

# 复方野马追胶囊中活性物质的测定

沈 红<sup>1\*</sup>, 钱大玮<sup>1</sup>, 朱玲英<sup>1</sup>, 张晓玲<sup>2</sup>, 段金廉<sup>3</sup>

(1. 江苏省现代中药制剂工程研究技术中心, 江苏省中医药研究院, 江苏 南京 210028;  
2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013; 3. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的: 建立新药复方野马追胶囊中活性物质的测定方法。方法: 运用反相高效液相色谱法测定复方野马追胶囊中绿原酸、黄芩苷的含量, 流动相分别为: 乙腈: 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钠缓冲液(磷酸调 pH 3.4) (5: 95); 甲醇: 0.4% 磷酸(49: 51), 分离度良好。结果: 绿原酸在(0.092~ 1.38) μg 进样量范围内, R 值为 0.999 9; 重复性: RSD= 1.14%; 平均加样回收率: 99.06%, RSD= 1.93%。黄芩苷在(0.084~ 2.52) μg 进样量范围内, r= 0.999 9; 重复性: RSD= 0.63%; 平均加样回收率: 99.22%, RSD= 0.97%。结论: 所建立的含量测定方法准确、简便, 可有效控制复方野马追胶囊的质量。

[关键词] 复方野马追胶囊; 绿原酸; 黄芩苷; 反相高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)05-0012-03

## Determination of Active Components in Fufang Yemazhui Capsule

SHEN Hong<sup>1\*</sup>, QIAN Da-wei<sup>1</sup>, ZHU Ling-ying<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-ling<sup>2</sup>, DUAN Jin-ao<sup>3</sup>

(1. Jiangsu Research Center For Modern TCM Pharmaceuticals, Jiangsu Provincial Academy of TCM Process, Nanjing 210028, China; 2. Pharmacy College, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;  
3. Nanjing University of Traditional Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method to determine active components in Fufang Yemazhui Capsule. **Methods:** The mobile phase for chlorogenic acid determination consisted of acetonitrile and 0.1 mol·L<sup>-1</sup> sodium dihydrogen phosphate buffer(pH 3.4 adjusted by Phosphoric acid) (5: 95). The mobile phase for baicalin determination consisted of methanol and 0.4% phosphoric acid(49: 51). The resolution is good enough. **Results:** A good linear relationship of chlorogenic acid was showed between (0.092~ 1.38) μg and the repeatability was fine (RSD= 1.14%). The average recovery was 99.06%, (RSD= 1.93%). The linear relationship of baicalin was also good between (0.084~ 2.52) μg. The repeatability was fine (RSD= 0.63%). The average recovery was 99.22%, (RSD= 0.97%). **Conclusion:** This method was accurate and simple. The Quality of Fufang Yemazhui Capsule could be controlled effectively.

[Key words] Fufang Yemazhui Capsule; chlorogenic acid; baicalin; HPLC

复方野马追胶囊系由野马追、黄芩、柴胡等中药经提取、精制而成的硬胶囊制剂。野马追经江苏省中医药研究院钱士辉研究员鉴定为菊科植物轮叶泽

兰 *Eupatorium lindleyanum* DC. 的干燥地上部分, 对金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌、甲型链球菌有抑制作用<sup>[1]</sup>。野马追中含有山柰酚、槲皮素、棕矢车菊素等黄酮类成分<sup>[2]</sup>, 但由于其中含量极低, 在制剂中含量也甚微, 不适于用作质量控制指标, 而绿原酸含量相对较高(药材中约 0.1%), 故拟以绿原酸为制剂质量控制指标之一。另以含量较高的黄芩苷同时作为质量控制指标。通过建立两种成分的含量测定方法,

[收稿日期] 2007-10-18

[基金项目] 江苏省科学技术厅自然科学基金项目(BK2004003)

[通讯作者] \* 沈红, Tel: (025) 85639640; E-mail: SHENRED@YAHOO.COM

达到有效控制制剂质量的目的。

### 1 材料

Waters-2695 型液相色谱仪(四元泵系统,自动进样,在线脱气系统),996 型二极管阵列检测器,Empower 色谱工作站。Millipore-Q 纯水器,梅特勒万分之一及十万分之一电子天平,pHS-25 型 pH 计。

绿原酸对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号:0753-9910);黄芩苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号:0751-9909)。甲醇(色谱纯);磷酸二氢钠(分析纯);磷酸(分析纯);超纯水:自制。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱:Alltima C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱温:35 °C,流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>,绿原酸含量测定用流动相:乙腈:0.1 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钠缓冲液(磷酸调 pH3.4)(5:95)<sup>[3]</sup>;黄芩苷含量测定用流动相:甲醇:0.4% 磷酸(49:51)<sup>[4]</sup>,检测波长:绿原酸 327 nm,黄芩苷 280 nm。理论塔板数以绿原酸计算应不低于 4 000;以黄芩苷计算应不低于 2000。在此条件对照品、制剂的 HPLC 图谱见图 1。

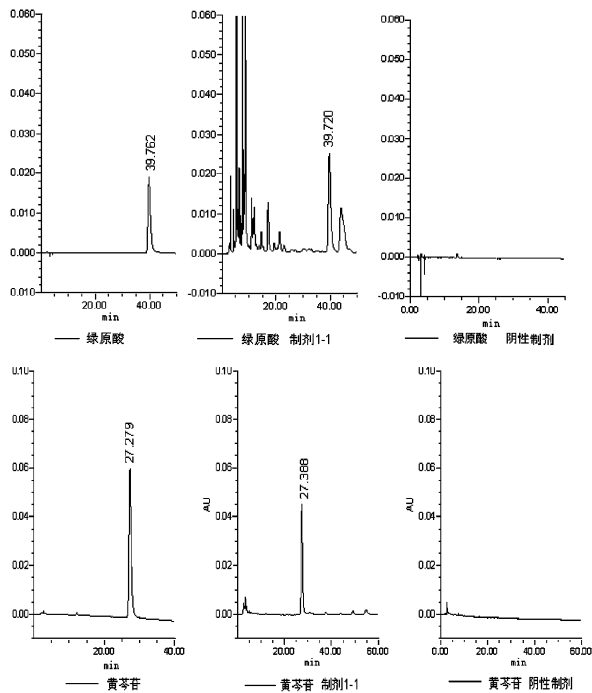


图 1 绿原酸、黄芩苷对照品、制剂及阴性制剂 HPLC 色谱图  
Fig. 1 HPLC-UV chromatogram of chlorogenic acid and baicalin from standard, sample and blank

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取减压干燥至恒重的绿原酸、黄芩苷对照品适量,制成浓度分别为 46, 84 μg·mL<sup>-1</sup>的对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取 0.5 g 复方野马追胶囊内容物,准确加 25 mL 50% 甲醇,称重,超声提取 30

min,补重,过微孔滤膜,进样测定绿原酸含量;取 0.1 g 胶囊内容物,准确加 25 mL 80% 甲醇,称重,超声提取 30 min,补重,精密吸取 1 mL,80% 甲醇定容至 10 mL,过微孔滤膜,进样测定黄芩苷含量。

**2.4 线性关系考察** 取 2.2 项下浓度为 46 μg·mL<sup>-1</sup>的绿原酸对照品溶液,分别进样 2, 5, 10, 15, 20, 30 μL。以对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,回归呈良好的线性,方程为:  $Y = 2.60 \times 10^6 X - 8.42 \times 10^4$ , (0.092 ~ 1.38) μg 进样量范围内,  $r = 0.9999$ ; 取 2.2 项下浓度为 84 μg·mL<sup>-1</sup>的黄芩苷对照品溶液,分别进样 1, 2, 5, 10, 20, 30 μL。以对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,回归呈良好的线性,方程为:  $Y = 3.29 \times 10^6 X - 9.95 \times 10^2$ ,  $r = 0.9999$ ,黄芩苷进样量在(0.084 ~ 2.52) μg 间有良好的线性。

**2.5 精密度试验** 取浓度为 46 μg·mL<sup>-1</sup>的绿原酸、84 μg·mL<sup>-1</sup>的黄芩苷对照品溶液,进样 10 μL,连续进样 6 次,测定各峰面积。RSD 分别为 0.5%、0.3%。

**2.6 稳定性试验** 按 2.3 项下制备供试液,每隔 2 h 测一次,测定 10 h。绿原酸各次测得峰面积 RSD% 为 0.7%,黄芩苷各次测得峰面积 RSD% 为 1.8%。结果显示,供试液在 10 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 按 2.3 项下制备各供试品溶液 6 份。含量测定结果为制剂中绿原酸平均含量为 0.30%、黄芩苷的平均含量为 15.37%,RSD% 分别为 1.14%、0.63%,结果显示重复性良好。

**2.8 加样回收率试验** 称取 0.25 g 胶囊内容物,精密称定,分别加浓度 0.801 2 mg·mL<sup>-1</sup>的绿原酸对照品溶液 0.8, 1.0, 1.2 mL,提取溶剂量相应减少,使提取溶剂量仍为 25 mL,其余操作同绿原酸含量测定供试液制备方法,制备 9 份。黄芩苷加样回收试验样品称取 0.05 g 胶囊内容物,分别加浓度 0.822 mg·mL<sup>-1</sup>的黄芩苷对照品溶液的 8, 10, 12 mL;除加入溶剂量相应减少外,其余按 2.3 项下制备供试液 9 份,进样。测定绿原酸平均回收率为 99.06%,RSD = 1.93%;黄芩苷平均回收率为 99.22%,RSD = 0.97%。结果见表 1。

**2.9 样品含量测定结果** 取 3 批制剂,按 2.3 项下处理,分别测定绿原酸及黄芩苷含量,结果见表 2。

### 3 讨论

两种供试液制备方法均经过提取溶媒、溶媒量、

表 1 加样回收率试验结果( n= 3)

Tab.1 Result of recovery( n= 3)

绿原酸	黄芩苷	绿原酸	黄芩苷	绿原酸	黄芩苷	绿原酸	黄芩苷	绿原酸	黄芩苷	绿原酸	黄芩苷
取样量(g)		样品中量(mg)		标准品加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		RSD(%)	
0.245 6	0.051 4	0.761 4	7.818	0.641 0	6.576	1.380 3	14.393	96.55	99.98		
0.242 9	0.050 2	0.753 0	7.635	0.641 0	6.576	1.377 6	14.220	97.44	100.13		
0.247 2	0.050 4	0.766 3	7.666	0.641 0	6.576	1.385 3	14.119	96.57	98.14		
0.256 9	0.049 5	0.796 4	7.529	0.801 2	8.220	1.603 4	15.671	100.73	99.05		
0.246 9	0.048 3	0.765 4	7.346	0.801 2	8.220	1.560 3	15.623	99.22	100.68	1.93	0.97
0.245 3	0.050 2	0.760 4	7.635	0.801 2	8.220	1.547 7	15.745	98.26	98.65		
0.256 8	0.050 3	0.796 1	7.651	0.961 4	9.864	1.765 9	17.370	100.87	98.53		
0.255 3	0.054 2	0.791 4	8.244	0.961 4	9.864	1.765 8	17.913	101.35	98.03		
0.255 4	0.050 6	0.791 7	7.696	0.961 4	9.864	1.758 3	17.544	100.54	99.84		

表 2 复方野马追胶囊中绿原酸、黄芩苷含量测定结果( n= 3)

Tab.2 Result of determination of Chlorogenic Acid and Baicalin in Fufang Yemazhui Capsule( n= 3)

批号	绿原酸(%)	黄芩苷(%)
061217	0.30	15.17
061219	0.31	15.26
061221	0.31	15.21

提取时间的考察,结果表明,所定制备方法测得绿原酸、黄芩苷含量最高。

由于制剂制备过程中有一部分绿原酸转化为异绿原酸,用药典方法测定绿原酸无法将两者良好分离。本试验所采取的 pH 条件下,两者分离度达到 2

以上,符合要求。

### [参考文献]

- [1] 李剑平,周远大,曾敏莉. 野马追一般药理作用试验研究[J]. 中华现代医学与临床, 2005, 3(5): 64.
- [2] 钱士辉,杨念云,段金廛,等. 野马追不同药用部位的质量初步评价[J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(5): 40.
- [3] 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. 218.
- [4] 苏 苏,王 勇,燕吉敏,等. 反向 HPLC 法测定不同产地黄芩中黄芩苷的含量[J]. 复旦学报, 2002, 41(6): 714.