

HPLC 测定盐酸二甲双胍肠溶片的含量

李 艺 陈峰杰^a 张良珂 赵春景^b 张景^①

(重庆医科大学药物高校工程研究中心和生物化学与分子药理学重点实验室 重庆市渝中区医学院路 1 号 400016)

^a(重庆医科大学附属第一医院药剂科 重庆市渝中区友谊路 1 号 400016)

^b(重庆医科大学附属第二医院药剂科 重庆市渝中区临江路 74 号 400010)

摘 要 建立高效液相色谱法测定盐酸二甲双胍肠溶片含量的方法。采用 Hypersil ODS2 色谱柱 (4.6mm×250mm, 5μm), 0.05% 庚烷磺酸钠溶液(用 10% 磷酸溶液调节 pH 值至 4.0): 乙腈 (84:16) 为流动相, 紫外检测波长 233nm; 流速 1.0mL/min; 柱温为 30℃。盐酸二甲双胍在 0.11—10.70μg/mL 浓度范围内峰面积与浓度线性关系良好, 线性回归方程为 $A = 94291C(\mu\text{g/mL}) - 35840$, $r = 0.9997$ ($n = 5$), 平均回收率为 99.22%, RSD 为 1.79%。本法简便, 准确, 制剂中辅料无干扰, 适合盐酸二甲双胍肠溶片含量的测定。

关键词 高效液相色谱法; 盐酸二甲双胍; 肠溶片

中图分类号: O657.7⁺2

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)06-3235-04

1 引言

二甲双胍是一类改善 II 型糖尿病患者糖耐量状况的降糖药物, 疗效确切, 为 II 型糖尿病患者的首选药物, 属于国家基本药物^[1]。双胍类降血糖药物的作用, 是通过增加外周组织、对葡萄糖的摄取, 提高胰岛素受体的结合力, 抑制肝糖原异生, 抑制胃肠道对葡萄糖的吸收, 降低血浆高血糖素水平, 使糖尿病患者的血糖降低, 而对正常人无降血糖作用, 与正常的胰腺功能和胰岛 β 细胞无关^[2]。2010 版中国药典^[3]中未收载盐酸二甲双胍肠溶片及其含量测定方法, 本文研究了高效液相色谱法测定其标示含量的方法, 方法简便, 结果准确, 专属性强。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

LC-2010A HT 高效液相色谱仪(日本岛津公司); Hypersil ODS2 色谱柱(大连依利特分析仪器有限公司); pH5-3C 型 pH 测定仪(上海精科仪器有限公司); AB204-E 分析电子天秤(瑞士 Mettler Toledo 仪器公司); KQ2200 超声清洗器(昆山市超声波仪器有限公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司); 盐酸二甲双胍对照品(天津中新药业股份有限公司, 纯度: 99%); 盐酸二甲双胍肠溶片(贵州圣济堂制药有限公司, 批号 20100313, 20100608, 20100709); 甲醇、乙腈、庚烷磺酸

① 联系人, 电话: (023) 68757987; 手机: (0) 13308300303; E-mail: zjqrae01@163.com

作者简介: 张景^①(1973—), 女, 重庆市人, 教授, 博士, 主要从事药物新剂型与新技术研究工作。地址: 重庆市渝中区大坪大黄路 6 号竞地花园 22 栋 501, 400042

李艺(1986—), 女, 重庆市人, 硕士研究生, 主要从事药物新剂型与新技术研究工作。

钠为色谱纯;其他试剂均为分析纯。实验用水为超纯水。

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS2(4.6mm×250mm, 5 μ m); 流动相: 0.05% 庚烷磺酸钠溶液(用 10% 磷酸溶液调节 pH 值至 4.0): 乙腈(84:16); 紫外检测波长 233nm; 流速 1.0mL/min; 柱温为 30℃。

2.2.2 对照品溶液的配制

准确称量干燥至恒重的盐酸二甲双胍对照品 10.70mg, 置于 5mL 烧杯中, 加流动相溶解后, 移入 10mL 容量瓶中, 并用流动相稀释至刻度。再取上述溶液 1mL 于 100mL 容量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 作为对照品溶液。

2.2.3 样品溶液的配制

取 3 批样品各 20 片, 研细, 准确量取细粉适量(约相当于盐酸二甲双胍 7.68mg) 至烧杯中, 用流动相溶解后移入 1000mL 容量瓶中, 加入流动相至刻度, 摇匀, 用 0.22 μ m 微孔滤膜过滤, 即为样品溶液。

3 结果与讨论

3.1 专属性考察

在 2.2.1 项色谱条件下, 样品中盐酸二甲双胍能达到基线分离, 保留时间约为 7.6min, 理论塔板数按盐酸二甲双胍峰计应不低于 3000。计算采用外标峰面积法, 空白样品, 对照品, 样品的色谱图见图 1。

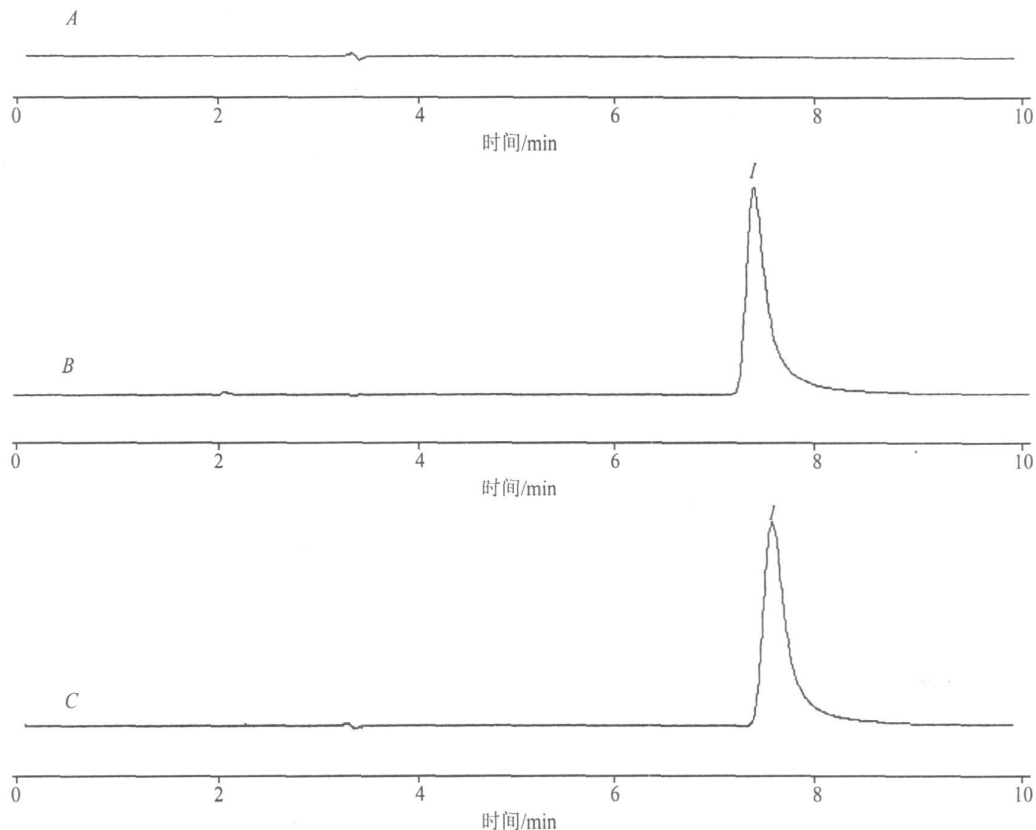


图 1 盐酸二甲双胍的 HPLC 图谱

A——空白样品; B——样品; C——对照品; I——盐酸二甲双胍(B 保留时间为 7.386min; C 保留时间为 7.602min)。

3. 2 线性关系

准确量取对照品溶液 0. 1、0. 5、2. 5、5. 0mL 于 10mL 容量瓶中, 并用流动相稀释至刻度, 摇匀。取上述溶液和对照品溶液各 20 μ L, 按 2. 2. 1 项下色谱条件进样分析, 记录峰面积。以峰面积(A) 对浓度(C , μ g/mL) 绘制校准曲线, 计算线性回归方程为 $A = 94291C - 35840$, $r = 0. 9997$ ($n = 5$)。表明盐酸二甲双胍在 0. 11—10. 70 μ g/mL 浓度范围内峰面积与浓度线性关系良好。

3. 3 回收率实验

准确称取已知含量样品细粉, 用对照品溶液配制成不同浓度的样品溶液, 进行高、中、低 3 个水平加样回收率实验。按 2. 2. 1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算回收率。所得平均回收率为 99. 22%, RSD 为 1. 79%。结果见表 1。

表 1 回收率实验

样品含量 (μ g)	加入量 (μ g)	测得量 (μ g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
2. 62	1. 07	3. 67	98. 13	99. 22	1. 79
2. 62	1. 07	3. 64	95. 33		
2. 62	1. 07	3. 70	100. 93		
2. 62	3. 21	5. 81	99. 38		
2. 62	3. 21	5. 79	98. 75		
2. 62	3. 21	5. 80	99. 07		
2. 62	6. 42	9. 10	100. 93		
2. 62	6. 42	9. 09	100. 78		
2. 62	6. 42	9. 02	99. 69		

3. 4 精密度实验

取对照品溶液和样品溶液, 按 2. 2. 1 项下色谱条件, 各重复进样 5 次, 每次 20 μ L。结果对照品峰面积 RSD 值为 0. 67%, 样品峰面积 RSD 值为 0. 94%, 符合实验要求, 本法精密度良好。

3. 5 稳定性实验

在本实验条件下, 样品溶液和对照品溶液在室温下放置 1、2、6、12、24h, 峰面积基本变化不大, 样品峰面积 RSD 为 1. 20%, 对照品峰面积 RSD 为 0. 87%。研究结果表明该溶液在 24h 内稳定性良好。

3. 6 重复性实验

按 2. 2. 3 项下制备同批号样品溶液 5 份, 在 2. 2. 1 项下色谱条件, 准确吸取 20 μ L, 注入色谱仪测定, 以外标法计算含量, 结果表明 5 次含量测定数据重复性良好, RSD 为 0. 61%, 测得含量差异较小。

3. 7 样品含量测定

三批样品按照 2. 2. 3 项下方法处理后, 准确量取各样品溶液 20 μ L, 按 2. 2. 1 项下色谱条件进样测定, 并计算样品中盐酸二甲双胍含量。结果见表 2。

表 2 盐酸二甲双胍含量测定

批号	含量(标示量的%)	RSD(%)
20100608	100. 63	1. 31
20100709	99. 93	0. 57
20100313	101. 27	1. 04

4 结论

本实验建立了高效液相色谱法测定盐酸二甲双胍肠溶片含量的方法,并对测定方法进行了方法学验证,试验结果表明所建立的方法准确灵敏,重复性好,能够用于盐酸二甲双胍肠溶片的质量控制。本文对甲醇-水溶液,乙腈-水溶液等多种流动相进行了筛选,以 0.05% 庚烷磺酸钠溶液(用 10% 磷酸溶液调节 pH 值至 4.0):乙腈(84:16)为流动相能排除其他成分干扰,分离效果好,峰型良好^[4-9]。

参考文献

- [1] Grisouard J, Timper K, Radimerski T M *et al.* Mechanisms of Metformin Action on Glucose Transport and Metabolism in Human Adipocytes[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2010, **80**(11): 1736—1745.
- [2] Chen L L, Liao Y F, Zeng T S *et al.* Effects of Metformin Plus Glimepiride Compared with Metformin Alone on Circulating Endothelial Progenitor Cell in Type 2 Diabetic Patients[J]. *Endocrine*, 2010, **38**(2): 266—275.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010. 625—626.
- [4] Kar M, Choudhury P K. HPLC Method for Estimation of Metformin Hydrochloride in Formulated Microspheres and Tablet Dosage Form[J]. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2009, **71**(3): 318—320.
- [5] Jain D, Jain S, Jain D *et al.* Simultaneous Estimation of Metformin Hydrochloride, Pioglitazone Hydrochloride, and Glimepiride by RP-HPLC in Tablet Formulation[J]. *Journal of Chromatographic Science*, 2008, **46**(6): 501—504.
- [6] Salm H. Determination of Metformin Hydrochloride and Glyburide in an Antihyperglycemic Binary Mixture Using High-Performance Liquid Chromatographic-UV and Spectrometric Methods[J]. *Journal of AOAC International*, 2010, **93**(1): 133—140.
- [7] 张汉萍, 王建林. 高效液相色谱法测定国产奥沙普秦肠溶片含量[J]. 中国医院药学, 1999, **19**(1): 27—29.
- [8] 杨青. 高效液相色谱法测定盐酸二甲双胍片的含量[J]. 中国药业, 2008, **17**(19): 35.
- [9] 戚燕, 尤聪超. 离子对-HPLC 法测定盐酸二甲双胍含量及有关物质[J]. 药物分析, 2002, **22**(4): 285—287.

Determination of Metformin Hydrochloride in Metformin Hydrochloride Enteric-Coated Tablets by HPLC

LI Yi CHEN Feng-Jie^a ZHANG Liang-Ke ZHAO Chun-Jing^b ZHANG Jing-Qing

(Medicine Engineering Research Center, Chongqing Key Laboratory of Biochemical & Molecular Pharmacology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, P. R. China)

^a(Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital Chongqing Medical University, Chongqing 400016, P. R. China)

^b(Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital Chongqing Medical University, Chongqing 400010, P. R. China)

Abstract The method for the determination of metformin hydrochloride in metformin hydrochloride enteric-coated tablets was established by HPLC. Samples were separated on Hypersil ODS2 column(4.6mm×250mm, 5μm) with 0.05% heptane-1-sulfonic acid sodium salt solution (pH was adjusted to 4.0 by 10% phosphoric acid)-acetonitrile(84:16) as the mobile phase at a flow rate of 1.0mL/min. The detection wavelength was 233nm, and the column temperature was 30℃. The linear range of metformin hydrochloride was 0.11—10.70μg/mL($r=0.9997$) with an average recovery of 99.22% (RSD=1.79%). The method is simple, accurate, and materials in the preparation has no interference and suitable for the determination of main content in metformin hydrochloride enteric-coated tablets.

Key words HPLC; Metformin Hydrochloride; Enteric-Coated Tablets