

葛根解表药效组分分析

刘娜^{1,2}, 张贵君^{2*}, 金哲雄¹, 黄伟强^{1,2}

(1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150067; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

摘要:目的 分析葛根解表作用的药效组分, 为建立与临床疗效相对应质量标准提供理论数据。方法 采用 RP-HPLC 法分析其解表的药效组分。结果 4 个葛根复方中葛根解表药效组分为 3'-羟基葛根素、葛根素、大豆苷、大豆苷元(比例为 23.2:34.3:3.4:1~8.4:23.9:1.9:1)。结论 葛根解表的药效组分为黄酮类组分, 各组分比例在一定范围内变化, 该药效组分可作为葛根解表的标准物质。

关键词: 葛根; 解表; 药效组分; 标准物质

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2009)05-0294-03

Analysis of active components in *Pueraria lobata* for relieving exterior syndrome

LIU Na^{1,2}, ZHANG Gui-jun², JIN Zhe-xiong¹, HUANG Wei-qiang^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: **Objective** To analyze the active components of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi used to relieve exterior syndrome, so as to provide justified data for the establishment of quality standard. **Methods** The active components in *P. lobata* were determined by reversed phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). **Results** The ratio of puerarin-daidzin-daidzein-3'-hydroxypuerarins in four formula of *P. lobata* ranged from 23.2:34.3:3.4:1 to 8.4:23.9:1.9:1. **Conclusion** The active components of *P. lobata* for relieving exterior syndrome are isoflavonoids, with the proportional relationship of compatibility varying in certain range. Therefore, puerarin-daidzin-daidzein-3'-hydroxypuerarins can be used as the standard substance of *P. lobata* for medicines relieving exterior syndrome.

Key words: *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi; relieving exterior syndrome; active components alignment; standard substance

葛根 *Radix Puerariae Lobatae* 为常用中药, 临床上多以其复方使用。近年来对葛根化学成分的研究颇多, 但一直缺少对其药效组分及与临床疗效相对应的标准物质研究^[1-2]。在中药药效组分理论^[3]指导下, 以临床疗效确切的经典解表复方柴葛解肌汤、葛根汤、葛根加半夏汤、桂枝加葛根汤为研究对象, 采用 RP-HPLC 法分析了葛根解表的黄酮类药效组分, 为葛根标准物质的研究和质量标准的建立奠定基础^[4-6]。

1 仪器与试剂

戴安 P680A HPLC 仪, 美国戴安公司; Peak Net 色谱工作站。

葛根饮片, 购自安国祁新饮片厂, 经张贵君教授鉴定为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根。柴葛解肌汤(《伤寒六书》方), 由柴胡、葛根、黄芩、甘草、羌活、白芷、赤芍、桔梗组成; 葛根汤(《伤寒论》方), 由葛根、麻黄、桂枝、生姜、甘草、赤芍、大枣组成; 葛根加半夏汤(《伤寒论》方), 由葛根、麻黄、桂枝、生姜、甘草、赤芍、半夏、大枣组成; 桂枝加葛根汤(《伤寒论》方), 由葛根、桂枝、生姜、甘草、赤芍、大枣组成。复方中各饮片均符合《中国药典》(2005 年版)规定的标准。药效组分对照品: 葛根素(批号 110752-200511)、大豆苷(批号 111738-200501)、大豆苷元(批号 1502-200101), 均购自中

* 通讯作者 张贵君, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药鉴定方法学、组分中药及中药药效组分质量标准评价体系。

Tel: (010) 84738624, E-mail: guijunzhang@163.com

国药品生物制品检定所; 3'-羟基葛根素(纯度98%), 自制。

甲醇, 色谱纯; 水为屈臣氏蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[7-9]

采用 Agilent C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水, 梯度洗脱, 0~15 min、甲醇-水(27%:73%), 15~20 min、甲醇-水(27%~40%:73%~60%), 20~35 min、甲醇-水(40%~60%:60%~40%), 35~40 min、甲醇-水(60%~27%:40%~73%); 检测波长为 250 nm; 体积流量为 1 mL/min; 进样量 10 μL; 柱温 30 °C。理论板数按药效组分各标准品峰计算均大于 3 000。

2.2 供试品溶液的制备^[10]

柴葛解肌汤: 取柴胡、葛根、黄芩、甘草、羌活、白芷、赤芍、桔梗(比例为 2:3:2:1:1:1:2:1), 加 10 倍量的水浸泡 30 min, 水沸后煎煮 30 min, 滤过, 残渣加 10 倍量的水, 水沸后再煎 20 min, 趁热滤过; 合并两次滤液, 浓缩, 冷至常温, 调质量浓度为 1 g/mL。

葛根汤: 取葛根、麻黄、桂枝、生姜、甘草、赤芍(比例为 4:3:2:3:2:2)和大枣 12 枚; 葛根加半夏汤: 取葛根、麻黄、桂枝、生姜、甘草、赤芍、半夏(比例为 4:3:2:3:2:2:8)和大枣 12 枚; 桂枝加葛根汤: 取葛根、桂枝、赤芍、生姜、甘草、桂枝(比例为 4:2:3:2:2:2)和大枣 12 枚。这 3 个复方均按柴葛解肌汤供试品溶液的制备方法制备。

2.3 药效组分对照品溶液的制备

分别精密称取对照品葛根素 3 mg、大豆苷 1.5 mg、大豆苷元 1.1 mg 以及 3'-羟基葛根素 1 mg 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品溶液。此药效组分对照品溶液含葛根素 0.12 mg/mL、大豆苷 0.06 mg/mL、大豆苷元 0.044 mg/mL、3'-羟基葛根素 0.04 mg/mL。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 药效组分对照品溶液, 分置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度。每次进样 10 μL, 按“2.1”项下色谱

条件测定。以峰面积为纵坐标(Y), 进样量为横坐标(X), 进行线性回归, 得回归方程。3'-羟基葛根素: $Y=39.949 X+1.347 9$, $r^2=0.999 6$, 线性范围 0.008 0~0.400 0 μg; 葛根素: $Y=33.457 X+5.902 8$, $r^2=0.999 7$, 线性范围 0.024 0~1.200 0 μg; 大豆苷: $Y=38.334 X+0.793 6$, $r^2=0.999 7$, 线性范围 0.012 0~0.600 0 μg; 大豆苷元: $Y=56.660 X-0.053 1$, $r^2=0.999 7$, 线性范围 0.008 8~0.440 0 μg。

2.5 阴性对照试验

取缺葛根的 4 个复方阴性样品, 分别按“2.2 项”下方法制备, 即得葛根的阴性对照溶液。结果阴性对照溶液在 4 个黄酮类化合物对照品色谱峰相应位置无干扰峰。

2.6 精密度试验

精密吸取“2.3”项下制备的对照品溶液, 连续进样 5 次, 进样量均为 10 μL, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果葛根素、大豆苷、大豆苷元、3'-羟基葛根素峰面积的 RSD 分别为 0.40%、0.34%、0.75%、0.46%, 表明精密度良好。

2.7 稳定性试验

精密吸取同一批葛根复方供试品溶液, 每 2 h 进样 1 次, 共 5 次。按“2.1”项下色谱条件测定峰面积, 结果 4 个复方中葛根素、大豆苷、大豆苷元、3'-羟基葛根素的 RSD 分别为 0.58%、0.49%、1.02%、0.33%, 表明在 8 h 内被测物稳定性良好。

2.8 重现性试验

精密吸取同一批葛根复方供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定峰面积。结果葛根素、大豆苷、大豆苷元、3'-羟基葛根素的质量分数的 RSD 值分别为 0.29%、0.59%、0.68%、0.49%, 显示本方法重现性良好。

2.9 回收率实验

分别精密吸取含已知量的 4 个化合物的同一批各复方样品溶液 3 份, 每份 1.0 mL, 分别加入一定量的对照品溶液, 按供试品溶液制备方法处理, 按“2.1”项下色谱条件测各复方中 4 个黄酮类化合物的平均回收率以及 RSD 值, 结果见表 1。

表 1 4 个葛根复方中黄酮类化学组分的平均回收率(n=3)

葛根复方	葛根素/%		大豆苷/%		大豆苷元/%		3'-羟基葛根素/%	
	平均回收率	平均 RSD	平均回收率	平均 RSD	平均回收率	平均 RSD	平均回收率	平均 RSD
柴胡解肌汤	100.15	0.44	100.10	0.64	99.89	0.76	99.49	0.70
葛根汤	100.21	0.53	100.05	0.40	100.01	0.55	99.79	0.62
葛根加半夏汤	100.09	0.47	99.98	0.45	100.05	0.67	99.98	0.55
桂枝加葛根汤	100.10	0.34	100.00	0.50	99.67	0.60	99.51	0.60

2.10 黄酮类化学组分的测定

每一供试品溶液自动进样5次,按“2.1”项下色谱条件测定峰面积,外标法计算每个复方中4个化合物的量。结果见表2。

表2 4个葛根复方中黄酮类化合物的量及各成分的比例

葛根复方	化合物量/(mg·mL ⁻¹)				各成分的比例
	3'-羟基葛根素	葛根素	大豆苷	大豆苷元	
柴葛解肌汤	0.279 6	0.413 4	0.0410	0.012 1	23.2:34.3:3.4:1
葛根汤	0.130 5	0.396 9	0.0368	0.015 4	8.5:25.7:2.4:1
葛根加半夏汤	0.079 2	0.164 3	0.0131	0.006 9	11.5:23.9:1.9:1
桂枝加葛根汤	0.095 7	0.282 5	0.0375	0.011 4	8.4:24.8:3.3:1

3 讨论

在本实验中选择4个含有葛根的经方均为中医临床上常用的解表剂。测定结果表明,由于配伍不同,葛根中的黄酮类化学组分的组合不同,3'-羟基葛根素-葛根素-大豆苷-大豆苷元变化范围为23.2:34.3:3.4:1~8.4:23.9:1.9:1。这4个药效组分可作为葛根解表作用的标准物质,为市售葛根及其中成药的质量鉴定指标提供参考。

参考文献

- [1] 张贵君. 近年我国中药研究的几个误区[N]. 中国中医药报, 2006-8-18(7).
- [2] 张贵君. 中药研究的误区思考与创新研发的新思路[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(13): 1367-1369.
- [3] 张贵君, 罗容, 王奕洁. 中药药效组分理论与中药组分子[J]. 中药材, 2007, 39(2): 1-2.
- [4] 戚本明, 王正强. 大豆黄酮药理学研究新进展[J]. 国外医学: 中医中药分册, 2001, 23(4): 204.
- [5] 蒲自和, 王宁. 葛根的药理学研究进展[J]. 西北药学杂志, 2000, 15(2): 81-83.
- [6] 杨林静, 何可月, 陈虹, 等. 葛根的药理学研究及其临床应用进展[J]. 武警医学院学报, 2002, 11(2): 79-81.
- [7] 崔向微, 张贵君, 李慧, 等. “葛根芩连汤”两种配伍比例的化学药效组分比较分析[J]. 中成药, 2009, 31(2): 263-266.
- [8] Chen S B, Yang D J, Chen S L, et al. Seasonal variations in the isoflavonoids of *radix puerariae* [J]. Phytochem Anal, 2007, 18: 245-250.
- [9] 周欣, 宋洪涛, 游开仙. 梯度洗脱 HPLC 法测定舒肝降脂胶囊中葛根素大豆苷及大豆苷元的含量[J]. 解放军药学报, 2008, 2(24): 78-80.
- [10] 葛尔宁. RP-HPLC 法测定葛根汤中葛根素的含量及变化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 8(11): 12-13.

(收稿日期 2009-07-06)

高效液相色谱法测定丹毒宁胶囊中的绿原酸

姚辉¹, 贺星²

(1. 天津市药品检验所, 天津 300070; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

摘要:目的 建立丹毒宁胶囊中绿原酸的测定方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Agilent TC-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(12:88:1); 检测波长 324 nm; 柱温 30 ℃; 体积流量 1.0 mL/min。结果 绿原酸在 0.126 7~0.760 3 μg 线性关系良好($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 98.64%, RSD 为 0.60%。结论 本法简便、准确、重现性好, 适用于丹毒宁胶囊中绿原酸的测定。

关键词: 丹毒宁胶囊; 绿原酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2009)05-0296-02

丹毒宁胶囊(主要由金银花、玄参、重楼、连翘、紫花地丁、蒲公英、黄柏、地黄等组成)是天津市常用的医院制剂, 具有清热解毒、消肿止痛的功效, 临床上常用于丹毒、复发性丹毒静脉炎、恶寒发热、红肿热痛等症状的治疗。《天津市食品药品监督管理局医疗机构制剂标准》中没有丹毒宁胶囊的定量测定项, 不利于控制质量。而绿原酸被认为是众多药材和中成药中抗菌解毒、消炎利胆的主要有效成分, 通常被作为定性、定量的指标。本实验选择该制剂中的绿原酸作为定量测定指标, 采用高效液相色谱法测定胶囊中绿原酸的量。结果表明本法准确、重现

性好, 可为丹毒宁胶囊的质量控制提供快速、准确的检测方法。

1 仪器与试剂

仪器: SHIMADZU LC-2010A 高效液相色谱仪, CLASS-VP 工作站; 色谱柱: Agilent TC-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。试剂: 甲醇(分析纯, 天津市康科德科技有限公司), 冰醋酸(天津市化学试剂一厂), 水为纯净水。对照品: 绿原酸(中国药品生物制品检定所, 批号: 110753-200212)。样品: 丹毒宁胶囊(批号: 200801、200802、200803)由天津市中医医院提供。