

强力苷口服液中甘草酸铵和肌苷的高效液相测定法

田 静 吕 坚 张萍萍 (杭州市第六人民医院, 杭州 310014)

摘要 建立反相高效液相色谱法(HPLC)同时测定强力苷口服液中甘草酸铵和肌苷含量。HPLC 条件为: 岛津 Shimpack CLC-ODS(150×4.6 mm)柱; 流动相为甲醇-水(70:30); 紫外检测波长 252 nm。结果甘草酸铵浓度线性范围10~100 μg/ml($r = 0.9990$), 平均回收率为98.25%, RSD=0.5%; 肌苷浓度线性范围 50~500 μg/ml($r = 0.9999$), 平均回收率为99.87%, RSD=0.4%。

关键词 强力苷口服液 甘草酸铵 肌苷高效液相色谱法

强力苷口服液为我院治疗肝病的有效药物, 其中含肌苷(IN) 1%, 甘草酸铵^[1](GL)0.2%, 蔗糖 15%。在水溶液中, IN 与 GL 的 λ_{max} 分别在248和 256 nm, 较接近, IN 与 GL 的 $E_{1cm}^{1\%}$ 分别为460和 129, 而 IN 的浓度又是 GL 的 5 倍, 故 IN 的吸光度为 GL 的17.5倍, 无法用紫外法同时测定。现采用 HPLC 法可同时测定 IN 和 GL, 方法准确可靠, 迅速, 可作为常规分析方法。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-9A、高效液相色谱仪, SPD-6AV 紫外检测器, C-R4A 数据处理机。

甲醇, HPLC 级, 上海青浦新产品研究所; 石英亚沸蒸馏水。

肌苷对照品, 卫生部生物制品检定所提供。

HPLC 法测定呈单一峰。

甘草酸铵对照品, 本院 HPLC 制备, HPLC 法含量99.5%(归一化法)。

2 实验条件

2.1 色谱条件和色谱图

色谱柱: 岛津 Shimpack CLC-ODS 柱(150×4.6 mm); 流动相: 甲醇-水(70:30); 流速0.5 ml/min; 灵敏度 0.08 A.u.f.s; 柱温 30°C; 检测波长 252 nm。

在此色谱条件下, 进样甘草酸铵和肌苷对照品的色谱图如图 1 a; 空白口服液加肌苷的色谱图如

图 1 b; 将空白口服液加肌苷的样品液置烘箱中 80°C 持续加热24小时, 其 HPLC 色谱图如图 1 c。结果空白口服液和肌苷及其加热后溶液, 均无甘草酸铵干扰峰。

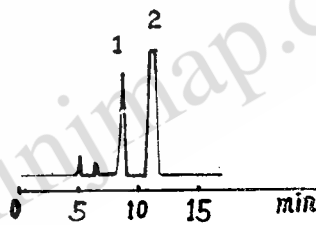


图 1 强力苷 HPLC 色谱图

1. 甘草酸铵9.4 min, 2. 肌苷12.0 min

2.2 溶液配制:

甘草酸铵(GL)对照液: 精密称取 GL 对照品 100 mg 于100 ml 容量瓶中, 加水适量, 于 80°C 水浴中振荡溶解, 冷至室温后加水至刻度, 摇匀(1 mg/ml)。

肌苷(IN)对照液: 用水配制成每 1 ml 中含肌苷对照品 5 mg 的溶液。

供试液: 吸取强力苷口服液 2 ml 于 100 ml 容量瓶中, 加水至刻度, 摇匀即得(约相当于 GL 0.04 mg/ml, IN 0.2 mg/ml)。

3 方法与结果

3.1 标准曲线:

杭州市肝病研究所药物研究中心

1 田静, 28岁, 1992年毕业于华西医科大学药学系, 药师。

分别精密量取 GL 和 IN 对照液 1, 2, 4, 6, 8, 10 ml 合于 100 ml 容量瓶中, 加水至刻度。各取 20 μ l 进样三次。以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标作图, GL 在 10~100 μ g/ml, IN 在 50~500 μ g/ml 范围内呈良好线性关系, 回归方程分别为:

$$A_G = 8070 + 30648817C_G \quad r = 0.9990$$

$$A_I = 4576 + 130384410C_I \quad r = 0.9999$$

其中 C_G 、 C_I 分别为 GL、IN 百分浓度, A_G 、 A_I 分别为 GL 与 IN 的峰面积。

3.2 空白回收率测定

称取蔗糖 15 g 于 100 ml 容量瓶中, 加适量水溶解。精密称取 GL 0.2 g, IN 1g, 加入蔗糖溶液中, 80°C 水浴振荡溶解, 冷至室温后, 加水至刻度, 摇匀后精密量取 2 ml 于 100 ml 容量瓶中, 加水定容(含 GL 0.04 mg/ml, IN 0.2 mg/ml)。取 20 μ l 进样三次, 分别用 GL、IN 的回归方程计算, 得 GL、IN 平均回收率分别为 98.25%、99.87%; RSD 分别为 0.5%、0.4%。

3.3 样品测定:

1995年五批强力甘口服液, 按照上述方法配成样品溶液, 每个样品取 20 μ l 进样三次, 分别以 GL、IN 的回归方程计算。结果见表 1。

4 讨论

4.1 肌苷为嘌呤化合物, 以 C_{18} 反相柱可用含 4% 甲醇的 KH_2PO_4 缓冲液洗脱^[3], 但 GL 为一大分子的三萜皂甙, 缓冲液洗脱不出峰, 最佳洗脱液为

表 1 样品测定结果

样 品	高效液相法(n=3)		紫外法(n=3)
	甘草酸	肌 苷	肌 苷
批 号	标示量%	标示量%	标示量%
950403	121.20	95.97	100.22
950419	103.35	100.30	101.30
950517	97.65	97.10	102.17
950722	108.95	99.31	98.26
950805	103.65	96.92	107.83

76% 甲醇^[4]。

4.2 IN 与 GL 在洗脱液中的最大吸收峰分别在 250 和 254 nm, 且峰形顶部较平坦, 故选择 252 nm 为检测波长。

4.3 样品分析结算表明, 除一批外, GL 标示量均合格, IN 标示量, 除一批外, HPLC 法均低于紫外法, 原因是排除了杂质干扰。

参 考 文 献

- 1 吴锡铭. 甘草酸铵的药效学与药动学等的研究进展. 药学通报, 1987, 22(8): 449.
- 2 沙振方等. 肌苷及其杂质次黄嘌呤的高效液相层析测定. 药物分析杂志, 1987, 7(6): 357.
- 3 Akada Y, et al. Rapid estimation of glycyrrhizin in pharmaceutical preparations by HPLC. Chem pharm Bull, 1978, 26: 1240.

收稿日期: 1996-03-28