

# HPLC测定金水宝胶囊中腺苷的含量

方和桂,廉洪(浙江医院,杭州 310013)

**摘要:**目的 建立金水宝胶囊中腺苷含量的测定方法。方法 样品采用 0.5%磷酸超声提取,再用高效液相色谱法测定腺苷的含量。色谱条件为:Agilent XDB-C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm,5 μm),乙腈-水(6:94)为流动相,检测波长为 260 nm。结果 腺苷在 1~100 μg·mL<sup>-1</sup>内线性良好,平均回收率为 97.41%,三批药品中腺苷含量分别为 0.333%,0.308%,0.316%。结论 采用高效液相色谱法测定金水宝胶囊中腺苷的含量具有快速、简便、准确的特点。

**关键词:**高效液相色谱法;金水宝胶囊;腺苷

中图分类号:R917.101;R931.6 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2008)03-0243-02

## Determination of Adenosine in Jinshuibao Capsules by HPLC

FANG He-gui, LIAN Hong(*Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a HPLC method for determination of adenosine in Jinshuibao Capsules by HPLC. **METHODS** A agilent XDB-C<sub>18</sub> column(150 mm×4.6 mm,5 μm) was used with a mobile phase of acetonitrile-water(6:94). The detect wavelength was 260 nm. **RESULTS** There is a good linear relationship within the range of 1~100 μg·mL<sup>-1</sup> for adenosine. The average recovery was 97.41%. The contents in three batches were 0.333%,0.308%,0.316%, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate. It can be used for quantitative analysis of Jinshuibao capsules.

**KEY WORDS:** HPLC; Jinshuibao capsules; adenosine

金水宝胶囊是采用冬虫夏草分离所得的虫草菌 蝙蝠蛾拟青霉 C<sub>5</sub>-4菌株,经纯化,人工发酵培养加工而成,本品具有补肾益肺,秘精益气功能,主要用于肾功能衰竭、高脂血症、性功能低下症及老年人肺肾两虚、精气不足者。其主要成分之一腺苷是一种内源性嘌呤核苷,具有舒张血管、降低血压、抑制血小板聚集、松弛血管平滑肌、镇静和抗惊厥等多种生理活性。中国药典 2005版把腺苷定为金水宝胶囊的质控指标,其含量应为 0.21%~0.36%<sup>[1]</sup>。笔者采用高效液相色谱法对金水宝胶囊中腺苷的含量进行了测定,方法灵敏,线性范围宽,结果准确可靠。

### 1 仪器、试剂与样品

#### 1.1 仪器

美国 Agilent 1200 HPLC(G1379B脱气机、GB11A四元泵、GB29A自动进样仪、G1316A柱温箱、G1314B VWD检测器,Agilent Chem station色谱工作站);KQ3200DE数控超声波清洗器;Sartorius BSI 24S万分级电子分析天平;AP 01D真空

泵;TGL-16G-A离心机。

#### 1.2 试剂与样品

磷酸为分析纯,乙腈为色谱纯(Merck),水为重蒸馏水;腺苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号 879-200202);金水宝胶囊 3批(江西济民可信金水宝制药有限公司生产,规格为 0.33 g·粒<sup>-1</sup>,批号为:070141、070913、071033),均购于浙江英特药业有限公司中成药分公司。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱:ZORBAX XDB-C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(6:94);流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长:260 nm;柱温 30℃;进样量:10 μL。理论塔板数按照腺苷计算不低于 5 800。

#### 2.2 标准曲线的制备

标准溶液配制:准确称取约 5 mg腺苷(准确到 0.000 1 g)于 10 mL量瓶,用水溶解并定容作为标准储备液。储于 4

作者简介:方和桂,男,本科,主管中药师 Tel:(0571)87987373-5019 E-mail:hzhfg@126.com

℃冰箱中。应用液:测定前用水稀释成混合标准系列溶液,使腺苷浓度分别为 1, 2.5, 5, 25, 50, 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。将混合标准系列溶液进样 10  $\mu\text{L}$ 测定,用峰面积对浓度绘制标准曲线。以腺苷含量 ( $Y$ )为纵坐标,以对应峰面积 ( $X$ )为横坐标绘制腺苷的标准曲线。腺苷在 1~100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性良好,其线性回归方程: $Y = 27.6564 X - 8.27$  ( $r = 0.9999$ )。

### 2.3 样品溶液的制备及测定

准确称取金水宝胶囊内容物 50 mg于 10 mL量瓶中,用 0.5%磷酸定容。超声提取 20 min,离心,取上清液,过 0.45  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜后进样 10  $\mu\text{L}$ 。根据样品测定的色谱峰面积,代入回归方程得出样品腺苷含量。

### 2.4 重复进样的精密度试验

精密吸取试样溶液 10  $\mu\text{L}$ ,连续进样 6次,结果试样平均峰面积为 428.1174, RSD为 1.04%,测定结果显示精密度较好。

### 2.5 稳定性试验

在本法选定的测定条件下,取腺苷对照品溶液及同一份样品溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h测定其峰面积。腺苷标准品溶液 RSD为 0.237%,样品溶液 RSD为 0.64%,结果表明,腺苷标准品溶液和样品溶液在室温 24 h内基本稳定。

### 2.6 重复性试验

取同一批号样品,精密称取 6份,按“2.3”项制备方法制备,按“2.1”项的色谱条件测定,结果峰面积的 RSD为 2.87%。说明本法具有较好的重复性。

### 2.7 加样回收率试验

取已测知含量的一金水宝胶囊试样 200  $\mu\text{L}$ 分别加入 100, 25及 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的腺苷标准溶液 200  $\mu\text{L}$ ,每个浓度各做 3个平行样。结果加入 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的腺苷标准溶液的回收率为 97.01%, RSD为 3.84%,加入 25  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的腺苷标准溶液的回收率为 97.66%, RSD为 1.31%,加入 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的腺苷标准溶液的回收率为 97.57%, RSD为 3.45%。说明回收率较好。

### 2.8 样品含量分析

为考察金水宝胶囊的质量,对 3批样品进行了实际测

定,结果见表 1。

表 1 样品中腺苷的含量测定结果 ( $n = 4$ )

Tab 1 Determination results of sample ( $n = 4$ )

批号	腺苷含量 /%	RSD /%
070141	0.333	2.41
070913	0.308	1.45
071033	0.316	1.58

## 3 讨论

### 3.1 样品提取和方法的选择

采用参考文献使用的 0.5%的磷酸溶液作为提取试剂峰型好,腺苷的提取效率高且供试溶液稳定性好<sup>[2]</sup>。实验中发现金水宝胶囊内容物超声提取 20 min即提取完全,与超声提取 2 h测定结果一致。将 50 mg金水宝胶囊内容物分别用 5, 10, 50 mL的 0.5%磷酸溶液进行超声提取并测定其腺苷含量,发现 5 mL磷酸提取测得的腺苷含量约是 10 mL磷酸提取测得的同一样品的腺苷含量的 65%,说明 5 mL磷酸提取的提取溶液过少,腺苷未提取完全;50 mL的磷酸提取测得的腺苷含量和 10 mL磷酸提取测得的同一样品的腺苷含量基本一致,说明使用 0.5%磷酸溶液 10 mL可将 50 mg金水宝胶囊内容物中的腺苷提取完全。

### 3.2 色谱条件及腺苷含量

中国药典 2005年版第一部有 HPLC法检测冬虫夏草腺苷含量,需要采用的 90%甲醇加热回流提取,流动相使用磷酸盐缓冲液 (pH 6.5) 甲醇。本法与药典相比提取方法更简便,流动相不需调整 pH值,避免使用对高效液相色谱的色谱柱和泵具有一定潜在危害性的磷酸盐缓冲液,方法灵敏简便,线性范围宽,结果准确可靠,干扰少,精密度及准确度均较满意,有较强的实用性。

## REFERENCES

- [1] Ch. P (2005) Voll (中国药典 2005版.一部)[S]. 2005: 75.
- [2] ZHU M, JIN Z Z, CHEN Y, *et al.* Identification of Bailing Capsule by RP-HPLC fingerprint [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2007, 29(9): 1254-1256.