

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.04.05

离子色谱法测定盐酸头孢噻呋中的氯离子

戴青, 韩宁宁, 于丽娜, 张璐, 徐嫻, 赵晖*

(中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2017-09-05 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 04-0026-06 [中图分类号] S859.79

[摘要] 建立了离子色谱法测定盐酸头孢噻呋中氯离子含量的方法。试验采用 Dionex IonPac AS19(250 mm×4 mm, 5 μm) 阴离子交换色谱柱, 以氢氧化钾溶液为淋洗液, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30 ℃, 检测池温度为 35 ℃, 抑制型电导检测器。试验结果表明氯离子与常见成盐阴离子分离良好, 在 0.5~20 μg/mL 浓度范围内呈良好的线性关系($r^2=0.9999$), 加样回收率为 101.4% ($n=9$, $RSD=1.7%$)。建立的方法准确、灵敏、专属性好, 可用于测定盐酸头孢噻呋中氯离子的含量, 以控制成盐比例。

[关键词] 离子色谱; 盐酸头孢噻呋; 氯离子含量

Determination of Chloride Ion in Ceftiofur Hydrochloride by Ion Chromatography

DAI Qing, HAN Ning-ning, YU Li-na, ZHANG Lu, XU Yuan, ZHAO Hui*

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

Corresponding author: ZHAO Hui, E-mail: 171977364@qq.com

Abstract: The method for content determination of chloride ion in ceftiofur hydrochloride by ion chromatography was developed. Analysis was performed on a Dionex IonPac AS19 column (250 mm×4 mm, 5 μm). The elutrient was potassium hydroxide solution. The flow rate was 1.0 mL/min. The column temperature was set at 30 ℃. Inhibitory electrical conductivity detector was used with detecting pool temperature of 35 ℃. The results showed that a good separation was accepted between chloride ion and other conventional anions. The standard curve was linear in the range of 0.5~20 μg/mL ($r^2=0.9999$). The average recovery was 101.4% ($n=9$, $RSD=1.7%$). This method was accurate, sensitive, specific and was suitable for the determination of chloride ion content in ceftiofur hydrochloride to control the salt-forming proportion.

Key words: ion chromatography; ceftiofur hydrochloride; content of chloride

头孢噻呋是美国法玛西亚普强公司研制的动物专用第 3 代头孢类抗生素, 主要用于猪细菌性呼

吸道感染和鸡的大肠埃希菌、沙门氏菌感染, 其抗菌活性强, 毒副作用小, 残留低, 近年来在世界各地

作者简介: 戴青, 硕士, 从事抗生素检验检测工作。

通讯作者: 赵晖。E-mail: 171977364@qq.com

应用非常广泛^[1-2]。目前,国内已上市的头孢噻唑制剂有头孢噻唑钠粉针剂和盐酸头孢噻唑注射液等^[3]。鉴于抗生素品种含量通常以活性成分计,其含量限度的确定,应考虑分子中含酸根离子或盐的量等因素。由于盐酸头孢噻唑比头孢噻唑钠更稳定,在进行头孢噻唑国家对照品的研制时,通常采用盐酸头孢噻唑作为对照品原料,准确测定盐酸头孢噻唑中氯离子的含量,确定成盐比例,可佐证针对药物部分的含量测定结果,从而确保对照品赋值准确。

离子色谱法具有灵敏度高、选择性好、前处理简单、试样用量少等优点,目前已成为分析化学领域中发展最快的分析方法之一,已被广泛地用于无机阴、阳离子和有机离子的测定^[4-5]。研究首次建立了盐酸头孢噻唑中氯离子的抑制电导离子色谱检测方法,进而确定其成盐比例,对于头孢噻唑对照品的标定赋值以及进一步完善盐酸头孢噻唑质量标准、提高药品质量稳定性具有重要意义。

1 仪器与试剂

Dionex Aquion 离子色谱仪和 Chromeleon 7 软件(美国 Thermo 公司);Dionex AERS-4mm 抑制器(美国 Thermo 公司);Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司);Mettler Toledo XS 205 型电子分析天平(瑞士 Mettler 公司)。

盐酸头孢噻唑(齐鲁晟华制药有限公司,批号:704067203111);Cl⁻标准溶液(中国计量科学研究院,1000 μg/mL,批号:17032);氢氧化钾淋洗液(Dionex EGC III KOH,序列号:161240299015);亚硝酸钠、氟化钠、硝酸钾、硫酸钾、磷酸氢二钠、溴化钾、溴酸钾(国药集团化学试剂有限公司,均为分析纯);水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Dionex IonPac AS19(250 mm×4 mm,5 μm),预柱:Dionex IonPac AG19(50 mm×4 mm,5 μm),流速:1.0 mL/min,柱温:30 ℃,检测池温度:35 ℃,进样量:25 μL,检测器:电导检测器,抑制电流:112 mA,以氢氧化钾溶液为淋洗液按

表 1 梯度洗脱。

表 1 梯度淋洗条件

Tab 1 Gradient elution conditions

时间/min Time	流速/(mL·min ⁻¹) Flow rate	淋洗液浓度/(mmol·L ⁻¹) Eluent concentration
0.0	1.0	4.0
30.0	1.0	4.0
30.1	1.0	45.0
40.0	1.0	45.0
40.1	1.0	4.0
45.0	1.0	4.0

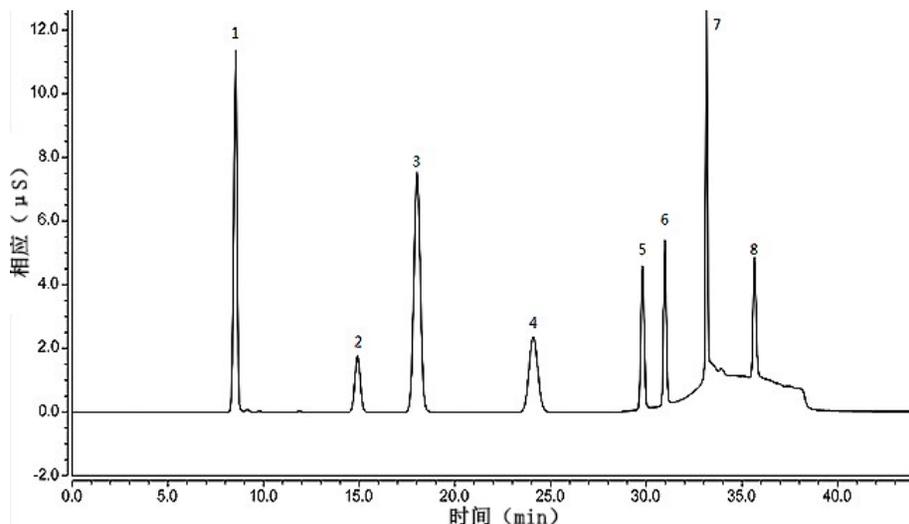
2.2 溶液的制备

2.2.1 标准溶液 精密量取氯离子标准溶液(1000 μg/mL)10 mL,置 100 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,作为标准储备液。分别精密量取标准储备液适量,加水稀释制成含氯离子分别为 0.5、1、2、5、10、20 μg/mL 的溶液,作为氯离子标准工作液。

2.2.2 供试品溶液 取盐酸头孢噻唑样品约 25 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加 4 mmol/L 氢氧化钠溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 mL,置 50 mL 量瓶中,用 4 mmol/L 氢氧化钠溶液稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.3 专属性试验 分别取亚硝酸钠、氟化钠、硝酸钾、硫酸钾、磷酸氢二钠、溴化钾、溴酸钾适量,精密称定,加水溶解并稀释制成浓度各约 100 μg/mL 的混合离子溶液,精密量取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加“2.2.1”项下标准储备液 1 mL,用水稀释至刻度,作为专属性溶液,按“2.1”项下色谱条件测定。在该色谱条件下,其他离子能与氯离子较好分离,该方法专属性良好,见图 1。

2.4 线性关系考察 取氯离子标准工作液,按“2.1”项下色谱条件测定。结果表明:在 0.5~20 μg/mL 浓度范围内,氯离子溶液的峰面积与其浓度呈良好的线性关系,线性方程为 $y = 0.2917x - 0.0177$, $r^2 = 0.9999$ 。



按 F^- 、 BrO_3^- 、 Cl^- 、 NO_2^- 、 SO_4^{2-} 、 Br^- 、 NO_3^- 和 PO_4^{3-} 顺序出峰

图 1 专属性溶液色谱图

Fig 1 Chromatogram of the specific solution

2.5 检出限与定量限 取氯离子标准工作液适量,用水逐步稀释至一定浓度后测定,氯离子定量限为 $0.8 \mu\text{g/mL}$ ($S/N > 10$),检出限为 $0.2 \mu\text{g/mL}$ ($S/N > 3$)。

2.6 精密度试验 取浓度为 $10 \mu\text{g/mL}$ 的氯离子标准工作液,按“2.1”项下色谱条件连续重复进样

6 次,计算氯离子峰面积的 RSD 为 1.0% 。

2.7 重复性试验 取盐酸头孢噻呋供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定,计算氯离子的含量,平均含量为 5.92% , RSD 为 0.5% 。氯离子标准工作液及盐酸头孢噻呋供试品溶液色谱图见图 2 ~ 图 3。

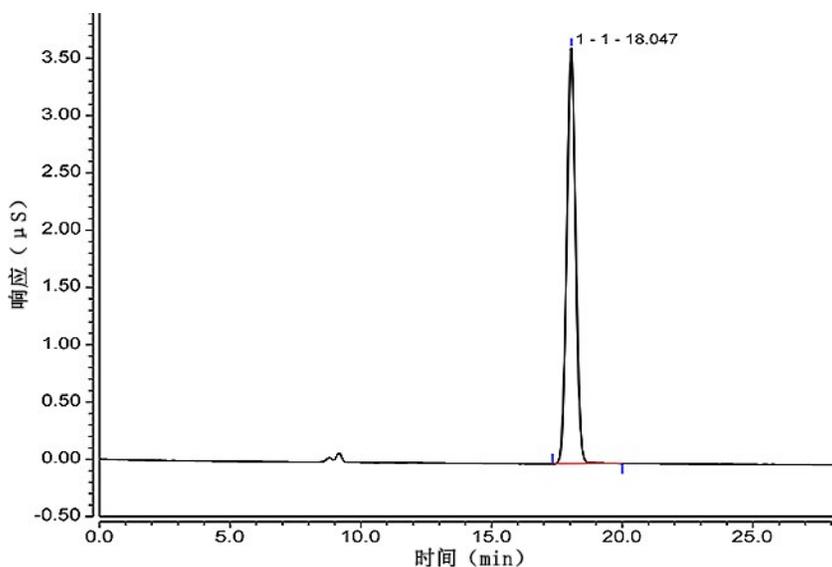


图 2 氯离子标准工作液色谱图 ($5 \mu\text{g/mL}$)

Fig 2 Chromatogram of standard working solution of chloride ion ($5 \mu\text{g/mL}$)

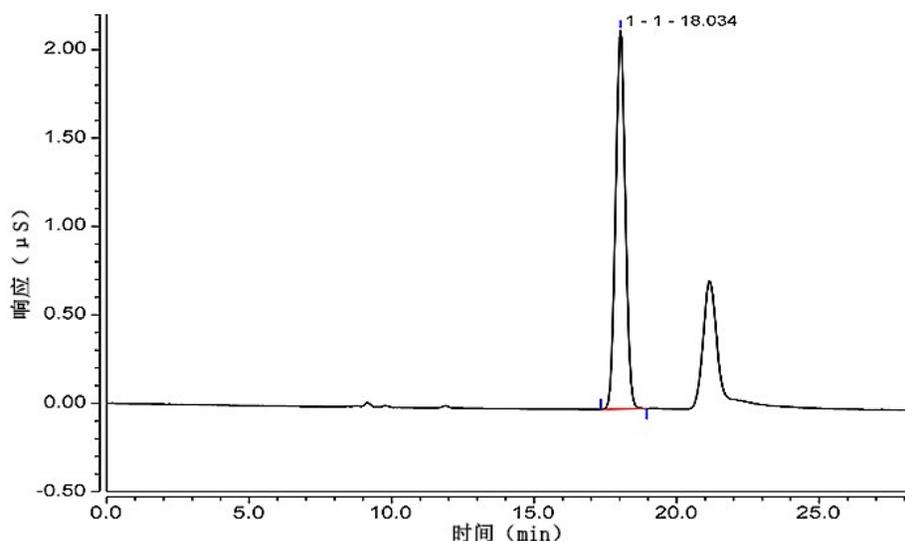


图 3 盐酸头孢噻呋供试品溶液色谱图

Fig 3 Chromatogram of ceftiofur hydrochloride test solution

2.8 回收率试验 采用加样回收率试验测定准确度。取已知氯离子含量为 5.92% 的盐酸头孢噻呋约 25 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加 4 mmol/L 氢氧化钠溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 分别精密加入氯离子标准

储备液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 1、1.5 和 3 mL, 用 4 mmol/L 氢氧化钠溶液稀释至刻度, 摇匀, 制成低、中、高三个浓度的回收率试验溶液。每个浓度平行操作 3 次, 按“2.1”项下色谱条件测定, 采用标准曲线法, 计算回收率, 结果见表 2。

表 2 氯离子回收率

Tab 2 Recovery rate of chloride ion

加入量/mg Addition amount	回收量/mg Recovery amount	回收率/% Recovery rate	平均回收率/% Average recovery rate	RSD/%
0.1000	0.1034	103.4		
0.1000	0.1038	103.8		
0.1000	0.1002	100.2		
0.1500	0.1502	100.1		
0.1500	0.1493	99.5	101.4	1.7
0.1500	0.1551	103.4		
0.3000	0.2996	99.9		
0.3000	0.3003	100.1		
0.3000	0.3066	102.2		

2.9 稳定性试验 取盐酸头孢噻呋样品约 25 mg, 精密称定, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 室

温静置, 分别于 0、1、2、4、8、16 和 24 h 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 计算氯离子峰面积的 RSD 为

0.8% ($n=7$)。

2.10 样品测定 取供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定,采用标准曲线法,计算氯离子含量,再折算成盐酸的含量(盐酸含量=氯离子含量 \times 36.5/35.5),得到氯离子含量为 5.92%,盐酸含量为 6.09%。

3 讨论与小结

有些成盐药物分子中成盐位点不唯一,可能以多种比例成盐,对于这类成盐药物的对照品标化,确定成盐比对于对照品赋值十分重要,尤其是当多种定值方式给出的含量差异较大时,更需要去验证成盐比例^[6-7]。根据研究结果,若盐酸头孢噻吩的成盐比例为 1:1,则盐酸的理论含量为 6.51%,若其成盐比例为 1:2,则盐酸的理论含量为 12.23%,若其成盐比例为 1:3,则盐酸的理论含量为 17.28%,而样品实测值为 6.09%,由此可知,其成盐比例应该为 1:1,以活性成分头孢噻吩计,其理论含量为 93.49%。若将盐酸头孢噻吩的成盐率控制在理论值的 90.0%~110.0%,则盐酸的含量限度应为 5.86%~7.16%。

离子色谱法对于固体样品的前处理比较简单,最常用的方法是用去离子水或氢氧化钠溶液直接溶解配制样品溶液^[8]。试验过程中发现样品在超纯水中几乎不溶,因此试验采用浓度较低的氢氧化钠溶液作为溶剂,溶解样品时宜边超声边振荡,使其溶解完全。考虑到样品中可能有保留强度不同的多种离子存在,等度淋洗会出现多种组分共淋洗或强保留组分无法洗脱等现象^[9],因此试验采用梯度洗脱,待氯离子出峰后使用高浓度的 KOH 淋洗液冲洗色谱柱,将吸附在色谱柱上的强保留性物质洗脱下来,从而得到更好的效果。

离子色谱中无机阴离子的保留行为受到离子价态、离子半径及离子的极化程度等多种因素的影

响^[10]。研究开发的方法准确、灵敏、专属性好,在本文所述的试验条件下,可实现 Cl^- 与 F^- 、 BrO_3^- 、 NO_2^- 、 SO_4^{2-} 、 Br^- 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 等常见阴离子的有效分离,该色谱条件可以适用于盐酸头孢噻吩中 Cl^- 的测定,以控制成盐比例,为头孢噻吩对照品的标定赋值提供了技术参考,为盐酸头孢噻吩质量标准的完善提供了研究基础。

参考文献:

- [1] 郭腾,吴连勇,张家祥. 兽用头孢类抗生素头孢噻吩研究进展[J]. 畜牧与兽医,2003,35(6):38-41.
Guo T, Wu L Y, Zhang J X. Research progress of ceftiofur hydrochloride[J]. Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2003, 35(6):38-41.
- [2] 中国兽药典委员会. 中国兽药典(2015 版,一部)[M]. 北京: 中国农业出版社,2015:70-72.
Chinese Veterinary Pharmacopoeia Commission. Chinese Veterinary Pharmacopoeia (2015 edition, NO.1)[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015: appendix 70-72.
- [3] 张文刚,廖雪玲,黄家莺. 长效盐酸头孢噻吩注射液的生产工艺研究[J]. 上海畜牧兽医通讯,2015(2):50-51.
Zhang W G, Liao X L, Huang J Y. Study on the production process of long-acting ceftiofur hydrochloride injection[J]. Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2015(2):50-51.
- [4] 王海蓝,陈引生,石晶盈. 离子色谱法在食品检测中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2013,4(5):1437-1444.
Wang H L, Chen Y S, Shi J Y. Progress in ion chromatography in food analysis[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2013, 4(5):1437-1444.
- [5] 刘朝霞,何兰,丁丽霞. 国内离子色谱技术在化学药品质量控制中的应用[J]. 中国药师,2016,19(5):966-969.
Liu Z X, He L, Ding L X. Domestic application of ion chromatography in quality control of chemical drugs[J]. China Pharmacist, 2016, 19(5):966-969.
- [6] 刘朝霞,李婕,吴健敏,等. 离子色谱法测定盐酸伐昔洛韦中

的氯离子[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(3): 271-273.

Liu Z X, Li J, Wu J M, *et al.* Determination of chloride ion in valacyclovir hydrochloride by ion chromatography[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2017, 26(3): 271-273.

- [7] 沈芳, 苏頔, 周伟澄. 成盐药物的研究与开发[J]. 药学进展, 2012, 36(4): 151-157.

Shen F, Su Q, Zhou W C. Research and development of pharmaceutical salts[J]. Progress in Pharmaceutical Sciences, 2012, 36(4): 151-157.

- [8] 甘子琼. 离子色谱法分析火灾烟气成分的完善[J]. 化学分析计量, 2014, 23(Z1): 1-4.

Gan Z Q. Perfection for analysis of fire smoke by ion chromatography method[J]. Chemical Analysis and Meterage, 2014, 23(Z1): 1-4.

- [9] 唐姚瑶, 陆华, 季彦黎. 梯度洗脱离子色谱法测定降水中六种阴离子及离子平衡的讨论[J]. 环境科学导刊, 2013, 32(4): 123-125.

Tang Y Y, Lu H, Ji Y J. Determination of six organic and inorganic anions in rainfall by gradient elution ion chromatography and ionic equilibrium[J]. Environmental Science Survey, 2013, 32(4): 123-125.

- [10] 杨倩, 袁雯玮. 离子色谱法测定盐酸平阳霉素中的氯离子[J]. 中国抗生素杂志, 2015, 40(7): 523-525.

Yang Q, Yuan W W. Determination of chloridion in bleomycin A5 hydrochloride by ion chromatography[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2015, 40(7): 523-525.

(编辑: 陈希)