

GC 测定注射用阿莫西林钠中残留的有机溶剂

应国红, 邓颖, 李玉兰, 黄志强(深圳市药品检验所, 广东 深圳 518029)

摘要: **目的** 建立注射用阿莫西林钠有机溶剂残留量的测定方法。**方法** 采用顶空进样毛细管气相色谱法, 色谱柱为 DB-624 毛细管柱(30 m×0.25 mm, 1.4 μm), 柱温: 40 ℃, 顶空温度 85 ℃, 平衡时间: 30 min, 进样口温度: 200 ℃, FID 检测器温度: 250 ℃, 以正丙醇为内标, 高纯氮气为载气, 测定了注射用阿莫西林钠中 7 种有机溶剂的残留量。**结果** 各有机溶剂均能得到有效分离, 在所考察的浓度范围内线性关系良好, r 为 0.999 0~0.999 8, 平均回收率为 91.3%~105.7%。

结论 本方法灵敏、简便、结果准确, 可用于注射用阿莫西林钠中残留溶剂的检测。

关键词: 注射用阿莫西林钠; 顶空气相色谱法; 残留溶剂

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)08-0738-04

Determination of Residual Organic Solvents in Amoxicillin Sodium for Injection by GC

YING Guohong, DENG Ying, LI Yulan, HUANG Zhiqiang(*Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518029, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of residual organic solvents in amoxicillin sodium for injection. **METHODS** A DB-624 capillary column(30 m×0.25 mm, 1.4 μm) was used at 40 ℃, the headspace temperature was 85 ℃ and kept for 30 minutes, the temperature of inlets and FID detector were 200 ℃ and 250 ℃, propanol as internal standard,

作者简介: 应国红, 女, 硕士, 副教授, 副主任药师

Tel: (0755)26031751

E-mail: guohonging2004@163.com

high purity nitrogen as the carry gas. **RESULTS** Seven residual organic solvents were completely separated and there were good linearities($r=0.999\ 0-0.999\ 8$). The average recovery rate was in the range of 91.3%–105.7%. **CONCLUSION** The method proved to be sensitive, simple and accurate, and can be used for determination of residual organic solvents in amoxicillin sodium for injection.

KEY WORDS: amoxicillin sodium for injection; headspace GC; residual organic solvents

注射用阿莫西林钠为临床常用抗生素之一,阿莫西林通过抑制细菌细胞壁合成而发挥杀菌作用,可使细菌迅速成为球状体而溶解、破裂。阿莫西林钠在生产过程中可能带进并残留有一定量的溶剂,不同企业由于生产工艺的差异使产品残留溶剂有所不同,这些残留溶剂可能对人体造成不同程度的损害,必须予以控制。关于阿莫西林钠残留溶剂的检测方法,国内也有相关研究^[1],但检出的溶剂种类较少。本所担任 2009 年对注射用阿莫西林钠国家评价性抽验任务以来,参照中国药典 2005 年版附录中残留溶剂测定法的要求^[2],同时参考有关文献^[3-4],采用顶空进样的气相色谱法对来自 6 个不同生产企业的 6 批注射用阿莫西林钠中的有机溶剂进行了测定,建立了同时测定 7 种溶剂的毛细管气相色谱法。实验结果显示,该方法简便快捷,结果准确。

1 仪器与试剂

岛津 GC-2010 气相色谱仪(日本岛津),包括 FID 检测器,GC Solution 色谱工作站;TEKMAR DOHRMANN Headspace Autosampler 7000 顶空进样器。

甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸甲酯、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丙醇、丁酮,均为分析纯。6 批注射用阿莫西林钠分别由 6 家制药企业提供(石药集团,批号:08091422;哈药集团,批号:A090101317;华北制药集团,批号:09047103;山西仟源制药有限公司,批号:20080701;珠海联邦制药股份有限公司,批号:80808601;山东鲁抗医药股份有限公司,批号:081201)。水为自制超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 DB-624 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 1.4 μm),进样口温度 200 °C, FID 检测器温度 250 °C,柱温 40 °C,载气为高纯氮气,流速 1.0 mL·min⁻¹,分流比 20:1,进样量 1.0 mL,顶空进样:顶空瓶平衡温度 85 °C,平衡 30 min,各色谱峰理论板数均大于 5 000,分离度符合规定。

2.2 确定样品中所涉及的残留溶剂的种类

采用中等极性的 DB-624 毛细管柱,按照标准

的程序升温条件^[2],用顶空法进样分别对 6 批来自不同企业的样品测定各挥发性组分的保留时间,以丁酮为参比,计算各组响应峰相应于丁酮峰的相对保留时间,初步推断出所有供试品中均含有乙醇及丙酮,部分含有异丙醇,另外发现有 2 个企业的产品除检出乙醇、丙酮峰外,还检出甲醇、乙酸甲酯及乙酸乙酯峰。验证:取含有上述溶剂的供试品溶液和加有乙醇、丙酮、异丙醇、甲醇、乙酸甲酯及乙酸乙酯的供试品溶液分别进样,结果各对应峰完全重合。

2.3 检测方法的建立

2.3.1 色谱柱的选择 考虑到残留溶剂极性的差异,选择中等极性的 DB-624 毛细管柱。

2.3.2 顶空温度的选择 参照中国药典 2005 年版条件,对顶空瓶平衡温度和平衡时间进行考察,分别选择了 75 °C 和 85 °C 的顶空平衡温度平衡 30 min,结果表明 2 种温度下所出的色谱峰的数目及位置相似,但 85 °C 时各峰面积比 75 °C 明显增大,故选择 85 °C 的顶空平衡温度平衡 30 min 的色谱条件。

2.3.3 溶剂及内标的选择 注射用阿莫西林钠为水溶性样品,故选择水为溶解介质。内标首先考察了丁酮,发现样品中内标丁酮的色谱峰峰面积比空白溶液中内标丁酮的峰面积明显减小,说明存在基质效应,改用正丙醇为内标后消除这一现象,故选择正丙醇为内标。

2.3.4 柱温的选择 参照中国药典 2005 年版附录,选择 40 °C 柱温,各组分峰有效分离,含内标组分的空白峰对各组分峰均无干扰,色谱图见图 1。

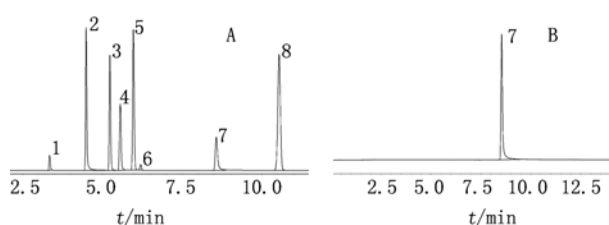


图 1 对照品溶液及内标溶液的气相色谱图

A-对照品溶液; B-内标溶液; 1-甲醇; 2-乙醇; 3-丙酮; 4-异丙醇; 5-乙酸甲酯; 6-二氯甲烷; 7-内标; 8-乙酸乙酯

Fig 1 gas chromatogram of control and internal standard

A-control; B-internal standard; 1-methanol; 2-ethanol; 3-acetone; 4-isopropanol; 5-acetate; 6-dichloromethane; 7-internal standard; 8-acetoacetate

2.4 溶液制备

2.4.1 内标溶液配制 取正丙醇适量，精密称定，加水制成每 1 mL 含正丙醇 0.2 mg 的溶液。

2.4.2 对照品储备液的配制 精密称取甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸甲酯、二氯甲烷、乙酸乙酯适量，用内标溶液制成含甲醇 3 mg·mL⁻¹、二氯甲烷 0.6 mg·mL⁻¹ 及其余各组分 5 mg·mL⁻¹ 的混合溶液。

2.4.3 供试品溶液制备 取注射用阿莫西林钠约 0.4 g，精密称定，置 22 mL 顶空瓶内，精密加入 5 mL 内标溶液使样品溶解并摇匀即得。

2.5 线性关系考察

精密量取对照储备溶液，制成由低到高的系列浓度的溶液，依法进样(每个浓度平行做 2 份)。以各组分峰面积与内标峰面积之比(Y)与各组分浓度(X)进行线性回归，结果见表 1。

表 1 回归方程与线性范围(n=7)

Tab 1 Linear range and regression equations of calibration (n=7)

组分	回归方程	r	线性范围/μg·mL ⁻¹
甲醇	Y=1.575 4X+0.003 2	0.999 1	12.2~243.4
乙醇	Y=3.14 1X-0.005	0.999 8	24.2~402.7
丙酮	Y=9.969 7X-0.025 9	0.999 8	24.2~403.6
异丙醇	Y=5.813 7X-0.019 4	0.999 8	24.3~405.2
乙酸甲酯	Y=11.6X-0.099 2	0.999 9	20.0~400.4
二氯甲烷	Y=1.86X-0.007	0.999 8	11.8~197.5
乙酸乙酯	Y=19.797X-0.109	0.999 7	24.4~407.4

2.6 精密度

2.6.1 重复性 精密量取对照品储备液 4 mL 置 100 mL 量瓶，加内标溶液稀释至刻度，精密量取 6 份，每份 5 mL，置 22 mL 顶空瓶中依法测定，结果甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸甲酯、二氯甲烷、乙酸乙酯对照品峰与内标峰面积比的 RSD 分别为 1.7%，2.0%，2.8%，2.2%，2.3%，3.4%，2.9%，均小于 5%。

2.6.2 日内精密度 取批号为 80808601 供试品 5 份，依法在 1 d 内测定，结果甲醇、乙醇、丙酮、乙酸甲酯、乙酸乙酯峰与内标峰面积比的 RSD 分别为 2.5%，1.8%，3.4%，2.1%，3.2%(n=5)，均小于 5%。

2.6.3 日间精密度 取批号为 80808601 供试品，连续 3 d 各取 2 份依法检测，结果甲醇、乙醇、丙酮、乙酸甲酯、乙酸乙酯峰与内标峰面积比的 RSD

分别为 4.1%，2.6%，3.3%，3.6%，4.8%(n=6)，均不大于 5%。

2.7 回收率试验

精密量取对照品储备液 3.2, 4.0, 4.8 mL 置 100 mL 量瓶，加内标溶液稀释至刻度，取供试品(80808601，已知溶剂残留量)0.4 g，精密称定 9 份，分别置 22 mL 顶空瓶中并精密加入上述 3 种浓度的对照品溶液 5 mL，每个浓度加 3 份，振摇溶解后依法检测，结果见表 2。各组分回收率均大于 91.3%。

表 2 回收率结果(n=9)

Tab 2 The results of recovery test(n=9)

组分	80%	RSD/%	100%	RSD/%	120%	RSD/%
甲醇	104.9%	0.5	103.1%	0.4	101.1%	0.5
乙醇	105.7%	0.3	104.4%	0.2	104.0%	0.2
丙酮	96.3%	0.5	95.6%	0.5	93.0%	0.5
异丙醇	96.0%	0.5	99.5%	0.5	95.4%	0.5
乙酸甲酯	92.4%	0.4	91.4%	0.9	91.3%	0.1
二氯甲烷	92.1%	0.4	94.3%	0.5	94.6%	0.6
乙酸乙酯	92.0%	0.4	91.7%	0.9	91.9%	0.1

2.8 最低检出浓度

精密量取对照品储备液用内标溶液逐步稀释后，按上述色谱条件分别进样，测得甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸甲酯、二氯甲烷、乙酸乙酯最低检出浓度(S/N=3)分别为 0.38, 0.40, 0.10, 0.21, 0.42, 0.44, 0.10 μg·mL⁻¹。

2.9 样品稳定性试验

日内精密度试验分别为样品配制 0, 2, 4, 6, 10 h 室温放置所测结果，各溶剂组分 RSD 均小于 5.0%，表明样品在配制 10 h 内稳定性良好。

2.10 测定结果

取 6 个厂家的 6 批样品分别依法测定，结果见表 3，色谱图见图 2。

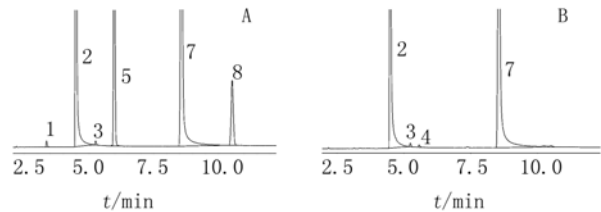


图 2 供试品溶液气相色谱图
A-供试品 I (80808601); B-供试品 II (09047103); 1-甲醇; 2-乙醇; 3-丙酮; 4-异丙醇; 5-乙酸甲酯; 7-内标; 8-乙酸乙酯

Fig 2 GC chromatogram of samples
A-sample I (80808601); B-sample II (09047103); 1-methanol; 2-ethanol; 3-acetone; 4-isopropanol; 5-acetate; 7-internal standard; 8-acetoacetate

表 3 6 批样品残留溶剂测定结果

Tab 3 The results of residual organic solvents in six samples

批号	甲醇/%	乙醇/%	丙酮/%	异丙醇/%	乙酸甲酯/%	二氯甲烷/%	乙酸乙酯/%
08091422	未检出	0.409	0.001 1	未检出	未检出	未检出	未检出
A090101317	未检出	0.335	0.001 8	未检出	未检出	未检出	未检出
09047103	未检出	0.398	0.000 7	0.000 9	未检出	未检出	未检出
20080701	未检出	0.476	0.000 6	0.001 5	未检出	未检出	未检出
80808601	0.012 4	0.471	0.000 5	未检出	0.139	未检出	0.008 1
081201	0.006 2	0.547	0.000 8	未检出	0.053	未检出	0.010 3

3 讨论

阿莫西林钠生产工艺不同，其残留溶剂的种类和残留量会有较大的差异，有的生产企业出于保密目的或其他原因，提供的工艺可能不完整，使得残留溶剂的检测存在很大的不确定性，所以应尽可能多的收集不同生产企业的生产工艺，并建立相应的多种溶剂的检测方法以达到控制药品中残留溶剂的目的。本所担任 2009 年注射用阿莫西林钠国家评价性抽验任务以来，收集到 11 个不同企业的产品并对其中 74 批进行了残留溶剂的检测，本实验仅列出 6 批具代表性的样品的残留溶剂结果，按中国药典 2005 年版附录中残留溶剂测定法的规定二氯甲烷不得过 0.06%，甲醇不得过 0.3%，其他 5 种溶剂不得过 0.5%^[2]，6 批样品有机溶剂残留量均符合规定。

中国药典(2010年版)注射用阿莫西林钠检验标准中，其残留溶剂的检测采用直接进样并以外标法计算，残留溶剂为乙醇、丙酮和二氯甲烷。上述实验表明该品种的残留溶剂可能有7种，且多种挥发性有机溶剂在同一色谱系统测定时，特别在二氯甲烷

限度要求极低的情况下，外标法准确性常不能满足要求。本试验采用以正丙醇为内标的内标法对样品中残留溶剂进行测定，实验表明正丙醇稳定、能够和各有机溶剂峰良好分离，各有机溶剂组分在所考察的浓度范围内线性关系良好，*r*为0.999 0~0.999 8，平均回收率为91.3%~ 105.7%。同时顶空自动进样技术，大大降低了对色谱柱的污染。实验结果表明本方法灵敏、简便、结果准确，可用于注射用阿莫西林钠中残留溶剂的检测。

REFERENCES

[1] CUI Y Y. Determination of residual organic solvents in amoxicillin by headspace GC [J]. Qilu Pharm Aff (齐鲁药事), 2008, 27(4): 212-213.

[2] Ch.P(2005)Vol II(中国药典. 2005 年版. 二部)[S]. 2005: Appendix VIII P.

[3] QIN L, HU C Q. Application of predicting retention times in determination of residual solvents in pharmaceuticals [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2000, 26(10): 1469-1476.

[4] LIU Y, HU C Q. Standard on establishment of residual solvent determination method for quality control requirements of cefetamet pivoxil hydrochloride [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2007, 27(1): 106-112.

收稿日期: 2009-10-21