

毛细管区带电泳法分析头孢菌素类药物的纯度*

龙 虹, 丁 强, 王天松, 黄爱今, 孙亦梁

(北京大学化学学院, 北京 100871)

摘要: 提出了以 pH 9.20 的 20 mmol/L 硼酸缓冲溶液、pH 6.86 的 20 mmol/L 磷酸缓冲溶液和 pH 2.05 的 50 mmol/L 磷酸缓冲溶液作为背景电解质分析 9 种头孢菌素类抗生素药物纯度的毛细管区带电泳方法。用内部归一化法定量, 方法简单快速。讨论了方法的优点和局限性。

关键词: 毛细管区带电泳; 纯度测定; 内部归一化法; 头孢菌素

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(1999)06-0570-03

1 前言

头孢菌素类药物是常用的一类抗生素药, 为保证用药安全必须进行杂质检查^[1,2]。已有分光光度^[3]、薄层色谱^[4]、液相色谱(HPLC)^[5-7]、毛细管电泳(CE)^[8-14]等分析方法。以纯度分析为目的的 CE 方法只有 Fabre 等^[9]的 CZE-外标法和 Renalvo 等^[13]的 MECC-内部归一化法测杂质和外标法测头孢噻肟两篇。

内部归一化法和外标法做纯度分析各有利弊, 前者简单、快速, 但要求所有杂质都必须出峰; 后者不要求杂质都出峰, 只要求主成分与杂质分开, 但需要标准品。本文采取内部归一化法分析了 9 种头孢菌素, 除头孢噻肟外, 未见有关它们的 CE 报道。

2 实验部分

2.1 试剂及材料

I 头孢氨苄(cefalexin, $pK_a = 2.5, 5.2, 7.3$, 北京恒达制药厂[950101], 过期); II 头孢噻啉(cefaloridine, $pK_a = 1.7, 3.4$, $pH < 4$ 或 $pH > 7.5$ 时易分解, Glaxo [Greenford, England][7NP214A], 过期); III 头孢唑啉钠(cefazolin, $pK_a = 2.5$, 福州抗生素集团有限公司[971004], 未过期); IV 头孢羟氨苄(cefadroxil, 水溶液 pH 为 4~6, 弱酸条件下稳定, 试制品, 未过期); V 头孢克罗(cefaclor, 对酸稳定, 遇碱分解, 试制品, 未过期); VI 头孢拉定(cefradine, $pK_a = 2.5, 7.3$, ACS [Tribiano-M, Italy][1487], 过期); VII 头孢呋新(cefuroxime, 常用其钠盐, 其游离酸 $pK_a = 2.5$, 新制备溶液 pH 6~8.5, Glaxo [B26671A], 过期); VIII 头孢噻肟钠(cefotaxime sodi-

um, pH 4.5~6.5, Lek Ljubljana Yugoslavia, 过期); IX 头孢哌酮(cefoperazone, 水溶液 pH 2.0~4.0, Lisapharma [Italy][245], 过期)。以上药品的结构式见文献^[1,2], 除 I 和 IV 外其余均由中国药品生物制品检定所抗生素室提供。

样品溶液配制: 样品质量浓度约为 1 g/L, 使进样后主峰面积在 $1 \text{ V} \cdot \text{s}$ 以上。用背景电解质(BGE)A (pH 6.86) 时, 样品用 BGE 溶解; 用 BGE B (pH 9.20) 和 BGE C (pH 2.05) 时, 以水溶解。

2.2 仪器及实验条件

仪器: 自行组装的 CE-200 型毛细管电泳仪; 弹性石英毛细管购自河北省永年光导纤维厂, $375 \mu\text{m o. d.} \times 50 \mu\text{m i. d.}$, $L = 31 \text{ cm}$, $l = 23.5 \text{ cm}$; 积分仪为 HP 3394。还有 pHS-3C 型 pH 计与 E-201-C 型电极(上海 Rex 仪器厂)和 TG328A 分析天平(上海天平厂)。

实验条件: 缓冲溶液使用前均用 $0.45 \mu\text{m}$ 醋酸纤维素滤膜过滤并用超声波脱气; 两次分析之间用 0.1 mol/L NaOH 、水和 BGE 各洗 1 min; 进样条件: 气压进样/6 s; 分析场强为 303 V/cm ; 检测波长为 214 nm ; 温度为 $(18 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。

2.3 背景电解质选择

通过试验选定了 3 种 BGE 缓冲体系: (A) pH 9.20 的 20 mmol/L 硼酸缓冲溶液; (B) pH 6.86 的 20 mmol/L 磷酸缓冲溶液; (C) pH 2.05 的 50 mmol/L 磷酸缓冲溶液。部分电泳图见图 1。头孢菌素类药物的分子中带有有一个羧基和数目不等的胺基, 除了 pH 2.05 的磷酸缓冲溶液外, 它们在其它缓冲溶液中都不同程度地解离成阴离子, 在电渗流之后出峰。

* 收稿日期: 1998-07-26, 修回日期: 1998-10-11
基金项目: 教育部博士点基金资助项目(9500117)
通讯联系人: 孙亦梁

采用缓冲体系 A 时, II, IV 及 V 不稳定, 我们是以水为溶剂溶样, 进样之后, 样品区带与高 pH 值的缓冲溶液接触时间很短, 不会引起分解。经与缓冲体系 B 对比, 发现使用此两种缓冲体系时 II 均随电

渗流一起出峰。我们认为在缓冲体系 A 或 B 中 II 样品分子呈电中性, 所以随电渗流一起出峰, 如有中性杂质存在, 将不适宜分析。为此, 改用缓冲体系 C, 此时 II 荷正电, 在电渗流前出峰。

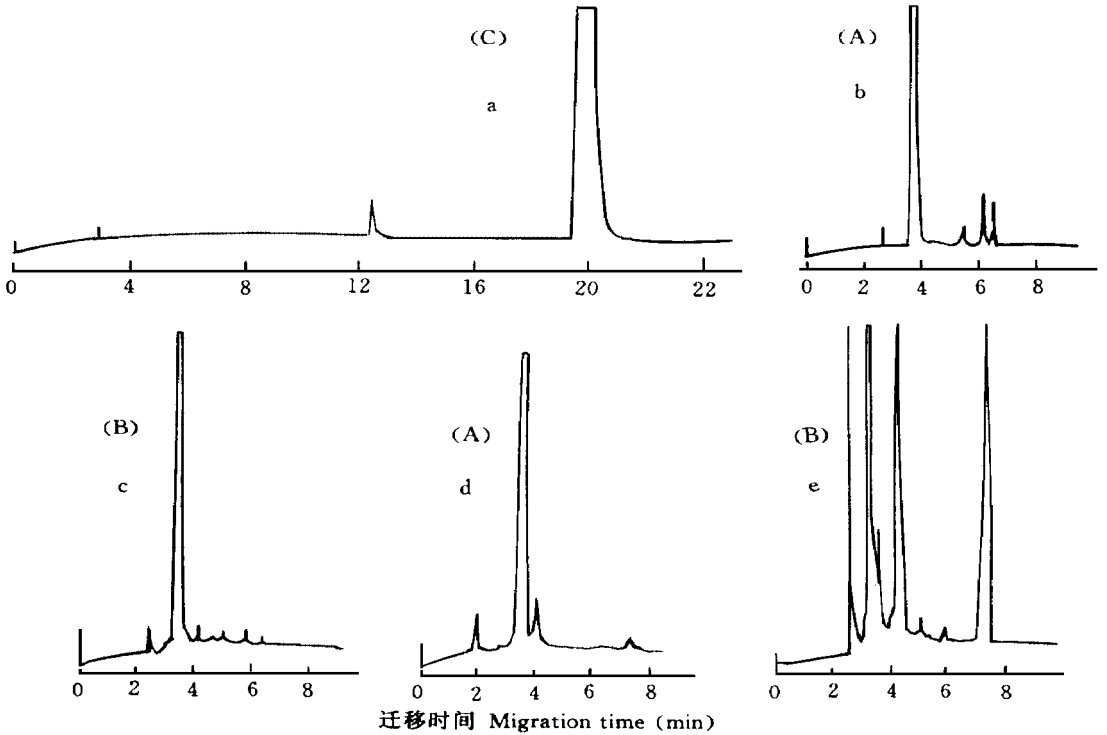


图1 头孢菌素药物的典型毛细管电泳图

Fig. 1 Typical electropherograms of cephalosporins

条件: 场强为303 V/cm; 缓冲溶液为(A) 20 mmol/L 硼酸盐, pH 9.20; (B) 20 mmol/L 磷酸盐, pH 6.86; (C) 50 mmol/L 磷酸盐, pH 2.05; 毛细管尺寸为31 cm × 23.5 cm; 检测波长为214 nm; 进样为气压进样/6 s。a. 头孢噻啉, b. 头孢唑啉钠, c. 头孢呋新, d. 头孢噻肟钠, e. 头孢哌酮。

Conditions: field strength, 303 V/cm; buffer, (A) 20 mmol/L borate, pH 9.20; (B) 20 mmol/L phosphate, pH 6.86; (C) 50 mmol/L phosphate, pH 2.05; capillary length, 31 cm × 23.5 cm; detection, 214 nm; injection, hydrodynamic/6 s. a. cefaloridine, b. cefazolin, c. cefuroxime, d. cefotaxime, e. cefoperazone.

3 结果与讨论

我们仅有 I, III 及 IV 这三种头孢菌素的高纯度标准品, 以加标增高法 (spiking) 对相应的样品主成分峰定性, 结果无误。另6种药物虽无纯度很高的标准品供定性, 但把主峰当成主成分峰应当不成问题。除 III, VI 和 IX 以外的6种头孢菌素在 BGE A 和 B 中的分析结果很接近 (见表1)。在这6种头孢菌素中, 对除 II 以外的其余5种, BGE A 和 B 均宜使用。对于 II 推荐使用 BGE C; 对于 III 推荐 A; 对于 VI 和 IX 则推荐 B。

实验表明, 此法简便, 消耗试剂少, 分析时间短。

但需要指出, 欲取得可靠的纯度分析结果, 应采用两种或多种基于不同原理的分析方法, 相互印证, 所以本法有一定的局限性。

要想取得精确的纯度分析结果并非易事。在 CE 定量中存在3种歧视效应^[15], 需要分别做校正才能获得准确结果。其中对吸光系数的校正最为困难, 需要有各种杂质的标准品。正因如此, 当样品来源不明时, 人们常常不得不降低对测量精密度的要求, 而求助于外标法测定主成分。当知道样品来源及其背景时, 本文的方法能够快速提供有价值的纯度分析近似结果, 尤其是对追踪药物纯度变化则更实用。

在所分析的9种头孢菌素类药物中, 除了 III ~ V 外, 其它药品都已超过有效期, 有的甚至过期18年。

出乎意料的是过期药物中除了VI和IX外,其余的纯度仍在97%以上。

表1 9种头孢菌素的纯度值(n=3~5)

Table 1 Purity of the nine cephalosporins studied (n=3~5)

药物名称 Drug name	背景电解质 A		背景电解质 B	
	BGE A		BGE B	
	迁移时间 migration time, min (RSD, %)	纯度 purity (RSD), %	迁移时间 migration time, min (RSD, %)	纯度 purity (RSD), %
头孢氨苄 I, Cefalexin	3.33 (0.3)	99.78 (0.2)	2.77 (0.9)	99.94 (0.4)
头孢噻啶 II, Cefaloridine	2.78 (0.8)	99.99 (0.01)	2.52 (0.3)	99.44 (0.1)
头孢唑啉钠 III, Cefazolin	3.72 (0.8)	97.56 (0.3)	3.74 (0.8)	98.63 (0.2)
头孢羟氨苄 IV, Cefadroxil	3.45 (0.2)	98.74 (0.07)	2.62 (0.2)	99.08 (0.3)
头孢克罗 V, Cefaclor	3.30 (0.4)	98.57 (0.2)	2.81 (0.7)	97.81 (0.9)
头孢拉定 VI, Cefradine	3.36 (0.5)	99.89 (0.2)	2.64 (0.6)	80.28 (0.7)
头孢呋新 VII, Cefuroxime	4.28 (0.9)	99.98 (0.005)	3.48 (0.4)	99.48 (0.2)
头孢噻肟钠 VIII, Cefotaxime	3.13 (0.9)	97.64 (0.2)	3.45 (0.3)	97.94 (0.1)
头孢哌酮 IX, Cefoperazone	4.33 (0.2)	75.48 (0.6)	3.33 (0.8)	57.93 (0.8)

注:背景电解质:A pH 9.20 20 mmol/L 硼酸缓冲; B pH 6.86 20 mmol/L 磷酸缓冲。

Note: BGE A pH 9.20 20 mmol/L borate; BGE B pH 6.86 20 mmol/L phosphate.

致谢:孙曾培先生给予了协助,中国药品生物制品检定所抗生素室惠赠了头孢菌素样品,深表谢意。

参 考 文 献

1 安登魁,张正行,盛龙生. 药物分析. 济南: 济南出版社, 1992. 1575, 1581-1582

2 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典第五版第二部. 北京: 化学工业出版社, 广州: 广东科技出版社, 1995. 168~ 185

3 Saleh G, Askal H, Omar N. Anal Lett, 1990, 23: 833-841

4 Dunn M J, Hahn D A. J Chrom atogr, 1992, 595: 185-192

5 Fabre H, Fell A F. J Liq Chrom atogr, 1992, 15: 3031-3043

6 Lorenz L J, Bashore F N, Olsen B A. J Chrom atogr Sci, 1992, 30: 211-216

7 Olsen B A, Baertschi S W, Rigg in R M. J Chrom atogr,

1993, 648: 165-178

8 Honda S, Taga A, Kakehi K et al. J Chrom atogr, 1992, 590: 364-368

9 Fabre H, Penalvo G C. J Liq Chrom atogr, 1995, 18: 3877-3887

10 M restani Y, Neubert R, Schiewe J et al. J Chrom atogr B, 1997, 690: 321-326

11 Nishi H, Tsumagari N, Kakimoto T et al. J Chrom atogr, 1989, 477: 259-270

12 Nishi H, Tsumagari N, Anal Chem, 1989, 61: 2434-2439

13 Penalvo G C, Julien E, Fabre H. Chrom atographia, 1996, 42: 159-164

14 Tsikas D, Hofrichter A, Brunner G. Chrom atographia, 1990, 30: 657-662

15 Qi S Z, Huang A J, Sun Y L. Anal Chem, 1996, 68: 1342-1346

Purity Analysis of Cephalosporins with Capillary Zone Electrophoresis

LONG Hong, DING Qiang, WANG Tian-song, HUANG Arjin, SUN Yrliang*

(Department of Chemistry, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: A capillary zone electrophoresis method is proposed for the purity determination of nine cephalosporin drugs. A background electrolyte comprising of either 20 mmol/L pH 9.20 borate buffer or 20 mmol/L pH 6.86 phosphate buffer was used for most drugs studied except for cefaloridine which formed neutral molecules at these pH values. For it 50 mmol/L pH 2.05 phosphate buffer was used instead. Internal normalization method was employed for quantitation. The method is simple, rapid and versatile. Analysis was completed within 8 min. The merits and limitations of the method were also discussed.

Key words: capillary zone electrophoresis; purity determination; internal normalization method; cephalosporins