

## 兽药硫酸链霉素有关物质的测定

### 1. 背景介绍

硫酸链霉素为 O-2-甲氨基-2-脱氧- $\alpha$ -L-葡吡喃糖基- (1 $\rightarrow$ 2) -O-5-脱氧-3-C-甲酰基- $\alpha$ -L-来苏呋喃糖基- (1 $\rightarrow$ 4) -N1, N3-二脒基-D-链霉胺硫酸盐。硫酸链霉素属于氨基糖苷类抗生素, 化学结构中缺少强紫外特征吸收基团, 难以采用常规紫外检测器检测。采用通用型的蒸发光散射检测器 (ELSD) 不需物质具有光学吸收特性, 可以很好的实现硫酸链霉素的检测。因此本实验按照《中华人民共和国兽药典》2015 版的要求, 采用液相色谱蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD) 建立了硫酸链霉素中有关物质的测定方法, 方法准确、灵敏、简便快速, 可以有效实现兽药硫酸链霉素的质量控制。

### 2. 样品制备

取本品适量, 加水溶解并稀释制成每 1 mL 中约含链霉素 3.5 mg 的溶液, 作为供试品溶液; 精密量取适量, 用水定量稀释制成每 1 mL 中约含链霉素 35  $\mu$ g、70  $\mu$ g、140  $\mu$ g 的溶液, 作为对照溶液 (1)、(2)、(3)。

### 3. 测试条件

|      |                                                                |       |                 |
|------|----------------------------------------------------------------|-------|-----------------|
| 仪器   | EasySep®-1020 液相色谱系统, 配备 ELSD 检测器                              |       |                 |
| 色谱柱  | Bischoff ProntoSIL C18 AQ PLUS, 250 $\times$ 4.6 mm, 5 $\mu$ m |       |                 |
| 流速   | 0.5 mL/min                                                     | 柱温    | 35 $^{\circ}$ C |
| 流动相  | 0.15 mol/L 三氟乙酸溶液                                              |       |                 |
| 载气流量 | 2.5 L/min                                                      | 漂移管温度 | 85 $^{\circ}$ C |

### 4. 测试结果

#### 1) 色谱图

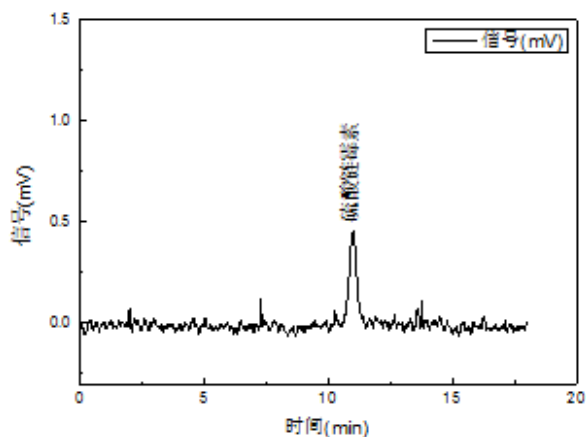


图 1 对照溶液 (1) 色谱图

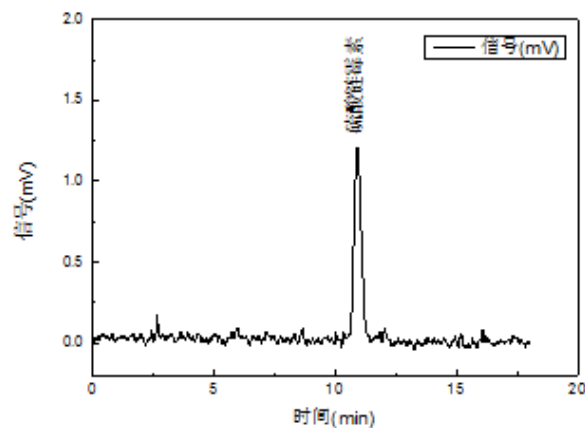


图 2 对照溶液 (2) 色谱图

| 序号 | 保留时间   | 名称    | 峰面积% | 峰面积   | 理论塔板数 |
|----|--------|-------|------|-------|-------|
| 1  | 11.002 | 硫酸链霉素 | 100  | 10783 | 5620  |
| 总计 |        |       | 100  | 10783 |       |

| 序号 | 保留时间   | 名称    | 峰面积% | 峰面积   | 理论塔板数 |
|----|--------|-------|------|-------|-------|
| 1  | 10.904 | 硫酸链霉素 | 100  | 26769 | 5820  |
| 总计 |        |       | 100  | 26769 |       |

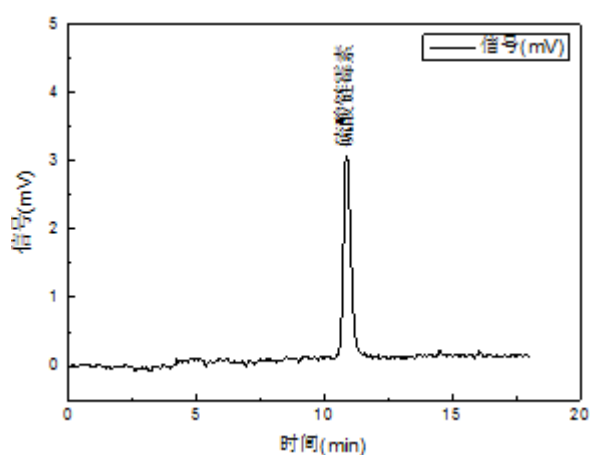


图 3 对照溶液（3）色谱图

| 序号 | 保留时间   | 名称    | 峰面积% | 峰面积   | 理论塔板数 |
|----|--------|-------|------|-------|-------|
| 1  | 10.875 | 硫酸链霉素 | 100  | 61678 | 6382  |
| 总计 |        |       | 100  | 61678 |       |

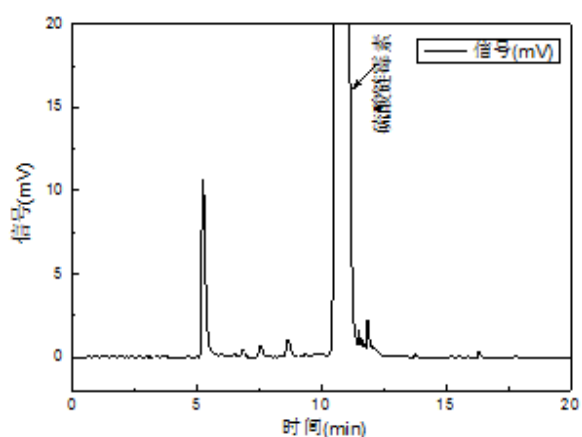


图 4 供试品溶液色谱图

| 序号 | 保留时间   | 名称    | 峰面积%    | 峰面积     | 理论塔板数  |
|----|--------|-------|---------|---------|--------|
| 1  | 5.244  |       | 1.892   | 115014  | 5542   |
| 2  | 6.497  |       | 0.03523 | 2142    | 11559  |
| 3  | 6.862  |       | 0.07953 | 4835    | 10252  |
| 4  | 7.548  |       | 0.1352  | 8222    | 10167  |
| 5  | 8.658  |       | 0.1947  | 11838   | 14106  |
| 6  | 9.994  |       | 0.02526 | 1536    | 13991  |
| 7  | 10.747 | 硫酸链霉素 | 97.28   | 5914797 | 6469   |
| 8  | 11.493 |       | 0.05578 | 3391    | 195004 |
| 9  | 11.658 |       | 0.0253  | 1538    | 193493 |
| 10 | 11.848 |       | 0.2008  | 12205   | 62659  |
| 11 | 13.748 |       | 0.02871 | 1746    | 77895  |
| 12 | 16.295 |       | 0.04348 | 2644    | 118753 |
| 总计 |        |       | 100     | 6079908 |        |

## 2 ) 线性关系考察

精密量取对照溶液（1）、（2）、（3）各 10 μL，分别注入液相色谱仪（每一浓度连续进样 3 针），记录色谱图。以对照溶液浓度的对数值与相应峰面积的对数值计算线性回归方程：

表 1 硫酸链霉素标准曲线

| 组份名称  | 标准曲线               | R <sup>2</sup> |
|-------|--------------------|----------------|
| 硫酸链霉素 | $y=0.8399x+3.2707$ | 1              |

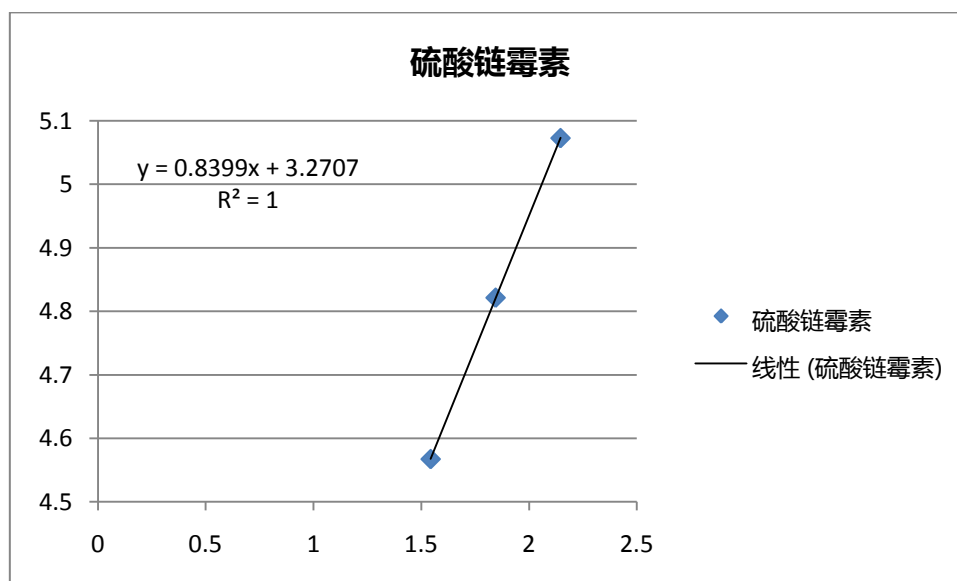


图 5 硫酸链霉素标准曲线

## 5.结论

采用 EasySep®-1020 液相色谱系统，配备 ELSD 检测器，可以实现硫酸链霉素有关物质分析，方法准确、灵敏度高，可以满足日常分析要求。

## 6.配置列表

|      |                         |
|------|-------------------------|
| 仪器配置 | EasySep®-1020 二元梯度液相色谱仪 |
|      | AS1020 自动进样器            |
|      | AT-330 柱温箱              |
|      | ELSD-UM5000 检测器         |
|      | Unimicro 色谱工作站          |

