

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2010.05.004

高效液相色谱法测定头孢氨苄干混悬剂中头孢氨苄的含量

彭婷婷 王卫华

(菏泽医学专科学校, 山东 菏泽 274000)

摘要 目的 采用高效液相色谱(HPLC)外标法测定头孢氨苄干混悬剂中头孢氨苄的含量。方法 采用安捷伦 1100 色谱系统, 色谱柱为 C18 ODS 柱(250×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为水-甲醇-3.86% 醋酸钠-4% 醋酸(742:240:15:3), 检测波长为 254nm, 进样量为 15 μ l, 流速为 1ml/min。结果 头孢氨苄在 1.83 μ g/ml~36.60 μ g/ml 范围内呈良好线性关系, 相关系数为 0.9999, 平均回收率为 99.40%, RSD 值为 4.54%。结论 利用此方法测定头孢氨苄干混悬剂中头孢氨苄的含量准确可靠, 灵敏度高, 专属性强, 可以满足质量控制的要求。

关键词 HPLC 外标法; 头孢氨苄干混悬剂; 头孢氨苄; 含量测定

中图分类号: R917 **文献标志码**: A **文章编号**: 1000-9760(2011)10-316-03

Determination of cephalexin in cephalexin suspension by HPLC

PENG Ting-ting, WANG Wei-hua

(Heze Medical College, Heze City, Heze 274000, China)

Abstract: Objective To establish the way of determining Cephalexin content in Cephalexin Suspension by HPLC. **Methods** C18 ODS(4.6×250mm, 5 μ m) column was used. The mobile phase consisted of water-methyl alcohol-3.86 sodium acetate buffer solution-4% dilute glacial acid (742:240:15:3). The flow rate was 1ml/min and the detection wavelength was at 254nm. **Results** The standard curve was linear in the concentration range of 1.83-36.60 μ g/ml. Linear regression equation was $y = 3.9161x + 1.1818$, $r^2 = 0.9998$ ($n = 6$). The average recovery was 99.40% and RSD was 4.54%. **Conclusion** The method was stable, accurate, reproducible and highly sensitive. It can be used for determining the content of Cephalexin in Cephalexin Suspension.

Key words: Cephalexin Suspension; Cephalexin; HPLC; Content determination

头孢氨苄干混悬剂是半合成抗生素制剂^[1], 干混悬剂与其它剂型相比具有易于溶解, 并更好吸收的特点。目前文献报道^[2-3]中头孢氨苄及其制剂所用的含量测定方法多为碘量法和高效液相色谱法中的内标法。碘量法为传统方法, 操作繁琐, 影响因素多; 而高效液相色谱法中的内标法, 其内标物质比较难选定, 且操作步骤多、计算繁琐。现建立利用高效液相色谱外标法测定头孢氨苄干混悬剂中头孢氨苄含量的方法, 快速准确, 灵敏度高, 重复性好。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

Agilent1100 高效液相色谱仪(标准二元泵, 标准自动进样器, 紫外检测器, 安捷伦 ChemStation 工作站), Phenomenix Luna C18 柱(4.6×250mm,

5 μ m); Mettler Toledo AL 104 电子分析天平; Mettler Toledo 320-S pH 计; 微孔滤膜(0.45 μ m, 北洋膜技术公司), 超声清洗仪(上海之信仪器有限公司)。

头孢氨苄对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 130408-200209, 含量为 94.2%); 头孢氨苄干混悬剂(某公司, 批号分别为 20101107、20101110、20101114, 规格均为 0.5g); 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其它试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 对照品溶液的制备 精密称取头孢氨苄对照品 18.3mg, 置 20ml 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 10ml, 置 50ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 得对照品溶液。

1.2.2 样品溶液的制备 取本品 5 袋, 精密称定, 混匀, 精密称取适量(约相当于头孢氨苄 0.1g), 置

100ml 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 2ml,置 100ml 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,得头孢氨苄干混悬剂样品溶液。

1.2.3 色谱系统和系统适用性试验 色谱柱: Phenomenix Luna C18 柱(4.6×250mm,5μm);流动相为水-甲醇-3.86%醋酸钠-4%醋酸(742:240:15:3),检测波长为 254 nm,进样量为 15μl,流速为 1 ml/min。理论塔板数按布洛芬计算应不低于 2000。

取对照品溶液和头孢氨苄样品溶液分别进样测定,记录色谱图,结果样品溶液和对照品溶液在相同保留时间处有吸收峰,色谱图见图 1。

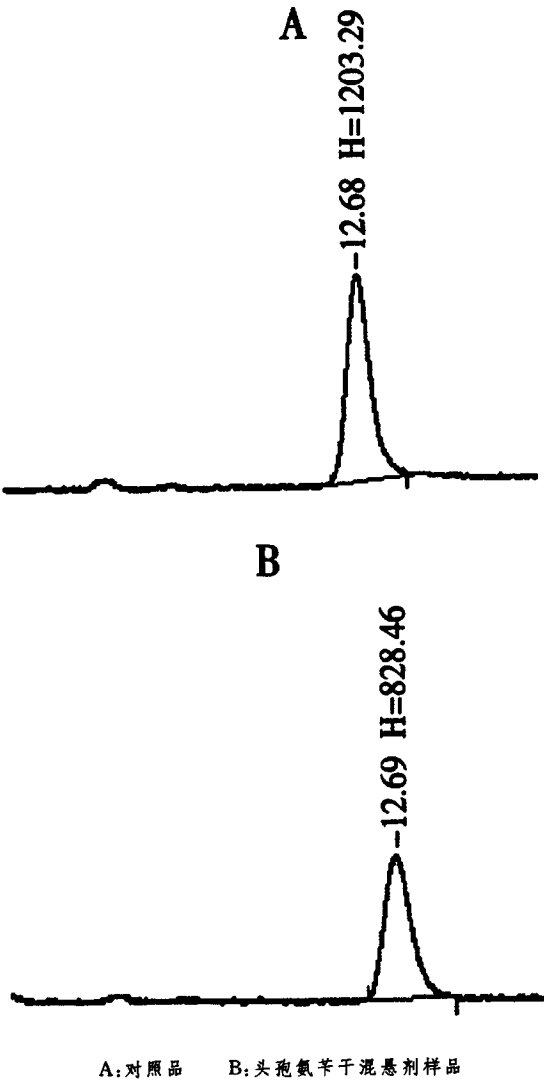


图 1 高效液相色谱图

2 结果

2.1 线性关系及标准曲线

精密量取对照品溶液适量,用流动相分别稀释成 1.83μg/ml、3.65μg/ml、7.31μg/ml、18.27μg/

ml、27.41μg/ml 和 36.54μg/ml,分别取 15μl 注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定,以头孢氨苄对照品峰面积积分值为纵坐标,其进样量为横坐标进行线性回归,得回归方程: $y = 3.9161x + 1.1818$, $r^2 = 0.9998$ (n = 6), 在 1.83μg/ml ~ 36.54μg/ml 范围内呈良好线性关系。

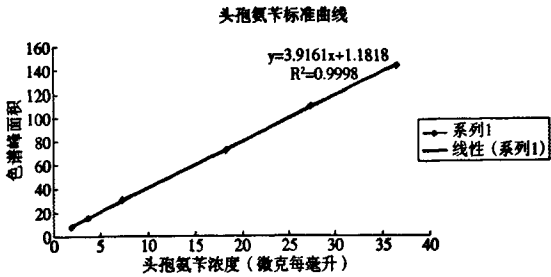


图 2 头孢氨苄标准曲线

2.2 精密度试验

取对照品溶液,按 1.2.3 项下条件进样 15μl,重复进样 5 次,峰面积的平均值为 708,其 RSD 为 2.01%(n=5)。表明精密度良好。

2.3 稳定性试验

取对照品溶液,按 1.2.3 项下条件进样 15μl,在 0、2、4、8、12、24h 分别测定。结果峰面积平均值为 715,其 RSD 值为 3.42%(n=6),表明溶液在 24h 内稳定性良好。

2.4 重现性试验

取同一批号样品,按 1.2.2 项下方法制成供试品溶液,按 1.2.3 项下条件,平行进样 6 次,测得其含量为 100.75%,其 RSD 值为 1.76%(n=6),表明重现性良好。

2.5 加样回收率试验

取已知含量样品 10ml,分别精密加入头孢氨苄对照品溶液 1ml、2ml、3ml,按样品测定方法测定含量,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果(n=9)

样品含量 (mg)	取样量 (ml)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.2	10	0.18	0.37	94.44		
0.2	10	0.18	0.39	105.56		
0.2	10	0.18	0.39	105.56		
0.2	10	0.36	0.55	97.22		
0.2	10	0.36	0.57	102.78	99.40	4.54
0.2	10	0.36	0.53	92.66		
0.2	10	0.54	0.73	98.15		
0.2	10	0.54	0.75	101.85		
0.2	10	0.54	0.72	96.30		

从表中可以看出, HPLC 法测定头孢氨苄干混悬剂中头孢氨苄的含量平均回收率为 99.40%, RSD 值为 4.54%, 回收率良好, 说明方法的准确度符合要求。

2.6 样品含量测定

分别取某厂家生产的 3 批头孢氨苄按 1.2.2 中的方法配制供试品溶液, 各取 3 份注入高效液相色谱仪, 以外标法计算头孢氨苄相当于标示量的百分含量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果(%, n=3)

批号	头孢氨苄(%)	RSD(%)
20101107	101.21	2.48
20101110	97.43	3.45
20101114	99.12	2.17

头孢氨苄含量为占标示量的百分含量

3 讨论

头孢氨苄干混悬剂为半合成头孢菌素类广谱抗生素, 对耐青霉素的金黄色葡萄球菌有良好的抗菌作用, 在临床上的应用极为广泛, 适用于敏感细菌所致的轻、中度急性扁桃体炎、咽峡炎、中耳炎、鼻窦炎、支气管炎、肺炎等呼吸道感染、尿路感染和皮肤软组织感染等。本品中的有效成分为头孢氨苄($C_{16}H_{17}N_3O_4S$), 药典规定头孢氨苄干混悬剂中头孢氨苄的含量应为标示量的 90%~110%。故头孢氨苄干混悬剂中头孢氨苄含量的测定有着重要的临床意义。

以往文献^[2-5]报道中头孢氨苄及其制剂所用的含量测定方法多为碘量法和高效液相色谱法中的内标法。碘量法作为氧化还原滴定法中的一种, 操作繁琐, 影响因素多, 整个氧化反应受温度、pH、时间等诸多因素影响, 消耗碘的量没有固定的摩尔关系, 在整个反应中要严格控制温度和反应时间等, 不仅要做空白试验而且要同时做标准品平行对照试验, 因此考察工作繁琐, 而且灵敏度相对较低^[4]; 内标法准确度虽然较高, 但是内标物质比较难选,

而且具有操作步骤多、计算繁琐等缺点^[5]。在高效液相色谱仪性能比较稳定的情况下, 外标法是一种操作简便, 准确度高, 灵敏度高, 并且计算简单的含量测定方法, 而且适合大量样品的快速分析^[6]。由表 2 可以看到三批头孢氨苄干混悬剂中头孢氨苄的含量分别为 101.21%、97.43% 和 99.12%, 符合药典^[2]的规定。而且本方法的线性回归曲线方程为: $y=3.9161x+1.1818$, $r^2=0.9998$ ($n=6$), 在 $1.83\mu\text{g/ml}\sim 36.54\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内呈良好线性关系, 符合利用外标法进行定量计算的要求。本方法的精密度、稳定性、重现性均符合要求。此外, 本方法的平均加样回收率为 99.40%, RSD 为 4.54%, 表明本方法的准确度符合定量分析方法的要求。

因此本实验中所建立的利用高效液相色谱外标法测定头孢氨苄干混悬剂中的头孢氨苄是一种快速准确, 灵敏度高, 专属性好, 稳定性好, 简单易行的含量测定方法, 具有碘量法和内标法不可比拟的优点。

参考文献:

- [1] 陈新谦. 新编药理学[M]. 15 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 192.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 96.
- [3] 梁晓燕. HPLC 法测定头孢氨苄缓释片的含量[J]. 药物鉴定, 2010, 19(17): 24.
- [4] Elizabeth JM, Latha BP. Dendritic cell-Tumor cell fusion and staphylococcal enterotoxin B treatment in a pancreatic tumor model[J]. Journal of Surgical Research, 2002, 107(2): 196-202.
- [5] DaCosta Byfield S, Major C, Laping NJ, et al. SB-505124 is a selective inhibitor of transforming growth factor-beta type I receptors ALK4, ALK5, and ALK7[J]. Mol Pharmacol, 2004, 65(3): 744-752.
- [6] 汪正宇. 高效液相色谱法测定头孢氨苄胶囊含量的不确定度分析[J]. 基础研究, 2010, 48(14): 19-21.

(收稿日期 2011-09-07)

欢迎投稿

欢迎订阅