**[克霉唑原料有关物质检验方法](http://www.nifdc.org.cn/directory/web/WS02/CL0883/9456.html)**

照高效液相色谱法（通则0512）测定。

供试品溶液 取本品，精密称定，加甲醇溶解并稀释制成每1ml约含克霉唑1mg的溶液，摇匀。

对照溶液 精密量取供试品溶液1ml，置100ml量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀；再精密量取1ml，置10ml量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀。

灵敏度溶液 精密量取对照溶液5ml，置10ml量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀。

对照品溶液 取杂质A、杂质D、杂质B、杂质E、杂质F对照品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每1ml约含杂质A 2μg、杂质D 2μg、杂质B 2μg、杂质E 2μg、杂质F 1μg的溶液。

系统适用性溶液 取杂质A、杂质D、杂质B、杂质E、杂质F和克霉唑对照品适量，精密称定，加甲醇溶解并稀释制成每1ml约含杂质A 2μg、杂质D 2μg、杂质B 2μg、杂质E 2μg、杂质F 1μg和克霉唑0.2mg的溶液。

色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（250mm×4.6mm, 5.0μm或效能相当的色谱柱）；以磷酸盐溶液（取磷酸二氢钾1.0g、四丁基硫酸氢铵0.5g，加水至1000ml溶解）为流动相A、乙腈为流动相B，按下表进行梯度洗脱；检测波长为210nm；流速为每分钟1.0ml；柱温为35℃；进样体积10μl。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间（min） | 流动相A（%） | 流动相B（%） |
| 0 | 75 | 25 |
| 3 | 75 | 25 |
| 25 | 20 | 80 |
| 30 | 20 | 80 |
| 31 | 75 | 25 |
| 40 | 75 | 25 |

系统适用性要求 系统适用性溶液色谱图中，出峰顺序为：杂质D、杂质F、克霉唑、杂质B、杂质E、杂质A，理论塔板数按克霉唑峰计不低于4000，各峰之间的分离度应符合要求。灵敏度溶液色谱图中，克霉唑峰峰高的信噪比应大于10。

测定法 精密量取供试品溶液、对照溶液和对照品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。

限度 供试品溶液色谱图中如有与对照品溶液杂质保留时间一致的色谱峰，按外标法以峰面积计算，杂质A、杂质B、杂质D、杂质E均不得过0.2%，杂质F不得过0.1%；其他单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积（0.1%）；其他各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积的5倍（0.5%）。