

顶空气相色谱法测定硫酸卡那霉素中的乙醇残留

曾嘉斌, 蒋祖艳*, 郑亚东, 孙婉秋, 姚健

新宇药业股份有限公司 安徽宿州

【摘要】建立一种用于测定硫酸卡那霉素中的乙醇的顶空气相色谱法, 采用外标法进行测定。对分析方法的专属性、线性、重复性、准确度、检测限、定量限进行验证。结果表明, 本法专属性良好, 在范围内线性关系良好 ($r=0.9997$), 重复性 RSD 为 0.75%, 准确度平均回收率为 93.9%, RSD 为 2.3%, 检测限与定量限分别为 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 、0.05 $\mu\text{g/mL}$, 相当于样品中乙醇浓度分别 0.02ppm、0.1ppm。该方法简便灵敏, 可用于硫酸卡那霉素中乙醇残留的定量测定。

【关键词】卡那霉素; 乙醇; 顶空气相色谱

Determination of ethanol residues in kanamycin sulfate by headspace gas chromatography

Jiabin Zeng, Zuyan Jiang*, Yadong Zheng, Wanqiu Sun, Jian Yao

Xinyu Pharmaceutical Co., Ltd. Suzhou, Anhui

【Abstract】A headspace gas chromatography method for the determination of ethanol in kanamycin sulfate was established, and the external standard method was used for the determination. The specificity, linearity, repeatability, accuracy, detection limit and quantification limit of the analytical method were verified. The results show that this method has good specificity, good linear relationship within the range ($r=0.9997$), the repeatability RSD is 0.75%, the average recovery rate of accuracy is 93.9%, the RSD is 2.3%, the detection limit and quantification limit are 0.01, respectively $\mu\text{g/mL}$ and 0.05 $\mu\text{g/mL}$, which are equivalent to 0.02ppm and 0.1ppm of ethanol in the samples, respectively. The method is simple and sensitive, and can be used for the quantitative determination of ethanol residues in kanamycin sulfate.

【Keywords】Kanamycin; Ethanol; Headspace gas chromatography

引言

硫酸卡那霉素是一种抗菌药物, 主要的有效成分是卡那霉素。卡那霉素属于氨基糖苷类的抗生素^[1], 对多种肠杆菌科, 比如大肠埃希菌、克雷伯菌、肠杆菌、变形杆菌、志贺菌、沙门菌还有枸橼酸杆菌都有一定的抗菌作用, 另外它对流感杆菌、布鲁菌以及脑膜炎球菌也都有有一定的敏感性。除此之外, 它对葡萄球菌和结核分枝杆菌也有一定的抗菌作用。硫酸卡那霉素主要通过和细菌核糖体相应位置结合, 从而抑制细菌蛋白质的合成, 而发挥抗菌的作用。硫酸卡那霉素在临床上使用的制剂主要包括硫酸卡那霉素注射液, 它的注射液主要用于严重的

感染性疾病, 比如肺炎、败血症、腹腔感染等。另外使用的还有硫酸卡那霉素滴眼剂, 主要可以用于眼部的感染性疾病^[2,3]。

卡那霉素的生产多采用微生物发酵法, 其为链霉菌在含淀粉、蛋白质等的培养基中发酵时的次级代谢产物, 后提取过程中经与硫酸成盐、乙醇结晶得硫酸卡那霉素^[4,5]。虽然, 乙醇为三类溶剂, 但残留超标仍有可能有使用该药物的人群造成一定的损害^[6]。因此, 依据《中华人民共和国药典》, 结合《化学药物残留溶剂研究的技术指导原则》和《化学药物质量控制分析方法验证指导原则》^[7], 建立了顶空气相色谱法测定硫酸卡那霉素中的乙醇残

作者简介: 曾嘉斌 (1994-) 女, 汉族, 安徽宿州, 本科, 工程师, 助理工程师, 研究方向: 药品研发质量研究。

*通讯作者: 蒋祖艳 (1989-) 汉族, 安徽宿州, 硕士, 工程师, 研究方向: 药品质量研究及药品注册。

留, 经方法学验证, 所建立的方法准确度好, 操作方便、可行性高。

1 仪器和试剂

仪器: Agilent7890B 气相色谱仪, 氢火焰离子化检测器 (FID), Agilent7697 顶空进样器, FA2004B 电子天平 (上海天美天平仪器有限公司)。

样品: 硫酸卡那霉素 (新宇药业股份有限公司, 批号: 200601)

对照品: 乙醇 (国药集团, 纯度 99.9%)

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: DB-624 (30m*0.53mm, 3 μ m); 程序升温: 50 $^{\circ}$ C 初温, 保持 10min, 然后以 30 $^{\circ}$ C/min 的速率升至 150 $^{\circ}$ C, 保持 2min; 流量: 2mL/min; 进样口温度: 200 $^{\circ}$ C; 检测器温度: 250 $^{\circ}$ C; 分流比: 10:1; 进样体积: 1mL。

顶空条件: 平衡温度 100 $^{\circ}$ C, 平衡时间 15min, 传输线温度 90 $^{\circ}$ C, 定量环温度 110 $^{\circ}$ C。

2.2 溶液的制备

(1) 对照品贮备液 于 50mL 容量瓶中加入少量水, 精确称取乙醇 0.25g, 混匀, 加水至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。

(2) 对照品溶液 准确移取上述标准贮备液 5 mL 于 50mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液, 精密量取对照品溶液 5mL, 置顶空瓶中, 密封。

(3) 供试品溶液 精密称量卡那霉素样品 2.5g 于 50 容量瓶中, 加水溶解, 定容至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液, 精密量取供试品溶液 5mL, 置顶空瓶中, 密封。

2.3 专属性试验

以纯化水作为溶剂空白溶液, 另取乙醇对照品溶液, 按上述残留溶剂测定方法, 注入气相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1~2。

取供试品溶液, 按上述残留溶剂测定方法, 注入气相色谱仪, 记录色谱图, 见图 3。

结果表明, 空白溶液及供试品均对硫酸卡那霉素中的残留溶剂乙醇的测定无干扰, 该方法具有良好的专属性。

2.4 检测限与定量限

按信噪比约为 3 时的浓度作为检测限浓度, 按

信噪比约为 10 时的浓度作为定量限浓度, 乙醇的检测限为 0.01 μ g/mL, 相当于样品中乙醇浓度 0.02ppm; 定量限为 0.05 μ g/mL, 相当于样品中乙醇浓度 0.1ppm。见图 4~5。

2.5 线性范围

精密量取对照品贮备液 0.3, 0.5, 0.8, 1, 1.5, 2ml, 置 10ml 容量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 配制系列浓度对照品溶液, 依法测定, 以乙醇浓度为横坐标 (x), 其峰面积为纵坐标 (y) 计算回归方程, 结果表明, 乙醇浓度在 150~1000 μ g/mL 范围内线性良好。

2.6 精密度试验

取线性试验样品 (浓度为 500 μ g/mL), 按上述残留溶剂测定方法, 注入气相色谱仪, 连续进样 6 次, 测定乙醇峰面积。6 次测定结果的 RSD 为 0.75%, 表明方法精密度良好, 适用于卡那霉素残留溶剂的检查。

2.7 准确度试验

配制乙醇标准贮备液 1500 μ g/mL, 分别准确称取卡那霉素样品 2.5g, 以上述标准贮备液稀释溶解并定容至 25mL, 分别配制成加标 50%、100%、150% 的测试溶液。每个浓度三份, 根据“2.1”项下色谱条件进行测定, 检测结果表明, 乙醇加标平均回收率为 93.9%, RSD 为 2.3%。结果见表 2。

2.8 检验结果

按照卡那霉素残留溶剂测定方法, 乙醇的限度为 $\leq 0.5\%$ 。对新宇药业股份有限公司 3 批样品进行检查, 结果见表 3。结果显示, 乙醇的限度符合质量标准的要求。

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

(1) 色谱柱的选择

乙醇为极性溶剂, 根据相似相溶原理, 分别对 DB-5、DB-624、VF-17ms 以及 HP-INNOWAX^[8] 进行考察, 发现 DB-624 乙醇检测的灵敏度最高。

(2) 进样方式的选择

本试验中待测残留溶剂乙醇为低沸点溶剂, 采用顶空进样法能够避免样品对进样口及色谱柱的污染, 也避免了直接进样法导致的基质干扰以及对色谱柱造成的伤害, 同时还可提高检测方法的精密度, 使检测方法的重现性更易得到保证。

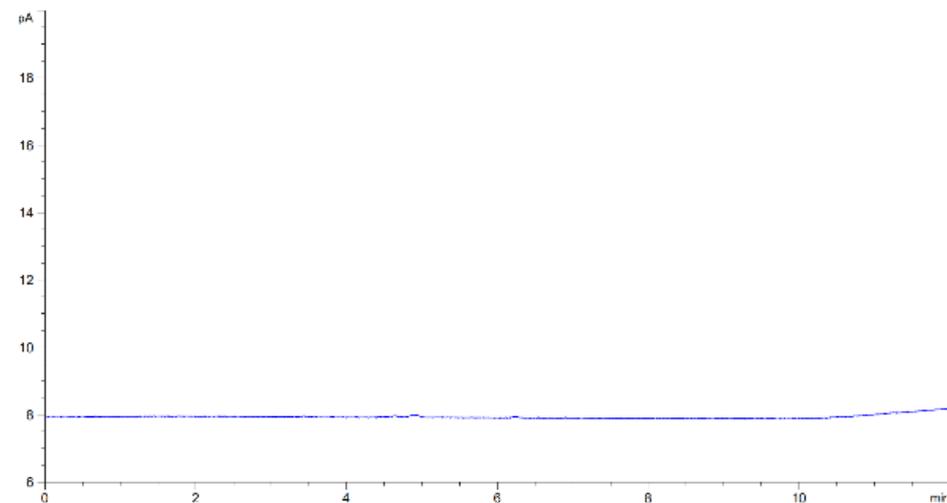


图 1 空白溶液

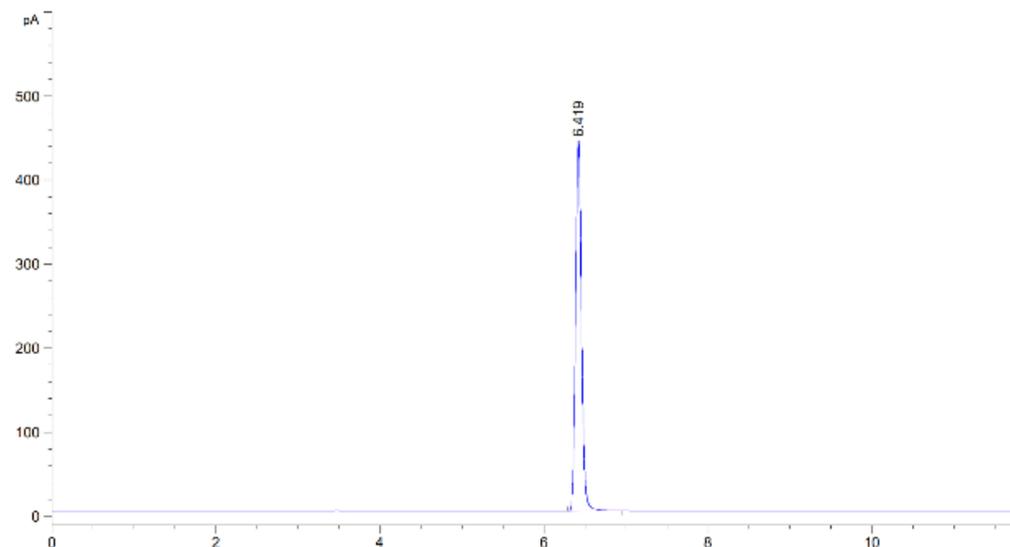


图 2 对照品溶液

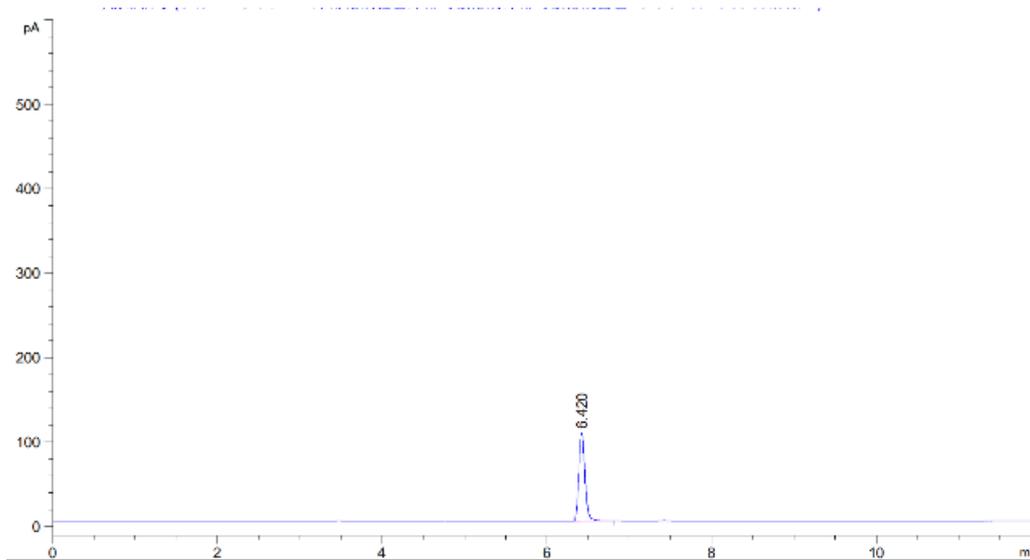


图 3 供试品溶液

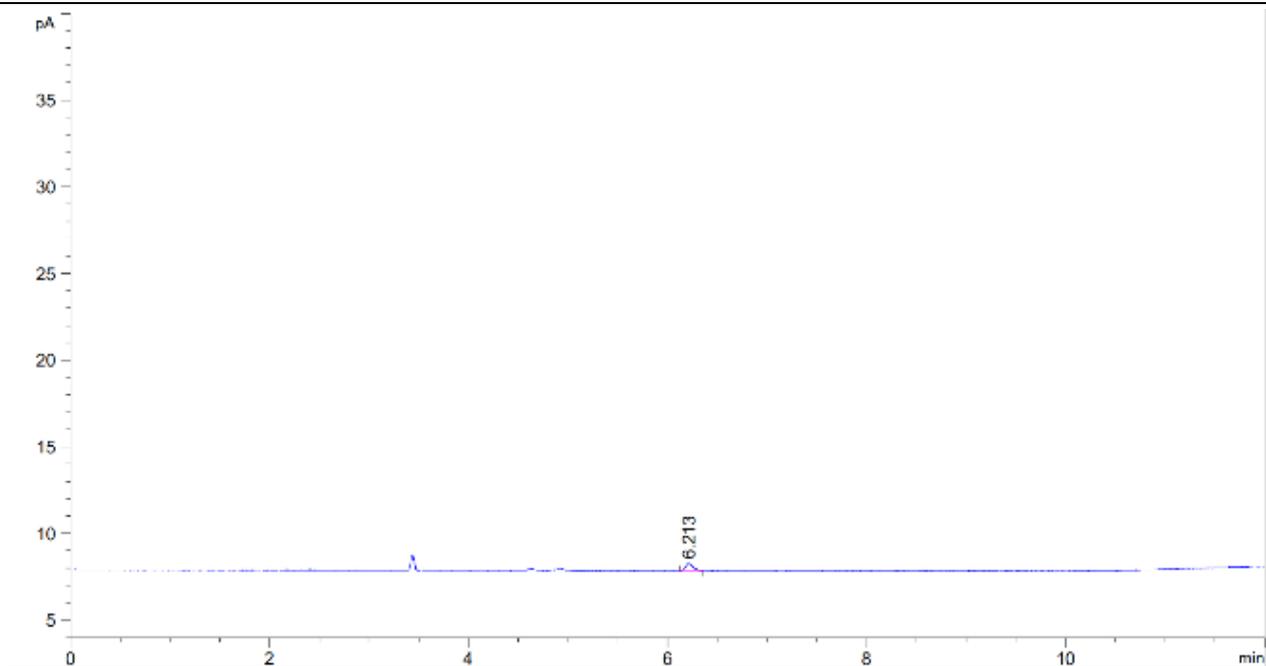


图 4 检测限

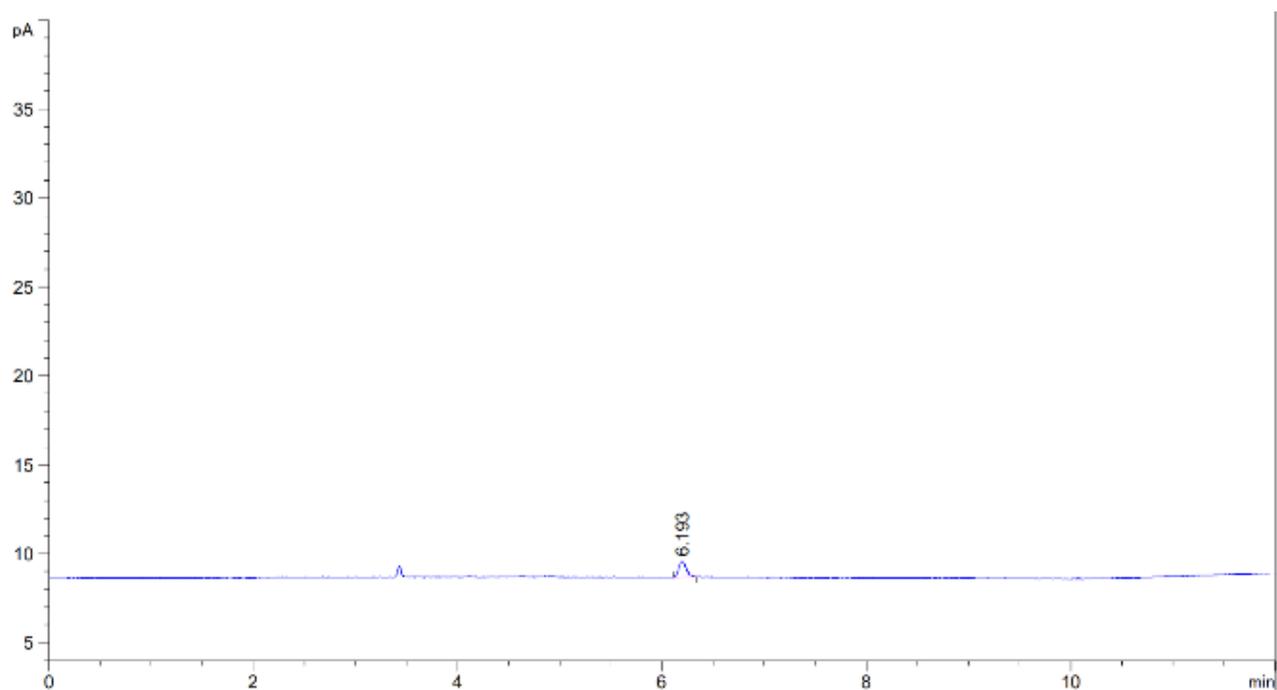


图 5 定量限

表 1 乙醇的线性测定

项目	1	2	3	4	5	6
浓度(μg/mL)	150	250	400	500	750	1000
峰面积	678.7	1144.5	1752.1	2214.4	3368.3	4357.1
线性方程	$y = 4.3782x + 23.36$					
相关系数	$r = 0.9997$					

表 2 准确度试验结果

名称	回收率/%			平均回收率/%	RSD/%
	低浓度	中浓度	高浓度		
乙醇	96.4	93.2	92.2	93.9	2.3

表 3 卡那霉素残留溶剂检查结果

批号	乙醇限度/%
200601	0.06
200602	0.09
200603	0.07

(3) 顶空平衡温度的选择

分别考察乙醇在平衡时间 10min、15min 和 30min 时的色谱响应值, 得到最佳平衡时间为 15min。平衡时间大于 15min 以后, 乙醇的峰响应值不再增加, 说明其已在气液两相间达到平衡。

(4) 稀释剂的选择

顶空气相色谱法测定残留溶剂的一个关键是选择合适的稀释剂, 在该检测方法中, 硫酸卡那霉素及乙醇在水中均有良好的溶解度, 以水作为溶剂能有效的使乙醇溶出且毒性小。

3.2 稳定性的考察

配制一份样品在室温条件下放置 48h, 考察样品的加标回收率为 110%, 符合回收率 80%~120% 的要求, 说明室温放置 48h, 样品溶液中的其他组分对乙醇残留检测无影响。

3.3 耐用性的考察

分别考察初始温度、进样口温度、柱流量等色谱条件微小变化时, 样品中乙醇残留的加标回收率。结果表明, 初始温度 $50 \pm 5^\circ\text{C}$, 进样口温度 $200 \pm 20^\circ\text{C}$, 柱流量 $2 \pm 0.2 \text{ mL/min}$, 样品的乙醇残留 RSD 均小于 10%。说明该方法的耐用性良好, 适用于卡那霉素中乙醇残留的测定。

3.4 限度的确定

按照中国药典 2020 年版四部通则 0861“残留溶剂测定法”和人用药物注册技术要求国际协调会议 (ICH) 对残留溶剂限度的要求 Q3C (R7), 拟定乙醇的残留溶剂限度为 $\leq 0.5\%$ 。

4 结语:

本研究中, 乙醇在考察范围内线性良好, r 为 0.9997, 加标平均回收率为 93.9%, RSD 为 2.3%,

检测限为 $0.01 \mu\text{g/mL}$, 相当于样品中乙醇浓度 0.02ppm。

综上, 该方法操作简单, 重复性、准确性好, 适用于硫酸卡那霉素中乙醇溶剂的残留测定。

参考文献

- [1] 刘丽强, 华朱鸣, 许定花, 陈伟, 胥传来. 卡那霉素酶联免疫检测方法的建立及检测条件的优化[J]. 食品科学, 2009, 30(18):350-355.
- [2] 蒋孟虹, 裘亚, 张杨慧, 赵敬丹, 张含智, 秦峰, 刘浩. 硫酸卡那霉素注射液及滴眼液的质量评价[J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(03):327-333.
- [3] 张杨慧, 蒋孟虹, 秦峰, 刘浩. 柱后衍生化-HPLC 法测定硫酸卡那霉素注射液及滴眼液的含量[J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(01):88-93.
- [4] 高艳芳, 周爱南, 王维维, 李建其. 顶空气相色谱法测定 SIP I6398 原料药中的九种残留溶剂[J]. 中国药物化学杂志, 2022, 32(05):348-353.
- [5] 赵晨迪, 王梅, 杨丽, 杨勇, 黄江, 吴敬杰. 双色谱柱双 FID 顶空气相色谱法测量乙醇浓度的一致性评价[J]. 现代预防医学, 2022, 49(03):508-512.
- [6] 龚士学, 王白露, 张锦, 程辉跃, 吴蔚. 气相色谱法测定丁胺卡那霉素中乙醇的含量[J]. 药物分析杂志, 1996(06):41-42.
- [7] 骆海春, 陈高健, 姚起艳, 张雪梅. 顶空气相色谱法测定珍珠明目滴眼液中乙醇残留量[J]. 中国民族民间医药, 2021, 30(24):45-48.
- [8] 任英, 刘延凤. 顶空气相色谱法测定吡非尼酮中有机溶

剂残留量[J].药学研究,2013,32(5):271-272.

收稿日期: 2022 年 6 月 12 日

出刊日期: 2022 年 7 月 26 日

引用本文: 曾嘉斌, 蒋祖艳, 郑亚东, 孙婉秋, 姚健, 顶空气相色谱法测定硫酸卡那霉素中的乙醇残留[J].

国际医药研究前沿, 2022, 6(2) : 132-137.

DOI: 10.12208/j.imrf.20220080

检索信息: RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网 (CNKI Scholar)、万方数据 (WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

版权声明: ©2022 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS