

中图分类号: R932; R284.1; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)13-0041-07
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.13.008



四子定喘颗粒指纹图谱建立与抗哮喘作用研究*

古丽斯热·吾买尔¹, 赵生俊^{2,3}, 张莹¹, 姜德⁴, 张海英^{2,3,Δ}

(1. 新疆医科大学第四临床医学院, 新疆 乌鲁木齐 830000; 2. 新疆医科大学附属中医医院, 新疆 乌鲁木齐 830000; 3. 新疆中药炮制研究重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830000; 4. 新疆医科大学中医学院, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要:目的 建立四子定喘颗粒的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱, 验证其抗哮喘作用。方法 建立小试/中试样品 HPLC 指纹图谱, 并计算相似度, 测定指标性成分的含量, 验证大生产的稳定性。通过大鼠离体气管环实验, 以解痉率为效果评价指标, 观察不同提取工艺的四子定喘颗粒样品在静息状态、乙酰胆碱诱导与磷酸组胺诱导的痉挛状态下对支气管张力的影响。采用灰色关联分析和偏最小二乘法, 建立指纹图谱共有峰与药效的谱效关系。结果 指纹图谱共标定 18 个共有峰, 其中峰 17 被指认为黄芩苷, 相似度均 ≥ 0.992 。HPLC 法测定 10 批样品中黄芩苷的平均含量为 9.34 mg/g。四子定喘颗粒能舒张大鼠离体气管平滑肌, 显著缓解乙酰胆碱及磷酸组胺诱导的支气管收缩。谱效关系分析结果显示, 峰 17、峰 6、峰 3、峰 4 与药效的相关性最明显。结论 四子定喘颗粒可有效缓解支气管哮喘, 黄芩苷可能是其抗哮喘作用的潜在药效物质基础。

关键词: 四子定喘颗粒; 支气管哮喘; 指纹图谱; 谱效关系; 黄芩苷

Establishment of Fingerprints of Sizi Dingchuan Granules and Study on Its Anti - Asthmatic Effect

Gulisire · Wumaier¹, Zhao Shengjun^{2,3}, Zhang Ying¹, Jiang De⁴, Zhang Haiying^{2,3,Δ}

(1. College of Fourth Clinical Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 2. Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 3. Xinjiang Key Laboratory of Processing and Research of Traditional Chinese Medicine, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 4. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China)

Abstract: Objective To establish high - performance liquid chromatography (HPLC) fingerprints of Sizi Dingchuan Granules, and

* 基金项目: 新疆维吾尔自治区卫生健康委员会“天山英才”医药卫生高层次人才培养计划项目 [TSYC202301B011]; 新疆医科大学科研创新团队项目 [XYD2024C02]。

第一作者: 古丽斯热·吾买尔, 女, 维吾尔族, 硕士研究生在读, 研究方向为中药药理学、中药复方制剂, (电子信箱) 1491903102@qq.com。

Δ通信作者: 张海英, 女, 博士研究生, 教授, 主任中药师, 研究方向为中药药理学、中药复方制剂, (电子信箱) 1030737878@qq.com。

eases: implications and analytical tools[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 693563.

[12] Francis K L, Zheng H B, Suskind D L, et al. Characterizing the human intestinal chondroitin sulfate glycosaminoglycan sulfation signature in inflammatory bowel disease [J]. Sci Rep, 2024, 14: 11839.

[13] 杨洋, 游翠玉, 邓祥, 等. 抗炎抗氧化结肠靶向纳米水凝胶的表征与靶向性研究[J]. 中国药业, 2026, 35(9): 32-39.

[14] Silva I, Solas J, Pinto R, et al. Chronic experimental model of TNBS - induced colitis to study inflammatory bowel disease[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(9): 4739.

[15] Ferreira - Duarte A, Rodrigues - Pinto R, Menezes - Pinto P, et al. 2, 4, 6 - trinitrobenzenesulfonic acid - induced colitis in Rattus norvegicus: a categorization proposal [J]. Exp Anim, 2021, 70(2): 245 - 256.

[16] Pang L, Wang T, Liao Q, et al. Protective role of ergothioneine isolated from Pleurotus ostreatus against dextran sulfate sodium - induced ulcerative colitis in rat model [J]. J Food Sci, 2022, 87(1): 415 - 426.

[17] Zeeshan M, Ain Q U, Weigmann B, et al. Dual pH and micro - bial - sensitive galactosylated polymeric nanocargoes for multi - level targeting to combat ulcerative colitis [J]. Asian J Pharm Sci, 2023, 18(4): 100831.

[18] Ruan Y, Zhu X L, Shen J B, et al. Mechanism of Nicotiflorin in San - Ye - Qing rhizome for anti - inflammatory effect in ulcerative colitis [J]. Phytomedicine, 2024, 129: 155564.

[19] Chen Y J, Wang J Y, Li J T, et al. Astragalus polysaccharide prevents ferroptosis in a murine model of experimental colitis and human Caco - 2 cells via inhibiting NRF2 / HO - 1 pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2021, 911: 174518.

[20] Chen Y, Zhang Q, Sun L F, et al. Ginsenoside Rg₁ attenuates dextran sodium sulfate - induced ulcerative colitis in mice [J]. Physiol Res, 2023, 72(6): 783 - 792.

[21] Wang X J, Huang S W, Zhang M L, et al. Gegen Qinlian decoction activates AhR / IL - 22 to repair intestinal barrier by modulating gut microbiota - related tryptophan metabolism in ulcerative colitis mice [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 302(Pt B): 115919.

(收稿日期: 2025 - 08 - 31; 修回日期: 2026 - 02 - 02)

to verify its anti - asthma effect. **Methods** HPLC fingerprints of small - scale and pilot - scale samples were established, the similarity was calculated, the content of indicator components was determined, and the stability of large - scale production was verified. Through the experiment of isolated tracheal rings in rats, the effect of different extraction processes of Sizi Dingchuan Granules samples on bronchial tension under resting state, and in the presence of acetylcholine and histamine phosphate - induced spasm was observed with spasmolysis rate as the evaluation index. The grey relational analysis and partial least squares regression were used to establish the spectral - effect relationship between common peaks in fingerprints and drug efficacy. **Results** A total of 18 common peaks were calibrated in the fingerprints, of which peak 17 was identified as baicalin, with similarity ≥ 0.992 . The average content of baicalin in 10 batches of samples was 9.34 mg / g. Sizi Dingchuan Granules could relax the isolated smooth muscle of rats' trachea, significantly alleviate acetylcholine and histamine phosphate - induced bronchial constriction. The spectral - effect relationship analysis results showed that peak 17, peak 6, peak 3, and peak 4 had the most significant correlation with drug efficacy. **Conclusion** Sizi Dingchuan Granules can effectively alleviate bronchial asthma, and baicalin may be the potential pharmacological substance basis for its anti - asthmatic effect.

Key words: Sizi Dingchuan Granules; bronchial asthma; fingerprints; spectral - effect relationship; baicalin

支气管哮喘(简称哮喘)为临床常见慢性气道炎症性疾病。流行病学研究显示,中国人群哮喘的发病率持续上升^[1]。目前,西医仍是主要治疗手段,但其副作用较大,防治效果有限。中医在治本、调节机体功能等方面展现出了独特优势。四子定喘颗粒为新疆医科大学附属中医医院自主研发的中药复方制剂,由紫苏子、黄芩、炙麻黄等7味中药材科学配伍而成,临床用于治疗支气管哮喘及慢性阻塞性肺疾病,可显著缓解患者的气喘、胸闷等症状。指纹图谱技术通过整合色谱或光谱数据,全面表征中药的多组分体系,已成为中药质量控制的核心手段。谱效关系研究通过关联化学特征与药效指标^[2],不仅可揭示药效的物质基础^[3],还可阐明中药的多靶点作用机制。为此,在前期工艺优化试验基础上,本研究中建立了四子定喘颗粒的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,采用HPLC法测定了指标性成分的含量,结合离体气管环实验评价其治疗哮喘的作用,并分析了其色谱峰与抗哮喘药效的相关性。现报道如下。

1 仪器、试药与动物

1.1 仪器

e2695型HPLC仪(美国Waters公司);SI-234型电子天平(丹佛仪器<北京>有限公司,精度为万分之一);KDM型可调控温电热套(山东鄞城光明仪器有限公司);GZX-GF101-2-BS-II/H型电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械有限公司);SK250LHC型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司,功率为240W,频率为35kHz);HHS-24型电子恒温不锈钢水浴锅(上海宜昌仪器纱筛厂);BL-420S型生物机能系统(成都泰盟软件有限公司);ZH-GL型离体组织灌流装置(安徽正华生物仪器设备有限公司)。

1.2 试药

甲醇(批号为2007L-21063),乙腈(批号为2007L-

33055),均为色谱纯,购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;磷酸(天津永晟精细化工有限公司,批号为20180425);水为娃哈哈纯净水;四子定喘颗粒小试样品(新疆医科大学附属中医医院药研室,批号分别为241018,241019,241020,241021,241022,241023,241024);四子定喘颗粒中试样品(新奇康药业股份有限公司,批号分别为241160,241161,241162,规格为每袋15g);Krebs-Henseleit缓冲液(K-H缓冲液,美国Sigma-Aldrich公司);乙酰胆碱(ACh,批号为#242883),磷酸组胺(His,批号为No. 620F0222),均购自新疆赛奥生物医学科技有限公司;9个正交试验样品(实验室自制,编号为正交1至正交9,批号分别为20241110,20241111,20241112,20241113,20241114,20241117,20241118,20241119,20241120);优化工艺样品(实验室自制,编号为正交10,批号为20241125);所用处方中药材均购自亳州市惠康堂中药科技有限公司;黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号为110715-201016,含量为94.0%)。

1.3 动物

无特定病原体(SPF)级SD大鼠36只,雄性,体重250~300g,由新疆医科大学动物中心提供,实验动物生产许可证号为SCXK(新)2023-0003,自由进食、饮水,在温度为(22±3)℃、相对湿度为(40±5)%、12h/12h明暗交替的环境下适应性喂养1周。

2 方法与结果

2.1 HPLC 指纹图谱建立

2.1.1 色谱条件

色谱柱:Xterram[®] C₁₈柱(250mm×4.6mm,5μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~5min时15%A,5~15min时15%A→25%A,15~25min时25%A,25~35min时25%A→15%A);流速:1.0mL/min;检测波长:280nm;柱温:30℃;进样量:10μL。

2.1.2 溶液制备

取黄芩苷对照品适量,精密稳定,用甲醇溶解并定容,制成质量浓度为0.830 mg/mL的黄芩苷对照品溶液。取四子定喘颗粒中试/小试样品各1.0 g,精密称定,加甲醇10 mL,超声提取(功率为240 W,频率为35 kHz)60 min,冷却,用甲醇补足减失的质量,摇匀,0.45 μm微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。

2.1.3 方法学考察

精密密度试验:取2.1.2项下黄芩苷对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件连续进样测定6次,根据主要色谱峰相对保留时间和峰面积计算相对标准偏差。结果保留时间的RSD为0.12%~0.69%(n=6),峰面积的RSD为0.27%~1.58%(n=6),表明仪器精密密度良好。

稳定性试验:取2.1.2项下供试品溶液,分别于制备后室温放置0,2,4,8,12,24 h时按2.1.1项下色谱条件进样测定。结果主要色谱峰保留时间的RSD为0.06%~1.81%(n=6),峰面积的RSD为0.27%~1.60%(n=6),表明供试品溶液在室温放置24 h内稳定性良好。

重复性试验:取小试样品(批号为241018)1.0 g,平行6份,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定。结果主要色谱峰保留时间的RSD为0.16%~1.78%(n=6),峰面积的RSD为0.35%~1.60%(n=6),表明方法重复性良好。

2.1.4 指纹图谱建立与相似度评价

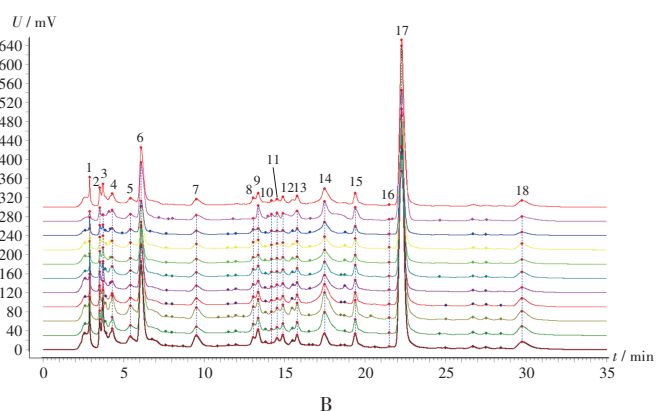
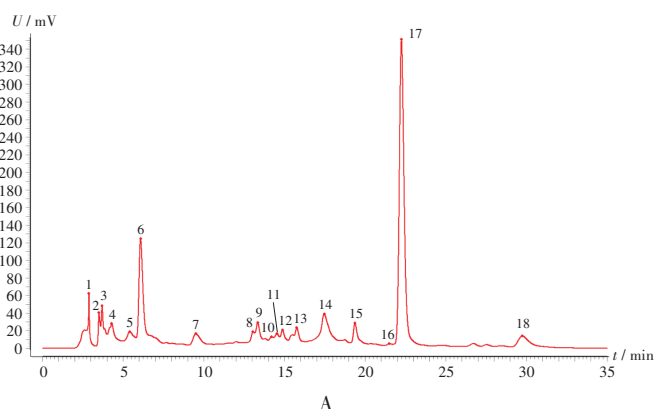
指纹图谱建立与共有峰确定:取7批小试样品和3批中试样品各适量,按2.1.2项下方法制备供试品溶液(编号为S1-S10),按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,并将数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版),S4供试品溶液中各保留时间的峰面积波动较小,图谱整体稳定,故以S4供试品溶液的特征图谱为参照图谱,采用0.1 min时间宽度的中位数法生成对照指纹图谱(图1A),进行多点校正和色谱峰匹配,构建叠加指纹图谱(图1B)。结果10批四子定喘颗粒样品中共标定了18个共有峰,与对照品溶液HPLC图(图2)比对,确认峰17为黄芩苷,为本品的指标性成分。

相似度评价:取指纹图谱建立项下10批样品的供试品溶液(编号为S1-S10)各适量,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,将数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版),并与对照图谱比对,计算相似度。结果见表1。可见,相似度良好(≥0.992),表明四子定喘颗粒的制备工艺稳定。

2.2 样品中黄芩苷含量测定

2.2.1 溶液制备

对照品溶液和供试品溶液制备方法同2.1.2项;按处方工艺制备不含黄芩的阴性样品,按供试品溶液制

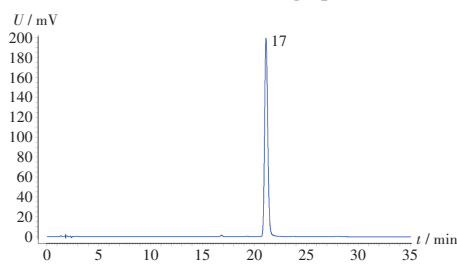


A. 对照指纹图谱 B. 叠加指纹图谱

图1 10批供试品溶液的高效液相色谱叠加指纹图谱与对照指纹图谱

A. Reference fingerprint B. Overlay fingerprints

Fig. 1 HPLC overlay fingerprints of 10 batches of test solution and the reference fingerprint



17. 黄芩苷

图2 对照品溶液高效液相色谱图

17. Baicalin

Fig. 2 HPLC chromatogram of the reference solution

表1 10批样品相似度评价结果

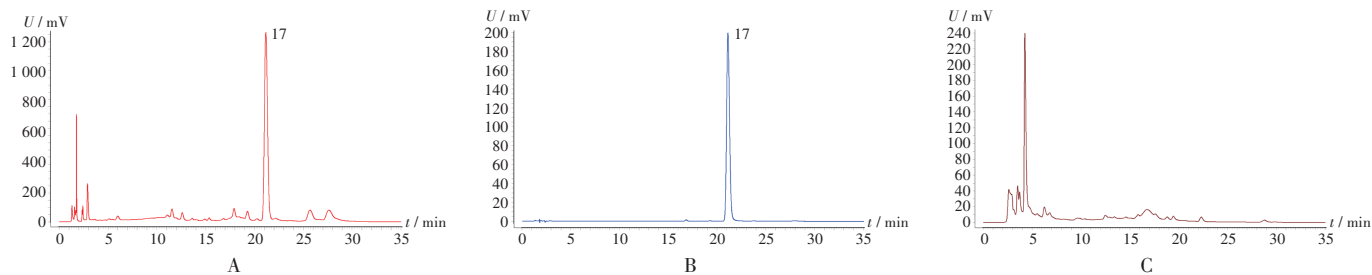
Tab. 1 Results of the similarity evaluation of 10 batches of samples

样品编号	相似度	样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.993	S5	0.995	S9	0.996
S2	0.999	S6	0.999	S10	0.992
S3	0.999	S7	0.998		
S4	0.998	S8	0.999		

备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.2 方法学考察

专属性试验:分别取2.2.1项下3种溶液各10 μL,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供



17. 黄芩苷
A. 供试品溶液 B. 对照品溶液 C. 阴性对照品溶液

图3 专属性试验高效液相色谱图

17. Baicalin

A. Test solution B. Reference solution C. Negative reference solution

Fig. 3 HPLC chromatograms of the specificity test

试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰,且阴性对照无干扰。详见图3。

线性关系考察:取黄芩苷对照品 1.245 mg,精密称定,平行6份,分别置不同规格的容量瓶中,加甲醇制成质量浓度分别为 0.208, 0.415, 0.623, 0.830, 1.038, 1.245 mg/mL 的系列对照品溶液。按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以对照品溶液质量浓度(X , mg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 3 \times 10^7 X + 427\ 241$, $r = 0.999\ 9$ ($n = 6$)。结果表明,黄芩苷的质量浓度在 0.208 ~ 1.245 mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取 2.2.1 项下对照品溶液适量,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果的 RSD 为 0.48% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品适量,平行 6 份,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为 0.96% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取 2.2.1 项下供试品溶液适量,分别于室温下放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为 1.11% ($n = 6$),表明供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品适量,精密称定,平行 6 份,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,分别精密加入等量 2.2.1 项下对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表 2,表明方法准确度良好。

2.2.3 样品含量测定

取 7 批小试样品(批号分别为 241018, 241019, 241020, 241021, 241022, 241023, 241024)和 3 批中试样品(批号分别为 241160, 241161, 241162)各 1.0 g,精密称定,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项

表 2 加样回收试验结果 ($n = 6$)

Tab. 2 Results of the recovery test ($n = 6$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
0.694	0.699	1.382	98.43	98.74	1.76
0.697	0.699	1.393	99.57		
0.703	0.699	1.370	95.42		
0.697	0.699	1.397	100.14		
0.700	0.699	1.398	99.86		
0.704	0.699	1.396	99.00		

表 3 10 批样品含量测定结果 (mg / g)

Tab. 3 Results of the content determination of baicalin in 10 batches of samples (mg / g)

批号	含量	批号	含量	批号	含量	批号	含量
241018	9.02	241021	9.28	241024	9.59	241162	9.42
241019	9.14	241022	9.39	241160	9.53	\bar{X}	9.34
241020	9.27	241023	9.42	241161	9.30		

下色谱条件进样测定,记录峰面积,并按外标法计算样品中黄芩苷的含量。结果见表 3。

2.3 四子定喘颗粒对大鼠离体支气管的舒张作用

2.3.1 药液制备

取正交 1 至正交 10 的样品各 50 g (1 g 相当于 1.41 g 原药材),分别加水制成质量浓度为 1 g/mL 的药液母液,置 4 °C 冰箱冷藏保存,备用。

2.3.2 大鼠离体气管环制备

用 10% 水合氯醛麻醉 SD 大鼠,迅速分离气管组织,取甲状软骨至气管分叉段,置 K-H 缓冲液中,清理气管周围的组织,制备 2 ~ 4 mm 气管环,每只大鼠制备 2 ~ 3 条离体气管环,将气管环固定于 37 °C 恒温浴槽,连接张力传感器,并调节初始张力至 1.0 g 平衡。实验过程中,每 15 min 更换 1 次 K-H 缓冲液,并持续通入 95% O₂ 和 5% CO₂ 的混合气体^[4]。

2.3.3 离体气管诱导收缩

将 36 只 SD 大鼠随机分为 3 组,各 12 只,分别予适

量纯净水、His溶液(质量浓度为 3.3×10^{-6} g/mL) 0.2 mL、ACh溶液(质量浓度为 3.3×10^{-5} g/mL)0.2 mL诱导离体气管收缩,以考察静息状态、His及ACh诱导的痉挛状态下离体气管环的张力。

2.3.4 四子定喘颗粒对大鼠离体气管的舒张作用

静息状态:取静息状态下的大鼠离体气管环,分为空白对照组和实验组(正交1组至正交10组),实验组予适量四子定喘颗粒药液(取2.3.1项下药液母液适量,加水稀释成质量浓度为0.2 g/mL),空白对照组予等体积纯净水,采用生物机能系统记录大鼠离体气管环给药前后的张力变化,并计算解痉率。解痉率(%) = (给药前张力 - 给药后张力) / 给药前张力 × 100%。每组实验后均以K-H缓冲液洗涤3次至基线恢复^[4]。

ACh诱导的痉挛状态:取ACh诱导痉挛状态下的大鼠离体气管环,分为ACh组和实验组(正交1 + ACh组至正交10 + ACh组),收缩稳定后,实验组予四子定喘颗粒药液(质量浓度为0.2 g/mL),ACh组予等体积蒸馏水,采用生物机能系统记录大鼠离体气管环给药前后的张力变化,并计算解痉率。

His诱导的痉挛状态:取His诱导痉挛状态下的大鼠离体气管环,分为His组和实验组(正交1 + His组至正交10 + His组),收缩稳定后,实验组予适量四子定喘颗粒药液(质量浓度为0.2 g/mL),His组予等体积蒸馏水,采用生物机能系统记录大鼠离体气管环给药前后的张力变化,并计算解痉率。

2.3.5 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,组间比较行Dunnett-t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2.3.6 实验结果

实验组(正交1组至正交10组)样品对静息状态、ACh预收缩及His预收缩的大鼠离体气管环均表现出舒张作用。在静息状态下,实验组的解痉率均显著高于空白对照组($P < 0.01$),且正交10组最高;在His诱导的收缩状态下,实验组的解痉率均显著高于His组($P < 0.01$),且正交10 + His组最高;在ACh预收缩状态下,实验组的解痉率均显著高于ACh组($P < 0.01$),且正交8 + ACh组最高,正交10 + ACh组次之。详见表4至表6。

2.4 四子定喘颗粒抗哮喘作用的谱效关系

基于前期的药理学实验结果,选取解痉率作为四子定喘颗粒抗哮喘作用的药理学指标,开展谱效关系分析。由于共有峰面积与药理学指标的物理意义不同,故分析前对所有数据进行无量纲化处理,再采用灰色关联度和偏最小二乘法进行谱效关系研究^[4],将所得数据导入

SPSS PRO在线平台(www.spsspro.com)进行分析。

灰色关联度分析中,以解痉率为参考数列 $[Y_0(m)]$,以指纹图谱共有峰的峰面积为比较数列 $[Y_i(m)]$,计算绝对差序列 $\Delta_{oi}(m)$ 。通过均值法计算关联系数 (K_{oi}) ,评估指纹图谱特征峰与化学成分及药效的关联性。 $K_{oi} = (\Delta_{\min} + \rho\Delta_{\max}) / (\Delta_{oi}(m) + \rho\Delta_{\max})$ 。式中, $\rho = 0.5$ 。若 $0.6 \leq K_{oi} < 0.8$,则表明色谱峰对应的化合物与药理学指标存在关联;若 $0.8 \leq K_{oi} < 0.9$,则表明关联性较强;若 $K_{oi} \geq 0.9$,则表明关联性极为密切。

偏最小二乘法分析中,通过正交信号校正,消除自表4 四子定喘颗粒对大鼠静息状态离体气管环张力解痉率的影响($\bar{X} \pm s, n = 3$)

Tab. 4 Effect of Sizi Dingchuan Granules on the spasmodic rate of resting isolated tracheal ring tension in rats ($\bar{X} \pm s, n = 3$)

组别	给药前张力(g)	给药后张力(g)	解痉率(%)
空白对照组	1.04 ± 0.02	1.02 ± 0.02	1.92 ± 2.69
正交1组	1.03 ± 0.02	0.93 ± 0.01	9.71 ± 2.00**
正交2组	1.04 ± 0.02	0.93 ± 0.01	10.58 ± 1.97**
正交3组	1.06 ± 0.02	0.93 ± 0.02	12.26 ± 2.51**
正交4组	1.05 ± 0.01	0.92 ± 0.02	12.38 ± 2.08**
正交5组	1.02 ± 0.02	0.90 ± 0.04	11.76 ± 4.29**
正交6组	1.03 ± 0.02	0.89 ± 0.04	13.59 ± 4.23**
正交7组	1.04 ± 0.02	0.89 ± 0.01	14.42 ± 1.91**
正交8组	1.04 ± 0.02	0.89 ± 0.04	14.42 ± 4.18**
正交9组	1.05 ± 0.02	0.90 ± 0.04	14.29 ± 4.14**
正交10组	1.04 ± 0.02	0.86 ± 0.05	17.31 ± 5.06**

注:与空白对照组比较,** $P < 0.01$ 。

Note:Compared with those in the blank control group,** $P < 0.01$.

表5 四子定喘颗粒对ACh预收缩大鼠离体气管环张力解痉率的影响($\bar{X} \pm s, n = 3$)

Tab. 5 Effect of Sizi Dingchuan Granules on the spasmodic rate of ACh pre-contraction tracheal ring tension in rats ($\bar{X} \pm s, n = 3$)

组别	给药前张力(g)	给药后张力(g)	解痉率(%)
ACh组	1.24 ± 0.03	1.16 ± 0.02	6.45 ± 2.78
正交1 + ACh组	1.23 ± 0.03	1.09 ± 0.03	11.38 ± 3.26**
正交2 + ACh组	1.23 ± 0.03	1.04 ± 0.01	15.45 ± 2.22**
正交3 + ACh组	1.21 ± 0.05	0.97 ± 0.05	19.83 ± 5.30**
正交4 + ACh组	1.18 ± 0.03	0.94 ± 0.01	20.34 ± 2.20**
正交5 + ACh组	1.23 ± 0.03	1.03 ± 0.02	16.26 ± 2.61**
正交6 + ACh组	1.21 ± 0.06	0.96 ± 0.05	20.66 ± 5.71**
正交7 + ACh组	1.22 ± 0.02	0.91 ± 0.02	25.41 ± 2.05**
正交8 + ACh组	1.25 ± 0.02	0.90 ± 0.02	28.00 ± 1.97**
正交9 + ACh组	1.20 ± 0.03	0.90 ± 0.03	25.00 ± 3.12**
正交10 + ACh组	1.23 ± 0.02	0.91 ± 0.02	26.02 ± 2.02**

注:与ACh组比较,** $P < 0.01$ 。

Note:Compared with those in the ACh group,** $P < 0.01$.

表6 四子定喘颗粒对 His 预收缩大鼠离体气管环张力解痉率的影响($\bar{X} \pm s, n = 3$)

Tab. 6 Effect of Sizi Dingchuan Granules on the spasmodic rate of His pre - contraction tracheal ring tension in rats ($\bar{X} \pm s, n = 3$)

组别	给药前张力(g)	给药后张力(g)	解痉率(%)
His 组	1.22 ± 0.05	1.14 ± 0.05	6.56 ± 0.39
正交 1 + His 组	1.20 ± 0.17	1.04 ± 0.11	13.33 ± 15.32
正交 2 + His 组	1.20 ± 0.12	1.00 ± 0.07	16.67 ± 10.17**
正交 3 + His 组	1.26 ± 0.05	1.00 ± 0.06	20.63 ± 5.71**
正交 4 + His 组	1.24 ± 0.04	0.98 ± 0.07	20.97 ± 6.19**
正交 5 + His 组	1.25 ± 0.06	0.98 ± 0.04	21.60 ± 4.94**
正交 6 + His 组	1.15 ± 0.12	0.89 ± 0.03	22.61 ± 8.49**
正交 7 + His 组	1.20 ± 0.08	0.91 ± 0.11	24.17 ± 10.47**
正交 8 + His 组	1.21 ± 0.02	0.88 ± 0.07	27.27 ± 5.91**
正交 9 + His 组	1.23 ± 0.11	0.85 ± 0.04	30.89 ± 6.98**
正交 10 + His 组	1.22 ± 0.06	0.81 ± 0.11	33.61 ± 9.59**

注:与 His 组比较,** $P < 0.01$ 。

Note:Compared with those in the His group,** $P < 0.01$.

变量(共有峰峰面积, X)和因变量(解痉率, Y)矩阵中的干扰信号,优化模型,并提升可视化分析效果。分析前,对峰面积进行归一化处理,依据标准化回归系数和变量重要性投影(VIP)评估共有峰与药效的相关性,阐明 X 与 Y 变量间的重要性程度。结果18个共有峰与药理学指标的关联度均在0.6~0.9之间,表明这些化学成分与药效相关,这些成分可能通过协同作用缓解支气管哮喘,是潜在的药效成分。详见表7。共有峰中,峰1、峰2、峰3、峰9、峰11、峰15、峰17、峰18与解痉率呈正相关,提示这些成分对支气管哮喘的缓解作用显著。详见图4A。VIP值用于评估各成分的影响力,VIP > 1表示其具有显著重要性。结果峰17、峰6、峰3、峰4的贡献显著。详见图4B。

3 讨论

四子定喘颗粒组方中,黄芩的主要成分为黄芩苷。有研究表明,黄芩苷对过敏性哮喘小鼠失衡的Th1/Th2有良好的调节作用^[5-6]。余保等^[7]研究发现,不同浓度黄芩素能通过抑制Janus激酶/信号转导及转录激活因子(JAK/STAT)信号通路来阻断气道平滑肌细胞的增殖和迁移。郭雪冬^[8]的研究显示,黄芩苷可通过下调JAK/STAT信号通路等相关基因的表达,减少炎症因子产生,从而缓解气道重塑和炎症反应。这些研究为中药治疗哮喘提供了理论依据。

武夏等^[9]的研究表明,ACh通过与气管平滑肌ACh受体结合而引发收缩^[9]。本研究中大鼠离体支气管环实验结果表明,四子定喘颗粒能显著抑制静息状态、ACh诱导及His诱导的气管平滑肌的收缩。并在前期研究的

表7 四子定喘颗粒共有峰与药理学指标的关联度分析结果

Tab. 7 The correlation between common peaks of Sizi Dirgchuan Granules and pharmacological indicators

峰号	静息状态关联度	ACh 预收缩关联度	His 预收缩关联度
1	0.771	0.770	0.783
2	0.788	0.784	0.808
3	0.701	0.709	0.708
4	0.661	0.636	0.666
5	0.652	0.633	0.653
6	0.756	0.726	0.763
7	0.746	0.759	0.757
8	0.780	0.765	0.767
9	0.746	0.753	0.773
10	0.719	0.729	0.732
11	0.717	0.711	0.735
12	0.714	0.746	0.701
13	0.703	0.691	0.720
14	0.721	0.735	0.719
15	0.787	0.757	0.779
16	0.740	0.735	0.727
17	0.765	0.786	0.781
18	0.766	0.782	0.736

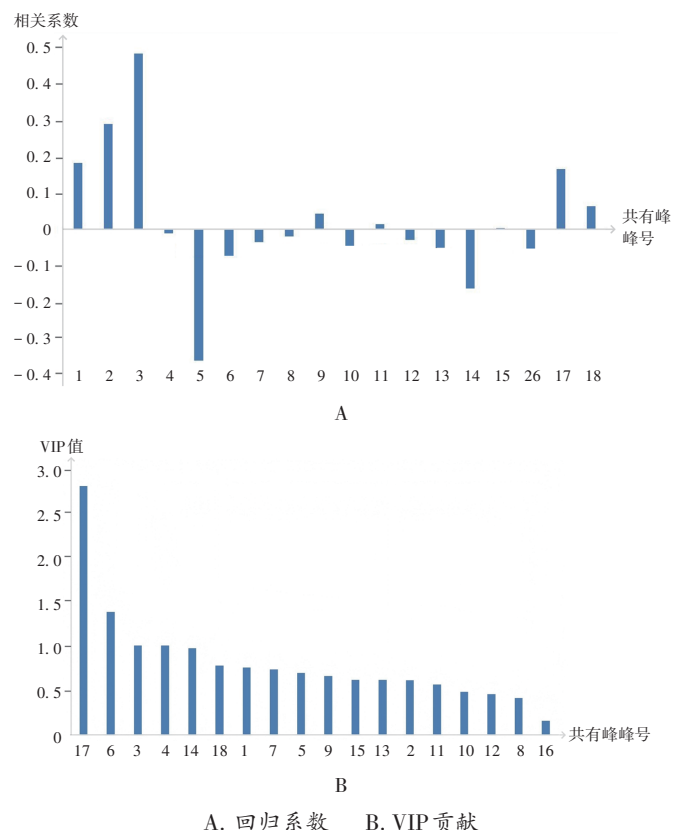


图4 归一化回归系数图与VIP贡献图

A. Regression coefficient B. VIP contribution

Fig. 4 Normalized regression coefficient plot and VIP contribution plot

基础上,选取9个正交试验和最优工艺样品的指纹图谱及共有峰作为比较数列,以解痉率作为参考数列开展谱效相关性分析。灰色关联分析与偏最小二乘法分析从不同维度揭示了四子定喘颗粒的成分-药效关系。灰色关联法从整体趋势角度分析发现18个共有峰(关联度 >0.6)均与药效存在广泛联系,尤其是峰1、峰2、峰3、峰9、峰11、峰15、峰17、峰18这8个峰与解痉率呈正相关,提示了复方多成分协同起效的特征。而偏最小二乘法则从变量预测重要性出发,通过VIP值进一步从中筛选出对药效方差解释贡献最核心的变量(峰17、峰6、峰3、峰4, $VIP > 1$)。两者的分析结果呈现出一致性与差异性,共同构建了多维证据链。一致性体现在,峰3与峰17(黄芩苷)被2种方法共同识别为关键成分。其中,峰17(黄芩苷)在灰色关联中呈强正相关,在偏最小二乘法中VIP值最高,从不同维度共同验证了其作为本品最核心药效物质基础的地位。差异性表现在,部分灰色关联正相关峰(如峰1、峰2、峰9等)未在偏最小二乘法中显示高VIP值。这源于方法原理的侧重不同,灰色关联法对曲线形状相似性敏感,擅长捕捉广泛关联;偏最小二乘法则聚焦对药效变化的直接预测贡献,且能有效处理共线性。可见,峰6与峰4在偏最小二乘法中的高贡献可能揭示了其在成分间交互作用或特定化学计量关系中的关键影响,这是侧重两两比较的灰色关联法所未能凸显的。因此,2种方法结合分析表明,四子定喘颗粒呈现“多成分广泛参与、少数关键成分主导”的潜在作用模式。这不仅相互验证了黄芩苷作为指标性成分的核心地位,也为全面理解其质量标志物及质量控制提供了多维的证据链。

HPLC指纹图谱技术是中药质量控制的重要方法,其通过全面分析指标性成分,有效评估制剂的均一性和稳定性。但HPLC指纹图谱所包含的化学信息与其所对应的药效活性之间,必须通过系统的数据处理与数学建模,才能建立起科学、定量的关联关系^[10]。将该技术与含量测定相结合,不仅能整体把控中药质量的特征,还能精确监测成分含量的变化,从而为质量评价体系提供科学依据,确保临床用药的有效性和安全性^[11-13]。本研究中分别建立了7批小试样品与3批中试样品的HPLC指纹图谱,相似度评价结果显示,所有批次样品的相似度均 ≥ 0.992 ,表明该颗粒剂的制备工艺稳定,重复性良好。

本研究中采用HPLC法测定指标性成分黄芩苷的含量时,对流动相进行了筛选,对比了乙腈-磷酸二氢钾溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.2%磷酸溶液等体系对分离结果的影响^[14-15]。虽然磷酸二氢钾体系

分离效果较好,但易结晶,可能导致色谱柱堵塞和设备损坏,故不予采用。相比之下,乙腈-0.1%磷酸溶液作为流动相,不仅能维持良好的峰形对称性,还表现出优异的分流效果。经综合评估,最终选定乙腈-0.1%磷酸溶液作为流动相。

综上所述,四子定喘颗粒可有效缓解支气管哮喘,黄芩苷可能是其抗哮喘作用的潜在药效物质基础。本研究结果为四子定喘颗粒的质量标准及药效物质基础研究奠定了重要基础。

参考文献

- [1] 王小龙,伍英,李培根,等. 孟鲁司特钠联合布地奈德福莫特罗治疗支气管哮喘急性发作的临床效果及对肺功能的影响[J]. 临床合理用药,2023,16(19):45-48.
- [2] 李飞,赵原,蔺瑞,等. 中药复方药效物质及作用机制研究进展[J]. 中国药学杂志,2019,54(13):1037-1044.
- [3] 蔡靓,张倩,杨丰庆. 中药谱效学的应用进展[J]. 中草药,2017,48(23):5005-5011.
- [4] 叶晨雨,周丽玲,姜德,等. 苏葶宣肺颗粒的制备工艺及初步药效研究[J]. 中南药学,2024,22(3):612-618.
- [5] 黄丰,童晓云,邓华明,等. 黄芩苷调节哮喘模型小鼠Th1/Th2反应机制初探[J]. 中药材,2009,32(9):1407-1410.
- [6] Ma C H, Ma Z Q, Fu Q, et al. Anti-asthmatic effects of baicalin in a mouse model of allergic asthma [J]. Phytoctherapy Research, 2014, 28(2):231-237.
- [7] 余保,申严,卓宋明. 黄芩素对哮喘小鼠气道平滑肌细胞增殖、迁移及JAK/STAT通路的影响[J]. 广西医科大学学报,2021,38(9):1692-1697.
- [8] 郭雪冬. 黄芩苷对哮喘小鼠的干预作用及其与苦味信号转导的关系[D]. 太原:山西大学,2022:3-4.
- [9] 武夏,朱亚飞,马锐,等. 桑白皮汤对豚鼠离体气管平滑肌的舒张作用[J]. 宁夏医科大学学报,2020,42(10):987-990.
- [10] 张强,杨宇婷. 中药谱效关系研究现状概述[J]. 时珍国医国药,2022,33(3):680-683.
- [11] 戴丽娟,李晓娟,赵翡翠. 基于HPLC指纹图谱结合化学模式识别对葡萄醋的质量评价[J]. 新疆医科大学学报,2024,47(2):275-281.
- [12] 方朝缙,何荣荣,甘力帆,等. 基于UPLC指纹图谱的穿心莲不同部位化学成分差异研究[J]. 中国医药导报,2023,20(19):24-29.
- [13] 金倩倩,刘理燕,汪洋,等. 土一枝蒿药材指纹图谱和含量测定研究[J]. 中国药业,2023,32(4):74-79.
- [14] 何艳,胡小祥,张霞,等. HPLC测定杜仲降压片中的绿原酸、迷迭香酸和黄芩苷[J]. 华西药学杂志,2019,34(4):410-412.
- [15] 孙慧珠,刘晓明,徐乐,等. 杜仲降压片质量标准的提高与优化[J]. 药物分析杂志,2020,40(8):1514-1520.

(收稿日期:2025-10-10;修回日期:2026-05-20)