基于聚类分析和主成分分析评价不同产地荆芥药材质量

廖延武[1],吴德玲[1,2],许凤清[1,2],张 伟[1,2],黄 琪[1,2],王桐生[3]

(1.安徽中医药大学药学院,安徽 合肥 230012;2.中药饮片制造新技术安徽省重点实验室,安徽 合肥 230012;3.安徽中医药大学药理学教研室,安徽 合肥 230012)

[摘要]**目的** 基于指纹图谱、聚类分析与主成分分析方法为不同产地荆芥药材质量控制提供参考。**方法** 利用高效液相色谱法对荆芥药材进行质量分析,所获数据用中药色谱指纹图谱相似度评价系统构建荆芥药材的指纹图谱,并应用SPSS 23.0统计软件进行聚类分析和主成分分析,综合评价不同产地荆芥药材的质量。色谱柱为SinoChrom ODS-BP(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液,梯度洗脱;检测波长:283 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:30 ℃;进样量:20 μL。**结果** 荆芥药材高效液相色谱指纹图谱28个峰确定为共有峰,除河南鹿邑、四川自贡的样品相似度低于0.9外,其他的21批荆芥药材的相似度为0.930~0.982。聚类分析结果表明,荆芥药材可被分为亳州荆芥与四川、河南、河北等其他产地荆芥两大类。主成分分析结果表明,前6个主成分的累计贡献率达到88.247%,选择这6个因子可对不同产地荆芥药材进行综合分析。**结论** 根据最终的综合得分结果可知,安徽、河北产荆芥药材质量相对较好。

[关键词]荆芥;高效液相;指纹图谱;聚类分析;主成分分析

[中图分类号]R284 [DOI]10.3969/j.issn.2095-7246.2020.01.021

荆芥为唇形科植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq.的干燥地上部分,具有解表、透疹的功效,是临床上常用的解表药[1]。中药成分复杂,以单一成分指标作为其质量评价的依据有很大的局限性[2]。在现行的2015年版《中华人民共和国药典》中,荆芥主要以挥发油含量、胡薄荷酮含量来控制产品的质量,无法全面反映产品的质量[3]。

中药指纹图谱作为一种综合的、可量化的色谱鉴定手段,在中药质量控制和鉴别中都起到重要作用[4-7]。利用中药色谱指纹图谱可对中药材质量进行全面、合理、精确的评价[8]。聚类分析是用相似度

基金项目:国家重点研发计划(2018YFC1707004);国家中药标准化项目(ZYBZH-C-AH-02);安徽省高校科研创新平台——中药饮片产地加工与炮制一体化关键技术研究创新团队项目(皖教秘科〔2015〕49号)

作者简介:廖延武(1994-),男,硕士研究生

通信作者:王桐生(1972-),男,教授,硕士研究生导师,wtsyl@163.com

Pieces, *Anhui Hefei* 230012, *China*; 3. *Department of Pharmacy*, *The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University*, *Anhui Hefei* 230022, *China*; 4. *Anhui Xiehecheng Co.*, *Ltd.*, *Anhui Hefei* 236800, *China*)

[**Abstract**]**Objective** To investigate the loss of Radix Paeoniae Alba decoction pieces with different thicknesses and the transfer rate and extract yield of its standard decoction, and to evaluate the influence of decoction piece thickness on the quality of Radix Paeoniae Alba. **Methods** Radix Paeoniae Alba decoction pieces with different thicknesses were prepared, and chip rate, blanking rate, and warping rate were calculated. The standard decoction of Radix Paeoniae Alba decoction pieces with different thicknesses was prepared to measure extract yield, and high-performance liquid chromatography was used to measure the main components in Radix Paeoniae Alba decoction pieces and decoction and calculate transfer rate. **Results** The chip rate, blanking rate, and warping rate decreased with the increase in thickness, and the extract yield of the standard decoction of Radix Paeoniae Alba decoction pieces was inversely proportional to the transfer rate of each component and the thickness of Radix Paeoniae Alba decoction pieces. **Conclusion** Based on this study and the actual situation of industrial production, the thickness of Bozhou Radix Paeoniae Alba decoction pieces is recommended to be about 2 mm.

[**Key words**]Thickness of Radix Paeoniae Alba decoction pieces; Standard decoction; Content determination; Transfer rate

来衡量样品之间的亲疏程度，并以此来实现分类的一种方法[9]。主成分分析法是将多个相关性指标转换成少数几个相互独立的综合指标，从而使繁多的求解目标简化的一种方法[10]。基于此，本研究通过建立高效液相指纹图谱检测不同产地的23批荆芥药材，结合聚类分析和主成分分析方法，能够简单快速区分出不同产地的荆芥样品，并对其质量进行综合评价，为不同产地荆芥药材的鉴别与质量评价提供新的途径。

1 材料

1.1 仪器 HITACHI Primaide高效液相色谱仪（四元泵，自动进样器，柱温箱，二极管矩阵检测器）：日立高新技术有限公司；ME204电子天平：瑞士Mettler Toledo公司；HH-6型数显恒温水浴锅：常州普天仪器制造有限公司；KQ-500DE型数控超声波清洗器：昆山市超声仪器有限公司；Milli-Q超纯水系统：美国Millipore公司。

1.2 试药 胡薄荷酮对照品（批号YBF18052406）、橙皮苷对照品（批号YBF18052412）、迷迭香酸对照品（批号M-024-181210）：南京元宝峰医药科技有限公司；MREDA色谱乙腈、MREDA色谱甲醇：美国Meridian公司；其余试剂均为分析纯。荆芥样品经安徽中医药大学药学院刘守金教授鉴定为唇形科植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq.干燥地上部分。23批药材产地来源见表1。

1.3 数据处理软件 将各批次样品色谱图数据导入2012年版中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件中，对各批次荆芥药材进行整体相似性评价。

2 方法

2.1 溶液制备

2.1.1 标准品溶液制备 精密称取迷迭香酸、橙皮苷、胡薄荷酮对照品1.63、1.58、1.13 mg，加甲醇溶解，分别制成65.2、63.2、45.2 μg/mL的迷迭香酸、橙皮苷、胡薄荷酮对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液制备 称取0.5 g荆芥粉末，粉末均过二号筛，置具塞三角瓶内，加甲醇25 mL，密塞，称定质量，加热回流30 min，放冷，用甲醇补足减失的质量，摇匀，取续滤液，过0.22 μm微孔滤膜，即得。

2.2 色谱条件 色谱柱：以依利特SinoChrom ODS-BP（5 μm，250 mm×4.6 mm）色谱柱为分析柱；乙腈-0.05%磷酸水作为流动相系统，流动相A为乙腈，流动相B为0.05%磷酸水。梯度洗脱：0～20 min，10%～25% A；20～40 min，25%～27% A；40～45 min，27%～33% A；45～50 min，33%～43% A；50～55 min，43%～60% A；55～63 min，60%～85% A；63～65 min，85%～10% A；65～70 min，10% A。柱温设置为30 ℃，进样量为20 μL，检测波长为283 nm，流速1.0 mL/min，运行时间70 min。

表1 样品产地来源

编号	来源	编号	来源
S1	安徽省亳州市十八里镇	S13	安徽省亳州市十八里镇
S2	安徽省亳州市十八里镇	S14	安徽省亳州市十八里镇
S3	安徽省亳州市十八里镇	S15	安徽省亳州市十八里镇
S4	安徽省亳州市十八里镇	S16	安徽省亳州市十八里镇
S5	安徽省亳州市十八里镇	S17	安徽省亳州市十八里镇
S6	安徽省亳州市十八里镇	S18	河北省唐山市玉田县
S7	安徽省亳州市十八里镇	S19	河北省安国市南娄底乡卓头村
S8	安徽省亳州市十八里镇	S20	河北省安国市伍仁桥镇中送村
S9	安徽省亳州市十八里镇	S21	河北省定州市南寨里村
S10	安徽省亳州市十八里镇	S22	河南省周口市鹿邑县
S11	安徽省亳州市十八里镇	S23	四川省自贡市
S12	安徽省亳州市十八里镇		

2.3 指纹图谱方法学考察

2.3.1 精密度试验 按“2.1.2”项下方法制备同一批供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件连续进样6次，记录荆芥结果显示28个共有峰的相对保留时间和相对峰面积（参比峰为12号峰）的RSD分别为0.047%～0.958%和0.563～0.984%，表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取同一批次样品，按“2.1.2”项下方法分别制备6份供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件平行测定。记录荆芥结果显示28个共有峰的相对保留时间和相对峰面积（参比峰为12号峰）的RSD分别为0.117%～1.476%和0.745%～2.103%，表明该方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 按“2.1.2”项下方法制备同一批供试品溶液，按“2.2”项色谱条件，分别在0、2、4、6、8、10、12 h进样分析。记录荆芥结果显示28个共有峰的相对保留时间和相对峰面积（参比峰为12号峰）的RSD分别为0.146%～1.344%和0.513%～2.259%，表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.4 指纹图谱分析与评价

2.4.1 共有峰的确定 将23批荆芥药材依照“2.1.2”项下方法制备成供试品溶液，并按“2.2”项方法进行测定。将所得的23批荆芥高效液相色谱指纹图谱依次导入到2012年版中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件进行多点校正，自动匹配，通过对比色谱图确定共有峰为28个[11]。见图1。另将橙皮苷、迷迭香酸、胡薄荷酮对照品色谱图与样品色谱图中相应位置的色谱峰进行比较，确认样品指纹图谱中12号峰为橙皮苷，13号峰为迷迭香酸，25号

峰为胡薄荷酮。见图2。

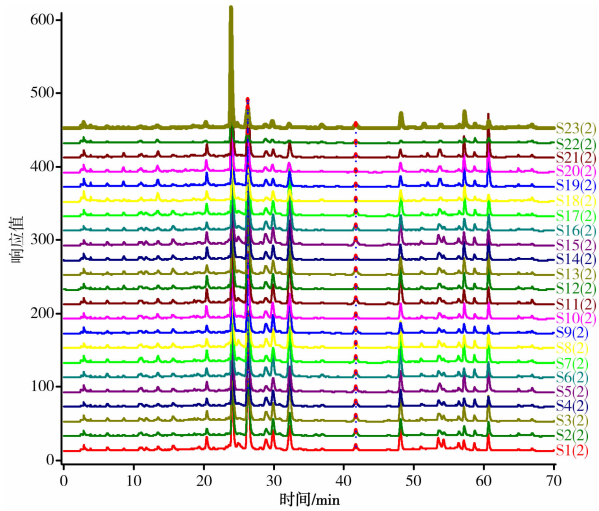


图1 23批荆芥药材高效液相色谱指纹图谱

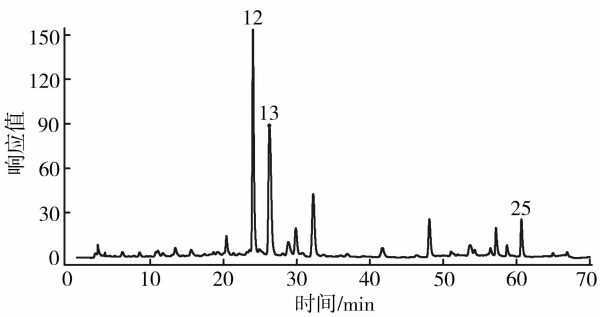


图2 荆芥药材的共有模式图

2.4.2 相似度分析 分别将23批荆芥样品的色谱图导入2004年A版中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件里，以生成的特征指纹图谱共有模式为对照，计算各批次样品的相似度，同时考查色谱峰的一致性。结果见表2。

2.5 系统聚类分析 以23批荆芥指纹图谱中的28个共有峰峰面积为变量，用SPSS 23.0数据系统分析软件对其进行系统聚类分析，选用质心联接聚类方法，采用欧式距离度量标准，计算样品的相似性程度，聚类结果见图3。结果表明，23批荆芥药材大致可以分为两大类：亳州产荆芥一类（即S1－S17），河北安国、河北定州、河南周口、四川自贡产荆芥分为另一类（即S18－S20）。同时后一类还可进一步划分为三类，具体可分为河南周口（S22）第一类，四川自贡（S23）第二类，河北安国（S19－S20）、河北定州（S21）、河北玉田（S18）为第三类。

2.6 主成分分析

2.6.1 主成分因子特征值、方差贡献率分析 采用SPSS 23.0软件对28个共有峰的数据进行Z-score标准化处理后，进行主成分因子分析，其中主成分特征值和方差贡献率是选择主成分的重要依据，其特征值和方差贡献率见表3。同时结合碎石图（见图4）可以更直观地看到图中主成分因子6处有明显的拐点，且特征值是大于1的，这说明前6个主成分因子的分析结果基本显示了不同产地荆芥药材的相似度与差异性。

表2 23批荆芥指纹图谱相似度

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.982	S9	0.988	S17	0.991
S2	0.987	S10	0.993	S18	0.957
S3	0.993	S11	0.974	S19	0.961
S4	0.991	S12	0.996	S20	0.958
S5	0.989	S13	0.993	S21	0.960
S6	0.989	S14	0.993	S22	0.870
S7	0.984	S15	0.981	S23	0.854
S8	0.974	S16	0.976		

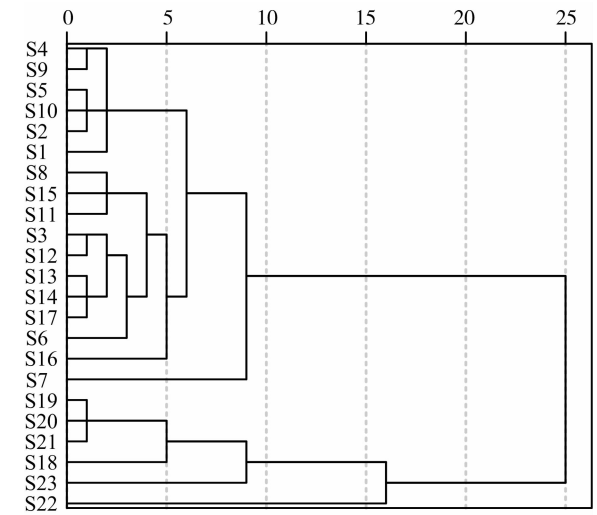


图3 23批荆芥聚类分析图

表3 6个主成分因子的特征值和方差贡献率

主成分因子	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	9.763	34.867	34.867
2	6.726	24.021	58.888
3	3.591	12.825	71.713
4	1.901	6.789	78.501
5	1.417	5.059	83.561
6	1.312	4.686	88.247

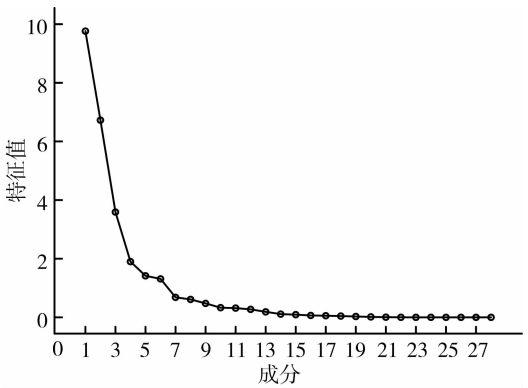
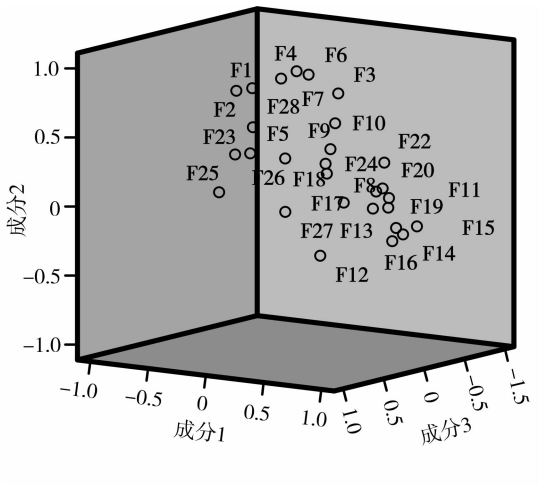


图4 主因子碎石图

由载荷矩阵（表4）可见，成分8、11、13、14、15、

16、19、20、21、22在主成分1上有较高的载荷量，即主成分1主要反映了这10个成分指标的信息；成分1、2、3、4、6、7、10在主成分2上有较高的载荷量，即主成分2主要反映了这7个成分指标的信息；同理，主成分3主要反映了成分23、25这2个指标的信息，主成分4主要反映了成分24、27这2个指标的信息，主成分5反映了成分18、28这2个指标的信息，主成分6主要反映了成分17的信息。同时结合载荷图(图5)，矩阵中主成分1、2、3上具有高载荷值的成分指标，在载荷图中，皆分布在距离原点较远的位置，即载荷值越大与原点距离越远。这也说明了载荷图成分分布规律与载荷矩阵中数值大小具有一致性。

2.6.2 不同产地荆芥药材主成分得分、综合得分及排序分析 利用上述6个主成分对23批不同产地的荆芥药材样品进行综合质量评价，各主成分因子得分、综合得分(利用公式)及排序见表5，同时以主成分为变量绘制23批不同产地荆芥药材样品的得分图，见图6。



注：F1—F28为峰1—峰28

图5 初始因子载荷图

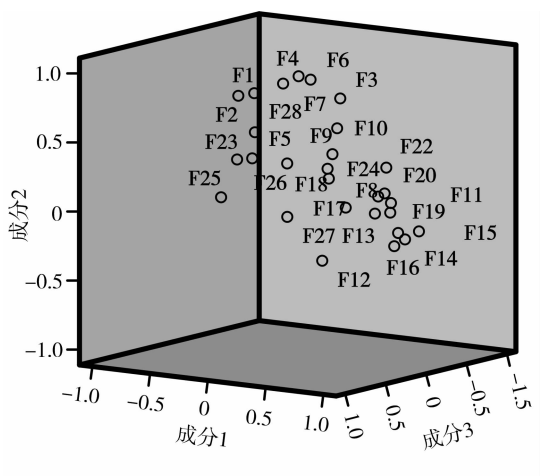
表4 初始因子载荷矩阵成分

共有峰	主成分1	主成分2	主成分3	主成分4	主成分5	主成分6
峰1	−0.215	0.821	0.231	0.003	−0.133	−0.012
峰2	−0.403	0.773	0.158	0.125	−0.313	−0.082
峰3	0.349	0.803	−0.027	0.280	0.078	−0.210
峰4	−0.010	0.927	−0.025	−0.154	0.232	−0.061
峰5	0.018	0.424	0.588	0.029	−0.617	0.099
峰6	0.078	0.908	−0.047	0.141	0.170	0.037
峰7	−0.030	0.896	0.138	0.074	0.096	0.182
峰8	0.801	0.163	0.149	0.022	−0.235	0.338
峰9	0.595	0.488	0.420	−0.101	−0.261	−0.275
峰10	0.535	0.649	0.277	0.285	0.108	0.171
峰11	0.910	0.058	0.155	0.042	−0.140	−0.070
峰12(橙皮苷)	0.583	−0.269	0.529	0.144	0.174	0.222
峰13(迷迭香酸)	0.893	0.074	0.321	0.085	−0.052	0.081
峰14	0.802	−0.195	−0.181	0.207	−0.351	0.150
峰15	0.917	−0.126	−0.190	0.146	0.066	0.067
峰16	0.866	−0.205	0.044	−0.029	−0.126	0.301
峰17	0.385	0.013	−0.044	0.170	0.096	0.870
峰18	0.056	0.226	−0.290	0.090	0.792	0.225
峰19	0.816	−0.132	−0.076	0.130	0.329	0.196
峰20	0.706	0.145	−0.066	0.554	0.186	−0.024
峰21	0.861	0.112	0.077	0.153	0.357	−0.104
峰22	0.671	0.318	−0.136	0.423	0.225	−0.238
峰23	0.057	0.455	0.830	−0.079	0.048	−0.045
峰24	0.254	0.213	−0.022	0.868	0.173	0.054
峰25(胡薄荷酮)	−0.128	0.153	0.765	0.456	−0.239	0.009
峰26	−0.493	0.168	−0.573	−0.109	0.301	0.289
峰27	0.174	−0.014	0.378	0.797	−0.128	0.170
峰28	−0.159	0.554	0.301	0.093	0.657	−0.165

表5中各批次荆芥药材样品的排序结果表明综合得分排名最高的为S7药材样品，来自于安徽亳州；综合得分排名最低的为S22药材样品，来自于河南周口；从整体排序来看，综合得分排名靠前的荆芥样品为安徽亳州、河北唐山等地，而排名最后的荆芥样品来自于四川自贡及河南周口。另外结合得分图(见图6)可以看到，在主成分1中，S15、S11荆芥样品得分较高，在主成分2中S7、S18荆芥样品得分较高。

表5 23批荆芥药材主成分因子得分及排序

编号	来源	主成分1	主成分2	主成分3	主成分4	主成分5	主成分6	综合得分	排序
S7	安徽省亳州市十八里镇	3.234	5.561	1.522	1.287	2.519	−0.855	3.211	1
S15	安徽省亳州市十八里镇	4.785	−0.521	−0.848	−0.075	−0.844	−0.055	1.568	2
S17	安徽省亳州市十八里镇	2.708	1.290	1.446	−1.379	−0.947	0.595	1.502	3
S11	安徽省亳州市十八里镇	3.510	−1.025	0.731	−0.568	1.284	−1.854	1.146	4
S1	安徽省亳州市十八里镇	2.983	0.948	−2.152	0.912	−1.457	−3.256	0.938	5
S18	河北省唐山市玉田县	−2.815	8.914	−2.516	−2.083	−0.233	0.918	0.824	6
S6	安徽省亳州市十八里镇	2.298	−0.529	−1.865	1.885	0.952	1.060	0.749	7
S8	安徽省亳州市十八里镇	2.413	−0.549	−1.599	−0.960	0.249	0.821	0.556	8
S13	安徽省亳州市十八里镇	1.605	−0.899	1.264	−0.918	−0.862	1.377	0.527	9
S3	安徽省亳州市十八里镇	1.571	−1.189	0.717	−0.089	−0.050	1.415	0.467	10
S14	安徽省亳州市十八里镇	1.024	−0.655	1.759	−1.096	−1.207	−0.459	0.304	11
S12	安徽省亳州市十八里镇	0.955	−1.421	2.435	−0.964	−0.372	−0.163	0.240	12
S10	安徽省亳州市十八里镇	0.604	−0.242	0.324	−1.585	−0.072	0.334	0.112	13
S5	安徽省亳州市十八里镇	−0.967	0.012	1.400	2.014	1.375	0.973	0.110	14
S4	安徽省亳州市十八里镇	0.797	−1.617	−2.549	1.368	0.126	−0.443	−0.407	15
S16	安徽省亳州市十八里镇	0.774	−2.561	−0.472	−0.111	−0.887	0.720	−0.481	16
S9	安徽省亳州市十八里镇	0.052	−1.677	−2.065	0.134	−0.304	0.518	−0.716	17
S19	河北省安国市南娄底乡卓头村	−3.391	0.946	1.813	1.490	−1.474	−0.676	−0.825	18
S2	安徽省亳州市十八里镇	−1.720	−1.205	−1.456	1.750	1.009	1.460	−0.949	19
S21	河北省定州市南寨里村	−4.071	0.492	3.282	0.460	−0.412	0.037	−0.984	20
S20	河北省安国市伍仁桥镇中送村	−5.274	0.922	1.384	2.061	−1.261	−0.464	−1.570	21
S23	四川省自贡市	−4.104	−2.991	1.046	−2.420	2.889	−1.235	−2.370	22
S22	河南省周口市鹿邑县	−6.973	−2.006	−3.602	−1.112	−0.021	−0.768	−3.952	23



注：F1—F28为峰1—峰28

图6 不同批次荆芥药材得分图

3 讨论

通过查阅文献分别对检测波长、提取溶剂、流动相系统进行筛选，最终确定在283 nm检测波长下，提取溶剂为甲醇，在以乙腈-0.05%磷酸水作为流动相时，色谱峰的峰型更尖锐，同时基线平稳，分离度较好。

本实验通过高效液相色谱得出5个产地23批荆芥药材的色谱图，建立了测定的色谱条件，并且对23批荆芥进行指纹图谱研究，用中药色谱指纹图谱相似度评价系统、SPSS 23.0软件进行评价，通过聚类分析、主成分分析等方法，对不同品种荆芥药材进行鉴别与质量评价。结果发现所收集样品中安徽、河北产的荆芥质量相对较好。另外，实验中样品主要以安徽产荆芥为主，河北及其他产地的批次相对较少，后期可考虑进一步丰富样品批次加以验证实验结论。

综上所述，本实验研究的高效液相色谱指纹图谱检测方法简便快捷，重现性好，可用于荆芥的质量控制，聚类分析结果与主成分分析结果为不同产地荆芥质量评价研究提供借鉴与参考。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京：中国医药科技出版社，2015：232-233.

[2] 樊佳新，王帅，孟宪生，等. HPLC法测定不同产地荆芥中6种黄酮类成分[J]. 中草药，2017，48(11)：2292-2294.

[3] 温子帅，刘露露，李新蕊，等. HPLC法同时测定不同产地荆芥中8种成分的含量[J]. 中药材，2019，42(1)：140-143.

[4] 黄景怡，钟振声. 蒲公英抑菌提取液氯仿萃取部位高效液相色谱指纹图谱的研究[J]. 现代食品科技，2010，26(1)：46-48.

[5] 郑恒，魏日胞，陈香美. 中药质量标准与中药指纹图谱[J]. 中国医院药学杂志，2003，23(2)：112-113.

[6] 康福中，张立新，高木珍，等. 中药色谱指纹图谱技术及应用前景[J]. 中国兽药杂志，2005，39(9)：37-40.

[7] 刘军红，廖国玲. 中药指纹图谱的研究综述[J]. 农业科学研究，2009，30(2)：32-34.

[8] 王领弟，杜义龙，杨明宇，等. 聚类分析和主成分分析法研究刺玫果指纹图谱[J]. 中国现代中药，2017，19(4)：514-517.

[9] 郑孟凯,唐映红,陈建真,等.基于HPLC指纹图谱及主成分分析、聚类分析研究不同地区市售麻黄药材的质量差异[J].中华中医药杂志,2016,31(4):1420-1426.
[10] 冀艳花,李军山,田方,等.基于指纹图谱与聚类分析评价不同产地白鲜皮药材质量[J].中国现代中药,2018,20(8):50-54.
[11] 范旭航,王振中,李清,等.牡丹皮药材UPLC特征指纹图谱研究[J].中国中药杂志,2011,36(6):715-717.

(收稿日期:2019-09-10;编辑:曹健)

Quality Evaluation of Fineleaf Schizonepeta Herb from Different Producing Areas Based on Cluster Analysis and Principal Component Analysis

LIAO Yan-wu[1], *WU De-ling*[1,2], *XU Feng-qing*[1,2], *ZHANG Wei*[1,2], *HUANG Qi*[1,2], *WANG Tong-sheng*[3]

(1. *School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei* 230012, *China*; 2. *Anhui Provincial Key Laboratory of New Manufacturing Technology for Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces, Anhui Hefei* 230012, *China*; 3. *Department of Pharmacology, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei Anhui* 230012, *China*)

[**Abstract**] **Objective** To provide a reference for quality control of fineleaf Schizonepeta herb from different producing areas based on fingerprint, cluster analysis, and principal component analysis. **Methods** High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to analyze the quality of fineleaf Schizonepeta herb, and the data obtained were analyzed by the chromatographic fingerprint similarity evaluation system of traditional Chinese medicine to establish the fingerprint of fineleaf Schizonepeta herb. SPSS 23.0 was used for cluster analysis and principal component analysis, and all data were used to evaluate the quality of fineleaf Schizonepeta herb from different producing areas. HPLC was performed on a SinoChrom ODS-BP column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with a mobile phase of acetonitrile-0.05% aqueous phosphoric acid solution for gradient elution, at a detection wavelength of 283 nm, a flow rate of 1.0 mL/min, a column temperature of 30 ℃, and an injection volume of 20 μL. **Results** A total of 28 peaks of the HPLC fingerprint of fineleaf Schizonepeta herb were determined to be common peaks, and apart from the samples from Henan Luyi and Sichuan Zigong with a similarity of below 0.9, all the other 21 batches had a similarity of 0.930-0.982. The cluster analysis showed that the medicinal material of fineleaf Schizonepeta herb was classified into Bozhou fineleaf Schizonepeta herb and fineleaf Schizonepeta herb from other producing areas including Sichuan, Henan, and Hebei. The principal component analysis showed that the top six principal components had a cumulative contribution rate of 88.247% and could be used for the comprehensive analysis of fineleaf Schizonepeta herb from different producing areas. **Conclusion** The comprehensive analysis shows that fineleaf Schizonepeta herb from Anhui and Hebei has relatively good quality.

[**Key words**] Fineleaf Schizonepeta herb; High-performance liquid chromatography; Fingerprint; Cluster analysis; Principal component analysis