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

在本实验中选择的 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学[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-C_{18}(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　仪器与试药

仪器：SHIMADZU LC—2010A 高效液相色谱仪，CLASS-VP 工作站；色谱柱：Agilent TC-C_{18} 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。

2 方法与结果

2.1 色谱条件[1]

色谱柱：Agilent TC-C_{18}柱（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。理论板数按绿原酸峰计算不低于4 000。

2.2 对照品溶液的制备

取绿原酸对照品适量，精密称定，加甲醇制成40 μg/mL的溶液，摇匀，即得。

2.3 供试品溶液的制备

取装量差异项下的本品内容物，研细，取约1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入50%甲醇50 mL，称定质量，超声处理（功率250 W，频率33 kHz）45 min，放冷，再称定质量，用50%甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.4 阴性对照溶液的制备

按丹毒宁胶囊处方配比，取除绿原酸外的其他各药味，制成阴性对照胶囊，按"2.3"项下方法制成阴性对照溶液。

2.5 阴性对照试验

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各10 μL，注入色谱仪，按"2.1"项下色谱条件测定，记录色谱图。结果表明，阴性对照溶液在绿原酸对照品色谱峰相应位置未出现干扰峰。见图1。

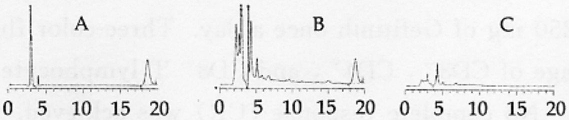

图1 绿原酸对照品(A)、供试品(B)和阴性对照品(C)的HPLC图

2.6 线性关系考察

分别精密吸取对照品溶液3、6、9、12、15、18 μL，注入色谱仪，按"2.1"项下色谱条件测定各自峰面积，以进样量（μg）为横坐标（X），峰面积积分值为纵坐标（Y）进行线性回归，得回归方程：$Y=2.731\times10^6 X+4.54\times10^2$，$r=0.999\ 9$。结果表明绿原酸在0.126 7～0.760 3 μg线性关系良好。

2.7 精密度试验

取丹毒宁胶囊样品（批号：200801）1份，按照"2.3"项下方法制成供试品溶液，按"2.1"项下色谱条件，连续进样6次，测定样品中绿原酸峰面积，结果峰面积的RSD为0.12%。

2.8 重现性试验

取同一批丹毒宁胶囊样品（批号：200801）6份，按照"2.3"项下方法制成供试品溶液，按"2.1"项下色谱条件，测定每份样品中绿原酸的量。结果绿原酸的RSD为0.75%。

2.9 稳定性试验

取丹毒宁胶囊样品（批号：200801）1份，按照"2.3"项下方法制成供试品溶液，按"2.1"项下色谱条件，分别在0、4、8、12 h，测定样品中绿原酸峰面积，结果其峰面积的RSD为0.55%，说明样品溶液在12 h内稳定。

2.10 回收率试验

取丹毒宁胶囊（批号：200801）内容物，混匀，共6份，每份约0.5 g，精密称定，分别置于具塞锥形瓶中，分别精密加入绿原酸对照品溶液（0.037 52 mg/mL）25 mL，50%甲醇溶液25 mL，称定质量，超声处理（功率250 W，频率33 kHz）45 min，放冷，再称定质量，用50%甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。分别精密吸取10 μL注入色谱仪，按"2.1"项下色谱条件，测定绿原酸的量，计算回收率。结果平均回收率为98.64%，RSD为0.60%。

2.11 样品测定

取丹毒宁胶囊样品3批，按"2.3"项下方法制备供试品溶液，分别进样10 μL，测定，外标法计算绿原酸的量，结果见表1。

表1 丹毒宁胶囊中绿原酸的测定结果($n=3$)

批 号	绿原酸/(mg·g^{-1})
200801	1.81
200802	1.79
200803	1.84

3 讨论

本实验分别对样品进行50%甲醇加热回流处理、50%甲醇超声处理、50%乙醇加热回流处理、50%乙醇超声处理等提取方法进行选择，结果以50%甲醇提取为佳。比较50%甲醇加热回流与超声处理2种提取方法，超声处理结果高于加热回流处理，因此本实验样品采用50%甲醇超声提取的方法。又通过对不同超声提取时间的比较，发现超声处理45 min与60 min绿原酸的量基本一致，故将提取时间确定为45 min，以此来制备供试品溶液。

参考文献

[1] 中国药典[S]. 一部. 2005.

（收稿日期 2009-03-10）