

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.20.023

离子色谱法测定硫酸氨基葡萄糖胶囊中硫酸根离子含量

张建敏, 周长明, 郭雷, 张雪艳[△]

(北京市药品检验所·国家药品监督管理局仿制药研究与评价重点实验室·中药成分分析与生物评价北京市重点实验室, 北京 102206)

摘要:目的 建立测定硫酸氨基葡萄糖胶囊中硫酸根离子含量的离子色谱法。方法 色谱柱为 Dionex IonPac™ AS11-HC 柱(250 mm × 4 mm), 分析柱为 Dionex IonPac™ AS11-HC 柱(250 mm × 4 mm), 淋洗液为 20 mmol/L 氢氧化钾溶液, 流速为 1.5 mL/min, 柱温为 30 ℃, 进样量为 25 μL。结果 硫酸根离子质量浓度在 5~30 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 5$, $n=6$); 检测限为 0.03 μg/mL, 定量限为 0.15 μg/mL; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 1.0% ($n=6$); 平均加样回收率为 100.82%, RSD 为 0.59% ($n=9$)。结论 该方法操作简便, 专属性强, 准确度高, 稳定性好, 可用于测定硫酸氨基葡萄糖胶囊中硫酸根离子的含量。

关键词: 硫酸氨基葡萄糖; 硫酸根离子; 离子色谱法; 含量测定

中图分类号: R927.2; R977.4

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)20-0084-03

Content Determination of Sulfate Ion in Glucosamine Sulfate Capsules by Ion Chromatography

ZHANG Jianmin, ZHOU Changming, GUO Lei, ZHANG Xueyan

(Beijing Institute for Drug Control · NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Generic Drugs · Beijing Key Laboratory of Analysis and Evaluation on Chinese, Beijing, China 102206)

Abstract: **Objective** To establish an ion chromatography method for the content determination of sulfate ion in Glucosamine Sulfate Capsules. **Methods** The chromatographic column was Dionex IonPac™ AS11-HC column(250 mm × 4 mm), the analytical column was Dionex IonPac™ AS11-HC column(250 mm × 4 mm), the eluent was 20 mmol/L potassium hydroxide solution, the flow rate was 1.5 mL/min, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 25 μL. **Results** The linear range of sulfate ion was 5-30 μg/mL ($r=0.999\ 5$, $n=6$). The limit of detection(LOD) was 0.03 μg/mL, the limit of quantification(LOQ) was 0.15 μg/mL. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 1.0% ($n=6$). The average recovery of sulfate ion was 100.82% with RSD of 0.59% ($n=9$). **Conclusion** The method is simple, specific, accurate and stable, which can be used for the content determination of sulfate ion in Glucosamine Sulfate Capsules.

Key words: Glucosamine Sulfate Capsules; sulfate ion; ion chromatography; content determination

氨基葡萄糖是从甲壳动物外壳中提取的一种天然氨基单糖,是糖胺聚糖和透明质酸重要的结构成分,在人体内具有潜在保护软骨作用,硫酸基在葡胺聚糖的合成过程中非常重要^[1-2]。由于氨基葡萄糖极不稳定,故将其制成盐的形式增加稳定性,常见成盐形式为盐酸氨基葡萄糖和硫酸氨基葡萄糖。目前,2015年版《中国药典(一部)》中并未收载硫酸氨基葡萄糖胶囊;国家药品标准^[3]中并未规定硫酸盐检查项;进口标准 JX20160314^[4]中硫酸盐测定方法为重量法,先将样品溶解,使溶液酸化,再根据氯化钡与硫酸根生成硫酸钡沉淀反应,经过滤、洗涤、烘干、称重,计算硫酸根离子的含量。该方法操作烦琐、耗时,影响因素较多。离子色谱法是采用高压输液泵将洗脱液泵入色谱柱中,对可解离物质进行分离测定的色谱方法^[5],广泛用于测定无机阴离子、无机阳离子、有机酸、糖等成分的含量,在药品、水质、环境、生物、电气等领域发挥重要作用^[6-13]。本研究

中建立了测定硫酸氨基葡萄糖胶囊中硫酸根离子含量的离子色谱-抑制电导法,为提高硫酸氨基葡萄糖胶囊的质量标准提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Thermo ICS-3000 型离子色谱仪, AERS 500 型抑制器(规格为 4 mm),均购自赛默飞世尔科技公司;赛多利斯 Arium® Pro 型超纯水机(德国赛多利斯公司);XA205 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司,精度为十万分之一)。

1.2 试剂

硫酸根离子标准溶液(中国计量科学研究院,批号为 17083,质量浓度为 1 000 μg/mL);氢氧化钾(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);水为超纯水;硫酸氨基葡萄糖胶囊(厂家 A,批号分别为 1901975,1902812,1902941)。

第一作者:张建敏,男,硕士,主管药师,研究方向为生化药物和生物制品检验,(电子信箱)meiadeng@126.com。

[△]通信作者:张雪艳,女,硕士,药师,研究方向为生化药物和生物制品检验,(电子信箱)BJzhangxueyan@126.com。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

保护柱: Dionex IonPac™ AG11-HC 柱(50 mm×4 mm);
分析柱: Dionex IonPac™ AS11-HC 柱(250 mm×4 mm);
淋洗液: 20 mmol/L 氢氧化钾溶液; 流速: 1.5 mL/min;
柱温: 30 ℃; 进样量: 25 μL。

2.2 溶液制备

精密量取硫酸根离子标准溶液(质量浓度为1 000 μg/mL) 1 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀。精密量取上述溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL, 分别置 10 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度分别为 5, 10, 15, 20, 25, 30 μg/mL 的对照品溶液。取样品, 弃去囊壳, 取粉末 1.0 g, 置 100 mL 容量瓶中, 振摇 30 min, 用水定容至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置 100 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。以水作为空白溶剂。

2.3 方法学考察

专属性试验: 取 2.2 项下对照品溶液、供试品溶液和空白溶剂各 25 μL, 按 2.1 项下色谱条件注入离子色谱仪测定。结果供试品溶液色谱中, 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。色谱图见图 1。

线性关系考察、检测限和定量限确定: 取 2.2 项下质量浓度为 5, 10, 15, 20, 25, 30 μg/mL 的系列对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件分别注入色谱仪, 以硫酸根离子质量浓度(X , μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 0.1074X - 0.085$, $r = 0.9995$ ($n = 6$)。结果表明, 硫酸根离子质量浓度在 5~30 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

取硫酸根离子对照品溶液(质量浓度为 15 μg/mL), 用水稀释, 以信噪比(S/N)为 3 时的质量浓度为检测

限, S/N 为 10 时的质量浓度为定量限。结果定量限为 0.15 μg/mL, 检测限为 0.03 μg/mL。本方法所做标准曲线 6 个点均在定量限以上, 表明结果可靠。

精密度试验: 取 2.2 项下对照品溶液(质量浓度为 15 μg/mL)适量, 按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次。结果硫酸根离子峰面积的 RSD 为 0.45% ($n = 6$), 表明仪器精密良好。

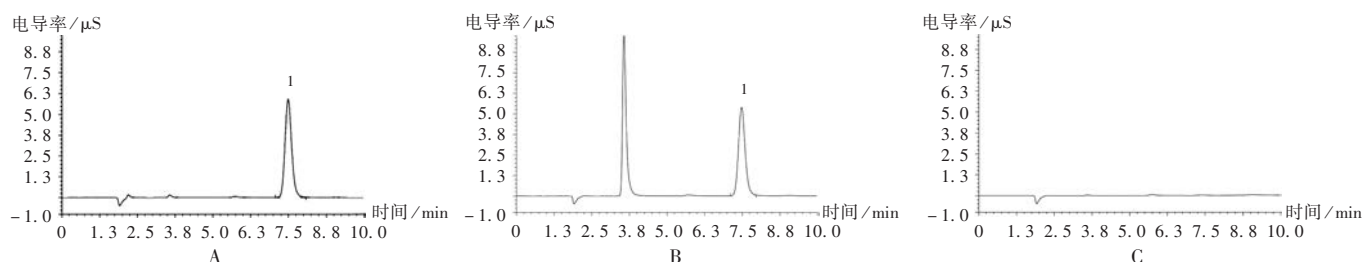
重复性试验: 取样品(批号为 1902812)适量, 按 2.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按 2.1 项下方法进样测定。结果硫酸根离子平均含量的 RSD 为 0.50% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

稳定性试验: 取样品(批号为 1902812)适量, 按 2.2 项下方法平行制备供试品溶液, 于室温下放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次。结果硫酸根离子峰面积的 RSD 为 0.91% ($n = 6$), 表明供试品溶液在室温放置 24 h 稳定性良好。

加样回收试验: 取已知含量的样品(批号为 1902812)0.5 g, 精密称定, 置 100 mL 容量瓶中, 振摇 30 min 使溶解, 用水定容至刻度, 摇匀, 过滤, 作为贮备液; 精密量取贮备液 0.5 mL, 共 3 份, 分别置 100 mL 容量瓶中, 精密量取对照品溶液(质量浓度为 100 μg/mL) 4.0, 6.0, 8.0 mL, 置上述 100 mL 容量瓶中, 每个质量浓度重复 3 份, 加水稀释至刻度, 摇匀, 备用。取上述溶液各适量, 按 2.1 项下色谱条件进样分析, 采用外标法计算加样回收率。结果硫酸根离子回收率平均值为 100.82%, RSD 为 0.59% ($n = 9$), 表明方法准确度良好。

2.4 样品含量测定

取 3 批(批号分别为 1901975, 1902812, 1902841)样品, 依法制备供试品溶液。分别采用离子色谱法和进口标准 JX20160314 中重量法测定硫酸根离子的含量。结果见表 1。



1. 硫酸根离子

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 空白溶剂

图 1 离子色谱图

1. sulfate ion

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

Fig. 1 Ion chromatogram

表1 离子色谱法与重量法测定硫酸根离子含量结果比较(g)

Tab.1 Comparison of content determination results of sulfate ion by ion chromatography and gravimetric method(g)

批号	离子色谱法	重量法
1901975	0.137	0.136
1902812	0.131	0.133
1902941	0.134	0.137

3 讨论

3.1 标准溶液和淋洗液配制考察

由于试剂和容器中不可避免存在一些干扰离子,故配制系列对照品溶液时均直接吸取硫酸根离子标准溶液(质量浓度为1 000 $\mu\text{g/mL}$),一步完成稀释,尽可能减少外界可能引入的误差。试验中用到的淋洗液须一次性足量配制,以确保硫酸根离子保留时间的稳定和基线的平稳,避免人工配制淋洗液带来的误差,仪器状态可更加稳定。

3.2 淋洗液选择和浓度确定

氢氧化钾溶液的背景电导低,噪声小,灵敏度高,无水负峰,故确定为淋洗液。先后采用40 mmol/L和20 mmol/L氢氧化钾溶液进行试验。结果发现,采用20 mmol/L氢氧化钾溶液可提高硫酸根离子与相邻氯离子辅料峰的分度。

3.3 流速确定

一般情况下,流速与淋洗液出峰时间成正相关,流速增大,保留时间明显缩短,但系统压力会升高,流速的增加受分离柱最大操作压力限制;另一方面,流速减小,保留时间会延长,且峰形会变宽。综合考虑系统压力和保留时间的影响,流速确定为1.5 mL/min,此时系统压力为1 520 psi(柱子允许的最大压力为3 000 psi),硫酸根离子出峰时间合适。

3.4 方法比较

硫酸根离子与氨基葡萄糖成盐生成硫酸氨基葡萄糖,可提高氨基葡萄糖的稳定性,但过量的硫酸根离子属无机盐杂质。分别采用离子色谱法和重量法测定样品中硫酸根离子的含量,结果2种方法测定结果的差异较小,但离子色谱法可降低试验过程中的操作误差,重复性较好,也可缩短检测时间,故可取代操作烦琐的重量法^[14-15]。

3.5 方法评价

本研究中建立的方法操作简便,专属性强,准确度高,稳定性好,可用于测定硫酸氨基葡萄糖胶囊中硫酸根离子的含量。在离子色谱测定硫酸根离子的过程中发现存在氯离子,但硫酸氨基葡萄糖胶囊标准中未对氯离子进行质量控制,其可能来源于硫酸氨基葡萄糖胶囊生产过程的溶剂残留,采用离子色谱法同时测定硫酸氨基葡萄糖胶囊中硫酸根离子和氯离子的含量将是后续研究的方向。

参考文献

- [1] 韩丽华. 硫酸氨基葡萄糖临床应用的研究进展[J]. 中国医药指南,2019,17(12):42.
- [2] 陶玉红. 硫酸氨基葡萄糖胶囊治疗膝关节关节炎的疗效分析[J]. 中国冶金工业医学杂志,2020,37(4):463.
- [3] YBH08182009,国家食品药品监督管理局·硫酸氨基葡萄糖胶囊[S].
- [4] JX20160314,国家食品药品监督管理局·硫酸氨基葡萄糖胶囊[S].
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:61-62.
- [6] 吴燕,米亚娟. 离子色谱法及其在药物分析中的应用[J]. 天津药学,2011,23(4):50-53.
- [7] 刘爽,张娟,徐楠,等. 离子色谱法测定农用硫酸铵中4种杂质阴离子[J]. 中国无机分析化学,2020,10(4):36-40.
- [8] 唐蕾,唐燊峰,彭飞燕,等. 离子色谱法测定复方田七胃痛胶囊中4组分的含量[J]. 中国药师,2020,23(8):1662-1664.
- [9] 郑冬梅,刘静,程素艳,等. 离子色谱法在标准中的应用现状及展望[J]. 中国石油和化工标准与质量,2020,40(4):11-12.
- [10] 陶云亭. 离子色谱检测方法的应用进展[J]. 云南化工,2020,47(2):9-10.
- [11] 李茜,刘英. 离子色谱法分析氨基糖苷类抗菌药物的质量标准研究进展[J]. 中国药事,2019,33(7):819-828.
- [12] 李远超,李秋霞,杨瑞光,等. 离子色谱法测定苦卤中硫酸根含量[J]. 无机盐工业,2019,51(6):69-71.
- [13] 栗贵,刘雁鸣,龙海燕,等. 离子色谱法测定药用辅料硬脂酸镁中氯离子和硫酸根离子及不同级别产品含量比较[J]. 药物分析杂志,2016,36(12):2251-2256.
- [14] 宋玉国,申玉华. 离子色谱法测定苦碟子注射液中硫酸盐和亚硫酸盐[J]. 药物分析杂志,2012,32(5):857-860.
- [15] 伍昭君. 离子色谱法与化学重量法测定水中硫酸盐的比较研究[J]. 沿海企业与科技,2012(5):67-69.

(收稿日期:2020-12-29;修回日期:2021-04-09)

中国科技核心期刊 中国科技论文统计源期刊

《中国药业》杂志 欢迎投稿! 欢迎订阅!

邮发代号:78-130,各地邮局均可订阅;补订、破月订可向本刊办理。电话兼传真:(023) 86592565

网上投稿: <http://www.zhongguoyaoye023.com> 或 中国药业在线投稿系统