

气相色谱法测定克拉维酸钾中苯的残留量

郑 婷 刁 夏* 刘君臣

山西双雁生物科技有限公司 山西 大同 037000

摘 要: 建立了顶空毛细管气相色谱法测定克拉维酸钾中苯残留的检验方法。采用DB-1色谱柱,使用FID检测器,以N₂为载气,程序升温。经方法学验证,建立的方法专属性及系统适用性良好,苯在定量限~120%限度浓度范围内线性关系良好,苯的回收率为83.6%,RSD为2.6%,定量限和检测限分别为0.01μg/ml、0.002μg/ml。所用方法灵敏准确,适用于克拉维酸钾原料药中苯残留的测定。

关键词: 克拉维酸钾; 苯残留; 气相色谱; 测定

克拉维酸钾是在分离链霉菌的培养液中分离得到的一种新型β-内酰胺类抗生素,对金黄色葡萄球菌和许多革兰阴性菌产生的内酰胺酶具有较好的抑制作用。克拉维酸钾在临床上主要和阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林等其他青霉素类和头孢菌素类药物联合应用^[1-3]。化学合成法制备克拉维酸钾时用到了甲醇、异丙醇和乙酸乙酯等多种溶媒,甲醇和异丙醇的使用在一定程度上会引入苯的残留。苯作为中国药典规定的1类溶剂,对人体危害较大,因此测定苯残留量对于控制克拉维酸钾质量非常重要。经调研,中国药典、欧洲药典、美国药典中均没有克拉维酸钾中苯残留量的测定方法^[4-5],为此笔者开发了毛细管气相色谱法测定克拉维酸钾中苯残留量,方法的灵敏度高,结果准确。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

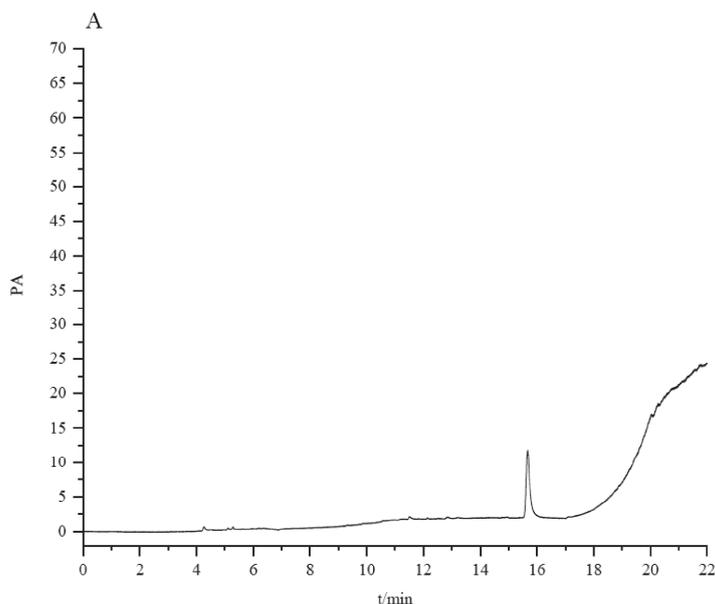
GC 8890气相色谱仪,Agilent 7697A型顶空进样装置(Agilent); METTLER TOLEDO MS204TS分析天平。

苯(分析纯)、二甲基亚砜(分析纯);克拉维酸钾原料药(批号分别为KLJ-XS201904001、KLJ-XS201904002、KLJ-XS201904003、KLJ-XS201904004)。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件

采用Agilent DB-1色谱柱,30m×0.32mm,3.0μm,程序升温(40℃保持4min,以20℃/min的速率升温至100℃,再以30℃/min的速率升温至180℃,维持10min),进样口温度250℃,FID检测器,温度250℃,载气(N₂)流速为1.0 ml/min,氢气(H₂)流速为30 ml/min,空气(O₂)流速为400 mL/min,分流比为25:1。顶空条件:顶空110℃平衡30 min,定量环温度80℃,传输线温度90℃。



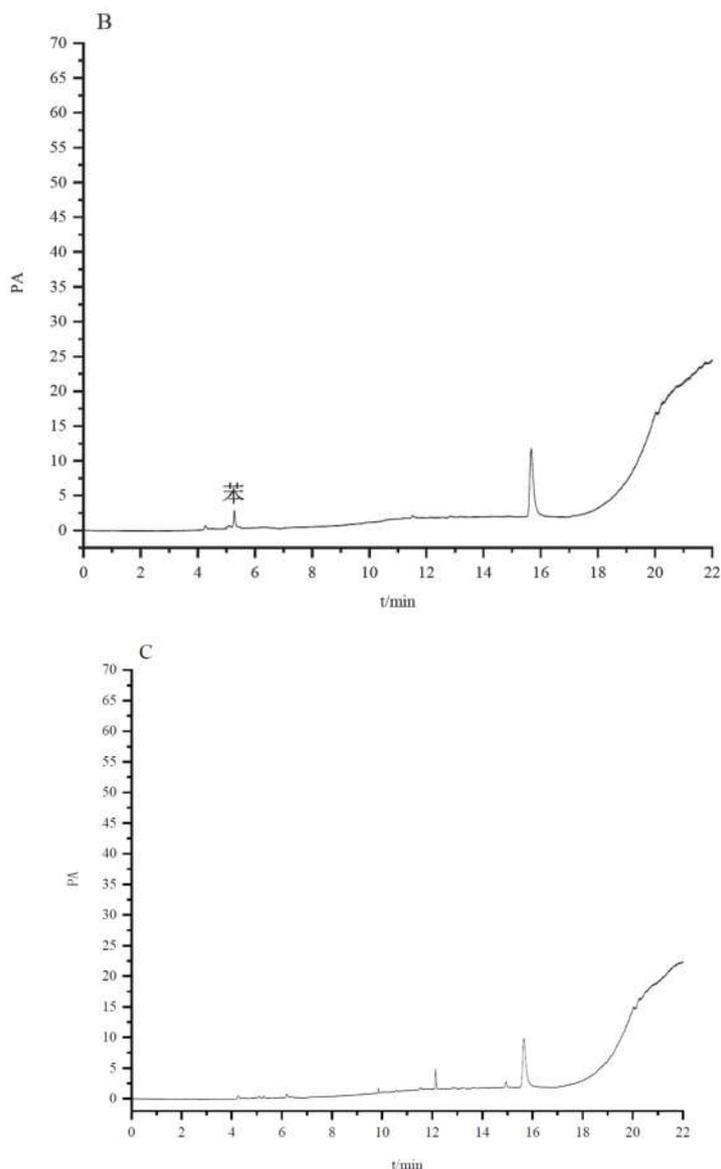


图1 空白溶剂 (A)、对照品溶液 (B) 和供试品溶液 (C)

1.2.2 溶液配制

空白溶液：1%二甲基亚砜 (DMSO) 水溶液。

标准溶液：准确称取0.2g苯于装有10ml二甲基亚砜的100ml容量瓶中，用二甲基亚砜定容，充分摇匀。移取1ml于装有10ml二甲基亚砜的100ml容量瓶中，用二甲基亚砜定容，充分摇匀。移取1ml于装有10ml水的100ml容量瓶中，用水定容，充分摇匀。

样品溶液：准确称取0.5g样品于顶空瓶中，加5ml 1%二甲基亚砜溶液溶解，压盖。

1.2.3 系统适用性试验

精密量取空白溶液、对照品溶液和供试品溶液各5 ml，置20 ml顶空瓶中，加盖，密封，按“1.2.1”项下方

法测定。空白溶剂在苯出峰位置处无干扰峰，供试品溶液中无干扰待测组分的干扰峰出现。对照品溶液连续重复进样5次，所得待测组分峰面积的RSD为1.7%。

1.2.4 线性试验

精密量取1.2.2项下对照品储备液0.2 ml、0.4 ml、0.6 ml、0.8 ml、1.0 ml、1.2 ml、1.5 ml和2.0 ml，加水定容，摇匀，作为不同浓度的对照品线性溶液，进样测定。以苯浓度 ($\mu\text{g/ml}$) 对峰面积进行线性回归，回归方程为 $y = 223.10x + 17.388$ ($n = 8$)， $r = 0.9987$ ，结果表明，苯浓度在0.004 ~ 0.24 $\mu\text{g/ml}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

1.2.5 精密度试验

精密量取空白溶液5 mL、对照品溶液5 mL (平行制

备5份)、供试品溶液5 mL(平行制备6份),分别进样测定。计算得对照品溶液中苯的峰面积的RSD为4.2%,6份供试品溶液中苯单人测定结果的RSD为7.4%;双人测定结果的RSD为8.0%。

1.2.6 回收率试验

准确称取0.2g苯于装有10ml二甲基亚砜的100ml容量瓶中,用二甲基亚砜定容,充分摇匀。移取1ml于装有10ml二甲基亚砜的100ml容量瓶中,用二甲基亚砜定容,充分摇匀,得加标回收溶液。精密称取克拉维酸钾样品0.5 g,共12份于顶空瓶中,在三个顶空瓶内加入5 mL1%二甲基亚砜,加盖,密封;在剩下的九个顶空瓶内精确加入40 μ L、50 μ L和60 μ L加标回收溶液各3份,分别用1%二甲基亚砜补足至5 ml,加盖,密封,按“1.2.1”项下方法测定。计算得苯的平均回收率为83.6%,RSD为2.6%。

样品含量 (μ g/ml)	加入量 (μ g/ml)	测定量 (μ g/ml)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.060	0.161	0.183	82.6	83.6	2.6
0.060	0.161	0.179	81.1		
0.060	0.161	0.179	80.9		
0.060	0.202	0.221	84.4		
0.060	0.202	0.221	84.6		
0.060	0.202	0.226	86.6		
0.060	0.242	0.260	86.2		
0.060	0.242	0.256	84.9		
0.060	0.242	0.245	81.3		

1.2.7 定量限和检测限

准确称取0.2g苯于装有10ml二甲基亚砜的100ml容量瓶中,用二甲基亚砜定容,充分摇匀。移取1ml于装有10ml二甲基亚砜的100ml容量瓶中,用二甲基亚砜定容,充分摇匀。移取1ml于装有10ml水的100ml容量瓶中,用水定容,充分摇匀。逐步稀释,进行测定。在主峰前面或后面选一段比较平直的基线检测基线噪音,查看其信噪比;根据信噪比,计算S/N为10:1和3:1时相应的浓度即为定量限和检测限。经测定,该方法下苯的定量限为0.01 μ g/ml,检测限为0.002 μ g/ml。

1.2.8 样品测定

分别取空白、对照品溶液和4批供试品溶液进样测定,按照中国药典2020版四部通则0521气相色谱法中的外标法计算供试品中苯残留。四批克拉维酸钾原料药中

苯残留分别为0.009ppm、0.007ppm、未检出、未检出。结果显示4批样品中2批未检出,2批苯残留低于定量限,远低于限度2ppm的标准规定。

2 讨论

(1)二甲基亚砜(DMSO)属于ICH和中国药典规定的第3类溶剂,毒性相对较小,且苯在DMSO中的溶解性较好,可以保证样品中苯充分溶解^[6-7]。且通过试验显示DMSO的出峰不干扰测定。

(2)ICH和中国药典规定的苯残留为2 μ g/ml,本方法的检测限和定量限分别为0.01 μ g/ml和0.002 μ g/ml,可以准确测定样品中苯残留。

(3)通过更换同系列色谱柱和微调升温程序,检测结果均满足方法学验证的耐用性要求,证明方法耐用性良好^[8-9]。

(4)四批样品检测结果显示样品中苯残留是符合规定要求的,因此将ICH和中国药典规定的2ppm限度作为克拉维酸钾苯残留的限度。本方法为克拉维酸钾有效控制苯残留提供了一种可靠准确的测定方法。

参考文献

- [1]李静武.阿莫西林克拉维酸钾薄膜衣片初步一致性评价研究[D].广东:华南理工大学硕士学位论文,2020.
- [2]何晓周鹏.阿莫西林克拉维酸钾分散片的工艺研究[J].辽宁化工.2020,49(10)
- [3]王莉.阿莫西林/克拉维酸钾联合短期地塞米松治疗小儿化脓性扁桃体炎的疗效观察[J].中外医疗.2018,37(27)
- [4]2020版中国人民共和国药典二部:克拉维酸钾标准[S].
- [5]美国药典USP-NF2023:Clavulanate Potassium[S].
- [6]谢桂添.阿莫西林与阿莫西林克拉维酸钾不良反应情况对比[J].内蒙古医学杂志.2018,50(10)
- [7]胡忆诺,汪梦蝶等.气相色谱法同时测定苯酰甲硝唑原料药中乙醇甲苯和吡啶残留量[J].医药导报.2022,41(01).
- [8]王琪,黄霖.顶空毛细管气相色谱法测定氨苄西林原料药中5种有机溶剂残留量[J].药品评价.2021,18(18).
- [9]吴海峰.盐酸布桂嗪中残留溶剂苯的测定[J].青海医药杂志.2013,43(07).