

インターネットを介して個人輸入される医薬品の実態調査 (4) セマグルチド測定系の構築について

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)
徳川宗成 (同志社女子大学薬学部)
北尾美結 (同志社女子大学薬学部)
長谷川結依 (同志社女子大学薬学部)

研究要旨

【目的】

ヒトグルカゴン様ペプチド-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 類縁体であるセマグルチドは、2 型糖尿病、または肥満症を効能又は効果として本邦で承認されている。一方で、糖尿病治療薬が個人輸入や医療機関などで痩せ薬として適応外使用されている実態がある。個人輸入によって入手された医薬品には、偽造医薬品をはじめ低品質医薬品等の混在や不適正使用の加速等、保健衛生上の危険性がある。セマグルチドの偽造品や品質不良品が個人輸入される可能性があることから、本研究では、インターネット上に流通するセマグルチド製剤を試買し、品質を調査することを目的とし、セマグルチドの定量法を構築した。

【方法】

セマグルチド、および内部標準として使用するリラグルチドの標品をメタノールに溶解し、精密質量が測定可能なフーリエ変換型質量分析計 (MS) により MS スペクトルを確認した。逆相カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー (LC) と組み合わせた LC/MS 法により、セマグルチド標品の段階希釈溶液について、容器への吸着や検出限界を評価した。絶対検量線法、もしくは内標準法により検量線を作成し、直線性を確認した。錠剤からのセマグルチド抽出時に用いる抽出溶媒の違いが抽出効率に与える影響を検討した後、内標準法による検量線を用いてリベルサス®錠に含まれるセマグルチドを定量した。リベルサス錠の試買品 4 種に含まれるセマグルチドを正規品に対する含量比として算出した。

【結果】

セマグルチド標品の MS スペクトルを確認したところ、 m/z 1029.2901 が主要なイオンであり、 $[M+4H]^{4+}$ イオンとして検出された。セマグルチド標品のメタノール (MeOH) による段階希釈溶液をプロピレンバイアルで LC/MS 測定を行ったところ 0.3 nM から検出可能であり、3,000 nM まで直線性が認められた。一方、同じ溶液をガラスバイアルで測定すると 300 nM からセマグルチドのピークが検出されたものの、直線性は認められず、セマグルチ

ドがガラスバイアルに吸着されたことが示唆された。標品として Semaglutide sodium、Semaglutide acetate、Semaglutide を比較したところ、用いる標品により同一濃度の検量点におけるセマグルチドのピーク面積値には差が認められた。一方、いずれの標品を用いた場合でも検量線は、絶対検量線法、内標準法において良好な直線性を示した。

リベルサス®錠からセマグルチドの抽出において、蒸留水で抽出した試料溶液は、MeOHで抽出した試料溶液と比較して、検出されたセマグルチドのピーク面積が大きく、溶媒により抽出効率に差が生じることが示唆された。内標準法によるセマグルチド検量線を用いて正規品リベルサス®錠を定量したところ、理論値通りの定量値が得られた。試買品 4 種について、正規品との比較により求めたセマグルチドの含量%は、97.3%から 143.3%の範囲にあった。

【考察】

多くのペプチド試料と同様に、セマグルチド定量法の構築にあたり吸着への対策が必要であることが示された。試買品のセマグルチド含量が、正規品より高く算出された理由は不明であるが、錠剤からセマグルチド抽出時に、ばらつきが生じている可能性が考えられる。今後は、抽出条件も含め、定量法のさらなる改変が必要である。

A. 研究目的

セマグルチドは、遺伝子組換えヒトグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) 類縁体であり、31 個のアミノ酸残基からなる修飾ペプチドである[1]。GLP-1 は小腸の L 細胞から分泌されるインクレチンホルモンの 1 種であり、グルコース濃度依存的にインスリン分泌を促進し、血糖降下作用を示す。セマグルチドは、ヒト GLP-1 と 94%の構造的な相同性を有し、化学構造に重要な修飾を加えたことで安定性を高め、2 型糖尿病治療薬として開発された。リベルサス®錠は 2 型糖尿病の治療において利便性を高めるため、セマグルチドを経口投与可能とした製剤である。本剤は、吸収促進剤であるサルカプロザートナトリウム (sacaprozate sodium, SNAC) を 1 錠当たり 300 mg 含有することで経口投与を可能としている[2]。吸収促進剤である SNAC は、胃上皮で多量体を形成したセマグルチドを単量体へと変化させるとともに

に pH を局所的に上昇させ、タンパク質分解酵素による分解からセマグルチドを保護し、吸収を促進する。リベルサス®錠は、米国、カナダ、欧州諸国を始め、世界各国で発売されている。セマグルチドの副作用として、胃腸障害が多く報告されている[1]。

糖尿病治療薬が個人輸入や医療機関などで美容・痩身・ダイエット等を目的として適応外使用されている。GLP-1 受容体作動薬に関しては、「GLP-1 ダイエット」と称して広告を出し、自由診療として使用している事例が報告されている[3]。インターネットを介した医薬品の個人輸入は、日本における偽造医薬品の主な侵入ルートであり、個人輸入医薬品には保健衛生問題が伴う。本研究では、インターネット上に流通するセマグルチド製剤を試買し、品質を調査することを目的とした。まずは、文献報告[4]を基に、液体クロマトグラフィー-質量分析計 (LC/MS) を用いてセマグルチドの定量系

の構築を行った。

B. 研究方法

B-1 試料

標品として、Selleck Biotechnology 社 (Kanagawa, Japan) より Semaglutide sodium 1 mg (S9697, 現在の cat# E7333, Batch, S969701)と Semaglutide 1 mg (S9697, Batch, S969702)を購入した。AdipoGen Life Sciences 社 (San Diego, USA) より Semaglutide acetate 1 mg (AG-CP3-0032, Lot AQ1634)、および Liraglutide 1 mg (#AG-CP3-0034, Lot A01720) を購入した。リベルサス[®]錠 (正規品) は、3MG 製剤 (製造番号 MJG6999) を購入し、定量系の構築のためのポジティブコントロールとして用いた。インターネットで試買した21サンプルのリベルサス錠 (3 mg 錠) のうち、4サンプルを定量に使用した。

B-2 LC/MS による測定系の構築

B-2-1 ダイレクトインフュージョン法、および LC を用いた MS スペクトルの確認

Semaglutide sodium および Liraglutide をメタノール (MeOH) で溶解し、1 mg/mL のストック溶液を調製した。ストック溶液をさらにメタノールで希釈し、それぞれ 1.0 μ M の標準溶液を調製した。標準溶液を、ダイレクトインフュージョン (10 μ L/min) 法による直接導入、もしくは液体クロマトグラフィー (UltiMate 3000 HPLC システム, Thermo Scientific[™], Massachusetts, USA) による分離を行った後、Q Exactive システム (Thermo Scientific[™]) の Full Scan モードで測定した。LC の分離条件、および MS 測定条件は下記の通りとした。

<LC 条件>

移動相: (溶媒 A) 0.1% ギ酸溶液 (溶媒

B) 0.1% ギ酸含有アセトニトリル

カラム: Xselect Premier CSH C18 3.5 μ m
2.1 x 150 mm (Waters, Tokyo, Japan)

注入量: 2 μ L

流量: 0.3 mL/min

Needle Wash: 80% MeOH

タイムプログラム: 0-7 min: 30%-90% B,
7-12 min: 90% B, 14-14.10 min: 95-30% B,
12.01-18 min: 30% B

カラムオーブン: 50 $^{\circ}$ C

<MS 条件>

イオン化法: 加熱エレクトロスプレーイ
オン化 (H-ESI) 法

測定モード: Target Single ion monitoring
(Target SIM) または Full scan

Target ion: セマグルチド ($C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$)
[M+ 4H]⁴⁺, m/z 1029.2876 (Positive)

リラグルチド ($C_{172}H_{265}N_{43}O_{51}$): [M+ 4H]⁴⁺,
m/z 938.7453 (Positive)

サルカプロザートナトリウム
($C_{15}H_{21}NO_4$): [M+ H]⁺, m/z 280.1543
(Positive)

分解能: 70000

シースガス: 窒素

シースガス流量: 50 arb unit

AUX ガス: 窒素

AUX ガス流量: 10 arb unit

スプレー電圧: +3.5 kV

バンプライザ温度: 300 $^{\circ}$ C

キャピラリー温度: 250 $^{\circ}$ C

S-Lens level: 50

In-source CID: 0.0 eV

AGC target: 5e⁴

Maximum IT: 200 ms

Qual Browser (Thermo Scientific™) または Quan Browser (Thermo Scientific™) により解析を行った。

B-2-2 セマグルチド標品の吸着と定量下限の確認

Semaglutide sodium を MeOH で溶解し、1 mg/mL のストック溶液を調製した。ストック溶液をさらに MeOH で希釈し、それぞれ 10.0 μ M の標準溶液を調製した。標準溶液を MeOH で段階希釈し、3000, 1000, 300, 100, 30, 10, 3, 1, 0.3 nM の 9 点からなる希釈系列を作成した。希釈溶液は、ガラスバイアル、またはポリプロピレンバイアルに移し、B-2-1 と同様の条件で LC/MS により Single ion monitoring (SIM) モードで測定した。

B-2-3 絶対検量線法による検量線の作成

1 mg/mL の濃度で MeOH に溶解した Semaglutide sodium、および 0.66 mg/mL の濃度で MeOH : water = 2:1 に溶解した Semaglutide acetate の 1 次ストック溶液を、MeOH を用いて 10 μ M に希釈した。直ちに、0.1% ギ酸含有 50%アセトニトリル溶液を希釈溶媒として、32, 16, 8, 4, 2, 1 nM まで段階希釈し、絶対検量線溶液とした。また、Semaglutide sodium 10 μ M を 2 次ストック溶液として、-30°C に数日保管した後、0.1% ギ酸含有 50%アセトニトリル溶液を希釈溶媒として、32, 16, 8, 4, 2, 1 nM まで段階希釈して絶対検量線溶液とした。LC の分離条件は下記の通り (タイムプログラム 1) とし、MS 測定条件は方法 B-2-1 と同様にした。

<LC 条件>

移動相 : (溶媒 A) 0.1% ギ酸 : 0.1% ギ酸
アセトニトリル = 8 : 2

(溶媒 B) 0.01% ギ酸アセトニトリル : 2-
プロパノール = 9 : 1

カラム : Xselect Premier CSH C18 3.5 μ m
2.1 x 150 mm (Waters, Tokyo, Japan)

注入量 : 2 μ L

流量 : 0.3 mL/min

Needle Wash : 50% アセトニトリル

タイムプログラム 1 (絶対検量線法) : 0-
7 min: 0-60% B, 7-7.01 min: 60-90% B,
7.01- 12 min: 90% B, 12-12.01 min: 90-
0% B, 12.01-18 min: 0% B

タイムプログラム 2 (内標準法) : 0-7 min:
20-60% B, 7-7.01 min: 60-90% B, 7.01-
12 min: 90% B, 12-12.01 min: 90-20%
B, 12.01-18 min: 20% B

タイムプログラム 3 (内標準法) : 0-7 min:
30-90% B, 7- 12 min: 90% B, 12-12.01
min: 90-30% B, 12.01-18 min: 30% B

カラムオーブン : 50°C

B-2-4 内標準法による検量線の作成

各標準品の溶解性に基づき、1 mg/mL の濃度で MeOH に溶解した Semaglutide sodium、および 0.2 mg/mL の濃度で DMSO : MeOH=9 : 1 に溶解した Semaglutide を 1 次ストック溶液とした。これらのストック溶液を 10 μ M まで MeOH で希釈した後、500 nM リラグルチド MeOH 溶液を混合し、1 μ M セマグルチド、50 nM リラグルチド混液を調製した。直ちに 50 nM リラグルチドを含む MeOH 溶液により段階希釈を行い、1, 2, 4, 8, 16, 32 nM セマグルチドに調製した。LC の分離条件は B-2-3 (タイムプログラム 3) とし、MS 測定条件は B-2-1 と同様

にした。

B-3 錠剤からのセマグルチド抽出と定量

B-3-1 抽出溶媒の検討

リベルサス®錠 3 mg を 1 個とり、その質量を精密に量り、ポリプロピレンの 5 mL チューブに加えた。5 mL チューブに抽出溶媒を 3 mL 加えて、約 1 日冷蔵庫で溶解させた (1.0 mg セマグルチド/mL, 243.1 μ M)。抽出溶媒として、蒸留水、MeOH、0.1% Triton X-100 の 3 種を検討した。翌日、超音波を用いて粒子を小さく分散させた後、遠心分離し (4,300 rpm、4°C、30 min)、上清を新しい 1.5 mL チューブ 2 本に回収した。2 本を遠心分離し (12,000 rpm、4°C、15 min)、上清を 1 つの新しい 5 mL チューブに回収した。この液に溶媒を加えて 24.3 倍希釈し (10 μ M)、さらに溶媒を加えて 10 倍希釈した (1 μ M)。0.2 μ m のナイロンフィルターで濾過した (12,000 rpm、4°C、2 min)。0.1% ギ酸含有 50%アセトニトリル溶液を加えて 9 nM まで希釈し、測定に供した。LC の分離条件、および MS 測定条件は、B-2-1 と同様にした。

錠剤からの抽出溶液に含まれる SNAC は、B-2-3 (タイムプログラム 2) の LC 条件で分離し、質量分析計の full scan モードにより測定した。

B-3-2 正規品からの抽出と定量

リベルサス®錠 3 mg を 1 個とり、その質量を精密に量り、ポリプロピレンの 5 mL チューブに加えた。5 mL チューブに蒸留水を 3 mL 加えて、約 1 日冷蔵庫で溶解させた (1.0 mg セマグルチド/mL, 243.1 μ M)。翌日、超音波を用いて粒子を小さく分散させた後、遠心分離し (4,300 rpm、4°C、30 min)、

上清を新しい 1.5 mL チューブ 2 本に回収した。2 本を遠心分離し (12,000 rpm、4°C、15 min)、上清を 1 つの新しい 5 mL チューブに回収した。この液に MeOH を加えて 24.3 倍希釈し、10 μ M セマグルチドとした。さらに 500 nM リラグルチド溶液と混合し、1 μ M セマグルチド、50 nM リラグルチド混液を調製した。直ちに 50 nM リラグルチドを含む MeOH 溶液により段階希釈を行い、理論上 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 nM セマグルチドを含む溶液とした。B-2-4 に示す内標準法により作成した検量線を用いて、リベルサス®錠に含まれるセマグルチドを定量した。なお、試買品の定量では、検量線は使用せず、セマグルチドのピーク面積を正規品と比較した。LC の分離条件は B-2-3 (タイムプログラム 3) とし、MS 測定条件は B-2-1 と同様にした。

C. 研究結果

C-1 LC/MS による測定系の構築

C-1-1 ダイレクトインフュージョン法、および LC を用いた MS スペクトルの確認

セマグルチド ($C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$) の構造を図 1 に示す。セマグルチドは、31 個のアミノ酸残基からなる修飾ペプチドであり、分子量は 4113.58、モノアイソトピック質量は 4111.1153770 である。Lee TS らは、LC-MS/MS を用いてセマグルチド投与ラットの血漿中濃度を定量しており、 $[M+4H]^{4+}$ のイオン (m/z 1029.3) が主要なイオンであると報告している[4]。ダイレクトインフュージョン測定により、セマグルチド標準品のマススペクトルを確認したところ、 m/z 1029.2901 が主要なイオンであり、文献報告との一致を認めた (図 2)。

さらに、 $C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$ の組成式で、 $[M+4H]^{4+}$ のアイソトープパターンをシミュレーションし、実測のスペクトルとシミュレーション結果を比較した。実測値 (m/z 1029.2901) と理論値 (m/z 1029.2876) の質量誤差は 2.42 ppm であり、許容範囲であった (図 3)。

逆相カラムを用いた LC/MS 条件下でのセマグルチド標品 1 μ M および内部標準として使用予定のリラグルチド標品 1 μ M の MS クロマトグラム、および MS スペクトルを図 4 に示す。方法に記載の分離条件で、セマグルチドは保持時間 3.94 分に、リラグルチドは保持時間 4.42 分に対称性のよいピーク形状で検出され、両者を分離可能であった。

C-1-2 セマグルチド標品の吸着と定量下限に関する確認

ペプチド試料を LC/MS で検出する場合に問題となるのが容器へのペプチド試料の吸着である[5]。セマグルチドがどの程度吸着するのかを確認するため、低濃度域までの標品の希釈系列を作成し、ガラスバイアルと、ポリプロピレンバイアルで測定して結果を比較した。0.3–3,000 nM 範囲で作成したセマグルチドの検量線を図 5 に示す。ガラスバイアルで測定した検量線溶液では、300 nM からセマグルチドのピークが検出されたものの、直線性が認められなかった (図 5a)。一方、ポリプロピレンバイアルで測定すると、0.3 nM から s/n 比 62 でピークが検出され (図 5c)、3,000 nM まで検量線の直線性 (R^2 値 = 1.0000) が認められた (図 5b)。

C-1-3 絶対検量線法による検量線の作成

セマグルチド標品は、Selleck 社からナトリウム塩として Semaglutide sodium が、AdipoGen 社から酢酸塩として Semaglutide acetate が購入可能であった。両者の標品を用いて 1.0–32.0 nM の範囲で検量線を作成し、検量線の傾きを比較した。Semaglutide acetate 標品で作成した検量線の傾きは、Semaglutide sodium 標品で作成した検量線の傾きの約 1.2 倍となった (図 6)。

一方、同じ Semaglutide sodium 標品を用いた場合でも、1 次ストック溶液 (1.0 mg/mL) から希釈した場合に比べ、2 次ストック溶液 (10 μ M) から希釈した場合は、検量線の傾きは約 1/2 に低下した (図 7)。2 次ストック溶液に含まれるセマグルチドが、保存中に容器へ吸着したことが予想された。

C-1-4 内標準法による検量線の作成

セマグルチド標品は、Selleck 社からナトリウム塩として Semaglutide sodium が販売されているが、最近、フリー体である Semaglutide が販売された。リベルサス®錠のインタビューフォームによると錠剤に含まれるセマグルチドは、フリー体 (分子式 : $C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$ 、分子量 : 4113.58) と考えられた[1]。そこで、フリー体とナトリウム塩の両者の標品を用いてリラグルチドを内部標準物質とする内標準法により、検量線を作成して比較した。両検量線ともに 1.0–32.0 nM の範囲で良好な直線性が認められた。しかし、各検量点におけるセマグルチドのピーク面積値は、フリー体の標品が、ナトリウム塩の標品と比較して 3–4 倍高値であった (図 8)。

C-2 リベルサス®錠に含まれるセマグルチドの定量

C-2-1 抽出溶媒の検討

図 9 にリベルサス®錠から抽出されたセマグルチドのクロマトグラム、MS スペクトルを示す。いずれの抽出溶媒を用いた場合も終濃度として 9.0 nM のセマグルチドを含む希釈条件で測定したが、蒸留水を抽出溶媒に用いた際のピーク面積が最も大きく、続いて、0.1% Triton X-100、MeOH の順に検出されるピーク面積は減少した。抽出溶媒以外の抽出条件は同じであること、抽出後は、LC/MS 測定に供する 9.0 nM までの希釈に同じ希釈溶液を用いたことから、容器への吸着や MS のイオンサプレッションの程度は同等と考えられた。よって抽出溶媒によりセマグルチドの抽出効率が異なることが示唆された。

また、錠剤からの抽出溶液中に添加剤 SNAC が検出されることを Full scan により確認した (図 10)。SNAC の保持時間は、内標準溶液であるリラグルチドと保持時間と近接しており、SNAC のピークが非常に大きいと、リラグルチドのイオン化に影響を与えている可能性が示唆された。

C-2-2 正規品からの抽出

図 11 に Semaglutide 標品 (フリー体、検量点 4.0 nM)、およびリベルサス®錠 (セマグルチド理論値 4.0 nM) から抽出されたセマグルチドと内部標準物質リラグルチドの SIM クロマトグラムを示す。本測定条件では、セマグルチドは保持時間 1.45 分に、リラグルチドは保持時間 2.81 分に、SNAC は、保持時間 3.34 分に検出された。リラグルチドは全サンプルに同濃度を添加して

いるが、その面積値は、標品サンプルと比較して錠剤サンプルが低く、錠剤に含まれる成分によるイオンサプレッションを受けている可能性が示唆された。

内標準法による検量線を用いたリベルサス®錠の定量結果を図 12 に示す。理論上 4 nM, 8 nM のセマグルチドを含む抽出溶液は、それぞれ 3.81 nM, 7.83 nM と定量され、理論値に対する定量値の割合 (%) は、それぞれ 95.3%, 97.9%であり、ほぼ理論値通りの定量値が得られた。

C-2-3 インターネットで購入した錠剤に含まれるセマグルチドの定量

インターネットで試買したリベルサス錠 3 検体のセマグルチド含量を正規品と比較した (図 13)。理論上 4 nM のセマグルチドを含む試買品 2~4 のセマグルチド含量は、正規品に対してそれぞれ 129.5%, 143.3%, 97.3%, 127.4%と算出された。

D. 考察

精密質量が測定可能なフーリエ変換型質量分析計を用いて、セマグルチドの測定系を構築した。フーリエ変換型質量分析計は、三連四重極型質量分析計と異なり、フラグメントイオンの探索やコリジョンエネルギーの最適化が不要であり、メソッドの構築が容易であった。用いた逆相カラムは、ペプチド分析用ではないものの金属吸着を防ぐ特殊処理を施したクロマト管に充填されており、0.1%ギ酸を含有する水-アセトニトリル系の移動相を用いてセマグルチドを優れたピーク形状で検出することが可能であった。さらに、構造が類似した GLP-1 受容体作動薬のリラグルチドが内部

標準物質として使用できる可能性が示された。

多くのペプチド試料で報告されているように、セマグルチド定量法の構築にあたり吸着への対策が必要であることが示された。標品を調製する容器が同じであれば、その表面積は一定で吸着される分子の量も一定と考えられるため、濃度が高いときには分子全体に対する吸着した分子の量は小さく、低濃度になればなるほど吸着する分子の量の全体量に対する割合は大きいと考えられる。3,000 nM セマグルチドはガラスバイアルとポリプロピレンバイアルで、ほぼ同等のピーク面積を与えたが、30 nM セマグルチドはガラスバイアルでは検出できなかった。ポリプロピレンバイアルでは、0.3 nM セマグルチドが s/n 比>50 で検出され、フーリエ変換型質量分析計により、高感度で測定できることが示された。リベルサス®錠は多量の添加剤を含んでいることから、LC/MS の利点を活かして、できるだけ試料を低濃度で高感度に分析し MS への汚れの混入を低減することが望ましい。吸着への対策を行った結果、検量線は良好な直線性を示した。また、検量線の作成にあたり、標品のストック溶液の濃度をできるだけ高くして保管する、もしくは定量ごとに標品を溶解して検量線を作成する必要があることが明らかになった。

セマグルチド標品として、ナトリウム塩、酢酸塩およびフリー体を用いて検量線試料を作成した。SIM 法により測定した結果、いずれの標品を用いた場合でも検量線は、良好な直線性を示したが、その傾きは一致しなかった。フリー体の検量点溶液はストック溶液からの DMSO の持ち込み

(0.06%以下)があり、溶媒組成は同一ではない。溶液中に含まれる Na イオンや酢酸イオン、DMSO の影響でイオン化効率や付加体の割合が検量点溶液で異なることが示唆されるが、現時点でこの原因は不明である。リベルサス®錠のインタビューフォームから、錠剤中に含まれる主成分はフリー体のセマグルチドであることが予想されたため、以後はフリー体の Semaglutide 標品を検量線の作成に用いることとした。

錠剤からの抽出では、抽出に用いる溶媒の違いによる影響が認められた。リベルサス®錠には、1 錠あたり 300 mg の添加剤 SNAC が含まれており、セマグルチドと複合体を形成することが知られている。SNAC の溶解度は、水に対して、約 33 mg/mL であり[2]、エタノールに対してはわずかに溶けることが報告されている。SNAC の MeOH に対する溶解度は報告されていないが、水よりは低いことが予想される。よって、いずれの抽出溶媒を用いても本抽出法の条件では SNAC は抽出溶液中で飽和し、一部不溶物として沈殿する。一方、セマグルチドの水への溶解性は 178 mg/mL を超えている[6]が、MeOH に対しては、1 mg/mL に溶解するという報告がある[4]。MeOH を抽出溶媒に用いた場合、セマグルチドが SNAC と共沈した可能性が考えられることから、抽出溶媒には蒸留水を用いることとした。

正規品リベルサス®錠に含まれるセマグルチドの定量において、全試料に内部標準物質として 50 nM リラグルチドを含むように調製したにも関わらず、検出されたリラグルチドのピーク面積値は、検量線試料と比較して錠剤からの抽出試料が低かった。

SNAC の保持時間がリラグルチドと近接していることが明らかになっており、リラグルチドのイオン化が錠剤に多量に含まれる SNAC により抑制された可能性がある。

MS による定量においてセマグルチドもリラグルチドと同等のイオン化抑制を受けると考え、内標準法により求めた検量線により、正規品リベルサス®錠を定量したところ、ほぼ理論値通りのセマグルチドを含有することが示された。

試買品の定量にあたっては、標品は用いず、SNAC 等の添加剤を同等に含むと考えられる正規品に対するセマグルチド含量比 (%) を算出した。試買品 4 種のうち、1 種は、正規品とほぼ等しい含量 (97.3%) を示したが、残り 3 種の含量は、正規品を大きく上回った (127.4%~143.3%)。本結果は、一回のみの測定結果であり、その再現性に関しては、現在、確認中である。一方で、研究班の結果から試買したリベルサス錠は、真正品であることが示唆されており、錠剤からの蒸留水によるセマグルチド抽出において、ばらつきが生じた可能性がある。抽出溶媒の変更も含めて、今後検討を進めていく。

E. 結 論

糖尿病治療薬が個人輸入や医療機関などで痩せ薬として適応外使用されている。本研究では、GLP-1 受容体作動薬セマグルチドを対象に、インターネット上に流通する製剤を試買して、その品質を調査するため、液体クロマトグラフィー-質量分析計 (LC/MS) によりセマグルチド定量法の構築を進めている。内標準法により検量線を作成し、正規品リベルサス®錠に含有され

るセマグルチド含量を理論値通りに定量できることを示した。一方で、試買品に含有されるセマグルチドは、正規品との比較において、高い含量を示した。この理由は不明であるが、錠剤からセマグルチドの抽出がばらついている可能性があり、抽出法のさらなる検討が必要と考えられた。今後、試買した製剤の品質を評価し、インターネットを介して国際流通する実態を明らかにするとともに、消費者への啓発や対策強化につなげたい。

F. 引用文献

1. 医薬品インタビューフォーム. 2 型糖尿病治療剤 経口 GLP-1 受容体作動薬セマグルチド (遺伝子組換え) リベルサス®錠.
<https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/GeneralList/2499014>
2. ChemicalBook サルカプロザートナトリウム
https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_JP_CB62739113.htm
3. 独立行政法人国民生活センター報道発表資料「自宅で完結？手軽に痩せられる？痩身をうたうオンライン美容医療にご注意！ー糖尿病治療薬を痩身目的で消費者に自己注射させるケースがみられますー」
https://www.kokusen.go.jp/pdf/n-20200903_1.pdf
4. TS. Lee, EJ. Park, M. Choi, HS. Oh, Y. An, T. Kim, TH. Kim, BS. Shin, S. Shin, Novel LC-MS/MS analysis of the GLP-1 analog semaglutide with its application to pharmacokinetics and brain distribution

studies in rats, J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 1221 (2023) 123688.

5. 山垣 亮、木村優佳、山崎堯嗣、LC-MS による高感度ペプチド定量分析の問題点と解決法：極微量ペプチド標品の吸着と検量線作成、J. Mass Spectrom. Soc. Jpn. Vol. 69, No. 2, 2021.

6. 医薬品インタビューフォーム. 2 型糖尿病治療剤 持続性 GLP-1 受容体作動薬セマグルチド（遺伝子組換え）オゼンピック®皮下注.

<https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/GeneralList/2499418>

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

北尾 美結、高橋 知里、徳川 宗成、中島 花奈、Zhu Shu、木村 和子、吉田 直子、前川 京子、LC/MS 法を用いた GLP-1 受容体作動薬セマグルチド測定法の構築、日本薬学会関西支部、2025 年 10 月 4 日（京都）

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

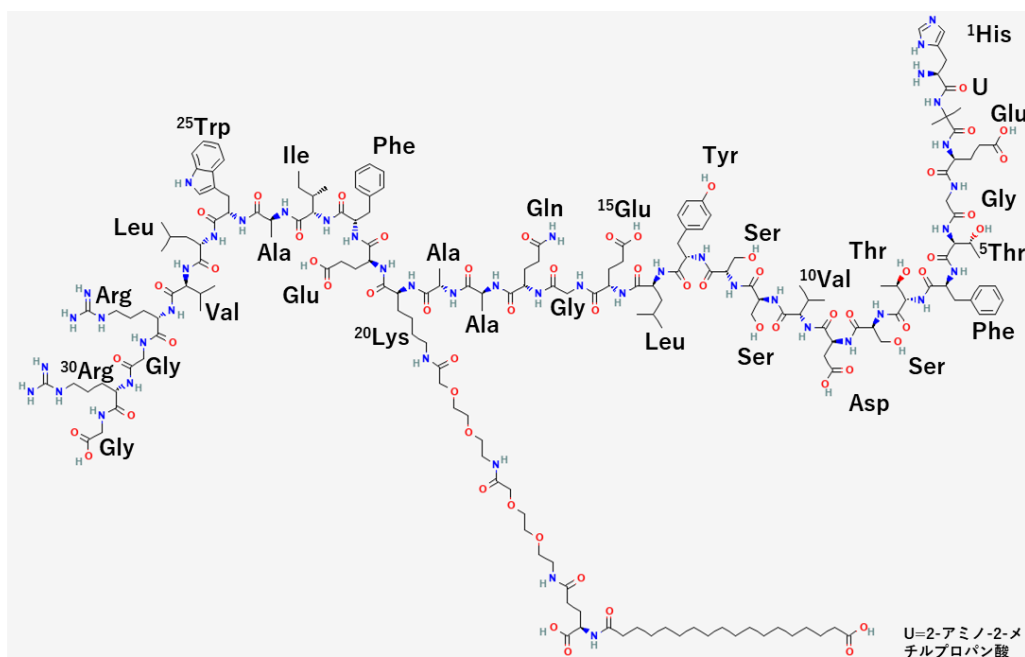


図 1 セマグルチドの構造

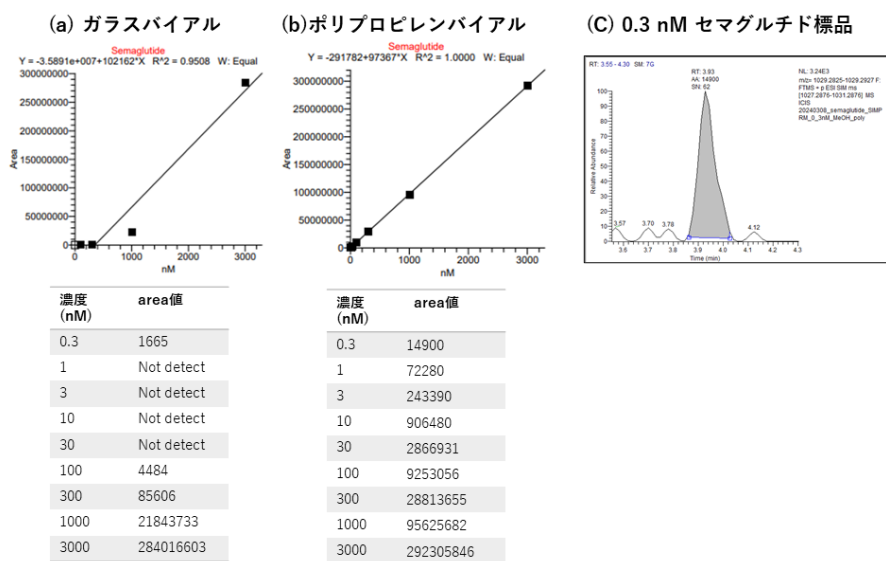


図5 セマグルチド標品のLC/MS測定における測定バイアルの影響

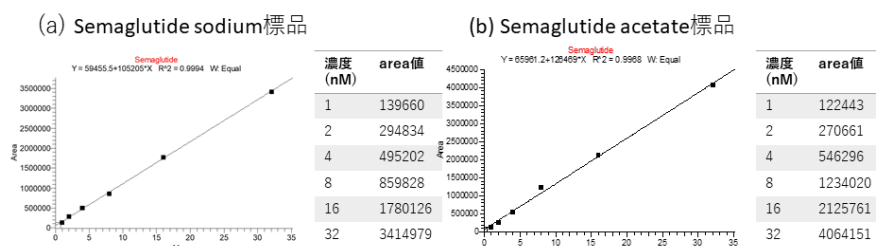


図6 セマグルチド絶対検量線における標品の違い

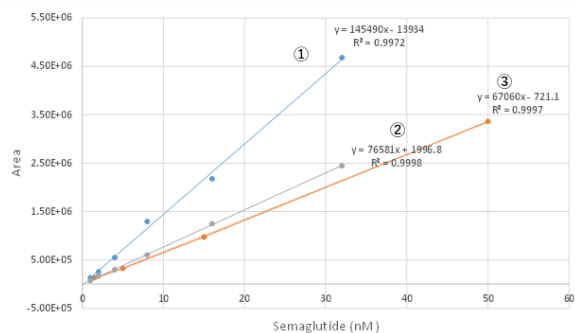


図7 セマグルチド絶対検量線における標品ストック濃度の影響

検量線①: 1 mg/mL stock溶液より調製
 検量線②~③: 10 μM stock溶液より調製

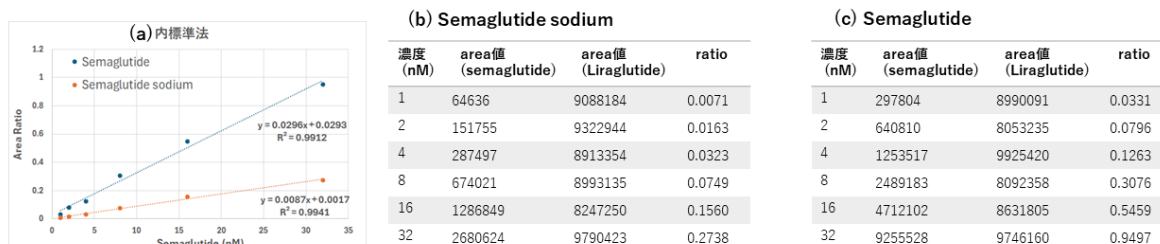


図8 2種の標品試料における検量線の比較

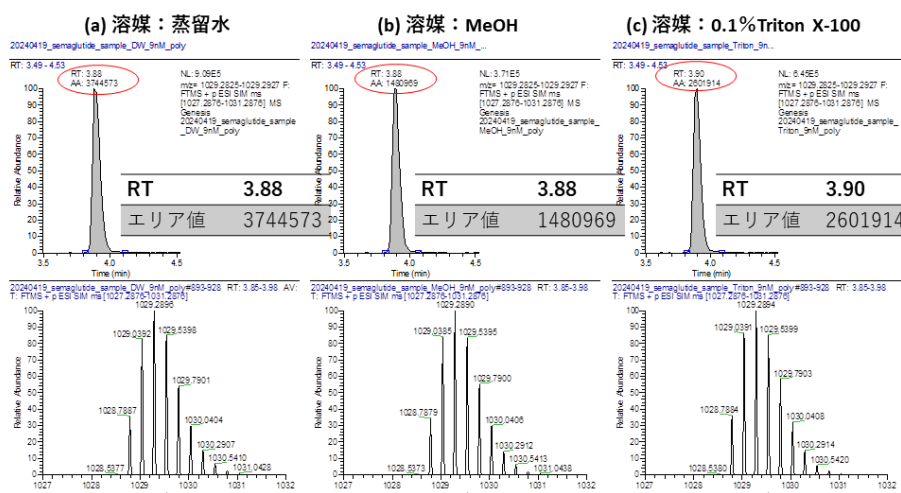


図9 リベルサス®錠からのセマグルチド抽出における抽出溶媒の影響

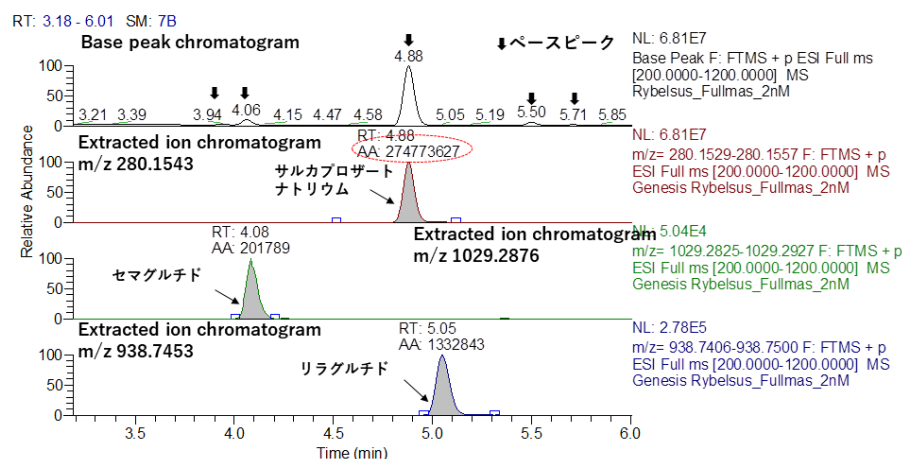
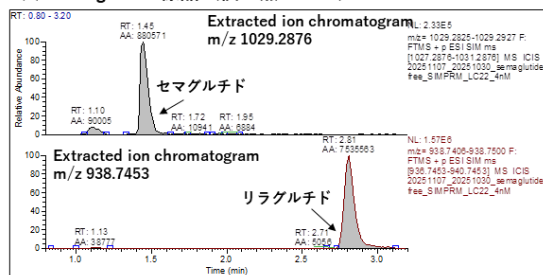


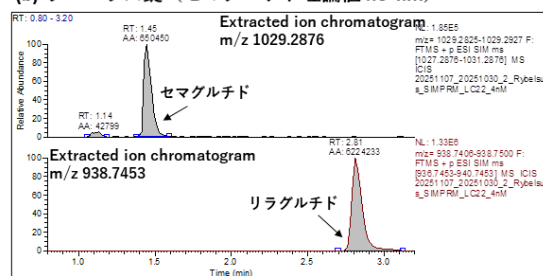
図10 Full scanによるリベルサス®錠に含まれる成分の検出

(a) Semaglutide 標品 (検量点4.0 nM)



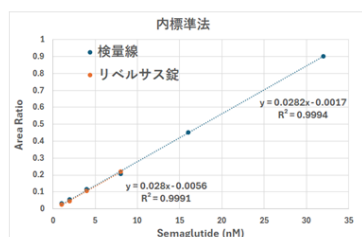
	RT (min)	ピーク面積	Ratio
セマグルチド	1.45	880571	0.117
リラグルチド	2.81	7535563	

(b) リベルサス錠 (セマグルチド理論値4.0 nM)



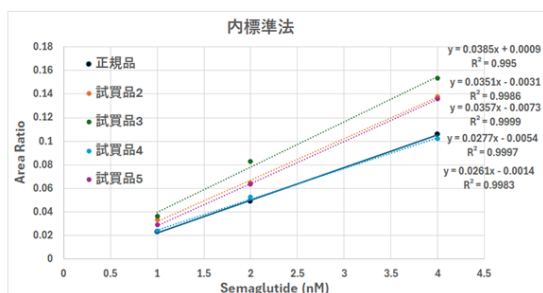
	RT (min)	ピーク面積	Ratio
セマグルチド	1.45	650450	0.105
リラグルチド	2.81	6224233	

図11 SIM法による標品及びリベルサス®錠に含まれるセマグルチドの検出



定量法	Semaglutide 理論値 (nM)	定量値 (nM)	Ratio (%) (理論値 / 定量 値)
内標準法	4.0	3.81	95.3
内標準法	8.0	7.83	97.9

図12 内標準法によるリベルサス®錠からのセマグルチドの定量



サンプル	Semaglutide 理論値 (nM)	定量値 (nM)	Ratio (%) (理論値 / 定量値)
試買品2	4.0	5.18	129.5
試買品3	4.0	5.73	143.3
試買品4	4.0	3.89	97.3
試買品5	4.0	5.10	127.4

図13 リベルサス®錠 (正規購入品) と試買品との成分含量比較