

# 胶束电动毛细管色谱法分析头孢克洛与 $\Delta$ -3-头孢克洛的可行性探讨

张慧文<sup>1</sup>, 胡昌勤<sup>2</sup>, 杭太俊<sup>3</sup>

(1. 广州市药品检验所, 广州 510160; 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

3. 中国药科大学药物分析教研室, 南京 210009)

**摘要** 目的: 探讨采用胶束电动毛细管色谱 (MECC) 法分析头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的可行性。方法: 通过对毛细管电泳中最主要的影响因素: 缓冲液 pH、缓冲液浓度 (包括缓冲试剂、表面活性剂、有机添加剂的浓度)、运行电压及分离温度等因素对头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛迁移行为的影响的研究, 详细考察了头孢克洛与其  $\Delta$ -3-异构体在 MECC 模式下的分离行为。结果: 建立了分析头孢克洛与其  $\Delta$ -3-异构体的 MECC 方法。其运行缓冲液为含 30 mmol·L<sup>-1</sup> SDS 的 10 mmol·L<sup>-1</sup> 的磷酸氢二钠溶液, 用 1 mol·L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液或磷酸溶液调节 pH 为 6.0~7.5。分离电压为 15 kV, 分离温度为 25℃。结论: 通过优化电泳条件, 完全可以采用 MECC 法分析头孢克洛与其  $\Delta$ -3-异构体。

**关键词:** 胶束电动毛细管色谱 (MECC); 头孢克洛;  $\Delta$ -3-头孢克洛; 电泳介质; 迁移行为

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)03-0351-05

## Research on the separation of cefaclor and $\Delta$ -3-cefaclo by micellar electrokinetic capillary chromatography

ZHANG Hui-wen<sup>1</sup>, HU Chang-qin<sup>2</sup>, HANG Tai-jun<sup>3</sup>

(1. Guangzhou Institute for Drug Control Guangzhou 510160 China)

2. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products Beijing 100050 China

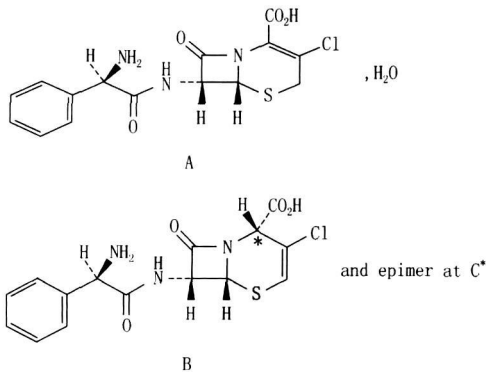
3. Department of Pharmaceutical Analysis China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**Abstract Objective** To discuss the possibility and the method of analyzing cefaclor and  $\Delta$ -3-cefaclo by micellar electrokinetic capillary chromatography (MECC). **Method** The resolution behavior of cefaclor with its  $\Delta$ -3 isomer were often affected by electrophoresis condition and separating medium adopted in the MECC model, the most important influential factors of CE, such as the pH value of buffer solution, the concentration of buffer solution (including buffer reagent, surface active agent and the concentration of organo-additives), running voltage and separation temperature were investigated. **Result** A selective and sensitive MECC method for analysis of cefaclor with its  $\Delta$ -3 isomer has been developed. The running buffer solution for cefaclor with its  $\Delta$ -3 isomer was 10 mmol·L<sup>-1</sup> of disodium hydrogen phosphate solution with 30 mmol·L<sup>-1</sup> of SDS adjusting pH to 6.0-7.5 by 1 mmol·L<sup>-1</sup> of sodium hydroxide or phosphoric acid. The running voltage was 15 kV and the separation temperature was at 25℃. **Conclusion** The result shows that by means of optimization of electrophoresis conditions, it is possible to adopt MECC model for separating and determining cefaclor with its  $\Delta$ -3 isomer.

**Key words** micellar electrokinetic capillary chromatography (MECC); cefaclor;  $\Delta$ -3-cefaclo; running buffer; migration behaviors

头孢克洛是第 2 代口服半合成头孢菌素类抗生素, 对流感嗜血杆菌、肠杆菌、淋病奈瑟菌有较强的杀菌作用, 临床上主要用于治疗急性中耳炎<sup>[1]</sup>、急性泌尿道感染<sup>[2]</sup>、呼吸道感染<sup>[3]</sup>等。  $\Delta$ -3-

-头孢克洛是头孢克洛制备过程中引入的一种杂质, 没有抗菌活性<sup>[4]</sup>。  $\Delta$ -3-头孢克洛与头孢克洛结构上的区别只是 1 个双键位置的不同, 其结构见图 1<sup>[5]</sup>。

图 1 头孢克洛 (A) 和  $\Delta$ -3-头孢克洛 (B) 分子结构Fig 1 Structures of cefaclor (A) and  $\Delta$ -3-cefaclor (B)

现行各国药典<sup>[5-8]</sup>均采用 HPLC 法分离头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛, 也有文献报道<sup>[9]</sup>用 CZE 模式分离头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛, 但需加入 4-磺酸杯芳烃 [6] 作为异构体选择性试剂, 且两者的分离也不太理想。目前尚未发现采用 MECC 法分离测定头孢克洛与其  $\Delta$ -3 异构体的文献报道。

本文以 CE 中的 MECC 分离模式, 以头孢克洛与其  $\Delta$ -3 异构体的分离度为主要优化依据, 并综合考虑溶液的稳定性以及样品的分析时间, 对缓冲液的 pH、磷酸盐的浓度、表面活性剂的浓度、有机添加剂的体积分数、分离电压和分离温度等分析条件进行了考察, 探讨并证明了采用 MECC 法分析头孢克洛与其  $\Delta$ -3 异构体的可行性。

## 1 实验仪器与试剂

Agilent 3 D CE 高效毛细管电泳仪及相应工作站; Quickenet 非涂渍熔融石英毛细管柱 (51 cm  $\times$  75  $\mu$ m, 有效长度 42.5 cm); Beckman  $\phi$ 660 酸度计; AKTA prime 电导检测器; Milli-Q 超纯水仪, 针头式微孔滤膜过滤器, 规格  $\phi$ 13 mm, 孔径: 0.45  $\mu$ m, 天津市双吉色谱仪器部。

丙酮、磷酸氢二钠、四硼酸钠、硼酸、磷酸、氢氧化钠均为分析纯; 十二烷基硫酸钠 (SDS SIGMA 公司提供)、甲醇为色谱纯; 头孢克洛、 $\Delta$ -3-头孢克洛均为国家对照品, 由中国药品生物制品检定所提供。配制缓冲液和样品液所用水为 Milli-Q 超纯水。

## 2 实验条件与方法

**2.1 CE 的运行条件** 运行电压 15 kV, 温度 25  $^{\circ}$ C, 压力进样 5 s  $\times$  50 Pa 柱上紫外检测, 检测波长 254 nm。所用溶液在使用前均需经 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过并超声脱气。

**2.2 毛细管柱平衡条件** 新柱使用前先用 1 mol  $\cdot$

$L^{-1}$  氢氧化钠溶液于 38  $^{\circ}$ C 冲洗 60 min, 蒸馏水冲洗 30 min, 运行缓冲液冲洗 30 min。柱使用完毕, 用 0.1 mol  $\cdot$   $L^{-1}$  氢氧化钠溶液冲洗 5 min, 蒸馏水冲洗 5 min, 再用空气吹干毛细管柱。每次实验前, 毛细管柱用 0.1 mol  $\cdot$   $L^{-1}$  氢氧化钠溶液冲洗 10 min, 蒸馏水冲洗 10 min, 运行缓冲液冲洗 10 min, 两次进样间用水、0.1 mol  $\cdot$   $L^{-1}$  氢氧化钠溶液、水各冲洗 2 min, 运行缓冲液冲洗 5 min。

## 3 溶液配制

分别称取对照品头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛适量, 用水溶解并稀释成各约含 0.2 mg  $\cdot$  mL $^{-1}$  的混合溶液。

## 4 实验结果与讨论

### 4.1 缓冲盐种类的变化对溶质迁移行为的影响

磷酸盐和硼砂的紫外吸收较低, pH 缓冲范围较宽, 是毛细管电泳中最常用的缓冲体系之一。本文分别以磷酸盐缓冲液 (配制含 100 mmol  $\cdot$   $L^{-1}$  SDS 的 70 mmol  $\cdot$   $L^{-1}$  的磷酸氢二钠溶液, 用 1 mol  $\cdot$   $L^{-1}$  的氢氧化钠溶液或磷酸溶液调节 pH 为 6.2) 和硼酸盐缓冲液 (配制含 100 mmol  $\cdot$   $L^{-1}$  SDS 的 70 mmol  $\cdot$   $L^{-1}$  的四硼酸钠溶液, 用 1 mol  $\cdot$   $L^{-1}$  的氢氧化钠溶液或磷酸溶液调节 pH 为 6.2) 为运行缓冲液, 考察磷酸缓冲盐体系和硼砂缓冲盐体系对头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的迁移时间 ( $t$ )、对称因子 ( $\alpha$ )、塔板数 ( $N$ ) 及两者间分离度 ( $R$ ) 的影响, 结果见表 1。

表 1 缓冲盐种类的变化对头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛迁移行为的影响

Tab 1 Effect of variety of running buffer on the migration behavior of cefaclor and  $\Delta$ -3-cefaclor

缓冲盐种类 (buffer variety)	$\Delta$ -3-头孢克洛 ( $\Delta$ -3-cefaclor)			头孢克洛 (cefaclor)			
	$t$ /min	$N$	$\alpha$	$t$ /min	$N$	$\alpha$	$R$
磷酸盐 (phosphate)	9.08	80017	0.54	9.99	79660	0.49	6.75
硼砂 (borax)	9.27	60159	0.38	10.19	66080	0.56	5.86

结果表明, 缓冲盐种类对头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的迁移时间、对称因子影响较小, 但对塔板数及两者的分离度影响较大, 其中使用磷酸盐体系时头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的柱效均较高、分离度也较大, 故选用磷酸盐缓冲体系进一步考察头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的迁移行为。

### 4.2 缓冲液 pH 的变化对溶质迁移行为的影响

缓冲液的 pH 通过影响组分解离程度及毛细管内壁表面电荷, 进而影响了溶质的淌度、体系的电渗流及组分与 SDS 的相互作用, 因此缓冲液 pH 在电

泳中对选择性起到重要作用。以 pH 5.5~ 11.0 的磷酸盐缓冲液 (配制含 100 mmol·L<sup>-1</sup> SDS 的 70 mmol·L<sup>-1</sup> 磷酸氢二钠溶液, 用 1 mol·L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液或磷酸溶液调节 pH 为 5.5~ 11.0) 为运行缓冲液, 考察缓冲液的 pH 对头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛迁移行为的影响, 结果见表 2。

表 2 缓冲液的 pH 对头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛迁移行为的影响

Tab 2 Effect of pH of running buffer on the migration behavior of cefaclor and Δ-3- cefaclor

pH	Δ-3- 头孢克洛 (Δ-3- cefaclor)			头孢克洛 (cefaclor)			
	t/min	N	α	t/min	N	α	R
10.0	7.28	44062	2.62	7.49	50670	1.95	1.53
9.0	7.10	50255	1.96	7.32	61969	2.45	1.73
8.0	7.44	62520	2.07	7.75	67915	2.69	2.64
7.5	7.15	74562	2.09	7.48	80362	1.74	3.07
7.0	8.22	88532	0.97	8.97	56090	0.21	5.75
6.5	9.25	68282	0.55	10.43	36151	0.16	6.54
6.0	12.07	56043	1.02	14.43	20161	0.11	7.72
5.5	13.69	40560	0.88	16.27	10618	0.08	7.70

结果表明, 当缓冲液的 pH 为 5.5~ 7.5 时, 随着缓冲液的 pH 的升高, 电渗流增大, 因此头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛的迁移时间明显缩短; 而当缓冲液的 pH 为 7.5~ 10.0 时, 头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛的迁移时间变化趋于平缓, 可能是由于此时毛细管壁硅羟基的电离趋于饱和, 电渗流变化平缓。

从两者的分离度来看, 缓冲液的 pH 在 5.5~ 10.0 范围内变化时, 头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛均可达到基线分离, 且随着 pH 的减小分离度逐渐增大。由于 β- 内酰胺类抗生素在碱性条件下不稳定, 易发生降解, 当缓冲液的 pH 为 11.0 时, 头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛均已明显降解, 且峰形严重扩展, 结果见图 2。因此分离头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛宜选择 pH 6.0~ 7.5 范围。在此范围内, 头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛可达到有效分离, 且迁移时间较合适, 峰的对称性良好。

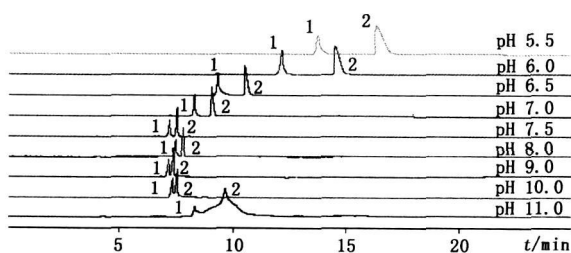


图 2 缓冲液 pH 变化对头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛分离度的影响  
Fig 2 Effect of pH of running buffer on the separation of cefaclor and Δ-3- cefaclor

1 Δ-3- 头孢克洛 (Δ-3- cefaclor) 2 头孢克洛 (cefaclor)

#### 4.3 缓冲试剂浓度的变化对溶质迁移行为的影响

缓冲液浓度是电泳运行条件中一个很重要的指标, 它的作用比较复杂。增加缓冲液浓度, 一方面使离子强度增加, 明显改变缓冲液的缓冲容量, 减少溶质和管壁之间、被分离的粒子和粒子之间的相互作用, 改善分离; 另一方面使焦耳热增加, 电渗流降低, 溶质的迁移速率下降, 迁移值延长<sup>[10]</sup>。因此在建立电泳分析方法时需要选择合适的缓冲液浓度做为电泳条件。以磷酸氢二钠浓度为 10~ 100 mmol·L<sup>-1</sup> 的磷酸盐缓冲液 (配制含 100 mmol·L<sup>-1</sup> SDS 的 100 mmol·L<sup>-1</sup> 的磷酸氢二钠溶液, 用 1 mol·L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液或磷酸溶液调节 pH 为 6.2 再用 pH 6.2 的 100 mmol·L<sup>-1</sup> SDS 溶液稀释至磷酸氢二钠浓度为 10~ 100 mmol·L<sup>-1</sup>) 为运行缓冲液, 考察缓冲试剂磷酸氢二钠浓度改变时, 对头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛迁移行为的影响, 结果见表 3。

表 3 缓冲液中磷酸盐的浓度对头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛迁移行为的影响

Tab 3 Effect of concentration of phosphate in running buffer on the migration behavior of cefaclor and Δ-3- cefaclor

磷酸盐浓度 (phosphate concentration)	Δ-3- 头孢克洛 (Δ-3- cefaclor)			头孢克洛 (cefaclor)			
	t/min	N	α	t/min	N	α	R
100	11.14	42851	1.18	13.24	23668	0.12	8.32
70	10.37	41480	0.29	11.90	35241	0.16	7.62
50	10.10	31834	0.78	11.38	40837	0.18	7.51
30	9.09	39582	1.00	10.39	65062	0.44	7.48
10	7.61	42754	0.45	8.53	71718	0.62	6.69

随着磷酸盐浓度的增加, 电渗流速降低, 溶质在毛细管内的迁移速率下降, 因此头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛的迁移时间均延长 (表 3)。同时, 由于缓冲试剂浓度的增高也增大了水相的离子强度和溶质在胶束相的分配系数, 减少了溶质和管壁之间、被分离的粒子和粒子之间的相互作用, 从而改善分离。当缓冲试剂的浓度为 10~ 100 mmol·L<sup>-1</sup> 时, 头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛均可达到很好的分离, 分离度为 6.7~ 8.3。考虑到高浓度的缓冲液会产生较多的焦耳热, 不利于样品的稳定。因此, 采用浓度为 10 mmol·L<sup>-1</sup> 的缓冲试剂较为合适。在此条件下, 头孢克洛与 Δ-3- 头孢克洛可达到基线分离, 塔板数较高, 峰形对称, 迁移时间合适。

#### 4.4 表面活性剂浓度的变化对溶质迁移行为的影响

表面活性剂具有吸附、增溶和形成胶束等功能,作为缓冲液添加剂已被广泛用于高效毛细管电泳中。由于 SDS 容易获得,且紫外吸收较低,通常被优先使用。当 SDS 在临界胶束浓度以上时,其单个分子靠彼此间的疏水性聚集形成网状结构的带负电胶束。利用溶质不同的疏水性,在水相和胶束相间的分配行为不同,从而使混合组分得以分离。以 SDS 浓度为 0~100 mmol·L<sup>-1</sup> 的磷酸盐缓冲液(配制含 100 mmol·L<sup>-1</sup> SDS 的 70 mmol·L<sup>-1</sup> 的磷酸氢二钠溶液,用 1 mol·L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液或磷酸溶液调节 pH 为 6.2 再用 pH 6.2 含 70 mmol·L<sup>-1</sup> 的磷酸氢二钠溶液稀释至 SDS 浓度为 0~100 mmol·L<sup>-1</sup>) 为运行缓冲液,考察 SDS 浓度改变时,头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛的迁移行为的变化。结果见表 4。

表 4 缓冲液中 SDS 的浓度对头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛迁移行为的影响

Tab 4 Effect of concentration of sodium dodecyl sulphate (SDS) in running buffer on the migration behavior of cefaclor and Δ-3-cefaclor

SDS 浓度 (SDS concentration)	Δ-3-头孢克洛 (Δ-3-cefaclor)			头孢克洛 (cefaclor)			
	t/m in	N	α	t/m in	N	α	R
100	11.03	49538	0.89	13.05	18371	0.11	6.92
70	9.84	50259	0.82	11.27	16617	0.12	5.44
50	8.74	42269	0.67	9.72	15285	0.12	4.05
30	7.21	41452	0.70	7.72	19549	0.18	2.83
10	6.00	91695	1.22	6.13	30229	0.31	1.10

随着 SDS 浓度的增加,溶质与胶束间的相互作用力逐渐增大,胶束相的保留能力逐渐增强,头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛的迁移时间逐渐增大(表 4);同时,溶质和管壁之间、被分离的粒子和粒子之间的相互作用则随着 SDS 浓度的增加而减小,两者间的分离度显著增加。实验中还发现,不添加 SDS 则无法分离头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛,而当 SDS 浓度为 30 mmol·L<sup>-1</sup> 以上时,头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛即可达到基线分离,考虑到高浓度的缓冲液会产生较多的焦耳热,不利于样品的稳定。因此,采用浓度为 30 mmol·L<sup>-1</sup> 的 SDS 较为合适。在此条件下,头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛既可达到基线分离,塔板数也较高,迁移时间也较短。

#### 4.5 有机改性剂浓度的变化对溶质迁移行为的影响

甲醇为有机改性剂,能改变缓冲液的介电常数,削弱溶质与胶束间的疏水性相互作用,同时也将削

弱维持胶束结构的表面活性剂分子间的疏水性相互作用。以甲醇的浓度为 0~15% 的磷酸盐缓冲液(配制含 100 mmol·L<sup>-1</sup> SDS 的 70 mmol·L<sup>-1</sup> 的磷酸氢二钠溶液,用 1 mol·L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液或磷酸溶液调节 pH 为 6.2 再用加样枪定量添加甲醇的浓度为 0~15%) 为运行缓冲液,考察甲醇浓度改变对头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛的迁移行为的影响。结果见表 5。

表 5 缓冲液中甲醇的体积分数对头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛迁移行为的影响

Tab 5 Effect of methanol volume fraction in running buffer on the migration behavior of cefaclor and Δ-3-cefaclor

甲醇 (methanol) %	Δ-3-头孢克洛 (Δ-3-cefaclor)			头孢克洛 (cefaclor)			
	t/m in	N	α	t/m in	N	α	R
0	9.08	80017	0.54	9.99	79660	0.49	6.75
5	11.89	78254	1.02	12.91	81150	0.81	5.83
10	14.44	82464	1.19	15.32	90330	1.10	4.37
15	16.49	75392	1.20	17.04	97662	1.38	2.35

甲醇的加入使溶液的介电常数降低,溶液中的带电粒子和毛细管壁的 zeta 电位下降,使溶质的泳动速度和电渗流均减小,头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛的迁移时间显著延长(表 5)。与此同时,随着甲醇浓度的增加,头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛的分离度急剧变小。当添加 0~15% 的甲醇时,头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛的分离度由 6.75 减小至 2.35,说明添加甲醇不利于头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛的分离。因此,缓冲液中不需要添加甲醇。

#### 4.6 运行电压的变化对溶质迁移行为的影响

以磷酸盐缓冲液(配制含 100 mmol·L<sup>-1</sup> SDS 的 70 mmol·L<sup>-1</sup> 的磷酸氢二钠溶液,用 1 mol·L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液或磷酸溶液调节 pH 为 6.2) 为运行缓冲液,考察了运行电压 10~17 kV 变化时,头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛迁移行为的改变。结果见表 6。

表 6 分离电压对头孢克洛与 Δ-3-头孢克洛迁移行为的影响

Tab 6 Effect of applied voltage on the migration behavior of cefaclor and Δ-3-cefaclor

分离电压 (applied voltage) /kV	Δ-3-头孢克洛 (Δ-3-cefaclor)			头孢克洛 (cefaclor)			
	t/m in	N	α	t/m in	N	α	R
17	8.07	69519	0.90	8.84	65499	0.92	5.96
15	11.50	58845	0.77	13.11	47050	0.58	7.45
12	18.61	53776	0.83	22.48	34875	0.28	9.63
10	23.08	57452	0.68	28.21	29493	0.23	9.83

在柱长确定时, 电场强度的增大, 使电渗流增大, 因此随着运行电压的增加, 头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的迁移时间均显著减小(表 6)。升高电压, 提高了柱效, 改善了峰形, 但两者的分离度下降。同时, 电压太高, 将使柱内的焦耳热增加, 不利于样品的稳定。由于电压在 10~17 kV 范围内, 头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛均能达到基线分离, 综合考虑, 选用运行电压为 15 kV, 此时既能使头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛有效分离, 又有较合适的迁移时间, 峰形和柱效也比较满意。

#### 4.7 分离温度的变化对溶质迁移行为的影响

分离温度的变化不仅影响分离的重现性, 而且影响分离效率。温度选择应考虑热效应、重现性控制、分离效率控制和分离介质对温度的限制等因素。以磷酸盐缓冲液(配制含 100 mmol·L<sup>-1</sup> SDS 的 70 mmol·L<sup>-1</sup> 的磷酸氢二钠溶液, 用 1 mol·L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液或磷酸溶液调节 pH 为 6.2)为运行缓冲液, 分别考察了分离温度为 15, 20, 25, 30 °C 时, 对头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛迁移行为的影响。结果见表 7。

表 7 分离温度对头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛迁移行为的影响

Tab 7 Effect of temperature on the migration behavior of cefaclor and  $\Delta$ -3- cefaclor

分离温度 (temperature) /°C	$\Delta$ -3-头孢克洛 ( $\Delta$ -3- cefaclor)			头孢克洛 (cefaclor)			
	t/min	N	$\alpha$	t/min	N	$\alpha$	R
30	10.05	76804	1.10	11.11	66594	0.76	6.69
25	10.71	67984	0.81	11.96	58165	0.56	7.45
20	13.14	70319	0.79	15.37	59008	0.39	9.83
15	15.63	67668	0.84	19.11	39273	0.23	11.65

分离温度的降低, 使电渗流减小, 缓冲液的粘度增加, 溶质的淌度减小, 因此头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的迁移时间显著增大(表 7)。此外, 分离温度的变化, 对头孢克洛的柱效和峰形及头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的分离度影响较大, 低温时两者的分离度较大, 但头孢克洛的柱效及对称性明显下降, 由于温度在 15~30 °C 范围内头孢克洛与  $\Delta$ -3-头

孢克洛均能达到基线分离, 因此, 选择分离效果较好、迁移时间适中而又最接近室温的 25 °C 为分离温度。

#### 5 结论

采用 MECC 法可以分析头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛, 且头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的分离行为受运行缓冲液的浓度及 pH、SDS 浓度、甲醇体积分数、分离电压和分离温度等因素的影响。以头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的分离度、样品的稳定性和分析时间为优化的依据, 可从分离效果和分析速度两方面对分离条件进行优化。经优化后确定分离头孢克洛与  $\Delta$ -3-头孢克洛的电泳条件为: 运行缓冲液为含 30 mmol·L<sup>-1</sup> SDS 的 10 mmol·L<sup>-1</sup> 磷酸氢二钠溶液, 用 1 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液或磷酸溶液调节 pH 为 6.0~7.5。分离电压为 15 kV, 分离温度为 25 °C。

#### 参考文献

- 1 Aggarwal M, Sinha R, Murali MV, et al. Comparative efficacy and safety evaluation of cefaclor vs amoxicillin + clavulanate in children with acute otitis media (AOM). *Indian J Pediatr*, 2005, 72(3): 233
- 2 A s van ich K, Fugphongam V, Srinuang S et al. Cefaclor therapy in uncomplicated cystitis. *J Med Assoc Thai*, 1997, 80(11): 742
- 3 Ahmed A, Hafiz S, Rafiq M, et al. Determination of antimicrobial activity of cefaclor on common respiratory tract pathogens in Pakistan. *J Pak Med Assoc*, 2002, 52(1): 7
- 4 ZHENG Hu(郑虎). *Pharmaceutical Chemistry(药物化学)*. Beijing(北京): People's Medical Publishing House(人民卫生出版社), 2003: 261
- 5 BP. 2007: 397
- 6 ChP(中国药典). 2005. Vol II (二部). 138
- 7 USP 30. 2007: 1644
- 8 EP. 6th edition. 2008: 1435
- 9 JIA Li(贾丽), ZHOU Wei(周维). Separation of cefaclor and  $\delta$ -3-cefaclor by capillary zone electrophoresis(头孢克洛与  $\delta$ -3-头孢克洛的毛细管区带电泳分离). *J Instrum Anal* (分析测试学报), 2003, 22(4): 55
- 10 LIN Bing-cheng(林炳承). *Guide of Capillary Electrophoresis(毛细管电泳导论)*. Beijing(北京): Science Press(科学出版社), 1996: 50

(本文于 2008 年 3 月 27 日收到)