

国際流通する偽造医薬品等の実態と対策に関する研究への高速液体クロマトグラフ-質量分析 (LC-MS) の応用

分担研究者 前川京子 (同志社女子大学薬学部)
研究協力者 高橋知里 (同志社女子大学薬学部)
佐々木瑞紀 (同志社女子大学薬学部)
坂井 愛 (同志社女子大学薬学部)

研究要旨

【目的】偽造医薬品とは、同一性や起源について故意に偽表示がされた医薬品であり、本邦でもその流通及び健康被害が報告されている。また、偽造品は医薬品だけとは限らず、サプリメントもその対象である。本研究では、ミャンマー、カンボジア国内で流通するゲンタマイシン注射液、カンボジア国内で流通している痩身サプリメント MAZETA Slim、インターネットの個人輸入代行サイトを介して購入した抗肥満薬 Zenigal、を対象として、その含有成分の同定・定量を高速液体クロマトグラフ-質量分析計 (LC-MS) により行い、偽造医薬品流通の実態を調査することを目的とした。

【方法】それぞれ対象とする医薬品・サプリメントに適切な前処理を行った後、HPLC トリプル四重極型 MS を用いた Q3 スキャン、プロダクトイオンスキャン、シングルイオンモニタリング等の手法や紫外可視吸光スペクトルにより含有成分を検索した。検索結果のうち、一致度が高い候補化合物の標準品を購入し、含有成分を保持時間やフラグメントパターンが一致するかを確認した。選択反応モニタリング法による定量系を構築し、含有量を算出した。

【結果】ミャンマー、カンボジア国内で流通するゲンタマイシン注射液 32 製品につき、LC-MS/MS 法を用いた定量法を確立し、各成分を定量した。32 製品のうち 3 製品には GM がほとんど含まれていないことを確認した。カンボジア国内で流通するダイエットサプリメント MAZETA Slim に含まれるシブトラミン以外の成分の同定を試みた。薄層クロマトグラフィー分析において、シブトラミンより親水性の成分から成るスポットを LC-MS/MS で分析したところ、 m/z 195～855 の未知成分が 17 種確認されたが同定にはいたらなかった。Zenigal には、表示有効成分であるオルリスタットが含有されておらず、数種の未知成分が含有されていることが示された。Q3 スキャンにより m/z 152 のピークはノルエフェドリンの可能性を推定し、標準品を購入して比較したが、保持時間が異なりノルエフェドリンではないことが明らかになった。 m/z 280 のピークは本薬には含有表示がない抗肥満作用を有するシブトラミンと同定され、1 カプセル中のシブトラミン含有量を定量したとこ

る、635 ng/1 カプセルであった。UV 225 nm に強い吸収を持つ未知物質は、抗肥満薬セチリストットの可能性を考えたが、セチリストット標準品とは、HPLC の保持時間が一致せず、同定には至らなかった。

【考察】今回、同定に至らなかった未知物質については、プリカーサーイオン及びフラグメントイオンの精密質量の取得し、同定を進めていく予定である。偽造医薬品の含有成分を同定することは、偽造の実態を明らかにすることにつながり、偽造防止に向けた施策を講じるうえで有用な情報となると考える。LC/MS は、偽造が疑われる医薬品中の未知含有成分を同定・定量する有用な手段である。

A. 研究目的

偽造医薬品とは、「同一性や起源について偽表示がされた医薬品」と定義されており、記載されている成分と異なる成分が含まれているものや、有効成分が含まれていないもの、有効成分が不足または過剰なものが存在する。かつては、外観から偽造が判断できるものもあったが、現在は、偽造技術の高度化や組織的な犯罪集団の関与により巧妙化し、容易に判別することができないようになっている。

偽造医薬品の流通は開発途上国市場に限ったものではない。インターネットを利用した個人輸入により処方箋医薬品や未承認医薬品を自己責任のもとで容易に入手できるようになったことから、本邦も含め世界中に流通している。それらの多くは流通経路が不明であり、偽造医薬品や未承認薬、誤った情報も混入している。さらに、偽造品は医薬品だけとは限らず、サプリメントもその対象である。インターネットの普及に伴ってサプリメントの流通は急速に広まり、世界各国で様々なサプリメントが流通している。

本研究では、偽造が疑われる医薬品・サプリメントにつき、その含有成分の同定・定量

を高速液体クロマトグラフ-質量分析計 (LC-MS) により行い、偽造医薬品流通の実態を調査することを目的とした。これまでの当研究室 (元同志社女子大学薬学部医薬品分析学研究室 教授 谷本 剛 博士 主宰)での解析結果に基づき、ミャンマー、カンボジア国内で流通するゲンタマイシン (GM) 注射液、カンボジア国内で流通している痩身サプリメント MAZETA Slim、インターネットの個人輸入代行サイトを介して購入した抗肥満薬 Zenigal、を対象とした。

B. 方法

B-1. ゲンタマイシン注射液

ミャンマーのヤンゴン市内にある薬局・薬店で購入した GM 注射液 17 製品、カンボジアのプノンペンにある薬局・薬店で購入した 15 製品を試料とした。製品の詳細については表 1 に示す。32 製品中、21 製品が中国製、4 製品がインド製、2 製品がミャンマー製、2 製品がタイ製、1 製品がバングラデシュ製、1 製品が韓国製、1 製品がドイツ製であった。ゲンタマイシン含量は全製品において 40 mg (力価) /mL であった。試料溶液は、各試料 1 個を取り、

正確に 10 µL 量り取り、蒸留水 990 µL を加え攪拌後、この液 200 µL と内部標準溶液である 1 mg/mL トブラマイシン (TB) 溶液 40 µL、蒸留水 160 µL を混合した (最終濃度 : GM 200 µg/mL、TB 100 µg/mL)。GM 標準品は、USP 標準品 (697 µg (力価) /mg) 及び Sigma-Aldrich 社の 2 次標準品 (637 µg (力価) /mg) を用いた。検量線の作成用の標準溶液は、標準品 10 mg を正確に量り、蒸留水 500 µL で溶解後、400 µg 力価/mL、300 µg/mL、200 µg/mL、150 µg/mL、100 µg/mL、40 µg/mL、20 µg/mL となるよう段階希釈した。それぞれの標準溶液には内標である TB 100 µg/mL を含むように調製した。試料溶液及び標準溶液を、LCMS-8040 (SHIMADZU) を用い、下記に示す条件で分析した。

<HPLC 条件>

移動相 : (A) アセトニトリル、1% ギ酸
(B) 100 mM 酢酸アンモニウム、3% ギ酸
カラム : ZIC-cHILIC 5µm, polymeric
100×2.1 mm
注入量 : 2 µL
流量 : 0.4 mL/min
タイムプログラム : 50-95% B in 7 min,
95% B in 2 min, 95-5% B in 6 min
カラムオープン : 40□

<MS 条件>

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法
インタフェイス電圧 : +4.5 kV (チューニングファイル値)
DL 温度 : 250□
ブロックヒーター温度 : 400□
測定モード : selected reaction

monitoring (SRM)

トランジション : ゲンタマイシン C1,
478.10>160.10, 478.10>322.20;
ゲンタマイシン C1a, 450.10>160.10,
450.10>322.20;
ゲンタマイシン C2, 464.10>160.10,
464.10>322.20;
トブラマイシン, 468.3>163.10,
468.3>324.10

B-2. 痩身サプリメント MAZETA Slim

サプリメント 3 カプセル分の内容物を取り出し、メタノール 5 mL を正確に加え、5 分間混合した後、遠心分離 (1500 rpm, 5 min) を行い、その上清を分取した。アウクビン標準溶液はアウクビン標準品 (富士フィルム和光純薬株式会社) 約 5 mg を精密に量り、メタノール 1 mL を正確に加えて調製した (5 mg/mL)。シブトラミン標準溶液は、シブトラミン標準品 (富士フィルム和光純薬株式会社) 約 5 mg を精密に量り、メタノール 1 mL を正確に加えて調製した (5 mg/mL)。2 枚の薄層板を用意し、シブトラミン標準溶液、アウクビン標準溶液を用いて、サプリメントの内容物について薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析を 2 枚同様に行った。展開溶媒は酢酸エチル 200 mL、蒸留水 9 mL を正確に量り、激しく混合し、2 層に分離した下層を除去して用いた。展開後の薄層板の一方をヨウ素により呈色し、もう一方は、ヨウ素で確認した薄層板と照らし合わせ、得られたスポットと同じ位置を削り取った。なお、本サプリメントは天然成分由来とあり、外箱には生薬 6 成分が配合されているとの記載があった。そのうちの一つ Psyllium husk (シャゼンシ) に着目し、シャゼンシ

の主成分であるアウクピンの含有が疑われたため、アウクピン標準品を用いた。TLC 分析により得られた未知成分スポット部分を削り取り、これにメタノール 500 μ L を正確に加え、遠心 (1200 rpm, 10 min) し、上清を量り取った。上清を 0.22 μ m フィルターで濾過し、濾液を量り取り、窒素風乾した。溶媒置換を兼ねて 50%メタノール溶液で 3 倍濃縮した溶液を試料溶液とした。試料溶液を、LCMS-8040 (SHIMADZU)を用い、下記に示す条件で分析した。

<HPLC 条件>

移動相：(A) 10mM ギ酸アンモニウム
(B) 100%アセトニトリル
カラム： Shim-Pack, FC-ODS 3 μ m, 75 \times 2.0 mm 注入量：10 μ L
流量：0.3 mL/min
タイムプログラム： 0-15 min：0-85% B,
15-20 min：85% B, 20-20.10min：85-5% B,
20.10 -25min：5% B
カラムオープン：40

<MS 条件>

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化(ESI)法
インタフェイス電圧：+4.5 kV (チューニングファイル値)
DL 温度：250
ブロックヒーター温度：400
測定モード：positive ion mode Q3 scan, negative ion mode Q3 scan, single ion monitoring (SIM), product ion scan, selected reaction monitoring (SRM)
トランジション：シブトラミン,
280.40>125.05, 280.40>139.05,
280.40>153.05

B-3. 抗肥満薬 Zenigal

B-3-1. 未知成分の同定

Zenigal のカプセルから、内容物の全量を取り出し、秤量後、20 mg/mL となるようにメタノール (MeOH) を加え、1 時間 vortex した。遠心 (3000 rpm, 3 min) により分取した上清を適宜希釈して、試料溶液とした。Norephedrine-d3 標準品 (シグマアルドリッチジャパン合同会社) 及びシブトラミン標準品 (富士フィルム和光純薬株式会社)、セチリスタット (東京化成工業株式会社) を MeOH に溶解し、標準溶液とした。試料溶液及び標準溶液を、LCMS-8040 (SHIMADZU)を用い、下記に示す条件で分析した。

<HPLC 条件>

移動相：(A) 10mM ギ酸アンモニウム
(B) 100%アセトニトリル
カラム： Shim-Pack, FC-ODS 3 μ m, 75 \times 2.0 mm
注入量：10 μ L
流量：0.3 mL/min
タイムプログラム： 0-15 min：5-85% B,
15-20 min：85% B, 20-20.1 min：85-5% B,
20.1 -25 min：5% B
カラムオープン：40
PDA：190-800 nm

<MS 条件>

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化(ESI)法
測定モード：positive ion mode Q3 scan, negative ion mode Q3 scan, single ion monitoring (SIM), product ion scan, selected reaction monitoring (SRM)
インタフェイス電圧：+4.5 kV (チューニ

ングファイル値)

DL 温度：250

ブロックヒーター温度：400

B-3-2 シブトラミンの定量

シブトラミン標準品(富士フィルム和光純薬株式会社)を MeOH に溶解し、5, 10, 20, 50, 100, 200 ng/mL 溶液を調製し、検量線作成用標準溶液とした。Zenigal のカプセル 10 個それぞれから、内容物の全量を取り出し、秤量後、20 mg/mL となるように MeOH を加え、1 時間 vortex した。遠心(3000 rpm、3 min)により分取した上清を MeOH で 2 倍希釈した。これを逆相-強陽イオン交換ポリマーである OASIS MCX カートリッジ(60 mg, waters)を用いて抽出し、溶出液を試料溶液とした。試料溶液及び標準溶液を、LCMS-8040 (SHIMADZU)を用い、SRM 法(280.0>125.05)により分析した。HPLC 条件、及び MS 条件は B-3-1 に示す条件と同様とした。標準溶液から得た検量線を用いて、試料溶液のシブトラミンのピーク面積値から試料溶液に含まれるシブトラミンの濃度を求め、1 カプセルあたりのシブトラミン含有量を算出した。

C. 研究結果

C-1. ゲンタマイシン注射液

LC-MS/MS により標準品に含まれるゲンタマイシン C1, C1a, C2 の各成分を分離して測定することが可能であった。標準品に記載の成分含量比を基に、それぞれの成分について検量線を作成したところ、 $r^2 > 0.99$ の良好な検量線が得られた。測定したゲンタマイシン注射液のクロマトグラムの代表例を図 1 に示す。図 1 の上段は、表示濃度と同等の定量値が得られた製剤のクロマトグラ

ムであり、図 1 の下段は、ゲンタマイシン各成分がほとんど検出できない注射剤のクロマトグラムである。32 製品の定量結果を図 2 に示す。表示濃度が 40 mg (力価) /mL であったのに対し、表示濃度の 150% を超えていた注射剤が 1 種 (No.32)、表示濃度の 10% 未満であった注射剤が 3 種 (No. 22, 23, 24) であった。それ以外の 28 製品に関しては、表示濃度の 90% から 140% 以内であった。

C-2. 痩身サプリメント MAZETA Slim

薄層クロマトグラフィー(TLC)分析の結果を図 3 に示す。得られたスポットの Rf 値を求め、比較したところ、試料溶液には 2 つのスポット C (Rf=0.54)、D (Rf=0.84) が見られた。スポット C は、シブトラミン標準溶液のスポット B (Rf=0.56) と Rf 値が近似したことからスポット C の成分はシブトラミンであると考えられた。また、今回の条件ではアウクビン標準溶液のスポット A (Rf=0.0) は展開せず、試料溶液に同様のスポットが見られなかったことからアウクビンは含有されていない、または検出限界以下の濃度で含有されている可能性が考えられた。試料溶液のスポット D は未知成分として LC/MS を用いて未知成分の探索を行うこととした。

TLC スポット D の LC-MS 解析により、見出された 17 種のイオンピークにつき、検出されたイオンピークの m/z 、保持時間、ピーク高さを図 4 に示した。またクロマトグラムの代表例を図 5 に示した。TLC のスポット D を切り取ったにもかかわらず、スポット C に含まれるシブトラミンが、positive ion mode の分析で保持時間 10.36 min で検出された。このことから、TLC での分離が完全

ではなく、スポット D は単一物質ではないと考えられた。実際、LC-MS 分析では多くのピークが認められ、そのうち未知イオンピークは、positive ion mode で m/z 244、negative ion mode で m/z 242 で、同じ保持時間に検出されたことから、分子量 243 の構造、もしくは部分構造をもつことが推定された。このピークについて、プロダクトイオンスキャンによるマススペクトルを図 6 に示す。得られたマススペクトルから公共のデータベース検索を行ったが、化合物の同定には至らなかった。

C-3. 抗肥満薬 Zenigal

C-3-1. 未知成分の同定

Zenigal が偽造医薬品であることを最初に報告した Khan らの論文[1]では、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により Zenigal には UV 225 nm に強い吸収を持つ未知物質が保持時間 (RT) 6.5 min に検出されたと報告している。そこで Zenigal を抽出し、LC-MS 分析の全測定範囲で PDA データを同時に取得して、PDA クロマトグラムと MS クロマトグラムを比較した。この結果、PDA クロマトグラムにおいて、RT 3.5 min の未知物質ピークと、RT 18.0 min に UV 225 nm に強い吸収をもつピークが認められた (図 7)。また、本ピークの UV 吸収スペクトルは、谷本 剛らの 2009 年度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) 分担研究報告書[2]に報告されている Zenigal の未知成分の UV 吸収スペクトルとほぼ一致した (図 8)。一方、未知物質ピーク (RT 3.5 min) は、分担研究報告書[2]に報告されている Zenigal の未知成分の UV 吸収スペクトル

とは、一致しなかった。よって Khan らの論文[1]に記載の未知物質は、本ピークに由来すると考えられた。

未知物質ピークは、同時に測定した MS 分析において positive ion mode で m/z 152 のピークとして、negative ion mode における m/z 150 のピークとして検出され、分子量 151 の化合物 (未知成分) と推定された。 m/z 152 の product ion scan におけるフラグメントイオンパターンを公共データベースで検索した結果、ノルエフェドリンの可能性が推定された。しかし、ノルエフェドリン標準品と未知成分のピークを比較した結果、保持時間が異なり、未知成分はノルエフェドリンではないことが判明した (図 9)。

一方、Khan らの論文[1]で報告されている UV 225 nm に強い吸収を持つ未知ピークは、同時に測定した MS 分析では、positive Q3 スキャン及び negative Q3 スキャンの両方において、PDA クロマトグラムとほぼ一致して RT 18.1 min に未知イオンピークを認めた (図 8)。本未知イオンピークの MS スペクトルを確認したところ、positive Q3 スキャンでは、 m/z 160, 178 に、negative Q3 スキャンでは m/z 176 にイオンを検出した (図 10)。よって本ピークは、分子量もしくは、部分構造が 177 であることが示唆された。

この未知ピークについて、PDA でピークが検出された RT 18.0 min を分取し、核磁気共鳴 (NMR) 分光法及びガスクロマトグラム質量分析計 (GCMS) により分析した。NMR 及び GCMS は、同志社女子大学薬学部 創薬有機化学研究室 山本 康友准教授の協力を仰いだ。分取量が少なかつたため、詳細な解析は不可能であったが、GCMS の結果より、長鎖飽和アルコールの存在が

示唆された。そこで、長鎖飽和アルコールの部分構造をもつ抗肥満薬を検索したところ、セチリスタットが該当した。セチリスタットは、2-hydroxy-6-methyl-4H-benzo[d][1,3]oxazin-4-one ($C_9H_7NO_3$, MW=177.04) と hexadecanol ($C_{16}H_{33}OH$, MW=242.44) がエーテル結合をした構造をしている。この構造は、LC/MS の分析結果より、セチリスタットがインソースフラグメンテーションにより断片化された場合、positive Q3 スキャンで negative Q3 スキャンで m/z 176 が検出されることとも矛盾しない。これらより、Zenigal に含まれる主要な未知物質がセチリスタットの可能性が示唆された。

セチリスタット標準品の RT が、Zenigal の未知物質のそれと一致するかを確認した。蒸留水及びメタノールに対するセチリスタットの溶解度が非常に低く、十分な濃度で分析できなかったが、セチリスタット標準溶液は、SIM (+) クロマトグラム (m/z 402.60)において、約 17.2 分に小さなピークが確認された。一方、SIM (-) のクロマトグラム (m/z 400.60) では、ピークが確認できなかった (図 11)。一方、Zenigal の未知物質のピークは、UV 検出の結果 (図 7) から、RT 約 18.0 min であり、セチリスタット標準溶液には RT 18.0 min にはピークが認められなかったため、Zenigal に含まれる未知物質はセチリスタットとは考えにくいと結論した。一方で、Zenigal は、SIM (+) クロマトグラム (m/z 402.60)より、約 17.9 分にピークが確認でき (図 11)、これは、UV 検出における未知物質のピークと一致した。よって、zenigal の未知物質のピークはセチリスタットではないものの、 m/z 402.60 で検出

される部分構造をもつ可能性が示唆された。

また、図 7 に示す MS 分析において、未知物質ピークは、positive ion mode で m/z 280 のピークとして検出され、マススペクトルおよび product ion scan のフラグメントイオンパターンを公共データベースで検索した結果、シブトラミンの可能性が推定された。シブトラミン標準品と未知成分のピークを比較した結果、未知成分はシブトラミンであることが判明した (図 12)。

C-3-2. シブトラミンの定量

Zenigal に含有されることが明らかになったシブトラミンについて、逆相-強陽イオン交換ポリマーを用いた固相抽出[3]により抽出し、定量を行った。QC 試料の回収率は、89.7%であった。また、5-200 ng/mL の希釈系列のシブトラミン標準溶液を抽出し、LC-MS により分析したところ $r^2 = 0.9998$ の検量線を得た。また、QC 試料から得た真度は 95.1%であった。

試験を実施した Zenigal 10 カプセルすべてにシブトラミンが含まれていた。1 カプセル中に含まれるシブトラミンを定量したところ、含有量は、1 カプセルあたり、499 ng から 942 ng の範囲にあり、平均で 1 カプセルあたり、635 ng のシブトラミンを含有していた (表 2)。

D. 考 察

本研究では、ミャンマー、カンボジア国内で流通するゲンタマイシン注射液、カンボジア国内で流通している痩身サプリメント MAZETA Slim、インターネットの個人輸入代行サイトを介して購入した抗肥満薬 Zenigal、を対象として、その含有成分の同定・定量を高速液体クロマトグラフ-質量

分析計 (LC-MS) により行った。

ゲンタマイシン注射液 32 製剤のうち、3 製剤において、表示濃度の 10%未満のゲンタマイシンしか含まれておらず、偽造医薬品であった。また、表示濃度の 150%を超えていた注射剤が 1 種見出された。ゲンタマイシンは親水性の高い複合医薬品であり、UV 吸収をもたないことから LC での分析は難しいとされていたが、今回 LC-MS/MS で C1, C1a, C2 の成分ごとに定量できることが示された。

MAZETA Slim は、シブトラミンが含有される偽造医薬品であることがすでに判明していた。本サプリメントは天然成分由来とあり、外箱には生薬 6 成分が配合されているとの記載があった。実際、LC-MS 分析で多くのピークが検出されたが、同定には至らなかった。

Zenigal に含まれる未知含有成分について、未知物質 はノルエフェドリンの可能性を、UV 225 nm に強い吸収を持つ未知物質 (保持時間 18.0 min) はセチリスタットの可能性を考えたが、いずれも異なり、同定には至らなかった。一方で、未知成分 がシブトラミンであることが判明した。定量結果より、Zenigal に含有されるシブトラミンは肥満症の治療薬として使用される場合の用量(10-15 mg/day)と比べると、微量であり、瘦身効果が得られるほどの量ではないと考えられる。また、シブトラミン含有量にはばらつきが見られた。混入の経緯は不明であるが、非常に微量なシブトラミンが含まれていたことから、製造ライン中のコンタミネーションである可能性も考えられる。

E. 結論

MAZETA Slim 及び Zenigal において、同定に至らなかった未知物質については、ブリーカーイオン及びフラグメントイオンの精密質量の取得し、同定を進めていく予定である。偽造医薬品の含有成分を同定することは、偽造の実態を明らかにすることにつながり、偽造防止に向けた施策を講じるうえで有用な情報となると考える。LC/MS は、今回の Zenigal に含まれているシブトラミンのように少量の含有物質でも定量可能である。よって偽造が疑われる医薬品中の実態を詳細に把握する上で有用な手段である。

F. 引用文献

1. Kimura et al., BMJ Open. 2012;2(3). e000854
2. 谷本 剛、河野伊保、長坂葉子、沼野 緑、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)分担研究報告書「医薬品等の個人輸入における保健衛生上の危害に関する研究 - 個人輸入ダイエット薬の品質評価と Counterfeit Drug の検出 - 」
3. 平間祐志、兼俊明夫. 道衛研所報 Rep. Hokkaido Inst. Pub. Health, 57, 57-60 (2007)

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
 - 1) 佐々木 瑞紀, 高橋 知里, 吉田 直子, 谷本 剛, 木村 和子, 前川 京子. 個人輸入した抗肥満薬の非表示有効成分の分析, 日本薬学会第 139 年会 (2019.3, 千葉)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 GM注射剤

	Serial No.	Name of Manufacturer	Manufacturing Country	Batch/Lot number
A-059	1	AMNLife Science Pvt Ltd.	India	AMNB002I12
A-076	2	AMNLife Science Pvt Ltd.	India	AMNB003I12
A-082	3	NEON Laboratories Ltd.	India	504121
A-018	4	Troge Medical GMBH HAMBU	Germany	11745-01
A-009	5	Grand Pharmaceutical(CHINA)	China	130201
A-014	6	Grand Pharmaceutical(CHINA)	China	130201
A-058	7	Jianxi Xier Kangtai Pharmaceutical	China	1301565
B-112	8	Ningo DHY Pharmaceutical CO	China	121004
A-077	9	Ningo DHY Pharmaceutical CO	China	121225
A-046	10	SHANKI FEDERAL PHARMAC	China	1301532
A-090	11	SHANKI FEDERAL PHARMAC	China	1301532
B-122	12	ZHANG JIAKOU PHARMACEUTICAL	China	111111
A-029	13	ZHANG JIAKOU PHARMACEUTICAL	China	120309
A-049	14	ZHANG JIAKOU PHARMACEUTICAL	China	130151
B-084	15	ZHANG JIAKOU PHARMACEUTICAL	China	130151
A-080	16	SIU GUAN CHEMIND CO LTD	Taiwan	207252
A-108	17	SIU GUAN CHEMIND CO LTD	Taiwan	304152
A-111	18	No.(2)Pharmaceutical Factory	Myanmar	1572084
B-085	19	No.(2)Pharmaceutical Factory	Myanmar	160040
A-064	20	SHIN POONG PHARM CO LTD	Korea	GENTA2020
B-072	21	Regain Laboratories	India	RG321
A-069	22	BEVERLY HENAN PHARMACEUTICAL	China	20140828
A-020	23	HENAN DEKANG PHARMACEUTICAL	China	20130406
A-077	24	HENAN DEKANG PHARMACEUTICAL	China	20130406
B-075	25	MERCURY Laboratories Limited	China	14351903
B-096	26	SHANGHAI MODERN HASEN PHARMAC	China	131210111
A-040	27	SIU GUAN CHEMIND CO LTD	China	304152
A-023	28	TIAN PHARMACEUTICAL GROUP XIN	China	131227
A-022	29	ZHANGFENG PHARMACEUTICAL FACT	China	140603
A-112	30	ZHANGFENG PHARMACEUTICAL FACT	China	140603
A-003	31	河南艾源薬?股份有限公司	China	13032802
A-088	32	SQUARE PHARMACEUTICALS LTD.	Bangladesh	404001

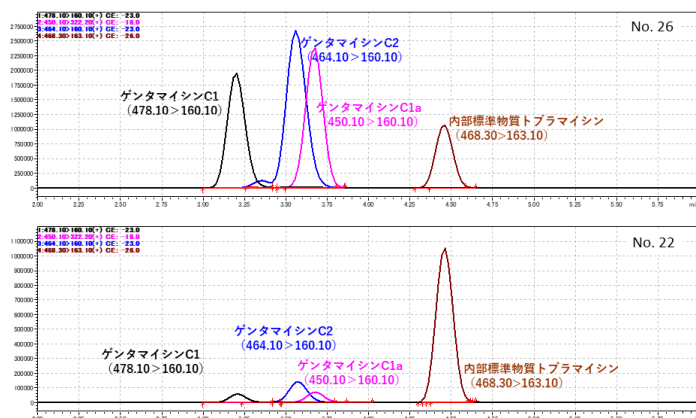


図1 ゲンタマイシン注射剤の代表的なクロマトグラム

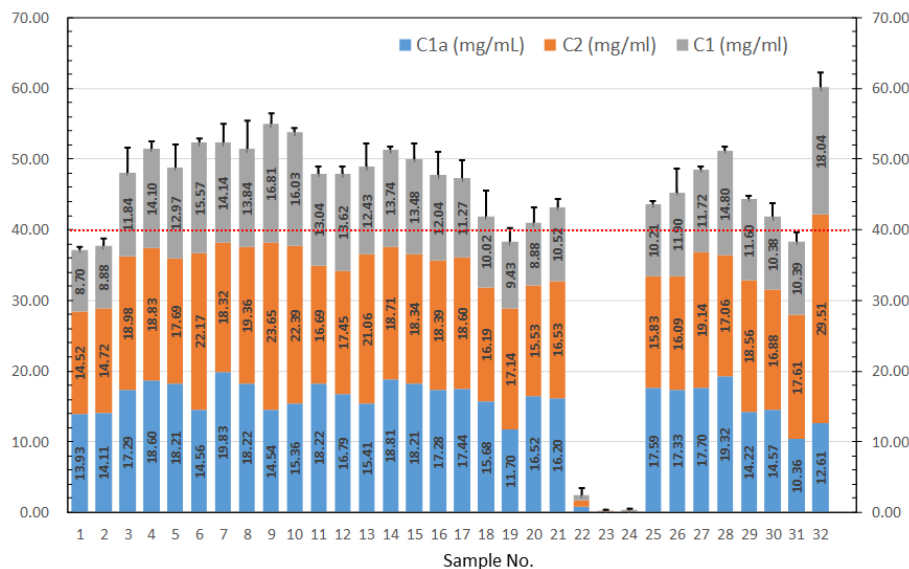


図2 各ゲンタマイシン注射剤の定量結果

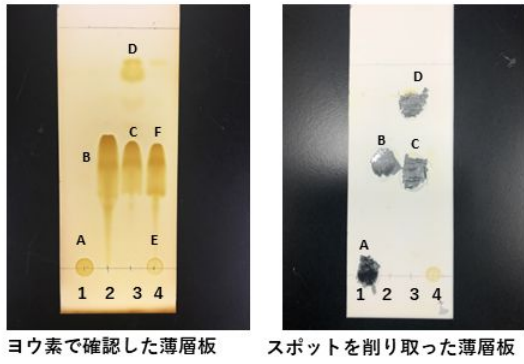


図3 薄層クロマトグラフィー(TLC)分析

- 1: アウクビン標準溶液
- 2: シブトラミン標準溶液
- 3: MAZETA Slim試料溶液
- 4: アウクビン:シブトラミン (1:2) 溶液

m/z (positive ion mode)	保持時間 (min)	peak	height (SIM)
202	0.631	unknown ①	7.0E+06
202	0.981	unknown ①	8.0E+06
195	1.715	unknown ②	4.5E+05
316	4.514	unknown ③	6.5E+06
272	4.689	unknown ④	7.5E+05
246	6.193	unknown ⑤ (M+NH4)	4.5E+05
514	6.718	unknown ⑥	1.8E+05
244	8.082	unknown ⑦ (M+H)	1.8E+06
228	9.587	unknown ⑧	2.0E+06
387	10.251	unknown ⑨ (M+H)	5.5E+06
404	10.251	unknown ⑩ (M+NH4)	5.5E+06
790	10.251	unknown ⑩ (2M+NH4)	1.6E+05
280	10.356	Sibutramine	
272	10.706	unknown ⑩	6.0E+05

m/z (negative ion mode)	保持時間 (min)	peak	height (SIM)
195	0.543	unknown ⑪	1.4E+06
600	1.592	unknown ⑫	3.0E+03
227	6.175	unknown ⑬ (M-H)	3.5E+05
138	6.455	unknown ⑭	5.0E+05
242	8.064	unknown ⑮ (M-H)	1.2E+06
855	8.939	unknown ⑯	3.5E+05
427	8.974	unknown ⑰	6.0E+06
431	10.268	unknown ⑱ (M+HCOO)	6.0E+04
325	12.402	unknown ⑲	2.0E+05
297	13.627	unknown ⑳	3.0E+05

図4 TLCスポットDのLC-MS解析により、見出されたイオンピーク
上段がポジティブイオンモード (m/z 100-900)、下段がネガティブイオンモード (m/z 100-900)を示す

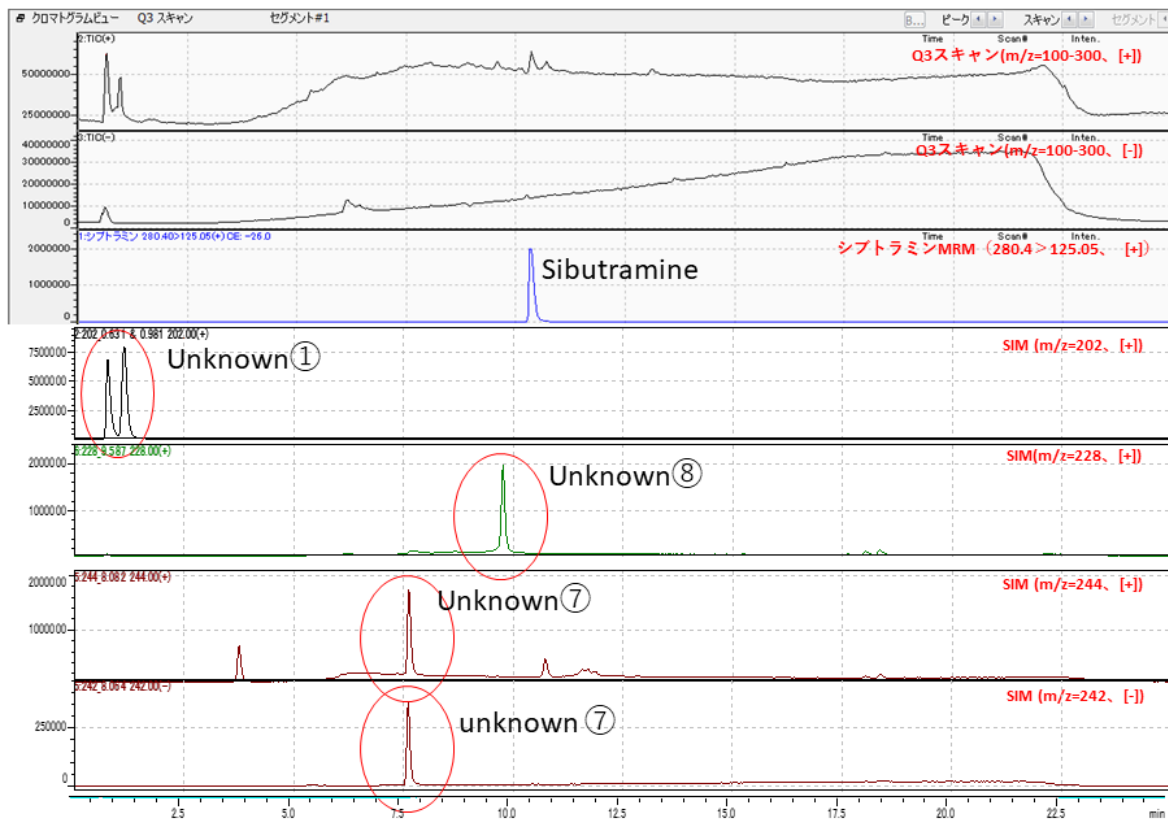


図5 TLCスポットDのLC-MS解析のクロマトグラム

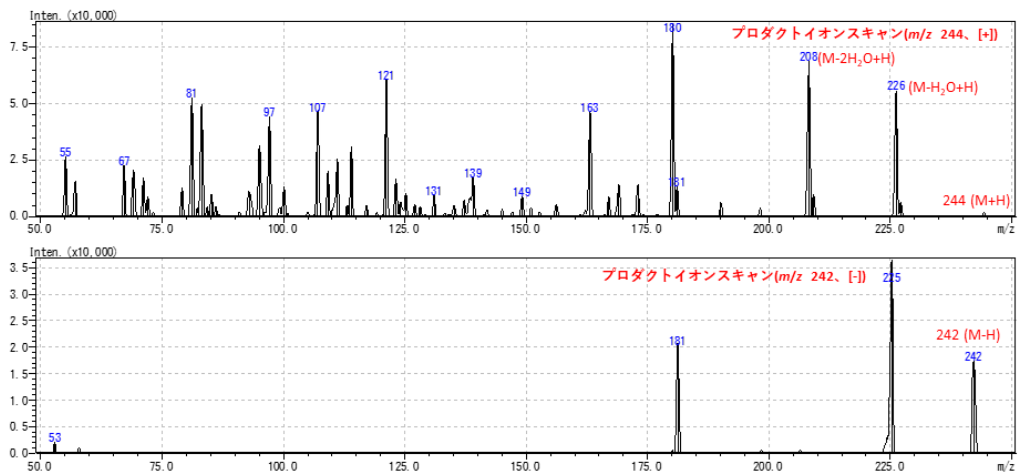


図6 未知イオンピーク⑦に関するプロダクトイオンスキャンm/z=244(+), m/z 242(-)におけるマススペクトル

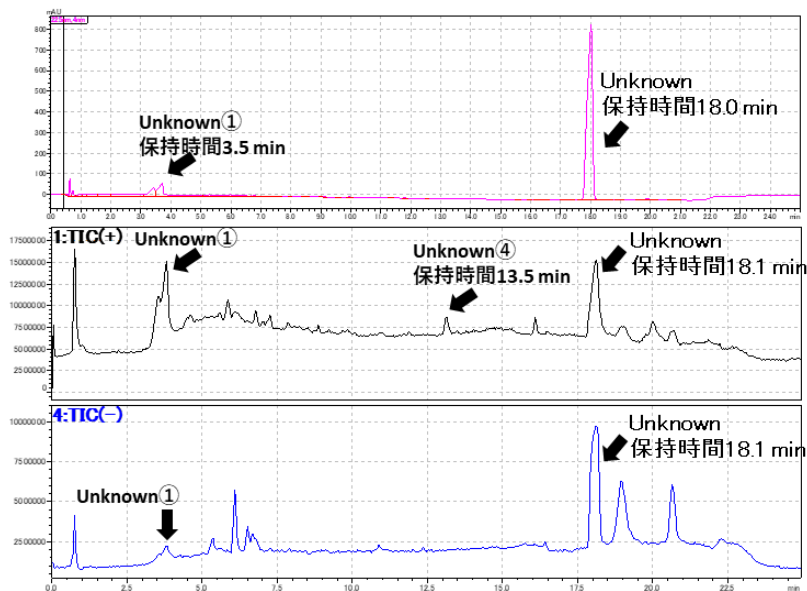


図7 Zenigalに含まれる未知成分ピークの検出

上から順に、PDAクロマトグラム (225 nm)、TICクロマトグラム (positive Q3スキャン)、TICクロマトグラム(negative Q3スキャン)を示す

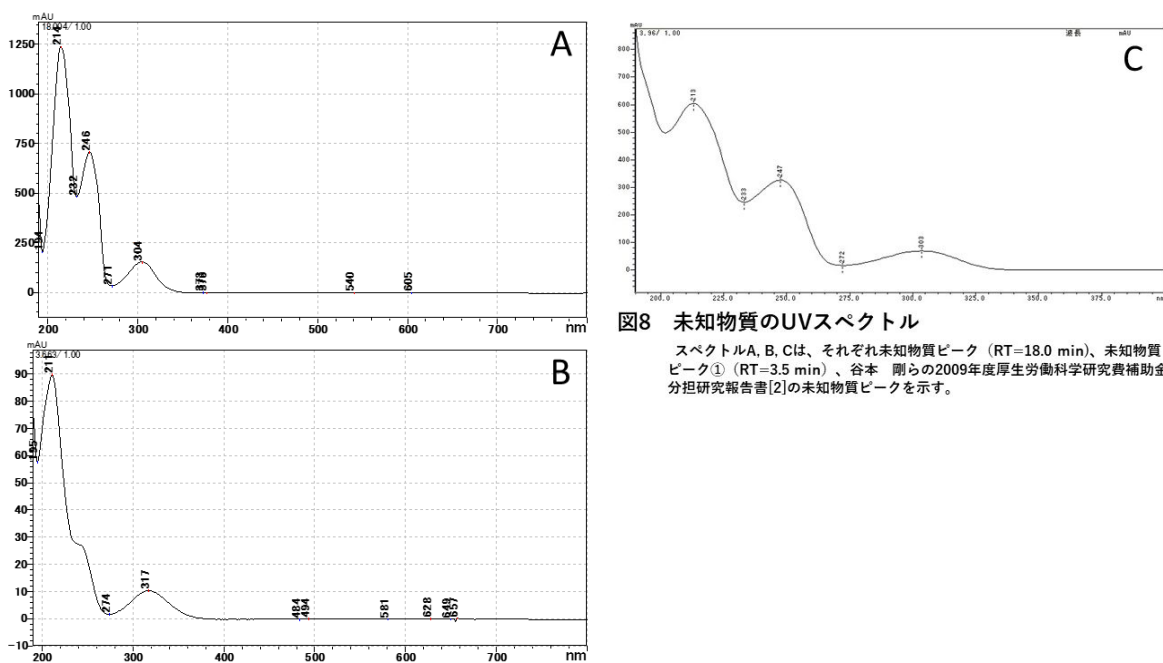


図8 未知物質のUVスペクトル

スペクトルA, B, Cは、それぞれ未知物質ピーク (RT=18.0 min)、未知物質ピーク① (RT=3.5 min)、谷本 剛らの2009年度厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書[2]の未知物質ピークを示す。

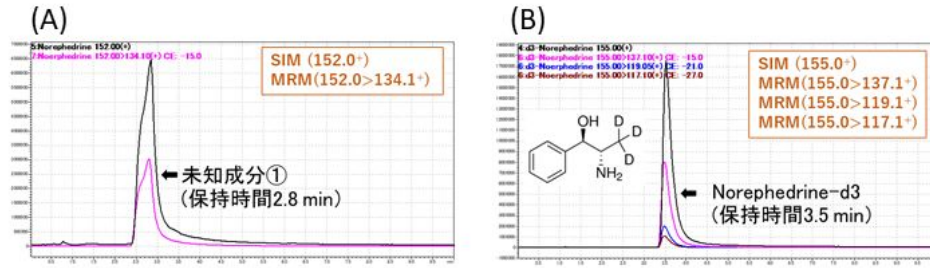


図9 Zenigalに含まれる未知成分①(A)とnorephedrine標準品(B)のSRMクロマトグラムの比較

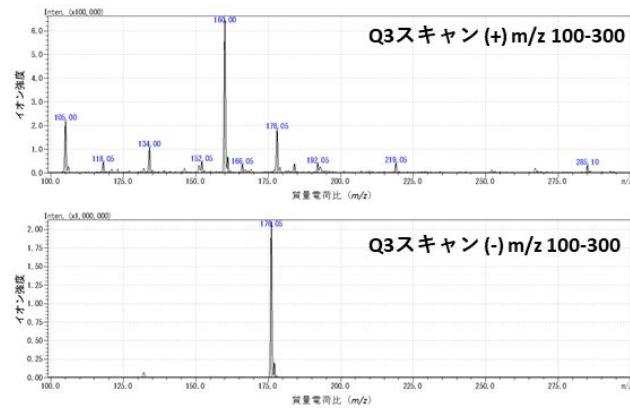


図10 未知ピーク (保持時間18分) のマススペクトル

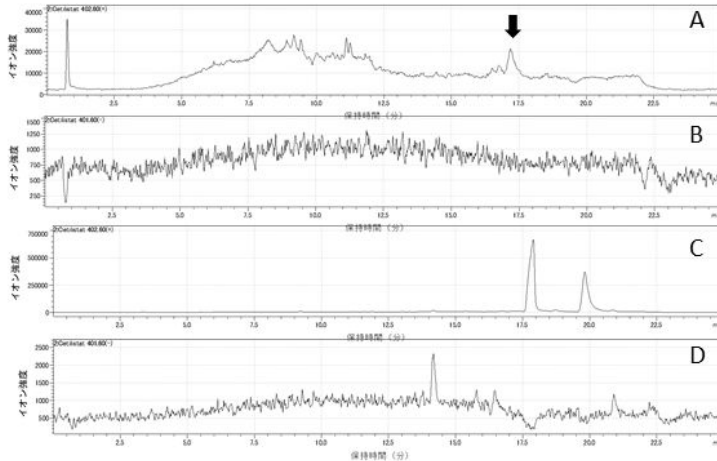


図11 セチリスタット標準溶液 (A, B) とZenigal (C, D) におけるSIMクロマトグラムの比較
A, CがSIM (+) クロマトグラム (m/z 402.60)、B, DがSIM (-) クロマトグラム (m/z 400.60) を示す

表2、Zenigalに含まれるsibutramineの定量

Sample	カプセルの内容量(mg)	シブトラミン含有量(ng)
Zenigal No.1	138.72	564.28
Zenigal No.2	142.68	590.71
Zenigal No.3	146.28	554.38
Zenigal No.4	146.22	499.12
Zenigal No.5	139.10	942.07
Zenigal No.6	145.70	619.17
Zenigal No.7	154.47	551.16
Zenigal No.8	149.45	712.47
Zenigal No.9	145.03	662.17
Zenigal No.10	146.29	656.59
平均	145.39	635.21
標準偏差	4.63	125.04

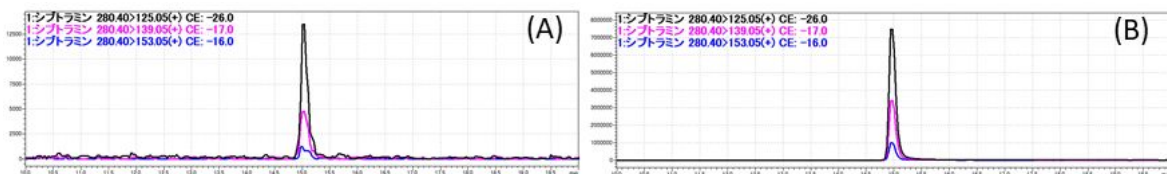


図12 Zenigalに含まれる未知成分④(A)とsibutramine標準品(B)のMRMクロマトグラムの比較