

紫外分光光度法快速测定盐酸二甲双胍缓释片中 盐酸二甲双胍含量

唐利宇¹, 陈月琴¹, 徐樱莹¹, 沈霖¹, 张文琦¹, 何婷婷¹, 向龙², 马明^{1*}

(1. 江苏联合职业技术学院无锡卫生分院, 无锡卫生高等职业技术学校, 无锡 214000;

2. 无锡检验检测认证研究院, 无锡 214000)

摘要: **目的** 建立一种准确快速、安全环保的紫外分光光度法(ultraviolet spectrophotometry, UV)用于测定盐酸二甲双胍(metformin hydrochloride, MET)缓释片中 MET 的含量。**方法** 采用 UV 测定 MET 含量, 检测波长为 233 nm。以水为溶剂, 采用标准曲线法定量, 供试品溶液中约含 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 盐酸二甲双胍。**结果** MET 质量浓度在 0~9.800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性良好, 回归方程为 $Y=12.6083X+0.0047$, $r=0.99999727$, 平均回收率 100.75%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 1.26%, 重复性(RSD=0.41%)、中间精密度(RSD=0.38%)良好, MET 缓释片及对照品均能在 10 h 内稳定。本实验研究方法与高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法对 MET 缓释片中 MET 的含量测定结果一致。**结论** 本研究建立方法操作简单方便, 准确可靠且安全环保, 可作为 HPLC 法的有效补充, 适用于大批量快速测定 MET 缓释片中 MET 的含量。

关键词: 紫外分光光度法; 盐酸二甲双胍; 缓释片

0 引言

近年来II型糖尿病发病率显著增高, 低龄化趋势明显^[1]。典型表现为长期血糖升高, 多饮、多尿、多食、体重减少, 还可能诱发多种免疫性、神经性等并发症^[2]。盐酸二甲双胍(metformin hydrochloride, MET)作为一种双胍类降糖药, 不仅降糖效果显著, 还具有缓解肥胖、保护心血管、改善认知功能障碍、安全性高、经济实惠等优势, 因此被国内外主要临床指南推荐作为治疗II型糖尿病的一线 and 首选药物^[3-4]。目前市售 MET 剂型较多, 缓释剂型因能有效减少给药次数、降低胃肠道反应发生率而在临床应用广泛^[5]。

现行版《中华人民共和国药典》未见收载 MET 缓释片的含量测定方法^[6], 文献报道则多采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法测定 MET 含量^[7]。尽管 HPLC 法具有良好的专属性, 但其仪器设备、维修保养等成本较高, 单样品分析耗时较长, 难以满足大批量样品检验中对快速检测的需求。而紫外分光光

度(ultraviolet spectrophotometry, UV)法具有灵敏度高、操作简便、分析快速、等优点, 在药品含量测定中应用广泛^[8-9]。基于此, 本研究从溶剂优化、波长确定、辅料干扰、过滤方式、弃液体积等多方面确定 UV 测定 MET 缓释片中 MET 含量的关键条件, 旨在建立一种准确、快速、环保的含量测定方法, 为企业质量控制提供新方案。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

MET 对照品(批号 100664-202106, 中国食品药品检定研究院); MET 缓释片(规格 0.5 g, 批号 250121202, 南京正大天晴药业有限公司); 自制纯化水(一级水标准)。

1.2 仪器与设备

UV-1800PC-DS2 型紫外可见分光光度计(上海美普达仪器公司); LC220 高效液相色谱仪(上海仪电公司); ME204E 万分之一电子天平(瑞士梅特勒托利多公司)。

基金项目: 无锡卫生健康面上科研项目(M202444); 无锡卫生高等职业技术学校教科研课题项目(XWZJ-2501)

第一作者: 唐利宇, 硕士, 讲师, 主要研究方向为分析化学教科研。E-mail: liyutangwx@163.com

*通信作者: 马明, 硕士, 副教授, 主要研究方向为药物分析教学质量研究与药品质量控制。E-mail: maming0520@163.com

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

MET 标准储备液: 精密称取 MET 对照品约 25 mg, 置于 250 mL 量瓶中, 加水稀释定容, 摇匀, 配成质量浓度约为 100 $\mu\text{g/mL}$ 标准储备液。

MET 标准系列溶液: 分别取上述标准储备液 0.00、3.00、5.00、6.00、8.00、10.00 mL 置于 100 mL 量瓶中, 用水稀释定容, 即得质量浓度约为 0、3、5、6、8、10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列溶液。

1.3.2 供试品溶液的配制

取 MET 缓释片 20 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量片粉(约含 MET 25 mg)置 250 mL 量瓶中, 加水稀释定容至刻度, 摇匀。经 0.45 μm 水性滤膜过滤后, 弃初滤液 20 mL, 准确移取续滤液 5 mL, 加水稀释至 100 mL, 作为供试品溶液。

1.3.3 测定方法

工作曲线的制作: 在 233 nm 波长处测定标准系列溶液的吸光度, 以质量浓度为横坐标(X , $\mu\text{g/mL}$)、吸光度为纵坐标(Y), 绘制标准工作曲线。

供试品含量测定: 取供试品溶液, 同法测定吸光度, 从标准曲线计算出待测溶液中 MET 质量浓度, 并计算含量。

1.4 数据处理

通过 Microsoft Office Excel 2021 软件对重复性试验、中间精密度试验、回收率实验及含量测定试验完成数据的整理与统计, 多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

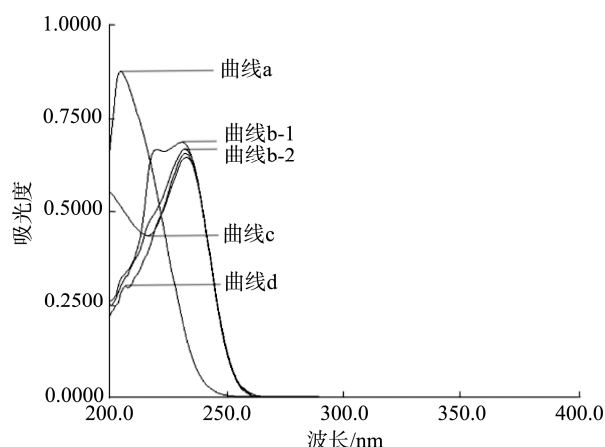
2.1 检测条件的选择

2.1.1 溶剂优化

精密称取 MET 对照品 4 份, 分别置于烧杯中, 依次加入 0.1 mol/L HCl 溶液、0.4% NaOH 溶液、水和 0.2 mol/L 磷酸钠溶液。待完全溶解后, 转移至量瓶, 并分别用对应的介质定容、摇匀。在 200~400 nm 波长范围内对上述溶液进行紫外扫描, 结果如图 1 所示, 200~400 nm 波长范围内: MET 在 0.1 mol/L HCl 溶液, 205 nm 处出现吸收峰, 最大吸收波长短移; 在 0.4% NaOH 溶液中, MET 的吸收峰出现在 231 nm、220 nm 附近, 或在 232 nm 处, 吸收不稳定; 在 0.2 mol/L 磷酸钠溶液中, MET 在 207 nm 附近出现末端吸收; 而在水介质中, 233 nm 处吸收峰强且无干扰。最终选择以水为溶剂, 233 nm 波长下测定吸光度。

研究进一步考察超声时间(0、2、5、10、15 min)对含量测定的影响。含量测定结果如表 1 所示, 不同超声时间下 MET 含量测定值的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.18%, 单因素方差分析证实超声时间对

含量结果无显著影响[$F=0.652$, $P=0.632$ (>0.05)]。基于上述结果, 最终确立的样品前处理方法为以水溶解定容, 无需超声辅助。



注: a. 0.1 mol/L HCl 溶液中 MET 紫外吸收曲线; b-1. 0.4% NaOH 溶液中 MET 紫外吸收曲线; b-2. 0.4% NaOH 溶液中 MET 复测紫外吸收曲线; c. 水中 MET 紫外吸收曲线; d. 0.2 mol/L 磷酸钠溶液中 MET 紫外吸收曲线。

图 1 MET 在不同溶剂的紫外吸收曲线图

表 1 不同超声时间下含量测定结果($n=3$)

超声时间/min	平均含量/%	RSD/%
0	100.30	
2	99.88	
5	99.89	0.18
10	100.60	
15	99.90	

2.1.2 检测波长的确定

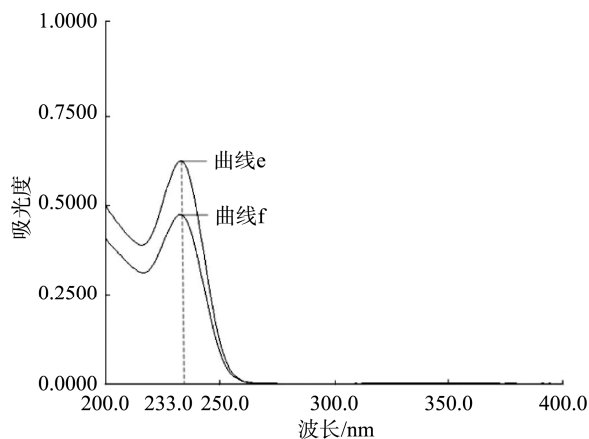
为确定 MET 的特征吸收波长并评估辅料干扰, 采用紫外分光光度法对 MET 对照品溶液与 MET 供试品溶液分别进行扫描(200~400 nm)。结果如图 2 所示, 两者均在 233 nm 处呈现特征吸收峰, 符合 MET 的结构特性。

2.1.3 辅料干扰的考察

研究进一步考察 MET 缓释片常见辅料组分, 包括硬脂酸镁、壳聚糖、羟丙甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚维酮 K30 等的干扰, 在 233 nm 处的吸光度均小于 0.002(浓度按处方最大量添加), 不干扰测定。因此, 选择 233 nm 作为检测波长, 可实现 MET 的特异性定量分析。

2.1.4 过滤方式的筛选

为考察过滤方式对含量测定的影响, 系统比较了 4 种过滤介质: 快速滤纸、中速滤纸、0.45 μm 水性滤膜、0.22 μm 水性滤膜。



注: e. MET 对照品溶液紫外吸收曲线; f. MET 供试品溶液紫外吸收曲线。

图2 MET 对照品及供试品在水中的紫外吸收曲线图

结果显示,滤纸过滤组测得的 MET 平均含量略低于微孔滤膜组。推测原因可能是滤纸的纤维素纤维结构疏松多孔、比表面积较大,通过物理吸附吸附部分 MET 分子;同时,滤纸制备过程中可能残留微量杂质,在过滤过程中溶出并干扰紫外测定。相比之下,混合纤维素 MCE 材质的滤膜表面光滑、化学性质稳定、孔径均匀,对药物的非特异性吸附较低, MET 分子能更完整地透过,从而得到更真实的含量结果。而 0.45 μm 水性滤膜与 0.22 μm 水性滤膜的过滤结果基本一致,倾向选择成本更低的 0.45 μm 水性滤膜,数据见表 2。

表2 不同过滤方式含量测定结果(% , n=4)

过滤方式	平均含量	RSD
快速滤纸	96.20	0.58
中速滤纸	95.29	0.45
0.45 μm 微孔滤膜	100.70	0.28
0.22 μm 微孔滤膜	100.50	0.35

2.1.5 弃液体积确定

为评估 0.45 μm 水性滤膜对 MET 的过滤吸附影响,且结合过滤后稀释步骤中移液管的润洗用量要求,设计考察不同过滤体积(15、20、25、30 mL)对含量结果的影响。通过比较,弃液量从 15、20、25、30 mL 逐渐增大,标示量计算结果逐渐减小,推测滤膜对 MET 吸附现象较为明显。因初滤液用于润洗用量低于 20 mL 时烧杯和移液管润洗不充分,故选择初滤弃液体积为 20 mL 为宜,如表 3 所示。

2.2 方法学考察

2.2.1 线性关系

参照 1.3.3 测定,在选定的实验条件下,以溶剂水为参比,

测定吸光度。以吸光度为横坐标(X),质量浓度为纵坐标(Y, $\mu\text{g/mL}$),结果如图 3 所示, MET 在 0~9.800 $\mu\text{g/mL}$ 的质量浓度范围内符合比尔定律,线性方程为 $Y=12.6083X+0.0047$,相关系数 $r=0.99999727$ 。

表3 滤膜吸附含量测定结果(% , n=4)

样品处理方式	平均含量	RSD
弃 15 mL	101.40	0.46
弃 20 mL	100.80	
弃 25 mL	100.70	
弃 30 mL	100.50	

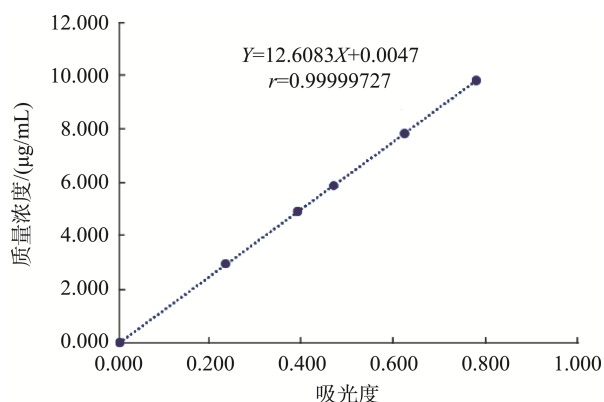


图3 MET 标准曲线图

2.2.2 重复性试验

精密称取研细混匀后的 MET 缓释片粉 6 份(约含 MET 25 mg),参照 1.3.2 及 1.3.3 测定 MET 含量,测定平均含量为 100.39%, RSD 为 0.41% ($n=6$),表明本法重复性良好。见表 4。

表4 重复性考察(%)

含量	平均含量	RSD
100.86	100.39	0.41
99.92		
100.16		
100.60		
99.99		
100.80		

2.2.3 中间精密度试验

由不同实验人员,同法制备 6 份重复性溶液,测定

MET 平均含量为 100.21%, RSD 为 0.38% ($n=6$), 表明本法中间精密度良好。见表 5。

2.2.4 回收率试验

精密称取 MET 供试品片粉(约含 25 mg MET) 9 份, 分别置于 250 mL 量瓶中, 分别加入约 8、10 和 12 mg MET 对照品, 每种加样量各 3 份, 用水定容, 摇匀, 0.45 μm 水性滤膜过滤。弃滤液 20 mL, 分别准确移取续滤液 5 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 加水稀释定容, 即得 9 份样品加标溶液, 以上溶液参照 1.3.3 测定方法, 在 233 nm 处测定吸光度。表 6 数据表明, 本法回收率良好, 平均回收率为 100.75%,

RSD 为 1.26%。

表 5 中间精密度考察(%)

含量	平均含量	RSD
100.90	100.21	0.38
100.40		
99.92		
99.97		
100.10		
99.97		

表 6 样品加标回收考察($n=9$)

序号	取样量/g	样品中含量/g	对照品量/g	实测量/g	加标回收率/%	平均加标回收率/%	RSD/%
1	0.0501	0.0241	0.0076	0.0314	99.05	100.75	1.26
2	0.0503	0.0243	0.0078	0.0332	103.43		
3	0.0510	0.0247	0.0077	0.0328	101.23		
4	0.0497	0.0239	0.0092	0.0333	100.60		
5	0.0512	0.0249	0.0081	0.0330	100.00		
6	0.0530	0.0257	0.0096	0.0352	99.72		
7	0.0507	0.0244	0.0114	0.0360	100.56		
8	0.0537	0.0259	0.0121	0.0382	100.53		
9	0.0530	0.0257	0.0109	0.0373	101.64		

2.2.5 稳定性试验

取适量 MET 供试品溶液和 MET 对照品溶液, 分别于室温下放置 10 h, 每隔 2 h 测定吸光度, 分别计算吸光度的 RSD 分别为 0.48% 与 0.39% ($n=4$)。说明供试品溶液和对照品溶液均能在 10 h 内稳定, 满足分析周期要求。见表 7、8。

2.3 供试品含量测定

采用本研究所建立的紫外标准曲线法与参考文献报道的 HPLC 法分别对同一批 MET 缓释片进行含量测定, UV 法测得平均含量为 100.4%, RSD 为 0.37% ($n=6$); HPLC 法测得平均含量为 100.9%, RSD 为 0.51% ($n=6$)。两组数据的检验结果为 $F=0.54$ ($P>0.05$), $t=-2.01$ ($P>0.05$), 表明 UV 法和 HPLC 法测定结果无显著性差异。

表 7 供试品溶液稳定性考察($n=4$)

测定时间/h	吸光度平均值	RSD/%
0	0.490	0.48
2	0.489	
4	0.490	
6	0.494	
8	0.486	
10	0.490	

表 8 对照品溶液稳定性考察($n=4$)

测定时间/h	吸光度平均值	RSD/%
0	0.467	0.39
2	0.465	
4	0.470	
6	0.466	
8	0.465	
10	0.465	

3 讨论与结论

MET 分子中含有的 $-\text{C}(\text{NH})-\text{NH}-\text{C}(\text{NH})-$ 结构单元, 使其在 200~400 nm 紫外区间能够产生 $n \rightarrow \pi^*$ 电子跃迁的特征吸收, 并于 233 nm 波长处呈现最大吸收峰, 这为选择性定量分析提供了理论依据。

目前多种释药机制的 MET 缓释片相继被开发并应用于临床, 国内药品通用名称为“盐酸二甲双胍缓释片”的产品均属于第 1 代骨架型缓释片, 本研究所用供试品即为骨架型缓释片。第 2 代 MET 缓释片则为渗透泵型缓释片, 目前

国内通用药名为“盐酸二甲双胍缓释片(II)、盐酸二甲双胍缓释片(III)”的产品均属于渗透泵型缓释片^[10]。为验证所建分析方法的普适性, 团队采集了 2 个批次的渗透泵型 MET 缓释片(II)、MET 缓释片(III)进行测定, 结果显示本紫外同样适用于第 2 代 MET 缓释片的含量测定, 进一步表明所建立的方法对不同工艺类型的缓释片具有一定的通用性。

另外, 本研究以水为溶剂, 无需使用有机试剂, 从根本上避免了有机废液的产生与后续处理问题, 体现绿色化学理念, 推动行业绿色可持续发展。

综上所述, 本研究建立的紫外分光光度法操作简便、结果准确、环境友好, 适用于 MET 缓释片中 MET 的快速含量测定, 可为制药企业的生产过程控制与成品质量评价提供一种可靠、高效的分析手段。

参考文献

[1] International Diabetes Federation. IDF diabetes atlas [M]. 11th ed. Brussels: International Diabetes Federation, 2025.

- [2] 王前, 王翼华. 二甲双胍治疗 2 型糖尿病患者效果的影响因素分析[J]. 中国卫生工程学, 2025, 24(2): 203-209.
- [3] 伍江凡. 钠-葡萄糖协同转运蛋白抑制剂对糖尿病患者相关效应及不良事件影响的临床评价[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2024.
- [4] 罗欢, 李颖, 刘剑, 等. 二甲双胍药物利用评价标准的建立与应用[J]. 现代药物与临床, 2024, 39(7): 1872-1876.
- [5] 尹朋朋, 许俊博, 刘茜英, 等. 盐酸二甲双胍缓释片仿制药处方开发与体外溶出效果评价[J]. 中国药业, 2025, 34(3): 38-42.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2025.
- [7] 房静, 李志万. 盐酸二甲双胍片体外溶出一致性评价[J]. 云南化工, 2023, 50(2): 61-64.
- [8] 施吉磊. 紫外-可见分光光度法药品含量测定中常见干扰因素及其防控策略[J]. 实验室检测, 2025, 3(21): 201-203.
- [9] 杨芹, 唐琼, 朱凤妹, 等. 不同粘度羟丙基甲纤维素对盐酸二甲双胍体外溶出度影响研究[J]. 化工管理, 2020(6): 195-196.
- [10] 尹明星, 王文清. 不同释药机制盐酸二甲双胍缓释片研究进展[J]. 医药导报, 2025, 44(6): 923-927.