

阿莫西林胶囊中高分子杂质含量的凝胶色谱法测定

胡晓炜¹, 陈理¹, 柴钦民² (1. 杭州市药品检验所, 浙江 杭州 310014; 2. 杭州市药品监督管理局, 浙江 杭州 310014)

摘要:目的 应用凝胶色谱法测定阿莫西林胶囊中的高分子杂质。方法 以高分子杂质为指标, 对阿莫西林胶囊中的高分子杂质含量进行测定, 采用凝胶色谱法, 使用 Sephadex G-10 (40 ~ 120 μ m) 柱, 流动相为磷酸盐缓冲液 (pH 7.0), 检测波长: 254 nm。结果 测定了市售 15 个批号阿莫西林胶囊中高分子杂质的含量。结论 方法简便, 结果稳定, 可用于阿莫西林胶囊的质量控制。

关键词: 阿莫西林胶囊; 高分子杂质; 凝胶色谱法

中图分类号: R917.795.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2005)05-0413-03

Determination of high molecular weight impurities in amoxicillin capsules by high performance gel permeation chromatography

HU Xiao-wei¹, CHEN Li¹, CHAI Qin-min² (1. Hangzhou Institute for Drug Control, Hangzhou 310014, China; 2. Hangzhou Drug Administration, Hangzhou 310014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the contents of high molecular weight impurities in amoxicillin capsules by HPGPC. **METHODS** In this methods, Sephadex G-10(40-120 μ m) column was used, pH 7.0 phosphate buffer was used as a mobile phase, the detection wavelength was 254nm. **RESULTS** The contents of high molecular weight impurities in amoxicillin capsules were obtained. **CONCLUSION** This method is simple, quick and good reproducibility. It is suitable for the quality control of amoxicillin capsules.

KEY WORDS amoxicillin capsules, high molecular weight impurities, HPGPC

阿莫西林 (amoxicillin) 又称羟氨苄青霉素, 临床应用本品不良反应的发生率约为 5% ~ 6%, 腹泻、恶心、呕吐等胃肠道反应较为多见, 约占 3.1%; 次为皮疹, 占 2%; 此外尚有药物热、哮喘等。用药前规定必须先做青霉素皮试, 阳性者禁用^[1]。大量的实验及临床研究均已证明, β -内酰胺类抗生素本身无免疫原性, 但可通过 β -内酰胺环与蛋白质、多肽、多糖等大分子载体结合成完全抗原或自身聚合为多价半抗原, 诱发过敏反应^[2]。因此控制产品中高分子杂质的含量是减少 β -内酰胺类抗生素过敏反应的主要途径。近年来, 在药物质量控制方面, 已有部分 β -内酰胺类抗生素 (如头孢噻肟、头孢哌酮钠、头孢曲松等) 规定了有关高分子杂质的检查, 而阿莫西林尚未有这方面的规定^[2]。

β -内酰胺类抗生素中的高分子杂质是一类化学结构不均一的混合物, 与 β -内酰胺类抗生素在相对分子质量上有差异, 因此可利用凝胶色谱法进行分离。我们参考文献^[3-5]确定了高分子杂质测定方法, 对市场销售的阿莫西林胶囊进行考察。

1 材料和仪器

1.1 材料

凝胶柱: 大连依利特 (填料: 葡聚糖凝胶 Sephadex G-10 Pharmacia Biotech 产品, 粒度: 40 ~ 120 μ m; 10mm $\times$ 300mm); 磷酸氢二钠 (湖州湖试化学试剂有限公司, 批号 030701), 磷酸二氢钠 (湖州湖试化学试剂有限公司, 批号 010901), 葡萄糖 (上海化学试剂分装厂, 批号 881026), 无水碳酸钠 (上海虹光化工厂, 批号: 990228), 水为重蒸水。

硬脂酸镁、羧甲基纤维素钠、 α -乳糖、可溶性淀粉均为分析纯; 马铃薯淀粉 (上海化学试剂采购供应站, B.C. 920107)。

阿莫西林标准品 (0410-200004 85.6%, 中国药品生物制品检定所); 阿莫西林胶囊 (市售, 规格: 250mg)。

1.2 仪器

Agilent 高效液相色谱仪 1100 系列, 包括 G1322A DE-GASSER, G1311A QuatPump, G1313A ALS, G1314A VWD; Chem station 色谱工作站 (A.08.03)。

1.3 色谱条件

流动相 A: 0.1mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0), 取磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 21.85g 和磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 5.38g 加水 1000mL 溶解, 调节 pH 至 7.0 滤过备用。流动相 B: 0.5% 葡萄糖溶液, 滤过备用。流速: 0.8mL/L; 检测波长: 254nm。

1.4 系统适用性试验

1.4.1 以流动相 A 为流动相, 用蓝色葡聚糖 2000 溶液 (1.84mg/mL) 进样 50 μ L, 测定理论塔板数和拖尾因子, 结果塔板数为 1440, 拖尾因子为 1.04, 色谱图见图 1。

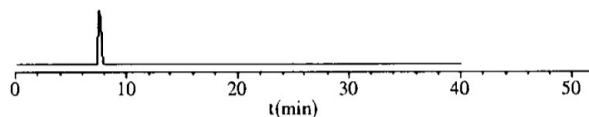


图 1 葡聚糖 2000 色谱图

Fig 1 Chromatograms of dextran 2000

1.4.2 以流动相 B 为流动相, 取对照品溶液反复进样 5 次 (50 μ L/次), 其峰面积值 RSD 为 1.53%。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取本品 20 粒, 按装量差异项下操作, 计算平均装量; 再取装量差异项下的内容物, 混匀, 精密称取适量 (约相当于阿莫西林 100mg), 加无水碳酸钠约 75mg 助溶, 置于 10mL 量瓶中, 用流动相 A 溶解并稀释到刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 取续滤液作供试品溶液, 进样 50 μ L, 色谱图见图 2。

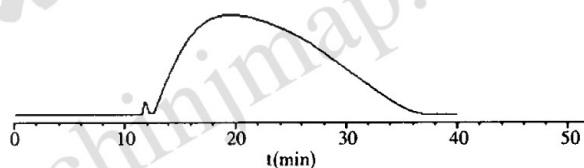


图 2 供试品色谱图

Fig 2 Chromatograms of sample

2.2 对照品溶液的制备

精密称取阿莫西林对照品 13.3mg 置于 100mL 量瓶中, 用 0.5% 葡萄糖溶液稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 取续滤液作对照品溶液 (临用前配), 进样 50 μ L, 色谱图见图 3。

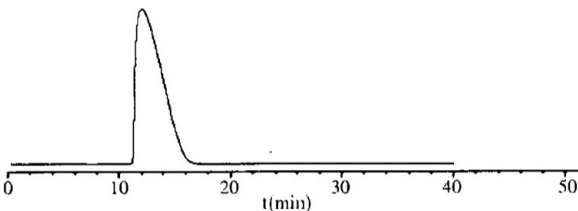


图 3 阿莫西林对照品色谱图

Fig 3 Chromatograms of amoxicillin

2.3 测定法

以流动相 B 为流动相, 取对照品溶液 50 μ L 进样, 测定; 再以流动相 A 为流动相, 取供试品溶液 50 μ L 进样, 测定, 记录与对照品保留时间相同的色谱峰面积值, 按下式计算供试

品中高分子杂质的含量 (均以阿莫西林标示量计),结果见表 1。

高分子杂质含量 % = $\frac{A_r \times C_s \times \text{对照品含量} \times \text{平均装量}}{A_s \times C_r \times \text{标示量}} \times 100\%$

A_r 供试品溶液测定峰面积; A_s 对照品溶液测定峰面积;
 C_s 对照品溶液的浓度 (mg/mL); C_r 供试品溶液的浓度 (mg/mL)

表 1 阿莫西林胶囊高分子杂质含量测定结果 (均以标示量计)

Tab 1 Determination results of high molecular weight impurities of samples

厂名	批号	高分子杂质含量 %	厂名	批号	高分子杂质含量 %
香港 A厂	030102	0.24	江苏 A厂	020911	0.11
香港 A厂	030301	0.08	山西 A厂	030501	0.08
香港 A厂	030413	0.11	浙江 A厂	030508-3	0.23
香港 B厂	15511	0.02	广东 A厂	030203	0.13
香港 B厂	15661	0.03	安徽 A厂	030403	0.07
香港 B厂	15590	0.02	四川 A厂	021106	0.17
黑龙江 A厂	20020204	0.30	安徽 B厂	030304	0.45
山东 A厂	L021059	0.08			

2.4 阴性样品的制备

由于测定的对象为胶囊剂,所用辅料量较多,因此对辅料也进行考察,根据文献及参考资料,对五种可能的辅料进行考察:根据实际胶囊的装量与阿莫西林的标示量,精取辅料 0.1g于 10mL量瓶中,加无水碳酸钠约 75mg助溶,用流动相 A溶解并稀释到刻度,摇匀备用;用 0.45μm 微孔滤膜过滤,进样 50μL,色谱图见图 4。

3 讨论

3.1 通过对可能应用的几种辅料的考察,结果硬脂酸镁与可溶性淀粉在 9.3min 有小峰 (峰面积约为样品中最大峰面积的 5%),羧甲基纤维素钠、α-乳糖、马铃薯淀粉无干扰;说明不同的药用辅料中也有可能带入一定的高分子杂质。

3.2 β-内酰胺类抗生素并不是过敏源,引起患者过敏的原

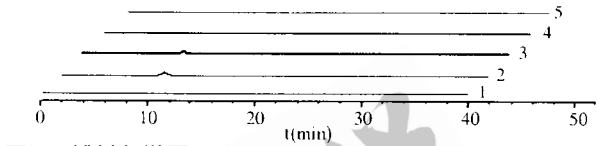


图 4 辅料色谱图

- Fig 4 Chromatograms of excipients
1. α-乳糖 2.硬脂酸镁 3.可溶性淀粉 4.羧甲基纤维素钠 5.马铃薯淀粉
1. α-lactose 2. magnesium stearate 3. soluble starch 4. CMC-Na 5. potato starch

因是合成、生产过程中引入的高分子杂质造成的,而控制高分子杂质含量就可以控制过敏反应发生率。由于不同厂家在配方、工艺上的不同,对原料药物与辅料中高分子杂质的含量控制不一,试验通过对市售的阿莫西林胶囊样品中高分子杂质含量的考察,可见不同厂家之间产品的差异明显,高分子杂质含量相差 20 倍之多,而现行质量标准对此未有规定,具体限度还应结合配方去除辅料干扰后确定;建议标准中对该产品增加高分子杂质含量的检查,厂家在生产过程中也应对原辅料引入的高分子杂质进行必要的控制。

参考文献

[1] 中国药典 2000年版二部 [S]. 2001: 614; 338

[2] 乔海灵,赵永星,马统勋.青霉素类抗生素过敏反应机制及诊断的新近研究进展 [J].国外医药·抗生素分册, 2002, 23 (5):197.

[3] 余泽民,陈宁,杨世铮,等.头孢噻肟、头孢曲松、头孢他啶中高分子杂质的含量测定 [J].中国抗生素杂志, 2000, 25(10), 348.

[4] 顾立素,胡昌勤,金少鸿.安美汀中高分子杂质的分离分析与质量控制 [J].药物分析杂志, 2001, 21(1), 13.

[5] 胡昌勤,金少鸿.自身对照外标法定量测定 β-内酰胺类抗生素中的高分子杂质 [J].中国抗生素杂志, 1997, 22(2), 23.