

气相色谱法同时测定木糖醇氯化钠注射液中 4 种多元醇的含量

张轶华, 姜建国, 韩学静, 张毅, 王春霞

(河北省药品检验所 石家庄 050011)

摘要 目的: 建立测定木糖醇氯化钠注射液中 4 种多元醇(L-阿拉伯糖醇,甘露醇,半乳糖醇,山梨醇)的气相色谱(GC)法。方法:以赤藻糖醇为内标,采用毛细管气相色谱法对木糖醇氯化钠注射液中 4 种多元醇进行含量测定。结果:L-阿拉伯糖醇,甘露醇,半乳糖醇和山梨醇在各自的浓度范围内均具有良好的线性关系(r 均为 0.999 以上);平均回收率($n=9$)分别为 98.9%~100.5%,101.0%~101.6%,99.0%~102.1%和 100.9%~102.4%。结论:本方法简单、结果准确、重现性好,可更好的控制药品质量。

关键词: 气相色谱; L-阿拉伯糖醇; 甘露醇; 半乳糖醇; 山梨醇; 赤藻糖醇; 木糖醇氯化钠; 注射液

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)07-1341-04

GC simultaneous determination of four components
in xylitol and sodium chloride injection

ZHANG Yi-hua, JIANG Jiang-guo, HAN Xue-jing, ZHANG Yi, WANG Chun-xia

(Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract Objective: To develop a GC method for simultaneous determination of L-arabinitol, galactitol, mannitol and sorbitol in xylitol and sodium chloride injection. **Methods:** GC method was applied for determination of four components and using erythritol as the internal standard. **Results:** There was a good linear relationship in the concentration range measured for L-arabinitol, galactitol, mannitol and sorbitol; The average recoveries ($n=9$) of L-arabinitol, galactitol, mannitol and sorbitol were 98.9%–100.5%, 101.0%–101.6%, 99.0%–102.1% and 100.9%–102.4%, respectively. **Conclusion:** The method was simple, accurate and reproducible. It was better for quality control of xylitol and sodium chloride injection.

Key words: GC; L-arabinitol; galactitol; mannitol; sorbitol; erythritol; xylitol and sodium chloride injection

木糖醇能够补充机体热量,改善糖代谢。木糖醇是人体糖类代谢的正常中间体,在体内的代谢不依赖胰岛素的参与,能够直接透过细胞膜参与糖代谢,不会增加血糖浓度,其甜味及产热量与葡萄糖相仿。木糖醇还具有抑制酮体生成的作用,能使血浆脂肪酸生成减少。但木糖醇生产中常混有少量的阿拉伯糖醇和山梨醇等多元醇,快速定量的测定木糖醇及其它多元醇,对检验产品和控制生产有重要意义。高效液相色谱法分析测定糖时不需衍生化,方法简单,但由于示差折光检测器灵敏度低而受限制^[1,2],虽然可通过制备糖的紫外标记衍生物,从而用紫外检测器检测以提高灵敏度,但操作烦琐^[3]。曾有报道气相色谱测定多糖或多元醇^[4,5],但未见

同时测定 4 种多元醇的文献,本文以吡啶为溶剂,使多元醇与过量的醋酐在 70℃ 下发生衍生化反应,生成酯后,采用了气相色谱法同时对木糖醇氯化钠注射液中的 4 种多元醇进行定性定量分析。

1 仪器与试剂

6890 型全自动气相色谱仪 (Agilent 公司)。

L-阿拉伯糖醇 (CAT. NO. 1042102 USP ROCKVILLE, MD LOT FOE311; 纯度: 100%), 半乳糖醇 (CAT. NO. 1287711 USP ROCKVILLE, MD LOT F0D376; 纯度: 99%), 甘露醇 (河北省药品检验所标定, 纯度: 99.6%) 和山梨醇 (CAT. NO. 1617000 USP ROCKVILLE, MD LOT H2F247; 纯度: 98.7%)。木糖醇氯化钠注射液样品 9 批均由厂家提供; 10050601, 10050602, 10050603,

10050604, 10050605, 10050606, 10050607, 10050608, 10050609。

2 溶液的配制

2.1 对照品溶液 分别精密称取 L-阿拉伯糖醇, 半乳糖醇, 甘露醇和山梨醇 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 再精密量取 5 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度。

2.2 内标溶液 以赤藻糖醇作为内标物质, 精密称取赤藻糖醇 (CAT. NO. 1241903 USP ROCKVILLE, MD LOT F1F295; 纯度: 99.9%) 35 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度。再精密量取 1.5 mL 置 100 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度。

2.3 供试品溶液 配制成 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品溶液。精密量取 5 mL 置 25 mL 量瓶中 (规格为 12.5 g: 250 mL), 加水稀释至刻度。

2.4 测定法 分别精密量取对照品溶液和供试品溶液 1.0 mL 置不同圆底烧瓶中, 每个圆底烧瓶中再分别精密加入内标溶液 1.0 mL。在 60°C 水浴中旋转蒸干; 再加入无水乙醇 1 mL 振摇使溶解, 在 60°C 水浴中旋转蒸干; 再加入吡啶 1 mL 使残渣溶解, 加入醋酐 1 mL 盖紧盖子, 涡旋混合 30 s; 70°C 干燥箱中放置 30 min。取出, 放冷, 精密量取 $1 \mu\text{L}$ 进样。

3 色谱条件

色谱柱固定相为 14% 氰丙基苯基-94% 二甲基聚硅氧烷的 DB-1701 毛细管柱 (30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μm); 检测器 FID, 检测器温度 250°C ; 柱温采用程序升温, 起始温度为 170°C , 维持 5 min, 以每分钟 3°C 的速率升至 210°C , 维持 10 min, 以每分钟 30°C 的速率升至 240°C , 维持 10 min; 进样口温度为 240°C ; 载气: N_2 ; 流速 $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 分流比 5:1; 进样量: $1 \mu\text{L}$ 。各色谱峰的分离度应大于 1.5。赤藻糖醇, L-阿拉伯糖醇, 木糖醇, 甘露醇, 半乳糖醇和山梨醇的相对保留时间依次为: 0.33, 0.63, 0.94, 0.98, 1.0。记录色谱图, 按内标法计算。在上述色谱条件下, 对照品和样品的色谱图见图 1。

4 方法学考察

4.1 精密度试验 分别精密量取对照品溶液 1.0 mL 和内标溶液 1.0 mL 置同一圆底烧瓶中, 其它操作同“2.4”项。连续进样 6 针, 计算 L-阿拉伯糖醇, 木糖醇, 甘露醇, 半乳糖醇和山梨醇的 RSD ($A_{\text{对照}}/A_{\text{内标}}$) 分别为 0.4%, 0.7%, 1.3%, 1.6%, 1.2%。

4.2 线性考察 分别精密吸取 L-阿拉伯糖醇, 甘露醇, 半乳糖醇和山梨醇各 3, 2, 1, 0.8, 0.5 mL 置圆底烧瓶中, 在每个烧瓶中加入内标溶液 1 mL, 以峰面

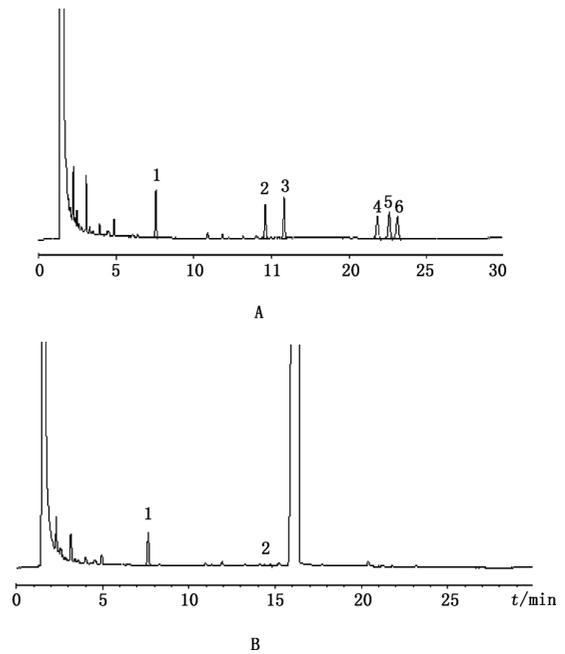


图1 对照品(A)和批号10050606的样品(B)色谱图

Fig 1 Chromatograms of reference substances(A) and sample of batch 10050606 (B)

1. 赤藻糖醇(erythritol) 2. L-阿拉伯糖醇(L-arabinitol) 3. 木糖醇(xylitol) 4. 半乳糖醇(galactitol) 5. 甘露醇(mannitol) 6. 山梨醇(sorbitol)

积 A 为纵坐标, 以样品浓度 $C(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$ 为横坐标分别绘制标准曲线, L-阿拉伯糖醇、甘露醇、半乳糖醇、山梨醇的线性方程分别为:

$$A = 335.859C + 0.0039 \quad r = 0.9998;$$

$$A = 336.532C + 0.0339 \quad r = 0.9998;$$

$$A = 37.728C - 0.0453 \quad r = 0.9999;$$

$$A = 36.416C - 0.001 \quad r = 0.9991$$

结果表明 L-阿拉伯糖醇在 $0.01278 \sim 0.07672 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 甘露醇在 $0.0123 \sim 0.0738 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 半乳糖醇在 $0.01492 \sim 0.08955 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 山梨醇在 $0.01336 \sim 0.08015 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内具有良好的线性关系。

4.3 检出限和定量限 当信噪比 $S/N = 10$ 时, L-阿拉伯糖醇, 甘露醇, 半乳糖醇和山梨醇的定量限分别为 2.56, 2.46, 2.98 和 2.67 μg ; 按信噪比 $S/N = 3$ 计算, 最低检出量依次为 0.78, 0.74, 0.89 和 0.80 μg 。

4.4 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按上述色谱条件测定, 结果表明, 供试品溶液在 24 h 内稳定。

4.5 重复性试验 分别精密量取对照品溶液 1.0 mL 和内标溶液 1.0 mL 置同一圆底烧瓶中, 平行制备 6 份, 其它操作同“2.4”项。在上述色谱条

件下记录各色谱峰峰面积,计算 L-阿拉伯糖醇,半乳糖醇,甘露醇和山梨醇峰面积的 RSD ($A_{\text{对照}}/A_{\text{内标}}$) 依次为 0.2%, 0.5%, 0.8%, 1.2%, 1.2%。说明衍生化反应的重复性良好。

将同一批木糖醇氯化钠注射液(批号 10050606)按上述方法制备 6 份,在上述色谱条件下分析,计算 L-阿拉伯糖醇,半乳糖醇,甘露醇和山梨醇含量的平均值分别为 0.04% $\rho\rho\rho$; RSD 分别

为 0.1% $\rho\rho\rho$ 。

4.6 回收率 精密量取木糖醇氯化钠注射液(批号 10050606) 5 mL 置 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,即得供试品溶液。精密量取供试品溶液 1 mL 置一圆底烧瓶中,再分别加入对照品溶液和内标溶液 1.0, 0.8, 0.5 mL,其它操作同“2.4”项。计算 L-阿拉伯糖醇,半乳糖醇,甘露醇和山梨醇的回收率,见表 1。

表 1 回收率测定结果($n=9$)
Tab 1 Determination result of recoveries

成分(component)	已知量 (original) /mg	加入量 (add) /mg	测得量 (found) /mg	回收率 (recovery) /%	平均值 (average) /%
L-阿拉伯糖醇 (L-arabinitol)	0.004	0.05115	0.05376	99.2	98.9
	0.004	0.05115	0.05358	98.9	
	0.004	0.05115	0.05347	98.7	
	0.004	0.02557	0.02970	100.5	
	0.004	0.02557	0.02941	99.4	
	0.004	0.02557	0.02943	99.4	
	0.004	0.01534	0.01928	99.6	
	0.004	0.01534	0.01959	101.3	
	0.004	0.01534	0.01944	100.6	
甘露醇(mannitol)	0	0.04920	0.05007	101.7	101.2
	0	0.04920	0.04912	99.8	
	0	0.04920	0.05037	102.3	
	0	0.02460	0.02501	101.6	
	0	0.02460	0.02487	101.1	
	0	0.02460	0.02510	102.0	
	0	0.01476	0.01517	102.8	
	0	0.01476	0.01481	100.4	
	0	0.01476	0.01473	99.8	
	0	0.05125	0.05059	98.7	
	0	0.05125	0.04967	96.9	
	0	0.05125	0.05197	101.3	
半乳糖醇(galactitol)	0	0.02562	0.02649	103.4	102.1
	0	0.02562	0.02639	103.0	
	0	0.02562	0.02551	99.5	
	0	0.01537	0.01529	99.5	
	0	0.01537	0.01596	103.8	
	0	0.01537	0.01555	101.1	
	0	0.05345	0.05550	103.8	
	0	0.05345	0.05206	97.4	
	0	0.05345	0.05309	99.3	
	0	0.02672	0.02714	101.6	
山梨醇 (sorbitol)	0	0.02672	0.02736	102.4	100.9
	0	0.02672	0.02636	98.7	
	0	0.01604	0.01663	103.7	
	0	0.01604	0.01645	102.5	
	0	0.01604	0.01624	101.1	
	0	0.01604	0.01624	101.1	

5 样品的测定 对河北天成药业有限公司的 9 批样品,按“2”项下方法制备对照品溶液、内标溶液和

供试品溶液,依法测定,结果见表 2。

表 2 9 批样品的测定结果(%)

Tab 2 The determination result of 9 batches samples

批号 (batch)	L-阿拉伯糖醇 (L-arabinitol)	甘露醇 (mannitol)	半乳糖醇 (galactitol)	山梨醇 (sorbitol)
10050601	0.03	0	0	0
10050602	0.03	0	0	0
10050603	0.04	0	0	0
10050604	0.04	0	0	0
10050605	0.04	0	0	0
10050606	0.04	0	0	0
10050607	0.04	0	0	0
10050608	0.04	0	0	0
10050609	0.04	0	0	0

6 讨论

6.1 色谱条件的考察 本研究考察了 DB-1701, DB-624, HP-5 3 根不同型号的石英毛细管柱, 结果表明 DB-1701 石英毛细管柱能够将待测组分实现良好的分离。本试验曾尝试以起始温度为 100℃, 发现赤藻糖醇峰无法与溶剂峰分开。若每分钟 3℃ 的速率升至 215℃, 维持 10 min, 结果发现甘露醇, 半乳糖醇和山梨醇无法完全分离。改用起始温度为 170℃, 维持 5 min, 以每分钟 3℃ 的速率升至 210℃, 维持 10 min, 以每分钟 30℃ 的速率升至

240℃, 维持 10 min 后, 各待测组分分离良好。

6.2 提取条件的考察 本研究开始未用无水乙醇对样品进行旋转蒸干, 发现色谱峰拖尾严重, 故样品处理分为三步: 在 60℃ 水浴中将水旋转蒸干; 加无水乙醇后在 60℃ 水浴中将水再次旋转蒸干; 加吡啶溶解后, 再加入醋酐使醇衍生化。试验发现随着醋酐加入量(0.1 mL~1.0 mL) 的增大, 各色谱峰的峰面积增大, 但醋酐量大于 1.0 mL 后, 色谱峰峰面积不再增大, 结果见表 3。说明已衍生化完全, 衍生化率几近 100%, 故醋酐加入量为 1.0 mL。

表 3 醋酐量对色谱峰峰面积的影响

Tab 3 Effect of acetic anhydride quantity on the peak area

醋酐量 (acetic anhydride quantity) / mL	赤藻糖醇 (erythritol) / pA* s	L-阿拉伯糖醇 (L-arabinitol) / pA* s	甘露醇 (mannitol) / pA* s	半乳糖醇 (galactitol) / pA* s	山梨醇 (sorbitol) / pA* s
0.1	5.38703	4.50296	5.00121	5.94588	5.59623
0.5	30.61203	28.42669	26.01465	34.51269	25.98775
0.8	49.17833	45.90238	43.76704	53.77544	47.49326
0.9	60.46042	57.25298	54.82130	67.24318	59.36755
1.0	61.14475	56.70953	54.62677	65.30756	60.73680
2.0	60.16366	57.20765	55.01286	68.12762	60.03061

6.3 小结 本研究对 9 批样品, 采用 GC 法同时对 L-阿拉伯糖醇, 甘露醇, 半乳糖醇和山梨醇进行了含量测定, 结果表明该方法简单, 准确, 可靠, 可更好控制该制剂的质量。

参考文献

- 1 Yagi A, Makino K, Nishioka L *et al.* Aloe mannan polysaccharide from Aloe arborescens var. natalensis. *Planta Medica*. 1977, 31(1): 17
- 2 WANG Xiang(王祥), HU Ya-fei(胡雅斐). HPLC determination of sugars, sugar alcohols and polyatomic alcohols in injections(高效液相色谱法测定注射液中糖类糖醇及多元醇的含量). *Chin J Pharm Anal(药物分析杂志)*, 1988, 8(6): 321
- 3 WANG Jing(王静), WANG Qing(王晴), XIANG Wen-sheng(向文胜) *et al.* Application of chromatography to the analysis of carbohydrates(色谱法在糖类化合物分析中的应用). *Chin J Anal Chem(分析化学)*, 2001, 29(2): 222
- 4 WANG Jun-ling(王俊玲), ZONG Zhi-min(宗志敏), QI Yang-ming(齐祥明) *et al.* GC and GC/MS analysis of polysaccharides from aloe(芦荟多糖的气相色谱和色谱-质谱联用分析). *Lishizhen Med Matter Med Res(时珍国医国药)*, 2002, 13(10): 3
- 5 LI Qin-zu(李钦祖), ZHENG Zhu-lian(郑竹莲), CHEN Huai-ying(陈怀瑛). A study of gradient loaded column gas chromatography for determination of polyhydric alcohols(程序涂渍气相色谱柱测定多元醇的研究). *Chin J Chromatogr(色谱)*, 1989, 7(4): 228

(本文于 2010 年 9 月 7 日收到)