

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4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 非表示含有成分の定量

分担研究者 高橋知里 (同志社女子大学薬学部)
前川京子 (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 の定量を目的とした。

【方法】

2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B 標準品を購入し、MeOH に溶解して標準溶液とした。選択反応モニタリング法による定量系を用いて、1 カプセルあたりの含有量を算出した。

【結果】

1 カプセル中の 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B 含有量を定量したところ、2-amino-5-methyl benzoic acid は平均 1.3 mg (0.9 %)、Cetilistat Impurity B は、平均 18.8 mg (13%) であった。

【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 を用いた定量系を行った。Zenigal に含有される 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B は、微量であり、また、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、含まれていた 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B は非常に微量であったことから、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。

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、誤った情報も混在している。

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を行った。

B. 研究方法

B.1. 標準溶液の調製

標準品として、Cetilistat impurity B (LEAPChem Co.,Ltd, Hong Kong, China)、2-amino-5-methyl benzoic acid (Combiblocks Inc., San Diego, CA. USA) および内部標準物質としてパラオキシ安息香酸ブチル (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan) を購入した。それぞれを MeOH に溶解して 100 μ M 標準溶液とした。100 μ M Cetilistat Impurity B 溶液、100 μ M 2-amino-5-methyl benzoic acid 溶液、各 1mL に内部標準物質として、10 μ M パラオキシ安息香酸ブチル 1mL、MeOH 8 mL をそれぞれ加え、1 μ M パラオキシ安息香酸ブチルを含む 10 μ M の Cetilistat Impurity B 溶液、10 μ M の 2-amino-5-methyl benzoic acid 溶液を調製した。10 μ M の Cetilistat Impurity B 溶液 500 μ L、10 μ M の 2-amino-5-methyl benzoic acid 溶液 500 μ L を混合し、5 μ M Cetilistat Impurity B、2-amino-5-methyl benzoic acid 溶液を調製した。本溶液を段階希釈して最終濃度 2.5, 1, 0.5, 0.25, 0.1, 0.05, 0.025 μ M となるように内部標準溶液を調製した。

B.2. 試料溶液の調製

Zenigal 10 カプセル (No. 1~No. 10) 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 2 倍希釈後、さらに 100 倍希釈した。この 100 倍希釈した溶液 10 μ L に IS として 100 μ M パラオキシ安息香酸ブチル 10 μ L と 980 μ L の MeOH を加え、試料溶液とした。

B.3. 質量分析計測定条件

試料溶液及び標準溶液を、LCMS-8040 (SHIMADZU CORPORATION, Kyoto) を用いて下記に示す HPLC 条件と MS 条件を組み合わせて分析した。標準溶液から得た検量線を用いて、試料溶液の 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B のピーク面積値から試料溶液に含まれる 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B の濃度を求め、1 カプセルあたりの 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B 含有量を算出した。

<HPLC 条件>

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 μ m, 75 \times 2.0 mm

注入量：5 μ 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

カラムオーブン：40 $^{\circ}$ 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

インタフェイス電圧： \pm 3.5 kV

キャピラリー温度：250 $^{\circ}$ C

SRM トランジション：

2-amino-5-methyl benzoic acid (M : 151.16)

positive: 152.20>134.00

Cetilistat Impurity B (MW : 419.61)

negative : 418.30>176.05

パラオキシ安息香酸ブチル(M : 194.23)

positive: 195.10>139.00

C. 研究結果

Cetilistat impurity B、2-amino-5-methyl benzoic acid および内部標準物質パラオキシ安息香酸ブチルの SRM クロマトグラフを図 2 に示す。標準溶液により作成した各成分の検量線の一例を図 3 に示す。回帰直線の相関係数 (R^2) は全て 0.99 以上であり良好な直線性を示した。得られた検量線を用いて Zenigal カプセル中に含まれる Cetilistat impurity B と 2-amino-5-methyl benzoic acid を定量した。試験を実施した Zenigal 10 カプセル (No. 1~No. 10) すべてに 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B が含まれていた。1 カプセル中に含まれる 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B を定量したところ、Zenigal1 カプセル中に含まれる 2-amino-5-methyl benzoic acid は平均 1.3 mg (0.9%)、Cetilistat Impurity B は、平均 18.8 mg (13%) であった (表 1)。

D. 考察

定量結果より、Zenigal に含有される 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B は、微量であり、また、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、含まれていた 2-amino-5-methyl benzoic acid、Cetilistat Impurity B は非常に微量なことから、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。

Cetilistat Impurity B は Cetilistat の合成中間体であり、Cetilistat の不純物の一種である。Cetilistat 製剤であるオブリーン（国内承認済、未発売）は、1回 120 mg を 1日 3回 毎食直後に経口投与となっている。Cetilistat Impurity B に薬効があるか否かに関する報告は見出せなかった。仮に Cetilistat Impurity B に Cetilistat と同等の薬効があったとしても、用法用量の約 1/7 の含有量であり、肥満症の治療薬として使用される場合の用量と比べると痩身効果が得られるほどの量ではないと考えられる。

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 の定量を行った。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

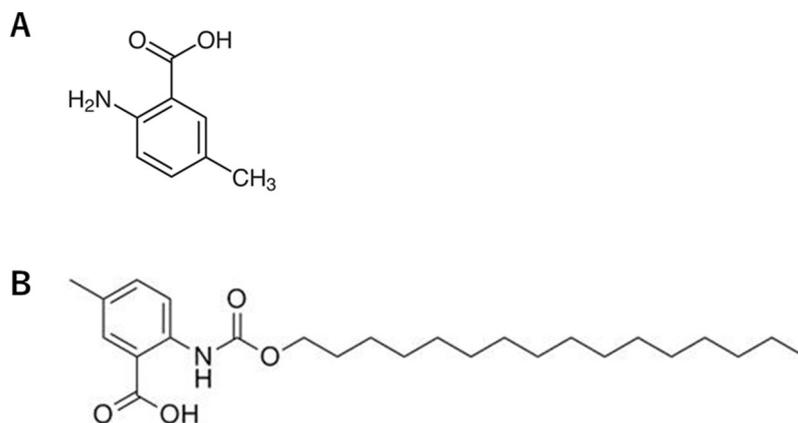


図 1 Zenigal に含まれる非表示成分の構造

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

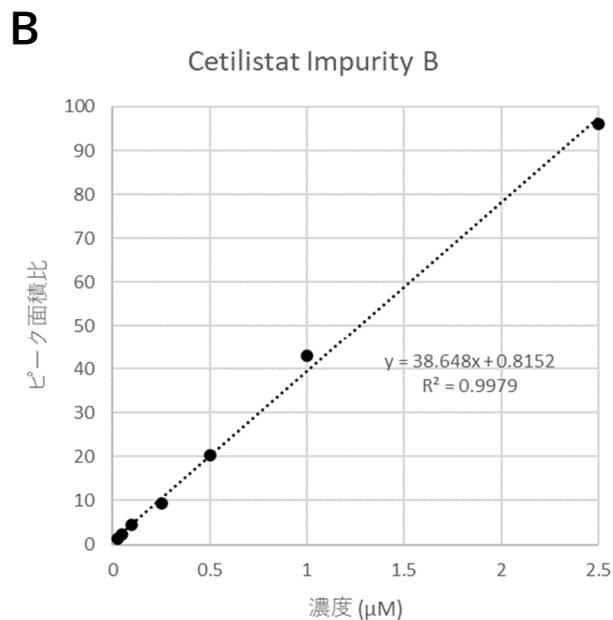
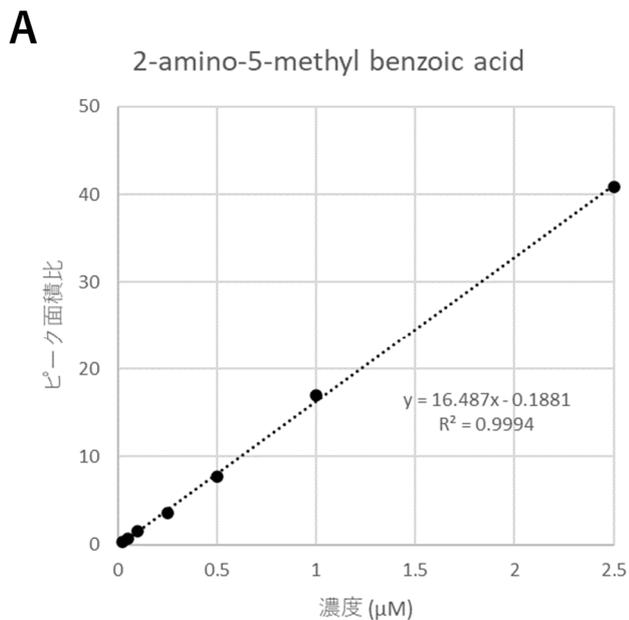


図 3 LC/MS/MS による Zenigal に含まれる非表示成分標準品の検量線

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

表 1 Zenigal1 カプセル中に含まれる 2-amino-5-methyl benzoic acid の定量結果

カプセル	内容量 (mg)	2-amino-5-methyl benzoic acid 含有量 (mg)	2-amino-5-methyl benzoic acid 含量 (%)	Cetilistat Impurity B 含有量 (mg)	Cetilistat Impurity B 含量 (%)
1	138.72	1.17	0.84	18.00	12.98
2	142.68	1.22	0.86	17.83	12.50
3	146.28	1.32	0.90	20.64	14.11
4	146.22	1.18	0.80	17.58	12.02
5	139.1	1.20	0.86	17.00	12.22
6	145.7	1.19	0.82	17.81	12.22
7	154.47	1.34	0.87	18.72	12.12
8	149.45	1.61	1.08	22.15	14.82
9	145.03	1.40	0.96	19.47	13.43
10	146.29	1.46	1.00	19.26	13.17
平均	145.394	1.31	0.90	18.84	12.96