

基于 HPLC 指纹图谱及多指标成分分析的化学模式识别评价彝药紫丹活血片质量

管小军¹, 厉君³, 李俊^{1,2*}, 黄娜娜¹, 浦滇¹, 邓雪琪^{1,2}, 王兴凯¹, 林尤强¹

1. 云南中医药大学, 云南 昆明 650500

2. 云南省民族特色养生理论与健康产品工程实验室, 云南 昆明 650500

3. 云南楚雄天利药业有限公司, 云南 楚雄 651208

摘要: 目的 基于 HPLC 指纹图谱与多成分含量测定, 并结合化学模式识别法评价紫丹活血片 (ZHT) 的质量。方法 采用 ACE Neptune-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 275 nm, 柱温 25 °C, 对 18 批 ZHT 进行分析, 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统结合聚类分析与主成分分析 (PCA) 对 ZHT 质量进行评价。**结果** 建立了 ZHT HPLC 指纹图谱, 确定了 26 个共有峰, 并指认了其中 9 个色谱峰 (包含 2 号峰丹参素钠、8 号峰迷迭香酸、9 号峰紫草酸、10 号峰丹酚酸 B、12 号峰丹酚酸 A、21 号峰二氢丹参酮 I、22 号峰隐丹参酮、23 号峰丹参酮 I、25 号峰丹参酮 II_A); 18 批 ZHT HPLC 指纹图谱的相似度在 0.93~1.00; 聚类分析和 PCA 结果与相似度结果基本一致。多指标成分定量分析方法学考察结果表面, 8 个指标成分的加样回收率在 98.27%~103.42%, RSD 为 0.86%~2.53%; 18 批 ZHT 中丹参素钠、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I 及丹参酮 II_A 的质量分数分别为 0.149%~0.218%、0.179%~0.225%、0.222%~0.286%、3.570%~6.399%、0.048%~0.136%、0.122%~0.309%、0.061%~0.215%、0.093%~0.413%。**结论** 不同批次 ZHT 存在一定的质量差异。通过指纹图谱与聚类分析、PCA 等方法相结合可全面地评价 ZHT 的质量, 此方法的建立可以为 ZHT 的质量控制及评价提供参考依据。

关键词: 紫丹活血片; 化学模式识别; HPLC; 指纹图谱; 主成分分析; 聚类分析; 丹参素钠; 迷迭香酸; 紫草酸; 丹酚酸 B; 丹酚酸 A; 二氢丹参酮 I; 隐丹参酮; 丹参酮 I; 丹参酮 II_A

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)04-0986-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.04.024

Quality evaluation of Zidan Huoxue Tablets based on HPLC fingerprint pattern and chemical pattern recognition method with multi-component content analysis

GUAN Xiao-jun¹, LI Jun³, LI Jun^{1,2}, HUANG Na-na¹, PU Dian¹, DENG Xue-qi^{1,2}, WANG Xing-kai¹, LIN You-qiang¹

1. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

2. Yunnan Provincial National Health Preservation Theory and Health Product Engineering Laboratory, Kunming 650500, China

3. Yunnan Tianli Pharmaceutical Co., Ltd., Chuxiong 651208, China

Abstract: Objective To evaluate the quality of Zidan Huoxue Tablets (ZHT) based on HPLC fingerprint and multi-component content determination combined with chemical pattern recognition method. **Methods** ACE Neptune-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was 275 nm and the column temperature was 25 °C. A total of 18 batches of ZHT was analyzed, and the quality of ZHT was evaluated by the similarity evaluation system of traditional Chinese medicine chromatographic fingerprints combined with cluster analysis and principal component analysis. **Results** The fingerprint of ZHT was established. Twenty-six common peaks were identified and nine of them were identified, including 2-sodium danshensu, 8-rosmarinic acid, 9-lithospermic acid, 10-salvianolic acid B, 12-salvianolic acid A, 21-dihydrotanshinone I, 22-cryptotanshinone, 23-tanshinone I, and 25-tanshinone II_A. The similarity of fingerprints of 18 batches of ZHT was between 0.93 and 1.00. The results of cluster analysis and principal component analysis were

收稿日期: 2019-09-16

基金项目: 云南省重大科技专项 (2018ZF001)

作者简介: 管小军 (1995—), 男, 在读研究生, 研究方向为现代制药技术。Tel: 17387417133 E-mail: 1358357866@qq.com

*通信作者 李俊, 硕士生导师, 高级工程师, 主要从事药品、保健品、食品研发及药物分析工作。E-mail: 411790624@qq.com

basically consistent with similarity results. After validating the multiple component quantitative analysis condition through methodology, the average recoveries were between 98.27% and 103.42%, and the RSD were in the range of 0.86%—2.53%. The content of sodium danshensu, rosmarinic acid, lithospermic acid, salvianolic acid B, dihydrotanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone I, tanshinone II_A in 18 batches of ZHT were in the range of 0.149%—0.218%, 0.179%—0.225%, 0.222%—0.286%, 3.570%—6.399%, 0.048%—0.136%, 0.122%—0.309%, 0.061%—0.215%, 0.093%—0.413%, respectively. **Conclusion** There is a certain quality difference between different batches of ZHT. Through the combination of fingerprinting, cluster analysis and principal component analysis, the quality of ZHT can be comprehensively evaluated. The establishment of this method can provide reference for the quality control and evaluation of ZHT.

Key words: Zidan Huoxue Tablets; chemical pattern recognition; HPLC; fingerprint; principal component analysis; cluster analysis; sodium danshensu; rosmarinic acid; lithospermic acid; salvianolic acid B; salvianolic acid A; dihydrotanshinone I; cryptotanshinone; tanshinone I; tanshinone II_A

紫丹活血片 (Zidan Huoxue Tablets, ZHT) 由紫丹参经提取后加入三七总皂苷制备而成, 是云南楚雄天利药业有限公司依据彝族传统医药文献《哀牢本草》并结合现代工业及云南民族民间传统医学经验开发创制而成, 为全国独家品种。经临床观察及研究证明, 该药能扩张冠状动脉, 减慢心率, 迅速消除冠心病的胸闷、胸痛、气短等症状, 有效地调节血脂、降低胆固醇以及软化血管。在彝医中具有色土诺且的功效; 在中医里能活血化瘀、理气止痛, 用于气滞血瘀所致胸痹 (冠心病、心绞痛)、眩晕 (脑动脉硬化症)。

ZHT 中紫丹参、三七总皂苷均具有活血化瘀之功效, 二者配伍, 药效协同, 在冠心病、心绞痛等心脑血管疾病的治疗方面应用广泛^[1-9]。ZHT 由紫丹参和三七总皂苷制备而成, 但在 ZHT 质量标准中只对三七总皂苷含量进行控制, 未对紫丹参类成分含量进行控制, 近年来随着中药指纹图谱技术与多成分定量方法的应用与发展^[10-19], 越来越多的中药材及中成药通过建立指纹图谱, 提升了质量标准, 进一步提高产品质量水平, 但目前关于 ZHT 指纹图谱的研究较少, 因此为了提升 ZHT 的质量标准, 本研究按照中药指纹图谱研究技术要求, 对楚雄天利药业有限公司生产的 ZHT 中紫丹参类成分 (三七总皂苷成分参照《中国药典》2015 年版方法控制) 进行了 HPLC 指纹图谱研究, 建立了 ZHT 指纹图谱, 并采用化学模式识别方法对不同批次的样品进行了分析, 以期对 ZHT 质量的全面监控提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

HH-S₄ 数显恒温水浴锅, 江苏金怡仪器科技有限公司; XCC-2002 百分之一电子天平, 昆明金瑞克电子衡器有限公司; BSM120.4 电子天平, 万分

之一, 上海卓精电子科技有限公司; AB265-S 十万分之一电子天平, Mettler-Toledo 公司; SKSSOOH 超声波清洗器, 上海科导超声仪器有限公司; ACE Neptune-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); Shimadzu LC-2030 液相色谱仪、UV 检测器, 日本 Shimadzu 公司。

1.2 试剂

甲醇 (批号 20190601)、磷酸 (批号 20180726), 分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司; 纯化水, 自制; 纯净水, 哇哈哈集团; 甲醇 (批号 IO917307743)、乙腈 (批号 JA059730), 色谱纯, 默克股份两合公司; 对照品丹参素钠 (批号 MUST-17030206, 质量分数 99.8%)、丹参酮 II_A (批号 MUST-17022502, 质量分数 99.8%), 中国科学院成都生物研究所; 对照品迷迭香酸 (批号 18053110, 质量分数 99.8%)、紫草酸 (批号 19053003, 质量分数 99.87%)、丹酚酸 B (批号 18070503, 质量分数 99.8%)、二氢丹参酮 (批号 19040211, 质量分数 99.8%)、隐丹参酮 (批号 18041115, 质量分数 99.8%)、丹参酮 I (批号 19032207, 质量分数 99.8%), 森岚科技有限公司; ZHT, 18 批 (S1~S18) 样品批号分别为 20190701、20190702、20190703、20190704、20190705、20190706、20190707、20190708、20190709、20190801、20190802、20190803、20190804、20190805、20190806、20190807、20190808、20190809, 均购自云南楚雄天利药业有限公司。

2 方法与结果

2.1 混合对照品溶液的配制

取丹参素钠、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I 以及丹参酮 II_A 8 种对照品适量, 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 加

甲醇制成含丹参素钠 42.0 $\mu\text{g/mL}$ 、迷迭香酸 30.8 $\mu\text{g/mL}$ 、紫草酸 56.8 $\mu\text{g/mL}$ 、丹酚酸 B 1 010.0 $\mu\text{g/mL}$ 、二氢丹参酮 I 159.6 $\mu\text{g/mL}$ 、隐丹参酮 35.2 $\mu\text{g/mL}$ 、丹参酮 I 16.8 $\mu\text{g/mL}$ 以及丹参酮 II_A 42.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品储备液。精密移取混合对照品储备液 4 mL，置于 10 mL 量瓶中加入适量甲醇，振荡后定容至刻度，摇匀，即得混合对照品溶液。

2.2 供试品溶液的配制

取本品 10 片，除去包衣，精密称定，碾细，取细粉 0.05 g，精密称定，置 10 mL 量瓶中，精密加入甲醇至刻度，密塞，超声处理（功率 140 W，频率 42 kHz）20 min，摇匀，用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱为 ACE Neptune-C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)；流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液，梯度洗脱：0~32 min, 10%~38%乙腈；32~34 min, 38%~59%乙腈；34~40 min, 59%乙腈；40~60 min, 59%~90%乙腈；60~70 min, 90%~10%乙腈；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 275 nm；柱温 25 $^{\circ}\text{C}$ ；进样量 10 μL ；理论塔板数按丹酚酸 B 峰计算不低于 6 000。

2.4 指纹图谱方法学考察

2.4.1 精密度试验 取 ZHT 样品(批号 20190701)，精密称定，按“2.2”项方法制备供试品溶液，注入液相色谱仪，重复进样 6 次，按“2.3”项下色谱条件进样测定，以 10 号峰丹酚酸 B 为参比峰，计算

共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均在 0.23%~1.57%，表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取 ZHT 样品(批号 20190701)，精密称定，按“2.2”项方法制备供试品溶液，分别于制备后的 0、2、4、6、8、10、12、24 h 注入液相色谱仪按“2.3”项下色谱条件进样测定，以 10 号峰丹酚酸 B 为参比峰，计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均在 0.85%~2.13%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 取 ZHT 样品(批号 20190701)，精密称定 6 份，按“2.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样测定，以 10 号峰丹酚酸 B 为参比峰，计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均在 0.71%~3.06%，表明本方法重复性良好。

2.5 ZHT HPLC 指纹图谱的建立、相似度评价及共有峰相关分析

2.5.1 指纹图谱的构建 取收集的 18 批 ZHT 药品按“2.2”项方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样测定，得到 18 批 ZHT 药品 HPLC 色谱图，并导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012A 版)软件，以 S1 图谱作为参照图谱，采用多点校正建立指纹图谱后，生成叠加图及对照指纹图谱，见图 1。

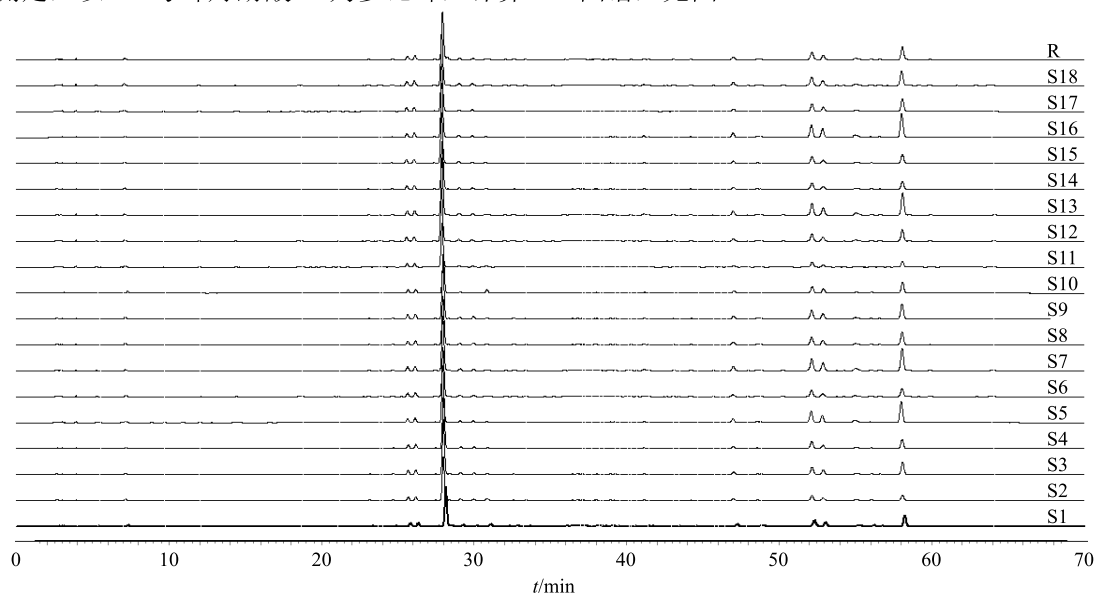
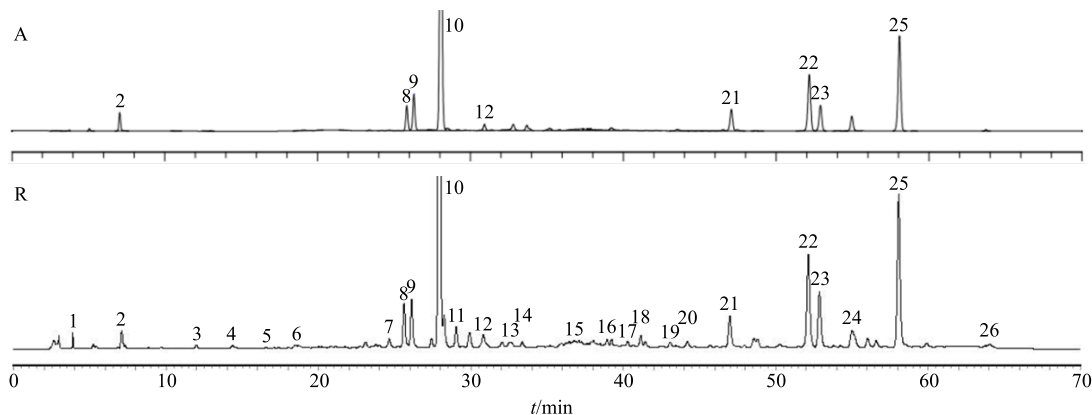


图 1 18 批 ZHT HPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC superposed fingerprints of 18 batches of ZHT and common mode of HPLC fingerprints (R)

根据 18 批 ZHT 样品的检测结果, 选择其中主要成分且分离度较好的色谱峰 (10 号峰丹酚酸 B) 作为特征峰, 共标记 26 个共有峰, 确定 26 个色谱峰为 ZHT 的指纹图谱共有峰。并采用对照品及相关文献对其中 9 个共有峰成分进行了指认, 分别为丹参素钠 (峰 2)、迷迭香酸 (峰 8)、紫草酸 (峰 9)、丹酚酸 B (峰 10)、丹酚酸 A (峰 12)、二氢丹参酮 I (峰 21)、隐丹参酮 (峰 22)、丹参酮 I (峰 23)、丹参酮 II_A (峰 25), 见图 2。

2.5.2 相对峰面积和相对保留时间分析 选取峰面积较大, 出峰时间较稳定的丹酚酸 B (10 号峰) 作为参照峰 (S)。取 18 批 ZHT 指纹图谱中共有峰保留时间和峰面积, 计算其与同一图谱中 S 峰的保留时间和峰面积的比值, 得到的各共有峰与 S 峰的相对保留时间和相对峰面积, 见表 1、2。结果表明, 各共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 1.0%, 说明共有峰出峰时间均较稳定, 但相对峰面积 RSD 值较大, 说明不同批次的 ZHT 间具有差异。



2-丹参素钠 8-迷迭香酸 9-紫草酸 10-丹酚酸 B 12-丹酚酸 A 21-二氢丹参酮 I 22-隐丹参酮 23-丹参酮 I 25-丹参酮 II_A
2-sodium danshensu 8-rosmarinic acid 9-lithospermic acid 10-salvianolic acid B 12-salvianolic acid A 21-dihydrotanshinone I 22-cryptotanshinone 23-tanshinone I 25-tanshinone II_A

图 2 混合对照品 HPLC 色谱图 (A) 以及 ZHT 对照指纹图谱 (R)

Fig. 2 HPLC of mixed reference substances (A) and common mode of HPLC fingerprints of ZHT (R)

表 1 18 批 ZHT 指纹图谱共有峰相对保留时间

Table 1 Relative retention time of common peaks of 18 batches of ZHT

峰号	相对保留时间																		平均值	RSD/%
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18		
1	0.141 4	0.138 6	0.138 6	0.138 8	0.139 0	0.138 9	0.138 9	0.138 7	0.138 7	0.142 2	0.139 1	0.139 3	0.139 2	0.138 9	0.139 2	0.139 1	0.139 1	0.139 2	0.139 3	0.657
2	0.259 7	0.255 2	0.254 6	0.256 4	0.255 7	0.256 4	0.255 8	0.254 8	0.254 7	0.260 8	0.255 3	0.254 5	0.254 1	0.253 8	0.254 0	0.254 6	0.253 5	0.253 7	0.255 4	0.747
3	0.506 5	0.505 7	0.504 8	0.506 2	0.507 2	0.506 3	0.505 8	0.505 2	0.504 9	0.508 5	0.506 1	0.505 3	0.504 7	0.503 7	0.504 5	0.505 4	0.504 4	0.504 6	0.505 5	0.221
4	0.515 6	0.515 2	0.514 4	0.515 8	0.516 9	0.516 0	0.515 5	0.515 1	0.514 5	0.517 4	0.515 5	0.515 2	0.514 2	0.513 3	0.514 4	0.514 8	0.514 2	0.514 4	0.515 1	0.189
5	0.524 2	0.523 7	0.522 8	0.523 9	0.524 5	0.523 7	0.522 6	0.522 3	0.521 3	0.526 6	0.524 4	0.523 8	0.522 5	0.521 5	0.522 2	0.522 5	0.521 8	0.522 2	0.523 1	0.245
6	0.661 7	0.661 9	0.661 6	0.662 6	0.663 6	0.661 6	0.661 6	0.661 7	0.661 2	0.662 2	0.662 3	0.662 2	0.661 6	0.660 7	0.661 2	0.661 8	0.660 6	0.662 1	0.661 8	0.102
7	0.882 7	0.882 6	0.882 7	0.882 9	0.882 3	0.882 2	0.882 3	0.882 8	0.882 6	0.882 5	0.882 8	0.882 4	0.883 5	0.882 3	0.882 0	0.882 9	0.882 3	0.883 2	0.882 6	0.041
8	0.917 5	0.917 7	0.917 4	0.917 9	0.917 5	0.917 4	0.917 3	0.917 8	0.917 6	0.917 8	0.917 9	0.917 6	0.918 3	0.917 0	0.917 3	0.917 8	0.917 3	0.918 1	0.917 6	0.033
9	0.935 3	0.935 5	0.935 3	0.935 6	0.935 1	0.935 2	0.935 1	0.935 5	0.935 4	0.935 5	0.935 5	0.935 2	0.935 9	0.934 7	0.935 1	0.935 4	0.935 1	0.935 7	0.935 3	0.028
10	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.000
11	1.040 2	1.040 0	1.040 4	1.040 4	1.040 1	1.040 0	1.040 6	1.040 0	1.040 1	1.039 9	1.040 5	1.040 3	1.040 4	1.040 2	1.040 3	1.039 8	1.040 5	1.040 8	1.040 2	0.024
12	1.071 8	1.071 2	1.071 6	1.071 7	1.071 3	1.071 2	1.071 9	1.071 1	1.071 1	1.075 7	1.072 0	1.071 9	1.071 9	1.071 4	1.071 4	1.071 6	1.071 9	1.072 5	1.071 9	0.094
13	1.103 8	1.103 0	1.103 4	1.103 6	1.103 6	1.103 4	1.104 0	1.103 0	1.103	1.102 6	1.103 9	1.103 8	1.104 2	1.103 3	1.103 8	1.103 9	1.103 7	1.104 8	1.103 6	0.046
14	1.282 4	1.286 5	1.286 6	1.286 3	1.288 1	1.287 9	1.287 6	1.287 7	1.287 1	1.286 3	1.289 8	1.290 8	1.289 0	1.289 5	1.290 3	1.290 1	1.290 2	1.290 3	1.288 1	0.160
15	1.297 5	1.302 8	1.302 7	1.302 5	1.304 1	1.303 7	1.304 0	1.303 7	1.303 3	1.302 8	1.306 4	1.307 5	1.305 8	1.305 9	1.307 1	1.306 8	1.306 9	1.306 9	1.304 5	0.186
16	1.355 1	1.359 6	1.359 4	1.359 1	1.361 1	1.360 5	1.361 2	1.360 7	1.360 4	1.359 4	1.363 8	1.364 8	1.363 1	1.363 1	1.364 7	1.364 2	1.364 4	1.364 3	1.361 6	0.187

续表 1

峰号	相对保留时间																		平均值	RSD/%
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18		
17	1.389 1	1.392 3	1.392 1	1.391 8	1.393 9	1.393 1	1.393 8	1.393 4	1.393 2	1.392 2	1.396 7	1.397 6	1.395 9	1.395 8	1.397 5	1.396 8	1.397 2	1.397 1	1.394 4	0.172
18	1.439 5	1.440 1	1.440 1	1.439 5	1.441 6	1.440 8	1.441 7	1.441 2	1.441 1	1.440 8	1.445 0	1.445 9	1.443 6	1.443 7	1.445 6	1.444 7	1.445 2	1.445 1	1.442 5	0.154
19	1.470 4	1.470 6	1.470 7	1.470 1	1.472 4	1.471 4	1.472 5	1.471 9	1.472 1	1.471 3	1.475 7	1.476 5	1.474 4	1.474 4	1.476 5	1.475 4	1.476 2	1.475 9	1.473 3	0.155
20	1.519 3	1.523 9	1.524 5	1.523 8	1.526 0	1.524 8	1.526 2	1.525 3	1.526 1	1.524 5	1.529 3	1.530 4	1.528 0	1.528 1	1.530 1	1.529 1	1.530 0	1.529 6	1.526 6	0.188
21	1.677 7	1.680 1	1.679 9	1.679 0	1.680 8	1.680 2	1.681 4	1.680 7	1.681 3	1.680 9	1.685 7	1.686 8	1.684 2	1.684 1	1.686 5	1.684 9	1.686 4	1.685 8	1.682 6	0.170
22	1.857 9	1.863 9	1.863 8	1.862 6	1.864 0	1.864 2	1.865 2	1.864 7	1.864 7	1.864 6	1.869 8	1.871 1	1.869 4	1.868 6	1.871 5	1.869 2	1.870 9	1.870 1	1.866 5	0.195
23	1.883 8	1.890 2	1.890 1	1.888 9	1.890 3	1.890 6	1.891 6	1.891 0	1.891 0	1.890 8	1.896 1	1.897 3	1.895 9	1.894 9	1.897 8	1.895 4	1.897 2	1.896 3	1.892 7	0.194
24	1.959 4	1.966 6	1.966 3	1.965 0	1.966 2	1.966 8	1.967 7	1.967 5	1.967 3	1.966 8	1.972 3	1.973 8	1.972 4	1.971 5	1.974 4	1.971 7	1.973 9	1.972 6	1.969 0	0.197
25	2.068 0	2.076 1	2.075 8	2.074 3	2.075 5	2.076 4	2.077 2	2.076 7	2.076 4	2.076 1	2.081 9	2.083 9	2.082 5	2.081 3	2.084 1	2.081 4	2.083 3	2.081 7	2.078 5	0.198
26	2.274 6	2.291 6	2.290 9	2.288 7	2.287 9	2.290 9	2.291 5	2.291 3	2.290 7	2.291	2.296 3	2.300 0	2.298 3	2.296 0	2.298 8	2.294 4	2.297 8	2.293 5	2.292 5	0.243

表 2 18 批 ZHT 指纹图谱共有峰相对峰面积

Table 2 Relative peak area of common peaks of 18 batches of ZHT

峰号	相对峰面积																		平均值	RSD/%
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18		
1	0.009 1	0.011 4	0.010 2	0.011 9	0.011 7	0.011 7	0.012 0	0.013 9	0.011 3	0.009 5	0.010 5	0.010 7	0.011 7	0.011 3	0.012 6	0.012 5	0.011 8	0.012 1	0.011 4	9.653
2	0.036 7	0.037 0	0.027 1	0.025 5	0.021 5	0.025 4	0.026 5	0.033 3	0.032 3	0.045 9	0.032 8	0.029 5	0.026 8	0.028 0	0.027 8	0.025 6	0.032 6	0.033 0	0.030 4	18.284
3	0.001 2	0.001 4	0.001 2	0.001 1	0.000 8	0.001 3	0.001 0	0.001 4	0.001 0	0.001 4	0.001 3	0.001 2	0.000 9	0.001 3	0.001 2	0.000 9	0.001 3	0.001 0	0.001 2	16.314
4	0.006 4	0.006 3	0.005 7	0.005 6	0.004 9	0.005 7	0.005 7	0.006 2	0.005 7	0.006 6	0.006 0	0.005 8	0.005 8	0.006 0	0.006 0	0.005 5	0.006 0	0.005 6	0.005 9	6.441
5	0.001 4	0.001 9	0.001 5	0.001 6	0.001 3	0.001 6	0.001 6	0.001 7	0.001 4	0.001 6	0.001 9	0.001 5	0.001 5	0.001 7	0.001 6	0.001 5	0.001 7	0.001 5	0.001 6	9.507
6	0.008 5	0.008 8	0.007 3	0.007 4	0.006 9	0.007 3	0.008 7	0.007 4	0.007 1	0.010 6	0.009 3	0.007 8	0.007 2	0.007 8	0.008 1	0.007 5	0.007 3	0.007 1	0.007 9	11.771
7	0.019 1	0.019 1	0.020 3	0.017 4	0.018 0	0.016 5	0.021 6	0.020 9	0.020 9	0.019 2	0.020 7	0.022 9	0.017 6	0.017 1	0.021 0	0.017 4	0.022 7	0.022 5	0.019 7	10.080
8	0.087 9	0.080 5	0.078 3	0.073 9	0.063 7	0.072 9	0.074 0	0.077 9	0.073 0	0.094 4	0.080 7	0.082 2	0.074 5	0.074 6	0.079 9	0.070 9	0.079 4	0.076 1	0.077 5	8.415
9	0.093 2	0.085 2	0.083 7	0.079 4	0.068 5	0.080 4	0.084 8	0.082 9	0.082 4	0.104 3	0.085 5	0.087 0	0.078 6	0.081 6	0.083 6	0.079 8	0.085 3	0.084 5	0.083 9	8.140
10	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.000
11	0.044 3	0.042 9	0.042 2	0.037 2	0.029 7	0.038 0	0.044 7	0.037 7	0.037 2	0.048 9	0.044 5	0.046 4	0.035 5	0.038 2	0.042 9	0.036 6	0.039 5	0.037 5	0.040 2	11.359
12	0.016 7	0.032 7	0.033 1	0.031 6	0.025 4	0.033 3	0.038 6	0.043 5	0.042 4	0.007 1	0.031 4	0.035 6	0.029 5	0.031 6	0.034 5	0.031 4	0.043 2	0.041 6	0.032 4	27.457
13	0.070 1	0.057 7	0.024 8	0.025 7	0.023 4	0.027 7	0.037 7	0.027 9	0.026 8	0.112 6	0.047 1	0.030 4	0.032 1	0.027 2	0.034 3	0.028 2	0.027 5	0.028 0	0.038 3	56.611
14	0.024 7	0.013 2	0.010 7	0.011 2	0.010 4	0.010 7	0.007 3	0.011 2	0.010 6	0.011 1	0.015 8	0.014 4	0.012 5	0.011 2	0.015 7	0.005 8	0.011 2	0.010 8	0.012 2	31.896
15	0.012 1	0.010 0	0.009 2	0.010 3	0.007 8	0.010 0	0.012 4	0.008 9	0.009 4	0.016 0	0.011 7	0.011 0	0.009 2	0.010 1	0.011 6	0.010 0	0.009 0	0.008 5	0.010 4	17.552
16	0.029 7	0.013 4	0.010 4	0.010 3	0.009 1	0.010 9	0.013 4	0.011 5	0.010 0	0.032 1	0.013 3	0.011 9	0.010 9	0.010 8	0.012 2	0.011 7	0.011 3	0.010 6	0.013 5	46.286
17	0.028 4	0.020 1	0.017 5	0.017 2	0.016 9	0.017 8	0.026 3	0.019 4	0.017 5	0.032 4	0.020 4	0.019 9	0.020 1	0.017 8	0.021 5	0.023 0	0.019 7	0.018 5	0.020 8	19.797
18	0.013 5	0.011 2	0.010 1	0.010 1	0.011 1	0.010 3	0.017 4	0.011 4	0.010 4	0.015 4	0.011 6	0.011 5	0.013 1	0.010 4	0.013 4	0.015 4	0.011 6	0.011 2	0.012 2	16.779
19	0.026 1	0.015 8	0.020 3	0.017 3	0.025 8	0.016 7	0.037 6	0.023 2	0.022 5	0.029 2	0.016 1	0.021 2	0.031 0	0.016 8	0.021 2	0.037 1	0.023 7	0.024 0	0.023 6	27.278
20	0.003 5	0.001 6	0.003 8	0.003 0	0.003 5	0.002 8	0.006 8	0.003 2	0.003 1	0.002 9	0.001 6	0.003 3	0.003 7	0.002 4	0.004 2	0.004 9	0.003 2	0.003 2	0.003 4	33.683
21	0.070 6	0.047 8	0.056 2	0.052 1	0.072 8	0.050 9	0.101 1	0.066 5	0.066 7	0.077 2	0.047 4	0.059 1	0.094 4	0.052 9	0.062 4	0.106 7	0.067 2	0.069 9	0.067 9	25.191
22	0.203 2	0.152 7	0.180 6	0.178 0	0.228 8	0.174 1	0.290 4	0.210 9	0.209 0	0.214 0	0.149 2	0.175 8	0.274 7	0.175 4	0.187 8	0.304 3	0.210 0	0.214 4	0.207 4	20.604
23	0.130 4	0.068 8	0.106 5	0.079 4	0.138 1	0.079 1	0.189 4	0.118 5	0.120 4	0.138 7	0.067 3	0.101 7	0.167 6	0.078 5	0.086 6	0.200 8	0.116 6	0.123 9	0.117 4	32.616
24	0.053 3	0.036 5	0.044 7	0.048 2	0.075 1	0.043 6	0.093 2	0.057 9	0.062 4	0.060 0	0.035 9	0.043 9	0.088 8	0.045 3	0.059 6	0.095 9	0.057 4	0.063 6	0.059 2	30.234
25	0.333 7	0.155 3	0.278 2	0.218 9	0.389 7	0.210 0	0.504 0	0.331 5	0.330 5	0.388 4	0.152 4	0.268 3	0.478 6	0.209 8	0.227 9	0.545 4	0.329 2	0.340 2	0.316 2	35.170
26	0.003 9	0.005 0	0.008 9	0.007 2	0.015 7	0.010 4	0.020 0	0.014 4	0.013 7	0.014 1	0.004 7	0.015 8	0.021 5	0.010 1	0.011 7	0.026 4	0.019 2	0.015 5	0.013 2	45.235

2.5.3 相似度评价 将得到的 18 批 ZHT 指纹图谱导入国家药典委员会颁布的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012A 版), 进行色谱峰匹配, 生成紫丹参对照指纹图谱, 见图 2-R, 并计算不同批次之间与对照指纹图谱 (SP) 的相似度, 见表 3。结果表明, 18 批 ZHT 样品相似度均在 0.93~1.00, 说明不同批次间的 ZHT 具有微小的差异, 表明云南

楚雄天利药业有限公司生产的 ZHT 质量稳定、可靠, 批次间差异小。

2.6 化学模式识别研究

2.6.1 聚类分析 (CA) 将 18 批 ZHT 样品 26 个共有峰的相对峰面积数据输入 SPSS 21.0 软件, 对样品进行系统聚类, 采用组间连接法, 以欧式平方距离为分类依据。由图 3 可见, 当欧式距离大于 10

表 3 ZHT HPLC 指纹图谱相似度结果

Table 3 HPLC fingerprint similarity results of ZHT

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	SP
S1	1.000	0.982	0.995	0.990	0.994	0.989	0.983	0.996	0.996	0.996	0.981	0.994	0.987	0.989	0.991	0.977	0.996	0.996	0.997
S2	0.982	1.000	0.992	0.997	0.972	0.997	0.942	0.984	0.984	0.972	1.000	0.993	0.950	0.997	0.996	0.931	0.984	0.982	0.985
S3	0.995	0.992	1.000	0.998	0.993	0.997	0.975	0.998	0.998	0.989	0.992	1.000	0.981	0.997	0.998	0.968	0.998	0.997	0.998
S4	0.990	0.997	0.998	1.000	0.986	1.000	0.962	0.993	0.993	0.981	0.997	0.998	0.969	1.000	0.999	0.953	0.994	0.992	0.994
S5	0.994	0.972	0.993	0.986	1.000	0.984	0.993	0.998	0.998	0.992	0.971	0.991	0.996	0.984	0.987	0.990	0.997	0.998	0.997
S6	0.989	0.997	0.997	1.000	0.984	1.000	0.960	0.992	0.992	0.980	0.997	0.998	0.967	1.000	0.999	0.951	0.993	0.991	0.993
S7	0.983	0.942	0.975	0.962	0.993	0.960	1.000	0.985	0.986	0.987	0.941	0.973	0.999	0.960	0.966	0.999	0.985	0.987	0.985
S8	0.996	0.984	0.998	0.993	0.998	0.992	0.985	1.000	1.000	0.993	0.983	0.997	0.990	0.993	0.995	0.980	1.000	1.000	1.000
S9	0.996	0.984	0.998	0.993	0.998	0.992	0.986	1.000	1.000	0.993	0.983	0.997	0.990	0.993	0.995	0.980	1.000	1.000	1.000
S10	0.996	0.972	0.989	0.981	0.992	0.980	0.987	0.993	0.993	1.000	0.971	0.989	0.990	0.980	0.984	0.982	0.993	0.993	0.994
S11	0.981	1.000	0.992	0.997	0.971	0.997	0.941	0.983	0.983	0.971	1.000	0.993	0.949	0.997	0.996	0.930	0.984	0.981	0.985
S12	0.994	0.993	1.000	0.998	0.991	0.998	0.973	0.997	0.997	0.989	0.993	1.000	0.979	0.998	0.999	0.965	0.998	0.997	0.998
S13	0.987	0.950	0.981	0.969	0.996	0.967	0.999	0.990	0.990	0.990	0.949	0.979	1.000	0.967	0.972	0.998	0.990	0.991	0.989
S14	0.989	0.997	0.997	1.000	0.984	1.000	0.960	0.993	0.993	0.980	0.997	0.998	0.967	1.000	0.999	0.951	0.993	0.991	0.994
S15	0.991	0.996	0.998	0.999	0.987	0.999	0.966	0.995	0.995	0.984	0.996	0.999	0.972	0.999	1.000	0.958	0.995	0.994	0.996
S16	0.977	0.931	0.968	0.953	0.990	0.951	0.999	0.980	0.980	0.982	0.930	0.965	0.998	0.951	0.958	1.000	0.980	0.982	0.979
S17	0.996	0.984	0.998	0.994	0.997	0.993	0.985	1.000	1.000	0.993	0.984	0.998	0.990	0.993	0.995	0.980	1.000	1.000	1.000
S18	0.996	0.982	0.997	0.992	0.998	0.991	0.987	1.000	1.000	0.993	0.981	0.997	0.991	0.991	0.994	0.982	1.000	1.000	1.000
SP	0.997	0.985	0.998	0.994	0.997	0.993	0.985	1.000	1.000	0.994	0.985	0.998	0.989	0.994	0.996	0.979	1.000	1.000	1.000

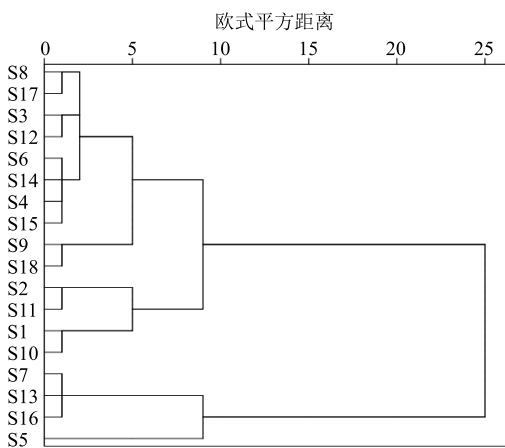


图 3 18 批 ZHT 聚类分析树状图

Fig. 3 Dendrogram of cluster analysis of 18 batches of ZHT

时, 18 批 ZHT 聚为 2 类, 第 1 类为样品 S1~S4、S6、S8、S9、S11、S12、S14、S15、S17、S18; 第 2 类为样品 S5、S7、S13、S16。由聚类结果可看出不同批次之间 ZHT 存在细微差异, 表明云南楚雄天利药业有限公司生产的 ZHT 质量稳定、可靠。

2.6.2 主成分分析 (PCA) 为进一步比较不同批次间 ZHT 样品的质量差异, 将各个批次 ZHT 中的 26 个共有峰面积导入到 SPSS 软件中进行 PCA。其中特征值大于 1 的因子只有一个, 作为主成分 1 (PCA1) 贡献率是 98.670%, 对总方差的累积贡献率达 98.670% (表 4), 故将 18 批 ZHT 药品归为 1 类。PCA 将所有样品分为 1 类, 而 CA 将 18 批样品聚为 2 类, PCA 与 CA 结果基本一致, 表明楚雄

表 4 特征值和累积贡献率

Table 4 Eigenvalue and cumulative contribution

主成分	初始特征值		
	合计	方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	17.761	98.670	98.670
2	0.225	1.250	99.921
3	0.011	0.061	99.982
4	0.002	0.009	99.990
5	0.001	0.003	99.994
6	0.000	0.002	99.996
7	0.000	0.001	99.997
8	0.000	0.001	99.999
9	0.000	0.001	99.999
10	0.000	0.000	100.000
11	0.000	0.000	100.000
12	0.000	0.000	100.000
13	0.000	0.000	100.000
14	0.000	0.000	100.000
15	0.000	0.000	100.000
16	0.000	0.000	100.000
17	0.000	0.000	100.000
18	0.000	0.000	100.000

天利药业有限公司生产的 ZHT 质量稳定、可靠。

2.7 HPLC 同时测定 ZHT 中 8 种有效成分含量

2.7.1 线性关系考察 取“2.1”项下混合对照品储备溶液 0、1、2、4、6、8、10 mL (直接吸取储备液制备样品) 置于 10 mL 量瓶中加入适量甲醇, 振摇后定容至刻度, 摇匀, 即得。分别精密吸取 10 μ L, 注入液相色谱仪, 按“2.3”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 相应的峰面积积分为纵坐标 (Y), 得到各待测成分的线性回归方程和线性范围分别为丹参素钠 $Y=6\ 640.4 X-1\ 417.7$, $r^2=0.999\ 8$, 线性范围 4.120~41.200 μ g/mL; 迷迭香酸 $Y=15\ 809 X-2\ 439.2$, $r^2=0.999\ 8$, 线性范围 3.080~30.800 μ g/mL; 紫草酸 $Y=12\ 800 X-3\ 089.9$, $r^2=0.999\ 8$, 线性范围 5.680 0~56.800 μ g/mL; 丹酚酸 B $Y=9\ 002.1 X-26\ 259$, $r^2=0.999\ 4$, 线性范围 101.000~1\ 010.000 μ g/mL; 二氢丹参酮 I $Y=32\ 752 X-3\ 088.6$, $r^2=0.999\ 8$, 线性范围 1.596~11.596 μ g/mL; 隐丹参酮 $Y=41\ 157 X-3\ 003$, $r^2=0.999\ 8$, 线性范围 3.520~35.200 μ g/mL; 丹参酮 I $Y=37\ 543 X-1\ 817.7$, $r^2=0.999\ 9$, 线性范围 1.640~16.664 μ g/mL; 丹参

酮 II_A $Y=55\ 733 X-8\ 187$, $r^2=0.999\ 8$, 线性范围 4.200~42.000 μ g/mL; 可见各成分 r^2 均大于 0.999, 表明线性关系良好。

2.7.2 精密度试验 精密吸取“2.1”项下混合对照品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 重复进样 6 次, 按“2.3”项下色谱条件进样测定, 测得丹参素钠、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 的峰面积值, 其峰面积 RSD 分别为 0.69%、0.48%、0.36%、0.31%、0.31%、0.33%、0.27%、0.34%。表明仪器精密度良好。

2.7.3 稳定性试验 精密吸取“2.1”项下一供试品溶液 10 μ L, 分别于制备后的 0、2、4、6、8、10、12、24 h 注入液相色谱仪按“2.3”项下色谱条件进样测定, 测得丹参素钠、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 的峰面积值, 计算各组分峰面积的 RSD 分别为 2.10%、2.11%、2.07%、1.48%、2.08%、0.42%、0.19%、1.64%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定良好。

2.7.4 重复性试验 取 ZHT 样品(批号 20190701), 精密称定 6 份, 按“2.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进样测定, 测得丹参素钠、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 的峰面积值, 计算其含量的 RSD 分别为 2.75%、1.91%、1.76%、2.01%、3.01%、1.62%、1.19%、1.22%。

2.7.5 加样回收率试验 取已知含量(丹参素钠 0.156%、迷迭香酸 0.173%、紫草酸 0.218%、丹酚酸 B 3.788%、二氢丹参酮 I 0.069%、隐丹参酮 0.144%、丹参酮 I 0.110%、丹参酮 II_A 0.180%) 的 ZHT 样品粉末 0.05 g, 精密称定, 分别按对照品加入量与供试品中待测成分含量的比为 0.5 : 1、1 : 1、1.5 : 1, 精密加入丹参素钠、迷迭香酸、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 对照品适量, 按“2.2”项下方法, 平行制备 9 份, 按照“2.3”项色谱条件进行分析, 以外标法计算含量, 并计算加样回收率, 结果丹参素钠、迷迭香酸、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 的平均回收率分别为 102.32%、98.27%、99.36%、103.42%、99.53%、98.77%、103.24%、98.76%, RSD 值分别为 2.53%、0.86%、2.36%、1.28%、0.93%、1.37%、2.12%、1.05%。

2.7.6 样品含量测定 取 18 批 ZHT 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进行

测定, 计算各成分含量, 结果见表 5。可见, 18 批 ZHT 中丹参素钠、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I 及丹参酮 II_A 的质量分数分别为 0.149%~0.218%、0.179%~

0.225%、0.222%~0.286%、3.570%~6.399%、0.048%~0.136%、0.122%~0.309%、0.061%~0.215%、0.093%~0.413%, 各批次间指标成分含量差别不大, 结果表明 ZHT 批次间质量较稳定。

表 5 样品含量测定结果

Table 5 Results of content determination of samples

批号	质量分数/%							
	丹参素钠	迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	二氢丹参酮 I	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II _A
20190701	0.174	0.180	0.224	3.716	0.065	0.150	0.106	0.183
20190702	0.190	0.179	0.222	4.033	0.048	0.122	0.061	0.093
20190703	0.175	0.219	0.274	5.069	0.071	0.182	0.118	0.209
20190704	0.158	0.198	0.249	4.862	0.063	0.172	0.085	0.157
20190705	0.175	0.225	0.283	6.399	0.116	0.291	0.194	0.369
20190706	0.149	0.185	0.240	4.614	0.059	0.160	0.080	0.143
20190707	0.175	0.211	0.284	5.177	0.131	0.299	0.215	0.386
20190708	0.194	0.196	0.245	4.570	0.076	0.191	0.119	0.224
20190709	0.221	0.216	0.286	5.368	0.089	0.223	0.142	0.262
20190801	0.209	0.186	0.241	3.570	0.069	0.152	0.108	0.205
20190802	0.174	0.184	0.229	4.146	0.049	0.123	0.061	0.093
20190803	0.184	0.222	0.276	4.904	0.072	0.171	0.109	0.195
20190804	0.182	0.218	0.270	5.318	0.125	0.290	0.195	0.377
20190805	0.162	0.186	0.239	4.525	0.060	0.158	0.078	0.140
20190806	0.169	0.210	0.258	4.773	0.074	0.178	0.091	0.161
20190807	0.167	0.200	0.264	5.113	0.136	0.309	0.225	0.413
20190808	0.187	0.197	0.249	4.510	0.076	0.188	0.115	0.220
20190809	0.218	0.217	0.283	5.178	0.090	0.220	0.140	0.261

3 讨论

3.1 色谱条件的考察

本实验研究过程中, 在测定 ZHT 中 8 种成分含量时, 对各个成分进行全波长扫描, 最后折中选择 275 nm 作为最佳检测波长, 对样品制备不同溶剂 (100%、80%、60% 甲醇)、不同提取方式 (超声提取、回流提取)、不同提取时间 (30、20 min) 的考察, 确定了 ZHT 最佳的供试品制备方法。包括不同流动相系统 (乙腈-0.1% 磷酸水溶液、甲醇-0.1% 磷酸水溶液、乙腈-0.1% 甲酸水溶液)、不同柱温 (20、25、30 °C) 最终确定了最佳色谱条件。

3.2 结果分析

由表 2 共有峰相对保留时间的 RSD 值结果发现, 各批次化学成分的差异不大, 根据表 3 共有峰相对峰面积 RSD 值及表 4 ZHT HPLC 指纹图谱相似度结果进行分析, 不同批次之间的紫丹参活血片中各成分含量具有微小的差异, 且 CA 将 18 批 ZHT

聚为 2 类, 可能是由于紫丹参原料药材来源于不同批次、不同产地、不同加工方式以及在提取工艺、制备工艺等方面参数控制不一致导致。而如果将本研究应用于选取制剂药材原料产地片区、种植方法、采收季节、加工方法以及药材提取工艺、制剂制备工艺的工艺参数的控制当中, 更能为其生产出质量均一、稳定有效的 ZHT 奠定基础。

本实验采用 HPLC 指纹图谱与多成分含量测定, 既包含丹参酮 II_A 等脂溶性成分也涵盖了以丹酚酸 B 为代表的水溶性成分, 本实验聚焦 ZHT 中紫丹参类成分的控制, 弥补了 ZHT 质量标准中只控制三七总皂苷含量以及无指纹图谱的空白, 且本研究集合 CA 与 PCA 评价 ZHT 的质量, 为 ZHT 质量的全面监控提供参考。

3.3 小结

中药指纹图谱分析技术将中药的整体特征转变为数据信息, 提供了一种能够比较全面的控制中药

质量的方法,随着方法的逐渐成熟,在中药质量控制中得到广泛的应用,《中国药典》2015 年版加强了特征指纹图谱的应用,且更加重视中药材质量标准的统一性,本研究建立了 ZHT 的 HPLC 指纹图谱,共标定了 26 个色谱峰,指认了其中 9 个色谱峰的化学成分,方法简便易行且稳定可靠。并结合化学模式识别方法对其信息作进一步综合分析,实现对 ZHT 的全面综合评价,也丰富了民族药质量控制手段,为其他类似的民族民间传统医药的研究开发提供参考。

参考文献

- [1] 杨筱倩,陈仙蕾,杨仁义,等.冰片配伍黄芪甲苷与三七总皂苷抗脑缺血再灌注损伤有效剂量的研究[J].湖南中医药大学学报,2019,39(4):441-447.
- [2] 刘晓丹,杨筱倩,唐三,等.冰片对黄芪甲苷和三七总皂苷配伍有效成分在脑缺血/再灌注模型大鼠脑组织分布的影响[J].中草药,2019,50(7):1649-1656.
- [3] 段宝忠,李巍,邓海星,等.民族药紫丹参的本草考证[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(15):1-7.
- [4] 陈红艳,陈安,卢芳国,等.三七总皂苷的药理研究进展[J].湖南中医杂志,2019,35(1):154-157.
- [5] 贺旭,刘英飞,王伟,等.三七总皂苷对全脑缺血大鼠海马脑水肿及 GFAP 表达的影响[J].中草药,2017,48(22):4695-4700.
- [6] 王瑞峰,姜克悦.三七总皂苷对心肌缺血模型大鼠血清生化学和血液流变学指标的影响[J].中国药业,2019,28(2):21-23.
- [7] 熊敏琪,崔金刚,陈瑜,等.三七总皂苷抗动脉粥样硬化的效应研究[J].神经药理学报,2018,8(6):55.
- [8] 贺旭,刘英飞,王伟,等.三七总皂苷对全脑缺血大鼠学习记忆的影响及其作用机制研究[J].中草药,2019,50(22):5521-5526.
- [9] 何琼,谭初兵,赵晴.血塞通注射液联合常规疗法治疗脑梗死的临床观察[J].现代药物与临床,2011,26(3):234-236.
- [10] 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.
- [11] Liu J, Zhou J, Zhang Q Q, et al. Monosaccharide analysis and fingerprinting identification of polysaccharides from *Poria cocos* and *Polyporus umbellatus* by HPLC combined with chemometrics methods [J]. *Chin Herb Med*, 2019, 11(4): 406-411.
- [12] Chen J, Xia C, Zhu Y Q, et al. Nutritional compositions of Maca Grown in Ebian and HPLC fingerprints of macaene and macamide [J]. *Agr Sci Tech*, 2016, 17(4): 947-950.
- [13] 邓斌,王秋燕,周成高,等.益肾排毒丸中有效成分含量测定及指纹图谱研究[J].药物评价研究,2019,42(4):658-662.
- [14] 高尚,陈秧,彭彩云,等.止血调经颗粒 HPLC 指纹图谱研究及其主成分定量测定[J].中草药,2019,50(15):3642-3647.
- [15] Zhang Y, Ding Y, Zhang T, et al. Quantitative analysis of twelve active components combined with chromatographic fingerprint for comprehensive evaluation of Qinma prescription by ultra-performance liquid chromatography coupled with diode array detection [J]. *J Chromatogr Sci*, 2019, 57(9): 855-865.
- [16] Marczewska P, Miszczyk M, Płonka M, et al. Application of different chromatographic techniques and chemometric analysis in authenticity testing of plant protection products containing azoxystrobin as an active substance [J]. *J Environ Sci Health B*, 2019, 54(7): 590-597.
- [17] Wang H L, Yao W F, Zhu D N, et al. Chemical fingerprinting by HPLC-DAD-ELSD and principal component analysis of *Polygala japonica* from different locations in China [J]. *Chin J Nat Med*, 2010, 8(5): 343-348.
- [18] 于小红,吴昊,赵奎君,等.柴胡桂枝汤高效液相色谱指纹图谱的建立[J].药物分析杂志,2019,39(7):1249-1255.
- [19] 周雅琪,蒋林,魏博伟,等.六味葛蓝降脂片 HPLC 指纹图谱建立及 5 种成分测定[J].中成药,2019,41(7):1510-1514.