

HPLC-RI 测定复方甘露醇注射液中甘露醇、葡萄糖的含量

柯云翠, 朱义 (杭州民生药业集团有限公司, 杭州 310011)

摘要:目的 建立复方甘露醇注射液中甘露醇、葡萄糖含量测定方法。方法 用 HPLC-RI 法, 以强酸性阳离子交换树脂(钙型)(Sugar Pak I 300 mm × 6.5 mm)为固定相, 水为流动相, 柱温(85 ± 1) °C, 流速 0.5 mL · min⁻¹; 检测器为示差折光检测器, 池温 40 °C。结果 甘露醇在 0.15 ~ 15 mg · mL⁻¹ 内呈良好的线性关系, $Y = 643.467X - 15.373$ ($r = 0.9998, n = 7$), 平均回收率为 100.1% (RSD = 0.89%, $n = 9$); 葡萄糖在 0.05 ~ 5 mg · mL⁻¹ 内呈良好的线性关系, $Y = 640.151X - 3.719.6$ ($r = 1.0000, n = 7$), 平均回收率为 100.1% (RSD = 0.73%, $n = 9$)。结论 该方法简便准确, 重复性好, 符合甘露醇、葡萄糖含量测定的要求。

关键词:甘露醇; 葡萄糖; HPLC-RI

中图分类号: R917.101; R917.4

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2009)03-0245-03

Determination of Mannitol and Glucose in the Compound Mannitol Injection by HPLC-RI

KE Yuncui, ZHU Yi (Hangzhou Minsheng Pharmaceutical Group Co., Ltd., Hangzhou 310011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC-RI method for the determination of the contents of mannitol and glucose in Compound Mannitol Injection. **METHODS** The HPLC-RI system consisted of strong acid cation exchange resin (Ca²⁺) (Sugar Pak I 300 mm × 6.5 mm) as stationary phase, water as mobile phase at the flow rate of 0.5 mL · min⁻¹. The column temperature was (85 ± 1) °C. The differential refractive index detector temperature was 40 °C. **RESULTS** The linear of glucose was 0.05-5 mg · mL⁻¹, $Y = 640.151X - 3.719.6$ ($r = 1.0000, n = 7$), the average recovery was 100.1% (RSD = 0.89%, $n = 9$). The linear of mannitol was 0.15 - 15 mg · mL⁻¹, $Y = 643.467X - 15.373$ ($r = 0.9998, n = 7$), the average recovery was 100.1% (RSD = 0.73%, $n = 9$). **CONCLUSION** This method is simple, accurate and better reproducibility, can meet with the requirement of the determination of the contents of mannitol and glucose.

KEY WORDS: mannitol; glucose; HPLC-RI

复方甘露醇注射液是由 15% 甘露醇、5% 葡萄糖和 0.45% 氯化钠加水组成的复方制剂, 为渗透性脱水利尿药, 用于降低颅内压、眼内压、利尿及防止早期肾功能不全等。

本品中的甘露醇、葡萄糖结构相似, 具有非常相近的理化性质, 用传统的氧化还原法、旋光法等测定含量, 相互难以排除干扰, 或专属性不强, 均不适用

于甘露醇、葡萄糖的定量分析。国外药典^[1-3]采用 HPLC-RI 法, 以钙型强阳离子交换树脂柱, 以水为流动相, 进行甘露醇的含量测定, 国内也有文献报道采用 HPLC-RI 法以磺化聚苯乙烯类凝胶填充柱^[4]或 HPLC-ELSD 法以氨基柱^[5]测定甘露醇、葡萄糖的含量。本试验建立 HPLC-RI 对本品中甘露醇、葡萄糖的含量进行测定。

作者简介: 柯云翠, 女, 主管药师 Tel: (0571) 89973607 E-mail: dczkyc@163.com

1 仪器与试剂

美国 Waters 公司液相色谱仪,包括:510A 型输液泵、7725i 型手动进样器、柱温箱;大连依利特 RI230 示差折光检测器;浙江大学 N2000 数据处量软件。

甘露醇对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100533-200301,纯度 100%),葡萄糖对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100736-200401,纯度 100%),甘露醇(山东洁晶集团股份有限公司),葡萄糖(华北制药康欣有限公司),氯化钠(江苏南通勤奋制药厂),注射用水(本公司自制),复方甘露醇注射液(本公司自制三批,批号分别为 060223、060224、060225,规格为 250 mL,含甘露醇 37.5 g、无水葡萄糖 12.5 g 与氯化钠 1.125 g)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:美国 Waters 公司 Sugar Pak I 强酸性阳离子交换树脂柱(钙型)(300 mm × 6.5 mm),流动相:注射用水(经 0.22 μm 微孔滤膜滤过),检测器:RI 230 型示差折光检测器。柱温:(85 ± 1)℃,流

速:0.5 mL · min⁻¹,进样量:20 μL。理论板数按甘露醇计算不低于 1 500,甘露醇与葡萄糖的分离度大于 1.5。

2.2 溶液的制备

对照品溶液:精密称定甘露醇对照品和无水葡萄糖对照品适量,加水制成每 1 mL 中含甘露醇 1.5 mg 和无水葡萄糖 0.50 mg 的溶液。

供试品溶液:精密量取复方甘露醇注射液 5 mL,置 100 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 mL,置 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度。

2.3 测定方法

取上溶液各 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,测定峰面积,按外标法定量。

2.4 方法专属性考察

专属性试验溶液配制:取甘露醇、葡萄糖、氯化钠适量加水分别制成 1.5 mg · mL⁻¹甘露醇溶液、0.50 mg · mL⁻¹无水葡萄糖溶液和 0.045 mg · mL⁻¹氯化钠溶液。

取对照品溶液、供试品溶液、专属性试验溶液各 20 μL,分别注入液相色谱仪,记录色谱图,见图 1。

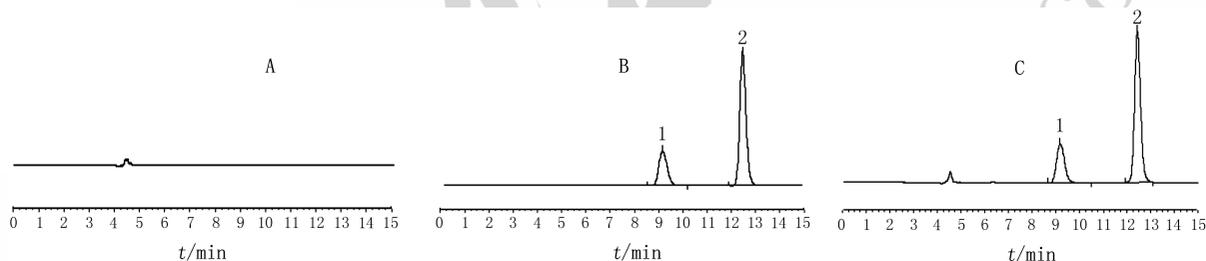


图 1 空白辅料(A)、对照品(B)、供试品(C)HPLC 色谱图
1-葡萄糖;2-甘露醇

Fig 1 HPLC chromatograms of blank excipients(A), reference substance(B) and sample (C)
1-glucose ;2-mannitol

2.5 线性关系考察

取甘露醇、葡萄糖加水配制成浓度为每 1 mL 中含甘露醇 15 mg 和葡萄糖 5 mg 的对照品溶液作为贮备液,分别取贮备液 5, 3, 1, 0.5, 0.2, 0.1 mL 置 10 mL 量瓶中加水稀释至刻度,摇匀。分别取样 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。以峰面积 Y 对浓度 X 进行线性回归,结果:甘露醇在 0.15 ~ 15 mg · mL⁻¹内,浓度与峰面积呈良好的线性关系,线性方程为 $Y = 643\ 467X - 15\ 373$, $r = 0.999\ 8$;葡萄糖在 0.05 ~ 5 mg · mL⁻¹内,浓度与峰面积呈良好的线性关系,线性方程为 $Y = 640\ 151X - 3\ 719.6$; $r = 1.000\ 0$ 。

2.6 回收率试验

取甘露醇、葡萄糖加水配制成甘露醇浓度分别

为 1.2, 1.5, 1.8 mg · mL⁻¹, 无水葡萄糖浓度分别为 0.4, 0.5, 0.6 mg · mL⁻¹ 的溶液,进样测定,结果葡萄糖、甘露醇的回收率均为 100.1%, RSD 均小于 1%,见表 1,表 2。

表 1 甘露醇回收率试验结果

Tab 1 Recovery of mannitol

加入量 /mg · mL ⁻¹	测得量 /mg · mL ⁻¹	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1.215	1.236	101.70		
1.207	1.203	99.66		
1.198	1.189	99.24		
1.506	1.516	100.70		
1.493	1.505	100.80	100.10	0.89
1.501	1.501	100.00		
1.792	1.7663	98.56		
1.804	1.7959	99.55		
1.799	1.8080	100.50		

2.7 精密度试验

取同一复方甘露醇注射液样品 1 d 内重复测定 7 次,甘露醇与葡萄糖日内 RSD 分别为 0.67% ($n = 7$)、0.93% ($n = 7$)。

表 2 葡萄糖回收率试验结果

Tab 2 Recovery of glucose

加入量 /mg · mL ⁻¹	测得量 /mg · mL ⁻¹	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.409	0.4151	101.50		
0.398	0.3968	99.69		
0.402	0.3999	99.47		
0.502	0.5070	101.00		
0.496	0.4960	99.99	100.10	0.73
0.498	0.5009	100.60		
0.592	0.5909	99.82		
0.603	0.5998	99.47		
0.601	0.5961	99.18		

取同一批复方甘露醇注射液样品 3 份,分别在 3 d 测定,甘露醇与葡萄糖日间 RSD 分别为 1.43%, 1.17%。

2.8 稳定性试验

取同一批复方甘露醇注射液样品,分别于 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36 h 测定。结果甘露醇和葡萄糖峰面积 RSD 分别为 1.45%, 1.11%, 说明样品溶液在 36 h 内稳定。

2.9 柱温、流速对分离度的影响

分别选用 (70 ± 1), (80 ± 1), (85 ± 1), (90 ± 1) °C 4 种柱温, 0.4, 0.5, 0.6 mL · min⁻¹ 3 种流速试验, 结果发现柱温低时, 各峰保留时间延长; 流速慢, 虽有利于提高分离度, 但保留时间延长, 不适于大批量生产样品的分析; 流速太快, 则柱压升高, 对柱有损伤。综合考虑待测成份的分离度、保留时间及柱的使用寿命, 我们选用柱温 (85 ± 1) °C, 流速 0.5 mL · min⁻¹, 其分离度、柱效、峰形均优。

2.10 3 批样品甘露醇、葡萄糖含量测定结果

按照甘露醇、葡萄糖含量测定方法, 测试了 3 批自制复方甘露醇注射液的甘露醇与葡萄糖含量, 结果见表 3。

表 3 样品实测结果 ($n = 4$)

Tab 3 Determination results of samples ($n = 4$)

批号	葡萄糖含量/%	RSD/%	甘露醇含量/%	RSD/%
060223	99.86	0.55	101.1	0.78
060224	99.64	0.34	100.5	0.67
060225	99.12	0.67	100.8	0.49

3 讨论

3.1 示差折光检测器 (RID)

为通用浓度型检测器, 对压力和温度的变化很敏感, 尤其是温度, 这是因为折光物质由于温度变化引起该物质密度变化, 进而导致折射率的改变。周围环境的细微震动, 有风吹在检测器上, 流动相有微小的气泡等, 都会引起基线的比较大的波动, 所以为了使 RID 正常工作, 需要整个色谱系统十分的稳定, 包括: 液相色谱体系处在一个温度恒定的试验室, 避免震动, 调整好出口管的粗度及长度, 保持检测池内恒定的压力, 样品池和参比池的温差尽可能的小, 流动相 (水) 用前一定要过滤超声, 尽可能除去气泡杂质等。

3.2 强酸性阳离子交换柱 (钙型)

以强酸性阳离子交换树脂 (钙型) (Sugar Pak I 300 mm × 6.5 mm) 为固定相, 水为流动相, 用于甘露醇原料的分析, 已收入国外相关药典^[1-3]。离子交换柱的材料不耐压, 使用时要特别注意: 柱温升至 70 °C 后, 才可将流速调至 0.2 mL · min⁻¹ 以上, 并逐步调节流速, 其柱温、流速、柱压分别不可超过 95 °C、0.6 mL · min⁻¹、1 kPa, 故将柱温控制在 70 ~ 90 °C 之间, 流速 0.5 mL · min⁻¹, 这样既可使几种组分得到很好的分离, 又能将柱压控制在合适范围内。

3.3 柱温、检测池温度控制

本试验柱温 (85 ± 1) °C, 接近水的沸点, 检测池温度 40 °C, 二者温差大, 柱温、池温的变化直接影响样品的分析。系统安装时, 尽可能将柱、检测池间连线放置在柱箱内, 避免连续流出的样品经过检测池时因温差大影响分析结果。

REFERENCES

- [1] BP(2005) [S]. 2005: 1253-1254; 2620-2621.
- [2] EP5.0 Vol II [S]. 2005: 1971-1972.
- [3] USP28-NF23 [S]. 2005: 1183-1184.
- [4] DONG X, HOU W L, SHOU S Z, et al. Determination of glucose and mannitol by HPLC [J]. Chin J Anal Chem (分析化学), 2000, 28(5): 656.
- [5] GAO Q, ZHOU L C, TIAN J. Determination of mannitol injection by HPLC-ELSD [J]. Chin Pharm Anal (药物分析杂志), 2005, 25(5): 579-581.

收稿日期: 2008-05-20