灯红补阳还五颗粒指纹图谱及有效成分含量研究Δ

药雅俊[1*]，甄会贤[2]，王嘉琛[1]，赵雅清[1]，张　虹[2#]（1.山西药科职业学院中药系，太原　030031；2.山西药科职业学院药学系，太原　030031）

中图分类号　R284；R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）20-2471-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.20.05

摘　要　目的　研究灯红补阳还五颗粒（DBHG）的指纹图谱，筛选其质量标志物，并建立测定有效成分含量的方法。**方法**　采用高效液相色谱（HPLC）法。使用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》建立10批（S1～S10）DBHG的指纹图谱，评价其相似度，并对共有峰进行药味归属分析、聚类分析（CA）、主成分分析（PCA）以及正交偏最小二乘法-判别分析（OPLS-DA），以变量重要性投影（VIP）值＞1为标准筛选质量标志物；采用同一HPLC法测定10批样品中红景天苷、酪醇、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、野黄芩苷、毛蕊异黄酮的含量。**结果**　从10批样品的指纹图谱中，共获得25个共有峰，指认了6个共有峰，分别为红景天苷、酪醇、芍药苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、野黄芩苷、毛蕊异黄酮；10批样品相似度均大于0.9，其中10个共有峰为灯盏细辛特有成分。CA、PCA均可将DBHG聚为2类，S4～S5、S7样品为一类，其余样品为一类。16（野黄芩苷）、12、15（毛蕊异黄酮葡萄糖苷）、13（芍药苷）、14号峰对应的成分为DBHG的质量标志物。10批样品中红景天苷、酪醇、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、野黄芩苷、毛蕊异黄酮的平均含量分别为1.64、0.45、0.31、0.73、0.15 mg/g。**结论**　成功建立了DBHG的HPLC指纹图谱和红景天苷等5个有效成分的含量测定方法，筛选得到5个质量标志物，可用于该制剂的质量控制。

关键词　灯红补阳还五颗粒；质量标志物；指纹图谱；多成分定量；化学计量学分析

Study on the fingerprint and active ingredients contents of Denghong buyang huanwu granules

YAO Yajun[1], ZHEN Huixian[2], WANG Jiachen[1], ZHAO Yaqing[1], ZHANG Hong[2]（1. Dept. of Traditional Chinese Medicine, Shanxi Pharmaceutical Vocational College, Taiyuan 030031, China; 2. Dept. of Pharmacy, Shanxi Pharmaceutical Vocational College, Taiyuan 030031, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the fingerprint of Denghong buyang huanwu granules (DBHG), screen the quality markers, and establish the method for content determination of active ingredients. **METHODS** HPLC method was adopted. The fingerprints of 10 batches of DBHG (S1-S10) were established by using *the Similarity Evaluation System* for *Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine* (2012 edition), and similarity evaluation was also performed. Traditional Chinese medicine pieces attribution analysis, cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were conducted for common peaks, and quality biomarkers were screened based on variable importance projection (VIP) values＞1. The contents of 10 batches of samples were determined by the same HPLC method, such as salidroside, tyrosol, calycosin-7-*O*-beta-D-glucoside, scutellarin and calycosin. **RESULTS** A total of 25 common peaks were obtained in the fingerprints for 10 batches of samples and 6 common peaks were identified, i.e. salidroside, tyrosol, paeoniflorin, calycosin-7-*O*-beta-D-glucoside, scutellarin, calycosin. Their similarities were greater than 0.9, and 10 common peaks of them were unique components of *Erigeron breviscapus*. DBHG could be clustered into 2 categories by using CA and PCA; S4-S5, and S7 could be clustered into one category and other samples could be clustered into one category. The corresponding components of peaks 16 (scutellarin), 12, 15 (calycosin-7-*O*-beta-D-glucoside), 13 (paeoniflorin), and 14 were quality markers. The average contents of salidroside, tyrosol, calycosin-7-*O*-beta-D-glucoside, scutellarin and calycosin were 1.64, 0.45, 0.31, 0.73, 0.15 mg/g in 10 batches of samples. **CONCLUSIONS** HPLC fingerprint for DBHG and a method for determining the contents of five active ingredients including salidroside are successfully established. Five quality markers have been screened. It can be used for the quality control of the preparation.

KEYWORDS　Denghong buyang huanwu granules; quality marker; fingerprint; multi-component quantification; chemo-metrics analysis

灯红补阳还五颗粒（Denghong buyang huanwu granules，DBHG）源于名老中医药专家杨巨奎先生在清代名医王清任的《医林改错》所载补阳还五汤[1-2]的基础上化裁而来的经验方，经山西黄河中医药研究所开发制成

Δ **基金项目**　山西省高等学校科技创新计划项目（No.晋教科函〔2022〕19号）

＊ **第一作者**　讲师，硕士。研究方向：中药新产品开发与应用。E-mail：1132643182@qq.com

\# **通信作者**　教授。研究方向：药品质量控制。E-mail：3294789071@qq.com

了颗粒剂。该制剂由灯盏细辛、红景天、黄芪、赤芍等9味中药组成，具有活血化瘀、益气通络的功效，可用于脑络瘀阻、中风偏瘫、缺血性中风及冠心病心绞痛等的治疗，临床疗效明显。DBHG方中灯盏细辛、红景天、黄芪为君药。灯盏细辛中的野黄芩苷具有治疗缺血性心脑血管疾病的作用[3-4]。红景天苷及其苷元酪醇是君药红景天的主要成分，二者对心脑血管具有保护作用[5-6]。毛蕊异黄酮葡萄糖苷及其苷元毛蕊异黄酮是黄芪的活性成分，其中毛蕊异黄酮葡萄糖苷具有改善心肌功能和保护血管内皮的作用[7]。毛蕊异黄酮可改善大鼠心肌缺血再灌注损伤，具有保护心肌作用[8]。DBHG所含药味众多，成分复杂，尚缺乏有效的质量控制研究。

中药质量是影响其疗效的重要因素，但由于中药成分复杂，影响因素较多，如何控制其质量一直是难点与热点。中药指纹图谱具有信息量大、特征性强、整体性和模糊性的特点[9]。化学计量学分析中的聚类分析（cluster analysis，CA）、主成分分析（principal component analysis，PCA）、正交偏最小二乘法-判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA）等方法可对数据进行特征提取和分析，探索其内在规律，达到对中药质量进行综合评价的目的[10]。刘昌孝院士提出中药质量标志物是基于中药基本特征、功效和临床应用需求而确定的化学成分，明确质量标志物有助于完善中药产品的质量标准体系，提升中药质量控制水平[11]。本研究基于中药质量标志物的有效性、特有性、可测性和可追溯性，在建立DBHG指纹图谱的基础上，进行化学计量学分析，同时结合中医药理论和现代药理学研究，筛选DBHG的质量标志物，并建立测定5个有效成分（红景天苷、酪醇、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、野黄芩苷）含量的方法，旨在为DBHG的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括UltiMate 3000型高效液相色谱仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）；AUW120D型电子分析天平（日本Shimadzu公司）；AS系列超声波清洗机（天津奥特赛恩斯仪器有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

红景天苷对照品（批号110818-202210，纯度99.7%）、酪醇对照品（批号111676-200602）、芍药苷对照品（批号110736-202246，纯度96.7%）、毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品（批号111920-201907，纯度96.8%）、野黄芩苷对照品（批号110842-202010，纯度91.5%）均购自中国食品药品检定研究院；毛蕊异黄酮对照品（批号A03GB156838，纯度≥98%）购自上海源叶生物科技有限公司；乙腈为色谱纯，甲醇为分析纯，水为超纯水。

10批DBHG的批号分别为20220701、20220702、20220703、20220704、20220705、20220706、20220707、20220708、20220709、20220710，编号为S1～S10，各饮片产地信息见表1；灯盏细辛、红景天、黄芪、当归、赤芍、川芎、桃仁、红花、地龙9种单味饮片的产地信息同S2样品，经山西药科职业学院蔡翠芳教授鉴定均为真品。DBHG及其单味饮片均由山西黄河中医药研究所提供。

表1 DBHG组方饮片的产地信息

编号	灯盏细辛	红景天	黄芪	当归	赤芍	川芎	桃仁	红花	地龙
S1	云南	西藏	甘肃	甘肃	内蒙古	四川	河南	新疆	广西
S2	云南	西藏	甘肃	甘肃	内蒙古	四川	河南	新疆	广西
S3	云南	西藏	甘肃	甘肃	内蒙古	四川	河南	新疆	广西
S4	云南	云南	甘肃	甘肃	河北	四川	陕西	新疆	广西
S5	云南	云南	甘肃	甘肃	河北	四川	陕西	新疆	广西
S6	云南	西藏	甘肃	甘肃	内蒙古	四川	河南	新疆	广西
S7	云南	云南	甘肃	甘肃	河北	四川	陕西	新疆	广西
S8	云南	西藏	甘肃	甘肃	内蒙古	四川	河南	新疆	广西
S9	云南	西藏	甘肃	甘肃	内蒙古	四川	河南	新疆	广西
S10	云南	西藏	甘肃	甘肃	内蒙古	四川	河南	新疆	广西

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以Hypersil ODS-2 C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）为色谱柱；以乙腈-0.1%磷酸为流动相进行梯度洗脱（0～20 min，5%A→10%A；20～50 min，10%A→25%A；50～65 min，25%A→32%A；65～70 min，32%A→40%A；70～80 min，40%A→45%A）；流速为1.0 mL/min；柱温为30 ℃；检测波长为230 nm；进样量为10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备

分别精密称取红景天苷对照品11.25 mg、酪醇对照品13.45 mg、芍药苷对照品12.76 mg、毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品10.37 mg、野黄芩苷对照品11.74 mg、毛蕊异黄酮对照品10.09 mg，用甲醇定容至10 mL，制成单一对照品溶液。分别精密量取上述各单一对照品溶液适量，用甲醇稀释，制成上述各成分质量浓度分别为0.201 9、0.067 25、0.135 7、0.040 15、0.107 4、0.019 78 mg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备

精密称取DBHG细粉约5 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入70%甲醇50 mL，称定质量后，超声（功率480 W，频率40 kHz）处理30 min，放冷至室温，再称定质量，用70%甲醇补足减失质量，摇匀，用0.22 μm针孔滤膜滤过，取续滤液，作为供试品溶液。

2.2.3 各单味饮片溶液的制备

取各单味饮片，按DBHG制剂工艺（加水煎煮3次；第1次加水7倍，煎煮60 min；第2次加水5倍，煎煮40 min；第3次加水3倍，煎煮20 min。合并3次煎液，滤过，减压浓缩，真空低温干燥，粉碎得浸膏粗粉，得率约

30%）制成单味饮片样品，再按“2.2.2”项下方法分别制成单味饮片溶液。

2.2.4　阴性样品溶液的制备

按DBHG处方及“2.2.3”项下制剂工艺分别制备缺黄芪、缺灯盏细辛、缺红景天的阴性样品，再按“2.2.2”项下方法分别制成缺黄芪、缺灯盏细辛、缺红景天的阴性样品溶液。

2.3　DBHG指纹图谱研究

2.3.1　精密度试验

取“2.2.2”项下供试品溶液（编号S2），按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次，以野黄芩苷（峰面积较大，出峰时间居中，峰形好，与相邻色谱峰分离较好）为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间的RSD≤0.07%（n=6），相对峰面积的RSD≤2.65%（n=6），表明方法精密度良好。

2.3.2　重复性试验

取同一批DBHG（编号S2），按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件分别进样测定6次，以野黄芩苷为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间的RSD≤0.20%（n=6），相对峰面积的RSD≤2.86%（n=6），表明方法重复性良好。

2.3.3　稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液（编号S2），分别于室温下放置0、3、6、9、12、18、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定，以野黄芩苷为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间的RSD≤0.19%（n=7），相对峰面积的RSD≤2.69%（n=7），表明DBHG供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.3.4　指纹图谱的建立及相似度分析

取10批供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》，以S1样品的色谱图为参照图谱，选择中位数法[12]，设置时间窗宽度为0.1，Mark峰匹配生成对照指纹图谱（R）和10批样品的叠加指纹图谱（切去前5 min色谱峰的图谱见图1）。结果显示，得到共有峰25个，经与混合对照品溶液（图2）比对后，指认出6个共有峰，分别为红景天苷（3号峰）、酪醇（4号峰）、芍药苷（13号峰）、毛蕊异黄酮葡萄糖苷（15号峰）、野黄芩苷（16号峰）、毛蕊异黄酮（21号峰）。S1～S10样品与对照指纹图谱的相似度分别为0.998、0.998、0.993、0.997、0.998、0.997、0.996、0.995、0.997、0.992，提示10批样品的化学成分组成相似，质量稳定、均一。

2.3.5　共有峰药味归属

取各单味饮片溶液、供试品溶液（编号S2）、混合对照品溶液各10 μL，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图（图3）。通过比对分析药味归属，结果显示，2、5、9、10、12、16（野黄芩苷）、17、18、19、22号峰为灯盏细辛特有成分，3（红景天苷）、4（酪醇）、14号峰为红景天特有成分，15（毛蕊异黄酮葡萄糖苷）、20、21（毛蕊异黄酮）、24、25号峰为黄芪特有成分，6、11、13（芍药苷）号峰为赤芍特有成分，1号峰为桃仁特有成分，7、23号峰为地龙特有成分；8号峰为灯盏细辛、当归、川芎的共有成分。

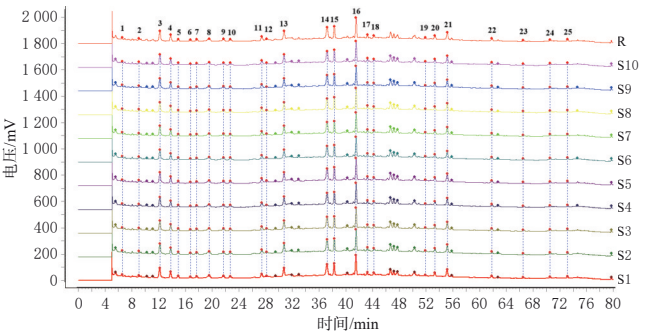
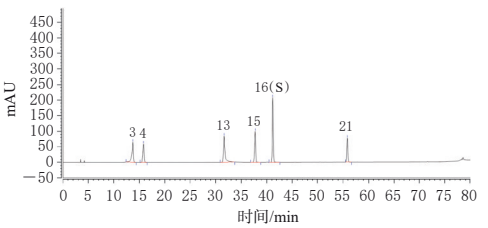


图1　10批样品的HPLC叠加指纹图谱和对照指纹图谱



3：红景天苷；4：酪醇；13：芍药苷；15：毛蕊异黄酮葡萄糖苷；16（S）：野黄芩苷；21：毛蕊异黄酮。

图2　混合对照品溶液的HPLC图

2.4　10批DBHG的化学计量学分析

2.4.1　CA

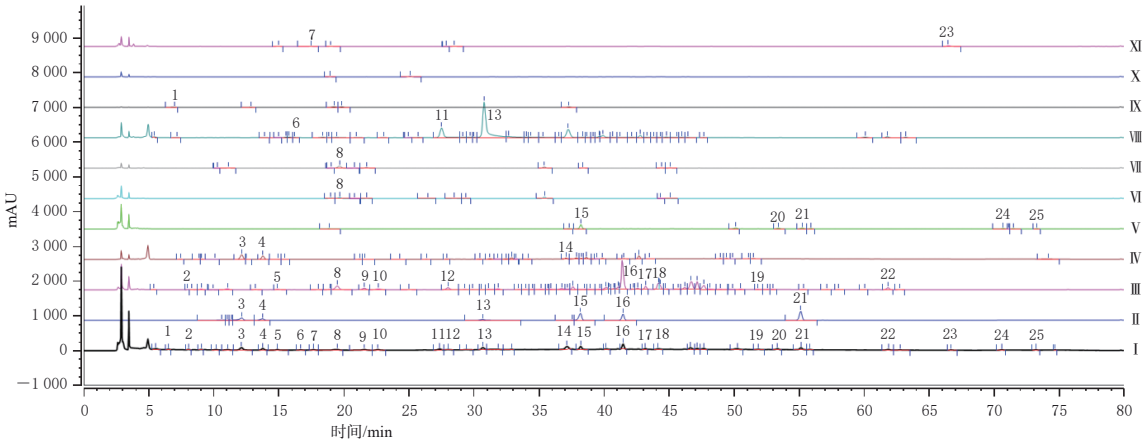
将10批DBHG的25个共有峰峰面积导入SPSS 22软件，选择组间聚类方法和平方欧氏距离进行CA[13－14]。结果（图4）显示，当平均欧氏距离为25时，10批样品聚为2类，S4～S5、S7样品为一类，其余样品为一类。

2.4.2　PCA

以10批DBHG的25个共有峰峰面积为变量，使用SPSS 22软件进行PCA，在“抽取”中设置特征值＞1，结果显示，前6个主成分的累计方差贡献率为91.748%，可概括DBHG指纹图谱的大部分信息。主成分因子载荷矩阵结果显示，1、4、12～15、17、19、22号峰对主成分1贡献较大，3、7～8、16、20～21、24～25号峰对主成分2贡献较大。以10批样品的25个共有峰峰面积为变量，使用SIMCA 14.1软件绘制PCA得分图（图5），结果显示，S4～S5、S7样品为一类，其余样品为一类，与CA结果一致。

2.4.3　OPLS-DA

结合CA和PCA分析结果，10批样品可分为2组，为了进一步探究组间的差异性原因，将25个共有峰峰面积导入SIMCA 14.1软件进行OPLS-DA。结果显示，OPLS-DA模型的R^2X=0.884，R^2Y=1，Q^2=0.984，提示建立的模型稳定，预测力较强。以变量重要性投影



Ⅰ：供试品溶液；Ⅱ：混合对照品溶液；Ⅲ：灯盏细辛样品溶液；Ⅳ：红景天样品溶液；Ⅴ：黄芪样品溶液；Ⅵ：当归样品溶液；Ⅶ：川芎样品溶液；Ⅷ：赤芍样品溶液；Ⅸ：桃仁样品溶液；Ⅹ：红花样品溶液；Ⅺ：地龙样品溶液。

图3　DBHG药味归属的色谱图

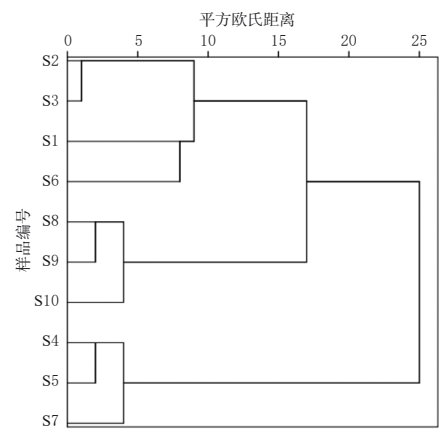


图4　10批DBHG的CA树状图

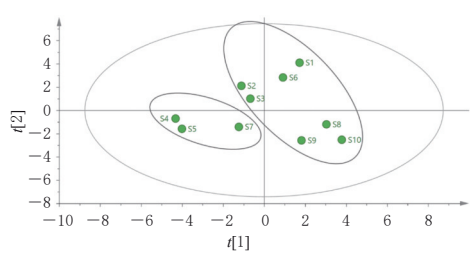


图5　10批DBHG的PCA得分图

(variable importance projection，VIP)值＞1为标准[14]，筛选得到5个质量标志物，按VIP值大小排序依次为16(野黄芩苷)、12、15(毛蕊异黄酮葡萄糖苷)、13(芍药苷)、14号峰。结果见图6。

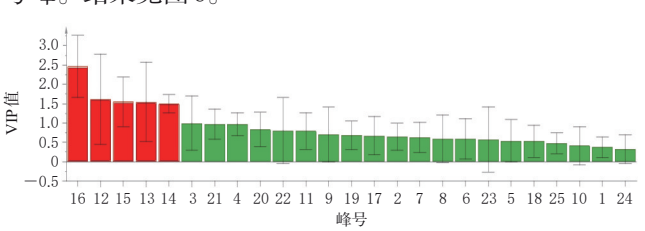


图6　10批DBHG的OPLS-DA VIP图

2.5　DBHG中5个有效成分的含量测定

2.5.1　专属性试验

取“2.2”项下供试品溶液(编号S2)、混合对照品溶液、缺黄芪阴性样品溶液、缺灯盏细辛阴性样品溶液、缺红景天阴性样品溶液、空白溶剂(70%甲醇)各10 μL，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图(图7)。结果显示，与对照品溶液各成分相应的色谱图位置上，供试品溶液色谱图中均有相同保留时间的色谱峰；各阴性样品溶液色谱图在相同保留时间处未见相应检测成分的色谱峰；空白溶剂对测定无干扰，表明该方法的专属性良好。

2.5.2　线性关系考察

按“2.2.1”项下方法制备除芍药苷外的混合对照品溶液，分别取1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL，置于5 mL量瓶中，加甲醇定容，摇匀，滤过，取续滤液，按“2.1”项下色谱条件进样测定。以待测成分的质量浓度(mg/mL)为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归。结果见表2。

2.5.3　精密度试验

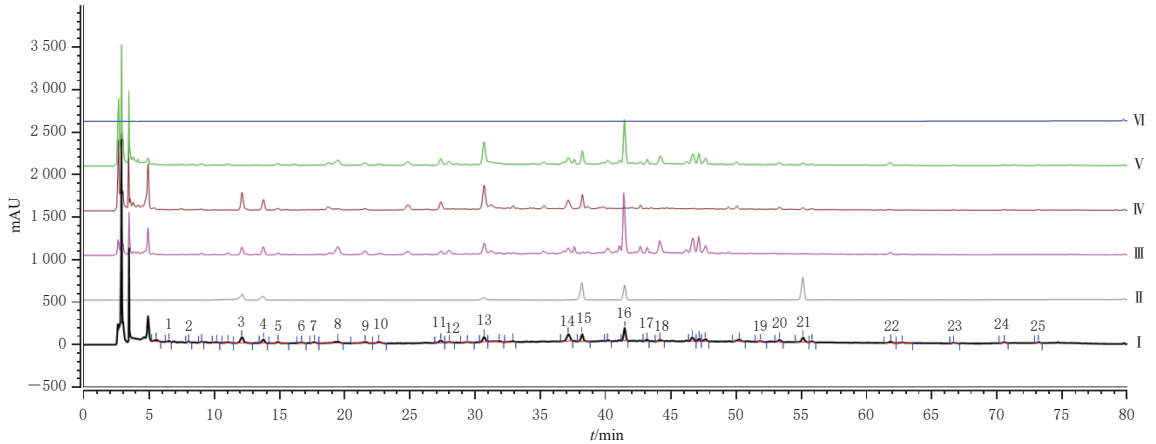
取“2.2.2”项下供试品溶液(编号S2)，按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次，记录峰面积。结果显示，红景天苷、酪醇、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、野黄芩苷、毛蕊异黄酮峰面积的RSD分别为0.54%、1.45%、1.03%、0.51%、1.65%(n=6)，表明方法精密度良好。

2.5.4　稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(编号S2)，分别于室温下放置0、3、6、9、12、18、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果显示，红景天苷、酪醇、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、野黄芩苷、毛蕊异黄酮峰面积的RSD分别为0.74%、2.43%、0.97%、0.44%、1.89%(n=7)，表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.5.5　重复性试验

取同一批DBHG(编号S2)，按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，采用标准曲线法计算样品含量。结果显示，红景天苷、酪醇、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、野黄芩苷、



Ⅰ：供试品溶液；Ⅱ：混合对照品溶液；Ⅲ：缺黄芪阴性样品溶液；Ⅳ：缺灯盏细辛阴性样品溶液；Ⅴ：缺红景天阴性样品溶液；Ⅵ：空白溶剂；3：红景天苷；4：酪醇；15：毛蕊异黄酮葡萄糖苷；16：野黄芩苷；21：毛蕊异黄酮。

图7　含量测定的专属性试验色谱图

表2　红景天苷等5个成分的回归方程和线性范围

成分	回归方程	r	线性范围/(mg/mL)
红景天苷	y=119.74x+0.055 2	1.000 0	0.040 38～0.201 9
酪醇	y=259.05x+0.056 6	1.000 0	0.013 45～0.067 25
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	y=593.29x-0.118 1	0.999 9	0.008 03～0.040 15
野黄芩苷	y=399.57x-0.182 4	0.999 9	0.021 48～0.107 4
毛蕊异黄酮	y=900.46x+0.023 3	1.000 0	0.003 96～0.019 78

毛蕊异黄酮的平均含量分别为1.64、0.45、0.31、0.73、0.15 mg/g，RSD分别为1.06%、2.21%、1.56%、2.62%、1.80%（n=6），表明该方法重复性良好。

2.5.6　加样回收率试验

精密称取同一批DBHG（编号S2），共9份，每份2.5 g，分别置于具塞锥形瓶中，分为3个梯度，分别按质量比1∶0.8、1∶1、1∶1.2加入混合对照品溶液适量，然后按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积并计算加样回收率。结果显示，红景天苷、酪醇、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、野黄芩苷、毛蕊异黄酮的平均加样回收率分别为101.56%、100.52%、100.23%、101.94%、100.95%，RSD分别为2.06%、1.69%、2.08%、1.32%、2.12%（n=9）。

2.5.7　样品含量测定

取10批DBHG，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，采用标准曲线法计算样品含量。每批样品测定3次，取平均值，结果见表3。

表3　10批DBHG中红景天苷等5个成分的含量测定结果（n=3，mg/g）

编号	红景天苷	酪醇	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	毛蕊异黄酮	野黄芩苷
S1	1.69	0.45	0.32	0.15	0.77
S2	1.64	0.45	0.31	0.15	0.73
S3	1.63	0.43	0.31	0.15	0.75
S4	1.62	0.45	0.30	0.15	0.72
S5	1.63	0.45	0.30	0.15	0.71
S6	1.67	0.47	0.31	0.15	0.71
S7	1.65	0.46	0.31	0.14	0.71
S8	1.63	0.45	0.31	0.14	0.75
S9	1.62	0.45	0.31	0.14	0.74
S10	1.61	0.45	0.31	0.15	0.74
平均值	1.64	0.45	0.31	0.15	0.73

3　讨论

3.1　色谱条件的选择及样品前处理方法考察

本课题组前期分别考察了不同流动相（乙腈-水、甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸、乙腈-0.1%磷酸）、检测波长（190～600 nm）、溶剂（50%甲醇、70%甲醇、90%甲醇）对色谱峰的影响，结果显示，以乙腈-0.1%磷酸为流动相进行梯度洗脱时，所得色谱峰信息丰富，峰形、分离度良好；检测波长为230 nm时，色谱峰数量最多，基线噪音较低，信息最全；溶剂为70%甲醇时，红景天苷、酪醇、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、野黄芩苷、毛蕊异黄酮的峰面积适中，满足指纹图谱及定量分析要求。

3.2　指纹图谱的建立及结果评价

本研究结果显示，10批样品共标定25个共有峰，通过比对指认出6个成分，分别为红景天苷、酪醇、芍药苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、野黄芩苷、毛蕊异黄酮。在指纹图谱中，苦杏仁苷对照品相同保留时间处无相应的色谱峰，其原因可能是含有苦杏仁苷的桃仁在方中为佐药，剂量小，导致DBHG中苦杏仁苷含量太少，没有检出。野黄芩苷为君药灯盏细辛中的有效成分，其保留时间、峰面积适中，峰形较好，在指纹图谱中作为参照峰。各共有峰的特征性强，保留时间稳定，建立的指纹图谱方法重复性良好。10批样品的相似度较高，提示10批DBHG的质量具有较好的一致性。化学计量学分析结果显示，CA和PCA均将10批DBHG聚为2类，表明不同批次样品间存在一定差异，推测其原因可能是原料、制备过程等对成品质量有影响；OPLS-DA筛选出5个影响DBHG质量的差异标志物，分别为16（野黄芩苷）、12、15（毛蕊异黄酮葡萄糖苷）、13（芍药苷）、14号峰。

3.3　DBHG的含量测定结果分析

本研究成功建立了DBHG中红景天苷、酪醇、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、野黄芩苷、毛蕊异黄酮的含量测定方

法，结果显示，上述5个成分的含量分别为1.61～1.69、0.43～0.47、0.30～0.32、0.71～0.77、0.14～0.15 mg/g。芍药苷因溶剂效应导致峰形拖尾严重，不满足定量分析要求，故未建立其含量测定方法。

综上所述，本研究建立了DBHG的HPLC指纹图谱，筛选得到5个质量标志物，并建立了DBHG中红景天苷等5个有效成分的含量测定方法。所建指级图谱及含量测定方法可用于DBHG的质量控制。

参考文献

[1] 苏紫威，马妍，周彦彰，等. 从“气虚血瘀”论探讨补阳还五汤治疗缺血性中风研究进展[J]. 时珍国医国药，2023，34(12)：2991-2994.
SU Z W，MA Y，ZHOU Y Z，et al. Discussion on the research progress of Buyanghuanwu decoction in treating ischemic stroke from the theory of “Qi deficiency and blood stasis” [J]. Lishizhen Med Mater Med Res，2023，34(12)：2991-2994.

[2] 李苓顼，王敏，刘建勋，等. 补阳还五汤治疗冠心病作用机制研究进展[J]. 光明中医，2023，38(19)：3865-3867.
LI L X，WANG M，LIU J X，et al. Research progress on the mechanism of Buyang Huanwu Decoction in the treatment of coronary heart disease[J]. Guangming J Chin Med，2023，38(19)：3865-3867.

[3] 刘雪艳，李驰. 野黄芩苷对缺血性心脑血管疾病治疗机制研究进展[J]. 中药材，2021，44(5)：1284-1288.
LIU X Y，LI C. Research progress on therapeutic mechanism of scutellarin on ischemic cardiovascular and cerebrovascular diseases[J]. J Chin Med Mater，2021，44(5)：1284-1288.

[4] 王震雨，张璐妮，邵玉，等. 野黄芩苷对脑缺血再灌注损伤的作用及其机制[J]. 中国实验诊断学，2019，23(1)：133-134.
WANG Z Y，ZHANG L N，SHAO Y，et al. Effect of scutellarin on cerebral ischemia-reperfusion injury and its mechanism[J]. Chin J Lab Diagn，2019，23(1)：133-134.

[5] 徐浩群，张文静，娄原，等. 红景天苷对脑缺血损伤的保护作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志，2023，29(15)：256-266.
XU H Q，ZHANG W J，LOU Y，et al. Research progress on protective effect and mechanism of salidroside on cerebral ischemia injury：a review[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae，2023，29(15)：256-266.

[6] 李军鸽，朱凯，李娜，等. 红景天酪醇对老年大鼠心肌缺血缺氧型冠心病的影响[J]. 中国老年学杂志，2015，35(9)：2317-2318.
LI J G，ZHU K，LI N，et al. The effect of *Rhodiola* tyrosol on myocardial ischemic anoxic type of coronary heart disease of elderly rats[J]. Chin J Gerontol，2015，35(9)：2317-2318.

[7] 李亮亮，黄金智. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷药理作用的研究进展[J]. 海南医学院学报，2020，26(2)：156-160.
LI L L，HUANG J Z. Advances in pharmacological studies of calycosin-7-O-β-D-glucoside[J]. J Hainan Med Univ，2020，26(2)：156-160.

[8] 李春洁，邢晓雪，周正灿，等. 毛蕊异黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用机制研究[J]. 天津中医药，2017，34(5)：341-344.
LI C J，XING X X，ZHOU Z C，et al. Study of protective mechanism of calycosin on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Tianjin J Tradit Chin Med，2017，34(5)：341-344.

[9] 李强，杜思邈，张忠亮，等. 中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J]. 中草药，2013，44(22)：3095-3104.
LI Q，DU S M，ZHANG Z L，et al. Progress in fingerprint technology on Chinese materia medica and prospect of its future development[J]. Chin Tradit Herb Drugs，2013，44(22)：3095-3104.

[10] 于洋，李军，李宝国. 化学计量学在中药质量控制研究中的应用[J]. 中成药，2018，40(5)：1139-1142.
YU Y，LI J，LI B G. Application of chemometrics in quality control of traditional Chinese medicine[J]. Chin Tradit Pat Med，2018，40(5)：1139-1142.

[11] 张铁军，白钢，刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法[J]. 药学学报，2019，54(2)：187-196，186.
ZHANG T J，BAI G，LIU C X. The concept，core theory and research methods of Chinese medicine quality markers [J].Acta Pharmaceutica Sinica，2019，54(2)：187-196，186.

[12] 曹杰楠，王媛媛，夏梦莹，等. 基于指纹图谱及多元统计分析评价牡丹皮的质量[J]. 中药材，2021，44(3)：644-648.
CAO J N，WANG Y Y，XIA M Y，et al. Evaluation of quality of cortex moutan based on fingerprint and multivariate statistical analysis[J]. J Chin Med Mater，2021，44(3)：644-648.

[13] 何泽源，张妍妍，林楠，等. HPLC法同时测定复方活血胶囊中6种成分[J]. 中成药，2021，43(4)：867-870.
HE Z Y，ZHANG Y Y，LIN N，et al. Simultaneous determination of six constituents in Compound Huoxue Capsules by HPLC[J]. Chin Tradit Pat Med，2021，43(4)：867-870.

[14] 李雅娟，李莎莎，陈曦，等. 菟丝子及盐菟丝子指纹图谱对比研究[J]. 中药材，2023，46(9)：2185-2189.
LI Y J，LI S S，CHEN X，et al. Comparative study on fingerprint of *Cuscuta chinensis* and *Cuscuta salina*[J]. J Chin Med Mater，2023，46(9)：2185-2189.

（收稿日期：2024-04-07　修回日期：2024-09-24）
（编辑：邹丽娟）