

尺寸排阻色谱法分析右旋糖酐铁分子量及分子量分布

LC-361

摘要：本文建立了一种尺寸排阻色谱法测定右旋糖酐铁分子量及分子量分布的方法。样品经尺寸排阻色谱柱分离，GPC 再解析软件分析，窄分布标样三次回归曲线校正，依据保留时间对分子量进行计算。结果显示，系统适应性满足法规要求，在峰位分子量 M_p 2700~64650 范围内，校准曲线相关系数 $R>0.999$ ，实测样品重均分子量 $M_w=6727$ ，数均分子量 $M_n=4839$ 。方法简单、易操作，可供相关行业参考。

关键词：尺寸排阻色谱 右旋糖酐铁 分子量分布

技术特点：

- ❖ 符合《中国药典》2020 年版右旋糖酐铁 < 检查 > 项下要求。
- ❖ LabSolutions GPC 再解析软件智能，操作简便。

右旋糖酐铁是氢氧化铁与重均分子量 (M_w) 5000~7500 的右旋糖酐的络合物，为可溶性铁，作为一个补铁的制剂，它可以为缺铁性贫血的患者提供铁元素，铁元素对于人体的造血功能具有非常重要的功效。分子量及分子量分布是右旋糖酐铁质量控制关键指标。《中国药典》2020 年版规定：右旋糖酐铁重均分子量 (M_w) 应为 5000~7000，分布系数 D (M_w/M_n) 应小于 1.8，分子量及分子量分布采用尺寸排阻色谱法进行测定。

尺寸排阻色谱又称为凝胶色谱法、分子排阻色

谱法、是一种根据试样的分子尺寸大小进行分离的技术。一般用于多糖聚合物、多聚核苷酸、蛋白以及高分子材料等的分子量及分子量分布的测定。岛津 GPC 再解析软件可以实现分子量校准曲线制作，重均分子量 M_w ，数均分子量 M_n ，粘均分子量 M_v ，Z 均分子量 M_z 等的结果输出。

本文使用岛津高效液相色谱仪，参照《中国药典》二部中规定的方法，建立了一种测定右旋糖酐铁的分子量及分子量分布的方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 LC-20A 高效液相色谱仪，具体配置为：

输 液 泵：	LC-20AT	系统控制器：	CBM-20A
柱 温 箱：	CTO-20A	检 测 器：	RID-20A
自动进样器：	SIL-20A	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.113

1.2 分析条件

色 谱 柱：	TSK-GEL G3000PWXL (7.8×300 mm, 7 μm, 200Å)		
流 动 相：	0.71% 硫酸钠溶液	流 速：	0.5 mL/min
进 样 体 积：	20 μL	柱 温：	30°C

1.3 试剂配制

系统适应性溶液：葡萄糖 10 mg/mL，葡聚糖 2000 10 mg/mL

供试品溶液：取本品适量（约相当于右旋糖酐铁 40 mg），置试管中，加水 2 mL，加热使溶解，放冷，加 4 mol/L 磷酸二氢钠溶液 2 mL，摇匀，静置过夜，加流动相至 10 mL，0.45 μm 滤膜滤过，取续滤液，即得。

对照品溶液 取 4~5 个右旋糖酐分子量对照品（峰位分子量 2000~60 000），加流动相溶解并稀释制成每 1 mL 中各含 10 mg 的溶液。

■ 结果与讨论

2.1 系统适应性

根据《中国药典》2020年版要求，右旋糖酐铁主峰保留时间应介于葡聚糖 2000 和葡萄糖之间，且葡萄糖理论塔板数 ≥ 5000 。实测结果如下图所示，黑色峰为葡聚糖 2000，蓝色峰为葡萄糖，粉红色峰为右旋糖酐铁主峰，右旋糖酐铁保留时间位于葡聚糖 2000 和葡萄糖之间。葡萄糖峰理论塔板数 $N=10043$ ，大于 5000，满足系统适应性要求。

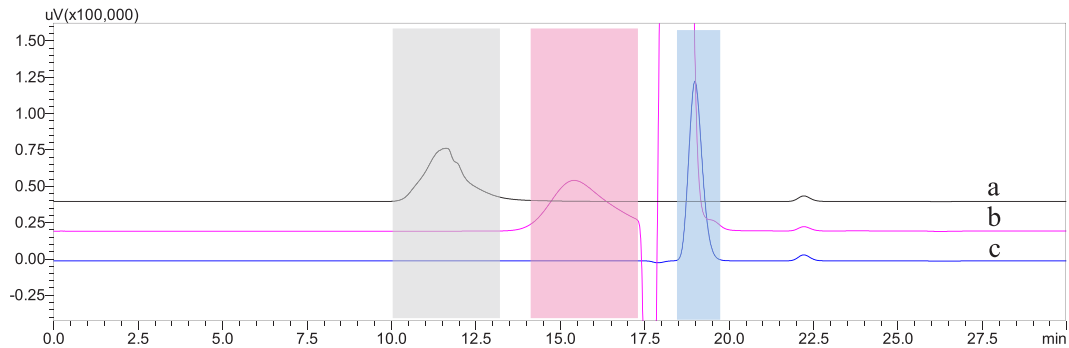


图 1 右旋糖酐铁系统适应性 (a- 葡聚糖 2000, b- 右旋糖酐铁, c- 葡萄糖)

2.2 线性范围

将峰位分子量 M_p 为 2700、5250、9750、13050、36800、64650 的右旋糖酐标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以保留时间为横坐标，峰位分子量的对数值为纵坐标，使用 GPC 再解析软件，建立校准曲线，结果如图 2 所示，相关系数 $R > 0.999$ ，符合药典要求。

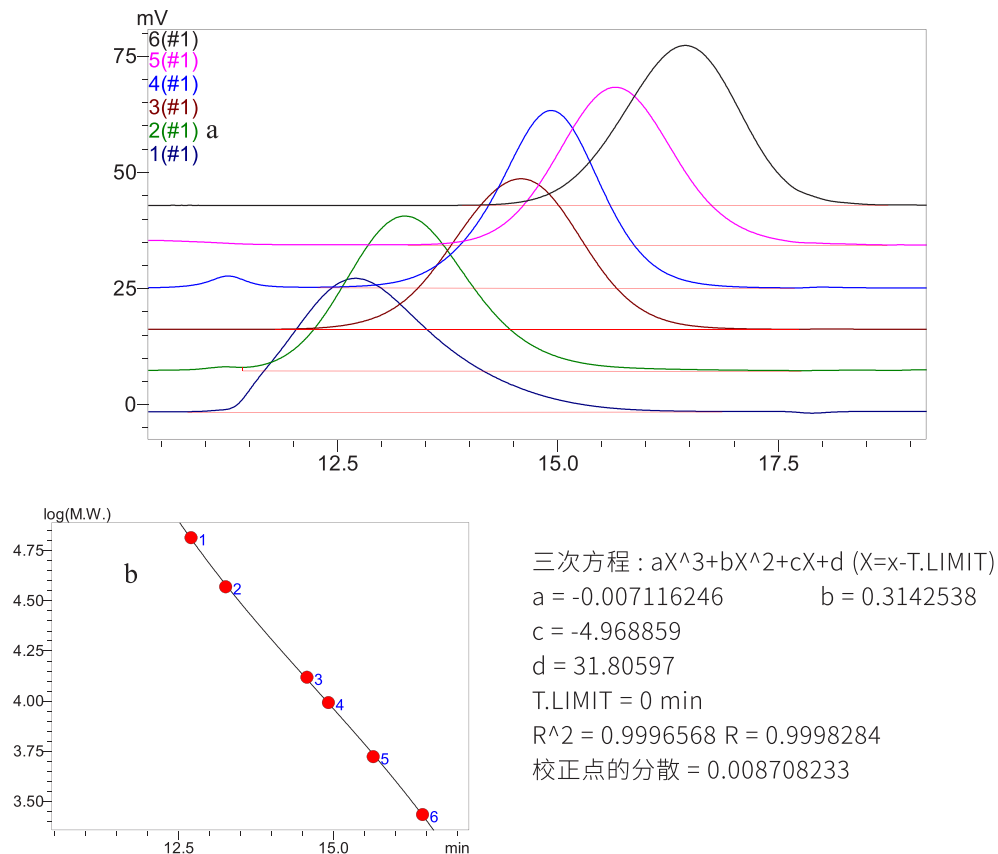


图 2 右旋糖酐标准溶液 (a) 以及分子量校准曲线 (b)

2.3 样品测试

按 1.3 条件制备样品，进样分析，根据右旋糖酐分子量校准曲线计算样品分子量分布，LabSolutions GPC 再解析输出样品报告，如下图 3 所示。药典要求重均分子量 (Mw) 应为 5000~7000，分布系数 D (Mw/Mn) 应小于 1.8。无需二次计算，从报告中，可直接读出实测样品保留时间 15.42 min，重均分子量 Mw=6727，数均分子量 Mn=4839，分布系数 D (Mw/Mn) =1.39，结果满足药典要求。

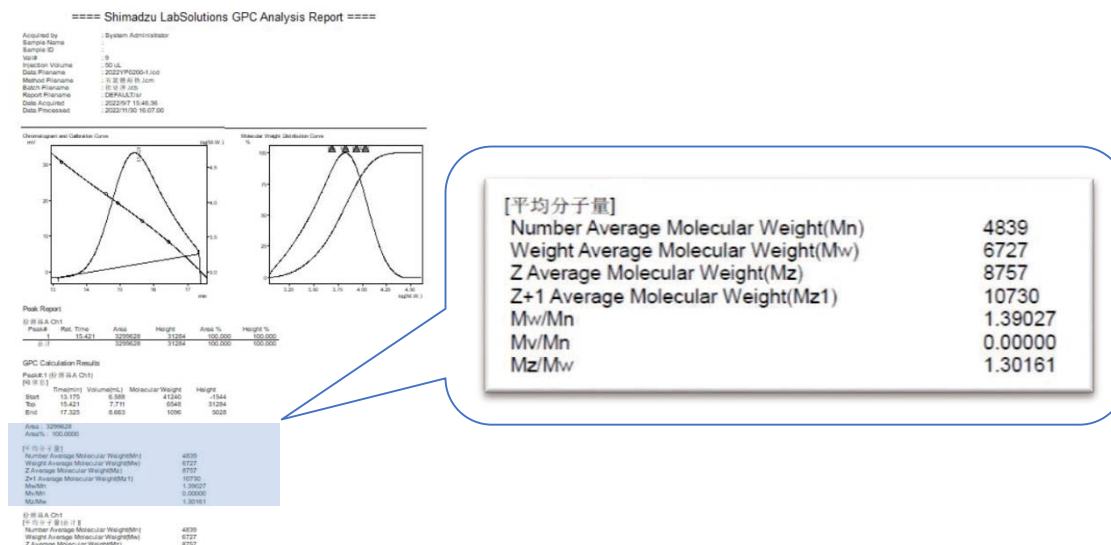


图 3 信息丰富的自动化数据报告

■ 结论

本文使用岛津高效液相色谱仪建立了一种右旋糖酐铁分子量及分子量分布的测定方法。样品参照《中国药典》2020 年版条件进行上机分析，系统适应性结果满足要求，分子量校准曲线线性良好，R>0.999，实测右旋糖酐铁重均分子量 Mw=6727，数均分子量 Mn=4839。该方法简便，易操作，可供相关行业参考。

岛津应用云

