

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.05.06

硫酸头孢喹肟乳房注入剂中头孢喹肟含量 HPLC 通用性测定方法的建立

韩宁宁, 彭文绣, 王轩, 赵晖, 杨秀玉, 戴青, 赵富华*

(中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2022-10-20 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 05-0033-08 [中图分类号] S859.79

[摘要] 建立了适用于国内硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期和干乳期)中头孢喹肟含量测定的 HPLC 通用性方法。采用与《中国兽药典》硫酸头孢喹肟原料含量测定一致的高效色谱条件, 使用有机溶剂破乳后加入流动相超声的提取方法, 保证了方法的一致性和适用性。方法验证结果显示, 本方法专属性较强, 准确度较高, 重复性和耐用性良好, 适用于对国内硫酸头孢喹肟乳房注入剂的含量测定, 被收录入 2020 年版《中国兽药典》。

[关键词] 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期和干乳期); 含量测定; 通用性; 破乳

Establishment of Universal HPLC Method for the Determination of Cefquinome in Cefquinome Sulfate Intramammary Infusion

HAN Ning-ning, PENG Wen-xiu, WANG Xuan, ZHAO Hui, YANG Xiu-yu, DAI Qing, ZHAO Fu-hua*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: ZHAO Fu-hua, E-mail: 627260859@qq.com

Abstract: A universal method for the determination of cefquinome sulfate intramammary infusion (lactating cow and dry cow) was established. The chromatographic conditions consistent with the content determination of cefquinome sulfate raw material in Chinese Veterinary Pharmacopoeia, and the extraction method of adding mobile phase to ultrasound after demulsification with organic solvent ensured the consistency and applicability of the method. The validation results of the method showed that the specificity, accuracy, repeatability and durability of this method were strong, and it was suitable for the content determination of domestic cefquinome sulfate intramammary infusion. It was included in the Chinese Veterinary Pharmacopoeia (2020).

Key words: cefquinome sulfate intramammary infusion (lactating cow and dry cow); content determination; universality; demulsification

基金项目: 农业行业(国家)标准项目兽药国家标准制修订计划(编号:2017H002)

作者简介: 韩宁宁, 副研究员, 从事兽药检验检测与质量标准研究工作。

通讯作者: 赵富华。E-mail: 627260859@qq.com

硫酸头孢喹肟是第四代兽医专用 β -内酰胺类抗生素,具有广谱、高效和对 β -内酰胺酶高度稳定等优点,对金黄色葡萄球菌、链球菌、铜绿假单胞菌及大肠埃希菌等都具有极强的杀菌作用,广泛用于泌乳期和干乳期奶牛乳房炎的治疗^[1]。经国家兽药基础数据库^[2]查询,目前有 10 家兽药生产企业获得了硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期)的批准文号,有 7 家兽药生产企业获得了硫酸头孢喹肟乳房注入剂(干乳期)的批准文号。该产品在市场占有率大,产品性质稳定,质量标准成熟。因此,按照农业行业(国家)标准项目兽药国家标准制修订计划,将其收入 2020 版《中国兽药典》,有利于对其进行质量控制和监管。经检索,硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期)注册质量标准涉及农业部公告第 2059 号^[3]、第 2159 号^[4]、第 2192 号^[5]、第 2195 号^[6]等 4 个,硫酸

头孢喹肟乳房注入剂(干乳期)注册质量标准涉及农业部公告第 2211 号^[7]、第 2226 号^[8]、第 2328 号^[9]、第 2341 号^[10]等 4 个。由于各企业生产工艺和产品性质的差异,对应的上述 8 个质量标准亦各有不同,尤其是含量测定,在色谱条件、样品提取方法、破乳用溶剂等方面均存在差异。通过比较、优化与合并,建立了适用于上述 8 个标准对应产品的通用性含量测定方法,被收载入 2020 年版《中国兽药典》^[11]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试品 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期)共收集到来自 5 家兽药生产企业的 12 批样品,见表 1。

硫酸头孢喹肟乳房注入剂(干乳期)共收集到来自 4 家兽药生产企业的 8 批样品,见表 2。

表 1 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期)样品信息

Tab 1 Sample information of cefquinome sulfate intramammary infusion (lactating cow)

生产企业	产品批号	注册标准公告	规格
河北远征药业有限公司	DAV171001	第 2192 号	8 g:75 mg
河北远征药业有限公司	DAV171002	第 2192 号	8 g:75 mg
河北远征药业有限公司	DAV171003	第 2192 号	8 g:75 mg
佛山市南海东方澳龙制药有限公司	20180102	第 2059 号	8 g:75 mg
佛山市南海东方澳龙制药有限公司	20180103	第 2059 号	8 g:75 mg
佛山市南海东方澳龙制药有限公司	20180104	第 2059 号	8 g:75 mg
齐鲁动物保健品有限公司	1712035	第 2059 号	8 g:75 mg
内蒙古瑞普大地生物药业有限责任公司	20180401	第 2159 号	8 g:75 mg
内蒙古瑞普大地生物药业有限责任公司	20180402	第 2159 号	8 g:75 mg
内蒙古瑞普大地生物药业有限责任公司	20180403	第 2159 号	8 g:75 mg
北京立时达药业有限公司	20170802	第 2195 号	8 g:75 mg
北京立时达药业有限公司	20170803	第 2195 号	8 g:75 mg

表 2 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(干乳期)样品信息

Tab 2 Sample information of cefquinome sulfate intramammary infusion (dry cow)

生产企业	产品批号	注册标准公告	规格
河北远征药业有限公司	DB2170904	第 2226 号	3 g:0.15 g
河北远征药业有限公司	DB2170905	第 2226 号	3 g:0.15 g
河北远征药业有限公司	DB2170906	第 2226 号	3 g:0.15 g
佛山市南海东方澳龙制药有限公司	20180401	第 2341 号	3 g:0.15 g
北京康牧生物科技有限公司	2018111301	第 2328 号	3 g:0.15 g
浙江海正动物保健品有限公司	3290201	第 2211 号	3 g:0.15 g
浙江海正动物保健品有限公司	3290301	第 2211 号	3 g:0.15 g
浙江海正动物保健品有限公司	3290302	第 2211 号	3 g:0.15 g

1.1.2 对照品 头孢唑肟对照品来源为中国兽医药品监察所,批号/含量为:K0321406/82.6%。

1.1.3 仪器及设备 高效液相色谱仪(HPLC)(Waters e2695 色谱系统,Empower 2 色谱工作站);二极管阵列检测器(PDA)(Waters 2998);XS205 分析天平(Mettler Toledo)。

1.2 方法

1.2.1 含量测定方法的建立

1.2.1.1 含量测定方法的比较 将上述 8 个标准含量测定方法从色谱条件、提取方法、破乳溶剂等几个方面进行比较,见表 3。

1.2.1.2 液相色谱条件的合并 上述标准中有 4 个所用色谱条件与《中国兽药典》一部 硫酸头孢唑肟原料含量测定色谱条件(0.025 mol/L 高氯酸钠溶液-磷酸-乙腈(1000:12:115)(用三乙胺调节 pH 值至 3.6)一致,另外 4 个标准仅流动相比比例稍有差别。为保证标准的通用性,也为了简化检验人员的操作程序,便于原料与制剂同时测定,拟采用与原料一致的色谱条件。

1.2.1.3 提取方法的选择 上述标准中的供试品提取方法可分为两类:第一类为第 2059 号、第 2192 号、第 2226 号、第 2211 号和第 2341 号,采用加入有机溶剂破乳再加流动相超声溶解的方法;第二类为第 2159 号、第 2195 号、第 2328 号,采用直接加流动相超声溶解的方法。《中国兽药典》一部 硫酸头孢唑肟注射液含量测定采用加流动相后强力振摇的方法提取头孢唑肟,与上述第二类方法相似。将两类方法分别测定供试品,并将测定结果进行比较,以选择合适的提取方法。

1.2.2 拟定的含量测定方法 含量测定照高效液相色谱法(附录 0512)测定。

色谱条件与系统适用性试验:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以 0.025 mol/L 高氯酸钠溶液-磷酸-乙腈(1000:12:115)(用三乙胺调节 pH 值至 3.6)为流动相;检测波长为 270 nm;取头孢唑肟对照品约 25 mg,加流动相 100 mL 使溶解,另取头孢唑肟对照品约 25 mg,置 25 mL 量瓶中,加入上述头孢唑肟对照品溶液 1 mL,用流动相稀释至刻

度,摇匀,作为系统适用性试验溶液。取 20 μ L 注入液相色谱仪,记录色谱图;头孢唑肟与头孢噻肟的分离度应大于 1.0。

测定法(泌乳期):取摇匀后的本品适量(约相当于头孢唑肟 10 mg),精密称定,置离心管中,加入用头孢唑肟对照品饱和的正己烷 25 mL,振摇使分散,离心 10 min(每分钟 4500 转),弃去上清液,沉淀物同法操作一次,取沉淀物置室温下挥干,加流动相适量,冷水浴超声 10 min 使硫酸头孢唑肟溶解,移至 100 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取 20 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图。另取头孢唑肟对照品约 25 mg,精密称定,置 250 mL 量瓶中,加流动相使溶解并稀释至刻度,摇匀,同法测定。按外标法以峰面积计算,即得。

测定法(干乳期):取混匀后的本品适量(约相当于头孢唑肟 25 mg),精密称定,置离心管中,加入用头孢唑肟对照品饱和的正己烷 25 mL,振摇使分散,离心 10 min(每分钟 4500 转),弃去上清液,沉淀物同法操作一次,取沉淀物置室温下挥干,加流动相适量,冷水浴超声 10 min 使硫酸头孢唑肟溶解,移至 50 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀;精密量取 5 mL,置 25 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀;精密量取 20 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图。另取头孢唑肟对照品约 25 mg,精密称定,置 250 mL 量瓶中,加流动相使溶解并稀释至刻度,摇匀,同法测定。按外标法以峰面积计算,即得。

1.2.3 方法学验证 按照《中国兽药典》一部附录 9101^[11]分析方法验证指导原则的要求,对上述方法进行验证。

1.2.3.1 专属性 分别取溶剂空白、对应 8 个标准的辅料及头孢唑肟对照品,照拟定含量测定项下方法进行测定,以验证溶剂和辅料对供试品测定是否产生干扰。

1.2.3.2 定量限和检测限 配制不同浓度头孢唑肟对照品溶液并测定相应信噪比,以信噪比约为 3:1 时的浓度为检测限,信噪比约为 10:1 时的浓度为定量限。

表 3 注册标准含量测定方法比较

Tab 3 Comparison of content determination methods of registered standards

标准公告	第 2059 号	第 2159 号	2192 号	第 2195 号	第 2211 号	第 2226 号	第 2328 号	第 2341 号
色谱条件	0.345% 高氯酸钠溶液 - 磷酸 - 乙腈 (1000:12:115) (用三乙胺调节 pH 值至 3.6)	0.345% 高氯酸钠溶液 - 磷酸 - 乙腈 (1000:12:90) (用三乙胺调节 pH 值至 3.6)	0.025 mol/L 高氯酸钠溶液 - 磷酸 - 乙腈 (1000:12:90) (用三乙胺调节 pH 值至 3.6)	0.345% 高氯酸钠溶液 - 磷酸 - 乙腈 (1000:12:115) (用三乙胺调节 pH 值至 3.6)	0.025 mol/L 高氯酸钠溶液 - 磷酸 - 乙腈 (1000:12:90) (用三乙胺调节 pH 值至 3.6)	0.025 mol/L 高氯酸钠溶液 - 磷酸 - 乙腈 (1000:12:90) (用三乙胺调节 pH 值至 3.6)	0.345% 高氯酸钠溶液 - 磷酸 - 乙腈 (1000:12:115) (用三乙胺调节 pH 值至 3.6)	0.345% 高氯酸钠溶液 - 磷酸 - 乙腈 (1000:12:115) (用三乙胺调节 pH 值至 3.6)
提取方法	第一步:加头孢唑肟饱和的正己烷破乳 2 次;第二步:加流动相超声溶解稀释	加流动相 60 °C 水浴超声溶解,并用流动相稀释	第一步:加环己烷破乳 2 次;第二步:加流动相超声溶解稀释	加流动相涡旋、超声溶解,并用流动相稀释	第一步:二甲基甲酰胺溶解;第二步:用水稀释,再加正己烷离心,取下层	第一步:加环己烷破乳 2 次;第二步:加流动相超声溶解稀释	加流动相,涡旋、超声,并用流动相稀释	第一步:加头孢唑肟对照品饱和的石油醚 (30 ~ 60 °C) 破乳 2 次;第二步:加流动相超声溶解稀释
破乳用溶剂	头孢唑肟饱和的正己烷	/	环己烷	/	正己烷	环己烷	/	头孢唑肟对照品饱和的石油醚 (30 ~ 60 °C)
检测波长	270 nm	270 nm	270 nm	270 nm	270 nm	270 nm	270 nm	270 nm
进样浓度	0.1 mg/mL	0.1 mg/mL	0.1 mg/mL	0.1 mg/mL	0.1 mg/mL	0.1 mg/mL	0.1 mg/mL	0.1 mg/mL

1.2.3.3 线性和范围 分别配制浓度为 1、10、100、200、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的头孢唑肟对照品溶液,采集色谱图,以峰面积与对照品浓度作图,用最小二乘法进行线性回归,以验证在上述浓度范围内,头孢唑肟峰面积与浓度是否呈线性关系。

1.2.3.4 准确度 取泌乳期样品对应的辅料各约 7.9 g,分别加入硫酸头孢唑肟对照品约 91 mg (约相当于头孢唑肟 75 mg),置研钵中,研磨均匀,配制回收率模拟样品。各取模拟样品 6 份,每份约 1.07 g (约相当于头孢唑肟 10 mg),置离心管中,分别加入硫酸头孢唑肟对照品饱和的正己烷 25 mL,振摇使分散,离心 (每分钟 4500 转) 10 min,弃去上清液,沉淀物同法操作一次,取沉淀物置室温下挥干,加流动相适量,冷水浴超声 10 min 使溶解,移至 100 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图。

取干乳期样品对应的辅料各约 2.8 g,分别加入硫酸头孢唑肟对照品约 180 mg (约相当于头孢唑肟 150 mg),置研钵中,研磨均匀,配制回收率模拟样品。各取模拟样品 6 份,每份约 0.5 g (约相当于头孢唑肟 25 mg),置离心管中,分别加入硫酸头孢

唑肟对照品饱和的正己烷 25 mL,振摇使分散,离心 (每分钟 4500 转) 10 min,弃去上清液,沉淀物同法操作一次,取沉淀物置室温下挥干,加流动相适量,冷水浴超声 10 min 使溶解,移至 50 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀;精密量取 5 mL,置 25 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图。

另取头孢唑肟对照品约 25 mg,精密称定,置 250 mL 量瓶中,加流动相使溶解并稀释至刻度,摇匀,同法测定。按外标法以峰面积计算各模拟样品中头孢唑肟的含量。回收率% = 头孢唑肟含量 \times 供试品稀释倍数 \times 100% / 添加的头孢唑肟对照品质量。

1.2.3.5 重复性 取远征药业有限公司批号为 DAV171002 (泌乳期) 和 DB2170905 (干乳期) 的样品,照上述含量测定方法,平行配制 6 份供试品,以验证方法的重复性。

1.2.3.6 溶液稳定性 将对照品溶液室温放置 12 h,期间按照 0、1、2、6、12 h 的间隔进样采集色谱图,观察峰面积变化情况,以考察溶液稳定性。

1.2.3.7 耐用性 考察不同品牌色谱柱、柱温及

流速对头孢喹肟理论板数及与相邻峰分离度的影响,以验证方法耐用性。

1.2.4 供试品测定 对收集到的 20 个批次供试品照上述方法进行测定,根据测定结果制订合理的含量限度范围。

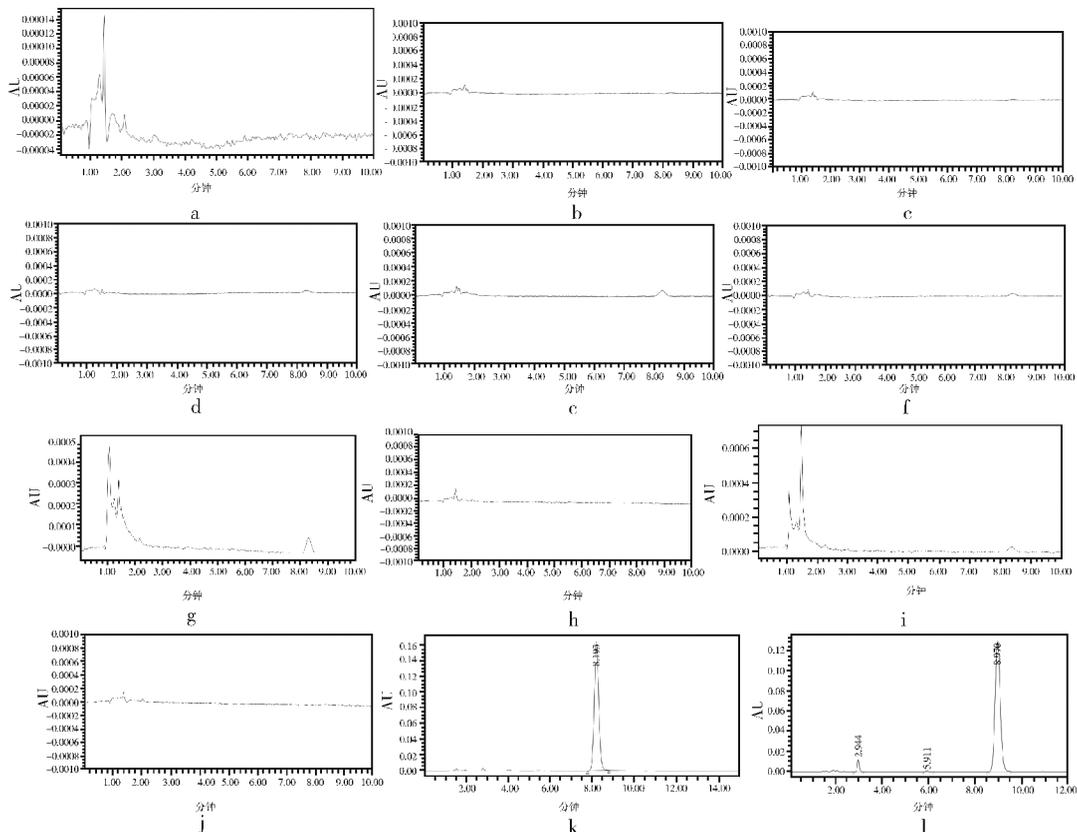
2 结果与分析

2.1 含量测定方法的建立 第二类方法采用直接加入流动相超声溶解的方法提取头孢喹肟,操作步骤简单,有机溶剂用量少,不涉及转移导致的样品损失,对于乳液状稀薄质地的样品(第 2159 号、第 2195 号、第 2328 号标准对应的样品)而言,可实现充分提取。但对于膏状粘稠质地的样品(第 2059 号、第 2192 号、第 2226 号、第 2211 号和第 2341 号标准对应的样品)而言,由于没有破乳过程,样品中的头孢喹肟包被于油性基质中,难以通过超声直接提取至流动相中,提取效率

较低,含量测定结果偏低(仅约 80% 左右)。

第一类方法采用有机溶剂破乳,再加入流动相超声提取,虽然操作步骤稍复杂,且在转移过程中需注意充分润洗合并润洗液以避免损失,但对于上述 8 个标准对应的样品而言,均可实现充分提取,含量测定结果均在标准规定的范围(90.0%~110.0%)。为保证方法的通用性,拟采用第一类提取方法。

第一类提取方法的破乳有机溶剂涉及头孢喹肟饱和的正己烷、环己烷和头孢喹肟饱和的石油醚(30~60℃)。将样品加入上述三种溶剂中,均可得到均匀分散的混悬液,离心后弃去上层,保留沉淀,均可实现良好的破乳效果。考虑正己烷化学稳定性优于石油醚,且被头孢喹肟饱和后可避免在提取过程中使样品中的头孢喹肟溶解于正己烷中造成损失,因此选择头孢喹肟饱和的正己烷作为提取溶剂。



(a 为溶剂空白色谱图; b 为澳龙(对应第 2059 号公告质量标准)辅料色谱图; c 为齐鲁(对应第 2059 号公告质量标准)辅料色谱图; d 为瑞普(对应第 2159 号公告质量标准)辅料色谱图; e 为远征(对应第 2192 号公告质量标准)辅料色谱图; f 为立时达(对应第 2195 号公告质量标准)辅料色谱图; g 为海正(对应第 2211 号公告质量标准)辅料色谱图; h 为远征(对应第 2226 号公告质量标准)辅料色谱图; i 为康牧(对应第 2328 号公告质量标准)辅料色谱图; j 为澳龙(对应第 2341 号公告质量标准)辅料色谱图; k 为头孢喹肟对照品色谱图; l 为代表性供试品色谱图)

图 1 专属性色谱图

Fig 1 Chromatogram of specificity

2.2 方法学验证

2.2.1 专属性 溶剂空白和 9 家企业对应的辅料均未在头孢喹肟保留时间处有色谱峰出现,对头孢喹肟的测定均无干扰,方法专属性良好(图 1)。

2.2.2 定量限和检测限 该方法头孢喹肟的检测限为 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$,定量限为 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2.3 线性和范围 头孢喹肟峰面积与浓度线性

方程为: $y = 22647x - 140287, r = 0.9991$ 。表明在上述浓度范围内,头孢喹肟峰面积与浓度线性关系良好。

2.2.4 准确度 《中国兽药典》一部附录 9101^[11]分析方法验证指导原则规定,样品中待测成分含量约为 1% 时,回收率限度为 92% ~ 105%。8 个标准对应的样品回收率结果均符合该规定(表 4、表 5)。

表 4 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期)回收率试验结果

Tab 4 Recovery test results of cefquinome sulfate intramammary infusion (lactating cow)

齐鲁供试品取样量/g	齐鲁头孢喹肟回收率/%	瑞普供试品取样量/g	瑞普头孢喹肟回收率/%
1.0696	102.39	1.0626	104.80
1.0444	102.72	1.0423	104.66
1.0454	102.16	1.0611	102.34
1.0324	99.42	1.0436	101.83
1.0433	103.69	1.0289	101.44
1.0294	101.53	1.0617	103.60
头孢喹肟平均回收率/%	102.0	头孢喹肟平均回收率/%	103.1
RSD/%	1.4	RSD/%	1.3
远征供试品取样量/g	远征头孢喹肟回收率/%	立时达供试品取样量/g	立时达头孢喹肟回收率/%
1.0666	96.86	1.0873	102.56
1.0643	101.26	1.0657	101.63
1.0547	100.70	1.0576	102.68
1.0420	97.20	1.0559	102.21
0.9574	97.18	1.0878	98.07
0.8861	97.00	1.0013	99.37
头孢喹肟平均回收率/%	98.4	头孢喹肟平均回收率/%	101.1
RSD/%	1.9	RSD/%	1.9

表 5 头孢喹肟乳房注入剂(干乳期)回收率试验结果

Tab 5 Recovery test results of cefquinome sulfate intramammary infusion (dry cow)

远征供试品取样量/g	远征头孢喹肟回收率/%	澳龙供试品取样量/g	澳龙头孢喹肟回收率/%
0.5312	100.53	0.4562	103.76
0.4731	99.69	0.4552	103.87
0.4817	100.79	0.3981	101.12
0.4775	101.82	0.4785	103.26
0.4658	98.70	0.4041	102.47
0.4783	95.58	0.4100	100.67
头孢喹肟平均回收率/%	99.5	头孢喹肟平均回收率/%	102.5
RSD/%	2.0	RSD/%	1.2
海正供试品取样量/g	海正头孢喹肟回收率/%	康牧供试品取样量/g	康牧头孢喹肟回收率/%
0.4733	102.48	0.5147	102.25
0.4463	100.81	0.5348	103.56
0.4259	97.01	0.5327	103.87
0.4562	98.09	0.4790	100.72
0.4472	99.59	0.4370	102.34
0.4580	100.63	0.4955	99.57
头孢喹肟平均回收率/%	100.3	头孢喹肟平均回收率/%	102.0
RSD/%	2.4	RSD/%	1.6

2.2.5 重复性 《中国兽药典》一部附录 9101^[11] 分析方法验证指导原则规定,样品中待测成分含量约为 1% 时,重复性 *RSD* 可接受范围为 2%。泌乳期和干乳期样品重复性结果均符合上述规定(表 6)。

表 6 重复性试验结果

Tab 6 Repeatability test results

序号	DAV171002 含量/%	DB2170905 含量/%
1	94.13	97.49
2	92.01	95.35
3	93.90	97.10
4	95.90	98.77
5	94.68	96.86
6	95.94	95.65
平均含量/%	94.4	96.9
<i>RSD</i> /%	1.6	1.3

2.2.6 溶液稳定性 头孢唑肟 12 h 内峰面积 *RSD* 均小于 2.0%。但 6 h 后峰面积出现了明显降低,提示样品配制及进样应在 2 h 内完成(表 7)。

表 7 稳定性试验结果

Tab 7 Stability test results

时间/h	头孢唑肟峰面积
0	2266180
1	2265844
2	2258964
6	2237124
12	2203324
<i>RSD</i> /%	1.2

2.2.7 耐用性 对流速、柱温、色谱柱等条件进行微调,理论板数按头孢唑肟峰计算均不低于 5000,头孢唑肟与相邻峰分离度均大于 1.5,方法耐用性良好(表 8)。

表 8 耐用性试验结果

Tab 8 Durability test results

影响因素	头孢唑肟理论板数	头孢唑肟与相邻峰分离度	
色谱柱	Agilent SB C ₁₈ 150 * 4.6 mm	7703	8.1
	Alltima C ₁₈ 250 * 4.6 mm	13672	30.9
	WATERS Hss T ₃ C ₁₈ 250 * 4.6 mm	11722	29.8
柱温	25 °C	7703	8.1
	30 °C	8589	8.4
	35 °C	9191	8.2
流速	0.9 mL/min	8354	14.9
	1.0 mL/min	7703	8.1
	1.1 mL/min	7281	14.6

2.3 供试品测定 对收集到的 9 个企业共 20 批供试品照上述方法进行测定,并与原标准测定结果进行比较,结果显示,采用拟定方法与采用原标准的方法结果一致,且均在 90.0% ~ 110.0% 范围。拟定标准含量限度范围与原标准保持一致。

3 讨论与结论

本试验所建立的硫酸头孢唑肟乳房注入剂含量测定方法,样品提取采用有机溶剂破乳后加入流动相超声的方法,操作步骤虽然较直接加入流动相溶解提取复杂,但保证了各个企业样品的提取效率,提高了方法的通用性,适用于该品种泌乳期和干乳期 8 个注册标准的对应产品。本方法的液相色谱条件与《中国兽药典》硫酸头孢唑肟原料含量测定色谱条件一致,保证了标准的一致性,也便于检验人员原料与制剂同时测定。

对于方法回收率的考察,需要注明的是,目前实验室模拟样品的制备仅能使用手工研磨的方法,研磨后的样品仍有肉眼可见的头孢唑肟粉末颗粒。企业采用的是胶体磨或均质机混合的方法,各企业样品均外观均匀,无肉眼可见的颗粒。由于实验室模拟样品仅是辅料与原料的机械混合,回收率试验能否真实反映头孢唑肟从样品中被提取的过程值得探讨。

本试验通过对硫酸头孢唑肟乳房注入剂(泌乳期和干乳期)8 个注册标准的含量测定方法进行比较、合并和优化,建立了适用于国内该品种制剂含量测定的通用性方法。方法学验证结果显示,本方法专属性较强,准确度较高,重复性和耐用性良好,适用于对国内硫酸头孢唑肟乳房注入剂的含量测定,已被收载入 2020 年版《中国兽药典》。

参考文献:

- [1] 薛梅,朱俊平,葛爱民,等. 硫酸头孢唑肟乳房注入剂对奶牛乳房炎的疗效[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(11): 129-131.
Xue M, Zhu J P, Ge A M, et al. Curative effect of cefquinome sulfate intramammary injection on cow mastitis [J]. *iangsu Agricultural Science*, 2018, 46(11): 129-131.
- [2] 国家兽药基础数据库[DB/OL]. <http://vdts.ivdc.org.cn/>

- 8081/cx/#.
National veterinary drug basic database [DB/OL]. [http://vdts.
ivdc.org.cn;8081/cx/#](http://vdts.ivdc.org.cn;8081/cx/#).
- [3] 农业部第 2059 号公告. 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期)
[S].
Ministry of agriculture affairs announcement No. 2059.
cefquinome sulfate intramammary infusion (lactating cow) [S].
- [4] 农业部第 2159 号公告. 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期)
[S].
Ministry of agriculture affairs announcement No. 2159.
cefquinome sulfate intramammary infusion (lactating cow) [S].
- [5] 农业部第 2192 号公告. 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期)
[S].
Ministry of agriculture affairs announcement No. 2192.
cefquinome sulfate intramammary infusion (lactating cow) [S].
- [6] 农业部第 2195 号公告. 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期)
[S].
Ministry of agriculture affairs announcement No. 2195.
cefquinome sulfate intramammary infusion (lactating cow) [S].
- [7] 农业部第 2211 号公告. 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(干乳期)
[S].
Ministry of agriculture affairs announcement No. 2211.
cefquinome sulfate intramammary infusion (dry cow) [S].
- [8] 农业部第 2226 号公告. 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(干乳期)
[S].
Ministry of agriculture affairs announcement No. 2226.
cefquinome sulfate intramammary infusion (dry cow) [S].
- [9] 农业部第 2328 号公告. 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(干乳期)
[S].
Ministry of agriculture affairs announcement No. 2328.
cefquinome sulfate intramammary infusion (dry cow) [S].
- [10] 农业部第 2341 号公告. 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(干乳期)
[S].
Ministry of agriculture affairs announcement No. 2341.
cefquinome sulfate intramammary infusion (dry cow) [S].
- [11] 2020 年版中国兽药典. 硫酸头孢喹肟乳房注入剂(泌乳期和
干乳期)[S].
Chinese Veterinary Pharmacopoeia, 2020. cefquinome sulfate
intramammary infusion (lactating cow and dry cow) [S].

(编辑:侯向辉)