

バルデナフィル塩酸塩として販売されていた市販試薬について

吹澤友秀, 長谷川貴志, 高橋和長, 西條雅明, 元木裕二

Result of Analysis of the Commercial Reagent Sold as Vardenafil Chloride Salt

Tomohide FUKIWAKE, Takashi HASEGAWA, Kazunaga TAKAHASHI, Masaaki SAIJO and Yuji MOTOKI

要旨

バルデナフィル塩酸塩として購入した市販試薬について、内容成分がバルデナフィルとは異なっていた事例が見出された。UPLC/PDA 及び LC/MS 分析により、市販試薬の内容成分はホモシルデナフィルであると同定された。

キーワード：バルデナフィル、ホモシルデナフィル、メチソシルデナフィル、UPLC/PDA、LC/MS、標準品

Keywords: vardenafil, homosildenafil, methisosildenafil, UPLC/PDA, LC/MS, reference standard

はじめに

近年、人々の健康に対する意識や関心に変化し、健康の維持、増進のほかに痩身、強壮効果等を期待していわゆる健康食品が広く用いられるようになっている。しかし、これら健康食品の中には、効果を高めるために医薬品成分を含有した製品がみられ、それらを摂取することにより健康被害を受けるといった事例が数多く報告されている^{1)~4)}。

千葉県では、健康食品によるこれらの健康被害を未然に防止するために、無承認無許可医薬品取締事業による試買検査を行っている。

我々は、平成 18 年度にフォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC/PDA) スクリーニング分析法を構築した⁵⁾。その後、分析対象成分を追加し⁶⁾、検査を実施していたが、対象成分の増加に従い、他成分と十分な分離が得られない事例や測定に時間を要するなど、いくつかの問題点があった。

その問題点を解決すべく平成 23 年度にフォトダイオードアレイ検出器付き超高速液体クロマトグラフ (UPLC/PDA) スクリーニング分析法を構築した⁷⁾。

今回、分析法の構築に際して使用した「Vardenafil Hydrochloride Salt」と記載されていた市販試薬について、内容成分がバルデナフィルとは異なっていた事例があったので報告する。

実験方法

1. 試薬及び標準品

1) 標準品：バルデナフィルは「Vardenafil Hydrochloride Salt」と記載され、販売されていたものの（以下、市販試薬）及び国立医薬品食品衛生研究所からの分与品（以下、分与品）を使用した。また、ホモシルデナフィルは国立医薬品食品衛生研究所からの分与品、メチソシルデナフィルは強壮成分が検出された製品から精製したものをを用いた。なお、各々の構造式は図 1 に示した通りである。

2) 標準溶液：各標準品を 1000 µg/mL となるよう各々メタノールで調製し、水・メタノール混合液（1:1）で 100 µg/mL に適宜調製した。

3) その他の試薬：アセトニトリルは HPLC 用（SIGMA 製）及び高速液体クロマトグラフ質量分析（LC/MS）用（和光純薬工業製）を用いた。水はミリポア製 MILLI-Q Labo により精製して用いた。その他試薬は市販特級品を用いた。

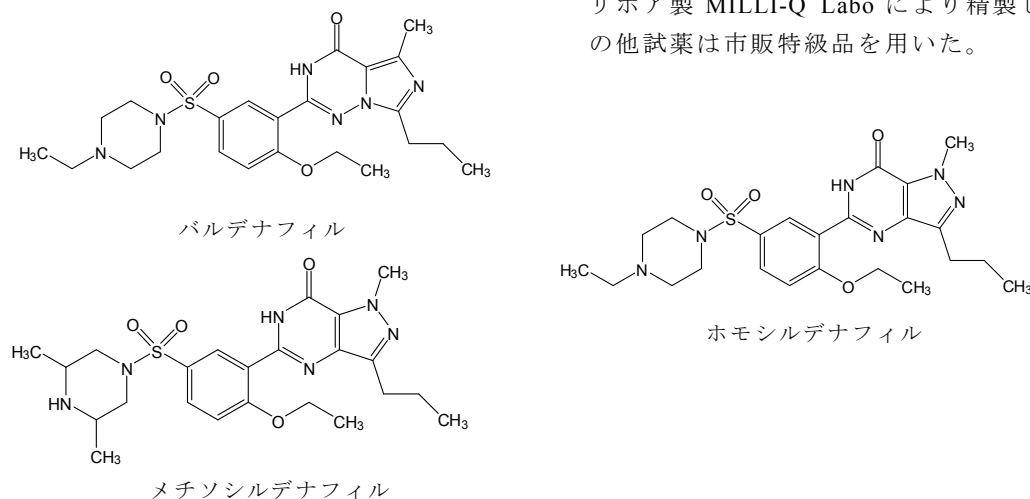


図 1. バルデナフィル、ホモシルデナフィル及びメチソシルデナフィルの構造式

2. UPLC 装置及び UPLC 条件

装置：Waters 製 ACQUITY Ultra Performance LC

カラム：ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm i.d. × 50 mm, 1.7 μm)

流速：0.6 mL/min、注入量：2 μL、カラム温度：40℃、測定波長 210-400 nm、移動相 A 液：0.1%リン酸溶液、B 液：0.1%リン酸含有アセトニトリル、グラジエント条件：0-2 分 (A : B=98 : 2) → 8-10 分 (A : B=20 : 80)

3. LC/MS 装置及び LC/MS 条件

装置：Waters 製 2695 型セパレーションモジュール及び ZQ4000 型質量分析計

カラム：Atlantis dC18 (2.1 mm i.d. × 150 mm, 3 μm)

流速：0.2 mL/min、注入量：10 μL、カラム温度：40℃、イオン化法：ESI ポジティブ、コーン電圧：20V、測定質量電荷比範囲： m/z 100-800、移動相 A 液：0.1%ギ酸溶液、B 液：0.1%ギ酸含有アセトニトリル、グラジエント条件：0 分 (A : B=95 : 5) → 15 分 (A : B=80 : 20) → 30-35 分 (A : B=20 : 80)

結果及び考察

1. UPLC/PDA 分析

市販試薬及び分与品について、試験方法で示した条件で UPLC/PDA 分析を行った際のクロマトグラム及び UV スペクトルを図 2 に示した。保持時間は市販試薬で 4.76 分、分与品で 4.05 分であった。また、市販試薬の UV スペクトルの極大吸収波長は 224 nm 及び 294 nm、分与品では 215 nm 及び 246 nm であったことから、市販試薬と分与品の内容成分は異なっていた。

2. LC/MS 分析

市販試薬及び分与品について、試験方法で示した条件で LC/MS 分析を行った際の TIC クロマトグラム及びマススペクトルを図 3 に示した。保持時間は、市販試薬で 26.15 分、分与品で 24.60 分であった。

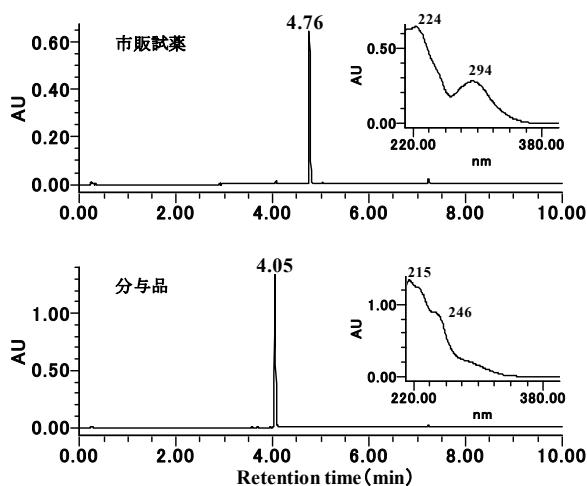


図 2. 市販試薬及び分与品の UPLC/PDA クロマトグラム及び UV スペクトル

また、市販試薬のマススペクトルは m/z 489 の相対強度は 60%程度であったが、分与品については、 m/z 489 の相対強度は 5%程度であった。両物質において保持時間及びスペクトルパターンが一致しないことから、本法においても市販試薬と分与品の内容成分は異なっていた。

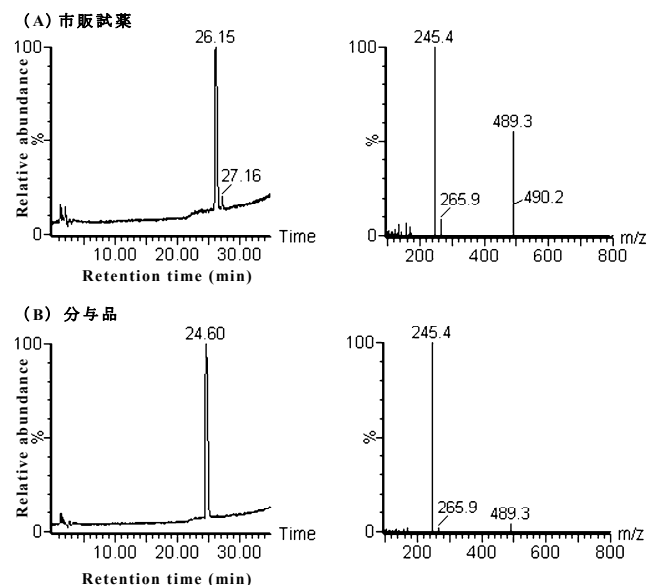


図 3. 市販試薬 (A) 及び分与品 (B) の TIC クロマトグラム及びマススペクトル

3. 市販試薬の内容成分の LC/MS 及び UPLC/PDA による同定

LC/MS 分析により、市販試薬は保持時間 26.15 分、 m/z 489 に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認されたことから、分子量は 488 と思われる。このことから、分子量 488 を示すホモシルデナフィル及びメチソシルデナフィルについて LC/MS 分析を実施した (図 4)。

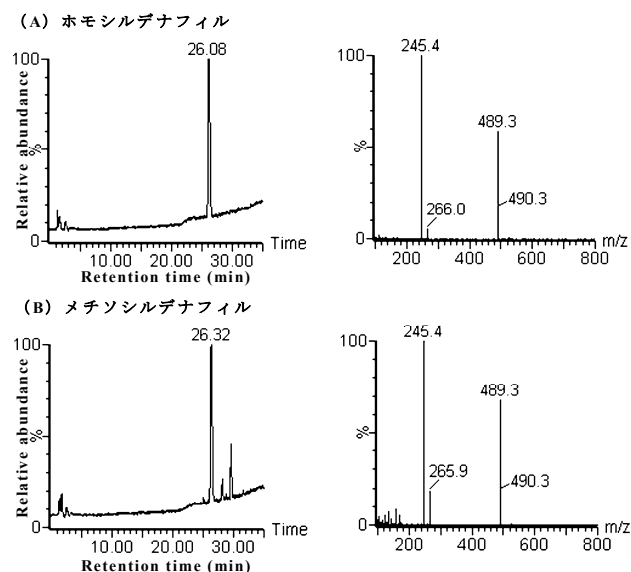


図 4. ホモシルデナフィル (A) 及びメチソシルデナフィル (B) の TIC クロマトグラム及びマススペクトル

ホモシルデナフィルは保持時間 26.08 分であり、 m/z 489 に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認され、メチソシルデナフィルは保持時間 26.32 分であり、 m/z 489 に $[M+H]^+$ イオンと思われるピークが確認された。両物質は m/z 245 及び m/z 489 の強度が高く、ホモシルデナフィルの m/z 489 の相対強度は 60%程度であり、メチソシルデナフィルの相対強度は、70%程度であった。

市販試薬のマススペクトルはホモシルデナフィル及びメチソシルデナフィルのスペクトルパターンと酷似していることから、内容成分はいずれかの可能性が高いと判断した。

次にホモシルデナフィル及びメチソシルデナフィルの UPLC/PDA 分析を行った (図 5)。

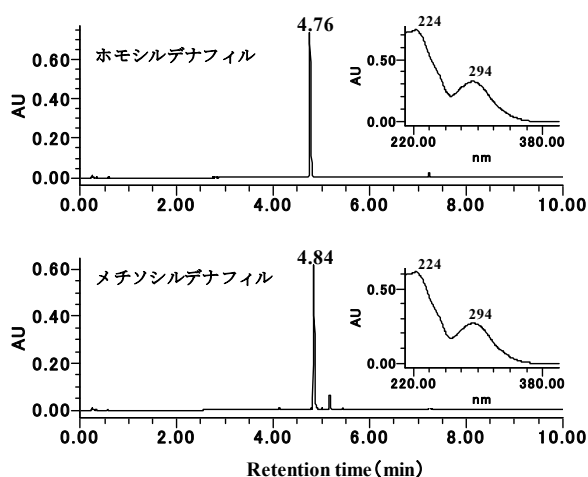


図5. ホモシルデナフィル及びメチソシルデナフィルの UPLC/PDA クロマトグラム及び UV スペクトル

ホモシルデナフィルの保持時間は 4.76 分、メチソシルデナフィルの保持時間は 4.84 分で UV スペクトルの極大吸収波長はいずれも 224 nm 及び 294 nm であった。

市販試薬の保持時間は 4.76 分 (図 2) なので、内容成分はホモシルデナフィルと推測された。そこで、市販試薬とメチソシルデナフィルの濃度が 50 $\mu\text{g/mL}$ になるように混合試料を調製し UPLC/PDA 分析を行ったところ、ピークは分離 (4.77 及び 4.85 分) した (図 6)。

同じように市販試薬とホモシルデナフィルの濃度が 50 $\mu\text{g/mL}$ になるように混合試料を調製し分析を行ったところ、ピークは分離しなかった (図 7)。

このことより、市販試薬の内容成分はメチソシルデナフィルではなく、ホモシルデナフィルであると同定した。

まとめ

バルデナフィル塩酸塩として購入した試薬について、内容成分がバルデナフィルとは異なっていたことが確認された。

今回のように、試験検査成績書が添付されていない市販試薬を標準品として無承認無許可医薬品取締事業の検査に使用した場合、誤同定する可能性がある。また、鈴木ら⁸⁾も市販試薬の内容成分が異なっていた事例を報告している。分析においては、標準品が正しいものであることが前提条件である。市販試薬においては当該事例のような誤りの可能性があることから、標準品として使用するにあたっては事前の確認が重要であると考ええる。

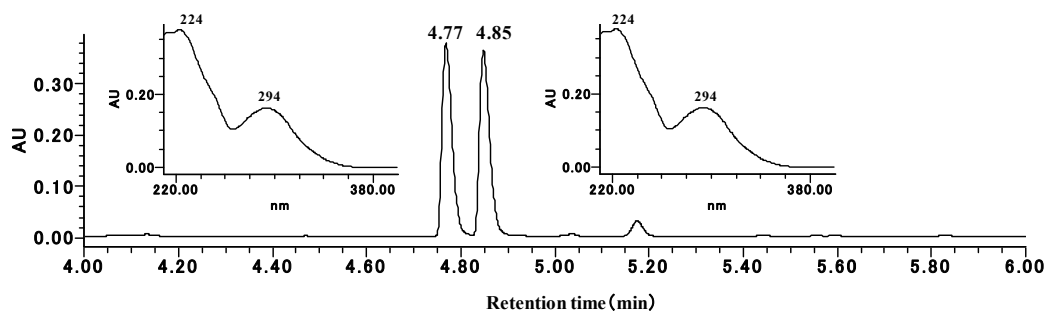


図6. 市販試薬及びメチソシルデナフィルの混合試料の UPLC/PDA クロマトグラム及び UV スペクトル

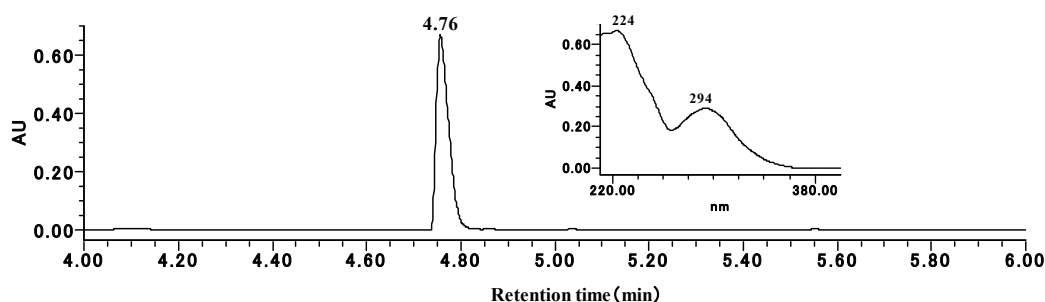


図7. 市販試薬及びホモシルデナフィルの混合試料の UPLC/PDA クロマトグラム及び UV スペクトル

文 献

- 1) 健康被害情報・無承認無許可医薬品情報，厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課 (<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet.html>)
- 2) 守安 貴子，岸本 清子，中嶋 順一，重岡 捨身，蓑輪 佳子，上村 尚，他：健康被害を起こした中国製ダイエット健康食品における検査結果，東京都健康安全研究センター研究年報，54，69-73 (2003)
- 3) 長谷川 貴志，石井 俊靖，宮本 文夫，伊藤 浩三：健康被害を起こした中国製ダイエット用健康食品から検出された医薬品成分について，千葉県衛生研究所研究報告，29，37-40 (2005)
- 4) 伊達 英代，寺内 正裕，杉村 光永，豊田 安基江，松尾 健：健康食品中に含まれる経口血糖降下薬の系統的分析法，薬学雑誌，129，163-172 (2009)
- 5) 西條 雅明，石井 俊靖，長谷川 貴志，高橋 市長，永田 知子：「いわゆる健康食品」中の医薬品成分分析について，千葉県衛生研究所年報，55，74-78 (2006)
- 6) 西條 雅明，石井 俊靖，長谷川 貴志，高橋 市長，永田 知子：「いわゆる健康食品」中の医薬品成分分析について（第2報），千葉県衛生研究所年報，56，55-59 (2007)
- 7) 吹譯 友秀，長谷川 貴志，芦澤 英一，小倉 誠，高橋 和長，西條 雅明，他：UPLC/PDA によるいわゆる健康食品中の医薬品成分スクリーニング分析法について，千葉県衛生研究所年報，59，79-83 (2010)
- 8) 鈴木 仁，高橋 美佐子，長嶋 真知子，瀬戸 隆子，安田 一郎：指定薬物の同定に用いる市販試薬の品質検査の重要性，医薬品研究，40，253-258 (2009)