

# 对阿莫西林硫酸黏菌素可溶性粉含量测定中 热破坏前处理法的探讨

赵 晖, 刘轶秋, 韩宁宁, 张秀英

(中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2012-08-17 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2013) 01-0032-02 [中图分类号] S859.796

**[摘要]** 采用高效液相色谱法和管碟法对阿莫西林硫酸黏菌素可溶性粉中黏菌素含量方法的前处理条件(95 ℃水浴加热 1 h)进行了研究。结果表明, 95 ℃加热破坏阿莫西林的同时, 硫酸黏菌素也产生降解, 效价下降约 12%, 提示该前处理条件有待进一步改进。本实验可为完善该质量标准提供参考。

**[关键词]** 硫酸黏菌素; 管碟法; 高效液相色谱法

## Discussion on Thermal Destruction Method in the Determination of Amoxicillin and Colistin Sulfate Soluble Powder

ZHAO Hui, LIU Yi-qiu, HAN Ning-ning, ZHANG Xiu-ying

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

**Abstract:** Thermal destruction (heated in water bath at 95 ℃ for 1 hour) in the determination of amoxicillin and colistin sulfate soluble powder was studied with HPLC and cylinder-plate methods. Results showed that thermal destruction not only lead to the degradation of penicillin, but also cause potency of colistin sulfate decline about 12%. It suggested this method should be further improved. This study can provide a reference for the perfection of its quality standard.

**Key words:** colistin sulfate; cylinder-plate method; HPLC method

阿莫西林为半合成的广谱青霉素类药物, 兽医临床上常用于因金黄色葡萄球菌、链球菌等革兰氏阳性菌和大肠杆菌、巴氏杆菌等革兰氏阴性菌引起的感染。硫酸黏菌素为多肽类抗生素, 广泛用于治疗由大肠杆菌、沙门氏菌、铜绿假单胞菌等革兰氏阴性菌引起的感染。阿莫西林和硫酸黏菌素联用对巴氏杆菌、大肠杆菌等有协同抗菌作用, 目前已有阿莫西林硫酸黏菌素注射液产品生产<sup>[1]</sup>。国内另有企业生产阿莫西林硫酸黏菌素可溶性粉, 其质量标准中, 采用“95 ℃水浴中加热 1 h”的方法破坏

样品中的阿莫西林, 以防其对黏菌素效价测定结果产生影响。笔者认为, “95 ℃加热 1 h”的处理条件对抗生素来说比较剧烈, 可能会对黏菌素的稳定性产生影响, 因此采用高效液相色谱法和管碟法两种测定方法对此进行了研究。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 色谱法 Waters2695 型高效液相色谱仪, Waters2487 紫外检测器; AX205 分析天平; 硫酸黏菌素标准品, 批号 K0270905, 效价为 22156 单位/mg, 中

作者简介: 赵 晖, 助理研究员, 从事兽用抗生素检验工作。

通讯作者: 张秀英。E-mail: zhangxiuying@ivdc.gov.cn

国兽医药品监察所;乙腈为色谱级试剂,其余试剂均为分析纯。

1.1.2 管碟法 CHB-1 抗生素微生物测定仪; AX205 分析天平;硫酸黏菌素标准品、试验菌种 CMCC(B)44103(中国兽医药品监察所);培养基、缓冲液等均为中海公司制备。

## 1.2 方法

1.2.1 高效液相色谱法 色谱柱: Waters SunFire C18 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 检测波长 215 nm, 流速 1.0 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL。流动相 0.1 mol/L 无水硫酸钠溶液 - 乙腈(4:1), 用磷酸调 pH 至 2.4<sup>[2]</sup>。精密称定适量黏菌素标准品 4 份, 分别置锥形瓶中, 精密量取 100 mL 0.1 mol/L 的盐酸溶液至锥形瓶中, 制成每 mL 含 1 万单位的溶液, 其中两份作为标准品溶液, 另两份于 95 °C 水浴中加热 1 h 后, 放冷至室温作为供试品溶液, 进样, 记录色谱图。

1.2.2 管碟法 试验菌种: CMCC(B)44103, 培养基: 培养基 VI 号(pH7.2 ~ 7.4), 缓冲液: 磷酸盐缓冲液(pH6.0), 黏菌素最终浓度: 800 单位/mL(低浓度)、1600 单位/mL(高浓度), 培养温度: 35 °C, 培养时间: 17 h<sup>[3]</sup>。精密称定适量黏菌素标准品 3 份, 分别置锥形瓶中, 精密量取 100 mL 0.1 mol/L 的盐酸溶液至锥形瓶中, 制成每 mL 含 1 万单位的溶液, 其中一份作为标准品溶液, 另两份于 95 °C 水浴中加热 1 h 后, 放冷至室温作为供试品溶液, 照抗生素微生物检定法测定。

## 2 结果

2.1 高效液相色谱法 该色谱系统能分离出 E1、E2、E3、E1-1、E1-7MOA 这 5 个色谱峰(图 1), 且峰型较好。而经加热破坏后的供试品色谱图(图 2)中, 除出现上述标准品色谱图的 5 个色谱峰外, 还出现了几个小的降解物色谱峰, 按外标法以 E1、

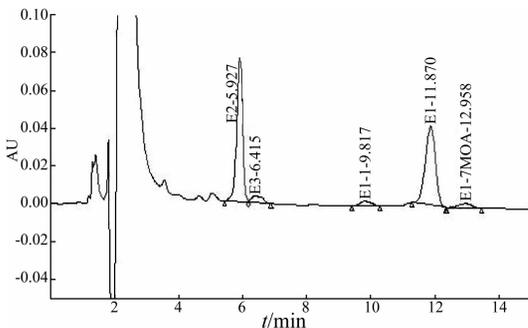


图 1 未加热破坏的硫酸黏菌素液相色谱图

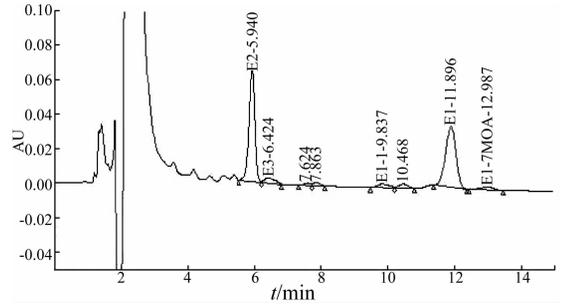


图 2 加热破坏后的硫酸黏菌素液相色谱图

E2、E3、E1-1 和 E1-7MOA 5 个色谱峰峰面积的和热破坏后供试品中黏菌素的含量约为 83%。说明 95 °C 水浴中加热 1 h 后, 黏菌素被破坏发生降解, 使黏菌素含量测定结果偏低。

2.2 管碟法 2 份 95 °C 水浴中加热 1 h 后的供试品效价平均值约为 19500 单位/mg, 为原含量的 88%, 即加热破坏后黏菌素效价降低约 12%。

## 3 讨论

3.1 管碟法比高效液相色谱法测定的含量高约 5%, 这可能是由于经热破坏后黏菌素产生的部分降解物也有一定抑菌性, 管碟法测定的是黏菌素和所有降解物的总活性, 而高效液相色谱法测定的仅是黏菌素的含量, 因此黏菌素与有抑菌性的部分降解物共同作用从而使效价的含量结果高于高效液相色谱法。但两种不同的测定方法均表明热破坏后可导致黏菌素产生一定的降解。

3.2 上述试验证明, 质量标准中测定黏菌素的前处理方法值得商榷, 用该前处理方法进行热破坏后导致黏菌素产生降解, 使黏菌素的含量测定结果偏低, 应对该方法进行改进。农业部公告 1679 号中阿莫西林硫酸黏菌素注射液的质量标准就提供了一个很好的思路, 其质量标准中测定黏菌素的前处理方法采用专属性更强的青霉素酶来破坏阿莫西林, 阿莫西林被酶破坏后失活因此在管碟法效价测定中不会对黏菌素的效价测定结果产生影响。

## 参考文献:

- [1] 农业部公告第 1679 号. 阿莫西林硫酸黏菌素注射液质量标准[Z].
- [2] British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia[S]. 2010, Volume 1: 594 - 596.
- [3] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 2010 年版一部[S]. 附录 123.