

头孢西丁钠有关物质的测定

朱庆珍 庄凤侠^a

(苏州农业职业技术学院 江苏省苏州市西园路 279 号 215008)

^a(苏州东瑞制药有限公司 江苏省苏州市 215128)

摘 要 用苯基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱, 流动相 A 为水(用甲酸调节 pH 2.7), 流动相 B 为乙腈; 线性梯度洗脱, 高效液相色谱法测定头孢西丁钠中的有关物质。本法专属性良好。

关键词 头孢西丁钠; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: O 657. 7⁺ 2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2009)06-1449-03

1 前言

头孢西丁为半合成第二代头孢菌素, 特点为对革兰阴性菌有较强的抗菌作用, 具有高度抗 β 内酰胺酶性质。其极性较弱且主要杂质与主峰极难分离。陈军等虽建立了简便易行的检测方法^[1], 但有关物质并未完全检出。本法采用 5% 苯基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱, 头孢西丁的保留时间约为 34 min, 相对保留时间为 1, 相对保留时间约为 0.8 的杂质的色谱峰与头孢西丁色谱峰间的分离度应不低于 5.0, 理论塔板数按头孢西丁峰计算应不少于 2500。本法专属性强, 有关物质基本完全检出。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Agilent-1100 型液相色谱仪(美国安捷伦公司, DAD 检测器, Agilent 自带色谱工作站)。

头孢西丁钠原料药(苏州东瑞制药有限公司, 批号 050301、050302、050303); 头孢西丁对照品: USP 标准品; CAT. NO: 09810, LOT I, 含量: 按湿品计, 99.76%; 乙腈: 费休尔公司生产色谱纯; 其他化学试剂均为国产分析纯试剂。实验用水为苏州东瑞制药有限公司自产注射用蒸馏水。

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件

本试验主要参考进口注册标准 JX20010299《头孢西丁钠》中有关物质的检测方法, 略作改动。

用苯基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相 A 为水(用甲酸调节 pH 2.7); 流动相 B 为乙腈; 线性梯度洗脱。梯度洗脱方法见表 1。

联系人, 电话: (0512) 66098902(办); 手机: (0) 13912642850; E-mail: suzhou_qingzhen@yahoo.com.cn

作者简介: 朱庆珍(1963—), 女, 江苏省句容市人, 硕士, 高级工程师, 主要从事化学分析与仪器分析的教学与实用工作。

收稿日期: 2009-07-01; 接受日期: 2009-07-28

表 1 头孢西丁钠有关物质检测梯度洗脱方法

时间 (min)	流动相 A (% V/V)	流动相 B (% V/V)
0—12	90	10
12—37	90 80	10 20
37—50	80 60	20 40
50—55	60 20	40 80
55—60	20	80
60—62	20 90	80 10
62—70	90	10

2.2.2 系统适用性试验

取头孢西丁对照品适量,用磷酸盐缓冲液(称取磷酸氢二钾 34.836g,加水 1000mL 溶解,用磷酸调节 pH 值至 6.8,取该溶液 20mL,用水稀释至 1000mL)溶解并制成浓度为 1mg/mL 的溶液,于 70℃ 水浴中放置 1h,室温冷却,取该溶液 10 μ L 注入液相色谱仪中,记录波长 235nm 处的色谱图。头孢西丁的保留时间约为 3.4min,相对保留时间为 1,相对保留时间约为 0.8 的色谱峰与头孢西丁色谱峰间的分离度应不低于 5.0,理论塔板数按头孢西丁峰计算应不少于 2500。系统适用性图谱见图 1。

3 结果与讨论

3.1 进样浓度的确定

按进口注册标准 JX20010299《头孢西丁钠》中有关物质的检测方法,进样浓度为 5mg/mL,进样体积为 50 μ L,但实验图谱显示,该浓度严重过载,峰面积与 1% 对照的峰面积相关性太差。当进样浓度为 1mg/mL,进样体积为 50 μ L,或浓度为 5mg/mL,进样体积 10 μ L 时,峰形均有所改善。因此本法采用的进样浓度为 5mg/mL,进样体积 10 μ L,0.5% 的对照浓度。

3.2 有关物质检测波长的确认

本品有关物质专属性试验显示,各杂质峰在 235nm 处均有最大或较大吸收。因此确定本品有关物质检查的检测波长为 235nm。

3.3 检出限

取头孢西丁对照品适量,准确称定,按逐步稀释法配制溶液,进样 10 μ L,最后测得头孢西丁的检出限为 1.01 μ g/mL (信噪比约为 2.4)。

3.4 供试品溶液的稳定性

取研制品适量,加 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液溶解并制成 5mg/mL 的溶液,室温下放置,记录该样品溶液在不同时间的 HPLC 图谱,计算有关物质的含量,结果显示头孢西丁钠溶液随着时间的增加,有关物质上升很快,应现配现用。

3.5 有关物质检查结果

取研制品,用磷酸盐缓冲液配成 5mg/mL 的溶液,按 2.2.1 项下色谱条件,测定有关物质,结果见表 2^[2],HPLC 图谱见图 2。

表 2 头孢西丁钠有关物质测定结果

批号	杂质峰数目	有关物质 (%)	最大杂质 (%)
050301	9	0.75	0.23
050302	8	0.67	0.22
050303	9	0.86	0.23

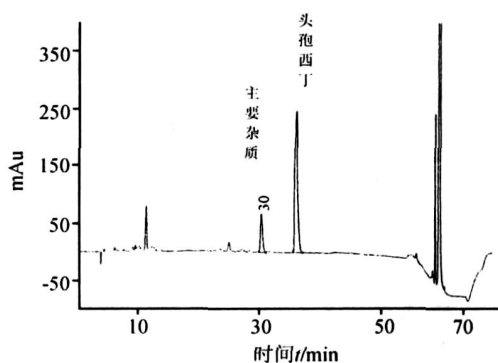


图 1 头孢西丁钠有关物质检测系统适用性图谱

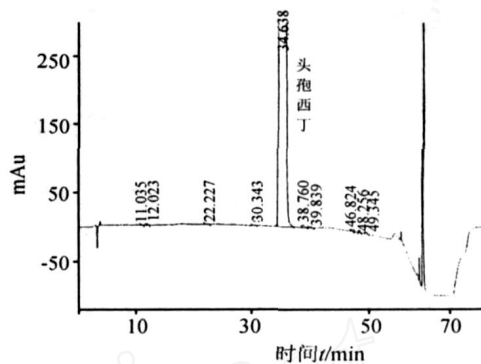


图 2 头孢西丁钠有关物质检测 HPLC 图谱

3.6 讨论

3.6.1 色谱柱及分离方法的选择

一般的色谱柱无法将头孢西丁及其杂质完全分离, 选用苯基键合硅胶柱, 利用线性梯度洗脱才能将杂质完全检出。陈军等检出的有关物质质量一般为 0.04%^[1], 本法检出的 3 批结果为 0.75%、0.67%、0.86%, 同时对意大利 ACS Dobfar S. P. A 公司的头孢西丁钠的有关物质也进行了检测, 结果为 0.76%, 与对方提供的检验报告基本一致。

3.6.2 进样量的选择

按进口注册标准 JX20010299《头孢西丁钠》浓度为 5mg/mL, 50 μ L, 进样量为 250 μ g, 结果峰型严重过载, 经实验验证当进样体积改为 10 μ L, 进样量为 50 μ g 时, 也能得到很好的实验效果, 这样既达到了检测效果, 又延长了色谱柱的使用寿命。

参考文献

- [1] 陈军, 胡高云, 杨华. 注射用头孢西丁钠有关物质测定方法的改进[J]. 中南药学, 2007, 5(2): 122—123
 [2] 中华人民共和国药典委员会编. 中国药典第二部 附录 34—35[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005

Detem ination of Impurities in Cefoxitin Sodium by HPLC

ZHU Qing-Zhen ZHUANG Feng-Xia^a

(Suzhou Polytechnical Institute of Agriculture, Suzhou, Jiangsu 215008, P. R. China)

^a(Suzhou Daw n rays Pharmaceutical Co., Ltd., Suzhou, Jiangsu 215128, P. R. China)

Abstract A HPLC method for the detem ination of impurities in cefoxitin sodium was established. A phenyl column (250mm \times 0.46mm \times 5.0 μ m) was used as column, mobile phase was water (adjust pH for 2.7 by formyl)-acetonitrile (90:10); linear gradient elution; and the flow rate was 1.0mL/min. The results are good.

Key words Cefoxitin Sodium; Impurities; HPLC