

离子色谱法测定阿昔洛韦滴眼液中苯扎溴铵与氯化钠的含量

沈晓燕*

(无锡市药品安全检验检测中心, 无锡 214000)

摘要: **目的** 建立离子色谱法测定阿昔洛韦滴眼液中氯化钠和苯扎溴铵的含量。**方法** 采用 Dionex Ionpac AS11-HC (4 mm×250 mm) 阴离子交换色谱柱, 以 10 mmol/L 氢氧化钾为淋洗液, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30°C, 进样量为 25 μL, 采用电导检测器, 抑制电流为 25 mA。**结果** 氯化钠在 10~55 μg/mL 浓度范围内与峰面积线性关系良好 ($r=0.9999$, $n=6$), 检测限为 0.040 ng/mL, 定量限为 0.134 ng/mL; 苯扎溴铵在 2~10 μg/mL 浓度范围内与峰面积线性关系良好 ($r=0.9999$, $n=6$), 检测限为 0.013 μg/mL, 定量限为 0.042 μg/mL; 稳定性 ($n=5$)、重复性 ($n=6$) 试验结果相对标准偏差 (RSD) 均小于 1.0%; 氯化钠回收率在 98.0%~104.5% 之间, 苯扎溴铵回收率在 95.6%~104.9% 之间。**结论** 该方法准确、简单、灵敏, 可用于测定阿昔洛韦滴眼液中氯化钠和苯扎溴铵的含量。

关键词: 离子色谱法; 阿昔洛韦滴眼液; 氯化钠; 苯扎溴铵

0 引言

阿昔洛韦滴眼液被广泛应用于眼科疾病的治疗, 尤其是单纯疱疹性角膜炎, 阿昔洛韦滴眼液是一种常用的眼科药品^[1]。其主要成分为阿昔洛韦, 主要用于治疗巨细胞病毒感染、带状疱疹病毒、单纯疱疹病毒引起的不适症状, 如病毒性结膜炎、角膜炎等^[2], 阿昔洛韦能够有效地抑制病毒在人体细胞内的复制, 从而改善症状。

阿昔洛韦滴眼液处方主要包括阿昔洛韦、氯化钠、苯扎溴铵、氢氧化钠和注射用水。其中, 氯化钠作为渗透压调节剂, 苯扎溴铵作为抑菌剂。渗透压过高或过低以及抑菌剂的过度使用可能会引起不良反应, 如泪液分泌增加和眼表组织损伤, 因此需有效控制滴眼液中各辅料的含量。离子色谱法具有适用范围广^[3-6]、操作简单、精确度、灵敏度好等优点, 能够同时分析多种离子^[7-9], 适用于测定阿昔洛韦滴眼液中苯扎溴铵和氯化钠的含量。

本研究利用离子色谱法对阿昔洛韦滴眼液中苯扎溴铵和氯化钠的含量进行了测定, 验证了该方法的可行性和优越性, 不仅为阿昔洛韦滴眼液的质量控制提供了新的技术手段, 也为保障患者用药安全和提升药品质量标准提供了一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 仪器

仪器设备离子色谱仪(Thermo ICS-5000+), 电子天平(Mettler XPE56, 百万分之一)。

1.2 药品与试剂

对照品: 阿昔洛韦(中国食品药品检定研究院, 纯度 99.8%, 批号 140630-202004)、苯扎溴铵(中国食品药品检定研究院, 每 1 mL 含苯扎溴铵 10.2 mg, 批号 135051-202002)、氯化钠(中国食品药品检定研究院, 纯度 100.0%, 批号 100376-202104); 样品: 阿昔洛韦滴眼液(A 厂家, 批号 230901、230902、221002; B 厂家, 批号 23042201、23092405、23100402; C, 厂家批号 230902A、230908A、C030221002); 溶剂: 超纯水。

1.3 色谱条件

检测器: 电导检测器; 色谱柱: Dionex Ionpac AS11-HC(4 mm×250 mm); 保护柱: Dionex Ionpac AS11-HC(4 mm×50 mm); 抑制器: Dionex AERS500(4 mm), 抑制电流 25 mA; 淋洗液 10 mmol/L 氢氧化钾溶液; 柱温 30°C; 检测池温度 35°C; 流速 1.0 mL/min; 进样体积 25 μL。

* 通信作者: 沈晓燕, 硕士, 副主任药师, 研究方向为药物分析。E-mail: 1240208341@qq.com

1.4 溶液的配制

对照品贮备液：称取氯化钠对照品约 9 mg，精密称定，置于 25 mL 量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，摇匀，作为氯化钠对照品贮备液 (0.36 mg/mL)；精密量取苯扎溴铵对照品 0.5 mL 置于 50 mL 量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，作为苯扎溴铵对照品贮备液 (100 μg/mL)。空白辅料溶液：按样品处方配制空白辅料溶液作为阴性对照溶液。对照品溶液 (系统适用性溶液)：精密量取氯化钠和苯扎溴铵对照品贮备液各 1 mL，置于同一 10 mL 的量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，作为对照品溶液 (氯离子的浓度为 36 μg/mL，溴离子的浓度为 10 μg/mL)。供试品溶液：精密量取阿昔洛韦滴眼液 (A 厂家，批号 230901) 1 mL，置于 25 mL 量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，再精密量取上述溶液 1 mL，置于 10 mL 量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，作为测定氯化钠的供试品溶液；另取 1 mL 阿昔洛韦滴眼液至 10 mL 量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，作为测定苯扎溴铵的供试品溶液。

2 结果与分析

2.1 方法学验证

2.1.1 系统适用性试验及专属性试验

取 1.4 项下的对照品溶液、水、空白辅料溶液、供试品溶液，按 1.3 项下色谱条件分别注入离子色谱仪，记录色谱图，详见图 1、2、3、4、5。氯离子的保留时间为 8.000 min，理论塔板数为 10069，拖尾因子 1.28；溴离子的保留时间为 17.667 min，理论塔板数为 11037，拖尾因子 1.13。氯离子和溴离子分离度为 19.55。结果表明，阿昔洛韦滴眼液中其他成分及溶剂对氯离子、溴离子无干扰，且氯离子与溴离子分离度良好。

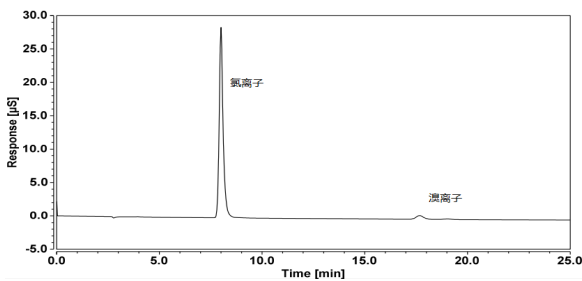


图 1 系统适用性溶液色谱图

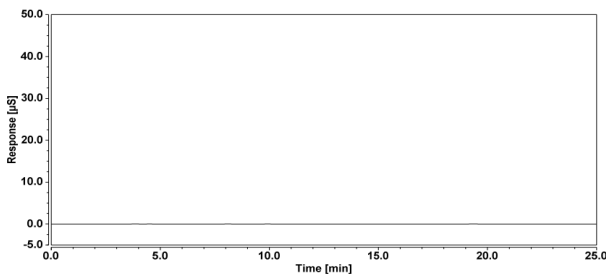


图 2 溶剂色谱图

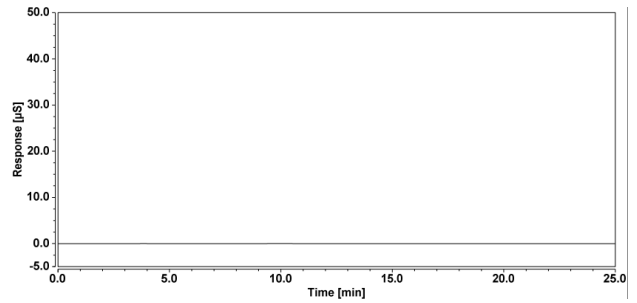


图 3 空白辅料溶液色谱图

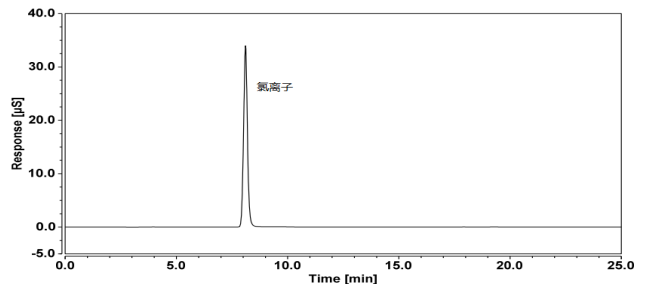


图 4 供试品溶液色谱图(氯化钠测定)

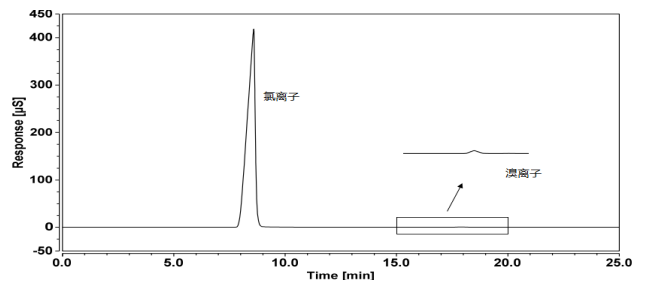


图 5 供试品溶液色谱图(苯扎溴铵测定)

2.1.2 检测限与定量限

取 1.4 项下对照品溶液，用水逐级稀释，以氯离子和溴离子的信噪比(S/N)约为 10 的溶液浓度作为定量限，氯离子和溴离子的信噪比(S/N)约为 3 的溶液浓度作为检测限。

结果显示，S/N=3 时，氯化钠溶液的浓度为 0.040 ng/mL，苯扎溴铵溶液的浓度为 0.013 μg/mL；S/N=10 时，氯化钠溶液的浓度为 0.134 ng/mL，苯扎溴铵溶液的浓度为 0.042 μg/mL。

2.1.3 线性关系考察

取 1.4 项下苯扎溴铵和氯化钠对照品贮备液，分别精确量取 0.5、0.8、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 置于 10 mL 量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，注入离子色谱仪。以测得的峰面积(A)为纵坐标，氯化钠与苯扎溴铵的浓度(C)为横坐标，进行线性回归，结果表明氯化钠在 10~55 μg/mL 浓度范围内线性良好，苯扎溴铵在 2~10 μg/mL 浓度范围内线性良好，线性关系见表 1。

表 1 线性关系

组分	线性方程	r	线性范围(μg/mL)
氯化钠	y=0.3948x-0.0157	0.9999	10~55
苯扎溴铵	y=0.0553x-0.0081	0.9999	2~10

2.1.4 精密度

在 1.3 项下的色谱条件下，取 1.4 项下对照品溶液连续进样 6 次，记录各组分峰面积与保留时间，计算氯离子、溴离子的峰面积与保留时间的 RSD 值。结果显示，氯离子、溴离子峰面积的 RSD 分别为 0.21%、0.25%，氯离子、溴离子保留时间的 RSD 分别为 0.02%、0.01%，表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性

在 1.3 项下的色谱条件下，取 1.4 项下阿昔洛韦滴眼液供试品溶液，依次在 0、4、8、12、24 h 注入离子色谱仪。结果显示氯离子峰面积 RSD 值为 0.6%，溴离子峰面积 RSD 值为 0.7%，氯离子保留时间 RSD 值为 0.2%，溴离子保留时间 RSD 值为 0.1%，表明供试品 24 h 内稳定性良好。

2.1.6 重复性

根据 1.4 项下供试品溶液的配制方法，平行制备供试品溶液 6 份，按 1.3 项下色谱条件，注入离子色谱仪，记录色谱图，6 份样品中氯化钠、苯扎溴铵的含量 RSD 值分别为 0.5%、0.4%，表明重复性良好。

2.1.7 回收率

分别在供试品溶液中加入适量氯化钠对照品贮备液，制备成浓度限度为氯化钠对照品溶液 80%、100%、120% 的溶液，各浓度限度平行制备 3 份，进行测定，记录色谱图，按外标法计算回收率，结果见表 2。分别在空白辅料溶液中加入适量苯扎溴铵对照品贮备液，制备成浓度限度为苯扎溴铵对照品溶液 80%、100%、120% 的溶液，各浓度限度平行制备 3 份，进行测定，记录色谱图，按外标法计算回收率，结果见表 3。

表 2 氯化钠回收率

本底量(mg/mL)	加入量(mg/mL)	测得量(mg/mL)	回收率(%)	平均(%)	RSD(%)
9.31	7.34	16.5	98.0		
9.31	7.34	16.6	99.3	98.9	0.8
9.31	7.34	16.6	99.3		
9.31	9.18	18.5	100.1		
9.31	9.18	18.8	103.4	102.3	1.9
9.31	9.18	18.8	103.4		
9.31	11.0	20.3	99.9		
9.31	11.0	20.5	101.7	102.0	2.3
9.31	11.0	20.8	104.5		

表 3 苯扎溴铵回收率

本底量(mg/mL)	加入量(mg/mL)	测得量(mg/mL)	回收率(%)	平均(%)	RSD(%)
0	0.816	0.780	95.6		
0	0.816	0.782	95.8	96.0	0.5
0	0.816	0.787	96.4		
0	1.02	1.07	104.9		
0	1.02	1.07	104.9	104.6	0.6
0	1.02	1.06	103.9		
0	1.22	1.20	98.4		
0	1.22	1.20	98.4	98.1	0.5
0	1.22	1.19	97.5		

2.1.8 耐用性

取 1.4 项下阿昔洛韦滴眼液供试品溶液，按 1.3 项下的色谱条件，分别将流速调整为 ± 0.1 mL/min 的变化范围，将淋洗液浓度调整为 ± 3 mmol/L 的变化范围，将柱温调整为 $\pm 5^\circ\text{C}$ 的变化范围，其余色谱条件不变，注入离子色谱仪。结果显示，各条件下氯离子与溴离子分离度良好，表明该方法耐用性良好。

2.2 样品检测

取三批阿昔洛韦滴眼液样品，按 1.4 项下供试品溶液的配制方法，照 1.3 项下色谱条件进行测定，按外标法计算氯化钠与苯扎溴铵的含量，结果见表 4。

通过本实验，建立了一种简单、准确、灵敏的离子色谱法，用于测定阿昔洛韦滴眼液中氯化钠和苯扎溴铵的含量。该方法具有良好的重复性、稳定性和回收率，可以为阿昔洛韦滴

眼液的质量控制提供可靠的技术支持, 对于确保药品的质量和患者的用药安全具有重要意义。

表 4 样品检测结果表

厂家	批号	氯化钠(mg/mL)	苯扎溴铵(mg/mL)
A	230901	8.70	0.11
	230902	8.75	0.10
	221002	8.83	0.11
B	23092405	8.52	0.12
	23100402	8.50	0.11
	23042201	8.56	0.11
C	C030221002	8.72	0.10
	230908A	8.49	0.11
	230902A	9.14	0.14

3 讨论与结论

3.1 试剂的选择

本实验采用的试剂为水, 由于自来水中广泛存在氯、氟、硫酸根等离子, 所以需要考察本实验所选用的超纯水在氯离子和溴离子测定中的适用性, 实验结果显示, 所使用的超纯水在相应的保留时间内无干扰, 确保了测定结果的准确性和可靠性, 这也进一步证明了超纯水是本实验中合适的用水选择。

3.2 色谱条件的选择

本实验选择了简单的等度洗脱方式, 基线平稳且重现性好。首先考察了 25、20、15 和 10 mmol/L 氢氧化钾溶液作为淋洗液的效果。结果显示, 使用 25、20 和 15 mmol/L 氢氧化钾溶液时, 溴离子与其后相邻杂质的分离效果不理想。为优化分离效果, 我们选择了 10 mmol/L 氢氧化钾溶液作为淋洗液, 并发现这一浓度能够有效分离氯离子、溴离子与其他杂质峰。此外, 我们还考察了不同流速 (0.9、1.0 和 1.1 mL/min) 和不同柱温 (25°C、30°C、35°C) 条件下对各阴离子分离效果的影响。结果表明, 柱温和流速对分离效果影响较小, 但淋洗液浓度越低, 各阴离子的分离度越好, 保留时间也相应延长。综合考虑分离效果和分析时间, 最终选择了 10 mmol/L 氢氧化钾溶液作为淋洗液, 柱温设定为 30°C, 流速为 1.0 mL/min。这些优化条件确保了氯离子、溴离子及其他阴离子的有效分离, 同时保持了适中的出峰时间, 保证了实验的高效和准确性。

3.3 检测方法选择

2020 年版《中华人民共和国药典(二部)》标准中, 氯化钠的含量测定采用滴定法^[10]。氯化钠的滴定过程中, 通常使用硝酸银溶液, 其原理是通过银离子与氯离子的沉淀反应实现滴定。但滴定法较易产生误差, 指示剂用量的多少、指示剂变色终点和肉眼判断终点的差异都会引起不同的结果。在上述标准中, 阿昔洛韦滴眼中苯扎溴铵的测定采用高效液相色谱法。根据标准进行实验, 从结果(见表 5)可以发现, 离子色谱法测

得的苯扎溴铵含量明显高于液相色谱法测得的含量, 更接近待测样品处方中苯扎溴铵的含量, 体现了离子色谱法测定苯扎溴铵的准确性。

表 5 高效液相色谱与离子色谱对苯扎溴铵含量测定的差异

厂家	批号	HPLC(mg/mL)	IC(mg/mL)
A	230901	0.07	0.11
	230902	0.08	0.10
	221002	0.08	0.11
B	23092405	0.08	0.12
	23100402	0.08	0.11
	23042201	0.08	0.11
C	C030221002	0.09	0.10
	230908A	0.09	0.11
	230902A	0.09	0.11

本文建立了测定阿昔洛韦滴眼中苯扎溴铵与氯化钠含量的离子色谱法, 该方法快速高效、专属性强、灵敏度高、重复性好, 样品测定结果准确可靠。该方法的成功建立, 可以更加精确地控制滴眼中抑菌剂和渗透压调节剂的含量, 从而有效降低因药用辅料不当导致的药品安全风险。这不仅保障了药品的安全性, 也提升了药品的整体质量, 进一步维护了患者的健康权益。

参考文献

- [1] 李游, 徐卫星. 阿昔洛韦不同用药方式治疗单纯疱疹病毒性角膜炎的疗效[J]. 中国民康医学, 2020, 32(05): 29-30.
- [2] 高贵. 羌活胜风汤配合阿昔洛韦滴眼液治疗单纯疱疹病毒性角膜炎的疗效观察[J]. 内蒙古中医药, 2020, 39(08): 73-74.
- [3] 张建敏, 周长明, 郭雷, 等. 离子色谱法测定硫酸氨基葡萄糖胶囊中硫酸根离子含量[J]. 中国药业, 2021, 30(20): 84-86.
- [4] 姚晶晶, 匡钊, 丁苏苏. 离子色谱法测定妥布霉素地塞米松滴眼液中依地酸二钠含量[J]. 中国药业, 2021, 30(24): 78-80.
- [5] 卓静, 葛雪松, 孙桐, 等. 离子色谱法测定维生素C注射液中草酸的含量[J]. 中国药师, 2022, 25(03): 555-557.
- [6] 杜明萃, 仲平, 杭太俊. 离子色谱法测定盐酸多巴酚丁胺注射液中亚硫酸氢钠含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(10): 1835-1837.
- [7] 高嵩. 离子色谱法同时测定饮水中 9 种阴离子[J]. 化学分析计量, 2023, 32(10): 35-38.
- [8] 王涛, 马迅, 沈于兰, 等. 离子色谱法测定脂肪乳氨基酸葡萄糖注射液中 5 种离子含量[J]. 中国合理用药探索, 2022, 19(02): 99-104.
- [9] 夏方亮, 顾晶晶, 曹洪杰, 等. 离子色谱法测定滴眼剂中抑菌剂苯扎氯铵和苯扎溴铵[J]. 食品与药品, 2024, 26(01): 30-33.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2020 年版二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.