

# HPCE 法测定复方磺胺甲噁唑片中磺胺甲噁唑和甲氧苄啶的含量

## Determination of Sulfamethoxazole and Trimethoprim in Compound Sulfamethoxazole Tablets by Capillary Zone Electrophoresis

卢日刚

LU Ri-gang

(广西食品药品检验所, 广西南宁 530021)

(Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning, Guangxi, 530021, China)

**摘要:**采用高效毛细管电泳法(HPCE)测定复方磺胺甲噁唑片中磺胺甲噁唑和甲氧苄啶的含量。运行电压 20kV, 运行缓冲液为 25mmol/L 硼砂缓冲液(pH 值 8.5), 压力进样 5s, 检测波长 205nm。结果表明, 该方法能够成功分离磺胺甲噁唑和甲氧苄啶, 磺胺甲噁唑和甲氧苄啶的线性范围分别为 25~200 $\mu\text{g/ml}$  和 5~40 $\mu\text{g/ml}$ , 相关系数分别为 0.9995 和 0.9991, 平均回收率分别为 99.5% ( $RSD = 2\%$ ) 和 97.6% ( $RSD = 2\%$ )。本方法简便、快速、灵敏, 为复方磺胺甲噁唑片含量测定提供了一种新的分析方法。

**关键词:**高效毛细管电泳 复方磺胺甲噁唑片 磺胺甲噁唑 甲氧苄啶

中图分类号: O657.8; R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2006)S0-0422-02

**Abstract:** To establish a capillary zone electrophoresis method for the assay of compound sulfamethoxazole tablets. An HPCE method is used. The run buffer used was boric solution (25mmol/L, pH 8.5). The internal standard was ribavirin. The running voltage was 20kV and the detective wavelength was 205nm. sulfamethoxazole and trimethoprim were separated completely. The linear ranges of sulfamethoxazole and trimethoprim were 25~200  $\mu\text{g/ml}$  ( $r = 0.9995$ ) and 5~40 $\mu\text{g/ml}$  ( $r = 0.9991$ ), respectively. The average recoveries were 99.5% ( $RSD = 2\%$ ) and 97.6% ( $RSD = 2\%$ ), respectively.

**Key words:** HPCE(CZE), compound sulfamethoxazole tablets, sulfamethoxazole, trimethoprim

复方磺胺甲噁唑片是常用抗菌药, 主要由磺胺甲噁唑和甲氧苄啶及一些制剂辅料组成, 中国药典 2005 年版采用高效液相色谱法<sup>[1]</sup>测定其含量。曾报道的测定方法还有双波长薄层扫描法<sup>[2]</sup>、卡尔曼滤波分光光度法<sup>[3]</sup>、胶束高效毛细管电泳法<sup>[4]</sup>等。毛细管电泳法是近年发展起来的分析方法, 本实验采用该方法中最常用的毛细管区带色谱模式成功分离复方磺胺甲噁唑片中磺胺甲噁唑(SMZ)和甲氧苄啶(TMP), 并以利巴韦林为内标进行定量分析。该方法不仅分离度好, 可以同时进行两组分测定, 而且具

有良好的准确度, 试剂用量少, 操作简单, 条件容易控制, 为复方磺胺甲噁唑片含量测定提供了一种新的分析方法, 为下一步的溶出度方法研究打下基础。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器

P/ACE System MDQ 高效毛细管电泳仪, 二极管阵列检测器(DAD), 未涂层石英毛细管柱 50cm  $\times$  50 $\mu\text{m}$ (i. d)(美国, BECKMAN 公司出品); 有效长度 40cm; Sartorius BP211D 电子天平, 微孔滤膜(上海市新亚净化器件厂生产)。

#### 1.2 试剂及材料

磺胺甲噁唑对照品、甲氧苄啶对照品、利巴韦林

对照品,均为含量测定用,由中国药品生物制品检定所提供;复方磺胺甲噁唑片(市售品),甲醇、硼砂、均为分析纯试剂;所有溶液均用 Milli-Q 超纯水配制。

### 1.3 电泳条件

运行缓冲液为 0.02mol/L 硼砂溶液,(pH 值 8.5);进样方式:压力进样 5s;运行电压 25kV;检测波长 205nm。

运行缓冲液和样品溶液均需经 0.45 $\mu$  微孔滤膜过滤后使用。每次用毛细管时,先用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液冲洗 10min,再用水冲洗 5min,最后用运行缓冲液冲洗 5min。2 次测定之间用水和运行缓冲液冲洗毛细管 5min。

### 1.4 检测波长及内标选择

由于高效毛细管电泳法进样精度相对不如高效液相色谱法,因此在制订含量测定方法时,优先考虑内标法。在拟选定内标物质中,例如,氯霉素、利巴韦林、苯甲酸、扑尔敏等,因利巴韦林原料易得,水溶性好,并且与两待测组分峰分离良好,样品测定无干扰,最后确定以利巴韦林作内标。磺胺甲噁唑在 280nm、甲氧苄啶在 250nm 处有吸收峰(见图 1),同时两者在 205nm 附近都有较大的吸收,经综合考虑,确定检测波长为 205nm。

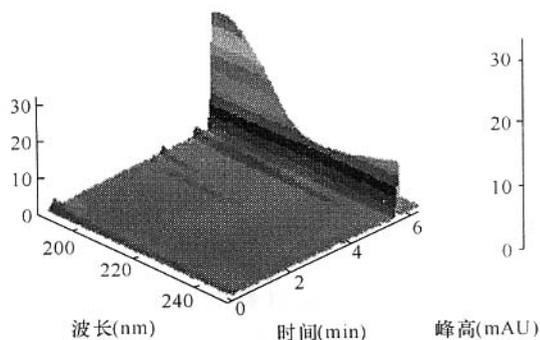


图 1 SMZ,TMP 的 3D 光谱图

### 1.5 溶液的配制

#### 1.5.1 对照品储备液

精密称取磺胺甲噁唑对照品 50 mg、甲氧苄啶 10mg 于 100 ml 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释定容至刻度。

#### 1.5.2 内标溶液

分别精密称取利巴韦林 10mg 置 100ml 量瓶中,用水溶解并稀释定容至刻度,作为内标溶液。

#### 1.5.3 供试品溶液

取样品 20 片,研细,精密称取适量(约相当于磺胺甲噁唑 50mg),置于 100ml 容量瓶中,加甲醇 70ml,超声 15min 溶解,加甲醇至刻度,滤过,取续

滤液 2ml,置 10 ml 容量瓶中,加内标溶液 2ml,用水定容至刻度,作为供试品溶液。

### 1.6 线性关系考察

精密量取对照品储备液 0.5ml、1.0ml、2.0ml、3.0ml、4.0ml 置 10ml 容量瓶中,精密加内标溶液各 2ml,用水定容至刻度,按上述电泳条件,进样测定峰面积。以对照品的浓度( $\mu$ g/ml)为横坐标,以对照品峰面积与内标峰面积之比为纵坐标,计算回归方程。结果对照品与内标峰面积比值和各对照品溶液的浓度之间,在 25~200 $\mu$ g/ml 和 5~40 $\mu$ g/ml 浓度范围内,呈良好的线性关系。

### 1.7 精密度与重现性试验

取供试品溶液,进样 5 次,测得磺胺甲噁唑和甲氧苄啶的进样精密度 *RSD* 分别为 1.1%,1.5% ( $n=5$ )。按溶液配制方法制备供试品溶液 5 份,进样测定磺胺甲噁唑和甲氧苄啶的含量,计算 *RSD* 分别为 1.2%,1.5% ( $n=3$ )。

### 1.8 回收率实验

精密称取已知含量的样品细粉适量(相当于 1/2 处方测定量),置 100ml 量瓶中,再分别加入对照品储备液适量,按溶液配制方法制备所需测定溶液,进样测定,计算磺胺甲噁唑、甲氧苄啶的加样回收率,测定结果得到的回收率分别为 99.5%、97.6% ( $n=3$ )。

## 2 样品含量测定

取复方磺胺甲噁唑片 20 片,研细,按照溶液配制方法操作配制样品溶液,进样测定的电泳分离图见图 2。测得各组分峰面积与内标峰面积之比的平均值代入标准曲线方程,计算各组分的含量详见表 1。表 1 结果表明,本方法与中国药典方法无明显的差异。

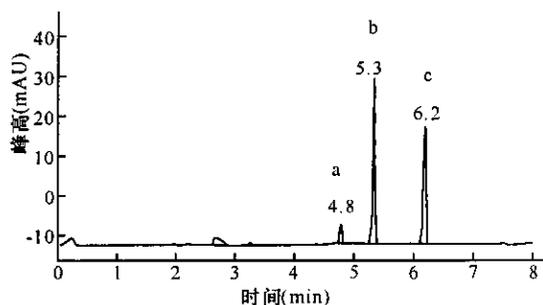


图 2 样品电泳分离结果

a. 甲氧苄啶;b. 磺胺甲噁唑;c. 内标。

(下转第 427 页)

表4 重晶石中砷回收实验结果

样品编号	测定次数	样品含砷量 (ng/ml)	加入砷量 (ng/ml)	测得砷量 (ng/ml)	回收率 (%)
1	5	19.21	20	42.02	114.00
2	5	20.37	40	68.50	120.00
3	5	62.10	60	117.63	92.53
4	5	62.78	80	138.43	94.56
5	5	101.64	100	196.23	94.59
6	5	102.84	100	201.42	98.58

表5 重晶石中汞回收实验结果

样品编号	测定次数	样品含汞量 (ng/ml)	加入汞量 (ng/ml)	测得汞量 (ng/ml)	回收率 (%)
1	5	0.09	0.1	0.192	101.05
2	5	0.09	0.1	0.198	104.21
3	5	0.25	0.3	0.608	110.54
4	5	0.255	0.2	0.478	105.05
5	5	0.438	0.4	0.862	102.86
6	5	0.435	0.4	0.952	114.01

表6 对比实验结果

样品	As(%)	Hg(%)
本实验室	0.00170	$8.4 \times 10^{-6}$
桂林检验检疫局实验室	0.00165	$8.6 \times 10^{-6}$
广西大学实验室	0.00166	$8.0 \times 10^{-6}$

### 3 结论

本文用王水浸取样品,用氢化物发生-原子荧光光谱法同时测定重晶石中的砷和汞,得到如下结论。

(1)比较了多种酸浸取试样,得出用 10ml 王水浸出砷汞的效果最好。

(2)样品处理在 30min、100°C 浸取完全,测定出的荧光强度最大。

(3)各共存元素对汞的影响在允许范围之内,少数元素对砷的测定有较大干扰,但是硫脲-抗坏血酸能有效的消除影响。

(4)应用氢化物发生-原子荧光光谱同时测定重晶石中的砷和汞在国内未见报道,因此本研究为氢化物发生-原子荧光光谱法测定重晶石中的砷和汞建立了线性好、检出限低、操作方便快捷的方法。

参考文献:

- [1] 钟汉鹏,汪静玲.出口重晶石中的痕量汞 FIA-冷原子吸收法测定[J].光谱实验室,1997,14(4):24-28.
- [2] 邓汉金.冷原子吸收法测定重晶石中汞[J].冶金分析,2001,21(1):61-62.
- [3] 朱建强,张碧玲.冷原子吸收法测定出口重晶石中汞含量[J].西部探矿工程,2005,17(10):91-92.
- [4] SN/T1325.1-2003,进出口重晶石中汞含量的测定冷原子吸收光谱法[S].
- [5] 黄玉龙,袁爱萍,吴健玲,等.断续流动氢化物原子荧光光谱法测定重晶石中的痕量汞[J].分析实验室,2003,22(增刊):90-93.
- [6] 崔海容,陈建华.氢化屋发生-原子荧光法测定磷矿石中的砷和汞[J].光谱实验室,2000,17(6):694-696.
- [7] 孙伟.原子荧光光谱法快速测定化探样品中的微量砷、锑、铋、汞[J].光谱实验室,2001,18(4):513-516.
- [8] 伍云卿.HG-AFS法同时测定食品中的砷和汞[J].中国公共卫生,2003,19(5):614-615.
- [9] 黄河青,任磊,李红光.生活饮用水中痕量砷和汞的氢化物双道原子荧光测定法[J].职业与健康,2005,21(9):1286-1287.

(上接第 423 页)

表1 含量测定结果

批号	SMZ(毫克/片)		TMP(毫克/片)	
	本法	药典法	本法	药典法
20050815	395.6	400.3	79.5	79.0
20051020	389.0	390.0	82.0	82.5
20051105	398.2	395.5	85.2	85.0

### 3 结束语

本试验考察了 pH 值和缓冲液对分离的影响,结果显示,在 pH 值 7.5~8.5 之间,分离度均能达到要求,采用 pH 值为 8.5 的缓冲液,峰形较好。

试验中,对进样时间考察的结果显示,进样时间太短,进样量太少,精密度不够理想;进样时间太长,进样量太大,对样品的分离度有影响,最后确定进样时间为 5s。

使用本方法则定片剂中的磺胺甲噁唑和甲氧苄

啉的含量,与现行药典方法<sup>[1]</sup>比较无明显的差异,但 HPCE 法操作简单、快速,并且不受因制剂辅料不同带来的干扰,方法简便,为下一步溶出度方法制订打下了基础。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中国药典[M].2005年版二部.北京:化学工业出版社,2005:439.
- [2] 周学琴,张丽,张耀东.双波长薄层扫描法测定复方磺胺甲噁唑片的含量[J].数理医药学杂志,2003,16(6):560-561.
- [3] 陈伟,罗红斌,林新华.卡尔曼滤波分光光度法同时测定复方磺胺甲噁唑片两组分含量[J].数理医药学杂志,2003,16(6):551-552.
- [4] 邱涵,陈素俭.高效毛细管电泳法测定复方磺胺甲噁唑片中磺胺甲噁唑和甲氧苄啉的含量[J].中国现代应用药学,2003,20(1):60-61.