Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

注射用阿洛西林药品中有关物质的检测

[1]梁键谋 [2]王志英 [2]谭晓杰 [2]王悦
[1]浙江省食品药品检验研究院 [2]沃特世科技(上海)有限公司

应用优势

- 使用亚2 μm色谱柱，建立阿洛西林有关物质检测方法，提高分析效率。
- 检测140批市售注射用阿洛西林药品，并使用Empower®软件统计功能出具报告。

沃特世解决方案

ACQUITY UPLC® H-Class
Empower软件
BEH C_{18} (100 x 2.1mm, 1.7 μm) 色谱柱

关键词

UPLC®、有关物质、杂质、Empower、阿洛西林、Azlocillin

简介

抗生素是临床用量最大和较易发生不良反应的药物。其中最常见的一类不良反应就是过敏反应。近几年已出现过多起因使用抗生素而引起的医疗事故。究其原因，主要是抗生素类药品大多由发酵或半合成得到，其中易包含多种杂质，特别是β-内酰胺类抗生素，本身也不太稳定，易产生聚合或降解产生更多杂质。因此需要有适当的方法对其杂质进行检测，从而对药品质量进行监控。阿洛西林是一种β-内酰胺类抗生素，注射用阿洛西林钠为无菌冻干粉针剂，因其抗菌谱广、抗菌活力强而在临床上广泛使用。本应用就针对市售的阿洛西林开发一个快速的液相分离方法，以检测其中的有关物质。

中国药典中阿洛西林钠的检测方法使用的为磷酸盐体系，等度的方法，运行一针样品约60分钟。因使用的为磷酸盐体系，不易于后续的杂质鉴定工作；同时药检所老师反映说经实践发现，使用药典方法，用含量较低的产品做有关物质测定，其纯度仍很高，也就是其有关物质方法未能完全检测其中杂质；另外运行样品时间较长，希望能提高检测效率。

本文采用沃特世(Waters®)超高效液相色谱使用亚2 μm色谱柱，对阿洛西林样品中有关物质检测方法进行了优化。使检测时间由60分钟缩短至16分钟，大大提高检测效率。建立的液相方法为质谱兼容型流动相体系，为后续杂质鉴定做准备。并检测了市售的140批样品，并使用Empower统计功能出具报告，方便对不同批次样品中杂质的含量进行统计和监测。

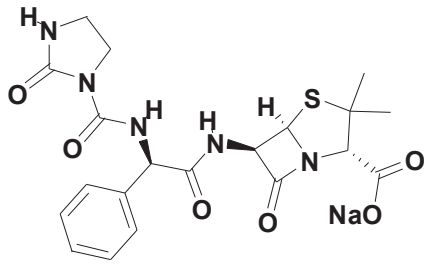

图1. 阿洛西林钠(Azlocillin Sodium) $C_{20}H_{22}N_5O_6SNa$。

实验条件

A.LC / UPLC 条件

LC系统: ACQUITY UPLC
色谱柱: BEH C_{18} (100 x 2.1 mm, 1.7 µm)
(Part No: 186002352)
柱温: 35 °C
进样量: 2 mL
流速: 0.43 mL/min
流动相A: 10 mM醋酸铵水溶液
流动相 B: 8 mM醋酸铵/ACN (4/1)
梯度表:

Time	Flow	%A	%B	Curve
0	0.430	88.0	12.0	Initial
3.00	0.430	84.0	16.0	6
6.50	0.430	80.0	20.0	6
13.00	0.430	60.0	40.0	6
14.00	0.430	50.0	50.0	6
16.00	0.430	88.0	12.00	1

B.PDA检测器

紫外检测波长: 210 nm

C.软件

Empower 3

结果与讨论

采用中国药典中阿洛西林有关物质检测方法，所得谱图如图2。根据药检所老师反映说经实践发现，使用药典方法，用含量较低的产品做有关物质测定，其纯度仍很高，也就是其有关物质方法未能完全检测其中杂质；另外运行样品时间较长，一针进样需60 min。

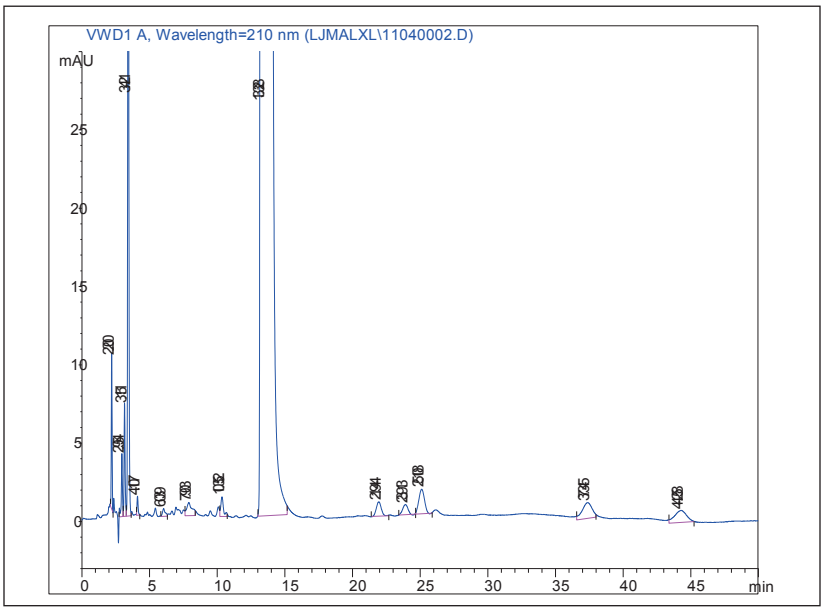

图2. 采用中国药典的方法所得图谱。

使用超高效液相和1.7 µm小粒径色谱柱进行对阿洛西林有关物质检测进行方法开发，使用与质谱兼容型的醋酸盐缓冲液代替药典中磷酸盐体系。使用适当的梯度方法代替药典中等度方法，使样品中所有组分均能被快速冲出并进行有效的分离。使用液相色谱条件所得的谱图如图3.可看出杂质的数目大大多于图2中杂质的数目，且杂质的峰形更尖锐，灵敏度更高。检测时间缩短至16分钟。另外使用的是醋酸盐缓冲液，有利于进一步使用质谱对其中杂质进行鉴定。

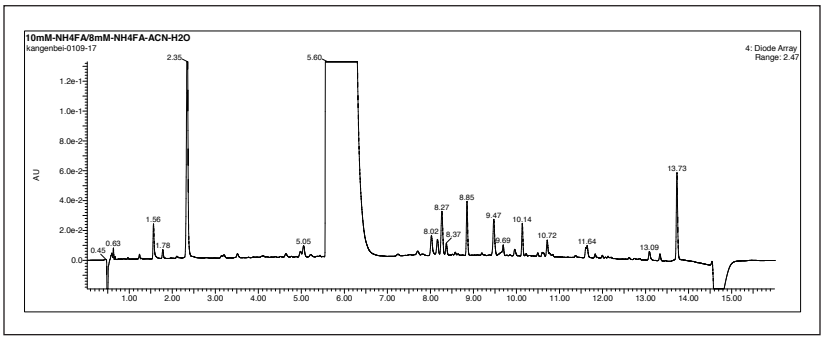

图3. 使用1.7 µm色谱柱开发的阿洛西林有关物质检测方法。

使用新开发好的阿洛西林有关物质检测方法对市售140批样品进行检测。若按照药典中检测方法，一针约60分钟，那么检测140批样品需140小时，即需要近6天时间仪器不停歇的检测。但若采用新开发的检测方法，一个样品16分钟，检测140批需约38小时，不到两天时间即可完成。检测效率可大大提高，且流速由1 mL/min降至0.43 mL/min，大大节省溶剂节省成本。所以说无论是时间成本还是溶剂成本和人力成本，采用新的检测方法都是大幅度节省。另外，采集完134批样品所得数据量较大，如果由人力手工来判断批次间的差异，工作量会相当的大。使用Empower软件统计功能出具组分摘要的报告，使结果看起来会更方便清楚。如图4其每一行代表一个样品，每一列代表每个峰。共统计了140个样品，其中20个峰的面积百分比，如图5。

Empower™ 3 SOFTWARE　　综合表

组份综合表
组分摘要 % 面积

	样品名	峰1	峰1a	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8	峰9	峰10	峰11	峰12	峰13	峰14	峰15	峰16	峰17	峰18	峰19
1	6223			0.20	0.03	1.15	0.02	0.03	0.02	97.61	0.02	0.07			0.05	0.06	0.05	0.07	0.03	0.04	0.30
2	6356			0.04		0.46	0.01	0.04		98.71	0.05	0.14	0.02	0.11	0.07			0.04	0.02		0.18
3	6740			0.14	0.02	0.77	0.02	0.04	0.02	98.25	0.02	0.18	0.04	0.14	0.10	0.02	0.03	0.08	0.02		0.05
4	6038			0.08	0.03	0.62	0.02	0.02	0.04	97.85	0.02	0.07			0.04	0.03		0.06	0.03	0.05	0.51
5	6045	0.01		0.10	0.03	0.95		0.06	0.04	98.19	0.08	0.04			0.02	0.06	0.01	0.10	0.03	0.04	0.07
6	6386	0.03		0.12	0.02	0.63	0.03		0.03	98.54		0.16	0.03	0.14	0.06	0.02	0.04	0.07	0.03		0.05
7	6039	0.02		0.09	0.02	0.56	0.03	0.04		98.54	0.02	0.16	0.03	0.14	0.06	0.02	0.05	0.06	0.02		0.09
8	6401	0.02		0.08	0.03	0.46		0.02	0.02	98.67	0.11	0.11	0.02	0.05	0.04	0.07	0.04	0.06	0.02	0.03	0.05
9	6249			0.05		0.52			0.02	98.51	0.02	0.12	0.06	0.12	0.07			0.06	0.02	0.02	0.19
10	6047	0.02		0.08	0.04	0.47		0.06	0.11	98.83		0.02				0.04		0.06	0.03	0.07	0.05
11	6354			0.05		0.50			0.03	98.57	0.01	0.24	0.03	0.11	0.06			0.05	0.02	0.02	0.21
12	6224	0.02		0.23	0.03	1.11	0.02	0.03	0.02	97.61		0.07		0.02	0.05	0.06	0.05	0.07			0.09
13	7361			0.11	0.03	0.69		0.06	0.05	98.55		0.04	0.05			0.07		0.07	0.02	0.04	0.09
14	6946	0.02		0.11	0.03	0.99		0.04	0.06	98.18		0.04	0.08			0.06		0.10	0.03	0.05	0.08
15	6621			0.08	0.02	0.63		0.02	0.05	98.39	0.02	0.15	0.02	0.11	0.06			0.06	0.02	0.03	0.19
16	7388	0.02		0.18	0.03	0.97		0.08	0.06	97.68	0.02	0.05			0.04	0.12	0.02	0.08	0.03	0.06	0.16
17	7012			0.09	0.03	0.49		0.03	0.04	98.78	0.11	0.11	0.02	0.04	0.04	0.04		0.05	0.02	0.03	0.04
18	7540	0.02		0.16	0.02	0.79		0.02	0.02	98.12		0.06			0.05	0.05	0.05	0.06	0.07	0.06	0.31
19	6222	0.02		0.16	0.03	1.04		0.02	0.03	97.89		0.06			0.04	0.06	0.05	0.07	0.02	0.01	0.32
20	6225	0.02		0.17	0.05	0.81	0.02	0.02	0.02	98.06		0.07		0.02	0.04	0.05	0.06	0.07	0.03	0.03	0.24
21	6514			0.19	0.03	0.83	0.03	0.05	0.04	97.98		0.18	0.06	0.09	0.19	0.04		0.07	0.02	0.02	0.06
22	3700	0.02		0.12	0.02	0.63	0.03	0.06	0.06	98.22	0.03	0.14	0.04	0.13	0.11	0.05	0.02	0.07	0.02	0.03	0.05
23	6600			0.07	0.03	0.47		0.03	0.04	98.80		0.12	0.11	0.05	0.04	0.06		0.06	0.04	0.05	0.04
24	6102			0.41	0.02	0.61	0.02	0.05	0.03	97.71	0.02	0.06			0.05	0.03	0.04	0.05	0.03	0.06	0.09
25	6101	0.03		0.18	0.03	1.12		0.10	0.07	97.99		0.04		0.03	0.01	0.09		0.10	0.04	0.05	0.08
26	6106			0.18	0.03	0.96	0.02	0.03	0.02	98.17	0.02	0.15	0.03	0.14	0.05	0.02	0.02	0.06	0.02		0.05

报告用户： System
报告方法： 综合表　　项目名称： ALXL
打印日期：

图4. Empower软件出具的组分摘要统计表。

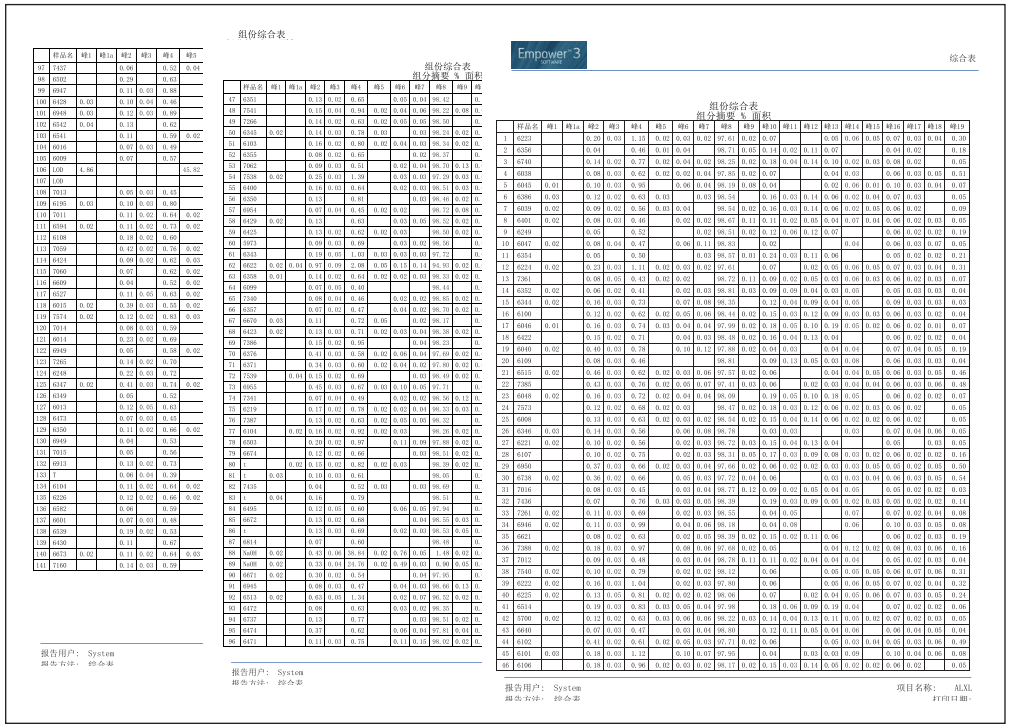

图5. Empower软件出具的组分摘要统计报告。

结论

本实验采用亚2 μm UPLC色谱柱开发了检测阿洛西林有关物质的检测方法。检测时间由原来的60分钟缩短至16分钟，大大提高了分析效率，减低分析成本。且杂质分离度更好，分出更多的杂质峰。使用质谱可兼容的醋酸盐体系做流动相，也为后续杂质的鉴定打下基础。最后应用建立好的分离方法对市售注射用阿洛西林140批样品进行了检测，并使用统计Empower出具统计报告，更方便对不同批次产品进行控制。这种报告方法也可以用于同一批次产品不同时段稳定性的测定和报告，会使结果更直观明了，大大减少人力整理数据的时间。

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, The Science of What's Possible, ACQUITY UPLC, UPLC和Empower是沃特世公司的注册商标。
其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2015年 沃特世公司　中国印刷　2015年4月

沃特斯中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 5999
成都：028 - 6578 4990
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com