

厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)  
令和3年度 分担研究報告書

## インターネットで購入した痩身薬 Zenigal の 含有成分の定量に向けた検討

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)

### 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。当研究室では、以前より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 が、有効成分オルリスタットを含有しない偽造医薬品であることを高速液体クロマトグラフ (HPLC) /紫外吸光光度計を用いて明らかにした。昨年度、本医薬品を高速液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS) を用いて分析したところ、数種の未知成分の含有が確認され、2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B、Sibutramin と同定された。今年度は、2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B の定量系を構築することを目的とした。

#### 【方法】

Cetilistat impurity B、2-amino-5-methyl benzoic acid 標準品を購入し、MeOH に溶解して標準溶液とした。標準溶液を LCMS8040 (島津製作所) を用いて HPLC 条件の検討を行い、定量系を構築した。

#### 【結果】

2-amino-5-methyl benzoic acid (+)、Cetilistat Impurity B (-)、Cetilistat Impurity B (+) のそれぞれにおいて保持時間とピーク形状の良好な HPLC 条件を構築した。さらに感度が一番良い SRM トランジションを選択し、検量線を作成したところ、すべての検量線が良好な直線性を示した。

#### 【考察】

今回、インターネットで入手可能な抗肥満薬に含まれる非表示成分の LC/MS/MS を用いた定量系を構築した。さらに精度よく定量するためには、内部標準物質を用いた内部標準検量線の作成が必要であると考えられる。

## 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きている。

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。

H21 年度に、個人輸入を代行しているインターネット上の web サイトから、「やせ薬」や「ダイエット薬」を標榜している製品を購入し調査した結果、インドの製造会社より購入した「Zenigal」に有効成分であるオルリスタットが含有されておらず、別の未知成分が含有されている可能性が示唆された[1,2]。そこで、本研究では、「Zenigal」に含有されている未知成分の同定を LC/MS を用いて行うことを目的として研究を開始し、昨年度、未知物質ピークの化合物が 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B (図 1) であると同定した。

今年度は、「Zenigal」に含有されているこれらの非表示成分の定量系の構築を行った。

## B. 研究方法

標準品として、Cetilistat impurity B (Leap Labchem Co.,Ltd) と 2-amino-5-methyl benzoic acid (Combi blocks) を購入し、MeOH に溶解して標準溶液とした。標準溶液を LCMS8040 (島津製作所) を用いて下記に示す HPLC 条件①~③と MS 条件を組み合わせて分析した。

### <HPLC 条件①>

移動相： (A) 10 mM 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  $\mu$ m, 75 $\times$ 2.0 mm

注入量： 5  $\mu$ L

流量： 0.3 mL/分

タイムプログラム：

0-15 分：5-85% B, 15-20 分：85% B, 20-20.1 分：85-5% B, 20.1-25 分：5% B

カラムオープン： 40  $^{\circ}$ C

PDA 波長： 190-800 nm

### <HPLC 条件②>

移動相： (A) 0.1% ギ酸  
(B) 100%アセトニトリル

カラム： Shim-Pack, FC-ODS 3  $\mu$ m, 75 $\times$ 2.0 mm

注入量： 5  $\mu$ L

流量： 0.3 mL/分

タイムプログラム：

0-5 分：10-95% B, 5-15 分：95% B, 15-15.1 分：95-10% B, 15.1-20 分：10% B

カラムオープン： 40  $^{\circ}$ C

PDA 波長： 190-800 nm

#### <HPLC 条件③>

移動相： (A) 0.1% ギ酸  
(B) 100%アセトニトリル  
カラム： Shim-Pack, FC-ODS 3  $\mu\text{m}$ , 75  $\times$   
2.0 mm  
注入量： 5  $\mu\text{L}$   
流量： 0.3 mL/分  
タイムプログラム：  
0-2.5 分：10% B, 2.5-7.5 分：95% B, 7.5-  
15 分：95-10% B, 15-15.1 分：95-10% B,  
15.1-20 分：10% B  
カラムオープン： 40  $^{\circ}\text{C}$   
PDA 波長： 190-800 nm

#### <MS 条件>

イオン化法： エレクトロスプレーイオン  
化法  
測定モード： positive または negative ion  
mode  
インタフェース電圧：  $\pm 3.5$  kV  
キャピラリー温度： 250  $^{\circ}\text{C}$   
SRM トランジション：  
2-amino-5-methyl benzoic acid (MW：  
151.16) 152.00>134.10, 152.00>106.10,  
152.00>77.10  
Cetilistat Impurity B (MW：419.61)  
positive: 420.30>178.10, 420.30>160.10,  
420.30>134.00  
negative: 418.30>176.05, 418.30>132.05,  
418.30>42.20

### C. 研究結果

HPLC 条件①は溶媒 A に 10 mM ギ酸アン  
モニウム、溶媒 B にアセトニトリルを使用  
した。条件①で、標準品を測定したところ、  
2-amino-5-methyl benzoic acid は保持時間 2.6

分に、Cetilistat Impurity B は 17.6 分に溶出  
した (図 2)。2-amino-5-methyl benzoic acid の  
保持時間が 2.6 分と早い一方で、Cetilistat  
Impurity B の保持時間は 17.6 分と遅かった。  
また、2-amino-5-methyl benzoic acid のピー  
ク形状にリーディングが見られた。2-amino-  
5-methyl benzoic acid のピーク形状を改善す  
るため、移動相の pH を変更し、条件②とし  
て、溶媒 A に 0.1% ギ酸、溶媒 B に AcCN を  
使用した。条件②で、2-amino-5-methyl  
benzoic acid は 3.63 分に、Cetilistat Impurity  
B は 11.13 分に溶出した (図 3)。また、条  
件②では、2-amino-5-methyl benzoic acid の  
ピーク形状が改善した。しかし、2-amino-5-  
methyl benzoic acid の保持時間が、早いため、  
条件②からさらにグラジエントプログラム  
を改良し、条件③を構築した。条件③で、2-  
amino-5-methyl benzoic acid は 5.73 分に、  
Cetilistat Impurity B は 13.6 分に溶出した (図  
4)。ピーク形状も良好だったため、定量系の  
LC 分離条件として条件③を選択し、検量線  
を作成した。

2-amino-5-methyl benzoic acid (+)、Cetilistat  
Impurity B (-)、Cetilistat Impurity B (+) の  
それぞれにおいて感度が一番良い SRM ト  
ランジションを選択し、検量線を作成した  
ところ、すべての検量線が良好な直線性を  
示した (図 5)。

### D. 考 察

インターネットで入手可能な抗肥満薬  
Zenigal に含まれる非表示成分である  
Cetilistat impurity B および 2-amino-5-methyl  
benzoic acid の LC/MS/MS を用いた定量系を  
構築した。さらに精度よく定量するため  
には、内部標準物質を用いた内部標準検量線

の作成が必要であると考えられる。

## E. 結論

偽造医薬品 Zenigal に含まれる非表示成分 Cetilistat impurity B、2-amino-5-methyl benzoic acid の定量系を構築した。

今後、作成した検量線から Zenigal 1 カプセル中に含まれる 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B の定量を進めていく予定である。LC/MS は、偽造が疑われる医薬品中の未知の微量含有成分を同定・定量する有用な手段であると考えられる。

## F. 引用文献

- 1.Khan, M. H. et al. Public health concerns for anti-obesity medicines imported for personal use through the internet: a cross-sectional study. *BMJ Open* 2, e000854 (2012).
- 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

機器等レギュラと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—」

## G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

## 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. 実用新案登録  
なし

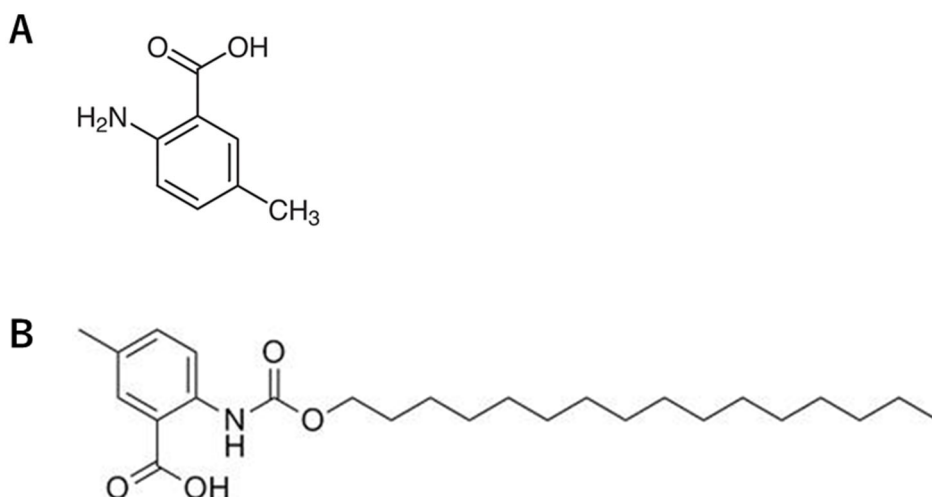


図 1 Zenigal に含まれる非表示成分の構造

A) 2-amino-5-methyl benzoic acid、B) Cetilistat impurity B

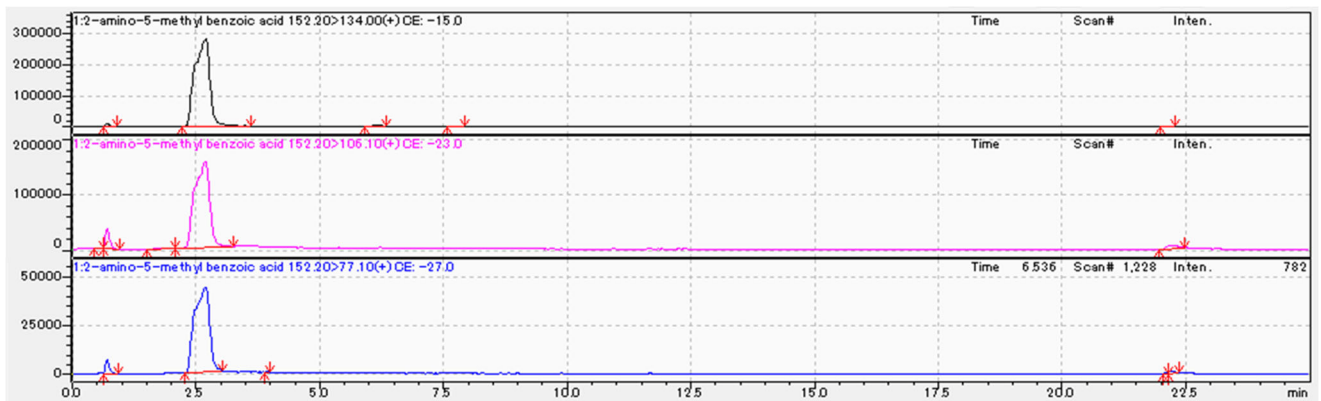
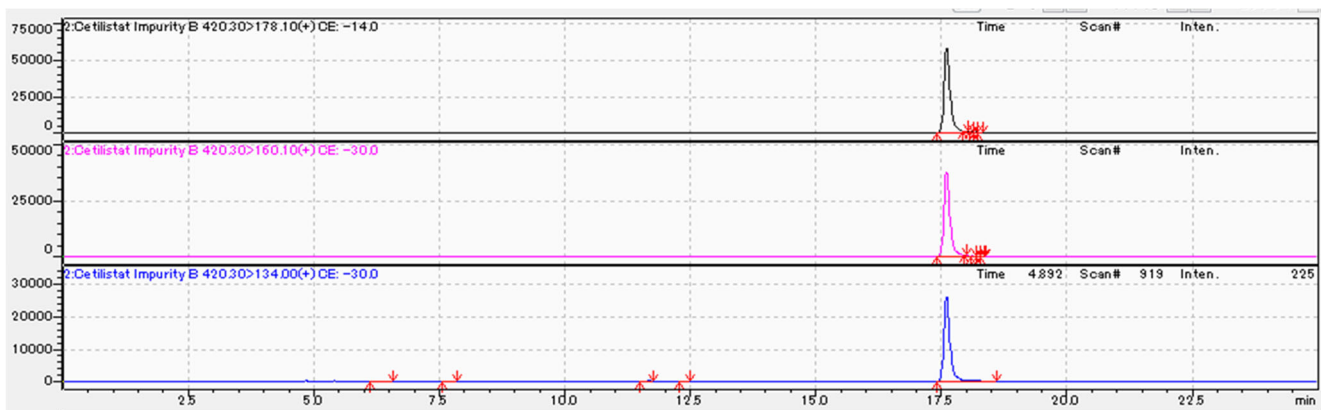
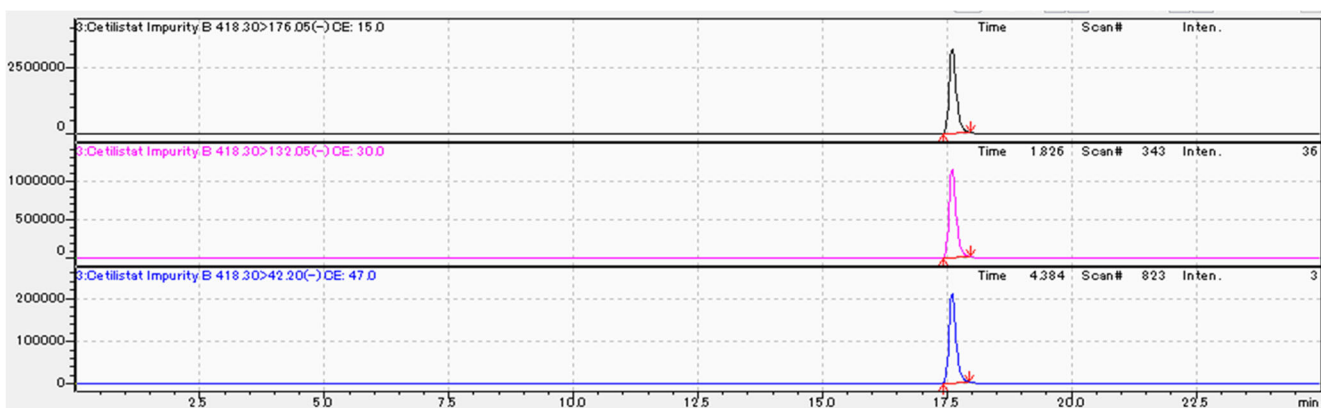
**A****B****C**

図 2 HPLC 条件①での Zenigal に含まれる非表示成分のマスキロマトグラム  
 A) 2-amino-5-methyl benzoic acid、B) Cetilistat impurity B (+)、C) Cetilistat impurity B (-)

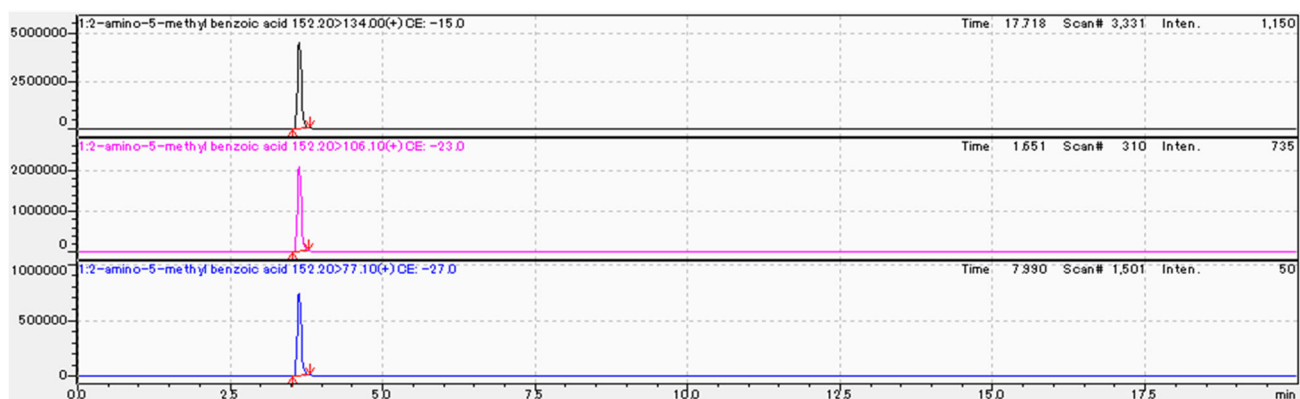
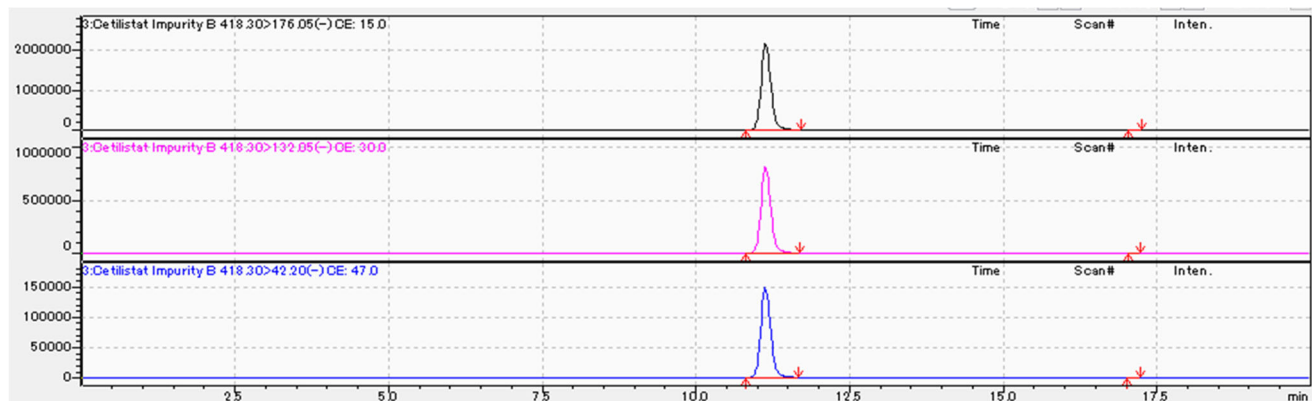
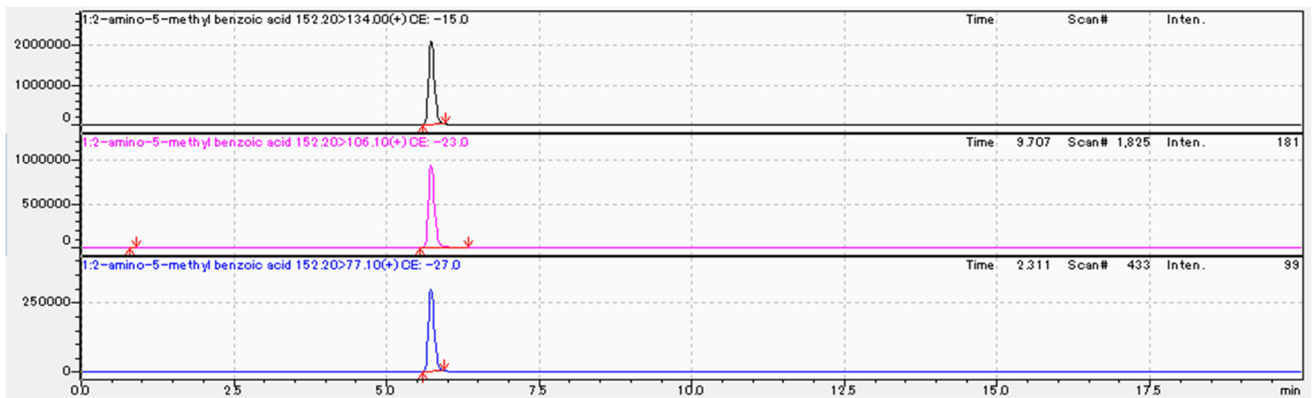
**A****B****C**

図 3 HPLC 条件②での Zenigal に含まれる非表示成分のマスキングマトグラム  
A) 2-amino-5-methyl benzoic acid、B) Cetilistat impurity B (+)、C) Cetilistat impurity B (-)

A



B



C

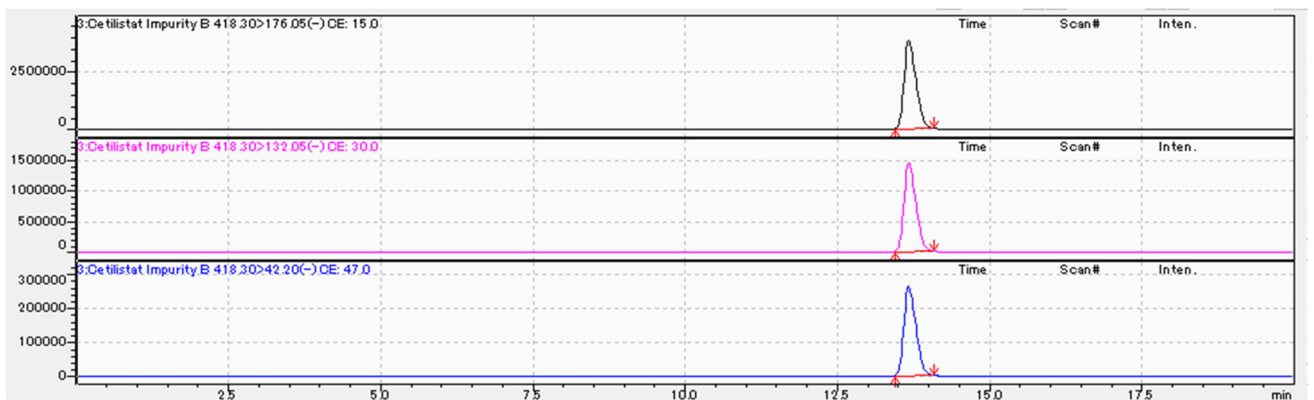
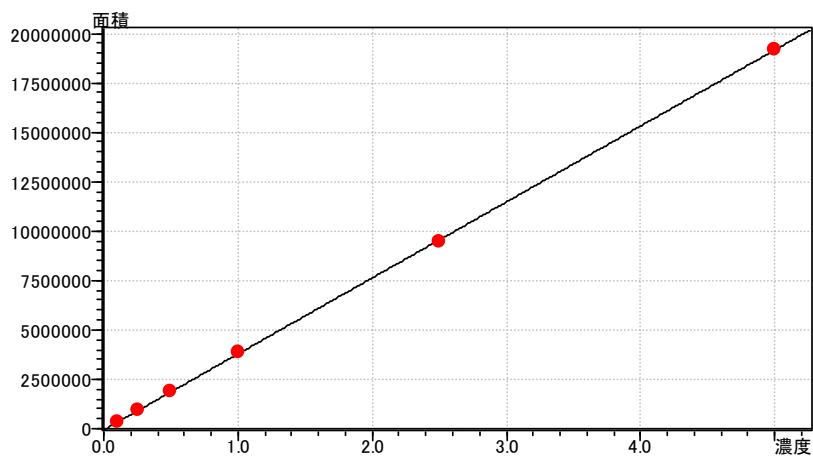


図 4 HPLC 条件③での Zenigal に含まれる非表示成分のマスキングマトグラム

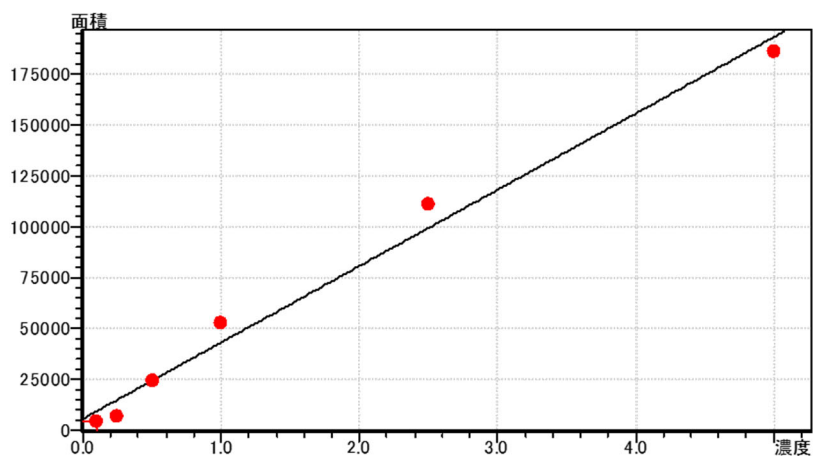
A) 2-amino-5-methyl benzoic acid、B) Cetilistat impurity B (+)、C) Cetilistat impurity B (-)

A



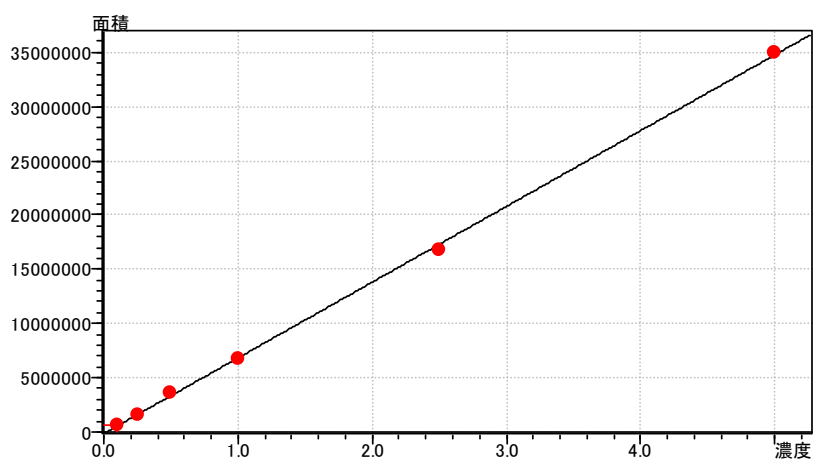
$$Y=3.84465e+006X-60737.7$$
$$R^2=0.9999384$$
$$R=0.9999692$$

B



$$Y=37458.2X+5724.65$$
$$R^2=0.9858346$$
$$R=0.9928921$$

C



$$Y=6.98271e+006X-152157$$
$$R^2=0.9995618$$
$$R=0.9997809$$

図 5 LC/MS/MS による Zenigal に含まれる非表示成分標準品の検量線  
A) 2-amino-5-methyl benzoic acid、B) Cetilistat impurity B (+)、C) Cetilistat impurity B (-)