

HPLC 指纹图谱结合化学模式识别评价和胃降逆胶囊

李莎莎¹, 赵宗平², 蔡萌萌², 毛阿娟¹, 李 芳¹, 李 凡¹, 王卫锋^{1*}

1. 陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710003

2. 陕西威信制药有限公司, 陕西 西安 710065

摘要: **目的** 基于 HPLC 指纹图谱和化学模式识别方式建立和胃降逆胶囊的质量评价方法。**方法** 建立 11 批和胃降逆胶囊的 HPLC 指纹图谱, 指认共有峰, 并进行相似度评价; 采用 SPSS 26.0、SIMCA14.1 软件对和胃降逆胶囊进行聚类分析(HCA)、主成分分析(PCA)和最小偏二乘判别分析(OPLS-DA), 以变量重要性投影(VIP)值>1 为标准筛选影响和胃降逆胶囊质量的差异性成分。**结果** 建立了 11 批和胃降逆胶囊的指纹图谱, 相似度均大于 0.90, 标定共有峰 25 个, 指认了其中 5 个, 分别是绿原酸、菊苣酸、虎杖苷、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷和大黄素。由 HCA 可知, 11 批和胃降逆胶囊可聚为 3 类, PCA 从 25 个共有峰中提取了 4 个主成分, 通过 OPLS-DA 分析筛选了 16 号峰(大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷)、25 号峰(大黄素)、5 号峰(虎杖苷)、24 号峰和 19 号峰 5 个引起不同批次和胃降逆胶囊质量差异的主要标志性成分。**结论** 建立的 HPLC 指纹图谱方法稳定可靠, 结合化学模式识别技术可用于评价和胃降逆胶囊的整体质量。

关键词: 和胃降逆胶囊; 高效液相色谱; 指纹图谱; 聚类分析; 主成分分析; 最小偏二乘判别分析

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2025)11-2770-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.11.010

Evaluation of Hewei Jiangni Capsules with HPLC fingerprint and chemical pattern recognition

LI Shasha¹, ZHAO Zongping², CAI Mengmeng², MAO Ajuan¹, LI Fang¹, LI Fan¹, WANG Weifeng¹

1. Shaanxi Provincial Traditional Chinese Medicine Research Institute, Xi'an 710003, China

2. Shaanxi Weixin Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an 710065, China

Abstract: Objective To establish a quality evaluation method for Hewei Jiangni Capsules based on HPLC fingerprint and chemical pattern recognition. **Methods** HPLC fingerprint of 11 batches of Hewei Jiangni Capsules was carried on. The common peaks were identified and similarity evaluation was performed. Hierarchical cluster analysis (HCA), principal components analysis (PCA), and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were conducted on Hewei Jiangni Capsules using SPSS 26.0 and SIMCA 14.1 software. Differential components affecting the quality of Hewei Jiangni Capsules were screened based on the criterion of variable importance projection (VIP) value > 1.0. **Results** HPLC fingerprint of 11 batches of Hewei Jiangni Capsules were established. The similarities of 11 batches of samples were above 0.90, and 25 common peaks were identified, and five components were confirmed, namely chlorogenic acid, cichoric acid, polydatin, emodin-8-*O*- β -D-pyranoside, and emodin. The results of HCA indicate that 11 batches of Hewei Jiangni Capsules could be classified into three clusters, four principal components from 25 common peaks were extracted by PCA. Five quality differential components were presented in the fingerprints by OPLS-DA, including peak 16 (emodin-8-*O*- β -D-glucoside), peak 25 (emodin), peak 5 (polydatin), peak 24, and peak 19. **Conclusion** The established HPLC fingerprint method is stable and reliable, and combined with chemical pattern recognition technology, which can be used to evaluate the overall quality of Hewei Jiangni Capsules.

Key words: Hewei Jiangni Capsules; HPLC; fingerprint; HCA; PCA; OPLS-DA

和胃降逆胶囊由朱砂七、煅赭石、天仙藤、老 气、清热化痰、和胃降逆^[1-2]。临床试验表明, 和胃
龙皮、太白樗木和蒲公英 6 味中药组成, 可活血理 降逆胶囊能够显著改善慢性萎缩性胃炎患者临床

收稿日期: 2025-05-23

基金项目: 陕西省重点研发计划(2024SF-YBXM-481); 陕西省中医药管理局中医药全省性专款专项项目(2021-QYZL-01)

作者简介: 李莎莎(1988—), 女, 陕西丹凤人, 助理研究员, 硕士, 从事中药新药研究。E-mail: lisha988118@163.com

*通信作者: 王卫锋(1968—), 男, 陕西蓝田人, 主任药师, 硕士, 从事中药新药研究。E-mail: 554974456@qq.com

症状、胃镜下胃黏膜征象、胃黏膜萎缩状态,对慢性萎缩性胃炎逆转率为 98.99%,临床疗效显著^[3]。和胃降逆胶囊能够抑制人胃癌慢性萎缩性胃炎细胞增殖和凋亡,对慢性萎缩性胃炎和伴有肠上皮化生、非典型增生、胃癌等属气滞血瘀证者疗效佳^[4],其可能作用于上皮-间质细胞的早期阶段,通过核因子- κ B/上皮-间质转换(NF- κ B/EMT)通路介导人胃腺癌慢性萎缩性胃炎细胞的迁移和侵袭^[5]。和胃降逆胶囊的现行国家药品标准仅选择大黄素单一成分进行测定^[6],难以评价和胃降逆胶囊的整体质量情况,有必要探索其整体质量模式。近年来,中药指纹图谱与 HCA、PCA 与 OPLS-DA 等化学计量学方法联合使用是中药、中药制剂的整体质量研究的趋势^[7-9]。因此,本研究采用高效液相色谱技术建立和胃降逆胶囊的指纹图谱,进而借助化学模式识别技术建立胃降逆胶囊的整体质量评价方法,旨在为该制剂的质量控制提供参考。

1 仪器与试药

LC-2010 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);BT25S 型十万分之一电子分析天平、BS210S 型万分之一电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);DFT-200A 粉碎机(温岭市林大机械有限公司);KQ-5200E 台式超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

大黄素(批号 110756-201913)、绿原酸(批号 110753-202119)、菊苣酸(批号 111752-202105)、虎杖苷(批号 111575-201603)对照品购自中国食品药品检定研究院。大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(批号 CHB250522)对照品购自成都克洛玛生物科技有限公司。甲醇、乙腈、甲酸为色谱级;水为纯净水;其他试剂为分析纯。和胃降逆胶囊编号为 S1~S11,批号为 190501、190502、190503、210201、210501、211101、211102、211103、220301、220401、230801,朱砂七、蒲公英、太白樛木、老龙皮、天仙藤和煅赭石药材均由陕西威信制药有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 分别精密称取绿原酸、菊苣酸、虎杖苷、大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和大黄素的对照品适量,置于不同 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,得到对照品母液。精密量取各母液适量,置于同一个 10 mL 量瓶中,甲醇定容,配制成质量浓度分别为 0.2、0.2、0.1、0.5、0.2 mg/mL 的混合

对照品溶液,备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 取和胃降逆胶囊内容物 1.0 g,精密称定,置 100 mL 具塞三角瓶中,加入 70%甲醇 50 mL,称量,超声(功率 400 W,频率 40 kHz)提取 45 min,冷却至室温,再称量,用 70%甲醇补足减失的质量,0.22 μ m 微孔滤膜滤过,即得。药材样品溶液同法制备。

2.2 色谱条件

采用 Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 4 μ m),以乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0~5 min, 10% $\rightarrow$ 18% A; 5~35 min, 18% $\rightarrow$ 25% A; 35~50 min, 25% $\rightarrow$ 30% A; 50~80 min, 30% $\rightarrow$ 80% A),体积流量 0.3 mL/min,检测波长 250 nm,柱温 20 $^{\circ}$ C,进样量 10 μ L。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取编号 S1 和胃降逆胶囊供试品溶液适量,连续进样测定 6 次,以 8 号色谱峰的保留时间和峰面积为参照,计算出各色谱峰的相对保留时间的 RSD 值均 $\leq$ 0.58%,相对峰面积的 RSD 值均 $\leq$ 3.02%。

2.3.2 稳定性试验 取编号 S1 和胃降逆胶囊供试品溶液适量,分别于室温放置 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样测定,以 8 号色谱峰的保留时间和色谱峰面积为参照,计算各色谱峰的相对保留时间的 RSD 值 $\leq$ 0.46%,相对峰面积的 RSD 值 $\leq$ 3.38%,表明供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定性良好。

2.3.3 重复性试验 取编号 S1 和胃降逆胶囊 6 份,每份 1.0 g,制备供试品溶液,进样测定,以 8 号色谱峰的保留时间和色谱峰面积为参照,计算各色谱峰的相对保留时间的 RSD 值 $\leq$ 0.45%,相对峰面积的 RSD 值 $\leq$ 3.34%。

2.4 HPLC 指纹图谱的建立

取 11 批和胃降逆胶囊样品,制备供试品溶液,进样测定,记录色谱图。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)》,以编号 S1 的样品色谱图为参照图谱,时间窗宽度为 0.1,以平均数法生成叠加指纹图谱,通过多点校正,经 Mark 峰匹配后生成对照图谱,见图 1。11 批和胃降逆胶囊色谱峰中有 25 个共有峰。以最大峰面积的 8 号峰为对照峰,峰面积设为 1,每批样品图谱中的其他共有峰峰面积与 8 号峰面积相除得相对峰面积。同理,每批样品色谱图中共有峰保留时间的 RSD 值均 $<$ 1.0,说明这些峰的选取符合共有峰的特点。

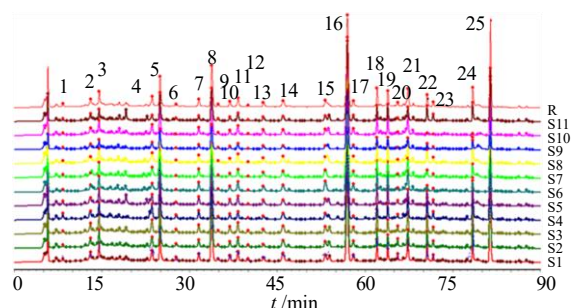


图 1 和胃降逆胶囊的 HPLC 叠加图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of Hewei Jiangni Capsules

2.5 色谱峰的归属和指认

分别取对照品溶液、和胃降逆胶囊供试品溶液和朱砂七、蒲公英、太白樗木、老龙皮、天仙藤和煅赭石药材样品溶液，进样测定，对色谱峰进行指认、归属。通过保留时间与对照品进行对比，指认了其中 5 个色谱峰，峰 3 为绿原酸、峰 4 为菊苣酸、峰 5 为虎杖苷、峰 16 为大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、峰 25 为大黄素。通过与朱砂七、蒲公英、太白樗木、老龙皮、天仙藤和煅赭石药材的色谱图对比，对上述 25 个峰进行归属，结果发现和胃降逆胶囊中峰 1、3、5、8、10、11~20、22、23、25 来源于朱砂七，峰 2~4、9 来源于蒲公英，峰 3、7、9、24 来源于太白樗木，峰 18 和峰 21 来源于老龙皮，峰 6 来源于天仙藤。25 个共有峰中并未出现煅赭石的色谱峰。

2.6 相似度评价

采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)》对 11 批和胃降逆胶囊样品进行相似度评价，结果见表 1。软件相似度计算是采用向量夹角余弦法，相似度结果在 0.915~1.000，各批和胃降逆胶囊样品 S1~S11 与对照指纹图谱的相似度均 ≥ 0.900 ，符合指纹图谱的技术要求，表明 11 批制剂之间具有较好的一致性，本法可用于综合评价和胃降逆胶囊的整体质量。

表 1 和胃降逆胶囊相似度评价结果

Table 1 Similarity evaluation results of Hewei Jiangni Capsules

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.988	S5	0.995	S9	0.989
S2	0.989	S6	0.983	S10	0.980
S3	0.994	S7	0.995	S11	0.988
S4	0.973	S8	0.997		

2.7 聚类分析 (HCA)

以 11 批和胃降逆胶囊样品的共有峰相对峰面积为变量，导入 SPSS 26.0 软件，采用组间聚类，以平方欧式距离为依据进行聚类分析，结果见图 2。当平方欧式距离为 5 时，11 批样品聚为 3 类，S1~S3 号样品聚为一类，S4 单独为一类，S5~S11 聚为一类，表明不同批次和胃降逆胶囊样品间质量存在一定差异。

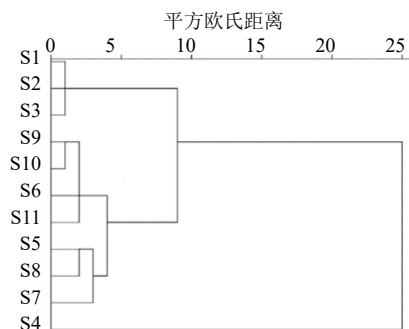


图 2 和胃降逆胶囊聚类分析树状图

Fig. 2 Tree diagram of cluster analysis of Hewei Jiangni Capsules

2.8 主成分分析 (PCA)

以 11 批和胃降逆胶囊样品的 25 个共有峰峰面积为变量，通过 SIMCA 14.1 软件进行 PCA 分析，见图 3。11 批和胃降逆胶囊可分为 3 组，S1~S3 为一组，S4 单独为一组，S5~S11 为一组，与 HCA 结果一致。

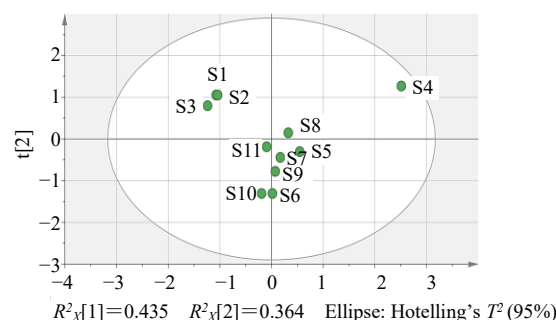


图 3 和胃降逆胶囊 PCA 得分图

Fig. 3 PCA scores plot of Hewei Jiangni Capsules

使用 SPSS Statistics 26 软件对共有峰进行分析，以特征值 > 1 为提取标准，得到 4 个主成分，特征值分别为 13.206、6.515、2.256、1.292，方差贡献率分别为 38.406%、29.078%、15.159%、10.432%，累积方差贡献率分别为 38.406%、67.484%、82.643%、93.075%，因此这 4 个主成分可基本体现不同批次和胃降逆胶囊的大部分信息^[10]。

由表 2 可知 22 个变量与主成分因子 1 呈正相关, 其中峰 11、14、17、18 对其贡献较大; 18 个变量与主成分因子 2 呈正相关, 峰 22、24 对其贡献较大; 14 个变量与主成分因子 3 呈正相关, 峰 3、5、19 对其贡献较大; 15 个变量与主成分因子 4 呈正相关, 峰 2 对其贡献最大。经对照品比对可知峰 3 为绿原酸、峰 4 为菊苣酸、峰 5 为虎杖苷、峰 16 为大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、峰 25 为大黄素。

表 2 和胃降逆胶囊 PCA 因子载荷矩阵

Table 2 PCA factor load matrix of Hewei Jiangni Capsules

峰号	主成分			
	1	2	3	4
1	-0.175	0.727	0.515	0.348
2	0.128	0.363		0.911
3	0.575	0.261	0.703	
4	0.433	0.672	0.133	0.365
5	0.366	-0.342	0.799	-0.312
6	0.225	0.815	-0.231	0.416
7	0.675	0.366	0.578	0.163
8	0.835	0.403	-0.119	0.326
9	0.881		0.236	0.301
10	0.759	0.346	0.271	0.427
11	0.927		0.321	
12	0.865	0.264	-0.105	0.341
13	0.681	-0.390	0.560	-0.215
14	0.907	0.344		
15	0.794		0.426	-0.314
16	0.563	0.408	0.536	0.241
17	0.938	-0.194		-0.157
18	0.905	0.221	0.168	0.214
19		-0.388	0.840	
20	0.408	0.654		0.601
21	0.669	0.603	0.176	
22	0.122	0.925	-0.243	0.157
23	0.353	0.846	-0.314	0.122
24		0.989		
25	0.230	0.887		0.217

2.9 正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA)

以 11 批和胃降逆胶囊样品的 25 个共有峰峰面积为变量, 通过 SIMCA 14.1 软件进行 OPLS-DA 建模分析, 见图 4。所建立的模型 $R^2=0.917$, $R^2_Y=0.972$, 预测能力参数 $Q^2=0.797$, 说明所建立的模型可以描述大部分数据, 具有良好预测能力。

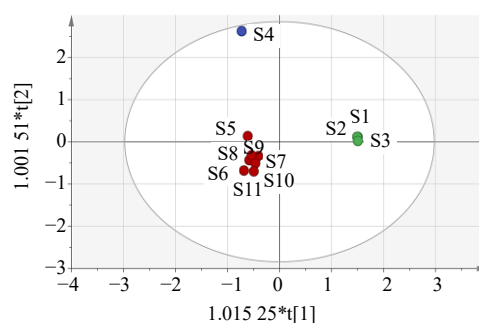


图 4 和胃降逆胶囊 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA scores plot of Hewei Jiangni Capsules

对 OPLS-DA 进行 200 次置换检验, 见图 5。所得置换检验得 R^2 、 Q^2 均小于所建立模型的原始值, 且 Q^2 的截距小于 0, 表明模型没有过拟合, 稳定可靠, 具有良好的拟合度和预测能力。由图 4 可知, 11 批和胃降逆胶囊分为 3 组, S1~S3 为一组, S4 单独为一组, S5~S11 为一组, 与 PCA 结果一致。

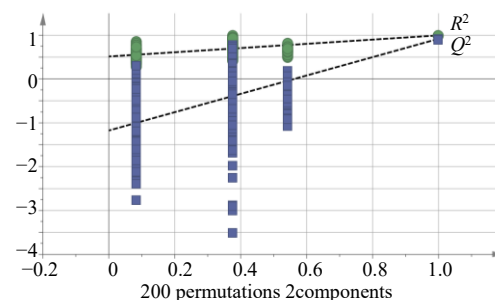


图 5 和胃降逆胶囊 OPLS-DA 模型置换检验图

Fig. 5 Replacement test results of Hewei Jiangni Capsules

结合变量重要性投影值 ($VIP>1$) 筛选差异性成分^[10], 见图 6。发现有 5 个共有峰符合要求, 按照重要性贡献度大小分别是峰 16 (大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷)、峰 25 (大黄素)、峰 5 (虎杖苷)、峰 24、峰 19。

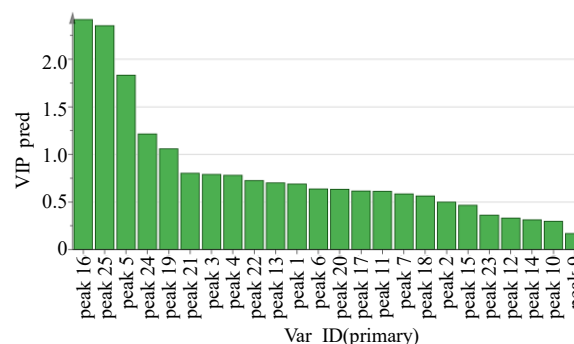


图 6 和胃降逆胶囊 VIP 得分图

Fig. 6 VIP plot of common peak Hewei Jiangni Capsules

3 讨论

3.1 色谱条件与提取方法的优化

为了在指纹图谱实验中获得较好的色谱峰分离度、响应度和峰形,考察了不同波长(210、250、290、360 nm)、流动相(甲醇-水、甲醇-甲酸、甲醇-磷酸、乙腈-水、乙腈-甲酸、乙腈-磷酸)、柱温(15、20、25、30、35 °C)、提取溶剂(甲醇、乙醇、水)、溶剂比例(50%、60%、70%、80%、90%、100%)、提取时间(15、30、45、60 min),最终确定使用 70%甲醇超声提取 45 min,流动相为乙腈-0.1%甲酸,波长为 250 nm 时效果最佳。

3.2 指纹图谱与化学模式识别结果分析

本研究建立了和胃降逆胶囊的 HPLC 指纹图谱,结合化学计量法对 11 批样品进行质量评价。结果共标定了 25 个共有峰,其中 5 个共有峰被指认出,分别是绿原酸、菊苣酸、虎杖苷、大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和大黄素,其中大黄素为朱砂七中药效成分,也是《陕西省药材标准(2015 年版)》朱砂七药材含量测定的指标成分^[11];菊苣酸可显著降低 SGC-701、MGC-803 胃癌细胞的细胞活力,诱导胃癌细胞凋亡,抑制肿瘤生长,其机制是通过激活 AMPK 信号通路调控上下游靶蛋白,诱导胃癌细胞自噬或凋亡,以降低其增殖和侵袭能力,从而有效抑制胃癌的发展进程^[12]。菊苣酸合用可抑制 NF- κ B 和 Akt 的磷酸化,降低细胞一氧化氮和前列腺素 E₂ 的产生和表达,抑制诱导型一氧化氮合酶和环氧合酶的表达,同时降低促炎细胞因子、肿瘤坏死因子和白细胞介素-1 的水平^[13]。相似度评价中,11 批和胃降逆胶囊样品的相似度均 ≥ 0.900 ,表明整体性良好。进一步采用 HCA、PCA 和 OPLS-DA 分析,均将样品分为 3 大类,互为验证,相互补充。在 OPLS-DA 分析模式下,以 VIP >1 为标准,筛选出 5 个差异性成分,其中朱砂七所含成分大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、大黄素和虎杖苷居前 3 位,是评价和胃降逆胶囊品质的主要成分,故大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、大黄素和虎杖苷可作为其含量测定指标。

综上所述,本研究建立和胃降逆胶囊的 HPLC 指纹图谱和化学计量学的方法高效且稳定,可用于和胃降逆胶囊的质量控制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 权利娜,黄冕,樊强强,等.和胃降逆胶囊的质量控制研究[J].现代药物与临床,2022,37(6):1228-1233.
- [2] 张玉磊,杨薪博,窦建卫.和胃降逆胶囊对胃癌前病变病理改善效果及安全性分析[J].广州中医药大学学报,2023,40(7):1636-1641.
- [3] 毛水龙,毛卫鸽,李航.和胃降逆胶囊治疗慢性胃炎及抗 Hp 感染临床疗效观察及动物实验研究[C]//中国中西医结合学会第十八次全国消化系统疾病学术会议暨 2006 年全国中西医结合消化系统疾病进展学习班论文汇编[C].哈尔滨:中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会,2006:186-188.
- [4] 窦建卫,杨艺,杨小蓓,等.和胃降逆胶囊通过 PI3K/AKT 信号通路调控人 GCAGS 细胞增殖与凋亡机制研究[J].山东中医药大学学报,2022,46(1):101-107.
- [5] 孙钟慧,窦建卫,唐锐,等.和胃降逆胶囊对胃腺癌细胞凋亡的影响及其机制[J].山西医科大学学报,2024,55(8):953-958.
- [6] 国家药典委员会.国家食品药品监督管理局国家药品标准[S].WS-10177(ZD-0177)-2002-2016Z.2016.
- [7] 魏培,曹春泉,钱淼,等.HPLC 指纹图谱多模式识别结合多指标成分测定的寒喘祖帕颗粒质量控制研究[J].药物分析杂志,2024,44(12):2127-2137.
- [8] 刘双,耿炜,王晓,等.基于“差异成分-核心功效”网络筛选健胃消炎颗粒的质量标志物[J].中国医院药学杂志,2023,43(6):626-632.
- [9] 牛辰瑾,王静,杨晓楠,等.UPLC 指纹图谱结合多元数据统计方法分析评价越鞠保和丸质量[J].现代药物与临床,2025,40(4):897-902.
- [10] 张鑫,马瑞娟,钟华美,等.HPLC 指纹图谱结合化学模式识别评价生脉颗粒质量[J].现代药物与临床,2025,40(3):618-623.
- [11] 陕西省药材标准(2015 年版)[S].2015:183
- [12] Sun X, Zhang X, Zhai H, et al. Chicoric acid (CA) induces autophagy in gastric cancer through promoting endoplasmic reticulum (ER) stress regulated by AMPK [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019: 118109144.
- [13] Park M C, Jin K, Lee Y, et al. Luteolin and chicoric acid synergistically inhibited inflammatory responses via inactivation of PI3K-Akt pathway and impairment of NF- κ B translocation in LPS stimulated RAW 264.7 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 660(2-3): 454-459.

[责任编辑 解学星]