

# 杜仲养身液质量标准的研究

黄家瑞, 王 林, 罗 毅 (贵阳德昌祥药业有限公司, 贵州 贵阳 550001)

**摘要:** 目的: 建立杜仲养身液的质量标准, 控制药品内在质量。方法: 采用 TLC 对方中人参进行定性鉴别; 用高效液相色谱法测定人参皂苷 Rg1 的含量。结果: 用高效液相色谱法测定人参皂苷 Rg1 的含量, 为在 0.760~ 3.80 $\mu$ g 范围内呈良好的线性关系,  $r$  为 0.9998, 平均回收率为 98.8%,  $RSD$  为 2.06%。结论: 所建立的定性、定量检测方法可用于该制剂的质量控制。

**关键词:** 杜仲养身液; 人参; 人参皂苷 Rg1

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)06-0012-02

杜仲养身液是由杜仲、人参两味中药组成; 有补虚扶正、壮腰安神、生津止渴、宁神益智的作用。用于气短神疲、肾气衰弱、病后体虚、食欲不振、记忆减退、夜寐不安等。为增强制剂质量的可控性, 对制剂中的人参建立了薄层鉴别, 结果可靠; 并用高效液相法测定人参皂苷 Rg1 的含量; 对测定方法进行方法学考察, 表明该法专属、可靠。

## 1 仪器与试剂

岛津 LC-10Avp 高效液相色谱仪, LC-10Avp 输液泵, SPD-10Avp 紫外检测器, N2000 色谱工作站 (浙江大学)。乙腈 (色谱纯, Tedia Company, Inc.)、大孔吸附树脂 D-101 净品型 (20~ 60 目, 天津农药股份有限公司树脂分公司)、硅胶 (青岛海洋化工厂), 其余试剂均为色谱纯。人参皂苷 Rg1 对照品、人参对照药材由中国药品生物制品检定所提供。样品及阴性样品均由贵阳德昌祥药业有限公司提供。

## 2 人参的薄层鉴别试验

取本品 30ml 置分液漏斗中, 加乙醚萃取 2 次, 每次 20ml, 弃乙醚层。用水饱和的正丁醇萃取 5 次, 每次 15ml, 每次振摇 3min, 合并正丁醇层, 加氨试液洗涤 2 次, 每次 20ml, 摇匀, 放置分层, 取上层液加正丁醇饱和过的水洗涤 2 次, 每次 20ml, 正丁醇层, 蒸干, 残渣加甲醇 0.5ml 溶解作为供试品溶液。取人参对照药材同法制成对照药材溶液。另取人参皂苷 Rg1 适量加甲醇制成 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。再取缺人参的杜仲养身液 30ml, 同样品提取方法, 制备阴性对照液。照薄层色谱法试验<sup>[1]</sup>, 吸取上述溶液各 5 $\mu$ l 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水 (15: 40: 22: 10)<sup>[1]</sup> 的下层溶液

(10 $^{\circ}$ C 以下放置) 为展开剂, 展开、取出、晾干、喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。分别置日光及紫外光灯 (365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 日光下显相同的紫红色斑点, 紫外光下显相同颜色的荧光斑点。阴性对照液无此斑点。

## 3 含量测定

**3.1 色谱条件的选择** 色谱柱: Hypersil C<sub>18</sub> (5 $\mu$ m, 150 $\times$ 4.6 i. d. mm, 大连依利特); 流动相: 乙腈 0.05% 磷酸水溶液 (20: 80); 流速: 1ml/min; 温度: 40 $^{\circ}$ C; 检测波长: 203nm。

**3.2 系统适用性试验** 分别取人参皂苷 Rg1 对照品溶液、供试品溶液、缺人参阴性供试品溶液注入色谱仪, 阴性样品图谱在人参皂苷 Rg1 峰位置处无干扰, 即本试验条件下人参皂苷 Rg1 峰与其他组分分离完全。理论塔板数以人参皂苷 Rg1 峰计算为 5100, 人参皂苷 Rg1 峰与其他组分峰的分度大于 1.5, 故定理论塔板数以人参皂苷 Rg1 峰计算, 应不低于 4500。

**3.3 供试品溶液的制备** 精密吸取本品 50ml, 加于大孔吸附树脂 D-101 柱 (20~ 60 目, 10g, 内径 2~ 2.5cm) 上, 以 1~ 2ml/min 的流速通过 D-101 大孔吸附树脂柱, 用水 100ml 洗脱, 弃水洗脱液, 再用 70% 乙醇 80ml 洗脱, 收集洗脱液, 浓缩至干, 残渣加入 5% 氨水溶液 1ml, 溶解, 再用 14ml 水分数次转入分液漏斗中, 用水饱和过的正丁醇 15、15、10、10ml 萃取, 合并正丁醇, 用正丁醇饱和过的 5% 氨水溶液洗涤两次, 每次 20ml, 弃氨水溶液, 再用正丁醇饱和过的水 20ml 洗涤, 弃水相, 挥干正丁醇, 残渣用甲醇 1ml 溶解, 加入中性氧化铝 (100~ 200 目) 2g, 拌匀, 挥干, 加于中性氧化铝柱 (100~ 200 目, 2g, 内径 1~

1.5cm) 上,用 50% 乙醇 80ml 洗脱,收集洗脱液,浓缩至干,残渣用甲醇溶解后转移至 5ml 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,用滤膜(0.45 $\mu$ m)滤过,即得。

**3.4 线性关系考察** 精密称取人参皂苷 Rg1 对照品 19.0mg,用甲醇溶解,稀释定容至 100ml,摇匀,得 0.190mg/ml 的人参皂苷 Rg1 对照品溶液,精密吸取人参皂苷 Rg1 对照品溶液 4、8、12、16、20 $\mu$ l 注入液相色谱仪,按上述试验条件及条件进行测定,以进样量 X( $\mu$ g) 对峰面积 Y 对进行线性回归,回归方程为:  $Y = 231786X - 1866 (r = 0.9998)$ ,拟合成过原点的直线方程为:  $Y = 231117X$  将一供试品溶液进样分析,所得峰面积分别代入两方程计算,结果的相对偏差为 0.11%,由此可见为截距近似为零,故正文中采用外标一点法计算含量。线性范围 0.760~ 3.80 $\mu$ g。

**3.5 精密度试验** 精密吸取同一份供试液 10 $\mu$ l,重复进样 5 次,记录色谱,计算结果,人参皂苷 Rg1 平均含量为 0.0153mg/ml, RSD 为 1.19%。

**3.6 重现性试验** 取同一批号样品,精密称取 5 份,按样品测定方法,分别测定,人参皂苷 Rg1 含量平均值为 0.0153mg/ml, RSD 为 2.75%。

**3.7 供试品溶液中人参皂苷 Rg1 稳定性考察** 精密吸取供试品溶液 10 $\mu$ l,在不同时间进行测定,以考察供试品溶液中人参皂苷 Rg1 的稳定性。供试品溶液中人参皂苷 Rg1 在 12 小时内是稳定的, RSD 为 0.06%。

**3.8 回收率试验** 精密吸取已测定含量的制剂(平均含量 0.0153mg/ml) 25ml,精密加入人参皂苷 Rg1 对照品溶液(0.190mg/ml) 2ml,水 23ml,混匀,按样品的制备方法制备供试品溶液 5 份,分别进样,测定峰面积计算平均回收率为 98.8%, RSD 为 2.06%。

表 1 人参皂苷 Rg1 的回收率试验

实验次数	样品量 (ml)	含人参皂苷 Rg1 (mg)	加入人参皂苷 Rg1 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	25	0.3825	0.380	0.750	96.71		
2	25	0.3825	0.380	0.752	97.24		
3	25	0.3825	0.380	0.769	101.7	98.8	2.06
4	25	0.3825	0.380	0.756	98.29		
5	25	0.3825	0.380	0.762	99.87		

**3.9 样品测定** 取不同批次的样品 按供试液的制备方法制备供试品溶液,分别进样,记录色谱,测

定峰面积,计算含量。

10 批样品中人参皂苷 Rg1 的含量测定结果(见表 2)。

表 2 10 批样品中人参皂苷 Rg1 含量测定结果

批号	含量(mg/10ml)		平均含量 (mg/10ml)
	1	2	
20010697	0.151	0.153	0.15
20010698	0.104	0.110	0.11
20010699	0.193	0.189	0.19
20010778	0.125	0.129	0.13
20010779	0.121	0.123	0.12
20010780	0.187	0.192	0.19
20010781	0.192	0.195	0.19
20010872	0.153	0.158	0.16
20010873	0.167	0.160	0.16
20010874	0.106	0.111	0.11

#### 4 讨论

**4.1** 在人参皂苷 Rg1 薄层鉴别的供试液的制备方面,我们在用饱和正丁醇提取的基础上,增加了用乙醚先将醚溶性的成分弃去,再用氨水和水洗涤。这样能够很好的去除杂质干扰,得到的斑点清晰重现性好。

**4.2** 采用高效液相法测定本品中君药人参所含成分人参皂苷 Rg1 含量。人参主要含人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1、齐墩果酸、多胺类成分和挥发油等,人参皂苷 Rg1 的含量测定,已报道的测定方法有比色法、薄层扫描法、高效液相色谱法等。比较各种方法,在参考有关文献和实验研究的基础上,选用高效液相色谱法测定制剂中人参皂苷 Rg1 的含量,并进行了方法学考察,结果可靠,重现性好,能较好的控制制剂的内在质量。

**4.3** 由于人参皂苷 Rg1 的最大吸收波长在紫外末端区(203nm),样品溶液成分复杂,干扰测定,经多次试验,样品溶液中人参皂苷经大孔树脂 D-101 处理,正丁醇萃取,氨水洗涤,中性氧化铝净化,可除去干扰物质,且回收率高。

#### 参考文献:

[1] 中华人民共和国药典,一部[M].北京:化学工业出版社,2000.6,37.