

金藤清痹颗粒多波长融合指纹图谱建立及质量评价

郭 威^{1,2,3}, 田雨晴³, 唐云峰², 王 亮³, 王 晓^{1,4}, 关永霞^{2*}, 张贵民^{2*}

[1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 2. 鲁南制药集团股份有限公司经方与现代中药融合创新全国重点实验室, 山东 临沂 276005; 3. 青岛大学附属山东省妇幼保健院, 山东 济南 250014; 4. 齐鲁工业大学 (山东省科学院), 山东省分析测试中心, 山东省中药质量控制技术重点实验室, 山东 济南 250014]

摘要: **目的** 建立金藤清痹颗粒多波长融合指纹图谱, 并对其质量进行评价。**方法** 分析采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相水 (含 0.5% 磷酸) - 甲醇, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 262、280、330 nm。以分离度大于 1.5 以上峰数及共有峰数为指标, 对比传统分段融合指纹图谱。采用主成分分析、正交偏最小二乘判别分析考察质量一致性。**结果** 共有峰融合柱指纹图谱优于传统分段融合指纹图谱, 19 批样品指纹图谱中有 22 个共有峰, 相似度均不低于 0.9, 指出 7 种成分。其中, 没食子酸、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C、青藤碱相对峰面积分别为 1.088~1.880、0.016~0.027、2.184~3.594、1.133~1.874、0.691~1.137、1.039~1.632。确定 4 种主成分, VIP 大于 1 的成分有 9 种。**结论** 该方法稳定可行, 区分度良好, 可用于金藤清痹颗粒的质量评价, 新绿原酸、异绿原酸 B、绿原酸可作为该制剂质量评价和工艺优化的重点成分。

关键词: 金藤清痹颗粒; 多波长融合指纹图谱; 主成分分析; 质量评价; 正交偏最小二乘判别分析

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)10-3400-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.10.035

金藤清痹颗粒是由金银花、青风藤、鹿衔草、山慈姑、蜈蚣等 11 味中药组成的复方制剂, 主要功效为清热解毒、活血消肿、通痹止痛, 可用于类风湿性关节炎活动期^[1-2], 治疗毒热内蕴、湿热阻络证。中药制剂质量优劣直接关乎临床疗效, 构建全面的质量评价体系是保障中成药安全有效的前提, 但目前尚未报道金藤清痹颗粒整体质量评价及质控方法, 因此, 亟需对金藤清痹颗粒进行全面、深入的整体质量研究。

指纹图谱作为一种能够尽可能多地反映中药全貌的分析检测技术, 已广泛应用于中药质量评价和控制体系中^[3-14], 但中药成分类型丰富、复杂多样, 其理化性质、吸收特征存在显著差异性, 仅单一波长指纹图谱难以体现色谱峰信息的特征性和多元性, 故本研究拟采用多波长融合技术, 整合多波长下不同类型成分的响应信息^[15-20]。传统融合指纹图谱存在波长转换时基线不稳、色谱峰优势特

征缺失等缺点, 共有峰融合柱指纹图谱可将智能筛选后的响应信息加以融合, 体现优势信号的特征信息^[21]。基于此, 本研究通过对不同波长下的共有峰择优处理, 建立多波长共有峰融合柱指纹图谱 (MFCF), 比较传统分段融合指纹图谱 (TSFF), 确定最优的金藤清痹颗粒整体质量评价方法, 结合主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA), 从多角度表征成分, 全面反映其化学信息, 以期为金藤清痹颗粒的质量控制提供参考。

1 材料

Essentia SIL-16 型高效液相色谱仪 (日本 Shimadzu 公司); SK5210LHC 型超声清洗机 (上海科超超声仪器有限公司); SECURA125-1CN 型电子天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]。

没食子酸 (批号 110831-201204)、绿原酸 (批号 110753-201314) 对照品均购自中国食品药品检定研究院;

收稿日期: 2024-03-19

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金 (82104391); 山东省泰山学者青年专家项目 (tsqn202211360); 山东省重点研发计划项目 (2019GSF108001); 山东省自然科学基金青年基金 (ZR2016HQ49); 山东省中医药科技发展计划项目 (2015-164); 山东省妇幼保健院专项资金科研课题 (YJKY2022-021, YJKY2022-027)

作者简介: 郭 威 (1982—), 女, 博士, 副研究员, 从事中药分析及其质量控制研究。Tel: 18678801862, E-mail: 331527800@qq.com

* **通信作者:** 关永霞 (1980—), 女, 硕士, 正高级工程师, 从事中药新药开发及其制药共性技术研究。Tel: (0539) 8336639, E-mail: jmsgyx@163.com

张贵民 (1969—), 男, 硕士, 研究员, 从事中药新药开发及其安全性评价研究。Tel: (0539) 8336639, E-mail: lunanzhangguimin@163.com

新绿原酸（批号 DSTDX001501）、隐绿原酸（批号 DSTDY003501）、异绿原酸 B（批号 DSTDY003701）、异绿原酸 C（批号 DSTDY003801）对照品均购自成都德思特生物技术有限公司；青藤碱对照品（批号 22080212）购自北京倍特仁康生物医药科技有限公司，纯度均大于 98%。

金藤清痹颗粒由鲁南厚普制药有限公司提供（编号 S1~S19，批号 28210091、28190131、28190111、28190121、28200011、28200031、28200041、28200051、28210071、28210081、28210101、28210111、28210121、28210131、28210141、28210151、28210161、28210171、28210181）。甲醇为色谱纯，购自德国默克公司；无水乙醇购自国药集团化学试剂有限公司；磷酸购自莱阳市康德化工有限公司；纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量，置于量瓶中，甲醇溶解，制成每 1 mL 分别含没食子酸 0.450 mg、新绿原酸 0.400 mg、青藤碱 0.808 mg、绿原酸 0.404 mg、隐绿原酸 0.400 mg、异绿原酸 B 0.406 mg、异绿原酸 C 0.400 mg 的溶液，0.45 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.2 供试品溶液制备 取本品约 0.5 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入 10 mL 70% 乙醇，密塞，称定质量，超声处理至完全溶解，放冷，70% 乙醇补足减失的质量，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.3 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相水（含 0.5% 磷酸）（A）-甲醇（B），梯度洗脱（0~8 min，5%~15% B；8~13 min，15% B；13~23 min，15%~25% B；23~33 min，25% B；33~43 min，25%~35% B；43~53 min，35% B；53~78 min，35%~60% B；78~88 min，60%~75% B；88~95 min，75%~100% B；95~105 min，100% B）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30℃；检测波长 262、280、330 nm；进样量 10 μL。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 精密称取本品 0.5 g（S1），按“2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定 6 次，测得各成分共有峰保留时间 RSD 均小于 1%，峰面积 RSD 均小于 3%，表明该仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验 精密称取本品 0.5 g（S1），共 6 份，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定，测得各成分共有峰保留时间 RSD 均小于 1%，峰面积 RSD 均小于 3%，表明该方法重复性良好。

2.4.3 稳定性考察 精密称取本品 0.5 g（S1），按“2.2”项下方法制备供试品溶液，于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.3”项色谱条件下进样测定，测得各成分共有峰保留时间 RSD 均小于 1%，峰面积 RSD 均小于 3%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

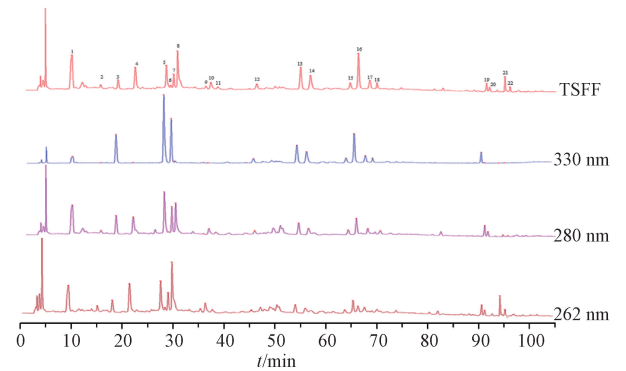
2.5 多波长融合指纹图谱建立

2.5.1 传统分段融合法 优选各段的最优波长，将 19 批

样品分段融合后的相应数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012 版），确定共有峰，生成指纹图谱的对照图谱，计算各样品与对照图谱的相似度。

2.5.2 共有峰融合指纹图谱 通过组合响应值，比较相同保留时间下各波长的共有峰峰面积，并进行优化以选择出最大值，导入 OriginPro 9.1 软件，以保留时间为横坐标，最优吸收波长下的峰面积为纵坐标，绘制多波长共有峰融合柱状图。

2.5.3 图谱生成 0~15 min 选用 280 nm 波长，15~40 min 选用 262 nm 波长，40~72 min 选用 330 nm 波长，72~105 min 选用 262 nm 波长，将 19 批样品分段融合后的相应数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012 版），以 S1 为参照，确定 22 个共有峰，建立传统分段融合指纹图谱，生成对照图谱，根据对照品相应峰位标定 7 个特征峰，并与单个波长下的对照图谱进行比较（图 1），可知分段融合指纹图谱峰分离度、峰响应均优于单波长指纹图谱。以 262、280、330 nm 波长处优势共有峰的峰面积绘制多波长融合柱状图（图 2），可知共有峰在 262、330 nm 波长处吸收较强，其中没食子酸在 280 nm 波长处吸收最强，青藤碱在 262 nm 波长处吸收最强，新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C 在 330 nm 波长处吸收最强。



注：TSFF 为传统分段融合指纹图谱，262、280、330 nm 为各波长处指纹图谱。

1. 没食子酸 3. 新绿原酸 4. 青藤碱 5. 绿原酸 7. 隐绿原酸 13. 异绿原酸 B 16. 异绿原酸 C

图 1 金藤清痹颗粒对照图谱

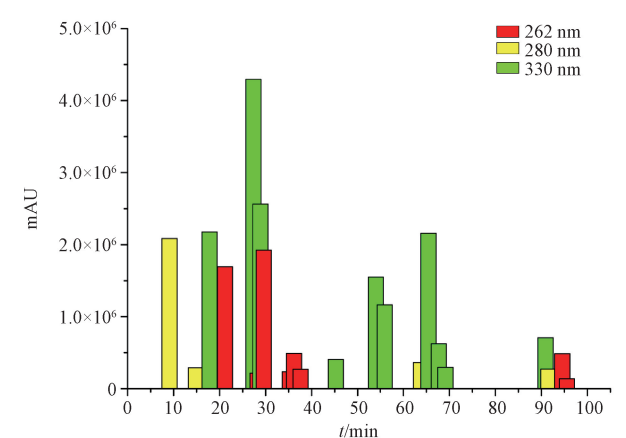
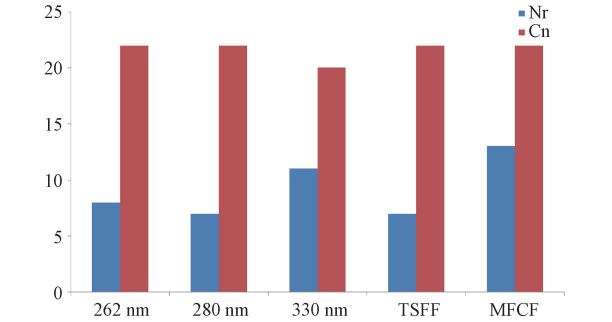


图 2 多波长共有峰融合柱指纹图谱

2.6 多波长融合指纹图谱综合评价 2020 年版《中国药典》规定，分离度大于 1.5 表示相邻峰之间的分离度良好， N_r 表示分离度大于 1.5 的色谱峰的数量；选取的共有峰应具有较好的对称性、分辨率、重复性， C_n 表示共有峰的数量。因此，选取 N_r 、 C_n 作为评价指标，比较单波长指纹图谱（262、280、330 nm）、传统分段融合指纹图谱、多波长共有峰融合柱指纹图谱，结果见图 3。



注：262、280、330 nm 为各波长处指纹图谱，TSFF 为传统分段融合指纹图谱，MFCF 为多波长共有峰融合柱指纹图谱。

图 3 单波长、融合指纹图谱比较

由于金藤清痹颗粒中化学成分复杂且性质各异，导致不同波长的色谱峰分离度及共有峰数量存在差异，而共有峰融合柱指纹图谱将优势信号融合后加以表征，提高了色谱峰展示的数量与质量。由图 3 可知，共有峰融合柱指纹图谱 N_r 、 C_n 最高，表明其优于单波长指纹图谱与传统分段融合指纹图谱，可减少杂质峰干扰，突出特征峰信息，提高特征峰可视化及分析效率，并且其色谱峰信息丢失率更低，能够较好地整体表征不同批次样品，从而更精准高效地反映相关情况，适用于中药复杂体系的整体质量控制。

2.7 相似度评价 采用 Python 软件计算相似度，以传统分段融合指纹图谱为对照，3 个单波长指纹图谱与共有峰融合柱指纹图谱相似度见表 1。

由此可知，相似度大多在 0.970~0.999 之间，表明多波长融合柱指纹图谱相似度在反应不同批次样品之间相关性的基础上，区分程度更加明显，丰富了金藤清痹颗粒中不同成分的色谱信息，提高了色谱图谱评价的准确性。

2.8 质量评价

2.8.1 共有峰相对峰面积 以 4 号峰（青藤碱）为参照，计算共有峰相对峰面积，结果见表 2。由此可知，没食子酸、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C 可作为质量控制指标。

2.8.2 主成分分析（PCA） 采用 IBM SPSS Statistics 软件对 19 批样品融合后的 22 个共有峰进行分析，计算其特征值、累积贡献率、成分矩阵及其综合得分，以特征值>1 为提取标准，结果见表 3~4。由此可知，4 种主成分为融合柱指纹图谱中 22 个共有峰的代表成分，其中主成分 1 主要来自色谱峰 3、5、9、12、14、17~18、20，主成分 2 主要来自色谱峰 1~2、4、6、8、10~11、16、21~22，主成分 3 主要来自色谱峰 7、19，主成分 4 主要来自色谱峰

表 1 19 批金藤清痹颗粒相似度

编号	262 nm	280 nm	330 nm	MFCF
S1	0.985	0.995	0.998	0.991
S2	0.995	0.982	0.996	0.991
S3	0.992	0.996	0.994	0.994
S4	0.996	0.997	0.998	0.997
S5	0.985	0.997	0.999	0.990
S6	0.986	0.991	0.998	0.985
S7	0.997	0.988	0.994	0.995
S8	0.982	0.992	0.994	0.985
S9	0.983	0.992	0.997	0.989
S10	0.996	0.998	0.999	0.997
S11	0.998	0.998	0.998	0.998
S12	0.994	0.996	0.999	0.986
S13	0.989	0.987	0.999	0.977
S14	0.993	0.992	0.999	0.974
S15	0.992	0.995	0.999	0.977
S16	0.996	0.998	0.999	0.994
S17	0.993	0.994	0.999	0.988
S18	0.998	0.997	0.999	0.998
S19	0.996	0.996	0.999	0.994

注：262、280、330 nm 为各波长处指纹图谱，MFCF 为多波长共有峰融合柱指纹图谱。

13、15，能代表所有成分用于评价金藤清痹颗粒的整体质量。

2.8.3 正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA） 采用 SIMCA 软件对 19 批样品进行分析，其中 R^2X 为 0.803， R^2Y 为 0.988， Q^2 为 0.96，均大于 0.5，表明该模型具有较强的预测能力。由图 4 可知，色谱峰 20、3（新绿原酸）、10、13（异绿原酸 B）、14、18、5（绿原酸）、12、9 VIP 值均大于 1，在分类中发挥关键作用，因此，在金藤清痹颗粒的质量评价和工艺优化中，应该重点关注新绿原酸、异绿原酸 B、绿原酸等特征成分。

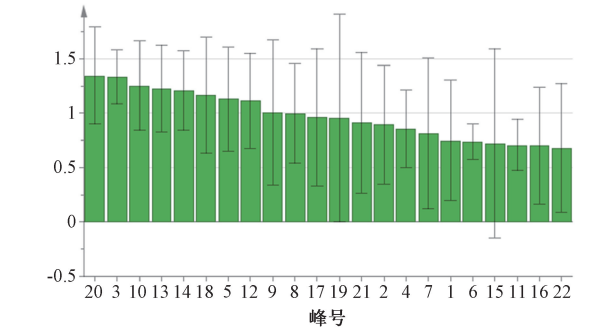


图 4 OPLS-DA VIP 得分图

2.8.4 主成分、综合得分分析 计算 4 种主成分的载荷值，得到线性模型， $F_1 \sim F_4$ 分别代表主成分 1~4 的综合得分，见公式（1）~（4）， $Z_1 \sim Z_{22}$ 分别代表 22 个共有峰峰面积的标准化数值。将相关数据代入上述模型，计算其主成分得分及综合得分，结果见表 5，可知 S1、S11、S13 最高，结合相似度评价结果，三者可作为衡量金藤清痹颗粒质量的参照。

表 2 共有峰相对峰面积

编号	检测波长/ nm	t/min	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19
1	280	9.107	1.232	1.088	1.714	1.880	1.695	1.845	1.629	1.878	1.131	1.488	1.419	1.417	1.661	1.603	1.765	1.502	1.619	1.694	1.486
2	280	14.818	0.171	0.194	0.222	0.222	0.224	0.245	0.172	0.210	0.165	0.166	0.158	0.162	0.143	0.143	0.153	0.179	0.193	0.195	0.166
3	330	17.798	0.023	0.023	0.020	0.025	0.021	0.019	0.016	0.018	0.023	0.022	0.022	0.024	0.026	0.027	0.027	0.018	0.017	0.021	0.018
4(S)	262	21.192	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.840	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
5	330	27.358	2.538	3.092	3.212	3.027	2.698	2.537	2.599	2.957	2.561	2.509	2.532	2.956	3.439	3.594	3.540	2.253	2.297	2.534	2.184
6	262	28.224	0.128	0.102	0.154	0.132	0.168	0.171	0.092	0.173	0.124	0.139	0.121	0.118	0.137	0.118	0.120	0.140	0.171	0.131	0.149
7	330	29.596	1.515	1.580	1.374	1.673	1.410	1.343	1.133	1.293	1.520	1.480	1.498	1.650	1.855	1.874	1.847	1.192	1.221	1.439	1.259
8	262	29.597	1.137	1.817	2.208	2.095	2.402	2.393	1.536	2.571	1.093	1.905	1.763	1.057	0.948	0.957	0.996	1.828	2.116	1.667	1.795
9	262	35.245	0.139	0.145	0.138	0.136	0.081	0.076	0.102	0.113	0.136	0.102	0.101	0.117	0.181	0.143	0.137	0.079	0.081	0.100	0.090
10	262	36.187	0.289	0.488	0.401	0.448	0.511	0.512	0.433	0.555	0.291	0.287	0.297	0.254	0.264	0.227	0.228	0.349	0.419	0.245	0.274
11	262	37.579	0.159	0.140	0.135	0.129	0.154	0.152	0.121	0.164	0.130	0.142	0.135	0.127	0.168	0.132	0.132	0.128	0.140	0.108	0.130
12	330	55.937	0.239	0.294	0.222	0.293	0.254	0.245	0.228	0.257	0.249	0.235	0.217	0.299	0.295	0.334	0.256	0.251	0.257	0.282	0.238
13	330	63.828	0.916	0.856	0.836	0.875	0.943	0.873	0.691	0.789	0.917	0.882	0.909	1.008	1.103	1.137	1.119	0.792	0.804	0.884	0.767
14	330	65.449	0.689	0.682	0.792	0.671	0.774	0.715	0.595	0.677	0.702	0.674	0.695	0.809	0.924	0.985	0.966	0.649	0.666	0.694	0.596
15	280	63.83	0.214	0.318	0.264	0.288	0.254	0.258	0.343	0.321	0.207	0.229	0.214	0.251	0.281	0.235	0.299	0.228	0.241	0.208	0.176
16	330	69.134	1.275	1.205	1.321	1.206	1.284	1.203	1.049	1.231	1.222	1.179	1.203	1.384	1.575	1.632	1.606	1.103	1.110	1.206	1.039
17	330	90.878	0.369	0.476	0.431	0.479	0.399	0.407	0.412	0.480	0.285	0.316	0.375	0.421	0.433	0.434	0.463	0.334	0.349	0.339	0.297
18	330	91.471	0.175	0.170	0.192	0.167	0.279	0.194	0.170	0.191	0.138	0.150	0.202	0.182	0.195	0.172	0.167	0.213	0.168	0.163	0.140
19	330	94.852	0.418	0.262	0.212	0.345	0.413	0.469	0.257	0.274	0.391	0.376	0.382	0.425	0.441	0.373	0.475	0.297	0.301	0.297	0.260
20	280	91.526	0.161	0.139	0.119	0.130	0.129	0.126	0.115	0.134	0.139	0.146	0.163	0.164	0.157	0.172	0.170	0.110	0.119	0.156	0.136
21	262	94.518	0.287	0.325	0.320	0.324	0.420	0.421	0.301	0.342	0.254	0.266	0.248	0.286	0.313	0.302	0.309	0.297	0.330	0.265	0.227
22	262	95.526	0.082	0.133	0.122	0.135	0.127	0.130	0.108	0.120	0.078	0.084	0.078	0.113	0.127	0.118	0.126	0.104	0.113	0.125	0.109

表 3 多波长融合柱指纹图谱 PCA 的特征值与贡献率

主成分	初始特征值			提取平方和载入			旋转平方和载入		
	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%
1	8.171	37.141	37.141	8.171	37.141	37.141	5.663	25.741	25.741
2	6.743	30.648	67.789	6.743	30.648	67.789	5.454	24.791	50.532
3	1.917	8.714	76.503	1.917	8.714	76.503	4.789	21.769	72.302
4	1.545	7.023	83.526	1.545	7.023	83.526	2.469	11.224	83.526

表 4 多波长融合柱指纹图谱 PCA 成分矩阵

峰号	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4
1	-0.064	0.742	-0.324	-0.096
2	-0.396	0.821	0.045	-0.217
3	0.956	0.133	0.100	-0.073
4	0.429	0.759	0.124	-0.221
5	0.830	-0.111	-0.373	0.246
6	0.000	0.922	-0.129	-0.150
7	-0.470	0.430	0.676	-0.098
8	-0.572	0.721	0.038	-0.219
9	0.704	-0.382	-0.004	0.219
10	-0.764	0.554	0.093	0.218
11	0.325	0.770	0.118	0.274
12	0.843	0.296	-0.350	0.106
13	-0.813	0.258	-0.026	0.389
14	0.905	0.302	-0.214	0.134
15	-0.432	0.085	-0.064	0.763
16	0.042	0.763	-0.173	0.211
17	0.668	0.489	0.210	0.237
18	0.784	0.441	0.132	-0.128
19	0.453	0.293	0.634	0.217
20	0.855	0.300	0.318	-0.140
21	-0.247	0.815	-0.188	0.262
22	-0.224	0.450	-0.587	-0.329

$$F_1 = -0.022Z_1 - 0.139Z_2 + 0.334Z_3 + 0.150Z_4 + 0.290Z_5 - 0.164Z_7 - 0.200Z_8 + 0.246Z_9 - 0.267Z_{10} + 0.114Z_{11} + 0.295Z_{12} - 0.284Z_{13} + 0.317Z_{14} - 0.151Z_{15} + 0.015Z_{16} + 0.234Z_{17} + 0.274Z_{18} + 0.158Z_{19} + 0.299Z_{20} - 0.086Z_{21} - 0.078Z_{22} \quad (1)$$

$$F_2 = 0.286Z_1 + 0.316Z_2 + 0.051Z_3 + 0.292Z_4 - 0.043Z_5 + 0.355Z_6 + 0.166Z_7 + 0.278Z_8 - 0.147Z_9 + 0.213Z_{10} + 0.297Z_{11} + 0.114Z_{12} + 0.099Z_{13} + 0.116Z_{14} + 0.033Z_{15} + 0.294Z_{16} + 0.188Z_{17} + 0.170Z_{18} + 0.113Z_{19} + 0.116Z_{20} + 0.314Z_{21} + 0.173Z_{22} \quad (2)$$

$$F_3 = -0.234Z_1 + 0.033Z_2 + 0.072Z_3 + 0.090Z_4 - 0.269Z_5 - 0.093Z_6 + 0.488Z_7 + 0.027Z_8 - 0.003Z_9 + 0.067Z_{10} + 0.085Z_{11} - 0.253Z_{12} - 0.019Z_{13} - 0.155Z_{14} - 0.046Z_{15} - 0.125Z_{16} + 0.152Z_{17} + 0.095Z_{18} + 0.458Z_{19} + 0.230Z_{20} - 0.136Z_{21} - 0.424Z_{22} \quad (3)$$

$$F_4 = -0.077Z_1 - 0.175Z_2 - 0.059Z_3 - 0.178Z_4 + 0.198Z_5 - 0.121Z_6 - 0.079Z_7 - 0.176Z_8 + 0.176Z_9 + 0.175Z_{10} + 0.220Z_{11} + 0.085Z_{12} + 0.313Z_{13} + 0.108Z_{14} + 0.614Z_{15} + 0.170Z_{16} + 0.191Z_{17} - 0.103Z_{18} + 0.175Z_{19} - 0.113Z_{20} + 0.211Z_{21} - 0.265Z_{22} \quad (4)$$

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法及色谱条件选择 本研究考察了不同提取溶剂与不同流动相体系的影响，以 70% 乙醇为提取溶剂，甲醇-水（含 0.5% 磷酸）为流动相时，目标成分

表 5 主成分得分及综合得分

样品	主成分 1 得分	主成分 2 得分	主成分 3 得分	主成分 4 得分	综合得分	排序
S1	3.55	1.31	1.81	0.96	1.95	1
S2	-3.80	-5.28	1.16	-0.80	-2.99	19
S3	-1.91	-1.69	-2.54	-0.66	-1.50	16
S4	-3.11	-2.93	0.45	-1.26	-2.10	18
S5	-1.62	4.51	-0.49	0.92	0.80	7
S6	-2.68	3.39	0.15	-0.11	0.05	14
S7	-4.08	-1.90	0.64	2.42	-1.87	17
S8	-4.06	0.23	0.77	1.32	-1.28	15
S9	2.61	-0.30	1.72	0.67	1.08	5
S10	1.38	1.02	1.37	0.01	0.94	6
S11	2.47	0.87	2.03	-0.29	1.34	2
S12	2.60	-1.11	0.28	-0.11	0.64	8
S13	4.26	-1.16	-2.45	1.78	1.14	3
S14	3.10	-3.16	-1.03	-0.50	0.06	13
S15	2.68	-2.46	-1.07	0.59	0.19	9
S16	-1.10	2.37	-1.93	0.09	0.16	10
S17	-2.03	3.30	-0.99	-0.27	0.15	11
S18	0.60	0.19	-0.04	-2.47	0.10	12
S19	1.13	2.78	0.14	-2.31	1.12	4

整体上溶出率最高，色谱峰峰形及分离度最优。

3.2 指纹图谱融合技术选择 金藤清痹颗粒包含青藤碱、绿原酸、异绿原酸等多种类型的成分，吸收波长存在显著差异，单一波长难以全面表征整体信息。本研究采用分离度、共有峰数等指标对传统分段融合指纹图谱和共有峰融合柱指纹图谱 2 种多波长融合技术进行了对比，发现共有峰融合柱指纹图谱更能反映共有峰的优势信息，避免了单一波长下色谱峰信息的缺失，丰富了色谱峰信号，在展现不同批次样品间相关性的同时增加了样品之间的区分度，能更全面、客观、真实地体现金藤清痹颗粒的内在质量。

3.3 多波长融合柱指纹图谱建立及评价 比较 19 批金藤清痹颗粒多波长融合柱指纹图谱，发现各批次样品与对照图谱相似度较高，符合指纹图谱构建要求。综合相似度评价及 PCA、OPLS-DA 分析，S1、S11、S13 可作为衡量金藤清痹颗粒质量的候选标准参照样品，即在其质量评价和工艺优化中应重点关注新绿原酸、异绿原酸 B、绿原酸等特征成分。

3.4 质量内控标准制定 在金藤清痹颗粒多波长融合柱指纹图谱中，没食子酸、新绿原酸、青藤碱、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C 色谱峰响应值较高且稳定，

其含量高低可客观反映该制剂内在质量。为进一步保证制剂质量的均一性,以性质稳定的青藤碱为参照,没食子酸、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C、青藤碱相对峰面积分别为 1.088 ~ 1.880、0.016 ~ 0.027、2.184 ~ 3.594、1.133 ~ 1.874、0.691 ~ 1.137、1.039 ~ 1.632,可作为金藤清痹颗粒质量的内控标准。

4 结 论

本研究首次采用多波长融合技术对不同批次金藤清痹颗粒进行指纹图谱研究,并比较了 2 种融合技术的优劣,确定了衡量质量的候选标准参照样品与关键特征成分,制定了质量内控标准。结果,所建立的多波长共有峰融合柱指纹图谱信息丰富,区分度良好,质量内控标准客观易行,能客观反映金藤清痹颗粒整体化学特征,为其制剂工艺及质量监控提供科学的评价模式。

参考文献:

[1] 唐今扬,周彩云,王 鑫,等. 金藤清痹颗粒通过调节免疫微环境对类风湿关节炎大鼠的干预作用[J]. 中成药, 2022, 44(11): 3459-3468.

[2] 唐今扬,周彩云,王 鑫,等. 金藤清痹颗粒治疗类风湿关节炎模型大鼠的作用机制研究[J]. 北京中医药, 2022, 41(7): 728-732.

[3] 马向慧,刘 烨,姜恒丽,等. 基于聚类分析和主成分分析的吴茱萸及制吴茱萸指纹图谱研究[J]. 中草药, 2022, 53(10): 3171-3177.

[4] 历帅帅,李鹏飞,任萃姣,等. 网络药理学结合指纹图谱与多元统计分析预测蟾皮质量标志物[J]. 中成药, 2024, 46(4): 1272-1278.

[5] 刘 江,陈兴福,邹元锋. 基于中药指纹图谱多维信息的化学模式识别研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1081-1088.

[6] Sabir A, Rafi M, Darusman L K. Discrimination of red and white rice bran from Indonesia using HPLC fingerprint analysis combined with chemometrics [J]. *Food Chem*, 2017, 221: 1717-1722.

[7] 李 阳,周 瑞,唐志书,等. 基于聚类分析和主成分分析的正源方 HPLC 指纹图谱研究[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(10): 1760-1769.

[8] 于密密,范妙璇,李 铮,等. 高效液相色谱法指纹图谱结合化学模式识别的小金制剂质量研究[J]. 世界中医药,

2023, 18(18): 2565-2570.

[9] 籍学伟,陈备尧,白 妍,等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分含量测定结合化学计量学的暖宫七味丸质量评价研究[J]. 中草药, 2024, 55(2): 470-478.

[10] 李 蕊,陈文莉,康点点,等. 川西小黄菊 HPLC 指纹图谱建立及 7 种成分含量测定[J]. 中成药, 2024, 46(6): 1794-1799.

[11] 高紫薇,吴 磊,林欣荣,等. 强心合剂 HPLC 指纹图谱建立及 11 种成分测定 [J]. 中成药, 2023, 45 (12): 3895-3901.

[12] 林茂铨,刘 爽,黄志军,等. 补肾健骨胶囊高效液相色谱指纹图谱及主成分分析 [J]. 世界中医药, 2023, 18(22): 3167-3171; 3179.

[13] 于密密,王安琪,杜小伟,等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学的痢泻灵片质量评价[J]. 中成药, 2023, 45(9): 2846-2852.

[14] 王凤丽,针 涛,魏 岚,等. 羚羊清肺丸 HPLC 指纹图谱建立及 6 种成分测定 [J]. 中成药, 2023, 45 (6): 1781-1787.

[15] 于 洋,王 帅,李天娇,等. 基于全时段多波长融合特征定量指纹图谱的满药仙灵脾颗粒质量控制方法研究[J]. 中南药学, 2023, 21(3): 771-776.

[16] 许平翠,朱赋健,郑纯威,等. 基于 HPLC 多波长融合指纹图谱及谱效关系的熟地黄活性成分研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(22): 2901-2907.

[17] 李楠楠,孟宪生,包永睿,等. 基于全时段多波长融合指纹图谱的“一测多评”法测定中药木蝴蝶总黄酮中 5 种主要成分[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(7): 943-947.

[18] 孙立磊,王 帅,包永睿,等. 多波长覆盖融合指纹图谱评价不同产地川芎药材差异性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(5): 75-79.

[19] 邓一飞,包永睿,王 帅,等. 鼻渊通窍颗粒全时段等基线多波长融合指纹图谱研究及质量标志物预测分析[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2023, 25(4): 1284-1295.

[20] 杜 岩,仲巧巧,陆东裕,等. 基于多波长融合 HPLC 指纹图谱结合多成分定量的桑叶质量控制研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2023, 40(10): 1312-1320; 1336.

[21] Zhang H, Bai R, Wu Y M, *et al.* Multi-wavelength fusion column fingerprint technology combined with chemometric analysis to evaluate the overall quality of the *Gardenia jasminoides* root[J]. *Anal Methods*, 2022, 14(21): 2051-2062.