

4种HPLC法检查注射用头孢地嗪钠中有关物质的比较

李 兰^{1,2*}, 刘雁鸣^{1,2#}, 龙海燕², 彭 琳², 廖 彬², 陈得雨²(1.中南大学药学院,长沙 410013;2.湖南药用辅料检验检测中心,长沙 410014)

中图分类号 R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)37-3525-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.37.26

摘要 目的:建立一种较易操作并可有效控制注射用头孢地嗪钠中有关物质的HPLC方法。方法:采用4种不同色谱条件的HPLC法研究3个厂家的注射用头孢地嗪钠的杂质谱。方法1、2均为等度洗脱法,分别为日本药局方法和现行版《中国药典》法,方法3为梯度洗脱法,方法4系在方法2基础上改变检测波长建立的方法。结果:方法1~4分别能检测出3、4、9、4种杂质,4种方法检查的3个厂家的样品杂质谱一致;方法4较方法3易于操作,较方法1各杂质峰响应值明显大且灵敏,较方法2基线噪音小。结论:建立的方法4更简便、准确,适用于注射用头孢地嗪钠的有关物质检查。

关键词 高效液相色谱法;注射用头孢地嗪钠;杂质谱;有关物质;检查

Comparison of the Determination of the Related Substances in Cefodizime Sodium for Injection by 4 Kinds of HPLC

LI Lan^{1,2}, LIU Yan-ming^{1,2}, LONG Hai-yan², PENG Lin², LIAO Bin², CHEN De-yu²(1.School of Pharmacy, Central South University, Changsha 410013, China;2.Hunan Pharmaceutical Excipients Testing and Inspection Center, Changsha 410014, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish an HPLC method easier to operate and more effective to control related substances in Cefodizime sodium for injection. METHODS: HPLC under 4 kinds of chromatogram condition were adopted to study the impurity profiles of Cefodizime sodium for injection from 3 manufactories. Methods 1 and 2 were isocratic elution methods from Japanese Pharmacopoeia and Chinese Pharmacopoeia. Method 3 was gradient elution. The detection wavelength of method 4 was adjusted on the basis of method 2. RESULTS: 4 methods were able to identify 3, 4, 9 and 4 kinds of impurities, respectively. The impurity profiles of samples from 3 manufactories by 4 methods were consistent. The method 4 was easier to operate than method 3; response values of its each impurity peak were obviously larger and more sensitive than method 1; its baseline noise was smaller than method 2. CONCLUSIONS: The method 4 is simpler and more accurate than other 3 methods, and it is suitable for the impurity detection of Cefodizime sodium for injection.

KEY WORDS HPLC; Cefodizime sodium for injection; Impurity profiles; Related substances; Determination

头孢地嗪钠(Cefodizime sodium)为第3代半合成头孢类抗生素,系由德国Hoest公司与Rusell公司合作开发,已先后在日本、德、美、中等国家上市。与其他第3代头孢类药物相比,该产品的优点是对 β -内酰胺酶稳定,安全长效,抗菌谱广^[1]。药物

中的杂质可影响产品纯度,杂质增多甚至会影响稳定性,从而使药物疗效降低,因此,杂质的限量必须符合规定的要求。应建立有效的方法测定药品中杂质的含量以控制产品质量。为控制头孢地嗪钠产品质量,2010年版《中国药典》^[2]和XVI版

and human plasma and its application to a pharmacokinetic study[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 59(5):123.

[3] 赵韶华,刘敏彦,王玉峰,等.HPLC-ELSD法同时测定连翘叶中齐墩果酸和熊果酸[J]. *食品科学*, 2012, 33(2):224.

[4] 刘苇,金城,孔维军,等.高效液相色谱-蒸发光散射法测定牛黄中多种有效成分含量及其质量相关性研究[J]. *分析化学*, 2010, 38(4):522.

* 药师,硕士研究生。研究方向:药品质量分析。电话:0731-89919748。E-mail:407374244@qq.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:药品质量分析。电话:0731-89912188

[5] 朱小红,高海,孟新芳.HPLC-ELSD法测定托吡酯及其制剂的含量[J]. *药物分析杂志*, 2006, 26(4):514.

[6] 伍良涌,邱娟.HPLC测定米格列醇片的含量[J]. *中国现代应用药学*, 2012, 29(4):359.

[7] 黄伟华.载米格列醇聚电解质复合药物纳米粒子的制备、表征及筛选的初步研究[D].上海:复旦大学,2009:21.

[8] 潘柏良,刘霞.HPLC-ELSD法测定盐酸氨基葡萄糖胶囊中主成分的含量[J]. *中国药房*, 2012, 23(16):1517.

[9] 邵磊.蒸发光散射检测器计量性能验证[J]. *上海计量测试*, 2012(227):47.

(收稿日期:2013-07-11 修回日期:2013-07-31)

《日本药局方》(JP)^[3]均记载了其质量标准,且均采用高效液相色谱(HPLC)法对杂质进行了检测。笔者依据相关指导原则^[2]建立了检查注射用头孢地嗪钠中杂质的HPLC方法,并与文献^[2-3]方法进行比较,以筛选出更灵敏、更易操作的方法用于检查本品的杂质,为《中国药典》方法的改进提供依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-20A型HPLC仪、SPD-M20A二极管阵列检测器、Inertsil ODS-SP色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)均为日本岛津公司产品。

1.2 药品与试剂

试验样品:注射用头孢地嗪钠(样品a,湖南中南科伦药业有限公司,批号:20111201,规格:每支1.0 g;样品b,山东鲁亚制药有限公司,批号:201011205,规格:每支0.5 g;样品c,日本大鹏药品工业株式会社,批号:0J821,规格:每支1.0 g);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 等度洗脱HPLC标准法

2.1.1 方法1(JP法)色谱条件。流动相:磷酸二氢钾0.8 g,无水磷酸氢二钠0.2 g,加适量水溶解,加80 ml乙腈,最后加水定容至1 000 ml;流速:1.0 ml/min;检测波长:254 nm;进样量:5 μl。

2.1.2 方法2(《中国药典》法)色谱条件。流动相:磷酸二氢钾0.87 g,无水磷酸氢二钠0.22 g,加适量水溶解,加80 ml乙腈,最后加水定容至1 000 ml;流速:1.0 ml/min;检测波长:215 nm;进样量:20 μl。

方法1及方法2均为等度洗脱HPLC法,较易获得平直的基线,易于操作。2种方法的主要区别在于检测波长不同,方法1采用254 nm为测定波长,方法2采用215 nm为测定波长。但色谱图中各杂质峰的光谱扫描图显示,254 nm波长处各杂质峰的响应值明显低于215 nm,且3批样品的杂质峰的保留时间一致,溶剂对试验均无影响,见图1;方法1分析样品得到3种杂质峰,见表1;方法2可得到4种较固定的杂质峰,见表1。

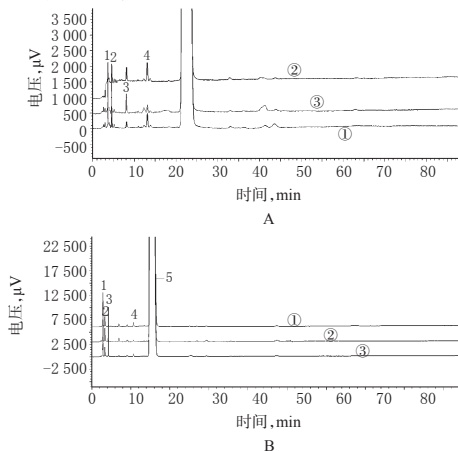


图1 2种方法分析3批样品的杂质图谱

A. 方法1; B. 方法2; 1~4. 杂质; 5. 头孢地嗪; ①样品a; ②样品b; ③样品c

Fig 1 Impurity profiles of 3 batches of samples analyzed by 2 kinds of methods

A. method 1; B. method 2; 1-4. impurities; 5. cefodizime; ①sample a; ②sample b; ③sample c

表1 2种方法分析3批样品的杂质结果

Tab 1 Determination results of impurity in 3 batches of samples analyzed by 2 kinds of methods

方法	杂质编号	样品a		样品b		样品c	
		相对保留时间	含量, %	相对保留时间	含量, %	相对保留时间	含量, %
方法1	1	0.16	0.026	0.16	0.058	0.16	0.027
	2	0.21	0.033	0.21	0.041	0.21	0.027
	3	未检测出	未检测出	0.37	0.035	未检测出	未检测出
	4	0.60	0.056	未检测出	未检测出	0.61	0.034
	5(主峰)	1.00	99.884	1.00	99.866	1.00	99.913
	总杂质		0.115		0.134		0.088
方法2	1	0.18	0.067	0.18	0.081	0.18	0.086
	2	0.22	0.083	0.22	0.066	0.22	0.050
	3	0.27	0.101	0.27	0.126	0.27	0.088
	4	0.70	0.054	0.70	0.016	0.70	0.034
	5(主峰)	1.00	99.696	1.00	99.711	1.00	99.742
	总杂质		0.305		0.289		0.258

2.2 梯度洗脱HPLC法

方法3为梯度洗脱,系在参考文献^[4]的基础上经试验改变而得。色谱条件为梯度洗脱,其中流动相A:5 mmol/L乙酸铵,流动相B:乙腈,流速:0.5 ml/min;检测波长:254 nm;进样量:10 μl。梯度洗脱程序见表2;分析3批样品的杂质图谱结果见表3。

表2 流动相梯度洗脱程序

Tab 2 Gradient elution process for mobile phase

时间, min	流动相A-B比例变化
0~10	99:1~93:7
10~50	93:7~60:40
50~60	60:40
60~62	60:40~99:1
62~80	99:1

表3 方法3分析3批样品杂质结果

Tab 3 Determination results of impurity in 3 batches of samples analyzed by method 3

序号	样品a		样品b		样品c	
	相对保留时间	含量, %	相对保留时间	含量, %	相对保留时间	含量, %
1	0.29	0.022	0.29	0.03	0.29	0.023
2	0.31	0.017	0.32	0.024	0.32	0.016
3	0.75	0.034	0.78	0.041	0.78	0.015
4	0.91	0.066	0.93	0.041	0.93	0.047
5(主峰)	1.00	58.041	1.00	58.511	1.00	58.190
6(主峰)	1.00	41.663	1.02	41.140	1.02	41.513
7	1.10	0.028	1.12	0.035	1.12	0.015
8	1.13	0.032	1.14	0.063	1.14	0.032
9	1.21	0.03	1.23	0.027		未检测出
10	1.22	0.026	1.24	0.025	1.25	0.052
11	1.31	0.039	1.33	0.061	1.33	0.015
12		未检测出		未检测出	1.41	0.083
	总杂质	0.294		0.347		0.298

从表3可见,方法3能检测出9种杂质且检测灵敏度较高,但基线噪音较大,不易得到平直的基线,增加了操作的难度,色谱见图2。

2.3 等度洗脱HPLC法

方法4为自建方法,为非梯度洗脱法,是在方法2的基础上,仅仅将检测波长215 nm调整为220 nm以减少末端吸收而

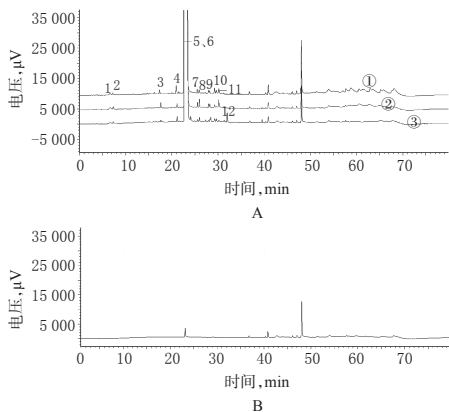


图2 方法3对3批样品的杂质分析图谱

A.样品;B.空白溶剂;1~4,7~12.杂质;5~6.头孢地嗪;①样品a;②样品b;③样品c

Fig 2 Impurity profiles of 3 batches of samples analyzed by method 3

A. samples; B. blank solvent; 1-4, 7-12. impurities; 5-6. cefodizime; ① sample a; ② sample b; ③ sample c

得。结果220 nm波长处各杂质峰的响应值与215 nm波长处的相近,也可以得到4种杂质峰,但基线噪音略有下降,分析结果见图3、表4。

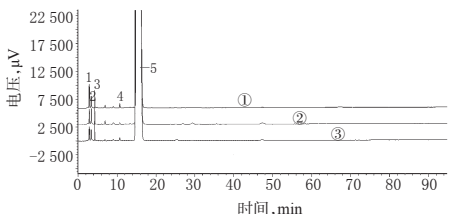


图3 方法4分析3批样品的杂质图谱

1~4.杂质;5.头孢地嗪;①样品a;②样品b;③样品c

Fig 3 Impurity profiles of 3 batches of samples analyzed by method 4

1-4. impurities; 5. cefodizime; ① sample a; ② sample b; ③ sample c

表4 方法4分析3批样品杂质结果

Tab 4 Determination of impurity in 3 batches of samples analyzed by method 4

序号	样品a		样品b		样品c	
	相对保留时间	含量,%	相对保留时间	含量,%	相对保留时间	含量,%
1	0.18	0.051	0.18	0.061	0.18	0.063
2	0.22	0.088	0.22	0.086	0.22	0.074
3	0.27	0.085	0.27	0.118 0	0.27	0.082
4	0.70	0.058	0.70	0.019	0.70	0.035
5(主峰)	1.00	99.718	1.00	99.716	1.00	99.747
总杂质		0.282		0.284		0.254

2.4 4种方法分析测定结果比较

有关物质测定结果详见表5。

综合上述考察结果,证明4种方法分析3批样品的杂质谱一致。其中方法4为等度洗脱,较方法3梯度洗脱更易于操作;较方法1各杂质峰响应值明显大,故灵敏度更高;同时较方法2基线噪音小。

3 讨论

表5 4种检查方法有关物质测定结果比较(面积归一化法)

Tab 5 Comparison of the determination of related substances by 4 kinds of methods (area normalization)

方法	样品	最大单杂质含量,%	总杂质含量,%	峰数
方法1	a	0.056	0.115	3
	b	0.058	0.134	
	c	0.034	0.088	
方法2	a	0.101	0.305	4
	b	0.126	0.289	
	c	0.088	0.258	
方法3	a	0.066	0.294	9
	b	0.063	0.347	
	c	0.083	0.298	
方法4	a	0.088	0.282	4
	b	0.118	0.284	
	c	0.082	0.254	

(1)按照上述4种方法对3批样品的测试结果表明,3批样品的杂质谱一致。

(2)方法3中,头孢地嗪对照品及3种样品图谱中主峰均出现了主成分峰分叉现象。提取2个分叉峰上端部分的光谱扫描图,结果2个图谱能够完全重合,提示对照品与3种样品中主峰所代表物质一致。为了确认这种分叉现象是否是因为同分异构体导致,笔者采用液相色谱-质谱方法对此进行分析,结果发现对照品和3种样品中的头孢地嗪主峰都是同分异构体的混合体。

(3)方法1分析注射用头孢地嗪钠得到3种杂质峰;方法2和方法4分析均可得到4种较固定的杂质峰,且3批样品的杂质峰的保留时间一致,图谱中各杂质峰响应值明显较方法1时增大,方法4各杂质峰的响应值与方法2相近,但基线噪音略有下降;而方法3可得9种较为固定的杂质峰,灵敏度虽高但基线噪音较大。通过对比分析可知,采用方法4等度洗脱的方法分析注射用头孢地嗪钠,操作相对简单,结果较准确。

(4)根据2010年版《中国药典》(二部)附录XIX A的相关规定,笔者对所建立的方法4另外进行了专属性、线性、检测限、精密度、稳定性和耐用性等方面的方法学验证,均表明该方法简便、专属性好、结果准确,适用于头孢地嗪钠及注射用头孢地嗪钠的有关物质检查。

综上,本文为《中国药典》收录方法的改进提供了试验依据。

参考文献

- [1] 王学杰,游金宗.头孢地嗪钠的热分解机理及动力学[J].中国现代应用药学杂志,2009,26(12):1 019.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:178-180、附录204-220.
- [3] 日本药局方编辑委员会.日本药局方:XVI版[S].2011年版.东京:厚生省出版,2011:447-448.
- [4] 马凤余,吴强,卫强.LC-MS分离鉴定头孢地嗪热裂解的异构体杂质[J].药物分析杂志,2011,31(9):1 833.

(收稿日期:2012-12-24 修回日期:2013-02-18)