

HPLC 测定封管用枸橼酸钠注射液中枸橼酸盐的含量

樊蓉, 张纯, 关皓月, 朴淑娟(第二军医大学长征医院药学部, 上海 200003)

摘要 目的: 建立封管用枸橼酸钠注射液中枸橼酸盐的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 法, 选用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱, 以甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾 (pH 调至 2.5~2.8) (5:95, v:v) 为流动相, 流速为 1.0 mL/min, 紫外检测波长 210 nm。结果: 枸橼酸盐在 0.5~6 mg/mL 范围内呈良好的线性关系 ($r=0.9999$, $n=5$); 平均加样回收率为 98.79% ($RSD=1.08\%$); 3 批封管用枸橼酸钠注射液中的枸橼酸盐标示含量分别为 100.51%、98.22%、97.78%。结论: 本方法操作简便、快速、结果准确、可靠, 适用于该制剂中枸橼酸盐的含量测定。

关键词 高效液相色谱法; 枸橼酸盐; 含量测定

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)05-0354-03

Content determination of citrate in sodium citrate injection for catheter locking by HPLC

FAN Rong, ZHANG Chun, GUAN Hao-yue, PIAO Shu-juan (Department of Pharmacy, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

ABSTRACT Objective: To establish a content determination method of citrate in sodium citrate injection for catheter locking. **Methods:** HPLC was used to determine citrate on Diamonsil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), using MeOH : 0.05 mol/L KH₂PO₄ (adjusted to pH 2.5~2.8 by H₃PO₄) (5:95, v:v) as a mobile phase with a flow rate at 1.0 mL/min and UV wavelength of 210 nm. **Results:** The calibration curve of citrate was line in the range of 0.5~6 mg/mL ($r=0.9999$, $n=5$). The average recovery was 98.79% ($RSD=1.08\%$). The relative contents of citrate in three batch of citrate in sodium citrate injection for catheter locking were 100.51%, 98.22% and 97.78%, respectively. **Conclusion:** This method was simple, rapid, accurate and suitable for the quality control of citrate.

KEY WORDS HPLC; citrate; content determination

封管用枸橼酸钠注射液为本院自制制剂, 专用于静脉留置导管封管。枸橼酸盐的含量测定方法有非水滴定法^[1], 离子交换法^[2]、紫外分光光度法^[3]、高效液相色谱法^[4]等。本实验采用高效液相色谱法测定封管用枸橼酸钠注射液中枸橼酸盐的含量, 并与经典的非水滴定法进行比较。

1 仪器与试药

Waters 高效液相色谱系统: Waters 600 色谱泵, Waters 996PDA 紫外检测仪, Millennium 32 色谱工作站; 梅特勒-托利多 320 型 pH 计 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 梅特勒-托利多 AE240 电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 101-2

型电热鼓风箱 (上海市上海县实验仪器厂)。

封管用枸橼酸钠注射液 (3 mL : 1.4 g, 自制, 批号 20040727, 20050120, 20050221), 枸橼酸钠 (湖南华日制药有限公司, 批号 20051012), 枸橼酸 (广东省台山市新宁制药厂, 批号 20050303), 磷酸二氢钾 (湖南华日制药有限公司, 批号 20040422); 冰醋酸 (上海埃彼化学试剂公司, 批号 F20050725); 醋酐 (上海医药集团上海化学试剂公司, 批号 F20021018); 甲醇 (上海化学试剂研究所, 批号 20060301, 色谱纯), 注射用水 (自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-磷酸二氢钾水溶液 (50 mmol/L, 磷酸调 pH 至 2.5~2.8) (5:95), 流速: 1.0 mL/min, 检测波长: 210 nm, 柱温: (23 ± 2)

作者简介: 樊蓉 (1979-), 女, 硕士研究生. Tel: (021) 65307133, E-mail: fanrong1979@163.com.

通讯作者: 张纯. Tel: (021) 65307133, E-mail: zhangchun1959@163.com.

℃,进样量:20 μL。

2.2 溶液的配制 对照品溶液的配制:精密称取枸橼酸钠 999.9 mg,置 100 mL 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品储备溶液。供试品溶液的配制:精密量取封管用枸橼酸钠注射液 1.0 mL,置 100 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.3 线性关系考察 精密量取对照品储备液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 mL 分别置于 5 个 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,配成 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 mg/mL 浓度的系列对照品溶液。在“2.1”色谱条件下,吸取 20 μL,注入高效液相色谱仪中,记录色谱图。枸橼酸钠浓度及其相应的峰面积见表 1。以枸橼酸盐峰面积 Y 为纵坐标,枸橼酸盐浓度 X 为横坐标绘制标准曲线,回归方程为 $Y = 636\ 313X - 9\ 360.2$, ($r = 0.999\ 9, n = 5$),表明枸橼酸钠在 0.5 ~ 6 mg/mL 范围内线性关系良好。

表 1 HPLC 测定不同浓度枸橼酸钠溶液的峰面积

峰面积	浓度 (mg/mL)				
	0.5	1	2	4	6
	300 769	604 699	1 300 494	2 539 141	3 798 317

2.4 精密度试验 取 4 mg/mL 浓度的对照品溶液连续进样 5 次,其峰面积分别为:2513747,2531612,2 549 051,2 566 030,2 550 261,测得日内 $RSD = 0.79\%$ ($n = 5$);将该溶液放置 3 d,每天进样 1 次,其峰面积分别为:2 565 037,2 543 287,2 617 648,测得日间 $RSD = 1.48\%$ ($n = 3$)。

2.5 加样回收率试验 取已知含量的样品,先用水稀释 4 倍,精密量取稀释样品 1.0 mL,置 100 mL 量瓶中,再加入一定量的枸橼酸钠,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,吸取 20 μL 注入高效液相色谱仪中,测定含量,计算回收率,结果平均回收率为 98.79%, $RSD = 1.08\%$ ($n = 9$)。详细结果见表 2。

表 2 加样回收率结果

已知量 (mg)	加入量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
114.7	101.0	215.9	100.20		
114.7	101.8	216.3	99.80		
114.7	104.3	218.3	99.33		
114.7	293.5	400.5	97.38		
114.7	294.0	403.8	98.33	98.79	1.08
114.7	290.0	404.3	99.86		
114.7	396.6	506.5	98.79		
114.7	391.5	497.9	97.88		
114.7	392.7	497.7	97.53		

2.6 样品测定 分别取封管用枸橼酸钠注射液 3 批(批号 20040727,20050120,20050221),按照“2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”色谱条件下进行测定,采用外标法定量,测得 3 批样品中的枸橼酸盐的标示含量分别为 100.51%、98.55%、97.78%,色谱图见图 1。

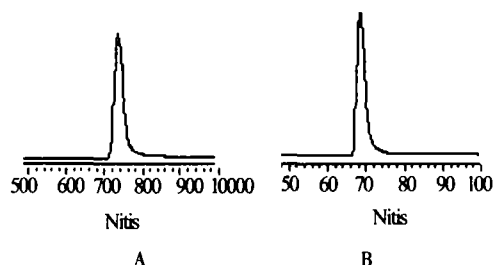


图 1 枸橼酸盐 HPLC 图谱

A-对照品色谱图;B-供试品色谱图

2.7 与非水滴定法比较 精密量取 3 批样品各 2.0 mL,分别置 50 mL 容量瓶中,加水定容,精密量取 3.0 mL 至锥形瓶中,置水浴上蒸干后,再在 105 ℃ 烘箱中干燥 1 h,放冷,加冰醋酸 20 mL,加热溶解后,放冷,加醋酐 2 mL 与结晶紫指示液 1 滴,用高氯酸滴定液 (0.1 mol/L) 滴定至溶液显蓝绿色,并将滴定的结果用空白试验校正。每 1 mL 高氯酸滴定液 (0.1 mol/L) 相当于 9.803 mg 的 $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ 。3 批样品的测定结果分别为其标示量的 99.71%、97.96%、96.75%。与上述高效液相色谱法的测定结果比较无显著差异。

3 讨论

3. 从与非水滴定法比较试验结果可以看出,高效液相色谱法测定该制剂中的枸橼酸盐含量的准确度与非水滴定法没有显著性差别,但其操作简便,快速,数分钟内就可以测定一个样品;而非水滴定法的操作较繁琐,费时,测定一个样品至少花半天时间。另外,高氯酸非水滴定法仅能测定制剂中的枸橼酸钠含量,对含枸橼酸较多的枸橼酸钠制剂的测定结果往往会偏低。

3.2 本法改进了流动相为甲醇-磷酸二氢钾水溶液 (pH 至 2.5 ~ 2.8) (5 : 95),与已有报道的用 17 ~ 18 mmol/L 磷酸溶液 (pH 2.0 ~ 2.5) 作为流动相高效液相色谱法^[4]测定枸橼酸盐条件相比,具有更好的枸橼酸盐峰形,能改善其拖尾现象。

3.3 本法测定封管用枸橼酸钠注射液中枸橼酸盐的含量操作简便、快速,结果准确、可靠,适用于该制剂中枸橼酸盐的含量测定,尤其适合于制剂中间品的质控及制剂稳定性研究。

参考文献:

- [1] 中国药典 2005 年版[S]. 二部, 2005:382.
 [2] 中国人民解放军总后勤部卫生部药品检验所. 药品检验[M]. 1979:186.

- [3] 李之林. 枸橼酸盐两种测定方法的比较[J]. 中国医院药学杂志, 2000, 20(2):122.
 [4] 董晓东, 孙静, 何影. 高效液相色谱法测定红细胞保存液中枸橼酸及其钠盐总量[J]. 色谱, 2003, 21(1):46.

收稿日期:2007-03-29

(上接第 353 页)

水针疗法又称穴位注射,是以激发经络、穴位的治疗作用,结合近代医药学中药理作用和注射方法而形成的一种独特疗法^[5-7]。水针治疗形成于二十世纪 50 年代,原广泛应用于封闭疗法,之后由于药物多样化,把中西药物中适宜肌肉注射的大部分注射液也扩充进去,注射的部位及临床治疗的病症也日益增多,使用范围涉及临床各科,它具有穴位、针刺、药物三结合的优势。一方面针刺作用直接刺激了经络线上的穴位,产生一定疗效;赵建国等认为,神不导气是脑卒中病之根源,治疗脑卒中及其并发症之关键就在于治神。针刺治疗之精髓在于治神、醒神、调神,进而达到气血阴阳调和、气复神使之目的^[8,9]。近年来研究结果显示:针刺能显著地降低血浆内皮素和升高血浆降钙素基因相关肽,通过改善脑组织血液循环减轻脑组织损伤程度,促进组织损伤修复^[10]。另一方面,穴位注射后,药物在穴位处存留时间较长,故可增强与延长穴位的治疗效能,并使之沿经络循行以疏通经气,直达相应的病理组织器官,充分发挥穴位和药物的共同治疗作用;再有,药物对穴位的作用亦可通过神经系统和神经体液系统作用于机体,产生更大的疗效。所以水针疗法是一种很有前途的治疗方法。并且用药量小,相应的药物毒副作用小,但效果不低,注射方法易于掌握,注射后即可随意活动。

我院开展的头部功能区水针治疗是根据所患疾病,按照脑部功能区和药物的药理作用,采用神经电生理学方法筛选头部与大脑皮层功能相对应的穴位及功能区位点,使用独特的药物配方注入适量的药物,治疗偏瘫、偏身麻木、失语、大小便失禁、吞咽困难、意识障碍、眩晕等症状。正大青春宝药液有限公司生产的参麦注射液经药物毒性试验,LD₅₀为 19.7 mL/kg,对小鼠的肝肾功能及组织均无明显毒性作用,具有较大安全性。参麦含人参皂甙高,在穴位停留时间长,且有改变局部微循环作用。风池穴是神经电生理学方法筛选,有改善大脑椎动脉供血之功效^[3]。我院开展水针疗法穴位注射参麦治疗脑

干梗塞取得显著效果,可明显改善 ADL 能力和运动功能。

头部功能区水针疗法操作注意事项:①头部穴位注射为小剂量注射,一般为 0.3~0.5 mL;②用 1 mL 注射器推注,多个穴位注射也不要选择 2 mL 或 5 mL 注射器抽取液体总量更换 1 mL 针头法,因为此种方法推注剂量不准、费力,患者疼痛感增强;③选择位置准确,快速刺入皮下,然后缓慢进针,1 mL 针头进入 1/3~1/2 后回抽无血,即可将药物缓慢注入;④推药困难时不可硬推,可改变注射深度或方向;⑤注射完毕轻轻按压 1 min,随时观察包块吸收情况,次日注射前如观察包块吸收不良可停药 1 d;⑥操作时患者取舒适体位,严格无菌操作,注意药物配伍禁忌;⑦药物使用前必须对光检查,发现混浊、沉淀、变色、漏气等现象时不得使用;⑧注射用药不得提前配制,须现用现配。

致谢:本文承蒙曹智刚主任指导,特此感谢!

参考文献:

- [1] 王德生,徐心,李树祥,等. 中青年脑梗塞患者的临床与病理[J]. 中华神经科杂志,1998,31(2):98.
 [2] 缪鸿石,于兑生. 中国康复医学诊疗规范[M]. 北京:华夏出版社,1999:69.
 [3] 曹智刚. 针刺头部穴区对脑干诱发电位的影响[J]. 现代康复,1998,4(1):65.
 [4] 缪鸿石,朱连. 脑卒中的康复评定和治疗[M]. 北京:华夏出版社,1996:22.
 [5] 成平. 穴位注射疗法浅谈[J]. 中国针灸,2000,20(9):75.
 [6] 陈玉华,王海萍,洪秀瑜,等. 穴位注射疗法的机制研究进展[J]. 上海针灸杂志,2005,24(11):58.
 [7] 陆秋莉,申繁星,陈冲,等. 穴位注射纳洛酮治疗急性脑梗死及运动障碍[J]. 吉林医药学院学报,2003,26(2):32.
 [8] 赵建国,曹辰虹. 针刺治疗在脑卒中并发症中的应用[J]. 中国临床康复,2004,8(1):142.
 [9] Quah-Smith JI, Tang WM, Russell J. Laser acupuncture for mild to moderate depression in a primary care setting-a randomised controlled trial[J]. Acupunct Med, 2005,23(3):10.
 [10] 王寅,赵志付. 针刺治疗脑卒中后抑郁失眠临床疗效评价[J]. 中国针灸,2004,24(9):603.

收稿日期:2007-09-27