

紫外-可见分光光度法测定药物胶囊中 盐酸氨基葡萄糖

刘欣¹, 王誉清¹, 李咏歌², 刘春雨¹

(1. 唐山师范学院 化学系, 唐山 063000; 2. 唐山师范学院 生命科学系, 唐山 063000)

摘要: 基于盐酸氨基葡萄糖(GSM)与镍(II)在碱性介质中生成配合物,在波长 219 nm 处有其最大吸收的现象作了进一步验证。将此反应用于紫外-可见分光光度法测定其药物胶囊中 GSM 含量。测定时,将一颗 GSM 胶囊中的药物颗粒取出称重后(每颗药物中 GSM 的质量的标示量为 0.24 g)溶于水并定容至 250 mL。取此溶液 5.00 mL 置于 50 mL 容量瓶中,相继顺序加入 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 10 mL 和 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸镍溶液 2.00 mL,用 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液定容,在 20°C 水浴中反应 15 min。在波长 219 nm 处测量其吸光度。GSM 的浓度在 $6.00 \times 10^{-4} \sim 4.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 内与其相应的吸光度呈线性关系,其检出限(3S/N)为 $4.10 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。以 GSM 胶囊样品溶液为基体,按标准加入法在 4 个浓度水平上进行回收试验,测得回收率为 80.0%~110%。测定值的相对标准偏差($n=5$)均小于 0.2%。按此方法对药物实样进行分析,测得其 GSM 浓度为 $7.26 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,换算成胶囊中 GSM 的质量为 0.238 6 g,与其标示值相符。

关键词: 盐酸氨基葡萄糖; Ni^{2+} ; 紫外-可见分光光度法; 盐酸氨基葡萄糖胶囊

中图分类号: O657.32

文献标志码: A

文章编号: 1001-4020(2020)03-0340-04

盐酸氨基葡萄糖的化学名为 2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖盐酸盐^[1],化学式为 $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_5 \cdot \text{HCl}$,相对分子质量为 215.63。盐酸氨基葡萄糖是一种相对稳定的化合物,是将节肢动物壳体内的甲壳素进行充分盐酸水解制得的。盐酸氨基葡萄糖对人体的骨骼发展及生长发育有重要的生理作用^[2],不仅可以用于预防和治疗全身各关节(膝关节、肩关节、髋关节、手腕关节、颈及脊椎关节等)的骨节性关节炎,缓解骨性关节炎的疼痛、肿胀等症状和改善关节活动功能^[3-4],还可以通过刺激软骨细胞产生正常的蛋白聚糖^[5],抑制损伤软骨的酶,从而达到软骨及关节修复和维持相关功能的作用,延迟骨性关节炎的发展。此外,盐酸氨基葡萄糖不仅在肝肾解毒方面也有重要价值,还可以使婴幼儿肠道中防癌细菌双歧杆菌的数量快速增加,抑制癌细胞的生长^[6]。目前,盐酸氨基葡萄糖在医药行业的应用越来越广泛,是治疗骨关节炎和合成抗生素及抗癌药物的主要原料。

盐酸氨基葡萄糖在食品行业也有应用,如可用作食品添加剂^[7]。

目前测定盐酸氨基葡萄糖的常用方法有紫外-可见分光光度法^[8-9]、滴定分析法^[10]、高效液相色谱法(高效液相色谱紫外检测法^[11-13]、高效液相色谱蒸发光散射检测法^[14]、高效液相色谱示差折光检测法^[15]、高效液相色谱荧光光度法^[16]、离子色谱法^[17]),其中较常用的方法为紫外-可见分光光度法和高效液相色谱法。

本工作利用 Ni^{2+} 与盐酸氨基葡萄糖在碱性介质中形成的络合物建立了紫外-可见分光光度法测定盐酸氨基葡萄糖胶囊中盐酸氨基葡萄糖含量的方法。该方法所用仪器设备简单,可为快速测定盐酸氨基葡萄糖含量提供技术参考。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

岛津 UV-2550 型紫外-可见分光光度计;HH-6 型水浴锅;FA 2204B 型电子天平。

盐酸氨基葡萄糖标准溶液: $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

收稿日期: 2019-07-17

作者简介: 刘欣,教授,硕士,主要从事食品分析方面的研究工作,liuxin197207@126.com

L^{-1} ,称取 1.08 g 盐酸氨基葡萄糖,用水溶解并转移至 500 mL 容量瓶中,用水定容,摇匀,备用。

硫酸镍标准溶液: $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,称取 0.65 g 硫酸镍,用水溶解并转移至 100 mL 容量瓶中,用水定容,摇匀,备用。

标准溶液系列:取 4 只 50 mL 容量瓶往其中分别加入 3.00, 4.00, 5.00, 10.00, 20.00 mL 的 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸氨基葡萄糖标准溶液,先加入少量 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液摇匀,再向其中加入 2.00 mL 的 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸镍标准溶液,最后用 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液定容,摇匀。

盐酸氨基葡萄糖胶囊(盐酸氨基葡萄糖含量 0.24 g/粒);D(+)-氨基葡萄糖盐酸盐、硫酸镍、氢氧化钠均为分析纯;试验用水为去离子水。

1.2 仪器工作条件

检测波长为 219 nm,波长扫描范围为 190 ~ 350 nm,参比溶液为 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液;光谱通带宽度为 0.2 nm。

1.3 试验方法

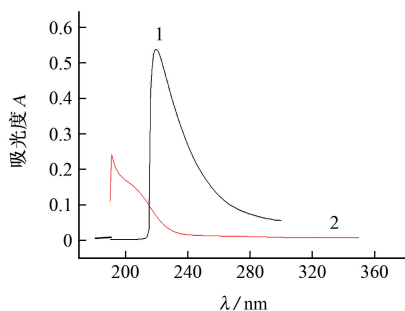
取盐酸氨基葡萄糖胶囊内颗粒物(其标示量为 0.24 g),用水溶解并转移至 250 mL 的容量瓶中,用水定容,摇匀,得到样品溶液。将样品溶液 5.00 mL、 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 10 mL、硫酸镍标准溶液 2.00 mL 依次加入至 50 mL 容量瓶中,并用 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液定容,摇匀。在 20°C 水浴锅中放置 15 min,得到 Ni^{2+} -氨基葡萄糖溶液,按照仪器工作条件在紫外-可见分光光度计上对其吸光度进行测量。

2 结果与讨论

2.1 缓冲溶液的选择

配制 pH 1.00~10.00 不同酸度的缓冲溶液,分别为 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液、柠檬酸钠-盐酸溶液、柠檬酸钠-磷酸氢二钠溶液、邻苯二甲酸氢钾缓冲溶液、乙酸-乙酸钠溶液、磷酸二氢钾和磷酸氢二钠溶液、三(羟甲基)氨基甲烷-盐酸、四硼酸钠标准缓冲溶液、氨水-氯化铵溶液。试验考察了上述缓冲溶液和 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液对硫酸镍和盐酸氨基葡萄糖体系吸光度的影响,见图 1。

在配制的缓冲溶液中, Ni^{2+} 均不能使盐酸氨基葡萄糖溶液的最大吸收波长发生改变,只有在 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液中, Ni^{2+} 才能和盐酸氨



1—盐酸氨基葡萄糖;2— Ni^{2+} -氨基葡萄糖配合物

图 1 盐酸氨基葡萄糖和 Ni^{2+} -氨基葡萄糖配合物的吸收曲线

Fig. 1 Absorption curves of glucosamine hydrochloride and Ni^{2+} -glucosamine hydrochloride

基葡萄糖生成 Ni^{2+} -氨基葡萄糖配合物,其最大吸收波长为 219 nm(图 1)。因此,试验选择的缓冲溶液为 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液。

2.2 试剂加入顺序的确定

当 Ni^{2+} 与盐酸氨基葡萄糖配位不完全时,溶液中剩余的 Ni^{2+} 将与氢氧化钠发生反应产生氢氧化镍沉淀干扰测定。正确的试剂添加顺序为:先加入盐酸氨基葡萄糖,再加入氢氧化钠使盐酸氨基葡萄糖羟基充分电离生成氧负离子,然后再加入硫酸镍与氧负离子配位,最后再加入氢氧化钠用于定容。

2.3 硫酸镍用量的选择

试验考察了硫酸镍标准溶液用量分别为 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00 mL 时对硫酸镍和盐酸氨基葡萄糖体系的吸光度的影响,结果见图 2。

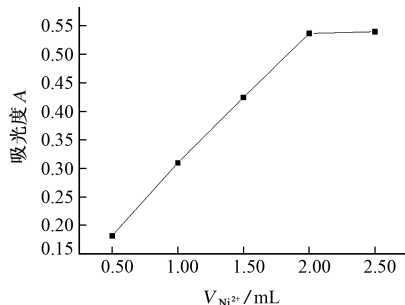


图 2 硫酸镍用量对吸光度的影响

Fig. 2 Effect of amounts of nickel sulfate on absorbance

由图 2 可知:当加入硫酸镍标准溶液的用量为 2.00 mL 时,吸光度达到饱和。当加入硫酸镍标准溶液的用量大于 3.00 mL 时,体系中开始出现轻微沉淀。试验选择硫酸镍标准溶液的用量为 2.00 mL。

2.4 反应时间的选择

试验考察了反应时间分别为 5,10,15,20 min 时对硫酸镍和盐酸氨基葡萄糖体系吸光度的影响。结果表明:随着反应时间的延长,吸光度逐渐增大,当反应时间大于 15 mim 时,吸光度变化不大。试验选择反应时间为 15 min。

2.5 反应温度的选择

将硫酸镍和盐酸氨基葡萄糖体系分别置于 20, 40,60,80,100 ℃ 的恒温水浴锅中反应 15 mim,考察不同反应温度对此体系吸光度的影响。结果表明:当反应温度大于 20 ℃ 时,体系中会产生沉淀,干扰目标物的测定,不能得到准确的结果。试验选择反应温度为 20 ℃。

2.6 表面活性剂的影响

分别在 6 只未定容的容量瓶中加入 2.00 mL 质量分数均为 1% 的十二烷基硫酸钠溶液、十二烷基苯磺酸钠溶液、聚乙二醇 10000 溶液、聚乙二醇 2000 溶液、聚乙烯吡咯烷酮 K30 溶液、β-环状糊精溶液,另外一只不加表面活性剂进行对比。将这 7 只容量瓶用 0.10 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液定容后,在仪器工作条件下进行测定。结果表明:和未加表面活性剂的对比组相比,加入表面活性剂的溶液吸光度的明显下降。试验选择不加表面活性剂。

2.7 干扰离子的影响

按试验方法进行测定,考察了几种常见离子对 Ni²⁺-盐酸氨基葡萄糖溶液吸光度的影响,结果见表 1。

表 1 干扰离子的影响
Tab. 1 Influence of interfering ions

干扰离子	干扰离子和氨基葡萄糖的物质的量之比	回收率/%
Ca ²⁺	100	90
K ⁺	200	
Mg ²⁺	50	
Fe ²⁺	100	110
CO ₃ ²⁻	100	

由表 1 可知:200 倍的 K⁺,100 倍的 CO₃²⁻ 均不产生干扰;在加入 100 倍的 Ca²⁺、50 倍的 Mg²⁺ 和 100 倍的 Fe²⁺ 后,溶液立即产生沉淀,严重影响试验测定,无法进行回收率计算。

2.8 标准曲线与检出限

按仪器工作条件对配制的标准溶液系列进行测定,以盐酸氨基葡萄糖的浓度为横坐标,其对应的吸

光度为纵坐标绘制标准曲线,线性回归方程为 $y = 56.91x + 0.1457$,相关系数为 0.999 7,盐酸氨基葡萄糖的浓度在 $6.00 \times 10^{-4} \sim 4.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 内与其对应的吸光度呈线性关系。

测量空白溶液 0.10 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液的吸光度 10 次,以 3 倍标准偏差计算检出限(3s)为 $4.1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.9 准确度和精密度试验

在浓度为 $4.53 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的样品溶液中分别添加 4 个浓度水平的盐酸氨基葡萄糖标准溶液,按仪器工作条件进行测定,每组平行测定 5 次,计算回收率和测定值的相对标准偏差(RSD),结果见表 2。

表 2 回收和精密度试验结果(n=5)
Tab. 2 Results of tests for recovery and precision(n=5)

本底值 c/ ($\times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	加标量 c/ ($\times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	测定值 c/ ($\times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收率/%	RSD/%
4.53	1.00	5.33	80.0	0.16
	2.00	6.59	103	0.18
	3.00	7.82	110	0.14
	4.00	8.21	92.0	0.090

由表 2 可知:用该方法测定盐酸氨基葡萄糖含量的回收率在 80.0% ~ 110% 之间,RSD 低于 0.18%,结果令人满意。

2.10 样品分析

按照试验方法对盐酸氨基葡萄糖胶囊中的盐酸氨基葡萄糖含量进行测定,得到盐酸氨基葡萄糖的浓度为 $7.26 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,计算得到胶囊中盐酸氨基葡萄糖的含量为 0.238 6 g/粒,和胶囊标示量(0.24 g)一致。

参考文献:

[1] 陈亚.分光光度法测定 D-氨基葡萄糖盐酸盐条件的考查[J].安徽化工,2010,36(6):66-67.
[2] 薛继杨,王雅萍,张瑶纾.Cu²⁺ 络合物紫外法测定盐酸氨基葡萄糖含量[J].中国医药工业杂志,2013,44(4):389-391.
[3] 冷艳霞,孙璐,邸欣,等.盐酸氨基葡萄糖片的相对生物利用度及其生物等效性评价[J].沈阳药科大学学报,2006,23(1):6-9.
[4] JEONG D H, ULLAH H M A, GOO M J, et al. Effects of oral glucosamine hydrochloride and mucopolysaccharide protein in a rabbit model of osteoarthritis[J]. International Journal of Rheumatic Diseases,

- 2018,21(3):620-628.
- [5] CHAN P S, CARON J P, ROSA G J M, et al. Glucosamine and chondroitin sulfate regulate gene expression and synthesis of nitric oxide and prostaglandin E2 in articular cartilage explants[J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2005,13(5):387-394.
- [6] 万慧芳,万欢,汪华杰.盐酸氨基葡萄糖反相高效液相色谱法含量测定方法研究[J].南昌大学学报(医学版),2010,50(5):104-105.
- [7] 陈敬.关于一种重要保健葡萄糖衍生物的探讨[J].淀粉与淀粉糖,2006,12(4):31-33.
- [8] 赵海珍,姚丽娜.中药保健品中D-氨基葡萄糖盐酸盐含量测定[J].黑龙江医药,2008,21(5):27-28.
- [9] 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):143-144.
- [10] 吴学军,金鹏飞,朱峰,等.高效液相色谱法快速测定盐酸氨基葡萄糖胶囊的含量[J].医药导报,2011,30(8):1085-1087.
- [11] 刘利萍,章非凡,张阳,等.HPLC测定盐酸氨基葡萄糖的柱前衍生化条件的响应面优化[J].营养学报,2013,35(4):387-390.
- [12] 沈丹丹,曾杰,王玥,等.HPLC测定盐酸氨基葡萄糖有关物质与含量[J].中国药学杂志,2017,52(4):314-318.
- [13] 甘宾宾,刘展华,黎少豪.HPLC法测定保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量的研究[J].中国食品卫生杂志,2011,23(6):531-533.
- [14] 王太亮,王子秦.HPLC-ELSD法测定氨糖美辛肠溶胶囊中盐酸氨基葡萄糖及相关物质[J].中国生化药物杂志,2016,36(6):194-196.
- [15] 卢素格,王爱月,张榕杰.高效液相色谱测定保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量[J].中国卫生工程学,2011,10(6):499-500.
- [16] 郑家概,王飞,农云军,等氨基葡萄糖盐酸盐含量的HPLC柱前衍生法测定[J].分析测试学报,2009,28(9):1081-1083.
- [17] 沈国,许建中,唐旭,等.高效离子色谱法测定氨基葡萄糖类化合物[J].中国卫生检验杂志,2010,20(3):495-497.

UV-Spectrophotometric Determination of Glucosamine Hydrochloride in Its Drug Capsule

LIU Xin¹, WANG Yuqing¹, LI Yongge², LIU Chunyu¹

(1. Department of Chemistry, Tangshan Teachers' College, Tangshan 063000, China;

2. Department of Life Science, Tangshan Teachers' College, Tangshan 063000, China)

Abstract: Based on the phenomenon of coordination of glucosamine hydrochloride (GSM) with Ni^{2+} in alkaline medium to form a coordination complex having its absorption maximum at 219 nm, further research was done to work out a method for UV-spectrophotometric determination of GSM in its drug capsule. In the determination, the drug particles of GSM in a capsule were taken, weighed (ca. 0.24 g as labelled), dissolved and made its volume to 250 mL with water. An aliquot of 5.00 mL of this solution was taken and placed in a 50 mL volumetric flask, 10 mL of $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sodium hydroxide solution and 2.00 mL of $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ nickel sulfate solution were added successively and volume of the solution was made up to 50 mL with $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sodium hydroxide solution. Then the solution was placed into a water bath keeping at constant temperature of 20°C for 15 min for completion of the coordination reaction. Absorbance of the solution was then measured at 219 nm. Linear relationship between values of absorbance measured and the respective concentrations of GSM was obtained in the range from 6.00×10^{-4} to $4.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; the detection limit ($3S/N$) found was $4.10 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. On the base of GSM taken from a capsule, recovery was tested by addition of GSM standard solution at 4 concentration levels, giving results of recovery in the range of 80.0%—110% and values of RSDs ($n=5$) less than 0.2%. A substantial drug capsule was analyzed by this method, the concentration of GSM found was $7.26 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, which was equivalent to a mass of 0.238 6 g in the capsule by conversion calculation. This value was found in consistency with the labelled value.

Keywords: glucosamine hydrochloride; Ni^{2+} ; UV-Vis spectrophotometry; glucosamine hydrochloride capsule