

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)23-0071-06  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.23.016



# 一测多评法同时测定黄蛤培元膏中7种抗炎活性成分

徐伟<sup>1,2,3</sup>, 王靖雯<sup>4</sup>, 何清华<sup>1</sup>, 杨云芝<sup>1,2</sup>, 张明<sup>1,2</sup>, 杜晓楠<sup>2</sup>, 徐仕宏<sup>1Δ</sup>

(1. 四川省南充市中医医院, 四川 南充 637000; 2. 筋骨病中医药防治南充市重点实验室, 四川 南充 637000; 3. 大理大学药学院, 云南 大理 671000; 4. 四川省南充市食品药品检验所, 四川 南充 637000)

**摘要:**目的 建立同时测定黄蛤培元膏中莫诺苷、马钱苷、升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、淫羊藿苷、五味子醇甲7种抗炎活性成分含量的一测多评法。方法 黄蛤培元膏经50%甲醇提取。色谱柱为Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液(梯度洗脱), 流速为1.0 mL/min, 检测波长为260 nm, 柱温为30 °C, 进样量为5 μL。以淫羊藿苷为内标, 计算其他6种成分的相对校正因子, 分别以一测多评法和外标法测定含量, 通过2种方法的相对误差验证结果的可靠性。结果 莫诺苷、马钱苷、升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、淫羊藿苷、五味子醇甲的质量浓度分别在14.21~454.71 μg/mL、6.65~212.89 μg/mL、1.36~43.54 μg/mL、1.18~37.64 μg/mL、1.64~52.42 μg/mL、3.38~108.11 μg/mL、0.57~18.17 μg/mL范围内与峰面积积分值线性关系良好( $r > 0.9995$ ,  $n = 6$ ); 精密度、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于3.0% ( $n = 6$ ); 平均加样回收率为95.68%~99.50%, RSD为0.55%~2.41% ( $n = 6$ ); 以淫羊藿苷为内标, 莫诺苷、马钱苷、升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、五味子醇甲的相对校正因子分别为2.9955, 3.9476, 2.2251, 0.5843, 2.1549, 1.2557。一测多评法与外标法含量测定结果的相对偏差均在-1.3%~1.9%范围内。结论 该方法简单可靠、结果准确, 可用于黄蛤培元膏中7种抗炎活性成分的含量测定。

**关键词:**黄蛤培元膏; 一测多评法; 相对校正因子; 活性成分; 抗炎; 质量控制

## Simultaneous Determination of Seven Anti-inflammatory Active Components in Huangge Peiyuan Ointment by QAMS

XU Wei<sup>1,2,3</sup>, WANG Jingwen<sup>4</sup>, HE Qinghua<sup>1</sup>, YANG Yunzhi<sup>1,2</sup>, ZHANG Ming<sup>1,2</sup>, DU Yaonan<sup>2</sup>, XU Shihong<sup>1</sup>

(1. Nanchong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanchong, Sichuan, China 637000; 2. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine for Prevention and Treatment of Skeletal Muscle Disease in Nanchong, Nanchong, Sichuan, China 637000; 3. School of Pharmacy, Dali University, Dali, Yunnan, China 671000; 4. Nanchong Institute for Food and Drug Control, Nanchong, Sichuan, China 637000)

**Abstract: Objective** To establish a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for the simultaneous determination of seven anti-inflammatory active components (morrisonide, loganin, prim-O-glucosylcimifugin, galycosin 7-O-β-D-glucopyranoside, 5-O-methylvisammioside, icariin, schisandrin) in Huangge Peiyuan Ointment. **Methods** Huangge Peiyuan Ointment was extracted with 50% methanol. The chromatographic column was Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.2% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 260 nm, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 5 μL. With icariin as the internal standard, the relative correction factors of the other six components were calculated, and their contents were determined by the QAMS method and the external standard method. The reliability of the results was verified through the relative errors of the two methods. **Results** The linear ranges of morrisonide, loganin, prim-O-glucosylcimifugin, galycosin 7-O-β-D-glucopyranoside, 5-O-methylvisammioside, icariin, and schisandrin were 14.21-454.71 μg/mL, 6.65-212.89 μg/mL, 1.36-43.54 μg/mL, 1.18-37.64 μg/mL, 1.64-52.42 μg/mL, 3.38-108.11 μg/mL, and 0.57-18.17 μg/mL ( $r > 0.9995$ ,  $n = 6$ ), respectively. The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 3.0% ( $n = 6$ ). The average recoveries of the above seven components were in the ranges of 95.68% - 99.50%, with RSDs of 0.55% - 2.41% ( $n = 6$ ). With icariin as the internal standard, the relative correction factors of morrisonide, loganin, prim-O-glucosylcimifugin, galycosin 7-O-β-D-glucopyranoside, 5-O-methylvisammioside, icariin, and schisandrin were 2.9955, 3.9476, 2.2251, 0.5843, 2.1549, and 1.2557, respectively. The relative deviation between the content determination result of the QAMS method and that of the external standard method was ranged from -1.3% to 1.9%. **Conclusion** The method is simple, reliable, and accurate, which can be used for the content determination of seven anti-inflammatory active components in Huangge Peiyuan Ointment.

**Key words:** Huangge Peiyuan Ointment; QAMS; relative correction factors; active components; anti-inflammatory; quality control

\* 基金项目: 四川省科技计划项目[2021YFS0270]; 四川省南充市科技计划项目[22YYJCYJ0062, 22ZXKTYJ0012]。

第一作者: 徐伟, 男, 博士研究生在读, 药师, 研究方向为中药成分分析与质量标准, (电子信箱)1020009063@qq.com。

Δ通信作者: 徐仕宏, 男, 大学本科, 主任医师, 研究方向为心内科疾病的临床诊治, (电子信箱)3090603046@qq.com。

慢性阻塞性肺疾病是临床常见慢性呼吸系统疾病,病理特征表现为异常的气道炎症,临床表现为慢性咳嗽、咳痰、气短、胸闷、喘息等,病程长,易反复发作<sup>[1]</sup>。目前,西医治疗仅能缓解呼吸道症状,减轻痛苦,不能阻止疾病的进展。中医认为,慢性阻塞性肺疾病属“肺胀”“喘证”“肺肾气虚”等范畴,应采用未病先防、既病防变的用药理念<sup>[2-3]</sup>。黄蛤培元方为治慢性阻塞性肺疾病稳定期的肺胀肺肾气虚经验方,主要由黄芪、蛤蚧、防风、淫羊藿、山茱萸、五味子、浙贝母等中药材组方,具有益气固表、补肾纳气、化痰止咳功效。该方以汤剂形式已在临床应用15年,疗效明显,但存在煎煮烦琐、不便携带与储存、患者依从性差等问题。因此,在不改变原有汤剂物质基础的前提下将其开发为医院制剂黄蛤培元膏。本研究中建立了同时测定该制剂中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、淫羊藿苷、莫诺苷、马钱苷、五味子醇甲7种抗炎活性成分含量的一测多评法,并以外标法验证其测定结果的可靠性,为其质量控制提供参考。现报道如下。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Ultimate 3000型高效液相色谱仪(美国 Thermo Fisher 科技公司);Agilent 1260 Infinity 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);ES1035B型分析天平(精度为十万分之一),FA2004型分析天平(精度为万分之一),均购自上海力辰科技仪器有限公司;G-100S型超声波清洗器(深圳市哥能清洗设备有限公司,功率为600 W,频率为40 kHz);RE-1102型旋转蒸发器(上海嘉鹏科技有限公司);LCK2000型煎药机(天津三延精密机械有限公司)。

### 1.2 试药

黄蛤培元膏(医院制剂,批号分别为20220801, 20220802, 20220901, 20221001, 20221002, 20221201);莫诺苷对照品(批号为111998-202205,纯度为98.4%),马钱苷对照品(批号为111640-201808,纯度为99.0%),升麻素苷对照品(批号为111522-202214,纯度为95.7%),毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品(批号为110708-201908,纯度为96.8%),5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品(批号为111523-202212,纯度为97.8%),淫羊藿苷对照品(批号为110737-202017,纯度为98.1%),五味子醇甲对照品(批号为110857-201815,纯度为99.7%),均购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件<sup>[4]</sup>

色谱柱:Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub>柱(250 mm ×

4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.2%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~10 min时10%A,10~35 min时10%A→25%A,35~60 min时25%A→58%A,60~63 min时58%A→10%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:260 nm;柱温:30℃;进样量:5 μL。

### 2.2 溶液制备

分别取莫诺苷、马钱苷、升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、淫羊藿苷、五味子醇甲对照品各适量,精密称定,加50%甲醇溶液制成上述7种成分质量浓度分别为1 049.34, 1 065.45, 326.53, 564.53, 1 048.42, 1 081.06, 1 089.92 μg/mL的混合对照品贮备液。精密吸取各对照品贮备液适量,加50%甲醇溶液制成质量浓度分别为454.71, 212.89, 43.54, 37.64, 52.42, 108.11, 18.17 μg/mL的混合对照品溶液。取样品5.0 g,精密称定,加50%甲醇溶液25 mL,称定质量,超声处理30 min,冷却至室温,再称定质量,加50%甲醇溶液补足减失的质量,混匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。按黄蛤培元膏处方和工艺分别制备缺黄芪、防风、淫羊藿、山茱萸、五味子的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

### 2.3 方法学考察

专属性试验:取2.2项下供试品溶液、混合对照品溶液和阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果7种成分的色谱峰均达到基线分离,理论板数按色谱峰计大于3 000,且阴性对照无干扰。色谱图见图1。

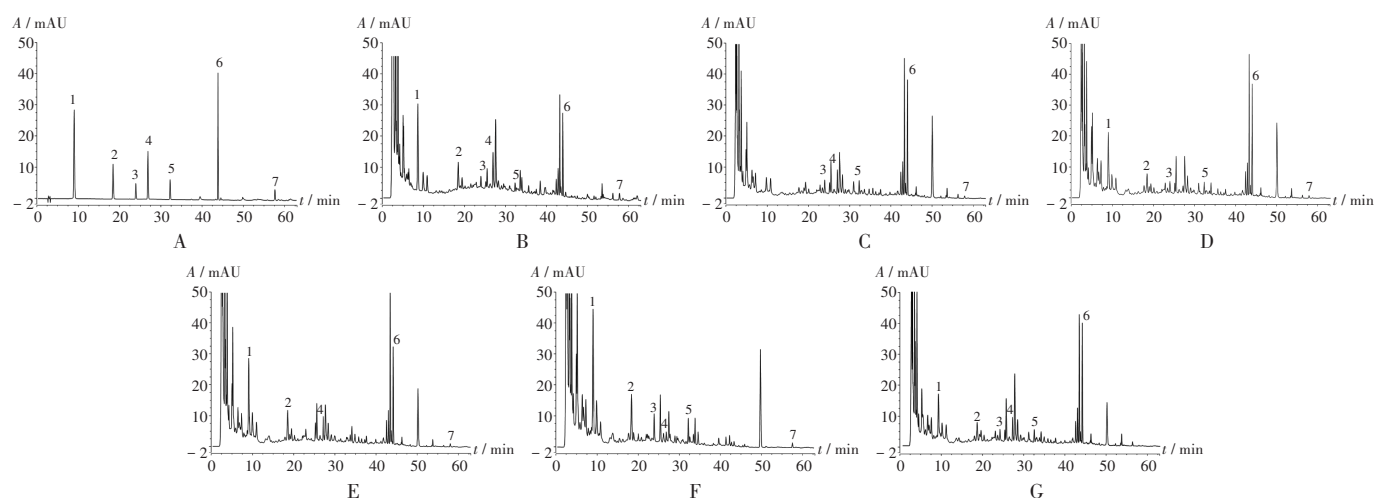
线性关系考察与检测限和定量限确定:精密吸取2.2项下混合对照品溶液,加50%甲醇溶液采用2倍稀释法逐级稀释成6个系列质量浓度的混合对照品标准溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,以各成分质量浓度(X, μg/mL)为横坐标、峰面积积分值(Y)为纵坐标进行线性回归,并分别以信噪比(S/N)为1和3时的响应值为检测限和定量限。结果见表1。

精密度试验:取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果见表1,表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(批号为20220801)适量,精密称定,按2.2项下方法平行制备供试品溶液6份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果见表1,表明方法重复性良好。

稳定性试验:取重复性试验项下供试品溶液适量,分别在室温下于0, 2, 4, 6, 12, 24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果见表1,表明供试品溶液室温放置24 h内稳定性良好。

加样回收试验:取已知7个成分含量的样品(批号



1. 莫诺苷 2. 马钱苷 3. 升麻素苷 4. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 5. 5-O-甲基维斯阿米醇苷 6. 淫羊藿苷 7. 五味子醇甲  
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C - G. 阴性对照品溶液(分别缺山茱萸、黄芪、防风、淫羊藿、五味子)

图1 高效液相色谱图

1. Morroniside 2. Loganiin 3. Prim-O-glucosylcimifugin 4. Galycosin 7-O-β-D-glucopyranoside 5. 5-O-methylvisammioside  
6. Icarin 7. Schisandrin

A. Mixed reference solution B. Test solution C - G. Negative reference solution (lacking Corni Fructus, Astragali Radix, Saposhnikoviae Radix, Epimedii Folium, and Schisandrae Chinensis Fructus, respectively)

Fig. 1 HPLC chromatograms

表1 方法学考察结果(n=6)

Tab. 1 Results of the methodological investigation (n=6)

成分	回归方程	r	线性范围 (μg/mL)	检测限 (μg/mL)	定量限 (μg/mL)	RSD(%)			加样回收试验(%)	
						精密度试验	重复性试验	稳定性试验	平均回收率	RSD
莫诺苷	$Y = 0.0502X + 0.0052$	1.0000	14.21~454.71	0.2843	0.8528	0.10	0.36	0.28	96.92	0.97
马钱苷	$Y = 0.0376X + 0.0171$	0.9998	6.65~212.89	0.3992	1.3306	0.44	0.54	0.27	97.80	1.50
升麻素苷	$Y = 0.0660X + 0.0143$	0.9998	1.36~43.54	0.1088	0.4080	0.30	2.32	2.04	98.27	1.26
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y = 0.2476X + 0.0671$	0.9996	1.18~37.64	0.0470	0.2352	0.27	2.15	0.96	97.38	0.80
5-O-甲基维斯阿米醇苷	$Y = 0.0687X + 0.0107$	0.9999	1.64~52.42	0.0983	0.3276	0.15	1.34	2.42	98.49	0.56
淫羊藿苷	$Y = 0.1486X + 0.0336$	1.0000	3.38~108.11	0.0676	0.2027	0.10	0.22	0.19	99.50	0.55
五味子醇甲	$Y = 0.1207X - 0.0035$	1.0000	0.57~18.17	0.0227	0.1136	2.07	1.45	2.01	95.68	2.41

为20220801)适量,精密称定,平行6份,按100%加入2.2项下对照品贮备液,依法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,并计算回收率。结果见表1,表明方法准确度良好。

#### 2.4 相对校正因子建立

相对校正因子:精密吸取线性关系考察项下系列质量浓度的混合对照品溶液,平行2份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以淫羊藿苷(S)为内标,按公式计算各成分的相对校正因子( $f$ ), $f_{i/s} = (C_i \times A_s) / (C_s \times A_i)$ 。式中, $C_i$ (μg/mL)为待测成分的质量浓度, $A_s$ 为内标峰面积, $C_s$ (μg/mL)为内标的质量浓度, $A_i$ 为待测成分的峰面积。计算淫羊藿苷(S)、莫诺苷(A)、马钱苷(B)、升麻素苷(C)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(D)、5-O-甲基维斯阿米醇苷(E)、五味子醇甲(F)的相对

校正因子,结果的RSD分别为1.28%,1.81%,0.99%,1.65%,1.13%,2.28%。详见表2。

表2 7种成分的相对校正因子(n=2)

Tab. 2 Relative correction factors of seven components (n=2)

序号	$f_{A/S}$	$f_{B/S}$	$f_{C/S}$	$f_{D/S}$	$f_{E/S}$	$f_{F/S}$
1	2.9650	3.9450	2.2409	0.5720	2.1306	1.2352
2	3.0642	3.9945	2.2428	0.5899	2.1946	1.2985
3	3.0160	3.9116	2.2143	0.5832	2.1566	1.2761
4	2.9928	3.8725	2.1920	0.5802	2.1449	1.2515
5	2.9698	4.0246	2.2182	0.5799	2.1424	1.2485
6	2.9650	3.9372	2.2426	0.6007	2.1603	1.2241
$\bar{x}$	2.9955	3.9476	2.2251	0.5843	2.1549	1.2557

相对校正因子( $f$ )耐用性考察:取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件进样测定,分别考察不同流速(0.9,1.0,1.1 mL/min),不同柱温(25,30,

35 °C),不同进样量(2.5, 5.0, 7.5 μL),不同仪器(Ultimate 3000型高效液相色谱仪, Agilent 1260 Infinity 型高效液相色谱仪),不同色谱柱[Agilent Eclipse XDB - C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Agilent Zorbax SB - C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Agilent Zorbax SB - Phenyl柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)]对7种成分相对校正因子(*f*)的影响。结果*RSD*均小于3.0%(*n* = 3),表明不同色谱条件对7种成分的相对校正因子(*f*)无显著影响。详见表3。

表3 不同色谱条件下7种成分的相对校正因子(*f*)考察结果(*n* = 3)

Tab. 3 Results of relative correction factors (*f*) of seven components under different chromatographic conditions (*n* = 3)

考察因素	<i>f</i> <sub>A/S</sub>	<i>f</i> <sub>B/S</sub>	<i>f</i> <sub>C/S</sub>	<i>f</i> <sub>D/S</sub>	<i>f</i> <sub>E/S</sub>	<i>f</i> <sub>F/S</sub>		
流速	0.9 mL/min	3.094 9	4.069 3	2.302 0	0.602 8	2.215 7	1.266 7	
	1.0 mL/min	2.990 8	3.873 6	2.218 7	0.581 7	2.155 7	1.226 6	
	1.1 mL/min	3.103 3	4.013 5	2.290 6	0.599 9	2.218 8	1.205 2	
	$\bar{X}$	3.063 0	3.985 4	2.270 4	0.594 8	2.196 7	1.232 8	
柱温	25 °C	3.045 5	3.979 5	2.254 4	0.590 3	2.200 7	1.227 4	
	30 °C	2.991 5	3.883 2	2.217 7	0.582 6	2.157 7	1.210 3	
	35 °C	3.042 3	3.941 3	2.258 6	0.594 7	2.198 6	1.249 0	
	$\bar{X}$	3.026 4	3.934 6	2.243 6	0.589 2	2.185 7	1.228 9	
进样量	2.5 μL	3.113 5	4.082 5	2.307 7	0.601 3	2.243 2	1.227 6	
	5.0 μL	3.045 6	3.983 3	2.254 4	0.588 9	2.199 8	1.211 2	
	7.5 μL	3.004 8	3.919 5	2.214 9	0.579 1	2.158 9	1.207 5	
	$\bar{X}$	3.054 6	3.995 1	2.259 0	0.589 8	2.200 6	1.215 4	
仪器与色谱柱	Ultimate 3000型	SB - Phenyl柱	2.992 4	3.895 2	2.214 5	0.583 0	2.156 1	1.204 4
		SB - C <sub>18</sub> 柱	2.998 3	3.906 8	2.260 6	0.584 0	2.153 2	1.224 6
		XDB - C <sub>18</sub> 柱	2.967 8	3.856 4	2.220 4	0.580 4	2.154 1	1.273 9
	Agilent 1260型	SB - Phenyl柱	3.008 0	3.906 7	2.223 0	0.585 7	2.165 0	1.224 2
		SB - C <sub>18</sub> 柱	2.987 4	3.896 8	2.208 2	0.582 5	2.172 1	1.221 1
		XDB - C <sub>18</sub> 柱	3.012 9	3.925 7	2.248 3	0.587 9	2.189 3	1.271 8
	$\bar{X}$	2.994 5	3.897 9	2.229 1	0.583 9	2.165 0	1.236 7	

## 2.5 待测成分色谱峰定位

取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定3次,以相对保留时间(*R*)对各成分色谱峰进行定位,以淫羊藿苷(*S*)为内标,按公式计算各成分相对淫羊藿苷的相对保留时间(*R*<sub>*i*/s</sub>)。  $R_{i/s} = t_i / t_s$ , 式中, *t*<sub>s</sub>为内标峰保留时间, *t*<sub>*i*</sub>为待测峰保留时间。结果*RSD*均小于3.0%(*n* = 3),表明不同条件下各成分的相对保留时间无显著差异。详见表4。

## 2.6 一测多评法验证

取6批样品(批号分别为20220801, 20220802, 20220901, 20221001, 20221002, 20221201)各适量,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下

表4 不同色谱条件下7种成分的相对保留时间考察结果(*n* = 3)

Tab. 4 Results of relative retention time of seven components under different chromatographic conditions (*n* = 3)

仪器	色谱柱	<i>R</i> <sub>A/S</sub>	<i>R</i> <sub>B/S</sub>	<i>R</i> <sub>C/S</sub>	<i>R</i> <sub>D/S</sub>	<i>R</i> <sub>E/S</sub>	<i>R</i> <sub>F/S</sub>
Ultimate 3000型	XDB - C <sub>18</sub> 柱	0.194 6	0.401 8	0.532 7	0.595 5	0.708 7	1.309 5
	SB - C <sub>18</sub> 柱	0.207 8	0.412 1	0.526 5	0.607 1	0.724 6	1.305 6
	SB - Phenyl柱	0.196 2	0.412 1	0.523 1	0.610 8	0.726 9	1.319 9
Agilent 1260型	XDB - C <sub>18</sub> 柱	0.203 8	0.407 0	0.536 4	0.603 8	0.728 6	1.314 2
	SB - C <sub>18</sub> 柱	0.202 4	0.406 2	0.534 8	0.607 1	0.726 0	1.315 6
	SB - Phenyl柱	0.204 6	0.417 0	0.536 2	0.608 9	0.719 1	1.291 4
$\bar{X}$		0.201 6	0.409 4	0.531 6	0.605 5	0.722 3	1.309 4

色谱条件进样测定,记录7种成分的峰面积。分别按一测多评法和外标法计算各成分含量,以相对误差(*RE*)验证一测多评法的可行性。  $RE = (C_b - C_a) / C_a$ , 式中, *C*<sub>a</sub>(μg/g)为外标法所得含量, *C*<sub>b</sub>(μg/g)为一测多评法所得含量。结果*RE*在-1.3%~1.9%范围内,表明2种方法测定结果无显著差异。详见表5。

表5 6批样品一测多评法与外标法含量测定结果

Tab. 5 Comparison of content determination results of six batches of samples by the QAMS method and the external standard method

批号	方法	淫羊藿苷	莫诺苷	马钱苷	升麻素苷	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	5- <i>O</i> -甲基维斯阿米醇苷	五味子醇甲
20220801	外标法(μg/g)	66.12	282.95	137.50	31.33	27.91	46.56	9.95
	一测多评法(μg/g)		281.97	137.22	31.48	28.00	46.36	9.82
	相对误差(%)		-0.34	-0.20	0.51	0.35	-0.42	-1.24
20220802	外标法(μg/g)	117.97	445.03	238.18	53.48	24.37	56.62	13.29
	一测多评法(μg/g)		446.50	237.82	53.41	24.81	56.63	13.27
	相对误差(%)		0.33	-0.15	-0.15	1.77	0.03	-0.13
20220901	外标法(μg/g)	117.47	452.96	245.59	53.09	23.80	57.27	12.73
	一测多评法(μg/g)		454.43	245.14	53.02	24.25	57.28	12.71
	相对误差(%)		0.32	-0.18	-0.14	1.90	0.01	-0.18
20221001	外标法(μg/g)	84.74	511.08	181.20	46.82	23.96	52.50	41.73
	一测多评法(μg/g)		510.78	180.79	46.71	24.32	52.37	41.83
	相对误差(%)		-0.06	-0.22	-0.24	1.49	-0.24	0.25
20221002	外标法(μg/g)	75.04	607.27	213.35	51.98	23.37	60.39	23.28
	一测多评法(μg/g)		605.80	212.11	51.66	23.71	60.03	23.23
	相对误差(%)		-0.24	-0.58	-0.63	1.45	-0.60	-0.20
20221201	外标法(μg/g)	105.91	405.36	223.90	47.90	24.35	51.05	11.82
	一测多评法(μg/g)		406.30	223.45	47.89	24.76	51.08	11.78
	相对误差(%)		0.23	-0.20	-0.02	1.67	0.07	-0.37

## 3 讨论

### 3.1 指标性成分选择

临床研究证实,慢性阻塞性肺疾病病理特征表现为异常的气道炎症,炎症与慢性阻塞性肺疾病的发展及急性加重密切相关<sup>[5-7]</sup>。黄蛤培元膏中,黄芪、蛤蚧、淫羊藿为君药,黄芪的活性成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷

可减少促炎因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素6(IL-6)、单核细胞趋化蛋白-1的分泌<sup>[8]</sup>;淫羊藿的活性成分淫羊藿苷的抗炎作用强大<sup>[9]</sup>,可通过调节Th1/Th2通路和抑制核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)通路改善哮喘诱导的气道炎症,缓解哮喘模型大鼠的病理改变<sup>[10-12]</sup>;防风的活性成分升麻素苷可通过抑制Janus激酶2/信号转导及转录激活因子3(JAK2/STAT3)的磷酸化来抑制诱导型一氧化氮合酶、环氧合酶2(COX-2)的表达,发挥抗炎作用<sup>[13]</sup>,5-O-甲基维斯阿米醇苷能明显抑制促炎因子TNF- $\alpha$ 引起的平滑肌细胞增殖<sup>[14]</sup>;山茱萸的活性成分莫诺苷可通过降低促炎因子IL-1 $\beta$ ,IL-6,TNF- $\alpha$ 水平,下调炎性介质COX-2、基质金属蛋白酶3(MMP3)、MMP13的表达来减轻炎症反应<sup>[15-16]</sup>,而马钱苷可调节胞外信号调节激酶和NF- $\kappa$ B通路,极化巨噬细胞和激活核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3,表现出的抗炎作用可用于缓解急性肺功能损伤<sup>[17]</sup>;五味子的活性成分五味子醇甲可通过抑制NF- $\kappa$ B通路和激活磷脂酰肌醇-3-激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(PI3K/Akt)通路来实现抗炎活性<sup>[18]</sup>。因此,选择毛蕊异黄酮葡萄糖苷、淫羊藿苷、升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、莫诺苷、马钱苷、五味子醇甲为定量分析的指标性成分,以全面反映制剂的质量。

### 3.2 内参物选择

淫羊藿苷为方中君药淫羊藿的活性成分,其抗炎作用显著,且价格低廉易得,色谱峰峰形良好及附近干扰成分少,符合内参物的选择要求<sup>[19]</sup>。故内参物选择淫羊藿苷,以实现对其他6种活性成分的同时定量测定。

### 3.3 色谱条件选择

考察了莫诺苷(240 nm)、马钱苷(240 nm)、升麻素苷(254 nm)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(260 nm)、5-O-甲基维斯阿米醇苷(254 nm)、淫羊藿苷(270 nm)、五味子醇甲(250 nm)在其最大吸收波长下其他目标峰的峰面积,当检测波长为260 nm时,杂质峰干扰小,各目标峰的峰面积较理想,故检测波长选择260 nm;考察了不同流动相体系(甲醇-0.2%磷酸水溶液、乙腈-水、乙腈-0.2%磷酸水溶液)对7种活性成分与杂质峰分离效果的影响,结果乙腈-0.2%磷酸水溶液的分离效果最佳,故流动相选择乙腈-0.2%磷酸水溶液。

### 3.4 方法评价

本研究中建立的一测多评法科学可行、简便快捷、稳定可靠、重复性好、结果准确,可用于同时测定黄蛤培元膏中7种成分的含量,且测定结果与外标法测定结果无显著差异。

### 参考文献

[1] ATHANAZIO R. Airway disease: similarities and differences

between asthma, COPD and bronchiectasis [J]. Clinics, 2012, 67: 1335 - 1343.

- [2] 夏慧敏,陈志祥,张华. 张华运用参苓白术散加减治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期经验介绍[J]. 中国医药科学, 2021, 11(23): 108 - 111.
- [3] 田燕歌. “治未病”理论在慢性阻塞性肺疾病防治中的应用[J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(4): 640 - 641.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 29 - 341.
- [5] CHUNG KF, ADCOCK IM. Multifaceted mechanisms in COPD: inflammation, immunity, and tissue repair and destruction [J]. European Respiratory Journal, 2008, 31(6): 1334 - 1356.
- [6] DONALDSON GC, SEEMUNGAL TAR, PATEL IS, et al. Airway and systemic inflammation and decline in lung function in patients with COPD [J]. Chest, 2005, 128(4): 1995 - 2004.
- [7] 周海, 郝琴. IL-1, IL-6, IL-8, IL-17与慢性阻塞性肺病相关性研究新进展[J]. 中外医疗, 2018, 37(6): 193 - 195.
- [8] HOO RLC, WONG JYL, QIAO CF, et al. The effective fraction isolated from Radix Astragali alleviates glucose intolerance, insulin resistance and hypertriglyceridemia in db/db diabetic mice through its anti-inflammatory activity [J]. Nutrition & Metabolism, 2010, 7: 1 - 12.
- [9] BI Z, ZHANG W, YAN X. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of icariin and icaritin [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 151: 113180.
- [10] WEI Y, LIU B, SUN J, et al. Regulation of Th17/Treg function contributes to the attenuation of chronic airway inflammation by icariin in ovalbumin-induced murine asthma model [J]. Immunobiology, 2015, 220(6): 789 - 797.
- [11] LI B, DUAN X, XU C, et al. Icariin attenuates glucocorticoid insensitivity mediated by repeated psychosocial stress on an ovalbumin-induced murine model of asthma [J]. International Immunopharmacology, 2014, 19(2): 381 - 390.
- [12] LIU J, LIU L, SUN J, et al. Icariin protects hippocampal neurons from endoplasmic reticulum stress and NF- $\kappa$ B mediated apoptosis in fetal rat hippocampal neurons and asthma rats [J]. Frontiers in Pharmacology, 2020, 10: 01660.
- [13] ZHOU J, SUN YY, SUN MY, et al. Prim-O-glucosylcimifugin attenuates Lipopolysaccharide-induced inflammatory response in RAW 264.7 macrophages [J]. Pharmacognosy Magazine, 2017, 13(51): 378 - 384.
- [14] 王岚, 梁日欣, 曹莹, 等. 升麻苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷对TNF- $\alpha$ 所致大鼠胸主动脉平滑肌细胞增殖的影响[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(17): 2157 - 2160.
- [15] PARK E, LEE CG, HAN SJ, et al. Antiosteoarthritic effect of morroniside in chondrocyte inflammation and destabilization of medial meniscus-induced mouse model [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(6): 2987.