

# 宽分布校正法计算肝素钠样品分子量

LC-463

**摘要:** 本文使用岛津 Prominence GPC 系统,建立了一种肝素钠样品的分子量分析方法。该方法参照《中国药典》(二部)中肝素钠分子量的分析条件,结合岛津 Labsolutions GPC 再解析软件,使用“宽分布(面积%)”校正法建立校正曲线,计算了肝素钠样品的重均分子量、分子量大于 24000 级分的百分含量、以及分子量 8000-16000 级分与 16000-24000 级分的含量比。“宽分布(面积%)”校正法建立校正曲线简单、快捷,可完全满足中国药典对肝素钠分子量计算的所有要求。

**关键词:** GPC 宽分布校正 肝素钠 药典

## 技术特点:

- ❖ 使用“宽分布(面积%)”功能可快速建立肝素钠校正曲线,相关系数大于 0.9999,满足药典规定的相关系数不小于 0.990 的要求;
- ❖ 利用校正曲线计算了肝素钠供试品的重均分子量和分子量分布,结果均满足药典要求。

肝素钠是由猪肠黏膜中提取的硫酸氨基葡聚糖的钠盐,是不同分子量的糖链组成的混合物,由  $\alpha$ -D-氨基葡萄糖(N-硫酸化, O-硫酸化或 N-乙酰化)和 O-硫酸化糖醛酸( $\alpha$ -L-艾杜糖醛酸或  $\beta$ -D 葡聚糖醛酸)交替连接形成聚合物,具有延长血凝时间的作用。研究表明肝素钠的生理活性和副作用跟其

平均分子量存在直接联系,因此其分子量是药典规定必不可少的检测项目。

本文参照中国药典 2020 年版(二部)中的肝素钠分子量分析条件,使用 GPC 再解析软件的“宽分布(面积%)”校正法建立了快速准确分析肝素钠分子量的方法,以供相关行业参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用 Prominence GPC 系统,具体配置为:

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A <sub>3</sub>
输液泵	: LC-20AT	自动进样器	: SIL-20A
检测器	: RID-20A	柱温箱	: CTO-20A
色谱工作站	: LabSolutions 5.127, 配 GPC 再解析功能模块		

### 1.2 分析条件

色谱条件完全参照中国药典,具体如下:

色谱柱	: TSKgel 凝胶柱,规格同药典	流动相	: 0.1 M 醋酸铵水溶液
流速	: 0.6 mL/min	柱温	: 30°C
进样量	: 25 $\mu$ L		

### 1.3 样品配制

参照中国药典,以流动相为溶剂,分别配制浓度为 5 mg/mL 的肝素钠宽分布对照品溶液和供试品溶液。

## 结果与讨论

### 2.1 建立校正曲线

使用“GPC 再解析”建立宽分布校正曲线,操作步骤主体可参考软件说明书《GPC Operation Guide》中的“2.5 创建校正曲线”部分。

本文所使用的“宽分布（面积 %）校正法”仅少数参数的设置与该部分有所差异，具体如下：

2.1.1 “GPC 校正曲线”设置：

- ① 校准类型选择“宽分布（面积 %）”，
- ② 点击“设置面积 %”，
- ③ 在弹出的对话框中按照对照品说明书输入分子量和对应的累积峰面积百分比；

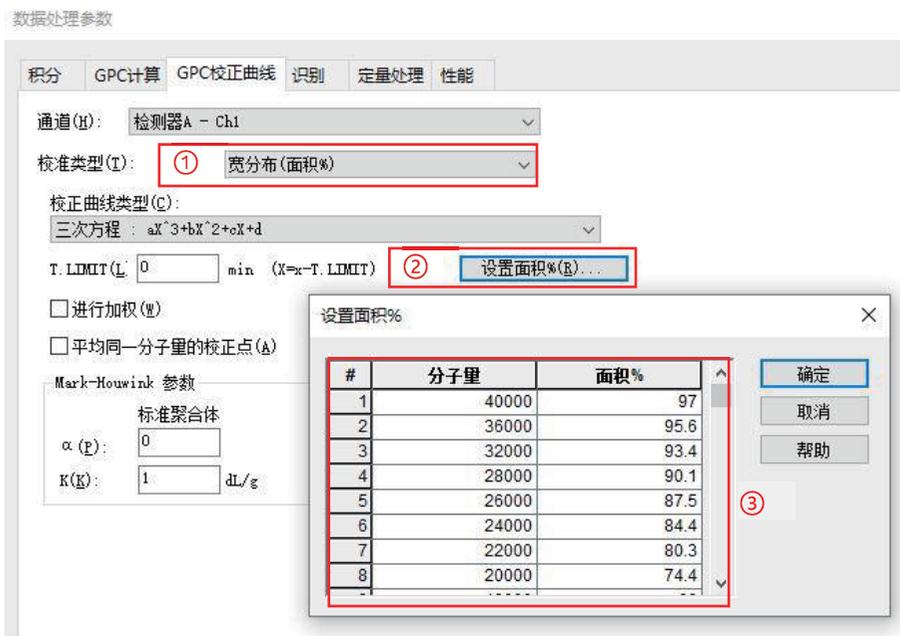


图 1 “GPC 校正曲线”参数设置

2.1.2 加载标准样品数据文件个数为 1；

2.1.3 设置“校正曲线表”：

- ① “校正曲线表”选择“编辑”模式
- ② 点击“校正曲线表视图”中“峰加载”，
- ③ 弹出的对话框中点击“1st 峰”，
- ④ 点击“新建”，即可生成校正曲线。



图 2 设置“校正曲线表”

生成的校正曲线如图 4 所示，校正曲线方程具体信息如表 1，相关系数 R 大于 0.9999，满足药典规定的相关系数不小于 0.990 的要求。

表 1 校正曲线信息

目标物	方程	a	b	c	d	相关系数 R
肝素钠	$\log M = aX^3 + bX^2 + cX + d$	$-2.676e^{-4}$	0.026	-0.907	15.469	>0.9999

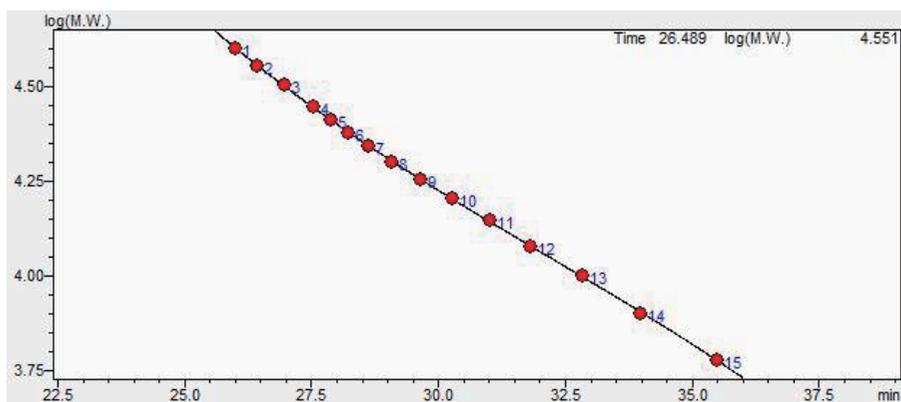


图 3 校正曲线

## 2.2 色谱图与供试品测试

肝素钠对照品和供试品溶液的色谱图如图 5 所示。利用生成的校正曲线计算供试品的重均分子量、分子量大于 24000 级分的百分含量、以及分子量 8000–16000 级分与 16000–24000 级分的含量比，具体结果如表 2 所示。

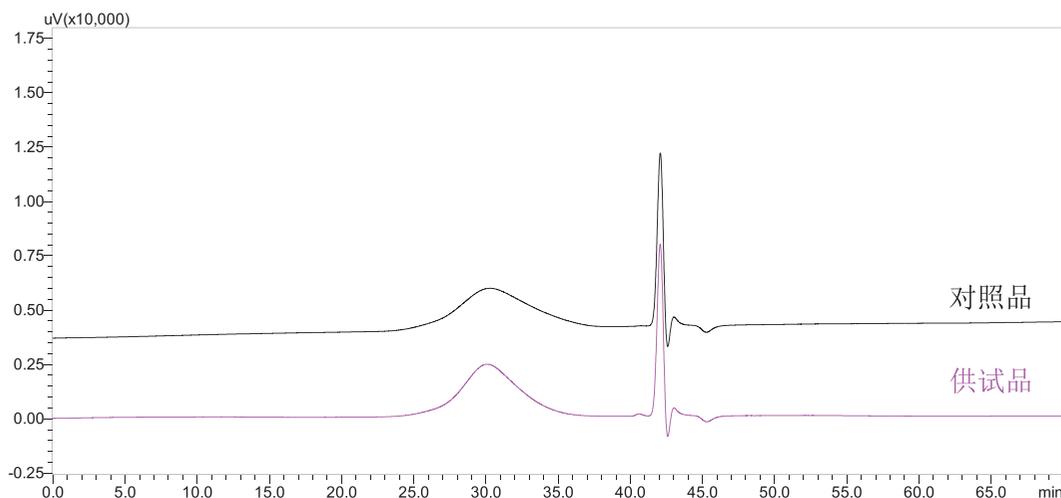


图 4 肝素钠对照品和供试品溶液色谱图

表 2 供试品结果

项目	重均分子量	分子量大于 24000 级分的 累积百分比 (%)	分子量 8000–16000 级分与 16000–24000 级分的含量比
实测值	17598	14.55	1.31
药典规定值	15000–19000 之间	不得大于 20%	不得小于 1.0

## ■ 结论

本文使用岛津 Prominence GPC 系统，建立了一种肝素钠样品的分子量分析方法。利用“宽分布（面积 %）”校正法可快速建立校正曲线，并计算肝素钠供试品的重均分子量和分子量分布，结果可完全满足中国药典对肝素钠分子量计算的所有要求。

岛津应用云

