

Cefpirome sulfateの物理化学的性質及び安定性

佐野昭光・力石祐次・鈴木恵美・栗木武男
ヘキストジャパン株式会社 医薬総合研究所*

野中 淳・長尾隆行・富井保雄・城塚美喜雄・長谷川嘉成
日本ルセル株式会社白河研究所

Cefpirome sulfate(CPR)の物理化学的性質及び安定性について検討した。

IR, NMR, MS, 元素分析等の測定により, その化学構造を確認し, 溶解性, 分配係数, 吸湿性等の物性を明らかにした。またCPRを苛酷条件下で分解し, 生成した分解物を単離して, 構造を明らかにした。更に, 安定性試験の結果より製剤は室温で保存するとき, 27箇月間安定であった。また, 注射用水, 生理食塩液等に溶解した後, 室温で保存するとき, 6時間までは安定であった。

Key words : Cefpirome sulfate, CPR, 物理化学的性質, 安定性

Cefpirome sulfate(CPR)はドイツ連邦共和国Hoechst社とフランスRoussel Uclaf社で合成¹⁻³⁾・開発された新規の注射用セフェム系抗生物質である。今回著者らは, この化合物の物理化学的性質及び安定性について検討したので報告する。

I. 物理化学的性質

本化合物の構造式(Fig.1), 分子式, 分子量, 一般名(略号)及び化学名は次のとおりである。

構造式: Fig.1

分子式: $C_{22}H_{22}N_6O_5S_2 \cdot H_2SO_4$

分子量: 612.67

一般名(略号): Cefpirome sulfate(CPR)

化学名 (-)-1-[[[(6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl]methyl]-6,7-dihydro-5*H*-1-pyrindinium hydroxide inner salt sulfate

1. 元素分析

CPRの元素分析値は理論値とよく一致した。

Anal.Calcd.(%) C,43.13;H,3.95;N,13.72;S,15.70

Found(%) C,42.93;H,3.96;N,13.62;S,15.62

2. 紫外吸収スペクトル

CPRは水溶液中で265nm付近に, メタノール中で268nm及び236nm付近に吸収の極大を示し, モル吸光係数は 2.0×10^4 であった。また, 0.01N塩酸中では, 270nm付近に吸収の極大を, 230nm付近に吸収の極小を示し, 極大波長のモル吸光係数は 2.5×10^4 であった(Fig. 2)。

各種pH緩衝液(pH1~11)では, pHが高くなるに従い,

270nm付近の吸収の極大が低波長側へシフトし, pH1では270nm, pH11では265nmであった。また, モル吸光係数もpHが高くなるに従い減少した(Fig. 3)。

3. 赤外吸収スペクトル

臭化カリウム錠剤法によりCPRの赤外吸収スペクトルを測定した(Fig. 4)。3190 cm^{-1} の吸収は第一アミンN-H伸縮振動, 1796 cm^{-1} は β -ラクタム環C=O伸縮振動, 1646 cm^{-1} はアミドI吸収帯, 1628 cm^{-1} は-COO⁻逆対称伸縮振動, 1547 cm^{-1} はアミドII吸収帯, 1121 cm^{-1} は硫酸S=O対称伸縮振動によるものと推定された。

4. 核磁気共鳴スペクトル

CPRについてD₂O溶媒中で基準物質に2,2-ジメチル-2-シラペンタン-5-スルホン酸ナトリウムを用いて, ¹H-核磁気共鳴スペクトルを測定した。この帰属及びスペクトルをTable 1及びFig. 5に示した。次にDMSO-d₆溶媒中での¹³C-核磁気共鳴スペクトルを測定した。この帰属及びスペクトルをTable 2及びFig. 6に示した。

5. 質量スペクトル

CPRの質量スペクトルをFAB-MS法によりチオグリセロールをマトリックスとして測定した(Fig.7)。セフェロムの分子イオンピーク(M⁺+1)がm/z=515に, 硫酸セ

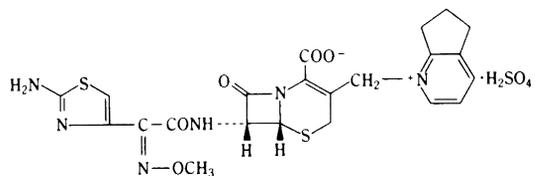


Fig. 1. Chemical structure of cefpirome sulfate.

* 〒350 川越市南台1-3-2

フピロムの分子イオンピーク($M^+ + 1$)が $m/z = 613$ に観測された。

6. 性状

CPRは白色～微黄白色の結晶性の粉末で、わずかに特異なおいがあった。CPRは水にやや溶けやすく、エタノール又はエーテルにほとんど溶けなかった。

7. 吸湿性

CPRは相対湿度22%以上で吸湿し、1日で吸湿平衡に達した。また相対湿度と吸湿量より求めた25℃における臨界湿度は約90%であった(Fig. 8)。

8. 融点及び熱分析

CPRは融点を測定するとき、300℃以上でも黒変が進

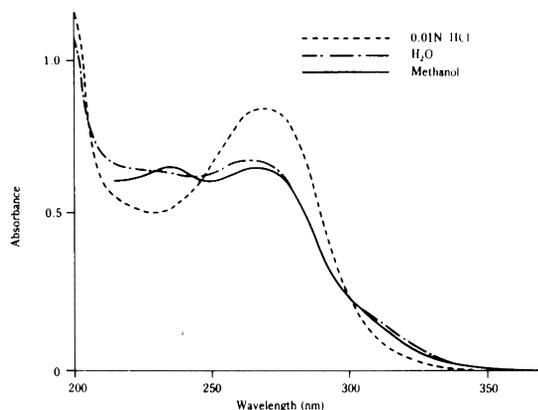


Fig. 2. UV spectrum of cefpirome sulfate.

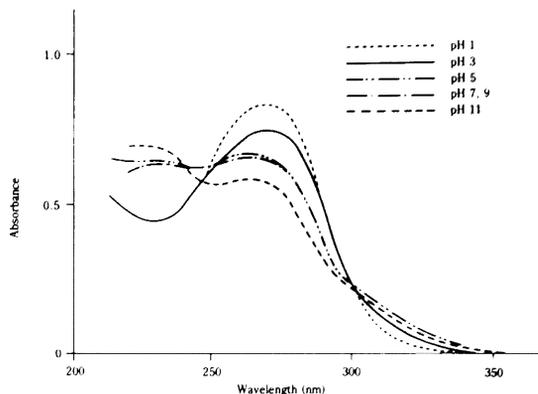


Fig. 3. UV spectrum of cefpirome sulfate.

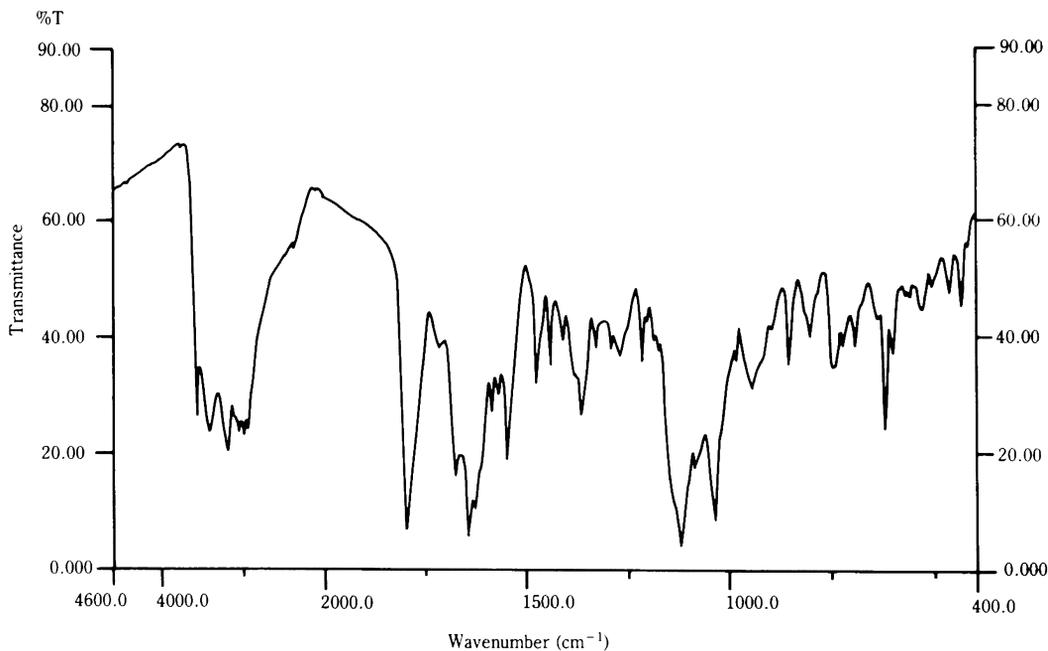


Fig. 4. IR spectrum of cefpirome sulfate.

行するのみで融解せず、明瞭な分解点を示さなかった。示差熱分析では200℃付近より重量の減少をともない、大きな発熱ピークを示し、分解が認められた。

9. 旋光度

CPRの比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ (脱水物に換算して500mg, アセトニトリル25mlを量り, 水を加えて50mlとした液, 20ml, 100mm)は -29.2° であった。

10. pH

CPRの1%溶液のpHは2.1であった。

11. 分配係数

CPRの各種pH緩衝液(pH3~9)とn-オクタノール及びn-ヘキサンとの見かけの分配係数を測定した。その結果、いずれのpHにおいてもCPRは有機溶媒層には分配されなかった。

12. 解離定数

CPRの解離定数を滴定法により求めた結果、 $pK_1=2.5$, $pK_2=2.8$ であった。

13. 定性反応

1) 塩酸ヒドロキシルアミンとの反応

Table 1. $^1\text{H-NMR}$ spectral assignment of cefpirome sulfate

Chemical shift (ppm)	Assignment	
2.34	g	2H (m)
3.21	f	2H (t)
3.31, 3.57	a	2H (ABq)
3.36	h	2H (m)
4.06	k	3H (s)
5.28	i	1H (d)
5.44, 5.49	b	2H (ABq)
5.87	j	1H (d)
7.13	l	1H (s)
7.78	d	1H (dd)
8.31	e	1H (d)
8.53	c	1H (d)

s: singlet

d: doublet

t: triplet

m: multiplet

dd: double doublet

ABq: AB quartet

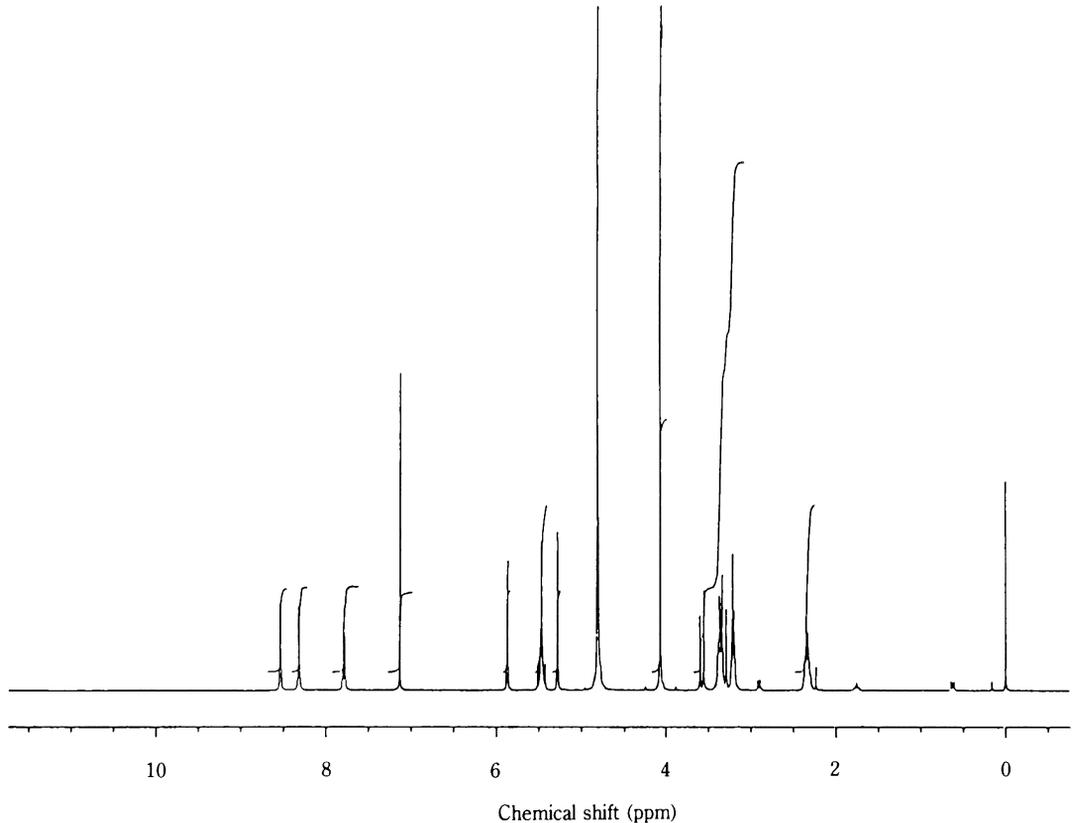
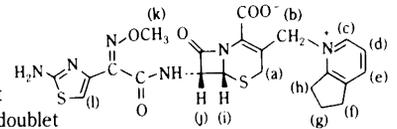


Fig. 5. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of cefpirome sulfate.

CPRに水を加えて溶かし、塩酸ヒドロキシルアミン・エタノール試液を加え放置した後、酸性硫酸第二鉄アンモニウム試液を加えて振り混ぜるとき、液は赤褐色を呈した。

2) 芳香族第一アミンの定性反応

CPRに水を加えて溶かし、氷冷しながら希塩酸を加える。次に、新たに調製した亜硝酸ナトリウム溶液を加え放置する。さらに、氷冷しながらスルファミン酸アンモニウム試液を加え、放置した後、塩酸N-(1-ナフチル)エチレンジアミン溶液を加えるとき、液は紫色を呈した。

3) ピリジン環の反応

CPRにエタノール及び水を加えて溶かし、2,4-ジニトロクロルベンゼンを加え、水浴上で加熱し、冷後、水酸化ナトリウム溶液及びエタノールを加えるとき、液は赤褐色を呈した。

II. 安定性

1. 溶液状態における安定性

CPRの溶液状態での安定性を調べるため、pH1~9の各緩衝液(イオン強度0.1)の1%溶液を40℃で保存し、経時的にサンプリングしてinitialに対する残存率を液体クロマトグラフ法により測定した。CPRの残存率の対数と時間との間には直線関係が得られ(Fig.9)、本品の溶液状態での分解は擬一次反応に従って進行するものと推定された。また、この結果より反応速度定数を求め、pHに対してプロットしたpHプロファイルをFig.10に示した。本品は40℃では、pH4~7の領域が最も安定であった。

2. 溶液状態における分解挙動⁴⁾

CPRの水溶液中における分解挙動を調べるために、1%の各種pH溶液を調製し、pH1, pH3, pH7及びpH8溶液では40℃に、pH13溶液では室温に放置した。また、pH7の溶液を30℃で人工太陽光照射下に放置した。液体

クロマトグラフ法により、経時的に追跡し、そのクロマトグラムをFig.11に示した。生成した分解物A~Fの6種類の分解物について単離、精製した後、IR, NMR及びMSにより、これらを同定し、CPRの分解経路をFig.12

Table 2. ¹³C-NMR spectral assignment of cefpirome sulfate

Chemical shift (ppm)	Assignment
25.0	(l)
28.8	(a)
33.4	(k)
34.8	(m)
60.0	(d)
61.3	(o)
62.0	(e)
66.8	(s)
113.9	(u)
119.4	(b)
128.8	(h)
133.3	(t)
135.0	(c)
143.6	(g)
144.2	(i)
145.2	(r)
149.0	(j)
164.9	(n), (q)
166.9	(f)
168.8	(p)
173.8	(v)

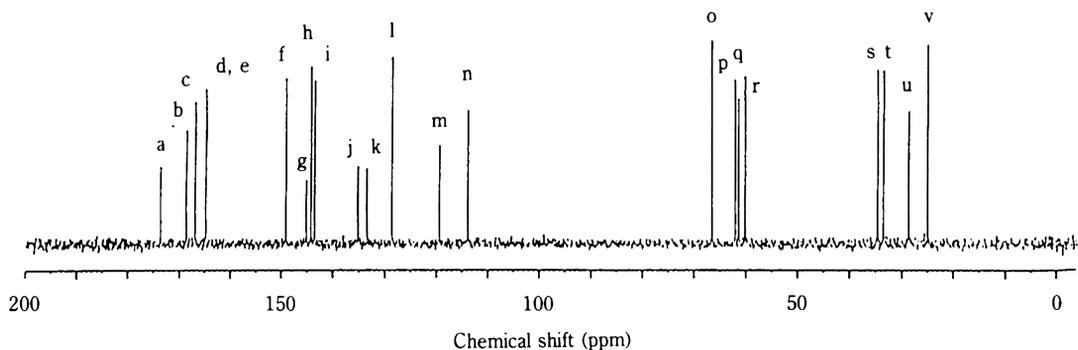
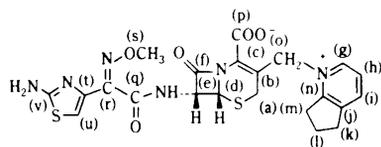


Fig. 6. ¹³C-NMR spectrum of cefpirome sulfate.

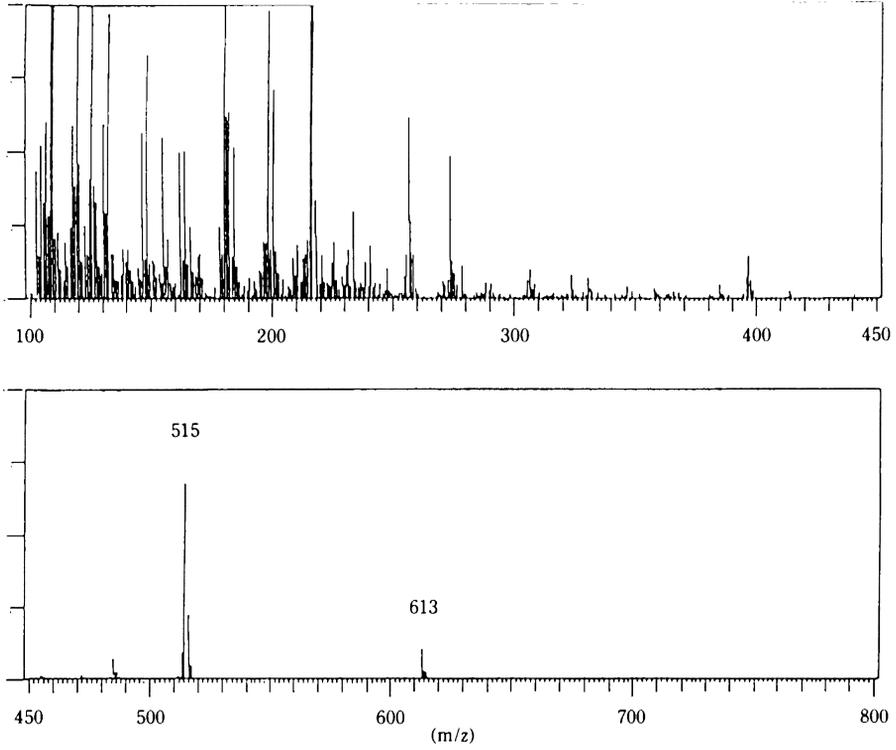


Fig. 7. Mass spectrum of ceftiofur sulfate.

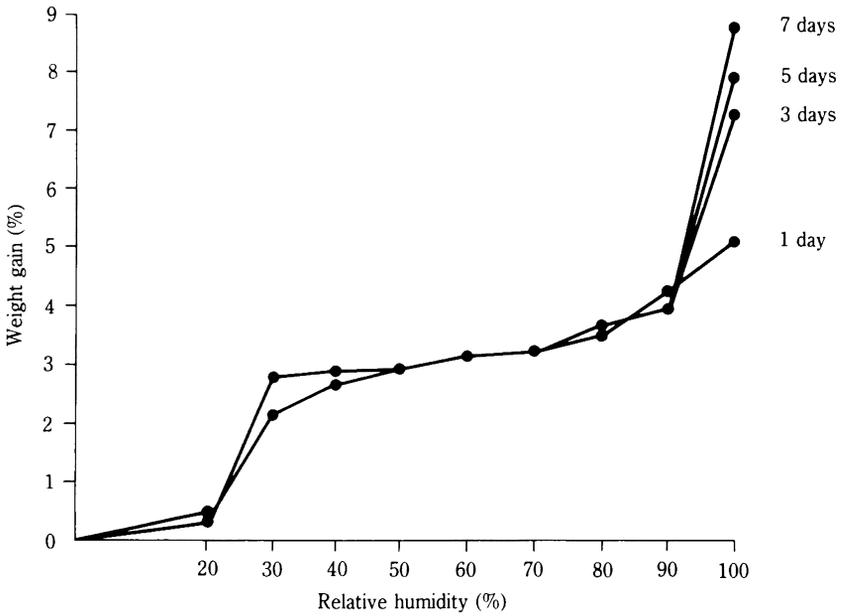


Fig. 8. Hygroscopicity of ceftiofur sulfate at 25°C.

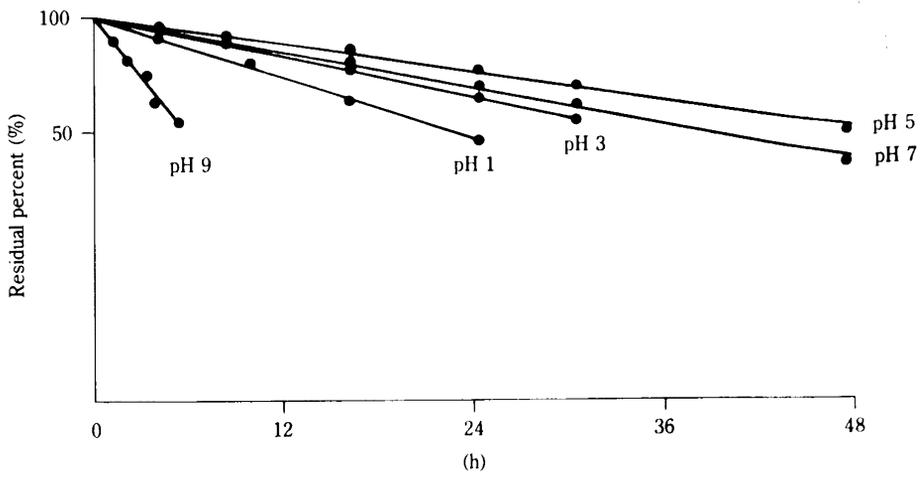


Fig. 9. Plots of observed pseudo-first-order kinetic degradation of ceftioime sulfate at various pH values, 40°C and ionic strength 0.1.

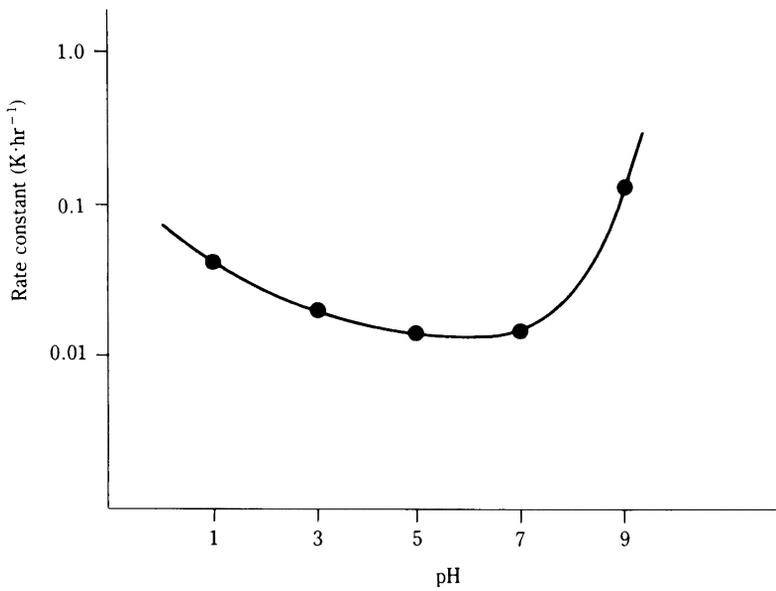


Fig. 10. Log K-pH profile for degradation of ceftioime sulfate in aqueous solution at 40°C and ion strength 0.1.

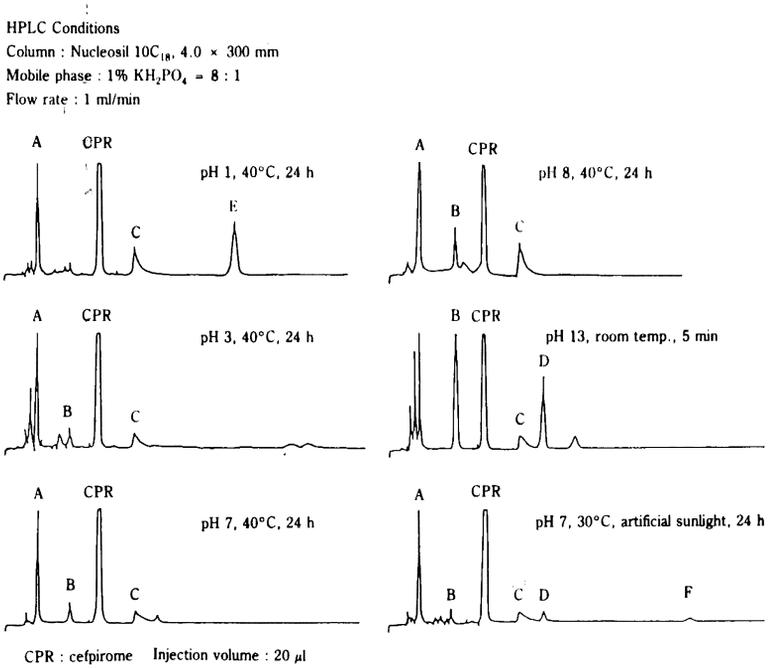


Fig. 11. High performance liquid chromatograms of degraded cefpirome sulfate in aqueous solution of different pH values.

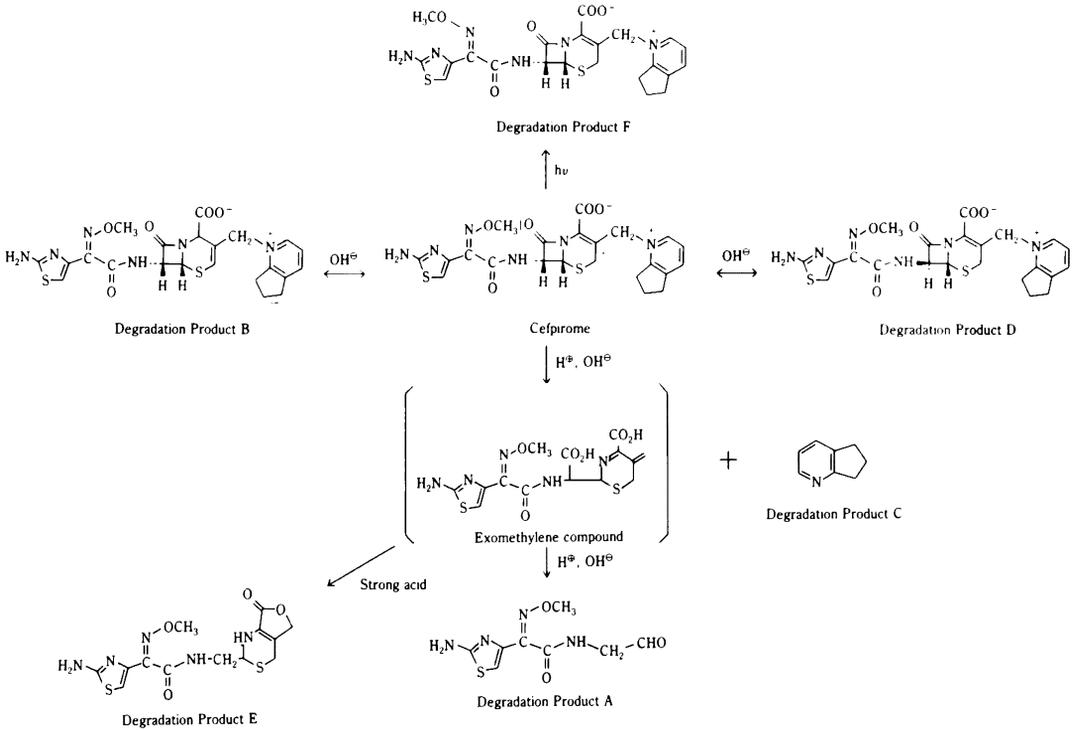


Fig. 12. Estimated degradation pathway of cefpirome sulfate.

のように推定した。すなわち、CPRは主に塩基性条件下ではcephem骨格の二重結合が Δ_3 から Δ_2 に異性化した分解物B(Δ_2 -cefpime)と7位がエピマー化した分解物D(epimer-cefpime)を生成する。次に、弱酸性から弱アルカリ性領域でのCPRの主分解経路は β -lactam環の加水分解により、3位側鎖である分解物C(2,3-cyclopentenopyridine)とその存在が推定されているexomethylene体⁵⁾を生成する経路であると考えられる。そしてこのexomethylene体が複雑に分解する過程で7位側鎖を含んでいるアルデヒド誘導体である分解物Aを生成するものと推定される。強酸性条件下では、このexomethylene体がラクトン化し、脱炭酸した分解物Eを生成するものと推定した。また人工太陽光照射下では、メトキシミノ基の異性化が起こり、分解物F(anti-cefpime)を生成した。

3. 各種溶解液及び輸液中での安定性

注射用CPR[1g(力価)]を各種溶解液又は輸液に溶かした液を室温で保存し、経時的に、外観、pH及び残存力価の測定を行い、その結果をTable 3及びTable 4に示した。これより、注射用CPRはいずれの溶解液及び輸液に

対しても溶解後6時間までは安定であった。

4. 固体状態での安定性

注射用CPR[1g(力価)]を固体状態で室温、40℃及び室内散光下で保存し、経時的に、外観、pH及び残存力価の測定を行い、その結果をTable 5に示した。これより、注射用CPRは室温で保存するとき、27箇月間は安定であった。また室内散光下でも、6箇月間は変化を認めず安定であった。一方、40℃では6箇月後残存力価がわずかに低下した。

Ⅲ. ま と め

CPRの物理化学的性質及び安定性について検討を行った。元素分析、紫外吸収スペクトル、赤外吸収スペクトル、核磁気共鳴スペクトル及び質量スペクトルのいずれもCPRの化学構造を支持した。

CPRは水にやや溶けやすく、有機溶媒にはほとんど溶けなかった。また、いずれのpHでも有機層へは分配されなかった。

CPRを苛酷条件下で分解し、生成した分解物の構造を同定してその分解経路を明らかにした。溶解状態では、pH4-7の領域が安定であり、注射用水、生理食塩液及

Table 3. Stability of cefpirome sulfate for injection in various solvents for injection

Solvent	Concentration	Test items	Initial	After 6 hours	After 24 hours
Distilled water for injection	1 g (potency) 10 ml	appearance	light yellow/clear	light yellow/clear	yellow/clear
		pH	6.7	6.7	6.9
		residual potency (%)	100	98	92
	1 g (potency) 20 ml	appearance	light yellow/clear	light yellow/clear	yellow/clear
		pH	6.7	6.8	7.0
		residual potency (%)	100	98	93
5% glucose injection	1 g (potency) 10 ml	appearance	light yellow/clear	light yellow/clear	yellow/clear
		pH	6.8	6.8	7.0
		residual potency (%)	100	96	86
	1 g (potency) 20 ml	appearance	light yellow/clear	light yellow/clear	light yellow/clear
		pH	6.7	6.7	6.9
		residual potency (%)	100	97	88
Saline solution	1 g (potency) 10 ml	appearance	light yellow/clear	light yellow/clear	yellow/clear
		pH	6.6	6.7	6.9
		residual potency (%)	100	98	93
	1 g (potency) 20 ml	appearance	light yellow/clear	light yellow/clear	yellow/clear
		pH	6.9	7.0	6.9
		residual potency (%)	100	98	94
	1 g (potency) 100 ml	appearance	colorless/clear	colorless/clear	pale yellow/clear
		pH	6.9	7.1	7.3
		residual potency (%)	100	98	94
	1 g (potency) 250 ml	appearance	colorless/clear	colorless/clear	pale yellow/clear
		pH	6.9	7.1	7.3
		residual potency (%)	100	99	95

Residual potency (%): HPLC method

Table 4. Stability of ceftioime sulfate for injection in various infusion liquids

	Test items	Initial	After 6 hours	After 24 hours
Actit injection (Nikken Chemicals)	appearance	colorless/clear	colorless/clear	colorless/clear
	pH	5.6	5.6	5.7
	residual potency (%)	100	98.8	94.3
3% ES-Polytamin injection (Daigo-Takeda)	appearance	colorless/clear	colorless/clear	colorless/clear
	pH	5.9	5.9	5.9
	residual potency (%)	100	99.4	95.4
Glyceol injection (Chugai)	appearance	colorless/clear	colorless/clear	colorless/clear
	pH	6.5	6.8	6.8
	residual potency (%)	100	98.4	91.7
Klimsalz B (Eisai)	appearance	colorless/clear	colorless/clear	colorless/clear
	pH	5.9	5.9	5.9
	residual potency (%)	100	98.9	95.0
Solita-T No.3 (Shimizu-Takeda)	appearance	colorless/clear	colorless/clear	colorless/clear
	pH	6.0	6.2	6.4
	residual potency (%)	100	97.7	94.0
Sorbit MT injection (Nikken Chemicals)	appearance	colorless/clear	colorless/clear	colorless/clear
	pH	7.2	7.2	7.2
	residual potency (%)	100	97.3	92.8
Low molecular Dextran L injection (Otsuka)	appearance	colorless/clear	colorless/clear	colorless/clear
	pH	6.4	6.6	6.8
	residual potency (%)	100	98.6	95.0
Hicaliq No.1 (Terumo)	appearance	colorless/clear	colorless/clear	colorless/clear
	pH	4.5	4.5	4.5
	residual potency (%)	100	98.9	93.7
Fructlact injection (Taiho)	appearance	colorless/clear	colorless/clear	colorless/clear
	pH	5.3	5.3	5.3
	residual potency (%)	100	99.5	97.1
Proteamin XT injection (Tanabe)	appearance	colorless/clear	colorless/clear	colorless/clear
	pH	6.2	6.1	6.2
	residual potency (%)	100	98.7	96.0
Haemaccel (Hoechst)	appearance	pale yellow/clear	pale yellow/clear	pale yellow/clear
	pH	7.1	7.2	7.1
	residual potency (%)	100	98.0	92.1

Residual potency (%): HPLC method

Table 5. Stability of ceftioime sulfate for injection at various conditions

Condition	Months	Appearance	pH	Residual potency (%)
	initial	white	6.4	100
Room temperature	6M	white	6.4	99
	12M	white	6.4	99
	24M	white	6.4	98
	27M	white	6.3	98
	40°	1M	white	6.4
	3M	white	6.3	97
	6M	white	6.3	97
Indoor light	1M	white	6.4	101
	3M	white	6.4	99
	6M	white	6.4	100

Residual potency (%): HPLC method

Indoor light: 22°, 600 ~ 800 lux

び種々の輸液に溶解した後、室温で保存するとき、6時間までは安定であった。また固体状態では室温で保存するとき、27箇月間は変化を認めず安定であった。以上より、CPRは固体状態でも、溶解後でも安定な注射用セフェム系抗生物質であることが確認できた。

文 献

- 1) ルドルフ・ラトレル, マンフレッド・ビードピルト, ワルター・デュルクハイマー: セファロスポリン誘導体及びその製法. 特公平 1-44190
- 2) ワルター・デュルクハイマー, ルドルフ・ラトレル: 結晶質セフェム-酸付加塩及びその製造方法. 特開昭 59-130888
- 3) ライナー・キルスター, ワルター・デュルクハイマー, ルドルフ・ラトレル: セフェム化合物の製造方法. 特開昭 60-34973
- 4) SUGIOKA T, ASANO T, SUZUKI E, SANO A, KURIKI T, SHIROTSUKA M, SAIJO K: Stability and degradation pattern of cefpirome in aqueous solution. *Chem. Pharm. Bull.* 38, (7), 1998, 1990
- 5) NISHIKAWA J, WATANABE H, SHUDOU M, TERUI Y, NARISADA M: The 3'-substituent effect on alkaline degradation of 1-oxachem derivatives. 6th Symposium on Medicinal Chemistry, Tokyo, 1984. Abstr. p. 9.

PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND STABILITY STUDY ON CEFPIROME SULFATE

AKIMITSU SANO, YUUJI CHIKARAISHI, EMI SUZUKI and TAKEO KURIKI
Pharma Research Laboratories Hoechst Japan Ltd.

ATSUSHI NONAKA, TAKAYUKI NAGAO, YASUO TOMII, MIKIO SHIROTSUKA, YOSHINARI HASEGAWA
Shirakawa Laboratory Nippon Roussel K.K

We investigated cefpirome sulfate (CPR), a new cephem antibiotic, to clarify its physicochemical properties and stability.

The chemical structure was confirmed by IR, NMR, MS and elemental analysis. The physicochemical properties were clarified by studying solubility, partition coefficients and hygroscopicity. Degradation products formed under severe conditions were isolated and identified.

The stability of CPR for injection was investigated in the solid state and aqueous solution. CPR for injection was stable for 6 hours at room temperature after it was dissolved with distilled water or saline solution etc. In solid state, CPR for injection was stable at room temperature for 27 months.