

注射用头孢唑啉钠含量的高效液相色谱法测定

浙江省药品检验所 汪素岩 谢旭一

头孢唑啉钠为抗生素类药,用于溶血性链球菌、草绿色链球菌、葡萄球菌、肺炎球菌、淋球菌、大肠杆菌、奇异变形杆菌、痢疾杆菌等感染。目前国内对该药品含量测定方法,均用微生物杯碟法进行测定^[1],考虑微生物杯碟法,繁杂,要制备培养基,缓冲液,需要115℃高压灭菌30分钟,还要制备鉴定用菌液,有的菌液至少要24小时,所用一切器皿也需在160℃干热灭菌二小时,整个试验麻烦、费时。本文参考文献^{[2][3]}确立了用高效液相色谱法,对头孢唑啉钠直接测定方法,以pH 3.6磷酸盐缓冲液和乙腈混合液为流动相,水杨酸为内标,以十八烷基硅烷键合硅胶为层析柱,紫外检测。方法简便、快速、准确。对九批试样测定结果与微生物杯碟法结果比较无显著性差异。

一、仪器与试剂:

Waters公司高效液相色谱仪

色谱柱: μ -Bondapak C₁₈ 3.9mm $\times$ 30 cm, 紫外检测器M440。

无水磷酸氢二钠 AR, 柠檬酸 CP

磷酸二氢钾 AR, 乙腈 AR

水杨酸 AR, 甲醇 AR

注射用头孢唑啉钠: 民生药厂提供, 符合浙江省药品标准的规定。

二、溶液配制:

(1) 缓冲液配制:

pH 3.6 缓冲液: 准确称取无水磷酸氢二钠0.9g, 柠檬酸 1.298g, 加水至1000ml。

pH 7.0 缓冲液: 准确称取无水磷酸氢二钠 5.68g, 磷酸二氢钾 3.63g, 加水溶解成

1000ml。

(2) 内标准溶液配制:

精密称取水杨酸 1.2g, 置 200ml 量瓶中, 加 10ml 甲醇使溶介, 用 pH 7.0 缓冲液稀释至刻度, 摇匀。

(3) 标准溶液配制:

精密称取头孢唑啉钠标准品 约 50mg, 转移到 50ml 量瓶中, 用 pH 7.0 缓冲液使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀。

(4) 试样溶液的配制:

同标准溶液

(5) 流动相的配制:

取 pH 3.6 缓冲液-乙腈 (9:1), 制备适宜的混合物, 通过滤膜过滤 (1- μ m), 并脱气。

三、操作条件:

流速 1ml/min, 紫外检测波长 254nm, 灵敏度 0.1AUFS, 记录仪纸速 0.5cm/min, 室温 25℃进样 (15 μ l)。

四、定量校正因子测定方法:

精确吸取上述标准溶液 4ml 及内标溶液 5ml, 置 50ml 容量瓶中, 用 pH 7.0 缓冲液稀释至刻度, 摇匀, 按上述层析条件, 共进样七次, 每次 15 μ l, 记录色谱图, 按测得峰面积, 计算校正因子。详见表 1 和图一。

从图一、表 1 得出, 对称因子不超过 1.5; 分离度不低于 4.0; 变异系数小于 1.0%。

五、样品测定方法:

取不同批号样品九批, 配制成试样供试验, 按上述分析条件, 进样 15 μ l, 记录图谱, 按测得的样品和内标峰面积的比, 计算样品的标示量。详见表 2。

表 1

进样次数	内标峰面积	标准品峰面积	校正因子	变异系数(CV%)	±标准偏差
1	7755.44	7601.98	7.29327	0.45%	
2	7689.91	7591.44	7.34522		
3	7759.22	7637.56	7.32383		
4	7741.25	7588.77	7.29394		
5	7803.92	7603.21	7.24914		
6	7792.20	7617.04	7.27325		
7	7731.57	7554.87	7.27045		

$\bar{x}_f R = 7.29273 \quad \pm 0.0329$

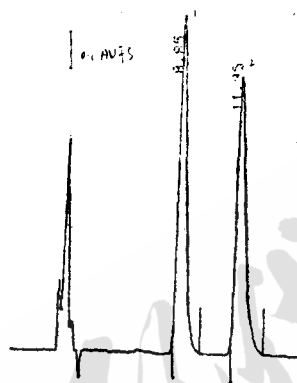


图 一

1. 水杨酸(内标) 2. 头孢唑啉钠标准品。

表 2

编 号	样品重量 (mg)	峰 面 积 内 标	峰 面 积 头孢唑啉钠	峰面积比值	样品测得重量 (mg)	高效液相色谱 法测得标示量 %	微生物效价法 测得标示量 %
1	53	7698.67	7909.07	1.02733	52.8264	99.67	97.10
2	51.5	7745.73	7625.46	0.98447	50.6227	98.30	98.35
3	50.8	7641.09	7181.61	0.93987	48.3290	95.14	96.53
4	48.5	7377.86	6603.35	0.89502	46.0230	94.89	94.71
5	53.9	7825.36	8058.07	1.02974	52.9503	98.24	98.09
6	47.5	7720.76	6906.38	0.89452	45.9972	96.84	96.83
7	51.6	8003.47	7616.30	0.95163	48.9336	94.83	96.84
8	52.4	7809.53	8070.28	1.03338	53.1377	101.40	103.59
9	50.0	7765.61	7578.14	0.97586	50.1797	100.36	99.87

4. 高效液相色谱法, 重现性和准确性良好, 微生物杯碟法, 测试结果, 如果用卡尺量抑菌圈直径, 可以带来人为的误差; 用抑菌圈测量仪, 测抑菌圈面积时, 由于电压不稳定, 测量抑菌圈位置不同, 也会带来一

t 测验结果, t 值为 0.43, 小于 t_{临界}(8, 0.05) = 2.31 值。

所以二种方法测得结果无显著性差异。

六、小 结

1. 从表 2, 用二种方法, 样品测得结果, 表明用高效液相色谱法与微生物杯碟法, 测得的标示量基本一致。

2. 用高效液相色谱法, 测试需时短, 测一批样品, 只需 25 分钟, 需微生物杯碟法, 测试一批样品, 要在 37℃ 培养箱内培养 16—18 小时, 才能测量结果。

3. 用高效液相色谱法, 简便, 而微生物杯碟法测试后清理工作较多, 麻烦。

定的误差。

七、注意事项

1. 在进行样品测定时, 标准溶液和校正因子, 须当天配制, 如遇特殊情况, 不能
(下转第 28 页)

(上接第35页)

当天测试, 必须将配制的溶液放入冷藏室内保存。

2. 根据抗生素易吸湿分解的特性称量时要快、准确, 也需现测试现配制溶液。

• 28 •

参 考 文 献

- [1] 赵淑杰等 药物分析杂志 3(2); 123, 1983
- [2] USP 21版 174页
- [3] 张治铤: 抗生素药品检验 第一版 第一次, 第一章1—78页, 1987年, 人民卫生出版社
- [4] 陈钟英等 临床药物手册, 第二版, 第十页, 1986年, 上海科学技术出版社