

# HPLC-ELSD 法测定降脂减肥胶囊中黄芪甲苷含量

姚风云<sup>1</sup>, 王炳志<sup>1\*</sup>, 杨伟鹏<sup>2</sup>, 段富津<sup>3</sup>, 肖洪彬<sup>3</sup>, 辛增平<sup>1</sup>, 丁 舸<sup>1</sup>

(1. 江西中医学院, 江西 南昌 330004; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;  
3. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**[摘要]** 目的: 建立降脂减肥胶囊的定量质控方法。方法: 采用 HPLC-ELSD 法测定主药黄芪中黄芪甲苷的含量。结果: 黄芪甲苷进样量在 0.56~5.6 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 99.7%, RSD 为 1.4%。结论: 该方法简单, 重复性好, 可用于控制降脂减肥胶囊的质量。

**[关键词]** 高效液相色谱蒸发光散射法; 降脂减肥胶囊; 黄芪甲苷

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)09-0011-02

降脂减肥胶囊由茯苓、黄芪、泽泻、丹参、荷叶等 10 味药物组成, 具有渗湿祛痰, 益气健脾, 活血化瘀, 降脂祛浊之功。黄芪甲苷是黄芪中主要的有效成分。笔者采用 HPLC-ELSD 法对该制剂中的黄芪甲苷进行含量测定, 为其质量控制提供依据。

## 1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪, ALLtech ELSD 2000 型蒸发光散射检测器 Empower Pro 数据处理系统, 梅特勒 AE240 型电子天平(十万分之一)。黄芪甲苷对照品购自中国药品生物制品检定所(批号: 0781-200210); 乙腈为色谱纯(美国 DIMA 公司生产), 水(超纯水), 其余为分析纯; 大孔吸附树脂 D101(天津市海光化工有限公司)。降脂减肥胶囊由黑龙江中医药大学方药分析实验室研制(批号: 20050705 20050706 20050707)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: YMC-Pack ODS-A C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。流动相: 乙腈-水 (36: 64)。流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 °C, ELSD 漂移管温度 100 °C; 雾化气体为空气: 2.1 L·min<sup>-1</sup>。

**2.2 供试品溶液的制备**<sup>[1]</sup> 取降脂减肥胶囊内容物约 4.5 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 40 mL, 超声处理 40 min, 静置 4 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加蒸馏水 20 mL, 微热溶解, 用水饱和的正丁

醇振摇提取 4 次(40 mL, 30 mL, 30 mL, 20 mL), 振摇后静置至溶液澄清, 分出并合并正丁醇提取液, 用氨试液振摇洗涤 2 次(30 mL, 30 mL), 振摇后也静置至溶液澄清, 弃去氨试液, 正丁醇液蒸干, 残渣加水 15 mL 微热溶解, 放冷, 通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm, 长 28 cm), 用水 50 mL 洗脱, 弃去水洗脱液, 再用 40% 乙醇 50 mL 洗脱, 弃去 40% 乙醇洗脱液, 继用 70% 乙醇 100 mL 洗脱, 收集 70% 乙醇洗脱液, 蒸干, 用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 离心, 取上清液用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.3 黄芪甲苷对照品溶液的制备** 取黄芪甲苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.56 mg 的黄芪甲苷对照品溶液, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4 阴性对照品溶液** 按处方组成, 取除黄芪外的其余药味按工艺要求制成缺黄芪样品, 同供试品溶液制备方法制得阴性对照溶液。

**2.5 空白干扰实验** 吸取黄芪甲苷对照品溶液 10 μL、供试品溶液和阴性对照品溶液各 20 μL 分别注入高效液相色谱仪。结果表明, 在以上色谱条件下, 黄芪甲苷峰达到完全基线分离, 理论板数在 4 000 以上。阴性对照溶液色谱图在与黄芪甲苷对照品溶液色谱图和供试品色谱图相应的保留时间处未见吸收峰, 说明空白无干扰(见图 1 2 3)。

**2.6 线性关系考察** 精密吸取黄芪甲苷对照品贮备液(0.56 mg·mL<sup>-1</sup>) 0.2, 0.4, 0.8, 1.0, 1.2, 1.6, 2.0 mL 置 2 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别

[收稿日期] 2007-12-07

[通讯作者] \* 王炳志, Tel: (0791) 7118821; E-mail: wzbz1123 @

163.com

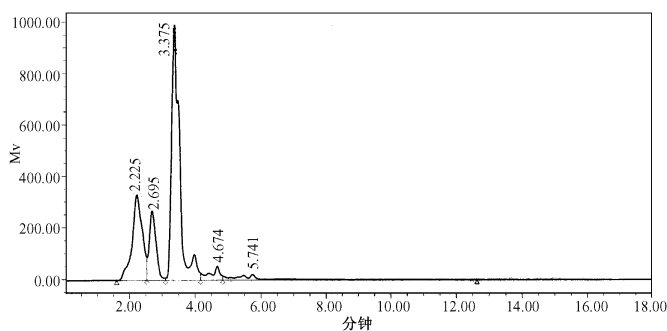


图 1 黄芪甲苷阴性对照 HPLC-ELSD 色谱图

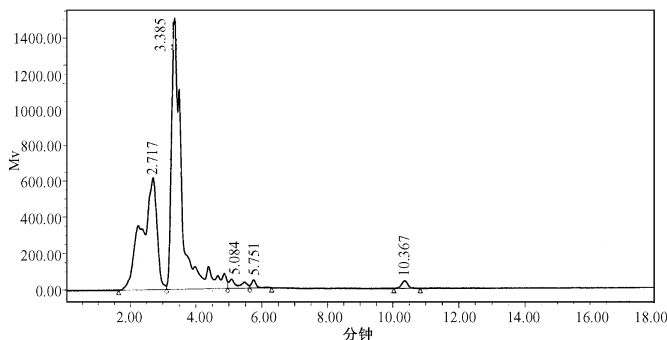


图 2 黄芪甲苷供试品 HPLC-ELSD 色谱图

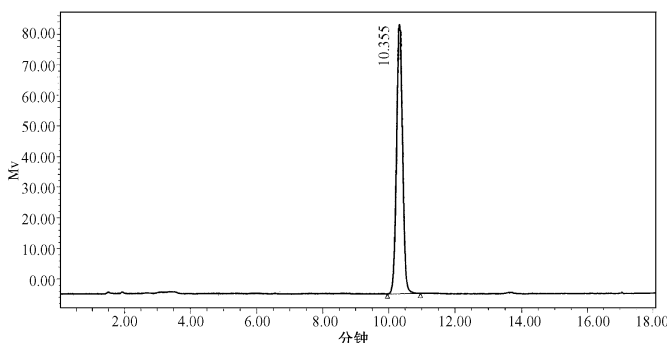


图 3 黄芪甲苷对照品 HPLC-ELSD 色谱图

精密吸取上述溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以进样量 (μg) 对数对峰面积 (A) 的对数进行线性回归, 求得回归方程为  $Y = 1.4972X + 5.0119$ ,  $r = 0.9978$ 。黄芪甲苷进样量在 (0.56~5.6) μg 范围内与峰面积呈较好的线性关系。

**2.7 精密度试验** 精密吸取对照品贮备液 10 μL, 重复进样 6 次, 测定峰面积平均为 1 322 978.5,  $RSD = 1.5\%$ , 表明本方法精密度良好。

**2.8 稳定性试验** 精密吸取批号为 20050705 的供试品溶液 20 μL, 每隔 2 h 考察一次, 结果峰面积  $RSD = 1.3\%$ , 说明黄芪甲苷在 10 h 内稳定。

**2.9 重复性试验** 精密称取同一批号 (20050705) 样品 6 份, 分别制备供试品溶液, 在所选色谱条件下测定峰面积, 每份样品重复测定 2 次, 每次进样 20 μL,

结果其  $RSD$  为 1.7%, 说明方法的重复性较好。

**2.10 回收率试验** 采用标准添加法测定回收率。称取已知含量的供试品 6 份, 分别添加黄芪甲苷对照品适量, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液 20 μL, 按上述色谱条件, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率测定结果

样品号	取样相当黄芪甲苷量 (mg)	添加黄芪甲苷量 (mg)	测出黄芪甲苷量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.154 9	0.168	0.320 4	98.5	99.7	1.4
2	0.153 7	0.168	0.323 9	101.3		
3	0.156 4	0.168	0.323 1	99.2		
4	0.151 4	0.168	0.318 8	99.6		
5	0.152 8	0.168	0.317 4	98.0		
6	0.154 2	0.168	0.324 5	101.4		

**2.11 样品测定** 按以上色谱条件对 3 批样品进行了含量测定, 结果本品含黄芪甲苷分别为 0.074, 0.077, 0.081 mg/粒。

### 3 讨论

根据文献<sup>[1,2]</sup>报道的黄芪甲苷的含量测定方法主要有薄层色谱扫描法、高效液相色谱法。由于薄层色谱法重复性、稳定性均较差, 故本课题采用 HPLC 法。在实验过程中, 曾采用紫外检测器进行检测, 但紫外检测在 203 nm 吸收极低, 且较不稳定, 故改用蒸发光散射检测器 (ELSD) 检测, 结果稳定性良好, 灵敏度高, 故选择 HPLC-ELSD 法检测。同时, 对流动相进行了选择, 最后确定以乙腈、水为流动相, 结果分离效果较好。对于样品的处理, 比较了索氏提取和超声提取, 结果证明其黄芪甲苷含量相近, 考虑到超声提取操作简便, 时间短, 故在制备供试液时选择超声提取方法。应用 HPLC-ELSD 法测定降脂减肥胶囊中黄芪甲苷含量, 黄芪甲苷峰形对称, 分离完全, 图谱简单, 方法简便、快速, 准确度、精密度高, 可作为该制剂的质控方法。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 212.
- [2] 李涛, 徐长根, 郝武常. HPLC-ELSD 测定桃芪生血胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 中成药, 2005, 27(5): 541-543.