

基于高效液相色谱-电喷雾检测器联用技术的注射用头孢地嗪钠中钠离子含量测定方法研究

于娜娜*, 李秋月, 库咏峰

(丽珠集团丽珠制药厂, 珠海 519090)

摘要: **目的** 采用高效液相色谱-电喷雾检测器联用技术测定注射用头孢地嗪钠中钠含量。**方法** 通过紫外检测器与电喷雾检测器的联用技术, 采用阀切换的方式将有紫外吸收的头孢地嗪色谱峰切除, 选择需要采集的钠离子部分, 采用电喷雾检测器进行有效分析。色谱柱: SeQuant ZIC-HILIC (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相 A 为醋酸盐缓冲液(称取乙酸铵 1.54 g, 加水适量及冰醋酸 5 mL 使溶解, 再加水稀释至 1000 mL, 加冰醋酸调节 pH 至 4.0), 流动相 B 为乙腈, A 相与 B 相的比例为 40:60; 载气为氮气; 柱温为 40 °C; 蒸发器温度为 70 °C; 进样量为 5 μL; 流速为 0.7 mL/min; 运行时间 8 min。**结果** 钠含量的线性回归方程为 $y=158.44x+3.8048$ ($r=0.997$), 线性浓度范围为 0.0874~0.1312 mg/mL, 精密度相对标准差(RSD)为 1.3%, 各浓度水平的平均回收率分别为 102%、100%、98%, 回收率的 RSD 为 1.5%。**结论** 本研究所建立的方法准确度高、精密度良好, 可用于注射用头孢地嗪钠中钠含量的测定。

关键词: 注射用头孢地嗪钠; 高效液相色谱-电雾式检测器; 钠含量

0 引言

头孢地嗪钠是第三代头孢类抗生素, 临床应用剂型为注射用无菌粉末。本品不仅具有广谱抗菌活性高、药效作用广的优点, 还有其他第三代半合成头孢菌素所没有的免疫调节活性^[1-3], 具有广泛的临床应用前景。注射用头孢地嗪钠为原料无菌分装, 原料成盐不完全, 不仅会影响药物的酸碱度和溶解性, 还会导致游离的头孢地嗪酸过多, 从而使药物与血浆蛋白的结合率高, 药物作用起效时间延长^[4]。控制头孢地嗪钠中的钠含量, 对本品的理化性质和药效均有一定的影响, 对临床用药的安全性与有效性意义重大。目前测定钠含量的方法主要有火焰光度法^[5]、离子色谱法^[4-8]、高效液相色谱-蒸发光散射检测(HPLC-ELSD)法^[9-10]等。火焰光度法样品前处理复杂, 燃气压力、流速或温度的变化会直接影响原子激发效率, 导致信号漂移, 需频繁校准; HPLC-ELSD 法检测器稳定性较差、灵敏度较低、重现性依赖优化条件、维护成本较高、对流动相使用盐类型要求高; 离子色谱法虽灵敏度高, 但对前处理要求较高, 且运行成本高(流动相需使用高纯度试剂, 抑制器作为消耗品且费用较高)。高效液相色谱-电雾检测器(HPLC-CAD)联用技术通用性强, 适用范围远

超传统 HPLC 检测器, 灵敏度高, 兼容多种流动相(允许使用非挥发性缓冲盐)和梯度洗脱, 相比 ELSD(受雾化气体、蒸发温度影响显著), CAD 的检测稳定性更高, 长期运行信号漂移较小, 且结构简单, 无易损光学元件, 维护方便, 运行成本低。本研究建立 HPLC-CAD 法测定注射用头孢地嗪钠中钠含量的分析方法, 进一步提升了检测灵敏度与准确性, 同时降低了电喷雾喷嘴的清洗次数, 大大提升工作效率并降低运行成本。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

赛默飞 Vanquish 液相色谱仪; 赛多利斯 BSA623S 电子天平; 注射用头孢地嗪钠(丽珠集团丽珠制药厂); 乙腈(色谱级); 乙酸铵(分析纯, 广州化学试剂); 冰醋酸(分析纯, 广州化学试剂); 醋酸钠对照品(批号: 20-08-2618, 含量 92.75%, SINCO)。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件

色谱柱: SeQuant ZIC-HILIC(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相 A 为醋酸盐缓冲液(称取乙酸铵 1.54 g, 加水适量

* 通信作者: 于娜娜, 硕士, 中级工程师, 研究方向为药物生产和研发质量分析。E-mail: yunana@livzon.cn

及冰醋酸 5 mL 使溶解, 再加水稀释至 1000 mL, 加冰醋酸调节 pH 至 4.0, 流动相 B 为乙腈, A 相与 B 相的比例为 40:60; 检测器为电喷雾检测器、紫外检测器; 载气为氮气; 柱温为 40 °C; 蒸发器温度为 70 °C; 进样量为 5 μ L; 流速为 0.7 mL/min; 运行时间 8 min, 阀切换见表 1。按外标法以峰面积计算。

表 1 阀切换程序

时间/min	下阀位置	上阀位置
0	1_2	6_1
1.5	1_2	1_2
3	1_2	6_1

1.2.2 溶液配制

空白溶剂(稀释剂): 水。

对照品溶液: 精密称取醋酸钠对照品约 21 mg(约相当于钠 5.5 mg), 置 50 mL 容量瓶, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。平行制备 2 份。

供试品溶液: 精密称取注射用头孢地嗪钠约 85 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。平行制备 2 份, 结果取平均值。

2 结果与分析

参照《中华人民共和国药典》(2020 年)版分析方法验证指导原则^[1], 通过对系统适用性、专属性、线性、准确度、精密度、溶液稳定性及耐用性进行考察, 结果均符合要求。具体验证过程如下。

2.1 系统适用性考察

按 1.2.2 节中配制对照品溶液, 连续进样 5 次, 钠含量峰面积的相对标准偏差(RSD)应 $\leq 10.0\%$ 。结果显示钠含量峰面积的 RSD 为 0.3%。

2.2 专属性考察

分别按 1.2.2 节中配制空白溶剂、对照品溶液注入液相色谱仪, 记录其出峰时间, 空白溶液应不干扰钠含量的检测。结果显示空白溶剂不干扰钠离子峰的测定。见图 1。

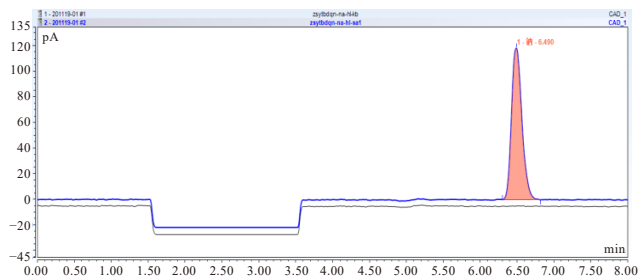


图 1 空白溶液干扰色谱图

2.3 线性试验

对照品储备液: 精密称取醋酸钠对照品 420 mg, 置

100 mL 容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀。

精密量取对照品储备液 4、4.5、5、5.5、3 mL 分别置于 50、50、50、50、25 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 得到相当于对照品溶液浓度 80%、90%、100%、110%、120% 的系列线性溶液。按照 1.2.1 节中色谱条件进行检测, 记录色谱图。以钠离子浓度(mg/mL)为横坐标, 相应峰面积为纵坐标, 按最小二乘法进行线性回归, 钠离子线性回归的相关系数 $r \geq 0.995$ 。结果见表 2。

表 2 线性试验结果

浓度水平	浓度/(mg/mL)	峰面积
80%	0.0874	17.5102
90%	0.0984	19.3634
100%	0.1093	21.3930
110%	0.1202	22.9755
120%	0.1312	24.3714

结果显示, 线性回归方程为 $y=158.44x+3.8048$ ($r=0.997$), 表明钠离子浓度在 0.0874~0.1312 mg/mL 浓度范围内线性关系良好。

2.4 准确度试验

精密量取 2.3 节中对照品储备液 4.5、5、5.5 mL 分别置于 50 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 得到相当于对照品溶液浓度 90%、100%、110% 的准确度试验溶液, 每个浓度平行配制 3 份。按照 1.2.1 节中色谱条件进行检测, 记录色谱图。各浓度水平加标回收率均在 95%~105%, 回收率的 RSD 应小于 5.0%。结果见表 3。

表 3 准确度试验结果

浓度水平	回收率/%			回收率均值/%	回收率 RSD/%
90%	101.28	102.11	101.42	102	
100%	100.17	99.94	99.22	100	1.5
110%	98.31	98.26	98.28	98	

结果显示, 各浓度水平的回收率在 98.26%~102.11% 之间, RSD 为 1.5%, 均符合要求。

2.5 精密度试验

2.5.1 重复性

精密称取注射用头孢地嗪钠约 85 mg, 置于 50 mL 容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为重复性溶液。平行配制 6 份供试品溶液, 注入液相色谱仪进行检测, 记录色谱图, 6 份供试品溶液中钠含量结果的 RSD 应小于 2.0%, 结果见表 4。结果显示, 6 份供试品溶液结果的 RSD 为 0.8%, 表明分析方法重复性良好。

2.5.2 中间精密度

两名不同分析人员于不同日期, 平行配制 6 份供试品溶液, 按照重复性同法操作。12 份供试品溶液中钠含量结

果的RSD应小于2.0%, 结果见表5。结果显示12份供试品溶液结果的RSD为1.3%, 表明分析方法精密度良好。

表4 重复性试验结果

项目	序号						RSD
	1	2	3	4	5	6	
钠含量/%	6.66	6.60	6.57	6.66	6.70	6.62	0.8%

表5 中间精密度试验结果

项目	序号						RSD (n=6)	RSD (n=12)
	1	2	3	4	5	6		
钠含量/%	6.63	6.54	6.61	6.80	6.82	6.70	1.7%	1.3%

2.6 溶液稳定性考查

按照1.2.2节配制对照品溶液与供试品溶液, 置室温储存条件下, 分别于0、4、8、16、24 h进样测定。计算不同时间点测定的对照品溶液和供试品溶液中钠离子峰面积相对于0 h的回收率。对照品溶液与供试品溶液在室温下不同时间点的回收率均应在95.0%~105.0%, 结果见表6。结果显示, 对照品溶液及供试品溶液室温储存条件下24 h内稳定。

表6 溶液稳定性测定结果

结果	时间/h			
	4	8	16	24
对照品回收率/%	98.9	98.4	99.1	98.7
供试品回收率/%	98.0	96.4	96.9	98.3

2.7 耐用性

在拟定的色谱条件的基础上, 进行单因素稍调整仪器参数(流速、柱温、流动相比例、流动相pH), 取相同供试品溶液进行检测。各耐用性条件下, 供试品溶液中的钠含量结果相对于未调整参数条件下钠含量结果的回收率均应在95.0%~105.0%之间, 结果见表7。

结果表明, 各参数变动时, 系统适应性符合规定; 与未调整参数条件相比, 测得供试品溶液中钠含量的回收率在95.9%~98.9%之间, 表明本方法耐用性良好。

表7 耐用性试验结果

参数	对照品 RSD/%	钠含量/%	回收率/%
未调整参数	1.7	6.63	—
流速 0.6 mL/min	0.6	6.44	97.1
流速 0.8 mL/min	0.3	6.41	96.7
柱温 35 °C	0.3	6.41	96.7
柱温 45 °C	0.4	6.48	97.7
流动相 pH 值 3.8	0.5	6.56	98.9
流动相 pH 值 4.2	1.0	6.54	98.6
流动相比例 35 : 65	1.0	6.50	98.0
流动相比例 45 : 55	0.3	6.36	95.9

3 讨论与结论

本文建立的HPLC-CAD法测定注射用头孢地嗪钠中钠含量的方法, 在方法建立时, 通过紫外检测器与电喷雾检测器的联用技术, 采用阀切换的方式将有紫外吸收的头孢地嗪色谱峰切除, 选择需要采集的钠离子部分, 采用电喷雾检测器进行有效分析。在确定的方法中, 无需开启紫外检测器, 仅需开启电喷雾检测器即可。通过阀切的方式减少基底对电喷雾喷嘴造成污染, 降低仪器的维护成本, 同时能更好地提升CAD检测对钠离子含量的准确测定。

对拟定的分析方法进行验证, 结果表明本方法灵敏度高、重现性好、准确度高、线性关系良好、色谱条件耐用性良好, 且易于操作, 可用于本品样品中钠含量的检测, 从而能更好地控制注射用头孢地嗪钠中头孢地嗪与钠离子的成盐率, 提升用药的安全性。

参考文献

- [1] 徐积恩. 第三代注射用头孢菌素头孢地嗪[J]. 天津药学, 1993, 5(1): 62-64.
- [2] 孙梁燕, 许永军, 杨文清. 地塞米松磷酸钠注射液对注射用头孢地嗪钠稳定性的影响[J]. 西北药学杂志, 2008, 23(3): 157-158.
- [3] 熊雯, 郑萍, 罗媛. 两种HPLC法测定注射用头孢地嗪钠有关物质的方法学研究[J]. 国外医药抗生素分册, 2016, 37(4): 1-4.
- [4] 钱敏, 耿志旺, 彭茗, 等. 离子色谱法测定头孢曲松钠中的钠离子含量以及成盐率[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(3): 435-439.
- [5] 庞塞, 庞发根, 李玉兰, 等. 火焰光度法测定人血白蛋白中钠离子含量的不确定度评估[J]. 中国药物评价, 2021, 38(3): 196-201.
- [6] 肖菁, 王蓉蓉, 李盼盼, 等. 离子色谱法测定门冬氨酸钾镁注射液中钾、镁和钠离子含量[J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(24): 2144-2148.
- [7] 王小亮, 张伊榕, 张秉华. 注射用头孢唑肟钠中钠离子含量及成盐率测定分析[J]. 食品与药品, 2025, 27(1): 63-67.
- [8] 叶晓燕, 李兴春, 李洁. 离子色谱法测定血液透析液中钠、钾、镁、钙的含量[J]. 标准检测, 2017, 38(5): 38-42.
- [9] 颜彦. HPLC-ELSD法测定他唑巴坦钠中钠离子含量的研究[J]. 大家健康, 2016, 10(6): 13-14.
- [10] 李娅萍, 薛晶, 杨智慧, 等. 采用新型混合模式离子色谱交换柱HPLC-ELSD法测定头孢曲松钠中钠离子的含量以及成盐率[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(7): 524-530.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.