苁蓉舒痉颗粒 HPLC-PDA 全波长最大值特征图谱研究

洪丽婷[a]，陈丹[a*]，刘秀棉[a]，余文静[a]，熊朝栋[a]，蔡晶[b*](福建中医药大学，a.药学院，b.中西医结合学院，福州 350122)

摘要：目的 探究 HPLC-PDA 全波长最大值法建立苁蓉舒痉颗粒特征图谱，为评价其整体质量提供依据。**方法** 采用 HPLC-PDA 210~800 nm 全波长最大值法检测，Agilent Zorbax Eclipse XDB-C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)，乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)为流动相，梯度洗脱，流速为 1.0 mL·min^{-1}，柱温为 25 ℃，进样量为 20 μL，洗脱时间为 60 min，PDA 最大值显示谱图。**结果** 建立了以丹酚酸 B 为参照峰的苁蓉舒痉颗粒 HPLC-PDA 全波长最大值法特征图谱共有模式，确定了 20 个共有特征峰并归属标定其中 6 个特征峰；分析的 10 批苁蓉舒痉颗粒与共有模式之间具有良好的相似性，相似度均>0.950。**结论** 首次建立的 HPLC-PDA 全波长最大值法特征图谱，重复性好，灵敏度高，可更精准地提取并表征苁蓉舒痉颗粒效应组分群的信息，为苁蓉舒痉颗粒质量标准的制订奠定了基础，为复杂体系的中药复方制剂特征图谱的建立提供了一种可供借鉴的新方法。

关键词：苁蓉舒痉颗粒；HPLC-PDA 全波长-最大值法；特征图谱

中图分类号：R284.1　　**文献标志码：**B　　**文章编号：**1007-7693(2021)21-2632-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.21.002

引用本文：洪丽婷, 陈丹, 刘秀棉, 等. 苁蓉舒痉颗粒 HPLC-PDA 全波长最大值特征图谱研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(21): 2632-2638.

Study on HPLC-PDA Full-wavelength Maximum Characteristic Chromatogram of Congrong Shujing Granules

HONG Liting[a], CHEN Dan[a*], LIU Xiumian[a], YU Wenjing[a], XIONG Chaodong[a], CAI Jing[b*](*Fujian University of Traditional Chinese Medicine, a.Department of Pharmacy, b.Department of Integrative Chinese and Western Medicine, Fuzhou 350122, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the HPLC-PDA full-wavelength maximum method and to establish characteristic chromatogram of Congrong Shujing Granules, so as to provide a basis for evaluating its overall quality. **METHODS** The HPLC-PDA 210–800 nm full-wavelength maximum method was used to detect. Agilent Zorbax Eclipse XDB-C_{18} column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used as the stationary phase, and acetonitrile(A)-0.1% phosphoric acid solution(B) was used as the mobile phase. Gradient elution was performed, and PDA maximum value graph showed that the flow rate was 1.0 mL·min^{-1}, the column temperature was 25 ℃, the injection volume was 20 μL, and the elution time was 60 min. **RESULTS** The common mode of the HPLC-PDA full-wavelength maximum characteristic chromatogram of Congrong Shujing Granules with salvianolic acid B as the reference peak was established, and 20 common characteristic peaks were identified and assigned to 6 of them. The analyzed 10 batches of Congrong Shujing Granules had a good similarity with the common pattern, and the similarity was all >0.950. **CONCLUSION** The first established HPLC-PDA full-wavelength maximum method characteristic chromatogram has good reproducibility and high sensitivity. It can more accurately characterize and extract the information of the medicinal component group of Congrong Shujing Granules, and lay the foundation for formulating the quality standard of Congrong Shujing Granules. It provides a new method that can be used for reference for the establishment of the characteristic chromatogram of Chinese herbal compound preparations with complex systems.

KEYWORDS: Congrong Shujing Granules; HPLC-PDA full-wavelength maximum method; characteristic chromatogram

苁蓉舒痉颗粒由酒苁蓉、丹参、赤芍、牡丹皮等组成，来源于经典方地黄饮子结合实验筛选和长期临床实践的有效验方苁蓉舒痉方，按照中医理论“脑为髓海”，脑髓空虚则需“补肾填精，益髓养脑”的理念[1-2]，兼顾痉病活血凉肝，针对帕金森肌强直而设[3]。药理研究表明[4-10]，苁蓉舒痉方的各个药味均具有提高脑内神经营养因子表达，减轻氧化损伤，减少细胞凋亡，改善神经递质平衡的药效作用，中医临床治疗表明其可有效改善帕金森病的肌强直症状。特征图谱作为控制中药质量的鉴别手段，不仅可鉴别药品真伪，而且增加了质量的整体可控性，符合中医药整体观

基金项目：“重大新药创制”国家科技重大专项(2019ZX09301154)；福建省科技计划项目(2010Y2004)；福建省科技引导性项目(2017Y0053)

作者简介：洪丽婷，女，硕士生　Tel: (0591)22861135　E-mail: 1848606949@qq.com　***通信作者：**陈丹，女，博士，教授　Tel: (0591)22861135　E-mail: 2536282060@qq.com　蔡晶，女，博士，教授　Tel: (0591)22861151　E-mail: caij1@163.com

理论[11]。目前 HPLC-PDA 特征图谱，多采用单一波长或多波长切换的检测手段，但如选用单一波长检测，往往中药复方制剂多组分群色谱峰平均响应值较低、信息量较少；若选用多波长切换技术，虽然可以使一组成分在较高灵敏度下被检测出，但波长切换频率过高，易在波长切换处出现基线漂移及断层等现象。故本实验探究利用 PDA 检测器特性，基于 HPLC-PDA 全波长最大值法技术，根据苁蓉舒痉颗粒处方药味的组方、组分复杂的特性，在特征图谱检测的全程全波长扫描中，以各被测组分的最佳吸收波长检测各共有特征峰的最大值法，尽可能提取并精准地表征苁蓉舒痉颗粒体系中未知组分和微量组分等有效信息，建立苁蓉舒痉颗粒 HPLC-PDA 全波长最大值特征图谱共有模式，从整体上控制中药复方制剂质量，保证临床用药的安全性与合理性。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪，四元泵，2998 PDA 检测器，Empower 3 色谱工作站(Waters 公司)；XS 205 十万分之一电子天平、AR 2140 万分之一电子天平均来自梅特勒-托利多仪器上海有限公司；KQ-250 DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)；超纯水仪(Millipore 公司)。

1.2 试药

10 批苁蓉舒痉颗粒(自制，批号：S1 20190401，S2 20190403，S3 20190404，S4 20190405，S5 20190406，S6 20190407，S7 20190414，S8 20190415，S9 20190416，S10 20190417)；松果菊苷对照品(批号：AF8062718)、芍药苷对照品(批号：AF7050802)均购自成都埃法生物科技有限公司，含量均>98%；毛蕊花糖苷对照品(批号：S01675)、丹酚酸 B 对照品(批号：S01203)、丹皮酚对照品(批号：S01862)和丹参酮 IIA 对照品(批号：S01207)均购自南京狄尔格医药科技有限公司，含量均>98%；乙腈(色谱纯，国药集团化学试剂有限公司)；水为超纯水；甲醇、磷酸等其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

Agilent Zorbax Eclipse XDB-C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)，流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)，梯度洗脱，流速为 1.0 mL·min^{-1}，检测波长 210~800 nm 全程扫描(启用 3D)，设定全程自动扫描切换最佳检测波长(最大值法)，柱温为 25 ℃，进样量为 20 μL，分析时间为 60 min。洗脱程序：0~10 min，5%→20%A；10~15 min，20%A；15~30 min，20%→30%A；30~40 min，30%→60%A；40~50 min，60%→95%A；50~60 min，95%→5%A。

2.2 HPLC-PDA 全波长最大值法技术

通过 PDA 检测器，开启 3D 通道，供试品溶液注入液相色谱仪，启用 210~800 nm 最大值谱图的 2D 衍生通道，210~800 nm 全波长扫描。结果苁蓉舒痉颗粒供试品在 0~60 min 各时间点的共有特征峰均表征出最大响应值，检测灵敏度的提高使苁蓉舒痉颗粒效应组分群的有效信息获得尽可能多的提取。苁蓉舒痉颗粒 3D 扫描图结果见图 1。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品储备液及混合对照品溶液 精密称取松果菊苷、芍药苷、毛蕊花糖苷、丹酚酸 B、丹皮酚和丹参酮IIA 对照品适量，分别置于 10 mL 量瓶中，加适量 50%甲醇超声溶解，放置室温后，用 50%甲醇稀释至刻度，分别制成每 1 mL 含松果菊苷 1.136 mg、芍药苷 1.804 mg、毛蕊花糖苷 0.072 mg、丹酚酸 B 2.060 mg、丹皮酚 1.998 mg 和丹参酮IIA 0.140 mg 的对照品储备液，4 ℃下低温保存。

分别精密吸取上述 6 种对照品储备液 4.0，4.0，2.0，4.0，4.0，2.0 mL，置于 25 mL 量瓶中，用 50%甲醇稀释至刻度，得到各质量浓度分别为 181.8，288.6，5.760，329.6，319.7，11.20 μg·mL^{-1} 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 取颗粒剂适量，混匀，研细，取约 1 g，精密称定，置 25 mL 量瓶中，加适量 50%甲醇溶解，超声处理(功率 250 W，频率 40 kHz) 30 min，冷却至室温，用 50%甲醇稀释至刻度，摇匀，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，即得。

2.4 专属性试验及参照物峰的选择

精密吸取混合对照品溶液和供试品溶液各 20 μL，注入液相色谱仪，分析，得混合对照品 HPLC 色谱图(60 min)和供试品 HPLC 色谱图(60 min 和 120 min)。结果表明，丹酚酸 B 色谱峰及丹皮酚色谱峰的出峰时间均居中适宜，峰形良好且峰面积相对较大；考虑到从丹参指标性成分丹酚酸 B 贯穿颗粒剂的整个制备工艺过程，有利于制备过程及颗粒剂的质量稳定可控，故选用丹酚酸 B 峰作为参照物(S)峰。结果见图 2。

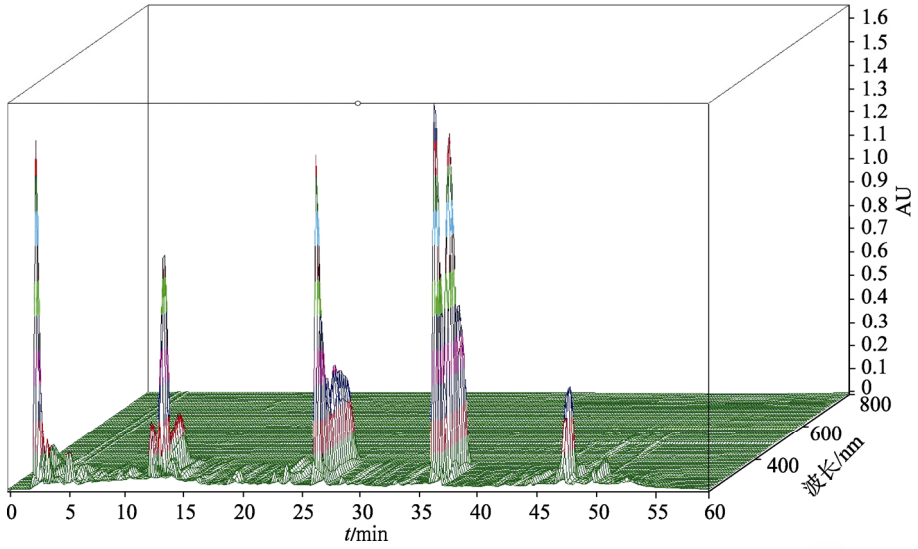


图 1　苁蓉舒痉颗粒 HPLC-PDA 在 210~800 nm 的 3D 扫描图

Fig. 1　3D scanning graphics of HPLC-PDA of Congrong Shujing Granules in the range of 210–800 nm

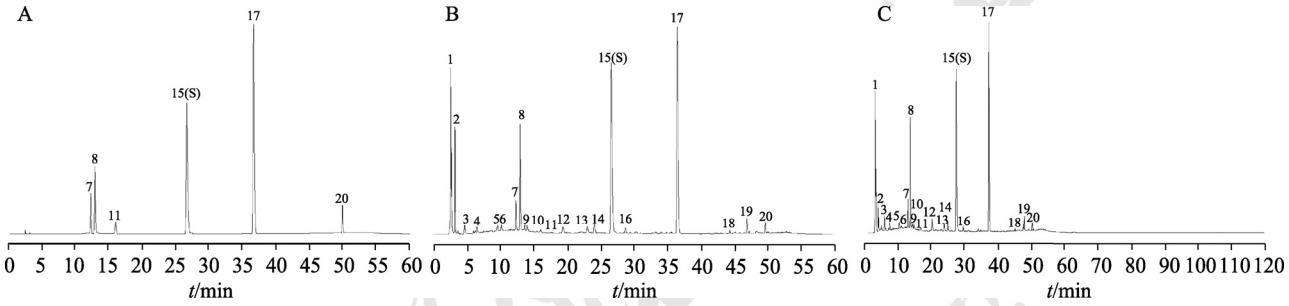


图 2　苁蓉舒痉颗粒 HPLC-PDA 特征图谱及特征峰辨识

A–混合对照品(60 min)；B–苁蓉舒痉颗粒(60 min)；C–苁蓉舒痉颗粒(120 min)；7–松果菊苷；8–芍药苷；11–毛蕊花糖苷；15–丹酚酸 B；17–丹皮酚；20–丹参酮IIA。

Fig. 2　HPLC-PDA characteristic chromatogram of Congrong Shujing Granules and characteristic peak identification

A–mixed reference(60 min); B–Congrong Shujing Granules(60 min); C–Congrong Shujing Granules(120 min); 7–echinacoside; 8–paeoniflorin; 11–verbascoside; 15–salvianolic acid B; 17–paeonol; 20–tanshinone IIA.

2.5　仪器精密度试验

取同一批样品(批号：S1 20190401)，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件，分别连续注入液相色谱仪 6 次，记录特征图谱，并计算各共有峰的相对保留时间和峰面积比值。结果表明，各共有峰相对保留时间的 RSD 均<1.0%(0~0.77%)，峰面积比值的 RSD 均<3.0% (0~2.97%)，符合特征图谱规定，仪器精密度良好。

2.6　重复性试验

取同一批样品(批号：S1 20190401)，按“2.3.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份，按“2.1”项下色谱条件，分别注入液相色谱仪，记录特征图谱，并计算各共有峰的相对保留时间和峰面积比值。结果表明，各共有峰相对保留时间的 RSD 均<1.0%(0~0.87%)，峰面积比值的 RSD 均<5.0%(0~4.76%)，符合特征图谱规定，该方法重复性良好。

2.7　稳定性试验

取同一批样品(批号：S1 20190401)，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件分别于 0，2，4，8，12 h 进样测定，记录特征图谱，并计算各共有峰的相对保留时间和峰面积比值。结果表明，各共有峰相对保留时间的 RSD 均 <2.0%(0~1.37%)，峰面积比值的 RSD 均 <5.0%(0~4.89%)，符合特征图谱规定，供试品溶液在室温放置下 12 h 内稳定。

2.8　特征图谱共有模式的建立及相似度评价

分别取 10 批苁蓉舒痉颗粒，按“2.3.2”项下方法分别制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件分析，测定，记录 60 min 液相色谱图。采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”，对 10 批样品的 HPLC 图进行多点校正，采用中位数法，设时间窗宽度为 0.10，运

用多点校正法对色谱峰进行全谱峰匹配，生成苁蓉舒痉颗粒对照特征图谱(即共有模式图 R)、特征图谱叠加图，并评价 10 批苁蓉舒痉颗粒特征图谱相似度。

结果表明，10 批苁蓉舒痉颗粒样品特征图谱的整体相似度与对照特征图谱比较均>0.950，符合特征图谱要求(0.900~1.000)。结果见图 3~4 和表 1。

2.9 特征图谱共有特征峰的标定及归属

分析 10 批苁蓉舒痉颗粒样品的特征图谱，标定、辨识归属各共有特征峰。结果表明，分析标定的 20 个共有特征峰，其保留时间(峰号)分别约为 2.421 min(1)，3.060 min(2)，4.498 min(3)，6.360 min(4)，9.467 min(5)，10.010 min(6)，12.240 min(7)，12.871 min(8)，13.597 min(9)，13.914 min(10)，15.965 min(11)，19.321 min(12)，22.978 min(13)，24.032 min(14)，26.604 min(15，S)，28.725 min(16)，36.588 min(17)，44.511 min (18)，47.101 min(19)，49.876 min(20)，10 批苁蓉舒痉颗粒样品特征图谱共有特征峰的相对保留时间较一致，RSD 为 0~1%。各主要共有特征峰的峰面积比值范围为 1∶2∶3∶4∶5∶6∶7∶8∶9∶10∶11∶12∶13∶14∶15(S)∶16∶17∶18∶19∶20=(0.488~0.516)∶(0.130~0.146)∶(0.044~0.046)∶(0.019~0.020)∶(0.024~0.025)∶(0.023~0.025)∶(0.071~0.074)∶(0.320~0.334)∶(0.013~0.014)∶(0.013~0.020)∶(0.015~0.017)∶(0.036~0.043)∶(0.034~0.041)∶(0.050~0.052)∶1.000∶(0.022~0.026)∶(0.995~1.220)∶(0.012~0.013)∶(0.045~0.047)∶(0.021~0.032)。检测的 10 批苁蓉舒痉颗粒剂共有峰面积占总峰面积的 95%以上，非共有峰峰面积小于总峰面积的 5%，符合特征图谱规定。检测 10 批苁蓉舒痉颗粒 20 个共有特征峰的相对保留时

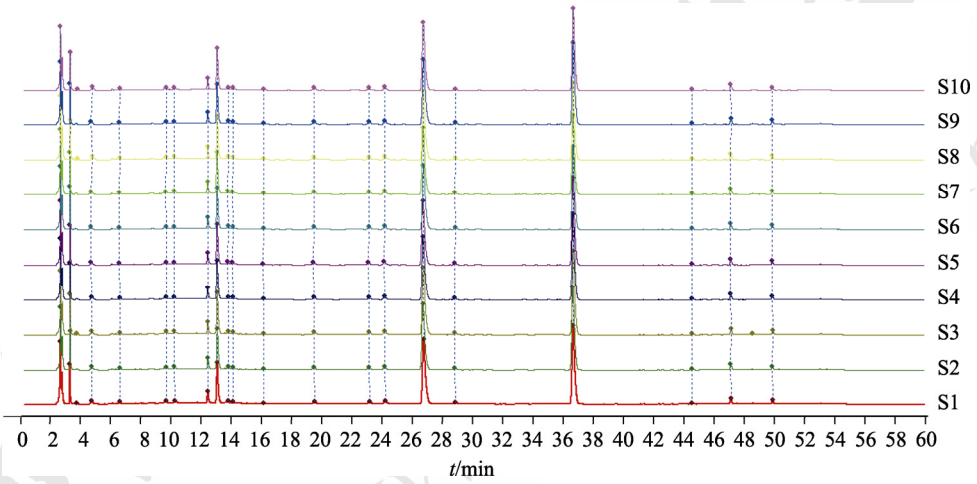


图 3 10 批苁蓉舒痉颗粒 HPLC-PDA 特征图谱叠加图

Fig. 3 HPLC-PDA specific chromatograms overlay of 10 batches of Congrong Shujing Granules

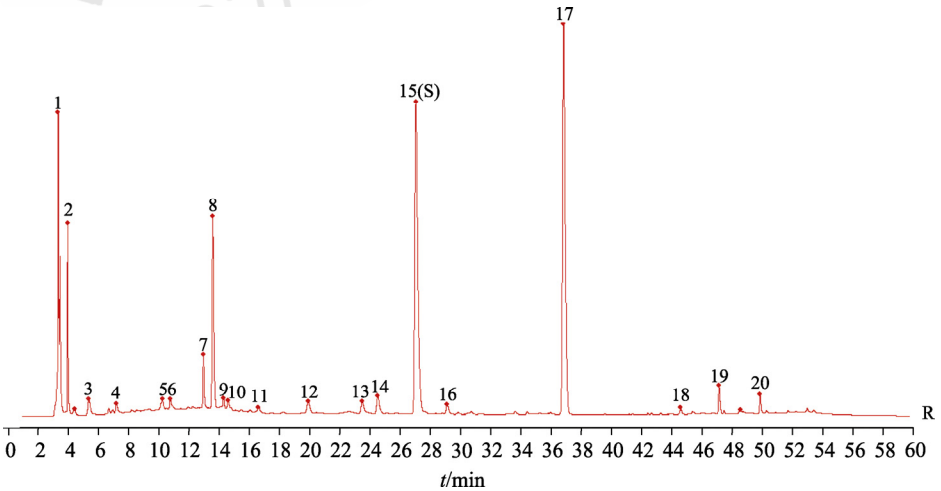


图 4 苁蓉舒痉颗粒全波长最大值 HPLC-PDA 对照特征图谱(R)

Fig. 4 HPLC-PDA full-wavelength maximum characteristic chromatogram(R) of the Congrong Shujing Granules

表 1 10 批苁蓉舒痉颗粒相似度分析结果

Tab. 1 Similarity analysis results of 10 batches of Congrong Shujing Granules

序号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
S1	1.000									
S2	0.990	1.000								
S3	0.990	1.000	1.000							
S4	0.990	1.000	1.000	1.000						
S5	0.990	1.000	1.000	1.000	1.000					
S6	0.963	0.957	0.957	0.956	0.957	1.000				
S7	0.963	0.957	0.957	0.956	0.957	1.000	1.000			
S8	0.963	0.956	0.957	0.955	0.957	1.000	1.000	1.000		
S9	0.961	0.954	0.955	0.953	0.955	0.998	0.998	0.998	1.000	
S10	0.962	0.955	0.955	0.954	0.955	0.998	0.999	0.999	1.000	1.000
对照	0.989	0.988	0.988	0.988	0.988	0.990	0.989	0.989	0.988	0.989

间和峰面积比值，均在规定范围内，质量较为稳定。提示建立的苁蓉舒痉颗粒剂 HPLC-PDA 特征图谱共有模式可用于检测控制苁蓉舒痉颗粒整体质量。结果见表 2~3。

经对照品比较辨识，归属了 6 个共有特征峰，即松果菊苷(7 号峰)、芍药苷(8 号峰)、毛蕊花糖苷(11 号峰)、丹酚酸 B(15 号峰)、丹皮酚(17 号峰)、丹参酮IIA(20 号峰)。结果见图 2。

2.10 HPLC-PDA 全波长最大值法特征图谱分析

中药复方制剂苁蓉舒痉颗粒药效组分群复杂，结构差异导致各组分检测波长变化较大。因此，实验采用 HPLC-PDA 全波长最大值法技术，利用 PDA 检测器特性，设置在 210 ~ 800 nm 波长范围扫描，开通 3D 通道，衍生出 2D 通道色谱图，PDA 最大值法积分处理数据，使其中每个色谱峰响应值均表征出最大响应值，即在 HPLC 全程分析的每个时间点使其处于最大吸收波长检测共有特征峰，提高方法灵敏度，尽可能地表征苁蓉舒痉颗粒各组分的有效信息，增加特征图谱共有峰数，更有效精准地增强中药整体质量的可控性。

结果表明，在相同的色谱条件下，与共有的较佳单波长 254 nm 检测的特征图谱比较，以及与多波长切换技术(0~12.5 min，330 nm；12.5~14.5 min，230 nm；14.5~20 min，330 nm；20~27 min，286 nm；27~60 min，270 nm)检测出的特征图谱相比，本法表征出的中药组分群的信息量更为丰富，同时特征峰增强后明确地反映出不同组分间响应值的差异，更能凸显出各组分自身的信息。苁蓉舒痉颗粒 HPLC 色谱图中各峰的响应值皆有很大的增强，未知组分及微量组分的色谱峰在此模式下也均表征出最佳的响应值；且特征图谱无基线漂移及断层现象发生，检测的峰面积等数据结果更加准确可靠。提示该评价模式为全面、精准地表征中药的整体内在质量特征提供了一种可供借鉴的新方法，具有重要的应用价值。

表 2 10 批苁蓉舒痉颗粒特征图谱各共有特征峰的相对保留时间

Tab. 2 Relative retention time of characteristic spectrum of 10 batches of Congrong Shujing Granules

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	平均值	RSD/%
1	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091	0.091	0.10
2	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.18
3	0.170	0.170	0.169	0.170	0.168	0.171	0.166	0.168	0.171	0.167	0.169	0.96
4	0.240	0.239	0.239	0.239	0.239	0.240	0.238	0.238	0.240	0.238	0.239	0.31
5	0.356	0.356	0.356	0.356	0.356	0.356	0.355	0.355	0.356	0.355	0.356	0.12
6	0.377	0.376	0.377	0.376	0.376	0.376	0.376	0.376	0.376	0.376	0.376	0.09
7	0.460	0.461	0.460	0.460	0.460	0.460	0.460	0.460	0.460	0.460	0.460	0.06
8	0.484	0.484	0.484	0.484	0.484	0.484	0.484	0.484	0.484	0.483	0.484	0.07
9	0.511	0.512	0.511	0.511	0.511	0.511	0.511	0.511	0.511	0.511	0.511	0.06
10	0.523	0.523	0.523	0.523	0.523	0.523	0.523	0.523	0.523	0.523	0.523	0.05
11	0.600	0.601	0.600	0.600	0.600	0.600	0.600	0.600	0.600	0.600	0.600	0.06
12	0.726	0.726	0.727	0.726	0.726	0.726	0.726	0.726	0.726	0.726	0.726	0.02
13	0.864	0.864	0.864	0.864	0.863	0.864	0.864	0.864	0.864	0.864	0.864	0.02
14	0.904	0.903	0.903	0.903	0.903	0.903	0.903	0.903	0.903	0.903	0.903	0.02
15(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
16	1.080	1.080	1.079	1.080	1.080	1.080	1.080	1.080	1.080	1.080	1.080	0.02
17	1.374	1.376	1.375	1.376	1.376	1.376	1.375	1.376	1.375	1.375	1.375	0.05
18	1.671	1.674	1.673	1.674	1.675	1.673	1.672	1.674	1.673	1.672	1.673	0.06
19	1.768	1.772	1.771	1.771	1.772	1.771	1.770	1.771	1.770	1.770	1.770	0.07
20	1.872	1.876	1.875	1.875	1.877	1.875	1.874	1.876	1.874	1.874	1.875	0.07

表 3 10 批苁蓉舒痉颗粒特征图谱共有峰峰面积比值及范围

Tab. 3 Peak area ratio of common peaks in the characteristic chromatogram of 10 batches of Congrong Shujing Granules

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	平均值	范围
1	0.505	0.497	0.498	0.513	0.515	0.495	0.516	0.507	0.488	0.498	0.503	0.488~0.516
2	0.146	0.133	0.138	0.139	0.140	0.130	0.144	0.140	0.133	0.137	0.138	0.130~0.146
3	0.045	0.045	0.045	0.045	0.045	0.045	0.046	0.045	0.044	0.044	0.045	0.044~0.046
4	0.020	0.019	0.020	0.020	0.019	0.019	0.019	0.019	0.020	0.019	0.019	0.019~0.020
5	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.024	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.024~0.025
6	0.024	0.024	0.024	0.023	0.023	0.024	0.024	0.025	0.025	0.024	0.024	0.023~0.025
7	0.074	0.072	0.071	0.072	0.072	0.071	0.073	0.074	0.071	0.071	0.072	0.071~0.074
8	0.328	0.322	0.323	0.328	0.327	0.323	0.334	0.328	0.324	0.320	0.326	0.320~0.334
9	0.014	0.013	0.013	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.013	0.014	0.013~0.014
10	0.020	0.018	0.020	0.020	0.019	0.013	0.013	0.020	0.020	0.019	0.018	0.013~0.020
11	0.017	0.017	0.017	0.016	0.016	0.015	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.015~0.017
12	0.037	0.037	0.037	0.038	0.038	0.037	0.043	0.036	0.036	0.036	0.037	0.036~0.043
13	0.034	0.041	0.034	0.041	0.041	0.041	0.041	0.034	0.041	0.034	0.038	0.034~0.041
14	0.052	0.051	0.051	0.051	0.051	0.050	0.051	0.051	0.051	0.052	0.051	0.050~0.052
15	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
16	0.026	0.026	0.026	0.024	0.025	0.022	0.025	0.025	0.026	0.026	0.025	0.022~0.026
17	1.060	1.119	1.103	1.220	1.216	1.063	1.136	1.043	0.995	1.091	1.105	0.995~1.220
18	0.012	0.013	0.013	0.012	0.013	0.012	0.013	0.013	0.013	0.013	0.012	0.012~0.013
19	0.045	0.046	0.045	0.046	0.047	0.045	0.047	0.047	0.047	0.047	0.046	0.045~0.047
20	0.032	0.027	0.030	0.028	0.031	0.021	0.032	0.026	0.032	0.031	0.029	0.021~0.032

3 讨论

预实验参照苁蓉舒痉方各药味 HPLC 含量测定条件，采用梯度洗脱程序，并在流动相中加入少量的酸改善丹酚酸 B、芍药苷的峰型和分离度，克服峰形拖尾。同时，实验分别考察了不同流动相的种类和比例，如甲醇-0.1%磷酸溶液、甲醇-0.1%甲酸溶液、乙腈-0.1%磷酸，乙腈-0.1%甲酸溶液等及不同梯度洗脱程序，最终优化选定“2.1”项下流动相及梯度洗脱程序，结果 120 min 色谱图显示，60 min 后无任何其他组分色谱峰流出，提示在 60 min 内可完成特征图谱的分析。

目前 HPLC-UVD 检测波长的选择多采用单一波长，通过选择被测物之间共有的较佳吸收波长进行检测；近年来报道的利用多波长切换技术，分时段改变波长后进行测定；有报道利用全时段多波长融合技术[12-13]，选择波长下检测各组分色谱图，再利用 Matlab 软件编程，融合成为一张能够同时反映不同波长时段下组分信息的色谱图。本研究首创提出了更为简便快速且易操作的全波长最大值法技术，利用 HPLC-PDA 检测器现有的数据软件处理手段，通过二极管阵列检测器(PDA 或 DAD)进行在线 3D 全波长扫描，以 PDA 最大值谱图衍生通道使各被测物组分均分别在其最大吸收波长处表征出色谱峰响应值，由此形成最大值色谱图，该方法较传统方法更加完整、精准地反映药物中各类组分的信息，尤其适用于复杂体系的中药质量评价。

苁蓉舒痉颗粒系中药复方制剂，组分复杂，组分群的最大吸收波长差异变化大，当选用单一波长检测其特征图谱指纹信息时，色谱峰响应值较低、信息量较少；多波长切换技术虽然可使组分群在某一段波长区间以较高灵敏度被检出，但在波长切换处，谱图出现断层现象；全时段多波长融合技术在谱图及数据处理上相对繁琐。故本实验以“全波长最大值法”技术，表征苁蓉舒痉颗粒特征图谱的共有特征峰，利用 3D 通道衍生出 2D 通道色谱图，精准地使其共有特征峰群表征出最大响应值，有利于苁蓉舒痉颗粒微量组分群信息的提取，提高了分析方法的灵敏度和精准度，确保在一张 HPLC-PDA 最大值特征图谱中表征出尽量多的且具有较高响应值的色谱峰信息，克服传统方法信息不突出甚至缺失的问题，从而更加全面地反映中药的整体质量。

本实验基于 HPLC-PDA 全波长最大值法，建立了以丹酚酸 B 为参照物峰的苁蓉舒痉颗粒 HPLC-PDA 特征图谱共有模式，确定了 20 个共有特征峰，标定归属了 6 个特征峰；经方法学考察发现精密度、稳定性和重复性良好，试验中各共

有峰相对保留时间 RSD 均<3%，峰面积比值 RSD 均<5%；分析的 10 批苁蓉舒痉颗粒特征图谱基线平稳，与共有模式之间具有良好的相似性，相似度均>0.950，且实现了建立中药特征图谱信息量最大化的原则目标。所建立的苁蓉舒痉颗粒 HPLC-PDA 全波长最大值特征图谱共有模式精准可靠、特征性强，可以较为全面地表征和控制苁蓉舒痉颗粒的整体质量信息，确保产品的均一稳定，并为其质量标准的制订奠定了基础。以全波长最大值法建立中药特征图谱，为复杂体系的中药质量控制提出了一种有意义的可供借鉴的新方法，具有重要的应用与实践价值。

REFERENCES

[1] LI J C. Treatment marrow fill fine encephalopathology research briefing[J]. J Pract Tradit Chin Intern Med(实用中医内科杂志), 2014, 28(7): 182-183.

[2] ZHANG Y C, ZHANG S J, GAO Y S, et al. Analysis on treatment of senile encephalopathy of kidney deficiency and phlegm-stasis syndrome by traditional Chinese medicine[J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2018, 36(2): 420-422.

[3] 杨莎莎. 苁蓉舒痉颗粒对帕金森病模型大鼠内质网应激相关蛋白的影响[D]. 福州: 福建中医药大学, 2019.

[4] YANG S S, QIN W, CHEN S Y, et al. Effects of *Cistanche deserticola* on behavior and expression of GSK-3β in Hippocampus of rat model of Parkinson's disease[J]. Rehabilitation Med(康复学报), 2016, 26(6): 24-27, 33.

[5] GU C, YANG X, HUANG L. *Cistanches herba*: A neuropharmacology review[J]. Front Pharmacol, 2016(7): 289.

[6] YE S, KOON H K, FAN W, et al. Effect of a traditional Chinese herbal medicine formulation on cell survival and apoptosis of MPP^+-treated MES 23.5 dopaminergic cells[J]. Parkinsons Dis, 2017(2017): 4764212.

[7] REN B, SUN F W, ZHANG Z F, et al. Protective effect of tanshinoneⅡA on dopaminergic neurons in mouse model of Parkinson's disease and its mechanism[J]. J Jilin Univ: Med Ed(吉林大学学报: 医学版), 2014, 40(5): 947-952, 1128.

[8] WU C Z, GUO X H, LIU X, et al. Advances in modern pharmaceutical action of Moutan Cortex in recent five years[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2020, 29(3): 281-284.

[9] HU B L. Study on protective effect and mechanism of paeoniflorin on rotenone induced Parkinson's disease model damage[D]. Zhangjiakou, China: Hebei North University, 2017.

[10] 史肖锦. 丹皮酚对 MPTP 诱导的帕金森小鼠模型的神经保护作用[D]. 蚌埠: 蚌埠医学院, 2016.

[11] ZHU M, CHEN B L, SHI S M. Application of fingerprint technology on traditional Chinese medicine in Chinese pharmacopoeia(2015 edition) volume Ⅰ[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(5): 611-614.

[12] 聂磊, 胡震, 罗国安, 等. 中药指纹图谱的融合技术[J]. 分析化学, 2005, 33(5): 898.

[13] ZHAO H Z, MENG X S, YE T X, et al. Determination of loganin and paeonol in Liuwei Dihuang pills by HPLC amalgamated of double UV waves[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 33(19): 2182-2184.

收稿日期：2020-11-12

(本文责编：沈倩)

http://www.chinjmap.com