

离子对色谱法测定注射用氨苄西林钠氯唑西林钠的含量

陈汝红,董哲卿,鹿颐(河北省药品检验所,石家庄 050011)

摘要:目的 建立离子对色谱法测定注射用氨苄西林钠氯唑西林钠含量的方法。方法 采用 C_{18} 柱,缓冲盐溶液(内含 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 十六烷基三甲基溴化铵和 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾)(用氢氧化钾试液调节 pH 值为 6.5)-乙腈(50:50)为流动相,流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 230 nm。结果 氨苄西林和氯唑西林的线性范围分别为 $0.06 \sim 1.67 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.06 \sim 1.54 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, r 均为 0.999 9;平均回收率分别为 99.9% 和 99.8%。结论 本法简便、快速、准确,可用于注射用氨苄西林钠氯唑西林钠的含量测定。

关键词:氨苄西林钠氯唑西林钠;含量;离子对色谱法

中图分类号:R917.101;R917.795

文献标识码:B

文章编号:1007-7693(2007)04-0308-03

Determinatin of Ampicillin Sodium and Cloxacillin Sodium in Injection by Ion-pairs HPLC Method

CHEN Ru-hong, DONG Zhe-qing, LU Yi(Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish an ion-pairs HPLC method for the assay of ampicillin sodium and cloxacillin sodium in injection. **METHODS** The column: C_{18} ;The mobile phase: a mixture of buffer solution(containing of $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ cetyl trimethyl ammonium bromide and $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ potassium dihydrogen orthophosphate, adjust pH to 6.5 with potassium hydroxide solution)and acetonitrile (50:50);The flow rate: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;The detection wavelength: 230 nm. **RESULTS** The linear range of ampicillin and cloxacillin was $0.06 \sim 1.67 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $0.06 \sim 1.54 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ respectively, $r = 0.9999$. The average recovery was 99.9% and 99.8% respectively. **CONCLUSION** The proposed HPLC method was convenient, rapid and accurate, and could be used for assay of ampicillin sodium and cloxacillin sodium in injection.

KEY WORDS: ampicillin sodium and cloxacillin sodium; content; ion-pairs HPLC method

注射用氨苄西林钠氯唑西林钠为氨苄西林钠和氯唑西林钠等量混合的无菌粉针剂。氨苄西林钠对革兰阳性菌和

作者简介:陈汝红,女,硕士,副主任药师 Tel: (0311)85212007-8028 E-mail: crh030227@sohu.com

阴性菌均有强大的抗菌作用,但不能抵御 β -内酰胺酶的破坏;氯唑西林钠具有耐抗金黄色葡萄球菌所产生的 β -内酰胺酶能力,二者合用广谱,耐酶,高效,低毒。国家药品标准^[1]中含量测定采用磷酸二氢钾溶液-甲醇的色谱系统,实验发现在普通色谱柱上氨苄西林几分钟内出峰,而氯唑西林 40 min 内不出峰,且柱压偏高,不利于日常检测。笔者采用离子对色谱法测定氨苄西林和氯唑西林的含量,改善了两主成分的保留特性,方法简便、快速、准确。

1 仪器与试剂

Waters 2695 型高效液相色谱仪,2487 型紫外检测器;氨苄西林和氯唑西林对照品由中国药品生物制品检定所提供,氨苄西林工作对照品,氯唑西林工作对照品,注射用氨苄西林钠氯唑西林钠由中诺药业提供;乙腈为色谱纯,十六烷基三甲基溴化铵,磷酸二氢钾为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Luna C₁₈(2)(250 mm × 4.60 mm, 5 μ m),缓冲盐溶液(内含 0.01 mol · L⁻¹十六烷基三甲基溴化铵和 0.01 mol · L⁻¹磷酸二氢钾,用氢氧化钾试液调节 pH 值为 6.5)-乙腈(50:50)为流动相,流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 230 nm ,进样量 10 μ L。

2.2 系统适用性

2.2.1 理论板数 取各含 0.5 mg · mL⁻¹的供试品溶液进样,以氨苄西林峰计算理论板数为 11 000,以氯唑西林峰计算理论板数为 16 000。

2.2.2 分离度 参照中国药典氨苄西林^{[2]613},氯唑西林^{[2]767}含量测定项下的分离要求,配制 0.5 mg · mL⁻¹的头孢拉定,氨苄西林,氯唑西林和氟氯西林的混合溶液进样,结果头孢拉定和氨苄西林的分离度为 5.5,氯唑西林和氟氯西林的分离度为 4.4,见图 1。

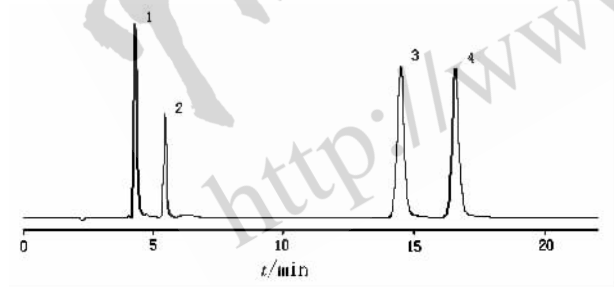


图 1 分离色谱图

1. 头孢拉定; 2. 氨苄西林; 3. 氯唑西林; 4. 氟氯西林

Fig 1 Chromatogram of separation

1. cefradine; 2. ampicillin; 3. cloxacillin; 4. flucloxacillin

2.2.3 系统精密度 取各含 0.5 mg · mL⁻¹的对照品溶液连续进样 5 次,氨苄西林和氯唑西林峰面积的 RSD 分别为 0.25% 和 0.23%。

2.3 线性关系考察

精密称取氨苄西林和氯唑西林对照品各适量,加水溶解并分别制成含氨苄西林 0.06,0.10,0.21,0.42,0.84,1.25,1.67 mg · mL⁻¹和氯唑西林 0.06,0.10,0.19,0.39,0.77,

1.16,1.54 mg · mL⁻¹的系列溶液,分别进样 10 μ L 测定,以峰面积 Y 对其浓度 X(mg · mL⁻¹)进行线性回归,得回归方程分别如下:

氨苄西林 $Y = 5.1711 \times 10^6 X + 423.64, r = 0.9999$
氯唑西林 $Y = 2.0079 \times 10^7 X + 33496, r = 0.9999$
结果表明,氨苄西林和氯唑西林分别在 0.06 ~ 1.67 mg · mL⁻¹和 0.06 ~ 1.54 mg · mL⁻¹内呈良好的线性关系。

2.4 回收率试验

精密称取氨苄西林工作对照品 40,50,60 mg 各 3 份,分别加入氯唑西林工作对照品约 50 mg 作为辅料,置 100 mL 量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,制成含量测定浓度的 80%,100%,120% 的溶液进样,结果平均回收率为 99.9%,RSD 0.43%(n=9);精密称取氯唑西林对照品 40,50,60 mg 各 3 份,分别加入氨苄西林约 50 mg 作为辅料,置 100 mL 量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,制成含量测定浓度的 80%,100%,120% 的溶液进样,结果平均回收率为 99.8%,RSD 0.52%(n=9)。

2.5 重复性试验

同一批样品,分别取样 6 次,依法测定含量,结果氨苄西林和氯唑西林含量的 RSD 分别为 0.34% 和 0.37%,表明方法重复性良好。

2.6 稳定性试验

取各含 0.5 mg · mL⁻¹的供试品溶液,室温放置 0,2,4,6,8 h 后进样,结果氨苄西林和氯唑西林峰面积的 RSD 分别为 0.33% 和 0.32%,表明溶液 8 h 内稳定。

2.7 样品测定

精密称取供试品约 50 mg,置 50 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,取 10 μ L 注入液相色谱仪,记录色谱图,见图 2。精密称取氨苄西林和氯唑西林对照品各约 25 mg,置 50 mL 量瓶中,同法测定。所测样品 3 批,结果见表 1。

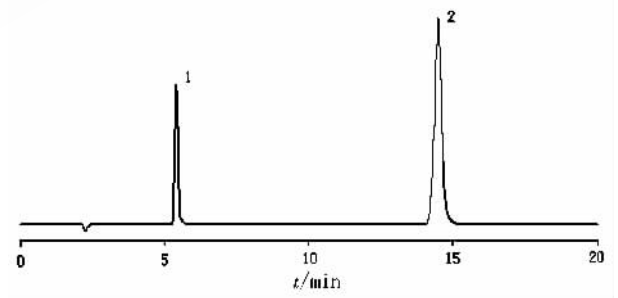


图 2 含量测定图谱

1. 氨苄西林; 2. 氯唑西林

Fig 2 Chromatogram of ampicillin and cloxacillin

1. ampicillin; 2. cloxacillin

表 1 含量测定结果

Tab 1 Results of content ditermination

批号	氨苄西林/ μ g · mg ⁻¹	氯唑西林/ μ g · mg ⁻¹
051101	442.8	477.1
051102	445.6	475.3
051103	446.2	472.6

3 讨论

3.1 流动相的选择

由于氨苄西林与氯唑西林极性差异较大,造成两者在普通色谱条件下难以同时在合适的保留时间内洗脱。有机相比例偏低,氯唑西林 40 min 内不出峰,有机相比例偏高,氨苄西林不保留,造成与溶剂峰或杂质峰不分离。曾尝试加入四丁基氢氧化铵等短链阳离子对试剂,在高比例有机相中延缓氨苄西林保留时间的作用不明显。加入长链阳离子对试剂十六烷基三甲基溴化铵后,能明显延缓氨苄西林和氯唑西林的保留时间,同时调节有机相比例,使两者得以在合适的保留时间内洗脱,相对保留时间比为 2.7。流动相在中性条件下,最容易形成离子对,并能拉近氨苄西林峰和氯唑西林峰的距离,故选择 pH 6.5,使配后流动相的 pH 约为 7。加入磷酸二氢钾可维持缓冲液的 pH 值。为避免柱压过高并提高柱效,选乙腈作为有机相。对十六烷基三甲基溴化铵的浓度,磷酸二氢钾的浓度以及乙腈比例进行筛选优化,最终确定上述色谱条件。

3.2 检测波长的选择

取氨苄西林和氯唑西林的水溶液,以流动相作参比,在 200 ~ 350 nm 波长范围内扫描,结果氨苄西林和氯唑西林分别在 226 nm 和 227 nm 的波长处有最大吸收。考虑到基线噪音的稳定性,测定流动相的截止波长为 221 nm。因此选择氨苄西林和氯唑西林均有较高检测灵敏度,又远离流动相截止波长的 230 nm 作为测定波长。

3.3 溶剂的选择

由于氨苄西林和氯唑西林均易溶于水,并为节约检验成本 and 环境保护,选水作为溶剂。实验表明,氨苄西林峰和溶剂峰能较好分离。

参考文献

- [1] WS-10001-(HD-620)-2002. Drug Specifications Promulgated by the State Food and Drug Administration [S]. 2002:7,88-89.
- [2] Ch. P(2005) Vol II (中国药典 2005 年版. 二部)[S]. 2005: 613-614,767-768.

收稿日期:2006-10-17