

シスプラチン注射剤の純度試験結果

国立医薬品食品衛生研究所

はじめに

第5回ジェネリック医薬品品質情報検討会において、薬事・食品衛生審議会医薬品等安全対策部会にて委員から指摘のあったシスプラチンの後発品で腎障害が多かったとの研究報告に関連して、後発品の品質を確認するよう意見があったことから、シスプラチン注射剤の純度試験を実施し、検証することとした。

調査の実施方法

シスプラチン注射剤6製剤を購入し、以下の三通りの条件で純度試験を実施した。表1に製剤のリスト、使用したロット番号を、表2に製剤の添加物を記載した。

試験法1：シスプラチンは日本薬局方（日局）収載品で、原薬の純度試験に、アンミニトリクロロ白金酸アンモニウム(トリクロル体)の限度値が規定されており、この分析条件を準用して試験を行った。

試験法2：承認申請書記載法で、多くの不純物を分離できるとされているHPLC法を用いて純度試験を実施した。これは試験対象の6製剤中、4製剤でトリクロル体に対する純度試験法として採用されている方法と同様である。

試験法3：ヨーロッパ各局方(EP)の原薬規格に収載されているトリクロル体及びトランス体に関する純度試験に準じて試験を行った。

なお、米国薬局方（USP）には、原薬と注射剤が収載されており、日局とほぼ類似の方法がトリクロル体の純度試験として設定され、トランスプラチンの限度試験としてもう一つのHPLC法が設定されている。

1. 試験製剤

表1. 試験に使用した製剤

| 製造番号 | 製品名 | ロットNo. | 製造販売元 |
|------|----------------------|---------|-----------------|
| 1 | ブリブラチン注10mg | OB57336 | ブリストル・マイヤーズ株式会社 |
| 2 | プラトシン注10 | 341PK | ファイザー株式会社 |
| 3 | ランダ注10mg/20mL | 105620 | 日本化薬株式会社 |
| 4 | シスプラチン注10mg「日医工」 | CTO800 | 日医工株式会社 |
| 5 | シスプラチン点滴静注10mg「マルコ」 | Y601 | 日医工ファーマ株式会社 |
| 6 | シスプラチン点滴静注10mg「マイラン」 | BD032 | マイラン製薬株式会社 |

表2. 試験製剤の添加物

| 製剤番号 | 製品名 | 添加物 | |
|------|----------------------|--------------|-----------------|
| | | 安定剤・等張化剤 | pH調整剤 |
| 1 | ブリブラチン注10mg | 塩化ナトリウム180mg | 塩酸適量 |
| 2 | プラトシン注10 | 塩化ナトリウム180mg | 塩酸適量 |
| 3 | ランダ注10mg/20mL | 塩化ナトリウム180mg | 塩酸適量 |
| 4 | シスプラチン注10mg「日医工」 | 塩化ナトリウム180mg | 塩酸適量 |
| 5 | シスプラチン点滴静注10mg「マルコ」 | 塩化ナトリウム180mg | 塩酸適量 |
| 6 | シスプラチン点滴静注10mg「マイラン」 | 塩化ナトリウム180mg | 塩酸適量、水酸化ナトリウム適量 |

2. 標準品

シスプラチン標準品：日本薬局方標準品

類縁物質：USP 標準品

アンミニトリクロロ白金酸アンモニウム (Potassium Trichloroammineplatinate, #1551300)

トランスプラチン (Transplatin, #1672803)

3. 試験法 1

3-1. 分析条件

日本薬局方原薬の純度試験に準じて以下の条件で行った。

HPLC 装置：島津 ProminenceLC-20 シリーズ

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長 209nm)

カラム：Waters Spherisorb S10 SAX 4.6x250mm (JPTI2006 シスプラチンの項を参考に選択した)

カラム温度：25℃付近の一定温度

移動相：硫酸アンモニウム溶液(1→800)

流量：アンミニトリクロロ白金酸アンモニウムの保持時間
が約 8 分になるように調整する。

試料注入量：40 L

3-2. 標準溶液, 使用溶液の調製

USP アンミニトリクロロ白金酸アンモニウム (トリクロル体) 標準品を, 80℃で 3 時間乾燥後, 0.9%NaCl で溶解し, 最終濃度 5 g/mL の標準溶液とした。同様に, USP トランスプラチン (トランス体) 標準品 5 g/mL 溶液を調製した。各製剤は製剤そのまま(10mg/20mL=0.5mg/mL)で試料溶液とした。

3-3. 結果と考察

図 1 に 6 種のシスプラチン製剤の HPLC クロマトグラムとトリクロル体の標準品のクロマトグラムを示した。シスプラチンのメインピークの前のピークはトランス体の溶出位置とほぼ一致するが, 単一のピークではないと思われた。

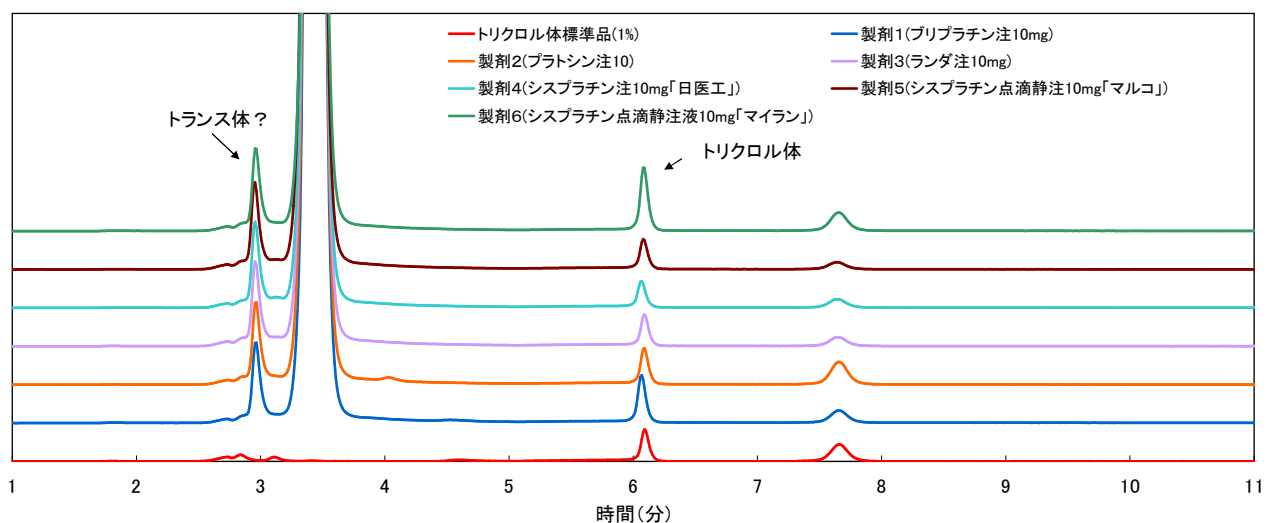


図 1 シスプラチン注射剤の HPLC クロマトグラム比較

各製剤の HPLC プロファイルは類似していた。約 6 分に溶出するトリクロル体の含有量を、類似物質標準品トリクロル体溶液(1%)との面積比から算出し、表 3 に示した。日局の原薬規格ではトリクロル体の限度値は 1%以下であるが、注射剤は収載されていないため、製剤としての限度値は無い。製剤の規格は承認申請書に規定されており、日局の試験法を用いているのは製剤 4 のみで、他は試験法 2 を用いている。製剤 4 のトリクロル体の限度規格は 3%以下であり、規格に適合していた。

我が国では、日局の原薬規格にも、製剤の承認申請書の規格にもトランス体の限度規格は設定されていない。なお、USP では、トランス体として、原薬、製剤共に 2%以下、EP では原薬に 2%以下の規格が設定されている。

表 3. シスプラチン注射剤中のトリクロル体含有量

| 製剤 | トリクロル体含有量 (%) | | | | |
|----|---------------|-------|-------|------|------|
| | No. 1 | No. 2 | No. 3 | 平均 | 標準偏差 |
| 1 | 0.73 | 0.71 | 0.69 | 0.71 | 0.01 |
| 2 | 1.34 | 1.30 | 1.26 | 1.30 | 0.03 |
| 3 | 0.53 | 0.52 | 0.50 | 0.52 | 0.01 |
| 4 | 0.50 | 0.50 | 0.48 | 0.49 | 0.01 |
| 5 | 0.42 | 0.41 | 0.40 | 0.41 | 0.01 |
| 6 | 1.08 | 1.06 | 1.02 | 1.05 | 0.02 |

局方シスプラチン原薬のトリクロル体の規格は1%以下。

4. 試験法 2

4-1. 分析条件

承認申請書記載の方法に準じて、異なる試験法でさらに純度試験を試みた。

HPLC 装置：島津 ProminenceLC-20 シリーズ

検出器：紫外吸光光度計（測定波長 210nm）

カラム：Shodex OH pak SB-804HQ (8mmx300mm)

カラム温度：20℃

移動相：0.9%塩化ナトリウム水溶液

流速：1mL/min

試料注入量：40 L

4-2. 試料の調製

3-2 と同様

4-3. 結果と考察 図 2 に標準溶液と、6 製剤のクロマトグラムを示した。トリクロル体とトランス体の溶出位置は、試験法 1 と逆になり、不純物の分離は大きく異なる条件であった。

トリクロル体とシスプラチンとの分離が若干悪い傾向があったが、表 4 に、検出されたピークのシスプラチンピーク面積に対する割合を示した。シスプラチン注射剤の承認申請書では、トリクロル体の限度試験として、製剤 4 では JP による試験法 1 が、他の製剤ではほぼ試験法 2 に準じた試験が設定されていた。製剤 5 では純度試験が設定されていなかった。それぞれの、承認申請書の限度値も表 5 に示した。

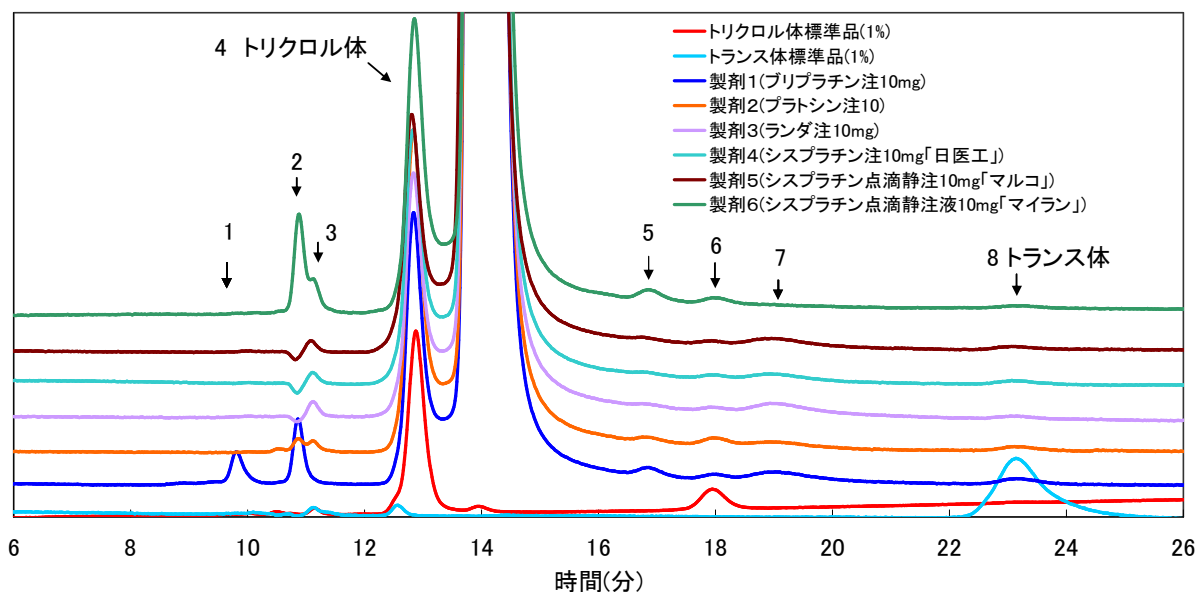


図2 標準溶液とシスプラチン注射剤の HPLC クロマトグラム

表4. シスプラチン注射剤のメインピーク以外のピーク面積のシスプラチン面積に対する割合 (%)

| ピークNo. | 1 | 2 | 3 | 4* | 5 | 6 | 7 | 8** | 合計 |
|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 溶出時間 (分) | 9.77 | 10.8 | 11.1 | 12.8 | 16.8 | 17.9 | 18.5 | 23 | |
| 1 | 0.23 | 0.31 | - | 1.61 | 0.06 | - | 0.12 | 0.09 | 2.41 |
| 2 | - | 0.06 | 0.05 | 1.93 | - | 0.05 | - | 0.06 | 2.14 |
| 3 | - | - | 0.06 | 1.41 | - | - | 0.13 | - | 1.61 |
| 4 | - | - | 0.05 | 1.42 | - | - | 0.07 | 0.05 | 1.59 |
| 5 | - | - | 0.05 | 1.31 | - | - | 0.08 | - | 1.44 |
| 6 | - | 0.47 | 0.13 | 1.73 | 0.08 | - | - | - | 2.41 |

*トリクロール体、**トランス体

定量限界を0.05%とした

トリクロール含有量は、試験法1よりも数値的には大きくなった。これはピークの出現位置が異なるためと、ピークの分離がやや悪いためと思われる。いずれにしても、承認規格にはすべて適合していた。また、製剤としての純度試験が設定されていない製剤5でも、原薬には純度試験が設定されているため、製剤としてはほぼ同程度の品質が確保されている。トランス体含有量は少なく、試験法1では、トランス体を分離できていないことが示唆された。

表5には、トリクロール体とトランス体の標準溶液に対して求めた、類縁物質含有量、及び承認申請書の規格値を示した。値は表4より若干小さくなった。いずれも規格に適合していた。

表5 類縁物質標準液から求めた含有量%

| 溶出時間(分) | 12.8 | 23 | トリクロール体の |
|---------|-------------|------------|----------|
| ピーク no. | 4*(トリクロール体) | 8**(トランス体) | 承認申請書限度値 |
| 1 | 1.41 | 0.07 | 3%以下 |
| 2 | 1.71 | 0.05 | 3%以下 |
| 3 | 1.28 | 0.02 | 3%以下 |
| 4 | 1.30 | 0.04 | 3%以下 |
| 5 | 1.26 | 0.03 | - |
| 6 | 1.57 | 0.02 | 2%以下 |

5. 試験法 3

5-1. 分析条件

EPのシスプラチンの純度試験に準じて、純度試験を試みた。

HPLC 装置：島津 ProminenceLC-20 シリーズ

検出器：紫外吸光光度計（測定波長 210nm）

カラム：GL Science Inertsil C8-4 5 m 4.6x250mm (material lot no. FB5-2978)

カラム温度：20℃

移動相：1.08g オクタンスルホン酸ナトリウム，1.70g 硫酸水素テトラブチルアンモニウム，2.72g リン酸二水素カリウムを 950mL の水に溶かし，1M 水酸化ナトリウムで pH5.9 とし，水を加えて 1000mL とする。

流速：1mL/min

試料注入量：20 L

5-2. 試料の調製

EP のシスプラチン原薬の純度試験に準じた。ただし，製剤の濃度が規定されている試料濃度の半分であることから，各製剤は 10mg/20mL(=0.5mg/mL)を希釈せずにそのまま用い，標準溶液を半分の濃度に変更した。

5-3. 結果と考察

各製剤を HPLC により分析した結果、メインピーク以外に 8 個のピークを検出した (図 3)。類縁物質の標準溶液よりピーク 2 がトランス体、ピーク 5 がトリクロル体と溶出時間が一致した。またピーク 6 は、シスプラチンのアコ体である。HPLC プロファイルには，製剤間で大きな差は認められなかった。

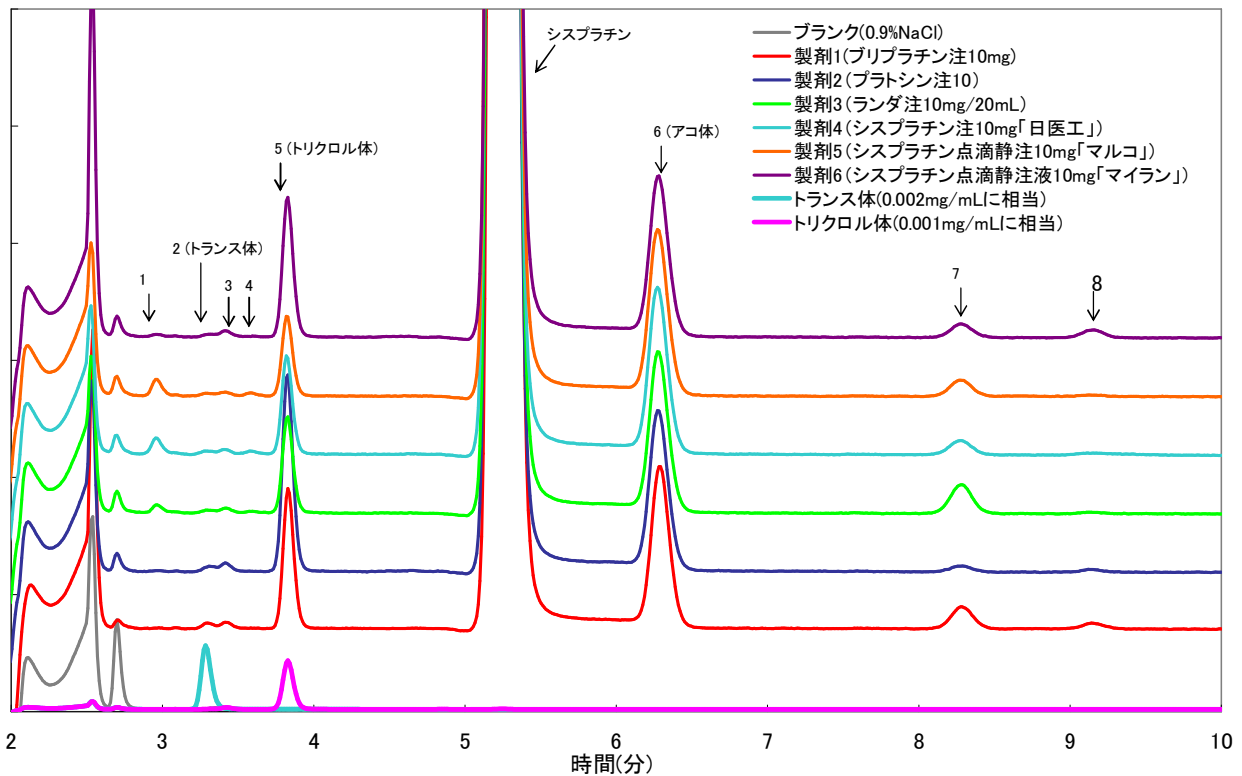


図 3 シスプラチン注射剤の HPLC クロマトグラム

表6 シスプラチン注射剤のメインピーク以外のピークのシスプラチン面積に対する割合 (%)

| 溶出時間(分) | 2.95 | 3.28 | 3.41 | 3.58 | 3.82 | 6.27 | 8.28 | 9.13 | 合計 |
|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------------|
| ピークno. | 1 | 2* | 3 | 4 | 5** | 6*** | 7 | 8 | (2,5,6を除く) |
| 1 | - | - | - | - | 0.97 | 1.83 | 0.31 | 0.08 | 0.39 |
| 2 | - | - | - | - | 0.99 | 1.36 | 0.07 | 0.03 | 0.10 |
| 3 | - | - | - | - | 0.49 | 1.37 | 0.30 | 0.01 | 0.31 |
| 4 | 0.09 | - | - | - | 0.50 | 1.42 | 0.15 | 0.02 | 0.26 |
| 5 | 0.10 | - | - | - | 0.44 | 1.53 | 0.19 | 0.02 | 0.31 |
| 6 | - | - | - | - | 0.72 | 1.40 | 0.14 | 0.08 | 0.22 |

*トランス体, **トリクロル体, ***アコ体

EPに従って, 0.05%以下のピークは無視できるピーク(-)とした.

各類縁物質ピークのシスプラチンのピーク面積に対する割合を表6に示した. EPに従って, 0.05%以下のピークは無視できるピークとした. これらの数値からも, シスプラチン注射剤の不純物は製剤間で大きな差がないと思われる.

次に, 忠実にEPの試験法に従って, 類縁物質の標準溶液を使って, 類縁物質の含有量を求めた結果を表7に示した. EPの原薬における規格値は, トランス体2%以下, トリクロル体1%以下である. トランス体はいずれも無視できる濃度とされる0.05%以下である.

表7 EP通りに求めた類縁物質の含有量%

| 溶出時間(分) | 3.283 | 3.821 |
|---------|-------|-------|
| ピークNo. | 2* | 5** |
| 1 | 0.04 | 0.61 |
| 2 | 0.04 | 0.86 |
| 3 | 0.03 | 0.42 |
| 4 | 0.03 | 0.43 |
| 5 | 0.02 | 0.35 |
| 6 | 0.02 | 0.61 |

* 類縁物質A(トランス体)

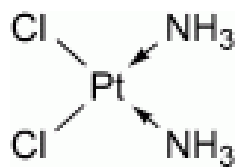
** 類縁物質B(トリクロル体)

6. 結論

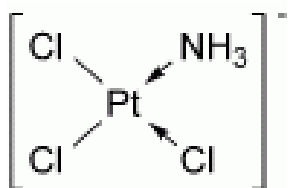
全体としてみると, 試験法によって類縁物質の分離状態は異なっており, 試験法1では, トランス体の, 試験法2ではトリクロル体で分離が良くないと思われた. 試験法3が最も良好な結果を与えていると思われる.

シスプラチン注射剤の不純物量は, 検討した純度試験条件下では, 製剤間で不純物量に大きな差は認められなかった.

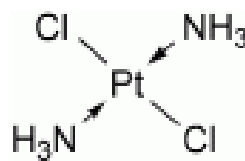
Appendix シスプラチンと類縁物質の構造式



シスプラチン



アンミントリクロロ白金酸塩
(トリクロル体)



トランスプラチン (トランス体)