

注射用氨苄西林钠质量研究

周晓溪, 李青翠, 郭景文, 崔广青, 邓自新, 付晓丽

(山西省药品检验所, 太原 03000)

摘要 目的: 对不同生产工艺氨苄西林钠的质量进行对比研究。方法: 采用粉末 X-射线衍射、电镜扫描、红外光谱、有关物质等检测方法, 同时进行加速试验, 综合评价不同工艺产品。对产品中有机溶剂残留量和溶媒结晶工艺产品的 2-乙基己酸残留进行检测。结果: 溶媒结晶工艺样品为结晶型粉末, 冷冻干燥和喷雾干燥工艺样品为无定型粉末。溶媒结晶工艺样品的有关物质明显较低, 且产品稳定性好。结论: 研究表明溶媒结晶工艺生产的原料最为稳定, 应当引导企业主动使用该原料。

关键词: 注射用氨苄西林钠; 质量; 研究

中图分类号: R97 文献标识码: A 文章编号: 0254-793(20)05-0875-04

Study on the quality of ampicillin sodium for injection

ZHOU Xiao-xi LI Qing-cui GUO Jing-wen

CU I Guang-qing DENG Zi-xin, FU Xiao-li

(Shanxi Institute for Drug Control Taiyuan 03000, China)

Abstract Objective To study the quality of different process for production of ampicillin sodium **Methods** By using powder X-ray diffraction, scanning electron microscope, infrared spectroscopy related substances determination, accelerated samples were analyzed The residual solvents of ampicillin sodium and 2-ethylhexanoic acid of crystalline samples were determined **Results** Solvent crystallization process samples are crystalline powder freeze drying and spray drying process products were amorphous powder Related substances of solvent crystallization process samples were much lower and the production was more stable **Conclusion** Studies have shown that the raw materials of solvent crystallization process of production is the most stable and should be used by guiding the enterprises

Key words ampicillin sodium for injection, quality, study

氨苄西林钠问世于 20 世纪 70 年代, 为广谱半合成青霉素类抗生素, 作用与青霉素基本相同, 适用于敏感菌所致的呼吸道感染、胃肠道感染、尿路感染、软组织感染、心内膜炎、脑膜炎、败血症等, 通过抑制细菌细胞壁合成发挥抗菌作用。目前, 国内企业生产的注射用氨苄西林钠均为氨苄西林钠原料直接分装而得, 其原料药有 3 种生产工艺: 溶媒结晶法、冷冻干燥法、喷雾干燥法。本文利用我们建立的氨苄西林钠各项目检测方法, 对不同生产工艺氨苄西林钠的质量进行了对比研究, 并提出建议。

1 仪器与试剂

Rigaku D/Max-2200 X-射线粉末衍射仪; Bunker Tensor-27 红外分光光度计; 岛津 0AT 组合高效液相色谱仪, 包括 LC-04D VP 泵, SPD-0A

紫外检测器, SIL-0AXL 型自动进样器, Class-VP 色谱工作站; Agilent 6890 气相色谱仪, 包括 Agilent 7694E 顶空进样器, Agilent 氢火焰离子化检测器; Mettler AE 240 电子天平。

氨苄西林对照品: 批号 3040-200706 含量 85.7%, 由中国药品生物制品检定所提供。26 批次注射用氨苄西林钠均为 2009 年国家评价抽验样品, 分别由国内 4 家企业生产。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 晶型分析 分别对 3 种工艺(溶媒结晶法, 冷冻干燥法, 喷雾干燥法)生产的氨苄西林钠进行粉末 X-射线衍射和电镜扫描, 研究不同工艺氨苄西林钠的晶型。结果显示: 溶媒结晶工艺样品具有尖

锐的衍射峰,为结晶型粉末;喷雾干燥工艺和冷冻干燥工艺的样品,其 X-射线衍射图均无明显的衍射峰,为无定型粉末。同为采用溶媒结晶工艺的两家企业样品,虽然其粉末 X-射线衍射图完全相同,但扫描电镜图不同,这说明相同的晶型形态不同。见图 ~ 3。

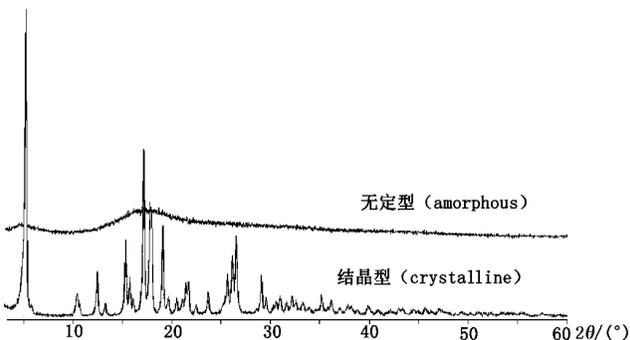


图 不同生产工艺样品粉末 X-射线衍射图

Fig Powder X-ray diffraction patten of samples in different production processes

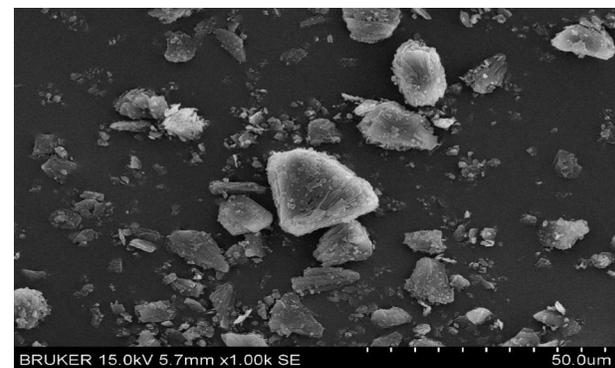


图 2 溶媒结晶工艺 A 企业电镜扫描图

Fig 2 Electron microscope scan of crystalline samples of enterprise A

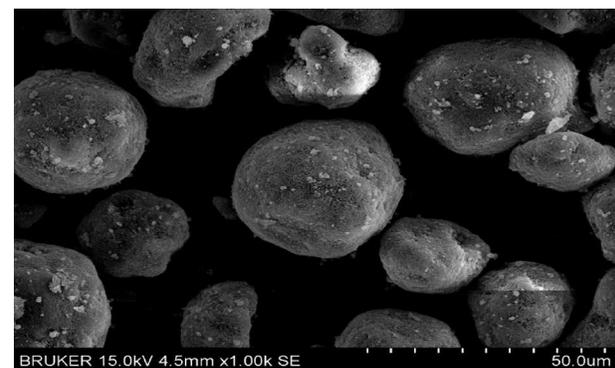


图 3 溶媒结晶工艺 B 企业电镜扫描图

Fig 3 Electron microscope scan of crystalline samples of enterprise B

2.2 红外光谱 本文选用溴化钾压片直接测定法对 3 种工艺氨苄西林钠进行红外光谱测定,比较不同工艺氨苄西林钠的红外光谱。由检验结果看,喷

雾干燥和冷冻干燥 2 种工艺的光谱一致,但与溶媒结晶工艺光谱不同,这一检测结果与粉末 X-射线衍射结果相同。见图 4

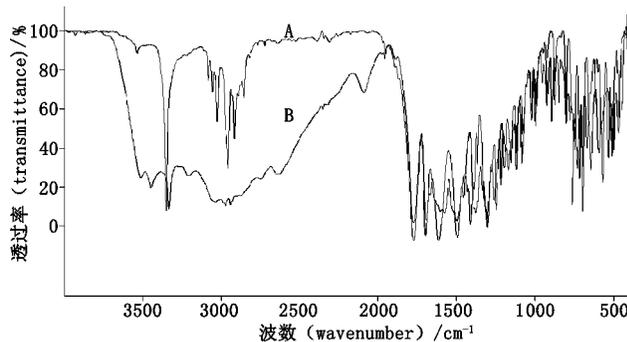


图 4 不同生产工艺样品红外光谱图

Fig 4 IR spectrum of samples in different production processes

A 溶媒结晶工艺 (solvent crystallization process) B 冷冻干燥工艺及喷雾干燥工艺 (freeze drying process and spray drying process)

2.3 有关物质 采用 Waters Spherisorb ODS2 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 A 为 2% 醋酸溶液 - 0.2 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液 - 乙腈 - 水 (0.5: 50: 50: 900), 流动相 B 为 2% 醋酸溶液 - 0.2 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液 - 乙腈 - 水 (0.5: 50: 400: 550), 流速 mL·min⁻¹; 检测波长 254 nm; 进样量 20 μL。先以流动相 A - 流动相 B (85: 5) 等度洗脱,待氨苄西林峰洗脱完毕后立即按表 运行梯度洗脱。不同生产工艺样品的其他最大杂质不同,26 批次样品检验结果见表 2。由表 2 可见:溶媒结晶工艺样品的有关物质明显小于其他 2 种工艺。同时发现,在临近有效期的冷冻干燥工艺样品的 HPLC 图谱中,氨苄西林二聚物峰之后又出现一个较大的未知杂质峰 (保留时间约 40 min, 见图 5), 根据其疏水性较强,保留值大于主峰,保留时间大于氨苄西林二聚物等特征,可能为氨苄西林三聚物。

表 1 梯度洗脱程序

Tab 1 Process of gradient elution

时间 (time) /min	流动相比例 (ratio of mobile phase)	
	A	B
0	85	5
30	0	00
45	0	00
50	85	5
60	85	5

2.4 加速试验 将 3 种不同工艺氨苄西林钠分别放入人工气候箱中,在相对湿度固定为 40%、温度

表 2 不同样品有关物质测定结果 (%)

Tab 2 Determination results of related substances in samples of different

生产工艺 (production process)	氨苄西林二聚物 (ampicillin dimer)	其他最大杂质 (any other impurity)	其他总杂质 (total impurities other than ampicillin dimer)
溶媒结晶工艺 (solvent crystallization process)	0.28~0.04	0.08~0.67	0.22~0.43
冷冻干燥工艺 (freeze drying process)	2.26~4.38	0.47~0.63	0.09~4.00
喷雾干燥工艺 (spray drying process)	0.74~3.80	0.48~0.92	0.42~4.66

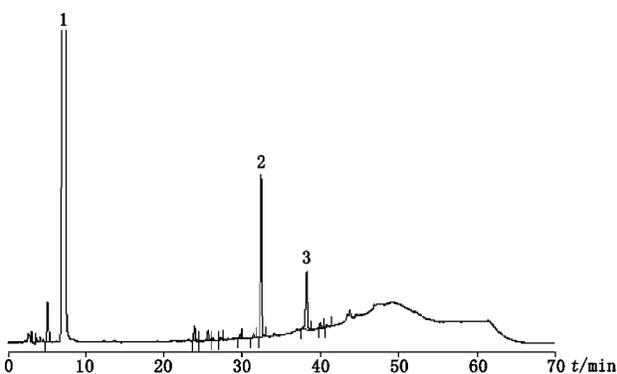


图 5 注射用氨苄西林钠有关物质 HPLC 色谱图

Fig 5 HPLC chromatogram of ampicillin sodium for injection

1 氨苄西林 (ampicillin) 2 氨苄西林二聚体 (ampicillin dimer)
3 氨苄西林三聚体 (ampicillin trimer)

依次为 40、60、80 °C 与温度固定为 40 °C, 以及相对湿度依次为 40%、60%、80% 条件下, 各自于 3 d 和 5 d 后取样, 按 BP 2009 氨苄西林钠有关物质方法测定氨苄西林二聚物和其他总杂质的变化。结果显示: 3 种工艺样品氨苄西林二聚物和其他总杂质均随温度升高而增加, 其中喷雾干燥工艺增加最为明显, 冷冻干燥次之, 溶媒结晶最小 (图 6); 3 种工艺样品上述 2 项指标随湿度提高未出现明显变化。结合产品的晶型分析可知, 结晶型样品较无定型样品稳定。

2.5 碱度 本文参照 BP 2009 氨苄西林钠碱度测定方法, 首先将不同工艺产品溶解后立即测定其 pH, 同时考察样品溶解后室温放置 0 min 的 pH。其检验结果显示: 喷雾干燥和冷冻干燥工艺样品, 溶

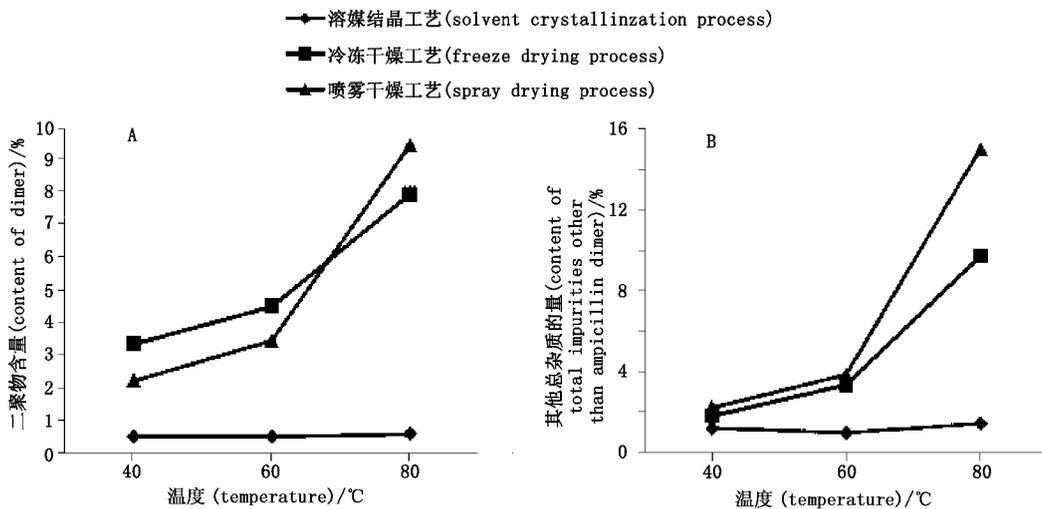


图 6 温度对氨苄西林二聚物 (A) 及其他总杂质 (B) 含量的影响

Fig 6 The impact of temperature on the content of ampicillin dimer (A) and total impurities other than ampicillin dimer (B)

解后无论是否放置, 其 pH 均较稳定; 溶媒结晶工艺样品从溶解后开始测定, pH 不断下降, 直至放置 0 min 内下降 0.2~0.3 之后不再下降, 可能与其溶解行为有关。

2.6 残留溶剂 中国药典 2005 年版^[2] 氨苄西林钠原料药仅检查二氯甲烷残留, 对其他溶剂残留未作规定, 制剂则没有该检查项目, 而注射用氨苄西林钠由原料药直接分装而成。因此, 选用毛细管顶空气相色谱法检测制剂的残留溶剂, 能够有效控制本品

的溶剂残留。

采用 Agilent 公司 HP-FFAP 毛细管柱 (25 m × 0.32 mm × 0.5 μm), 以硝基对苯二酸改性的聚乙二醇为固定液, 顶空条件为 80 °C 平衡 30 min, 进样量为 1 mL。程序升温, 初始温度 60 °C 维持 6 min, 以 20 °C · min⁻¹ 的升温速率升至 50 °C, 维持 8 min, 检测器为氢火焰离子化检测器 (FID), 检测器温度为 250 °C; 进样口温度为 50 °C; 分流比 : ; 载气为氮气。

2 6批次样品检测结果显示:本品残留溶剂有丙酮、乙酸乙酯、异丙醇、二氯甲烷、正丁醇和甲苯 6种。其中,喷雾干燥工艺样品中无二氯甲烷残留,其他 2种工艺样品均有二氯甲烷残留,残留量为 0.002% ~ 0.08%,虽在中国药典 2005年版氨苄西林钠项下二氯甲烷限度(0.2%)之内,但超出附录中残留溶剂测定法限度(0.06%);部分企业样品中异丙醇残留超出附录限度(0.3%);其他溶剂残留均符合附录规定;溶媒结晶工艺产品残留溶剂种类多于其他 2种工艺。

2.7 2-乙基己酸

2-乙基己酸为溶媒结晶工艺中残留的成盐剂,必须控制其残留量。因此,参照 BP 2009年版方法,选用毛细管气相色谱法检测注射用氨苄西林钠中 2-乙基己酸,有效反映该溶剂的残留情况。

2家企业 33批次溶媒结晶样品检测结果显示,5批次超出 BP 2009方法规定限度(不得过 0.8%)。

3 讨论

检验方法的有效性和科学性,应当是既能对药品作出合格与不合格的判定,又能对不同企业同一品种、同企业不同批次、同品种不同工艺样品质量作出评价,还能从更高、更深层次了解和掌握药品的质量问题。中国药典 2005年版二部注射用氨苄西林钠检验方法可有效控制药品质量,但是不能区分不同生产工艺原料的质量差别。因此,在检验和研究中,对各企业所用原料予以特别关注。在 X-射线衍射、电镜扫描 2种晶型分析方法的基础上,结合加速实验及其他项目检验结果发现:注射用氨苄西林

钠所用原料中,溶媒结晶工艺样品的有关物质明显较低,冷冻干燥样品的氨苄西林二聚物含量高于喷雾干燥样品,而喷雾干燥样品中其他最大杂质、其他总杂质含量则高于冷冻干燥样品;溶媒结晶工艺样品稳定性好,受贮存条件影响较小,冷冻干燥次之,喷雾干燥最差。上述检验结果与原料的晶型密切相关,通常结晶型样品较无定型样品具有更好的化学稳定性,碱度测定中不同工艺样品的溶解行为与其晶型有一定关系。

通过对本品种质量分析和整体评价,针对存在问题,围绕药品质量监管的需求,提出如下建议:

①提高现行质量标准。主要从 3个方面着手:一是增设残留溶剂、2-乙基己酸等项目,以控制药品中溶剂及副产物的残留;二是改进方法,有关物质检查项采用主成分对照外标法,以统一判断的参照物;碱度检查应将样品溶解并放置 0 min后检测;三是修订标准规定,贮藏条件应由“密闭,在干燥处保存”改为“密闭,在阴凉处保存”,以确保有效期内药品的质量。②优化生产工艺。研究表明溶媒结晶工艺生产的原料质量最为稳定,应当引导企业主动使用该原料。

致谢:感谢中国药品生物制品检定所抗生素室胡昌勤主任和邹文博老师在晶型分析方面提供的帮助。

参考文献

- BP. 2009. 56
 - ChP(中国药典). 2005 Vol III (二部): 63
- (本文于 20 0年 6月 8日收到)