモシルデナフィルは、東京都健康安全研究センターより提供されたものを用いた。その他の試薬については、和光純薬工業株式会社製を用いた。

3、標準溶液の調製

メチソシルデナフィル：メチソシルデナフィルをメタノールで希釈し100 ppm溶液とした。この溶液をメタノールで希釈しLC/MS用標準溶液とした(0.1 ppm)。

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課

Detection of Mutaprodenafil in Dietary Supplement and
Examination of Its Acid Treatment Conditions

By Airin AOYAMA, Akiko ASADA, Akihiro TAKEDA,
Takahiro DOI, Yuka SATSUKI, Takaomi TAGAMI and
Yoshiyuki SAWABE

ホモシルデナフィル：ホモシルデナフィルをメタノールで希釈し 10 ppm 溶液とした。さらに、この溶液をメタノールで希釈して LC/MS 用標準溶液とした(0.1 ppm)。

4、試料溶液の調製

試料 10 mg を精密に秤量し、メタノール 5 mL を加えて、60 分間超音波抽出を行った。その後、0.45 μm のメンブランフィルターでろ過した。ろ液をメタノールで 100 倍希釈し HPLC/PDA 用試料溶液とし、さらにその 100 倍希釈液を LC/MS 用試料溶液とした。

5、酸処理試料溶液の調製

4、のろ液をメタノールで 10 倍及び 1000 倍希釈した溶液 1 mL をとり、ギ酸 200 μL を加えた後、メタノールで全量 10 mL にした(最終ギ酸濃度 2%)。さらに、55℃ 水浴中で 4 時間加温をしたものをそれぞれ HPLC/PDA 用及び LC/MS 用酸処理試料溶液とした。

6、装置

HPLC/PDA は LC-10 及び LC-20AT、LC/MS は LCMS-2020(いずれも島津製作所製)を用いた。

7、分析条件

分析条件は、高橋ら⁴⁾の方法を参考に設定した。

[HPLC/PDA]

カラム：L-Column ODS (4.6 mm i.d. × 150 mm, 5 μm, 化学物質評価研究機構製)

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル/10 mM 炭酸水素アンモニウム緩衝液(pH 10.0)混液(60 : 40)

流速：0.8 mL/min

注入量：10 μL もしくは 20 μL

PDA：波長 190-370 nm(モニタリング波長 292 nm)

[LC/MS]

カラム：Ascentis Express C18 (2.1 mm i.d. × 75 mm, 2.7 μm, SUPELCO 製)

カラム温度：40℃

移動相 A：アセトニトリル

移動相 B：10 mM 炭酸水素アンモニウム緩衝液(pH 10.0)

グラジエント条件：0 分(20%B) → 10 分(80%B)

流速：0.2 mL/min

注入量：5 μL

イオン化法：ESI ポジティブモード(Scan モード、マスペクトレンジ $m/z=80-800$)

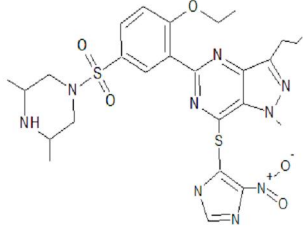
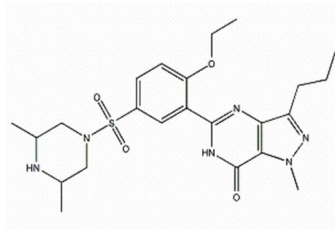
乾燥ガス流量：900 L/h(N₂)

コーンガス流量：90 L/h(N₂)

キャピラリー電圧：4.5 kV

コーン電圧：20 V

表 1 ムタプロデナフィル、メチソシルデナフィル

化学物質	分子量	構造
ムタプロデナ フィル (C ₂₇ H ₃₅ N ₉ O ₅ S ₂)	629.755	
メチソシルデ ナフィル (C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S)	488.607	

結果及び考察

1、試料調査

HPLC/PDA 用試料溶液について分析を行ったところ、未知化合物のピークが検出された。また、HPLC/PDA 用酸処理試料溶液については、未知化合物のピークに加えシルデナフィル様のスペクトルを持つピークが検出された。検出された 2 つの化合物について検討を行うため LC/MS で分析を行った。

LC/MS 用試料溶液について分析したところ、未知ピークの MS スペクトルにおいて $m/z=630$ と 316 にピークが検出され、それぞれ $[M+H]^+$ と $[M+2H]^{2+}$ であると推察された。また、LC/MS 用酸処理試料溶液では、シルデナフィル様のスペクトルを持つピークの MS スペクトルにおいて $m/z=489$ にピークが検出された。提供

されたホモシルデナフィルとメチソシルデナフィルを用いて確認したところ、メチソシルデナフィルであることが判明した。さらに、酸処理を行っていない試料溶液ではメチソシルデナフィルが検出されなかったことから、メチソシルデナフィルは検体そのものではなく酸処理により生成されたものであると考えられた。

以上の結果より、「酸処理するときメチソシルデナフィルを生じる推定分子量 629 の未知物質」を検出したとして、試買調査結果を報告した。

その後、大阪府以外に千葉県、神奈川県、浜松市の試買調査でも同様の化合物の検出が確認された。この化合物は、厚生労働省により「専ら医薬品成分として使用される成分本質」に該当するものされ、国立医薬品食品衛生研究所により構造の決定がされ、「ムタプロデナフィル」と命名された⁹⁾。厚生労働省及び 4 府県市では当該製品を使用しないように、また、使用後に体調に不安を感じる場合は医療機関または保健所に相談するように注意喚起を行った⁹⁾。

2、酸処理条件の検討

試買調査の結果より、ムタプロデナフィルはギ酸処理によりメチソシルデナフィルに分解されることが確認された。健康食品中のシルデナフィル類似化合物の構造が多様化している状況であることから、今回の事例のようなムタプロデナフィルからメチソシルデナフィルへの分解以外にも、別の化合物が生成する反応条件が存在する可能性が考えられた。そこで、酸処理条件について HPLC/PDA を用いた検討を行い、その分解挙動を確認することとした。

反応温度及び反応時間の検討：反応温度として、4℃、20℃、37℃、55℃を、反応時間として、1 時間、3 時間、1 日を検討した。4、試料溶液の調製のろ液をメタノールで 10 倍希釈した溶液 1 mL に最終濃度が 2%になるようにギ酸を加え、その溶液を設定した 4 種の温度条件下、3 種の反応時間で静置した。その反応液を移動相(アセトニトリル/10 mM 炭酸水素アンモニウム緩衝液[pH 10.0]混液[60 : 40])で 10 倍希釈し、酸処理条件検討用試料溶液とした。

その際に得られたムタプロデナフィル、メチソシルデナフィルのクロマトグラム及び UV スペクトルを示す(図 1)。検討の結果、反応温度が高温になるほどメチソシルデナフィルの生成量は増加し、また、反応時間が長くなるほどメチソシルデナフィルの生成量は増加した(図 2)。

酸の種類及び酸濃度の検討：酸処理に用いる酸として、ギ酸及び塩酸を、酸濃度として 2%及び 5%を検討した。4、試料溶液の調製のろ液をメタノールで 10 倍希釈した溶液 1 mL にギ酸及び塩酸をそれぞれの最終濃度が 2%及び 5%になるように加え、55℃の水浴上で 1 時間、3 時間、1 日静置した。その反応液を移動相(アセトニトリル/10 mM 炭酸水素アンモニウム緩衝液[pH 10.0]混液[60 : 40])で 10 倍希釈し、酸処理条件検討用試料溶液とした。

検討の結果、1 時間、3 時間の静置ではほとんど差が認められなかったのに対し、1 日の静置では最終濃度 5%のギ酸で最もメチソシルデナフィルの生成量が多かった(図 3)。また、最終濃度 2%及び 5%の塩酸では未知化合物 C が見られ、スペクトルを確認したところメ

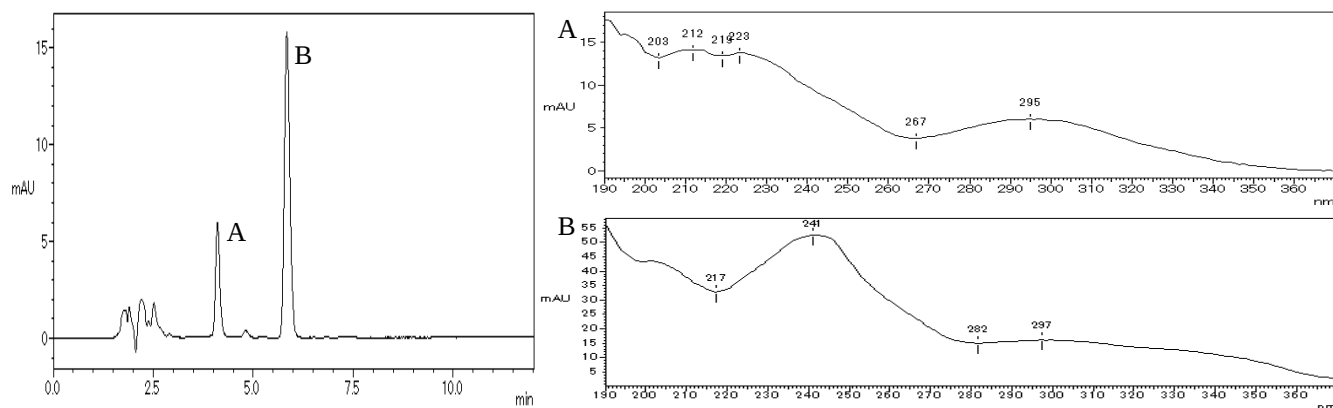


図 1 HPLC クロマトグラム及び UV スペクトル(2% HCOOH , 55℃, 3h)

A メチソシルデナフィル B ムタプロデナフィル

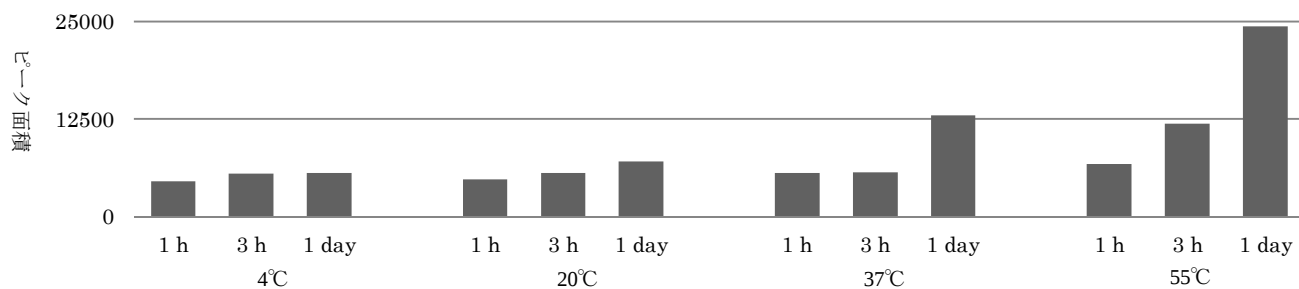


図2 メチソシルデナフィルの生成における反応温度による影響 (2% HCOOH)

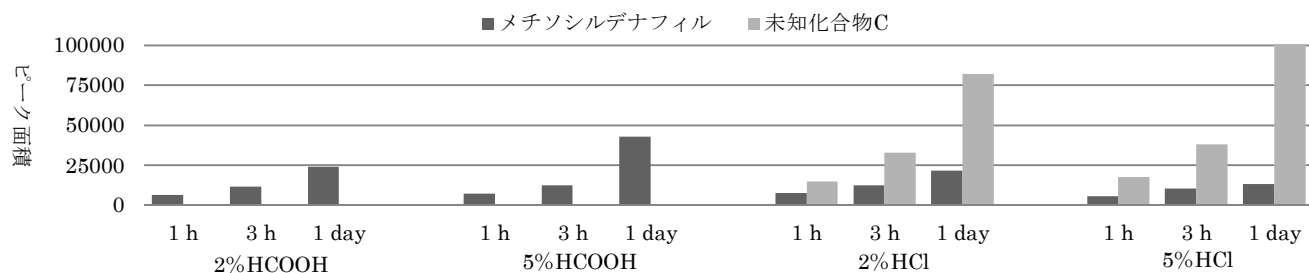


図3 メチソシルデナフィルの生成における酸の種類及び酸濃度による影響

チソシルデナフィルと一致しないスペクトルであった(図4)。いずれの濃度の塩酸においても、反応時間が長くなるほどムタプロデナフィルの分解がギ酸よりも急激に進行し、メチソシルデナフィルではなく未知化合物Cの生成量が顕著に増加していた(図3)。

未知化合物Cの生体内における分解挙動や分解物の毒性等は、今回の酸処理条件の検討だけでは判断はできず、より多くの検討が必要である。

結論

以上の酸処理条件の検討結果より、ムタプロデナフィルからメチソシルデナフィルに分解する条件として、温度の影響が非常に大きく温度管理が重要であると考えられた。また、効率よくメチソシルデナフィルに分解するには塩酸よりもギ酸、さらに、最終濃度が2%よりも5%のギ酸の方が優れていることがわかった。

今回の検討により塩酸処理条件下で未知化合物Cの生成量が増えることを明らかになった。当該健康食品を服用した場合、ギ酸処理で生じるメチソシルデナフィルよりも胃酸の成分に近い塩酸処理で生じる未知化合物Cが生じる可能性が高いと考えられた。しかし、

平成22年度の試買調査においてムタプロデナフィルが検出され、酸処理によりメチソシルデナフィルに分解することが確認された。酸処理条件の検討の結果、温度や酸の濃度及び種類が検出に影響を与え、塩酸処理条件下で未知化合物が検出された。

ムタプロデナフィルのような特定の条件下でシルデナフィル類似成分が検出されるなど、健康食品中のシルデナフィル類似成分の検出を免れる手法は巧妙かつ複雑化してきている。このような状況の中で府民の健康を守るために、今後も情報の収集に努め標準品や検査体制を整え、健康食品による健康被害の未然及び拡

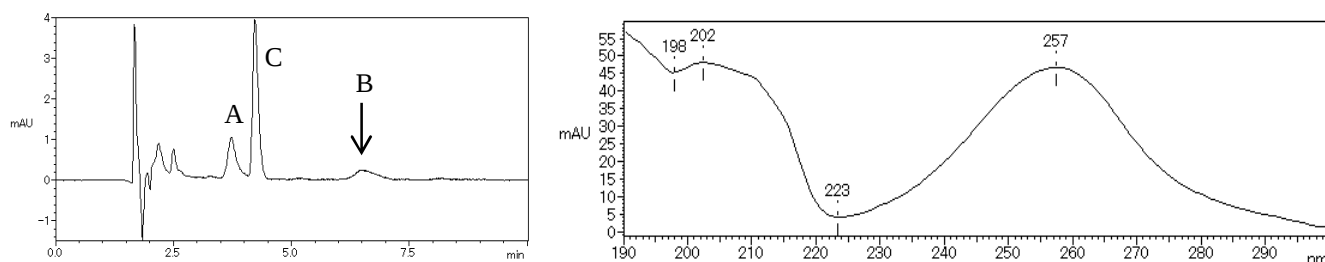


図4 HPLC クロマトグラム及び未知化合物CのUV スペクトル (5% HCl , 55°C, 3h)

A メチソシルデナフィル B ムタプロデナフィル

大防止に寄与していきたいと考えている。

謝辞

今回の調査にあたり、標準品を提供していただきました、千葉県衛生研究所医薬品研究室 長谷川貴志研究員、高橋和長研究員、東京都健康安全研究センター薬事環境科学部医薬品研究科の皆様に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 厚生労働省. 6健康被害情報・無承認無許可医薬品情報6. 厚生労働省. 2013-05-31.
http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/shokuhin/daietto/index.html, (参照 2013-05-31).
- 2) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課. 6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6. 厚生労働省. 2013-05-31.
<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/other/050623-1.html>, (参照 2013-05-31).
- 3) 守安貴子、簗輪佳子、岸本清子、坂本美穂、門井秀郎、中嶋順一、濱野朋子、中江大：健康食品に含有される医薬品成分の分析、東京都健康安全研究センター研究年報，62，25-39(2011)
- 4) 高橋市長、長谷川貴志、西條雅明、永田知子、若菜大悟、合田幸広：いわゆる健康食品中から検出されたシルデナフィル構造類似体について、千葉県衛生研究所年報，58，55-60(2009)
- 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，51，402-407(2010)
- 6) 曾根聡子、武田亮、森崎澄江、溝腰利男、後藤成一、山下秀門：健康食品からのヒドロキシホンデナフィル検出事例について，大分県衛生環境研究センター年報，35，43-46(2007)
- 7) 伊達英代、井原紗弥香、寺内正裕、新井清、松尾健：健康食品中のムタプロデナフィルの検出事例，広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告，19，21-25(2011)
- 8) 厚生労働省：「専ら医薬品として使用される成分本質」に該当する物質の命名について(事務連絡)，平成23年8月11日

9) 独立行政法人国立健康・栄養研究所：「健康食品」の安全性・有効性情報、厚生労働省と千葉県、神奈川県、大阪府、浜松市が医薬品類似成分（シルデナフィル類似成分）を含むいわゆる健康食品に注意喚起 (<http://hfnet.nih.go.jp/contents/detail1607.html>)，平成22年12月21日