HPLC 指纹图谱结合化学模式识别评价舒筋活血制剂的整体质量

田清华[1]，张 亚[1]，徐 聪[1]，陈 燕[1]，陈塞特[1]，王 维[2]，颜继忠[1]，张 慧[1*]

1. 浙江工业大学，浙江 杭州 310014
2. 杭州华东医药集团康润制药有限公司，浙江 安吉 310011

摘 要：目的 建立舒筋活血制剂（舒筋活血胶囊、舒筋活血片）HPLC 指纹图谱的方法，为其整体质量评价提供参考。**方法** 色谱柱为 Agilent Poroshell 120 SB-C_{18}（150 mm×4.6 mm，2.7 μm），以乙腈-0.2%甲酸水溶液为流动相，进行梯度洗脱；体积流量 0.5 mL/min，检测波长 277 nm，柱温 30 ℃。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012 版）考察 23 批舒筋活血制剂的相似度，结合主成分分析（principal component analysis，PCA）、聚类分析（cluster analysis，CA）以及正交偏最小二乘判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA）对舒筋活血制剂进行整体质量评价。**结果** 舒筋活血制剂的 HPLC 指纹图谱中 18 批样品（S1～S17 和 S23）的相似度＞0.900，通过 PCA、CA 和 OPLS-DA，23 批样品聚成 3 类，S1～S16 来自同一厂家为一类；S23 和 S17 为一类；S18～S22 为一类，并从 10 个共有峰中确定差异较大的 4 个共有峰，分别为 1、3（5-羟甲基糠醛）、6（苯乙酸）和 10（4-甲氧基水杨醛）号峰。**结论** 所建立的指纹图谱结合化学模式识别方法稳定、简单，可用于评价舒筋活血制剂质量。

关键词：舒筋活血制剂；指纹图谱；化学模式识别；质量评价；相似度；主成分分析；聚类分析；正交偏最小二乘判别分析；5-羟甲基糠醛；苯乙酸；4-甲氧基水杨醛；舒筋活血胶囊；舒筋活血片

中图分类号：R286.02 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2019)20 - 4925 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.20.013

HPLC fingerprint combined with chemical pattern recognition for integral quality of Shujin Huoxue products

TIAN Qing-hua[1], ZHANG Ya[1], XU Cong[1], CHEN Yan[1], CHEN Sai-te[1], WANG Wei[2], YAN Ji-zhong[1], ZHANG Hui[1]

1. Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China
2. Hangzhou Huadong Medicine Group Kangrun Pharmaceutical Co., Ltd., Anji 310011, China

Abstract: Objective To establish the fingerprint chromatography of Shujin Huoxue products (Shujin Huoxue Capsule and Shujin Huoxue Tablet) and provide a reference for its overall quality evaluation. **Methods** The analysis was performed on Agilent Poroshell 120 SB-C_{18} (150 mm × 4.6 mm, 2.7 μm) column with acetonitrile-0.2% formic acid solution for gradient elution, the flow rate was 0.5 mL/min, the detection wavelength was 277 nm, and the column temperature was 30 ºC. HPLC of 23 batches of Shujin Huoxue products were analyzed by the software “Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of TCM (2012 edition)” combined with principal component analysis (PCA), cluster analysis (CA), and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA). **Results** The similarity of 18 batches (S1—S17 and S23) of samples was more than 0.900, 23 batches of samples could be clustered into three groups by PCA, CA, and OPLS-DA analysis. Among these, S1—S16 were clustered into group I, S23 and S17 could be divided into group II, and S18—S22 were clustered into group III. Four common peaks with larger differences were determined from 10 common peaks, including peaks 1, 3 (5-hydroxymethylfurfural), 6 (phenylacetic acid), and 10 (4-methoxy salicylaldehyde). **Conclusion** Fingerprint chromatography combined with chemical pattern recognition technique was stable and simple, which could be used to evaluate the quality of Shujin Huoxue products systematically and comprehensively.

Key words: Shujin Huoxue products; fingerprint; chemical pattern recognition; quality control; similarity; principal component analysis; cluster analysis; orthogonal partial least squares discriminant analysis; 5-hydroxymethylfurfural; phenylacetic acid; 4-methoxysalicylaldehyde; Shujin Huoxue Capsule; Shujin Huoxue Tablet

收稿日期：2019-07-15

基金项目：国家自然科学基金资助项目（81603249）；中国博士后科学基金面上资助（2018M632507）

作者简介：田清华，硕士生，研究方向为中药质量评价。E-mail: 1079973800@qq.com

***通信作者** 张 慧，博士，副教授，研究方向为中药活性成分筛选及中药质量评价。E-mail: zh889@zjut.edu.cn

舒筋活血制剂是由香附、伸筋草、红花、香加皮等 10 味中药组成的复方制剂，具有活血散瘀、舒筋活络之功效[1]，主要用于治疗筋骨疼痛、跌打损伤、类风湿关节炎等症，临床数据显示效果良好。目前，针对舒筋活血制剂的文献报道以统计和观察临床数据为主[2-6]，化学成分和物质基础方面的研究非常薄弱，且现行的部颁质量标准存在一定的不足，主要原因是该品种组方复杂，成分多样，单一的定量指标难以满足其质量控制的要求。而指纹图谱是一种有效控制多组分复杂样品质量的方法，能够体现中药复方制剂的整体性特征[7-8]。近年来，指纹图谱结合模式识别方法已广泛应用于中药材的质量控制、来源分析及差异标志物筛选等方面，能有效弥补现有质量控制方法的不足[9-14]。本研究建立舒筋活血胶囊的指纹图谱，对 23 批舒筋活血制剂进行相似度评价并结合主成分分析（PCA）、聚类分析（CA）和正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）等化学模式识别方法，筛选出差异性较大的质量标志物，建议在生产过程中对其重点关注，以实现对舒筋活血制剂的科学、系统的质量控制[15-17]。

1　仪器与试药

1.1　仪器

1260 Infinity II 高效液相色谱仪，美国 Agilent Technologies 公司；YP502N 电子天平，上海菁海仪器有限公司；LD4-2A 离心机，北京京立离心机有限公司；PS-40A 超声波清洗机，深圳市深华泰超声清洗设备有限公司；HH-4 电热恒温水槽，常州澳华仪器有限公司；玻璃夹套加热装置，自制。

1.2　试剂

4-甲氧基水杨醛对照品，批号 110790-201605，质量分数 99.74%，购自中国食品药品检定研究院；对照品羟基红花黄色素 A（批号 17082905，质量分数 99.88%）、迷迭香酸（批号 17040532，质量分数 99.40%），购自成都曼思特生物科技有限公司；乙腈，色谱纯，美国 Tedia 公司；甲酸，色谱纯，成都科隆化学试剂有限公司；纯净水，杭州娃哈哈有限公司。

1.3　药材

收集杭州华东医药集团康润制药有限公司 2016—2018 年生产的 16 批舒筋活血胶囊样品，编号为 S1～S16，批号依次为 170104、161106、170101、160909、170207、170606、180111、180201、180402、181214、181215、181216、181217、181218、181219、181220。另外样品分别来自江西红星药业有限公司舒筋活血胶囊（编号 S17，批号 J190103）、湖南安邦制药有限公司舒筋活血胶囊（编号 S18，批号 180402）、三门峡广宇生物制药有限公司舒筋活血片（编号 S19，批号 180317）、洛阳君山制药有限公司舒筋活血片（编号 S20，批号 181102）、河南金鸿堂制药有限公司舒筋活血片（编号 S21，批号 20180408）、洛阳顺势药业有限公司舒筋活血片（编号 S22，批号 20180707）、四川绵阳药业集团公司舒筋活血片（编号 S23，批号 1712012）。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

1260 Infinity II 高效液相色谱仪；色谱柱为 Agilent Poroshell 120 SB-C_{18}（150 mm×4.6 mm，2.7 μm），流动相为 0.2%甲酸水溶液-乙腈，梯度洗脱：0～15 min，5%～15%乙腈；15～20 min，15%～17%乙腈；20～25 min，17%～20%乙腈；25～40 min，20%～30%乙腈；40～50 min，30%～35%乙腈；50～60 min，35%～60%乙腈；60～65 min，60%～100%乙腈；65～75 min，100%乙腈；体积流量 0.5 mL/min；检测波长 277 nm；柱温 30 ℃；进样量为 10 μL；所有组分理论塔板数不低于 4 000。

2.2　供试品溶液的制备

精密称取舒筋活血胶囊粉末（片剂研磨成细粉）0.5 g，70%甲醇 50 mL，密塞，称定质量，水浴回流 1 h，3 000 r/min 离心 15 min，再次称定质量，用甲醇补足减失的质量，取上清液，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.3　对照品溶液的制备

精密称取羟基红花黄色素 A、迷迭香酸、4-甲氧基水杨醛对照品适量，加 70%甲醇溶解，制成含羟基红花黄色素 A 30 μg/mL、迷迭香酸 37 μg/mL、4-甲氧基水杨醛 25 μg/mL 的混合对照品溶液，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.4　指纹图谱方法学考察

2.4.1　精密度试验　取同一批舒筋活血胶囊粉末（批号 180111），按“2.2”项方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下连续进样 6 次进行分析，以 10 号峰的保留时间和峰面积为参照，计算各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积，结果表明共有峰的相对保留时间 RSD 均≤0.80%，相对峰面积 RSD 均≤2.6%，表明仪器精密度良好。

2.4.2　稳定性试验　取同一批舒筋活血胶囊粉末

（批号 180111），按“2.2”项方法制备供试品溶液，分别于制备后 0、2、4、8、12、24 h 在“2.1”项色谱条件下进样分析，以 10 号峰的保留时间和峰面积为参照，计算各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积，结果表明各共有峰的相对保留时间 RSD 均≤1.53%，相对峰面积 RSD 均≤3.67%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.3 重复性试验 按“2.2”项方法平行制备 6 份同一批次舒筋活血胶囊粉末（批号 180111）供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样检测，以 10 号峰的保留时间和峰面积为参照，计算各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积，结果表明各共有峰的相对保留时间 RSD 均≤4.15%，相对峰面积 RSD 均≤0.78%，表明该方法重复性良好。

2.5 舒筋活血制剂 HPLC 指纹图谱的建立

2.5.1 共有峰的标定及指认 取舒筋活血制剂，按“2.2”项方法制备 23 批供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进行样品和对照品溶液进样检测，记录色谱图。将各色谱图分别导入“中药色谱指纹图谱相似度评价软件（2012 版）”，以样品 S1 作为参照图谱，利用多点校正法建立指纹图谱，中位数法生成 23 批样品的对照指纹图谱（R），见图 1。根据生成的舒筋活血制剂指纹图谱结果，从图谱中选择分离度较好且含量较大的 10 个色谱峰作为共有特征峰，所选取的 10 个共有峰峰面积之和大于总峰面积的 90%。经质谱指认出 7 个色谱峰，其中 3 号峰为 5-羟甲基糠醛（$[M+H]^+$ *m/z* 127.039 0，MS/MS *m/z* 109, 81, 53），4 号峰为黄柏内酯（$[M-H]^-$ *m/z* 469.189 3，MS/MS *m/z* 423, 291, 195），5 号峰为羟基红花黄色素 A（$[M+H]^+$ *m/z* 613.179 9，MS/MS *m/z* 595, 451, 313, 211, 97），6 号峰为苯乙酸（$[M+H]^+$ *m/z* 137.059 9，MS/MS *m/z* 137, 93），8 号峰为去甲络石苷（$[M-H]^-$ *m/z* 535.180 3，MS/MS *m/z* 373, 249, 123），9 号峰为迷迭香酸（$[M-H]^-$ *m/z* 359.079 2，MS/MS *m/z* 161, 123），10 号峰为 4-甲氧基水杨醛（$[M+H]^+$ *m/z* 153.054 2，MS/MS *m/z* 151, 92）。采用羟基红花黄色素 A、迷迭香酸和 4-甲氧基水杨醛 3 个对照品进行验证，其中 10 号峰（4-甲氧基水杨醛）含量较大，分离度较好，故选择 10 号峰为参照峰，见图 2。

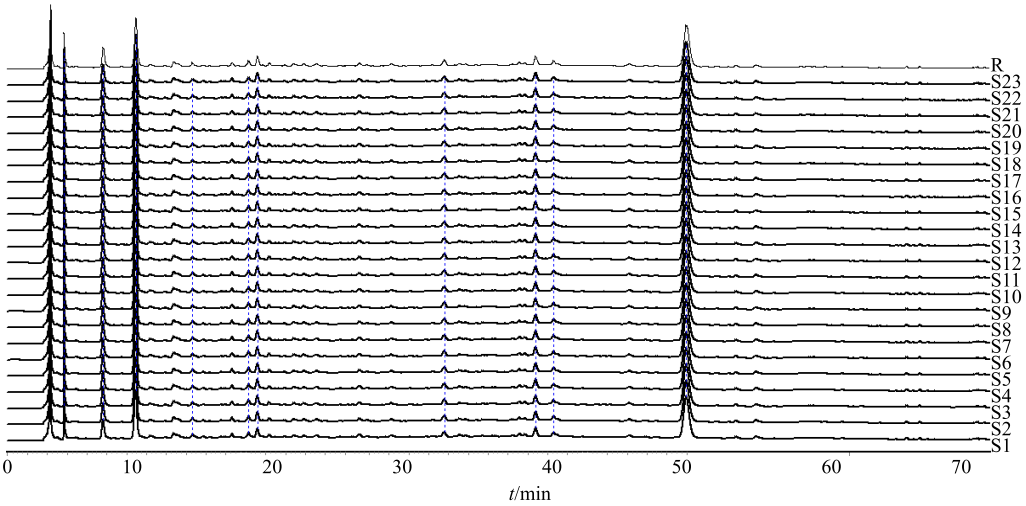
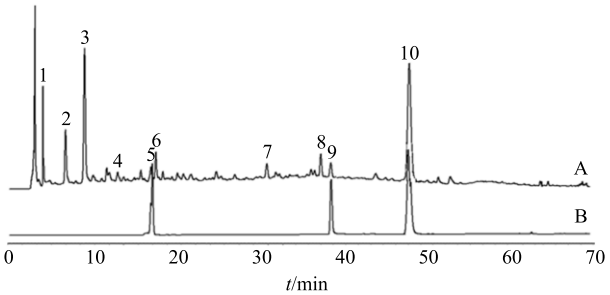


图 1 23 批舒筋活血制剂 (S1～S23) 的 HPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC fingerprints of 23 batches of Shujin Huoxue products (S1—S23) and its control fingerprint (R)



5-羟基红花黄色素 A 9-迷迭香酸 10-4-甲氧基水杨醛

5-hydroxyl safflor yellow A 9-rosmarinic acid 10-4-methoxysalicylaldehyde

图 2 舒筋活血制剂 (批号 180111, A) 及混合对照品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of Shujin Huoxue product (180111 batch, A) and mixed reference substances (B)

2.5.2 相对保留时间和相对峰面积 分别计算 23 批舒筋活血制剂指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。实验结果见表 1、2，23 批舒筋活血制剂中各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.75%～2.64%，表明所有批次中 10 个共有峰的出峰时间相

表 1　23 批舒筋活血制剂 HPLC 指纹图谱共有峰的相对保留时间

Table 1　Relative retention time of common peak in HPLC chromatograms of 23 batch of Shujin Huoxue products

峰号	相对保留时间									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
S1	0.064	0.146	0.196	0.285	0.365	0.378	0.654	0.780	0.805	1.000
S2	0.064	0.143	0.189	0.280	0.365	0.379	0.653	0.781	0.816	1.000
S3	0.064	0.146	0.197	0.288	0.370	0.383	0.655	0.779	0.804	1.000
S4	0.065	0.145	0.195	0.284	0.366	0.379	0.676	0.783	0.807	1.000
S5	0.063	0.151	0.200	0.289	0.369	0.383	0.652	0.779	0.804	1.000
S6	0.065	0.146	0.195	0.285	0.365	0.379	0.672	0.782	0.808	1.000
S7	0.064	0.150	0.197	0.280	0.363	0.378	0.650	0.777	0.801	1.000
S8	0.064	0.149	0.196	0.282	0.364	0.377	0.651	0.779	0.804	1.000
S9	0.064	0.146	0.196	0.284	0.366	0.379	0.654	0.782	0.807	1.000
S10	0.065	0.143	0.190	0.280	0.365	0.379	0.654	0.779	0.804	1.000
S11	0.064	0.152	0.201	0.290	0.371	0.384	0.656	0.784	0.808	1.000
S12	0.065	0.148	0.197	0.281	0.366	0.379	0.655	0.785	0.810	1.000
S13	0.065	0.147	0.195	0.279	0.365	0.378	0.651	0.778	0.802	1.000
S14	0.065	0.148	0.196	0.278	0.363	0.378	0.652	0.778	0.803	1.000
S15	0.065	0.145	0.195	0.282	0.367	0.380	0.650	0.780	0.805	1.000
S16	0.064	0.146	0.196	0.288	0.370	0.383	0.656	0.784	0.807	1.000
S17	0.064	0.141	0.186	0.287	0.359	0.367	0.673	0.765	0.790	1.000
S18	0.062	0.141	0.187	0.292	0.360	0.369	0.677	0.769	0.793	1.000
S19	0.061	0.142	0.188	0.291	0.361	0.369	0.679	0.770	0.794	1.000
S20	0.061	0.139	0.185	0.289	0.359	0.367	0.682	0.767	0.790	1.000
S21	0.062	0.140	0.185	0.288	0.359	0.368	0.681	0.776	0.789	1.000
S22	0.062	0.142	0.187	0.291	0.361	0.369	0.677	0.778	0.791	1.000
S23	0.062	0.141	0.186	0.290	0.360	0.369	0.676	0.767	0.777	1.000
RSD/%	2.42	2.49	2.64	1.54	1.01	1.52	1.84	0.75	1.12	0.00

对稳定。23 批舒筋活血制剂中各共有峰相对峰面积的 RSD 为 26.31%～81.35%，表明 23 批来自不同厂家的舒筋活血制剂相对峰面积差异较大，且 3 号峰和 8 号峰的 RSD 值差异最大。

2.5.3　相似度计算　将 23 批舒筋活血制剂指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012 版），将 S1 设为参照图谱，生成对照指纹图谱（R），计算各批次样品与 R 之间的相似度，结果为 0.994、0.992、0.995、0.997、0.994、0.968、0.997、0.989、0.997、0.997、0.994、0.992、0.997、0.987、0.983、0.989、0.967、0.835、0.855、0.797、0.899、0.853、0.949，结果表明来自同一个厂家的 S1～S16，相似度均大于 0.960；而来自 7 个不同厂家的 S17～S23，S17 和 S23 相似度大于 0.949，剩余 4 批相似度为 0.797～0.899，表明不同厂家之间由于生产工艺和原料来源存在差异，导致相似度存在差异，同一厂家的样品相似度较为接近，质量的稳定性也较好。

2.6　化学模式识别分析

2.6.1　PCA　对 23 批舒筋活血制剂进行 PCA，以 10 个共有峰峰面积为变量，使用 SIMCA 13.0 统计软件选出贡献率最大的前 2 个主成分，前 2 个主成分的总贡献率为 80.48%，即前 2 个主成分能反映舒筋活血制剂的基本特征。计算 23 批舒筋活血制剂的主成分得分，23 批样品的主成分得分如图 3 所示。由图 3 可见，23 批样品可以分为 3 类，S1～S16 为一类；S23 和 S17 可以分为一类；S18～S22 可以分为一类。同一厂家 16 批样品分为一类，不同厂家的 7 批样品中，S17 和 S23 可以分为一类，其余 4 批分为一类。结果表明 PCA 结果与相似度结果一致，杭州华东医药集团康润制药有限公司的 16 批舒筋

表 2 23 批舒筋活血制剂 HPLC 指纹图谱共有峰的相对峰面积

Table 2 Relative peak area of common peak in HPLC of 23 batch of Shujin Huoxue products

峰号	相对峰面积									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
S1	0.295	0.166	0.618	0.047	0.044	0.088	0.040	0.067	0.042	1.000
S2	0.277	0.155	0.563	0.043	0.044	0.074	0.048	0.110	0.078	1.000
S3	0.316	0.172	0.664	0.030	0.027	0.069	0.053	0.070	0.041	1.000
S4	0.337	0.238	0.669	0.027	0.033	0.100	0.029	0.051	0.063	1.000
S5	0.313	0.175	0.609	0.028	0.035	0.072	0.059	0.094	0.041	1.000
S6	0.369	0.118	0.408	0.027	0.026	0.114	0.043	0.040	0.059	1.000
S7	0.312	0.226	0.615	0.051	0.050	0.088	0.086	0.128	0.075	1.000
S8	0.303	0.198	0.509	0.064	0.059	0.112	0.077	0.098	0.062	1.000
S9	0.418	0.295	0.634	0.047	0.054	0.121	0.057	0.083	0.056	1.000
S10	0.274	0.258	0.604	0.035	0.064	0.119	0.064	0.124	0.077	1.000
S11	0.283	0.311	0.578	0.041	0.070	0.112	0.076	0.128	0.094	1.000
S12	0.293	0.307	0.564	0.038	0.067	0.105	0.065	0.159	0.119	1.000
S13	0.320	0.334	0.791	0.037	0.060	0.136	0.056	0.165	0.097	1.000
S14	0.337	0.332	0.632	0.054	0.087	0.181	0.162	0.293	0.108	1.000
S15	0.312	0.290	0.566	0.061	0.081	0.176	0.161	0.298	0.137	1.000
S16	0.307	0.312	0.655	0.055	0.075	0.155	0.145	0.298	0.111	1.000
S17	0.155	0.278	0.598	0.083	0.107	0.389	0.117	0.085	0.262	1.000
S18	0.281	0.466	2.651	0.195	0.136	0.352	0.293	0.576	0.081	1.000
S19	0.184	0.550	1.298	0.089	0.078	0.248	0.108	0.048	0.132	1.000
S20	0.200	0.122	2.968	0.065	0.031	0.226	0.031	0.122	0.046	1.000
S21	0.125	0.241	1.806	0.065	0.087	0.230	0.072	0.066	0.139	1.000
S22	0.230	0.447	2.389	0.114	0.159	0.320	0.064	0.075	0.218	1.000
S23	0.144	0.095	0.110	0.055	0.049	0.303	0.118	0.282	0.034	1.000
RSD/%	26.31	43.30	81.35	62.27	50.62	56.67	67.29	82.68	59.73	0.00

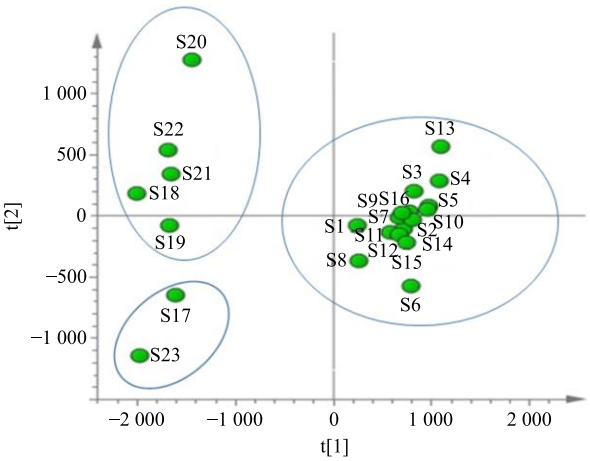


图 3 23 批舒筋活血制剂主成分得分图

Fig. 3 Score plot of principal component analysis of 23 batches of Shujin Huoxue products

活血胶囊制备工艺稳定，江西红星药业有限公司的舒筋活血胶囊和四川绵阳药业集团公司的舒筋活血片为一类，舒筋活血制剂的不同剂型并无太大差异。

图 4 为 23 批样品中 10 个指标的载荷图，主要说明样品中 10 个原始变量与主成分 1 和主成分 2 的

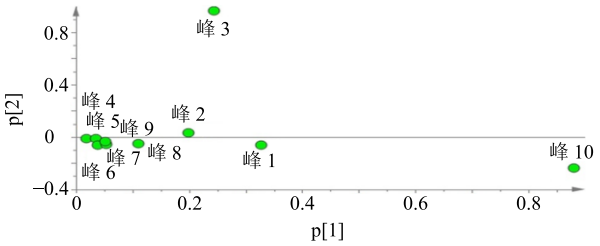


图 4 舒筋活血制剂主成分载荷图

Fig. 4 Loading diagram of principal component analysis of Shujin Huoxue products

相关程度，由图 4 可知，对主成分 1 影响最大的成分峰是峰 1 和峰 10，对主成分 2 影响最大的是峰 3，结果表明 10 个共有峰中，峰 1、3、10 能比较明显反映出样品的整体信息，其中 10 号峰经鉴定为 4-甲氧基水杨醛，可以通过这 3 个色谱峰反映不同厂家和批次间的差异性。

2.6.2　CA　以不同厂家 23 批舒筋活血制剂中 10 个共有峰的峰面积为变量，输入 SPSS 18.0 统计分析软件系统聚类方法，采用组间平均连锁法，以平方欧式距离为分类依据，见图 5。可见，当阈值为 5～10 时，可以聚为 3 类，第 1 类为 S1～S16；第 2 类为 S17、S23；第 3 类为 S18～S22，CA 的结果与相似度分析结果和 PCA 结果一致。

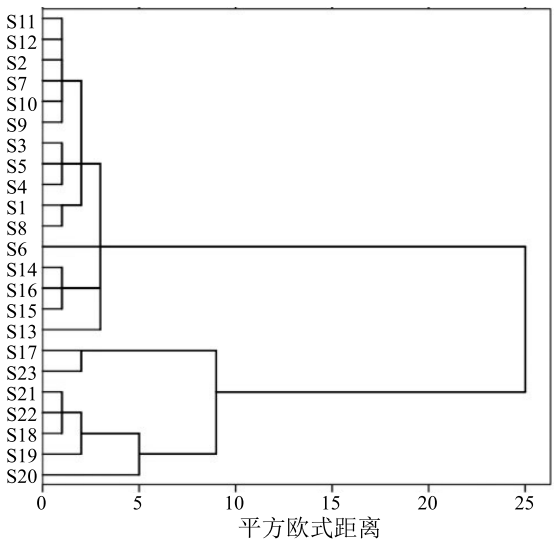


图 5　不同批次舒筋活血制剂聚类分析

Fig. 5　Cluster analysis of different batches of Shujin Huoxue products

2.6.3　OPLS-DA　为了更好分析样品之间的差异，使用统计数据分析软件 SIMCA 13.0 对 23 批舒筋活血制剂进行判别分析，根据 PCA 和 CA 得到的分类结果，使用监督模式识别方法 OPLS-DA 建模分析，OPLS-DA 得分矩阵图见图 6，可以明显地分成 3 类。得到 3 个关键指标可评价 OPLS-DA 模型的质量（R_X^2cum，概括 X 矩阵结实率；R_Y^2cum，反映模型的稳定性；Q^2cum 反映模型的预测性；其中 R_Y^2cum 和 Q^2cum 越接近 1 说明模型的稳定性和预测性越好）[18]，结果得到 R_X^2cum＝0.931，R_Y^2cum＝1，Q^2cum＝0.635。R_Y^2cum＝1 说明该模型中这些共有峰的变化能够解释引起不同分类发生的 100%；Q^2cum＝0.635＞0.5，揭示模型的预测能力较强。

为确定各共有峰对舒筋活血制剂质量差异产生的影响，采用变量重要性投影（variable importance in the projection，VIP）进行分析，当 VIP 值大于 1 时为有意义变量，选取 VIP≥1.0 为标准，筛选得到 4 个影响较大的峰，从大到小依次为 1、3、6、10 号峰，见图 7。从载荷图（图 8）中也能看出这 4 个峰离原点较远，表示这 4 个峰的差异对分类引起的影响较大。其中 10 号峰是已知的，是对照品中的 4-甲氧基水杨醛。

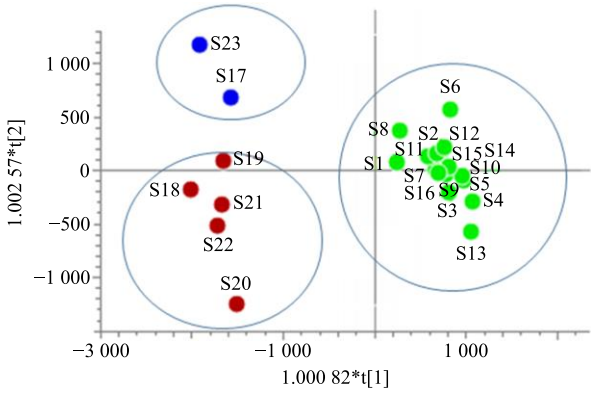


图 6　23 批舒筋活血制剂 OPLS-DA 分类得分图

Fig. 6　OPLS-DA score scatter plots of 23 batches of Shujin Huoxue products

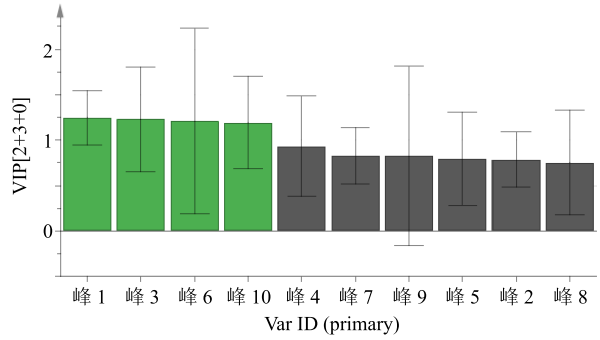


图 7　23 批舒筋活血制剂差异性标志物的 VIP

Fig.7　Variable important plots of 23 batches of Shujin Huoxue products

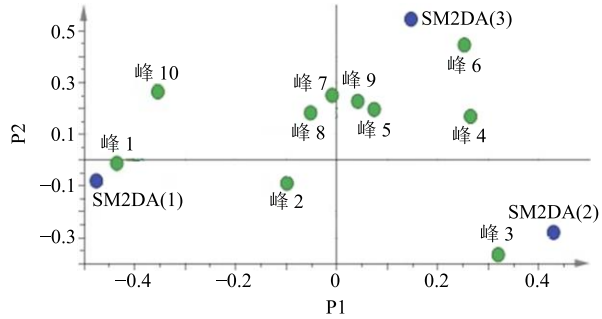


图 8　OPLS-DA 模型的载荷图

Fig. 8　OPLS-DA loading scatter plots of 23 batches of Shujin Huoxue products

3 讨论

3.1 色谱条件优化

本实验对甲醇-水-乙酸（47∶50∶3）、乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.2%磷酸水溶液、乙腈-0.2%甲酸水溶液、甲醇-0.2%甲酸水溶液等不同比例和种类的洗脱系统进行筛选，对 277、270、264、280 nm 不同波长进行考察，当波长为 277 nm，流动相为乙腈-0.2%甲酸水溶液时，色谱峰的分离度较高，峰总数较多，峰纯度较好，更多的成分能被分离出来且含量较高。

3.2 样品处理方法优化

本实验对舒筋活血制剂不同提取方法（加热回流和超声）进行筛选，并对溶剂的种类（甲醇、水、乙醇）、溶剂甲醇的体积分数（30%、50%、70%）、溶剂的提取体积和提取时间进行考察，确定舒筋活血制剂的最佳处理方法为 70%甲醇 50 mL，加热回流 1 h。

3.3 PCA、CA 和 OPLS-DA

采用指纹图谱结合化学模式识别方法，得出不同厂家生产的舒筋活血制剂质量存在显著差异，一个厂家生产的不同批次的制剂存在微小差异。结合 CA、PCA 和 OPLS-DA 法可将上述 23 批制剂分成 3 类，筛选得到 4 个差异性质量标志物（Q-marker），分别指认为 1、3（5-羟甲基糠醛）、6（苯乙酸）、10（4-甲氧基水杨醛）号峰。建议厂家在生产过程中对这 4 个质量标志物进行重点关注，跟踪这些标志物在各个生产环节中的变化，通过对关键生产过程的优化，更加科学全面地控制药品质量，是中药现代化发展过程中非常有意义的环节。

本实验中 PCA、CA 和 OPLS-DA 法结果基本一致，与相似度评价结果互为佐证。指纹图谱结合化学模式识别方法为中药质量控制提供新思路，能有效弥补现有质量控制方法的不足，可供企业在原药材来源、炮制方法、运输储存、提取加工和剂型选择等各个阶段进行监控，更科学、系统地控制药品的质量。

参考文献

[1] 吴 燕. 舒筋活血胶囊质量标准研究 [J]. 青岛医药卫生, 2009, 41(3): 206-208.

[2] 靳志海, 葛满意, 李高强, 等. 舒筋活血胶囊联合艾瑞昔布治疗膝骨关节炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(2): 481-484.

[3] 梅伟强, 金利家. 舒筋活血胶囊治疗坐骨神经痛 30 例疗效分析 [J]. 海峡药学, 2015, 27(4): 185-196.

[4] 李 燕, 杨文科. 舒筋活血分散片溶出度的研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2012, 32(6): 13-14.

[5] 龙志坚, 翁小涛. 舒筋活血胶囊治疗劳损性颈肩痛 43 例临床观察 [J]. 中医药导报, 2011, 17(7): 114-115.

[6] 张翠华. 舒筋活血胶囊治疗骨伤肿痛临床报道 217 例 [J]. 中国医药指南, 2010, 8(21): 120-122.

[7] 刘东方, 赵丽娜, 李银峰, 等. 中药指纹图谱技术的研究进展及应用 [J]. 中草药, 2016, 47(22): 4085-4094.

[8] 伍红年, 谭诗涵, 王元清, 等. 竹节参 HPLC 指纹图谱的建立及 7 种成分测定 [J]. 中成药, 2019, 41(5): 1074-1080.

[9] 荆文光, 邓 哲, 孙晓波, 等. 姜厚朴饮片标准汤剂研究 [J]. 中草药, 2019, 50(1): 83-89.

[10] 周桂荣, 李 响, 赵桂铃, 等. 橘叶 UPLC 指纹图谱和化学模式识别研究 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(12): 2237-2241.

[11] 秦建平, 吴建雄, 郎 悦, 等. 痛宁凝胶的 HPLC-MS 指纹图谱研究 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(4): 427-430.

[12] Gao S M, Liu J S, Wang M, *et al*. Quantitative and HPLC fingerprint analysis combined with chemometrics for quality evaluation of *Codonopsis Radix* processed with different methods [J]. *Chin Herb Med*, 2019, 11(2): 160-168.

[13] 刘德文, 邓 哲, 陈 莎, 等. 泽泻饮片标准汤剂的制备及质量评价 [J]. 中草药, 2019, 50(4): 860-867.

[14] 朱晓红, 李 强, 王 强, 等. 枣仁安神胶囊 HPLC 指纹图谱与化学模式识别分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(2): 234-238.

[15] 周 欣, 张 琳, 毛 婵, 等. 基于化学计量学方法结合正交偏最小二乘判别分析的陈皮饮片 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2019, 50(9): 2194-2200.

[16] 潘伟东, 杜义龙, 赵胜男, 等. 韩信草的高效液相色谱指纹图谱及化学模式识别 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(2): 250-254.

[17] 杨冰月, 彭 亮, 颜永刚, 等. HPLC 指纹图谱结合化学模式识别分析不同产地款冬花生品与蜜炙品 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 4991-4997.

[18] 陈粲文, 宋粉云, 李 华, 等. 安胎丸 UPLC 指纹图谱及模式识别研究 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36(3): 465-472.