

注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウムの不純物に関する検討結果 国立医薬品食品衛生研究所

第7回ジェネリック医薬品品質情報検討会において、文献等の内容のみでは後発医薬品の品質について判断できないため、念のために試験を行うこととした製剤のうち、注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウムにつき、市場流通品9製品を購入し、承認申請書の規格試験法に従って純度試験を実施したので結果を報告する。

1. 試験と試験方法

1-1. 試験対象製品

注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウム9製品を卸業者を通じて市場より購入し、純度試験を実施した。表1に製品のリスト、使用したロット番号を記載した。

表1. 試験に使用した製品

番号	製品名	ロット番号	製造販売元
No.1	ユナシンーS 静注用1.5g	1239D003B	ファイザー株式会社
No.2	ユナスピン静注用1.5g	YV2105	株式会社ケミックス
No.3	ユーシオンーS 静注用1.5g	11Z01	沢井製薬株式会社
No.4	スルバシリン静注用1.5g	PSLD623	Meiji Seika ファルマ株式会社
No.5	ピスルシン静注用1.5g	CG20	大原薬品工業株式会社
No.6	アンスルマイラン静注用1.5g	053AAR	マイラン製薬株式会社
No.7	スルバクタム・アンピシリン静注用1.5g「サンド」	2A313	サンド株式会社
No.8	ピシリバクタ静注用1.5g	GN2100	日医工株式会社
No.9	スルバクシン静注用1.5g	ZX01	シオノケミカル株式会社

1-2. 試験方法

基本的に各製品の承認申請書に準じて試験を行った。各社の純度試験に使用されていた試験法を基に、以下の3種の試験法に従い、必ずしもそれぞれの製品で規格試験法に設定されていない方法についても、全ての製品を試験し、比較を試みた。

2. 参考試薬

生化学用 アンピシリンナトリウム CAS No.69-52-3 wako#016-23301 (Lot.WEP1132)

生化学用 スルバクタムナトリウム CAS No.69388-84-7 wako#S8243 (Lot.23927707)

3. 試験実施方法と試験結果

3試験条件いずれにおいても、標準溶液は2回調製し、それぞれ2回ずつ試験を行い平均値を求めた。試料溶液は1回調製し、3回試験を実施して平均値を求めた。

3-1. 試験法1による試験実施方法と試験結果

(1) 分析条件

HPLC 装置：アジレント HP1100 シリーズ

検出器：紫外吸光光度計（測定波長 230nm）

カラム：YMC-Triart C18 4.6x250mm 5 μ m

カラム温度：25 $^{\circ}$ C付近の一定温度

移動相：りん酸水素二アンモニウム 5.94 g を水 850mL に溶かし、アセトニトリル 100mL を加えりん酸を加えて pH5.0 に調整し水を加えて正確に 1000mL とする。

流量：アンピシリンの保持時間が約 6 分になるように調整する。

試料注入量：10 μ L

(2) 試料溶液、標準溶液の調製

製剤のアンピシリンナトリウム 50mg 対応量を取り、移動相に溶かし正確に 50mL とし試料溶液とした。また、試料溶液を 1mL 正確に量り、移動相を加えて正確に 100mL とし、標準溶液とした。

(3) 判定基準

判定基準としては以下のようなものがあつたが、いずれも規格には適合していた。

- ・類縁物質(総ペニシロ酸含量): 試料溶液のアンピシリン及びスルバクタム以外の各ピーク面積は、標準溶液のアンピシリンピーク面積より大きくない。
- ・類縁物質: 試料溶液のアンピシリン及びスルバクタム以外のピークは標準溶液のアンピシリンピークより大きくない。また、試料溶液中のアンピシリン、スルバクタム及びスルバクタムペニシラミン以外のピーク面積の合計は標準溶液のアンピシリンピークの二倍より大きくない。
- ・類縁物質: 試料溶液のアンピシリン及びスルバクタム以外のピークは標準溶液のアンピシリンピークより大きくない。また、試料溶液中のアンピシリン、スルバクタム及びスルバクタムペニシラミン以外のピーク面積の合計は標準溶液のアンピシリンピークの 3 倍より大きくない。

(4) 結果

図 1 に 9 製品の HPLC クロマトグラムを示した。

なお、スルバクタムペニシラミンとペニシロ酸類の溶液は、水酸化ナトリウム試液と塩酸試液によりスルバクタムナトリウムとアンピシリンナトリウムより調製した。

図 1 注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウムの試験法 1 の HPLC クロマトグラム

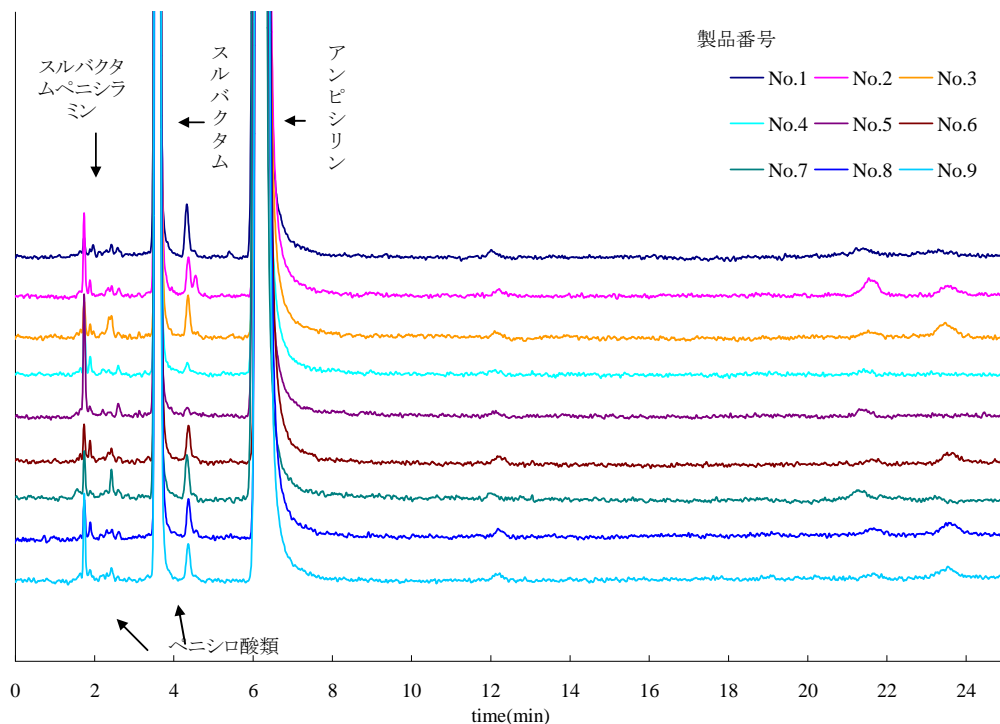


表 2 にアンピシリン，スルバクタム以外のピーク面積値を示した．全ての製品が，規格を設定していた製品の規格に適合していた．

表 2. 各ピークの面積値測定結果

peak No.	アンピシリン,スルバクタム以外の各溶出時間のピークのピーク面積値										ピーク面積合計	アンピシリン標準溶液面積値	アンピシリン標準溶液ピーク面積値の2倍
	1*	2	3	4**	5	6**	7	8	9	10			
製品	1.73	1.88	2.31	2.43	2.58	4.36	4.56	12.20	21.70	23.70			
No.1	0.90	0.00	0.00	0.79	0.47	4.60	0.59	1.33	2.12	0.95	10.85	34.53	69.07
No.2	2.64	0.87	0.00	0.79	0.23	3.62	1.65	1.54	5.21	4.13	18.02	35.75	71.49
No.3	3.81	1.51	0.77	0.00	0.00	3.42	0.00	1.55	2.61	5.33	15.18	36.11	72.23
No.4	1.55	0.91	0.00	0.00	0.76	1.14	0.00	0.98	1.31	1.00	6.10	35.38	70.76
No.5	5.60	0.50	0.00	0.00	0.96	0.74	0.00	0.79	2.11	0.00	5.11	35.76	71.52
No.6	2.19	1.01	0.00	1.41	0.00	3.28	0.00	1.34	1.85	3.56	12.45	33.27	66.53
No.7	3.69	0.25	0.00	1.91	0.26	4.05	0.00	0.81	2.86	0.00	10.15	35.22	70.44
No.8	1.79	1.02	0.29	0.91	0.00	3.40	0.47	1.51	2.46	4.78	14.84	35.75	71.49
No.9	1.89	0.28	0.00	0.83	0.00	3.48	0.00	1.36	0.54	3.94	10.43	34.24	68.48

*スルバクタムペニシラミン

**ペニシロ酸類

3-2. 試験法 2 による試験実施方法と試験結果

(1) 分析条件

HPLC 装置：アジレント HP1100 シリーズ

検出器：紫外吸光光度計（測定波長 230nm）

カラム：CHEMCOSORB 10-ODS-L 4x300mm 10 μ m

カラム温度：35 $^{\circ}$ C付近の一定温度

移動相：0.005M テトラブチルアンモニウムヒドロキシド試液 750mL に HPLC 用アセトニトリル 250mL を加える。

流量：スルバクタムの保持時間が約 6 分になるように調整する。

試料注入量：10 μ L

(2) 試料溶液，標準溶液の調製

スルバクタムナトリウム約 0.2 g（製品約 0.6 g）をとり，内容物を移動相 50mL に溶かし，試料溶液とする．別にスルバクタムペニシラミン用スルバクタムナトリウム約 0.04 g（力価）に対応する量を正確に量り，水 2mL に溶かし，水酸化ナトリウム試液 0.5mL を加え，室温で 10 分間放置した後，1mol/L 塩酸試液 0.5mL を加え，移動相を加えて正確に 100mL とする．この液 5mL を正確に量り，移動相を加えて正確に 50mL としスルバクタムペニシラミン標準溶液とする．

(3) 判定基準

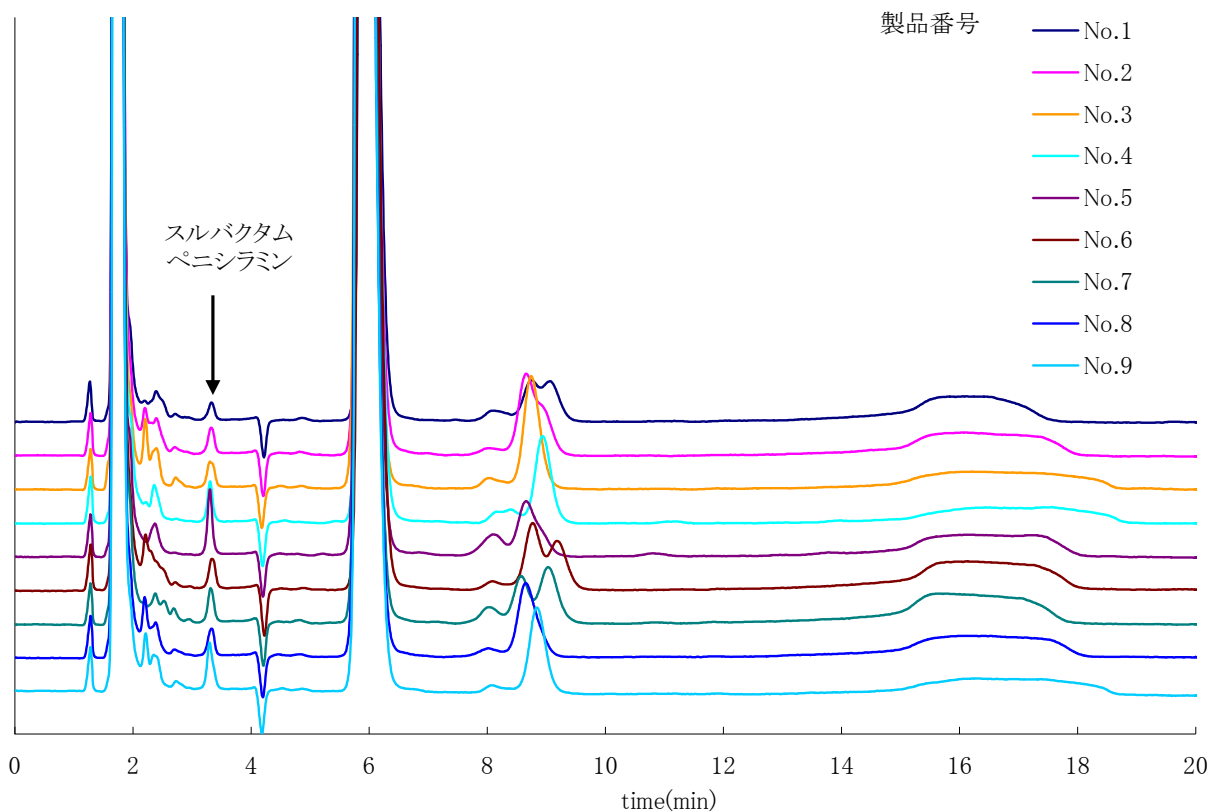
以下の様な判定基準が設定されていた．

- ・規格 A 純度試験 スルバクタムペニシラミン：スルバクタムペニシラミンの量がスルバクタム・アンピシリン表示量に対して 1.0%以下である．
- ・規格 B 純度試験 スルバクタムペニシラミン：スルバクタムペニシラミンの量がスルバクタムナトリウムに対して 0.3%以下である．

(4) 結果

図 2 に 9 製品の HPLC クロマトグラムを示した．

図2 注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウムの試験法2のHPLCクロマトグラム



試験法2では、溶出順番が変わり、スルバクタムペニシラミンのピークは、スルバクタムの後に溶出し、また他のピークとの分離も良いように見える。その一方、ネガティブピークの出現や、分離の悪いピーク、ブロードで大きなピークなど、スルバクタムペニシラミン以外の検出は好ましくないと思われた。

表3に規格を設定していた製品の方法で求めたスルバクタムペニシラミンの量(%)を示した。

表3 各製品中のスルバクタムペニシラミンの量(%)

製品	スルバクタムペニシラミンの量(%)	
	規格A:スルバクタム表示量(500mg)に対して	規格B:スルバクタム・アンピシリン(1.5g)に対して
No.1	0.12	0.04
No.2	0.15	0.05
No.3	0.17	0.06
No.4	0.18	0.06
No.5	0.28	0.09
No.6	0.17	0.06
No.7	0.18	0.06
No.8	0.16	0.05
No.9	0.25	0.08

規格A:スルバクタム表示量に対するスルバクタムペニシラミンの量(%)が1%以下

規格B:スルバクタム・アンピシリン1.5gに対するスルバクタムペニシラミンの量(%)が0.3%以下適合

3-3. 試験法 3 による試験実施方法と試験結果

(1) 分析条件

HPLC 装置：アジレント HP1100 シリーズ

検出器：紫外吸光度計（測定波長 215nm）

カラム：YMC-Pack ODS-A 4.6x150mm 10 μ m

カラム温度：室温

移動相：リン酸二水素ナトリウム 3.12 g に水約 75mL を加えて溶かし、薄めたリン酸 (1→10) を用いて pH を 3.0～3.1 に調整した後、水を加えて 1000mL とする。液体クロマトグラフ用アセトニトリル 80mL に同緩衝液を加えて 1000mL とする。

流量：内標準物質の保持時間が 6～9 分 (1.6mL/min)

試料注入量：10 μ L

(2) 試料溶液、標準溶液の調製

本品 1 個をとり、内容物を移動相 100mL に溶かし、試料溶液とする。試料溶液を 1mL 正確に量り、移動相を加えて正確に 100mL とし、1%標準溶液とする。別にスルバクタムペニシラミン用スルバクタムナトリウム約 0.05 g（力価）に対応する量を正確に量り、水 2mL に溶かし、水酸化ナトリウム試液 0.5mL を加え、室温で 10 分間放置した後、1mol/L 塩酸試液 0.5mL を加え、移動相を加えて正確に 100mL とする。この液 5mL を正確に量り、移動相を加えて正確に 50mL としスルバクタムペニシラミン標準溶液とする。

(3) 判定基準

以下のような判定基準が設定されていた。

- ・規格 A 類縁物質：スルバクタムペニシラミンは 2%以下でありスルバクタムペニシラミン以外の個々の類縁物質はそれぞれ 1%以下である。また類縁物質の合計は 3%以下である。
- ・規格 B 総ペニシロ酸含量：試料溶液のアンピシリンに対する相対保持時間約 0.4 及び 0.5 のペニシロ酸類のピークの合計面積は標準溶液のアンピシリンピーク面積より大きくない。
- ・規格 C 類縁物質：試料溶液のスルバクタム及びアンピシリン以外の各ピーク面積は標準溶液のスルバクタム及びアンピシリンのピーク面積の和の 1/2 倍より大きくない。(1.0%以下)
また、試料溶液のスルバクタム及びアンピシリン以外の各ピークの合計面積は、標準溶液のスルバクタム及びアンピシリンのピーク面積の和のより大きくない(2.0%以下)。

(4) 結果

図 3 に 9 種の製品の HPLC クロマトグラムを示した。

表 4 に 9 種の製品における規格 A での計算結果を示した。

図3 注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウムの試験法3のHPLCクロマトグラム

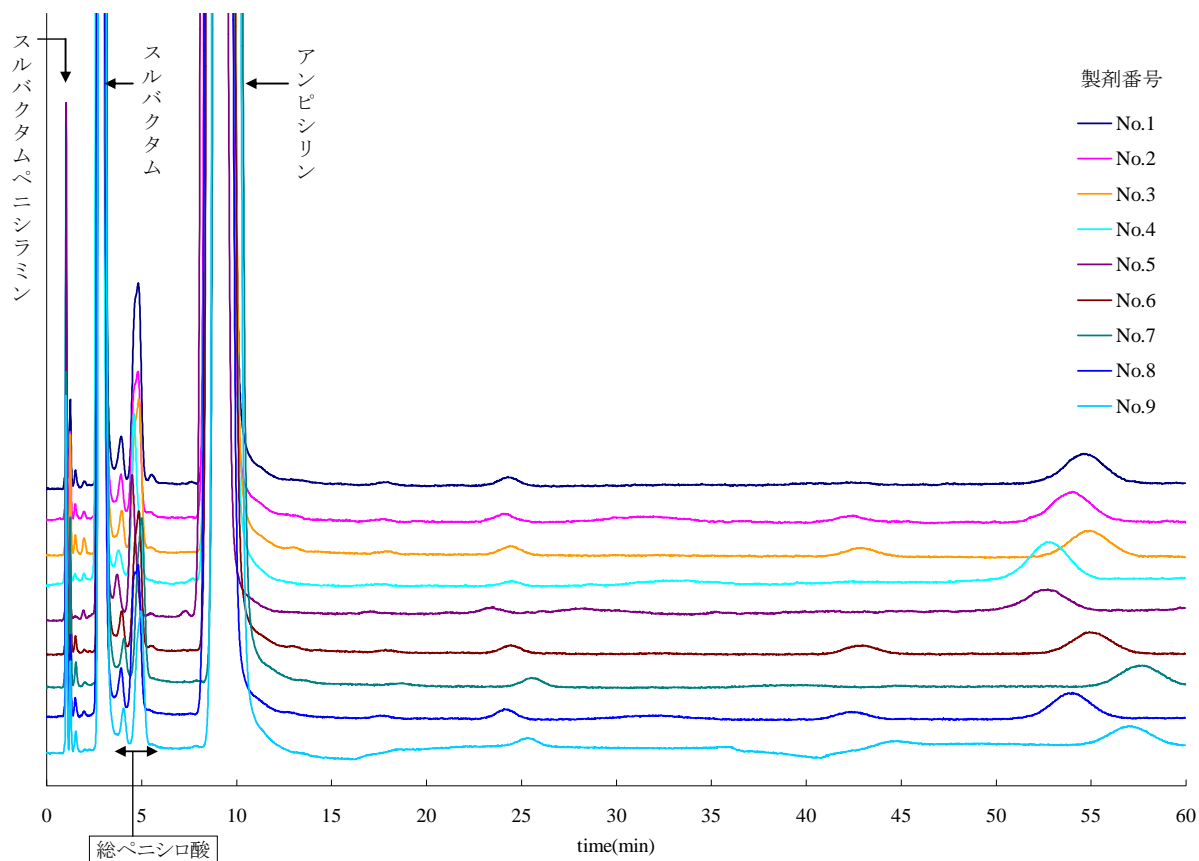


表4 9製品における規格Aでの計算結果

ピークNo.	スルバクタムペニシラミン以外の個々の類縁物質の量 (%)													個々のピーク量の和 (%)
	1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
製品	1.0	1.2	1.5	2.0	3.8	4.6	4.8	5.4	7.7	17.9	24.5	42.6	52.8	
No.1	0.33	0.02	0.01	0.00	0.04	0.16	0.15	0.01	-	0.01	0.05	-	0.27	1.05
No.2	0.36	0.02	0.01	0.00	0.03	0.10	0.12	0.00	-	0.02	-	0.04	0.24	0.95
No.3	0.36	0.03	0.01	0.01	0.03	0.10	0.13	0.00	-	-	0.04	0.06	0.22	0.99
No.4	0.53	0.01	0.00	0.00	0.02	0.15	0.06	-	0.00	-	0.02	-	0.29	1.09
No.5	0.64	0.00	-	0.00	0.03	0.18	-	0.00	0.01	-	0.02	-	0.16	1.04
No.6	0.32	0.02	0.01	0.00	0.02	0.09	0.11	0.00	-	0.01	0.04	0.06	0.18	0.88
No.7	0.41	0.04	0.01	0.00	0.03	0.09	0.15	-	-	-	0.04	-	-	0.78
No.8	0.35	0.02	0.01	0.00	0.03	0.10	0.13	-	-	0.01	0.04	0.05	0.22	0.97
No.9	0.39	0.03	0.01	-	0.03	0.09	0.12	0.00	0.00	-	0.03	-	-	0.70

*スルバクタムペニシラミン

全ての製品が規格Aに適合した。

4. 結論

注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウムの純度試験は、製品ごとに規格設定が異なっていたが、承認申請書で採用されていた3種類試験法で、市販の9製品の試験を行ったところ、いずれの規格にも、全ての製品が適合しており、市販の9製品において、製品間での不純物に関する大きな差は無いと考えられる。