

HPLC-ELSD 法测定注射用益气复脉（冻干）中钠元素

李莉^{1,2}, 李德坤^{1,2*}, 鞠爱春^{1,2*}

1. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

2. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300410

摘要: **目的** 建立一种用于测定注射用益气复脉（冻干）中钠元素含量的方法。**方法** 采用强阳离子交换色谱柱（SCX），以 0.05 mol/L 乙酸铵（乙酸调节 pH 至 4.8）-乙腈（50:50）为流动相，体积流量为 1.0 mL/min，柱温 30℃，撞击器“关闭”模式，漂移管温度为 90℃，压缩空气流量为 2.5 L/min，检测器的增益值为 1。**结果** 钠元素在 60~180 μg/mL 范围内线性良好（ $r=0.9993$ ）；准确度试验（ $n=9$ ）平均回收率为 90.4%，RSD 为 1.8%；注射用益气复脉（冻干）中钠元素质量分数均值为 0.48%（0.33%~0.55%）。**结论** 所建立的方法简单可靠，可用于测定注射用益气复脉（冻干）中钠元素的含量测定。**关键词:** 中药注射剂；注射用益气复脉（冻干）；钠元素；含量测定；过程控制；强阳离子交换色谱柱；HPLC-ELSD；蒸发光检测器

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2018)03-0489-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.03.024

Determination of sodium element in Yiqi Fumai Lyophilized Injection by HPLC-ELSD

LI Li^{1,2}, LI Dekun^{1,2}, JU Aichun^{1,2}

1. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China

2. Key Laboratory of Safety Evaluation of Traditional Chinese Medicine Injections of Tianjin Enterprise, Tianjin 300410, China

Abstract: Objective To establish an HPLC-ELSD method for the determination of the content of sodium element in Yiqi Fumai Lyophilized Injection. **Methods** The chromatographic separation was achieved on the strong cation exchange chromatography columns (SCX). The mobile phase was 0.05 mol/L ammonium acetate solution (adjusted pH to 4.8 with acetic acid)-acetonitrile (50 : 50). The flow rate of the mobile phase was 1.0 mL/min. The column temperature was 30℃. The drift tube temperature was 90℃, the impactor was “OFF”, the compressed air flow rate was 2.5 L/min and the gain of the detector was 1. **Results** Good linearity ($r = 0.9993$) was observed in the standard curves of sodium element in the range of 60—180 μg/mL. The accuracy experiments ($n = 9$), the average recovery of sodium element was 90.4%, RSD was 1.8%. The content of sodium element in Yiqi Fumai Lyophilized Injection was 0.48% (range: 0.33%~0.55%). **Conclusion** The method is simple and accurate, and is applicable for determining the content of sodium element in Yiqi Fumai Lyophilized Injection.

Keywords: traditional Chinese medicine injection; Yiqi Fumai Lyophilized Injection; sodium element; content determination; process control; strong cation exchange chromatography columns; HPLC-ELSD; evaporative light scattering detector

注射用益气复脉（冻干）是源于古方生脉散的冻干粉针制剂，具有益气复脉，养阴生津之功效^[1]。方中 3 味中药（红参、麦冬、五味子）生长过程中均可从土壤中吸收钠元素，在其工艺过程中用到一

定浓度的氢氧化钠调节溶液的 pH 和进行设备清洁，因此制剂中钠元素含量测定对评价工艺过程的稳定性和临床安全性具有重要意义。

本文以注射用益气复脉（冻干）为研究对象，

收稿日期: 2018-01-12

基金项目: 天津市中药注射剂关键技术校企协同创新实验室建设 (17PTSJJC00090)

第一作者: 李莉 (1975—), 女, 高级工程师, 研究方向为药物制剂工艺研究和质量控制。Tel: (022)84498152 E-mail: lili4@tasly.com

*通信作者: 李德坤, 男, 工程师, 研究方向为中药注射剂工艺研究、质量标准研究, 安全性及药物警戒研究。

Tel: (022) 26736712 E-mail: lidekun@tasly.com

鞠爱春 (1973—), 男, 高级工程师, 研究方向为中药注射剂工艺及质量控制。Tel: (022)86342096 E-mail: juach@tasly.com

采用高效液相色谱结合蒸发光检测器进行检验方法学研究并对 26 批注射用益气复脉(冻干)试验样品中钠元素含量进行了测定,为注射用益气复脉(冻干)的质量控制和安全性再评价提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),配置:G1312A 二元泵、G1322A 脱气泵、G1313A 进样器、G1316A 柱温箱;Alltech 2000 型蒸发光散射检测器(天津埃文森科技有限公司);(Milli-Q 型纯水仪(美国 Millipore 公司)、XS105DU 型电子分析天平(美国 Mettler Toledo 公司);KQ3200E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);色谱柱 Agela Venusi SCX (T)(博纳艾杰尔,粒度 5 μm , 体积 250 mm \times 4.6 mm, Cat.No.: VSc952505-T, S/N: 003087) 和色谱柱 Waters SPHERISORB SCX (沃特世,粒度 5 μm , 体积 250 mm \times 4.6 mm, Part No.: PSS837515, S/N: 01663701614914)。

1.2 试剂

钠元素标准溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心,编号为 GSB04-1738-2004,质量浓度 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$,包装规格为 50 mL/瓶,唯一标识为 173030-1,定值日期:2017 年 03 月 30 日);乙酸(天津市风船化学试剂有限公司,分析纯,纯度 \geq 99.5%,500 mL/瓶,批号:2016 年 4 月 25 日);乙酸铵(分析纯,纯度 \geq 98.0%,500 mL/瓶,天津市华东试剂厂,批号:2014 年 5 月 29 日);乙腈(Omni 公司,色谱纯,4 000 mL/瓶,批号 170100328002);注射用益气复脉(冻干)试验样品(天津天士力之骄药业有限公司,规格,26 批)。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱条件:采用 Agela Venusi SCX (T) 色谱柱,以 0.05 mol/L 醋酸铵(乙酸调节 pH 4.8)-乙腈(50:50)为流动相,体积流量 1.0 mL/min,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,洗脱时间 30 min,进样量 10 μL ;检测器条件:漂移管温度 90 $^{\circ}\text{C}$,压缩空气流量 2.5 L/min,不分流模式,增益值 1。

2.2 标准品溶液和标准品储备溶液的制备

精密量取钠元素标准溶液适量置量瓶中,加超纯水适量至分散均匀,摇匀,定容,既得标准品溶液(质量浓度:60、80、100、120、140、160、180

$\mu\text{g}/\text{mL}$),其中质量浓度为 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液亦作为标准品储备溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取注射用益气复脉(冻干)约 0.25 g 置 10 mL 量瓶中,加入适量超纯水,摇匀,超声溶解,放冷至室温。加超纯水定容至刻度,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,弃去初滤液 0.3~0.5 mL,取续滤液作为供试品溶液。

2.4 专属性试验

取空白溶剂、供试品溶液和标准品溶液(140 $\mu\text{g}/\text{mL}$),按 2.1 项下色谱条件进行测定,色谱图见图 1。

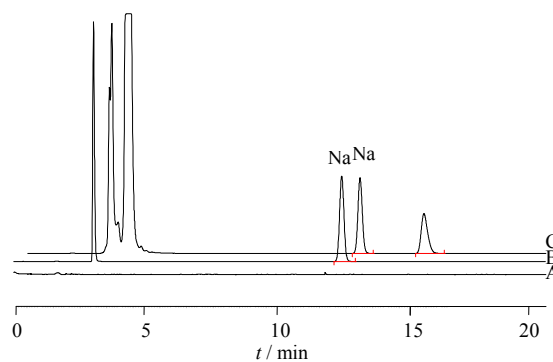


图 1 空白(A)、标准品溶液(B)和供试品溶液(C)色谱图

Fig. 1 Chromatograms of blank (A), standard solution (B) and sample solution (C)

2.5 线性试验

取 2.2 项下标准品溶液,按 2.1 项下色谱条件依次进行测定,记录色谱峰面积。蒸发光检测器的响应为非线性,待测成分质量浓度(C)与散射光光强(I)可用关系式 $I=kCb$ (k、b 是与实验条件有关的常数,其中 b 值与仪器自身设计有关,数值范围通常在 0.9~1.8^[2-3]) 描述,二者对数线性相关: $\lg I = b \lg C + \lg k$ 。以钠元素浓度的对数为纵坐标,以其峰面积的对数为横坐标,进行线性回归,得回归方程: $\lg C = 1.421 4 \lg A + 3.844 7$, $r = 0.999 3$ 。本方法线性较好, b 值为 1.421 4。由此可知,钠元素溶液在 60~180 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内,线性关系良好。

2.6 精密度试验

取 140 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品溶液,连续进样 6 次,按 2.1 项下色谱条件进行测定,峰面积 RSD 为 1.9%,该方法精密度良好。

2.7 重复性试验

取同一批供试品(批号: S3),按 2.3 项下方法

制备 6 份供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件依次进行测定, 记录色谱峰面积。其钠元素含量均值为 0.39%, RSD 为 1.5%。

2.8 稳定性试验

取同一批供试品(批号: S3), 每小时进样 1 针, 连续进样 25 针, 考察其峰面积和保留时间, 峰面积 RSD 为 2.3%, 保留时间最大差值为 0.1 min, 说明标准品溶液 24 h 稳定性良好。

2.9 回收率试验

精密称取约 0.13 g 的同一批供试品(批号: S3) 9 份, 其中 3 份分别加入 2.2 项下制备的 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品储备溶液 2 000 μL , 3 份分别加入标准品储备溶液 3 000 μL , 剩下 3 份分别加入标准品储备溶液 4 000 μL , 再按 2.3 项下供试品溶液制备方法要求进行制备, 按 2.1 项下色谱条件依次进行测定, 记录色谱峰面积。钠元素的平均回收率为 90.4%, RSD 为 1.8%。

2.10 供试品测定

分别取 26 注射用益气复脉(冻干)试验品, 按 2.2 项下标准品溶液绘制标准曲线, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 依据 2.1 项下色谱条件进行测定, 计算供试品中钠元素含量, 结果见表 1。

表 1 供试品钠元素含量测定

Table 1 Determination of sodium content in test products

批号	质量分数/%	批号	质量分数/%
S1	0.39	S15	0.46
S2	0.38	S16	0.46
S3	0.39	S17	0.43
S4	0.51	S18	0.43
S5	0.53	S19	0.41
S6	0.56	S20	0.41
S7	0.48	S21	0.46
S8	0.55	S22	0.46
S9	0.58	S23	0.50
S10	0.58	S24	0.44
S11	0.57	S25	0.46
S12	0.55	S26	0.33
S13	0.54	均值	0.48
S14	0.47		

3 讨论

试验根据阳离子交换树脂柱分离过程和原理进行了流动相 pH 值、体积流量和不同品牌色谱柱的考察: 同规格对比 3 种不同 pH 的 0.05 mol/L 乙酸

铵的流动相(不调节 pH、pH=4.7 和 pH=4.8)下色谱行为, 其保留时间、峰面积和理论塔板数等均未发生明显变化, 但考虑到流动相的稳定性, 减小不同厂家和批号乙酸铵试药质量的差异, 确保试验数据的可靠, 建议调节流动相 pH 至 4.8; 试验分别对 0.8、1.0、1.2 mL/min 3 个流速进行了考察, 其色谱峰的保留时间、峰面积和理论塔板数均发生了比较明显的变化, 综合考虑钠元素的保留时间、流动相用量、仪器的稳定性、检测周期和操作习惯等, 确定以 1.0 mL/min 为流动相流速; Agela Venusi SCX (T) 和 Waters SPHERISORB SCX 同种规格的两个品牌色谱柱的考察中, 除保留时间相差 0.512 min 外, 峰面积、理论塔板数和对称性均无明显差异, 保留时间的差异可能与不同品牌色谱柱填充情况有关, 鉴于强阳离子色谱柱填料的特殊性, 更多品牌色谱柱洗脱行为的差异有待进一步研究。

试验还对蒸发光检测器条件进行了考察: 漂移管温度为 70 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 因温度过低, 雾化小液滴不能很好地到达检测器, 80 $^{\circ}\text{C}$ 和 90 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保留时间、理论塔板数和对称性均无明显差异, 峰面积略有差异, 为确保雾化小液滴能够最大程度地到达检测器, 设定漂移管温度为 90 $^{\circ}\text{C}$; 通过对 3 个压缩空气流量(2.0、2.5、3.0 L/min)的考察, 除峰面积略有变化外未发现无明显差异, 综合考虑压缩空气对洗脱液雾化效果的影响、干燥剂对压缩空气中水分的吸附情况、检测环境和检品数量(24 h)等因素, 确定压缩空气流量为 2.5 L/min; 通过对增益值的考察(增益值分别为: 1、2 和 4)发现, 当增益值为 1 时(不对检测信号进行倍增), 即满足检测要求且噪音较低, 综合考虑线性试验范围、供试品溶液含量, 确定增益值为 1。

通过对 26 批注射用益气复脉(冻干)试验品中钠元素含量的测定, 其含量均值为 0.48%, 上限为 0.58%, 下限为 0.33%, 不同批次间钠元素的含量存在一定的差异。

钠元素含量测定对评价注射用益气复脉(冻干)的安全性具有重要意义: (1) 通过钠元素含量波动可以间接反映注射用益气复脉(冻干)工艺过程的稳定性和批间质量的一致性, 可以作为产品过程控制的关键指标之一。如果制剂中钠元素含量批间差异较大, 则说明工艺过程存在一定的波动, 可通过对比制剂工艺过程中调节 pH 氢氧化钠的用量, 制剂中各注射用提取物的配料情况、提取物工艺过程

中调节 pH 氢氧化钠的用量、提取液和沉淀物的多少、中药饮片批次和来源等多个方面进行溯源分析,进而对工艺进行优化以期达到稳定。(2) 注射用益气复脉(冻干)主要用于冠心病的治疗,钠元素在人体内过量或不足,会影响人体的正常生理功能,对于有心脏病的患者来说,影响更大^[4-5],因此注射用益气复脉(冻干)中钠元素含量测定结果不仅为临床医师合理用药提供了理论基础,而且也为减小不良反应或不良事件发生、改善患者的顺应性,提高安全性具有重要意义。(3) 注射用益气复脉(冻干)制剂中含有一定量的钠元素,而且临床采用 0.9%氯化钠注射液 250~500 mL 进行稀释后静滴,钠元素含量的多少与注射剂的渗透压有密切相关。静脉注射剂的渗透压必须与人体血浆渗透压基本保持一致,过高或过低都会对人体产生损害,大量输入低渗溶液可能会造成溶血,大量输入高渗溶液可能会造成血管栓塞^[6-7]、静脉炎^[8]等,因此注射用益气复脉(冻干)中钠元素含量检测结果,不仅为临床合理用药提供了数据支持,而且对提高临床配伍使用科学性,减小不良反应或不良事件发生率,提高患者的顺应性,提高安全性具有重要意义。

参考文献

- [1] 褚延斌, 苏小琴, 李德坤, 等. 基于一测多评法对注射用益气复脉(冻干)中 9 种成分的质量控制研究 [J]. 中草药, 2017, 48(17): 3537-3544.
- [2] Righetta M, Guiochon G. Effects of the nature of the solvent and solutes on the response of a light-scattering detection [J]. J Liq Chromatogr, 1988, 11(9/10): 1967-1971.
- [3] Brown P R, Grushka E. Advances in Chromatography [M]. Vol 40. Amsterdam: Marcel Dekker, 2000.
- [4] 何邦平, 赵德山, 赵霖, 等. 心脏病患者血清七种元素含量与血压及生化指标的关系 [J]. 中华医学杂志, 1994, 74(8): 492-495.
- [5] 李文春, 刘文亮, 孙永慧. 原子吸收光谱法测定注射用丹参中总钠的含量 [J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(10): 51-52.
- [6] 曹凤习, 张文. 常见静脉注射剂渗透压考察 [J]. 中国药业, 2008, 17(10): 37.
- [7] 顾立素, 张斗胜, 胡昌勤. 探讨静脉输液渗透压质量控制中存在的问题 [J]. 中国药品标准, 2007, 8(1): 19-21.
- [8] 朱姝, 黎贵湘, 兰霞. 高渗性药物致静脉炎的防治进展 [J]. 护理与康复, 2012, 11(2): 135-137.