

HPLC 测定注射用盐酸头孢替安含量

颜冬梅, 郑晓亮, 屠凌岚(浙江省医学科学院药物所, 杭州 310013)

摘要:目的 建立测定注射用盐酸头孢替安含量的反相高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Diamonsil™ C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水 (1.5% 乙酸) (5:95), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 254 nm, 柱温 40 ℃。结果 盐酸头孢替安浓度在 12~2 000 mg · L⁻¹ 内, 峰面积与浓度呈良好线性关系 ($r=0.999\ 9$), 加样回收率为 98.8%, RSD 为 1.35% ($n=5$)。结论 该方法简便可靠, 能够满足注射用盐酸头孢替安的含量测定要求。

关键词: 高效液相色谱法; 注射用盐酸头孢替安; 含量测定

中图分类号: R917.101; R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693 (2009) 13-1163-02

盐酸头孢替安是半合成的第二代头孢菌素类广谱抗生素, 结构式见图 1。本品对革兰氏阴性菌和阳性菌都有广泛的抗菌作用, 尤其对大肠杆菌、克雷白杆菌属、奇异变形杆菌、流感杆菌等, 对肠道菌属、枸橼酸杆菌属、吲哚阳性的普通变形杆菌、雷特格氏变形杆菌、摩根氏变形杆菌也具有良好的抗菌活性。盐酸头孢替安抗菌作用机理是阻碍细菌细胞壁的合成, 其对革兰氏阴性菌有较强的抗菌活性是因为对细菌细胞外膜有良好的通透性和对 β-内酰胺酶比较稳定以及对青霉素结合蛋白 1B 和 3 亲和性高, 从而增强了对细胞壁粘肽交叉联结的抑制作用所致^[1-3]。本试验采用反相高效液相色谱法, 对注射用盐酸头孢替安粉针剂的含量进行了测定。

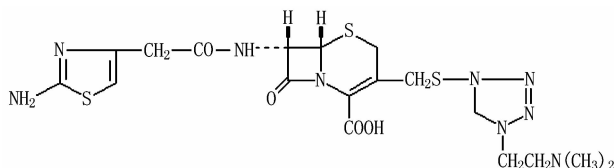


图 1 盐酸头孢替安的结构式

Fig 1 The structure of cefotiam hydrochloride

1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪。水为重蒸馏水, 乙腈为色谱级。盐酸头孢替安对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 100001-200504, 纯度 > 99%); 注射用盐酸头孢替安粉针剂 (上海新先锋药业有限公司, 规格: 每瓶 1.0 g)。

2 色谱条件

色谱柱: Diamonsil™ C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。流动相: 乙腈-水 (1.5% 乙酸) (5:95), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 40 ℃, 检测波长 254 nm, 进样量 20 μL。记录色谱图, 测定峰面积, 按外标法计算含量。对照品盐酸头孢替安的理论塔板数大于

8 000, 见图 2。

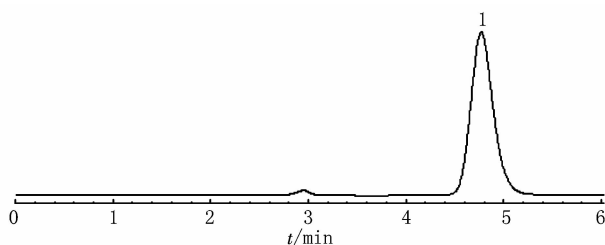


图 2 盐酸头孢替安的高效液相色谱图

1 - 盐酸头孢替安

Fig 2 HPLC chromatogram of cefotiam hydrochloride

1 - cefotiam hydrochloride

3 溶液的配制

3.1 盐酸头孢替安对照品测定液

精密称取恒重盐酸头孢替安对照品 100.0 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 得对照品储备液。精密量取对照品储备液 1 mL 到 5 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 得浓度为 4 000 mg · L⁻¹ 的对照品测定液。

3.2 盐酸头孢替安供试品测定液

取注射用盐酸头孢替安粉针剂 1.0 g, 加入 10 mL 水溶解混匀后作为供试品储备液。精密量取供试品储备液 1 mL 到 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 得浓度为 10 000 mg · L⁻¹ 的供试品测定液。

4 线性范围

精密吸取盐酸头孢替安对照品测定液 0.03 ~ 5.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释, 得浓度为 12, 25, 50, 125, 250, 500, 1 000 及 2 000 mg · L⁻¹ 的对照品溶液。

按上述色谱条件, 分别进样 20 μL, 每种浓度重复进样 5 次, 以浓度 C 为横坐标, 峰面积 A 为纵坐标, 进行线性回归, 得标准曲线: $A = 30.38C +$

142.72, $r = 0.9999$ ($n = 5$), 线性范围 12 ~ 2 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

5 稳定性试验

精密吸取同一浓度供试品测定液 20 μL , 于 0, 3, 6, 10, 24 h 进样测定, 峰面积 RSD 为 2.59% ($n = 5$)。结果表明, 样品稳定性良好。

6 仪器精密度试验

精密量取供试品测定液, 重复进样 5 次, 峰面积 RSD 为 0.79%。表明仪器精密度良好。

7 重复性试验

测定同一批供试品测定液 5 份, 峰面积 RSD 为 1.52%, 表明方法重复性良好。

8 加样回收率试验

精密量取供试品测定液, 加至含已知量对照品溶液的 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 取 20 μL 进样, 计算回收率和相对标准偏差。结果, 平均回收率为 98.8%, RSD 为 1.35% ($n = 5$)。

9 样品的测定

分别精密量取供试品测定液和对照品测定液 20 μL , 注入仪器, 记录色谱图, 测量对照品和供试品待测成分的峰面积, 按外标法计算含量。盐酸头孢替安的平均标示百分含量为 99.2%, RSD 为 1.02% ($n = 5$)。

10 破坏性试验

取对照品适量, 分别进行实验。条件如下: 高温破坏, 取对照品测定液 0.5 mL ($200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 1 h, 再加水定容至 0.5 mL; 取对照品测定液 0.5 mL ($200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 放置 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘烤, 分别于 4, 8, 12, 24 h 取样。将以上样品漩渦并过滤后测定头孢替安含量。实验结果发现: 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 1 h 条件下, 盐酸头孢替安破坏达 94.1%, 见图 3A; 在 60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 随着时间的延长, 样品中盐酸头孢替安的含量逐渐减少, 在 4, 8, 12, 24 h 不同的时间, 其含量分别为 17.3%, 12.1%, 8.7%, 6.5%。见图 3B。

11 有关物质测定法

将盐酸头孢替安供试品水储备液用流动相分别制成 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的供试品溶液和 $0.01 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。在选定的色谱条件下, 取对照品溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 并调整仪器灵敏度, 使主成分峰为满量程的 20%。精密量取供试品溶液 20 μL 进样, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 2.5 倍。各杂质以面积归一化法计算。样品的有关物质检查结果为 1.48%。

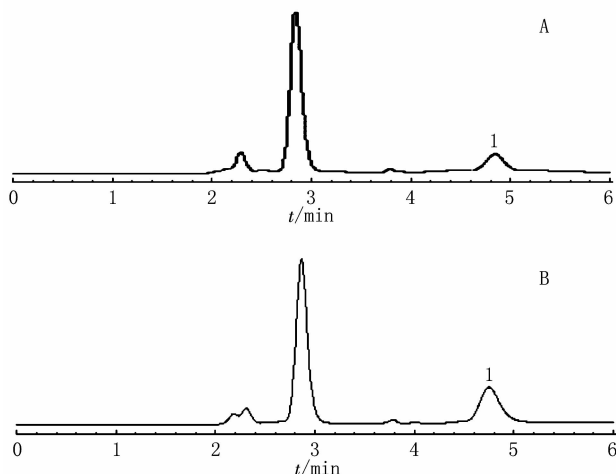


图3 盐酸头孢替安破坏实验的高效液相色谱图

A - 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴; B - 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘烤破坏; 1 - 盐酸头孢替安

Fig 3 Chromatograms of decomposed cefotiam hydrochloride

A - boiling water bath; B - 60 $^{\circ}\text{C}$ bake; 1 - cefotiam hydrochloride

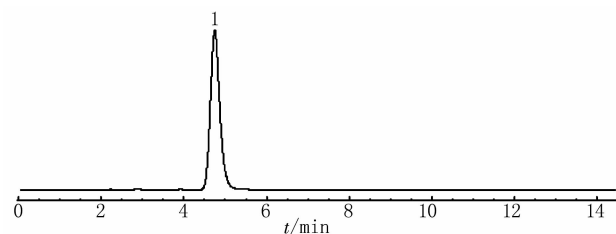


图4 盐酸头孢替安有关物质检查色谱图

1 - 盐酸头孢替安

Fig 4 Chromatogram of related substances of cefotiam hydrochloride

1 - cefotiam hydrochloride

12 讨论

本法在一定浓度范围内线性关系良好, 回收率高, 无辅料干扰; 方法简便、快速, 检验结果准确, 适合药品生产和保存过程中的质量控制。破坏实验表明盐酸头孢替安在高温条件下不稳定, 因此, 在生产、实验和储存过程中均须注意避光和在阴冷处保存。

参考文献

- [1] FUKUDA M, TAKAHASHI N, NAKAIZUMI H, et al. Intraocular penetration of cefotiam hydrochloride, a kind of cephalosporin after filtration surgery in rabbit eyes [J]. Nippon Ganka Gakkai Zasshi, 2005, 109(9): 559-562.
- [2] SHIMIZU K, YAMAGUCHI K. Cefotiam hydrochloride [J]. Jpn J Antibiot, 1994, 47(4): 349-356.
- [3] MIYAHARA H, KOGA T, IMAYAMA S, et al. Occupational contact urticaria syndrome from cefotiam hydrochloride [J]. Contact Dermatitis, 1993, 29(4): 210-211.

收稿日期: 2008-03-06