

梯度洗脱色谱法同时测定康糖片中盐酸小檗碱、黄芩苷、格列本脲的含量

孔爱英¹, 李小青², 倪震宇³, 王永霞⁴

(1. 中国人民解放军总后勤部卫生部药品仪器检验所, 北京 100071; 2. 北京毒理药理研究所, 北京 100850; 3. 成都军区药品检验所, 山东 济南 250014; 4. 济南军区门诊部, 山东 济南 250014)

关键词: 反相高效液相色谱法; 康糖片; 盐酸小檗碱; 黄芩苷; 格列本脲

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2004)01-0089-01

康糖片是治疗糖尿病的中西药复方制剂, 主要由盐酸小檗碱、黄芩苷、格列本脲等组成。其中的单组分含量测定方法报道较多, 如盐酸小檗碱有分光光度法^[1]、薄层色谱法^[2]、高效液相色谱法^[3]等; 黄芩苷有比色法^[4]、薄层色谱法^[5]; 格列本脲有高效液相色谱法^[6]。但同时测定上述3种组分的方法未见报道。本文报道了同时测定上述3种组分的高效液相色谱方法, 方法简单、灵敏、回收率高、专属性强, 能有效地控制药品的主成分含量, 具有较强的实用价值。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent-1100 液相色谱仪, 带二极管阵列检测器(DAD), 自动进样器。康糖片(长海医院提供, 批号 990526, 991019, 000215), 盐酸小檗碱对照品、黄芩苷对照品、格列本脲对照品(中国药品生物制品检定所提供); 甲醇为色谱纯, 其余试剂为分析纯, 试验用水为重蒸水。

1.2 色谱条件

色谱柱: Diamond C18 柱(250 mm × 4.6 mm i. d. × 5 μm, X迪马公司)。流动相: A 为甲醇, B 为 0.3% 磷酸溶液(含 0.3% (体积分数) 三乙胺, pH 2.5); 梯度洗脱, 0~4 min, V(A): V(B) = 55: 45; 5~13 min, V(A): V(B) = 75: 25。流速: 1 mL/min, 检测波长 230 nm, 进样量 20 μL。

2 结果与讨论

2.1 辅料干扰试验

按照处方比例配制空白辅料。以流动相 A-B 体积比为 75: 25 溶液作溶剂溶解辅料, 取 20 μL 进样。空白辅料与样品各组分的色谱分离图见图 1。

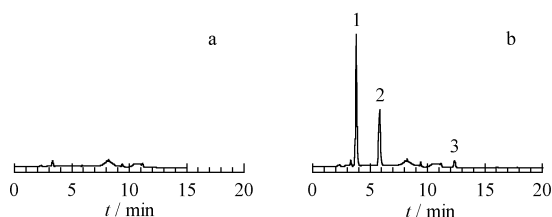


图 1 空白辅料(a)和样品(b)的色谱图

1. 盐酸小檗碱; 2. 黄芩苷; 3. 格列本脲。

2.2 线性关系及检测限

按照处方比例精密称定盐酸小檗碱、黄芩苷对照品各 250 mg, 格列本脲对照品 10 mg, 用与“2.1”节相同的溶剂定

容至 250 mL, 得对照品贮备液。从中取 0.2, 0.8, 1.0, 1.2, 2.0, 10.0 mL, 分别用上述溶剂定容至 10 mL, 得系列对照品溶液。取此系列对照品溶液各 20 μL 进样。以峰面积为 Y, 浓度为 X 进行线性回归, 盐酸小檗碱、黄芩苷、格列本脲回归方程分别为: $Y = 46.76X - 41.55$, $r = 1.0000$; $Y = 25.73X + 5.525$, $r = 0.9999$; $Y = 56.3X + 6.45$, $r = 0.9992$ 。盐酸小檗碱和黄芩苷为 0.02 ~ 1.0 g/L, 格列本脲为 0.8 ~ 40.0 mg/L 时线性良好。以信噪比为 3 计, 小檗碱、黄芩苷、格列本脲的最低检测限分别为 0.03, 0.07 和 0.48 mg/L。

2.3 精密度与回收率试验

用对照品溶液进行日内及日间精密度(用相对标准偏差 RSD 表示)试验($n = 5$)。结果表明, 上述 3 种组分的日内及日间精密度均小于 1.0%。

取已知含量的康糖片(批号 990526)10 片, 研细, 精密称定适量(约 1 片重)于 200 mL 量瓶中, 用与“2.1”节相同的溶剂溶解, 作样品溶液; 另精密称定上述 3 种组分对照品适量, 加入相当于片剂中对应各组分含量的 80%, 100% 和 120% 于样品溶液中, 在“1.2”节所述色谱条件下测定($n = 9$)。结果盐酸小檗碱、黄芩苷和格列本脲的加标回收率分别为 $(101.4 \pm 0.6)\%$, $(99.98 \pm 1.0)\%$ 和 $(100.4 \pm 0.8)\%$ 。

2.4 讨论

康糖片处方中 3 个主成分的含量差距很大, 小檗碱、黄芩苷是格列本脲投料量的 25 倍, 而且在同一色谱条件下它们的分配系数差异较大。为实现一次同时测定 3 个主成分, 从而达到控制药品质量的目的, 采用梯度洗脱方法, 三者既能完全分离, 又可使格列本脲在 15 min 前完全洗脱出来, 节省分析时间。

曾试验用甲醇、乙醇溶解该药品制剂, 但其中的辅料会对样品中盐酸小檗碱、黄芩苷有干扰; 直接用水溶解制剂时, 主药溶解度较差。采用本文所述溶剂溶解该制剂, 既可消除辅料的干扰, 又保证了主药的最大溶解度。

参考文献:

- [1] 迟家平, 韩宝智. 中成药, 1991, 13(11): 17
- [2] 唐盈. 中草药, 1988, 19(8): 11
- [3] 李宝明. 药物分析杂志, 2000, 20(2): 128
- [4] 张乃吉, 王健, 赵岚峰, 程令梅. 中成药, 1991, 13(11): 11
- [5] 吕方军. 药物分析杂志, 1988, 8(4): 236
- [6] 国家药典委员会编. 中国药典, 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 700