

表 13. 含量試験の結果

先発品 (22サンプル)

No.	規格(mg)	含有成分量(%)					mean	SD	CV%	品質評価	真贋鑑定
		1	2	3	4	5					
B1	100	45.8	46.9	47.4	47.4	48.4	47.2	1.0	2.0	不良	模造薬
B2	100	48.9	49.6	46.8	43.9	46.0	47.0	2.3	4.9	不良	模造薬
B3	100	45.9	46.7	47.7	44.7	46.0	46.2	1.1	2.4	不良	模造薬
B4	100	49.0	45.2	45.5	47.4	44.5	46.3	1.8	4.0	不良	模造薬
B5	100	47.5	46.5	47.1	47.0	45.9	46.8	0.6	1.3	不良	模造薬
B6	100	101.7	101.1	101.0	101.5	101.3	101.3	0.3	0.3	良好	模造薬
B7	100	50.0	47.3	49.6	49.3	47.1	48.7	1.4	2.8	不良	模造薬
B8	100	43.9	44.4	44.7	50.3	45.6	45.7	2.6	5.7	不良	模造薬
B9	100	44.9	49.9	44.4	46.9	46.3	46.5	2.2	4.7	不良	模造薬
B10	100	100.4	97.8	99.6	101.4	95.3	98.9	2.4	2.5	良好	模造薬
B11	100	94.7	94.5	96.0	96.0	92.6	94.7	1.4	1.5	良好	真正品
B12	100	93.3	94.7	94.3	91.8	96.3	94.1	1.7	1.8	良好	真正品
B13	100	92.7	92.6	91.2	89.4	91.1	91.4	1.3	1.5	良好	真正品
B14	100	98.5	98.9	99.3	98.7	97.5	98.6	0.7	0.7	良好	真正品
B15	100	108.9	104.5	108.3	99.4	107.0	105.6	3.8	3.6	良好	模造薬
B16	100	52.0	51.6	52.5	52.6	52.8	52.3	0.5	0.9	不良	模造薬
B17	100	86.3	62.8	64.1	62.8	69.8	69.1	10.0	14.4	不良	模造薬
B18	100	45.7	50.0	46.1	48.6	54.7	49.0	3.6	7.4	不良	模造薬
B19	100	82.6	81.1	82.3	83.1	79.4	81.7	1.5	1.8	不良	模造薬
B20	100	78.8	81.1	82.7	81.3	78.4	80.5	1.8	2.2	不良	模造薬
B21	100	55.7	57.2	56.1	56.4	58.5	56.8	1.1	1.9	不良	模造薬
B22	100	47.9	47.6	42.7	48.0	46.9	46.6	2.2	4.8	不良	模造薬

後発品 (29サンプル)

No.	規格(mg)	含有成分量(%)					mean	SD	CV%	品質評価	真贋鑑定
		1	2	3	4	5					
G1	100	93.2	99.2	98.5	92.6	95.9	95.9	3.0	3.1	良好	不明
G2	100	95.8	83.6	95.0	92.7	94.7	92.4	5.0	5.5	良好	不明
G3	100	97.9	97.5	91.2	96.7	101.3	96.9	3.7	3.8	良好	不明
G4	100	93.6	91.7	97.5	95.5	97.5	95.2	2.5	2.7	良好	不明
G5	100	95.3	96.4	95.6	98.5	91.3	95.4	2.6	2.7	良好	不明
G6	100	99.2	96.5	96.0	100.9	99.1	98.4	2.0	2.1	良好	不明
G7	100	97.1	98.3	98.1	103.7	98.7	99.2	2.6	2.6	良好	不明
G8	100	102.4	98.2	99.9	100.6	100.0	100.2	1.5	1.5	良好	不明
G9	100	96.4	93.9	99.6	96.9	98.2	97.0	2.1	2.2	良好	不明
G10	100										不明
G11	100										不明
G12	100										不明
G13	100										不明
G14	100	88.6	90.9	92.3	99.6	94.9	93.3	4.2	4.5	良好	不明
G15	100	90.9	90.9	90.9	90.9	94.2	91.6	1.5	1.6	良好	不明
G16	100	99.8	97.0	94.2	97.4	93.6	96.4	2.5	2.6	良好	不明
G17	100	96.4	99.0	95.1	93.6	99.2	96.7	2.5	2.5	良好	不明
G18	100	104.8	102.3	100.3	103.6	108.0	103.8	2.9	2.8	良好	不明
G19	800	7.2	7.8	6.7	7.8	6.7	7.2	0.5	7.4	不良	不明
G20	800	13.2	12.6	13.2	12.8	13.0	13.0	0.3	2.2	不良	不明
G21	100										不明
G22	100	159.2	158.4	153.7	158.8	156.4	157.3	2.3	1.5	不良	不明
G23	100	96.9	96.5	95.9	93.9	93.8	95.4	1.5	1.5	良好	不明
G24	100	105.8	109.2	106.5	105.7	104.6	106.4	1.7	1.6	良好	不明
G25	100	92.4	93.1	95.7	95.5	96.5	94.7	1.8	1.9	良好	不明
G26	100	90.9	92.5	95.1	97.5	94.1	94.0	2.5	2.7	良好	不明
G27	100	95.2	95.8	92.5	93.8	91.8	93.8	1.7	1.8	良好	不明
G28	100	94.0	92.4	93.0	87.9	91.1	91.7	2.3	2.6	良好	不明
G29	100	95.2	90.2	100.0	95.9	91.4	94.5	3.9	4.1	良好	不明

表 14. 溶出試験の結果

先発品 (22サンプル)

No.	規格(mg)	溶出率平均 (%)					品質評価	真贋鑑定
		2分	3分	5分	10分	15分		
標準製剤		7.334	42.194	80.885	98.704	100.054	-	-
B1	100	6.567	30.048	45.320	48.782	49.006	不良	模造薬
B2	100	2.634	10.976	30.645	48.236	50.072	不良	模造薬
B3	100	1.614	5.377	19.327	45.882	48.855	不良	模造薬
B4	100	2.816	15.292	39.845	50.256	50.563	不良	模造薬
B5	100	12.693	33.767	47.110	50.004	50.189	不良	模造薬
B6	100	6.457	11.972	21.954	51.509	70.867	不良	模造薬
B7	100	11.919	35.171	48.807	51.295	52.951	不良	模造薬
B8	100	6.710	25.890	44.237	49.267	49.343	不良	模造薬
B9	100	6.354	27.411	44.856	47.922	48.793	不良	模造薬
B10	100	2.609	15.969	81.090	105.700	106.598	良好	模造薬
B11	100	14.616	57.809	83.172	99.388	102.299	良好	真正品
B12	100	4.907	28.911	82.186	100.336	101.692	良好	真正品
B13	100	34.867	67.527	89.567	96.096	99.348	良好	真正品
B14	100	31.231	67.849	95.053	101.799	102.719	良好	真正品
B15	100	5.085	22.769	78.603	106.586	108.636	良好	模造薬
B16	100	2.197	16.447	39.309	52.807	53.771	不良	模造薬
B17	100	9.438	38.433	64.342	66.845	67.333	不良	模造薬
B18	100	3.858	20.446	45.988	55.749	56.503	不良	模造薬
B19	100	9.538	30.212	76.997	83.445	83.695	良好	模造薬
B20	100	3.359	16.508	62.806	80.148	80.508	良好	模造薬
B21	100	44.842	50.903	56.035	59.018	59.184	不良	模造薬
B22	100	2.505	6.691	22.814	46.250	47.364	不良	模造薬

後発品 (29サンプル)

No.	規格(mg)	溶出率平均 (%)					品質評価	真贋鑑定
		2分	3分	5分	10分	15分		
標準製剤		7.334	42.194	80.885	98.704	100.054	-	-
G1	100	54.370	75.255	95.489	99.144	101.016	良好	不明
G2	100	43.751	74.155	93.525	96.955	99.215	良好	不明
G3	100	38.227	69.822	92.603	96.685	98.601	良好	不明
G4	100	46.775	77.839	92.006	100.101	100.540	良好	不明
G5	100	36.198	74.311	92.180	97.540	98.004	良好	不明
G6	100	31.814	95.543	98.036	98.509	98.871	良好	不明
G7	100	49.450	88.619	95.839	96.193	97.039	良好	不明
G8	100	63.568	92.495	99.296	99.627	99.734	良好	不明
G9	100	83.457	97.381	99.224	100.098	101.064	良好	不明
G10	100							不明
G11	100							不明
G12	100							不明
G13	100							不明
G14	100	3.153	9.637	29.437	92.152	99.196	良好	不明
G15	100	5.179	13.356	34.886	92.459	98.499	良好	不明
G16	100	2.447	8.934	31.271	89.081	96.247	良好	不明
G17	100	13.903	22.436	37.738	81.244	97.320	良好	不明
G18	100	28.288	56.327	78.150	98.119	99.921	良好	不明
G19	800	0.212	0.493	1.086	2.577	4.368	不良	不明
G20	800	ND	0.119	0.429	2.598	4.600	不良	不明
G21	100							不明
G22	100	2.330	3.819	12.106	33.843	56.062	不良	不明
G23	100	3.740	7.711	28.683	73.471	89.068	良好	不明
G24	100	0.992	2.611	13.751	75.165	101.943	良好	不明
G25	100	9.124	27.070	82.455	99.368	101.703	良好	不明
G26	100	13.643	31.746	61.365	96.267	98.477	良好	不明
G27	100	65.541	85.176	93.171	96.309	98.704	良好	不明
G28	100	7.251	24.342	81.809	97.790	99.037	良好	不明
G29	100	37.317	56.618	76.825	89.924	94.544	良好	不明

図1. バイアグラ 100mg 錠 溶出挙動

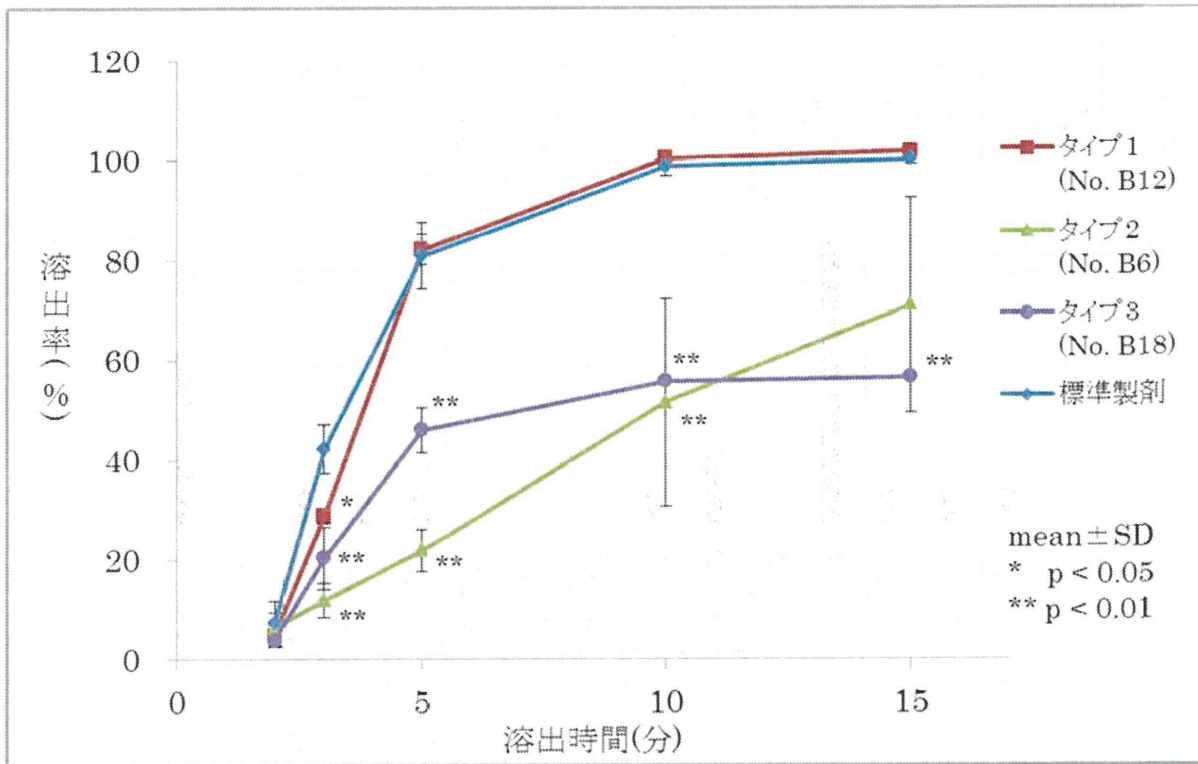


図2. 購入製品の1錠あたりの価格

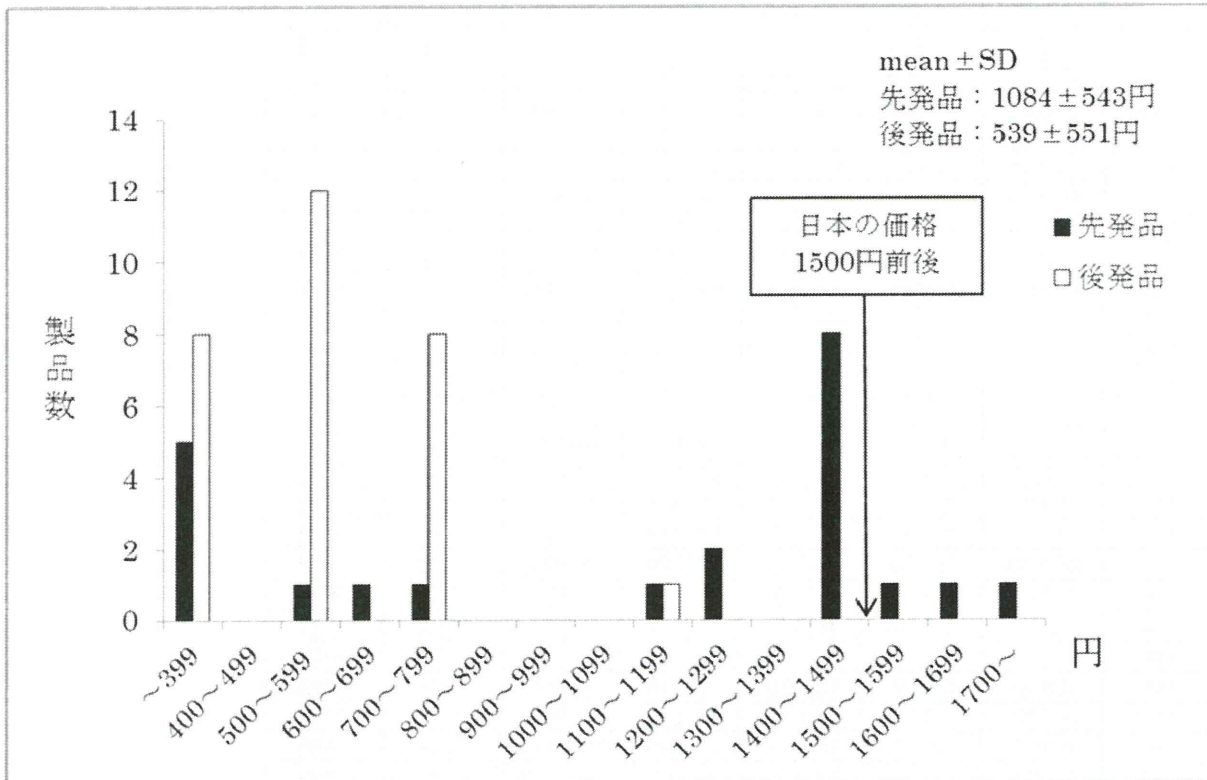


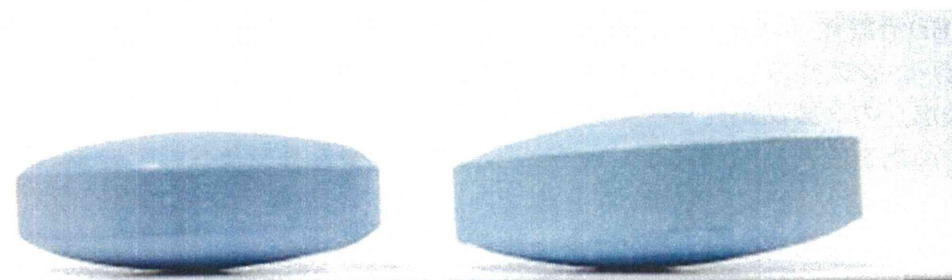
図 3. バイアグラ標準製剤とバイアグラ模造薬(No. B1)の比較 (錠剤表面)



真正品

模造薬

図 4. バイアグラ標準製剤とバイアグラ模造薬(No. B1)の比較 (錠剤側面)



真正品

模造薬

図 5. バイアグラ模造薬の入っていたボトル写真



No. B10, No. B15



No. B17, No. B19

シルデナフィル及びその類縁体の系統分析並びに Impurity Profile によるシルデナフィル製剤の偽造鑑別に関する研究

分担研究者 谷本 剛 （同志社女子大学 薬学部）
研究協力者 松永歩美 （同志社女子大学 薬学部）

研究要旨 ED治療薬（勃起不全治療薬）は、バイアグラ（主薬成分：シルデナフィルクエン酸塩）、シアリス（主薬成分：タダラフィル）、レビトラ（主薬成分：バルデナフィル塩酸塩）の3製品が先発医薬品として市販されている。しかし、これらED治療薬には多くの偽造医薬品が流通していることが種々の報告で指摘されている。ED治療薬の偽造品を迅速かつ確実に鑑別して市場での流通から排除することは保健衛生上重要なことである。本研究では、シルデナフィル製剤を例にして、製品中の主薬成分からみた偽造品鑑別法と製剤組成成分からみた偽造品鑑別法について検討した。その結果、LC/MSによるマススペクトルの解析により類似化合物が主薬成分として配合されている偽造品を容易に鑑別できることを示した。また、主薬成分には真正品と同じ成分、例えばシルデナフィルが配合されている製品であってもその不純物プロファイルを真正品のそれと比較解析するによって偽造もしくは無許可・無承認の医薬品であることを鑑別できることを明らかにした。

A. 研究目的

ED治療薬（勃起不全治療薬）は、バイアグラ（主薬成分：シルデナフィルクエン酸塩）、シアリス（主薬成分：タダラフィル）、レビトラ（主薬成分：バルデナフィル塩酸塩）の3製品が先発医薬品として市販されている。これらのED治療薬は国内では処方箋薬として医師の診断のもとで処方されて患者に投与される。しかし、これらED治療薬はインターネットの普及に伴いwebサイト上の個人輸入代行業者を介して容易に入手することができる。また、国外においてはこれらED治療薬の後発品が数多く流通している実態があり、さらに、これらの製品の中に偽造医薬品が多数存在することが種々の報告で指摘されており、保健衛生の観点からも大きな社会問題になっている。

本研究では、ED治療薬の偽造品を迅速かつ確実に鑑別することは健康被害を防止するために必要なことであるため、シルデナフィルクエン酸塩を主成分とするバイアグラを例にして、シルデナフィル及びその類縁体の系統分析法及び製剤のImpurity profileによる偽造薬鑑別法を確立するための基礎的検討を行った。

B. 研究方法

1. シルデナフィル類縁物質の系統分析

シルデナフィル、N-デスマチルシルデナフィル、ホモシルデナフィルの3種の化合物を用いて、HPLCによる分離分析およびLC/MSによる同定を下記の試験条件で試みた。

1. 1 試料溶液の調製

シルデナフィル、N-デスマチルシルデナ

フィルおよびホモシルデナフィルの約1.0mgを精密に量り、1mlのメタノールに溶かし、試料溶液とする。

1. 2 HPLC 条件

試験条件

検出器：紫外吸光光度計（検出波長：290nm）

カラム：内径4.6 mm，長さ150 mmの ODSカラム（Mightysil RP-18 GP，粒径：5 μ m）

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

移動相：水/アセトニトリル混液（9：1）

流速：1.0 mL/min

注入量：50 μ L

1. 3 LC/MS 条件

試験条件

LC条件

検出器：紫外吸光光度計（検出波長：290nm）

カラム：内径2.1 mm，長さ100 mmの ODSカラム（Inertsil ODS-3，粒径：3 μ m）

カラム温度：30 $^{\circ}$ C

移動相：0.2%ギ酸を含む20 mol/Lギ酸アンモニウム溶液7容とアセトニトリル3容の混液

流速：0.2 mL/min

注入量：5.0 μ L

MS条件

キャピラリー電圧：2500 V

サンプルコーン電圧：50 V

脱溶媒温度：250 $^{\circ}$ C

試料注入温度：120 $^{\circ}$ C

イオン化モード：ESI+

MSモード：TOF MS

データタイプ：Enhanced Mass

2. シルデナフィル製剤の不純物プロファイルによる偽造医薬品の鑑別

シルデナフィルクエン酸塩を主成分とする ED治療薬について、個人輸入した製品を対象にして不純物プロファイルによる偽造品の

鑑別法を確立する目的で、HPLCによる不純物分離分析を下記の条件で試みた。

2. 1 試料溶液の調製

検体1錠の重さを精密に量り、粉碎した後、シルデナフィル20mg対応量を精密に量り、メタノール約15mを加え、約10分間超音波処理し、更にメタノールを加えて正確に20mlとする。この液を孔径0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過し、試料溶液とする。

2. 2 HPLC条件

試験条件

検出器：紫外吸光光度計（検出波長：290nm）

カラム：内径4.6 mm，長さ150 mmの ODSカラム（Mightysil RP-18 GP，粒径：5 μ m）

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

移動相：20 mol/L ギ酸アンモニウム溶液（pH 3.0）/アセトニトリル混液（4：1）

流速：1.0 mL/min

注入量：50 μ L

C. 研究結果

1. シルデナフィル類縁物質の系統分析

シルデナフィル、N-デスメチルシルデナフィル（デスメチル体）、ホモシルデナフィル（ホモ体）の3種の化合物の構造式を Fig. 1 に示した。Fig.2 はこれら3種の化合物のHPLC クロマトグラムである。シルデナフィル、デスメチル体、ホモ体の保持時間はそれぞれ12.5分、12.3分、13.0分であり、ほぼ近似した保持時間を示した。これら3種の化合物の分離条件を種々検討したが、いずれも良好な分離を示す条件を見出すことは困難であった。このことからHPLCによる分離分析ではシルデナフィルとその類縁体を鑑別することは容易でないと考えられた。

一方、シルデナフィル、デスメチル体、ホモ体の分子量はそれぞれ474、460、488であることから、質量分析でこれら3者の鑑別が可能であると考えられ、LC/MSでの鑑別を試みた。Fig.3に上記3物質のLCクロマ

トグラムと MS スペクトルを示した。LC のクロマトグラムでは分離が困難であったが、MS スペクトルではそれぞれの質量が $[M+H]^+$ の z/m として、すなわちシルデナフィルは $[M+H]^+=475$ 、N-デスメチルシルデナフィルは $[M+H]^+=460$ 、ホモシルデナフィルは $[M+H]^+=488$ の z/m が得られ、これら 3 種の化合物が完全に同定された。

2. シルデナフィル製剤の不純物プロファイルによる偽造医薬品の鑑別

シルデナフィル製剤の主薬成分以外の製剤含有成分、すなわち不純物としての類縁物質や製剤への添加剤成分のクロマト的プロファイル（以下、不純物プロファイルという）を真正製剤のそれと比較して偽造品を鑑別する方法について検討した。Fig.4 には真正製剤を含む 4 種の製剤の不純物プロファイルを示した。製剤 1 はバイアグラ（Viagra）を商品名とするファイザー社製の真正品である。この不純物プロファイルは保持時間約 12.5 分に主薬シルデナフィルのピークが見られ、その周辺保持時間帯には特に不純物由来のピークは認められていない。製品 2～4 もバイアグラ（Viagra）を商品名とした製品であるが、製品 2 では保持時間 10.5 分付近と 14.5 分に不純物のピークが認められ、製品 3 では保持時間 9～11 分、13.5 分、14 分、17 分付近にピークが認められ、製品 4 では保持時間 8.5～9.5 分に比較的大きなピークと 14.5 分にピークが認められた。製品 2～4 の不純物プロファイルは真正品の製品 1 とは明らかに異なるプロファイルを示した。

D. 考察

シルデナフィル製剤に関して、主薬成分の異なる偽造医薬品を鑑別する方法として HPLC による分離分析を試みた。シルデナフィルの類縁体としては入手しやすくしかも偽造医薬品に使用されることが多いと言われている N-デスメチルシルデナフィルとホモシルデナフィルを用いた。シルデナフィル、

N-デスメチルシルデナフィル、ホモシルデナフィルは化学構造が類似しており、HPLC では近似した保持時間を示し、この 3 者を分離分析して鑑別する条件を求めることは容易でなかった。一方、構造の類似した 3 化合物も分子量はそれぞれ異なることから（シルデナフィル、N-デスメチルシルデナフィル、ホモシルデナフィルの分子量はそれぞれ 474, 460, 488）、質量分析でこれら 3 者の鑑別が可能であると考えられ、LC/MS での鑑別を試みた。この結果、MS スペクトルでこの 3 化合物は $[M+H]^+$ の m/z がそれぞれ 475, 460, 488 のとなり、理論 m/z 値と一致した値が得られ、これら 3 種の化合物を完全に同定することができた。

LC/MS のマススペクトルを解析することで主薬成分が異なる偽造品は容易に鑑別できたが、真正品と同じ主薬成分を配合した偽造医薬品の鑑別には他の異なる方法論が必要になる。本研究では主薬成分（シルデナフィル）以外の製剤含有成分、すなわち不純物としての類縁物質や製剤への添加剤成分のクロマト的プロファイル（以下、不純物プロファイルという）を真正製剤のそれと比較して偽造品を鑑別する方法について検討した。その結果、製品名にバイアグラを表記した真正品を除く製品群の不純物プロファイルは真正品のそれとは明らかに異なるプロファイルを示し、真正品（ファイザー社製のバイアグラ）には認められない幾つかの不純物ピークが検出された。このことは、主薬成分のシルデナフィルクエン酸塩が真正品に使用されている主薬成分とは異なる品質の成分を用いて製剤が製造されていることを想定させ、これら製品は偽造品である可能性を強く示唆するものである。このように、同一の主薬成分を配合した製品であっても、劣悪な品質の主薬成分を配合した製品が無許可・無承認の製品として流通している可能性が否定できないが、このような偽造品の鑑別に不純物プロファイル解析は有用な方法論と思われる。

E. 結 論

1. LC/MS のマススペクトルの解析によって主薬成分の異なる偽造品を迅速かつ確実に鑑別することができた。
2. 真正品と同じ主薬成分を配合した偽造品は、不純物プロファイルを解析するという方法を用いれば、真正か偽造かの鑑別が可能になる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) M. H. Khan, J. Okumura, T. Sovannarith, N. Nivanna, H. Nagai, M. Taga, N. Yoshida, M. Akazawa, T. Tanimoto & K. Kimura : Counterfeit Medicines in Cambodia—Possible Causes. *Pharm. Res.*, **28(3)**: 484-489 (2011)
- 2) 木村和子, 本間隆之, 谷本 剛, 高尾知里, 奥村順子, 吉田直子, 赤沢 学: インターネットで個人輸入した医薬品の保健衛生(2) -抗肥満薬による追跡-. *医療と社会*, **21(4)**, 341-353 (2011)

2. 学会発表

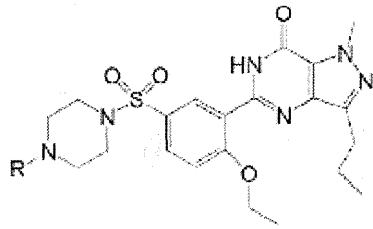
- 1) 河野伊保, 長坂葉子, 沼野緑, 高木里美, 久米七恵, 中西容子, 吉田直子, 木村和子, 谷本剛: インターネットを介して個人輸入した医薬品の保健衛生上の危害に関する研

究(その1) オルリスタットを主成分とする抗肥満薬. 日本薬学会第 131 年会, 2011 年 3 月(静岡)

- 2) 沼野緑, 長坂葉子, 高木里美, 久米七恵, 河野伊保, 山内雄二, 吉田直子, 木村和子, 谷本剛: インターネットを介して個人輸入した医薬品の保健衛生上の危害に関する研究(その2) 生薬を主成分とする抗肥満薬. 日薬学会第 131 年会, 2011 年 3 月(静岡)
- 3) 清水寛将, 井元優美, 福田恵子, 松井侑子, 松尾純, 村田衣里, 吉田直子, 坪井宏人, 谷本剛, 木村和子: カンボジアに流通するオメプラゾール腸溶性製剤の品質実態調査. 日本薬学会第 132 年会, 2012 年 3 月(札幌)
- 4) 田畑仁美, 吉田直子, 坪井宏仁, 赤沢学, 谷本剛, 木村和子: カンボジアにおける偽造医薬品の流通実態調査. 日本薬学会第 132 年会, 2012 年 3 月(札幌)
- 5) 高橋奈津美, 久米七恵, 高木里美, 堀内恵未, 吉田直子, 坪井宏仁, 谷本剛, 木村和子: インターネットを介した個人輸入～オセルタミビル製剤試買調査～. 日本薬学会第 132 年会, 2012 年 3 月(札幌)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。



Sildenafil: R = -CH₃
 N-desmethylsildenafil: R = -H
 Homosildenafil: R = -CH₂CH₃

Fig. 1 シルデナフィル, N-デスメチルシルデナフィル及びホモシルデナフィルの化学構造式

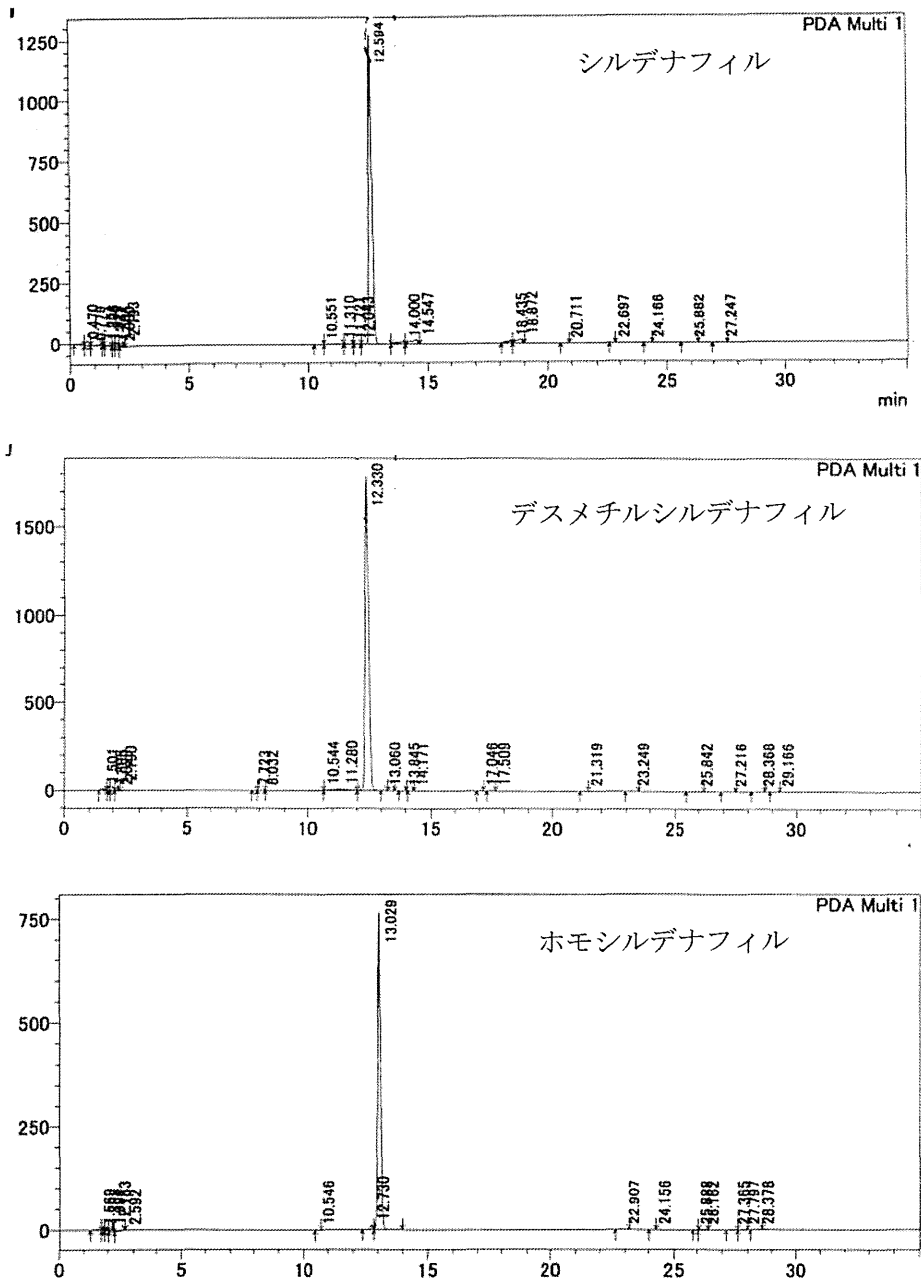


Fig. 2 シルデナフィル, N-デスメチルシルデナフィル及びホモシルデナフィルのクロマトグラム

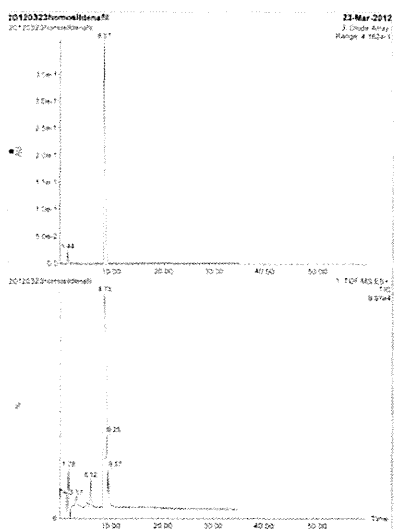
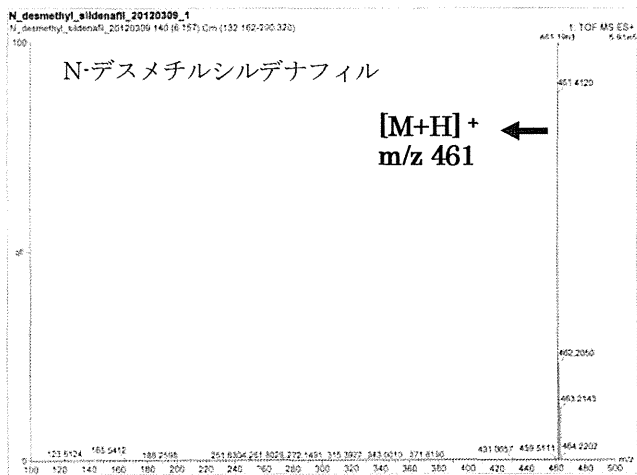
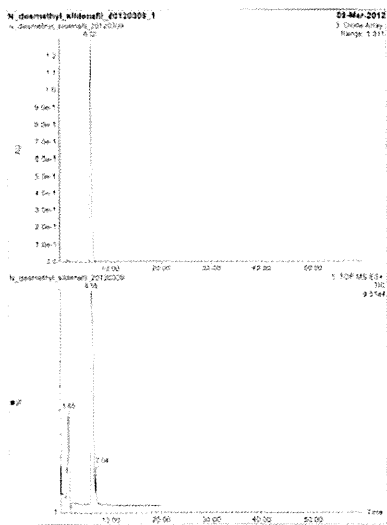
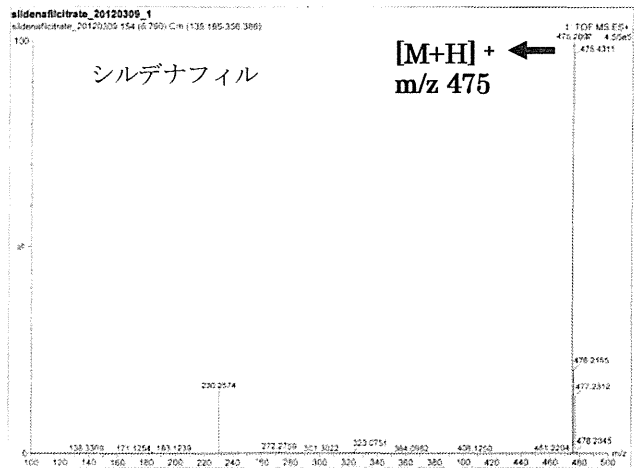
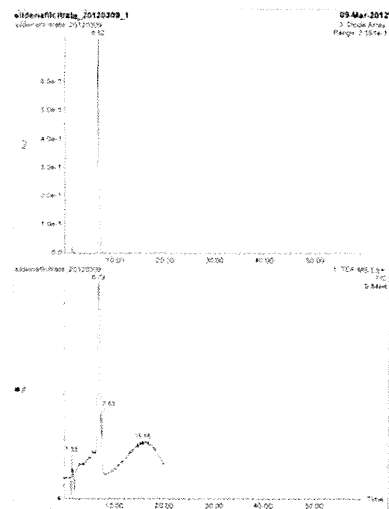


Fig. 3 シルденаフィル, N-デスメチルシルденаフィル及びホモシルденаフィルのLC/MS スペクトル

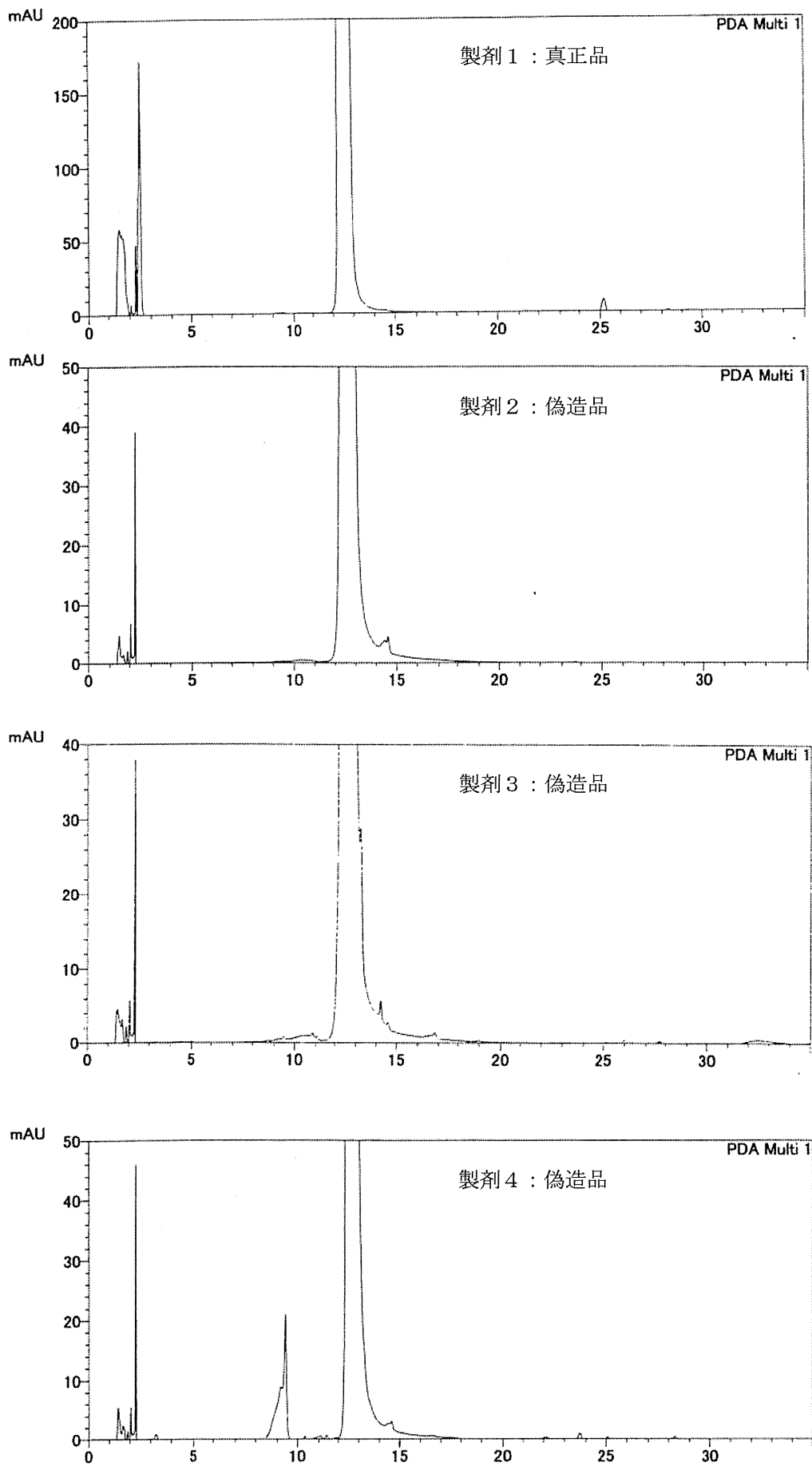


Fig. 4 シルデナフィル製剤の不純物プロファイル

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Mohiuddin Hussain Khan, Tsuyoshi Tanimoto, Yoko Nakanishi, Naoko Yoshida, Hirohito Tsuboi, Kazuko Kimura	Public health concerns for anti-obesity medicines imported for personal use through the Internet: a cross-sectional survey	BMJ-open (オープンアクセスジャーナル) e000854 doi : 10.1136 / bmjopen-2012 -000854	2(3)	e1-8 (独立頁)	2012
戸水尚希, 吉田直子, 坪井宏仁, 赤沢学, 木村和子	医薬品個人輸入経験者の意識調査にみる不適切な個人輸入の抑止策	社会薬学	30(2)	53-54	2012

平成23年度厚生労働科学研究費補助金

地球規模保健課題推進研究事業

「地球規模の模造薬（カウンターフィット薬）蔓延に対する規制と健康影響に関する調査研究」

平成23年度研究報告書

2012年3月31日 発行

代表者 木村 和子

連絡先 金沢大学医薬保健研究域薬学系 国際保健薬学研究室

〒920-1192 石川県金沢市角間町

TEL/FAX 076-234-4402

