

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.01376

• 短篇论著 •

高效液相色谱法测定右旋糖酐 40 原料及其氯化钠注射液中糠醛含量

张 珍¹, 王嫦鹤², 吴沛佳², 郭欢迎², 刘海静^{1,2*}, 丁丽霞³, 杜冠华^{4*}

1. 陕西中医学院, 咸阳 712046

2. 陕西省食品药品检验所, 西安 710061

3. 中国药学会, 北京 100022

4. 中国医学科学院北京协和医学院药物研究所, 北京市药物靶点研究与新药筛选重点实验室, 北京 100050

[摘要] **目的** 建立高效液相色谱法测定右旋糖酐 40 原料及其氯化钠注射液中糠醛的含量。**方法** 色谱柱: MACHEREY-NAGEL C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(磷酸调节 pH 值为 3.0, 体积比为 10:90); 柱温: (35±5)°C; 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 275 nm。**结果** 糠醛在 0.01~10.10 μg/mL 质量浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系, 线性方程为 $Y=192\,440.8X-3\,711.6$ ($R=0.999\,9$), 日间精密度 RSD 为 0.5%; 平均回收率为 98.1% (RSD 为 0.3%), 最低检测限为 0.003 μg/mL。右旋糖酐 40 原料中糠醛含量为 0.071 10~1.306 0 μg/g, 右旋糖酐 40 氯化钠注射液中糠醛的含量为 0.018 0~0.198 8 μg/mL。**结论** 该法简便、准确, 适用于右旋糖酐 40 原料及其氯化钠注射液中糠醛的含量测定。

[关键词] 右旋糖酐原料; 右旋糖酐 40 氯化钠注射液; 糠醛; 高效液相色谱法**[中图分类号]** R 917.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)12-1376-04

High-performance liquid chromatography in determining furfural in dextran 40 raw material and its sodium chloride injection

ZHANG Zhen¹, WANG Chang-he², WU Pei-jia², GUO Huan-ying², LIU Hai-jing^{1,2*}, DING Li-xia³, DU Guan-hua^{4*}

1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi, China

2. Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710061, Shaanxi, China

3. Chinese Pharmaceutical Association, Beijing 100022, China

4. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing Key Laboratory of Drug Targets Identification and Drug Screening, Beijing 100050, China

[Abstract] **Objective** To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for determining furfural in dextran 40 raw material and its sodium chloride injection. **Methods** The chromatographic conditions adopted were as follows: a MACHEREY-NAGEL C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm), a mobile phase of methanol-water (pH=3.0, V:V=10:90), the column temperature at (35±5)°C, the flow rate at 1.0 mL/min, and the detection wavelength at 275 nm. **Results** The calibration curve was linear within the concentration range of 0.01-10.10 μg/mL, with the regression equation being $Y=192\,440.8X-3\,711.6$ ($R=0.999\,9$), and the inter-day RSD was 0.5%; the average recovery rate was 98.1% (RSD being 0.3%), with the limit of detection (LOD) being 0.003 μg/mL. The level of furfural was 0.071 10-1.306 0 μg/g in dextran 40 raw material and 0.018 0-0.198 8 μg/mL in the dextran 40 sodium chloride injection. **Conclusion** The method of this study is simple and accurate, and can be used for determining the levels of furfural in dextran 40 raw material and its sodium chloride injection.

[Key words] dextran 40 raw material; dextran 40 sodium chloride injection; 2-furaldehyde; high-performance liquid chromatography

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(12):1376-1379]

[收稿日期] 2013-06-07 **[接受日期]** 2013-07-30**[基金项目]** 卫生部 2009 年度卫生公益性行业科研专项(200902008). Supported by 2009 Special Fund for Scientific Research for Public Interest of the Ministry of Health (200902008).**[作者简介]** 张 珍, 硕士生. E-mail: zhangzhen_626@sina.com

* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 029-85363272, E-mail: liuhj272@163.com; Tel: 010-63165184, E-mail: dugh@imm.ac.cn

糠醛($C_5H_4O_2$)又称2-呋喃甲醛,是呋喃2位上的氢原子被醛基取代的衍生物。糠醛属中等毒性类物质,其蒸汽具有强烈的刺激性,并有麻醉作用^[1-2]。动物吸入、摄入或经皮肤吸收均可引起急性中毒,表现有呼吸道刺激、肺水肿、肝损害、中枢神经系统损害、呼吸中枢麻痹以致死亡。糠醛在大鼠经口摄入时其急性毒性半数致死剂量(LD₅₀)为127 mg/kg^[3];在其亚急性和慢性毒性时,如人长期处于糠醛浓度为5~16 mg/L的环境中,会发生黏膜刺激、结膜炎、流泪、头痛^[4]。此外糠醛具有一定的致畸、致突变性,可诱发精子畸形^[5-6]。

右旋糖酐 $[(C_6H_{10}O_5)_n]$ 临床上主要用于增加血浆容量,降低血黏度和改善微循环^[7]。2010年版《中华人民共和国药典》中采用了紫外分光光度法对右旋糖酐40葡萄糖注射液中的5-羟甲基糠醛进行了限度检查^[8]。研究发现,在采用高效液相色谱(HPLC)法测定右旋糖酐40原料及其制剂中的5-羟甲基糠醛时,主峰后还有一个未知杂质峰,经过结构鉴定确认其为糠醛^[9-10]。通过查阅国内外的文献,尚未见右旋糖酐及其制剂中检出糠醛的报道。因此,本研究采用HPLC法对右旋糖酐40原料及其氯化钠注射液中的糠醛含量进行测定,并对糠醛的来源进行讨论和推测。

1 仪器和试剂

Waters Alliance HT系统; Waters 2487紫外检测器, Waters 2996二极管阵列检测器,德国塞利多斯BSS224S型分析天平。

糠醛、磷酸为分析纯,甲醇为色谱纯,水为高纯水。右旋糖酐40对照品购于Sigma公司,批号:0001387316。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 Empower色谱工作站, Waters Alliance HT系统; 检测器: Waters 2487紫外检测器; 色谱柱: MACHEREY-NAGEL C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(磷酸调节pH值为3.0, 体积比为10:90); 柱温: (35±5)℃; 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 275 nm; 进样量: 20 μL。

2.2 溶液的配制 精密称取糠醛对照品10.10 mg,用甲醇稀释并定容于100 mL量瓶中,摇匀,作

为对照品储备液。取右旋糖酐40氯化钠注射液样品经0.45 μm微孔滤膜滤过,作为制剂供试品溶液。另取各厂原料适量,配制成浓度为0.06 g/mL的右旋糖酐40溶液,经0.45 μm微孔滤膜滤过,作为原料供试品溶液。取流动相作为空白溶液。

2.3 线性实验 分别精密量取对照品储备液适量,用流动相稀释制成质量浓度分别为0.01、0.10、0.50、1.01、5.05、10.10 μg/mL的系列对照品溶液。分别精密量取系列对照品溶液各20 μL,注入液相色谱仪,按2.1项下色谱条件分别测定,以峰面积Y对质量浓度X作线性回归,线性方程为 $Y=192\,440.8X-3\,711.6$ ($R=0.999\,9$),线性范围为0.01~10.10 μg/mL。

2.4 系统适用性 取空白溶液、对照溶液(浓度为1.01 μg/mL)、供试品溶液各20 μL进样,按2.1项下色谱条件测定,记录色谱图(图1)。结果显示,空白溶液对糠醛测定无干扰,各色谱峰分离良好。

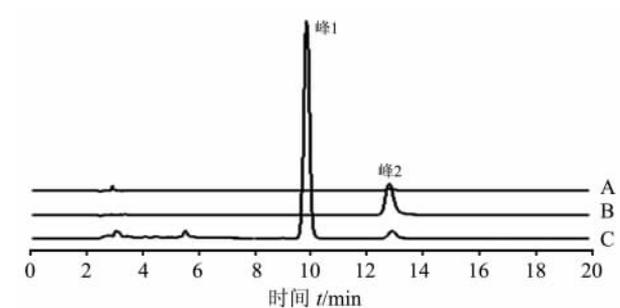


图1 专属性HPLC图谱

A: 空白溶液; B: 对照溶液; C: 右旋糖酐40氯化钠注射液(供试品溶液)。峰1: 5-羟甲基糠醛; 峰2: 糠醛

2.5 精密度实验 取质量浓度为1.01 μg/mL对照品溶液,连续进样6次,按2.1项下色谱条件测定,RSD为0.4%。

2.6 最低检测限与最低定量限 根据色谱图的信噪比,最低检测限为0.003 μg/mL($S/N=3:1$),最低定量限为0.01 μg/mL($S/N=10:1$)。

2.7 重复性实验 取批号为110725406的右旋糖酐40氯化钠注射液样品6份,经0.45 μm微孔滤膜过滤,取续滤液按2.1项下色谱条件测定,其含量平均值为0.087 9 μg/mL,RSD为0.5%。

2.8 加样回收率实验 取对照品储备液0.8、1、1.2 mL分别置100 mL量瓶中,分别定容,摇匀,各取1 mL分别置10 mL量瓶中,用已知糠醛浓度的样品(批号:110725406)定容,摇匀,作为加样回收率样

品,经 0.45 μm 微孔滤膜,进样 20 μL。按 2.1 项下色谱条件进行分析,记录色谱图,计算回收率(表 1),得糠醛的平均回收率为 98.1%,RSD 为 0.3%。

表 1 糠醛回收率的测定结果

n=3				
加入量 ρ _B /(μg·mL ⁻¹)	测得量 ρ _B /(μg·mL ⁻¹)	回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
0.080 8	0.079 0	97.77	98.1	0.3
0.101 0	0.099 2	98.22		
0.121 2	0.119 0	98.18		

2.9 紫外鉴别实验 分别精密量取浓度为 0.101 0 μg/mL 的对照品溶液、批号为 110725406 的制剂供试品溶液和右旋糖酐 40 原料配制的原料供试品溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,采用 Waters 2996 二极管阵列检测器进行分析,分别提取对照品色谱图中主峰位置的紫外全扫描图谱和样品中相应位置色谱峰的紫外全扫描图谱,见图 2。结果可见,样品中杂质和对照品糠醛紫外全扫描光谱图一致。

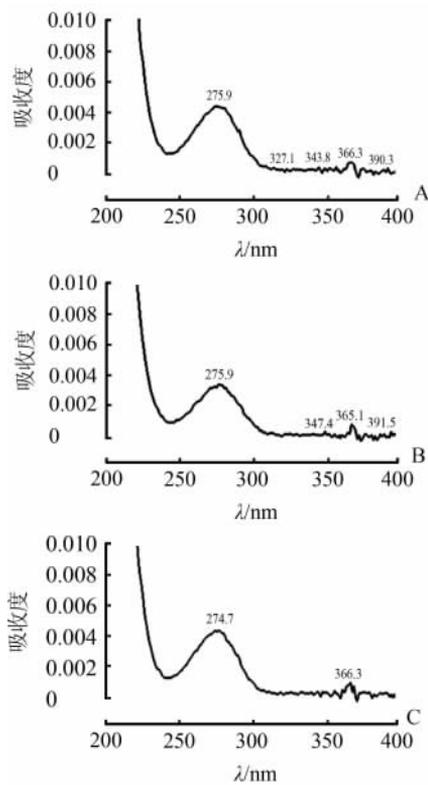


图 2 对照品、样品、原料中糠醛的紫外全扫描图谱

A: 对照品溶液; B: 右旋糖酐 40 氯化钠注射液; C: 右旋糖酐 40 原料

2.10 供试品溶液中糠醛的检测 分别精密量取制

剂供试品溶液和原料供试品溶液 20 μL,按 2.1 项下色谱条件进行分析。Sigma 公司的右旋糖酐 40 对照品中未检出糠醛,9 批右旋糖酐 40 原料中均检出糠醛,含量为 0.071 10~1.306 0 μg/g(表 2)。10 批右旋糖酐 40 氯化钠注射剂中均检出糠醛,含量为 0.018 0~0.198 8 μg/mL(表 3)。

表 2 右旋糖酐 40 原料中糠醛含量测定结果

n=3			
生产厂家	批号	含量 ω _B /(μg·g ⁻¹)	RSD (%)
A 制药厂	20091214	0.170 6	0.4
A 制药厂	20120110	1.292 0	0.1
B 制药厂	20091116	0.559 6	0.2
C 制药厂	120441	0.224 1	0.2
C 制药厂	100423	0.082 70	0.5
D 制药厂	090106	0.094 70	0.5
D 制药厂	100575	1.306 0	0.1
E 制药厂	1103	0.339 3	0.3
F 制药厂	907001	0.071 10	0.6

表 3 右旋糖酐 40 氯化钠注射液中糠醛含量测定结果

n=3			
生产厂家	批号	含量 ρ _B /(μg·mL ⁻¹)	RSD (%)
A 制药厂	1D11121307	0.050 5	0.6
A 制药厂	1D12030409	0.198 8	0.1
A 制药厂	1D12051504	0.029 5	0.5
B 制药厂	110303404	0.027 8	0.5
B 制药厂	110725406	0.087 9	0.3
B 制药厂	111221402	0.152 4	0.1
C 制药厂	L212031602	0.068 0	0.3
C 制药厂	R11072301	0.018 0	0.5
C 制药厂	T12011902	0.019 0	0.6
D 制药厂	B11090005	0.135 4	0.2

3 讨论

本研究首次在右旋糖酐 40 的原料及其氯化钠注射液中检测出糠醛,此种物质被引入的原因可能与右旋糖酐 40 的生产工艺有关。蔗糖经肠膜状明串珠菌 L.-M-1226 号菌发酵后生成大分子右旋糖酐,大分子右旋糖酐作为血浆代用品安全性较差,须用稀酸水解以获得较低相对分子质量的药用右旋糖酐,但是水解的同时,也会使部分右旋糖酐分解成低聚糖,经异麦芽三糖、异麦芽二糖,生成葡萄糖^[11]。己糖(葡萄糖、果糖等单糖)与氨基酸在高温、酸性条件或微生物的作用下脱水发生美拉德(Maillard)反

应生成5-羟甲基糠醛及糠醛^[12]。

美国政府工业卫生专家学会(ACGIH)在1981年即通过了2 mg/L的阈限值(threshold limit value-time weighted average, TLV-TWA)的规定。本研究结果显示,原料中糠醛的最大检出量为1.306 0 μg/g,右旋糖酐40氯化钠注射液中糠醛最大检出量为0.198 8 μg/mL,均低于2 mg/L的阈限值,但是,从注射剂安全性角度出发,该品种中检出的糠醛应引起足够的重视。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 王金山. 糠醛的毒理学[J]. 卫生毒理学杂志,1991,5: 57-59.
- [2] 王金山,牛风云,孙 萍,李 彤. 糠醛毒性的研究[J]. 卫生毒理学杂志,1994,8:21-23.
- [3] O'Neil M J. The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals[M]. New Jersey: Whitehouse Station,2001:764.
- [4] American Conference of Governmental Industrial Hygi-

enists. Documentation of the TLVs[®] and BEIs[®] with Other World Wide Occupational Exposure Values[M/CD]. Cincinnati OH: ACGIH,2005.

- [5] 牛风云,王金山,王建刚,魏艳萍. 糠醛对大鼠致畸效应的研究[J]. 卫生毒理学杂志,1992,6:290.
- [6] 陈卫平,王金山,宋 霖. 糠醛诱发小鼠精子畸形的实验研究[J]. 卫生毒理学杂志,1994,8:129.
- [7] 高平峰,汪 健. 低分子右旋糖酐40致急性肾损伤15例分析[J]. 山西医药杂志,2011,40:1022-1024.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 二部. 北京:中国医药科技出版社,2010:114.
- [9] 王 发,王嫦鹤,张秉华,郭欢迎,吴沛佳. HPLC法检查右旋糖酐40氯化钠注射液中5-羟甲基糠醛的限量[J]. 西北药学杂志,2011,26:410-411.
- [10] 刘海静,雷 琨,王嫦鹤,王 发,丁丽霞,杜冠华. HPLC法测定右旋糖酐40原料中5-羟甲基糠醛的含量[J]. 中国药事,2013,27:945-948.
- [11] 李 艳,陈学武,牟德华. 右旋糖酐的生产及应用[J]. 山西食品工业,1998,3:36-37.
- [12] 杨朝霞,李 梅,董建军,武千钧. 高效液相色谱同时测定啤酒中的5-羟甲基糠醛和糠醛[J]. 酿酒科技,2006,9:88-89.

[本文编辑] 尹 茶

· 消 息 ·

《药学服务与研究》杂志2014年征订启事

《药学服务与研究》杂志是第二军医大学主管、主办的,我国第一本有关药学服务方面的专业性学术期刊。本刊宗旨:普及药学服务,提供用药咨询,推广合理用药,提高药物治疗水平,报道药物治疗经验和研究进展,反映药学研究现状,提供临床药理学和临床药理新进展、新信息。本刊为中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊,收录于美国《化学文摘》(CA)等国内外大型数据库和文摘类期刊。本刊辟有:院士论坛、专家论坛、论著、医院药学、文献综述、临床药师等栏目。本刊为双月刊,双月月末出版,大16开,正文80页。国际标准连续出版物号ISSN 1671-2838,国内统一连续出版物号CN 31-1877/R,邮发代号4-706,国外发行代号BM 3731。定价每册15元,全年90元。您可到当地邮局或直接汇款至本刊编辑部进行订阅,免邮寄费。欢迎广大读者踊跃投稿和订阅!

联系地址:上海市长海路168号《药学服务与研究》杂志社,邮编:200433

联系人:秦丽华(汇款时勿写收款人具体姓名)

电 话:021-65519829(兼传真),021-31162330

<http://www.pcarjournal.net.cn>

E-mail:pharmcr@163.com