

注射用阿洛西林钠在5%木糖醇注射液中的稳定性考察

熊建华^{1,2}, 孙丽蓉², 王淑君², 叶晓笑¹, 胡国新^{1*} (1. 温州医学院药学院, 浙江 温州 325035; 2. 浙江温州市第三人民医院, 浙江 温州 325000)

摘要:目的 研究注射用阿洛西林钠在5%木糖醇注射液中的稳定性。方法 用高效液相色谱法测定阿洛西林钠的含量, 用经典恒温加速法和多元线性模型研究温度对阿洛西林钠在5%木糖醇注射液中稳定性的影响。结果 各温度下阿洛西林钠百分含量的对数(lgC)与时间(t)具有线性关系, 符合一级动力学反应。用经典恒温加速法和多元线性模型预测阿洛西林钠在5%木糖醇注射液的有效期分别为5.09 d, 5.59 d。结论 2种方法预测得到的有效期基本一致。在25℃, 注射用阿洛西林钠在5%木糖醇注射液应在5 d内稳定。

关键词: 高效液相色谱法; 经典恒温加速法; 多元线性模型; 阿洛西林钠; 稳定性

中图分类号: R927.13 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2009)03-0248-04

Study on Stability of Azlocillin Sodium For Injection in 5% Xylitol Injection

XIONG Jianhua^{1,2}, SUN Lirong¹, WANG Shujun¹, YE Xiaoxiao¹, HU Guoxin¹ (1. Pharmacy College of Wenzhou Medicine College, Zhejiang Wenzhou 325035, China; 2. Dept. of pharmacy, the Third people's Hospital of Wenzhou, Zhejiang Wenzhou 325000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the stability of azlocillin sodium in 5% xylitol injection. **METHODS** The content of azlocillin sodium was determined by HPLC and the effect of temperature on the stability of azlocillin sodium in 5% xylitol injection was detected by classic isothermal accelerated tests and multiple linear model. **RESULTS** There was a linearity between the azlocillin contents in the 5% xylitol injection in logarithm (lgC) and time (t) at each temperature. It responded to the first order kinetic reaction. The expiration dates of azlocillin sodium 5% xylitol injection detected by classic isothermal accelerated tests and multiple linear model were 5.09 days and 5.59 days, respectively. **CONCLUSION** Its expiration dates are the same calculated by 2 different methods. Azlocillin sodium in 5% xylitol injection was stable within 5d at room temperature (25℃).

KEY WORDS: classical isothermal accelerated tests; multiple linear model; azlocillin sodium; stability

阿洛西林钠 (azlocillin sodium, ALC) 为一广谱的半合成青霉素, 对革兰阳性菌、革兰阴性菌和绿浓杆菌均有良好的抗菌作用^[1]。木糖醇注射液能补充热量, 在体内代谢不依赖胰岛素的参与, 直接透过细胞膜参与糖代谢, 而不增加血糖浓度, 其产热量与葡萄糖相仿, 可用于糖尿病患者作为糖的代用品, 供应机体能量^[2]。ALC 治疗糖尿病患者并发感染时与木糖醇注射液可否混合静脉滴注, 国内未见文献报道。为此, 我们使用 HPLC 法作为定量方法, 以经典恒温加速法和多元线性模型两种方法对 ALC 在 5% 木糖醇注射液的稳定性进行考察, 旨在为临床合理用药提供依据。

1 仪器与试剂

JASCOLC-1500 高效液相色谱仪 (日本岛津, 1580 泵, UV-1575 紫外检测器, 7725 型六通进样

器), CHROMTECH 色谱工作站 (大连华洋科学仪器有限公司, Version 6.1), SSW 型电热恒温水槽 (上海博迅实业有限公司), GM-0.33 II 型隔膜真空泵 (天津市腾达过滤器件厂), BS210S 电子天平 (Sartorius, d=0.1mg), PHS-3C 型精密 pH 计 (上海雷磁仪器厂), 注射用阿洛西林钠 (浙江金华康恩贝生物制药有限公司, 批号 061115-3), 阿洛西林钠对照品 (浙江省药品检验所, 含量 95.2%, 批号: 050705), 5% 木糖醇注射液 (邯郸市赵都制药厂, 批号 05050503-1, 080902-2), 乙腈为色谱纯, 磷酸二氢钾、磷酸氢二钠为分析纯, 水为二次重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性

色谱柱为 Techsphere-ODS (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相: 0.025 mol · L⁻¹ 磷酸缓冲液

作者简介: 熊建华, 男, 在职研究生, 主管药师
Tel: 13506660881

Tel: (0577) 88059585

E-mail: xjhsy2008@sina.com

* 通信作者: 胡国新, 男, 教授

(pH 6.9)-乙腈(82:18, v/v), 流速: 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长: 254 nm, 柱温: 25 °C, 进样量为 20 μL。在上述色谱条件下, 杂质及溶剂峰无干扰, ALC 保留时间为 5.862 min, 理论塔板数为 3 715, 对称性为 1.478。色谱图见图 1(A)。

2.2 对照品贮备液的配制

精密称取 ALC 对照品 0.4 g, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相溶解, 并用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 8 mg · mL⁻¹ 的储备液。

2.3 专属性

精密量取 ALC 储备液适量, 加流动相稀释至 1.2 mg · mL⁻¹ 溶液, 进样 20 μL, 作 HPLC 分析。另配制注射用 ALC 5% 木糖醇溶液 (8 mg · mL⁻¹) 适量, 置 90 °C 恒温水浴中做加速试验, 分别于 0 h、2 h 精密量取上述溶液适量, 加流动相稀释至 1.2 mg · mL⁻¹, 同法作 HPLC 分析。结果, 加速试验后出现的降解产物未干扰 ALC 峰, 色谱图见图 1(B 和 C)。

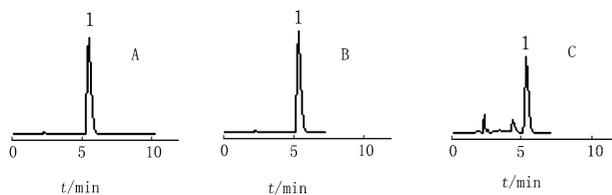


图 1 高效液相色谱图

A - LC 对照品; B - 样品配制后 0 h; C - 样品 90 °C 加热 2 h 后; 1 - ALC

Fig 1 HPLC chromatograms

A - reference substance of ALC; B - sample at 0 hour after preparation; C - sample at 2 hour after preparation at 90 °C; 1 - ALC

2.4 标准曲线的制备

分别精密量取 ALC 储备液 2.50, 5.00, 7.50, 10.00, 12.50 mL 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。按上述色谱条件, 进样 20 μL 测定。按外标法, 以峰面积 (A) 为纵坐标对质量 (C) 为横坐标

表 1 不同温度各加速时间下 ALC 含量及其对数 ($n=5, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 The content of ALC and common Log of its content at different acceleration time at experimental temperature ($n=5, \bar{x} \pm s$)

时间/h	60°C		70°C		80°C		90°C	
	C/%	lgC	C/%	lgC	C/%	lgC	C/%	lgC
0	100.00	2.000 0	100.00	2.000 0	100.00	2.000 0	100.00	2.000 0
1	96.63 ± 0.57	1.985 1	94.21 ± 1.01	1.974 1	91.54 ± 1.67	1.961 6	78.92 ± 1.15	1.897 2
2	95.06 ± 1.06	1.978 0	91.23 ± 0.92	1.960 2	84.57 ± 0.75	1.927 2	59.58 ± 0.60	1.775 1
3	91.71 ± 0.36	1.963 0	88.52 ± 0.57	1.947 1	77.84 ± 0.83	1.891 2	45.10 ± 0.50	1.654 2
4	89.28 ± 0.64	1.950 8	84.52 ± 0.71	1.927 0	68.68 ± 0.76	1.836 9	34.01 ± 0.67	1.531 6

2.9 数据处理

2.9.1 经典恒温法^[3]: 对样品的含量测定结果运

标进行回归, 得标准曲线: $A = 848\ 846\ C + 2\ 928.7$ ($r = 0.999\ 9, n = 5$)。结果表明, ALC 在 0.4 ~ 2.0 mg · mL⁻¹ 内质量浓度与峰面积线性关系良好。

2.5 重复性

精密量取 ALC 储备液适量, 加流动相稀释至 1.2 mg · mL⁻¹ 溶液, 按上述色谱条件, 连续进样 6 次, 每次 20 μL, 作 HPLC 分析。用 ALC 峰面积计算系统精密度 RSD 为 0.35% ($n = 6$)。

2.6 精密度

分别精密量取 ALC 储备液适量, 加流动相稀释成低、中、高 3 个不同浓度 (分别为 0.96, 1.20 和 1.44 mg · mL⁻¹) 的 ALC 对照品溶液, 按上述色谱条件, 进样 20 μL 测定, 每种浓度重复测定 5 次, 低、中、高 3 个不同浓度对照品溶液的日内 RSD 分别为 0.17%, 0.49%, 0.22% ($n = 5$), 日间 (连续 5 d) RSD 分别为 0.97%, 1.01%, 0.70% ($n = 5$)。

2.7 加样回收率

精确量取已知含量的 ALC 5% 木糖醇样品溶液适量, 分别加入 3 个不同量 (相当于所取样品中 ALC 标示量的 80%, 100% 和 120%) 的 ALC 储备液, 加 5% 木糖醇稀释至刻度, 摇匀, 按上述测定方法测定含量, 计算回收率分别为 104.90%, 102.50%, 101.77% ($n = 5$)。

2.8 稳定性及样品含量测定

将注射用 ALC 用 5% 木糖醇注射液溶解, 并用 5% 木糖醇注射液稀释成 8 mg · mL⁻¹, 分成 4 组, 分别置 60, 70, 80, 90 °C 恒温水浴中, 于 0, 1, 2, 3, 4 h 分别取样约 15 mL, 冰水浴迅速冷却至室温, 精密量取 2.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 取 20 μL 进样, 依法操作, 计算样品中 ALC 的相对含量和相应的浓度的对数 (lgC)。结果见表 1。

用化学动力学原理进行计算。即以样品中 ALC 的浓度的对数 (lgC) 对时间 t 进行回归, 判断反应级

数。一级反应 $\lg C = -(K/2.303)t + \lg C_0$ 。从斜率可求出各个温度下药物降解速率常数 K , 以 $\lg K$ 对 $1/T$ 进行回归, 得 Arrhenius 方程, 由此推算出 25 °C 时的反应降解速率常数 ($K_{25\text{ °C}}$), 及 ALC 的浓度下降 10% 时所需时间即贮存期 ($\tau_{0.9} = 0.1054/K$)。结果各温度下的百分含量的对数 $\lg C$ 对时间 t 进行回归, 相关系数 r 的绝对值均大于 0.99, 说明

表 2 不同温度下反应方程及速率常数

T/k	1/T/ × 10 ⁻³	回归方程	r	K/h ⁻¹	lg/K
60 + 273.2	3.001	lgC = 1.999 5 - 0.012 t	0.995 6	0.027 6	-1.559 1
70 + 273.2	2.914	lgC = 1.996 3 - 0.017 3 t	0.992 2	0.039 8	-1.400 1
80 + 273.2	2.831	lgC = 2.002 7 - 0.039 7 t	0.995 8	0.091 4	-1.039 1
90 + 273.2	2.753	lgC = 2.007 6 - 0.118 0 t	0.999 5	0.271 8	-0.565 8

2.9.2 多元线性模型^[4]: 根据药物降解反应恒速动力学的基本公式 $f(C_0) - f(C) = k(T)t$ 和 Arrhenius 公式 $k(T) = Ae^{-E/(RT)}$ 得多元线性模型的基本公式 $\ln t = \ln[f(C_0) - f(C)] + E/(RT) - \ln A$ (式中 t 为取样时间, C_0 为起始药物浓度, C 为 t 时间药物浓度, $f(C)$ 为浓度函数, E 为活化能, R 为摩尔气体常数, T 为反应温度, A 为频率因子)。一级动力学过程中 $f(C) = C_0$, 则公式可变形为 $\ln t = \ln(C_0 - C) + E/R \times 1/T - \ln A$ 。令 $Y = \ln t - \ln(C_0 - C)$, 则公式可简化为 $Y = E/R \times 1/T - \ln A$ 。以 Y 对 $1/T$ 进行线性回归, 得回归方程。以 $C = 0.9C_0$ 代入, 由此方程推算出药物在 25 °C (298.2 K) 时浓度下降至初始浓度 10% 的时间。在表 1 中各温度条件下, 任选 2 个数据进行相应的数学变化, 结果见表 3。

表 3 多元线性模型的计算结果

Tab 3 Computation of multiple linear model

T/°C	t/h	ln t	ln/lnC ₀ - lnC	Y	1/T
60	2	0.693 1	-2.855 6	3.548 7	0.003 003
	4	1.386 3	-2.132 3	3.518 6	0.003 003
70	2	0.693 1	-2.558 0	3.251 2	0.002 915
	4	1.386 3	-1.779 3	2.878 0	0.002 915
80	3	1.098 6	-1.374 0	2.472 6	0.002 833
	4	1.386 3	-0.763 0	2.149 3	0.002 833
90	2	0.693 1	-0.700 3	1.393 4	0.002 755
	3	1.098 6	-0.251 9	1.350 5	0.002 755

以 Y 对 $1/T$ 进行线性回归, 得回归方程 $Y = 8.713.1 \times 1/T - 22.493 (r = 0.9744)$ 。以 $C = 0.9C_0$ 代入, 即求的药物在 25 °C (298.2 K) 时浓度下降至初始浓度 10% 的时间为 134.24 h (5.59 d)。

2.10 确证实验

模拟阿洛西林临床用药情况, 在净化台上用无

菌操作的方式配制质量浓度为 $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品。将其置 25 °C 恒温箱中, 于第 1, 2, 3, 4, 5 d 观察配伍液外观变化, 测定其 pH 值以及阿洛西林的含量。结果配伍后 5 d 内, 外观无色澄明, 其 pH 值变化不大 (从第 1 天到第 5 天分别为 6.03, 5.93, 5.86, 5.83, 5.82), 阿洛西林相对百分含量变化小于 10% (从第 1 天到第 5 天分别为: 100%, 98.52%, 96.87%, 95.36%, 94.82%, $n = 5$), 色谱图中未见明显的异常色谱峰。

3 讨论

参照文献^[5]用 HPLC 法测定输液中的 ALC 含量, ALC 峰拖尾现象严重, 将文献中有机相甲醇改乙腈, 对称性有明显改善, 色谱系统适应性指标较好, 其测定结果不受输液中成分和降解产物的干扰, 回收完全, 重复性好。提示用 HPLC 法测定木糖醇中的 ALC 含量, 专属性强, 结果准确可靠。

ALC 为 β -内酰胺类抗生素, β -内酰胺环中的羰基和氢原子上的未共用电子对不能形成共轭体系, 易受亲核试剂、光、热以及金属离子等影响, 使 β -内酰胺环破裂、开环, 生成类似于青霉素分解后产物青霉酸和青霉噻酸^[1]。文献^[6]报道注射用阿洛西林钠与常用输液配伍 6h 内配伍稳定, 且影响阿洛西林钠稳定性的主要条件是温度^[7]。本试验在避光条件下进行, 用经典恒温加速法和多元线性模型研究温度对阿洛西林在 5% 木糖醇注射液中稳定性的影响。本研究结果表明 2 种方法预测得到的结果基本一致, 与 25 °C 下 5 d 内稳定性考察结果相符。提示在常温下, 注射用阿洛西林钠在 5% 木糖醇注射液中 5 d 内稳定。

相对经典恒温加速法, 多元线性模型更为经济、简单, 可以减少工作量, 在反应级数确定的情况下,

仅需在每个温度下的任意 1 个或 2 个数据,在不同温度下共有 5 个以上的数据就可以得到一个多元方程,明显减少了取样点的数量。

REFERENCES

- [1] ZHOU X D, CHEN Z Z. Study on the stability of azlocillin sodium in four intravenous admixtures [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 1999, 11(4):18.
- [2] CHEN X L, JIN Y Y, TANG G. Materia Medica New Edition(新编药理学) [M]. 15th ed, Beijing: People's Health Press, 2003: 660.
- [3] CUI F D. Pharmaceutics (药剂学) [M]. 5 ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003: 281-283.
- [4] LE J, LIU W Y, YANG J H, et al. Prediction of stability of drugs in multiple linear model [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 1996, 31(11): 861-865.
- [5] Drugs standard of ministry of health, PRC (For trial implementation) (中华人民共和国卫生部标准) (试行) [S]. WS-421(X-363)-95.
- [6] LIU Y L, LIANG Z J, LI G, et al. Study on the stability of azlocillin sodium in five intravenous admixtures [J]. Her Med (医药导报), 2000, 19(5): 467-468.
- [7] XIONG J H, WANG S J. Observation of the stability of azlocillin sodium in infusion fluids by orthogonal test [J]. Tianjin Pharmacy (天津药学), 2005, 17(4): 24-26.

收稿日期: 2008-10-15