

基于¹H-NMR指纹图谱分区相似度的丹参注射液质量评价方法

赵芳^{1,2,3}, 李文竹^{1,2}, 潘坚扬^{1,2}, 杨嘉誉^{1,2}, 瞿海斌^{1,2*}

1. 浙江大学药学院, 药物信息学研究所, 浙江 杭州 310058
2. 组分中药国家重点实验室浙江大学交叉创新中心, 浙江 杭州 310058
3. 海正生物制药有限公司, 浙江 杭州 311400

摘要: **目的** 以丹参注射液为研究对象, 建立基于¹H-NMR指纹图谱分区相似度的质量一致性评价方法。**方法** 采集81批丹参注射液的¹H-NMR光谱, 根据代谢物信号的分布规律, 将光谱分为氨基酸区、糖类区和酚酸区, 分别计算各区光谱的夹角余弦与标准化欧氏距离2种相似度指标, 并评价丹参注射液批次质量一致性的性能, 并与基于全¹H-NMR谱的相似度计算结果进行对比。**结果** 不同批次丹参注射液间氨基酸、糖类及酚酸的组成均存在一定差异, 其中氨基酸、糖类的批间差异较大; 同时, 欧式距离对成分的批间波动更为敏感。此外, 基于全谱的相似度分析结果受糖区特征峰影响极大, 对酚酸及氨基酸类成分的批间差异识别能力较差。**结论** 基于¹H-NMR光谱分区相似度算法可以更好地辨识不同类别成分的批间波动, 较全谱相似度算法更适用于丹参注射液的一致性评价, 为进一步提升中药制剂的质量一致性提供参考。

关键词: 核磁共振氢谱; 丹参注射液; 质量控制; 质量一致性; 相似度分析; 氨基酸; 糖类; 酚酸; 丹参素; 原儿茶醛; 迷迭香酸; 紫草酸; 丹酚酸B; 丹酚酸A

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)17-5312-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.17.007

Quality evaluation method for Danshen Injection based on sectionalized ¹H-NMR fingerprint spectral similarity

ZHAO Fang^{1,2,3}, LI Wen-zhu^{1,2}, PAN Jian-yang^{1,2}, YANG Jia-yu^{1,2}, QU Hai-bin^{1,2}

1. Pharmaceutical Informatics Institute, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China
2. State Key Laboratory of Component-Based Chinese Medicine, Innovation Center in Zhejiang University, Hangzhou 310058, China
3. Hisun Biopharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 311400, China

Abstract: Objective To establish a quality consistency evaluation method for Danshen Injection (丹参注射液) based on the similarity of sectionalized ¹H-NMR fingerprint. **Methods** The ¹H-NMR spectra of 81 batches of Danshen Injection were obtained. According to the distribution of various metabolite signals, the spectra were sectionalized into three regions, which were the amino acid region, sugar region, and phenolic acid region, respectively. Then, cosine similarities and standardized Euclidean distances of each region for each spectrum were calculated respectively as the consistency evaluation indexes for Danshen Injection. In addition, the evaluation method results aforementioned was compared with the similarity calculation results based on the full ¹H-NMR spectra. **Results** The results showed that certain fluctuations did exist in the composition of amino acids, carbohydrates, and phenolic acids among different batches of Danshen Injection. Among them, the differences in amino acids and carbohydrates between batches were bigger than those in phenolic acids. At the same time, the Euclidean distance was a more sensitive index to the metabolite fluctuations than cosine similarity. In addition, similarity analysis based on the full ¹H-NMR spectrum was significantly affected by the sugar region, and so its ability to distinguish differences in phenolic acids and amino acids was weak. **Conclusion** Similarities based on sectionalized ¹H-NMR spectra can identify the fluctuations of different types of metabolites better. The method proposed in this study is more appropriate for quality control of Danshen Injection than that based on full-spectrum, which will help to provide

收稿日期: 2022-03-25

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09201011-002)

作者简介: 赵芳(1993—), 女, 博士后, 研究方向为制药过程分析。E-mail: z_fang@zju.edu.cn

*通信作者: 瞿海斌, 博士生导师, 从事制药过程质量控制研究。Tel: (0571)88208428 E-mail: quhb@zju.edu.cn

reference ideas for further improving the quality control level of traditional Chinese medicine preparations.

Key words: proton nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$); Danshen Injection; quality control; quality consistency; similarity analysis; amino acid; sugar; phenolic acid; danshensu; protocatechuic aldehyde; rosemary acid; alkannic acid; salvianolic acid B; salvianolic acid A

在中药注射剂生产过程中,由于原料或辅料批次更换,以及工艺参数波动等原因,产品质量会有不同程度的波动^[1-2]。由于中药化学成分繁多、结构类型高度复杂,在治疗疾病时具有多成分、多靶标的特性,其功效取决于多种成分的共同作用^[3],况且中药注射剂给药方式的特殊性,因此,中药注射剂质量的全面表征与一致性评价是中药质量控制标准建立过程中的重点和难点,已成为制约其发展的瓶颈之一^[4]。

目前,中药注射剂质量的批间一致性评价通常采用包括 HPLC、GC 等在内的色谱技术或色谱联用技术的定量分析及指纹图谱分析法,通过定量、半定量或定性分析^[5-6],实现化学成分的表征与量化,在此基础上进行质量一致性评价。其中中药指纹图谱是中药多成分质量综合分析及评价的重要手段^[7-8]。在现阶段中药的有效成分大多数没有明确的情况下,中药指纹图谱能够有效地从整体上表征中药的整体质量,是基于中药“多成分、多靶点”的作用特性建立的一种有效的中药质量控制方法^[8]。

氢核磁共振(proton nuclear magnetic resonance, $^1\text{H-NMR}$)指纹图谱技术具有单一性、全面性、定量性和易分辨性等特点,适用于复杂混合物中各类有机物的定性定量分析^[9-11]。 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱技术的显著优势在于分析范围广,可同时对初级代谢产物(氨基酸、糖类等)与次级代谢产物(黄酮、酚酸、皂苷等药用活性成分)进行高通量分析。目前基于 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱的中药材及其制剂的质量评价方法,一般通过对分析对象的 $^1\text{H-NMR}$ 全光谱进行相似度与空间距离计算^[12-18],或在 $^1\text{H-NMR}$ 光谱中选择部分代谢物的特征信号并计算相似度^[19],以实现一致性评价的目的。然而这些计算方法未能充分利用 $^1\text{H-NMR}$ 光谱中反映的样品化学信息。

本研究以丹参注射液为研究对象,考察其 $^1\text{H-NMR}$ 光谱中各类初生及次级代谢产物的特征信号及信号分布规律,研究基于丹参注射液 $^1\text{H-NMR}$ 光谱特征指纹图谱的产品质量一致性评价方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪,美国 Agilent 公

司,配四元梯度泵、自动进样器、柱温箱、紫外检测器、ChemStation 工作站; Bruker Avance III 500 型核磁共振光谱仪,德国 Bruker 公司,配 24 位自动进样器及 5 mm BBO 探头、Topspin 工作站; Mettler AE 200 型电子天平,瑞士 Mettler Toledo 公司; IKA VXR basic Vibrax[®]型光电控制式小型振荡器,德国 IKA 公司; Eppendorf Multipette M4 手动连续分液器,5424 及 5804R 型离心仪,德国 Eppendorf 公司。

1.2 试剂

含有 0.05% 3-(三甲基硅基)氘代丙酸钠(TSP)的氘代水(D_2O , 99.9% D),美国 Sigma-Aldrich 公司。乙腈、甲醇,色谱纯,德国 Merck 公司;甲酸,色谱纯,美国 ROE 科技有限公司;乙酸,色谱纯,美国 ROE 公司;对照品丹参素钠(批号 171027,质量分数 99.04%)、原儿茶醛(批号 171126,质量分数 99.69%)、迷迭香酸(批号 171009,质量分数 99.36%)、紫草酸(批号 180107,质量分数 98.85%)、丹酚酸 B(批号 170924,质量分数 99.96%)、丹酚酸 A(批号 170920,质量分数 98.93%)均购自上海融禾医药科技有限公司。

去离子水由 Milli-Q Synthesis 超纯水机(美国 Millipore 公司)每日新制。

此外,生产日期 2016 年 7 月 1 日至 2020 年 3 月 10 日的 81 个不同批次的丹参注射液均为本实验室收集的同一厂家的产品。81 批丹参注射液中,批次 1~19 为过期批次,生产时间为 2016 年 7 月至 2018 年 3 月;批次 20~62 的生产时间为 2019 年 3 月至 2019 年 8 月;批次 63~81 的生产时间为 2019 年 12 月至 2020 年 3 月。

2 方法与结果

2.1 样本制备与核磁分析

准确量取 900 μL 丹参注射液与 100 μL 含 0.05% TSP 的氘代水,混合均匀并在 10 000 r/min 下离心 10 min,移取 500 μL 上清液置入 5 mm 标准核磁管,留待分析。

在预饱和水峰压制的 Noesygppr1d 的脉冲序列下进行核磁分析,以溶剂 90% H_2O +10% D_2O 锁场,谱宽为 δ 12,中心频率为 δ 4.695,弛豫时间为 2 s,

混合时间为 50 ms, 90°脉冲 P_1 为 14.75 μ s, 空扫次数为 4, 扫描次数为 32, 采集时间为 2.726 s, 接收器增益为 114。

在 Bruker Topspin(3.6.2 版, 美国 Bruker Biospin Corporation) 软件中, 对自由感应衰减(free induction decay, FID) 信号进行傅里叶变换, 窗函数线宽 = 0.3 Hz, 手动执行相位校正并以 TSP 的特征信号作为内部参考, 将其化学位移设为 δ 0.00, 作为化学位移漂移矫正的基准, 确保不同样品光谱之间具有可比性。

2.2 光谱预处理

使用 MestReNova (14.0.0 版, 西班牙 Mestrelab Research) 软件对光谱在“Peak”模式下进行分箱(Binning) 宽度为 δ 0.02 的降维处理, 处理后的光谱作为相似度计算的参考数据。分箱后, 去除残留水信号影响的光谱区域 (δ 4.5~5.0) 及无信号的区域 (δ 0.0~0.5), 原始光谱由 32 768 个数据点降维至 513 个数据点。在此基础上, 在 Matlab 中采用区间相关优化平移算法(interval correlation optimised shifting algorithm, ICOSHIFT) [20-21] 工具包对齐 NMR 光谱信号, 消除不同批次丹参注射液 NMR 图谱间的化学位移偏差。

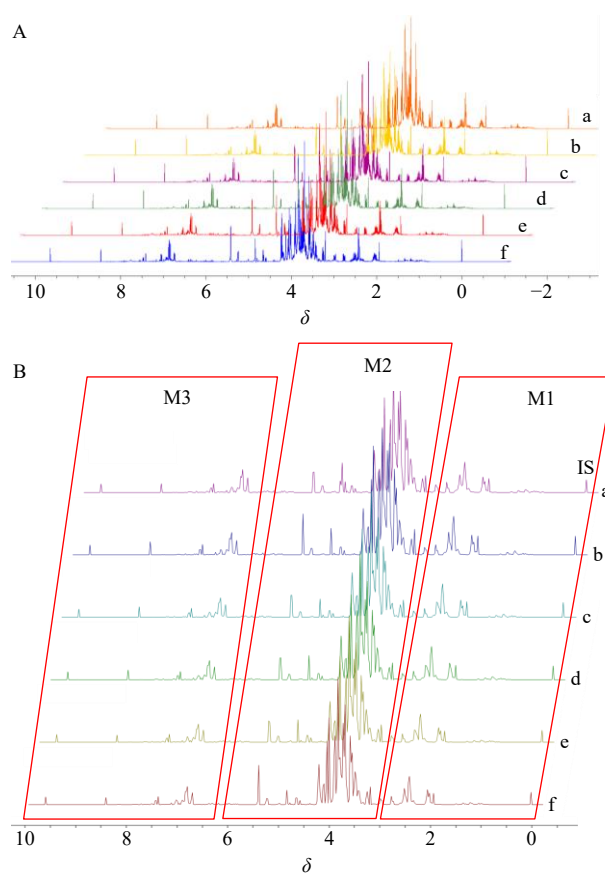
2.3 光谱分区

中药提取物的 $^1\text{H-NMR}$ 光谱按提取物中各类物质化学性质的不同, 可被划分为低场区(主要为芳香族化合物信号, δ 5.50~10.00)、中场区(主要为碳水化合物区信号, δ 3.30~5.50) 以及高场区(主要为小分子有机酸和氨基酸信号, δ 0.05~3.30)。为充分利用光谱中的信息, 并全面表征样品的化学信息, 本研究将丹参注射液的 $^1\text{H-NMR}$ 光谱按高、中、低场进行分区计算, 标记为 1、2、3 区 (M1、M2、M3), 分别反映注射液中的氨基酸、糖类及丹参酚酸类的成分信息, 如图 1 所示。

2.4 相似度计算

2.4.1 相似度计算方法 本研究使用标准化欧氏距离与余弦相似度作为丹参注射液 $^1\text{H-NMR}$ 光谱指纹图谱的相似性计算方法[22]。相似度计算由 Matlab 软件(版本 2019a, 美国 Mathworks 公司)完成。为使标准化欧氏距离这一指标与余弦相相似度一致, 便于后续统一考察, 本研究使用“相对欧氏距离”。样品 n 的 $^1\text{H-NMR}$ 光谱的相对欧氏距离 r_{D_E} 的计算公式如下。

$$r_{D_E} = D_{E_n} / D_{E_{\max}}$$



A-6 批注射液的原始光谱 B-6 批原始光谱经分箱 (δ 0.02) 处理后所得光谱 a~f-6 批样品批号分别为 161001、170901、180301、190301、190201、200301

a-original spectra of six representative batches of Danshen Injection
b-spectra after binning with a δ 0.02 width bucket A—F-six batch numbers of samples are 161001, 170901, 180301, 190301, 190201, and 200301, respectively

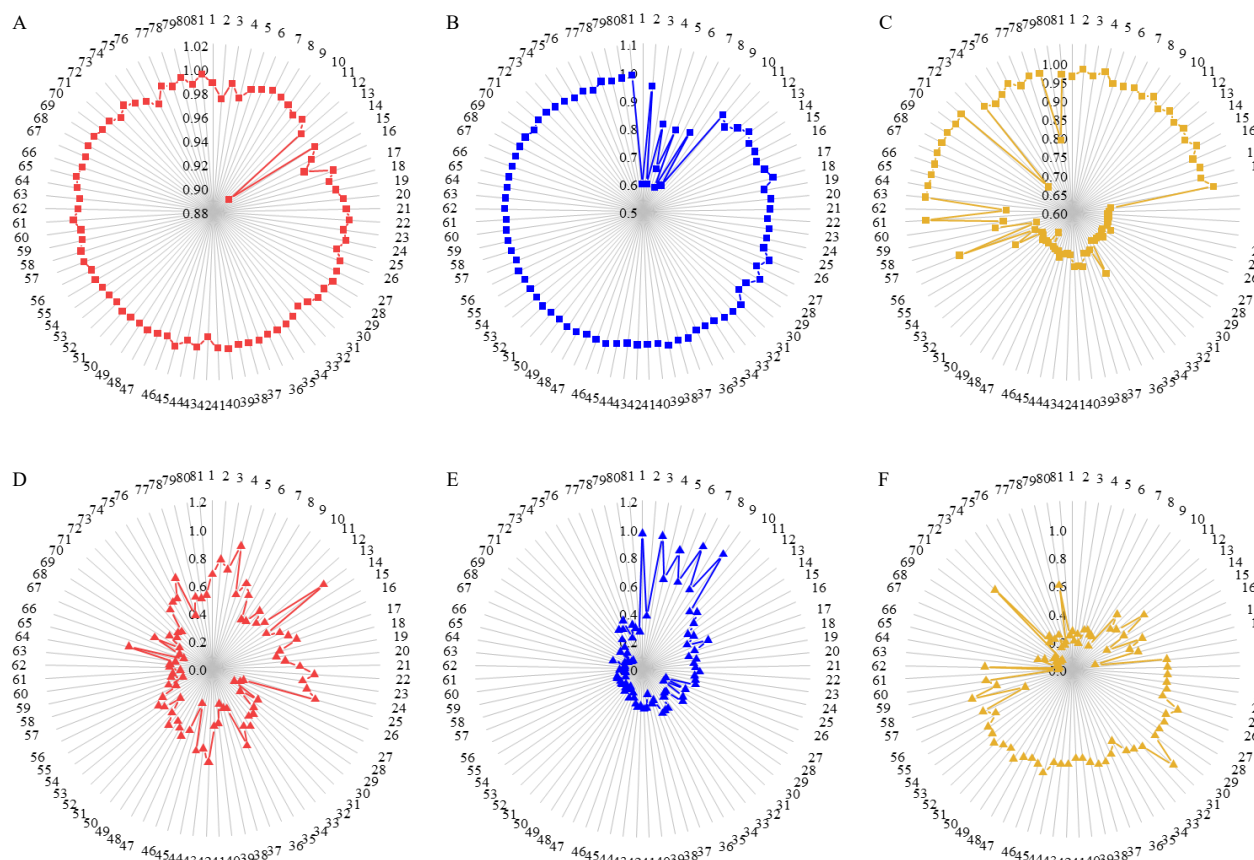
图 1 6 个批次代表性丹参注射液的 $^1\text{H-NMR}$ 光谱及其 3 个分区范围 (IS 为内标, 不计入相似度计算)

Fig. 1 $^1\text{H-NMR}$ spectra for six representative batches of Danshen Injection and their corresponding regional division (IS refers to internal standard TSP)

D_{E_n} 为样品 n 与标准样品的 $^1\text{H-NMR}$ 光谱间的标准化欧氏距离, $D_{E_{\max}}$ 为根据所有被考察批次丹参注射液与标准样品的 $^1\text{H-NMR}$ 光谱间的标准化欧氏距离的最大值

2.4.2 丹参注射液 $^1\text{H-NMR}$ 光谱的分区相似度评价结果 以 10 批临床使用无不良反应的丹参注射液为标准批次, 在此基础上计算平均光谱, 并以该平均光谱为基准, 分别计算 81 批次丹参注射液 3 个光谱分区的余弦相似度与相对欧氏距离。为使数据便于观察, 使用 Origin (版本 2019b, 美国 OriginLab 公司) 软件将 81 批丹参注射液的 3 个分区的相似度计算结果绘制为雷达图 (图 2)。

余弦相似度越接近 1 说明该分区与基准光谱越



A-氨基酸区余弦相似度 B-糖区余弦相似度 C-酚酸区余弦相似度 D-氨基酸区相对欧氏距离 E-糖区相对欧氏距离 F-酚酸区相对欧氏距离
A-cosine similarity of amino acid region B-cosine similarity of carbohydrate region C-cosine similarity of phenolic acid region D-relative Euclidean distance of amino acid region E-relative Euclidean distance of carbohydrate region F-relative Euclidean distance of phenolic acid region

图2 81批丹参注射液¹H-NMR指纹图谱的分区相似度指标

Fig. 2 Sectionalized similarity values of ¹H-NMR fingerprint for 81 batches of Danshen Injection

相似，相对欧氏距离越接近0说明该分区的相似程度越接近于标准样品。经分析，除批次13、16，不在有效期内的丹参注射液1区余弦相似度均大于0.970，有效期内批次的1区余弦相似度均大于0.985，说明余弦相似度对氨基酸区的波动敏感性不足，但仍能体现出不在有效期内注射液中的氨基酸、小分子有机酸含量与近期批次有一定程度的差异；与此形成对比的是欧氏距离对样品变异具有更高的敏感性，有效期外丹参注射液的1区、2区欧氏距离较大且批间波动也较大，批次20~62的3区欧氏距离则明显高于标准批次。

2区余弦相似度这一指标则体现出了不在有效期内的丹参注射液批次糖区光谱的无序波动，在有效期内批次31~81中则均高于0.97。而欧氏距离的总体趋势则随生产日期与基准批次的接近而逐渐减小；该指标在2018年及之前批次中较高，在2019年3月至6月批次中则显著降低，在0.2~0.5波动；在

2019年7月至2020年1月批次中则在0.08~0.23波动，在2020年3月及之后的批次中则在0.1~0.4波动。由于糖类在贮存过程中相对稳定，可以推测样品在出厂时糖类含量即不相同，而氨基酸及酚酸类物质可能在贮存过程中发生了较大变化。

3区的余弦相似度在各批次注射液中的波动更为显著，其中批次20~56的余弦相似度均低于0.75，相应的，其欧氏距离则均较大，说明酚酸含量也有一定程度的批间波动。

综上，相较余弦相似度，欧氏距离更能体现批次间的差异；而3区的余弦相似度对丹参注射液中酚酸的批间变异有较好的考察能力。此外，评价结果表明，丹参注射液中糖类与氨基酸类成分组成的批间差异较为显著，对注射液质量一致性的影响较大，为提高丹参注射液的用药安全性，对这2类成分应提出控制标准。

2.4.3 分区相似度评价方法结果的准确性验证

(1) 与丹参注射液 $^1\text{H-NMR}$ 光谱的全谱相似度评价结果对比: 计算 81 个样品的全 $^1\text{H-NMR}$ 光谱 (δ 0.05~10.0) 的余弦相似度与欧氏距离。全谱相似度的雷达图如图 3 所示。由图 3 可知, 基于全光谱的余弦相似度与欧氏距离仅能识别部分不在有效期内的注射液的异常; 同时, 图 2 与图 1 中 2 区余弦相似度及 2 区欧氏距离的评价结果高度雷同, 这是

因为糖区在丹参注射液这一品种的氢谱全谱中所占峰面积比例极大, 因此基于全谱的相似度分析受糖区特征峰影响极大, 对酚酸区及氨基酸区的差异识别能力因此被削弱。因此, 对于丹参注射液, 基于全谱的余弦相似度及欧氏距离相似度评价对异常样本的识别能力不如分区相似度评价方法。

(2) 基于主成分分析 (principal component analysis,

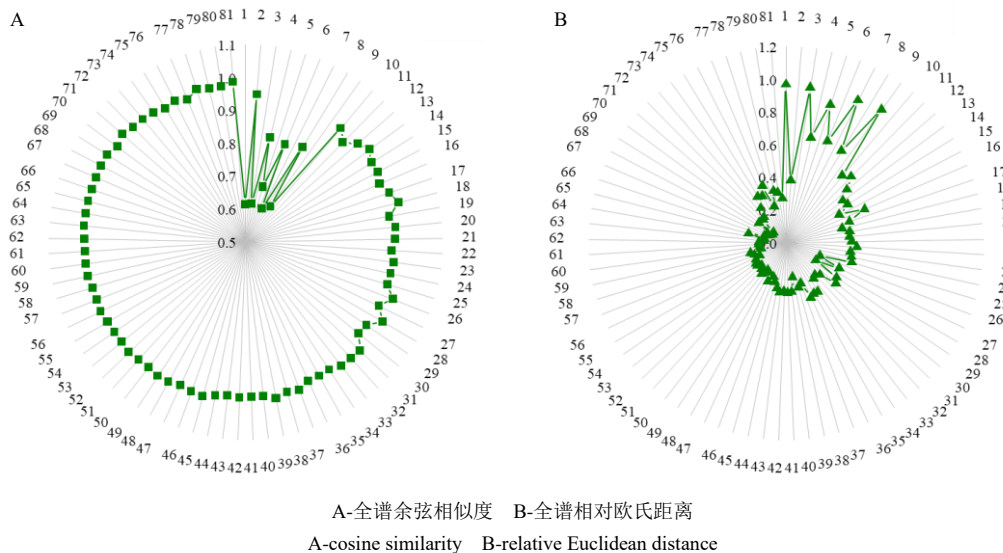


图 3 不同批次丹参注射液 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱的全谱相似度

Fig. 3 Similarity values of full $^1\text{H-NMR}$ fingerprint for 81 batches of Danshen Injection

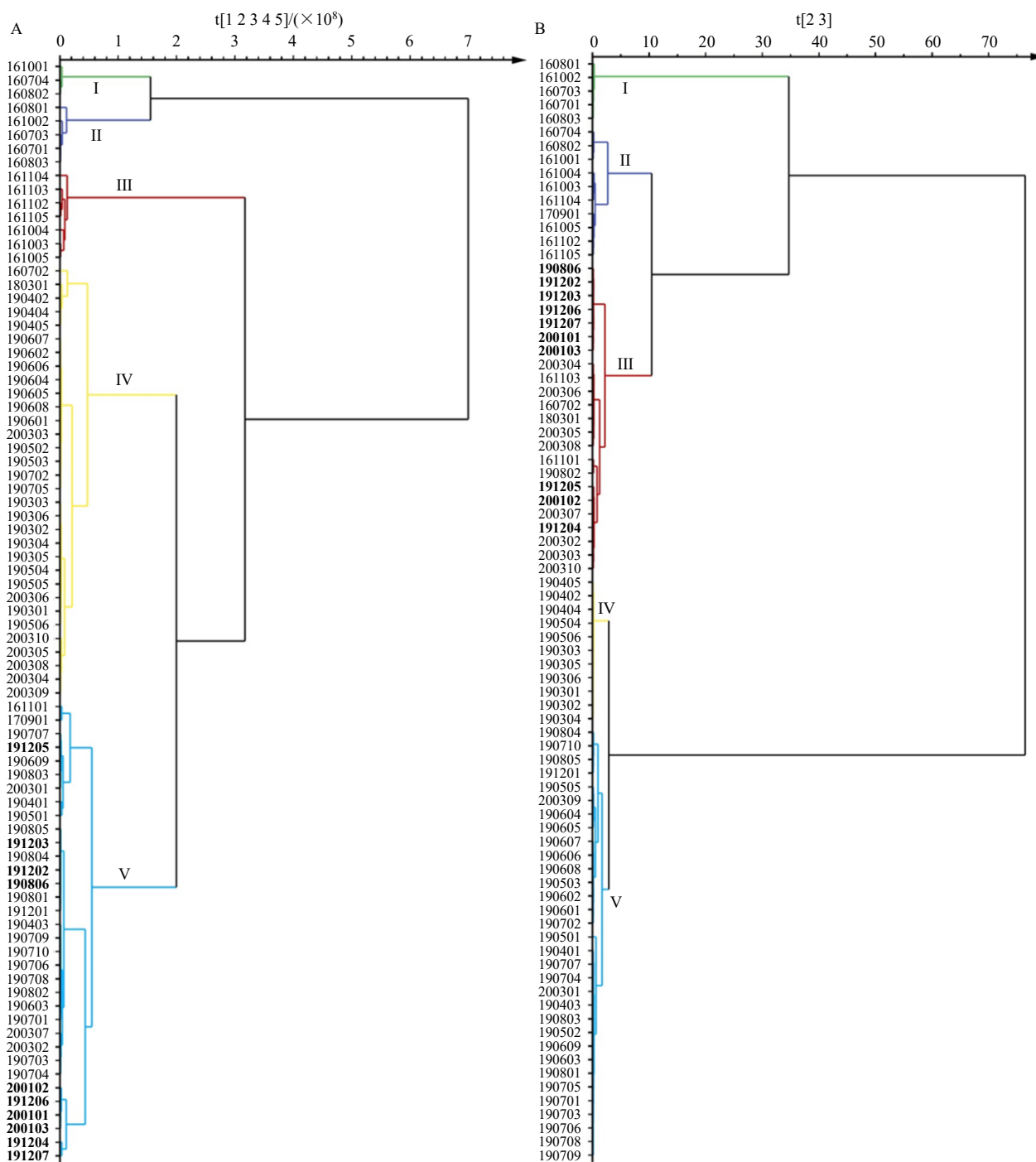
PCA) 的一致性评价结果对比: 进一步对比 81 个注射液的全光谱数据 ($X_A=81 \times 513$) 及分区相似度数据 ($X_A=81 \times 6$) 的无监督 PCA 模型, 建模前使用中心化法对所有数据进行缩放处理。81 个注射液的全光谱 PCA 模型包含 5 个主成分, 其 R^2 为 0.901, Q^2 为 0.767, 前 3 个主成分分别解释 44.6%、27.5%、10.5% 的模型方差; 81 个注射液的分区相似度数据的 PCA 模型包含 3 个主成分, 其 R^2 为 0.998, Q^2 为 0.823, 3 个主成分分别解释 91.5%、5.6%、2.8% 的方差。建模结果显示分区相似度的 PCA 模型的分性能优于全光谱 PCA 模型。在此基础上, 为使分类结果更为明确, 基于 PCA 结果绘制基于 Ward's 最小方差法的层次聚类 (hierarchical clustering analysis, HCA) 树。聚类结果见图 4。

由聚类图 4-A 可以看出, PCA-HCA 无监督判别模型对基于全光谱信息的样品具有一定的聚类能力, 但对各批号注射液的分离能力不高, 集群间的分类界限不清晰, 非相近日期生产的注射液批次 (如 20 年 3 月批次与 19 年 3 月至 19 年 6 月批次) 也有被聚类到同一集群 (图 4-A IV 组) 的风险。对比图

4-A 与 4-B, 显然基于分区相似度信息的模型聚类效果更好, 相近批次之间的空间距离更近, 类内相似度更高而类间差异更为显著。

(3) 基于正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least square-discriminant analysis, OPLS-DA) 的批间光谱差异辨识 在“2.4.3 (2)”项中对效期内样品的聚类结果, 为进一步验证方法对注射液批间差异辨识的准确性, 将效期内体现出差异的批次分为 2 类 (图 4 中 III 组与 IV 组), 对全光谱的分箱积分数据进行帕累托缩放处理后, 进行 OPLS-DA, 以观察 2 类注射液中的指标差异的明确来源。OPLS-DA 模型是一种有监督的判别模型, 较 PCA 模型有更强的识别类间差异来源的能力。OPLS-DA 模型相应的 S 线图和置换检验图如图 5 所示。其中, S 线图用于识别不同类别注射液间的化学组成差异, 置换检验图用于评估模型是否过拟合。

图 5-D~F 表明 3 个模型均未过拟合, 模型性能良好。S 线图的 $P_{\text{ctr}} [1]$ 反映了 X 变量与 t_1 之间的协方差, 而 P_{corr} 值代表了 X 变量与 t_1 之间的相关性, P_{corr} 的绝对值越大, 表示该点对应的化合物对模型



A-基于 $^1\text{H-NMR}$ 全光谱 B-基于分区 $^1\text{H-NMR}$ 光谱 黑体对应批次为标准批次；纵坐标为 81 批次注射液的批号，6 位编号 YY-MM-BB 分别指代该批次生产的年-月-批

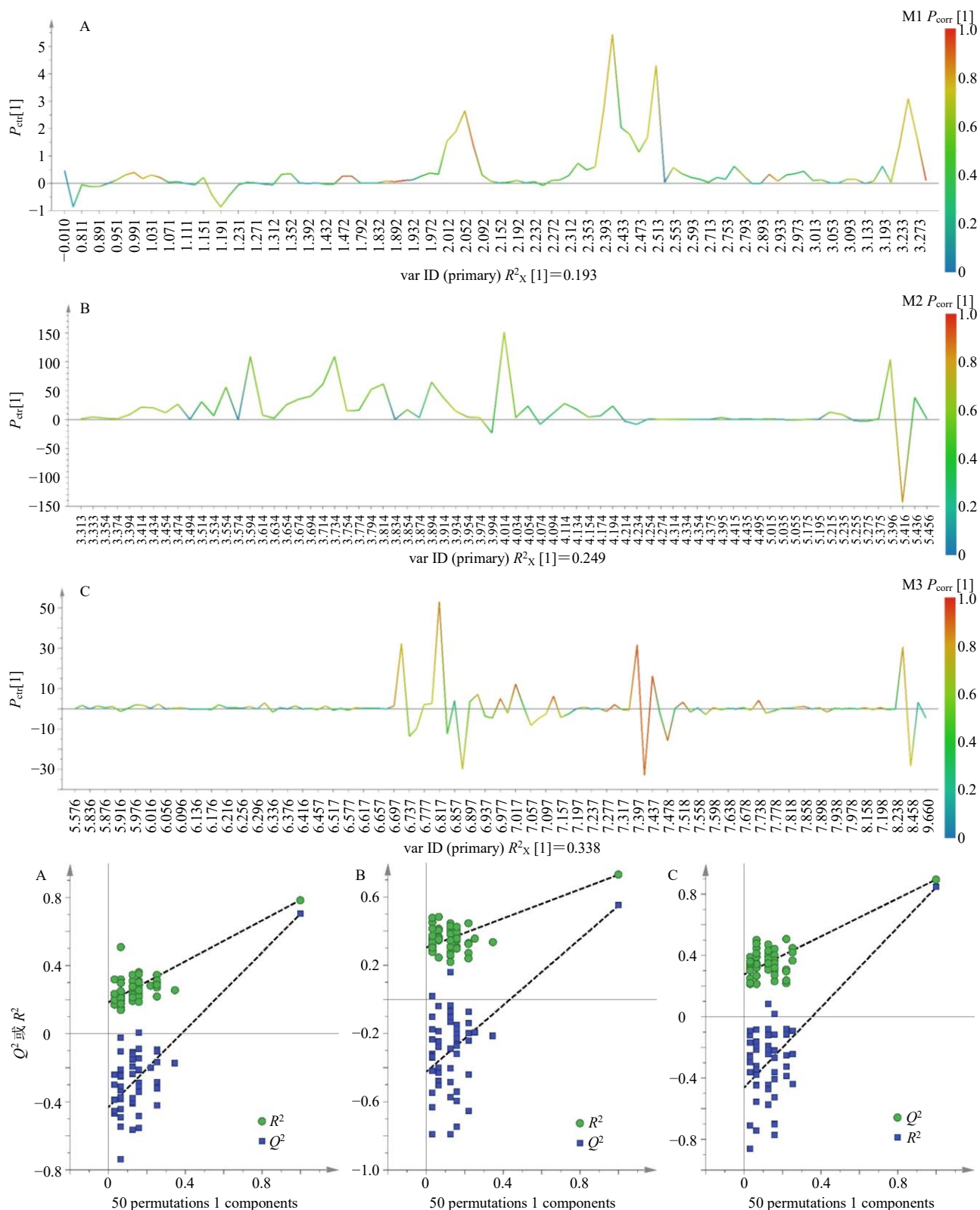
A-cluster tree based on full $^1\text{H-NMR}$ spectra B-cluster tree based on sectionalized $^1\text{H-NMR}$ spectral. Blackbody indicates standard batches. HCA trees are plotted by the lot number of Danshen Injections on the Y-axis; The six numbers YY-MM-BB in lot numbers refer to the years, months, and batches of the manufacturing days, respectively

图 4 81 批丹参注射液的 PCA-HCA 树

Fig. 4 PCA model-based HCA tree for 81 batches of Danshen Injection

的影响越大； P_{corr} 的正相关系数和负相关系数分别表示 2 类样本中相应化合物浓度的正相关和负相关。由图 5-A~C 中 S 线图的 P_{corr} 值可知，酚酸区

的不同是 2 类样品的主要差异来源，这一结论与图 2 中 2 类样本的分区相似度统计结论（2 类样本的 3 区余弦相似度与欧氏距离均有差异）完全一致。为



A-1 区的 S 线图 (曲线的不同颜色对应不同变量的 P_{corr} 值, 纵坐标为 $P_{cr}[1]$, 横坐标为相应变量的化学位移) B-2 区的 S 线图 C-3 区的 S 线图 D-1 区的置换检验图 E-2 区的置换检验图 F-3 区的置换检验图

A-S-line plot of region 1 (colors of S-line indicate P_{corr} values of variables, Y-axis is $P_{cr}[1]$ values, and X-axis is chemical shift) B-S-line plot of region 2 C-S-line plot of region 3 D-permutation test plot of region 1 E-permutation test plot of region 2 F-permutation test plot of region 3

图 5 2 类注射液 OPLS-DA 结果

Fig. 5 OPLS-DA model of two types of Danshen Injections

进一步验证这一结果的准确性，对注射液中酚酸含量进行基于 HPLC-UV 的定量分析^[23]，并以 HPLC 法所得酚酸含量的定量结果为参照，考察 2 类注射液的酚酸含量差异。6 个丹参酚酸在 2 类注射液中含量的双样本 *t* 检验结果分别为 $P=0.000$ 、0.160、0.640、0.000、0.000、0.004。6 种丹参酚酸

含量分布的箱型图见图 6 所示。由相应 *t* 检验结果可知，注射液中丹参素、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 的质量浓度在 III 组中有显著的提升，说明 2 类样本在酚酸组成上存在显著差异，但是基于 ¹H-NMR 全谱的指纹图谱一致性分析（图 3）并未体现出这种差异。

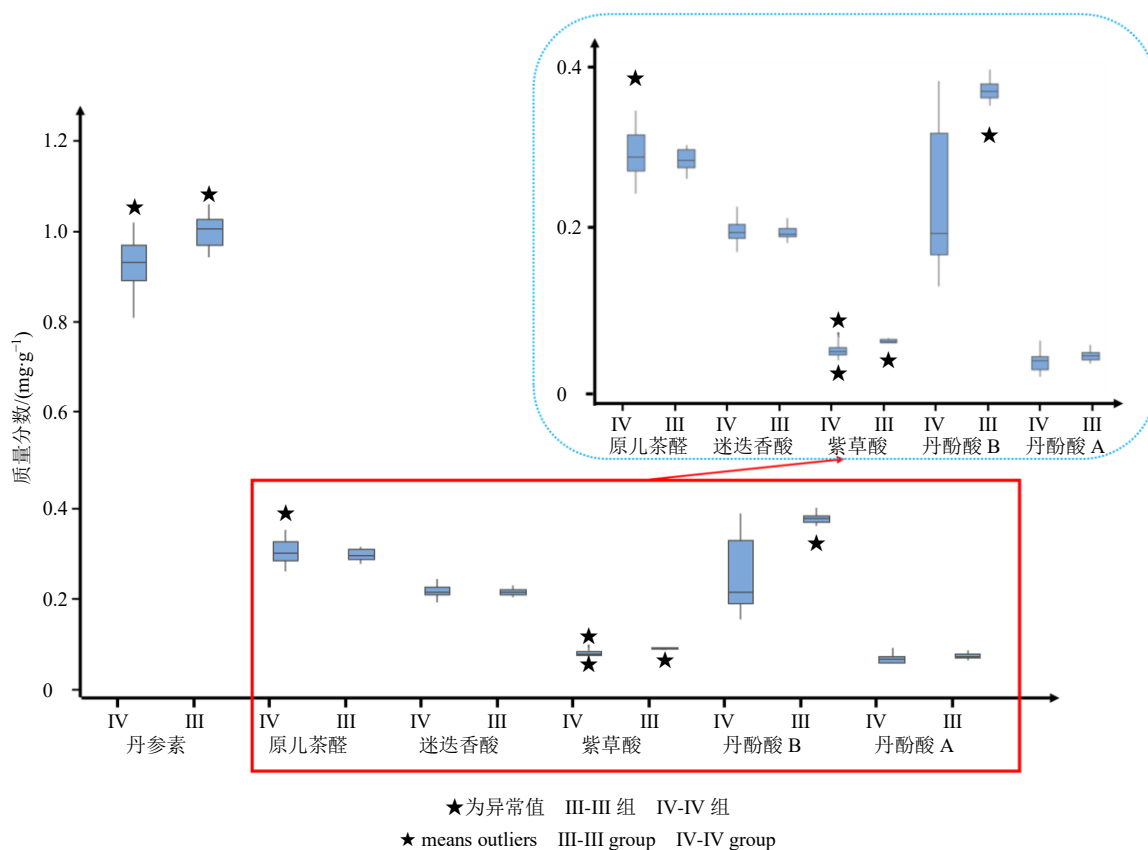


图 6 2 类丹参注射液中丹参素、原儿茶醛、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 的平均质量分数

Fig. 6 Mean concentration for danshensu, protocatechuic aldehyde, rosmarinic acid, lithospermic acid, salvianolic acid B, salvianolic acid A in two types of Danshen Injection

3 讨论

本研究将丹参注射液的 ¹H-NMR 光谱按代谢物分布规律进行了分区，并以余弦相似度及标准化欧氏距离为评价指标，分别计算氨基酸区、糖区及酚酸区的相似度，作为多批次丹参注射液的质量一致性评价方法，评价了同一厂家在 2016 年至 2020 年间生产的 81 批丹参注射液中酚酸、氨基酸及糖类成分的组成情况，结果显示，生产时间间隔较久的产品在氨基酸及糖类成分的含量与组成上存在差异；此外，随保存时间变长，丹参酚酸也会产生一定程度的降解导致产品质量波动。在此基础上，通过多角度的对比证明了所提出的 ¹H-NMR 光谱分区相似度评价方法在丹参注射液的质量一致性评价中相较

传统的全光谱相似度算法具有更强的批间化学差异识别能力。

综上所述，本研究建立的丹参注射液的质量一致性评价方法可以反映出丹参注射液批间不同类别成分的波动，可用于丹参注射液的多组分质量控制及评价，同时为中药注射液的质量一致性评价提供了新的思路与参考方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Quality Implementation Working Group Points to Consider (R2) ICH-Endorsed Guide for ICH Q8/Q9/Q10 Implementation [S/OL]. [2014-10-24] http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines

- /Quality/Q8_9_10_QAs/PtC/Quality_IWG_PtCR2_6dec2 011.
- [2] Pharmaceutical cGMPs for the 21st century: A risk-based approach [S]. 2002.
- [3] Nikam P H, Kareparamban J, Jadhav A, *et al.* Future trends in standardization of herbal drugs [J], *J Appl Pharm Sci*, 2012, 2(6): 38-44.
- [4] 赵桢熠, 倪凤燕, 陈彭月, 等. 以一致性为核心的中成药质量研究现状及优质评价新模式探讨 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(15): 3740-3748.
- [5] 胡瑞雪, 梁元昊, 徐文丽, 等. 一测多评法在中药中的应用及研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2019, 39(11): 1968-1979.
- [6] 张晓雨, 王燕平, 林丽开, 等. 中药注射剂上市后整体评价的思路与关键 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(16): 3229-3232.
- [7] 汪悦. 丹红注射液和生脉注射液质量分析研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [8] 聂黎行, 石上梅, 翟为民, 等. 指纹图谱技术在中药注射剂标准提高中的应用 [J]. 中成药, 2015, 37(03): 607-611.
- [9] Chauthe S K, Sharma R J, Aqil F, *et al.* Quantitative NMR: An applicable method for quantitative analysis of medicinal plant extracts and herbal products [J]. *Phytochem Anal*, 2012, 23(6): 689-696.
- [10] Xie J, Zhang A H, Sun H, *et al.* Recent advances and effective strategies in the discovery and applications of natural products [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(2): 812-824.
- [11] Halabalaki M, Vougiannopoulou K, Mikros E, *et al.* Recent advances and new strategies in the NMR-based identification of natural products [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2014, 25: 1-7.
- [12] 温时媛, 周江韬, 陈燕燕, 等. 红景天药材的 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(13): 2629-2633.
- [13] 曲婷丽, 魏玉海, 李爱平, 等. 黄芪注射液 $^1\text{H NMR}$ 指纹图谱研究 [J]. 药学学报, 2016, 51(05): 780-785.
- [14] 王楠, 高晓霞, 张爱荣, 等. 基于 $^1\text{H-NMR}$ 的定坤丹指纹图谱研究 [J]. 山西医科大学学报, 2019, 50(4): 479-483.
- [15] 李爱平, 陈佳佳, 李震宇, 等. 基于核磁指纹图谱黄芪药材均一性评价研究 [J]. 中药材, 2017, 40(09): 2107-2111.
- [16] 姜苗苗, 张宇, 冯毅凡. 双黄连口服液的核磁共振氢谱指纹图谱研究 [J]. 中国药房, 2012, 23(7): 633-635.
- [17] 唐荣伟, 田玫瑰, 唐玲, 等. 乌梅的 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱研究 [J]. 中国药房, 2018, 29(19): 2644-2647.
- [18] 谭有珍, 陈碧莹, 吴霞, 等. 基于 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱建立沉香快速识别模型的研究 [J]. 中药材, 2021, 44(04): 818-823.
- [19] 陈夏霖, 耿婷, 黄文哲, 等. 基于 $^1\text{H-NMR}$ 技术的银杏二萜内酯原料药含量测定和指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(7): 1404-1409.
- [20] Lee G, Woodruff D L. Beam search for peak alignment of NMR signals [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 513(2): 413-416.
- [21] Savorani F, Tomasi G, Engelsen S B. Icoshift: A versatile tool for the rapid alignment of ^1D NMR spectra [J]. *J Magn Reson*, 2010, 202(2): 190-202.
- [22] Goodarzi M, Russell P J, Vander Heyden Y. Similarity analyses of chromatographic herbal fingerprints: A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2013, 804: 16-28.
- [23] 陈丽冰, 何容, 李辉, 等. 恤彤注射液中间体丹参提取液的指纹图谱分析及多指标含量测定 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(9): 1085-1089.

[责任编辑 郑礼胜]