

201132009A

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス

総合研究事業

無承認無許可医薬品の調査・分析及び有害性評価に
関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

(H21-医薬-一般-011)

研究代表者 大塚 英昭

平成24(2012)年3月

目 次

I. 総括研究報告書	
無承認無許可医薬品の調査・分析及び有害性評価に関する研究 大塚 英昭	1
II. 分担研究報告書	
1. 無承認無許可医薬品の調査と分析, 有害性評価に関する研究 合田 幸広	
「いわゆる健康食品」より検出された勃起不全 (ED) 治療薬類似化合物の同定 若菜 大悟	9
強壯を標榜する健康食品から単離されたムタプロデナフィルの合成による構造決定 栗原 正明	17
偽造医薬品の分析について 鎌倉 浩之	21
日本市場に流通するシャタバリ製品の遺伝子解析による基原種の鑑別 桑田 幸恵	39
シャタバリ製品の成分分析による基原種鑑別とアルカロイド成分について 桑田 幸恵	49
2. 無承認無許可医薬品の調査と分析に関する研究 大塚 英昭	
「専ら医薬品」の調査に関する研究 大塚 英昭・合田 幸広	61
無承認無許可医薬品の調査と分析に関する研究 大塚 英昭	105
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	111

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療器械等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
総括研究報告書

無承認無許可医薬品の調査・分析及び有害性評価に関する研究

研究代表者 大塚英昭 広島大学大学院医歯薬学総合研究科教授

無承認無許可医薬品とは、医薬品としての承認や許可を受けていないにもかかわらず、医薬品としての目的性を持たせた製品であり、その判断は、医薬品の範囲に関する基準（直近の改正：平成 21 年 2 月 20 日付薬食発第 0220001 号厚生労働省医薬局長通知「医薬品の範囲に関する基準の一部改正について」）に基づき行われる。本基準は、主に成分本質（原材料）、効能効果、形状、用法用量の 4 要素に分けられるが、本研究では、特に成分本質（原材料）により無承認無許可医薬品と判断されるべき成分本質について、調査と分析、有害性評価を行うものである。上記通知では、専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）は、320 成分（植物由来 233、動物由来 21、その他 66）ある。これらの成分本質のうち、近年、その他（化学物質）の分類で、成分本質が専ら医薬品として判断されるものが急増している。これは主に、合成された ED 治療薬類似成分である。本年度は、これまで出現していなかったプロドラッグタイプの ED 治療薬類似成分について、機器分析を駆使して構造決定を行い、最終的に合成を実施することで、化合物の構造を 1-methyl-4-nitro-1*H*-imidazol 基が 5 位で、thioaildenafil の thio 基に結合した構造を持つことを明らかにし、名称を mutaprodenafil として報告を行った。なお、本化合物は、Venhuis らのグループが報告した nitrosoprodenafil と同一の化合物であるが、本化合物にはニトロソ基を持たず、その構造を明確に訂正したものである。さらに、地方衛生研究所で同定出来なかった強壯用健康食品に含まれる成分の同定を行った。また、日本で流通するアユルベーダ生薬由来であるシャタバリ製品について、遺伝子分析を行った結果、*Asparagus* 属植物であることを確認し、さらに、化学分析の結果から、これらの製品は *Asparagus racemosus* に由来することを明らかにした。さらに、標準植物試料も含め同植物の含有アルカロイドとされる Asparagamine A について LC-MS により含有の有無の確認を行ったところ、検出されないことを示した。従って、*A. racemosus* においてアルカロイドを含有するという既知の論文記述は、生薬の誤同定に由来した可能性が非常に高いことが明らかとなり、シャタバリは、専ら医薬品成分と判断すべきではないことを明確にした。また通常のルートを通じ、新規に申請のあった成分本質（原材料）についても、医薬品としての使用実態、麻薬作用、薬理活性等を調査し、専ら医薬品に分類すべきであるかどうか検討した。さらに、今後専ら医薬品の判断が求められる可能性のあるバンレイシ科の植物イランイランノキについて、成分研究を行った。本研究は、厚生労働省監視指導・麻薬対策課との密接な

連携の下行われる研究であり、本研究の成果で、健康危機管理に直結するものは迅速に報道発表されるとともに、都道府県等に通知される。

分担研究者

合田幸広 国立医薬品食品衛生研究所生薬部長

A. 研究目的

無承認無許可医薬品とは、医薬品としての承認や許可を受けていないにもかかわらず、医薬品としての目的性を持たせた製品であり、このような製品の流通により、様々な健康被害が予想されるため、薬事法により、その製造、販売、授与、広告が禁止される。本研究は、厚生労働省の監視指導・麻薬対策課との密接な連携の下、これら製品の流通を防ぎ、国民の健康・安全を確保する目的で行われる。近年、健康食品中での出現が急増している無承認無許可医薬品成分に ED 治療薬類似物質がある。このような化合物は、①医薬品としての禁忌や用量について何も考慮されず使用されること、②構造類似体として、ターゲット酵素でない類縁酵素への阻害活性を持つ可能性が否定できないこと、③そのものに含まれる不純物や他の食品との相互作用等が全く考慮されず使用される事等、様々な有害性が予想される。本研究では、これらの化合物の迅速な取締りに対応するため、専ら医薬品として指定するための要件（構造決定、活性予測等）を準備する。さらに、指定以後の迅速広範囲な取締りに対応できるよう分析法を確立する。また、有害性を評価するため、PDE6 活性を測定する。一方で、痩身用健康食品で使用される緩下作用を持つ植物由来の成分本質について、無承認無許可医薬品として取り締まるための鑑定法の確立を行う。さらに、新規に

申請のあった成分本質（原材料）についても、国民の健康・安全確保を念頭に、調査研究を行う。さらに強い生理活性を持つにもかかわらず、専ら医薬品の判断が求められないまま、違法薬物市場で、無承認無許可医薬品として販売されている成分本質について実態調査を行う。このような研究は、世界的にも国立の研究機関と大学との共同研究で実施されているが、各国の法体系に即した研究が必須である。申請者らは、監視指導・麻薬対策課が主催する医薬品の成分本質に関する WG のメンバーであり、この分野での日本の状況を良く理解している。さらに分担研究者は、これまで 10 数種の ED 治療薬アナログを構造決定しており、このような情報交換を諸外国の担当者と常時行っているだけでなく、医薬品監視の拠点である地方衛生研究所とも緊密に交流しており、得られた成果を直ちに、国民の健康保護に還元できる立場にある。以上、本研究は、無承認無許可医薬品に関連して、厚生労働行政に直接貢献することを目的としたものである。

B. 研究方法

買い上げ調査等で強壮や痩身を標榜する製品から未知物質が検出された場合、未知物質を単離し、機器分析による構造決定を行う。次いで、本物質について文献調査を実施するとともに、予想されるターゲットタンパク質がある場合には、*MacroModel* を用いドッキングスタディを実施する。もし、PDE5 阻害活性が予想された場合には、標準的な分析法の開発を行う。さらに、必要な場合には有害性を評価するため、

PDE6 活性を測定する。

新規に申請のあった成分本質（原材料）については、まず基原植物の学名、和名、生薬名等について調査するとともに、医薬品としての使用実態を調査する。さらに、RTECS, Chemical Abstract, PubMed, 上記通知に記載されている参考文献等を利用しながら、毒性データ、二次代謝成分や生理活性、麻薬、向精神薬、覚せい剤様作用があるかどうか調査する。これらのデータを総合的に判断して、専ら医薬品に分類すべきであるかどうか検討する。

また、従来区分されているのにもかかわらず、文献情報等が少ない品目について、対象物入手し、成分検索を行う。また、毒性アルカロイド等の存在が報告されているシャタバリ等について、含有アルカロイドの精査を行うとともに、市販品の基原種の同定を行う。さらに摂取により擬似的パーキンソン病を発症することが報告されているがイランイランノキの葉由来成分について検討を行う。

<倫理面への配慮>

本研究では、ヒト由来試料を用いた実験は行なわず、倫理面で大きな支障となる問題はないと考えられる。

C. 結果と考察

C.1 無承認無許可医薬品に関する分析及び有害性評価

地方衛生研究所より問い合わせを受けた強壯を標榜する「いわゆる健康食品」に含まれていた 4 検体に含有する不明成分について、LC-PDA-MS 分析を行い、同成分をシルデナフィルと同定した。さらに、各種分析を行い、これらの検体には、他成分が含まれている可能性は低い

ことを示した。また、別な地方衛生研究所より依頼を受けた物質については magnoflorine と同定した。

さらに、本年度は、強壯を標榜する健康食品より単離された。ED 治療薬類似成分について、機器分析を駆使して構造推定を行った。本化合物は、Venhuis らのグループが報告した nitrosoprodenafil と同一と考えられたが、Venhuis らによる推定構造は以下の点で我々の測定した NMR データと不整合が見られた。

1) アイルデナフィルアナログ部分以外の側鎖は 3 つの炭素原子 (δ_c 150.1, 139.2, 115.2) を持つが、これらの化学シフト値が説明可能な構造であること。

2) 2D-INADEQUATE スペクトルから、 δ_c 115.2 ppm の炭素と δ_c 150.1 ppm の炭素間で相関が観測されており、この両者の炭素間の直接結合を満足させる構造であること。

3) δ_H 3.78 ppm のメチル基から d_c 115.2 ppm 及び 139.2 ppm の炭素原子への HMBC 相関が説明可能な構造であること。

我々は、これらの条件を全て満たすことの出来る、ニトロ基を有するイミダゾール環により修飾されたチオアイルデナフィルアナログ(チオアイルデナフィルに N-メチル-ニトロイミダゾール基がスルフィド結合した構造)が構造として正しいものと推定した。そこで、アイルデナフィルと 5-クロロ-1-メチル-4-ニトロイミダゾール より目的化合物を合成し、各種スペクトルデータを健康食品より単離した化合物と比較した結果、両者は完全に一致し、この化合物の構造を 1-methyl-4-nitro-1*H*-imidazol 基が 5 位で, thioaildenafil の thio 基に結合した構造 (Fig. 1) であることを明らかにし、nitroso 基をもたないことから、名称を

mutaprodenafil として報告を行った。本化合物は、無承認無許可医薬品として、これまで出現していなかったプロドラッグタイプの化合物である。

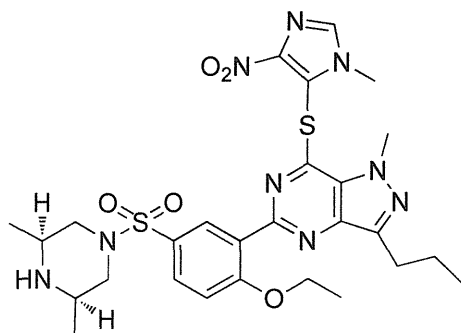


Fig. 1 Structure of mutaprodenafil

C.3 新規に調査依頼があった成分・本質について

我が国の「専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）リスト」に例示される成分であるかどうか、依頼のあった新規な植物由来物質 8 品目、化学物質 3 品目の本質について、文献調査等を行った。このうち kawakawa については、麻薬、向精神薬及び覚醒剤様作用があるもの並びにこれらの原料植物と判断されることから、専ら医薬品とすべき成分本質である物と考察した。また、magnoflorine は、劇薬相当の LD50 値を持つことから、専ら医薬品とすべき成分本質であるものと考察した。また、「医薬品の成分本質に関するワーキンググループ」のための資料を作成に協力した。さらに、数種の成分について、名称等について問題があることを指摘した。また、別に「医薬品の成分本質に関するワーキンググループ」のための資料を作成した。

これまでの検討成果を元に、平成 23 年 6 月 14 日及び 11 月 8 日に「医薬品の成分本質に関する WG」が開催され、同 WG での議論を元に、

平成 24 年 1 月 23 日に、医薬食品局長より「医薬品の範囲に関する基準の一部改正について」（薬食発 0123 第 3 号）が発出され、新たに、専ら医薬品成分として、ウイザネア（全草）、シッサスクアドラングラリス（全草）、マグフロリンが指定された。なお、前 2 品目については、平成 25 年 1 月 22 日までの間、その成分本質（原材料）の分類のみをもって、直ちに医薬品に該当するとの判断を行わないこととされている。

C.4 植物系成分・本質の調査と分析及び有害性評価

シャタバリは、主に女性の強壯を目的として使用されるアユルヴェーダ生薬であり、その基原は *Asparagus racemosus* の根と規定されている。*A. racemosus* の成分として、毒性アルカロイドである asparagine A の単離が報告されているが、asparagine A のような pyrrolo[1,2-a]azepine アルカロイドは、*Stemona* 属植物に広く分布が知られる化合物であることから、この報告は *Stemona* 属植物を *A. racemosus* と誤同定したことによる可能性が以前より指摘されている。*A. racemosus* 中のアルカロイドの有無はシャタバリ製品の食薬区分上の取り扱いにおいて重要な事項であることから、本年度は、基原が確認されたシャタバリにおけるアルカロイドの有無に関して研究を行った。本研究では、まず、現在日本市場に流通しているシャタバリ製品について、DNA 塩基配列解析による基原種鑑別を行った。その結果、本研究で用いた製品はすべて *Asparagus* 属植物を原料としていることが確認された。さらに、*Stemona* 属植物の混入の有無を確認するため、*Stemona* 属植物特異的なプライマーを用いた

ARMS-PCR法を構築し、各シャタバリ製品に適用したところ、すべての製品において1%以上の *Stemona* 属植物の混入は認められなかった。

次に、遺伝子解析により *Asparagus* 属植物を原料とすることが確認されたシャタバリ製品について、*A. racemosus* に特徴的なステロイドサポニン成分を分析した結果、これらの製品の基原が *A. racemosus* であることを確認した。さらに、基原が確認された製品と *A. racemosus* 標準植物試料のアルカロイド成分の分析を行い、いずれの検体にも asparagamine A は含有されていないことを確認した。従って、*A. racemosus* に asparagamine A は含まれないことが明らかとなった。本研究結果を受けて、平成23年6月14日及び11月8日に開催された「医薬品の成分本質に関するWG」で議論が行われ、シャタバリについて、専ら医薬品成分とはしないことが示された。

イランイランノキ（バンレイシ科）の花より得られる精油は芳香があり、鎮静を目的としてアロマセラピーに用いられているので、精油成分の研究は精力的に行われている。さらに性欲亢進などの効用も報告されており、密かなブームにもなっている。また、ある種のバンレイシ科の植物の葉はカリブ海地方でお茶として飲用され、それが原因で擬似的パーキンソン病を発現することが知られている。しかし、イランイランノキの葉の成分についての化学的検討はあまり行われておらず、日本でも食薬区分の判断がなされていない。本研究では、タイ王国チェンマイ大学薬用植物園にて栽培されている *C. odorata* var. *odorata* の葉部を採集し、メタノール抽出画分について分画を行い、シスエノールが配糖体化で安定した変形モノテルペン、変形モノテルペンのジエステル類、アリ

ールナフタレン型のリグナンジカルボン酸エステルを単離構造決定した。このうち、リグナンジカルボン酸エステルは蛍光を有していた。

D. 結論

本研究は、厚生労働省の基準（医薬品の範囲に関する基準）に直接対応した研究である。無承認無許可医薬品成分の同定、活性予測、専ら医薬品への指定、分析法の提示といった本研究で行われる一連の成果が監視指導行政で利用されることで、薬事法による無承認無許可医薬品の迅速な取締りが行われ、国民の健康被害を防止することが可能となる。

本研究では、強壯を標榜する健康食品由来のED治療類似薬成分について構造決定を行った。特に、mutaprodenafilについては、最終的な構造確定のため、化合物を合成した。得られた化合物は、無承認無許可医薬品として、これまで出現していなかったプロドラッグタイプの物質であった。

また、市場で流通するグレーズーンの植物体として考えられるシャタバリ製品について、遺伝子分析を行った結果、原植物が *Asparagus* 属植物であることを確認し、さらに、化学分析の結果から、これらの製品は *Asparagus racemosus* に由来することを明らかにした。さらに、標準植物試料も含め同植物の含有アルカロイドとされる asparagamine A について LC-MS により含有の有無の確認を行ったところ、検出されないことを示した。従って、*A. racemosus* においてアルカロイドが含有するという文献記述は、生薬の誤同定に由来する可能性が非常に高いことが明らかとなり、シャタバリは、専ら医薬品成分と判断すべきではないことを明確にした。また、擬似的パーキンソン病を発現する可

能性が指摘されているイランイランノキの葉より、複数の変形モノテルペン類を単離構造決定した。

さらに、新たに申請を受けた成分本質（原材料）等について、専ら医薬品に分類するべきであるかどうか検討した。これらの研究成果をもとに、平成23年6月14日及び11月8日に開催された「医薬品の成分本質に関するWG」で議論が行われ、平成24年1月23日に、医薬食品局長より「医薬品の範囲に関する基準の一部改正について」（薬食発0123第3号）が発出された。

以上、本研究は、厚生労働省の監視指導・麻薬対策課との密接な連携の下行われる研究であり、本研究の成果で、厚生労働省の健康危機管理に直結するものは、迅速に報道発表されるとともに、都道府県等に通知される。また、食薬区分の判断等、様々な形で施策に反映される。

E. 健康危機情報

今年度は、特にない。

F. 研究発表等

論文発表

- 1) Kumeta, Y., Maruyama, T., Wakana, D., Kamakura, H., Goda, Y., “Chemical analysis to reveal botanical origin of shatavari products and confirmation of absence of alkaloid asparagamine A in *Asparagus racemosus*.” *J. Nat. Med.*, accepted (2012).
- 2) Zhao, Z., Matsunami, K., Otsuka, H., Negi, N., Kumar, A., Negi, D. S., “A condensed phenylpropanoid glucoside and pregnane saponins from the roots of *Hemidesmus indicus*” *J. Nat. Med.*, submitted (2012).
- 3) Wakana, D., Maruyama, T., Kamakura, H., Sugimura, K., Iida, O., Kanai, T., Yamaji, S., Kimura, T., Chao-Ying, L., Goda, Y., “Morphological features and botanical origin of the plant products sold as *Sida* spp.” *Jpn. J. Food Chem. Safety*, submitted (2012).
- 4) Abbaskhan A., Choudhary M. I., Ghayur M. N., Parween Z., Shaheen F., Gilani A., Maruyama T., Iqbal K., Tsuda Y., “Biological activities of Indian celery, *Seseli diffusum* (Roxb. Ex Sm.) Sant. & Wagh.” *Phytother. Res.*, on line available, doi: 10.1002/ptr.3600 (2011)
- 5) Kumeta, Y., Maruyama, T., Wakana, D., Kamakura, H., Goda, Y., “Method for identifying botanical origin of shatavari product and its application for survey analysis of the products in Japanese market.” *Jpn. J. Food Chem. Safety* **18**, 163-167 (2011).
- 6) 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.* **59**, 1314-1316 (2011).
- 7) Wakana, D., Kawahara, N., Goda, Y., “Three new triterpenyl esters, codonopilates A-C, isolated from *Codonopsis pilosula*.” *J. Nat. Med.* **65**, 18-23 (2011).

- 8) Tokumoto, H., Shimomura, H., Iida, O., Hakamatsuka, T., Goda, Y.,
 “Morphological discrimination of powdered senna stem and powdered senna leaf rachis.” *Jpn. J. Pharmacog.* **65**, 114-128 (2011).
- 9) Matsumoto, T., Anjiki, N., Arifuku, K., Kawahara, N., Goda, Y., “Metabolome analysis of *Setsucha* (*Thamnia vermicularis* Ach.) products based on ¹H NMR spectroscopy.” *Jpn. J. Food Chem. Safety* **18**, 43-47 (2011).

学会発表等

- 1) 金井哲朗, 山路誠一, 木村孟淳, 李 昭瑩, 若菜大悟, 丸山卓郎, 鎌倉浩之, 合田幸広, 杉村康司, 飯田 修, アオイ科 *Sida* 属植物由来商品の基原種の生薬学的研究, 日本薬学会第 131 年会 (2011. 3, 静岡) .
- 2) 栗原正明, 出水庸介, 佐藤由紀子, 花尻瑠理, 合田幸広, 奥田晴宏, 定量的構造活性相関 (QSAR) 等による活性予測の応用, 日本薬学会第 131 年会 (2011. 3, 静岡) .
- 3) 合田幸広, 天然物の基原と品質, 日本食品化学学会第 17 回学術大会・総会 (2011. 5, 東京) .
- 4) 最所和宏, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広, 電子タバコカートリッジ中のニコチン等の分析法及び吸入蒸気中のニコチンの簡易分析法, 日本食品化学学会第 17 回学術大会・総会 (2011. 5, 東京) .
- 5) 合田幸広, 食薬区分とは, 健康食品制度化への障壁研究会 (2011. 5, 東京) .
- 6) 合田幸広, 食薬区分と違法ドラッグ, 漢方薬・生薬認定薬剤師研修会 (2011. 9, 東京) .
- 7) 桑田幸恵, 丸山卓郎, 若菜大悟, 鎌倉浩之, 合田幸広, シヤタバリ (*Asparagus racemosus*) を原料とするいわゆる健康食品の基原種について, 日本生薬学会第 58 回年会 (2011. 9, 東京) .
- 8) 山路誠一, 金井哲朗, 坂本啓輔, 木村孟淳, 若菜大悟, 丸山卓郎, 鎌倉浩之, 合田幸広, 杉村康司, 飯田 修, *Sida* 属植物を含むアオイ科植物の組織形態学的研究 (2), 日本生薬学会第 58 回年会 (2011. 9, 東京) .
- 9) 合田幸広, 食薬区分と生薬, 東京農工大学講義 (2011. 10, 東京) .
- 10) 合田幸広, 食薬区分について, 第 4 回食品薬学シンポジウム (2011. 10, 東京) .
- 11) 栗原正明, 出水庸介, 佐藤由紀子, 花尻瑠理, 合田幸広, コンピュータシミュレーションによる違法性薬物のレギュレーション, 第 55 回日本薬学会関東支部大会 (2011. 10, 東京) .
- 12) 合田幸広, ニセ薬の話, モグラたたきのサイエンス, 国立医薬品食品衛生研究所シンポジウム (2011. 11, 東京) .
- 13) 合田幸広, ニセ薬の話, 痩身や強壮などを標榜する健康食品中の医薬品成分の分析と同定, 第 1 回バイオ・ナノ産学連携セミナー: 食品分析ソリューションセミナー 2012 (2012. 1, 東京) .
- 14) 勝井美果, 杉本幸子, 松浪勝義, 大塚英昭, イランイランノキ (*Cananga odorata* var. *odorata*) の新規リグナン誘導体研究, 日本薬学会第 132 年会 (2012. 3, 札幌) .
- 15) 栗原正明, コンピューターシミュレーションによる違法ドラッグの活性予測, 日本薬学会第 132 年会 (2012. 3, 札幌) .

16) 若菜大悟, 出水庸介, 鎌倉浩之, 栗原正明, 奥田晴宏, 合田幸広, 強壯を標榜する健康食品から単離されたプロドラッグタイプの ED 治療類似物質 mutaprodenafil の構造, 日本食品化学学会第 18 回学術大会・総会 (2012. 6, 函館) .

報道発表等

1) 平成 22 年度無承認無許可医薬品等買上調査の結果について (2011 年 5 月 30 日) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課 <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r985>

2000001cvry.html

2) いわゆる健康食品からの医薬品成分の検出について (2011 年 5 月 12 日) 神奈川県, <http://www.pref.kanagawa.jp/prs/p307374.html>

3) 模造医薬品による健康被害に対する注意喚起について (第 2 報) 模造医薬品の分析の結果シルデナフィル検出 (2011 年 5 月 26 日) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課, 奈良県, <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000001dl4u.html>

分担研究報告書

分担研究課題 無承認無許可医薬品の調査と分析，有害性評価に関する研究

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部長 合田幸広

「いわゆる健康食品」より検出された勃起不全(ED)治療薬類似化合物の同定

協力研究者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部流動研究員 若菜大悟

研究要旨 地方衛生研究所より問い合わせを受けた「いわゆる健康食品」から検出されたシルデナフィル構造類似体の同定を行った。各種 NMR スペクトル及び化学合成的手法によりチオアイルデナフィルにN-メチル-ニトロイミダゾール基がスルフィド結合した構造を持つと決定し、プロドラッグタイプの化合物であることからムタプロデナフィル (mutaprodenafil) と命名した。

協力研究者

出水庸介 国立医薬品食品衛生研究所

有機化学部室長

鎌倉浩之 国立医薬品食品衛生研究所

生薬部主任研究官

栗原正明 国立医薬品食品衛生研究所

有機化学部部长

奥田晴宏 国立医薬品食品衛生研究所

薬品部部长

A. 研究目的

近年，強壯を謳う健康食品に無承認無許可医薬品が添加される例が増加している。その中でも既存の PDE-5 阻害剤の一部を化学修飾したヒドロキシホモシルデナフィルや N-オクチルノルタダフィルなどといった ED 治療薬構造類似体が検出されている^{1), 2)}。このような ED 治療薬構造類似体に関して，昨年度，複数の地方衛生研究所から同一の構造を持つと推定される未知物質の照会があり，昨年度その構造を

推定したが構造決定には至らなかった。本化合物の物理化学的データは本年 4 月に Venhuis らにより論文報告 (on line 公開は 11 月 21 日) されたニトロソプロデナフィル³⁾ (Fig. 1A) とほぼ一致しており，同一の構造を持つと推定された。しかし，Venhuis の推定構造は，我々の持つ NMR データとは明らかに矛盾点があり，正しいものとは考えられなかったため，矛盾の生じない推定構造を持つ物質を合成し，それとのスペクトルデータの比較により，本化合物の構造決定を行った。

B. 研究方法

試料及び試薬

NMR 測定用重溶媒は chloroform-*d*₃ 99.96 % (ISOTEC 製) を用いた。

装置及び測定条件

MS スペクトルは Thermo Fisher Scientific 製 LTQ OrbiTrap XL 型質量分析計を用い，ESI ポジティブモードで測定した。

HPLC 分析は島津製作所製 LC-MS-2010EV 液相クロマトグラフィー-質量分析計を用いて行った。カラムはサーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社製 Hypersil Gold カラム (2.1×100 mm) を用いた。移動相はギ酸を 0.1% 添加した 60% アセトニトリルを用い、流速は 0.2 mL/min とした。

NMR スペクトルは JEOL 製 ECA-800 および ECA-600 型核磁気共鳴装置で測定し、化学シフト値はテトラメチルシランに対する δ 値 (ppm) で示した。スピン結合定数は Hz で表示し、¹H-NMR スペクトルにおけるピークの開裂様式は singlet, doublet, triplet, quartet, multiplet をそれぞれ, s, d, t, q, m と略記した。以下に各測定手法の略称を記載する。Heteronuclear Multiple Bond Correlation (HMBC) 及び Incredible Natural-Abundance Double-Quantum Transfer Experiment (INADEQUATE), Heteronuclear Multiple Quantam Coherence (HMQC)。

化合物 1B の合成

チオアイルデナフィル (25 mg: 0.05mmol)⁴⁾ と 5-クロロ-1-メチル-4-ニトロイミダゾール (8.0 mg: 0.05 mmol) 及び 無水酢酸ナトリウム (4.1 mg: 0.05mmol) の混合物をジメチルスルホキシドに加え 100 °C で 2 時間攪拌した⁵⁾。得られた反応液を水中に加え、クロロホルムで液々分配を行った。得られたクロロホルム層に無水硫酸ナトリウムを加え、水分を除いた後、減圧乾固した。得られた残渣をゲルろ過クロマトグラフィーにより精製し、1 (15mg, 収量 48%) を得た。(なお、本部分については、別の報告書でより詳しく報告する)

<倫理面での配慮>

本研究では、ヒト及び動物由来試料を用いた実験は行わず、倫理面で大きな支障となる問題は無いと考えられる。

C. 研究結果

Venhuis らによる推定構造は以下の点で我々の測定した NMR データと不整合が見られた (Fig. 2)。

- 1) アイルデナフィルアナログ部分以外の側鎖は 3 つの炭素原子 (δ_c 150.1, 139.2, 115.2) を持つが、これらの化学シフト値が説明可能な構造であること。
- 2) 2D-INADEQUATE スペクトルから、 δ_c 115.2 ppm の炭素と δ_c 150.1 ppm の炭素間で相関が観測されており、この両者の炭素間の直接結合を満足させる構造であること。
- 3) δ_H 3.78 ppm のメチル基から δ_c 115.2 ppm 及び 139.2 ppm の炭素原子への HMBC 相関が説明可能な構造であること。

上記の点が Fig. 1A の構造では説明できない点が見受けられるため、我々はこれらが全て成立するニトロ基を有するイミダゾール環により修飾されたチオアイルデナフィルアナログを推定構造と考えた (Fig. 1B)。なお、この構造は、 δ_H 7.86 のメチンプロトン (δ_c 139.2 の炭素と HMQC 相関) からの δ_N 177.0 と 252.0 と δ_H 3.78 の N-メチルプロトンとからの δ_N 177.0 への N-HMBC 相関、及び δ_H 7.86 のメチンプロトンからの δ_c 115.2 ppm 及び δ_c 150.1 ppm の炭素への HMBC 相関も説明可能であるが、これらの相関は、Venhuis らの構造でも説明可能となる。

次に、上記の推定構造が正しい事を証明するため、同構造を有する化合物を合成し、各種 NMR データを比較する事とした。Chart.1 の手順に従い 1 を合成し、合成品の ¹H- 及び ¹³C-NMR スペクトルを“いわゆる健康食品”から単離されたものと比較したところ、スペクトルデータは良い一致を示した (Table 1)。また、LC-MS スペクトルによる比較を行った所、両者とも 10.5 分にピークが観測された。

以上の結果から、今回単離されたアイルデナフィル誘導体の構造は Fig. 1B であると決定し、酸性条件下で容易にアイルデナフィルを産生する事から、ムタプロデナフィル (mutaprodenafil: mutatis+prodenafil) と命名した。

D. 考察

今回、いわゆる健康食品から単離された分子式 C₂₇H₃₅N₉O₅S₂ を示す物質について、各種 NMR スペクトル及び化学合成的手法により、その構造を、チオアイルデナフィルを母核とし、ニトロ基と N-メチル基を持つイミダゾール環がスルフィド結合した構造と決定し、ムタプロデナフィルと命名した。ムタプロデナフィルはチオアイルデナフィルと 5-クロロ-1-メチル-4-ニトロイミダゾールから簡便かつ効率よく合成可能だった。また、ムタプロデナフィルは ED 治療薬類似構造物質に関する初めてのプロドラッグタイプの物質であり、酸性条件下で容易にアイルデナフィルを産生する。今後、類似の構造を持つプロドラッグタイプの PDE-5 阻害剤類似体が“いわゆる健康食品”に混入される可能性が考えられるため、今後も継続して監視

を行う必要がある。

E. 結論

「いわゆる健康食品」に含有されていた ED 治療薬類似構造物質の構造決定を行った。

各種 NMR スペクトル及び化学合成的手法から、アイルデナフィルを母核とし、イミダゾール環により化学修飾された構造と決定した。

F. 健康危険情報

直接的な健康危機情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Y. Demizu, D. Wakana, H. Kamakura, M. Kurihaira, H. Okuda, Y. Goda, *Chem. Pharm. Bull.*, **59**, 1314-1316 (2011).

2. 学会発表

- 1) 若菜大悟, 出水庸介, 鎌倉浩之, 栗原正明, 奥田晴宏, 合田幸広, 強壯を標榜する健康食品から単離されたプロドラッグタイプの ED 治療薬類似物質 mutaprodenafil の構造, 日本食品化学学会第 18 回総会・学術大会 (2012.6, 函館) .

H. 知的所有権の取得状況

特になし

参考文献

- 1) T. Hasegawa, M. Saijo, T. Ishii, T. Nagata, Y. Haishima, N. Kawahara, Y. Goda, *J. Food Hyg. Soc. Jpn.*, **49**, 311-315 (2008).

- 2) T. Hasegawa, K. Takahashi, M. Saijo, T. Ishii, T. Nagata, M. Kurihara, Y. Haishima, Y. Goda, N. Kawahara, *Chem. Pharm. Bull.*, **57**, 185-189 (2009).
- 3) Venhuis B. J., Zomer G., Hamzink M., Meiring H. D., Aubin Y., de Kaste D., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **54**, 735- 741 (2011).
- 4) Shuxin L., Jianping R., Yanjin Z., Qiujun L., Jinhua G., PCT Int. Appl. 2005058899 (2005).
- 5) Yrowell H. N., Elion G. B., *J. Heterocyclic Chem.*, **10**, 1017- 1019 (1973).

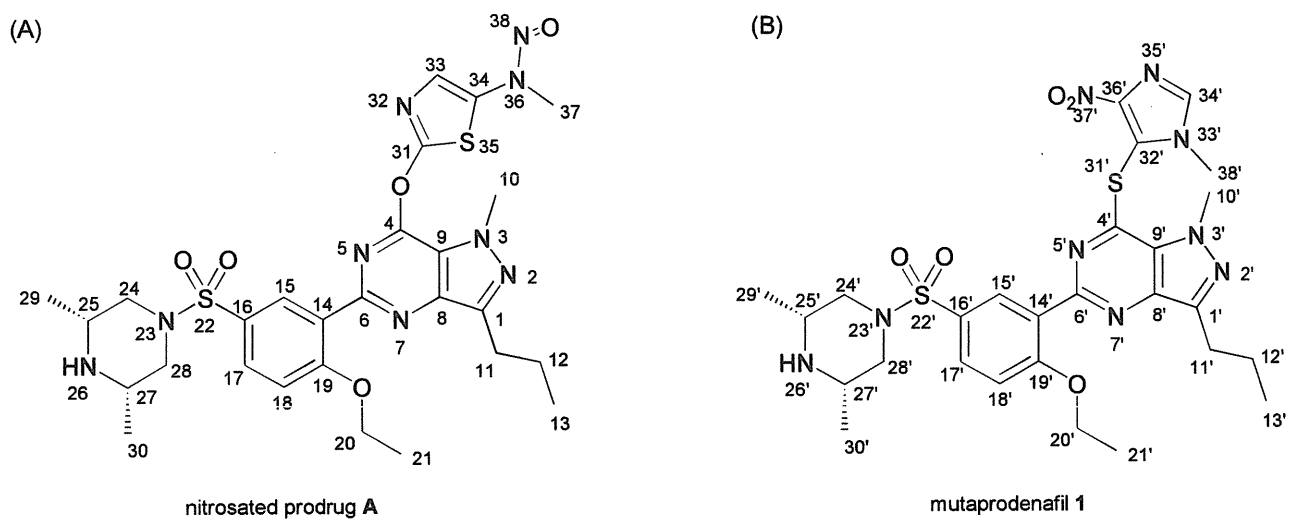


Fig. 1 Proposed chemical structure of the new aildenafil analog
 (A) Proposed by Venhuis' s group. (B) Proposed by our group.

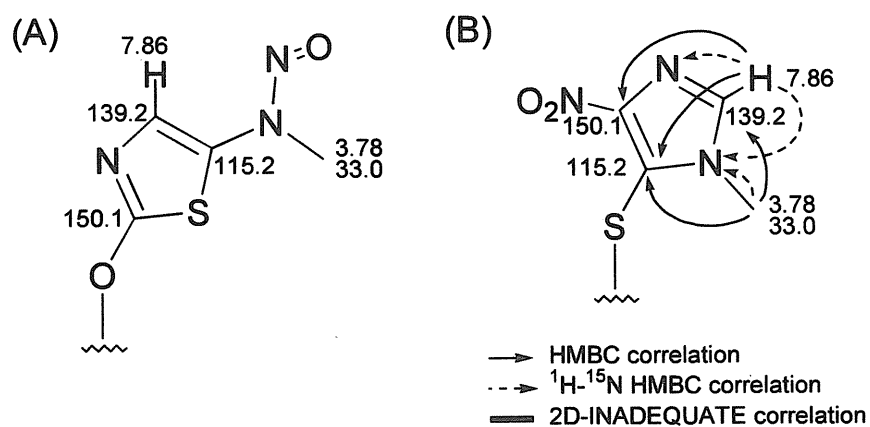


Fig. 2 HMBC, ¹H-¹⁵N HMBC, and INADEQUATE correlations for compound 1
 (A) Proposed by Venhuis' s group. (B) Proposed by our group.

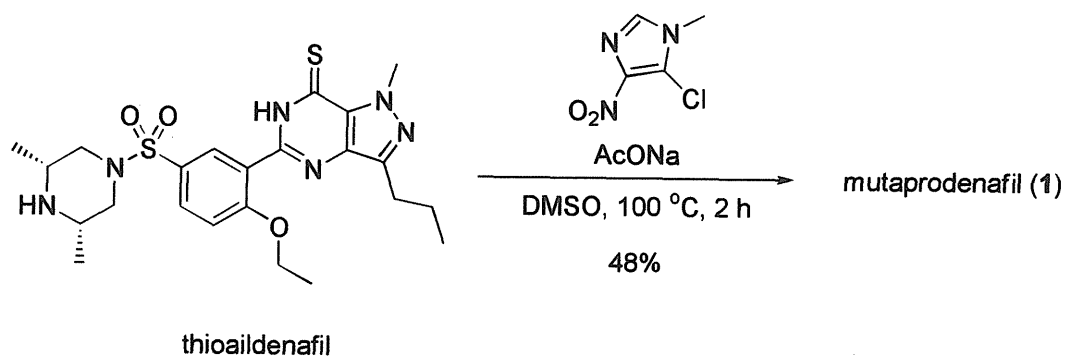


Chart 1 Synthesis of Compound 1

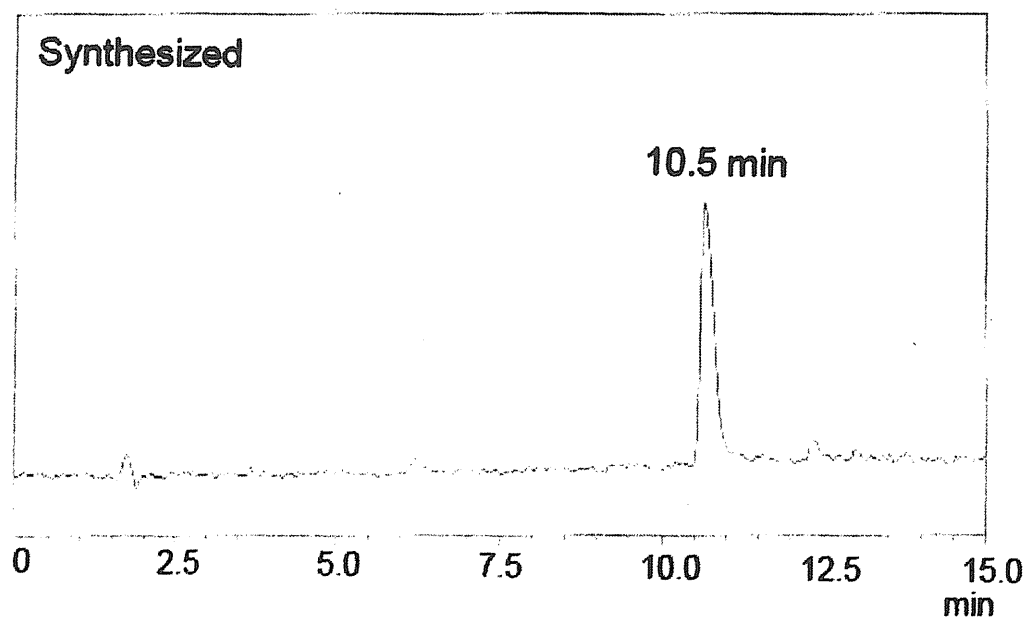
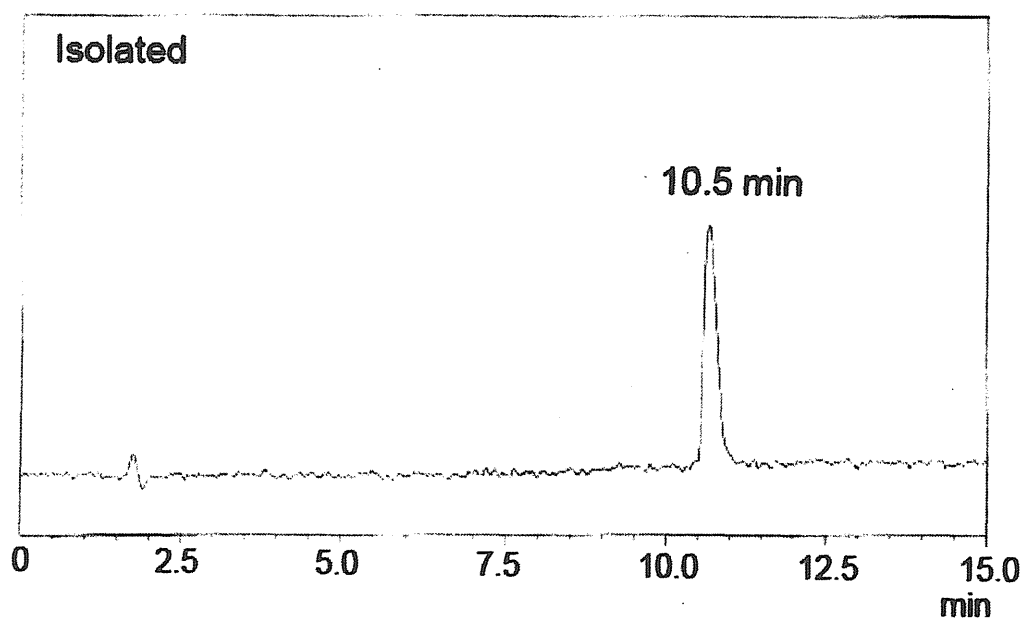


Fig. 3 LC-MS Spectra of the Isolated and Synthesized Compounds

Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR data of mutaprodenafil (1) in chloroform-*d*.

mutaprodenafil (1)			
	δ_{C}	δ_{N}	δ_{H} (<i>J</i> in Hz)
1	146.7		-
2		327.0	-
3		163.0	-
4	149.0		-
5			-
6	154.6		-
8	143.5		-
9	128.2		-
10	39.1		4.37s
11	27.7		2.94t (7.6)
12	21.9		1.84m
13	13.8		0.95t (7.3)
14	127.3		-
15	131.5		7.79d (2.7)
16	126.6		-
17	130.0		7.60dd (2.7, 9.2)
18	113.1		6.99d (9.2)
19	160.7		-
20	64.7		4.06q (6.9)
21	14.3		1.32t (6.9)
24/28	51.7		1.71t (11.0), 3.47dd (2.8, 11.0)
25/27	50.1		2.88m
26		63.8	-
29/30	19.2		0.96d (6.3)
31	115.2		-
32	150.1		-
33	139.2		7.86s
34	33.0		3.78s
35		176.5	-
36		251.8	-

厚生労働省科学研究費補助金（医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
分担研究報告書

分担研究課題：無承認無許可医薬品の調査と分析，有害性評価に関する研究

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所生薬部長 合田幸弘

協力研究者 国立医薬品食品衛生研究所有機化学部部長 栗原正明

－強壯を標榜する健康食品から単離されたムタプロデナフィルの合成による構造決定－

強壯を標榜する健康食品から単離された化合物ニトロソプロデナフィルの構造は Venhuis 等により第一報として報告されたが，報告の構造にはいくつかの疑問点があった。合成が容易でないことが最大の問題であった。合成方法を考慮して構造を予測した。実際に，チオアイルデナフィルから一工程で合成し，本化合物の正しい構造を決定し，ニトロソ基をもたず，生理的条件下で構造変換が起こることから，ムタプロデナフィル (Mutaprodenafil) と命名した。

A. 研究目的

強壯を標榜する健康食品から単離された化合物ニトロソプロデナフィル (Nitrosoprodenafil) の構造は Venhuis 等により第一報として報告 (*J Pharm Biomed Anal.* 2011, 54, 735-41) されたが，その構造にはいくつかの疑問点があった。最大の問題点は，合成が容易でないことであった。化合物の由来を考えると多段階を要する合成によって作られたとは考えられない。本化合物の構造を決定することを目的に，構造を予想し，その合成を行った。

B. 研究方法

機器分析 (NMR, MS) の情報より構造が絞られているので，合成方法を考えて構造を予測する。実際に合成を行い，同化合物の構造決定を行う。

アイルデナフィルは，TLC PharmaChem (S-0612)より購入した。5-クロロ-1-メチル-4-ニトロイミダゾールは，東京化成

(C1646) より購入した。

C. 研究結果と考察

目的化合物をチオアイルデナフィル (thioalidenafil) から一工程で合成することができた。(図2) 以下合成条件を記載する。

まずアイルデナフィルより，文献 (Shuxin L., Jianping R., Yanjin Z., Qiujuan L., Jinhua G., *PCT Int. Appl.* 2005058899 (2005)) に従い，チオアイルデナフィルを合成した。次いでチオアイルデナフィル (25 mg, 0.05 mmol) と 5-クロロ-1-メチル-4-ニトロイミダゾール (8.0 mg, 0.05 mmol) と無水酢酸ナトリウム (4.1 mg, 0.05 mmol) をジメチルスルフォキシド (0.5 ml) 溶媒中で 100 °C，2 時間攪拌した。反応終了後，反応溶液に水を加え，クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し，溶媒を留去した。得られた残渣をゲル浸透クロマトグラフで精製し，目的物 3 (15

mg, 48 %) を得た。得られた化合物 **3** の機器データ ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, LC-MS) が強壯を標榜する健康食品から単離された目的化合物と一致した。本化合物は、ニトロソ基をもたず、生理的条件下で構造変換が起こることから、ムタプロデナフィル (Mutaprodenafil) と命名した。また、**3** を酸で処理したところ、アイルデナフィルが得られた。

D. 結論

合成を行うことで、強壯を標榜する健康食品から単離されたムタプロデナフィルの化学構造を明らかにした。

E. 健康危機情報

特になし

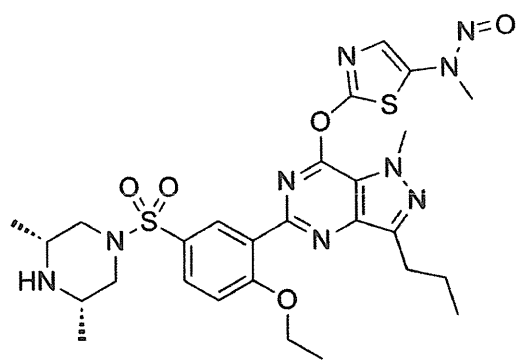
F. 研究発表等

論文発表

Y. Demizu, D. Wakana, H. Kamakura, M. Kurihara, H. Okuda, Y. Goda ; Identification of Mutaprodenafil in a Dietary Supplement and its Subsequent Synthesis *Chem. Pharm. Bull.*, **59**, 1314-1316 (2011)

学会発表

- 1) 栗原正明, 出水庸介, 佐藤由紀子, 花尻瑠理, 合田幸広, 奥田晴宏 ; 定量的構造活性相関 (QSAR) 等による活性予測の応用, 日本薬学会第131年会 (2011/03, 静岡) .
- 2) 栗原正明, 出水庸介, 佐藤由紀子, 花尻瑠理, 合田幸広 ; コンピュータシミュレーションによる違法性薬物のレギュレーション, 第55回日本薬学会関東支部大会 (2011/10, 東京) .
- 3) 栗原正明, コンピューターシミュレーションによる違法ドラッグの活性予測, 日本薬学会第 132 年会 (2012/3, 札幌) .



1

图 1

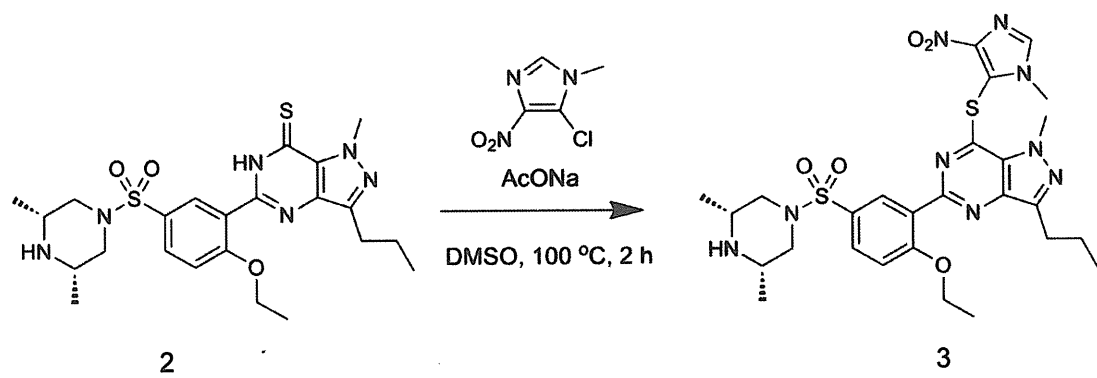


图 2