

反相高效液相色谱法测定头孢泊肟酯干混悬剂中头孢泊肟酯的含量

张慧文,何丽明,林玲(广州市药品检验所,广东 广州 510160)

摘要:目的 建立测定头孢泊肟酯干混悬剂中头孢泊肟酯含量的方法。方法 采用反相高效液相色谱法,色谱柱为 Shim-Pack 苯基柱(4 μ m,3.9mm \times 150mm);流动相:0.005 mol/L 磷酸二氢钾(pH6.5)-乙腈-甲醇(60:10:30);检测波长为 260nm。结果 精密性及稳定性均良好;头孢泊肟酯(按头孢泊肟计)在 50~250 μ g/mL 内,峰面积与浓度呈良好的线性关系,相关系数为 0.9999,平均回收率为 99.91%,RSD=0.42%。结论 本方法简便、准确、灵敏可靠。

关键词:高效液相色谱法;头孢泊肟酯;含量测定

中图分类号:R917.01;R927.2 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2003)06-0495-03

Determination of cefpodoxime proxetil in cefpodoxime proxetil suspension by RP-HPLC

ZHANG Hui wen, HE Li ming, LIN Ling (Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To develop a method for the determination of cefpodoxime proxetil in cefpodoxime proxetil suspension. **METHOD** A RP-HPLC method was used with Shim-Pack Phenyl Column (4 μ m,3.9mm \times 150mm), the mobile phase was a mixture of 0.005 mol/L potassium dihydrogen phosphate(pH6.5)-acetonitrile-methanol(60:10:30) and the detection wavelength was at 260nm. **RESULTS** The precision and stability were fine. The linear range of this method was 50-250 μ g/mL, with a regression coefficient of 0.9999. The average recovery was 99.91%, with the RSD of 0.42%. **CONCLUSION** The method is found to be simple and accurate.

KEY WORDS:RP-HPLC; cefpodoxime proxetil; determination

头孢泊肟酯干混悬剂的商品名为赛博,是印度 Ranbaxy Laboratories Limited 生产的新药,具有药物吸收良好、利于婴幼儿服用的优点。头孢泊肟酯属于第三代口服广谱头孢菌素,是头孢泊肟的前体药物。头孢泊肟酯本身几乎无抗菌活性,口服后经肠道吸收,在肠壁被非特异性酯酶水解成活性物质头孢泊肟而显示出抗菌谱广和较强的抗菌活性,且剂量小,服用次数少,口服方便,耐受性好,有很大的开发价值^[1-3]。头孢泊肟酯作为较新的药物,除《日抗基》1998 年版有收载外,美国药典 24 版、英国药典 1998 年版和中国药典 2000 年版均未有收载。目前国内我们尚未见有对其干混悬剂含量测定的报道,国外有对血浆及尿中头孢泊肟酯测定的报道^[4]。本实验参照原厂所附的 HPLC 法,采用 Shim 苯基柱代替原来的 Waters 苯基柱测定头孢泊肟酯干混悬剂中头孢泊肟酯的含量,方法简便,线性关系、重现性、精密性均较好,结果准确。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

日本岛津 LC-10A 高效液相色谱仪;岛津 SPD-10A 紫外检测器;CBM-10A 数据处理机;岛津 SIL-10A 自动进样器;岛津 CTO-10A 柱箱。

1.2 试剂

头孢泊肟酯对照品、头孢泊肟酯干混悬剂供试品(印度 Ranbaxy Laboratories Limited 公司);乙腈、甲醇(色谱纯);磷酸二氢钾、氢氧化钾(分析纯);水为高纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Shim-Pack CLC-pH(M)(4 μ m,3.9mm \times 150mm) 苯基不锈钢柱;流动相:0.005 mol/L 磷酸二氢钾(用 10% 氢氧化钾调 pH 值为 6.5)-乙腈-甲醇(60:10:30);流速:1.5 mL/min;检测波长:260nm;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:20 μ L。外

作者简介:张慧文,女,32 岁。1992 年毕业于广东药学院药学专业,本科学士学位。主管药师

标法检测。样品色谱图见图 1。

2.2 线性关系考察

精密称定头孢泊肟酯对照品适量(约相当于头孢泊肟 0.1g),置 100 mL 量瓶中,加乙腈 25 mL 超声处理使溶解,加溶剂(水-甲醇 = 50:50)稀释至刻度。摇匀,分别精密吸取 5, 10, 15, 20, 25 mL, 置 100 mL 量瓶中,用溶剂稀释至刻度,制成 50, 100, 150, 200, 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液,摇匀,按上述色谱条件进样 20 μL , 记录峰面积。以浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标,头孢泊肟酯异构体 I 峰和异构体 II 峰面积之和为纵坐标,计算其回归方程($n=5$)为: $Y=31\ 628.46X-415\ 220.13$, $r=0.9999$ 。结果表明:头孢泊肟酯(按头孢泊肟计)在 50~250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内与峰面积呈良好的线性关系。

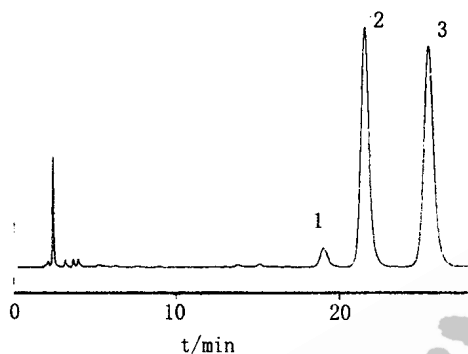


图 1 样品色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of sample

1. 杂质; 2. 头孢泊肟酯异构体 I; 3. 头孢泊肟酯异构体 II

1. impurity; 2. cefpodoxime proxetil I; 3. cefpodoxime proxetil II

2.3 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品(相当于头孢泊肟 50 mg),置于 100 mL 量瓶中,分别加入对照品 30, 50, 70 mg(每个浓度各称取 3 份),加乙腈 25 mL,置冷水浴中超声处理使溶解,加溶剂(水-甲醇 = 50:50)稀释至刻度,按样品含量测定项下操作,按外标法计算,3 个浓度共 9 份溶液的平均回收率为 99.91%, RSD 为 0.42% ($n=9$)。

2.4 重复性实验

取同一批号样品 5 份,分别按样品含量测定项下方法进行测定,求得平均含量为 98.40%,计算 RSD 为 0.44% ($n=5$),说明本法的重复性较好。

2.5 进样精密度试验

取一样品溶液按上述色谱条件连续进样 5 次,进样量 20 μL ,峰面积基本不变,计算 RSD 为 0.46% ($n=5$),表明本法的精密度较好。

2.6 稳定性试验

取一样品溶液分别于室温放置 0, 2, 4, 8 和 24h,冰箱放置 24h 进行测定,结果 24h 内峰面积基本不变,计算 RSD 为 0.51% ($n=5$),表明样品溶液在当日进行测定是稳定的。

2.7 样品含量测定

取样品一瓶,精密称定,移至具刻度的 100 mL 带塞的量筒中,加水至 60 mL,用力振摇数分钟使分散均匀,立即精密量取 10 mL(约相当于头孢泊肟 100 mg),置 100 mL 量瓶中,

加乙腈 25 mL,置冷水浴中超声处理 15 min 使头孢泊肟酯溶解,放冷至室温,加溶剂(甲醇-水 = 50:50)稀释至刻度,摇匀,滤过,精密吸取续滤液 5 mL,置 50 mL 量瓶中,用溶剂稀释至刻度,摇匀,制成供试品溶液。另精密称取头孢泊肟酯对照品适量(约相当于头孢泊肟 100 mg),置 100 mL 量瓶中,按样品“加乙腈 25 mL ……”进行操作,制成对照品溶液。分别精密量取供试品和对照品溶液各 20 μL 进样,以头孢泊肟酯异构体 I 和异构体 II 峰面积之和按外标法计算,3 批样品测定结果见表 1。

表 1 3 批样品含量测定结果(%)

Tab 1 Results of three batch samples

批号	相当标示量(%)
1	98.40
2	98.20
3	98.88

3 讨论

3.1 由于头孢泊肟酯不溶于水,其干混悬剂中又含有大量的辅料,故采用乙腈溶解后,加入溶剂(水-甲醇 = 50:50),以此配成的溶液稳定性和重现性都较好。我们曾全部用甲醇溶解样品,发现样品溶液在室温放置 6h 后测定结果偏高约 10%,而且重现性亦不好。故考虑可能是样品中辅料的影响。

3.2 由于头孢泊肟酯干混悬剂的制造工艺与颗粒剂不同,我们考虑按实际服用时的量取样,即先将样品按标签说明配制成 60 mL 的混悬液,然后精密量取约相当于 2 个剂量的头孢泊肟酯的混悬液进行实验。实验结果与厂附结果相符。我们曾取部分产品混匀研磨成粉末,然后精密称取适量进行实验,则结果常偏高,且重现性差。据厂方解释,主要是与其制造工艺有关。多次实验证明前一种取样方法比较合理。

3.3 取“样品含量测定”项下的混悬液 5 份,置于冰箱中一星期后同法测定,结果含量平均降低 2%,说明此混悬剂在配制成混悬液后于冰箱中放置一星期,含量仍较稳定。

3.4 将样品溶液分别用 0.1 mol/L 盐酸、0.1 mol/L 氢氧化钠及于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热破坏,考察破坏产物对色谱行为的影响。结果表明头孢泊肟酯在酸、碱及热中均不稳定,而且在碱中的破坏程度较酸、热中彻底,三种破坏后的降解产物峰均主要集中在 10 min 前,头孢泊肟酯异构体 I 和异构体 II 峰可与各降解产物色谱峰完全分开,证明其降解产物不会影响本法的测定,说明本法的专属性较好。

3.5 我们也曾试用 Waters Nova-Pack 苯基柱进行测定,结果发现头孢泊肟酯异构体 I 和异构体 II 峰的柱效和峰形均较差(理论塔板数分别为 980, 880;拖尾因子分别为 2.20, 2.52),而采用本实验的 Shim-Pack 苯基柱进行测定,则可获得较满意的结果。头孢泊肟酯异构体 I 和异构体 II 峰的理论塔板数分别为 9280, 8678;拖尾因子分别为 1.14, 1.12。

3.6 在测定样品时,可通过调节流动相中有机相的配比及流速使头孢泊肟酯异构体 I 峰的保留时间约为 23 min,此时头孢泊肟酯异构体 I 和异构体 II 峰之间的分离度为 4.6(规

定 ≥ 3.0), 它们与相邻杂质峰的分度均较好(均 ≥ 1.5)。

3.7 由于头孢泊肟酯干混悬剂是进口药品, 未能提供处方及有关辅料, 故本实验没有做空白辅料试验, 回收率试验采取加样回收的方法。

3.8 实验完毕后, 必须用 0.1% 磷酸溶液冲洗色谱柱至少 30 min, 再用水冲洗, 最后用甲醇冲洗, 以延长色谱柱的使用寿命和柱效。

参考文献

[1] 范维权. 博拿片[J]. 中国新药杂志, 1994, 3(2): 19.

[2] 王华. 新口服头孢菌素头孢泊肟酯和 Ceftibuten[J]. 国外医药. 抗生素分册, 1996, 17(3): 205.

[3] 宫平, 王钝, 李雯. 头孢泊肟酯侧链的合成研究——1-氯乙基异丙基碳酸酯的制备[J]. 沈阳药科大学学报, 1998, 15(3): 206.

[4] 沈向忠. HPLC 法测定血浆及尿中 Cefpodoxime[J]. 国外医药. 抗生素分册, 1992, 13(5): 388.

收稿日期: 2002-12-30