

软坚清脉颗粒中 5 种主要成分的含量测定

董文敏^{1,2}, 安歆¹, 宋舒雨¹, 王新宏¹, 陈颖^{1,2}, 梁琨¹ (1. 上海中医药大学, 上海 201203; 2. 上海中医药大学附属上海市中西医结合医院, 上海 200082)

摘要: **目的** 建立软坚清脉颗粒中香蒲新苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素含量的高效液相测定方法, 并比较其水解前后 5 种成分含量的变化。**方法** 采用 Diamonsil Plus C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 以 0.2% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B)为流动相, 梯度洗脱; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 35 ℃; 检测波长: 360 nm。**结果** 软坚清脉颗粒中香蒲新苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素在一定浓度范围内呈良好的线性关系, *r* 均大于 0.999 6, 未水解样品的平均加样回收率为 97.60%~101.2%; 水解样品的平均加样回收率为 97.55%~98.66%, 两样品的 RSD < 3.2%, 在 24 h 内稳定性良好, 经水解处理后, 槲皮素、山柰酚、异鼠李素 3 种成分含量显著增加。**结论** 该方法的准确度高、重复性好, 可为软坚清脉颗粒的质量控制提供参考。

关键词: 软坚清脉颗粒; 高效液相色谱; 含量测定; 质量控制

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)10-1519-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.10.015

Determination of Five Main Components in *Ruanjian Qingmai* Granules

DONG Wenmin^{1,2}, AN Rui¹, SONG Shuyu¹, WANG Xinhong¹, CHEN Ying^{1,2}, LIANG Kun¹ (1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200082, China)

Abstract: **Objective** By establishing a high performance liquid chromatography method, the content changes of Typhaneoside, Isorhamnetin-3-*O*-neohesperidoside, Quercetin, Kaempferol and Isorhamnetin in *Ruanjian Qingmai* Granules before and after hydrolysis were detected. **Methods** Diamonsil Plus C₁₈ column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. Gradient elution was carried out with 0.2% phosphoric acid aqueous solution(A) - acetonitrile(B) as a mixture of mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ throughout the run, and the column temperature was 35 ℃. The detection wavelength was 360 nm. **Results** The results of linear regression analysis on the five components showed that the coefficient estimation of the standard curves were larger than 0.999 6. The average recoveries of the unhydrolyzed samples were in the range of 97.60% - 101.2%; and for hydrolyzed samples, the average recoveries were in the range of 97.55% - 98.66%. All the relative standard deviation(RSD) values were less than 3.2%. Each sample was stable within 24 h. After hydrolysis, the contents of Quercetin, Kaempferol and Isorhamnetin increased significantly. **Conclusion** The established method has high accuracy and good repeatability. It would provide reference for the quality control of *Ruanjian Qingmai* Granules.

Keywords: *Ruanjian Qingmai* Granules; high performance liquid chromatography; content determination; quality control

收稿日期: 2021-04-10

作者简介: 董文敏, 女, 硕士研究生, 研究方向: 特色中药复方物质基础与作用机制研究。Email: dongwenmin2019@163.com。通信作者: 陈颖, 男, 副主任药师, 研究方向: 特色中药复方物质基础与作用机制研究。Email: lcys7382@163.com。梁琨, 女, 讲师, 研究方向: 中药活性物质。Email: dolphin000000@163.com。

基金项目: 上海市虹口区“国医强优”三年行动计划建设项目(HGY-MGB-2018-01-08)。

下肢动脉硬化闭塞症(arteriosclerosis obliterans, ASO)是动脉粥样硬化累及下肢的一种表现,主要为脂质持续沉积在动脉内膜中,形成粥样斑块并继发血栓,导致动脉管腔变窄甚至阻塞,最终导致动脉远端相应的缺血症状^[1-2],是截肢的主要原因^[3]。中医认为ASO属“脱疽”范畴,多由痰湿凝滞脉络所致。上海市名中医奚九一教授经过多年临床实践发现软坚清脉颗粒可以有效治疗下肢动脉粥样硬化闭塞症^[4-6],可明显降低截肢率^[7]。软坚清脉颗粒由垂盆草、蒲黄、豨莶草、煅牡蛎、海藻5味中药组成^[8],方中的主要活性成分有槲皮素、异鼠李素、山柰酚等,其中槲皮素具有抗血栓和抗动脉粥样硬化作用^[9-12],异鼠李素具有抗炎、抗氧化、保护内皮细胞并缩小动脉粥样硬化斑块等作用^[13-14],山柰酚具有抗炎抗氧化等作用^[15-16]。中药复方制剂的疗效依赖于多组分的共同作用,多组分的含量测定是中药质量标准制定的核心内容^[17-18]。目前软坚清脉颗粒质量控制的研究较少,为了有效地控制软坚清脉颗粒的质量,本研究采用高效液相色谱法同时测定软坚清脉颗粒中香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素5种成分。结合2020年版《中华人民共和国药典》和前期文献研究^[19-20]发现,软坚清脉颗粒中饮片的成分多以苷元结合不同糖苷的形式存在,加酸水解后,可使苷元含量增加,故本研究同时考察了水解前后黄酮苷和苷元含量的变化,以为软坚清脉颗粒质量的控制与评价提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1260 HPLC 色谱仪(美国 Agilent 公司); LD-UPW-10 超纯水机(上海砾鼎水处理设备有限公司); R206 旋转蒸发器(上海申生科技有限公司); SB-5200D 超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司); XS105 分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司)。

1.2 试药 对照品香蒲新苷(批号:18-2015)、异鼠李素-3-O-新橙皮苷(批号:12-2008),上海中药标准化研究中心;槲皮素(批号:B20527)、山柰酚(批号:MB6888),上海中药标准化研究中心;异鼠李素(批号:B21554),中国食品药品检定研究院,纯度均>98%;软坚清脉颗粒(批号:20200401、20200801、20191101、20190701、20190401),上海

中医药大学附属中西医结合医院;乙腈、磷酸(色谱纯,天津迪马科技有限公司);实验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil Plus C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.2%磷酸水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~3 min, 5% B; 3~5 min, 5%~10% B; 5~9 min, 10% B; 9~12 min, 10%~12% B; 12~50 min, 12% B; 50~55 min, 12%~16% B; 55~100 min, 16% B; 100~105 min, 16%~21% B; 105~140 min, 21%~27% B); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 35 ℃; 检测波长: 360 nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别取香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素对照品适量,精密称定,用甲醇配制成对照品储备液,精密移取各对照品储备液,甲醇分别稀释成 29.70、33.95、7.310、5.330、8.890 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

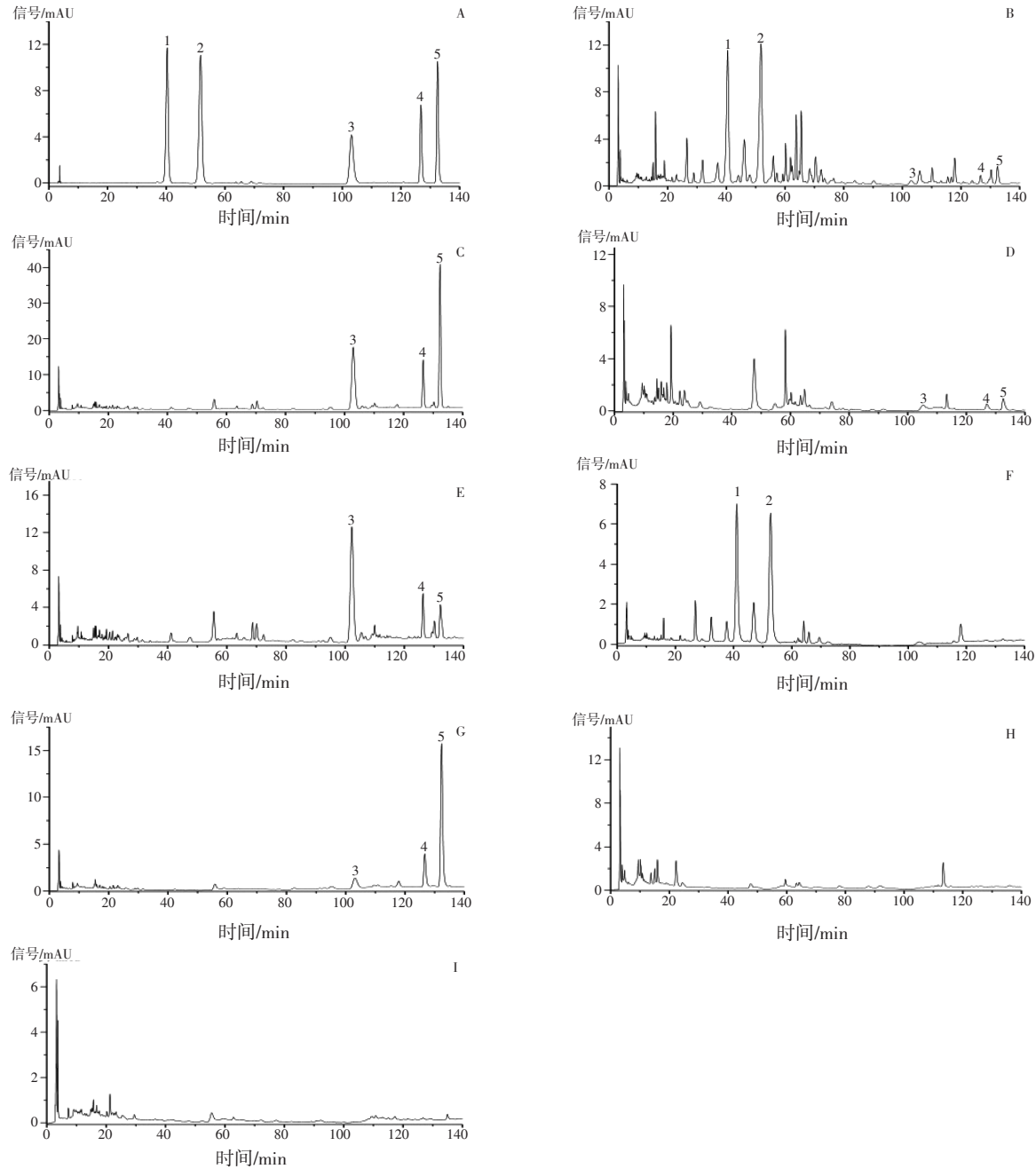
2.2.2 供试品溶液的制备

(1)未水解样品: 取软坚清脉颗粒剂约 10 g, 精密称定,加入适量甲醇,称质量,超声提取 60 min,冷却后称质量,甲醇补足减失的质量。以离心半径为 6 cm、6 000 r·min⁻¹离心 10 min,上清浓缩定容至 25 mL,过 0.45 μm 尼龙滤膜,即得未水解供试品溶液。进样量 10 μL。

(2)水解样品: 取软坚清脉颗粒剂约 4 g, 精密称定,加入甲醇-25%盐酸溶液(4:1)混合溶液 25 mL,称质量。加热回流提取 60 min,冷却,称质量。甲醇-25%盐酸溶液(4:1)混合溶液补足减失的质量。摇匀,以离心半径为 6 cm、6 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清过 0.45 μm 尼龙滤膜,即得水解供试品溶液。进样量 5 μL。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按软坚清脉颗粒处方工艺制备缺蒲黄、缺垂盆草及两者均缺的阴性样品溶液,分别按供试品溶液制备方法制备未水解及水解阴性样品溶液。

2.3 专属性试验 分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液(未水解、水解)、阴性样品溶液(未水解、水解),按“2.1”项下色谱条件进行分析,软坚清脉颗粒 HPLC 图见图 1。结果表明,阴性样品无干扰,供试品溶液中 5 个目标峰达到较为理想的分离效果,分离度均大于 1.5,方法专属性好。



注：A. 混合对照品；B. 未水解样品；C. 水解样品；D. 缺蒲黄阴性样品（未水解）；E. 缺蒲黄阴性样品（水解）；F. 缺垂盆草阴性样品（未水解）；G. 缺垂盆草阴性样品（水解）；H. 缺垂盆草和蒲黄阴性样品（未水解）；I. 缺垂盆草和蒲黄阴性样品（水解）。1. 香蒲新苷；2. 异鼠李素-3-O-新橙皮苷；3. 槲皮素；4. 山柰酚；5. 异鼠李素

图 1 软坚清脉颗粒高效液相色谱图

Figure 1 HPLC chromatograms of Ruanjian Qingmai Granules

2.4 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 1、2、5、10、15、20 μL ，按“2.1”项下色谱条件进样分析。以各对照品质量为横坐标(X , μg)，峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归，得各回归方程，结果见表 1。

2.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液，平行进样 6 次，测得各成分的峰面积。结果香蒲新苷、异

表 1 5 种成分的线性关系

Table 1 Linear regressive equations of five compounds

成分	回归方程	r	线性范围/ μg
香蒲新苷	$Y=2\,159.8X+3.144\,5$	0.999 9	0.029 700~0.594 0
异鼠李素-3-O-新橙皮苷	$Y=2\,293.2X+0.167\,1$	0.999 6	0.033 950~0.679 0
槲皮素	$Y=4\,113.5X-0.999\,8$	1	0.007 310~0.146 2
山柰酚	$Y=3\,122.5X-0.511\,1$	0.999 9	0.005 330~0.106 6
异鼠李素	$Y=3\,828.7X-1.991\,1$	1	0.008 890~0.177 8

鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素峰面积的 RSD 分别为 1.2%、1.1%、1.1%、1.2%、1.4%，表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取软坚清脉颗粒(批号：20200401)，分别制备水解和未水解样品溶液各 6 份，在“2.1”项色谱条件下进样分析。结果未水解时样品中香蒲新苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素的平均含量分别为 66.02、70.15、2.33、2.15、4.27 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，RSD 分别为 1.2%、0.82%、1.8%、1.7%、1.3%；样品水解后，均未检测到香蒲新苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚及异鼠李素平均含量分别为 167.86、89.40、199.77 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，RSD 分别为 1.9%、0.87%、2.1%，表明该方法重复性良好。

表 2 软坚清脉颗粒未水解样品中 5 种成分加样回收率试验结果($n=6$)

Table 2 Recovery analysis of five compounds in unhydrolyzed samples($n=6$)

成分	称样量/g	样品含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
香蒲新苷	5.025 3	331.8	329	660.1	99.79	98.96	0.63
	5.130 6	338.7	329	663.7	98.78		
	4.989 5	329.4	329	653.9	98.63		
	4.855 9	320.6	329	645.2	98.66		
	5.060 7	334.1	329	657.3	98.24		
	5.034 8	332.4	329	660.3	99.67		
异鼠李素-3- <i>O</i> -新橙皮苷	5.025 3	352.5	349	702.9	100.40	101.20	2.2
	5.130 6	359.9	349	699.9	97.42		
	4.989 5	350.0	349	710.3	103.20		
	4.855 9	340.6	349	700.9	103.20		
	5.060 7	355.0	349	706.3	100.70		
	5.034 8	353.2	349	710.2	102.30		
槲皮素	5.025 3	11.7	11.5	23.0	98.26	98.27	3.2
	5.130 6	12.0	11.5	23.1	96.52		
	4.989 5	11.6	11.5	22.8	97.39		
	4.855 9	11.3	11.5	23.3	104.40		
	5.060 7	11.8	11.5	22.8	95.65		
	5.034 8	11.7	11.5	22.9	97.39		
山柰酚	5.025 3	10.8	10.2	21.1	101.00	99.51	2.7
	5.130 6	11.0	10.2	20.9	97.06		
	4.989 5	10.7	10.2	21.3	103.90		
	4.855 9	10.4	10.2	20.5	99.02		
	5.060 7	10.9	10.2	21.0	99.02		
	5.034 8	10.8	10.2	20.7	97.06		
异鼠李素	5.025 3	21.5	22.1	42.8	96.38	97.60	1.9
	5.130 6	21.9	22.1	42.9	95.02		
	4.989 5	21.3	22.1	43.0	98.19		
	4.855 9	20.7	22.1	42.9	100.50		
	5.060 7	21.6	22.1	43.2	97.74		
	5.034 8	21.5	22.1	43.1	97.74		

2.7 稳定性试验 分别取未水解和水解的供试品溶液(批号：20200401)，于 0、4、8、12、18、24 h，进样分析，测定峰面积，结果未水解样品中香蒲新苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素峰面积的 RSD 分别为 1.5%、0.95%、1.9%、1.5%、0.81%；水解样品中槲皮素、山柰酚、异鼠李素峰面积的 RSD 分别为 1.2%、1.1%、1.7%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率 精密称取已知含量的软坚清脉颗粒(批号：20200401)，每份约 5 g，加入对照品溶液 1 mL(香蒲新苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素含有量分别为 329、349、11.5、10.2、22.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)，分别按未水解供试品溶液制备方法制备。同时精密称取已知含量的软坚清脉颗粒(批号：20200401)，每份约 2 g，加入对照品溶液 1 mL(槲皮素、山柰酚、异鼠李素含有量分别为 324、197、403 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)，分别按水解供试品溶液制备方法制备，在“2.1”项色谱条件下进样测定，结果见表 2~表 3。

2.9 样品含有量测定 精密称取 5 个批次的软坚清脉颗粒适量，制备未水解及水解供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样分析，分别计算香蒲新苷、

表 3 软坚清脉颗粒水解样品中 3 种成分加样回收率试验结果($n=6$)

Table 3 Recovery analysis of three compounds in hydrolyzed samples($n=6$)

成分	称样量/g	样品含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
槲皮素	2.097 2	352.0	324	659.9	95.03	97.55	1.6
	1.820 1	305.5	324	626.3	99.01		
	1.894 7	318.0	324	635.8	98.09		
	1.838 2	308.6	324	625.7	97.87		
	2.052 2	344.5	324	657.2	96.51		
	1.937 4	325.2	324	645.3	98.80		
山柰酚	2.097 2	187.5	197	379.2	97.31	98.66	1.7
	1.820 1	162.7	197	359.6	99.95		
	1.894 7	169.4	197	358.4	95.94		
	1.838 2	164.3	197	360.9	99.80		
	2.052 2	183.5	197	379.2	99.34		
	1.937 4	173.2	197	369.4	99.59		
异鼠李素	2.097 2	419.0	403	806.7	96.20	98.44	2.5
	1.820 1	363.6	403	771.9	101.30		
	1.894 7	378.5	403	777.5	99.01		
	1.838 2	367.2	403	774.8	101.10		
	2.052 2	410.0	403	795.6	95.68		
	1.937 4	387.0	403	779.4	97.37		

异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素的含量。结果见表 4。

表 4 软坚清脉颗粒未水解及水解样品含量测定结果($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 4 Determination results of unhydrolyzed and hydrolyzed samples($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

处理方法	批次	香蒲新苷	异鼠李素-3- <i>O</i> -新橙皮苷	槲皮素	山柰酚	异鼠李素
未水解	20200401	66.02	70.15	2.33	2.15	4.27
	20200801	67.22	71.27	2.46	2.29	4.36
	20191101	64.91	70.03	2.28	2.17	4.31
	20190701	66.56	69.89	2.31	2.11	4.25
	20190401	63.28	68.36	2.23	2.06	4.22
水解	20200401	-	-	167.86	89.40	199.77
	20200801	-	-	170.21	90.65	205.85
	20191101	-	-	167.29	88.31	190.15
	20190701	-	-	168.06	88.68	200.28
	20190401	-	-	159.35	88.04	198.24

3 讨论

本研究采用高效液相色谱法同时测定了软坚清脉颗粒中香蒲新苷或异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素 5 种成分的含量。

3.1 待测成分及前处理条件的选择 根据 2020 年版《中华人民共和国药典》^[19]规定,香蒲新苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷为蒲黄中的指标成分。垂盆草中指标成分为异鼠李素、山柰酚和槲皮素,检测时样品先进行了酸水解处理。考虑到颗粒剂提取制备过程中,部分糖苷会转换为苷元,如香蒲新苷水解后转化为异鼠李素苷元,而香蒲新苷也是指标成分之一,若只考虑水解样品,则无法说明香蒲新苷和异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷的含量情况,若不考虑水解样品,则垂盆草中所含苷元无法充分检测。同时,水解过程与药物进入体内经胃酸作用水解过程类似,提示颗粒剂中苷元含量虽低,但其进入体内后转化为苷元的含量较高,而这些苷元类成分很可能是治疗 ASO 的活性成分。因此,本实验确定了以香蒲新苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素 5 种成分作为软坚清脉颗粒质量控制的指标,同时兼顾水解前后质控指标含量的变化情况。

3.2 供试品溶液提取方法选择 考察了不同的提取方式(超声、加热回流)、不同的提取溶剂(100%甲醇、90%甲醇、50%甲醇)、不同的超声提取时间(30、60、90 min)及不同的加热回流提取时间(30、60、90、120、150、180 min)对 5 种待测成分提取的影

响。结果发现,未水解样品在采用 100%甲醇超声提取 60 min 时 5 种成分已充分提取,含量不再随提取时间增加而增加;水解样品在采用甲醇-25%盐酸溶液(4:1)混合溶剂加热回流 60 min 前处理条件时,苷已水解完全,且苷元含量不随加热回流时间的延长而增加,因此最终选用“2.2.2”项下的前处理方法。

3.3 色谱条件选择 考察了不同的波长(254 nm、360 nm)及不同的流动相体系(甲醇-0.1%磷酸水、甲醇-0.2%磷酸水、乙腈-0.1%磷酸水、乙腈-0.2%磷酸水)对 5 种待测成分分离测定的影响。结果显示在波长 254 nm 下干扰峰较多,而各成分在波长 360 nm 下有较好吸收,故采用波长 360 nm 检测;采用乙腈-0.2%磷酸水的流动相时,各峰峰型、分离效果及对称性较好,因此选用“2.1”项下的色谱条件。

3.4 水解前后成分差异分析 从表 4 可知,未水解样品中黄酮苷(香蒲新苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷)含量较高,两种苷均来源于蒲黄,其结构特点是以异鼠李素为苷元,在 3 位与芸香糖、新橙皮糖等糖以氧苷键的形式相连。水解样品中黄酮苷元(槲皮素、山柰酚、异鼠李素)含量较高,其原因可能是黄酮苷类成分加酸水解后,苷键断裂,水解为异鼠李素;据本课题组预试验,蒲黄中含有异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷、异鼠李素-3-*O*- β -半乳糖苷、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷等成分,垂盆草中含有异鼠李素-3-*O*- β -葡萄糖苷、异鼠李素-3,7-*O*-二葡萄糖苷等成分,也可水解为异鼠李素。因此异鼠李素来源于方中含异鼠李素苷元的多种成分。同时还发现,垂盆草中含槲皮素的糖苷类成分,如槲皮素-3-*O*- α -鼠李糖苷、槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷等,其加酸也可水解为槲皮素。结合阴性样品结果,槲皮素主要来源于垂盆草的水解产物。蒲黄中含有山柰酚-3-*O*-新橙皮糖苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷等成分,垂盆草药材中含有山柰酚-3- α -阿拉伯糖苷、山柰酚-3-(葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-鼠李糖)-7-鼠李糖苷等成分,酸水解后均可生成山柰酚;因此,山柰酚在缺垂盆草(水解)阴性样本或缺蒲黄(水解)阴性样本中均可检测到。

本研究建立了 HPLC 同时测定水解前、后软坚清脉颗粒中香蒲新苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、槲皮素、山柰酚、异鼠李素 5 种主要成分的含量测定方法,经方法学验证,该方法准确、专属性好、操作简单、重复性好,可为软坚清脉颗粒的质量控制提供参考。

参考文献:

- [1] AKAGI D, HOSHINA K, AKAI A, et al. Outcomes in patients with critical limb ischemia due to arteriosclerosis obliterans who did not undergo arterial reconstruction[J]. *International Heart Journal*, 2018, 59(5): 1041-1046.
- [2] NAU J. Arteriosclerosis obliterans of lower limbs: early diagnosis before symptoms[J]. *Revue Medicale Suisse*, 2015, 11: 1458-1459.
- [3] GO A S, MOZAFFARIAN D, ROGER V L, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American heart association[J]. *Circulation*, 2014, 129(3): 399-410.
- [4] 王健, 奚九一, 赵兆琳, 等. 软坚清脉方对动脉硬化性闭塞症经皮氧分压的影响[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2004, 10(5): 5-7.
- [5] 王健, 奚九一, 赵兆琳. 软坚清脉方对肢体动脉硬化性闭塞主证的临床研究[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2004, 10(2): 5-8.
- [6] 奚九一, 王健, 赵兆琳, 等. 软坚清脉方抗肢体动脉粥样硬化的临床研究[J]. *上海中医药杂志*, 1997, (1): 2-5.
- [7] 王健, 奚九一, 赵兆琳, 等. 软坚清脉方对肢体动脉硬化性闭塞症血氧含量的影响[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2004, 10(3): 7-9.
- [8] 赵诚, 梁志强, 朱忠强, 等. 软坚清脉颗粒治疗肢体动脉硬化性闭塞症临床研究[J]. *天津中医药*, 2016, 33(6): 328-330.
- [9] GORMAZ J G, QUINTREMIL S, RODRIGO R. Cardiovascular Disease: A target for the pharmacological effects of quercetin[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2015, 15(17): 1735-1742.
- [10] EKINCI AKDEMIR F N, RECEP SOSLU, BERNA KARAGOZ, et al. Quercetin protects rat skeletal muscle from ischemia reperfusion injury[J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2016, 31(2): 162-166.
- [11] ZHI K, LI M, BAI J, et al. Quercitrin treatment protects endothelial progenitor cells from oxidative damage via inducing autophagy through extracellular signal-regulated kinase[J]. *Angiogenesis*, 2016, 19(3): 311-324.
- [12] STAINER A R, SASIKUMAR P, BYE A P, et al. The metabolites of the dietary flavonoid quercetin possess potent antithrombotic activity, and Interact with aspirin to enhance antiplatelet effects[J]. *TH Open*, 2019, 3(3): e244-e258.
- [13] LUO Y, SUN G, DONG X, et al. Isorhamnetin attenuates atherosclerosis by inhibiting macrophage apoptosis via PI3K/AKT activation and HO-1 induction[J]. *PloS one*, 2015, 10(3): e120259.
- [14] BAO M, LOU Y. Isorhamnetin prevent endothelial cell injuries from oxidized LDL via activation of p38MAPK [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2006, 547(1/3): 22-30.
- [15] ABDULLAH A, RAVANAN P. Kaempferol mitigates endoplasmic reticulum stress induced cell death by targeting caspase 3/7[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 2189.
- [16] CALDERON MONTANO J M, BURGOS MORON E, PEREZ GUERRERO C, et al. A review on the dietary flavonoid kaempferol [J]. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2011, 11(4): 298-344.
- [17] 何艳, 胡小祥, 陈新明, 等. 高效液相色谱法同时测定丹膝颗粒中8种成分的含量[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(2): 263-267.
- [18] 胡飞凤, 黄文康. 高效液相色谱波长切换技术对复方野菊感冒颗粒中8种成分的含量测定[J]. *中国新药与临床杂志*, 2020, 39(10): 618-622.
- [19] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 223.
- [20] 李慧娟, 杜成林, 李娜, 等. 垂盆草的化学成分分离鉴定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(4): 76-80.

(编辑: 梁进权)