

注射用苄星青霉素中乙酸乙酯残留量的测定

蒋 晔,蔡太梅

(河北医科大学药学院,河北 石家庄 050017)

摘要: 目的 建立注射用苄星青霉素中有机溶剂乙酸乙酯残留量的测定方法。方法 以二甲基亚砜为溶剂,采用顶空气相色谱法,用不锈钢填充柱(3 mm×2 m,内装 60~80 目的 QDX-203),载气为 N₂,流速 50 ml·min⁻¹,柱温 155℃;气化室温度 190℃;氢火焰离子化检测器(FID)温度 200℃。结果 方法的平均回收率为 98.5%,RSD=1.3%。3 批样品中乙酸乙酯残留量均低于 0.5%。结论 所用方法灵敏、准确,适用于注射用苄星青霉素中乙酸乙酯残留量的测定。

关键词: 顶空气相色谱法;苄星青霉素;乙酸乙酯;有机溶剂残留量

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1006-0103(2005)06-0536-02

Determination of organic solvent residue of ethyl acetate in Benzathine benzylpenicillin for injection

JIANG Ye, CAI Tai - mei

(Department of Analytical Chemistry, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish a method for determination of organic solvent residue in Benzathine benzylpenicillin for injection. **METHODS** The solvent was redistilled dimethyl sulphoxide. Headspace - GC was applied to quantitative analysis, using a stainless steel column (3 mm×2 m, QDS-203, 60-80 mesh). The flow rate of carrier gas (N₂) was 50 ml·min⁻¹. The operating temperatures were column 155℃, injector 190℃, detector FID 200℃. **RESULTS** The average recovery of the method was 98.5% with RSD of 1.3%. The organic solvent residue in sample of three batches were less than 0.5%. **CONCLUSION** The method is accurate, sensitive and reliable. It is applicable for determination of organic solvent residue in Benzathine benzylpenicillin for injection.

Key words: Headspace - GC; Benzathine benzylpenicillin; Ethyl acetate; Organic solvent residue

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2005)06-0536-02

注射用苄星青霉素为青霉素的二苄基二胺盐、缓冲剂和混悬剂混合制成的无菌粉末,临床用其混悬液。为提高其稳定性,制剂中需加入用乙酸乙酯溶解的精制卵磷脂。因乙酸乙酯被人用药品注册技术规范国际协调会(ICH)列为三类溶剂^[1],所以,需对制剂中乙酸乙酯的残留量进行测定。样品中乙酸乙酯残留量的测定尚未见报道。为此,特采用顶空气相色谱法对其进行测定。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

注射用苄星青霉素(华北制药厂,批号:020901、020902、020903);乙酸乙酯和二甲基亚砜均为分析纯,二甲基亚砜用前减压重蒸。SP-3420 型气相色谱仪及氢火焰离子化检测器(北京分析仪器厂);BF-9202 色谱工作站(北京北分瑞利分析仪器厂);顶空取样瓶、聚四氟乙烯膜的橡胶垫和铝盖(北京分析仪器厂)。

1.2 方法与结果

1.2.1 方法研究 苄星青霉素不溶于水,样品中残

留的乙酸乙酯也就不易逸出到水溶液中。苄星青霉素能溶于稀碱溶液,以 0.1 mol·L⁻¹NaOH 为溶剂,测定乙酸乙酯对照溶液,无法检测到乙酸乙酯。采用非水性溶剂二甲基亚砜为溶剂,在乙酸乙酯的二甲基亚砜溶液中,乙酸乙酯逸出到顶部空气中,并能够很好地检测到其色谱峰。

1.2.2 色谱条件 采用不锈钢填充柱(3 mm×2 m,内装 60~80 目的 QDX-203);柱温 155℃;载气为 N₂,流速 50 ml·min⁻¹,氢气流速 45 ml·min⁻¹,空气流速 200 ml·min⁻¹;气化室温度 190℃;氢火焰检测器温度 200℃。在此条件下,用注射器抽取顶空取样瓶中样品上面的气体 1 ml 进样。色谱图见图 1(盛样品的顶空取样瓶及注射器均预先置 80℃恒温箱中加热 30 min)。以乙酸乙酯色谱峰计算的理论板数大于 1×10³,相邻色谱峰分离度均大于 1.5。

1.2.3 溶液的制备 精密称取样品约 100 mg,置顶空取样瓶中,加二甲基亚砜 5 ml,溶解后,摇匀,封口即得供试品溶液。精密量取乙酸乙酯标准贮备液(含 10 μg·ml⁻¹乙酸乙酯的二甲基亚砜溶液)0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml,分别置 5 个顶空取样瓶中,均

作者简介:蒋晔(1961-),男,教授,从事分析化学及新药研究与开发工作。E-mail:jiangye@hebm. edu. cn

准确加入二甲基亚砒至 5 ml,摇匀,封口作为标准溶液。乙酸乙酯标准溶液的浓度分别为 0.408、0.816、1.220、1.630、2.040 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 。

1.2.4 工作曲线的制备 取“1.2.3”项下各浓度的

标准溶液,按照“1.2.2”项下色谱条件和方法进样分析,以色谱峰面积为纵坐标,以标准溶液浓度为横坐标,得线性方程: $A = 9.75 \times 10^4 C - 8.99 \times 10^2$ ($r = 0.9992$)。

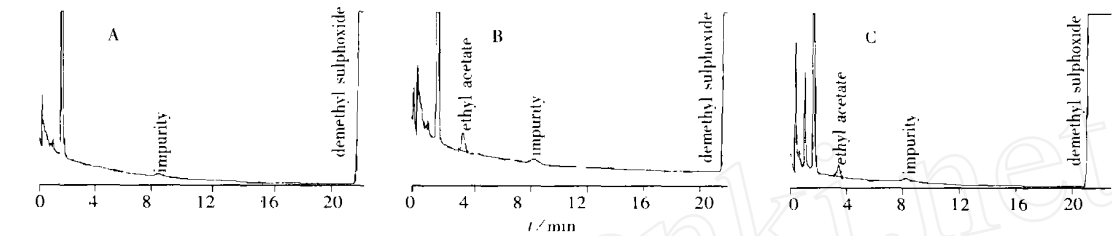


图 1 二甲基亚砒空白溶剂(A)、标准溶液(乙酸乙酯 1.63 g ml^{-1})(B)和供试品溶液(C)的色谱图

Fig 1 Chromatograms of solvent solution(A), ethyl acetate solution(B) and the sample solution(C)

1.2.5 精密度试验 取低、中、高 3 种浓度(0.816、1.220、1.630 $\mu\text{g ml}^{-1}$)的标准溶液各 5 份,按“1.2.2”项下色谱条件和方法进样分析,3 种浓度峰面积的 RSD 分别为 1.1%、2.3%、2.0% ($n = 5$),表明仪器的精密度(进样与峰面积)符合《中国药典》2000 年版规定的有机溶剂残留量精密度要求(外标法 5 次进样的 RSD 不大于 10%)^[2]。

1.2.6 回收率试验 精密称取注射用苄星青霉素约 1.5 g,加二甲基亚砒 75 ml 溶解后,置 80℃的恒温箱中加热 5 h,作为空白样品(使样品中乙酸乙酯充分挥发,按“1.2.2”方法测定已无乙酸乙酯的色谱峰)。取出放冷至室温,分别精密量取该溶液 4.0 ml 9 份,分置 9 个顶空取样瓶中,均分为 3 组。分别精密加入 0.4、0.6、0.8 ml 的标准贮备液(10 $\mu\text{g ml}^{-1}$)及二甲基亚砒适量,使总体积为 5.0 ml,摇匀,封口后按“1.2.2”项下方法测定,用外标法计算含量,并计算回收率(表 1)。

表 1 供试品中乙酸乙酯的回收率($n = 3$)

Table 1 The recovery of ethyl acetate in samples ($n = 3$)

Added/ μg	Detected/ μg	Recovery/ %	$\bar{X}$ / %	RSD/ %
4.08	4.04	99.0	98.5 %	1.3
6.12	5.94	97.0		
8.16	8.09	99.4		

1.2.7 检测限的测定 取逐步对倍稀释的标准贮备液,按“1.2.2”项下方法测定,以 $S/N = 3$ 计,测得乙酸乙酯最小检测浓度为 0.05 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 。用于样品中乙酸乙酯残留量测定的最小检出量为 0.0003 % (ICH 规定检出限量为 0.5 %)。

表 2 样品中乙酸乙酯的残留量($n = 3$)

Table 2 Organic solvent residue in samples ($n = 3$)

Batch No.	Organic solvent residue / %	RSD/ %
020901	1.0×10^{-2}	1.3
020902	9.7×10^{-3}	2.0
020903	9.7×10^{-3}	1.9

1.2.8 样品的测定 3 批样品,按上述方法测定(以外标法计算),检测结果见表 2。

2 讨论

按文献^[3],允许每日暴露量(PDE)和有机溶剂在药品中限量的计算公式为:浓度(10^{-6}) = 1×10^3 PDE/剂量,其中 PDE 以 mg d^{-1} 计,剂量以 g d^{-1} 计,日剂量不超过 10 g 不需再计算,超过 10 g 则将药品各组分中存在的有机残留量相加,每日所接受残留溶剂的总量应低于 PDE 的量。乙酸乙酯的 PDE 为 50 mg d^{-1} ,按以上公式,乙酸乙酯的限度不得超过 5×10^{-3} 或 0.5 %。

顶空法测定有机溶剂残留量,所选的溶剂应与被测有机溶剂形成互相排斥的理想溶液,其中水是最好的溶剂。如果样品不溶于水,可选用非挥发性酸碱溶液。水性溶剂溶解样品达不到满意的结果,可选用中性溶剂二甲基亚砒、N,N-二甲基甲酰胺等。N,N-二甲基甲酰胺的沸点低于二甲基亚砒(约 154℃),但其重蒸后的空白溶剂在乙酸乙酯峰处仍有杂质峰,会对试验产生干扰。因此,最终选用二甲亚砒为溶剂。苄星青霉素不易气化(熔点 105℃~109℃),若采用溶解-直接进样法,会对色谱系统带来干扰,对色谱柱产生污染,故采用顶空进样法测定。方法准确、灵敏,适用于测定注射用苄星青霉素制剂中乙酸乙酯的残留量。

参考文献:

[1] 周海钧.药品注册的国际技术要求:质量部分(ICH 指导委员会)[M].北京:人民卫生出版社,2000.88
[2] 中华人民共和国国家药典委员会.中国药典[S].二部.北京:化学工业出版社,2000.附录 VIII
[3] 王卫.药品中有机溶剂残留量及其测定[J].天津药学,2001,13(30):26

收稿日期:2005-03