

纸层析-分光光度法测定肌苷制剂的含量

刘志祥 王国华 姜素萍 (杭州新星制药厂, 杭州 310011)

肌苷(Inosin)又名9-D-核糖次黄嘌呤, 因其制剂疗效确切可靠, 广泛应用于临床。制剂的含量测定一般采用紫外吸收系数法^{11][2]}。由于肌苷的分解产物次黄嘌呤在测定波长处也有紫外吸收峰, 故不能真实反映制剂中肌苷的实际含量, 特别是对储存时间较长的肌苷制剂不适用。我们建立了纸层析-紫外分光光度法测定肌苷制剂含量的分析方法, 结果较为满意。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

7520分光光度计, UV-1型三用紫外分析仪, 新华中速层析滤纸, 800型离心机, 微量进样器。

肌苷对照品, 杭州味精厂生产, 经重结晶, 含量为99.5%, 次黄嘌呤对照品, 上海化学试剂采购供应分装厂进口分装, 含量不低于99%, 肌苷口服液, 本厂生产, 正丁醇、冰醋酸均为分析纯。

1.2 测定方法

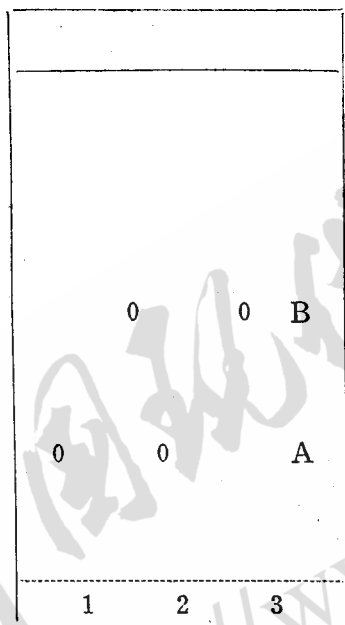
精密吸取肌苷口服液样品适量, 加水稀释制成10 mg/ml的供试液, 精密吸取此供试液5 μ l, 分次点样于层析滤纸上, 晾干, 置层析缸中, 以正丁醇-冰醋酸-水(4:1:1)展开, 待前沿距起始线约15 cm时, 取出晾干, 于254 nm紫外分析仪下划出肌苷斑点, 剪下, 将斑点剪成小块, 置10 ml具塞试管中, 加5 ml蒸馏水, 置50°C水浴中加热洗脱, 每隔

10 min 振摇一次, 30 min 后取出, 置离心机中 1500 r/min 离心 5 min, 吸取上清液于 248 nm 波长处测定吸收度, 取同一滤纸上与肌苷斑点同样大小的空白滤纸片为空白对照, 根据标准曲线计算含量。

2 结果与讨论

2.1 测定条件的考察

2.1.1 展开剂的选择 取 10 mg/ml 的肌苷对照品溶液, 10 mg/ml 肌苷口服液供试液, 5 mg/ml 次黄嘌呤对照品溶液各 5 μ l, 分别点样于 10 $\times$ 20 cm 大小的层析滤纸上, 采用不同的展开剂系统上行展开, 结果表明正丁醇-冰醋酸-水(4:1:1)展开剂较为理想。如图 1。



1. 肌苷对照品溶液

2. 肌苷口服液供试液

3. 次黄嘌呤对照品溶液

A 肌苷斑点 $R_f = 0.209$

B 次黄嘌呤斑点 $R_f = 0.439$

展开剂: 正丁醇-冰醋酸-水(4:1:1)

图 1 肌苷及次黄嘌呤纸层析图谱

2.1.2 洗脱时间的选择 精密吸取肌苷口服液供试液(10 mg/ml) 5 μ l, 经纸层析展开处理后, 按测定方法考察洗脱时间。结果表明样品洗脱 30 min 后测得吸收度基本一致。并在 1 h 内吸收度基本稳定。

2.2 浓度与吸收度线性关系。

精密称取 105°C 干燥至恒重的肌苷对照品 50 mg, 置 5 ml 容量瓶中, 加水适量, 滴加 30% 氢氧化钠液 2 滴, 于 50°C 水浴中振摇使其溶解, 加水至刻度, 摇匀, 制成 10 mg/ml 对照品溶液。精密吸取上述溶液 3, 4, 5, 6, 7 μ l, 按测定方法测定吸收度。回归方程为: $A = 0.04606C + 0.001$, $r = 0.9992$, 肌苷浓度在 6 ~ 14 μ g/ml 范围内, 与吸收度呈良好线性关系。

2.3 回收率试验

精密称取 105°C 干燥至恒重的肌苷对照品适量, 模拟口服液处方加入其它辅料制成口服液, 吸取口服液适量加水制成 10 mg/ml 供试液, 按测定方法作回收率试验。平均回收率为 99.9%, $CV = 1.37\%$ 。(结果见表 1)

表 1 肌苷回收率试验结果

编号	加入量 (μ g)	测得量 (μ g)	回收率 (%)	平均 回收率 (%)	CV (%)
1	56.835	55.926	98.4	99.9	1.37
2	67.105	66.635	99.3		
3	26.025	25.947	99.7		
4	52.050	53.143	102.1		

2.4 样品测定

按测定方法分析四批肌苷口服液, 并与紫外吸收系数法作比较, 结果见表 2。

表 2 纸层析-分光光度法测定结果

批号	紫外吸收系数法 (%)	纸层析-分光光度法 (%)
911225	106.1	105.5
880912	99.3	94.6
870407	102.6	96.3
870818	100.5	92.2

2.5 讨论

以正丁醇-冰醋酸-水(4:1:1)为展开系统能较好地分离肌苷及次黄嘌呤, 其 R_f 值分别为 0.209 和 0.439, 点样形状会直接影响两者分离效果进而影响测定结果, 故操作时应注意。

参考文献

- 1 广东省药品标准. 1987年版(上册).
- 2 浙江省药品标准. 1983年版.

收稿日期: 1993-10-22

Determination of Inosine Preparations by Paper Chromatography-spectrophotometry

Liu Zhixiang, Wang Guohua, Jiang Shuping

(Hangzhou Xinxing Pharmaceutical Factory, Hangzhou 310005)

Abstract The article reported the determination of inosine preparations by paper chromatography-spectrophotometry. The developing solvent was butanol-glacial acetic acid-water (4:1:1), the wavelength of determination was 248nm, the average recovery rate was 99.9%, and the coefficient of variation was 1.37%. The method was simple and accurate.

Key words Paper chromatography-spectrophotometry Inosine Quantitative analysis

(on page 31)