

HPLC 测定注射用头孢噻肟钠他唑巴坦钠的含量及有关物质

霍天凤, 周栋梁

(焦作市药品检验所, 河南 焦作 454000)

摘要: 目的 用 HPLC 法测定注射用头孢噻肟钠他唑巴坦钠中头孢噻肟和他唑巴坦的含量及其有关物质。方法 用 Zorbax SB - C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 乙腈 - 磷酸二氢钾溶液 (0.03 mol L⁻¹) - 10% 四丁基氢氧化铵溶液 (190 : 795 : 15) (磷酸调 pH 4.0) 为流动相; 检测波长 230 nm; 流速 1 ml min⁻¹; 进样量 10 μl, 柱温 30 °C。结果 头孢噻肟与他唑巴坦分别与其相邻杂质峰能完全分离, 头孢噻肟在 585.24~1.366 × 10³ μg ml⁻¹ 和他唑巴坦在 87.54~204.26 μg ml⁻¹ 浓度范围内, 与峰面积的线性关系均良好 ($r = 0.9999$)。结论 所用方法简便、准确、专属性好。

关键词: 头孢噻肟钠; 他唑巴坦钠; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R927

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 0103(2005)03 - 0249 - 03

Determination of two components and related substances in Cefotaxime sodium and Tazobactam sodium for injection by HPLC

HUO Tian - feng, ZHOU Dong - liang

(Jiaozuo City Institute for Drug Control, Jiaozuo 454000, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish an HPLC method for the determination of cefotaxime sodium and tazobactam sodium and its related substances in Cefotaxime sodium and Tazobactam sodium for injection. **METHODS** The HPLC system consisted of a Zorbax SB - C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) and a mixture of acetonitrile - 0.03 mol L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate solution - 10% tetrabutyl ammonium hydroxide (190 : 795 : 15) as mobile phase. The flow rate was 1.0 ml min⁻¹ with detection wavelength of 230 nm and column temperature of 30 °C. **RESULTS** Cefotaxime and tazobactam could be completely separated from other impurities. The linear range of cefotaxime was 585.24 - 1.3656 × 10³ μg ml⁻¹ and that of tazobactam was 87.54 - 204.26 μg ml⁻¹ ($r^2 = 1.0$). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and suitable for the determination of cefotaxime and tazobactam and related substances in Cefotaxime sodium and Tazobactam sodium for injection.

Key words: Cefotaxime sodium; Tazobactam sodium; Related substance; HPLC

CLC number: R927

Document code: A

Article ID: 1006 - 0103(2005)03 - 0249 - 03

头孢噻肟钠他唑巴坦钠注射液为头孢噻肟 (cefotaxime, CF) 和他唑巴坦 (Tazobactam, TZ) 的复方制剂。头孢噻肟为第三代头孢菌素, 他唑巴坦钠为半合成 β - 内酰胺酶抑制剂, 与头孢噻肟钠联合用药, 可以增强抑菌效果和抗菌谱。《中国药典》1995 年版采用微生物检定法测定 CF 含量, 2000 年版修订为 HPLC 法^[1]; 但未对有关物质进行要求。现用 HPLC 法, 同时测定头孢噻肟钠他唑巴坦钠注射液中两组分的含量和有关物质。

1 实验部分

1.1 仪器、药品和试剂

Shimadzu Class - 10VP DAD (日本岛津) 和 Agilent 1100 系列 (安捷伦科技) 高效液相色谱仪。头孢噻肟对照品 (中国药品生物制品检定所, 96.5%); 他唑

巴坦系原料精制而得 (92.0%); 头孢噻肟钠他唑巴坦钠注射液 (河南欣欣药业有限公司); 乙腈为色谱纯 (Merck) 公司; 其余试剂均为分析纯。

1.2 色谱条件

色谱柱为 ZORBAX SB - C₁₈ (Agilent Technologies) (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 - 磷酸二氢钾溶液 (0.03 mol L⁻¹) - 10% 四丁基氢氧化铵溶液 (190 : 795 : 15) (磷酸调 pH 4.0), 检测波长 230 nm。理论板数按头孢噻肟峰计, 应不低于 3.0 × 10⁴, 头孢噻肟峰与他唑巴坦峰的分离度符合规定。

1.3 方法的专属性

1.3.1 分别取按处方配比的辅料、CF 对照品、TZ 对照品流动相溶液以及注射用头孢噻肟钠他唑巴坦钠的流动相溶液各 10 μl, 按“1.2”色谱条件进行测定。结果辅料、CF、TZ 及注射用头孢噻肟钠他唑巴

作者简介: 霍天凤, 女, 河南焦作, 主管药师, 从事药品监督检验工作。

坦钠各色谱峰均分离很好,见图 1A~C。

1.3.2 酸破坏 分别取 CF、TZ 对照品适量,用 1 mol L^{-1} 的盐酸溶液溶解后,室温放置 0.5 h,用 0.1 mol L^{-1} 的氢氧化钠溶液中和,按“1.2”项色谱条件进行测定。结果酸破坏的 CF 和 TZ 几乎未产生新杂质峰,主成分峰与杂质峰分离良好(图 1D)。

1.3.3 碱破坏 分别取 CF、TZ 对照品适量,用 0.1

mol L^{-1} 的氢氧化钠溶液溶解,室温下立即用 0.1 mol L^{-1} 的盐酸溶液中和,按“1.2”项色谱条件测定。碱破坏的 CF、TZ 均与其杂质峰分离良好(图 1E)。

1.3.4 氧化破坏 分别取 CF、TZ 对照品适量,用水溶解,加 10 % 的过氧化氢溶液适量,30 min 后用水稀释 5 倍,按“1.2”项色谱条件测定。结果氧化破坏的 CF、TZ 均与其杂质峰分离良好(图 1F)。

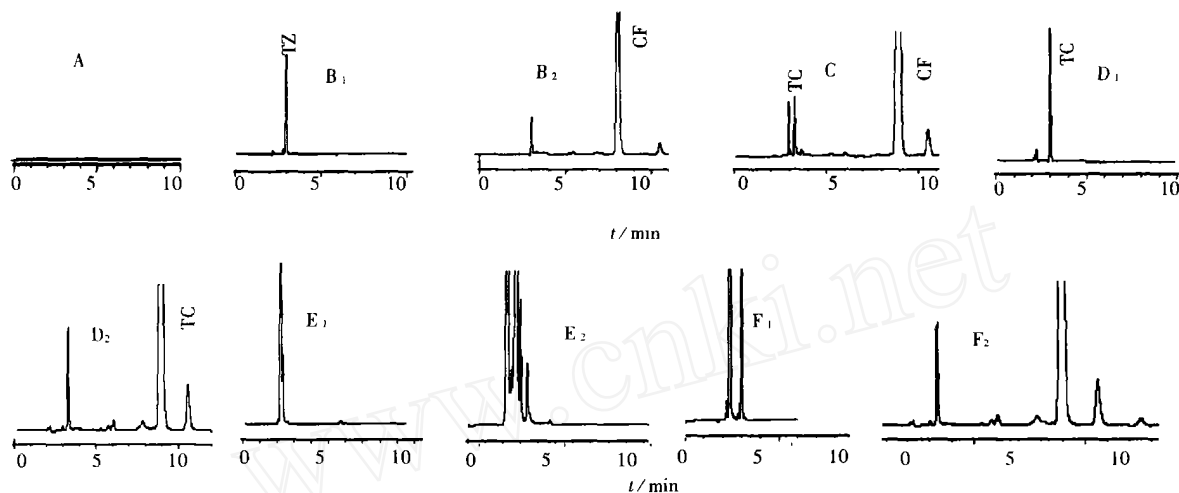


图 1 HPLC 方法专属性考察图谱

Fig 1 The specificity inspection of HPLC method

A. excipients; B. reference substance; C. sample; D. samples decomposed by acid; E. samples decomposed by alkali; F. samples decomposed by H_2O_2

1.4 测定方法

1.4.1 含量测定 取装量差异项下的内容物适量,精密称定,加流动相溶解并制成约含 CF 0.90 mg mL^{-1} 和 TZ 0.15 mg mL^{-1} 的溶液,照液相色谱法测定,取 $10\text{ }\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪,记录色谱图;另取 CF 和 TZ 对照品适量,同法测定,按外标法计算 CF ($\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_2$) 和 TZ ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$) 的含量。

1.4.2 有关物质的检查 照“1.4.1”项下的方法,取 CF 和 TZ 对照品适量,加流动相溶解并稀释成含 CF $18\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ 和 TZ $3\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ 的溶液作为对照溶液,取 $10\text{ }\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪;另取“1.4.1”项下的溶液作为供试品溶液,同法测定,记录色谱图至主峰保留时间的 2 倍,供试品溶液如显杂质峰,与对照溶液的两主峰面积之和比较,最大杂质峰面积不得大于 1.0 %,总杂质峰面积不得大于 4.0 %。

1.5 线性关系的考察

分别精密称取 CF 和 TZ 对照品适量,加流动相制成含 CF 585.24 、 780.32 、 975.40 、 1170.48 、 $1365.56\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ 和含 TZ 87.54 、 116.72 、 145.90 、 175.0 、 $204.26\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ 的溶液,滤过,照“1.4.1”项色谱条件测定,记录色谱图。以样品浓度对峰面积进行回归,回归方程分别为: $A_{\text{CF}} = 162.710\text{ }C + 24.443$ ($r = 0.9999$); $A_{\text{TZ}} = 3.4288\text{ }C + 2.4161$ ($r = 0.9999$),线性范围分别为 $585.24 \sim 1365.56\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ 和 $87.54 \sim$

$204.26\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ 。

1.6 回收率

精密称取 CF、TZ 对照品各 6 份,按处方比例加入辅料,制成含 CF $480\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ 、TZ $200\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ 的溶液,滤过;照“1.2”项色谱条件测定,用回归方程计算回收率。结果见表 1。

表 1 两组份的回收率结果(mg , $n = 6$)

Table 1 Results of the recovery (mg , $n = 6$)

TZ					CF				
added	detected	recovery / %	$\bar{X}$ / %	RSD / %	added	detected	recovery / %	$\bar{X}$ / %	RSD / %
9.43	9.35	99.15	98.14	1.72	127.03	125.45	98.76	99.31	1.28
10.59	10.08	95.23			138.18	135.18	97.83		
10.77	10.74	99.74			114.54	115.79	101.09		
11.04	10.98	99.44			1.72	118.99	118.17		
12.49	12.18	97.54			133.44	130.76	97.99		
12.01	11.74	97.76			126.17	126.38	100.17		

1.7 精密度

取“1.6”项下的 6 号溶液,重复进样 6 次,CF 和 TZ 峰面积的 $RSD = 0.67\%$ 和 $RSD = 0.79\%$ ($n = 6$)。

1.8 稳定性试验

取“1.7”项下的溶液,分别在 0、1、2、3、4 h 内测定,CF 和 TZ 峰面积的 RSD 分别为 0.67% 、 0.79% 。

1.9 检出限

取“1.5”项下溶液,稀释后进行测定,CF 在浓度为 $4.08\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ 、进样 $2\text{ }\mu\text{L}$ 、 $S/N > 3$ 时,最低检出量为 8.16 ng ;TZ 在浓度为 $4.92\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ 、进样 $2\text{ }\mu\text{L}$ 、 $S/$

N > 3 时,最低检出量为 9.84 ng。

1.10 测定结果

取头孢噻肟钠他唑巴坦钠注射液,按“1.2”项色谱条件测定,含量及有关物质测定结果见表 2。

表 2 样品含量及有关物质的测定

Table 2 The determination of CF and TZ content and related substances in sample			
Batch No.	Related substances/ %	Contents/ %	
		cefotaxime	tazobactam
20040321	0.94	99.7	97.5
20040322	0.96	99.1	98.0
20040323	0.98	99.8	97.6

2 讨论

头孢噻肟钠他唑巴坦钠注射液是 CF 与 TZ 按照 6:1 比例配制成的复方制剂,杂质主要是由 CF 原料引入或降解产生,检测波长应考虑 CF,同时也要兼顾 TZ。UV 图和 PDA 图中提取得到的光谱图均显示,CF 在 235 nm 有最大吸收,TZ 无明显的最大吸收,在 240 nm 以上几乎无吸收,参照 TZ 原料质量标准,同时兼顾两个组份,选择 230 nm 作为色谱条件的检测波长。

由于头孢噻肟钠他唑巴坦钠注射液是复方制剂,干扰因素较多,参照有关文献^[2,3],分别选择不同比例的流动相进行试验,乙腈作为 A 相,磷酸二氢钾溶液(0.05 mol·L⁻¹)-10%四丁基氢氧化铵

(795:15)(磷酸调节 pH 4.0)作为 B 相,以头孢噻肟钠他唑巴坦钠注射液的水溶液作为待分离样品,在不同比例的流动相中各组份的保留时间、理论板数和分离度见表 3。

Table 3 The separation of CF and TZ in mobile phase consisted in different proportion

Ratio (A:B)	t _R /min		N		Rs	
	CF	TZ	CF	TZ	CF	TZ
15:85	21.109	3.295	12939	11349	1.60	2.98
17:83	13.170	3.051	12780	14793	2.21	3.60
19:81	8.907	2.972	12589	15136	3.64	2.78
23:77	5.165	3.027	12121	10996	2.25	0.97

综合两组份的保留时间、理论板数以及各峰之间的分离度,选用乙腈-磷酸二氢钾溶液(0.05 mol·L⁻¹)-10%四丁基氢氧化铵(190:795:15)(磷酸调节 pH 4.0)作为流动相的最佳比例。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 196

[2] 袁耀佐, 胡昌勤, 金少鸿. 注射用哌拉西林钠/他唑巴坦钠的 HPLC 含量测定方法的建立[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(4): 256

[3] 孙淑芬, 董伟林. 高效液相色谱法测定血液中头孢噻肟钠的浓度[J]. 中国药学期刊, 2001, 36(10): 697

收稿日期: 2004-11

10%氯化钠注射液的细菌内毒素检查

鱼爱和刘泉生, 张兰华

(解放军 261 医院药剂科, 北京 100094)

摘要: 目的 建立 10%氯化钠注射液的细菌内毒素检查方法。方法 确定 10%氯化钠注射液的细菌内毒素限值, 并进行干扰试验。结果 10%氯化钠注射液对细菌内毒素检查有抑制作用, 原液在稀释 4 倍(2.5%, 最大不干扰浓度), 使用 λ 为 0.25 EU ml⁻¹ 的鲎试剂可消除此干扰。结论 10%氯化钠注射液的热原检查可用细菌内毒素检查法替代。

关键词: 10%NaCl 注射液; 细菌内毒素检查; 干扰试验; 热原检查

中图分类号: R954

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2005)03-0251-03

The bacterial endotoxin test of 10 % Sodium chloride injection

YU Ai - he, LIU Quan - sheng, ZHANG Lan - hua

(Department of Pharmacy, 261 Hospital of PLA, Beijing 100094, China)

Abstract: OBJECTIVE To establish a bacterial endotoxin testing method of 10 % NaCl injection (NI). METHODS The limit value of bacterial endotoxin test (BET) and the maximal undisturbed concentration for NI were determined. RESULTS The diluted solution (1:4, 2.5 %) of NI (the maximal undisturbed concentration) could not disturb the BET, with 0.25 EU ml⁻¹ of tachypleus amebocyte iysate (TAL). CONCLUSION The BET for NI could replace the pyrogen test.

Key words: Sodium chloride injection; Bacterial endotoxin test; Disturbed testing; Pyrogen test

作者简介: 鱼爱(1950-), 女, 主任药师, 从事药品质量和临床药学的工作。