

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.24.020

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

姚晶晶, 匡 钊, 丁苏苏[△]

(江苏省扬州市食品药品检验检测中心, 江苏 扬州 225001)

摘要:目的 建立测定妥布霉素地塞米松滴眼液中依地酸二钠含量的离子色谱法。方法 色谱柱为 Dionex IonPacTM AS11-HC 分析柱 (250 mm × 4 mm), Dionex IonPacTM AG11-HC 保护柱 (50 mm × 4 mm), 淋洗液为 30 mmol/L 氢氧化钾溶液, 流速为 1.0 mL/min, 检测池温度为 25 ℃, 进样量为 25 μL, AERS 500 (4 mm) 抑制器, 抑制器电流为 75 mA, 以电导检测器检测。结果 依地酸二钠的质量浓度在 5.58 ~ 111.66 mg/L 范围内与峰面积线性关系良好 ($r=0.999\ 9$, $n=6$), 定量限为 23.25 ng; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2.0% ($n=6$); 平均加样回收率为 99.52%, RSD 为 0.91% ($n=9$)。结论 该方法操作简便, 准确度高, 稳定性好, 可用于测定妥布霉素地塞米松滴眼液中依地酸二钠的含量。

关键词: 依地酸二钠; 离子色谱法; 妥布霉素地塞米松滴眼液; 含量测定

中图分类号: R927.2; R988.1

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)24-0078-03

Content Determination of Disodium Edetate in Tobramycin and Dexamethasone Eye Drop by Ion Chromatography

YAO Jingjing, KUANG Zhao, DING Susu

(Yangzhou Center for Food and Drug Control, Yangzhou, Jiangsu, China 225001)

Abstract: Objective To establish an ion chromatography (IC) method for the content determination of disodium edetate in Tobramycin and Dexamethasone Eye Drop. **Methods** The chromatographic column was Dionex IonPacTM AS11-HC analytical column (250 mm × 4 mm), Dionex IonPacTM AG11-HC protective column (50 mm × 4 mm), the isocratic elution was 30 mmol/L potassium hydroxide solution, the flow rate was 1.0 mL/min, the temperature of the detection cell was 25 ℃, and the injection volume was 25 μL. AERS 500 (4 mm) suppressor was adopted with a current of 75 mA. The conductivity detector was adopted. **Results** The linear range of disodium edetate was 5.58 ~ 111.66 mg/L ($r=0.999\ 9$, $n=6$), and the limit of quantification (LOQ) was 23.25 ng. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 2.0% ($n=6$). The average recovery of disodium edetate was 99.52% with an RSD of 0.91% ($n=9$). **Conclusion** The method is simple, accurate and stable, which can be used for the content determination of disodium edetate in Tobramycin and Dexamethasone Eye Drop.

Key words: disodium edetate; ion chromatography; Tobramycin and Dexamethasone Eye Drop; content determination

妥布霉素地塞米松滴眼液为混悬复方制剂, 具有抗菌作用, 主要用于治疗眼睑、球结膜、角膜及眼球前段组织病变^[1]。滴眼液处方中加入依地酸二钠 (EDTA-2Na) 作为螯合剂, 可增强其稳定性^[2-4], 但过量使用依地酸二钠会造成混悬滴眼液结块, 影响疗效。依地酸二钠的测定方法主要包括衍生化高效液相色谱法和离子色谱

法^[5-6]。衍生化高效液相色谱法需加入金属离子络合, 干扰因素多; 而离子色谱法常用于检测无机离子和有机小分子离子, 具有操作简便、灵敏度高、专属性好、分析准确可靠等优势, 广泛用于药物质量控制^[7-10]。本研究中采用抑制性离子色谱系统测定依地酸二钠阴离子, 为控制妥布霉素地塞米松滴眼液中依地酸二钠的用量提

第一作者: 姚晶晶, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为药物分析与生物安全性检验, (电子信箱) 865366784@qq.com。

[△]通信作者: 丁苏苏, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为药物分析与生物安全性检验, (电子信箱) subarmy-82651@163.com。

[11] 李光河. 液相色谱-质谱法测定丹溪玉屏风颗粒中黄芪甲苷含量[J]. 中国药业, 2017, 26(7): 21-23.

[12] 韩明阳, 王雪梅, 李媛媛, 等. HPLC法测定康复春口服液毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷和人参皂苷 Rb₁[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(1): 37-40.

[13] 陈 莉, 王 盛, 孟 楣, 等. HPLC法测定含黄芪中药制剂中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量[J]. 中国药房, 2018, 29(15): 2041-2044.

[14] 刘小花, 周 围, 封士兰, 等. 基于超高效合相色谱对黄芪

中5种主要黄酮类化合物的快速检测[J]. 分析化学, 2016, 44(5): 731-739.

[15] 林 青, 李 媛, 谭晓梅, 等. LC-MS/MS同时测定大鼠血浆中黄芪成分芒柄花素、毛蕊异黄酮和异鼠李素的浓度及其药动学研究[J]. 中药材, 2013, 36(4): 589-593.

[16] 储继红, 李长印, 戴国梁, 等. LC-MS-MS法同时测定黄芪注射液和黄芪口服液中5种成分[J]. 中成药, 2015, 37(12): 2647-2651.

(收稿日期: 2021-03-22; 修回日期: 2021-07-05)

供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Thermo ICS-5000+型离子色谱仪(赛默飞世尔科技<中国>公司); Milli-Q IQ 7000 型超纯水系统(德国 Merck Millipore 公司); XS205DU 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司, 精度为 0.01 mg); KH-400KDB 型数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司); ARES 500 型抑制器(4 mm, 美国 Dionex 公司)。

1.2 试剂

依地酸二钠对照品(曼哈格检测技术股份有限公司, 批号为 C0006654, 含量为 99.9%); 妥布霉素地塞米松滴眼液(厂家 A, 批号分别为 190503, 190817; 厂家 B, 批号为 J190709; 厂家 C, 批号为 19D30BA); 氢氧化钾溶液(美国 Dionex 公司); 苯扎溴铵对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为 135051-201401, 含量为 10.9 mg/mL); 氯化钠、亚硫酸二钠、硫酸钠、硝酸钾、磷酸氢二钠均为分析纯, 水为超纯水。

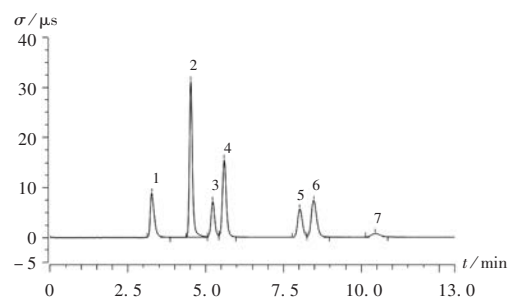
2 方法与结果

2.1 色谱条件

阴离子色谱柱: Dionex IonPac™ AS11-HC 分析柱(250 mm × 4 mm); Dionex IonPac™ AG11-HC 保护柱(50 mm × 4 mm); 淋洗液: 含 30 mmol/L 的氢氧化钾溶液; 流速: 1.0 mL/min; 电导检测器: ASRS-ULTRA 抑制模式, 抑制电流为 75 mA; 检测池温度: 25 °C; 进样量: 25 μL。

2.2 溶液制备

取依地酸二钠对照品 37.22 mg, 精密称定, 置 25 mL 容量瓶中, 加水定容, 即得对照品溶液。精密量取样品(厂家 A) 1 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 加水定容, 摇匀, 即得供试品溶液 A; 精密量取样品(厂家 B、厂家 C) 各 1 mL, 分别置 10 mL 容量瓶中, 加水定容, 摇匀, 即得供试品溶液 B、C。取氯化钠 29.21 mg, 亚硫酸二钠



1. EDTA²⁻ 2. Cl⁻ 3. SO₃²⁻ 4. SO₄²⁻ 5. Br⁻ 6. NO₃⁻ 7. PO₄³⁻

图1 系统适用性试验离子色谱图

1. EDTA²⁻ 2. Cl⁻ 3. SO₃²⁻ 4. SO₄²⁻ 5. Br⁻ 6. NO₃⁻ 7. PO₄³⁻

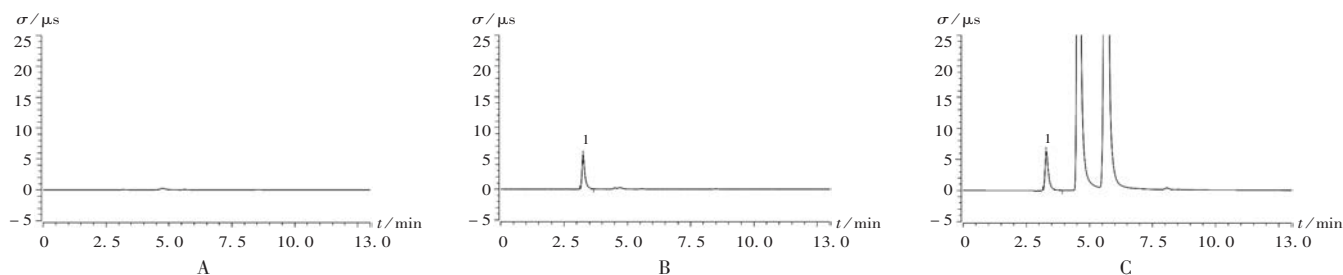
Fig. 1 Ion chromatogram of the system suitability test

25.20 mg, 硫酸钠 14.17 mg, 依地酸二钠 27.22 mg, 硝酸钾 20.25 mg, 磷酸氢二钠 27.60 mg, 精密称定, 分别置 25 mL 容量瓶中, 加水定容, 精密量取上述溶液各 0.25 mL, 苯扎溴铵对照品 0.1 mL, 置 20 mL 容量瓶中, 加水定容, 即得质量浓度为 5~100 mg/L 的系统适用性试验用混合溶液。以水为空白溶剂。

2.3 方法学考察

系统适用性试验和专属性试验: 取 2.2 项下混合溶液 25 μL, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果, 各阴离子理论板数均 > 2000, 分离度均 ≥ 1.5, 相互间分离良好, 详见图 1。供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应峰出现, 且空白溶剂对测定结果无干扰。详见图 2。

线性关系考察: 取 2.2 项下对照品溶液 75, 100, 200 μL 及 0.5, 1.0, 1.5 mL, 分别置 20 mL 容量瓶中, 用水定容, 摇匀, 即得质量浓度分别为 5.58, 7.44, 14.89, 37.22, 74.44, 111.66 mg/L 的系列对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。以依地酸二钠质量浓度 (X, mg/L) 为横坐标、峰面积 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 0.0496X - 0.0050$ ($r = 0.9999$, $n = 6$)。结果表明, 依地酸二钠质量浓度在 5.58~111.66 mg/L 范围内与峰面积线性关系良好。



1. 依地酸二钠

A. 空白溶剂 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液

图2 专属性试验离子色谱图

1. disodium edetate

A. Blank solvent B. Reference solution C. Test solution

Fig. 2 Ion chromatograms of the specificity test

定量限考察:取依地酸二钠对照品溶液(质量浓度为 5.58 mg/L),用水逐级稀释,并按 2.1 项下色谱条件进样测定,以信噪比(S/N)为 10:1 时计算定量限。结果定量限为 23.25 ng。

精密度试验:取 2.2 项下对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果依地酸二钠峰面积的 RSD 为 0.84% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取 2.2 项下对照品溶液,分别于室温下放置 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48 h 时按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果依地酸二钠峰面积的 RSD 为 1.31% ($n=7$),表明对照品溶液在室温下放置 48 h 内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号为 190817)适量,共 6 份,依法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定。结果依地酸二钠的平均含量为 0.968 7 mg/mL, RSD 为 1.40% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密量取已知含量的样品(批号为 190817)2.5 mL,置 100 mL 容量瓶中,共 9 份,分别精密加入对照品溶液 1.0, 1.5, 2.0 mL,各 3 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果($n=9$)

Tab. 1 Results of the recovery test($n=9$)

样品含量(mg/L)	加入量(mg/L)	测得量(mg/L)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
11.677	7.444	19.022	98.67		
11.677	7.444	18.984	98.16		
11.677	7.444	19.020	98.64		
11.677	11.166	22.804	99.65		
11.677	11.166	22.750	99.17	99.52	0.91
11.677	11.166	22.825	99.84		
11.677	14.888	26.665	100.67		
11.677	14.888	26.639	100.50		
11.677	14.888	26.619	100.36		

2.4 样品含量测定

取 4 批样品各适量,分别按 2.2 项下方法制备供试品溶液,再按 2.1 项下色谱条件进样测定,每批样品测定 2 份,记录峰面积,并计算样品含量。结果批号为 190503, 190817, J190709, 19D30BA 样品中依地酸二钠含量分别为 0.876 0, 0.968 7, 0.257 1, 0.120 9 mg/mL。

3 讨论

妥布霉素地塞米松滴眼液常见辅料包括依地酸二钠、氯化钠、硫酸钠、苯扎溴铵,考虑到上述辅料中 Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} 等离子可能干扰依地酸二钠含量测定,故本研究中对上述离子进行考察。结果表明,妥布霉素地塞

米松滴眼液中其他离子对依地酸二钠含量测定均无干扰。

依地酸二钠在离子色谱柱中保留能力弱,选用 Dionex IonPac™ AS11-HC 分析柱和氢氧化钾淋洗液,可使依地酸二钠较快出峰,为了更好地分离依地酸二钠与常规阴离子,本研究在 1.0~1.5 mL/min 范围内改变淋洗液流速,考察流速对依地酸二钠含量测定的影响。结果,流速变化对依地酸二钠与其他离子的分离度影响不明显;再将淋洗液氢氧化钾质量浓度从 20 mmol/L 调至 30 mmol/L,使各阴离子间的分离度得到了改善。依地酸二钠在工艺处方中常用作稳定剂^[11-13],可提高药物的稳定性,但不同厂家的用量差异较大,依地酸二钠的安全用量有待进一步研究。

参考文献

- [1] 赵 举,尹永湘,曹 华. 逍遥散联合妥布霉素地塞米松治疗睑板腺功能障碍性干眼症的研究[J]. 国际眼科杂志, 2018,18(9):1731-1734.
- [2] 易 婷,赵 雁,陶 涛. 混悬型滴眼剂的研究进展[J]. 中国医药工业杂志,2020,51(6):679-686.
- [3] 薛 琦,杨龙华. 反相离子对高效液相色谱法测定混悬滴眼液中乙二胺四乙酸二钠含量[J]. 中国药业,2012,21(1):24-25.
- [4] 孙春霞,韩文芳,李 津. HPLC 测定氯化钠滴眼液中乙二胺四乙酸二钠的含量[J]. 食品与药品,2015,17(4):270-272.
- [5] 杨友田,邵顺章,梁 欣. HPLC-UV-ELSD 法同时测定复方妥布霉素滴眼液中妥布霉素和地塞米松的含量[J]. 药物分析杂志,2014,34(2):314-316.
- [6] 李 恒,晏菊姣,黄京芳. 离子色谱法测定氨甲环酸注射液中的依地酸二钠的含量[J]. 药物分析杂志,2012,32(9):1683-1685.
- [7] 刘朝霞,何 兰,丁丽霞. 国内离子色谱技术在化学药品质量控制中的应用[J]. 中国药师,2016,19(5):966-969.
- [8] 赵新颖,屈 锋,牟世芬. 离子色谱技术的重要进展和我国近年来的发展概况[J]. 色谱,2017,35(3):223-228.
- [9] 封淑华. 离子色谱法在药品检测中的最新进展[J]. 中国药业, 2010,19(11):1-3.
- [10] 钱建钦,刘贵君,梁键谋,等. 离子色谱法测定注射用酒石酸吉他霉素中酒石酸含量及成盐率合理性评价[J]. 中国现代应用药学,2020,37(12):1489-1492.
- [11] 陈 达,居 斌,赵述强,等. HPLC 法考察硫酸奈替米星注射液中依地酸二钠的含量[J]. 药学研究,2018,37(1):23-26.
- [12] 胡裕迪,朱硕然,印玺璟,等. HPLC 法测定泊沙康唑注射液中乙二胺四乙酸二钠的含量[J]. 中国医药工业杂志,2019, 50(7):786-791.
- [13] 姚枝玉,黄朝瑜,蔡美明,等. 高效液相色谱法测定咪达唑仑注射液中依地酸二钠的含量[J]. 中南药学,2020,18(1):102-104.

(收稿日期:2021-01-27;修回日期:2021-06-22)