

高效液相色谱法测定发酵虫草菌粉和金水宝 胶囊中腺苷的含量

江西国药厂(南昌 330002) 张敏如* 洪亮 郭群

摘要 采用高效液相色谱法测定发酵虫草菌粉和金水宝胶囊中腺苷的含量。并探讨了采用超声波振荡法代替回流法提取腺苷的可行性。方法简便、快速,回收率在97%以上,结果满意。

关键词 金水宝胶囊 发酵虫草菌粉 腺苷 高效液相色谱法

金水宝是我国实行《新药审批办法》以后审批的一类新药。该品系采用青海产新鲜冬虫夏草分离所得虫草菌——蝙蝠蛾拟青霉Cs-4菌株,经纯化,人工发酵培养,加工而成的浅褐色粉末。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、减慢心率,增加cAMP、刺激肾上腺生成甾体激素、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。部颁标准(Ws₂-C1-0001-90,1989.12)把腺苷定为发酵虫草菌粉和金水宝胶囊的含量测定项目。部标法步骤繁杂,耗时过多。本文试用超声波振荡提取,液相色谱分离、定量测定,结果较为满意。

1 仪器与试剂

1.1 仪器:岛津LC-9A液相色谱仪,SPD-6AV紫外检测器,C-R4A色谱数据处理机,CQ-250超声波清洗器。

1.2 试剂:乙腈(HPLC淋洗剂),乙醇(AR级),腺苷(层析纯),二次蒸馏水。

2 色谱条件

分析柱:Shim-Pack CLC-ODS ϕ 6mm \times 15cm 5 μ m;保护柱:CLC G-ODS ϕ 4mm \times 1cm 5 μ m。流动相:7%乙腈水溶液,流速:1ml/min。检测波长:260nm,记录灵敏度:0.128AUFs。

3 标准曲线绘制

分别配制浓度为含腺苷87.0、65.2、43.5、32.6、21.7、10.86 μ g/ml的标准溶液及空白液。在上述色谱条件下准确进样5 μ l,记录腺苷峰面积(图1)。

以腺苷浓度对峰面积作图,其直线回归方程为 $Y = 2237.83X - 300.6$,相关系数 $r = 0.9999$ 。

4 超声提取和回流提取方法的比较

发酵虫草菌粉和金水宝胶囊各取一批号,每批分别准确称取药粉4份,每份约0.5g,置于50ml三角瓶中并准确加入50%乙醇20ml,其中一份按部标法回流提取2h,其它3份密塞后置超声波水槽中分别超声提取10、15、20min。上述提取液经0.45 μ m微孔滤膜过滤,在前述色谱条件下准确进样5 μ l,测定腺苷含量。测定结果见表1。

由表可见超声提取15min以上与回流提取2h结果基本一致,可认为二者效果相同。



图1 腺苷标准色谱图

*Address: Zhang Minru, Jiangxi Traditional Chinese Medicine Factory, Nanchang

5 回收率实验

称取同批号发酵虫草菌粉3份,每份准确称量约0.5g,分别加入500、800、1000 μ g腺苷及20ml 50%乙醇;另取同批号金水宝胶囊内容物2份,每份准确称量约0.5g,分别加入800 μ g及100 μ g腺苷及20ml 50%乙醇,超声波提取20min,按上述方法测定腺苷量(加入量折算成每克药粉加入标准量)及回收结果。测定结果发酵虫草菌粉平均回收率为97.6%;金水宝胶囊平均回收率98.6%。

6 样品测定

取本厂发酵虫草菌粉和金水宝胶囊各3批,每份精确称取菌粉约0.5g,准确加入20ml 50%乙醇,超声提取20min,按同样方法测定,色谱图见图2,测定结果见表2。

表2 样品测定结果

批号	液相色谱法	R.S.D.(%)	部标法
发酵虫草菌粉			
9301001	0.194%	1.01	0.18%
9303006	0.184%	1.55	0.20%
试验小样	1.141%	1.20	0.12%
金水宝胶囊			
9304042	0.54 μ g/粒	0.82	0.50 μ g/粒
9304045	0.63 μ g/粒	0.34	0.63 μ g/粒
9304254	0.67 μ g/粒	0.99	0.60 μ g/粒

7 讨论

7.1 标准曲线近乎通过原点,故实测样品可用单标准外标法。

7.2 本实验对照品腺苷含量系采用紫外分光光度法测定,按吸收系数部颁标准方法计算,含量为98%。

7.3 采用超声提取法比回流方法提取简便,快捷,可免除回流前后称重、补足溶剂的手续。实测样品可定超声提取20min。

7.4 本色谱系统以腺苷峰计算,理论塔板数可达4200,与有关物质的分离度为2.7。

表1 提取方法的比较

方法(min)	腺苷含量(μ g/g)	R.S.D.(%)
发酵虫草菌粉		
回流(12)	1845	0.50
超声提取(10)	1834	0.23
超声提取(15)	1848	0.04
超声提取(20)	1855	0.57
金水宝胶囊		
回流(10)	1873	0.19
超声提取(10)	1831	0.04
超声提取(15)	1876	0.11
超声提取(20)	1879	0.41

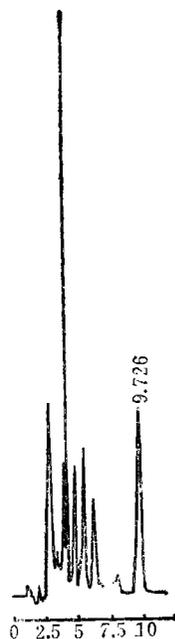


图2 样品色谱图

(1993-05-13 收稿)

第十期中医、第五期兽医函授大专班招生

为便于具有初、中级职称的中医、兽医工作者深造和对城乡待业青年就业前进行岗位培训,经省委批准,中医、兽医函授大专班继续向全国常年招生,随报随学,详情见招生简章。凡具有中学以上文化程度者均可报名。报名费叁元,款到寄给招生简章和入学登记表。

通信处:安徽合肥市五里墩邮政9-901信箱于毅江收。联系人何仁勋,电话562566转626。