

- 158-162.
- [4] WANG D Y, YANG X L, LI X Q, et al. HPLC determination of 8 synthetic colorants in canned yellow peach [J]. Phys Test Chem Anal- Part B(理化检验-化学分册), 2010, 46(9): 1034-1036.
- [5] BAO H M, HE J, LI H R. Quantitative determination of edible

- lake in film-coated tablets [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2008, 25(4): 340-343.
- [6] ASHEN J, FU X, PAN X, et al. HPLC determination of synthetic colorants in meat food [J]. Phys Test Chem Anal-Part B(理化检验-化学分册), 2011, 47(2): 139-143.

收稿日期: 2013-01-07

离子色谱法测定盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中亚硫酸氢钠的含量

杨丽珍¹, 杨伟峰^{1,2}, 石云峰²(1.浙江工业大学化材学院, 杭州 310014; 2.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004)

摘要:目的 建立一种离子色谱法准确快速测定盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中抗氧化剂亚硫酸氢钠含量的方法。方法 采用 AS-11 阴离子分析柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 对样品进行分离, 以 20 mmol·L⁻¹ 氢氧化钾溶液为淋洗液, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 抑制型电导检测器检测。样品用 0.4% 甲醛溶液稀释后直接进样。结果 NaHSO₃ 线性范围为 4.07~30.51 μg·mL⁻¹, $r=0.999\ 7$; Na₂SO₄ 线性范围为 1.59~159.0 μg·mL⁻¹, $r=0.999\ 8$; NaHSO₃、Na₂SO₄ 样品平均回收率($n=9$) 分别为 98.82%, 98.24%。结论 本方法操作简便、灵敏、稳定、选择性高, 可用于盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中亚硫酸氢钠含量的检测。

关键词: 离子色谱; 盐酸阿扎司琼; 亚硫酸氢钠

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)10-1116-04

Determination of Sodium Bisulfite in Azasetron Hydrochloride and Sodium Chloride Injection by Ion Chromatography

YANG Lizhen¹, YANG Weifeng^{1,2}, SHI Yunfeng²(1.College of Chemical Engineering and Materials Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2.Zhejiang Insititue for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIE To establish an ion chromatography method for rapid and precise determination of the content of antioxidant sodium bisulfite in azasetron hydrochloride and sodium chlodium injection. **METHODS** The AS-11 anion analytical column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) was adopted to separate the samples with the eluent of 20 mmol·L⁻¹ potassium hydroxide. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and the suppressed conductivity detector was adopted. Samples were diluted with 0.4% formaldehyde solution followed by direct injection. **RESULTS** This method exhibited excellent regression($r=0.9997$) in the range of 4.07~30.51 μg·mL⁻¹ for NaHSO₃ and regression($r=0.999\ 8$) in the range of 1.59~159.0 μg·mL⁻¹ for Na₂SO₄, the average recovery ($n=9$) was 98.82%, 98.24%, respectively for NaHSO₃ and Na₂SO₄. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, stable and precise, and can be used for the determination of sodium bisulfite in azasetron hydrochloride and sodium chlodium injection.

KEY WORDS: ion chromatography; azasetron hydrochloride; sodium bisulfite

盐酸阿扎司琼氯化钠注射液是一种用于放疗、细胞毒素药物化疗引起的恶心呕吐及手术后患者恶心呕吐的止吐药物, 部分生产企业加入亚硫酸氢钠作为抗氧化剂。与口服不同的是, 静脉给药的亚硫酸盐过敏反应发病快、病情严重。因为口服亚硫酸盐在肠道吸收经门静脉进入肝脏, 被肝内亚硫酸氧化酶氧化成无毒的硫酸盐由尿液排出体外, 静脉给药的亚硫酸盐绕过肝脏解毒环

节直接进入血液循环, 毒性更强。注射剂中亚硫酸盐常用剂量为 0.1%~1.0%^[1], 准确测定出注射剂中亚硫酸盐的含量是控制药品质量, 保证用药安全的一大途径。采用氧化还原法^[2]、分光光度法^[3]、化学发光法^[4]等方法测定盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中的亚硫酸氢钠含量方法较为烦琐, 空白干扰较大, 需样品量大。文献[5]报道了以碳酸钠、碳酸氢钠混合溶液为淋洗液, 三乙醇胺为稳定剂

的离子色谱法测定卡络磺钠氯化钠注射液中亚硫酸氢钠的含量。本实验在此基础上,研究了以氢氧化钾为淋洗液,甲醛为稳定剂测定盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中亚硫酸氢钠含量的方法。

1 仪器与试剂

ICS-3000 离子色谱仪(美国戴安,配有 EG 发生器和抑制型电导检测器);Mettler XS205DU 电子分析天平(瑞士梅特勒)。硫酸钠对照品(国药集团化学试剂有限公司,批号:20120910,纯度>99%);亚硫酸氢钠对照品(湖南尔康制药有限公司,批号:101120120601,含量:90.57%),国内 3 家企业生产的盐酸阿扎司琼氯化钠注射液 4 批(正大天晴药业集团有限公司,批号:111209;扬子江药业集团有限公司,批号:120911,120945;四川三精升和制药有限公司,批号:20120515)。试验用水为 Milli-Q 系统制备,甲醛为分析纯。

2 方法

2.1 0.4%甲醛溶液的配制

取 4.0 mL 甲醛溶液,置 1 000 mL 量瓶中,加水稀释,摇匀,即得。

2.2 对照品溶液的配制

2.2.1 亚硫酸氢钠对照品溶液的配制 精密称取亚硫酸氢钠对照品 0.101 7 g 置 100 mL 量瓶中,加少量水溶解,并用水稀释至刻度,精密量取 2.0 mL 置 100 mL 量瓶中,用 0.4%甲醛溶液稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 硫酸钠对照品溶液的配制 精密称取硫酸钠对照品 0.106 0 g 置 100 mL 量瓶中,加少量水溶解,并用水稀释至刻度,精密量取 10.0 mL 置 100 mL 量瓶中,用 0.4%甲醛溶液稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的配制

精密量取本品 2.0 mL,置 20 mL 量瓶中,用 0.4%甲醛溶液稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 色谱条件

色谱柱:AG-11 阴离子保护柱和 AS-11 阴离子分析柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm 戴安公司);淋洗液:20 mmol·L⁻¹ 氢氧化钾(在线淋洗液发生器生成),流速:1.0 mL·min⁻¹,抑制型电导检测器,抑制电压:50 mV,进样量:25 μL。

3 结果

3.1 专属性试验

在选定的色谱条件下,SO₃²⁻峰形尖锐,对称

性好,保留时间约为 7.35 min,SO₄²⁻的保留时间约为 7.90 min,两者之间分离度为 1.65,见图 1。

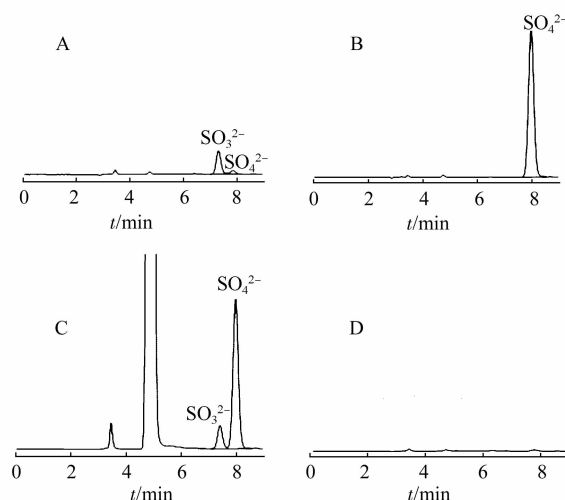


图 1 离子色谱图

A-亚硫酸氢钠对照品; B-硫酸钠对照品; C-样品; D-空白溶液

Fig 1 Ion chromatograms

A-sodium bisulfite standard solution; B-sodium sulfate standard solution; C-samples; D-blank

3.2 线性关系考察

3.2.1 亚硫酸氢钠线性关系考察 精密量取适量亚硫酸氢钠对照品溶液,用 0.4%甲醛溶液稀释制成浓度为 30.51, 24.41, 20.34, 16.27, 12.20, 8.140, 4.07 μg·mL⁻¹ 的系列浓度对照品溶液,按“2.4”项下色谱条件进样测定峰面积,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=0.080\ 4X-0.082\ 9$, $r=0.999\ 7$,结果表明亚硫酸氢钠在 4.07~30.51 μg·mL⁻¹ 内呈良好线性关系。

3.2.2 硫酸钠线性关系考察 精密量取适量硫酸钠对照品溶液,用 0.4%甲醛溶液稀释制成浓度 159.0, 127.2, 106.0, 84.80, 63.60, 42.40, 21.20, 1.590 μg·mL⁻¹ 的系列浓度对照品溶液,按“2.4”项下色谱条件进样测定峰面积,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=0.140\ 8X+0.067\ 7$, $r=0.999\ 8$ 。结果表明硫酸钠在 1.59~159.0 μg·mL⁻¹ 内呈良好线性关系。

3.3 仪器精密度试验

分别精密吸取亚硫酸氢钠对照品溶液 25 μL,连续进样 6 次,结果其峰面积的 RSD 为 0.53%。

3.4 重复性试验

取盐酸阿扎司琼氯化钠注射液(批号:1210105),按“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,测定峰面积,计算含量和 RSD。结果该批盐酸阿扎

司琼氯化钠注射液中亚硫酸氢钠的平均含量为 0.02%, RSD 为 0.45%, 硫酸钠的平均含量为 0.065%, RSD 为 0.28%, 表明方法重复性良好。

3.5 定量限试验

精确配制亚硫酸氢钠系列浓度的溶液, 分别进样, 按峰高为基线噪声的 10 倍计算得亚硫酸氢钠定量限为 $0.78 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=6$, RSD% 为 2.3%), 硫酸钠定量限为 $1.15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=6$, RSD% 为 1.68%)。

3.6 回收率试验

3.6.1 亚硫酸氢钠回收率 A 公司的 1102141 批盐酸阿扎司琼氯化钠注射液样品中未添加亚硫酸氢钠辅料, 故以该批样品分别配制亚硫酸氢钠含量为 16.95, 20.34, 25.43 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 低(80%)、中(100%)、高(120%)浓度的共 9 份模拟样品, 按“2.3”项下方法制备, 按“2.4”项下色谱条件进样, 测定其峰面积, 并计算回收率, 得平均回收率为 98.82%, RSD% 为 1.08%。由此可知, 使用本方法测定 NaHSO_3 含量准确率较高。

3.6.2 硫酸钠回收率 以 A 公司 1102141 批盐酸阿扎司琼氯化钠注射液样品分别配制硫酸钠含量为 88.33, 106.0, 132.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 低(80%)、中(100%)、高(120%)浓度的共 9 份模拟样品, 按“2.3”项下方法制备, 按“2.4”项下色谱条件进样, 测定其峰面积, 并计算回收率, 得平均回收率为 98.24%, RSD% 为 0.64%。由此可知, 测定 Na_2SO_4 含量使用本方法准确率较高。

3.6.3 不同浓度甲醛溶液对亚硫酸氢钠回收率的影响 以 A 公司 1102141 批盐酸阿扎司琼氯化钠注射液样品, 分别用 0.1%, 0.2%, 0.4%, 1.0% 甲醛溶液配制亚硫酸氢钠含量为 $20.34 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的模拟样品, 按“2.3”项下方法制备, 按“2.4”项下色谱条件进样, 测定其峰面积, 并计算回收率, 结果见表 1。由此可知, 采用 0.4% 甲醛溶液作为稳定剂时, 测定 NaHSO_3 含量使用本方法准确率较高。

表 1 不同浓度甲醛溶液对回收率的影响

Tab 1 The influence of different concentration of formaldehyde solution for the recovery

样 品	平均回收率/%	RSD/%
NaHSO_3 (0.1%甲醛)	96.47	0.86
NaHSO_3 (0.2%甲醛)	97.55	0.94
NaHSO_3 (0.4%甲醛)	99.07	1.11
NaHSO_3 (1.0%甲醛)	94.28	1.45

3.7 稳定性试验

按“2.2.1”项下方法配制亚硫酸氢钠对照品溶液, 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 进样测定, 记录峰面积, RSD 为 1.6%。结果表明亚硫酸氢钠对照品溶液在 8 h 内基本稳定。

3.8 样品分析

对 4 批样品进行测定, 以亚硫酸氢钠对照品溶液和硫酸钠对照品溶液的峰面积按外标法分别计算样品中亚硫酸氢钠和硫酸钠的含量, 因硫酸钠是加入的亚硫酸氢钠在生产和贮存期间氧化而来的, 故按式(1)将其折算成亚硫酸氢钠的含量, 结果见表 2。



表 2 亚硫酸氢钠含量测定结果

Tab 2 Results of the content of sodium bisulfite

样品批号	NaHSO_3 含量/%	Na_2SO_4 含量/%	NaHSO_3 总量/%
1210105	0.02	0.065	0.067
1011105	—	0.015	0.011
1101105	—	0.014	0.010
1102141	—	—	—

注: “—”表示未检出

Note: “—” means not detected

4 讨论

盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中加入亚硫酸氢钠作为抗氧化剂, 在生产和贮存期间, 部分亚硫酸氢钠被氧化, 生成硫酸钠, 所选择的色谱条件须能使 SO_3^{2-} 和 SO_4^{2-} 达到良好的分离; 为准确测定初始加入盐酸阿扎司琼氯化钠注射液中亚硫酸氢钠的含量, 需同时测定硫酸钠的含量, 折算成亚硫酸氢钠来确定总亚硫酸氢钠的含量。

中国食品药品检定研究院尚无亚硫酸氢钠对照品提供, 本实验使用湖南尔康制药有限公司生产的亚硫酸氢钠作为对照品。实验中发现, 该公司生产的亚硫酸氢钠已部分被氧化, 故须采用建立的离子色谱法先测定硫酸钠含量后通过计算确定亚硫酸氢钠含量。

采用建立的方法测得 4 批样品, 均符合国家药监部门推荐的限度(0.1%)^[2], 而其中一批未检出, 说明该方法能很好的检测注射液中亚硫酸氢钠含量, 有助于药监部门对药品质量的监管, 保证用药安全。

本方法采用在线淋洗液生成器和水自动生成 $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钾作为淋洗液, 简便、快捷,

且能使 SO_3^{2-} 和 SO_4^{2-} 的分离度达到要求; 实验中若不加稳定剂, 两针平行样相差 15% 左右, 这是由于亚硫酸氢根不稳定, 容易转化为硫酸根。根据文献报道^[6], 甲醛是亚硫酸氢钠的很好的稳定剂。通过考察不同浓度的甲醛溶液的影响, 发现 0.4% 的甲醛溶液能使 SO_3^{2-} 峰面积基本稳定, 且样品的加样回收率达到 99.07%。

REFERENCES

- [1] ZHENG C, MEI D, WANG L, et al. Adverse effect of excipients in pharmaceutical products [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2005, 40(9): 644-649.
- [2] HU R R. Control and determination of antioxidant in amino acid injection [J]. Acad J Guangdong Coll Pharm(广东医学院学报), 2011, 4(17): 283-284
- [3] ZHANG S D. Quantitation of sodium bisulphite in dobutamine hydrochloride injection by spectrophotometry [J]. China Med Pharm(中国医药科学), 2011, 1(17): 45-48.
- [4] LIU Z C, YANG F Z, SHAN Y F. Quantitation of sodium bisulphite in injection liquid by chemiluminescence method [J]. J Hebei Norm Univ(河北师范大学学报), 2010, 1(34): 80-85.
- [5] RONG Y H, ZHOU G R, SHAN Y F, et al. IC determination of sodium bisulfite of carbazochrome sodium sulfonate chloride injection [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(1): 160-162
- [6] LU K P. Simultaneous determination of Cl^- and SO_4^{2-} in 30% sodium bisulfite solution samples by ion chromatography [J]. Chin J Chromatogr(色谱), 2005, 23(3): 205-208.

收稿日期: 2013-01-05

头孢丙烯微生物限度检查方法的验证

洪亮, 卢启寰(台州市食品药品检验所, 浙江 台州 318000)

摘要: 目的 建立头孢丙烯原料的微生物限度检查方法, 并对其进行方法学验证。方法 按中国药典 2010 年版方法对 3 个批号的头孢丙烯原料进行微生物限度检查方法验证。细菌的计数方法和控制菌检查均采用低速离心-薄膜过滤-酶中和联用法; 霉菌和酵母菌计数采用平皿法。结果 各试验菌的回收率均 >70%, 稀释液回收率也均 >70%, 控制菌检查具有专属性, 满足中国药典 2010 年版验证试验的要求。结论 本品的微生物限度检查方法有效可行, 可用于头孢丙烯原料的微生物限度检查。

关键词: 头孢丙烯原料; 微生物限度检查; 方法学验证

中图分类号: R916.693

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)10-1119-04

Establishment and Validation of Methodology for Microbial Limit Test of Cefprozil APIs

HONG Liang, LU Qihuan(Taizhou Institute for Food and Drug Control, Taizhou 318000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for microbial limit test of cefprozil APIs, and carry out the verification of methodology. **METHODS** According to the method of Chinese Pharmacopoeia 2010, microbial limit examination of three batches of cefprozil APIs were studied. Low speed centrifuge, membrane filtration and enzyme neutralization method were used with count of bacterium and pathogenic bacteria test. The plate method was used with counts mold and yeasts. **RESULTS** The recoveries above 70% were obtained when comparing the product challenge to its corresponding inoculum control, and no growth was observed in the negative diluent controls. The Method could pass the validation test of Chinese Pharmacopoeia 2010 version. **CONCLUSION** The method can be used in microbial limit test of cefprozil APIs.

KEY WORDS: cefprozil APIs; microbial limit test; validation

头孢丙烯(cefprozil)是第二代头孢类抗生素, 具有广谱抗菌作用, 对革兰阳性需氧菌中的金黄色葡萄球菌(包括产 β -内酰胺酶菌株), 肺炎链球菌, 化脓性链球菌作用明显, 对坚韧肠球菌, 大肠埃希菌, 单核细胞增多性李斯特菌, 表皮葡萄

球菌, 腐生葡萄球菌, Warnei 葡萄球菌, 无乳链球菌, 链球菌 C、D、F、G 组和草绿色链球菌等具抑制作用。本品作用机制是抑制细菌细胞壁合成, 使细菌迅速破裂溶解。临床广泛应用于敏感菌所致上、下呼吸道感染, 皮肤和皮肤软组织感