

0.3%、0.5%、0.062% 与 0.088%。参考中国药典 2005 年版^[3], 将二氯甲烷与氯仿的限度规定为 0.060% 与 0.006%。

参考文献:

- [1] 孙忠实. 新型 AT 拮抗剂—替米沙坦[J]. 中国新药杂志, 1999, 8(12): 801.
 [2] 周海钧主译. 药品注册的国际技术要求质量部分[M]. 北京: 北京人民卫生出版社, 2000, 87.
 [3] 中国药典. 二部[S]. 2005. 56(附录).

[收稿日期] 2005-09-17

毛细管电泳色谱分析同时测定复方降糖制剂中 3 种组分的含量

邹定, 何笑荣, 吴学军, 胡欣 (卫生部北京医院药剂科, 北京 100730)

[摘要] 目的: 建立毛细管区带电泳色谱(CZE)测定复方降糖制剂中苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖的方法。方法: 以含 50 mmol·L⁻¹ 磷酸-硼酸盐溶液(pH 7.6)为运行缓冲液, 毛细管柱(60 cm × 75 μm, 有效长度为 55 cm), 以磺胺甲噁唑为内标物, 分离电压 20 kV(运行电流 100~110 μA)。在 214 nm 波长处测定。结果: 上述条件 3 种组分在 10 min 内得到很好的分离, 苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖的加样回收率分别为 99.1%, 98.9%, 98.6%; RSD 分别为 2.34%, 1.10%, 2.74%。结论: 本法方法简便、快速、准确, 可用于复方降糖制剂中苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖的分离鉴定及含量测定。

[关键词] 苯乙双胍; 格列本脲; 阿卡波糖; 毛细管区带电泳
 [中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2006)03-0360-02

糖尿病是一种常见的内分泌-代谢性疾病, 我国患病人数居世界前列, 绝大多数为 2 型糖尿病。常用的降糖药有苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖等。临床常需要两种或多种降糖药联合使用, 市场上也出现了复方制剂。目前, 有关苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖的单一成分有文献报道^[1-3]。而对复方制剂分离测定的报道较少^[4]。为此本研究采用毛细管区带电泳法同时测定复方降糖胶囊中的苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖, 获得满意结果。报道如下。

1 仪器与试剂

Waters Quanta 4000E 毛细管电泳仪, 石英毛细管(60 cm × 75 μm), 波长 214 nm 紫外灯及相应的检测装置, Waters-746 型数据处理仪。苯乙双胍、格列本脲、磺胺甲噁唑对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 9911242, 10135-0103, 0025-9202); 阿卡波糖(拜耳医药有限公司, 含量 99.80%, 批号 17090202); 复方降糖胶囊(糖尿病研究所, 0.384 5g/粒, 批号 0021106, 0030112, 0031006, 处方每粒含苯乙双胍 12.5 mg, 格列本脲 0.5 mg, 阿卡波糖 5 mg)。

2 测定方法和结果

2.1 电泳条件 石英毛细管柱: 60 cm × 75 μm, 有效长度为 55 cm; 电解液运行液: 50 mmol·L⁻¹ 磷酸-硼酸盐缓冲液(四

硼酸钠 9.53 g 溶于约 450 mL 水中用磷酸调 pH 7.6, 加水至 500 mL), 临用时 0.45 μm 微孔滤膜过滤; 重力法进样: 进样高度为 10 cm; 进样时间: 10 s; 运行电压: 20 kV, 运行电流: 100~110 μA。紫外检测器, 在 214 nm 波长处测定, Waters-746 数据处理仪记录数据并处理结果。以磺胺甲噁唑为内标物, 上述条件 3 种组分在 10 min 内得到很好的分离, 结果见图 1。

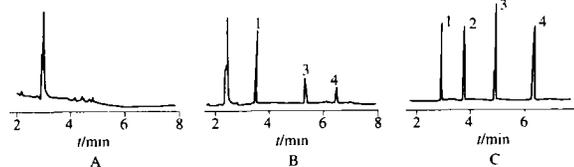


图 1 毛细管电泳图

A. 空白辅料; B. 复方降糖胶囊; C. 对照品溶液; 1- 苯乙双胍, 3.17 min; 2- 内标, 4.01 min; 3- 阿卡波糖, 4.99 min; 4- 格列本脲, 6.27 min

Fig 1 Capillary electrophoresis

A. excipients; B. compound anti-diabetic capsules; C. reference standards solution; 1- phenformin, 3.17 min; 2- internal standard, 4.01 min; 3- acarbose, 4.99 min; 4- glibenclamide, 6.27 min

2.2 对照品溶液 精密称取对照品苯乙双胍 18.82 mg、格列本脲 27.55 mg、阿卡波糖 37.52 mg, 分别置于 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并用 50% 甲醇稀释至刻度, 作为对照品储备液。

精密称取磺胺甲噁唑对照品 12.50 mg 于 25 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇溶解并稀释至刻度, 作为内标储备液。

2.3 运行液 四硼酸钠 9.53 g 溶于约 450 mL 水中用磷酸调 pH 7.6, 加水至 500 mL。

2.4 供试品溶液 取复方降糖胶囊内容物约 1 g, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇 25 mL 充分振摇, 必要时可超声助溶, 加运行液 25 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液, 取续滤液备用。

2.5 线性关系考察 分别精取苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖 3 种对照品溶液 0.25, 0.5, 1.0, 1.25, 1.5, 2.0 mL 于 10 mL 的量瓶中, 精密加入内标溶液 1.0 mL 振摇, 加运行液稀释至刻度摇匀。按“2.1”项下所述电泳条件分别进样, 记录峰面积。分别以 3 种组分的浓度与其相对应的组分与内标峰面积比进行线性回归。得回归方程分别为: $Y = 2.282X + 0.02988, r = 0.9996$, 苯乙双胍 $18.82 \sim 150.56 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $Y = 1.684X + 0.788, r = 0.9991$, 格列本脲 $27.55 \sim 220.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $Y = 1.282X + 0.02688, r = 0.9989$, 阿卡波糖 $37.52 \sim 300.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.6 检测限 以基线噪声的 3 倍作为最低检测限, 经测定苯乙双胍、阿卡波糖、格列本脲的最低检测限分别为 1, 4, 2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.7 精密度考察 分别取线性关系中低、中、高 3 个浓度, 以对照品溶液苯乙双胍为准, 分别为 37.64, 94.10, 150.56 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 按“2.1”项下所述电泳条件进行测定, 连续进样 6 次。苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖相对应峰面积的 RSD 分别为 0.64%, 0.86%, 1.2% (低); 0.48%, 0.68%, 1.0% (中); 0.56%, 0.88%, 1.3% (高)。

[作者简介] 邹定, 女, 大学, 主任药师, 电话: 010-65132266-3620, E-mail: Zou ding570816@Sina.com

2.8 重复性考察 取复方降糖胶囊内容物约 1 g, 精密称定, 按“2.3”项下供制备溶液配制方法制备 5 份样品, 按“2.1”项下所述电泳条件进样分析。结果苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖峰面积的 RSD 分别 2.8%, 2.2%, 2.16%, 表明该方法重现性好。

2.9 稳定性实验 复方降糖胶囊溶液照“2.3”项下制备好后, 按“2.1”项下所述电泳条件分别在 0, 1, 2, 4, 6 h 进行测定。结果苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖与内标峰磺胺甲噁唑的峰面积之比的 RSD 分别 1.8%, 1.6%, 1.3% (n=5)。

2.10 加样回收率 称取已知含量的复方降糖胶囊约 0.25 g, 精密称定, 共 3 份, 分别置 50 mL 量瓶中, 分别加入 3 种对照品储备液均分别 1, 2, 3 mL、内标储备液 5 mL, 按“2.3”项方法制得所需溶液, 测定格列本脲和阿卡波糖的加样回收率; 同法称取样品 3 份置 100 mL 量瓶中, 加内标储备液 10 mL, 其他同上述加样回收率方法制备样品溶液, 测定苯乙双胍的加样回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收率结果 (n=3)

Tab 1 Results of recoveries of spiked sample (n=3)

样品	样品含量		测得量		回收率		平均回收率 RSD
	/mg	/mg	/mg	/%	/%	/%	
苯乙双胍	11.82	0.75	12.59	102.66	101.48	1.11	
	11.95	1.5	13.47	101.33			
	11.87	2.2	14.08	100.45			
格列本脲	0.505	1.1	1.59	98.64	100.68	1.80	
	0.520	2.2	2.75	101.36			
	0.513	3.3	3.88	102.03			
阿卡波糖	5.05	1.5	6.57	101.33	100.67	1.76	
	5.2	3	8.16	98.67			
	5.13	4.5	9.72	102.00			

2.11 样品测定 取复方降糖胶囊约 1 g, 精密称定, 于 100 mL 量瓶中, 精加内标储备液 10 mL 按“2.3”项方法制得所需样品溶液, 按“2.1”项下所述电泳条件进样分析, 测定样品中格列本脲和阿卡波糖的含量。同法称取样品约 0.5 g, 精密称定于 100 mL 量瓶, 其他操作同上。测定样品中苯乙双胍的含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果 (n=3)

Tab 2 Results of sample determination (n=3)

样品 批号	苯乙双胍		格列本脲		阿卡波糖	
	标示量/%	RSD/%	标示量/%	RSD/%	标示量/%	RSD/%
0021106	100.9	0.68	98.2	0.59	100.4	0.43
0030112	101.2	0.88	99.8	0.89	103.4	0.53
0031006	103.1	0.58	100.2	0.79	102.4	0.83

3 讨论

3.1 运行缓冲液浓度的选择 本实验比较 10, 25, 50, 60, 80 mmol·L⁻¹ 磷酸盐运行缓冲液, 结果发现, 采用 50 mmol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液的峰形及分离效果优于其他浓度, 加入少量的磷酸, 可增加检测灵敏度。

3.2 缓冲液 pH 对分离的影响 本实验考察了缓冲液 pH 在 3.5~10 间对苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖之间分离度的影响。结果当 pH 在 6.6 以下, 苯乙双胍与阿卡波糖色谱峰重叠, pH 在 8.5 以上, 格列本脲与阿卡波糖色谱峰重叠, 而 pH 值为 7.6 时, 各组分之间能完全分离, 内标峰正好在 3 组分之间。

3.3 分离电压的选择 本实验在分离中药样品时采用了 3

种分离电压 20, 25, 30 kV, 结果选用 20 kV 作为分离电压时, 样品能够完全分离, 采用 25, 30 kV 时, 组分流出速度过快, 组分间不能很好分离。

本实验利用 HPCE 分离效率高, 分析速度快等特点对复方降糖制剂中的苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖 3 种成分同时测定进行探讨, 对其他含有苯乙双胍、格列本脲、阿卡波糖的降糖制剂的质量评价有一定的参考价值。

参考文献:

[1] 丛培红, 孙延清. 高效液相色谱法测定盐酸苯乙双胍片的含量 [J]. 山东医药工业, 2003, 22(4): 14-15.
 [2] 黄作君, 黎月玲, 郑企琨. 等. 高效液相色谱法测定人血浆中格列本脲浓度 [J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(1): 22-23.
 [3] 彭远松, 魏承志. HPLC 测定阿卡波糖胶囊的含量及有关物质 [J]. 华西药理学杂志, 2004, 19(1): 58-59.
 [4] yoe Ray Ku, Li Yun Chag, Li Kang Ho, et al. Analysis of synthetic antidiabetic drugs in adulterated traditional Chinese medicines by high performance capillary electrophoresis [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2003, 33: 329-324.

[收稿日期] 2005-04-11

高效液相色谱法测定古古勒-4 味汤散剂中栀子苷的含量

杨宏昕¹, 白音夫², 刘续芳¹ (1. 内蒙古自治区医院, 内蒙古呼和浩特 010017; 2. 内蒙古自治区中蒙医医院, 内蒙古呼和浩特 010020)

[摘要] 目的: 建立古古勒-4 味汤散剂中栀子苷的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法: Kromasil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×200 mm, 5 μm), 流动相为 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸氢二钠甲醇 (70:30), pH 6.0, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 238 nm。结果: 栀子苷在 0.016~0.160 g·L⁻¹ 范围内呈良好的线性关系, 回归方程: Y=425.339X-6170, r=0.9990。样品中栀子苷平均含量为每袋 0.19 g, 平均回收率为 99.6%。结论: 本法可以测定古古勒-4 味汤散剂中栀子苷的含量, 方法简单、准确。

[关键词] 古古勒-4 味汤散剂; 栀子苷; 高效液相色谱法
 [中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2006)03-0361-02

古古勒-4 味汤散剂 (黑云香四味汤散) 由黑云香、诃子、川楝子、栀子组成, 为卫生部药品标准蒙药分册药品^[1]。临床用于出疹发热、血热引起的头痛、耳鸣、眩晕。该药品目前尚无质量标准。栀子苷为该药品活性成分之一, 可用于该药品的质量控制。本实验用 HPLC 法对古古勒-4 味汤散剂中栀子苷含量测定方法进行了研究, 为完善该制剂质量标准提供实验依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 1100 型; NC2000 型工作站; Kromasil C₁₈ 色谱柱; 古古勒-4 味汤散剂 (内蒙古中蒙医医院国家蒙药制剂中心, 批号 050115、050120、050125, 每袋 15 g); 栀子苷

[作者简介] 杨宏昕, 女, 学士, 副主任药师, 电话: 0471-6621671