

HPLC同时测定津溢胶囊中丹皮酚与格列本脲的含量

张建英,张艳慧,张艳华,张月寒(保定市药品检验所,河北 保定 071051)

摘要:目的 建立高效液相色谱法同时测定津溢胶囊中格列本脲和丹皮酚的含量。方法 采用 C_{18} 柱,以甲醇-磷酸二氢铵溶液(62:38)为流动相,检测波长 274 nm。结果 格列本脲进样量在 0.34 ~ 1.69 μg 内线性关系良好, $r=0.9998$;丹皮酚进样量在 0.17 ~ 0.83 μg 内线性关系良好, $r=0.9998$ 。平均回收率:格列本脲 98.6% (RSD = 0.5%, $n=6$);丹皮酚 101.1% (RSD

作者简介:张建英,男,副主任中药师

Tel: (0312) 5906325

E-mail: zhangjianyingzy@163.com

=1.4%, $n=6$)。结论 本方法测定津溢胶囊中格列本脲和丹皮酚的含量准确,方便快捷,且分离效果好。

关键词:高效液相色谱法;津溢胶囊;格列本脲;丹皮酚;含量

中图分类号:R917.101;R927.2

文献标识码:B

文章编号:1007-7693(2008)07-0637-03

Determination of Glibenclamide and Paeonol in JinYi Capsules by HPLC

ZHANG Jian-ying, ZHANG Yan-hui, ZHANG Yan-hua, ZHANG Yue-han (Baoding Institute for Drug Control of Hebei Province, Baoding 071051)

ABSTRACT: OBJECTIVE HPLC method was established for the determination of Glibenclamide and Paeonol in Jin Yi Capsules.

METHODS Jin Yi Capsules were separated on a C_{18} column with the mobile phase of methanol-ammonium dihydrogen phosphate solution (62:38) and detected at 274 nm. **RESULTS** The standard curve of Glibenclamide in the range of 0.34 ~ 1.69 μg was good and the correlation coefficient was 0.999 8; The standard curve of Paeonol in the range of 0.17 ~ 0.83 μg was good and the correlation coefficient was 0.999 8. The average recovery of the Glibenclamide was 98.6% ($\text{RSD}=0.5\%$, $n=6$) and that of Paeonol was 101.1% ($\text{RSD}=1.4\%$, $n=6$). **CONCLUSION** The method is used to separate and determine Glibenclamide and Paeonol in Jin Yi Capsules and it is simple, rapid and accurate.

KEY WORDS: HPLC; Jin Yi Capsules; Glibenclamide; Paeonol; Content

津溢胶囊是我市某医院自制制剂,多年的临床应用表明,该制剂具有清热、生津、化痰的功效,用于治疗Ⅱ型糖尿病效果较好。制剂中主要含有牡丹皮、格列本脲等成分。本实验采用高效液相色谱法对格列本脲、牡丹皮中丹皮酚进行含量测定,为该制剂的质量控制提供快速准确的测定方法。

1 仪器与试剂

LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津); Lcsolution Ver1. X 色谱数据工作站; BP211D 电子天平(Sartorius); pH3-C 酸度计(上海虹益仪器有限公司)。

丹皮酚对照品(批号:0708-9704)、格列本脲对照品(批号:100135-0103)购自中国药品生物制品检定所。津溢胶囊(批号:20060111, 20060201, 20060301);甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1]

色谱柱: HYPERSIL BDS C_{18} (5 μm , 200 $\times$ 4.6 mm); 流动相: 甲醇-磷酸二氢铵溶液(取磷酸二氢铵 1.725 g,加水 300 mL 溶解,用磷酸调节 pH 值为 3.5 $\pm$ 0.05) (62:38); 流速 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹; 检测波长: 274 nm; 进样量: 10 μL ; 丹皮酚与格列本脲分离度均大于 1.5, 理论塔板数均不低于 3000。

2.2 对照品溶液的制备

丹皮酚对照品贮备液的制备:称取丹皮酚对照品 10 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

格列本脲对照品贮备液的制备:称取格列本脲对照品 10 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 空白对照溶液的制备:按处方分别配制成不含牡丹皮、格列本脲的阴性样品,按“样品测定”项下方法制成空白对照溶液,按上述色谱条件测定,结果见图 1。

2.4 标准曲线制备

分别精密吸取对照品贮备液各 2 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即为对照品溶液(每 1 mL 中含丹皮酚 40 μg ,格列本脲 80 μg)。

分别吸取上述溶液各 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 μL ,注入液相色谱仪,按上述色谱条件进样测定。以进样量为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线。结果:丹皮酚回归方程为 $y=5\,687\,343.35x-78\,430.44$, $r=0.999\,8$,进样量在 0.17 ~ 0.83 μg 内呈良好的线性关系;格列本脲回归方程为 $y=189\,188x-3\,518.1$, $r=0.999\,8$,进样量在 0.34 ~ 1.69 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.5 重复性试验

取同一供试品 6 份,每份 1.5 g,精密称定,按“样品测定”项下方法制成供试品溶液,按上述色谱条件测定,结果丹皮酚峰面积平均值为 1 381 184, $\text{RSD}=0.5\%$ ($n=6$);格列本脲峰面积平均值为 97 017, $\text{RSD}=0.9\%$ ($n=6$)。

2.6 精密度试验

分别吸取同一对照品溶液按上述色谱条件连续进样 5 次,测定,结果丹皮酚峰面积平均值为 2 089 661, $\text{RSD}=0.2\%$ ($n=5$);格列本脲峰面积平均值为 146377, $\text{RSD}=0.7\%$ ($n=5$)。

2.7 稳定性试验

将试品溶液在 0, 1, 2, 4, 8, 16, 24 h 分别进样测定,结果丹皮酚峰面积平均值为 1 387 396, $\text{RSD}=0.9\%$ ($n=6$);格列本脲峰面积平均值为 97 355, $\text{RSD}=1.0\%$ ($n=6$)。

2.8 回收率试验

取已知含量的样品 6 份,每份约 0.75 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入甲醇 40 mL,再精密加入丹皮酚及格列本脲对照品贮备液各 5 mL,按“样品测定”项下方法制备供试品溶液,并依法测定,其平均回收率丹皮酚为 101.11%, $\text{RSD}=1.4\%$ ($n=6$),格列本脲为 98.60%, $\text{RSD}=0.5\%$ ($n=6$),结果见表 1。

表 1 回收率测定结果

Tab 1 Result of recovery test

已知量 /mg		加入量 /mg		测得量 /mg		回收率 /%		平均回收率 /%		RSD /%	
丹皮酚	格列本脲	丹皮酚	格列本脲	丹皮酚	格列本脲	丹皮酚	格列本脲	丹皮酚	格列本脲	丹皮酚	格列本脲
1.052 1	1.442 8	1.052 0	2.070 0	2.133 0	3.473 6	102.75	98.11				
1.066 3	1.462 3	1.052 0	2.070 0	2.129 7	3.499 6	101.08	98.42				
1.054 9	1.446 7	1.052 0	2.070 0	2.100 0	3.482 4	99.34	98.34	101.11	98.60	1.4	0.5
1.069 2	1.466 2	1.052 0	2.070 0	2.123 2	3.517 5	100.19	99.10				
1.069 2	1.466 2	1.052 0	2.070 0	2.145 5	3.500 8	102.69	98.29				
1.069 6	1.456 5	1.052 0	2.070 0	2.110 8	3.513 5	100.65	99.37				

2.9 样品测定

分别精密吸取丹皮酚与格列本脲对照品贮备液各 2 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(1 mL 中含丹皮酚 40 μg,格列本脲 80 μg)。

称取样品 1.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz) 40 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,滤过,弃取初滤液,续滤液作为供试品溶液。

分别吸取上述两种溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,

按上述色谱条件进行测定,测定结果见表 2。高效液相色谱图见图 1。

表 2 样品的含量测定结果

Tab 2 The sample of content determine

批号	丹皮酚含量 /mg·g ⁻¹	格列本脲含量 /mg·g ⁻¹
20060111	1.42	1.96
20060201	1.35	1.88
20060301	1.15	1.89

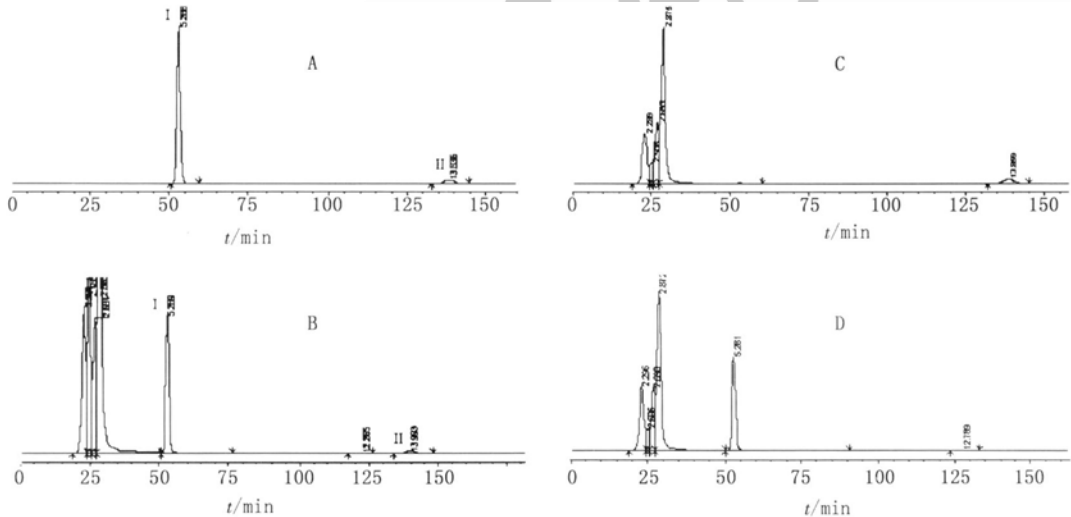


图 1 高效液相色谱图

A - 对照品图谱 (I 丹皮酚, II 格列本脲); B - 样品图谱; C - 丹皮酚空白图谱; D - 格列本脲空白图谱

Fig 1 HPLC chromatograms

A - standard (I Paeonol, II Glibenclamide); B - sample; C - the blank of Paeonol; D - the blank of Glibenclamide

3 讨论

3.1 本实验采用同一种色谱柱、同一种流动相、同一波长处同时测定丹皮酚、格列本脲两种成分,结果较为满意,为该制剂检验提供了准确、简便、科学的方法。

3.2 本实验分别用甲醇、乙醇,按供试品溶液的制备方法提取后,分别吸取上述溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定结果两种溶液的面积值基本一致,考虑到甲醇与流动相相一致,故采用甲醇作溶剂。经对样品试验,分别采用甲醇 20,

30, 40, 50 min 超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz)提取,结果表明 40 min 可提取完全,故采用超声处理 40 min 提取为宜。

参考文献

[1] Ch. P (2005) Vol I (中国药典 2005 年版.一部) [S]. 2005: 119, 594.

收稿日期: 2007-04-24