

## 药物质量分析

# 注射用氨苄西林钠氯唑西林钠质量评价

李一兰 周晓溪\* 姚羽 田方 张玲变 秦爱方  
(山西省食品药品检验所, 太原 030001)

**摘要:** **目的** 评价不同生产工艺的注射用氨苄西林钠氯唑西林钠的质量现状及存在问题。**方法** 按照国家评价性抽验计划总体要求, 采用法定检验方法结合探索性研究进行样品研究, 统计分析结果。**结果** 法定标准检验 47 批次样品, 合格率 100%。探索性研究建立了有关物质检查方法, 对各杂质的来源与结构进行了确证; 杂质主要由原料引入, 不同生产工艺样品中杂质的种类基本一致, 但杂质含量及分布有较大差异。**结论** 注射用氨苄西林钠氯唑西林钠质量总体较好, 现行质量标准需进一步完善。原料药的质量影响制剂质量, 采用不同生产工艺氨苄西林钠原料药生产的样品质量存在明显差异, 冻干氨苄样品质量不及结晶氨苄样品, 且更易受温度的影响。因此, 应引导企业首选溶媒结晶工艺氨苄西林钠原料。

**关键词:** 注射用氨苄西林钠氯唑西林钠; 质量; 评价性抽验

**中图分类号:** R978.1 **文献标志码:** A

## Quality assessment of ampicillin sodium and cloxacillin sodium for injection

Li Yi-lan, Zhou Xiao-xi, Yao Yu, Tian Fang, Zhang Ling-bian and Qin Ai-fang  
(Shanxi Institute for Food and Drug Control, Taiyuan 030001)

**Abstract Objective** To evaluate the suitability of the statutory and the quality of ampicillin sodium and cloxacillin sodium for injection of different production processes. **Methods** According to the general requirements of national drug assessment programs, the statutory standard methods combined with exploratory researches were used to evaluate the quality of ampicillin sodium and cloxacillin sodium for injection. **Results** According to the statutory standards, 47 batches were examined and the qualified rate was 100%. The method of related substance test was optimized. This paper also researched the structures and sources of impurities. Exploratory research showed that all impurities were mainly from impurities in raw materials. The kinds of impurities from different batches of different production processes were roughly the same, but the distribution and the contents of them had greater differences. **Conclusion** The quality of ampicillin sodium and cloxacillin sodium was generally under good control. However, the quality control specification needs to be further improved. The quality of raw material affects the quality of ampicillin sodium and cloxacillin sodium. Studies have shown that the quality of freeze drying process sample is inferior to that of solvent crystallization process sample. Therefore, enterprises should be guided to choose the solvent crystallization process ampicillin sodium raw materials.

**Key words** Ampicillin sodium and cloxacillin sodium for injection; Quality; Evaluative testing

收稿日期: 2018-11-20

作者简介: 李一兰, 女, 生于 1984 年, 主管药师, 主要研究方向为药物分析, E-mail: liyilan1218@163.com

\* 通讯作者: E-mail: zhouxiaoxi1134@126.com



第一作者: 李一兰, 毕业于温州医学院药理学专业, 硕士。主要从事抗感染抗肿瘤及生化药品的检验检测及质量评价工作。多次参与或承担国家药品评价性抽验工作, 参与并完成部分仿制药一致性评价复核工作。



通讯作者: 周晓溪, 现任山西省食品药品检验所化学药品检测二室主任, 主任药师。1993 年毕业于山西大学, 2006 年获中国药科大学药物分析专业硕士学位。长期从事抗生素药品检验及质量研究工作, 多次主持完成国家药品评价抽验工作、药品标准的制修订及复核工作, 在国家级核心期刊发表论文 10 余篇。

注射用氨苄西林钠氯唑西林钠为氨苄西林钠和氯唑西林钠等量混合的无菌粉针剂, 即对革兰阳性菌和阴性菌有广谱杀灭作用, 又对耐青霉素的金黄色葡萄球菌有效<sup>[1-2]</sup>, 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, 也可用于化脓性链球菌或肺炎球菌与耐青霉素葡萄球菌所致的混合感染。注射用氨苄西林钠氯唑西林钠均由无菌原料药直接分装而成, 规格为 0.5g、1.0g、1.5g 和 2.0g。

注射用氨苄西林钠氯唑西林钠为 2016 年国家评价性抽验品种, 此次抽验的目的在于客观地评价国内药品的质量现状; 客观分析产品存在的主要质量问题, 进而为进一步提高产品质量指明方向<sup>[3-5]</sup>。氨苄西林钠有溶媒结晶、冷冻干燥、喷雾干燥 3 种生产工艺<sup>[6]</sup>。氯唑西林钠为溶媒结晶生产工艺。依据氨苄西林钠原料的生产工艺, 本次评价样品可分为两种: 溶媒结晶氨苄西林钠样品与冷冻干燥氨苄西林钠样品, 分别简称为结晶氨苄样品与冻干氨苄样品。本文对国内市场上的注射用氨苄西林钠氯唑西林钠依据现行药品质量标准进行检验并进行探索性研究, 结合标准检验及探索检验结果对质量进行系统地分析, 从而对现行药品质量标准提出合理的改进建议, 为注射用氨苄西林钠氯唑西林钠质量标准的进一步完善和今后的监督管理提供重要依据<sup>[7-8]</sup>。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Waters E2695 高效液相色谱仪; Mettler AE240 电子天平; Mettler Toledo SevenMulti 酸度计; Mettler Toledo DL38 水分测定仪; 温控水分活度仪 (Novasina, Awsprint); Ultimate 3000 高效液相色谱仪系列; Thermo Scientific 公司 Q ExactiveFocus™ 组合型四极杆 Orbitrap™ 质谱仪。

### 1.2 试剂

氨苄西林对照品: 批号 130410-201207, 含量 86.5%; 氯唑西林对照品: 批号 130423-200903, 含量 91.0%; 氨苄西林系统适用性对照品: 批号 130618-201202; 均购自中国食品药品检定研究院。45 批次注射用氨苄西林钠氯唑西林钠为 2016 年国家药品评价性抽验样品 (其中冻干氨苄样品 43 批次, 结晶氨苄样品 2 批次), 另有 2 批次结晶氨苄样品为调研样品, 分别抽自国内 6 家生产企业。水为自制超纯水, 乙腈为 Dikma 公司生产的色谱纯, 其余所用试剂均为分析纯。

## 2 实验方法

### 2.1 法定检验

本次抽验的样品按照国家药品标准化学药品地方标准上升国家标准第七册<sup>[9]</sup>进行检验。主要检验项目为水分、有关物质、含量测定等。

### 2.2 探索性研究

根据法定检验结果, 结合文献报道<sup>[8,10-11]</sup>以及品种特点、专题调研等情况, 重点开展晶型、水分与水活度、有关物质等项目的探索性研究。

#### 2.2.1 晶型测定

选取不同生产工艺样品及原料, 采用粉末 X-射线衍射测定晶型。

#### 2.2.2 水分与水活度

分别将不同生产工艺的样品各 2 批次置于相对湿度 75% 的环境中, 开盖放置, 取样时间为间隔 2h, 分别选用水分测定仪和温控水分活度仪测定其水分和 25℃ 水活度。

#### 2.2.3 有关物质

(1) 有关物质测定: 现行标准采用等度洗脱法, 不能有效分离杂质, 参照 2015 年版中国药典二部<sup>[12]</sup>氨苄西林钠方法建立本品有关物质梯度洗脱法: 采用十八烷基硅烷键合硅胶 (4.6mm×250mm, 5μm) 为填充剂; 流动相 A 为 12% 乙酸溶液 -0.2mol/L 磷酸二氢钾溶液 - 乙腈 - 水 (0.5:50:50:900, V/V/V/V); 流动相 B 为 12% 乙酸溶液 -0.2mol/L 磷酸二氢钾溶液 - 乙腈 - 水 (0.5:50:400:550, V/V/V/V); 检测波长为 254nm。先以流动相 A- 流动相 B(85:15, V/V) 等度洗脱, 待氨苄西林峰洗脱完毕后立即按表 1 进行线性梯度洗脱。

(2) 杂质的确证: 通过 UPLC-MS 切换技术在线脱盐, 一维色谱条件参照有关物质测定, 二维色谱条件为色谱柱 Acclaim™ Polar Advantage II C<sub>18</sub> (4.6mm×50mm, 3μm); 流速: 0.5mL/min; 柱温: 30℃; 流动相为水: 乙腈=80:20(V/V)。利用质谱进行杂质一级和二级扫描: 根据二维上的出峰时间, 设置质谱阀切换参数, 进行一级和二级扫描。质谱条件: 鞘气流速: 40L/min; 辅气流速: 5L/min; 反吹气流速: 1L/min; 喷雾电压: 3.5kv; 毛细管温度: 320℃; 辅

表 1 梯度洗脱程序  
Tab. 1 Linear gradient elution program

| t/min | 流动相 A/% | 流动相 B/% |
|-------|---------|---------|
| 0     | 85      | 15      |
| 30    | 0       | 100     |
| 45    | 0       | 100     |
| 50    | 85      | 15      |
| 60    | 85      | 15      |

气加热温度：400℃；全扫描：分辨率：35000；扫描范围：200-2000。

### 2.2.4 稳定性试验

分别将不同生产工艺样品进行加速试验，在 40℃ 条件下分别放置 10、20 和 30d，对溶液的澄清度与颜色、含量、有关物质等进行测定。

## 3 结果与讨论

### 3.1 法定检验结果

47 批次样品按现行药品质量标准检验均符合规定，合格率为 100%。水分、有关物质等主要检查项目与产品质量密切相关，因此对其结果进行统计分析。

#### 3.1.1 水分

对 47 批次样品的水分数据进行统计分析，结晶氨苄样品为 1.98%~2.02%，冻干氨苄样品为 2.35%~2.64%，结晶氨苄样品水分低于冻干氨苄样品。

#### 3.1.2 有关物质

对 47 批次样品的总杂质数据（等度洗脱）进行统计分析，结晶氨苄样品总杂质质量为 0.54%~0.63%，冻干氨苄样品总杂质质量为 1.34%~2.07%，结晶氨苄样品总杂质质量低于冻干氨苄样品。

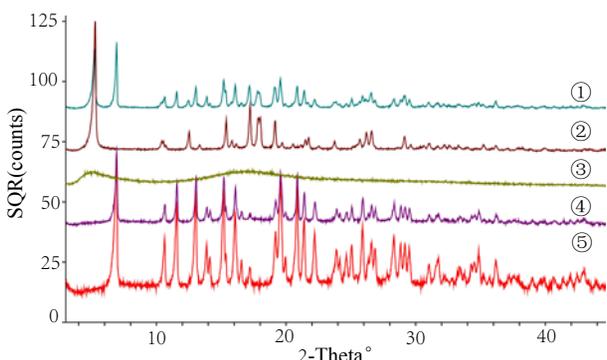
### 3.2 探索性研究

#### 3.2.1 晶型测定

结晶氨苄西林钠原料具有多个特征衍射峰为结晶型粉末，冻干氨苄西林钠原料无特征衍射峰出现为无定型粉末；氯唑西林钠原料为结晶型粉末。结晶氨苄样品均具有相应特征衍射峰，冻干氨苄样品仅呈现氯唑西林钠特征衍射峰（图 1）。

#### 3.2.2 水分与水活度

冻干氨苄样品与结晶氨苄样品 8h 水活度和水分平均上升率均存在一定差异，结晶氨苄样品 8h 水分平均增长率 1.15%/h，水活度平均增长率 0.034/h；冻干氨苄样品 8h 水分平均增长率 1.22%/h，水活度平



①：结晶氨苄样品；②：结晶氨苄西林钠原料；③：冻干氨苄西林钠原料；④：冻干氨苄样品；⑤：氯唑西林钠原料

图 1 粉末 X-射线衍射图

Fig. 1 Powder X-ray diffraction

均增长率 0.056/h；冻干氨苄样品初始水活度明显低于结晶氨苄样品，8h 时其水活度与结晶氨苄样品一致，其增长速率高于结晶氨苄样品（图 2）；一般认为样品在水活度越小时质量越稳定，本次试验发现，初始水活度低的冻干氨苄样品稳定性次于初始水活度高的结晶氨苄样品，提示晶型对本品质量的影响大于水活度的影响<sup>[13]</sup>。

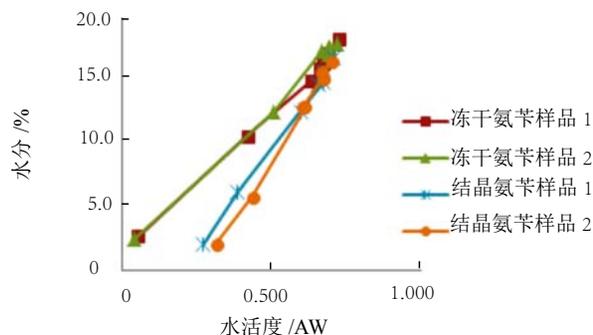


图 2 不同生产工艺样品水活度及水分测定结果比较图

Fig. 2 The comparison of water activity and water determination results in samples of different production processes

#### 3.2.3 有关物质

为了更好地反映样品的杂质谱，对现行标准的有关物质测定方法进行改进，建立了洗脱能力更强，分离效果更好的梯度洗脱法，与现行标准的等度洗脱法（图 3）比较，其洗脱能力更强，检出的杂质总量更多（图 4）。47 批次样品杂质个数和杂质总量均明显增加（杂质总量增加了 0.02%~1.67%）。

探索性研究结果表明，利用氨苄西林系统适用性对照品、氯唑西林杂质对照品及通过 UPLC-MS 切换技术在线脱盐实现磷酸盐液相条件杂质的定性，研究样品 16 个杂质（其中杂质 3、9、15、16 由 UPLC-MS 确证）并结合原料药杂质检出情况和破坏性试验对杂质结构及来源进行了归属（表 2）。通过主成分自身对照法计算各杂质含量，分析 47 批次样品的杂质检出和分布情况（图 5）。图 5 显示不同生产工艺样品均能检出这 9 个杂质，其中编号为 1（氨苄西林噻唑酸）、5（氨苄西林闭环二聚体）、6（未知杂质 6）、9（氨苄西林闭环三聚体）、15（6-氨基青霉烷酸氯唑西林酰胺）、16（未知杂质 16）为主要杂质，且各杂质平均含量均大于 0.1%；其中 5 号杂质为冻干氨苄样品最大单个杂质，16 号杂质为结晶氨苄样品最大单个杂质<sup>[14-16]</sup>。

样品生产工艺为无菌原料直接混合分装，结合原料药和制剂杂质检出情况，制剂的杂质均与原料药及其降解物一致，提示原料药的质量影响制剂质量。

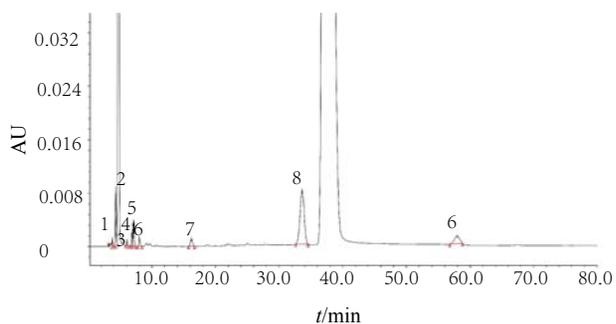


图3 注射用氨苄西林钠氯唑西林钠有关物质等度洗脱典型图谱  
Fig. 3 Isocratic elution program system HPLC chromatogram of ampicillin sodium and cloxacillin sodium for injection in related substances

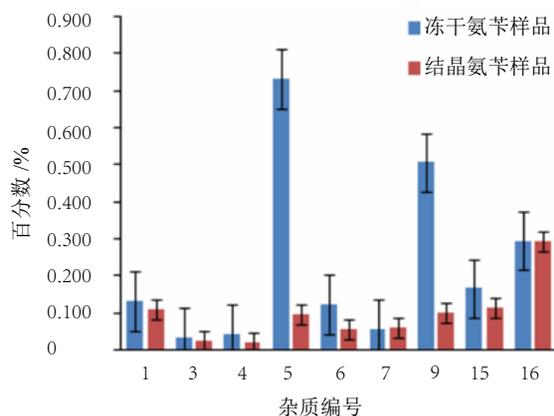


图5 不同生产工艺样品较大9个杂质平均含量比较图  
Fig. 5 The comparison of 9 impurities contents in ampicillin sodium and cloxacillin sodium

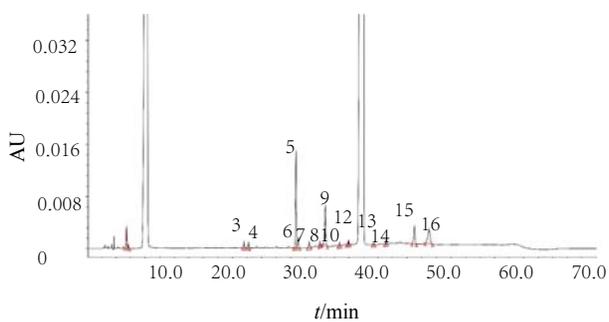


图4 注射用氨苄西林钠氯唑西林钠有关物质梯度洗脱典型图谱  
Fig. 4 Gradient elution program system HPLC chromatogram of ampicillin sodium and cloxacillin sodium for injection in related substances

3.2.4 稳定性考察

两种生产工艺的样品在 40℃ 的条件下进行加速试验<sup>[4]</sup>。比较样品中的特定杂质氨苄西林闭环二聚体,总杂质、氨苄西林和氯唑西林纯度变化,发现冻干氨苄样品的闭环二聚体、总杂质质量均增加,氨苄西林纯度降低,氯唑西林纯度无明显变化;结晶氨苄样品闭环二聚体,总杂质、氨苄西林和氯唑西林纯度无明显变化。提示冻干氨苄样品受存储温度影响较大,在存储过程中不稳定。

3.2.5 相关分析

将 47 批次样品的水分、氨苄西林闭环二聚体、杂质总量、纯度检验结果和生产工艺类型等进行多因

表 2 注射用氨苄西林钠氯唑西林钠杂质的归属

Tab. 2 The impurity ascription of ampicillin sodium and cloxacillin sodium for injection

| 杂质编号 | 杂质名称                       | BP 对应杂质  | 杂质来源     |
|------|----------------------------|----------|----------|
| 1    | 氨苄西林噻唑酸                    | 氨苄西林杂质 D | 降解杂质和副产物 |
| 2    | 未知杂质 2                     | -        | 降解杂质     |
| 3    | L- 氨苄西林                    | 氨苄西林杂质 B | 工艺杂质     |
| 4    | 2'5'- 二酮哌嗪 -2(R) 氨苄西林      | 氨苄西林杂质 G | 降解杂质     |
| 5    | 氨苄西林闭环二聚体                  | 氨苄西林杂质 M | 降解杂质和副产物 |
| 6    | 未知杂质 6                     | -        | 降解杂质     |
| 7    | 氯唑西林噻唑酸                    | 氯唑西林杂质 A | 降解杂质和副产物 |
| 8    | 未知杂质 8                     | -        | 降解杂质     |
| 9    | 氨苄西林闭环三聚体                  | 氨苄西林杂质 M | 降解杂质和副产物 |
| 10   | 氨苄西林开环三聚体                  | 氨苄西林杂质 M | 降解杂质和副产物 |
| 11   | 未知杂质 11                    | -        | 降解杂质     |
| 12   | 未知杂质 12                    | -        | 降解杂质     |
| 13   | 3-(2- 氯苯基)-5- 甲基 -4- 异恶唑羧酸 | 氯唑西林杂质 D | 降解杂质     |
| 14   | 未知杂质 14                    | -        | 降解杂质     |
| 15   | 6- 氨基青霉烷酸氯唑西林酰胺            | 氯唑西林杂质 E | 降解杂质     |
| 16   | 未知杂质 16                    | -        | 降解杂质     |

注: “-” 为无

素相关分析 (见表 3) 表明: ①不同氨苄西林钠原料生产工艺与样品的水分、氨苄西林闭环二聚体、杂质总量、氨苄西林纯度等均显著相关 ( $P<0.01$ ), 提示氨苄西林钠原料的生产工艺是影响本品质量的重要因素; ②样品的氨苄西林纯度与水分、杂质总量等均显著相关, 提示水分亦是影响样品纯度变化的主要原因。

#### 4 小结

本次评价性抽验结果显示, 注射用氨苄西林钠氯唑西林钠总体质量较好, 产品合格率 100%, 但现行质量标准需进一步完善, 建议采用梯度洗脱的方法进行有关物质检查, 并对氨苄西林闭环二聚体等特定杂质进行控制。探索性研究表明采用不同生产工艺氨苄西林钠原料药生产的样品质量存在明显差异, 冻干氨苄样品质量不及结晶氨苄样品, 且更易受温度的影响, 提示原料药的质量影响制剂质量。因此, 应引导企业首选溶媒结晶工艺氨苄西林钠原料。

#### 参考文献

[1] 王永红, 杨云虹. 氨苄西林钠氯唑西林钠静脉滴注引起严重过敏性休克 1 例救治体会 [J]. 临床合理用药杂志, 2012, 5(10B): 131-132.  
 [2] 张利斌, 张晓庆, 刘明忠. 注射用氨苄西林钠 / 氯唑西林钠与不同溶媒配伍稳定性的研究 [J]. 药学实践杂志, 2006, 24(2): 86-89.

[3] 胡昌勤. 对抗生素药品评价性抽验基本思路与方法的思考 [J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(1): 1-11.  
 [4] 肖慧, 李雪, 罗嘉琳, 等. 国产头孢匹胺注射剂的质量分析 [J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(3): 35-42.  
 [5] 郭艳娟, 李伟, 曹晓云, 等. 国产注射用头孢地嗪钠质量分析 [J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(3): 291-295.  
 [6] 周晓溪, 李青翠, 郭景文, 等. 注射用氨苄西林钠质量研究 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(5): 875-878.  
 [7] 肖慧, 洪建文, 彭洁, 等. 国产注射用头孢西丁钠质量评价 [J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(6): 470-475.  
 [8] 黄婕, 滕钰, 徐洪, 等. 国产氨苄西林钠胶囊质量评价 [J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(3): 296-302.  
 [9] 国家药典委员会. 国家药品标准 [S]. 化学药品地方标准上升国家标准第七册: 88-8.  
 [10] 付晓丽, 郭景文, 郑台, 等. 注射用头孢尼西钠质量评价 [J]. 中国抗生素杂志, 2014, 39(4): 49-52.  
 [11] 杜旭, 曹晓云, 郭福庆, 等. 国产注射用头孢替唑钠质量分析 [J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(6): 34-38.  
 [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 2015 年版二部: 1150.  
 [13] 薛晶, 尹力辉, 邹文博, 等. 生产工艺对氨苄西林钠质量的影响 [J]. 中国药学杂志, 2011, 46(23): 1833-1839.  
 [14] 闻宏亮, 裘亚, 张含智, 等. 注射用氯唑西林钠的杂质谱研究 [J]. 中国药学杂志, 2016, 51(6): 488-493.  
 [15] 周晓溪, 郭景文, 郑台, 等. 国产注射用氨苄西林钠杂质谱与其生产工艺的相关性研究 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(3): 486-489.  
 [16] 牛长群, 祝仕清. 氨苄西林、阿莫西林中相关物质的 LC-MS 分析 [J]. 药学报, 2011, 36(10): 758-761.

表 3 主要项目检测结果多因素相关性分析

Tab. 3 Multi-factors correlation analysis of the maior items determination results

|           |             | 生产工艺     | 水分       | 氨苄西林闭环二聚体 | 杂质总量     | 氨苄西林纯度  | 氯唑西林纯度  |
|-----------|-------------|----------|----------|-----------|----------|---------|---------|
| 生产工艺      | Pearson 相关性 | 1        | -0.824** | -0.803**  | -0.588** | 0.443** | 0.197   |
|           | 显著性 ( 双侧 )  |          | 0.000    | 0.000     | 0.000    | 0.002   | 0.194   |
|           | N           | 45       | 45       | 45        | 45       | 45      | 45      |
| 水分        | Pearson 相关性 | -0.824** | 1        | 0.548**   | 0.224    | -0.336* | -0.117  |
|           | 显著性 ( 双侧 )  | 0.000    |          | 0.000     | 0.139    | 0.024   | 0.445   |
|           | N           | 45       | 45       | 45        | 45       | 45      | 45      |
| 氨苄西林闭环二聚体 | Pearson 相关性 | -0.803** | 0.548**  | 1         | 0.877**  | -0.368* | -0.344* |
|           | 显著性 ( 双侧 )  | 0.000    | 0.000    |           | 0.000    | 0.013   | 0.021   |
|           | N           | 45       | 45       | 45        | 45       | 45      | 45      |
| 杂质总量      | Pearson 相关性 | -0.588** | 0.224    | 0.877**   | 1        | -0.357* | -0.257  |
|           | 显著性 ( 双侧 )  | 0.000    | 0.139    | 0.000     |          | 0.016   | 0.089   |
|           | N           | 45       | 45       | 45        | 45       | 45      | 45      |
| 氨苄西林纯度    | Pearson 相关性 | 0.443**  | -0.336*  | -0.368*   | -0.357*  | 1       | -0.233  |
|           | 显著性 ( 双侧 )  | 0.002    | 0.024    | 0.013     | 0.016    |         | 0.124   |
|           | N           | 45       | 45       | 45        | 45       | 45      | 45      |
| 氯唑西林纯度    | Pearson 相关性 | 0.197    | -0.117   | -0.344*   | -0.257   | -0.233  | 1       |
|           | 显著性 ( 双侧 )  | 0.194    | 0.445    | 0.021     | 0.089    | 0.124   |         |
|           | N           | 45       | 45       | 45        | 45       | 45      | 45      |

注: “\*\*”: 在 0.01 水平 ( 双侧 ) 上显著相关; “\*”: 在 0.05 水平 ( 双侧 ) 上显著相关