

[技術資料]

in-source CID によるシルデナフィル類縁体の構造解析

医薬品課 中園 陽子 江口 晴香 八ヶ代 一郎
食品化学課 中山 秀幸

キーワード:シルデナフィル類縁体 Q-TOF MS MS³ スペクトル

1 はじめに

医薬品成分が含有された健康食品・化粧品等による健康被害の事例が、世界的に問題となっている。当センターでは、これらの成分を検出するシステムとして、LC-TOF MS を用いた精密質量データベース検索システム¹⁾²⁾、LC-QTOF MS を用いた未知医薬品類似物質の検索システム³⁾を開発し運用している。しかし、本システムだけでは推定が困難な、置換基の一部のみを変更した異性体を含む違法薬物やいわゆる健康食品の出現が相次いでいる。平成 24 年度に当センターで分析を実施した強壮系の製品(いわゆる健康食品)では、候補に挙げられた 2 化合物において保持時間(RT)、UV スペクトル及び MS スペクトルが酷似し、どちらの化合物が含有しているのか判定が困難であった事例があった。さらには MS/MS スペクトルも非常に類似していた(図 1)。このような化合物については、標準品との確認が非常に重要になってくるため、判定までに要する時間は標準品の入手に依存する。また、構造決定には MS スペクトルの情報だけでは不十分であり、核磁気共鳴(NMR)スペクトル、GC/MS、赤外線吸収スペクトル(IR)及び元素分析等が必要になり、時間、技術及びコストの面で全てを満たすことには限界がある。

一方、LC-MS 分析に用いられるエレクトロスプレーイオン化(ESI)はソフトなイオン化であり、H⁺や Na⁺といった付加イオンが主として観察されフラグメントイオンは観察されにくい。フラグメンター電圧を調整することによりインソース衝突誘起解離(in-source CID)によるフラグメントイオンの観察が可能となる。この点に着目し、今回我々は in-source CID と QTOF を組み合わせて擬似的な MS³ スペクトルを計測し、得られた MS³ スペクトルのライブラリ化を試みたので報告する。

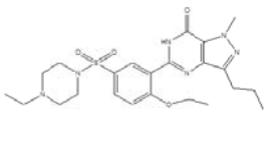
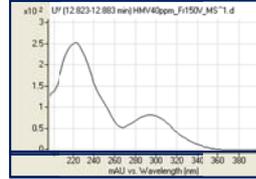
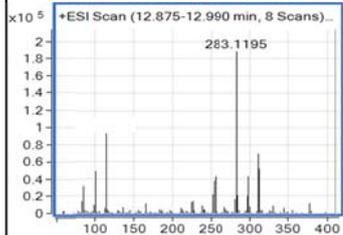
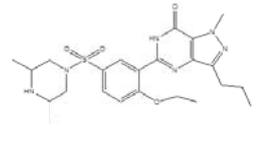
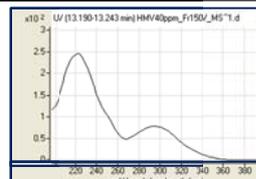
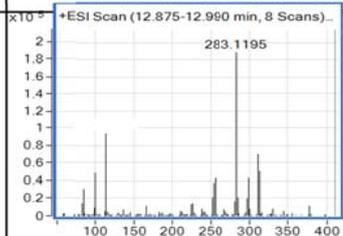
成分名	組成式	構造式	UVスペクトル	MS ² スペクトル
ホモシルデナフィル	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S			
メチソシルデナフィル				

図 1. 構造類似体の分析結果

[技術資料]

2 方法

1. シルデナフィル類縁体

シルデナフィル、ヒドロキシホモシルデナフィル、デスメチルシルデナフィル、ノルネオシルデナフィル、メチソシルデナフィル及びホモシルデナフィルをメタノールで希釈し 0.2mg/mL の標準溶液を作成した。実験には、標準溶液を適宜メタノールで希釈し、0.2 μ m のメンブランフィルターでろ過したものを使用した。(表 1)

2. 装置及び測定条件

(LC 装置及び測定条件)

装置:Agilent 1200 シリーズ

カラム:Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Rapid resolution HD ϕ 2.1 \times 100mm, 粒径 1.8 μ m

移動相:(A)0.1 %ギ酸+2.5 mM 酢酸アンモニウム/15%MeCN

(B)0.1 %ギ酸+2.5 mM 酢酸アンモニウム/85%MeCN

グラジエント条件:A:B(time)=100:0(0min) \rightarrow 0:100(30min) \rightarrow 0:100(35min)カラム温度:40 $^{\circ}$ C付近の一定温度 流速:0.2 mL/min 注入量:3 μ L

(MS 装置及び測定条件)

装置:Agilent 6540(Q TOF MS) イオン化: Dual ESI, Positive mode

乾燥ガス: N_2 , 350 $^{\circ}$ C, 10.0L/min ネブライザー: N_2 , 50psigキャピラリー電圧:3500V フラグメンター電圧:100V \sim 350Vコリジョンガス: N_2 コリジョンエネルギー:5 \sim 40VSCAN 範囲:25 \sim 1050(m/z)

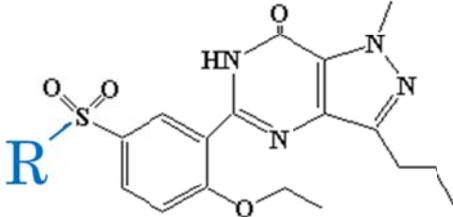
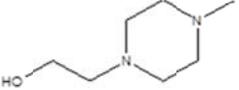
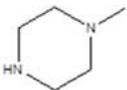
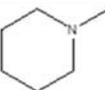
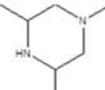
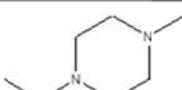
化合物名	基本骨格	置換基 (R=)
シルデナフィル (M=474.20492)		
ヒドロキシホモシルデナフィル (M=504.21549)		
デスメチルシルデナフィル (M=460.18927)		
ノルネオシルデナフィル (M=459.19403)		
メチソシルデナフィル (M=488.22057)		
ホモシルデナフィル (M=488.22057)		

表 1. シルデナフィル類縁体

[技術資料]

【結果及び考察】

各種シルデナフィル類縁体のうち、特徴的であったホモシルデナフィルとメチソシルデナフィルの結果を示す。両化合物は同一の組成式($C_{22}H_{32}N_6O_4S$)を持ち、フラグメンター電圧を 150V とした場合、得られる MS スペクトル及び MS² スペクトルは殆ど同一であり、保持時間も近接、UV スペクトルも類似している(図 1)ことから判定には注意が必要である。

そこで、フラグメンター電圧を 350V とし、両化合物で唯一異なる構造を持つ置換基($-C_6H_{13}N_2$, $m/z=113.11$)のフラグメントイオンを Q1 にて分離、Q2 にてコリジョンエネルギーを 15V としてプロダクトイオンを観察したところ、異なったスペクトルが得られ、構造上の差を確認することができた(図 3)。

本事例のように置換基の構造のみが異なる異性体に対して in-source CID と QTOF(タンデム型質量分析計)を組み合わせた擬似 MS³ スペクトル解析は非常に有用であり、医薬品類似物質の基本骨格に着目したスクリーニング検索システムとを組み合わせることにより、検索能力の更なる向上に繋がるものと考えている。

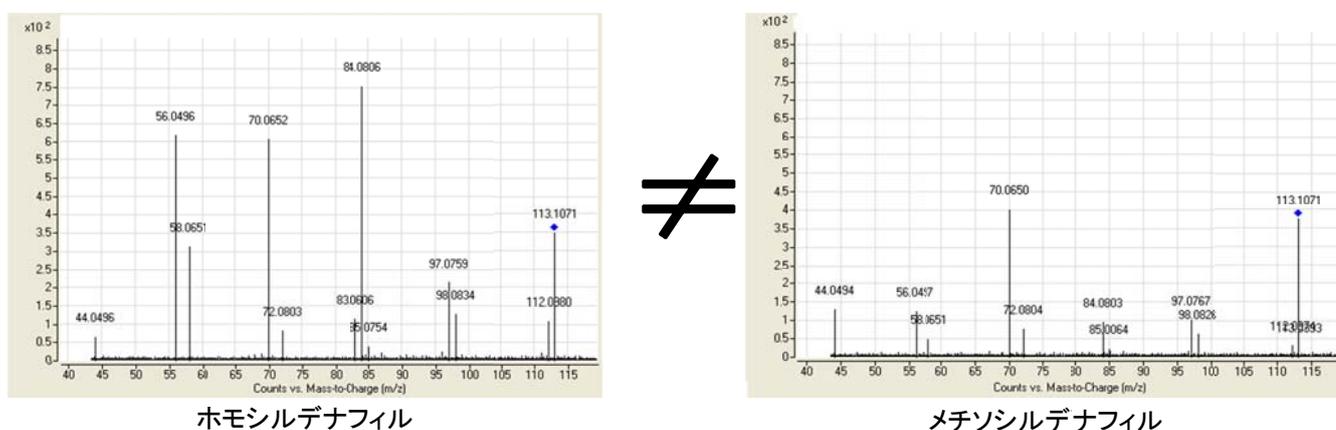


図 3. 2 化合物の MS³ スペクトル

- 1) 原口那津美、中山秀幸、志岐寿子、吉富淑玲、古川義朗: 佐賀県衛生薬業センター所報, 31, p.32-35, 2009
- 2) 原口那津美、中園陽子、八ヶ代一郎、靄田清典: 第 48 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, p.290-291
- 3) 原口那津美、中野里美、古川義朗、靄田清典: 第 47 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, p.306-307