

# 高效液相色谱法测定头孢噻呋钠含量

常恩慧, 宋瑞芝, 周桂云, 相文, 张秀芳

(山东鲁抗医药股份有限公司, 山东济宁 272100)

[收稿日期] 2007-02-12 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2007)09-0022-03 [中图分类号] TQ460.72

**[摘要]** 建立了测定头孢噻呋钠含量的高效液相色谱法。采用  $C_{18}$  色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m), 以含 0.8% 四正丁基溴化铵的乙腈溶液 - 0.1 mol/L 柠檬酸钠溶液 (用 20% 柠檬酸调节 pH 至 5.0) - 磷酸盐溶液 (0.1 mol/L 磷酸二氢钾, 0.02 mol/L 磷酸氢二钾, 用 10 mol/L 氢氧化钾调节 pH 至 7.0) - 水 (400:4:48:520) 为流动相, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 254 nm, 进样量 20  $\mu$ L, 柱温 30  $^{\circ}$ C。头孢噻呋钠浓度在 0.049 6~0.198 4 mg/mL 时, 其峰面积与浓度的线性关系良好 ( $r=1.000$ ); 平均回收率为 100.0%, 平均相对标准偏差 *RSD* 为 0.17%; 检测限为 0.002 5  $\mu$ g/mL。本方法操作简便, 分析快速, 结果准确, 适用于头孢噻呋钠原料药的含量测定。

**[关键词]** 头孢噻呋钠; 含量; 高效液相色谱法

## Determination of Ceftriaxone Sodium by HPLC

CHANG En-hui, SONG Rui-zhi, ZHOU Gui-yun, XIANG Wen, ZHANG Xiu-fang

(Shandong Lukang Pharmaceutical Co. Ltd, Jining, Shandong 272120 China)

**Abstract** A method for the determination of Ceftriaxone Sodium by HPLC was established. The HPLC system consisted of  $C_{18}$  column (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m), 0.8% tetrabutylammonium bromide acetonitrile - 0.1 mol/L citrate sodium solution (adjusted to pH 5.0 with 20% citric acid) - phosphate solution (0.1 mol/L potassium phosphate monobasic, 0.02 mol/L potassium phosphate dibasic, adjusted to pH 7.0 with 10 mol/L potassium hydroxide) - water (400:4:48:520) as mobile phase, the flow rate was 1.0 mL/min, detection wavelength was 254 nm, the injection volume was 20  $\mu$ L and column temperature was 30  $^{\circ}$ C. The calibration curve was linear in the range of 0.049 6~0.198 4 mg/mL ( $r=1.000$ ), the average recoveries was 100.0% with corresponding *RSD* of 0.17%, the limit of detection was 0.002 5  $\mu$ g/mL. The method is rapid, simple and accurate for the content determination of ceftriaxone sodium.

**Key words** ceftriaxone sodium; content; HPLC

头孢噻呋钠主要用于治疗畜禽细菌疾病, 如猪细菌性呼吸道感染和鸡的大肠杆菌、沙门氏菌感染等。《中国药典》2005年版二部、《中国兽药典》、《European Pharmacopoeia 5.0》、《USP 25》中均未收录该品种的检验方法。本方法参照《韩国药典》中

该品种含量的 HPLC 检验方法, 对溶液浓度及溶解相配比进行了改进, 使色谱峰分离的更好。

### 1 试验材料

1.1 仪器与试验条件 高效液相色谱仪, Waters 1525 泵, 2487 检测器, 美国 WATERS 公司; 超声波

清洗机 JCX-50G, 山东济宁超声电子仪器厂; 抽滤装置 (滤膜 0.45  $\mu\text{m}$ ); 万分之一分析天平, 美国 METTLER 公司。Waters symmetry C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm  $\times$  250 mm), 手动进样, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 254 nm, 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ , 进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

1.2 试剂与样品 乙腈为色谱纯; 柠檬酸钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、氢氧化钾、柠檬酸为分析纯。头孢噻唑钠原料 3 批, 批号 0607001 0607002 0607003 鲁抗医药提供。头孢噻唑钠对照品, 批号 K0330406 含量 87.5%, 中国兽药药品监察所提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 试液配制

2.1.1 流动相的配制 称取四正丁基溴化铵 3.2 g 溶于 400 mL 乙腈, 再加入 44 mL pH 7.0 的缓冲液和 4 mL pH 5.0 的缓冲液, 摇匀, 加水到 1 000 mL。经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤并脱气。

2.1.2 缓冲液的配制 pH 7.0 缓冲液: 将 13.6 g 磷酸二氢钾和 4.0 g 磷酸氢二钾溶于 800 mL 水中, 加磷酸或 (1 mol/L) NaOH 调 pH (7.0  $\pm$  0.1), 然后加水到 1 000 mL, 经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤并脱气。pH 5.0 缓冲液: 将 25.8 g 柠檬酸钠溶于 500 mL 水中, 摇匀, 加入 20% 柠檬酸调 pH 至 (5.0  $\pm$  0.1), 加水 1 000 mL, 经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤并脱气, 即得。

2.1.3 测试溶液 取头孢噻唑钠对照品约 62 mg 精密称定, 用流动相溶解并定容至 50 mL 容量瓶中, 摇匀, 为对照储备液。精密量取该溶液 5 mL, 加流动相稀释并定容至 50 mL 容量瓶中, 摇匀, 制成含头孢噻唑钠约 0.124 mg/mL 的溶液, 作为对照溶液。同法制备样品试液, 并以峰面积按外标法计算样品中头孢噻唑钠的含量。

2.2 系统适用性试验及精密度试验 在上述色谱条件下进样分析对照溶液 (见图 1), 头孢噻唑钠峰与杂质峰间的分离度均大于 1.5。理论板数按头孢噻唑钠峰计算为 11 567, 头孢噻唑钠峰的拖尾因子为 0.98, 取对照品溶液连续进样 6 次, 其峰面积的相对标准偏差为 0.1%。

2.3 线性范围 分别精密吸取 2.0 3.0 4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 mL 的对照储备液至 50 mL 容量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀。制得系列对照品溶液 I-VII 每种浓度溶液平行制备 3 份。测定不同浓度的线性工作液, 记录对应的峰面积, 以浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ ) 为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 作图制成回归曲线, 求得回归方程  $y = 47709x + 37177$ , 相关系数

$R^2 = 1$ 。结果见图 2。

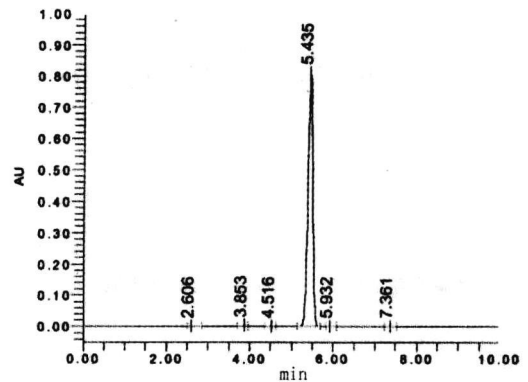


图 1 头孢噻唑钠对照溶液色谱图

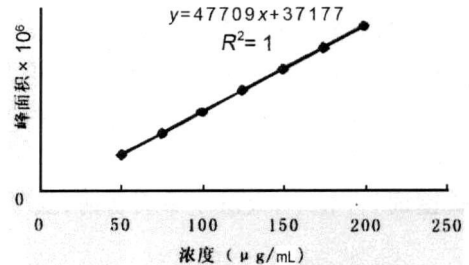


图 2 头孢噻唑钠标准曲线图

2.4 最低检测限试验 用对照溶液 I 逐步稀释, 依据  $S/N = 3$  确定最低检出限为 0.0025  $\mu\text{g/mL}$ 。

2.5 回收率及精密度 准确度验证采用标准加入法进行试验。样品批号为 0607001, 照上述色谱条件, 取 5 份样品溶液测定其平均含量为 87.77%。另分别称取样品约 43 mg 55 mg 68 mg 精密称定, 用流动相溶解并定容至 50 mL 容量瓶中, 摇匀, 精密量取该溶液 5 mL, 依次加入对照溶液 IV 各 5 mL, 加流动相稀释并定容至 50 mL 容量瓶中, 所得溶液的浓度分别为本方法测定液的 80%、100%、120%, 每种浓度的溶液平行制备 5 份。取配制好的溶液及标准溶液适量注入色谱仪, 以其中头孢噻唑的理论总量和实测值计算平均回收率为 100.0%, 平均 RSD 为 0.17%, 测定结果见表 1。

2.6 样品测定 精密称取头孢噻唑钠 5 批样品, 按上述分析方法以外标法测定其含量 (以无水物计), 结果见表 2 色谱图见图 3。

## 3 讨论

3.1 本实验采用高效液相色谱测定头孢噻唑钠的含量, 灵敏度高, 准确性和精密度好, 操作简便, 色谱峰分离优良, 回收率高。

(下转第 37 页)

一些相同的中性碎片或形成一些相同的特征离子, 采用 LC-MS/MS 方法进行扫描, 可迅速得到可能的代谢物, 鉴定出结构并确定分子量。药代动力学是一种动物在体研究技术, 动物被给予一定剂量的药物后, 测定随后不同时间点采集血浆中的药物浓度, LC-MS/MS 技术在此也是不可替代的工具。但从质谱分析的角度看, 药代动力学研究中血浆样品的特点是待测物浓度低、内源性物质极性较大并易于离子化, 易产生离子抑制效应, 从而降低测定的灵敏度和重现性。因此, 利用 LC-MS/MS 技术测定血浆中药物时, 应根据不同化合物的结构特点, 考察其在不同离子源下的响应, 优化流动相组成, 提高质谱响应。

#### 4 展望

液相色谱-串联质谱技术结合了色谱、质谱两者的优点, 将色谱的高分离性能和质谱的高选择性、高灵敏度、极强的专属性特点结合起来, 组成了较完美的现代分析技术。随着科技水平的提高, 液

相色谱-串联质谱技术取得了很大的发展, 各种仪器的价格不断降低, 自动化水平不断提高, 使其在很多领域中的应用越来越广泛, 我们相信在兽药行业上的应用也会越来越广泛。

#### 参考文献:

- [1] 方东升. 液相色谱-电喷雾质谱联用分析金霉素中的杂质组分[J]. 海峡药学, 2005, 17(2): 43-46.
- [2] 武晋孝, 柴桂珍, 卢香玲, 等. 液相色谱-电喷雾质谱/质谱法测定中兽药中的抗菌药物[J]. 中国兽药杂志, 2007, 41(2): 12-15.
- [3] 秦燕, 张美金, 林海丹. 高效液相色谱-电喷雾串联质谱法测定动物饲料中的 10 种磺胺[J]. 色谱, 2005, 26(4): 397-400.
- [4] 严凤, 黄土新, 余琛, 等. 液相色谱-质谱联用技术在检测食品中兽药残留的应用[J]. 中国兽医寄生虫病, 2007, 15(2): 34-40.
- [5] 孟兆玲, 齐元英, 柳仁民, 等. 高效液相色谱-质谱联用技术的应用进展[J]. 化学分析计量, 2006, 15(6): 99-102.

(上接第 23 页)

表 1 回收率及精密度

试液浓度	样品称重 /g	理论总量 /mg	实测值 /mg	回收率 %	平均值 %	RSD %
80%	0.0432	43.3416	43.2361	99.757		
	0.0424	42.6395	42.7364	100.227		
	0.0436	43.6927	43.6229	99.840	99.93	0.23
	0.0437	43.7805	43.6572	99.718		
	0.0434	43.5172	43.5691	100.119		
100%	0.0551	53.7863	53.9773	100.355		
	0.0552	53.8740	53.8783	100.008		
	0.0553	53.9618	54.1043	100.264	100.11	0.20
	0.0551	53.7863	53.7064	99.851		
	0.0558	54.4007	54.4275	100.049		
120%	0.0683	65.3719	65.2792	99.858		
	0.0687	65.7230	65.6895	99.949		
	0.0685	65.5474	65.5896	100.064	99.96	0.09
	0.0689	65.8985	65.9167	100.028		
	0.0676	64.7575	64.6783	99.878		

注: 理论总量 (mg) = 样品称重 (mg) × 样品含量 (87.77%) + 理论加入量 (mg) × 稀释倍数

3.2 测试溶液的浓度对色谱峰的分离效果有很大的影响, 最后确定 0.1 mg/L 的溶液浓度为最佳检测浓度。

3.3 流动相的 pH 值及流动相的配比是该实验成

功与否的关键因素, 选用不同比例的流动相和不同的 pH 值对头孢噻唑钠主峰的保留时间影响很大, 经过耐用性试验确定本实验的流动相配比和 pH 值为最佳试验条件。

表 2 样品含量测定结果 (n=3)

批号	含量 %	RSD %
0612013	88.6	0.32
0612014	89.3	0.48
0612015	87.9	0.43
0612016	88.3	0.52
0612017	88.5	0.39

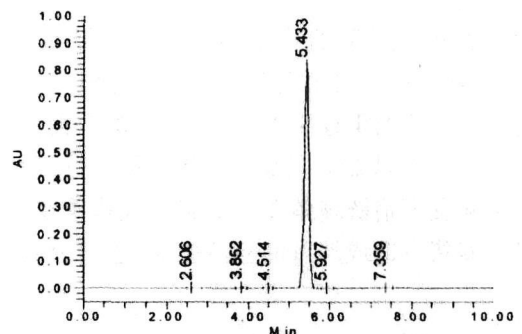


图 3 头孢噻唑钠含量样品溶液色谱图