

HPLC-ELSD法测定盐酸氨基葡萄糖胶囊中主成分的含量

潘柏良^{1*}, 刘霞²(1.重庆市中医院, 重庆 400011; 2.成都市高新区药工医药生物技术研究所, 成都 610041)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)16-1517-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.16.24

摘要 目的:建立测定盐酸氨基葡萄糖胶囊中主成分含量的方法。方法:采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器法。色谱柱为Apollo C₁₈,流动相为甲醇-水-0.2 mol/L三氟乙酸溶液(5:90:5, V/V/V),流速为0.7 ml/min,柱温为30℃,进样量为10 μl,漂移管温度为110℃,载气流速为3.0 L/min,响应值为1,撞击器状态为关。结果:盐酸氨基葡萄糖检测质量浓度在34.6~346.0 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9998$);平均回收率为99.0%,RSD=1.23%($n=9$)。结论:该方法准确、可靠、灵敏度高、重复性好,可以用于测定盐酸氨基葡萄糖胶囊中主成分的含量。

关键词 盐酸氨基葡萄糖胶囊;高效液相色谱-蒸发光散射检测器法;含量测定

Content Determination of Glucosamine Hydrochloride Capsules by HPLC-ELSD

PAN Bai-liang¹, LIU Xia²(1.TCM Hospital of Chongqing, Chongqing 400011, China; 2.Chengdu High-tech Zone Yaogong Institute of Medicinal Biotechnology, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of main component in Glucosamine hydrochloride capsules. METHODS: HPLC-ELSD method was adopted. The determination was performed on Apollo C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water-0.2 mol/L three fluorine acetic acid (5:90:50, V/V/V) at the flow rate of 0.7 ml/min. The column temperature was set at 30℃, and injection volume was 10 μl. The temperature of drift tube was 110℃, and the flow of carrier gas was 3.0 L/min. The response value was 1 and the impactor had been close down. RESULTS: The linear range of glucosamine hydrochloride was 34.6-346.0 μg/ml ($r=0.9998$) with mean recovery of 99.0% (RSD=1.23%, $n=9$). CONCLUSION: The method is accurate, reliable, sensitive and reproducible, and it can be applied for the content determination of main components in Glucosamine hydrochloride capsules.

KEY WORDS Glucosamine hydrochloride capsules; HPLC-ELSD; Content determination

盐酸氨基葡萄糖是一种成分为天然的氨基单糖的镇痛类药物^[1],用于治疗 and 预防全身所有部位的骨关节炎,可缓解和消除骨关节炎的疼痛、肿胀等症状。由于该成分无紫外吸收,因此基本无法用紫外检测器测定。国家药品标准WS1-(X-090)-2005Z^[2]中规定采用比色法测定盐酸氨基葡萄糖胶囊中盐酸氨基葡萄糖的含量,但其供试品溶液制备方法操作复杂,重复性不好;《美国药典》^[3]中盐酸氨基葡萄糖原料药的测定方法为高效液相色谱(HPLC)法,检测波长为195 nm,这个吸收波长对仪器要求较高,且基线难以平衡^[4]。为此,笔者在参考文献^[5-7]基础上,采用HPLC-蒸发光散射检测器(ELSD)法建立了测定盐酸氨基葡萄糖胶囊中主成分含量的方法。

1 材料

LC-10AT HPLC仪(日本岛津公司);Alltech ELSD2000ES蒸发光散射检测器(美国Alltech公司);FA1104型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司)

盐酸氨基葡萄糖对照品(中国食品药品检定研究院,批号:140649-200702);盐酸氨基葡萄糖胶囊(成都市高新区药工医药生物技术研究所,批号:20100501、20100502、20100503);甲醇为色谱纯,三氟乙酸为优级纯,其他试剂均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Apollo C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:甲

*副主任药师,本科。研究方向:医院药学。E-mail: PBL2007@tom.com

醇-水-0.2 mol/L三氟乙酸溶液(5:90:5, V/V/V);流速:0.7 ml/min;柱温:30℃;进样量:10 μl;漂移管温度:110℃;载气流速:3.0 L/min;响应值:1;撞击器状态:关。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取盐酸氨基葡萄糖对照品适量,精密称定,加水溶解并稀释制成每1 ml含盐酸氨基葡萄糖25 μg的溶液,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取样品细粉适量(约相当于盐酸氨基葡萄糖50 mg),置于100 ml量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 ml,置于100 ml量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.2.3 空白辅料溶液的制备 精密称取不含盐酸氨基葡萄糖的辅料适量,置于100 ml量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 ml,置于100 ml量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为空白辅料溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下3种溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样,3种溶液色谱见图1。由图1可见,对照品和供试品主峰保留时间相近,峰形较好,空白辅料无干扰。

2.4 线性关系考察

精密称取盐酸氨基葡萄糖对照品17.3 mg,置于50 ml量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,精密量取该溶液适量,加水稀释成质量浓度分别为34.6、103.8、173.0、207.6、346.0 μg/ml的系列溶液。精密量取上述系列溶液各10 μl注入HPLC仪,记录色谱,测定峰面积。以盐酸氨基葡萄糖检测质量浓度(x)的

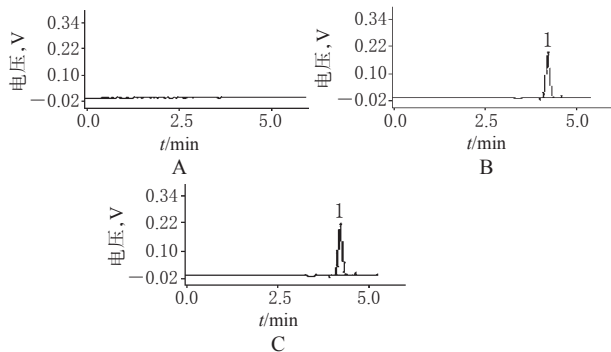


图1 高效液相色谱图

A.空白辅料;B.对照品;C.供试品;1. 盐酸氨基葡萄糖

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank excipients; B. substance control; C. test sample; 1. glucosamine hydrochloride

对数为横坐标,峰面积(y)的对数为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $\lg y = 1.4898 \times \lg x + 3.043$ ($r = 0.9998$)。结果表明,盐酸氨基葡萄糖检测质量浓度在 $34.6 \sim 346.0 \mu\text{g/ml}$ 范围内与峰面积积分值线性关系良好。

2.5 定量限的测定

精密称取盐酸氨基葡萄糖对照品 17.3 mg ,置于 50 ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,取上述溶液稀释 50 倍,精密量取稀释后的溶液 $10 \mu\text{l}$ 进样,得信噪比约为 $10:1$ 的峰,得定量限为 $6.92 \mu\text{g/ml}$ 。

2.6 精密度试验

取“2.4”项下制备的盐酸氨基葡萄糖对照品溶液 $5 \mu\text{l}$,连续进样 5 次,测定峰面积,计算 RSD。结果, $\text{RSD} = 1.41\%$,表明测定仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取样品(批号:20100501),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,于室温下放置 $0、1、2、5、8、24 \text{ h}$,各时点进样,测定峰面积,计算 RSD。结果, $\text{RSD} = 0.62\%$,说明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取样品(批号:20100501),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,进样,重复测定 6 次,计算 RSD。结果, $\text{RSD} = 0.81\%$,表明方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取已知含量样品(批号:20100501),研细,精密称取细粉适量(约相当于盐酸氨基葡萄糖 50 mg),置于 100 ml 量瓶中,共 9 份,分别精密加入盐酸氨基葡萄糖对照品约 $40、50、60 \text{ mg}$,各 3 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样,计算加样回收率,结果见表 1。

2.10 样品含量测定

取样品适量,用水稀释制成每 1 ml 约含盐酸氨基葡萄糖 $250 \mu\text{g}$ 的溶液,作为供试品溶液。另取盐酸氨基葡萄糖对照品适量,用水稀释制成 1 ml 约含盐酸氨基葡萄糖 $250 \mu\text{g}$ 和 $500 \mu\text{g}$ 的溶液作为不同质量浓度的对照品溶液,精密量取对照品溶液和供试品溶液各 $10 \mu\text{l}$ 注入 HPLC 仪,用外标两点法对方程计算含量。分别测定 3 批样品,各测定 2 次,结果见表 2。

3 讨论

3.1 流动相的选择

《美国药典》^[9]中以 HPLC 法测定盐酸氨基葡萄糖含量的色谱系统为磷酸盐缓冲液,本文采用三氟乙酸作为离子对试剂,

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery tests($n=9$)

称样量, mg	含主成分的量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
50.3	48.58	40.10	88.62	99.85		
51.3	49.55	40.30	88.96	97.79		
50.9	49.16	40.70	90.07	100.52		
50.7	48.97	50.30	98.65	98.77		
50.4	48.68	50.20	98.00	98.25	99.0	1.23
51.2	49.45	50.70	98.60	96.94		
52.3	50.52	60.20	110.06	98.90		
52.1	50.32	60.10	110.72	100.50		
51.0	49.26	60.70	109.67	99.52		

表2 样品含量测定结果($n=2$)

Tab 2 Results of content determination of samples($n=2$)

指标	批号		
	20100501	20100502	20100503
含主成分的量, %	100.62	99.68	100.57

以提高盐酸氨基葡萄糖在色谱柱上的保留时间。同时,研究了甲醇、水和三氟乙酸的比例,发现在甲醇-水- 0.2 mol/L 三氟乙酸溶液($5:90:5, V/V/V$)的流动相条件下,样品峰保留时间能与溶剂峰分离。

3.2 检测器条件的选择

《美国药典》^[9]规定本品采用紫外检测器,检测波长为 195 nm ,这个吸收波长对仪器要求较高,且基线难以平衡。本研究选择 HPLC-ELSD 法测定含量,检测器条件为漂移管温度: $110 \text{ }^\circ\text{C}$;载气流速: 3.0 L/min ;响应值: 1 ;撞击器状态:关。在此条件下仪器基线平稳,色谱峰响应也较为合适。

3.3 含量计算方法的选择

根据 ELSD 的原理,样品质量浓度与检测器响应之间呈指数关系,经对数转换两者可呈线性,其线性方程截距并不为零,因此在 HPLC-ELSD 系统中不宜使用外标一点法计算含量,而应采用外标两点法对方程计算含量。

3.4 方法的对比

采用 HPLC-ELSD 法测定盐酸氨基葡萄糖胶囊中主成分的含量方法简单,可操作性明显高于比色法。总之,本方法准确、可靠、灵敏度高、重复性好,试验证明其可以用于测定盐酸氨基葡萄糖胶囊中主成分的含量。

参考文献

- [1] 纪立伟,傅得兴.氨基葡萄糖的药理作用及安全性[J].中国药学杂志,2007,42(19):1513.
- [2] 国家食品药品监督管理局.WS1-(X-090)-2005Z 盐酸氨基葡萄糖胶囊:国家药品标准[S].2005.
- [3] The United States Pharmacopeial Convention. USP 32-NF 27[S]. 2009:1029.
- [4] 王培,黄哲苏,李海生.盐酸氨基葡萄糖胶囊含量测定条件的改进[J].天津药学,2008,3(5):318.
- [5] 陈金东,李蔚.滴定分析法和分光光度法测定保健食品中 D-氨基葡萄糖盐酸盐含量的研究[J].中国卫生检验杂志,2002,12(2):143.
- [6] 吴虹,顾宏霞,王效山.HPLC-ELSD 测定盐酸氨基葡萄糖含量[J].安徽中医学院学报,2008,27(2):41.
- [7] 郑望升.HPLC 法测定盐酸氨基葡萄糖分散片的含量[J].中国执业药师,2012,4(1):56.

(收稿日期:2012-06-12 修回日期:2013-02-25)