

# 葛根汤 HPLC 指纹图谱及多指标成分定量分析

肖洪贺<sup>1</sup>, 闫艳<sup>1,2</sup>, 乐心逸<sup>1</sup>, 柴程芝<sup>1</sup>, 余伯阳<sup>1,3\*</sup>

(1. 中国药科大学 中药复方研究室, 南京 211198;

2. 山西大学 中医药现代研究中心, 太原 030006;

3. 中国药科大学 江苏省中药评价与转化重点实验室, 南京 211198)

**[摘要]** 目的:建立葛根汤 HPLC-DAD 指纹图谱,对 14 个指标成分进行定量分析,为葛根汤水提液的质量评价提供方法。方法:采用 AgelaVenusil MP-C<sub>18</sub> 色谱柱,以乙腈-水(含 0.1% 甲酸)梯度洗脱,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,检测波长 207,230,254,275 nm。结果:指纹图谱中标定了 38 个共有峰,指认了 10 个共有峰,11 批葛根汤水提液的指纹图谱相似度均 ≥ 0.978,不同批次间差异较小;11 批葛根汤水提液中 14 个指标成分的含量均一、稳定,样品制备方法稳定、质量可控。结论:指纹图谱结合定量测定更能全面地反映葛根汤的质量,可作为葛根汤水提液质量控制的有效方法。

**[关键词]** 葛根汤; 指纹图谱; 高效液相色谱法; 质量评价; 原发性痛经

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)15-0047-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015150047

## HPLC Fingerprints of Gegen Tang and Multi-target Component Quantitative Analysis

XIAO Hong-he<sup>1</sup>, YAN Yan<sup>1,2</sup>, YUE Xin-yi<sup>1</sup>, CHAI Cheng-zhi<sup>1</sup>, YU Bo-yang<sup>1,2\*</sup> (1. Traditional Chinese Medicine (TCM) Compound Research Room, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 2. Modern Research Center for TCM, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 3. Jiangsu Provincial Key Laboratory for TCM Evaluation and Translation, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop an HPLC-DAD fingerprint to conduct a quantitative analysis on the 14 index ingredients of Gegen Tang (GGD) and provide a method for the quality control for the water extracts from GGD. **Method:** The AgelaVenusil MP-C<sub>18</sub> was adopted and eluted in gradient with acetonitrile and water (consisting 0.1% formic acid) at 30 ℃. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and the detection wavelength was set at 207, 230, 254 and 275 nm. **Result:** Totally 38 common peaks were marked and 10 were identified in this fingerprint, with a good similarity (≥0.978) and less difference among the 11 batches. Specifically, 14 index components in the 11 batches of GGD feature even and stable content, stable sample preparation method and controllable quality. **Conclusion:** The combination of fingerprint and quantitative analysis can roundly reflected the quality of GGD and can be taken as an effective method for controlling the quality of the water extracts from GGD.

**[Key words]** Gegen Tang; fingerprint; HPLC; quality evaluation; primary dysmenorrhea

葛根汤始载于东汉张仲景的《伤寒杂病论》,由葛根、麻黄、桂枝、白芍、甘草、生姜和大枣 7 味药组成,具有发汗解表、生津舒筋之功效<sup>[1]</sup>,是临床常用的经典复方。目前,葛根汤已被开发为颗粒剂、口服液等不同制剂类型<sup>[2]</sup>,主要用于治疗风寒感冒。课

题组在新近的临床研究中发现,葛根汤防治寒湿凝滞型原发性痛经疗效确切,一般用药 1~3 个月经周期(每个月经周期为经前连续服用 5~7 d)疼痛有效缓解,并且不易复发<sup>[3-4]</sup>。

已有的化学研究显示,葛根汤主要含有黄酮类、

**[收稿日期]** 20150203(001)

**[基金项目]** 国家教育部博士点新教师基金项目(20110096120011);江苏省普通高校研究生科研创新计划项目(CXZZ13\_0319)

**[第一作者]** 肖洪贺,硕士,从事中药活性成分与生物技术研究, Tel:025-86185158, E-mail:xiaohh89@163.com

**[通讯作者]** \*余伯阳,博士,教授,博士生导师,从事生药质量控制及药效物质基础研究, Tel:025-86185158, E-mail:boyangyu59@163.com

单萜苷类、生物碱类和苯丙酸类等多种成分<sup>[5]</sup>。目前关于葛根汤质量控制的研究,多局限于单一成分或某几个成分测定<sup>[6-8]</sup>,尚缺乏有效的质量控制方法。

本研究建立了葛根汤的 HPLC-DAD 指纹图谱,对部分共有峰进行了归属和鉴别,同时对 14 个指标成分进行了定量分析,从整体成分群的定性和多指标成分的定量角度对葛根汤进行了综合评价,旨在全面表征不同批次葛根汤的整体和部分成分差异,为葛根汤的质量评价提供可借鉴方法。

## 1 材料

**1.1 仪器** 1260 系列高效液相色谱仪(配有在线脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱和 DAD 检测器,ChemStation 色谱工作站,美国 Agilent),AE240 型分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

**1.2 试药** 乙腈(Tedia 公司,色谱纯)、甲醇(上海凌峰化学试剂有限公司,色谱纯),超纯水(美国 Millipore 公司),其他试剂均为分析纯。

葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* 的干燥根,麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* 的干燥草质茎,桂枝为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* 的干燥嫩枝,白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* 的干燥根,甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根和根茎,生姜为姜科植物 *Zingiber officinale* 的新鲜根茎,大枣为鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* 的干燥成熟果实。以上药材饮片均购自南京传统中医药门诊部,经中国药科大学余伯阳教授鉴定,符合 2010 年版《中国药典》标准。

没食子酸(批号 130718)和 3'-羟基葛根素(批号 130703)购自四川省维克奇生物科技有限公司,5-羟甲基糠醛(批号 111626-201007)购自南京泽朗生物科技有限公司,芒柄花苷(批号 111713-200601)购自成都维克奇生物科技有限公司,大豆苷元(批号 120704)购自成都普菲德生物技术有限公司;盐酸麻黄碱(批号 171241-201007),盐酸伪麻黄碱(批号 171237-201208),桂皮醛(批号 110710-200714),肉桂酸(批号 110786-200503),甘草酸铵(批号 110731-201116),芍药苷(批号 110736-201136)购自中国食品药品检定研究院;大豆苷(批号 F1324061),甘草苷(批号 33913),葛根素(批号 44834)购自阿拉丁试剂公司;纯度均 $\geq 98\%$ 。

## 2 方法与结果

### 2.1 葛根汤指纹图谱

**2.1.1 色谱条件** Agela Venusil MP-C<sub>18</sub> 色谱柱

(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 25 min, 5% ~ 20% B; 25 ~ 50 min, 20% ~ 63% B; 50 ~ 60 min, 63% ~ 80% B),平衡色谱柱 10 min,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C,检测波长 207, 230, 254, 275 nm,进样量 10 μL。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 分别称取各对照品适量,精密称定,加入 60% 甲醇,制成质量浓度分别为没食子酸 0.058 g·L<sup>-1</sup>,麻黄碱 0.104 g·L<sup>-1</sup>,伪麻黄碱 0.057 g·L<sup>-1</sup>,5-羟甲基糠醛 0.020 g·L<sup>-1</sup>,3-羟基葛根素 0.376 g·L<sup>-1</sup>,葛根素 1.028 g·L<sup>-1</sup>,芍药苷 0.454 g·L<sup>-1</sup>,大豆苷 0.197 g·L<sup>-1</sup>,甘草苷 0.300 g·L<sup>-1</sup>,芒柄花苷 0.037 g·L<sup>-1</sup>,大豆苷元 0.051 g·L<sup>-1</sup>,肉桂酸 0.06 g·L<sup>-1</sup>,甘草酸铵 0.391 g·L<sup>-1</sup>,桂皮醛 0.093 g·L<sup>-1</sup>的混合对照品贮备液,4 °C 存放备用。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 葛根汤水提液按葛根-麻黄-白芍-桂枝-甘草-生姜-大枣(4:1:3:3:2:2:4)比例称取药材 95 g,加水 8 倍量,浸泡 30 min,加热回流 1 h,过滤,滤渣加水 6 倍量,加热回流 40 min,过滤,合并 2 次滤液,70 °C 水浴浓缩至 2 g·mL<sup>-1</sup>(按葛根汤生药量计算),-20 °C 冷冻储存。按以上方法,制备 11 批葛根汤样品。

分析前,取葛根汤水提液 0.5 mL,加 60% 甲醇 10 mL,称重,超声 10 min,放冷,补足质量,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,取上清液,过 0.22 μm 微孔滤膜,制得 0.1 g·mL<sup>-1</sup>(按葛根汤生药量计算)的葛根汤供试品溶液,供分析。

以处方比例称取葛根、麻黄、桂枝、白芍、甘草单味药材,按上述方法制备单味药材溶液。

**2.1.4 阴性样品溶液的制备** 以处方比例,按 2.1.3 项下方法,分别制备缺葛根、缺麻黄、缺桂枝、缺白芍、缺甘草的阴性样品溶液。

### 2.1.5 方法学考察

**2.1.5.1 精密度的试验** 取同一份葛根汤供试品溶液,按 2.1.1 项所述色谱条件,连续进样 5 次,测定 HPLC 色谱图,以 17 号峰为参照峰,检测。结果各共有峰相对保留时间 RSD 0 ~ 0.08%,相对峰面积 RSD 0.3% ~ 0.9%,表明仪器精密密度良好。

**2.1.5.2 稳定性试验** 取同一份室温下放置的葛根汤供试品溶液,按 2.1.1 项所述色谱条件,分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 测定 HPLC 色谱图,以 17 号峰为参照峰。结果显示,各共有峰相对保留时间 RSD 0 ~ 0.4%,相对峰面积 RSD 0.3% ~ 2.5%,表明供试品溶液在 24 h 内的稳定性良好。

**2.1.5.3 重复性试验** 取同一批药材,按 2.1.3 项下方法,平行制备葛根汤供试品溶液 6 份,按 2.1.1 项下色谱条件检测,以 17 号峰为参照峰。结果显示,各共有峰相对保留时间 RSD 0 ~ 0.3%,相对峰面积 RSD 1.1% ~ 2.3%,表明该提取方法重复性良好。

### 2.1.6 指纹图谱的建立

**2.1.6.1 参照峰的选择** 观察指纹图谱,选择峰面积相对较大、较稳定、出峰时间适中的色谱峰作为参

照峰。实验表明 17 号峰(葛根素)在 23.3 min 处出峰,色谱峰分离度较好、稳定,故确定其为参照峰(S)。

**2.1.6.2 共有峰的标定** 将 11 批葛根汤水提液供试品 HPLC 图,导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004 A 版进行色谱峰匹配,选择中位数法生成对照图谱,采用多点校正法建立指纹图谱。4 个不同的波长(207,230,254,275 nm)下标定共有峰,其中 254 nm 下出峰最多,共标定了 38 个共有峰。见图 1。

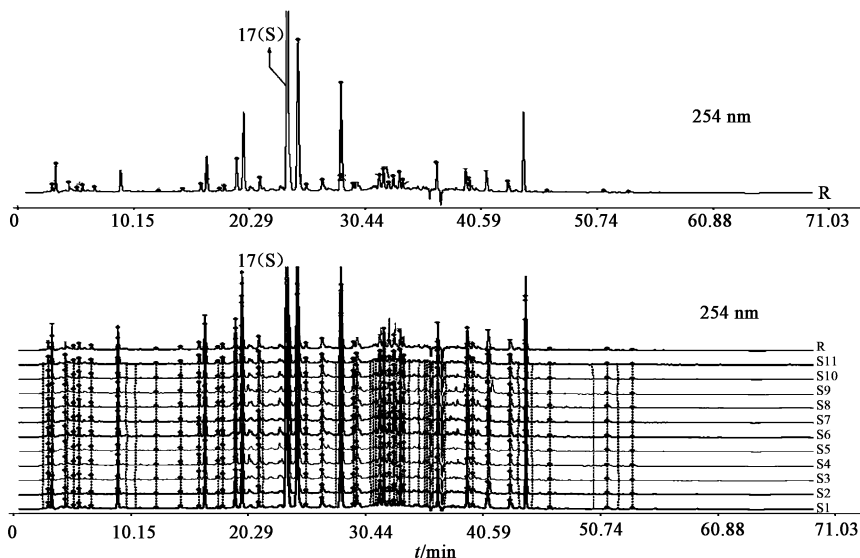


图 1 11 批葛根汤 HPLC 指纹谱

Fig.1 HPLC fingerprint for 11 batches of GGD

**2.1.6.3 共有峰的归属及指认** 对比对照品、单味药材、阴性样品、葛根汤供试品谱图共有峰保留时间,对部分共有峰进行归属、指认。10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,21,22,23,28,29,30,31 号峰来自葛根,15 号峰为 3'-羟基葛根素,17 号峰为葛根素,21 号峰为大豆苷,30 号峰为芒柄花苷,31 号峰为大豆苷元;3,6,9,33,38 号峰来自桂枝,33 号峰为肉桂酸;3,4,5,7,20 号峰来自白芍,7 号峰为没食子酸,20 号峰为芍药苷;3,8,24,25,30,34,35,36,37 号峰来自甘草,25 号峰为甘草苷,30 号峰为芒柄花苷,35 号峰为甘草酸铵。1,2 号峰为溶剂峰。

**2.1.6.4 相似度评价** 利用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004A 版软件计算相似度,11 批葛根汤供试品色谱图与对照指纹图谱相似度在 0.990 ~ 0.998,表明批次间差异较小,制备工艺稳定。

### 2.2 葛根汤中 14 个指标性成分的含量测定

**2.2.1 色谱条件** Agela Venusil MP-C<sub>18</sub> 色谱柱

(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 15 min, 5% ~ 17% B; 15 ~ 20 min, 17% B; 20 ~ 25 min, 17% ~ 20% B; 25 ~ 50 min, 20% ~ 63% B; 50 ~ 60 min, 63% ~ 80% B),平衡色谱柱 10 min,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,检测波长 207,230,254,275 nm,进样量 10 μL。

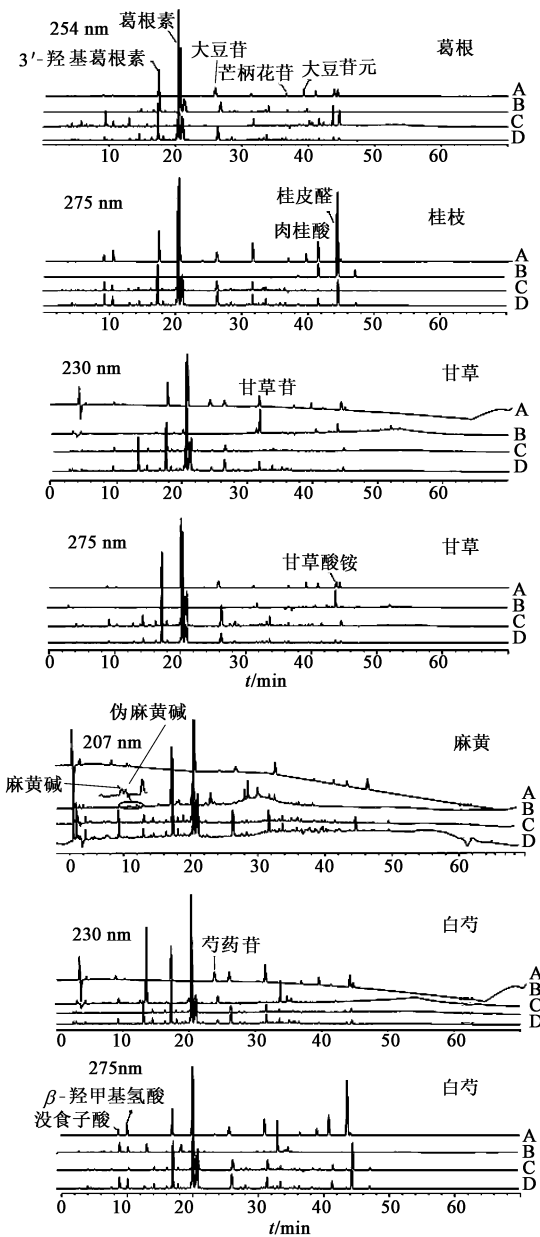
**2.2.2 对照品溶液的制备** 混合对照溶液制备方法同 2.1.2 项。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 葛根汤供试品溶液、单味药材溶液制备方法同 2.1.3 项。

**2.2.4 阴性样品溶液的制备** 阴性样品溶液制备方法同 2.1.4 项。

### 2.2.5 方法学考察

**2.2.5.1 专属性试验** 分别取混合对照品溶液、单味药材溶液、缺药味的阴性样品溶液及葛根汤供试品溶液,按照 2.2.1 项下色谱条件进样分析。各峰在相应保留时间内无杂峰干扰,专属性良好。见图 2。



A. 对照品; B. 单味药; C. 阴性样品; D. 样品

图2 葛根汤 HPLC

Fig. 2 HPLC of GGD

**2.2.5.2 标准曲线与线性范围考察** 分别取 2.2.2 项对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.6 mL, 加 60% 甲醇定容至 2 mL, 制得不同质量浓度的系列对照品溶液。分别精密吸取上述对照品溶液, 按 2.2.1 项色谱条件进样分析, 记录色谱图及峰面积。以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程。结果表明, 14 个成分浓度与峰面积之间在相应浓度范围内成良好的线性关系。见表 1。

**2.2.5.3 精密度的试验** 精密吸取混合对照品溶液 10  $\mu$ L, 按 2.2.1 项色谱条件进样分析, 连续 6 次, 结

果峰面积 RSD 0.3% ~ 1.3%, 表明仪器精密度良好。

**2.2.5.4 稳定性试验** 取同一份室温下放置的葛根汤供试品溶液, 按 2.2.1 项色谱条件, 分别在 0, 3, 6, 9, 12, 24 h 进样分析, 结果峰面积 RSD 0.01% ~ 2.9%, 表明室温下, 葛根汤供试品在 24 h 内稳定。

**2.2.5.5 重复性试验** 取同一批次的葛根汤全方药材约 9.5 g (全方生药量 1/10), 精密称定, 按 2.2.3 项下方法平行制备 6 份。按 2.2.1 项色谱条件进样分析, 以质量浓度为指标计算 RSD, 结果质量分数 RSD 1.1% ~ 2.6%, 表明提取方法重复性良好。

**2.2.5.6 加样回收率试验** 取 2.2.3 项下已知各成分含量的葛根汤药材 6 份, 每份约 4.75 g, 精密称定, 分别加入已知质量分数的混合对照品溶液 (盐酸麻黄碱 0.162  $g \cdot L^{-1}$ , 盐酸伪麻黄 0.07  $g \cdot L^{-1}$ , 芍药苷 1.500  $g \cdot L^{-1}$ , 甘草苷 0.501  $g \cdot L^{-1}$ , 3'-羟基葛根素 0.394  $g \cdot L^{-1}$ , 葛根素 1.846  $g \cdot L^{-1}$ , 大豆苷 0.445  $g \cdot L^{-1}$ , 芒柄花苷 0.081  $g \cdot L^{-1}$ , 大豆苷元 0.05  $g \cdot L^{-1}$ , 甘草酸铵 0.958  $g \cdot L^{-1}$ , 没食子酸 0.183  $g \cdot L^{-1}$ , 5-羟甲基糠醛 0.004  $g \cdot L^{-1}$ , 肉桂酸 0.032  $g \cdot L^{-1}$ , 桂皮醛 0.003  $g \cdot L^{-1}$ ) 10 mL, 按 2.2.3 项下制备供试品溶液, 在 2.2.1 项色谱条件下进行测定。计算各成分的平均回收率和 RSD, 考察方法准确度。结果平均加样回收率在 95.32% ~ 103.80%, RSD 0.60% ~ 2.11%, 表明方法准确度良好。结果见表 2。

**2.2.6 样品含量测定** 取 2.2.3 项下 11 批葛根汤水提液, 按 2.2.1 项色谱条件进行测定, 分别计算 14 个成分的含量。结果葛根汤中各成分的平均含量分别为盐酸麻黄碱 0.33  $mg \cdot g^{-1}$ , 盐酸伪麻黄碱 0.14  $mg \cdot g^{-1}$ , 3'-羟基葛根素 0.80  $mg \cdot g^{-1}$ , 葛根素 3.87  $mg \cdot g^{-1}$ , 大豆苷 0.89  $mg \cdot g^{-1}$ , 芒柄花苷 0.15  $mg \cdot g^{-1}$ , 大豆苷元 0.09  $mg \cdot g^{-1}$ , 甘草苷 1.05  $mg \cdot g^{-1}$ , 甘草酸铵 2.03  $mg \cdot g^{-1}$ , 芍药苷 3.06  $mg \cdot g^{-1}$ , 没食子酸 0.38  $mg \cdot g^{-1}$ , 5-羟甲基糠醛 0.01  $mg \cdot g^{-1}$ , 肉桂酸 0.07  $mg \cdot g^{-1}$ , 桂皮醛 0.01  $mg \cdot g^{-1}$ , RSD 均小于 3%。结果表明, 不同批次葛根汤中 14 种成分质量分数差异较小, 葛根汤水提液提取工艺较为稳定可控。

### 3 讨论

#### 3.1 色谱条件的优化

**3.1.1 检测波长的选择** 葛根汤成分复杂, 在单一

表 1 14 个对照品的线性范围及回归方程

Table 1 Calibration curves for 14 reference substances

对照品	检测波长/nm	线性范围/mg·L <sup>-1</sup>	回归方程	R <sup>2</sup>
盐酸麻黄碱	207	5.20 ~ 83.20	Y = 21 647X + 11.590	0.999 0
盐酸伪麻黄碱	207	2.83 ~ 45.60	Y = 27 211X + 7.961	0.998 7
3'-羟基葛根素	254	18.80 ~ 300.80	Y = 30 683X + 36.924	0.999 6
葛根素	254	51.40 ~ 822.40	Y = 37 625X + 271.840	0.998 6
大豆苷	254	9.86 ~ 57.60	Y = 36 682X + 26.116	0.999 5
芒柄花苷	254	1.86 ~ 29.60	Y = 37 746X + 4.979	0.999 2
大豆苷元	254	2.56 ~ 40.80	Y = 63 887X + 13.989	0.999 5
甘草苷	230	15.00 ~ 240.00	Y = 24 650X + 74.594	0.999 5
甘草酸铵	275	19.56 ~ 312.80	Y = 7 603.7X + 19.10	0.999 6
芍药苷	230	22.27 ~ 363.20	Y = 12 717X + 22.239	0.999 4
没食子酸	275	2.90 ~ 46.40	Y = 27 424X - 1.489	0.999 5
5-羟甲基糠醛	275	1.00 ~ 16.00	Y = 152 494X + 0.563	0.999 4
肉桂酸	275	3.00 ~ 48.00	Y = 108 478X + 25.725	0.999 5
桂皮醛	275	0.50 ~ 74.10	Y = 90 267X - 0.620	0.999 3

表 2 葛根汤中 14 个成分的加样回收试验 (n = 6)

Table 2 recovery rates of the 14 ingredients in GGD (n = 6)

成分	样品中量	加入量	测得量	平均回收	RSD
	/mg	/mg	/mg	率/%	/%
盐酸麻黄碱	1.52	1.62	3.08	96.44	1.1
盐酸伪麻黄碱	0.65	0.70	1.36	101.94	1.9
3'-羟基葛根素	3.91	3.94	7.87	100.30	1.5
葛根素	18.98	18.46	37.45	100.10	0.6
大豆苷	4.42	4.45	8.98	102.55	1.2
芒柄花苷	0.70	0.81	1.52	100.74	0.6
大豆苷元	0.40	0.50	0.93	104.68	1.4
甘草苷	5.12	5.01	10.08	99.04	2.1
甘草酸铵	9.73	9.58	19.33	100.18	0.8
芍药苷	14.96	15.00	29.98	100.10	2.0
没食子酸	1.81	1.83	3.64	100.07	1.5
5-羟甲基糠醛	0.04	0.04	0.08	104.52	2.0
肉桂酸	0.32	0.32	0.64	100.25	1.5
桂皮醛	0.03	0.03	0.06	98.00	2.1

波长下很难实现对所有物质进行检测。本实验采用二极管阵列检测器进行 190 ~ 400 nm 全波长扫描,比较不同波长下各成分紫外吸收情况,选取了 207, 230, 254, 275 nm 4 个波长进行检测。207 nm 下检测麻黄中的麻黄碱、伪麻黄碱;230 nm 下检测白芍中的芍药苷,甘草中的甘草苷;254 nm 下检测葛根中的 3'-羟基葛根素、葛根素、芒柄花苷(甘草中也含有)、大豆苷、大豆苷元,甘草中的甘草酸;275 nm 下检测白芍中的没食子酸和 5-羟甲基糠醛,桂枝中的肉桂酸和桂皮醛。

**3.1.2 流动相的选择** 麻黄碱与伪麻黄碱为一对差向异构体,为实现两者的基线分离,尝试使用水-甲醇,水-乙腈,0.1% 乙酸水-乙腈,0.1% 三氟乙酸水-乙腈,0.1% 甲酸水-乙腈,0.3% 甲酸水-乙腈等流

动相进行分离,其中以 0.1% 甲酸水-乙腈分离度较大,满足定量要求,最终选择 0.1% 甲酸水-乙腈作为流动相。

**3.2 指纹图谱的建立** 中药指纹图谱研究作为一种多指标的质量控制模式,可较全面反映复方中所含化学成分的种类和数量,已成为国内外广泛接受的中药质量评价模式<sup>[9]</sup>。本研究考察了葛根汤供试品在 4 个不同波长下(207, 230, 254, 275 nm)的分离情况;207 nm 下基线漂移严重,峰形不稳定,不适宜建立指纹图谱;230 nm 和 275 nm 下共有峰数量较 254 nm 下明显减少,且部分峰在 254 nm 下同样有较高响应,故选择 254 nm 建立葛根汤的 HPLC 指纹图谱。

多点校正法标定了 38 个共有峰,通过对比对照品、单味药材、阴性样品、葛根汤样品出峰位置,35 个共有峰得到归属,10 个共有峰得到化学成分指认,从多元角度表征了葛根汤中化学成分多样性及稳定性。实验结果也表明,葛根汤提取方法稳定,所提取样品不同批次间差异小,该方法可以对葛根汤水提液进行有效的质量评价。

**3.3 指标成分的选择** 中药指纹图谱的全面指认与多指标成分定量相结合是有效控制中药质量的可行途径<sup>[10]</sup>,而中药药效的发挥依赖于其所含的化学成分,化学成分的高低、稳定与否将直接影响其药效的强弱。传统的指标成分定量质量控制方法仅仅测定药材或中成药的 1 ~ 2 种有效成分(或指标成分),由于未充分考虑其药理活性,所测指标含量的高低往往很难反映中药材或复方的实际质量<sup>[11]</sup>。

大量文献报道显示,葛根中的葛根素、3'-羟基

葛根素、大豆苷、大豆苷元、芒柄花苷是被普遍认可的植物类雌激素,对内源性雌激素具有双向调节作用<sup>[12]</sup>;葛根素具有抗炎、抑制血小板聚集、改善血液流变等活性<sup>[13]</sup>;大豆苷、大豆苷元具有镇痛、松弛肌肉等活性<sup>[14]</sup>。麻黄中的麻黄碱和伪麻黄碱具有抗炎活性<sup>[15]</sup>,麻黄碱可增加产妇子宫血流,改善子宫血液循环<sup>[16]</sup>。桂枝中的肉桂酸、桂皮醛是其代表性成分,具有抗氧化、抗炎活性<sup>[17]</sup>。白芍中的芍药苷、没食子酸具有抗炎活性<sup>[18]</sup>,5-羟甲基糠醛可改善血液流变<sup>[19]</sup>。甘草中的甘草苷、甘草酸具有抗炎、抗变态反应等活性<sup>[20]</sup>。所选取的14个成分,均与原发性痛经的发病环节有着密切的关系,将其作为质量控制的指标成分,从有效成分含量角度对葛根汤的内在质量作出了更为科学的评价。

综上,本研究建立了葛根汤的HPLC-DAD指纹图谱,对部分共有峰进行了中药材归属和化学成分指认,较全面地反映了葛根汤的化学成分数量、比例、来源等整体化学特征;结合葛根汤防治原发性痛经的临床新用途,选取与其抗原发性痛经活性密切相关的14个指标成分,从定量角度进一步评价了葛根汤水提液的内在质量。指纹图谱与多成分定量分析的有机结合为葛根汤的质量控制提供了新的评价模式,也为其他复方的质量控制研究提供了方法借鉴。

#### [参考文献]

[1] 严永清. 新概念方剂学导论[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005:70-75.  
[2] 张弦,庞浩龙,贡联兵,等. 葛根汤颗粒的临床应用评价[J]. 中国医院用药评价与分析,2013(10):869-871.  
[3] 柴程芝,寇俊萍,朱丹妮,等. 葛根汤辨证治疗原发性痛经[J]. 世界中西医结合杂志,2012,7(3):244-246.  
[4] 柴程芝,余伯阳,朱丹妮,等. 一种治疗痛经的中药组合物及其制备方法:中国,20081023542 8.9[P]. 2009-04-15.  
[5] Yan Y, Chai C Z, Wang D W, et al. HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS analysis and HPLC quantitation of chemical constituents in traditional Chinese medicinal formula Ge-Gen Decoction [J]. J Pharm Biomed Anal, 2013,80:192-202.  
[6] Huang H Y, Hsieh Y Z. Determination of puerarin, daidzein, paeoniflorin, cinnamic acid, glycyrrhizin, ephedrine, and [6]-gingerol in Ge-gen-tang by micellar electrokinetic chromatography [J]. Anal Chim Acta, 1997,351(1):49-55.

[7] Song J, Han Q, Qiao C, et al. Simultaneous determination of multiple marker constituents in concentrated Gegen Tang granule by high performance liquid chromatography [J]. Chin Med,2007,2:7.  
[8] 王治平,李卫民,高英,等. HPLC同时测定黄芪葛根汤中9种异黄酮类有效成分[J]. 中国中药杂志,2010,35(20):2689-2692.  
[9] 罗国安,王义明,曹进,等. 中药指纹图谱理论和实际应用[J]. 临床药物治疗杂志,2006,4(6):6-8.  
[10] 叶敏,果德安. 关于中药质量控制与体内代谢研究的思考[J]. 化学进展,2009,21(1):100-104.  
[11] 罗娟敏,蔡继宝,肖雪,等. 基于复方中药添加剂指纹图谱的多指标成分定量方法研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(10):1295-1297.  
[12] Isoda H, Talorete T P N, Kimura M, et al. Phytoestrogens genistein and daidzin enhance the acetylcholinesterase activity of the rat pheochromocytoma cell line PC12 by binding to the estrogen receptor [J]. Cytotechnology,2002,40(1/3):117-123.  
[13] 韩春妍. 葛根素治疗相关疾病的研究[J]. 实用药物与临床,2012,15(3):178-180.  
[14] Yao X J, Yin J A, Xia Y F, et al. Puerarin exerts antipyretic effect on lipopolysaccharide-induced fever in rats involving inhibition of pyrogen production from macrophages [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 141 (1): 322-330.  
[15] Zheng Y, Guo Z, He W, et al. Ephedrine hydrochloride protects mice from LPS challenge by promoting IL-10 secretion and inhibiting proinflammatory cytokines [J]. Int Immunopharmacol,2012,13(1):46-53.  
[16] Dmitrovic R. Transvaginal color Doppler study of uterine blood flow in primary dysmenorrhea [J]. Acta Obstet Gynecol Scand,2000,79(12):1112-1116.  
[17] 张畅斌,李沧海,隋峰,等. 桂枝汤苯丙烯类化合物对环氧合酶-2及前列腺素抑制的作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(9):157-161.  
[18] Hua Y, Su S, Duan J A, et al. Danggui-Shaoyao-San, a traditional Chinese prescription, suppresses PGF<sub>2α</sub> production in endometrial epithelial cells by inhibiting COX-2 expression and activity [J]. Phytomedicine, 2008,15(12):1046-1052.  
[19] 耿放,王喜军. 5-羟甲基-2-糠醛(5-HMF)在中药复方中的研究现状及相关药效探讨[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2005,7(6):52-56,94.  
[20] 王兵,王亚新,赵红燕,等. 甘草的主要成分及其药理作用的研究进展[J]. 吉林医药学院学报,2013,34(3):215-218.

[责任编辑 顾雪竹]