

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870220

研究課題名(和文) 不純物プロファイル分析による偽造医薬品鑑別法の精度向上に関する研究

研究課題名(英文) Improvement of the method for detection of falsified medicines using impurity profiling

研究代表者

吉田 直子 (YOSHIDA, Naoko)

金沢大学・薬学系・助教

研究者番号：20565428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：偽造医薬品鑑別法の精度向上を目指して、ED治療薬Cialis錠(真正品9検体と偽造品32検体)を対象に、外観観察や非破壊的分光分析による鑑別とともに、不純物プロファイル分析による鑑別を試みた。不純物プロファイル分析により、含有成分とその量から、すべての偽造品が検出され、少なくとも7種の偽造パターンが存在した。真正品と偽造品において、外観、ラマンスペクトルおよび近赤外吸収スペクトルに差異が認められたが、真正品に酷似した偽造品も存在した。以上より、不純物プロファイル分析は、より高精度な偽造医薬品鑑別手法として、偽造医薬品の検出のみならず、偽造医薬品の流通経路の解明等にも役立つ可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：I wished to improve the accuracy of detection of falsified medicines. Impurity analyses were undertaken to detect falsified samples of Cialis(R) and compared with other analytical methods. Out of 41 samples, all falsified samples of Cialis(R) (n=32) were defined as "falsified medicine" by impurity profiling. These falsified samples of Cialis(R) could be categorized broadly into seven types according to the nature and amount of ingredients. Physical appearance (color, size, weight), Raman spectra (obtained from the tablet surface) and near-infrared spectrum (obtained from the whole tablet) of falsified samples of Cialis(R) were different from authentic samples. These findings suggest that impurity profiling could be a useful method for detection of falsified medicines in pharmaceutical distribution.

研究分野：医療薬学、国際保健薬学

キーワード：偽造医薬品 不純物プロファイル

1. 研究開始当初の背景

偽造医薬品とは、同一性や出所起源に関して、故意に不正に偽装表示された医薬品である(世界保健機関, WHO)。偽造医薬品の蔓延は、医薬品の不足している発展途上国での問題であると考えられていた。しかし、勃起不全(ED)治療薬が不正使用の発端となり、近年では、先進国においても、偽造医薬品による健康被害が大きな問題となっている。このような偽造医薬品は、インターネットを介して医薬品市場に流入し、正規ルート以外の流通網に消費者が直接アクセスすることにより入手される場合がほとんどである。医薬品の流通がグローバル化する中、偽造医薬品による健康被害の抑止や医薬品の品質確保のための対策が重要課題となっている。

多くの偽造医薬品において、表示から逸脱した成分含量や表示外成分の含有(不純物や類縁化合物を含む)が認められる。もちろん、日本の医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律に基づく品質、有効性及び安全性の確認はなされておらず、それらの保証はない。また、外観は正規品に類似しており、一見して偽造医薬品であると判別することは難しい。一方、Viagra[®] 300 mg 錠、Levitra[®] 100 mg 錠、Cialis[®] 100 mg 錠などは承認外規格であるにもかかわらず、正規品と偽って販売されている。

医薬品市場から偽造医薬品を排除し、偽造医薬品の最大の問題である健康被害を未然に回避することは、保健衛生上の観点から重要な課題である。そのためには、実際に流通する医薬品の中から偽造医薬品を迅速かつ確実に鑑別することが必須である。しかし、偽造医薬品の多くは、正規品に極めて類似した色・形をしているため、その鑑別は容易ではない。

応募者のこれまでの研究成果として、偽造医薬品の撲滅を目的としたカンボジアにおけるフィールド研究において、偽造医薬品の蔓延実態や品質管理の実態を明らかにするとともに(Pharm Res, 2011; BMC Health Serv Res, 2011; BMC Pharmacol Toxicol, 2014)、資源の少ない発展途上国でも実施可能な流通医薬品を対象とする小規模化された品質試験法の開発と提案を行った(社会薬学, 2013)。また、日本国内において、実際にインターネット上に流通している医薬品の真正性や品質を調査し、個人輸入された医薬品の保健衛生上の問題点を明らかにした(医療と社会, 2011; BMJ, 2012)。一方、薬局方に準じた品質試験の結果から含量不足などの品質不良医薬品が発見された場合、故意の偽造に起因する品質不良と医薬品等の製造品質管理基準(GMP)の逸脱などの製剤技術に起因する品質不良とを判別することは極めて困難であった。また、ラマン分光法や近赤外(NIR)分光法による真正性評価を試みた際には、ある程度の主成分を含み、添加剤の組成が類似した検体などは正規品と同一であると判定され、鑑別結果は誤判定であった。分光学的分析手法には、非破壊で簡便に鑑別できるメリットがある半面、含有成分の定量的評価が困難なため

に、含量不足の偽造医薬品を検出できないという限界がある。これまで行ってきた分析手法のデメリットを補足し、かつ、より確実に真贋判定するための分析手法として、偽造医薬品鑑別においては、含有成分の定性と定量を同時に行う必要があると考えられた。また、適切な鑑別を行うためには、出来上がった製剤の品質としてだけでなく、製造過程で混合される医薬品原材料そのものについての評価が有力な手段となるのではないかと考えられた。

医薬品には、原材料である原薬、賦形剤、その他の添加物と、これらで定義されない不純物が含まれる。原薬中に存在する構造既知又は未知の不純物の全体像を表す不純物プロファイルは、合成法や精製法が異なれば混在する不純物の種類や量が異なるため、原薬に依存した固有のものとなる。日米 EU 医薬品規制調和国際会議の原薬 GMP ガイドライン(ICH Q7A)を遵守して製造された正規品であれば、同一の不純物プロファイルが得られるはずであり、偽造医薬品は、正規品と異なった不純物プロファイルを持つものと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、迅速かつ確実な偽造医薬品の鑑別法を検討し、その精度を向上させることを目的として、既に偽造医薬品の流通が多く確認されている ED 治療薬を例に、これまで偽造医薬品鑑別の手法として注目されていなかった不純物プロファイル分析による偽造医薬品鑑別を新たに試みる。また、不純物プロファイル分析を含む複数の分析手法を用いた偽造医薬品鑑別の可能性を検討し、それぞれの有用性を評価した。

3. 研究の方法

(1) 対象医薬品

Cialis[®]

過去に行った試買調査(木村ら, 平成 25 年度厚生労働科学研究報告書)において、個人輸入により入手した Cialis[®](個人輸入 Cialis[®])のうち、真正品(20 mg 錠, n=9)と偽造品(20 mg 錠, n=23)、ならびに未承認規格品(50 mg 錠, 100 mg 錠および 300 mg 錠, n=9)について、各種分析を行った。コントロールとして、日本正規市販品 Cialis[®]を用いた(正規品)。

Viagra[®]

過去に行った試買調査(吉田ら, 平成 23 年度厚生労働科学研究報告書)において、個人輸入により入手した Viagra[®]のうち、真正品(100 mg 錠, n=4)と偽造品(n=16)について、外観観察と非破壊的分光分析を行った。コントロールとして、日本正規市販品 Viagra[®]を用いた(正規品)。

(2) 不純物プロファイル分析

高速液体クロマトグラフィ(HPLC)-フォトダイオードアレイ(PDA)法を用いて、ED 治療薬 Viagra[®]、Levitra[®]および Cialis[®]のそれぞれの主成分である sildenafil citrate、vardenafil

hydrochloride hydrate および tadalafil を一斉に分離・定量する以下の条件を確立した。

- ・装置：SCL-10AVP System controller, SPD-M20A Prominence diode array detector, SPD-10A UV-VIS Detector, LC-10 AD Liquid chromatograph, DGU-12A Degasser, SIL-10ADVP Auto injector (SHIMADZU, Kyoto, Japan)
- ・カラム：Mightysil RP18-GP (4.6×150mm, 5µm, Kanto Chemical Co., Inc., Tokyo, Japan)
- ・カラム温度：40
- ・移動相 A: 20 mM ammonium formate:0.2% formic acid (1:1, v/v)
- ・移動相 B: acetonitrile
- ・グラジエント条件：A/B=80/20 (0-1 min) →40/60 (21-25 min) 80/20 (28-40 min)
- ・流速：1.0 mL/min
- ・測定波長域：190-420 nm
- ・注入量：10 µL

この条件下で、個人輸入 Cialis®について、微量成分を含む含有成分と含有量を確認した。

(3) 外観・性状観察

米国薬局方の偽造された疑いの医薬品をスクリーニングするための外観観察チェックリスト (Tool for Visual Inspection of Medicines) を用いて、詳細に包装と製剤を観察した。金属顕微鏡を用いて、錠剤表面を観察した。測色計を用いて、錠剤表面の色彩を定量し、正規品と真正品または偽造品との色差を測定した。錠剤のサイズと重量を測定した。

(4) ラマン散乱分析

顕微ラマン散乱分析装置 (JY T64000, HORIBA Ltd., Tokyo, Japan) を用いて、以下の条件により、製剤表面 (コーティング層) に存在する成分由来のラマンスペクトルを非破壊的に得た。

Cialis®	
波長	532.18 nm
パワー	20 mW
露光時間	正規品 10.0 sec × 3 scans 真正品 10.0 sec × 3 scans 偽造品 1.0 sec × 5 scans

Viagra®	
波長	532.18 nm
パワー	20 mW
露光時間	正規品 3.0 sec × 5 scans 真正品 2.0 sec × 5 scans 偽造品 1.0 sec × 5 scans

また、携帯型ラマン分光分析装置 (Inspector500, SciAps Inc., WY, USA) を用いて、以下の条件により、ラマンスペクトルを得るとともに、正規品と真正品または偽造品との異同識別を行った。

波長	1030 nm
パワー	30 mW
露光時間	4.5 sec × 1 scans

(5) NIR 分光分析

携帯型 NIR 分光分析装置を用いて、製剤全体に存在する成分由来の NIR スペクトルを非破壊的に得た。得られたスペクトルを主成分分析により分類し、正規品と真正品または偽造品との異同識別を行った。

(7) 統計解析

SPSS 19.0.0 (IBM SPSS Inc, Chicago, IL, USA) を用いて、有意水準を 5% または 1% として、Student's t-test を行った。

4. 研究成果

不純物プロファイルを得るために確立した HPLC-PDA 分析条件を用いて、個人輸入 Cialis® 中に含まれる成分の定性と定量を行った。その結果、真正品における tadalafil 含量は表示規格通りであり、正規品と真正品において、検出された不純物に大きな違いは認められなかった。一方、規格通りの成分含量が確認された偽造品はなく、偽造品においては、tadalafil の含量過多と不足が認められるとともに、すべての偽造品から異成分である sildenafil が検出された。偽造品 23 製品のうち、12 製品において tadalafil と sildenafil が検出され、それぞれの 1 錠あたりの含量は 4.7-25.6 mg (表示規格の 23.4-127.9%) と 0.1-35.1 mg であった。その他の 11 製品において、tadalafil の含有は確認されなかったが、1 錠あたり 0.3-39.0 mg の sildenafil が検出された。さらに、偽造品から検出された sildenafil の含量は、11 製品において、Viagra® の 1 日用量である 25-50 mg に相当しており、当該製剤を服用した際には、sildenafil による作用が生じる可能性が示唆された。加えて、11 製品において、未知成分の含有が示唆された。この未知成分について、微量ではない含量を示唆するピークが示されたものの定性には至らなかったが、HPLC 分析における保持時間と UV スペクトルから、これまでに偽造 Cialis® への含有が確認されているグリベンクラミド (出雲ら, 2011) ではないことが確認された。また、偽造品に含まれる成分とその含量から、少なくとも 7 パターンの偽造品が存在した。未承認規格品においては、tadalafil、sildenafil または vardenafil のいずれも検出されず、9 製品それぞれがさらに異なるパターンを示すことが明らかになった。

外観観察として、Tool for Visual Inspection of Medicines に記載された観察項目について製剤を観察した結果、44 項目中 3 項目において、真正品と偽造品に違いが認められた。その詳細として、真正品において、外箱またはボトルに見る角度により色調が変化するホログラムのステッカーが存在したのに対し、偽造品にはステッカーが貼付されておらず、製造会社のロゴが印刷されていた。真正品と偽造品の外箱またはボトルにはロット番号や使用期限の記載が確認されたが、偽造品には正しくないロット番号が記載されていた。また、真正品の PTP シートにはロット

番号や使用期限の記載に加えて製造年月日の記載があったが、偽造品には製造年月日の記載はなかった。しかし、偽造品であっても、外箱または PTP シートに、製造会社、成分名および規格の記載があり、錠剤の形や刻印が類似しているなど、真正品と偽造品の外観上の違いは大きくなく、外観観察により真正性を判断するのは困難であることが示唆された。一方で、一部の偽造品のみにおいて、PTP シートの破れや、錠剤表面に凹凸のある製品の存在が確認された。金属顕微鏡を用いて、有色のコーティング錠である Cialis[®]と Viagra[®]の錠剤表面を 500 倍拡大下で観察した結果、Cialis では、均一な着色が観察された正規品と真正品に対して、偽造品の一部では斑点状の不均一な着色が認められた。一方、Viagra[®]では、正規品、真正品および偽造品において、顕著な違いは認められなかった。錠剤の性状として、Cialis[®]の錠剤サイズと重量を確認した結果、いずれも偽造品は正規品に比べて、有意に大きかったが、正規品と差異が 1%程度の偽造品も存在した。また、分光色測計を用いて、Cialis[®]の錠剤表面（皮膜）の色を測定した結果、偽造品と正規品において有意な色差が認められたが、正規品と色差が認められない偽造品も存在した。その他、真正品のシアリス 20 mg 錠の 1 錠あたりの価格は、偽造品に比べて、有意に高かった（Student's t-test, $p < 0.05$ ）。以上の外観・性状観察により、真正品と偽造品に差異が認められたものの、真正品に酷似した偽造品が存在したことやサンプル数が限られていたことから、偽造品と判定する明確な基準（カットオフ値）を導くには至らなかった。

顕微ラマン散乱分析装置を用いて、Cialis[®]錠表面のラマン散乱を測定した結果、正規品と真正品から得られたラマンスペクトルに違いは認められなかった。一方、全ての偽造品は、正規品と異なるラマンスペクトルを示し、得られたスペクトルの比較により偽造品を鑑別することが可能であった。また、Viagra[®]錠表面のラマン散乱を測定した結果、正規品と真正品から得られたラマンスペクトルに違いは認められなかった。一方、偽造品の一部は、正規品と異なるラマンスペクトルを示したが、その他の偽造品では正規品のラマンスペクトルと差異が認められなかったことから、少なくとも、ラマン散乱分析により、正規品と異なるラマンスペクトルを示す錠剤を偽造品と鑑別することが可能であることが示された。さらに、携帯型分光分析装置を用いたラマン散乱分析と NIR 分光分析を行った結果、偽造品と未承認規格品すべてが、正規品とは異なるスペクトルを示したが、真正品と正規品に差異は認められなかった。

以上より、偽造医薬品の検出において、錠剤のサイズ、重量および色の確認は有用であり、明確な差異が認められなかった場合には、分光分析、薬物プロファイル分析などを行う

必要性が示された。より迅速な偽造医薬品の鑑別手法として、非破壊的に分析可能な携帯型分析装置を用いたラマン散乱分析や NIR 分光分析の有用性が示された。一方、不純物プロファイル分析は、より高精度な偽造医薬品鑑別手法として、偽造医薬品の検出のみならず、偽造医薬品の流通経路の解明等にも役立つ可能性が示唆された。

< 謝辞 >

顕微ラマン散乱分析は、文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム事業（分子・物質合成）の支援により北陸先端科学技術大学院大学で実施されました。

色差測定にご協力くださいましたコニカミノルタ株式会社のみなさま、携帯型ラマン散乱分析にご協力くださいました株式会社樋口商会のみなさま、および携帯型 NIR 分光分析にご協力くださいました株式会社エス・ティ・ジャパンのみなさまに心より御礼申し上げます。

< 引用文献 >

World Health Organization: Medicines: spurious/false-labelled/ falsified/counterfeit (SFFC) medicines. Fact sheet N°275, May 2012.

[<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs275/en/>]

Khan MH, Okumura J, Sovannarith T, Nivanna N, Nagai H, Taga M, Yoshida N, Akazawa M, Tanimoto T, Kimura K: Counterfeit medicines in Cambodia-Possible causes. *Pharm Res* 28: 484-489, 2011.

Khan MH, Akazawa M, Dararath E, Kiet HB, Sovannarith T, Nivanna N, Yoshida N, Kimura K: Perceptions and practices of pharmaceutical wholesalers surrounding counterfeit medicines in a developing country: a baseline survey. *BMC Health Serv Res* 11: 306, 2011.

Yoshida N, Khan MH, Tabata H, Dararath E, Sovannarith T, Kiet HB, Nivanna N, Akazawa M, Tsuboi H, Tanimoto T, Kimura K: A cross-sectional investigation of the quality of selected medicines in Cambodia in 2010. *BMC Pharmacol Toxicol* 15: 13, 2014.

石井雄一郎, 敦賀剛気, 清水寛将, 吉田直子, 坪井宏仁, 伊藤庸一郎, 丸山岳人, 織田朝美, 赤沢学, 木村 和子: 開発途上国の流通医薬品を対象とする小規模化された品質試験法の提案. *社会薬学* 31: 70-72, 2012.

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: 55-67, 2011.

Khan MH, Tanimoto T, Nakanishi Y, Yoshida N, Tsuboi H, Kimura K: Public health

concerns for anti-obesity medicines imported for personal use through the internet: a cross-sectional study. *BMJ Open* 2 (3), 2012.
木村和子, 吉田直子, 眞田智子, 松下良; 個人輸入シアリスの真正性に関する研究. 82-102: 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」研究代表者 木村和子, 平成 25 年度研究報告書, 2014 年 3 月 31 日.

吉田直子, 坪井宏仁, 大平航也; ネット偽造薬の侵入要因調査 シルデナフィル製剤を通して . 38-59: 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」研究代表者 木村和子, 平成 23 年度研究報告書, 2012 年 3 月 31 日.

出雲博子, 比良野圭太, 中川朋子, 門伝昌巳, 百瀬葉子, 衛藤光, 根本憲一: 偽造シアリス(タダラフィル)により重篤な低血糖症を来した一例. *糖尿病*, 54 (12); 906-9, 2011.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 5 件)

眞田智子, 吉田直子, 坪井宏仁, 木村和子: インターネットを介して個人輸入されたシアリスの真正性と品質に関する研究. 日本薬学会第 136 年会, 横浜, 2016 年 3 月 29 日.

吉田直子: 途上国における医薬品事情. 日本国際保健医療学会第 34 回西日本地方会, 岡山, 2016 年 2 月 27 日.

吉田直子: 偽造医薬品の脅威と撲滅に向けた取り組み. 平成 27 年度 Hokuriku Women Researchers' Network シンポジウム, 金沢, 2015 年 12 月 5 日.

吉田直子: OTC 医薬品の安全性 忍び寄る偽造医薬品の脅威 . 2015 年度 日本 OTC 医薬品協会安全性情報部会, 金沢, 2015 年 11 月 13 日.

吉田直子: 医薬品の品質管理に貢献する分析-偽造医薬品鑑別における分析手法の活用-. Matching HUB Kanazawa 2015, 金沢, 2015 年 2 月 23 日.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他] (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 直子(YOSHIDA, Naoko)
金沢大学・医薬保健研究域・薬学系・助教
研究者番号: 20565428

(2) 研究協力者

眞田 智子(SANADA, Tomoko)